



# コンブおよびワカメアルギン酸の酵素分解について

吉川, 三吉

---

**(Citation)**

兵庫農科大学研究報告. 農芸化学編, 5(1):94-96

**(Issue Date)**

1961-12

**(Resource Type)**

departmental bulletin paper

**(Version)**

Version of Record

**(JaLCD0I)**

<https://doi.org/10.24546/81008221>

**(URL)**

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/81008221>



# コンブおよびワカメアルギン酸の酵素分解について

吉 川 三 吉

## Enzymatic Decomposition of Alginate Obtained from *Laminaria* and *Undaria* Algae.

Mitsuyoshi YOSHIKAWA

アルギン酸の酵素分解で得られるものは主として triuronide であり、その他に少量の diuronide および単糖類と思われるもの (D-マンヌロン酸と異なる) の得られることは既に報告した。既報の研究に用いられたアルギン酸は工業的製造によるものである。このようなアルギン酸ソーダは我国では原料は少量の昆布類の他、主としてカジメを用い、炭酸ソーダで抽出を行い、また、脱色工程においては次亜塩素酸ソーダを用いている。依つてこのような酸化脱色ではその工程中にアルギン酸の構造に多少の変化をうけることも考えられる。また、Fischer<sup>2)</sup>らが述べているようにその原料により組成に差異のあることも考えられる。従つてアルギン酸の酵素分解生成物においても、用いるアルギン酸の原料により差異を生じるかも知れない。そこで筆者は昆布およびワカメより出来るだけ温和な方法でアルギン酸の抽出を行い、これを基質として酵素を作用させ、このときの生成物について得た結果を報告する。

### 実 験 の 部

**酵素液の調製** 既報<sup>3)</sup>の方法により調製した。

**コンブよりアルギン酸ソーダの調製** 市販昆布(風乾物) 1 kg を一夜流水中に浸漬し、充分水洗し、これを細断し、鈴木の方法に準じ 0.5% 塩化カルシウム溶液を加えて 100° で約 20 分間加熱し、布で濾過し、再び充分水洗する。これに 5% 炭酸ソーダ 20 l を加え、100° で 30 分間加熱してアルギン酸の抽出を行い、これに約 200 g のセライトを加えてよく攪拌し、セライトを敷いたブフナー漏斗で吸引濾過する。この濾液に N 塩酸を加えてアルギン酸を凝固せしめ、布袋で濾過し、母液を出来るだけ除き、袋のまま流水中に投入して一夜放置して塩酸を除き、次いで、内容物をアルコール中に投入し、再三アルコールを取替え、充分洗滌するとき、色素の殆んどを除去することが出来る。アルコールを除いたのち、このアルギン酸に炭酸ソーダ溶液を加えて溶解し、pH を 7.0~7.8 とし、最

初に濾紙の上に粗いセライトを敷き、更にこの上に薄くフィルターセルを敷いたブフナー漏斗を用いてアルギン酸ソーダ溶液を濾過し、得られた透明な濾液に 3 倍量のメタノールを加えてアルギン酸ソーダを凝固せしめ、これを集めて、メタノール次いでエーテルで充分洗滌し、デシケーター中で減圧乾燥し、232 g (収量 23.2%) を得た。

**ワカメよりアルギン酸ソーダの調製** 市販ワカメの風乾物 160 g を水洗し、次いで 0.1 N 塩酸で洗滌し、これに 3% 炭酸ソーダ 約 500 ml を加え、100° で 20 分間加熱してアルギン酸の抽出を行い、濾過し、これに活性炭を加えて脱色し、濾過し、濾液に 1 N 塩酸を加えてアルギン酸を凝固させ、充分水洗し、これに炭酸ソーダを加えて溶解し、pH 7.2~7.6 に調整し、3 倍量のメタノールを加え、凝固したアルギン酸ソーダを布袋で濾過し、メタノールおよびエーテルで充分洗滌し、デシケーター中で減圧乾燥して約 31.5 g (収量 19.7%) を得た。

**アルギン酸の酵素による分解** アルギン酸ソーダ 0.2 g、食塩 0.6 g を 10 ml の水に溶解し、これに M/15 燐酸緩衝液 (pH=7.2) 5 ml および酵素液 5 ml を加え、40° で 3~16 時間反応せしめた。

**アルギン酸の酵素分解生成物** 上記のようにして得られた昆布およびワカメアルギン酸の反応液に 1~2 倍量のメタノールを添加し、濾過し、濾液を減圧濃縮してシラップとした。このものについてペーパークロマトグラフィー(展開剤<sup>1)</sup>: ブタノール、メタノール、水=5:4:4) を行い、既報の結果と同様、Rf 0.38, 0.21, 0.14 のスポットを認め、またこの分解物の展開した濾紙の Rf 0.14 相当部分の抽出液について紫外線吸収曲線(日立分光光度計 EPU-2 型使用)を求め、230 m $\mu$  附近で極大の吸収を認め、また、0.1 N ブロム水を顕著に消費するので、これらの生成物は既報<sup>1)</sup>で得られた物質に一致するものに推論した。

**Rf 0.38 の物質について** 昆布およびワカメのアルギ

第1表 硫酸加熱処理前後における還元力の変化。  
(Somogyi 法における N/200 ヨード消費量)

1 N 硫酸 加熱処理前	1 N 硫酸加熱処理後の還元力 ( $\frac{N}{200}$ I <sub>2</sub> 液 ml 数 )			
	30分	70分	120分	240分
6.45	4.68	4.95	5.33	4.49

ン酸の酵素分解においても既報同様 Rf 0.38 の物質が認められたので、この物質の性質について得られた結果を記載する。

アルギン酸の酵素分解生成物について、ペーパークロマトグラフィーを行うと Rf 0.38, 0.21, 0.14などのスポットが認められる。これらのスポットはいずれもフタル酸アニリンで発色させると桃紅色を呈するが、Rf 0.38のものは特に呈色し易く、他のスポットを検索するために加熱をつづけると褪色し、黄色ないし黄褐色となる。Rf 0.38, 0.21, 0.14の物質を含む溶液を2 N 硫酸で沸騰湯浴中で加水分解し、ペーパークロマトグラフィーで検索すれば D-マンヌロン酸塩および L-グルロン酸塩 (L-gulonate) のスポットのみが認められた。また、Rf 0.21および0.14の di- および triuronide の混合液に酵素を作用させても Rf 0.38の糖の生成もなく、全く変化が認められなかつた。ペーパークロマトグラムより Rf 0.38のスポット相当部分を切りとり、抽出した液は Tollens のウロン酸の反応<sup>4)</sup>を示した。

更に酵素によるアルギン酸分解生成物をセルローズカラムを通して分離した Rf 0.38 の糖のバリウム塩について調査し、次のような結果が得られた。Somogyi 法<sup>5)</sup>により還元力を測定すると、その還元力価はマンヌロン酸塩の場合の36%しか得られず、次亜沃素酸塩法で測定した結果から分子量を求めると 206 (マンヌロン酸バリウム塩の分子量は262) であつた。また、不飽和結合の存否を確めるために Rf 0.38の物質のバリウム塩溶液に 0.1 N ブロム溶液を添加し、ブロムの消費量を求めると、この物質 1 モル (分子量をマンヌロン酸塩に等しいものとして) 当りブロム 0.12~0.13モルを消費した。また、これと同時に得られた oligouronide のような紫外部における極大の吸収も認められなかつた。この物質を 1 N 硫酸100°で加熱するときの還元力の変化を Somogyi 法<sup>5)</sup>により測定し、酸加熱処理前後の変化を N/200 の沃素溶液消費量で表すと、第1表のような結果が得られた。すなわち、還元力の増減において殆んど変化が認められなかつた。しかし、ペーパークロマトグラフィーの検索では約1時間の酸加熱処理物では 0.38 の Rf をもつス

ポットは認めることが出来ず、また新しいスポットの生成も認められなかつた。

Linker らはヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸などの多糖類を細菌の酵素で分解するとき、不飽和結合をもつウロン酸残基を含む二糖類の得られること、さらに、これに菌体内より抽出した酵素を作用させると  $\Delta$ 4,5不飽和ウロン酸が遊離され、これがさらに 4-デオキシ-5-ケトウロン酸に変わると報告している。

筆者はこの未知の物質についてペーパークロマトグラフィーの Rf 値、およびその性質の不安定さから一応このような可能性を考慮したが、紫外部の吸収、ブロム水の消費量からはさきに得られた oligouronide のような不飽和結合の存在は考えられず、また、di- および triuronide の混合液に酵素を作用させても何ら新しい<sup>6)</sup>スポットの生成を認めることが出来なかつたので Linker らの述べたケトウロン酸を考えるのは無理があるように思われる。

## 要 約

原料を異にするアルギン酸の種類により、また、調製法の多少の差異によつてもアルギン酸の酵素的分解生成物<sup>1,3)</sup>に差異が認められるかも知れない。すなわち、既報の結果は特定なアルギン酸塩を用いたためかも知れない。そこで本報では昆布およびワカメから出来るだけ温和な方法によりアルギン酸を調製し、このアルギン酸塩を基質にして、これに酵素を作用させてその生成物について検索を行つた。そして既報と同様にペーパークロマトグラフィーで Rf 0.38, 0.21, 0.14のスポットを得、このうち、Rf 0.14の物質は紫外部230 m $\mu$  附近で極大の吸収をもち、既報の不飽和結合を含む triuronide に一致するものと思われる。

アルギン酸の酵素分解で得られる未知物 (ペーパークロマトグラフィー Rf 0.38) の性質について調査したが oligouronide の加水分解で生じたものと考えられることは出来なかつた。

本研究を遂行するに当り、種々ご指導ご鞭撻をいただいた三宅捷先生、中村幸彦先生、吉村貞彦先生に謝意を表します。(生物化学講座 昭和36・8・31受理)

## 文 献

- 1) 吉川三吉：農化大会要旨.24(1960):科学, **31**, 552 (1961).
- 2) F. G. Fischer und H. Dörfel : *Z.Physiol. Chem.*, **302**, 186 (1955).
- 3) 吉川三吉：生化, **33**(11), (1961) 掲載予定.
- 4) B. Tollens : *Ber.*, **41** 1788 (1908).
- 5) M. Somogyi : *J. Biol. Chem.*, **160**, 61 (1945).
- 6) A. Linker, P. Hoffman, K. Meyer, P. Sampson and E. D. Kokn : *J. Biol. Chem.*, **235**, 3061 (1960).
- 7) N.Suzuki: *Mem. Fac. Fish., Hokkaido Univ.*, **3**, 93 (1955).

## Summary

Sodium alginates, which were prepared by mild treatment from *Laminaria* algae and *Undaria Pinatifida* Sur., were decomposed by the enzyme, alginase. Unknown uronate, di- and triuronide were found in the digests, and the results were identical with those reported in previous paper.

Properties of the unknown uronate showing a spot with Rf value of 0.38 in paper chromatogram

were studied. This substance gave Tollens test specific for uronic acid, and was comparatively unstable in hot acid solution. Its formation was not found, though the oligouronides isolated from the digest of alginate were incubated with the alginase. It seemed unlikely that the unknown substance was produced by hydrolysing the oligouronides.

(Biochemical Laboratory)