

学位論文要旨

学位授与申請者

氏名 高木 宏基

Title: Studies on surface structure and adsorption properties of
waxy/amylose extender (wx/ae) double-mutant rice starch

(イネ二重変異体(*waxy/amylose extender*)米由来澱粉の表面構造と吸着特性に関する研究)

本研究はイネ二重変異体 *waxy/amylose extender (wx/ae)* 米由来澱粉の表面構造を明らかにし、水、精油中の化合物の澱粉への吸着挙動、 α -アミラーゼの澱粉への反応性を解析し、構造特性との関係を検証した。

Chapter 1: General introduction (緒言)

澱粉は最も豊富な炭水化物資源の一つであり、種々の植物から単離されており、化学的、物理的、或いは酵素的に改変された澱粉が産業的に広く利用されている。澱粉の構造特性はこれまでも広く研究されてきたが、近年突然変異育種で改変された新たな性質を有する米澱粉が開発されている。イネ二重変異体 *waxy/amylose extender (wx/ae)* もイネ変異体の一品種であり、GBSSI (granule bound starch synthase I) と BEIIb (branching enzyme IIb) が欠損した変異体である。 *wx/ae* 澱粉は側鎖の長いアミロペクチンのみから構成され、B型結晶図形を示す澱粉であり、*in vitro* において α -アミラーゼに消化抵抗性を示すことが報告されている。本研究では、*wx/ae* 澱粉の構造解析を進めると共に、水、精油中の化合物の澱粉への吸着挙動、 α -アミラーゼの澱粉への反応性を解析し、構造特性との関係を検証した。

Chapter 2: Surface structure and water adsorption behavior of *waxy/amylose extender (wx/ae) double-mutant rice starch*

(イネ二重変異体 *waxy/amylose extender (wx/ae)* 米由来澱粉の表面構造と水吸着挙動)

本章では、走査型電子顕微鏡、窒素ガス吸着、及び様々な相対湿度下における水分吸着分析によって、*wx/ae* 澱粉の表面構造と水吸着挙動を解析した。さらに、示差走査型熱量計を用いて澱粉に含まれる結合水を調べた。*wx/ae* 澱粉の比表面

積は $3.26 \text{ m}^2/\text{g}$ であり、その表面には 6-60 nm 径の細孔が認められた。相対湿度 100%における水分吸着量は、全重量を 1 とした場合の重量画分で 0.278 であった。また、不凍水量より算出した結合水の重量画分は 0.233 であり、いずれの値も *waxy* 変異体 (*wx*) 由来澱粉及び野生型澱粉に比べ、大きい値を示した。以上の結果から、澱粉-水の相互作用には、澱粉粒の形状や大きさ、比表面積、細孔、及び結晶構造といった形態的特性やナノスケールの構造が関与しており、*wx/ae* 澱粉は表面に多く存在する細孔や大きな比表面積といったユニークな構造によって他の澱粉より大きな水分吸着能を有することが示唆された。

Chapter 3: Binding interaction of porcine pancreatic α -amylase with *waxy/amylose extender* (*wx/ae*) double-mutant rice starch granules does not determine their susceptibility to hydrolysis

(ブタ膵臓由来 α -アミラーゼとイネ二重変異体 *waxy/amylose extender* (*wx/ae*) 米由来澱粉粒の結合は澱粉の加水分解感受性を決定しない)

wx/ae 澱粉は、*wx* 澱粉や野生型澱粉とは異なり、ブタ膵臓由来 α -アミラーゼ (PPA) に対して消化抵抗性を示し、レジスタントスターチの性質を有している。そこで本章では、澱粉粒と α -アミラーゼの結合性と、PPA に対する加水分解感受性との関係を明らかにすることを目的として、*wx/ae* 澱粉の PPA 結合性を調べた。その結果、*wx/ae* 澱粉は、*wx* 澱粉や野生型澱粉に比べ 80%多く PPA を結合した。各澱粉の PPA 結合量の比は、それぞれの澱粉の表面積の比と同等であった。以上の結果から、PPA 結合能は澱粉粒の比表面積によって決定するが、澱粉の消化性に PPA の結合性は影響せず、結晶構造や澱粉粒内部の高次構造の特性が関与していることが示唆された。PPA によって部分的に消化された *wx/ae* 澱粉の形態を走査型電子顕微鏡で観察したところ、その形態は *amylose extender* 変異体米由来の澱粉や馬鈴薯澱粉等の既知レジスタントスターチとよく一致していた。

Chapter 4: Selective adsorption of essential oil compounds by *waxy/amylose extender* (*wx/ae*) double-mutant rice starch revealed by gas chromatography

(ガスクロマトグラフィー法によって明らかにしたイネ二重変異体 *waxy/amylose extender* (*wx/ae*) 米由来澱粉による精油中化合物の選択的吸着)

澱粉は加工食品等において香料等の香りに関与する成分と同時に用いられる

ことが多く、両者の相互作用を解析することは澱粉の産業利用において重要である。本章では、動的吸着とガスクロマトグラフィーを利用して *wx/ae* 澱粉と *wx* 澱粉が精油中の化合物をどのように吸着するかを調べた。精油は数多くの香り成分を含有することから、それを試料とすることで澱粉と香り成分の吸着を網羅的に解析することが可能である。澱粉を担体として予め気化させた精油を移動相として用いる動的プロセスによる吸着解析においては、吸着対象となる化合物の構造による選択性が認められた。水酸基を持つ化合物は容易に吸着され、アルデヒド基やケトン基、及びエステル結合を有する化合物は、分子内に環状構造や炭素二重結合が存在する場合に吸着された。エーテル結合を有する化合物は分子内に炭素二重結合を持つ場合に吸着されることが明らかになった。動的プロセスによる澱粉の化合物吸着は、主に澱粉の持つ水酸基と化合物のプロトン受容体の間で生じる水素結合が関与する可能性が示唆された。また、動的プロセスにおいて、*wx* 澱粉に比べ *wx/ae* 澱粉への吸着が顕著であった数種類の化合物について、澱粉と精油を同一容器内で平衡化する静的プロセスによる定量的な吸着解析を行ったところ、動的プロセスと同様に *wx/ae* 澱粉はより大きな吸着能を示した。*wx/ae* 澱粉の優れた吸着能には、大きな比表面積や細孔容積が関与すると共に、吸着対象である化合物の構造も影響していることが示唆された。

Chapter 5: General conclusion (総括)

本研究において、*wx/ae* 澱粉は大きな比表面積を持ち、その表面に 6-60 nm 径の細孔が多数存在することが明らかになった。これらの表面構造は水、精油中の化合物の吸着挙動、 α -アミラーゼの結合性に影響していると考えられた。*wx/ae* 澱粉は、*wx* 澱粉や野生型澱粉に比べ多くの水分子を吸着し、同様に α -アミラーゼも多く結合することが判明した。各澱粉の α -アミラーゼ結合性は、それらの比表面積の比と同等であった。精油中の化合物を対象とした吸着解析における吸着キャパシティや選択性には、*wx/ae* 澱粉の表面構造だけでなく、対象となる化合物の構造要素が関係していることが示唆された。本研究の結果は生命環境科学分野における澱粉の基礎的研究の発展に寄与することのみならず、澱粉の産業利用における発展に貢献するものであると考えられる。