寒天の利用に関する研究(第5報)

カルボキシメチルおよびリン酸寒天のゼリー形成能

布施恒明, 後藤富士雄

(愛知県食品工業試験所)

昭和 43 年 9 月 21 日 受 理

Studies on Utilization of Agar

Part V. Jelly Forming Ability of Carboxymethyl- and Phosphate-Agar

By Tsuneaki FUSE and Fujio GOTO

Food Research Institute, Aichi Prefecture

Agar extracted from *Gelidium Amansii* was either carboxymethylated or phosphated and the viscosity, water-hold ability and jelly forming ability of the products were determined. The water-hold capacity is decreased either by carboxymethylation or phosphorylation. It is considered that this was caused by; 1) depolymerization, 2) addition of ionizing groups and 3) increase of the solubility of high polymers.

Furthermore, it was found that the water-hold capacity of these products is increased by addition of Ca^{2+} or acid. The result suggests that Ca^{2+} promotes an ionic bonding of the ionizing groups and acid decreases the negative charge increasing the bonding sites between molecules.

(Received September 21, 1968)

緒 言

寒天はきわめて少量で熱可逆性ゲルをつくるという他の高分子ゲルにはみられない性質をもっている。しかし利用上の欠点としてはきわめて酸に対して弱いことであり、そのため酸を添加して利用する工業、たとえばゼリー製造業の問題となっている。寒天のゼリー形成能に及ぼす分子自体の因子としては既報⁽¹⁾のごとく分子量、主要二成分であるアガロース、アガロペクチンの比率、アガロース、アガロペクチンを構成している糖の種類とその比率、電解基組成などがあるが、このほか分子の形態が影響するものと考えられる。

先に著者はアガロースの誘導体(けん化、カルボキシメチル化、リン酸化)を調製し、そのゼリー形成能について報告⁽²⁾したが、本報では未分離の寒天のカルボキシメチル(CM)化、およびリン酸化について同様に検討するとともに、その生成物に対する酸およびカルシウムの影響について測定した結果を報告する。

実験方法

1. 試料: テングサを原料とし、常法によって抽出

精製した寒天を試料とした。

2. 反応

i) CM 化: モノクロル酢酸と水酸化ナトリウムを用いた捏加法により 20~40°C で一定時間反応させ、90%エチルアルコールで洗浄した後、乾燥して試料とした。

ii) リン酸化: a) リン酸の場合 一定量のジメチルホルムアミドに寒天および尿素を加えて湯浴中で所定温度まで加熱し、100%リン酸を加えて反応させた。リンは試料に吸着されやすく 90%エチルアルコールでは洗浄できなかったため、水を加えて遠心分離をくり返す方法によって過剰のリンを除去した。洗浄の完了は一定量の洗液をとり、リンの定量法に従って判定した。IR によつては試料中の結合リンの吸収はみとめられなかった。

b) オキシ塩化リンの場合 一定量のピリジンに試料および無水硫酸ナトリウムを加え湯浴中で所定温度まで加熱し、オキシ塩化リンを加えて反応させた。洗浄は a) と同様にして行なった。

3. 測 定 法

粘度 : 希釈型 Ubbelohde 粘度計を用い $30 \pm 0.05^\circ\text{C}$ で測定し, 溶媒は試料のゲル化が起こらない (4 M 尿素 + 0.001 M チオシアン酸ナトリウム)/liter の溶液を溶媒として使用した.

硫酸基, カルボキシル基: 重量法によった.

リン酸基: リンを Molybdic 法により定量した.

ゼリー形成能: 試料 1 g が保有しうる水の最大量 (g) を保水能力としてあらわした.

結 果 お よ び 考 察

1. CM 化反応と生成物の性質

寒天はモノクロル酢酸および過剰の水酸化ナトリウムによって以下のエーテル化物を生成する.

反応条件と生成物の性質を第 1 表に示した. $A_1 \sim A_3$ は酸性側であったため CM 化は起こらなかったが参考として併記した. この場合カルボキシル基が原試料より増加しているのは, 固有粘度 $[\eta]$ の減少からもわかるように, 解重合により生成した低分子量の寒天が除去されたための組成の変化によるものと考えられる. A_3 は原試料より保水能力が増加しているが, これは, 比較のおだやかな酸けん化反応が起こり, 電解基の減少により高分子の溶解力が減少したためと考えられる. I-1, I-2 の反応条件では CM 化は促進されるが保水能力は著しく減少する. また II の反応は I に比べゆるやかであるが,

II-1 から II-4 に進むにつれて $[\eta]$ は減少し, また保水能力の減少もかなり大きい. いずれにしても, 反応条件によって粘度減少の程度は異なり, I- A_3 を除いてすべて保水能力は減少する. またアガロースの場合⁽²⁾と同様, 保水能力は β の値 (第 1 表の欄外に説明) よりも両電解基の和により密接に関係し, 電解基密度が小さいほど保水能力は大きい. しかし酸性側では電解基の和, β いずれの値もほとんど差がないことから $[\eta]$ の差が保水能力に影響していると考えられる.

2. リン酸化反応と生成物の性質

まず 100% リン酸を用いてリン酸化したときの反応条件と生成物の関係を第 2 表に示した. この方法では 20°C , 15 分間の反応で反応液は粘稠になり寒天が溶解しはじめる. しかし 2 時間の反応でも $[\eta]$ は著しい減少を示さず, 保水能力は逆にわずかであるが増大した. これはリン酸による酸けん化反応が起こり, リンはわずかながら結合するが, それよりも硫酸基が減少するためであろう. 尿素量の増加はリン結合率を減少させるが, これは尿素的緩和剤としての作用が強くなるためと思われる.

つぎにオキシン塩化リンによる反応の結果を第 3 表に示した. 前法の場合と同様にリン酸化した試料はきわめて溶解が容易である. 反応時間と $[\eta]$ の関係をみると, いずれの温度においても反応 1 時間後までは急激に減少するが, 以後はゆるやかである. 95°C で 3 および 5 時間反応させた試料は 0.5, および 1 時間反応させた場合

第 1 表 寒 天 の CM 化

No.	寒 天 (mole)	CA (mole)	NaOH (mole)	温 度 ($^\circ\text{C}$)	時 間 (hr)	(mole/ C_6)		S+C ¹⁾	β ²⁾	$[\eta]$	保水能力 $\times 10^{-2}$ (g)
						SO ₃	COOH				
0 ³⁾	—	—	—	—	—	0.055	0.002	0.057	153	2.92	12.5
I- A_1	1	19.2	4.8	25	3	0.008	0.007	0.015	1.5	1.38	5.7
A_2	"	12.8	"	"	"	0.008	0.013	0.021	1.3	1.70	9.2
A_3	"	6.4	"	"	"	0.010	0.019	0.029	1.5	2.28	15.4
I-1	"	3.6	"	"	"	0.013	0.159	0.172	1.4	2.40	0.6
2	"	2.4	"	"	"	0	0.226	0.226	—	2.40	0.5
3	"	1.6	"	"	"	0.051	0.049	0.100	10.4	2.45	2.5
4	"	0.8	"	"	"	0.050	0.041	0.091	9.1	2.48	2.5
5	"	0.4	"	"	"	0.003	0.061	0.064	0.3	2.72	5.0
II-1	"	0.8	6.0	20	0.5	0.055	0.004	0.059	76	2.80	12.5
2	"	"	"	"	1	0.021	0.027	0.048	3.7	2.68	11.7
3	"	"	"	40	0.5	0.027	0.041	0.068	4.4	2.77	8.3
4	"	"	"	"	1	0.023	0.044	0.067	3.4	2.63	6.6

1) S+C: SO₃+COOH (mole/ C_6)

2) β : (SO₃+COOH) $\times$ (SO₃/COOH) $\times$ 100

3) 原試料は第 1 表, 第 2 表-1, 第 2 表-2 に共通.

第 2 表-1 寒 天 の リ ン 酸 化

No.	寒 天 (mole)	DMF (mole)	尿 素 (mole)	100% リン酸 (mole)	温 度 (°C)	時 間 (hr)	P (%)	[η]	保水能力 $\times 10^{-2}$ (g)
DP2-1	1	4.2	2.7	3	20	0.5	0.29	2.90	12.5
2	"	"	"	"	"	1	0.20	2.90	12.5
3	"	"	"	0.3	"	0.5	0.14	3.05	12.5
4	"	"	"	"	"	1	0.19	2.93	12.5
5	"	3.15	13.5	"	"	0.25	0.16	2.62	12.5
6	"	"	"	"	"	1	0.14	2.60	13.3
7	"	"	"	1.5	"	"	0.15	2.58	13.3
8	"	"	"	"	"	2	0.10	2.46	13.3
9	"	"	"	3	"	"	0.11	2.62	13.3

第 2 表-2 寒 天 の け ん 化

	寒 天 (g)	NaOH (g)	水 (ml)	温 度 (°C)	時 間 (hr)	SO ₃	COOH	S+C	β	[η]	保水能力 $\times 10^{-2}$ (g)
K 1	1	1	50	100	1	0.040	0.002	0.042	80	2.55	15.0

第 3 表 寒 天 の リ ン 酸 化

No.	寒 天 (mole)	ピリジン (mole)	POCl ₃ (mole)	温 度 (°C)	時 間 (hr)	Na ₂ SO ₄ (mole)	P (%)	[η]	保水能力 $\times 10^{-2}$ (g)
OP1-0	—	—	—	—	—	—	0	2.32	6.5
1	"	50	0.05	85	3	"	0.11	2.06	5.3
2	"	"	"	"	5	"	0.11	2.04	4.6
2-1	"	40	"	70	0.5	"	0.16	1.59	13.0
2	"	"	"	"	1	"	0.23	1.56	17.6
3	"	"	"	"	3	"	0.45	1.48	13.6
4	"	"	"	"	5	"	0.42	1.39	12.5
5	"	"	"	"	7	"	0.30	1.29	11.9
6	"	"	"	"	10	"	0.22	1.20	9.6
7	"	"	"	85	0.5	"	0.18	1.38	9.0
8	"	"	"	"	1	"	0.25	1.32	8.5
9	"	"	"	"	3	"	0.47	1.26	7.9
10	"	"	"	"	5	"	0.45	1.21	7.3
11	"	"	"	"	7	"	0.33	1.17	7.3
12	"	"	"	"	10	"	0.31	1.06	6.8
13	"	"	"	95	0.5	"	0.19	1.14	7.9
14	"	"	"	"	1	"	0.28	1.00	6.2
15	"	"	"	"	3	"	0.25	1.18	5.6
16	"	"	"	"	5	"	0.25	1.31	5.1
17	"	"	"	55	1	"	0.15	1.66	12.5
18	"	"	"	"	3	"	0.32	1.55	12.5
19	"	"	"	"	5	"	0.36	1.45	12.5
20	"	"	"	"	10	"	0.37	1.36	11.3
21	"	"	0.015	70	1	"	0.03	2.08	10.9
22	"	"	0.025	"	"	"	0.12	2.02	13.9
23	"	"	0.05	"	"	"	0.13	1.90	10.0
24	"	"	0.1	"	"	"	0.13	1.55	8.8
25	"	"	0.015	"	"	0.4	0.02	2.10	12.5
26	"	"	0.025	"	"	"	0.02	2.10	12.5
27	"	"	0.05	"	"	"	0.03	2.10	12.5
28	"	"	0.1	"	"	"	0.06	2.10	10.4
29	"	"	0.25	"	"	"	0.06	2.07	8.3
30	"	"	"	"	"	"	0.10	2.04	8.3
31	(水分20%)	"	0.5	"	3	"	0.50	—	1.0
32	1	"	"	"	0.25	"	0.02	2.10	12.5

より [7] が増加しているが, これは解重合が著しく, 低分子量部分が溶解除去されたためであろうと考えられる. 反応時間によるリン結合率は高温になるほどリン結合率が極大になる時間は早く, 85°C, 3 時間反応させたものがリン結合率は最も大きかった. この値をガラクトース 1 mole 当りのモルで表わすと約 0.03 mole となり, ガラクトース約 30 個に 1 個の割合でリンが結合していることになる. リンの添加量は寒天 1 mole に対し 0.05 mole 以上添加したときリン結合率は平衡になる. 脱水剤として硫酸ナトリウムを加えると無添加の場合よりリン結合率はかなり小さい. また保水能力はいずれの反応温度においても反応時間とともに減少し, 反応温度が高いほど減少程度は大きい. しかし, 70°C では 3 時間以内の反応で原試料の保水能力よりも大きくなるが, この場合も前述のように, 硫酸基の減少がリン酸基の結合より影響が大きく, しかも粘度の減少が少ないためであろうと考えられる. なお 35°C では 5 時間反応させてもリンは結合しなかった. またリン結合率の多いものほどゼリー形成能は減少した.

3. Ca, 酸の添加による影響

寒天のゲル化には水素結合, イオン結合が関与していると考えられるが, いま水素結合として, 1) OH 基間の水素結合, 2) COOH 基間の水素結合, 3) リン酸基を介する OH 基間の水素結合が考えられ, イオン結合としては試料中にすでに Ca 等が塩として存在する場合の結合 ($\text{R}-\text{C} \begin{smallmatrix} \text{O} \\ \parallel \\ \text{O}-\text{Ca} \dots \text{O} \end{smallmatrix} \text{C}-\text{R}$, これには分子内および分子間結合が考えられる) と, 添加物として Ca が存在する場合の結合 ($\text{R}-\text{C} \begin{smallmatrix} \text{O} \\ \parallel \\ \text{O} \dots \text{Ca} \dots \text{O} \end{smallmatrix} \text{C}-\text{R}$), およびリン酸基を介する Ca イオンによる結合も考えられる. イオン結合の前者の場合については試料をすべて Na 塩としているため詳細な考察にふれることはできないが, オキシン塩化リン法によって調製した試料 OP 2-3 (P: 0.45%, 保水能力 13.6) を塩化カルシウムにより Ca 塩にした場合, 保水能力は 20.4 となり Na 塩よりゼリー形成能は大きかった.

CM 化, リン酸化試料は電解基によって高分子の溶解性が増すため, 原試料の保水能力にほぼ等しいか, またはそれ以下であるが, Ca を添加すると溶液は白濁不透明になり, ある濃度まで保水能力は増加することが第 1 図よりみとめられる. CM 化のほうがリン酸化に比べ Ca イオンの添加による保水能力の増加は著しい. C_6 当り

第 1 図 CaCl_2 添加量と保水能力の関係

○ 原試料 △ CM I-4
× OP 2-22 ▽ CM II-1
● DP 2-2 □ K 1

第 2 図 クエン酸添加量と保水能力の関係

○ 原試料 △ CM I-4
× OP 2-22 ▽ CM II-1
● DP 2-2 □ K 1
● AG 2 (DP)

第 2 図付表 寒天 (原試料) の酸添加量と保水能力の関係

クエン酸 (%)	0	0.00005	0.0005	0.005	0.05	0.5
保水能力 $\times 10^{-2}$ (g)	12.5	13.7	12.5	12.0	12.0	10.0

の電解基モル数が異なるため正確な比較はできないが, リン酸基より解離しにくい COOH 基がより分子間のイオン結合を起こしやすいのであろう. いずれにしても Ca の存在は電解基相互のイオン結合を促進するものと考えられる.

第 2 図によると酸の添加量が増すにつれて原試料では保水能力は減少するが, CM 化, リン酸化により酸の影響をほとんど受けなくなる試料もみとめられた (しかし酸が 0.5% 含まれると保水能力は減少しはじめる). COOH 基が多くなると COO^- の反発によって保水能力は大きく低下するが, 酸の添加により原試料にほぼ近い保水能力になる. これは酸が負電荷を減少させ分子相互間の結合点を増加させるものと考えられる. 原試料が酸の添加により保水能力が減少するのは, 第 2 図の付表に示したように, 原試料は電解基密度が小さいため負電荷の減少に必要な酸は微量であればよく, 過剰の酸は高分

子の収縮を強くし、溶液中の高分子相互の接近が困難となり、分子間の水素結合が妨げられ保水能力が減少するものと考えられる。なお前報⁽²⁾のアガロースのリン酸化試料 (P: 0.46%) においての酸の添加による保水能力の増大がみとめられた。

次に、1.5% 濃度の原試料およびリン酸化試料に 2% 塩化カルシウム溶液あるいは飽和水酸化カルシウム溶液を等量加えた場合のゲルの融解点を測定した。その結果、Ca 塩の差はみとめられなかったが Ca 添加試料は無添加に比べ融解点は 1.5~2.5°C 高いことから、保水能力

のより大きいゲル⁽³⁾を形成しているものと考えられる。しかし 0.5% クエン酸添加試料は無添加試料より 1.5~2.5°C 低い融解点を示した。

Ca と酸の両者を添加した場合、保水能力は CM 化、リン酸化試料ともに、酸を単独添加した場合とほとんど変わらなかった。これは酸によって負電荷が減少し Ca によるイオンが妨げられるためであると考えられる (第 3 図)。

要 約

テングサから抽出した寒天のカルボキシメチル化およびリン酸化を行ない、粘度および保水能力を測定するとともに生成物のゼリー形成能を検討した。カルボキシメチル化、リン酸化両反応ともに保水能力は減少する。これは反応による解重合とともに電解基密度が増し、高分子の溶解力の増大に起因すると考えた。また、これらの生成物は Ca または酸を添加すると保水能力は増加することをみとめた。Ca の存在は電解基相互のイオン結合を促進し、酸は負電荷を減少させ分子相互間の結合点を増加させるためであると考えた。Ca と酸の両者を添加した場合、保水能力はカルボキシメチル化、リン酸化試料ともに、酸を単独添加した場合とほとんど変わらなかった。

第 3 図 (CaCl₂+クエン酸) の添加量と保水能力の関係

○ 原試料	△ CM I-4
× OP 2-22	▽ CM II-1
● DP 2-2	□ K 1

(1) 布施恒明：農化，43，110 (1969)。

(2) 布施恒明：農化，43，296 (1969)。

(3) 布施恒明：未発表。