

水不溶性食物繊維の煮沸操作が *In Vitro* における グルコースの拡散速度に与える影響

加 藤 陽 治, 田 中 順 子

(弘前大学教育学部)

原稿受付平成 11 年 6 月 10 日; 原稿受理平成 11 年 12 月 13 日

Influence of Boiling Water-Insoluble Dietary Fiber on the *In Vitro* Glucose Diffusion Speed

Yoji KATO and Junko TANAKA

Faculty of Education, Hirosaki University, Hirosaki 036-8560

The influence of boiling water-insoluble dietary fiber on the *in vitro* glucose diffusion speed was examined. Water-insoluble dietary fiber samples prepared from the edible portion of carrot, edible burdock, onion, broccoli, spinach, cucumber, and apple were boiled at 100°C for 30, 60, or 120 min. The influence on the *in vitro* glucose diffusion speed of the boiled water-insoluble dietary fiber, and of the hot water-soluble and -insoluble fractions obtained by centrifugation of the boiled water-insoluble dietary fiber, were then compared. The glucose diffusion speed decreased as the boiling time of the water-insoluble dietary fiber was increased. This decrease is suggested to have mostly been due to the inhibitory effect on glucose diffusion of the hot water-insoluble fractions of the boiled water-insoluble dietary fiber samples.

(Received June 10, 1999; Accepted in revised form December 13, 1999)

Keywords: dietary fiber 食物繊維, glucose diffusion speed グルコース拡散速度, water-insoluble dietary fiber 水不溶性食物繊維, hot water-insoluble dietary fiber 熱水不溶性食物繊維, water-insoluble pectin 水不溶性ペクチン, boiling 煮沸.

1. 緒 言

食物繊維の摂取量の減少が種々の疾患（消化器疾患、糖尿病など）を引き起こすことが明らかになり、生体調節機能因子としての食物繊維の重要性が認められている¹⁾²⁾。食物繊維は水可溶性と水不溶性の二つに大別される。それらの大部分は植物性食品のいわゆる植物細胞壁に由来するといっても過言ではない。食物繊維の生理効果の一つに耐糖性改善効果があるが、これは水可溶性食物繊維によるグルコースの拡散阻害作用が大きく関係しているとされている³⁾⁴⁾。

われわれは、水不溶性食物繊維の栄養効果解明の基礎知見を得るために水不溶性食物繊維の物理化学的性質の研究を進めてきた。これまでに、各種野菜類の水不溶性食物繊維（細胞壁）が分子篩能をもち、それにより低分子糖を一時的に抱え込む性質を有し、*in vitro* においてグルコースの拡散速度を遅らせる（グ

ルコース拡散阻害能をもつ）ことを明らかにした^{5)~7)}。今回は、われわれの日常の食生活において野菜類を摂取する際の「煮沸」操作に注目し、水不溶性食物繊維の煮沸が *in vitro* におけるグルコースの拡散速度に与える影響を明らかにすることを目的とした。

2. 実験方法

(1) 材 料

人参、牛蒡、玉葱、ほうれん草、胡瓜、林檎およびブロッコリーは弘前市内のスーパーマーケットより購入した。それぞれの可食部より水不溶性食物繊維を前報⁵⁾に従って調製した。すなわち、おおまかに包丁で切り、ミキサーで磨砕し、2枚重ねのガーゼで濾過した。不溶物にさらに水を加え、ミキサーで磨砕を行い3枚重ねのガーゼで濾過した。不溶物はさらに同操作を5~10回（濾液に糖の反応がほとんどみられなくな

るまで) 繰り返した。最後に得られた不溶物は凍結乾燥し、これを水不溶性食物繊維とした。

(2) 水不溶性食物繊維の糖組成

各種水不溶性食物繊維 (20 mg) を 72% 硫酸 (0.5 ml) に懸濁・溶解 (ソニックバス中, 1 時間) し, 蒸留水を 4 ml 加え, 100 °C で 1 時間加水分解した。炭酸バリウムで中和し, 遠心上清を Amberlite IR 120 (H⁺) 処理した。中性糖はアルジトールトリフルオロアセテートとしてガスクロマトグラフィーで定量した⁸⁾。酸性糖量はカルバゾール-硫酸法⁹⁾によった。

(3) グルコースの拡散速度に与える影響

各種水不溶性食物繊維 1 g に蒸留水 25 ml を加えスターラーで攪拌後, 50 ml 容栓付き遠心管に詰めた。これを 100 °C のオーブンで加熱 (0, 30, 60 および 120 分) した。冷却後, それぞれにグルコースを 1.5% になるように加え, 透析膜 (Seamless Cellulose Tubing, size: 36/32, 三光純薬株) に詰め, 蒸留水 (300 ml) に対してスターラーで攪拌しながら 20 °C で透析した⁶⁾。経時的に (0, 30, 60, 90 および 120 分後), 透析外液の一部を採り, グルコース量をフェノール-硫酸法¹⁰⁾にて求めた。

本実験終了後, 各試料は蒸留水に対して徹底的に透析しグルコースを除いた。これを遠心分離操作 (1,000 ×g, 30 分) により, 上清 (熱水可溶性画分, HW-S) と沈殿画分 (熱水不溶性画分, HW-IS) に分けた。両画分に, それぞれ, 濃度が 1.5% となるようにグルコ

ースを加え, 同様に蒸留水 (300 ml) に対して透析を行い経時的に透析膜外の糖量を測定した。

(4) 熱水可溶性画分の構成糖

栓付き試験管に水不溶性食物繊維 (各 20 mg) をとり, 蒸留水 2 ml を加え, 100 °C で加熱 (30, 60 および 120 分) し, 室温まで冷却後, 遠心分離操作 (1,000 ×g, 30 分) を行った。得られた上清 (熱水可溶性画分, HWS-30, HWS-60, HWS-120) 1 ml を 2 M トリフルオロ酢酸 1 ml とともに 100 °C で 4 時間加水分解後, アルジトールトリフルオロアセテートとしてガスクロマトグラフィーで定量した⁸⁾。酸性糖量の測定はカルバゾール-硫酸法⁹⁾によった。

(5) 熱水可溶性画分の分子量分布

2-(4) で得られた 120 分加熱したものの遠心上清 (HWS-120) 1 ml を 0.1 M 酢酸緩衝液で平衡化した Sepharose CL-6B (直径 1 cm, 長さ 51 cm) のガラスカラムにのせ, 同緩衝液で溶出した。溶出した糖の測定はフェノール-硫酸法 (490 nm での吸光度)¹⁰⁾にて行った。標準糖として, グルコース, デキストラン T-40 (平均分子量 4 万), T-110 (平均分子量 10 万), T-500 (平均分子量 50 万) およびブルーデキストラン (分子量 200 万) を用いた。

3. 実験結果および考察

市販人参, 牛蒡, 玉葱, プロコッリー, ほうれん草, 胡瓜および林檎 (陸奥) の可食部から水不溶性食物繊維

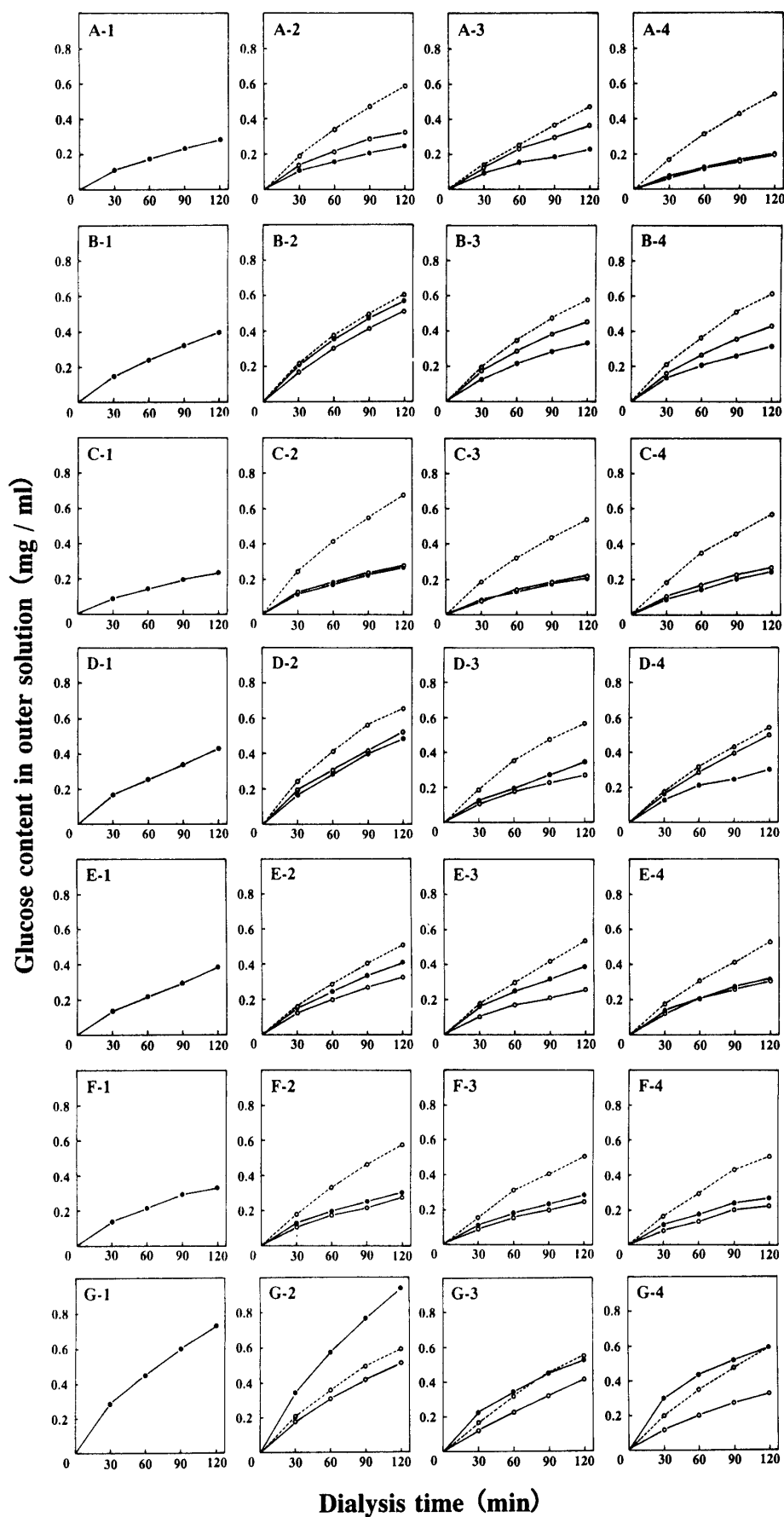
Table 1. Sugar composition of the water-insoluble dietary fiber samples

Sample	Sugar composition (wt %)							
	U.A.	Rha	Fuc	Ara	Xyl	Man	Glc	Gal
Carrot	43.9	3.1	trace	9.7	2.4	trace	28.9	12.0
Edible burdock	34.0	1.9	0.1	18.1	5.6	trace	33.0	7.3
Onion	34.7	0.6	0.8	3.7	3.5	trace	25.6	31.1
Broccoli	31.2	4.2	0.7	23.2	5.2	trace	24.5	10.9
Spinach	15.1	8.6	2.0	26.1	5.4	2.1	28.8	11.9
Cucumber	22.6	3.9	2.5	6.0	6.7	4.3	45.9	8.1
Apple	12.9	4.1	2.7	11.3	8.4	trace	50.4	10.2

U.A., uronic acid; Rha, rhamnose; Fuc, fucose; Ara, arabinose; Xyl, xylose; Man, mannose; Glc, glucose; Gal, galactose.

Fig. 1. Influence of boiling water-insoluble dietary fiber on the *in vitro* glucose diffusion speed

A, carrot; B, edible burdock; C, onion; D, broccoli; E, spinach; F, cucumber; G, apple. 1, non-boiled samples; 2, samples boiled at 100 °C for 30 min; 3, samples boiled at 100 °C for 60 min; 4, samples boiled at 100 °C for 120 min. —●—, —○—, and —○— (in A-2-G-2, A-3-G-3, and A-4-G-4) indicate the boiled water-insoluble dietary fiber HW-S-IS (a mixture of the hot water-soluble (HW-S) and hot water-insoluble (HW-IS) fractions), HW-IS, and HW-S, respectively.

水不溶性食物繊維の煮沸操作が *In Vitro* におけるグルコースの拡散速度に与える影響

維を調製し、その構成糖組成をまとめたものがTable 1である。組成比に違いがみられるが構成糖の種類はいずれも共通で、これまでの細胞壁構成多糖に関する知見^{(11)~(14)}より、ラムノガラクトツロナン、アラビノガラクトタン、キシログルカンおよびセルロースが主要多糖であると思われる。

水不溶性食物繊維の水懸濁液を加熱（煮沸）すると、それを構成している多糖の一部が可溶化したいわゆる熱水可溶性画分（HW-S）と、加熱しても溶解しない成分（熱水不溶性画分、HW-IS）が共存する。まず、煮沸前後試料のグルコースの拡散速度に与える影響を、グルコースの透析速度を測定することで検討した（Fig. 1）。透析外液のグルコース量が少ないほど、グルコースの拡散速度が緩慢になっていること、すなわち、グルコース拡散阻害効果が大きいことを示す。煮沸前の水不溶性食物繊維（Fig. 1, A-1~G-1）と、それらを30分、60分および120分それぞれ煮沸し熱水可溶性画分と熱水不溶性画分が混在している場合（Fig. 1, A-2, A-3, A-4~G-2, G-3, G-4中のHW-S-IS）を比べると、人参、牛蒡、ブロッコリー、ほうれん草および胡瓜では、煮沸120分のものでそれぞれ約30%、約20%、約30%、約20%および約20%だけ煮沸処理前のものに比べて透析外液のグルコース量が少なく、玉葱、林檎では60分のものでそれぞれ約10%、約30%少なくなっており、煮沸によりグルコース拡散阻害率が増加することがわかった。

つぎに、この増加が水不溶性食物繊維を煮沸することにより可溶化する熱水可溶性画分（HW-S）と可溶化しない画分の熱水不溶性画分（HW-IS）のいずれに起因するのかを調べるために、煮沸した水不溶性食物繊維をHW-SとHW-ISに分けて各々のグルコースの透析速度に対する影響を調べ、先の熱水可溶性画分と熱水不溶性画分共存の場合（HW-S-IS）の結果と比較した。

人参、牛蒡、玉葱の60分および120分煮沸のものでは、HW-S-ISがグルコースの透析速度が一番遅い、すなわち、拡散阻害効果が一番高く、以下、HW-IS、HW-Sの順であった（Fig. 1, A-3とA-4, B-3とB-4, C-3とC-4）。ブロッコリーの場合、60分煮沸では、効果の高い方からHW-IS、HW-S-IS、HW-Sの順であったが（Fig. 1, D-3）、120分煮沸ではHW-S-IS、HW-IS、HW-Sの順であった（Fig. 1, D-4）。これに対し、ほうれん草、胡瓜および林檎では、60分、120分ともにHW-ISが一番効果が大きく、以下HW-S-IS、HW-S

の順であった（Fig. 1, E-3とE-4, F-3とF-4, G-3とG-4）。

これらの結果は、煮沸操作によるグルコースの拡散阻害作用の増加は熱水可溶性画分（HW-S）ではなくて、熱水不溶性画分（HW-IS）に主に依存していることを示している。同時に、HW-ISのもつ効果がHW-Sが共存することで若干プラスに働くタイプ（人参、牛蒡、玉葱、ブロッコリー）と、HW-Sの共存がマイナスに働くタイプ（ほうれん草、胡瓜、林檎）の二つのタイプがあることを示している。

この原因を探るために各品種の各煮沸時間で可溶化する成分HW-Sの量と構成糖組成を調べた。Table 2はその結果を示す。いずれにおいても煮沸時間の増加に伴って可溶化する多糖のほとんどがペクチン様多糖（アラビノガラクトタンなどの中性糖を含むラムノガラクトツロナン）であることがわかった。そこで、つぎに、煮沸120分の熱水可溶性画分（HW-S-120）の分子量分布をゲル濾過法で調べた（Fig. 2）。分子量4万以上とそれ以下の割合を求めると、人参、牛蒡、玉葱、ブロッコリー、ほうれん草、胡瓜および林檎でそれぞれ、53.9:46.1, 44.5:55.5, 56.0:44.0, 45.3:54.7, 10.7:89.3, 3.4:96.6および6.5:93.5であった。HW-ISの効果にHW-Sがマイナスに働くタイプ（ほうれん草、胡瓜、林檎）ではHWSの分子量のほとんどが4万以下であること、そして、プラスに働くタイプ（人参、牛蒡、玉葱、ブロッコリー）のHWSには分子量4万以上のものが約半分程度含まれることがわかった。

このことは水不溶性食物繊維に含まれる水不溶性ペクチンには、煮沸された際、低分子化しやすいものとしにくいものがあると想定される。ほうれん草、胡瓜および林檎の水不溶性ペクチンは前者に、人参、牛蒡、玉葱およびブロッコリーは後者に属すると考えられる。

われわれはこれまでに市販セルロース粉末とペクチン（レモン製）を用いたモデル実験で、煮沸時間の増加に伴いペクチンの粘性が失われ、それと同時にグルコースの*in vitro*における拡散阻害作用の効果が薄れることを明らかにした⁷⁾。

今回みられた二つの異なるタイプの存在は、今のところつぎのように考えている。すなわち、煮沸により低分子化した熱水可溶性画分（L-HW-S）が共存すると、熱水不溶性画分（HW-IS）構成多糖間で形成されている種々の架橋構造などに由来するさまざまな大きさの空隙（これが低分子糖を一時的に抱え込む性質を

水不溶性食物繊維の煮沸操作が *In Vitro* におけるグルコースの拡散速度に与える影響

Table 2. Yield and sugar composition of the hot water-soluble fractions (HW-S) rendered soluble from the water-insoluble dietary fiber by boiling at 100°C

Sample*	Yield (μ g)	Sugar composition (wt %)							
		U.A.	Rha	Fuc	Ara	Xyl	Man	Glc	Gal
Carrot									
HW-S-30	794	92.7	1.9	trace	1.4	trace	0.2	0.8	3.0
HW-S-60	2,414	87.0	2.5	0.9	2.7	trace	0.2	0.5	6.2
HW-S-120	3,578	85.7	3.0	1.0	2.6	trace	0.1	0.4	7.2
Edible burdock									
HW-S-30	188	66.7	7.6	trace	13.0	trace	0.9	2.2	9.6
HW-S-60	930	83.8	2.7	trace	8.7	trace	0.3	0.7	3.8
HW-S-120	2,612	93.1	1.2	trace	3.4	trace	trace	0.1	2.2
Onion									
HW-S-30	607	88.6	1.7	trace	1.0	trace	trace	0.6	8.1
HW-S-60	1,624	89.8	1.1	trace	0.9	trace	trace	0.1	8.1
HW-S-120	2,684	83.6	1.6	trace	0.8	trace	trace	0.4	13.6
Broccoli									
HW-S-30	511	74.7	1.8	trace	6.6	trace	0.8	9.5	6.6
HW-S-60	1,569	86.1	1.5	trace	6.2	trace	0.3	2.6	3.3
HW-S-120	2,723	79.5	2.8	0.3	10.9	trace	0.2	1.7	4.6
Spinach									
HW-S-30	613	93.1	2.1	trace	1.1	trace	trace	0.9	2.8
HW-S-60	3,052	93.5	1.1	trace	2.9	trace	0.1	0.9	1.5
HW-S-120	2,480	91.5	1.8	trace	4.0	trace	0.1	0.4	2.2
Cucumber									
HW-S-30	1,048	90.0	1.2	trace	1.5	trace	0.9	2.1	4.3
HW-S-60	1,443	91.6	1.5	trace	1.0	trace	0.5	1.5	3.9
HW-S-120	1,848	93.4	1.2	trace	1.0	trace	0.2	1.7	2.5
Apple									
HW-S-30	2,944	94.0	0.8	trace	3.4	trace	trace	0.8	1.0
HW-S-60	2,334	94.1	1.1	trace	3.1	trace	trace	0.2	1.5
HW-S-120	3,647	86.5	2.1	0.5	6.7	trace	0.1	1.0	3.1

* Each water-insoluble dietary fiber sample (20 mg) was suspended in 2 ml of water, boiled at 100°C for 30, 60 or 120 min, and centrifuged. The supernatant of each (hot water-soluble fractions HW-S-30-HW-S-120) was subjected to a sugar composition analysis.

持つ)にL-HW-Sが入り込み、熱水不溶性画分のもつ拡散阻害能を減じさせる。一方、煮沸によっても低分子化しにくくある程度高分子状態を維持している熱水可溶性画分(H-HW-S)は、H-HW-Sそれ自身が持つ拡散阻害能と、HW-IS本来の阻害能と相俟って効果が増加する。

加熱操作による物性の変化(例:細胞壁高分子多糖の低分子化による粘性低下など⁷⁾)は生理機能にも大きな影響を与えると考えられるので、さらに他の食材を使用してより詳細な検討が必要であると思われる。

また、今後、今回用いた食品の水不溶性食物繊維を煮沸した際に可溶化する成分の分子量変化を煮沸時間との関係で詳細に検討する予定である。併せて、水可溶性食物繊維についても同様に行う予定である。

4. 要 約

人参、牛蒡、玉葱、ブロッコリー、ほうれん草、胡瓜および林檎の各水不溶性食物繊維が、*in vitro*におけるグルコースの拡散速度に与える「煮沸操作」の影響を調べた。

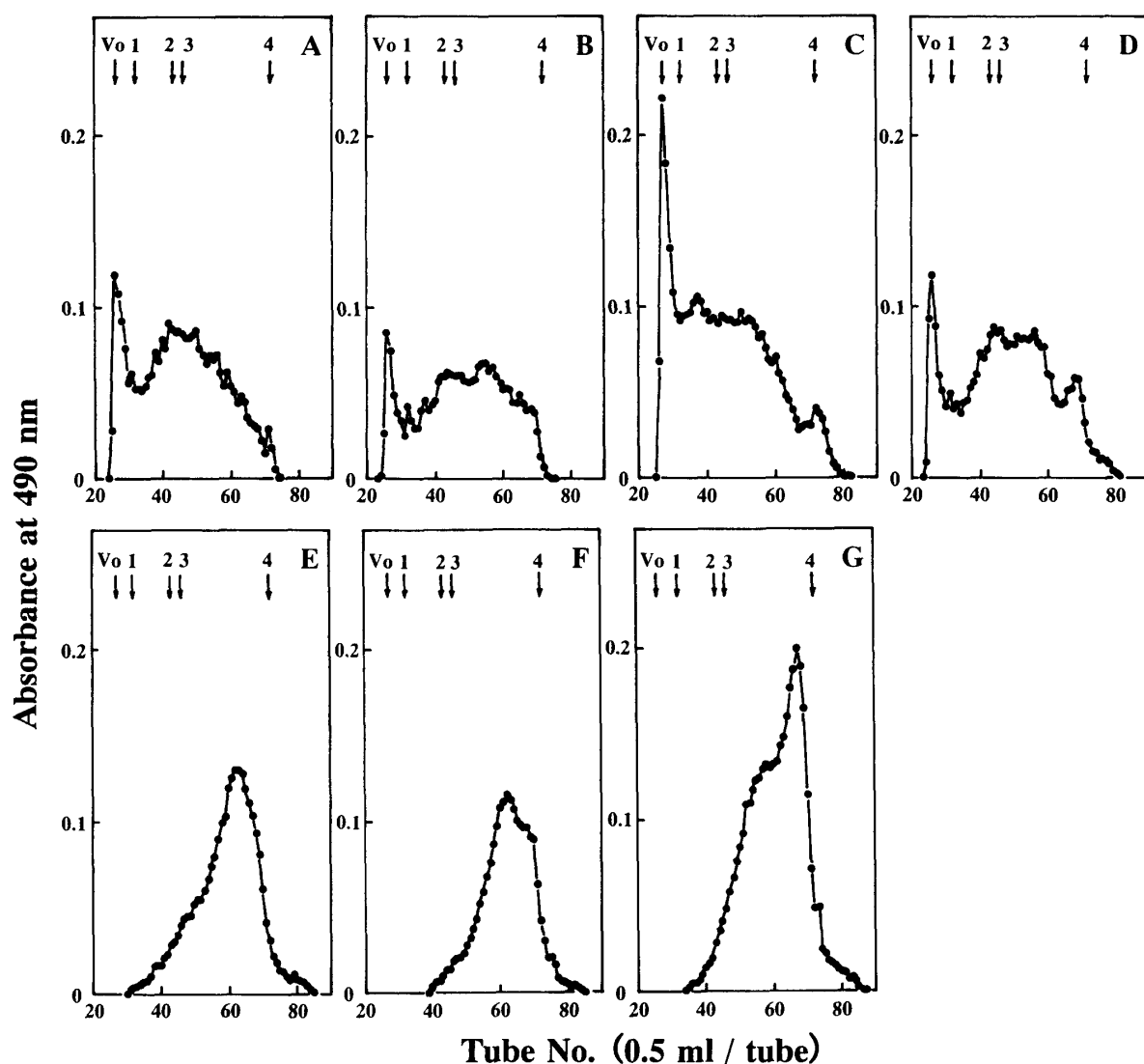


Fig. 2. Sepharose CL-6B chromatography of the hot water-soluble fractions obtained from water-insoluble dietary fiber boiled at 100°C for 120 min

A, carrot; B, edible burdock; C, onion; D, broccoli; E, spinach; F, cucumber; G, apple. The arrows in the figures indicate the elution positions of Blue Dextran (Vo), Dextran T-500 (1, MW=5×10⁶), Dextran T-110 (2, MW=1×10⁶), Dextran T-40 (3, MW=4×10⁴), and glucose (4).

(1) いずれの水不溶性食物繊維でも、グルコースの *in vitro* における拡散阻害能が煮沸により増加した。

(2) その増加は熱水可溶性画分ではなく熱水不溶性画分に主に依存した。しかし、共存する熱水可溶性画分が、熱水不溶性画分のもつ阻害能を増加させるものと、減じさせるものとの二つのタイプがあることがわかった。前者に人参、牛蒡、玉葱、ブロッコリーが、後者にほうれん草、胡瓜、林檎が、それぞれ属した。

(3) いずれの場合でも熱水可溶性画分はペクチン様物質から成っており、煮沸時間の増加に伴いその量も増加した。その分子量分布を調べると、分子量4万以

上のものが、人参、牛蒡、玉葱、ブロッコリーでは約50%を占めていたが、ほうれん草、胡瓜、林檎では10%以下であった。

(4) このことから、煮沸により可溶化する水不溶性ペクチン様物質の分子量が小さい（煮沸操作により低分子化しやすいペクチン様物質）場合は、それが熱水不溶性画分構成多糖間で形成されている種々の架橋構造の空隙に入り込み、熱水不溶性画分のもつ拡散阻害能を減じさる。一方、煮沸により可溶化するペクチン様物質の分子量が大きい（加熱により低分子化しにくいペクチン様物質）場合は、高分子ペクチン様物質と

水不溶性食物繊維の煮沸操作が *In Vitro* におけるグルコースの拡散速度に与える影響

熱水不溶性画分の両者の阻害能が相俟って効果の増加がみられると考えた。

本報文の一部は第 40 回および 41 回日本家政学会東北・北海道支部研究発表会において報告したものである。

引用文献

- 1) 印南 敏, 桐山修八 (編):『改訂新版食物繊維』, 第一出版, 東京, 281-339 (1995)
- 2) Kritchevsky, D.: Dietary Fiber, *Annu. Rev. Nutr.*, **8**, 301-328 (1988)
- 3) Ebihara, K., Masuhara, R., and Kiriyaama, S.: Major Determinants of Plasma Glucose-Flattening Activity of a Water-Soluble Dietary Fiber: Effects of Konjac Mannan on Gastric Emptying and Intraluminal Glucose-Diffusion, *Nutr. Rep. Int.*, **23**, 1145-1156 (1981)
- 4) Ebihara, K., and Kiriyaama, S.: Comparative Effects of Water-Soluble and Water-Insoluble Dietary Fibers on Various Parameters Relating to Glucose Tolerance in Rats, *Nutr. Rep. Int.*, **26**, 193-201 (1982)
- 5) 加藤陽治, 秋山美香: 水不溶性食物繊維カラムによるデキストランおよびマルトデキストランのゲル濾過クロマトグラフィー, 栄食誌, **46**, 161-166 (1993)
- 6) 加藤陽治: 水不溶性食物繊維のグルコースの *in vitro* における拡散速度に与える影響, 栄食誌, **46**, 351-355 (1993)
- 7) 加藤陽治, 田中順子: 市販セルロース粉末およびペクチンがグルコースの *in vitro* における拡散速度に与える影響, 弘前大教育学部紀要, 81 号, 93-99 (1997)
- 8) Kato, Y., Ito, S., Iki, K., and Matsuda, K.: Xyloglucan and β -D-Glucan in Cell Walls of Rice Seedlings, *Plant Cell Physiol.*, **23**, 351-364 (1982)
- 9) Bitter, T., and Muir, H. M.: A Modified Uronic Acid Carbazole Reaction, *Anal. Biochem.*, **4**, 330-334 (1962)
- 10) Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., and Smith, F.: Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances, *Anal. Chem.*, **28**, 350-356 (1956)
- 11) 加藤陽治, 松倉純子: 主要葉菜類の炭水化物組成, 弘前大教育学部紀要, 71 号, 61-71 (1994)
- 12) 加藤陽治: 主要根菜類の炭水化物組成, 弘前大教育学部紀要, 74 号, 37-47 (1995)
- 13) 加藤陽治: 主要果菜類の炭水化物組成, 弘前大教育学部紀要, 78 号, 99-107 (1997)
- 14) 桜井直樹, 山本良一, 加藤陽治:『植物細胞壁と多糖類』, 培風館, 東京, 129-163 (1991)