

# アミロース硫酸および アミロペクチン硫酸によるシヨ糖転化反応\*

武 田 道 夫

Catalytic Influence of Amylose- and Amylopectin Sulfate  
on Sucrose Inversion

By

Michio TAKEDA

The catalytic action for the sucrose inversion by an amylose-(AmS) or amylopectin sulfate (ApS), a polymer catalyst, was compared with that of sulfuric acid and glucose-6-sulfate, a low molecular weight catalyst.

AmS and ApS more enhanced the inversion rate than the low molecular catalyst did, but an accelerating function of ApS was smaller than that of AmS and this lowering may be attributed to the complexity in molecular structure of amylopectin.

The energy and enthalpy of activation for the AmS case were smaller than those for sulfuric acid but larger than those for enzymic reaction. The entropy of activation for AmS was virtually the same as for the sulfuric acid. Thus, the accelerating effect by AmS should be attributed to the decrease in the activation enthalpy.

An autocatalytic liberation of sulfate group from AmS was negligible during this experiments. The specific viscosity of AmS solutions was reduced by an autolysis during the incubation, and the catalytic ability of degraded AmS whose specific viscosity was lowered to 45% of that of undegraded AmS decreased.

The inversion rate was increased by the addition of acetone to the reaction system but the addition of dimethyl sulfoxide little affected or reduced the rate a little.

A higher sulfated AmS had a lower ability of catalyst.

The interpretation of these results is that the interaction between sucrose and AmS which serves as a polyfunctional catalyst promoted the inversion.

---

\* 水産大学校研究業績 第682号, 1972年10月17日 受理.

Contribution from the Shimonoseki University of Fisheries, No. 682.

Received Oct. 17, 1972.

## 1. 緒 言

高分子電解質が種々のイオン性化学反応に対して、特殊な触媒機能を示すことが、酵素反応と関連して興味を持たれ、これに関した多くの研究報告および解説<sup>1)</sup>が、近時発表されるようになった。いずれも高分子電解質では、官能基の濃度が局部的に大きいことと、隣接基との距離が小さいことなどにより、特殊な相互作用が現われるものと考えられている。

先に、多糖類電解質が、糖類のイオン反応におよぼす効果の一つとして、グルコースのフルクトースへの異性化反応 (LOBRY de BRUYN - ALBERDA van EKENSTEIN 反応) に対して、強塩基性のグリコールキトサン水酸化第四アンモニウム: 6-O-(2'-hydroxyethyl)-chitosan-2-N-trimethylammonium hydroxide (以下GC-OHと略す)が、反応温度 40~60°において、水酸化ナトリウムの3~10倍の触媒機能を示すことを報告した<sup>2)</sup>。また、この反応系にアセトンを添加した時の反応速度の変化から、この触媒機能はエントロピー支配効果によるものと考えた。

今回は、シヨ糖の転化反応に対するアミロースおよびアミロペクチン硫酸の触媒機能に関する実験を行ない、硫酸およびグルコース-6-硫酸の場合と比較検討した結果を報告する。

## 2. 実験方法

### 2・1 アミロースおよびアミロペクチン硫酸 (以下それぞれ AmS および ApS と略す) の合成:

GILBERTらの方法<sup>3)</sup>により、新たに調製したジャガイモデンプンより、1-ブタノールを用いて、アミロースとアミロペクチンを分別した。このアミロースおよびアミロペクチンをWHISTLERなどの方法<sup>4)</sup>により硫酸化した。すなわち、ジメチルホルムアミドを溶媒として用い、アミロースまたはアミロペクチンの3.5倍量のトリエチルアミン-三酸化イオウ錯化合物を加え、0°で24時間硫酸化を行なった。その後、10%炭酸水素ナトリウム溶液で中和し、透析および凍結乾燥により、ナトリウム塩の形で精製した。生成物の硫酸化度は、ポリビニルスルホン酸カリウムおよびグリコールキトサンを用いて、コロイド滴定法<sup>5)</sup>により求めた。

なお、触媒溶液としては、さらにイオン交換樹脂 Amberlite IR-120(H型)により、氷冷しながら、それぞれのナトリウム塩を酸型に変えて用いた。この交換反応は、炎色反応により、溶液中にナトリウムの存在が認められなくなるまで行なった。

2・2 グルコース-6-硫酸: 半井化学薬品株式会社製特級試薬 (カリウム塩) を、イオン交換樹脂により、酸型に変えて用いた。

2・3 シヨ糖転化反応: 反応温度 30, 40 および 50°, シヨ糖濃度 4~5 mM, 触媒濃度 5~0.1 meq で反応を行ない、所定の時間に、反応液中の還元糖の増加量を求めた。還元糖の定量は、SOMOGYI-NELSON法<sup>6)</sup>により、生成したモリブデン青の濃度を、分光光度計 (日立製 101型) の波長 500 nm で測定して行なった。

## 3. 実験結果および考察

3・1 触媒効果および熱力学的数値: シヨ糖濃度 (5 mM), および AmS 濃度 (0.8 meq) 一定の時の反応温度によるシヨ糖転化反応速度の変化を第1図に示した。すなわち、30, 40, および 50° のいずれの場

合も、反応時間と反応速度 ( $\log a/a-x$ ,  $a$ :シヨ糖初濃度,  $x$ :時間  $t$  における転化シヨ糖濃度) との間にほぼ直線関係が得られるので、みかけの反応速度定数 (以下単に速度定数と記す) を疑一分子反応として計算した<sup>2)</sup>。また、硫酸を触媒とした時の速度定数に対する比較値を、 $r$ -値と記し、実験に用いた種々の触媒の反応促進効果を第1表に示した。すなわち、塩酸およびグルコース-6-硫酸は、硫酸とほとんど同じ機能を示したが、AmS および ApS は、共に約4倍以上の触媒効果を持っていることがわかる。なお、ApS が AmS の約半分の  $r$ -値しか持っていないことは、カラゲナン (硫酸型) の  $r$ -値が0.7と小さいことと関連して、アミロペクチンの複雑な分子構造の立体障害の影響が大きいものと考えられる。

得られた速度定数と反応温度との関係を第2図に示す。すなわち、両者の間にほぼ直線関係が認められた

Table 1. Catalytic effect for the sucrose inversion at 30°

Catalyst	$k$ (eq. <sup>-1</sup> · min <sup>-1</sup> )	$r^*$
sulfuric acid	$1.37 \times 10^{-2}$	—
hydrochloric acid	1.56 $\%$	1.1
glucose-6-sulfate	1.54 $\%$	1.1
amylose sulfate **	$1.02 \times 10^{-1}$	7.4
amylopectin sulfate **	0.52 $\%$	3.8
carrageenan (acid type)	$1.02 \times 10^{-2}$	0.7

\* $r$ -Value: the ratio of inversion rate constant for the catalyst to that for sulfuric acid.

\*\*The degree of sulfation is 0.03 sulfate group / glucose residue.

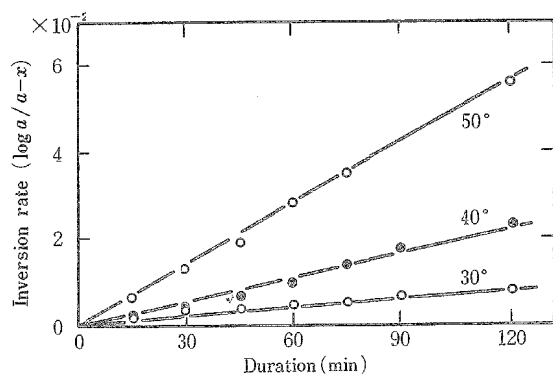


Fig. 1. The dependence of inversion rate on temperature with AmS. ( sucrose: 5 mM, AmS: 0.8meq)  
 $a$ : the initial concentration of sucrose,  
 $x$ : the extent of inversion after  $t$  min.

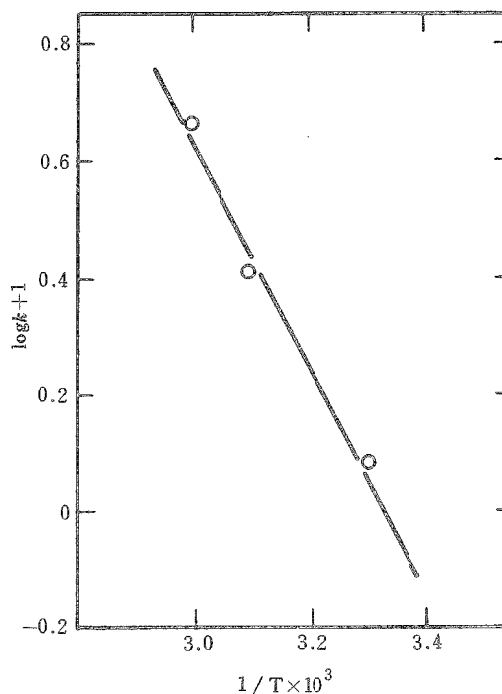


Fig. 2. ARRHENIUS plots for the sucrose inversion with AmS.

ので、ARRHENIUS の式により、みかけの活性化エネルギーを計算し、さらに活性化のエンタルピー、エントロピーおよび自由エネルギーを求めた<sup>7)</sup>。得られた結果を他の文献値と比較して第2表に示した。すなわ

ち、AmS 触媒の場合の活性化エネルギーは、硫酸<sup>8)</sup>と酵素<sup>9)</sup>の値の間であるが、活性化エントロピーはほとんど硫酸の場合と同じ値となっている。これらのことから、AmS を触媒とするシヨ糖転化反応では、エンタルピー因子が反応速度を支配しており、この減少による反応速度促進効果が見られるのであろう。

Table 2. Thermodynamic quantities for the inversion with AmS and sulfuric acid

Catalyst	$E_a$ (kcal/eq)	$\Delta H^\ddagger$ (cal/eq)	$\Delta S^\ddagger$ (cal/deg·eq)	$\Delta G^\ddagger$ (cal/eq)
AmS	14.8	14,200	-24.5	6,700
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	24.4~26.0	—	-26.9 <sup>8)</sup>	—
enzyme	9.0 <sup>9)</sup>	—	—	—

3・2 シヨ糖濃度による反応液の pH の変化：AmS の r-値が大きい原因として、水素イオン濃度の差が考えられる。しかし、先の GC-OH によるグルコース異性化反応に関する報告<sup>2)</sup>の中で、グルコースが緩衝作用を持つため、pH の値から反応速度を論ずることができないことを述べたが、シヨ糖の場合にも同じようなことが考えられる。そこで同じ規定度の AmS と塩酸に対して、シヨ糖濃度を変えた時の pH の測定結果を第 3 図に示した。すなわち、AmS は同じ規定度の塩酸より、大きな pH 値(約 0.5)を示し、両者共、シヨ糖濃度により pH の値に影響を受けている。

HAMMETT らおよび DAWBER ら<sup>10)</sup>によると、シヨ糖転化反応速度は、用いた触媒の水素イオン濃度に一次的に比例し、また硫酸のような強酸では、0.1M 以下の溶液で、pH とその酸度関数  $H_0$  とがほとんど一致すると報告されている。そこで本実験の条件では触媒濃度が 5 mM 以下であるので、硫酸および塩酸については、pH とその規定度とは同一に取扱って良いと考えられる(シヨ糖の緩衝作用は別として)。AmS の

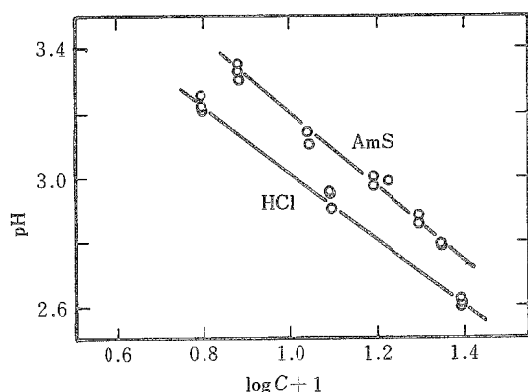


Fig. 3. Effect of sucrose on pH of AmS and hydrochloric acid.

Each pH-value on the same concentration (C) of the catalyst is that determined with different sucrose concentration (5~35 mM).

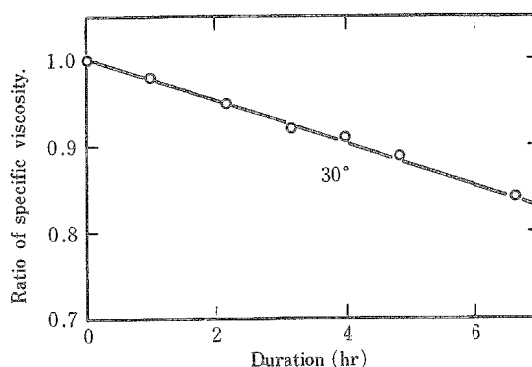


Fig. 4. Lowering in specific viscosity of AmS during incubation at 30°.

場合、コロイド滴定より求めた規定度を、pH にもとづいた水素イオン濃度と置き換えて反応速度を求めると、r-値は、さらに大きな値となるはずである。伊勢の高分子電解質の活量に関する研究<sup>11)</sup>によると、その活量係数は電解質濃度の立方根に比例して減少し、特に水を溶媒とする時は、イオンの水和により、みか

けのイオン濃度が変化すると報告されている。

以上 AmS の触媒機能の比較には、まだ不明の点が多いが、今回は中和またはコロイド滴定より求めた規定度を基準として反応速度を比較した。

3・3 AmS の自己触媒の影響：糖類の硫酸エステルが、自己触媒作用により、グリコシッド結合およびエステル結合を加水分解することについては、多くの研究報告<sup>12)</sup>がある。そこで、AmS の場合にも、シヨ糖転化反応を促進すると同時に、解重合と硫酸基脱離反応を触媒する可能性があるため、転化反応に対する活性への影響を検討した。すなわち、温度 30° において、AmS の粘度が、時間と共に低下することを第 4 図に示した。これによると、約 4 時間の間に、その比粘度がもとの 90% に低下しており、明らかに自己触媒の結果が現れている。しかし、この時間では、化学的定量値、すなわち、還元糖量およびコロイド滴定値には変化は見られなかった。

香川らの研究<sup>12)</sup>によると、硫酸々性にしたセルロース硫酸水溶液は、25° で 50 時間後でも、僅かしかケン化が進んでいない。また REES<sup>13)</sup>は、グルコース硫酸で、第 1 級位のエステル結合の方が、第 2 級位より安定であることを報告している。本実験に用いた AmS の硫酸基置換度は約 0.2 以下と低いので、その大部分が C<sub>6</sub> 位における第 1 級エステルと考えることができる。また、AmS による反応速度の計算にあたっては、反応時間 2 時間以内の初速度を用いるように留意した。

以上のことから、AmS の自己触媒による硫酸基脱離反応は、触媒効果の計算にほとんど影響を与えていないと考えた。

しかし、AmS の r-値が 1 より大きいことは、その高分子効果<sup>1)</sup>によるものと考え、自己触媒による解重合により、反応促進効果が低下または消滅することが考えられる。そこで比粘度がもとの 45% に低下した AmS の触媒効果を検討し、第 5 図にその結果を示した。すなわち、粘度の低下した AmS による反応速度は明らかに、もとの触媒の場合より小さい。自己分解した AmS 溶液は白濁を生じたので、ガラスフィルターでろ過して触媒に用いたが、コロイド滴定値には、ほとんど変化がなかった。このことより、AmS の自己触媒作用により、グリコシッド結合の加水分解による解重合がおり、シヨ糖転化反応に対する触媒効果（高分子効果）は低下するが、硫酸基脱離の影響はほとんど無視できると考えられる。

3・4 有機溶媒添加の影響：AmS の触媒効果の原因を考察するため、反応系にアセトンを添加した時の反応速度への影響をしらべた。その結果は第 6 図に示すとおりである。すなわち AmS および ApS のいずれの場合も、アセトン添加により、反応速度が促進された。このことは、貧溶媒が加えられることにより、

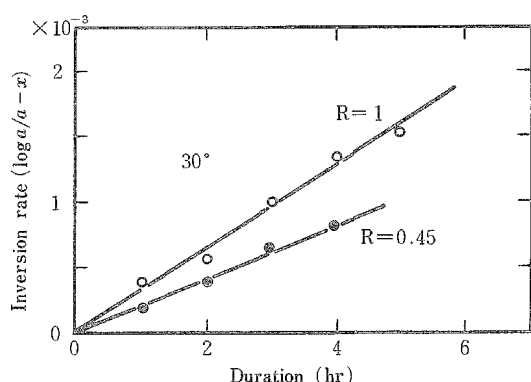


Fig. 5. Dependence of inversion rate on the viscosity of AmS at 30°. R: Ratio of specific viscosity.

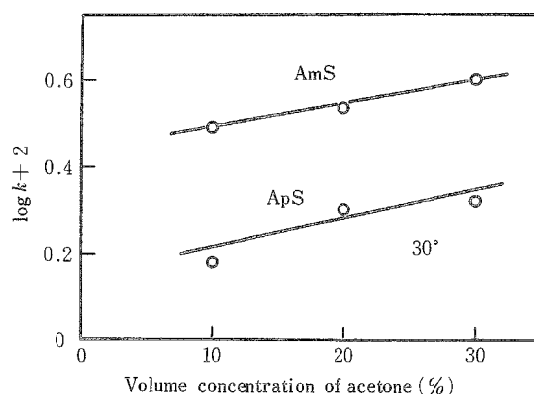


Fig. 6. The effect of addition of acetone on the inversion rate with AmS or ApS at 30°.

脱溶媒和のためシヨ糖とアミロースまたはアミロペクチン間の相互作用が増加した結果と考えることができる。ジメチルホルムアミドを添加すると、AmS および ApS いずれの場合も、ほとんど反応速度に変化が無い

か、または僅か減少した。糖類の良溶媒であるジメチルホルムアミドの場合は、アセトンと逆の効果を持つものと説明できる。

3・5 硫酸基置換度の触媒活性への影響：AmS の触媒活性が、糖類間の親和性によるものであるならば、その置換硫酸基の数が増加することは、糖類間の相互作用を弱めることになる。そこで AmS の硫酸基置換度（グルコース残基 1 個あたりの硫酸基の数）と反応速度との関係について検討した。結果は第 7 図に示すとおりである。すなわち、硫酸化が大きいほど、 $r$ -値が小さくなり、AmS の触媒活性を弱めていることがわかる。

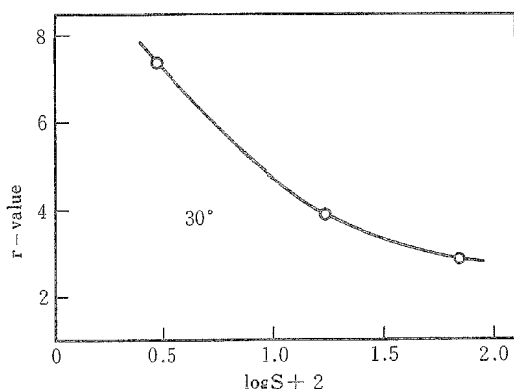


Fig. 7. The effect of sulfation degree of AmS on  $r$ -value.

$r$ -Value : the ratio of inversion rate constant for AmS to that for sulfuric acid at the same temperature. S: Degree of sulfation (sulfate group/glucose residue).

#### 4. 結 言

シヨ糖転化反応に対するアミロース硫酸およびアミロペクチン硫酸の触媒機能を、硫酸およびグルコース-6-硫酸の値と比較して、次の結果を得た。

1. 30°において、AmS および ApS は硫酸の 7.4 倍および 3.8 倍の触媒活性を示した。
2. AmS による転化反応の活性化エネルギーは 14.8 (kcal/eq.) で、硫酸 (約 25 kcal/M) および酵素 (約 9 kcal/eq.) を用いた時の値の中間の値となった。活性化エントロピーはほとんど同じであったので、AmS による反応は、エンタルピー支配効果によるものと考えられる。
3. AmS の自己触媒加水分解のうち、本実験の条件下では、脱硫酸基反応による影響は、ほとんど無視できた。一方解重合のため、比粘度が、約半分近く低下したものは、触媒活性も小さかった。
4. 反応系にアセトンを添加すると、転化反応は促進され、ジメチルアミドを加えると、ほとんど変化しないか、僅かながら低下した。
5. AmS の硫酸基置換度が進むと、触媒機能は低くなった。

以上のことより、シヨ糖転化反応に対する AmS または ApS の触媒活性は、シヨ糖とアミロースまたはアミロペクチンとの間の相互作用による「高分子効果」によるものと考えた。

本研究にあたり御教示をいただいた九州大学千手諒一教授、および種々協力を得た本校富田輝雄教官にお礼申し上げます。

文 献

- 1) たとえば
  - a) 伊勢典夫等編, 1971: 「高分子化学と生化学の境域—高分子効果」(化学増刊 51号), 化学同人
  - b) 伊勢典夫, 1972: 「高分子学会第2回生体高分子シンポジウム講演要旨集」, p. 15.
- 2) 武田道夫, 1970: 本報告, 18, 277.
- 3) GILBERT, L. M., G. A. GILBERT and S. P. SPRAGG, 1964: "Methods in Carbohydrate Chemistry," Vol. IV, p.25 Academic Press, N.Y.,
- 4) WHISTLER, R.L. and W.W. SPENCER, 1964: *ibid*, Vol. IV, p.297, Academic Press, N.Y.
- 5) 千手諒一, 1969: 「コロイド滴定法」, 南江堂(東京).
- 6) 福井作蔵, 1969: 「還元糖の定量法」, p.10, 東京大学出版会(東京).
- 7) BUNNETT, J.F., 1961: "Technique of Organic Chemistry," Vol. VIII-1, p. 201, Interscience Pub., N.Y.
- 8) BEMILLER, J.N., 1967: "Advances in Carbohydrate Chemistry," Vol. 22, p.104, Academic Press, N. Y.
- 9) SIZER, I.W., 1943: "Advances in Enzymology," Vol. 3, p. 35, Interscience Pub., N. Y.
- 10) ZUCKER, L. and L.P. HAMMETT, 1939: *J. Am. Chem. Soc.*, 61, 2791, DAWBER, J.G., D.R. BROWN and R.A. REED, 1969: *J. Chem. Educ.*, 43, 35.
- 11) ISE, N., 1971: *Adv. Polymer Sci.*, 7, 536.
- 12) たとえば香川敏美ら, 1946: 織学誌, 2, 1.
- 13) REES, D.A., 1963: *Biochem. J.*, 88, 343.