

小麦と大麦に含まれる低分子水溶性食物繊維の機能性について

Functionality of low molecular weight soluble fiber in wheat and barley

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：小麦，大麦，低分子水溶性食物繊維

Key words : Wheat, Barley, Low molecular weight soluble dietary fiber

1. 研究目的

日本食品標準成分表では、追補 2017 年のデータまで、その定量法として、不溶性食物繊維 (IDF) と水溶性食物繊維 (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 (AOAC985.29 法をベースとする分析法) を適用してきた。この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やフラクタンタイプのイヌリンや大豆オリゴ糖などの低分子量の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酵素-HPLC 法 (AOAC2001.03 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についても指摘されており食品標準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は、2016 年度に、食品標準成分表のための新しい食物繊維測定法の検証を実施し、当面の成分表の分析法としては、AOAC2011.25 法を採用することとした。したがって炭水化物成分表追補 2018 年以降のデータでは、新旧の分析法による食物繊維を併せて収載する「別表 1」が追加され、成分値として、従来法による水溶性食物繊維、不溶性食物繊維及び食物繊維総量と、新法による不溶性食物繊維、高分子水溶性食物繊維 (SDFP)、低分子水溶性食物繊維 (SDFS)、難消化性でん粉及び食物繊維総量が収載されている。これら新旧の各画分の定量値は、酵素反応条件が異なることから対応関係はなく、SDFS 画分は、従来法では全く測定していない画分となる。

この SDFS が新たに追加されたことによって、TDF が大きく増加した食品が小麦と大麦である。小麦 [玄穀, 国産, 普通] の水溶性食物繊維量は、

プロスキー変法では 100g 中に 0.5g 含有とされていたが、AOAC2011.25 法では、低分子画分と高分子画分の合計 5.1g で、4.6g も増加した。また大麦 [押麦, 乾] の水溶性食物繊維では 2.4g 増加している。

これらの背景から、食物繊維の摂取源として重要であり、分析法の追加に伴い特に TDF が増加した小麦と大麦について、低分子画分と高分子画分の水溶性食物繊維標品を調製し、成分分析を行うこと、また動物試験により、腸内細菌及び糖代謝に及ぼす影響について、高分子画分と低分子画分の水溶性食物繊維を比較検討し、両画分の機能性の特性について明らかにすることを研究目的とした。

2. 研究実施内容

2-1. 大麦試験

Exp 1 では大麦について実験を実施した。 β -グルカン抽出法である Wood の方法を用いてアルカリ処理することにより、低分子画分と高分子画分の水溶性食物繊維を分取した。各試料について食物繊維量、たんぱく質量、レジスタントスターチ及び可溶性でん粉量、 β -グルカン量を測定し、また GC/MS による中性糖分析で低分子画分と高分子画分の組成を比較した。動物試験では、食餌性肥満モデルマウスとして使用される C57BL/6J 雄マウスを用い、セルロースを 5% 配合した対照 (CO) 群と、低分子画分の試料を 2.5% とセルロースを 2.5% 配合した低分子画分 (LW) 群と、高分子画分を 2.5% とセルロースを 2.5% 配合した高分子画分 (HW) 群の 3 群を飼育し、分子量に違いによる効果を検討した。

高分子画分試料について、食物繊維総量が約 50g/100g dry matter, うち β -グルカンが約 35g/100g

dry matter と十分量含まれており、またタンパク質量は 1.8g/100g dry matter と低値であり、問題なく動物試験に使用できた。試料に含まれる消化性澱粉量は飼料の β -コーンスターチで調整した。低分子画分試料は食物繊維総量が約 25g/100g dry matter であり、消化性澱粉含量が多く純度があまり良くなかった。しかし透析チューブ (Biotech CE Tubing, MWCO: 100-500D, REPLIGEN 社) にて 2 日間流水透析を行ったところ、回収率が悪く実用的ではなかった。Lowry 法によりタンパク質を測定した結果が 0%であったことから、透析を行わずそのまま使用することとした。

β -グルカンを測定した結果、上記にも記載したとおり高分子画分試料には多く含まれていたが、低分子画分試料にはほとんど含まれていなかった。また難消化性澱粉は、低分子画分では含まれていなかった。GC/MS による水溶性食物繊維の組成分析では、低分子画分試料でグルコースが約 73%を占め、次いでアラビノース、ガラクトース、キシロースも含まれていた。高分子画分試料では、グルコースが約 93%、キシロースが約 7%でアラビノースとガラクトースは検出されなかった。グルコースは β -グルカン画分であるので、高分子試料で検出されたグルコースは β -グルカン由来であると考えられる。一方低分子試料については、 β -グルカンと難消化性澱粉が含まれていなかったことから、アルコール可溶性の低分子デキストリン由来である可能性が高い。またアラビノースとキシロースについては、アラビノキシラン画分であるので、低分子と高分子画分ともに大麦に含まれるアラビノキシラン由来のものであることが考えられた。これらのことから、高分子画分試料は β -グルカンの純度が高く、低分子画分試料の水溶性食物繊維は、大麦由来のアラビノキシランが低分子化したものであることが示唆された。

Wood の方法は希アルカリを用いた β -グルカン抽出法であり、 β -グルカンやアラビノキシランが操作によって分解されることはない。低分子水溶性食物繊維が低分子化した過程について、酵素分解や酸加水分解が主体と思われる。穀物類において、米や麦類では、胚芽や外皮にアミラーゼ、キシラナーゼ、プロテアーゼ、リパーゼ、リポキシゲナーゼなど多くの内在性酵素が含まれている。

Exp1 における CO 群と HW 群では、各試験飼料を摂取したマウスの摂餌量に差はなく同等のエネルギー量を摂取したが、最終体重、体重増加及び

腹腔内脂肪重量は CO 群に比べ HW 群で有意に低く、腹腔内脂肪蓄積抑制効果が認められた。また血清脂質においては、総コレステロール、HDL-コレステロール及びトリグリセリドの濃度が CO 群と比較して有意に低下し、血清脂質濃度改善作用が見られた。耐糖能試験では、CO 群と比べ IAUC では有意差は見られなかったものの、食後の血糖上昇が CO 群より緩やかであり、より速やかに空腹時の値まで戻った。

一般に、大麦 β -グルカンによる血清脂質濃度改善や食後高血糖の抑制の機序として、高分子の大麦 β -グルカンの粘性による糖質・脂質の吸収抑制や食餌性脂質の排泄促進効果の寄与が大きいと考えられている。大麦 β -グルカンは D-グルコースが β -(1 \rightarrow 3)および β -(1 \rightarrow 4)結合で重合した多糖で、直鎖状の構造を持ち物性が高い特徴がある。著者が所属する研究室の過去の研究でも、大麦 β -グルカン抽出物の摂取によって耐糖能異常改善や肝臓内脂肪蓄積を抑制することが確認されている。本研究における血清脂質濃度改善作用、食後高血糖抑制作用においても、高分子の大麦 β -グルカンが持つ粘性による影響が大きく関与していると考えられた。

また粘性による影響の他に、腸内細菌による β -グルカンの発酵とそれに伴う代謝産物の増加によって、耐糖能や脂質代謝が改善されたことも考えられた。大麦に含まれる β -グルカンは、腸内細菌によって発酵を受ける多糖類であり、代謝産物として酢酸、プロピオン酸、酪酸などの短鎖脂肪酸 (SCFAs) が生成される。SCFAs は宿主のエネルギー源となるとともに、G タンパク質共役型受容体の一種である脂肪酸受容体を活性化する。Gpr43 は腸管 L 細胞や白色脂肪組織で発現しており、腸内で認識されるとグルカゴン様ペプチド (GLP-1) の分泌を増加させ、インスリン抵抗性や耐糖能の改善をもたらす。本実験では、飼育 11 週の新鮮糞便と盲腸内容物による SCFAs 分析において、CO 群と比較して酢酸や酪酸などの短鎖脂肪酸濃度の増加が確認できた。しかしながら、回腸と大腸ともに GPR43 をはじめとする L 細胞分化・機能及び GLP-1 分泌に関連する遺伝子マーカーに変動は見られず、そのメカニズムを説明することはできなかった。本研究では、水溶性食物繊維試料を飼料に対し 2.5%含有とし、また飼料の脂質エネルギー比が 25%の中脂肪食にした結果、新鮮糞便と盲腸内容物中の SCFAs 濃度で有意な増

加を認められたものの盲腸内容物重量の有意な増加には至るほどではなかったこと、耐糖能の悪化が高脂肪食実験ほど大きくなかったことから、L細胞分化・機能やGLP-1分泌に関連する遺伝子発現量及び盲腸総GLP-1プールサイズに有意差が見られなかったと考えた。

Exp1におけるCO群とLW群では、各試験飼料を摂取したマウスの摂餌量に差はなく同等のエネルギー量を摂取したが、腹腔内脂肪重量はCO群に比べLW群で有意に低く、腹腔内脂肪蓄積抑制効果が認められた。耐糖能試験では、グルコース投与前と投与15分後の食後血糖ピークにおける血糖値変化量、IAUCおよび血清インスリン濃度について、CO群と比べ有意に低値を示し、耐糖能改善作用が見られた。血清脂質では、高分子画分とは異なり、総コレステロール及びHDLコレステロール濃度にCO群と比較した差は見られなかったが、トリグリセリド濃度は有意に低下し、血中トリグリセリド濃度改善効果が見られた。飼育11週の新鮮糞便によるSCFAs解析では、糞便1g中に含まれる酢酸、プロピオン酸、吉草酸、イソ吉草酸、イソ酪酸及び総短鎖脂肪酸量がCO群と比べて有意に増加した。盲腸内容物中のSCFAs解析では、プロピオン酸量がCO群と比較して有意に増加した。盲腸総GLP-1プールサイズではCO群と比較して高い傾向が見られた。低分子量の食物繊維は粘性がないため、高分子のβ-グルカンのような物性による効果はない。このことから、腸内で食物繊維が発酵を受けたことによるプレバイオティクス効果により、インスリン抵抗性と耐糖能の改善や腹腔内脂肪蓄積の抑制が認められたと考えられた。

本実験で調製した低分子画分の水溶性食物繊維標品には、β-グルカンや難消化性澱粉が検出されなかった。故に腸管で発酵を受けたものは、低分子化した大麦アラビノキシランとβ-グルカンと難消化性澱粉以外の低分子炭水化物である可能性が考えられた。著者が所属する研究室では、大麦アラビノキシランの摂取により腸内のSCFAsが増加し、GLP-1分泌が促進されることが示されている。本研究ではL細胞分化・機能及びGLP-1分泌に関連する遺伝子発現に有意差は見られなかったが、過去の研究では、PgcgなどのL細胞の機能に関連する遺伝子発現は変化しないものの、L細胞の数が增加することでGLP-1分泌が増加したとの報告がある。GLP-1の分泌シグナルについては、

さらなる研究が必要である。加えて本研究では、盲腸総GLP-1プールサイズと盲腸内プロピオン酸量に正の相関が見られた。プロピオン酸は、肝臓で糖新生の基質としての役割以外に、インクレチン分泌への関与も報告されている。以上の報告を踏まえ本研究では、食物繊維が腸内で発酵を受け産生されたSCFAsがGLP-1の分泌を促進し、耐糖能を改善することが示唆された。

また本研究では脂肪組織の遺伝子発現は検討しなかったが、白色脂肪組織にはGPR43が発現し、SCFAsのシグナルにより脂肪蓄積が減少することが知られている。GPR43は主に酢酸とプロピオン酸により同程度に活性化される。本研究では新鮮糞便と盲腸内容物の双方のSCFAs濃度で酢酸とプロピオン酸の増加が確認できているので、白色脂肪細胞におけるプロバイオティクス効果の影響も考えられた。

2-2. 小麦試験

Exp2では、Prosky変法で用いる酵素処理により低分子画分と高分子画分の水溶性食物繊維をそれぞれ分取した。各試料について食物繊維量、たんぱく質量、レジスタントスターチ及び可溶性でん粉量を測定し、またGC/MSによる中性糖分析で低分子画分と高分子画分の組成を比較した。動物試験はExp1と同様に行い、分子量の違いによる効果を検討した。

Exp2で使用した小麦に含まれる低分子画分及び高分子画分の水溶性食物繊維標品は、Prosky+HPLC法により得た。高分子画分試料について、食物繊維総量が約74g/100g dry matterと高純度で含まれており、またタンパク質量は22.9g/100g dry matterであり、飼料組成で調整し動物試験に使用できた。低分子画分試料は食物繊維総量が約9g/100g dry matterであり、酵素により消化を受けなかった低分子可溶性澱粉含量が約75%と多く純度があまり良くなかった。しかし透析チューブ(Biotech CE Tubing, MWCO: 100-500D, REPLIGEN社)にて1または2日間流水透析を行ったところ、回収率が悪く実用的ではなかった。Lowry法によりタンパク質を測定した結果が低値であったことから、透析を行わずそのまま使用することとした。

難消化性澱粉含量を分析した結果、低分子画分には含まれていなかった。GC/MSによる水溶性食物繊維の中性糖組成では、低分子画分試料でグルコースが約48%を占め、次いでキシロースが約

28%で、ガラクトースが約14%、アラビノースが約10%だった。高分子画分試料では、キシロースが約87%を占め、アラビノースが13%、グルコースとガラクトースは検出されなかった。これらのことから、アラビノキシラン画分であるアラビノースとキシロースのみ検出された高分子画分試料は、アラビノキシランの純度が高いことが示唆された。一方低分子画分試料の水溶性食物繊維について、難消化性澱粉が含まれていなかったことから、グルコース画分は低分子化した消化性澱粉か、アミノグルコシダーゼで分解されなかったオリゴ糖類である可能性が高いと考えられた。田辺らは、酵素-HPLC法に使用されている糖質消化酵素である α -アミラーゼおよびアミログルコシダーゼは、いずれもオリゴ糖に対する消化作用が弱いために共存する小分子の消化性糖質を完全に消化できず、小分子の消化性糖質を難消化性糖質として定量する欠陥を報告している。本研究においても、消化酵素による澱粉の消化過程で生じた低分子可溶性澱粉がアミログルコシダーゼによって完全に分解されずに残存していると考えられる。ガラクトースは、小麦に含まれるアラビノガラクトンというタンパク質に結合する多糖由来であることが考えられた。アラビノースとキシロースについては、低分子と高分子画分ともにアラビノキシランが一部低分子化したものであることが示唆された。大麦と同様に、内在性の酵素であるキシラナーゼによってアラビノキシランが低分子化されていると考える。

Exp2におけるCO群とHW群では、各試験飼料を摂取したマウスの摂餌量に差はなく同等のエネルギー量を摂取したが、最終体重、体重増加量及び腹腔内脂肪重量はCO群に比べ有意に低く、腹腔内脂肪蓄積抑制効果が認められた。また血清脂質においては、総コレステロールとHDLコレステロールの濃度がCO群と比較して有意に低下し、血清脂質濃度改善作用が見られた。耐糖能試験では、空腹時およびグルコース投与15分後、120分後の血糖値の実測値で有意に低値を示した。またグルコース投与15分後までの変化量では低い傾向が見られ、IAUCでは有意差は見られなかったがHW群が最も低値であり、空腹時血糖値および食後血糖上昇の抑制効果を認めることが示唆された。血清インスリン濃度では有意差は見られなかったが、インスリン抵抗性の指標となるHOMA-IRはCO群と比べて有意に低値となった。

Luらの報告では、小麦粉の製粉工程で生じる副産物から得られた水溶性アラビノキシランを豊富に含む粉末をパンに添加すると、健常人の食後血糖上昇が抑制されることを示しており、この報告を根拠に欧州食品安全機関は、「アラビノキシランの摂取は食後血糖上昇の抑制に寄与する」旨のヘルスクレームを認可している。これは、水溶性アラビノキシランがゲル状のマトリックスを形成し、小腸における糖の消化吸收を妨げたためとされている。本研究においてもゲル状マトリックスの形成による影響があったと考えられる。

一方それ以外に、Exp1の大麦試験同様に高分子画分の水溶性食物繊維は腸内細菌により発酵を受けSCFAsを有意に増加させていることから、SCFAsを介したプレバイオティクス効果があることも推測される。Audreyらは、小麦由来の水溶性アラビノキシランを添加した高脂肪食をマウスに与えることで、脂肪細胞サイズを低下させ、主要な脂肪生成酵素活性を低下させること、体重増加、血清および肝コレステロール蓄積、インスリン抵抗性を改善させることを報告している。また別の研究では、SCFAsの増加は血清コレステロール、空腹時血糖、レプチン濃度を低下させることが報告されている。本研究では脂肪細胞と肝臓での遺伝子発現量は検討しなかったが、体重増加、空腹時血糖および耐糖能、血清コレステロール濃度がどれも有意に改善しており同様の結果となった。また本研究では回腸と大腸ともにNgn3の発現量がCO群と比較して増加した。Ngn3は内分泌分化を開始する重要な因子であり、Ngn3とNeuro DはL細胞などのある種の腸内分泌細胞を積極的に誘導する。またSCFAs受容体であるGPR43の腸管での発現量に有意差は見られなかったものの、盲腸のGLP-1プールサイズはCO群と比較して有意に増加した。したがって耐糖能改善効果はGLP-1の作用も影響している可能性が考えられた。これらのことから、高分子画分の水溶性食物繊維である水溶性アラビノキシランは、それが形成するゲル状マトリックスによる消化吸收抑制効果と、腸内発酵を受けるプレバイオティクス効果の影響によって、耐糖能とインスリン抵抗性が改善され、また脂質代謝の改善や脂肪細胞サイズの減少、白色脂肪細胞での脂肪蓄積抑制も引き起こされた可能性が推測でき、腹腔内脂肪の蓄積抑制が認められたと考えた。

Exp2におけるCO群とLW群では、各試験飼料

を摂取したマウスの摂餌量に差はなく同等のエネルギー量を摂取したが、最終体重、体重増加量及び腹腔内脂肪重量は CO 群に比べ LW 群で有意に低く、腹腔内脂肪蓄積抑制効果が認められた。また血清脂質濃度では総コレステロール濃度が CO 群と比べて低い傾向が見られた。しかし盲腸総 GLP-1 プールサイズの増加は確認できているものの耐糖能の改善は確認できなかった。

高分子アラビノキシランのゲル状マトリックス形成はアラビノキシランの分岐構造によるものであり、低分子画分ではその影響は考えにくいいため、脂肪蓄積抑制効果は低分子水溶性食物繊維のプレバイオティクス効果によるものと考えられた。大麦試験同様に脂肪組織の遺伝子発現は検討しなかったが、白色脂肪組織には GPR43 が発現し、SCFAs のシグナルにより脂肪蓄積が減少する。本実験の効果も、類似したメカニズムによる効果が働いたのではないかと考えられる。また高分子画分についてでも述べたように、Audrey らの小麦由来の水溶性アラビノキシランを用いた実験では、脂肪細胞の減少・脂肪蓄積の抑制が確認されている。肝臓での脂質代謝についても同報告で改善が確認されている。これらプレバイオティクス効果により腹腔内脂肪が低減した可能性がある。

一方、耐糖能試験ではどの項目においても有意差は認められなかった。この要因のひとつは、脂肪エネルギー比 25% の中脂肪食であるため 8 週間の摂食期間では耐糖能の悪化が小さく差が現れなかった可能性が考えられた。また低分子水溶性食物繊維の純度の問題も考えられた。この画分の約 75% は可溶性デンプンであり、一度消化酵素の暴露を受けた低分子デキストリンのため血糖値が上昇しやすい糖質を添加していることになる。すなわち動物実験飼料で約 25% の β -コーンスターチを可溶性デキストリンで置き換えたことになり、実際に血清インスリン濃度の結果について HW 群は低値だったのに対し LW 群は CO 群と同等の濃度を示し、インスリン抵抗性の改善は認められなかった。インスリンの基礎分泌が既に高かったため、GLP-1 による促進効果が現れなかった可能性が高いと考えられた。小麦の低分子水溶性食物繊維は発酵性が高くプレバイオティクス効果を有することは間違いないが、耐糖能改善作用については、画分の純度を上げる方法の開発と再検討が必要であろう。

3. まとめと今後の課題

大麦に含まれる低分子水溶性食物繊維と高分子水溶性食物繊維について、Wood の方法で抽出した高分子画分はそのほとんどが β -グルカンであり、低分子画分は主に大麦由来のアラビノキシランが低分子化したものであることが示唆された。その機能性については、高分子画分は、 β -グルカン特有の粘性による糖質・脂質の吸収抑制や食餌性脂質の排泄促進効果と、腸内発酵を受け産生された SCFAs による効果によって、腹腔内脂肪蓄積抑制作用が認められると考えた。低分子画分は、水溶性食物繊維が腸内細菌に発酵を受けることによるプレバイオティクス効果で、インスリン抵抗性と耐糖能の改善や腹腔内脂肪蓄積の抑制が認められたと考えられた。しかし、L 細胞分化・機能と GLP-1 分泌に関連する遺伝子マーカーに変動が認められず、メカニズムについては確定できなかった。以上より、大麦に含まれる低分子水溶性食物繊維は高分子画分と異なる組成であり、機能性は短鎖脂肪酸のプレバイオティクス効果によるものであることが示唆された。

小麦に含まれる低分子水溶性食物繊維と高分子水溶性食物繊維については、高分子画分はそのほとんどがアラビノキシランであり、低分子画分については、アラビノキシランやアラビノガラクトンが一部低分子化したものであることが示唆された。また現在食物繊維定量法の公定法で用いられている消化酵素では、消化性オリゴ糖が残存することが示された。高分子画分の機能性は、水溶性アラビノキシランがゲル状マトリックスを形成することおよび腸内発酵を受け SCFAs を産生することにより耐糖能を改善し、腹腔内脂肪低減効果が認められることを示した。低分子画分では、飼料で一度消化酵素の暴露を受けた低分子デキストリンを置き換えた影響でインスリン基礎分泌量が高くなり、耐糖能の改善効果は認められなかった可能性があるが、SCFAs によって腹腔内脂肪を低減させる効果が認められた。

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 (DB2311) 「小麦と大麦に含まれる低分子水溶性食物繊維の機能性について」を受けたものです。