

タブ葉粘質物に関する研究 (第1報)

楠 瀬 博 三 ・ 鴛 淵 武 雄

(農学部農産製造学研究室)

緒 言

タブの樹 (*Machilus thunbergii*, Sieb. et Zucc.) は一名イヌグスとも呼ばれる樟科の常緑大喬木にして暖地の海岸地方に自生し、大なるものは高さおよそ 13m、幹の直径 1 m におよぶ。この幹および葉には多量の粘液を含み、わが国では古くより葉を粉末として粘結剤として蚊取線香に混じ、また、台湾においては現地女子の頭髪化粧料に使用されているほか、和紙抄造にネリとして黄蜀葵根あるいはノリウツギ内皮の不足時に使用せられている。和紙抄造用ネリとしては比較的多量含有せられるタンニン質のために紙の保存中変色したまたピンホールを生ずる欠点を示すが、反面温度変化による粘度変化が少ない性質を有している。

この粘質物の化学組成については従来大野⁽¹⁾、片山⁽²⁾等の研究報告があるが、いずれも樹幹よりえたものについての報告である。片山は幹の薄片を 2% 硫酸で湯煎鍋上にて 30 分処理してえた抽出液についてその成分を検した結果、多量のアラビノースのほかにグルコースおよびフラクトースの存在を報じ、大野は内皮よりえた粘液にアルコールを加えて粘質物を分離抽出してその組成を検してアラビノースのみの存在を認めている。

タブ葉の粘質物については従来報告せられていないので、筆者らはこれの化学組成について検した結果前記 2 者のそれと著しく異った結果をえたのでこれらについて報告する。

実 験 の 部

〔I〕 粗粘質物の構成成分

(1) 粗粘質物調製法

11月(1959年)末に採集したタブ葉(約40kg)を陰干して巾 2~3 mm に細切した後水に浸漬し(ホルマリン少量添加)時々攪拌放置すると 2 日後には粘性大なる粘液がえられる。

粘液は当初はほぼ無色透明であるが、時日の経過に伴ない次第に淡褐~褐色になり少しく濁する。この原因は粘液中に比較的多数のタンニン質を含むことによると推察せられる。

この粘液を帆布袋にて圧濾し、次いで 40, 60, 80 番の綿布で自然濾過を順次に繰返して透明な粘液をえた。この粘液は塩化第 1 鉄反応を顕著に示してタンニンの多量の存在を示し、エタノール、メタノールおよびアセトンによって粘質物を凝集沈澱する。またフェーリング液を少しく還元するが、各種の蛋白質およびアミノ酸の呈色、沈澱反応は陰性と認められた。

筆者らは粘液中より粘質物を分離する方法としてメタノール添加による方法を採用した。しかしながらメタノールによってもタンニン質が粘質物中に同時に含まれてくるのでアセトン水(1:1)浸漬法⁽³⁾を繰返し実施することによってほぼ完全にタンニン質を除去した。即ち透明粘液に約 3 倍量のメタノールを加え攪拌すると灰褐色の絮状凝集物がえられる。これをピンセットにて集め、一旦 70% メタノールで洗滌後アセトン水(1:1)中に浸漬した。アセトン水は次第に褐色を呈するので新しいアセトン水に漬けなおして完全に着色せぬまで反覆浸漬する。粘質物を濾し、常法に従ってアルコール、エーテルで処理した後減圧下、室温に乾燥して灰白色の粗粘質物をえた。原料葉約 40kg より約 30g (灰分 7.69%) の収量である。

(2) 粗粘質物構成成分の検索

大野らの結果よりみてこの粘質物は炭水化物と推察せられるので、乳鉢にて可及的に微粉末となして以下の実験に供した。

(i) 加水分解度

粘質物試料約 0.1g を精秤し、各種濃度の硫酸および塩酸 20cc を用いて溶解後常圧、沸騰下に加水分解し、ペルトランド氏法により加水分解度を求めてアラビノースに対する値として表示した。これらの結果を第 1～5 表に表す。

第 1 表 2% 硫酸による加水分解度

試 (無水, 無灰)	料 (g)	分解時間 (時)	分解度 (%) (アラビノースとして)
0.1061		1	47.03
0.1119		3	55.67
0.0900		5	58.44
0.0925		8	61.30
0.1209		10	60.71

第 2 表 5% 硫酸による加水分解度

試 (無水, 無灰)	料 (g)	分解時間 (時)	分解度 (%) (アラビノースとして)
0.0861		1	52.85
0.0867		3	57.67
0.0966		5	58.69
0.0837		8	62.84
0.1030		10	60.29

第 3 表 10% 硫酸による加水分解度

試 (無水, 無灰)	料 (g)	分解時間 (時)	分解度 (%) (アラビノースとして)
0.1172		1	46.50
0.1003		3	59.22
0.0752		5	58.64
0.0915		8	57.50
0.0881		10	55.51

第 4 表 2% 塩酸による加水分解度

試 (無水, 無灰)	料 (g)	分解時間 (時)	分解度 (%) (アラビノースとして)
0.0841		1	53.15
0.0865		3	57.81
0.0846		5	62.17
0.0850		8	58.82
0.0865		10	57.81

第 5 表 4% 塩酸による加水分解度

試 (無水, 無灰)	料 (g)	分解時間 (時)	分解度 (%) (アラビノースとして)
0.0878		1	58.20
0.0891		3	60.61
0.0853		5	58.62
0.0845		8	49.70
0.0866		10	48.50

以上の表より明らかなごとく加水分解度は最高約63%である。従って粘質物がもし糖類のみより構成されているとすれば構造中に比較的強固な結合が存在しているか、あるいは何らか他の原因によるものと推察せられる。

(ii) 構成糖類の検索

構成糖類の検索のために加水分解度の最高値を示した条件即ち5%硫酸, 8時間沸騰下に処理し, 常法により BaCO₃ で中和, 脱色, 濃縮後分解液をシラップ状となしてペーパークロマトグラフ法による糖の検索を試みた。その結果は第6表のとおりである。

第6表 粗粘質物加水分解物のRF値

既知糖 (RF)	加水分解物 (RF)		
	(1)	(2)	
ラムノース	0.57	0.58	0.59 (黄褐色)
キシロース	0.45	0.47	0.47 (桃色)
アラビノース	0.38	0.38	0.38 (桃色)
グルコース	0.35	0.34	0.33 (淡褐色)
ガラクトース	0.31	0.31	0.30 (淡褐色)
		0.04	0.04 (淡桃色)

(室温, 上昇法; 展開剤 Bu(OH) : Pyr : H₂O = 6 : 4 : 3 発色剤; アニリンヒドロゼンフタレート)

この結果より構成糖としてはラムノース, キシロース, アラビノース, グルコースおよびガラクトースの存在が確認せられた。しかしながら更に念のため1次元に [Bu(OH) : Pyr : H₂O = 6 : 4 : 3], 2次元に [Phenol : H₂O = 10 : 4] を使用する2次元展開を試みて同一の結果をえ, 更に RF=0.04 はウロン酸と推定せられるも標準試料なきために Ehrlich の塩基性醋酸鉛反応⁽⁴⁾ を適用してウロン酸の存在とこのウロン酸がグルクロン酸である事実を確認した。

なお, スポットの大きさよりもっとも多く含有されていると推察せられるペントース類についてフロログルシン法によって定量したところペントーザン 37.60%, ラムノーザン 9.56% (いずれも無水, 無灰試料として) なる結果をえた。

(iii) 蛋白質の検索

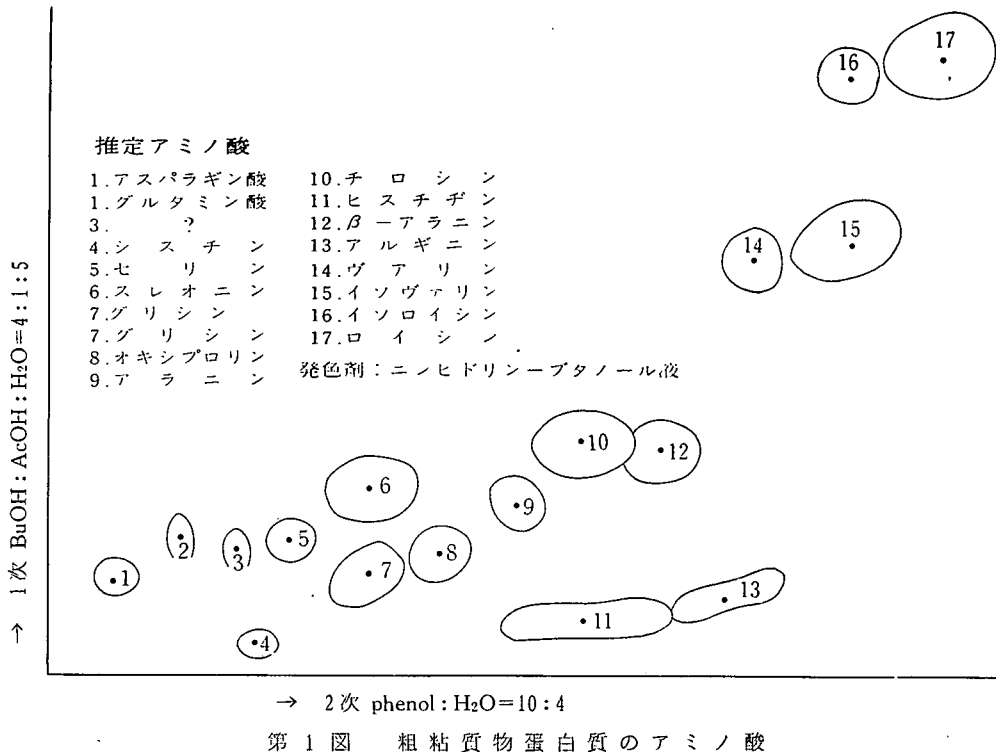
加水分解度が最高63%程度であり, 且つクロストグラムのスポットより多量含有されていると推察したペントース類も比較的少ない結果より, 加水分解度を低くしている原因が構成糖間の結合に強固なものが存在すると考察する以外に, 何らか糖以外の成分が存在するのではないかと考えてセミマイクロゲルダール法によって窒素の定量を実施した。その結果第7表のごとき N=5.13%, 粗蛋白=32.14% の多量の存在を知った。

第7表 粗粘質物の全窒素含有率

試料 (無水, 無灰) (g)	全 N (%)	粗蛋白 (%)
0.1237	5.02	31.53
0.0956	5.23	32.74
平均	5.13	32.14

多量の蛋白質の存在がほぼ明らかとなったので, 引続いてアミノ酸の検出確認を試みた。

即ち粘質物約2gを6N-塩酸200ccによって24時間沸騰下に加水分解し, 分解液はそのまま減圧濃縮し, 水を加えて再び減圧濃縮する方法を反復して塩酸を極力除去してシラップ状となした。シラップの一部をとってニンヒドリン反応を試みたところ強陽性であったので, 他の一部を使用して2次元展開法によるペーパークロストグラフ法を用いてアミノ酸の検出確認を試みた。その結果17個のアミノ酸を明らかにした。



以上の諸結果より粗粘質物はアラビノース、キシロース、ラムノース、グルコース、ガラクトースおよびグルクロン酸よりなる多糖類と蛋白質とが結合して出来ているものと推察せられる。

〔II〕 精製粘質物（多糖類部）の化学組成

(1) 精製粘質物の調製法

粗粘質物には約30%の蛋白質が含有されているのでこれを除去して多糖類のみよりなる精製粘質物を分離抽出する目的で次のごとき処理を行った。即ち粗粘質物に約20倍量の水を加えて十分に振盪溶解せしめた後、加圧釜中で130°C、4時間処理し、引続き活性炭により脱色後減圧下に濃縮して約1/2容とした。濃縮液を再度脱色後約3倍量のメタノールを加えて攪拌すると軽い白色沈澱がえられる。これを遠心分離し、アルコール、エーテルで処理した後減圧下室温に乾燥して精製粘質物をえた。(灰分7.28%) このものは N=0.19%にして蛋白質はほぼ完全に除去せられている。

(2) 精製粘質物の組成

(i) 加水分解度

粗粘質物について加水分解度が最高を示した5%硫酸、8時間の条件下に分解度を検したところ、第8表のごとく97~98%程度の値を示した。従って精製粘質物はほぼ糖成分のみによって構成され、且つ構成成分間にはあまり強固な結合は存在しないものと推察せられる。

第8表 糖製粘質物の加水分解度 (5%硫酸)

試料 (無水, 無灰) (g)	分解時間 (時)	分解度 (%) (アラビノースとして)
0.1092	8	98.17
0.0676	8	97.34

(ii) ペーパークロマトグラフ法による構成糖の検出

加水分解度測定液の残部を中和, 脱色, 濃縮してシラップとなし, 2次元ペーパークロマトグラフ法により糖の検出を試みた結果, 粗粘質物の場合と全く一致した結果をえた。従って粘質物はアラビノース, キシロース, ラムノース, グルコース, ガラクトースおよびグルクロン酸より構成せられていることは明らかである。

(iii) 各糖成分の定量

ラムノーザンおよびペントーザン: フロログルシン法に基いて実施して次の結果をえた。

第9表 ラムノーザン, ペントーザン

試料 (無灰, 無灰) (g)	ラムノーザン (%)	ペントーザン (%)
0.1495	14.25	53.71
0.1419	12.47	51.52
平均	13.36	52.62

ウロン酸無水物: 12%塩酸により分解して生ずる炭酸ガスをマイクロ分析用苛性ソーダ粒に吸収せしめる重量法により定量して第10表のごとく8.14%の値をえた。

第10表 炭酸ガスおよびウロン酸

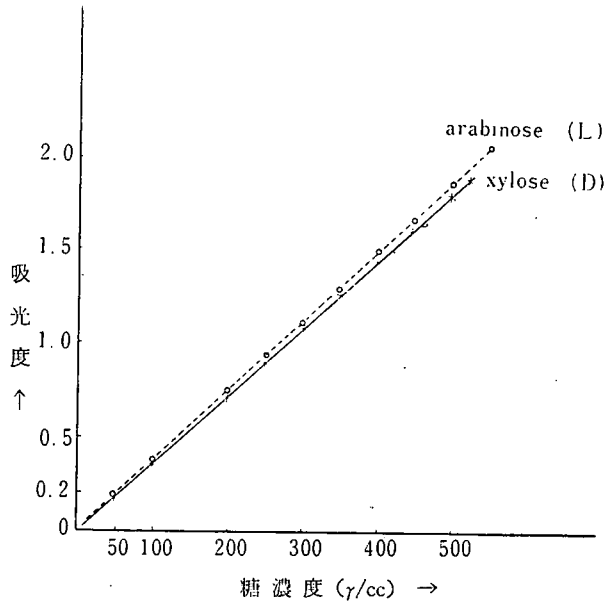
試料 (無水, 無灰) (g)	CO ₂ (%)	ウロン酸無水物 (CO ₂ × 4) (%)
0.1564	2.07	8.28
0.1261	2.00	8.00
平均	2.04	8.14

アラビノース, キシロース, グルコースおよびガラクトースの定量: ペントースとしてアラビノースおよびキシロース, ヘキソースとしてグルコースおよびガラクトースがそれぞれ含有せられているのでこれらの量的関係を詳にするために Timell 等⁽⁶⁾ および Dubois 等⁽⁶⁾ の比色定量法に準拠して定量を試みた。即ちこれら単糖類の特級試薬を用いて 10~500γ/cc の範囲で濃度-吸光度を Beckman 分光光度計 (島津) により求めて各糖の標準曲線を作製し, 次いで粘質物よりペーパークロマトグラフ法を用いて各糖を単離して同じく吸光度を求め, 標準曲線に照して含有量を測定した。

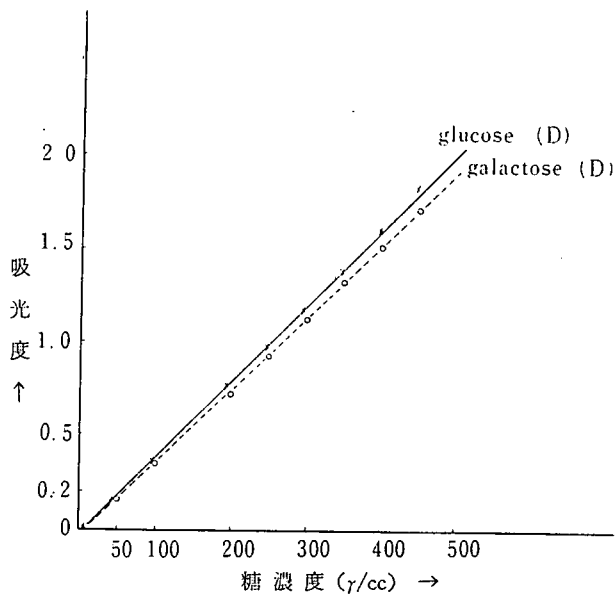
標準曲線の作成⁽⁶⁾には前記範囲内の糖溶液数個を調製し, その1ccをマイクロピペットで共栓付肉厚試験管にとり, 0.4% o-Aminodiphenyl-氷醋酸液 5ccを正確に加えて沸騰水中につけて1分後にかたく栓をなし, ペントースでは30分, ヘキソースでは45分間それぞれ加熱処理するときは前者は褐色に, 後者は暗緑色の呈色を示す。直ちに冷却して分光光度計でアラビノースは370mμ, キシロースは375mμ, ヘキソース類は380mμで吸光度を測定する。

次に定量法⁽⁶⁾は粘質物を既述の最高加水分解条件の下に加水分解し, 中和, 脱色, 減圧濃縮してシラップ状の分解物を調製し, このシラップの適当量をマイクロピペットで40×40cmの東洋濾紙 No. 50に点状にスポットして下降法 (展開液 Bu(OH): Pyr: H₂O=6:4:3) により展開せしめ (72時間), 別に同時にスポットした両端の展開部分のみを切り取り発色せしめてこれに準じて濾紙を各糖ごとに横に切りとる。この各糖の濾紙を正しく20ccの水に30分以上浸漬後その濾液 1ccをとって標準試薬のとくと同様にして発色せしめて吸光度を求める。この結果を標準曲線に照して各糖の前記シラップの一定量中の相対的割合を求めた。

作成した各糖の標準曲線および定量結果をそれぞれ第2~3図および第11表に示す。



第 2 図 濃度~吸光度曲線 (Xylose, Arabinose)



第 3 図 濃度~吸光度曲線 (Glucose, Galactose)

第 11 表 精製粘質物構成糖の比色定量

糖成分	測定波長 (mμ)	加熱時間 (分)	吸光度	含有量 (γ/cc)
キシロース	375	30	0.686	194
アラビノース	370	30	1.440	384
ガラクトース	380	45	0.534	153
グルコース	380	45	0.296	77

分光光度計: Beckman Model-DU (島津)

表より明らかなごとくペントースとヘキソースとの割合はモル比として〔3:1〕である。
以上の結果を総括すると精製糖質物の化学組成は第12表のとおりとなる。

第12表 精製粘質物の化学組成

ペントーザン	52.62%
{ アラバン	{ 35.08%
{ キシラン	{ 17.54%
ラムノーザン	13.36%
ヘキソーザン	21.05%
{ ガラクトン	{ 14.03%
{ グルカン	{ 7.02%
ウロン酸無水物	8.06%

総 括

タブ葉の粘液よりメタノールで凝集せしめ、ついでアセトン水処理で脱タンニンしてえた粗粘質物は多糖類と蛋白質とが結合したもので後者を約32%含有している。しかしながらこの蛋白質は加圧下で130°Cにおいて加熱処理することによって多糖類との結合が切断し、後には多糖類のみよりなる粘質物を与える。

粘質物の構成糖成分は加圧処理の前後において差異なく、いずれもアラビノース、キシロース、ラムノース、ガラクトース、グルコースおよびグルクロン酸を含有す。

これら糖成分をフロログルシン法、炭酸ガス発生法等によってペントーザン、ラムノーザンおよびウロン酸を定量し、また、各ペントースおよびヘキソースは分光光度計による比色定量法によって定量した。その結果粘質物の多糖類はペントースが約1/2、ヘキソースがモル比でペントースの1/3、残りがラムノースとウロン酸であった。

なお、蛋白質は17個のアミノ酸より構成されている。

文 献

- (1) 大野成雄：熱帯農学会誌，1，197（1929）
- (2) 片山徹吉：工化誌，17，1,382（1914）
- (3) H. L. Ellison：J. Amer. Leather Chem. Assoc.，Vol XI，II，（1947）
- (4) F. Ehrlich：Ber.，65，352（1932）
- (5) T. F. Timell, C. P. T. Glaudemán and A. L. Currie：Analt. Chem.，28，1916，（1956）
- (6) M. Dubois, K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebbers and F. Smith：Analt. Chem.，28，350，（1956）

（昭和36年9月29日受理）

Studies on the Mucilage of the Leaves of "Tabu"
(*Machilus Thunbergii*, Sieb. et Zucc.) Part-1

Hirozo KUSUNOSE and Takeo OSHIBUCHI
(Faculty of Agriculture, Kochi Univ.)

The mucilaginous solution extracted from the leaves of "Tabu" (*Machilus Thunbergii*, Sieb. et Zucc.) has been used for the traditional paper making as a substitute for "Tororo-aoi" in Japan and for the women's cosmetics in Formosa and others. But the

chemical and physical properties of this mucilage have been in no detail to date.

In this paper authors studied on the chemical constituents of this mucilage.

(1) Chemical components of the crude mucilage : ...

The crude mucilage obtained from the mucilagenous solution with methanol and acetone water is composed of polysaccharide and protein (about 32%). Polysaccharide part is composed of arabinose, xylose, galactose, glucose, rhamnose and glucuronic acid, and protein part is composed of 17 amino acids.

(2) Chemical constituents of the refined mucilage (polysaccharide part) : ...

The refined mucilage (polysaccharide part) was prepared by treatment with cooking under pressure at 130°C-4 hours, by which the protein part was removed. The sugar constituents of polysaccharide were equal to that of the crude mucilage, and araban 35.08 %, xylan 17.54 %, rhamnosan 13.36 %, galactan 14.03 %, glucan 7.02 % and glucuronic acid anhydride 8.06 % respectively.