報 文

ちっ素および無機質の出納に及ぼすカゼイン と分離大豆たん白質の影響*

吉 田 勉, 枝 川 純 子**

東京都立川短期大学食物学科

Effects of Casein and Isolated Soy-protein on Nitrogen and Mineral Balances

Tsutomu Yoshida and *Junko Edagawa

Department of Food and Nutrition, Tachikawa College of Tokyo

Two experiments were conducted utilizing male weanling Wistar rats weighing an average weights of 55 g for the first experiment and 80 g for the second. Rats were divided into control and experimental groups (6 animals per group) fed 10% casein or isolated soy-protein diets for three weeks.

The effects of two kinds of protein sources were compared on feed intake, body weight gain, feed efficiency, N efficiency, mineral (Ca, Mg, and P) balances for three weeks and bone (femur, and tibia and fibula of the right leg) weights and the content of Ca, Mg, and P in bone at the age of eight weeks.

- (1) Body weight gain, feed efficiency, N efficiency and N retention were significantly lower in the isolated soy-protein group than in the casein group.
- (2) There was no significant difference in Ca, Mg, P retention between two groups.
In Experiment II, there were significant differences in digestibility and retention of Ca, and ratio of P retention between two groups.
- (3) Bone weight and Ca, Mg and P in bone were lower in the isolated soy-protein group than in the casein group, especially in Experiment II which showed a significant difference.
- (4) It may be considered that nutrient loss and/or increased phytate content in the isolated soy-protein occurred in the process of production.

Jap. J. Nutr., 36 (6) 245~252 (1978)

著者らはすでに、分離大豆たん白質を飼料中10%たん白質レベルで雄ラットに与えた時の、成長、ちっ素(N)および無機質の出納を調べる実験¹⁾を行なった。その結果、カゼイン投与群に比べて分離大豆たん白質投与群では、増体重と飼料効率が高く、N効率は低い傾向を示したもののいずれも有意差はなく、Nのみかけの消化率や蓄積率は低く、また Ca, Mg, P の蓄積率は高い傾向を示したがおおむね有意差はなく、かつ、これら無機質の蓄積率はカゼインと分離大豆たん白質の等量混合物を給与した群の方が各たん白質を単独給与した群よ

* ちっ素および無機質の出納に及ぼすたん白質の影響について (第8報)

** 現在勤務先: 東京大学医学部保健学科保健栄養学教室

Present address: Department of Nutrition, School of Health Sciences, Faculty of Medicine, University of Tokyo

りも劣ることを認めた。

その後、分離大豆たん白質の製造法の一部が変更されて、沈殿したたん白質の洗滌を従来よりもさらに十分に行なったものを入手した。そこで本報では、前報¹⁾の結果のうち、カゼインと分離大豆たん白質の投与時にみられた結果の追試を目的として、飼料中10%たん白質レベルで給与したカゼインおよび分離大豆たん白質が、ラットの成長、ならびにN, Ca, Mg および P の出納に及ぼす影響について比較検討したので以下に報告する。

実 験 方 法

実験は約1年の間隔を置いて同様の実験を繰返したので、ここではそれぞれを実験Ⅰおよび実験Ⅱと呼ぶことにする。

1. 実験動物

Wistar 系雄ラット（生後4週齢を日本ラット飼育所より購入した。平均体重は実験Ⅰでは55g, 実験Ⅱでは80gあった。）12匹を各群に同腹ラットが2匹ずつはいり、かつ、群別の平均体重がほぼ等しくなるように1群6匹の2群に分けた。

1週間の予備飼育後、3週間の実験飼育を行なった。

2. 実験飼料

飼料組成は表1に示したとおりで、各群とも飼料中たん白質含量が10%程度となるように配合した。以下、

Table 1 Composition of diets (g/100 g)

	Exp. I		Exp. II	
	Casein diet	Soy-protein diet	Casein diet	Soy-protein diet
Casein	10	0	10.5 ^{e)}	0
Isolated Soy-protein ^{a)}	0	11.8	0	11.8
α -Corn starch	36	34.2	35.5	34.2
Glucose	39.4	39.4	39.4	39.4
Cellulose powder	3.5	3.5	3.5	3.5
Oil mixture ^{b)}	5	5	5	5
Mineral mix. ^{c)}	4	4	4	4
Vitamin mix. ^{d)}	1	1	1	1
Choline chloride	0.1	0.1	0.1	0.1
K ₂ HPO ₄	1	1	1	1

a) Protein content : 85%

b) Soybean oil : Cod liver oil=4 : 1

c) M.S. Mameesh [*J. Nutr.*, **65**, 161 (1958)]

d) A. E. Harper [*J. Nutr.*, **68**, 480 (1958)]

e) Protein content : 95%

本報ではたん白質源としてカゼインまたは分離大豆たん白質を使用した実験飼料群をそれぞれ、カゼイン群または大豆群と略称する。

カゼインは関東化学㈱の製品で、分離大豆たん白質は、不二製油㈱のフジプレーRを用いた。分離大豆たん白質の製造は、脱脂大豆を加水粉碎抽出後、不溶性区分を除き、pH 4.5 でたん白質を沈殿させ、上澄を除去し十分に水洗する。その後、沈殿物のけん濁液を中性にして噴霧乾燥したものである。成分は、水分約6%, 粗

たん白質約85% (N-たん白換算係数を5.71として), 粗灰分約6.5%, 他は主に少糖類である。 α -とうもろこしでんぷん, 混合油 (大豆油: たら肝油 = 4: 1) およびビタミン混合²⁾ は財団法人田辺アミノ酸研究基金製品であり, セルロースパウダーは東洋ろ紙製製のろ紙粉末飼料用 (200 メッシュ以上) を用い, 無機塩混合は Mameesh ら³⁾ の配合に従った。

Table 2 Mean content of moisture, protein, Ca, Mg and P in diets (%)

	Exp. I		Exp. II	
	Casein diet	Soy-protein diet	Casein diet	Soy-protein diet
Moisture	4.71	4.53	9.85	9.29
Crude protein	8.42*	8.50**	9.02*	8.15**
Ca	0.610	0.660	0.557	0.566
Mg	0.049	0.058	0.048	0.053
P	0.565	0.536	0.543	0.564

* N $\times$ 6.38** N $\times$ 5.71

2群に給与した実験飼料の成分分析値を表2に示した。N-たん白質換算係数は, カゼイン6.38, 大豆たん白質5.71を用いた。

実験飼料は, 製造後, 給与時まで1匹1週間分ずつをポリ塩化ビニル樹脂の袋に詰め, 5°Cの低温実験室内に保存した。飲料水は, 再蒸留水を与えた。

3. 飼育条件と試料採取法

ラットは糞と尿を分別採取できる飼育ケージに1匹ずつ入れ, 室内温度 $22\pm 3^{\circ}\text{C}$, 室内相対湿度 $75\pm 15\%$ の飼育室内で飼育した。飼料および飲料水 (再蒸留水) は自由に摂取させた。飼料給与は毎日午後5時とし, この時に新しい飼料と残った飼料の交換をし, 1週間に1度残った飼料の重量を測定し, これを1週間分の飼料量から差し引いて摂食量とした。毎日の給与量は前報¹⁾に従い, 日齢に応じて増量し, 常に相当量の飼料が残るようにした。ラットの体重は毎週2回 (月曜日と木曜日) 午後5時の飼料給与直前に測定した。

糞および尿は前報¹⁾と同様の処理をし, 1週間分ずつまとめて分析したが, 分析結果は3週間の平均値で示した。実験飼育終了時 (56日齢) の午後5時に屠殺し, 前報同様, 右側大腿骨およびひ骨を含む脛骨を摘出し, 乾燥, 脱脂後分析に供した。

4. 試料分析法

飼料, 糞, 尿および骨について, Nは実験Iでは Dumas 法⁴⁾ (Coleman Nitrogen Analyzer 29-B) を用い, 実験IIではケルダール法⁵⁾ を用いた。Ca, Mg および P については前報と同様に, Ca と Mg は原子吸光法^{6)~8)} (島津マルチチャンネル原子吸光フレーム光度計 MAF1 形) により, P はアレン法⁹⁾ により比色定量 (日立パーキンエルマー 139 UV-VIS 光電光度計) 分析を行なった。

実験I, IIとも, 3週間の平均値について t 検定を行ない, 5%の危険率をもって有意とした。

実験結果

1. 飼料摂取量, 増体重, 飼料効率および N 効率

表3に示したように, 3週間平均の飼料摂取量は, 実験I, IIともに2群間に有意差はなかった。また, 大豆群の増体重, 飼料効率およびN効率 (増体重 g/N 摂取量 g) は, 実験I, IIともカゼイン群よりも有意に

Table 3 Feed consumption, body weight gain, feed efficiency and N efficiency
(per rat per day)

	Group	Feed consumption (g)	Body weight gain (g)	Feed efficiency**	N efficiency***
Exp. I	Casein diet	9.5±0.5*	2.6±0.5	0.27±0.02	20.3±1.3
	Soy-protein diet	9.9±0.4	1.9±0.1†	0.19±0.00†	13.1±0.2
Exp. II	Casein diet	11.6±0.6	3.0±0.2	0.24±0.01	18.1±0.7
	Soy-protein diet	10.7±0.6	1.7±0.2†	0.14±0.01†	11.3±0.8†

* Mean±S. E.

** Body weight gain (g)/Feed intake (g)

*** Body weight gain (g)/N intake (g)

† Significant difference ($P < 0.05$) from casein diet group

低い値を示した。

2. N, Ca, Mg および P 出納

表4に、N, Ca, Mg および P 出納を示した。N出納については、実験Iでは摂取量、糞中、尿中および糞尿合計の排泄量が、いずれも大豆群の方が高く、逆にみかけの消化率および蓄積率は大豆群が低かった。実験IIでは、みかけの消化率、蓄積量および蓄積率は、いずれも大豆群がカゼイン群より劣っており、これまでの結果とおおむね一致した。

Ca 出納については、実験Iでは、蓄積量と蓄積率について大豆群の方が高いという傾向が認められたが、有意差はなかった。実験IIでは、カゼイン群の尿中排泄量が増えたけれども、大豆群のみかけの消化率および蓄積率はカゼイン群に比べて劣った。実験IとIIの間に約1年の期間があり、使用した分離大豆たん白質が同一でなかったことが影響しているのではないと思われる。(実験IとIIの間でのP 出納における結果の一致しなかった理由としても、このことが考えられる。)

Mg 出納については、実験Iでは摂取量が大豆群ではカゼイン群よりも高く、尿中および糞尿合計の排泄量も大豆群が高かった。みかけの消化率、蓄積量および蓄積率には有意差は認められなかったが、大豆群の方が高かった。実験IIでは、糞中排泄量は大豆群が低かった。みかけの消化率、蓄積量および蓄積率では、実験Iと同じく大豆群の方がやや高い傾向であったが、やはり有意差は認められなかった。

P 出納については、実験Iではみかけの消化率および蓄積量について大豆群の方が低い値を示したが、有意差はなかった。実験IIでは、みかけの消化率、蓄積量および蓄積率は、全体に大豆群の方が高い傾向を示し、蓄積率では有意差が認められた。

3. 骨重量および骨中の無機質含量

表5に骨重量および骨中無機質含量を示した。実験Iでは、乾燥骨重量、乾燥脱脂骨重量、骨中 Ca, Mg および P 量について、いずれも大豆群がカゼイン群よりもやや低い値を示しており、乾燥脱脂骨重量については有意差が認められた。実験IIでは、乾燥骨重量、乾燥脱脂骨重量、骨中 Ca, Mg および P 量がいずれも大豆群において低かった。実験IIでは、屠殺時の体重が実験Iに比べ重かったので、骨成分の差がより明確に現われたのではないかと考えられる。

考 察

実験IおよびIIに共通して、増体重、飼料効率、N効率およびN出納に有意差がみられ、大豆群がカゼイン

Table 4 N, Ca, Mg and P balances (per rat per day)

Group	Intake (mg)	Output (mg)		Apparent digestibility (%)	Retention (mg)	Ratio of retention (%)			
		Feces	Urine						
N	Exp. I	Casein diet	125.3±6.8*	9.6±0.4	33.9±1.6	43.5±1.7	92.2±0.2	81.8±5.4	65.1±1.0
		Soy-protein diet	147.5±6.7	14.2±0.8†	59.4±2.8†	73.6±2.6†	90.3±0.3†	73.9±6.0	49.8±2.0†
	Exp. II	Casein diet	163.4±8.7	14.0±1.1	35.0±2.1	49.0±3.1	91.5±0.2	114.4±6.0	70.0±0.8
		Soy-protein diet	147.7±9.0	21.1±1.7	33.7±3.3	54.9±4.7	85.7±0.4	92.8±5.2†	63.0±1.4†
Ca	Exp. I	Casein diet	57.9±3.1	29.4±1.3	0.4±0.0	29.8±1.3	48.0±3.0	28.2±2.8	47.2±3.0
		Soy-protein diet	65.4±3.0	31.5±2.4	0.4±0.1	31.9±2.4	51.7±3.0	33.5±2.5	51.1±3.0
	Exp. II	Casein diet	64.3±3.7	43.5±2.8	0.6±0.0	44.0±2.8	31.6±2.0	19.9±1.3	30.1±2.1
		Soy-protein diet	60.6±3.7	45.2±2.7	0.4±0.0	45.5±2.8	25.1±1.0†	15.1±1.2	24.5±1.0†
Mg	Exp. I	Casein diet	4.6±0.3	1.6±0.1	0.7±0.0	2.3±0.1	65.4±1.9	2.4±0.2	49.8±1.9
		Soy-protein diet	5.7±0.3†	1.9±0.2	0.9±0.0†	2.8±0.1†	66.3±2.6	2.9±0.2	50.5±2.2
	Exp. II	Casein diet	5.5±0.3	2.2±1.4	0.9±0.4	3.1±0.2	58.5±2.3	2.4±0.2	43.0±2.0
		Soy-protein diet	5.7±0.3	2.7±0.1†	0.7±0.1	3.4±0.2	51.5±2.3	2.3±0.2	39.3±2.5
P	Exp. I	Casein diet	53.7±2.9	17.3±0.7	14.5±0.9	31.8±1.3	66.6±2.1	21.9±2.1	39.1±2.6
		Soy-protein diet	53.1±2.4	17.9±1.8	16.4±0.7	34.3±2.2	66.2±3.0	18.8±2.4	36.3±3.5
	Exp. II	Casein diet	62.8±3.3	21.2±1.4	18.2±2.2	41.1±2.2	65.9±1.3	21.7±1.5	65.9±1.3
		Soy-protein diet	60.3±3.7	20.1±1.4	15.8±1.7	35.9±2.8	66.8±1.0	24.1±1.6	66.8±1.0

* and † see Table 3

Table 5 Weight and Ca, Mg and P contents of right femur and tibia (with tibia) (56 days old)

Group	Bone weight (mg)		Ca		Mg		P	
	Dried	Moisture & fat free	(mg)	(%)**	(mg)	(%)**	(mg)	(%)**
Exp. I	342±15*	312±14	54.6±2.8	17.5±0.4	1.35±0.11	0.43±0.02	33.2±2.5	10.6±0.6
	310±12	275±8†	49.3±1.3	17.9±0.3	1.07±0.68	0.39±0.02	30.4±1.2	11.1±0.3
	452±11	424±14	88.2±3.4	18.7±0.3	1.83±0.08	0.39±0.02	47.5±2.0	11.2±0.3
Exp. II	377±6	334±6†	66.4±1.6†	17.7±0.2†	1.48±0.08†	0.37±0.01	35.8±1.5†	10.8±0.2

* and † see Table 3 ** moisture and fat free bases

群よりも劣っていた。Castroら¹⁰⁾は本報と同じく10%たん白質レベル飼料をラットに与えたところ、分離大豆たん白質の PER はカゼインよりも劣ると報告しており、今回の実験結果とよく一致している。

大豆群の方が劣った原因として、まず第1に、分離大豆たん白質の含硫アミノ酸含量の低いことがあげられる。すなわち、カゼインおよび分離大豆たん白質ともにメチオニンを第1制限アミノ酸とし、類似したアミノ酸組成をもつものの、たん白質 1g 当りのメチオニン量は分離大豆たん白質ではカゼインの約半分であり、その他の必須アミノ酸含量についても一部を除いて、分離大豆たん白質の方が低い^{11)~13)}ことが知られている。

第2には、若いラットでは大豆群の消化吸収率が低下する結果、飼料効率などが低くなったという可能性を考える必要がある。それを裏付ける実験として、分離大豆たん白質はカゼインよりも緩衝作用が強いため、4週齢の幼豚で、胃内容物の pH は分離大豆たん白質食の場合に低下しにくく、したがってペプシノーゲンの活性化が遅れ、さらにカゼイン給与時に比べて内容物が固形化されにくいため、腸管を通過する時間はカゼイン食の約1/2にまで短縮されるという Maner ら¹⁴⁾の報告もある。

第3に大豆に含まれるフィチン酸の影響について考慮する必要がある。大豆中の P の存在形態は、多くがイノシトール・6・リン酸（フィチン酸）であり¹⁵⁾、フィチン酸は等電沈殿により分離されたたん白質中に濃縮されてくるといわれる¹⁶⁾。このフィチン酸による生体への影響としては、ペプシンの活性阻害¹⁷⁾¹⁸⁾、たん白質のみかけの消化率の低下¹⁹⁾、脂肪の吸収低下²⁰⁾、不溶性キレート化合物生成による Zn その他の金属の利用性悪化²¹⁾などが報告されている。

なお大豆たん白質のトリプシンインヒビターは、噴霧乾燥で97%が破壊される²²⁾という報告があるので、本報における大豆群の成長抑制については、トリプシンインヒビターによるたん白質の消化阻害の影響は考慮しなくてよいものと思われる。

前報¹⁾では、カゼイン群と大豆群の増体重に有意差がなかったのに、今回の実験では大豆群が劣っていた。これは、前報の実験後、分離大豆たん白質（フジロー R）の製造工程の一部が変更され、沈殿したたん白質の洗滌が十分行なわれるようになったので、大豆たん白質中の必須アミノ酸、微量無機質あるいはビタミン等の栄養素の損失が多くなったことに起因すると考えられる。

次に無機質出納については、おおむね前報¹⁾同様の結果を得た。すなわち、フィチン酸が陽イオンと不溶性キレート化合物を形成するという事実を考え合わせると、大豆群での無機質の吸収は阻害され、無機質の出納はカゼイン群よりも悪くなることも予想されたが、Ca、Mg および P の蓄積量については2群間に有意差が認められなかったのである。

フィチン酸がラットの成長および無機質出納に影響を及ぼす最低量は、共存する陽イオンの種類と量により異なるが、Likuski²³⁾は、フィチン酸0.4%含有飼料では影響がほとんどみられなかったが、2.0%含有飼料では有意な影響があったとしている。本報で使用した分離大豆たん白質のフィチン酸量を定量したところ1.0%だったので、本実験飼料中のフィチン酸含量は0.1%程度ということになる。したがって、飼料中の Ca、Mg、P 含量は十分にあり、またフィチン酸の利用性を高めるというビタミン D²⁴⁾²⁵⁾を十分量含む前報¹⁾および本報の実験飼料では、フィチン酸と Ca および Mg が腸管内でキレートを形成したとしても、その量はこれら無機質の出納に悪影響を及ぼすほどではなかったと思われる。

次に、無機質出納の結果では各無機質の蓄積量に差はないのに、実験Ⅱにおける Ca、Mg および P の骨中の全量が大豆群で有意に劣った。目下のところ、この原因は不明であるが、出納試験で蓄積量に差がみられな

くても、骨中無機質の全量に差が生じてくる可能性のあることを認識しておく必要がある。

以上のように、動物の増体重、飼料効率、N効率、およびN出納に対して分離大豆たん白質はカゼインよりも劣ることが認められた。動物性たん白質の代替品としての大豆たん白質の利用は、今後ますます拡大していくものと考えられるが、分離大豆たん白質の製造工程における栄養素の損失や、フィチン酸の濃縮とそれに伴う無機質（特に、微量元素）の吸収低下などを考慮にいたした上で使用することが望ましい方向であろうと思われる。

要 約

生後4週齢の Wistar 系雄ラットに、カゼインまたは分離大豆たん白質を約10%含有する飼料を給与し、1週間の予備飼育後、3週間の実験飼育を2回行なった（実験ⅠとⅡ）。

実験飼育中の増体重、飼料摂取量、飼料効率、N効率、N、Ca、Mg および P の出納、56日齢における大腿骨+脛骨（ひ骨を含む）の重量ならびにその Ca、Mg および P の含量を調べ、たん白質源の違いによる影響をみた。

増体重、飼料効率およびN効率は大豆群がカゼイン群よりも低かった。Nのみかけの消化率、蓄積量および蓄積率も同様であった。ただし、実験ⅠのN蓄積率のみは、有意差がなかった。Ca、Mg および P の出納については2群間に差がない場合が多かった。ただし、実験ⅡのCaのみかけの消化率および蓄積率ではカゼイン群が、またPの蓄積率では大豆群が有意に優れていた。

大腿骨+脛骨（ひ骨を含む）の重量ならびにその Ca、Mg および P の全量は、実験Ⅱでは大豆群がカゼイン群よりも低かった。実験Ⅰでは有意差が認められなかったが、実験Ⅱと同様の傾向を示した。

分離大豆たん白質は、その製造工程中で、栄養素含量の低下、あるいはフィチン酸の濃縮による栄養素の利用性悪化、などの可能性を考慮した上で利用する必要がある。

この実験にご協力いただいた望月厚子、高木茂美、田中京子、永田道子の諸姉に謝意を表する。

文 献

- 1) 吉田 勉、栗山久枝：栄養と食糧，28，25～32（1975）
- 2) A. E. Harper : *J. Nutr.*, 68, 480 (1958)
- 3) M. S. Mameesh and B. C. Jhonson : *J. Nutr.*, 65, 161 (1958)
- 4) 日本化学会編：実験化学講座，16，p. 201（1959）丸善
- 5) 東京大学農芸化学教室：実験農芸化学，上巻，p. 116（1960）朝倉書店
- 6) 増村忠宏、菅原道照、有吉修三郎：日本農芸化学会誌，39，402（1965）
- 7) 日本化学会編：実験化学講座（続），7，p. 509（1966）丸善
- 8) 島津製作所科学計測事業部：原子吸光法クックブック，1，水質分析用，10，29，島津製作所
- 9) R. J. L. Allen : *Biochem. J.*, 34, 858 (1940)
- 10) C. E. Castro, S. P. Young and M. L. Harden : *Cereal Chem.*, 53, 291 (1976)
- 11) M. L. Orr and B. K. Watt : 食品のアミノ酸含量表，p. 18（1957）第一出版
- 12) M. Yamashita, S. Arai, M. Gonda, H. Kato and M. Fujimaki : *Agr. Biol. Chem.*, 34, 1333 (1970)
- 13) L. Gillberg : *Nutr. Rep. Int.*, 16, 603 (1977)
- 14) J. H. Maner, W. G. Pond, J. K. Loosli and R. S. Lourey : *J. Anim. Sci.*, 21, 49 (1962)
- 15) A. K. Smith and J. Circles (渡辺篤二、柴崎一雄訳)：大豆タンパク質，p. 162（1974）建帛社

- 16) D. Oberleas : *Toxicants Occuring Naturally in Foods 2nd Ed.*, p. 363 (1973) National Academy of Sciences
- 17) M. C. Camus et J. C. Laporte : *Ann. Biol. Anim. Biochem. Biophys.*, **16**, 719 (1976)
- 18) 金谷健一郎, 安本教傳, 満田久輝 : 栄養と食糧, **29**, 341 (1976)
- 19) 土屋重義 : 栄養と食糧, **6**, 230 (1953)
- 20) 土屋重義 : 栄養と食糧, **6**, 120 (1953)
- 21) N. T. Davis and R. Nightingale : *Br. J. Nutr.*, **34**, 243 (1975)
- 22) A. D. L. Gorrill, J. D. Jones and J. W. Nicholson : *Can. J. Anim. Sci.*, **54**, 337 (1974)
- 23) H. J. A. Likuski and R. M. Forbs : *J. Nutr.*, **85**, 230 (1965)
- 24) P. W. Waldroup, C. B. Ammerman and R. H. Harms : *Poultry Sci.*, **43**, 926 (1964)
- 25) A. H. Roberts and J. Yudkin : *Br. J. Nutr.*, **15**, 457 (1961)

(受付: 昭和53年10月21日)