草類蛋白質の栄養価

III 赤クローバー蛋白質の溶解性と消化との関係

神 立 誠 (東大農学部) 堀 米 隆 男 (茨城大農学部)

Studies on the nutritive value of grass proteins

III Relation between the solubility and digestibility of red clover proteins

MAKOTO KANDATSU (Fac. Agric., Univ. of Tokyo.)

TAKAO HORIGOME (Fac. Agric., Ibaraki Univ.)

序

蛋白質が消化されるためには先づ第一に水溶液に可溶性になることが必要であり、不溶性の蛋白質は消化され難い事はよく知られている。一方植物性蛋白質の分類には各種の溶剤に対する溶解性が古くから用いられており、その分類抽出に用いられる溶剤は水、10% NaCl、70~80%アルコール、0.2~0.3% NaOH、60~70%アルコール性0.2~0.3% NaOH等である。植物性蛋白質の消化性とこれらの溶剤に対する溶解性との間に何らかの関連があるとすれば、この関連を知ることは茎葉類のように多数の種類があり、又同一種類でも採取の条件によりその栄養価に相違のあるものでは、消化試験を行わないで大凡の消化率を推定するために重要なことと考えられる。この点に就て神立¹⁾は既に²⁾ギボウシ³⁾葉の蛋白質の溶解性と人工消化の関係について実験を行い、森本⁴⁾は多数の茎葉類に就て蛋白質の溶解性と家兎による消化率との相関を求めて、熱アルコール性アルカリ可溶性窒素及全可溶性窒素と粗蛋白質の消化率の間には正の相関があり、特に前者との相関は尤であることを報告している。我々は別の報告⁵⁾で赤クローバー粉の家兎による消化試験を行った際、飼料及乾燥糞の窒素分布を同時に実験したのでその結果を次に報告する。

実験方法及結果

I) 供試飼料及消化試験 前報⁵⁾の赤クローバー粉及その家兎による消化試験の乾燥糞をそのまま用いた。

II) 各種溶性窒素の定量法 溶剤としては水、10% NaCl、70%アルコール、0.3% NaOH、60%アルコール性0.3% NaOHを用い、次の様に操作した。

(1) 水溶性窒素：試料5~8gに蒸留水100ccを加え1時間振盪器で振盪して後、しばらく静置し上澄液を傾斜してとり遠心分離、尚液が潤滑しているので吸引濾過する。残渣を集め更に蒸留水100ccを加え1時間振盪し前と同じく液を分離する。残渣は濾紙上に移し吸引してよく液

と残渣とを分ける。こうして得た浸出液は全部合して250ccに定容となし、キエルダール法により全窒素を、バルンスタイン法により蛋白態窒素を定量する。

(2) 10%食塩水溶性窒素：(1)の残渣に10%食塩水100ccを加へ(1)と同じく処理し浸出液をつくる。残渣は最後に残渣中のNaClをとるために蒸留水で洗い吸引濾過し、濾液は前の浸出液に合し250ccに定容とする。これについて全窒素と蛋白態窒素を定量する。

(3) 熱70%アルコール溶性窒素：(2)の残渣に70%アルコール100ccを加へ逆流冷却管を附して65~75°Cの湯煎鍋中で1時間加熱して後、流水中で冷却後吸引濾過する。残渣を集め此の処理を繰り返して浸出液を作り一定容となして全窒素と蛋白態窒素を定量した。尚蛋白態窒素の定量には、浸出液の一定量を取り、アルコールを蒸発してからバルンスタイン法の試薬を加へた。

(4) 0.3% NaOH液溶性窒素：(3)の残渣について0.3% NaOHを用いて(1)と同様に処理、定量した。尚蛋白態窒素を定量する場合には浸出液の一定量を取りフェノールレッド試験紙を用い塩酸で中和してからバルンスタイン法の試薬を加へた。

(5) 60%アルコール性0.3% NaOH 溶性窒素：(4)の残渣についてアルコール性アルカリを用いて(1)と同様に処理定量した。尚蛋白態窒素の定量には一定量の浸出液を取り(4)と同じく中和してからアルコールを蒸発し後にバルンスタイン法の試薬を加へた。

(6) 熱60%アルコール性0.3% NaOH 溶性窒素：(5)の残渣についてアルコール性アルカリを用い(3)と同じく加熱処理して浸出液を得、残渣を蒸留水で洗い吸引濾過して濾液は前の浸出液と合して一定容となし、全窒素及び蛋白態窒素を定量した。蛋白態窒素の定量は(5)の如く行つた。

(7) 不溶性窒素：(6)の残渣を集めよく攪きませ乾燥後その全量を秤量しそれより一定量を探つて全窒素を定量した。尚(1)~(6)の操作の間に濾過に使用した濾紙は、完全に残渣を分離する事が困難なので、使用した濾紙は全

第1表 赤クローバー及びその葉の窒素分布

試料	窒素形態	全窒素%	蛋白態窒素%
赤クローバー 全葉	粗蛋白質(A)	2.43	2.14
	全窒素に対し	2.10	2.00
	純蛋白質(B)	1.92	1.86

I. 赤クローバー蛋白質の消化性

第3表によれば、10%食塩水溶性、熱70%アルコール性、0.3%NaOH 溶性の蛋白質の消化率が可成り低く、水及び熱アルカリ性アルコールに溶ける部分が最も消化率がよく、つづいて不溶性の蛋白質が相当消化されることを示している。特に興味のあるのは植物の茎葉に特

試料	溶剤 窒素形態	溶剤										不溶性	合 計
		(1) H ₂ O	(2) 10% Na Cl	(3) 70% EtOH	(4) 0.3% NaOH	(5) 冷60% EtOH 0.3%NaOH	(1)~(5) 計	(6) 熱60% EtOH 0.3%NaOH	(1)~(6) 計				
赤 ク ロ ー バ ー	粗蛋白質(A)	25.57	0.53	0.70	0.62	0.27	4.67	5.68	10.35	4.98	15.33		
	全窒素に対し	16.77	3.46	4.60	4.06	1.85	30.74	37.45	68.18	32.85	101.03		
	純蛋白質(B)	1.13	0.33	0.53	0.54	0.22	2.75	4.96	7.71	4.98	12.69		
	全窒素に対し	7.47	2.20	3.52	3.53	1.44	18.17	32.64	50.86				
	B/A	44.5	63.6	76.5	87.4	77.8	59.1	87.3	74.6				
合 葉	粗蛋白質(A)	6.22	1.11	1.05	1.36	0.42	5.36	3.43	8.79	4.30	13.09		
	全窒素に対し	9.31	8.49	9.61	10.31	3.17	40.89	26.16	67.05	32.80	99.83		
	純蛋白質(B)	0.89	0.79	0.93	1.26	0.34	4.21	2.70	6.91	4.30	10.42		
	全窒素に対し	6.82	6.02	7.07	9.58	2.64	32.13	32.13	52.70				
	B/A	73.3	71.2	73.6	92.9	83.3	78.6	78.6	78.6				
♀ 葉	純蛋白質(A)	1.02	0.49	1.45	1.16	0.39	4.52	3.19	7.71	4.24	11.94		
	全窒素に対し	8.56	4.05	12.09	9.79	3.25	37.74	26.60	64.34	35.35	99.67		
	純蛋白質(B)	0.64	0.42	1.24	1.11	0.35	3.81	2.40	6.21	4.24	9.68		
	全窒素に対し	5.79	3.58	10.35	8.27	2.91	30.89	20.04	50.93				
	B/A	67.6	88.4	85.6	84.5	89.2	81.6	75.3	79.2				

第2表 蛋白質含量(%)

試料	赤クローバー	合葉	♀葉
粗蛋白質	5.08	13.11	11.97
H ₂ O	1.13	0.89	0.69
10%NaCl	0.33	0.79	0.42
70% アルコール	0.53	0.93	1.24
0.3%NaOH	0.54	1.26	1.11
冷60%アル コール	0.22	0.34	0.35
0.3%NaOH			
熱60%アル コール	4.96	2.70	2.40
0.3%NaOH			
不溶性	4.98	4.30	4.24
計 (A)	12.69	11.21	10.45
純蛋白質(B)	13.36	12.49	11.63
A/B×100.00	94.50	89.74	88.80

て集めてケルダール法により窒素を定量し残渣中の窒素に加えた。但しそのものの窒素は定量できなかったのではないものとした。

以上の方法で定量した結果(1)~(7)の合計した窒素の回収率は99.12~101.26%であつた。又試料を5g, 8gの二通り採り同じく処理して行つた結果は同一であつた。実験結果は第1, 2表の通りである。

各窒素の定量値より計算した消化率は第3表の通りである。

考 察

殊な蛋白質と考えられている熱アルカリ性アルコール可

溶性蛋白質であつて、この部分の純蛋白質は高い消化率を示し且つその消化吸収量も最大で他の溶性蛋白質の合計量をはるかに凌駕し全消化吸収蛋白質量の40%も占めている。この事は森本²⁾が統計的に飼料中の水溶性窒素及び熱アルカリ性アルコール溶性窒素の含量、特に後者と飼料の粗蛋白質消化率とは強度の正の相関があると指摘した点を実験的に確めたことになる。一方貴志³⁾の愛の胃液を用いた人工消化試験の結果、桑葉ではグロブリンやゲルテリンに比して熱アルカリ性アルコール浸出液から調製した蛋白質は消化率が低く、又熱アルカリ性アルコール溶性窒素が増加するにつれて桑葉の蛋白質の消化が劣る傾向があると述べている。この事は上記の実験結果とは矛盾するのであるが、蚕児による桑葉全蛋白質の消化率は沢村⁴⁾によれば61~69%、平塚⁵⁾は55~59%、貴志⁶⁾は66~77%に達することを実験しており、消化管内に於ける消化の機構は微生物の作用等があつて、人工消化の場合とは著しく相違するためであると考えられる。又残渣に残る不溶性窒素が60%以上も消化される事も同様に消化管内の微生物の作用によるものと推定される。

次に特に10%食塩水溶性蛋白質の消化が予期に反して極めて低い理由については、この実験からは不明である。

草食動物では非蛋白態窒素は微生物に利用されて蛋白質に合成され、例えば反芻動物の第一胃では微生物により合成された蛋白質が飼料全窒素の約50%を占めてい

第3表 消化試験結果

動物 窒素区分	飼料	合				♀				平均消 化率%
		摂取量 g	排泄量 g	消化量 g	消化率 %	摂取量 g	排泄量 g	消化量 g	消化率 %	
飼料		807.0	315.0			790.5	330.0			
全粗蛋白質		121.7	41.9	80.4	66.1	119.2	39.5	79.7	66.9	66.5
全蛋白質		107.8	39.9	68.5	63.5	105.6	38.4	67.2	63.7	63.6
(1) 水	粗蛋白質	20.6	3.8	16.8	81.4	20.2	3.4	16.8	83.2	82.3
	純蛋白質	9.1	2.8	6.3	69.1	8.9	2.9	6.7	74.8	72.0
(2) 10% NaCl	粗蛋白質	4.3	3.5	0.8	18.2	4.2	1.6	2.6	61.6	
	純蛋白質	2.7	2.5	0.2	6.8	2.6	1.4	1.2	46.7	
(3) 70% アルコール	粗蛋白質	5.7	4.0	1.7	34.7	5.5	4.8	0.8	13.7	
	純蛋白質	4.3	2.9	1.4	31.8	4.2	4.1	0.1	2.2	
(4) 43% NaOH	粗蛋白質	5.0	4.3	0.7	14.6	4.9	3.9	1.0	20.8	
	純蛋白質	4.4	4.0	0.4	8.9	4.3	3.7	0.6	14.1	
(5) 60% アルコール	粗蛋白質	2.2	1.3	0.9	39.4	2.1	1.3	0.9	40.0	
	純蛋白質	1.8	1.1	0.7	38.8	1.7	1.1	0.6	24.5	
(6) 43% NaOH	粗蛋白質	37.7	16.9	20.8	55.2	36.9	14.9	22.0	59.6	57.4
(1)~(5) 計	純蛋白質	22.2	13.3	8.9	30.2	21.7	12.6	9.2	42.2	
(8) 熱60% アルコール	粗蛋白質	45.8	10.8	35.0	76.4	44.9	10.5	34.4	76.5	76.5
0.3% NaOH	純蛋白質	40.0	8.5	31.5	78.4	39.2	7.9	31.3	79.8	79.3
(1)~(8) 計	粗蛋白質	83.5	27.7	55.5	66.5	81.8	25.4	56.4	68.9	67.7
	純蛋白質	62.2	21.8	40.5	65.0	61.0	20.5	40.5	66.4	65.4
不溶性		40.2	13.6	26.6	66.3	39.4	14.0	25.4	64.5	65.4

て合成された蛋白質が飼料から由来した蛋白質の消化率に影響することが推測される。即ち本実験に於ても家兎の食下した非蛋白質態窒素化合物の量は水溶性のもの丈で約11gで食下した10%食塩水可溶の純蛋白質約2.3gの数倍に達しており、且つ水溶性の非蛋白質態窒素化合物の排泄が少く、90%以上の消化率を示していることなどからその影響があることも考えられる。又 metabolic fecal nitrogen の量は摂取蛋白質量に比較すると問題にはならないが、ある窒素区分に多く入るものと推定されるから、これらの区分の消化率に就ては metabolic fecal nitrogen の型態の研究と共に今後の検討を要するものと考えらる。

II. 純蛋白質の定量並にその消化率算定に就て

飼料の蛋白質態化合物は試料に水を加えて煮沸し、硫酸銅溶液及び苛性ソーダ溶液を加えて沈澱するものを蛋白質態窒素として定量する。即ち煮沸水によつて溶出して来る非蛋白質態窒素のみが沈澱物から除かれるのであり、この処理によつて果して、全非蛋白質態窒素が除かれるか否かは疑問の残る処である。試料を種々の溶液で次々と処理した抽出液に就て純蛋白質の定量を行つたこの実験の結果では煮沸水のみによつては全非蛋白質態窒素が除かれないことを示している。(第2表) このことは既に森本⁹⁾が樹葉では熱水に溶け難い非蛋白質態窒素の多いことを指摘しており、森本の実験結果及び本実験の結果、水溶性蛋白質態窒素が少く後の抽出液液に熱アルコール性アルカリに与ける非蛋白質態窒素が多い傾向のもの程熱水による

非蛋白質態窒素の溶出が困難であるように思はれる。従つてこの様な茎葉類の純蛋白質を定量するには熱水で処理するだけでなくもつと適当な処理を講じなければならぬと考えられる。又抽出各区分に非蛋白質態窒素が含まれることは今後の研究に注意を要する点である。

次に純蛋白質の消化率の算出には、非蛋白質態窒素が全部消化されるものとして次の式によつて計算されることが多い。

従つてこの式による純蛋白質の消化率(A)と糞中の純蛋白質を實際に定量して求めた消化率(B)と更にク

可消化粗蛋白質 = (飼料の粗蛋白質 - 飼料の純蛋白質) / 食下純蛋白質

ローバー、糞について行つた上述の抽出実験から得た各抽出液の純蛋白質に残渣中の蛋白質を加えて真の純蛋白質と見做し、これによつて得た消化率(C)とを比較すると次の如くなる。

	合	♀
(A)による消化率	64.3%	64.2%
(B)による消化率	65.4%	65.4%
(C)による消化率	67.9%	67.5%

このクローバーの実験では三者共余り大きな差を示さなかつたが、非蛋白質態窒素化合物の消化吸収性と関連して茎葉類の純蛋白質の消化率を求めるに当つては注意を要する点であらう。

III. 茎葉類の稀アルコール性アルカリ可溶性蛋白質量と粗蛋白質の消化率との関係

茎葉類に特有な稀アルコール性アルカリ可溶性蛋白質(chloroplast 蛋白質と考えられるもの)は含量も多く、その含量と粗蛋白質の消化率との間に正の強い相関のある事は森本⁹⁾により認められており、我々の今回の実験はこれを実証した。そこで森本の結果より回帰線求め、茎葉類の稀アルコール性アルカリ可溶性蛋白質含量より粗蛋白質の消化率を求めることの可能性を検討した。

稀アルコール性アルカリ可溶性蛋白質(X)と粗蛋白質(Y)の消化率との相関係数 $r=0.849$ を基にして回帰直線を求めると、 $Y=1.30+2.05(X-0.19) \dots\dots(1)$

となる。

(1)式の直線性を相関係数 r^2_{FX} によつて検討すると、

$$r^2_{FX} = \frac{1}{\sum u} \left\{ \frac{1}{N} \sum u \frac{V^2}{f(u)} - \bar{v}^2 \right\} = 0.830$$

$$F = \frac{r^2 - r^2}{1 - r^2} \cdot \frac{N - K}{K - 2} = 1.92$$

$$N = 26 \quad K = 8 \quad n_1 = K - 2 = 6 \quad n_2 = N - K = 18$$

F分布5%の点で $n_1 = 6 \quad n_2 = 18$ は $F = 2.74 > F_0$ 。

従つて(1)式は5%の危険率を以て直線的であるという仮説はすてられない。

次に本実験の結果 稀アルコール性アルカリ可溶性蛋白質 39.30% 粗蛋白質消化率 66.5%を(1)式にあてはめてみる。

$$F_0 = \{y_0 - \bar{y} - b(x_0 - \bar{x})\}^2 / V \{1 + \frac{1}{N} + (x_0 - \bar{x})^2 / \sum x\}$$

$$\leq F_{1, N-K}(\alpha)^2 \quad V = \Delta / N - 2$$

を用いて棄却限界を求めると、

$$S_x = \sum x^2 - \frac{1}{N} (\sum x)^2 = 62.04 \quad V = \frac{\Delta}{N - 2} = 2.74$$

$$F_0 = \frac{\{2 - 1.30 - 2.05(1 - 0.19)^2\}}{2.74 \left\{ 1 + \frac{1}{26} + \frac{(1 - 0.19)^2}{62.04} \right\}}$$

$$= \frac{(0.96)^2}{2.74 \left(1 + 0.38 + \frac{0.9561}{62.04} \right)}$$

$$= \frac{0.92}{2.74 \times 1.39} = \frac{0.92}{3.81} = 0.24 < F_{1, 18}(0.05) = 4.26$$

即ち5%の危険率ですてられないので、5%の棄却限界内にある。

要 約

乾燥赤クローバー粉末を用いて家兎による消化試験を行い試料及糞の窒素分布を比較して次の結果を得た。

(1) 稀アルコール性稀アルカリ可溶性蛋白質は赤クローバー中量も多く、又消化率も高い。

(2) 従来の純蛋白質定量法は試料を温水浸出し、之に蛋白質沈澱剤を加えて定量を行つてゐるが、赤クローバーではこれだけでは不充分でなほ少しく非蛋白質態窒素化合物が浸出されずに残存する。

(3) 苜蓿類の粗蛋白質消化率(Y)と稀アルコール性稀アルカリ可溶性蛋白質含量(X)との間に強い正の相関を認めた森本の実験結果から次の回帰方程式を求め、統計的に検討した。 $Y = 2.05(X - 0.19) + 1.30$

(1954.11.10受付)

引用文献

- 1 Osborn, T.B. (1924): The vegetable proteins. 16. Ed. Langmans, Green and Co.
- 2 神立誠 (1950): 畜産の研究 4, 627.
- 3 森本宏 (1950): 畜産試験場報告 57, 81.
- 4 神立誠, 岡部竜三, 堀米隆男 (1955): 本誌 26, 印刷中
- 5 青志雪太郎 (1933): 日農化誌 9, 1347.
- 6 沢村真 (1916): 大日本蚕糸会報, 217.
- 7 平塚英吉 (1915): 農学会報, 192, 943.
- 8 龜高喧一, 森本宏, 外 (1953): 農技研究報告, G 7, 169.

Résumé

The digestion trials of dried red clover meal were performed with 2 rabbits, and comparing the nitrogen distribution of both red clover meal with that of its feces, results obtained are as follows:

(1) Red clover meal contains the most so-called chloroplastic proteins which dissolve in the hot dilute alcoholic alkaline solution and their digestibility is the highest among red clover proteins.

(2) By the ordinary method of true protein

determination it was concluded that the non-proteinous nitrogen is yet included in the sample and would effect on the digestibility of true protein.

(3) From the data of H. MORIMOTO (Research Bulletin, 57, Zootechnical Experiment Station, Japan.) the regression equation of y (digestibility of crude protein in grass) with x (its chloroplastic protein content) is calculated and statistically discussed.

$$y = 2.05(x - 0.19) + 1.30.$$