

様 式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19（共通）

科学研究費助成事業 研究成果報告書



平成 30 年 5 月 30 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2015～2017

課題番号：15K07435

研究課題名（和文）新奇高アミロースサツマイモ澱粉の微細分子構造と難消化性獲得機構の解明

研究課題名（英文）Elucidation of fine molecular structures of novel high-amylose sweetpotato starches and their mechanism for formation of resistant starch during gelatinization

研究代表者

北原 兼文（KITAHAIRA, Kanefumi）

鹿児島大学・農水産獣医学域農学系・教授

研究者番号：30240922

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,700,000 円

研究成果の概要（和文）：イモ類で初めて発見された2系統の新奇高アミロースサツマイモ澱粉の塊根中の貯蔵澱粉と緑葉中の同化澱粉の詳細な分子構造を調べた。この時、アミロペクチンの改良調製法と同化澱粉の改良調製法を確立した。その結果、希有な高アミロース特性は塊根の貯蔵澱粉に特異的であることを明らかにした。本澱粉が加熱糊化により難消化性を獲得する理由として、多量のアミロース成分とアミロペクチンの超長鎖が多い構造上の特徴により複雑なネットワーク構造が構築されるためと考察した。

研究成果の概要（英文）：The fine molecular structures of the stored starches in the tuberous roots and the assimilated starches in the green leaves of two kinds of novel high-amylose sweetpotato varieties which were discovered for the first time in root crops were investigated. For the purpose, the modified methods for preparation of the amylopectins and the assimilated starches were also developed. It was revealed that the unique high-amylose trait was specific to the tuberous stored starches compared to the assimilated starches. The high-amylose starches showed high resistant starch contents and were considered to bear the anti-digestibility by heat gelatinization because a complex network structure was constructed due to the structural properties of both large amounts of amylose and super-long chains of amylopectin.

研究分野：農学

キーワード：サツマイモ澱粉 高アミロース 難消化性 レジスタントスターチ アミロペクチン 分子構造

1. 研究開始当初の背景

サツマイモは、火山灰土壌の痩せ地で台風の常襲地域である南九州に適合した基幹作物であり、主に焼酎や澱粉原料用として使われ、地域の重要な経済作物となっている。しかし、一般のサツマイモ澱粉は澱粉特性に特徴がなく、食品用としての利用が伸び悩んでいた。そこで、産学官連携により、特殊な澱粉特性を有するサツマイモの育種開発と特性解明を進めた結果、低温糊化性で耐老化性に優れた「こなみずき」澱粉が新たに提供され、食感改良素材としてゲル食品やパン・麺類、餅製品等に利用されるようになり、地域振興に貢献した。

このようなサツマイモの澱粉特性に着目した育種過程で、含量が50%を超える高アミロース澱粉が見出され、学術および産業利用の観点から興味深く思われた。従来は、50%以上の高アミロース澱粉はトウモロコシ由来しか知られておらず、イモ類の澱粉としては初めての発見であり、今後のサツマイモ澱粉育種の母材として極めて有用な形質となる。先行する研究により、サツマイモ高アミロース澱粉は、アミロース含量の増大のみならず、重合度6-10の短い単位鎖が多いなど、アミロペクチンの構造にも特殊性のあることが示唆された。しかし、高アミロース澱粉は水中での分散性が悪く、従来のアミロペクチン調製法は適用不可能であったため詳細な構造解析が進まなかった。また、塊根に高アミロース澱粉を蓄積する新奇な系統について、異なる澱粉合成の場である緑葉の同化澱粉の構造を調べることは澱粉生合成の観点から興味深く思われた。さらに、高アミロース澱粉は、加熱糊化によりレジスタントスターチ（難消化性澱粉）が倍増することが分かった。本来、加熱糊化は消化性を高める調理手法であるが、高アミロース澱粉の現象は逆であり、この現象を説明できる実験事実は得られていない。以上のように高アミロースサツマイモ澱粉は、澱粉科学の観点から極めてユニークで、興味ある研究対象であった。

2. 研究の目的

本研究では、高アミロースサツマイモ澱粉の塊根中の貯蔵澱粉および緑葉中の同化澱粉の詳細な分子構造を明らかにして澱粉科学にインパクトを与える。そのためには、高アミロース澱粉のアミロペクチンの調製法と緑葉から同化澱粉の調製法を確立する。また、加熱糊化による難消化性獲得機構を明らかにして、食品素材としての澱粉の高機能化法に関する知見を得ることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 実験材料：サツマイモ試料は、農研機構九州沖縄農業研究センターサツマイモ育種グループ（宮崎県都城市）で育成された高アミロース澱粉系統の九系 07277-149 (K-149) と九系 07278-197 (K-197) および比較対照の一般

品種シロユタカ (SY) またはコガネセンガン (KS) を用いた。サツマイモ緑葉は、平成27年9月晴天日の午後3時頃に成長した緑葉10枚を採集して直ちにドライアイスで凍結後、凍結乾燥し、粉末化して用いた。

塊根澱粉は、常法に従い、組織を摩砕後、沈殿と上澄み除去を繰り返して調製した。緑葉の同化澱粉の調製については研究成果の項で述べる。

(2) 澱粉の特性：澱粉の物理化学特性として、ラピッドビスコアナライザー (RVA) による粘度特性、示差走査熱量計 (DSC) による糊化特性、ヨウ素呈色法によるアミロース含量、湿式灰化無機リン酸測定による結合リン酸含量、ゲル濾過クロマト (GPC-RID) による構成単位鎖分布と陰イオン交換クロマト (HPAEC-PAD) による短鎖単位鎖分布について調べた。また、澱粉のレジスタントスターチ (RS) 含量はメガザイム社の試薬キット (AOAC method 2002.02) により測定した。高アミロース澱粉のアミロペクチンの調製については研究成果の項で述べる。

4. 研究成果

(1) 貯蔵澱粉の物理化学特性および分子構造

高アミロースサツマイモ澱粉のアミロース含量は、3カ年の研究期間において、K-149が44.1%~56.6%およびK-197が49.5%~63.2%の範囲にあり、本形質は環境要因により変動することが示唆された。高アミロース澱粉はRVA粘度特性においてほとんど粘度を示さず、DSC糊化特性では弱い糊化ピークが低温で観察された (図1)。

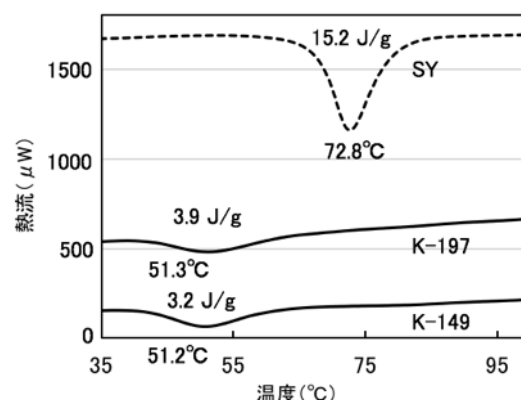


図1. 澱粉のDSC分析
(図中の数値は、糊化ピーク温度と糊化熱)

また、いずれの高アミロース澱粉のGPC-RID分析による構成単位鎖分布では、アミロース画分が多く、HPAEC-PAD分析では重合度6-10の短鎖の多いことが再確認された。さらに、詳細な分子構造の解析を進めるため、高アミロース澱粉のアミロペクチンの改良調製法を検討した。澱粉のジメチルスルホキシド加熱

溶解とブタノール分別法を組み合わせることでアミロペクチンの調製を試みた結果、従来法では10%未満であった収率が約60%にまで改善され、高アミロース澱粉のアミロペクチンの構成単位鎖分布が初めて明らかになった(図2)。

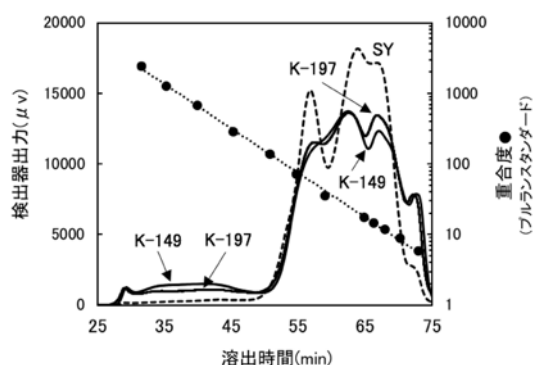


図2. アミロペクチンの構成単位鎖分布
(カラム: Superose 6-Superdex Peptide)

K-149 と K-197 のアミロペクチンの単位鎖分布は互いに類似していたが、一般品種 SY のものとは明らかに異なっていた。高アミロース澱粉のアミロペクチンは溶出時間 70 分以降に溶出する短鎖の多いことが再確認され、また 50 分までに溶出する超長鎖が SY の 3-4 倍多く、高分子分画用の TSKgel GMPW_{XL} 2 連結カラムを用いた GPC-RID では、より長い超長鎖が存在することも新たに見出された。

(2) 同化澱粉の分子構造

新奇高アミロースサツマイモ系統の緑葉中に形成される同化澱粉の構造比較は学術的に興味深い。従来の同化澱粉の調製法は、澱粉-ヨウ素複合体として特異的に沈殿・回収後、亜ヒ酸によるヨウ素の還元で複合体を再溶解する工程があった。ヒ素化合物の使用を避けるため、澱粉-ヨウ素複合体の溶解法について各種還元剤やアルカリ溶解を検討した結果、アスコルビン酸により複合体が再溶解できることを見出した。この再溶解液のヨウ素等を透析により除去後、エタノール沈殿処理により同化澱粉を得ることに成功した。

高アミロース系統と一般品種 KS のいずれの同化澱粉も、貯蔵澱粉と同様に、高分子領域にアミロース画分と低分子領域にアミロペクチンの構成単位鎖画分が存在した(図3)。同化澱粉のアミロペクチン画分にもクラスター構造に基づく周期性があること、また同化澱粉のアミロース画分は貯蔵澱粉より短いアミロースに富むことが新発見として得られた。各系統の貯蔵澱粉を比較すると、2 系統の高アミロース澱粉は先述のアミロース画分と短鎖画分の特殊な構造が認められる一方、同化澱粉を比較すると、高アミロース澱粉のアミロース画分は 1.2-1.3 倍程度であり、溶出時間 50 分以降のアミロペクチン構成単位鎖画分の分布も比較的類似することが明らかになった。

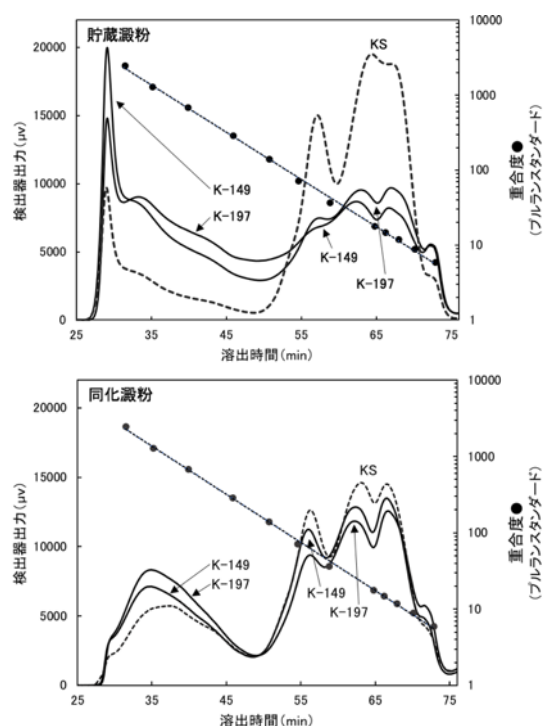


図3. 貯蔵澱粉と同化澱粉の構成単位鎖分布

さらに、高アミロース同化澱粉のアミロペクチンを調製して構成単位鎖分布を調べた(図4)。同化澱粉と、そのアミロペクチンの構成単位鎖分布を比較すると、アミロペクチンでは高分子側の画分が欠如していることから、この部分にアミロース成分が存在することが実証された。同化澱粉のアミロペクチンは、重合度 1,000 以上(溶出時間約 35 分まで)の長い超長鎖が少なく、重合度 300 と 700 程度に二峰性分布を示し、また HPAEC-PAD により重合度 6-10 の短鎖が貯蔵澱粉より少ない特徴が明らかになった。

以上のように、新奇高アミロースサツマイモ澱粉の緑葉中の同化澱粉の構造を初めて明らかにし、希有な高アミロース性は塊根の貯蔵澱粉に特異的であることが示された。このことは器官別澱粉生合成に関する貴重な新発見である。

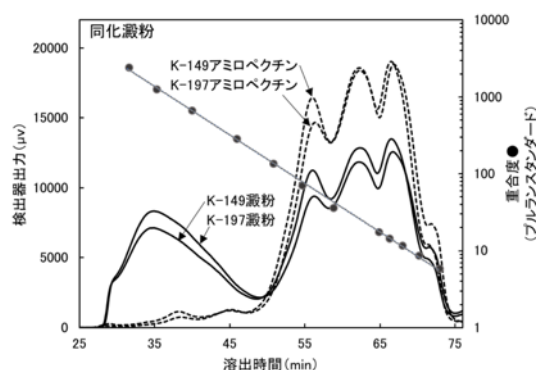


図4. 同化澱粉のアミロペクチンの構成単位鎖分布

(3) 難消化性獲得機構の考察

高アミロースサツマイモ澱粉は加熱糊化により RS 含量が倍増する。既存の顕微鏡に本研究課題で購入した顕微鏡用サーモコントローラーを装着し、加熱糊化の過程を動的に観察したところ、加熱過程においてほとんど変化のない不溶性の糊化抵抗性残渣が認められた。そこで、高アミロース澱粉を 100℃、20 分の糊化後に、水懸濁と遠心分離を 3 回繰り返して、不溶性画分と可溶性画分を調製して構造を調べた (図 5)。

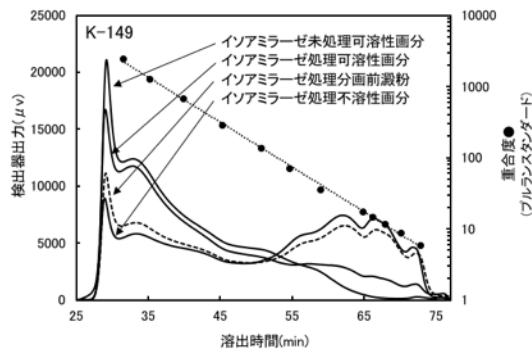


図 5. 高アミロース澱粉 (K-149) の不溶性画分と可溶性画分

収率約 20% の可溶性画分はイソアミラーゼ処理の有無でも単位鎖分布に大きな変化がないことから主に直鎖状のアミロース成分が溶出しており、収率約 70% の不溶性画分の単位鎖分布は分画前の分布と類似することから残留するアミロースとアミロペクチンから構成されていることが分かった。なお、K-149 と K-197 は同様の結果であった。

加熱に対する糊化抵抗性残渣は、酵素作用へも抵抗性を示すことが考えられ、難消化性を示す本体と思われる。高アミロースサツマイモ澱粉は直鎖状のアミロース分子が多く、また分岐したアミロペクチン分子にもアミロース様の長い側鎖や極短鎖が多く結合していることから、一般の澱粉より粒構造が不完全な顆粒として存在すると考えられ、このことは DSC 糊化熱が小さいことから示唆される。このような高アミロース澱粉が水中で加熱されると、アミロースとアミロペクチンの長鎖の移動により絡み合っ複雑なネットワーク構造を構築し、糊化抵抗性を持つものと考えした。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔学会発表〕 (計 1 件)

①片山健二、西中未央、中村善行、藏之内利和、藤田清貴、北原兼文、高アミロースサツマイモ育成系統の特性、日本応用糖質科学会平成 29 年度大会、2017 年

6. 研究組織

(1) 研究代表者

北原 兼文 (KITAHARA, Kanefumi)
鹿児島大学・農水産獣医学域農学系・教授
研究者番号：30240922

(2) 研究協力者

小林 晃 (KOBAYASHI Akira)
(国研) 農研機構九州沖縄農業研究センター・上級研究員

片山 健二 (KATAYAMA Kenji)

(国研) 農研機構次世代作物開発研究センター・主席研究員