

令和 2 年 6 月 21 日現在

機関番号：53101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K00951

研究課題名(和文) 血糖上昇の遅い湿熱処理高アミロース米災害用避難食の開発とその生理的機能性の解明

研究課題名(英文) Development of the low postprandial elevation of blood glucose levels stockpiled foods for disaster from high-amylose rice.

研究代表者

菅原 正義 (SUGAWARA, MASAYOSHI)

長岡工業高等専門学校・物質工学科・教授

研究者番号：30259840

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：米デンプンのアミロース含量が多い高アミロース玄米に、水蒸気のみを使用する安全な湿熱処理を行い、食後血糖の上がり難い米の開発を目指した。湿熱処理によって、難消化性デンプンの増加とデンプン消化速度が低下することがわかった。低GI米食品は、食後血糖値上昇が穏やかで、インスリン分泌が節約され、糖尿病やメタボリック症候群の予防効果が期待できる。ラットに湿熱処理高アミロース米を投与した結果、急激な血糖値上昇によっておこるインスリン分泌が抑制され、インスリンによって誘導される脂肪酸合成が抑制されることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

米のアミロース含量と湿熱処理がラットの糖質・脂質代謝に与える影響を調べた。アミロース含量が高い米の方が低い米より難消化性デンプン含量が高く、デンプンの消化速度が遅いことがわかった。また、湿熱処理によって難消化性デンプンの増加、デンプン消化速度が低下することがわかった。ラットに投与した結果、血糖値上昇が穏やかなことに起因すると考えられる、肝臓酵素活性の変化が認められ、余剰糖質からの脂肪酸合成が抑制されることが明らかになった。湿熱処理高アミロース米は、血糖値上昇が穏やかで、糖尿病や肥満防止効果が期待できると考えられる。

研究成果の概要(英文)：High amylose brown rice, which has a high amylose content of rice starch, is heat-moisture treated using only water vapor. The aim is to develop a rice that is hard to raise postprandial elevation of blood glucose levels. Heat-moisture treatment increased the amount of resistant starch and decreased the rate of starch digestion. Low-GI rice foods have a milder post-meal blood sugar rise, conserve insulin secretion, and reduce the risk of diabetes and it is expected to have a preventive effect on metabolic syndrome. The administration of heat-moisture treated high-amylose rice to rats resulted in an increase in insulin levels caused by a rapid rise in blood glucose. Secretion was inhibited and fatty acid synthesis induced by insulin was found to be suppressed.

研究分野：食品機能学

キーワード：湿熱処理 高アミロース玄米 食後血糖値上昇 デンプン消化速度 難消化性デンプン

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

米の主成分であるデンプンはアミロースとアミロペクチンから構成されており、これらの比が米の味や物性に関係している。日本において広く普及している米品種には、“コシヒカリ”や“あきたこまち”などがあり、これらはアミロース含量が17~20%の中アミロース米に分類される。中アミロース米よりアミロース含量が高い品種は、高アミロース米(アミロース含量25~35%程度)に分類される。高アミロース米は、米飯の粘りが弱く食味が劣るため、ピラフ等の調理冷凍米飯、麺、米粉などの加工用原料として用いられている。また、高アミロース米は、中アミロース米や低アミロース米に比べ、生理機能性を有する難消化性デンプン含量が高い。高アミロースデンプンでは、消化管通過時間の短縮、食後血糖値とインスリン濃度上昇の抑制、血漿や肝臓中のコレステロール、トリグリセリド濃度の低下が報告されている。このように難消化性デンプンを含む高アミロース米摂取は、エネルギー代謝に影響することが考えられる。

デンプンは、糊化には不十分な低水分条件下で加熱するとデンプン粒内の結晶構造が変化して、 α -アミラーゼによる分解速度が低下する。この処理は、デンプンの湿熱処理(Heat-Moisture-Treatment: 以下HMTと略記)と呼ばれている。これまでの研究でHMT高アミロース米“越のかおり”玄米のデンプン分解速度の低下、ラットの消化管通過時間短縮することを確認した。玄米のHMTは、難消化性デンプン含量とは無関係に機能性を付与している可能性が考えられる。そこで、本研究ではアミロース含量の異なる米品種の未処理玄米とHMT玄米を調製し、各々精米した白米試料を高脂肪飼料に添加してラットに長期間摂取させ、アミロース含量とHMTがラットのエネルギー代謝に及ぼす影響とアルファ化米調製の可能性を検討した。

2. 研究の目的

米デンプン中のアミロース含量の多い高アミロース玄米に、水蒸のみを使用する安全な熱理を行った後に精米し、食後血糖の上がり易さを示すGIの低下、糠中有効成分の胚乳移行による栄養強化することを目的として研究を実施する。低GI米食品は、食後血糖の上昇がやかで、インスリン分泌が節約され、糖尿病やメタボリック症候群の予防効果が期待できる。小腸で消化吸されなかった難消化性デンプンは、大腸に常在する腸細菌による発酵を受け、短鎖脂肪酸による腸環境の改善効果も期待できる。これら低GI米の開発により平常時は、美味しく国民の健康進に役立つ加工食品、また、災害時に備え保存性が高く美味しい、糖尿病患者向け低GI災害食品の開発を目指す。

3. 研究の方法

(1) 飼料用米粉の調製

中アミロース米品種として“コシヒカリ”(アミロース含量17%)、高アミロース米品種として“越のかおり”(アミロース含量33%)の2品種を用いた。“コシヒカリ”玄米を未処理のまま精米したKH(コシヒカリ白米)、“越のかおり”玄米を未処理のまま精米したKK(越のかおり白米)、“コシヒカリ”玄米にHMT(飽和水蒸気圧0.2MPa,10分間)を施し、その後精米したHMT-KH(HMTコシヒカリ白米)、“越のかおり”玄米にHMT(飽和水蒸気圧0.4MPa,10分間)を施し、その後精米したHMT-KK(HMT越のかおり白米)を調製した。HMTは、各玄米をステンレス製網かごに入れ(500g/回)、圧力容器内にセットし、所定の飽和水蒸気圧で10分間保持したのち、大気圧に急減圧した。HMTにより、未処理時15%の玄米水分が17~18%に増加するが、乾燥せずにそのまま精米することが可能であり、未処理玄米とHMT玄米は縦型精米機を用いて精米歩合90%に精米した。IH炊飯器で炊飯し、65℃で12時間乾燥して、試験用粉砕機で粉碎した米粉を飼料用米粉とした。炭水化物、タンパク質、脂質、灰分、水分、難消化性デンプン含量、食物繊維含量、Beerの人工消化試験法¹⁾を一部改変してデンプン分解速度を測定した。

デンプン分解速度の測定は、デンプン4gの試料に10mM塩化ナトリウムを含む20mMリン酸ナトリウム緩衝液(pH6.9)80mLを加え、37℃、15分間の予備加温を行った。腓 α -アミラーゼ(Sigma, A-3176)5mgに3.6mM塩化カルシウム溶液100mLを加えた酵素溶液200 μ Lを加え、37℃で30,60,90分間加温し、0,5,15,30,60分間に生じた還元糖量をソモギ・ネルソン法により測定した。対照として糊化コーンスターチを同時に測定し、その還元糖量の増加を100として各試料のデンプン分解速度を算出した。

(2) 動物実験

試験飼料は、AIN-76配合飼料組成にラードを10%添加した高脂肪AIN-76飼料に各米粉末試料を糊化コーンスターチとの置換で添加した。各試験飼料は、糊化コーンスターチ、カゼイン、コーン油によりPFCバランスが25:32:43になるように調整した。ラットは、ステンレス製個別ケージ内で、室温24℃、相対湿度50-60%、12時間の明暗サイクル(暗期は8:00-20:00)環境下で飼育を行った。試験には4週齢のWistar系雄ラット(Wistar/Crlj:WI,日本チャールスリバー,神奈川)24匹を用い、1週間の予備飼育後、体重を基準に4群(n=6)に群分けし、各試験飼料を用いて35日間の試験飼育を行った。難消化性糖類の長期間投与による適応現象を考慮して、試験14-21日および28-35日に採糞を行い、糞便の湿重量、乾燥重量、水分含量を測定した。試験飼育終了後、3種混合麻酔(19)を腹腔内投与し、心臓採血により安楽死させた。その後、脂肪組織(腎周囲,副睾丸周囲,腸間膜)、肝臓、盲腸を採取した。肝臓は採取後、液体窒素で凍結し、分析まで-85℃で保存した。

(3) 分析

血液成分の測定

解剖時に採血した血液は、凝血後、遠心分離 (20 , 900 × g, 10 分間) により血清を分離し、血中トリグリセリドと総コレステロールの測定を市販キットにより行った。

肝臓酵素活性の測定

肝臓約 50mg に、抽出溶液 (5mM トリス塩酸緩衝液; pH 7.0, 0.25M ショ糖, 0.2vol% 5M エチレンジアミン四酢酸 (pH 8.0)) を 500μL 加えた後、ホモジナイズし、肝臓ホモジネートとした。この肝臓ホモジネートは、抽出溶液を用いて 5 倍および 25 倍に希釈し、遠心分離 (4 , 9700 × g, 10 分間) により上清を分取し、再度遠心分離した上清を肝臓酵素液とした。肝臓酵素液のタンパク質含量は、BCA 法に準拠した市販測定キットを用いて測定した。

肝臓酵素液は、多項目自動分析装置 (Biolis 24i Premium, 東京貿易メディシス(株), 東京) を用いて、グルコキナーゼ (EC2.7.1.2, GK), ピルビン酸キナーゼ (EC2.7.1.40, PK), グルコース 6-リン酸デヒドロゲナーゼ (EC1.1.1.49, G6PD), クエン酸シターゼ (EC2.3.3.1, CS), イソクエン酸デヒドロゲナーゼ (EC1.1.1.41, IDH), アセチル-CoA カルボキシラーゼ (EC6.4.1.2, ACC), 脂肪酸シターゼ (FAS), カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ (EC2.3.1.21, CPT2) の 8 種類の酵素活性を測定した。多項目自動分析装置では、第 1 試薬 176μL に肝臓酵素液 4μL を添加し、37 で 5 分間加温して吸光度変化を測定した後、第 2 試薬を 20μL 添加し、5 分間の吸光度変化を初速度測定法で測定した。各酵素活性の測定条件を表 1 に示す。各酵素の活性は、1 分間に 1μmol の NADH, NADPH, NADP, TNB を生産または消費する酵素量を 1unit とし、肝臓酵素液中タンパク質 1mg 当たりの活性を算出した。

統計処理

動物実験の分析結果は、平均値 ± 標準誤差で示した。測定値は、Bartlett 検定により等分散性を確認後、群間比較については二元配置分散分析を行い、アミロース量、湿熱処理の主効果と交互作用について解析した。有意水準は 5%未満とし、統計処理はエクセル統計 2012 Ver.1.10 を使用した。

Table 1 Measurement methods of enzyme activities

Enzyme	Reagent	Measured substance	Absorbance (nm)
GK	0.2mM NADP ⁺ 5mM ATP 5mM Magnesium chloride 0.1U Glucose 6-phosphate dehydrogenase 50mM D-Glucose	NADP ⁺	340
PK	10mM Magnesium chloride 50mM Potassium chloride 2mM ADP 0.5mM NADH 4.4U Lactate dehydrogenase 10mM Phosphoenolpyruvate	NADH	340
G6PD	30mM Magnesium chloride 1.2mM NADP ⁺ 100mU 6-Phosphogluconate dehydrogenase 3.3mM Glucose 6-phosphate	NADP ⁺	340

CS	0.2mM DTNB ¹ 0.1mM Acetyl CoA lithium-salt 0.5mM Oxaloacetate	TNB ²	412
IDH	0.6mM Magnesium chloride 1.0mM NADP ⁺ 0.44mM DL-Isocitrate trisodium salt hydrate	NADPH	340
ACC	0.125mM Acetyl CoA 3.75mM Reduced glutathione 3.75mM ATP 0.5mM Phosphoenolpyruvate trisodium salt 0.125mM NADH 50mM Citrate tripotassium salt 10mM Magnesium chloride 5mU Pyruvate kinase 5mU Lactate dehydrogenase 0.75mg/mL BSA 2.5mM Carbonate monopotassium salt	NADH	340
FAS	0.05mM Acetyl CoA 0.3mM NADPH 0.2mM Malonyl CoA	NADPH	340
CPT2	0.25mM DTNB ¹ 0.04mM Palmitoyl CoA 1.25mM L-Carnitine	TNB ²	412

¹ 2,2'-Dinitro-5,5'-dithiodibenzoic acid

² 5-Thio-2-nitrobenzoate

4. 研究成果

成分 水分, 灰分, タンパク質, 脂質には差はなかったが, 難消化性デンプン含量は, 未処理白米が KH:0.9%, KK:2.2%となり, 高アミロース米の方が高値を示し, 玄米を HMT 後精米した HMT 白米では, HMT-KH:1.2%, HMT-KK:2.6%となり, HMT によって胚乳部の難消化性デンプン含量が増加した。また, 総食物繊維含量も KH より KK が高値を示し, 各々 HMT によって増加した。胄 アミラーゼによるデンプン消化速度は, KH:91, HMT-KH:85.3, KK:78.1, HMT-KK:71.8トなり, 高アミロース米のほうが中アミロース米より消化速度が遅く, 湿熱処理によって消化速度が遅くなることがわかった。

動物実験 高アミロース含量によって盲腸内容物 pH の有意な低下, 前期湿・乾糞重量, 後期湿・乾糞重量を有意に増加した。HMT によって, 前期糞水分が低下した。これらの測定項目にお

けるアミロース量の違いと HMT の有無の間には交互作用は認められなかった。

表 2 に肝臓のエネルギー代謝関連酵素活性を示す。高アミロース含量によって TCA 回路律速酵素 IDH 活性とペントースリン酸経路酵素 G6PD 活性が有意に上昇した。HMT によって脂肪酸合

Table 2 Effect of amylose content and HMT on rat liver enzyme activities. (mU/mg protein)

											2-way ANOVA		
	KH		HMT-KH		KK		HMT-KK		Amylose	HMT	Interaction		
GK	0.01 ± 0.00	0.03 ± 0.01	0.01 ± 0.00	0.03 ± 0.01	-	*	-						
PK	5.44 ± 1.49	13.6 ± 1.76	7.07 ± 2.50	14.5 ± 2.63	-	***	-						
G6PD	9.13 ± 0.90	9.25 ± 0.81	10.57 ± 0.84	11.5 ± 0.84	*	-	-						
CS	0.76 ± 0.03	0.82 ± 0.01	0.75 ± 0.06	0.95 ± 0.13	-	-	-						
IDH	13.0 ± 0.8	13.7 ± 0.8	14.1 ± 1.1	16.3 ± 0.8	*	-	-						
ACC	2.23 ± 0.80	1.29 ± 0.25	2.37 ± 0.46	0.63 ± 0.10	-	**	-						
FAS	0.24 ± 0.04	0.17 ± 0.01	0.25 ± 0.04	0.21 ± 0.03	-	-	-						
CPT2	0.14 ± 0.01	0.16 ± 0.01	0.14 ± 0.02	0.18 ± 0.01	-	*	-						

Values are means ± SE

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ 2 Way ANOVA

KH; Koshiibuki, HMT-KH; Heat moisture treated Koshiibuki, KK; Koshinokaori (High-amylose rice), HMT-KK; Heat moisture treated Koshinokaori

GK: glucokinase, PK: pyruvate kinase, G6PD: glucose-6-phosphate dehydrogenase, CS: citrate synthase, IDH: isocitrate dehydrogenase, ACC: acetyl-CoA carboxylase, FAS: fatty acid synthase, CPT2: carnitin palmitoyltransferase 2

成律速酵素 ACC 活性は有意に低下し、解糖系酵素 PK および GK 活性、脂肪酸のミトコンドリア内への移行の関連酵素 CPT2 活性は有意に上昇した。これらの測定項目におけるアミロース量の違いと HMT の有無の間には交互作用は認められなかった。

高血糖時にはインスリンにより、肝臓の ACC と GK が活性化され、脂肪酸合成とグリコーゲン合成を亢進すると予想されるが、今回の結果では、HMT により ACC 活性は低下し、GK 活性は上昇する結果となった。肝臓では細胞内にとりこんだ過剰なグルコースから、まず GK の活性化によりグリコーゲン合成が亢進され、その後、ACC の活性化により脂肪酸合成が亢進すると考えられる。

アルファ化米の検討

湿熱処理した米を炊飯後、水洗して表面のおねばを除いた後、70 で乾燥してアルファ米を調製し 80 , 20 の水に浸して、還元性を検討したが、未処理の米と差がなかった。

引用文献

- 1) Beer MU, Wood PJ, Weisz J, Fillion N (1997) Effect of cooking and storage on the amount and molecular weight of (1-3)(1-4)- β -D-glucan extracted from oat products by an in vitro digestion system. Cereal Chem. 74: 705-709

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Nakamura, Sumiko; Okumura, Hisako; Sugawara, Masayoshi; Noro, Wataru; Honma, Noriyuki; Ohtsubo, Ken-ich	4. 巻 81
2. 論文標題 Effects of different heat-moisture treatments on the physicochemical properties of brown rice flours	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 2370-2385
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 細川陽子, 春日景太, 榎康明, 齋藤憲司, 城斗志夫, 奥村寿子, 菅原正義	4. 巻 23
2. 論文標題 米アミロース含量と玄米に対する湿熱処理が高脂肪飼料投与ラットの糖質・脂質代謝に及ぼす影響	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ルミナコイド研究	6. 最初と最後の頁 47-54
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 田崎景子, 細川陽子, 菅原雅通, 中村澄子, 奥村寿子, 大坪研一, 菅原正義
2. 発表標題 アミロース含量が異なる品種の玄米への湿熱処理が高脂肪食ラットに及ぼす影響
3. 学会等名 日本栄養・食糧学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 細川陽子, 春日景太, 榎康明, 齋藤憲司
2. 発表標題 アミロース含量と湿熱処理が高脂肪飼料摂取ラットの糖質・脂
3. 学会等名 日本栄養・食糧学会大会71回大会（那覇）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 高杉紗英、斉藤憲司、細川陽子、菅原正義
2. 発表標題 食事誘導性肥満ラットにおける玄米米粉摂取の効果 - 湿熱処
3. 学会等名 日本栄養・食糧学会大会71回大会（那覇）
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	奥村 寿子 (OKUMURA HISAKO) (20600018)	長岡工業高等専門学校・物質工学科・准教授 (53101)	