寒天の利用に関する研究(第3報)

アガロース誘導体のゼリー形成能

布施 恒 明

(愛知県食品工業試験所)

昭和 43 年 8 月 29 日 受 理

Studies on Utilization of Agar

Part III. Jelly Formation Ability of Agarose Derivatives

By Tsuneaki FUSE

Food Research Institute, Aichi Prefecture

A series of investigations was carried out to study the jelly formation ability of agarose prepared by saponification, carboxymethylation, and phosphorylation.

Agarose was obtained from *Gelidium Amansii* with cetylpyridinium chloride.

It was recognized that in a sample prepared by saponification, carboxymethylation, and phosphorylation, the larger the value of $[\eta]$, the larger the water-hold capacity. Furthermore, in case of the samples with almost same $[\eta]$ values, the less the value of $(\text{SO}_3/\text{COOH}) \times (\text{SO}_3 + \text{COOH}) \times 100$, the larger the water-hold capacity. Saponification and carboxymethylation under proper conditions increased the water-hold capacity. For example, water-hold capacity of a sample of mole-ratio 1:1 (sample:NaOH) increased by 22% after a saponification for 1 hr at 100°C and that of a sample of mole-ratio 1:3:2.4 (sample:NaOH:CH₂ClCOOH) increased by 14% after carboxylation for 3 hr at 40°C.

(Received August 29, 1968)

寒天の誘導体としてはアセチル⁽¹⁾, メチル⁽²⁾およびベンジル化合物⁽³⁾の研究があるが, このうちアセチル化, ベンジル化では水に不溶となりゼリーを形成しない. またメチル化では分子崩壊(分子量 1100~1300)が著しく, 冷水に可溶であり, きわめてゲルの形成は弱く工業的な用途にも問題を残している.

さきに著者⁽⁴⁾はアガロース, アガロペクチンのゼリー形成能に, それらの電解基組成が影響することをみとめたが, 今回はアガロースをけん化, カルボキシメチル化, リン酸化することによって電解基組成を変化させ, それによるゼリー形成能への影響を検討したので報告する.

実 験 方 法

1. 試料 テングサ寒天を常法によって抽出し, 塩化セチルピリジニウム⁽⁵⁾によりアガロース, アガロペクチンを分離しナトリウム塩として精製した.

2. 反応 けん化⁽⁶⁾は水酸化ナトリウムにより, カ

ルボキシメチル(CM)化はデンプンの方法⁽⁷⁾にならない, モノクロル酢酸, 水酸化ナトリウム, リン酸化はセルロースの方法⁽⁸⁾にしたがって尿素, リン酸, ジメチルホルムアミドを用いて行ない, 生成物はナトリウム塩として精製した.

3. 生成物の分析 分子量測定溶媒(4 mole 尿素+0.001 mole チオシアン酸ナトリウム)/liter を用いてウペローデ粘度計により 30±0.05°C で粘度を測定し固有粘度 $[\eta]$ を求めた. 電解基は硫酸基, カルボキシル基は重量法により, リン酸基はモリブディック法によりリンを定量した. ゼリー形成能⁽⁹⁾は試料 1g が保有しうる水の最大量を保水能力として重量であらわした.

結 果 と 考 察

1. けん化反応およびその生成物

紅藻類粘質物のけん化反応については酸型クロフノリ⁽¹⁰⁾の研究があるが, 電解質エステルは酸性側では不安定であり, 分子崩壊も著しいことが知られている. 一方,

第 1 表 けん化反応条件とその生成物の性質

No.	試 料 (mole)	NaOH (mole)	温 度 (°C)	時 間 (hr)	(mole/C _g)		β	[η]	保水能力 $\times 10^{-2}$ (g)
					SO ₃	COOH			
AG	0	—	—	—	0.025	0.045	3.8	3.60	9.0
	1	1	40	6	0.016	0.039	2.3	2.40	7.8
	2	"	60	"	0.015	0.039	2.1	2.34	9.0
	3	"	80	"	0.015	0.039	2.1	2.20	7.4
	4	"	40	1	0.019	0.045	2.7	3.55	11.7
	5	"	80	"	0.014	0.045	1.8	3.20	12.6
	6	"	100	"	0.013	0.043	1.7	3.18	15.1
	7	"	80	3	0.014	0.043	1.9	3.18	11.4
	8	"	2	6	0.016	0.039	2.3	2.40	8.3
AP	0	—	—	—	0.055	0.016	24.1	4.80	3.1
	1	1	40	1	0.036	0.016	11.7	4.32	3.8

アルカリ性溶液では比較的安定であるが、けん化反応のほかに遊離する酸の中和反応が並行して起こり、反応機構は複雑となる。アガロースにおいては電解基組成の変化以上に分子量のゲル化に及ぼす影響が大きいことをみとめた⁽¹¹⁾ので、解重合の少ないアルカリけん化をここでは採用することとした。

水酸化ナトリウムによるけん化反応の結果を第 1 表に示した。温度の上昇、時間の経過とともに、また水酸化ナトリウム濃度が増すとともに主鎖の分裂が起こっていることが粘度の変化からもみとめられた。電解基組成については温度、時間、水酸化ナトリウム濃度のいずれにおいても硫酸基は減少したが、カルボキシル基はほとんど変化せず、フクロフノリ⁽¹⁰⁾の場合と同様な傾向を示した。

つぎに粘度と保水能力の関係では [η]、つまり分子量が大きいものほど保水能力は大きい結果となり、分子間の水素結合の増加、溶解性の減少、溶液内の分子運動の抑制がゼリー形成能を増加するものと考えられる。

第 1 図に示したように、分子量に大きな差がない場合、 $\beta[(\text{SO}_3/\text{COOH})(\text{SO}_3+\text{COOH})\times 100]$ の値が小さいほど保水能力は大きい。図の A, B, C は分子量がそれぞれ約 270,000, 220,000, 140,000 であるが、 β が保水能力に及ぼす影響は多少異なっていることがみとめられる。すなわち、A, C はその勾配がほぼ等しいことから β の影響は大体同じであると考えられるが、B は β の値がわずかに変化しても保水能力への影響は大きい。このことから、分子量、電解基組成のゼリー形成能に及ぼす影響は一様ではなく、電解基組成に著しく影響される分子量があるものと思われる。いずれにしても β の減少は親水

第 1 図 けん化試料
A M: 27×10^4 B M: 22×10^4 C M: 14×10^4
原試料 (○) AG けん化物 (△) AP

性の減少となり、高分子溶解力の減少により保水能力が増すものと考えられる。したがって、分子量に著しい減少がない反応条件では原試料よりゼリー形成能は増加する結果となった。

2. CM 化反応およびその生成物

CM 化反応(第 2 表)では温度、時間、水酸化ナトリウム濃度、モノクロル酢酸の増大により、いずれも原試料の粘度より小さくなったが、この範囲の反応条件の差によっては粘度はほとんど差異はなかった。実験例が少ないため確定的なことはいえないが、温度、時間、水酸化ナトリウム濃度、モノクロル酢酸濃度のいずれの因子においてもエーテル化には最適条件があることがみとめられた。モノクロル酢酸の場合はアルカリ濃度が一定のとき、モノクロル酢酸がカルボキシル基の中和および Cl のけん化によってアルカリを消費してその濃度を低下さ

第2表 CM 化反応条件とその生成物の性質

No.	試料 (mole)	モノクロ ル酢酸 (mole)	NaOH (mole)	温 度 (°C)	時 間 (hr)	(mole/C ₆)		a)+b)	(β)	[η]	保水能力 ×10 ⁻² (g)	
						a) SO ₃	b) COOH					
AG {	0	—	—	—	—	0.020	0.021	0.041	3.7	1.74	8.4	
	1	1	1.2	3	20	1	0.020	0.079	0.099	2.0	1.40	8.9
	2	"	"	"	40	"	0.020	0.476	0.496	2.0	1.38	2.8
	3	"	"	"	60	"	0.019	0.178	0.197	2.0	1.38	6.3
	4	"	"	"	80	"	0.014	0.165	0.179	1.4	1.30	4.3
	5	"	"	"	40	3	0.020	0.146	0.166	1.7	1.38	5.7
	6	"	"	"	"	6	0.020	0.146	0.166	1.7	1.38	4.5
	7*	"	"	1	"	3	0.002	0.015	0.017	0.2	1.32	8.4
	8	"	"	5	"	"	0.006	0.204	0.210	0.4	1.38	5.6
	9	"	"	8	"	"	0.002	0.040	0.042	0.2	1.36	10.4
	10	"	0.6	3	"	"	0.014	0.042	0.056	1.7	1.48	9.7
	11	"	1.8	"	"	"	0.019	0.107	0.126	1.3	1.40	8.7
12	"	2.4	"	"	"	0.006	0.027	0.033	0.7	1.40	11.4	
AP {	0	—	—	—	—	0.031	0.052	0.083	4.2	3.26	2.1	
	1	1	2.4	3	40	3	0.026	0.128	0.154	3.1	3.30	2.7

*は酸性であるが参考のため記載した。

せるため、ある濃度のところでエーテル化が促進されるものと考えられている⁽⁷⁾。

[η]の差はほとんどないにもかかわらず保水能力にはかなり大きい差がみとめられたが、これは次に述べる電解基組成の変化によるものと考えられる。CM 化においても、[η]が減少してもゼリー形成能が増加する場合をみとめたが、増加した試料はすべて原試料よりβが小さかった。しかし、けん化の場合とは異なり、CM 化ではβと保水能力の関係はあまり顕著ではなかった。これはCM 化によりカルボキシル基が増すとともに、一方では硫酸基は減少し、硫酸基/カルボキシル基は小さくなる。βの定義から両電解基の和より比の比重は大きい。このため両電解基の和が比較的小さい通常のアガロースでは保水能力は比に影響されるが、CM 化などの反応により全電解基を増加させると、比とともに和の影響があらわ

れてくるものと考えられる。いま両電解基の和と保水能力の関係をあらわすと第2図のとおりであり、βの値よりさらに関係が深い。厳密な境界線はもちろんないと思われるが、大体両電解基の和が0.1 mole/C₆以下であれば、βの値がそれ以上の場合には和がより大きく保水能力に影響するものと考えられる。

3. リン酸化反応およびその生成物

尿素、リン酸、ジメチルホルムアミドによるリン酸化反応についてはセルロースにおいて研究がなされている⁽⁸⁾。この方法では解重合を著しく防止できるためアガロースにおいてもこの方法を用いた。第3表のように、リン酸化反応では温度が高いほど粘度の減少は著しく、リン結合率は温度が高いほど、また反応の進行とともに増加した。反応によってリン酸基は増加するが、硫酸基、カルボキシル基はともに減少するため全エステル化度は減少した。

リン酸化により[η]は減少し、前記二反応のような保水能力の増加はみとめられなかった。けん化、CM 化では反応浴がアルカリ性であるが、リン酸化反応では酸性となることから分子の崩壊が著しく、酸けん化反応による電解基の減少が保水能力の増加にまで影響を及ぼさなかったものと考えられる。[η]が原試料よりも著しく小さくない試料では、リン結合率が多くなるにしたがって次第に保水能力は減少する傾向がみとめられ、リン酸基がアガロースの溶解性を増加するものと考えられる。

なおアガロペクチンではけん化、CM 化、リン酸化い

第2図 CM 化試料

原試料 ● AG ▲ AP CM 化 ○ AG △ AP

第 3 表 リン酸化反応条件とその生成物の性質

No.	試料 (g)	ジメチルホルムアミド (ml)	尿 素 (g)	100% リン酸 (g)	温 度 (°C)	時 間 (hr)	SO ₃ (%)	COOH (%)	P (%)	[η]	保水能力 ×10 ⁻² (g)
0	—	—	—	—	—	—	1.19	0.51	—	3.60	9.0
1	1	25	25	1.5	65	1	0.48	0.35	0.28	3.40	8.6
2	"	"	"	"	80	"	0.46	0.33	0.37	2.88	5.4
3	"	"	"	"	95	"	—	—	—	—	冷水可溶
4	"	"	"	"	"	0.25	0.08	0.15	0.25	2.55	4.0
5	"	"	"	"	135	"	0.08	0.14	0.31	0.50	0.1
6	"	"	"	"	65	2	0.48	0.35	0.46	3.15	8.0
7	"	"	"	"	"	5	—	—	0.67	3.15	5.6
8	"	"	"	P ₂ O ₅ 1.5	55	0.5	0.12	0.30	0.20	1.02	3.0

* AP は AG No.1 の条件によって反応させたところ、保水能力は 5.2 から 6.0 に変化した。

ずれの場合も原試料よりゼリー形成能は増加したことから、AG に比べてゼリー形成能が劣る AP を多く含む寒天に対してもこれらの反応によってゼリー形成能をかなり向上させることが可能であると考ええる。

要 約

テングサ寒天を塩化セチルピリジニウムによりアガロース、アガロペクチンに分離し、ついでアガロースをけん化、CM 化、リン酸化し、それらの処理によるゼリー形成能の変化を検討した。

反応浴組成、温度、時間を種々変化させて実験を行なった結果、けん化、CM 化、リン酸化各試料ともに[η]の大きいものほど保水能力は大きかった。保水能力はけん化反応では (SO₃/COOH)(SO₃+COOH) の値が小さいほど大きく、CM 化反応では (SO₃+COOH) の値が小さいほど大きかった。リン酸化反応ではリン酸基が多くなるとともに保水能力は減少した。また適当な条件下で

けん化、CM 化を行なうと原試料より保水能力は増加した。

終りに、本報告に対し種々御指導いただきました静岡大学勝浦嘉久次教授に深甚の謝意を表します。

- (1) 荒木長次：日化，**58**，1338 (1937)。
- (2) 荒木長次：同上，**58**，1351 (1937)。
- (3) 高橋武雄：海藻工業，産業図書，1951，p. 50。
- (4) 布施恒明，勝浦嘉久次：工化，**70**，724 (1967)。
- (5) S. Hjertén：Biochim. Biophys. Acta，**62**，445 (1962)。
- (6) 香川毓美，勝浦嘉久次：織学誌，**2**，5 (1946)。
- (7) 坂口康義，石津稻麿：同上，**14**，814 (1958)。
- (8) 勝浦嘉久次，水野博光：同上，**22**，510 (1966)。
- (9) 勝浦嘉久次，布施恒明，狩野和夫：工化，**68**，205 (1965)。
- (10) 勝浦嘉久次，鈴木昭三郎：同上，**59**，1069 (1956)。
- (11) 布施恒明：農化，**43**，110 (1969)。