

令和元年6月21日現在

機関番号：33915

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K00880

研究課題名(和文) 保健機能の発現を的確評価するための難消化性糖質の統一定量法の確立に関する研究

研究課題名(英文) Study on establishment of an accurate and comprehensive determination method for nondigestible saccharides

研究代表者

田辺 賢一 (Kenichi, Tanabe)

名古屋女子大学・家政学部・講師

研究者番号：60585727

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：国民の健康に対する関心が高い現代においては、様々な健康効果が期待できる難消化性糖質を利用した多数の健康志向食品が市場に出回っている。一方、食品中の難消化性糖質含有量ならびに保健機能の発現を的確に評価することが可能な難消化性糖質の統一定量法(食品分析法)は未だ確立されていない。本研究で提案している定量法は、一部解決する問題を残しているが、難消化性糖質の定義に則し、上記の2つの条件を満たす統一定量法になり得る可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で提案する定量法が確立されれば、難消化性糖質の保健機能の有無の評価が分析値から簡便かつ正確に推定することが可能になる。すなわち、消費者が難消化性糖質が含まれた加工食品に期待している保健機能を保証し、消費者が自分の健康の保持・増進に見合った食品選択を支援することが可能になる。近年では、腸内細菌と寿命、または疾病との関連に注目が集まっており、健康長寿の観点から、難消化性糖質に対する国民の関心はますます高まっていくことが予想される。また、製造者においても難消化性糖質の開発・製造およびそれを利用した加工食品の製造においても保健機能を発現する難消化性糖質を簡便かつ正確に定量する方法は有用である。

研究成果の概要(英文)：The use of nondigestible saccharides in food has been increasing in recent years. There is a need to measure accurately to what extent these saccharides with biological regulatory functions are present in food. In order for our determination method to become an established and comprehensive quantitative assay of nondigestible saccharides, we need to improve some problem. However, it is possible that the method is capable of accurate quantitative analysis of nondigestible saccharides.

研究分野：健康科学

キーワード：難消化性糖質 定量法 食品分析 食物繊維 難消化性オリゴ糖 レジスタントスターチ 糖アルコール

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我が国の澱粉工業技術は国際的にも高く評価されており、特有の保健機能を発現する食物繊維などの多糖から低分子のオリゴ糖まで開発が盛んである。しかし、それらは多種多様であるため、統一定量法は未だ確立されていない。申請者は、暫定的に統一定量法とされる AOAC 公定法では、消化性糖質が加水分解されずに難消化性糖質として誤って定量されることを見出した。さらに、この問題点を水解酵素処理にブタ小腸粘膜酵素を使用することによって解決した改良変法を提案している。しかしながら、我々が提案している改良変法は、難消化性糖質の統一定量法と成り得る可能性を秘めているが、妥当性については十分な検討が実施できていない。

2. 研究の目的

申請者が提案する定量法(改良変法)は、「ヒトの消化酵素で消化されない炭水化物の重合体」を明確に区別できるため、難消化性糖質の統一定量法として適応できる可能性が高い。これまで難消化性糖質の統一定量法の検討がなされてきてはいるが、難消化性糖質の生体利用性を考慮し、その分析値の妥当性を詳細に評価・検討している定量法は皆無である。本研究では、栄養学研究者の視点から構想した難消化性糖質の統一定量法を確立することを目的とした。実験は、各種難消化性糖質素材の食品分析だけでなく、*in vivo* 実験を用いた難消化性糖質の生体利用性を評価し、定量法の妥当性を検討した。

3. 研究の方法

(1) *in vivo* 実験から得られた難消化性糖質の消化・発酵性と改良変法を用いた難消化性糖質の定量値の違いの評価

8週齢の Wistar 系雄性ラット 30 匹を 5 群(n=6)に分け、通常精製飼料を用いて 1 週間代謝ケージで予備飼育した後に急性投与実験を実施した。一晚絶食させたラットに対して、400 mg/2.5 mL の対照試料(消化性デンプン)ならびに試験試料(高架橋澱粉、難消化性デキストリン、ポリデキストロース、難消化性グルカン)を、ゾンデで急性投与した。投与後 4 日間の糞を採取し、凍結乾燥させた後、粉碎・均一にして実験試料とした。ラットの糞中に排出された未消化糖質(食物繊維)は、AOAC 2009.01 法ならびにフェノール硫酸法を用いて測定した。なお、両方法の測定結果から得られた各素材の未消化糖質として排出された量は、消化性デンプンならびに高架橋澱粉の糞中排出量を基にして補正した。また、大腸における腸内細菌による発酵を考慮して得られた結果を補正した。一方、上記の 5 種類の試料を改良変法で分析し、得られた定量値を *in vivo* 実験で得られた結果と比較・検討した。

ラットを用いた *in vivo* 実験から得られた結果は、ヒトを対象とした実験で得られた先行研究の結果と同様な傾向を示した。また、AOAC 2009.01 法ならびにフェノール硫酸法のいずれの方法を用いて分析しても得られる結果に差異がないことを明らかにした。一方、我々が提案する改良変法とラットを用いた *in vivo* 実験の結果を比較すると、改良変法によって得られた定量値は、*in vivo* 実験で得られた結果よりも高くなった。しかしながら、大腸における腸内細菌による発酵によって分解される量を考慮すると、改良変法ならびに *in vivo* 実験で得られた結果は類似していた。以上の結果より、我々が提案する改良変法は、難消化性糖質の定義に則した定量法であることが確認された。

(2) 改良変法を用いた難消化性糖質素材(食物繊維、レジスタントスターチ、難消化性オリゴ糖ならびに糖アルコール)の定量における妥当性の検討

難消化性高分子糖質として食物繊維素材を 4 種類(セルロース、難消化性デキストリン、ポリデキストロースならびに難消化性グルカン)ならびにレジスタントスターチ(RS)素材を 4 種類(RS 1 のインゲン豆(Kidney beans)、RS 2 のトウモロコシデンプン(Maize starch)ならびに高アミローストウモロコシデンプン(High amylose maize starch)、RS 3 の Actistar[®]ならびに RS 4 の高架橋デンプン)用いた。また、難消化性低分子糖質として難消化性オリゴ糖を 8 種類(フラクトオリゴ糖、ガラクトオリゴ糖、ラフィノース、ガラクトシルスクロース、ラクチュロース、セロピオース、メリピオースならびにダイフラクトース III)および糖アルコールを 2 種類(マルチトールならびにラクチトール)試料とした。ブタ小腸粘膜刷子縁微絨毛膜(Brush Border Membrane Vesicles、BBMV)は、Kessler らの方法に準じて調製した。 α -グルコシダーゼの unit 量は Halvorson らの方法により測定した。改良変法は、AOAC 2009.01 法で使用されているアミログルコシダーゼの代わりに調製したブタ小腸粘膜 BBMV を用いた。それ以外の測定操作は AOAC 2009.01 法に準じた。

改良変法を用いて難消化性高分子糖質(食物繊維ならびにレジスタントスターチ)を定量した結果、ヒトを対象に検討されたそれらの消化性の結果と同等の結果が得られた。すなわち、改良変法は、食物繊維ならびにレジスタントスターチを正確に測定できることを示唆している。一方、難消化性低分子糖質(難消化性オリゴ糖ならびに糖アルコール)は、改良変法では正確に定量できない糖質もあることが明らかになった。改良変法を用いた定量法の問題点は以下の 2 点: 重合度、結合様式である。まず、重合度に関しては、3 糖以上のフラクトオリゴ糖などは、ほとんど水解することはないが、2 糖においては、ラクチュロースを始めとして部

分的に水解することが認められている。次に、結合様式については、二糖のβ-グリコシド結合を非特異的に水解する可能性をこれまで見出していたが、マルチトールが予想以上に加水分解されていたため、β-グリコシド結合を有する糖質に限られた水解ではない可能性が示唆された。マルチトールに関しては、酵素添加量も影響していることが考えられるため、結合様式については、更なる検討が必要である。以上の結果、ブタ小腸粘膜酵素を用いた改良変法は、現時点では、重合度が3以上の難消化性糖質は正確に定量することが可能であるが、重合度が2の難消化性糖質は、加水分解される条件が明確でないため、適用範囲外とすることが妥当と考えている。この改良変法の問題点に関しては、その要因を今後も検討する必要がある。

4. 研究成果

本研究で提案している難消化性糖質量法は、重合度が3以上のきわめて加水分解を受けない糖質を包括的に定量できることが明らかになった。本研究で提案している定量法の優れている点は、他の定量法と比較して加水分解できる糖質は、全て加水分解して除去し、加水分解できない糖質を選択的に定量できることである。食物繊維の定義は、ヒトの消化酵素で消化されない総体とされており、一般的には重合度が3以上とされている。それゆえ、本研究で提案する定量法は、前述の定義に則した包括的な定量法といえる。また、我々の提案する定量法は、食品分析法としてだけでなく、新規に開発された糖質を消化性糖質か難消化性糖質であるか分類することも可能であり、定量法を応用的に利用でき、生産者の一助と成り得る。今後、上記で得られた結果は、論文として公表する予定である。一方、研究機関を通して懸案事項であったブタ小腸粘膜酵素の精製ならびに安定供給は、パートナーリング提携を目指したが、実現できなかった。今後、本研究成果を普及・伸展するためには、ブタ小腸粘膜酵素の精製ならびに安定供給が重要になるであろう。

5. 主な発表論文等

〔学会発表〕(計 5件)

- 田辺賢一、中村禎子、奥 恒行：AOAC 2009.01 公定法の(難消化性糖質量法)を基にした改良変法に用いるブタ小腸粘膜酵素の特性ならびに問題点．第70回日本栄養・食糧学会大会、2016年5月13日～5月15日、武庫川女子大学(兵庫県西宮市)
- 田辺賢一、中村禎子、奥 恒行：難消化性糖質量法の低分子糖質水解酵素として用いるブタ小腸粘膜水解酵素の妥当性の検討．日本食物繊維学会 第20回学術集会、2016年11月26日～11月27日、静岡大学(静岡県静岡市)。
- 田辺賢一、中村禎子、奥 恒行：AOAC 2009.01 公定法の(難消化性糖質量法)を基にした改良変法の特性ならびに問題点．第71回日本栄養・食糧学会大会、2017年5月19日～21日、沖縄コンベンションセンター(沖縄県宜野湾市)
- 田辺賢一、水野里咲、中村禎子、奥 恒行：AOAC 2009.01 公定法の改良変法を用いたレジスタントスターチの定量の試み．日本食物繊維学会 第21回学術集会、2017年11月25日～11月26日、国立健康・栄養研究所(東京都)。
- 田辺賢一、増栄有里菜、中村禎子、奥 恒行：食物繊維定量法であるAOAC 2009.01 公定法を基にした改良変法の難消化性低分子糖質量法における問題点の検討．日本食物繊維学会 第23回学術集会、2018年11月24日～11月25日、大妻女子大学(東京都)。

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：奥 恒行

ローマ字氏名：Oku Tsuneyuki

所属研究機関名：十文字学園女子大学

部局名：人間生活学部

職名：客員教授

研究者番号(8桁)：50010096

研究分担者氏名：中村 禎子

ローマ字氏名：Nakamura Sadako

所属研究機関名：十文字学園女子大学

部局名：人間生活学部

職名：教授

研究者番号(8桁)：60382438

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。