HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	エゾツノマタ(クロバギンナンソウ)の粘質について
Author(s)	辻野, 勇
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 18(4), 365-369
Issue Date	1968-02
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/23335
Type	departmental bulletin paper
File Information	18(4)_P365-369.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

エゾツノマタ（クロバギンナンソウ）の粘質について

辻　野　　勇*

Studies on the Polysaccharide of *Chondrus yendoi*

Isami Tsujino

A study has been made of the carbohydrate residues in the water soluble polysaccharide of red alga *Chondrus yendoi*.

The polysaccharide was extracted with boiling water and precipitated with ethanol. Hydrolysis of the polysaccharide with sulfuric acid yielded crystalline D-galactose and gave two substances, xylose and 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde, on paper chromatogram. Mercaptolysis of the polysaccharide has led to the isolation of the crystalline diethyl mercaptals of D-galatcose and 3,6-anhydro-D-galactose. The heterogeneous nature of this polysaccharide was confirmed by fractional precipitation with potassium chloride.

This data shows that the polysaccharide from *Chondrus yendoi* is the type composed of κ-and λ-carrageenan.

クロバギンナンソウはアカバギンナンソウとともにいわゆるギンナンソウ（銀杏草）類として，古来より塗工用糊料として用いられて来た紅藻類の一種である。このクロバギンナンソウの粘質物については Hassid[1,2] が米国産の海藻より，また森ら[3-5] は日本産の海藻より抽出精製したものについてそれぞれ研究を進め，いづれもガラクトース硫酸エステルの重合体であることを認めている。さらに Yaphe[6] は酵素（κ-カラゲナーゼ）的試験の結果ある種のクロバギンナンソウ粘質中には κ-カラゲナン型の部分が存在すると報告しているが，一方 Peat および Turvey[7] の総説中には 3,6-アンヒドロガラクトースの存在は確定していないと記載してある。しかし最近新井[8] は *Iridophycus cornucopiae* の粘質についてメタノリシスを行ない 3,6-アンヒドロガラクトースなどのジメチルアセタールを得ているので，3,6-アンヒドロガラクトースの存在は確実のようである。クロバギンナンソウは従来 *Iridaea* 属（ギンナンソウ属）に入れられていたが，後に *Iridophycus* 属（クロバギンナンソウ属）に変更され，さらに最近になり北海道産クロバギンナンソウは *Chondrus* 属（ツノマタ属）に分類されることが明らかとなり[9]，標準和名をエゾツノマタ *Chondrus yendoi* Yamada et Mikami と命名された。したがってクロバギンナンソウの粘質はツノマタの粘質であるカラゲナン（carrageenan）に近いものであることが予想される。著者はこの点を明らかにするため函館近海産のエゾツノマタの粘質について実験を行なったので，以下その結果について報告する。

実験材料および方法

原　藻：函館近海産のクロバギンナンソウ *Chondrus yendoi* Yamada et Mikami を採集後海浜で天日乾燥し，実験室に持ち帰ってから混入している狭雑物を取り除き水道水でよく洗い，天日乾燥後粘質抽出用の原藻として使用した。

粘質の調製：原藻に100倍重量の水を加えて1夜放置後ミキサーにかけてホモゲナイズし，沸騰水浴中で2時間かきまぜながら加熱抽出する。熱時布を用いてろ過し，残渣は再び水を加えて抽出する。ろ過液は合一し12000回転で10分間遠心分離を行なって上澄液を集め，活性炭を加えて加温脱色し，

* 北海道大学水産学部水産高分子化学教室

ろ過助剤(セライト)およびろ紙パルプの層を通してろ過しわずかに着色した液を集める。減圧 40°C 以下で濃縮し，少量の酢酸カリウムを添加した3倍量のアルコール中に激しくかきまぜながら滴下すると，粘質物は白色の沈殿となって得られる。遠心分離により沈殿を集め，アルコールで洗浄をくりかえして乾燥し粗粘質物とする。この粗粘質物を水に溶かしアルコールで沈殿させる操作を2回くりかえし，アルコールついでエーテルで洗浄して乾燥し白色センイ状の精製粘質物を得る。収量 25～35%。

塩化カリウムによる粘質の分別: Smith 等[10] の方法にほぼ準じて次のように行なった。精製粘質物を水に溶かして 0.24% 濃度とし，これに固体の塩化カリウムをよくかきまぜながら加えて 0.25M の濃度にする。生成した κ-型粘質の沈殿を遠心分離により集め，0.25M 塩化カリウム液で洗浄後水に溶かし3日間透析し，減圧濃縮後アルコールを加えて沈殿させる。κ-型の粘質を遠心分離した上澄液は減圧濃縮後アルコールを加えて λ-型の粘質を沈殿させ，水に溶かし透析3日後減圧濃縮し，アルコールの添加により λ-型の粘質を集める。収量 κ-型 61.3%，λ-型 26.7%。

酸による粘質の加水分解: 精製粘質物 3g を 0.3N-硫酸 150ml に溶かし沸騰水浴中で5時間加水分解し，冷後炭酸バリウムで中和し，減圧で濃縮し約 50ml とする。エーテルでくりかえして抽出して可溶部を除き，水層は Amberlite IR-120 ついで Amberlite IR-4B のカラムを通して中性の通過液を集める。減圧濃縮してシラップ状としメタノールより再結晶する。

粘質のメルカプトリシス: 粘質 10g に濃塩酸 70ml を 0°C でかきまぜながらゆっくり滴下し，さらにエチルメルカプタン 33ml を 0°C で1時間かけて滴下する。ついで 10°C 以下ではげしくかきまぜながら 48時間反応させる。反応終了後炭酸鉛の存在下で氷水 300ml 中に加えてよくかきまぜて中和する。ろ過後ろ液は硫化水素で脱鉛し，さらに Amberlite IR-120 および Amberlite IR-4B のカラムを通して脱塩し，減圧 40°C 以下で濃縮する。

光学的測定法: 赤外吸収は臭化カリウム錠剤法により日本分光製 DS-301 型分光々度計により測定。紫外および可視吸収は島津製 QB-50 型分光々度計および SV-50 型自記分光々度計により測定。旋光度は柳本製 OR-1 型自記旋光計により測定した。

ペーパークロマトグラフィー: 東洋濾紙 No. 50 を用い，展開剤は主としてブタノール－酢酸－水 (4:1:1) を使用し上昇法によった。糖の検出には *o*-アミノフェノール－リン酸およびアニリン－フタール酸を用い，紫外吸収物質は東芝製 GL-15 ランプに UV-D25 フィルターを併用して検出した。

結果および考察

エゾツノマタ精製粘質物は白色センイ状の粉末として得られ，1N-硫酸と 100°C で2時間加水分解すると，ペーパークロマトグラフィーによりガラクトース (Rf 0.11)，少量のキシロース (Rf 0.19) および 5-ハイドロオキシメチルフルフラール (Rf 0.75) に相当するスポットの存在が認められる。一般に寒天やカラゲナンにおいてその構成々分である 3,6-アンヒドロガラクトースは酸分解により容易に 5-ハイドロオキシメチルフルフラールに変化することが知られているので[11,12]，エゾツノマタ粘質中にも 3,6-アンヒドロ糖の存在が予想され，またこの粘質が顕著なレゾルシン反応[13] を示すこと (λ_{max} 550mμ) からも 3,6-アンヒドロ糖の存在がうかがえる。本粘質は塩酸で加水分解後はじめて硫酸の反応を示す (SO_4 として 27.6%) ことよりエステル硫酸の存在が確認される。これらの事実は Fig. 1. に示した赤外吸収の結果ともよく一致する。すなわち 1230～1270cm^{-1} および 845cm^{-1} にそれぞれエステル硫酸基に基因する吸収[14] を，930cm^{-1} に 3,6-アンヒドロリングによる吸収[14] を，また 1155cm^{-1} には Lloyd 等[15] が紅藻多糖類の κ-フラクションにもとづくと報告している吸収を認めることが出来る。

構成糖を確認するため 0.3N-硫酸で加水分解を行なった液は中和後エーテル可溶部を除き，イオン交換樹脂処理を行なって中性部を集め，減圧濃縮によりシラップとしメタノールを加えると mp 142

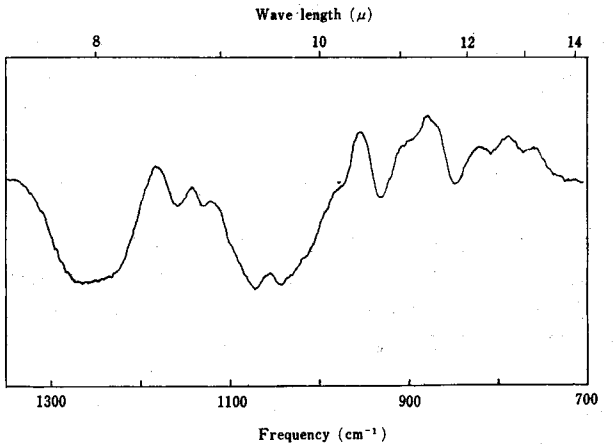

Fig. 1. Infrared spectrum of the polysaccharide from *Chondrus yendoi*

～145°C の粗結晶が 0.61g 得られる。メタノールより再結晶3回くりかえすと 0.12g の収量で mp 165.5～167.5°C となる。$[\alpha]_D^{23}$+120.4°(5.5分)→+79.6°(24時間)(C 0.515，水)を示し，ペーパークロマトグラフィーおよび混融の結果は D-ガラクトース（和光製）と一致したので，本結晶は α-D-ガラクトースと決定した。ガラクトースを分離した母液はペーパークロマトグラフィーを行ない標準品と比較することにより，残存ガラクトースとともにキシロースの存在することを確認した。エーテル可溶部は水溶液にすると Fig. 2. に示したように λ_{max} 285mμ を示し 5-ハイドロオキシメチルフルフラールの紫外吸収と一致する。シュ糖を加圧下に修酸で分解[16]して調製した 5-ハイドロオキシメチルフルフラールとパーペークロマトグラフィーの結果も一致した。

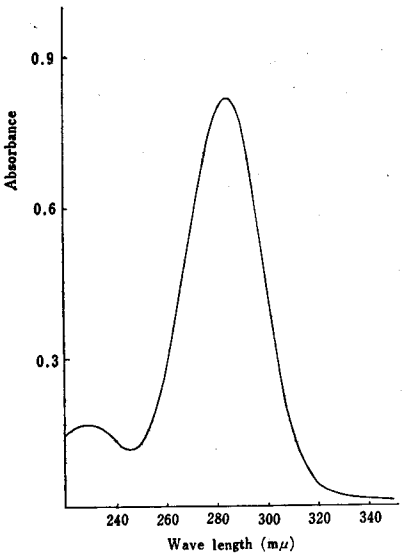

Fig. 2. Ultraviolet spectrum of the ether-extracts obtained from acid hydrolysate

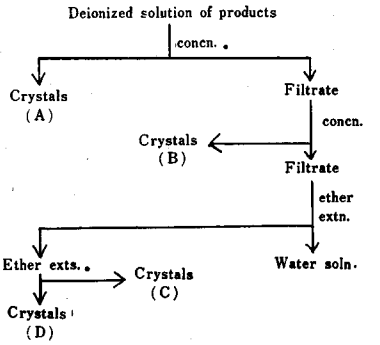

Fig. 3. Operations for mercaptolysis products of the polysaccharide

以上の結果エゾツノマタ粘質中には酸分解により 5-ハイドロオキシメチルフルフラールを生成する母体の 3,6-アンヒドロ糖の存在が予想されたので，メルカプトリシスを行ない Fig. 3. に示したようにこの糖の分離確認を行なった。イオン交換樹脂処理を行なって脱塩した反応液を減圧濃縮し，液量を 80ml として氷冷放置すると 1.8g の収量で mp 139.5～140.5°C の結晶 (A) が得られる。エタノールより 2 回再結すると mp 140～141°C, $[\alpha]_D^{29}$ −4.0° (C 1.00, 水), C 41.99%, H 7.75% を示し，D-ガラクトースジエチルメルカプタール (文献値[12] mp 141～142°C, $[\alpha]_D^{25}$ −4.8°, $C_{10}H_{22}O_5S_2$ として C 41.93%, H 7.74%) と一致する。さらにこの結晶を塩化水銀および炭酸カドミウムと 50°C で 2 時間処理[17] して脱メルカプタールすると，ガラクトースが得られることをペーパークロマトグラフィーにより確認した。D-ガラクトースジエチルメルカプタールの結晶を除いた母液は 20ml まで濃縮して生じた結晶 (B) (1.4g, ガラクトースジエチルメルカプタールと少量の 3,6-アンヒドロ-D-ガラクトースとより成る) をろ過して除く。ろ液は水を加えて 100ml としエーテルで 48 時間連続抽出する。エーテル層を放置するとさらに 0.21g の不純な D-ガラクトースジエチルメルカプタール (C) を得る。これを除いてエーテルを留去すると mp 98～102°C の結晶 (D) 1.04g を得る。この結晶を酢酸エチルより再結をくりかえすと 0.53g の収量で mp 106.5～108.5°C, $[\alpha]_D^{25}$ −7.3° (C 3.011, 水) および +26.6° (C 1.205, ピリジン), C 44.82%, H 7.51% となる。3,6-アンヒドロ-D-ガラクトースジエチルメルカプタール〔文献値[12] mp 112～113°C, $[\alpha]_D^{26}$ −9.1° (水) および +27.0° (ピリジン), $C_{10}H_{20}O_4S_2$ として C 44.75%, H 7.51%〕とよく一致する。

以上の酸分解およびメルカプトリシスの結果，本エゾツノマタ粘質は D-ガラクトースと 3,6-アンヒドロ-D-ガラクトースを主体とし少量のキシロースとより成る多糖類が硫酸エステルの型として存在し，いわゆるカラゲナンとその構成糖が同一であることが明らかとなった。カラゲナンの不均一性については Smith 等[18] が塩化カリウムにより κ-カラゲナンと λ-カラゲナンに分割して以来，種々の紅藻から得られたカラゲナンについて明らかになっている[7,14,15,19,20]。エゾツノマタ粘質の場合も赤外吸収 (1155cm^{-1}) の結果より κ-型の存在が予想されたが，塩化カリウム処理により沈殿する κ-型粘質と溶けたまま溶液に残る λ-型粘質とに分別することが出来る。この両型の粘質中における 3,6-アンヒドロ-D-ガラクトースの量 (硫酸分解により生成する 5-ハイドロオキシメチルフルフラールとして 285mμ の吸光度で測定) を比較すると，κ-型は λ-型の 4.1 倍のアンヒドロ糖を含む結果となり，従来報告されているように κ-カラゲナンはアンヒドロ糖の含有量が高く，λ-カラゲナンは低いという結果とよく一致する。

以上諸種の実験結果を総合すると，エゾツノマタの水溶性粘質はツノマタなどより得られる多糖類—いわゆるカラゲナンと同一のグループに属するものといえる。近年カラゲナンはその水溶性高分子化合物としての特性を利用して種々の食品工業上利用されている[21]が，これらの性質の 1 として粘性を市販カラゲナン (Irish Moss extract G および S) および CMC (和光製) と比較したが，エゾツノマタ粘質は CMC および G より粘性が高く，S よりわずかに低い結果を示した。これらの結果エゾツノマタはカラゲナン製造原藻としてツノマタなどとともに利用し得るものと思われる。

要　　約

エゾツノマタ *Chondrus yendoi* Yamada et Mikami の粘質を熱湯抽出し，エタノール沈殿により精製した。収量 25～35%。

本粘質は酸分解により硫酸および D-ガラクトースを生じ，またペーパークロマトグラフィーによりキシロースおよび 5-ハイドロオキシメチルフルフラールの存在が知られる。

本粘質はメルカプトリシスにより D-ガラクトースおよび 3,6-アンヒドロ-D-ガラクトースのジエチルメルカプタールを生成する。

本粘質は塩化カリウム分別により 3,6-アンヒドロ糖の含有量が高い κ-型と，3,6-アンヒドロ糖の

含有量が低い λ-型に分割される。

以上の事実よりエゾツノマタ粘質はいわゆるカラゲナン型の多糖類であることが明らかとなった。

本研究に当り御指導，御鞭撻をいただいた斉藤恒行教授に深く感謝いたします。また実験の開始に当っては大船八百蔵氏の，海藻の採集と同定には北林邦次博士および本学部植物学教室の諸氏の，また試料の調製には田中久，立野芳明，鶴本多次郎3君の各協力を得ましたので感謝します。旋光度計の使用には本学部魚油化学教室，元素分析にはエーザイ株式会社研究所の協力をいただいので謝意を表します。

（本研究は昭和41年4月日本水産学会年会で講演発表した。）

文　　献

1) Hassid, W. Z. (1933). *J. Am. Chem. Soc.* **55**, 4163-4166.
2) ——— (1935). *Ibid.* **57**, 2046-2050.
3) 森　高次郎・土屋靖彦 (1938). 農化 **14**, 609-615.
4) ——— (1943). 同誌 **19**, 297.
5) ——— (1948). 同誌 **23**, 81-82.
6) Yaphe, W. (1959). *Can. J. Botany* **37**, 751-757.
7) Peat, S. & Turvey, J. R. (1965). *Fortsch. Chem. Org. Naturstoffe* **23**, 1-45.
8) 新井　清 (1966). 日化第19年会講演予稿集 IV. p. 46.
9) 殖田三郎・岩本康三・三浦昭雄 (1963). 水産植物学 [p. 391-392]. 東京；恒星社厚生閣
10) Smish, D. B., ÓNeill, A. N. & Perlin, A. S. (1955). *Can. J. Chem.* **33**, 1352-1360.
11) 荒木長次 (1958). 実験化学講座. **22**, [p. 480-482]. 東京；丸善
12) ÓNeill, A. N. (1955). *J. Am. Chem. Soc.* **77**, 2837-2839.
13) Yaphe, W. (1960). *Anal. Chem.* **32**, 1327-1330.
14) Black, W. A., Blackmore, W. R., Colquhoun, J. A. & Dewar, E. T. (1965). *J. Sci. Food Agric.* **16**, 573-585.
15) Lloyd, A. G., Dodgson, K. S., Price, R. G. & Rose, F. A. (1961). *Biochem. Biophys. Acta* **46**, 108-115.
16) Newth, F. H. (1651). *Advances in carbohydrate chemistry* **6**, [p. 96]. New York; Academic Press
17) Painter, T. J. (1960). *Can. J. Chem.* **38**, 112-118.
18) Smith, D. B. & Cook, W. H. (1953). *Arch. Biochem. Biophys.* **45**, 232-233.
19) ÓColla, P. S. (1962). *Physiology and biochemistry of algae* [p. 341-344]. New York; Academic Press
20) Rees, D. A. (1965). *Ann. Rep. Progr. Chem.* **62**, 469-487.
21) Christensen, O. (1964). *Food Manufacture* **39**(3), 44-47.