[農化 第 35 卷, 第 13 号, p.1291~1293, 1961]

パルプ中のマンナンに関する研究 (第 6 報)*

マンノグルカン

越 島 哲 夫 (京都大学木材研究所)

昭和 36 年 5 月 23 日 受 理

緒 言

前報でアカマツホロセルロースパルプの β -セルロース区分には少量の β -セルロースのほかに (A), (B) 2 種の、マンノースを含む多糖類が存在することを知った。本報では別の試料について前報の結果を再確認するとともに (A) のメチル化物につきさらに検討をおこなった。その結果 (A) はマンノグルカンを主成分とすることが認められたので報告する。

実 験

1) β -セルロース区分の分別 亜塩素酸ナトリウムと酢酸で調製したホロセルロースパルプ (リグニン, 1.02%) を抽出原料とした。その 250 g を既述の方法⁽¹⁾によって抽出し β -セルロース区分をえた。これを 15 日間ゲルセロファンチューブを用いて透析し、その間上澄を時々更新することにより可溶性糖類を除去した。透析終了後沈殿をろ別、洗浄し第 1 図のようにして分別した。 β -セルロース区分の 5% カセイソーダ懸濁液は 1 時間攪はん後 [I] をろ別した。酢酸中にろ過された溶液部分は直ちに沈殿 [II] を生成する。これを遠心分離して [III] の溶液部分とわけた。[I] はセルロース, [III] はグルコマンナンを主成分とする。この操作をさらに一回くり返し [II] を精製した。[II] の酢酸酸性懸濁液はその後ゲルセロファンチューブを用いて 15 日間透析し、透析終了後は [II] のろ過は容易になるのでろ布によりろ別、水で十分洗浄後、水をメタノールで置換しメタノール含浸状態で保存した。収量 7 g, マンノース基 19.4%。 $[\alpha]_D^{20} -32^\circ$ ($c=0.4$, 10% NaOH)。水解物のペーパークロマトグラフィー (エチルアセタート-ピリジン-水=10:4:3) によりグルコースとマンノースがみとめられた。

2) β -セルロース区分 [II] のアセタートの分別 メタノール約 20 g を含む [II] (7 g) をピリジン (100 ml) に 35~40° ではげしく攪はんしながら均一に分散させて後、無水酢酸 (150 ml) を滴下した。反応温度はその間 35° 以下に保ち数時間後ピリジン (30 ml), 無水酢酸 (60 ml) を追加して室温に

12 日間放置した。後、ピリジン、無水酢酸をさらに追加し 40° に 7 日間攪はんし、反応混合物を 1% 塩酸を含む水中に投入してアセタートを回収した。収量 10.2 g。これを無水酢酸 (113 ml), ピリジン (130 ml) で再酢化し、酢化終了後酢化混液不溶部 (A) (6.3 g, Ac. 41.6%) と可溶部 (B) (3.2 g, Ac. 34.7%) にわけた。(B) の IR は -OH による吸収を示さない。(A) はピリジンに溶解し均質な溶液となる。これを上のようにしてもう一度酢化し、可溶部 (B) を除くと Ac. 43.0% のアセタートが得られた。(A) 0.462 g をクロロホルム (20 ml) に溶解し、これに 0.3 N-ナトリウムメトキシド・メタノール溶液 (20 ml) を加え室温に 30 分振とう後、0° に 48 時間放置した。これを 0.1 N-硫酸で正確に中和してからろ過、水、エタノールで洗浄、乾燥した。収量 0.251 g。マンノース基 16.4%。アセタート (A), アセタート (B), セルロースアセタート, グルコマンナンアセタート⁽¹⁾の赤外線吸収スペクトルを第 2 図に示す。これらの間にはとくに指摘しうる相違はみとめられなかった。

3) アセタート (A) のメチル化 アセタート (A) (3.0 g) を 50° でアセトンに懸濁し、6 時間攪はんした (溶解不完全)。温度を 50° に保持し、窒素ガスを通じながらジメチル硫酸 (50 ml), 30% カセイソーダ⁽²⁾ (120 ml) を 1 時間にわたって添加しその後 1 時間同温度に反応させた。つぎに温度を 80° に上げ、30 分保持して過

* Studies on Mannan in Wood Pulp. Part VI. Mannoglucan.

By Tetsuo KOSHIIJIMA (Wood Research Institute, Kyoto University)

第2図 マンノースを含む多糖類の赤外線吸収スペクトル

I: Acetate A II: Acetate B III: Cellulose acetate
IV: Glucmannan acetate (Nujol)

第1表 アセタート(A)の
メチル化物の分別

区分	比旋光度 (CHCl ₃)	収 量
1	—	5.6
2	—	7.2
3	-5.8°	15.6
4	-6.2	21.8
5	-6.8	9.0
6	-6.3	7.5
7	-6.4	22.5
8	+6.7	2.8
9	+6.6	4.2
10	0	3.8

第2表 メチル化物(I)の
Huggins 常数

区分	4	5	7
[η]	0.497	0.430	0.295
k'	0.992	0.919	0.816

測定温度: 20±0.01° 溶媒: CHCl₃

k': 次式より算出した。

$$\eta_{sp}/c = [\eta] + k'[\eta]^2 c$$

Amberite IR-120 (H) で除いてから減圧濃縮しメチル化糖をシラップとして得た。収量 0.179 g, $[\alpha]_D^{20} + 50.0^\circ$ ($c=1.3$, H₂O)。ペーパークロマトグラフィー (エチルアセタート-ピリジン-水=10:4:3) によって2このスポット (R_F 0.83, 0.57) が認められた。前者はトリメチル化糖に、後者はジメチル化糖に相当するが、これは極めて微量であった。シラップ状のメチル化糖 0.169 g を1% メタノール・塩酸 18 ml に溶かし室温に放置して変旋光を測定した⁽⁶⁾。

時間 (hrs)	0	2	4	18	21	24
比旋光度	+55.1°	+48.2°	+34.2°	-4.2°	-7.5°	-9.6°

剰のジメチル硫酸を分解し最初のメチル化を終了した。その間、反応混合物は激しく攪はんし、アセトンは反応後半において留去した。反応終了後アルカリは 6N-硫酸で中和し、器底に沈殿するメチル化物を残して溶液部分を分離し、クロロホルムで抽出した。溶液中になお残存する部分メチル化物を回収するため、溶液は2倍容エタノールで硫酸ナトリウムを除いて後、減圧下に濃縮し得られたシラップをもとの反応容器中にもどし、クロロホルム抽出液は同じく蒸発乾固させてこれに合わせ第2回目のメチル化をおこなった。以後は室

素ガスは使用せず、ジメチル硫酸 53 ml に対しアルカリ 100 ml を使用しさらに5回メチル化を反復した。6回目のメチル化が終了後、全メチル化物をクロロホルムで抽出、回収した。OMe, 35.7%。上のメチル化物 2.0 g を 100 g 沃化メチル⁽³⁾に溶解し、焼石こう 3 g, 酸化銀 3 g を加え、攪はんしながら 12 時間還流加熱した。メチル化物はクロロホルムで抽出後、なお一回この操作をくり返し全メチル化を終了した。収量 2.0 g。OMe, 43.1%。

4) メチル化物の分別 メチル化物をそのクロロホルム溶液から石油エーテルを添加することにより分別して、第1表の結果を得た。この結果から(A)のメチル化物は(I)のほか7%の(II)を含むことがわかった。(I)(II)いずれもそのIRは-OHによる吸収を示さない。区分4, 5, 7について極限粘度を測定し、Hugginsの常数 k' ⁽⁴⁾ を算出したが、結果は第2表のように k' は分子量によって変化した。

5) メチル化物(I)の水解と 2,3,6-tri-O-methyl-D-glucose および 2,3,6-tri-O-methyl-D-mannose の同定 メチル化物(I) (0.229 g) を 5% メタノール・塩酸 (25 ml) に溶解し、10 時間還流加熱した。メタノールを減圧下に留去してから水 25 ml を加え 3 時間還流させて後、濃塩酸 4 ml を追加、さらに 3 時間水解した。塩酸は炭酸銀で中和し、溶存する Ag⁺ を

18 時間後炭酸銀で中和, 濃縮し, セルロースカラムを通してブタノン-水 (89:11) によって展開した. 展開液は 5 ml/10 分の速度で流下させ 5 ml あてこれをフラクションコレクターで捕集した. コレクターの区分番号 15~77 は還元能を示さない. これをあつめ 0.1 N-硫酸で水解後, Smith の方法^(6,7)にしたがって 1,4-di-O-*p*-nitrobenzoate を調製した. m. p. 185°, $[\alpha]_D^{20} -32^\circ$ ($c=0.5$, CHCl_3). [2,3,6-tri-O-methyl-D-glucose 1,4-di-O-*p*-nitrobenzoate: m. p. 189~190°, $[\alpha]_D -33^\circ$ (Smith); m. p. 186°, $[\alpha]_D -33 \pm 1^\circ$ (Jones⁽⁶⁾)]. 還元性区分 88~98 から調製した 1,4-di-O-*p*-nitrobenzoate は m. p. 187°, $[\alpha]_D^{20} +32^\circ$ ($c=0.3$, CHCl_3), アカマツ glucomannan から得られた 2,3,6-tri-O-methyl-D-mannose 1,4-di-O-*p*-nitrobenzoate⁽⁷⁾ との混融によっても融点の降下はみられなかった. 微量のジメチル化糖を無視するならばメチル化物 (I) を構成するグルコースとマンノースのモル比は 2,3,6-トリメチル化糖の示す比旋光度から計算すると 81:19 となる.

6) メチル化物 (II) の水解と 2,3,6-tri-O-methyl-D-glucose の同定 メチル化物 (II) (29 mg) を 5% メタノール・塩酸 (2.9 ml) とともに密封管に入れ 100° で 10 時間, 後 1 N-塩酸で 8 時間水解した. 比旋光度は $[\alpha]_D^{20} -70.5^\circ$ ($c=1.0$, H_2O) で定値となる. 前述のように 1,4-di-O-*p*-nitrobenzoate を調製すると容易に結晶する. m. p. 186°, $[\alpha]_D^{20} -32^\circ$ ($c=0.3$, CHCl_3). この多糖類は水解物の比旋光度よりグルコースのみよりなるものと考えられる.

考 察

この実験に使用したホロセルロースパルプはリグニンの除去がやや進行しすぎたためセルロース部分は多少の崩壊をうけいわゆる β -セルロースを生成した. このパルプの場合, 全抽出を終了したパルプ残渣のマンノース基含量 (2.95%) は前回⁽¹⁾の場合 (7.90%) にくらべ少い点, およびマンノグルカンの収量の多いことが注目される. 前報より酸不溶のマンノース含有多糖類は抽出後は希アルカリに容易に溶解することがわかったので 5% カセイソーダ可溶・酸不溶の区分をあつめ, 生成した β -セルロースならびに glucomannan 部分は除去した. えられたものは前回分離した β -セルロース区分とその比旋光度ならびにマンノース基含量において一致する. これを酢化するとき酢化混液不溶部 (A) と可溶部 (B) に分かれ, (B) のアセチル基導入可能な -OH は無水ヘキソース当り 2 こであることも前回同様であったが本実験の場合, (A) は (B) より収量の多い点で相違した. 酢化によりマンノース基含量は (A) 16.4%, (B) 16.5% に低下したがメチル化物の分別の結果, (A) は (I) のほかにグルコースのみからなる区分 (II) を含むことがわかった. (I) $[\alpha]_D -6.3^\circ$ (CHCl_3) を水解すると 2,3,6-tri-O-methyl-D-glucose と 2,3,6-tri-O-methyl-D-mannose が得られ, これらは前報および本実験結果から単一の多糖類 (I) を形成するものと考えられる. 水解による変旋光の測定結果からグルコースとマンノースの結合は β -結合であることが推定され, またそのモル比はグルコース:マンノースが 4:1 と考えられる. 重合度に関してはホロセルロースパルプの調製法から, 第 2 表の極限粘度により示される値よりさらに大きい値を天然の状態では有するものとするのが妥当であろう. ここに得られたアセタート (A) の赤外線吸収スペクトルをセルロース, glucomannan のアセタート, およびアセタート (B) と比較したが β -1,4' 結合をなすこれら多糖類 (アセタート (B) のみは未確認) の間に何ら相違を認めることはできなかった (第 2 図参照). (II) は水解により 2,3,6-tri-O-methyl-D-glucose のみを与えるが, その比旋光度 $[\alpha]_D +6.6^\circ$ (CHCl_3) はセルロースの場合⁽⁸⁾ $[\alpha]_D -4^\circ$ (CHCl_3) と相違し, 確認することはできなかった.

要 約

アカマツホロセルロースパルプの β -セルロース区分はいわゆる β -セルロースのほかに, 酸不溶, アルカリ可溶のマンノグルカンを含むことをそのメチル化物を検討することによって認めた. マンノグルカンは 4 部のグルコースと 1 部のマンノースが β -1,4' 結合によって共重合したものと考えられた.

終りに臨み本研究を通じて御指導を賜った京都大学農学部 勇教授に厚く御礼申し上げます. なお本実験逐行上種々御援助ならびに御教示を頂いた京都大学木材研究所北尾弘一郎教授に感謝の意を表します.

- (1) T. Koshijima: *Bull. Agr. Chem. Soc. Japan*, 24, 687 (1960).
- (2) W. N. Haworth, E. G. V. Percival: *J. Chem. Soc.*, 1932, 2277.
- (3) T. Purdie, J. C. Irvine: *ibid.*, 83, 1021 (1903).
- (4) M. L. Huggins: *J. Am. Chem. Soc.*, 64, 2712 (1942).
- (5) P. A. Rebers, F. Smith: *ibid.*, 76, 6097

- (1954).
- (6) J. K. N. Jones, T. J. Painter: *J. Chem. Soc.*, 1959, 573.
- (7) T. Koshijima: *Agr. Biol. Chem.*, 25, 706 (1961).
- (8) W. H. Haworth, E. L. Hirst, L. N. Owen, S. Peat, F. J. Averill: *J. Chem. Soc.*, 1939, 1889.