オリゴ糖-キシロオリゴ糖の生産とその性質- Oligosaccharide -Production and Properties of Xylooligosaccharide-

藤 川 茂 昭

Fujikawa Shigeaki

(サントリー株式会社 基礎研究所)

SUNTORY Co. Ltd.

はじめに

高度成長時代が過ぎ、飽食の時代が到来する頃、そして急速な高齢化社会の到来が始まる1980年半ば頃、食品の機能には、エネルギーとしての働き「一次機能」、おいしさとしての「二次機能」そして健康の維持に関する「三次機能」があることが提案された¹⁾。

このような気運の中、従来栄養素としておいしさを求めている糖質に新たな機能を求める研究が始まった。砂糖のような消化吸収される糖に対して、難消化性オリゴ糖は小腸で消化されず大腸で腸内細菌によって資化されることがわかってきたのは比較的最近である。ガラクトオリゴ糖やフラクトオリゴ糖などがこの機能を持つことが明らかになると、さまざまなオリゴ糖の研究開発が急速に進み、現在では数多くのオリゴ糖がそれぞれ独自の特徴を生かして商品化されるようになってきた^{2~10)}。

1. オリゴ糖とは

オリゴ糖とは、グルコース、フラクトース、ガラクトース、キシロースなどの単糖が2~10個ほどグリコシド結合したものをいう。結合する単糖の数により、二糖類、三糖類、四糖類などに分類される。また、オリゴ糖の構成糖が同一種の場合はホモオリゴ糖、異種の場合はヘテロオリゴ糖と呼ぶ。さらに、グルコシド結合の位置(1-4結合、1-6結合、1-2結合、1-1結合)や、方法(α 結合、 β 結合)もさまざまで、これらの多様性によりオリゴ糖の物性も大きく異なってくる。

上記の定義からすると、すでに古くから知られている砂糖、麦芽糖、乳糖もオリゴ糖の一種であるが、

ここでは酵素の利用技術などで近年新たに開発されたオリゴ糖について述べる。

オリゴ糖の甘味度は、重合度が増すにつれて構成する単糖より低下する。味質はほとんどが甘味を呈するが、ゲンチオビオースのように苦みを呈するものもある。また、消化酵素で分解されないオリゴ糖は難消化性といわれ、大腸まで到達し腸内細菌の中のビフィズス菌に資化される。

2. オリゴ糖を含む食品

自然界にはさまざまなオリゴ糖が存在し、人はそれを長年食してきた。ゴボウなどにはフラクトオリゴ糖が存在する。きのこ類には、キシロオリゴ糖、トレハロースが存在する。ラフィノース、スタキオースは大豆に含まれる。ガラクトオリゴ糖は母乳中の存在が知られている。イソマルトオリゴ糖は日本酒、味噌などの醗酵食品に含まれている⁷⁾。また、腸内細菌による分解でオリゴ糖になり利用されてきたと考えられるものもある。

3. オリゴ糖の製造方法

オリゴ糖は自然界にさまざま存在することはすでに述べた。しかし、そこに含まれる量は工業的に抽出して精製するには少な過ぎ、高価なものになってしまう。抽出だけで工業化されたオリゴ糖は、大豆から抽出されたラフィノース、スタキオースを含む大豆オリゴ糖があるが、われわれが日常に利用できるようになったのは、安価なデンプンや乳糖などの原料や、従来は利用価値が限られている副産物資源の有効利用としての原料を使用し新たに見出した酵素の力を利用して製造できる技術開発が進んだからである。

フラクトオリゴ糖や乳果オリゴ糖、ガラクトオリゴ糖は、砂糖や乳糖を β フラクトフラノシダーゼ、 β ガラク

表1 オリゴ糖の消化吸収

オリゴ糖	消化管での変化		カロリー	糖の種類		
	小腸	大腸		多糖	オリゴ糖	単糖
消化性	アミラーゼなどで分解 → 単糖で吸収	到達せず	4 kcal /g	澱粉	砂糖 トレハロース パラチノース マルトオリゴ糖 カップリングシュガー	グルコース フラクトース
難消化性	消化酵素で分解されない	腸内細菌で醗酵 → 単鎖脂肪酸で吸収	2		キシロオリゴ糖 フラクトオリゴ糖 ガラクトオリゴ糖 乳化オリゴ糖 ラクチュロース 等	
食物繊維						
難消化	消化酵素で分解されない	腸内細菌で醗酵される 物もある	0	セルロース、ヘミセルロース、ペクチン、 寒天、

図3 キシロオリゴ糖の製造方法

7. キシロオリゴ糖

上述したようにオリゴ糖はその構成糖、結合様式により、非常に多くの種類が存在する。これらの中で、酵素の転移反応を用いず加水分解反応だけで生成するキシロオリゴ糖について詳細に述べる。

図3には原料であるキシランおよびキシロビオースの構造を示した。キシロビオースは、キシロースが β -1,4結合した2糖であり、タケノコなどに存在することが確認されている。キシロオリゴ糖とは、キシロビオース

を主成分とし、さらにキシロースが3, 4個つながったオリゴ糖を総称する。

キシロオリゴ糖の製造は、酸分解、高温蒸煮分解、酵素分解などが知られているが、目的とする組成のキシロオリゴ糖を効率良く製造するには、酵素分解が適していると考えられる。日常日本人が摂取するヘミセルロースは5 g程度といわれ、これが大腸内で腸内細菌により醗酵されることが知られており、腸内でもキシロオリゴ糖が生成すると推察される¹¹⁾。われわれは、キシランから酵素分解によりキシロオリゴ糖を効率良く製造する方

法を検討し、その性質を明らかにした。

キシロビオースの甘味度はシュクロースの30%と低く、マルトースと同程度であった。

キシロビオースの溶液をpH 2～8で20℃で20日間、37℃で24時間、100℃で1時間処理した後のキシロビオースの残存を見た結果、pH 8、100℃、1時間処理での若干の分解が認められる以外は全く分解せず、非常に安定であることがわかった。

図4にキシロビオースと他のオリゴ糖の消化酵素による分解を、in vitro で見た結果を示した。人工唾液・胃液・すい液・小腸刷子縁ホモジネート液に各種の糖液を1%濃度加え37℃で4時間反応させた時の各糖の残存率を示した。マルトースは唾液、すい液、小腸刷子縁ホモジネート液によって分解されるのに対して、キシロビオースは各消化酵素には全く分解されなかった¹⁵⁾。

そこで実際に、キシロオリゴ糖をマウスに摂取させ、各消化器官での残存を経時的にみた結果を図5に示す。キシロオリゴ糖投与45分にはすでに小腸の下部にま

図4 消化酵素によるキシロオリゴ糖の分解

図5 ラット消化管各部位におけるキシロオリゴ糖残存率の経時変化

で達しており、6時間にはほとんどが盲腸に達している。さきに述べた in vitro での結果と同じく、胃や小腸では分解・吸収されずに盲腸にまで達していることが示唆された。同時に、大腸への移行が非常に少ないことが明らかになった¹⁶⁾。この原因は、マウスの盲腸での腸内細菌によるキシロオリゴ糖の資化のためと考え、腸内細菌による資化性を検討した。

表2に in vitro での腸内細菌による各種糖の資化性を調べた結果を示した。キシロオリゴ糖(キシロビオースを主成分とする混合物)、キシロース、キシロビオース、キシロトリオース、そして比較としてグルコースそれぞれを0.5%添加した YPF 培地に、各種腸内細菌を接種し、嫌気条件下で37℃、96時間培養し、培養後のpHを測定し資化性の判定を行った。全体的にはキシロース、キシロビオース、キシロトリオースと重合度が高くなるに従い、腸内細菌には資化しにくくなる傾向が認められるが、ビフィズス菌の中で、*B. adolescentis* はキシロビオース、キシロトリオースを良く資化することが認められた。またキシロオリゴ糖は、*B. bifidum*, *B. breve* 以外のビフィズス菌に良く資化された。さらにキシロオリゴ糖は、腸内優勢菌であるバクテロイデス菌にはあまり資化されなかった。病原菌として知られる、ウェルシュ菌などを代表とするクロストリジウム菌はキシロオリゴ糖を資化しなかった。

そこで次に実際にヒトがキシロオリゴ糖を食べた場合、ヒトの腸内フローラに及ぼす影響について検討した。健康な男子もしくは女子にキシロオリゴ糖を1日0.4～3.5gずつ3週間に渡って摂取させた。なお被験者には、試験中全期間に渡って生菌製剤、納豆の摂取以外については特に食事制限は行わなかった。摂取2週間前、摂取直前、摂取開始1週目、2週目、3週目、摂取中止6週後の計6回排便を行い、光岡らの方法に準拠して便の腸内フローラ、pH、水分、揮発性脂肪酸の測定を行った。

図6にキシロオリゴ糖0.4g、0.7g、1.4g、3.5gをそれぞれ3週間毎日摂取したときの腸内細菌の割合の変化の平均値を示した。キシロオリゴ糖摂取前は、腸内細菌に占めるビフィズス菌数の割合が9～15%であるのに対して、キシロオリゴ糖1.4g、3.5g摂取した場合、摂取1週後にはそれぞれ33%、22%とビフィズス菌数の割合は有意に増加した。0.4および0.7gの摂取においても、摂取2週後には28%、18%と有意に増加した。このように、僅か0.4gの摂取においてヒトのビフィズス菌の割合を増加

表2 Availability of Xylo-oligosaccharide by Intestinal Bacteria

Bacteria	X0	X1	X2	X3	G1
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	+++ ^b	++	+++	+++	+++
<i>bifidum</i>	±	±	—	—	+++
<i>infantis</i>	+++	nt	nt	nt	+++
<i>longum</i>	++	+++	++	±	+++
<i>breve</i>	±	±	—	—	+++
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	±	±	—	—	+++
<i>casei</i>	±	±	—	—	+++
<i>fermentum</i>	—	—	—	—	++
<i>gasseri</i>	+	±	±	±	+++
<i>salivarius</i>	±	±	±	±	+
<i>Streptococcus pyogenes</i>	±	±	±	±	+
<i>Eubacterium aerofaciens</i>	—	—	—	—	+++
<i>lentum</i>	—	—	—	—	—
<i>limosum</i>	—	±	—	—	++
<i>nitritogenes</i>	—	—	—	—	++
<i>Propionibacterium granulosem</i>	—	—	—	—	—
<i>acnes</i>	—	—	—	—	++
<i>Bacteroides fragilis</i>	±	+	±	—	++
<i>vulgatus</i>	+	+	±	±	++
<i>bivius</i>	±	±	±	±	++
<i>intermedius</i>	±	±	±	—	++
<i>ovatus</i>	+	+	+	+	++
<i>Clostridium perfringens</i>	—	—	—	—	±
<i>paraputrificum</i>	—	—	—	—	++
<i>difficile</i>	—	—	—	—	±
<i>butyricum</i>	±	+	±	—	++
<i>Fusobacterium mortiferum</i>	—	—	—	—	±
<i>Escherichia coli</i>	—	±	—	—	+
<i>Staphyrococcus aureus</i>	—	—	—	—	++
<i>Peptostreptococcus productus</i>	++	++	++	++	++
<i>Veillinella parvula</i>	—	—	—	—	—
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	±	±	±	±	++
<i>Enterococcus faecalis</i>	—	±	—	—	+++
<i>Mitsuokella multiacidus</i>	+	++	+	±	+++
<i>Enterobacter cloacae</i>	±	±	±	±	±
<i>Megamonas hypermegas</i>	+	++	±	—	++
<i>Morganella morganii</i>	—	—	—	—	+

Judgement of Bacterial Growth : pH 6.0 ≤ — X0 : キシロオリゴ糖
 5.5–5.9 ± X1 : キシロース
 5.0–5.4 ++ X2 : キシロビオース
 4.5–4.9 ++ X3 : キシロトリオース
 4.4 ≥ +++ G1 : グルコース
 nt : not tested

させることができた。さきに述べたように、キシロオリゴ糖は、各消化器官での分解を受けることなく大腸に達するため、このような少量でビフィズス菌を増加させることができるものと考えた¹⁷⁾。

図7にキシロオリゴ糖摂取による、被験者9名の便

水分の平均値と標準偏差値の変化を示した。摂取前には66～90%とバラツキのある水分が、キシロオリゴ糖を摂取することによって良好な便水分といわれている80%程度に収斂する傾向が認められた。平均値は全期間に渡って79%前後を維持したが、標準偏差値が摂取前が約10%

図6 キシロオリゴ糖摂取によるビフィズス菌増殖効果

であるのに対して摂取すると経時的に減少した。これは、キシロオリゴ糖摂取によって、便の固い人、柔らかい人ともに丁度良い固さになって行くことを示している¹⁷⁾。

図8にキシロオリゴ糖摂取による被験者の便のpHの平均値の変化を示した。キシロオリゴ糖摂取前に6.15~6.30であったpHが摂取期間中は5.95~6.08となり、摂取による便のpHの低下が認められた。

便のpHの低下が顕著に現れた5名の便について揮発性脂肪酸を分析した結果、糞便の総揮発性脂肪酸量はキシロオリゴ糖摂取後、乾物換算で28mg/gから32mg/gに増加した。便の揮発性脂肪酸は主に酢酸、プロピオン酸、

酪酸で占められているが、そのうち酢酸の占有率は、キシロオリゴ糖摂取により有意に増加した。このことから便のpHの低下は、酢酸の増加が主な原因であることが示唆された。酢酸は抗菌性が強く、大腸菌などの有害菌を抑制することや、さらに、pHの低下は腸管を刺激して腸のぜん動運動を高めるなどの効果があり、便秘が改善されるなどの付随効果が期待できる¹⁷⁾。

図9にキシロオリゴ糖摂取による被験者の便のビフィズス菌の割合とインドール、アンモニア濃度の関係を示した。アンモニアはビフィズス菌の割合が30%以下の場合では、0.05~1.1mg/gとばらついたが、30%を越えると1例を除いた10例で変動幅と最大値が大きく減少した¹⁸⁾。

大腸菌などにより産生するアンモニアなどの腸内のアルカリ性有害物質は、pHが低いほど腸管からの吸収速度が低下することが知られている。アンモニアの腸内での濃度が低いことと相まって、体内への吸収はかなり抑えられているものと推察される。

キシロオリゴ糖が腸内のpHを低下させることは、一方でカルシウムなどのミネラルの溶解度を高め、腸での吸収を促進できると考え、キシロオリゴ糖摂取によるカルシウムの吸収実験を行った。5週令のSD雄性ラットを用いて、脱イオン水摂取の対照群とキシロオリゴ糖摂取群との2群に分け3週間脱イオン水もしくはキシロ

図7 キシロオリゴ糖摂取による便水分の変化

図8 キシロオリゴ糖摂取と便のpHの変化

図9 ビフィズス菌占有率と腸内腐敗産物

図10 キシロオリゴ糖2週間投与時のカルシウムの吸収率および体内保留率におよぼす影響

オリゴ糖を摂取させ、糞便と尿を全量回収しそのミネラル分を測定した。投与したカルシウムから糞便中のカルシウムを差し引いたものを吸収分とし、さらにそれから尿への排出分を差し引いたものを体内保留率とした。

図10にカルシウムの吸収率と体内の保留率を示した。キシロオリゴ糖投与群では、糞便中のカルシウムの排泄量の減少により、吸収率の上昇が認められた。吸収率は投与1週目から対照群よりも有意に上昇した。また体内保留率においても、投与1週目から対照群よりも有

意に上昇した。実験終了後にラットの大腿骨のカルシウム含有量を測定した結果、キシロオリゴ糖摂取群は対照群に対して有意にカルシウム含有量が増加した。

以上、腸内細菌に対する特性を中心にキシロオリゴ糖の機能性を述べてきた。キシロオリゴ糖はキシランを加水分解してつくったオリゴ糖である。この点が、キシロオリゴ糖が他の多くのオリゴ糖と違った大きな特徴である。低pHでの安定性の高さや、消化酵素で分解されない性質、ビフィズス菌の選択増殖活性が非常に強いこと

は、ここから由来するものと考えられる。

このような結果をもとに、「腸内のビフィズス菌を適正に増やし、おなかの調子を良好に保つ飲料である」という表示が厚生省より認可され、特定保健用食品として乳酸菌飲料「ヨーグリーナ」が発売されている。安定性が優れ、なおかつビフィズス菌選択増殖活性が非常に強いキシロオリゴ糖は、今後低pHの果汁・炭酸飲料への使用など幅広い用途が期待できるものとする。

参考文献

- 1) 藤巻正生：食品機能—機能性食品創製の基盤— 学会出版センター (1988)
- 2) K. Yazawa : oligosaccharide and polysaccharide specific utilization by Bifidobacteria, Chem. Pharm. Bull., vol.26 p.3306 (1978)
- 3) 日高秀昌：化学と生物 vol.21. p.291 (1983)
- 4) 菅原龍幸：オリゴ糖類の機能特性，ソフトドリンク技術資料92資料編，p.80
- 5) 岡田茂孝：我が国におけるオリゴ糖の開発，月刊フードケミカル Vol.10. p.47 (1989)
- 6) 吉積智司，古賀邦正，伊藤汎：植物資源の生理活性物質ハンドブック，サイエンスフォーラム
- 7) 橋本仁，藤田孝輝：新規糖質の利用の現状と将来，FFIジャーナル，No. 178，p.29 (1998)
- 8) 平山国男：新規糖質の生理的・物理的機能性，FFIジャーナル，No. 178，p.42 (1998)
- 9) 北畑寿美雄：糖質関連酵素の現状と将来，FFIジャーナル，No. 178，p.11 (1998)
- 10) 中久喜輝夫：酵素を用いた新しい糖質の生成，FFIジャーナル，No. 178，p.19 (1998)
- 11) 中久喜輝夫：バイリアクター利用のオリゴ糖，New Food Industry, **35**, 6, p.58 (1993)
- 10) 豊田佳子：カルシウム吸収におけるキシロオリゴ糖の影響，第47回日本栄養食糧学会講演要旨 (1993)
- 13) 徳永隆久：「糖」の表示をめぐる諸問題，食品と開発，**32**, 7, p.9 (1998)
- 14) F. R. Dintzis: Human Gastrointestinal Action on Wheat, Corn, and Soy Hull Bran-Preliminary Findings : Cereal Chemistry, **56**, 3, p.123(1979)
- 15) 岡崎昌子：キシロビオースの消化性と体内利用率，日本栄養・食糧学会誌，**44**, 1, p.41 (1991)
- 16) 岡崎昌子：経口投与したキシロオリゴ糖はラット消化管での消長，日本消化吸収学会雑誌，**15**, 2, p.19 (1992)
- 17) M. Okazaki : Effect of Xylooligosaccharide in the Growth of Bifidobacteria Bifidobacteria Microflora, **9**, 2, p.77(1990)
- 18) 藤川茂昭：キシロオリゴ糖摂取による腸内腐敗産物の挙動 日本栄養・食糧学会誌，**44**, 1, p.37 (1991)