

# 「餡粒子の機能性に関する調査研究 (平成30年度)」の概要について

(公財) 日本豆類協会

## 1. 調査研究の目的

北海道十勝地方では、小豆やいんげん豆などの雑豆の生産が盛んに行われており、これらの豆は日本各地で餡や煮豆などの原料として用いられています。小豆乾豆内部は主に子葉細胞で構成されており、加熱加工を行うことで子葉細胞が解離し、膜状のたんぱく質が澱粉粒を取り囲んだ餡粒子を形成することが報告されています<sup>1)-2)</sup>。

これら雑豆に関しては、これまで、乾豆や生餡を飼料とした動物試験による機能性研究が実施されており、中性脂肪蓄積抑制作用や腸内細菌増殖促進作用など、雑豆から生成される餡粒子が食物繊維様の機能を示す可能性が示唆されてきました。

当協会では、平成28年度～29年度において、公益財団法人とかち財団及び帯広畜産大学に委託し、餡粒子の生体内での働きを明らかにするため、小豆餡を飼料としてラットに給与する動物試験を実施しました。その結果、生餡の投与量を増やすことにより内臓脂肪が減少すること、加糖餡を給与した場合でも血清脂質が減少し、ムチンや短鎖脂肪酸が増加すること等が確認されるところです。

この結果を踏まえ、平成30年度において、加糖餡に焦点を当て、ラットを用いた動物試験により、加糖餡の投与量の違いが腸内発酵や抗肥満作用に及ぼす影響について検討を行うこととし、前年度に引き続き、公益財団法人とかち財団及び帯広畜産大学生命・食料科学研究部門 福島道広教授に委託して試験研究を実施しました。

本稿では、公益財団法人とかち財団及び帯広畜産大学生命・食料科学研究部門 福島道広教授からご提出いただいた報告書に基づき、その結果の概要をご紹介します。

## 2. 試験内容

### (1) 動物試験素材の調製

動物試験用の飼料に加える加糖餡のサンプルを調製しました。サンプル調製に当たっては、動物試験配合飼料において濃度調製が可能な範囲の糖度の餡と、流通されている並餡に近い糖度の餡を配合した2種類のサンプルを作成し、フリーズドライにより乾燥粉末にしました。

### (2) 動物試験による機能性の検討

動物試験は、6つの試験区(表1)を設

けて実施し、コレステロール含量や中性脂肪蓄積などの脂質代謝に係る分析や、腸内環境改善効果などについて検討しました。

### (3) 腸内発酵に関する検討

人工消化処理を行った小豆乾豆、生餡について、微生物発酵装置（図1）を用いた腸内発酵試験を行いました。腸内発酵試験では、人工消化後のサンプルによる腸内細菌叢の変化や発酵によって発生する短鎖脂肪酸、アンモニア量などについて分析し、腸内発酵における小豆餡の作用機序について検討しました。

## 3. 試験結果

### (1) 動物試験用素材の調製

試験区は、試験の効率性等を考慮し、コントロール（比較対照試験区）1区を含めた全6区としました（表1）。試験に用いる

加糖餡は、生餡と砂糖の比率が乾燥ベースで1：1の餡及び乾燥ベースで1：1.7の餡を調製しました。このうち生餡と砂糖の比率が1：1の加糖餡については、③「デンプン比率として10%」、④「デンプン比率として15%」、⑤「デンプン比率として20%」で配合した試験区を、生餡と砂糖の比率が1：1.7の並餡については5%配合した試験区(⑥)を設定しました。

### (2) 動物試験による機能性の検討

#### ①ラット体重、摂食量及び各臓器の重量

投与4週間後のラット体重、各脂肪組織重量には顕著な差は認められませんでした。摂食量と摂取カロリーには差がみられました。

#### ②腸内環境

盲腸重量には群間で差はみられませんが、盲腸壁重量では加糖餡20群で有

表1 試験対象品目および設試験区

対象品目と各試験区の選定					
αコーン スターチ(①)	乾豆(②)	小豆			生餡1：砂糖1.7 (並餡) ※1, 3
		加糖餡			
		生餡1：砂糖1 ※1, 2			
		10%(③)	15%(④)	20%(⑤)	5%(⑥)
ベースとなる飼料のデンプン素材 ●素材を配合していないものとの比較(ネガティブコントロール)	餡粒子を形成していない小豆として③～⑥の比較用試験区	加糖餡を食べた効果が、配合量によって差があるのかを検証 ●餡由来のデンプン比率が異なる場合の比較試験区			実際の食形態に近い加糖餡での動物試験を検証する試験区

※1 比率は乾燥生餡：砂糖の比率

※2 1:1→動物試験配合飼料において、濃度調製可能な範囲の割合

※3 1:1.7→並餡（含水生餡：砂糖=9：6から水分換算）の比率

意に増加しており、乾小豆群および加糖餡10群で増加する傾向がみられました。盲腸組織は腸内発酵が促進することにより、産生される短鎖脂肪酸の増加がエネルギー源となります。その結果組織重量の増加につながる事が報告されています<sup>3)</sup>。また、盲腸内pHについても乾小豆群で対照群に比べ有意に低下しており、その他の小豆餡群でも低下する傾向がみられました。盲腸内でのpHの低下は有機酸発酵が促進している可能性が高く、盲腸組織のエネルギー源になっている可能性が考えられます。しかしながら、結腸におけるpHおよび重量には群間で差はみられませんでした。

### ③盲腸内細菌叢

一般嫌気性菌については、乾小豆群で最も高い値を示しました。それに対して対照群では最も低い値を示していました。またその他の小豆餡群では対照群に比べ増加していました。乳酸菌については、乾小豆群は最も高い値を示し、加糖餡20群で最も低い値を示しました。加糖餡10群でも対照群に比べ高い値を示していました。その他の微生物叢には群間での差は認められませんでした。

### ④腸内発酵による産生物質

総短鎖脂肪酸濃度では対照群に対して各小豆群で高い値を示しており、この結果が盲腸内pHの低い値に影響している可能性が考えられます。とくに、プロピオン酸および酪酸の濃度およびプール量では、同様の傾向を示しており、対照群に対して各小豆群で高い値を示していました。

アンモニア態窒素については対照群に対してすべての小豆群で高い値を示していました。これは小豆中に含まれている難消化性タンパク質が窒素源として作用した可能性が高いと考えられます<sup>5)</sup>。

免疫物質であるイムノグロブリンAでは乾小豆で最も高い値を示したが、他の小豆餡群では差は認められませんでした。

以上、ラットを用いた動物試験 (*in vivo* 試験) による腸内環境改善効果について検討を行った結果、各分析項目に顕著な差は認められなかったが、総じて乾小豆、加糖餡で腸内細菌叢を改善する可能性が示唆されました。

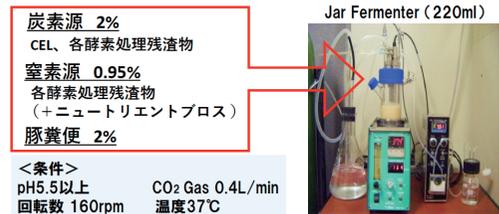
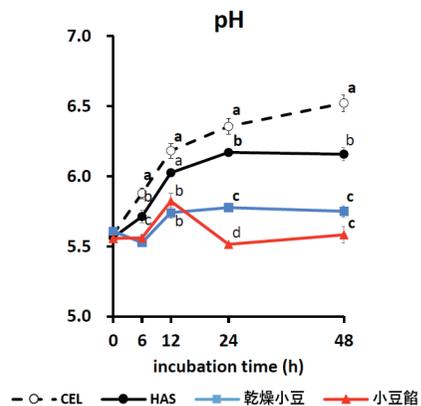


図1 大腸モデル発酵装置の培養条件



平均値±標準誤差(n=5) p < 0.05, Tukeyの検定

図2 培養期間中のpHの変動

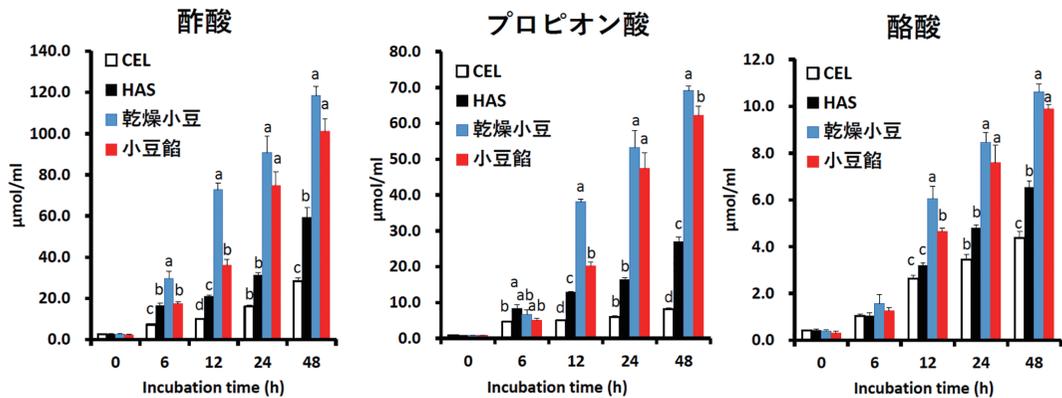


図3 培養期間中の短鎖脂肪酸の変動 平均値±標準誤差 (n=5) p<0.05, Tukeyの検定

### (3) 腸内発酵に関する検討

動物試験の結果を踏まえ、より人間の腸内細菌叢に類似している豚糞便を用いた微生物培養試験 (*in vitro* 試験) により、発酵特性について検討しました。

#### 1) 腸内発酵試験

ハイアミロースコーンスターチ (HAS)、乾燥小豆、小豆餡 (無糖餡) を、16時間 37°C でアミログルコシダーゼ・パンクレアチンにより加水分解し、回収した残渣物を、豚新鮮糞便を腸内細菌源とする微生物培養装置 (図1) を用いて48時間培養し、培養開始から48時間まで経時的に培養液を採取し、pH変化、腸内細菌数、アンモニア態窒素を測定しました。

#### 2) 腸内発酵での小豆餡作用機序に係る試験検討

##### ①培養中のpHの変動 (図2)

セルロースは培養期間を通して上昇するのに対して、他の3群は有意に抑制されており、HAS、乾燥小豆、小豆餡の順に有

意に低い値を示していました。この結果は培養槽中に有機酸発酵が行われている可能性を示唆しており、とくに乾燥小豆および小豆餡では培養6時間から有意に低い値を示しました。

##### ②短鎖脂肪酸の変動 (図3)

腸内で生成される短鎖脂肪酸のうち、酢酸は培養6時間からHAS、乾燥小豆、小豆餡でセルロースより有意に増加しており、この傾向は培養48時間まで継続しました。とくに乾燥小豆および小豆餡でその効果は顕著であり、発酵性の高いデンプンとして知られているHASに比べ、乾燥小豆および小豆餡は約2倍の産生量を示していました。

プロピオン酸についても酢酸と同様な傾向を示し、とくに培養12時間から乾燥小豆および小豆餡で他の2群に比べ有意に発酵しており、培養48時間では乾燥小豆で最も高い値で産生しました。

酪酸発酵はHASでは培養48時間でセルロースに対して有意に増加していました

が、乾燥小豆および小豆餡では培養12時間から有意に増加し、培養24時間では乾燥小豆および小豆餡間に差はみられませんでしたが、HASは酪酸発酵を促進することが知られており、有用性の高いデンプンとして報告されています<sup>6)</sup>、今回の結果から、そのHAS以上に乾燥小豆および小豆餡は短鎖脂肪酸の発酵特性が高いことが明らかとなりました。

### ③アンモニア態窒素の変動 (図4)

生体内では過剰なアンモニア態窒素は細胞に有害な影響を与える物質であり、悪臭成分としても知られています。このアンモニア態窒素はタンパク質やアミノ酸が分解したときに発生しますが、腸内環境が改善され有機酸発酵により抑制されます。今回の結果では、培養期間中、セルロースに比べてその発生を抑制することが認められました。とくに小豆餡では他の群に比べ、最も低い値を示し有意に抑制していることが明らかとなりました。このことは有機酸発酵とアンモニア態窒素との関係から、小豆餡で最も良好な腸内環境を維持している可能性が示唆されました。

### ④細菌叢の組成 (門レベル) (図5)

肥満のヒトの腸内フローラは、痩せ型のヒトに比べFirmicutes門の比率が高く、Bacteroidetes門の比率が低いことが報告されています<sup>4)</sup>。今回の結果は乾燥小豆および小豆餡で肥満のヒトに多いFirmicutes門の細菌が減少し、やせ形のヒトに多いBacteroidetes門の細菌が増加する良好な結果が得られました。これは、ヒトの腸内

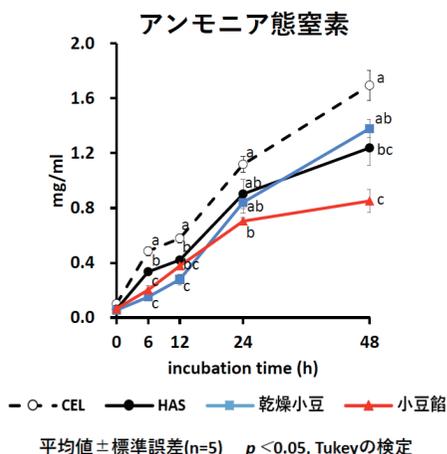


図4 培養期間中のアンモニア態窒素の変動

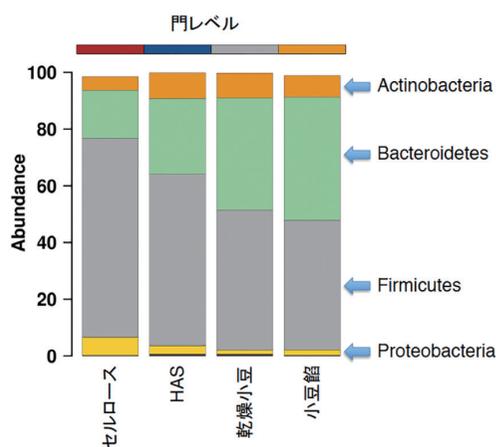


図5 培養最終日の門レベルでの細菌叢組成比

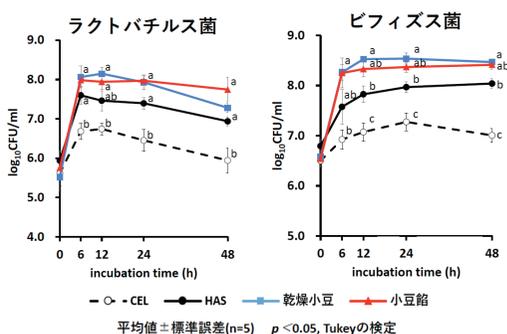


図6 培養期間中のラクトバチルス菌およびビフィズ菌の変動

細菌叢に類似した豚の腸内細菌叢での結果であり、ヒトへの応用の可能性は極めて高いと考えられます。

#### ⑤細菌叢の変動 (図6)

ラクトバチルス属は培養6時間からセルロースに比べ有意に増加しており、さらにHAS、小豆餡、乾燥小豆の順に高い値を示しました。またビフィドバクテリウム属についても乾燥小豆および小豆餡で最も増加しており、次いでHASで有意に増加していました。ラクトバチルス属およびビフィドバクテリウム属は有用菌として知られており、先に示した腸内のpHを顕著に低下させ<sup>7)</sup>、腸内環境を整えアレルギー症状の緩和<sup>8)</sup>、感染性腸炎の抑制<sup>9)</sup>などが期待できます。このことから属レベルでも乾燥小豆および小豆餡には腸内環境を改善する可能性があります。

#### (4) 総括

今回の動物試験では、乾小豆、加糖餡10、加糖餡15、加糖餡20および並餡を用いてラットの投与試験を行いました。その結果、各分析項目に顕著な差は認められませんが、総じて乾小豆、加糖餡で効果が期待できる可能性が示唆されました。

次にin vitro試験系を用いて、生理的条件下で消化酵素を用いて人工消化処理を行い、その残渣物の発酵試験を行いました。腸内細菌叢は、ヒトの腸内細菌叢に非常に類似している豚の糞便を用いました。その結果、乾燥小豆および小豆餡で短鎖脂肪酸の産生が増加し、HAS以上の値を示し、

pHの有意な低下をもたらしました。アンモニア態窒素を産生する細菌は、中性からアルカリ性領域で生育する大腸菌群などで、腸内が酸性になることによってこれらの細菌の生育は抑制されることが知られています。今回も同様な作用機序によって腸内環境が改善されている可能性は高いと考えられます。また、腸内細菌叢解析では乾燥小豆および小豆餡において門レベル、属レベルで非常に有効な結果が得られました。これらの結果から、肥満予防、アレルギー症状の緩和、感染性腸炎の抑制などが期待でき、さらに腸内細菌叢の改善および短鎖脂肪酸の産生増加が脂肪燃焼に関わるGタンパク質共役受容体(GPR)の発現<sup>10)</sup>などを促進することにより、より抗肥満効果が期待できると考えられます。

以上、ラットを用いた動物試験 (*in vivo* 試験) および*in vitro*試験により腸内環境の改善効果について検討を行ってきました。その結果、微生物培養試験 (*in vivo* 試験) と*in vitro*試験では、腸内細菌叢の組成に違いがあったものの、両試験において腸内細菌叢を改善する傾向が認められました。*in vivo*試験と*in vitro*試験で腸内細菌叢に違いがみられた理由として、それぞれの試験で用いた動物種の違い (*in vivo*試験: ラット、*in vitro*試験: 豚) に起因していると考えられますが、とくに*in vitro*試験では、ヒトの腸内細菌叢に近似する豚の腸内細菌叢を発酵試験として用いたことから、その結果はヒトへの応用が期待できる可能性が考えられます。

【参考文献】

- 1) 畑井朝子：小豆餡粒子の形成機構. 日本調理科学会誌 35 (2) : 217-223, 2002.
- 2) Engquist, A. and Swanson, B. G. : Microstructural differences among adzuki beans cultivars. *Food Structure*, 11: 171-179, 1992.
- 3) 藤井信、畑添牧郎、候徳興、大崎繁満、檜作進：ラットの血清脂質、脂肪組織重量、盲腸重量および盲腸有機酸含量に対するL-アラビノースの効果. *J. Appl. Glycosci.* 47(3) : 355-361、2000.
- 4) <http://www2.kuh.kumamoto-u.ac.jp/jibiinkoka/enge/data/mt04/04b/18.pdf#search=%27Firmucutes+肥満%27> (Ley et al., *Nature*, 2006)
- 5) 公開特許公報(A)、食物由来の難消化性成分高含有素材、特開2008-189625、2009年8月21日
- 6) Han, KH., Azuma, S. and Fukushima, M.: In vitro fermentation of spent turmeric powder with a mixed culture of pig faecal bacteria. *Food & Function*, DOI: 10.1039/c4fo00142g, 2017.
- 7) 森下芳行、腸内細菌を健康に活かすプロバイオティクスとプレバイオティクス. 日本食物繊維研究会誌、4 (2)、2000.
- 8) 辯野義己、ビフィズス菌パワーで改善する花粉症. 講談社、2007.
- 9) 荒木和子、篠崎立彦、入江嘉子、宮澤幸久、ビフィズス菌のロタウイルス感染に対する予防効果の検討. 感染症学雑誌、73 (4) : 305-310、1999.
- 10) 木村郁夫、生命誌ジャーナル、86、2015. (<http://www.brh.co.jp/seimeishi/journal/086/research/1.html>)

(参考) 公益財団法人とかち財団が作成した餡の機能性に関するPR資料

### 小豆を食べて、超(超)キレイ。

**食品の3つの機能性**

- 栄養的機能: 健康を維持するための基本となる栄養素の供給
- 嗜好的機能: 味の香り、食感、色など食品に与える機能性
- 生体調節機能: 食品の成分が体内でどのような作用を及ぼすか

**小豆の栄養的機能**

○小豆・小豆餡の栄養成分

小豆は低脂肪で、食物繊維たっぷり。加熱剤を使用した和菓子は、カロリーが低めに抑えられ、さらに、

○日本人の食物繊維摂取量の目安は?

日本人の食物繊維摂取量は、少なくとも男性で4.5g、女性で3.1g以上(成人)も不足していることが判っています。\*

※日本食品標準成分表(2015年版)より

**小豆の嗜好的機能**

○小豆製菓は心の栄養

甘くて美味しい和菓子。その優しい味が心と身体にやさしい和菓子へと変わっていきます。また、和菓子は含まれる成分が豊富で、栄養価が高く、健康に良いとされています。

○季節・行事食としての大切なアイテム

季節感が感じられる和菓子。そのほか、春の目玉や秋のぼたんなど、和菓子は季節感を盛り込んだアイテムが豊富です。年中行事にも欠かせない和菓子は、大切なアイテムとして、私たちの生活に豊かさを添えています。

**小豆の栄養を美味しくいただきます!**

出典: 国立大学法人三重大学健康ケアセンター 編集: 公益財団法人とかち財団 (北海道十勝産地産食品加工技術センター)

### 美味しい小豆のすてきな効果

**小豆・小豆生餡の特徴的な構造**

小豆の細胞(加熱前) → 加熱すると → 細胞壁が壊れる

腸内細菌: E. coli などの菌がデンプンを含んだ和菓

北海道十勝の帯広畜産大学では、小豆などの豆類の細胞壁の構造を長年研究しています。

**ラットに食べさせた時の効果**

ラットに和菓子を食べさせると、とうもろこしでんぷんや洋菓子(サブレ)を食べさせた場合に比べ、腸内のラクトバチルスやビフィズス菌が増え、血中の中性脂肪や総胆汁酸濃度が減少する効果が認められています。

**腸内細菌を増やす**

腸内細菌の増加 (腸内発酵が活性化)

短鎖脂肪酸の増加

血清の中性脂肪や総胆汁酸濃度が減少!

※実際の分析はラットの腸管で行っていますが、ラットの腸管はヒトの大腸に相当すると考えられています。

**腸内発酵試験で見られた効果**

小豆餡や小豆餡を餌とした腸内発酵試験では、食物繊維やとうもろこしでんぷんよりも腸内の有用菌の増えが多くなり、特にラクトバチルスやビフィズス菌は乳芽の芽生状態で増えていることが判りました。

発酵試験開始から6時間後には、腸内の有用菌が急増!

肥満予防、アレルギー症状の緩和、感染性腸炎の抑制

※発酵試験は培養試験で行っており、腸の細菌叢はトコロを数えていると推定されています。

出典: 国立大学法人三重大学健康ケアセンター 編集: 公益財団法人とかち財団 (北海道十勝産地産食品加工技術センター)