

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 11 日現在

機関番号：24402

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24650480

研究課題名(和文) アンヒドログルシトールの機能性の解明と利用

研究課題名(英文) Studies on function and usage of anhydroglucitol

研究代表者

小西 洋太郎 (KONISHI, Yotaro)

大阪市立大学・大学院生活科学研究科・教授

研究者番号：70116812

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,600,000円、(間接経費) 480,000円

研究成果の概要(和文)：生薬オンジから1,5-アンヒドログルシトール(AG)を精製し、これまで研究例がない食品科学分野における機能性と利用法について検討し、次のような新しい知見を得た。(1)官能試験によるAGの甘味度はスクロースの58%であった。(2)ラットに経口投与したAG(375 mg/kg 体重)の約55%は9時間以内に尿中に排泄されたことから、代謝されにくい糖と考えられる。血中AGレベルは3日後にほぼ投与前のレベルに戻った。(3)ピラノースオキシダーゼによるAGから1,5-アンヒドロフルクトース(AF)への転換の最適条件をみいだした(転換率88%)。AFは抗褐変活性を示した。

研究成果の概要(英文)：We purified 1,5-anhydroglucitol (AG) from *Polygala tenuifolia* root and characterized its function and utilization from the viewpoint of food science. Such approach has not so far been done. We obtained the following results. (1) AG had 58% of the sweetness of sucrose by sensory evaluation. (2) When AG was orally given to rats (375 mg/kg body weight), about 55% of dose was excreted into urine within 9 hours, suggesting that AG is metabolically stable. Blood AG level returned the basal level 3 days later. (3) It is well known that 1,5-anhydrofructose (AF) is a multi-functional sugar with anti-oxidant, anti-bacterial, anti-obesity, anti-tumor activities, etc. We observed the optimum conditions to produce AF from AG using pyranose oxidase, with a conversion rate of 88%. AF showed anti-browning activity.

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：1,5-アンヒドログルシトール 甘味料 オンジ 1,5-アンヒドロフルクトース

1. 研究開始当初の背景

私たちの食生活において糖質はエネルギー源として、また甘味料として欠かせないものである。その代表的なスクロースは摂りすぎると生活習慣病の発症と深く関わっていることが知られており、昨今、安価で、嗜好性のよい、無・低カロリー性など機能性甘味料の開発が期待されている。

1,5-アンヒドログルシトール(AG)は1-デオキシグルコースともよばれ、低濃度(0.5-50 µg/g)であるが自然界に広く分布している。AGはデンプン・グリコーゲンの-1,4-グルカンリアーゼ系分解経路(デンプン・グリコーゲン 1,5-アンヒドロフルクトース(AF) AG)の最終代謝産物である。また、糖尿病患者では尿細管の糖の再吸収能が低下するため、血中AGレベルが有意に減少し、糖尿病診断の指標の一つとなっている。

AGは高価な試薬で、これまでを大量に入手できなかったことから、AGの甘味度、物理化学的性質、生理機能に関する研究はなされていない。筆者らは生薬オンジ(イトヒメハギ科植物の根)にAGが高濃度(5g/100g)含まれることに着目し、イオン交換クロマトグラフィー等で精製した。精製標品は、質量分析や¹H-NMRや¹³C-NMRによる解析の結果、AGであることを確認され、本研究の準備が整った。

2. 研究の目的

本研究の目的は以下のとおりである。(1) オンジからAGの大量調製法(ここでは数十グラムの意)を確立する。(2) AGの食品化学的性質、特に甘味料としての性質を解明する。(3) 動物実験によるAGの体内動態を調べる。(4) ピラノースオキシダーゼを用いてAGから1,5-アンヒドロフルクトース(AF)への転換条件を検討する。AFは抗褐変活性、抗酸化活性、抗菌活性、抗う蝕活性、抗腫瘍活性など様々な機能性を有することが報告されている機能性糖であるが、本研究では、食品加工

分野で重要な褐変防止効果について調べる。

3. 研究の方法

(1) オンジからの1,5-アンヒドログルシトールの抽出・精製

オンジ乾燥品は中国または日本国内の漢方薬局から入手した。脱脂試料の重量の10倍量の4%トリクロロ酢酸(TCA)でホモゲナイズし、遠心上清液(抽出液)を活性炭で処理した後、加熱濃縮した。加熱処理によってTCAの一部は分解され、処理後の酸性度が緩和された。その後、陰イオン交換樹脂(BioRad AG 1-X8)と陽イオン交換樹脂(BioRad AG 50W-X8)の連結カラムに供し、水で溶出した。AGは非吸着画分に回収された。AGは市販の「AG測定用キット」(比色法)で測定した。

(2) 1,5-アンヒドログルシトールの甘味度と甘味特性

五味識別テストに合格した12名の大学生をパネルとした。5%AG溶液と同じ甘さのショ糖溶液(%)を決定し、ショ糖に対する相対甘味度を算出した。また、紅茶にAGを添加した場合の甘味、苦味、塩味、渋味との相互作用について評価を行った。

(3) 1,5-アンヒドログルシトール(AG)の生体内動態

24時間絶食させた雄性ラット(体重約80g)にAG(375 mg/kg体重)を胃ゾンデで投与した。固形飼料を自由に与え、経時的(0-3日間)に尾静脈から採血し、血漿AG濃度の変化、血糖値への影響を調べた。また、臓器(肝臓、腎臓、骨格筋、大脳など)中のAGレベルを測定した。さらに、ラットを代謝ケージで飼育し、AGの尿中排泄量も測定した。

(4) ピラノースオキシダーゼ(PROD)によるAGからAFへの変換

AG(20 mM)、PROD(1U/ml)、カタラーゼ(900 U/ml)を含む反応液(250 mL)を37°Cでインキュベーションした。反応停止後、AGとAFを分離できるHPLC用カラムNa配位子交換カ

ラム (MCI GEL CK08S、8x500 mm、三菱化学) で分析した。なお、検出器は示差屈折計、溶離液は水を用いた。

(5) AF の抗褐変活性

食品の褐変は、酵素的褐変と非酵素的褐変に分類される。そこで、ジャガイモの水抽出液を非加熱および加熱処理を行い、pH 4.5、6.5、7.5 にそれぞれ調節し、AF (10-200 mM) を添加して、経時的に褐変度 (492nm の吸光度を測定) を測定した。

4. 研究成果

本研究は生薬オンジ (イトヒメハギ科植物の根) から 1,5-アンヒドログルシトール (AG) を大量に精製 (ここでは数十グラムの意) し、これまでほとんど研究例がなかった AG の食品科学分野における機能性と利用法について検討し、下述のような知見を得た。

(1) 簡便で、高収率・高純度の AG 精製法を確立した。すなわち、オンジ脱脂粉末の 4%TCA 抽出液を活性炭で処理後、加熱濃縮し、陽・陰イオン交換カラムの非吸着画分から AG を得た (収率 3.1%、純度 95.4%)。 (2) 官能試験による AG の甘味度はスクロースの 58% であった。また、AG (5%溶液) は甘味の引きが速く、後味として苦味が残ること、紅茶に 2.5%添加した場合苦味・渋味を抑制する効果があることがわかった。 (3) ラットに経口投与した AG (375 mg/kg 体重) は血糖値に影響を与えることなく、投与量の約 55% が 9 時間以内に尿中に排泄されることから、AG は代謝されにくいことが示唆された。血中 AG レベル (図 1) は 3 日後にはほぼ投与前のレベルに戻ったが、各臓器に取り込まれた AG (図 2) は、臓器によって程度は異なるが、3 日後でも投与前のレベルより高かった。

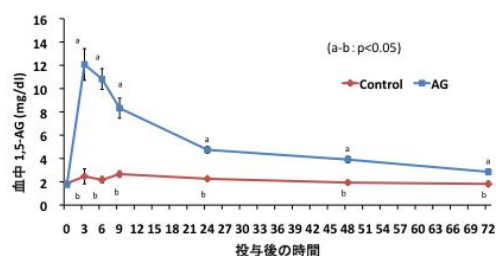


図1 AG投与後の血中AG濃度の経時変化

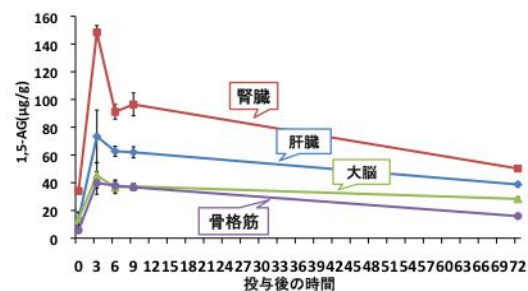


図2 AG投与後の臓器中AG濃度の経時変化

(4) 1,5-アンヒドロフルクトース (AF) は抗酸化活性、抗菌活性、抗肥満活性、抗腫瘍活性など様々な機能性を有することが知られている。AG から AF へ転換を検討し、変換率 88% の最適条件 (pH 4、18 時間) をみつけた。しかし、本研究期間内で、当初目標としていたグラム単位の高純度 AF の調製に至らなかったため、日本澱粉工業 (株) から研究用として恵与された AF を用いて褐変抑制活性を調べた。その結果、ジャガイモの抽出液の非加熱、加熱処理に拘わらず、pH4.5~7.5 において AF (10, 30, 100, 200 mM) は濃度依存的に褐変反応を抑制した。すなわち AF は酵素的褐変および非酵素的褐変を抑制作用があることがわかった。

以上の知見は、AG が新しい機能性甘味料として、また AG が機能性糖 AF の製造原料にもなることを提示しており、今後、食品素材としてのさらなる開発と利用が期待される。

5. 主な発表論文等

[学会発表] (計 6 件)

1. 中村友美、棚橋梨江、大橋純子、小西洋太郎：糖負荷ラットの血糖値に及ぼす 1,5-

アンヒドログルシトールによる影響、日本応用糖質科学会平成 25 年度大会講演要旨集、p.50、(2013 年 9 月 25 日、鹿児島大学)

2. 隅蔵菜海、太田沙織、向瀬きなみ、金一玲、小西洋太郎：1,5-アンヒドログルシトールの甘味評価、日本応用糖質科学会平成 25 年度大会講演要旨集、p.50、(2013 年 9 月 25 日、鹿児島大学)

3. 三宅千悠、太田沙織、小西洋太郎：1,5-アンヒドログルシトールの物理化学的性質と利用法、日本栄養・食糧学会第 52 回近畿支部大会講演要旨集、p. 25、(2013 年 10 月 26 日、滋賀県立大学)

4. 大橋純子、熊取谷麻里、小西洋太郎：1,5-アンヒドログルシトールおよび糖質の消化吸収過程における相互作用、日本応用糖質科学会平成 24 年度大会講演要旨集、p. 31、(2012 年 9 月 19 日、東京農工大学)

5. 太田沙織、金一玲、中山玲子、小西洋太郎：1,5-アンヒドログルシトールの精製方法と甘味の評価、日本応用糖質科学会平成 24 年度大会講演要旨集、p. 31、(2012 年 9 月 19 日、東京農工大学)

6. 小西洋太郎、大橋純子、太田沙織、金一玲：新甘味料 1,5-アンヒドログルシトールの血糖値上昇抑制作用、日本栄養食糧学会第 h51 回近畿支部大会講演要旨集、p. 46、(2012 年 10 月 20 日、甲子園大学)

6. 研究組織

(1)研究代表者

小西 洋太郎 (KONISHI, Yotaro)

大阪市立大学・大学院生活科学研究科・教授

研究者番号：70116812