

りんごペクチンオリゴ糖の整腸作用

高橋義宣[§], 増田康之, 杉本正裕, 江成宏之

株式会社ニチロ中央研究所

Effect of Apple Pectin Oligosaccharide on Intestinal Disorders

Yoshinori Takahashi[§], Yasuyuki Masuda, Masahiro Sugimoto and Hiroyuki Enari

Central Research Laboratory, Nichiro Corporation, 2-6-14, Kurigi,
Asao-ku, Kawasaki-shi, Kanagawa 215-0033

Apple pectin oligosaccharide (APO) prepared from apple juice residue contained about 30% uronic acid, the principal component of pectin. We found that APO is utilized by major species of human intestinal microflora, such as *Bacteroides* sp. and *Bifidobacterium* sp., and that it induces the production of short-chain fatty acids, mainly acetic acid and butyric acid. Moreover, APO was observed to reduce fecal putrefaction by fecal batch culture test. Since APO is expected to be effective for improving intestinal function, APO (5 g/day) was administered for 2 weeks to 7 subjects who tended to be constipated. Intake of APO led to an increase in bowel movement frequency and improved fecal condition, including fecal odor. Thus, APO intake may contribute to improving intestinal disorders. (Received Mar. 31, 2008 ; Accepted Jul. 4, 2008)

Keywords : apple pectin oligosaccharide, apple juice residue, intestinal microflora, short-chain fatty acids

キーワード : りんごペクチンオリゴ糖, 整腸作用, 短鎖脂肪酸, 腐敗産物, りんご搾汁残渣

りんご搾汁残渣はりんごジュースの製造過程で大量に排出されるが, 飼料などの利用に留まり¹⁾有効利用が望まれる。りんご搾汁残渣には各種生理機能を有する事が知られている水溶性食物繊維のペクチン²⁾³⁾が含まれ, 機能性素材として着目した。

植物性食品由来の水溶性食物繊維には, ペクチン以外にもアルギン酸やグァーガム等がある。これらの機能性として, 整腸作用, 血糖値上昇抑制, 血清コレステロール濃度上昇抑制⁴⁾などが知られているが, 水溶性食物繊維は低濃度でも粘性が高く, 一度に大量に摂取する事は難しいため, 飲料等への利用は制限される。しかし, 平均分子量 50 000 Da の低分子アルギン酸ナトリウムは 1~5% 濃度で 1.5~10 mPa·S と低粘度である事が報告されている⁵⁾。食物繊維の機能性は低分子化しても比較的維持される事が知られており, 様々な検討が行われている。例えば, 低分子化アルギン酸に関して, ヒト被験者への連続投与により, 糞便中に含まれる腐敗産物である揮発性塩基性窒素生成の抑制がみられ, ヒトの健康に対して有用な物質である可能性を示唆している⁶⁾。また, ペクチンの分解物であるペクチンオ

リゴ糖 (平均分子量 3 500~3 800 Da) のプレバイオティクス効果については *in vitro* 評価により, *Bifidobacterium* 属に対して資化があると報告されている⁷⁾。

このようにペクチンを低分子化させた水溶性食物繊維もプレバイオティクスとしての作用を有すると考えられる。しかし, ペクチンオリゴ糖をヒトに摂取させてプレバイオティクスの効果を確認した研究は行われていない。

そこで本研究では, りんご搾汁残渣を酵素分解して得られたりんごペクチンオリゴ糖 (以後, APO と略す) の腸内細菌による資化性や短鎖脂肪酸の生成量について確認し, さらに便秘気味の方を対象とした APO の連続摂取試験を行い, 整腸作用について検証した。

実験方法

1. APO の調製

2007 年 3 月に (株)ニチロサンパック青森工場で搾汁時に得られたりんご搾汁残渣 50 kg を水洗後, セルラーゼおよびペクチナーゼを用いて酵素分解した。加熱により酵素を失活 (90°C, 60 分) し, ろ過後に減圧濃縮および乾燥して APO を 1.7 kg 得た。

また, 資化性試験および糞便培養試験では APO の単糖類を限外ろ過 (UF) 処理により除去したサンプルを用いた。ろ液を分画分子量 1 000 Da の限外ろ過膜を用いて透過

〒215-0033 神奈川県川崎市麻生区栗木 2-6-14

(現 株式会社マルハニチロホールディングス中央研究所)

[§] 〒300-4295 茨城県つくば市和台 16-2

連絡先 (Corresponding author), yo-takahashi@maruha-nichiro.co.jp

液量が7倍量になるまで処理した。この未透過液を減圧濃縮および乾燥して単糖類を除去した試料 (UF-APO) を得た。

2. 成分分析

(1) 一般成分

APO の一般成分について、水分を減圧加熱乾燥法、タンパク質をケルダール法、脂質をソックスレー抽出法、灰分を直接灰化法、食物繊維を酵素重量法により分析し、炭水化物は差し引き法により算出した。

(2) ペクチンの定量

ペクチンの定量は Scott の方法⁸⁾ によりガラクトン酸を標準試料 (SIGMA) にして行った。蒸留水に溶解させた 50 μ L の APO に 2% 塩化ナトリウム水溶液を 50 μ L、濃硫酸を 800 μ L 加えて、攪拌した。その後、70°C で 10 分間加熱して冷却後、0.1% 3,5-ジメチルフェノール酢酸溶液を 40 μ L 加えて攪拌した。その溶液の 450 nm と 405 nm の吸光度の差分をとり、得られたガラクトン酸量から補正係数 0.91 を乗じてペクチン含量を算出した。

(3) 単糖類 (グルコース, フルクトース, ガラクトース) の定量

APO を 75% アセトニトリル水溶液に溶解後、フィルターろ過して、カラム; Asahipack NH2P-50 4E (4.6 mm \times 250 mm), 溶離液 75% アセトニトリル溶液, 流速; 1.0 mL/分, 検出器; ELS Detector (2420 エバポレイト光散乱検出器: 日本ウォーターズ), 検出器温度; 48°C の条件で HPLC に供した。標準試料として、グルコース, フルクトース, ガラクトース (和光純薬) を用いた。

(4) APO の分子量分布分析

分子量分布はゲルろ過クロマトグラフィーにより分析した。APO を 0.1 M 硝酸ナトリウム水溶液に溶解後、フィルターろ過して、カラム; OHpack SB-806M HQ (8.0 mm \times 300 mm), 溶離液; 0.1 M 硝酸ナトリウム水溶液, 流速; 1.0 mL/分, 検出器; RI (2414 示差屈折計: 日本ウォーターズ) の条件で HPLC に供した。標準試料として、プルラン (Shodex STANDARD P-82: 昭和電工) を用いた。

3. 腸内細菌による UF-APO の資化性試験

供試菌は Table 1 に示した大腸内に存在する 16 株を用いた。前培養しておいた菌株を培地 (日水製薬製 GAM ブイオンに Fildes solution (生食水 150 mL, 濃塩酸 6 mL, 馬血液 50 mL およびペプシン 1.0 g) 0.4%, 寒天 0.15% を添加したもの) に植え継いで、37°C で 24 時間培養した。この培養液を各試料が 0.5% になるように添加した液体培地 4.5 mL に 0.1 mL 接種して、37°C で 96 時間嫌気培養を行った。嫌気培養は、嫌気性インキュベーターを用い、雰囲気は二酸化炭素 10%, 水素 10%, 窒素 80% の混合ガスを用いた。培養後に pH を測定し、試料無添加の対照との差により資化性の有無を判断した。判定基準は対照との差が pH 1.5 以上の場合を +++, pH 1.0 以上 1.5 未満を ++,

Table 1 Utilization of APO by human intestinal bacteria

Microorganisms		Judgment
<i>Bacteroides distasonis</i>	GAI# 5462T	±
<i>Bacteroides fragilis</i>	GAI# 5524T	±
<i>Bacteroides ovatus</i>	JCM 5824T	±
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	GAI# 5628	±
<i>Bacteroides uniformis</i>	GAI# 5466T	+
<i>Bacteroides vulgatus</i>	GAI# 5460T	++
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	CIFL N0042	±
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	CIFL N0077T	±
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	CIFL N0067	±
<i>Bifidobacterium breve</i>	CIFL N0078T	++
<i>Bifidobacterium dentium</i>	CIFL N0121T	+
<i>Bifidobacterium infantis</i>	CIFL N0050T	±
<i>Bifidobacterium longum</i>	CIFL N0051T	+++
<i>Clostridium clostridiiforme</i>	GAI# 5458	-
<i>Clostridium perfringens</i>	GAI# 5526T	±
<i>Clostridium ramosum</i>	CIFL N0048	±

Judgment from bacterial growth estimated as final pH compared with that of control.

pH reduction: +++ ; more than 1.5, ++ ; from 1.0 to 1.5, + ; from 0.5 to 1.0, ± ; from 0.2 to 0.5, - ; within 0.2.

pH 0.5 以上 1.0 未満を+, pH 0.5 未満を-で示した。

4. 糞便培養培地中の短鎖脂肪酸, 腐敗産物の生成に対する UF-APO の影響

(1) 糞便検体

糞便は、試験 1 週間前から抗生物質を服用していない、1 週間の排便回数がほぼ毎日かそれ以上、規則正しい食生活であった男性 5 名から採取した。また、糞便採取 3 日前から食事のアンケートを行った。これら糞便のうち、採取時間、形状・色、食事アンケート結果から、正常糞便 (軟便, 固め, 色が濃い糞便は除いた) である 2 検体を選択し、等量ずつ混合して糞便検体として用いた。なお、糞便の採取は (株)ニチロ中央研究所所長の承認を得て、ヘルシンキ宣言の精神に則って行った。

(2) 糞便培養方法

二酸化炭素 10%, 水素 10%, 窒素 80% の混合ガスを用いて、嫌気状態で保存した 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 6.8) 9 mL に試料 50 mg を加えた。これに混合した糞便 1.0 g を加え、よく混和した後、37°C で 24 時間嫌気培養した。嫌気培養は、嫌気性インキュベーターを用い、リン酸緩衝液の保存と同様の雰囲気で行った。なお、対照として、試料無添加コントロールも同様に培養し、24 時間後培養液中の短鎖脂肪酸および腐敗産物の定量に供した。

(3) 短鎖脂肪酸の定量方法

培養液中の短鎖脂肪酸 (コハク酸, 乳酸, ギ酸, 酢酸, プロピオン酸, イソ酪酸, 酪酸, イソバレリン酸, バレリン酸) を HPLC により定量した。培養液 0.4 g を精秤し、3.6 mL の蒸留水, 0.6 mL のメタノール, 0.4 mL の過塩素

Table 2 Composition of the test drink (per 100 mL)

APO	5 g
Sucrose	10 g
Citric acid	200 mg
DL-malic acid	200 mg
Flavor	0.4 mL

酸を加えて、加熱抽出した。冷却後、遠心分離 (3000 rpm, 10分) して上清を採取し、これに 0.5 mL の 8M 水酸化ナトリウム水溶液を加え減圧濃縮し、0.5 mL の 10% メタノール水溶液を加えて溶解し、0.08 mL の 60% 過塩素酸水溶液を加え遠心分離 (15000 rpm, 5分) して、上清を採取した。この上清をろ過後、カラム; KC-811 (8mm×300mm), 溶離液 3mM 過塩素酸水溶液, 流速; 1.0 mL/分, 反応液; 0.2 mM ブロモチモールブルー水溶液・15 mM リン酸水素二ナトリウム水溶液・2 mM 水酸化ナトリウム水溶液, 反応液流量; 1.0 mL/分, 検出器波長; 455 nm の条件で HPLC に供した。

(4) 腐敗産物定量方法

培養液中の糞便微生物腐敗代謝産物 (フェノール, 4-エチルフェノール, *p*-クレゾール, インドール, スカトール) を GLC により定量した。培養液約 1.0g を精秤し, 5 mL の 1M リン酸緩衝液 (pH 6.0) および二酸化硫黄を加え, 0°C で 30 分間抽出した。この抽出液をカラム; Silicon GE SE-30 14% on Chromosorb (3mm×1.6m ガラスカラム), カラム温度; 140°C, キャリアガス; 窒素, 流量; 100 mL/分, 検出器; FID, 検出器温度; 200°C の条件で GLC に供した。

5. 急性毒性試験

生後 4 週齢の SD 系ラットを温度 21~23°C, 相対湿度 48~62%, 換気回数 10~15 回/時間, 照明時間 12 時間/日 (7:00~19:00) に設定したステンレス製網ケージ (33.5 cm^D×22 cm^W×20 cm^H) に 2~3 匹/ケージで収容して, 8 日間予備飼育後, 正常な成長を認めたもの (雄雌各 10 匹) を無作為に 2 群 (対照群: 注射用水, 被検物質投与群) に分け, 動物数は, 1 群あたり雌雄各 5 匹とした。試験実施前に 17 時間絶食させた後, APO を注射用水に溶解し, 動物体重 10g あたり 2mg を経口ゾンデを用いて強制経口投与した。投与日は投与前に 1 回, 投与 2 時間後までは連続観察し, 以降投与 5 時間後までに 4 回観察した。投与翌日以降の観察期間中は 1 日 2 回, 一般状態を観察した。体重は投与後 1, 3, 6, 10 および 14 日目に測定し, 14 日目に全例について剖検した。なお, 本試験は「実験動物の飼養および保管並びに苦痛の軽減に関する基準」(平成 18 年 4 月 28 日環境省告示第 88 号) に基づいて実施した。

6. 変異原性試験

APO について細菌を用いる復帰変異原性試験により変異原性の有無を指示菌; (ネズミチフス菌) TA100, TA

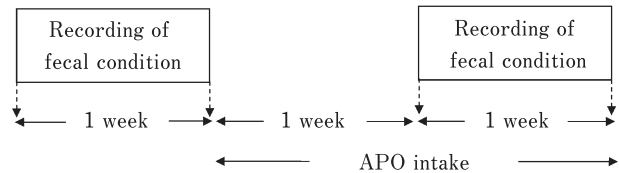


Fig. 1 Schematic diagram of test schedule

1535, TA98, TA1537, (大腸菌) WP2uvrA, 試験方法; S9 (±), プレインキュベーション法 (37°C, 20分), 培養時間; 48 時間, 使用媒体; DMSO, 用量; 最高用量 5000 µg/プレート, 公比 4, 7 用量, 各 2 プレートの条件で検討した。なお, 使用した指示菌は日本バイオアッセイ研究センターから入手した。

7. APO 摂取によるヒトの便通に及ぼす影響

被験者は 20 歳以上 60 歳以下の方で, 排便回数が 5 回/週以下の便秘気味の 7 名 (男性 6 名, 女性 1 名) を対象とした。なお, 本試験は事前に医師の許可および (株) ニチロ中央研究所所長の承認を得て, ヘルシンキ宣言の精神に則り, 文書にて試験の趣旨, 方法および予想される健康上の不利益などを充分説明した後, 試験への参加同意書を得られた被験者で行った。APO を 5% 含有した飲料 100 mL (Table 2) を毎日夕食後に 1 本 (APO として 5g), 2 週間摂取させた。なお, この間整腸作用が期待される食品の摂取を控えさせた。Fig. 1 に示すように, 試験食摂取開始前 1 週間と摂取開始 2 週間目に, 排便回数, 排便日数, 次に示した排便状況の調査項目について回答させ, 試験食摂取前後により便通に及ぼす影響の検討を行った。なお, A から E の調査項目は里内らの方法を参考にスコア化して算出した⁹⁾。

A. 排便量

1 週間の排便量を鶏卵 L サイズ換算で積算し, 1 日当たりの量として算出した。

B. 排便の性状

3 点: バナナ状・半練状, 2 点: 泥状, 1 点: 水状・カチカチ状

C. 排便の色

3 点: 黄色・薄い黄土色, 2 点: 黄土色・茶色, 1 点: 焦げ茶色・黒に近い焦げ茶色

D. 排便のにおい

5 点: 非常に弱い, 4 点: 弱い, 3 点: 普通, 2 点: 強い, 1 点: 非常に強い

E. 排便時の残便感

4 点: 全く無い, 3 点: 概ね無い, 2 点: ややある, 1 点: 非常にある

8. 統計処理

得られた回数およびスコアにおける群間の有意差検定は Student の *t* 検定を行い, 5% 以下の危険率であるものを有意とした。

Table 3 Composition of APO (per 100 g)

Water	2.1 g
Protein	2.0 g
Lipid	<0.1 g
Ash	2.6 g
Carbohydrate	22.7 g
Soluble pectin	27.1 g
Dietary fiber	43.4 g

実験結果

1. 成分分析

今回の実験に供した APO の成分分析結果を Table 3 に示した。APO は 27% の可溶性ペクチン、43% の食物繊維を含有していた。また、差し引き法により炭水化物含量は 23% であり、HPLC による単糖類の定量値も 23% であった事から、炭水化物のほとんどは単糖類であった。なお、HPLC による単糖類の分析の結果、APO には 22% のグルコース、1.0% のフルクトースが含まれており、ガラクトースは含まれていなかった。また、APO の重量平均分子量 130 000 Da であった。

2. 腸内細菌による UF-APO の資化性試験

APO は酵素反応の副産物であるグルコースを 22% 含有するため、資化性試験は UF-APO を用いた。この UF-APO のペクチン含量は 44% になり、グルコースおよびフルクトースは HPLC 分析により検出されなかった。

UF-APO の *Bacteroides* 属 6 株、*Bifidobacterium* 属 7 株、*Clostridium* 属 3 株に対する資化性試験の結果は Table 1 に示した。*Bacteroides* 属では *B. uniformis* (+)、*B. vulgatus* (++)、*Bifidobacterium* 属では *B. breve* (++)、*B. dentium* (+)、*B. longum* (+++) に資化された。しかし、*Clostridium* 属には資化されにくかった。

3. 糞便培養培地中の短鎖脂肪酸、腐敗産物の生成に対する UF-APO の影響

糞便培養後の短鎖脂肪酸の定量結果を Table 4 に示した。UF-APO の添加により、イソ酪酸、イソ吉草酸を除く全ての短鎖脂肪酸の生成量が増加し、酪酸、酢酸、乳酸が高い増加率を示した。また、腐敗産物の定量結果を Table 5 に示した。*p*-クレゾールは UF-APO の添加により生成量が減少したが、インドールやスカトールでは顕著な差は認められなかった。なお、フェノール、4-エチルフェノールは検出されなかった。

4. 急性毒性試験

動物体重 10 g あたり 20 mg の APO の急性毒性試験では一般状態観察では全例において特記すべき変化は認められず、死亡例もなかった。また、期間中の体重の増加は群間で差異を認めなかった。さらに、観察日における剖検でも諸臓器に変化を認めなかった。

Table 4 Effect of UF-APO on fecal short-chain fatty acid production

SCFA	Not addition mg/g feces	APO addition mg/g feces	Increase ratio (%)
Succinic acid	0.1	0.1	100
Lactic acid	0.7	1.0	143
Formic acid	1.1	1.2	109
Acetic acid	28.0	39.9	143
Propionic acid	12.9	13.9	108
<i>i</i> -Butyric acid	2.4	1.8	75
Butyric acid	14.3	20.8	145
<i>i</i> -Valeric acid	2.8	2.2	79
Valeric acid	2.5	2.8	112
Total	64.8	83.7	129

Table 5 Effect of UF-APO on fecal putrefaction production

SCFA	Not addition μg/5 mL	APO addition μg/5 mL	Increase ratio (%)
Phenol	—	—	—
<i>p</i> -Cresol	210	116	55
4-Ethyl-Phenol	—	—	—
Indol	195	205	105
Skatole	39	36	92
Total	444	357	80

5. 変異原性試験

ネズミチフス菌 TA100, TA1535, TA98, TA1537 および大腸菌 WP2uvrA を使用して、APO の突然変異誘発能の有無を検討した結果、代謝活性化の有無によらず、いずれの菌株においても陰性対象と比較して 2 倍以上の復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。なお、陽性対照はそれぞれの菌株に対して溶媒対照の 2 倍以上に復帰変異コロニーを出現させ、試験が適切に実施されていることを示した。従って、APO は突然変異誘発能を示さないと判定された。

6. APO 摂取によるヒトの便通に及ぼす影響

試験期間中の排便回数、排便日数を Table 6 に示した。試験飲料摂取開始 2 週間目における 1 週間あたりの排便回数の平均が 5.0 回/週であるのに対し、摂取開始前 1 週間の排便回数は 3.0 回/週であり、試験飲料の摂取により排便回数が有意に増加することが認められた ($p < 0.05$)。また、排便日数は摂取開始 2 週間目では 4.0 日/週に対し、摂取開始前 1 週間は 2.8 日/週であり、増加の傾向 ($p < 0.10$) はあったが、有意な差は認められなかった。

試験期間中の排便状況のスコアを Table 7 に示した。試験飲料摂取 2 週間目において、排便のにおいて有意な改善が認められ、排便状況のスコア合計でも有意な差が認めら

Table 6 Effect of APO on defecation frequency

Defecation frequency	before	After 2 wk
Frequency/week	3.0±1.5	5.0±1.9*
Day/week	2.8±1.3	4.0±1.0

Values are shown as means±SD of seven subjects.

*Significantly different from the value before intake by student's *t*-test: $p < 0.05$.

れた。

考 察

ペクチンはガラクトロン酸と呼ばれる酸性糖を主成分とする多糖類であり、このガラクトロン酸が α 1-4結合で直線的に連なったガラクトナンを主鎖として、これに多様な中性糖が結合した非常に複雑な構造をしている。このペクチンの摂取は整腸作用に効果的である事が知られている。しかし、ペクチンの特性の1つに高いゲル形成能があり、水溶液は低濃度でも高い粘性を示す。このため、飲料に添加して摂取するには、粘度を低下させる必要がある。そこで本研究では、りんご搾汁残渣から調製した高濃度溶液でも低い粘度を示すAPOの整腸作用を確認するために、腸内細菌による資化性やヒト被験者を対象に連続摂取試験を行った。なお、ヒト試験に用いたAPOは10%溶液でも7.4 mPa·sであり、各種食品への添加が可能であると考えられた。

今回の検討で用いたAPOは食物繊維を43%含むが、これはりんご搾汁残渣をセルラーゼおよびペクチナーゼで酵素処理しており、セルロースやヘミセルロースが分解、可溶化されたためと考えられ、セロオリゴ糖も含まれていると考えられる。

腸内細菌を用いた資化性試験において、グルコースはそれら腸内細菌により資化されるが、実際にはグルコースは小腸で吸収され、腸内細菌に資化されることはない。このため、APOにグルコースが含有していると腸内細菌に対する資化性を正しく評価する事ができない。そこで、資化性試験、糞便培養培試験では、グルコースやフルクトース等の遊離糖を除いた、ペクチン含量が44%であるUF-APOを用いた。

腸内細菌の *Bacteroides* 属、*Bifidobacterium* 属によりUF-APOは資化されたが、*Clostridium* 属には資化されにくかった (Table 1)。整腸作用を示す食品素材は、*Lactobacillus* 属や *Bifidobacterium* 属などの有用菌を直接腸内に届ける事や、オリゴ糖などが腸内で資化される事により、腸内細菌叢の改善に寄与していると考えられている。今回、腸内の優勢菌である *Bacteroides* 属と有用菌として知られている *Bifidobacterium* 属の各菌株に対して、UF-APOの資化性を確認した事から、APOはこれらの有用菌の増殖を促進すると考えられた。ペクチンオリゴ糖は

Table 7 Effect of APO on fecal condition

	before	After 2 wk
Fecal amount	1.0±0.7	1.4±0.8
Fecal property	0.9±0.5	1.4±0.4
Fecal color	0.8±0.5	1.0±0.3
Fecal odor	1.2±0.6	1.8±0.5*
Feeling of incomplete defecation score	1.3±0.8	2.0±0.6
Total	5.8±0.4	7.8±0.4*

Values are shown as means±SD of seven subjects.

*Significantly different from the value before intake by student's *t*-test: $p < 0.05$.

Bifidobacterium 属により資化されることが既に報告されており⁷⁾、本試験においても同様の結果を得ることができた。また、APOに含まれると考えられるセロオリゴ糖も腸内細菌により資化されていると推測され¹⁰⁾、APOによる有用菌の増殖はペクチンオリゴ糖とセロオリゴ糖によると考えられる。

糞便培養試験において短鎖脂肪酸量を調べた結果、酢酸や酪酸、乳酸の生成量が増加した。腸内最優勢の *Bacteroides* 属は主にプロピオン酸、酢酸を生成、*Eubacterium* 属や *Clostridium* 属は酢酸や酪酸を生成、*Bifidobacterium* 属は乳酸、酢酸を生成することが知られている。また、乳酸は *Bacteroides* 属や *Eubacterium* 属等に利用され、プロピオン酸や酪酸に転換される¹¹⁾。短鎖脂肪酸は腸内発酵により産生され、この短鎖脂肪酸が腸内環境の改善に寄与していることは広く知られている¹²⁾。この短鎖脂肪酸、特に酪酸は大腸粘膜細胞の栄養源であり、大腸粘膜細胞の活性化に寄与している。さらに、酪酸には抗炎症作用があり、傷害腸管の修復にも関与することが知られている事から¹³⁾、大腸疾患の予防にも効果があると考えられた。また、糞便培養培地中の腐敗産物量を調べた結果、*p*-クレゾールの減少が認められた。腐敗産物であるフェノール系物質やインドール系物質は、腸内細菌により、芳香族アミノ酸のチロシンや複素環アミノ酸のトリプトファンといったアミノ酸が脱アミノ、転移アミノ、脱炭酸、脱水酸基反応により生成される¹⁴⁾。今回の結果は *Bifidobacterium* 属によるUF-APO資化の結果、pHの低下がもたされ、*Clostridium* 属等の腸内腐敗菌の代謝が抑制され、*p*-クレゾールの生成が抑制された可能性が考えられた。UF-APOの添加により腐敗産物の生成が減少した事からも、APOは腸内フローラの改善効果が期待された。

これら資化性試験や糞便培養試験からAPOは腸内細菌に利用され、腸内環境の改善に寄与すると考えられた。このため、ヒトの便通に及ぼす影響を便秘気味の方を対象にAPOを2週間1日1回5g摂取させる試験を行い検証した。試験食摂取後2週間目の排便回数は摂取開始前の1週間と比較し、3.0回/週から5.0回/週になり、有意な増加が

認められた。また、1週間あたりの排便日数は2.8日/週から4.0日/週になり、増加する傾向にあった ($p < 0.10$)。被験食摂取中における被験者の1日あたりの最大排便回数は2回/日であり、1日に3回以上排便をする被験者はなく、1日あたりの排便回数に問題はなかった。

排便状況の調査結果では、糞便のにおいはAPOの摂取により有意に改善され、また、調査項目のスコア合計でも摂取により有意に改善が認められ、排便状況を改善すると考えられた。さらに、データは示さないが、摂取開始前と摂取2週間後の糞便について腸内フローラ解析をT-RFLP法(Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism)¹⁵⁾により行った。その結果、*Bifidobacterium*属や*Lactobacillales*属は摂取開始前と比べて有意な違いは認められないが、占有率は増加する傾向があった。

今回行った*in vitro*試験およびヒト試験の結果から、APOが腸内細菌に資化され、酪酸が生成したと考えられる。この産生した酪酸が大腸粘膜上皮細胞の活性化に關与して¹²⁾、腸内環境の改善が認められたと考えられた。

要 約

りんご搾汁残渣を酵素分解、熱水抽出することでペクチンオリゴ糖を調製して、その整腸作用について検討した。腸内細菌を用いた資化性試験では優先菌である*Bacteroides*属や*Bifidobacterium*属に資化性が見られ、糞便培養培地中の短鎖脂肪酸、腐敗産物の分析により、酢酸、酪酸、乳酸が高い増加率を示し、腐敗産物の生成は抑制されていた。また、便秘気味の方を対象にAPOを2週間1日1回5g摂取させた場合に、排便回数は3.0回/週から5.0回/週と有意な増加が認められた。これらの結果から、APOの摂取は整腸作用に効果がある事が明らかとなった。

文 献

- 1) 泉谷眞実, リンゴジュース製造副産物におけるリサイクル経路の特質, 弘前大学農学生命科学部学術報告, **8**, 58-63 (2005).
- 2) 田澤賢次, 大上英夫, 風晴浩一, 松江 一, アップルペクチンの癌抑制作用と活性酸素抑制, 医学のあゆみ, **204**, 85-90

- (2003).
- 3) 田澤賢次, 並川宏英, 伊藤佳代子, 小池 潤, 八塚美樹, 揚孟雨, 大上英夫, 斎藤智裕, リンゴ繊維アップルペクチンの効果・効能, バイオインダストリー, **17**, 36-43 (2000).
- 4) 中村カホル, 食物繊維の主要な生理機能—20年に亘る研究テーマを顧みて—, 東京農業大学農学集報, **49**, 157-171 (2005).
- 5) 久田 孝, 小山田晃, 藤井建夫, 低分子アルギン酸ナトリウムのヒト糞便フローラおよび腸内細菌環境への影響, 日水誌, **60**, 85-90 (1994).
- 6) 渡辺一弘, 岩田一幸, 丹代優香, 西澤 信, 山岸 喬, 吉沢逸雄, 可溶性アルギン酸ナトリウムのコレステロール, Trp-P-1 およびアフラトキシン B₁ のラットでの排泄に及ぼす影響, 衛生化学, **38**, 258-262 (1992).
- 7) Olano-Martin, E., Gilbson, G.R. and Rastall, R.A., Comparison of the *in vitro* bifidogenic properties of pectins and pectic-oligosaccharides. *J. Appl. Microbiol.*, **93**, 505-511 (2002).
- 8) Scott, R.W., Colorimetric determination of hexuronic acid in plant materials. *Anal. Chem.*, **51**, 936-941 (1979).
- 9) 里内美津子, 若林 茂, 大隈一裕, 藤原啓子, 松岡 瑛, 難消化性デキストリンのヒト便通に及ぼす影響, 栄養学雑誌, **51**, 31-37 (1993).
- 10) 里内美津子, 渡辺隆司, 若林 茂, 大隈一裕, 越島哲夫, 桑原正章, ラットおよびヒトにおけるセロオリゴ糖の消化吸収性および生体に及ぼす影響, 栄食誌, **49**, 143-148 (1996).
- 11) 渡部洵子, 腸内糖代謝と腸内細菌, 腸内細菌学雑誌, **19**, 169-177 (2005).
- 12) 辻 啓介, 食物繊維の性質と機能, 「食物繊維 (基礎と臨床)」, 第1版, 土井邦紘, 辻啓介編, (朝倉書店, 東京), pp. 95-96 (1997).
- 13) 佐々木雅也, 荒木克夫, 辻川知之, 安藤 朗, 藤山佳秀, 腸管細胞増殖と腸管フローラ, 腸内細菌学雑誌, **19**, 1-8 (2005).
- 14) Smith, E.A. and Macfarlane, G.T., Enumeration of human colonic bacteria producing phenolic and indolic compounds: effects of pH, carbohydrate availability and retention time on dissimilatory aromatic amino acid metabolism. *J. Appl. Bacteriol.*, **81**, 288-302 (1996).
- 15) Nagashima, K., Hisada, T., Sato, M. and Mochizuki, J., Application of new primer-enzyme combinations to terminal restriction fragment length polymorphism profiling of bacterial populations in human feces. *Appl. Environ. Microbiol.*, **69**, 1251-1262 (2003).

(平成 20 年 3 月 31 日受付, 平成 20 年 7 月 4 日受理)

