

納豆の成分に就て

農學士 伊藤武男

(大正十四年十月廿二日受理)

従來納豆は澤村眞,⁽¹⁾矢部規矩治,⁽²⁾村松舜祐⁽³⁾等の諸家によりて細菌學的に研究せられ其成分に關しては矢部氏⁽⁴⁾の研究あり氏は納豆酒精浸液中の非蛋白態窒素化合物を検索してチロシン及びロイシンを分離しキサンチン、ヒポキサンチン及びグワニンの存在を報せられたり著者亦納豆の水浸液に就きて同様の研究をなしその非蛋白態窒素化合物の多くは表面の粘質物中に偏在することを知れり

實驗の部

實驗に供せる納豆は水に浸漬して充分に水を吸収せしめ膨軟となれる大豆(白玉)を數時間煮沸し其末だ温きうちに純粹培養せる納豆菌を接種し濕潤なる定温室(36—39°C)内に約24時間置きて製せられたるものにして當校村松博士の惠與せられたるものなり一部を採り分析せる結果は次の如し

新鮮物百分中	
水分	56.14
乾物	43.86
乾物百分中	
粗灰分	4.85
粗脂肪	21.75
粗纖維	7.70
粗蛋白質(全窒素×6.25)	49.28
可溶無窒素物	16.42
窒素百分中	
蛋白態窒素	63.72
非蛋白態窒素	36.23
アムモニア態窒素	2.29

納豆の浸液は次の如くして調製せり

約0.5kg.の納豆をトールビーカーに採り少量の冷水を加へて攪拌し直に大なるヌツツエにて濾紙を用ひず吸引濾過しヌツツエ上の豆は元のビーカーに戻して前

同様に處理す斯の如き操作を3回手早く繰返して約1L.の粘重にして混濁せる濾液を得可く是に依りて納豆表面の粘質物と豆の部分とを略分別するを得るなり

粘質物を含める濾液には直に醋酸鉛及び鹽基性醋酸鉛を加へて生ずる沈澱を濾別し濾液は H_2S にて鉛を去りたる後減壓の下に蒸發濃縮せり

豆は磨碎して熱水にて2回浸出し浸液約3L.を得この浸液は醋酸にて酸性としタンニンを加へて生ずる沈澱を濾別し濾液には過剰の鹽基性醋酸鉛を加へてタンニン等を沈澱せしめその濾液は H_2S にて鉛を去りたる後減壓の下に蒸發濃縮せり

以上の如くして1日1—1.5kg.の納豆を處分し總體にて4.1kg.の納豆を實驗に供せり而して粘質物及び豆の浸液は各別に集め後述の檢索に供せり

1. 粘質物の部

前記の如くして調製せる粘質物の浸液は之を合し(約620c.c.となれり)冷所に放置せるに白色の結晶を析出せるを以て之を濾別し少量の熱水より再結し0.41g.を得たり長針狀結晶にして融點 $293^{\circ}C$ (訂正せず以下同じ)

ミロン氏反應ポーリー氏チアゾ反應及びMörner⁽⁵⁾氏反應等と與ふ

析分(ケルダール法)

物質	0.2834g.,	15.8c.c. $\frac{N}{10}H_2SO_4$,	N=7.81%
計算數	$C_6H_{10}O_8N$		N=7.74%

即ちチロシンに一致す

チロシンの濾液にはバリタを加へてアルカリ性となし更に酒精を加へて可及的低温に於て減壓蒸溜し溜出物はピクリン酸溶液中に採れり後者は之を蒸發濃縮して放冷せるにピクレート析出せるを以て之を分離し分別結晶せしめて次の四區分に分てり

1)	1.567g.
2)	0.819''
3)	0.317''
4)	0.158''

而して各區分の融點を檢せるに何れも $285-287^{\circ}C$ に於て分解し且つ結晶形も均しく長針狀なりしを以て同一物と見做し之等を合せり

分析(ヂュマ氏法)

物質	0.0812g.	16.4c.c. N($20^{\circ}C$, 752mm.)	N=23.21%
計算數	$C_6H_2N_3O_7NH_4$		N=22.77%

次にピクレートは鹽酸鹽に變じたたり鹽酸鹽は白金板上にて熱すれば昇華して白煙を生じ又 0.1% 水溶液となし Francois' reagent⁽⁶⁾を加ふれば己に冷時に於て褐色沈澱を生じ又 Konick's reagent を加ふれば黄褐色沈澱を生ず別に鹽酸鹽の一部を80%酒精に溶かし鹽化白金酒精溶液を加へて析出する鹽化白金復鹽を濾別洗滌して100°Cにて乾かし白金を定量せり

物質	0.1366g.	0.0604g. Pt	Pt = 44.21%
計算數	$\text{Pt Cl}_6(\text{NH}_4)_2$		Pt = 43.96%

以上の如くなるを以て前述の如くして分離せる揮發性鹽基中にはアムモニア以外の鹽基は認められずアムモニアを驅逐せる殘液には硫酸を加へてバリタを沈澱せしめ其濾液に更に硫酸を加へて5%たらしめ燐ウオルフラム酸液を加へたるに多量の沈澱を生ぜり

(イ) 燐ウオルフラム酸沈澱の濾液

燐ウオルフラム酸沈澱の濾液はバリタにて硫酸及び燐ウオルフラム酸を精密に除きたる後蒸發して強く濃縮し放冷せる白色結晶を析出せり之を濾別して分別結晶法に依り少量のチロシンと 0.497g. のロイシンとに分つを得たり後者は眞珠様光澤を有せる板狀結晶にして融點 273—274°C (密閉硝子細管中にて熱す)其水溶液に Chinon の一小片を加へて溶かし炭酸カリウム液一滴を加へて振れば著明なる紫色を呈す

分析 (ケルダール法)

物質	0.1590g.,	12.15c.c. $\frac{\text{N}}{10}\text{H}_2\text{SO}_4$	N=10.71%
計算數	$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{O}_2\text{N}$		N=10.69%

チロシン及びロイシンの濾液中には尙他のアミノ酸の存在す可きやを思ひ之が分離を企てたり即ちHClを飽和して冷所に放置し析出せる無機鹽を去りたる後常法に依りエチルエステルとして分離し之分溜して次の四區分に分てり

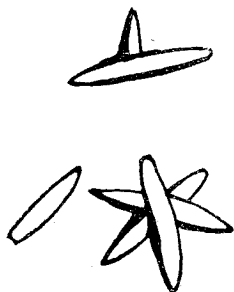
	溫度(°C)	壓力(mm.)	エステルの收量(g.)
I	100迄	13—14	1.2
II	100—120	3—4	1.2
III	120—140	3	0.1
IV	殘 渣		

Iは水を加へて煮沸鹼化後蒸發乾固して熱無水酒精にて處理し不溶部分はエチルエステル鹽酸鹽又は銅鹽としてグリコ、ル等の分離を試みたれども成功せず

II 及び III は合し水にて鹼化後乾固して熱無水酒精にて處理し不溶部は銅鹽に變じたるに少量のロイシン銅鹽及びメチルアルコール可溶銅鹽の他は結晶として得られず

I, II 及 III の酒精可溶部よりはプロリン銅鹽に相當する酒精可溶銅鹽を得たれども少量にして分析するに足らず

IV は水に溶かしエーテルにて振り水溶液部はバリタにて鹼化したる後バリタを硫酸にて除きて濃縮し HCl を飽和し數日間冷所に放置せるもグルタミン酸鹽酸鹽を析出せざりしを以て酒精を加へて減壓蒸發し HCl の大部分を驅逐し其殘餘は PbO 次に Ag_2SO_4 にて除き過剰の銀及び硫酸は夫々 H_2S 及びバリタにて除きたる後強く濃縮し放冷せるに圖の如き結晶形の物質を析出せり之を分ち少量の水より再結し 0.23g. を得たり



融點 190—191°C 水に溶け易く酒精に溶

け難し其鹽酸鹽は板狀の結晶にして融點 199°C 水に溶け易し

分析 (ケルダール法)

物質 0.1110g. $8.0c.c. \frac{N}{10} H_2SO_4$ N=10.10%

收量少かりしを以て之以上精査するを得ず

(ロ) 燐ウオルフラム酸沈澱

燐ウオルフラム酸沈澱はバリタにて分解し過剰のバリタは CO_2 にて沈澱せしめ其濾液を濃縮し硝酸にて微酸性とし硝酸銀を加へたるにプリン鹽基の硝酸銀鹽を沈澱せりこの沈澱は濾別してアムモニアにて處理して銀鹽に變じ後者は HCl にて分解してプリン鹽基の鹽酸鹽溶液を得之にアムモニアを加ふるもグワニンを沈澱せず依て蒸發してアムモニアを逐ひたる後水に溶かし鹽酸にて微酸性となしピクリン酸ナトリウムを加へたるもアデニンピクレート析出せず是に於てピクリン酸をエーテルにて去りプリン鹽基は硝酸銀のアムモニア性液にて銀鹽として沈澱せしめて分離し之を鹽酸にて分解し鹽酸鹽溶液は酒精を加へて蒸發し更に水と酒精とを加へて蒸發乾固すること數回にして殘渣を小許の水 (40°C) にて處理し

不溶の Xanthin は濾別して少量の $\frac{N}{5}$ KOH に溶解し温め醋酸を加へて酸性とし放冷せるに Xanthin の結晶を析出せり其量僅小にして分析するに足らざりしもムレキシド反應キサンチン反應及びデアゾ反應⁽⁷⁾等を呈するを以て Xanthin たること疑なかるべし

プリン鹽基硝酸銀鹽の濾液には硝酸銀を加へバリタを飽和せしめて生ずる沈澱を濾別し之よりヘキソン鹽基各個の分離を試みたれども結晶性のものを得ず

硝酸銀及びバリタの沈澱の濾液には鹽酸と硫酸とを加へて銀とバリタとを沈澱せしめ其濾液に燐ウオルフラム酸を加へたるにや、多量の沈澱を生せり (Lysin-fraction) この沈澱は濾別してバリタにて分解し過剰のバリタを CO_2 にて除きたる後鹽酸鹽に變へて蒸發乾固し無水酒精にて處理せるに不溶の無機鹽を残して溶解せり而して酒精可溶鹽酸鹽より鹽基を鹽化水銀複鹽、ピクレート等として分離せむと試みたれども成功せざりしを以て 25% H_2SO_4 にて分解せり分解物は水を加へて稀釋し燐ウオルフラム酸を加へ生ずる沈澱を濾別し濾液は硫酸燐ウオルフラム酸及び鹽酸を精密に除きたる後蒸發して濃縮せるに少量のチロシンを析出せりチロシンは濾別し再結せり前述の諸呈色反應を與ふ

分析 (マイクロケルダール法)⁽⁸⁾

物質	0.0105g.,	5.6c.c. $\frac{N}{100}$ H_2SO_4 ,	N=7.45%
計算數	$\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3\text{N}$		N=7.74%

チロシンの濾液を濃縮し析出せる物質を濾別して少量の水より再結せり其結晶形判然たらざるが故に純一の物質なりや不明なれども (261—262°C にて熔融發泡す) ニンヒドリン反應を呈し NO_2H と作用して N_2 を遊離し其水溶液に CuO を加へて煮沸すれば銅鹽 (水に溶解易し) を生成する等の點より見ればアミノ酸には相違なかる可し

以上の結果より見れば Lysin fracion 中には Polypeptid 様の物質も含まるゝものゝ如し

2. 豆の部

前述の如くして得たる豆の浸出液は硫酸にて酸性となし燐ウオルフラム酸を加へたるに沈澱を生せり

(イ) 燐ウオルフラム酸沈澱の濾液

燐ウオルフラム酸沈澱の濾液よりはバリタにて燐ウオルフラム酸及び硫酸を除

きたる後アミノ酸をエチルエステルとして分離しこのエステルは分別蒸溜することなく其まゝ水に溶かしエーテルを加へて振り水溶液部はバリタにて鹼化したる後硫酸にてバリタを去り蒸發濃縮せるに少量のチロシン (0.035g.) を析出せり前記の諸呈色反應を興ふ

(ロ) 燐ウオルフラム酸の沈澱

燐ウオルフラム酸の沈澱はバリタにて分解したる後プリン鹽基、ヘキソン鹽基及び Lysin fraction の三つの Fraction に分ちたり

プリン鹽基及びヘキソン鹽基の Fraction は何れも僅小にして精査せず

Lysin fraction は鹽酸鹽となして乾固し無水酒精にて處理せるに無機鹽を残して溶解せり而し酒精可溶鹽酸鹽よりは鹽基を分離し得ざりしが故に之を 25% H_2SO_4 にて煮沸分解せり

分解生成物は水にて稀釋し燐ウオルフラム酸を加へ生ずる沈澱は濾別してバリタにて分解したる後鹽酸鹽に變じて乾固し熱無水酒精にて處理せるに溶解せりこの溶液は自然に蒸發濃縮せしめたるに鹽酸鹽の結晶を析出せり依て之を分ち水に溶かし其一部にピクリン酸曹達溶液を加へ放置せるに細長き板狀結晶の球狀に集團せるピクレート析出せり融點 193—194°C

又溶液の他の一部に鹽化金溶液を加へエキシカートル中に放置せるに長方形板狀の金鹽を析出せり融點 118—120°C 金を定量せり

物質	0.0968g.	0.0401g. Au	Au=41.12%
----	----------	-------------	-----------

この鹽基に就ては材料僅小のため更に精査するを得ざりき

燐ウオルフラム酸沈澱の濾液よりは硫酸鹽酸燐ウオルフラム酸等を除きて蒸發し強く濃縮して析出せる物質を分離し少量の水より再結せり。結晶形判然たらず (融點 262—264°) NO_2H と作用して N_2 を遊離しニンヒドリン反應を呈し銅鹽は水に溶解易し

總 括

4.1kg. 納豆の表面の粘質物と豆の部分とを略々分離し各々の浸出液に就き非蛋白態窒素化合物を検索せり

1. 粘質物より分離せる物質は

チロシン	0.41g.
ロイシン	0.40

アムモニウムピクレート	2.86
キサントレン	微量
M. P. 190—191°C, N=10.10%物質	0.23

2. 豆の部分よりは

チロシン	0.035g.
------	---------

尙何れの浸液に於ても燐ウオルフラム酸にて沈澱せらるゝ部分のうち Lysin fraction 中には Polypeptid 様の物質も存するものゝ如し

要するに納豆菌の蛋白分解酵素による大豆蛋白質の分解物は豫想せらるゝ如く多くは納豆表面の粘質物中に偏在するものゝ如し終りに臨み本実験の材料を惠與せられたる村松博士に對し感謝の意を表す

(大正十四年十月、盛岡高等農林學校農藝化學實驗室に於て)

文 献

- (1) 澤村氏：農學會報，67號，1頁；同121號，1頁
- (2) 矢部氏：農學會報，24號，3頁
- (3) Muramatsu: Eighth International Congress of Applied chemistry, Vol. XVIII, 251.
- (4) 矢部氏：前掲
- (5) Abderhalden: Biochem. Handlexikon, 4. Bd., 688.
- (6) Abderhalden: Handbuch d. Biol. Arbeitsmethoden, Abt. 1, Teil 7, 347
- (7) Feulgen: Chemie u. Physiologie d. Nukleinstoffe, 99—100.
- (8) Abderhalden: Handbuch d. Biol. Arbeitsmethoden, Abt. 1, Teil. 3, 417.