

### Ⅲ 研究事業報告

## 〔消化器系に及ぼす影響評価〕

## (1) 桑葉及びルバーブの食物繊維の試験管内における特性の検討

貫山 道子 (衛生研究所)  
 山田 利治 (衛生研究所)  
 成松 次郎 (農業総合研究所)  
 鈴木 誠 (蚕業センター)  
 高橋 恭一 (蚕業センター)  
 有賀 勲 (蚕業センター)

健康食品が登場して以来、食物繊維（以下DFという）に関心が持たれるようになった。DFは現在、「人の消化酵素で消化されない食物中の難消化性成分の総体」と定義<sup>1)</sup>づけられている。DFはその化学的性質から水可溶性繊維と水不溶性繊維とに大別される。今回、ルバーブと桑葉のDFがどのような化学的特性を有するかを検討した。ルバーブおよび桑葉粉末のDFの組成を3方法（southgate法、ASP法、Prosky-AOAC法）で測定した。成分分画は熱水抽出により、水可溶性ペクチンを分画し、残渣を常法で分画した。ルバーブ粉末では全ペクチンの85%が可溶性ペクチンとして存在しているのに対し、桑葉粉末では35%であった。金属吸着能をルバーブ粉末、桑葉粉末、分画して得られたヘミセルロースA、B、Cおよび対照として市販のレモンペクチンを用い、4種類の陽イオンについて検討した。桑葉粉末のほうがルバーブ粉末よりも全般に吸着能が高かったが、ヘミセルロースではヘミセルロースCが高かったもののはっきりした傾向は見られなかった。

## 1 はじめに

食品中の繊維やその他の不消化性成分が、必須栄養素とは質的に異なる作用を介して人間の健康と深く係わり、ある恒常性維持作用と治療的役割を持つ物質であることが明かになりつつある。これらの成分は従来、エネルギー源にもならず、せいぜい便秘に有効なもの、他方、消化器官に負担をかけ栄養素の利用効率を低下させるものとして扱われてきた。このことが食品の精製を一層進めることとなり、先進国ほど精製食品の摂取量の増加を招いた。その結果過剰栄養となり運動不足などの環境要因も加わり、高脂血症、虚血性心疾患、糖尿病、大腸癌、胆石症、腸憩室症などの成人病の発生率の増加をもたらした。わが国でも近年、DFの生理作用が注目され、それらの製品が種々発売され現在に至っている。今回、ルバーブおよび桑葉のDF成分がin vitroで陽イオンにどのような影響を及ぼすかを検討した。

## 2 方法

## 2.1 DFの分析法

## 2.1.1 Southgate法

分析法を図1に示した<sup>2)</sup>。

試料中の非消化性多糖類を系統的に分別し、個々の成分として定量した。(グルコースとして算出)

## 2.1.2 ASP法

分析法を図2に示した<sup>3)</sup>。

試料中の非消化性多糖類を水可溶性、水不溶性繊維として定量した。

## 2.1.3 Prosky-AOAC法

分析法を図3に示した<sup>4)</sup>。

試料中の非消化性多糖類を全DFとして定量した。

## 2.2 ペクチン質の分析法

## 試験溶液の調製法

最終濃度が1N-硫酸溶液になるように調製し、100℃で2.5時間加水分解した。pH7.0とした後一定量とし試験溶液とした。

## 定量法（ウロン酸として算出）

氷冷したホウ酸ナトリウム/硫酸溶液（0.95g/100ml）5mlに氷冷下試験溶液1mlを加え、混和後10分間煮沸した。冷後、カルバゾール/エタール溶液（125mg/エタノール100ml）0.2mlを加え混和後15分間煮沸した。冷後530nmで吸光度を測定し、ウロン酸を用いて作成した検量線より濃度を求めた。

## 2.3 食物繊維の成分分画法

分画法を図4に示した<sup>5)</sup>。

ヘミセルロースA（水不溶性繊維）：枝分かれの少ない高分子多糖類

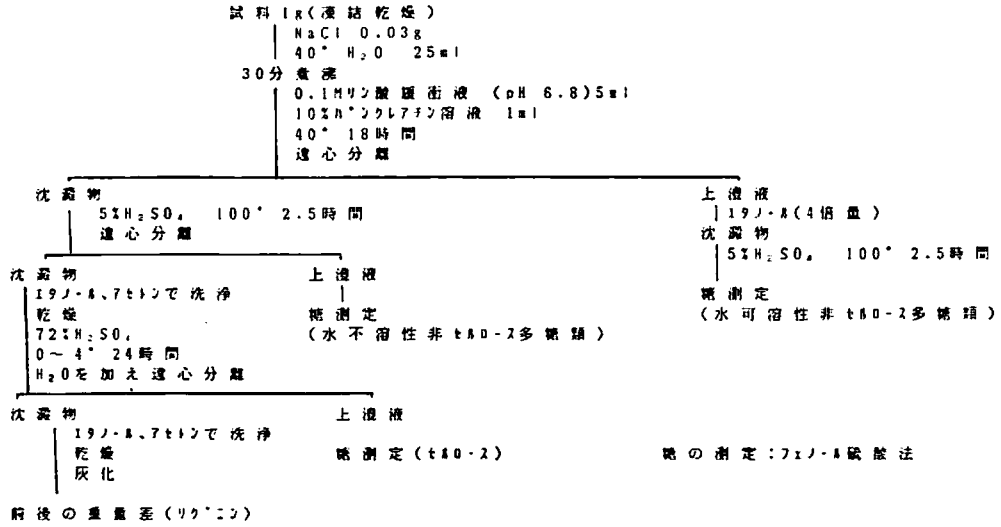


図1. Southgate法による食物繊維定量法

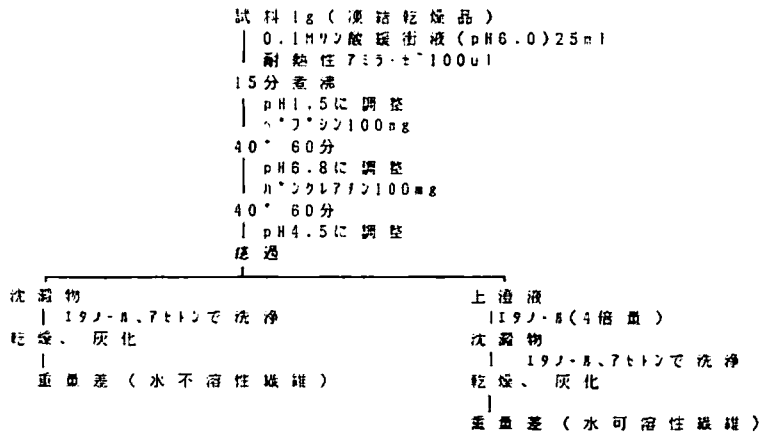


図2. ASP法による酵素的食物繊維定量法



ヘミセルロースB (水可溶性繊維) : 枝分かれの非常に多い低分子の多糖類

ヘミセルロースC (水可溶性繊維) : ウロン酸残基の少ない多糖類

2.4 DFの吸着作用の検討

ルバーブ粉末、桑葉粉末、それらのヘミセルロースおよび対照として市販されている、レモンペクチン (水可溶性繊維) とセルロース (水不溶性繊維) を用い検討を行った。上記のDF (0.1~0.5 g) を酸溶液 (pH1.2~3.0) に分散させ、陽イオン ( $Fe^{+3}$ ,  $Cd^{+2}$ ,  $Cu^{+2}$ ,  $Zn^{+2}$ ) を添加し、37℃、10時間インキュベートした。遠心分離後上澄液について限外濾過 (分子量10,000使用) を行い、濾液の陽イオン濃度を測定し吸着量を求めた。

3 結果及び考察

3.1 食物繊維の分析結果

Southgate法、ASP法、Prosky-AOAC法による結果を表1~3に示した。Southgate法ではリグニンの定量法を重量法による直接法で実施し、リグニン以外はグルコース量として算出しているため特に水可溶性繊維では、ASP法の値との間に差を生じた原因と思われる。

表1. Southgate法による分析値 (%)

	ルバーブ粉末	桑葉粉末
水可溶性非多糖類	5.4	4.5
水不溶性非多糖類	4.4	5.4
多糖類	17.5	23.7
リグニン	4.2	5.6

表2. ASP法による分析値 (%)

	ルバーブ粉末	桑葉粉末
水可溶性繊維	14.0	7.9
水不溶性繊維	29.9	45.0

表3. Prosky-AOAC法による分析値 (%)

	ルバーブ粉末	桑葉粉末
食物繊維	49.7	43.6

3.2 ペクチン質の分析結果

水可溶性ペクチン含有量はルバーブ粉末 (7.7%)、桑葉粉末 (2.2%)、レモンペクチン (68.0%)、一方水不溶性ペクチン含有量はルバーブ粉末 (1.3%)、桑葉粉末 (4.1%)、レモンペクチン (0%) であった。上記の結果はウロン酸量として算出しているため純品に近いと思われるレモンペクチンでも68%と低かった。ペクチン質は水可溶性であるが、細胞壁中ではカルシウム等の塩として存在しているため水に溶けにくい。カルシウムの含有量は桑葉粉末では2.7%、ルバーブ粉末では0.7%であり、桑葉粉末のペクチンの多くがカルシウム塩として存在しているため、水不溶性ペクチンが多いものと思われる。

3.3 食物繊維の金属吸着作用について

一般にウロン酸や硫酸基を有する多糖類はポリアニオンとして作用し陽イオン交換能を示す。陽イオンの価数が多いほどまたイオン半径 ( $Ca^{+2}$ ; 0.99,  $Fe^{+3}$ ; 0.64,  $Cd^{+2}$ ; 0.97,  $Cu^{+2}$ ; 0.72,  $Zn^{+2}$ ; 0.71) オングストローム) が小さいほど交換基 (すなわちDF) との親和性が大きくなる。

3.3.1 pHの影響

$Fe^{+3}$  を用いてpH1.2 (人工胃液) ~3.0で検討した。結果を図5に示した。レモンペクチンではpHの上昇に伴い

吸着量 ( $\mu g/g$ )

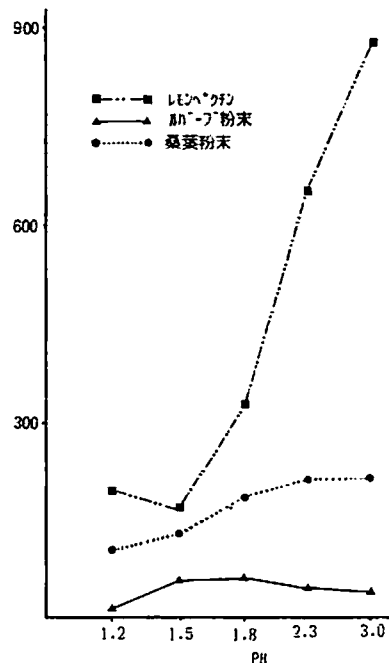


図5.  $Fe^{+3}$  の吸着に及ぼすpHの影響

吸着量の上昇が見られたが、ルバーブ粉末と桑葉粉末ではpH1.8以上では吸着量の減少傾向が見られた。

3.3.2 陽イオンの添加量の影響

Fe<sup>+3</sup>を用いて検討した。結果を図6に示した。添加量の増加に伴って吸着量の増加傾向が見られた。

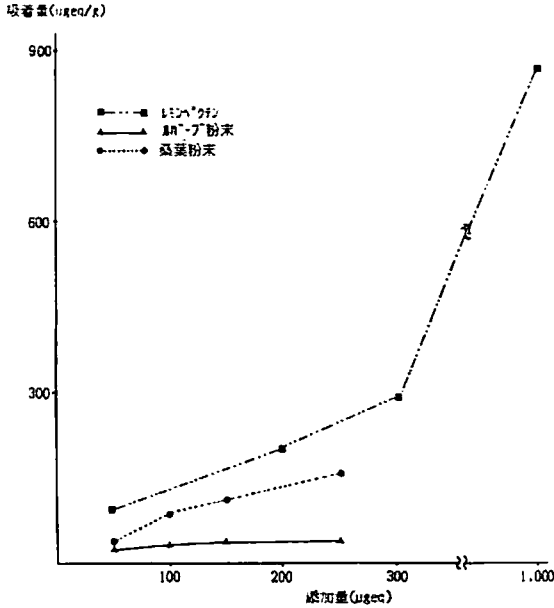


図6. Fe<sup>3+</sup>の添加量と結合量

3.3.3 金属吸着能

ルバーブ粉末、桑葉粉末およびそれらのヘミセルロースとレモンペクチンの金属吸着量の結果を図7~8に示した。金属吸着量はルバーブ粉末 (Fe<sup>+3</sup>が25、Cu<sup>+2</sup>が16、Zn<sup>+2</sup>が48、Cd<sup>+2</sup>が117 μg eq/g)、桑葉粉末 (Fe<sup>+3</sup>が100、Cu<sup>+2</sup>が91、Zn<sup>+2</sup>が159、Cd<sup>+2</sup>が150 μg eq/g)、レモンペクチン (Fe<sup>+3</sup>が874、Cu<sup>+2</sup>が740、Zn<sup>+2</sup>が297、Cd<sup>+2</sup>が158 μg eq/g)であった。ルバーブ粉末では熱水抽出・水可溶性繊維 (大部分が水可溶性ペクチンと思われる) における金属吸着量はレモンペクチンに比べて全般に低かった。またヘミセルロース成分ではヘミセルロースCの金属吸着量は他のヘミセルロースより多かった。桑葉粉末では熱水抽出・水可溶性成分において4種類の陽イオンの中で最もCd<sup>+2</sup>の吸着量が多かった。ヘミセルロース成分ではルバーブ粉末同様ヘミセルロースCの金属吸着量が多かった。

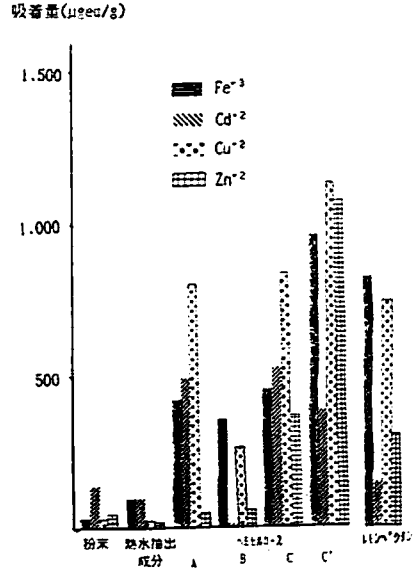


図7. ルバーブ・繊維成分の金属吸着量

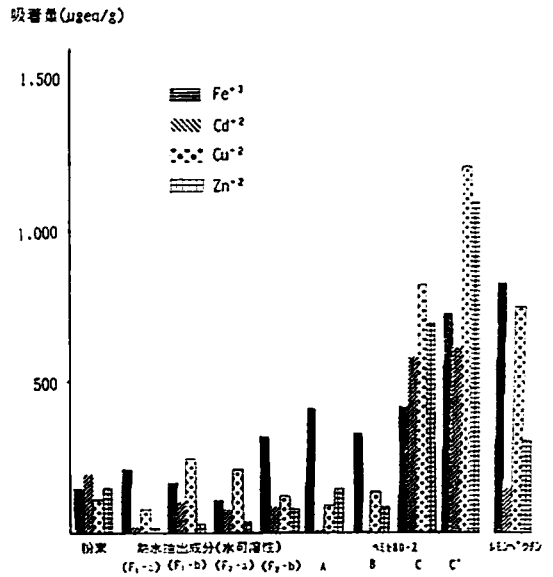


図8. 桑葉・繊維成分の金属吸着量

#### 4 まとめ

ルバーブ粉末および桑葉粉末とも明かな金属吸着が見られたが、桑葉粉末のほうが全般に金属吸着能が高かった。ヘミセルロースではヘミセルロースCが他より高かったものの、はっきりした傾向は見られなかった。今後、緑茶やいたどりのDFとの比較検討およびこれらの吸着能に及ぼす他成分の影響についての検討を行う予定である。

#### 5 文献

- 1) 印南 敏, 桐山 修八; 食物繊維, 第一出版株式会社, 7-10 (1989)
- 2) 加工食品の栄養成分分析法, 日本栄養食品協会, 30-33 (1985)
- 3) N.-G. Asp, et al.; J. Agric. Food Chem, **31**, 476-482 (1983)
- 4) L. Prosky, et al.; J. Assoc. Off. Anal. Chem, **68**, 677-679 (1985)

## (2) 桑葉のラット消化管作用に関する研究

川名 清子 (衛生研究所)  
 平山 クニ (衛生研究所)  
 堀口 佳哉 (衛生研究所)  
 鈴木 誠 (蚕業センター)  
 高橋 恭一 (蚕業センター)  
 有賀 勲 (蚕業センター)

桑葉が桑茶として食生活にとり入れられている現状に鑑み、食品素材として桑葉をとりあげ、その生理機能について検討した。特に、桑葉の成分組成から食物繊維に着目し、それらを中心とした観点から、ラット消化管作用に及ぼす影響について検索を試みた。本実験では、食物繊維素材としてペクチン、セルロースについて併せて検討した。ウイスター系雄性ラットを用い、飼料は市販ラット用飼料を標準食として、桑葉、ペクチン及びセルロースを2.5%、10.0%含むように調製した。飼料と水は自由摂取とした。桑葉群は飼料摂取量の増加を示し、消化管の肥大傾向がみられた。また、水分の多い糞を量多く排泄し、糞は粗脂肪含有量の高いものであった。ラット体脂肪は、桑葉群で抑制的傾向がみられた。以上の経過は、桑葉の食物繊維作用を示唆するものと考えられた。

### 1 はじめに

高齢化社会をむかえての健康志向、成人病の増加など健康を巡る課題に対し、栄養改善法の一部改正が告示され、「特定保健用食品」が正式に制度化された。このような状況のなかで、摂取栄養成分のあり方に関心が高まっている。

日常の食生活のなかには、伝統的あるいは習慣的に利用されている食品素材がある。そのひとつに、桑葉があげられる。桑葉は、神奈川県をはじめとする養蚕農家の一部では桑茶として飲用に供されている。

本共同研究の成果によると、桑葉の食物繊維は非常に多くその定量値はつぎのとおりであった。桑葉の乾燥粉末についてASP法により食物繊維を求めたところ、水溶性繊維7.9%、水不溶性繊維45%の値が得られている。また、Prosky法による場合には43.6%の分析結果が得られている。本定量値は、今中、松永<sup>1)</sup>の報告にあるProsky法による分析値の小麦ふすま、中国茶に近似する値である。

近年、食物繊維が栄養学的に重要な種々の生理機能を有することが次第に明かにされている。しかし、現在のところ桑葉に関する生理作用については明白ではない。食品素材としての桑葉について、含有量の多い食物繊維に着目し、ラットを用いた実験系において、桑葉の消化管作用に及ぼす影響について検索を試みた。著者らは、桑葉とともに、食物繊維素材としてペクチン、セルロースを用いてそれらが消化管に及ぼす影響を排泄物の糞、食餌の消化管通過時間及び消化管の重量、長さ等につい

て併せて検討した。

### 2 実験方法

#### 2.1 実験材料

桑葉：桑葉品種「一の瀬」を伊達式製茶機により桑茶とし、粉末にした。

ペクチン：レモン製、化学用、和光純薬工業株式会社

セルロース：濾紙粉末D、東洋濾紙株式会社

グルコース：特級、和光純薬工業株式会社

コーン油：林市次商店

グルコース測定試薬：グルコースHK、テストBMY  
 ベーリンガー・マンハイム山之内株式会社

その他の分析試薬は市販特級品を使用した。

#### 2.2 実験動物

ウイスター系雄性ラット4週令（日本エスエルシー株式会社）を購入し、固型飼料（日本クレア株式会社CE-2）及び水を自由に与えて一週間の予備飼育後、1群3-4匹として5週令より実験を開始した。

#### 2.3 実験飼料の調製

市販の固型飼料CE-2を標準食とした。別に、同一ロットのCE-2に桑葉、ペクチン、セルロースを2.5%及び10.0%含有するように固型飼料を調製した。

#### 2.4 実験群及び摂取飼料

実験群はつぎのA-G群とした。A群：桑葉2.5%含有飼料摂取群、B群：桑葉10.0%含有飼料摂取群、C群：ペクチン2.5%含有飼料摂取群、D群：ペクチン10.0%含有飼料摂取群、E群：セルロース2.5%含有飼料摂取群、



F群：セルロース10.0%含有飼料摂取群、G群：標準食摂取群

飼料及び水は自由摂取とし、観察期は、幼若期（3週摂餌）、成熟期（11週摂餌）及び成熟後期（20週摂餌）とした（表1）。

表1 実験群と飼料組成

実験群	飼料組成			
	CE-2	桑葉	γ°ゲン	セルロース
A	97.5%	2.5%	0%	0%
B	90.0	10.0	0	0
C	97.5	0	2.5	0
D	90.0	0	10.0	0
E	97.5	0	0	2.5
F	90.0	0	0	10.0
G	100.0			

### 2.5 飼料摂取量、糞量及び体重測定

摂取量は幼若期では、実験開始3日から5日目の3日間、成熟期、成熟後期では実験終了7日前から5日目の3日間を観察した。この間24時間の糞をまとめて採取、秤量し、湿重量とした。この糞を乾燥秤量し乾燥重量とした。乾燥減量を糞水分とした。体重は週1回測定した。

### 2.6 消化管通過時間の測定

幼若期及び成熟期について、飼料摂取開始2週目及び10週目にマーカーとして1%CMCにより、均一になるように調製した赤色素カルミン（30mg/ml）を強制的に経口投与した。実験当日の15:00に幼若期では1.0ml/匹、成熟期では1.5ml/匹とした。飼料と水を自由摂取させながら、3時間おきに糞を採取し、着色糞が出終わるまでの時間を消化管通過時間とした。観察時間は27時間までとした。マーカーの観察方法は、3時間おきに採取した糞を秤量し、gあたり水40mlを加えてホモブレンダーにより攪拌均一にした。1g以下の場合は一律に水30mlとした。均一にした糞溶液をガーゼでろしたる液について、一定量を取り肉眼により比色した。対照は、マーカー投与前の糞を同様に操作した糞溶液から得られたる液とした。

### 2.7 消化管の重量及び長さ

各観察期においてラットをハロタン麻酔下に開胸し、心臓より採血、致死後、内臓をとり出し、消化管を分離した。胃、小腸、盲腸、大腸（結腸+直腸）を切りはなし、消化管内容物を洗いだし、生理食塩水でうるおした

のち余分な水分を除き、重量または長さを測定した。

### 2.8 糞の粗脂肪及び体脂肪の測定

糞量測定時に採取した糞を乾燥粉末として、ソックスレー抽出し、抽出物を重量法により測定し、粗脂肪とした。また、消化管の分離と同時に腸管膜脂肪組織及び腹壁背部の腹膜後腔の脂肪組織を摘出、秤量した。

### 2.9 糖負荷試験

成熟後期ラットにおける試験では、グルコース負荷量を体重1kgあたり4gとして経口投与した。投与前、30、60、120、180分において尾静脈より経時的に採血し、血漿中のグルコースを酵素法により測定した。また、空腹時における負荷試験では、8週令のウイスター系雄性ラットを購入し、1週間の予備飼育の後、9週令のラットについて急性的に負荷試験を行った。即ち、前日17:00に1匹あたり2ヶの固型飼料を残し、翌日10:00まで絶食状態におき糖負荷試験を行った。負荷量は体重1kgあたり4gとした。負荷溶液は桑葉2.5%/40%グルコース、桑葉10.0%/40%グルコースのほかに桑葉の食物繊維定量値にもとずき、仮に、水溶性繊維としてペクチン、水不溶性繊維としてセルロースを選択し、ペクチン0.8%+セルロース4.5%/40%グルコース、ペクチン4%/40%グルコース、セルロース5%/40%グルコースを調製した。別に、40%グルコースを試験に供した。

### 2.10 脂質負荷試験

成熟後期ラットについて、脂質負荷を行い糞中に排泄される粗脂肪の定量を試みた。投与後、24時間以内に排泄された糞及び24時間から48時間の間に排泄された糞を採取し、乾燥後粉末状としてソックスレー抽出を行い糞中の粗脂肪とした。別に、脂質投与前の糞を採取し、同様に操作した。

なお、数値は多くの場合、平均値±標準誤差で示し、 $p < 0.05$ において標準食群に有意差の認められるものについては\*印を付した。

## 3 結果

### 3.1 摂取量及び体重

幼若期では各群がG群に対して摂取量増加がみられた。成熟期では、D、E、F群がG群を上回る摂取量であった。また、成熟後期では、各群がG群を上回る傾向がみられたが顕著ではなかった。体重の推移は各群とも同様の増加傾向を示し、実験終了時における体重はG群にたいして差を認めなかった（表2）。

### 3.2 消化管の重量及び長さ

幼若期では、F群において消化管重量が大きくなっている様子が見られた。しかし、各実験群がG群に対して著しい差を示さなかった（表3）。

成熟期では、小腸及び大腸の長さにおいてA群を除く各群で大きくなっていることが観察された。これらの測定値は素材含有量に応じた長さの増加傾向がみられた(表4)。  
 成熟後期では、各群において小腸の長さが大きくなっていることが観察された。また、大腸の長さではB、D、E群で増加傾向が認められた(表5)。

表2 飼料摂取量と体重変化

	実 験 群						
	A	B	C	D	E	F	G
幼 初期体重(g)n=3	78.28±4.01	83.95±2.11	80.28±1.05	77.28±2.54	79.58±1.14	81.28±3.83	77.98±2.27
若 終期体重(g)n=3	176.78±8.26	184.75±6.90	174.78±3.12	167.93±5.41	166.88±6.13	174.40±6.33	179.53±2.73
期 摂取量(g/匹/日)n=6	12.38±0.62	12.88±0.39	12.89±0.70	12.38±0.37	12.31±0.66	12.95±0.98	10.30±0.52
成 初期体重(g)n=3	81.50±3.99	84.93±3.30	85.43±1.78	85.08±3.34	91.35±1.67	81.80±3.24	86.05±1.73
熟 終期体重(g)n=3	307.46±4.07	305.57±7.51	297.27±6.11	284.77±7.17	301.37±8.20	283.87±2.47	296.23±7.47
期 摂取量(g/匹/日)n=5	21.70±0.73	21.08±0.34	18.96±1.86	23.96±0.66	22.28±0.49	23.90±0.34	20.34±0.52
成 初期体重(g)n=3	108.27±5.23	112.00±2.81	108.60±1.46	109.10±3.59	107.23±2.28	109.60±3.07	108.37±4.09
熟 終期体重(g)n=3	353.37±6.61	358.57±16.63	349.43±5.82	330.60±11.03	330.10±21.03	349.10±16.78	368.00±15.65
後 期 摂取量(g/匹/日)n=3	21.88±1.33	22.18±0.61	23.68±1.28	22.85±0.77	21.60±0.84	20.78±1.51	19.80±1.24

Mean±S. E. \*; P<0.05

表3 幼若期における消化管重量

	幼 若 期			
	胃 g/100g BW	小腸 g/100g BW	盲腸 g/100g BW	大腸 g/100g BW
A	0.54±0.03	2.77±0.08	0.52±0.01	0.53±0.01
B	0.53±0.03	2.91±0.14	0.57±0.03	0.59±0.01
C	0.53±0.02	2.63±0.08	0.56±0.03	0.56±0.03
D	0.52±0.01	2.97±0.12	0.60±0.03	0.62±0.03
E	0.56±0.02	2.99±0.03	0.50±0.02	0.60±0.05
F	0.56±0.01	3.11±0.22	0.56±0.03	0.65±0.01
G	0.51±0.02	2.69±0.03	0.49±0.03	0.57±0.05

Mean±S. E. (n=3)

表4 成熟期における消化管重量と長さ

	成 熟 期					
	g/100g BW	小 腸		盲 腸 g/100g BW	大 腸	
g/100g BW		cm/100g BW	g/100g BW		cm/100g BW	
A	0.40±0.01	1.91±0.04	33.48±0.73	0.32±0.02	0.48±0.02	4.92±0.01
B	0.41±0.02	2.12±0.17	36.67±1.69	0.36±0.02	0.51±0.02	5.49±0.25
C	0.39±0.01	1.96±0.03	37.50±1.13	0.34±0.02	0.51±0.02	5.57±0.08
D	0.37±0.01	1.86±0.04	33.31±0.90	0.42±0.02	0.50±0.04	5.74±0.49
E	0.39±0.01	1.94±0.08	35.45±1.24	0.35±0.01	0.52±0.01	5.46±0.25
F	0.43±0.01	1.97±0.01	36.67±1.04	0.33±0.01	0.53±0.01	5.58±0.17
G	0.38±0.02	1.86±0.04	34.29±0.67	0.34±0.03	0.46±0.01	4.53±0.19

Mean±S. E. (n=3)

表5 成熟後期における消化管重量と長さ

	成熟後期					
		小腸		盲腸	大腸	
	g/100g BW	g/100g BW	cm/100g BW	g/100g BW	g/100g BW	cm/100g BW
A	0.37±0.01	1.77±0.04	32.59±0.24	0.32±0.01	0.44±0.02	4.45±0.26
B	0.39±0.01	1.86±0.01	33.09±0.65	0.32±0.03	0.47±0.01	5.10±2.26
C	0.37±0.01	1.80±0.09	33.14±0.42	0.33±0.02	0.44±0.02	4.58±0.25
D	0.36±0.04	1.84±0.07	37.14±0.86	0.35±0.02	0.50±0.03	5.26±0.46
E	0.41±0.02	1.82±0.01	35.88±0.70	0.32±0.01	0.51±0.04	5.36±0.32
F	0.39±0.01	1.84±0.09	33.31±0.87	0.32±0.01	0.46±0.01	4.77±0.10
G	0.39±0.01	1.81±0.09	31.06±0.86	0.28±0.01	0.43±0.03	4.45±0.19

Mean ± S. E. (n = 3)

3.3 消化管通過時間

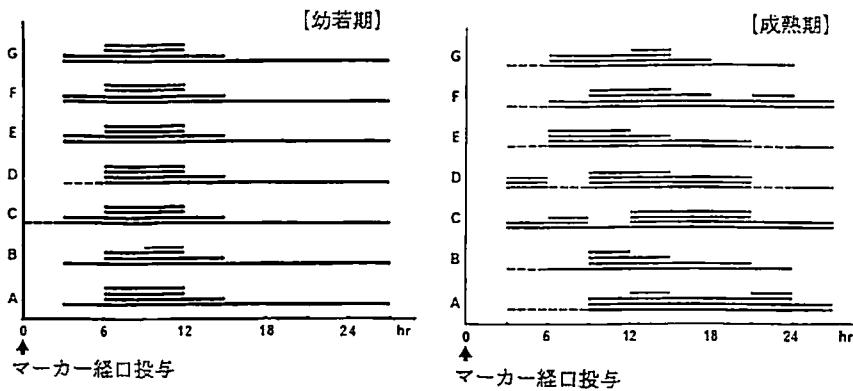


図1 消化管通過時間

幼若期では、マーカーを強制投与後、着色糞が3時間後から観察された。この時間に顕著に排泄された群はC、E、F、G群であった。その後6時間後から12時間後まで各群に量の多い排泄がみられた。D群では明かな着色糞の排泄は6時間後にみられた。A、B群では、少量ではあるが3時間後に着色糞の排泄があり、6時間後から12時間後まで多量に排泄し、その後は他の群と同様に微量の着色糞が27時間後まで観察された(図1)。

成熟期では、C、D群において3時間後に着色糞を観察した。6時間後に明かな着色糞を排泄したのはE、F、G群であった。A群では9時間後に観察され、その後量多く27時間後においても明かな排泄が継続した。B群は6時間後に少量が認められたが明瞭な排泄は9時間後であった。B群は24時間後で着色糞の排泄が終了した。27時間後において明かな排泄が確認された群はA、C、F群であった。G群では、6時間後から18時間後の間に多量の着色糞の排泄が認められ、その後わずかつつ排泄が

継続した後、24時間で終了した(図1)。

3.4 糞量及び糞水分

幼若期では、A、B群をはじめ他の群においてもG群に対して排泄糞湿重量の顕著な増加が認められた。それらの糞はG群に対して明らかに水分含量の多いものであった。なかでも、乾燥重量としての排泄量の多いものはG群に対してA、B群が顕著であった(図2)。

成熟期では、F群における湿重量の増加が認められ、乾燥重量においても同様であった。水分含量においてはむしろF群はG群を下回ったが、その他の群ではG群を上回る結果であった。特に、D群の水分含量は明らかに多かった。A、B群では、湿重量、乾燥重量において顕著な傾向は認められなかった(図3)。

成熟後期では、F群において顕著な排泄量の増加がみられた。乾燥重量においても量の多いものであった。A、B群は排泄量においてG群に近似していたが、B群では水分含量が多かった(図4)。

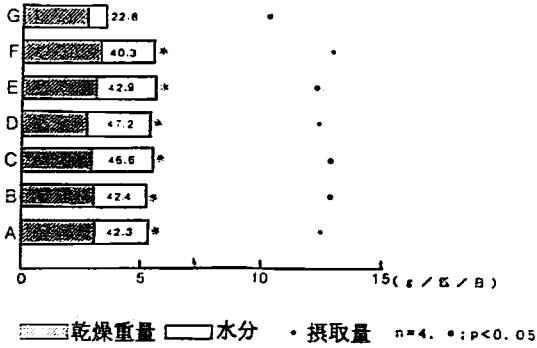


図2 幼若ラットにおける糞の湿重量、乾燥重量、水分

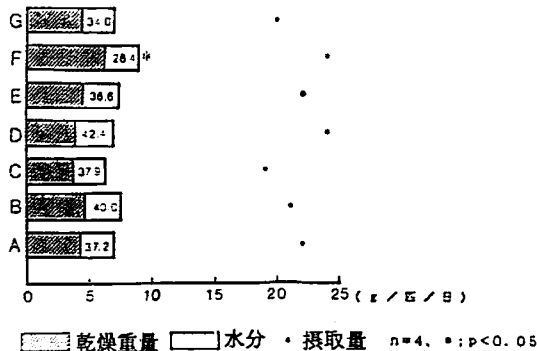


図3 成熟ラットにおける糞の湿重量、乾燥重量、水分

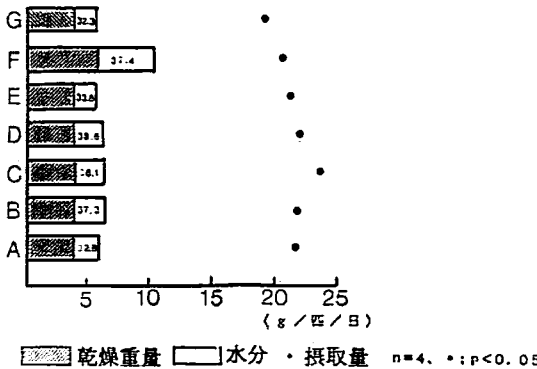


図4 成熟後期ラットにおける糞の湿重量、乾燥重量、水分

3.5 体脂肪

腸管膜脂肪組織及び腹壁背部の腹膜後腔の脂肪組織について観察した。幼若期では、G群を100とした場合、腸管膜脂肪組織は各群がそれを下回った。また、腹壁背部の腹膜後腔の脂肪組織においても、B群以外はG群を下

回った(図5)。

成熟期では、腸管膜脂肪組織はB、F群以外は、G群を上回った。腹壁背部の腹膜後腔の脂肪組織においては、F群以外はすべてがG群を上回るものであった。両体脂肪量において、G群を下回る結果が得られたものはF群のみであった(図6)。

成熟後期では、腸管膜脂肪組織及び腹壁背部の腹膜後腔の脂肪組織において、A、B群がG群を下回る結果が得られた。特に、B群において顕著であった(図7)。

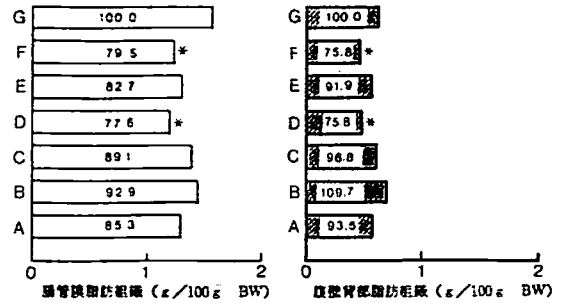


図5 飼料の体脂肪への影響(幼若期)

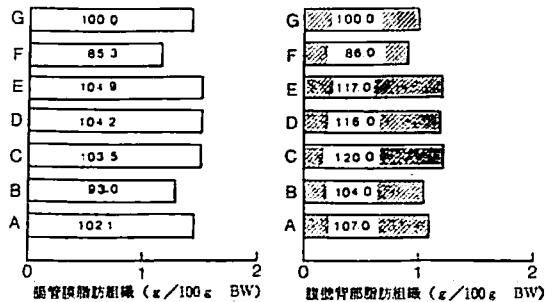


図6 飼料の体脂肪への影響(成熟期) n = 4

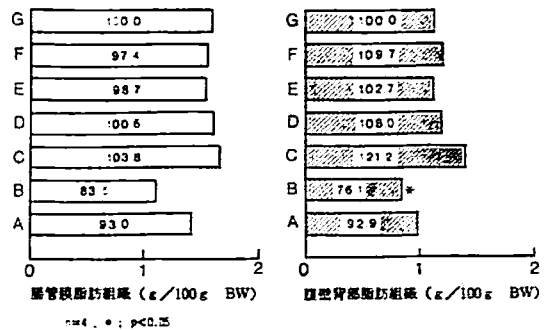


図7 飼料の体脂肪への影響(成熟後期)

3.6 糞の粗脂肪

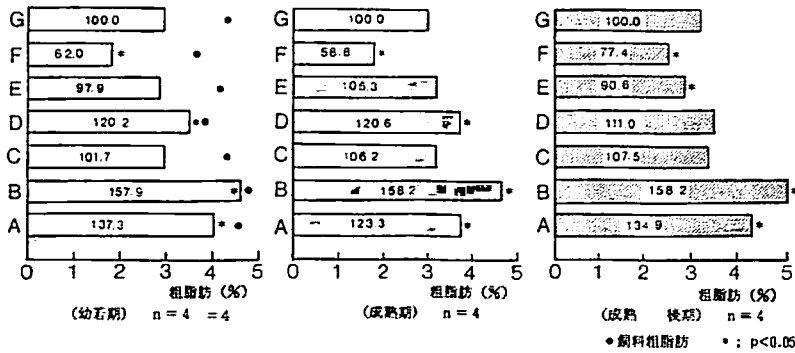


図8 糞及び飼料の粗脂肪

幼若期では、E、F群以外はG群を上回る排泄量であった。成熟期では、F群が少ない排泄であったが、他の各群はG群を上回った。成熟後期においては、E、F群を除く各群がG群を上回った(図8)。

3.7 糖負荷試験

成熟後期ラットについて糖負荷試験を行い、血糖値を観察した。A、B群では、投与後次第にその値が上昇し、2時間後には最大値を示し、その後徐々に下降した。しかし、G群をはじめとするその他の群では、1時間後に最大値が観察され、3時間後までゆるやかに下降する様子がみられた(図9)。

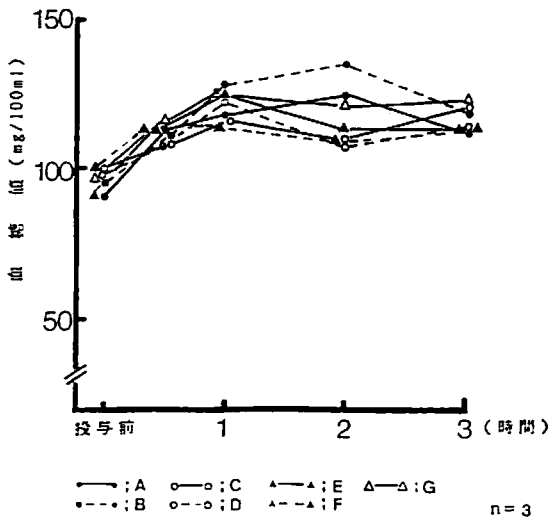


図9 ラットにおける糖負荷試験

空腹時における負荷試験では、すべての調製負荷溶液投与群で投与後30分に最大血糖値がみられ、わずかに低

下しているが2時間後まで上昇値を維持した。その後40%グルコース溶液群では、急速に下降し、3時間値から4時間値においてほぼ投与前の値を示した。これに対し、10%桑葉溶液群ではいく分抑制的な上昇値を示し、3時間から4時間後にかけて下降した。

また、ペクチン0.8%+セルロース4.5%溶液群は、30分後に最大値を示し、2時間後まで維持した後、おだやかに下降した(図10)。

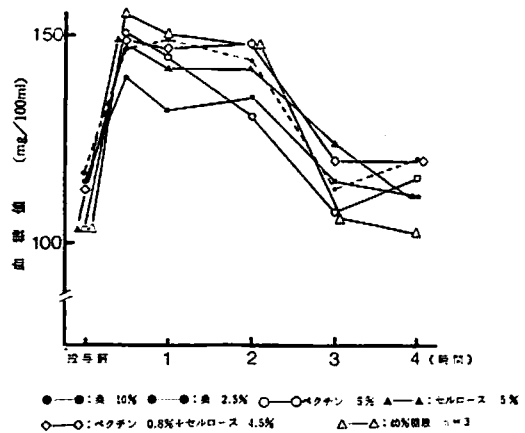


図10 ラットにおける糖負荷試験(空腹時)

3.8 脂質負荷試験

投与後48時間内に排泄された糞に含まれる粗脂肪は、G群に対してF群を除くすべての群で増加した。特に、B群において顕著であった。F群では有意にG群を下回った。

投与前における粗脂肪では、G群に対してA、B群が多く排泄され、F群はG群を下回っていた。24時間内に

排泄された糞中の粗脂肪では、G群に対して明らかにA、B、C、D群が上回った。特に、A、B群における排泄は著しかった。E、F群ではG群とほぼ同程度であった。さらに、24時間から48時間内に排泄された糞中の粗脂肪は、A、B、C、D、E群で増加した。なかでも、量多く排泄したのはB、D、E群であった。F群は顕著にG群を下回る結果であった(図11)。

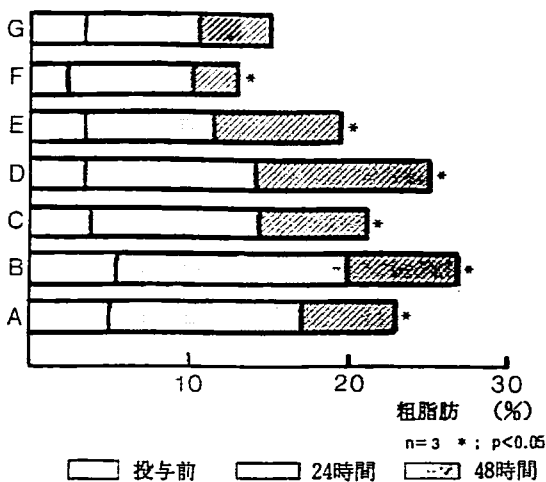


図11 脂質負荷試験による排泄状況

#### 4 考察

消化管作用に影響する要因は多岐にわたり、複雑であると考えられるが、食物繊維がその作用に関与し、有用な働きをする食事成分であることが次第に明かにされている。食物繊維は食事における常在成分であり、消化管内腔を通過する際にその作用を示すと考えられ、吸収、排泄に影響を及ぼすことが知られている<sup>2-6)</sup>。

桑葉の乾燥粉末には、およそ50%の食物繊維が含まれていることが本共同研究により示されている。また、標準食CE-2の食物繊維量はProsky法によると、21%であった。これより、各実験飼料中に含まれる食物繊維量の概算はA群22.5%、B群26%、C群23.5%、D群31%、E群23.5%、F群31%、G群21%であった。

飼料摂取量は標準食群Gに対して幼若期では、明らかに増加した。また、成熟期では、セルロース群で増加した。成熟後期では、桑葉群、ペクチン群で増加傾向であったが顕著なものではなかった。しかし、このような摂取量の増加が認められたにもかかわらず終期体重差は観察されなかった。このことは、おそらく本実験系の範囲における桑葉量、食物繊維含有飼料摂取による熱量摂取に差がなかったものと考えられた。食物繊維の1日

1匹あたりの摂取量は標準食を1とすると、各観察期を含めた桑葉低濃度群では、1.2-1.3、高濃度群では1.3-1.5であった。一方、食物繊維素材群では、ペクチン低濃度群1.1-1.4、高濃度群1.7-1.8、セルロース低濃度群1.2-1.3、高濃度群1.6-1.8であった。桑葉高濃度群において摂取量の増加が著しい。このことは、食物繊維素材群においても観察された。食物繊維素材濃度に応じて摂取量が増加したのは、竹下ら<sup>2,7)</sup>の報告にも示されているように非消化物による代償的作用であろうと考えられた。

消化管の重量及び長さでは、桑葉高濃度群で小腸、大腸の肥大傾向が観察された。これは食物繊維素材群においても同様の傾向がみられた。摂取量の増加と非消化物の消化管内における常在が消化管の重量、長さの増加をもたらしたものと考えられた。しかし、消化管のうちでも、胃、盲腸では素材による違いはほとんどみられなかったが、素材種によることも考慮する必要があるのかもしれない。

消化管通過時間では、幼若期桑葉群は、排泄開始までの時間はペクチン高濃度群に近似し、排泄の経過も同様であった。しかし、セルロース群では、開始までの時間が桑葉群より速かった。また、成熟期では、ペクチン群で排泄開始が速かったが、その過程をみるとほとんど排泄していない時間帯があるため、前半の排泄は素材による影響とは考えにくく、ペクチン群の排泄は桑葉群の排泄に近いものと考えた。この観察期においてもセルロース群の排泄開始は速かった。桑葉高濃度群では、暖やかに排泄が開始され排泄終了までの時間が短いことが認められ、他の群のいずれにも類似するものではなかった。糞量の増加と消化管通過時間の短縮がよく一致するという報告<sup>7)</sup>があるが、著者らの実験ではかならずしも一致しなかった。消化管通過時間に影響する因子として、食物繊維の種類による腸管内挙動の違い、発酵により生ずる有機酸<sup>8)</sup>の腸管運動への関わりなどが考えられる。しかし、桑葉高濃度群の排泄状況は、本実験系における供試食物繊維素材群とは異なり、桑葉食物繊維の特殊性によるものなのか、あるいは、他の桑葉成分が食物繊維作用とともに関与しているのではないかいうことを窺わせるものであった。

糞量では、幼若期において桑葉群、ペクチン群、セルロース群で顕著に増加し、水分量の多いものであった。多くの要因は摂取繊維量の多さによるものと推定した。より、正確には乾燥重量をもって摂取量、食物繊維量との関係を求める必要がある。

体脂肪は、幼若期桑葉群では標準食群とほぼ同程度であったが、ペクチン、セルロース群では減少していた。成熟期では、セルロース高濃度群でいく分低い値であ

たが、他の群では標準食群を上回る傾向であった。成熟後期では、桑葉高濃度群で腹壁背部の腹膜後腔の脂肪組織に顕著な減少が認められた。糞中への粗脂肪排泄では桑葉群でもっとも多く、ついでペクチン、セルロース群であった。これをラットの1日1匹あたりの摂取粗脂肪に対する排泄粗脂肪に換算すると、桑葉群の排泄%がもっとも多く、特に、桑葉高濃度群で著しかった。このことから、糞中粗脂肪排泄量が体脂肪値に影響していることが考えられた。また、強制的にコーン油を経口投与した負荷実験では、24時間内に排泄された糞の粗脂肪含有%は桑葉群でもっとも高かった。ペクチン高濃度群もゆっくり排泄を継続した。総じて、48時間内の粗脂肪排泄%の高いものは桑葉高濃度群であることもさきのデータに一致した。桑葉群は短時間に粗脂肪含有率の高い糞を排泄している可能性が考えられた。このことは、消化管通過時間における、まとまりのよい排泄状況にも示されているのかもしれない。食物繊維が脂質代謝に関与していることが知られ、その挙動は食物繊維種によりことなることが示されている<sup>9)</sup>。本実験結果が桑葉食物繊維の特異性によるものか明白ではない。しかし、食物繊維と共に他の要因による可能性についても示唆しているのではないかと推察された。

糖負荷試験における血糖値では、桑葉群は2時間後に最高血中濃度を示した。他の群では60分後であったところからおだやかな吸収といえるだろう。空腹時における場合には、桑葉群は血中濃度を抑制的に維持し、他の群と似た様子を示したが、一致するものではなかった。

## 5 結語

桑葉の生理作用についてその成分組成から食物繊維に着目し、ラット消化器系に及ぼす影響について検索を試みた。

1) 各観察期において、桑葉群は食物繊維素材群と同様に摂取量の増加を示した。このことは、食餌が非消化物である食物繊維により希釈されたことによる代償的作用と考えられた。この、摂取量の増加が消化管を肥大させたものと推定され、桑葉群の食物繊維作用を示唆するものと考えられた。

2) 消化管通過時間では、セルロース群に排泄が速く開始される様子が見られ、ペクチン群ではのびている傾向があった。桑葉群はどちらかというと中間的であったが、特に、桑葉高濃度群の排泄状況はまとまりがよく、いず

れの群にも類似していなかった。

3) 糞重量の増加は桑葉群では、幼若期で顕著であった。増加要因は水分であった。糞保水量が高いことが食物繊維素材群と同じように示された。このことは、食物繊維が内容物体積を増大させ、同時に多量の水を保持したまま排泄していることを示唆しているものと考えられた。

4) 体脂肪については、桑葉群で抑制的傾向がみられた。また、糞中の粗脂肪については桑葉群で粗脂肪排泄%が高いことが認められた。食物繊維が脂質代謝に関与する成分であることが確認されはじめているが、本実験結果が食物繊維作用のみによるものかは明白ではない。

5) 糖の負荷試験の結果から、桑葉群の吸収は緩やかな抑制的な様子が見られたが、桑葉の特異性によるものかどうかは明確ではない。

以上の実験結果から、ラットの消化管作用に桑葉の組成のひとつである食物繊維が関与する可能性が示唆された。

## 6 謝辞

本実験の実施にあたっては多くの方のご協力をいただいた。特に、当所佐藤修二氏、宮原智江子氏には多くの時間をさいていただいた。ここにお礼を申し上げます。

## 7 文献

- 1) 今中雅章, 松永和義: 栄食誌, 42, (1989)
- 2) 竹久文之, 鈴木 徹, 木村修一: 栄食誌, 32, 187, (1979)
- 3) 竹久文之: 栄食誌, 39, 457 (1986)
- 4) 宮田富弘, 有光ゆかり, 海老原清, 中島 昭: 栄食誌, 40, 236 (1987)
- 5) 池上幸江, 土橋 昇, 永山スミ子, 原田宏和, 西出英一, 印南 敏: 栄食誌, 36, 163 (1983)
- 6) 辻 啓介, 辻 悦子, 中川靖枝, 鈴木慎次郎: 栄食誌, 39, 187 (1988)
- 7) 中村カホル, 早川享志, 滝田聖親, 福富麻子, 西郷光彦, 印南 敏, 福井克任, 樋口 勝, 水口和彦: 栄食誌, 41, 185 (1988)
- 8) 高橋太郎, 江頭裕嘉合, 真田広夫, 綾野雄幸, 前田裕一, 寺島正彦: 栄食誌, 45, 277 (1992)
- 9) 有塚 勉, 田中勝三郎, 桐山修八.: 栄食誌, 42, 295 (1989)

## (3) ルバーブ及び桑葉水抽出液の腸内細菌発育に対する作用

沖津 忠行 (衛生研究所)  
 浅井 良夫 (衛生研究所)  
 成松 次郎 (農業総合研究所)  
 有賀 勲 (蚕業センター)

素材の水抽出液を用い、腸内細菌に対する発育阻止または抑制作用について、カップ法により試験した。腸内細菌科に分類される *Citrobacter freundii* 008株および *Klebsiella oxytoca* 031株に対して、ルバーブ水抽出液は発育阻止作用のあることが観察されたが、桑葉水抽出液ではその現象は認められなかった。細菌の発育阻止作用が認められたルバーブ水抽出液は、そのpHが3.2から3.3と低く、pH7.0に修正後の試験では発育阻止作用は見られなくなり、これを元のpHに戻して試験したとき再び本作用が観察された。しかし三種の酸により作製した酸性水溶液による試験では、いずれの酸もpH2.5以上で両菌種は発育阻止を受けなかった。すなわちルバーブ水抽出液の腸内細菌に対する発育阻止作用は、酸性域で活性を持つ因子によるのではないかと考えられた。

## 1 はじめに

植物素材の中には、細菌の発育阻止または抑制作用に関与する因子を有することが示唆されている<sup>1)</sup>。ここでは機能性食品の素材として検討されているルバーブ及び桑葉の、腸管内の細菌に及ぼす影響を評価するための第一段階として、両素材の水抽出液を用い、腸内細菌(分類学上)の発育に対する作用について試験した。その結果、ルバーブのそれに菌発育阻止活性を有すると思われる作用が認められたので報告する。

## 2 方法

被検菌には *Citrobacter freundii* 008株 (*C. f*008)、*Klebsiella oxytoca* 031株 (*K. o*031) および他に11菌種の腸内細菌を用い、前2菌種を検討の主たる材料とした。また、被検素材にはルバーブ粉末、桑葉粉末、生ルバーブ葉および生ルバーブ茎を用い、各素材の水抽出液はそれぞれの10gを精製水100mlに加えて調製した。調製は、各素材と精製水を攪拌もしくはストマッカーにより十分混和したのち、冷蔵庫に一夜静置後遠心分離した上清をろ過滅菌した非加熱試料、100℃1時間加熱後に遠心分離した上清を高圧蒸気滅菌した加熱試料の、二通りの試料が得られるように行った。生ルバーブについては非加熱試料のみとした。すなわち菌株の発育に対する作用を調べるために供試した試料は、ルバーブ粉末非加熱(試料1)、同加熱(試料2)、桑葉粉末非加熱(試料3)、同加熱(試料4)、生ルバーブ葉非加熱(試料5)および生ルバーブ茎非加熱(試料6)である。

また、菌発育に及ぼす酸の影響を調べるために、シュ

ウ酸、リンゴ酸およびクエン酸で作製した各酸の酸性水溶液を用いて試験した。

菌株の発育に対する作用の試験は、純培養菌をミューラーヒントン寒天培地に混和した平板培地を用い、その上に置いたカップに各試料を満したのち、37℃18~24時間培養のカップ法<sup>2)</sup>により行った。菌の発育阻止円が観察された場合は、その直径をノギスで測定した。

## 3 結果

*C. f*008および *K. o*031の平板培地上での発育に対して、素材から調製した試料の中に発育阻止作用を示すものが認められた。*C. f*008および *K. o*031の発育に対する各試料ごとの阻止円直径を表1に、また同表の注釈に各試料のpHを示した。発育阻止作用は、試料1および試料2が両菌種に対して、試料6が *C. f*008に対して認められた。これらの試料は、いずれもルバーブから調製したものであった。また試料のpHは、桑葉のそれはほぼ中性であったが、ルバーブのそれはpH3.2~3.7と酸性であった。

前記の菌種の他に、腸内細菌11菌種を用いた同様の試験の成績を表2に示した。いずれの菌もルバーブ粉末から調製した試料によって発育阻止作用を受けており、成績は類似していた。

試料1すなわちルバーブ粉末非加熱試料について、そのpHを3.2から7.0に修正後と、それを再びpH3.2に戻したものを作り、*C. f*008および *K. o*031の発育に対する作用を試験した。その成績を表3に示した。pH7.0に修正された試料では、両菌種に対する発育阻止作用は見られ



なくなり、pH3.2に戻したものでは観察された。

つぎに、シュウ酸、リンゴ酸およびクエン酸の各酸を用いて作製したそれぞれのpH2.0、pH2.5、pH3.0酸性水溶液の、*C. f008*および*K. o031*の発育に及ぼす影響を調べた。

表1 各調製試料の*Citrobacter freundii*008株 (*C. f008*)と*Klebsiella oxytoca*031株 (*K. o031*)の発育に対する作用

菌株	試料* と阻止円直径 (mm)					
	1	2	3	4	5	6
<i>C. f 008</i>	22.2	19.2	-	-	-	10.2
<i>K. o 031</i>	7.7	7.3	-	-	-	-

\* : 1はルバーブ粉末調製非加熱 (pH 3.2)、2は同加熱 (pH 3.2)、3は桑葉粉末調製非加熱 (pH 7.2)、4は同加熱 (pH 6.7)、5は生ルバーブ葉 (pH 3.7)、6は同茎 (pH 3.3)  
- : 阻止円認めず

表2 各調製試料の腸内細菌 (分類学上)の発育に対する作用

菌株	試料* と阻止円直径 (mm)					
	1	2	3	4	5	6
<i>Cedecea davisae</i>	18	16	-	-	-	-
<i>Cedecea lapagei</i>	12	12	-	-	-	-
<i>Cedecea netri</i>	14	13	-	-	-	-
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	19	20	-	-	-	-
<i>Citrobacter diversus</i>	15	15	-	-	-	-
<i>Enterobacter agglomerans</i>	13	11	-	-	-	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	16	16	-	-	-	-
<i>Enterobacter gergoviae</i>	15	12	-	-	-	-
<i>Enterobacter sakazaki</i>	16	14	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	13	13	-	-	-	-
<i>Hafnia alvei</i>	13	12	-	-	-	-

\* : 表1と同じ - : 阻止円認めず

表3 試料1のpH修正後試料による*C. f008*と*K. o031*の発育に対する作用

菌株	試料* ごとの阻止円直径 (mm)		
	A	B	C
<i>C. f 008</i>	22.2	-	20.3
<i>K. o 031</i>	7.7	-	8.3

\* : Aは試料1 (pH 3.2)、BはAをpH 7.0に修正、CはBをpH 3.2に再修正  
- : 阻止円認めず

その成績を表4に示した。リンゴ酸およびクエン酸のpH 2.0水溶液では、両菌種は発育阻止作用を受けたが、いずれの酸のpH2.5以上の水溶液ではこの作用は観察されなかった。

表4 *C. f008*と*K. o031*の発育に対する酸性水溶液の影響

菌株	酸とその水溶液のpH、阻止円直径 (mm)								
	シュウ酸			リンゴ酸			クエン酸		
	3.0	2.5	2.0	3.0	2.5	2.0	3.0	2.5	2.0
<i>C. f 008</i>	-	-	-	-	-	17.5	-	-	14.0
<i>K. o 031</i>	-	-	-	-	-	10.0	-	-	8.0

- : 阻止円認めず

#### 4 考察

腸内細菌 (分類学上)の発育に対して、ルバーブ水抽出液は、その非加熱および加熱試料ともに発育阻止作用を示した。非加熱および加熱試料との間に、阻止活性の程度の差異がほとんどなかったことから、発育阻止作用の因子は、加熱によって不活化されないことが示された。今回の試験では、主に*C. f008*および*K. o031*の発育に対する各試料の作用を検討した。両菌種間の比較で顕著なように、発育阻止作用を示す試料には菌種間において感受性の差が見られたが、これは用いた平板培地上での菌発育態度の相違によるものと思われる。また、生ルバーブから調製した試料が、ルバーブ粉末のそれと比べて明らかに弱い活性を呈したが、これは単に後者が前者よりも濃いという量的違いによるものであろう。

菌の発育阻止作用が認められたルバーブ水抽出液であるが、試料のpHはいずれも3.2~3.3と低く、その作用因子としてpHの影響が疑われた。そこでシュウ酸、リンゴ酸およびクエン酸水溶液を用い、*C. f008*と*K. o031*の発育に及ぼす影響を調べた。その結果、両菌種はいずれの酸性水溶液でもpH2.5以上であれば発育阻止作用を受けなかった。つまり試料のpHが低いということは、菌の発育阻止作用に関与する要因であるかもしれないが、単独の作用因子ではないことが推測された。つぎにルバーブ水抽出液の非加熱試料をpH7.0に修正後と、更にこれを元のpH3.2に戻した試料を用いて同様に試験したところ、菌の発育阻止作用は前者では認められず後者において認められた。すなわちルバーブ水抽出液の腸内細菌に対する発育阻止作用は、素材の性質であるところの酸性域において活性を持つ因子によると考えられた。

## 5 むすび

今回の試験から得られた成績は、ルバーブ素材から機能性食品を創造する上での参考になるとともに、製品の付加価値としての保存性の検討等に利用できると思われる。また、現在ルバーブ素材の腸内菌に及ぼす影響について、ラットによるルバーブ摂食実験を進めており、本素材の生体内における腸内菌への影響を評価したいと考えている。

## 6 謝辞

菌株を快くご分与賜りました、理化学研究所微生物系統保存施設の小迫芳正博士に厚くお礼申し上げます。

## 7 文献

- 1) 明間鯉一朗ほか；神奈川衛研報告，10，43-44 (1980)
- 2) 田中信男，中村昭四郎；抗生物質大要，24 (1967)