報 文

採取時期を異にしたマクサ (*Gelidium amansii* LAMOUROUX)
から抽出した寒天ゲルのレオロジー的研究

渡 瀬 峰 男*・西 成 勝 好**

Rheological Studies of Agar-agar Gels Prepared from Makusa
(*Gelidium amansii*) Gathered in Different Seasons

Mineo WATASE* and Katsuyoshi NISHINARI**

*Chemical Research Laboratory, Faculty of Liberal Arts, Shizuoka University,
Ohta Shizuoka City, 422**National Food Research Institute, Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries,
2-1-2 Kannondai, Yatabemachi, Tsukuba-gun, Ibaraki-ken, 305

The rheological difference between the agar-agar gels prepared from Makusa (*Gelidium amansii*) gathered in spring and summer was examined on the basis of vibrational, stress relaxational, and ultrasonic measurement. Relaxation curves up to 10 hrs for the gels containing 1-5 wt% of agar-agar were obtained in the temperature range from 25°C to 73°C. The melting temperature of the gels and the intrinsic viscosity of the aqueous solutions were also determined. The summer seaweeds contain larger amounts of sulfate residues than the spring seaweeds. Judging from the values of the intrinsic viscosity, the molecular weight of the agar-agar extracted from summer seaweeds was larger than that from spring seaweeds. The gels prepared from the summer seaweeds show greater values of relaxational modulus, storage modulus and melting temperature than the gels prepared from the spring seaweeds. In the concentrated gels the relaxation spectrum shows a greater value in summer seaweeds than in spring seaweeds at the longer time scale. In the lower concentration, there was not so much greater difference for the relaxation spectrum between the summer seaweeds and spring seaweeds. Therefore, it was suggested that at higher concentration, the molecular weight plays a dominant role in the gel formation, and at lower concentration, the sulfate residue content is also an important factor in the gel formation.

(Received Jan. 23, 1981)

採集時期を異にしたマクサから抽出した寒天のゲル強度は経験的にかなりの差異があるといわれている。しかし、この差異に対する物理化学的研究はいまだになされていない。海藻の成長サイクルが海水の温度、海流等によって影響されるか、それとも他に要因があるのかは食品工業のみならず、物理化学的研究においても極めて興味深い問題である。アガロースは寒天ゲルの力学的挙動の大部分を占めている^{1)~4)}。アガロースは D-ガラクト

ースおよび 3, 6-アンヒドロ-L-ガラクトースのみからなる鎖状多糖類でほとんど電解基を含んでいない。著者らの研究から D-ガラクトースと 3, 6-アンヒドロ-L-ガラクトースの交互性が増加するとゲル形成能が増大することが明らかにされた⁵⁾⁶⁾。一方、寒天分子中の硫酸基は一般に溶解性を高めるといわれている。しかし、硫酸基の配位する位置によって、ゲル形成能に与える影響に差異が生じる⁷⁾。マクサから抽出した寒天は D-ガラ

* 静岡大学教養部化学教室 (〒422 静岡市大谷 836)

** 農林水産省食品総合研究所 (〒305 茨城県筑波郡谷田部町観音台 2-1-2)

クトースと3,6-アンヒドロ-L-ガラクトースの交互性が高く、さらに、分子中に多くの水酸基を含んでいるため、水素結合によって安定化された寒天の2重らせん分子は凝集して微結晶構造を形成する⁵⁾⁸⁾⁻¹¹⁾。そのため、寒天水溶液は希薄溶液でも常温でゲル化する。従って、分子量を決定するのに通常用いられている高分子溶液の研究法-光散乱や浸透圧-は適用が困難である。そのため、寒天の分子量を直接表示するかわりに、極限粘度 $[\eta]$ で表示することが多い。本報においても既報³⁾²¹⁾²⁴⁾と同様、ゲル化を防ぐためにチオシアン酸カリウムおよびサリチル酸ナトリウムを添加した希薄水溶液を用いて $[\eta]$ (100 ml/g) を求めた。寒天水溶液ゲルの弾性率の濃度依存性について、約2 wt%以上のゲルでは濃度のほぼ2乗に、それ以上の濃度のゲルでは濃度のほぼ4乗に比例する(いわゆる2乗-4乗則)ことが報告されている¹²⁾¹⁹⁾。前者は寒天の2重らせん分子間の水素結合による微結晶構造の形成が進行して安定なゲルを形成している濃度であり、後者は微結晶構造の形成がまだ進行中の濃度である⁵⁾¹²⁾。今回は上記の知見を考慮して、同一場所で5月および8月に採集したマクサから、同一操作方法で抽出した試料ゲルについて、レオロジー的研究を行なった。

実験方法

1. 試料

マクサ (*Gelidium amansii* LAMOUROUX) は、伊豆須崎産のもので、同一場所から1980年5月初旬採集したもの(春草という)および1980年8月中旬採集したもの(夏草という)を供試料とした。寒天の抽出条件は春草および夏草とも同じ操作方法で行なった。約100gの原藻を1500 mlの水に入れ、オートクレーブを用いて135°Cで1時間加熱した。それ以後の操作は既報¹³⁾とまったく同様である。春草および夏草から抽出した試料の極限粘度 $[\eta]_{0.1N-KCNS, 35^{\circ}C}$ (100 ml/g) はそれぞれ2.9および3.3である。また、試料中の硫酸基含量 (mol/C₆H₁₁O₅) はそれぞれ0.0352および0.044である。

2. 超音波音速と減衰の同時測定

春草および夏草から抽出した寒天試料の1.5 wt%水溶液の音速および減衰の同時測定を行なった。これは寒天水溶液の温度変化に際して超音波減衰および音速の変化を調べることが主目的としたものである。超音波測定装置をFig. 1に示す。超音波減衰回路および測定方法の詳細は既報⁶⁾¹⁴⁾¹⁵⁾を参照されたい。音速回路はR・Sフリップ・フロップおよび10 MHzオシレーターからゲート回路に入り、カウンタに表示された音速をプリン

Fig. 1 Schematic diagram of the apparatus for measuring ultrasonic absorption and sound velocity by means of the fixed path method

1. 3 MHz Xtal osc. 2. Gate. 3. 100 KHz. Xtal osc. 4. Frequency divider. 5. Monostable multivibrator.
6. R.F. amp.. 7. R.F. power amp.. 8. Cell. 9. Frequency converter. 10. R.F. wide band amp.. 11. Detector
12. Attenuator. 13. Synchroscope. 14. One shot multivibrator. 15. R.S. flip-flop. 16. Gate. 17. 10 MHz Osc. 18. Counter. 19. Central processing unit. 20. Printer

ターで 30 秒に 1 回の割合で記録する。使用周波数は 3 MHz で、試料セル受信水晶と送信水晶間の距離は約 80 mm で固定されている。温度ははじめ 60°C から 25°C まで下げて測定した。温度は 4 分間に 1°C の割合で下げた。なお、本装置の受信水晶と送信水晶間の距離が大きいと、音速の精度は高くなる。しかし、それと同時に試料の減衰も大きくなるため、音速と減衰を正確に同時測定することは難しい。それゆえ、高分子水溶液において、これらの研究はほとんどなされていない。本装置における音速精度は ± 0.7 m/sec である。

3. 試料ゲルの応力緩和測定法および動的粘弾性測定法

試料ゲルの作製は既報¹⁵⁾と全く同様に行なった。春草および夏草から抽出した寒天試料ゲル濃度は 1 wt% ~ 5 wt% の 5 種である。装置、方法の詳細は既報¹⁶⁾を参照されたい。動的粘弾性測定は 1.5 ~ 4 wt% の 4 種の試料ゲルについて行なった。装置、方法の詳細は既報¹⁷⁾を参照されたい。

4. 試料ゲルの融点測定

U 字型に連結したガラス管粘度計型ゲル融点測定装置¹⁸⁾を使用した。片方の管から溶液を入れて減圧することにより 2 本の管中の溶液の液面差をつくり、約 5°C の冷蔵庫に一昼夜放置した。恒温槽中で 10°C/hr の速度で昇温し、U 字型に連結した 2 つのガラス円筒にはいつているゲル円柱間の高さの差が急激に減少する温度としてゲルの融点を求めた。

結 果

1. ゲル化に伴う超音波音速および減衰の同時測定

春草および夏草原藻から抽出した寒天試料水溶液のゲル化に伴う超音波音速および減衰の同時測定を行なった。測定温度範囲は 25°C ~ 60°C である。60°C から温度を下げて 25°C まで測定した。1.5 wt% 濃厚水溶液の温度を下げていくと、ゲル化に伴って音速および減衰がどのように変化するかを Fig. 2 に示した。○および△印は各温度の減衰器の読みとり値を dB で示したものである。また、●および▲印はカウンターに表示された音速をプリンターで記録したものである。ゲル化に伴う超音波減衰の変化は主としてゾル中でゲル化開始に伴うマクロ粒子の生成による分散の寄与が主要因であるとみられる⁴⁾¹²⁾¹⁸⁾。一方、音速については、減衰ほど大きな変化は見られない。夏草および春草寒天とも濃厚水溶液の温度変化に伴う超音波音速および減衰の大きな変化は見られなかった。両試料ともゲル化開始を示すと思わ

Fig. 2 Relationship between the relative values of ultrasonic attenuation and sound velocity and the temperature of 1.5 wt % agar-agar aqueous solutions

○: attenuation (summer sea weeds)
△: attenuation (spring sea weeds)
●: sound velocity (summer sea weeds)
▲: sound velocity (spring sea weeds)
broken line: sound velocity of water

れる超音波減衰値の急激な上昇が始まるのは約 48°C で、夏草寒天と春草寒天の間にそれほど差は見られなかった。ゾルからゲルへ変化した後の音速の不規則な変化はゾル中のマクロ粒子の生成に伴うゲル相の不均衡状態か、または濃厚溶液における温度勾配が現われたものと考えられる。

2. 寒天試料ゲルの緩和曲線および合成緩和曲線

1 ~ 5 wt% の 5 種の濃度の春草および夏草から抽出した寒天試料ゲルについて 10 時間までの応力緩和実験を行なった。25°C の緩和曲線を基準にして 25 ~ 73°C の緩和曲線 $Er(t)$ に $298/T$ を掛けた還元緩和ヤング率を求めた。1 ~ 5 wt% の緩和曲線のうち夏草寒天ゲルについては、2 wt%, 3 wt% および 4 wt%, 春草寒天ゲルについては 3 wt%, 4 wt% および 5 wt% を Fig. 3 および 4 に示す。これらの緩和曲線について、25°C の緩和曲線を基準にして、移動因子 a_T の平均値を求め、緩和曲線を時間軸に水平移動して合成緩和曲線を求めた。このようにして求めた 5 種の春草および夏草寒天ゲルの合成緩和曲線を Fig. 5 および 6 に示した。

Fig. 3 Reduced relaxation Young's modulus of various concentrations for agar-agar gels prepared from summer weeds

Fig. 4 Reduced relaxation Young's modulus of various concentrations for agar-agar gels prepared from spring weeds

Fig. 5 Master relaxation curves for agar-agar gels prepared from summer weeds

Fig. 6 Master relaxation curves for agar-agar gels prepared from spring weeds

3. 緩和スペクトルおよび活性化エネルギー

春草および夏草寒天ゲルの5種の濃度から求めた合成緩和曲線について、ALFREY 近似式を用いて緩和スペクトルを計算することができる。

$$H(\log \tau) = -2.303 \left[Er \frac{d \log Er}{d \log t} \right]_{t=\tau}$$

上式より求めたそれぞれの緩和スペクトルを Fig. 7 および 8 に示す。この結果、高濃度側で夏草寒天ゲルの緩和スペクトルは春草寒天ゲルより長時間側に移動している。また平均移動因子 a_T と $1/T$ から見かけの活性化エネルギーを求めることができる。

$$H_{app.} = R \frac{\partial \ln a_T}{\partial (1/T)}$$

Fig. 7 Relaxation spectrum for agar-agar gels prepared from summer weeds

その結果を Table 1 に例示する。

Table 1 Apparent activation energy of agar-agar gels

Concentration (wt%)	Apparent activation energy (kcal/mol)	
	Summer sea weeds	Spring sea weeds
2	38.8	40.1
3	36.1	39.2
4	34.5	37.8
5	—	33.6

Fig. 8 Relaxation spectrum for agar-agar gels prepared from spring weeds

Fig. 9 Relationships of storage modulus and $\tan \delta$ vs. temperatures
(A) spring weeds, (B) summer weeds

4. 寒天試料ゲルの動的粘弾性測定

1.5~4 wt% の4種の寒天試料ゲルについて動的粘弾性測定を行なった。その結果を Fig. 9 に示す。貯蔵弾性率 E' の値は全体に夏草寒天ゲルの方が春草寒天ゲルよりわずかに高い値を示した。さらに、損失弾性率 E'' と E' の割合から力学的損失正接 $\tan \delta$ 求められる、 $\tan \delta = E''/E'$ の値も Fig. 9 から明らかなように夏草寒天ゲルの方がわずかに大きな値を示した。

5. 寒天試料ゲルの融点

2 wt% の夏草および春草寒天ゲルについてU字型に連結したガラス管粘度計型ゲル融点装置で測定した。その結果を Fig. 10 に示す。約 86~87°C 付近でゲルの融解が見られたが、夏草および春草寒天ゲルの融解温度の差はわずかに夏草寒天ゲルが高く現われた。

Fig. 10 Measurement of melting point of 2wt% gels

○: spring weeds
●: summer weeds

Δh : The difference of height between the two columns of gels in the U-type glass tube

考 察

春草および夏草寒天ゲルのレオロジー的性質の差異は古くから経験的に知られている。しかし、その差異についての物理化学的な研究は試料精製をはじめとして種々の難しい条件のため研究されていない。夏草および春草

寒天における $[\eta]$ と硫酸基含量について比較すると、両方とも前者の方が後者より高い値を示している。一般に寒天ゲル形成能を支配するのに大きな影響を与える要因は寒天の分子量²⁹⁾および側鎖基(硫酸基等の含量および配位する位置)等であるといわれている⁶⁾。分子量の増加はゲル形成能を高めるのに対して、硫酸基含量の増加はゲル形成能を低下させる。Fig. 3 および 4 における (298/T) E_r の値、および、Fig. 7 および 8 における H (Log τ) の値を見ると夏草寒天ゲルの方が春草寒天より大きな値を示している。さらに、Fig. 9 においての E' の値および Fig. 10 のゲルの融解点においても夏草寒天ゲルの方が高い値を示した。夏草および春草寒天ゲルの緩和スペクトルを比較すると、ゲル濃度が低いところでは、差異がほとんど見られない。しかし、3 wt% 以上のゲルではあきらかに差異が見られる。夏草寒天ゲルの緩和スペクトルは長時間側でなだらかに伸びているのに対して、春草寒天ゲルのそれは長時間側で急激に低下した。著者らのアガロース水溶液ゲルにおける緩和スペクトルの分子量依存性の研究²²⁾によれば 2 wt% 以下のゲルにおいても、分子量の増加につれて長時間側に緩和スペクトルが増大することが明らかになった。

以上の結果から、この場合には寒天ゲル形成能を支配する要因として、高濃度ゲルでは分子量の影響が硫酸基含量の影響より大きく現われたものと考えられる。しかし、低濃度ゲルでは硫酸基含量の影響が現われてくることが推論される。しかし、寒天のように高分子電解質で、しかも希薄溶液でゲル化する物質の分子量測定はかなり難しい。その上、抽出温度が 130°C 以下では高分子量のため、1 wt% 付近でも加熱溶解が困難な場合すらある。以上のことを考慮すると正確な分子量測定はいまだになされていないといえる。さらに、寒天のゲル化機構に主要因をなしている側鎖基の問題がある。例えば、3, 6-アンヒドロ-L-ガラクトースを生成する位置に配位した硫酸基と、その他にアキシアルおよびエクワトリアルの位置に配位した硫酸基では、脱エステル化した場合、ゲル化機構に大きな差異が生じる^{5,6)23)}。以上のような複雑なゲル化機構にもかかわらず、寒天は種々の高分子のゲル化機構の研究にモデル物質としてとりあげられている。さらに、温度を 10°C/hr の割合で上昇した場合、実験 5 項で述べた方法で測定した 2 wt% ゲルの融解点は 86~87°C であったが、1.5 wt% 水溶液を 15°C/h の割合で温度を低下させた場合、超音波減衰法によるゲル化開始温度は約 48°C であった。寒天水溶液濃度および測定条件に差異はあるが、両者の温度差が極めて

大きいことは興味ある問題である。著者はこれまでに寒天ゲルのヒステレシスを調べるために、寒天の希薄水溶液について超音波吸収法で求めたゲル化開始温度とゲルの融解温度を調べた。その結果、両者に大きな温度差が見られた¹⁴⁾。今回の著者らの研究で分子量と硫酸基含量が寒天のゲル化機構に与える影響の最終的な結論を得たことにはならないが、夏草および春草寒天のゲル形成能の差異は明らかになった。さらに、海水温度、海流あるいは酵素などが寒天のゲル化機構にいかに関与するか、また、側鎖基と分子量の関係についてもレオロジ的に興味ある問題で今後の研究が期待される。

要 約

同一産地から採集した夏草寒天のゲル形成能の差異を調べるために、超音波、動的粘弾性および応力緩和実験を行なった。夏草寒天は春草寒天に比べて、分子量および硫酸基含量が大きい。これまでの研究で、分子量が増加すれば、ゲル形成能が高くなり、硫酸基含量が増加すれば、逆にゲル形成能は低下することが知られている。

本報告における実測の結果、夏草寒天は春草寒天より還元緩和ヤング率、貯蔵弾性率およびゲルの融解点とも高い値を示した。高濃度ゲルにおいて緩和スペクトルは夏草寒天が春草寒天より長時間側に移動した。しかし、低濃度ゲルにおける緩和スペクトルの両試料の差異はほとんど見られない。

以上のことから、高濃度ゲルでは分子量の差異がゲル形成能を決める主要因であるが、低濃度ゲルになると寒天分子の硫酸基含量の影響も現われるものと考えられる。

文 献

- 1) WATASE, M., ARAKAWA, K.: *Bull. Chem. Soc. Japan*, **41**, 1830 (1968).
- 2) 渡瀬峰男・荒川 泓: 日化, **91**, 324 (1970).
- 3) 渡瀬峰男・荒川 泓: 日化, **1973** 1353.
- 4) 渡瀬峰男・荒川 泓: 日化, **92**, 37 (1971).
- 5) 渡瀬峰男・赤羽 徹・荒川 泓: 日化, **1975** 1564.
- 6) WATASE, M. and NISHINARI, K.: *Rheol. Acta*, **20**, 155 (1981).
- 7) REES, D. A.: *Advan. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **24**, 267 (1969).
- 8) REES, D. A.: *Chem & Ind.*, **19**, 630 (1972).
- 9) REES, D. A.: *Biochem. J.*, **126**, 257 (1972).
- 10) SUGGETT, A.: "Water-A Comprehensive Treatise" Vol. 4, F. FRANKS (ed), Plenum Press, New York p. 519 (1975).
- 11) BRYCE, T. A., MCKINNON, A. A., MORRIS, E. R., REES, D. R., THOM, D.: *Faraday Disc. Chem. Soc.*, **57**, *Gell and Gelling Processes*, (The Chemical Society, London) p. 221 (1974).
- 12) 山田良輝・和田八三久: 応用物理, **26**, 368 (1957).
- 13) 渡瀬峰男: 日食工誌, **20**, 104 (1973).
- 14) 渡瀬峰男: 日化, **1977**, 1416.
- 15) 渡瀬峰男: 日食工誌, **23**, 425 (1976).
- 16) 渡瀬峰男: 日食工誌, **17**, 252 (1970).
- 17) 西成勝好・堀内久弥・石田勝己・池田勝則・伊達宗宏・深田栄一: 日食工誌, **27**, 227 (1980).
- 18) HARRISON, M. N., MORGAN, P. H., PARK, G. S.: *Br. Polym. J.*, **3**, 154 (1971).
- 19) 平井西夫: 日化, **72**, 837 (1951).
- 20) 渡瀬峰男: 静岡大学教養部研究報告, **6**, 25 (1969).
- 21) 渡瀬峰男: 日食工誌, **27**, 25 (1980).
- 22) WATASE, M. and NISHINARI, K.: 投稿準備中.
- 23) ANDERSON, N. S., DOLAN, T. C. S., PENMAN, A., REES, D. A., MUELLER, G. P., STANCIOFF, D. J., and STANLEY, N. F.: *J. Chem. Soc. (C)*, 602 (1968).
- 24) WATASE, M. and NISHINARI, K.: *Rheol. Acta*, **19**, 220 (1980).

(昭和56年1月23日受理)