

行政院國家科學委員會補助專題研究計畫 成果報告
 期中進度報告

蒟蒻及其水解產物之腸道效應(2/2)

Effects of konjac glucomannan and its hydrolysates on bowel habits,
ecosystem, mucosa proliferation and lipid metabolism

計畫類別： 個別型計畫 整合型計畫

計畫編號：NSC 91-2320-B-040-022

執行期間： 90 年 8 月 1 日至 91 年 7 月 31 日

計畫主持人：陳曉鈴

共同主持人：

計畫參與人員：向怡擘、林孟萱

成果報告類型(依經費核定清單規定繳交)： 精簡報告 完整報告

本成果報告包括以下應繳交之附件：

- 赴國外出差或研習心得報告一份
- 赴大陸地區出差或研習心得報告一份
- 出席國際學術會議心得報告及發表之論文各一份
- 國際合作研究計畫國外研究報告書一份

處理方式：除產學合作研究計畫、提升產業技術及人才培育研究計畫、
列管計畫及下列情形者外，得立即公開查詢

涉及專利或其他智慧財產權， 一年 二年後可公開查詢

執行單位：中山醫學大學營養學系

蒟蒻及其水解產物之腸道效應(2/2)

Effects of konjac glucomannan and its hydrolysates on bowel habits, ecosystem, mucosa proliferation and lipid metabolism

計畫編號：NSC 91-2320-B-040-022

執行期限：91年8月1日至92年7月31日

主持人：陳曉鈴 中山醫學大學營養學系

計畫參與人員：向怡擘、林孟萱 中山醫學大學營養學系

中文摘要

本實驗目的在探討蒟蒻及其不同聚合度之水解產物對腸道生理、菌相及血脂質的影響。本實驗以6週大BALB/c 雄性小鼠隨機分配至8組，其中6組各以蒟蒻(K)、利用酸水解製備的蒟蒻水解產物 Fraction 19(F1)、Fraction 2(F2)、Fraction 3(F3)、果寡糖(FO)、菊糖(inulin)取代 AIN-93 動物飼料配方中的5%纖維，此外2組為不含纖維(Fiber free, FF)及 AIN-93(C)，於餵食三週後犧牲小鼠，收集樣品以進行更進一步的分析。結果顯示，各組小鼠之每日攝食量、體重增加之間無顯著差異，但是飼料效應以F3組最高。糞便總厭氧菌以小分子纖維及寡醣組較FF、C、K組高。Bifidobacteria、Lactobacilli 也有同樣趨勢，*C. perfringens* 以F3、Inulin、FO組最高，*E. coli* 以F3最高。糞便中各菌叢對總厭氧菌之比例：Bifidobacteria 以K、F1-F3、inulin 較C組高。Lactobacilli 比例以K組最高。*C. perfringens* 比例以F1 & 2 較C組低。F1 & 2 顯著降低 *E. coli* 比例。血膽固醇、磷脂質以FO組最低，HDL-膽固醇以F2組最低，(LDL+VLDL)-膽固醇以C組最低。K、F1-F3之絨毛長度較C及FF組大。proliferation zone, labeling index 也

以K、F1-F3之絨毛長度較C及FF組大，可見難消化澱粉之發酵性影響大腸增生程度。

關鍵字：蒟蒻、水解產物、腸道菌叢、膽固醇、大腸、型態

Abstract

The aim of this study was to compare the effects of konjac, konjac hydrolysate fractions, inulin and fructooligosaccharide on the bowel function and lipid metabolism. The 6-wk-old Balb/c mice were randomly allocated to AIN-93 control, konjac (K), konjac hydrolysate fractions 1-3 (F1-3), inulin or fructooligosaccharide (FO) groups. Mice were fed for 3 wks before sacrifice. The results indicated that feed efficiency was the greatest in the F3 group. Fecal anaerobes, bifidobacteria and lactobacilli were greater in konjac fraction and fructans as compared to the control group. The proportion of fecal bifidobacteria to total anaerobes was the lowest and of *E. coli* was the greatest in the control group. The plasma cholesterol and phospholipid levels were the highest in the control group. F2 significantly

reduced the plasma cholesterol levels the hepatic triacylglycerol and cholesterol levels. The colonic crypt height and proliferation index were greater in mice fed soluble fiber than those fed cellulose. Therefore, the fermentability of fiber source was probably a critical factor the fecal microflora, crypt morphology and crypt proliferation.

Keywords: konjac, hydrolysate, microflora, cholesterol, colon, morphology

前言

隨著國人知識水準的提高，對預防保健的重視程度也跟著提高，根據前人研究指出，膳食纖維雖不屬於必需之營養素，但是它具有預防腸道病變，如便秘、憩室病、大腸癌、結腸癌(1)及心血管疾病等之作用[2]，因此具有保健功效。

膳食纖維指食物中無法被人體消化及分解的部分，可分為可溶性纖維及不可溶性纖維。可溶性纖維可增加胃的飽足感，延緩食物在腸道的速率，降低脂質的代謝或吸收，並會降低葡萄糖在小腸的吸收速率，也常被用在糖尿病病患血糖的維持(3)。可溶性纖維能和膽酸結合，降低膽酸的再吸收，而降低膽固醇的吸收(2)，並具有預防心血管疾病的功能(4)；另外，在大腸中，可溶性纖維會被微生物利用，發酵產生短鏈脂肪酸，作為腸內微生物能量來源(3)。

有許多的研究指出，一些低分子量寡糖如：菊糖 (inulin)、果寡糖 (oligofructose)、寡木糖

(xylooligosaccharide) 等，對於調節及改善腸道菌相均有顯著的功能。然而，對於其他天然聚醣則無太多相關研究。『蒟蒻』，俗稱雷公槍，屬於天南星科、蛇芋屬、宿根性塊莖草本植物，我們食用的部分是其地下塊莖。地下塊莖富含食物纖維（葡甘露聚醣，Glucomannan）為可溶性纖維。葡甘露聚醣之主要結構由 D-mannose 和 D-glucose 以 β -(1-4) 糖苷鍵結而成直鏈骨架 (4)。葡甘聚醣之分子量的差異可能影響其生理活性，因此本實驗目的在探討蒟蒻及其不同聚合度之水解產物對腸道生理、菌相及血脂質的影響。

背景

蒟蒻葡甘聚醣之化學性質類似水溶性膳食纖維，但卻對紓解便秘具相當成效，可能兼具一般標榜之水溶性及非水溶性膳食纖維之生理功能。大陸學者 (5) 以健康、輕度便秘之成人為對象，每人每日於飲食中加入平均含 5.3 g 蒟蒻精粉（葡甘聚糖含量為 75-80%）之麵食中達 21 天，結果發現試驗期之糞便溼重及含水量與試驗期前之對照期及之後的停食期比較，有提高之趨勢，但效果可能因個體差異太大而不顯著。蒟蒻飲食同時也顯著縮短排便間隔時間，使之正常化。

蒟蒻雖為水溶性膳食纖維，但是其凝膠造成之黏稠度也造成應用上之不便，將蒟蒻水解成較小的分子不但能擴展其應用性，也可能產生類似難消化性寡醣之生理效應。目前有研究顯示關華膠之部份水解產物與未水解之關華膠同樣有減緩便秘、增加排便頻率之效果(6)。

本實驗室已於去年度研發以酸

水解法製備小分子量葡甘聚/寡糖，本實驗乃延續上年度” 蒟蒻及其水解產物之腸道效應(1/2)”(NSC 90-2320-B-040-038)，探討蒟蒻水解物(平均聚合度為 12)之腸道效應，並於 91 年度將蒟蒻水解物更細分為 3 種不同聚合度之蒟蒻水解物(fraction 1, 2, 3)，並探討各蒟蒻水解物(fraction 1, 2, 3)相對於蒟蒻、菊糖及果寡糖對腸道生理及脂質代謝之影響。

實驗設計

本實驗以 6 週大 BALB/c 雄性小鼠隨機分配至 8 組，其中 6 組各以蒟蒻(K)、利用酸水解製備的蒟蒻水解產物 Fraction 19(F1)、Fraction 2(F2)、Fraction 3(F3)、果寡糖(FO)、菊糖(inulin)取代 AIN-93 動物飼料配方中的 5%纖維，此外 2 組為不含纖維(Fiber free, FF)及 AIN-93(C)，於餵食三週後犧牲小鼠，收集樣品以進行更進一步的分析。分析項目包括糞便特性、排便頻率、糞便菌相，包括 *total anaerobes*，*Clostridium perfringens*，*Bifidobacterium*，*Lactobacillus*，*E. coli*、大腸黏膜組織切片、型態染色、盲腸及糞便短鏈脂肪酸含量、血脂質、肝脂質等。

結果

一、蒟蒻水解產物(F1-F3)聚合度：

F1 大 \cong 16, F1 \cong 10, F3 \cong 4, Inulin \cong 8, FO \cong 2.5

二、飼料對 Balb/c 小鼠每日食物攝取

量及體重增加變化之影響 (表一)

三、各飼料之飼料效應 (Feed efficiency=daily weight gain \times 100%/daily food intake) (圖 1)

四、飼料對老鼠糞便顆數、每日老鼠排出的糞便濕重及乾重之影響 (表二)

五、飼料對老鼠糞便含水率之之影響 (圖 2)

六、飼料對老鼠糞便總厭氧菌數 (圖 3)、*bifidobacteria*(圖 4)、*lactobacilli*(圖 5)、*E. coli*(圖 6)及 *Clostridium perfringens* (圖 7)之影響

七、飼料對老鼠糞便 *bifidobacteria*(圖 8)、*lactobacilli*(圖 9)、*E. coli*(圖 10)及 *Clostridium perfringens*(圖 11) 在厭氧菌中比例之影響

八、飼料對老鼠血漿 triacylglyceride (圖 12)、cholesterol(圖 13)、HDL-cholesterol (圖 14)、(VLDL+LDL)-cholesterol(圖 15)、phospholipid (圖 16) 之影響

九、飼料對老鼠肝中 triacylglyceride、cholesterol(圖 17)、phospholipid (圖 18)之影響

十、飼料對老鼠大腸上皮細胞型態之影響(圖 19)

結果與討論

1. 各組小鼠之每日攝食量、體重增加之間無顯著差異，但是飼料效應以 F3 組最高。

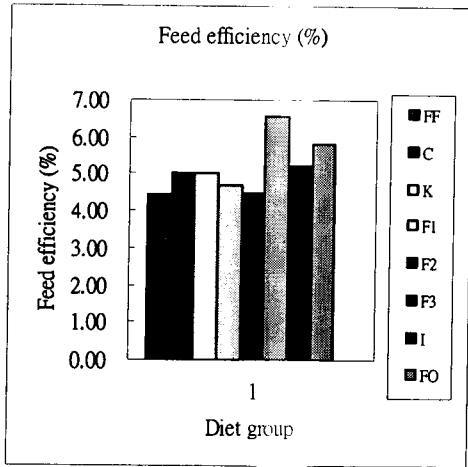
2. 每日糞便乾重以纖維組最高，FF 組最低，其他各組間無顯著差異，此結果與去年吻合。每日糞便濕重以 F1 及 FO 組最高，可能與濕分有關。每日糞便顆數是排便頻率之指標，
3. 糞便總厭氧菌以小分子纖維及寡糖組較 FF、C、K 組高。Bifidobacteria、Lactobacilli 也有同樣趨勢，*C. perfringens* 以 F3、Inulin、FO 組最高，*E. coli* 以 F3 最高。
4. 糞便中各菌叢對總厭氧菌之比
例：Bifidobacteria 以 K、F1-F3、inulin 較 C 組高。Lactobacilli 比例以 K 組最高，與去年之結果有同樣趨勢。*C. perfringens* 比例以 F1 & 2 較 C 組低，F1 & 2 顯著降低 *E. coli* 比例。
5. 血膽固醇、磷脂質以 FO 組最低，HDL-膽固醇以 F2 組最低，(LDL+VLDL)-膽固醇以 C 組最低。
6. 肝臟三酸甘油脂及膽固醇含量以 F2、FO 組最低，磷脂質以 F2、inulin、FO 組最低，可見 F2 及 FO 之益生效應可能有抑制肝臟脂質合成或堆積之作用。
7. 老鼠大腸上皮細胞目前尚未計算完畢，初步觀察可能與其發酵程度有關。K、F1-F3 之絨毛長度較 c 及 FF 組大。Cell proliferation stain 處理之結果發現，proliferation zone, labeling index 也以 K、F1-F3 之絨毛長度較 c 及 FF 組大，可見難消化澱粉之發酵性影響大腸增生程度。

表一、各組餵食不同動物飼料對小鼠每日食物攝取量及體重增加變化

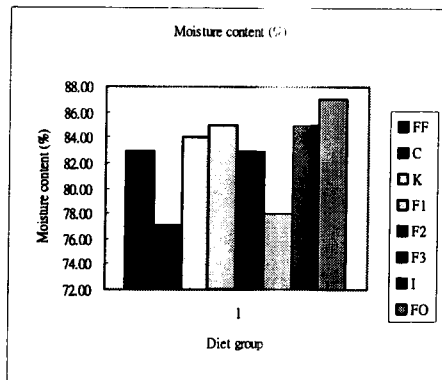
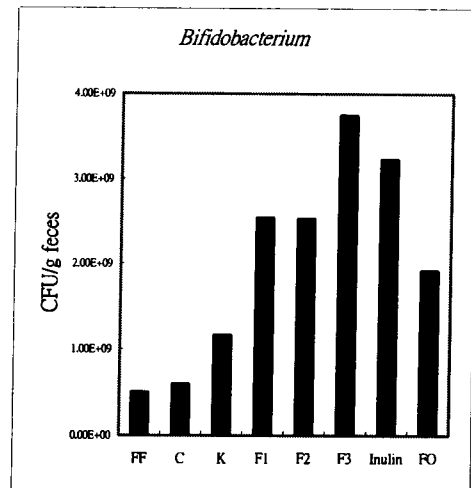
	Fiber free	Cellulose	Konjac	Fraction1	Fraction2	Fraction3	Inulin	FO
Food intake(g/day)	3.88±0.76	3.9±0.45	4.04±0.33	4.08±0.07	3.96±0.13	3.7±0.13	3.69±0.23	3.86±0.1
Body weight gain(g/day)	0.17±0.06	0.19±0.09	0.2±0.08	0.19±0.08	0.18±0.05	0.24±0.08	0.19±0.09	0.22±0.09

表二、各組餵食不同動物飼料對小鼠糞便特性及排便頻率之影響

	Fiber free	Cellulose	Konjac	Fraction1	Fraction2	Fraction3	Inulin	FO
Fresh fecal weight(g/day)	4.57±2.25	4.11±1.58	5.11±2.31	6.17±3.16	4.9±2.21	3.98±1.76	5.29±1.99	7.69±4.21
Dry fecal weight(g/day)	0.64±0.21	0.89±0.16	0.74±0.23	0.75±0.18	0.77±0.2	0.78±0.13	0.69±0.14	0.78±0.17
Fecal pellet(per day)	54.17±12.71	68.22±14.41	82.61±10.88	75.89±17.37	76.67±11.03	82.72±17.69	59.94±17.4	64.89±17.27
Fecal moisture(%)	83±0.08	77±0.05	84±0.04	85±0.08	83±0.05	78±0.06	85±0.08	87±0.07

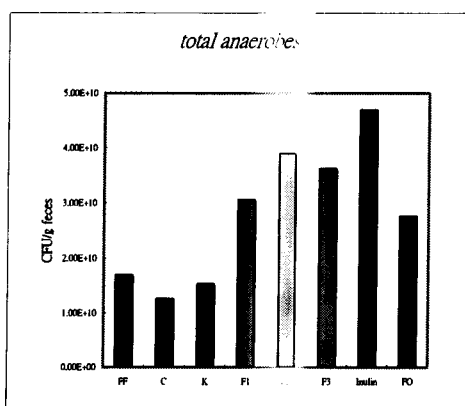


圖一、動物飼料之食物效率

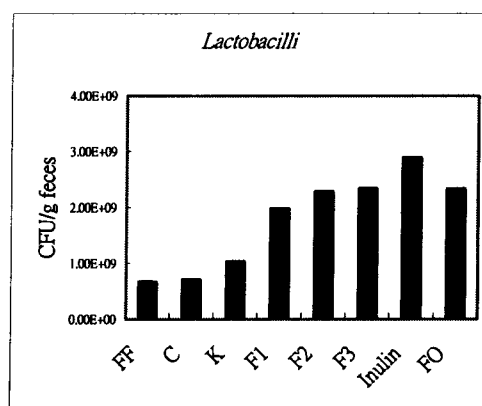


圖二、動物飼料對糞便含水率影響

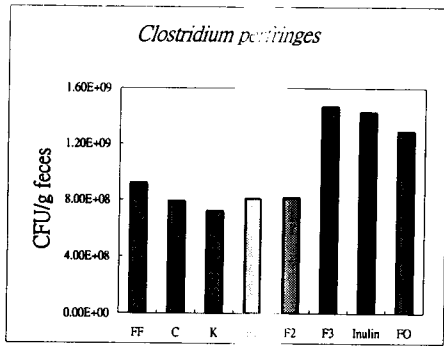
圖四、餵食 3 週後，糞便中 bifidobacteria 數之比較



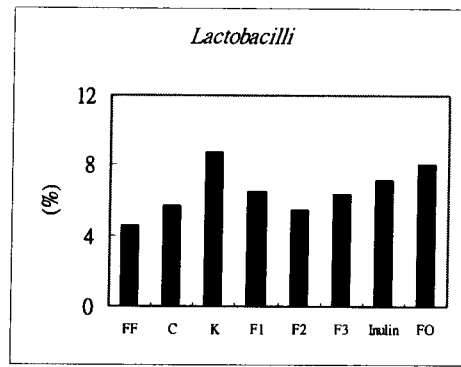
圖三、餵食 3 週後，糞便中總厭氧菌數之比較



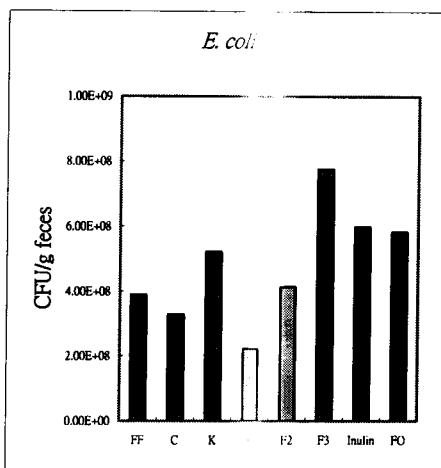
圖五、餵食 3 週後，糞便中 lactobacilli 數之比較



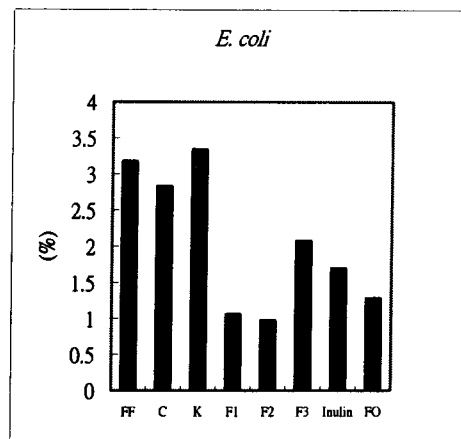
圖六、餵食3週後，糞便中 *Clostridium perfringens* 數之比較



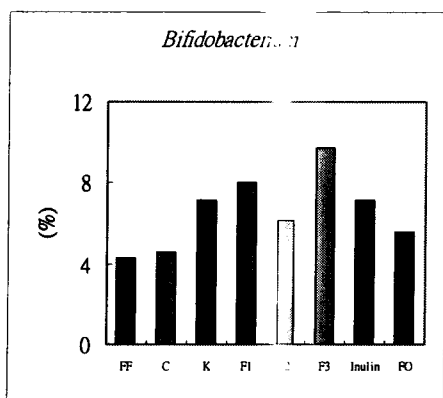
圖九、各組餵食3週後，糞便中 lactobacilli 占總厭氧菌之比例



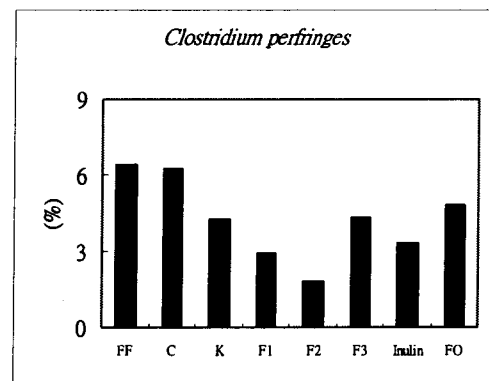
圖七、餵食3週後，糞便中 *E. coli* 數之比較



圖十、各組餵食3週後，糞便中 *E. coli* 占總厭氧菌之比例

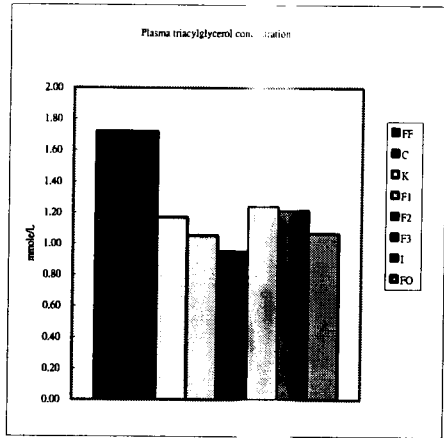


圖八、各組餵食3週後，糞便中 bifidobacteria 占總厭氧菌之比例

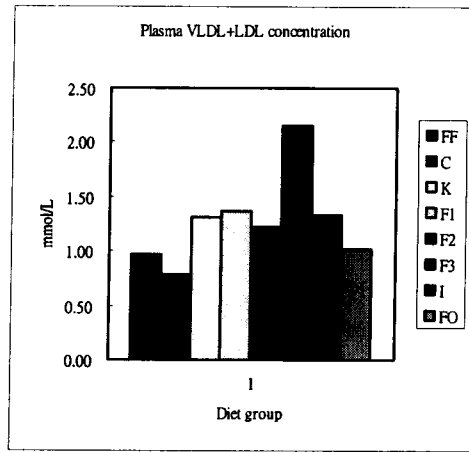


圖十一、各組餵食3週後，糞便中 *Clostridium perfringens* 占總厭氧菌之比例

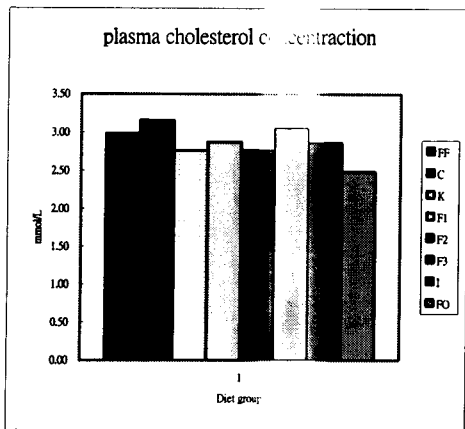
HDL-cholesterol 濃度之比較



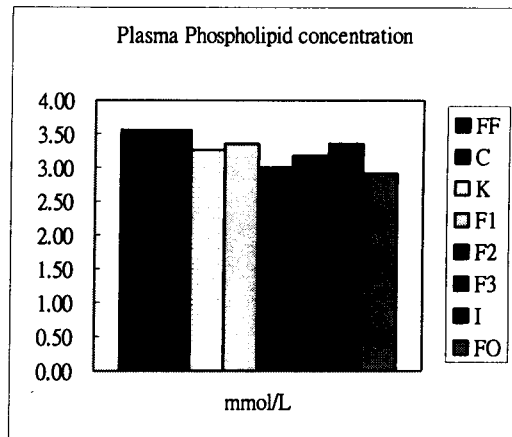
圖十二、各組餵食 3 週後，血 triacylglyceride 濃度之比較



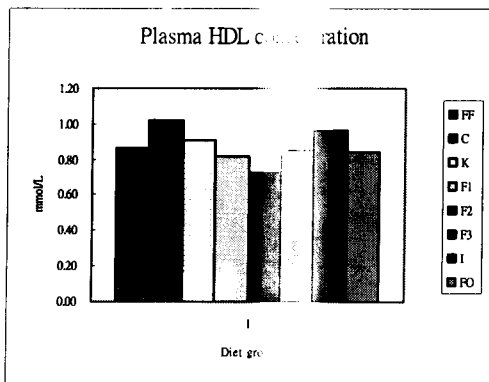
圖十五、各組餵食 3 週後，血漿 (VLDL+LDL)-cholesterol 濃度之比較



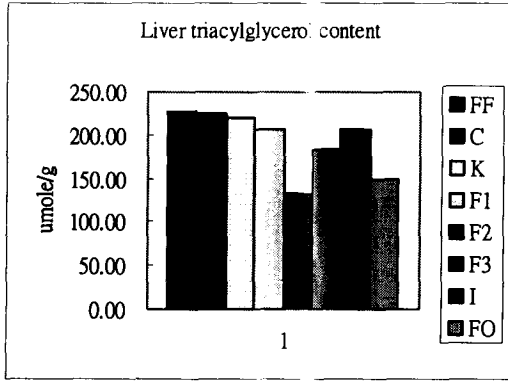
圖十三、各組餵食 3 週後，血 cholesterol 濃度之比較



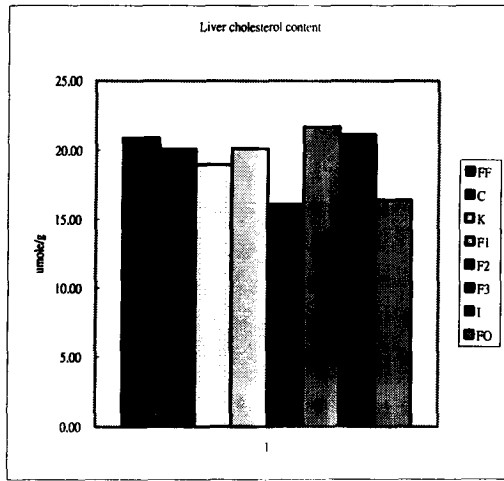
圖十六、各組餵食 3 週後，血漿 phospholipid 濃度之比較



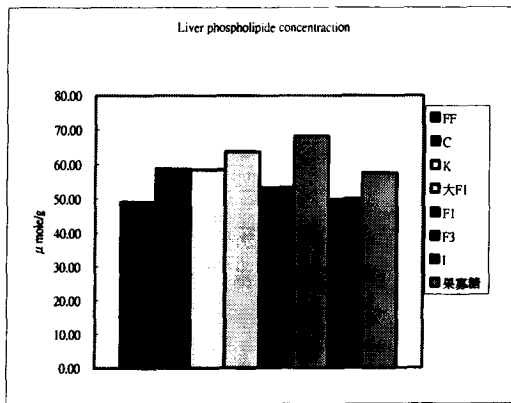
圖十四、各組餵食 3 週後，血 HDL 濃度之比較



圖十七、飼料對小鼠肝臟 triacylglycerol 含量的影響



圖十八、飼料對小鼠肝臟 cholesterol 含量的影響



圖十九、飼料對小鼠肝臟 phospholipid 量的影響



圖二十、5%纖維飼料組之大腸黏膜型態



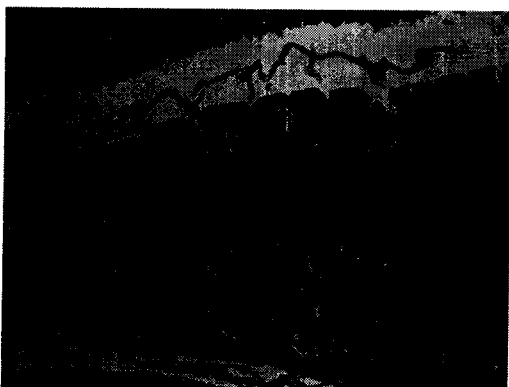
圖二十一、5%蔞蔞飼料組之大腸黏膜型態



圖二十二、5%蔞蔞 F1 飼料組之大腸黏膜型態



圖二十三、5%蒟蒻 F2 飼料組之大腸黏膜型態



圖二十四、5%蒟蒻 F3 飼料組之大腸黏膜型態

四、成果自評

本實驗進度與計劃提案大致相符，唯腸道內容物之短鏈脂肪酸因之前偵測器故障，導致進度延宕 3 個月，目前已修復，目前正在進行分析。實驗測定項目亦符合計劃提案，只是腸道菌相之測定由原先之 PCR 法改為培養皿培菌法，這個修正已經於去年計劃之期末報告中預告過。這個實驗加強兩年前設立之蒟蒻寡糖製備法，使得製備量可以放大至足夠飼料用量。此研究結果驗證我之前之假設，將大分子纖維水解為小分子之後加強了纖維之促進益菌之效果，在腐生菌方面蒟蒻寡糖 F2 不但抑制 *C. perfringens* 與 *E. coli* 比例也降低血膽固醇及肝臟膽固

醇、三酸甘油脂。個人認為將來有繼續探討相關議題之空間。

參考文獻

1. Alabaster, O., Tang, Z. C., Frost, A. & Shivapurkar, N. (1993) Potential synergism between wheat bran and psyllium: enhanced inhibition of colon cancer. *Cancer Lett* 75: 53-58.
2. Schneeman, B. O. & Tinker, L. F. (1995) Dietary fiber. *Pediatr Clin North Am* 42: 825-838.
3. Khaw, K. T. & Barrett-Connor, E. (1987) Dietary fiber and reduced ischemic heart disease mortality rates in men and women: a 12-year prospective study. *Am J Epidemiol* 126: 1093-1102.
4. Fujiwara, S., Hirota, T., Nakazato, H., Muzutani, T. & Mitsuoka, T. (1991) Effect of Konjac mannan on intestinal microbial metabolism in mice bearing human flora and in conventional F344 rats. *Food Chem Toxicol* 29: 601-606.
5. Zhang MY, Huang CY, Wang X, Hong JR, Peng SS. 1990. The effect of foods containing refined konjac meal on human lipid metabolism. *Biomed. Environ. Sci.* 3 (1): 99-105.
6. Patrick K, Tsuji K, Nakagawa Y, Ueda H, Ozawa O, Uchida T, Ichikawa T. 1998. Effect of supplements of partially hydrolyzed guar gum on the occurrence of constipation and use of laxative agents. *JAMA* 98:912-91.