

【成果情報名】 抗う蝕性環状イソマルトオリゴ糖(CI)の実用化技術開発

【要 約】 原料デキストラン高生産菌の探索、CI 生産菌の酵素活性を高めるための育種、CI 生産と精製技術の開発を経て、CI サンプルおよび、CI を添加した実用に供しうる砂糖製品を試作した。試作した CI サンプルは、0.5%の低濃度で、ヒトのう蝕菌である *Streptococcus* 属菌による不溶性グルカンの合成を効果的に阻害することが判明した。

【部 署】 食品総合研究所・生物機能開発部・酵素機能研究室

【連絡先】 酵素機能研究室 029-838-8071 funane@affrc.go.jp

【成果区分】 普及

【キーワード】 サイクロデキストラン、環状イソマルトオリゴ糖、デキストラン、サトウキビ

【背景・ねらい】

サイクロデキストラン(CI)は、食総研らのグループが 1993 年に発見した、グルコースが α -1,6 結合で連結した構造の環状オリゴ糖である。CI は極めて水溶性が高く、抗う蝕性という優れた能力を有し、食品への応用が期待されてきた。本研究開発では、原料デキストランの効率的生産、CI 合成酵素生産菌の改良、CI 精製法の開発、CI の安全性の問題解決など、実用化に向けた技術開発を行った。

【成果の内容・特徴】

1. CI の原料となる良質のデキストランを、代表的実用菌株 *Leuconostoc mesenteroides* B512F 株よりも短時間で大量に生産する *Leuconostoc* sp. S-51 株を得た(図 1)。また、原料糖として安価なサトウキビ汁や廃糖蜜を用いる技術を開発し、デキストラン生産効率を高め、コストを低減した。
2. CITase 生産菌株 *Bacillus circulans* T-3040 株に薬剤等による変異処理を繰り返すことにより、図 2 に示すように、野生型の 100 倍以上の CI 合成酵素活性を生産する変異株を取得した。
3. サトウキビ汁等の砂糖原料から、上記デキストラン生産菌、CI 生産菌を用いて CI を生産し、活性炭処理、膜分離等によって CI を精製し、CI 製品サンプル A、B、C、D を生産した。それぞれの糖組成を分析した結果を表 1 に示す。
4. いずれの CI サンプルも 0.5% の濃度で、ポリフェノールよりも有効にヒト虫歯菌のグルカン合成酵素による不溶性グルカンの合成を抑制した(図 3)。B よりも精製処理を簡略化した A、C、D サンプルは高分子の CI および直鎖イソマルトオリゴ糖が混入しているが(表 1) これらはグルカン合成抑制効果を弱めることはなかった。
5. 黒糖から活性炭カラム等で多糖、単糖、砂糖を除去し、酵素処理によって直鎖オリゴ糖を除去した後に CI-7、CI-8、CI-9 と同じリテンションタイムに溶出するオリゴ糖が検出された(図 4)。これらは酵素分解試験により、グルコースが α -1,6 結合した構造であることも確認された。さらに質量分析計で CI-7、CI-8、CI-9 と全く同じ分子量である事も確認した。以上のことから CI は黒糖中に存在する天然物であることが示唆された。
6. 図 5 に示すように、CI を砂糖の 1.6% 添加して均一に混合し、顆粒状に形成し、CI 添加砂糖製品を試作した。

【成果の活用面・留意点】

本研究で開発したデキストラン生産菌株、CI 生産菌株を用い、砂糖を含む作物や廃棄物から効率よく CI を生産することができ、食品産業等で用いることが可能であると考えられる。今後、CI の価値を高めるためにも特定保健用食品として認可されるよう試験を重ねていく必要がある。

【 具体的データ 】

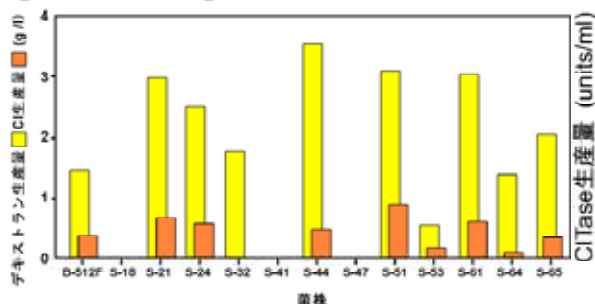


図1 分離した菌株のデキストラン生産とデキストランからCIへの変換量

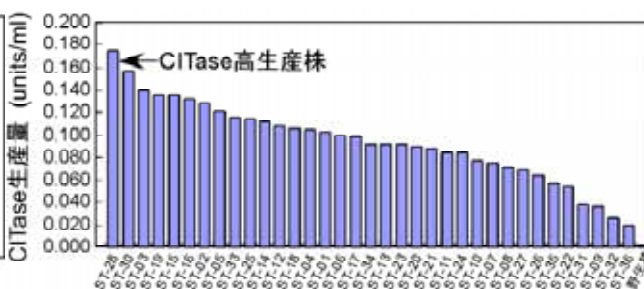


図2 CIase 高生産変異株の取得

表1 . サイクロデキストランサンプルの組成

CI	全糖量に対する割合 (%)			
	CI-7 ~ 9	CI-10 ~ 16	IG2 ~ 20	その他
A	11.9	29.3	10.7	48.1
B	88.8	5.3	5.9	0
C	15.7	36.1	33.2	15.0
D	16.0	28.6	50.9	4.5

(CI:サイクロデキストラン IG:イソマルトオリゴ糖)

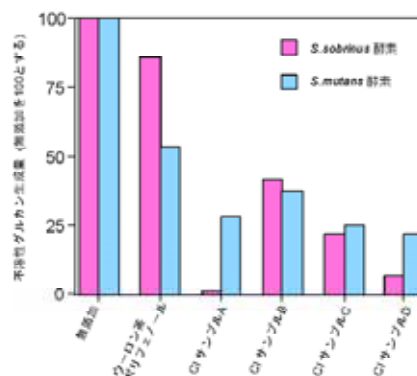


図3 CIによるグルカン合成酵素阻害

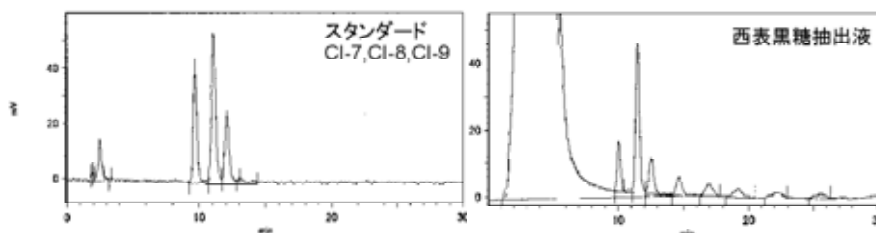


図4 黒糖中におけるCIのHPLCによる検出



図5 CI添加砂糖の試作品

【 その他 】

研究課題名: 抗う蝕性環状イソマルトオリゴ糖(CI)の実用化技術開発

予算区分: 甘蔗汁及び廃糖蜜を利用したサイクロデキストランの製造技術開発業務(沖縄産学官) サイクロデキストラン(CI)添加抗う蝕性砂糖の製造開発技術(地域新生コンソーシアム) サイクロデキストラン合成酵素における環状オリゴ糖生成のメカニズムの解析(サブサイト工学) グルコシルトランスフェラーゼの機能解明と改変(経常)

研究期間: 2002 ~ 2005年度(2005年度)

研究担当者: 舟根和美

発表論文等:

- 1) K. Funane *et al.*, Changes in linkage pattern of glucan products induced by substitution of Lys residues in the dextransucrase, *FEBS Letters*, **579**(21), 4739-4745 (2005)
- 2) 舟根和美ら: 高分子サイクロデキストラン、その製造法及びそれに用いる微生物、特願 2002-337748 (2002年11月21日)
- 3) 舟根和美ら: サイクロデキストラン高生産微生物とこれを用いたサイクロデキストランの製造法、特願 2004-3704 (2004年1月9日)
- 4) 舟根和美ら: 好アルカリ性サイクロデキストラン合成酵素遺伝子を含むDNA、組み換え体DNA、および好アルカリ性サイクロデキストラン合成酵素の製造法、特願 2006-8318 (2006年1月17日)