

令和4年度豆類振興事業調査研究（雑豆需要促進研究）成果概要

1. 課題名 小豆餡の腸内発酵特性の解明による健康機能性食品としての付加価値向上

2. 研究者

代表：国立大学法人北海道国立大学機構 帯広畜産大学

生命・食料科学研究部門 助教 永田龍次

共同： 生命・食料科学研究部門 教授 福島道広

グローバルアグロメディシン研究センター農畜産学研究部門

准教授 韓圭鎬

グローバルアグロメディシン研究センター農畜産学研究部門

助教 福間直希

3 成果概要

(1) 研究目的

大腸には多種多様な細菌から成る腸内細菌叢が構成されている。腸内細菌叢は、小腸で消化吸収されずに大腸に流入する食物繊維や難消化性でんぷんなどの食品由来の炭水化物源を発酵する。それにより、短鎖脂肪酸産生を増加させて腸内pHを低下し、ビフィズス菌などの有用菌の増殖を促進するといった腸内環境改善効果を示す。小豆餡は、食物繊維や難消化性でんぷんを含むことが知られている。以前のラットを用いた動物試験において、小豆餡の摂取は腸内細菌叢組成を変化させて短鎖脂肪酸産生を増加させた。したがって、小豆餡は腸内環境を改善する有益な食品である可能性が示唆された。しかし、小豆餡がヒトの腸内細菌叢に与える影響や、小豆餡中の食物繊維とでんぷんのそれぞれの腸内細菌叢への影響は明らかにされていない。そこで、本研究では *in vitro* 大腸発酵モデルシステムを用いてヒト腸内細菌叢への小豆餡の影響を評価することを目的とした。

(2) 研究方法及び手法

小豆餡試料は、こし餡（生餡）を凍結乾燥して粉末化したものを使用した。対照としてセルロース（非発酵性, CEL）およびハイアマミロースコーンスターチ（難消化性でんぷん, HAS）を使用した。

in vitro 大腸発酵モデルシステム（図1）に供する試料を調製するため、ヒトの小腸までの消化吸収を想定して小豆餡およびHASの消化酵素処理を行った。試料にペプシン、アミログルコシダーゼおよびパンクレアチンを作用させ、最終的に未消化性画分のみを回収した。消化酵素処理後の小豆餡の一般成分組成を表1に示した。

in vitro 腸内発酵試験の細菌叢源をヒト便とし、健康な成人男性 3 名から提供されたものを等量ずつ混合して使用した（帯広畜産大学倫理審査委員会 承認番号：OUAVM-2022-03）。試験区は、CEL、小豆餡、HAS の 3 試験区とし、各試料、ヒト便懸濁液およびニュートリエントブロス（窒素源）を培養槽に添加した。HAS の添加量は、添加した小豆餡中のでんぷん量と等しくした。これにより、小豆餡のでんぷんおよび食物繊維のそれぞれの発酵への寄与を明らかにすることを旨とした。培養槽内は窒素および炭酸の混合ガス（8：2）により嫌気状態を維持され、温度を 37°C に保たれた。発酵試験は 48 時間行われ、開始後 0、6、12、24、48 時間後に培養液をサンプリングして各種分析に使用された。



図 1. *in vitro* 大腸発酵モデルシステム

(3) 研究成果

16S rRNA シークエンシングによる網羅的細菌叢解析の結果から、小豆餡試験区は CEL および HAS 試験区より *Bacteroides* 属や *Prevotella copri* などの食物繊維分解能を有する細菌分類を増加した（図 2）。特に *P. copri* はヘミセルローズを利用することが知られており、小豆餡中のヘミセルローズが発酵に寄与した可能性が示唆された。アミノ酸発酵により腐敗性物質を産生する *Acidaminococcus* 属は、CEL 試験区より HAS 試験区で減少し、小豆餡試験区ではそれらよりさらに減少した（図 2）。以上のように、小豆餡はヒト腸内細菌叢において細菌叢組成を変化させたことが示された。

短鎖脂肪酸産生において、小豆餡および HAS 試験区は酢酸、プロピオン酸および *n*-酪酸濃度をいずれも CEL 試験区より増加し、小豆餡試験区は HAS 試験区よりさらに増加した（図 3）。特に、小豆餡試験区はプロピオン酸産生の割合を増加した（図 3）。小豆餡および HAS 試験区は等量のでんぷん添加としたことや、小豆餡試験区で増加した *Bacteroides* 属や *P. copri* は食物繊維分解能およびプロピオン酸産生能を持つことから、小豆餡試験区での短鎖脂肪酸産生の増加は食物繊維の影響が大きい可能性が考えられる。

表 1. 試料の一般成分組成

g/100 g	小豆餡 未消化画分
タンパク質	32.1
でんぷん	18.5
食物繊維	33.2
水溶性	2.3
不溶性	30.9

腐敗性物質であるアンモニア態窒素濃度は、CEL および HAS 試験区より小豆餡試験区で低くなった (図 3)。これは *Acidaminococcus* 属の結果と一致した。したがって、短鎖脂肪酸産生の増加などにより *Acidaminococcus* 属の増殖が抑制され、アンモニア態窒素産生が低下した可能性が示唆された。

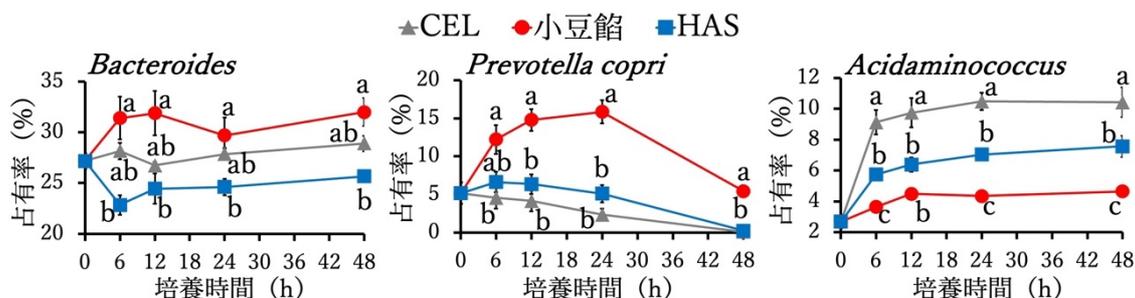


図 2. 48 時間培養の培養液細菌叢における各細菌分類の占有率。平均値±標準誤差 ($n = 5$)。同一時間帯の 3 試験区間の有意差検定は Tukey の多重比較により行われ、異なる文字間で有意差ありとした ($^{a-c}p < 0.05$)。

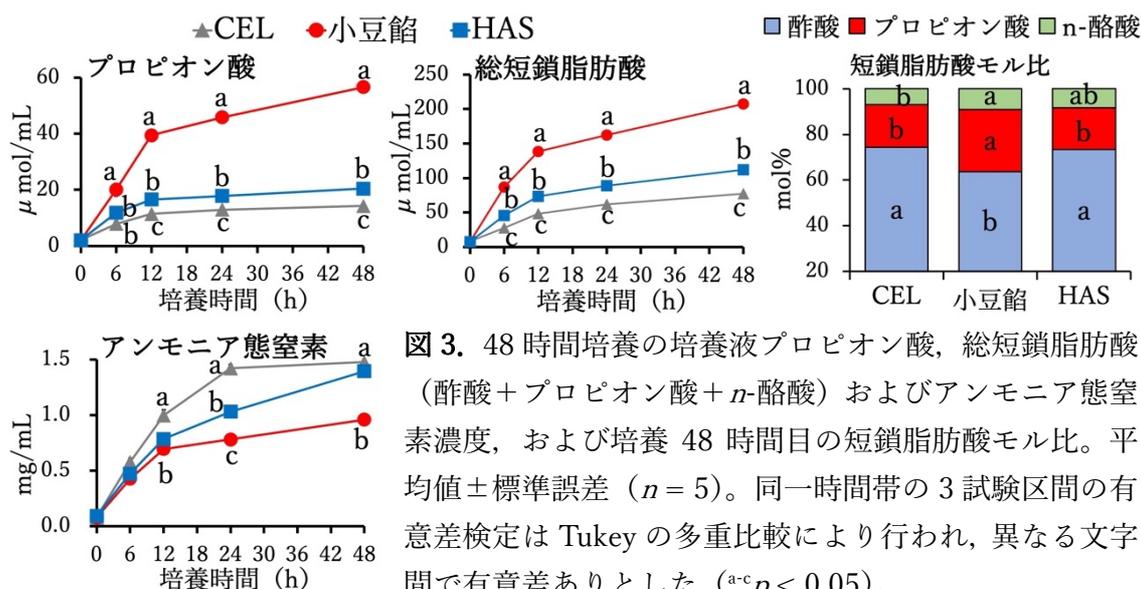


図 3. 48 時間培養の培養液プロピオン酸、総短鎖脂肪酸 (酢酸+プロピオン酸+n-酪酸) およびアンモニア態窒素濃度、および培養 48 時間目の短鎖脂肪酸モル比。平均値±標準誤差 ($n = 5$)。同一時間帯の 3 試験区間の有意差検定は Tukey の多重比較により行われ、異なる文字間で有意差ありとした ($^{a-c}p < 0.05$)。

以上の結果から、小豆餡はヒト腸内細菌叢において細菌叢組成を改善することが示唆された。それにより、短鎖脂肪酸、特にプロピオン酸産生を増加し、腐敗性物質産生を抑制することが示された。さらに、これらの効果には小豆餡中のでんぷんよりも食物繊維が大きく寄与している可能性が示唆された。したがって、小豆餡は嗜好性と健康機能性を兼ね備えた食品であることが期待される。