

報 文

大豆オリゴ糖を発酵原料とした食酢の ラット脂質代謝に及ぼす影響

米 本 千 春*, 香 田 祐 美 子*, 上 中 居 和 男*, 中 野 長 久**

* タマノイ酢株式会社第2研究所

** 大阪府立大学農学部応用生物化学科

Effect of Vinegar Made from Soybean Oligosaccharides on Lipid Metabolism in Rat

Chiharu YONEMOTO*, Yumiko KOHDA*, Kazuo UENAKAI* and Yoshihisa NAKANO**

*Research Laboratories II, Tamanoi Vinegar Co., Ltd., Sakai 590

**Department of Applied Biochemistry, Nutrition Chemistry, The Osaka Prefecture University, Sakai 593

Nippon Eiyō Shokuryō Gakkaishi (*J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.*) 48, 441~449 (1995)

The effect of vinegar, made from soybean oligosaccharides, on lipid metabolism was investigated in rats fed a cholesterol-free 25% casein basal diet. The saccharides in this vinegar were mainly composed of manninotriose. The experimental diet was prepared by the addition of 15% (w/w) powdered vinegar (SOV, soybean oligosaccharide vinegar), to the basal diet. This SOV diet contained approximately 3.3% oligosaccharides and 1.9% acetic acid. Serum cholesterol (VLDL+LDL) and triacylglycerol levels were significantly lower in the SOV diet group than in the control group. These differences were found for 2-5 weeks or at 4th week, respectively, for serum cholesterol and triacylglycerol. The liver cholesterol content was also significantly lower in rats fed the SOV diet, but there was no change in total bile acid excretion into the feces. In all groups, a strong positive correlation was observed between the liver cholesterol content and the serum VLDL+LDL cholesterol level at a 5 week period. No relationship was found between the cecal short-chain fatty acids (SCFA) and liver cholesterol content, and there was no correlation between the cecal SCFA content and the serum VLDL+LDL cholesterol level. These results suggest that SOV exerts some beneficial effect on lipid metabolism.

Key Words vinegar, oligosaccharides, lipid metabolism, cholesterol, short chain fatty acid.

(Received April 6, 1995)

食酢は酸性調味料として古くから用いられている。一方で黒酢（鹿児島地方で作られる玄米酢）のように健康に対する期待の面でも摂取されている。黒酢摂取効果としては脂肪の蓄積阻害、血清脂質および血糖、血圧の低下などの作用^{1)~5)}が報告されており、これらの生理作用は黒酢に含まれるアミノ酸などの特定成分によると考えられている。また、食酢の効用は疲労回復効果、糖尿病や肥満防止効果、血圧上昇ならびに老化防止効果など種々報告されており⁶⁾、一般の食酢についても黒酢と同様の作用を有する可能性が推測されるが、動物実験なら

びに臨床的に証明されているものは少ない。

また近年、さまざまな生理作用を有するオリゴ糖が開発、利用されている。オリゴ糖は消化酵素による消化のされやすさに違いがあり、うちフラクトオリゴ糖⁷⁾、ガラクトオリゴ糖⁸⁾、キシロオリゴ糖⁹⁾、大豆オリゴ糖¹⁰⁾など消化を受けにくいものは「難消化性オリゴ糖」と呼ばれ、腸内細菌による選択利用性の相違から腸内細菌叢に影響を与えることが報告されている。なかでも大豆オリゴ糖は大豆ホエーより抽出した天然物由来のオリゴ糖であり、発酵性糖類を多量に含有することから、沖ら¹¹⁾はこの大豆オリゴ糖を発酵原料とした食酢(大豆オリゴ糖酢)を開発し、生理機能を検討した結果、大豆オリゴ糖酢の摂取により腸内の *Bifidobacterium* の菌数が増加するこ

* 〒590 堺市車之町西 1-1-32

** 〒593 堺市学園町 1-1

とを認めた。大豆オリゴ糖を食酢にすることで、元来含まれる糖組成に変化が生じて難消化性糖類の割合が増大するため¹¹⁾、より低カロリーで生理効果の高い食品素材となること、さらには嗜好品でなく調味料である点から日常生活で容易に摂取できることが期待される。加えて一部のオリゴ糖には整腸作用のほか血清脂質改善作用、血糖調節作用などくに多糖性の食物繊維に近い生理効果を有することが報告されている⁷⁾。

そこで本報では、大豆オリゴ糖酢がラット脂質代謝に及ぼす影響について、コレステロール・胆汁酸無添加の高シヨ糖飼料を用いて検討を行った。また同時に、オリゴ糖成分ならびに食酢単独の効果、さらに両者の併用効果の有無を検討した。

実験方法

1. 被験物質

実験には以下の粉末試料を使用した。各粉末試料の組成を Table 1 に示す。

1) デキストリン トウモロコシ起源のマルトデキストリン (商品名: Pinedex #1, 松谷化学工業(株)製) を対照粉末および粉末化助剤として使用した。

2) 粉末大豆オリゴ糖酢 (以下 SOV とする) 大豆オリゴ糖酢の製造は既報の方法¹¹⁾ に従った。すなわち、糖濃度 25% に調製した大豆オリゴ糖 (カルピス食品工業(株)製) 溶液に栄養源および生酵母を添加し、アルコール発酵後酵母を濾過除去した。次いで通気酢酸発酵を行い、脱色後酢酸濃度 6.5%、糖濃度 6.6% の大豆オリゴ糖酢を得た。粉末化助材としてマルトデキストリンを用いて凍結乾燥し SOV とした。なお、凍結乾燥による酢酸の残存率は 44% であり、その他の揮発性有機酸は検出されなかった。

3) 粉末大豆オリゴ糖酢エキス (以下 EXT とする) 作製した大豆オリゴ糖酢 9.2 l から電気透析装置 (DU-Ob 型, 旭硝子(株)製) を用いて酢酸を除去し、酢酸濃度 0.1%、糖濃度 8.4% の大豆オリゴ糖酢エキス溶液

5.7 l を得た。SOV と全糖含有量が同じになるようマルトデキストリンを添加して凍結乾燥を行い EXT を得た。

なお、全糖の定量はフェノール-硫酸法¹²⁾、糖の組成分析は高速液体クロマトグラフィー (HPLC, カラム: 旭化成工業(株)製 Asahipak NH2P-50, 検出器: 示差屈折率計) により溶媒としてアセトニトリル: 水 = 75: 25 (v/v) を用いて行った。

4) 粉末醸造酢 (以下 Vinegar とする) アルコールを酢酸発酵したアルコール酢にマルトデキストリンを加えて噴霧乾燥し Vinegar を得た。

5) フラクトオリゴ糖 (以下 FO とする) 市販のフラクトオリゴ糖粉末 (商品名: メイオリゴ P, 明治製菓(株)製) に SOV と全糖含有量が同じになるようマルトデキストリンを添加し FO とした。

2. 動物実験

Sprague-Dawley 系雄性ラット (日本 SLC (株)) を実験動物として、12 時間交替の照明下、温度 23±2°C に調節した飼育室にて個別飼育した。生後 3 週齢のラットを購入し、基本飼料 (Table 2) で 1 週間予備飼育を行った後 (体重約 90 g)、体重増加量が著しく少ないラットを除いて、1 群 4~8 匹の 6 群に分けた。その後 1 週間馴化飼育を行った。本飼育添加量 (以下に述べる) の 2/3 に相当する粉末試料を基本飼料におのおの添加し、馴化飼料とし

Table 2. Components of the standard diet.

Constituent	Content (%)
Casein	25.0
Corn oil	5.0
Salt mixture*	4.0
Vitamin mixture*	1.0
Choline bitartrate	0.2
Sucrose	64.8

* Prepared according to AIN-76™ prescription (*J. Nutr.*, 107, 1340 (1977)).

Table 1. Components of test substances (%).

Components	Substances				
	Maltodextrin ^{a)} (Control)	SOV ^{b)}	Vinegar ^{c)}	EXT ^{d)}	FO ^{e)}
Maltodextrin	100.0	55.2	86.7	64.5	64.4
Total sugar ^{f)}	—	29.6	—	34.3	34.6
Acetic acid	—	12.5	12.2	0.3	—
Others	—	2.7	1.1	0.9	1.0

^{a)} Powdered maltodextrin. ^{b)} Powdered vinegar made from soybean oligosaccharides. ^{c)} Powdered vinegar made from ethanol. ^{d)} Powdered extract of soybean oligosaccharide vinegar deacidified by electrodialysis. ^{e)} Powdered fructooligosaccharides. ^{f)} Measured by the phenol-sulfuric acid method.¹²⁾

た。以上の予備飼育、馴化飼育の後、5週齢から本飼育に供した（体重約125g）。群設定ならびに本飼育における粉末試料添加量は以下のとおりで、全糖あるいは酢酸含有量がSOV群と一致するように各試験群の試料添加量を設定した。Standard群には基本飼料を用い、Control群（対照群）にはマルトデキストリンを8.3%、SOV群にはSOVを15%、Vinegar群にはVinegarを15.4%、EXT群にはEXTを12.9%、FO群にはFOを12.8%、それぞれ基本飼料に添加混合し、本飼育飼料とした。すなわち本飼育においてSOV群とVinegar群は同量の酢酸（飼料中含量1.9%）を、またSOV群とEXT群およびFO群は全糖にして同量の成分（飼料中含量4.4%）を含有するように配合した。各群とも給与飼料は採血前夜を除き自由摂取とした。飼料摂取量は給餌量から残量を差し引いて求めた。飼料効率は本飼育開始時からの体重増加量と飼料摂取量より算出した。飲料水（水道水）は自由摂取として、5週間本飼育を行った。

3. 血清成分の分析

馴化飼育および本飼育開始前、ならびに本飼育期間中5週目までは1週間ごとに一夜絶食させた後、無麻酔下で尾静脈より採血した。この血液を室温で約2時間静置後、3,000 rpmで10分間遠心分離して血清を得た。血清成分については市販の酵素法による測定キットにより、総コレステロール（T-Chol）、HDL-コレステロール（HDL-Chol）、トリアシルグリセロール（TG）およびグルコースを定量した。これらの測定には、すべて和光純薬工業（株）製のコレステロールC-テストワコー、HDL-コレステロール-テストワコー、トリグリセライドG-テストワコー、グルコースCII-テストワコーを用いた。絶食時採血のため血清中にカイロミクロンはほとんど存在せず、VLDL含量も少ないと推測されるが、本実験ではT-Chol-HDL-Cholの値を算出し、VLDL+LDL-Cholとして表記した。

また、本飼育32日目に絶食せずに尾静脈採血し、氷冷下に静置後遠心分離により血清を得て、同様にTGおよびグルコースを定量した。

4. 解剖および臓器の摘出

試験期間終了後（5週目）、一夜絶食の後ペントバルビタールナトリウム液麻酔下で開腹し、腹部大静脈より採血した。屠殺後肝臓、盲腸、副睾丸周囲脂肪を摘出して重量を測定した。摘出した肝臓、盲腸は凍結保存し、後日抽出分析に供した。採取した血液から血清を分離して紫外/反応速度法によりGOT¹³⁾ならびにGPT¹⁴⁾を測定した。

5. 糞中胆汁酸の測定

試験期間終了前3日間に排泄された糞を毎日採取して凍結乾燥し、1日当りの糞排泄重量を測定した。凍結乾燥

した糞を粉碎後、約50mg秤量し、80°Cのエタノール溶液2.5ml中で1時間抽出した。抽出後3,000 rpm, 10分間遠心分離して上清を分取した。この操作を4回行って得られた分離上清をエタノールで10mlに合わせ、3 α -hydroxysteroid dehydrogenase法¹⁵⁾による市販の測定キット（総胆汁酸-テストワコー、和光純薬工業（株）製）を用いて胆汁酸を定量した。

6. 肝臓中コレステロールの測定

摘出した肝臓組織片を秤量し、45%水酸化カリウム水溶液でケン化後、ヘキサン抽出した¹⁶⁾。血清の場合と同様に市販キットにてコレステロールを定量した。

7. 盲腸内容物のpHならびに短鎖脂肪酸の測定

摘出した盲腸から内容物を分取して、一部に蒸留水を加えpHを測定した。また盲腸内容物に内部標準としてクロトン酸水溶液を添加し、短鎖脂肪酸を抽出した。ガスクロマトグラフィー（充填材：ジエーエルサイエンス（株）製Unisole-F 200、検出器：水素炎イオン化計）により窒素をキャリアーガスとして、130°C恒温で分析した。標準物質には酢酸、プロピオン酸、酪酸、イソ酪酸、吉草酸およびイソ吉草酸（和光純薬工業（株）製）を用いた。

8. 統計処理

得られた測定値をGrubbs-Smirnov testで棄却検定し、結果はすべて平均値±標準誤差で示した。各群間の有意差検定はWelchの方法により行い、5%以下の危険率を有意と判定した。

結 果

1. 糖 組 成

HPLCにより測定した大豆オリゴ糖酢および大豆オリゴ糖酢エキスの糖組成をTable 3に示す。大豆オリゴ糖に比較的多く含まれるガラクトオリゴ糖であるス

Table 3. Sugar composition of vinegar made from soybean oligosaccharides (A) and vinegar extract* (B).

Components	Content (%)**	
	A	B
Stachyose	0.2	1.2
Manninotriose	47.5	48.6
Raffinose	n.d.	n.d.
Melibiose	11.7	10.9
Sucrose	n.d.	n.d.
Glucose	1.8	2.4
Fructose	11.8	11.2
Others	27.0	25.7

* In order to obtain the extract, acetic acid was removed from A by electrodialysis. ** Measured by HPLC. n.d.: Not detected.

Table 4. Effects of SOV, Vinegar, EXT and FO on biological values in rats fed a cholesterol-free diet for 5 weeks.

	Group (n) *					
	Standard (4)	Control (7)	SOV (8)	Vinegar (5)	EXT (5)	FO (6)
Final body weight (g)	319 ± 6 ^a	314 ± 5 ^{ac}	297 ± 6 ^b	304 ± 6 ^{abc}	297 ± 11 ^{abc}	294 ± 8 ^{bc}
Food intake (g/35 days)	583 ± 11 ^{ac}	592 ± 8 ^a	547 ± 10 ^b	580 ± 23 ^{abc}	561 ± 10 ^{abc}	559 ± 13 ^{bc}
Food efficiency**	0.329 ± 0.007 ^a	0.318 ± 0.007 ^{ab}	0.318 ± 0.005 ^{ab}	0.315 ± 0.005 ^{ab}	0.307 ± 0.006 ^b	0.303 ± 0.007 ^b
Laboratory data (Serum)						
Triacylglycerol (mg/dl)						
fasted <28 day>	114 ± 8 ^{ab}	142 ± 14 ^a	101 ± 5 ^b	160 ± 31 ^{ab}	112 ± 8 ^{ab}	111 ± 5 ^{ab}
not fasted <32 day>	213 ± 21 ^{abcd}	301 ± 32 ^a	183 ± 15 ^b	264 ± 22 ^{ad}	213 ± 14 ^{bcd}	201 ± 11 ^b
Glucose (mg/dl)						
not fasted <32 day>	143 ± 8 ^{ab}	149 ± 2 ^a	139 ± 1 ^b	138 ± 5 ^{ab}	139 ± 3 ^b	144 ± 3 ^{ab}
GOT (IU/l) <35 day, at sacrifice>	185 ± 11	181 ± 15	194 ± 7	190 ± 16	211 ± 12	180 ± 10
GPT (IU/l) <35 day, at sacrifice>	24.3 ± 1.0 ^a	34.1 ± 7.2 ^{abc}	29.4 ± 1.9 ^{bc}	30.0 ± 0.7 ^b	25.4 ± 0.8 ^{ac}	31.2 ± 4.0 ^{abc}
Organs (% of body weight)						
Liver	3.39 ± 0.14 ^{ab}	3.66 ± 0.16 ^a	3.21 ± 0.07 ^b	3.58 ± 0.21 ^{ab}	3.30 ± 0.11 ^{ab}	3.54 ± 0.11 ^{ab}
Cecum	0.14 ± 0.01 ^b	0.15 ± 0.11 ^b	0.22 ± 0.01 ^a	0.16 ± 0.01 ^{bc}	0.21 ± 0.02 ^{ac}	0.20 ± 0.02 ^{ac}
Cecum with content	0.56 ± 0.03 ^b	0.54 ± 0.04 ^b	1.05 ± 0.07 ^a	0.62 ± 0.02 ^b	0.96 ± 0.06 ^a	1.04 ± 0.08 ^a
Epididymal fat pads	1.71 ± 0.16	2.01 ± 0.12	1.85 ± 0.13	2.09 ± 0.27	1.71 ± 0.18	1.87 ± 0.16
Stool weight (dry g/day)	0.61 ± 0.74	0.57 ± 0.05	0.61 ± 0.11	0.44 ± 0.04	0.70 ± 0.13	0.69 ± 0.13
Bile acid in stool (μmol/day)	11.4 ± 2.0	9.4 ± 1.4	9.1 ± 1.8	6.4 ± 0.8	10.2 ± 3.0	11.2 ± 2.9

Values are expressed as mean ± SE. Values not sharing a common superscript letter within a column are significantly different ($p < 0.05$). * Figures in parentheses are number of rats. The experimental diets were prepared by the addition of the test substances (shown in Table 1) to the standard diet at the following levels. Control (Maltodextrin), 8.3%; SOV, 15%; Vinegar, 15.4%; EXT, 12.9%; FO, 12.8%. ** Weight gain/Food intake.

タキオース (Sta) およびラフィノース (Raf)¹⁰⁾ はアルコール発酵と酢酸発酵後に減少もしくは消失し、マンニトリオース (Mnt) およびメリビオース (Mlb) がそれぞれ増加した。発酵性糖類であるスクロース (Suc), グルコース (Glc) は消失, 減少した。また, 大豆オリゴ糖酢から電気透析処理により酢酸成分を除去しても糖組成にほとんど変化は認められなかった。大豆オリゴ糖酢ならびに大豆オリゴ糖酢エキス溶液中の主要な糖は Mnt であり, 大豆オリゴ糖酢 100 ml の中に約 3 g 含有されていた。

2. 動物実験

1) 成長ならびに臓器重量に及ぼす影響 結果を Table 4 に示す。本飼育期間の飼料摂取量は SOV 群と FO 群が Control 群に比べて有意に低い値を示した。また EXT 群も低値傾向であったが, 有意な差は認められなかった。体重は SOV 群と FO 群において低値であり, 前者は Standard 群ならびに Control 群との間に, 後者は Standard 群との間に有意差が認められた。飼料効率は EXT 群および FO 群が Standard 群に比して有意に低値であった。臓器重量のうち肝臓重量は SOV 群が Control 群に比して有意に低く, 副睾丸脂肪重量は Control 群ならびに Vinegar 群が他の群に比べて高い傾向を示

したが統計的有意差は得られなかった。内容物を含む盲腸全重量は, 他の群に比較して SOV 群および EXT 群, FO 群で有意な増加が見られた。

2) 血清脂質および血糖に対する影響 一夜絶食後に測定した血清 T-Chol 値ならびに HDL-Chol 値の経日的変動を Fig. 1 に示す。血清 HDL-Chol 値は本飼育期間を通して 6 群間に差異は認められなかった。血清 T-Chol 値は Control 群と比較して本飼育期間の中ほどにおいて SOV 群および EXT 群, FO 群が低下の傾向を示したが, 最終 5 週目に有意差は得られなかった。T-Chol 値から HDL-Chol 値を引いた VLDL+LDL-Chol の値は 1 週目から SOV 群および EXT 群, FO 群で低下あるいは低下の傾向が観察され, うち SOV 群は 2 週目(データは示していない) から最終 5 週目まで Control 群に比べて有意な低下を認めた。

非絶食条件下における血清 TG 値および血糖値の結果, ならびに経日的に絶食条件下で採血した血清 TG 値の本飼育 4 週目での結果を Table 4 に示す。非絶食下の血清 TG 値は Control 群に比べ, SOV 群および EXT 群, FO 群において有意な低下を示したが, 絶食条件下では SOV 群のみに有意差が認められた。血糖値も SOV 群は Control 群に比較して有意に低値であった。

3) 肝臓コレステロールおよび糞中胆汁酸への影響 結果を Fig. 2 および Table 4 に示す。肝臓当りのコレステロール含量は SOV 群および EXT 群で Control 群に比べて有意に低下しており, とくに SOV 群において顕著な減少が見られた。Vinegar 群ならびに FO 群で

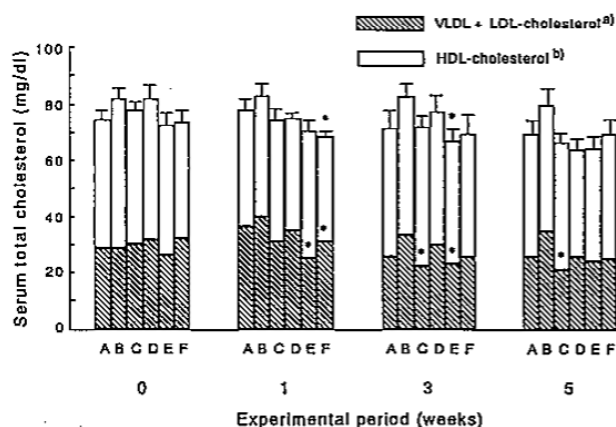


Fig. 1. Effect of SOV, Vinegar, EXT and FO on serum cholesterol levels in rats fed a cholesterol-free diet for 5 weeks.

A, Standard diet group; B, Control diet group; C, SOV diet group; D, Vinegar diet group; E, EXT diet group; F, FO diet group. The vertical bars indicate the standard error of mean of the serum total cholesterol levels. Asterisks: upper ones are drawn to the level of serum total cholesterol, and lower ones are depicted to that of serum VLDL+LDL cholesterol; represent significant differences from the control diet group in a same period ($p < 0.05$). ^{a)} Total cholesterol-HDL-cholesterol. ^{b)} There were no significant differences among all 6 groups.

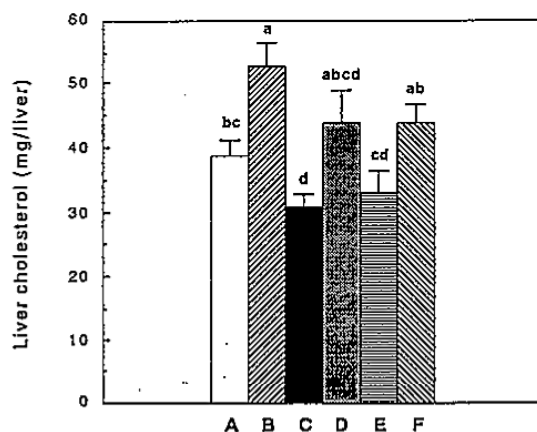


Fig. 2. Effect of SOV, Vinegar, EXT and FO on liver cholesterol levels in rats fed a cholesterol-free diet for 5 weeks.

A, Standard diet group; B, Control diet group; C, SOV diet group; D, Vinegar diet group; E, EXT diet group; F, FO diet group. The vertical bars indicate the standard error of the mean. Values not sharing a common alphabetic letter are significantly different ($p < 0.05$).

Table 5. Effects of SOV, Vinegar, EXT and FO on the cecal pH and short chain fatty acid content in the cecum of rats fed a cholesterol-free diet for 5 weeks.

	Group (n)*					
	Standard (4)	Control (7)	SOV (8)	Vinegar (5)	EXT (5)	FO (6)
pH	7.89±0.19 ^{ab}	7.84±0.06 ^a	7.49±0.11 ^b	7.76±0.06 ^{ab}	7.68±0.08 ^{ab}	7.66±0.10 ^{ab}
Short chain fatty acid (mg/cecum/rat)**						
Acetic acid	5.48±0.70 ^{ab}	4.24±0.44 ^b	7.93±0.87 ^a	4.50±0.44 ^b	5.71±1.01 ^{ab}	6.97±0.54 ^a
Propionic acid	2.52±0.28 ^{bc}	2.12±0.32 ^b	3.52±0.31 ^a	2.32±0.21 ^b	2.86±0.45 ^{ab}	3.41±0.26 ^c
Butyric acid	0.97±0.25 ^{ab}	0.85±0.12 ^b	1.21±0.16 ^{ab}	0.82±0.13 ^{ab}	1.04±0.16 ^{ab}	1.20±0.09 ^a
Iso butyric acid	0.33±0.06 ^{abc}	0.26±0.04 ^{bc}	0.39±0.05 ^{ab}	0.26±0.02 ^c	0.32±0.04 ^{bc}	0.46±0.03 ^a
Valeric acid	0.36±0.05 ^{ab}	0.29±0.04 ^b	0.44±0.05 ^a	0.31±0.03 ^b	0.43±0.08 ^{ab}	0.51±0.05 ^a
Iso valeric acid	0.52±0.06 ^{bc}	0.40±0.05 ^b	0.65±0.09 ^{ac}	0.46±0.04 ^{bc}	0.55±0.08 ^{abc}	0.75±0.06 ^a
Total	10.2 ±1.4 ^{ab}	8.2 ±0.9 ^b	14.1 ±1.3 ^a	8.7 ±0.8 ^b	10.9 ±1.7 ^{ab}	13.3 ±0.9 ^a

Values are expressed as mean±SE. Values not sharing a common superscript letter within a column are significantly different ($p<0.05$). * Described in Table 4. ** Measured by gas chromatography.

は Control 群に比べ低下の傾向を示した。糞乾燥重量ならびに糞中胆汁酸量については採取した 3 日間で差はなかったため、採取 2 日目の糞の結果を掲載したが、各群内ごとの個体差が大きく、群間の差異は認められなかった。

4) 盲腸内容物中の短鎖脂肪酸に対する影響 結果を Table 5 に示す。盲腸内容物の総短鎖脂肪酸量は SOV 群ならびに FO 群が類似した結果を示し、両群とも Control 群に比べて有意に高値であった。EXT 群においても若干の増加傾向が観察された。また、短鎖脂肪酸含有量を各組成ごとに見た場合も総量とほとんど同様の結果であった。pH は SOV 群のみが Control 群に比べて有意に低い値を示したがその他の群に有意差は得られず、全試験群では短鎖脂肪酸含有量の増加と関連のある pH 低下の結果は得られなかった。なお Vinegar 群には短鎖脂肪酸量、pH に対する影響は認められなかった。

3. 盲腸内容物中の短鎖脂肪酸と肝臓ならびに血清コレステロールの相関

結果を Fig. 3 に示す。肝臓コレステロール含量と本飼育 5 週目の血清中の VLDL+LDL-Chol 値の間には強い正の相関 ($p<0.001$) が得られたが、盲腸内容物中の総短鎖脂肪酸量と肝臓コレステロール含量の間、および総短鎖脂肪酸量と血清中の VLDL+LDL-Chol 値 (5 週目) の間にはそれぞれ負の相関傾向が認められたにとどまり、ともに有意ではなかった。しかし FO 群を除いた場合、総短鎖脂肪酸量と肝臓コレステロール含量の間に有意な相関 ($p<0.05$) が得られた。またデータは示していないが、盲腸内容物中のプロピオン酸量に関しても総短鎖脂肪酸量と同様の相関を示した。

考 察

近年、各種機能性をもつ食品素材、ならびにそれを利用した食品の開発が盛んに行われている。また、それら

生体調節機能の作用機作の解明も進められている。すでに沖ら¹¹⁾は通常の食生活で自然に摂取できるよう、調味料である食酢に生理作用を付与することを目的に大豆オリゴ糖を発酵原料とした食酢を開発し、腸内のビフィズス菌を増加させる効果を報告している。

従来、血清のコレステロール低下はコレステロールおよび胆汁酸を負荷して惹起した、高コレステロール血症に対する抑制効果を指標として研究される場合が多かった。難消化性糖質の血清コレステロール低下は、コレステロール添加飼料では、空腸部におけるコレステロール吸収の阻害、あるいは回腸部における胆汁酸再吸収の阻害による糞へのコレステロールならびに胆汁酸の排泄増加によるとする説が多い¹⁷⁾。しかしコレステロールを高度に負荷すると、体内でのコレステロール生成に対する影響を正確に捉えることは困難であり、本来の生体内におけるコレステロール代謝への影響を明らかにするために必ずしも適切な条件とはいえない¹⁸⁾¹⁹⁾。そこでわれわれは、コレステロール、胆汁酸無添加の高ショ糖飼料条件下で、大豆オリゴ糖酢が脂質代謝に及ぼす影響を検討した。加えて糖代謝に関しても若干の検討を行った。

既報のごとく¹¹⁾、大豆オリゴ糖をアルコール発酵し、続いて酢酸発酵するとフルクトース (Fru), Suc, Glc が消費され、大豆オリゴ糖に含まれるビフィズス菌増殖促進物質である Sta, Raf の Fru 部分が切断された Mnt および Mlb に変換されていた。

動物実験では大豆オリゴ糖酢中の有効成分およびその効果の程度を確認するために、SOV 摂取群のほか Vinegar 摂取群、EXT 摂取群ならびに FO 摂取群を設けた。大豆オリゴ糖酢およびそのエキスに含まれるオリゴ糖成分は糖総量中 70% 強であり、動物飼料中の量に換算すると SOV 摂取群、EXT 摂取群ともに約 3.3% (うち Mnt が約 64%) のオリゴ糖を含有した。一方、FO 摂取

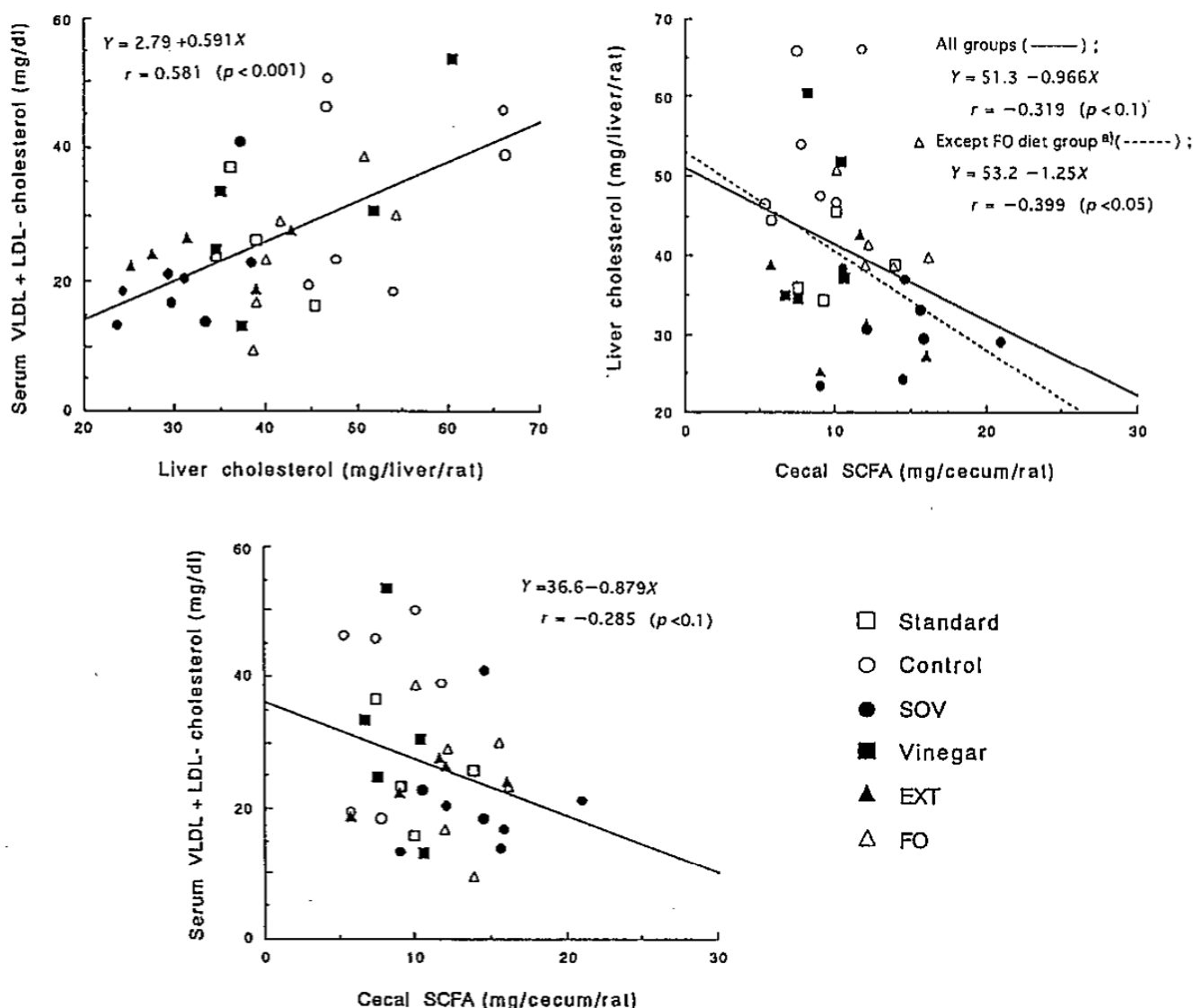


Fig. 3. Correlations between serum VLDL+LDL cholesterol level at a 5 week period, liver cholesterol content and cecal short-chain fatty acids (SCFA) content.

Each point is the value of individual rats ($n=35$). r , correlation coefficient. ^{a)} The cecal SCFA content in FO diet group was high level, but the liver cholesterol content at a 5 week period did not decreased (shown in Fig. 1).

群には飼料中約4.3%のFOが含まれたことから、本実験ではオリゴ糖の違いによる効果を単純比較することはできなかった。

まず、予備実験においてSOVを飼料中に20%添加した場合に動物に下痢や軟便の症状、飼料効率の低下が見られたが、10%の添加ではこれらに変化が認められなかったため、本実験ではあらかじめ予備飼育において10%相当の試料添加期間(1週間)を設け、動物をオリゴ糖や酢酸などの成分に馴化させた後、本飼育を開始する実験系を用いた。この系ではEXT摂取群およびFO摂取群において飼料摂取量に減少傾向が観察されたが、Vinegar摂取群には差異が認められなかった。このことより酢酸が嗜好性を低下させ、飼料摂取量に影響をもた

らすことはないと推測される。SOV摂取群でもFO摂取群と同様の結果であり、前述の結果と考えあわせるとSOV摂取における飼料摂取量の減少はオリゴ糖によるものと考えられる。またEXT摂取群ならびにFO摂取群に比べて、SOV摂取群では飼料効率が高い傾向を示したことから成長にはほとんど影響はないものと考えた。

コレステロール代謝に対するSOVの影響を調べたところ、対照群に比べてSOV摂取群の血清T-Chol値は低下傾向を示したが、血清HDL-Chol値に差異は認められなかった。本実験ではコレステロール無添加飼料を用いているため、外因性コレステロールの影響を考慮しないならば¹⁸⁾¹⁹⁾、T-CholからHDL-Cholを引いた値は肝臓で合成された内因性のコレステロール量と相関を有す

る²⁰⁾。便宜的にこの T-Chol-HDL-Chol を VLDL-および LDL-Chol と考えると、本実験においても肝臓コレステロール含量と血清中のこれらの値の間には有意な相関性が認められ (Fig. 3)、血清中 VLDL-と LDL-Chol の値は SOV 摂取群でのみ対照群に比べて飼育終了まで有意に低値であった (Fig. 1)。このことから SOV が内因性コレステロールの生成抑制に作用すると推定され、動脈硬化や虚血性心疾患予防の一助になりうる可能性が考えられる。

本実験では SOV 摂取群における糞便中への胆汁酸排泄量には対照群との有意な差が認められず、SOV がコレステロール代謝に及ぼす影響は上述した胆汁酸の排泄増加では説明できない。血清コレステロールの低下機作は糞便中へのコレステロールならびに胆汁酸の排泄増加以外に、胆汁酸合成の促進²¹⁾²²⁾、腸内発酵で産生される短鎖脂肪酸が脂質代謝に影響を及ぼすことなどがあげられている。なかでもプロピオン酸に関しては Chen ら²³⁾ の 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA synthase (HMG-CoA synthase) および HMG-CoA reductase 阻害、Nishina と Freedland²⁴⁾ の acetyl-CoA synthetase 阻害などいくつかの報告があり²⁵⁾、SOV 摂取によりこれらのメカニズムが同様に働き、コレステロール生合成の抑制の要因になったと考えられる。大豆オリゴ糖酢中のオリゴ糖成分が *Bifidobacterium* に選択的に資化され、腸内の *Bifidobacterium* の菌数を増加させることから¹¹⁾、腸内細菌の発酵生産物である短鎖脂肪酸の産生量に対しても影響を及ぼすことが推測された。そこで、本実験において試験終了後に盲腸内容物の短鎖脂肪酸含量を測定した結果、SOV 摂取群では酢酸、プロピオン酸をはじめとする短鎖脂肪酸量が対照群に比べて高値を示し、加えて肝臓コレステロール含量にも有意な低下が認められた。また EXT 摂取群でも SOV 摂取群と同様の結果が得られた。FO は血中の VLDL-および LDL-Chol を低下させる傾向を示した。一方、盲腸内容物中の短鎖脂肪酸量が SOV 摂取群とほぼ同じレベルであったにも関わらず、肝臓コレステロール含量に有意な低下は見いだせなかった。盲腸内の総短鎖脂肪酸量と肝臓コレステロール含量の相関性 ($p < 0.1$) は、肝臓コレステロール含量と血清中の VLDL+LDL-Chol 値の間に得られた相関性 ($p < 0.001$) に比べて明らかに低く、それゆえに盲腸内の総短鎖脂肪酸量と血清中 VLDL+LDL-Chol 値に直接の相関は認められなかった ($p < 0.1$)。また盲腸内のプロピオン酸量との相関も総短鎖脂肪酸量と同様であった (データは示していない)。さらに、肝臓でのコレステロール生合成の抑制効果を発揮するには生体内に存在されうる量以上のプロピオン酸が必要とされている²⁶⁾²⁷⁾。またプロピオン酸は水溶性食物繊維の血清コレステロール上昇抑

制ならびに低下作用の役目を果たしていない¹⁷⁾²⁸⁾と報告されている。さらにこの酸はコレステロールの体内での輸送に影響する²⁵⁾²⁹⁾³⁰⁾のみであるとの見解もある。これらの報告からプロピオン酸が肝臓におけるコレステロールの生合成を抑制することにより、血清コレステロール低下が起こるとはいえきれない。プロピオン酸がコレステロールから胆汁酸への異化反応を促進し²¹⁾、血清コレステロール低下が胆汁酸合成促進による²²⁾という報告がある。本実験では腸管内の胆汁酸や cholesterol 7 α -hydroxylase 活性への影響を検討していないので、肝臓においてコレステロールから胆汁酸への異化が促進された可能性が残されている。しかし本実験では大豆オリゴ糖酢の主要な糖が Mnt であることから、Mnt そのものがコレステロール生合成系に直接影響を及ぼしている可能性もある。

血清 TG に関しては SOV 摂取群でその値が最も低下した。このことは飼料摂取量すなわちエネルギー摂取量の減少が一因とも考えられるが、その低下量は飼料摂取量の差と比べて非常に大きく、明らかに血清 TG の生合成にも影響しているものと結論した。

非絶食下の通常血糖値は SOV 摂取群に有意な低下が認められ、高ショ糖食摂取による耐糖能低下³¹⁾³²⁾を予防することが期待された。同時に、体脂肪が減少傾向を示したことを考慮すると、インスリン分泌節約作用の可能性が推察される。加えて Vinegar 摂取群に血糖値低下の傾向が見られた点も興味深い結果である。醸造酢が血糖値を下げることは既に報告されており³³⁾³⁴⁾、本実験の結果もこれを支持するものといえる。

一方短鎖脂肪酸は pH が低下するほどすなわち非解離の状態ほど、吸収が増加し生理作用も増強される³⁵⁾³⁶⁾ことが報告されている。本実験でも盲腸内 pH が影響することで、上述したプロピオン酸の各種作用に差異が生じた可能性がある。また短鎖脂肪酸が空腸二糖類水解酵素活性の低下³⁷⁾³⁸⁾やホルモン分泌³²⁾³⁸⁾に関与していることも示唆されており、先の pH との関わりを含め、脂質代謝と糖代謝の関連をより総合的に検討する必要がある。また本実験では SOV 群に肝臓重量の減少が観察されたが、肝機能障害の指標となる血清 GOT および GPT 活性に影響を及ぼさなかったことから、SOV は長期にわたって摂取できるものと考えられる。

要 約

大豆オリゴ糖を発酵原料とした食酢のラット脂質代謝に及ぼす影響について、コレステロール・胆汁酸無添加飼料に粉末化した大豆オリゴ糖酢 (SOV) を添加して検討し、以下の結果を得た。

- 1) SOV 15% 添加飼料中の含有オリゴ糖成分は約

3.3%で、そのうち約64%がマンニトリオースであった。

2) SOV 摂取により血清総コレステロールが低下傾向を示し、血清中の VLDL+LDL-Chol (=T-Chol-HDL-Chol) ならびにトリアシルグリセロール値は有意に低値であった。

3) SOV 摂取により肝臓コレステロール含量は有意な低下を示したが、糞中総胆汁酸量には影響が認められなかった。

4) SOV 摂取により盲腸内容物中の総短鎖脂肪酸量は有意に高値を示した。

5) 肝臓コレステロール含量と5週目の血清中の VLDL+LDL-Chol 値には有意な相関が得られたが、盲腸内容物中の総短鎖脂肪酸量と肝臓コレステロール含量ならびに血清中の VLDL+LDL-Chol 値に対する相関性は傾向のみで有意な差は認められなかった。

文 献

- 1) 大南宏治, 奥田拓道: 基礎と臨床, 17, 1597 (1983)
- 2) 大南宏治, 松岡栄子, 奥田拓道: 基礎と臨床, 17, 2581 (1983)
- 3) 谷澤久之, 佐塚泰之, 小松(芹田)明子, 滝野吉雄: 栄食誌, 36, 283 (1983)
- 4) 大南宏治, 松岡栄子, 奥田拓道: 基礎と臨床, 19, 5177 (1985)
- 5) 藤野武彦, 有吉恭子, 牧角和宏, 金谷庄藏, 大倉洋甫: *J. Health Sci.*, 10, 85 (1988)
- 6) 柳田藤治: 日本醸造協会誌, 85, 134 (1990)
- 7) Tokunaga, T., Oku, T. and Hosoya, N.: *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 32, 111 (1986)
- 8) Ohtsuka, K., Tsuji, K., Nakagawa, Y., Ueda, H., Ozawa, O., Uchida, T. and Ichikawa, T.: *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 36, 265 (1990)
- 9) 岡崎昌子, 藤川茂昭, 松元信也: 栄食誌, 43, 395 (1990)
- 10) 河口 博: *New Food Ind.*, 31, 33 (1989)
- 11) 沖 裕治, 橋本 香, 松本貴至, 久保田昭正, 江本三男, 小橋恭一: 農化, 66, 772 (1992)
- 12) Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Roberts, P.A. and Smith, F.: *Anal. Chem.*, 28, 350 (1956)
- 13) 寺西啓容, 和田 博: 日本臨床, 47, 201 (1989)
- 14) 日本臨床化学分析部会酵素委員会: 生物試料分析, 5, 5 (1982)
- 15) Mashige, F., Tanaka, N., Maki, A., Kamei, S. and Yamanaka, M.: *Clin. Chem.*, 27, 1352 (1981)
- 16) 菅野道廣, 今泉勝巳: コレステロール, 15 (1986), 三共出版(東京)
- 17) 桐山修八: 食物繊維とオリゴ糖—その生理的機能と生産—(富田房男, 桐山修八編), 77 (1994), (北海道)
- 18) 有塚 勉, 田中勝三郎, 桐山修八: 栄食誌, 42, 295 (1989)
- 19) 若林 茂, 里内美津子, 野上義喜, 大隈一裕, 松岡 瑛: 栄食誌, 44, 471 (1991)
- 20) Goldstein, J.L. and Brown, M.S.: *Metabolism*, 26, 1257 (1977)
- 21) Imaizumi, K., Hirata, K., Yasni, S. and Sugano, M.: *Biosci. Biotech. Biochem.*, 56, 1894 (1992)
- 22) Story, J.A.: *Adv. Lipid. Res.*, 18, 229 (1981)
- 23) Chen, W.-J.L., Anderson, J.W. and Jennings, D.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 175, 215 (1984)
- 24) Nishina, P.M. and Freedland, R.A.: *J. Nutr.*, 120, 668 (1990)
- 25) Wright, R.S., Anderson, J.W. and Bridges, S.R.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 195, 26 (1990)
- 26) Illman, R.J., Topping, D.L., McIntosh, G.H., Trimble, R.P., Storer, G.B., Taylor, M.N. and Cheng Bing-Qin: *Ann. Nutr. Metab.*, 32, 97 (1988)
- 27) Topping, D.L.: *Nutr. Rev.*, 49, 195 (1991)
- 28) Beaulieu, K.E. and McBurney, M.I.: *J. Nutr.*, 122, 241 (1992)
- 29) Thacker, P.A., Salomons, M.O., Aherne, F.X., Milligan, L.P. and Bowland, J.P.: *Can. J. Anim. Sci.*, 61, 969 (1981)
- 30) Thacker, P.A., Bowland, J.P. and Fenton, M.: *Can. J. Anim. Sci.*, 62, 527 (1982)
- 31) 久保山昇, 並木芳一, 金子芳明, 石浜清美, 藤井 彰, 田村豊幸: 栄食誌, 43, 109 (1990)
- 32) 若林 茂, 植田由香, 大隈一裕, 松岡 瑛: 医学のあゆみ, 159, 945 (1991)
- 33) Ebihara, K. and Nakajima, A.: *Agric. Biol. Chem.*, 52, 1311 (1988)
- 34) 中島 昭, 海老原清: 栄食誌, 41, 487 (1988)
- 35) 坂田 隆: 食物繊維とオリゴ糖—その生理的機能と生産—(富田房男, 桐山修八編), 105 (1994), (北海道)
- 36) 矢島高二: 化学と生物, 25, 12 (1987)
- 37) Reddy, B.S., Pleasants, J.R. and Westmann, B.S.: *J. Nutr.*, 95, 413 (1968)
- 38) 海老原清, 桐山修八: 日食工誌, 37, 916 (1990)

(1995年4月6日受理)