

2023年度 博士論文

北海道産ダツタンソバとタマネギの
 α -グルコシダーゼ阻害活性に関する研究

天使大学大学院看護栄養学研究科

栄養管理学専攻博士後期課程

20152101 田中洋子

目次

第1章	緒論（本研究の背景と目的）	1
1-1	日本の健康対策	1
1-2	日本の糖尿病の現状	1
1-3	糖尿病と食事療法	2
1-4	本研究の目的	3
第2章	ダッタンソバ茹麺の血糖上昇抑制作用とその関与成分	5
2-1	緒言	5
2-2	ダッタンソバ茹麺中のフラボノイドの定量と α -グルコシダーゼ阻害活性の測定	5
2-2-1	材料と試薬	5
2-2-2	ダッタンソバ茹麺成分の抽出・分画	5
2-2-3	α -グルコシダーゼ阻害活性測定用試料溶液の調製	6
2-2-4	α -グルコシダーゼ阻害活性測定方法	6
2-2-5	ルチンおよびケルセチンの定量	6
2-3	ダッタンソバ茹麺摂取による食後血糖上昇抑制効果の検討	6
2-3-1	被験者	6
2-3-2	血糖測定プロトコル	7
2-3-3	血糖値の測定	7
2-3-4	統計解析	8
2-4	結果	8
2-4-1	ダッタンソバ茹麺の α -グルコシダーゼ阻害活性	8
2-4-2	ルチン、ケルセチン含量と α -グルコシダーゼ阻害活性	8
2-4-3	ダッタンソバ茹麺摂取による血糖上昇抑制作用	8
2-5	考察	9
2-6	結語	11
第3章	タマネギの α -グルコシダーゼ阻害活性と調理操作による影響	19
3-1	緒言	19
3-2	試料と方法	19
3-2-1	試料	19
3-2-2	さらさらレッドタマネギ成分の抽出と分画	19

3-2-3	ゆめせんかタマネギの調理操作と水さらし操作.....	20
3-2-4	α -グルコシダーゼ阻害活性の測定.....	20
3-2-5	ケルセチン配糖体の定量.....	20
3-2-6	統計解析.....	21
3-3	結果.....	21
3-3-1	さらさらレッドタマネギの α -グルコシダーゼ阻害活性.....	21
3-3-2	さらさらレッドタマネギのケルセチン-3,4'-ジグルコシド、ケルセチン-4'- 0- β グルコシド含量および α -グルコシダーゼ阻害活性.....	21
3-3-3	ゆめせんかタマネギの各調理操作後の α -グルコシダーゼ阻害活性.....	22
3-3-4	ゆめせんかタマネギの各調理操作後のタマネギ中のケルセチン-3,4'-ジグル コシド、ケルセチン-4'-0- β グルコシド含量.....	22
3-3-5	ゆめせんかタマネギの水さらし時間と α -グルコシダーゼ阻害活性.....	22
3-3-6	ゆめせんかタマネギの水さらし時間とケルセチン-3,4'-ジグルコシド、ケルセ チン-4'-0- β グルコシド含量.....	22
3-4	考察.....	23
3-5	結語.....	24
第4章	総括.....	35
	引用文献.....	37
	謝辞.....	41
	研究業績にかかわる資料.....	42

第1章 緒論（本研究の背景と目的）

1-1 日本の健康対策

我が国における健康増進に係る取り組みは、第1次国民健康づくり対策として昭和53年(1978年)から行われている。健康づくりは、国民一人一人が「自分の健康は自分で守る」という自覚を持つことが基本であり、行政としてはこれらを支援するために国民の多様なニーズに対応しつつ、地域に密着した保健サービスを提供する体制を整備していく必要があるとの観点で、①生涯を通じる健康づくりの推進、②健康づくりの基盤整備、③健康づくりの普及啓発この3つを柱として取り組みを推進した。昭和63年(1988年)からは「アクティブ80ヘルスプラン」としこれまでの施策を拡大するとともに、運動習慣の普及に重点を置き、栄養・運動・休養の全ての面で均衡のとれた健康的な生活習慣の確立を目指して、取り組みを推進した。平成12年(2000年)からは「健康日本21」と壮年期死亡の減少、健康寿命の延伸及び生活の質の向上を実現することを目的とし、生活習慣病やその原因となる生活習慣等の国民の健康医療対策上重要となる課題について、10年後を目途とした目標等を設定し、国や地方公共団体等の行政だけでなく関係団体等の積極的な参加及び協力を得ながら、「一次予防」の観点を重視した情報提供等を行う取り組みを推進した。平成25年(2013年)からは少子高齢化や疾病構造の変化が進む中で社会保障制度が持続可能なものとなるよう、国民の健康の総合的な推進を図るための基本的な事項を示し、健康づくりを推進し、健康寿命を延伸し、健康格差の縮小を実現することを最終目標とした¹⁾。令和4年10月に健康日本21(第二次)最終評価報告書が発表され、今後重点的に取り組みたい領域として都道府県、市区町村いずれにおいても、循環器疾患、栄養・食生活と回答した割合が高く、都道府県においては健康寿命の延伸と健康格差の縮小の実現、身体活動・運動と回答した割合が高かった。市区町村においては糖尿病と回答した割合が高かった²⁾。

1-2 日本の糖尿病の現状

令和元年度の国民健康栄養調査によると、「糖尿病が強く疑われる者」の割合は男性で19.7%、女性で10.8%であり、平成22年から令和元年までの10年間でみると、男性で3.1%、女性で1.6%の増加傾向にある³⁾。また、3年ごとに実施している「患者調査」によると、平成29年の糖尿病の総患者数(継続的な治療を受けていると推測される患者数)⁴⁾は328万9千人で、前回の調査(平成26年)⁵⁾の316万6千人に対し12万人以上増加してい

る。健康日本 21(第二次)最終評価報告書²⁾では、糖尿病対策として、合併症(①糖尿病腎症による年間新規透析導入患者数の減少)、糖尿病の適切なコントロール(②治療継続者の割合の増加、③血糖コントロール指標におけるコントロール不良者の割合の減少)、発症予防(④糖尿病有病者の増加の抑制、⑤メタボリックシンドローム該当者及び予備軍の減少)、対策(⑥特定健康診査・特定保健指導の実施率の向上)の各指標を掲げている。

1-3 糖尿病と食事療法

糖尿病は、インスリン作用の不足による慢性の高血糖状態を主徴とする代謝疾患群である。インスリン作用不足による代謝障害の程度が軽度であればほとんど症状は気づかれないため、糖尿病は長期間放置されることがある。しかし、血糖値が著しく高くなる代謝状態では口渇、多飲、多尿、体重減少がみられる。代謝障害が軽度でも長く続けば特徴的な慢性合併症(網膜症、腎症、神経障害)を発症するリスクが高い。さらに、糖尿病では全身の動脈硬化症が促進され、これが心筋梗塞、脳梗塞、下肢の閉塞性動脈硬化症の原因となる。糖尿病治療の目標は、これら糖尿病に特徴的な合併症及び糖尿病に併発しやすい疾患の発症、増悪を防ぎ、健常者と変わらない QOL を保ち、健常者と変わらない寿命を全うすることである⁶⁾。糖尿病治療は、食事療法、運動療法、薬物療法(経口薬療法、注射薬療法)を組み合わせで行われるが、食事療法がすべての糖尿病患者において治療の基本であり、食事療法を中心とする生活習慣の是正が有効であるとされている^{6,7)}。しかし、病気が進行した患者では様々な生活背景が影響した食習慣を変えることは容易ではない。食事療法の実践で指導を受けた後一旦は食事療法を守ろうと食習慣を変化させるが、時間の経過とともに元の食生活に戻ることが多い⁸⁾。令和元年国民健康栄養調査³⁾では、食習慣改善の意思について、「関心はあるが改善するつもりはない」と回答した者の割合が最も高く、男性で 24.6%、女性で 25.0%であり、食習慣を変えるのは容易ではないことがうかがえる。また、健康食品を摂取している者の割合は 20 歳以上で男性 30.2%、女性 38.2%で、いずれも年齢が上昇するにしたがって健康食品の摂取割合も上昇している。藤井ら⁹⁾の報告によると、2 型糖尿病患者 154 名中の特定保健用食品(以下トクホ)利用者は 45 名(29%)と令和元年国民健康栄養調査³⁾と同程度である。また、トクホ利用者の食習慣良好の群で血糖コントロール指標の HbA1c の値が最も低い反面、トクホ使用者でも食習慣不良の群で HbA1c の値が最も高かった。トクホ利用目的では、トクホ利用者で食習慣良好群は「食事療法の効果を高めるため」が 55%で多く、トクホ利用者で食習慣不良群では「血

糖良好・食事療法の代わりに」が70%と多かった。食習慣が良好なトクホ利用者は、トクホを「食事療法の補助」と認識し、自己管理を十分にしてお良好な血糖コントロールのために有効なものを適宜利用する。しかし、いわゆる「健康食品」についての情報は「効果」を強調しており、正しい情報が提供されていない場合が多く、トクホも有効性の表示について定められているものの、使用者には十分に理解されていないケースが多い¹⁰⁾。いわゆる「健康食品」やトクホを摂取している患者では、食事療法や運動療法がおろそかになり、時には服薬コンプライアンスの低下が認められ、その結果として血糖管理が悪化する例が多く見受けられる¹¹⁾。また、いわゆる「健康食品」やトクホは、通常の商品と比較すると高価で、これらの商品にかけられる費用は個人によって様々である。使用者の経済的な問題もあるが、患者の価値観や疾病に対する認識によってもかけられる費用が変わり、長期にわたって利用することを考えると費用のことも考慮しなければいけない¹²⁾。

1-4 本研究の目的

食品に対する健康効果(食品の三次機能性)を求めるニーズは一層増える状況にある中で、とくに食品による血糖上昇抑制効果に関して科学的に解明し、効果が科学的に担保される素材の普及を図ること、加えて天然素材もしくは日常摂取されてきた加工品のよう
に、普段の食生活に利用しやすい形状で血糖値の上昇を抑制し、健康保持に寄与できる素材を増やすことは非常に意義深いことと考える。この血糖値の上昇を抑制する手段の一つに、小腸内の糖質分解酵素の活性を阻害する成分を活用する方法がある。主食の米や麦類に由来するでんぷんは、小腸内で糖質分解酵素である α -アミラーゼや α -グルコシダーゼなどにより単糖にまで消化され、体内に吸収される。この消化酵素の活性を阻害することにより小腸での糖質の消化を遅らせることができ、単糖の吸収を緩和することで結果的に血糖値の急激な上昇を抑制する¹³⁻¹⁷⁾。この作用機構で血糖値が気になる方に向けたトクホが商品化されていると共に、糖尿病患者の食後高血糖を抑えるべく開発された薬剤の一つとしてボグリボースがある¹⁸⁾。

今回の研究では、フラボノイドを豊富に含み、北海道が主産地のダッタンソバとタマネギに注目し、これらの食材による α -グルコシターゼ活性阻害の検証と関与成分の解明を行うこととした。フラボノイドの機能性として、抗酸化作用¹⁹⁾、血圧改善作用²⁰⁾、血糖値上昇抑制作用²¹⁾などが報告されている。我々の以前の研究結果により、ダッタンソバ生麺に α -グルコシダーゼ活性阻害作用が認められ²²⁾、ダッタンソバ中の2種のフラボノイド(ル

チン、ケルセチン)が主たる関与成分であることが示唆されている²³⁾。そこで、今回の研究ではダッタンソバに含まれるルチン、ケルセチンの挙動と α -グルコシダーゼ活性阻害作用について検証すると共に、ダッタンソバ摂取によって食後の血糖上昇抑制効果が発現するかを確認することとした。タマネギについてはケルセチン配糖体を中心としたフラボノイドが豊富に含まれており²⁴⁾、タマネギもフラボノイドを関与成分とする α -グルコシダーゼ活性阻害作用を有する可能性が考えられる。ただし、必ず茹で調理して食するダッタンソバとは異なり、タマネギの場合は生のまま食するケースと加熱などの調理を経て食するケースがある。タマネギを加熱すると色、味、香りなどの特性が変化するが²⁵⁾、家庭で行う様な加熱調理ではタマネギ中のフラボノイドに顕著な変化は見られない²⁶⁾との報告もある。そこでタマネギについては多様な調理操作を施されて食用されることを踏まえ、生のままおよび各調理操作とタマネギ中のフラボノイドの含量の変化、 α -グルコシダーゼ阻害活性の強さについて検討することとした。

第2章 ダツタンソバ茹麵の血糖上昇抑制作用とその関与成分

2-1 緒言

近年、抗酸化作用、高血圧症や、脂質代謝異常症の改善作用などが報告されているダツタンソバ(*Fagopyrum tataricum*)²⁷⁻²⁹⁾は、中国において古くから糖尿病の漢方薬として利用されてきた。食後の急激な血糖上昇抑制作用の一つに糖質分解酵素の阻害があり、食品中の数種のポリフェノールにその機能が認められている^{16,30)}。ダツタンソバには、ポリフェノールの一種であるルチンが普通ソバ(*Fagopyrum esculentum*)の約 100 倍含まれており³¹⁾、 α -グルコシダーゼ阻害活性作用に関与することが報告されている³²⁾。一方、ダツタンソバのルチンは、製麵過程で加水すると内在するルチナーゼの作用でケルセチンに変化することが確認されており^{33,34)}、製麵した場合のルチンの α -グルコシダーゼ阻害活性作用については新たに検証する必要がある。そこで、実際に食用されるダツタンソバ茹麵について、含有されるルチン、ケルセチンの挙動と α -グルコシダーゼ阻害活性作用および摂食時に血糖上昇抑制作用が発現するかを検証することとした。

2-2 ダツタンソバ茹麵中のフラボノイドの定量と α -グルコシダーゼ阻害活性の測定

2-2-1 材料と試薬

北海道森町で栽培、収穫された在来種から製粉されたダツタンソバ粉を用いて調製したダツタンソバ生麵(原料配合比；ダツタンソバ粉 48.1：小麦粉 46.1：食塩等 5.8：水 25)を 10 倍量の沸騰水中で 2 分半茹で、湯切りした後に冷凍保存したものを材料とした。 α -グルコシダーゼ阻害活性測定には、グルコース CII-テストワコー(富士フィルム和光純薬株式会社)および酵素としてラット腸管アセトンパウダー(SIGMA 社)を用いた。

2-2-2 ダツタンソバ茹麵成分の抽出・分画

ダツタンソバ茹麵の凍結乾燥物(520g)を 70%メタノール(1,700 ml)で 2 回抽出後、抽出液を 20 分間遠心分離(4°C、8,000 rpm)して上清を回収し、減圧下で乾固して抽出乾固物(23.4g)を得た。その一部(1,000 mg)をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(長さ 260mm × 内径 20mm)に供し、クロロホルム-エタノール混液((10：0、v/v)から(3：7、v/v)まで)で順次溶出し、次いでエタノールで溶出して 8 つの画分に分画した。各画分の溶出液を減圧下で乾固して乾固物を得た。

2-2-3 α -グルコシダーゼ阻害活性測定用試料溶液の調製

茹麺抽出乾固物については Dimethyl Sulfoxide(以下、DMSO)に溶解して各種濃度溶液を調製し、また各画分乾固物については 100 ppm 濃度溶液を調製して α -グルコシダーゼ阻害活性測定用試料溶液とした。

2-2-4 α -グルコシダーゼ阻害活性測定方法

α -グルコシダーゼ阻害活性の測定は、ラット腸管アセトンパウダーを粗酵素、マルトースを基質として鳥海ら³⁵⁾の方法で行った。粗酵素液は、ラット腸管アセトンパウダーに 10 倍量の 0.1 M リン酸緩衝溶液(pH 7.0)を加え、氷冷しながら超音波処理した後、遠心分離(3,000 rpm×10 min)によって上清を得て調製した。なお、粗酵素液はマイクロチューブに分注後、 -20°C で保存し、阻害活性を測定する都度解凍して用いた。材料存在下の反応を「試験区」、反応終了後に粗酵素を添加するものを「空試験区」、材料を添加していない反応(材料溶液の代わりに DMSO 添加)を「対照区」とした。反応は、試験管に材料溶液 500 μl 、250 mM マルトース 2 ml、蒸留水 2.4 ml を入れ、 37°C で 5 分間保温後、粗酵素液(100 mg/ml) 100 μl を添加し、 37°C で 40 分間保温した後、0.2 M 炭酸ナトリウム 5 ml を添加して反応を停止した。反応で生成したグルコースをグルコース CII-テストワコーを用いて定量し、「試験区」、「空試験区」、「対照区」のそれぞれのグルコース量から次式に従って α -グルコシダーゼ阻害率を算出し、3 反復の平均値で示した。

$$\alpha\text{-グルコシダーゼ阻害率(\%)}=100-\{(A-B)/C\times 100\}$$

A:試験区グルコース量、B:空試験区グルコース量、C:対照区グルコース量

2-2-5 ルチンおよびケルセチンの定量

ルチンおよびケルセチンの定量は、高速液体クロマトグラフィー(以下、HPLC)を用いた岩渕らの方法³⁶⁾に従って行った。測定条件は、カラム：Inertsil ODS - 3(長さ 250 mm×内径 4.6 mm)、移動相：2.5%酢酸：メタノール：アセトニトリル(50：30：20, v/v)混合液、流速：1.0 ml/min、検出器：日立 L-7400 UV(波長 350 nm)とした。

2-3 ダットンソバ茹麺摂取による食後血糖上昇抑制効果の検討

2-3-1 被験者

本試験の被験者は、糖代謝異常症あるいは関連疾患で投薬等による治療を受けていない

ことを事前確認した健常な男性 11 名である。被験者の基礎データは表 2-1 に示した。

本試験は天使大学研究倫理委員会の審議・承認を得て実施した。全ての被験者には事前に「ヘルシンキ宣言」にのっとり、試験の目的、内容、方法、プライバシーの保護、リスクと不快感、参加の中止、その他試験に必要な事項について、試験計画書に基づいて説明を行い、文章による同意を得た。

2-3-2 血糖測定プロトコル

本試験のプロトコルを図 2-1 に示した。試験食に用いたダッタンソバ茹麺の調製は、2-2-1 のとおりである。一方、比較試験のために普通ソバ生麺(原料配合比；普通ソバ粉 48.1：小麦粉 46.1：食塩等 5.8：水 25)を調製し、ダッタンソバ麺と同様に 1 食ごと茹で、湯切りした後に冷凍保存し、試験食に用いた。いずれの試験食のソバも解凍後、1 食ごとに 100ml のめんつゆをかけて供した。なお、1 食分の量は炭水化物量を等しくするためダッタンソバ茹麺は 216g、普通ソバ茹麺は 220g とした。前者に含まれるルチン量は 270.0mg、ケルセチン量は 330.5mg であり、後者に含まれるルチン量は 9.4mg、ケルセチン量は検出されなかった(表 2-2)。また、糖質を負荷するためのレトルト米飯 100g(トップバリュー社製)は、電子レンジで加熱後、市販のふりかけ(2g)をかけて供した。被験者には、事前に試験前日 21 時以降は摂食せず、当日の朝は絶食とすること、前日からの摂食リズムや当日朝の活動リズムが 2 日間とも同じようになるよう指導し、厳守されていることを確認してから実施した。被験者を無作為に A と B の 2 グループに分け、A グループは 1 日目に普通ソバ茹麺と米飯、2 日目にダッタンソバ茹麺と米飯の順に、B グループは A グループとは逆の順で試験食を摂食することとした。ソバ成分の消化酵素への作用を考慮し、先に 5 分を目安としてソバ茹麺を摂食し、その後 5 分の間隔を空け、米飯を 5 分程度で食べ切るように指示した。なお、2 種のソバ茹麺および米飯の咀嚼回数は、一口当たり 20 回とした。摂食試験直前の空腹時(0 分)、2 種のソバ茹麺の摂食後の米飯摂食を開始してから 30 分(ソバ摂食時から 40 分)、45 分(同 55 分)、60 分(同 70 分)、75 分(同 85 分)、90 分(同 100 分)、120 分(同 130 分)経過後の血糖値を測定した。

2-3-3 血糖値の測定

血糖値の測定は、医師の指示のもと、被験者自らが簡易血糖測定装置(酵素電極法、グルテストエース(株)三和化学研究所)を用いて行った。

2-3-4 統計解析

統計解析は、4Steps エクセル統計(オーエムエス出版)を用い、得られた結果から各時間での血糖値の平均値と標準誤差を算出すると共に、食後 120 分間での総血糖上昇量の指標として 120 分経過までの血糖曲線下面積(AUC, Area Under the blood concentration-time Curve, 平均値±標準誤差)を算出し、対応のある t 検定を行った。有意水準は 5% ($p<0.05$) とした。

2-4 結果

2-4-1 ダッタンソバ茹麺の α -グルコシダーゼ阻害活性

ダッタンソバ茹麺の 70%エタノール抽出乾固物の α -グルコシダーゼ阻害活性を図 2-2 に示した。また、抽出乾固物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーに供し、クロロホルム・エタノール混液で溶出、分画した各画分の α -グルコシダーゼ阻害活性を表 2-3 に示した。とくに、画分 3 (阻害率 33.2%、回収率 20.3%)、画分 4 (阻害率 23.4%、回収率 3.1%)、画分 5 (阻害率 22.5%、回収率 14.5%) に顕著な阻害活性が確認された。

2-4-2 ルチン、ケルセチン含量と α -グルコシダーゼ阻害活性

抽出乾固物およびシリカゲルカラムクロマトグラフィー分画画分乾固物中のルチンとケルセチン含量を表 2-4 に示した。阻害活性の強い画分 3 にはケルセチンが多く (39.6 mg、回収率 54.8%)、画分 5 にはルチンが多く含まれていた (9.8 mg、回収率 19.0%)。また、画分 4 は乾固物重量が少なく、回収率も低いものの、ケルセチン (0.6 mg、回収率 0.8%) とルチン (0.5 mg、回収率 1.0%) がほぼ同量含まれていた。ケルセチンおよびルチンの標準品を用いて画分 3 および画分 5 の同濃度の試験溶液を調製し、 α -グルコシダーゼ阻害率を測定した結果、画分 3 と同濃度 (0.07mg/ml) のケルセチン標準品阻害率は 31.4% で、画分 3 の阻害率 33.2% とほぼ一致した。また、画分 5 と同濃度 (0.02mg/ml) のルチン標準品阻害率は 20.0% で、画分 5 の阻害率 22.5% とほぼ一致した。

2-4-3 ダッタンソバ茹麺摂食による血糖上昇抑制作用

2 種のソバ茹麺摂食における血糖値の経時変化を図 2-3 に示した。ソバ茹麺摂食開始後より 40 分経過後の血糖値は普通ソバ摂食で 170 ± 8 mg/dl であったのに対し、ダッタンソバ摂食では 149 ± 6 mg/dl となり、有意に低い値を示すことが確認された ($p<0.05$)。その後の

各経過時間における血糖値は有意ではないが、ダツタンソバ摂食時において低い傾向を示した。また、血糖曲線下面積(AUC)について、普通ソバ摂食時では $6714 \pm 902 \Delta \text{mg/dl} \cdot 120$ 分であったのに対し、ダツタンソバ摂食時では $5389 \pm 916 \Delta \text{mg/dl} \cdot 120$ 分となり、有意に低値であることが確認された($p < 0.05$, 図 2-4)。

2-5 考 察

本研究は、民間伝承的に糖尿病に有効とされるダツタンソバに注目し、ダツタンソバ茹麺を試料として、 α -グルコシダーゼ阻害作用と摂食時の食後血糖上昇抑制効果の発現について検証した。

Lee ら³²⁾は、ダツタンソバ種子乾燥粉末のメタノール抽出物(ルチン 208mg/g、ケルセチン 36mg/g 含有)に α -グルコシダーゼ阻害活性があり、その活性は、同抽出物に含有するルチン含量に相当するルチン標準品の活性と一致すると報告した。一方、鳥海ら³⁷⁾は、ダツタンソバ茹麺の α -グルコシダーゼ阻害活性の関与成分として、ケルセチンを示唆している。本研究では、ダツタンソバ茹麺の 70%メタノール抽出乾固物(ルチン 51.6mg/g、ケルセチン 72.2mg/g 含有)に α -グルコシダーゼ阻害活性が確認され(図 2-2)、またシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより分画した画分では、ケルセチン、ルチンを多く含む画分に顕著な α -グルコシダーゼ阻害活性が認められ、とくにケルセチン含量の多い画分(表 2-4)の阻害活性が高かった(表 2-3)。画分 4 はケルセチン含量が多くないにも関わらず一定の α -グルコシダーゼ阻害率を示した。佐藤ら³⁸⁾は、ダツタンソバ種子(2kg)からケルセチン(50g)、ルチン(ケルセチン 0.44g)の他に、ケンフェロール(0.23g)、ケンフェロール 3-ルチノシド(0.062g)を得ていること、また、ケンフェロール 3-ルチノシド³⁹⁾とケンフェロール⁴⁰⁾は比較的強い α -グルコシダーゼ作用を示すことが報告されていることから、画分 4 の α -グルコシダーゼ作用にはケルセチン、ルチン以外に微量含まれるフラボノイドが関与したのではないかと考えられる。今回、試料としたダツタンソバ茹麺には製麺時の加水によるルチナーゼの作用でルチンとケルセチンの両者が含まれていることから、70%エタノール抽出乾固物の α -グルコシダーゼ阻害活性にはルチンとケルセチンが関与すると推察される。

2 種のソバ茹麺の摂食後の血糖値の変化(図 2-3 および図 2-4)では、ダツタンソバ茹麺の摂食より 40 分経過後の血糖値は普通ソバ茹麺摂食時のそれよりも有意に低かった($p < 0.05$, 図 2-3)。2 種のソバ茹麺のルチンおよびケルセチン含量は、ダツタンソバ茹麺では 216 g 当たりルチン 270.0mg、ケルセチン 330.5mg でその合計量(ルチン換算)は 935mg で

あるのに対し、普通ソバ茹麺では 220g 当たりルチンとケルセチンの合計含量(ルチン換算)は 9.4 mgで、ダッタンソバ茹麺中のルチン、ケルセチンの含量は普通ソバ茹麺の約 100 倍に相当する(表 2-2)。これにより、ダッタンソバ茹麺摂食時の血糖上昇抑制作用は、ダッタンソバ茹麺に含まれるルチンとケルセチンが消化管内で α -グルコシダーゼ活性を阻害し、それに伴ってダッタンソバ茹麺および糖負荷用米飯に含まれる糖質の消化と腸管からの糖質の吸収が阻害され、血糖値の上昇が抑制されたと推察される。

α -グルコシダーゼ活性阻害および糖尿病の症状改善という視点で、ケルセチンには、糖尿病マウスにおいて血糖値の上昇および血中インスリン濃度の減少を抑制して糖尿病の症状を軽減し、2型糖尿病発症のリスクを下げるとの報告がある^{41,42)}。一方、Ju ら⁴³⁾によると、2型糖尿病患者におけるダッタンソバの摂食では血糖値への影響が認められなかったとされ、我々とは異なる結果を報告している。その理由として、Ju らの研究で用いられたダッタンソバ試料の形態が穀粒、麺、パウダーであり、いずれも **roasting**(焙煎)工程を経て調製されていることから、ルチンとケルセチン含量の記載はないが、この **roasting** 工程でダッタンソバ試料内のルチナーゼが失活して作用せず、ケルセチン生成量が微量となった可能性がある。そのため、ダッタンソバ摂取でも血糖上昇抑制作用が確認されなかったのではないかと推察される。したがって、血糖上昇抑制作用には一定量以上のケルセチンを含む必要があり、作用発現が期待できるダッタンソバを製麺するにはルチンからケルセチンへの変換を促すことが必須であると考えられる。

糖尿病はインスリン作用の不足による慢性の高血糖状態を主徴とする代謝疾患であり、急性合併症として意識障害や昏睡に陥り、効果的な治療が行われなければ死に至ることもある。軽度であっても高血糖が長く続けば、特徴的な慢性合併症(網膜症、腎症、神経障害)、全身の動脈硬化症の促進にもなう心筋梗塞、脳梗塞、下肢の閉塞性動脈硬化症の原因ともなる。健康者と同様な日常生活の質(QOL)を保ち、健康者と変わらない寿命を全うするためにも、ダッタンソバのような身近な食品を日常的に摂取することで、食後の急激な血糖値の上昇が抑制できることは有益である。また、糖尿病の発症や重篤化の予防には、食後の急激な血糖値の上昇を抑制することが重要とされている。ダッタンソバ茹麺摂取 40 分経過後の血糖値が有意に低いことは、ダッタンソバ茹麺摂食により食後の急激な血糖値の上昇を抑制することで糖尿病予防の一助となる可能性を示すものである。ダッタンソバ茹麺は主食として、あるいは副菜として多様な利用が可能な食材であり、食後の血糖上昇抑制作用がヒト介入試験で確認できたことは意義深いと考える。

2-6 結語

・本研究は、ダッタンソバ茹麺の α -グルコシダーゼ阻害作用と摂食時の食後血糖上昇抑制作用の発現を検証した。

・ダッタンソバ茹麺の70%メタノール抽出乾固物を試料としてシリカゲルカラムクロマトグラフィーで分画分析した結果、今回、試料としたダッタンソバ茹麺には製麺時の加水によるルチナーゼの作用でルチンとケルセチンが含まれており、70%エタノール抽出乾固物の α -グルコシダーゼ阻害活性にはルチン、ケルセチンが関与すると推定した。

・茹麺(ダッタンソバまたは普通ソバ)の摂食後の血糖値の変化の比較から、ダッタンソバ茹麺摂食時の血糖上昇抑制作用が認められ、ダッタンソバ茹麺摂取40分経過後の血糖値が普通ソバ茹麺に比べ有意に低かった($p<0.05$)。

・血糖上昇抑制作用には、ダッタンソバ茹麺の合計量935mg(ルチン換算)に相当するルチン(270.0mg)とケルセチン(330.5mg)が関与し、両者が消化管内において α -グルコシダーゼの働きを阻害し、それに伴って摂食試料に含まれる糖質の消化と腸管からの吸収が阻害されることで血糖値の上昇が抑制されたと推察された。また、その作用には一定量以上のケルセチンが含まれることが重要であると思われる。

・糖尿病の発症や重篤化の予防には、食後の急激な血糖値の上昇を抑制することが重要とされている。本研究よりダッタンソバ茹麺の摂食は、食後の急激な血糖値の上昇を抑制することで糖尿病予防の一助となる可能性が示唆された。

表 2-1 被験者（男性）の基礎データ

項目	
人数(n)	11
年齢(歳)	46.5±8.7
BMI(kg/m ²)	26.6±2.4
空腹時血糖値(mg/dl)	97.5±13.5

- 1) データは平均値±標準偏差で表した。
- 2) 空腹時血糖値は普通ソバ及びダッタンソバ摂取試験を行う前の 2 回の空腹時血糖値を用いて求めた。

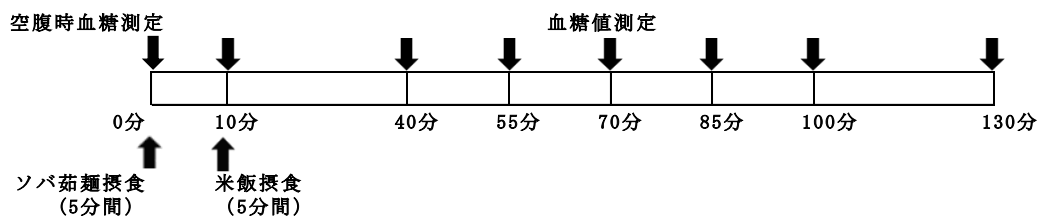


図 2-1 血糖値測定とヒト試験プロトコル

表 2-2 試験食の栄養成分(1食当たり)

試験食の栄養成分(1食当たり)			
	ダツタンソバ 茹麺	普通ソバ 茹麺	米飯
摂食量	216g	220g	100g
たんぱく質	10.4g	9.0g	2.2g
脂質	0.7g	0.3g	0.3g
糖質	67.3g	67.4g	33.7g
食物繊維	2.2g	1.5g	0.4g
ケルセチン	330.5mg	0mg	-
ルチン	270.0mg	9.4mg	-

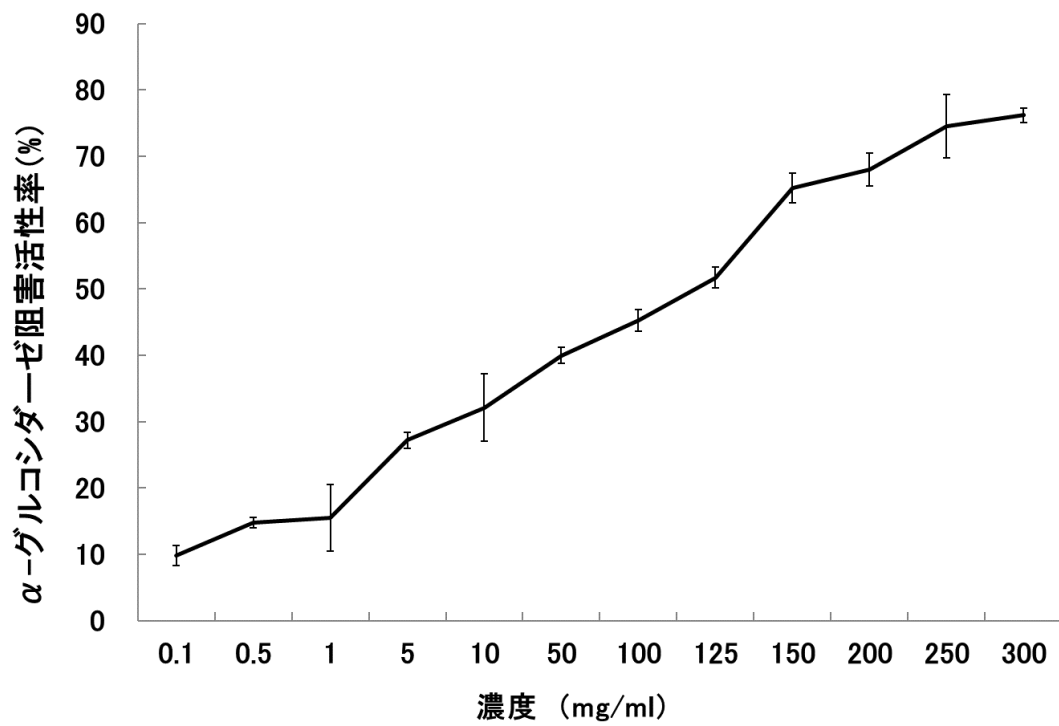


図 2-2 ダットンソバ茹麺抽出乾固物の α -グルコシダーゼ阻害活性
 平均値±標準偏差 (n=3)

表2-3 各画面分の乾固物量と α -グルコシダーゼ阻害活性

単位	分画前	分画後 (画分No.)								
		1	2	3	4	5	6	7	8	
クロロホルム：エタノール		10:0	9:1	8:2	7:3	6:4	5:5	4:6	3:7	
乾固物量	mg	1000	3.1	2.3	60.0	13.1	63.3	122.4	267.5	171.7
α -グルコシダーゼ阻害率 ¹⁾	%	9.8	-	-	33.2	23.4	22.5	12.8	17.3	19.6
重量換算 α -グルコシダーゼ阻害率 ²⁾	%	196000	0	0	39840	6131	28485	31334	92555	67306
回収率 ³⁾	%	100.0	0	0	20.3	3.1	14.5	16.0	47.2	34.3

1) 測定用試料溶液100ppm (乾固物量0.05mg/測定用試料溶液500 μ l)

2) 各画面分の α -グルコシダーゼ阻害率 \times (各乾固物量mg/0.05mg)

3) 各画面分の重量換算 α -グルコシダーゼ阻害率 $\times 100$ / 分画前の重量換算 α -グルコシダーゼ阻害率

表2-4 各画面分のケルセチン、ルチン含量

単位	分画前	分画後 (画分No.)								
		1	2	3	4	5	6	7	8	合計
ケルセチン含量	mg	-	-	39.6	0.6	1.5	3.0	6.3	3.8	54.8
ケルセチン回収率 ¹⁾	%	100.0	0.0	54.8	0.8	2.1	4.2	8.7	5.3	75.9
ルチン含量	mg	-	-	2.7	0.5	9.8	3.2	6.0	3.8	26.0
ルチン回収率 ²⁾	%	100.0	0.0	5.2	1.0	19.0	6.2	11.6	7.4	50.4

1) 各画分ケルセチン含量mg×100/分画前ケルセチン含量mg

2) 各画分ルチン含量mg×100/分画前ルチン含量mg

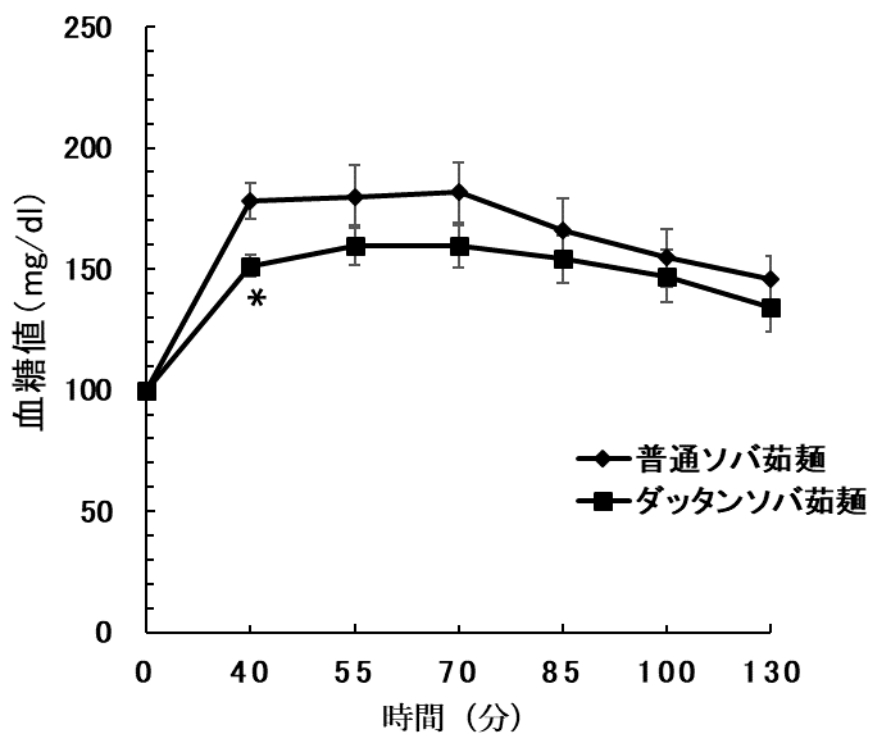


図 2-3 血糖値経時変化
 平均値±標準誤差(n = 11), * $p < 0.05$

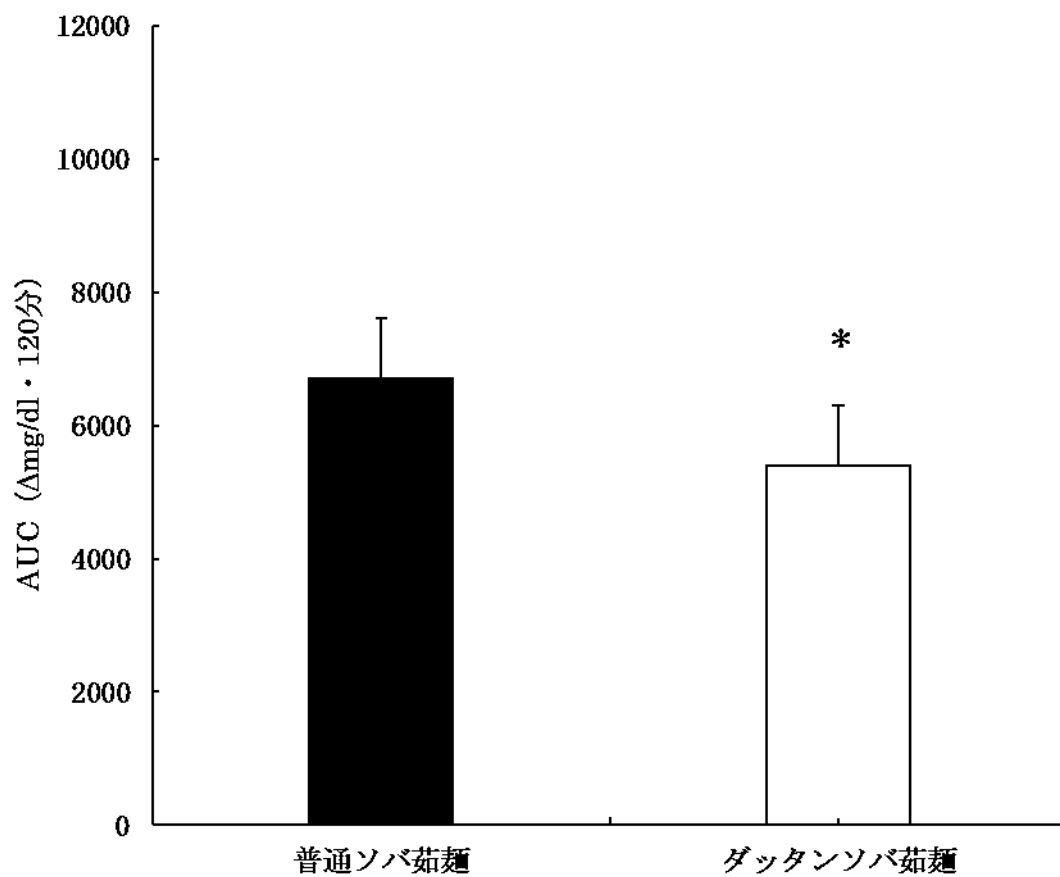


図 2-4 普通ソバ茹麺、ダットンソバ茹麺摂食後の血糖下曲線面積

平均値±標準誤差(n=11) * $p < 0.05$

第3章 タマネギの α -グルコシダーゼ阻害活性と調理操作による影響

3-1 緒言

タマネギ(*Allium cepa*)は、ケルセチンおよびルチン(ケルセチン-3-O-ルチノシド)とは異なる配糖体であるケルセチン-3,4'-ジグルコシドとケルセチン-4'-O- β -グルコシドを多く含有していることが知られ²⁴⁾、Wuら⁴⁴⁾はタマネギに含まれるケルセチン類が α -グルコシダーゼ阻害活性に関与する可能性を示唆している。北海道が全国出荷量の約63%を占める⁴⁵⁾タマネギは極めて身近な食品であり、様々な料理に用いられている。実際に、令和元年度国民健康栄養調査の食品群別摂取量によると、その他の野菜ではタマネギの摂取量が1日32.1gと最も多く摂取されている³⁾。タマネギは、生のままスライスして水さらしたものを生で用いるか、茹でや炒めなどで加熱して摂取するのが一般的であるが、調理操作によるタマネギ中のフラボノイドの含有量の変化に関してはTakenakaら²⁶⁾の報告があるに過ぎない。本研究では「さらさらレッド」と「ゆめせんか」の2品種のタマネギを試料とし、血糖値改善効果を導く研究としてタマネギの α -グルコシダーゼ阻害活性作用とその阻害活性に対する調理操作の影響を検討した。

3-2 試料と方法

3-2-1 試料

タマネギ試料として「さらさらレッド」と「ゆめせんか」の2品種を用いた。試料の「さらさらレッド」は北海道栗山町でケルセチンの高含有化を目的に改良された品種⁴⁶⁾で、同町で栽培、収穫されたものを用いた。一方の「ゆめせんか」は焦げ色がつきにくい等、既存の品種にはない加工適性を有した改良品種⁴⁷⁾で、北海道総合研究機構北見農業試験場で栽培、収穫されたものを用いた。

3-2-2 さらさらレッドタマネギ成分の抽出と分画

さらさらレッドタマネギ5個を -30°C で凍結乾燥し、粉末化したものを試料とした。試料100gを70%エタノール800mlで2回抽出し、抽出液を15分間遠心分離(4°C 、12,000rpm)し、上清を減圧下で乾固して抽出乾固物(76.8g)を得た。その一部(44g)をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(長さ360mm×内径62mm)に供し、クロロホルム-エタノール混液((10:0, v/v)から(0:10, v/v)まで)で順次溶出し、各画分の溶出液を減圧下で乾固して乾固物を得た。さらさらレッドタマネギ抽出乾固物についてはDMSOに溶解して各種濃度溶液を調製

し、また各画分乾固物については 5mg/ml 濃度溶液を調製して α -グルコシダーゼ阻害活性測定用試料溶液とした。

3-2-3 ゆめせんかタマネギの調理操作と水さらし操作

冷蔵(5°C)保蔵した「ゆめせんか」タマネギを試料とした。ゆめせんかタマネギ 2 個の外皮をはいで、均質になるように縦に各 4 等分し、室らの方法⁴⁸⁾に従って繊維に沿ってスライスした後フードプロセッサーにて 30 秒処理したものを試料とした。これを各 20g 精秤し、大池らの方法⁴⁹⁾に従い、生は未調理、冷凍は-30°Cで 24 時間保蔵した。電子レンジ加熱は 700W、1 分間加熱を行った。炒めは玉木らの方法⁵⁰⁾に従い、ホットプレート上で 250°C、5 分間加熱した。大池らの方法⁴⁹⁾に従い生、冷凍、電子レンジ加熱、炒め調理後の試料に純水 40ml を加えてホモジナイズし、遠心分離(3,000rpm×10min)によって上清を得た。沈殿物には再度純水 20ml を加え、ホモジナイズし、遠心分離によって上清を得、この操作を 2 回繰り返した。上清を全て合わせて純水で 100ml に定容し、試料溶液とした。

水さらし操作ではゆめせんかタマネギ 2 個を各 4 等分してスライサー(1mm 幅)でスライスしたものを試料とした。この試料を試料重量の 12 倍の純水に 5 分間または 10 分間さらした。なお、水さらししていないものを 0 分とした。水さらしが終わった試料を取り出し、ペーパータオルで水気をふき取ってみじん切りしたものを水さらし済試料とした。ゆめせんかタマネギの水さらし済試料を 5 g 精秤し、メタノール 10ml を加えホモジナイズし、遠心分離(3,000rpm×10min)した後にろ紙を用いてろ過して上清を集め、これをメタノール抽出物試料溶液とした。

3-2-4 α -グルコシダーゼ阻害活性の測定

α -グルコシダーゼ阻害活性の測定は、2-2-4 と同様の方法で行った。

3-2-5 ケルセチン配糖体の定量

ケルセチン配糖体の定量は、2-2-5 と同様の方法で行った。ケルセチン-4'-O- β グルコシドとケルセチン-3,4'-ジグルコシドの標準品は富士フィルム和光純薬工業株式会社製を使用した。

3-2-6 統計解析

さらさらレッドタマネギの抽出乾固物の α -グルコシダーゼ阻害活性の測定は3反復、各調理操作との α -グルコシダーゼ阻害活性の測定は7反復、ゆめせんかタマネギの各調理操作とケルセチン-3,4'-ジグルコシドおよびケルセチン-4'-O- β グルコシド含量の測定は6反復、ゆめせんかタマネギの水さらしと α -グルコシダーゼ阻害活性の測定は6反復、ゆめせんかタマネギの水さらしとケルセチン-3,4'-ジグルコシドおよびケルセチン-4'-O- β グルコシド含量の測定は9反復行った。結果はいずれも平均値 \pm 標準偏差で表した。

統計解析は、4Steps エクセル統計(オーエムエス出版)を用い、調理方法と α -グルコシダーゼ阻害活性を Kruskal-Wallis 法、調理方法とケルセチン濃度比較、水さらしと α -グルコシダーゼ阻害活性及びケルセチン濃度比較を Tukey-Kramer 法により有意差検定を行った。有意水準は1%($p < 0.01$)とした。

3-3 結果

3-3-1 さらさらレッドタマネギの α -グルコシダーゼ阻害活性

さらさらレッドタマネギの70%エタノール抽出乾固物 α -グルコシダーゼ阻害活性を図3-1に示した。溶液中の乾固物の濃度に依存して α -グルコシダーゼ活性の阻害率が上昇した。次に、抽出乾固物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーに供し、クロロホルム・エタノール混液で溶出、分画した各画分乾固物の α -グルコシダーゼ阻害活性を表3-1に示した。画分1、2、3は乾固物が量的に少なく試験溶液の調製が困難なため、 α -グルコシダーゼ阻害活性は測定出来なかった。画分4(阻害率40.7%)、画分5(阻害率29.1%)、画分6(阻害率26.8%)に顕著な阻害活性が確認された。

3-3-2 さらさらレッドタマネギのケルセチン-3,4'-ジグルコシド、ケルセチン-4'-O- β グルコシド含量および α -グルコシダーゼ阻害活性

さらさらレッドタマネギの抽出乾固物およびシリカゲルカラムクロマトグラフィー分画乾固物各画分中のケルセチン-3,4'-ジグルコシドとケルセチン-4'-O- β グルコシドのHPLCクロマトグラムを図3-2に、HPLCの測定結果から求めたケルセチン-3,4'-ジグルコシドとケルセチン-4'-O- β グルコシドの含量を表3-2に示した。画分1、2、3は乾固物が量的に少なく試験溶液の調製が困難なため α -グルコシダーゼ阻害活性およびケルセチン-3,4'-ジグルコシド、ケルセチン-4'-O- β グルコシド含量は測定出来なかった。阻害活性の強い

画分 4 にはケルセチン-4' -O- β グルコシドが 9.38 mg 含まれ、5mg/ml 中 0.13mg と他の画分よりも高濃度だった。画分 5 ではケルセチン-3,4' -ジグルコシドが 111.71mg と多く含まれ、ケルセチン-4' -O- β グルコシドも 34.45mg 含まれていた。

3-3-3 ゆめせんかタマネギの各調理操作後の α - グルコシダーゼ阻害活性

ゆめせんかタマネギの各調理操作の α -グルコシダーゼ阻害活性の結果を図 3-3 に示した。すべての調理操作から得られた試料溶液における α -グルコシダーゼ阻害率は、生タマネギ 24.9%、レンジ加熱 23.0%、炒め加熱 26.5%、冷凍 25.8%であった。ただし、生タマネギと各調理操作後の試料溶液の阻害活性には有意差は認められなかった。

3-3-4 ゆめせんかタマネギの各調理操作後のタマネギ中のケルセチン-3,4' -ジグルコシド、ケルセチン-4' -O- β グルコシド含量

ゆめせんかタマネギの各調理操作後のタマネギ中のケルセチン-3,4' -ジグルコシドの含量を図 3-4、ケルセチン-4' -O- β グルコシド含量を図 3-5 に示した。各調理操作では、ケルセチン-3,4' -ジグルコシド含量は生タマネギ 0.06mg/ml、レンジ加熱 0.07 mg/ml、炒め加熱 0.05 mg/ml、冷凍 0.08 mg/ml であった。一方、ケルセチン-4' -O- β グルコシド含量は生タマネギ 0.012 mg/ml、レンジ加熱 0.010 mg/ml、炒め加熱 0.007 mg/ml、冷凍 0.014 mg/ml でどちらも生のタマネギの含量と調理操作後のタマネギ中の含量との比較で有意な差はみられなかった。

3-3-5 ゆめせんかタマネギの水さらし時間と α -グルコシダーゼ阻害活性

ゆめせんかタマネギの水さらし時間と α -グルコシダーゼ阻害活性の結果を図 3-6 に示す。 α -グルコシダーゼ阻害率は水さらし時間 0 分で 30.5%、水さらし時間 5 分経過で 5.9%、そして 10 分経過で 5.0%となり、 α -グルコシダーゼ阻害活性の有意な低下($p < 0.01$)がみられた。

3-3-6 ゆめせんかタマネギの水さらし時間とケルセチン-3,4' -ジグルコシド、ケルセチン-4' -O- β グルコシド含量

ゆめせんかタマネギの水さらし時間とタマネギ中のケルセチン-3,4' -ジグルコシド、ケルセチン-4' -O- β グルコシドの含量をそれぞれ図 3-7 及び図 3-8 に示した。ケルセチン-3,4'

-ジグルコシドの含量は、水さらし時間 5 分経過で 0.10 mg/ml、10 分経過で 0.11 mg/ml となり 0 分での含量である 0.18 mg/ml と比較して有意な低下($p < 0.01$)がみられた。ケルセチン-4'-O-β グルコシド含量においても水さらし時間 5 分経過で 0.068 mg/ml、10 分経過で 0.086 mg/ml となり、0 分での含量である 0.13 mg/ml と比較して有意な低下($p < 0.01$)がみられた。

3-4 考察

本研究では、さらさらレッドタマネギとゆめせんかタマネギを試料として、α-グルコシダーゼ阻害活性およびその活性に対する各種調理操作の影響について検討した。

Wu ら⁴⁴⁾は、タマネギの 70%エタノール抽出物で 74%の α-グルコシダーゼ阻害活性が示されタマネギに含まれるケルセチンが関与している可能性があると報告している。本研究においてもさらさらレッドタマネギの 70%エタノール抽出乾固物について α-グルコシダーゼ阻害活性が確認され、シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる分画と HPLC 分析から関与成分はケルセチン-3,4'-ジグルコシドおよびケルセチン-4'-O-β グルコシドであることが示唆された。タマネギには 9 種類のフラボノイド類の存在が認められているが、その中でもケルセチン-3,4'-ジグルコシドとケルセチン-4'-O-β グルコシドが非常に多く²⁴⁾、それらが α-グルコシダーゼ阻害に有効であったと考える。今回、品種間の違いは確認していないが、さらさらレッドタマネギは国内のタマネギ品種の中では最もケルセチン含量が多い⁴⁶⁾と報告されており、α-グルコシダーゼ阻害活性において他品種のタマネギより優れている可能性がある。

一方、ゆめせんかタマネギの生、冷凍、電子レンジ加熱、炒め調理後と 2 種のフラボノイド含量と α-グルコシダーゼ阻害活性の関係では、いずれの調理操作から得られた試料溶液でも試料中に含まれるケルセチン-3,4'-ジグルコシドとケルセチン-4'-O-β グルコシド含量は生のタマネギと有意な差がなく、α-グルコシダーゼ阻害活性も生と各種調理後のタマネギとの間で有意な差は認められなかった。したがって、タマネギの α-グルコシダーゼ阻害活性は加熱調理による影響を受けにくいと考えられる。また、Ioku ら⁵¹⁾は、タマネギのフラボノイド含量は種々の調理法(ゆでる、油またはバターで炒める、電子レンジ加熱)でそれほど減少しないと報告している。今回の結果においても、タマネギの電子レンジ加熱や炒め加熱はケルセチン-3,4'-ジグルコシドとケルセチン-4'-O-β グルコシド含量に影響していないと判断され、そのことがタマネギの電子レンジ加熱や炒め加熱によって α-グルコシ

ダーゼ阻害活性に顕著な変化が生じなかったことに繋がっていると考えられる。しかし、今回の実験ではタマネギの生と冷凍、電子レンジ加熱、炒め加熱のケルセチン配糖体の抽出では、実際に調理、摂食する過程を想定して成分抽出の際にエタノールではなく純水を使用したため、ケルセチンの配糖体の測定値が本来の量よりも少なかった可能性がある。この点について、今後ケルセチン配糖体の抽出の溶媒を検討する必要があると考える。一方、タマネギを生で摂取する時の水さらしでは、水さらし時間 0 分から 5 分経過後および 10 分経過後で α -グルコシダーゼ阻害活性の有意な低下が確認されると共に、タマネギを水さらしするとケルセチン-3,4'-ジグルコシドとケルセチン-4'-O- β グルコシドの含量が有意に減少した。これより、水さらしでの α -グルコシダーゼ阻害活性の低下はケルセチン-3,4'-ジグルコシドおよびケルセチン-4'-O- β グルコシドの流出による含量低下に起因することが示唆された。タマネギの α -グルコシダーゼ阻害活性を指標とした血糖上昇抑制効果を期待すると、タマネギを料理に用いる場合は水さらしをせず、電子レンジ加熱や炒め調理をすることが望ましく、煮込み料理では煮汁ごと食べられるスープやシチューが望ましいと思われる。

3-5 結語

- ・本研究では、タマネギの α -グルコシダーゼ阻害活性及びその活性に対する各種調理操作の影響について検討した。
- ・さらさらレッドの 70%エタノール抽出乾固物には、 α -グルコシダーゼ阻害活性を有する成分の存在が示唆された。
- ・さらさらレッドの 70%エタノール抽出乾固物のシリカゲルカラムクロマトグラフィー分画から、 α -グルコシダーゼ阻害活性の高い画分にケルセチン-3,4'-ジグルコシドおよびケルセチン-4'-O- β グルコシドが多く含まれることが確認された。

各種調理操作による α -グルコシダーゼ阻害活性への影響では、加熱調理では阻害活性には有意な差は認めなかったが、水さらしでは α -グルコシダーゼ阻害活性の有意な低下が確認され、ケルセチン-3,4'-ジグルコシドおよびケルセチン-4'-O- β グルコシドの流出による含量低下に起因することが示唆された。タマネギの α -グルコシダーゼ阻害活性を指標とした血糖上昇抑制効果に焦点を当てると、水さらしを避けることが望ましいことが示唆された。

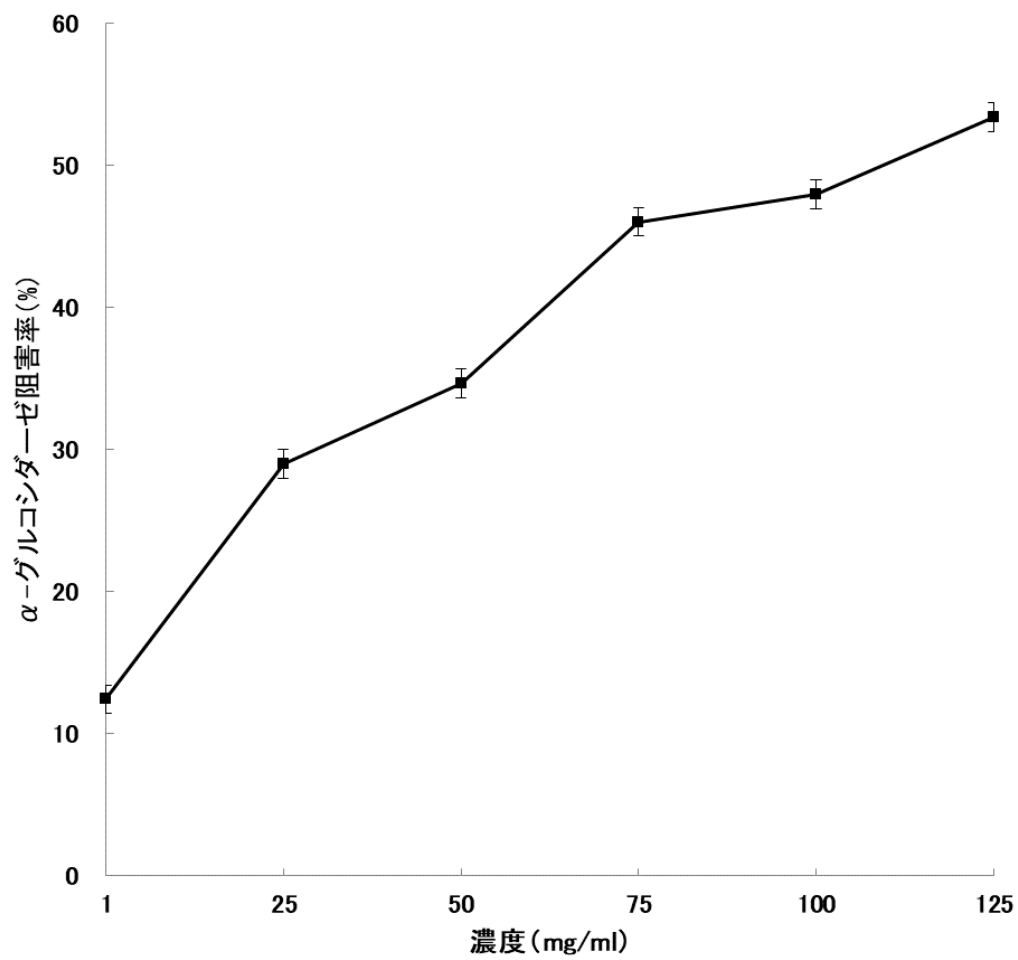


図 3-1 さらさらレッドタマネギ抽出乾固物の α -グルコシダーゼ阻害活性
平均値 \pm 標準偏差 (n=3)

表3-1 さらさらレッドタマネギの各画分の乾固物と α -グルコシダーゼ阻害活性

	分画後 (画分No.)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
クロロホルム：エタノール	10:0	9:1	8:2	7:3	6:4	5:5	4:6	3:7	0:10
乾固物量mg	43	86.5	85.6	369.4	1813.4	4463.5	4843.9	5488.4	5933.6
α -グルコシダーゼ阻害率%	-	-	-	40.7	29.1	26.8	19.0	17.3	9.9

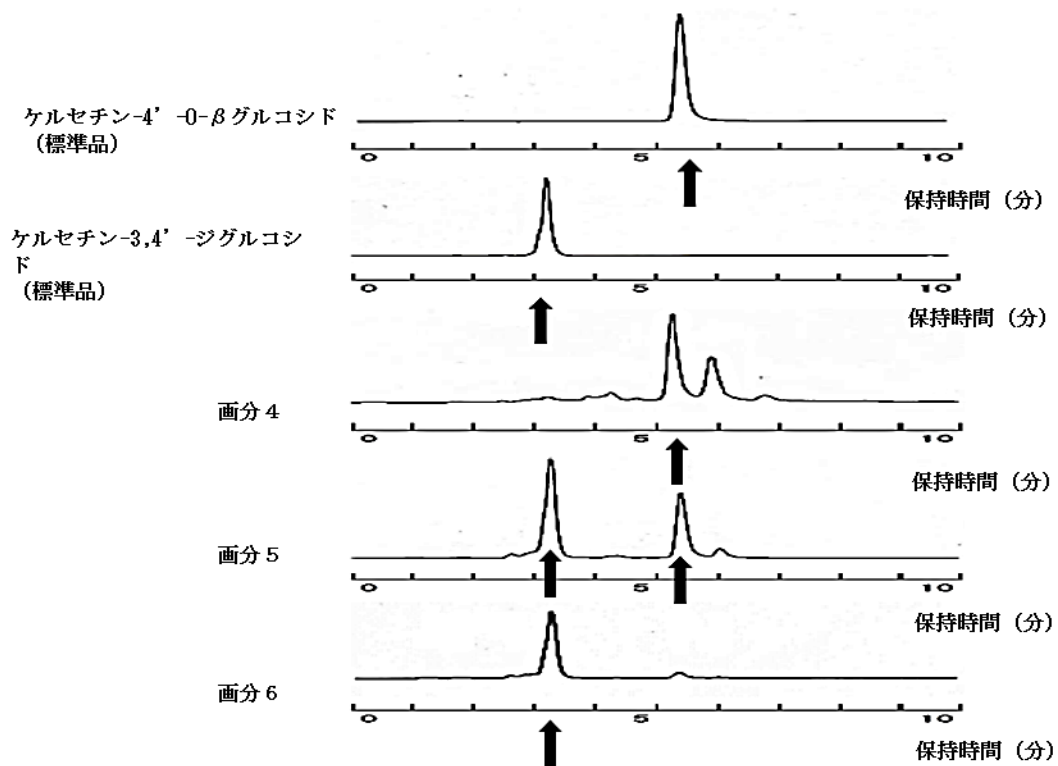


図 3-2 ケルセチン配糖体標準品とさらさらレッドタマネギの画分のクロマトグラム

表3-2 さらにさらレツドタマネギの各画分中のケルセチン-3,4'-ジグルコシド含量、ケルセチン-4'-0-βグルコシド含量

	分画後 (画分No.)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
ケルセチン-3,4'-ジグルコシド含量(5mg/ml中)	-	-	-	-	0.31	0.10	0.04	0.01	0.01
ケルセチン-3,4'-ジグルコシド含量(総量mg)	-	-	-	-	111.71	92.84	36.81	15.37	8.31
ケルセチン-4'-0-βグルコシド含量(5mg/ml中)	-	-	-	0.13	0.10	0.01	0.01	0.00	0.00
ケルセチン-4'-0-βグルコシド含量(総量mg)	-	-	-	9.38	34.45	6.25	6.78	4.39	4.75

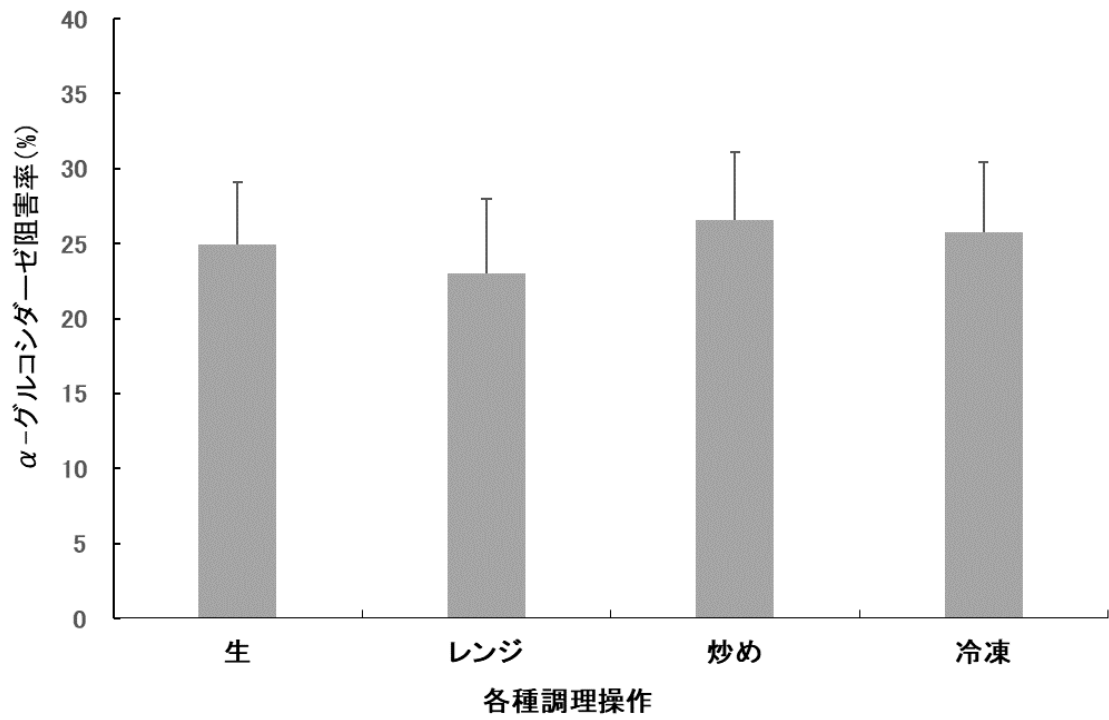


図 3-3 ゆめせんかタマネギの各調理操作と α -グルコシダーゼ阻害活性
平均値±標準偏差 (n=7)

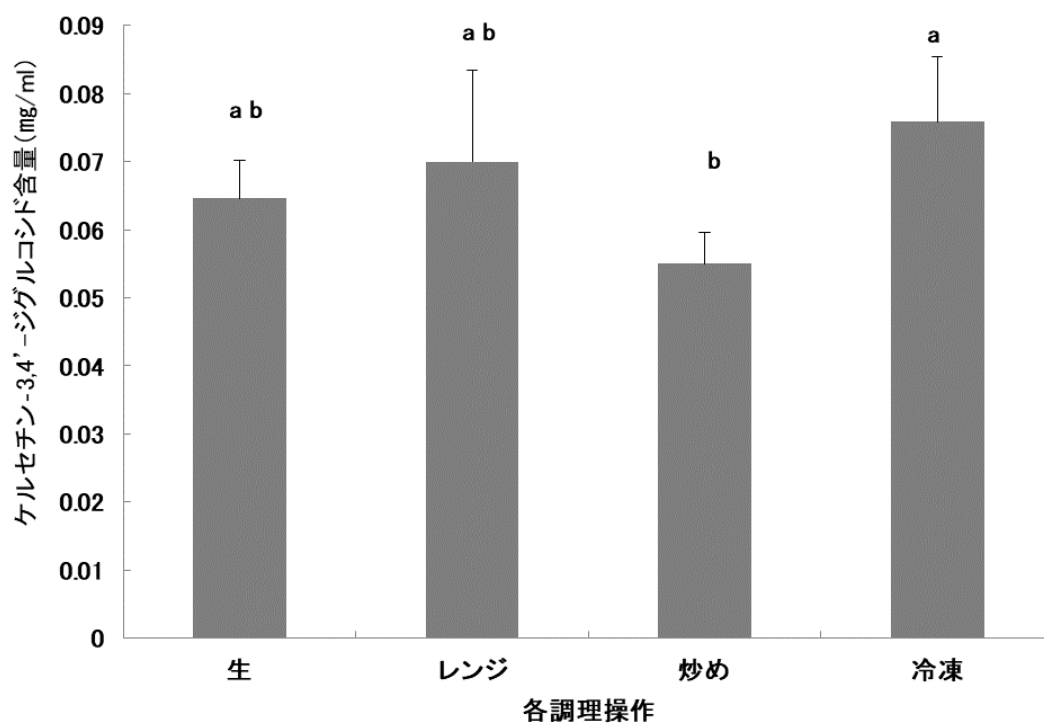


図 3-4 ゆめせんかタマネギの各調理操作とケルセチン-3,4'-ジグルコシド含量
 平均値±標準偏差 (n=6)
 a,b:異なる文字間で有意差あり ($p<0.01$)

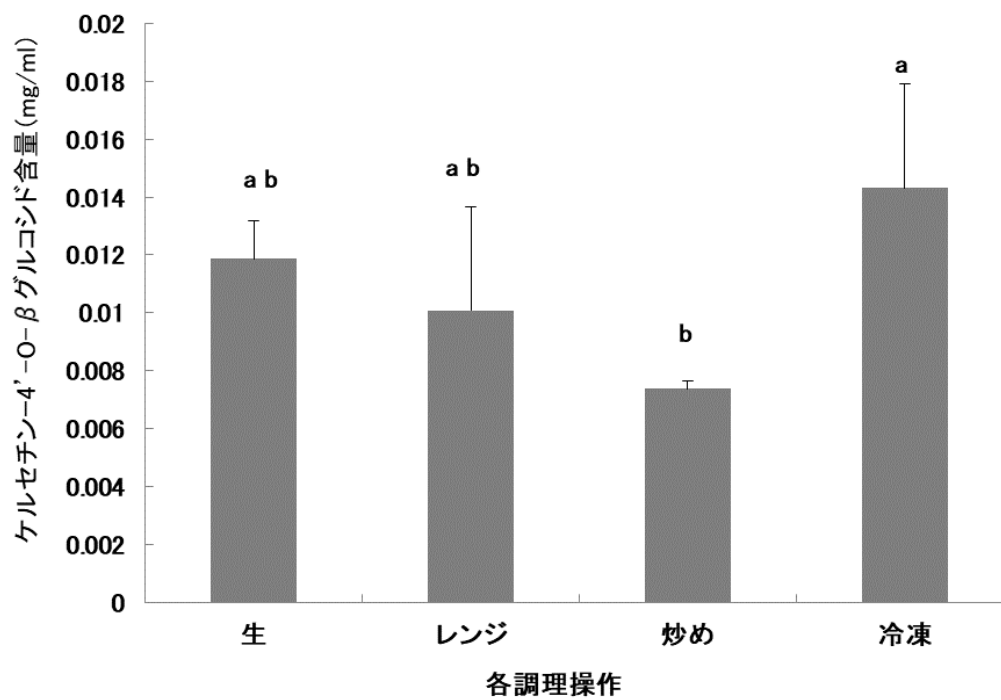


図 3-5 ゆめせんかタマネギの各調理操作とケルセチン-4'-O-βグルコシド含量

平均値±標準偏差 (n=6)

a,b:異なる文字間で有意差あり ($p < 0.01$)

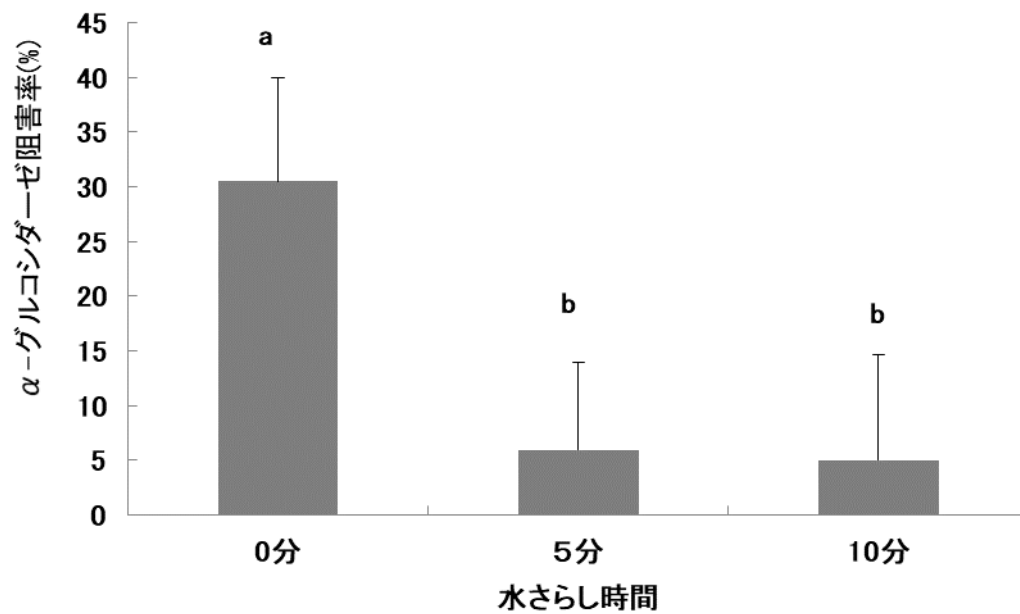


図 3-6 ゆめせんかたまねぎの水さらし時間と α -グルコシダーゼ阻害活性

平均値±標準偏差 (n=6)

a,b:異なる文字間で有意差あり ($p < 0.01$)

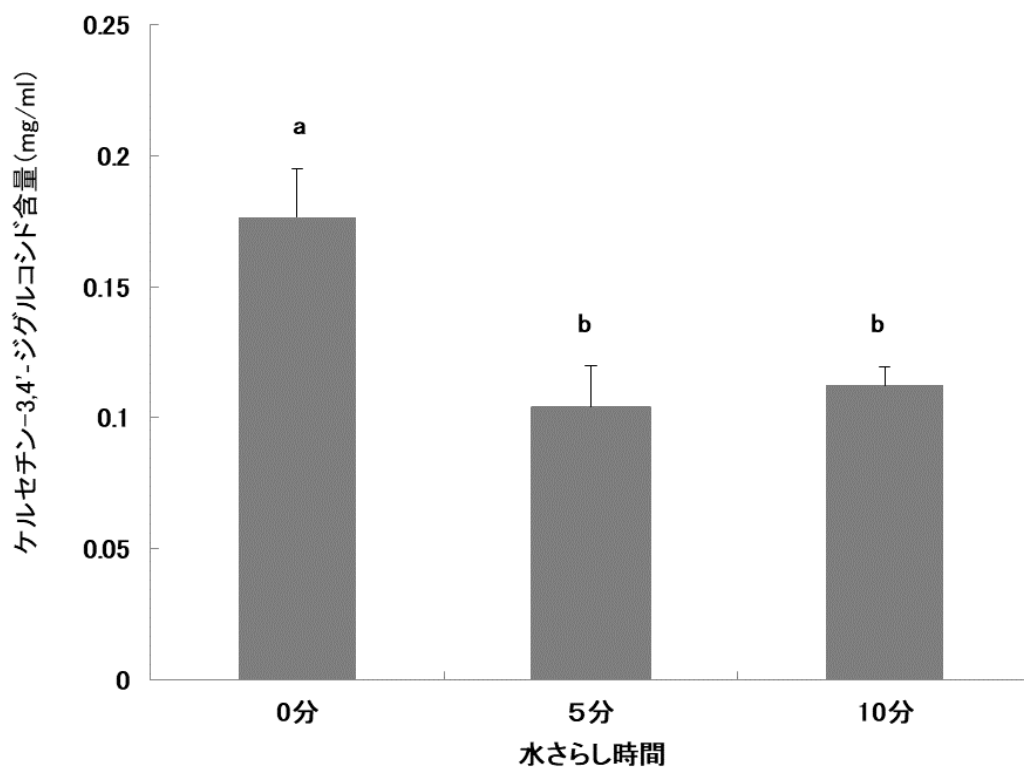


図 3-7 ゆめせんかタマネギの水さらし時間とケルセチン-3,4'-ジグルコシド含量
 平均値±標準偏差 (n=9)
 a,b:異なる文字間で有意差あり ($p < 0.01$)

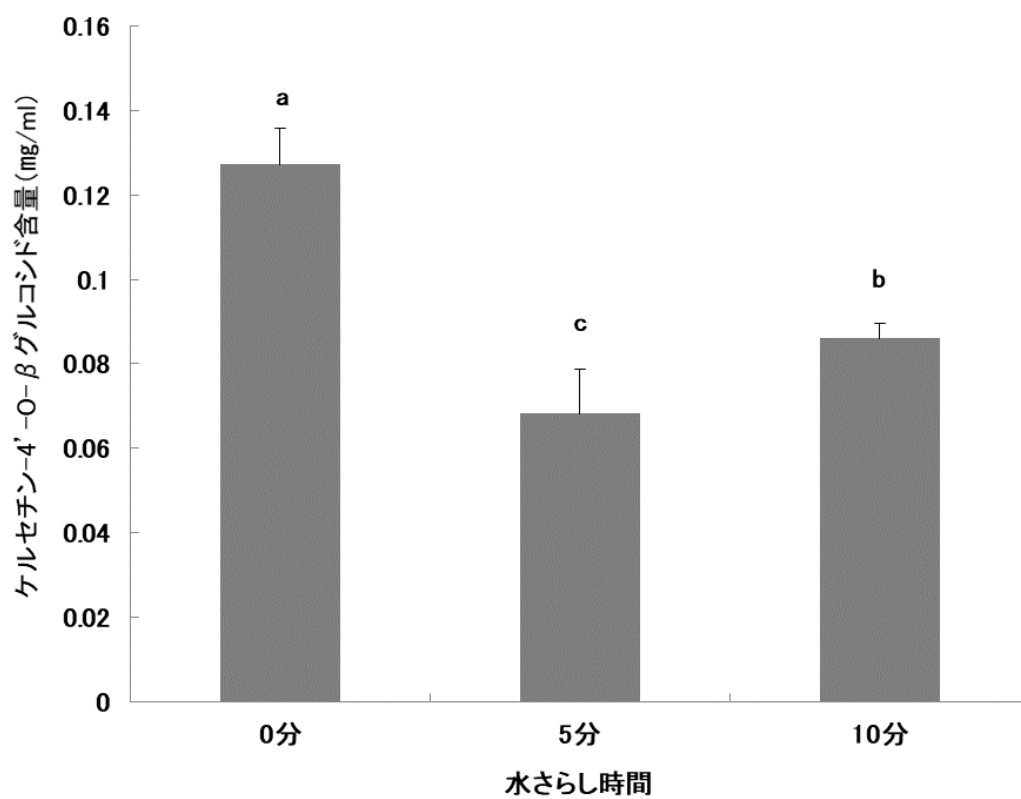


図 3-8 ゆめせんかタマネギの水さらし時間とケルセチン-4'-O-βグルコシド
 平均値±標準偏差 (n=9)
 a,b,c:異なる文字間で有意差あり ($p<0.01$)

第4章 総括

今回の研究では、北海道が主産地のダツタンソバとタマネギによる α -グルコシダーゼ活性阻害の検証と関与成分の解明を行った。我々の以前の研究結果により、ダツタンソバ生麺に α -グルコシダーゼ活性阻害作用が認められ²²⁾、ダツタンソバ中の2種のフラボノイド(ルチン、ケルセチン)が主たる関与成分であることが示唆されている²³⁾。そこで、今回の研究ではダツタンソバに含まれるルチン、ケルセチンの挙動と α -グルコシダーゼ活性阻害作用について検証すると共に、ダツタンソバ摂取によって食後の血糖上昇抑制効果が発現するかを確認した。タマネギについてもフラボノイドを関与成分とする α -グルコシダーゼ活性阻害作用を有する可能性が考えられる。ただし、タマネギの場合は生のまま食するケースと加熱などの調理を経て食するケースがある。調理によってタマネギ中のフラボノイド含量が減少する可能性があり、その減少量も調理手法の違いで異なることが考えられる。そこで、タマネギについては生のままおよび各調理操作とタマネギ中のフラボノイド含量の変化、 α -グルコシダーゼ阻害活性の強さについて検討した。

第2章では、ダツタンソバ茹麺の70%メタノール抽出乾固物に α -グルコシダーゼ阻害活性が確認され、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより分画した画分ではケルセチン、ルチンを多く含む画分に顕著な α -グルコシダーゼ阻害活性が認められた。本研究で試料としたダツタンソバ茹麺には、ルチナーゼの作用でルチンから生じたケルセチンが含まれていることから、抽出乾固物の α -グルコシダーゼ阻害活性にはルチン、ケルセチン両成分が関与すると推察された。2種のソバ茹麺(ダツタンソバ、普通ソバ)の摂食後の血糖値の変化の比較では、ダツタンソバ茹麺摂食による血糖上昇抑制作用が認められ、ダツタンソバ茹麺摂食40分経過後の血糖値が有意に低かった($p<0.05$)。その作用は、ルチン、ケルセチンによる消化管内における α -グルコシダーゼ阻害作用に起因し、摂食試料の糖質の消化、腸管からの吸収が阻害され、血糖値の上昇が抑制されたと推察される。糖尿病の発症や重篤化の予防には、食後の急激な血糖値の上昇を抑制することが重要とされている。ダツタンソバ茹麺には、その一助となる可能性が示唆された。

第3章では、タマネギの α -グルコシダーゼ阻害活性を指標とした血糖上昇抑制の可能性とその関与成分、および各種調理操作による影響について検証した。タマネギの70%エタノール抽出濃縮物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで分画した複数の画分で強い α -グルコシダーゼ阻害活性が確認された。特に阻害活性の強い画分をHPLC分析に供したところ、ケルセチン-3,4'-ジグルコシドおよびケルセチン-4'-O- β グルコシドの存在が確認

され、両物質が α -グルコシダーゼ阻害活性に関与していることが示唆された。また、各種調理操作のうち、水さらしでは操作 10 分経過までに α -グルコシダーゼ阻害活性と 2 種のケルセチン含量の有意な低下が確認された。その他の調理操作では、2 種のケルセチン含量および α -グルコシダーゼ阻害活性において有意な減少は認められなかった。タマネギの α -グルコシダーゼ阻害活性を指標とした血糖上昇抑制効果を期待すると、タマネギは水さらしをせず、電子レンジ加熱や炒め調理が望ましく、煮込み料理では煮汁ごと食べられるスープやシチューが望ましいと思われる。

以上の結果より、今回の研究で用いたダッタンソバとタマネギでは含有するフラボノイドによる α -グルコシダーゼ活性阻害作用によって食後の血糖上昇を抑制する可能性があることが示唆された。特にダッタンソバでは関与成分がケルセチンであることが示された。ルチンも関与成分として検出されたが、ルチンはケルセチンにルチノールが結合したものであり、ルチンの作用もルチン中のケルセチン構造の部分によるものと考えられる。タマネギについては 2 種のケルセチン配糖体(ケルセチン-3,4'-ジグルコシド、ケルセチン-4'-O- β グルコシド)の関与が示唆されたが、いずれもルチン同様にケルセチンが糖と結合したものであり、これらの作用発現部位もケルセチン構造の部分であると推察される。今後の課題として、ケルセチンのみを用いた場合の α -グルコシダーゼ阻害活性効果及び食後血糖上昇抑制効果について検討する必要があると思われる。

引用文献

- 1) 厚生労働省：健康日本 21(第三次)推進のための説明資料，令和 5 年 5 月
- 2) 厚生労働省：健康日本 21(第二次)最終報告書，厚生科学審議会地域保健健康増進栄養部会，健康日本 21(第二次)推進専門委員会，令和 4 年 10 月
- 3) 厚生労働省：令和元年国民健康・栄養調査
<https://www.mhlw.go.jp/content/001066903.pdf>(2023/12/15 アクセス)
- 4) 厚生労働省：平成 29 年患者調査
<https://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/kanja/17/dl/kanja.pdf>(2023/12/15 アクセス)
- 5) 厚生労働省：平成 26 年度患者調査
<https://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/kanja/14/dl/kanja.pdf>(2023/12/16 アクセス)
- 6) 日本糖尿病学会：糖尿病診療ガイドライン 2019，株式会社 南江堂，2019
- 7) 中川幸恵 ら：2 型糖尿病患者で観察される栄養指導効果に対する罹病期間並びに指導頻度の影響，糖尿病，57 (11)，813-819，2014
- 8) 山本壽一 ら：糖尿病教育後患者における食事療法妨害要因の解析—退院後のアドヒアランス追跡調査から—，糖尿病，43 (4)，293-299，2000
- 9) 藤井淳子 ら：糖尿病患者における特定保健用食品の利用と食事療法への効果，糖尿病，54 (11)，837-841，2011
- 10) 佐藤敏子：糖尿病学の進歩Ⅲ食事療法 特定保健用食品の意義と問題点，日本臨牀，66 (7)，183-187，2008
- 11) 山下滋雄，小田原雅人：健康食品の糖尿病治療への影響，プラクティス，20(4)，404-410，2003
- 12) 小内亨：健康食品を利用する患者への対処，日本病態栄養学会誌，9(2)，155-158，2006
- 13) 森本聡尚 ら：軽症 NIDDM 患者における小麦アルブミン長期摂取の効果と安全性，日本栄養・食糧学会誌，52(5)，293-300，1999
- 14) 讃井和子 ら：ラットにおけるショ糖の消化吸収及びエネルギー代謝に対する L-アラビノースの抑制作用，日本栄養・食糧学会誌，50(2)，133-137，1997
- 15) 井上修二 ら：ヒトにおけるショ糖含有食品摂取後の血糖上昇に及ぼす L-アラビノースの作用，日本栄養・食糧学会誌，53(6)，243-247，2000
- 16) 出口ヨリ子 ら：グアバ熱水抽出物の ab/ab マウスにおける抗糖尿病効果およびヒト

- 飲用試験による食後血糖値上昇抑制効果, 日本農芸化学会誌, 72(8), 923-931, 1998
- 17) Muraoka O *et al* : Quantitative analysis of neosalacinol and neokotalanol, another two potent α -glucosidase inhibitors from salacia species, by LC-MS with ion pair chromatography, Journal of Natural Medicines, 65 (1), 142-148, 2011
- 18) 小高裕之 ら : 二糖類水解酵素阻害剤 AO-128 ラットにおける食後高血糖抑制作用, 日本栄養・食糧学会誌, 45 (1), 27-31, 1992
- 19) 東敬子 ら : 野菜フラボノイドの生体利用性と抗酸化活性, ビタミン, 8 (8), 403-410, 2006
- 20) 斉藤邦雄 ら : 生コーヒー豆抽出物配合飲料のヒト血圧に及ぼす影響, 医学と薬学, 47, 67-74, 2002
- 21) 紙谷雄志 ら : 脱カフェインコーヒー豆抽出物の糖質分解酵素阻害活性とクロロゲン酸類の寄与, 日本食品科学工学誌, 56(6), 336-342, 2009
- 22) 田中洋子 ら : ダツタンソバ茹麺に含まれる α - グルコシダーゼ阻害成分について, 第 61 回日本栄養改善学会学術総会(横浜), 2014 年 8 月
- 23) 田中洋子 ら : ダツタンソバに含まれるルチン、ケルセチンの α - グルコシダーゼ阻害活性について, 第 12 回日本栄養改善学会北海道支部学術総会(札幌), 2014 年 12 月
- 24) 津志田藤二郎, 鈴木雅博 : タマネギに存在するフラボノイド配糖体の分析および化学合成による同定 野菜・果実のフラボノイドに関する研究 (第 1 報), 日本食品科学工学学会誌, 42(2), 100-108, 1995
- 25) 玉本雅子, 鶴飼光子 : 長時間炒めたタマネギの味、香り、遊離糖、色の変化, 日本家政学会誌, 54, 69-76, 2003
- 26) Takenaka M *et al* : Cooking loss of major onion antioxidants prepared in different ways, Food Science and Technology Research, 10(4), 2004
- 27) 西平順 : 「機能性をもつ農林水産物・食品開発プロジェクト」の成果 ダツタンソバ「満天きらり」と大豆「ななほまれ」の脂質代謝改善効果, JATAFF ジャーナル, 4 (12), 20-25, 2016
- 28) 草野毅徳 : ソバの科学 最近の動向, 食品工業, 38 (22), 23-30, 1995
- 29) 青柳康夫 : 植物成分ニコチアミンとその類縁体のアンジオテンシン-I 変換酵素阻害機能, 日本食生活学会, 18 (1), 15-18, 2007
- 30) 藍谷教夫 ら : 月見草エキスの血糖値上昇抑制作用とその関与成分, 日本食品科学工

学会誌, 50(4), 180-187, 2003

- 31) 農林水産省：「だったんそばの農産物検査規格の設定について」, 平成 24 年 2 月
- 32) Lee CC *et al* : Antioxidation and antiglycation of fagopyrum tataricum ethanol extract, *Journal of Food Science & Technology*, 52 (2), 1110-1116, 2015
- 33) 大坪雅史 ら： α -グルコシダーゼ阻害効果を賞味期限内維持するダツタンソバ生麵の開発, 北海道道立工業技術センター研究報告, 8, 52-56, 2004
- 34) 金澤康子, 荒川義人：ダツタンソバの機能性食品素材としての可能性に関する研究 平成 13 年度 (No.7) 調査・研究報告, 財団法人北海道食品科学技術振興財団, 21-32, 2001
- 35) 鳥海滋 ら：ダツタンソバの α -グルコシダーゼ活性阻害効果の測定法, 独立行政法人産業技術総合研究所 食品健康産業分科会 食品機能成分分析研究会 食品中の健康機能性成分の分析法マニュアル. 2011 ; 1-5
- 36) 岩淵絵里子, 荒川義人：たまねぎの抗酸化活性に関する研究, 天使大学紀要, 4, 21-25, 2004
- 37) 鳥海滋 ら：ダツタンソバ生麵に含まれるケルセチンは α -グルコシターゼ阻害活性を有する, 第 7 回日本栄養改善学会北海道支部学術総会, 2008.
- 38) 佐藤博二 ら：だったんそば (*Fagopyrum tataricum* Gartner) 種子のフラボノイド, 日本農芸化学会誌, 54 (4), 275-277, 1980
- 39) Solomon H : α -Glucosidase inhibitory activity of kaempferol-3-O-rutinoside, *Natural Product Communications*, 6(2), 201-203, 2011
- 40) Xi P *et al* : Inhibitory kinetics and mechanism of kaempferol on α -glucosidase, *Food Chemistry*, 190 (1), 207-215, 2016
- 41) Msauko K *et al* : Dietary quercetin alleviates diabetic symptoms and reduces streptozotocin-induced disturbance of hepatic gene expression in mice, *Mol Nutr Food Research*, 53, 859-865, 2009
- 42) Paul K *et al* : Flavonoid intake and risk of chronic diseases, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 76, 560-868, 2002
- 43) Ju Q *et al* : Dietary tartary buckwheat intake attenuates insulin resistance and improves lipid profiles in patients with type 2 diabetes:a randomized controlled trial, *Nutrition Research*, 36 (12), 1392-1401, 2016

- 44) Wu H, Xu B : Inhibitory effects of onion against α -glucosidase activity and its correlation with phenolic antioxidants, *International Journal of Food Properties*, 17(1-3), 599-609, 2014
- 45) 農林水産省：作物統計調査 令和3年産野菜生産出荷統計, 2022.12.20
- 46) 岡本大作：高機能性タマネギ「さらさらレッド」開発と特産化への取り組み, *食品と開発*, 45(3), 2-4, 2010
- 47) 柳田大介 ら：タマネギ新品種「ゆめせんか」の育成, *北海道立総合研究機構農試集報*, 102, 29-40, 2018
- 48) 室崇人 ら：細断抽出によるタマネギケルセチン配糖体含量の簡易評価法, *北海道農業研究センター研究報告*, 189, 1-8, 2008
- 49) 大池奈津希, 川俣幸一：果実ポリフェノール量および抗酸化活性への電子レンジ加熱, 湯煮加熱 (ブランチング) の影響, *栄養学雑誌*, 70(3), 207-212, 2012
- 50) 玉木雅子 ら：北海道産タマネギの品質と調理加工特性, *日本食品保蔵科学会誌*, 28(6), 2002
- 51) Ioku K *et al*: Various cooking methods and the flavonoid content in onion, *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 47(1), 78-83, 2001

謝辞

本研究の計画から論文に至るまで丁寧にご指導、ご教示をいただきました指導教員の西隆司准教授、博士前期課程から長きにわたりご指導、ご教授いただきました荒川義人元天使大学教授（現札幌保健医療大学客員教授）に心から感謝いたします。また、副査をお引き受け頂いた志賀一希准教授にお礼申し上げます。

本研究のダッタンソバの α -グルコシダーゼ阻害活性に関する研究では、北海道立工業技術センター研究開発部の大坪雅史様、鳥海滋様、(有)大中山ふでむらの筆村千恵子様、札幌保健医療大学助教の米田実央先生、本学客員教授の大久保岩男先生には共同研究者としてご指導、ご教示いただき感謝申し上げます。また、タマネギの α -グルコシダーゼ阻害活性に関する研究では、光塩学園女子短期助教の木野村美花先生、札幌保健医療大学講師の渡辺いつみ先生にご協力いただき感謝いたします。

最後に長い間研究をあたたく見守ってくれていた家族、職場すべての皆様に感謝申し上げます。

研究業績にかかわる資料

1 田中洋子 米田実央 鳥海滋 大坪雅史 筆村千恵子 大久保岩男 西隆司

荒川義人：ダッタンソバ茹麺の血糖上昇抑制作用とその関与成分，日本補完代替医療学会誌，18（1），2021