

機関番号：43602

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008 ～ 2010

課題番号：20500697

研究課題名（和文）高蛋白質・高食物繊維そば粉の糖尿病予防効果に関する研究

研究課題名（英文）Effects of diabetes prevention of high protein and dietary fiber buckwheat flour

研究代表者

友竹 浩之 (TOMOTAKE HIROYUKI)

飯田女子短期大学・家政学科・教授

研究者番号：90300136

研究成果の概要（和文）：

そば粉の二糖類分解酵素阻害作用を測定した結果、そばの外皮に近い粉およびそば殻粉抽出液に強い酵素阻害作用が見られた。

2型糖尿病マウスに高蛋白質・高食物繊維そば粉（PBF）を配合した飼料を摂取させた結果、飼育期間中の飲水量や空腹時血糖値の上昇が有意に抑制された。

PBFは、一般のそば粉に比べて、水への溶解性、保水性、吸油性、乳化安定性が優れていた。

以上のことより、PBFは糖尿病予防効果を示し、各種食品に応用できる新規食品素材となる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

The extracts from buckwheat bran or buckwheat flour around bran inhibited α -glucosidase activity *in vitro*. High protein buckwheat flour (PBF) significantly inhibited the increases in water intake and fasting blood glucose on *db/db* mice, an animal model with type 2 diabetes. The protein solubility, water holding capacity, fat absorption capacity and emulsifying stability of PBF were higher than those of normal buckwheat flour. These results suggest that PBF has an effect of diabetes prevention and a potential source for food application.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2009年度	500,000	150,000	650,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	2,500,000	750,000	3,250,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：調理と機能性成分

1. 研究開始当初の背景

そばは、古くから日本で利用されてきた食品素材の一つである。最近、そばには毛細血管を強化する作用があるルチンが含まれることや、ビタミンB群が他の穀類に比較して多いことなどが知られていて、健康によい食べ物として注目されている。

一方、そばの蛋白質は、植物性蛋白質としては例外的に必須アミノ酸含量とバランスが優れ、良質の蛋白質とされてきたが、消化性が低いことが難点であると指摘されてきた。

我々は、今から10年ほど前に、消化性の低い蛋白質が食物繊維やレジスタントスターチと同様に、脂質代謝改善作用をもつことを見いだした(Kayashita et al. J. Nutr. 127, 1395-1400, 1997)。本論文は「そば蛋白質抽出物をラットに摂取させると、強力な血中コレステロール低下作用を示すが、それには蛋白質の消化率が低いことが寄与している。」

という内容のものであり、レジスタントプロテインの概念を我々が世界に先駆けて提唱したものである。

この時のそば蛋白質抽出法は、アルカリ抽出→分離→濃縮→中和→殺菌→乾燥工程からなる湿式法によって得られていたが、この方法では製造コストが高く実用的な食品素材にはなりにくいと考えられた。

そこで、多段式ロール製粉による蛋白質の濃縮について検討を行い、30%以上の蛋白質と10%以上の食物繊維を含むそば粉を得ることに成功した。高蛋白質・高食物繊維そば粉の生理活性としては、ラットの血清コレステロールを低下させるほかに、脂肪の蓄積を抑制する効果も認められ、そば抽出蛋白質と同程度もしくはそれ以上の栄養機能を発揮する素材として有望であることが明らかになった。しかしながら、血糖上昇抑制作用など、糖尿病の予防効果については未解明な点が残されている。

2. 研究の目的

本研究は、高蛋白質・高食物繊維そば粉の更なる生理機能性として、血糖上昇抑制作用などについて、詳細に検討した。

3. 研究の方法

1) 多段式ロール製粉による高蛋白質・高食物繊維そば粉(PBF)の調製

そば粉の調製は研究協力者(日穀製粉株式会社 山崎利喜男氏)に依頼した。

そば粒をロール式製粉機で粉碎し一定の目開きの篩によって分別し、篩に残る大きな粒子をさらに次の製粉機にかけ、再度篩う、という操作を順次繰り返した。蛋白質の多い分画は硬いので、後段ほどその割合が高くなる。そこで、ロール段数及び使用する篩の目開きの大きさを調製して、特別に分画したそば粉を採取した。

2) 成分分析

(1) 蛋白質含量の測定(ケルダール法)

秤量した試料を分解フラスコに入れ、分解促進剤および濃硫酸を加え、200°C、1時間、400°C、2時間加熱した。蒸留水でメスアップした後、強アルカリで加熱蒸留して溶出するアンモニアを滴定した。得られた窒素量に6.25を乗じて蛋白質含量を算出した。

(2) 食物繊維含量の測定(プロスキー変法)

粉末試料を正確にリン酸緩衝液と耐熱性アミラーゼを加えた。アルミはくで覆い、5分毎に振とうしながら沸騰水浴中で30分加熱した。室温まで放冷後、水酸化ナトリウム溶液でpH7.5に調製し、プロテアーゼ溶液を加えた。アルミはくで覆い、60°Cの恒温槽で30分加熱した。室温まで放冷後、塩酸溶液でpH4.5に調製し、アミログルコシダーゼ溶液を加えた。ガラスろ過器を用いて水溶性食物繊維と不溶性食物繊維に分け、エタノールで洗浄した。乾燥し、恒量を求めた。

(3) 総ポリフェノール含量の測定

試験管に、試料1ml、フォリン・デニス試薬1mlを混ぜ、3分後に炭酸ナトリウム溶液1mlを加えた。室温で1時間放置してから、760nmにおける吸光度を測定する。標準品として没食子酸を用いた。

(4) ルチン・ケルセチン含量の測定

粉末試料にメタノールを加えて加熱還流法により、ルチン・ケルセチンを抽出後、メンブレンフィルターでろ過した試料液をODSカラムを用いたHPLCにて分析した。

(5) ビタミンB₁、鉄、カリウム、カルシウム含量

分析機関に分析を依頼した。

3) 糖質分解酵素阻害活性試験

そば茶原料およびそば殻粉の熱水抽出物を試料として用いた。二糖類分解酵素阻害作用は酵素源としてラット小腸アセトン粉末、基質にマルトース、スクロースを用いた。アミラーゼ阻害作用は酵素としてブタ小腸由来のアミラーゼ、基質に可溶性デンプンを用いた。

4) 動物実験

(1) 実験1(肥満・糖尿病KKAyマウス)

5 週齢肥満・糖尿病 KKAy マウスを体重が等しくなるように対照群および PBF 群の 2 群に分けた (n=7-8)。飼料中の蛋白質源 (20%) として、カゼイン (対照群) および PBF を用いて、10 週間飼育した。飼育 9 週目にブドウ糖負荷試験を行った。

(飼料組成)		
	対照群	PBF群
カゼイン	23.0	23.0
PBF	0	54.8
DL-メチオン	0.3	0.3
コーン油	10.0	6.9
ミネラル混合	3.5	3.5
ビタミン混合	1.0	1.0
セロース	5	0
ユースターチ	37.2	13.5
シュガー	20	20

(2) 実験 2 (2 型糖尿病 db/db マウス)

6 週齢 db/db マウスを空腹時血糖値が等しくなるように対照群および PBF 群の 2 群に分けた (n=5-6)。実験 1 と同様に、PBF を配合した飼料を摂取させ、29 日間飼育した。

(3) 実験 3 (SD ラット)

絶食したラットにそば抽出物を含むショ糖、マルトースまたはデンプン溶液 (1g/kg 体重) を経口投与し、投与前および投与 30、60、90 分後に尾静脈より採血を行い、簡易血糖測定器を用いて血糖値を測定した。

(4) 実験 4 (SD ラット)

5 週齢 SD 系ラットを体重が等しくなるように対照群および PBF 群の 2 群に分けた (n=3)。小麦粉を 45% 配合した飼料 (対照群) および小麦粉 22.5%、PBF22.5% を配合した飼料 (PBF 群) を作製し、ラットを 2 週間飼育した。飼料にはコレステロールとコール酸ナトリウムを添加した。

(飼料組成)		
	対照群	PBF群
カゼイン	16	10
薄力粉	45	22
PBF	0	22
DL-メチオン	0.3	0.3
コーン油	9.2	7.4
ミネラル混合	3.5	3.5
ビタミン混合	1.0	1.0
セロース	4.4	0.9
ユースターチ	0	11.6
シュガー	20	20
コレステロール	0.5	0.5
コール酸ナトリウム	0.125	0.125

(5) 生体試料の分析

実験期間中 (実験 1、2、4) の糞を採取し、秤量した。実験期間終了後 (実験 1、2、4)、6 時間絶食させ、エーテル麻酔下で腹部大静脈から全採血した後、肝臓、脂肪組織等を摘

出し、秤量した。

血清中のコレステロール、中性脂肪、血糖の測定は市販のキットを用いた。糞中の中性ステロールおよび胆汁酸は、エタノールで抽出後、ガスクロマトグラフィーによって分析した。

4) 物性測定

(1) 溶解性

試料を pH2-10 のリン酸緩衝液の中にけん濁した。23°C で 1 時間攪拌後、遠心、ろ過を行い、ろ液中の蛋白質含量を測定した。

(2) 乳化安定性

試料をリン酸緩衝液の中にけん濁し、コーン油を加えた。高速ブレンダーを用いて攪拌し、12 時間室温に放置した。分離した水の量を測定し、乳化安定性を算出した。

(3) 吸水性

試料と水を試験管に入れ、ガラス棒を用いて攪拌した。遠心後、上清の量を測定し、吸水性を算出した。

(4) 吸油性

試料とコーン油を試験管に入れ、攪拌した。遠心後、上清を除き、試料に付着した油の重量を測定し、吸油性を算出した。

5) 食品の試作

PBF を用いてプレッツェルを作製した。材料の配合は以下のとおりである小麦粉 (薄力粉) 30g、PBF 30g、ベーキングパウダー 0.6g、砂糖 3g、塩 1.2g、バター 12g、牛乳 22g。薄力粉、PBF、ベーキングパウダーはふるいにかけて、砂糖、塩、溶かしたバター、牛乳を混合したのち、ラップで包んで 10 分間室温で放置した。まな板の上に打ち粉をまいてから、麺棒で生地をのばし、3mm 程度の厚みに成形し、180°C のオーブンで 8~10 分加熱した。乾麺の製造は湖東食品 (株) に依頼した。原材料はソバ粉 56%、小麦粉 27%、黒ソバ粉 10%、とろろ粉 7% だった。

6) 嗜好調査

PBF を配合した乾麺およびプレッツェルについて、嗜好調査を実施した。モニターは飯田女子短期大学家政学科食物栄養専攻の学生 19~20 歳に依頼し、それぞれ対照の食品と比較してもらった。乾麺では「どちらが硬いか?」「どちらがなめらかか?」「どちらがおいしか?」について質問した。プレッツェルでは「どちらが硬いか?」「どちらの食感がよいか?」「どちらがおいしか?」について質問した。

7) 統計処理

動物実験の結果は平均値 ± 標準誤差で表した。各群間の有意差検定は、Student t 検定により行った。嗜好調査の結果はカイ二乗

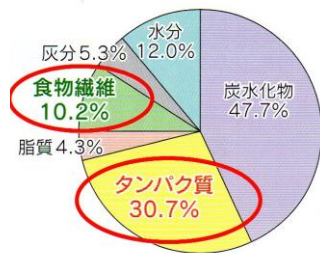
検定により判定した。

4. 研究成果

1) PBF の新規な調製法の確立

そば粉の製粉においては、そば粒をロール式製粉機で粉砕し一定の目開きの篩によって分別し、篩上に残る大きな粒子をさらに次の製粉機にかけ、再度篩う、という操作を順次繰り返す多段式製粉法が採用されている。蛋白質の多い分画は硬いので、後段ほどその割合が高くなることが知られている。そこで、ロール段数及び使用する篩の目開きの大きさを調整して、特別に分画したそば粉を採取し、その成分分析を行った。その結果、蛋白質が 36%にも達する画分が得られた。

しかしながら、本画分の収率は 5~10%と低く、実用化の際に問題となると考えられた。そこで、蛋白質含量 30%以上、食物繊維含量 10%以上の粉を PBF の基準とし、調製法を検討した。その結果、図に示す粉を継続的に生産できるラインを確立することができた。



PBF の蛋白質は普通そば粉・小麦粉の約 3 倍、米粉の約 5 倍、食物繊維は普通そば粉の約 2.3 倍、小麦粉の約 4 倍、米粉の約 17 倍の含有量である。PBF のカリウム含量は、小麦の約 15 倍、米の約 14 倍、ビタミン B₁ 含量は、小麦の約 12 倍、米の 11 倍だった。

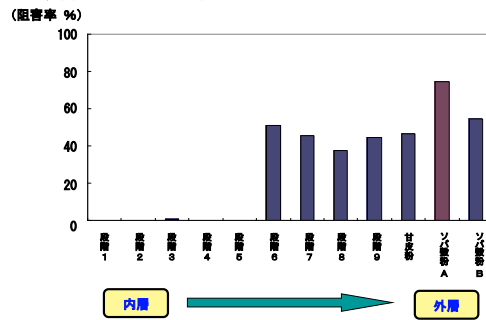
	タンパク質 (g)	脂質 (g)	食物繊維 (g)	カリウム (mg)	カルシウム (mg)	鉄 (mg)	ビタミン B ₁ (mg)
PBF	30.7	4.3	10.2	1211	29	5.8	1.12
そば(全層粉)	12.0	3.1	4.3	410	17	2.8	0.46
小麦(強力粉)	11.7	1.6	2.7	80	20	1.0	0.10
米(上新粉)	6.2	0.9	0.6	89	5	0.8	0.09

また、PBF のルチン含量は 27mg/100g で、ケルセチンはほとんど含まれていなかった。

2) そば粉抽出液の糖質分解酵素阻害活性

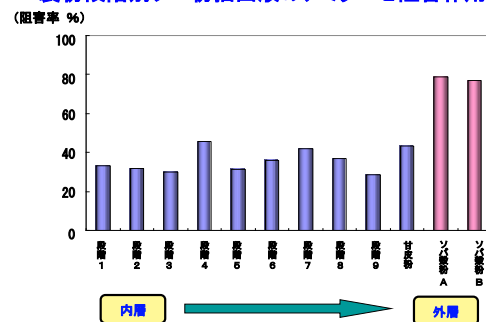
そば粉の製粉段階別に、二糖類分解酵素阻害作用を測定した結果、そばの外皮に近い粉、甘皮粉、そば殻粉の抽出液に強い酵素阻害作用が見られた。

製粉段階別そば粉抽出液のマルターゼ阻害作用



そば粉の製粉段階別に、アミラーゼ阻害作用を測定した結果、そば殻粉の抽出液のみに強い酵素阻害作用が見られた。

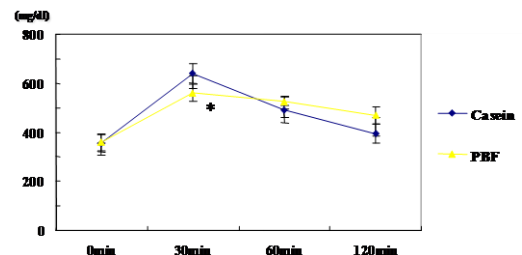
製粉段階別そば粉抽出液のアミラーゼ阻害作用



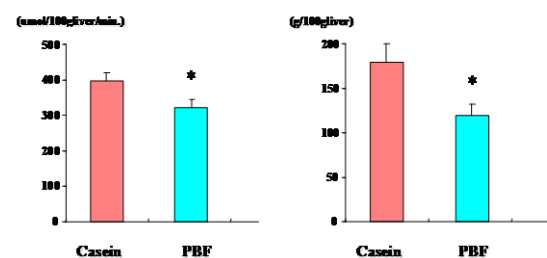
3) 糖尿病モデルマウスに対する PBF の効果

(1) 実験 1

肥満・糖尿病 KKAy マウスを用いたブドウ糖負荷試験において、PBF は負荷 30 分後の血糖値の上昇を有意に抑制した。



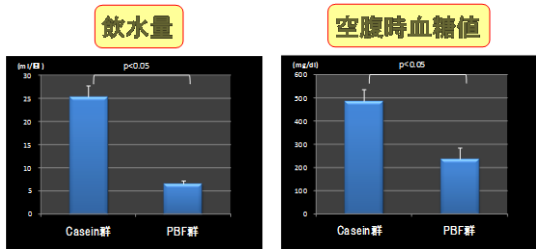
また、高蛋白質そば粉群の肝臓 G6Pase 活性 (左) および肝臓グリコーゲン量 (右) は有意に低下していた。



以上のことより、PBF は、糖新生の抑制により耐糖能を改善する可能性が示唆された。

(2) 実験 2

PBF は、肥満・糖尿病 db/db マウスの飲水量や空腹時血糖値の上昇を有意に抑制した。

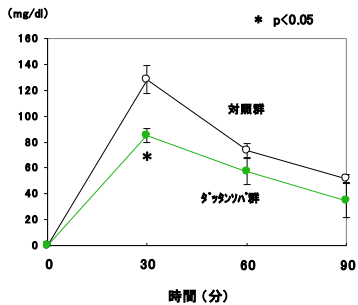


一方、PBF 群の糞重量は有意に増加していた。体重増加量は、コントロール群と差がみられなかったが、肝臓および副腎丸付着脂肪の重量は、PBF 群で低い傾向がみられた。

(3) 実験 3

ダットンそば抽出物には、高濃度のルチンが含まれていた。また、マルトース負荷後のラットの血糖値の上昇を抑制した。

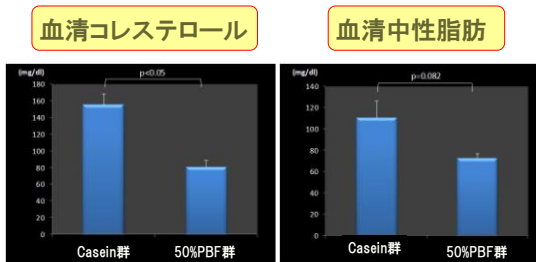
ダットンそば抽出物がマルトース負荷後の血糖値の変化に与える影響



(4) 実験 4

対照群の飼料のデンプン源を小麦粉とし、その半分を PBF で置き換えた。その結果、黒ソバ粉群の血清コレステロールの上昇が抑制された。

このことより、PBF を食品に添加する場合、5 割の添加で十分な脂質代謝改善作用がみられる可能性が示唆された。

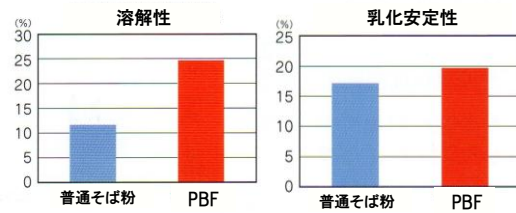


4) PBF の物性

PBF を用いて食品開発を行うための基礎資料を得るために、加工特性試験を行った。パ

ン、麺、菓子類を試作するにあたり、加工特性データは重要となる。

PBF は、普通そば粉に比べて、水への溶解性、保水性、吸油性、乳化安定性が優れていた。このことより、現在普通そば粉を配合して作られている各種食品に応用が可能であることがわかった。



5) PBF を用いた食品開発

PBF を配合した乾麺の見た目は対照の乾麺に比べてやや黒かった。

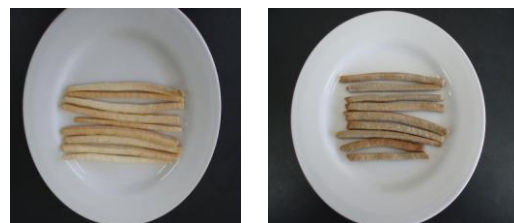


嗜好調査の結果、ほとんどのモニターが PBF を配合した乾麺はかたく、なめらかさに劣るとした。しかしながら「どちらがおいしいか？」という質問に対しては、PBF を配合した乾麺を選ぶモニターもいた。

嗜好調査 ~乾麺~

	対照	PBF 配合
かたい方は?	2名	26名
なめらかな方は?	26名	2名
おいしい方は?	20名	8名

PBF を配合したプレッツェルは対照のプレッツェルに比べて黒い仕上がりとなった。



嗜好調査の結果、ほとんどのモニターが PBF

を配合したプレッツェルはかたく、食感に劣るとした。しかしながらこちらも「どちらがおいしいか？」という質問に対しては、PBFを配合したプレッツェルを選ぶモニターがいた。

嗜好調査 ～プレッツェル～

	対照	PBF 配合
かたい方は？	1名	19名
食感のいい方は？	14名	6名
おいしい方は？	13名	7名

今回開発した食品は対照と比べるとかたさや食感で劣る製品となった。しかしながら、PBFは配合してもそれほど違和感はないという意見も多くみられた。今後、副材料や調理工程を改良することによって、対照に近い製品を作製を目指したい。

そば蛋白質は栄養学的に良質な蛋白質補給源としても働くことが知られている。従って、PBFは、優れた栄養価（必須アミノ酸含量）と消化抵抗性をバランスよく併せ持つ新しい高機能性の食品素材となる可能性が大きい。PBFがさまざまな食品形態で日常の食事の中に取り入れられるようになれば、良質蛋白質の補給および糖尿病の予防が容易となり、医療費を低減化できる可能性がある。そばを利用した新しい機能性食品の開発は、信州そばの価値を大きく高めるとともに、PBFを利用した新食品は、地域食品産業の新しい進出分野として期待できる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計3件)

- 1 Tomotake H, Katagiri M, Yamato M. Silkworm pupae (*Bombyx mori*) are new sources of high quality protein and lipid. *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)*. 56(6): 2010: 446-448. (査読有)
- 2 Tomotake H, Katagiri M, Fujita M, Yamato M. Preparation of fresh cheese from caprine milk as a model for the reduction of allergenicity. *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)*. 55(3): 2009: 296-300. (査読有)
- 3 Han Y, Haraguchi T, Iwanaga S, Tomotake H, Okazaki Y, Mineo S, Moriyama A, Inoue J, Kato N. Consumption of some polyphenols reduces fecal deoxycholic acid and lithocholic acid, the secondary bile acids of risk factors

of colon cancer. *J. Agric. Food Chem.* 57(18): 2009: 8587-8590. (査読有)

[学会発表] (計13件)

- 1 友竹 浩之、柴本むつ美、山崎 利喜男
ダツタンソバ茶の糖質分解酵素阻害作用
日本農芸化学会 2010 年度大会
(2010 年 3 月 29 日 東京)
- 3 友竹 浩之、新居 佳孝、柴本むつ美、谷 康弘、酒井 徹
高食物繊維ソバ粉が消化に及ぼす影響について
第 64 回日本栄養・食糧学会大会
(2010 年 5 月 22 日 徳島)
- 4 保坂利男、新居 佳孝、伊藤昂宏、玉那覇理、岡久修己、首藤恵泉、友竹 浩之、枝澤和廣、岩田深也、酒井 徹
ソバ殻抽出物のマウス経口投与における血糖上昇抑制作用
第 64 回日本栄養・食糧学会大会
(2010 年 5 月 23 日 徳島)
- 5 友竹浩之、柴本むつ美
ダツタンソバ由来ルチンがラットの血糖上昇に及ぼす影響
第 57 回日本栄養改善学会学術総会
(2010 年 9 月 12 日 埼玉)
- 6 友竹 浩之、新居 佳孝、川俣 幸一、山崎利喜男、谷 康弘、酒井 徹
各種ソバ粉抽出液の糖質分解酵素阻害作用
日本農芸化学会 2009 年度大会
(2009 年 3 月 29 日 福岡)
- 8 友竹浩之
そば茶の糖質分解酵素阻害作用
第 56 回日本栄養改善学会学術総会
(2009 年 9 月 3 日 札幌)
- 9 Tomotake H, Yamamoto N, Yanaka N, Ohinata H, Yamazaki R, Kayashita J, Kato N: High Protein Buckwheat-Flour Suppresses Hypercholesterolemia and Body Fat in Rats Because of Its Low Protein Digestibility
15th International Congress of Dietetics
(2008 年 9 月 10 日 横浜)

[その他] 新聞発表 (計1件)

- 1 信州日報 (連載記事) 「家庭の中のやさしい栄養学」
「そば粉の特徴 1」 (2011 年 2 月 13 日)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

友竹 浩之 (TOMOTAKE HIROYUKI)
飯田女子短期大学・家政学科・教授
研究者番号：90300136