子実用トウモロコシ胚芽の摂取が高ショ糖食摂取による脂肪肝へ及ぼす影響

佐藤恵理，岡崎由佳子，中野敦博

Effect of Corn Germ Intake on Fatty Liver Induced by a High-Sucrose Diet in Rats.

Eri Sato, Yukako Okazaki, Atsuhiro Nakano

In this study, we investigated the effects of corn germ intake on fatty liver induced by a high-sucrose diet in rats. The corn germ used in this study contained phytic acid, known to prevent fatty liver disease. Therefore, we compared the effects of corn germ on fatty liver inhibition with those of sodium phytate at the same concentration as the phytic acid in corn germ. Male Sprague-Dawley rats were fed a high-sucrose diet with or without 0.98% sodium phytate, 10% corn germ, or phytase-treated corn germ for 14 days. Rats fed a high-sucrose diet with 0.98% sodium phytate, 10% corn germ, or phytase-treated corn germ showed suppressed fat accumulation in the liver compared to rats fed a high-sucrose diet alone. The three experimental groups had similar lipid contents in the liver and serum. However, sodium phytate consumption reduced serum zinc concentrations, whereas corn germ and phytase-treated corn germ did not. These results suggest that corn germ intake suppresses fatty liver as effectively as sodium phytate intake but has minimal effect on serum zinc concentration.

KEY-WORDS：corn germ, phytic acid, fatty liver, high-sucrose diet

キーワード：トウモロコシ胚芽，フィチン酸，脂肪肝，高ショ糖食

近年，北海道では，道央の水田転換畑地帯を中心に新規輪作作物として子実用トウモロコシの栽培が拡大している。子実用トウモロコシとは，主にデントあるいはフリントタイプ（およびそれらのハイブリッド種）の品種を畑で完熟させ，その乾燥子実のみを収穫する栽培体系の呼称[1]であり，子実は飼料または穀物として世界中で利用されている。北海道内で栽培されている子実用トウモロコシの用途は飼料が主体であるが，栽培の拡大に伴い生産地域や加工実需者，消費者から食材としての用途開発に関する要望が寄せられるようになった[2]。こうした状況を受けて北海道立総合研究機構では，道内の生産者や製粉企業と連携して子実用トウモロコシの食材化に向けた研究に取り組み，令和4年からは道内製粉企業によって道産コーングリッツの製造および販売が開始されている[2]。一方，コーングリッツの製造工程において原粒の粗粉砕後に分離される胚芽に関しては，一般的に油脂原料として用いられることから食材としての用途は検討されていなかった。

胚芽は発芽時に幼根や子葉になる部分であり，ビタミンやミネラルなどを豊富に含む。小麦の胚芽は栄養補助食品などの消費者の健康志向に対応した食素材にも利用されていることから[3]，著者らは子実用トウモロコシ胚芽についても同様の用途での利用が可能ではないかと考えた。

胚芽に含まれるミネラルはカリウムが最も多いが、それに次いで多いのがリンで80%以上がフィチン酸塩の形で存在している[4]。フィチン酸は母骨格であるミオイノシトールにリン酸基が6個結合した物質で，子実用トウ

事業名：経常研究
課題名：子実用トウモロコシ胚芽の摂取が高ショ糖食摂取による脂肪肝へ及ぼす影響

モロコシ胚芽をはじめ，穀物類，豆類，油糧種子およびナッツ類などに含まれており[5]，植物におけるリンの主要な貯蔵形態となっている[6]。フィチン酸は，リン酸基に起因するキレート能により小腸におけるミネラル吸収を阻害することが報告されており[7]，以前から抗栄養因子と位置づけられているが[8]，キレート能による抗酸化作用[9]や抗ガン作用[10]といった有用な作用を有することも明らかになっている。また，ラットにおいて高ショ糖食摂取による脂肪肝をフィチン酸摂取が抑制することが報告されている[11) 12)]。このことから，著者らは子実用トウモロコシ胚芽がフィチン酸を多く含むことに着目し，子実トウモロコシ胚芽の摂取により脂肪肝の抑制作用が得られるのではないかと仮定した。

そこで本研究では，実験動物としてラットを用い，子実用トウモロコシ胚芽の摂取が高ショ糖食により誘発される脂肪肝およびミネラル吸収に及ぼす影響についてフィチン酸摂取による影響と比較検討した。

実験方法

1．試験試料の調製

子実用トウモロコシ（品種「ビビアン」）の胚芽（以降，胚芽と表記）はそらち南農業協同組合から入手した。胚芽の一般成分の分析は一般財団法人日本食品分析センターへ依頼し，フィチン酸の分析はWade法[13]により行った。胚芽は150℃に設定した焙煎機（ロータリーシェフ　RCD-1T，クマノ厨房工業株式会社，東京）を用いて30分加熱処理し，衝撃式粉砕機（SAMF，株式会社奈良機械製作所，東京）で粉砕後凍結乾燥し，試験に供した。酵素処理胚芽は，上記処理後の胚芽30ｇに10mM酢酸緩衝液（pH5.0）及びフィターゼ（Sigma-Aldrich Co. LLC, USA）1.8ｇを加え，55℃に加温して2時間撹拌しながら酵素分解したのち凍結乾燥し，試験に供した。

2．実験動物と飼料

3週齢のSD系雄性ラットを日本エスエルシー株式会社から購入し，試験に使用した。ラットは，個別にステンレス製ケージに入れ，室温23～24℃，湿度50～60%，12時間の明暗サイクル（明期8：00～20：00）に調整した室内で飼育した。市販飼料（CE-2，日本クレア株式会社，東京）で3日飼育した後，各群の平均体重が同等になるように飼料別に4群，各群6匹に群分けした。飼料は，Table 1に示すように高ショ糖食，高ショ糖食の一部をフィチン酸ナトリウム塩水和物（Sigma-Aldrich Co. LLC, USA），胚芽および酵素処理胚芽で置き換えた4種類を用いた。胚芽および酵素処理胚芽は対照の高ショ糖食の10%をそれぞれ置き換え，胚芽添加に合わせて各材料の添加量を調整した。フィチン酸ナトリウムは胚芽中に含まれるフィチン酸量に合わせ，0.9%を飼料の一部と置き換え添加した。この試験飼料をそれぞれ各試験群に14日間摂食させ，体重および摂食量を毎日記録した。糞中細菌叢を分析するために，試験飼料給餌期間終了前3日間の糞を採取した。試験飼料給餌期間終了後，イソフルラン吸引による麻酔下で開腹後に腹部大動脈より採血し，肝臓を採取して重量測定を行った。回収した血液を2000×ｇ，20分間遠心し，得られた血清を分析まで－60℃で保存した。肝臓は採取後速やかに液体窒素で瞬間凍結し，血清と同様に分析まで－60℃で保存した。また，屠殺後に盲腸を採取し重量を測定した。

なお，本動物実験は藤女子大学人間生活学部動物実験倫理委員会の承認の下に行われた（承認番号：2019-1）。

3．脂質分析

血清中の中性脂肪および総コレステロールは，トリグリセライドE-テストワコーおよびコレステロールE-テストワコー（富士フイルム和光純薬工業株式会社，大阪）を用いて測定した。肝臓中の総脂質は，Folchらの

Table 1 Composition of experimental diets.

Component, % (w/w)	Control	Phytic acid	Corn germ	Phytase-treated corn germ
Casein	20.00	20.00	18.35	18.35
L-cystine	0.30	0.30	0.30	0.30
Sucrose	64.95	63.97	60.89	60.89
Cellulose	5.00	5.00	3.24	3.24
Corn oi	15.00	5.00	2.47	2.47
Sodium phytate	-	0.98	-	-
Corn germ	-	-	10.00	-
Phytase-treated corn germ	-	-	-	10.00
Choline bitartrate	0.25	0.25	0.25	0.25
Vitamin mixture[1]	1.00	1.00	1.00	1.00
Mineral mixture[2]	3.50	3.50	3.50	3.50

[1]AIN-93G vitamin mixture; [2]AIN-93G mineral mixture[16)] .

方法[14] に従い肝臓１ｇから25mLのクロロホルム：メタノール（２：１）混液により脂質を抽出し，重量法により測定した。中性脂肪および総コレステロールは上記抽出液200μLを濃縮乾固後，Triton X 100（９：１v/v）を含むプロパン- ２-オール200μLに再溶解した試料液を用い，血清と同様に測定した。

４．肝臓脂肪酸合成関連酵素の遺伝子発現量の測定

肝臓における脂肪酸合成関連酵素遺伝子である*G6PD*の発現量をリアルタイムPCRにより測定した。RNAの抽出はNucleoSpin RNA Kit（Macherey-Nagel, Duren, Germany）を用いて行い，精製されたRNAからPrimeScript RT Master Mix（タカラバイオ株式会社，滋賀）を用いてcDNAを合成した。リアルタイムPCRによる*G6PD*発現量の測定にはSYBR Premix Ex TaqⅡ（タカラバイオ株式会社，滋賀）とLight Cycler 480 SystemⅡ（Roche Applied Science, CA, USA）を用いた。プライマーとして，*G6PD*については，5'-GATGACATCCGCAAACAGAGTGA-3'（forward），5'-GCTACATAGGAGTTACGGGCAAAGA-3'（reverse），*GAPDH*については，5'-GGCACAGTCAAGGCTGAGAATG-3'（forward），5'-ATGGTGGTGAAGACGCCAGTA-3'（reverse）の配列のものを用いた。増幅サイクルは，95℃で30秒熱変性の後，95℃で5秒，60℃で30秒の40サイクル反応で行い，その後融解曲線解析により反応産物の特異性を確認した。得られたデータは*GAPDH*の値で標準化を行い，その後，対照群の値を１とした場合の各サンプルの相対値を算出した。

５．血清中ミネラル濃度の分析

血清中ミネラル濃度の分析は，亜鉛，カルシウムおよび鉄について行った。分析は株式会社新薬リサーチセンターに依頼した。

６．統計処理

実験データは平均値±標準誤差で示した。データ間の比較は「Excel統計」（株式会社社会情報サービス）を用いてTukey-Kramer多重比較検定により行った。有意水準は５％（$p<0.05$）とした。

実験結果

１．胚芽のフィチン酸含量

胚芽の成分分析結果をTable 2に示した。胚芽に含まれているフィチン酸は7.0ｇ/100ｇで，文献[5] に示されている数値と同等であった。

２．胚芽の摂取が高ショ糖食摂食ラットの肝臓脂質，脂肪酸合成関連酵素遺伝子発現および血清脂質濃度に及ぼす影響

試験飼料給餌期間中のラットの摂食量および体重，肝臓重量についてはTable 3に示すように高ショ糖食群（Control群），フィチン酸ナトリウム添加群（PA群），胚芽添加群（CG群），酵素処理胚芽添加群（PCG群）の各群間で統計的に有意な差は認められなかった。肝臓における脂肪酸合成関連酵素遺伝子である*G6PD*の発現量は，Control群と比較してPA群で有意に低下し，CG群及びPCG群では，Controlよりも低い値を示したが有意な差は認められなかった。血清中性脂肪および総コレ

Table 2 Chemical composition of Corn germ.

Components (/100g)	Corn germ
Carbohydrate (g)	44.4
Protein (g)	14.9
Fat (g)	22.7
Dietary fibers (g)	16.3
Phytic acid (g)	7.0
Zinc (mg)	12.2
Calcium (mg)	7.9
Iron (mg)	9.3

Table 3. Body weight, food intake and lipid metabolic parameters in rats fed experimental diets.

	Control		Phytic acid		Corn germ		Phytase-treatedcorn germ	
Variables	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM
Final body weight (g)	201.2[a]	3.59	202.7[a]	2.80	203.0[a]	4.12	208.7[a]	2.10
Food intake (g/14 days)	233.3[a]	3.78	231.1[a]	5.77	236.8[a]	4.40	248.3[a]	3.98
Liver weight (g/100g body wt.)	6.45[a]	0.27	5.85[a]	0.06	5.78[a]	0.16	5.82[a]	0.16
Liver mRNA(Relative expression)								
G6PD	1.02[a]	0.07	0.65[b]	0.06	0.77[ab]	0.08	0.81[ab]	0.10
Serum lipid concentrations (mg/dL)								
Triglyceride	266.2[a]	20.34	269.0[a]	17.70	216.1[a]	14.07	227.7[a]	9.36
Cholesterol	125.9[a]	7.58	119.9[a]	7.22	114.6[a]	6.62	117.1[a]	4.56
Cecum weight with contents (g/100g body wt.)	1.38[a]	0.11	1.42[a]	0.08	1.62[a]	0.05	1.51[a]	0.10

Mean values with their SEM; n=6. [a-c]Mean values with unlike superscript letters were significantly different, $p<0.05$ (Tukey-Kramer test).

ステロールは，各群間で有意差は認められなかった。一方，Fig. 1に示すように肝臓の総脂質，中性脂肪および総コレステロールはControl群と比較してすべての群で有意に低下した。

3．胚芽の摂取が高ショ糖食摂食ラットの血清ミネラル濃度に及ぼす影響

血清中の亜鉛，鉄およびカルシウム濃度については，Fig. 2に示すようにPA群において血清中亜鉛濃度が有意に低下した一方で，その他の試験群においては有意な差は認められなかった。また，鉄およびカルシウム濃度については，各群間で有意な差は認められなかった。

考察

本試験では,高ショ糖食摂取における胚芽添加の影響について，フィチン酸ナトリウムを摂取した場合と比較検討した。

その結果，高ショ糖食へ10%の胚芽を添加することによりラットにおいて肝臓の脂質量（総脂質，中性脂肪および総コレステロール）は有意に低下し，フィチン酸ナトリウムを添加した場合と同等であった。

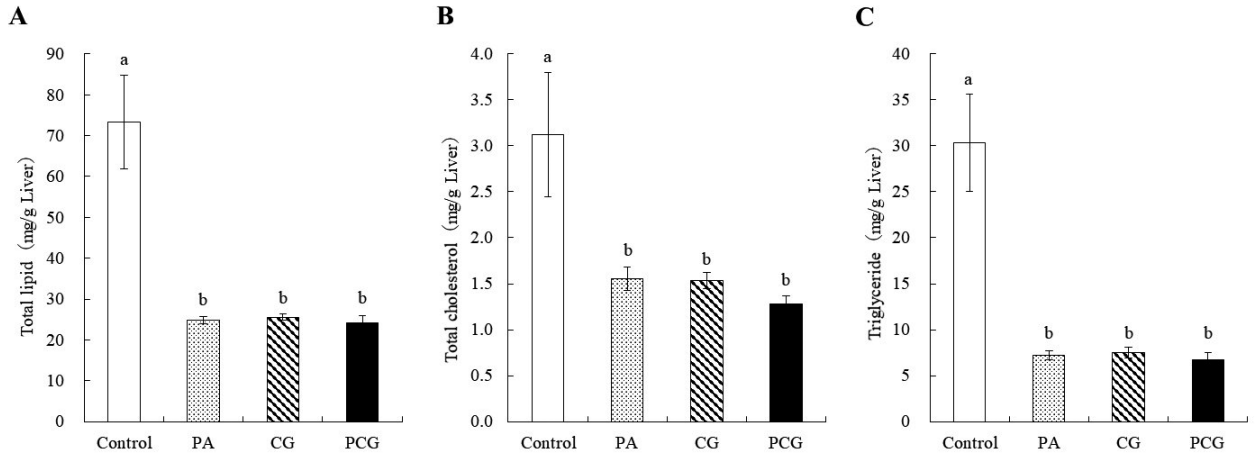

Fig. 1 Hepatic lipid content in rats fed experimental diets.

(A) Hepatic total lipids. (B) Hepatic total cholesterol. (C) Hepatic triglyceride.

Mean values with their SEM; n=6. [a-b] Mean values with unlike superscript letters were significantly different, $p<0.05$ (Tukey-Kramer test).

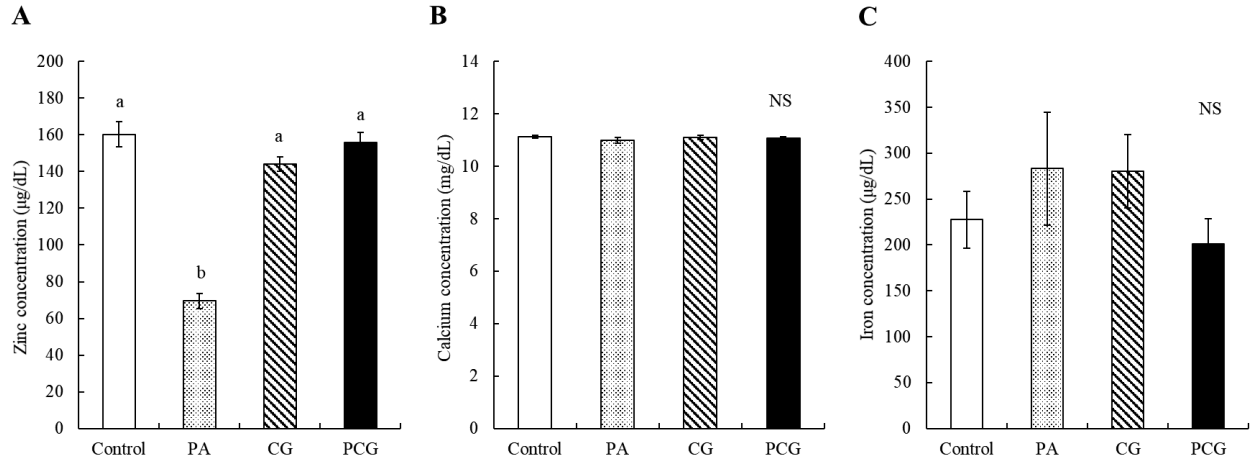

Fig. 2 Serum mineral concentration in rats fed experimental diets.

(A) Serum zinc concentration. (B) Serum calcium concentration. (C) Serum iron concentration.

Mean values with their SEM; n=6.

[a-b] Mean values with unlike superscript letters were significantly different, $p<0.05$; NS, not significant (Tukey-Kramer test).

高ショ糖食の摂取は，肝臓における脂肪酸合成を促進し，その結果肝臓の脂質量が増加することが報告されている[17) 18)]。フィチン酸は，ショ糖摂取時の脂肪酸合成を抑制することで肝臓の脂質量増加を抑制すると考えられている[19) 20)]。Sakamotoらは3Hでラベルしたフィチン酸をラットの胃内に投与すると，投与1時間後に血清中にミオイノシトールあるいはミオイノシトール１リン酸の形で存在することを報告している[21)]。ミオイノシトールもフィチン酸と同様に抗脂肪肝効果を持ち，その強さや機構がフィチン酸と類似していることから，フィチン酸は体内でミオイノシトールに代謝，吸収されることによって肝臓で脂質蓄積を抑制すると考えられている[11) 12)]。そこで，胚芽中のフィチン酸を予めフィターゼで分解することで，体内に吸収されるミオイノシトールの割合が増加し，未処理の胚芽摂取時よりも強い抗脂肪肝効果を示すか検討した。その結果，フィターゼ処理の有無で抗脂肪肝効果に差は見られなかった。ラットはヒトと比較して腸内のフィターゼ活性が高いという報告[22)]があることから，本試験の条件では差が見られなかった可能性が考えられる。そのため，肝臓の脂肪酸合成関連酵素の遺伝子発現量を測定した。測定対象とした*G6PD*はフィチン酸摂取により発現量が有意に低下することが報告されている[22)]。本試験において，*G6PD*の発現量はフィチン酸ナトリウム摂取により有意に低下したが，胚芽および酵素処理胚芽摂取ではControlよりも低い値を示したものの有意な差は認められず，胚芽中のフィチン酸の関与は確認出来なかった。この点に関しては今後，脂肪酸合成関連酵素の活性を測定し，フィチン酸の関与の可能性についてさらに検討する必要がある。

Onomiらは，高ショ糖食に各種濃度のフィチン酸を添加しラットに２週間摂食させたところ，摂食量および体重の減少，血清中の中性脂肪およびコレステロールレベルの低下には10%のフィチン酸添加が必要であったのに対し，肝臓脂質量については0.02%のフィチン酸添加で低下したことを報告している[24)]。

本試験においては，PA群，CGおよびPCG群の飼料中フィチン酸濃度は約0.7%であり，肝臓脂質は有意に低下したが，血清脂質や体重，摂食量には各群間で有意な差は認められなかった。この結果は前述の報告[24)]と一致する。

このように，肝臓脂質量，体重および摂食量に関して胚芽の摂取はフィチン酸摂取時と同様の傾向を示したがその一方で，フィチン酸ナトリウム摂取と胚芽摂取で結果が異なった測定項目もあった。

血清ミネラル濃度は，カルシウムおよび鉄については各群間で有意な差は認められなかった。一方で，亜鉛濃度はPA群において有意に低下し，CG群およびPCG群ではControl群と同等の値を示した。始めに述べたように，フィチン酸はミネラル吸収阻害因子として知られており，Onomiら[24)]は高ショ糖食に対し2.5%以上のフィチン酸ナトリウム添加で血清亜鉛濃度が低下したことを報告している。

今回の試験においてもフィチン酸ナトリウムの摂取によって血清亜鉛濃度が低下したが，その一方で同等量のフィチン酸を含む胚芽の摂取では血清亜鉛濃度の低下は見られなかった。

本試験で用いた飼料については，胚芽中のミネラル量を考慮しなかったため，CG群およびPCG群の飼料に含まれるミネラル量はフィチン酸ナトリウム群よりも多い。胚芽中の亜鉛はTable 2に示すように12.2mg/100ｇであることから，飼料100ｇあたりで比較すると胚芽および酵素処理胚芽群ではフィチン酸群よりも1.2mg多い。Haraら[25)]はラットにおいて，炭酸亜鉛の濃度を0.015～0.535mmol/kg diet（0.975ppmから34.775ppm）の間で段階的に変えて亜鉛吸収を調査した結果，0.153mmol Zn/kg dietまでの間では血清中の亜鉛濃度が直線的に上昇することを示している。本試験のPA群の血清亜鉛濃度は約11μmol/Lで，Haraらの報告[25)]における0.076mmol Zn/kg dietの血清中亜鉛濃度（約10μmol/L）に近い値である。Haraらの報告[26)]では0.076mmol Zn/kg dietに対して，亜鉛が約0.15mmol/kg diet多く含まれる0.229mmol Zn/kg dietでは，血清中の亜鉛濃度は約15μmol/Lほど上昇している。それに対して，本試験におけるCGおよびPCG群の血清亜鉛濃度は約22.1および23.9μmol/Lで，PA群に対して約12～13μmol/L多く，Haraらの報告[25)]と同様の傾向を示していると考えられる。

以上のことから，CGおよびPCG群において血清亜鉛濃度の低下が見られなかったのは，CGおよびPCG群では飼料中の亜鉛濃度がPA群よりも多かったことが主要因であると考えられたが，他に，胚芽に含まれるフィターゼの影響も考えられる。植物中のフィターゼによるフィチン酸の分解に関しては，小麦についていくつか報告があり，Ranhotraら[26)]およびSandbergら[27)]は，ラットまたはヒトにおいて フィチン酸の分解に食餌性フィターゼが重要な役割を果たしていると報告している。また，Levrat-Vernyら[28)]は精白小麦粉と全粒粉をそれぞれラットに摂食させ，フィチン酸を含む小麦全粒

粉と，精白小麦粉との間にミネラル吸収量の差がなかったことを報告している。そしてその理由として，小麦全粒粉中のフィターゼの働きを挙げている。しかし，トウモロコシについては，内在フィターゼに関する報告は殆ど見られない。トウモロコシに含まれるフィターゼ活性は小麦の3分の1程度と低いとも言われており[29]，体内でのフィチン酸の分解に及ぼす影響の大きさは不明である。さらに，フィチン酸による亜鉛吸収阻害には共存する他のミネラル濃度が影響すると言われている[30]。Bertinatoら[31]は，ラットを用いた試験においてカルシウム共存下では亜鉛吸収が抑制され，カルシウム濃度が高いほど亜鉛吸収量は低下することを報告している。胚芽にもカルシウムをはじめとした亜鉛以外のミネラルが含まれているので，これらのミネラルバランスが本試験の結果に影響した可能性は否定できない。

このように，胚芽摂取が血清亜鉛濃度に及ぼす影響についてはいまだ不明な点が多く，メカニズムについては，さらにミネラルバランスを考慮した試験を実施し，胚芽の摂取が脂肪肝の抑制に与える影響を確認することが今後の課題である。

要約

高ショ糖食摂取による肝臓への脂質蓄積に子実用トウモロコシ胚芽摂取が及ぼす影響を検討した。

高ショ糖食の10%をフィチン酸ナトリウム，胚芽および酵素処理胚芽で置き換えた飼料をそれぞれラットに14日間摂食させたところ，フィチン酸ナトリウム群，胚芽添加群および酵素処理胚芽添加群では肝臓総脂質，中性脂肪および総コレステロールが高ショ糖食摂食群（Control群）と比較して有意に低下し，その測定値はこれら3群で同等の値であった。また，このとき肝臓における脂肪酸合成関連酵素遺伝子の発現量がフィチン酸ナトリウム群で有意に低下したが，胚芽および酵素処理胚芽添加群ではControlよりも低い値を示したものの有意な差は認められなかった。血清脂質は群間で差は認められなかった。血清中のカルシウム，鉄および亜鉛濃度は，カルシウムと鉄については群間で差が認められなかったが，亜鉛はフィチン酸ナトリウム群で有意に低下した一方，フィチン酸ナトリウム群と同等量のフィチン酸を含む胚芽群および酵素処理胚芽群ではControl群と同等の値を示していた。

以上の結果から，胚芽の摂取は高ショ糖食摂取による肝臓への脂質蓄積を抑制したが，その作用へのフィチン酸の関与については今後さらに検討する必要がある。

謝辞

本研究の実施にあたり試料をご提供頂きました，そらち南農業協同組合（現　株式会社N-GRITS）尾崎政春氏に厚く御礼申し上げます。

文献

1）赤松佑紀（2021）．飼料用トウモロコシの子実生産に関する研究の取り組み．日本草地学会誌，67，100-103.

2）柳原哲司（2020）．北海道における子実用トウモロコシの食材化研究とその社会実装．北農，87-4，31-41.

3）長尾精一（2014）.「小麦の機能と科学」，朝倉書店，東京.

4）菊池一徳(1993).「コーン製品の知識」,幸書房,東京.

5）Schlemmer, U., Frølich, W., Prieto, R.M., and Grases, F. (2009). Phytate in foods and significance for humans: Food sources, intake, processing, bioavailability, protective role and analysis. *Mol. Nutr. Food Res*., 53, 330-375.

6）日本ビタミン学会編（1996）「ビタミンの事典」，朝倉書店，東京.

7）Zhou, J.S., Erdman, J.W. (1995). Phytic acid in health and disease. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr*., 35, 495-508.

8）Hayashi, K., Hara, H., Asvarujanon, P., Aoyama, Y., and Luangpituksa, P. (2001). Ingestion of insoluble dietary fibre increased zinc and iron absorption and restored growth rate and zinc absorption suppressed by dietary phytate in rats. *Br. J. Nutr*., 86, 443-51.

9）Graf, E., Empson, K.L., and Eaton, J.W. (1987). Phytic acid. A natural antioxidant. *J. Biol. Chem*., 262, 11647-11650.

10）Graf, E., and Eaton, J.W. (1985). Dietary suppression of colonic cancer. Fiber or phytate? *Cancer*, 56, 717-718.

11）Onomi, S. and Katayama, T. (1997). Effects of dietary myo-inositol and phytic acid on hepatic lipids accumulation in rats fed on sucrose or orotic acid. *Nippon Eiyo Shokuryo Gakkaishi*, 50, 267-272（大呑尚子，片山徹之．ショ糖およびオロト酸摂取によるラット肝脂質蓄積に対する食餌ミオイノ

シトールおよびフィチン酸の影響，日本栄養・食糧学会誌）.

12）Okazaki, Y. and Katayama, T. (2005). Reassessment of the nutritional function of phytic acid, with special reference to myo-inositol function. *Journal of the Japanese Society of Food and Nutrition (Nippon Eiyo Shokuryo Gakkaishi)*, 58, 151-156（岡崎由佳子，片山徹之．フィチン酸の栄養的再評価― ミオイノシトールとの共通性を中心に―，日本栄養・食糧学会誌）.

13）Vaintraub, I. A. and Lapteva, N.A. (1988) A colorimetric determination of phytate in unpurified extracts of seeds and the products of their processing. *Anal. Biochem*., 175, 227-30.

14）Folch, J., Lees, M., and Sloane-Stanley G.H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem*., 226, 497-509.

15）Yang, Y., Sitanggang, N.V., Kato, N., Inoue, J., Murakami, T., Watanabe, T., Iguchi, T. and Okazaki, Y. (2015). Beneficial effects of protease preparations derived from Aspergillus on the colonic luminal environment in rats consuming a high-fat diet. *Biomed Rep*., 3, 715-720.

16）Reeves, P.G., Nielsen, F.H., and Fahey, Jr.G.C. 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. (1993). *J. Nutr*., 123, 1939-1951.

17）Aoyama, Y., and Ashida, K. (1979). Sucrose feeding and lipid metabolism. *Journal of the Japanese Society of Food and Nutrition (Eiyo to syokuryo)*, 32, 277-290.（青山頼孝，芦田淳．ショ糖摂取と脂質代謝，栄養と食糧）

18）Reiser, S., Michaelis, O.IV., Putney, J., Hallfrisch, J. (1975). Effect of sucrose feeding on the intestinal transport of sugars in two strains of rats. *J. Nutr*., 105, 894-905.

19）Katayama, T. (1997). Effects of dietary myo-inositol or phytic acid on hepatic concentrations of lipids and hepatic activities of lipogenic enzymes in rats fed on corn starch or sucrose. *Nutr. Res*., 17, 721-728.

20）Onomi, S., Katayama, T., and Sato, K. (1999). Effects of dietary myo-inositol related compounds on sucrose-mediated hepatic lipid accumulation in rats. *Nutr. Res*., 19, 1401-1409.

21）Sakamoto, K., Vucenik, I., and Shamsuddin, A.M. (1993). [3H] Phytic acid (Inositol hexaphosphate) is absorbed and distributed to various tissues in rats. *J. Nutr*., 123, 713-720.

22）Iqbal, T.H., Lewis, K.O., and Cooper, B.T. (1994). Phytase activity in the human and rat small intestine. *Gut*, 35, 1233-1236.

23）Okazaki, Y., Sekita, A., and Katayama, T. (2018). Intake of phytic acid and myo-inositol lowers hepatic lipogenic gene expression and modulates gut microbiota in rats fed a high-sucrose diet. *Biomed Rep*. 8, 466-474.

24）Onomi, S., Okazaki, Y., and Katayama, T. (2004). Effect of dietary level of phytic acid on hepatic and serum lipid status in rats fed a high-sucrose diet. *Biosci. Biotechnol. Biochem*., 68, 1379-1381.

25）Hara, H., Konishi, A., and Kasai, T. (2000). Contribution of the Cecum and Colon to Zinc Absorption in Rats. *J. Nutr*., 130, 83-89.

26）Ranhotra, G., and Loewe, R. (1975). Effect of wheat phytase on dietary phytic acid. *J. Food Sci*., 40, 940-942.

27）Sandberg, A.S., and Andersson, H. (1988). Effect of dietary phytase on the digestion of phytate in the stomach and small intestine of humans. *J. Nutr*., 118, 469-473.

28）Levrat-verny, M.A., Coudray, C., Bellanger, J., Lopez, H.W., Demigne, C., Rayssiguier, Y., and Remesy, C. (1999). Wholewheat flour ensures higher mineral absorption and bioavailability than white wheat flour in rats. *Br. J. Nutr*., 82, 17-21.

29）Azeke, M.A., Egielewa, S.J., Eigbogbo, M.U., and Inegbenose Godwin Ihimire, I.G. (2011). Effect of germination on the phytase activity, phytate and total phosphorus contents of rice (Oryza sativa), maize (Zea mays), millet (Panicum miliaceum), sorghum (Sorghum bicolor) and wheat (Triticum aestivum). *J. Food Sci. Technol*., 48, 724-729.

30）Shinoda, S., and Yoshida, T. (1989). Effect of

dietary sodium phytate on mineral solubility *in vitro*. *Journal of the Japanese Society of Food and Nutrition (Nippon Eiyo Shokuryo Gakkaishi)*, 42, 397-402.（篠田粧子，吉田勉．飼料中フィチン酸ナトリウムがin vitroでのミネラルの溶解性に及ぼす影響，日本栄養・食糧学会誌）

31）Bertinato, J., Griffin, P., Huliganga, E., Matias, F.M.G., Dam, D., and Brooks, S.P.J. (2020). Calcium exacerbates the inhibitory effects of phytic acid on zinc bioavailability in rats. *J. Trace Elem. Med*. Biol., 62.