成長期ラットにおける分離大豆たん白質の栄養価

——特に制限アミノ酸の補足効果*——

岩谷 昌子, 山口 迪夫, 宮崎 基嘉

国立栄養研究所 基礎栄養部

Nutritive Value of Soy Protein Isolate in Growing Rats

Especially Supplemental Effects of its Limiting Amino Acids

Masako Iwaya, Michio Yamaguchi and Motoyoshi Miyazaki

Division of Basic Nutrition, National Institute of Nutrition

This experiment was undertaken to investigate the supplemental effects of limiting amino acids to unsteam-heated soy protein isolate in growing rats. The nutritive values of the protein and serum components as related to the protein and lipid metabolism were measured in the animals fed the soy protein isolate additionally supplemented with methionine, threonine, lysine and all the other essential amino acids successively. These measurements were also conducted in the animals fed whole egg protein and casein for reference.

Results were as follows. The limiting amino acids of unsteam-heated soy protein isolate were mostly represented by sulfur-containing amino acids and threonine as well as those of the steam-heated one. For example, methionine and threonine supplements to unsteam-heated soy protein isolate improved the body weight gain, protein efficiency ratio (PER) and biological value almost up to their maximum values, i.e. 6.3 g/day, 4.0 and 99, respectively. True digestibility of the sample, i.e. 97%, was found to be extremely high. The values of serum albumin, A/G ratio, urea nitrogen, HDL cholesterol and its proportion to total cholesterol in the methionine and threonine supplemented soy protein group were improved almost up or down to the levels of the whole egg protein group.

These results indicated that the nutritive value of soy protein isolate and its metabolic effect for serum cholesterol are highly appreciated when its limiting amino acids are supplied by other food proteins.

Jap. J. Nutr., 40 (1) 31~38 (1982)

前報¹⁾では、成長期ラットを用い分離大豆たん白質とその原料脱脂大豆のたん白質の栄養効果を比較した結果、分離大豆たん白質は蒸煮の有無にかかわらず、蒸煮した原料脱脂大豆と同様な栄養効果を示し、その制限アミノ酸はほとんど大部分が含硫アミノ酸とスレオニンによって代表されること、また蒸煮しない場合でもトリプシンインヒビターなどの成長阻害因子がみつめられないことを明らかにした。分離大豆たん白質は、その製造過程で130~140°Cで数秒加熱されるため、改めて蒸煮してもその影響がみつめられないものと思われる。そこで、今回からは分離大豆たん白質を改めて蒸煮することなく実験に供した。

本報では、前報に引き続き成長期ラットを用い、分離大豆たん白質の制限アミノ酸の添加効果についてさら

*：分離大豆たん白質の栄養効果に関する研究（第2報）

〔注〕 実験方法・実験結果・考察欄の本文中、メチオニン、スレオニン、リジンはそれぞれ Met, Thr, Lys の略号を用いた。

に詳しい検討を行った。すなわち、たん白質の栄養価ならびにたん白質・脂質代謝に関連の強い血液成分に対する影響などを全卵たん白質およびカゼインの場合と比較した。

実験方法

〔実験1〕

1. 実験試料および飼料組成

分離大豆たん白質は前報と同じものを蒸煮せずに用いた。前報のアミノ酸分析の結果から制限アミノ酸は含硫アミノ酸, Thr, Lys の順であることが予想されたので, これら必須アミノ酸の添加試験を前報の飼料組成にならって実施した。すなわち, 飼料中のたん白レベルを10% (N×6.25) とし, アミノ酸添加区は, Met, Met+Thr, Met+Thr+Lys の各区とした。ただし, 各アミノ酸の添加量は NRC 必要量²⁾ を満たす分だけを加えた (飼料中%, L-Met : 0.30, L-Thr : 0.20, L-Lys・HCl : 0.25)。

2. 実験動物

生後4週齢, 体重 75~90 g の Wistar 系雄ラットを日本クレア(株)より購入し, 固型飼料 (日本クレア(株), CA-1) で3日間飼育した後, 実験に供した。各試験区の動物数は5匹とした。試験開始時の平均体重は108 gであった。動物は温度 22~24°C, 湿度50%前後, 12時間明暗切り替え (7:00~19:00点灯) の飼育室で個別に飼育した。

3. たん白質の栄養価測定法

各試験区とも飼料および水は自由に摂取させ, 14日間飼育した。その間, 体重, 飼料摂取量を測定した。全期間の体重増加量とたん白質摂取量から1日当たりの増体重および PER (protein efficiency ratio, たん白効率) を算出した。

4. 血液成分の分析

飼育期間の最終日に動物を6時間 (8:00~14:00) 絶食させた後, エーテル麻酔下で頸動脈より採血した。1時間冷所に放置後, 2,500rpm (1,050×g) で10分間遠心分離し, 血清を採取した。血清のアルブミン/グロブリン (A/G) 比はビューレット・BCG 法, 尿素-N (UN) はウレアーゼ・インドフェノール法, クレアチニン (CRE) はヤッフ法, ロイシンアミノペプチダーゼ (LAP) は L-ロイシン-p-ニトロアニリド法, トリグリセリド (TG) はリパーゼ・ホルマザン比色法, リン脂質 (PL) は酵素法により分析した³⁾。また, 総コレステロール (T-CHO) は富士臓器製薬(株)のステロザイム M, HDL コレステロール (HDL-CHO) は同社のHDL-ステロザイムを用いて分析した。

他に肝臓重量を測定した。

〔実験2〕

1. 実験試料および飼料組成

分離大豆たん白質は, 実験1と同じものを用いた。対照たん白質としては精製全卵たん白質 (purified whole egg protein, オリエンタル酵母工業(株)) およびビタミンフリーカゼイン (以下, カゼイン casein, 同社) を用いた。

飼料組成は表1に示すとおりで, 各飼料中のたん白レベルは10% (N×6.25) とした。分離大豆たん白質へのアミノ酸添加は Met (SM 区), Met+Thr (ST 区), Met+Thr+Lys (SL区), 全必須アミノ酸 (SE区)

Table 1 Composition of experimental diets (g/100 g diet, on dry basis)

	Soy protein isolate (S)*	Whole egg protein	Casein
Protein source	11.00	10.42	10.50
α -Corn starch	71.80	72.38	72.30
Soybean oil		8.00	
Cellulose powder		4.00	
Salt mix.**		5.00	
Vitamin mix.**		0.20	
Total		100.00	

*: The amino acid added groups of soy protein isolate with their symbols in parentheses are as follows: +Met (SM), +Met and Thr (ST), +Met, Thr and Lys (SL), and +All essential amino acids (SE).

** : Identical with A. E. Harper's composition (1959).

の各区とした。Met, Thr, Lys の添加量は添加後の全体量が NRC 必要量を 20% 上回るように加えた (添加量の飼料中%, Met : 0.40, Thr : 0.24, Lys・HCl : 0.40)。その他のアミノ酸については同必要量の 20% を添加した (同, His・HCl : 0.07, Arg・HCl : 0.12, Ile : 0.09, Leu : 0.12, Phe : 0.13, Trp : 0.03, Val : 0.10)。なお、これらの添加アミノ酸は全て L 型を用いた。

2. 実験動物

実験 1 と同様に生後 4 週齢、体重 80~95 g の Wistar 系雄ラットを入手し、3 日間前飼育した後、実験に供した。各試験区の動物数は 5 匹とした。試験開始時の平均体重は 107 g であった。実験動物の飼育は実験 1 と同一条件で行った。

3. たん白質の栄養価測定法

各試験区とも飼料および水は自由に摂取させ、14 日間飼育した。その間、体重、飼料摂取量を測定した。全期間の体重増加量とたん白質摂取量から 1 日当たりの増体重および PER を算出した。また、NPR (net protein ratio, 正味たん白効率), 真の消化率 (true digestibility), 生物価 (biological value) は、上記飼育期間中の 11~14 日 (最後の 4 日間) に測定した。これら栄養価の算出に必要な無たん白飼料区は第 2 週より設けたが、この区の動物には第 1 週目に全卵たん白区の飼料を給与した。無たん白飼料は表 1 のたん白源を α -トウモロコシでん粉に置き換えて調製した。

4. 血液成分の分析

実験 1 と全く同じ方法で行い、 β -リポたん白質についてはヘパリン分離比濁法³⁾により分析した。

実験結果

〔実験 1〕

増体重, PER, およびたん白質代謝に関連の強い血清成分を図 1 に示した。増体重, PER は全く同じパターンを示し、いずれも Met と Thr の添加によって最大値に達し、それ以上 Lys を添加しても増加はみられなかった。これらの最大値 (増体重 6.3 g/日, PER 3.8) は全卵たん白質に匹敵する値である。

アルブミンと A/G 比もほぼ同じパターンを示し、増体重, PER の場合と同様に Met と Thr の添加によって最大値に達した。しかし、尿素-N は Met のみで最低値に達し、ロイシンアミノペプチダーゼは Lys

Fig. 1 Body weight gain (BWG), protein efficiency ratio (PER), serum albumin (ALB), albumin/globulin (A/G), urea nitrogen (UN) and leucine amino peptidase (LAP) in Experiment 1

Each bar denotes the standard error of the mean (SEM)

SPI : Soy protein isolate, M : Met, T : Thr, L : Lys

Fig. 2 Serum triglycerides (TG), phospholipids (PL), total cholesterol (T-CHO), high density lipoprotein cholesterol (HDL-CHO), creatinine (CRE) and liver weight (LW) in Experiment 1

Each bar denotes the standard error of the mean (SEM)

SPI, M, T and L : see Fig. 1

添加によってもなお減少するという異なったパターンを示した。これら2つの値は食餌たん白質の栄養価とは負の相関を示すことはよく知られている。

次に脂質代謝に関連の強い血清成分、クレアチニンおよび肝臓重量を図2に示した。トリグリセリドはMetの添加で異常に上昇したが、Thrの添加で上昇分の約1/2が低下し、Lysの添加によってもほぼこの値が維持された。リン脂質はMet区とMet+Thr区で若干高い値を示したが、さらにLysを添加することにより減少した。

総コレステロールの値は分離大豆たん白質そのものでは若干高い値を示したが、各アミノ酸添加区ではほぼ一様に減少する傾向がみられた。これに対し、HDLコレステロールは各アミノ酸添加区で明らかに上昇し、有意差はないがMet+Thr区でピークがみられた。

クレアチニンは各アミノ酸の添加で順次減少する傾向を示したが、この傾向は生理的に異常であるとは考えられない。

肝臓重量はMetの添加で著しく上昇し、Thrの添加で減少した。Metによる上昇は従来の知見から肝脂質の異常蓄積によるものと推定される。

以上の結果から、蒸煮しない分離大豆たん白質でも、制限アミノ酸はMetとThrによって代表され、両アミノ酸の添加によつてたん白質の栄養価ならびにコレステロール代謝が著しく改善されることが明らかにされた。

〔実験2〕

各区の増体重およびたん白質の栄養価を表2に示した。増体重は分離大豆たん白質そのものでは1.0g/日と低かったが、Met と Thr の添加によって 6.3g/日まで上昇し、ほぼ最大値に達した。さらに Lys およびその他の必須アミノ酸を添加しても有意の上昇はなく、これらの値が全卵たん白質とも有意差のないことが示された。

PER は増体重とほとんど同じ傾向を示し、Met と Thr の添加によって全卵たん白質に匹敵する値が得られた。NPR でもほぼ同様な傾向が示されたが、アミノ酸添加区で得られた最大値は全卵たん白区の値には及ばなかった。真の消化率は分離大豆たん白質の各区で97%前後の値を示し、極めて高いことが明らかにされた。この値は、従来最高の真の消化率を示すといわれているカゼインで得られた値 (99%) に匹敵するものである。

生物価は分離大豆たん白質そのものでは67と低かったが、Met の添加で93、Thrの添加で99となり、ほぼ100に達する値が得られた。さらに、この値は Lys および他の必須アミノ酸の添加で若干上昇し、全卵たん白質の108に近似した値を示した。これら試験区で生物価が100を超えたことは、飼料中の全必須アミノ酸割合の上昇に伴う内因性尿窒素排泄の減少が原因であると推定されるので、生物価本来の定義からすればこれらの値は 100 と解釈するほうが妥当である。

血清成分および肝臓重量の値を表3に示した。総たん白、アルブミン、A/G 比の各値は、Met と Thr の添加により著しく上昇し、概ね全卵たん白区のレベルにまで達した。このうち、総たん白とアルブミンは Met のみでは上昇せず、Thr によって著しく上昇したのが特徴的であった。さらに Lys を添加した区では、なお上昇する傾向がみられたが、有意差はみとめられなかった。クレアチニンは分離大豆たん白質そのもので若干低い値が示された他は、いずれの区でも大差はみられなかった。

尿素-N は Met と Thr の添加で下限と考えられる値まで低下したが、全卵たん白質のレベルにはなお及ばなかった。ロイシンアミノペプチダーゼも制限アミノ酸の添加で著しく低下した点は注目される。

Table 2 Nutritive values of soy protein isolate with or without amino acid supplements, whole egg protein and casein in Experiment 2

	Group	Soy protein isolate (S)*				Whole egg protein	Casein
		S	SM	ST	SL	SE	
Body weight gain (g/day)		1.0±0.4**	4.5±0.3	6.3±0.4 ^{a)}	6.6±0.4	6.2±0.6	2.8±0.3
Protein efficiency ratio (PER)		1.0±0.3	3.1±0.1	4.0±0.2 ^{a)}	4.1±0.1	3.8±0.2	2.6±0.1
Net protein ratio (NPR)		4.6±0.3	5.6±0.3	6.1±0.2	6.2±0.1	5.9±0.2	6.0±0.1
True digestibility (%)		97±0	96±0	97±0 ^{b)}	98±0 ^{a)}	96±2	99±0
Biological value		67±1	93±0	99±1 ^{a)}	102±1 ^{b)}	107±2	86±0

* : Symbols : see Table 1

** : Mean±SEM

a) and b) are significantly different at $p < 0.05$ and $p < 0.1$, respectively, between the groups : ST from SM, SL from ST, and Whole egg protein from ST. Significant differences between the other groups were not determined.

Table 3 Serum components and liver

Group	TP* (g/dl)	ALB (g/dl)	A/G	CRE (mg/dl)	UN (mg/dl)	LAP (U/l)
S*	5.29±0.08***	2.71±0.05	1.05±0.02	0.57±0.08	7.6±0.5	215±12
SM	5.14±0.11	2.72±0.06	1.13±0.03	0.67±0.03	4.2±0.5	188±16
ST	5.83±0.06 ^{a)}	3.15±0.03 ^{a)}	1.18±0.03	0.67±0.02	3.0±0.3 ^{b)}	170±21
SL	5.97±0.14	3.29±0.09	1.23±0.04	0.66±0.03	2.8±0.2	124±14
SE	6.02±0.11	3.20±0.05	1.14±0.06	0.63±0.03	2.7±0.4	150±13
Whole egg protein	5.90±0.07	3.20±0.05	1.19±0.04	0.66±0.03	2.2±0.1 ^{b)}	135±19
Casein	5.75±0.17	3.02±0.12	1.11±0.06	0.64±0.02	3.4±0.6	155±7
Non-protein	4.67±0.18	2.41±0.07	1.07±0.03	0.66±0.07	4.3±0.7	197±10

*: Symbols: see Table 1, Fig. 1 and Fig. 2

** : β -Lipoprotein

***: Mean±SEM

次に、脂質代謝関連成分では、トリグリセリドは Met 区および Met+Thr 区で高い値が示されたが、カゼインの値には及ばなかった。また、全卵たん白質では著しく高い値が示された。リン脂質は無たん白区で著しく低く、全卵たん白質およびカゼインの両区で若干高い値が示された他は、分離大豆たん白質の各区の間で著しい相違はみられなかった。また、 β -リボたん白質は Met の添加で著しく上昇し、Thr および他の必須アミノ酸の添加で再び低下するという変化がみられた。この値は全卵たん白質で著しく高く、カゼインでもかなり高いのが特徴であり、この点で分離大豆たん白質とは相違があるように思われた。

総コレステロールは全般的にみて各必須アミノ酸の添加によって大きな変化はみられなかったが、HDL コレステロールは Met と Thr の添加によって明らかに上昇した。これらの値を HDL コレステロール/総コレステロールの割合 (%) でみると制限アミノ酸の添加効果がいっそう明瞭に示された。

体重 100 g 当たりの肝臓重量では、Met と Thr の添加で最大値が示され、ほぼ全卵たん白質と同じ値に達した。

以上の結果から、成長期ラットに対しては分離大豆たん白質に Met と Thr が補足されれば、ほぼ全卵たん白質に匹敵する栄養価が得られ、コレステロール代謝も改善されることが明らかにされた。

考 察

前報¹⁾で、分離大豆たん白質は蒸煮の有無にかかわらず、原料脱脂大豆たん白質とはほぼ同様な栄養効果を示すことが明らかにされたので、本報では蒸煮しない分離大豆たん白質を用い制限アミノ酸の添加効果についてさらに詳しい検討を行った。

前報では、蒸煮しない分離大豆たん白質に対する Met のみの添加および Met と Thr と Lys の組み合わせの添加については試験区を設けなかったため、それらの効果は明らかでなかったが、本報の結果から Met の添加のみでは栄養効果は最大に至らぬこと、また Met と Thr の他に Lys を添加しても主要な測定項目において栄養効果の改善がみられないことが明らかにされた。分離大豆たん白質に Met と Thr を添加した場合には、増体重、PER、生物価などでほぼ最大の栄養効果がみとめられたが、NPR では全卵たん白質に若干及ばなかった。

分離大豆たん白質の真の消化率は97%前後で非常に高く、従来最高の値が得られているカゼインに匹敵する

weight of rats in Experiment 2

TG (mg/dl)	PL (mg/dl)	β -LP** (mg/dl)	T-CHO (mg/dl)	HDL-CHO (mg/dl)	$\frac{\text{HDL-CHO}}{\text{T-CHO}}$ (%)	LW (g/100 g B. W.)
48±5	185±11	23±2	99±5	38±2	39±2	3.9±0.1
80±10	187±6	52±11	91±5	44±3	49±3	4.2±0.2
84±15	189±6	25±6 ^{b)}	99±6	55±4 ^{b)}	56±4	4.4±0.1
69±4	178±8	23±3	84±4 ^{b)}	47±4	56±3	4.1±0.0 ^{b)}
49±5	170±8	31±15	98±3	56±4	57±2	3.8±0.3
140±11 ^{a)}	209±5 ^{a)}	84±10 ^{a)}	93±3	51±4	55±3	4.5±0.1
108±8	221±12	45±10	112±8	46±6	41±4	4.0±0.1
47±6	138±2	30±8	74±3	31±7	43±8	3.9±0.1

a) and b) : See Table 2

値であった。また、生物価も制限アミノ酸が補足されれば最高に近い値が得られることも明らかにされた。

血清ロイシンアミノペプチダーゼ活性については、前報ならびに本報の2回の実験においていずれも Lys 添加でさらに減少がみられたことは、本酵素の活性に対する Lys の特異効果と考えられるので、その生理的意義については今後検討を試みたい。

トリグリセリドは、前回の蒸煮した分離大豆たん白質の場合と同様に Met の添加で上昇した。実験1では同時に肝臓重量の増加もあり、前回と同様の傾向が示された。しかし、実験2ではそれらの増加はそれ程でなく、しかも Thr の添加でトリグリセリドの低下や肝臓重量の減少がみられなかった。これら上昇したトリグリセリドの値は全卵たん白質やカゼインの場合の値よりはかなり低いので、異常であるとは考えられない。リン脂質の値もこれら対照のたん白質の場合に比べて若干低い値が示された。

総コレステロールは、今回の2つの実験でいずれも大きな変化がみられなかったのに対して、HDL コレステロールはMet, Thr が順次添加されるのに伴って明らかに上昇した。また、HDL コレステロールの値は、Lys および他の必須アミノ酸を添加してもそれ以上の上昇はみられなかった。このように、Met と Thr の添加で総コレステロールに変化が少なく、HDL コレステロールの割合が増加したことは、LDLおよびVLDLを主体とするコレステロール画分が減少したことであり、コレステロール代謝は改善されたものと推定される。このことは、Met と Thr の添加区の各コレステロール値が全卵たん白区とはほぼ一致し、これが正常値の範囲内にあること、また、カゼイン区に対しては総コレステロールで低く、HDL コレステロールで高いことから裏付けされる。また、従来から大豆のコレステロール低下作用が報告されている⁴⁾⁻⁶⁾が、大豆たん白質自体にはその作用があるとはみとめ難いことも示された。むしろ、制限アミノ酸がなく、たん白質の栄養状態がよい場合にコレステロール代謝が改善されることが明らかにされた。

要 約

本報は、成長期ラットを用い、蒸煮しない分離大豆たん白質に対する制限アミノ酸の補足効果について、全卵たん白質およびカゼインの場合と比較検討した。分離大豆たん白質については、メチオニン、スレオニン、リジン、およびその他の必須アミノ酸混合物を順次付加的に添加した区を設けた。そして、たん白質の栄養価、ならびにたん白質・脂質代謝に関連する血清成分を測定した。

その結果、蒸煮しない分離大豆たん白質においても、蒸煮した場合と同様に制限アミノ酸はほぼ含硫アミノ酸とスレオニンによって代表されることが明らかにされた。すなわち、分離大豆たん白質にメチオニンとスレオニンを添加することにより、増体重 6.3 g/日、たん白効率 (PER) 4.0、生物価99となり、いずれも成長期ラットに対する最大値に近い値が得られた。また、真の消化率は97%前後で、極めて高いことが示された。一方、血清成分についてはメチオニンとスレオニンの添加により、アルブミン、A/G 比、尿素-N、HDL コレステロール、HDL コレステロール/総コレステロールの各値が全卵たん白区とほとんど同じレベルまで増減し、それぞれ改善されたことが示された。

以上の結果より、分離大豆たん白質は他の食品たん白質などから制限アミノ酸が補足されれば、たん白質の栄養価ならびに血清コレステロール代謝に対する改善効果が極めて優れていることが明らかにされた。

文 献

- 1) 山口迪夫, 岩谷昌子, 宮崎基嘉: 栄養学雑誌, **39** (6), 275 (1981)
- 2) National Academy of Sciences-National Research Council: Nutrient Requirements of Domestic Animals, No. 10, "Nutrient Requirements of Laboratory Animals", p. 64 (1972)
- 3) 金井 泉, 金井正光: 臨床検査法提要 (第27版), (1975) 金原出版
- 4) Carroll, K. K. et al.: *Am. J. Clin. Nutr.*, **31**, 1312(1978)
- 5) Sirtori, C. R. et al.: *Am. J. Clin. Nutr.*, **32**, 1645 (1979)
- 6) Liebermeister, H. und Toluipur, H.: *Dtsch. med. Wschr.*, **105**, 333 (1980)

(受付: 昭和56年11月26日)