(3) 自然界より分離した多数の *T. viride* についてそのクエン酸生産能を検討した結果, 高収率生産菌株がかなり高い頻度で自然界に分布していることが認められた。

終りに菌の分類に際して貴重な資料を頂きました種々御教示を賜った長尾研究所の椿啓介博士, 菌の分離試料を頂いた上野動物園の小森厚枝官および標準菌株の蒐集に御尽力頂いた当研究所の阿部重雄博士に深く感謝します。尚, 本報告は昭和 33 年 12 月 20 日, 日本農芸化学会関東支部例会にその概略を報告した。

(1) D. Perlman, H. A. Lardy, M. A. Johnson : <i>Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.</i> , 16, 515 (1944).	(10) 外山信男 : 醸工, 35, 356, 361(1957) ; 36, 348 (1958).
(2) G. R. Bisby : <i>Trans. Brit. Myc. Soc.</i> , 23, 149 (1939).	(11) P. W. Brian : <i>Nature</i> , 154, 667 (1944).
(3) 椿 啓介 : <i>Nagaoa</i> , 4, 12 (1954).	(12) P. W. Brian, H. G. Hemming : <i>Ann. Appl. Biol.</i> , 32, 214 (1945).
(4) P. A. Saccardo : <i>Sylloge Fungorum</i> , 4, 59 (1886).	(13) P. W. Brian, H. G. Hemming, P. J. Curtis, J. C. McGowan : <i>Ann. Appl. Biol.</i> , 33, 190 (1946).
(5) G. Lindau : <i>Rabenhorst's Kryptogamenflora, Die Pilze</i> , 8, 110 (1907).	(14) 外山信男 : 醸工, 32, 300 (1954).
(6) J. C. Gilman : <i>A Manual of Soil Fungi</i> p. 212 (1957).	(15) E. A. Gäuman, C. W. Dodge : <i>Comp. Morph. of Fungi</i> , p. 239 (1928).
(7) E. T. Reese : <i>Appl. Microbiol.</i> , 4, 39 (1956).	(16) F. E. Clements, C. L. Shear : <i>The Genera of Fungi</i> , p. 58 (1954).
(8) M. Mandel, E. T. Reese : <i>J. Bact.</i> , 73, 269 (1957).	(17) P. W. Brian, H. G. Hemming : <i>Trans. Brit. Myc. Soc.</i> , 33, 132 (1950).
(9) 外山信男 : 醸工, 33, 266(1955) ; 34, 274,	(18) 石丸義夫, 外山信男 : 醸工, 30, 409(1952).

ハイドロールの利用に関する研究 (第1報)*

硝酸酸化による *d*-saccharic acid の製造 (その1)

清 岡 繁 夫 (東京大学農学部農芸化学教室)

昭和 34 年 10 月 5 日 受 理

従来 *d*-saccharic acid は Kiliani 等⁽¹⁻⁶⁾によって澱粉, 蔗糖, D-グルコース等を比較的低濃度の硝酸で酸化して得られたが, 最近 Mehltrittter 等^(7,8)は濃硝酸で D-グルコースを酸化してその収率を向上せしめ, Mustake⁽⁹⁾はこの方法により半工業的製造に成功し, D-グルコースより 43%, ハイドロールより 16.6% の収率を得た。

d-Saccharic acid の用途に関しては, その酸性カリウム塩は医薬用に^(10,11), アンモニウム塩はピロールの製造原料として⁽¹²⁾研究せられ, 1,4-ラク톤は還元すれば D-グルクロン酸を生ずる⁽¹³⁾。

第1表 ハイドロールの成分一覧表

全 糖*	54.22%
還 元 糖*(グルコースとして)	42.01
グルコース**	34.21
2 糖 類**	15.38
3糖以上の多糖類**	6.28
水 分	49.17
灰 分	0.06

* Bertrand 法

** Anthrone 法⁽¹⁴⁾でそれぞれ分析

著者は本邦産ハイドロールを使用して種々の条件下に硝酸酸化を行い, *d*-saccharic acid の収率の変化を検討したので報告する。

実 験 の 部

1. 実験材料 50% ハイドロール。含有成分は第1表の通り。これを適宜, 濃縮又は稀釈して使用。
2. 硝酸酸化及び酸性カリウム塩 (KH *d*-saccharate) の分離
硝酸酸化の基準として 50% ハイドロールに $d=1.38$ の硝酸を硝酸対ハイドロール固形物 4:1 (モル比, 固形物を純グルコースと

* Studies on the Utilization of Hydrol. Part I. The Production of *d*-Saccharic Acid by the Nitric Acid Oxidation of Hydrol. (1)

By Sigeo KIYOOKA (Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, University of Tokyo)

みなす。理論上のモル比は 3)

加えて実験を行った。この時の硝酸濃度 43.0%。

逆流冷却器を附したコルベン中に硝酸を入れ、これを湯煎中で 75° に加熱後、固形物 30 g を含むハイドロールを少量添加して、赤褐色のガスが発生し、反応開始するや直ちに冷却、又は加熱して所定温度に達せしめ、10 分間に全ハイドロールをコルベン中に投入して所定時間この温度を保持した。

反応終了後 Mehlretter の方法^(7,8)に従い、45% 苛性カリ水溶液を加えて pH 9 とし、70° で 20 分間放置して saccharolactone の lactone 環を開裂させた後、濃硝酸を加えて pH 3.4 とし、室温に 1 晩放置。析出した KH *d*-saccharate を濾取して水及び 30% エタノールで洗滌後、硫酸デシケーター中で減圧乾燥した。得たる酸性カリウム塩の酸度を N/10 アルカリ水溶液で滴定して、その酸度より純 KH *d*-saccharate の量を計算した。純度は 98~100% の範囲にあった。各酸化条件に於けるその収率を第 2 表に示す。

3. KH *d*-saccharate の確認 得たる酸性カリウム塩の分析値の 1 例を次に示す。

第 2 表 硝酸酸化の反応条件と KH *d*-saccharate の収率との一覧表

実験 番号	原 料	硝 酸 ^{*1} モル比	硝酸 ^{*2} 濃度	反応 温度	反応時間	KH <i>d</i> -saccha- rate 収率 ^{*3}
1	ハイドロール	4	30.0%	85°	2 時間10分	24.6%
2	"	"	43.0	"	"	25.0 ^{**}
3	"	"	"	"	"	30.6
4	"	"	"	"	"	29.6
5	"	"	"	"	"	27.4
6	"	"	50.0	"	"	28.1
7	"	"	55.0	"	"	29.5
8	"	"	62.0	"	"	25.0
9	グルコース	"	30.0	"	"	21.9
10	"	"	43.0	"	"	33.5
11	ハイドロール	"	30.0	75°	"	24.8
12	"	"	43.0	"	"	28.6
13	"	"	"	"	"	29.9
14	"	"	50.0	"	"	28.4
15	"	"	55.0	"	"	26.6
16	"	"	"	"	"	25.7
17	"	"	"	"	"	27.4
18	"	"	62.0	"	"	24.7
19	"	"	30.0	67°	"	22.1
20	"	"	43.0	"	"	26.4
21	"	"	55.0	"	"	27.0
22	"	"	62.0	"	"	21.4
23	"	"	43.0	55°	"	22.1
24	"	"	"	93°	"	27.1
25	グルコース	"	61.0	67°	"	40.9
26	ハイドロール	3	37.0	75°	"	23.5
27	"	"	"	85°	"	20.8
28	"	"	43.0	75°	"	24.9
29	"	5	"	"	"	28.3
30	"	"	"	"	"	26.8
31	"	6	"	"	"	30.5
32	"	4	"	85°	7 分 ^{*5}	19.2
33	"	"	"	"	25 分	26.1
34	"	"	"	"	40 分	28.1
35	"	"	"	"	1 時間10分	31.2
36	"	"	"	"	3 時間10分	28.4
37	マルトース ^{*6}	"	"	"	2 時間10分	27.2
38	シュクロース ^{*6}	"	62.0	67°	"	18.2

*1 ハイドロールの固形物重量をそのままグルコースとして計算し、グルコース 1 モルに対する価

*2 ハイドロールの水分をも加算した価

*3 ハイドロールの固形物重量をそのままグルコースとして計算して、得られる KH *d*-saccharate の理論値に対する価

*4 空気吹込

*5 ハイドロールと硝酸を最初より全量混合

*6 計算法はハイドロールに準ずる

0.1000 g に対する N/10
アルカリ滴定値 cc

元 素 分 析

		K	C	H
計 算 値	4.03	15.75	29.01	3.63
実 測 値	4.02	15.73	29.30	3.95

再結したもの $[\alpha]_D^{25} = +1.52^\circ$ (中性塩として計算, $c=4$, H_2O). Diphenylhydrazide の $m.p. = 210^\circ$

4. 副生成物

1) ペーパークロマトグラフィーによる検索: 実験番号 2~5 の条件下で酸化したものをピリジン: *n*-ブタノール: 水 = 2:3:1.5 で 1 回展開 (上昇) せしめて検討した。発色剤は BCG 及び $AgNO_3 + NaOH$ (aniline-hydrogenphthalate では発色しない)。

$R_F = 0.37$ (グルコース, $\pm$), 0.24~0.25 及び 0.22~0.23 (saccharolactone?), 0.16, 0.13~0.15 (D-グルコン酸?), 0.05~0.09 (*d*-saccharic acid, 蔞酸) にそれぞれスポットが認められた。

第 1 図 硝酸濃度と収率との関係

硝酸: ハイドロール固形物=4:1(モル比), 反応時間: 2 時間 10 分
●—● 85° x---x 75° ○---○ 67°

第 2 図 反応温度と収率との関係

硝酸: ハイドロール固形物=4:1(モル比), 反応時間: 2 時間 10 分
●—● 硝酸濃度 43% ○---○ 30% x---x 62%

第 3 図 反応時間と収率との関係

硝酸: ハイドロール固形物=4:1(モル比), 硝酸濃度 43.0%,
反応温度 85°

第 4 図 硝酸のハイドロール固形物に対するモル比と収率との関係

硝酸濃度 43.0%, 反応温度 75°,
反応時間 2 時間 10 分

2) 蔞酸: KH *d*-saccharate を除いた濾液に HCl を加えて pH 2.5 とし, CaCl_2 を 10 g 加えて 70~80° に 1 時間おき蔞酸カルシウムを濾取, 水洗, 乾燥. 例えば実験番号 5 に於ける蔞酸カルシウムの収量 = 3.06 g, 理論量の 4.2%, Ca 含量 26.8%.

3) D-酒石酸 (右旋性酒石酸): 実験番号 2 の条件で酸化した反応液 (ハイドロール固形物 90 g 使用) より KH *d*-saccharate を除去後, CaCl_2 27 g を投入し, Mehlretter⁽⁸⁾ の方法に従い, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ を加えて pH 9 とし, 析出した Ca 塩 27.0 g (Ca 含量 15.85%) を得た. Ca 塩を除去後, 遊離酸より D-酒石酸をブルシン塩として分離せんと試みたが成功しなかった. D-酒石酸は殆ど生成していないと思われる.

4) 5-ケトグルコン酸: 実験番号 2 の条件下で酸化した反応液に Kiliani⁽¹⁵⁾ の方法に従って, 醋酸ソーダ及び塩化カルシウムを加えて析出した Ca 塩を再結

すれば, 蔞酸カルシウムのみであって, 5-ケトグルコン酸カルシウムを確認し得なかった.

実験結果並びに考案

第 2 表及び第 1~4 図は実験結果のすべてを表わしている. 即ちハイドロールより *d*-saccharic acid を収率良く得るには, その硝酸濃度 40~55%, 硝酸対ハイドロール固形物 4:1(モル比), 反応温度 75~85° で酸化を行うのが良い. D-グルコースの場合, Mehlretter⁽⁸⁾ は硝酸濃度 60% 以上, 反応温度 67° が適していると述べているが, 著者の比較実験結果もこれを支持するものである. 故にハイドロールの際には硝酸濃度の低下はハイドロール固形物の水溶液に対する濃度の低下をもたらし, 更に高温によって二糖類等が加水分解せられるものと考えられる.

又, 反応時間は 85° では 25 分~1 時間 10 分で十分であり, この時期は酸化反応液よりの褐色の NO_2 ガスの発生が衰え, 発熱も減少するのとは一致する. 硝酸のモル比が増加してもその収率がそれ程増減しないのは *d*-saccharic acid が熱硝酸に対して安定

であり⁽⁸⁾, 且つ酸化剤の不足が収率の低下を招くのもない事を示す。

結局, ハイドロール $\rightarrow$ *d*-saccharic acid の硝酸酸化反応は特異的なものではないが, ハイドロールはその原料として十分使用に耐えるものである。

要

約

本邦産ハイドロールを硝酸濃度 30~62%, 硝酸対ハイドロール固形物 3~6:1 (モル比), 反応温度 55~93°, 反応時間 7分~3時間 10 分の条件下で硝酸酸化して *d*-saccharic acid を製造し, その収率の変化を研究した。その結果最高収率は理論量の 31.2% であり, 最適反応条件は D-グルコースの場合よりも高温, 而して低い硝酸濃度にある事を認めた。

本研究に当り, 終始御懇篤なる御指導を賜った住木諭介先生に深く感謝の意を表する。又ハイドロールを提供せられた昭和産業株式会社高崎喜一郎, 真柄宗祐両氏に深謝致します。

(1) E. Fischer : Anleitung zur Darstellung
Organischer Präparate, p. 80 (1905).	(9) G. S. Mustake et al. : <i>Ind. Eng. Chem.</i> ,
46, 429 (1954).
(2) R. Gans et al. : <i>Ann.</i> , 249, 215 (1888).	(10) R. Pasternack et al. : U. S. P. 2,057,119
(1936).
(3) H. Kiliani : <i>Ber.</i> , 56, 2016 (1923); 58,
2344 (1925).	(11) C. W. Sondern et al. : U. S. P. 2,232,411
(1941).
(4) J. Liebig : <i>Ann.</i> , 113, 1 (1860).	(12) 藤田英夫, 前島俊寿, 八浜義和 : 工化, 41,
111 (1938).
(5) 八浜義和, 藤田英夫 : 工化, 38, 1609 (1935).	(13) E. Fischer et al. : <i>Ber.</i> , 24, 522 (1891).
(6) A. A. Dietz et al. : <i>Proc. Indiana Acad.
Sci.</i> , 57, 92 (1948).	(14) R. J. Dimler et al. : <i>Anal. Chem.</i> , 24,
1411 (1952).
(7) C. L. Mehlretter : U. S. P. 2,436,659
(1948).	(15) H. Kiliani : <i>Ber.</i> , 55, 2817 (1922).
(8) C. L. Mehlretter et al. : <i>J. A. F. C.</i> , 1,
779 (1953).	

ハイドロールの利用に関する研究 (第 2 報)*

硝酸酸化による *d*-saccharic acid の製造 (その 2)

清 岡 繁 夫 (東京大学農学部農芸化学教室)

昭和 34 年 10 月 5 日 受 理

前報に於て著者はハイドロールを無触媒下に硝酸酸化して, 種酸の反応条件における *d*-saccharic acid の収率の変化について述べた。本報に於ては亜硝酸塩及びバナジン酸塩を添加してハイドロールを硝酸酸化し, 触媒添加の影響を研究し, 副生成物についても検討を加えた。

亜硝酸塩に関しては Pigman 等⁽¹⁾は D-ガラクトースを硝酸酸化して粘液酸を造る際に亜硝酸ソーダを添加して効果を挙げており, 又 Mehlretter 等⁽²⁾も *d*-saccharic acid の製造に微量添加している。

一方, バナジン酸塩を添加して D-グルコースを酸化すると酒石酸と乳酸とを生ずる事は知られているが^(3~8), 八浜等⁽⁹⁾は澱粉の硝酸酸化に添加すれば効果があり, *d*-saccharic acid の収率を向上せしめ, 又酒石酸は認められなかったと述べている。

実 験 の 部

1. 実験材料 第 1 報と同じハイドロール。

2. 硝酸酸化及び酸性カリウム塩の分離 硝酸酸化の方法は第 1 報と同様であるが, 今回は亜硝酸カリ及びメタバナジン酸ソーダ $\text{NaVO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ をそれぞれ単独又は併せて予めハイドロール (固形物 30 g 相当) に所定量加えて行った。

* Studies on the Utilization of Hydrol. Part II. The Production of *d*-Saccharic Acid by the Nitric Acid Oxidation of Hydrol. (2)

By Sigeo KIYOOKA (Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, University of Tokyo)