リン酸三ナトリウム溶液中での カードランの溶存状態

小川宏蔵*・大道公秀*・山本篤史*・湯井敏文**

Conformation of Curdlan in the Trisodium Phosphate Solution

Kozo OGAWA*, Kimihide OMICHI*,
Atsushi YAMAMOTO* and Toshifumi YUI**

* Research Institute for Advanced Science and
Technology, Osaka Prefecture University, 1-2
Gakuen-cho, Sakai, Osaka 593

** Faculty of Engineering, Miyazaki University, 1-1
Gakuen-kibana-dai Nishi, Miyazaki 889-21

Conformational behavior of curdlan, a (1→3)- β -D-glucan, in its trisodium phosphate (Na_3PO_4) aqueous solution which was utilized as a food additive was examined. In the concentration range of 0.05 to 0.4 M where curdlan could be dissolved, it was found that the viscosity of curdlan solution was decreased a little with the increase of the alkaline concentration, that the absorption maximum (λ_{max}) of visible absorption spectra of a congo red solution showed a red shift from 485–490 to 518–520 nm by the addition of curdlan, and that a circular dichroism (CD) band was observed. When 1 M NaOH solution of curdlan was added to the curdlan 0.4 M Na_3PO_4 solution a drastic decreasing of viscosity, blue shift of curdlan-congo red solution, and no CD band were observed. These results suggested that curdlan took up an ordered conformation in the Na_3PO_4 solution, but, by the addition of the NaOH solution a conformational transition occurred to a random coil which is similar transformation having been observed in the NaOH solution.

(Received Dec. 24, 1996; Accepted Feb. 12, 1997)

カードランは高分子量であり、側鎖がほとんど認められないことから基礎的な研究試料としては理想的な β -1,3-D-glucan である。また水の存在下でゲル化するな

ど特異的な性質があることからゲルの物性、X線解析、固体 NMR 等数多くの研究が進められている。

カードランは結晶状態での X 線構造解析により 3 重らせん構造をとることが知られていたが^{1)~3)}、最近、一重らせんをもとりうるということが明らかになっている⁴⁾。カードランはアルカリ溶液中で、アルカリ濃度を変えることにより Ordered structure-Coil 転移が可逆的に起こるとされている^{5)~11)}。また規則構造をとるとき congo red と複合体を作る^{12)~14)}。しかし、アルカリ濃度が低いところでの規則構造がどのような構造であるかについてはまだ明確には証明されていない。ただ、分枝型 β -1,3-D-glucan のシゾフィランやスクレログルカンが水溶液中あるいは低濃度アルカリ溶液中で 3 重らせん構造をとっていることが明らかにされていること^{15) 16)} から、直鎖状 β -1,3-D-glucan であるカードランが低アルカリ濃度溶液中で 3 重らせん構造をとる可能性はあるといえる。

カードランは現在、ゼリー類、水産ねり製品、麺類などに食品添加物として実用化されている¹⁷⁾ が、その溶媒としてリン酸三ナトリウム (Na_3PO_4) 水溶液が用いられている。そこでカードランの構造と機能との関係についての基礎的知見を得るため、 Na_3PO_4 水溶液におけるカードランの溶存状態を調べた。

実験方法

試料カードランは武田薬品工業株式会社より提供を受けた。今回の希薄溶液粘度測定などに用いることが出来る溶液を調製するために、カードランを溶解する Na_3PO_4 溶液の濃度範囲は 0.05~0.4 M であった。カードランのアルカリ溶液の調製及び測定は、空気中の炭酸ガスによる pH の低下を防ぐためにすべて窒素気流中で行った。

粘度測定：0.04 g/dl カードランの 0.05~0.4 M Na_3PO_4 水溶液の比粘度 (η_{sp}/C ; C は多糖濃度, g/dl) を、ウベローデ型希釈粘度計を用い、窒素気流中 30°C で行った。また、カードラン-0.4 M Na_3PO_4 水溶液に同じ濃度 (0.04 g/dl) のカードラン-1 M NaOH 水溶液を添加して、比粘度の変化を測定した。

吸収スペクトル測定及び CD 測定：0.032 g/dl カードラン- 1.8×10^{-6} M congo red の 0.1~0.4 M Na_3PO_4 水溶液の可視部吸収スペクトルを日立 U-3210 分光光度計を用いて 30°C で測定した。また、同じ濃度のカードラン-

* 大阪府立大学先端科学研究所 (〒593 堺市学園町 1-2)

** 宮崎大学工学部物質工学科 (〒889-21 宮崎市学園木花台西 1-1)

congo red の 0.4 M Na_3PO_4 水溶液に 1 M NaOH 水溶液を添加して可視部最大吸収波長 (λ_{max}) の変化を測定した。CD 測定は日本分光 J-720 型円二色性分散計を用い室温でおこなった。

結果および考察

小川らは水酸化ナトリウム溶液で、0.19 M までの NaOH 濃度ではアルカリ濃度の増加に伴いカードラン溶液の粘度が単調に減少し、流動復屈折が観測され、その消光角はアルカリ濃度増加に伴い大きくなること、0.19~0.22 M の範囲で急激な粘度低下が起こり、0.22~0.24 M で少し粘度上昇が見られ、復屈折が観測されなくなることを、さらにアルカリ濃度が高いところではカードラン溶液の粘度はほぼ一定となることを見出した。いっぽう、旋光分散曲線は NaOH 濃度 0.19 M まではほとんど変化しないが、0.19~0.24 M の領域で急変し、0.24 M 以上では水溶性の低分子量 β -1, 3- グルカン (DPn = 13.4~20.8) が示す分散曲線とほぼ一致することを見出し⁶⁾、カードランが低アルカリ濃度の水溶液中で棒状の規則的な構造を採っているが、0.19~0.24 M の NaOH 濃度範囲で、アルカリ濃度の増加に伴って構造転移が起こり、ランダムコイルになると考察している。小川らはさらに、カードラン分子が規則的構造をとるとき congo red と複合体を作るが、ランダムコイルでは作れないことを示唆した^{12)~14)}。

Fig. 1 に示すように、カードラン- Na_3PO_4 水溶液の比粘度は Na_3PO_4 濃度 0.05 M から 0.4 M にかけて、アルカリ増加に伴い、わずかながら単調に減少している。次に、カードラン- Na_3PO_4 水溶液でリン酸ナトリウム濃度が最も高い (0.4 M) 溶液に、同じカードラン濃度の 1 M 水酸化ナトリウム水溶液を添加した時の比粘度の変化を Fig. 2 に示す。NaOH 溶液を添加してゆくと、初めは粘度はゆるやかに低下するが、 Na_3PO_4 溶液に対する添加 NaOH 溶液の容量比 (v/v) が 0.17~0.20 のあたりで、急激に粘度が落ち、添加量をさらに増すと粘度は少し高くなる。このアルカリ濃度による粘度の変化は水酸化ナトリウム水溶液におけるカードラン溶液の挙動⁵⁾とよく似ている。これらのことから、実験した濃度範囲 (0.05~0.4 M) での Na_3PO_4 水溶液中で、カードランは、低濃度の NaOH 溶液と同様の規則的な構造をとっており、一定量以上の NaOH を添加することにより構造転移が起こりランダムコイルになることが推察される。

カードランが規則構造をとっているとき、congo red と複合体を作ることが明らかになっている^{12)~14)}。そこ

Fig. 1 Na_3PO_4 concentration dependence of the specific viscosity (η_{sp}/C) of curdlan solution (○) and that of the absorption maxima (λ_{max}) of congo red solution with (□) and without curdlan (■) at 30°C

Curdlan concentrations for viscosity is 0.04 g/100 ml and for spectroscopy, 0.032 g/100 ml. Congo red concentration is 1.8×10^{-6} M.

で、カードラン-congo red 溶液の可視部吸収スペクトルのアルカリ濃度による変化を測定した。Fig. 3 は 1.8×10^{-6} M congo red の 0.4 M Na_3PO_4 水溶液 (点線) にカードラン (0.032 g/dl; グルコース残基濃度 1.98×10^{-3} M) を添加したとき (実線) の可視部吸収スペクトルの変化を示している。カードラン添加により、congo red の可視部最大吸収波長 (λ_{max}) が 485 nm から 518 nm へ大きく red shift している。また Fig. 1 に見られるようにすべての Na_3PO_4 濃度での congo red 溶液の吸収スペクトルの λ_{max} (485~490 nm) はいずれもカードラン添加によって大きく長波長側 (518~520 nm) へ移行したことから、 Na_3PO_4 水溶液ではカードランは congo red と複合体を形成していると考えられる。

カードラン-congo red 複合体の形成は、congo red の可視部吸収波長領域で円二色性 (CD) バンドが見られることから確認されている¹²⁾。そこで、カードラン-congo red-0.4 M Na_3PO_4 水溶液の CD スペクトルを測定した所、Fig. 4 に示す CD バンドが現れた。このことからリン酸ナトリウム水溶液中ではカードランが棒状の規則的構造をとっており congo red と複合体を作ってい

Fig. 2 NaOH concentration dependence of the specific viscosity (η_{sp}/C) of curdlan solution (○) and that of the absorption maxima (λ_{max}) of congo red solution with (□) and without curdlan (■) at 30°C

A curdlan-1 M NaOH solution was added to a curdlan-0.4 M Na_3PO_4 solution. Concentrations of curdlan and congo red are the same with those in Fig. 1.

Fig. 3 Visible absorption spectra of congo red in 0.4 M Na_3PO_4 solution with (solid line) and without curdlan (dashed line) at 30°C

Curdlan concentration is 0.032 g/100 ml, and congo red, 1.8×10^{-6} M.

ることは明らかである。

次にカードラン-congo red の 0.4 M Na_3PO_4 水溶液に 1 M 水酸化ナトリウム溶液を添加すると、容量比 0.1

Fig. 4 Acircular dichroism spectrum of the curdlan-congo red system in 0.4 M Na_3PO_4 solution

Concentrations of curdlan and congo red are the same with those in Fig. 3.

以上で NaOH 濃度増加に伴い、 λ_{max} は 518 nm から 485 nm に大きく blue shift した (Fig. 2) が、これは急激に粘度が低下したアルカリ濃度範囲と一致している。なお、容積比が 0.4 の溶液は congo red 溶液とほとんど同じ吸収スペクトルを示した。また、円二色性バンドは観測されなかった。つまり磷酸ナトリウム水溶液中ではカードラン分子は棒状規則構造をとっており、congo red と複合体を形成しうが、その溶液に水酸化ナトリウム水溶液を添加すると、添加量の増加に伴いランダムコイルへの転移が起こり、congo red との複合体が形成できなくなるといえる。

以上のことから、カードランは Na_3PO_4 溶液中で規則的構造をとっていることは明らかとなったが、この構造が Na_3PO_4 独自の作用によって生じるのか、あるいは単に溶液の pH によるものであるのかを調べるため、溶液の pH と比粘度および congo red の λ_{max} との関係を Fig. 5 に示した。これらの溶液の粘度と λ_{max} の pH 依存性は、小川らによるアルカリ濃度変化に伴うカードラン溶液の挙動⁵⁾⁷⁾ とよく似ている。このことからカードランの規則的構造は磷酸ナトリウム独自の作用で起きるのではなく、単に溶液の pH によるものであると考えられる。

要 約

食品添加物として使用されているカードラン (β -1, 3-glucan)-リン酸三ナトリウム溶液中におけるカードランの溶存状態を調べた。カードランが溶解する Na_3PO_4 の濃度範囲 (0.05~0.4 M) では、カードラン溶液のアルカリ濃度変化に伴う粘度変化はわずかであり、また、congo red の可視部吸収スペクトルの最大吸収波長 (λ_{max} , 485~490 nm) はカードラン添加により大きく

Fig. 5 pH dependence of the specific viscosity (η_{sp}/C) of curdlan solution (○) and that of the absorption maxima (λ_{max}) of curdlan-congo red solution (□) at 30°C

Concentrations of curdlan and congo red are the same with those in Fig. 1.

(518~520 nm) red shift し、円偏光二色性 (CD) が観察された。カードラン-0.4 M Na_3PO_4 溶液に同じカードラン濃度の 1 M NaOH 溶液を添加してゆくと、粘度の急激な低下とカードラン-congo red 溶液の blue shift が観察され、また、CD バンドは観測されなくなった。

以上のことから、カードランは Na_3PO_4 溶液中で規則的な構造を採っているが、 NaOH 溶液の添加に伴い、random coil へと転移することが考えられた。

本研究を遂行するにあたり、貴重なカードラン試料を提供いただいた、武田薬品工業株式会社フード・ビタミンカンパニーに感謝します。

文 献

- 1) R.H. MARCHESSAULT, Y. DESLANDES, K. OGAWA, and P.R. SUNDARARAJAN : *Canad. J. Chem.*, **55**, 300 (1977).
- 2) Y. DESLANDES, R.H. MARCHESSAULT and A. SARKO : *Macromolecules*, **13**, 1466 (1980).
- 3) C.T. CHUAH, A. SARKO, Y. DESLANDES and R.H. MARCHESSAULT : *Macromolecules*, **16**, 1375 (1983).
- 4) K. OKUYAMA, A. OTSUBO, Y. FUKUZAWA, M. OZAWA, T. HARADA and N. KASAI : *J. Carbohydr. Chem.*, **10**, 645 (1991).
- 5) K. OGAWA, T. WATANABE, J. TSURUGI and S. ONO : *Carbohydr. Res.*, **23**, 399 (1972).
- 6) K. OGAWA, J. TSURUGI and T. WATANABE : *Carbohydr. Res.*, **29**, 397 (1973).
- 7) K. OGAWA, J. TSURUGI and T. WATANABE : *Chem. Lett.*, **1973**, 95.
- 8) K. OGAWA, J. TSURUGI and T. WATANABE : *Carbohydr. Res.*, **29**, 397 (1973).
- 9) K. OGAWA, M. MIYAGI, T. FUKUMOTO and T. WATANABE : *Chem. Lett.*, **1973**, 943.
- 10) A. KOREEDA, T. HARADA, K. OGAWA, S. SATO and N. KASAI : *Carbohydr. Res.*, **33**, 396 (1974).
- 11) 小川宏蔵, 表面, **12**, 678 (1974).
- 12) K. OGAWA, J. TSURUGI and T. WATANABE : *Chem. Lett.*, **1972**, 689.
- 13) K. OGAWA and M. HATANO : *Carbohydr. Res.*, **67**, 527 (1978).
- 14) K. OGAWA, T. DOHMARU and T. YUI : *Biosci. Biotech. Biochem.*, **58**, 1870 (1994).
- 15) T. NORISUYE, T. YANAKI and H. FUJITA : *J. Polymer Sci., Polymer Phys. Ed.*, **18**, 547 (1980).
- 16) T.L. BLUBM, Y. DESLANDES, R.H. MARCHESSAULT and S. PEREZ : *Carbohydr. Res.*, **100**, 117 (1982).
- 17) 原田篤也 : ソフト・ハード&ヒューマン, 第 37 号, 1 (1990).

(平成 8 年 12 月 24 日受付, 平成 9 年 2 月 12 日受理)