在量に比例することが容易に推定できるもので、清酒フーゼル油区分中イソアミルアルコールに比し、他の高級アルコール類の存在量がより少ないことを考慮すると、ロイシン酸以外のオキシ酸の検出、証明が非常に困難であることが理解できる。しかしそれらのオキシ酸エステル類の存在は当然推定できるもので、事実 α -オキシ n -酪酸エチル、 α -オキシイソバレリアン酸エチル等を合成して合成酒に添加した結果、いずれもロイシン酸と同様、自然感および清酒感附与に著効を有することを知ったが、これらの完全な分離、証明はさらに試料を得て行いたいと考えている。

なお本報告は昭和 35 年 11 月、本会西日本支部例会で講演、発表した。また $C_4 \sim C_8$ の異性体を含むオキシ酸類およびそのエステル類を酒類の品質向上を目的として添加することについては目下特許出願中のものである。

(1) 山本 淳：合技報, No. 20, 915 (1960).

(4) 湯川又夫：東化, 38, 358 (1917).

(2) 植村定治郎：本誌, 13, 1146 (1937).

(5) G. C. Whiting：Chem. and Ind., 1958, 720.

(3) 植村定治郎：本誌, 15, 353 (1939).

[農化 第 35 卷, 第 7 号, p. 623~628, 1961]

花粉の生化学的研究 (第1報)*

赤松花粉の糖質について

斗ヶ沢宣久, 勝又悌三, 岩動悠子, 高橋睦子 (岩手大学農学部農芸化学科)

昭和 35 年 11 月 29 日 受 理

植物の生殖単細胞としての花粉について生化学的研究を行うことは興味ある問題と思われる。殊に糖質は花粉の生長、呼吸などの代謝に使われ、また浸透圧を調節して花粉管の伸長を助けるなどその存在意義はきわめて大きい。このたび花粉の生化学的研究の一端として赤松花粉の糖質の検索を行った。

実験の部

1. 成熟過程における澱粉粒の消長 本学部滝沢演習林で採集した赤松 (*Pinus densiflora* Sieb. et Zucc.) 花粉を試料とし、その成熟過程における澱粉粒の消長を沃素反応 (沃素 0.3 g, 沃化カリ 1.5 g を蒸留水 100 ml に溶解し、この 1 滴をスライド上の花粉に落とし、カバーガラスをかけ顕鏡) で調べた。なお未熟花粉は葯から分離不可能のため、そのまま分析に供し、また完熟花粉は開葯時の花粉を葯のまま採集、風乾後軽くたたいて葯から落とし、80 メッシュの篩を通し

1. 飛散約 2 週間前

3. 飛散直前

2. 飛散約 1 週間前

4. 飛散花粉

第 1 図 赤松花粉成熟過程における澱粉粒の消長

沃素-沃化カリ液処理後撮影 ($\times 400$)

* Biochemical Studies on Pollen. Part I. Sugar Substances of Pollen of *Pinus densiflora* Sieb. et Zucc.

By Yoshihisa TOGASAWA, Teizo KATSUMATA, Yuko ISURUGI and Mutsuko TAKAHASHI
(Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, Iwate University)

たものを供試した。結果は第 1 図の如く澱粉粒は開葯約 2 週間前にはごく少量しか認められないがしだいに増加し、開葯数日前に最高となり、開葯飛散時には殆んど消失する。

岩波⁽¹⁾はホウセンカの花粉管が無糖の培養基上で伸長する際その貯蔵澱粉がしだいに減少すること、またムラサキツユクサの花粉が開葯直前急激に澱粉粒を増加し、開葯時に殆んど消失することを認めているが⁽²⁾、花粉は開葯飛散時澱粉粒を糖類に変え、浸透圧を高め授粉後花粉管の伸長を助け、発芽時のエネルギー源などとするものと思われる。

2. 未熟花粉及び完熟花粉の遊離糖 花粉の遊離糖に関しては Nilsson⁽³⁾、岩波⁽²⁾、志佐⁽⁴⁾らがそれぞれ *Pinus montana* (欧州山松)、ムラサキツユクサ、ベチュニアについてフルクトース、グルコース、ショ糖を報告し、また上野⁽⁵⁾、水野⁽⁶⁾、渡辺⁽⁷⁾らはクロマツ、スギ、ガマの穂等について上記の糖以外にラフィノース、スタキオースなどを報告している。著者らは熟度を異にする赤松花粉の遊離糖を比較する目的で澱粉量最大時期の飛散約 1 週間前の未熟花粉 (以下単に未熟花粉と称す) と澱粉粒の消失した飛散後の完熟花粉の遊離糖を検索した。

1) 未熟花粉の遊離糖: 未熟花粉 50 g (水分 79.95%) を採取後直ちに SSA 半融アルミナ製乳鉢で磨碎し、80% エタノール 300 ml を加え、Molisch 反応陰性となるまで抽出 (80°, 6 時間, 4 回)、抽出液を 2 分し一方はそのまま減圧濃縮 (<70°) してペーパークロマトグラフィー (PPC) に供し、他は減圧濃縮して溶剤を除去、加水分解後粉末炭酸カルシウムを除々に加えて中和、さらに減圧で濃縮乾涸し、温 80% エタノール 10 ml で 3 回抽出、抽出液を合わせて濾過し、再び減圧濃縮によりエタノールを溜去して得た糖液を PPC に供した。なお PPC はいずれの場合も展開溶媒として *n*-ブタノール: 酢酸: 水 (4:1:5) を使用し、標準糖と並行して行う 1 次元上昇 3 回展開法を用い、発色剤はそのつど表、図中に示したものをを用い、試料中の糖類を検索した。

第 2 図 赤松花粉の遊離糖

東洋濾紙 No. 50, 20×40 cm

アニリンハイドロジェンフタレート試薬発色

1. 未熟花粉, 熱 80% エタノール可溶遊離糖
2. 同 2.5% 硫酸, 30 分の加水分解液
3. 同 5% 硫酸, 1 時間の加水分解液
4. 完熟花粉, 熱 80% エタノール可溶遊離糖
5. 同 5% 硫酸, 1 時間の加水分解液
- S. 標準糖類

第 3 図 赤松花粉の遊離糖

東洋濾紙 No. 50, 12×40 cm

フロログルシン塩酸試薬発色

1. 未熟花粉, 熱 80% エタノール可溶遊離糖
2. 同加水分解液
3. 完熟花粉, 熱 80% エタノール可溶遊離糖
4. 同加水分解液
- S. 標準糖類

結果、未熟花粉の遊離糖は第 2, 3 図に示す如く、リボース、キシロース、アラビノース、フルクトース、グルコース、ガラクトース、ショ糖及び R_F 0.24, 0.19, 0.11 のスポットを認めた。またこの抽出液を 2.5% 硫酸, 100°, 30 分加水分解の結果はショ糖のスポットが消失し、新たにラムノースのスポットが現われ、また 5% 硫酸, 100°, 1 時間加水分解するとさらに R_F 0.24, 0.19, 0.11 のスポットが消失する。この R_F 0.24, 0.19, 0.11 のスポットを検索する目的で新たに東洋濾紙 No. 50 (20×40 cm) に上記抽出液を線状につけ、展開溶媒ブタノール: 酢酸: 水を用いて 3 回展開後、濾紙の両端を細く切り、アニリンフタル酸試薬で発色確認、該当する R_F のスポット部位の濾紙を 3 区分し、各々を細かく切り、蒸留水 10 ml ずつ加えて、沸騰浴中 10 分間抽出し、濾過後硫酸で加水分解 (5% 硫酸, 100°, 1 時間) する。炭酸カルシウムで中和後減圧濃縮乾涸しそれぞれ

第 4 図 未熟花粉オリゴ糖の
構成糖

東洋濾紙 No. 50, 10×40cm
アニンハイドロジェンフタレート

試薬発色

1. 未熟花粉オリゴ糖 (R_F 0.11)
の加水分解液
2. 未熟花粉オリゴ糖 (R_F 0.19)
の加水分解液
3. 未熟花粉オリゴ糖 (R_F 0.24)
の加水分解液
- S. 標準糖類

を 80% エタノール 10 ml で 3 回温抽出し, さらに減圧濃縮でエタノールを除去したものを PPC に供した. 結果はいずれもガラクトースと微量のキシロース, アラビノースのスポットを生じ, これら糖類を構成糖とするオリゴ糖であることを認めた (第 4 図).

2) 完熟花粉の遊離糖: 完熟花粉 40 g (水分 14.60%) を 4 週間エーテル脱脂後, SSA 半融アルミナ製乳鉢で磨砕し, 80% エタノール 500 ml を加えて抽出 (80°, 6 時間, 4 回) を行い, 以下未熟花粉の場合と同様に処理して PPC に供した. 結果, 熱 80% エタノール抽出液中にフルクトース, グルコース, ショ糖, ラフィノース及び非常に微かにフロログルシン塩酸試薬発色による R_F 0.10 のオリゴ糖を認めた外, 未熟花粉に見られた R_F 0.24, 0.19, 0.11 のオリゴ糖並びにリボース, キシロース, アラビノースの如きペントースのスポットは全く認められなかったが, この抽出液を加水分解するとショ糖, ラフィノース及び R_F 0.10 のスポットが消失し, フルクトース, グルコースの外に新たにガラクトース及び微量のリボース, キシロース, アラビノースなどのスポットが認められた (第 2, 3 図). 第 1 表は以上の結果を一括して示したものである.

3. ショ糖の単離 完熟花粉 30 g を 4 週間エーテル脱脂後, 200 ml の無水エタノールを加えて温抽出 (75~80°, 3 時間, 4 回) を行い, 750ml の抽出液を得る. これを約 1/5 容に減圧濃縮し冷所に放置しておくこと 3 日後に器壁に結晶が析出し始める. 1 か月後濾別し, 90% エタノールから再結し

第 1 表 赤松花粉の遊離糖

糖 類	ラ ム ノ	リス ボ 1	キシ シ ス ロ	ア ラ ビ ノ ス	フル ク ス	グル コ ス	ガラ ク ト ス	ショ 糖	ラ フィ ノ ス	スト ボ 1	スト ボ 2	スト ボ 3	スト ボ 4
発 色 剤 { A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
R_F (3 回展開)	0.70	0.59	0.54	0.49	0.47	0.40	0.36	0.30	0.16	0.24	0.19	0.11	0.10
未 熟 花 粉 { a	±	±	+	+	+	+	+	+		+	+	+	
b	±	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	
c	±	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	
完 熟 花 粉 { a		±	±	+	+	+	+	+	±				±
c		±	±	+	+	+	+	+					

a: 80% エタノール抽出液 b: 加水分解液 (2.5% 硫酸で 30 分) c: 加水分解液 (5% 硫酸で 1 時間)

発色条件 A: アニンハイドロジェンフタレート試薬⁽⁸⁾ (105°, 5 分加熱) B: フロログルシン塩酸試薬⁽⁹⁾ (80°, 5 分加熱)

展開条件 1 次元上昇 3 回展開, 25°, 18 時間

て m.p. 186~187° の結晶 1.17 g (収量 3.9%) を得た. この結晶は Fehling 液を還元せず, PPC の結果は標準ショ糖に合致し, またこの 50 mg に 5% 硫酸 10 ml を加えて 100° で 15 分加水分解すれば強い還元力を生ずる. 分解液を粉末炭酸カルシウムで中和, 濾液を減圧濃縮乾涸し, 80% エタノール 10 ml で 3 回温抽出を行い, エタノールを除去し PPC に供した結果は明かにフルクトース及びグルコースのスポットのみを与える (第 5 図). 以上の結果から得られた結晶はショ糖であることを同定した.

4. 多糖類の分別 水野⁽⁹⁾の方法に準じ完熟花粉 40 g をエーテル脱脂後また未熟花粉は 50 g をそのまま第 6 図に従っておのおのの多糖類を分別調製した. すなわち表中濾液 II~VII はそれぞれ必要に応じて中和, 濃縮, 活性炭脱色後, 5 倍容の冷エタノールに注入, 生じた沈澱を順次濃いエタノールで洗滌, 乾燥し各多糖類区分とした. これら多糖類区分の中, 未熟花粉の熱水可溶性区分のものが微かに Fehling 液を還元するのみで他は全く還元性なく, 加水分解により強い還元性を示す. これら多糖類の構成単糖類を検索する目的でそのおのおの 0.1 g に対して 5% 硫酸 20 ml 加え, 沸騰水浴又はオートクレーブ中で加水分解, 熱時粉末炭酸カルシウムで中和し, 以下遊離糖の場合の如く処理し PPC に供した. また濾液 VIII~IX はそれぞれ中和, 濃縮乾涸した後 80% 温エタノールで抽出, 濃縮して PPC に供し, 得られた結果を第 2 表に一括して示した (第 7, 8 図).

第 5 図 ショ糖の同定

東洋濾紙 No. 50, 2×40cm

アニリンハイドロジェンフタレート試薬発色
(110°, 15 分加熱)

1 次元上昇 1 回展開, 25°, 18 時間

1. 標準ショ糖
2. 花粉から単離したショ糖
3. (1) の加水分解物
4. (2) の加水分解物

第 7 図 未熟花粉多糖類区分の構成糖

東洋濾紙 No. 50, 24×40 cm

アニリンハイドロジェンフタレート試薬発色

第 6 図 赤松未熟及び完熟花粉糖質の分別⁽⁹⁾

第 8 図 完熟花粉多糖類区分の構成糖

東洋濾紙 No. 50, 32×40 cm

アニリンハイドロジェンフタレート試薬発色

結果は各多糖類区分ともその構成単糖類の種類はいずれも完熟花粉に多く、熱 50% エタノール可溶性区分(濾液 II)の構成糖に未熟(キシロース, アラビノース, ガラクトース, ガラクチュロン酸)に見られないラムノース, リボース, グルコース並びに R_F 0.16 のスポットを検出。また冷水可溶性区分(濾液 III)は水和ペクチンに相当し、キシロース, アラビノース, ガラクトース, ガラクチュロン酸の外グルコースを検出し、さらに完熟花粉

第 2 表 赤松花粉各種多糖類の構成糖

糖	類	発色剤	R _F (3 回展開)	ラ ム ノ ス	リ ボ ス	キ シ ロ ス	ア ラ ビ ノ ス	フ ル ク ト ス	グ ル コ ス	ガ ラ ク ト ス	ガ ラ ク チ ン 酸	ス ト ッ ツ	ス ト ッ ツ
			{ A B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
抽出溶剤				0.70	0.59	0.54	0.49	0.47	0.40	0.36	0.25	0.20	0.16
50% エタノール (濾液 II)	{ 未熟 (a) 完熟 (b)			+	+	+	+			+	+		+
冷水 (濾液 III)	{ a b			+		+	+		+	+	+		+
熱水 (濾液 IV)	{ a b			+		+	+		+		+		
熱 0.5% 蔞酸アンモニウム (濾液 V)	{ a b			+		+	+		+		+		
5% 苛性ソーダ (濾液 VI)	{ a b			+		+	+		+	+			
20% 苛性ソーダ (濾液 VII)	{ a b					+	+		+				
熱 5% 硫酸 (濾液 VIII)	{ a b			+		+	+		+	+			
70% 硫酸 (濾液 IX)	{ a b								+	+		+	+

A: アニリンハイドロジェンフタレート試薬 (105°, 5 分加熱)
1 次元上昇 3 回展開, 25°, 18 時間

B: フロログルシン塩酸試薬 (80°, 5 分加熱)

の場合ラムノースの検出から配糖体などの存在も推定可能であり, 50% エタノール抽出区分 (濾液 II) 同様 R_F 0.16 のスポットを検出した。熱水可溶性区分 (濾液 IV) はペクチン等のポリウロナイド類, その他単純または複合多糖類の溶出区分で, ラムノース, キシロース, アラビノース, グルコースを検出し, 完熟花粉の場合さらにガラクトース, ガラクチュロン酸を検出した。熱 0.5% 蔞酸アンモニウム可溶性区分 (濾液 V) はプロトペクチンに相当するが, 加水分解の結果その構成糖としていずれも微量のグルコースとアラビノースを検出したのみ, また 5% 苛性ソーダ可溶性区分 (濾液 VI) はヘミセルロースの溶出する区分であり, 未熟花粉の場合ごく微量のキシロースが検出されたに過ぎず, 完熟花粉の場合構成糖としてラムノース, アラビノース, グルコース, ガラクトース及び微量のキシロースを検出した。20% 苛性ソーダ可溶性区分 (濾液 VII) は未熟花粉では検出し得ず, β-, γ-セルロースの存在は疑わしく, 完熟花粉の場合その構成糖としてグルコースの外微量のキシロース, アラビノースを検出した。α-セルロース区分 (残査 VII) の 5% 硫酸加水分解液 (濾液 VIII) は未熟, 完熟いずれもグルコースが大部分を占め, その他微量のキシロース, アラビノースを検出, 完熟花粉の場合さらにラムノースを検出した。また 70% 硫酸処理液 (濾液 IX) はいずれも未分解の α-セルロースに由来すると思われるグルコースの外に, R_F 0.20 のスポットを検出し, 完熟花粉の場合さらにフルクトースも検出した。なお最後にリグニンに相当する褐色粉末 (残査 IX) が未熟の場合 1.52 g (3.04%), 完熟の場合 7.66 g (19.15%) 得られた。

要 約

赤松の未熟花粉及び完熟花粉について澱粉粒の消長を調べ, 遊離糖を検索し, さらに多糖類を分別抽出しておのおの構成糖を追究した。なお別に完熟花粉の無水エタノール温抽出液からシュクロースを単離同定した。

- (1) 澱粉粒は開葯 1 週間前よりしだいに増加し, 開葯数日前に最高となり, 開葯時には殆ど消失する。
- (2) 未熟花粉の遊離糖としてリボース, キシロース, アラビノース, フルクトース, グルコース, ガラクトース, ショ糖及び 3 種のオリゴ糖 (構成糖はいずれもガラクトース, キシロース, アラビノース) を認めた。
- (3) 完熟花粉の遊離糖として, フルクトース, グルコース, ショ糖, ラフィノースを認め, さらにごく微かにフロログルシン塩酸試薬で発色する R_F 0.10 のオリゴ糖のスポットを検出した。
- (4) 完熟花粉 30 g よりショ糖 1.17 g (収量約 4%) を単離した。
- (5) 遊離糖抽出残渣を次の順序——熱 50% エタノール, 冷水, 熱水, 0.5% 蔞酸アンモニウム, 5% 苛性ソーダ, 20% 苛性ソーダ, 5% 硫酸, 70% 硫酸——で抽出し, 各多糖類区分を得, 加水分解により第 2 表に示す如き構成単糖類を認めた。

終りに臨み花粉の採集に多大の便宜を与えられた滝沢演習林石川捷郎氏に感謝の意を表す。なお本研究の一部

は昭和 35 年 10 月 1 日, 日本農芸化学会東北支部大会で講演した。

(1) 岩波洋造 : 植雑, 67, 134 (1954).	(6) 水野 卓 : 日化誌, 79, 192 (1958).
(2) 岩波洋造 : 植雑, 69, 91 (1956).	(7) 渡辺敏幸, 元村佳恵, 麻生 清 : 本誌, 34, 704 (1960).
(3) M. Nilsson : <i>Acta Chem., Scand.</i> , 10, 413 (1956).	(8) S. M. Partridge : <i>Nature</i> , 164, 443 (1949).
(4) 志佐 誠, 樋口春三 : 育雑, 4, 164 (1954).	(9) 水野 卓, 金兵忠雄, 林 金雄 : 本誌, 29, 439 (1955).
(5) 上野実明 : 科学, 24, 90 (1954).	

〔農化 第 35 卷, 第 7 号, p. 628~632, 1961〕

ボルドウ液に関する研究 (第 3 報)*

ボルドウ液の反応機構について (その 3)

$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ と $\text{Ca}(\text{OH})_2$ との反応速度について

佐 藤 久 隆 (北興化学工業株式会社中央研究所)

昭和 35 年 12 月 3 日 受 理

緒 論

筆者はボルドウ液に関する研究第 1 報において, ボルドウ液を調製する場合の $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} : \text{Ca}(\text{OH})_2$ の反応比について化学分析法, 及び粉末法 X 線回折法によって検討を加え, 両者の結合比はモル比として 20 : 17 および 20 : 21 の 2 点があり, それぞれの結合比において反応生成する銅塩はいずれもボルドウ液の有効成分と考えるべきであることを明らかにした。また同じく第 2 報においては第 1 報に得た実験結果を基礎とし, さらに関連する 2, 3 の実験を行ない, また数種の類似化合物を合成し主として粉末法 X 線回折法による検討を重ねた結果, ボルドウ液の有効成分と考えられる反応生成物の組成・構造式を明らかにすると共に, この化合物の物理学的・化学的諸性質について考究を加え, すでに発表されている諸家の主張する説に対して若干の批判を行なった。ところでボルドウ液を調製する際の $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ と $\text{Ca}(\text{OH})_2$ との反応速度については現在まできわめて研究例に乏しく, わずかに Wöber⁽¹⁾ 及び村川⁽²⁾ が本反応の進行は非常に遅く反応液中に有効成分が生成するには 48 時間ないし 72 時間を要すると述べているのが見られるに過ぎない。筆者は化学分析法及び粉末法 X 線回折法によってボルドウ液有効成分と考えられる反応生成物の生成する反応速度について検討を重ねて, 本反応はきわめて速やかに進行するものであり, 一旦生成せるボルドウ液有効成分と考えられる反応生成物は少くとも化学的には安定な化合物であることを確認することができた。さらにある条件下における本反応の速度恒数を測定した。

実 験 の 部

〔I〕 化学分析法による検討

方法 : 純度 92% 以上の $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 480 g を精秤し, 27° の CO_2 を含まない蒸溜水を加えて正確に 2,500 cc とする。一方純度 99% 以上の $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 1.000 g を精秤し, 28° の CO_2 を含まない蒸溜水を加えて正確に 5,000 cc とし, 反応液の温度を 30° に保ち $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 乳を攪拌しつつ, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 溶液を 1 分間隔で 100 cc ずつ加える。その間 5 分間隔にて反応液の一部を採取し, 第 1 報に既述した方法に準じて反応液中の遊離の $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 及び $\text{Ca}(\text{OH})_2$ を分析定量した。また別に上記実験と全く同一条件・濃度に調製した $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 乳を攪拌しつつ, 同様に $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 溶液を 1 分間隔に 200 cc ずつ加え, その間 5 分間隔に同様に反応液の一部を採取し分析に供すると共に, 反応完了後反応液をガラス瓶に移し, 密栓して 20° 及び 50° の恒温槽中に 72 時間放置しその間 4 時間毎に反応液の一部を採取して遊離 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ の変化を測定した。

実験結果 : 上記の方法によって行った実験例を第 1 表及び第 2 表, 第 3 表に表示した。ただし第 2 表は 20° 放置の場合であり, 第 3 表は 50° 放置の場合である。なお各表に用いた略号は次の内容を意味するものとする。

* Studies on Bordeaux Mixtures. Part III. On the Reaction Mechanism of Bordeaux Mixtures.

(3) Research of the Reaction Velocity of $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ and $\text{Ca}(\text{OH})_2$.

By Hisataka SATO (Research Laboratory, Hokko Chemical Industry Co., Ltd.)