

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

皂素於黃豆加工過程中含量與結構之變化及其膽酸結合力
與防止低密度脂蛋白氧化研究

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC91-2313-B-038-001-

執行期間：91年08月01日至92年07月31日

執行單位：臺北醫學大學保健營養學系

計畫主持人：林士祥

計畫參與人員：林淨怡，蔡政諭

報告類型：精簡報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 92 年 10 月 30 日

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

計畫編號：NSC 91-2313-B-038-001

執行期限：91年8月1日至92年7月31日

主持人：林士祥 台北醫學大學保健營學系

計畫參與人員：林靖怡 台北醫學大學保健營學研究所

蔡政諭 台北醫學大學保健營學系

中文摘要

皂素是存在於多種植物中的一種兩性化合物。在過去多被認為是對人體營養上是不利的。但近幾年的研究顯示其具有正面價值。本研究以一年期間將黃豆皂素利用體外及動物實驗的模式來確認黃豆皂素是具有抗低密度脂蛋白氧化及降低膽固醇及改善血脂的效果。結果顯示皂素於體外具有延緩 LDL 氧化及和膽酸結合的能力。但體內試驗中皂素的作用仍不明顯，可能與其吸收率有關。因此，皂素的實際應用於保健方面仍需進一步的研究。

關鍵字：黃豆、皂素、膽固醇、低密度脂蛋白

Abstract

Saponins exist in many kinds of plant. They consist of both hydrophilic and lipophilic portions. Recent studies have overturned the negative impression on saponins and shown positive effects to human health. The study investigated the effects of saponin on blood lipid, LDL and cholesterol lowering effects through *in vivo* and *in vitro* studies. The results of *in vitro* studies showed that

saponin could bind with bile acid and prolonged the lag time of LDL oxidation. However, the effects of saponin on blood lipid *in vivo* were still unclear. More studies on improving the absorption of saponin should be performed.

Key words: soy, saponins, cholesterol, LDL

計畫緣由與目的

皂素與異黃酮素在黃豆中都是屬於酒精可萃取的物質，因此在萃取異黃酮素的同時，皂素通常一併會被萃出。Wang 與 Ng (1999) 指出 saponin 和黃豆蛋白都是屬於可以降低膽固醇的天然食材。Lucas 等 (2001a,b) 發現於黃豆蛋白若失去其酒精可萃取的部分則會失去降低膽固醇的功用。Arjmandi (2001) 也指出，當黃豆蛋白中的酒精可溶性物質被萃取出之後，雖然會失去降低膽固醇的效果，但是，其中的有效物質並未被區分出來。同時，異黃酮素及皂素個別都有文獻指出具有降低膽固醇的效果。但目前的研究並沒有做進一步的研究是哪一個物質的影響較大。Oakenenfull (2001) 也

指出異黃酮素及皂素在降低膽固醇的功效上實應做一個區分，而純化後的黃豆蛋白（不含異黃酮素及皂素者）是否還具有將低膽固醇的功效仍應該再加以確定。因此，本研究以一年期間將黃豆皂素利用體外及動物實驗的模式來確認黃豆皂素是具有抗低密度脂蛋白氧化及降低膽固醇及改善血脂的作用。

材料與方法

皂素製備

將黃豆粉之酒精萃取物以檢壓濃縮爭乾後再以去離子水江水榮幸的皂素與異黃酮素分離。以手搖水溶液 1 分鐘。泡沫若持續 10 分鐘以上視為正反應。

體外膽酸結合試驗

樣品 10 mg 與 5 ml 含有膽酸鹽 (10^{-4} mol) 之 0.1 mol/L 之 Tris-HCl-0.1 mol/L NaN_3 緩衝溶液, pH 4.0 於 37°C 下充分混合 2 小時之後進行透析 (Spectra/POR, MW cutoff 6000-8000, Spectrum Medical Ind., Los Angeles, CA) 三至四天。留於透析液中之膽鹽則利用酵素法分析 (Sugano 等, 1990)。

防止低密度脂蛋白氧化 (TBARS)

樣品與 LDL 混合後於 20 °C 下培養 30 分鐘後與氧化促進物 (5 μ M CuSO_4) 混合並於 37 °C 下培養 24 小時。LDL 之氧化程度以 TBARS 之生成量表示。

動物實驗

將 32 之雄性 SD 鼠 (6 週齡) 分

成 4 組，每組八隻，給予 4 種不同之高膽固醇 (1%) 飲食。基礎飲食為 AIN76, 但在蛋白質部份則為實驗中被取代之部分。實驗期為八週。每日記錄攝食量及體重。四組飲食如下：

1. 黃豆蛋白 (含皂素及異黃酮素) +1% cholesterol (SP 組)
2. 酒精洗滌後之黃豆蛋白 (不含皂素及異黃酮素) +1% cholesterol (ASP 組)
3. 酒精洗滌後之黃豆蛋白加入黃豆皂素，皂素並取代 AIN76 中部分蔗糖之含量 (0.2%) (Sugano 等, 1990) +1% cholesterol (ASS 組)
4. 酪蛋白 +1% cholesterol (PC 組)
5. 酪蛋白 (normal diet) (NC 組)

血液樣品於實驗後之第 2、4、6、8 週時由尾靜脈抽取 2 ml 之血液供以後分析。抽得之血液將測其總膽固醇、高密度脂蛋白膽固醇、低密度脂蛋白膽固醇、GOT、GPT、三酸甘油酯等生化檢驗值。實驗期終了時將老鼠犧牲取其肝臟分析。

統計分析

統計分析將以 SAS[®] 軟體執行。體外膽酸結合力、抗 LDL 氧化及動物實驗設計為 Complete Randomized Design (CRD)，以 1-way ANOVA 分析不同成分對膽酸結合力及防止 LDL 的氧化作用；以 2-way ANOVA 分析不同飼料及時間對動物之影響。各組數值以 Mean \pm SD 表示

結果與討論

加熱對皂素的影響

本實驗比較了加熱後即未加熱之黃豆粉其皂素之改變發現其 HPLC 之

圖譜的確有不同，但其詳細改變仍須再確認。

體外實驗

一、膽酸結合力

將市售之皂素、異黃酮素以及由本實驗室自行以分離黃豆之皂素分別測試其與膽酸的結合情形。結果顯示，於同樣濃度下與膽酸結合之能力順序依次為：由本實驗室自行分離之皂素 > 市售皂素 > 市售異黃酮素 ($p < 0.05$)。

二、抑制 LDL 氧化 (LDL lag time)

在抑制 LDL 氧化方面，加入皂素後的樣品其 LDL 氧化的 lag time 均較未加皂素的樣品為長 ($p < 0.05$)，顯示皂素的確具有抗氧化能力。而加熱過的皂素又比未經加熱的樣品之 LDL 氧化的 lag time 為長 ($p < 0.05$)。顯示其將價任後其結構或化學特性可能受到改變。

體內實驗

體內實驗測定項目有每 0,2,4,6,8 週之血漿中肝功能指數 GOT 及 GPT, TG, TC 以及實驗前後之肝臟中 TG 及 TC。結果顯示 ASS 組 (酒精洗滌後之黃豆蛋白加入黃豆皂素) 之肝臟三酸甘油酯比實驗前高 ($p < 0.05$)，而其他組與實驗前肝臟三酸甘油酯之值並未有統計差異。肝臟三酸甘油酯另外，於肝臟總膽固醇方面，ASS 組也比實驗前及其他組略高 ($p < 0.05$)。由此二結果得知，皂素之添加對肝臟中之脂質代謝並無正面的功效。於肝功能指數 GOT、GPT 方面，ASS 組均較 PC 組 (高膽固醇酪蛋白) 為低 ($p < 0.05$)，

但與其搭組比較則無顯著差異。於血漿總膽固醇方面，除了一般飲食組 (NC) 較低外，其他組與 ASS 組均無顯著差異。於血漿總三酸甘油酯方面，ASS 組比 NC 組有較低的數值 ($p < 0.05$)。於其他組則無顯著差異。Sugano 等 (1990) 發現黃豆蛋白之皂素有與膽酸結合的作用。但也有研究指出，黃豆中的異黃酮素與皂素有加成之效果。Yoshiki 等 (1998) 也指出，黃豆中 DDMP conjugated saponin 有清除氧之自由基的功能。

本實驗在體外試驗的結果皆顯示皂素具有抗氧化以及和膽酸結合的能力。但因其被腸道吸收率不高，因此體內試驗的結果並未如體外試驗結果明確。若要改善及吸收，則必須從改變其結構著手。Potter 等 (1979) 提出經過酸水解之後的皂素其降低膽固醇的效果會更好，但是否有助於其被吸收則須加以研究。另外，老鼠在攝取含有皂素之飲食後體內之皂素含量並未做檢測，因此本項目仍待日後之繼續觀察。

對於本次計畫之自評

本計畫於執行期間遭遇到皂素分離上的困難，但最後在參考許多文獻後始克服。而結果上與假設部分相符，因此本人認為此次研究結果令人振奮，並有繼續研究的可行性。

參考文獻

Arjmandi BH. Reply to Dr. David Oakenfull
(2001) J. Nutr. 131:2972

^ALucas EA, Khalil DA, Daggy BP and Arjmandi BH (2001) Effect of ethanol extracted soy

protein in the hamster model of postmenopausal hypercholesterolemia. *J Nutr* 131: 211-214.

^BLucas EA, Khalil DA, Daggy BP and Arjmandi BH (2001) Ethanol-extracted soy protein isolate does not modulate serum cholesterol in golden Syrian hamsters: a model of postmenopausal hypercholesterolemia. *J Nutr* 131: 211-214.

Oleszek W (1988) Solid-Phase extraction-fractionation of alfalfa saponins. *J Sci Food Agric* 44: 43-49.

Oakenfull D. (2001) Soy protein, saponins and plasma cholesterol. *J. Nutr.* 131:2971

Potter JD, Topping DL and Oaknefull D (1979) Soya, saponins and plasma cholesterol. *Lancet* I: 223.

Sugano M, Goto S, Yamada Y, Yoshida K, Hashimoto Y, Matsuo T and Kimoto M (1990) Cholesterol-lowering activity of various undigested fractions of soybean protein in rats. *J. Nutr.* 120:977-985.

Wang HX and Ng TB (1999) Natural products with hypoglycemic, hypotensive, hypocholesterolemic, antiatherosclerotic and antithrombotic activities. *Life Science* 65: 2663-2677.

Yoshiki Y, Kudou S and Okubo (1998) Relationship between chemical structures and biological activities of triterpenoid saponins from soybean. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* 62: 2291-2299.