寒天のゲル形成に關与する因子*

布施恒明, 好井久雄

(愛知県食品工業試験所)

昭和 49 年 2 月 26 日 受理

Effect of the Chemical Composition on Gelation in Agar (Studies on Utilization of Agar Part XII)

By Tsuneaki FUSE and Hisao YOSHII

Food Research Institute, Aichi Prefecture

The effect of molecular weight (M.W.), contents of 3,6-anhydrogalactose (aGal) and sulfate group (SO_3) upon gelation properties were investigated using separated agarose (AG) or agaropectin (AP).

AG and AP were separated from several kinds of Rhodophyceae or marketing agar, and water holding capacity (WHC) was used as the main index of gelation.

The correlation between WHC and : M.W., contents of aGal or sulfate group was indefinite. However, WHC was proportional to the introduced value G_1 ($=\text{M.W.} \times \text{aGal}(\%) / \text{SO}_3(\%)$).

In addition, the temperature of liquefying and gelation rised with the increasing of G_1 value.

From these results, it was evident that the molecular weight of AG and AP, the contents of 3,6-anhydrogalactose and sulfate group were closely related to the gelation of agar.

(Received February 26, 1974)

寒天は紅藻より得られる熱水可溶の複合多糖で熱可逆ゲルをつくるものと定義できようが、その抽出、精製法によって物理的、化学的性質にかなりの差異がある。

寒天のゲル形成能は寒天の品質上最も重要なものであるが、ゲル形成能に及ぼす因子については、まだ解明されていない点もいくつか残されている。

柳川⁽¹⁾は硫酸基含量に着目し、 SO_3 として4%までは強いゲルをつくるが16%以上では全くゲル化せず、4~16%ではその中間の性質を表わすことを認めている。勝浦ら⁽²⁾は、硫酸基含量のみではなくカルボキシル基の存在も重要であり、硫酸基密度/カルボキシル基密度の値が1~2のとき強固なゲルとなり、6程度で中間、9以上ではフノリ状となることを報告している。また、土屋ら⁽³⁾はゼリー強度が3,6-アンヒドロガラクトース（以下 aGal と略記）に対するガラクトースのモル比に關係し、その比が小さいほど、ゼリー強度は増すことを認め

た。

既報^(4,5)において保水能力（寒天 1g がゲルとして保有する水の最大重量）はアガロース、アガロペクチン（以下 AG, AP と略記）の分子量に比例し、ガラクトース(%) / aGal(%) の値および（硫酸基密度 + カルボキシル基密度） $\times$ （硫酸基密度 / カルボキシル基密度）の値に反比例し、寒天の誘導体^(6,7)では電解基密度の和に反比例すること、また寒天溶液の粘度比⁽⁸⁾ ($[\eta]_{0.1\text{M NaCl}} / [\eta]_{\text{H}_2\text{O}}$) に比例し、（ガラクトース + 6-O-メチルガラクトース）/ aGal⁽⁹⁾ の値（モル比）に反比例することを見出した。

このほか、寒天のゲル化に關与する因子として、構成糖の配列順序、電解基の結合位置および分布、全体的形態 (long-range conformation) などが考えられ、またゲルの放置温度、放置時間、添加物⁽¹⁰⁾、pH⁽⁵⁾、溶媒⁽¹⁰⁾などの環境因子がある。

本報では未分離寒天、AG, AP について化学構造とゲル形成能との關係を検討した結果を報告する。

* 寒天の利用に關する研究（第12報）。

実験方法

1. 試料 実験室で原藻より抽出した寒天 11 種と市販寒天 16 種を使用した。

水洗により夾雑物を除去した後、風乾した原藻 5g を水 200 ml に 1 夜浸漬し、100°C、2 時間、還流冷却器をつけ水浴中で抽出した後、ガラスフィルター (11G1 および 17G3) により熱時濾過した。この操作をさらに 2 回くり返し、濾液を 80°C で濃縮し、1M 溶液となるようヨウ化ナトリウムを加え 1 夜放置した。これに 3 倍量のエタノールを加えて多糖の沈殿を得、エタノールによって過剰のヨウ化ナトリウムを除去した後、アセトンついでエーテルで処理した。市販寒天も熱水に溶解し、遠心分離して不溶物を除き、以下同様な操作を行ないナトリウム塩として精製した。以下、この試料を未分離寒天と記す。

AG と AP の分離は、アクリノール⁽⁹⁾によった。

2. 試料の諸性質の測定 粘度は (4M 尿素 + 0.001 M チオシアン酸ナトリウム)/混合溶媒 (30°C), 0.1 M NaCl および水 (いずれも 40°C) を溶媒として、Ubbelohde 粘度計を用いて測定した。この尿素混合溶液における固有粘度を $[\eta]_u$ とした。

分子量は、粘度式⁽⁴⁾によって算出した。

aGal は、レゾルシン-塩酸を用いる Yaphe⁽¹¹⁾ の方法により定量した。

硫酸基は重量法によった。

保水能力は、試験管に調製したゲルの濃度から求めた⁽⁹⁾。ゲル融解点は落球法⁽⁹⁾によった。ゲル強度は日寒水式ゼリー強度試験器により、1.5% 濃度のゲルについて測定した。

結果および考察

1. 試料の性質と保水能力の関係

試料の性質を Table I に示した。AG 含量は *Gelidium* 属では平均 55%, *Gracilaria* 属では平均 53% であった。*Gelidium* 属^(3,12)は 55~70%, *Gracilaria* 属^(3,12)は 61~75% あるいは 53~70% ともされており、同属、同種の原藻であっても、その含量はかなり異なる。

市販寒天は種々の原藻の混合物であるが、これらの AG 含量は原藻抽出寒天よりも高い。分子量は AG が AP より大きく、市販寒天 AG の分子量は原藻抽出寒天

Table I. Properties of Agar

		AG (%)	M. W. $\times 10^{-4}$		aGal (%)		SO ₃ (%)	
			AG	AP	AG	AP	AG	AP
Extracted agar	max.	84.6	51.0	7.0	54.0	38.3	1.5	10.5
	min.	14.4	11.0	0.4	26.1	5.7	0.2	0.9
	av.	51.4	35.3	3.3	46.3	20.3	0.7	4.9
Marketing agar	max.	94.0	19.1	10.0	52.1	40.0	13.0*	
	min.	10.0	0.2	0.1	40.8	20.8	0.4*	
	av.	72.2	6.9	2.0	46.8	29.0	3.0*	

aGal: 3,6-anhydrogalactose, * total %, AG content: *Gelidium* 55%, *Gracilaria* 53%.

のそれより小さいが、これは市販寒天は抽出時に酸を添加して長時間加熱するので解重合を起こすためと考えられる。

aGal 含量は AP が AG より少ないが、供試試料 AG の平均は 46% 程度で 44~45%⁽¹²⁾ という結果ともよく一致している。市販寒天 AG と原藻抽出寒天 AG の aGal 含量は、ほとんど差がない。これは市販寒天を製造するさい、解重合があっても構成糖の配列は変化しないためと考えられる。

著者らの AG, AP の SO₃ 含量はそれぞれ 0.7, 4.9% であった。荒木⁽¹²⁾は AG 0.02~0.04%, AP 2.6~9.7% (いずれも SO₃ として) という含量を得ており、特に AG において著者らの結果とかなりの差がある。これは荒木はアセチル化法によっており、酸による硫酸基の離脱のためと考えられる。また、この表より算出して AG はガラクトース 71 個につき、AP はガラクトース 10 個につき硫酸基 1 個を含むことになる。

Table I に示した値をもとに分子量、aGal 含量、硫酸基含量の相互の相関を求めた結果を Table II に示したが、いずれも高い相関は認められなかった。

Table III, IV に試料の性質と保水能力の関係を示した。Table III において、未分離寒天の $M_{(AG+AP)}$ は次式より計算した値を使用した。

$$M_{(AG+AP)} = [AG\% \times AG \text{ の分子量} + [AP\% \times AP \text{ の分子量}]$$

分子量、aGal 含量、硫酸基含量と保水能力との間の相関は試料によって異なり、原藻抽出寒天において市販寒天よりやや相関が高い傾向を示した。分子量 $\times$ aGal (%) および分子量/硫酸基 (%) と保水能力の間には、市販寒天を除いてかなり高い相関がみられた。aGal (%) / 硫酸基 (%) では、原藻抽出寒天 AP, 市販寒天 AG の相関が低かった。Fig. 1 より、市販寒天は二つのグループにわけられる。すなわち aGal (%) / 硫酸基 (%), また

Table II. Correlation Coefficient between Properties of Agar

	Extracted agar			Marketing agar		
	Agar	AG	AP	Agar	AG	AP
M. W. $\sim$ aGal(%)	0.72**	Δ	-0.12	-0.49*	0.25	-0.77**
M. W. $\sim$ SO ₃ (%) or (a)	-0.60*	Δ	0.74**	-0.30	0.37 ^(a)	0.98** ^(a)
aGal(%) $\sim$ SO ₃ (%) or (a)	-0.67*	-0.69**	-0.32	-0.39	0.35 ^(a)	-0.50 ^(a)
$[\eta]_u/[\eta]_{0.1MNaCl} \sim$ SO ₃ (%)		0.62*	0.66*			
(a) $\sim$ SO ₃ (%)				-0.98**		

(^a): $\{(\eta_{sp}/c)/[\eta]_u\}$, ** ($p < 0.02$), * ($p < 0.05$), Δ curve correlation. The mark is common in the following figure.

Table III. Correlation Coefficient between the Properties and Water Holding Capacity of Agar

		Extracted agar			Marketing agar		
		Agar	AG	AP	Agar	AG	AP
M. W. or $M_{(AG+AP)}$	$\sim$ WHC	0.85**	0.36	0.32	0.83**	0.99**	-0.39
aGal(%)	$\sim$ "	0.87**	0.70**	0.72**	0.46	0.44	0.31
SO ₃ (%)	$\sim$ "	-0.75**	-0.67*	-0.25	-0.32	0.28	-0.77**
M. W. $\times$ aGal(%)	$\sim$ "	0.92**	0.57*	0.75**	0.89**	0.93**	0.11
M. W./SO ₃ (%)	$\sim$ "	0.89**	0.86**	0.88**	0.40	0.97**	0.23
aGal(%) / SO ₃ (%)	$\sim$ "	0.89**	0.69**	0.54	—	0.12	—
M. W. $\times$ aGal(%) / SO ₃ (%) $\sim$ "		0.87**	0.90**	0.90**	0.86** ^(a)	0.99** ^(a)	0.11 ^(a) (0.96)**

WHC: water holding capacity, () : used $[\eta]_{0.1MNaCl}$

Table IV. Water Holding Capacity and G_1

		WHC			G_1			G_1/WHC		
		Agar	AG	AP	Agar	AG	AP	Agar	AG	AP
Extracted agar	max.	10.3	15.1	4.0	1908	5531	78	185	368	19
	min.	3.0	8.1	<1.0	14	181	2	4	22	2
	av.	6.0	11.7	2.1	503	2501	20	83	199	7
Marketing agar	max.	8.1	8.2	9.3	677	(92)	(41)	83	(11)	(5)
	min.	1.2	0.8	1.1	6	(8)	(14)	5	(10)	(12)
	av.	4.0	5.0	4.5	211	(54)	(24)	48	(10)	(5)

WHC: water holding capacity $\times 10^{-2}$ (g), G_1 : M. W. $\times$ aGal(%) / SO₃(%), () : G_2 : $\{[\eta]_u/(\eta_{sp}/c)\} \times [\eta]_u \times$ aGal(%), $[\eta]_u$: intrinsic viscosity in (4 M urea + 0.001 M NaSCN)/l.

These mark is common in the following figure.

Fig. 1. Effect of (sugar/SO₃) or Viscosity on Water Holding Capacity (WHC) (marketing agar).

○ agar, ● AP.

は aGal(%) / 粘度比の値が大きくなるにつれて保水能力が大きくなる試料と、これらの値が大きくなっても保水能力にはほとんど変化がない試料で、後者は尿素溶液における粘度、または分子量の比較的小さい試料であった。

既報⁽⁶⁾のように寒天のゲル形成能は AG, AP それぞれの分子量および aGal 含量に比例し、電解基密度、特に硫酸基含量に反比例する。この事実から各試料について、次式より G_1 値を求めた。

$$G_1 = \text{分子量} \times \text{aGal}(\%) / \text{硫酸基}(\%) \quad (1)$$

ここで分子量は AG, AP の分子量であるが、未分離寒天では前述の $M_{(AG+AP)}$ の値である。原藻抽出した未分離寒天、AG, AP の G_1 値と保水能力の関係を Fig. 2～

Fig. 2. Relation between G_1 and Water Holding Capacity (WHC).

○ extracted agar, ● marketing agar.

Fig. 3. Relation between G_1 and Water Holding Capacity (WHC) (extracted agar, AG).

4に示した。いずれも、 G_1 値が大きいものほど、保水能力は大きい。Table I にみられるように AG は AP に比べ分子量が大きく、aGal 含量が多く、硫酸基は少ない。従って G_1 値には大きな差異が認められる。しかし Table IV に示したように、AP は G_1 /保水能力の値が AG に比べて小さい。このことから AP は AG より保水能力は小さいが、ゲルを効果的に形成するものと考えられる。AG では G_1 値が増すにつれて保水能力はほぼ直線的に増大しているが、AP では G_1 値が 60 以上では保水能力はあまり変化しない。このことは、未分離寒天にもみられ、 G_1 値が 200 以上では保水能力の増大はゆるやかになる。

次に市販寒天について同様に G_1 値を求めたが、この場合も G_1 値が 200 以上では保水能力はほとんど変化なく、原藻抽出寒天と市販寒天の差異も認められない。

Fig. 4. Relation between G_1 and Water Holding Capacity (WHC) (extracted agar, AP).

Fig. 5. Relation between Viscosity Ratio and Sulfate Groups (extracted agar).

○ AG, ● AP.

Fig. 6. Relation between Viscosity Ratio and Sulfate Groups (marketing agar).

Fig. 7. Relation between G_2 and Water Holding Capacity (WHC) (marketing agar).

● used $[\eta]_{0.1M NaCl}$.

Fig. 8. Relation between G_2 and Water Holding Capacity (WHC) (marketing agar, AG).

Fig. 5, 6 に示したように、粘度比 $([\eta]_u/[\eta]_{0.1M NaCl})$ または $\{(\eta_{sp}/c)/[\eta]_u\}$, ここで $c=0.150g/100 ml$ が大きくなるにつれて硫酸基含量は多いという関係が認められたが、これは硫酸基が増すと分子内反発力によって polyion の形態は著しく伸長した形をとるようになり、粘度が増加するためである。一方、塩が存在すると高分子の解離は抑制され粘度が減少する。

市販未分離寒天, AG, AP の硫酸基含量の代りに粘度比の値を、また分子量の代りに $[\eta]_u$ を用いて次式の G_2

Fig. 9. Relation between G_2 and Water Holding Capacity (WHC) (marketing agar, AP).

△ used $[\eta]_{0.1M NaCl}$.

値を求めた。

$$G_2 = \{[\eta]_u/(\eta_{sp}/c)\} \times [\eta]_u \times aGal(\%) \quad (2)$$

G_2 値と保水能力の関係を Fig. 7~9 に示した。この場合 AG はほぼ直線関係が得られるが、AP のうち硫酸基の多い試料、また、このような AP を含む未分離寒天ではこの関係から外れる。しかし $[\eta]_u$ の代りに $[\eta]_{0.1M NaCl}$ を用いることによって、ほぼ直線関係が得られた。これは次のような理由による。

i) 前に述べたように寒天の電解基が比較的少ない場合は、尿素混合溶液によって寒天は収縮するが、電解基が多いと鎖上電荷斥力のため寒天分子の広がりも大きい。また、寒天分子糸内部で結合している対イオン群は、高濃度でかつ糸外部に対して大きな浸透圧をもつことになり、糸を膨張させる。

ii) しかし塩がさらに加わると、寒天分子近傍の電位が減少し、そのため鎖電荷の静電エネルギーが減少し、寒天分子は収縮する。また、糸内部とその外部とのイオン濃度の差が徐々に小さくなり、糸内部から外部に及ぼされる浸透圧が小さくなり、寒天分子の広がりが減少するためと考えられる。

要するに塩の添加により電解基の影響を小さくして、AP を AG のような状態にすることによって、AG と同様な直線関係が得られることがわかった。

これらのことから、寒天の保水能力は AG, AP に関係なく G_1 , G_2 値に比例することがわかる。硫酸基のきわめて多い試料では、 $[\eta] = KmM^a$ における Km 恒数が異なると考えられるから、別に適当な溶媒において $[\eta]$ を求め、 Km および M を決定したうえで G_1 値を求める必要がある。

G_1 あるいは G_2 値が保水能力と相関が高い理由については、次のことが考えられる。

一般に高分子電解質のゲル化の因子としては、高分子の結晶性と溶媒和性と考えられ、この2因子の調和によってゲルが形成される。

まず分子量が大きくなると部分的結晶化に關与する機会、すなわち高分子のからみ合いの機会が増加するため、保水能力は大きくなるものと考えられる。このことは、ゼラチン⁽¹³⁾の分子量が大きくなるにつれ、ゲル剛性率は大きくなることから推測される。また、分子量の増大によって、溶媒和性は減少するものと考えられる。

aGal 含量が多いもの、硫酸基含量の少ないものは低温で溶解しにくいこと⁽¹⁴⁾を認めたが、aGal の存在は溶媒和性を減少させ、一方、硫酸基は溶媒和性を増大させるものと考えられる。

2. ゲル融解点、みかけのゲル化点、ゲル強度と G_1 , G_2 値の関係

Fig. 10~12 に示したように、原藻抽出寒天からの AG, AP のゲル融解点は、 G_1 値が増すとともに大きくなる傾向が認められる。また、市販寒天についてもゲル融解点、みかけのゲル化点 (図は省略) は G_2 値と同様

な関係がある。これらは保水能力とゲル融解点、みかけのゲル化点が比例関係^(9,15)にあることから当然の結果であるといえる。

市販寒天のゲル強度と G_2 値の関係は、Fig. 13 に示したように低い相関 ($r=0.508$, $p<0.05$ で有意) であった。既報⁽¹⁶⁾のようにゲル強度はゲルの破碎強度を示すもので、保水能力は小さいが AP を多く含む試料では、AP の強い弾性のためゲル強度は大きくなることから、ゲル強度と保水能力はそれぞれゲルの異なる性質を

Fig. 11. Effect of G_1 on Liquefying Point of Gel (L) (extracted agar, AP).

Fig. 10. Effect of G_1 on Liquefying Point of Gel (L) (extracted agar, AG).

Fig. 12. Effect of G_2 on Liquefying Point of Gel (L) (marketing agar).

Fig. 13. Effect of G_2 on Gel Strength (market-ing agar).

表わすものと考えられる。

要 約

寒天のゲル形成能に及ぼす因子を知る目的で、原藻よりの抽出寒天および市販寒天を用いて、分子量、3,6-アンヒドロガラクトース含量、硫酸基含量とゲル形成能の関係について検討した。

(1) これらの個々の因子あるいは2個の因子と、保水能力の間には必ずしも高い相関は認められなかった。

(2) 3因子より求めた G_1 値, すなわち

$G_1 = \text{分子量}$

$\times 3,6\text{-アンヒドロガラクトース}(\%) / \text{硫酸基}(\%)$

と保水能力はアガロース (AG), アガロペクチン (AP), あるいは試料の調製法に関係なく比例することを認めた。未分離寒天では分子量の代りに $M_{(AG+AP)}$ * の値を用いたが, この場合も同様な結果を得た。

* $M_{(AG+AP)} = [AG(\%) \times AG \text{ の分子量}]$
 $+ [AP(\%) \times AP \text{ の分子量}]$

(3) 粘度比** $(\eta_{sp}/c)/[\eta]_u$ または $[\eta]_u/[\eta]_{0.1M NaCl}$ が増すにつれて、硫酸基含量は多いという関係が認められたので、 G_1 の代りに次式の G_2 を用いた。 G_2 と保水能力との間には、同様に高い相関が認められた。

** $c = 0.150 \text{ g}/100 \text{ ml}$, $[\eta]_u$ は (4 M 尿素 + 0.001 M NaSCN)/l を溶媒とし 30°C における固有粘度

$$G_2 = \{[\eta]_u / (\eta_{sp}/c)\}$$

$\times [\eta]_u \times 3,6\text{-アンヒドロガラクトース}(\%)$

硫酸基含量がきわめて多い試料は上記の関係から外れるが、上式の第1項の代りに $[\eta]_{0.1M NaCl} / (\eta_{sp}/c)$ を用いることによって比例関係が得られた。

(4) G_1, G_2 値が増すにつれてゲル融解点、みかけのゲル化点は高くなったが、ゲル強度と G_2 値には高い相関は認められなかった。

これらの結果から、寒天のゲル形成にはアガロース、アガロペクチンの分子量、3,6-アンヒドロガラクトース含量および硫酸基含量が密接に関係することを認めた。

- (1) 柳川鉄之助: 寒天, 産業図書, 1942, p. 342.
- (2) 勝浦嘉久次, 鈴木昭三郎: 工化, **59**, 1067 (1956).
- (3) Y. Tsuchiya and K. C. Hong: *Tohoku J. of Agr. Res.*, **16**, 141 (1965).
- (4) 布施恒明, 勝浦嘉久次: 工化, **70**, 724 (1967).
- (5) 布施恒明: 農化, **43**, 110 (1969).
- (6) 布施恒明: 農化, **43**, 296 (1969).
- (7) 布施恒明, 後藤富士雄: 農化, **43**, 365 (1969).
- (8) 布施恒明, 後藤富士雄: 農化, **43**, 370 (1969).
- (9) T. Fuse and F. Goto: *Agr. Biol. Chem.*, **35**, 799 (1971).
- (10) 布施恒明, 好井久雄: 愛知県食品工試年報, **11**, 69 (1970).
- (11) W. Yaphe: *Anal. Chem.*, **32**, 1327 (1960).
- (12) C. Araki: *Proc. of 5th Intern. Seaweed Symposium*, p. 9 (1966).
- (13) J. D. Ferry: *J. Am. Chem. Soc.*, **70**, 2244 (1948).
- (14) 布施恒明, 好井久雄, 後藤富士雄: 日農化大会講演要旨, p. 176 (1971).
- (15) 布施恒明, 後藤富士雄: 農化, **47**, 143 (1973).
- (16) 勝浦嘉久次, 布施恒明, 狩野和夫: 工化, **68**, 205 (1965).