# α-グルコシダーゼ阻害効果を賞味期限内維持する ダッタンソバ生麺の開発

大坪雅史,筆村千恵子\*,荒川義人\*\*,剣持美帆, 清水健志,青木 央,宮崎俊一

# Development of Tartary Buckwheat Raw Noodles Containing Stable Inhibitory Effect of α-Glucosidase for A Term of Validity

Masashi Ootsubo, Chieko Fudemura\*, Yoshito Arakawa\*\*, Miho Kenmotsu, Takeshi Shimizu, Hiroshi Aoki and Syun-ichi Miyazaki

# 要旨

 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害効果を、冷蔵で14日間の賞味期限において維持するダッタンソバ生麺を開発した。ダッタンソバ生麺を、 $10^{\circ}$ で18日間保存した結果、 $\alpha$ -グルコシターゼ阻害効果は、期間中、開始時とほぼ同じレベルを維持し、茹麺に調製した場合でも、その効果の9割が麺中に保持された。ルチン含量は保存開始時で31 mg/100 gだったが、時間とともに次第に減少した。一方、ケルセチン含量は255 mg/100 gから保存中大きな変化は無かった。このダッタンソバ生麺はルチンの保健効果を期待できないが、ケルセチンの効果が期待でき、その効果のひとつに、 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害効果があると考える。

## 1. はじめに

ソバはタデ科に属する一年草の草本植物で,現在世界中で栽培されているソバは,ダッタンソバ(Fagopyrum tataricum),普通ソバ(F. esculentum)の 2 種類である $^{1)-3}$ )。わが国で栽培されているほとんどが普通ソバで,ダッタンソバは苦味を有していることから苦そばとよばれ国内ではあまり食されて無かった $^{2)-3}$ )。ダッタンソバは,高血圧症予防,酸化防止予防等に効果のあるルチンを普通ソバより多く含み $^{1)-3}$ ),近年,中国の学会ではダッタンソバの食効として糖尿病,高血圧症など,いわゆる生活習慣病の改善を認める報告がある $^{2)-5}$ )。これを契機に,ダッタンソバの保健

効果が期待され、ダッタンソバを利用した食品開発が図られ、乾麺、パン、アイスクリームなどの製品が販売されるようになった $^{6}$  。しかしながら、ダッタンソバはルチン分解酵素活性が高く、ダッタンソバに含まれるルチンは加水すると急速に分解されケルセチンに変化する $^{2}$   $^{2}$   $^{1}$   $^{1}$   $^{1}$   $^{2}$   $^{3}$  。ルチン分解酵素(ルチナーゼ)の失活処理を施さないダッタンソバを用いた加工食品では、ルチンの保健効果は期待できない。そこで、ルチンの分解を防ぐためのルチナーゼの失活方法が検討されている $^{2}$   $^{1}$   $^{1}$   $^{1}$   $^{2}$   $^{3}$  。

荒川らは、ダッタンソバの保健効果について乾 麺を用いて試験した結果、ダッタンソバの摂食は、

<sup>\*(</sup>有)大中山ふでむら

<sup>\*\*</sup>天使大学看護栄養学部

米飯の摂食の場合よりも血糖値の上昇が抑えられることを明らかにした $^4$ )。このことは、ダッタンソバの糖尿病予防効果が期待されるものである。糖尿病発症の一次予防には、食後血糖値の上昇を正常化することが重要で、臨床的にも食後の急激な血糖値の上昇を抑制する薬剤( $\alpha$ -グルコシダーゼ阳害剤)の有用性が知られている $^{10,11}$ 。

そこで、本研究では、ダッタンソバの保健効果として $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害効果に注目し、賞味期限内において $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害効果を安定して維持するダッタンソバ生麺の開発を行うとともに、その効果に寄与するダッタンソバ生麺中の成分について検討した。

# 2. 材料と方法

#### 2.1 ダッタンソバ生麺

供試したダッタンソバ生麺は、我々がこれまでに開発した非加熱の生そばで、原料をダッタンソバそば粉、小麦粉、小麦タンパク、食塩とし(保存料無添加)、水分活性0.94、脱酸素剤含有包装の状態において冷蔵下での可食可能期間は18日であるが、安全率を0.8としたことから、賞味期間を14日間と設定したものである。

## 2.2 ダッタンソバ茹麺の調製

ダッタンソバ生麺を10倍量の沸騰水中で、茹でた(2分30秒)後、ざるで湯きりして、茹麺とした。

#### 2.3 α-グルコシターゼ粗酵素液の調整

ラット腸管アセトンパウダー(シグマ社)1gを 0.1Mリン酸緩衝液(pH 7.0)10mlに添加し、氷冷しながら、超音波処理(sonifier 250 、Branson sonic power company社、使用チップ:micro ti p、運転条件:duty cycle 50% 60sec)した後、遠心分離(3000rpm×10min)し、得られた上清を粗酵素液(100mg/ml)とした。同酵素はマイクロチューブに分注後−70℃で保存し、使用毎に解凍して用いた。

# 2.4 ダッタンソバの麺のメタノール抽出液調製 ダッタンソバの麺(牛麺または茄麺)を凍結乾

ダッタンソバの麺(生麺または茹麺)を凍結乾燥させ粉砕し、そのうち30gに、70%メタノールを加え、ホモジナイザーで懸濁し、同溶媒で100m

1に定容した。懸濁液を遠心分離し(10000rpm×10分),その上清を濾紙でろ過後,メタノール抽出液とした。

### 2.5 α-グルコシターゼ阻害効果

試験管にダッタンソバの麺のメタノール抽出液 を加え  $(0\sim500\,\mu\,1)$ , これに70%メタノールを前 記メタノール抽出液添加量を含めて合計500μ1に なるように加えた。次に250mMマルトース2ml, 蒸 留水2.4m1を添加し、37℃で5分保温後、粗酵素液 (100mg/m1) を100 µ1添加し40分間保温した。そ の後, 反応停止液(0.2M炭酸Na)を5m1添加して, これらを試験区とした。一方, 上記試験において, 酵素の添加時期を変え、37℃にて40分保温後、す なわち反応停止液(0.2M炭酸Na)の添加直前に粗 酵素液を添加し、これを空試験区とした。また、 試験区においてダッタン生そばメタノール抽出液 を添加せず、代わりに70%メタノール $500 \mu 1$ 添加 したものを対照区とした。次に試験区、空試験区 及び対照区のグルコース量をグルコースCⅡ-テス トワコー(和光純薬)を用いて測定した。 α-グ ルコシターゼ活性阻害効果は次式により求めた。  $\alpha$ -グルコシターゼ阻害効果(%) = 100- (試 験区生成グルコース量―空試験区生成グルコース 量) / 対照区生成グルコース量×100

# 2.6 ダッタンソバ生麺のα-グルコシターゼ阻害 効果の経時変化

ダッタンソバ生麺を、10℃にて保存した。1, 3, 5, 15, 18日目の各保存生麺をそのまま、あるいは茹麺に調製後、それぞれの麺を凍結乾燥してメタノール抽出液を調製した。各抽出液 $100 \mu 1$ を用い、 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害効果(%)を求めた。

#### 2.7 ダッタンソバ茹麺の固形分重量回収率

一定量のダッタンソバの生麺から茹麺を調製し、両者の重量並びに水分含量(135℃常圧加熱乾燥法)を測定して、それぞれの固形分重量を求め、ダッタンソバ生麺から茹麺を調製した際における、ダッタンソバ茹麺の固形分重量回収率(%)を次式により求めた。

ダッタンソバ茹麺の固形分重量回収率(%)= ダッタンソバ茹麺固形分重量 / ダッタンソバ生 麺固形分重量×100

# 2.8 ルチン及びケルセチンの定量

ダッタンソバ生麺を細切りし、そのうち5gを精秤(湿重量)し、メタノール25mlを加え、80℃の還流条件下で1時間抽出した。抽出液を冷却し、残渣をメタノールで洗浄して50mlに定容した。これを $0.45\,\mu$ mフィルターで濾過し、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)に供してルチン及びケルセチンを定量した。HPLCの条件は次のとおりとした。使用カラム; Inertsil ODS-3(4.6mm×250mm)、移動相; 2.5%酢酸:メタノール:アセトニトリル(50:30:20; V/V)、カラム温度; 20℃、検出; UV検出器(測定波長350nm)、流速; 1.0ml/min。

### 3. 結果

# $3.1 \ \textit{y}$ ッタンソバの生麺の $\alpha$ - グルコシターゼ阻 害効果

ダッタンソバ生麺の凍結乾燥物のメタノール抽出液を試料に用い、ダッタンソバと $\alpha$ -グルコシターゼ阻害効果の関係について試験した(図1)。ダッタンソバ生麺乾物に $\alpha$ -グルコシターゼ阻害効果が認められ、両者には高い相関があり( $R^2$ =0.9404)、 $\alpha$ -グルコシターゼ阻害効果は、生麺乾物重量に依存して、直線的に増加した。

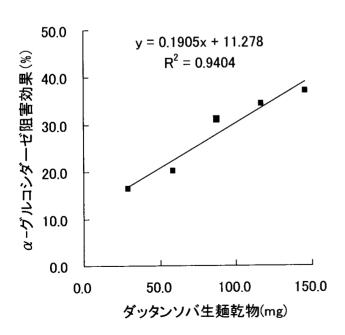
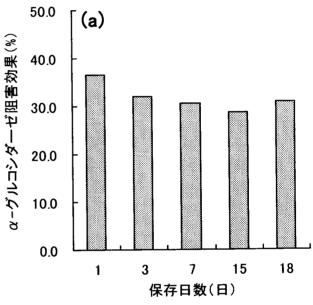
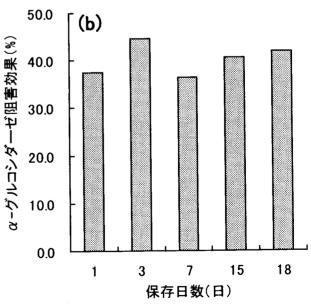


図 1 ダッタンソバ生麺乾物の $\alpha$  – グルコシダーゼ 阻害効果へのドーズレスポンス

# 3.2 ダッタンソバの生麺の α-グルコシターゼ阻 害効果の経時変化

ダッタンソバ生麺の賞味期間中の $\alpha$ -グルコシターゼ阻害効果を検討した。生麺を $10^{\circ}$ C保存後,生麺そのままの状態で,あるいは茹麺に調製した状態で,それぞれの $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害効果を測定した。生麺の状態での $\alpha$ -グルコシターゼ阻害効果は(図2),1日目36.6%であったが,時間の経過とともにわずかに低下する傾向がみられ,18日目では,31.0%であった。一方,茹麺の状態の場合は(図2),1日目37.5%であったが,その後ばらつきがみられたものの大きな変化は無く,18日目では41.8%だった。





- (a)保存した生麺について測定した
- (b)保存した生麺から調製した茹麺について測定した

# 3.3 ダッタンソバ生麺から茹麺への調製前後における固形分含量の変化

ダッタンソバの生麺から茹麺への調製の際の,それぞれの固形分含量及び茹麺の固形分回収率を求めた。その結果(表1),ダッタンソバ生麺の固形分含量は70.6%であったが,茹麺では30%前後だった。ダッタンソバ茹麺の固形分回収率は約90%だった。

表 1 ダッタンソバ生麺から茹麺への調製前後における 固形分含量の変化

生麺の 固形分含量(%)	茹麺の 固形分含量(%)	茹麺の 固形分回収率(%)

<sup>\*</sup> 数値は平均値±SD (n=3)。

# 3.4 ダッタンソバ生麺の保存中のルチン及びケルセチン含量の経時変化

ダッタンソバ生麺の $10^{\circ}$ Cでの保存期間中におけるルチン及びケルセチンの含量変化を測定した(図3)。保存1日目では低含量のルチン(31mg/100g)と高含量のケルセチン(255mg/100g)の存在が確認された。ルチンは、その後時間の経過とともに減少する傾向が認められたが、ケルセチンは3日後で355mg/100gと高い値であったが、その後は1日目と大きく変わらなかった。

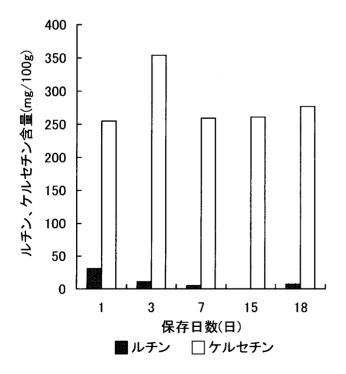


図3 ダッタンソバ生麺の保存期間における ルチン、およびケルセチン含量の変化

## 4. 考察

本研究では、冷蔵で賞味期限を14日間とするダッタンソバ生麺について、保健効果として $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害効果に注目し、賞味期間中におけるその効果の安定性並びにその効果に寄与する成分について検討した。

ダッタンソバ生麺の $\alpha$ -グルコシターゼ阻害効果は、生麺乾物量の増加に伴い直線的に増加した(図1)。このことから、ダッタンソバ生麺の $\alpha$ -グルコシターゼ阻害効果に関与する成分はダッタンソバ生麺の70%メタノールで抽出される固形分中に存在し、その阻害効果は固形分重量に比例的であると推定された。しかし、ダッタンソバ生麺乾物からの水による抽出液の場合、その $\alpha$ -グルコシターゼ阻害効果は、70%メタノールよりも非常に低く(データ示さず)、ダッタンソバ生麺の $\alpha$ -グルコシターゼ阻害効果の成分はメタノールの方が、水よりも抽出効率が高いのであろう。

ダッタンソバ生麺を18日間、10℃で保存し、生 麺中のα-グルコシダーゼ阳害効果の経時変化に ついて, 生麺の状態, またはヒトが摂食する場合 である茹麺に調製した状態から試験した(図2)。 その結果,いずれの状態でもα-グルコシターゼ 阻害効果は認められ、保存18日後において、生麺 では開始時よりわずかに低くなったものの、茹麺 では開始時よりも幾分高くなった。両者の値の違 いは、測定値のばらつきによるもので、実際は、 大きな違いは無く,いずれもα-グルコシターゼ 阻害効果は10℃で18日間30%台を維持すると推定 された。一方、生麺から茹麺を調製した場合、ダッ タンソバ生麺の固形分が茹汁中へ流出し、それに 伴い、 $\alpha$ -グルコシターゼ阻害効果に関与する成 分量が麺から損失することが懸念される。そこで, 生麺から茹麺の調製におけるダッタンソバ麺の固 形分量の変化について検討した結果(表1). 茹麺 の固形分回収率は87%だった。したがって、茹麺 の調製時に行う茹作業によって、ダッタンソバ生 麺の固形分量の約1割が茹汁に流出し、9割が麺中 に保持されたことになる。このとき、ダッタンソ バ生麺の α-グルコシターゼ阻害効果を有する成 分も同様に, 茹汁に流出するが, その損失量は小 さく、大きな問題ではないと推定された。

ダッタンソバは、ルチン含量が普通ソバに比べて極めて高(1)3)、その保健効果が期待されて

いるが、一方でダッタンソバにはルチン分解酵素が存在し、ダッタンソバそば粉に水が添加されると、容易にケルセチンへの分解が進むことも明らかになっている20-40-70-90。本ダッタンソバ生麺の保存期間中に両物質の含量変化を測定した結果からも(図3)、この現象の生じていることが推定された。すなわち、保存開始時点でダッタンソバ生麺は、ルチン含量は少なく、その後減少していったが、一方、ダッタンソバそば粉には本来ほとんど含まれないケルセチンがルチン含量の8倍以上多く含まれている。しかも保存中、その含量はほぼ安定している。このことから、本ダッタンソバ生麺は、ルチンの保健効果は期待しにくいが、ケルセチンの供給源となり、その保健効果が期待できると考える。

植物中に含まれる $\alpha$ -グルコシターゼ阻害効果を有する成分について幾つか報告があり、ポリフェノールやフラボノイド類が注目されている。例えば月見草ェタノール抽出物中のポリフェノールに $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害効果並びにラットにおける血糖値上昇抑制効果が認められた $^{10}$ 。また、杜仲茶のメタノール抽出物のうちケルセチンは最も $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害効果が高く、かつ、収量も多いことが報告されている $^{12}$ 。これらのことを総合的に考察すると、本開発ダッタンソバ生麺の $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害効果にケルセチンが大きく関与すると推察される。

以上の結果から,我々は, $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害効果を,冷蔵で14日間の賞味期限迄維持するダッタンソバ生麺の開発を目的としたが,それを達成できた。ダッタンソバ生麺を, $10^{\circ}$ Cにて18日間保存した結果, $\alpha$ -グルコシターゼ阻害効果は,期間中,開始時とほぼ同じレベルを維持し,茹麺に調製した場合でも,その効果の9割が麺中に保持されたのである。ルチン含量は保存開始時点で低く,時間とともに次第に減少した。一方,ケルセチンはルチン含量の8倍以上含まれ,保存中ほぼ同じレベルを維持した。このダッタンソバ生麺はルチンの保健効果を期待しにくいが,ケルセチンの効果が期待でき,その効果のひとつとして, $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害効果があると推定された。

- 1) 松本憲一: 食品工業, 43巻, 6号(2000), P25 ~30
- 2) 安田俊隆: パン科学会誌, 46巻, 9/10号(200 0), P18~23
- 3) 有田俊幸,沼田邦雄,齋尾恭子:東京都立食 品技術センター研究報告7号(1998), P1~6
- 4)金澤康子,荒川義人:平成13年度(No.7)調查·研究報告,(財団法人北海道食品科学技術新興財団),(2001)P21~32
- 5) 草野毅徳: 食品工業, 38巻, 22号(1995), P2 3~30
- 6) 有田俊幸: 食品と科学, 40巻, 10号(1998), P86~91
- 7) 安田俊隆,正木和好,柏木隆史:日本食品工 業学会誌,39巻,11号(1992),P994~1000
- 8) 小原忠彦,大日方洋,松村信之,大池瑛威, 松橋鉄冶朗:日本食品工業学会誌,36巻,2 号(1989), P121~126
- 9) 川上昇, 茅原紘, 氏原暉男: 日本食品科学工 学会誌, 42巻, 11号(1995), P892~898
- 10) 藍谷教夫,木村弘之,阿比留康弘,曽山裕子,村上裕子,張彗利,杉下朋子,小西陽太郎:日本食品科学工学会誌50巻,4号(2003),P180~187
- 11) 池田義雄: 糖尿病の薬物療法, (株式会社 日本メディカルセンター), (1996) P52~75
- 12) J. Watanabe, J. Kawabata, R. Niki, H. Kurihara: Biosci. Biotechnol. Biochem. Vol. 61, No.1 (1997)P177~178