

(様式第 5 号)

小角 X 線散乱による食品多糖類の構造解析 Structural analysis of food polysaccharides by SAXS

湯口宜明、山本郷湖、川島優美
Yoshiaki Yuguchi, Kyoko Yamamoto, Sugumi Kawashima

大阪電気通信大学大学院 工学研究科
Graduate School of Engineering, Osaka Electro-Communication University

- ※ 1 先端創生利用（長期タイプ）課題は、実施課題名の末尾に期を表す（Ⅰ）、（Ⅱ）、（Ⅲ）を追記してください。
- ※ 2 利用情報の公開が必要な課題は、本利用報告書とは別に利用年度終了後 2 年以内に研究成果公開〔論文（査読付）の発表又は研究センターの研究成果公報で公表〕が必要です（トライアル利用を除く）。
- ※ 3 実験に参加された機関を全てご記載ください。
- ※ 4 共著者には実験参加者をご記載ください（各実験参加機関より 1 人以上）。

1. 概要（注：結論を含めて下さい）

食品多糖類としても応用されているバクテリアセルロースゲルおよび硫酸化多糖類フコイダン水溶液からの小角 X 線散乱測定を行った。バクテリアセルロースゲルは小角領域で大きな立ち上がりが見られ、凝集を示した。一方フコイダンは電解質特有の相互作用ピークを示し、高い水溶性が示唆された。

(English)

The small angle X-ray scattering measurements (SAXS) were performed for bacterial cellulose (BC) gels and sulfated polysaccharide fucoidan aqueous solutions as known as food additives. The upturn in smaller angle region appeared in SAXS from BC gels, indicating the aggregation of cellulose chains. On the other hand SAXS from fucoidan in solution showed peak due to the electrostatic repulsion, and it suggested that it is highly soluble in water.

2. 背景と目的

多糖類は食品における増粘剤やゲル化剤などに広く使用されており、様々な食感をもった食品開発に役立てられている。例えば海藻から抽出される電解質多糖類カラギーナンの水溶液は冷やすとゼリー状のゲルを形成し、加熱すると流動性をもったゾルに転移する。ゲル化モデルとして高温では分子鎖は分子分散しコイル状態で存在しているが、冷却によって部分的に二重らせん構造を形成さらにはそれらが会合することによって架橋領域を形成し、系全体が網目構造をとると考えられている。このような特徴的な架橋領域の構造はナノレベルで現れ、食品物性との強い相関をもっている。また細菌の産出するキサントンは二重らせん構造をもった剛直な棒状体であるが、微量で高い増粘力をもつ。また酢酸菌から産出されるセルロースはナタデココとして知られたゲル状の食品となっている。これらの物性は多糖類のナノ集合構造に関係していると考えられる。これらのナノ構造を観測する手法として小角 X 線散乱法は有効な観測方法となる。得られたデータは食品の物性制御などに役立つと期待できる。

海藻由来のフコイダンは硫酸化多糖であり、癌の抑制効果、潰瘍修復作用、抗菌活性、抗凝血作用などが知られており健康医療分野においても研究されている。海藻は古くから食品などに用いられているが、その多様な構造などから基礎研究の進捗を妨げている。フコイダンはフコースを主成分とする硫酸化多糖類であるが、その構造は一定でなく、生理活性は判明しているものの、それらの構造と機能は明確となっていない。このため溶液構造を小角 X 線散乱測定により調べる。また酢酸菌が生み出すナタデココで知られるバクテリアセルロースがある。最近では、セルロースナノファイバーや

キチンナノファイバーを使った製品・食品に関する研究などが盛んに行われている。そのゲル構造は調べられているが、本研究においては凝集により沈殿しやすいセルロースからなるナタデココのゲルの構造を小角 X 線散乱測定により調べることを目的とする。

3. 実験内容（試料、実験方法、解析方法の説明）

多糖類試料については、バクテリアセルロースは酢酸菌より培養したものをを用いた。またフコイダンは市販のシグマアルドリッチ製のものをを用いた。

小角 X 線散乱測定は BL11 に設置されている装置を用いた。入射 X 線の波長は 0.155 nm、カメラ距離は約 1 m で行った。正確なパラメーターは標準試料のベヘン酸銀により算出した。また検出器にはピラタスを用いた。溶液試料については石英ガラス製のキャピラリーを用いた。溶液の散乱データから溶媒の散乱データの差である過剰散乱を散乱曲線とした。またゲル状試料については図 1 のようにカプトン膜ではさみこみ、プラスチックの枠に固定して測定を行った。

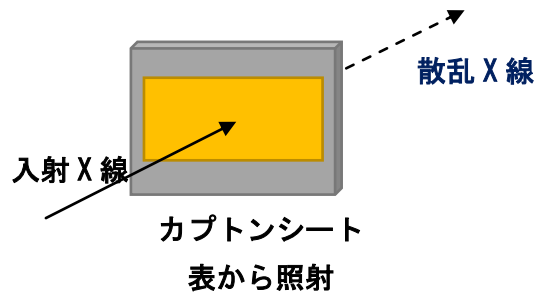


図 1. ゲル測定時の試料の配置

4. 実験結果と考察

図 2 は酢酸菌 (*Komagataeibacter sucrofermentans*) JCM9730 株を、SH 培地で 28°C、4 日間程度培養し、精製したバクテリアセルロースゲルおよびそれを乾燥した試料からの小角 X 線散乱に対して Kratky plot ($q^2 I(q)$ vs q) で示したものである。ここで $I(q)$ は散乱強度、 q は散乱ベクトルの大きさで $(4\pi/\lambda) \sin\theta$ である。ただし λ は入射 X 線の波長、 2θ は散乱角である。両方とも q の小さな領域で立ち上がりが見られた。 q が 0.2~0.4 あたりにおいても散乱強度があり、小角 X 線散乱の観測領域に相当するサイズの凝集体の存在が示唆された。立ち上がりはより大きな凝集によるものと考えられる。セルロースは通常高度な水素結合により結晶化し合う。その性質が反映されていると考えられる。

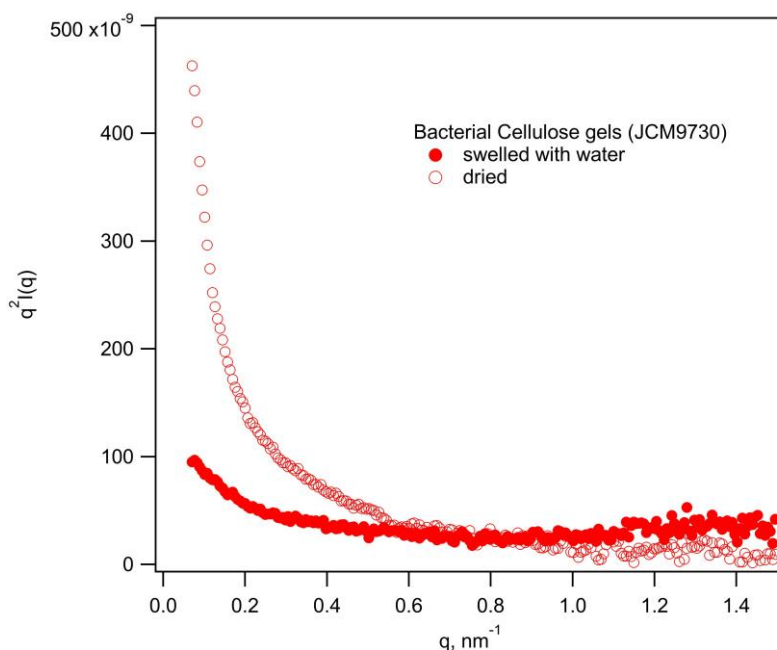


図 2. バクテリアセルロースゲルおよびそれを乾燥した試料からの小角 X 線散乱に対する Kratky plot

図 3 は褐藻類 *Undaria pinnatifida* 由来のフコイダン水溶液からの小角 X 線散乱 ($I(q)$ vs q) である。 q が 0.4 においてブロードなピークが観測された。これはフコイダンが硫酸基を含む電解質多糖類であり、静電的な反発相互作用によるピークである。このことはフコイダンが硫酸基を有しており、1% の濃度において水溶液中で反発相互作用を引き起こしていることを支持している結果ともいえる。

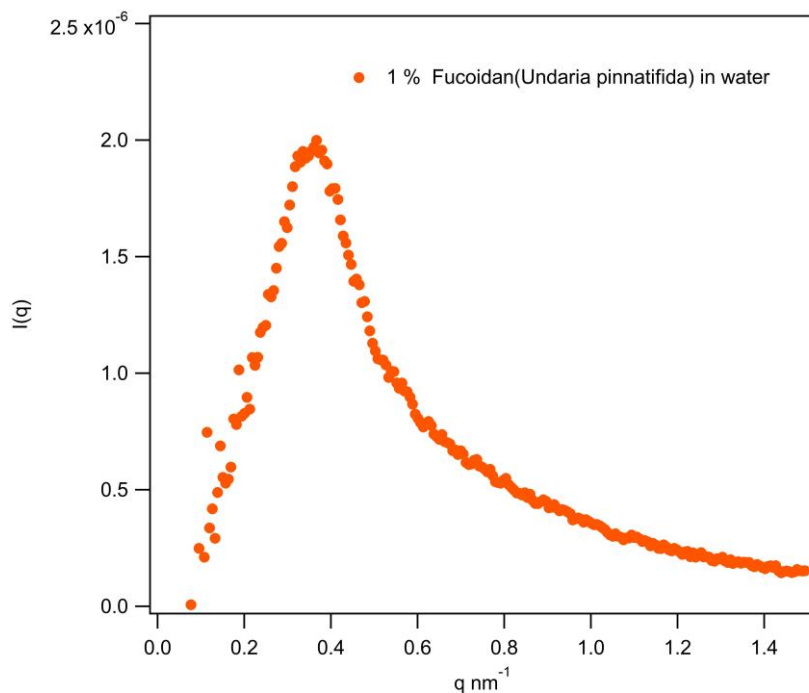


図3. フコイダン水溶液からの小角X線散乱

5. 今後の課題

バクテリアセルロースゲルからの散乱は比較的強く、精度よく散乱プロファイルを得ることができたが、フコイダン水溶液のほうは強度が微弱であり、1%程度の濃度を必要とした。今後は溶液やゲルの散乱についての測定条件を変えて測定して、最適な条件を検証する必要がある。

6. 参考文献

(1) O. Glatter, and O. Kratky, ed. *Small-angle X-ray scattering*. Academic Press, London (1982)

(2) 橋本竹治、「X線・光・中性子散乱の原理と応用」講談社 (2017)

7. 論文発表・特許 (注：本課題に関連するこれまでの代表的な成果)

(1) C. Yamane, R. Hirase, H. Miyamoto, S. Kuwahara, and Y. Yuguchi, “Mechanism of structure formation and dissolution of regenerated cellulose from cellulose/aqueous sodium hydroxide solution and formation of molecular sheets deduced from the mechanism”, *Cellulose*, 22, 2971-2982 (2015)

(2) Y. Yuguchi, L. M. Bui, V. T. T. Tran, T. T. T. Thanh, “Study on branched structure-physiological activity relationship of fucoidan”, *Chemistry Letters*, 45, No.7, 840-842 (2016)

(3) Y. Yuguchi, V. T. T. Tran, L. M. Bui, S. Takebe, S. Suzuki, N. Nakajima, S. Kitamura, and T. T. T. Thanh, “Primary structure, conformation in aqueous solution, and intestinal immunomodulating activity of fucoidan from two brown seaweed species *Sargassum crassifolium* and *Padina australis*”, *Carbohydrate Polymers*, 147, 69-78 (2016)

8. キーワード (注：試料及び実験方法を特定する用語を2～3)

多糖類、小角X線散乱

9. 研究成果公開について (注：※2に記載した研究成果の公開について①と②のうち該当しない方を消してください。また、論文(査読付)発表と研究センターへの報告、または研究成果公報への原稿提出時期を記入してください(2018年度実施課題は2020年度末が期限となります)。

長期タイプ課題は、ご利用の最終期の利用報告書にご記入ください。