〔農化 第 36 卷, 第 9 号, p.778~780, 1962〕

酸性加水分解におけるペクチン主鎖の崩壊*

広 田 致 (静岡県工業試験場)

昭和 37 年 2 月 24 日 受 理

1. 緒 言

ペクチンを酸と加熱すると、その主鎖のメチルエステル基と共に α -1,4 グリコシド結合も加水分解を受けて、エステル化度と共に粘度は低下し、さらに進んでオリゴガラクトン酸、ガラクトン酸などになる⁽¹⁻⁵⁾。

著者はこの際のペクチン分子量の低下及びガラクトン酸類の生成の状況をしらべて、主鎖の切れ方について推定した。

2. 実験及び結果

1. 試料 前報⁽⁶⁾と同一のものを用了。

2. 加水分解によるペクチンの変化 1% ペクチン液を 100 ml ずつ取り、塩酸濃度 0.085 N にて沸とう水浴中所定時間加水分解する。冷した後、当量の N/2 カセイソーダで塩酸を中和し、アルコールを濃度 60 v % になるまで加えてペクチンを沈殿させる。かくして加水分解により生じた低分子量物質 (ガラクトン酸, オリゴガラクトン酸, アラビノース, ガラクトースなど) は除かれる。沈殿を遠心分離し, 60 v % アルコールで数回洗った後, グラスフィルターに移し, 無水アルコールで洗って乾燥秤量する。

次にこのもの約 0.25 g をとり, 水約 20 ml にとかし, N/10 カセイソーダで pH 7.0 になるまで滴定して遊離カルボキシル量⁽⁷⁾を知る。ついで滴定後の液容を 50 ml にし, その一部をとって 0.5 N カセイソーダ 10 ml を加えて 1 時間放置した後, 当量の 0.5 N 塩酸を加え, さらに N/10 カセイソーダで滴定してエステル型カルボキシル量⁽⁷⁾を知る。また液の他の一部からペクチン濃度 0.3, 0.2, 0.1%, 食塩濃度 0.1 M の液 (pH 6~6.5) を作り, 25° においてオストワルド粘度計を用いて極限粘度 $[\eta]$ をはかる。この値から Owens 等の式⁽⁸⁾ $[\eta] = 1.4 \times 10^{-6} \times M^{1.34}$ を用いて平均分子量を算出した。ただしこの場合, もしペクチン粘度がそのエステル化度の影響を受けるとすると, 加水分解されてエステル化度が変化しつつあるペクチンの分子量を上式から定めることは適当でない。しかし Owens⁽⁸⁾ らによれば, うすいペクチン液に無機塩を添加して電気粘性効果を失なわせた場合, その極限粘度はエステル化度の影響をほとんど受けない。したがって著者はかれらの測定条件と式とをその

まま用いて分子量変化を追跡した。

この測定の結果は第 1 図の通りであって, 加水分解が進むにつれてペクチンから低分子量物質が離れていくので残存ペクチン (アルコール沈殿物) の量はしだいに減少し, またこのもののエステル化度及び分子量も低下した。

次にペクチン主鎖の分解の経過を推定するために, 残存ペクチンの量とその分子量との関係を第 2 図のようにあらわした。この図によれば加水分解初期 (2 時間以内) においてはペクチンは急速な分子量の低下を起すが, その量はあまり減少しない (すなわちアルコール可溶性の低分子量物質の生成量は少ない)。しかるに加水分解がさら

第 1 図 酸性加水分解によるペクチンの変化

—△— 残存ペクチンの量 (アルコール沈殿物収率 %)
 —○— " の分子量
 —□— " のエステル化度

* Degradation of Pectin Chain on Acid Hydrolysis.

By Itaru HIROTA (Shizuoka Industrial Research Institute)

第2図 ペクチンの崩壊の経過
(数字は加水分解時間)

第3図 ペクチンの酸性加水分解物のペーパークロマトグラフィー (5 回反覆展開)

数字は加水分解時間, A, B, C, D はそれぞれテトラ-, トリ-, ジ-, モノガラクトuron酸, E, F, G, H はそれぞれガラクトース, アラビノース, キシロース, ラムノース

られないうちに、ペクチン酸の分子量は極めてすみやかに低下した⁽⁹⁻¹¹⁾。また分解物のペーパークロマトグラフィーから見ると、加水分解の初期にまず多量のオリゴガラクトuron酸類がその分子量の高いものから先に順次あらわれ、加水分解が進むにつれてこれらは消滅していき、これらの代りにモノガラクトuron酸の量がしだいに増加した⁽¹⁰⁻¹³⁾。これらの事実からペクチン酸分子は主に無秩序な切断 (random scission) をするものと考えられた。

これに対しペクチンの酸性加水分解の場合は、分子量低下のありさまやガラクトuron酸類の生成状況から見て、分子の崩壊の経過が異なると思われる。

まず分子量低下について見ると、第2図のように反応の中期以降 (約2時間以降) にはペクチンの量とその分子量の低下とがほぼ比例的にすすみ、したがって主にペクチン分子の末端からガラクトuron酸、ないしオリゴガラクトuron酸のごとき低分子量物質が離脱して崩壊していくものと思われる。しかし加水分解の初期においてはペクチン量よりも分子量の方がかなり速やかに低下する。これはこの時期においてペクチン分子の無秩序切断がかなり起るためであろうと思われる。

次にガラクトuron酸類の生成状況は第3図のように、ペクチン酸の酵素分解の場合とくらべて次の点が異なっている。1) 加水分解を始めてからしばらく (約2時間) たってガラクトuron酸があらわれ始め、その量は

にすすむと、この2つの量はほぼ比例的に低下するようであった。

3. ガラクトuron酸類のペーパークロマトグラフィー 1% ペクチン液を 100 ml ずつ取り前項と同じ条件で加水分解する。所定時間後冷して塩酸を炭酸銀で除き、アルコールを濃度 70 v% になるまで加えて残存ペクチン分を遠沈除去し、上澄液及び洗液を 40~50° で減圧濃縮して 10 ml にした。このもの 10 μ l を濾紙にスポットし、酢酸エチル-ピリジン-水-酢酸 (5:5:3:1) で5回反覆展開した。ついで風乾後濾紙を 10% 硝酸銀水溶液とアセトンとの混液 (1:9) に浸し、うす暗いところで乾かし、1% カセイソーダ-アルコール溶液をスプレーし、アンモニア水、ついで水で洗って乾かした。

その結果は第3図の通りであって、たて軸の方向にあらわれたスポットのうち上の4点は前報⁽⁶⁾にのべた糖類である。中央部の大きなスポットはガラクトuron酸であり、さらにその下の3点はジ-, トリ-, テトラガラクトuron酸である。

3. 考 察

ペクチンの酸性加水分解を考えるに当たって、ペクチン酸の酵素加水分解と比較して見ると、種々の点において相違のあることが認められた。

ペクチン酸の酵素分解にあたっては、その初期、還元基の増加がまだほとんど認め

次第に増加する。2) オリゴウロン酸類はかなりおくれ (約 10 時間後) あらわれ、加水分解がすすむと再び消滅する。3) オリゴウロン酸類の量はモノウロン酸の量に比べてはるかに少ない。このような点から考えると、加水分解の中期以降 (2 時間以降) はペクチン分子は主に末端からガラクトース酸がとれて崩壊が進んでいくと思われる。

以上の実験事実から見て、ペクチンの酸性加水分解においては、その初期に主鎖が主に無秩序的に切れて、平均ウロン酸単位が数 10 個ないし 100 個ぐらいのポリウロナイド断片に切断され、ついでこれらの断片のそれぞれ末端から崩壊が進むと思われる。

4. 要 旨

ペクチンを酸性加水分解する時の主鎖の切れ方を推定するために、エステル化度 64% のペクチンの 1% 水溶液を試料として、塩酸濃度 0.085 N, 温度 100° で加水分解した。その分子量の低下及びオリゴ及びモノガラクトース酸の生成状況から見て、ペクチンはまず主として無秩序に切断されてガラクトース酸単位が数 10 個ないし 100 個ぐらいのポリウロナイド断片になり、その後それぞれの末端から崩壊がすすむことを推定した。

本研究に対し御助言を賜った東北大学理学部藤瀬新一郎教授、同工学部三井生喜雄教授、農林省東北区水産研究所谷井潔部長に厚く感謝する。

(1) 町田誠之 : 生物化学最近の進歩, 第 1 集, 技報堂, p. 1 (1955).	(8) H. S. Owens, H. Lotzkar, T. H. Schultz, W. D. Maclay : <i>J. Am. Chem. Soc.</i> , 68 , 1628 (1946).
(2) E. L. Hirst, J. K. N. Jones : "Advances in Carbohydrate Chem.", Vol. 2, Academic Press, 1946, p. 235.	(9) Z. I. Kertesz : <i>ibid.</i> , 61 , 2544 (1939).
(3) R. Speiser, C. R. Eddy, C. H. Hills : <i>J. Phys. Chem.</i> , 49 , 563 (1945).	(10) M. A. Jermyn, R. G. Tomkins : <i>Biochem. J.</i> , 47 , 437 (1950).
(4) R. C. Merrill, M. Weeks : <i>J. Phys. Chem.</i> , 50 , 75 (1946).	(11) H. Altermatt, H. Deuel : <i>Helv. Chim. Acta</i> , 35 , 1422 (1952).
(5) R. C. Merrill, M. Weeks : <i>J. Am. Chem. Soc.</i> , 67 , 2244 (1945).	(12) J. Solms, H. Deuel, L. Anyas-Weisz : <i>ibid.</i> , 35 , 2363 (1952).
(6) 広田 致 : 本誌, 36 , 774 (1962).	(13) R. M. McCready, E. A. McComb : <i>J. Agr. Food Chem.</i> , 1 , 1165 (1953).
(7) 広田 致 : 工化, 63 , 2194 (1960).	

〔農化 第 36 卷, 第 9 号, p. 780~784, 1962〕

有機殺虫剤のクロマトグラフィー (第 3 報)*

ロテノン並びにその誘導体のペーパークロマトグラフィー

穴 戸 孝 (農林省農業技術研究所)

昭和 37 年 2 月 20 日 受理

ロテノンはそのすぐれた効力と温血動物に対する低毒性、植物に対して薬害がみられない点、また昆虫に対して抵抗性ができにくい点等の数々の特性をもっており、今日もなお使用されている天然系殺虫剤の一つである。ロテノン並びにその関連化合物のペーパークロマトグラフィーについての報告は極めて少い。Chen, Tsai⁽¹⁾ はメチルアルコール-ベンゼン-水 (5:1:1) の溶媒でロテノンを分離し、過マンガン酸カリウムもしくは fluore-scein-臭素を用いて検出した。さらにデリス植物の根や、その他各組織中のロテノンの分布を調べ、また魚毒植物として知られている一、二の植物中のロテノンの存在について確かめている。その他 Jacobson 等⁽²⁾ は cube 処理を受けた牛のミルク、バター中のロテノンあるいはデヒドロロテノンの有無につき、土井⁽³⁾ はデリスにより致死した魚体からロテノンを検出するために Chen-Tsai 法を適用している。

* Chromatography of Organic Insecticides. Part III. Paper Chromatography of Rotenone and its Derivatives.

By Takashi SHISHIDO (National Institute of Agricultural Sciences)