大豆乳酸発酵食品のラットにおける胆汁酸排泄促進効果

高木尚紘^{*1}, 北脇涼子^{*2}, 西村侑子^{*1}, 岩崎充弘^{*3},
都築公子^{*3}, 堀内理恵^{*4}, 福田 満^{*2 §}

^{*1} 武庫川女子大学大学院生活環境学研究科

^{*2} 武庫川女子大学生活環境学部

^{*3} マルサンアイ株式会社開発統括部

^{*4} 大阪夕陽丘学園短期大学

Effect of *Okara*/Soymilk Fermented by Lactic Acid Bacteria
on Fecal Bile Acid Excretion of Rats

Naohiro Takagi^{*1}, Ryoko Kitawaki^{*2}, Yuko Nishimura^{*1}, Mitsuhiro Iwasaki^{*3},
Kimiko Tsuzuki^{*3}, Rie Horiuchi^{*4} and Mitsuru Fukuda^{*2 §}

^{*1} Graduate School of Human Environmental Sciences, Mukogawa Women's University,
6-46 Ikebiraki-cho, Nishinomiya, Hyogo 663-8558

^{*2} School of Human Environmental Sciences, Mukogawa Women's University,
6-46 Ikebiraki-cho, Nishinomiya, Hyogo 663-8558

^{*3} Marusan-Ai Co., Ltd., 1 Aza-Arashita, Nikki-cho, Okazaki, Aichi 444-2193

^{*4} Osaka Yuhigaokagakuen Junior College, 7-72 Ikutamateramachi,
Tennoji-ku Osaka, Osaka 543-0073

As *okara* ingestion suppresses the increase in plasma cholesterol level in rats, we attempted to effectively use *okara* as a functional food. Soymilk containing *okara* (*okara*/soymilk) fermented by lactic acid bacteria showed higher *in vitro* bile acid-adsorptive capacity than unfermented *okara*/soymilk. Lactic fermentation increased the alkali-stable polysaccharide content of *okara*/soymilk. Fecal bile acids and cecum content of rats fed fermented *okara*/soymilk were also increased. Moreover, lactic fermentation increased the propionic and butyric acid contents in the cecum. Alkali-stable polysaccharides generated by lactic fermentation were assumed to increase short-chain fatty acids in rat intestines and fecal bile acids. Alkaline treatment could extract bile acid-adsorptive compounds from fermented *okara*/soymilk, but decreased the adsorptive capacity of the extract. Protein was the main bile acid-adsorptive compound separated from fermented *okara*/soymilk, but no increase in bile acid-adsorptive capacity in the separated proteins was observed after lactic fermentation. Therefore, the increase in bile acid-adsorptive capacity appears to depend on alkali-stable insoluble polysaccharides generated by the lactic fermentation process.

(Received Apr. 15, 2008 ; Accepted Aug. 21, 2008)

Keywords : bile acid, lactic fermentation, *okara*, short-chain fatty acid, soymilk

キーワード : 胆汁酸, オカラ, 豆乳, 乳酸発酵, 短鎖脂肪酸

大豆は昔から和食において多用されてきた食品素材である。大豆タンパク質には血中コレステロール濃度上昇抑制効果があり^{1)~3)}, また胆汁酸吸着能を有するため胆汁酸の腸肝循環を抑制することで血清コレステロール濃度を低下させる作用があると報告されている^{4)~7)}。大豆を豆腐や豆乳に加工する過程で大量に発生するオカラの大部分は食品

素材として利用されることはほとんどなく産業廃棄物として処理されている。しかし、オカラには大豆タンパク質、食物繊維やイソフラボン⁸⁾等の機能性物質が多く含まれている。著者らは高コレステロール食摂取ラットにオカラを投与することによって血漿コレステロール上昇抑制作用、肝臓脂肪蓄積抑制作用を認めた⁹⁾。このことからオカラに残存する大豆タンパク質、食物繊維、イソフラボン等は生活習慣病予防に有効であると考えられる。このオカラを有効利用する目的で豆乳と混合し植物性乳酸菌を用いて乳酸発酵させ、ヨーグルト状食品を作製した。Kikuchi ら¹⁰⁾に

^{*1} 〒663-8558 兵庫県西宮市池開町 6-46

^{*2} 〒663-8558 兵庫県西宮市池開町 6-46

^{*3} 〒444-2193 愛知県岡崎市仁木町字荒下 1

^{*4} 〒444-2193 大阪府大阪市天王寺区生玉寺町 7-12

[§] 連絡先 (Corresponding author), senjuoka@mukogawa-u.ac.jp

よると、豆乳のみをビフィズス菌を用いて乳酸発酵させると糞中胆汁酸排泄は促進されなかったが、荒ら¹¹⁾は豆乳を乳酸菌で発酵させると糞中コレステロール排泄量が増加したと報告している。しかし、著者らはオカラおよび豆乳の乳酸発酵物による胆汁酸の排泄促進効果を認めた¹²⁾。著者らはオカラ豆乳の乳酸発酵物による胆汁酸吸着作用を調べ、動物実験における糞中胆汁酸排泄効果の原因についての知見を得て、さらに胆汁酸吸着物質が本乳酸発酵食品に存在することを認めたので報告する。

実 験 方 法

1. 実験材料

実験に用いたオカラ豆乳乳酸発酵食品（以下発酵オカラ豆乳）はオカラと豆乳を 1:2（乾燥重量比）で混合し植物性乳酸菌（*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *delbrueckii* 菌株 SNC33）を用いて 15 時間発酵させた後、凍結乾燥して粉末状にしたものを使用した。

2. 発酵オカラ豆乳の胆汁酸吸着試験

胆汁酸吸着試験は Sugano ら¹³⁾の方法を改変して行った。脱脂した乾燥乳酸発酵オカラ豆乳粉末（5, 10, 50, 100 mg）を 0.1 mM の各種コール酸（コール酸、タウロコール酸、グリココール酸）を含む 0.1 M トリス塩酸緩衝液（pH 7.4）1.5 ml に懸濁し 37℃ で 2 時間反応させた。その後 13 000 × g で 5 分間遠心分離した後、上清を CENTRICUT（クラボウ、W-20）でろ過した。ろ液中のコール酸濃度は胆汁酸測定キット（和光純薬工業、総胆汁酸テストワコー）を用いて酵素法で測定した。対照には未発酵の乾燥オカラ豆乳粉末を用いて同様に試験し測定を行った。胆汁酸吸着能は胆汁酸吸着率％（吸着した胆汁酸量/元の胆汁酸量×100）で表示した。

3. ラットの飼育条件

5 週齢の Sprague-Dawley 系雄性ラット（n=21）（日本クレア株式会社）を用いて 2 週間基準飼料として AIN-93 の組成の飼料¹⁴⁾で予備飼育の後、コントロール群（n=7）には基準飼料、未発酵オカラ豆乳群（n=7）および発酵オカラ豆乳群（n=7）にはコントロール群飼料の 20% を各々乾燥未発酵オカラ豆乳、発酵オカラ豆乳で栄養組成及びエネルギー量が同一になるように置換した飼料を 6 週間与えた。ラットは個別に金網ケージに入れ、室温 23±1℃、湿度 55±7% の環境下で 12 時間明暗サイクル（8:00-20:00）で自由摂食、自由摂水させた。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. ラットにおける糞中胆汁酸排泄量の比較

ラットを用いてコントロール群、未発酵オカラ豆乳群および発酵オカラ豆乳群から採取した糞中胆汁酸は凍結乾燥した糞を 70℃ のエタノール中で 1 時間抽出した後、胆汁酸測定キット（和光純薬工業、総胆汁酸テストワコー）を用いて酵素法で測定した。

5. ラット盲腸内短鎖脂肪酸量の比較

盲腸内短鎖脂肪酸量測定は吉本ら¹⁵⁾の方法を改良して行った。盲腸内容物を 2 倍量の蒸留水に溶解し攪拌後、13 000 × g で 30 分間遠心分離を行い、その上清をディスポーザブルフィルター（マイショリディスク W-3-2 東ソー株式会社）でろ過した液を試料とし、高速液体クロマトグラフィー（HPLC 装置、東ソー株式会社）で有機酸分析システムによる分析を行った。有機酸分析用カラム TSK gel OApak-P プレカラム+TSK gel OApak-A カラム（6.0 mmID×4 cm+7.8 mmID×30 cm）、電気伝導度検出器 CM8020（東ソー株式会社）を使用した。溶離液には 0.1 mM H₂SO₄ を用いて流速 0.8 ml/min で溶出して検出した。

6. アルカリ処理と無処理の糖質含量の比較

未発酵オカラ豆乳と発酵オカラ豆乳を 0.1 M NaOH に室温で 2 時間懸濁し、中和、透析後に凍結乾燥したものと水に同様に懸濁し透析後凍結乾燥した粉末 50 mg について胆汁酸吸着活性を上述 2. の方法で測定し、また糖質含量をフェノール硫酸法¹⁶⁾で測定した。

7. 胆汁酸吸着物質の抽出

発酵オカラ豆乳 10 g に対して 20 倍量の 0.1 M NaOH を用いて室温で 2 時間攪拌抽出し¹⁷⁾、6 700 × g で 20 分間遠心分離後上清を採取した。この操作を 2 回繰り返した。集めた上清と沈殿を中和し一昼夜透析した後、凍結乾燥した粉末 50 mg についてタウロコール酸を用いて胆汁酸吸着試験を行った。さらに抽出画分（上清）5 mg について Cellulofine GCL-2000（生化学工業株式会社）（カラムサイズ：1.5×50 cm、流速 0.3 ml/min）によってゲルろ過クロマトグラフィーを行った。クロマトグラフィー後の各フラクションについて 220 nm でタンパク質を測定した。ピークが見られたフラクションを集めて中和、透析した後凍結乾燥し、その乾燥粉末 50 mg をタウロコール酸を用いて胆汁酸吸着試験を行った。

8. 統計処理

各実験結果は平均±標準誤差（mean±SE）で示した。有意差の検定には SPSS for Windows 12.0j を使用し、2 群間の比較には *t*-test を行い、3 群間の比較に Tukey の多重比較検定を行い、*p* 値が 0.05 未満のものを統計的に有意とした。

実験結果および考察

1. 乳酸発酵による胆汁酸吸着能の増加

発酵オカラ豆乳とその未発酵物の胆汁酸吸着能を比較した。Table 1 に示すように未発酵オカラ豆乳で見られた胆汁酸吸着能は主に大豆タンパク質のもつ胆汁酸吸着能によると考えられる^{4)~7)}。いずれの種類の胆汁酸においても未発酵オカラ豆乳よりも発酵オカラ豆乳において胆汁酸の吸着率は増加していた。胆汁酸吸着率は試料濃度依存的に上昇した。このことから乳酸発酵による新規胆汁酸吸着物質

Table 1 Bile acid adsorption rate of unfermented and fermented *okara*/soymilk

Bile acid		Adsorption rate of bile acid (%)			
		Amount of <i>okara</i> /soymilk			
		5	10	50	100
Cholic acid	Unfermented	24.9±1.5	29.1±10.8	52.0±2.9	61.2±0.4
	Fermented	30.1±0.6	35.5±6.9	93.9±0.4***	97.9±0.5***
Taurocholic acid	Unfermented	30.9±1.2	41.0±1.6	65.1±0.6	73.5±0.3
	Fermented	36.5±3.2	44.6±2.1	91.0±1.8***	97.4±0.2***
Glycocholic acid	Unfermented	25.5±1.3	28.0±1.7	49.3±1.1	62.4±1.8
	Fermented	32.6±1.1*	35.7±2.7	80.6±1.3***	93.6±0.8***

Each value is expressed as the mean±SE (n=3).

Statistical significance compared to unfermented *okara*/soymilk : *p<0.05 and ***p<0.005

Table 2 Organic acid and short-chain fatty acid concentration in cecum content of rats fed a high-cholesterol diet

	mg/g cecum content				
	Lactic acid	Acetic acid	Propionic acid	Butyric acid	SCFA Total
Control	8.11±0.31	4.4±0.47 ^a	1.27±0.29	0.86±0.09 ^a	14.63±0.87 ^a
Unfermented	8.25±0.68	6.26±0.29 ^{ab}	1.73±0.16	2.01±0.22 ^b	18.53±0.89 ^b
Fermented	7.81±0.71	5.23±0.28 ^b	1.88±0.09	2.22±0.12 ^b	17.15±0.89 ^{ab}

Each value is expressed as the mean±SE (n=7).

Values in a column not sharing a common superscript letter are significantly different at p<0.05.

の生成が示唆された。

2. 糞中胆汁酸含有量の比較

1 g 糞あたりの胆汁酸排泄量はコントロール群で 27.4±8.8 mg に対して未発酵オカラ豆乳群で 45.4±5.0 mg であった。コントロール群に比較して発酵オカラ豆乳群では 54.2±13.2 mg となり有意に高値であった (Fig. 1)。

3. 盲腸内短鎖脂肪酸量の比較

オカラ豆乳、乳酸発酵オカラ豆乳を与えると盲腸内容物重量がコントロール群の 2.3±0.5 g に比べて、それぞれ 3.2±0.9 g, 3.5±0.5 g に増加する傾向にあった。盲腸 pH はコントロール群の 7.1±0.3 に比べてオカラ豆乳群、乳酸発酵オカラ豆乳群ではそれぞれ 6.7±0.4, 6.9±0.4 に低下する傾向にあった。盲腸内容物の有機酸と短鎖脂肪酸の総量はコントロール群に比較してオカラ豆乳、乳酸発酵オカラ豆乳で増加傾向であり、プロピオン酸濃度はコントロール群の 1.27±0.29 mg/g から 1.73±0.16 mg/g, 1.88±0.09 mg/g にそれぞれ増加傾向で、酪酸濃度は 0.86±0.09 mg/g から 2.01±0.22 mg/g, 2.22±0.12 mg/g にそれぞれ有意に増加した (Table 2)。発酵オカラ豆乳による盲腸重量増加の原因は腸内微生物が利用可能な多糖類が乳酸発酵過程で生成し、菌体増殖と短鎖脂肪酸を生じたと推定される¹⁸⁾¹⁹⁾。

4. アルカリ処理の有無による糖質含量と胆汁酸吸着量の比較

未発酵、発酵オカラ豆乳を 0.1 M NaOH に懸濁後、中和、透析を行い凍結乾燥したもの、対照として蒸留水に懸

Fig. 1 Effect of unfermented and fermented *okara*/soymilk on bile acid concentration in feces of rats fed a high-cholesterol diet

C, control; U, unfermented *okara* and soymilk; F, fermented *okara* and soymilk.

Each value is expressed as the mean±SE of 7 rats.

An asterisk denotes significant difference from the control. *: p<0.05.

濁後、透析を行い凍結乾燥したもののそれぞれの糖質含量を測定したところ、未発酵オカラ豆乳ではアルカリ処理によって透析膜に残る糖含量が減少した。発酵オカラ豆乳では未発酵オカラ豆乳に比較してアルカリ処理による糖含量の低下が少なかったため、乳酸発酵で生成した多糖類はアルカリ処理に安定な多糖類 (細菌細胞壁¹⁷⁾・分泌物) で

Table 3 Carbohydrate content in *okara*/soymilk treated with or without 0.1 M NaOH solution

	Carbohydrate content mg/g	
	Unfermented	Fermented
Not treated	193±4.0	199±1.1
Alkali treated	174±8.5	193±6.0

Each value is expressed as the mean±SE (n=3).

Table 4 Bile acid adsorption rate of unfermented and fermented *okara*/soymilk treated with or without 0.1 M NaOH solution

	Adsorption rate of bile acid (%)	
	Unfermented	Fermented
Not treated	55.7±2.5	89.2±3.6***
Alkali treated	53.0±2.0	90.5±5.1***

Each value is expressed as the mean±SE (n=3).

Statistical significance compared to unfermented *okara*/soymilk : ***p<0.005

Table 5 Bile acid-adsorption rate of alkaline extract of *okara*/soymilk

	Adsorption rate (%)	
	Unfermented	Fermented
<i>okara</i> /soymilk	67.9±2.7	89.2±0.5***
Extract	60.7±10.1	70.6±2.6

Each value is expressed as the mean ±SE (n=3).

あったと示唆される (Table 3), このアルカリ処理に安定な多糖類が乳酸発酵で増加し, アルカリ処理後も胆汁酸吸着能を維持したと示唆される (Table 4).

5. 未発酵物及び発酵物のアルカリ抽出

未発酵, 発酵オカラ豆乳からの 0.1 M NaOH による有機物の抽出率はそれぞれ 55%, 52% となり, 両者の間に差は認められなかった. また得られた抽出画分についての胆汁酸吸着活性はアルカリ抽出前では未発酵オカラ豆乳と比較して発酵オカラ豆乳では著しく高い胆汁酸吸着率が認められたが, アルカリ抽出画分では発酵オカラ豆乳の吸着率が減少し両者の吸着率の差は縮小した (Table 5). 乳酸発酵物のアルカリ抽出画分の胆汁酸吸着活性が減少したので, 胆汁酸吸着性物質はアルカリ処理後も不溶性画分に残存すると示唆される.

抽出画分をゲルろ過クロマトグラフィーに供したところ未発酵, 発酵オカラ豆乳ともに 170 kDa, 48 kDa にピークが見られた (Fig. 2). この二つのフラクションをそれぞれ集めて中和, 透析を行い凍結乾燥後, 胆汁酸吸着活性を測定したところ未発酵と発酵オカラ豆乳の間に吸着活性の差はほとんど見られなくなった (Table 6). また, 乳酸発酵

Fig. 2 Cellulofine GCL-2000 (1.5×50 cm) gel filtration of fraction extracted from fermented and unfermented *okara*/soymilk, respectively

column : 1.5×50 cm

1 fraction=3 ml elution speed : 0.8 ml /min

Table 6 Bile acid-adsorption rate in fractions separated by gel filtration

	Adsorption rate (%)	
	Unfermented	Fermented
Fraction I	52.4	64.1
Fraction II	44.7	42.7

による大豆タンパク質組成にも変化がほとんど認められなかった²⁰⁾, 未発酵オカラ豆乳と発酵オカラ豆乳の胆汁酸吸着活性の差異は大豆タンパク質に基づくものではないと示唆される. オカラ豆乳の乳酸発酵による胆汁酸吸着能増加の原因は乳酸発酵過程で新たに生成したアルカリに安定な不溶性多糖類と推定された.

以上の結果から, オカラ豆乳の乳酸発酵によって生じた多糖類は, 腸内で短鎖脂肪酸の生成を促進する効果をもつと同時に, 強い胆汁酸吸着活性に基づく糞中胆汁酸排泄効果の原因となると考えられた.

要 約

オカラ豆乳混合物は乳酸発酵するとアルカリに安定な多糖類が若干増加し, 胆汁酸吸着能が増加した. 乳酸発酵オカラ豆乳をラットに投与すると未発酵オカラ豆乳と比較して糞中胆汁酸量と盲腸重量は増加した. また, 乳酸発酵オカラ豆乳摂取によりラット盲腸内容物のプロピオン酸と酪酸量が増加した. 乳酸発酵で生成したアルカリに安定な多糖類が腸内で微生物によって短鎖脂肪酸に変化したと推定される.

胆汁酸吸着物質は 0.1 M NaOH 溶液で発酵オカラ豆乳から抽出可能であったが, アルカリ抽出後に吸着能が低下した. また, 抽出した胆汁酸吸着物質をゲルろ過クロマトグラフィーで分離すると吸着物質の主成分はタンパク質で

あったが、未発酵物と乳酸発酵物の間の吸着能の差は減少した。オカラ豆乳混合物の乳酸発酵による胆汁酸吸着能増加の原因は主に乳酸発酵過程で生成するアルカリに安定な不溶性多糖類と推定された。

文 献

- 1) 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).
- 2) Tanaka, K. and Sugano, M., Effects of modification of the arginine/lysine ratio of dietary proteins on absorption and turnover of cholesterol in rats. *Agric. Biol. Chem.*, **531**, 1351-1356 (1989).
- 3) Andereson, J.W., Johnstone, B.M. and Cook-Newell, M. E., Meta-analysis of the effects of soy protein intake on serum lipids. *N. Engl. J. Med.*, **333**, 276-282 (1995).
- 4) Iwami, K., Sakakibara, K. and Ibuki, F., Involvement of post-digestion 'Hydrophobic' peptides in plasma cholesterol-lowering effect of dietary plant proteins. *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 1217-1222 (1986).
- 5) Higaki, N., Sato, K., Suda, H., Suzuka, T., Komori, T., Saeki, T., Nakamura, Y., Ohtsuki, K., Iwami, K. and Kanamoto, R., Evidence for the existence of a soybean resistant protein that captures bile acid and stimulates its fecal excretion. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **70**, 2844-2852 (2006).
- 6) Makino, A., Nakashima, H., Minami, K., Moriyama, R. and Takao, S., Bile acid-binding protein from soybean seed : isolation, partial characterization and insulin-stimulating activity. *Agric. Biol. Chem.*, **52**, 803-809 (1988).
- 7) Fukui, K., Tachibana, N., Wanezaki, S., Tsuzaki, S., Takamatsu, K., Yamamoto, T., Hashimoto, Y. and Shimoda, T., Isoflavone-free soy protein prepared by column chromatography reduces plasma cholesterol in rats. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 5717-5721 (2002).
- 8) O'Toole, D.K., Characteristics and use of okara, the soybean residue from soy milk production — A review. *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 363-371 (1999).
- 9) 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及び肝臓脂質濃度に及ぼす影響, 食科工, **53**, 195-199 (2006).
- 10) Kikuchi-Hayakawa, H., Onodera, N., Matsubara, S., Yasuda, E., Caonan, O., Takahashi, R. and Ishikawa, F., Effect of soy milk and bifido- bacterium fermented soy milk on lipid metabolism aged ovariectomized rats. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **62**, 1688-1692 (1998).
- 11) 荒 勝俊, 大辻一也, 川合修次, 大久保一良, 発酵豆乳の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).
- 12) 北脇涼子, 高木尚紘, 岩崎充弘, 浅尾弘明, 岡田早苗, 福田満, 乳酸発酵させたオカラ豆乳のラット血漿コレステロール低下作用, 食科工, **54**, 379-382 (2007).
- 13) Sugano, M., Goto, S., Yamada, Y., Yoshida, K., Hashimoto, Y., Matsuo, T. and Kimoto, M., Cholesterol-lowering activity of various undigested fraction of soybean protein in rats. *J. Nutr.*, **120**, 977-985 (1990).
- 14) Reeves, P.G., Nielsen, F.H. and Fahey, G.C. Jr., AIN-93 purified diets for laboratory rodents : final report of the American institute of nutrition Ad Hoc Writing Committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J. Nutr.*, **123**, 1939-1951 (1993).
- 15) 吉本朋子, 佐藤一精, 脱脂大豆粉から調製した豆乳ヨーグルト様食品の特性, 食科工, **48**, 906-912 (2001).
- 16) Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. and Smith, F., Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, **28**, 350-356 (1956).
- 17) Ikawa, M., The partial chemical degradation of the cell walls of *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus faecalis* and *Lactobacillus casei*. *J. Biol. Chem.*, **236**, 1087-1092 (1961).
- 18) Noack, J., Dongowski, G., Hartmann, L. and Blaut, M., The human gut bacteria *Bacteroides thetaiotaomicron* and *Fusobacterium varium* produce putrescine and spermidine in cecum of pectin-fed gnotobiotic rats. *J. Nutr.*, **130**, 1225-1231 (2000).
- 19) Demingé, C. and Rémésy, C., Stimulation of absorption of volatile fatty acids and minerals in the cecum of rats adapted to a very high fiber diet. *J. Nutr.*, **115**, 53-60 (1985).
- 20) 高木尚紘, 北脇涼子, 浅尾弘明, 岩崎充弘, 福田 満, 新規乳酸菌を用いたおから・豆乳発酵食品の成分特性, 武庫川女子大紀要 (自然科学), **54**, 31-35 (2006).

(平成 20 年 4 月 15 日受付, 平成 20 年 8 月 21 日受理)