

リガンド支援型¹H核磁気共鳴法を用いた異なる海藻種に含まれる多糖類の硫酸含量推定

朴俊夏¹, 宮崎義之^{1,2}, 中野勇人³, 松井利郎^{1*}

1. 九州大学農学研究院生命機能科学部門
2. NPOフコイダン研究所
3. 株式会社ヴェントゥーノ

要旨

本研究では、先の研究で見出したリガンド（イミダゾール）を用いた¹H-NMR（¹H-核磁気共鳴）分光法を用いて、海藻の硫酸化多糖類の硫酸基含量を測定することを目的としました。採集した場所が異なる9種類の市販海藻（合計20品目）を試料として分析を行いました。各試料を凍結乾燥したのち、粉碎物を沸騰水に浸漬することで抽出しました。次に、この抽出液からアルギン酸を沈殿除去し、硫酸化多糖類を含む天然の粗多糖フコイダン（CP）画分が含まれる上清を得ました。イミダゾールとCP硫酸基との複合体形成を阻害するCPカルボキシ基を除去するために、¹H-NMR分光法にて測定する前にカルボキシ基を化学的にヒドロキシメチル基に還元しました。測定の結果、従来の硫酸基含量測定法であるバリウム-ロジゾン酸法と同等の定量値が得られました。以上の結果から、イミダゾールを用いた¹H-NMR分光法は、海藻抽出物から調製した粗フコイダンの硫酸基含量の推定に適した方法であることが示唆されました。

キーワード：海藻，硫酸化多糖，硫酸基含量，¹H-NMR，イミダゾール

Profiling sulfate content of polysaccharides in seaweed species using a ligand-assisted ¹H-NMR assay

Juneha BAK¹, Yoshiyuki MIYAZAKI^{1,2}, Hayato NAKANO³, and Toshiro MATSUI^{1*}

1 Division of Bioresources and Biosciences, Faculty of Agriculture, Graduate School of Kyushu University, 744 Motooka, Fukuoka 819-0395, Japan

2 NPO Research Institute of Fucoidan, 4-1-18 Tenjin, Fukuoka 810-0001, Japan 3 Ventuno Co., Ltd., 2-1-1 Omiya, Fukuoka 810-0013, Japan

Received October 20, 2020; Accepted January 27, 2021

This study aimed to use an existing ligand (imidazole)-assisted ¹H-nuclear magnetic resonance (¹H-NMR) spectroscopy protocol to determine sulfate content of seaweed sulfated saccharides. Twenty seaweed samples – spanning nine species and multiple geographic locations – were analyzed. Extracts were obtained by immersing freeze-dried seaweeds in boiling water, followed by alginate precipitation. Remaining supernatants contained natural crude polysaccharide (CP) fraction, including sulfated polysaccharides. To eliminate free CP carboxy groups that can interfere with the complex formation of imidazole with CP sulfate groups, the carboxy groups were chemically reduced to hydroxymethyl groups prior to ¹H-NMR spectroscopy. Resultant sulfate content estimates were comparable to those obtained via a conventional barium-rhodizonate assay. Findings indicate that the imidazole-assisted ¹H-NMR spectroscopy is an appropriate method for estimation of seaweed CP sulfate content.

Keywords: seaweed, sulfated polysaccharide, sulfate content, ¹H-NMR, imidazole