

# 行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

## 蒟蒻及其水解產物之腸道效應(1/2)

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

計畫編號：NSC 90-2320-B-040-038

執行期限：90年8月1日至91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：范櫻馨 中山醫學大學營養學系  
錢佑 中山醫學大學醫學系

#### 一、中文摘要

本研究旨在探討蒟蒻 (*Amorphophallus konjac*) 及其水解產物對小鼠盲腸菌相、糞便特性、食物攝取量、體重變化及小腸酵素活性之影響。因蒟蒻及其水解產物平均分子量之差異可能影響其生理活性之起始時間及效應程度，因此本研究探討時間及劑量效應。首先將七週大 BALB/c 雄姓小鼠隨機分派，並餵食含 5% 纖維素、5% 蒟蒻或 5% 蒟蒻水解產物之 AIN-93 飼料各二週和四週，每組共 14 隻。Time-course 實驗發現各組間體重及攝食量無異，在第 14 及 28 天糞便溼重、乾重及排便頻率皆以纖維素組 > 5% 蒟蒻組 > 5% 蒟蒻水解物；糞便濕份以蒟蒻及蒟蒻水解物組高於纖維素組。在第 14 及 28 天，5% 蒟蒻組明顯提高盲腸內容物中總厭氧及 *Clostridium* 菌濃度；在第 28 天 *Bifidobacterium* 菌濃度有提高之趨勢，大腸桿菌數濃度無顯著變化。在第 28 天，5% 蒟蒻水解物組有降低盲腸內容物中總厭氧及 *Clostridium* 菌濃度之趨勢，並且使 *Bifidobacterium* 菌成為優勢菌。綜上所述，蒟蒻及其水解產物可有效的改善腸道菌相及糞便保水能力，且蒟蒻水解產物效應較蒟蒻明顯或持久。在劑量實驗方面，5% 及 7.5% 較 2.5% 效果顯著，但 7.5% 未必較 5% 效果顯著。

**關鍵詞：**蒟蒻、蒟蒻水解產物、大腸生理、腸道細菌，黏膜細胞，消化酵素

#### Abstract

The aim of this study is to investigate the effects of *Amorphophallus konjac* and its hydrolysate on bowel habits, fecal characteristics, food intake, body weight change, and intestinal hydrolase activities of Balb/c mice. The time-dependent effects of cellulose (C), konjac (K) and konjac hydrolysate (KH) were first investigated. 7-wk mice were randomly allocated to 5% cellulose diet (2 or 4 wk feeding), 5% konjac diet (2 or 4 wk feeding) and 5% konjac hydrolysate diet (2 or 4 wk feeding). We have found so far that various diets did not cause differences in the daily food intake and body weight gain at both 2 wk and 4 wk duration. Wet, dry fecal weights and number of fecal pellets in the descending order was cellulose group > konjac group > konjac hydrolysate group. Cecal wall weight at d 14 in the descending order was konjac, konjac hydrolysate > cellulose group. The concentrations of total anaerobes and *Clostridium* were elevated by feeding mice konjac diet for both feeding durations. The concentration of *Bifidobacterium* tended to

increase at d 28 while that of *E. coli* did not change with konjac feeding. However, the concentrations of total anaerobes and *Clostridium* were decreased by feeding mice with konjac hydrolysate diet. Furthermore, *Bifidobacterium* became predominant anaerobes after mice were fed on konjac hydrolysate diets for 4 wk. On the other hand, the effects of 5% and higher dose were greater than that of 2.5 % konjac or its hydrolysates.

Keywords: konjac, hydrolysates, bowel function, intestinal flora, mucosa cell, hydrolase

## 二、緣由與目的

蒟蒻(*Amorphophallus konjac*)為天南星科蛇芋屬多年生宿根性塊莖草本植物，當蒟蒻生長達 2-3 年時，其地下球莖含有多量的 (30-50%) glucomannan 葡甘聚糖，經乾燥磨粉與風力分級可製得蒟蒻粉(konjac flour)，或再精製萃取得熱水可溶之蒟蒻膠(konjac gum)(賴等 1999)，熱水可溶之蒟蒻膠萃出物分子量自數十萬至上百萬(賴等 1999)。雖然蒟蒻加工產品已普遍，然由於天然蒟蒻粉之凝膠物性隨來源而有相當之變異，限制了蒟蒻精粉與其所含膠質之應用價值。而且蒟蒻精粉之溶解度若能提高，大大增加其應用性，如應用於飲料、醫療用流質配方及糖尿病飲食。蒟蒻膠目前盛行於亞洲，有別於西方常使用及研究的凝膠纖維如果膠、關華膠 guar gum、阿拉伯膠 gum arabic 等。因此，蒟蒻膠之生理效應研究仍相當有限，若能進一步開發蒟蒻膠相關產品並闡明其有效生理機能，相信對推廣蒟蒻產品有莫大助益。

膳食纖維調節腸道功能的作用已多被

證實。良好的非水溶性膳食纖維來源，如纖維素、小麥麩等，一般具有促進腸道蠕動，縮短腸道通過時間(Gastrointestinal transit time)及減緩便秘等功能。而水溶性膳食纖維的良好來源，如燕麥麩，果膠、關華膠 guar gum、阿拉伯膠 gum arabic 等，則主要調節小腸部位之消化吸收，有助於糖尿病患者飯後血糖控制及降低血中膽固醇及三酸甘油酯 (Ripsin 1992, Demark-Wahnefried et al 1990, National Research Council 1989, Anderson et al 1990, Marlett et al 1994, 劉等 1994)。然而，特定纖維之生理效應不能直接以其溶解性區分，例如西方常使用之水溶性膳食纖維果膠及阿拉伯膠可完全被大腸微生物利用而無法於糞便中檢出(Eastwood et al 1986)，Gum karaya 則可能因結構成鏢旋狀而幾乎無法被利用(Eastwood et al 1986)。西方常使用之天然軟便劑洋車前子 psyllium 為高水溶性，但卻對紓解便秘及增加糞便重量具相當成效 (Marlett 1987)。因此特定纖維之生理效應必須經過實驗驗證，而不能以纖維質之化學特性、水溶性來判斷其生理效應。

蒟蒻葡甘聚糖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。雖然水溶性膳食纖維之利用性大致上比纖維素高而較少殘留於糞便中，但 Cummings (1993)曾歸納其對糞便重量之影響，發現每克果膠增加 1.2 g 糞便溼重，而 mucilage and gums 增加 3.7 g 重。申請人推測糞便重量增加之部份機制為水溶性膳食纖維具有促進腸道菌相的改變及增加總菌數的功能，然而相關研究卻相當匱乏，此假設將在此研究驗證。

健康人體之腸內菌種約含四百種 (Johnson and Kudsk 1999)，菌相受到許多內

在及外在因子諸如年齡、性別、氣候、飲食、生活壓力、服藥狀況、及體內菌群相互作用之影響。一般而言,腸內乳酸桿菌,雙叉桿菌為益菌,除了幫助食物消化吸收外,並可抑制病原性及腐生性細菌的菌數 (Anand et al, 1984)。因此若能提高腸內益菌使呈優勢,則達到淨化腸道的作用。膳食纖維與難消化寡糖類皆為人體大腸細菌生長之基質。一人體實驗以 15 g inulin 及 oligofructose 取代蔗糖發現兩者皆使 Bifidobacterium 成為優勢菌但總菌數不變 (Gibson et al 1995)。另一人體實驗發現 inulin 增加糞便醋酸之能力略佳於果寡糖 (van Dokkum et al 1999)。目前尚無文獻深入探討蒟蒻降解是否有利於腸道細菌利用。

前人實驗結果建議不可吸收之食材(如膳食纖維)是維持腸道細胞之必要條件 (Thomas et al 1993), 蒟蒻及蒟蒻總水解產物對腸道黏膜表皮細胞形態及分化之決定因子有二: 一為產生短鏈脂肪酸尤其是丁酸 (butyrate) 之能力, 二為維持或刺激交感神經系統活性之能力。若單就寡糖類對腸道黏膜表皮細胞形態及分化效果來比較, Howard 等人(1995)比較流質無纖維配方與添加含果寡糖 fructooligosaccharide、木寡糖 xylooligosaccharide (聚合度為 2-5 分子) 對盲腸及末端結腸之黏膜細胞形態及分化情形。Howard 等人(1995)發現木寡糖 xylooligosaccharide 組之老鼠 cecal crypt 高度及細胞分化指數(labeling index)較其他組高, 表示細胞進入 S-phase 之活力較旺盛。Howard 等人亦比較流質無纖維配方添加 gum arabic 之效果發現添加 gum arabic 之 proliferation zone 則較其他寡糖組高。這研究顯示在相同細胞密度 (cell density) 下, 木寡糖 xylooligosaccharide 及未水解之 gum arabic 有促進盲腸黏膜細

胞分化之現象。因此, 聚合度不同之葡甘聚醣可能因刺激交感神經及產生短鏈脂肪酸能力之不同, 而對消化道黏膜細胞之形態及分化有不同之影響, 本實驗將予以驗證。

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”蒟蒻水解產物之開發暨其對雙叉桿菌效應之探討”(NSC89-2313-B-040-006), 並將進一步探討蒟蒻、蒟蒻總水解物在體內系統對腸道功能、腸道菌相、消化道黏膜酵素活性及糞便特性的影響。本研究計畫分為二年, 第一年之主要研究目的為: 一、大量製備蒟蒻總水解物。二、Time-course 實驗。以重量隨機分配 BALB/c 小鼠於下列各組: 5% 蒟蒻總水解產物、5% 未水解蒟蒻組、5% 纖維素組, 並於十五、及三十天取樣。比較項目包括定量小鼠盲腸及糞便中特定益菌及致病菌菌相變化, 糞便特性如糞便溼重、乾重、盲腸及糞便短鏈脂肪酸含量, 腸道生理包括糞便顆數及小腸黏膜消化酵素等。三、Dose-effect 實驗。經上述實驗驗證得知蒟蒻總水解物產生效應之時間後, 測試蒟蒻水解物之劑量效應。本實驗擬加入 2.5%, 5%, 7.5% 之蒟蒻及蒟蒻總水解產物於無纖維飼料。測試項目則包括糞便特性、排便頻率、盲腸及大腸短鏈脂肪酸含量、腸道菌相。相信這一系列研究將有助於釐清相同單糖組成但不同分子量之聚/寡糖之腸道生理功能, 了解蒟蒻纖維及其水解物生理效應之 lag time 及最佳合理劑量。

### 三、結果與討論

以下分別說明在時間效應實驗與劑量實驗中所得之結果:

## (一)、時間效應實驗

### A. 兩週

1. 食物攝取量：餵食 5%纖維素組、5%蒟蒻及 5%水解產物組每天分別攝取 4.01 克、3.96 克及 4.01 克之飼料。
2. 體重變化：三組在統計上並無顯著差異。
3. 盲腸菌相：
  - (1). 促進腸內益生菌 *Bifidobacterium* 之增生：與 5%纖維素組相比較，5%蒟蒻組可增加 88% *Bifidobacterium* 數 ( $P < 0.01$ )；5%蒟蒻水解產物組則增加了 84% ( $P < 0.01$ )。
  - (2). 抑制腸內壞菌 *Clostridium perfringens* 的生長：與 5%纖維素組相比較，5%蒟蒻組及 5%蒟蒻水解產物組皆可有效抑制 *Clostridium perfringens* 數 56 %及 70% ( $P < 0.01$ )。
4. 糞便特性：
  - (1). 顆數：5%蒟蒻水解產物組每天所排泄的糞便顆數與 5%纖維素組比較顯著降低。
  - (2). 濕份：與 5%纖維素組比較，5%蒟蒻組和 5%蒟蒻水解產物組可提高保水效果 20%及 15%。
  - (3). 每日濕重：以 5%纖維素組為最高，每日糞便濕重為 0.908 克，5%蒟蒻組和 5%蒟蒻水解產物組顯著降低濕重。
  - (4). 每日乾重：趨勢與濕重同
5. 小腸黏膜酵素活性：在小鼠小腸黏膜上分別測量蔗糖酵素(sucrase)、麥芽糖酵素 (maltase) 及白胺酸胺基酵素 (leucineaminopeptidase, LAP)。
  - (1). 蔗糖酵素(sucrase)：三組在統計上並無顯著差異。
  - (2). 麥芽糖酵素(maltase)：5%纖維素組為

三組在統計上並無顯著差異。

- (3). 白胺酸胺基酵素(LAP)：三組在統計上並無顯著差異。

6. 器官組織重量：各組器官、組織重量在統計上並無顯著的差異。

### B. 四週

1. 食物攝取量：餵食 5%纖維素組、5%蒟蒻及 5%水解產物組每天分別攝取 3.59 克、3.48 克及 3.43 克之飼料。
2. 體重變化：餵食 5%纖維素之小鼠，每天增加體重 0.2204 克；餵食 5%蒟蒻之小鼠，每天增加體重 0.2073g；而餵食 5%蒟蒻水解產物的小鼠，每天則增加體 0.2082 克。
3. 盲腸菌相：
  - (1). 促進腸內益生菌 *Bifidobacterium* 之增生：與 5%纖維素組相比較，5%蒟蒻組可增加 54% *Bifidobacterium* 數；5%蒟蒻水解產物組則增加了 76% ( $P < 0.01$ )。
  - (2). 抑制腸內壞菌 *Clostridium perfringens* 的生長：與 5%纖維素組相比較，5%蒟蒻組及 5%蒟蒻水解產物組皆可有效抑制 *Clostridium perfringens* 56 %及 70% ( $P < 0.01$ )數 56 %及 70% ( $P < 0.01$ )。
4. 糞便特性：
  - (1). 顆數：5%纖維素組、5%蒟蒻組、5%蒟蒻水解產物組每天所排泄的糞便顆數顆數分別為 65、61、54 顆。
  - (2). 濕份：與 5%纖維素組比較，5%蒟蒻組和 5%蒟蒻水解產物組可提高保水效果 13%及 22%。
  - (3). 每日濕重：以 5%纖維素組最高，每日糞便濕重為 0.661 克，5%蒟蒻組為 0.425 克，5%蒟蒻水解產物組

為 0.429 克。

- (4). 每日乾重:5%纖維素組是其他組的二倍, 為 0.8247 克, 5%蒟蒻組和 5%蒟蒻水解產物組各為 0.4638 克和 0.4225 克。

#### 5. 小腸黏膜酵素活性

- (1). 蔗糖酵素(sucrase): 三組在統計上並無顯著差異。

- (2). 麥芽糖酵素(maltase): 5%纖維素組、5%蒟蒻組、5%蒟蒻水解物組分別為 0.927 U/mg protein、0.785 U/mg protein、0.677 U/mg protein。三組在統計上並無顯著差異。

- (3). 白胺酸胺基酵素(LAP): 三組在統計上並無顯著差異。

#### 6. 器官組織重量: 各組別在器官、組織重量上並無顯著的差異。

根據上述實驗結果, 顯示餵食小鼠四週後增加腸道益生菌且有效地抑制腸內壞菌效果為最好, 因此, 選定四週之時間進行劑量試驗。分別以 2.5%、5%、7.5% 蒟蒻及其水解產物餵食小鼠進行實驗。

### (二)、劑量效應實驗

#### 1. 食物攝取量:

- (1). 蒟蒻組: 餵食 2.5%、5%、7.5%蒟蒻之小鼠每天分別攝取 4.9 克、4.66 克、4.67 克。三組在統計上並無顯著差異。

- (2). 蒟蒻水解產物組: 餵食 2.5%、5%、7.5%蒟蒻水解產物之小鼠每天分別攝取 4.62 克、4.49 克、4.34 克。

#### 2. 體重變化

- (1). 蒟蒻組: 餵食 2.5%、5%、7.5%蒟蒻之小鼠每天增加體重各為 0.127 克、0.196 克、0.198 克。

- (2). 蒟蒻水解產物組: 餵食 2.5%、5%、7.5%蒟蒻水解產物之小鼠每天增加

體重各為 0.163 克、0.194 克、0.234 克。

#### 3. 盲腸菌相:

##### (1). 蒟蒻組

A. 促進腸內益生菌 *Bifidobacterium* 之增生: 各組中, 以 7.5% 蒟蒻可增加最多的 *Bifidobacterium* ( $P < 0.01$ )。

B. 促進腸內益生菌 *Lactobacillus* 之增生: 和 2.5%蒟蒻相比, 5%和 7.5%蒟蒻可增加較多的 *Lactobacillus* 數( $P < 0.01$ ); 5%和 7.5%蒟蒻的效果相似。

C. 抑制腸道內壞菌 *Clostridium perfringens* 的生長: 三組中, 以 5%蒟蒻效果最好, 可有效地抑制 *Clostridium perfringens* ( $P < 0.01$ )。

##### (2). 蒟蒻水解產物組

A. 促進腸內益生菌 *Bifidobacterium* 之增生: 以 5%蒟蒻水解產物可增加較多的 *Bifidobacterium*, 但在統計上並無顯著的差異。

B. 促進腸內益生菌 *Lactobacillus* 之增生: 各組中, 7.5%增加較多的 *Lactobacillus*, 但在統計上並無顯著的差異。

C. 抑制腸內壞菌 *Clostridium perfringens* 的生長: 與 2.5%相比較, 5%和 7.5%蒟蒻水解產物可有效地抑制 *Clostridium perfringens* ( $P < 0.01$ )。

#### 4. 糞便菌相

##### (1). 蒟蒻組

A. 益生菌 *Bifidobacterium* 之增生: 蒟蒻各組中, 以 5%蒟蒻效果最好, 可增加最多的 *Bifidobacterium* 數。

- B. 益生菌 *Lactobacillus* 之增生：5% 蒟蒻和 7.5% 蒟蒻比 2.5% 蒟蒻更能增加 *Lactobacillus* 數( $P < 0.05$ )，5% 蒟蒻和 7.5% 蒟蒻效果相似。
- C. 抑制壞菌 *Clostridium perfringens* 的生長：糞便菌相中，以 5% 和 7.5% 蒟蒻組產生較少的 *Clostridium perfringens* 數。
- (2). 蒟蒻水解產物組
- A. 益生菌 *Bifidobacterium* 之增生：蒟蒻水解物各組中，以 5% 蒟蒻水解物效果最好，可增加最多的 *Bifidobacterium* ( $P < 0.05$ )。
- B. 益生菌 *Lactobacillus* 之增生：三組中，5% 和 7.5% 蒟蒻水解物較 2.5% 蒟蒻水解物更能增加 *Lactobacillus* 數( $P < 0.05$ )。
- C. 抑制壞菌 *Clostridium perfringens* 生長：和 2.5% 的蒟蒻水解物比較，5% 和 7.5% 蒟蒻水解物，產生較少的 *Clostridium perfringens* 數 ( $P < 0.05$ )。
5. 糞便特性
- (1). 蒟蒻組
- A. 顆數：2.5% 蒟蒻、5% 蒟蒻及 7.5% 蒟蒻分別為 38 顆、40 顆、33 顆。
- B. 濕份：三組在濕份含量上並無顯著的差異。
- (2). 蒟蒻水解產物組
- A. 顆數：2.5% 蒟蒻水解產物、5% 蒟蒻水解產物及 7.5% 蒟蒻水解產物各為 69 顆、70 顆、73 顆。
- B. 濕份：各組別在濕份含量上並無顯著的差異。
6. 器官組織重量：蒟蒻和蒟蒻水解產物各組中，器官、組織重量皆無統計上的顯著差異。

#### 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機器問題尚未全部完成。實驗測定項目亦遵守計劃提案，只是腸道菌相之測定由原先之 PCR 法改為培養皿培養法，原因是參考最近文獻發現更有效之選擇性培養基，而且尋找合作之實驗室可提供厭氧培養箱。但個人認為 PCR 法仍適用於其他無法立即取得樣品之情況。因此本計劃案之第二年計劃亦將採用培養皿培養法。

#### 五、參考文獻

- 賴鳴鳳、廖樹杰、呂政義 1999 水溶性蒟蒻膠萃取與分子性質之探討。食品科學 26:456-467.
- Anand SK, Srinivasan RA, Rao LK. 1984. Antibacterial activity associated with *Bifidobacterium bifidum*. *Cultured Dairy Products J.* Nov.: 6-8.
- Anderson JW, Deakins DA, Bridges SR. 1990. Soluble fiber. In: Kritchevsky D, Bonfield C, Anderson JW, eds. *Dietary fiber chemistry, physiology and health effects*. New York: Plenum Press, pp339-363.
- Cummings JH. 1993. The effect of dietary fiber on fecal weight and composition. In: Spiller GA, ed. *Dietary fiber in human nutrition*. Boca Raton, FL: CRC Press: 263-350.
- Demark-Wahnefried W, Bowery J, Cohen P. 1990. Reduced serum cholesterol with dietary change using fat-modified and oat bran supplemented diets. *J. Am. Diet.*

- Assoc. 90: 223-229.
- Eastwood MA, Brydon WG, Anderson DMW. 1986. The effect of the polysaccharide composition and structure of dietary fibers on cecal fermentation and fecal excretion. *Am. J. Clin. Nutr.* 44:51-55.
- Gibson GR, Beatty ER, Wang X, Cummings JH. 1995. Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. *Gastroenterology* 108:975-982.
- Howard MD, Gordon DT, Garleb KA, Kerley MS. 1995. Dietary fructooligosaccharide, xylooligosaccharide and gum arabic have variable effects on cecal and colonic proliferation in mice and rats. *J. Nutr.* 125(10):2604-9.
- Johnson CD, Kudsk KA. 1999 Nutrition and intestinal mucosal immunity. *Clin. Nutr.* 18:337-344.
- Marlett JA, Li BUK, Patrow CJ, Bass P. 1987. Comparative laxation of psyllium with and without senna in an ambulatory constipated population. *Am. J. Gastroenterol.* 41:909-918.
- National Research Council. Diet and Health: implications for reducing chronic disease risk. Washington, DC: National Academy Press, 1989.
- Ripsin CM, Keenan JM, Jacobs DR et al. 1992. Oat products and lipid lowering. *JAMA* 267: 3317-3325.
- Thomas MG, Owen RW, Alexander B, Williamson R. 1993. Effect of enteral feeding on intestinal epithelial proliferation and fecal bile acid profiles in the rat. *J. Parent. Ent. Nutr.* 17: 210-213.
- van Dokkum W, Wezendonk B, Srikumar TS, van den Heuvel EGHM. 1999. Effect of nondigestible oligosaccharides on large-bowel functions, blood lipid concentrations and glucose absorption in young healthy male subjects. *Eur. J. Clin. Nutr.* 53:1-7.

