乳酸発酵オカラ豆乳のラット血漿 コレステロール低下作用

高脂血症の8割以上は、生活習慣に関係した原因が重なって発症してくるものである。その原因は、過食、高脂肪食、運動不足などの悪い生活習慣や、それによる肥満が上げられる。従って、食事に関係する要因が一番多い。幸いにも大豆食品に含まれる大豆タンパク質に、血漿脂質濃度上昇抑制作用が報告されている中で、筆者らはオカラの機能性に着目し、オカラに血中コレステロール濃度上昇抑制効果があることを報告している。今回、さらに豆乳の一部をオカラで代替えた発酵オカラ豆乳が、高脂血症予防に効果を認めたので、解説して頂いた。

北 脇 涼 子

1. はじめに

食生活の欧米化に伴い、生活習慣病の中でも男性の高脂血症患者数は増加傾向にある¹⁾。日本型食事で摂取量の多い大豆食品に含まれる大豆タンパク質に血漿脂質濃度上昇抑制作用が報告²⁾されているので、近年摂取量が減少傾向にある大豆食品の摂取促進が高脂血症予防対策として必要である。著者らは大豆食品製造過程の副産物であるオカラの機能性に着目し、オカラの血中コレステロール濃度上昇抑制効果を認めた³⁾。最近注目される大豆食品の中では豆乳を乳酸発酵させた「豆乳ヨーグルト」があり、その血清脂質代謝に及ぼす影響についてラット⁴⁾およびヒトで報告されている⁵⁾。そこで、オカラの有効利用と豆乳ヨーグルトの機能性向上を目的として素材である豆乳の一部をオカラで置換し、植物性乳酸菌で発酵させて「発酵オカラ豆乳」を作製した。本研究では、当該食品の抗コレステロール効果の有効性についてラットを用いた動物実験によって検討した。

2. 発酵豆乳・発酵オカラ豆乳

実験用試料である発酵豆乳および発酵オカラ豆乳（豆乳とオカラの混合比は乾燥重量換算で2:1）はマルサンアイ株式会社（愛知県岡崎市）が作製した。豆

乳または豆乳・オカラ混合物を植物性発酵食品起源の乳酸菌（*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Delbrueckii* 菌株 SNC 33）によって15時間発酵させてヨーグルト状態とした。豆乳に添加するオカラは乾燥後微細化したものを用いた。オカラを微細化することにより、乳酸発酵時に滑らかな食感と、離水の少ない物性の発酵オカラ豆乳が得られた。動物実験には上記試料を凍結乾燥したもの（水分5%）を用いた。これらの大豆食品、乳酸発酵大豆食品の成分組成を固形物換算で第1表に示した。分析値はマルサンアイ株式会社で求めた値を使用した。その他の飼料原料は日本クレア株式会社および和光純薬工業株式会社より購入したものを用了。

第1表 凍結乾燥豆乳、発酵豆乳、発酵オカラ豆乳の組成（%）

成分	豆乳	発酵豆乳	発酵オカラ豆乳
たんぱく質	42.0	44.0	37.8
脂質	37.8	37.5	31.2
糖質	2.7	2.3	4.0
食物繊維	11.2	9.9	21.1
灰分	6.3	6.3	5.9

Effects of Soymilk and Okara Treated by Lactic Fermentation on Plasma-Cholesterol Lowering in Rats
Ryoko KITAWAKI (School of Human Environmental Sciences, Mukogawa Women's University)

3. 実験動物および飼育条件

5週齢のSprague-Dawley系雄性ラットを日本クレア株式会社から購入し実験に供した。本実験の基準飼料はAIN-93の組成に従って調製した(第2表)。対照群(n=7;以下CO群)は基準飼料に1%コレステロール, 0.25%コール酸ナトリウムを添加した飼料を摂取させた。豆乳投与群(n=7;以下SM群), 発酵豆乳投与群(n=7;以下SY群)および発酵オカラ豆乳投与群(n=7;以下SO群)はCO群飼料の20%を各々乾燥豆乳, 発酵豆乳, 発酵オカラ豆乳で置換した。第2表のCO群, SM群, SY群およびSO群の各飼料については第1表に示した乾燥豆乳, 乾燥発酵豆乳, 乾燥発酵オカラ豆乳の組成を用いて, 総エネルギー, タンパク質, 脂質, 食物繊維の組成が等しくなるように調整した。ラットを個別に金網ケージに入れ, 室温 $23\pm1^{\circ}\text{C}$, 湿度 $55\pm7\%$ の環境下において12時間の明暗サイクル(明期8:00-20:00)で自由摂食, 自由摂水させた。基準飼料で2週間の予備飼育の後, 各群の飼料を6週間投与して計8週間飼育した。採血は15時間の絶食後午前9時よりエーテル麻酔下で尾部動脈よりヘパリン採血を行った。飼育終了日に

はエーテル麻酔下で絶命直後, 肝臓と盲腸を摘出して湿重量を測定後分析時まで -80°C で保存した。なお, 本動物実験は武庫川女子大学動物実験指針に基づいて実施した。

4. 分析方法

血漿中の総コレステロール, HDL-コレステロール, トリグリセリドはそれぞれ市販の測定キットであるコレステロールE-テストワコー, HDL-コレステロールE-テストワコー, トリグリセリドE-テストワコー(和光純薬工業株式会社)を用いて測定した。肝臓脂質はFolchら⁹⁾の方法に従い, クロロホルム-メタノール溶液で抽出した後, 溶媒除去して粗脂肪とした。抽出した粗脂肪を5%のTritonX-100を含むイソプロパノールに溶解後, 血漿成分分析と同様のキットを用いて肝臓総コレステロールおよびトリグリセリド量を測定した。

5. 統計処理

各実験結果は平均値 $\pm$ 標準誤差(mean $\pm$ SE)で示した。有意差検定は多群間の比較にはTukeyの多重比較検定を行い, $p<0.05$ で統計的に有意とした。

第2表 実験飼料の成分(重量%)

原料	群			
	CO	SM	SY	SO
ミルクカゼイン ¹	20.0	10.8	10.3	11.7
コーンスターチ ¹	38.9	36.8	37.0	36.2
α 化コーンスターチ ¹	13.2	12.3	12.3	12.3
グラニュー糖 ¹	10.0	10.0	10.0	10.0
精製大豆油 ¹	7.0	1.0	1.1	2.2
セルロースパウダー ¹	5.0	2.8	3.0	0.8
ミネラルmix(AIN-93 G-MX) ¹	3.5	3.5	3.5	3.5
ビタミンmix(AIN-93-VX) ¹	1.0	1.0	1.0	1.0
コレステロール ²	1.0	1.0	1.0	1.0
コール酸ナトリウム ²	0.25	0.25	0.25	0.25
L-シスチン ²	0.3	0.3	0.3	0.3
重酒石酸コリン ²	0.25	0.25	0.25	0.25
t-ヒドロキノン ²	0.0014	0.0014	0.0014	0.0014
乾燥豆乳 ³	0	20	0	0
乾燥発酵豆乳 ³	0	0	20	0
乾燥発酵オカラ豆乳 ³	0	0	0	20
計	100	100	100	100

CO, 対照群; SM, 豆乳群; SY, 発酵豆乳群; SO, 発酵オカラ豆乳群

¹ 日本クレア株式会社, ² 和光純薬工業株式会社, ³ マルサンアイ株式会社

第3表 体重、肝臓重量、盲腸重量、および摂餌効率に及ぼす影響

群	初期体重 (g)	最終体重 (g)	肝臓 (g/体重 100 g)
CO	273.7±4.9 ^a	563.1±11.5 ^a	5.7±0.2 ^a
SM	273.4±3.7 ^a	566.2±12.4 ^a	5.1±0.2 ^a
SY	273.2±6.9 ^a	544.2±10.5 ^a	5.1±0.2 ^a
SO	280.1±3.7 ^a	562.7±11.5 ^a	5.4±0.2 ^a

群	盲腸 (g/体重 100 g)	摂餌効率 (体重増加量 g/摂餌量 g)
CO	0.8±0.0 ^a	0.46
SM	0.9±0.1 ^{ab}	0.50
SY	1.0±0.1 ^b	0.47
SO	0.8±0.0 ^{ab}	0.47

CO, 対照群; SM, 豆乳群; SY, 発酵豆乳群; SO, 発酵オカラ豆乳群

* 値は平均値±標準誤差で示した (n=7)

* ^{a,b}: 各群間の多重比較検定結果 (Tukey's multiple comparison, p<0.05).

6. 考 察

(1) 体重、組織重量、摂餌効率

群分け後の体重、飼育終了時の体重、肝臓、盲腸の重量および飼育期間中の摂餌効率について第3表に示した。体重と肝臓重量は各群間で有意な差は認められず摂餌効率も群間の差異が認められなかった。盲腸重量はSY群でのみ有意に増加したが、SO群では増加しなかった。

(2) 血液成分

血漿成分値を第4表に示した。群分け後2週目および4週目の血漿総コレステロール濃度はCO群>SM群>SY群>SO群の順になり、両時期にCO群と比較してSO群で有意に低値を示した。SY群では2週目で有意に低値だが、4週目には有意差が認められなかった。HDLコレステロール濃度に群間の有意差は認められなかった。動脈硬化指数は対照群に対してSO群で有意に低値を示したが、SY群で有意差は認

第4表 血漿脂質濃度に及ぼす影響

群	総コレステロール(mg/dl)			HDL-コレステロール(mg/dl)		
	0週	2週	4週	0週	2週	4週
CO	70.4±3.5 ^a	69.2±3.8 ^a	79.0±7.1 ^a	45.6±2.1 ^a	29.4±1.7 ^a	27.5±1.3 ^a
SM	70.6±3.6 ^a	57.5±4.3 ^{ab}	65.3±5.7 ^{ab}	46.7±2.6 ^a	24.4±1.8 ^a	23.4±0.5 ^a
SY	70.5±3.5 ^a	52.5±1.6 ^b	63.7±4.5 ^{ab}	47.9±3.4 ^a	29.5±3.3 ^a	26.6±1.8 ^a
SO	70.6±3.5 ^a	44.8±3.0 ^b	56.6±3.1 ^b	48.1±3.3 ^a	27.5±2.0 ^a	27.5±1.2 ^a

群	トリグリセライド(mg/dl)			動脈硬化指数		
	0週	2週	4週	0週	2週	4週
CO	134.2±13.7 ^a	92.0±8.6 ^a	87.7±9.0 ^a	0.6±0.1 ^a	1.4±0.2 ^a	1.9±0.2 ^a
SM	112.0± 9.6 ^a	81.2±7.9 ^{ab}	75.4±6.1 ^a	0.5±0.0 ^a	1.4±0.1 ^{ab}	1.9±0.3 ^{ab}
SY	122.4± 6.3 ^a	80.2±6.9 ^{ab}	70.2±3.7 ^a	0.5±0.1 ^a	1.0±0.3 ^{ab}	1.4±0.2 ^{ab}
SO	119.9± 9.6 ^a	64.4±3.0 ^b	84.5±3.0 ^a	0.5±0.1 ^a	0.7±0.1 ^b	1.1±0.1 ^b

CO, 対照群; SM, 豆乳群; SY, 発酵豆乳群; SO, 発酵オカラ豆乳群

* 値は平均値±標準誤差で示した (n=7)

* ^{a,b}: 各群間の多重比較検定結果 (Tukey's multiple comparison, p<0.05)

* 動脈硬化指数=(総コレステロール-HDLコレステロール)/HDLコレステロール

第5表 糞重量および糞中胆汁酸排泄量に及ぼす影響

群	糞重量 (g)	胆汁酸 (mg/糞g)	総胆汁酸 (mg/日)
CO	2.2±0.1 ^a	31.1±1.3 ^a	69.9±5.9 ^a
SM	1.9±0.1 ^a	35.4±1.5 ^a	68.2±4.3 ^a
SY	2.0±0.1 ^a	32.0±1.1 ^a	63.0±2.2 ^a
SO	1.9±0.0 ^a	33.9±2.7 ^a	65.8±5.8 ^a

CO, 対照群; SM, 豆乳群; SY, 発酵豆乳群; SO, 発酵オカラ豆乳群

* 値は平均値±標準誤差で示した (n=7)

*^{a,b}: 各群間の多重比較検定結果 (Tukey's multiple comparison, p<0.05)

められなかった。既に Chen ら⁷⁾ は豆乳で、荒⁴⁾ は発酵豆乳で高コレステロール食投与ラットにおける血中コレステロール濃度低下作用を認めており、本研究でも SM 群, SY 群のコレステロール濃度が低値を示した。さらに本研究では、豆乳の一部をオカラで代替し乳酸発酵処理により血中コレステロール濃度低下作用が増すことが明らかになった。オカラの血中コレステロール低下作用³⁾ はオカラ成分の乳酸発酵により促進すると示唆された。大豆タンパク質は糞中胆汁酸排泄促進すると報告されているので⁸⁾, 糞中胆汁酸量を調べたところ、糞 1g あたりの胆汁酸量は SY 群に比較して大豆タンパク質の少ない SO 群で高値であったが、有意差は認められなかった (第5表)。大豆に含まれる食物繊維が腸内微生物によって利用されたため SM, SY, SO 群で CO 群と比較して糞重量が低下し、結果として一日あたりの総胆汁酸排泄量が低下したと推察される。オカラ成分の乳酸発酵による血中コレステロール低下促進は、発酵生産物による胆汁酸排泄促進作用に由来すると推定し、*in vitro* で発酵オカラ豆乳と未発酵オカラ豆乳について胆汁酸吸着試験を行ったところ、胆汁酸吸着力は未発酵オカラ豆乳に比較して発酵オカラ豆乳の方が強かった。また、当該胆汁酸吸着性物質は透析膜を通過しない高分子物質であったので、胆汁酸吸着性に乳酸は直接は関与しないと推定される。一方、血漿トリグリセリド濃度については、SO 群で低下作用は維持されなかったので、発酵オカラ豆乳に血中トリグリセリド低下促進は認められなかった。

第6表 肝臓脂質濃度に及ぼす影響

群	コレステロール (mg/肝臓g)	トリグリセリド (mg/肝臓g)
CO	87.3±3.8 ^a	124.3±7.7 ^a
SM	59.8±4.0 ^b	84.4±7.5 ^b
SY	61.5±3.4 ^b	98.6±7.6 ^{ab}
SO	60.5±4.3 ^b	93.1±5.6 ^b

CO, 対照群; SM, 豆乳群; SY, 発酵豆乳群; SO, 発酵オカラ豆乳群

* 値は平均値±標準誤差で示した (n=7)

*^{a,b}: 各群間を多重比較した結果 (Tukey's multiple comparison, p<0.05)

(3) 肝臓脂質濃度

肝臓脂質濃度を第6表に示した。総コレステロール濃度はいずれの群においても CO 群と比較して有意に低値を示した。トリグリセリド濃度は、SY 群では CO 群と比べ低下傾向であったが、SM 群および SO 群では有意に低値を示した。これは、豆乳およびオカラに含まれる大豆タンパク質による肝臓脂質の蓄積抑制効果によるものと示唆された⁹⁻¹⁰⁾。また、SO 群は SM 群・SY 群と同様に抑制効果を示したので、豆乳をオカラで置換することで乳酸発酵しても肝臓脂質蓄積抑制作用は減少しないことが明らかになった。以上の結果から、豆乳ヨーグルトの原料としてオカラは豆乳の代替品として有効であり、また食品リサイクルの観点からもオカラの有効利用の可能性が示唆される。

7. まとめ

近年増加傾向にある高脂血症の予防食品として、血中コレステロール値低下作用が認められている豆乳とオカラを乳酸発酵させた食品「発酵オカラ豆乳」を作製した。当該食品の有効性を検討するため、豆乳、乳酸発酵豆乳、乳酸発酵オカラ豆乳で各々20%置換した飼料を高コレステロール食投与ラットに投与し血中および肝臓脂質濃度に及ぼす影響を調べた。血中総コレステロール濃度は豆乳、発酵豆乳群で対照群と比較して低下し、さらに発酵オカラ豆乳群では有意に連続的に低値を示した。肝臓コレステロール濃度はいずれの試験群も対照群と比較して有意に低値であった。また、豆乳群と発酵オカラ豆乳群で、肝臓トリグリセリドの蓄積抑制効果が認められた。以上より、豆乳の一部をオカラで代替した発酵オカラ豆乳は産業廃棄物オカラ

の有効利用という利点を持ち、かつ、オカラを含むことにより発酵豆乳よりも血中コレステロール濃度低下作用、肝臓トリグリセリド蓄積低下作用が促進することが認められ、高脂血症予防のための機能性食品として利用可能である。

＜武庫川女子大学生活環境学部＞

参 考 文 献

- 1) 厚生労働省, 今後の生活習慣病対策の推進について (中間とりまとめ) (2003)
- 2) Nagasawa, A., Fukui, K., Funahashi, T., Maeda, N., Shimomura, I., Kihara, S., Waki, M., Takamatsu, K. and Matsuzawa, Y., Effects of soy protein diet on the expression of adipose genes and plasma adiponectin, *Horm. Metab. Res.*, **34**, 635-639 (2002)
- 3) 福田 満, 杉原好枝, 伊藤みどり, 堀内理恵, 浅尾弘明, オカラがラットの血中および肝臓脂質濃度に及ぼす影響, *食科工*, **53**, 195-199 (2006)
- 4) 荒 勝俊, 大辻一也, 川合修次, 大久保一良, 発酵豆乳が脂質代謝および腸内フローラに及ぼす影響, *食科工*, **48**, 807-815 (2001)
- 5) 脇 昌子, 新村好示, 安原清美, 豆乳ヨーグルトによる血清脂質と食行動への効果, *大豆たん白質研究*, **3**, 133-138 (2000)
- 6) Folch, J., Lees, M. and Stanley, G. H. S., A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues, *J. Biol. Chem.*, **226**, 497-509 (1957)
- 7) Chen, J. R., Liu, S. M., Yang, S. C. and Suet-suna, K., Soy-milk intake is associated with plasma and liver lipid profiles in rats fed a high-cholesterol diet, *Nutrition*, **20**, 929-933 (2004)
- 8) Nagata, Y., Ishiwaki, N. and Sugano, M., Studies on the mechanism of antihypercholesterolemic action of soy protein and soy protein-type amino acid mixtures in relation to the casein counterparts in rats, *J. Nutr.*, **112**, 1614-1625 (1982)
- 9) Koba, K., Abe, K., Wakamatsu, K. and Sugano, M., Effect of overnight fasting on the fatty acid composition of tissue lipids in rats fed with different proteins, *Agric. Biol. Chem.*, **55**, 1367-1373 (1991)
- 10) Ascencio, C., Torres, N., Isoard-Acosta, F., Gomez-Perez, F. J., Hernandez-Pando, R. and Tovar, A. R., Soy protein affects serum insulin and hepatic SREBP-1 mRNA and reduces fatty liver in rats, *J. Nutr.*, **134**, 522-529 (2004)