

シワランソウモドキ *Collinsiella cava* (YENDO) PRINTZ (緑藻, ランソウモドキ科)
の粘質様物質

—構成する中性糖類を中心として—

入來義彦・堀口健雄・増尾恵美子

信州大学教育学部生物学教室 (380 長野市西長野町6-ロ)

IRIKI, Y., HORIGUCHI, T. and MASUO, E. 1989. Mucilage from *Collinsiella cava* (YENDO) PRINTZ (Chlorophyta) with special reference to its sugar components. Jpn. J. Phycol. 37: 291-294.

Mucilage of a green alga, *Collinsiella cava* (YENDO) PRINTZ (Collinsiellaceae, Chlorosphaerales) was investigated. Judging from the paper chromatogram, gas chromatogram and specific rotation, sugars in hydrolyzate of the mucilage were L-arabinose, rhamnose and glucose in the ratio 77 : 11 : 1. The specific rotation of the mucilage was $[\alpha]_D^{20} = -11.75$. The absorption maximum of the mucilage-iodine complex was 504 nm.

Key index words: L-arabinose—Chlorophyta—*Collinsiella cava*—glucose—mucilage—mucilage-iodine complex—rhamnose.

クロコスフェラ目 Chlorosphaerales ランソウモドキ科 Collinsiellaceae に属するランソウモドキ属 *Collinsiella* は、細胞が多量の粘質の中にあつて群体をつくる緑藻類である。しかし、その粘質に関する生化学的知見は、現在まで見当らない。

今回、われわれは、シワランソウモドキの粘質を構成する中性糖類および粘質の物理化学的性質に関して若干の知見を得たので、ここに報告する。

材料および方法

材料：シワランソウモドキ *Collinsiella cava* (YENDO) PRINTZ は静岡県下田市鍋田湾で岩に附着しているものを小刀ではぎとった。採集後、他の藻類などの夾雑物を除き、さらに水洗して塩分を除去したのち、風乾して実験材料に供した。

灰分：常法により定量した。

窒素：micro-Kjeldahl 法により定量した。

ペントザンおよびメチルペントザン：KRÜGER-TOLLENS-KRÖBER 法 (VAN DER HAAR 1920) および ELLET-TOLLENS-MAYER 法 (VAN DER HAAR 1920) により定量した。

糖類：全糖は DUBOIS *et al.* (1956) の方法、還元糖は SOMOGYI 法 (1945) により定量した。

ペーパークロマトグラフィー：加水分解により生成した単糖類は、一次元上昇法 (同一方向に2回) により、定性分析・単離を行った。展開液：n-ブタノール-メタノール-水 (8:2:3 v/v); 発色剤：アルカリ性硝酸銀試薬 (TREVELYAN *et al.* 1951), ベンチジン試薬 (BACON and EDELMAN 1951), アニリン・蔞酸試薬 (HORROCKS and MANNING 1949); 濾紙：東洋濾紙 No. 52 (定性用), Whatman 3MM (単離用); 温度：室温。

多糖類の加水分解：

〔加水分解法Ⅰ〕熱水可溶性多糖類 (以後、粘質様物質 mucilage とよぶ) は、4%硫酸とともに、高圧釜中、120°C, 60分加熱し、加水分解した後、硫酸を水酸化バリウム・炭酸バリウムで除き、減圧濃縮して、糖類は、N,N ジメチルホルムアミド (以後、DFA とよぶ) に溶解し、ペーパークロマトグラフィーにより定性分析した。

〔加水分解法Ⅱ〕上記の方法では加熱による加水分解中にペントース・メチルペントースの分解が生ずる。これを防ぐためにつぎのように行った。粘質様物質を10倍量の72%硫酸中に、0°C, 24時間放置し、水を加えて16%硫酸とし、30日間室温中に放置し、完全に加水分解した後、硫酸を水酸化バリウム・炭酸バリウムで除き、減圧濃縮して、糖類は DFA に溶解させ、ペーパークロマトグラフィーにより定性分析した。

ガスクロマトグラフィー：粘質様物質の構成糖の定性および量比測定のため、上記 DFA 溶液中の糖類を TFA 化したのち、ガスクロマトグラフィーを行った。機器 Shimadzu GC-3BF; カラム 1.2% XE-60 on Chromosorb W; N_2 流速 40 ml/min; 温度 120°C。

吸収スペクトル：粘質様物質のヨード試薬による可視部吸収スペクトルは、日立分光光度計 EPS 3型により測定した。

結 果

組織化学的検索——風乾した藻体 10 g を SOXHLET 法により、エーテル・クロロホルムの順に用いて、脂肪および葉緑素などを除去した。ついで、ヨード反応を検したところ粘質様物質の部位が赤色を呈したが、澱粉様顆粒は認められなかった。

全藻の一般分析——全藻中の灰分、窒素、ペントザン、メチルペントザンの定量結果は、Table 1 に示すとおりである。

粘質様物質の調製——風乾した藻体約 100 g を 10 倍量の 80% エタノールとともに、還流冷却下、水浴中、1 時間加熱することを 2 回行った。ついで、10 倍量の水とともに、還流冷却下、直火、1 時間加熱し、粘質様物質を抽出した。得られた上清を遠心分離 ($3000 \times g$, 15分) し、淡黄色の液を 600 ml に濃縮し、99% エタノール 4500 ml に注入し、白色の沈澱 14.6 g を得た。

上記粉末をさらに 2000 ml の蒸留水中に溶解し、遠心分離 ($18,000 \times g$, 20分) を行い、得られた無色透明な上清を 300 ml に濃縮し、透析を 4 日間行った。この液を 99% エタノールに注入し、白色沈澱 (粘質様物質) 13.5 g を得た。

得られた粘質様物質の窒素含有量は 0.083%、灰分含有量は 1.54% であった。

灰分含有量が比較的多量であるので、電気透析などの処理を行ったが、灰分量の減少は認められなかったため、以後の純化は行わずに該糖質様物質の化学的性質をつぎのように調べた。

粘質様物質の構成糖——粘質様物質 400 mg を〔加

水分解法 1〕により加水分解し、得られた単糖類をペーパークロマトグラフィーにより調べた結果は、Fig. 1 に示すとおりである。

なお、数種の発色剤を用いて、粘質様物質の加水分解液中の物質をペーパークロマトグラフィーにより定性分析した結果は、Fig. 2 に示すとおりである。

Fig. 2 より明らかなように、 $R_G = 1.55$ のものは、 R_G 値およびベンチジン試薬で褐色 (dark brown) に呈色することからラムノース、 $R_G = 1.17$ のものは、ベンチジン試薬で赤褐色 (chocolate brown) に呈色すること、アニリン・修酸試薬で赤色に呈色すること、および R_G 値からアラビノース、 $R_G = 1.00$ のものは R_G 値およびベンチジン試薬で褐色 (dark brown) に呈色することからグルコースと推定される。

なお、 $R_G = 0.56, 0.48, 0.36$ のものは微量のため上

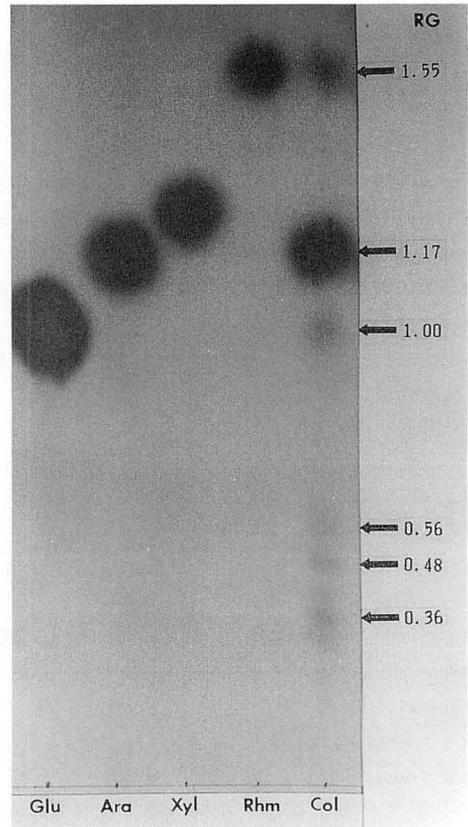


Fig. 1. Paper chromatogram of sugars in hydrolyzate of the mucilage from *Collinsiella cava*. Solvent: n-butanol-methanol-water (8:2:3 v/v). Color reagent: alkaline silver nitrate. Glu, glucose; Xyl, xylose; Ara, arabinose; Rhm, rhamnose; Col, hydrolyzate of *Collinsiella cava*.

Table 1. Results of analysis of the whole fronds (% on dry weight basis).

Ash	Total N	Pentosan	Methylpentosan
25.56	2.05	51.2	10.2

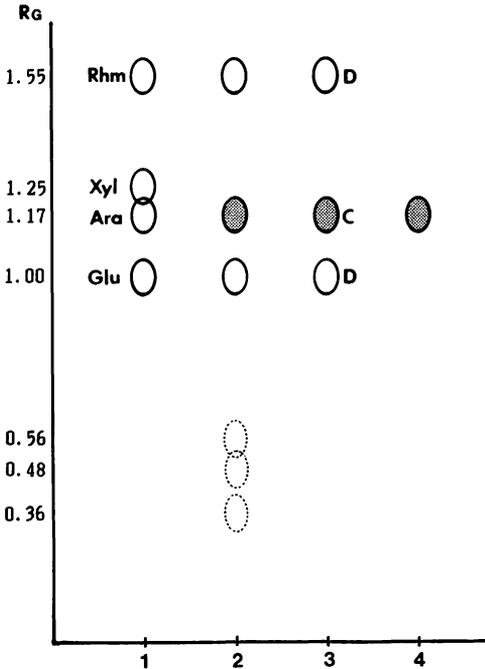


Fig. 2. Paper chromatographic identification of sugars in hydrolyzate of the mucilage of *Collinsiella cava*. 1: Control. 2: Alkaline silver nitrate reagent. 3: Benzidine-trichloroacetic acid reagent. 4: Aniline-oxalic acid reagent. Solvent: n-butanol-methanol-water (8:2:3 v/v). C, chocolate brown in color; D, dark brown in color; Rhm, rhamnose; Xyl, xylose; Ara, arabinose; Glu, glucose.

述の発色剤（アルカリ性硝酸銀試薬を除く）では明瞭な呈色が認められず、また、後述のガスクロマトグラフィーでもその存在は証明できなかった。したがって、これらは中性糖類ではないものと推定される。

また、この加水分解液の比旋光度は、 $[\alpha]_D^{20} = +87.04^\circ$ (C=1, 水) である。一方、L-アラビノース、L-ラムノースの比旋光度が、それぞれ $[\alpha]_D^{20} = +105^\circ$, $+8.4^\circ$ であることから、この粘質様物質は L-アラビノースを主体とする多糖類であると推定される。

L-アラビノースの単離——上記加水分解液中の糖類をペーパークロマトグラフィー (Whatman 3MM 濾紙を用いた) により分別し、 $R_f = 1.17$ の部位の糖類を単離した。得られた糖類の比旋光度は $[\alpha]_D^{20} = +100.7^\circ$ (C=2.98, 水) で L-アラビノースの比旋光度 $[\alpha]_D^{20} = +105^\circ$ に近かった。

粘質様物質の構成糖の量比——粘質様物質 100 mg を〔加水分解法 2〕により加水分解し、生成した糖類の量比をガスクロマトグラフィーにより測定した。結

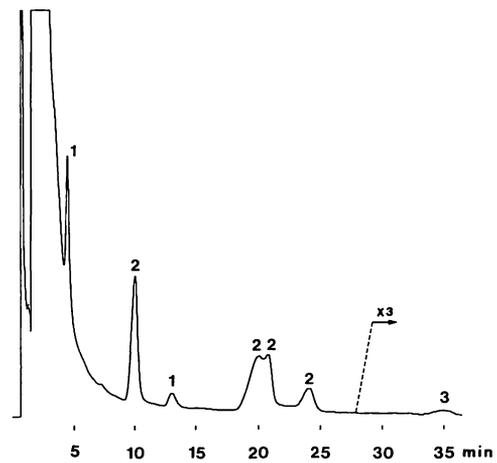


Fig. 3. Gas chromatogram of trifluoroacetylated sugars in hydrolyzate of the mucilage from *Collinsiella cava*. Condition for gas chromatography: column 1.2% XE60 on chromosorb W; temp. 120°C; N₂ flow speed 40 ml/min; column size 1.7 m (L) × 3 mm (I.D.); Model Shimadzu GC-3BF. 1, rhamnose; 2, arabinose; 3, glucose.

果は Fig. 3 に示すとおりである。

ガスクロマトグラムの面積比から、この粘質様物質を構成する糖類の量比は、アラビノース：ラムノース：グルコース=77:11:1 であることが明らかである。

粘質様物質の物理化学的性質——この粘質様物質の物理化学的性質はつぎのようである。

(i) 比旋光度：比旋光度は $[\alpha]_D^{20} = -11.75^\circ$ (C=1, 水) でやや左旋性を示した。

(ii) ヨード試薬による呈色：この粘質様物質はヨード試薬により深紅色を呈する。この可視部における吸収をつぎのように調べた。すなわち、1%粘質様物質 1 ml に水 2 ml を加え、さらに 0.02% ヨード試薬 1 ml を加え最大吸収波長を自記分光光度計により測定した。その結果、最大吸収波長は 504 nm であることが明らかになった。(澱粉—ヨウ素複合体の最大吸収波長は 650 nm である。)

考 察

以上のようにシワランソウモドキの粘質様物質を構成する中性糖類は、L-アラビノース：ラムノース：グルコース=77:11:1 であることを明らかにした。また、粘質様物質に関しては、ヨード試薬により 504

nm の最大吸収波長を示す深紅色に呈色し、比旋光度は $[\alpha]_D^{20} = -11.75^\circ$ (C=1, 水) であることが明らかになった。

植物界における L-アラビノースを主成分とするアラバンの分離例としては、高等植物では、リンゴ (HIRST and JONES 1939), ラッカセイ (HIRST and JONES 1947), テンサイ (HIRST and JONES 1948) などがあるが、藻類からの報告は見当たらない。

また、現在まで、生体より単離された多糖類のうちヨード反応により紅色を呈するものとしては、D-グルコースを構成成分とする紅藻澱粉のみが知られている。

以上の諸事実から、今回得られた粘質様物質は、生化学的見地よりみて特殊な物質であるといえる。

今後さらに、この粘質様物質の構造について生化学的方法により解明したい。

文 献

- BACON, J.S.D. and EDELMAN, J. 1951. Carbohydrates of the Jerusalem artichoke and other Compositae. *Biochem. J.* **48**: 114-126.
- DUBOIS, M.K., GILLES, A., HAMILTON, J.K., REBERS, P.A. and SMITH, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* **28**: 350-356.
- HIRST, E.L. and JONES, J.K.N. 1939. Pectic substances. IV. Composition of apple pectin and the molecular structure of the araban component of apple pectin. *J. Chem. Soc.* **1939**: 454-460.
- HIRST, E.L. and JONES, J.K.N. 1947. Pectic substances VII. Structure of the araban from *Arachis hypogaea*. *J. Chem. Soc.* **1947**: 1211-1225.
- HIRST, E.L. and JONES, J.K.N. 1948. Pectic substances. VIII. Araban component of sugar-beet pectin. *J. Chem. Soc.* **1948**: 2311-2313.
- HORROCKS, R.H. and MANNING, G.P. 1949. Partition chromatography on paper. Identification of reducing substances in urine. *Lancet* **256**: 1042-1045.
- SOMOGYI, M. 1945. A new reagent for the determination of sugars. *J. Biol. Chem.* **160**: 61-68.
- TREVELYAN, W.E., PROCTER, D.P. and HARRISON, J.S. 1951. Detection of sugars on paper chromatography. *Nature* **166**: 444-445.
- VAN DER HAAR, A.W. 1920. Anleitung zum Nachweis, zur Bestimmung der Monosaccharide und Aldehydsäuren. *Borntrager*. Berlin. p. 63. p. 69.