

## アカマツ Glucomannan の分離

木材化学第1研究室 越島哲夫・北尾弘一郎・館 勇

(昭和35年12月7日受理)

Tetsuo KOSHIJIMA, Kōichirō KITAO and Isamu TACHI : Isolation of Glucomannan from Akamatsu Wood.

mannan が glucomannan として針葉樹へミセルロースの主体をなすことが最近明らかになつた<sup>5),6)</sup>。glucomannan の構造を明らかにするためにはその分離・精製は最も重要な過程であつて、殊に木材へミセルロースのような種々の多糖類の混合体のうちの1の多糖類につき研究を行なうとする時抽出・精製法の如何によつてことなつた結果が得られることになる。特に glucomannan の場合、相当高濃度のアルカリによつて始めて抽出されるため xylan を主体とする易溶性へミセルロースは必然的にこれに随伴して溶出し、溶出した混合物を分別沈殿、そのほかの方法により互に分割することは極めて困難である。従つて精製の度合はそれに先行する抽出法に影響されることが非常に大きいと考えられる。この報告は glucomannan 分離法の設定を目的としたもので同時に精製 glucomannan の特性を知ろうとした。

亜塩素酸塩<sup>1)</sup>、および塩素—モノエタノールアミン法<sup>2)</sup>によつて調製したアカマツホロセルロースをビーター中で軽く叩解すると容易にパルプ状となる。水溶性多糖類(A)を除いたホロセルロースパルプはついで0.5%シュウ酸アンモニウムでペクチンを抽出後更におだやかな脱リグニン処理によりリグニン含量を1.88%に下げたからつぎの溶剤でつぎの順序に抽出を行ない、各多糖類区分を得た。(I) D.M.S.O.-酢酸<sup>1)</sup> (II) D.M.S.O.-ホウ酸<sup>1)</sup> (III) 1% NaOH (IV) 10% NaOH. (I) および(A)はそれぞれ  $[\alpha]_D -39^\circ$ ,  $-37^\circ$  であつて、その糖組成からおそらく(II)と(III)の混合物と考えられる。(II)は Amberite IRA400 (CO<sub>3</sub>型)に吸着されるから-COOHをもつことが予想される。この樹脂から炭酸アンモニウムの水溶液で溶出させたものは  $[\alpha]_D -8^\circ$  (H<sub>2</sub>O) で mannose と glucose を3.8:1の割合でもつ。

(III)は arabinose を有する xylan polyuronide で  $[\alpha]_D -42^\circ$  (10% NaOH) を示す。これは最近 Hamilton<sup>3)</sup>の発表した 4-O-methyl glucuronoaraboxylan,  $[\alpha]_D -41^\circ$  と同一物と考えられる。glucomannan 区分(IV)は少量の(III)を伴つて(III)の抽出残渣から得られる。(IV)の D.M.S.O. 懸濁液を攪拌すると(III)のみ溶解し、glucomannan は残留することを知つたので、これを用いて(IV)を精製した。D.M.S.O. に溶解した部分を常法により回収したものは  $[\alpha]_D -49^\circ$  (1% NaOH) で、その arabinose と xylose の割合は定性的に(III)に等しい。従つて比旋光度の差はウロン酸含量の相違によるものであろう。D.M.S.O. 不溶部は微量の xylose を伴う粗 glucomannan である  $[\alpha]_D -39^\circ$  (10% NaOH). これをさらに精製するため、酢化物とした。glucomannan は、微量の水が存在すると注意深く乾燥を行なつた場合でも部分的に角質化を起し反応性劣悪となるため、水溶液よりメタノールで沈

殿させ、水をメタノールで完全に置換後大部分のメタノールを蒸発させ、なお、メタノールで湿った状態においてピリジンと無水酢酸で2回酢化を行なうと完全に酢化できる。glucomannan acetate は、そのクロロホルム溶液から石油エーテルで分別し、Table 1 に示す結果を得た。得られた各区分の性質からつぎのことがわかる。すなわち、xylose ならびに gala-

Table 1. Fractional Precipitation of the Glucomannan Acetate.

Fraction	Acetyl, %	Yield, <sup>a)</sup> %	$[\alpha]_D$ in CHCl <sub>3</sub>	Xylose	Mannose	Glucose	Galactose
1	43.2	46.3	—	0.11	2.5	1	0.15
11		22.1	—	0.07	1.4	1	0.12
12		11.8	-21.8	0.03	1.0	1	0.13
13		3.8	-19.4	Trace	1.4	1	Trace
2	44.8	27.5	-30.0	Trace	3.6	1	0
21		1.8	-44.5	Trace	4.6	1	0
22		14.0	-30.6	0	3.7	1	0
23		6.8	-30.8	0	3.5	1	0
3	44.3	25.8	-30.2	0	3.6	1	0
31		18.2	-30.7	0	3.6	1	0
32		3.2	-30.6	0	3.7	1	0
4		0.5	-20.5	0	2.1	1	0

<sup>a)</sup> Expressed on the original acetate.

ctose は高分子部分（1-系列）に集約され、またこれらの区分では glucose に対する mannose の比および比旋光度は小さい。中間および低分子部（2-, 3-系列）では glucose と mannose のみからなり、その組成と比旋光度は一定の値を示すから、これらの区分は重合度のみことなる単一の多糖類から成ると考えてよい。これらを合し、純粋な glucomannan triacetate とした。 $[\alpha]_D -30.7^\circ$  (CHCl<sub>3</sub>),  $[\eta]$  0.776~0.291, 100ml./g, Staudinger<sup>4)</sup> による  $km \cdot 10^4 = 5.3$  (cellulose triacetate D.P. 80~400 につき測定した値) を適用できるとすると D.P. 55~146 となる。ナトリウムメチラートで脱アセチルを行なったものは  $[\alpha]_D -33.5^\circ$  (10% NaOH) を示し、mannose 78.5% であつた。

## 実 験

### 1. ペーパークロマトグラフィー

東洋汙紙 No. 50, 40×40cm を用いピリジン-酢酸エチル-水 4:10:3 で2段に展開、アミン水素フタル酸塩で発色させた。glucomannan acetate の分別区分の糖組成の測定にはつぎの方法を用いた。すなわち区分の構成糖の glucose に対する重量比は、その対数が糖のス

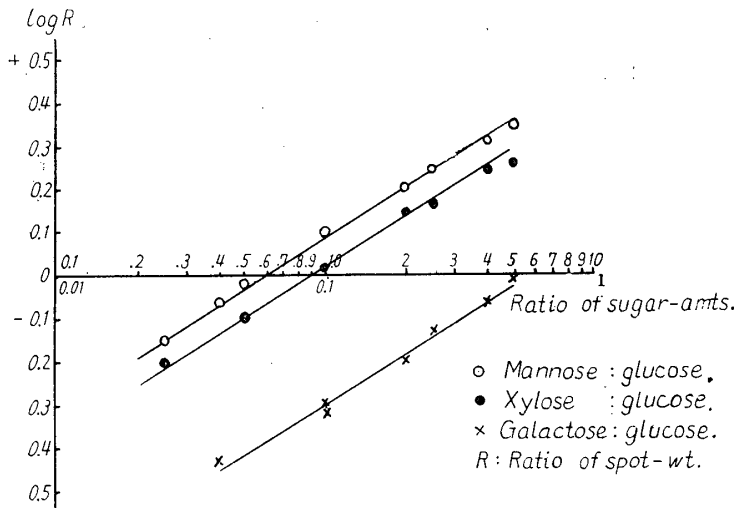


Fig. 1. Calibration Curves for Determination of the Ratio of Component Sugars.

For glucose and galactose, abscissa is graduated in one-tenth of the scale designed for mannose

ポットの重量比の対数に比例することから半定量的に求められる。Fig. 1 はその検量曲線で mannose では glucose に対する比率の相当広い範囲で、上の比例関係は成立するが、xylose と galactose の場合、glucose に対する比の小なる部分においてのみ直線関係が存在する。方法はスポットを発色後、24hrs. デシケーター中に放置し、発色部の最外側から切り取り、これを秤量し glucose に対する比を求めその対数を計算する。5列にとつてそれぞれ図から glucose に対する重量比を求める。この方法はスポット相互の分離をよくし、各スポットを明確に発色させるならば溶出法に比べ精度は劣らない。

## 2. ホロセルロースパルプの調製

アセトンで抽出したアカマツ木粉 (Ac., 1.68, mannose residues 11.7, pentosan 9.70, klason-lignin 26.1%) 360 g を  $\text{NaClO}_2$  120g, 酢酸200g で 1hr ずつ4回処理した。その時浴温 72~75°C 各回ごとにホロセルロースは十分水洗, 最後の洗滌後, 0°C に冷却 3.5 l 氷水中に懸濁し, かきまぜながら塩素ガスを 5min 通す。淡黄色ホロセルロースを汙別, 水 (3 l), 99% エタノール (3 l) で洗い, 後, 沸とうする 3% モノエタノールアミン中に投入, かきまぜながら 5min 煮沸。汙過後再びモノエタノールアミンで抽出, 風乾した。収量 248 g, klason-lignin 4.26%。ホロセルロース 240 g を 0.5% シュウ酸アンモニウム (4 l) 中に浸漬, 室温に一夜放置, 赤褐色抽出液を汙別, 洗滌, ついでホロセルロースを水 (10 l) に懸濁し, 試験用ビーターで叩解 (30min) した。この操作によつてホロセルロースは著しく膨潤し, 完全にパルプ状となる。この際 3.50 g の水溶性多糖類 (A) が溶出した。 $[\alpha]_{20}^{D-37}$  (10% NaOH, c, 1.0), glucose, galactose, mannose, arabinose, xylose および aldobionic acids より成る。mannose residues 26.4%。パルプは更に  $\text{NaClO}_2$  および酢酸で軽く酸化することにより lignin 含量を 1.88% とした。収量 197 g, mannose residues, 13.3%。

## 3. ヘミセルロースを構成する多糖類の分別抽出

風乾パルプ (157 g) を既報<sup>1)</sup> で述べたようにして D.M.S.O.- 酢酸, ついで D.M.S.O.- ホウ酸で抽出した。D.M.S.O.- 酢酸抽出物 (I) (2.16 g) は  $[\alpha]_{20}^{D-39}$  (1% NaOH, c, 1.0), Ac. 2.41, mannose residues 22.4%。水解物は xylose, mannose, glucose, galactose, aldobionic acids より成る。D.M.S.O.- ホウ酸抽出物 (II) (1.28 g) は mannose を主とし, ほかに glucose, galactose, xylose をもつが, Amberlite IR120 で処理後 IRA400

(炭酸型) とかきまぜるとその大部分は吸着される。この樹脂をアンスロン陰性まで水洗後、 $N-(NH_4)_2CO_3$  に浸漬すると吸着した多糖類が溶出し、これはアンモニウム塩のまま10倍容メタノールで沈殿するから常法により回収できる。得られた白色粉末は水に易溶、mannose 3.5 : glucose 1 より成る。少量の xylose なお残、収量 1.21 g,  $[\alpha]^{22}_D-4^\circ$  (1% NaOH, c, 1.0), 水解物に aldobiuronic acids のほかに構造未知のウロン酸が認められた。(I)(II) を抽出したパルプ (240 g) を 1% NaOH 溶液 (3 l) とまぜ 30min 後滷別、酢酸々性液から生成する少量の沈降物を除いた淡黄色透明液を 3 倍容のメタノールで沈殿させ軽い白色粉末 (III) を得た。収量 14 g,  $[\alpha]^{15}_D-42^\circ$  (10% NaOH, c, 0.9), 構成糖は xylose, arabinose, aldobiuronic acid であつた。(III) の残渣は乾燥することなく 10% NaOH (2.5 l) で窒素ガス気流中で 20hrs 抽出、滷液を酢酸中に冷却しつつ滷過し、5 日後生成する沈殿を明確に分離した。酢酸々性液は第 2 回目の 10% NaOH 抽出液上澄と合し、ゲルセロファンチューブを通し 2 週間透析。水溶液を 1/5 に濃縮し、メタノールで沈澱させ、沈澱は滷布を用いて滷別、洗滌、再びメタノール懸濁液として一夜放置後、メタノールを除いて乾燥、(IVa), 収量 34 g。

#### 4. Glucomannan の精製

粗 glucomannan (IVa) はなお相当量の xylan 系物質を保有するため、これを D.M.S.O. を用いて除去した。(IVa) を D.M.S.O. (800ml) に懸濁、3hrs. 激しく攪きまぜ一夜放置、不溶部分を遠心分離、この操作を更に 1 回繰返す。沈澱部はメタノールで洗つて乾燥した。(IV) 収量 24g,  $[\alpha]^{18}_D-39^\circ$  (10% NaOH, c, 0.9), mannose 3.6 : glucose 1 少量の galactose と xylose が混在。D.M.S.O. 可溶部 (B) の中性糖に関しては (III) と同組成であつた。収量 9.8 g,  $[\alpha]^{20}_D-49^\circ$  (1% NaOH, c, 1.0)

#### 5. Glucomannan の酢化

(IV) (9.0 g) を温水 (2l, 70°C) にかきまぜながら溶解させ 0° に 48hrs. 放置して生成した沈澱を除去後、5 倍容メタノールより沈澱させ、滷別、水をメタノールで洗滌することにより除去後、大部分のメタノールを減圧下に蒸発させ、なお少量のメタノールが残存する状態でピリジン (100ml) 中に分散懸濁させ、氷冷、かきまぜながら無水酢酸 (130ml) を少量ずつ加え反応混合物の温度を 30°C 以下に調整した。室温にかきまぜながら 5 日間にわたつて全量 110ml ピリジン、160ml 無水酢酸を追加し、なお 24hrs. 40°C に保持し、氷水中に投入することにより反応を終了させた。acetate はクロロホルムに部分的にのみ溶解しエマルジョンを形成する。Ac. 30.5%, 収量 11 g。クロロホルム可溶部は後述の Jones の方法により XI と GMI に分けた。(Table 2 参照)。エマルジョンから酢化物を回収し、更にピリジン (130ml) と無水酢酸 (113ml) によつて 40°C 3hrs 再酢化後、1% HCl 含有氷水中に投入、回収した。収量 11.5 g, Ac 43.9%.

#### 6. Glucomannan acetate の分別沈殿

acetate (4g) のクロロホルム溶液 (300ml) に等量の石油エーテル (b.p. 30-50°) を加えて沈降した部分を同様にして更に 3 区分に分け、各区分はそれぞれ 2~3 に細区分した。(Table 1). 各区分はいつれの場合も生成した沈殿部分を少量のクロロホルムに溶かし、これ

Table 2. Fractionation of the Glucomannan Acetate by Jones' Procedure.

Fraction	Acetyl, %	Yield, <sup>a)</sup> %	$[\alpha]_D$ in CHCl <sub>3</sub>	Xylose	Mannose	Glucose	Galactose
GM I	44.2	0.5	-30.8	Trace	3.5	1	0.03
GM II	44.5	31.3	-30.6	0	3.6	1	0.03
X I		0.8	-41.0	0.23	2.7	1	0.20
X II		28.0	—	—	—	—	—
E 1		5.0	-33.7	0.20	2.1	1	0.05
2		11.0	-31.1	0.03	3.6	1	0
3		3.0	-28.6	Trace	3.4	1	0
4		Trace	—	Trace	2.0	1	0
R		9.1	—	0.20	1.4	1	0.06

<sup>a)</sup> Expressed on the original acetate.

を10倍容石油エーテル中に投入して再生させた。クロロホルム-石油エーテル(1:1)可溶部は最終区分(4)とした。Table 1 の区分(22)~(32)は本質的に均一な glucomannan triacetate とみなされるので、これらを合し分析した。 $[\alpha]_D^{20}-30.7^\circ$  (CHCl<sub>3</sub>, c, 1.0), Anal. Found; COCH<sub>3</sub>, 44.5, Calcd. for C<sub>12</sub>H<sub>16</sub>O<sub>8</sub>: COCH<sub>3</sub>, 44.8%.

glucomannan acetate の一部は、Jones の用いた方法により分割した。acetate のクロロホルム溶液を飽和重炭酸ナトリウム溶液と共に振りまぜるとクロロホルム層は上層のエマルジョンと分離する。これを分け取り上の操作を更に繰返す。クロロホルム溶液は水洗、乾燥し、上述のようにして GMII を回収した。 $[\alpha]_D^{18}-30.6^\circ$  (CHCl<sub>3</sub>, c, 1.5)。エマルジョンはクロロホルムで洗滌後、氷冷した N-HCl で酸性とした後、クロロホルムで抽出、得られた区分を XII とした。XII は更に EI~4 に分別し、酸洗滌後なおエマルジョンを形成してクロロホルムに溶解しない部分(ER)はメタノール中に投入、回収した。(Table. 2)

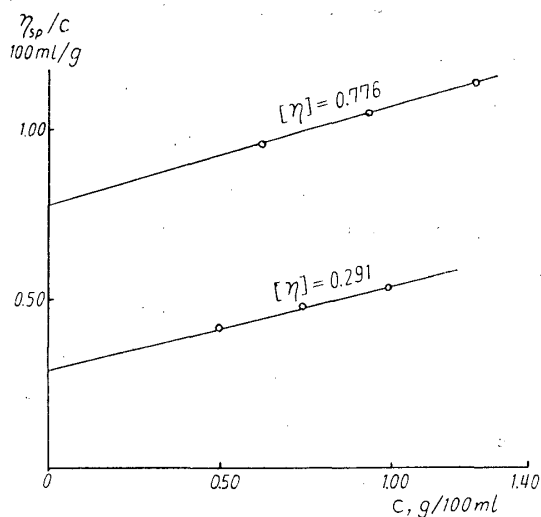


Fig. 2. Viscosity Measurement of Glucomannan Triacetate in Chloroform.

### 7. Glucomannan triacetate の脱アセチル

Glucomannan triacetate (180mg) のクロロホルム溶液 (18ml) にナトリウムメチラートの 0.2N 無水メタノール溶液 (9ml) を加え、ふりまぜ一夜室温に反応させた。メタノール、酢酸、水を添加し、生成した白沈を汙別、75% エタノール、エタノールで洗つて乾燥、収量 90mg,  $[\alpha]_D^{22}-36.5^\circ$  (10% NaOH, c, 1.3), mannose 78.5%。mannose の定量はおおむね

Hägglund の方法によつたが、ヒドラゾンの沈殿を完全にするため 48hrs. 0°C に保持後、濾過、洗滌、乾燥した。

#### 8. 固有粘度の測定

Table1 の区分 (22) と (31) をとり Ubbelohde の粘度計を用いて  $20 \pm 0.01^\circ$  で測定した。(Fig 2 参照)

### 要 旨

ジメチルスルフォキシドおよび稀アルカリで予め処理したアカマツホロセルロースパルプから glucomannan を分離し、ジメチルスルフォキシド抽出ならびに酢化物の分別沈澱によつてこれを精製した。得られた精製 glucomannan の二、三の特性を明かにした。

### Résumé

A glucomannan was isolated from the holocellulose pulp of pine (*Pinus densiflora*) by the use of dimethylsulfoxide and alkali, and the pure specimen characterized. The successive extractions of the pulp with (I) dimethylsulfoxide-acetic acid, (II) dimethylsulfoxide-boric acid, (III) 1% sodium hydroxide solution, and (IV) 10% aqueous sodium hydroxide resulted the following polysaccharides: the polysaccharide from (I) was a mixture of those from (II) and (III). The polysaccharide from (II) was composed of mannose, glucose (3.8: 1) and an unknown uronic acid fragment showing  $[\alpha]_D^{22-4^\circ}$  (1% NaOH). This water-soluble polysaccharide was considered a glucomannan different from the extract (IV). The fraction obtained by the extraction (III) indicated  $[\alpha]_D^{15-42^\circ}$  (10% NaOH) and was identical with 4-*O*-methylglucuronaraboxytan obtained by Hamilton. The extract (IV) was a glucomannan fraction containing a considerable amount of the polysaccharide (III), which was removed by the extraction of the fraction (IV) with dimethylsulfoxide. The dimethylsulfoxide-extract contained the polysaccharide (III) only and showed  $[\alpha]_D^{20-49^\circ}$  (1% NaOH). Further purification of the glucomannan,  $[\alpha]_D^{18-39^\circ}$  was effected with acetylation followed by fractional precipitation of the acetate from the chloroform solution. The purified glucomannan triacetate (Ac, 44.5%) showed a specific optical rotation of  $[\alpha]_D^{20-30.7^\circ}$  (CHCl<sub>3</sub>) and the intrinsic viscosity, 0.291-0.776 in chloroform. The acetate was deacetylated with sodium methoxide and the resulted glucomannan showing  $[\alpha]_D^{22-36.5^\circ}$  (10% NaOH) contained 78.5% mannose residues.

### 文 献

- 1) T. Koshijima : J. Japan Wood Res. Soc., 6, 194 (1960).
- 2) T. E. Timell, E. C. Jahn : Svensk Papperstidn., 54, 831 (1951).
- 3) J. K. Hamilton, E. V. Partlow, N. S. Thompson : TAPPI, 41, 803 (1958).
- 4) H. Staudinger, G. Daumiller : Ann., 529, 219 (1937).
- 5) J. K. N. Jones, T. J. Painter : J. Chem. Soc. 1959, 573.
- 6) T. Koshijima, I. Tachi : Bull. Agr. Chem. Soc. Japan, 22, 11 (1958).