

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 5 日現在

機関番号：32658

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23500937

研究課題名(和文)「米」の高次機能利用をめざした新規米の作出と米粒および澱粉の物性発現機構の研究

研究課題名(英文) Toward underlying applications for rice starches as functional carbohydrate foods

研究代表者

阿久澤 さゆり (Akuzawa, Sayuri)

東京農業大学・応用生物科学部・教授

研究者番号：60256641

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：野生種(日本晴)およびその変異体米(イネスターチシンターゼ(SSⅠ、SS_a)、デブランチンゲンザイム(PUL))の4種の米澱粉の特性を明らかにするために、変異体米の澱粉の構造解析および糊液のレオロジー測定を行った。

その結果、野生種に比べてSS_a変異体は胚乳内のアミロプラストが不規則であったが、SSⅠおよびPUL変異体は野生種と顕著な違いが見られず、さらに分離澱粉糊液は低い粘弾性特性を示し、水素の緩和時間が長かった。また、変異体米の炊飯米の評価は低く、粒で利用するよりも、粉体での利用が有用であると考えられた。

研究成果の概要(英文)：Starch synthase Ⅰ, Ⅲa (SSⅢa), Pullulanase-deficient rice mutant, that was completely absent in these activity, and the parental Nihonbare were characterized to develop the relationship between the structure of these starches and their rheological properties of starch pastes.

The shape of amyloplast of SSⅢa was unsteady compared to the wild type though, these of PUL and SSⅠ was very similar shape with the wild type. The starch paste of SSⅢa showed the lowest value of the storage modulus and the loss modulus and the relaxation time of H⁺ was the longest among them. The sensory evaluation score of these cooked mutant rice were lower than wild type cooked rice, so these mutant were suitable as a powder as a functional carbohydrate foods.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学

キーワード：米 澱粉 構造解析 レオロジー 粘弾性 炊飯米

1. 研究開始当初の背景

私たちは「米」を主食としており、重要な栄養源であるとともに、日本で国内自給しやすく、すでに高度な栽培技術を持つ食用作物でもある。米の主成分である澱粉およびその分解産物のデキストリンやオリゴ糖は、肥満などの生活習慣病に予防効果があり、難消化性多糖とともに最近注目されている。

2. 研究の目的

本研究は、イネの遺伝子組み換え技術ではなく、自然交配による変異体米の作出により、ユニークな構造を持つ米および米澱粉を創出するとともに、その米澱粉の構造とレオロジー特性の相互関係を明らかにすることで、新規米が持つ複数の機能性を同時多目的に利用した「米による高次機能性テラーメイド食品」の開発をめざすことを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 変異体米の作出と栽培：逆遺伝学的方法による変異体米の作出と選抜を行い、さらにそれらを野外で大量に栽培することにより、新規米の食品素材としての安定性を証明する。

(2) 変異体米および澱粉の構造・レオロジー解析：SEM による変異体米の組織観察、澱粉の分離精製と分子特性および構造解析を行う。さらに、分散系のレオロジー特性を測定する。

(3) 変異体米の人による食品としての評価：食品としての米の評価用語を収集し、評価方法を確立して官能評価を行い統計処理により特性の抽出・評価を行う。

4. 研究成果

(1) 変異体米および澱粉の構造

米粒の吸水過程の水の移動を磁気共鳴画像法 (MRI) により観察した。日本晴は浸漬初期から亀裂の発生が見られ、30 分後に水分が中心部に広がっている様子が観察された。SSIIa では、整粒では日本晴と近似した移動が観察されたが、亀裂の発生が少ないように見られた。心白粒では浸漬 10 分で横から亀裂が多く生じ、特に 10 分で水分が中心部全体に早く達していた。SSI は浸漬初期から横および縦方向にも亀裂が観察され、過乾燥により水分の低下した米である水浸裂傷米に類似していたため、継続検討が必要であるが全ての米粒で 12~13%であったことから、SSI は過乾燥と結論づけられない。測定結果より、日本晴は通常の品質の精白米と違いがないことが確認され、PUL は日本晴に一番近い吸水過程であることが分かった。しかし、変異体米は 1 粒ごとのばらつきも大きく、米粒ごとの観察平均という結果ではないが、糖合成酵素の欠損は胚乳構造に影響を及ぼしていることが、水の移動からも示唆された。

また、炊飯米の表面構造をデジタルマイクロスコープで観察したところ、SSIIa は滑ら

かな表面で高い光沢を持つ表面構造であった。日本晴は凹凸があり光沢があまりない表面構造であることが観察された。表面観察と同時に、米飯の付着性を測定したところ、日本晴は付着性が高く粘りがあるのに対し、SSIIa は日本晴に比べ付着性が低く粘りがありなかった。炊飯された米飯には、表面につやや粘りがある。これは炊飯中に溶出する物質が米飯の表面に付着することが影響すると言われていることから、米飯の表面構造の違いが、付着性に関与していると考えられた。

3 種の変異体米の分離澱粉の構造解析を行った。真のアミロース含量は、SSIIa は 20.0%、日本晴 15.0%であり、超長鎖では SSIIa は 4.8%、日本晴は 0.4%で、SSIIa の欠損により生成された澱粉は、アミロースおよびアミロペクチンの長鎖が増加していることが示された。図 1 に各変異体米分離澱粉と日本晴アミロペクチンの鎖長分布の差分を示した、アミロペクチンの鎖長分布では、日本晴に比べて、SSI は DP5-7 が増加し DP8-13 が減少していた。また、SSIIa は、DP6-9 が減少し DP10-15 が増加していた。房を形成するアミロペクチンの短鎖の構成割合が異なることが示された。

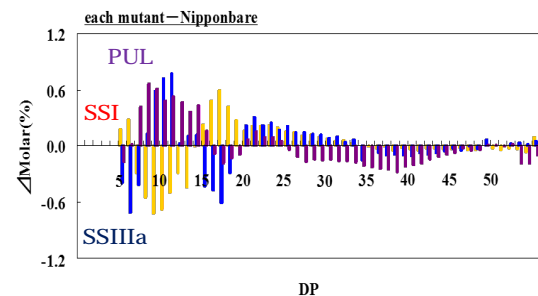


図 1 各変異体米分離澱粉と日本晴アミロペクチンの鎖長分布の差分

また、GPC-MALLS により慣性半径と平均分子量を測定し、横軸にモル質量を、縦軸に慣性半径を対数でプロットしたところ、散布図から日本晴、SSI、Pullulanase は近似しており、SSIIa のみが低い直線であった。また、全ての試料において対数近似曲線の R2 は 0.7168 と近似した値を示した。このことから、4 種の澱粉の分子密度には顕著な差は認められなかった。また、散布図から得られた直線の傾きは約 0.2 であり、水中の分散状態では球状に近く密度が高いことが示唆された。しかし、SSIIa は平均分子量が日本晴に比べて約 2/3 になったことと、慣性半径が小さかったことから、アミロペクチンを構成するクラスターが全体的に小さいのではないかと推察され、この構造の違いは、糊液の動的粘弾性特性にも反映されていた。

(2) 糊液のレオロジー特性

糊液の動的粘弾性では、1.0Hz における G' は日本晴に比べて SSIIa は顕著に低く、RVA

の結果と同様に SSIIIa は日本晴よりゲルの粘弾性が低いことが示された。PUL は RVA(95)分散とオートクレーブ(105)分散では挙動が異なり、RVA では日本晴と近似した粘弾性特性であったが、オートクレーブ分散では顕著に低い値であった。この挙動の違いについては、今後の検討課題である。

一方、糊液の分子量分布をゲルろ過により測定を行った結果、日本晴に比べて SSIIIa は低分子が多く、PUL は高分子が多く分散しているのではないかと考えられた。また、糊液の分散状態およびネットワークは、水素結合で保持されていると考えられることから、核磁気共鳴法(NMR)による澱粉糊液内の水の挙動を調製直後から経時的に測定した。全ての試料で、時間が経つにつれて緩和時間が長くなること示され、水素結合の状態変化が示された。3 種の変異体米澱粉糊液は、日本晴に比べて緩和時間が長く、アミロペクチンの平均分子量と鎖長分布の結果より、アミロペクチンの房内構造のバランスの変化が影響しているのではないかと推察された。特に 0 時間から 24 時間の緩和時間の増加が著しく、前述の鎖長分布の結果から房内構造のモデル図を検討したところ、SSIIIa はアミロペクチンのクラスター内部で隣接する単位鎖間の距離が離れていると想像できたことから、老化が進行するにつれてアミロペクチンと水の結合が不均一な状態に変化したことが、緩和時間の増加として現れたのではないかと推察された。また、PUL は緩和時間の変化が最も小さく、この現象を平均分子量および鎖長分布の結果より隣接する単位鎖の増加と考えると、時間経過に伴うアミロースおよびアミロペクチンの再結晶は進行するが、アミロペクチンの短鎖が多いため、水の保持能が高く、緩和時間の増加として観察されなかったのではないかと想像された。

以上の結果より、糖合成酵素の欠損は、澱粉の構造の変化のみならず、アミロプラストの形成および胚乳の構造にも影響を及ぼしていることが示された。

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)

[雑誌論文](計 9 件)

Matsushima, R., Maekawa M., Kusano, M., Kondo, H., Fujita, N., Kawagoe, Y., Sakamoto, W., Amyloplast-Localized SUBSTANDARD STARCH GRAIN4 Protein Influences the Size of Starch Grains in Rice Endosperm., Plant Physiology, 査読有, 164 巻, 2014, 623-636, DOI 10.1104/pp.113.229591

Akuzawa S., Minemura T, Ohbayashi H, Takahashi H, Maki M, Hattori K, (2013) Study on the use of waste materials, such as Adzuki bean-coats and water-elution products, from Adzuki Ann manufacturing, Japan Association of Food Preservation Scientists, 39: 149-154. 査読有

Hayakawa F., Kazami Y, Nishinari K, Ioku K, Akuzawa S., Yamano Y, Baba Y, Kohyama K, (2013) Classification of Japanese texture terms, Journal of Texture Studies, 44: 140-159. 査読有

Fujita N., Hanashiro I, Toyosawa Y, Nakamura Y (2013) Functional study of rice starch synthase I (SSI) by using double mutant with lowered activities of SSI and isoamylase1. Journal of Applied Glycoscience 60: 45-51, 査読有

藤田直子 (2013) 澱粉変異体米の解析と利用. 化学と生物「セミナー室」51: 400-407, 査読無

藤田直子 (2013) 澱粉生合成研究の最前線と変異体米澱粉の利用と展望. 応用糖質科学「ミニレビュー」3: 202-204, 査読無

阿久澤さゆり, (2012) 調理におけるデンプンの物性と利用, 日本調理科学会誌, 45: 238-243. 総説, 査読無

松島 良. 2012 澱粉粒の簡便観察法の開発とその利用, 応用糖質科学 2: 147-149, 査読無

早川文代, 風見由香利, 井奥加奈, 阿久澤さゆり, 西成勝好, 神山かおる, (2011) 日本語テクスチャー用語の対象食物名の収集と解析, 日本食品科学工学会誌, 58: 359-374, 査読有

[学会発表](計 5 件)

松島良, 前川雅彦, 草野都, 近藤秀樹, 藤田直子, 坂本亘, 澱粉粒の大きさを制御する SSG4 遺伝子の同定と解析, 日本育種学会第 125 回講演会, 2014 年、3 月 21 日-22 日, 東北大学

Naoko Crofts, Natsuko Abe, Ryo Matsushima, Ian J. Tetlow, Michael J. Emes, Yasunori Nakamura, Naoko Fujita, Rice starch biosynthetic enzyme complexes have the ability to generate glucans. 第 55 回日本植物生理学会年会, 2014 年、3 月 18 日-20 日, 富山大学

Matsushima, R., Maekawa, M., Fujita, N., Kawagoe, Y., Sakamoto, W.,
Molecular dissection of starch grain size control in rice endosperm (招待講演), 7th International Rice Genetics Symposium, November 5-8, 2013, Manila, Philippines

阿久澤さゆり, (2012) 「食」をささえるデンプンの物性制御と新規機能性デンプンの創出, 第6回多糖の未来フォーラム, 招待講演

阿久澤さゆり, (2012) コメ澱粉の物性・構造と高度利用, 第39回食品の物性に関するシンポジウム, 招待講演

6. 研究組織

(1) 研究代表者

阿久澤 さゆり (AKUZAWA SAYURI)
東京農業大学・応用生物科学部・准教授
研究者番号: 60256641

(2) 研究分担者

藤田 直子 (FUJITA NAOKO)
秋田県立大学・生物資源科学部・准教授
研究者番号: 903155499

早川 文代 (HAYAKAWA FUMIYO)
独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・その他部局等・研究員
研究者番号: 00282905

松島 良 (MATSUSHIMA RYO)
岡山大学・その他部局等・助教
研究者番号: 80403476