

オカラ乾燥粉末のヒト腸内細菌による発酵特性の検討

Estimation of the fermentability of okara powder by human microbiota

青江 誠一郎¹, 伊藤 康代², 山中 千恵美³

Seiichiro Aoe¹, Yasuyo Itoh², and Chiemi Yamanaka³

¹大妻女子大学家政学部, ²大妻女子大学大学院人間文化研究科, ³つくば国際大学医療保健学部

キーワード: オカラ, 食物繊維, 腸内細菌, 発酵性

Key words: Okara, Dietary fiber, Microbiota, Fermentability

1. 研究の背景と目的

日本人の食物繊維摂取量は年々減少しており、永年にわたり成人の目標量である男性 21g/日以上、女性 18g/日以上に達していない。日本人の食事摂取基準 2020 年版では、食物繊維はメタ・アナリシスによって数多くの疾患と有意な負の相関があることが報告されている。まれな栄養素と記載されている。食物繊維摂取不足と関連する代表的な疾患として、心筋梗塞、脳卒中、循環器疾患、2 型糖尿病、乳癌、胃癌、大腸癌などがある。近年になって、これら疾患の原因または増悪因子として、腸内細菌叢の乱れが関係しているという報告が増えてきた。ヒトの腸には約 1000 種類の細菌が共生しており、全体として腸内細菌叢を形成している。次世代シーケンサーというゲノムを一斉解析する装置を用いて腸内細菌叢の解析が行われた結果、炎症性腸疾患、肥満、糖尿病、がん、動脈硬化、自閉症など、さまざまな疾患と腸内フローラの異常とが関係していることが報告された。この腸内細菌叢の乱れはディスバイオーシス (dysbiosis) とよばれており、細菌の種類減少 (多様性の低下) や、本来あまり多くない細菌種の異常な増加、あるいは、有用菌と言われている細菌種の減少などが起こる。すなわち、ディスバイオーシスとは腸内細菌叢の乱れにより、腸内全体として機能的に劣った細菌群の構成と言える。難治性の潰瘍性大腸炎などいくつかの疾患に対しディスバイオーシスの改善が重要な治療法となることから、便の移植の治験などから注目されている。

食生活を中心とした生活習慣と腸内細菌叢の関係は、高脂肪、低食物繊維食により、腸内細菌叢の多様性が低下し、構成菌種が変化すると報告されている。このように、ヒトの健康に大きく関与している腸内細菌叢を健康な状態に維持するために、どのような食物繊維を摂取したらよいか注目が集まっている。

日本人の食物繊維摂取源として重要な食品に、穀類、豆類、根菜類、海藻類が挙げられる。オカラは、豆腐の製造工程において豆乳を分離する際に産生される大豆の残渣である。日本ではオカラの産生量は約 70 万トン/年であり、その多くは動物用飼料原料として利用されている¹⁾。日本食品標準成分表 2020 年版 (八訂) によれば乾燥したオカラにはたんぱく質 23%、脂質 14%、食物繊維 44%が含まれている²⁾。しかし、生のオカラは水分含量が約 80%と非常に多いため保存性が悪く、食感の悪さから大部分は産業廃棄物として処分され、食糧資源としてほとんどが利用されていない。近年になって保存性の良い乾燥オカラが入手できるようになり、その機能性の研究が行われるようになった。しかし、オカラに含まれる食物繊維は大部分が不溶性食物繊維であり、排便促進効果などが期待されるのみで腸内細菌叢改善効果についてはあまり検討されてこなかった。近年になって、オカラ粉末を配合した飼料で飼育したラットの盲腸内短鎖脂肪酸が増加すること³⁾やオカラ由来の不溶性食物繊維が発酵を受けることが報告された⁴⁾。著者らは、オカラ乾燥粉末の摂取が成人女性の腸内細菌叢に及ぼす影響を調べた結果、

腸内細菌叢の多様性の増加と *Bacteroides* 属の増加を見出したが、糞便中の短鎖脂肪酸濃度の増加が観察されなかった。それ以外に、日本人を対象として、オカラ摂取による腸内細菌叢に及ぼす影響を検討した報告は見あたらない。

本研究では食物繊維の豊富なオカラ乾燥粉末を人工消化した後、ヒト糞便培養装置に加えて、添加前後において糞便解析を行い、腸内細菌叢と短鎖脂肪酸産生量がどのように変化するかを検証することを目的とした。

2. 研究実施内容

2-1. 研究方法

研究計画書は、大妻女子大学倫理委員会にて承認を得た（承認番号：No.04-013）。試験参加者に対しては、試験内容を十分に説明し、試験参加への同意書を書面にて取得した。また、ヒトを対象とする医学系研究に関する倫理指針およびヘルシンキ宣言に則り、医学倫理に配慮して実施した。

対象者は20歳以上59歳以下の日本人女性で、計4名で行った。

本研究に用いた試験食品は、おからパウダー（微粉タイプ：粒径（平均粒度）39.64 μm ）とおからパウダー（粗いタイプ：粒径（平均粒度）367.5 μm ）（さとの雪食品㈱）を使用した。

各おからパウダーに含まれる難消化性画分を回収するために、消化酵素を用いた人工消化処理を行った。人口消化処理は、ヒトの体内での消化を想定し、AOAC Method 991.43（プロスキー変法）をもとに、おからパウダー試験食の前処理を行った。

BME-25NC-M型培養装置（(株)バイオット、東京）に蒸留水を加え、オートクレーブ滅菌を行った。生理食塩水で調製した糞便懸濁液を滅菌済培養器に加えた後、窒素ガスを常時送入したバブリングを行い嫌気状態とし、温度37 $^{\circ}\text{C}$ 、下限pHを5.5に設定し、採取した便由来の基質の影響が出ないように、培養前に12時間の空培養を行った。その後、各種試料およびニュートリエントブロス（NB）（Difco, Sparks, MD, USA）を添加し、48時間の培養試験を開始した。ヒト糞便は、培養液の2%となるように添加した。培養液中の各試料は、各試験区3%となるように添加した。NBの添加量は、培養液の0.8%となるように調製した。培養液のサンプル採取は培養開始から0、12、24、48時間後にそれぞれ行い、それらを

短鎖脂肪酸量の分析に用いた。また、0時間と48時間においては、次世代シーケンサーによる16S rRNA解析にて腸内細菌叢の分析を実施した。

腸内細菌叢、短鎖脂肪酸の結果は、被験者をブロック因子とした一元配置の分散分析を行った。おからの効果が有意であった場合は、Turkey-Kramerの多重比較を行った。統計解析は全て、統計ソフトJMP16(SAS Institute社)を用いて実施した。

2-2. 研究結果

48時間の培養において、おからパウダー（細）（粗）ともに短鎖脂肪酸を産生していることが確認された。特に、おからパウダー（細）は（粗）に比べて短鎖脂肪酸産生量が多かった。短鎖脂肪酸の種類は、おからパウダー（細）（粗）ともに酪酸の産生が多かった。図1にセルロースとおからパウダー（細）の発酵特性の比較結果を示す。比較対象であるセルロースはプロピオン酸の産生割合が多かった。本結果より、セルロースなどの発酵性が低い食物繊維と比較すると発酵性は高い傾向があることが示された。特に、おからパウダーは、有益な働きをする酪酸を多く産生することが確認された。

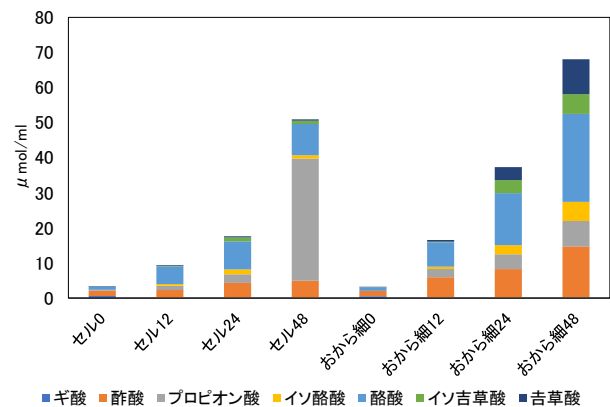


図1. セルロースとおからの発酵特性

培養後0、48時間の各試験区の培養液を、16S rRNA遺伝子シーケンサーにより分析した結果、門レベルでは、Cyanobacteria門が有意に低下し、Bacteroidota門とFirmicutes門の大きな変動はみられなかった。属レベルでは、腸内細菌の数自体は減らずに、多くの菌の占有率が低下している傾向があり、*Lachnoclostridium*属がおからパウダー（細）で有意に増加した（図2）。*Bifidobacterium*属は、被験者2名で増加し、残り2名で減少した。

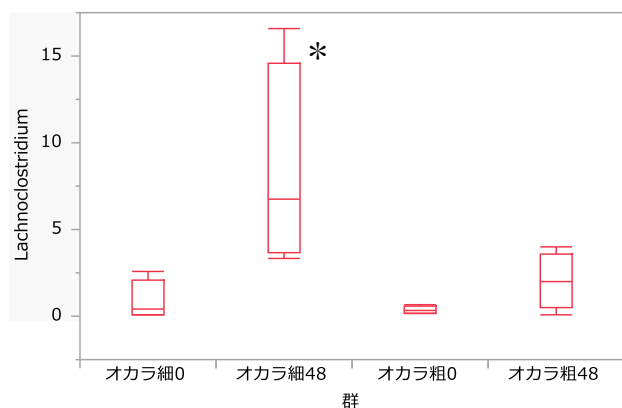


図2. オカラ摂取による *Lachnoclostridium* 属の変化
*オカラ細0 と比べて有意差あり(p<0.05).

3. まとめと今後の課題

人工消化管モデルである嫌気培養装置を用いて、オカラパウダーの発酵特性を調べた。その結果、セルロースよりも良く発酵し、有益な酪酸を

【参考文献】

- 1) O'Toole, D.K.: Characteristics and use of okara, the soybean residue from soymilk production-a review, J. Agric. Food Chem., 47, 363-371(1999).
- 2) https://www.mext.go.jp/a_menu/syokuhinseibun/mext_01110.html (2024年3月19日閲覧)
- 3) 高木 尚紘, 北脇 涼子, 西村 侑子, 原田 智子, 岩崎 充弘, 都築 公子, 福田 満. 乳酸発酵オカラ豆乳がラット盲腸内の短鎖脂肪酸およびポリアミン含量に及ぼす影響. 日本食品科学工学会誌, 56, 585-590(2009).
- 4) LyuB, WangY, ZhangX, ChenY, FuH, LiuT, HaoJ, LiY, YuH, JiangL. Changes of High-Purity Insoluble Fiber from Soybean Dregs (Okara) after Being Fermented by Colonic Flora and Its Adsorption Capacity. Foods. 10,2485 (2021).

多く産生することが示された。また、腸内細菌叢は、増加する菌と減少する菌の両者が見られた。前者は、酪酸産生菌の *Lachnoclostridium* 属であった。ヒト介入試験で差が検出されなかった糞便中の短鎖脂肪酸は、採便タイミングが不統一であったため吸収されたためと推定した。

今後、エンテロタイプの異なる被験者の例数を増やして検討する必要がある。

4. この助成による発表論文等

①雑誌論文

- [1] 伊藤康代：令和5年度修士論文

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 (K2301)「オカラ乾燥粉末のヒト腸内細菌による発酵特性の検討」を受けたものです。