

報 文

楓蠶及桑蠶繭層の化學的組成

(第二報:桑蠶繭のアミノ酸組成)

井 上 柳 梧
松 浦 彰 義
田 上 忠 義

On the chemical constitution of the cocoon-silk of *Eriogyma pyretorum* and
Theophila mandarina.

II. Amino acid composition of the cocoon-silk of
Theophila mandarina.

緒 言

著者等は本誌第9卷第3號に於て、第一報として楓蠶及桑蠶の繭層の一般化學的組成に就きて發表せり。其後桑蠶の繭層のアミノ酸組成に就きて研究し、其大體を知る事を得たるを以て次に敘述する事とする。

本研究に於ては繭層を硫酸を以て全加水分解を行ひたる後、エステル法によりてアミノ酸を分離し、後更に其浸出及び蒸溜残渣よりバルチール氏法によりて銅鹽として殘留アミノ酸類を分離し、其兩者のアミノ酸の和を求めて全アミノ酸の量とした。

尙本實驗の原料は第一報と同様のものである。

I 試 驗 法

桑蠶繭を切開し、蛹其他の汚着物を除きて得たる繭層 450g (乾物として408.65g) を採り25% H_2SO_4 1.5 立を加へて逆流冷却装置を附し、21時間全加水分解を行ひ Biuret 反應を呈さざる迄に到らしめた。

加水分解終了後は是を濾過して不溶解物を分つ。而して不溶解物は Ninhydrin の反應なき

迄再三蒸溜水にて洗滌す。斯くして濾液を洗滌液を合し、是に $\text{Ba}(\text{OH})_2$ の飽和溶液を加へて H_2SO_4 を除去す。斯くして H_2SO_4 を除去せる加水分解液は是を濃縮し、1 晝夜放置して Tyrosine を析出せしめたり。Tyrosine を除きたるアミノ酸混合液は是を低壓にて蒸溜したる後、無水 Ethyl alcohol を加へ、是に無水の HCl-gas を通じて飽和せしめ Ethyl ester 鹽酸鹽となす。斯くして得たるアミノ酸のエチルエステル鹽酸鹽溶液は是を 40°C 以下で真空蒸溜に依りて濃縮したる後放置し、Glycocoll-ethyl-ester 鹽酸鹽の針狀結晶を析出せしめたのである。

Glycocoll-ethyl-ester の鹽酸鹽を分ちたる母液は、再三低壓にて蒸溜して鹽酸を出來得る丈け除き、最後に舍利別狀となし、是に苛性苛達及び炭酸加里を加へてアミノ酸エステルを游離せしめ、是を Ether にて數回浸出してアミノ酸の Ethyl ester を分離せしめて是を次の如く分別蒸溜をなす。

分 別 蒸 溜 區	加熱裝置	蒸溜時間	温 度		壓 力	アミノ酸 エチル の 收 量	アミノ酸 の 收 量
			蒸 溜 器 部 外	蒸 溜 器 部 内			
Fraction I	湯 浴	95分	60°C	47°C	12mm.	75.90g	34.136g
Fraction II	〃	50	100	72	12	40.55	20.937
Fraction III	〃	25	100	78	2	13.05	2.713
Fraction IV	油 浴	—	160	82	2	16.01	3.120

斯くの如くにして得たる各蒸溜區中 Fraction I, II 及 III は水を加へ逆流冷却裝置を附し、Alkali 性を呈せざる迄加水分解を行ひ濃縮し、分別結晶法に依り Leucine, Alanine を分離せり。Fraction IV は水を加へて振盪し、乳白化したる液に Ether を加へ再三浸出し、Phenyl-alanine を分離せり。即ち Phenyl-alanine の Ether 溶液は低温低壓にて Ether を蒸發せしめ次いで con. HCl を加へて蒸發し、鹽酸鹽として結晶せしめたり。又 Phenyl-alanine を Ether 移行に依りて分離したる残りの水溶液は $\text{Ba}(\text{OH})_2$ の飽和溶液を加へて逆流冷却裝置を附し加水分解を行ひ、次に H_2SO_4 を加へて Ba を除去し、其の溶液には無水の Alcohol を加へ蒸發し水分を除去せしめ、以て Proline を分離し、後水に溶かし分別結晶法に依りて Aspartic acid 及び Serine を分離せり。

尚ほ Fraction I, II 及 III よりの Proline の分離は Fraction IV の場合と同様無水の Alcohol に依りて是を行ひたり。

尚ほ上記の如く E. Fischer 氏のエステル法に依りて出來る限りの多量のアミノ酸を分離し、残れるものを更にバルチール氏の銅鹽に依るアミノ酸の分離法に依り前記のアミノ酸を分離したる残渣物に就いて更にアミノ酸分離を試みたり。即ち水酸化銅 $\text{Cu}(\text{OH})_2$ を加へてアミノ酸全部を銅鹽となし、水に可溶性銅鹽と不溶性銅鹽とに分離す。不溶性銅鹽には Leucine, Phenyl-alanine 及び Aspartic acid 等含まれ、水溶性銅鹽には Alanine, Glutamic acid, Histidine 及び Glycocoll 等含まる。前者不溶性銅鹽は是に SH_2 gas を通じて銅を除き $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 飽和溶液にて Alkali 性となし、95% Alcohol を加へ、其の沈澱は H_2SO_4 にて Ba を除き濃縮して Aspartic acid を得、又其の溶液よりは同じく H_2SO_4 にて Ba を除き、濃縮して Leucine の結晶を得。Leucine を分ちたる液には $\text{Zn}(\text{OH})_2$ を加へて煮沸し、其の沈澱物は SH_2 -gas に依りて分解し游離 Leucine を、其の濾液よりは游離の Alanine を得る。

次に水溶性銅鹽に就いて概略を記せば、先づ Methyl alcohol にて處理し、不溶性銅鹽と可

溶性銅鹽に分つ。而して不溶性銅鹽を採り(可溶性銅鹽に就いては實驗を行はず) SiH_2 -gas を通じて銅鹽を除き $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 及 95% Alcohol を加へ、生ずる沈澱より Glutamic acid の Ba 鹽を其の濾液より Tyrosine 及 Histidine を得たのである。

以上の如くにして得たる成績は順を追ひて次に述べるこゝとする。

II 試 験 成 績

以上の如くにして得たるアミノ酸の收量は次の如くである。

(A) 各區よりの收量

Fraction I	よりの收量	{ Glycocoll 7.0380gr Alamine 27.0980gr }
Fraction II	◇	{ Glycocoll 3.3935gr Alamine 16.5935gr Leucine 0.950 gr }
Fraction III	◇	Leucine 2.7130gr
Fraction IV	◇	{ Phenyl-alanine 2.352 gr Aspartic acid 0.935 gr Serine 0.491 gr Leucine 1.6940gr }

(B) 各アミノ酸の合計收量

アミノ酸	合計收量	供試無水量に對する 100分率
Glycocoll	77.625 g	18.99%
Alamine	43.6915	10.69
Leucine	5.3570	1.31
Serine	0.4910	0.12
Tyrosine	27.4748	6.724
Phenyl-alanine	2.352	0.575
Aspartic acid	0.935	0.24
Proline	2.590	0.633
合計量	160.6128	39.283

(C) アミノ酸の決定

各區(Fraction I, II, III, IV)の分別結晶の分量別採取回数は F I, II は各々 8 回, F III は 6 回, F IV は 2 回に亘り、而して各採取毎に融解點、全窒素量及び銅鹽として銅を(但し Glutamic acid 及び Phenyl-alanine は鹽酸鹽として Cl を)測定し、以てアミノ酸決定への導きなせり。夫等に就いての成績を示せば次の如し。

Fraction I

調査項目	分別結晶せる回数							
	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6	No. 7	No. 8
融 解 點(°C)	282	274	241	232	235	231	232	199
窒 素 含 有 量(%)	16.1	16.5	17.1	18.8	17.6	17.4	16.6	16.5

但し銅鹽の定量は分別結晶採取各區を一度水に溶解し三回分別結晶を行ひ、其の各々に就きて銅の定量をなしたるに次の如し。(Fraction II, III, IVも同様)

fractionよりの採取回数		No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6	No.7	No.8
		銅	26.1	28.0	25.4	27.5	27.2	24.7	24.0
鹽	第1回分別結晶	26.1	28.0	25.4	27.5	27.2	24.7	24.0	22.4
	第2回	24.5	26.9	25.2	25.5	24.0	24.7	23.4	22.4
	第3回	23.3	21.5	23.7	22.4	23.0	22.1	23.7	20.5

Fraction II

分別結晶採取回数		No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6	No.7	No.8
		融 解 點	264	257	252	249	232	236	235
窒素含有量		14.7	14.5	16.3	16.0	17.1	17.0	16.4	16.2
銅	第1回分別結晶	16.3	22.4	17.3	22.3	18.1	17.9	21.3	17.3
	第2回	17.4	21.3	19.2	20.7	18.5	16.4	16.6	19.3
	第3回	18.7	20.9	21.9	21.2	16.0	16.3	18.8	18.7

Fraction III

Fraction III に於ては分別結晶の採取量少き爲に、No. 4、6 のみ二回の分別結晶に依りて銅鹽の定量を行へり。

分別結晶採取回数		No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6
		融 解 點	262	256	258	247	250
窒素含有量		13.3	13.9	13.5	15.1	15.0	15.2
銅	第1回分別結晶	10.6	11.5	14.3	18.9	22.1	17.6
	第2回	—	—	—	16.8	—	19.6

Fraction IV

Fraction IV は Phenyl-alanine を除ける Serine 及び Aspartic acid にして分別結晶の採取量も亦少なし。

分別結晶せる回数		No. 1	No. 2
		融 解 點	225
窒素含有量		10.7	14.4
銅 鹽		18.3	17.4

上述の實驗値よりして各 Fraction に於けるアミノ酸を次の如く決定せり。

銅 鹽		Cu
	實 驗 數	18.90%
	理 論 數 ((C ₆ H ₁₂ NO ₂) ₂ Cu として)	19.64%
<u>Serine</u>		
熔 融 點	實 驗 數	225°C
	理 論 數	225°C
全 窒 素		N
	實 驗 數	14.40%
	理 論 數 (C ₃ H ₇ O ₃ N として)	13.34%
銅 鹽		Cu
	實 驗 數	18.30%
	理 論 數 ((C ₃ H ₆ O ₃ N) ₂ Cu + 2H ₂ O として)	20.66%
結晶板状にして味甘し。		
<u>Aspartic acid</u>		
全 窒 素		N
	實 驗 數	10.93%
	理 論 數 (C ₄ H ₇ NO ₄ として)	10.53%
銅 鹽		Cu
	實 驗 數	23.23%
	理 論 數 (CuC ₄ H ₅ NO ₄ + 4 $\frac{1}{2}$ H ₂ O として)	23.06%
<u>Glutamic acid</u>		
全 窒 素		N
	實 驗 數	10.10%
	理 論 數 (C ₅ H ₉ NO ₄ として)	9.50%
鹽 酸 鹽		Cl
	實 驗 數	18.33%
	理 論 數 (C ₅ H ₁₀ O ₄ NCl として)	19.32%
<u>Proline</u>		
熔 融 點	實 驗 數	210°C
	理 論 數	206—209°C
全 窒 素		N
	實 驗 數	11.86%
	理 論 數 (C ₅ H ₉ O ₂ N として)	12.17%
銅 鹽		Cu
	實 驗 數	19.89%
	理 論 數 (C ₁₀ H ₁₆ O ₄ N ₂ Cu として)	21.79%
<u>Phenylalanine</u>		
鹽 酸 鹽		Cl
	實 驗 數	17.01%
	理 論 數 (C ₉ H ₉ O ₂ N · HCl)	17.59%
<u>Tyrosine</u>		

結晶形、冷水に難溶、現色反應等より大體決定したのである。尚ほ全窒素量は次の通りである。

全窒素

實驗數

N

7.82%

理論數(C₉H₁₁O₂Nとして)

7.74%

III Bartier 氏法の銅鹽に依るアミノ酸分離(殘渣物よりの)

前述せし如く著者等は E. Fisher 氏法に依りてアミノ酸を分離したる殘渣物に就きて、更に尙一回該バルチール氏法に依りてアミノ酸の分離增收を計つたのである。是等の成績を次に示す。

アミノ酸	第一殘渣物		第二殘渣物		合計收量
	増收量	對供試物 100分率	増收量	對供試物 100分率	
Leucine	0.72g	0.173%	0.24g	0.05%	0.236
Glutamic acid	0.28	0.068	0.08	0.018	0.086
Aspartic acid	Trace	0.00	Trace	0.00	0.00
Tyrosine	認めず	—	認めず	—	—
Alanine	Trace	0.00	Trace	0.00	0.00
Phenylalanine	認めず	—	認めず	—	—
Histidine	認めず	—	Trace	0.00	0.00

茲に第一殘渣物とは、アミノ酸エチルエステルを Ether に依りて抽出したる殘渣物を云ひ、第二殘渣物とは、アミノ酸エチルエステルより分別蒸溜せし殘渣物を示す。

IV 總括

以上敘述したる分析結果を綜合すれば次の様である。

(1) 桑蠶繭層に含有するアミノ酸の量は家蠶繭層に比して少なく、殆んぞ野蠶繭のそれに近い値を有するのである。

菌種別	桑蠶繭層	野蠶繭	生絲及家蠶繭
Glycocoll	18.99	5.70—16.8	24.19—33.50
Alanine	10.69	3.70—24.0	13.94—22.58
Leucine	1.54	0.43—7.95	0.60—2.88
Aspartic acid	0.24	0.20—4.08	0.03—1.09
Glutamic acid	0.08—0.10	0.60—2.08	0.023—1.75
Serine	0.12	0.20—1.00	0.33—3.01
Proline	0.333	0.23—4.00	0.009—1.106
Tyrosine	6.724	1.40—9.70	3.89—9.00
Phenylalanine	0.575	0.37—1.18	0.25—1.20

即ち Glycocoll, Alanine は家蠶繭に比し著しく少なく、是に次いで Leucine, Serine, Tyrosine は稍々少ない。然るに是に反し Phenylalanine, Aspartic acid, Glutamic acid は大同小異にして、特に Proline は多少たりとも多く含有されてゐる。

(2) 一度アミノ酸を分離したる残渣物を Bartier 氏法に依りてその増收を試みたるに、Leucine 及び Glutamic acid は夫々 0.23% 及び 0.08% の増收を得、Aspartic acid, Alanine 及び Histidine は單に痕跡程度に留まつてゐる。是等に反し Tyrosine 及び Phenylalanine 等は認め得ない。(於上田蠶絲専門學校)

(受理昭和12年9月7日)

On the chemical constitution of the cocoon-silk of *Eriogyma pyretorum* and *Theophila mandarina*. II. Amino acid composition of the cocoon-silk of *Theophila mandarina*.

By Ryūgo INOUE, Akiyoshi MATSUURA and Tadayoshi TANOUYE.

(Received Sep. 7. 1937.)

Résumé.

We published the inorganic composition and distribution of the various forms of nitrogen in the cocoon-silk of *Eriogyma pyretorum* and *Theophila mandarina* as the first report in the same journal (vol. 9, No. 3.). On this time the amino acid composition of the cocoon-silk of *Theophila mandarina* was chiefly investigated and the following results were obtained.

The cocoon-silk of *Theophila mandarina* taken was 450 g (408.65 g as dry matter) and boiled with 1500 cc of 25% H_2SO_4 under a reverted cooler for 21 hours. The amino acids were isolated from the hydrolyte by the ester method and also Bartier's precipitation method as copper salts, which was especially applied for separation of the amino acids from the residue after extracted with ether and also that of the fourth distillation fraction.

The results obtained were as follows:

For comparison the amino acids from the wild silk like the tussa and Yamamai, and the true silk are written.

Amino acids	<i>Theophila mandarina</i>	Wild silk	True silk
Glycocoll	18.99	5.70—16.8	24.19 — 33.50
Alanine	10.69	3.70—24.0	13.94 — 22.58
Leucine	1.54	0.43— 7.95	0.60 — 2.88
Aspartic acid	0.24	0.20— 4.08	0.03 — 1.00
Glutamic acid	0.10	0.60— 2.08	0.023— 1.75
Serine	0.12	0.20— 1.00	0.33 — 3.01
Proline	0.633	0.23— 4.00	0.009— 1.106
Tyrosine	6.724	1.40— 9.70	3.89 — 9.00
Phenylalanine	0.575	0.37— 1.18	0.25 — 1.20

The amino acids composition of *Theophila mandarina* is just in middle between the true and wild silk.

Glycocoll and alanine are less in quantity when compared with the true silk. Leucine, serine, and tyrosine are also less in quantity; phenylalanine, aspartic acid and glutamic acid are practically same in quantity.