

セルロース（商品名：アビセル、旭化成、東京都）は代表的な非水溶性食物繊維であり、D-グルコピラノースが $\beta$ -1,4グルコシド結合で直鎖状に連なったホモ多糖である。植物の細胞壁を構成している主成分であり、各種植物性食品に豊富に分布している。今回使用したセルロースの純度はAOAC法により99%以上である。

湿熱処理ハイアミロースデンプン（商品名：ロードスター、日本食品化工、東京都）は Proskey法による食物繊維含量はレジスタントスターチとして64%である。

フラクトオリゴ糖（明治製菓、東京都）は整腸作用を中心とする食物繊維様作用<sup>14)</sup>、ミネラル吸収促進作用<sup>15)</sup>などを有するため、健康志向の食品への応用に広く用いられている。今回使用したフラクトオリゴ糖の純度はフラクトオリゴ糖として98%以上である。その構成は1-ケトース (GF<sub>2</sub>) 36.8%、ニストース (GF<sub>3</sub>) 51.9%、1<sup>F</sup>・ $\beta$ ・フラクトフラノシルニストース (GF<sub>4</sub>) 9.3%である。

### (3) 試験物質摂取量および調製方法

摂取した試験物質が多いほど呼気水素ガス排出量が多くなることが考えられるので摂取量はできるだけ多くする必要がある。しかし、食物繊維は難消化性オリゴ糖や糖アルコールと異なり、多糖であるために水溶液にすると膨潤して容量が極めて大きくなり、摂取が困難になるものがある。このため、食物繊維摂取量は5gを原則とした。対照としたフラクトオリゴ糖摂取量も5gとし、水溶液にして摂取させた。食物繊維は水に溶解すると粘性が強くなるもの、膨潤性の高いもの、非水溶性のものなど各々特徴がある。指示量5.0gを確実に摂取させるために、試験物質は以下のように調製し、摂取させた。

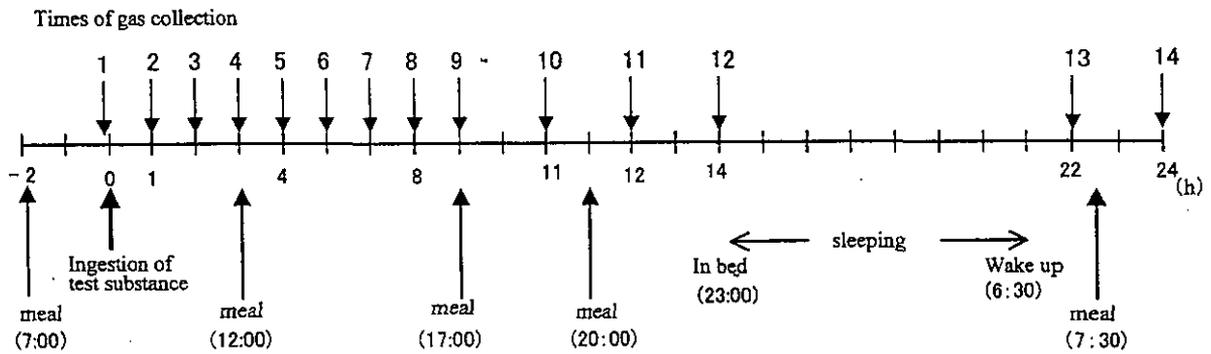
オリゴ糖や糖アルコールは水に溶けやすく、またある程度甘味を持っているので被験者は摂取しやすい。しかしながら、食物繊維は甘味を持たないので、その水溶液あるいは懸濁液を単独で摂取させることは大きな苦痛を伴う。そこで、試験物質(5g)の溶解性や物性を考慮して、即席醤油スープ（わかめスープ、理研（株））またはポタージュ（とろとろポタージュ、Ajinomoto（株））など味が付いたものに溶解あるいは懸濁して摂取させた。

ポリデキストロース、難消化性デキストリン、グアーガム酵素分解物は、各々の食物繊維素材5.0gを、コーヒーカップに入れ、これに即席わかめスープ1人前（乾燥体約6g）（理研ビタミン、東京都）を沸騰水140mLに溶解したものを混和した。わかめスープは具材を完全に除去した顆粒のみを用い、茶漉しを通して注ぎ込み、よく攪拌した。

低分子化アルギン酸ナトリウム7.4g（アルギン酸5.0gに相当）と湿熱処理ハイアミロースデンプン、セルロースは、各々の食物繊維素材5.0gを秤量してコーヒーカップに入れ、これに即席ポタージュ1人前（約17g）（味の素、東京都）を沸騰水140mLに溶解・懸濁し、これをステンレスこし器（約500 $\mu$ mメッシュ）でろ過した。ポタージュスープは浮き身を完全に除去した顆粒のみを用い、茶漉しを通して注ぎ込み、よく攪拌した。ただし、グルコマンナン(5g)のみは、ブラックコーヒー（ネスレ・ジャパン、東京都）約120mlに砂糖8gを加えて、1晩冷蔵庫内でゲル化して調製した。

### (4) 実験プロトコルならびに試験物質の摂取方法

試験物質の摂取、特別試験食の摂取、呼気採取などに関する実験プロトコルを図2に示した。被験者は前日午後8時までに夕食を食べ、その後はお茶や水などの飲食を



**Fig. 2. Experimental protocol of breath gas test**

制限し、実験当日、7:30までに特別試験食を摂取して研究室に来させ、血圧などを測定して体調をチェックし、異常のない者について空腹時における呼気を採取した。最初の呼気採取後、調製した試験物質含有スープまたはポタージュを直ちに摂取させた。その後は試験物質摂取後8時間まで、1時間おきに採取した。8時間後以降は、14時間後までは2時間おきに採取し、14時間以降は睡眠時間とした。睡眠時間を7時間とつて起床し、その30分後の呼気を自宅で採取させた。大学研究室において試験物質摂取24時間後の呼気を採取し、同時に被験者の健康状態の変化を問診して記録した。呼気ガス採取は連続した24時間に計14回実施した。

**(5) 呼気ガス採取方法ならびに呼気ガス分析方法**

呼気採取は、死腔ガス150mLを除く終末呼気ガス500~750mLを、マウスピースと逆流防止弁付きマウスピースを装着したサンプリングバッグ(テラメックス、京都市)を使用して採取した。呼気採取は大学および自宅で行い、被験者には呼気採取前5~10分間は座位安静にさせ、過喚起状態での呼気採取を行わないように指導した。また、口腔内の常在菌による水素ガス排出が呼気ガスに影響を及ぼさないように、呼気採取前に水道水で口を漱がせた。実験中は、過激な運動、喫煙、睡眠時間以外の睡眠を禁止した。さらに、実験前、実験途中で体調を崩した場合などは、必ず申し出るよう指示し、実験の続行が不可能な場合はその時点で中止した。なお同一被験者が繰り返し実験を行う場合、次の試験物質摂取まで少なくとも1週間以上の間隔をあげた。

水素ガスとメタンガスの濃度は、ガスクロマトグラフ法の手法を用いた呼気水素/メタン分析装置(Breath(H<sub>2</sub>/CH<sub>4</sub>)Analyzer)モデルTGA-2000(テラメックス、京都市)を使用して測定した。測定は、温度(25℃前後)、湿度(70%前後)の環境を一定に維持して行った。校正用標準ガスとして、水素100ppm/メタン50ppm(ジャパンファイブプロダクツ、大阪市)を使用した。

**(6) 被験者の食事およびその摂取と制限**

試験物質摂取前日は通常の生活をさせ、夕食を夜8時頃までに終了するように指示した。それ以降の飲食は日本茶、水、ウーロン茶に限り自由摂取を認めた。夕食時間が夜8時以降の場合は、消化の良い食品を摂取するよう指導した。また、試験物質摂取2週間前から、抗生物質等医薬品の利用、発酵食品の摂取、難消化性オリゴ糖や糖アルコールを含有した食品の摂取を控えるよう指示した。さらに試験物質摂取前日は、牛

乳、ヨーグルトなどの乳製品、食物繊維やオリゴ糖を含む食品の摂取を控えるよう指示した。

通常の市販加工食品には食物繊維をはじめ難消化性オリゴ糖や糖アルコールが添加されているので、被験者には消化性が良く、水素ガスを産生しない特別試験食を摂取させた。被験者を24時間以上拘束するので、被験者の心身の健康状態を維持し、侵襲を最小限にするために、被験者の特別試験食の内容およびその摂取と制限について予備実験を行って検討した。この際、特別試験食を1日少なくとも3回以上摂取することを配慮して、できるだけ食品の組み合わせを多くするようにした。

検討の結果、呼気水素ガスを排出しない食品として、クッキー3種類（商品名：ムーンライトミニおよびチョコイスミニ，森永製菓，東京都；バタークッキーサブレ，全国大学生生活協同組合）、シーチキン（商品名：シーチキンマイルド，はごろもフーズ，静岡県）、ゆで卵（約50 g /1個）、ポカリスエットを特別試験食の食品として用いた。

1日の総エネルギー摂取量は、第六次改定日本人の栄養所要量<sup>16)</sup>における女性18～29歳のエネルギー所要量（生活活動強度Ⅱ：やや低い）の1,800kcalを目安にした。特別試験食の内容は、朝食に【クッキー+ゆで卵+ポカリスエット】、昼食に【クッキー+ゆで卵+ポカリスエット+シーチキン】、間食に【クッキー+ポカリスエット】、夕食に【クッキー+ゆで卵+ポカリスエット】とした。これらのエネルギー量およびタンパク質量を表2に示した。

試験物質摂取当日の朝食から、呼気採取終了時までの24時間は供与した特別試験食以外の飲食を禁止した。ただし、日本茶、水、ウーロン茶は自由摂取とし、被験者が空腹感を訴えた場合にはポカリスエットの摂取を認めた。また、ビタミン補給のため、マルチビタミン（商品名：ネイチャーメイド，大塚製薬，東京都）1錠を朝食時または昼食時に摂取させた。特別試験食摂取時刻は図2に呼気採取時間とともに示した。各食事時間は約15～30分とした。

**Table 2. Energy and protein of experimental meal**

	Energy (kcal)	Protein (g)
Breakfast	437	9.7
Lunch	587	22.2
Snack	366	3.5
Supper	412	9.4
Snack	336	3.2
Total	2138	48.0

Per person, per day

(7) 解析および統計処理

呼気水素ガス排出は、試験物質摂取前の0時間値に対して5ppm以上の上昇が見られた

時点を開始時間（イニシャルタイム）とした。各種食物繊維素材による呼気水素ガス排出の経時的変化および呼気水素ガス排出濃度累積面積（areas under the curves for time : AUC）は、平均値および標準偏差（S.D.）を算出し、いずれもコントロールであるフラクトオリゴ糖に対するpaired student's *t*-testによる検定を行った。解析にはSPSSver. 10.0J（SPSS Inc., Japan）を用い、いずれも有意確率を5%未満とした。

## 2) ヒト糞便を用いた各種食物繊維素材の発酵分解性

### (1) 糞便提供者と糞便採取方法

糞便提供者は、本研究の目的、実験内容、試験物質について十分に理解し、実験に協力することを承諾した消化器疾患のない健常な女性6名（年齢21～45歳）であった。糞便提供者には、提供前日、当日も食事制限は行わず、通常的生活をさせた。

糞便採取は、朝、大学内トイレにおいて特殊な用紙を敷いたプラスチックボウル内に排便させた。排泄直後の新鮮な糞便約18gをデジタルクッキングスケール（No. 1140モデル、TANITA）を用いて秤取させ、直ちに0.1Mリン酸緩衝液（pH7.4）70mLを入れたビーカーに移させた。

### (2) 糞便培養に用いた基質

発酵分解を検討する糞便培養実験の基質には、24時間呼気水素ガス排出量測定実験で用いたものと同じ食物繊維素材を用いた。水溶性食物繊維素材としてグルコマンナン、グアーガム酵素分解物、低分子化アルギン酸ナトリウム、ポリデキストロース、難消化性デキストリンを使用した。非水溶性食物繊維素材としてセルロース、湿熱処理ハイアミロースデンプンを使用した。対照としてフラクトオリゴ糖を使用した。

### (3) 基質の調製

基質は0.1Mリン酸緩衝液（pH7.4）に最終濃度が100mg/mLとなるように溶解または懸濁した。ただし、グルコマンナンはきわめて保水性が高くゲル化するため、5mg/mLに調製した。

リン酸緩衝液（pH7.4）は、まず0.1M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ と0.1M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ を用いてpH7.4のリン酸緩衝液を調製した後、最終濃度が各々NaCl 0.9%、3.4% L-アスコルビン酸・0.5% L-システイン混合液2.0%になるよう調製した。

### (4) 培養方法

糞便を採取したビーカーに、糞便の7倍量（w/w）になるようにリン酸緩衝液（pH7.4）を加え、ワーリングブレンダーで約40秒間ホモジネートした。この懸濁液を目の粗いフィルター（金属性味噌漉し）でろ過し、次に目の細かいフィルター（金属性茶漉し）で再度ろ過し、粗めの残渣を除去した。これを糞便培養標本として用いた。

培養用試験管に調製した各食物繊維基質液（100mg/mL）1mLをとり、これに糞便培養標本10mLを加えて攪拌した。その後、培養用試験管をドラフトチャンバー（DC-K601モデル、DALTON、東京都）内にセットし、窒素ガスを通気して嫌氣的条件下で20～25℃に24時間培養した。窒素ガス流量は2～3mL/minであった。

### (5) 糞便培養液のpH測定

反応開始、0、1、3、6、9、24時間後毎にそれぞれ糞便培養液0.6mLを採取し、直ちにポータブルハンディーpHメーター（カスタニーACT pHメーターD-21、HORIBA、東京都）を用いて測定した。

## (6) 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いた短鎖脂肪酸の分析

pH測定後の培養液をエッペンドルフチューブ (1.5mL) に移し、微量高速冷却遠心機 (MX - 160/TX - 160モデル, トミー精工, 東京都) を使用して、 $17,860 \times g$ 、 $4^{\circ}\text{C}$  で30分間遠心分離した。上清をシリンジ (ツベルクリン用テルモシリンジ1mL用, TERUMO, 東京都) に採取し、メンブレンフィルター (Millex-GV Non-Sterile  $0.22\mu\text{m} \times 13\text{mm}$ , Millipore. Co, USA) を用いてろ過し、短鎖脂肪酸分析まで $-20^{\circ}\text{C}$  で保存した。

生成した短鎖脂肪酸分析のためのHPLC分析条件は以下のとおりである。短鎖脂肪酸の標準液として、酢酸、コハク酸、プロピオン酸および酪酸を用いた。

測定機器	LC-10AD HPLC装置 (島津製作所、京都市)
カラム	CAPCELL PAK C18 MG S5 $4.6\text{mm i.d.} \times 250\text{mm}$ (資生堂、東京都)
カラム温度	$30^{\circ}\text{C}$
移動相	$0.1\text{v/v}\text{H}_3\text{PO}_4 : \text{CH}_3\text{CN} = 97.5 : 2.5$ (使用前に60分間以上ソニケーションして脱気したもの)
流速	$0.7\text{mL}/\text{min}$
試料注入量	$10\mu\text{L}$
検出器	UV検出器SPD-10A VA (島津製作所、京都市) $\text{UV}210\text{nm}$

## (7) 解析および統計処理

各種食物繊維の発酵による短鎖脂肪酸生成量とpH変化量は、平均値および標準偏差 (S. D.) を算出し、いずれも対照としたフラクトオリゴ糖に対するpaired student's *t*-testによる検定を行った。さらに、短鎖脂肪酸生成量とpH変化量の関係を見るため、Pearsonの積率関係係数を求めた。解析にはSPSSver. 10.0J (SPSS Inc., Japan) を使い、いずれも有意確率を5%未満とした。

## (8) 研究倫理委員会等の審査

本件急は、県立長崎シーボルト大学研究倫理委員会の承認を得て実施した。

## 実験結果

### 1. 24時間呼気水素ガス排出量測定

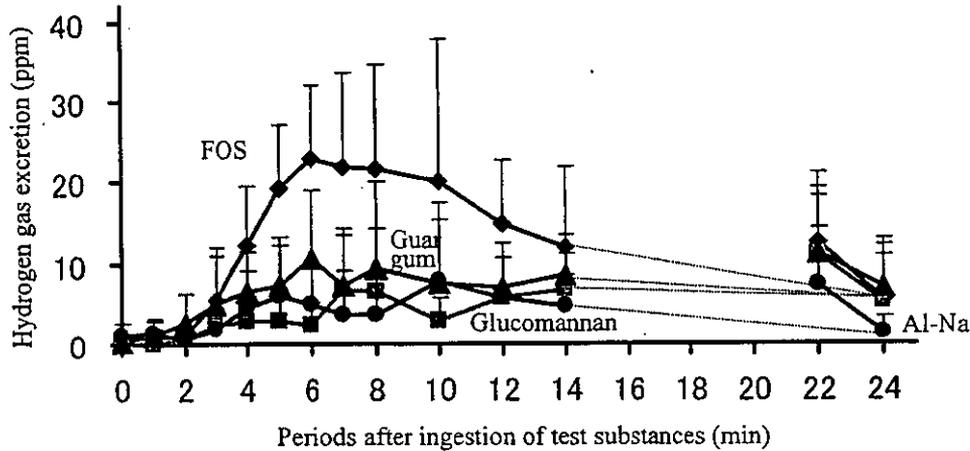
#### 1) 被験者の実験完了状況

今回の被験者 (9名) はいずれもフラクトオリゴ糖による呼気水素ガス排出が認められ、メタンガス生産者はいなかった。それぞれの実験期間に、被験者が摂取した特別試験食のエネルギー量の平均値および標準偏差は $2,048 \pm 220\text{kcal}$ 、タンパク質量は $45.2 \pm 6.0\text{g}$ であった。

#### 2) 各種食物繊維素材摂取後24時間の呼気水素ガス排出動態

各種食物繊維素材摂取後の呼気水素ガス排出量は個人差が極めて大きく、また食物繊維素材の違いによっても著しく異なった。図3~図5は、被験者7名の平均値および標準偏差で示したものである。対照として用いたフラクトオリゴ糖は消化されず、腸内細菌によって完全に発酵分解を受けるので、先ずこのフラクトオリゴ糖摂取時の呼気水素ガス排出動態を各種食物繊維素材のそれと比較した。

フラクトオリゴ糖摂取では、呼気水素ガスは摂取3時間後から排出され始め、5~6時間後にピークに達し、その後14時間まで徐々に減少した。14時間以降約7時間の睡眠後、



**Fig. 3. Profiles of Breath Hydrogen Excretion by Oral ingestion of Guar Gum, Glucomannan, and Sodium Alginate**

Data are expressed mean and S.D. (n=7).

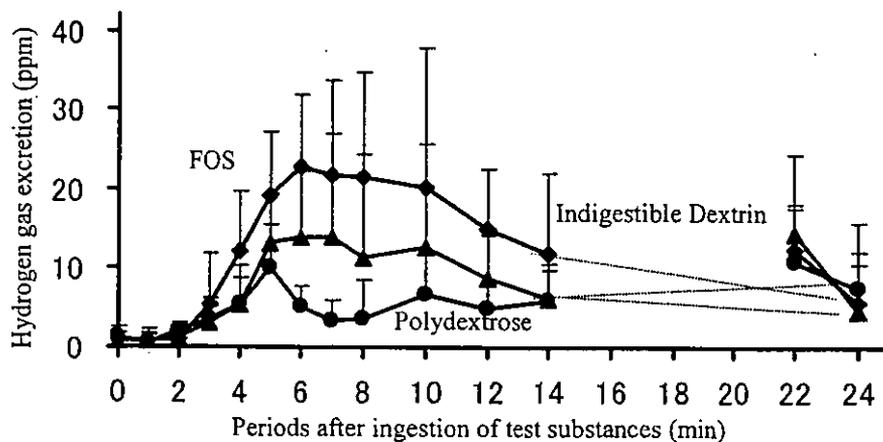
最初に採取した呼気水素ガス濃度はやや高めであったが、24時間後では低かった(図3)。水溶性食物繊維素材であるグルコマンナン、グアーガム酵素分解物、低分子化アルギン酸ナトリウム、ポリデキストロースおよび難消化性デキストリン摂取による呼気水素ガス排出動態はフラクトオリゴ糖のそれとは著しく異なり、全体的に発酵分解を受けにくい様相を示した。

グルコマンナンは摂取3時間後から水素ガスはわずかな排出が検出され、摂取7~8時間後にやや増加し、その状態は就床前の14時間まで持続した(図3)。起床後、最初に採取した呼気水素ガス濃度は就床前に比べて明らかに高かったが、起床2時間後の濃度は就床前以下に低下した。グルコマンナン摂取時の呼気水素ガス排出は、フラクトオリゴ糖摂取時に比べ有意に低かった( $p < 0.01$ )。これらの結果はグルコマンナンが腸内細菌による発酵分解を受け難いことを示している。

グアーガム酵素分解物摂取による呼気水素ガスは、摂取2時間後から5時間後にかけて増加し、この濃度はその後就床前までほぼ一定に維持した(図3)。さらに、起床2時間後においても、この濃度は持続していた。グアーガム酵素分解物の呼気水素ガス排出は、フラクトオリゴ糖に比べ有意に低かった( $p < 0.05$ )。これらの結果はグアーガム酵素分解物が腸内細菌によってゆっくりと発酵分解されることを示している。

天然の高分子アルギン酸は発酵分解されにくい、低分子化したアルギン酸が腸内細菌によってどの程度発酵分解されるかは明らかでない。図3に示すように、低分子化アルギン酸ナトリウム摂取後の呼気水素ガス排出動態はフラクトオリゴ糖に比べ有意に低かった( $p < 0.01$ )。また、グルコマンナンのそれと類似していたが、全体的に排出量が少なく、遅延する傾向が見られた。しかし、グアーガム酵素分解物摂取時の排出パターンとは異なり、水素ガス排出量もグアーガム酵素分解物のそれよりも少ない傾向を示した。

ポリデキストロースの呼気水素ガス排出は、摂取2時間後から増加し始めて5時間後に一度ピークを示し、その後7時間までやや低下してからわずかに上昇し、この状態が



**Fig. 4. Profiles of Breath Hydrogen Excretion by Oral ingestion of Polydextrose and Indigestible Dextrin**

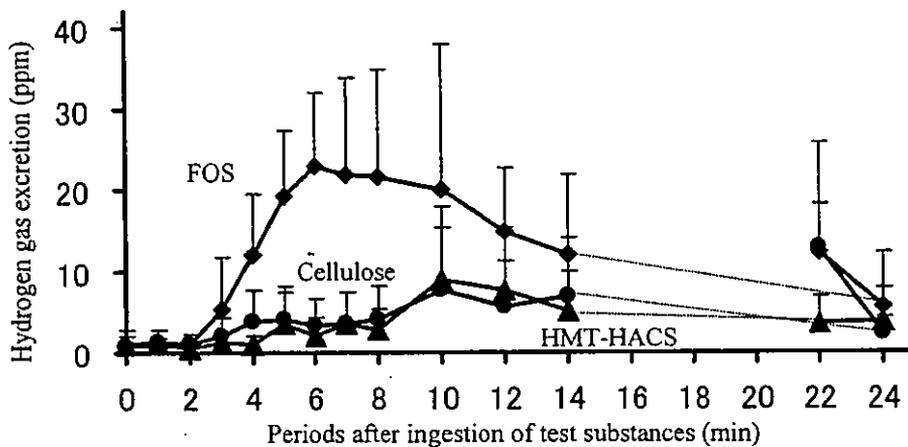
Data are expressed mean and S.D. (n=7).

14時間後まで持続した(図4)。起床後、最初に採取した呼気水素ガス濃度は就床前に比べて明らかに高かったが、起床3時間後のそれは就床前のレベルに戻った。ポリデキストロース摂取時の呼気水素ガス排出量はフラクトオリゴ糖摂取時と比べ有意に低かった( $p < 0.01$ )。ポリデキストロースは発酵分解されにくい多糖が主成分とされているが、これらの結果はポリデキストロースには発酵分解性の多糖がある程度含まれていることを示唆している。

難消化性デキストリンは、ポリデキストロースと同様に消化吸収性の単糖およびオリゴ糖を一部含んでおり、また比較的分子量が小さいので発酵分解受けやすいことが考えられる。図4に示すように、難消化性デキストリンによる呼気水素ガスは摂取4時間後から5時間後にかけて増加し、この濃度はその後10時間後まで維持されてから就床前まで減少した。起床後、最初に採取した呼気水素ガス濃度は、グルコマンナンやポリデキストロースの場合と同様に、就床前に比べて明らかに高かったが、起床2時間後のそれは就床前のレベル以下であった。難消化性デキストリンは当実験に用いた5種類の水溶性食物繊維素材の中で最も発酵分解性が高いことが伺えた。

図5は、非水溶性食物繊維であるセルロースおよび湿熱処理ハイアミロースデンプンを摂取させたときの呼気水素ガス排出動態を示したものである。セルロースは腸内細菌で極めて分解されにくいとされている<sup>17)</sup>が、図5に示すように、摂取後水素ガス排出が盛んになるまでに9~10時間を要しているが、その濃度は就床前まで持続し、グルコマンナンや低分子化アルギン酸ナトリウムのそれよりも高く、24時間においても分解が持続することを示している。セルロースの呼気水素ガス排出はフラクトオリゴ糖摂取時に比べ有意に低かったが( $p < 0.01$ )、腸内細菌によってある程度発酵分解を受けることが裏付けされた。

湿熱処理ハイアミロースデンプンは、セルロースと同様に呼気水素ガス排出が活発に行われるまでに10時間を要しているが、その後は就床前までやや高い濃度を維持し、起床後、最初に採取した水素ガス濃度は他のいずれの食物繊維素材よりも低かった。



**Fig. 5. Profiles of Breath Hydrogen Excretion by Oral ingestion of Cellulose and HMT-HACS**

Data are expressed mean and S.D. (n=7).

図5に示すように、湿熱処理ハイアマミロースデンブンの呼気水素ガス排出は、セルロースとほぼ等しく、フラクトオリゴ糖に比べ有意に低かった ( $p < 0.01$ )。湿熱処理ハイアマミロースデンブンのセルロースと同程度に腸内細菌によって発酵分解を受けることが示された。

3) 各種食物繊維素材摂取後24時間の呼気水素ガス排出濃度累積面積 (AUC: areas under the curves for time)

図3～図5に示すように、起床直後に採取した呼気水素ガス濃度は一時的に高く測定される。この理由は明らかではないが、摂取した食物繊維素材以外の要因によることも考えられる。そこで、図3～図5までの呼気水素ガス排出濃度累積面積AUCを計算するにあたって、以下の3つについてそれぞれ算出してみた。すなわち、前年度の研究結果と比較するために、試験物質摂取後から8時間までのAUC、試験物質摂取後から就床前の14時間までのAUC、試験物質摂取後から就床前の14時間までのAUCと起床直後から24時間までのAUCの和である。その結果をフラクトオリゴ糖摂取時と比較したものが表3である。

フラクトオリゴ糖摂取時のAUCは、8時間まで  $6,000 \pm 2,100$  ppm、14時間まで  $12,000 \pm 4,300$  ppm、24時間まで  $13,000 \pm 4,300$  ppmであった。

(1) 水溶性食物繊維素材について

グルコマンナンのAUCは8時間まで  $1,300 \pm 1,100$  ppm、14時間まで  $3,100 \pm 2,500$  ppm、24時間まで  $4,100 \pm 3,000$  ppmで、いずれもフラクトオリゴ糖摂取時に比べ有意に小さかった ( $p < 0.01$ )。グアーガム酵素分解物のAUCは8時間まで  $2,700 \pm 1,900$  ppm、14時間まで  $5,500 \pm 3,700$  ppm、24時間まで  $6,600 \pm 4,300$  ppmで、いずれもフラクトオリゴ糖摂取時に比べ有意に小さいとはいえなかった。

低分子化アルギン酸ナトリウムのAUCは8時間まで  $1,500 \pm 1,000$  ppm、14時間まで  $3,600 \pm 3,000$  ppm、24時間まで  $4,100 \pm 3,300$  ppmで、いずれもフラクトオリゴ糖摂取時に比べ有意に少なかった ( $p < 0.01$ )。ポリデキストロースのAUCは8時間まで  $2,000 \pm$

**Table 3. Areas under the curve versus time of hydrogen gas excretion**

	AUC ppm/ 14h	AUC ppm/ 24h	AUC ppm/ 8h
Glucomannan	3,100±2,500	4,100±3,000	1,300±1,000
Guar gum	5,500±3,700	6,600±4,300	2,700±1,920
Sodium Alginate	3,600±3,000	4,100±3,300	1,500±1,000
Polydextrose	3,900±1,400	5,000±2,200	2,000± 600
Indigestible Dextrin	7,100±3,900	8,300±4,200	3,480±1,500
Cellulose	4,000±2,000	4,900±2,700	1,400± 800
HMT-HACS	4,400±2,400	4,900±2,700	1,000± 600
FOS	11,900±4,300	13,000±4,300	6,000±2,100

Data are expressed mean and S.D. (n=8). AUC:Areas under the curve versus time.

600ppm、14時間まで4,000±1,400 ppm、24時間まで5,000±2,200ppmで、いずれもでフラクトオリゴ糖摂取時に比べ有意に小さかった ( $p < 0.01$ )。

難消化性デキストリンのAUCは8時間まで3,500±1,500ppm、14時間まで7,100±4,000 ppm、24時間まで8,300±4,200ppmで、いずれもフラクトオリゴ糖摂取時に比べ有意に小さかった ( $p < 0.01$ )。

#### (2) 非水溶性食物繊維素材について

セルロースのAUCは8時間まで1,400±800ppm、14時間まで4,000±2,100ppm、24時間まで4,900±2,700ppmで、いずれもフラクトオリゴ糖摂取時に比べ有意に小さかった ( $p < 0.01$ )。

湿熱処理ハイアミロースデンプンのAUCは8時間まで1,000±600ppm、14時間まで4,400±2,400ppm、24時間まで4,900±2,700ppmで、いずれもフラクトオリゴ糖摂取時に比べ有意に小さかった ( $p < 0.05$ )。

#### 4) フラクトオリゴ糖を基準とした各食物繊維素材のエネルギー評価

フラクトオリゴ糖は消化酵素で消化されずに大腸に移行し、腸内細菌によって完全に発酵分解される。このため、糞便には排泄されない。このように、消化されずに完全に発酵分解されるオリゴ糖の有効エネルギーは2 kcal/gとされている<sup>6,7)</sup>。このフラクトオリゴ糖の発酵分解性を基準にして各食物繊維素材の発酵分解性から有効エネルギー量を推算することが可能になる。

摂取後8時間、14時間、24時間までの水素ガス排出量からフラクトオリゴ糖を基準にして発酵分解性を推算したものが表4である。摂取8時間後のフラクトオリゴ糖を100と

**Table 4. Energy estimation ratio from ratio of AUC versus FOS**

	14h		24h		8h	
	Ratio	Energy kcal	Ratio	Energy kcal	Ratio	Energy kcal
<b>Glucomannan</b>	26.5	1	31.8	1	22.2	0
<b>Guar gum</b>	47.4	1	51.9	1	47.4	1
<b>Sodium Alginate</b>	30.8	1	32.3	1	26.4	1
<b>Polydextrose</b>	33.7	1	39.5	1	34.6	1
<b>Indigestible Dextrin</b>	61.0	1	64.7	1	61.1	1
<b>Cellulose</b>	34.6	1	38.0	1	24.4	0
<b>HMT-HACS</b>	37.7	1	38.4	1	18.2	0
<b>FOS</b>	100.0	2	100.0	2	100.0	2

Data are expressed mean and S.D. (n=8). AUC: Areas under the curve versus time.

した場合、相対的な発酵分解率が25%未満の食物繊維素材はグルコマンナン、セルロースおよび湿熱処理ハイアミロースデンプンの3つで、他の素材はいずれも25%以上であった。フラクトオリゴ糖の有効エネルギー量を2 kcal/gとすると、グルコマンナン、セルロースおよびハイアミロースデンプンの有効エネルギー量はいずれも0 kcal/gとなり、グアーガム、低分子化アルギン酸-Na、ポリデキストロース、難消化性デキストリンはいずれも1 kcal/gとなった。同様に、摂取14時間後の相対的な発酵分解性を算出すると、発酵分解率が25%未満の素材はなく、いずれも25%以上で75%未満となった。この結果、いずれの素材の有効エネルギー量はすべて1 kcal/gとなった。取後24時間の発酵分解率は14時間後に比べて時間が長い分だけ高くなったが、その傾向が大きく異なることはなく、推算した有効エネルギー量も違わなかった。

## 2. ヒト糞便を用いた各種食物繊維素材の発酵分解性

### 1) 各種食物繊維素材の糞便培養における反応液pHの経時的変化の特徴

フラクトオリゴ糖のヒト糞便培養反応液のpH低下は、特に培養開始9時間までは著しい低下を見せ、9時間以降24時間までは緩やかな低下であった。この反応液のpHの低下は腸内細菌によって糖質から生成された短鎖脂肪酸によることが考えられる。短鎖脂肪酸の種類によってpH低下作用は多少異なるが、基本的には短鎖脂肪酸生成量が多くなるほどpHは低下すると考えられる。

図6に示すように24時間の培養によって、グルコマンナンはpH7.12からpH7.03、低分子化アルギン酸ナトリウムはpH7.12からpH7.07、セルロースはpH7.12からpH7.05へそ

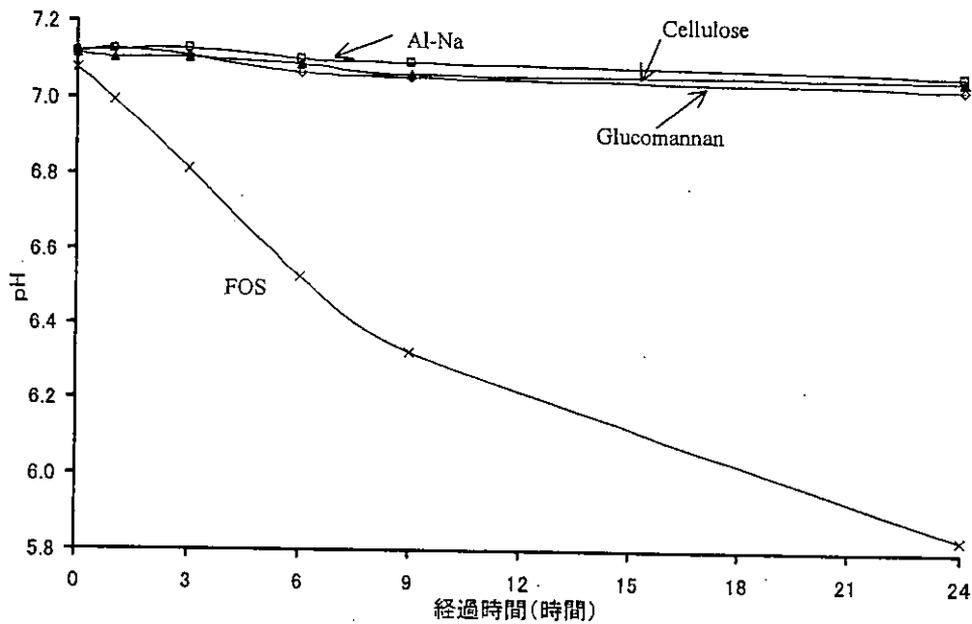


Fig. 6. Response of pH by incubation of human feces

れぞれ低下した。また、図7に示すように、グアーガム酵素分解物はpH7.10からpH6.42、ポリデキストロースはpH7.09からpH6.63、難消化性デキストリンはpH7.10からpH6.44、湿熱処理ハイアミロースデンプンはpH7.09からpH6.76へ低下した。これら4種類の食物繊維素材は、培養開始1時間後までpHの変化は類似していたが、培養時間の経過に伴って徐々に差が生じた。

一方、グアーガム酵素分解物は培養開始1、3、6、9時間後までpHは徐々に低下し、9時間後以降24時間にかけても他の食物繊維素材とは異なって確実に徐々に低下した。

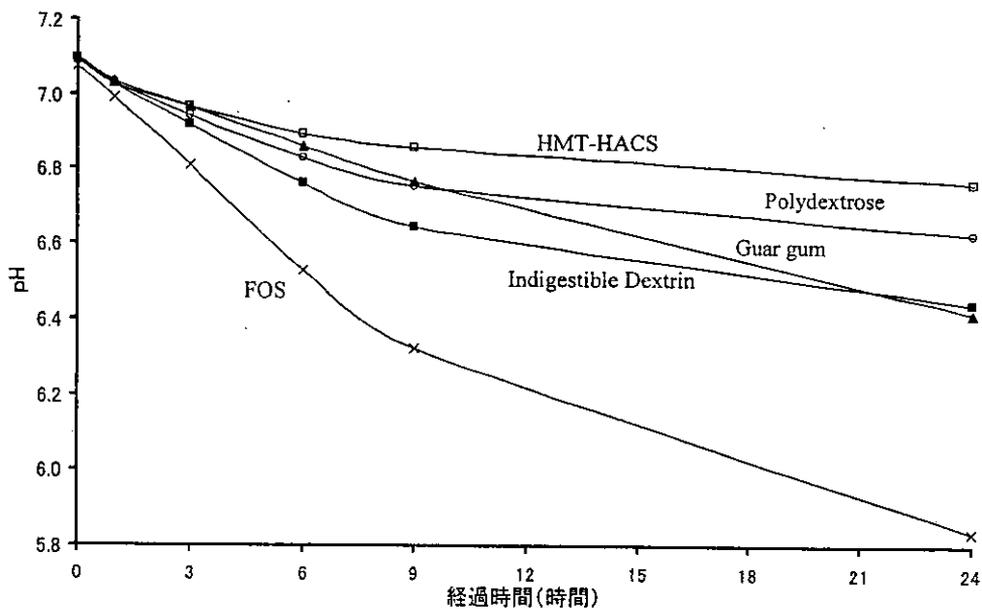


Fig. 7. Response of pH by incubation of human feces

難消化性デキストリン、ポリデキストロースは培養開始9時間まで一定にpH低下したが、9時間以降24時間の間は低下が緩やかであった。湿熱処理ハイアミロースデンプンは培養開始直後が最もpH低下が著しく、その後時間が経過するにつれてpH低下が緩やかになった。

培養開始24時間後においてpHが最も低下したものはフラクトオリゴ糖で、次いでグアーガム酵素分解物、難消化性デキストリン、ポリデキストロース、湿熱処理ハイアミロースデンプンであり、グルコマンナン、セルロース、低分子化アルギン酸ナトリウムにおいてはpH変化があまり見られなかった。

次に、各種食物繊維とフラクトオリゴ糖のヒト糞便培養反応液pHを培養経過時間毎に比較した。表5に示すように、培養開始1、3、6、9、24時間において全ての食物繊維素材とフラクトオリゴ糖の反応液のpHに対する有意差があると認められた ( $p < 0.01$ )。

**Table 5. SCFAs produced from incubation of human feces**

	SCFAs (mmol/mL) 0-3h	Ratio vs FOS	pH 0-3h
Glucmannan	4.09 ± 18.73	9.0	7.18 ± 0.25
Guar gum	25.24 ± 16.30	55.4	7.03 ± 0.24
Sodium Alginate	17.71 ± 20.38	38.8	7.20 ± 0.25
Polydextrose	37.56 ± 29.79	82.4	7.01 ± 0.25
Indigestible Dextrin	24.92 ± 31.30	54.7	6.99 ± 0.25
Cellulose	7.63 ± 10.96	16.7	7.17 ± 0.25
HMT-HACS	21.34 ± 25.70	46.8	7.05 ± 0.26
FOS	45.58 ± 24.16	100.0	6.88 ± 0.28

Data are expressed mean and S.D. (n=8). SCFAs are acetic, propionic, and butyric acids.

## 2) 糞便培養における各種食物繊維素材から短鎖脂肪酸生成の経時的変化

ヒト糞便培養における培養開始3時間に生成された短鎖脂肪酸量を表5に示した。ここで示す短鎖脂肪酸量は酢酸、プロピオン酸、酪酸の合計量である。

グルコマンナンからの短鎖脂肪酸生成量をもっとも多かったのはポリデキストロースで、フラクトオリゴ糖の約82%、次がグアーガムと難消化性デキストリンとハイアミロースデンプンでフラクトオリゴ糖の約50%であった。最も少なかったのはグルコマンナンで約9%、次に少なかったのはセルロースでフラクトオリゴ糖の約17%であった。

ポリデキストロース、難消化性デキストリン、ハイアミロースデンプンは単糖や消化性オリゴ糖を含んでいるために、*in vitro* の培養実験ではこれが腸内細菌の基質になって短鎖脂肪酸に転換される。このため、*in vivo* 実験とは異なった結果を生じる。これに対し、天然の食物繊維は単糖やオリゴ糖などをほとんど含んでいないので、人工合成したものとは異なった短鎖脂肪酸生成を示す。短鎖脂肪酸生成に関して、いずれの食物繊維素材にも共通して見られたことは、培養開始3時間後まで短鎖脂肪酸生成が活発で、その後はあまり生成されないことであった。これは、短鎖脂肪酸生成によって反応液pHが低下して、腸内細菌の活性が低下したためと考えられる。

### 3) 短鎖脂肪酸生成量とpH低下との関連性

ヒト糞便培養におけるpHの経時的な変化と短鎖脂肪酸生成に関連性があるかをPearsonの積率相関係数( $r$ )を算出することにより求めてみた。短鎖脂肪酸生成は培養開始直後に活発に行われ、短鎖脂肪酸生成量が多くなるに伴って反応液のpHが低下するので、反応が進まなくなることが考えられる。腸管内では、生成された短鎖脂肪酸は速やかに吸収されて、一定の濃度が維持されるのでpHはほぼ一定である。それゆえ、培養時間が短い時の方が腸管内の状況に近いことが考えられる。したがって、時間の経過に伴って培養開始24時間に生成された短鎖脂肪酸量だけでなく、3、6時間までの短鎖脂肪酸生成量についてもpH低下と関係があるのか検討した(表6)。

グルコマンナン、ポリデキストロースを除いた、グアーガム酵素分解物、低分子化アルギン酸ナトリウム、難消化性デキストリン、セルロース、湿熱処理ハイアミロースデンプン、フラクトオリゴ糖は、相関係数の有意確率( $p$ )が5%または1%未満であった。よって、SCFA生成量とpH変化量には有意に負の相関関係があり、短鎖脂肪酸生成量の増加に伴いpHが低下することが認められた。グルコマンナンとポリデキストロースにおいては、相関関係は認められなかった。

表6 ヒト糞便培養における反応液pHの経時的变化量と短鎖脂肪酸生成量の相関関係

各種食物繊維素材	相関係数( $r$ )	有意確率
グルコマンナン	-0.385	N.S.
グアーガム酵素分解物	-0.565	$p < 0.01$
低分子化アルギン酸ナトリウム	-0.600	$p < 0.01$
ポリデキストロース	-0.143	N.S.
難消化性デキストリン	-0.631	$p < 0.01$
セルロース	-0.568	$p < 0.01$
湿熱処理ハイアミロースデンプン	-0.965	$p < 0.05$
フラクトオリゴ糖	-0.608	$p < 0.01$

ヒト糞便培養0、3、6、24時間後におけるpH変化量と短鎖脂肪酸生成量の相関関係( $n=6$ )。相関係数( $r$ ): Pearsonの積率相関係数を示す。N.S.: not significant.

## 考 察

本研究では、ヒトに各種食物繊維素材を摂取させ、経時的に24時間にわたって呼気を採取し、排出される水素ガス量を測定することにより各々の食物繊維素材についての発酵分解性を検討した。さらに、ヒト糞便を用いて、嫌気的条件下で各種食物繊維素材の24時間培養実験を行い、生成される短鎖脂肪酸量ならびに反応系のpHの経時的变化などから、各々の食物繊維素材について発酵分解性を推定し、*in vivo*と*in vitro*による発酵分解性の整合性を検討した。得られた各種食物繊維素材の発酵分解性を用いて、それぞれの食物繊維素材についての有効エネルギー評価を試みた。

24時間呼気水素ガス排出量測定実験における水素ガス排出量は、それぞれの呼気採取時間における水素ガス濃度(ppm)を測定して表している。呼気へ排出される水素ガス濃度は経時的に変化するので、各時点における水素ガス濃度は排出量を反映していると考えられる。それゆえ、各時点における呼気水素ガス濃度を測定する場合は、呼気を採取する場合の被験者の呼吸状態が重要になる。本実験では、被験者は呼気採取前、短くても5~10分間座位安静状態を維持させ、呼吸状態が安定してから特殊な呼気コレクションバッグ(500~750mL)に呼気を1回で排出させた。

呼気水素ガス排出実験において、対照として用いたフラクトオリゴ糖は胃酸による分解がなく、小腸で消化吸收されずに大腸に到達して、腸内細菌によってほぼ完全に発酵分解される。したがって、食物繊維を摂取させて呼気水素ガス排出動態を観察する実験の対照としてフラクトオリゴ糖を用いるのは妥当であると考えられる。

各種食物繊維素材を摂取したときの水素ガス排出動態をフラクトオリゴ糖のそれと比較した場合、摂取後5時間から14時間までの水素ガス排出はいずれの食物繊維素材についてもフラクトオリゴ糖に比較して有意に低く、多糖類はオリゴ糖に比べて発酵分解を受けにくいことが示された。また、呼気水素ガス排出パターンは各食物繊維素材によって特有の形を示し、各種食物繊維素材の糖組成の違いや多糖類の物理化学的性質を反映していることが伺えた。さらに、各食物繊維素材の摂取後3時間以前と、摂取後14時間以降においては、呼気水素ガス排出はフラクトオリゴ糖のそれと比較して、いずれについても有意差は認められないので、摂取後3~14時間の間の変化がその食物繊維素材の発酵分解性の特徴を示しているものと考えられる。

各食物繊維素材の発酵分解性は一定時間に排泄される水素ガス量に反映するので、各食物繊維素材のAUCを算出した。呼気水素ガス濃度は睡眠中や起床直後で変動したので、AUCは幾つかの実験時間帯に分けて算出し、検討してみた。1つは摂取後から8時間までのAUC、2つ目は14時間までのAUC、3つ目は起床直後の実測値を加えた24時間までのAUCである。

起床直後の呼気水素ガス濃度が就床前よりも高くなる理由は、各種食物繊維素材摂取による影響のみとは考えにくい。食物繊維の発酵分解によるのであれば、摂取14時間までに一度ピークを示した呼気水素ガス濃度が、睡眠期間中に再び高くなるのは不自然である。起床直後は身体の代謝活性がまだ低く、呼吸循環の状態も活動期とは異なることが考えられるので、これらの要因が重なって起床直後の水素ガス濃度が高くなったのではないかと考える。呼気水素ガス濃度に及ぼす生体側の要因をさらに精細に検討し、被験者の状態を考慮した採取方法を導入する必要があると考えられる。

各種食物繊維素材摂取時の呼気水素ガス排出の経時的変化を見ると、試験物質を摂取してから14時間以降、すなわち就床後においてはフラクトオリゴ糖のそれと比較して有意差は見られない。このため、就床前までの試験物質摂取後14時間までのAUCをフラクトオリゴ糖のそれと比較した方がむしろ発酵性の特徴を把握することができるのではないかと考えられる。実際、試験物質摂取後14時間までの各食物繊維についてのAUCの方が24時間までのAUCの差よりも大きく、各食物繊維素材の発酵性の特徴を示しているように思えた。

起床直後の値を除いた24時間までのAUCとそれを含めた24時間までのAUCとを比較した結果、起床直後を除いたAUCと起床直後を含めた24時間までのAUCは有意差があった。これは起床直後に呼気水素ガス排出が上昇する傾向が見られたことや、個体間のばらつきが非常に大きかったことによるものと考えられる。呼気採取は起床後30分以上の時間をおいて行ったが、起床直後の身体の生理状態を考慮し、もっと長く時間をおくなどの条件を考える必要があると思われた。

呼気水素ガス排出の開始時間、ピーク時間、収束時間について各種食物繊維素材ごとについて解析してみた。水素ガス排出開始時間は水素ガス排出(5ppm)が認められた時間であり、その食物繊維素材が大腸に到達し、腸内細菌により発酵分解を受け始めた時間といえる。また、水素ガス排出ピーク時間は発酵分解が最盛である時間を示し、収束時間は発酵分解が完了する時間を示すと考えられる。これらの時間については個体差が非常に大きく、個体の腸内細菌叢によっても異なる<sup>15)</sup>ので、一概に呼気水素ガス排出開始時間、ピーク時間、収束時間を明確にすることはできない。しかし、傾向として各食物繊維素材における大腸到達時間、最も盛んに発酵分解が行われている時間、そして摂取した各種食物繊維素材が腸内細菌によって全て発酵分解されてしまう時間を推定することはできたのではないかと考える。

各種食物繊維素材を水溶性と非水溶性に分けて比較した場合、同じ水溶性食物繊維素材であっても、呼気水素ガス排出動態は非常に異なり、開始時間をはじめピーク時間、収束時間もそれぞれ違った。しかし、どの水溶性食物繊維素材も水素ガス排出開始時間が摂取後5時間までに見られた点では類似していた。水溶性食物繊維素材は摂取後5時間までには水素ガス排出が認められたのに対し、非水溶性食物繊維は水素ガス排出開始時間が摂取後10時間であり、遅い傾向が見られた。すなわち、摂取した食物繊維素材が水溶性か非水溶性かにより大腸に到達する時間が異なり、さらに大腸で発酵分解が最も盛んに行われる時間も異なること示唆している。しかし、14時間あるいは24時間のAUCについては、非水溶性食物繊維の方が水溶性食物繊維よりも大きい値を示すものがあり、一概に水溶性食物繊維素材の方が非水溶性食物繊維素材より発酵分解性が高いとはいえないことが明らかになった。

呼気水素ガス排出量は個体内ならびに個体間変動が非常に大きかったが、フラクトオリゴ糖摂取時の呼気水素ガス排出量を基準にして各食物繊維素材の発酵分解性がどの程度かを推察した。フラクトオリゴ糖の発酵分解性は100%とした場合の各種食物繊維素材の発酵分解性は表4に示したとおりで、フラクトオリゴ糖に次いでAUCが大きい難消化性デキストリンでも約60%で、グルコマンナンとセルロースに関してはそれぞれ27%と35%だった。しかし、個体差も大きく、また年齢、性別、身体状況、環境、食

事などにより腸内環境が著しく異なる<sup>15)</sup>ので、これらの値はおおよそその発酵性を示すに過ぎないことを理解する必要がある。より正確な値を求めるためには、被験者数を多くして、繰り返し測定して再現性を確認する必要がある。

本研究では、経時的な呼気水素ガス排出量とAUCをフラクトオリゴ糖と比較することによって、各食物繊維素材の腸内細菌による発酵分解性や消化吸收を逃れて大腸に到達するまでの時間を推定することができた。

ヒト糞便を用いた各種食物繊維素材の発酵分解性を明らかにする実験において、反応液のpHの変化と生成される短鎖脂肪酸の関係を検討した。pHの低下と短鎖脂肪酸の増加はグアーガム酵素分解物、低分子化アルギン酸ナトリウム、難消化性デキストリン、セルロース、湿熱処理ハイアミロースデンプン、フラクトオリゴ糖については有意な負の相関関係が認められた。すなわち、これらの食物繊維素材を基質として用いたヒト糞便培養において、反応液のpH低下は食物繊維素材の発酵分解によって生成された短鎖脂肪酸によるものと考えられた。グルコマンナンとポリデキストロースに関しては有意な相関関係は認められなかったが、短鎖脂肪酸生成によってpH低下が低下するという傾向は見られた。

短鎖脂肪酸量生成量は、培養開始後3時間までと3時間後から6時間後までの3時間では著しい差異が見られた。培養開始3時間後までは短鎖脂肪酸生成量は各種食物繊維素材により差があるものの急激に増加していた。しかし、3時間以降になると短鎖脂肪酸生成は緩やかになった。これは短鎖脂肪酸の生成によって反応液のpHが低下して、培養系の細菌の活動が低下したため<sup>16)</sup>、あるいは基質である食物繊維素材が腸内細菌によって全て使われてしまったなどの可能性が考えられる。

本実験では、*in vitro*の糞便培養実験に緩衝液を使用したのが、反応によってpHが明らかに低下した。このことは緩衝作用が不十分で、短鎖脂肪酸の生成条件は腸内環境とは異なった状態であることを示している。培養時間が長くなるほど短鎖脂肪酸生成量が多くなるので、腸管内環境とのずれは増大する。したがって、24時間培養の結果より、3時間あるいは6時間培養の結果の方が食物繊維素材の発酵分解性を検討するためには妥当ではないかと思われた。

食物繊維のエネルギーをどう評価するかは、食品のエネルギー表示に重要である。現在、我が国で市販あるいは開発されている食物繊維素材のエネルギー量は、各企業の提出資料ならびに関係文献を参考に評価されている<sup>12)</sup>。しかし、この評価方法は暫定的なものであり、評価するに当たっての資料が不足している。また、実際に各種食物繊維素材について発酵分解性を分析していないものも少なくなく、さらに企業により分析方法が異なっているために同条件下でのエネルギー評価が行われていない。

本研究において、各種食物繊維素材の発酵分解性を同一条件下で評価できたことは意義深いことであると考えられる。表4に示したように、試験物質摂取8時間の呼気水素ガス排出量からの発酵分解率と、14時間あるいは24時間の発酵分解率が明らかに異なった。これは食物繊維が高分子であるために、オリゴ糖などとは異なって腸内細菌による分解を受けにくいことを示している。つまり、食物繊維の発酵分解性を明らかにするためには長時間の観察が必要であることを示している。平成14年度の研究では、試験物質摂取後8時間の観察から得られた発酵率を基にして各種食物繊維素材の有効エ

エネルギー量を推算したが、平成15年度に実施した24時間の観察はそれと異なった結果になった。また、各企業の資料ならびに関係文献を参考に評価した値<sup>18)</sup>とも異なった。

呼気水素ガス排出量および短鎖脂肪酸生成量は、個体差が非常に大きく、腸内細菌叢は年齢、食事内容、ストレス、体調など様々な要因によって著しい変化をもたらすため<sup>17)</sup>、それぞれの食物繊維素材の発酵分解率を測定することが大変困難であることが明らかになった。また、本研究では*in vivo*だけではなく*in vitro*の実験についても行い、これらの整合性を検討したが、*in vitro*実験条件において腸管内環境と類似した条件を作ることは困難であるため、*in vivo*の結果と差異が生じたものとする。特にpH低下により短鎖脂肪酸の生成が抑制されてしまい、正確な短鎖脂肪酸生成量が測定できなかったこともその一要因であると思われる。これらの問題は緩衝液の組成や培養時間の長さへの考慮、培養方法の改善で回避できるかもしれない。しかし、ヒト糞便を用いた培養実験においても、培養条件をさらに工夫することによって各種食物繊維素材による発酵分解性を推定できる可能性が示唆された。

短鎖脂肪酸生成の基質が食物繊維であることは古くから指摘されていた<sup>19)</sup>が、最近の研究では以下に示すような発酵分解による短鎖脂肪酸の重要性を明らかにしている。発酵分解性が高い食物繊維はより多くの短鎖脂肪酸を生成する。短鎖脂肪酸の生成は、腸内において腸管腔内のpHを低下させる<sup>20)</sup>。腸管腔内のpH低下は胆汁酸やコレステロールから発癌物質を生成する腸内細菌が減少し、発癌物質の生成が抑制されることが考えられる<sup>21)</sup>。また、pHが低下すると、吸収上皮細胞の増殖が抑制されると報告されている<sup>22)</sup>。さらに腸内のpHが低下することにより腸内環境を酸性にすると、ビフィズス菌や乳酸菌といった有益菌を増殖させ、一方クロストリジウム菌のような悪性菌の増殖を抑制する<sup>23)</sup>。よって、食物繊維を摂取することにより大腸内での短鎖脂肪酸生成量が増加し、腸内環境を改善すると考えられる。

本研究において、短鎖脂肪酸生成と呼気水素ガス排出量のパターンより、各種食物繊維素材に発酵分解性に特徴があることを示すことができた。さらに、各種食物繊維素材の発酵分解性を検討したことは、有効エネルギーを評価する上で、根拠となる資料となったのではないかと思われる。

## 文 献

- 1) McNeil NI (1984) The contribution of the large intestine to energy supplies in man. *Am J Nutr* 39:338-342
- 2) 奥 恒行 (2003) 各種食物繊維素材の暫定エネルギー換算係数について. *栄養学雑誌* 61:263-266
- 3) Margareta N, Nils-Georg A, Jhon C, Hugh W (1986) Fermentation of dietary fiber in the intestinal tract: comparison between man and rat. *Br J Nutr* 55:487-496
- 4) Drasar BS, Hill MJ (1974) Human Intestinal Bacteria. *Academic Press*, New York.
- 5) Rhodes JM, Middleton P, Jewell DP (1979) The lactulose hydrogen breath as a diagnostic test for small-bowel bacterial overgrowth. *Scand J Gastroenterol* 14:333-336
- 6) Oku T, Tokunaga T, Hosoya N (1984) Nondigestibility of a new sweetener,

- “Neosugar” , in the rat. *J Nutr* 144:1574-81
- 7) Tokunaga T, Oku T, Hosoya N (1989) Utilization and excretion of a new sweetener, fructooligosaccharide (Neosugar), in rats. *J Nutr* 199:553-559
  - 8) Doi K, Matsuura M, Kawara A, Baba S (1979) Treatment of diabetes with glucomannan (konjac mannan). *Lancet* 1:987-988
  - 9) 綾野雄幸 (1995) 食物繊維の化学: 食物繊維 (印南 敏, 桐山修八編), p. 30-31. 第一出版, 東京.
  - 10) 前田昌徹, 西沢一俊 (1974) 低分子化アルギン酸ナトリウム: 総合多糖類科学 (原田篤也, 三崎 旭編) 下巻, p. 289. 講談社, 東京.
  - 11) Glicksman M (1979) Polysaccharides in food (Blanshard JMV, Mitchell JR), p. 185. Butterworths, London
  - 12) 綾野雄幸 (1995) 食物繊維の化学: 食物繊維 (印南 敏, 桐山 修八編), p. 35. 第一出版, 東京.
  - 13) 大隈一裕, 松田 巧, 藤田康夫, 半野敬夫 (1990) 澱粉の熱変性と酵素作用—難消化性デキストリンの特性—. *澱粉科学* 37, 107 - 114.
  - 14) Tokunaga T, Oku T, Hosoya N (1986) Influence of chronic intake of new sweetener fructooligosaccharide (Neosugar) on growth and gastrointestinal function of the rat. *J Nutr Sci Vitaminol* 32:111-121.
  - 15) 太田篤胤, 越阪部奈緒美, 山田和彦, 斎藤安弘, 日高秀昌 (1993) フラクトオリゴ糖および各種少糖類のラットにおけるCa, Mg, Pの吸収に及ぼす影響: 日本栄養・食糧学会誌 46, 123-129.
  - 16) 健康・栄養情報研究会編集 (1999) 食物繊維: 第六次改定日本人の栄養所要量—食事摂取基準—, p. 41-43. 第一出版, 東京.
  - 17) 池上幸江, 印南 敏 (1995) 食物繊維の腸管内における消化と代謝: 食物繊維 (印南敏, 桐山修八編), p. 233-250. 第一出版, 東京.
  - 18) 奥 恒行, 山田和彦, 金谷建一郎 (2002) 各種食物繊維素材のエネルギー推算値. 日本食物繊維研究会誌 6, 81-86.
  - 19) Olmsted WH, Curtis G, Timm OK (1935) The influence of feeding bran pentosan and fiber to man. Stool volatile fatty acids IV. *J Biol Chem* 108:645-652
  - 20) 奥 恒行 (1995) 食物繊維の生理作用: 食物繊維 (印南 敏, 桐山修八編), p. 97. 第一出版, 東京.
  - 21) Sakai H, Ajisaka M, Tani A, Kubochi Y, Okumura M (1970) Hypocholesterolemic polysaccharide BM from *Pseudomonas*. 日本特許, No. 7021, 633.
  - 22) 土井邦紘, 辻 啓介 (1997) 食物繊維の性質と機能: 食物繊維—基礎と臨床, p. 96. 朝倉書店, 東京.
  - 23) Scheppach W, Luehrs H, Menzel T (2001) Beneficial health effects of low-digestible Carbohydrate consumption. *Br J Nutr* 85:S23-S30