

穀物に含まれる低分子量水溶性食物繊維が 腸内細菌叢および糖・脂質代謝に及ぼす影響

Low molecular weight soluble dietary fiber in cereal grains
on intestinal microflora and glucose and lipid metabolism

加山 未奈
Mina Kayama

大妻女子大学大学院 人間文化研究科 人間生活科学専攻 修士課程

キーワード：低分子量水溶性食物繊維，腸内細菌，短鎖脂肪酸

Key words : Low molecular weight soluble fiber, Intestinal microflora, Short-chain fatty acids

1. 研究目的

日本食品標準成分表では，追補 2017 年まで，食物繊維を「ヒトの消化酵素で消化されない食品中の難消化性成分の総体」（成分表 2015 年版（七訂）第 1 章 2 の（7））とし，その定量法として，多くの食品では，「不溶性食物繊維（Insoluble dietary fiber:IDF）」と「水溶性食物繊維（Soluble dietary fiber:SDF）」を定量し，食物繊維総量（TDF）として合算する，プロスキー変法（AOAC. 985.29 法を基礎とする分析法）を適用してきた．本分析法に基づく食物繊維には，コーデックス食品委員会が定義した「食物繊維」のうち，難消化性でん粉等の一部及びイヌリンの分解物や大豆オリゴ糖等の低分子量の難消化性水溶性炭水化物が含まれない．また，我が国の食品表示法で採用している，コーデックス食品委員会の Type I の定義法のひとつである，酵素-HPLC 法（AOAC. 2001.03 法）による食物繊維とは異なり，低分子量の水溶性炭水化物が定量できないことが指摘されており，成分表における対応が課題となっていた．このため，食品成分委員会では，2016（平成 28）年度に実施した，新しい食物繊維分析法の妥当性検証調査において，イヌリン分解物，大豆オリゴ糖，難消化性でん粉も捕捉でき，それらの定量が可能な方法として，コーデックス食品委員会における Type I の定義法の一つである AOAC. 2011.25 法と，将来的に定義法に採用される可能性がある，AOAC. 2011.25 法の改良法である「スターチ法」の比較検討を行い，当面の成分表の分析法としては，既にコーデックス食品委員会の定義法となっている

AOAC. 2011.25 法を採用することとした．したがって，日本食品標準成分表 2020 年版（八訂）では，成分値として新たに「低分子量水溶性食物繊維」が追加され，「高分子量水溶性食物繊維」，「不溶性食物繊維」，「難消化性でん粉」及び「食物繊維総量」が記載されている．（1）食品の中で，総食物繊維量が大きく変動したのは穀類である．しかし「低分子量水溶性食物繊維」に関する研究はまだほとんどなく，その機能や特性は明らかになっていない．そこで，食事の「主食」であり，食物繊維の摂取源として多くを占める「穀物」，特に「低分子量水溶性食物繊維」を多く含む「こむぎ」と「おおむぎ」について，その低分子量水溶性食物繊維の成分を分析し，それぞれマウスへ与え，腸内細菌叢や糖・脂質代謝に及ぼす影響，またその関係について比較検討することを目的とする．

2. 研究実施内容

2-1. 実験の概略

本実験は，「こむぎ」と「おおむぎ」に含まれる低分子量水溶性食物繊維の機能性について探索する目的であるため，「こむぎ」および「おおむぎ」から高分子水溶性食物繊維と低分子水溶性食物繊維を分取し，分取した各試料を分析にかけ食物繊維量を定量し，対照群，高分子画分群，低分子画分群の 3 種飼料を作製し 5 週齢の雄性 C57BL/6J マウスを用いて動物実験を行い，約 4 週頃腸内細菌叢に変化が認められた時点で飼育を終了，代謝における影響を耐糖能，脂質蓄積に及ぼす影響を評価する．

2-2. 試料の分取

2-2-1. こむぎ

本実験ではふすまを用いた。

サンプル 50g を 2L 容ビーカーに精秤し、これを 1 操作につき 2 個用意した。0.05M MES-TRIS 緩衝液 1000mL をそれぞれ添加し、 α -アミラーゼ溶液を 2.5mL 添加後 100°C の沸騰水中で 30 分間加温した。その後 60°C まで冷却し、プロテアーゼ溶液 2.5mL 添加後 60°C の湯浴中で 30 分間加温した。

0.561N 塩酸 5mL を添加し、pH を 4.5 に調整後、アミノグルコシダーゼ溶液 5mL を添加し 60°C 温浴中で 30 分間加温した。ろ過し、ろ液を凍結乾燥後、100mL の蒸留水に溶解し、4 倍量の 95% エタノールで沈殿させた。遠心分離で上澄み液を凍結乾燥したもののが低分子水溶性食物繊維、沈殿を蒸留水で溶解し凍結乾燥したもののが高分子水溶性食物繊維である。

2-2-2. おおむぎ

処理方法として Wood の方法を用いた。

サンプル 50g を 2L 容ビーカーに精秤し、これを 1 操作につき 2 個用意した。蒸留水 500mL をそれぞれ加え、20% (w/v) 炭酸ナトリウム溶液を添加して pH10 に調節した。45°C 温浴中で 30 分振盪した。遠心分離し、上澄み液を 1L ビーカーへ回収、2M 塩酸を用いて pH4.2 に調整したんぱく質を沈殿させた。遠心分離にかけ上澄み液を凍結乾燥し、乾燥後 200mL 程の蒸留水に溶解し、4 倍量の 95% エタノールを加え沈殿させた。沈殿後遠心分離し、上澄み液を凍結乾燥したもののが低分子水溶性食物繊維、沈殿を蒸留水で溶解し凍結乾燥したもののが高分子水溶性食物繊維である。

2-3. 試料の分析

低分子画分はおおむぎには約 2.4%、こむぎには約 3.3% の割合で含まれており、試料の分取には時間を要するため、現在おおむぎからの分取を優先して行っている。

おおむぎの低分子水溶性食物繊維について、酵素-HPLC 法で糖分析を行った結果、三糖以上の低分子分画が約 24% 含まれていた。図 1 のクロマトグラムで 32.528 のピークがグルコースを、28.291 のピークがマルトースを示す。

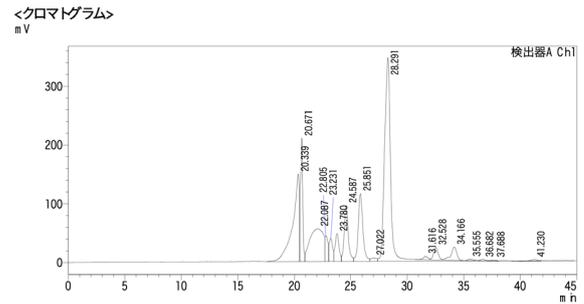


図 1. 低分子画分の糖分析結果

また低分子画分について β -グルカン量を分析した結果、ほとんど含まれておらず、高分子画分では約 40% 含まれていた。

次にたんぱく質の分析を行った結果、低分子分画では 50.2%、高分子画分では 18.0% 含有していた。

3. まとめと今後の課題

試料分析の結果、低分子分画では除たんぱく操作が必要であることが分かった。今後、トリクロロ酢酸処理もしくはプロテアーゼ処理を行い、その後脱塩して精製、飼料に添加する。

高分子画分では、操作内でたんぱく質が十分に除去していたため、総食物繊維量を測定した後飼料に添加する。いずれも飼料に対して食物繊維量が 2% となるようにする。飼料は中脂肪食とする。

その後 5 週齢の雄性 C57BL/6J マウスを用いて動物実験を行い、約 4 週頃新鮮糞から腸内細菌叢を解析し、変化が認められた時点で飼育を終了とする。

本実験は低分子水溶性食物繊維、高分子水溶性食物繊維の分取法と、得られた試料の分析を中心とした。今後、動物実験より腸内細菌叢に及ぼす影響および代謝への影響について研究を進める。

付記

本研究は大妻女子大学人間生活文化研究所の研究助成 (DB2210) 「穀物に含まれる低分子量水溶性食物繊維が腸内細菌叢および糖・脂質代謝に及ぼす影響」を受けたものです。