HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	アルギン酸の分解に関する研究(予報)
Author(s)	小黒, 美樹
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 9(4), 306-310
Issue Date	1959-02
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/23051
Type	bulletin (article)
File Information	9(4)_P306-310.pdf

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

アルギン酸の分解に関する研究（予報）

小　黒　美　樹
（北海道大学水産学部海藻化学教室）

Studies on the Decomposition of Alginic Acid (Preliminary Report)

Miki OGURO

Abstract

When alginic acid in aquatic solution was soaked in boiling water, specific hydrolysis of alginic acid was first attemped.

After the soaking in boiling water for a short time (from one to ten hours), water-soluble reducing substances were formed.

The reducing values were quantitativly determined by Somogyi's iodine titration method, and the carboxyl value by standard alkali solution. The results obtained are shown in Fig. 2.

As shown in Fig. 3, the decomposed substances from alginic acid which was treasted with soaking alginic acid solution in boiling water, were identified by paper chromatography with n-butanol-acetic acid-water (5 : 2 : 3) as the solvent.

Throughout the experiments, it was obvious that alginic acid was easily decomposable by soaking in boiling water, and by the decomposition of alginic acid, four decomposed materials were obtained.

緒　言

アルギン酸は1833年 C. C. Stanford[1] によつて褐藻類から発見された。その後，褐藻類に存在する高分子物質即ちアルギン酸の本体については，アルギン酸を種々加水分解して，分解生成物の究明えと発展した。現在までの種々の加水分解方法は次の如く整理される。即ち，酸による加水分解，加圧分解，酸による加圧分解，特殊な加水分解等で，これらの外に分解酵素（アルギナーゼ）及びバクテリヤによる分解等がある。

以上のやうな方法等により，アルギン酸の構造については，1926年，厚木・友田[2] 氏等がポリウロン酸説を提唱し，その後，1929年 L. Nelson & L. H. Cretcher[3] 等ならびに1930年，三輪[4] 氏によつてウロン酸が，天然に於て他に存在しない未知の新しい Mannuronic acid であることを確定した。この Mannuronic acid が β 1:4 型グルコシッド型結合であることが，1939年 E. L. Hirst[5] によつて証明された。

一方，1923年から1924年にかけて田所・宇賀神[6] 両氏は Mannuronic acid と共に還元性物質である Reductic acid を発見しており，1934年，麻生[7] 氏がアルギン酸を40倍量の水と共に加圧釜に入れ160°Cにて3時間加熱処理して，無色針状結晶を得，Alginetin と称している。又1941年，遠藤[8] 氏はバクテリヤを用いて，アルギン酸を分解し分解生成物は Tetra mannuronic acid であると報告している。その後1954年吉川[9] 氏はアルギン酸分解細菌及びアルギナーゼを用い，1957年 Kooiman[10] は土壌菌を用いてアルギン酸を分解させ，分解生成物は Mannuronic acid と一郡の Oligmannuronic acid をペーパークロマトグラフイによつて認めている。さらに Chanda[11] 等は1952年にアルギン酸分子中に数%の glucose の存在を認め，1955年，Fischer[12] 等はアルギン酸は Mannuronic acid と Guluronic acid がその主な構成単位であつて，その外に少量の Glucuronic acid を含む Polyuronide であると云う注目すべき報告がある。従つて現在に至つてアルギン酸の構造並びに構成物質に関して再検討が加えられつゝある。

著者は特殊な加水分解，即ちアルギン酸に蒸留水を加え，沸騰水中に浸漬するのみで簡単にアルギン酸が分解されることを見出し，興味ある二,三の結果を得たが，詳細なる検討が望まれるわけで研究中であるが，

こゝに予報として報告する。

実 験 の 部

I．試料の調製

試料たるアルギン酸の調製に当つては，日高産三石昆布から純良なアルギン酸を得ることの出来るNelson[8]等の方法，ならびに濾過操作が容易で且つ純良な高粘性アルギン酸を得ることが出来る鈴木[13]法とによつた。

II．実験方法

精製せるアルギン酸 0.3g を正確に大型試験管にとり，蒸溜水 20ml を加え冷却管をつけ沸騰水中に1時間，2時間，3時間乃至10時間まで浸漬し，各時間毎にとり出し濾過する。未分解のアルギン酸については充分洗滌し，エタノール，エーテルにて脱水，脱アルコールを行い風乾した。分解生成溶液については，pH，N/100 NaOH 溶液で滴定して酸度を求め，さらに Somogyi 試薬[14]を用いて還元力を測定した。次いで分解生成溶液を減圧濃縮して，分解生成物質の検索は一次元ペーパークロマトグラフイによつた。

実験結果及び考察

I．pHの測定

分解生成溶液について島津製硝子電極 pH メーターにて pH を測定した。pH曲線は第1図に示した如くであつて，0時間では pH 3.55で1時間後には pH 2.61となり，2時間乃至10時間までではpHは略々一定となり pH 2.55である。

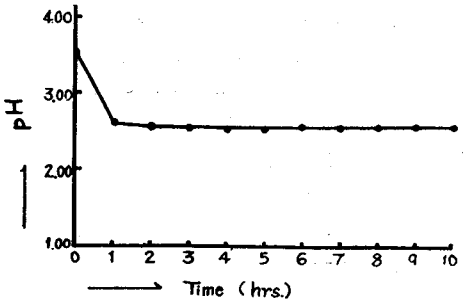


Fig. 1. pH curve of the solutions which was decompoced by boiling when the alginic acid in aquatic solution was soaked in boiling water

II．N/100 NaOH 溶液による滴定（滴定酸度）並びに還元力の測定

各時間毎に分解生成溶液中の Carboxyl を測定する目的で，分解生成溶液の 1ml をとり，指示薬としてフエノールフタレンを用い，N/100 NaOH溶液にて滴定し，滴定酸度を求めた。又Somogyi試薬を用いて分解生成溶液の 1ml をとり還元力を測定した。浸漬時間と還元力，滴定酸度との関係を図示したのが第2図である。第2図で明らかな様に，還元力及び滴定酸度は5時間までは急激に増加するが，6時間では滴定酸度は減少し還元力は5時間の還元力よりわづかに増加する。7時間になると還元力は又増加す

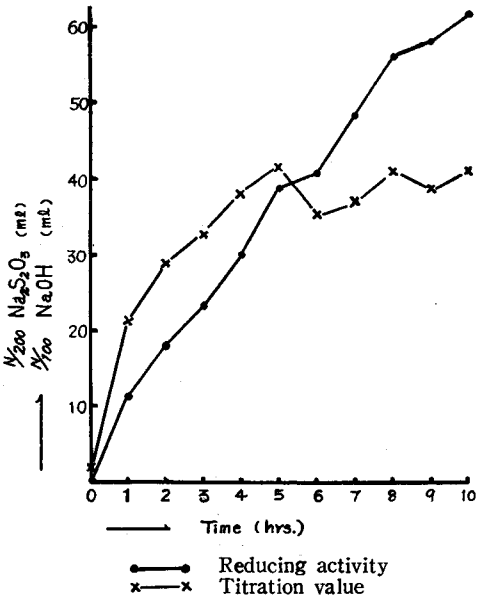


Fig. 2. Reducing activity and Titration acidity

るが滴定酸度は5時間までの如き急激な増加はみられず，わづかに増加する。8時間に於て還元力は増加し，滴定酸度はわづかながら増加する。9時間に於て滴定酸度は減少し，還元力は6時間の場合と同様に，8時間の還元力よりわづかしか増加しない。10時間では還元力及び滴定酸度はわづかな増加を見る。

従つて，滴定酸度及び還元力から，熱エネルギーによるアルギン酸の分解は浸漬時間とともに段階的に行われるものと考えられ，6時間或は9時間に於て，わづかな還元力の増加，滴定酸度の減少は，次の分解えのステップと思われる。還元力並びに滴定酸度は10時間までしか測定していないので10時間以上のことは不明であるが，得られた10時間までの結果から推察すれば，数段階の分解過程を経て還元力並びに滴定酸度が一定となるものと思われるが，更に詳細な検討が必要であり，化学的及び物理化学的方法等も加味して研究中である。

III. ペーパークロマトグラフイによる定性試験

分解生成溶液を 40°C 以下で減圧濃縮し，上昇法一次元ペーパークロマトグラフイで分解生成物質の検索を行なつた。展開剤は，n-ブタノール/酢酸/水，5：2：3の比率で，発色剤としてアニリンハイドロヂエンフタレートをペーパークロマトグラムに噴霧し，120°C で5分間加熱して発色させた。使用した濾紙は東洋濾紙 No.50である。其の結果は第3図の如きである。

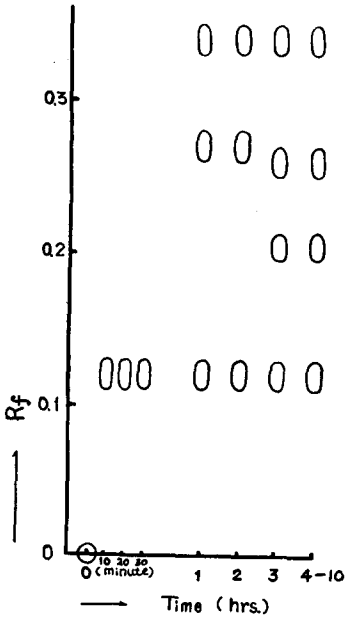


Fig. 3. Diagram of a paper chromatogram (Solvent: n-butyl alcohol/acetic acid/water 5:2:3)

即ち，0時間ではスポットが原点に現われ，10分，20分，30分では何れもスポットがRf0.11—0.13の所に1個現われる。1時間，2時間ではRf0.11—0.13，0.26—0.28，0.33—0.35の3個のスポットが現われてくる。しかし3時間では Rf 0.11—0.13，0.20—0.21，0.25—0.27，0.33—0.35の4個のスポットが認められ，更に5時間以上10時間まで同様に4個のスポットが認められる。Rf0.20—0.21のものは未分解のアルギン酸が分解されて生成したものか，或はRf 0.11—0.13のものが分解されて生じたものかについては明らかでない。

斎藤[15]氏等はアルギン酸分解酵素（アルギナーゼ）を用いてアルギン酸を分解し，分解生成物質をペーパークロマトグラフイによつて検索し，4個のスポットを認めているが，熱エネルギーによつてアルギン酸が分解され，ペーパークロマトグラフイにて4個のスポットを生ずる著者の実験結果とは全く同一であり，Rf値を比較してみると分解生成物質が同一物質である様に思われる。そして斎藤[15]氏等は，Rf 値が0.33—0.35のものは pentose で Rf 0.26—0.28，0.25—0.27のものは Mannuronic acid で Rf 0.20—0.21，0.11—0.13のものはそのダイマーであると考えているが，熱エネルギーで簡単に分解されて生じた物質の確認については検討中である。

IV. アルギン酸及び未分解物質の粘性挙動について

アルギン酸は天然産高分子電解質として最も典型的なものの一つであり，粘性挙動については，等極性高分子粘度曲線とは趣を異にした特異的な異状性を示すことは周知の如くである。従つて粘性挙動より，その分子或は粒子の分散状態を考察する多くの試みがある。著者はアルギン酸及び未分解物質分子の解離及び分散状態を知る一つの手段として，それぞれの粘性挙動について，次の如き研究を行つた。

i 試料の調製及び粘性測定法

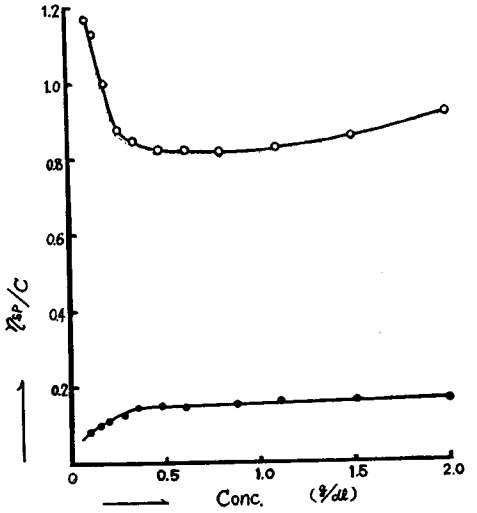
アルギン酸及び未分解物質をアルカリで中和し，2%溶液を調製しそれぞれの溶液の粘性を Ostwald 型

粘度計を用いて 25°C±0.02 の恒温槽内で測定した。

未分解物質はアルギン酸 50 g に水 1 l を加え 5 時間沸騰水中に浸漬し濾過する。40% エタノールにて数回洗滌し，次いで98%エタノールにて数回脱水を行う。この際，エタノールは白濁するので白濁が生じなくなるまで繰返し行つた後，アセトンにて脱水，脱アルコール及びエーテルにて脱アセトンを行い室温でアセトン及びエーテルを揮散せしめ，真空乾燥器中で減圧乾燥して25 g を得た。エタノール中の低分子物質は 2 g であつて，約20 g 近くのアルギン酸が分解されたものと考えられる。

ii 実験結果及び考察

粘性曲線を第 4 図に示した。第 4 図より明らかな如く，アルギン酸の粘性挙動については等極性高分子粘度曲線とは趣を異にし，その異状性は η_{sp}/C—C 曲線に於て，濃度が稀薄になるに従つて η_{sp}/C 値が減少し，ある点で最小となり，ついで staudinger の所謂ゾル領域になるに従つて再び漸次増大するが未分解物質の粘性挙動は，等極性高分子物質の粘性曲線の如きで，高分子電解質としての特異的な異状性は全然認められない。従つて未分解物質は簡単に熱エネルギーのためにアルギン酸が分解され，アルギン酸分子の形状とは全く異なつたものであると思われる。



Alginic acid before treatment.
Alginic acid after treatment.

Fig. 4. Viscosity of alginate solutions at 25°C.

以上の結果から，単に沸騰水中に短時間浸漬したのみで簡単に熱エネルギーでアルギン酸が分解され，分解生成物 4 物質を生ずることはアルギン酸の構造について注目すべきことである。又酵素による分解と熱エネルギーで分解された結果とは同一であり，且つ又酸による加水分解等に於て抵抗性が強く未分解の部分が残存することなどから考え，アルギン酸が単一の Mannuronic acid の β 1：4 型グルコシッド結合ではなく，d-Mannuronic acid の β 1：4 結合の外に他の Uronic acid，或は他の結合型の低分子物質か枝状或は糸毬状にからみ合つた状態のものと思われる。Fischer 等は Mannuronic acid と Guluronic acid がアルギン酸の主な構成単位で，この他に少量の Glucuronic acid を含む Polyuronide であることを認め注目すべき報告があるが，高分子物質の β 1：4 型結合が沸騰水中に浸漬したのみで，即ち熱エネルギーによつて簡単に切れること，そしてペーパークロマトグラフイにて 4 個のスポットを与えることは在来の常識では考えられないことであつて，アルギン酸の構造並びに構成物質については再検討されなければならないと思われる。

文　　献

1) Stanford, E. C. C. (1883). *Chem. News*. 47, 254.
2) 厚木勝基・友田宜孝 (1926). 工化 29, 515.
3) Nelson, L. & Getcher, L. H. (1929). *J. Am. Chem. Soc.*, 51, 1914; (1930). 52, 2130.
4) 三輪知雄 (1930). 日化 51, 738.
5) Hirst, J. K. N. Jones & Jones, W. O. (1939). *J. Chem. Soc.*, 1939, 1880.
6) 田所哲太郎・宇賀神花子 (1923). 北大海藻研究所報告 2, 82.

宇賀神花子 (1924). 農化 10, 727.
7) 麻生清 (1934). 農化 10, 1189.
8) 遠藤庄三 (1941). 植物学雑誌 55, 39.
9) 吉川吉男 (1954). 兵庫大学研究報告 1, 53, 55.
10) Kooiman, P. (1954). *Biochem. et Biophys. Acta.*, 13, 338.
11) Chanda, S. K., Hirst, E. L., Percival, E. G. V. & Ross, A. G. (1952). *J. Chem. Soc.*, 1952, 1833
12) Fischer, F. G. & Dörfel, H. (1955). *Helv. Chim. Acta.*, 302, 186.
13) 鈴木昇 (1953). 北大水産学部彙報 5, 277.
14) Somogyi, M. (1945). *J. Biol. Chem.*, 160, 61.
15) 斎藤恒行 (1957). 未発表