研 究 ノ ー ト

化工デンプンのパンクレアチン不消化 部分に対する腸内常在細菌による 資化性について

海老原 清

愛媛大学農学部

Utilization of Pancreatin-indigestible Parts of Modified Starch by Various Intestinal Bacteria

Kiyoshi EBIHARA

Faculty of Agriculture, Ehime University,
Matsuyama 790

Nippon Eiyō Shokuryō Gakkaishi (*J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.*) 45, 554~559 (1992)

The utilization of pancreatin-indigestible parts of several kinds of modified starch by various intestinal bacteria *in vitro* was investigated. Four kinds of hydroxypropyl distarch phosphate (HP) and two kinds of oxidized starch (PO) with different degrees of substitution prepared from potato or corn starch were used as the modified starch. HP and PO were slightly utilized by *Bifidobacterium* spp., except for *B. bifidum*, *B. infantis* and *B. longum*. PO was utilized more readily than HP. In general, the modified starches used in this study were difficult for intestinal bacteria to utilize.

Key Words modified starch, intestinal microflora, utilization by intestinal microflora.

(Received October 25, 1991)

食物繊維のような難消化性食物成分は小腸において消化されず、大腸において腸内細菌により分解され、短鎖脂肪酸を生じる。これらは速やかに大腸から吸収され、エネルギー源として利用されるばかりでなく種々の生理的影響を生体に与えている¹⁾。

これまで腸内細菌が利用しうるおもな基質は食物繊維であるとみなされてきた。しかし、最近の研究によって α -アミラーゼに分解されにくいデンプンのほうが大半の食事において量的により重要であることが指摘されている²⁾。デンプンになんらかの物理的・化学的化工を施し

て新規の特性を導入した化工デンプンは、原料のデンプンが有していない種々の特性を付加されており、食品への用途は限られているものの、食品の加工に際して特性を活かした利用がなされている。化工デンプンの分子構造の一部は消化酵素の作用を受けにくく、腸内細菌が利用しうる基質となりうることが期待される。近年、加工食品の摂取量は増加の一途をたどっており、化工デンプンの摂取量も増加している。しかし、化工デンプンの難消化性部分の腸内細菌による資化性は明らかではない。そこで化工デンプンの難消化性部分の資化性について検討することにした。

実 験 方 法

実験に用いた化工デンプンの調製は既報³⁾⁴⁾に従った。ヒドロキシプロピル化・リン酸架橋デンプンの架橋度については、反応に用いる架橋剤の量が多いほど多くはなるものの不明である。反応に用いた架橋剤の量は HP-C > -A > -D > -B の順である。HP-A, -B, -C, -D のヒドロキシプロピル化度はそれぞれ 0.10, 0.12, 0.14, 0.12 であった。酸化デンプンについては反応に用いた酸化剤の量は PO-II > -I である。HP-C のみトウモロコシデンプンを、他はジャガイモデンプンを原料とした。

ヒドロキシプロピル化・リン酸架橋デンプンおよび酸化デンプンにパンクレアチンを作用させ、分解されなかった難消化性部分を分離し、試験物質として用いた。難消化性部分の分離はつぎのように行った。すなわち、200 ml の三角フラスコに 2 g の化工デンプン、豚の脾臓より調製したパンクレアチン (Protease; 1,400 FIP-U/g, Lipase; 30,000 FIP-U/g, Amylase; 30,000 FIP-U/g, メルク社製) 15 mg を 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 6.8) 100 ml に懸濁し、37°C で 4 時間反応させた。酵素量、反応時間についてはあらかじめ検討した。反応停止は反応液を含む三角フラスコを熱湯水中で 1 分間煮沸させることによって行った。反応停止後、4,000×g で 10 分間遠心して沈澱物を得た。この沈澱物に沸騰させた蒸留水を加え、よく攪拌した後遠心して沈澱物を得た (この操作を 5 回繰り返した)。これにアルコールを加えて脱水し、難消化性部分とした。フラクトオリゴ糖 (メイオリゴ-P, 明治製菓製) は *bifidobacteria* を選択的に増殖させるオリゴ糖として知られているので、これとグルコースを対照物質として用いた。

上記の試験物質および対照物質について *Bacteroides* 属 8 種 16 株, *Bifidobacterium* 属 6 種 20 株, *Clostridium* 属 14 種 26 株, *Eubacterium* 属 4 種 6 株, *Fusobacterium* 属 4 種 5 株, *Peptostreptococcus* 属 5 種 6 株, *Lactobacillus* 属 5 種 9 株, *Enterococcus* 属 2 種 5 株,

Table 1. Utilization of pancreatin-indigestible parts of modified starch by various intestinal bacteria.

	Blank	Glu	FO	HP-A	HP-B	HP-C	HP-D	PO-I	PO-II
<i>Bacteroides</i>									
<i>asaccharolyticus</i> GAI# 25260	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>bivius</i> GAI# 5518	—	++	—	—	—	—	—	—	—
<i>distasonis</i> GAI# 5462	—	+	±	±	±	—	—	±	±
<i>fragilis</i> GAI# 5524	—	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>fragilis</i> GAI# 5562	—	++	+	+	+	+	+	+	+
<i>fragilis</i> R-18	—	++	+	+	+	+	+	+	+
<i>ovatus</i> JCM 5824	—	++	+	+	+	+	+	+	+
<i>ovatus</i> CIFL N0029	—	++	++	±	±	±	±	±	±
<i>thetaiotaomicron</i> GAI# 5628	—	+	+	+	±	+	±	+	+
<i>thetaiotaomicron</i> VI-98	—	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>uniformis</i> GAI# 5466	—	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>vulgatus</i> GAI# 5460	—	++	±	—	±	—	—	±	±
<i>vulgatus</i> R-16	—	++	—	+	±	+	±	+	+
<i>vulgatus</i> B-25	—	++	+	±	±	±	±	+	+
<i>vulgatus</i> B-84	—	++	+	±	±	±	+	+	+
<i>vulgatus</i> V-114	—	++	±	+	±	±	±	±	+
<i>Bifidobacterium</i>									
<i>adolescentis</i> CIFL N0035	—	++	++	—	—	—	—	—	—
<i>adolescentis</i> CIFL N0037	—	++	++	++	++	++	++	++	++
<i>adolescentis</i> CIFL N0038	—	++	++	++	++	++	++	++	++
<i>adolescentis</i> CIFL N0042	—	++	++	—	—	—	—	—	—
<i>adolescentis</i> CIFL N0046	—	++	++	+	+	++	±	++	++
<i>adolescentis</i> aE194a	—	++	++	—	—	—	—	—	—
<i>animalis</i> CIFL N0040	—	++	+	—	—	—	—	—	—
<i>bifidum</i> R-2	—	++	—	—	—	—	—	—	—
<i>bifidum</i> aE318	—	++	—	—	—	—	—	—	—
<i>breve</i> bs46	—	++	++	—	—	—	—	—	—
<i>breve</i> as50	—	++	++	+	+	++	—	++	++
<i>breve</i> IV-14	—	++	++	—	—	±	—	+	+
<i>breve</i> IV-19	—	++	++	—	—	—	—	—	—
<i>infantis</i> S-12	—	++	++	—	—	—	—	—	—
<i>infantis</i> CIFL N0044	—	++	++	—	—	—	—	—	—
<i>longum</i> CIFL N0036	—	++	+	—	—	—	—	—	—
<i>longum</i> CIFL N0044	—	++	+	—	—	—	—	—	—
<i>longum</i> aE194b	—	++	++	—	—	—	—	—	—
<i>longum</i> R-3	—	++	++	—	—	—	—	—	—
<i>longum</i> M101-2	—	++	+	—	—	—	—	—	—
<i>Clostridium</i>									
<i>butyricum</i> GAI# 7503	—	++	++	+	+	+	+	++	++
<i>butyricum</i> Rw23	—	++	++	+	—	—	+	++	++
<i>cadaveris</i> XI-10	—	+	—	—	—	—	—	—	—

Table 1. Continued.

	Blank	Glu	FO	HP-A	HP-B	HP-C	HP-D	PO-I	PO-II
<i>clostridioforme</i> GAI# 5458	—	+	±	—	—	—	—	—	—
<i>clostridioforme</i> R-14	—	+	—	—	—	—	—	—	—
<i>difficile</i> GAI# 10038	—	±	—	—	—	—	—	—	—
<i>difficile</i> V-6	—	±	—	—	—	—	—	—	—
<i>difficile</i> GAI# 10042	—	±	—	—	—	—	—	—	—
<i>difficile</i> GAI# 10037	—	+	—	—	—	—	—	—	—
<i>histlyticum</i> Ccm5943	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>innocuum</i> GAI# 5472	—	+	—	—	—	—	—	—	—
<i>novyi</i> (Type A) GAI# 5614	—	+	—	—	—	—	—	—	—
<i>paraputrificum</i> V-96	—	+	—	±	±	±	±	+	+
<i>paraputrificum</i> R-13	—	+	—	+	±	±	±	+	+
<i>paraputrificum</i> B-78	—	+	—	+	+	+	+	+	+
<i>perfringens</i> GAI# 5526	—	+	—	—	—	—	—	±	—
<i>perfringens</i> R-11	—	+	—	—	—	—	—	—	—
<i>perfringens</i> B-165-16	—	+	—	—	—	—	—	±	±
<i>perfringens</i> B-3-10	—	+	—	—	—	—	—	±	±
<i>perfringens</i> C-01	—	+	—	—	—	—	—	±	±
<i>ramosum</i> V-8	—	+	±	—	—	—	—	—	—
<i>ramosum</i> C-00	—	+	±	—	—	—	—	—	—
<i>septicum</i> GAI# 7502	—	+	—	—	—	—	—	—	—
<i>tertium</i> GAI# 5618	—	+	—	±	±	±	±	+	+
<i>sordellii</i> GAI# 5612	—	±	—	—	—	—	—	—	—
<i>sporogenes</i> GAI# 5562	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Propionibacterium</i>									
<i>granurosum</i> R-20	—	+	—	—	—	—	—	—	—
<i>Veillonella</i>									
<i>parvura</i> GAI# 5602	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>parvura</i> R-10	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Citrobacter</i>									
<i>diversus</i> CIFI A0016	—	+	—	—	—	—	—	—	—
<i>freundii</i> CIFI A0015	—	+	—	—	—	—	—	—	—
<i>Enterobacter</i>									
<i>aerogenes</i> CK121-1	—	+	+	—	±	—	—	+	±
<i>cloacae</i> CIFI A0001	—	+	—	—	—	—	—	—	—
<i>Enterococcus</i>									
<i>faecalis</i> CIFI A0013	—	+	—	—	±	—	—	+	±
<i>faecalis</i> L-220	—	+	+	—	—	—	—	—	—
<i>faecalis</i> ST-201	—	+	+	—	—	—	—	—	—
<i>faecium</i> L-225	—	+	+	—	—	—	—	—	—
<i>faecium</i> ST-101	—	+	+	—	—	—	—	—	—
<i>Escherichia</i>									
<i>coli</i> CIFI A0008	—	+	—	—	—	—	—	—	—
<i>coli</i> I-3	—	+	—	—	—	—	—	—	—

Table 1. Continued.

	Blank	Glu	FO	HP-A	HP-B	HP-C	HP-D	PO-I	PO-II
<i>coli</i> O-1	—	++	—	—	—	—	—	—	—
<i>coli</i> M-1	—	++	—	—	—	—	—	—	—
<i>coli</i> U-1	—	##	±	—	—	—	—	—	—
<i>Klebsiella</i>									
<i>pneumoniae</i> CK46-1	—	+	+	—	±	±	—	+	+
<i>Lactobacillus</i>									
<i>acidophilus</i> I-61	—	##	++	—	—	—	—	—	—
<i>acidophilus</i> I-68	—	##	+	—	—	—	—	—	—
<i>casei</i> I-139	—	##	—	—	—	—	—	—	—
<i>casei</i> II-8	—	##	—	—	—	—	—	—	—
<i>fermentum</i> CIFL A0066	—	++	—	—	—	—	—	—	—
<i>fermentum</i> JCM 1173	—	##	—	—	—	—	—	—	—
<i>gasseri</i> JCM 1131	—	##	##	—	—	—	—	±	±
<i>salivarius</i> I-117	—	+	—	—	—	—	—	—	—
<i>salivarius</i> I-108	—	##	##	—	—	—	—	—	—
<i>Eubacterium</i>									
<i>aerofaciens</i> R-6	—	##	±	—	—	—	—	—	—
<i>aerofaciens</i> S-12	—	##	±	—	—	—	—	—	—
<i>lentum</i> R-7	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>limosum</i> R-9	—	##	—	—	—	—	—	—	—
<i>limosum</i> V-60	—	++	—	—	—	—	—	—	—
<i>nitritogenes</i> R-8	—	##	—	—	—	—	—	—	—
<i>Fusobacterium</i>									
<i>mortiferum</i> GAI# 5442	—	+	—	—	—	—	—	—	—
<i>necrophorum</i> GAI# 5634	—	±	—	—	—	—	—	—	—
<i>russi</i> GAI# 0317	—	±	—	—	—	—	—	—	—
<i>varium</i> GAI# 5566	—	+	—	—	—	—	—	—	—
<i>varium</i> R-25	—	±	—	—	—	—	—	—	—
<i>Megamonas</i>									
<i>hypermegas</i> R-15	—	##	++	—	—	—	—	—	—
<i>Mitsuokella</i>									
<i>multiacida</i> VI-71	—	##	##	—	+	±	±	##	##
<i>multiacida</i> VI-70	—	##	##	—	+	—	—	++	+
<i>Peptostreptococcus</i>									
<i>asaccharolyticus</i> GAI# 2356	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>asaccharolyticus</i> R-22	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>magnus</i> GAI# 5528	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>micros</i> GAI# 5540	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>prevotii</i> R-23	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>productus</i> X-45	—	##	+	—	±	—	—	—	—
<i>Propionibacterium</i>									
<i>acnes</i> GAI# 5468	—	++	—	—	—	—	—	—	—

Table 1. Continued.

	Blank	Glu	FO	HP-A	HP-B	HP-C	HP-D	PO-I	PO-II
<i>Morganella</i>									
<i>morganii</i> ME138-1	—	+	—	—	—	—	—	—	—
<i>Proteus</i>									
<i>mirabilis</i> ME14-2	—	+	±	—	—	—	—	—	—
<i>vulgaris</i> CIFI A0011	—	+	±	—	—	—	—	—	—
<i>Serratia</i>									
<i>marcescens</i> CIFI A0007	—	+	±	—	±	—	—	±	—
<i>Staphylococcus</i>									
<i>aureus</i> CIFI A0012	—	++	+	—	—	—	—	—	—
<i>epidermidis</i> CIFI A0018	—	++	±	—	—	—	—	—	—
<i>haemolyticus</i> CK6-2	—	++	±	—	—	—	—	—	—
<i>Streptococcus</i>									
<i>pyogenes</i> CIFI A0017	—	++	—	—	±	—	—	—	—

Judgement of utilization : (—) $\text{pH} \geq 6.0$, (±) $5.5 \leq \text{pH} < 6.0$, (+) $5.0 \leq \text{pH} < 5.5$, (++) $4.5 \leq \text{pH} < 5.0$, (+++) $\text{pH} < 4.5$. Glu : Glucose, FO : Fructooligosaccharide (Meiologo-P, Meiji), HP : Hydroxypropyl distarch phosphate. PO : Oxidized starch.

Escherichia 属 1 種 5 株, その他 20 株の資化性を調べた。供試菌株は BL 寒天平板で単離集落を得ることを 2 回繰り返すことにより純粋培養し, さらに Fildes solution を 0.4% 添加した GAM ブイヨン培地に懸濁し, CO_2 を充填し, 37°C で, 24 時間前培養した。試験培地 (PYF 培地) 1.5 ml に前培養した GAM ブイヨン培地を 0.03 ml 接種する。培養は混合ガス (H_2 : 10%, CO_2 : 10%, N_2 : 80%) を充填し, 37°C で, 96 時間行った。資化性の有 (+) 無 (—) の判定は培養終了後培養液の pH を測定することによって行った。 $\text{pH} \geq 6.0$ を (—), $5.5 \leq \text{pH} < 6.0$ を (±), $5.0 \leq \text{pH} < 5.5$ を (+), $4.5 \leq \text{pH} < 5.0$ を (++) , $\text{pH} < 4.5$ を (+++) とした。接種後, 接種菌液の汚染, 生育不良を検査し, これに該当するものはデータから削除した。試験は 2 回繰り返して行った。

結果および考察

パンクレアチン処理によって分解されにくい化工デンブンの難消化性部分に対する腸内常在細菌 (118 株) の資化性の結果を Table 1 に示した。酸化反応は主としてデンブンの非結晶部に作用しており, この部分は消化されやすい。したがって, 酸化デンブンは結晶部分が難消化性部分として残っていると考えられる。ヒドロキシプロピル化・リン酸架橋デンブンは置換度, 架橋度がアミラーゼ抵抗性と関係していると考えられ, 置換基および架橋部周辺部分が難消化性部分として残っていると考えられ, パンクレアチン処理後, ヒドロキシプロピル化・リン酸架橋デンブンのかなりの部分が難消

化性部分として分解されずに残ったと思われる。

全般的にみると化工デンブンの難消化性部分の腸内細菌による資化性はフラクトオリゴ糖よりも劣っていた。化工デンブンのにおいてもヒドロキシプロピル化・リン酸架橋デンブンは酸化デンブンのよりも資化されにくかった。資化性に対してヒドロキシプロピル化・リン酸架橋デンブンの種類の間に特徴的な差は認められなかった。酸化デンブンのについても同様であった。

ヒドロキシプロピル化・リン酸架橋デンブンのおよび酸化デンブンは, *B. adolescentis* の 6 株中 3 株と, *B. breve* の 4 株中 2 株で良好に資化され, 酸化デンブンのほうがヒドロキシプロピル化・リン酸架橋デンブンのよりもよく資化された。しかし, ヒドロキシプロピル化・リン酸デンブンのおよび酸化デンブンはともに *B. infantis*, *B. longum* には資化されにくかった。ヒドロキシプロピル化・リン酸架橋デンブンは *Lactobacillus* 属に資化されにくく, 酸化デンブンは *Lactobacillus* 属の 1 株に微陽性であった以外すべての株で陰性であった。ヒドロキシプロピル化・リン酸架橋デンブンは *Clostridium* 属に資化されにくかったが, 酸化デンブンは 26 株中 6 株でよく資化され, 3 株で微陽性であった。ヒドロキシプロピル化・リン酸デンブンのおよび酸化デンブンは *Bacteroides* 属に比較的好く資化された。酸化デンブンは *Mitsuokella multacidia* に良好に資化された。

化工デンブンの難消化性部分が腸内細菌の基質になることが本研究から明らかにされたが, 今後さらに各種化工デンブンの資化性について検討することにより, 生体

の健康維持, 増進に役立つ腸内細菌フローラの構成により有効な 化工デンプンを 開発しうる 可能性が示唆された。

要 約

化工デンプン (ヒドロキシプロピル化・リン酸架橋デンプン, 酸化デンプン) をパンクレアチンで加水分解処理することにより難消化性部分を調製し, ヒトの腸内常在細菌 118 株による資化性を検討した。化工デンプンの難消化性部分の有用腸内細菌による資化性はフラクトオリゴ糖よりも劣っていた。化工デンプンにおいてはヒドロキシプロピル化・リン酸架橋デンプンが酸化デンプンよりも資化されにくかった。ヒドロキシプロピル化・リン酸架橋デンプンの種類の間に資化性についての特徴的な差は認められなかった。酸化デンプンについても同様であった。

以上のように加工デンプンの難消化性部分が腸内細菌の基質となることが本研究から明らかにされた。

本研究を行うにあたり資化性の測定においてご指導いただきましたカルビス食品工業㈱腸内フローララボラトリー所長, 故 早川邦彦氏に心から感謝いたします。

文 献

- 1) Rombeau, J.L., Kripke, S.A. and Settle, R.G.: Dietary Fiber; Chemistry, Physiology, and Health Effects (Kritchevsky, D., Bonfield, C. and Anderson, J.W., eds.), 317 (1990), Plenum (New York)
- 2) Bingham, S.A. and Cummings, J.H.: Proceedings of Kellogg International Symposium on Dietary Fiber, 97 (1990), Center for Academic Publications Japan (Tokyo)
- 3) 高橋礼治: 澱粉科学ハンドブック (二国二郎監修, 中村道徳・鈴木繁雄編), 501 (1980), 朝倉書店 (東京)
- 4) 小倉徳重: 澱粉科学ハンドブック (二国二郎監修, 中村道徳・鈴木繁雄編), 515 (1980), 朝倉書店 (東京)

(1991 年 10 月 25 日受理)