

海藻多糖類の特性変化と金属類の結合能

——カラギーナンとアルミニウムイオン——

奥田 弘枝, 中川 禎人^{*1}, 藤田 梢^{*2}, 竹内 歌苗^{*2}, 柄本 照美^{*2}

(2004年10月8日 受理)

Relationship between Changes in Properties of Seaweed Polysaccharide and Metallic Ion Binding Capacity *in vitro*

—— Carrageenan and Aluminum Ion ——

Hiroe OKUDA, Sadato NAKAGAWA, Kozue FUJITA,
Kanae TAKEUCHI and Terumi TSUKAMOTO

Abstract

As a dietary fiber which combines with aluminum ions, carrageenin extracted from seaweed polysaccharide has the characteristic of accelerating the elimination of various toxic substances and to prevent internal contamination.

It has been about 20 years since carrageenin began being used as a natural food additive and today it is firmly established in the food industry. On one hand, aluminum absorption from various kinds of cooking utensils or ingestion from food and drink is an inevitable situation. And yet, it has been reported that this aluminum is taken into the body and stored in the brain, leading to dementia or other symptoms caused by aluminum toxicity.

If carrageenin can control this aluminum absorption, it will help to improve these symptoms of dementia. The purpose of this study is to make clear the relationship between carrageenin and the aluminum ions and to review the influence that different carrageenin concentrations, variations in the pH, changes in temperature and variations in time have on the relationship between carrageenin and the aluminum ion interaction.

Key words: seaweed polysaccharide 海藻多糖類, carrageenan カラギーナン, aluminum ion アルミニウムイオン, metallic ion binding capacity 金属類の結合能

^{*1} 九州栄養福祉大学

^{*2} 2002年度広島女学院大学生生活科学部卒業生

I 緒 言

カラギーナンは、紅藻類のイバラノリ、キリンサイ、ギンナンソウ、スギノリまたはツノマタ全藻より得られる細胞間多糖であり、D-ガラクトースが交互に $\alpha 1-3$, $\beta 1-4$ 結合した直鎖状多糖類である。

カラギーナンはゲル化剤、安定剤、増粘剤として食品産業等で広く使用されており^{1,2,3)}、その構造の違いによりカッパ (κ)、イオタ (i)、ラムダ (λ) 等に分類されている。これらは、塩類や他の増粘剤との反応や、たんぱく質反応性等の性質が異なるため、食品以外にも乳化香料や化粧品、インクなどにも使用されている。

カラギーナンは消化管より吸収されず、一連の安全性試験において毒性のないことが確認されており^{4,5)}、一日の許容摂取量も特に定められておらず、食品添加物として使用されはじめてから約20年を経過し、現在、わが国の食品工業界にしっかり定着している。

一方、アルミニウムは土壤中に多く存在するため、植物などの食品自体や飲料水にある程度含まれており、保存料や着色料などの食品添加物にも含有され、一日 20~25 mg (一日の摂取量は 10~40 mg) に達する場合がある。

また、調理器具や保存容器、および、食品加工用に用いられる機械からの溶出も大きい。酸性条件下によってアルミ鍋からは 100 ppm レベルの高濃度のアルミが溶出してくることが明らかにされている。

これらのアルミニウムが体内に入り、脳内に蓄積されると、痴呆症状をはじめとする毒性を発現するという報告もあり、大阪大学の遠山正弥教授らの培養神経細胞を使った実験により、アルツハイマー病との関連性が確認されている。この研究によると、アルミニウムと低酸素という2つのストレス要因が重なることで強い病原性を発揮するとしている。

カラギーナンが生体へのアルミニウム (Al) 吸収を抑制することが出来れば、これらの痴呆症状の改善につながるとともに、健康食品や機能性食品の素材としての利用効果が大きいと考えられる。そこで硝酸 Al と乳酸 Al の二種類を用いて、カラギーナン (κ 型) との結合能について反応時間、温度を変化させ、反応溶液の濃度や pH 等の違いによる影響を検討したので報告する。

II 実験方法

1. 供試試薬

カラギーナン (κ 型) とアルミニウム (Al) との結合能をみるため、カラギーナンは GENUGEL, κ -carrageenan type WR-78JK を用い、試薬は、硝酸アルミニウム (片山化学工業株式会社製)、乳酸アルミニウム (キシダ化学工業株式会社製)、0.01 mol/L エチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム溶液 (関東化学工業株式会社製)、0.01 mol/L 酢酸亜鉛溶液 (関東化学工業株式会社製)、ヘキサメチレンテトラミン (関東化学工業株式会社製)、キシレノールオレンジ=XO 指示薬 (和光純薬工業株式会社製)、およびトリス (ヒドロキシメチル) アミノメタン (ナカライテスク株式会社製) を用いた。

2. カラギーナン溶液と反応方法

0.1 M の硝酸および乳酸 Al 溶液 25 ml に 1.0% カラギーナン溶液を 50 ml 添加し、スターラーで攪拌しながら、反応条件を変えながら反応させた。反応後、反応液を濾過し、濾液 10 ml を 100 ml 容メスフラスコにとり、100 ml にメスアップし、これを試料溶液とした。

3. Al 定量法

Al の定量はキレート滴定法によった。定量操作方法を図 1 に示す。

4. カラギーナンと Al の結合率の算出

キレート滴定値から、Al 溶液 25 ml 中の Al 量を求めた。

$$\text{Al mg} = (a - b) \times 0.2698^{*1}$$

a : キレート滴定で加えた EDTA 標準溶液量 (ml)

b : 逆滴定に要した Zn 標準溶液量 (ml)

※1 : 力価 (ファクター)

希釈倍率 (A と B) を考慮し、濾液全体量の Al 量は次式によった。

$$\text{Al mg} = (a - b) \times 0.2698 \times \frac{100}{20} \times \frac{75}{10} \Rightarrow C$$

この反応に用いたカラギーナン溶液 50 ml 中のカラギーナン量 (g) は $50 \times 0.005 = 0.25$ となる。

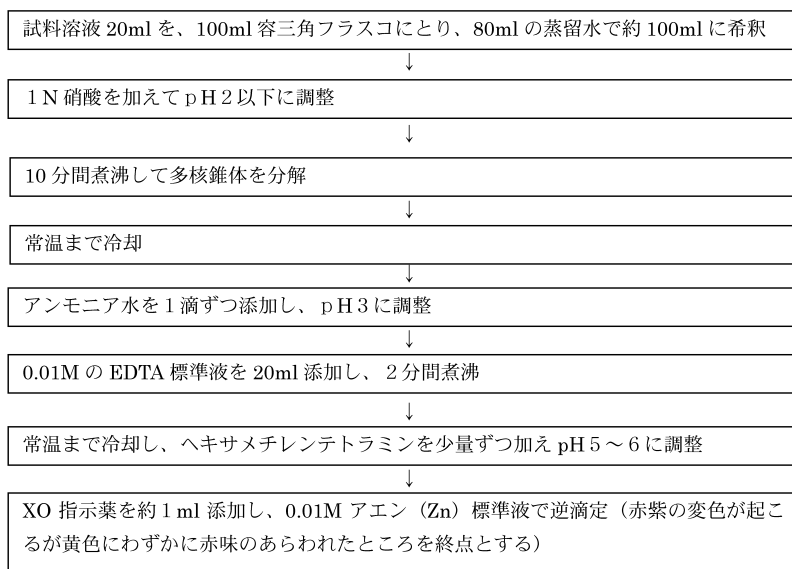


図1 カラギーナンと Al 結合の測定法

カラギーナン中の硫酸根含量は18%⁶⁾であるからカラギーナン 0.25 中に含まれる硫酸根含有量は

$$0.25 \times 0.18 = 0.045 \text{ g} = 45 \text{ mg}$$

45 mg の硫酸根と化学量論的に過不足なく結合する Al 量は

$$67.45 \text{ (Al)} : 360.2 \text{ (SO}_4\text{)} = X : 45 \text{ mg}$$

$$X = 8.4265 \text{ mg} \doteq 8.427 \text{ mg}$$

$$X : \text{Al 量}$$

8.427 mg の Al と結合した場合、結合率は100%と推定される。従って、カラギーナンの Al 結合率は次のように求められる。

$$\text{Al 結合率 (\%)} = \frac{(D-C)}{8.427} \times 100$$

$$D = \text{硝酸/乳酸 Al 25 ml 中の Al 量 mg}$$

カラギーナンと Al との結合率を調べるため、硝酸 Al と同様に乳酸 Al についても、反応時間、反応液の温度や濃度および pH を変化させて予備実験を行った。しかし、乳酸 Al の結合率には反応液の pH が大きく関係しているのではないかと推察された。そこで、安定した結合率

や信頼度の高い値を得るため、乳酸 Al の pH を 3 に調整し、反応時間・温度・濃度の違いによる実験を行った。

Ⅲ 実験結果および考察

1. カラギーナンの硝酸 Al および乳酸 Al 結合能に及ぼす反応時間の影響

カラギーナンと硝酸 Al および乳酸 Al イオン結合率に及ぼす反応時間について、1分～90分間の影響をみた(図2)。

硝酸 Al の場合、反応時間が1分では、結合率は約9%であったが、その後、急速に結合率が上昇し、3分で約40%となり最大の結合率となった。それ以降はほぼ平衡状態を保ち、90分後でも結合率は約33%であった。

1分では両者が十分に反応するに足りる時間ではなかった。しかし、反応に必要な時間は3分間あれば充分といえる。

最大の結合率に達した後は、図2のように平衡状態を示したことから、最大の結合状態に達した後は、反応時間が長くなっても結合率は変化しないことが分かった。

乳酸 Al の場合、Al イオン結合能に及ぼす反応時間の影響は、3分で最大の結合率になり約37%であった。その後、結合率は反応時間が長くなるに従って、緩やかに低下し、30分以降は平衡状態になった。

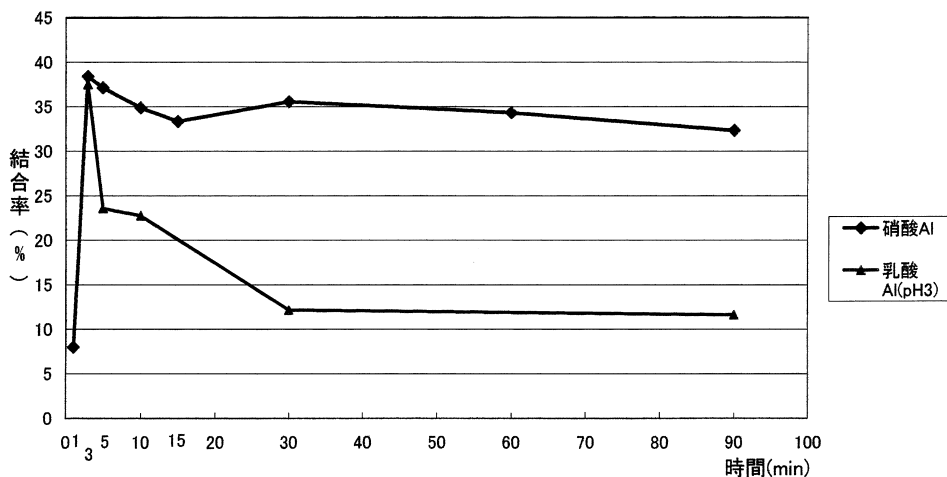


図2 カラギーナンのアルミニウム結合能
——反応時間の影響——

カラギーナンと硝酸 Al, および乳酸 Al との Al イオン結合率を比較すると, 両者とも反応時間が 3 分までは急速に結合率が上昇し, 最大の約 40% に達した。

硝酸 Al の場合は, 反応時間が 3 分以降は結合率は約 4 割に達し, 反応時間には余り影響を受けず, 時間が長くなっても安定した結合状態を示すといえる。

しかし, 乳酸 Al の場合は, 最大の結合率に達した後, 反応時間が長くなると, 結合率が低下することが分かった。

2. カラギーナンの硝酸 Al および乳酸 Al 結合能に及ぼす反応温度の影響

カラギーナンと硝酸 Al および乳酸 Al の Al イオン結合率に及ぼす温度について, 15°C~90°C の影響をみた (図 3)。

硝酸 Al の場合, 低温側の 15°C と, 高温側の 90°C で, 結合率が約 50% と最大値を示した。20°C ~70°C の温度での結合率は 30% 前後で, ほぼ平衡を保ち, 30% 前後であった。

κ -カラギーナンは低温で凝固ゲルを形成する性質があることから⁷⁾, 反応温度が 15°C では, カラギーナンと Al が結合する際に, カラギーナンの凝固ゲルに, カラギーナンと結合していない Al も一緒に取り込み, 凝固してしまったため, 結合率が高くなったのではないかと考えられる。

カラギーナンのゾルは pH 3.5 以下では常温で加水分解が起こり, さらに加熱時においては加水分解が加速する⁸⁾。90°C でのカラギーナンと硝酸 Al の反応液の pH は 2.8 であった。これは, 加水分解が起こる pH の条件に当てはまり, さらに熱を加えたことから, 加水分解が急激に加

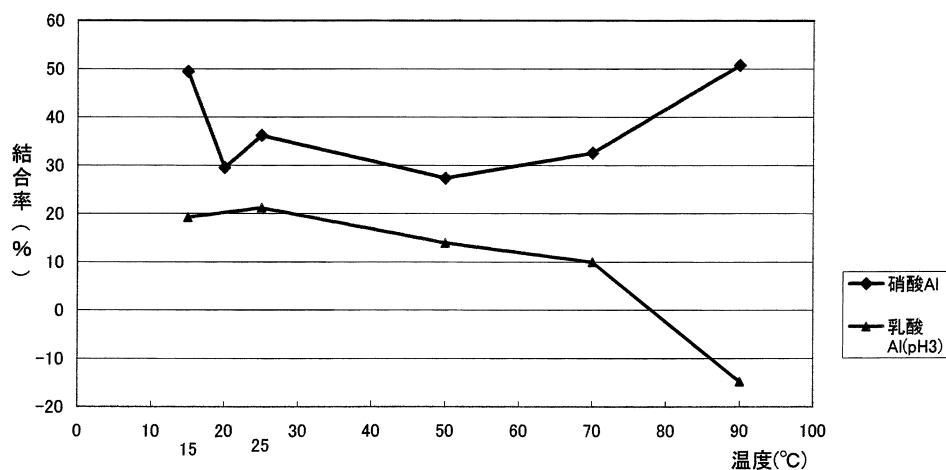


図 3 カラギーナンのアルミニウム結合能
——反応時の温度の影響——

速し、イオン交換がおこりやすくなったのではないかと考えられる。そのため、結合率が上昇したといえる。

カラギーナンと硝酸 Al の結合率は、反応温度の影響を受け、高温側で高くなった。20°C～70°Cでは、結合率は高温より低いがほぼ安定していた。

乳酸 Al の場合、アルミニウムイオン結合率に及ぼす温度の影響は、25°Cで最大の交換率となり約21%であった。その後、温度が高くなるに従って、結合率は徐々に低下した。

溶液状態でのカラギーナンは、酸性になると熱安定性が悪くなる⁹⁾。この実験では、カラギーナンを pH 3 の乳酸 Al と反応させたことから、カラギーナン溶液が酸性になったものと考えられる。そこへ、さらに熱を加えたことから、カラギーナンが不安定になったものと推察される。そのため、90°Cの高温ではカラギーナンは最も不安定になり、結合率もマイナスの値を示したのではないかと考えられる。汙液中に Al 以外にキレート滴定値に影響を及ぼす何らかの要因が生じて、みかけ上は反応前の Al 溶液より、反応後の濾液中の Al 含有量が多くなったためと推察される。

硝酸 Al と乳酸 Al を比較すると、硝酸 Al は、反応液の温度が15°Cと90°Cで約50%、乳酸 Al は25°Cで約21%と最大の結合率を示したことから、硝酸 Al の方が乳酸 Al より約2倍高い結合率を示した。

また、乳酸 Al の反応温度を変化させて、カラギーナンと反応させた場合、結合率が不安定になった。しかし、硝酸 Al は反応温度を変化させても結合率は安定していたことから、この現象は乳酸 Al に特有のものといえる。

3. カラギーナンの硝酸 Al および乳酸 Al 結合能に及ぼす反応液の濃度の影響

カラギーナンと硝酸 Al および乳酸 Al の Al イオン結合率に及ぼす反応液の濃度について、0.005 M～0.5 M の影響をみた (図 4)。

硝酸 Al の場合、反応液が 0.01 M の濃度での結合率は約32%、0.02 M の結合率は、約17%と、低い濃度での反応は結合率の値が不安定という結果であった。

0.05 M で約35%の結合率であったが、0.1 M では最大の交換率の約40%となった。

0.02 M 以降は、濃度が高くなるに従って、徐々に結合率が上昇し、0.1 M で最大の結合率となり、その後、0.2 M 以降、図のように反応液の濃度が高くなるに従って結合率は低下した。 κ -カラギーナンは部分的に硫酸根 (SO_4^{2-}) を持ち、反応溶液中で解離した SO_4^{2-} と Al^{3+} が入れ替わり、 Al^{3+} とカラギーナンが結合する^{8,9)}。

反応液の濃度が 0.01 M 以下では、ブランクに含まれている Al イオンの量が 8.427 mg (0.5%カラギーナン溶液 50 ml に含まれている硫酸根と反応する Al イオンの量) より少ないため、結

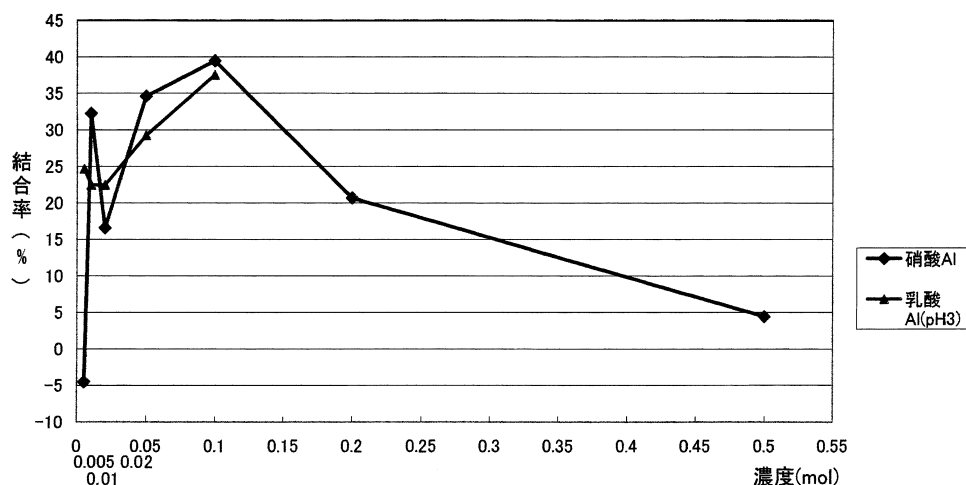


図4 カラギーナンのアルミニウム結合能
——濃度の影響——

合率が低くなったものと考えられる。

また、0.2 M や 0.5 M などの高濃度では溶液中に含まれる溶媒が少ないので、結合率が低くなったのではないかと考えられる。

乳酸 Al の場合、Al イオン結合率に及ぼす反応液の濃度の影響は、0.1 M で最大の結合率を示し約37%であった。

0.01 M 以下では、硝酸 Al と同様にブランクに含まれている Al イオンの量が 8.427 mg より少ないため、結合率が低くなったものと考えられる。

硝酸 Al と乳酸 Al を比較すると、いずれも反応液の濃度が 0.02 M から 0.1 M までは結合率が上昇し、0.1 M で最大の結合率となり、約40%で両者ともほぼ同じであった。また両者とも低い濃度 (0.01 M 以下) では結合率の値が不安定であった。これは前述のように、カラギーナンと反応する Al 溶液に含まれている Al イオンの量に関係があるものと考えられる。

4. カラギーナンの硝酸 Al および乳酸 Al 結合能に及ぼす反応液の pH の影響

カラギーナンと硝酸 Al および乳酸 Al の Al イオン結合率に及ぼす反応液の pH について、pH 3~pH 7 の影響をみた。(図 5)。

硝酸 Al の場合、反応液が pH 3 では約36%の結合率であったが、pH 4 以上では値が100%を越える結果となった。

Al 塩にアルカリ溶液を加えるとコロイド状沈澱になるという文献があることから¹⁰⁾、pH 4 以

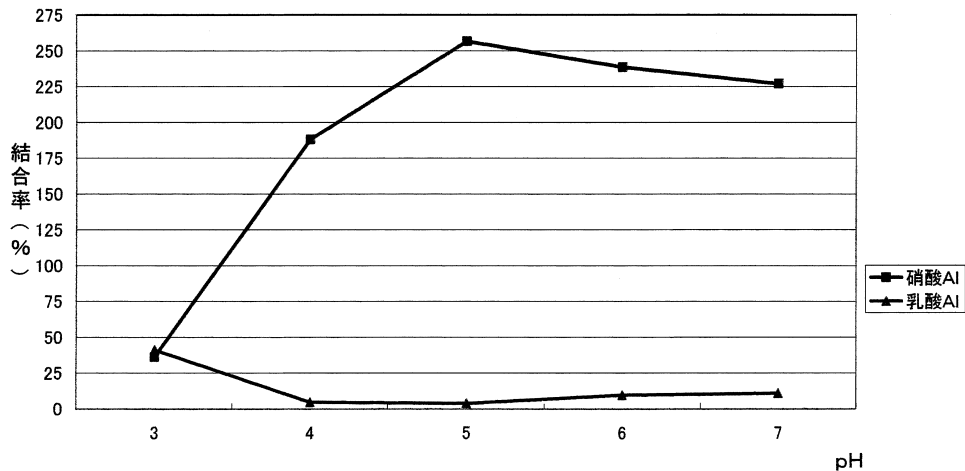


図5 カラギーナンのアルミニウム結合能
——pHの影響——

上の反応の場合は硝酸 Al 溶液にトリスを加えて pH 調整した。その際に反応溶液が白濁したことから、このことが裏付けられたものと考えられる。

また、pH 4 以上での硝酸 Al 溶液とカラギーナンの反応では、pH が高くなるに従って、反応液に雲状のもやが生じ、かつ次第に多くなっていった。乳酸 Al 溶液ではこれらの現象は見られなかったことから、カラギーナんに pH 4 以上の硝酸 Al を反応させた場合に特有の現象と考えられる。

乳酸 Al の場合、Al イオン結合率に及ぼす反応液の pH の影響は、pH 3 で最大の結合率を示し、約 41% であった。PH 4 以上では結合率は低下したままで平衡状態を保った。

硝酸 Al と乳酸 Al を比較すると、両者とも pH 3 で最大の結合率を示し、約 40% で両者ともほぼ同じであった。硝酸 Al の場合、反応液の pH が 4 以上になると反応液に雲状のもや様のものがみられたが、乳酸 Al ではこれらの現象はみられなかったことから、硝酸 Al に特有の現象と考えられる。

IV 要 約

κ -カラギーナンを用いて、硝酸 Al、及び乳酸 Al との結合能について、反応時間、溶液の温度、濃度、および pH を変化させた場合の影響を検討し、以下の結果を得た。

1. 反応時間の影響は、硝酸 Al および乳酸 Al とともに、3 分までは急速に結合率が上昇し、最

大の約40%に達した。反応時間が長くなるに従い、両者に違いがみられた。

2. 温度の影響は、硝酸 Al は低温側と高温側で最大の結合率の50%に達した。乳酸 Al は常温で最大の結合率に達したが、その値は硝酸 Al の約 1/2 であった。
3. 濃度の影響は、硝酸 Al および乳酸 Al とともに、0.1 M で最大の結合率になり、両者とも約 40%であった。また、いずれも低い濃度では結合状態が不安定な値を示した。
4. pH の影響は、硝酸 Al, 乳酸 Al とともに pH 3 で最大の結合率を示し、両者とも約40%であった。硝酸 Al の場合は pH が上昇するに従い、乳酸 Al とは異なる現象がみられた。

文 献

- 1) 西出英一：海藻の科学，185-187，朝倉書店，東京（1993）
- 2) 山田信夫：海藻の利用の科学，104-113，成山堂書店，東京（2000）
- 3) 林 良純：New Food Industry，**20**(10)，35（1995）
- 4) 宇野喜貴，大本俊郎，後藤康慶，浅井以和夫，中村幹雄，米谷民雄：日本食品化学学会誌，**8** (1)，33-43（2001）
- 5) 宇野喜貴，大本俊郎，後藤康慶，浅井以和夫，中村幹雄，米谷民雄：日本食品化学学会誌，**8** (1)，48-56（2001）
- 6) 日本分析化学会北海道支部編：水の分析（第3版），292-294，化学同人，京都（1991）
- 7) A note on the Determination of the Ester Sulphated polysaccharide，106-107（1962）
- 8) Determination of Inorganic Sulphate in Studies on the Enzymic and Non-Enzymic Hydrolysis of Carbohydrate and Other Sulphate Esters，Biochem. J. 78-312（1961）
- 9) 大野正夫：有用海藻誌，436-437，内田老鶴圃，東京（2004）
- 10) 大木道則，大沢利昭，田中元治，千原秀昭：化学辞典（1994）