

研究報告

3 部位に分けたアスパラガスの不溶性食物繊維が消化管防御機能に与える影響

田邊宏基¹⁾* 植村里美²⁾ 小林真由³⁾

¹⁾ 名寄市立大学保健福祉学部栄養学科 ²⁾ 社会福祉法人慈愛会赤前保育園

³⁾ 社会医療法人北斗十勝自立支援センター介護老人保健施設かけはし

1. 研究の目的

アスパラガスの若茎はリグニン、フルクタン、キシランなどの食物繊維を湿重量で約 2% 含み、食物繊維の供給源として期待されている¹⁾。アスパラガスの若茎は外見の分化に乏しいが、頭頂部にはルチンやアスパラギン酸が多く、基部に向かって食物繊維が増加すると報告されている²⁾。特に頭頂部のルチンは抗酸化作用、抗炎症作用、発がん誘導抑制作用を持ち先行研究が多い³⁾。一方でアスパラガスの食物繊維に関する報告は少なく、基部の有効利用を目的としたものに限られる⁴⁾。一般的にアスパラガスの頭頂部から中部までは食材に利用され、基部は廃棄される。そのため、先行研究で得られた結果と実際にアスパラガス可食部を摂取した時の効果に差が生じる可能性がある。

食物繊維は不溶性食物繊維 (IDF) と水溶性食物繊維 (SDF) に大別される。IDF による消化粥の体積増加能は古くから周知されている。この能力が大腸内容物移動速度を増加させ、便通を改善する。近年では消化粥体積の増加が小腸および大腸の粘液量を増加させると報告されている⁵⁾。消化管において粘液は最初期に異物と接触し、体内への異物の侵入を阻む重要な消化管防御機能の一翼を担う。この粘液の主成分はムチンと呼ばれる糖たんぱく質である。ムチンは巨大分子であり未分解のものを単離できず、定量分析は難しい。現在は糖鎖先端に存在するシアル酸量を測定したり、糖鎖とコアタンパク質の O 結合を測定して存在量を推定している。ムチンの定量は困難であるが、アスパラガスの可食部を摂取した時にムチン増加効果が得られれば、本来食されるアスパラガスに新たな価値を付加でき、利用拡大につながりうる。

そこで本研究ではアスパラガスを 3 部位に分けて IDF を調製し、その構成成分を分析した。さらにラットに 7 日間摂取させ、アスパラガスの食物繊維が消化管粘膜に与える影響を検討した。

2. 材料と方法

1) 試薬および素材

各試薬は和光純薬株式会社より購入した。アスパラガスは道の駅「もち米の里☆なよろ」より、ガイナム種を購入した。コーンスターチ、ビタミン混合、ミネラル混合はオリエンタル酵母株式会社より購入した。ラットは株式会社日本エス・エル・シーより購入した。

2) アスパラガスの 3 分割と不溶性食物繊維の調製

アスパラガスは 24 cm 長で出荷されるため、8 cm ずつ 3 等分し、頭頂部から Upper (U)、Middle (M)、Lower (L) とした。これらに 3 倍量の水を加えミキサーにかけ、その後 1 時間 90°C で加熱した。冷却後、孔径 40 μm の布でサンプルを絞り、不溶物を乾燥・粉碎してアスパラガス不溶性食物繊維 (AIDF) とした。

3) アスパラガス不溶性食物繊維の成分分析

窒素量の測定にはケルダール蒸留法を用いた。簡潔には、5 g の AIDF を濃硫酸で熱分解後、蒸留によって得られたアンモニアをホウ酸溶液でトラップし、1/50N 硫酸で含有窒素量を中和滴定した。たん

*責任著者 E-mail:htanabe@nayoro.ac.jp

ばく質量は窒素量から算出された。水分および灰分量の測定には灰化重量法を用いた。簡潔には、130°Cで1時間熱して恒量させたるつばにAIDFを1g入れて秤量した後、さらに130°Cで1時間加熱処理して秤量した。この差を水分量とした。そのAIDFをガスバーナーで炭化し、マッフルで灰化处理(550°C、5時間)した。その後秤量し、加熱処理後のAIDF重量との差を灰分量とした。食物繊維量の測定にはAOAC公定法(985.29)を用いた。簡潔には、1gのAIDFに耐熱性アミラーゼ溶液を加え98°Cで30分反応させた。その後、サンプルに水酸化ナトリウム溶液を加えてpH7.5に調整し、プロテアーゼを加えて60°Cで30分反応させた。さらに、サンプルに塩酸を加えてpH4.5に調整し、アミログルコシダーゼを加えて60°Cで30分反応させた。酵素処理を終えたサンプルに終濃度70%になるようにエタノールを加え、セライトを用いたろ過によって沈殿を回収した。沈殿を乾燥(105°C、一晚)させ、重量を測定して食物繊維量とした。

4) 動物試験

6週齢のSD系雄ラット24匹を用い、対照(C)食と5%のU、M、LのAIDF食(表1)を与えて7日間飼育した。試験最終日に麻酔下で解剖し、小腸および盲腸を摘出した。摘出した小腸の十二指腸側からシリンジを用いて20mLのリン酸緩衝液および20mLの空気を通し込み、回腸末端から液を回収して小腸内容物とした。盲腸内容物は盲腸を縦切し、スパーテルで回収した。それぞれの内容物のシアル酸量を測定し、粘液量とした。摘出した小腸の上側10cmを十二指腸として切除した後2等分し、空腸側の中心5mmを摘出してPAS染色像の作製に用いた。

表1. 飼料組成

	C	U	M	L
	g/kg			
Casein	250	250	250	250
Cornstarch	532.5	482.5	482.5	482.5
Sucrose	100	100	100	100
Soybean oil	70	70	70	70
Mineral mix(AIN-93G)	35	35	35	35
Vitamin mix(AIN-93)	10	10	10	10
Choline bitartrate	2.5	2.5	2.5	2.5
AIDF U粉末	0	50	0	0
AIDF M粉末	0	0	50	0
AIDF L粉末	0	0	0	50

5) 組織切片の調製とPAS染色

摘出した空腸組織をコルクボードにピン留めし、4%中性緩衝ホルマリン液に48時間浸漬した。70%から飽和エタノールまでの上昇エタノール系列を用いて脱水し、キシレン透徹の後パラフィン包埋した。作製されたパラフィンブロックから組織切片を4μm厚で薄切し、下降エタノール系列を用いて脱パラフィン処理を行った。その後、0.5%過ヨウ素酸液(5分)、コールド・シッフ試薬(10分)、亜硫酸水(3分×3)の順に浸漬させ、ヘマトキシリンで対比染色後、上昇エタノール系列で脱水、キシレンで透徹し、封入した。得られた組織染色像から柔毛の長さ、および柔毛左側あたりの杯細胞数を測定した。

6) 小腸および盲腸内容物からの粗ムチン画分の調製

小腸内容物を凍結乾燥後、ポリトロンを用いてムチンの可溶化を促進した。12000rpm、30分の遠心分離を2度行い、ムチンが可溶化した上清を得た。上清に対し終濃度75%になるようにエタノールを加え、-20°Cで一晩静置した。3500rpm、4°C、20分遠心分離して、低温により不溶化したムチンを含む沈殿を得た。その後、0.15M塩化ナトリウム水溶液を用いて、再溶解・再沈殿を2度繰り返して不純物を取り除いた。最後に凍結乾燥し、粗ムチン画分を得た。盲腸内容物はリン酸緩衝液に溶かして90°C、30分加熱しムチン分解酵素を失活させた後、37°C、60分加熱してムチンの可溶化を促進させた。その後のポリトロン処理以降は小腸内容物と同様に行った。

7) 粗ムチン画分中のシアル酸定量

小腸および盲腸内シアル酸量はTBA法で測定した。簡潔には、粗ムチン画分に0.2Nのトリフルオロ酢酸を加えて加熱処理(100℃、10分)した。その後、0.025 MのO-過ヨウ素酸液を加え37℃で30分間加熱した。さらに0.123 Mメタ亜ヒ酸ナトリウム溶液を加えて攪拌し、アルカリ下で0.2 M 2-チオバルビツール酸を加えて加熱処理(100℃、10分)した。水冷後、2-メトキシエタノールを加え吸光度(549 nm、532 nm)を測定した。549 nmの吸光度と532 nmの吸光度の差からシアル酸量を算出した。

8) 統計処理

結果を平均値±標準誤差で表した。P値が0.05未満の場合に有意差が認められたものとして異なるアルファベットで表した。確率変数の分散性を検定し、分散が等しい場合にTukeyのHSD検定を用いた。分散が等しくない場合にSteel-Dwass検定を用いた。

3. 結果および考察

1) 3部位に分けたアスパラガスにおける食物繊維粗精製前後の成分比較

アスパラガスは24 cm長で出荷されるため8 cmずつ3等分したが、頭頂部に向かって細くなる。したがってU、M、Lそれぞれの画分の重量に違いが生じた(表2)。アスパラガスの部位別たんぱく質含有率は、総アスパラガス、AIDF画分ともに頭頂部に向かって増加した。頭頂部にアスパラギン酸が多く含まれていると言われている。そのため、頭頂部に多いのはたんぱく質ではなくアミノ酸であるかもしれない。また、AIDF画分で3割ほどのたんぱく質が残存していた。窒素量から算出したたんぱく質量のため、硝酸態窒素分をたんぱく質量として計上している可能性がある。しかしながら、ア

表2. アスパラガスおよびAIDF画分の成分分析

	U	M	L
総アスパラガス			
重量(g)	1854.64	2563.87	3021.62
タンパク含有率(%)	1.38	0.74	0.63
水分含有率(%)	86.16	91.99	91.97
灰分含有率(%)	1.66	1.24	0.93
IDF含有率(%)	13.01	4.24	3.25
AIDF画分			
重量(g)	68.96	55.91	63.84
AIDF/総アスパラガス(%)	3.72	2.18	2.11
タンパク含有率(%)	37.77	33.76	19.1
水分含有率(%)	5.68	6.37	5.50
灰分含有率(%)	2.25	2.02	1.69
IDF含有率(%)	67.17	71.22	77.99

スパラガスには硝酸態窒素が少ないと報告されており、含有するたんぱく質の多さの原因が硝酸態窒素に起因するとは考えられない。したがって、本試験で用いた分画方法では食物繊維に巻き込まれているたんぱく質を除去しきれないことが示唆された。

日本食品成分表2015年版によるとアスパラガスは92.6%の水分を含むとされており、本試験の結果と同等であった⁶⁾。アスパラガスの部位別水分含量は、総アスパラガスのU画分は他の部位に比べて低かった。AIDF画分は調製の過程で乾燥させたが水分の残存が認められた。

本実験に用いたアスパラガスの灰分含有率は1.28%であり、日本食品成分表2015年版に記された0.7%より多かった⁶⁾。部位別の灰分含率は、総アスパラガス・AIDF画分ともに頭頂部に向かって灰分含量が増加した。総アスパラガスとAIDF画分を比べると灰分含有率に大きな差は無いが、水分含有率等を加味するとAIDF画分の調製過程で灰分は大きく除去できた。

総アスパラガスの IDF 含有率には明確な方向性が無いものの、SDF 含有率は頭頂部に向かって増加した (表3)。フルクタンは基部に多く含まれているとされるため、その他の SDF 成分が頭頂部に多く含まれていると考えられた⁷⁾。U の IDF 含有率は M および L に比べ高かった。リグニン・フラクタンは基部に多いといわれているが⁷⁾、他の主要な DF 成分は頭頂部の方が多く含まれている可能性が示唆された。

日本食品成分表 2015 年版ではアスパラガスの IDF 含有率は 1.4% と記されている⁶⁾。本試験における 3 画分の平均 IDF 含有率は 2.67% であり (表2)、除去できていないたんぱく質含有率を加味しても日本食品成分表に示されたアスパラガスよりも多くの IDF を含有していた。また、

表3. アスパラガスの食物繊維

	U	M	L
総アスパラガス			
重量(g)	1854.64	2563.87	3021.62
IDF含有量(g)	68.96	55.91	63.84
IDF含有率(%)	3.72	2.18	2.11
SDF含有量(g)	19.16	17.83	11.37
SDF含有率(%)	1.03	0.70	0.38

部位別に見てみると頭頂部に向かって食物繊維含量が増加した。アスパラガスはアミノ酸だけでなく、食物繊維も頭頂部に保持していることが明らかになった。特に SDF は頭頂部に向かって増加した。本試験の結果から、粗精製によって食物繊維含有率を 67~77% まで濃縮することができた。

2) AIDF がラット消化管粘液分泌に与える影響

本試験で試験飼育体重、試験飼育期間中の摂食量、試験飼育終了時の体重は各群間で有意差がなかった。したがって飼料に AIDF を添加したことで摂食量が減少したことや、過食したことはなかったと考えられる。

空腸の絨毛の長さは各群で有意差がなかった。また、空腸の杯細胞数は各群で有意差がなかったが、C 群に比べ AIDF を摂取した群で増加した (図1)。小腸ムチン量は杯細胞の増減と一致すると考えられるため、C 群と AIDF を摂取した群では小腸ムチン分泌・産生量は変わらないと推測された。

小腸内容物中のシアル酸量は各群で有意差はなかったが、C 群に比べて AIDF を摂取した群で減少した (図2)。多くの IDF は摂取することによって小腸のシアル酸量が増加すると報告されている⁸⁾。しかし、AIDF ではその効果は認められなかった。今回測定したシアル酸は中性ムチンの糖鎖の先端に存在し、その量は中性ムチン量に

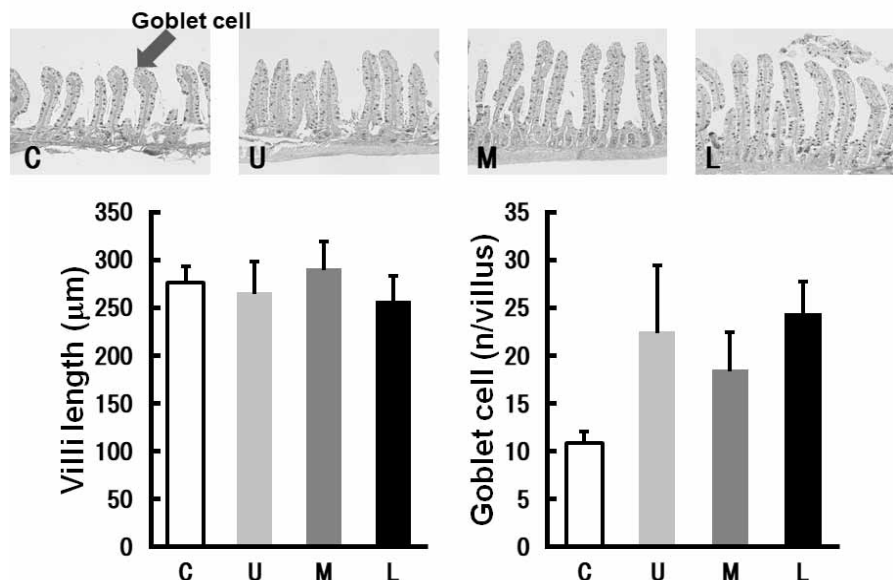


図1. AIDF 摂取によるラットの空腸柔毛長および杯細胞数

比例する⁸⁾。C 群と AIDF を摂取した群のムチン量に変化しなかったにもかかわらず、C 群に比べシアル酸量が減少したことから、中性ムチンよりも外部からの侵食に強いとされる酸性ムチンの産生・分泌が増加したと推測された。

盲腸内容物中のシアル酸量は各群間で有意差はなかったが、C 群に比べて AIDF を摂取した群で低値を示した (図 2)。盲腸でムチン分泌を促進するのは食物繊維の発酵性が要因であると言われている⁸⁾。本試験では盲腸で十分な発酵が認められていない。また、盲腸内容物中のシアル酸量は、C 群に比べ AIDF を摂取した群で増加したという点で小腸内容物中のシアル酸量と同一のパターンを示した。このことより、小腸の粘液がそのまま流入してきた結果による可能性があると考えられる。

盲腸内容物重量は各群間で有意差はなかったが、C 群に比べ AIDF を摂取した群で増加した。これより、AIDF が盲腸内に流入したことが分かった。また、盲腸全体のシアル酸量は AIDF を摂取することで減少したが、内容物重量あたりにするとよりシアル酸濃度が低下した。

盲腸組織重量は各群間で有意差はなかった (図 3)。食物繊維が腸内細菌によって分解・代謝されると、酢酸、酪酸、プロピオン酸などの短鎖脂肪酸が産生される⁹⁾。この短鎖

脂肪酸は栄養分として腸管粘膜から吸収され、腸管上皮細胞の増殖促進作用があると明らかになっている⁹⁾。このことから、AIDF が発酵され、産生された短鎖脂肪酸が存在すると組織は厚くなり、盲腸組織重量は増加を示すはずだが、本試験では増加を示さなかった。AIDF の発酵基質としての能力は低いかもしれない。

盲腸内容物の pH は M 群で C 群に比べ有意に低くなった。食物繊維が発酵することで産生された短鎖脂肪酸が十分に存在すると盲腸の平均 pH は 5.9~6.4 であると報告され

ている⁹⁾。しかし、本研究ではそれほどまでの pH の低下は見られなかった。このことから、発酵によって産生された短鎖脂肪酸量が十分ではなかったと考える。

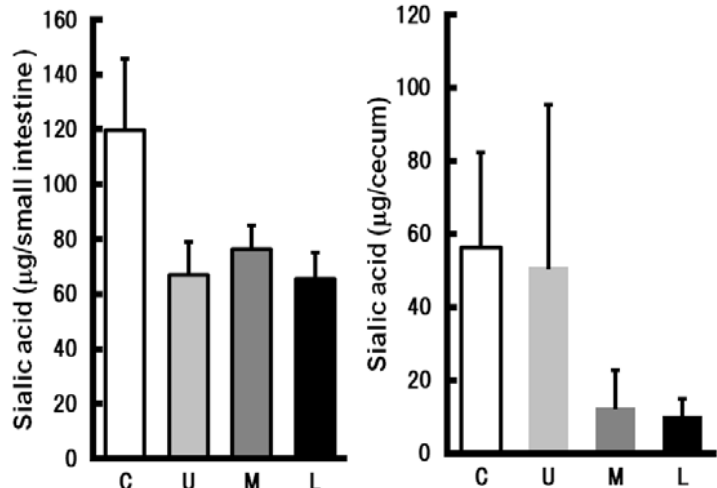


図 2. AIDF 摂取時のラット小腸および盲腸内シアル酸量

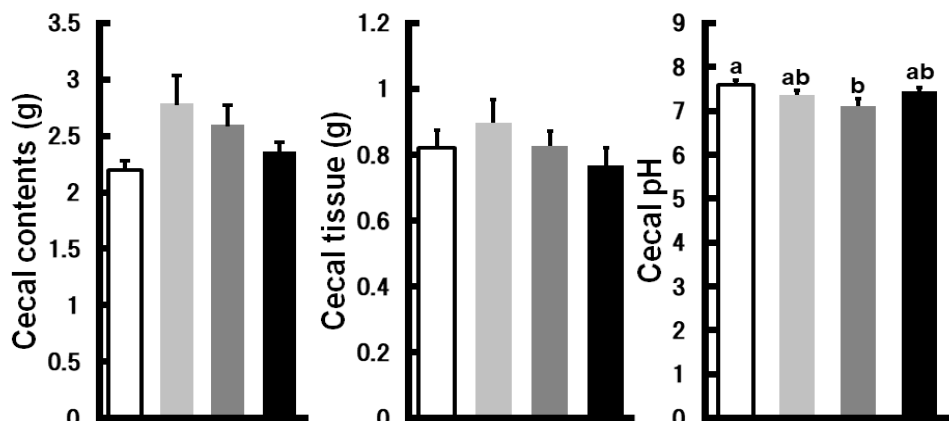


図 3. AIDF 摂取によるラット盲腸の内容物量、組織重量、および pH

4. 結論

本試験の結果から、アスパラガスを 3 部位に分けて食物繊維を調製した時、分化の乏しさからは想像できないほどの構成成分の差が明らかになった。しかしながら、動物試験による腸管の粘液分泌に有意な差を見出せるほどの違いはなかった。今後は構成される食物繊維を明らかにし、更なる特徴づけとアスパラガス可食部における本来の食物繊維の効果の解明に努めたい。

参考文献

- 1) Jaramillo - Carmona, S., Fuentes - Alventosa, J. M., Rodríguez - Gutiérrez, G., Waldron, K. W., Smith, A. C., Guillén - Bejarano, R. and Rodríguez - Arcos, R. Characterization of asparagus lignin by HPLC. *Journal of food science* **73**(7) C526-C532 (2008)
- 2) 元木悟、井上勝広、前田智雄. アスパラガスの高品質多収技術、社団法人農村漁村文化協会 13-19 (2008)
- 3) Song, L., Zeng, W., Wu, A., Picard, K., Lampugnani, E. R., Cheetamun, R., and Bacic, A. Asparagus spears as a model to study heteroxylan biosynthesis during secondary wall development. *PLoS one*, **10**(4), e0123878. (2015)
- 4) 大塚省吾、藤倉潤治、西村直道、塩田昌彦、廣嶋淳一、鎌田英宏、安中俊彦、山田卓良、平井秀明、米澤末廣 未利用資源であるアスパラガス調製残渣の加工食品への有効利用 北農 **78**(2), 139-143 (2011)
- 5) Tanabe, H., Sugiyama, K., Matsuda, T., Kiriyama, S., and Morita, T. Small intestinal mucins are secreted in proportion to the settling volume in water of dietary indigestible components in rats. *The Journal of nutrition* **135**(10) 2431-2437 (2005)
- 6) 香川芳子監修 七訂食品成分表 2015 本表編 女子栄養大学出版部, 46 (2015)
- 7) 浦上敦子、園田高広、佐藤達雄、地子立 野菜の栽培技術シリーズ高品質多収を実現するアスパラガスの生理生態と生産事例 株式会社誠文堂新光社 93-101 (2010)
- 8) Hino, S., Takemura, N., Sonoyama, K., Morita, A., Kawagishi, H., Aoe, S., and Morita, T. Small intestinal goblet cell proliferation induced by ingestion of soluble and insoluble dietary fiber is characterized by an increase in sialylated mucins in rats. *The Journal of nutrition* **142**(8) 1429-1436 (2012)
- 9) Hindgut club Japan, 消化管の栄養・生理と腸内細菌. 株式会社 アニマル・メディア社 (2011)