

塩化亜鉛水溶液中におけるミルクカゼイン へのアクリロニトリルのグラフト共重合¹⁾

山 本 晃

要 旨 塩化亜鉛水溶液中で過硫酸アンモニウム-亜硫酸ナトリウム系を開始剤として、ミルクカゼインへのアクリロニトリルグラフト共重合を行い、分別溶解法によって、グラフト効率、ミルクカゼインの反応率{(グラフトしたミルクカゼインの重量)/(グラフトしたカゼイン+フリーカゼインの重量)×100%}などについて調べた。グラフト効率は重合温度、過硫酸アンモニウム濃度の増すとともに低下したが、ミルクカゼイン反応率はほとんど一定であった。これらの条件下では、グラフト効率50~69%、ミルクカゼイン反応率27~31%、グラフトポリマーにおける幹分子当りの枝の数はほとんど一定であることが示唆され、ミルクカゼインの分子量を75000と仮定するとき、それは約3であった。

溶媒における塩化亜鉛濃度の増すとともに、グラフト効率、ミルクカゼイン反応率ともに増大が認められた。

1. 緒 言

われわれは、さきに濃厚塩化亜鉛水溶液中における過硫酸アンモニウム(APS)-亜硫酸ナトリウム系触媒による大豆タンパクへのアクリロニトリル(AN)のグラフト共重合について調べ、触媒1回添加法では重合率は低い、分割添加法によって高い重合率が得られ、これはタンパク成分による退化性連鎖移動ならびにタンパク中に含まれるFe等の不純物による影響であることを推定した。また、APS単独開始剤による低温での重合でも高い

重合率が得られることを認め、これはタンパク成分中の-SH との間に、レドックス系触媒が形成されるためであることを推定した²⁾。

本報告では、同様に塩化亜鉛水溶液を溶媒とし、APS-亜硫酸ナトリウム系を開始剤として、ミルクカゼインへのANのグラフト共重合について検討した。その結果、容易に85~95%の高い重合率で得られることがわかり、またグラフト効率率は50~69%、ミルクカゼインの反応率27~31%であった。また、グラフトポリマーにおける幹分子当りの枝の数はほぼ一定であることが示唆され、ミルクカゼインの分子量を75000とすると、枝の数は約3と計算された。

2. 実 験

2.1 試料および試薬

ミルクカゼイン：ニュージーランド製ラクチックカゼイン（ニュージーランド農林省酪農局規格 first grade のもの）、純分 $87.0 \pm 1.6\%$ 、灰分 $1.87 \pm 0.05\%$ 、Fe $(5.0 \pm 0.5) \times 10^{-3}\%$ 、Cu $(1.5 \pm 0.5) \times 10^{-4}\%$ 、脂肪 $0.97 \pm 0.05\%$ 、乳糖 $0.12 \pm 0.02\%$ 、水分 $10.0 \pm 1.5\%$ 。

AN；住友化学製を Bamford らの方法³⁾で精製した。

APS, 亜硫酸ナトリウム；市販特級品をそのまま用いた。

塩化亜鉛；市販一級品を水に溶解し、塩酸で含有酸化亜鉛を0.1 wt %に調節して使用した。

ジメチルホルムアミド (DMF), トリエチルアミン, アセトニトリル；市販一級品を蒸溜して用いた。

2.2 重合方法

三口のガラス製重合容器に濃厚塩化亜鉛水溶液とミルクカゼインを加え、50°Cで約1時間かきまぜ溶解後、所定量のANを加え、系の塩化亜鉛濃度を60%になるように計算量の水を追加し、恒温槽で所定の温度に保持後、かき

まぜ下に開始剤として、APS および亜硫酸ナトリウムの塩化亜鉛溶液を加え重合させた。なお、APS および亜硫酸ナトリウムは、所定濃度の塩化亜鉛水溶液に1.5%濃度に調整したものをを用いた。ポリマーは適時重合系より所定量の溶液をとり出し、手早くガラス板上にうすく塗り、約0.2%酢酸水溶液中で凝固後充分水洗し、105°Cで一定量になるまで乾燥した。重合率は得られたポリマーの重量を測定し、(1)式より求めた。

$$\text{重合率} = \frac{\alpha - B}{C} \times 100 \quad (1)$$

ただし、 α はポリマー濃度 (wt %), B は仕込みミルクカゼイン濃度 (wt %), C は仕込み AN 濃度 (wt %)。

2.3 グラフトポリマーの分別

得られたポリマーを60~80メッシュに粉碎した。その乾燥試料0.5 gをDMF 50 gに50°Cで24時間浸漬し、ホモPANを溶出した。不溶のミルクカゼイン、およびグラフトポリマーを1G-3号のガラスフィルターで濾別し、溶媒で3回以上洗い、メタノール洗浄後乾燥しその重量を求め、(2)式よりグラフト効率 E_g を算出した。

$$E_g = \frac{\text{枝 PAN の重量}}{\text{全 PAN の重量}} \times 100 = \frac{Y - \gamma}{\beta} \times 100 \quad (2)$$

$$\gamma = 1 - \beta \quad (3)$$

ただし、 β は全 PAN wt %, Y は不溶部 wt %, γ は全ミルクカゼインの wt %。

また、ミルクカゼインの反応率 P_g (全ミルクカゼインに対するグラフトミルクカゼインの wt %) は、上の粉碎乾燥試料0.5 gをトリエチルアミン 5 wt %, アセトニトリル 30 wt %, 残り水から成る溶媒 25 gに60°Cで48時間浸せきし、フリーミルクカゼインを溶出した後、上と同様に洗浄、乾燥し、不溶部の重量を求め、(4)式より計算した。

$$Pg = \frac{X - \beta}{\gamma} \times 100 \quad (4)$$

ただし, X は不溶部 wt %。

また, グラフトポリマーにおける PAN/ミルクカゼイン wt 比 γ を(5)式より計算した。

$$\gamma = \frac{\beta \times Eg}{\gamma \times Pg} \quad (5)$$

2.4 PAN の分子量

上と同じようにして得られたポリマーを 6 N HCl 水溶液で 95°C, 1 時間処理して, ミルクカゼインを加水分解し, 水洗後, 50°C で減圧乾燥して得られた PAN を DMF に溶解して, 粘度法で(6)式⁴⁾によって分子量を求めた。

$$[\eta] = 3.92 \times 10^{-4} \bar{M}_n^{0.75} \quad (6)$$

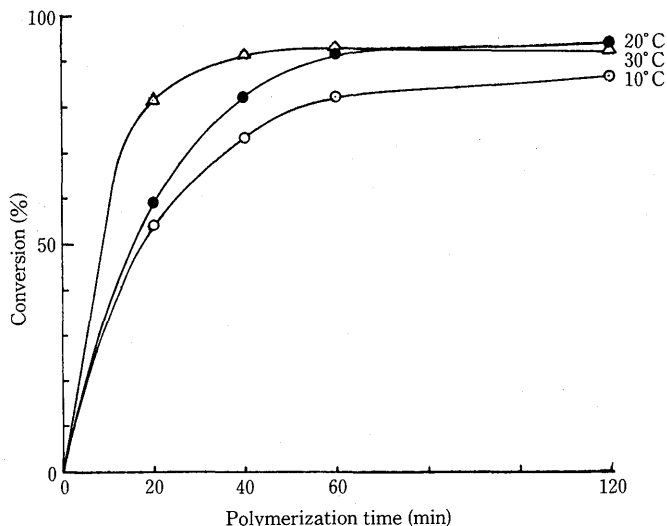
なお, この処理において PAN は加水分解していないことを IR より確認した。

3. 結果および考察

3.1 重合温度の影響

重合温度の重合時間～重合率曲線に及ぼす影響を Fig. 1 に示した。初期重合速度は温度の高いほど大であり, 30°C では 60 分, 20°C では 120 分で重合率約 93% で dead Polymerization に達したが, 10°C では 120 分でなお重合の進行が認められた。

重合温度のグラフト効率その他に及ぼす影響について調べた結果を Fig. 2 に示した。重合温度の上昇とともに分子量は大きく低下し, またグラフト効率も低下, ミルクカゼイン反応率はほとんど一定であった。分子量の低下は温度の上昇による開始反応速度の増大によると考えられる。



Total weight of polymerization system 100g.
Milk casein 1.7g AN 5.3g
APS mole % per AN 0.185
APS/sodium sulphite molar ratio 1/1.82

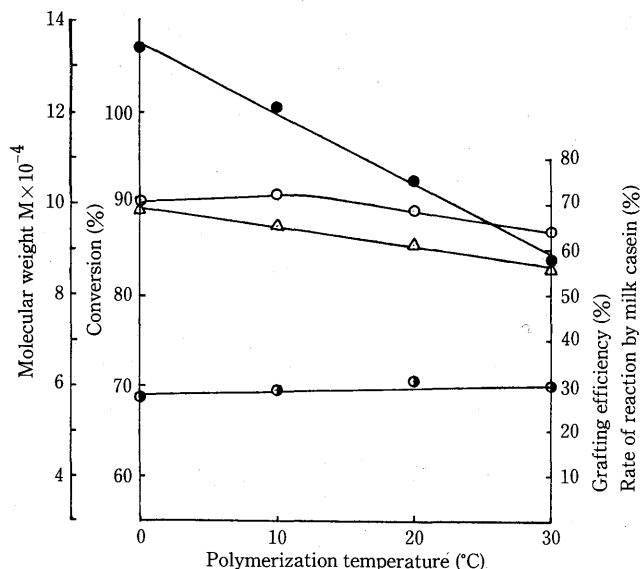
Fig. 1 Effect of polymerization temperature on time-conversion curves.

また、ミルクカゼイン反応率がほとんど一定の理由としては、グラフト起点の数が温度に関係なく一定であることを示唆するものであり、この温度範囲ではシステインの-S•などに限定されていることによると考えられる。また、グラフト効率が温度の上昇とともに低下するのは分子量の低下に対応するもので、枝 PAN の長さの低下に起因するものであろう。

3.2 触媒濃度の影響

APS/亜硫酸ナトリウムモル比を1/1.82と一定にし、APS濃度を変えた場合の、時間-重合率曲線に及ぼす影響を Fig. 3 に示した。

APS濃度の高いほど初期重合速度は大きい。APS濃度のグラフト効率その他に及ぼす影響について調べた結果を Fig. 4 に示した。APS濃度の増大



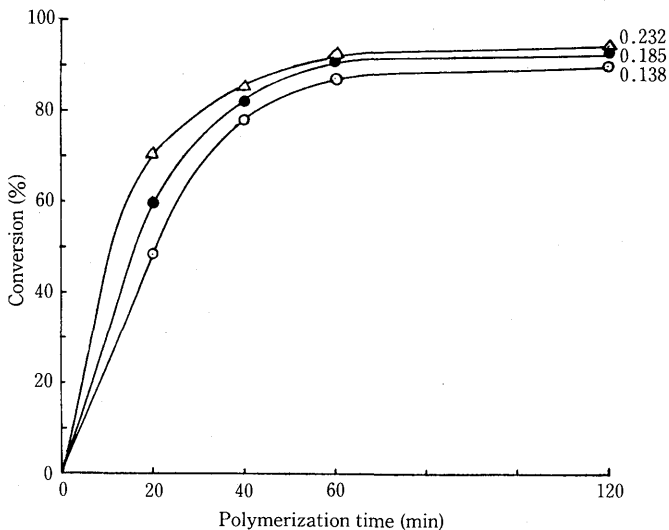
Total weight of polymerization system 100g.
 Milk casein 2.1g AN 5.0g
 APS mole % per AN 0.174
 APS/sodium sulphite molar ratio 1/2
 Polymerization time 24 hrs.

—○—○— Conversion —△—△— Grafting efficiency
 —●—●— Molecular weight —○—○— Rate of reaction by milk casein

Fig. 2 Effect of polymerization temperature on conversion and the polymer characteristics.

とともに重合率は増し、分子量は低下した。本実験の APS 濃度範囲では、ミルクカゼイン反応率はほとんど変わらず、グラフト効率は、APS 濃度の増すとともに低下した。これはさきに温度の影響において述べたと同じく、この実験の APS 濃度範囲では、ミルクカゼイン分子におけるグラフト起点の数、したがってグラフト分枝の数が変わらず、グラフト分枝の長さが APS 濃度の増すとともに減少することによると考えられる。

なお、APS/亜硫酸ナトリウム（モル比）を変化させた結果を Fig. 5 に示す。亜硫酸ナトリウム濃度の増大とともに初期重合速度は増すが、モル比



Total weight of polymerization system 100g.
Milk casein 1.7g AN 5.3g
APS/sodium sulphite molar ratio 1/1.82
Polymerization temp. 20°C
Each figure on the curves denotes the value of
APS mole %/AN

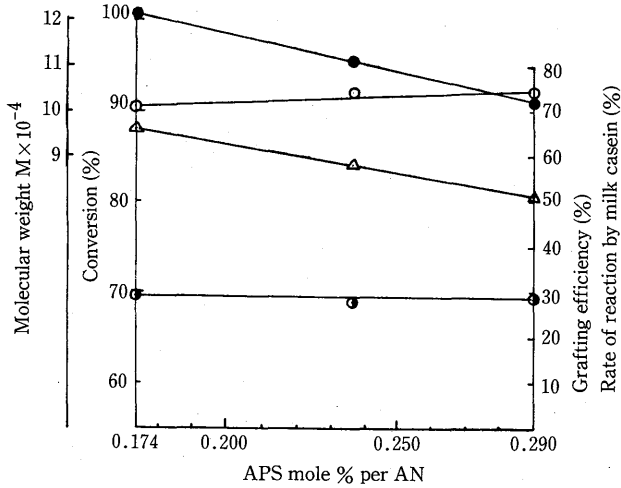
Fig. 3 Effect of initiator concentration on time-conversion curves.

1/1.74以上の亜硫酸ナトリウム濃度では差は僅少であった。分子量は Fig. 6に示すように、亜硫酸ナトリウムの増加により低下しているが開始反応速度の増大によるものと考えられる。

3.3 AN/ミルクカゼインの仕込み比の影響

AN/ミルクカゼイン比の時間～重合率曲線に及ぼす影響について調べた結果を Fig. 7に示した。(AN+ミルクカゼイン)におけるミルクカゼイン wt %が増すと、初期重合速度は低下するがその程度は小さい。いずれの場合も最終的に90%以上の重合率が得られた。

AN/ミルクカゼイン比のグラフト効率その他に及ぼす影響について調べ

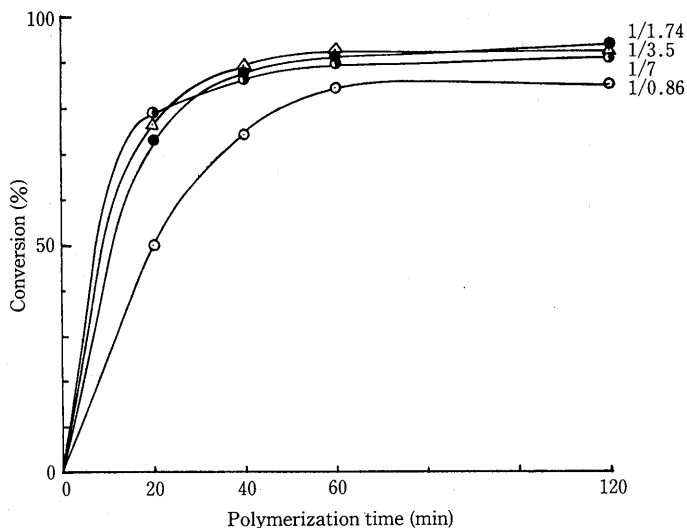


Total weight of polymerization system 100g.
 Milk casein 2.1g AN 5.0g
 APS/sodium sulphite molar ratio 1/2
 Polymerization temp. 10°C
 Polymerization time 24 hrs.

○—○ Conversion △—△ Grafting efficiency
 ●—● Molecular weight ○—○ Rate of reaction by milk casein

Fig. 4 Effect of initiator concentration on conversion and the polymer characteristics.

た結果を Fig. 8 に示した。ミルクカゼイン wt % の増加するとともに、重合率および分子量は低下した。これは AN 濃度の減少とミルクカゼイン濃度の増大による退化連鎖移動反応によるためと考えられる。ミルクカゼインは Table 1 のような構成アミノ酸から成るが、このうちシスチンおよびメチオニンの還元によって生成するシステインおよびホモシステインに主に連鎖移動を起こし、しかも退化連鎖移動の傾向が大きいと考えられる。それゆえにミルクカゼイン濃度の増加とともに、グラフト効率は増し、ミルクカゼイン反応率は低下をきたしたものと考えられる。

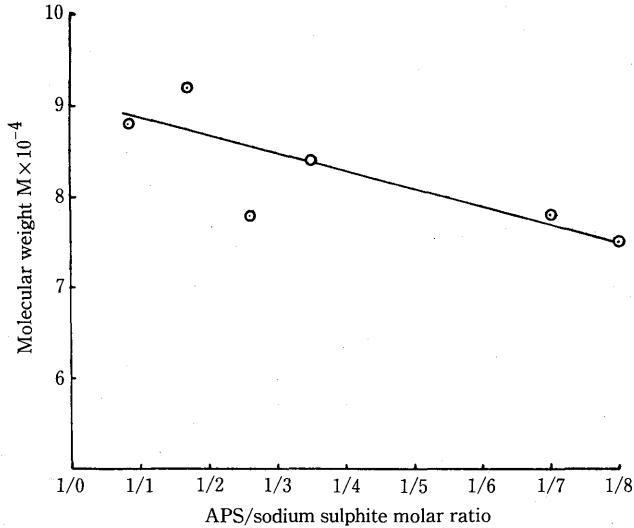


Total weight of polymerization system 100g.
Milk casein 1.75g AN 5.25g
APS mole %/AN 0.186
Polymerization temp. 20°C
Each figure on the curves denotes the value of
APS/sodium sulphite molar ratio

Fig. 5 Effect of APS/sodium sulphite molar ratio on time-conversion curves.

3.4 塩化亜鉛濃度の影響

溶媒中の塩化亜鉛濃度のグラフト効率その他におよぼす影響を Fig. 9 に掲げた。重合率は塩化亜鉛63%のあたりに最大値を示し、分子量は塩化亜鉛濃度の増すとともに低下が認められた。後者については塩化亜鉛濃度の増大とともに APS の分解速度が増加することに起因していると考えられる。グラフト効率、ミルクカゼイン反応率はともに塩化亜鉛濃度の増すとともに増加が認められた。これは塩化亜鉛濃度が高いほどミルクカゼインの良溶媒となり、ミルクカゼイン分子の拡がりが増しグラフト反応が起り易くなるためと考えられる。



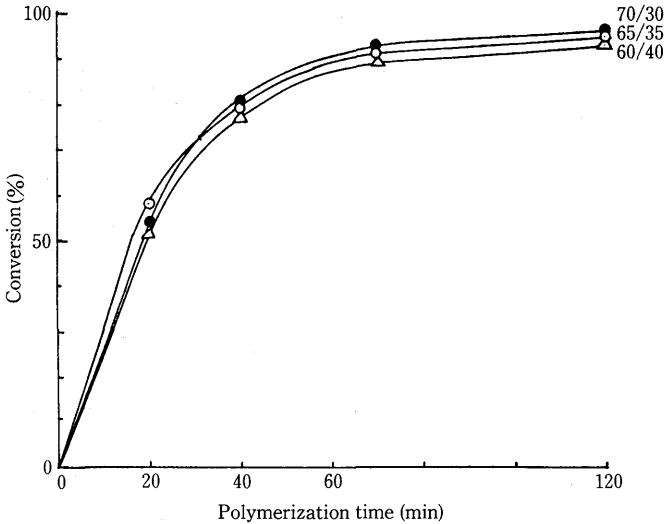
Total weight of polymerization system 100g.
 Milk casein 1.75g AN 5.25g
 APS mole %/AN 0.186
 Polymerization temp. 20°C
 Polymerization time 120 min.

Fig. 6 Effect of APS/sodium sulphite molar ratio on the molecular weight.

3.5 グラフトポリマーにおけるPAN/ミルクカゼイン (wt比) と分岐PANの分子量との関係

上の実験におけるグラフトポリマー中のPAN/ミルクカゼイン (wt比) と分岐PANの分子量との関係をプロットすると Fig. 10 のようになる。図中○印は $ZnCl_2$ 60%, AN 5 g, ミルクカゼイン 2.1 g と条件を同じにしたものであり, △および●印はそれぞれ AN/ミルクカゼイン (wt比) および $ZnCl_2$ 濃度を変えた系におけるものである。後者における各点は上の直線より低分子量側に外れているのが認められた。

グラフトポリマーにおける枝の数を n , グラフトポリマーにおけるPANの重量を W_{AN} , ミルクカゼインのそれを W_M , PANの分子量を \bar{M}_{PAN} , ミル



Total weight of polymerization system 100g.
 Concentration of added AN and milk casein 7 wt. %
 APS mole %/AN 0.186
 APS/sodium sulphite molar ratio 1/2
 Polymerization temp. 20°C
 Each figure on the curves denotes the value of
 AN/milk casein wt. ratio.

Fig. 7 Effect of AN/milk casein wt. ratio on time-conversion.

クカゼインの分子量を \bar{M}_M とすると、式(7)が成立する。

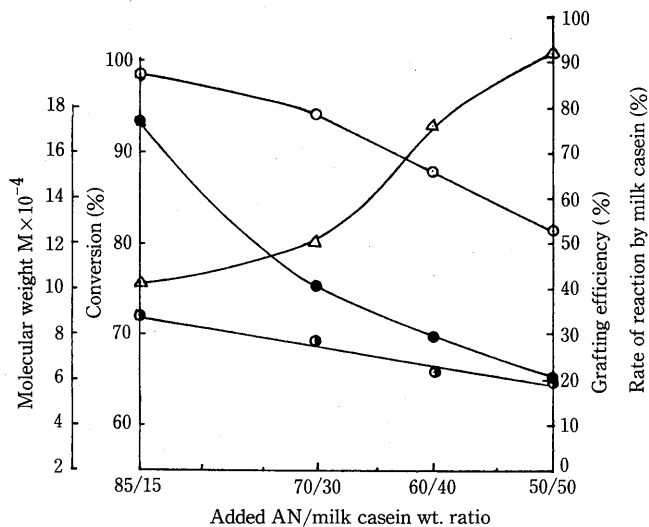
$$n = \frac{\bar{M}_M}{M_{PAN}} \cdot \frac{W_{AN}}{W_M} \quad (7)$$

(7)より

$$\bar{M}_{PAN} = \frac{\bar{M}_M}{n} \cdot \frac{W_{AN}}{W_M} \quad (8)$$

Fig. 10と式(8)から、 \bar{M}_n/n が 2.45×10^4 として求められた。

カゼインは単一のタンパク質でないので分子量を求めることは難しい。また、温度、 P_B 、塩類濃度によってその凝集度が左右されるが、超遠心法に



Total weight of polymerization system 100g.
 APS mole %/AN 0.29
 APS/sodium sulphite molar ratio 1 / 2
 Polymerization temp. 10°C
 Polymerization time 24 hrs.

○—○— Conversion △—△— Grafting efficiency
 ●—●— Molecular weight ○—○— Rate of reaction by milk casein

Fig. 8 Effect of added AN/milk casein wt. ratio on conversion and the polymer characteristics.

よって75000~37500の値が求められている⁶⁾。カゼインは60%塩化亜鉛水溶液中では分子分散に近い状態であると考えられるので、ミルクカゼインの分子量を75000と仮定すると n が3となった。すなわちミルクカゼインの分子量25000あたり1本の枝をもつグラフトポリマーが得られることになる。

3.6 グラフト反応機構

以上の実験結果よりグラフト重合は次式によって進行すると考えられる。

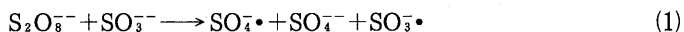
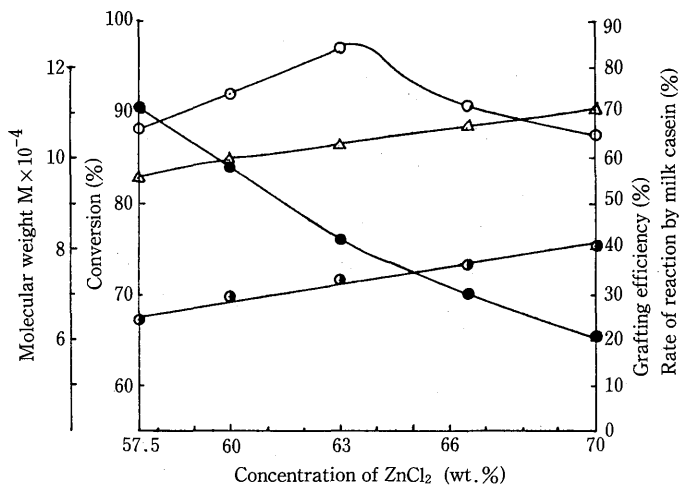


Table 1 Amino acid composition in milk casein.⁵⁾

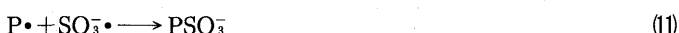
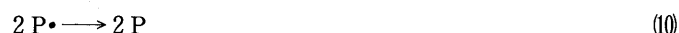
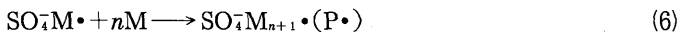
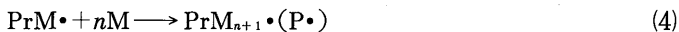
$\begin{array}{c} \text{H} \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{COOH} \\ \text{R} \end{array}$	R	wt. % of amino acid residue
Gly	H	1.5
Ala	$-\text{CH}_3$	2.5
Ser	$-\text{CH}_2\text{OH}$	5.2
Tyr	$-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_4-\text{OH}$	5.7
Val	$-\text{CH} \begin{array}{l} \diagup \text{CH}_3 \\ \diagdown \text{CH}_3 \end{array}$	5.9
Asp	$-\text{CH}_2\text{COOH}$	6.1
Arg	$-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}-\text{C} \begin{array}{l} \diagup \text{NH}_2 \\ \diagdown \text{NH} \end{array}$	3.7
Glu	$-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$	19.7
Leu+I Leu	$-\text{CH}_2\text{CH} \begin{array}{l} \diagup \text{CH}_3 \\ \diagdown \text{CH}_3 \end{array} \quad -\text{CH} \begin{array}{l} \diagup \text{CH}_3 \\ \diagdown \text{CH}_2\text{CH}_3 \end{array}$	13.2
Phe	$-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$	4.5
Thr	$-\text{CH}-\text{CH}_3$ OH	4.2
Lys	$-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$	7.2
Pro	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2$ CH ₂ -	8.9
His	$-\text{CH}_2\text{C}=\text{CH}$ N NH	2.7
Met	$-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$	2.5
Try	$-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_4-\text{NH}$	1.5
Cys	$-\text{CH}_2-\text{S}$ $-\text{CH}_2-\text{S}$	0.29
Total		95.3

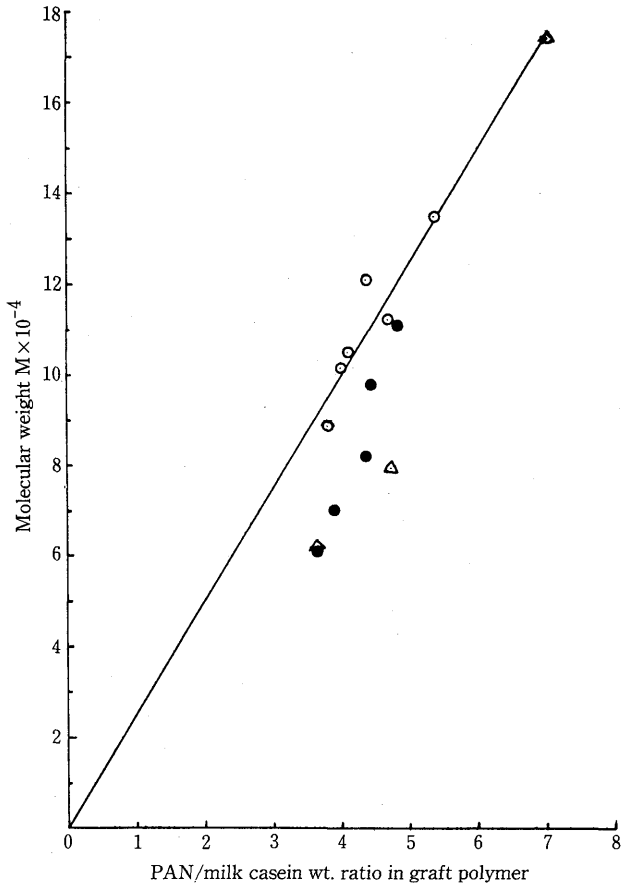


Total weight of polymerization system 100g.
 Milk casein 2.1g AN 5.0g
 APS mole %/AN 0.23
 APS/sodium sulphite molar ratio 1/2
 Polymerization temp. 20°C
 Polymerization time 24 hrs.

○—○ Conversion △—△ Grafting efficiency
 ●—● Molecular weight ○—○ Rate of reaction by milk casein

Fig. 9 Effect of concentration of ZnCl₂ on conversion and the polymer characteristics.





- $ZnCl_2$: 60%. Milk casein 2.1g. AN 5g.
- Concentration of $ZnCl_2$ changed. Milk casein 2.1g. AN 5g.
- △ $ZnCl_2$: 60%. AN/milk casein wt. ratio changed.

Fig. 10 Relation between the molecular weight of PAN and PAN/milk casein (wt. ratio) in graft polymer.

ただし、PrHはミルクカゼイン分子を表わす。すなわち、式(2)、(7)に示すように、 SO_4^- およびポリマーラジカル $P\cdot$ によって、ミルクカゼイン分子から $H\cdot$ が引き抜かれて活性点を生じ、この部分から式(3)、(4)によってグ

ラフト重合の開始と成長が起り、式(7)、(10)および(11)によって停止すると考えられる。この場合H[•]の引き抜きはミルクカゼイン分子中の活性なHをもつアミノ酸部分において起ると考えられ、シスチンよりのシステインが考えられる。

分子量75000のミルクカゼイン1分子当りのその数をTable 1から計算すると次のようになる。ミルクカゼイン95.3g中のアミノ酸は0.839モルであり、この中のシステイン含有量は0.48モル%、カゼイン分子のユニット当りのアミノ酸平均分子量は113となる。それゆえに分子量75000のミルクカゼイン1分子当りのアミノ酸ユニット数は660、その中のシステインの数は $660 \times 0.0048 \approx 3.2$ となる。すなわち、前項において得られた分岐の数と一致している。このことは反応系においてシスチンが還元剤の作用でシステインになり、この部分にグラフトが起ることを物語っている。このために塩化亜鉛濃度60%、AN、ミルクカゼインの仕込み量それぞれ5.0g、2.1gと一定にして行った系においては、温度、APS濃度を変更してもグラフト起点となるシステインの量が一定のために、ミルクカゼインの反応率、およびカゼイン分子当りの分岐数がほぼ一定となるものと考えられる。

これに対し、塩化亜鉛濃度を変えたり、AN、ミルクカゼインの仕込み比を変えたりした場合には、ミルクカゼイン分子の拡がりにおける変化や、その他種々の複雑な影響を与え、Fig. 10における直線から外れるような結果になるものと考えられる。

付記 本論文は筆者が、東洋紡績(株)堅田研究所に在職の頃、当時の研究所員であった浜田一人、大原国男、三田村秀幸、村上平一郎君等の協力によって行った研究を、東洋紡績(株)の許可を得て学界誌に発表のためまとめたものである。本論文については、本来はもっと早く公表することを期していたものであるが、昭和50年に筆者の大学への移職という個人的事情に伴って生じた諸事繁忙に紛れ、発表の機会を失してしまい現在に至ったものである。しかし、このまま埋もれさせるに忍びず、あえて本誌上を借りて公表の機会

とさせて頂いたものである。

最後に、本研究を本誌上に公表することにつき快諾くださった上記四君に対し改めて謝意を表したい。なお本論文に関しての一切の責任は一人筆者に帰するものであることはいうまでもない。

文 献

- 1) 本研究をタンパク・アクリロニトリル系グラフト共重合繊維の製造に関する研究(第6報)とする。
- 2) 山本 晃, 浜田一人, 村上平一郎, 大原国男: 高分子論文集, **32**, 295 (1975)。
- 3) C. H. Bamford, A. D. Jenkins: Proc. Royal Soc (London), **A 212**, 517 (1953)。
- 4) P. F. Onyon: *J. Polymer Sci.*, **22**, 13 (1956)。
- 5) 大有機化学(朝倉書店刊, 1910) **21**, p. 380。
- 6) 赤松四郎, 水島三一郎編集: 蛋白質化学(共立出版), **3**, p. 140。

Graft Copolymerization of Acrylonitrile onto milk Casein in Aqueous Concentrated Zinc Chloride Solution

By Akira Yamamoto

Solution graft copolymerization of acrylonitrile onto milk casein was carried out by use of ammonium persulphate-sodium sulphite system in aqueous concentrated zinc chloride solution. The graft efficiency and the degree of reaction of milk casein (weight of grafted casein) / (weight of free casein + grafted casein) were measured by the fractional dissolution method.

With increases of copolymerization temperature and the concentration of ammonium persulphate, the grafting efficiency decreased, but the degree of reaction of milk casein remained nearly constant. Under these polymerization conditions, it was shown that the grafting efficiency and the degree of reaction of milk casein were estimated to be 50–69% and 27–31%, respectively, and the number of branch chains on the grafted polymer molecule was nearly constant, being about 3 for casein with the molecular weight of 75000. With increasing the concentration of zinc chloride, the grafting efficiency as well as the degree of reaction of milk casein increased.