

報 文

[*Nippon Nōgeikagaku Kaishi* Vol.63, No.10, pp.1599~1605, 1989]

バガスアルカリ抽出物の高コレステロール食摂取ラット
血清および肝臓脂質濃度に及ぼす影響

福田亘博*, 屋 宏典, 吉原稲穂, 町田真樹, 知念 功
(琉球大学農学部農芸化学科, *現在, 宮崎大学農学部農芸化学科)

(平成元年4月13日受理)

Effect of Bagasse Alkaline Extract on Serum and Liver Lipids
of Rats Fed High Cholesterol Diets

Nobuhiro FUKUDA*, Hirosuke OKU, Inaho YOSHIHARA, Maki MACHIDA
and Isao CHINEN

*Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, University
of the Ryukyus, Nishihara, Okinawa 903-01*

**Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture,
Miyazaki University, Miyazaki 889-21*

The hypocholesterolemic activity of bagasse powder and three different treatments of bagasse alkaline extract were studied in rats fed high cholesterol diets. The results are compared with the hypocholesterolemic activity of corn dietary fiber (CDF) and xylan. Treatments of 8% alkaline extracts of bagasse included: acid precipitation and freeze drying (A), ethanol precipitation and freeze drying (B-fd) and spray drying (B-sd).

Bagasse had no effect on serum and liver lipids levels. However, high cholesterol diets with bagasse extracts at 3% caused a significant reduction in the concentration of serum cholesterol without influencing food intake and growth. Fraction B-fd was most effective and fractions A and B-sd to a lesser extent, suggesting an activity loss during spray drying. Fraction B-fd also lowered hepatic cholesterol level. No apparent effect was observed on the other lipid classes in serum or liver. Dietary bagasse extracts did not alter the excretion of neutral and acidic steroids, suggesting that the reduction in serum and liver cholesterol levels was not mediated through steroid excretion. There were no apparent effects on serum and liver lipids levels after feeding xylan or CDF. However, in rats fed 6% CDF the excretion of both neutral and acidic steroids decreased significantly. These results demonstrated the usefulness of bagasse alkaline extract in rats to exert hypocholesterolemic activity.

(Received April 13, 1989)

緒 言

食物繊維 (DF) は、ヒトの消化酵素で消化されない食物中の難消化性成分の総体と定義づけられており⁽¹⁾, 血清コレステロール濃度低下⁽¹⁻³⁾, 大腸ガン発生抑制⁽⁴⁾あるいは耐糖能改善効果^(5,6)等の機能を有することが明らかにされてきている。これらの DF のなかで、高コレス

テロール血症改善効果を有する DF は、一般に水に可溶性のものが、難溶性多糖類よりもその効果が強いとされており^(1,2), ベクチン^(6,7)をはじめとしてコンニャクマンナン^(8,9)など数多くの DF が報告⁽²⁾されている。

一方、高コレステロール血症改善効果を有する DF でも原材料の形態では、血清コレステロール濃度低下効果はきわめて小さいか、あるいはほとんど期待できない

場合がある⁽¹⁰⁻¹⁴⁾。しかしながら、これらの原材料より希アルカリ抽出あるいは中性デタージェント溶液で抽出された画分 (Neutral detergent fiber ; NDF) には血清コレステロール濃度低下効果が観察されている^(10,14-16)。このようなことから、著者らは先に製糖副産物であるバガスより希アルカリ溶液で抽出された画分が、強い血清コレステロール濃度低下効果を有することを報告した⁽¹⁷⁾。

本研究では、バガスをそのままの形態で投与した場合の効果について検討し、さらにバガスアルカリ抽出画分の高コレステロール血症改善効果について追認することを目的とした。また、その他のいわゆる水不溶性 DF としてキシランおよびトウモロコシ食物繊維 (CDF) の高コレステロール血症改善効果についても検討した。

実験方法

1. バガスアルカリ抽出画分の調製 バガスは沖縄県経済連製糖工場より購入した。十分に水洗した後、風乾した。次いで、ウィリー粉碎器を用い、細粉した後、0.25 mm の篩を通したものを試料とした。バガスアルカリ抽出物の調製は、前報に準じて行った⁽¹⁷⁾。すなわち、バガス粉末は直接 8% カセイソーダ溶液 (W/V) で一夜浸漬した後、濾過により未消化の残渣を除き、さらに遠心により清澄な上清を得た。上清液は、pH 4.5 に酢酸を用い調製し、一夜放置後得られる沈澱を画分 A とし、遠心により分離した。次いで、その上清液に等容のエタノールを加え、得られる沈澱を画分 B とした。両画分とも 50% エタノールで数回洗浄・遠心した後、画分 A は凍結乾燥し飼料とした。

一方、画分 B は凍結乾燥 (freeze dry ; fd) あるいは噴霧乾燥 (spray dry ; sd) し、飼料とした。キシラン (ラク；ヘミセルロース含量、95%) およびトウモロコシ食物繊維 (CDF) はそれぞれ生化学工業および日本食品化工より購入した。

2. 実験動物および飼料 実験動物はウィスター系雄ラット (琉球バイオテック、沖縄) を用いた。飼料組成は Table I に示すように、実験 I では 1% コレステロールおよび 0.25% コール酸ナトリウムを含む飼料を、実験 II および III では 0.5% コレステロールおよび 0.15% コール酸ナトリウムを含む高コレステロール食を与えた。実験 I ではセルロース 5% にバガスおよび画分 A をそれぞれ 5% レベルで添加した。なお、コント

Table I. Composition of Diet (%)

Casein	20
Fat Lard	9
Corn oil	1
Cellulose	4 or 5
Mineral mixture*	4
Vitamin mixture*	1
Choline chloride	0.15
Cholesterol	0.5 or 1.0
Sodium cholate	0.15 or 0.25
Test material	3, 5 or 6
Sucrose	to 100

* Harper mixture.

ロール群にはセルロース 5% 含む飼料を与えた。実験 II および III ではセルロース 4% に画分 B-fd, CDF およびキシランをそれぞれ 3% レベルで添加し、また実験 III では画分 A, B-sd および B-fd をそれぞれ 3% で、また CDF を 6% レベルで添加した。なお、コントロール群には 4% セルロースを含む飼料を与えた。いずれの実験も 2 週間飼育し、試料および水は自由に摂取させた。飼育後、断頭屠殺し血清および肝臓脂質について分析した。

3. 脂質成分の分析法 血清および肝臓脂質は Folch らの方法⁽¹⁸⁾により抽出、純化した後、トリグリセリド、コレステロールおよびリン脂質はそれぞれ Fletcher 法⁽¹⁹⁾、Sperry & Webb 法⁽²⁰⁾および Rouser 法⁽²¹⁾により定量した。実験 II および III では、糞中の中性および酸性ステロイド量を測定するため、屠殺前 1 日間糞を採取し、凍結乾燥後、前報に準じて定量した⁽¹⁷⁾。

4. 統計処理法 結果はすべて一元配置分散分析を行い、有意差の検定を行った⁽²²⁾。

実験結果

1. 動物の成長および肝臓重量

Table II に示すように、いずれの実験でもラットの体重増加および摂食量に及ぼすバガス粉末およびバガスアルカリ抽出の 3 画分による影響は観察されなかった。一方、肝臓重量はいずれの抽出画分でも低下する傾向にあり、実験 II および III ではそれぞれ有意な低下が観察された。トウモロコシ食物繊維 (CDF) 摂取群では、摂食量は実験 II の 3% レベルで増加傾向が観察され、実験 III の 6% レベルで有意な増加が観察され、また体重増加量も高い傾向にあった。しかしながら、肝臓重量にはコント

Table II. Growth Parameter and Liver Weight

Diets		Body weight		Food intake (g/day)	Relative liver weight (g/100 g body wt)
		Initial (g)	Gain (g/14 days)		
Expt. I					
Control	(6)	149±3	100±3	17.4±0.3	5.0±0.2
Bagasse	(6)	149±3	100±4	17.1±0.7	4.8±0.1
Fraction A	(6)	149±3	94±4	17.0±0.3	4.6±0.1
Expt. II					
Control	(5)	154±5	73±5	15.7±0.8	6.1±0.1
Fraction B-freeze dry	(5)	154±3	70±3	15.4±0.4	5.5±0.1**
Corn dietary fiber	(5)	154±5	78±1	17.2±0.3	6.0±0.1
Xylan	(5)	154±4	78±4	16.4±0.5	5.6±0.1
Expt. III					
Control	(5)	179±5	85±3	17.4±0.3	5.4±0.1
Fraction A	(5)	179±3	79±3	16.7±0.4	4.9±0.1**
Fraction B-freeze dry	(5)	179±2	75±3	16.1±0.3	4.7±0.1**
Fraction B-spray dry	(5)	177±5	77±6	16.5±0.9	4.8±0.1**
Corn dietary fiber	(5)	177±5	95±6	19.3±1.1*	5.2±0.1

Numbers in parentheses represent the number of rats and results are expressed as the mean±SE.

*** Significantly different from the corresponding control group at $p<0.05$ and $p<0.01$, respectively.

Table III. The Concentration of Serum Lipids

Diets		Cholesterol			Triglyceride (mg/dl)	Phospholipid
		Total	Free (mg/dl)	E(%)		
Expt. I						
Control	(6)	553.8±44.6	85.1±5.3	84.5±0.7	163.9±26.3	263.1±16.2
Bagasse	(6)	670.8±45.8	109.5±3.7	83.0±1.3	179.9±43.4	305.1±7.7
Fraction A	(6)	439.1±34.9	75.6±7.6*	82.7±1.4	206.0±34.7	261.5±17.7
Expt. II						
Control	(5)	337.7±16.5	53.0±5.2	83.4±0.9	163.9±22.3	193.4±7.9
Fraction B-freeze dry	(5)	266.3±9.7*	39.3±0.7*	85.2±0.5	170.8±31.2	190.3±5.5
Corn dietary fiber	(5)	322.8±23.3	48.3±3.2	85.0±0.1	144.2±30.8	190.3±9.6
Xylan	(5)	346.2±15.9	49.0±3.1	85.9±0.4	99.6±13.6	193.4±4.1
Expt. III						
Control	(5)	640.6±71.8	84.6±8.5	86.7±0.6	171.0±48.3	172.2±16.7
Fraction A	(5)	473.7±39.2**	60.9±6.1**	87.2±0.5	107.2±9.7	124.3±18.1**
Fraction B-freeze dry	(5)	401.8±16.0**	56.2±1.8**	86.0±0.2	153.0±15.4	113.9±10.3**
Fraction B-spray dry	(5)	499.8±31.5*†	66.5±4.4*	86.7±0.1	139.6±14.8	137.5±5.4*
Corn dietary fiber	(5)	712.2±51.7	92.2±6.9	87.1±0.2	119.3±13.0	164.4±8.5

Numbers in parentheses represent the number of rats and results are expressed as the mean±SE.

*** Significantly different from the corresponding control group at $p<0.05$ and $p<0.01$, respectively.

† Significantly different from the fraction B-freeze dry group at $p<0.05$.

ロール群と差異はなかった。一方、キシラン摂取群では、体重増加および摂食量はコントロール群と差異は認められなかったが、肝臓重量は低下する傾向にあった。

2. 血液および肝臓脂質濃度に及ぼす影響

血清脂質濃度を Table III に示す。バガス粉末をその

ままの形態で5% レベルで摂取させた場合、血清総コレステロール濃度は、コントロール群との間に差異はなかった。一方、バガスを希アルカリ溶液に浸漬し、抽出した画分 (A, B-fd および -sd) を3% レベルで摂取させた場合、いずれの実験でも明らかに血清総コレステロー

ル濃度は低下した。これら3画分摂取による低下の程度は、実験Ⅲで示すように画分 B-fd 摂取群で最も大きく、次いでAおよび B-sd の順であった。一方、遊離型コレステロール濃度でも総コレステロールにおける変化と一致した応答を示し、したがってエステル比は各群間でほぼ同一であった。これらの結果は、前報での画分Aおよび B-fd の効果を比較した結果⁽¹⁷⁾とよく一致しており、バガスアルカリ抽出画分の高コレステロール血症改善効果が追認された。一方、画分Bの噴霧乾燥処理 (B-

sd) は凍結乾燥標品 (B-fd) に比べ、有意に高値を示した ($p < 0.05$)。トリグリセリド濃度に及ぼす影響は、いずれの実験でも明確でなかったが、リン脂質濃度は実験Ⅲでのみ、いずれのアルカリ抽出画分でも有意な低下が観察された。

一方、キシラン摂取による血清脂質濃度に及ぼす影響は観察されなかったが、CDF 摂取群では6% レベルでコレステロール濃度はコントロール群に比べ増加する傾向にあった。

Table IV. The Concentration of Liver Lipids

Diets		Cholesterol			Triglyceride	Phospholipid
		Total	Free (mg/g liver)	E(%)		
Expt. I						
Control	(6)	57.1±0.6	3.4±0.1	94.4±0.2	39.1±3.0	24.4±0.8
Bagasse	(6)	65.7±3.4	3.4±0.1	94.8±0.2	34.4±3.2	25.1±0.5
Fraction A	(6)	54.5±4.5	3.2±0.3	94.2±0.1	41.8±7.2	25.8±1.3
Expt. II						
Control	(5)	33.2±1.8	2.4±0.1	92.7±0.4	24.5±5.5	25.5±1.2
Fraction B-freeze dry	(5)	26.8±1.8*	1.9±0.3	92.5±1.5	35.5±3.5	24.7±3.1
Corn dietary fiber	(5)	34.6±1.0	2.4±0.1	93.2±0.2	39.8±4.3	26.8±0.5
Xylan	(5)	28.5±1.1	2.1±0.1	92.5±0.6	47.0±12.3	23.1±3.1
Expt. III						
Control	(5)	39.2±2.1	2.9±0.1	92.5±0.9	26.9±3.9	26.1±0.3
Fraction A	(5)	40.7±1.3	2.8±0.1	93.2±0.3	24.8±2.8	26.6±0.5
Fraction B-freeze dry	(5)	32.2±1.5*	2.6±0.1	92.0±0.6	25.6±2.3	26.9±0.7
Fraction B-spray dry	(5)	34.9±1.7	2.7±0.1	92.3±0.2	29.6±2.5	27.9±0.5
Corn dietary fiber	(5)	45.4±1.3	2.9±0.1	93.7±0.1	21.5±1.4	27.2±0.7

Numbers in parentheses represent the number of rats and results are expressed as the mean±SE.

*** Significantly different from the corresponding control group at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively.

Table V. The Excretion of Neutral and Acidic Steroids into Feces

Groups		Feces (g/day)	Neutral steroids			Acidic steroids (mg/day)
			Copro	Chol (mg/day)	Total	
Expt. II						
Control	(5)	1.1±0.1	6.8±3.1	28.1±2.1	34.9±4.3	36.3±3.5
Fraction B-freeze dry	(5)	1.3±0.1	1.4±1.1	29.2±3.7	30.6±3.2	27.5±2.8
Corn dietary fiber	(5)	1.6±0.1**	9.2±1.2	29.8±2.9	39.0±3.8	35.3±3.0
Xylan	(5)	1.4±0.1*	2.1±1.1	30.0±1.7	32.1±2.7	34.5±3.0
Expt. III						
Control	(5)	0.9±0.1	12.6±2.1	21.8±2.6	34.4±1.5	29.1±3.5
Fraction A	(5)	1.2±0.1	13.4±1.3	26.8±3.7	40.4±3.6	22.8±3.0
Fraction B-freeze dry	(5)	0.9±0.1	8.5±1.8	18.4±2.5	26.9±1.9	23.4±2.5
Fraction B-spray dry	(5)	1.2±0.2	11.5±2.5	23.7±2.9	35.2±3.0	29.7±9.3
Corn dietary fiber	(5)	2.1±0.2**	5.0±1.9**	12.1±2.0*	17.1±3.8**	17.5±1.9*

Numbers in parentheses represent the number of rats and results are expressed as the mean±SE.

*** Significantly different from the corresponding control group at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively.

肝臓脂質濃度を Table IV に示す。肝臓脂質濃度に及ぼす各種試料の影響は、実験ⅡおよびⅢの結果から明らかのように画分 B-fd 摂取群でのみ観察され、肝臓総コレステロール濃度は低下した。一方、その他の脂質濃度に及ぼす影響は観察されなかった。なお、CDF を 6% レベルで摂取したラットでは肝臓コレステロール濃度は増加する傾向にあった。

3. 糞中の中性および酸性ステロイド量

糞重量は、Table V に示すようにバガスアルカリ抽出の 3 画分ではコントロール群との間に差異はなく、また画分 B の処理方法による影響も観察されなかった。一方、キシランおよび CDF 摂取群では糞重量は有意に増加した。

糞中の中性および酸性ステロイド量は、アルカリ抽出の 3 画分摂取による実験ⅡおよびⅢともコントロール群との間に差異はなかった。また、糞重量の増加したキシラン摂取群でもステロイド量の排泄増加は観察されなかった。一方、CDF 摂取群では 6% レベルで逆に中性および酸性ステロイドの排泄は有意に減少した。

考 察

本研究において、バガスをそのままの形態でラットに摂取させた場合、血清コレステロール濃度低下効果は観察されなかった。一方、バガスより希アルカリ溶液により抽出した画分では血清コレステロール濃度の低下効果が観察された (Table III)。これらの結果は、前報での結果⁽¹⁷⁾とよく一致した。現在まで、このようにバガスより希アルカリ溶液で抽出した画分について血清コレステロール濃度低下効果を検討した報告は見当たらないようである。

バガスは物理的に粉末化した後、ヒト⁽²³⁾あるいはラット⁽²⁴⁾に投与した場合、いずれも糞重量は増加するようであるが、血清コレステロール濃度低下に対して効果がないことが報告されている。したがって、これらの結果および本実験での結果から判断して、バガス中の血清コレステロール濃度低下効果を有する活性画分は、希アルカリ処理により可溶化することが必須であると考えられた。このような例は、米ヌカ、小麦フスマあるいはトウモロコシ外皮を投与した実験でも観察^(10,12,14,15)されており、綾野らのグループにより詳細な比較研究が行われている。米ヌカ、小麦フスマあるいはトウモロコシ外皮ではヒトおよびラットのいずれの実験でも、血清コレステ

ロール濃度低下に対して否定的な結果が報告されている⁽¹⁰⁻¹⁴⁾。本実験においてもトウモロコシ外皮より調製した CDF では、6% レベルで低下効果は観察されなかった。一方、先の米ヌカ、小麦フスマあるいはトウモロコシ外皮を中性デタージェント溶液あるいは希アルカリ溶液で処理し、得られたヘミセルロース標品を 0.1~0.5% レベルで投与した飼料を摂取した高コレステロール食ラットでは明確な血清コレステロール濃度低下効果が観察されている^(10,14-16)。綾野らは、このような結果および米ヌカ、トウモロコシ外皮の DF の走査電顕^(10,14,16)による観察から、これらのアルカリ抽出により調製したヘミセルロース画分は細胞壁成分として存在するため、デンプンあるいはタンパク質で覆われており、また消化酵素の作用を受けにくい、細胞壁成分に含まれたまま降コレステロール効果を発揮せず糞中へ排泄されていると考えている。また、同時に米ヌカおよび小麦フスマの作用物質であるヘミセルロースはそれらの構成糖よりアラビノキシランであると推定している^(10,15,25)。

これらのことから、バガスアルカリ抽出画分の調製は彼らの方法と若干異なっており比較するのが困難であるが、画分 B-fd の主成分はキシロースを主鎖とするアラビノキシランと考えられることおよび血清コレステロール濃度低下効果が 0.5% レベルで観察⁽¹⁷⁾されることから、類似の作用物質であろうと考えている。現在、画分 B について未同定成分がかなり含まれており、精製法も含めてその組成について詳細に検討している。

噴霧乾燥は食品工業において大量の試料を調製する際汎用される燥作である。本研究において、画分 B の調製に適用したが、血清コレステロール濃度低下効果はかなり減少するようであった (Table III)。この結果は、作用本体が噴霧乾燥時に短時間であるが高温下にさらされるため、ある程度不活性化あるいは失活した可能性を示すものと考えられ、したがって噴霧乾燥処理は画分 B の調製には必ずしも適していないことが示唆された。

キシランは、Hashi らによりラットを用い血清コレステロール濃度低下効果を有することが報告⁽²⁶⁾されているが、一方辻らは逆に否定的な結果を報告している⁽⁹⁾。本研究において、3% レベルでは血清コレステロール濃度低下効果は観察されなかった。このような結果は、おそらくはキシランの添加量も含めた飼料組成あるいは原材料の違いによると考えられるが、詳細は明らかでない。

DF による血清コレステロール濃度低下の機序は必ずしも明確ではないが、中性あるいは酸性ステロイドの糞中への排泄増加を介して引き起こされる⁽²⁷⁻²⁹⁾。本研究において、アルカリ抽出の3画分による糞中の中性および胆汁酸の排泄に及ぼす影響は観察されなかった (Table V)。In vitro におけるこれらの画分と胆汁酸との結合能はほとんど認められなかったこと⁽¹⁷⁾から、アルカリ抽出画分による中性および酸性ステロイドの排泄が、血清コレステロール濃度低下の主因でないことを示唆するのかもしれない。しかしながら、辻らは血清コレステロール濃度低下効果が観察された DF で、その種類により必ずしも糞中の中性あるいは酸性ステロイドの排泄増加を伴わない場合があることを指摘しており、大腸内でのコレステロールの貯留を考慮に入れる必要があると述べている⁽⁹⁾。この点に関して、青江らは米スカヘミセルローズ摂取ラットにおいて、血清コレステロール濃度低下を観察しているが、糞中の中性および酸性ステロイド量はコントロール群と明確な差異はないが、大腸内のこれらステロイド量は有意に増加したことを報告している⁽¹⁵⁾。これらの結果は、本研究におけるアルカリ抽出物による血清コレステロール濃度低下の機序は、現在のところ明確ではないが、さらに消化管内に貯留されているステロイド量について検討する必要があることを示唆している。

一方、CDF を 6% レベルで投与した場合、糞中の中性および酸性ステロイド量は逆に有意に減少した。血清および肝臓のコレステロール濃度はいずれも増加する傾向にあることから、コレステロールの吸収増加の可能性が考えられたが、詳細は明らかでない。

以上のように、バガスをそのままの形態では血清コレステロール濃度低下効果を示さないが、希アルカリ処理により抽出された画分とくに画分 B-fd には強い高コレステロール血症改善効果を有することがさらに明確になった。バガスは現在のところ、肥料あるいは動物飼料として有効利用が試みられているにすぎず、大部分は製糖工場で用いる燃料の補助として用いられている。これらのことは、もしバガスが血清脂質像改善の機能を有する DF としての用途が開発されるならば、きわめて有用なことを考えられた。

要 約

高コレステロール食ラットの血清および肝臓脂質濃度

に及ぼすバガスおよびバガスアルカリ抽出物の影響を調べた。また、トウモロコシ食物繊維 (CDF) およびキシランの影響についても検討した。

バガスはそのままの形態では、血清コレステロール濃度低下に対して効果はなかったが、バガスより希アルカリ溶液で抽出し、調製した3つの画分 (それぞれ、画分 A (酸沈澱)、B-fd (エタノール沈澱-凍結乾燥)、B-sd (エタノール沈澱-噴霧乾燥)) には血清コレステロール濃度低下効果が観察された。低下の程度は画分 B-fd で最も大きく、画分 A および B-sd の順であった。肝臓コレステロール濃度の低下は、画分 B-fd 群でのみ観察された。血清および肝臓のその他の脂質成分に及ぼす影響は必ずしも明確でなかった。糞中への中性および酸性ステロイドの排泄は、血清コレステロール濃度低下が観察されたいずれの群でも増加しなかった。

キシランおよび CDF 投与による血清および肝臓脂質濃度に及ぼす影響は必ずしも明確ではなかったが、CDF 6% 摂取群では糞中へ排泄される中性および酸性ステロイドは減少した。

以上のように、バガス希アルカリ抽出画分は血清コレステロール濃度低下効果を有することが確認され、とくに画分 B-fd 群ではさらに肝臓でのコレステロール濃度の低下も観察された。このような血清コレステロール濃度低下の機序は、糞中への中性あるいは酸性ステロイド排泄増加を伴わず、その他の要因が考えられた。

- (1) 桐山修八：化学と生物, 18, 95 (1980).
- (2) 辻 啓介：「食物繊維」, 印南 敏, 桐山修八編, 第一出版, 1985. p. 131.
- (3) J. W. Anderson and W. J. L. Chen : *Am. J. Clin. Nutr.*, 32, 346 (1979).
- (4) T. A. Barbolt and R. Abraham : *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 157, 656 (1978).
- (5) K. Ebihara, R. Matuhara and S. Kiriya : *Nutr. Rep. Int.*, 23, 577 (1981).
- (6) A. Keys, F. Grande and J. T. Anderson : *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 106, 555 (1961).
- (7) E. Karvinen and M. Miettinen : *Acta Physiol. Scand.*, 72, 62 (1968).
- (8) 辻 啓介, 大島秀美子, 松崎悦子, 中村敦子, 印南 敏, 手塚朋通, 鈴木慎次郎 : 栄養学雑誌, 26, 113 (1968).
- (9) S. Kiriya, Y. Okazaki and A. Yoshida : *J. Nutr.*, 97, 382 (1969).
- (10) 横野雄幸, 太田富貴雄, 渡辺幸雄, 三田浩三, 中村 強 : 「食物繊維-食品学・栄養学的アプローチ」, 印南 敏, 井上五郎, 五島雄一郎, 細

- 谷憲政, 吉田 昭, 桐山修八編集, 篠原出版, 1983, p.201.
- (11) A. C. Tsai, J. Elias, J. J. Kelley, R.-C. C. Lin and J. R. K. Robson : *J. Nutr.*, **106**, 118 (1976).
- (12) 海老原清, 平尾昭彦, 桐山修八 : *農化*, **52**, 401 (1978).
- (13) W. Y. Lee, M. R. Bennink and W. L. Chenoweth : *Cereal Chem.*, **56**, 279 (1979).
- (14) 綾野雄幸, 太田富貴雄, 渡辺幸雄, 中村 強, 滝沢まゆみ : *栄養と食糧*, **35**, 431 (1982).
- (15) 青江誠一郎, 太田富貴雄, 綾野雄幸 : *日本栄養・食糧学会誌*, **42**, 55 (1989).
- (16) 綾野雄幸, 太田富貴雄, 渡辺幸雄, 三田浩三 : *栄養と食糧*, **33**, 283 (1980).
- (17) H. Oku, N. Fukuda, M. Mori, M. Kinjyo, H. Motono and I. Chinen : *Nutr. Rep. Int.*, **38**, 843 (1988).
- (18) J. Folch, M. Lees and G. H. Sloane-Stanley : *J. Biol. Chem.*, **226**, 497 (1957).
- (19) M. J. Fletcher : *Clin. Chim. Acta*, **22**, 393 (1968).
- (20) W. M. Sperry and M. Webb : *J. Biol. Chem.*, **187**, 97 (1950).
- (21) G. Rouser, A. N. Siakotos and S. Fleisher : *Lipids*, **1**, 85 (1966).
- (22) G. W. Snedecor and W. G. Cochran : "Statistical Methods," 6th edition, Iowa State University Press, Ames, Iowa. 1967, p. 258.
- (23) R. L. Walters, I. McLean Baird, P. S. Davies, M. J. Hill, B. S. Drasar, D. A. T. Southgate, J. Green and B. Morgan : *Brit. Med. J.*, **7**, 536 (1975).
- (24) B. Morgan, M. Heald, S. D. Atkin and J. Green : *Brit. J. Nutr.* **32**, 447 (1974).
- (25) 青江誠一郎, 太田富貴雄, 綾野雄幸 : *日本栄養・食糧学会誌*, **41**, 203 (1988).
- (26) M. Hashi and T. Takeshita : *Mokuzai Gakkaishi*, **19**, 101 (1973).
- (27) M. Sugano, T. Fujikawa, Y. Hiratsuji, K. Nakashima, N. Fukuda and Y. Hasegawa : *Am. J. Clin. Nutr.*, **33**, 787 (1980).
- (28) R. M. Kay and A. S. Truswell : *Brit. J. Nutr.*, **37**, 227 (1977).
- (29) T. A. Mietinen and S. Tarpila : *Clin. Chim. Acta*, **79**, 471 (1977).