



先端研究施設共用促進事業 フotonファクトリーの産業利用促進 利用報告書

課題番号： 2010I011

研究責任者： 海宝龍夫 (関東天然瓦斯開発株式会社)

利用施設： 高エネルギー加速器研究機構 放射光科学研究施設 BL-7C,12C, NW10A

利用期間： 2010年10月～2011年12月

分子量制御されたアミロースとヨウ素の複合体の構造解析 Structural Analysis of Polyiodide-Amylose Complex

海宝龍夫¹、山口秀幸¹、田口充¹、寺田喜信²、東口文治²、小西健久³、西野潤一⁴
Tatsuo Kaiho¹, Hideyuki Yamaguchi¹, Mitsuru Taguchi¹, Yoshinobu Terada², Fumiharu Higashiguchi²,
Takehisa Konishi³, Junichi Nishino⁴

¹関東天然瓦斯開発株式会社、²江崎グリコ株式会社、³千葉大学、⁴高エネルギー加速器研究機構
¹Kanto Natural Gas Development Co., Ltd., ²Ezaki Glico Co., Ltd., ³Chiba University, ⁴High Energy
Accelerator Research Organization

アブストラクト：

酵素合成アミロース(ESA)はポリヨウ素と安定な複合体を形成する。複合体中で安定に存在するヨウ素化学種やESA分子量とヨウ素の包接状態との関係について調べるため、透過法 XAFS 測定を行った。今回の実験結果から、複合体中でヨウ素は I₃⁻(三ヨウ化物イオン)の形態で安定であることが示唆された。一方、ESA分子量とヨウ素包接状態に明確な相関関係は見出すことができなかった。

Polyiodide-Amylose Complex was prepared from enzymatic synthesis amylase (ESA), iodine and, potassium iodide. We measured XAFS of Polyiodide-Amylose Complex in order to perform a structural analysis of polyiodide in the complex and the correlation between molecular weight of ESA and the stability of Polyiodide-Amylose Complex. From this experiment, it was suggested that polyiodide in the complex is triiodide ion. However it was not found a clear correlation between molecular weight of ESA and the stability of Polyiodide-Amylose Complex.

キーワード： 酵素合成アミロース、ヨウ素、ポリヨウ化物イオン、複合体

1. はじめに：

澱粉は、アミロースとアミロペクチンの混合物である。このうちアミロースはブドウ糖が多数結合した直鎖状ポリマー（完全な直鎖ではなく、多少分岐構造を含む）、アミロペクチンは短いアミロースが多数分岐して結合した分岐状ポリマーである。植物の育種により、アミロースを含まず、アミロペクチンだけを含む澱粉が開発されており、純粋なアミロペクチンは安価に入手が可能であり、広く産業利用が進んでいる。一方アミロースは、澱粉からアミロースのみを分離精製することが非常に困難であるため、研究用試薬としての入手は可能であるものの、産業利用・応用研究は進んでいない。我々は、この度は澱粉からアミロースを精製するのではな

く、砂糖に2種の酵素（スクロースホスホリラーゼとグルカンホスホリラーゼ）を作用させることにより、効率的に純粋なアミロースを生産する方法を完成させた。本技術により生産される酵素合成アミロースは、天然のアミロースと異なり、分岐構造を全く含まない完全直鎖状のポリマーであり、その分子量（分子の大きさ）は製造時の条件設定により、厳密に制御することが可能である。このような酵素によるポリマー材料の生産、特に、分子量の厳密な制御を伴う工業的なポリマー材料の生産は世界で初めてである。現在広く産業利用されているポリマー材料の多くは、石油を原料とし、化学的な重合反応により製造されている。これら化学合成ポリマーは、限りある石油資源を原料とするだけ

でなく、使用後は環境中で分解されないため焼却処理が必要であり、結果として大気中の二酸化炭素量を上昇させる。

今回の酵素合成アミロース製造技術は、再生産が可能な植物由来の天然資源（砂糖）を原料としており、焼却した場合も環境中の二酸化炭素量を上昇させない。また、製造過程が酵素を用いた省エネルギー型プロセスである点も大きな特長であり、まさに、環境にやさしい次世代ポリマー製造技術であるといえる。酵素合成アミロースは、澱粉の成分と同じで、極めて優れた生分解性と安全性を備えている。

酵素合成アミロースは包接化合物形成能力、ゲル形成能力、フィルム形成能力などの特長を有する高機能材料であり、これら特長を組み合わせることで利用することにより、幅広い産業分野への応用が可能である。

酵素合成アミロースはヘリックス構造（らせん構造）をとることができ、その内部の空洞部分にさまざまな物質を取り込み、包接化合物を形成することができる。澱粉にヨウ素液を加えると、澱粉が青色になることは有名であるが、これは、アミロースのヘリックス構造内部にヨウ素が包接されることによるものである。酵素合成アミロースはヨウ素以外にもさまざまな物質（薬剤、機能性食品成分、界面活性剤、油、色素、フレーバー物質、環境ホルモン物質等）を取り込むことが可能であり、酵素合成アミロースは包接材料として、さまざまな産業分野への利用が期待される。

【目的】

分子量が厳密に制御された酵素合成アミロースとヨウ素の包接体の構造を解析することによりアミロースの分子量とヨウ素包接能の相関性を求め、ナノテクノロジーをはじめとするアミロース・ヨウ素の産業利用を推進する。

【目標】

従来、天然のアミロースでは特定の分子量のものを選択的に取り出すのは困難だった。しかし、酵素合成法ではアミロースの分子量を厳密に制御することが可能であることからヨウ素複合体の構造解析が容易になるものと考えられる。具体的には、ポリヨウ素化学種(I₂、I⁻、I₃⁻、I₅⁻、etc.)の同定、ヨウ素原子間距離、ヨウ素-アミロース間相互作用、ヨウ素の電子状態などの解析をX線吸収分光によって行った。

2. 実験：

【アミロースヨウ素複合体の調製】

アミロースヨウ素複合体(全ヨウ素含有率20%複合体)の調製方法を以下に示す。

(1) 乳鉢で粉碎後、篩い分け(100mesh、粒径

0.15mm以下)したヨウ化カリウム65mgと酵素合成アミロース500mgをバイアル(容量6ml)に入れ、4時間混合した(ボールミル回転台にて回転させて混合)。

- (2) アミロース-KI混合物をシャーレに移し、水を張ったバット(コンテナ)に水面に接しないようにシャーレ(アミロース-KI混合物)を置き、恒温槽内(40℃)にて湿潤雰囲気下で吸湿処理を行った。
- (3) 水分を吸収したアミロース-KI混合物をバイアル(容量6ml)に移し、I₂フレイク100mgを添加し、ボールミル回転台上で室温下、48時間回転させて、アミロースヨウ素複合体を調製した。

調製に用いた酵素合成アミロースの詳細を表.1に示す。

酵素合成アミロース			
サンプル名	Lot.No.	分子量	結晶型
20K-B	080425	20680	B
20K-V	1004121	20680	V
50K-B	060815	46220	B
50K-V	1004121	46220	V
100K-B	091023	96660	B
100K-V	1004121	96660	V

(注)アミロースの結晶構造について、一重らせん状態での結晶をV型、二重らせん状態で互いのグルコース残基の水酸基同士が直接水素結合を形成しているものをA型、間に水分子一層をはさんでいるものをB型と呼ばれる。サンプル名は、分子量の概数(20680 → 20K、46220 → 50K、96660 → 100K)と結晶型(B型、V型)の組み合わせで表記した。

表.1 酵素合成アミロースの分子量、結晶型

前述の全ヨウ素含有率20%複合体のほかに、ヨウ素添加量(KI+I₂)を下げた複合体<10%複合体>、I₂のみを添加した複合体<I₂複合体>、KIの代わりにNaI、LiIを添加した複合体<Na複合体、Li複合体>、天然アミロース(試薬)にKI+I₂を添加した複合体<天然物複合体>も調製した。

【サンプルの調製、測定】

アミロースヨウ素複合体の適量を採取し、窒化ホウ素と乳鉢にて十分に粉碎混合した後、混合物を油圧プレス器にて錠剤に成型したものをXAFS測定用サンプルとした。

ヨウ素L端XANESをBL-7C,12Cにて室温下で、ヨウ素K端EXAFSをNW10Aにて室温下と低温

下(約20K)で、透過法により測定した。

3. 結果および考察：

【アミロース分子量間の差異について】

各分子量、各結晶型についてヨウ素 L 端 XANES を測定した結果を図.1a, 1b に示す。

各分子量(20K, 50K, 100K)について、B 型結晶と V 型結晶の間に微小な違いが確認されたが、B 型、V 型それぞれの結晶型について、分子量の間での違いは確認できなかった。

【添加ヨウ素種(ヨウ素組成)の異なる複合体の比較について】

ヨウ素を KI+I₂ で添加しているものと I₂ のみを添加している I₂ 複合体の比較を図.1c に示す。XANES スペクトルに違いが確認されたことから、包接状態に違いがあると推測される。現象面からも I₂ 複合体のヨウ素は KI+I₂ 複合体に比べて放出されやすい傾向があり、今回の実験からもその違いを確認することができた。

【カチオン種(K, Na, Li)の異なる複合体の比較について】

今までに調製した複合体は、ヨウ素を KI+I₂ で添加している場合がほとんどであるが、今回、NaI+I₂ および LiI+I₂ で添加した複合体<Na 複合体, Li 複合体>を調製し、カチオン種の変化が生じたことによりヨウ素包接状態に変化が生じるかを確認した。結果を図.1d に示す。

スペクトルに違いが見られないことから、添加ヨウ素中のカチオンが K から、Na, Li に変化してもヨウ素の包接状態にはほとんど影響をあたえないものと推測される。

【酵素合成アミロース複合体と天然アミロース複合体の比較】

酵素合成アミロースに KI+I₂ を添加した複合体と天然アミロース(試薬)に KI+I₂ を添加した複合体<天然物複合体>の比較を図.1e に示す。スペクトルに違いが生じており、分子量の変化からは違いが生じないことから、アミロースの分枝の有無によって違いが生じたものと推測する。

【複合体中のヨウ素の状態について】

ヨウ素 K 端 EXAFS より得られたフーリエ変換(図.2a, 2b)では、ヨウ素-ヨウ素の結合距離に近い 3 Å 付近にピークが現れた。正確な距離を求めた結果、原子間距離は 2.90 Å となり、I₃⁻(三ヨウ化物イオン)の原子間距離とほぼ一致することから、複合体中ではヨウ素が I₃⁻の形態で存在していることが示唆された。各ヨウ素化学種についての原子間距離を表.2 に示す。

温度 20 K において、6 Å 付近にも小さなピークが確認された。全ヨウ素含有率 20%の複合体は、ヨウ素の取り込みが飽和状態に近いことから、次近接の原子のピークが現れたと推測した。

ヨウ素 化学種	結合距離	
	a-b (Å)	b-c (Å)
I ₅ ⁻	2.93	2.80
I ₃ ⁻	2.91	—
I ₂ (gas)	2.67	—
I ₂ (liquid)	2.70	—
I ₂ (solid)	2.72	—

(注)データは文献[2],[3]を参照

表.2 各ヨウ素化学種の原子間距離

一方、複合体中の全ヨウ素含有率をほぼ半分の 10%にしたサンプル<10%複合体>では、このピークは確認されなかった(図.2c)。ヨウ素(三ヨウ化物イオン)が連なっていない、または不規則に存在していると考えられる。

4. まとめ：

今回得られた結果から、分子量の変化からヨウ素包接状態が変化することはなかった。

添加ヨウ素中のカチオン種が変化しても、ヨウ素包接状態に変化が生じないが、ヨウ素組成が変化するとヨウ素包接状態に変化が生じ、複合体のヨウ素安定性に影響することから、ヨウ素組成が、製品の性能・性格を決める重要な要因となるであろうことがわかった。

ヨウ素 K 端 EXAFS から、複合体中のヨウ素が I₃⁻(三ヨウ化物イオン)の状態であることが判明し、比較的安定なポリヨウ素イオンであることから、殺菌などの用途において、製品の効果の持続性、保存安定性について有利であると期待できる。

参考文献

- [1] Saenger W, Naturwissenschaften, vol.71, No.1, (1984)31-36
- [2] Buotempo U, DiCicco A, Filliponi A, Nardone M, Postrino P, J.Chem.Phys. 1997, 107, 5720
- [3] Fujikawa T, SIS Letters No.11 (June, 2010)2-9

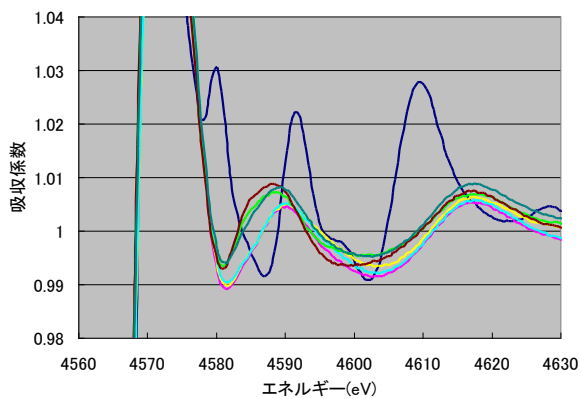


図. 1a ヨウ素 L_3 吸収端 XANES スペクトル
(20%複合体、KI+ I_2 添加)

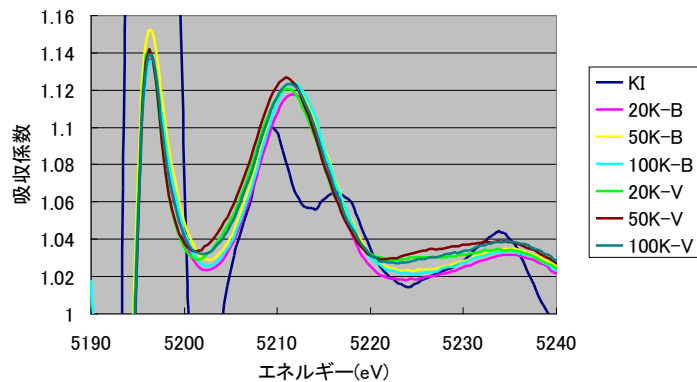


図. 1b ヨウ素 L_1 吸収端 XANES スペクトル
(20%複合体、KI+ I_2 添加)

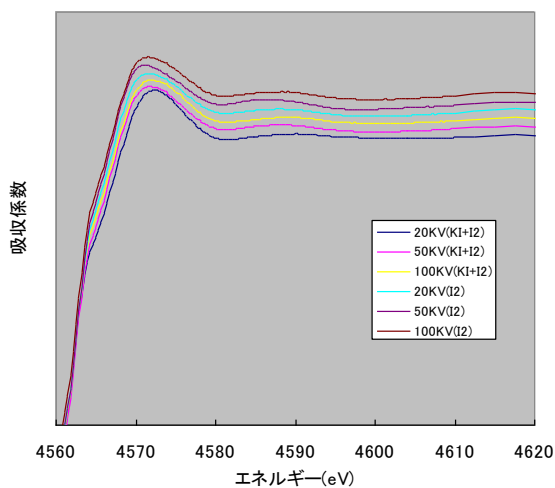


図. 1c ヨウ素 L_3 吸収端 XANES スペクトル
(KI+ I_2 添加複合体と I_2 添加複合体の比較)

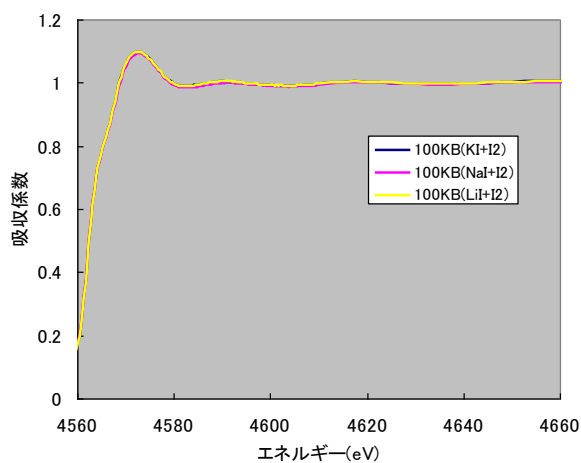


図. 1d ヨウ素 L_3 吸収端 XANES スペクトル
(KI+ I_2 添加複合体と NaI+ I_2 および LiI+ I_2 添加複合体の比較)

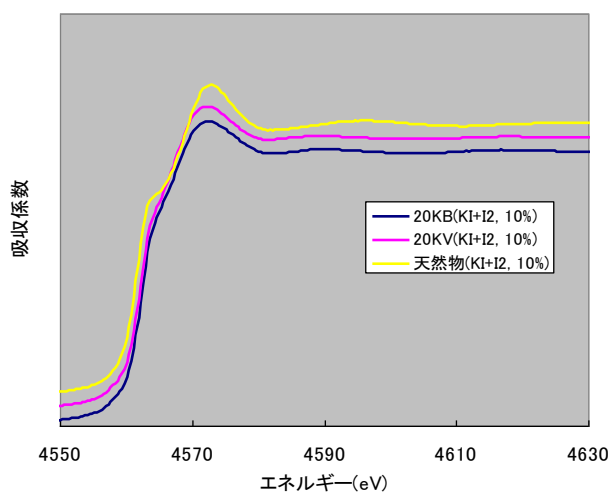


図. 1e ヨウ素 L_3 吸収端 XANES スペクトル
(酵素合成アミロース複合体と天然アミロース複合体の比較 [KI+ I_2 添加])

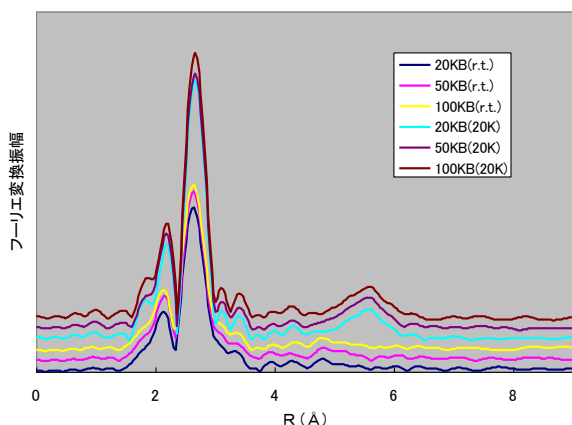


図. 2a ヨウ素 K 吸収端データのフーリエ変換
(B 型結晶、測定温度：室温、20 K)

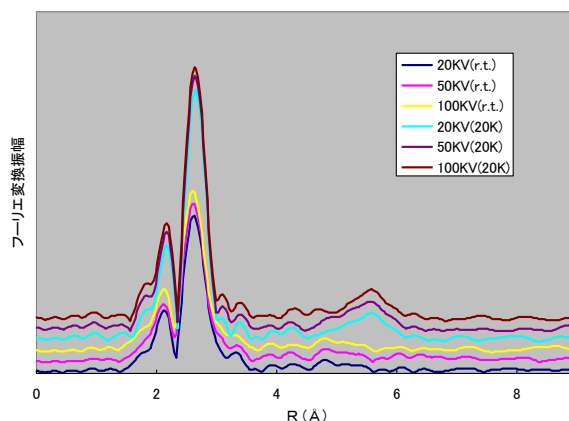


図. 2b ヨウ素 K 吸収端データのフーリエ変換
(V 型結晶、測定温度：室温、20 K)

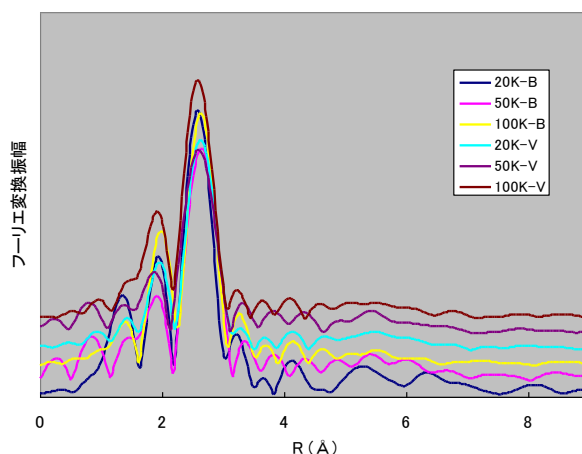


図. 2c ヨウ素 K 吸収端データからのフーリエ変換
(ヨウ素含有率 10%、測定温度 20 K)

成果発表状況：

学会・論文発表

- (1) 海宝龍夫、田口充、三瓶春代、細谷佳代、高久三枝子、井上修、“Utilization of Polyiodide and Amylose Complex”, 25th International Carbohydrate Symposium (2010)
 - (2) 海宝龍夫、山口秀幸、田口充、三瓶春代、寺田喜信、高久三枝子、徳田宏、“Complex of Biologically Synthesized Amylose and Polyiodide”, 14th IUPAC International Symposium on Macro Molecular Complexes (2011)
 - (3) 海宝龍夫、田口充、寺田喜信、小西健久、西野潤一、“Biologically Synthesized Amylose and Polyiodide Complex”, IUCr 2011 Satellite Symposium of Halogen Bonding (2011)
 - (4) 海宝龍夫、山口秀幸、田口充、寺田喜信、小西健久、西野潤一、「分子量制御されたアミロースとヨウ素の複合体の構造解析」第 28 回 PF シンポジウム (2010)
 - (5) 海宝龍夫、田口充、三瓶春代、寺田喜信、高久三枝子、井上修、「アミロース・ヨウ素包接体とその利用」、第 13 回ヨウ素学会シンポジウム (2010)
 - (6) 海宝龍夫、山口秀幸、田口充、三瓶春代、寺田喜信、高久三枝子、徳田宏、「ヨウ素包接酵素合成アミロースとその利用」、第 7 回ホスト・ゲストシンポジウム (2011)
 - (7) 海宝龍夫、山口秀幸、田口充、東口文治、小西健久、西野潤一、「分子量制御されたアミロースとヨウ素の複合体の構造解析」第 29 回 PF シンポジウム (2011)
- 新聞・雑誌発表
- (1) ヨウ素と糖類の複合材料、「化学と工業」4 月号 (2012)