

野菜の納豆菌添加における食物繊維組成の変化と
腸内有用菌の増殖促進活性の検討

常磐大学 人間学部 健康栄養学科

飯村 裕子

生活習慣病の予防の一つとして野菜摂取量の増加がある。野菜の摂取を目標とする理由は、野菜に含まれるカリウム、抗酸化ビタミン、食物繊維を食品から摂取することで循環器疾患や悪性新生物の予防に高い効果があることが報告されているためである。

一方で納豆は、日本人に定番の食材であり、昔から食されてきた発酵食品である。実際、インターネットでご飯のお供を男女 500 人に聞いたアンケートでは 1 位明太子、2 位佃煮、納豆と、身近な食材であることがわかる。また、明太子や佃煮は 1 回で喫食する量が 10～15 g 程度なのに対し、納豆は市販品 1 パック 40～50 g と多い。

そのため、野菜の納豆への加工が、野菜摂取量増加に対して有効なのではないかと考えた。さらに、この加工は食物繊維の摂取に有効であることが考えられる。我々が摂取している食物繊維のほとんどは、植物の細胞壁成分であり、その構成は主にペクチン、セルロース、ヘミセルロース、リグニン等があげられる。これに対して、納豆菌はセルロース分解能をもつセルラーゼを生産することが知られている。さらに原料である大豆と比較して納豆は、不溶性食物繊維が減少し、水溶性食物繊維が増加する¹⁾。これについても、植物細胞壁部分が分解されたことが考えられる。食物繊維は溶解性によって生理機能が異なり、主な効果として不溶性は整腸作用、水溶性は脂質や糖質の吸収阻害作用等があげられる。さらに一部の食物繊維では、プレバイオティクスとしての働きも確認されており、免疫系におよぼす効果が期待されている。そのため、食物繊維の摂取に有効であるだけでなく、納豆菌の発酵産生物による食物繊維組成の変化によって、野菜を摂取するのとは異なる機能が付加される可能性が示唆される。



図 1 ブロッコリー納豆の開発
ブロッコリーの茎部は硬い食物繊維があり、食用には向かない。納豆菌が生成する酵素と合わせることで、軟化し食用化が可能であると共に食物繊維組成に変化が生まれ、付加価値が期待できると考えた。

納豆菌は様々な酵素を産生することが知られており、その特性を生かした納豆が製造されている。しかし、上記のような植物細胞壁の分解酵素に着目し、それを利用した加工品はほとんどない。

これらのことから、野菜を納豆菌で発酵させた場合、生成される食物繊維の組成に違いがあることが考えられる。そこで、今回の研究では、各野菜の納豆への加工における食物繊維の変化と腸内有用菌の増殖促進活性について検討した。

[実験方法]

試料の調製は、5mm 角にしたブロッコリー茎部を、沸騰水中で 1 分間茹で加熱して茹で試料とし、そこへ重量の 12.5%の市販納豆（おかめ納豆極小粒）を加えて攪拌後、納豆は取り除き $44\pm 3^{\circ}\text{C}$ で 10 時間発酵させて発酵試料とした。

1、水分量の測定

凍結乾燥前後の試料重量を測定し、水分量を測定した。

2、食物繊維量の測定

プロスキー変法を用いて、食物繊維総量、水溶性食物繊維、不溶性食物繊維の測定を行った。野菜が測定対象であるため、タンパク量は考慮せず、1 時間放冷後の残渣から灰分量、ブランク値を差し引いて算出した。

3、アルコール不溶性固形物（AIS）の調製

試料を細かく刻み、15g 前後を生確に秤量した。これに 80%エタノール 70mL を加え、湯浴中で沸騰させた。熱いうちにろ過し、残渣を 70%エタノールで数回洗浄したのち、残渣を取りこの操作を 4 回繰り返した。最後に、残渣は無水エタノールで 1 回、エーテルで 1 回洗浄し、デシケーター中で乾燥した。

4、食物繊維組成の測定

今回は、納豆菌が生成するセルロース分解酵素の影響を確認するため、食物繊維組成として、ホロセルロース含量とその組成について測定を行った。

AIS を 1g 秤量し、0.5%シュウ酸アンモニウム 50mL を加え、沸騰水浴中で 2.5 時間加熱した。それをろ過後、残渣を水洗いし、この操作を繰り返す。残渣に、1%水酸化ナトリウムを含む 50%エタノール 50mL を加え、12 時間室温（25℃設定の室内）で放置した。

さらにガラスフィルターでろ過した残渣を、水、エタノール、エーテルで洗浄し、デシケーターで乾燥させ、乾燥物を秤量した。（→ホロセルロース）さらに乾燥物は、4%水酸化ナトリウム 50mL を加え、室温で 40 分放置後、ろ過し、水で洗浄した。残った残渣を、エタノール、エーテルで洗浄し、デシケーターで乾燥させ、乾燥物を秤量した。（→ α -セルロース）

さらに、ヘミセルロースは「ホロセルロース—セルロース」により、 β -セルロースは「セルロース— α セルロース」により算出した。

5、腸内細菌の増殖促進活性

今回は予備的な実験として、食物繊維組成の変化が腸内細菌の増殖にどのように影響を及ぼすのか、日和見菌のバクテロイデス属菌 (*Bacteroides fragilis*)、善玉菌のビフィズス菌 (*Bifidobacterium longum* subsp. *longum*) と乳酸桿菌 (*Lactobacillus casei*) を用いて確認を行った。

各凍結乾燥試料を懸濁させた生理食塩水を、各種菌の培養時に一定割合ごとに添加し、増殖の過程を比較した。

[実験結果]

1、水分量

試料 100g 中の水分量は、茹で試料が 92.0g、発酵試料が 91.7g であり、有意差も認められず、水分量に変化は見られなかった。

2、食物繊維量

試料 100g 中の食物繊維量の測定を行ったところ、茹で試料が 2.21g、発酵試料が 4.69g となり、発酵試料の食物繊維量が増加した。さらに、発酵試料の食物繊維の割合は、茹で試料よりも水溶性食物繊維量が高くなった。

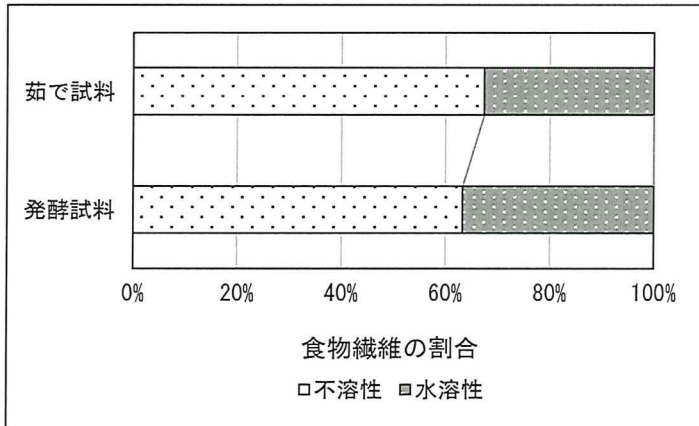


図2 食物繊維の水溶性および不溶性の割合
食物繊維全体量を100%とした時の各割合 (n=4)

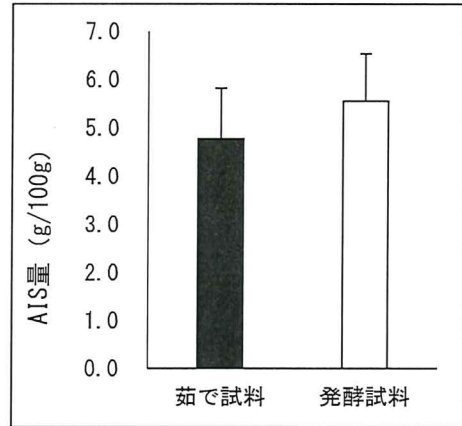


図3 AIS量の変化
AIS採取量の変化を示した (n=4)
有意差なし

3、アルコール不溶性固形物 (AIS)

各試料 100g 中から、茹で試料は 4.78g、発酵試料は 5.56g が分離できた。しかし、標準偏差が大きく、有意差は得られなかった。

4、食物繊維組成

まず細胞壁の構成成分のうちリグニンを除くホロセルロース量を比較したところ、試料 1g 中において茹で試料が 0.57g、発酵試料が 0.42g となり、発酵試料は減少がみられた。その内訳は、セルロースでは有意差は見られなかったが、ヘミセルロースで発酵試料が有意に減少した (図)。さらに、セルロースの内訳として、 α -セルロースと β -セルロース量の変化についても測定したが、顕著な変化は見られなかった。

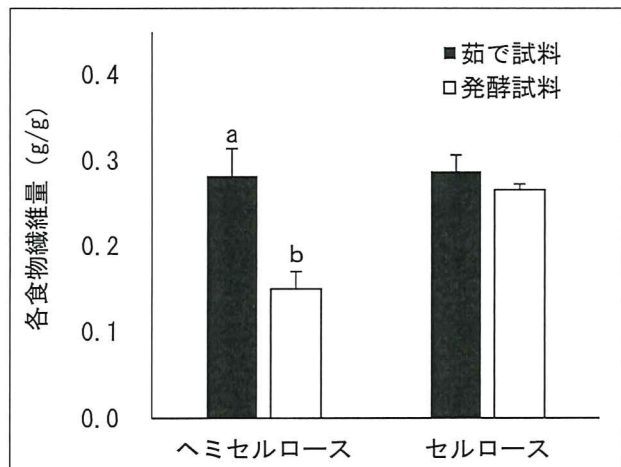


図4 各食物繊維量の変化
ヘミセルロース、セルロースの量を試料ごとに比較した (n=4)
ヘミセルロース 有意差あり: $p < 0.05$
セルロース 有意差なし

5、腸内細菌の増殖促進活性

乳酸菌については、茹で試料、発酵試料と共に、何も入っていない状態と同程度の増殖となった。ビフィズス菌については、茹で試料は減少したのに対し、発酵試料では増殖が維持された。バクテロイデス属菌については、茹で試料よりも発酵試料では増殖抑制効果を示す傾向がみられた。このことから、発酵試料はビフィズス菌の栄養源になり、バクテロイデスの栄養源にはならないことがわかった。

[考察]

1. 食物繊維量の変化とその組成

ブロッコリー茎部発酵による食物繊維量の増加した原因の1つに、細胞壁が分解され低分子化したことが考えられる。納豆菌は、細胞壁の構成成分であるセルロースを分解するセルラーゼと、ヘミセルロースの1つであるキシランを分解するキシラナーゼを産生することが報告されている²⁾。さらに、食物繊維組成についての結果から、セルロースおよびヘミセルロースの量を示すホロセルロース量が減少しており、これらの酵素が細胞壁を分解したことが示唆された。また、これ以前の実験の結果では、納豆の粘質物であるポリグルタミン酸やレバンは、納豆よりもブロッコリー茎部発酵試料の含量が少なくなった。それにも関わらず、攪拌時の体積はブロッコリー茎部において有意な増加がみられた。これには、食物繊維の溶出が関わっていると考えており、今回の低分子化した食物繊維による可能性が高くなった。食物繊維組成については、ホロセルロースの組成を調べたところ、ヘミセルロースにおいて有意な差がみられた。よってブロッコリー茎部発酵による変化においては、セルロースよりもヘミセルロースが重要であり、特にヘミセルロースであるキシランの分解が示唆された。キシランは、ほぼすべての陸上植物に存在し、セルロースの次に天然に多く存在する多糖である。そのため試料としたブロッコリー茎部にも含まれ、納豆菌が産生するキシラナーゼにより低分子化したと考える。

しかし、この食物繊維量の増加は、細胞壁の低分子化だけの理由では、変化が大きいため、他の要因も考えられる。これには、この低分子化した物質の状態や性質が関わってくることを示唆され、今後の課題としたい。

2. 腸内細菌の増殖促進活性とその栄養源となる食物繊維

ブロッコリー茎部発酵試料は、ビフィズス菌には利用され、バクテロイデス属菌には利

用されなかった。今回の食物繊維組成の変化から、ブロッコリー茎部発酵試料は低分子の食物繊維が増加している可能性が示唆されている。増加した低分子の食物繊維は、キシラン分解物のキシロオリゴ糖である可能性が高い。納豆が産生するキシラナーゼは、キシランの主鎖である D-キシロースの結合部分をランダムに分解するエンド型の酵素であり、キシロオリゴ糖が生成する³⁾。キシロオリゴ糖は、おなかの調子を整える効果が期待できることから、特定保健用食品にも利用されており、ビフィズス菌の栄養源になるが、大腸菌などには利用されないことで、腸内環境改善に関わることがわかっている。また、バクテロイデス属菌はキシロオリゴ糖を利用しづらい⁴⁾。このことから、バクテロイデス属菌の増殖抑制効果がみられたと考える。

今回、ブロッコリー茎部発酵試料は、キシランの分解を納豆菌が行うことで、ビフィズス菌が利用できた。しかし、バクテロイデス属菌がキシランを分解できる報告も見られる。今後は、ブロッコリー茎部の分解した食物繊維の詳細と合わせて、腸内細菌の増殖促進活性についても研究を続けたい。

[要約]

野菜の納豆への加工が、野菜摂取量増加に対して有効なのではないかと考えた。さらに、この加工は食物繊維の摂取に有効であり、生成される食物繊維の組成に違いがあることが考えられる。そこで、今回の研究では、各野菜の納豆への加工における食物繊維の変化と腸内有用菌の増殖促進活性について検討した。その結果、ブロッコリー茎部発酵試料は食物繊維量が増加していた。その原因はヘミセルロースの有意な減少による、低分子の食物繊維の増加によるものと考えた。さらに、腸内細菌の増殖促進活性を見たところ、ブロッコリー茎部発酵試料は、ビフィズス菌が増殖し、バクテロイデス属菌は増殖抑制の効果がみられた。これは、キシランをキシラナーゼで分解した際の分解物である、キシロオリゴ糖が、発酵試料で増加し、それを利用できるビフィズス菌が増殖できたためであると考えた。今後も、食物繊維組成と腸内細菌の増殖促進活性について、追究を続ける予定である。

[文献]

- 1) 木村啓太郎(2018)納豆の機能性、発酵・醸造食品の最新技術と機能性Ⅱ、228-232
- 2) 大槻 耕三、河端 信、田口 邦子(1976)納豆菌の菌対外セルラーゼおよびキシラナーゼ、京都府立大学学術報告、27、11-15
- 3) 金子哲(2007)細胞壁分解酵素の機能と食品への利用、食糧-その科学と技術、45、33-46
- 4) 藤川 茂昭、岡崎 昌子、松元 信也、古賀 邦正(1990)キシロオリゴ糖の製造と性質、37、69-77