

令和 6 年 6 月 13 日現在

機関番号：82626

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K06175

研究課題名（和文）植物細胞中の構造を維持した未変性ペクチンの抽出と構造に基づく機能の解明

研究課題名（英文）Extraction of undenatured pectin maintaining its structure in plant cells and elucidation of its structure-based function

研究代表者

熊谷 明夫（Kumagai, Akio）

国立研究開発法人産業技術総合研究所・材料・化学領域・研究員

研究者番号：30747837

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,800,000 円

研究成果の概要（和文）：構造が複雑であることに加え、単離する際の処理によって構造が変化するため、植物組織内に存在している状態で抽出することが難しいペクチンに対し、セルロースナノファイバー(CNF)を製造する技術を適用することで、変性が抑えられたペクチンを単離する方法を見出した。このペクチンの構造的特徴と物性から、植物組織内におけるペクチンにはセルロースと高い親和性を示す構造や粘性を高める構造が含まれ、この構造的特徴が植物細胞間の接着や柔軟性の付与に大きく関与することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ペクチンは植物を構成する主要な多糖の一種でありながら、その構造の複雑さと、抽出方法によって構造が変化することから、植物組織内においてペクチンが本質的に示す構造的特徴と物性については十分に理解が進んでいなかった。しかしながら、本研究で見出したペクチンの単離方法は、ペクチンの変性を最小限に抑えられるため、ペクチンの本質を捉える研究の推進に貢献できる。また、本抽出過程で得られるペクチンを保持したCNFは、ペクチンの構造を制御することで従来のCNFには見られない特性を示したことから、CNFの用途開拓にも寄与する成果と言える。

研究成果の概要（英文）：Pectin has a complex structure and its structure changes depending on the process used for isolation, making it difficult to extract from plant tissue. We have found a method to isolate pectin with reduced denaturation by applying the technology to produce cellulose nanofibers (CNFs). The correlation between the structural characteristics of pectin and its physical properties indicates that pectin in plant tissues has structures that have high affinity with cellulose and structures that enhance viscosity, suggesting that these structural features play a significant role in providing adhesion between plant cells and flexibility.

研究分野：木質科学

キーワード：ペクチン 柑橘 植物細胞壁 セルロースナノファイバー

## 1. 研究開始当初の背景

ペクチンは植物を構成する主要な多糖の一種であり、ガラクトツロン酸を主な構成糖成分とするヘテロ多糖であるが、ラムノースが主鎖に含まれる場合や、複数の中性糖からなる複雑な側鎖の存在、さらには様々な割合でガラクトツロン酸がメチルエステル化しているなど多様な構造的特徴を持っている。そのため、植物細胞壁中に存在する多糖の中でも特に複雑な構造である。天然のペクチンには、複数の糖からなる7種の基本糖鎖があると提唱されており、各種方法で抽出されたペクチンの解析から、植物種によって糖鎖成分の構成糖組成や比率が異なることが報告されている。ペクチンはその他、植物の生育過程でも構造が変化することが知られており、酵素の作用による脱エステル化や加水分解が起きている。

ペクチンの構造に関する研究は数多く行われているが、植物組織内に存在している状態でペクチンを抽出することは困難とされてきた。工業的に製造されているペクチンは一般的に酸性条件下における加熱処理で抽出されているが、この方法では酸加水分解によりペクチンの重合度は低下し、構造も変化してしまうため性状は一定ではない。また、中性やアルカリ性条件下の加熱においても、トランスエリミネーションによってグリコシド結合が開裂することが知られている。このように加熱を伴う処理では分解によるペクチンの構造変化は避けられず、分解の程度を推し量ることは難しい。一方、ガラクトツロン酸のカルボキシ基が2価の陽イオンを介したイオン結合によって分子内で架橋しているとの想定から、キレート剤を用いて架橋構造を解くことでペクチンを抽出する方法や、ペクチンに作用する酵素を用いてペクチンを抽出する方法も検討されているが、これらの方法もペクチンの構造変化を伴う。

ペクチンを構成する糖鎖成分の構造や抽出されたペクチンの物性にに基づき、植物細胞同士の接着や細胞壁間のイオン輸送、植物体への柔軟性の付与といった植物組織内におけるペクチンの役割が提唱されている。しかしながら、従来のペクチン抽出方法ではペクチンの構造変化は避けられず、必ずしもペクチン本来の構造的特徴に由来する物性を評価しているとは言えない。

このような背景から、植物組織内に存在する構造のままペクチンを抽出することができれば、植物組織内におけるペクチン本来の機能と役割について新たな知見が得られることが期待される。加えて本来の構造を維持したペクチンは、従来の抽出方法で得られるペクチンとは異なる物性を示す可能性が高く、本研究を通して新たな物性を示すペクチンの創出にも繋がり、新規素材として今までにない産業利用の展開も期待できる。

## 2. 研究の目的

(1) 本研究では、植物組織内におけるペクチンが本質的に示す構造的特徴と物性、その相関から植物組織内におけるペクチンの機能を解明することを目標に掲げた。柑橘果皮からセルロースナノファイバー(CNF)を製造すると、ペクチンの構造変化を伴う処理を施すこと無く、未変性のペクチンが保持されたCNFが取得できるため、このCNFから未変性のペクチンを分離・単離することで、ペクチンが本質的に持つ構造的特徴と物性、その相関から植物組織内におけるペクチンの機能を明らかにすることを目指した。

(2) さらに本研究では、CNF(セルロース)/ペクチン複合体が得られるため、植物果実生長時の果皮の強靱化や安定化など、セルロースとペクチンとの相関から導かれる機能の解明にも繋がる。ペクチンが複合化しているCNFは、従来の木材パルプなどから製造されるCNFとは異なり、CNFにペクチン由来の新たな機能を付与できる可能性が高く、木質由来のCNFでは得られない機能発現や用途展開が見込まれる。

## 3. 研究の方法

(1) 柑橘果皮由来CNFに結合しているCNF(セルロース)をセルロース分解酵素により選択的に除去し、植物組織内の構造が維持された未変性ペクチンを単離することを試みた。細胞組織内において想定されるペクチンの機能や、材料利用した際に期待される物性に着目し、この未変性ペクチンのレオロジー特性や分散安定性における温度安定性やpH安定性などを調べた。

(2) 顕微鏡を用いた形態観察、構成糖やエステル化度等などの科学組成分析の他、核磁気共鳴や赤外分光、質量分析などを用いた精密分析を行うことで、本研究における未変性ペクチンと従来法で抽出される変性ペクチンとの構造的特徴の違いを捉えることを試みた。

(3) (1)と(2)で得られる情報に基づき、柑橘果皮由来CNFおよび未変性ペクチンの構造的特徴と物性との相関関係を調べることで、物性に及ぼすペクチンの構造的特徴の解明を目指した他、柑橘果皮由来CNFに酵素処理や化学処理を施すことでペクチンの構造に変化を与え、その結果得られる物性からペクチンの構造的特徴を捉えることを試みた。

#### 4. 研究成果

(1) 温州ミカンの外皮を原料にディスクミルと高圧ホモジナイザーによる物理的な解繊処理を順次行うことで調製した柑橘果皮由来 CNF に対して、セルロース分解酵素(エンドグルカナーゼ、セロビオハイドラーゼ、グルコシダーゼ混合液)による酵素処理を行うことで、従来法で抽出されるペクチンよりも変性が抑えられていると考えられるペクチンを取得した。本研究で分離・単離したペクチンと、従来の酸・キレート剤を用いて抽出したペクチンとの物性の違いを評価したところ、本研究で取得したペクチンは従来法で抽出したペクチンよりも粘度や分散安定性が高く(図1)、温度や pH に対する物性の变化も抑えられる傾向が見られた。また、セルロースに対する吸着特性を調べたところ、本研究で取得したペクチンの方がセルロースとの親和性が高く、ペクチンが植物細胞間の接着に関与していることを示唆する結果が得られた(図2)。

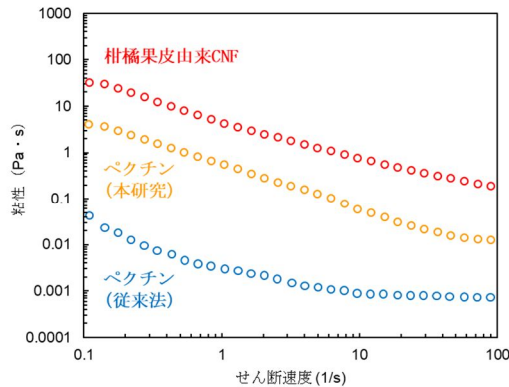


図1 1wt%濃度における粘度特性の比較

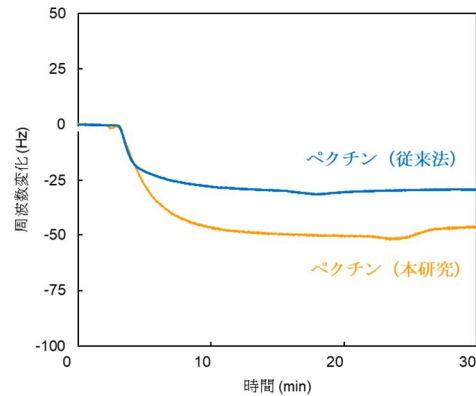


図2 セルロースに対する親和性の比較  
(周波数変化が大きいほど高い親和性)

(2) 本研究で取得したペクチンと従来法で抽出したペクチンとの構造的特徴の違いを明らかにするため、各種分析を行ったところ、原子間力顕微鏡で観察される形態的特徴に差は見られなかったが、構成糖の比率やエステル化度に差が見られた(表1)。また、部分分解物の比較から側鎖の組成が異なることが示唆された。この化学的構造の違いが、粘度や分散安定性、温度や pH に対する安定性、セルロースに対する吸着特性などの物性や特性に影響を与えていると考えられる。核磁気共鳴や質量分析に適した前処理物を調製し、より詳細な化学的構造を明らかにすることが今後の課題である。

表1 従来法と本研究の方法で抽出したペクチンの成分組成およびエステル化度

	ガラクトツロン酸	ラムノース	ガラクトース	アラビノース	グルコース	キシロース	マンノース	エステル化度
従来法	78.6±1.2	4.5±0.2	6.1±0.3	4.1±0.3	n. d.	n. d.	2.3±0.1	52.6±1.8
本研究	47.8±0.5	3.2±0.2	9.8±0.2	14.1±0.2	6.2±0.6	5.5±0.2	6.5±0.4	44.7±2.1

(3) 変性が抑えられているペクチンに対し、変性条件を制御することでペクチンの構造的特徴が物性に与える影響を捉えるべく柑橘果皮由来 CNF (セルロースとペクチンの複合体) に対して酵素処理(ペクチナーゼ処理)とアルカリ処理(脱メチルエステル化)を施したところ、柑橘果皮由来 CNF 間の相互作用、粘度特性が大幅に変化する結果が得られ(図3、4)、ペクチンの分子量、エステル化度が、植物細胞間の接着や植物体への柔軟性の付与といった植物組織内におけるペクチンの機能に関与していることが示唆された。また、これらの処理を施した柑橘果皮由来 CNF は、乾燥後の再分散性が向上しており、CNF を実用化する上で課題となっている CNF の再分散性の低さの解決に繋がる特性を示した。

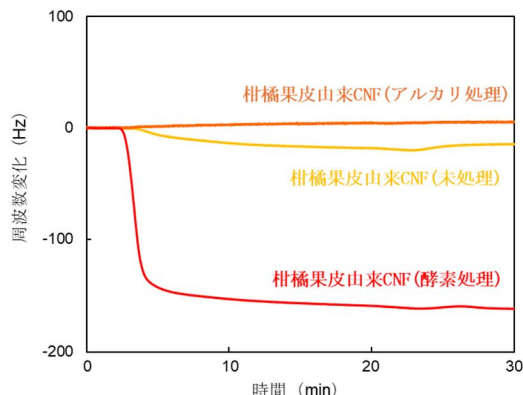


図3 ペクチンの構造を制御した柑橘果皮由来 CNF の CNF 間の相互作用の評価  
(周波数変化が大きいほど高い相互作用)

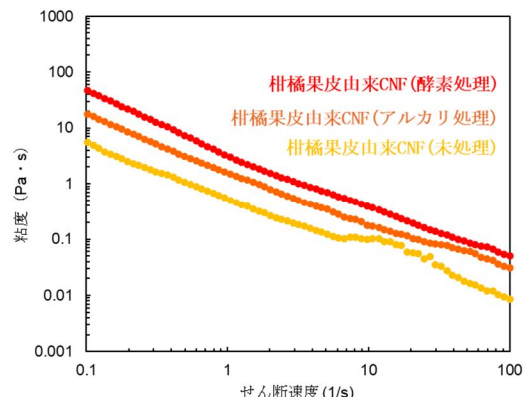


図4 ペクチンの構造を制御した柑橘果皮由来 CNF の粘度特性(乾燥後再分散)

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1 . 発表者名 Akio Kumagai, Takashi Endo, Keita Sakakibara
2 . 発表標題 Functional control of nanocellulose prepared from citrus exocarp by modification of pectin
3 . 学会等名 5th International Cellulose Conference (ICC2022+1) (国際学会)
4 . 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6 . 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7 . 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------