

## 【審査結果の要旨】

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、 $\alpha$ -アミラーゼの澱粉への結合性と反応性を解析し、構造特性との関係を検証したものである。

1章では、本研究の背景、意義、目的を述べている。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、化学的、物理的、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に広く研究されてきたが、近年突然変異育種で開発された新たな性質の米澱粉が注目されている。イネ二重変異体 *waxy/amylose extender (wx/ae)* は、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* で $\alpha$ -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、水、精油中の化合物の澱粉への吸着挙動、 $\alpha$ -アミラーゼの澱粉への結合性・反応性を解析し、構造特性との関係について述べている。

2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ている。さらに、示差走査型熱量計を用い澱粉に含まれる結合水を調べたところ、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とした場合の重量百分で 0.278 であった。また、不凍水量より算出した結合水の重量百分は 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という指摘をしている。

3章では、wx/ae 澱粉が、wx 澱粉や野生型澱粉と異なりレジスタントスターチの性質を有し、ブタ膵臓由来 $\alpha$ -アミラーゼ (PPA) に対して消化抵抗性を示すことから、澱粉粒と PPA の結合性、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 結合性を調べている。wx/ae 澱粉は、wx 澱粉や野生型澱粉に比べ 80%多く PPA を結合しており、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を明らかにした。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ることを見出した。

4章では、澱粉が加工食品等において香料等の成分と同時に用いられることが多いことから、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だと考え、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ている。精油は数多くの香気成分を含有することから、澱粉と香気成分の吸着を網羅的に解析している。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、吸着対象となる化合物の構造による選択性を認めている。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していた。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していた。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を指摘している。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見出した。 $wx/ae$  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を指摘している。

5章は、総括である。 $wx/ae$  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、これらの表面構造は水、精油中の化合物の吸着挙動、 $\alpha$ -アミラーゼの結合性に影響していること、 $wx/ae$  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 $\alpha$ -アミラーゼも多く結合することを見出している。各澱粉の $\alpha$ -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を指摘している。以上、本論文は、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り、博士学位論文として価値があるものと判断した。

## 6 最終試験の結果の要旨

平成 31 年 2 月 5 日 14 時 10 分より稲盛記念会館視聴覚室において博士学位論文発表会を公開で行った。発表後、質疑応答が行われた。質問は、3種類の澱粉表面構造の特徴と水、PPA、化合物の吸着特性との関係性について、澱粉表面に空いた細孔の形成要因、細孔の数や体積の推定方法、澱粉分子と吸着分子の量比やモル数との関係、 $wx/ae$  澱粉の性質を活かした利用方法など、多岐にわたってなされたが、申請者は全ての質問に対し、適切に回答を行った。以上より、最終試験の結果については、審査員全員一致で合格とした。