



アルカリ水溶液中における糖類の化学的变化に関する研究（第1報）：グルコースの石灰水溶液中に生成する反応生成物の薄層クロマトグラフィー及びペーパークロマトグラフィーによる検索

土田, 広信
藤井, 聡
河本, 正彦

(Citation)

兵庫農科大学研究報告. 農芸化学編, 6(2):73-77

(Issue Date)

1964-12

(Resource Type)

departmental bulletin paper

(Version)

Version of Record

(JaLCD0I)

<https://doi.org/10.24546/81008244>

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/81008244>



アルカリ水溶液中における糖類の化学的变化に関する研究

第一報 グルコースの石灰水溶液中に生成する反応生成物の 薄層クロマトグラフィー及びペーパークロマトグラ フィーによる検索

土 田 広 信・藤 井 聡・河 本 正 彦

Studies on the Chemical Reaction of Sugars in Aqueous Alkaline Solutions

Part 1. Thin Layer Chromatographic and Paper Chromatographic Identification of the Reaction Products Occurred in the Reaction Solution of Glucose and Lime Water

Hironobu TSUCHIDA, Satoshi FUJII and Masahiko KOMOTO

還元糖の石灰水中における化学的变化は、製糖工場の
清浄操作、とくに石灰添加操作に密接な関係を有し、製
糖化学的に興味ある問題と考えられる。

著者らのうち河本は、すでにグルコースとアンモニア
の反応水溶液から数種のイミダゾール化合物を分離、同
定し、その化学的構造からグルコースとアンモニアの反
応水溶液中に種々のカルボニル化合物の生成しているこ
とを推定し、更に検討を加え、1図の如き、アンモニア
水溶液中におけるグルコースの分解機構を提案した¹⁾。
この分解機構をグルコースと石灰水との反応に適用でき
るものとすれば、該反応液中には、3-デオキシ-D-グル
コソン、3-デオキシ-D-キシロソン、3-デオキシ-D-テ
トロソン、メチルグリオキサール等の α -ジケトン類、
及びペントース、テトロース、トリオース、グリコール
アルデヒド、ホルムアルデヒド等のアルデヒド類、及び
上記生成物より分子内酸化還元、または C-C 結合の切
断などによって生成する各種有機酸類等が生成すること
を予測できる。

ところで1954年、GRENN²⁾ は糖とアルカリの反応液
中に生じたサッカリン酸をアニリドに誘導した後、ペー
パークロマトグラフィー（以下、PPC と略記する）を
行なっている。また1959年に WEIDENHAGEN³⁾ は糖とア
ルカリの反応液につき、PPC を行ない、その反応液に
おける糖の挙動を追跡している。最近、ANET⁴⁾ は種々
のオキシカルボニル化合物から誘導されるモノ及びビス
-2,4-ジニトロフェニールヒドラゾン（以下 2,4-DNP
ヒドラゾンと略記する）について薄層クロマトグラフィー
（以下 TLC と略記する）を行なっているが、糖とア

ルカリの反応液中のカルボニル化合物に対して応用する
に到っていない。

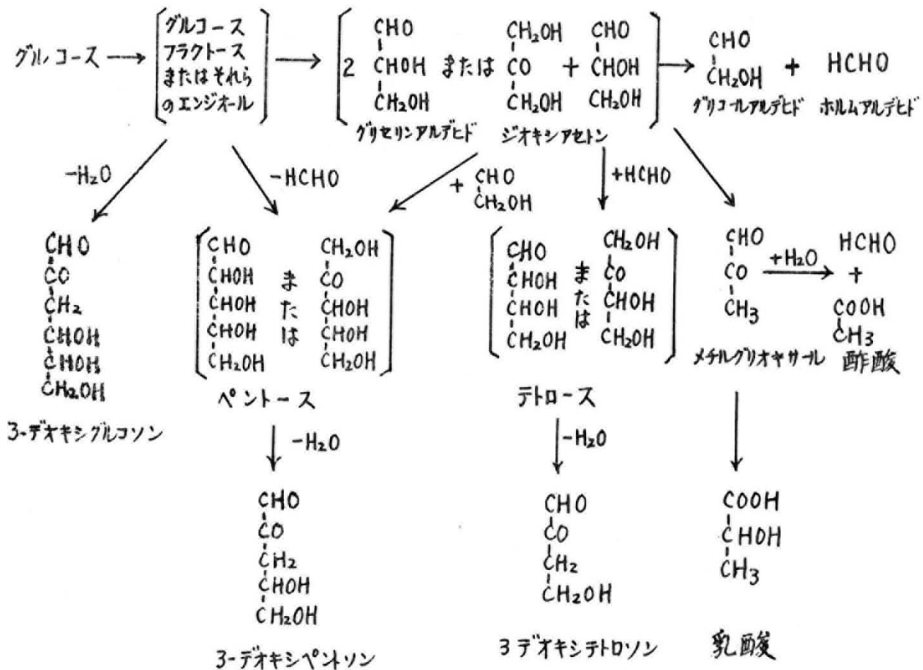
著者らは、この方法を応用し、グルコースと石灰水の
反応液中に生成しているカルボニル化合物を 2,4-DNP
ヒドラゾンとして分離、TLC を行なった結果、少なく
とも7個のカルボニル化合物の生成していることを認め、
これらのうち5個のものについては TLC 的に確認した。
また、反応液につき経時的に TLC を行なった結果、3-
デオキシ-D-グルコソン並びに3-デオキシペントソンの
生成過程についての一知見を得た。これと同時に、反応
液中で上記カルボニル化合物から派生する有機酸類につ
いて、遊離の形、或はアニリドの形で PPC 的に検索す
ることも試み、6個の酸性物質を検出し、そのうち2つ
の物質は乳酸及びグルコメタサッカリン酸であることを
PPC 的に確認した。

実 験 方 法

I) グルコース-水酸化カルシウム反応溶液中に生成す
るカルボニル化合物を 2,4-DNP ヒドラゾンに誘導し、
TLC 的に確認する方法

A) グルコース-水酸化カルシウム反応水溶液の調製法
酸化カルシウム 2.8 g を水約 15 ml に溶解した消石灰
水溶液と 50%グルコース水溶液 20 ml とを混合し、水で
50 ml に稀釈する。これを所定の温度及び時間で反応さ
せる。反応終了後、直ちに冷却し、滲過した後、Amberlite
IR-120 (H 形) 120ml に通液し Ca イオンを除去した。

B) A) で得た反応液中のカルボニル化合物を 2,4-
DNP ヒドラゾンに誘導する方法 加藤⁵⁾ が 3-デオキシ



1図 河本の提案したアンモニア水溶液におけるグルコースの分解機構

1表 反応温度及び時間

反応温度	反 応 時 間
25°C	5 min. 1 hr. 5 hrs. 24 hrs.
100°C	1 hr.

オソソよりビス-2,4-DNP ヒドラゾンを調製した方法に準じた。即ち、A)で調製した反応液に対し、2N-HCl に 2,4-DNP ヒドラゾンを飽和した溶液 50ml を加え、25分間放置後、5分間、3500 r.p.m. で遠沈し、生じた沈澱を水および 50% エタノールで順次洗滌、ついで乾燥して赤褐色の混合物を得た。収量は反応温度25°C、反応時間5分、1時間、5時間、および24時間で得られた反応液について、それぞれ 1~2 mg, 10 mg, 25 mg および30 mg であった。

C) 2,4-DNP ヒドラゾン標品の調製⁶⁾ グルコースとアルカリの反応液中に分解中間生成物として存在すると推定されるもののうち、3-デオキシ-D-グルコソソ、3-デオキシペントソソ、メチルグリオキサールは著者らの合成品を用い、またグリコールアルデヒド及びホルムアルデヒドは市販品を用いて、それぞれの 2,4-DNP ヒドラゾンを次の如く調製し、これらの物質を標品とした。

(1) 3-デオキシ-D-グルコソソのビス-2,4-DNP ヒドラゾンの調製⁶⁾ グルコースより3-デオキシ-D-グルコソソ

ソソを調製し、次いでビス-2,4-DNP ヒドラゾンに誘導し、m. p. 255—7°C (文献値 256°C) の橙色針状結晶をえた。この結晶は TLC 的に単一であった。

(2) 3-デオキシ-D-キシロソソのビス-2,4-DNP ヒドラゾンの調製法⁶⁾ キシロソソより3-デオキシ-D-キシロソソを調製し、次いでビス-2,4-DNP ヒドラゾンに誘導した。得られた橙色結晶は m. p. 255—7°C (文献値 257~8°C) であった。

(3) メチルグリオキサールのビス-2,4-DNP ヒドラゾンの調製 メチルグリオキサールは RILEY⁷⁾の方法、即ちアセトンを亜セレン酸で酸化することによって合成した。この物質の 2,4-DNP ヒドラゾンの調製も(1)の方法に従ったが、得られた2,4-DNP ヒドラゾンにつき TLC を行なったところ、三つのスポットが検出されたので、サブリマトグラフィーによって分離精製した。

サブリマトグラフィーの実施：サブリマト管として、内径 7 mm, 長さ 50 cm のものを用い、真空度 10^{-4} mm Hg 以下、原点の温度 140°C、昇華時間 1 時間という条件で行なった。そのサブリマトグラムに 5 個のバンド (原点部分, 12—14 cm, 17—21 cm, 30—32 cm, 38—44 cm 部分) を認めた。各バンドを形成する融点測定の結果、原点部分にとどまっている橙色針状結晶は m. p. 298—301°C で文献値 (297°C) にほぼ一致しており、TLC 的に単一であった。

(4) グリコールアルデヒドの 2,4-DNP ヒドラゾンの調製 グリコールアルデヒド(和光純薬 1 級試薬)からの 2,4-DNP ヒドラゾンの調製も (1) の方法によって, m.p. 145—146°C を有する橙色結晶を得た。この結晶は TLC 的に単一であった。

(5) ホルムアルデヒドの 2,4-DNP ヒドラゾンの調製 ホルムアルデヒド(和光純薬 1 級試薬)を水で稀釈し, (1)と同様に加藤⁹⁾の方法に準じて, 2,4-DNP ヒドラゾンを得た。エタノールより再結したのち m.p. 165—166°C (文献値 166°C) の淡黄色の結晶を得た。この結晶は TLC 的に単一であった。

D) 各種 2,4-DNP ヒドラゾンについての TLC⁹⁾ 吸着剤: シリカゲル G (メルク社製), 吸着層の厚さ: DESAGA 社製のアプリケーターを用いて, 250 μ の層を調製した。吸着層の活性化は予め風乾した後, 100°C, 2 時間乾燥して行われた。冷却したのち試料をプロットし, トルエン-酢酸エチル (1:1 v/v) を用いて密閉したガラス槽の中で約 30 分展開した。展開後, ヒドラゾンは黄色のスポットとしてクロマトグラム上に検出されたが, 更に 2% NaOH 90% エタノール溶液をクロマトグラム上に噴霧すると, あざやかな特徴のある色調を与えた。

II) グルコースとアルカリの反応液中に存在する有機酸の PPC による検索

A) グルコース-水酸化カルシウム反応液の調製 I)

A) (1) の方法に準じ, 100°C, 1 時間で得た反応液を減圧下, 45°C でシラップ状に濃縮し試料とした。

B) 標品の調製

(1) 乳酸: 市販乳酸カルシウムを Amberite IR-120 (H 形) に通じた溶液を減圧下 45°C でシラップ状に濃縮する。

(2) メタサッカリン酸: W. M. CORBETT 及び J. KENNER の調製法⁸⁾ に従い, ラミナリンより調製した。

C) A) で得た反応液中のサッカリン酸をアニリドに誘導する方法⁹⁾ A) で得られた反応液から反応前のグルコース 1 g に相当する量を取り, エタノールに溶かし, これに純アニリン 0.2 ml, 氷酢酸 0.1 ml を加え, 湯浴上で 30—50 分加熱し蒸発乾涸した。

D) 乳酸及びメタサッカリン酸のアニリドの調製

B) で得た乳酸及びメタサッカリン酸を用いて C) と同様の方法で調製した。

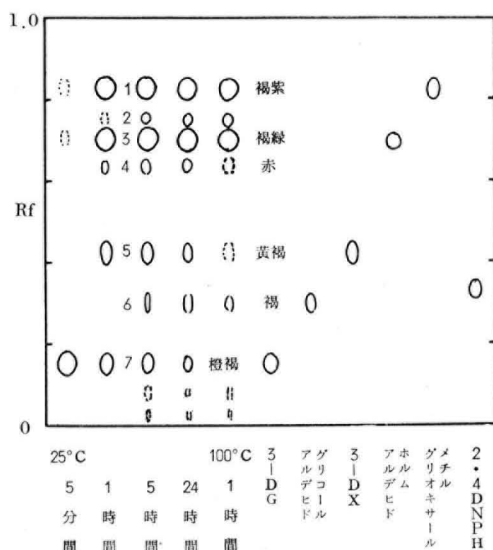
E) A) で得た反応液の PPC A) で調製した試料を標品乳酸及びメタサッカリン酸と並べて東洋濾紙 No. 50 にプロットし, 展開剤として, n-ブタノール-98% 酢酸-水 (10:1:5 v/v) を用いて, 上昇法により 13—15

時間展開を行なった。その後, 30 分間熱風乾燥し, 更に 24 時間冷風乾燥し, 完全に展開剤を飛ばした。発色剤としては, 0.05% ブロモモルブルー-アルコール溶液を用いた。酸性物質は青色のバックグラウンドに黄色のスポットとして現われた。

F) C) で得たアニリド混合物の PPC C) で得られたアニリド混合物を標品乳酸アニリド及びグルコメタサッカリン酸アニリドと並べて, 東洋濾紙 No. 50 を用い PPC を行なった。展開剤として, アセトン-水-ベンゼン (9:1:2 v/v) の混合溶媒 100 ml にローダミン B 4 mg を溶解したものを用いた。展開後, 風乾し紫外線下で観察し淡黄色のバックグラウンドに 6 個の黒色のスポットを検出した。

実験結果及び考察

I) グルコース-石灰水反応液中からカルボニル化合物を 2,4-DNP ヒドラゾンの形で分離し, この混合物について TLC を行なった。そのクロマトグラムは 2 図の如く, 少なくとも 7 個のスポットが検出された。これらのスポットに便宜上, Rf 値の大きいものから No. 1, No. 2, No. 3, No. 4, No. 5, No. 6 及び No. 7, と略記する。そのうち 5 個のスポットは, それぞれの標品との TLC による検討の結果, No. 1 はメチルグリオキサールのビス-2,4-DNP ヒドラゾン, No. 3 はホルムアルデヒドの 2,4-DNP ヒドラゾン, No. 5 は 3-デオキシペンントソン



2 図 2,4-DNP-ヒドラゾンの TLC

[グルコース: CaO=1:0.9 (モル比)]

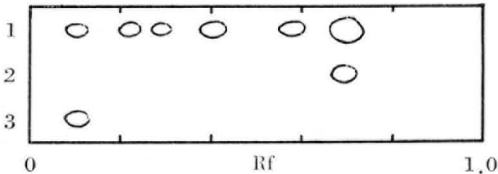
3-DG: 3-デオキシ-D-グルコソン

3-DX: 3-デオキシ-D-キシロソン

2,4-DNPH: 2,4-ジニトロフェニールヒドラジン

のビス-2,4-DNP ヒドラゾン, No. 6 はグリコールアルデヒドの 2,4-DNP ヒドラゾン, No. 7 は 3-デオキシ-D-グルコソンの ビス-2,4-DNP ヒドラゾンであることを推定した。

反応液について, 経時的に追跡したクロマトグラムは 2 図の如くである。このクロマトグラムから反応の初期に 3-デオキシグルコソンが生成することを認めた。反応温度 25°C の場合, 5 分後には, 3-デオキシペントソン及びグリコールアルデヒドの生成は全く認められない, 1 時間後には, 新らしく 3-デオキシペントソンの生成が認められ, 同時にホルムアルデヒド及びメチルグリオキサールが増加している。しかしグリコールアルデヒドの存在は認められず, 5 時間後に初めて出現している, これらの事実から, 反応液中において 3-デオキシペントソンはグリコールアルデヒド及びグリセリンアルデヒド等の如き分解生成物間の縮合により生成するのではなく, グルコースまたはフラクトースの C₁ と C₂ の C-C 結合が直接切断して生じた五炭糖の分子内酸化還元によって生成するものと推定される。また 3-デオキシ-D-グルコソンは経時的に減少するが, 他のカルボニル化合物は増加することも認められる。苛酷な条件 (100°C, 1 時間) では, 3-デオキシ-D-グルコソンは, ほとんど検出されなかった。また同一条件で得られた反応液の有機酸についての PPC は, 3 図の如く, グルコメタサッカリン酸はかなり強いスポットとして検出されていることから, この条件では 3-デオキシグルコソンからすでにメタサッカリン酸への変化の起っていることも予測される。

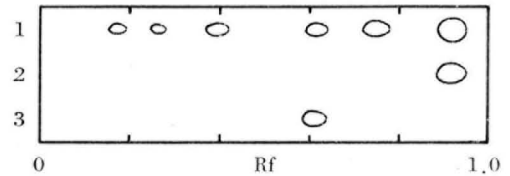


3 図 グルコース-石灰水反応液中に生成した有機酸の PPC

1. 反応液
2. 乳酸
3. グルコメタサッカリン酸

II) 反応液に存在する有機酸類の PPC は 3 図の如くで 6 個のスポットが検出された。このうち Rf 値 0.69 のスポットは標品乳酸の Rf 値と一致し, Rf 値 0.103 のスポットは標品グルコメタサッカリン酸の Rf 値と一致した。残りの 4 つのスポットに関しては, 更に検討しなければならない。

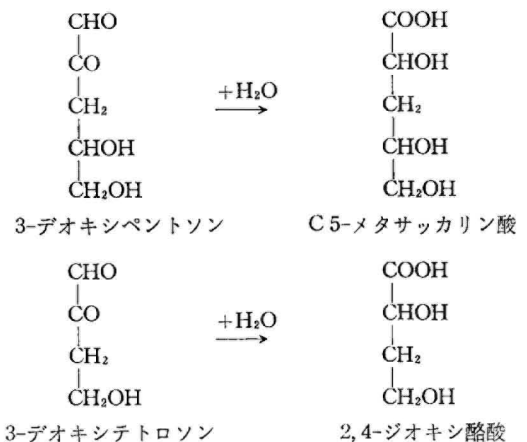
一方, GREEN⁵⁾ の方法に準じて行なった PPC の結果は 4 図の如くで, 6 個のスポットが検出された。このう



4 図 グルコース-石灰水反応液中に生成した有機酸のアニリドの PPC

1. 反応液から分離した有機酸アニリド混合物
2. 乳酸アニリド
3. グルコメタサッカリン酸アニリド

ち Rf 値 0.92 のスポットは乳酸アニリド, また Rf 値 0.61 のスポットはグルコメタサッカリン酸アニリドの Rf 値とそれぞれ一致した。GREEN はこの方法⁵⁾でグルコースと 8N-苛性ソーダの反応液中の有機酸をアニリドの形で分離し, そのアニリドの PPC を行ない 4 個のスポットを検出し, それぞれ乳酸, 2,4-ジオキシ酪酸, C5-メタサッカリン酸及びグルコメタサッカリン酸であることを確認した。また種々のサッカリン酸アニリドの PPC を行なった結果, それらの Rf 値の大きさは, 物質の分子量の大きさと逆比例関係にあることを示している。それ故, Rf 値 0.61 以下の 2 個のスポットは炭素数 7 以上, 或は分枝を有する炭素数 6 のサッカリン酸であることが推測される。1 図で示した分解機構と合せて考えると, Rf 値 0.75 の物質は次式の如く, 3-デオキシペントソン 或は 3-デオキシテトロソンから生成すると思われる C5-メタサッカリン酸或は 2,4-ジオキシ酪酸のいずれかであろうと推測される。



終りに臨み, 絶えず御指導並びに御鞭撻をいただきました浜口栄次郎先生に深甚の謝意を表します。

(農産製造学講座 昭 39, 8, 31. 受理)

引 用 文 献

- 1) 河本正彦: 農化, **36**, 305, 310, 403, 407, 461, 464, 541, 546 (1962).
- 2) J. W. GREEN: *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 5791 (1954).
- 3) R. WEIDENHAGEN: *Zucker*, **1951**, 244.
- 4) E. F. L. J. ANET: *J. Chromatography*, **9**, 291 (1962).
- 5) J. W. GREEN: *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 1894 (1956).
- 6) H. KATO: *Agr. Biol. Chem.*, **26**, 187 (1962).
- 7) H. L. RILEY: *J. Chem. Soc.*, **1932**, 1875.
- 8) M. L. WOLFORM: *Methods in Carbohydrate Chem.*, Academic Press Inc. New York and London vol. 2, 480~483 (1963).

Summary

The authors dealt with thin layer chromatography and paper chromatography for identification of the reaction products occurred in the reaction solution of glucose and lime water. The results obtained were as follows:

The reaction solutions of glucose and lime water used in experiments: 20 ml of 50% aqueous glucose solution and the solution of calcium oxide (2.8 g) in about 15 ml of water were mixed and diluted to 50 ml. Each resultant mixture was heated for 5 min, 1 hr, 5

hrs and 24 hrs at 25°C, and for 1 hr at 100°C, respectively.

1. From the carbonyl compounds formed in the glucose-lime water reaction solutions several 2,4-dinitrophenyl-hydrazones were derived and they were examined by thin layer chromatography. Seven spots could be detected and the five of them were thinlayer-chromatographically identified respectively with the authentic hydrazones of 3-deoxy-D-glucosone, 3-deoxy-D-xylosone, methyl glyoxal, glycol aldehyde, and formaldehyd.

2. The order of occurrence of the carbonyl compounds produced in the reaction solution were examined by the thin layer chromatography. From the results obtained, it was inferred that 3-deoxy-glucosone was produced in the initial state and that 3-deoxy-pentosone may be derived from pentose given by C₁-C₂ chain cleavage of hexose.

3. The carboxylic acids produced in the reaction solution were examined by paper chromatography. The six spots were detected and the two spots of them were paperchromatographically identified with lactic acid and glucometasaccharinic acid.

4. The carboxylic acids formed in the reaction solution were also paperchromatographically analyzed as their anilides and the six spots could be detected. These two spots were paperchromatographically identified with the authentic lactic anilide and glucometasaccharinic anilide.

(Laboratory of Agricultural Manufacturing)