大麦のアミロ法熟成醪中の非醗酵性糖について (第 2 報)*

ラミナリビオースの分離確認

小 野 英 男, 太 宰 宙 朗 (工業技術院発酵研究所)

昭和 33 年 11 月 17 日 受理

前報⁽¹⁾では大麦のアミロ法熟成醪中の組成糖の PPC による検索と分離定量を行い、更に Carbon CC による組成糖の分離と 2, 3 の検討を行ったが、糖組成は約 44% に当るペントースとペントースの重合体を除いた残りの大部分がラミナリビオース (a 糖), 1,3-β と 1,4-β 結合より成る三糖類 (b 糖) および同系統の四糖類 (c 糖) と推定されるオリゴ糖群より成ることを認めた。

本報ではこれ等のオリゴ糖中の a 糖を Carbon CC と PPC によって熟成醪より分離精製した後、遊離糖およびアセチル誘導体として結晶状に得てこれがラミナリビオース (3-O-β-D-glucopyranosyl-D-glucopyranose) であることを確認したので報告する。

実 験 の 部

I. 供試糖の分離精製 Carbon CC による組成糖の分離操作に於て使用した供試糖液の調製並びにその溶出方法等はすべて前報に準じて実施した。即ち 4l の精白大麦のアミロ法熟成醪を濾過して酢酸鉛処理を行い約 1/10 に減圧濃縮し (全糖 17%), その 300 ml を活性炭 350 g と同量の Celite No. 545 を充填した 11×55 cm のカラムに注加して溶出を行った。そして溶出液を 2l 宛分取し約 20 ml 迄減圧濃縮して溶出糖を PPC により確めながら a 糖を単一に含むフラクション (5% エタノール区分で 20l 単一に溶出した) を集めた。このフラクション中には Celite その他の不純物が混在しているのでこれ等を除去する為、濾過して全体を更に少量迄濃縮し濾紙多数に一線に塗附して展開後切抜き抽出を行い、シラップ状迄濃縮してメタノールを加え濃縮を繰返しその後吸引デシケーター中で乾燥して白色粉末 1.1 g を得た。

II. ラミナリビオースの確認

1) 遊離糖の結晶化 : a 糖の白色粉末を少量の水に溶解しメタノールを加えながら反復減圧濃縮するとやがて結晶が析出して来た。氷室に一夜放置後結晶を濾別しメタノールから 2 回再結して針状の結晶 0.8 g を得た。m. p. 210~213°, $[\alpha]_D^{18} = +25.2^\circ$ (20 min.) $\longrightarrow +19.2^\circ$ (8 hr., constant) in H₂O (c=2.5) で α-ラミナリビオースの文献値⁽²⁾ [m. p. 204~206°, $[\alpha]_D^{18} = +24.9^\circ$ (20 min.) $\longrightarrow +18.6^\circ$ (9 hr., constant) in H₂O (c=2.5)] と比較して融点がやや高い値を示した。

2) アセテートの結晶化 : 前記の遊離糖の結晶 0.5 g に無水酢酸ソーダ 0.25 g と無水酢酸 3.5 ml を添加して 100~105° で 2.5 時間加熱後内容を 30 ml の氷水中に注入攪拌し、一夜室温に放置して過剰の無水酢酸を分解

写真 1 ラミナリビオースの結晶

し、全体をクロロホルムで抽出して抽出液を飽和炭酸ソーダで洗滌後水で繰返し洗滌した。充分水洗した後クロロホルムを溜去し真空デシケーター中で乾燥して粗アセテート 0.97 g を得た。これに約 2 倍量の 95% エタノールを加えて加熱溶解し、室温に放置して結晶化を行い 95% エタノールから数回再結してプリズム状の針状結晶を得た。収量 0.45 g. m. p. 160.5~161°, $[\alpha]_D^{18} = -28.8^\circ$ in CHCl₃ (c=2.5) で β-laminaribiose octaacetate の文献値⁽²⁾ [m. p. 160~161°, $[\alpha]_D^{18} = -28.8^\circ$ in CHCl₃ (c=2.5)] によく一致した。

3) アセテートより遊離糖の結晶化 : 前述の

* Unfermentable Sugars in the Mash of Amylo Process using Barley as the Raw Material. Part II. Isolation of Laminaribiose.

By Hideo ONO and Michio DAZAI (Fermentation Research Institute, Agency of Industrial & Technology)

写真 2 β -Laminaribiose octaacetate の結晶

$\sim 208^\circ$, $[\alpha]_D^{16} = +24.8^\circ$ (20 min.) $\longrightarrow +18.8^\circ$ (8 hr., constant) in H_2O ($c=2.5$) で文献値と一致し、又東北大学麻生教授、柴崎助教授より分譲いただいた α -ラミナリビオース (m. p. $203\sim 206^\circ$) と混融しても融点降下しなかった。尚最初に得た結晶との混融試験も行ったが融点は両者のほぼ中間を示し融点が降下したとは認められなかった。

以上の諸結果より前報に於てラミナリビオースと推定した a 糖は同一糖であることを確認した。

要 約

精白大麦のアミロ法熟成醪中より Carbon CC および PPC によって a 糖を遊離糖として結晶状に得た後、これをアセチル化してアセテートの結晶化を行い、更に再びその脱アセチルによる遊離糖の結晶化を行い、それ等の恒数を測定して a 糖はラミナリビオースであることを確認した。

終りに臨み本研究に対して終始御懇篤な御指導を賜わり、御校閲下さった東京大学朝井教授、東北大学麻生教授、柴崎助教授並びに工業技術院発酵研究所務務所長に対して深くお礼を申し上げます。

(昭和 33 年 5 月、日本農芸化学大会で発表)

(1) 小野英男, 太宰宙朗 : 本誌, 33, 639(1959).

(2) P. Bächli, E. G. V. Percival : *J. Chem. Soc.*, 1952, 1243.

(3) M. L. Wolfrom, A. Thompson, T. T. Galkowski : *J. Am. Chem. Soc.*, 73, 4093 (1951).

大麦のアミロ法熟成醪中の非醗酵性糖について (第3報)*

未知のグルコ三糖類の分離とその構造の決定

小野 英 男, 太 宰 宙 朗 (工業技術院発酵研究所)

昭和 33 年 11 月 17 日 受 理

前報⁽¹⁾で大麦のアミロ法熟成醪中に存在が認められた 2, 3 のオリゴ糖の中ラミナリビオースを結晶状に分離確認したことについて述べた。

本報では同様に分離精製した未知の三糖類 (b 糖) の白色粉末をアセチル化して結晶状の β -hendecaacetate を得、更に遊離糖およびその糖アルコールを酸によって加水分解し、生成する糖類を確認することによってその構造が O- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-O- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-D-glucopyranoseであることを明らかにしたので報告する。

尚最近 Barker 等⁽²⁾は α -配置の三糖類で同じ結合様式の二つの異性体を *Asp. niger* の一種が生産する nige-

* Unfermentable Sugars in the Mash of Amylo Process using Bareley as the Raw Material. Part III. Isolation and Structure of a New Gluco-triose.

By Hideo ONO and Michio DAZAI (Fermentation Research Institute, Agency of Industrial & Technology)