

日本産ソテツ茎幹の粘質物に関する研究

第1報 粘質物の一般性質及び構成糖について*

西田 孝太郎・沼田 忠男

Studies on the Mucilage of the Stem of Japanese Cycad

Part I General Properties and Sugar Components of the Mucilage

Kotaro NISHIDA and Tadao NUMATA

(Laboratory of Biochemistry)

緒 言

日本産ソテツ (*Cycas revoluta* THUNB.) には種子茎幹共に有毒配糖体 cycasin⁽¹⁾ を含むが、茎幹より cycasin を単離する際には、共存する粘質物がこれを妨害する⁽²⁾。元来ソテツは旱魃に対して極端に抵抗力が強いが、多量の粘質物を含有することと何等かの関係があるのではなからうか。筆者らはこの粘質物を、特に多量に含む茎幹より水を以て抽出し、フェーリング溶液を用いる多糖類分離法を応用して単離精製を行い、その一般性質及び構成糖類を研究した結果、この粘質物は xylose, glucose 及び galactose よりなる複合多糖類であることを知り得た。

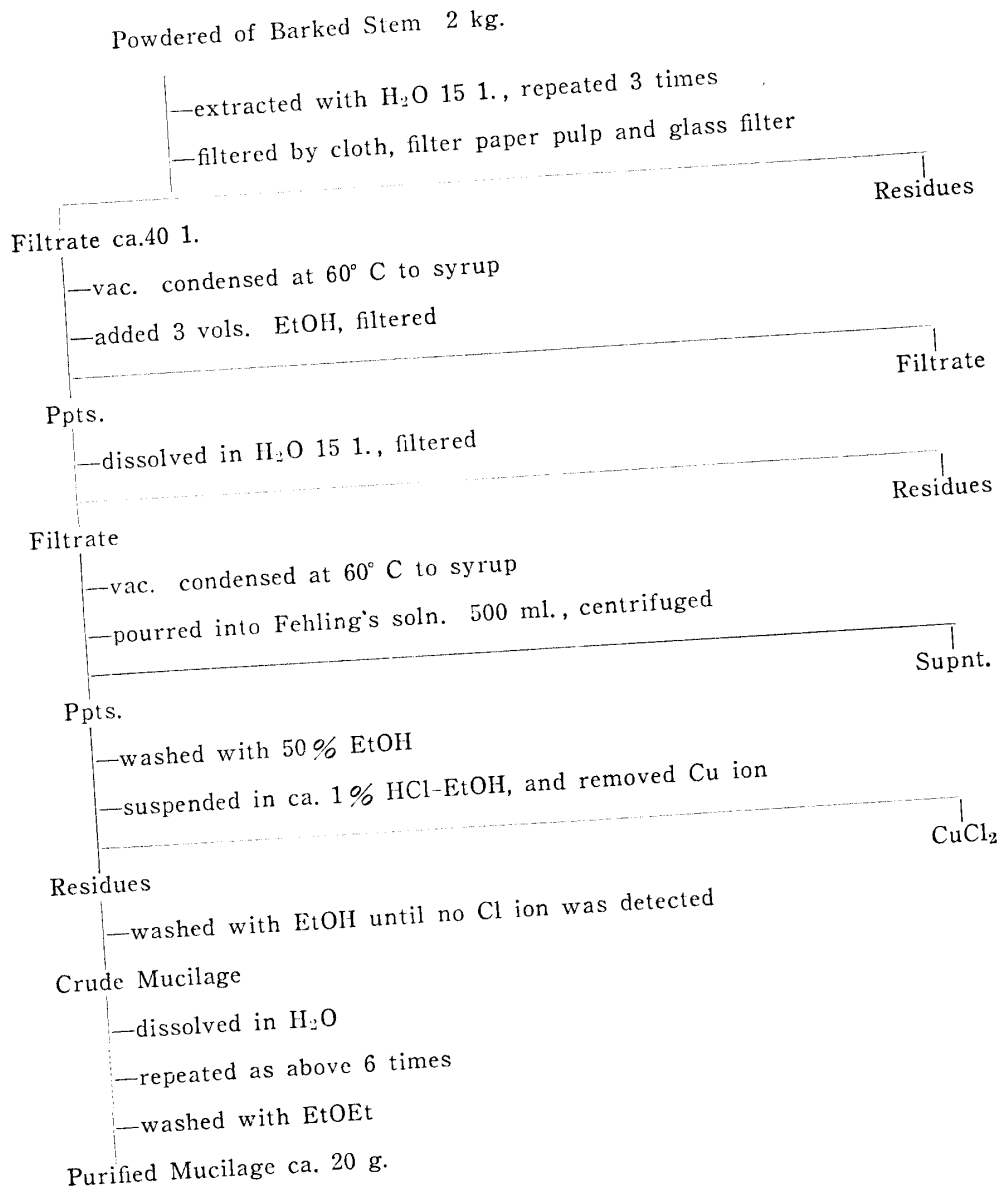
実験結果及び考察

I 粘質物の単離精製 この研究に使用したソテツ茎幹は、昭和31年2月名瀬市近郊にて採取したもので、その鱗状外皮部を除去後細切、日乾、粉碎して粉末試料とした。粘質物の単離は Table 1 に示すように、茎幹粉末に約8倍量の水を加え、時々攪拌し一夜放置後布を以て濾し、残渣はさらに2回同様に抽出を行い、全抽出液を濾紙パルプ、ガラスフィルターにて濾過し、60°C以下でシラップ状にまで減圧濃縮した後、これに約3倍量のエタノールを加えて粘質物を完全に沈澱せしめた。この沈澱をさらに多量の水に溶解し、不溶部分を濾し去り減圧濃縮し、シラップ状としフェーリング溶液中に激しく攪拌しながら注入すれば、粘質物は青色絮状の *Cu-complex* を作つて沈澱する。これを集めて50%エタノールで洗滌し、約1%塩酸酸性エタノールに浸漬して銅を完全に除去後塩素イオンを認めなくなるまでエタノールで洗滌し粗粘質物を得る。精製は、これを再び水に溶解し不溶物を濾し去りフェーリング溶液により沈澱せしめる操作をくりかえし、各精製段階毎に pentose と hexose の構成モル比を測定し、これが一定となるまで行つた。最後にエーテルを以て洗滌しデシケーター中に乾燥せしめて精製粘質物とした。収量は茎幹粉末に対して約1%である。

II 粘質物の一般性質 粘質物は白色無定形の粉末で少量の灰分を含み、吸湿性は殆んどない。水に可溶、アルカリ溶液に易溶、有機溶媒に不溶である。I-KI 反応は陰性、窒素を含有しない。フェーリング溶液を還元せず、加水分解後は強い還元性を示す。12%塩酸で蒸溜を行えばこの溜液の醋酸アニリン反応は陽性で furfural の存在を示し、これにフロログルシン塩酸溶液を添加して生じた

*昭和32年5月26日、日本農芸化学会関西、西日本両支部合同大会において講演した。

Table 1. Isolation of the Mucilage from the Stem of Japanese Cycad



沈澱を温 95% エタノールで処理しても重量の変化を認めず、メチルペントースの混じらないことがわかる。施光度は次の通りである。

$$[\alpha]_D^{21} = \frac{0.13 \times 100}{2.2 \times 0.1824} = +3.24^\circ \text{ (in N/250 NaOH)}$$

III 粘質物の加水分解 (1) 酸による加水分解 硫酸、塩酸、醋酸、クエン酸を使用し粘質物の加水分解を行った。即ち 0.1% 粘質物溶液 10 ml. に 40% 硫酸、濃塩酸、氷醋酸、結晶クエン酸をそれぞれ所定濃度となるように加え、空気冷却管を附し、一定時間沸騰水浴中に保ち、20% 苛性ソーダ溶液で中和し、BERTRAND-HEMMI 法⁽³⁾ により生じた還元糖を xylose として算出し、完全加水分解物に対する割合を求めた。その結果は Fig. 1 に示す通りである。

(2) 酵素による加水分解 Takadiastase 及び Cycad-emulsin を用いて粘質物の加水分解を試みた。即ち 0.1% 粘質物溶液 100 ml. に M/10 phosphate buffer (pH 5.5), 100 ml. 及び 1% 酵

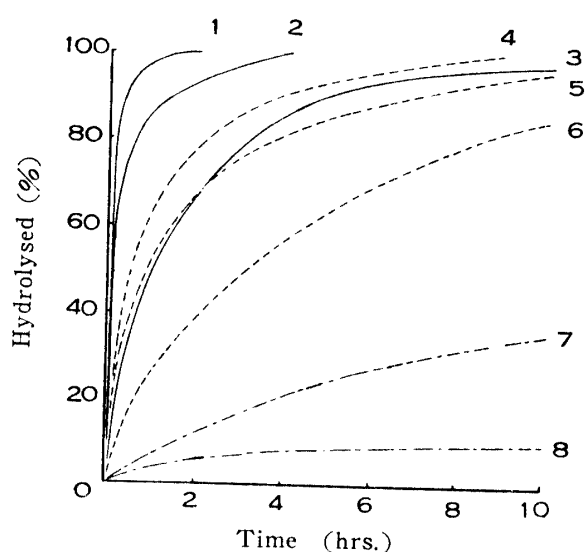


Fig. 1. Hydrolysis with acids
 (1) 5% HCl (2) 3% HCl (3) 1% HCl (4) 5% H₂SO₄ (5) 3% H₂SO₄ (6) 1% H₂SO₄ (7) 10% Citric acid (8) 20% AcOH

素液 40 ml. を加え密栓して 55°C に保ち、一定時間毎に 10 ml. ずつを採取し、BERTRAND-HEMMI 法により還元力を測定し、その値から粘質物溶液を蒸留水でおきかえた control の値を減じた KMnO₄ 滴定数をもつて作用力を表わし、Table 2, 3 の結果を得た。

粘質物は鉍酸によつてはかなり加水分解され易く、殊に塩酸はその傾向が強く、5% 塩酸で 2 時間、3% 塩酸では 4 時間で完全に加水分解される。有機酸では分解され難く、10 時間加水分解の結果、20% 醋酸では約 9%、10% クエン酸では約 35% である。なお Takadiastase, Cycad emulsin では共に殆んど分解されない。

IV 粘質物の構成糖類 粘質物約 0.1g. を

Table 2. Hydrolysis with Tokadiastase (55° C, pH 5.5)

Acting Times (hrs.)		0	2	4	6	8	10
KMnO ₄ * titrating ml.	Reacted	0.54	0.54	0.52	0.55	0.59	0.55
	Control	0.54	0.54	0.51	0.53	0.55	0.54
	Diference	0.00	0.00	0.01	0.02	0.04	0.01

* 1ml. = 4.954 mg. Cu

Table 3. Hydrolysis with Cycad-Emulsin (55° C, pH 5.5)

Acting Times (hrs.)		0	2	4	6	8	10
KMnO ₄ * titrating ml.	Reacted	0.16	0.16	0.16	0.16	0.14	0.16
	control	0.16	0.15	0.16	0.15	0.14	0.14
	Difference	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00	0.02

* 1 ml. = 4.954 mg. Cu

とり 3% 塩酸 100 ml. を加え、4~5 時間沸騰水浴中にて加水分解を行い、炭酸バリウムで中和後濾過し、濾液を減圧濃縮乾固し、温 80% エタノールで 2~3 回抽出し、抽出液を再び減圧濃縮してシラップとし、これを常法に従い標準糖と並列させて paper chromatography を行つた。その結果は Fig. 2 に示す通りである。この paper chromatogram では xylose, glucose 及び galactose の spot が見出され、塩基性醋酸鉛飽和溶液によつても呈色する部分はなく、uronic acid の存在は認められなかつた。(1)

paper chromatography により構成糖類を察知し得たが、さらに種々の検出法を試みた結果は Table 4 に示す通りで、xylose, glucose 及び galactose の存在を確認した。

V 構成糖類の定量 粘質物約 10 mg. を精秤しこれに 3% 塩酸 10 ml. を加え、空気冷却管を附し、沸騰水浴中で 4~5 時間加水分解を行い、その中和液について BERTRAND-HEMMI 法により

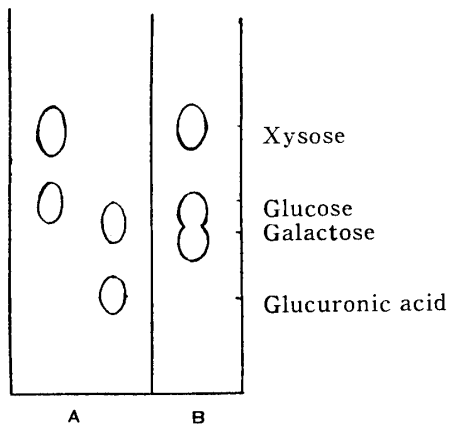


Fig. 2. Paper chromatograms of hydrolysate
 Developing solvent; BuOH:AcOH: H₂O(4:1:1)
 Spray reagent; Aniline hydrogenephtharate
 butanol solution
 Developing method: One dimensional
 multiple ascending method (3 times)
 A: specimens B: hydrolysate

全糖を xylose として求め, xylose は TOLL-
 ENS KRÖBER 法により, galactose は粘液酸に
 して定量し, glucose はこれらの値から算出し
 た. その結果は Table 5 に示す通りで xylose,
 glucose 及び galactose の構成モル比は 6 :
 4 : 1 である.

要 旨

ソテツ茎幹の粘質物を水を以て抽出し, フェ
 ーリング溶液法により精製した後, 一般性質及
 び構成糖について実験した. その結果粘質物は
 xylose, glucose 及び galactose よりなる複
 合多糖類で, これらの構成糖のモル比は 6 : 4 :
 1 であることを明らかにした.

Table 4. Detection of Hydrolysed products

Test	Reaction (and presumed subst.)
Cd-xyloxy-bromide	positive (xylose)
Phenylhydrazone	negative
Mucic acid	positive (galactose, galacturonic acid)
Seliwanoff's resolcinol	negative
Alcohol-soluble phloroglucide	negative
K-acid-saccharate	positive (glucose, glucuronic acid)

Table 5. Sugars in the Mucilage

	(mg. in 1 g. water -ash-free sample)
Total sugar*	982.7
Xylose	500.8
Galactose	98.8
Glucose**	383.1

* As xylose

** Glucose=Total sugar-Xylose-Galactose

$$\text{Xyl. : Glu. : Gal.} = \frac{500.8}{150} : \frac{383.1}{180} : \frac{98.8}{180}$$

$$= 6 : 4 : 1$$

文 献

- 1) K. NISHIDA, A. KOBAYASHI and T. NAGAHAMA; *J. Agr. Chem. Soc. Japan*, **19**, 77 (1955)
- 2) 西田孝太郎・小林 昭・永浜伴紀; *生化学*, **28**, 6 (1956).
- 3) 逸見文雄・友枝幹夫; *農化*, **19**, 381 (1943).
- 4) M. GEE and R. M. MCCREADY; *Anal. Chem.*, **29**, 257 (1957).

Résumé

The mucilage was isolated from the water extract of the stem of Japanese cycad by "Fehling's solution method", and its general properties and sugar components were studied. It was concluded that this mucilage consisted of xylose, glucose and galactose, and the ratio of these three components was 6:4:1.