

## 小麦由来機能性成分の新規利用技術の開発

樋口誠一\* 高橋学\* 山路明俊\*\*

### Utilization of the Functional Constituents from Wheat

HIGUCHI Seiichi\*, TAKAHASHI Manabu\*, YAMAJI Akitoshi\*\*

#### 抄録

小麦ふすまの機能性成分としてフィチン酸に注目し、有機酸による抽出を試みた。その結果、フィチン酸を約15%含む抽出物が得られた。また、この抽出物はビタミンB<sub>1</sub>及びB<sub>2</sub>、ミネラル分を豊富に含むことが確認された。さらに、この抽出物には脂質に対する抗酸化性やポリフェノールオキシダーゼの阻害といった食品保存に係る有用な効果が認められた。

キーワード：小麦ふすま，フィチン酸，抗酸化活性，ポリフェノールオキシダーゼ，酵素阻害

#### 1 はじめに

埼玉県は全国有数の小麦の産地であり、生麺類をはじめとする各種の小麦粉製品は、本県を特徴づける食品の一つになっている。この小麦粉の製造工程において、副産物である小麦ふすまが大量に発生する。

小麦ふすまは、その大半が家畜の飼料として利用されているのが現状であるが、国内の飼料の需要が伸び悩んでいることや、食品リサイクル法の実施に伴い、他の食品残渣の飼料化が行われることなどから、今後は小麦ふすまの飼料としての需要が低下し、その価格が下落することも考えられる。そのため、飼料用以外での小麦ふすまの有効利用が重要な課題となっている。

小麦ふすまは、製粉後に残った外皮と胚芽、胚乳の一部が混ざったもので、製粉時に30%ほど発生する。その成分としては食物繊維が多いが、その他に穀類や豆類に多く含まれているフィチン酸（myo-イノシトール6リン酸）、フェルラ酸など

のポリフェノール類、ビタミンB群、ビタミンE、さらにはミネラル分などが豊富に含まれる。そこで、これらの中でフィチン酸に注目した。

これまで、フィチン酸は金属キレート作用を持つことから、ミネラルの吸収を妨げる抗栄養素因子として認識されてきた<sup>1)</sup>。しかし、一方で生理的濃度ではミネラル吸収の阻害はなく<sup>2)</sup>、逆に腸管内でミネラルを吸収しやすくしているのではないとも言われている<sup>3)</sup>。

また、近年、抗癌作用<sup>4)</sup>、抗脂肪肝作用<sup>5)</sup>、抗酸化作用<sup>6)</sup>などの様々な機能性が見いだされてきている。さらに、酸味料やpH調整剤などの食品添加物としても認可されており、変色防止、保存剤など様々な用途で用いられている<sup>6)</sup>。これらの多くは米やトウモロコシを原料として作られているが、小麦由来フィチン酸は有効に利用されていない。

そこで、小麦ふすま由来の食品素材の開発を目的に、フィチン酸を中心とする機能性成分の抽出方法について検討を行った。また、得られた小麦ふすま抽出物の抗酸化性と、食品の褐変を引き起こす要因の一つであるポリフェノールオキシダー

\* 北部研究所 生物工学部

\*\* 株式会社品質安全研究センター

ぜに対する阻害作用について評価を行った。

## 2 実験方法

### 2.1 供試試料

県内製粉会社において得られた埼玉県産農林61号の小麦ふすまを試験に使用した。なお、供試小麦ふすまの成分は表1に示すとおりである。試料の水分、灰分、タンパク質、脂質、食物繊維、ビタミンB<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>含量は常法<sup>7)</sup>に従い測定した。また、でんぷん量の測定は酵素法<sup>8)</sup>により行った。

表1 供試小麦ふすまの成分

成分	(%)	値
水分	(%)	11.6
タンパク質		12.8
脂質		3.7
デンプン		7.9
食物繊維 (水溶性)		2.5
食物繊維 (不溶性)		27.9
灰分		4.3

### 2.2 フィチン酸の定量

フィチン酸量の定量はWade法<sup>9)</sup>により行った。試料に100倍量の2.4%塩酸を加えて、1時間室温にて攪拌後、この溶液をろ過した。適当に希釈したろ液3mLをとり、Wade試薬(0.3% (w/v)スルホサリチル酸を含む0.03% (w/v)塩化第二鉄水溶液)1mLを添加した。沈殿が生じた場合は遠心分離により除去し、500nmにおける吸光度を測定した。なお標準はフィチン酸ナトリウム(シグマ社製)を用いた。

### 2.3 小麦ふすま成分の抽出法

小麦ふすま成分の抽出溶媒として、クエン酸、乳酸、コハク酸、DL-リンゴ酸、DL-酒石酸、アジピン酸を用いた。

抽出は以下のとおり行った。家庭用小型ミキサーにより粉碎した農林61号のふすまに5倍量のヘキサンを加え、1時間攪拌し、ろ紙にてろ過した。残渣を室温にて風乾した後、135℃で2時間加熱し家庭用小型ミキサーにより再度粉碎した。この前処理ふすまに30倍量の各有機酸水溶液を加え、室温にて1時間攪拌抽出した。この抽出液をろ紙でろ過し、フィチン酸含量を測定し

た。得られたろ液を減圧濃縮後、凍結乾燥を行い最終的な小麦ふすま抽出物を得た。

### 2.4 ミネラル含量の測定

小麦ふすま抽出物を純水に溶解し、ICP発光分析装置(日立製作所製、P-4010)を用いて測定した。

### 2.5 抗酸化活性の測定

抗酸化活性はβカロテン退色法<sup>10)</sup>により行った。まず、リノール酸溶液(0.1g/mLクロロホルム)0.1mL、βカロテン溶液(1mg/mLクロロホルム)0.25mL、ツイーン40溶液(0.2g/mLクロロホルム)0.5mLをフラスコにとり、クロロホルムを留去した後、水45mL及び0.2Mリン酸緩衝液(pH6.8)5mLを加えてエマルジョン溶液を調製した。小麦ふすま抽出物について、所定濃度の水溶液を調製し、抗酸化活性の測定を行った。この測定溶液100μLを試験管にとり、次いでエマルジョン溶液4.9mLを加え、50℃の水浴中に静置し、470nmにおける吸光度を経時的に測定した。試料溶液として蒸留水を加えた場合をコントロールとして、抗酸化活性を以下のとおり算出した。

$$\text{抗酸化活性} = \frac{(A_{S(120)} - A_{C(120)})}{(A_{C(0)} - A_{C(120)})} \times 100$$

A<sub>S(120)</sub>: 120分後における試料溶液の吸光度

A<sub>C(0)</sub>, A<sub>C(120)</sub>: 開始時又は120分後におけるコントロールの吸光度

### 2.6 ポリフェノールオキシダーゼ阻害活性の測定

既報<sup>11)</sup>に準じて10mMカテコール溶液を基質溶液に使用して測定を行った。すなわち、30℃に加温しておいた基質溶液2mLに試料溶液1mL及びシュンギクのポリフェノールオキシダーゼ粗酵素液200μLを加え、添加1分後から2分後までの1分間の吸光度変化を測定し、この吸光度変化を酵素活性とした。なお、試料溶液には、小麦ふすま抽出物を所定濃度に調製した水溶液を用い、蒸留水を加えた場合との比較により酵素阻害率を求めた。

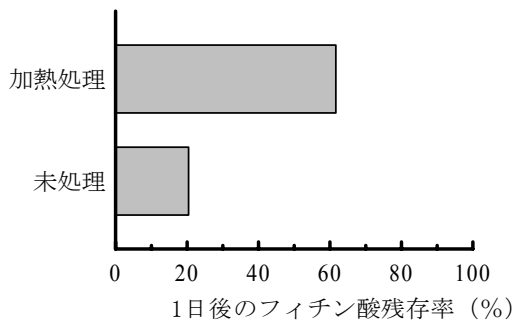


図1 抽出液の安定性

加熱処理条件：135℃2時間

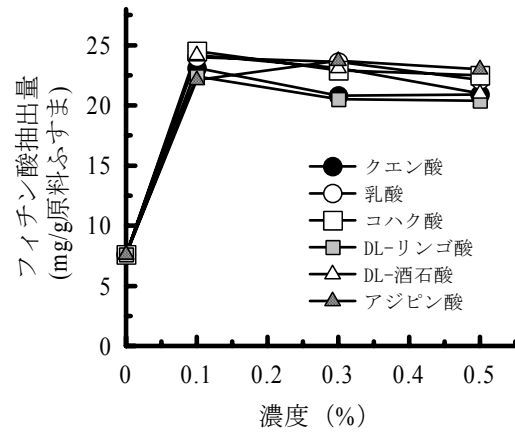


図2 有機酸によるフィチン酸の抽出

### 3 結果及び考察

#### 3.1 フィチン酸の抽出検討

小麦ふすま中のフィチン酸の効率的な抽出のために、前処理として加熱処理を行った。加熱の有無によるフィチン酸の抽出液中での安定性を比較したところ、抽出直後ではフィチン酸含量にほとんど差は認められないものの、抽出1日後では図1に示すとおり、加熱処理したものと比較して未処理のものでフィチン酸含量が大幅に減少していた。ふすまにはフィチン酸のリン酸基を加水分解するフィターゼが存在するが、これが抽出、濃縮中に働き、フィチン酸抽出量を低下させてしまうことが考えられた。加熱処理によるフィターゼの失活により、フィチン酸の分解を防ぎ、抽出量を増加させることができるものと考えられた。

次に、小麦ふすま中のフィチン酸の抽出溶媒として、食品としての利用を念頭に置き、食品添加物リストに掲載されている有機酸について検討した。その結果、図2に示すとおり、水抽出の場合でのフィチン酸抽出量は原料ふすま 1g あたり 7.6 mg であったが、いずれの有機酸を使用した場合においても、0.1%というごく薄い濃度で、フィチン酸抽出量は約 22~25 mg と高くなった。

しかし、0.5%まで有機酸の濃度を上げたが、

フィチン酸抽出量はほとんど変化しなかった。この傾向はいずれの酸でも同様であり、抽出量にもほとんど差が認められなかった。

以上検討の結果、抽出溶媒として、検討を行った有機酸のいずれを用いてもフィチン酸の抽出には問題ないことがわかった。しかし、これらの有機酸の中にはフィチン酸の定量を妨害するものも認められたため、これ以降は、定量妨害のないコハク酸を用い、濃度 0.1%で抽出を行った。

#### 3.2 小麦ふすま抽出物の性質

小麦ふすま抽出物の抽出結果を表2に示す。フィチン酸は 147.2 mg/g (抽出物中約 15%) であり、収率は 53.7%であった。収率は原料ふすま中のフィチン酸を 2.4% 塩酸で抽出したときの定量値をベースに計算された値である。

0.1% コハク酸で抽出した場合のフィチン酸抽出量が原料ふすま 1 g あたり 24.5 mg、つまり 2.4% 塩酸で抽出した場合の約 50%の抽出量であることを考慮するとほぼ理論値であり、抽出途中における分解等は無かったと言える。

また、水系溶媒による抽出物においては、主に胚芽あるいはふすま中に分布している水溶性ビタミン類も利用できると考えられたので、ビタミン

表2 小麦ふすまからの機能性成分の抽出

	収率	フィチン酸		ビタミンB <sub>1</sub>		ビタミンB <sub>2</sub>	
		mg/g	%	mg/100g	%	mg/100g	%
原料ふすま	—	47.1	—	0.87	—	0.14	—
抽出物	17.2	147.2	(53.7)	3.71	(73.4)	0.48	(58.4)

( ) 内は前処理ふすま中含量に対する収率を表す。

表3 小麦ふすま抽出物のミネラル分

	抽出物 国産玄穀*	
	mg/100g	
Na	74	2
K	5732	470
Mn	51	3.9
Fe	5	3.2
Ca	246	26
Mg	1759	80
Zn	27	2.6
P	4600	350

\*五訂増補日本食品標準成分表

B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>について評価したところ、それぞれ収率73.4、58.4%であった。これらは熱や光にやや弱い性質があることから、前処理、抽出処理中にやや損失していると考えられるものの、ビタミン豊富と言われる小麦胚芽や玄米などの穀類加工品と比較しても多く含まれていることが認められた。

本研究で得られた小麦ふすま抽出物は淡褐色の粉末で、でんぷん量は2.2%と低い、タンパク質含量は12.8%と比較的多かった。また、特徴的なのは灰分の20.5%であり、ふすま中の無機成分が濃縮されたものと考えられた。そこで、無機元素について分析したところ、表3に示すとおり、五訂増補日本食品標準成分表の国産小麦玄穀と比較して、ミネラル分が大きく濃縮されていることが確認された。

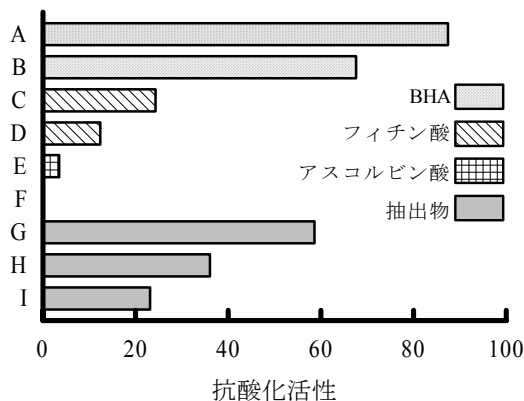


図3 βカロテン退色法により測定した抗酸化活性

A: BHA 50 μg/mL、B: BHA 10 μg/mL、C: フィチン酸 1000 μg/mL、D: フィチン酸 100 μg/mL、E: アスコルビン酸 1000 μg/mL、F: アスコルビン酸 100 μg/mL、G: 抽出物 6800 μg/mL (フィチン酸 1000 μg/mL 相当量)、H: 抽出物 680 μg/mL (フィチン酸 100 μg/mL 相当量)、I: 抽出物 68 μg/mL (フィチン酸 10 μg/mL 相当量)

### 3.3 小麦ふすま抽出物の抗酸化能

まず、DPPH ラジカル消去能及び活性酸素消去能の測定を行ったが、いずれもほとんど活性は認められなかった。また、フィチン酸単体の場合においても同様の結果であった。

次に、βカロテン退色法によって脂質に対する抗酸化活性を測定した結果を図3に示す。小麦ふすま抽出物の抗酸化活性は、比較として用いた合成抗酸化剤BHAに比べると低かったが、食品用の酸化防止剤として利用されているアスコルビン酸よりも高い抗酸化活性が認められた。脂質に対する抗酸化性のみが認められたのは、フィチン酸が金属をキレートし、フェントン反応によって生じるヒドロキシラジカルの生成を阻害する<sup>5)</sup>ことが主たる機構であるためと考えられる。

また、小麦ふすま抽出物は、比較としたフィチン酸単体の場合よりも高い抗酸化活性を示すことが認められた。この場合、抗酸化活性を示す成分として、ポリフェノール<sup>12)</sup>、ビタミン類、グルタチオン<sup>13)</sup>などいくつかの物質が考えられ、フィチン酸以外にこのようなものが働いているのではないかと推測される。

### 3.4 小麦ふすま抽出物の酵素阻害能

図4に示すとおり、小麦ふすま抽出物によってポリフェノールオキシダーゼ (PPO) が阻害されていることが認められた。これはフィチン酸の金

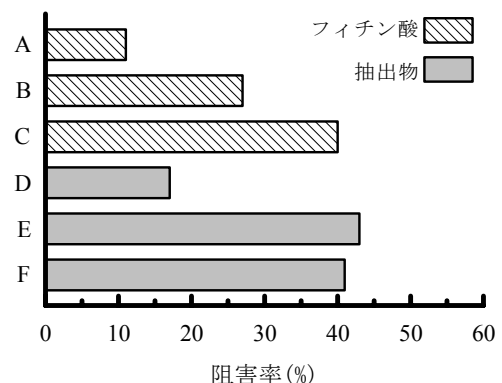


図4 PPO阻害活性

A: フィチン酸 8mg/mL、B: フィチン酸 40mg/mL、C: フィチン酸 80mg/mL、D: 抽出物 6.25mg/mL (フィチン酸 1mg/mL 相当量)、E: 抽出物 31.25mg/mL (フィチン酸 5mg/mL 相当量)、F: 抽出物 62.5mg/mL (フィチン酸 10mg/mL 相当量)

属キレート作用により、銅イオンを補因子<sup>14)</sup>とするPPOが阻害されているためと考えられる。しかし、比較として行ったフィチン酸単体の場合では、小麦ふすま抽出物ほど阻害しておらず、抗酸化活性と同様、小麦ふすま抽出物の方が強いことがわかった。このことから、抽出物の阻害作用は金属キレート作用に加えて他の要因も影響しているのではないかと推測される。

このように小麦ふすま抽出物により PPO が阻害されるということから、食品の褐変を抑制する効果が期待される。また、同様の効果により他の分解酵素を阻害する可能性も考えられ、小麦ふすま抽出物による有効成分の保持など、今後その可能性が広がっていくことが期待される。

#### 4 まとめ

小麦ふすまからフィチン酸の抽出を試みた。その結果、フィチン酸を約 15%含む抽出物を得た。この抽出物にはビタミンB<sub>1</sub>及びB<sub>2</sub>、ミネラル分も豊富に含むことが確認された。また、抽出物の抗酸化活性を原理の異なる方法により測定した結果、ラジカル及び活性酸素消去能はほとんど認められなかったが、脂質の酸化抑制に対して効果が認められた。さらに、食品の褐変に関連したPPOの阻害効果も認められた。これらの結果から、本研究で得られた小麦ふすま抽出物はビタミンやミネラルが豊富であり、かつ抗酸化性、酵素阻害といった食品の保存に有用な効果が認められ、食品素材として有望であることが示唆された。

#### 謝 辞

本研究を進めるに当たり、客員研究員として御指導を頂いた、女子栄養大学の三浦理代教授に深く感謝の意を表します。また、試料の提供にご協力頂いた前田食品㈱に心より感謝申し上げます。

#### 参考文献

1) Zhou, J. R. and Erdman, JW Jr. : Phytic Acid in Health and Disease., Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 35,

6(1995)495

2) Graf, E. and Eaton, J. W. : Effects of Phytate on Mineral Bioavailability in Mice, J. Nutr., **114**, (1984)1192

3) 岡崎由佳子, 片山徹之 : フィチン酸の栄養的再評価, 栄食誌, **58**, 3(2005)151

4) Shamsuddin, A. M. : 天然抗ガン物質IP<sub>6</sub>の驚異, 講談社, (2000)49

5) Graf, E. and Eaton, J. W. : Antioxidant Functions of Phytic Acid, Free Radic. Biol. Med., **8**, 1(1990)61

6) 早川利郎, 伊賀上郁夫 : フィチン酸の構造と機能, 日食工, **39**, 7(1992)647

7) 科学技術庁資源調査会食品成分部会 : 五訂日本食品標準成分表分析マニュアル, (1997)

8) American Association of Cereal Chemists : Approved Methods of the AACC 10th edition, Method 76-13, (2000)

9) Vaintraub, I. A. and. Lapteva, N. : A Colorimetric Determination of Phytate in Unpurified Extracts of Seeds and the Products of Their Processing, Anal. Biochem., **175**, 1(1988)227

10) 内田龍寛, 今井正武, 桑田五郎, 寺尾純二, 吉田奈那, 後藤直宏, 和田俊 : フィチン酸およびその加水分解物の水産脂質に対する抗酸化活性, 食科工, **48**, 10(2001)726

11) 仲島日出男, 樋口誠一, 常見崇史, 茂木八千代, 矢嶋みづほ, 川田由香, 三浦理代 : 機能性成分の効率的な利用による麺類の高付加価値化, 埼玉県産業技術総合センター研究報告, **4**, (2006)62

12) Zhou, K., Su, L. and Yu, L. L. : Phytochemicals and Antioxidant Properties in Wheat Bran, J. Agric. Food Chem., **52**, 20(2004)6108

13) 二木鋭雄, 島崎弘幸, 美濃真 : 抗酸化物質フリーラジカルと生体防御, 学会出版センター, (1994)59

14) 村田容常, 本間清一 : ポリフェノールオキシダーゼと褐変制御, 食科工, **45**, (1998)177