

食品由来の酸性バイオポリマーによる食塩吸収抑制効果の解析とその応用

朝倉 富子

東京大学大学院農学生命科学研究科

概要 食塩は、食品として味覚向上、保存性向上に寄与し、人体の生理機能の維持に必要不可欠である。しかし現代においては、食塩の過剰摂取が問題となり、健康への影響が懸念されている。そこで、本研究では、ナトリウムの吸収を抑制することによって減塩を実現する方法を模索することにした。候補物質として酸性バイオポリマーである食物繊維、増粘多糖類を用いて吸収抑制効果を *in vitro* と *in vivo* の両方の系を用いて検証した。平衡透析法により、各種食物繊維、多糖類と食塩の結合量を測定した。その結果、アルギン酸、フィチン酸、ペクチン酸で高い吸収率が得られた。吸収能の高かったペクチン酸について、ラットを用いて食塩の吸着能を測定した。ペクチン酸含有餌ではコントロール餌に較べて胃および小腸の内容物の形状が異なった。コントロール餌とペクチン酸餌を胃内に同程度充填させたのち、経時的に門脈におけるナトリウム量を測定したところ、本実験の条件では有意な差は認められなかった。給餌方法の再検討および食塩の投与のタイミングの検討を継続して行う予定である。

1. 目的

食塩は、食品として味覚向上、保存性向上に寄与し、人体の生理機能の維持に必要不可欠である。しかし現代においては、食塩の過剰摂取が問題となり、健康への影響が懸念されている。食塩の過剰摂取は高血圧、胃がんなどの成人病の原因となる。2010年度に厚生労働省が定めた1日あたりの摂取目標は、男性9.0g未満、女性7.5g未満となっているが、現在の日本人の1日あたりの食塩摂取量はおよそ11gであり、男女問わず、人口の70%超が食塩を過剰摂取していると言われていることから、早急な減塩対策が求められているが、食塩は食物の味の根幹となるもので、減塩時には、味全体が薄く感じられ、また味のバランスが崩れてぼけた印象になる。近年、呈味性を損なうことなく減塩する方法の一つとして塩味増強物質の開発が求められている。食塩代替物としては塩化カリウムが現段階では最も有効な物質であるが、独特なえぐ味を有するという難点がある。カリウム塩以外に、カルシウム塩やマグネシウム塩を用いた代替物も検討されているが、適当なものは見出されていない。

本研究の目的は、塩味の代替物あるいは、塩味増強物

質ではなく、食塩の吸収を抑制することによって、実質的な食塩摂取量を低減させようというものである。この場合、食事の塩味を減ずることなく、減塩を実現できる。今までにアルギン酸塩にナトリウム吸着能があることが日本家政学会 Vol.39, No.3, 187-195 (1988)¹⁾ に報告されている。また、褐藻類の水及び熱水抽出物にも同様の効果があることが確認されている²⁾。これらは腸内に存在するナトリウムを吸着し、小腸からナトリウムが吸収されるのを低減して間接的に減塩する方法である。アルギン酸塩と同様の酸性食物繊維、増粘多糖類にも同様の効果があると予想されることから、本研究を実施した。

2. 研究方法

2.1 平衡透析法を用いたナトリウム吸着能の評価 (*in vitro* 評価系)

200 ml の水あるいは 50 mM リン酸カリウム緩衝液 (pH 6.8) に食物繊維あるいは増粘多糖類を加え、400 mg の NaCl を加えてスターラーで攪拌しながら混合する。10 N KOH を用いて pH を調整した。限外口過膜 (分子量 3,500 カット) に溶液を入れ、37°C、100 rpm、3 h 振とう混合する。

透析外液の pH を測定し、透析内液を回収後 3 ml にメスアップし、ナトリウム量を原子吸光を用いて測定する(図 1)。

添加する多糖類としてアルギン酸(膨潤性)、アルギン酸(非膨潤性)、フィチン酸、アルギン酸カリウム、アルギン酸アンモニウム、アルギン酸 PQ エステル、アルギン酸カルシウム、κ-カラギーナン、λ-カラギーナン、ペクチン酸、ペクチン(リンゴ)、CMC-カルシウム、キトサン、サイリウムを用いた。各サンプルは、経時的にサンプリングし、ナトリウム量を測定した。

2. 2 ラットの小腸内におけるナトリウム吸収量の測定 (in vivo 評価系)

飼育条件の検討

動物の飼育および解剖などは、東京大学の動物実験指針に基づいて行われた。

① 餌の配合

AIN-76 精製飼料基礎配合をベースに一部を改変して用いた。AIN-76 精製飼料のセルロース含有比率を 5.0%

から 10.0% に変えたものをコントロール餌とした。セルロースの代わりに 10% ペクチン酸を含むものを 10% ペクチン酸餌とした(表 1)。

② 給餌条件の検討

a. コントロール餌を 4 日間 24 時間自由摂食後、16 時間(1 日)絶食し、コントロール餌あるいはペクチン酸餌に変え、2 時間の制限給餌を行った。

b. a で行った給餌では、コントロール餌群とペクチン酸餌群との摂取量が著しく異なったため、予備飼育および制限給餌による摂食量の調整を行うことにした。24 時間コントロールの粉食を 2 日間与え、その後 8 h の制限給餌を 3 日間行い、短時間で餌を摂取するトレーニング期間を設けた。コントロール餌とペクチン酸餌の摂取量を同じにするために、解剖日はペアフィーディングを行った。

c. 門脈血中のナトリウム含有量の測定

制限給餌終了後、門脈血を採取し、ナトリウム量を測定した。

透析法における実験フロー

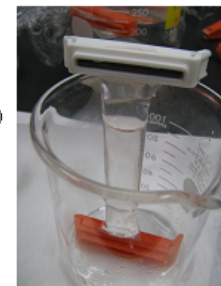
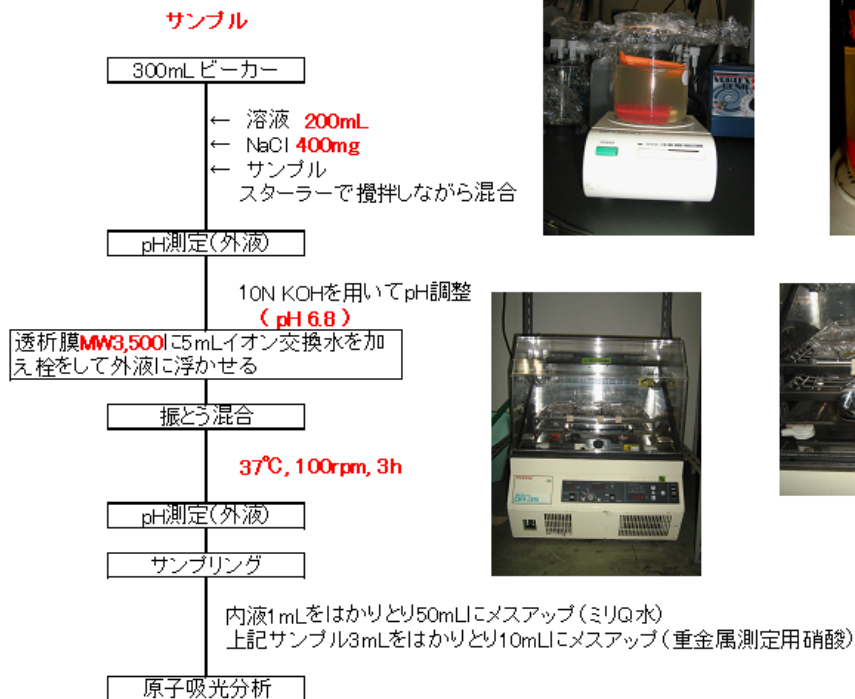


図1. 平衡透析法 (in vitro) の系における評価

表 1. 餌の組成

A. AIN-76		B. コントロール餌		C. 10% ペクチン酸餌	
ミルクカゼイン	20.0%	ミルクカゼイン	20.0%	ミルクカゼイン	20.0%
DL-メチオニン	0.3%	DL-メチオニン	0.3%	DL-メチオニン	0.3%
コーンスターチ	15.0%	コーンスターチ	10.0%	コーンスターチ	10.0%
グラニュー糖	50.0%	グラニュー糖	50.0%	グラニュー糖	50.0%
セルロースパウダー	5.0%	セルロースパウダー	10.0%	ペクチン酸	10.0%
コーンオイル	5.0%	コーンオイル	5.0%	セルロースパウダー	0.0%
ビタミンミックス(AIN-76)	1.0%	ビタミンミックス(AIN-76)	1.0%	コーンオイル	5.0%
ミネラルミックス(AIN-76)	3.5%	ミネラルミックス(AIN-76)	3.5%	ビタミンミックス(AIN-76)	1.0%
重酒石酸コリン	0.2%	重酒石酸コリン	0.2%	ミネラルミックス(AIN-76)	3.5%
	100.0%		100.0%	重酒石酸コリン	0.2%
					100.0%

3. 結果

3.1 各種食物繊維と酸性ポリマーの *in vitro* におけるナトリウム吸着能

アルギン酸、アルギン酸塩、フィチン酸、ペクチン酸、カルボキシメチルセルロースカルシウム塩(CMC-Ca)のナトリウム吸着能をリン酸カリウム緩衝液(pH 6.8)および水(pH 6.8)と比較した。溶質として水を用いた場合の方がナトリウム吸着量は全体的に多かった。最も多く吸着したペクチン酸は1 g 当たり約 55 mg の吸着量であった。リン酸カリウム緩衝液を用いた場合は、吸着量が水に溶解した場合に比べ 30% 程度減少したが、吸着能の高い物質はいずれも同じで(図 2, 3)、アルギン酸、フィチン酸、ペクチン酸であった。

吸着能の高かったペクチン酸についてナトリウム吸着能を経時的に調べた結果、約 60 分で吸着量は定常値に達したが、加えたペクチン酸量依存的に変化はしなかった(図 4)。

濃度依存的にナトリウム吸着能が変化するか否かを調べるために、既にナトリウム吸着能を有することが知られているアルギン酸を用いて吸着能の濃度依存性を検討した結果、素材の濃度の上昇に伴って吸着量は増加するが、比例関係は見られず、素材固有の吸着能の絶対値を算出することは難しいと思われた(図 5)。

3.2 ラットを用いた *in vivo* の系におけるペクチン酸のナトリウム吸着能の評価

ペクチン酸を摂取したラットの食塩吸収が阻害されるか否かを調べた。予備実験 1 の給餌スケジュールで餌を与えた場合、セルロースを加えたコントロール餌とペクチン酸餌では明らかに餌の摂取量に差があった。コントロール餌群では 9.75 ± 0.68 g、ペクチン酸餌群では 3.58 ± 0.18 g

であり、摂取量が大きく低下していた。2 h の制限給餌後、1 h を経過したラットを解剖し、胃および小腸を観察した。コントロール餌群では、胃内に餌が詰まっており、小腸内容物もペクチン酸餌群と比べて遙かに多く含まれていた。

給餌方法 a. の結果から、コントロール餌群とペクチン酸餌群で摂取量が異なった原因として、制限給餌時間内に食べる学習をしていないためではないかと考えられたため、決められた時間内に食事をするトレーニングをした。8 h の制限給餌を3日間繰り返すことで、サンプル食の摂取制限時間内(2 h)で与えられた餌をなるべく多く摂食するようにトレーニングをした。その結果、ペクチン酸餌群も摂食量が上昇し、ペアフィーディングを行うことで2群の摂食量をほぼ揃えることができた(コントロール群 3.26 ± 0.18 g、ペクチン酸群 3.48 ± 0.18 g)。

制限給餌終了後の胃および小腸内容物の経時的变化(1.5 h, 3 h, 6 h 後)を観察した。給餌方法 a. の場合と同様、ペクチン酸餌群とコントロール餌群では、胃内容物の形状が異なっていた。コントロール群では、1.5 時間経過後、胃内には、水分を多く含んだ内容物が詰まっていたが、6 h 後には水分が減少していた。一方ペクチン酸餌群では水分が少なく、6 h 経過した後も、形状の変化はコントロール食群に比べて小さかった。コントロール食群では胃の大きさが劇的に縮小し、小腸内容物の量は、制限給餌終了後 2-3 h 後にピークを迎え、その後減少していく。一方ペクチン酸餌群では、胃の大きさの縮小度がコントロール群に比べて緩やかであった。また、小腸内容物の量は給餌終了後、3-5 h ではほとんど差が見られず、コントロール群に比べて小腸滞留時間が長いことがわかった。

小腸に到達した食塩はまず門脈から吸収される。そこで、ペクチン酸とコントロール群で小腸内容物がほぼ同程

度となる給餌終了後、門脈血中のナトリウム量を測定したが、ペクチン酸餌を投与した群とコントロール餌群では、門脈中のナトリウム含有量は両群で変化がなかった(図6)。

本研究では、食用の酸性バイオポリマーによるナトリウム吸着能を検討した。*In vitro* の系ではアルギン酸、フィチ

ン酸、ペクチン酸にナトリウム吸着効果が見出された。ラットを用いてペクチン酸食とコントロール食の違いによる門脈血中のナトリウム量を比較し、ペクチン酸がナトリウム吸着を抑制するかを検証したが、有意な差は認められなかった。今後、給餌条件および、食塩投与のタイミングを引き続き検討し、*in vivo* での効果を検証する必要がある。

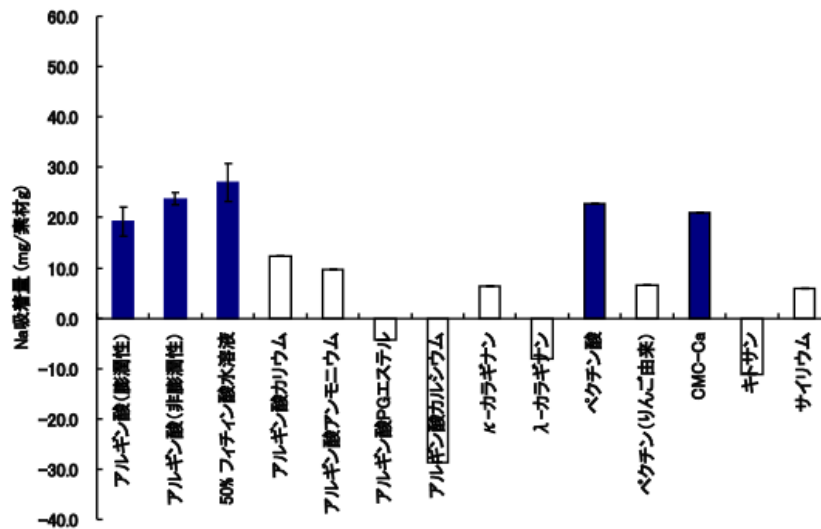


図2. リン酸カルシウム緩衝液(pH 6.8)におけるナトリウム吸着能

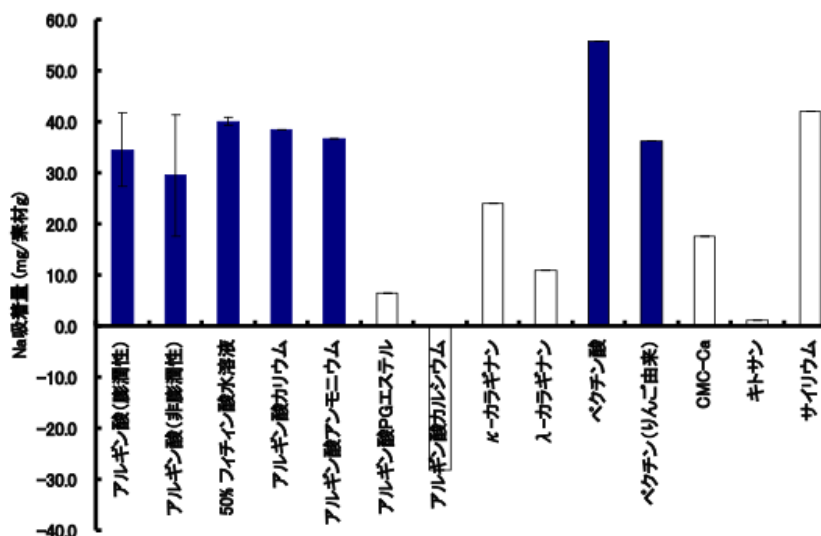


図3. 水(pH 6.8)におけるナトリウム吸着能

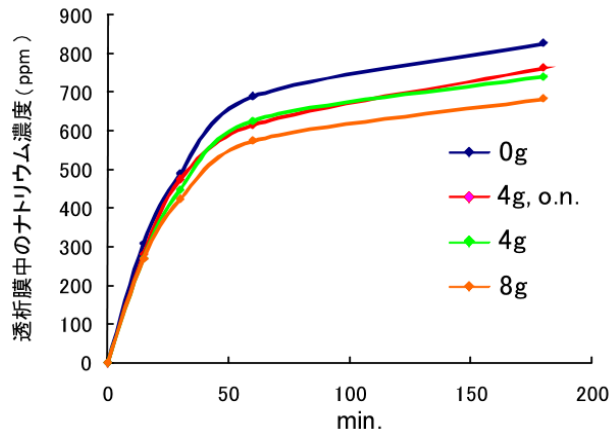


図 4. ペクチン酸のナトリウム吸着能の経時変化餌

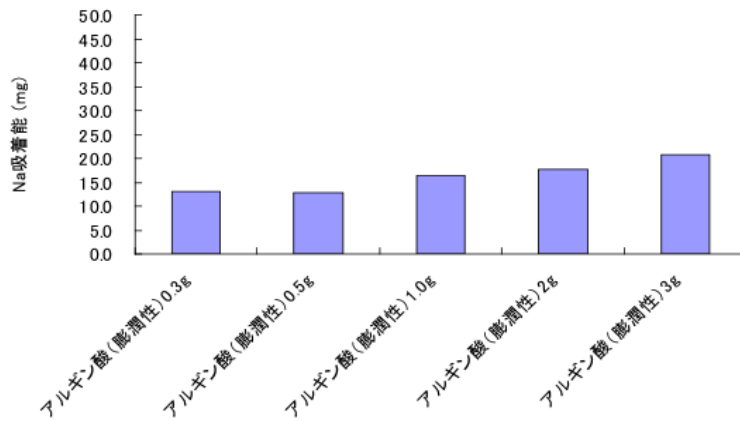


図 5. アルギン酸のナトリウム吸着能の濃度依存性

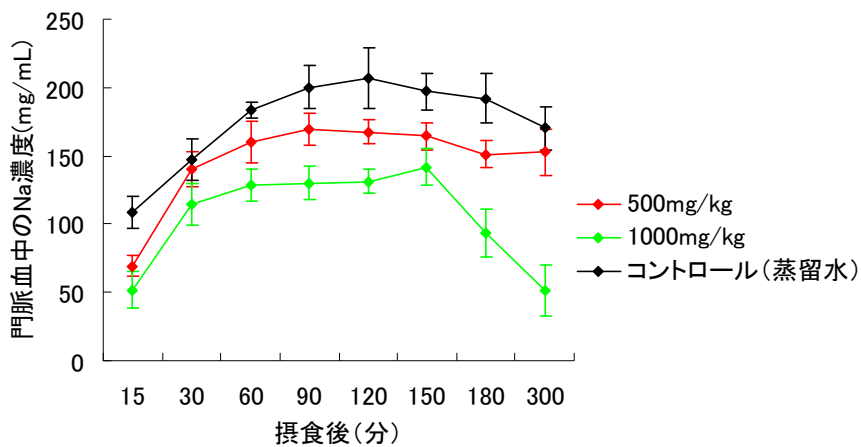


図 6. ペクチン酸投与ラットの門脈におけるナトリウム量

参考文献

- 1) 辻 啓介、辻 悦子、中川 靖枝、鈴木 慎次郎 (1988)「食物繊維のナトリウム吸収能が高血圧自然発症ラットの血圧に及ぼす影響」家政学会誌、Vol. 39, 187-195.
- 2) Elisabeth, A., Hoene, H., and Schelenz, R. (1980) Effect of dietary fiber on mineral absorption in growing rats. *J. Nutr.* **110**, 1774-1784.

Suppression of Salt Absorption by Edible Acidic Biopolymers and Its Application to Food

Tomiko Asakura

The University of Tokyo
Graduate school of agricultural and life sciences
Department of applied biological chemistry

Summary

Salt improves food taste and is effective for food preservation. Indeed salt is essential for human being life, but its excess intake may not be good for health. In this study, we aim to reduce the salt entry into the body by suppressing the sodium absorption. The utility of acidic biopolymers were examined for sodium absorption *in vivo* and *in vitro*. The binding activity of sodium was examined by equilibrium dialysis method. As a result, alginic acid, phytic acid and pectic acid showed high sodium absorption activity *in vitro*. *In vivo* experiments, pectic acid was administered to rats and their gastrointestinal tracts were observed. The sodium contents of portal vein were analyzed after intake of pectic acid. The significant difference between pectic acid and control diet was not observed in our conditions.