シロネズミにおける妊娠時の窒素保留と仔の発育に及ぼす オキアミたん白質投与の影響

東 條 仁 美

国立栄養研究所 母子栄養部

Influence of Krill Protein on the Nitrogen Retention in Pregnant Rats and Growth of Newborn Rats

Hitomi Tohjo

Division of Maternal and Child Nutrition, the National Institute of Nutrition

The present study was carried out to examine the effect of krill protein on the nitrogen retention in pregnant rats and on the growth of newborn rats.

Three kinds of krill protein samples were prepared. They were krill meal, boiled krill, and ethanol-treated krill. The nitrogen levels of diets containing those krill samples were made equal to that of casein diet. The experimental diets were given to Sprague-Dawley strain rats weighing approximately 240 g during their pregnancy and lactation.

The results obtained were as follows:

The nitrogen retention and nitrogen efficiency ratio of the boiled krill group during pregnancy were very similar to those of the casein group. Those of the ethanol-treated-krill group were slightly lower than those of the boiled-krill group. But, those of the krill-mal group were apparently lower than those of the other groups. Nitrogen retention in late pregnancy showed a large increase over that of early pregnancy in the krill-meal group and the ethanol-treated-krill group. Further, the litter size was smallest in the krill-meal group, and the young in all groups were very similar in weight. The newborn in the ethanol-treated-krill group showed a more rapid growth rate than those of the other groups.

Jap. J. Nutr., 38 (1) 37~44 (1980)

はじめに

南氷洋オキアミ (*Euphausia sperba*) は新しい動物性たん白質源として近年注目されるようになり、将来日本人のたん白質食糧として利用するために、安全性、栄養価、加工方法などに関する研究がそれぞれの分野で行われている^{1)~4)}。オキアミたん白質の栄養価については多く動物実験が行われ、最近の成績^{5)~6)}でもオキアミたん白質の栄養価はほぼカゼインに匹敵すると言われている。

一方、妊娠時におけるたん白質量の増減や質の良否は母体の妊娠維持、窒素保留、胎仔の成長・発育に多大な影響を与えることが認め^{7)~9)}られている。よって、著者は妊娠時におけるオキアミたん白質の投与効果を検討するために、漁獲後、各処理したオキアミミール粉末、オキアミボイル粉末、オキアミエタノール処理粉末（各試料は日本水産研究所にて製造）をたん白質源とした。これらのオキアミ試料を用いた調製飼料を妊娠シロネズミに投与し、妊娠時における窒素蓄積量、窒素効率を測定し、胎仔の出生数とその後の発育について観察した。

実験方法

1. オキアミ試料

実験に使用したオキアミは南氷洋において1977年2月漁獲されたもので、漁獲後、船上または日本に輸送後、以下の如く処理されたものを使用した。

1) オキアミミール粉末

漁獲後、4時間以内にトロール船デバル型ミールプラントで製造されたもので、生オキアミをミキサーにかけ碎片し、デスラージャーで連続遠心分離にかけ cake を分離し、140°C~150°C のロータリードライヤーにて乾燥し、60メッシュの粉末とした。

2) オキアミボイル粉末

漁獲後、すぐに煮沸海水にて数分間煮熟し、冷凍貯蔵した。その後、解凍し、60°C~70°C で風乾し、60メッシュの粉末とした。

3) オキアミエタノール処理粉末

煮熟オキアミ粉末を3倍量のエタノールにて3回抽出し、その残渣を風乾したものである。

2. 実験飼料

実験に使用した各飼料組成を Tabel 1に示した。対照として用いたカゼインレベルは飼料中16%とした。

Table 1 Composition of diets

(g/kg)

Ingredients	Casein	Meal	Boil	Ethanol treatment
Casein	160	—	—	—
Krill meal	—	220	—	—
Boiled krill	—	—	222	—
Ethanol treated krill	—	—	—	186
α -Corn starch	408	348	346	382
Sucrose	300	300	300	300
Soybean oil	50	50	50	50
Salt mixture ¹⁾	50	50	50	50
Cellulose	20	20	20	20
Vitamin mixture ¹⁾	10	10	10	10
Choline chloride	2	2	2	2

1) A. E. Harper : J. Nutr., 68, 405 (1959)

このレベルは予備実験にて妊娠シロネズミを低カゼイン飼料で飼育した結果、8%レベルが妊娠の維持、出産及び授乳可能な最低レベルであることを確認し、十分量のたん白質を与えるため、その2倍量とした。各オキアミ飼料中のたん白量はカゼイン飼料のたん白量と同一になるよう調製した。脂質レベルは各飼料中に5%の大豆油を加えたが、各オキアミ試料に含まれる脂質量が異なるため、各飼料中の脂質レベルは多少異なっている。

なお、各試料のたん白量はカゼイン83.7%、ミールオキアミ61.0%、ボイルオキアミ60.4%、エタノール処理オキアミ71.8%であり、粗脂質量はカゼイン0.8%、ミールオキアミ13.7%、ボイルオキアミ12.5%、エタノール処理オキアミではほとんど脱脂され、また、かなり脱色されていた。

その他の飼料成分は以下のものを使用した。カゼイン、 α -澱粉：オリエンタル酵母㈱製、ショ糖：三井製糖㈱製、大豆油：山田製薬㈱製、粉末沪紙：東洋沪紙㈱飼料用、塩化コリン：和光純薬㈱製、ビタミン混合、塩類混合：Harper 組成¹⁰⁾によった。

3. 実験動物及び測定

実験動物として Sprague-Dawley 系, 雌, 体重約 240 g のシロネズミを用い同系の雄と交尾せしめた。スミアテストを行い, 鏡検し, 精子存在の日を妊娠第 1 日とした。妊娠シロネズミを 4 群に分け, Table 1 に示したカゼイン飼料及びオキアミ飼料を妊娠第 1 日より妊娠中及び出産後 12 日間自由摂取させた。

妊娠 3 日より 20 日まで代謝用カゴで飼育し, 18 日間の飼料摂取量, 尿, 糞の採取を行った。妊娠 3 日より 12 日までの 10 日間を妊娠前半期とし, 13 日より 20 日までの 8 日間を後半期とした。その後, ポリエチレン製繁殖用カゴに移し, 出産せしめ, 親及び出生した幼ネズミの体重を測定した。

なお, 幼ネズミの匹数は生後 2 日に各親 1 匹につき 8 匹とし, その後の發育をみた。

飼育条件は温度 22~24°C, 湿度約 50%, 明暗は 12 時間サイクル (a.m. 7:00~p.m. 7:00) に蛍光灯で調節した飼育室にて飼育した。

妊娠 3 日より 20 日までのカゼイン群, ボイルオキアミ群 (ボイル群), ミールオキアミ群 (ミール群), エタノール処理オキアミ群 (エタノール処理群) の摂取窒素量, 尿, 糞中の窒素量をケルダール法により測定し, 窒素出納, 窒素効率を算出し, 授乳期の幼ネズミの体重測定を行った。

実験結果

親ネズミの妊娠時及び出産後の体重変化を Fig. 1, Table 2 に示した。妊娠前半期の体重増加は各群ともやや緩く, 後半期では著しい増加を示した。妊娠 22 日の体重はカゼイン群で最も高く, ボイル群, エタノール

Fig. 1 Changes in body weight during pregnancy and after parturition in rats

Table 2 Changes in body weight of pregnant rats fed on casein and krill diets¹⁾

Groups	Body weight on		
	day 1 (g)	day 12 (g)	day 22 (g)
Casein	249±4.5	292±2.1	381±10.7
Krill meal	242±10.2	251±7.4	299±9.0 ²⁾
Boiled krill	241±3.6	288±4.8	362±10.8
Ethanol treated krill	249±6.4	271±8.5	355±14.9

1) Values represent mean±S.E. for 5 rats

2) Significantly different from casein group, ($p < 0.01$)Table 3 Nitrogen balance in pregnant rats fed on casein and krill diets for former 10 days¹⁾

Groups	N-intake (mg/day)	N-output		N-retention (mg/day)
		Urinary-N (mg/day)	Fecal-N (mg/day)	
Casein	384±31	201±10	32±2	151±48
Krill meal	202±22	123±12	33±5	46±7 ²⁾
Boiled krill	364±15	170±4	35±2	159±10
Ethanol treated krill	276±55	166±29	28±5	82±34 ²⁾

1) Values represent mean±S.E. for 5 rats

2) Significantly different from casein group, ($p < 0.01$)Table 4 Nitrogen balance in pregnant rats fed on casein and krill protein diets for latter 8 days¹⁾

Groups	N-intake (mg/day)	N-output		N-retention (mg/day)
		Urinary-N (mg/day)	Fecal-N (mg/day)	
Casein	420±40	198±24	30±3	192±62
Krill meal	330±25	173±4	48±6	109±17 ²⁾
Boiled krill	415±23	209±24	43±2	168±51
Ethanol treated krill	428±35	201±25	42±3	181±40

1) Values represent mean±S.E. for 5 rats

2) Significantly different from casein group, ($p < 0.01$)Table 5 Nitrogen balance in pregnant rats fed on casein and krill diets for 18 days¹⁾

Groups	N-intake (mg/day)	N-output		N-retention (mg/day)
		Urinary-N (mg/day)	Fecal-N (mg/day)	
Casein	402±35	200±21	31±2	172±53
Krill meal	266±8	148±8	41±4	77±5 ¹⁾
Boiled krill	390±41	202±10	39±2	148±12
Ethanol treated krill	348±41	191±19	34±4	123±25

1) Values represent mean±S.E. for 5 rats

2) Significantly different from casein group, ($p < 0.01$)

Table 6 Nitrogen efficiency ratio in pregnant rats fed on casein and krill diets¹⁾

Groups	Nitrogen efficiency ratio ²⁾		
	former 10 days	latter 8 days	18 days
Casein	11.7±0.5	22.3±1.7	16.6±0.5
Krill meal	8.2±1.3 ³⁾	16.5±1.5 ³⁾	12.5±0.6 ³⁾
Boiled krill	12.7±0.6	20.0±2.3	16.4±0.9
Ethanol treated krill	9.5±2.4 ³⁾	19.1±1.3	14.3±0.9

1) Values represent mean±S.E. for 5 rats

2) Body weight gain (g)/N-intake (g)

3) Significantly different from casein group, ($p < 0.01$)

Table 7 Number and body weight of neonatal rats

Groups	Mother	Neonatus	
	Number	Litter	Average body weight (g)
Casein	1	13	5.6±0.5 ¹⁾
	2	11	5.8±0.6
	3	13	5.2±0.4
	4	16	5.1±0.5
	5	12	5.4±0.4
Mean		13.0	5.4±0.3
Krill meal	1	6	5.9±0.6
	2	10	5.2±0.3
	3	6	5.9±0.5
	4	8	4.5±0.7
	5	12	4.4±0.5
Mean		8.4	5.2±0.7
Boiled krill	1	14	5.4±0.3
	2	11	5.2±0.4
	3	15	5.1±0.3
	4	15	4.7±0.5
	5	9	5.7±0.4
Mean		12.8	5.2±0.4
Ethanol treated krill	1	6	5.4±0.3
	2	7	6.0±0.3
	3	13	4.6±0.7
	4	15	5.4±0.2
	5	9	5.3±0.3
Mean		10.0	5.3±0.5

1) Mean±S.E.

処理群の順であり、ミール群は最も低かった。出産後の親ネズミの体重の推移は各群ともほぼ一定であるが、ミール群は最も低い値であった。妊娠時の窒素出納値を Table 3, 4 に示した。前期の窒素蓄積量はカゼイン群とボイル群で高く、両者の値はよく似ており、ミール群は最も低い値を示した。後期は前期に比べ、窒素蓄積量は各群とも増加し、特にミール群、エタノール処理群は約2倍の増加となった。妊娠3日より20日までの1日当たりの窒素出納値をみると、Table 5 に示すごとくカゼイン群で最も高く、ボイル群、エタノール処理群の順であり、ミール群はこれら各群より著しく低かった。窒素効率を Table 6 に示したが、各群とも前期は後期に比べて低く、カゼイン群とボイル群はほぼ等しく、ミール群は最も低かった。

各群のそれぞれの親より生まれた幼ネズミの出生数と体重を Table 7 に示した。ミール群の出生数は他の3群に比べて少なく、他の各群の出生数はほぼ同数であり、幼ネズミの平均体重は各群とも 5.2~5.4 g の範囲にあった。出生後の幼ネズミの体重変化を Fig. 2 に示した。第1日の体重は出生後12時間以内に測定し、生まれた幼ネズミの平均体重であり、出生後2日に各親が育てる幼ネズミの匹数を8匹とし、その後の体重を測定したものである。12日後の体重はエタノール処理群で最も高く、ついでボイル群であった。12日まで発育した匹数はエタノール処理群では8匹すべて育ったが、他の各群は途中で1~2匹死亡した。

考 察

オキアミの生及び煮熟冷凍試料の一般成分は測定者によってやや異なるが、渡辺¹¹⁾らは水分79.8~85.2%，粗たん白質10.7~16.4%，粗脂肪0.99~3.34%，粗灰分2.86~3.22%であることを認めており、乾燥粉末中のたん白質含量は60~70%である。たん白質含量においてはサクラエビに近い値である。オキアミたん白質の成長期シロネズミにおける栄養価試験は荒井⁵⁾、岩谷ら⁶⁾により行われ、オキアミ乾燥物の栄養価はカゼイン、サクラエビとはほぼ等しいことが認められている。

今回の実験では妊娠シロネズミにオキアミたん白質飼料を投与し、妊娠時の窒素出納、窒素効率及び出生後の幼シロネズミの発育についてカゼインたん白質飼料と比較した。

妊娠時の栄養条件に関する報告⁷⁾¹²⁾ではシロネズミに無たん白食、極度の低たん白食を投与すると妊娠10日頃より胎仔の吸収をおこし栄養性流産となる。栄養性流産はそのほか、単一必須アミノ酸欠乏（リジン欠乏を除く）、摂取エネルギー不足によってもおこることが明らかにされている。摂取たん白質レベルと妊娠の維持、

Fig. 2 Changes in mean body weight of neonatal rats. Values in parentheses represent average number of neonatal rats

出産について予備実験¹³⁾を行い、カゼインレベル6%と8%飼料で妊娠ネズミを飼育した結果、両群とも妊娠の維持、出産は可能であったが、6%飼料では生まれた幼ネズミすべてが生後5日までに死亡した。8%飼料では平均2~3匹が離乳期まで生育した。よって、8%レベルを最低レベルと考え、2倍量の16%を対照群として用いた。このレベルは妊娠時において十分なたん白質摂取レベルとみなしえる。Nelson ら⁷⁾の成績においても15%カゼインレベルで十分量であることが述べられている。

オキアミ各飼料中の窒素含量を16%カゼインと同一にし、投与したときの窒素蓄積量はカゼイン群、ボイル群で高く、ついでエタノール処理群となり、ミール群はこれら各群よりも明らかに低かった (Table 3, 4, 5)。窒素効率についても同様の傾向を示した (Table 6)。

妊娠前期に比べ、後期の窒素蓄積量、窒素効率の増加は胎仔の急激な発育のためと考えられ、新山ら¹⁴⁾は生理的にみられる水分貯溜と胎仔及び胎盤などの急速な発育によるものであることを指摘している。

出生した幼ネズミの匹数はミール群で最も少なく、摂取試料の差異が妊娠時の胎仔数に影響を及ぼしたのか、あるいは受精時より少ない匹数であったかは本実験だけで判断できない。

ボイル飼料群は妊娠、授乳時においてカゼイン群とよく似た投与効果を示したが、オキアミのアミノ酸組成を比較すると、分析者¹¹⁾¹⁴⁾によりやや相違はみられるが、カゼインと比べてよく似ており、第一制限アミノ酸が含硫アミノ酸となっている。ミール飼料群では明らかに投与効果が劣っていた。この原因としてミール試料作製時に140~150°Cの高温で乾燥処理したために試料中の栄養成分の損失や変性による影響が考えられる。小島ら¹⁵⁾は加熱通風乾燥物では、ヒスチジン、リジン、スレオニンなどのアミノ酸の損失が大きいことを認め、オキアミ体内に存在する遊離の糖質とアミノ酸残基との反応によるものであろうと指摘している。また、過酸化脂質による悪い影響も考えられるが、阻害的因子は少ないと言われ¹⁵⁾ている。一方、エタノール処理群の妊娠時の窒素蓄積量はカゼイン群、ボイル群と比べ、やや低かったが、幼ネズミの発育はこれら飼料群よりもむしろ良い傾向にあった。用いたエタノール処理オキアミ試料中の脂肪量はきわめて少なく、飼料中に5%の大豆油を加えてあるため、オキアミ脂肪の影響はほとんどないと思われる。

今回のシロネズミの妊娠、授乳時に各処理したオキアミたん白試料を投与した結果を成長期シロネズミの成績⁶⁾と比較すると、妊娠時のオキアミ各飼料の投与はよく似た結果を示したが、授乳時においてはむしろカゼイン群よりエタノール処理群の幼ネズミの成長が良く、妊娠時とは異なっていた。同一飼料摂取でも妊娠時と授乳時ではその影響の仕方に差異があると思われるので、これらの点についてはさらに検討を要する。

要 約

各種処理したオキアミ粉末試料を用い、妊娠時におけるオキアミたん白質の投与効果を検討し、カゼインと比較した。

用いた各オキアミ飼料中の窒素レベルはカゼイン飼料と同一窒素レベルにして妊娠シロネズミに投与した。妊娠時の窒素蓄積量、窒素効率を観察し、また授乳時の幼シロネズミの発育についても観察し、次のような結果を得た。

- (1) 妊娠時におけるボイル群の窒素蓄積量、窒素効率はカゼイン群とほぼ同じ値を示し、エタノール処理群はボイル群よりやや低く、ミール群では明らかに他の3群より低かった。
- (2) ミール群とエタノール処理群の妊娠後期の窒素蓄積量は妊娠前期に比べ、著しい増加を示した。
- (3) 胎仔の出生数はミール群で最も少なく平均体重は各群ともよく似た値であった。

- (4) 出生後の幼シロネズの発育はエタノール処理群で最も良かった。

本実験に際し、試料の入手に御便宜下さった日本水産中央研究所藤田孝夫所長並びにその他の方々に深謝し、また、御指導下さいました田村盈之輔部長に感謝します。

文 献

- 1) 築瀬正明：東海水研報, **65**, 59 (1971)
- 2) 築瀬正明：東海水研報, **77**, 97 (1974)
- 3) 築瀬正明：東海水研報, **78**, 79 (1974)
- 4) 田村盈之輔：New Food Industry, **19**, No. 6, 26 (1977)
- 5) 荒井君枝, 渡辺武彦, 衣巻豊輔：東海水研報, **85**, 1 (1976)
- 6) 岩谷昌子, 小島義樹, 田村盈之輔：栄養学雑誌, **35**, 101 (1977)
- 7) Nelson, M. M. and Evans, H. M. : J. Nutr., **51**, 71 (1953)
- 8) P. S., Venkatachalam and K. S., Ramanatham : J. Nutr., **84**, 38 (1964)
- 9) 新山喜昭, 遠藤章二：栄養と食糧, **31**, 117 (1978)
- 10) A. E. Harper : J. Nutr., **68**, 405 (1959)
- 11) 渡辺武彦, 杉井麒三郎, 湧口浩也, 衣巻豊輔：東海水研報, **85**, 13 (1976)
- 12) Niiyama, Y., Kishi, K. and Inoue, G. : J. Nutr., **100**, 1461 (1970)
- 13) 東条仁美：未発表
- 14) 小島義樹：臨床栄養, **54**, No. 1 49 (1979)
- 15) 小島義樹, 印南敏, 岩谷昌子, 田村盈之輔：栄養学雑誌, **37**, 21 (1979)

(受付：昭和54年12月5日)