

大豆乳酸発酵食品がラットの血漿および肝臓脂質濃度に及ぼす影響

北脇 涼子*, 高木 尚紘**, 岩崎 充弘***, 浅尾 弘明***, 福田 満*

*(武庫川女子大学生活環境学部食物栄養学科)

** (武庫川女子大学大学院生活環境学研究科食物栄養学専攻)

*** (マルサンアイ株式会社・研究所)

Effects of Lactic Fermented Soybean Food on Plasma and Hepatic Lipid Levels in Rats

Ryoko Kitawaki*, Naohiro Takagi**, Mitsuhiro Iwasaki***,
Hiroaki Asao***, Mitsuru Fukuda*

** Department of Food Science and Nutrition,
School of Environmental Sciences,*

Mukogawa Women's University, Nishinomiya, Hyogo 663-8558, Japan

*** Food Science and Nutrition Major*

Graduate School of Human Environmental Sciences,

Mukogawa Women's University, Nishinomiya, Hyogo 663-8558, Japan

****Research Institute Marusan-ai Co., Ltd., Okazaki, 444-2193, Japan*

Yogurt-like food (Soy-Yogurt) was prepared by lactic fermentation of okara and soybean milk which suppress the increase of blood lipid level. To investigate the effect of Soy-Yogurt on the lipid metabolism in rat, male Sprague-Dawley rats were fed a high-cholesterol diet for 8 weeks. A control group was fed a diet containing 1% cholesterol, while the other two groups were fed the diets which were replaced with freeze-dried Soy-Yogurt either 10% or 20%, respectively. The increases of body weight and total cholesterol level in plasma of 20% Soy-Yogurt group were significantly suppressed compared to those of the control group, respectively. The twenty percentage Soy-Yogurt group maintained a high level of plasma adiponectin. The levels of hepatic total lipid, cholesterol and triglyceride were significantly decreased with the increase of Soy-Yogurt content in the feed. These results suggest that the ingestion of Soy-Yogurt improves the lipid metabolism in rats fed a high-cholesterol diet.

緒言

近年、食生活の偏りや運動不足などにより内臓に脂肪が蓄積した肥満(内臓脂肪型肥満)が増加している。内臓脂肪型肥満が上流因子となって、糖尿病や高脂血症等の生活習慣病が引き起こされる状態をメタボリックシンドロームと呼び¹⁾、関心が高まっている。内臓脂肪蓄積を抑制する対策の一つとして、

欧米型食生活へと傾いた我が国の食生活の改善が挙げられているので、旧来の大豆や魚を多く摂取する日本型食事パターンに注目する必要がある。大豆は栄養価が高く、我が国では昔から様々な加工食品が食物として利用されてきたが、欧米食へと傾いている現代では、大豆を含めて豆類の摂取量が減少している。しかしながら近年、大豆成分の機能性として血清脂質濃度低下作用²⁻³⁾や脂肪細胞でのアディポ

ネクチン増加によるインスリン抵抗性改善作用等が報告され⁴⁾、大豆食品が見直されている。これらの作用は主に大豆タンパク質によるものが多く、最近では大豆タンパク質を豊富に含む豆乳等が注目されている。一方、大豆加工時の副産物であるオカラについてはその報告は少ないためオカラの持つ機能性は詳しく知られていない。本研究室ではこれまでに、動物実験でオカラの機能性について検討し、ラット血中コレステロール濃度上昇抑制効果を認め⁵⁾、そこで食品産業廃棄物として大量に処理されているオカラの有効利用と、オカラによる脂質代謝改善を目的とした機能性食品の開発を行うため、オカラと同様に血中脂質濃度上昇抑制効果を有する豆乳⁶⁻⁸⁾をオカラと共に乳酸発酵させてヨーグルト状食品(以下大豆ヨーグルト)を作製した。本研究では、高コレステロール食で飼育したラットを用いて、大豆ヨーグルトの脂質代謝への影響を調べたところ、血漿脂質濃度および肝臓脂質濃度の上昇抑制等の脂質代謝改善効果を得たので報告する。

実験方法

1. 実験用飼料

飼料原料となる大豆ヨーグルトは、マルサンアイ株式会社(愛知県岡崎市)が乾燥オカラと豆乳の混合物を原料として植物性乳酸菌で発酵させた後、凍結乾燥したものを使用した。その他の飼料作成に使用する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を用いた。用いた乾燥大豆ヨーグルトの組成については Table 1 に示した。

Table 1. Composition of the freeze-dried Soy-Yogurt Component

Component	%	kcal/100g
Water	5.1	—
Protein	36.1	144.4
Fat	28.0	252.0
Carbohydrate	11.2	44.8
Dietary Fiber	14.4	28.8
Ash	5.2	—
Energy	—	470.0

2. 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。個別に金網ケージに入れ室温 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 7\%$ 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・自由摂水とした。本実験の基準飼料組成は前報⁵⁾と同様にした。基準飼料で 2 週間の予備飼育を行った後、各群の粉末飼料を投与した(Table 2)。すなわち、基準飼料にコレステロール 1%、コール酸ナトリウム 0.25% を添加したコントロール群(n=8; 以下 CO 群)、CO 群飼料の 10% または 20% を乾燥大豆ヨーグルトで置換した 10% 大豆ヨーグルト群(n=8; 以下 10% SY 群)および 20% 大豆ヨーグルト群(n=8; 以下 20% SY 群)の 3 群に分け、各々の飼料を与えて 8 週間飼育した。飼育期間中は 1 日おきに体重測定、毎日摂餌量の測定を行った。飼育 7 週目に 2 日間の糞を採取し、凍結乾燥後、糞重量の測定を行った。なお、本実験は武庫川女子大学動物飼育委員会の規定に基づいて実施した。

Table 2. Composition of the experimental diet (weight%)

Ingredient	Diet group			
	Standard	CO	10% SY	20% SY
Corn starch ¹	41.90	40.95	39.75	38.55
Casein ¹	24.50	24.20	19.95	15.80
Sucrose ¹	10.00	10.00	10.00	10.00
Corn oil ¹	6.00	6.30	3.60	0.90
Potato starch ¹	1.00	1.00	1.00	1.00
Cellulose fiber ¹	8.60	8.40	7.00	5.50
Mineral mixture (AIN-93G-MX) ¹	7.00	6.90	6.45	6.00
Vitamin mixture (AIN-93VX) ¹	1.00	1.00	1.00	1.00
Cholesterol ²	0.00	1.00	1.00	1.00
Sodium cholate ²	0.00	0.25	0.25	0.25
Soy-Yogurt(dried) ³	0.00	0.00	10.00	20.00

1 Japan CLEA, Osaka. 2 Wako pure chemical industries, Osaka. 3 Marusan-ai, Okazaki.

3. 採血および臓器の採取

毎週 1 回 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い、 4°C 、3,000rpm、15 分遠心分離した後血漿を採取した。飼育終了日、エーテル麻酔下で安楽死させ心臓より

脱血後開腹し、肝臓、盲腸、腎臓周辺脂肪組織を摘出後、湿重量を測定した。各臓器は分析時まで -80°C にて凍結保存した。

4. 血漿及び肝臓中脂質の測定

血漿中の総コレステロール、トリグリセライド、HDL-コレステロール、グルコースはそれぞれ市販の測定キット、コレステロール E-テストワコー、トリグリセライド E-テストワコー、HDL-コレステロール E-テストワコー、グルコース C-II-テストワコー(和光純薬工業株式会社)を用いて測定した。また、大豆ヨーグルト投与開始時、投与開始4週目および8週目にはインスリン、アディポネクチン濃度についても測定を行った。各種ホルモンおよびサイトカインの測定には、レビスインスリンキット(株式会社シバヤギ)、マウス/ラットアディポネクチン ELISA キット(大塚製薬株式会社)を用いた。また、肝臓中の脂質は 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溶媒除去後、総脂質重量を測定した。肝臓脂質を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中の総コレステロールおよびトリグリセライド量の測定を行った。

5. 糞中胆汁酸測定

凍結乾燥糞を乳鉢で粉碎後、0.5g を 5.0ml の加熱エタノール(70°C , 60 分間)で抽出した。続いて 5.0ml のクロロホルム-メタノール混液(1:1, v/v)洗浄を2回繰り返し、抽出液と洗浄液を合わせ、糞中胆汁酸量について総胆汁酸テストワコー(和光純薬工業)を用いて測定した。

6. 統計処理

各実験の結果は平均値 \pm 標準誤差(mean \pm SE)で示し、群間の有意差検定は Tukey の方法により行い、 $p < 0.05$ で統計的に有意とした。

実験結果および考察

1. 体重、摂餌量、飼料効率

体重は 20%SY 群で大豆ヨーグルト投与開始より徐々に上昇抑制を示し、最終体重は CO 群と比較して低値の傾向であった(Table 3)。大豆ヨーグルト群の摂餌量および飼料効率は CO 群に比較して有意差は見られなかった。これまで、オカラ、豆乳それぞれの単独投与による体重増加抑制作用は認められなかった⁴⁾⁵⁾、オカラを豆乳と共に乳酸発酵したことによる効果が寄与していると考えられた。

2. 血漿成分の推移

血漿総コレステロール濃度は、CO 群において上昇を示したが、大豆ヨーグルト添加により、用量依存的に抑制された(Fig. 1)。さらに 20%SY 群では、2 週目以降 CO 群との間に常に有意差が認められた。血漿総コレステロール濃度上昇抑制効果については、大豆タンパク質やイソフラボン¹⁰⁾⁻¹²⁾および豆乳⁷⁾においても報告があるが、経時的な変化を検討した研究は少ない。本研究では経時的に、かつ長期間の変化を見ることで、大豆ヨーグルト摂取により血漿総コレステロール濃度がコレステロール添加前の値で維持されるという結果を得た。大豆ヨーグルトの摂取により、高コレステロール血症が改善されると同時に生体での適性濃度が維持されると推定された。HDL-コレステロール濃度に影響は認められなかった(Fig. 2)が HDL-コレステロール/総コレステロール比は 20%群において有意に高値を示した(Fig. 3)。この結果は大豆ヨーグルトの摂取により動脈硬化性疾患の危険因子である低 HDL-コレステロール血症を回避できることを示しており¹³⁾、大豆ヨーグルトによる抗動脈硬化作用の可能性も示唆された。血漿中のトリグリセライド濃度は、いずれの群も投与開始後低下し、8 週目にも群間の差違は認められなかった(Fig. 4)。血糖値およ

Table 3. Effects of different amounts of Soy-Yogurt on body weight gain, food intake and food efficiency of rats fed a high-cholesterol diet

Parameters	Diet group		
	CO	10% SY	20% SY
Initial body weight(g)	275 \pm 4.4	276 \pm 4.6	271 \pm 5.3
Final body weight(g)	591 \pm 16.6	579 \pm 20.1	539 \pm 12.33
Food efficiency(body weight gain g/g diet)	0.44	0.40	0.37

Each value is the mean \pm SE of 8 rats.

び血漿インスリン濃度に差異は見られず、食餌による影響は認められなかった(Table 4). アディポネクチン濃度は、投与開始4週目にCO群で低下傾向が見られたが、20%SY群では初期濃度が維持され、8週目ではCO群と比較して有意に高値を示した(Table 4). アディポネクチンは抗動脈硬化、抗糖尿病作用を有しており、その発現は内臓脂肪量と負の相関を示す¹⁴⁾. CO群では肥満が充進しているた

め、アディポネクチンの分泌が抑制されたと推定される. 一方で、体重増加抑制が認められたSY群では初期のアディポネクチン濃度が維持されていた. この結果は、抗動脈硬化作用を反映するHDL-コレステロール/総コレステロール比が大豆ヨーグルト添加群でCO群と比較して有意に高値を示した結果と相関していた.

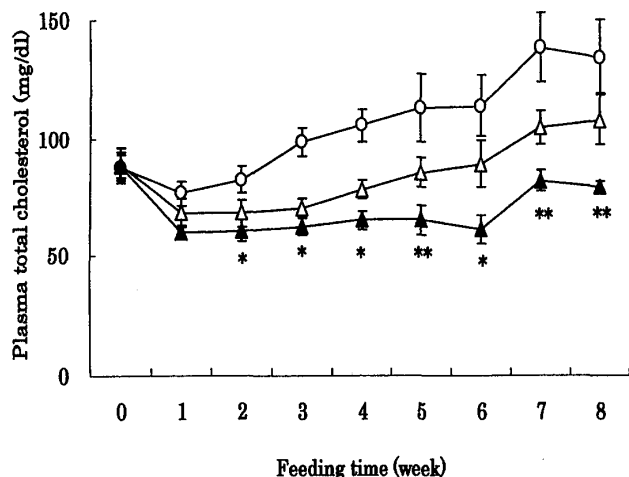


Fig. 1. Effects of different amounts of Soy-Yogurt on concentrations of total cholesterol in plasma of rats fed a high-cholesterol diet. ○, CO;△, 10% SY;▲, 20%. Each value is the mean±SE of 8 rats. *:p<0.05, **:p<0.01 vs. CO group.

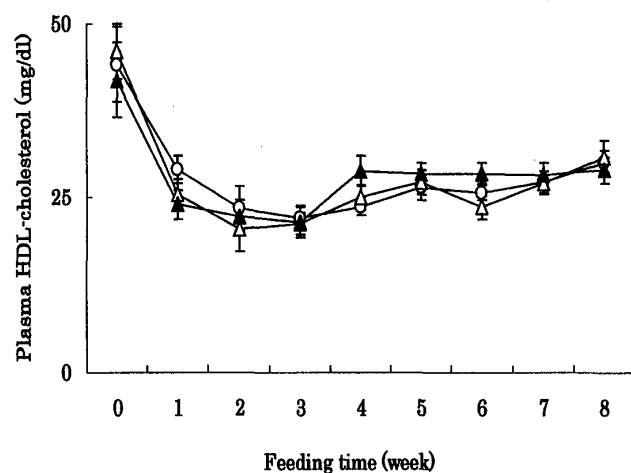


Fig. 2. Effects of different amounts of Soy-Yogurt on concentrations of HDL-cholesterol in plasma of rats fed a high-cholesterol diet. ○, CO;△, 10% SY;▲, 20%. Each value is the mean±SE of 8 rats.

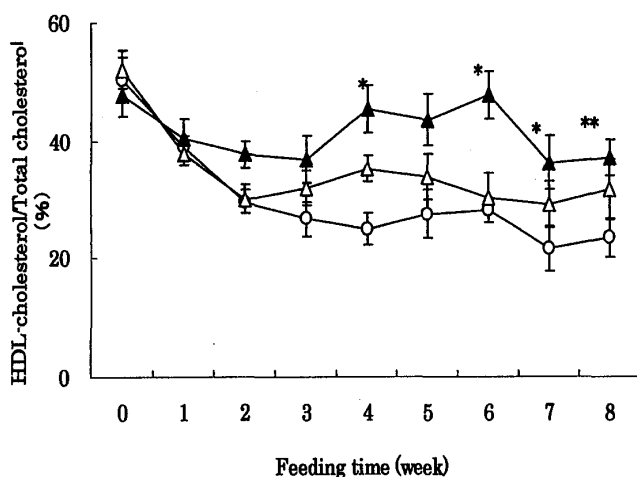


Fig. 3. Effects of different amounts of Soy-Yogurt on ratio of HDL-cholesterol/total cholesterol in plasma of rats fed a high-cholesterol diet. ○, CO;△, 10%SY;▲, 20%SY. Each value is the mean±SE of 8 rats. *:p<0.05, **:p<0.01 vs. CO group.

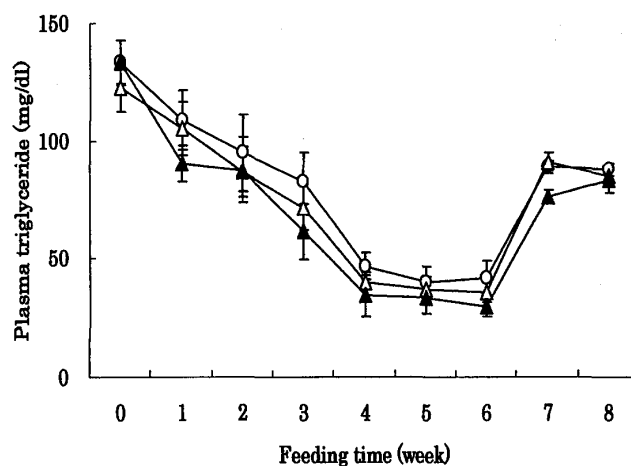


Fig. 4. Effects of different amounts of Soy-Yogurt on concentrations of triglyceride in plasma of rats fed a high-cholesterol diet. ○, CO;△, 10% SY;▲, 20%SY. Each value is the mean±SE of 8 rats.

Table 4. Effects of different amount of Soy-Yogurt on metabolic parameters of plasma in rats fed a high-cholesterol diet

Parameters		Diet group		
		CO	10% SY	20% SY
Glucose (mg/dl)	0w	140.5±6.4	135.3±7.4	131.1±5.4
	4w	133.5±6.6	144.9±4.7	149.7±5.2
	8w	161.5±7.5	142.4±7.2	145.5±6.3
Insulin (ng/ml)	0w	0.8±0.3	0.6±0.2	0.3±0.1
	4w	0.5±0.2	0.6±0.1	0.3±0.1
	8w	0.6±0.2	0.7±0.2	0.4±0.0
Adiponectin (μ g/ml)	0w	2.6±0.2	2.6±0.2	2.8±0.2
	4w	1.8±0.1	2.6±0.3	2.5±0.1*
	8w	2.0±0.1	2.4±0.3	2.7±0.1*

Each value is the mean±SE of 8 rats. *:p<0.05, vs. CO group.

Table 5. Effects of different amounts of Soy-Yogurt on the liver, the cecum, and the perirenal adipose tissue weights of rats fed a high-cholesterol diet

Tissue	Diet group		
	CO	10% SY	20% SY
Liver (g/100g b.w.)	6.0±0.2	5.4±0.2*	4.6±0.2***
Cecum (g/100g b.w.)	0.9±0.1	1.0±0.1	1.2±0.1*
Perirenal adipose tissue (g/100g b.w.)	2.7±0.1	2.9±0.2	2.6±0.2

Each value is the mean±SE of 8 rats. *:p<0.05, ***:p<0.005 vs. CO group.

3. 臓器重量

試験終了時の各個体の肝臓、盲腸、および腎周辺脂肪組織の湿重量を測定した結果を Table 5 に示した。大豆ヨーグルト添加群では、CO 群と比べ用量依存的に肝臓重量の減少が認められ、その差は有意であった。盲腸重量は大豆ヨーグルト添加群で有意に増加した。大豆ヨーグルト群では体重増加が抑制されたにもかかわらず、腎臓周辺脂肪組織重量に差異は認められなかった。

4. 肝臓脂質濃度

肝臓脂質含有率の測定結果を Table 6 に示した。総脂質は CO 群に比較し 20%SY 群で有意に低値を示し、10%SY 群でも低下傾向が見られた。総コレステロールは、10%SY 群、20%SY 群ともに CO 群と比較して低下しており、20%SY 群では有意差が認められた。トリグリセライドは 20%SY 群で CO 群より有意に低下していた。また、肝臓可溶性タンパク質は大豆ヨーグルトの添加により増加しており、

10%SY 群および 20%SY 群で CO 群と比べ有意に高値を示した。従って、SY 群における肝臓重量の低下は、肝臓での脂肪蓄積が抑制された結果であることが示唆された。肝臓では、アディポネクチンにより AMP キナーゼや転写因子である Peroxisome proliferators activated α (PPAR- α) が活性化し、脂肪酸の燃焼を促進する¹⁵⁾。大豆ヨーグルト添加群ではアディポネクチンが高濃度で維持されていたため、肝臓での β 酸化が亢進されたと推察される。

5. 糞中総胆汁酸量

糞重量に大豆ヨーグルトの影響は認められず、総胆汁酸量も群間の差異は見られなかった (Table 7)。乳酸発酵により生じた乳酸で腸内 pH が低下して食物繊維の胆汁酸吸着能を増し、胆汁酸の排泄を促進すると考えられたが、糞中胆汁酸量に変化は認められなかった。

Table 6. Effects of different amounts of Soy-Yogurt on hepatic protein and lipid contents of rats fed a high-cholesterol diet

contents	Diet group		
	CO	10% SY	20% SY
Total lipid(mg/g liver)	424.7±20.9	376.5±21.3	276.6±23.0***
Total cholesterol(mg/g liver)	78.8±3.8	66.2±3.7	43.1±3.7***
Triglycerides(mg/g liver)	110.9±5.2	98.8±6.5	71.5±6.6***
Total soluble protein(mg/g liver)	96.2±3.3	127.1±4.8***	127.8±5.9***

Each value is the mean±SE of 8 rats. ***:p<0.005 vs. CO group.

Table 7. Effects of different amounts of Soy-Yogurt on fecal excretion of bile acid of rats fed a high-cholesterol diet

Weight and content	Diet group		
	CO	10% SY	20% SY
Fecal dry weight(g/day)	3.9±0.2	3.9±0.2	3.7±0.2
Bile acid(μ mol/g feces)	269.3±15.7	313.5±15.3	268.1±14.4
Total bile acid(mmol/day)	1.0±0.1	1.2±0.1	1.0±0.1

Each value is the mean±SE of 8 rats.

6. 脂質代謝改善効果を示す機能性成分

大豆タンパク質を摂取すると、肝臓の脂肪酸合成酵素を制御する転写因子である Sterol regulatory element binding protein-1(SREBP-1)の発現が減少することが報告されている¹⁶⁾。本実験においても、大豆ヨーグルトに含まれる大豆タンパク質の作用により SREBP-1 の発現が低下し、肝臓の脂肪酸合成が抑制されたと推察される。さらに、大豆タンパク質食摂取ラットでは、イソフラボンによりコレステロール代謝系酵素の転写因子である SREBP-2 の発現が促進されることも証明されている¹⁷⁾。大豆ヨーグルトに含まれるイソフラボンが SREBP-2 の発現を亢進し、血清のコレステロールクリアランスが増加していると推定される。また現在、乳酸発酵により新たに生成された乳酸等の影響も考えられる。従来の研究で、オカラまたは豆乳の単独投与による血漿総コレステロール濃度低下作用は既に確認されているが、体重への影響は認められなかった。しかしながら、大豆ヨーグルトの添加によって著しい体重増加抑制効果が認められた。大豆ヨーグルト添加群ではメタボリックシンドローム予防に有益な影響を与えるアディポネクチンが高値で維持されることも確認した。これにより、肝臓のβ酸化が亢進し脂肪蓄積が抑制したと推察された。さらに、大豆ヨーグ

ルトを摂取することにより血漿中の総コレステロールに対する HDL コレステロールの割合が高くなる傾向が認められたため、抗動脈硬化作用を有する可能性も示唆された。すなわち、大豆タンパク質やイソフラボンの効果に加え、オカラと豆乳を共に乳酸発酵することによりいずれか単独では示さない作用が新たに生じたと考えられる。以上の結果より、メタボリックシンドロームの一次予防として食生活改善を実行するという観点から、大豆ヨーグルトはオカラを有効利用した新しい機能性食品として活用できることが示唆された。今後、大豆ヨーグルトが有する脂質代謝改善作用のメカニズムの解明とその機能性成分の同定を行う予定である。

要約

血中脂質濃度上昇を抑制するオカラと豆乳を発酵させてヨーグルト状食品(大豆ヨーグルト)を作製した。大豆ヨーグルトがラットの脂質代謝に及ぼす影響について調べるため、SD系雄性ラットに高コレステロール食を摂取させ8週間飼育した。コントロール群には1%コレステロールを負荷した飼料を与え、他の2群には凍結乾燥大豆ヨーグルトで各々10%、20%置換した飼料を与えた。コントロール群

と比較して20%大豆ヨーグルト群で、体重増加および血漿総コレステロール濃度上昇が有意に抑制された。20%大豆ヨーグルト群で血漿アディポネクチンは高値を維持した。さらに、飼料中の大豆ヨーグルト比率の増加にともなって肝臓総脂質、コレステロール、中性脂肪濃度が有意に低下した。以上の結果から、大豆ヨーグルトの摂取により血中コレステロール濃度上昇抑制および肝臓脂質蓄積抑制が認められたため、大豆ヨーグルトは脂質代謝改善作用を有することが示唆された。

謝 辞

本動物実験を進めるにあたり、ご助言とご協力を賜りました武庫川女子大学食物栄養学科 堂前嘉代子教授に感謝申し上げます。

文 献

- 1) Caar, D.B., Utzschneider, K.M., Hull, R.L., Komada, K., Retzlaff, M.B., Brunzell, J. D., Shofer, B.J., Fish, E.B., Knopp, R.H. and Kahn, S.E., *Diabetes*, **53**, 2087-2094 (2004).
- 2) Nagata, Y., Tanaka, K. and Sugano, M., *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **27**, 583-593(1981).
- 3) Moriyama, T., Kishimoto, K., Nagai, K., Urade, R., Ogawa, T., Utsumi, S., Maruyama, N. and Maebuchi, M., *Biosci. Biotech. Biochem.*, **68**, 352-359(2004).
- 4) Nagasawa, A., Fukui, K., Funahashi, T., Maeda, T., Shimomura, I., Kihara, S., Waki, M., Takamatsu, K. and Matsuzawa, Y., *Horm. Metab. Res.*, **34**, 635-639(2002).
- 5) 福田 満, 杉原好枝, 伊藤みどり, 堀内理恵, 浅尾弘明, *食科工*, **53**, 195-199(2005).
- 6) Chen, J.R., Liu, S.M., Yang, S.C. and Suetsuna, K., *Nutrition.*, **20**, 929-933(2004).
- 7) 上西一弘, 根岸由紀子, 松田早苗, 古賀憲治, 鈴木久乃, 菅原龍幸, 香川靖雄, *栄食誌*, **55**, 339-345(2002).
- 8) 脇 昌子, 新村好示, 安原清美, *大豆たん白質研究*, **3**, 133-138(2000).
- 9) Folch, J., Lees, M. and Stanley, G.H.S., *J. Biol. Chem.*, **226**, 497-509(1957).
- 10) Lin, Y., Meijer, G.W., Vermeer, M.A. and Trautwein, E.A., *J. Nutr.*, **134**, 143-148(2004).
- 11) Ascencio, C., Torres, N., Acosta, F.I., Gomez-Perez, F.J., Hernadezpado, R. and Tovar, A.R., *J. Nutr.*, **134**, 522-529, (2004).
- 12) Lin, C., Tsai, C.Y. and Lin, S.H., *Gastro enterol.*, **11**, 5549-5552(2005).
- 13) Nakamura, T., Tsubuno, Y., Kameda/Takemura, K., Funahashi, T., Yamashita, S., Hisamichi, S., Kita, T., Yamamura, T. and Matsuzawa, Y., *Jpn. Circ. J.*, **65**, 11-17(2001).
- 14) Kubota, N., Terauchi, Y., Yamauchi, T., Kubota, T., Moro, M., Matsui, J., Eto, K., Yamashita, T., Kamon, J., Satoh, H., Yano, W., Froguel, P., Nagai, R., Kimura, S., Kadowaki, T. and Noda, T., *J. Biol. Chem.*, **277**, 25863-25866(2002).
- 15) Yamauchi, T., Kamon, J., Minokoshi, Y., Ito, Y., Waki, H., Uchida, S., Yamashita, S., Noda, M., Kita, S., Ueki, K., Eto, K., Akanuma, Y., Froguel, P., Foufelle, F., Ferre, P., Caring. D., Kimura, S., Nagai, R., Kahn, B.B. and Kadowaki, T., *Nat. Med.*, **8**, 1288-1295(2002).
- 16) Tovar, A.R., Torre-Villalvazo, I., Ochada, M., Elias, A.L., Ortiz, V., Aguilar-Salinas, C.A. and Torres, N., *J. Lipid. Res.*, **46**, 1823-1832(2005).
- 17) Torres, N., Torre-Villalvazo, I., and Tovar, A.R., *J. Nutr. Biochem.*, **917**, 365-373(2006).