

タケ〔竹〕のヘミセルロースに関する研究〔Ⅱ〕

ブナおよびタケからえたキシランの物理化学的性質

前川 英一*・北尾 弘一郎*

Eiichi MAEKAWA*, Koichiro KITAO* :Studies on Hemicellulose from Bamboo Stem.
〔Ⅱ〕 Physicochemical Properties of Xylan obtained from Beech and Bamboo.

前報¹⁾においてタケ〔竹〕のヘミセルロースを単離し、予備的にその構成糖組成を調べたところ、キシロース以外にアラビノース、ガラクトース、グルコース、ウロン酸を認めた。そしてキシロース：アラビノース：ウロン酸の比は15～16：1：1であつたことを報告した。その後、フェーリング溶液で注意深く処理することによつてグルコース基とガラクトース基とが除去されたキシランがえられた。その上、アラビノース基の含量も減少したため、タケのヘミセルロースの大部分は極めて典型的なキシランの形態で存在することが予想された。

本報告ではその結果を含めて、竹のキシランと樹木として代表的なブナのキシランを取り上げ、両者を同一の条件のもとで調製して、一般的な性質を比較検討した結果について報告する。

ヘミセルロースは一般に側鎖としての種々の糖基例えばアラビノース、ガラクトース、4-O-メチルグルクロン酸の存在することによつて、また分子の大きさによつて種々の多糖類の混合物として存在している。しかも分岐の多い可溶性のものからセルロースに近い形態の難溶性のものまで種々の多糖類をふくむことが多い。したがつて、多糖類の混合物を分別することは従来、ヘミセルロースの研究において一つの重要な問題であつた。しかしアルカリ可溶多糖類の自然界における分布からすれば、樹木はそのキシラン系に属するものとマンナン系に属するものとに大別され、針葉樹のヘミセルロースはキシランとマンナンとを同時に含んでいる。そのキシランは広葉樹のキシランに比べていく分子の大きさも小さく、分岐の多い arabino-(4-O-methylglucurono)xylan で、またマンナンは O-acetylgalactoglucomannan あるいはガラクトースを含まない glucomannan が主体をなしている。一方、広葉樹のヘミセルロースは大部分キシランからなり、マンナンは極めてわずかで数%にすぎないといわれている。キシランは4-O-メチルグルクロン酸を側鎖として含む O-acetyl(4-O-methylglucurono)xylan で比較的容易に材料から高収量で単離精製できる²⁾。しかし樹木でもカラマツだけは多量の水溶性アラビノガラクトタンを含むものとして特異なものに属する。その他、イネ科草本類に広く分布しているヘミセルロースはアラビノキシランあるいはウロン酸を含むアラビノキシランである³⁾。またこのように骨格物質としてセルロースと共に見出される以外に根とか種実にもマンナンのように貯蔵物質として含まれているヘミセルロースもある⁴⁾。しかし広く分布するヘミセルロースの中でタケについて詳細にしらべられた例は比較的少なく、樹木との

* 木材化学研究部門, Division of Wood Chemistry

関連において比較考察した報告はまったく見あたらない。そこで本研究では、禾本科に属するタケのヘミセルロースであるキシランと樹木のキシランとして特に広く分布する4-O-メチルグルクロノキシランとを比べて、構成糖組成、旋光性、粘度、重合度、IR、X線回折の結果から一般的性質を考察した。

実験および結果

1. キシランの抽出および単離

ベンゼン：メタノール (1:1v/v) であらかじめ脱脂処理した風乾試料 (40メッシュふるいを通つたもの) 350g を 3.5ℓ の水にけんだくし、70~75° の温度に保つて攪拌しながら氷酢酸 20ml と亜塩素酸ナトリウム 80g を加え、1.5時間後にさらに同量の試薬を追加して時々攪拌しながら、この状態で3時間反応させた。なおリグニンを多く含んでいたため、同様の処理条件のもとでこの操作を再度くりかえした。このようにしてブナとタケについて、それぞれのホロセルロースを調製した。

ブナのホロセルロース：収量 285g (81.4%*)

リグニン5.09%，無水ウロン酸5.27%

タケのホロセルロース：収量 287g (82.1%*)

リグニン4.54%，無水ウロン酸3.43%

* 風乾脱脂試料に対する百分率

上記操作によつてえたホロセルロースでは脱リグニン操作はまだ不完全であつたが、そのまま前報³⁾で述べたと同様に5%水酸化ナトリウム溶液で窒素気流中室温にて抽出し、抽出液は酢酸酸性とし、3倍量のエタノールを加えてヘミセルロースを沈でんさせた。沈でん物は遠心分離して回収し、5%エタノールでまず洗条し、ついで無水エタノール、エーテルと順次洗条した後、室温で真空デシケーター中で乾燥し白色の粉末として粗キシランをえた。

収量 ブナのキシラン 68g (19.4%*)

タケのキシラン 65.5g (18.7%*)

* 脱脂乾燥試料に対する百分率

2. フェーリング溶液による処理

上記の操作でえたブナおよびタケのキシラン (20~30g) をそれぞれ4%水酸化ナトリウム溶液 (1200ml) に溶解し、不溶部は遠心分離して除いた上澄液に新たに調製したフェーリング溶液を不溶性ゲル状の銅錯塩が完全に生成するまで (ほぼ 400ml を要した) 攪拌しながら少量ずつ加えてしばらく放置した後、ただちに布で生成物をこしとつてあつめ、氷水で冷却しながら0.5N 塩酸中に注意深くけんだくし、時々攪拌しながら放置して銅イオンを分解した。銅イオンを失つて青みのとれた不溶部分は、遠心分離して回収するが、この操作はアラビノース基の脱離をおさえるために出来るだけ緩和な条件で行なつて、白色の生成物がえられるまでくりかえした。回収されたキシランは洗条、乾燥することなく再度希アルカリに溶解し、透析用セルロースチューブ中に入れて流水中10日間透析した。透析後、液は白濁するが、酢酸を含むアルコールを3倍量加えると白色のきれいな沈でん物としてえられた。しばらく放置して上澄液はデカンテーションにより流し去り、沈でん部分は遠心分離してあつめ、50%エタノール、

エタノール，エーテルと水を溶媒で順次置換して洗条し，真空デシケーター中で24時間以上乾燥したものは白色の粉末であつた。比較実験のためにブナおよびタケについても同様の方法でキシランを調製した。収量はブナのキシラン 15.5 g (用いた試料に対して78%)，タケのキシランは28.5 g (用いた試料に対して95%)であり，性質は Table 1 にまとめた。

Table 1. The Yield and Properties of Beech Xylan and Bamboo Xylan Purified with Fehling Solution.

	yield ^a %	ash %	SiO ₂ ^b %	lignin %	$[\alpha]_D^{25}$ c=1 in 4% NaOH	uronic anhy- dride ^c %	metho- xyl ^d %	$[\eta]_{OED}$ dl/g	DP _w
Beech xylan	78	0.26	0.07	0.82	-68°	9.26	1.65	0.815	148
Bamboo xylan	95	0.38	0.21	0.68	-114°	4.39	1.10	0.944	168

a : Percentage to original xylan extracted with 5% NaOH.

b : Determd. according to colorimetric method by SNELL⁶⁾.

c : Determd. by BROWING's method⁷⁾.

d : Determd. by PENISTON and HIBBERT's method¹⁰⁾.

$[\eta]$: Intrinsic viscosity in 0.5M cupriethylenediamine.

DP_w : Weight average degree of polymerization calcd. by formula $[\eta]_{OED}=2.6 \times 10^{-3} DP_w^{1.15}$ ⁹⁾.

3. ジメチルスルホキサイド (DMSO) 可溶キシランの調製

5%水酸化ナトリウム溶液で抽出したブナおよびタケのキシランから DMSO 可溶キシランを調製した。試料 5 g をあらかじめ脱水した市販の DMSO 150ml に加え，温水中で 5 時間振とうして可溶性部分を溶解した。不溶部分は遠心分離して除去し，上澄の可溶部は酢酸で中和し，室温で 3 倍量のエタノールを加えると沈でん物が生成した。この沈でん物を回収し，常法で洗条し，真空デシケーター中で乾燥，白色の粉末としてえた。収量およびその性質は Table 2 に示した。

Table 2. The Yield and Properties of DMSO-soluble Xylan.

	yield ^a %	$[\alpha]_D^{25}$ c=1 in 4%NaOH	uronic anhydride ^b %	$[\eta]_{DMSO}$ dl/g	DP _w
Beech xylan	76	-68°	11.28	0.46	145
Bamboo xylan	54	-93°	4.60	0.56	168

a : Percentage to original xylan extracted with 5% NaOH.

b : Determd. by BROWING's method⁷⁾.

$[\eta]$: Intrinsic viscosity in dimethyl sulfoxide.

DP_w : Weight average degree of polymerization calcd. by formula $[\eta]=4.3 \times 10^{-3} DP_w^{0.94}$ ⁹⁾.

4. ヘミセルロースの全加水分解

前報¹⁾で述べた方法にしたがつて加水分解して処理したのち，ペーパークロマトグラフィーによる糖定量に供した。

5. ペーパークロマトグラフィーによる構成糖成分の定量

前報¹⁾に述べた方法にしたがつて、加水分解液を沓紙に展開し、切りとつて沓紙を温水抽出したのち、フェノール硫酸法を用いて還元糖を発色させ 490m μ における吸光度をもとめ、D-グルコース、D-キシロース、L-アラビノースの検量線からそれぞれの糖含量を定量した。Fig. 1 はそれぞれの糖のフェノール硫酸法による検量線を示したものである。またこの結果を用いて、ブナおよびタケのキシランの糖成分を定量した結果を Table 3 に示した。

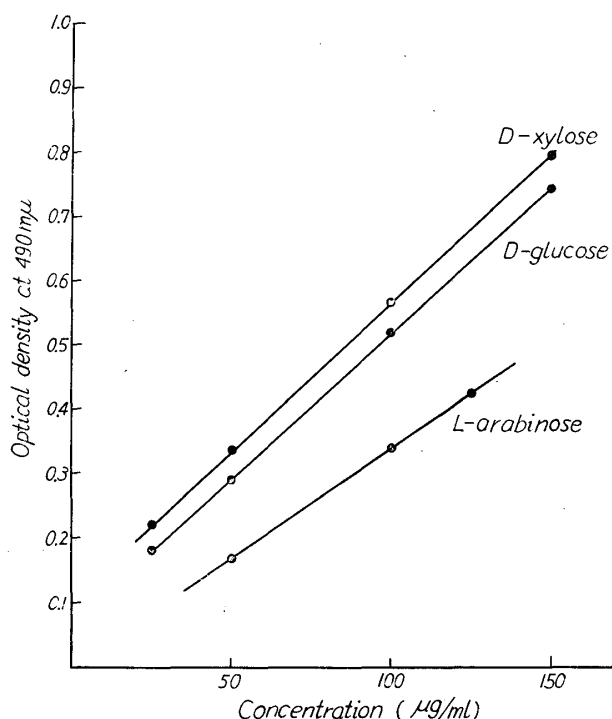


Fig. 1 The Relation between O. D. and Concentration Determined by Phenol-Sulphuric Acid Method.

Table 3. Carbohydrate Composition of Beech Xylan and Bamboo Xylan.

fraction	xylose %	arabinose %	glucose %	mannose %	galactose %
B.X.1	95.7	trace	2.0	—	2.3
B.X.1-1	99.8	—	—	—	trace
DMSO B.X.	96.7	trace	1.2	—	2.1
T.X.1	90.3	6.2	2.3	—	0.9
T.X.1-1	95.6	4.3	trace	—	—
DMSO T.X.	91.3	5.9	2.1	—	0.7

B.X.1 : Fraction extracted with 5% NaOH from beech holocellulose.

B.X.1-1 : Fraction precipitated with FEHLING solution from B.X.1.

DMSO B.X. : Fraction soluble in dimethylsulfoxide from B.X.1.

T.X.1 : Fraction extracted with 5% NaOH from Bamboo holocellulose.

T.X.1-1 : Fraction precipitated with FEHLING solution from T.X.1.

DMSO T.X. : Fraction soluble in dimethylsulfoxide from T.X.1.

all determd. by phenol-sulphuric acid method.

6. タケのキシランの0.2%シュウ酸による緩和な加水分解

フェーリング溶液で精製したタケのキシラン 1 g に 0.2% シュウ酸 120 ml を加えて湯浴上で 5 時間加熱加水分解した。冷却後、遠心分離し上澄液は減圧下濃縮し、その際析出するシュウ酸は除去し、えたシラップは東洋沓紙 No. 51 にスポットし、n-ブタノール：ピリジン：水 (10：3：3v/v) の展開剤を用いて下降法で展開して遊離した糖をしらべた。その結果、アラビノースおよびいくらかのキシロオリゴ糖を認めた。未加水分解残渣は希アルカリに溶解し、アルコールで再沈でんさせ常法通り回収し、白色の粉末をえた。その収量は 0.75 g、この部分を酸加水分解し、ペーパークロマトグラフィーにより、その構成糖をしらべたところキシロースのみでアラビノースはまったく含まなかつた。その後、0.05% のシュウ酸濃度で、5 時間加水分解しても完全にアラビノースは脱離されることを知つた。

7. 0.5M CED 溶液による粘度の測定

CED(cupriethylenediamine) 溶液の濃度は Tappi 標準分析法⁵⁾にしたがつて 1 モル濃度に調整し、2 倍量に稀釈して 0.5 モルとした。粘度計は中野式オストワルド粘度計を用い、試料 80 mg,

50 mg, 30 mg, 15 mg にそれぞれ CED 液を 10 ml 加え、10 分間振とうして溶解し、 $25 \pm 0.01^\circ\text{C}$ での落下時間から比粘度および固有粘度 $[\eta]$ を計算し、濃度 0 に外挿して極限粘度をもとめた。ブナキシランおよびタケキシランについてもとめた極限粘度は $[\eta]_{CED} = 2.6 \times 10^{-3} DP_w^{1.15}$ に適用し、 DP_w (平均重合度) を推定した。その結果については Table 1 および Fig. 2 に示した。

さらに DMSO 可溶キシランの粘度は CED および DMSO について測定した。測定は $25 \pm 0.01^\circ\text{C}$ のもとで行ない、同様に極限粘度 $[\eta]$ をもとめた。粘度計は改良ウベローデ型粘度計を用いた。

その他、キシラン中のリグニンの定量は Tappi standard T222m-54 パルプ中のリグニンの定量法に準じて 72% 硫酸不溶部分として定量した。灰分中のけい酸の定量は Snell の植物体中のけい酸の定量法にしたがつて行なつた。また、ウロン酸の定量は Browning の方法⁷⁾ で定量し、メトキシル基の定量は臭素を用いる常法にしたがつた。

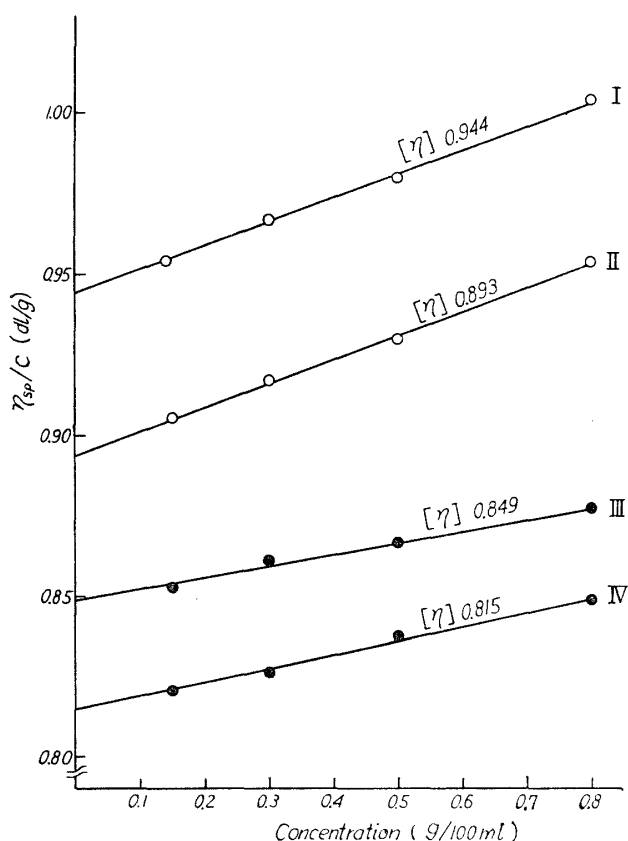


Fig. 2 Viscosity Measurement (η_{sp}/c vs. Concentration) for Beech Xylan and Bamboo Xylan Solvent : 0.5M Cupriethylenediamine Temperature : $25 \pm 0.01^\circ\text{C}$

I : T.X.1.1, II : DMSO T.X.,
 III : B.X.1.1, IV : DMSO T.X.,

8. キシランの X 線図と IR スペクトル

ブナおよびタケのキシランの X 線図は島津製自記 X 線回折装置を使用し、粉末法によつて同一条件のものでえた結果である。また、IR 吸収スペクトルはクロライトホロセルロース、フェーリング溶液で処理したキシラン、シュウ酸でかるく酸処理したキシランについて日本分光 IR・S 型自記分光光度計を用いて KBr 錠剤法によつて測定した。

考 察

5%水酸化ナトリウム溶液で抽出された区分をフェーリング溶液で処理すると、タケでは95%が沈でん区分としてえられたが、ブナでは78%が沈でん区分で残りの20%ほどは可溶区分であつた。この実験では可溶区分については精査していない。一般に SALKOWSKY の用いたフェーリング溶液による精製法は、側鎖や分岐の多い多糖類が銅錯塩を形成しにくいために沈でんしないことを利用した選択的分別法である。したがつてタケのキシランでは側鎖や分岐の少ない比較的直鎖構造に近いキシランが主体を占めていることを暗示している。

フェーリング溶液で処理したブナおよびタケのキシランについて、それぞれの糖組成を分析し、その結果を Table 3 に示した。B.X.I にはほとんどアラビノース基は認められず、フェーリング溶液で処理した B.X.I-1 ではグルコース基もガラクトース基も含まない典型的なグルクロノキシランがえられた。また、タケの T.X.I の区分には少量のガラクトース基およびグルコース基を含んでいたが、フェーリング溶液で処理した T.X.I-1 区分ではそれは認められなかつた。したがつてアラビノキシランあるいはウロン酸を含むアラビノキシランである可能性が考えられる。しかしいずれにもマンノース基は認められなかつた。

タケのキシランについたアラビノース基は緩やかな酸加水分解によつて容易に脱離した。このことはタケのキシランが L-フラノース型で側鎖として結合していることを示唆している。

フェーリング溶液で処理したキシランと比較するために DMSO 可溶キシランを調製した。ジメチルスルホキシド (DMSO) はアセチルヘミセルロースを抽出するための溶剤として効果的であることは LINDBERG らによつて指摘されている⁹⁾が、DMSO は微アルカル性であるために酸性のキシランの溶剤としても適している。しかし分別操作には適当でないことは糖組成の分析結果から推察される。

Table 1 に示した結果では、タケの灰分中のケイ酸の含量がいくらか高い。このことがブナのキシランが熱水にいく分可溶であるにもかかわらず、タケのキシランが極めて難溶であることの一つの原因ではないかと考えられる。また、比旋光度のちがいは顕著であり、ブナのキシランがタケのキシランに比べて2倍以上のウロン酸基を含むことが旋光性に影響しているものと考えられる。

キシランが直鎖状のポリマーであると仮定して、固有粘度 $[\eta]$ と平均重合度 P_n あるいは平均分子量 M_n との関係式 $[\eta] = KP_n^a$ (ただし a および K は固有の定数) から平均重合度を推定しようところみた。ころみに CED 溶液および DMSO についてもとめた粘度測定結果からこの関係式を適用して平均重合度をもとめた。CED 溶液に対しては $[\eta] = 2.6 \times 10^{-3} DP_w^{1.15}$ ⁹⁾ を、DMSO に対しては $[\eta] = 4.3 \times 10^{-3} DP_w^{0.94}$ ⁹⁾ を、適用して重量平均重合度としてあらわした。その結果、タケのキシランの重合度はいくらか高い価を示したが、顕著な差異

は認められなかつた。この結果は亜塩素酸法で脱リグニン処理し、アルカリで抽出単離し、フェーリング溶液で処理したものについて行なつたものであるから、その重合度は天然の状態よりもいくらか小さくなつてゐることは予想されることである。しかし Timell²⁾ は広葉樹からえられる天然のキシランの平均重合度分布は150~200の範囲にあるとのべていることから考えて、タケのキシランの重合度はいくぶん高いが広葉樹のキシランよりも特に大きいとは考えられない。

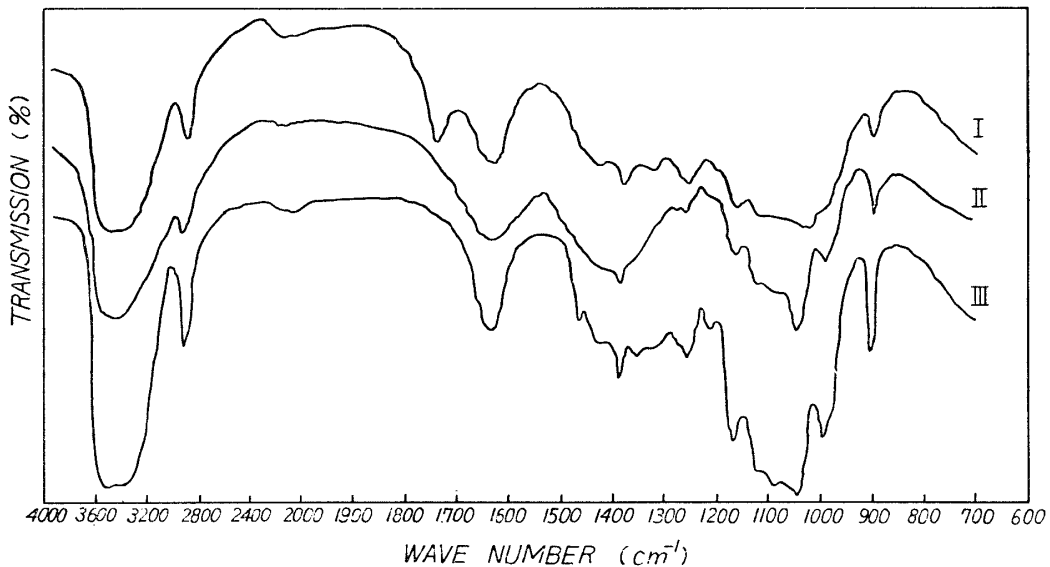


Fig. 3 IR Spectrum of Bamboo Xylan

I : Chlorite holocellulose

II : Xylan hydrolyzed for 5 hrs. in 0.2% oxalic acid

III : Xylan heated for 5 hrs. in 0.01% oxalic acid at 120°C in an autoclave

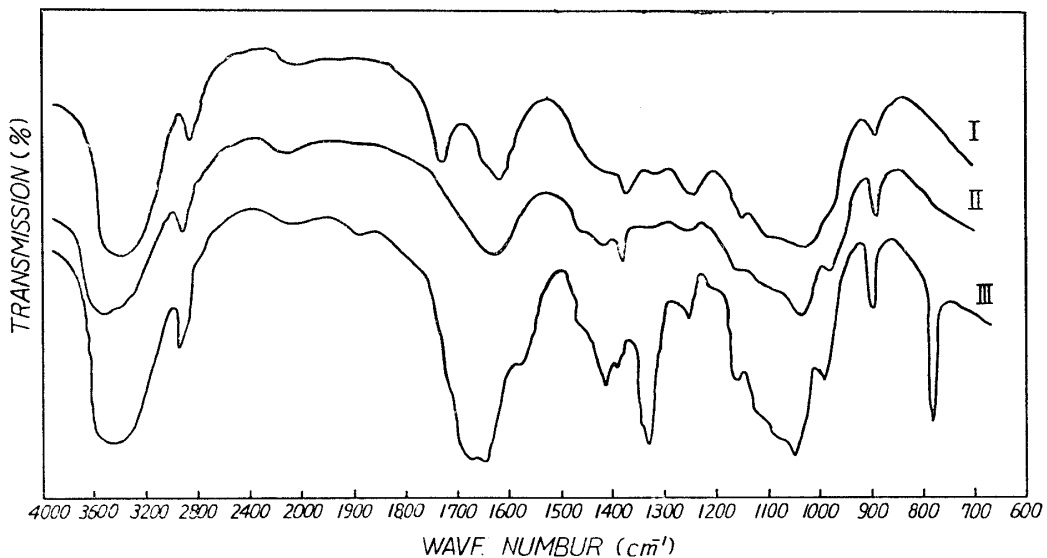


Fig 4 IR spectrum of Beech xylan

I : Chlorite holocellulose

II : Xylan precipitated with Fehling solution

III : Xylan hydrolyzed for 2 hrs. in 0.15 % oxalic acid

ブナおよびタケのキシランの IR スペクトルを Fig. 3 および Fig. 4 に示した。この結果からは両者のキシランはよく類似しているが、IR によるちがいは、はつきりあはわれない。ただ酸で処理することにより IR の吸収スペクトルが極めて明瞭にあらわれてきた。これは分子の配列に何らかの変化が生じたためであろうと推察される。ホロセルロースの IR において 1730cm^{-1} 付近にあらわれた吸収はヘミセルロースのアセチル基によるもので、アルカリで処理すると消失している。ブナのキシランでは、もとのキシランで認められなくて、酸で処理すると 1330cm^{-1} および 780cm^{-1} 付近に特に著しい吸収があらわれた。これらについてはなお考察中である。

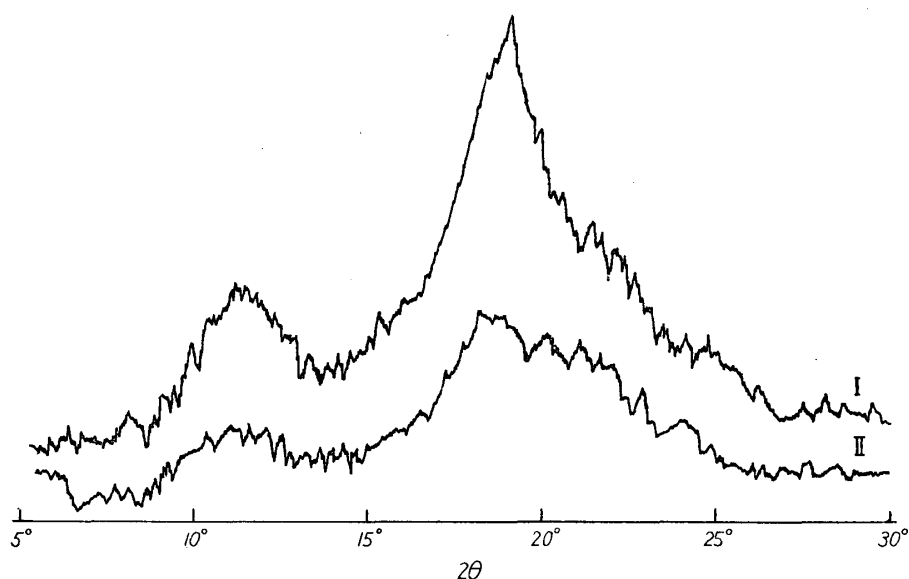


Fig. 5 X-ray Diffraction Diagrams of Beech Xylan and Bamboo Xylan
 I : Bamboo xylan (T.X.I), II : Beech xylan (B.X.I),
 Condition : 35KV, 15mA, slit D. 2mm, S. 1mm, R. 0.4mm, T.C. 2.5, 2
 /min. Full scale 500
 X-ray : Cu K_{α} , $\lambda=1.54\text{\AA}$

また、ブナおよびタケについて X 線回折図を比較し、その結果を Fig. 5 に示した。この結果からみると、タケのキシランの方がいくらか結晶性がよいように思われる。このことはウロン酸基の含量およびタケのキシランには側鎖が少ないことと一致しているようである。

摘 要

ブナおよびタケのキシランを調製し、その物理化学的性質の点から両者を比較考察した。その結果、次のようなことを指摘することができた。

1. フェーリング溶液で精製したブナのキシランはグルクロノキシランで、タケのキシランはアラビノースとグルクロン酸を含むキシランであつた。
2. アラビノース基は、緩やかな酸加水分解により容易に脱離する点から L-フラノース型として結合している。
3. タケのキシラン中のウロン酸基はブナのキシランに比べて少なかつた。

4. 比旋光度では、タケのキシランの方が負の旋光性はるかに高かった。
5. タケにはケイ酸が検出され、定量的にしらべた結果、灰分の55%ほどがケイ酸で占められており、一方ブナにはほとんどそれが認められなかつた。
6. 銅エチレンジアミンおよびジメチルスルホキシド溶液について、粘度を測定し、固有粘度をもとめた。さらにその結果を用いて重合度を推定したが、タケのキシランの方がブナのキシランに比べていくらか高い結果をえた。しかし大きなちがいは認められなかつた。
7. IR 吸収スペクトルからはほとんどちがいは認められなかつたが、X線回折図についてえた結果からはいずれも結晶性は悪いが、タケのキシランの方がいくらか結晶性がよいという結果をえた。

Summary

The physicochemical properties of beech- and bamboo xylan were examined and compared each other. Crude xylans were obtained from each chlorite holocellulose by extraction with 5% NaOH and precipitation with acetic acid and ethanol. Above xylans were dissolved in dilute sodium hydroxide solution to which added Fehling solution to separate the copper complex. The water insoluble copper complex was decomposed carefully with ice-cold dilute hydrochloric acid, dissolved in dilute sodium hydroxide solution, precipitated with acetic acid and ethanol to produce colorless purified xylans.

From results of paper chromatographic examination, predominant hemicellulose occurring in bamboo was found to be a polysaccharide composed of xylose, arabinose and glucuronic acid. On the other hand, beech xylan consisted mainly of glucuronoxylan. The arabinose in bamboo xylan was split off easily by hydrolysis with 0.2% oxalic acid. Above fact shows that arabinose residue of bamboo xylan is linked as furanose type similar to arabinose found in other natural polysaccharides.

From comparison of these two xylans, it was found that beech xylan contained comparatively more uronic acid residues than bamboo xylan. Specific rotation of bamboo xylan showed higher negative rotation than that of beech xylan, that is, the former $[\alpha]_D^{25} -114^\circ$ (c 1, in 4% NaOH) and the latter -68° . Moreover, silicic acid was found in ash of bamboo. It seems that more difficult solubility in water and other solvents than beech xylan arises from the presence of silica in addition to other factors.

Intrinsic viscosities were determined in 0.5 mol. cupriethylenediamine as well as in dimethylsulfoxide. Average degree of polymerization of bamboo xylan calculated from equations, $[\eta]_{CED} = 2.6 \times 10^{-3} \overline{DP}_w^{1.15}$ and $[\eta]_{DMSO} = 4.3 \times 10^{-3} \overline{DP}_w^{0.94}$ was 170, which was within the range of the reported DPs of hardwood xylans.

IR spectra and X-ray diffraction diagram of these two xylans were given and compared each other. Remarkable changes in IR spectra was found after treatment

with acid. From X-ray diffraction diagram of these xylans, it was pointed out that bamboo xylan had somewhat better crystallinity than beech xylan even without acid treatment.

謝 辞

本実験においてX線回折装置の使用を快くご許可いただいた京都大学農学部木材工学研究室の原田浩教授ならびにX線回折図をとって下さった同室の谷口謙氏に感謝致します。

参 考 文 献

- 1) 前川英一, 北尾弘一郎, 木材研究, No.34, 100 (1965).
- 2) TIMELL, T., "Advances in Carbohydrate Chemistry" **19**, 247 Academic Press (New York) (1965).
- 3) ASPINALL, G. O., "Advances in Carbohydrate Chemistry" **14**, 429 Academic Press (New York) (1959).
- 4) 堀尾正雄, 今村力造, 大有機化学, **19**, 157 朝倉書店 (1960).
- 5) Tappi standard method T 230-63.
- 6) SNELL, F. D. and T. C. SNELL, "Colorimetric Method of Analysis" vol. II, 601 (1955).
- 7) BROWNING, B. L., Tappi 32, 119 (1949).
- 8) HÄGGLUND, E., B. LINDBERG, and J. MCPHERSON, Acta Chem. Scand., **10**, 1160 (1956).
- 9) LEBEL, R. G., and I. A. D. GORING, J. Polymer sci., part C, 29 (1963).
- 10) PENISTON, D. P. and H. HIBBERT, Paper Trade J., **109**, 46 (1939).