

ラットのコレステロール代謝に及ぼす大豆外皮 (Soybean hull) なら びに大豆外皮から抽出, 分離したヘミセルロース標品の影響

綾野雄幸・太田富貴雄・野崎郁夫・江頭祐嘉合
(食品及び栄養化学研究室)

Effects of Soybean Hull and Hemicellulose Preparation Isolated from Soybean Hull on the Cholesterol Metabolism in Rats.

Yûkô AYANO, Fukio OHTA, Ikuo NOZAKI and Yukari EGASHIRA
(Laboratory of Food and Nutritional Chemistry)

ABSTRACT

The hypocholesterolemic effects of soybean hull (SH) and its isolated hemicellulose fraction were examined in rats fed a hypercholesterolemic diet containing 1% cholesterol and 0.25% sodium cholate. Three animal experiments were conducted and the following results were obtained.

1) SH (60 mesh pass; NDF 63.6%, ADF 51.6%, lignin 2.0%, water-soluble DF 3.9%) was supplemented to a diet at the level supplying 5% NDF. The rats fed the SH diet showed significantly less elevation of serum cholesterol content in comparison with those fed the diet containing the same level of NDF as wheat bran (60 mesh pass). (Exp. I)

2) "Hemicellulose B" fraction was isolated from SH by extracting with dilute caustic alkaline solution. The hemicellulose-preparation (non-cellulosic polysaccharide 61.0%) was supplemented to a diet at level of 1%. This preparation had a significant effect to prevent the increase in serum cholesterol level, although it did not cause a remarkable decrease in liver cholesterol accumulation. (Exp. I)

3) Hemicellulose preparation isolated from SH was fractionated into the high molecular weight fraction (Hemicellulose F-I) and the low molecular weight fraction (Hemicellulose F-II) by ultrafiltration using a TS-3000 membrane of TSK-UF system. F-I or F-II preparation was supplemented to a diet at level of 0.59% in the former and at level of 0.41% in the latter. F-I preparation was effective in preventing elevation of serum cholesterol level, but F-II preparation was ineffective. (Exp. II)

4) The fractionated hemicellulose preparations (F-I and F-II) were supplemented to cholesterol-free diet at the same level as in Exp. II described above (3). Significant elevation in serum levels of both glucose and insulin were observed in rats fed the F-II preparation. However, rats fed the F-I preparation did not show any significant alteration. (Exp. III)

大豆外皮 (Soybean hull, SH と略す) は種実の 7~8% を占め (SMITH ら, 1974), 組織が子葉部に比べて硬く, 疎剛であり, 色調は黄褐色を呈し, なかには黒褐色を呈するものもある。このものは, 大豆加工品の品質や食味を損なうので, あらかじめ脱皮したり, 製造工程中に除去されることが多い。大部分の SH は反芻動物用の飼料に向けられている。しかし, SH は食物繊維 (Dietary fiber, DF と略す) 含量が高く, DF 素材として注目される資源である。

SH の成分は, DINTZIS ら (1979) によると, 乾物とし

て DF 88% (セルロース 53%, ヘミセルロース 35%), タンパク質 7%, 灰分 4.3%, 脂質 0.9%, デンプン 1% 未満を含むという。また, Neutral detergent fiber (NDF) として測定された DF 含量は 56.7% (SHAFER ら, 1978), 67.0% (RASPER, 1979) であると報告されている。これら DF の組成はセルロースが大半であるが, 非セルロース多糖類には, ガラクトマンナン, 複雑なキシラン, 酸性多糖類などが含まれるという (川村, 1967)。

SH が人間の消化管内で受ける変化を調査した報告では (DINTZIS ら, 1979), 正常な男子の場合は, セルロー

ス、リグニンは、ほぼ全量回収されるが、見かけのヘミセルロース量は半減したという。BALMERら(1974)は、SHのコレステロール代謝に及ぼす研究で、半合成飼料にSHを添加してラットに投与すると、酸性ステロイドの排泄が増加し、血清コレステロールが有意に低下することを報告し、また、MUNOZら(1979)は、小麦フスマ、コーンブラン、ベジタブルプロテインおよびSHを正常な成人男子に、1日26gずつパンに混入して、28~30日間与えて試験したところ、SHを食べたときには糞量が有意に増し、血清中のコレステロール、中性脂肪が有意に減少したと報告している。

本研究は、SHのコレステロール代謝に及ぼす影響について、より詳細な知見を得るべく、SH中に含まれるヘミセルロース区谷に着目した。すなわち、SHより希アルカリで抽出、分離したヘミセルロース標品、さらに、この標品を限外濾過で2種類の画分に分け、それぞれの標品をラットに投与し、コレステロール代謝に及ぼす影響について試験した。以下、その結果を報告する。

実験方法

1. 実験材料

不二製油(株)より提供を受けた大豆外皮(SH)を用いた。このものは粉塵などで汚れていたため、水洗したのち、凍結乾燥、粉化(60 mesh pass)して試験に供した。一部の試験には、対比試料として小麦フスマ(硬質赤色系, 60 mesh pass, 日東製粉(株))を用いた。

2. ヘミセルロース標品の調製法

SHからのヘミセルロース区分の抽出は、次のように行なった(Fig. 1)。まず、SH 100gを2l容ビーカーに採り、1N水酸化ナトリウム液1lを加え、容器内に窒素

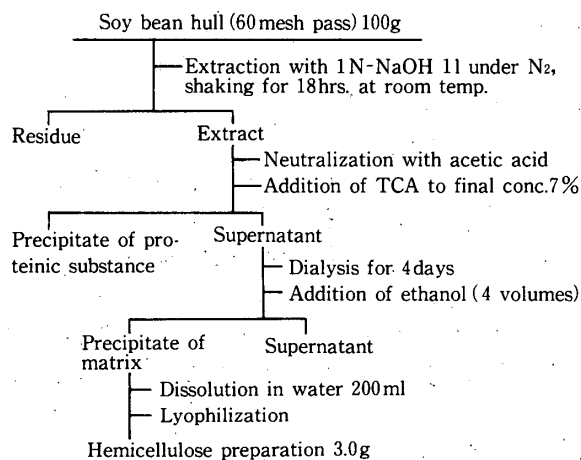


Fig.1 Isolation process of hemicellulose preparation from soybean hull.

ガスを封入、シーロンフィルムで密閉してから、室温で18時間振とう(130ストローク/分)してアルカリ可溶画分の抽出を行なった。次に遠心分離(3,000 rpm, 10分間)して、沈殿部を除去したのち、抽出液は水酢酸で中和し、トリクロル酢酸を終濃度7%になるように添加して、タンパク質を沈殿させた。沈殿物は遠心分離(5,000 rpm, 20分間)して除去し、得られた分離液はセロファンチューブを用いて3日間流水中で透析した。透析内容物の中性を確認したのち、約4倍量のエタノール(最終濃度80%)を加え、一夜放置し、沈殿物を十分生成させた。沈殿物を遠心分離(4,000 rpm, 10分間)して採取し、約200mlの蒸留水に溶解させ、凍結乾燥して、ヘミセルロース標品とした。なお、標品は“ヘミセルロース B”を主体とする。収量はSH 100gより約3gであった。

3. 限外濾過法による分画標品の調製法

ヘミセルロース標品を限外濾過法により、2種類の画分に分けた。限外濾過装置はUF膜システム Model SC-60(東洋曹達(株))を用い、濾過膜はTS-3000(分画分子量 3×10^6)を使用した。分画方法は、ヘミセルロース標品10gを蒸留水250mlに溶かし、膜透過液量2.5ml/分の条件で、20時間循環させた。ただし、処理液量は最大300mlとし、液量は蒸留水を補充することにより常に一定に保った。次に、膜未透過液(高分子量画分)はそのまま凍結乾燥し、膜透過液(低分子量画分)は減圧濃縮してから凍結乾燥した。前者の乾燥標品をヘミセルロース FI、後者の乾燥標品をヘミセルロース F IIとした。

4. 試料ならびに DF 標品の成分分析

試料ならびに DF 標品の一般成分の分析は常法によった。DF成分のうち、NDF, ADF (Acid detergent fiber), ADF-リグニンの定量はVAN SOEST法(VAN SOEST, 1963, VAN SOESTら, 1967)により、ヘミセルロース標品、分画標品のセルロース、非セルロース多糖類、リグニンの定量はSOUTHGATE法(SOUTHGATE, 1981)により行なった。また、非セルロース多糖類の組成は、SOUTHGATE法の加水分解条件(5%硫酸、沸とう水浴中で2.5時間)で処理したのち、アルデイトール・アセチル化し、ガスクロマトグラフ法(上野, 1970)で分析した。ただし、ウロン酸はカルパゾール硫酸法(SOUTHGATE, 1976)により定量した。

5. ゲル濾過

ヘミセルロース標品のゲル濾過は、Sephacrose CL-4 B(ファルマシア社製)を用い、溶媒は0.05Mリン酸塩緩衝液(pH 7.8, 0.02%NaN₃を含む)で溶出させた。試料10mgを溶媒1mlに溶かしたのち、カラム(2.6×100cm)に負荷し、溶出は室温で流速22ml/hrで行なった。

Table 1 Composition of diets. (Exp. I) (%)

Components	Standard	Control	Soybean hull (SH)	SH hemicellulose	Wheat bran (hard)
Casein	22	22	20.93	22	19.56
Lard	9	9	9	9	9
Corn oil ^a	1	1	1	1	1
Salt mixture ^b	4	4	4	4	4
Vitamin mixture ^b	0.85	0.85	0.85	0.85	0.85
Choline chloride	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
Cholesterol	—	1	1	1	1
Sodium cholate	—	0.25	0.25	0.25	0.25
Test substance	—	—	8.22 ^c	1.12	12.17 ^c
Sucrose	63	61.75	54.6	60.63	52.02

a: One gram of corn oil contains 300 I.U. of vitamin A palmitate, 30 I.U. of vitamin D₂ and 10 mg of dl- α -tocopherol.

b: Prepared according to the HARPER'S prescription (J. Nutr., 68, 405(1959)).

c: Corresponding to NDF 5%.

溶出液は 5 ml/ずつ分画し、糖はその 0.5 ml をとり、5% (W/V) フェノール水溶液 0.5 ml および濃硫酸 2.5 ml を加え、10 分間反応させたのち、490 nm における吸光度を、タンパク質は溶出液について 280 nm における紫外部での吸光度を測定した。なお、分子量の測定には、分子量の異なる 6 種類のプルラン (分子量 $1.2 \times 10^4 \sim 7.85 \times 10^5$, Shodex standard P-82, 昭和電工(株)) を標準物質として用いた。

6. 動物実験

実験 I, II, III に分けて行なった。

実験 I: SH, SH より抽出、分離したヘミセルロース標品および対比試料として小麦フスマを高コレステロール飼料に添加してラットに投与した。飼料組成を Table 1 に示す。標準飼料はしよ糖を糖質源としてコレステロール、コール酸ナトリウムを含まないもの。対照飼料はしよ糖を糖質源としてコレステロール 1%、コール酸ナトリウム 0.25% を含むもの。SH 添加飼料および比較に用いた小麦フスマ添加飼料は、対照飼料のしよ糖の一部を SH、小麦フスマでそれぞれ NDF 含量が 5% レベルとなるように置換したもの。ヘミセルロース標品添加飼料は、しよ糖の一部をヘミセルロース標品(乾物重として) 1% レベルで置換したものである。なお、各飼料のタンパク質含量は標準飼料の窒素含量に揃え、カゼインで調整した。

ラットは体重 60~75 g (4 週令) の Sprague Dawley 系雄ラット (日本クレア(株)) を用い、Table 1 に示した標準飼料で 8 日間予備飼育したのち、各群 8 匹ずつ 5 群に分け、試験飼料を投与して 9 日間飼育した。なお、

Table 2 Composition of diets. (Exp. II) (%)

Components	Standard	Control	SH hemicellulose	
			FI	FII
Casein	22	22	22	22
Lard	9	9	9	9
Corn oil ^a	1	1	1	1
Salt mixture ^b	4	4	4	4
Vitamin mixture ^b	0.85	0.85	0.85	0.85
Choline chloride	0.15	0.15	0.15	0.15
Cholesterol	—	1	1	1
Sodium cholate	—	0.25	0.25	0.25
Test substance	—	—	0.63	0.44
Sucrose	63	61.75	61.12	61.31

a, b: See footnotes of Table 1.

飼料および水は自由に摂取させた。本試験開始後、5, 9 日目の午前 10 時にラットの尾静脈より採血して血清を分離し、総コレステロールを定量した。ラットは実験終了の翌日 (一夜絶食) 午前 10 時に断首、採血したあと、開腹し、肝臓を摘出して重量を測定した。肝臓は凍結保存し、後日、コレステロールの定量に供した。血清コレステロールの定量は、コレステロールオキシダーゼによる酵素法で行ない、総コレステロールは「デタミナ TC」、HDL-コレステロールは「デタミナ HDL」で分画したのち、「デタミナ TC 555」で定量した。これら試薬はいずれも協和メデックス(株)のものである。肝臓コレステロールの定量は、Killiani 反応による ZAK ら (1954) の方法によった。結果の統計処理には Student's t-test を採用

Table 3 Composition of diets. (Exp. III) (%)

Components	Control	SH hemicellulose	
		F I	F II
Casein	22	22	22
Lard	9	9	9
Corn oil ^a	1	1	1
Salt mixture ^b	4	4	4
Vitamin mixture ^b	0.85	0.85	0.85
Choline chloride	0.15	0.15	0.15
Test substance	—	0.63	0.44
Sucrose	61.75	62.37	62.56

a, b: See footnotes of Table 1.

した。

実験II：ヘミセルロース標品を限外濾過法により分画したヘミセルロース F I ならびにヘミセルロース F II の両標品を、高コレステロール飼料にそれぞれ添加してラットに投与した。飼料組成を Table 2 に示す。標準飼料、対照飼料は実験 I と同じ。ヘミセルロース F I ならびに F II 添加飼料は、対照飼料中、乾物重としてヘミセルロース F I 標品 0.59%、ヘミセルロース F II 標品 0.41% 含まれるように、しょ糖の一部を、それぞれ置換した。この添加レベルはヘミセルロース標品 1% 投与時を想定し、限外濾過による各標品の収量を基に算出した。

ラットは体重 60~75 g (4 週令) の SD 系雄ラット (日本クレア (株)) を Table 2 の標準飼料で 8 日間予備飼育したのち、各群 8 匹ずつ 4 群に分け、試験飼料を投与して 9 日間飼育した。なお、飼料および水は自由に摂取させた。本飼育開始後、5 日目にラットの尾静脈より採血して血清を分離し、総コレステロールを定量した。ラットは実験終了日の翌日 (一夜絶食) 午前 10 時に、ネブタール麻酔下で心臓穿刺により採血、肝臓を摘出した。血清ならびに肝臓コレステロールの定量は実験 I と同じ方法によった。

実験III：ヘミセルロース F I 標品、ヘミセルロース F II 標品をコレステロールを負荷しない状態で、それぞれ飼料に添加してラットに投与し、血清中のコレステロール、グルコース、インシュリンレベルに及ぼす影響について試験した。飼料組成を Table 3 に示す。

ラットは体重 60~65 g (4 週令) の Wistar 系雄ラット (日本クレア (株)) を Table 3 の標準飼料で 8 日間予備飼育したのち、各群 8 匹ずつ 3 群に分け、試験飼料を投与して 14 日間飼育した。なお、飼料および水は自由に摂取させた。ラットは実験終了日の翌日 (一夜絶食) 午前 9 時にネブタール麻酔下で、心臓穿刺により採血し、

Table 4 Components of soybean hull (SH) and wheat bran. (%)

	Soybean hull (SH)	Wheat bran (hard)
Moisture	5.2	13.1
Crude protein ^a	10.9(11.5) ^d	15.6(18.0)
Crude fat	3.0(3.2)	4.3(4.9)
Ash	2.6(2.7)	6.0(6.9)
NDF ^b	60.3(63.6)	41.1(47.3)
ADF ^b	48.9(51.6)	13.2(15.2)
ADF-lignin ^b	1.9(2.0)	3.2(3.7)
Water-soluble DF ^c	3.7(3.9)	not determined

a: Calculated by Nx 6.25 in soybean hull, by Nx 5.83 in wheat bran.

b: Method of Van Soest.

c: Method of Southgate.

d: % of dry matter

血清中の総コレステロール、グルコースおよびインシュリンの定量に供した。総コレステロールは実験 I と同じ酵素法、グルコースは「デタミナ GL-E」による酵素法で定量した。これら試薬は協和メデックス (株) のものである。血清インシュリンはインシュリン-リアビーズ (ダイナボット RI (研)) によるラジオイムノアッセイによった。

実験結果

1. 試料の一般成分と DF 含量

SH ならびに小麦フスマの一般成分および DF 含量を Table 4 に示す。SH は NDF 60.3% で、小麦フスマの NDF 41.1% に比し、DF 含量が非常に高いことが示された。NDF から ADF を差引くと、ヘミセルロース量が推定できるが、その含量は SH 11.4%、小麦フスマ 27.9% で、小麦フスマにその含量の高いことが示された。

2. ヘミセルロース標品ならびにヘミセルロース分画標品の構成成分とゲル濾過溶出パターン

ヘミセルロース標品の構成成分を Table 5 に、ゲル濾過溶出パターンを Fig. 2 に示す。標品は非セルロース多糖類が 61.0% を占め、構成糖はガラクトース 13.0%、アラビノース 11.3%、ウロン酸 10.7% が主なものであった。ゲル濾過溶出パターンで、糖は分子量 80 万以上の高分子領域 (Void volume) と低分子領域に 2 つのピークが見られ、低分子側のピークは分子量約 1.5×10^4 と推定された。これら糖のピークとはほぼ重なる位置にタンパク質のピークが認められた。

次に、ヘミセルロース分画標品 (ヘミセルロース F I

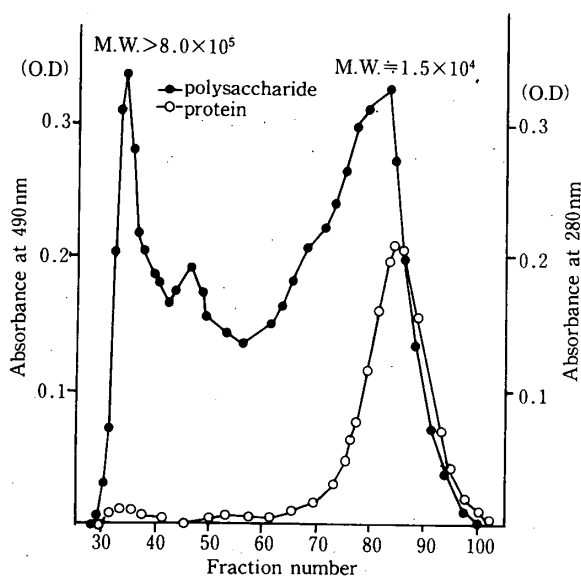


Fig.2 Gel filtration profile of hemicellulose preparation isolated from soybean hull on Sepharose CL-4B.

Table 5 Composition of hemicellulose preparation isolated from soybean hull. (% of dry matter)

	SH hemicellulose
Cellulose ^a	0.2
Non-cellulosic polysaccharides ^a	61.0
Arabinose	11.3
Xylose	2.1
b) Mannose	9.9
Galactose	13.0
Glucose	11.6
Uronic acid ^c	10.7
Lignin ^a	1.4
Total nitrogen	4.5
Ash	6.3

a:Method of Southgate.

b:Gas chromatographic method.

c:Carbazole/sulfuric acid method.

ならびにヘミセルロース F II) の構成成分を Table 6 に、ゲル透過溶出パターンを Fig. 3 に示す。ヘミセルロース F I 標品の非セルロース多糖類は 75.5% で、ガラクトース、アラビノースの含量が高く、次いでグルコース、ウロン酸であった。アラビノガラクトンが主体で、ガラクトマンナン、酸性多糖類が含まれていると考えられる。

ヘミセルロース F II 標品は非セルロース多糖類が 29.1% で、ヘミセルロース F I 標品の半分以下と少なく、反面、窒素含量はヘミセルロース F I 標品の 2 倍以上と多く、タンパク質含量に換算 ($N \times 6.25$) すると、51.2% であり、標品の約半分を占めていた。非セルロース多糖類の主な構成糖はガラクトース、マンノース、ウ

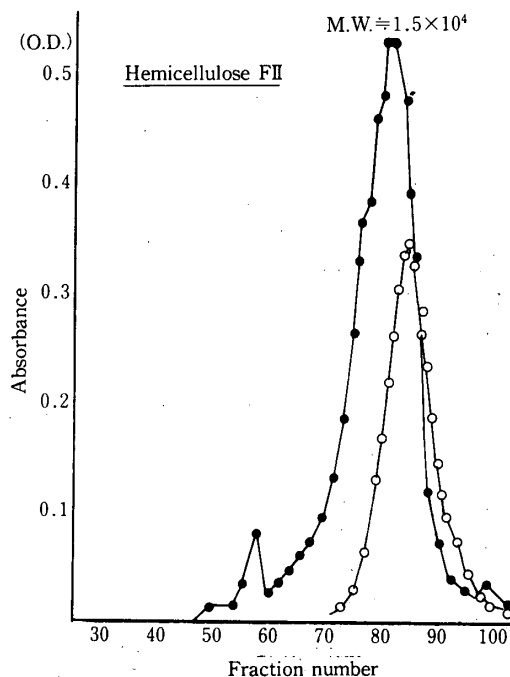
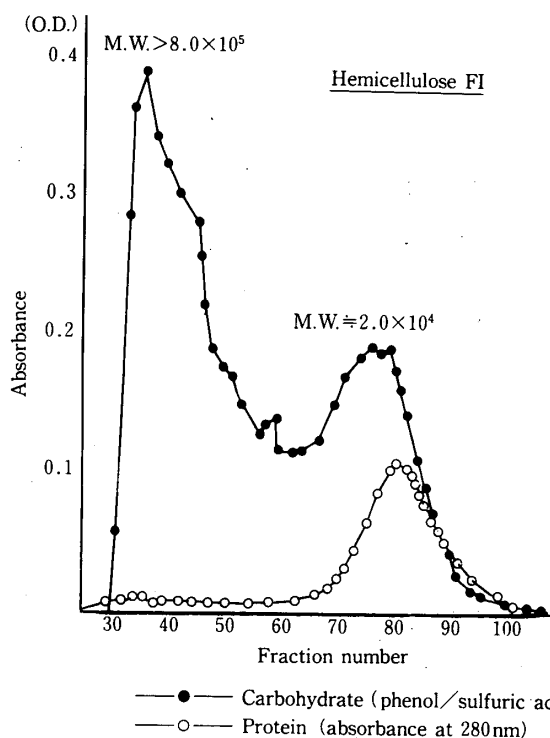


Fig.3 Gel filtration profile of FI and FII preparations on Sepharose CL-4B.

Table 6 Composition of hemicellulose F I and F II preparations fractionated from SH hemicellulose preparation. (% of dry matter)

	SH hemicellulose	
	F I	F II
Cellulose ^a	0.2	0.1
Non-cellulosic polysaccharides ^a	75.5	29.1
{ Arabinose	15.6	5.2
{ Xylose	3.1	2.6
{ Mannose	9.6	5.5
{ Galactose	18.2	5.7
{ Glucose	14.9	2.0
Uronic acid ^c	14.0	5.8
Lignin ^a	0.9	0.4
Toal nitrogen	3.3	8.2
Ash	7.7	8.7

a,b,c: See footnotes of Table 5.

ロン酸, アラビノースであった。ヘミセルロース F II 標品には, ガラクトマンナン, アラビノガラクトンおよび酸性多糖類が混在しているものと考えられる。両標品のゲル透過溶出パターンを分画前 (Fig. 2) と比較すると, フラクション NO. 60 付近を境に, 低分子領域のみが限外透過膜を通過し, ヘミセルロース F II 標品を構成したものと考えられる。ヘミセルロース F I 標品において

も, 透過されずに残った低分子側のピークが見られるが, 分画前のものに比べると, その比率は低くなっていた。

3. 動物実験

1) SH, ヘミセルロース標品および小麦フスマのラットへの投与試験 (実験 I)

高コレステロール飼料に, SH ならびに小麦フスマは NDF 含量 5% レベル, ヘミセルロース標品 1% レベルで, それぞれ添加してラットに投与し, 9 日間の飼育試験を行なった。成長結果, 屠体重および肝臓の屠体重比を, Table 7 に示す。

体重増加量, 飼料摂取量および飼料効率は各群間に差は認められなかった。屠体重の生体重に対する割合は, 標準群に比し, コレステロール添加の各群は有意に高い値を示した。肝臓の屠体重比も, コレステロール添加の各群は標準群に比し有意に高い値を示し, なかでも小麦フスマ群は SH 群, ヘミセルロース群より増大していることが認められた。

血清ならびに肝臓コレステロール値を Table 8 に示す。試験期間中, 5 日, 9 日目にラットの尾静脈より採血した血清の総コレステロール値は, SH 群は対照群との間に有意差は認められなかったが, 小麦フスマ群より有意に低い値を示した。ヘミセルロース群は対照群, 小麦フスマ群に比し, 有意に低い値を示した。解剖時に採血して測定した血清コレステロール値も, SH ならびにヘミセルロースの両群は対照群に比し, 有意に低い値を示し, 血清コレステロールの上昇抑制作用を示した。HDL-コレステロールは, SH ならびにヘミセルロース

Table 7 Effects of soybean hull (SH), SH hemicellulose and wheat bran on body weight, feed intake and relative weight of liver to eviscerated carcass in cholesterol-fed rats. (Exp.I)

	Mean ± S.E.				
	Standard	Control	Soybean hull (SH)	SH hemicellulose	Wheat bran (hard)
Initial weight (g)	134.2 ± 2.9	135.3 ± 1.7	134.2 ± 1.2	134.3 ± 1.5	134.1 ± 2.1
Final weight (g)	205.2 ± 5.0	202.6 ± 4.3	205.5 ± 1.3	198.7 ± 3.8	209.9 ± 8.1
Weight gain (g)	71.0 ± 2.9	67.3 ± 3.0	71.3 ± 1.3	64.4 ± 2.9	75.7 ± 6.3
Feed intake (g)	158.1 ± 3.6	153.2 ± 4.8	160.2 ± 2.0	150.1 ± 4.3	163.4 ± 9.1
Feed efficiency*	0.45 ± 0.01	0.44 ± 0.01	0.45 ± 0.01	0.43 ± 0.01	0.41 ± 0.01
Eviscerated carcass (g)	150.0 ± 3.7	145.6 ± 3.7	144.0 ± 1.1	139.9 ± 3.3	147.1 ± 6.0
Carcass weight / Body weight (%)	77.9 ± 0.6	75.4 ± 0.6 ^a	75.5 ± 0.2 ^a	75.0 ± 0.6 ^a	74.8 ± 0.6 ^a
Liver weight / Carcass weight (%)	4.45 ± 0.12	5.96 ± 0.07 ^a	5.81 ± 0.10 ^{a,c}	5.73 ± 0.06 ^{a,b,c}	6.26 ± 0.15 ^a

a : Significantly different from the standard group (p < 0.05).

b : Significantly different from the control group (p < 0.05).

c : Significantly different from the wheat bran group (p < 0.05).

* Weight gain / Feed intake

Table 8 Effects of soybean hull (SH), SH hemicellulose and wheat bran on serum and liver cholesterol levels in cholesterol-fed rats. (Exp. I)

	Mean \pm S.E.				
	Standard	Control	Soybean hull (SH)	SH hemicellulose	Wheat bran (hard)
Ingested cholesterol (mg) (A)	—	1,532 \pm 48	1,602 \pm 20	1,501 \pm 43	1,634 \pm 91
Serum:					
Total cholesterol (mg/dl)					
5 days on diet	90 \pm 3	345 \pm 37 ^a	319 \pm 45 ^{ac}	237 \pm 22 ^{abc}	466 \pm 31 ^{ab}
9 days on diet	99 \pm 2	436 \pm 39 ^a	362 \pm 38 ^{ac}	309 \pm 22 ^{abc}	498 \pm 17 ^a
10 days (at sacrifice)	80 \pm 4	391 \pm 46 ^a	237 \pm 25 ^{ab}	267 \pm 20 ^{ab}	275 \pm 29 ^a
HDL-cholesterol (mg/dl)	47.1 \pm 2.3	13.6 \pm 1.1 ^a	18.1 \pm 2.0 ^a	17.6 \pm 0.8 ^{abc}	14.5 \pm 1.1 ^a
Arteriosclerotic index*	0.7 \pm 0.1	29.6 \pm 5.1 ^a	13.1 \pm 2.1 ^{ab}	14.6 \pm 1.6 ^{ab}	19.0 \pm 3.2 ^a
Liver:					
Cholesterol (mg/g tissue)	5.2 \pm 0.6	59.0 \pm 2.0 ^a	60.3 \pm 1.6 ^a	59.6 \pm 0.6 ^a	64.0 \pm 4.6 ^a
Cholesterol (mg/liver) (B)	34.8 \pm 3.9	512.6 \pm 24.6 ^a	504.1 \pm 13.3 ^a	477.3 \pm 13.0 ^a	602.3 \pm 74.2 ^a
B/A** (%)	—	33.5 \pm 1.2	31.5 \pm 0.7	31.8 \pm 0.2	36.1 \pm 2.6

a: Significantly different from the standard group ($p < 0.05$).

b: Significantly different from the control group ($p < 0.05$).

c: Significantly different from the wheat bran (hard) group ($p < 0.05$).

*: (Total chol. - HDL-chol.) / HDL-chol.

** : Apparent accumulation ratio of liver cholesterol to ingested cholesterol.

Table 9 Effects of hemicellulose FI and FII preparations on body weight, feed intake and relative weight to eviscerated carcass in cholesterol-fed rats. (Exp. II)

	Standard	Control	SH hemicellulose	
			FI	FII
Initial weight (g)	111.7 \pm 3.4	112.0 \pm 1.9	112.0 \pm 1.9	112.0 \pm 1.3
Final weight (g)	179.5 \pm 4.9	172.0 \pm 5.9	176.0 \pm 6.8	177.1 \pm 4.3
Weight gain (g)	68.2 \pm 3.2	60.0 \pm 4.5	64.0 \pm 5.4	65.1 \pm 3.3
Feed intake (g)	145.0 \pm 4.3	137.6 \pm 7.7	142.4 \pm 8.0	148.8 \pm 6.2
Feed efficiency*	0.46 \pm 0.01	0.42 \pm 0.01	0.44 \pm 0.01	0.43 \pm 0.01
Eviscerated carcass (g)	130.5 \pm 3.7	122.6 \pm 4.7	126.0 \pm 4.8	124.3 \pm 3.3
Carcass weight / Body weight (%)	76.6 \pm 0.5	75.1 \pm 0.2 ^a	75.7 \pm 0.4	74.9 \pm 0.4 ^a
Liver weight / Carcass weight (%)	4.66 \pm 0.12	6.09 \pm 0.07 ^a	5.95 \pm 0.15 ^a	6.48 \pm 0.14 ^{ab}

a : Significantly different from the standard group ($p < 0.05$).

b : Significantly different from the control group ($p < 0.05$).

* : Weight gain / Feed intake

の両群は対照群と比べ、その降下が抑制され、とくにヘミセルロース群は対照群、小麦フスマ群との間に有意差が認められた。動脈硬化指数を求めると、SH群 13.1、ヘミセルロース群 14.6 で、両群は対照群 29.6 に対し、

有意に低い値を示した。肝臓コレステロールは、SH群、ヘミセルロース群および小麦フスマ群とも対照群との間に有意差は認められなかったが、小麦フスマ群は見かけのコレステロール蓄積率において他群より高い値を示し

Table 10 Effects of hemicellulose FI and FII preparations on serum cholesterol levels in cholesterol-fed rats.(Exp.II)

	Standard	Control	SH hemicellulose	
			FI	FII
			Ingested cholesterol (mg)	—
Serum total cholesterol (mg/dl)				
5 days on diet	105±3	454±31 ^a	351±48 ^a	413±48 ^a
10 days (at sacrifice)	89±5	322±45 ^a	278±47 ^a	309±34 ^a
HDL-cholesterol (mg/dl)	43.7±2.3	13.8±1.5 ^a	13.3±1.6 ^a	12.8±0.8 ^a
Arteriosclerotic index	1.1±0.1	25.0±6.4 ^a	21.7±6.1 ^a	23.6±3.3 ^a

a : Significantly different from the standard group (p<0.05).

Table 11 Effects of hemicellulose FI and FII preparations on body weight, feed intake and relative weight to eviscerated carcass in rats fed cholesterol-free diet. (Exp.III)

	Control	SH hemicellulose	
		FI	FII
Initial weight (g)	103±1	103±1	103±1
Final weight (g)	187±2	193±3	186±3
Weight gain (g)	84±2 ^a	90±2 ^b	83±3 ^a
Feed intake (g)	190±4 ^a	202±4 ^b	194±3 ^{a,b}
Feed efficiency	0.44±0.01	0.44±0.01	0.42±0.01
Eviscerated carcass (g)	134±2 ^{a,b}	138±2 ^b	133±1 ^a
Carcass weight / Body weight (%)	75.2±0.2	75.1±0.1	75.0±0.4
Liver weight / Carcass weight (%)	5.61±0.10	5.54±0.07	5.74±0.13

The values not sharing the identical alphabetical letter are significantly different.

Table 12 Effects of hemicellulose FI and FII preparations on cholesterol, glucose and insulin levels in serum of rats fed cholesterol-free diet. (Exp. III)

	Mean±S.E.		
	Cholesterol (mg/dl)	Glucose (mg/dl)	Insulin (μU/ml)
Control	57.5±12.0 ^{a,b}	55.5±5.6 ^a	22.8±1.6 ^a
SH hemicellulose :			
FI	50.9±7.9 ^a	71.4±9.9 ^a	25.1±1.6 ^{a,b}
FII	71.7±5.1 ^b	106.0±8.1 ^b	28.4±1.5 ^b

The values not sharing the identical alphabetical letter are significantly different.

た。

2) ヘミセルロース分画標品のコレステロール負荷ラットへの投与試験 (実験II)

高コレステロール飼料にヘミセルロース分画標品 (ヘミセルロース F I ならびにヘミセルロース F II) をそれぞれ添加してラットに投与し、9日間の飼育試験を行なった。成長結果、屠体重および肝臓の屠体重比を Table 9 に示す。

体重増加量、飼料摂取量、飼料効率は各群間に差は認められなかった。肝臓の屠体重比は、コレステロール添加の各群は標準群より有意に高い値を示し、なかでもヘミセルロース F II 群は対照群との間に有意差が認められた。

血清コレステロール値を Table 10 に示す。飼育期間中、5日目にラットの尾静脈より採血して測定した血清の総コレステロール値は、ヘミセルロース F I 群は対照群に比べ、有意差は認められなかったが、低い値を示し、血清コレステロールの上昇を抑制する傾向を示した。これに対し、ヘミセルロース F II 群は対照群とほとんど変わらない値を示した。解剖時における血清コレステロール値も5日目測定時と同様な傾向を示し、ヘミセルロース F I 群に血清コレステロール上昇抑制作用のあることが認められた。HDL-コレステロールは、コレステロール添加各群間に差はなかった。

3) ヘミセルロース分画標品のコレステロール無負荷ラットへの投与試験 (実験III)

コレステロールを負荷しない飼料に、ヘミセルロース分画標品 (ヘミセルロース F I ならびにヘミセルロース F II) をそれぞれ添加してラットに投与し、14日間の飼育試験を行なった。成長結果、屠体重および肝臓の屠体重比を Table 11 に示す。

体重増加量、飼料摂取量において、ヘミセルロース F I 群は対照群に比し有意に高い値を示した。屠体重、肝

臓の屠体重比は、ヘミセルロース F I、ヘミセルロース F II の両群とも対照群との間に差は認められなかった。

解剖時の血清中における総コレステロール、グルコース、インシュリンの各値を Table 12 に示す。血清コレステロールは、ヘミセルロース F I 群は対照群との間に差は認められなかったが、ヘミセルロース F II 群は上昇の傾向を示した。グルコースおよびインシュリンもヘミセルロース F II 群は対照群に比し、有意に高い値を示した。ヘミセルロース F I 群とヘミセルロース F II 群との間には、コレステロール、グルコース値において、ヘミセルロース F I 群が有意に低い値を示した。

考 察

実験 I では、SH ならびに SH から“ヘミセルロース B”に相当する画分を希アルカリで抽出、分離したヘミセルロース標品を、高コレステロール飼料に添加してラットに投与した。その結果、SH ならびにヘミセルロース標品添加の両群は、対照群ならびに小麦フスマ群に比べ血清コレステロール値は低く、血清コレステロールの上昇抑制作用を示した。SH の血清コレステロール低下作用は、BALMER ら (1974) のラットを用いた実験、MUNOZ ら (1979) の臨床実験で示されているが、本実験の結果から、SH のヘミセルロース画分が何らかの形で、消化管内で溶出することにより上昇抑制作用が発現したものと考えられる。SH から抽出、分離したヘミセルロース標品中の非セルロース多糖類は 61% で、そのほか、タンパク質 28% が含まれていた。したがって飼料中における標品由来のタンパク質レベルは 0.28% と非常に低く、このものが作用発現の主因であるとは考え難い。多糖とタンパク質がともに関与し、発現したと考えるのが妥当であろう。このことはゲル透過溶出パターンで、糖とタンパク質のピークが重なっていたことから推察される。一方、ヘミセルロース標品中の多糖は、構成糖がアラビノースとガラクトースを主とすることから、アラビノカラクタンが主体であろう。そのほかガラクトマンナンならびにグルコース、ガラクトースおよびアラビノースを側鎖にもつ複雑なキシランが含まれるものと考えられる(川村, 1967)。

実験 II では、SH ヘミセルロース標品を限外濾過法で、高分子領域(ヘミセルロース F I 標品)と低分子領域(ヘミセルロース F II 標品)とに分画して、高コレステロール飼料に添加してラットに投与した。その結果、血清コレステロール上昇抑制能は高分子領域側にあることが示された。ところでヘミセルロース F I 標品は、いかなる機序で血清コレステロール上昇抑制作用を発現したのだろうか。まず、外因性コレステロールの吸収阻害、また

胆汁酸の再吸収阻害による腸肝循環の遮断が考えられる。ペクチン、コンニャクマンナン、グアーガムなどは、これら作用が主となり、血清コレステロール上昇抑制作用を発現するものと考えられている。大豆に関しては大豆粉(BALMER ら, 1974)および大豆タンパク質(菅野ら, 1984)がコレステロールの糞中排泄量を増加させるという報告がある。しかし、ヘミセルロース F I 標品の飼料への添加は 0.59% と非常に少なく、コレステロールまたは胆汁酸の吸収阻害が起っていたとしても、それが血清コレステロール上昇抑制作用を示すに足るとは考え難い。ヘミセルロース F I 標品が腸内細菌叢を変化させ、腸内発酵生産物が血清コレステロール上昇抑制作用をもたらした可能性もある。極く少量の添加物でも細菌叢の変化は十分あり得る。

そこで、実験 III では、ヘミセルロース F I ならびにヘミセルロース F II 標品をコレステロールを含まない飼料に、実験 II と同じレベルでそれぞれ添加してラットに投与し、血清中のコレステロール、グルコース、インシュリンの各値を測定した。その結果、ヘミセルロース F I 標品群は各測定値とも対照群との間に有意差は認められなかったが、血清コレステロール値は低く、実験 II のコレステロール負荷時と同様な傾向を示した。それに対し F II 標品群は対照群に比し、各測定値とも高く、グルコース、インシュリン値では有意差が認められた。また、コレステロールならびにグルコースの各値は、ヘミセルロース F I 標品群より有意に高い値を示した。インシュリンの分泌増加は、肝臓でのコレステロール合成を増加させるので、血清コレステロール値を高めたものと考えられる。ヘミセルロース F II 標品は成分分析から非セルロース多糖類は 29.1% と低く、タンパク質は 51.2% と標品の約半分を占めていた。ヘミセルロース F II 標品によるグルコース、インシュリンの上昇作用は、タンパク質と分子量約 1.5 万の比較的 low molecular weight の非セルロース多糖類がともに関与して発現したものと推定される。このような生理作用が、飼料中 0.41% レベルという極く少量の添加で発現したことは、特筆すべき現象と考えられる。今後、ヘミセルロース標品がホルモン等生理機能に及ぼす影響について、より詳細な検討が期待される。

以上、これまで、ほとんど関心がもたれなかった SH は、本研究の結果、DF としてのすばらしい生理作用をもつことが示された。

摘 要

SH ならびに SH から分離、調製した DF 標品を高コレステロール飼料(コレステロール 1%、コール酸ナトリウム 0.25% を含む)に添加してラットに投与し、コレス

テロール代謝に及ぼす影響について試験した。

(1) SH (NDF 63.6%, ADF 51.6%, リグニン 2.0%, 水溶性 DF 3.9%) を高コレステロール飼料に NDF 含量 5% レベル (8.22% 添加) で添加し, ラットに投与した。SH は小麦フスマ (NDF 47.3%, ADF 15.2%, リグニン 3.7%) に比し, 血清コレステロールの上昇を有意に抑制した。

(2) SH から“ヘミセルロース B”に相当する画分を希アルカリで抽出, 分離した。このヘミセルロース標品 (非セルロース多糖類 61.0%, 全窒素 4.5%, 灰分 6.3%) を高コレステロール飼料に 1% レベルで添加して, ラットに投与した。標品は血清中の総コレステロールの上昇ならびに HDL-コレステロールの降下をそれぞれ有意に抑制した。肝臓コレステロールに対しては上昇抑制作用を示さなかった。

(3) SH ヘミセルロース標品を限外濾過法により高分子領域画分 (ヘミセルロース F I) と低分子領域画分 (ヘミセルロース F II) に分け, 高コレステロール飼料に, 前者は 0.59%, 後者は 0.41% レベルでそれぞれ添加してラットに投与した。ヘミセルロース F I 標品には血清コレステロール上昇抑制能が認められた。

(4) ヘミセルロース F I ならびに F II の両標品をコレステロールを負荷しない標準飼料にそれぞれ添加してラットに投与した。ヘミセルロース F II 標品は血清中のグルコース, インシュリンを有意に上昇させた。ヘミセルロース F I 標品には, それらの作用は認められなかった。

本実験を行なうにあたり, 試料をご提供下さった不二製油(株), 日東製粉(株)ならびにインシュリンの測定にご便宜をいただいたダイナボット RI(研)に深謝します。

引用文献

- BALMER, J. and ZILVERSMIT, D. B. (1974) : Effects of dietary roughage on cholesterol absorption, cholesterol turnover and steroid excretion in the rat, *J. Nutr.*, **104**, 1319-1328.
- DINTZLS, F. R., LEGG, L. M., DEATHERAGE, W. L., INGLETT, G. E., JACOB, R. A., RECK, S. J., MUNOZ, J. M., KLEVAY, L. M., SANDSTEAD, H. H. and SHUEY, W. C. (1979) : Human gastrointestinal action on wheat, corn and soy hull bran-preliminary findings, *Cereal Chem.*, **56**, 123-127.
- 川村信一郎 (1967) : 大豆多糖類の化学 (I), *食工誌*, **14**, 514-523.
- MUNOZ, J. M., SANDSTEAD, H. H., JACOB, R. A., LOGAN, G. M., RECK, S. J., KLEVAY, L. M., DINTZIS, F. R., INGLETT, G. E. and SHUEY, W. C. (1979) : Effects of some cereal brans and textured vegetable protein on plasma lipids, *Am. J. Clin. Nutr.*, **32**, 580-592.
- RASPER, V. F. (1979) : Chemical and physical properties of dietary fiber, *Food Tech.*, **33**, 40.
- SHAFFER, M. A. H. and ZABIK, M. E. (1978) : Dietary fiber sources for baked products: comparison of wheat brans and other cereal brans in layer cakes, *J. Food Sci.*, **43**, 375-379.
- SMITH, A. K. and CIRCLE, S. J. (1972) : Soybean; chemistry and technology, protein (渡辺篤二, 柴崎一雄監訳 (1974) : 大豆タンパク質-その化学と加工技術, 建帛社, 東京, p. 34)
- SOUTHGATE, D. A. T. (1976) : Determination of food carbohydrate, Applied Science Publishers, London, 111-112.
- SOUTHGATE, D. A. T. (1981) : The analysis of dietary fiber in food (Ed. by JAMES, W. P. T. and THEANDER, O.), Marcel Dekker Inc., New York, 1-19.
- 菅野道広・石脇尚武・中島克子 (1984) : 分離大豆タンパク質のラット血清コレステロール濃度低下作用 (IV), *大豆タンパク質栄養研究会会誌*, **4**, 79-84.
- 上野民夫 (1970) : 糖類のガスクロマトグラフィー, *化学と生物*, **8**, 114-121.
- VAN SOEST, P. J. (1963) : Use of detergents in the analysis of fibrous feeds, I. Preparation of fiber residues of low nitrogen content, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **46**, 825-829.
- (1963) : Use of detergents in the analysis of fibrous feeds, II. A rapid method for the determination of fiber and lignin, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **46**, 829-835.
- ・WINE, R. H. (1967) : Use of detergents in the analysis of fibrous feeds, IV. Determination of plant cell wall constituents, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **50**, 50-55.
- ZAK, B., MOSS, N., BOYLE, A. J. and ZLATKIS, A. (1954) : Reaction of certain unsaturated steroids with acid iron reagent, *Anal. Chem.*, **26**, 776-777.