

イシクラゲの保水力

Water-holding capacity of *Nostoc commune*

甲斐彩音 小川凜乃 浜田柚奈 八重尚樹
Ayane Kai Rino Ogawa Yuna Hamada Naoki Yashige

指導教諭 高崎真鶴

要約

本稿では、イシクラゲが持つ保水力の要因の解明のため進めている研究を報告する。イシクラゲは高い保水力と乾燥耐性を持っている。イシクラゲの保水力の主な要因はイシクラゲに含まれる多糖であると仮説を立てた。そこで我々はイシクラゲから多糖を抽出し、抽出した多糖水溶液の30℃・60℃での蒸発速度(重量変化量)を蒸留水と比較した。結果、多糖水溶液は蒸留水よりも、2倍時間長く保水した。これより、イシクラゲが持つ保水力の一つの要因として多糖が挙げられ、また高温下でも保水力を保つことができると分かった。

1. はじめに

イシクラゲ(英名：*Nostoc commune*)は、シアノバクテリア門・ネンジュモ目・ネンジュモ科・ネンジュモ属の原核生物・陸生藍藻の一種であり多数の細胞糸が寒天質基質(多糖)に包まれた構造をしている。また、



図1：イシクラゲ

イシクラゲは保水力・乾燥耐性に優れているため、雨が少ない場所においても生存可能である。実際乾燥状態において87年間もの間生存していた記録がある。以上のことから、化粧品・乾燥地帯での応用ができるのではないかと考える。

しかし、保水力が優れている要因について詳しく言及している資料を見つけることができなかった。そこで我々は、イシクラゲの保水力の要因を解明することを目的とする。

2. 仮説

同じシアノバクテリア門であり高い保水力を持つスイゼンジノリ(英名：*Aphanothece sacrum*)は高分子多糖であるサクランが高い保水力の要因である。これより、イシクラゲの保水力も寒天質基質に含まれる多糖が大きく関係しているのではないかと考えた。

3. 実験

3.1 実験材料・実験器具

イシクラゲ、電子天秤、ミキサー、サンプル容器、ホットスターラー、遠心分離機、セロハン、ビーカー、ピペット、ガラス棒、試験管、葉さじ、シャーレ、凍結乾燥機、遠心濃縮機、オートクレーブ、pH試験紙、インキュベータ、温度計

3.2 実験1 多糖の抽出①

【目的】

サクランの抽出方法を参考にイシクラゲから多糖を抽出する。

【方法】

- 72時間自然乾燥したイシクラゲをミキサーで粉碎。(以後サンプルと呼ぶ)
- サンプルを各4.0g量り取りAにはエタノール(100%)45mLを加え、Bは何も加えない。
- Aのみにスターラー(450rpm, 5min)→遠心分離器(10,000rpm, 1min)→スターラー(450rpm, 5min)→遠心分離器(300rpm, 1min)→遠心濃縮機(300rpm)にかけ乾燥。
- A・BにNaOHaq(1M)45mLを加え、100℃で1h様子を観察。
- ホットスターラーを用い(sd. 6/沸騰状態)A・Bそれぞれ2h攪拌。
→Aは開始40分後、回りにくくなったためNaOHaq25mL追加。その後も粘度が高かったため蒸留水を随時追加。Bは開始1h40min頃、NaOHaq25mL追加。
- サンプルに蒸留水約100mL加え希釈。
- 6)の上澄み液を遠心分離し、その上澄み液を収集。
- 48h透析しpH6~7にする。
- サンプルを-81℃で冷凍後、凍結乾燥し繊維状にする。
- 繊維を熱水に溶解し、エタノール沈殿させる。
- 遠心分離機8minにかける。
- 遠心濃縮機(300rpm, 15min)にかけ乾燥。

【結果】

・凍結乾燥後のサンプルA・Bともに繊維状のものが取れた(図2)

- ・エタノール脱色の効果が見られなかった
- ・遠心濃縮機で乾燥したサンプルはどちらも砂のような小片が微量取れた

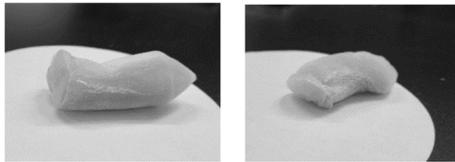


図 2：左から凍結乾燥後のサンプル A・B

【考察】

- ・エタノール脱色の効果が見られなかったことから、脱色時間が短い、乾燥状態で脱色を行ったためエタノールが内部まで浸透していなかったと考えた。

3.3 実験 2 多糖の確認①

【目的】

フェーリング液を用い抽出した物質が多糖であるか確認する。

【方法】

- 1) サンプル A・B と比較のため、ショ糖をそれぞれ薬さじで適量取り、蒸留水 2.0 mL に溶解。
 - 2) HCl(aq)(2M)2.0 mL 加え、70°C で 5 min 湯煎。
 - 3) 湯煎後、NaOH(aq)(2M)2.0 mL 加える。
 - 4) ※フェーリング液を適量入れ、湯煎。
- ※フェーリング液は A 液(CuSO₄aq)と B 液(KNaC₄H₄O₆・4H₂O と NaOH(aq)を直前に混合したものを使用。
また、フェーリング液は青色・透明であり、還元性の糖に反応して赤褐色の沈殿物を生じる。

【結果】

表 1：実験 2 の結果

ショ糖	赤褐色
サンプル A	変化なし
サンプル B	変化なし

- ・ショ糖では試薬の色が変化した、サンプル A・B では色が変わらなかったことから多糖が検出されなかったことが分かる

【考察】

- ・検出されなかった理由として抽出した物質に対する多糖の割合が小さかったと考えられる。
→実験 1 の抽出工程が多くロスがあった
- ・溶液の濃度が低い・湯煎時間が短いなどの要因で酸加水分解が不十分であった可能性がある。

3.4 実験 3 多糖の抽出②

【目的】

実験 1 の方法を簡略化し、イシクラゲからより多くの多糖を抽出する。

【方法】

- 1) イシクラゲを自然乾燥させ粉砕。
 - 2) NaOH(aq)(1M)を加え、オートクレーブ 120 min かける。
 - 3) HCl(aq)(1M)を加え、pH 7 まで中和。
 - 4) フェノール・クロロホルム法によりタンパク質を沈殿。
 - 5) 遠心分離機にかけ、水層・タンパク質・有機層に分離させ、水層・※1 タンパク質を収集。
 - 6) ※2 無処理の水層(水層 A とする)、凍結乾燥し 70°C の蒸留水に溶解した水層(水層 B とする)に分ける。
- ※1 タンパク質と多糖が結合して沈殿している可能性も考え、タンパク質も収集した。
※2 凍結乾燥の影響を調べるため分けた。

【結果】

- ・水層 A・B ともに粘性のある液体となった
- ・水層 B は冷凍し解凍するとゼリー状になった
- ・凍結乾燥を行った水層 B の方が色が濃かった

【考察】

- ・抽出には長時間高温で保つ必要があると考えられる
- ・70°C の蒸留水で溶解し、冷凍・解凍するとゼリー状になった理由として、加熱・冷却により※完全溶解やゲル化が原因だと考えた。
- ※完全溶解とは多糖の分子鎖が水和して開いた状態になること、ゲル化とは温度の低下により多糖類分子が規則的な網目構造を形成しながら結合し、それにより液体が流動性を失い増粘することである。

3.5 実験 4 多糖の確認②

【目的】

実験 2 から、溶液の濃度を高く・湯煎時間を長くし、フェーリング液を用い抽出した物質が多糖であるか確認する。

【方法】

- ①水層 A : 5.0 mL ②水層 B 液体部分 : 5.0 mL
③水層 B ゼリー部分 : 1.0 mL ④タンパク質

- 1)④のみ蒸留水 5.0 mL に溶解。
- 2)多糖を単糖にするため HCl(aq)(3M)を加え、ホットスターラーに 1 h かける。
- 3)NaOH(aq)(3M)を加え中和。
- 4)フェーリング液を溶液の 2 倍量加え、ホットスターラーに 1 h かける。

【結果】

表 2：実験 4 の結果

①水層 A	薄い赤褐色
②水層 B 液体部分	赤褐色
③水層 B ゼリー部分	濃い赤褐色
④タンパク質	底のみ赤褐色

・反応の強さは③>②>①>④の順であった

【考察】

- ・凍結乾燥した②・③が濃い赤褐色となったことから、凍結乾燥は効果的である
- ・③>②となったことからゼリー部分の方が多糖が多く含まれている
- 凍結乾燥し、ゼリー状であるものが最も多糖を含む
- ・④から薄い反応が見られたことからタンパク質には多糖が付着・結合している

3.6 実験 5 保水力の測定

【目的】

インキュベータを用い 30℃・60℃の 2 条件で多糖水溶液と蒸留水のそれぞれの蒸発速度(重量変化量)を測定し保水力を確かめる。

【方法】

- 1)抽出した多糖 0.9 g を 70℃の蒸留水 4.5 mL 加え溶解。その後、冷凍し解凍。
- 2)比較のため蒸留水 4.0 mL を用意。
※温度を変えて実験するため、それぞれ 2 セット用意する。

- | | |
|------------|----------|
| ①多糖水溶液 30℃ | ②蒸留水 30℃ |
| ③多糖水溶液 60℃ | ④蒸留水 60℃ |

- 3)インキュベータ 30℃に①・②，インキュベータ 60℃に③・④をセットし，10 min ごとに重量を計測し，重量変化量を記録。

※重量変化量が 3 回連続変化しなければ終了とみなす

【結果】

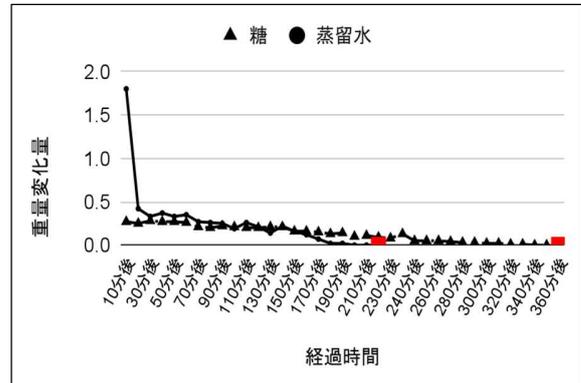


図 3：30℃での多糖水溶液と蒸留水の重量変化量

- ・多糖水溶液は 360 分後，蒸留水は 220 分後に乾燥した
- 多糖水溶液の方が約 1.6 倍時間長く保水した
- ・蒸留水と比べ，多糖水溶液の重量変化量はほぼ一定で緩やかであった

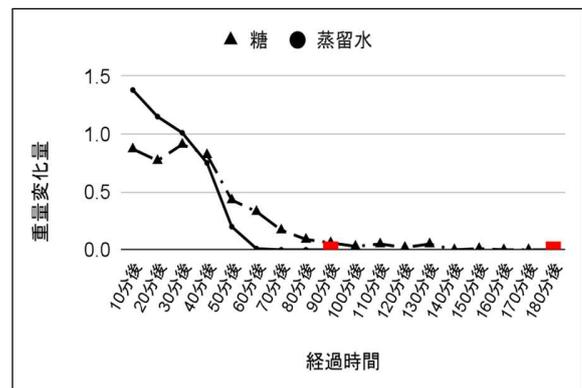


図 4：60℃での多糖水溶液と蒸留水の重量変化量

- ・多糖水溶液は 180 分後，蒸留水は 90 分後に乾燥した
- 多糖水溶液の方が 2 倍時間長く保水した
- ・蒸留水と比べ，多糖水溶液の重量変化量の範囲は小さい

【考察】

- ・インクラゲに含まれる多糖に保水力がみられたため，インクラゲの保水力の要因の一つであるといえる
- ・60℃でも多糖は保水能力を保つことができる

■追加実験

【目的】

実験 5 ※60℃で使用した多糖水溶液を再度利用できるか反復実験し比較する。

※多糖が長時間高温状態におかれた場合，再度同等の保水力をもつのか確認するため 60℃のみ対象とした

【方法】

- 1)実験 5 60℃で使用した乾燥後の多糖を 70℃の蒸留水 4.5 mL 加え溶解. その後冷凍し解凍.
- 2)インキュベータ 60℃にセットし, 実験 5 と同様に行う.

【結果】

- ・溶解した際, 1 回目と比較しゼリー状にならなかった
- ・同じ時間保水した
- ・2 回目の方が開始 10 分後の重量変化量が大きい, その後安定していた

【考察】

- ・開始 10 分後の重量変化量が多かったことからやや保水力が弱くなった
- 長時間高温状態におかれると多糖はやや変性する
- ・同じ時間保水したことから質はやや劣るが再利用は可能

4. 研究全体の結果・考察

- ・イシクラゲから多糖を抽出することができた
- 抽出には長時間高温で保つ・凍結乾燥を行った方が高濃度な多糖が抽出ができる
- ・熱湯で溶解後, 冷凍・解凍するとゼリー状になる
- 加熱・冷却により完全溶解やゲル化が原因で保水する
- ・多糖水溶液は蒸留水よりも, 2 倍時間長く保水する
- 多糖はイシクラゲの持つ保水力の一つの要因である
- ・実験 3 : 多糖の抽出②の予備実験の際, タンパク質にも粘性があった
- 多糖とタンパク質の結合からなるプロテオ グリカンや糖タンパク質が高い保水力を持つ
- ⇒多糖だけでなく, 多糖とタンパク質の関係もイシクラゲの保水力の要因の一つとなっている可能性がある

6. 今後の展望

イシクラゲの保水力と抽出した多糖の保水力の関係性を解明することを目的とした実験を行いたい. その際, フェノール・クロロホルム処理の回数を増やす, 処理の時間を長くするなどして更に純度の高い多糖を使用したい. 実験の結果, 多糖が主な要因でなかった場合, タンパク質の付着・結合がイシクラゲの保水力に関係している可能性も視野に入れ実験を進めていきたい.

7. 参考文献

- [1]尾張智美著作
イシクラゲ-藻類の多様性と可能性-
https://www.sbj.or.jp/wp-content/uploads/file/sbj/9707/9707_index.pdf
- [2]金子達雄著作
スイゼンジノリからサクランを抽出する
https://researchmap.jp/read0094056/published_papers/13800356
- [3]多糖類.com
https://www.tatourui.com/about/03_outcome.html
- [4]食品開発ラボ
<https://shokulab.unitecfoods.co.jp/article/detail173/#>

8. 謝辞

崇城大学生物生命学部生物生命学科
岡拓二先生