

マイクロ波加熱法によるデキストランの酸加水分解

下古谷博司^{*1}, 松井一直¹, 前田恵祐¹, 国枝義彦¹, 高木康之², 林征雄², 鈴木郁功²

¹ 鈴鹿工業高等専門学校・材料工学科 (〒510-0294 三重県鈴鹿市白子町官有地)

hshimo@mse.suzuka-ct.ac.jp

² 鈴鹿医療科学大学保健衛生学部医療栄養学科 (〒510-0293 三重県鈴鹿市岸岡町 1001)

The Acid Hydrolysis of Dextran in Microwave Irradiation

Hiroshi SHIMOFURUYA, Kazuma MATSUI, Keisuke MAEDA, Yoshihiko KUNIEDA,
Yasuyuki TAKAGI, IKuo HAYASHI and Ikukatsu SUZUKI,

Department of Materials Science and Engineering, Suzuka National College of Technology,
Shiroko-cho, Suzuka-shi, Mie 5100294, Japan

Department of Clinical Nutrition, Faculty of Health Science, Suzuka University of Medical Science,
Kishioka-cho, Suzuka-shi, Mie 5100293, Japan

(Received April 30, 2008; Accepted May 14, 2008)

ABSTRACT

Recently, there has been growing interest in applying microwave heating to rapid thermal digestion. In this study, dextran dissolved in diluted hydrochloric acid was hydrolyzed by two methods, i.e., microwave irradiation and traditional conventional heating. The hydrolysis of dextran to glucose was monitored using the enzyme-coupled method, which combines the reactions of glucose oxidase and peroxidase, and high performance liquid chromatography. With microwave irradiation, soluble dextran was converted to glucose in 80 min of heating, whereas 100 min of heating was required for conventional heating to achieve the same result. The completeness of dextran hydrolysis was confirmed by HPLC analysis. As a result, it was shown that soluble dextran was hydrolyzed by microwave irradiation in 80 min. On the other hand, the reaction solution in conventional heating became slightly colored with the formation of byproducts. In contrast, no formation of colored byproducts was observed under microwave irradiation.

Keyword: Dextran, Hydrolysis, Microwave heating

1. 緒言

オカラは豆腐の製造時に必ず生じる副生産物であり、現在そのオカラのほとんどが食品産業廃棄物として処理されており、このオカラの有効利用法に関する研究が食品業界を中心に各方面で実施されている

[1~3]。我々の研究室では、このオカラの主成分がセルロースであることに注目しオカラを糖に分解した後バイオエタノールを製造するというオカラの有効利用法を考えた。しかしながら、オカラの主成分であるセルロースは水に難溶性であることからグル

コースへの酸加水分解反応が困難であることが予想された。また、市販品のセルロースも同様な理由で代用することが困難と予想されたため、構造がセルロースによく似ており水溶性であるデキストランをモデル化合物に選択し、酸加水分解反応の基礎データを得ることを目的に、デキストランの酸加水分解反応について調べることにした。また、グリーンケミストリーの見地から加水分解反応は従来の油浴等を用いた外部加熱法ではなくマイクロ波を利用した内部加熱法により実施することにした。

このマイクロ波加熱法は、反応効率が高い（原料を無駄にしない）、省エネである、環境に優しい等の利点があり、また、化学分野での特徴は急速加熱が可能、反応時間を短縮できる、選択性が向上する等があげられる [4]。当研究室ではマイクロ波加熱法を取り入れて日が浅いため、マイクロ波加熱に関する知識・知見をあまり有していない。そのため、マイクロ波加熱に関する基礎データを得る目的も兼ねてデキストランの酸加水分解反応について調べることにした。

マイクロ波反応装置は現在高価なものであるが、IDX 社から販売されているグリーンモチーフ I (図 1) は比較的安価に購入することができ使い方も簡便である。本研究ではマイクロ波反応装置としてこのグリーンモチーフ I を使用しデキストランの酸加水分解反応について検討したので報告する。



図 1 マイクロ波反応装置(グリーンモチーフ I)

2. 実験方法

2.1 試薬

デキストラン (M. W. 50,000~70,000) はナカライテスク社から購入した。また、グルコース定量試薬として、ワコー社製グルコース CII テストワコーキットを用いた。一方、塩酸や水酸化ナトリウムなどその他の試薬は特級を使用した。

2.2 酸加水分解

2M : HCl 10ml が入った試験管にデキストラン 0.05 g を加え溶解した後、試験管をマイクロ波加熱装置に移し加水分解を行った。マイクロ波加熱装置は IDX 社のグリーンモチーフ I を使用した(図 1)。初期出力はグリーンモチーフ I の最大出力である 300W に設定した。反応温度は 95°C とし [5]、加熱中は常に試験管内をマグネチックスターラーで攪拌した。さらに、マイクロ波加熱法と比較するために従来から行われている油浴加熱法でも同様に実験を行った。本実験で行ったデキストランの加水分解手順を図 2 に示した。

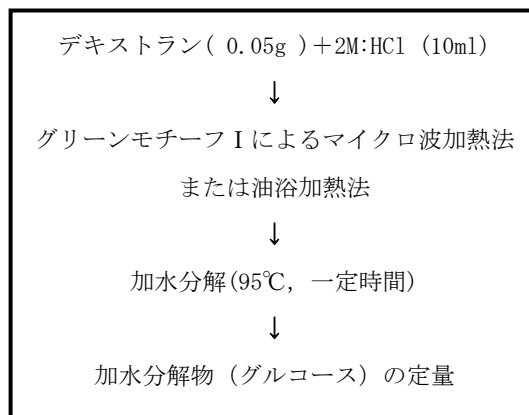


図 2 デキストランの加水分解手順

2.3 グルコースの定量

2.3.1 グルコース CII-テストワコーキットによる定量

加水分解により生成したグルコースはグルコース CII テストワコーキットを用いて測定した。一定時間加水分解した反応液を試験管から 20 μ l 分取し発色試液 3ml を加え、37°C の恒温槽中で 5 分間振とう反応させた後 505nm における吸光度を測定した。コン

トロールにはデキストリンを欠いたものを使用した。図 3 にグルコース CII テストワークキットにより作成した検量線を示す。

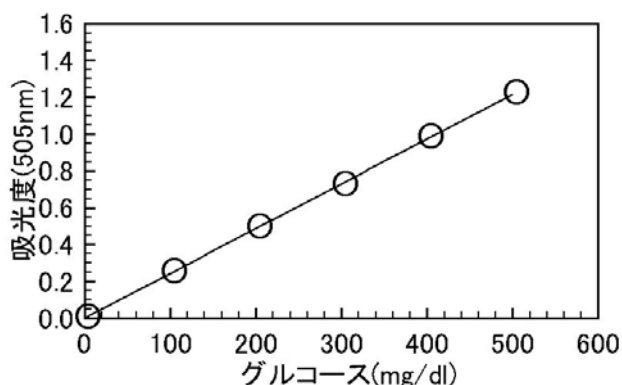


図 3 グルコース CII テストワークキットによる検量線

2.3.2 HPLC による加水分解物の分析

デキストランは 2M : HCl 溶液中で加水分解されるため得られた分解液は強酸性を呈する。そこで分解液 1ml を分取し 2M : NaOH 溶液中で中和した後 100 μ l を HPLC 分析装置に注入し分析した。HPLC 装置は東ソー製のものを使用し、単一の移動相を使用するため操作が簡便かつ溶出後の再平衡化を必要としないアイソクラチック法により加水分解物を分析した。即ち、分析カラムには東ソー製 TSKgel α -M (カラム温度：室温) を、移動相には蒸留水を使用し、流速は 0.5ml/min とした。グルコースやデキストランの検出には RI 検出器を用いた。

3. 結果と考察

図 4 はマイクロ波加熱法および油浴加熱法によりデキストランを加水分解したときの経時変化を示している。マイクロ波加熱法では時間経過とともに吸光度が直線的に増加し 80 分経過時にはほぼ全量グルコースに分解されたことが分かる。一方、油浴加熱法ではマイクロ波加熱法と同様に時間経過とともに吸光度が直線的に増加するもののデキストランをほぼ完全にグルコースに加水分解するためには 100 分程度かかることが明らかとなった。従って、従来

から行われている外部加熱法である油浴加熱法より内部加熱法であるマイクロ波加熱法の方が短時間でデキストランの加水分解が終了し従来法より有利であることがわかった。これはマイクロ波加熱法が均一加熱であるため照射されたマイクロ波のエネルギーを効率良く利用し分解反応が進行したためと考えられる [4]。また、本実験で使用したマイクロ波反応装置であるグリーンモーター I は運転時の出力をコントロールすることにより反応温度を制御する仕組みになっている。そのため、デキストランの加水分解反応時は 40W 程度の出力で運転されており省エネであった。しかしながら、このグリーンモーター I に出力一定で反応温度を制御できる機能が装備されていれば常時 300W で運転可能となりもっと反応時間は短縮されたものと思われる。

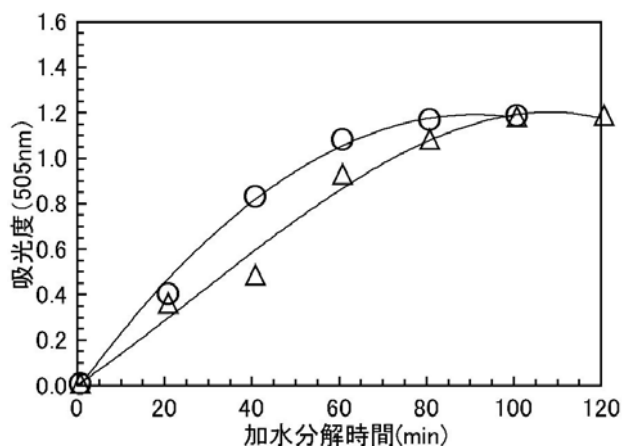


図 4 デキストラン加水分解の経時変化

○ : マイクロ波加熱法, △ : 油浴加熱法

一方、図 4 のデータは加水分解により生成したグルコースをグルコース CII テストワークキットにより定量している。このキットはグルコースオキシダーゼとペルオキシダーゼの酵素を組み合わせた連鎖反応系によりグルコースを測定している [6]。この定量法は厳格な基質特異性を有する酵素によるため加水分解物がグルコースであることを示しているが、確認するために HPLC によりデキストランの加水分解物を分析した。図 5 はマイクロ波加熱法により 80

分間加水分解した試料の分析結果を示している。

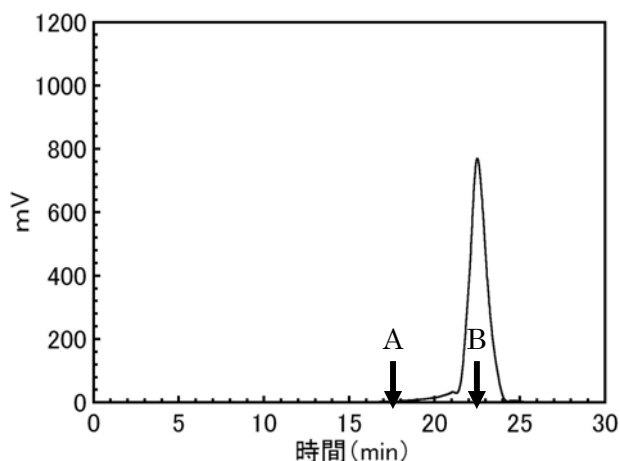


図5 デキストラン分解物の HPLC クロマトグラム
A: デキストラン溶出位置, B: グルコース溶出位置

デキストランおよびグルコースの保持時間はそれぞれ 17.5 分(図 5 中 A)と 22.5 分(同 B)であり、デキストランの加水分解物の保持時間が 22.5 分であったことからマイクロ波加熱による 80 分間の加水分解反応でデキストランからグルコースに分解されていることが確認された。

一方、従来から使用されている油浴加熱法では、加水分解終了後の反応液がわずかに淡い黄色を呈していた。これはデキストランのグルコースへの加水分解反応以外に生成したグルコースの二次分解反応が起こっていることを示している [5, 7, 8]。しかしながら、グリーンモチーフ I を使用したマイクロ波加熱法では加水分解反応終了後の分解液は無色透明であり生成グルコースの二次分解反応は見られなかった。従って、従来法である油浴加熱法では生成グルコースの二次分解反応が加水分解反応と同時に進行するが、マイクロ波加熱法ではこの二次分解反応が起こらず加水分解反応が選択的に進行したものと言える。

4. まとめ

デキストランの加水分解反応に内部加熱法であるマイクロ波加熱法を採用することにより従来から実施されている外部加熱法である油浴加熱法より短時

間で加水分解が可能であることが明らかとなった。

また、従来法である油浴加熱法ではデキストランの加水分解反応以外に副反応も起こっていたがマイクロ波加熱法ではデキストランの加水分解反応が選択的に起こり、副反応が抑制されることが分かった。

一方、グリーンモチーフ I は比較的安価で取り扱いも簡便であるためマイクロ波を利用した化学反応を行う初心者には適しており、マイクロ波加熱の利用を考えている研究者に今後普及していくものと思われる。さらに、グリーンケミストリーの見地からもマイクロ波加熱法を利用することで反応時間を短縮でき、また出力も減ぜられ省エネであり環境に優しい化学反応を行うことができる。従って、今後マイクロ波を利用した加熱法が益々普及していくものと思われる。

5. 参考文献

- 1) 桑原秀明, 大澤克己, 高橋修一, 黒河内邦夫, 小栗勇, 長野食工試研報, 25 号, pp. 20-24 (1997)
- 2) 関口良治, 食品と科学, 10 巻, pp. 96-98 (1986)
- 3) M. Matsuo, Biosci. Biotech. Biochem., Vol.61, pp.1968-1972 (1997)
- 4) 柳田祥三, 和田雄二, 山本哲士, マイクロ波化学の応用, 化学工業, 10 号, 729-734 (2005)
- 5) H. Yu, S. Chen, P. Suree, R. Nuansuri and K. Wang, Effect of Microwave Irradiation on Acid-Catalyzed Hydrolysis of Starch, J. Org. Chem., Vol. 61, pp. 9608-9609 (1996)
- 6) グルコース CII テストワコー取扱説明書
- 7) A. Corsaro, V. Pistara and G. Romeo, Microwave-assisted Chemistry of Carbohydrates, Cur. Org. Chem., Vol.8, No.6, pp.511-538 (2004)
- 8) 白石信夫, 生分解性プラスチック, 木材学会誌, Vol. 41, No. 7, p. 621-630 (1995)