

糖鎖で糖を分離するバイオポリマー積層ナノろ過膜の創成

小山工業高等専門学校 複合工学専攻 物質工学コース 化学工学研究室 2年

鈴木 遥士（すずきはるし）

【概要】健康機能を有するマルトテトラオースは精製が困難であるため、高純度品が高価なオリゴ糖である。本研究では、糖鎖で形成したネットワークでオリゴ糖をふるい分ける新発想で、天然多糖を用いたナノろ過膜の開発に挑戦した。アルギン酸とカラギーナンという二種類の多糖ポリマーを積層して膜構造を制御することで、実用的な処理速度の達成とマルトテトラオースの濃縮に成功した。

【栃木を元気にするためには】健康増進に効果があるマルトテトラオースを安価に精製する新技術を確立することで医薬品やサプリメント開発に結び付け、高齢化が進む栃木県健康寿命の向上に益する。また本手法は非電力で駆動する膜分離技術であり、膜材料にも非石油由来の天然資源を活用していることから、未来社会に求められる環境低負荷技術として栃木県のモノづくり産業に貢献したい。

1. 背景・目的

マルトオリゴ糖とは 2~8 分子程度のグルコース(ブドウ糖)が結合した重合体である。このうち、グルコース 4 分子で構成される四糖のマルトテトラオースは、抗菌作用やカルシウムイオンの吸収を促進する効果を有し、細菌性胃腸炎や骨粗鬆症の予防に効果を発揮することが報告されている¹⁾。このマルトテトラオースはデンプンを加水分解することで得られるが、副生成物として共存する単糖～三糖の除去が困難であり、現状ではクロマトグラフィー等で少量ずつ分離するしかない。そのためマルトテトラオースを 70%程度含有しながら単糖から三糖の副生成物を含む食品添加用マルトオリゴ糖液(テトラップ、株式会社林原)は 1 円/g 以下で入手できるのに対して、高純度のマルトテトラオース試薬(例えば 94%マルトテトラオース, SMB01322, Sigma-Aldrich)は 100 万円/g を超える。

マルトオリゴ糖の分離が困難である理由として、特徴的な官能基を持たず、電気的に中性であるためイオン交換やアフィニティ吸着等の分離操作が適用できないことが挙げられる。さらに、それぞれの分子直径が単糖グルコースで 2.7 nm、二糖マルトースで 3.9 nm、三糖マルトトリオースで 4.9 nm、四糖マルトテトラオースで 5.8 nm であり、それぞれのサイズ差がおおよそ 1 nm ずつしかないため、分子をふるい分けることが困難である。そこで、精密に制御した糖鎖ネットワークにより糖のスケールで溶質分子を認識しマルトオリゴ糖を分離する技術が開発されてきた²⁾。

本研究では、緻密な構造を形成するアルギン酸を分離層とし、緩やかなゲルを形成するカラギーナンを中心とした支持層を導入することで積層膜を調製した。さらに実用的な処理速度を実現するため、支持層にポリエチレングリコールを用いた空隙改質を施して多孔質化した。本研究の目的は、糖鎖で構成された積層膜の調製方法を最適化するとともに、安価なオリゴ糖混合液を用いてマルトテトラオースの濃縮を実証することである。

高純度のマルトテトラオースは分離が困難なため極めて高価
→糖のスケールで形成した分子ふるいナノろ過膜で選択的に分離
→医薬品や健康サプリメントへの応用が期待

単糖グルコース

四糖マルトテトラオース

三糖マルトトリオース

二糖マルトース

アルギン酸層：緻密な分子ふるい

カラギーナン層：緩い構造で水を透過

図1 本研究の概要：糖鎖ネットワークによる四糖の濃縮

2. 実験方法

アルギン酸ナトリウム水溶液(1wt%)をシャーレに分注し、30℃で乾燥させて薄膜を形成させた。この薄膜に塩化カルシウム水溶液(1mol/L)を添加して架橋反応を生じさせることでアルギン酸層を形成させた。次にカラギーナン(1wt%)、アルギン酸ナトリウム(0.5wt%)、分子量 20,000 のポリエチレングリコール(0.5wt%)の混合水溶液を調製し、アルギン酸層の表面に塗布して30℃で乾燥させた。再び塩化カルシウム水溶液(1mol/L)を添加することでカラギーナン層を形成させた。最後に 40℃の水で洗浄することでカラギーナン層からポリエチレングリコールを除去し、水が透過する空隙を形成させた。

次に、単糖グルコース、二糖マルトース、三糖マルトトリオース、四糖マルトテトラオースで構成される混合水溶液のろ過試験を行った。加圧ろ過装置の底部に膜を設置して 150mL の溶液を満たして密閉し、窒素ガスを充填することで内部を 300kPa に加圧してろ過を行った。ろ過装置内の溶液を採取し、高速流体クロマトグラフィーを用いて各マルトオリゴ糖の濃度を定量した。

3. 結果・考察

得られた膜を凍結乾燥して作成した断面の電子顕微鏡観察像を図 2 に示す。アルギン酸層の緻密な薄膜に、空隙を含むカラギーナン層が積層されている様子が観察された。

図 3 に調製した膜を用いたマルトオリゴ糖混合液のろ過試験における、処理液量に対する各糖の存在割合の変化を示す。ろ過の進行に伴って単糖グルコース、二糖マルトース、三糖マルトトリオースの割合は減少したが、四糖マルトテトラオースにおいては 75%から 85%という顕著な上昇を示した。このことから、本研究で調製したバイオポリマー積層膜は優れたナノろ過能を発揮し、マルトテトラオースの濃縮に成功した。

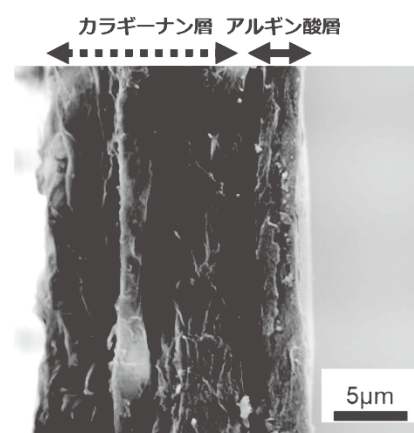


図 2 バイオポリマー積層膜の電子顕微鏡観察像

4. 総括

アルギン酸とカラギーナンから成るバイオポリマー積層膜を調製し、マルトテトラオースを選択的に濃縮できるナノろ過膜としての有用性を実証した。安価なマルトオリゴ糖混合液からマルトテトラオースの濃縮を実現することで、健康機能を有するマルトテトラオースを安価に普及し、活用の幅を広げ、広く国民の健康増進に寄与が期待できる。また、本手法は種々の非荷電性分子群を分離する新規な分離技術として、モノづくり産業への貢献が期待できる。

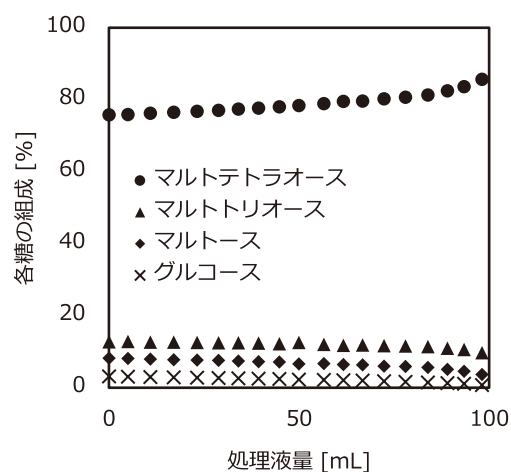


図 3 濾過試験における各糖の組成の推移

5. 謝辞

本研究は公益財団法人浦上食品・食文化振興財団、並びに JSPS 科研費 23H03577 の助成を受けて実施されました。また、マルトオリゴ糖(テトラップ)は株式会社林原にご提供いただきました。厚く御礼を申し上げます。

6. 参考文献

- 1) J. Li, et. al, *Process Biochem.*, **108** (2021), 8-17.
- 2) K. Kashima, et al, *J. Environ. Chem. Eng.*, **9** (2021), 105210.