



Title	高コレステロール負荷ラットの血清および肝臓中の脂質濃度に及ぼす泡盛粕給与の影響
Author(s)	野原, 敏次; 上地, 俊徳; 小倉, 剛; 川島, 由次; 仲田, 正; 田幸, 正邦; 本郷, 富士彌
Citation	琉球大学農学部学術報告 = The Science Bulletin of the Faculty of Agriculture. University of the Ryukyus(49): 189-197
Issue Date	2002-12-01
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/3631
Rights	

高コレステロール負荷ラットの血清および肝臓中の脂質濃度に 及ぼす泡盛粕給与の影響

野原 敏次*・上地 俊徳*・小倉 剛**・川島 由次**
仲田 正***・田幸 正邦*・本郷 富士彌*

Toshitsugu NOHARA, Shuntoku UECHI, Go OGURA,
Yoshitsugu KAWASHIMA, Tadashi NAKADA, Masakuni TAKO
and Fujiya HONGO : Effect of Awamori lees on serum and
liver lipid concentrations in rats fed a high cholesterol diet

キーワード：泡盛粕、脂質、脂肪肝、高コレステロール食、食物繊維

Key words : Awamori lees, lipid, fatty liver, high cholesterol diet,
dietary fiber

Summary

The Awamori lees that was made by solid-liquid separation after distillation process is an unused resource. We investigated the effect of Awamori lees on growth, serum and liver lipid concentrations to utilize as a functional food or feed stuff for domestic and pet animal. First, we made fatty liver model rats by feeding them a high cholesterol diet for 2 weeks. Second, these rats were divided into 4 groups: (i) control group given basal diet, (ii), (iii) and (iv) group given basal diet containing 2.5, 5 and 10% Awamori lees, and each group was fed its respective diets for 30 days. Additionally, except the above groups, the standard group that was given only a basal diet during experimental period was set up. It was observed that body weight gain did not significantly improve ($p < 0.05$) when the diet containing 2.5% and 5% Awamori lees were given, however, 10% Awamori lees group was unimproved. In feed consumption, the diet containing 2.5% and 5% Awamori lees was significantly improved ($p < 0.05$). In serum lipid concentration, total cholesterol was reduced in 2.5% Awamori lees contained diet group, but all of measurement items were not significant values ($p < 0.05$). The color tone of the control was white-brown, indicating a typical fatty liver, however, the group of Awamori lees contained diet was virtually the same color as the standard group. Liver lipid concentration was not significant ($p < 0.05$) because these observations were so varied. The group that contained the Awamori lees diminished these concentrations as compared to the control group. These results agreed with numerical diminution and a scale reduction of adipose droplet to the group fed the diet containing Awamori lees in the histological inspection of the liver. In conclusion, these results indicate that Awamori lees has the effect of decreasing liver lipid con-

*琉球大学農学部生物資源科学科

**琉球大学農学部生産環境学科

***琉球大学農学部生物生産学科

centration.

緒 言

沖縄県下における泡盛の生産量は年間約2万キロリットル以上に達し、副産物的に派生する泡盛蒸留粕も年間約3万トンと大量である。この泡盛蒸留粕は以前から家畜の飼料あるいは農作物の肥料などとして利用されてはいたが、それには限りがあり、大部分は廃棄処分されてきた。しかし、「廃棄物その他の物の投棄による海洋汚染の防止に関する条約」いわゆるロンドン条約によりそれまで行われてきた海洋投棄が全面的に禁止となったこともあり、今その活用が課題となっている。高江洲ら^{1, 2)}は泡盛蒸留粕を飼料としたブタの飼育試験を行ない、屠体成績から背脂肪層の薄化を認め、格付け成績の向上を報告している。しかし、実用化となると解決すべき課題も多く、その後の研究にも進展は見られていない。一方、泡盛蒸留粕の圧搾液汁を利用した商品、いわゆる「もろみ酢」が近年の健康食品ブームを受け、機能性食品として注目されている。このような最近の動向を見るにつけ、泡盛蒸留粕をこれまでのような単なる飼料添加物としての見方を改め、機能性食品の見地からその有効利用を実験動物を使って調べることを企図した。

本研究ではコレステロール摂取ラットに泡盛蒸留粕添加飼料を給与し、ラットの発育、血清および肝臓中の脂質濃度に及ぼす影響を検討したので、その成績を報告する。

実験方法

1. 泡盛蒸留粕の調製

泡盛蒸留粕の生産工程を Fig. 1 に示した。実験には、合資会社比嘉酒造（沖縄県糸満市）より提供された泡盛蒸留粕を圧搾して得られる泡盛板状粕を用いた。これを包丁で適当に細切、通風乾燥（40℃、24時間）、粉碎した粉末試料（以下、泡盛粕（Awamori lees: AL）と呼ぶ）を動物実験に供した。

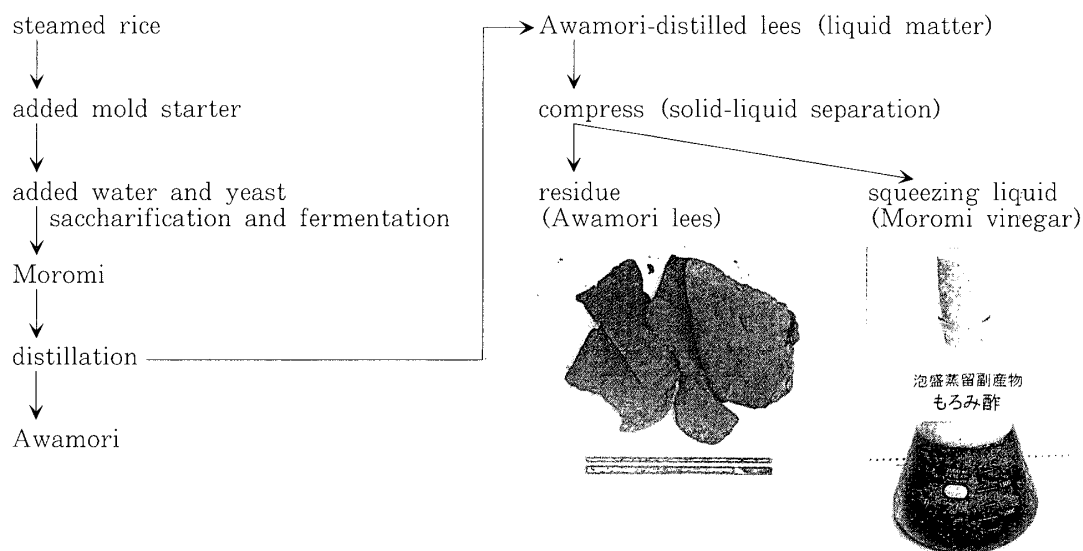


Fig. 1 The production process of Awamori lees.

2. 一般成分測定

泡盛粕の一般成分は常法³⁾、食物繊維は AOAC の酵素重量法⁴⁾で測定した。無機成分はナトリウム、カリウム、鉄、カルシウムおよびマグネシウム含量を原子吸光スペクトル法³⁾で、また、リン含量をモリブデンブルー比色法⁵⁾で測定した。

3. 動物実験

1) 実験動物

実験には4週齢の Wistar 系雄性ラット30匹（セアック吉富、福岡県）を購入して用いた（入荷時体重80~100 g）。予備飼育は2週間とした。試験期間を通してラットは金網ケージで2匹飼いと、水および飼料は自由に摂取させた。飼育環境は室温25±2℃、湿度50~60%に設定し、午前8時点灯、午後8時消灯とした。

2) 飼料の作製

Table 1 に基本食（Basal diet: BD）、高コレステロール食（High cholesterol diet: HCD）、泡盛粕2.5、5および10%添加食（Awamori lees diet: AL）の組成を示した。高コレステロール食は基本食にコレステロールとコール酸ナトリウムを添加して作製した。

Table 1. Composition of experimental diets (% w/w)

Components	Basal	High cholesterol	Control	2.5% AL	5% AL	10% AL
Casein	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0
Corn oil	10.0	5.0	10.0	10.0	10.0	10.0
Cellulose powder	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Mineral mixture ¹⁾	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
Vitamin mixture ¹⁾	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Choline chloride	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Corn starch	59.8	59.55	59.8	57.3	54.8	49.8
Cholesterol	—	5.0	—	—	—	—
Cholic acid sodium salt	—	0.25	—	—	—	—
AL ²⁾	—	—	—	2.5	5.0	10.0
Total	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

¹⁾ Oriental Yeast Co., Tokyo ²⁾ AL: Awamori Lees

3) 実験群への給与飼料および給与日数

給与期間および飼料の種類によりラットを次の5群に分けた。

- i) 対 照 群：HCD を14日間給与 → BD を30日間給与
- ii) 2.5% AL群：HCD を14日間給与 → AL2.5%添加 BD を30日間給与
- iii) 5% AL群：HCD を14日間給与 → AL5%添加 BDを30日間給与
- iv) 10% AL群：HCD を14日間給与 → AL10%添加 BD を30日間給与
- v) 基 本 群：BDのみ44日間給与

すなわち、i) 群からiv) 群に最初の14日間はHCDを給与し、残りの30日間は当該飼料を給与した。各群には一定量の飼料を与え、それぞれの摂食量、飲水量および体重を毎日測定した。

4) 血清および肝臓脂質の測定方法

44日間の飼育期間終了後、ネブタール麻酔下で腹大静脈より全採血し、肝臓を摘出した。血清を3000rpm、10分遠心により分離、-20℃で保存して用時測定に供した。脂質濃度測定には和光純薬工業(株)製のキットを使用した。血清中の総コレステロール (Total cholesterol) はコレステロー

ルE-テストワコー、HDL-コレステロール (HDL-cholesterol) はHDL-コレステロール-テストワコー、中性脂肪 (Triglycerides) はトリグリセライドE-テストワコー、リン脂質 (Phospholipids) はリン脂質B-テストワコー、遊離脂肪酸 (Free fatty acid: FFA) はNEFA-テストワコー、GOT および GTP はそれぞれ GOT-UV テストワコー、GPT-UV テストワコーを用いて測定した。肝臓脂質は、総脂質 (Total lipid) を Folch⁹⁾らの方法で抽出後、重量法により測定した。さらに、総コレステロールをコレステロールE-テストワコー、中性脂肪をトリグリセライド-テストワコー、リン脂質をリン脂質B-テストワコーで測定した。

5) 肝臓組織写真

抽出した肝臓は肉眼観察および写真撮影を行った後、ホルマリンで固定した。固定後、常法により組織切片を作製し、ヘマトキシリン・エオシン染色⁷⁾を行った後、顕微鏡検索を行った。

4. 統計処理

得られた測定値は SAS プログラム^{8, 10, 11)}により統計処理し、平均値±標準偏差で示した。統計的有意差の判定は、一元配置分散分析を行った後、Fisher の LSD 法⁹⁾を用いて比較解析し、有意水準 5% 以下で有意差を検定した。

実験結果

1. 泡盛蒸留粕粉末の分析

Table 2 に一般成分および無機成分含量を示した。泡盛粕の一般成分は水分が7.1%、粗タンパク質が42.7%、粗脂肪が11.0%、粗繊維が13.8%、糖質が5.2%、灰分が0.6%、食物繊維が33.4%であり、粗タンパク質および食物繊維含量が高い値を示した。カリウムが23.0mg%、カルシウムが5.6mg%、マグネシウムが4.3mg%、ナトリウムが27.1mg%、鉄が16.0mg%、リンが214.5mg%であった。風乾後の試料には粕臭がかなり残っていた。

2. 動物実験

1) ラットの発育に対する泡盛粕給与の影響

Table 3 に増体重、摂食量、飲水量および飼料効率を示した。増体重量は泡盛粕2.5%および5%添加群で対照群より約10g高く、摂食量でも2.5%および5%添加群が対照群より約2g高かったが、いずれの場合も有意差は認められなかった。泡盛粕10%添加群では摂食量は対照群と同等であったが、増体重は対照群より16gほど低かった。飲水量および飼料効率にも対照群と比較して泡盛粕添加群に有意な差は認められなかった。すなわち、各測定項目において有意な変化は認められなかったが、泡盛粕2.5%および5%添加群の増体重に良好な結果が得られた。

Table 2. Chemical components of Awamori lees.

(1) General component (%)	
Moisture	7.1
Crude protein ¹⁾	42.7
Crude fat	11.0
Crude fiber	13.8
Nitrogen-free extract ²⁾	5.2
Ash	0.6
Dietary fiber	33.4
(2) Mineral component (mg%)	
Phosphorus	214.5
Sodium	27.1
Potassium	23.0
Iron	16.0
Calcium	5.6
Magnesium	4.3

¹⁾Nitrogen-protein conversion rate : 6.25

²⁾Nitrogen-free extract = 100 - (moisture + crude protein + crude fat + ash + dietary fiber)

Table 3. Effect of Awamori lees on body weight, feed consumption, water intake and feed conversion ratio in rats fed a high cholesterol diet.

	Standard	Control	2.5% AL ²⁾	5% AL	10% AL
No. of rat	6	6	6	6	6
Initial body weight (g)	331.5±7.4 ¹⁾	340.0±7.2	339.2±13.4	345.7±19.9	344.2±34.3
Final body weight (g)	472.7±14.5	482.5±11.3	491.0±20.6	499.8±32.5	471.0±58.7
Body weight gain (g)	141.2±12.0 ^{a,b}	142.5±10.0 ^{a,b}	151.2±15.0 ^a	154.2±18.8 ^a	126.8±35.2 ^b
Feed consumption (g)	1308±73.6 ^c	1324±37.0 ^c	1437±23.3 ^{a,b}	1446±38.4 ^a	1342±85.1 ^{b,c}
Water intake (g)	44.7±15.7	41.5±2.9	52.1±16.6	63.7±17.8	43.8±18.8
Feed conversion ratio	9.3±0.3	9.3±0.2	9.5±0.8	9.4±0.6	10.9±2.0

¹⁾ Values are means±S.D. Means in the same column with different superscripts are significantly different (p<0.05).

²⁾ AL: Awamori Lees

2) ラットの血清脂質濃度および肝機能酵素に対する泡盛粕給与の影響

Table 4 に血清脂質濃度および肝機能酵素の測定結果を示した。総コレステロールの値には対照群と泡盛粕添加群の間に有意な変化は認められなかった。HDL コレステロールは泡盛粕添加量に依存した増加傾向が認められた。中性脂肪、リン脂質および遊離脂肪酸には泡盛粕添加による変動は認められず、各項目が対照群の値と同等であった。GOT および GPT 酵素活性には泡盛粕添加に伴う変化は認められなかった。

Table 4. Effect of Awamori lees on serum lipids and hepatic function enzyme activity in rats fed a high cholesterol diet.

	Standard	Control	2.5% AL ²⁾	5% AL	10% AL
No. of rat	6	6	6	6	6
Total cholesterol (mg/dl)	54.9±5.5 ^{b,c,1)}	62.1±18.9 ^{a,b,c}	52.0±5.6 ^c	68.3±13.1 ^{a,b}	74.1±12.5 ^a
HDL-cholesterol (mg/dl)	44.5±4.6 ^{a,b}	42.2±8.6 ^{a,b}	39.8±5.4 ^b	45.3±6.2 ^{a,b}	50.0±10.3 ^a
Triglycerides (mg/dl)	63.2±7.2	59.8±13.3	62.7±20.6	73.9±16.7	64.4±17.3
Phospholipids (mg/dl)	89.9±9.6	84.4±10.5	80.2±6.2	83.2±8.4	79.5±12.5
Free Fatty Acid (mEq/L)	0.60±0.22	0.62±0.22	0.69±0.23	0.70±0.14	0.53±0.15
GOT (karmen)	11.57±3.62	11.53±2.77	11.38±3.55	11.29±2.34	11.56±2.54
GPT (karmen)	8.97±4.33	8.58±3.00	7.19±1.06	8.83±1.61	7.46±3.26

¹⁾ Values are means±S.D. Means in the same column with different superscripts are significantly different (p<0.05).

²⁾ AL: Awamori Lees

3) ラットの肝臓湿重量および肝臓脂質濃度に対する泡盛粕給与の影響

Table 5 に肝臓湿重量および肝臓脂質濃度の測定結果を示した。肝臓湿重量は対照群および泡盛

Table 5. Effect of Awamori lees on liver weight and lipid in rats fed a high cholesterol diet.

	Standard	Control	2.5% AL	5% AL	10% AL
No. of rat	5	5	5	5	5
Liver weight (g/100g of body weight)	2.3±0.1 ^{b,1)}	2.9±0.3 ^a	2.8±0.2 ^a	2.9±0.3 ^a	3.0±0.3 ^a
Total lipid (mg/g of liver weight)	81.5±12.9 ^b	226.2±175.3 ^a	136.7±19.7 ^{a,b}	179.1±64.4 ^{a,b}	151.5±36.1 ^{a,b}
Total cholesterol (mg/g of liver weight)	6.6±0.8 ^b	21.7±6.1 ^a	15.8±5.1 ^a	19.0±8.4 ^a	18.0±7.3 ^a
Triglycerides (mg/g of liver weight)	26.9±15.9 ^b	50.7±27.3 ^{a,b}	56.9±15.6 ^a	54.6±23.6 ^{a,b}	55.1±27.1 ^{a,b}
Phospholipids (mg/g of liver weight)	21.2±3.8 ^b	32.3±4.0 ^a	27.9±4.1 ^{a,b}	30.8±9.1 ^a	28.5±7.5 ^{a,b}

¹⁾ Values are means±S.D. Means in the same column with different superscripts are significantly different (p<0.05).

粕添加群の4群すべてが基本食群に比べ有意に増加したが、対照群と泡盛粕添加群との間に差はなかった。肝臓中の総脂質は肝臓1gあたりで対照群の226.2mgに対し泡盛粕2.5%添加群で136.7mg、5%添加群で179.1mg、10%添加群では151.5mgを示し、対照群の約60~80%程度に減少していたが、対照群のバラツキが特に大きく有意差は認められなかった。総コレステロール、中性脂肪およびリン脂質の各項目で泡盛粕添加に伴う顕著な変化は認められなかった。

4) 肝臓の肉眼および組織学的所見

Fig. 2 に肝臓の写真、Fig. 3 に顕微鏡写真を示した。肝臓の外観の色調は対照群が典型的な脂肪肝の特徴である白褐色を呈していた。これに比べ、泡盛粕添加群の肝臓の色調は基本群との違いがほとんど感じられない程度に回復していた。組織学的検査においても肉眼的所見と一致する結果が得られ、対照群に比べ泡盛粕添加群では中心静脈周辺に分布する脂肪滴の数的減少や大きさの縮小傾向が認められた。

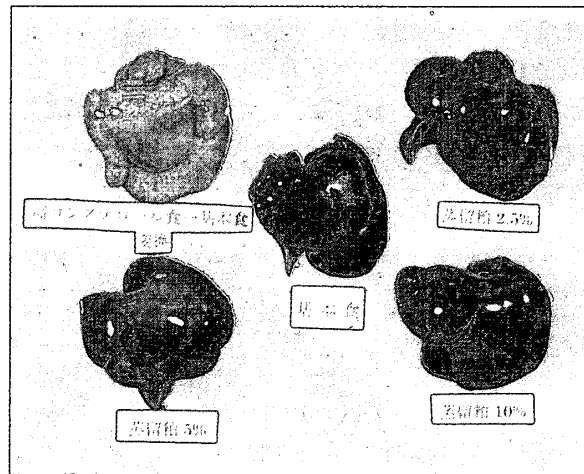


Fig. 2 Photos of liver in rats fed the experimental diets: standard (central position), control (upper left), 2.5% Awamori lees (upper right), 5% Awamori lees (lower left) and 10% Awamori lees (lower right).

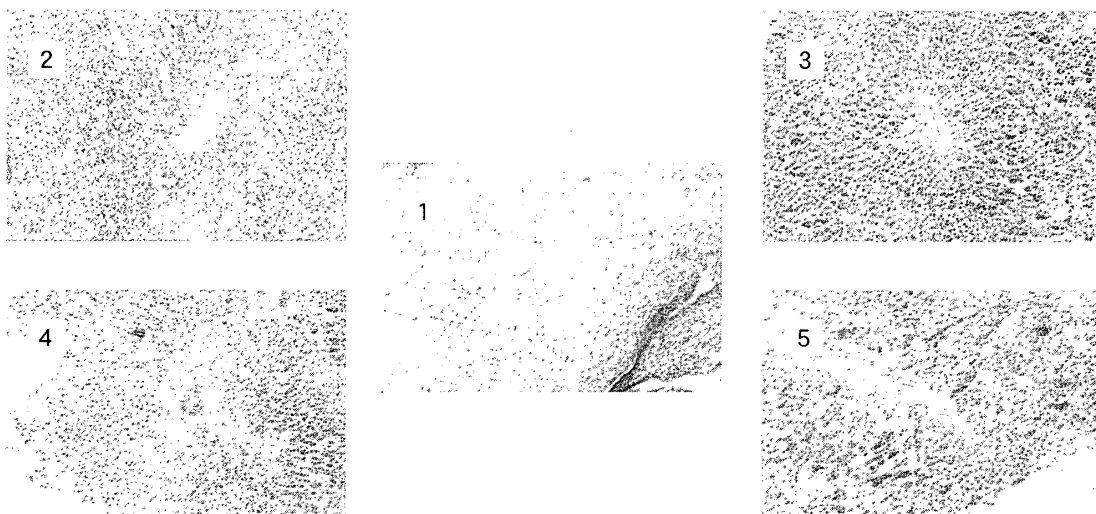


Fig. 3 Photomicrographs of liver in rats fed the experimental diets. Tissue of fatty liver was stained by hematoxylin and eosin ($\times 100$). These photograph were placed at each position: standard (No.1), control (No.2), 2.5% Awamori lees (No.3), 5% Awamori lees (No.4) and 10% Awamori lees (No.5).

考 察

泡盛粕を機能性食品または家畜の飼料添加物などとして有効利用するに当たり、日本酒や焼酎などの醸造副産物を機能性食品として利用した研究報告例が有効な指針となった。持田ら¹²⁾によるラットのコレステロール代謝改善効果を有する酒粉末の調製方法の開発、望月ら¹³⁾によるオロチン酸による脂肪肝ラットに対する大麦焼酎粕の抑制効果の検討、古田ら¹⁴⁾による乳酸菌およびビフィズス菌に対する焼酎粕の増殖促進効果の検討、林ら^{15, 16, 17)}による焼酎粕より抽出される家禽の成長促進因子に関する研究などが報告されている。本実験では、高コレステロール食給与により脂肪肝モデルラットを作製し、これの発育や血清および肝臓中の脂質濃度に泡盛粕がどのような影響を及ぼすかについて検討した。まず体重について、泡盛粕2.5%および5%添加群はいずれもラットの発育を促進した。すなわち、増体重が対照群のそれを上回った。しかし、10%添加群では増体重が対照群を約16gほど下回った。泡盛粕10%添加群の摂食量は対照群と同程度であるが、それでも増体重が対照群よりも下回るという結果であり、その原因は定かではない。本実験では試験群間の可消化エネルギーを考慮していないが、飼料配合においてコーンスターチを泡盛粕で置換する手法の影響に因るものかもしれない。血清脂質濃度の測定値には対照群と泡盛粕添加群間で有意差が見られた項目はなかった。一方、コレステロールを給与した対照群の総コレステロールおよび中性脂肪がコレステロール無添加飼料で飼育した基本食群と同等またはそれ以下の値であった。このことを言い換えると、対照群のラットの血清脂質濃度が予想した値よりも低く、正常ラットの値付近まで回復していたということである。対照群のラットの病態レベルを適度に保つことが鍵と思われるので、この辺を含めて今後検討したい。血清脂質濃度では以上述べたように泡盛粕による効果の有無が定かではなかったが、肝臓脂質濃度および組織学的検査においては改善効果が認められた。すなわち、肝臓湿重量においては試験群間での差はなかったものの、肝臓の外観的色調は対照群の脂肪沈着による白褐色から泡盛粕添加群では基本群の肝臓が示す褐色色調への回復傾向が認められた。正常ラットの肝臓中には通常5~8%の脂質が含まれるが、本実験での対照群の肝臓には約23%の脂質が含まれ、明らかに脂肪肝であると判断された。これに対し、泡盛粕添加群では約13~18%の範囲にあり、脂質含量の低下が確認され、肝臓の外観的色調の所見に一致した。今回用いた泡盛粕には30%以上の食物繊維が含まれていた。食物繊維には糞便増量や大腸癌予防に有効な不溶性繊維と血清の総コレステロールおよびLDL-コレステロールの低下作用を有する水溶性、高粘性の繊維がある。両者が泡盛粕にどのような比率で含まれているかは今回調べていないが、この成分が上記の脂肪肝改善効果に関与している可能性は高いと考えられる。酒粕類についてはこれまでに様々な作用が報告されており、持田ら¹²⁾の研究では、酒粕粉末の糞中への中性ステロールと酸性ステロールの排出促進効果から、食物繊維の消化管内での不消化物によるコレステロール吸収阻害作用を示唆し、また、酒粕粉末投与によって糞中へのタンパク質排泄が投与量依存的に増加することから、酒粕中のタンパク質の難消化性を示唆している。Tanakaら¹⁸⁾は、米タンパク質には消化酵素に抵抗性を持つプロテインボディIが存在することを報告し、Moritaら¹⁹⁾は、酵母や麹が作用していない米タンパク質がラットのコレステロール上昇を抑制すると報告している。Robbinsら²⁰⁾は酵母菌体自身がコレステロール上昇抑制効果を有し、この効果に酵母細胞壁を構成するグルカンが関与していると報告している。泡盛粕には、発酵により麹菌や酵母が資化できなかった米成分、菌体成分、菌体代謝産物や微量成分が含まれていると考えられ、機能性食品またはペットや家畜用飼料などへの有効利用が期待される。泡盛粕そのものに多く含まれる脂質をそのまま活かすべきか、脱脂して活用すべきか、これらの点を含めて更なる検討を行いたい。

要 約

未利用資源である泡盛粕を機能性食品あるいは家畜、ペットなどの動物用飼料源として広く活用するための基礎的知見を得るために、脂肪肝モデルラットに泡盛粕添加飼料を給与し、その発育、血液および肝臓脂質濃度に及ぼす影響を検討した。6週齢 Wistar 系雄性ラットに高コレステロール食を2週間給与し、脂肪肝モデルラットを作製した。次に、このラットを基本食を給与する対照群、基本食に泡盛粕をそれぞれ2.5、5および10%添加した飼料を与える3試験群、計4群を設定し、各飼料で30日間飼育した。この他に、44日の飼育期間中、基本食のみを給与した基本群も設定した。増体重で対照群と比較すると、泡盛粕2.5%および5%群において有意ではないが高い値を示した、しかし、10%群では逆に低い値を示した。摂食量は泡盛粕2.5%および5%添加群が対照群に比べて有意に高い値であった。血清脂質濃度において、いずれの測定項目にも有意な変化はなく、総コレステロールが泡盛粕5%添加群で対照群より若干低い値を示した。試験群の肝臓の色調については対照群のラット全てに明らかな白褐色化が観察されたのに対し、泡盛粕添加群では基本群と大差のない色調を呈する例が多かった。肝臓脂質濃度はパラツキが大きいため有意差は認められなかったが、泡盛粕添加群は対照群に比べても低い値を示した。これらの結果は、肝臓の組織学的検査で泡盛粕添加群に脂肪滴の数的減少および縮小化傾向が見られたことに一致していた。

以上のことから、泡盛粕には高コレステロール負荷ラットの肝臓脂質濃度を低下させる作用を有していることと示唆された。

文 献

- 1) 高江洲義晃・野島厚子・大城俊弘：肉豚への泡盛粕給与試験(1)肥育中期・後期の肉豚への給与、*冲畜試研報*第29号、69 - 73 (1991)
- 2) 高江洲義晃・野島厚子・大城俊弘：肉豚への泡盛粕給与試験(2)肥育豚への給与、*冲畜試研報*第30号、77 - 81 (1992)
- 3) 日本食品科学工学会新・食品分析法編集委員会編：新・食品分析法 (光琳、東京) (1996)
- 4) Prosky, Y. L., Asp, N.-G., Furda, I., Devries, J. W., Schweizer, T. F., Harland, B. F. : Determination of Total Dietary Fiber in Foods, Food Products, and Total Diets, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **67**, 1044 (1984)
- 5) 前田安彦編著：初学者のための食品分析法、第6版 (弘学出版、神奈川) (1990)
- 6) J. Folch, M. Lee, G. H. Sloane-Stanely: A Simple Method for Isolation and Purification of Total Lipides from Animal Tissues, *J. Biol. Chem.*, **226**, 497 - 509 (1957)
- 7) Paul Wheeler, George Burkitt, Alan Stevens, James Low : カラーアトラス基礎組織病理学 (西村書店、新潟) (1995)
- 8) 新城明久著：PC SASによる基礎統計学入門 p.57 - 65 (東海大学出版会、東京) (1995)
- 9) 新城明久著：生物統計学入門 p.35 - 39 (朝倉書店、東京) (1996)
- 10) 市川伸一、大橋靖雄、岸本淳司、浜田知久馬著：SASによるデータ解析入門第2版 (東京大学出版会、東京) (1993)
- 11) 高橋行雄、大橋靖雄、芳賀敏郎著：SASによる実験データの解析 (東京大学出版会、東京) (1989)
- 12) K. Mochida, T. Kuribayashi, K. Saito, M. Sugawara: Production of Sake Lees Powder and Its Effect on Sterol Metabolism of Rat, *Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology*, **47**, 78 - 84 (2000)
- 13) S. Mochizuki, A. Miyamoto, M. Hagiwara, N. Takeshima, T. Ohmori: Effects of barley

- shochu lees on the prevention of fatty livers in rats fed an orotic acid-containing diet, *J. Brew. Soc. Japan.*, **96**, 559 - 563 (2001)
- 14) Y. Furuta, H. Takashita, T. Omori, K. Sonomoto, A. Ishizaki, M. Shimoda, H. Wada: Growth-Stimulating Effect of Shochu Wastewater on Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **864**, 276 - 279 (1998)
- 15) Luthfi D. M, K. Hayashi, M. Ikeda, K. Hamada, A. Ohtsuka, Y. Tomita: The Effective Use of Shochu Distillery By-product as a Source of Broiler Feed, *Jpn. Poult. Sci.*, **33**, 1 - 7 (1996)
- 16) Luthfi D. M, K. Hayashi, Y. Otsuji, A. Ohtsuka, Y. Tomota: Separation of Growth Promoting Factor of Broiler Chicken from Shochu Distillery By-product, *Jpn. Poult. Sci.*, **33**, 96 - 103 (1996)
- 17) Luthfi D. M, K. Nakashima, A. Ohtsuka, K. Hayashi: Growth Factors for a Primary Chick Muscle Cell Culture from Shochu Distillery By-products, *Biosci. Biotech. Biochem.*, **61**, 1844 - 1847 (1997)
- 18) K. Tanaka, T. Sugimoto, M. Ogawa, Z. Kasai: Isolation and Characterization of Two Types of Protein Bodies in the Rice Endosperm, *Agric. Biol. Chem.*, **44**, 1633 (1980)
- 19) T. Morita, S. Kiriya: Mass Production Method for Rice Protein Isolate and Nutritional Evaluation, *J. Food. Sci.*, **58**, 1393 (1993)
- 20) Robbins, E. A., Seeley, R. D.: Cholesterol Lowering Effect of Dietary Yeast and Yeast Fractions, *J. Food. Sci.*, **42**, 694 (1977)