

鹿児島県産作物に関するビフィズス菌増殖因子の検討

Effect of Upland Crops in KAGOSHIMA on the Growth of Bifidobacteria

村山 恵美子, 純浦 めぐみ, 吉元 誠

Emiko Murayama, Megumi Sumiura, Makoto Yoshimoto

鹿児島女子短期大学

Effects of upland crops in Kagoshima prefecture on the growth of Bifidobacteria were examined in these edible and waste portions.

The edible portion of wax gourd, sponge gourd, chayote (white, green), blue zuiki, stems of malabar nightshade, manchurian wild rice and the waste portion of wax gourd, sponge gourd, chayote, cotton of broad beans had large effect on the growth of the five species of Bifidobacteria. Especially wax gourd, sponge gourd, chayote (white), chayote (green), and manchurian wild rice showed remarkable effects on the growth enhance of all applied Bifidobacteria including both edible and waste portions.

These results are to be expected for new uses of the waste portions.

Key words: upland crops, bifidobacteria, edible portion, waste portion.

キーワード: 畑作物, ビフィズス菌, 可食部分, 廃棄部分

はじめに

常日頃, 健康な食生活をおくるためにバランスの取れた食生活をおくりましょうと啓発活動が行われているが, 栄養バランスの崩れから体調を崩す人が増えてきている. 健康維持のためには様々な要因が考えられるが, その一つとして, 腸内細菌叢と健康との関わりが重視されてきている. その中でも特に, ビフィズス菌が整腸作用, 有害菌の抑制等, 生体に対して多くの有用な作用を持つことが報告されている. 腸内のマイクロフローラの中でも, ビフィズス菌の叢を優勢に保つことが健康増進に繋がる¹⁾. ビフィズス菌の増殖因子として, ペクチンやヘミセルロース等の食物繊維, 難消化性オリゴ糖等が知られている.

食物繊維の効用として, 人工着色料, アルミニウム, 変異原物質のような健康に有害な物質の吸収抑制と排泄促進効果²⁻⁵⁾および腸内細菌叢の改善による整腸効果や大腸癌予防効果⁶⁾, 血糖値調節効果およびコレステロール吸収抑制等による血中脂質調節効果などがあげられている^{7, 8)}. これらの効用を持つ食物繊維は, 機能性食品として用いられ, 今後も利用が期待されている. しかし, 各種作物に含まれるこれらの成分の解明は不十分で, 検討の余地がある.

日本でも有数な農業県である鹿児島では, 温暖な気候を活かしてさまざまな畑作物が生産されている. 今回, その生産物のうち11種類について, 可食部のみならず廃棄部についても, ビフィズス菌の増殖に及ぼす影響を調べ, 増殖因子としての資化性の有無を検討した. 増殖因子の存在は,

健康増進への寄与と同時に, 未利用資源の有効活用と食品ロスの低減が期待できる.

実験方法

1. 試料と調製

試料は, おいどん市場与次郎館 (鹿児島) で生産者名が記載された商品を購入した. 冬瓜, 糸瓜, オクラ, 緑竹, ズイキは8月, ツルムラサキ, モロヘイヤ, エンサイは9月, 隼人瓜 (緑, 白), マコモタケは11月, ソラマメは2月に購入し, 実験に供した.

冬瓜, 糸瓜, 隼人瓜 (緑色, 白色) については, 皮, 果実, 種を含む中ワタと部位別に切り分けた後秤量, オクラはへたを取り除いた後丸ごと秤量, ソラマメは, 莢, ワタ, 豆と部位ごとに秤量, 緑竹, マコモタケは皮を剥いて, 穂先と本体に分けた後秤量, 青ズイキ (ハスイモ) は皮と本体を別々に秤量, ツルムラサキは葉と茎を別々に秤量, モロヘイヤ, エンサイは葉, 葉柄, 茎と部位別に秤量し, それぞれ凍結乾燥した. 水分を除去したサンプルをミルで粉末化し, 実験に供した. 凍結乾燥機は IWAKI FREEZE DRYER RD-50M (IWASAKI GLASS CO.LTD), 粉末機は MILLSER (岩谷産業株) を使用した.

2. 使用菌種⁹⁾

今回の実験では, ビフィズス菌のうち, 日本においてヒトから分離される, *Bifidobacterium* (以下 *B.*) *bifidum* JCM1254, *B. infantis* JCM1222, *B. breve* JCM1192, *B. longum*

JCM1217, *B. adolescentis* JCM1275 の5株を使用した。

3. 使用培地

ビフィズス菌の前培養には、MRS 培地 (Oxisoid Ltd., BAS-INGSTOKE, HAMPSHIRE, ENGLAND) を、増殖の測定用には PYF 培地¹⁰⁾を使用した。PYF 培地はトリプチケースペプトン10g (BBL社)、酵母エキス5g (BD社)、L-システイン塩酸塩0.5g、消化血液40ml、塩類溶液40ml、蒸留水920mlを加えて pH7.6 に調整した。

消化血液の調製は、生理食塩水30ml、塩酸1.2ml、馬脱繊維血液 (㈱日本バイオテスト研究所) 10ml、ペプシン0.2g を混合後、55°Cの湯浴槽中で一夜保持し、消化させた液に20% NaOH を2.4ml 加えた。さらに、NaOH または HCl で pH を7.6に調整後、クロロホルム0.4mlを添加し、冷蔵庫で保存した。

塩類溶液は CaCl₂0.2g、MgSO₄・7H₂O0.2g、KH₂PO₄1.0g、K₂HPO₄1.0g、NaHCO₃10g、NaCl2.0g を1Lの蒸留水に溶かして調製した。

4. 嫌気培養

培養は、角形ジャーにビフィズス菌、サンプルと培地を入れた24ウェルマイクロプレートまたはふた付き試験管、酸素吸収・炭酸ガス発生剤であるアネロパック・ケンキ (三菱ガス化学㈱)、嫌気指示薬を入れ、密封し、嫌気条件下、37°C、72時間、アネロパック法で行った。

5. ビフィズス菌増殖測定¹¹⁾

前培養として、5種類のビフィズス菌を50μlずつ2本のMRS培地10mlに接種し、37°C、72時間、アネロパックによる嫌気培養を行った。

1%濃度になるように作物の凍結乾燥パウダーを加えたPYF培地 (サンプル) 16ml、1%濃度になるようにグルコースを加えたPYF培地 (陽性コントロール) 16ml、PYF培地のみ (ブランク) 16mlをオートクレーブ後、室温まで冷まし、それぞれ1mlずつ15ウェルに注入、前培養した5種類の菌液を10μlずつ3ウェルに接種し、37°C72時間アネロパックで嫌気培養を行った。

菌の増殖は、ビフィズス菌が増殖すると乳酸や酢酸を生成する性質を利用して、培養液のpHの低下で評価した。すなわち、6.0 ≤ pH は全く影響無し (-)、5.5 < pH < 6.0 はどちらもいえない (±)、5.0 < pH ≤ 5.5 は弱等度 (+)、4.5 < pH ≤ 5.0 は中等度 (++)、さらに pH ≤ 4.5 は強等度 (+++) で、ビフィズス菌による作物の資化性の程度を示した。

結果及び考察

鹿児島県産の11種類の作物について、萎凋や腐敗を防ぎ同一条件で実験に供するため、凍結乾燥後粉末処理を行った。凍結乾燥法による水分含有量は Table 1 に示した。

粉末化した畑作物について、5種類のビフィズス菌の増殖因子の有無を検討し、その結果を培養液のpHで Table 2 に示した。

グルコースは陽性コントロールとして実験に供したが、pH4.5以下を示し、5種類のビフィズス菌の増殖能は正常であった。

果実部分を食する冬瓜、若い果実と中ワタを食する糸瓜、果実部分を食する隼人瓜 (緑色と白色) のウリ科4種類については、皮、果実、芯部の種を含むわたの3部位を実験に供した。結果として、可食部も廃棄部も全て、pH4.5以下を示し、5種類のビフィズス菌の増殖因子として強い資化性を示した。

本体を丸ごと食するオクラはへたのみ取り除き、本体を実験に供した。結果としてpH4.5~5.0と、5種類のビフィズス菌全てについて中等度の資化性を示した。

未熟豆を食するソラマメは、莢、わた、豆の3部位を実験に供した。豆は、*B. bifidum* については、pH5.5~6.0と資化性の有無はどちらともいえない、その他の4種類のビフィズス菌についてはpH4.5~5.0と中等度の資化性を示した。莢は、*B. adolescentis* については、pH4.5以下と強い資化性を、その他の4種類のビフィズス菌についてはpH4.5~5.0と中等度の資化性を示した。莢と豆の間においてクッションの役目を果たしているわたは、5種類のビフィズス菌全てでpH4.5以下と強い資化性を示した。

緑竹は、筍としてはとても珍しく6月~8月を旬とし、あく抜きせずに本体を食する。緑竹については、穂先と本体の2部位を実験に供した。結果として穂先は、*B. bifidum* については、pH5.0~5.5と弱い資化性を、それ以外の4種類のビフィズス菌については、pH4.5~5.0と中等度の資化性を示した。本体はpH4.5~5.0と、5種類のビフィズス菌全てについて中等度の資化性を示した。

葉柄を収穫するための専用種で、葉柄を生のまま皮を剥いて食す青ズイキ (ハスイモ) は、皮と本体の2部位を実験に供した。結果として、本体は、5種類のビフィズス菌全てでpH4.5以下と強い資化性を示した。皮は、*B. adolescentis*、*B. bifidum*、*B. breve* の3菌種については、pH5.0~5.5と弱い資化性を、*B. infantis*、*B. longum* については、pH4.5~5.0と中等度の資化性を示した。

先端部分の若い茎と葉を食すツルムラサキは、茎と葉の2部位を実験に供した。茎は、5種類のビフィズス菌全てでpH4.5以下と強い資化性を示した。葉は *B. breve*、*B. infantis*、および *B. longum* については、pH5.0~5.5と弱い資化性を

示したが、*B. adolescentis* と *B. bifidum* については、pH 5.5～6.0 と資化性の有無についてはどちらともいえないという結果を示した。

若い葉や茎の部分を食べるモロヘイヤは、葉、葉柄、茎の3部位を実験に供した。結果として、葉と茎は *B. bifidum*

については、資化性の有無はpH5.5～6.0と、どちらともいえない、その他の4種類のビフィズス菌については、pH 5.0～5.5と弱い資化性を示した。葉柄は5種類のビフィズス菌全てpH5.0～5.5と弱い資化性を示した。

Table 1. Water contents of freeze-dried upland crops

Samples	Portion	Water contents (%)	Samples	Portion	Water contents (%)
Wax gourd	Skin	93.3	Ryokuchiku	Shoots/trip	43.2
	Fruit	94.0		Shoots/body	69.6
	Core	91.5	Blue zuiki	Skin	65.6
Sponge gourd	Skin	82.7		Petiole	93.5
	Immature	87.7	Malabar nightshade	Leaves	86.4
	Fruit	88.2		Stems	85.4
Chayote(white)	Skin	79.9	Tossa jute	Leaves	71.3
	Fruit	78.2		Petiole	53.7
	Core	56.7		Stems	68.1
Chayote(green)	Skin	83.9	Water convolvulus	Leaves	65.4
	Fruit	78.5		Petiole	49.7
	Core	61.0		Stems	59.1
Okra	Pods	54.8	Manchurian wild rice	Stems/trip	48.5
Broad beans	Immature pods	87.2		Stems/body	69.8
	Immature beans	77.3			
	Cotton	93.7			

Table 2. Effect of various upland crops on growth of Bifidobacteria

Sample	Portion	Growth of Bifidobacteria*				
		<i>B.adolescentis</i>	<i>B.bifidum</i>	<i>B.breve</i>	<i>B.infantis</i>	<i>B.longum</i>
Wax gourd	Skin	+++	+++	+++	+++	+++
	Fruit	+++	+++	+++	+++	+++
	Core	++	+++	+++	+++	+++
Sponge gourd	Skin	+++	+++	+++	+++	+++
	Immature fruit	+++	+++	+++	+++	+++
	Core	+++	+++	+++	+++	+++
Chayote(white)	Skin	+++	+++	+++	+++	+++
	Fruit	+++	+++	+++	+++	+++
	Core	+++	+++	+++	+++	+++
Chayote(green)	Skin	+++	+++	+++	+++	+++
	Fruit	+++	+++	+++	+++	+++
	Core	+++	+++	+++	+++	+++
Okra	Pods	++	++	++	++	++
Broad beans	Immature pods	+++	++	++	++	++
	Immature beans	++	±	++	++	++
	Cotton	+++	+++	+++	+++	+++
Ryokuchiku	Shoots/trip	++	+	++	++	++
	Shoots/body	++	++	++	++	++
Blue zuiki	Skin	+	+	+	++	++
	Petiole	+++	+++	+++	+++	+++
Malabar nightshade	Leaves	±	±	+	+	+
	Stems	+++	+++	+++	+++	+++
Tossa jute	Leaves	+	±	+	+	+
	Petiole	+	+	+	+	+
	Stems	+	±	+	+	+
Water convolvulus	Leaves	±	±	±	±	±
	Petiole	+	+	+	+	+
	Stems	+	+	+	+	+
Manchurian wild rice	Stems/trip	+++	+++	+++	+++	+++
	Stems/body	+++	+++	+++	+++	+++
Glucose	Control	+++	+++	+++	+++	+++

* Bacterial fermentation was evaluated by measuring the pH of the incubated media.

—:6.0≤pH, ±:5.5<pH<6.0, +:5.0<pH≤5.5, ++:4.5<pH≤5.0, +++:pH≤4.5

若い葉や茎の部分を食すエンサイは、葉、葉柄、茎の3部位を実験に供した。葉は、5種類のビフィズス菌全てpH5.5~6.0と資化性の有無はどちらともいえないという結果を示し、葉柄や茎は、5種類のビフィズス菌全てpH5.0~5.5と弱い資化性を示した。

マコモタケはマコモに黒穂菌が寄生して、その刺激により茎が肥大してタケノコ状になった花茎を食用としている。その先端と本体の2部位を実験に供した。先端と本体全て、pH4.5以下を示し、5種類のビフィズス菌の増殖因子として強い資化性を示した。

今回の実験の結果より、冬瓜、糸瓜、隼人瓜（緑色）、隼人瓜（白色）の可食部分、通常廃棄する中ワタの部分、ソラマメの廃棄部分であるワタ、青ズイキの可食部、ツルムラサキの茎、マコモタケ可食部、に強い増殖因子を有することが明らかになった。また、オクラ、緑竹の可食部、ソラマメの可食部と廃棄部分の莢には中等度の、青ズイキの廃棄部分である皮、ツルムラサキの葉、モロヘイヤの可食部、エンサイの葉柄と茎には弱等度の増殖因子を有することが明らかになった。

今まで、食物繊維や難消化性各種オリゴ糖がビフィズス菌因子として有効である報告がなされている⁹⁻¹¹⁾。今後は、今回の実験でビフィズス菌の増殖因子として強い活性を示した作物について、ビフィズス菌増殖因子となる成分を検討する予定である。増殖因子を明らかにすることによって、ヒトの健康増進に役立つ食品の選択や、未利用資源の有効活用と食品ロスの低減を期待できる。

要約

鹿児島県で生産される作物11種類の可食部分と廃棄部分について、ビフィズス菌のうち、日本においてヒトから分離される *B. bifidum* JCM1254, *B. infantis* JCM1222, *B. breve* JCM1192, *B. longum* JCM1217, *B. adolescentis* JCM1275 の5株を使用して、ビフィズス菌の増殖因子の有無を検討した。

可食部では、冬瓜、糸瓜、隼人瓜、青ズイキ、ツルムラサキの茎、マコモタケが、廃棄部では、冬瓜、糸瓜、隼人瓜、ソラマメのワタが強い資化性を示した。

引用文献

- 1) Mitsuoka, T. (1995) Intestinal flora and its functions. *J. Food Hyg. Soc., Japan*, **36**, 583-587.
- 2) Takeda, H. & Kiriyama, S. (1979) Correlation between the physical properties of dietary fibers and their protective activity against amaranth toxicity in rats. *J. Nutr.*, **109**, 388-396.
- 3) Takeyama, E. et al. (1996) Changes in polysaccharide components and metal adsorption ability of soybean dietary fiber on heating. *Nippon Shokuhin Kogaku Kaishi (J. Jpn. Soc. Food Sci. Technol.)*, **43**, 231-237 [In Japanese with English summary].
- 4) Bames, W. A. et al. (1983) In vitro binding of the food mutagen 2-amino-3-methylimidazo-[4,5-f]quinoline to dietary fibers, *JNCL*, **70**, 757-760.
- 5) Kada, T. et al. (1984) Adsorption of pyrolysate mutagens by vegetable fibers. *Mutat. Res.*, **141**, 149-152.
- 6) Mitsuoka, T. (1995) Intestinal flora and its functions. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Jpn)*, **36**, 583-587 [In Japanese].
- 7) Lund, E. D. (1984) Cholesterol binding capacity of fiber from tropical fruits and vegetables. *Lipids*, **19**, 85-90.
- 8) 山田耕治. (2001) 食品成分の機能と化学, Pp. 127-129. アイピーシ, 東京.
- 9) 斎藤安弘. (1990) フラクトオリゴ糖の生理活性とその応用, “別冊フードケミカル”. Pp. 73-82, 食品化学新聞社, 東京.
- 10) Idota, T. et al., (1994) Growth-promoting effects of N-acetylneuraminic acid-containing substances on bifidobacteria. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **58**, 1720-1722.
- 11) Yoshimoto, M., Yamakawa, O., Tanoue, H. (2005) Potential chemopreventive properties and varietal difference of dietary fiber from sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) roots, *JARQ.*, **39**, 37-43.

(2014年12月3日 受理)