白米に対するリジン、スレオニンの補足効果と 白ねずみ尿中窒素化合物

Effect of Lysine and Threonine Supplements on Nitrogen Compounds in the Urine of Rats Fed Polished Rice

(昭和 39 年 5 月 18 日 受 理)

不 破 英 次
(Hidetsugu Fuwa)

Growth rate of young rats and ratio of retained nitrogen in absorbed nitrogen were capable of measuring the effect of supplement of a diet containing 85% of polished rice with 0.2% L-lysine hydrochloride and 0.24% DL-threonine.

Although weaning male rats grew at approximately the same rate when they were fed on diet C (a 85% polished rice diet supplemented with 0.2% L-lysine hydrochloride and 0.24% DL-threonine) and diet D (the same diet as diet C except that double amount of L-lysine hydrochloride was added), ratio of retained nitrogen to absorbed nitrogen and ratio of urinary allantoin to urinary urea of rats fed on diet D were significantly higher than those of rats fed on diet C.

白米蛋白質に対するアミノ酸の補足効果の研究は白ねずみを実験動物として Pecora と Hundley の研究¹⁾以来、多数の研究があり、蛋白質含量の少ないときリジンおよびスレオニンの効果がみとめられている^{1)~10)}。一般に補足効果の判定には蛋白質の栄養価の判定に用いられる方法が全て用いられるが、白米に対する補足効果の判定には主として白ねずみの成長試験が用いられている^{1)~10)}ほか、飼料あるいは蛋白質効率²⁾⁵⁾¹⁰⁾、脂肪肝の解消^{3)4)8)~10)}、窒素出納⁷⁾⁹⁾、その他肝臓および体成分の変化⁷⁾⁹⁾¹⁰⁾などが検討されている。

さて、蛋白質の栄養価の比較には生物価が最もすぐれた方法として古くから広く用いられているが、測定は比較的容易でない¹¹⁾¹²⁾。最近白ねずみ尿中窒素化合物、とくに尿素とアラントインの比率がよく蛋白質の栄養価を表わすことが示された^{13)~15)}。著者は白米蛋白質に対するリジン、スレオニンの補足効果と年令との関係を追求するため、簡単な効果の測定方法をみつける目的で白ねずみ尿中窒素化合物の変化をしらべるとともに、これらと幼若白ねずみの体重変化、肝臓成分の変化を合わせて検討したので、ここに報告する。

この結果、窒素出納試験における窒素保留率(保留窒素/吸収窒素のパーセント)と同様に尿中アラントイン/尿素のパーセントは白米蛋白質に対するリジンおよびス

レオニンの補足効果をよく反映することが解った。

実 験 方 法

実験動物および飼料

Wistar 系雄白ねずみ、体重 100~110g (実験1) および体重50~60g (実験2) を用いた。飼料の組成は表1に示す。白米粉末として乳児用 α -化穀粉(ライスメール)を用いた。

Table 1. Composition of Experimental Diets

	A	B	C	D
Precooked rice powder	85%	85%	85%	85%
Sesame oil	5	5	5	5
Salt B ¹⁾	5	5	5	5
Vitamin mixture ¹⁾²⁾	0.25	0.25	0.25	0.25
L-Lysine HCl	—	0.2	0.2	0.4
DL-Threonine	—	0.24	0.24	0.24
Na L-glutamate	0.72	—	0.37	—
Potato α -starch	3.88	4.16	3.64	3.81
Nitrogen, dry %	1.14	1.14	1.20	1.22

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

2) Diets also contained per 100g: 0.15g of choline chloride and 0.07ml of a mixture containing vitamin A 30,000 I. U. and vitamin D₃ 3,000 I. U./ml.

実験動物のとりあつかい

実験 1, 2 とともに 1 区 5 匹ずつを用い, 約 22°C の恒温動物室で, 1 匹ずつ別々の金網かごに入れて飼育した。各飼料は水でねってだんごの形で与え, 飼料および水は自由に与えた。体重は実験開始の日およびその後 1 週間に 3 回ずつ測定した。3 週間目の最後の 4 日間は代謝かごに移し, 尿および糞を別々に集めるとともに飼料の摂取量を測定した。実験開始後 22 日目に動物を殺し, 直ちに肝臓をとりだし, 脂質, 蛋白質およびグリコーゲンを定量した。

定量方法

窒素: 飼料, 尿および糞中の全窒素は Semi-micro Kjeldahl 法で定量した。

肝臓脂質: 肝臓の一部を水と摩砕してホモジェネートとし, 加熱乾燥後粉末とし, エーテル抽出後重量法で定量した。

肝臓蛋白質: 肝臓の水ホモジェネートを用い Lowry らの方法¹⁶⁾に従って定量した。

肝臓グリコーゲン: 肝臓の一部を KOH で消化後, エタノール沈澱法で精製し¹⁷⁾, Phenol-H₂SO₄ 法で定量した¹⁸⁾。

尿中尿素: Engel らの方法¹⁹⁾に従って定量した。

尿中アラントイン: Young らの方法²⁰⁾に従って定量した。

尿中アンモニア態窒素: 希釈尿を Na₂CO₃ でアルカリ性とし, アンモニアを含みぬ空気を通じてアンモニアを追だし, 2% 硼酸水溶液に吸収させた後, 1/50 N H₂SO₄ を用いて滴定した²¹⁾。

尿中 α -アミノ態窒素: Saifer らの方法²²⁾に順じて定量した。

Fig. 1. Changes in Body Weight of Young Rats Fed on Diets A and B (Experiment 1)
(Vertical lines represent standard deviation)

実験結果および考察

体重変化 図 1 にみられるように初体重約 100 g の若い白ねずみは 85% 白米飼料 (A) での成長は悪いが, これに 0.2% L-リジン塩酸塩と 0.24% DL-スレオニンを加えたもの (B) では A よりも明らかに体重増加が大きい。一方初体重 50 g 程度の離乳直後の幼白ねずみの成長に対しても飼料 A と B はそれぞれ実験 1 の結果とほぼ同じ傾向の結果を与えることを知ったが²³⁾, さらに加えたリジンを 2 倍としたもの (D) と B と同じであるが D と窒素含量を等しくするため L-グルタミン酸ソーダを加

Fig. 2. Changes in Body Weight of Weaning Rats Fed on Diets C and D (Experiment 2)
(Vertical lines represent standard deviation)

えたもの (C) ではほぼ同じ体重増加を示すことが解った (図 2)。これらの結果は現在までにえられている結果とよく一致する^{3) 4) 6) 24)}。

肝臓成分 表 2 に示したように実験 1 の A と B, 実験 2 の C と D はいずれも肝臓の脂質, 蛋白質, グリコーゲンの含量に飼料による差は認められなかった。Harper ら³⁾ によると 90% 白米に 0.2% L-リジン塩酸塩と 0.24% DL-スレオニンを添加したとき幼白ねずみの成長は 90% 白米のみを与えたときよりもずっとよくなるが, いずれの場合にも肝脂肪の蓄積がみられ, 0.4% L-リジン塩酸塩と 0.24% DL-スレオニンを添加したときはじめて体重増加もよいし, 肝脂肪の含量も正常にもどる。著者の実験では上述のように肝脂肪の含量はいずれも正常値であった。

窒素保留率 表 3 でみられるように, 保留窒素 / 吸収窒素のパーセント (無蛋白飼料を与えたときの尿中および糞中窒素を補正していないから生物価ではない) は実験 1 の A と B, 実験 2 の C と D でそれぞれ明らかに有意差があり, B > A, D > C であった。

尿中窒素化合物およびアラントイン / 尿素のパーセント 実験 1 では尿中全窒素のみを測定したが, 実験 2 で

栄 養 と 食 糧

Table 2. Composition of Liver and Relative Liver Size

Exp. no.	Diet	Fat	Protein	Glycogen	Relative liver size
		dry wt. %	wet wt. %	wet wt. %	g/100g body wt.
1	A	14.8±2.6 ¹⁾	13.2±1.1	6.4±2.5	3.7±0.1
	B	18.1±3.6	12.3±0.4	6.8±1.3	3.3±0.1
2	C	12.4±3.8	12.9±1.1	7.0±2.3	3.5±0.1
	D	9.1±1.9	13.8±1.0	6.4±2.1	3.6±0.3

1) Mean ± Standard deviation

Table 3. Intake and Output of Nitrogen during Four-Day Period

Exp. no.	Diet	N intake	Fecal N	N absorbed (a)	Urinary N	N retained (b)	b/a×100
		mg	mg	mg	mg	mg	%
1	A	340±39 ¹⁾	62.6±26.6	278±50	150±21	128±35	45.6±4.8
	B	475±24	107±15	368±35	119±12	249±22	67.6±3.1
2	C	553±54	75.2±5.4	478±56	169±39	309±20	64.9±4.0
	D	534±57	80.3±4.7	454±53	110±34	344±25	75.6±4.4

1) Mean ± Standard deviation

は全窒素とともに尿素、アラントイン、アンモニア、 α -NH₂ 態の窒素を分析した。結果は表 4 に示したが、アラントイン、アンモニア、 α -NH₂ 態の窒素はいずれも

Table 4. Average Excretion of Urea N, Allantoin N, Ammonia N and α -Amino N during Four-Day Period of Experiment 2

Diet	Urea N	Allantoin N	NH ₃ -N	α -NH ₂ -N
	mg	mg	mg	mg
C	102±36 ¹⁾	11.2±1.7	23.7±8.7	6.64±1.05
D	32.1±16.7	11.1±1.7	29.7±6.4	6.70±0.94

1) Mean ± Standard deviation

C と D ではほとんど差がなく、尿素態窒素のみが明らかに C>D であった。この尿中尿素態窒素の C と D での差は尿中全窒素における C と D の差を説明するに十分のものである。また表 5 に示したように尿中アラントイン量 (mg) と尿素量 (mg) の比は明らかに D>C であった。

これらの結果からみてアラントイン / 尿素のパーセントは保留窒素 / 吸収窒素のパーセントと共に白米に対するリジンおよびスレオニンの補足効果をよく反映するもので、白ねずみの成長試験と併用することによりこの補

Table 5. Average Excretion of Urea and Allantoin and Ratio of Allantoin to Urea, (A/U) × 100, during Four-Day Period of Experiment 2

Diet	Urea (U)	Allantoin (A)	(A/U) × 100	(A/U) × 100 × N intake
	mg	mg	(mg/mg)%	(mg/mg) × g%
C	204±72 ¹⁾	31.8±4.8	17.2±6.1	9.33±2.64
D	64.1±33.6	31.2±4.9	56.8±20.2	28.5±8.74

1) Mean ± Standard deviation

足効果の判定方法として使用できることが解った。

本研究を行なうに当たり終始御支援をいただいた名古屋大学農学部芦田淳教授に深謝する。また研究費の一部は昭和 35 年度文部省科学研究費 (62281) によった。

文 献

- 1) L. J. Pecora, J. M. Hundley: *J. Nutr.*, **44**, 101 (1951)
- 2) B. Sure: *J. Nutr.*, **50**, 235 (1953)
- 3) A. E. Harper, M. E. Winje, D. A. Benton, C. A. Elvehjem: *J. Nutr.*, **56**, 187 (1955)
- 4) P. D. Despande, A. E. Harper, F. Quiros-Perez, C. A. Elvehjem: *J. Nutr.*, **57**, 415 (1957)
- 5) M. C. Kirk: *J. Agr. Food Chem.*, **4**, 170

- (1956)
- 6) H. R. Rosenberg, R. Culck, R. E. Eckert, *J. Nutr.*, **69**, 217 (1959)
 - 7) 山桐加津子, 渡辺刀美乃, 大隅トミ: 栄養と食糧, **14**, 100 (1961)
 - 8) 中村延生蔵, 山田幸二, 高橋効: 栄養と食糧, **16**, 187 (1963)
 - 9) 稲垣長典, 蕭舜香, 大西真澄, 津行恵子, 菅原すみ: 栄養と食糧, **16**, 264 (1963)
 - 10) 村田希久, 宮川久邇子, 長尾邦子, 池畑秀夫: 栄養と食糧, **16**, 270 (1963)
 - 11) H. H. Mitchell: *J. Biol. Chem.*, **58**, 873 (1924)
 - 12) L. R. Njaa: *Brit. J. Nutr.*, **13**, 137 (1959)
 - 13) 桐山修八, 芦田淳: 生化学, **32**, 185 (1960)
 - 14) 桐山修八, 芦田淳: 栄養学雑誌, **20**, 121 (1962)
 - 15) K. Kiriyama, K. Ashida: *J. Nutr.*, **82**, 127 (1964)
 - 16) O. H. Lowry, M. J. Rosenberg, A. L. Farr, R. J. Randall: *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1953)
 - 17) W. Z. Hassid, S. Abraham, in S. P. Colowick N. O. Kaplan(eds.): "Methods in Enzymology" Vol.3. p.35 (1957)
 - 18) M. Dubois, K. A. Gills, J. K. Hamilton, P. A. Rebers, F. Smith: *Anal. Chem.*, **28**, 350 (1956)
 - 19) M. G. Engel, F. L. Engel: *J. Biol. Chem.*, **167** 535 (1946)
 - 20) E. G. Young, C. F. Conway: *J. Biol. Chem.*, **142**, 839 (1942)
 - 21) E. Baldwin, D. J. Bell: "Cole's Practical Physiological Chemistry" 3rd. ed., p. 218 (1955)
 - 22) A. Saifer, S. Gerstenfeld, A. F. Harris: *Clin. Chim. Acta*, **5**, 131 (1960)
 - 23) 不破英次: 日本農芸化学会中部支部例会(昭和36.2.4. 名古屋)にて発表
 - 24) 吉田昭: 未発表

(名古屋大学農学部農芸化学科)

コリン欠乏ラットにおけるグリセロールの代謝

コリン欠乏ラットの肝臓切片を用いてグリセロール・ $1\cdot3\text{-C}^{14}$ の代謝を正常の場合と比較した。グリセロールの消費およびグリコーゲンへの転換はコリン欠乏の肝においては著しく減少したが、グルコースおよび CO_2 への転換は正常であった。グリセロールの肝ホスホリビドへのとりこみはコリン欠乏においては減少したが、無機 P^{32}

のホスホリビドへのとりこみは正常またはやや増加した。(表2)

Glycerol Metabolism in Choline-deficient Rats.
by W. J. Longmore and A. B. Hastings:
J. Nutrition, **83**, (2), 103 (1964)

(宮崎)