報 文

献立表から求めた一アミノ酸パターンへのアミノ酸 補足に関する白ネズミによる実験的研究

神 戸 保

大阪市立衛生研究所

An Experimental Study on Supplementation of Amino Acids to the Protein Showing an Essential Amino Acid Pattern Drawn from School Lunch Menus

Tamotsu Kanbe

Osaka City Institute of Hygiene, Kita-ku, Osaka

J. Jap. Soc. Food and Nutr., 26 (5), 281~287 (1973)

An experimental study was directed toward to clarify the effect of supplementing amino acids to a basal diet on its protein quality by use of male-weanling rats. An essential amino acid pattern in this experiment was calculated from 537 kinds of lunch menus which are used by the elementary school of 34 cities in Japan, and was consisted of 280 mg Ileu, 488 mg Leu, 339 mg Lys, 202 mg Met + Cys, 542 mg Phe+Tyr, 229 mg Thr, 79 mg Try and 331 mg Val per g of nitrogen. The basal diet (diet A) contained 9.38% of the amino acid mixture as protein.

In experiment 1, test diets were made as follows: diet B (basal diet+0.15% L-Met), diet C (basal diet+0.30% L-Met), diet D (basal diet+0.05% L-Try), diet E (basal diet+0.25% L-Lys·HCl) and diet F (basal diet+0.15% L-Met+0.05% L-Try). Rats were fed *ad libitum* on diets of A, B, C, D, E or F for 21 days, and the body weight gain, PER, BV and XOA in liver were measured to evaluate the each diet protein. As the results, the supplemental effect of amino acids was confirmed in diet B and C, especially in diet F but the deposition of liver fat was found in the rats on these three diets.

In experiment 2, supplementation of amino acids to diet F was attempted to eliminate accumulation of fat in liver. The diets were made as follows: diet G (diet F+0.20% L-Thr), diet H (diet F+0.25% L-Lys·HCl) and diet I (diet F+0.20% L-Thr+0.25% L-Lys·HCl). Rats were fed on 5 diets of A, F, G, H and I. As the results, supplementation of threonine was very good for lowering liver fat content to normal range and also diet I showed the best protein quality.

(Received September 28, 1972)

著者ら¹⁾は、先に学校給食のたん白質の質について全国的な傾向を調べた。その際、小学校高学年用給食献立表 537 から求めた平均必須アミノ酸パターン（以下、学給アミノ酸パターンと略す）は、Table 1 に示したように、窒素 1g 当りイソロイシン 280 mg, ロイシン 488 mg, リジン 339 mg, 含硫アミノ酸 202 mg, 芳香族ア

ミノ酸 542 mg, スレオニン 229 mg, トリプトファン 79 mg, バリン 331 mg であった。また E/T 比は 2.49 であった。今回は、学校給食のたん白質の質向上への手がかりをえるために、上記アミノ酸パターンへのアミノ酸補足実験を白ネズミを用いて行なった。

Table 1. Essential amino acid pattern and *E/T* ratio of school lunch menus¹⁾.

Amino acid	Ileu	Leu	Lys	Met+Cys	<i>E/T</i>
mg/Ng	280	488	339	202	2.49
Amino acid	Phe+Tyr	Thr	Try	Val	
mg/Ng	542	229	79	331	

1) amino acid pattern and *E/T* ratio were drawn from 537 menus carried out for school children at ages from 9 to 11 years in 34 cities of Japan.

実験方法

1. 飼料の調製

基本飼料：Table 2 の飼料Aに示したように、カゼイン（たん白質含量 84.4 %）7.5 % と L-アミノ酸混合 3.85% から、Table 1 に示したパターンの必須アミノ酸を含む飼料を調製した。その詳細については Table 4 に示した。この場合、窒素量は 1.5%，たん白質量としては 9.38% である。なお、加えた各非必須アミノ酸量は窒素 1.5%，*E/T* 比 2.49 になるように、カゼインの非必須アミノ酸パターンの量比²⁾を参考にして決定した。

L-アミノ酸補足飼料：実験 1 (Table 2) の場合、基本飼料（飼料A）に補足するアミノ酸は、学給アミノ酸パターンの制限アミノ酸である。まずケミカルスコア評価方法で制限アミノ酸を求めると、鶏卵値³⁾、人乳値³⁾、牛乳値³⁾ から、それぞれ含硫アミノ酸（スコア 65）、ト

リプトファン（スコア 91）、リジン（スコア 85）である。これらのアミノ酸を基本飼料に、各スコア値を考慮して過剰にならぬ程度に、0.15 % L-メチオニン（飼料B）、0.30 % L-メチオニン（飼料C）、0.05 % L-トリプトファン（飼料D）、0.25 % L-リジン塩酸塩（飼料E）を補足した。つぎに、プロテインスコア評価方法⁴⁾では、学給アミノ酸パターンは含硫アミノ酸（第1制限アミノ酸、スコア 75）とトリプトファン（第2制限アミノ酸、スコア 88）のみが基準値以下である。そこで基本飼料に 0.15 % L-メチオニン+0.05 % L-トリプトファン（飼料F）を補足した。実験 2 (Table 3) の場合、実験 1 の結果から判断して、飼料Fにさらにアミノ酸を補足した。すなわち、飼料 F（基本飼料+0.15 % L-メチオニン+0.05 % L-トリプトファン）に補足したアミノ酸は、0.20 % L-スレオニン（飼料G）、0.25 % L-リジン塩酸塩（飼料H）、0.20 % L-スレオニン+0.25 % L-リジ

Table 2. Composition of diets used in experiment 1 (per cent).

Constituent	Basal diet		Test diets			
	A	B	C	D	E	F
Casein	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5
L-Amino acid mix.	3.85	3.85	3.85	3.85	3.85	3.85
Sucrose	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0
α -Corn starch	35.55	35.40	35.25	35.50	35.30	35.35
Salt mix. ¹⁾	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
Vitamin mix. ¹⁾	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Cellulose powder	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Soybean oil ¹⁾²⁾	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
Choline chloride	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
L-Methionine	—	0.15	0.30	—	—	0.15
L-Tryptophan	—	—	—	0.05	—	0.05
L-Lysine-HCl	—	—	—	—	0.25	—
N% in diet	1.50	1.51	1.53	1.51	1.54	1.52

1) preparation of TANABE Amino Acid Research Foundation.

2) containing 20% of cod liver oil.

Table 3. Composition of diets used in experiment 2 (per cent).

Constituent	Basal diet	Test diets				
	A	F	G	H	I	
Casein	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5	
L-Amino acid mix.	3.85	3.85	3.85	3.85	3.85	
Sucrose	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0	
α -Corn starch	35.55	35.35	35.15	35.10	34.95	
Salt mix. ¹⁾	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	
Vitamin mix. ¹⁾	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	
Cellulose powder	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	
Soybean oil ¹⁾²⁾	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	
Choline chloride	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	
L-Methionine	—	0.15	0.15	0.15	0.15	
L-Tryptophan	—	0.05	0.05	0.05	0.05	
L-Lysine•HCl	—	—	—	0.25	0.25	
L-Threonine	—	—	0.20	—	0.20	
N% in diet	1.50	1.52	1.54	1.56	1.58	

1) preparation of TANABE Amino Acid Research Foundation.

2) containing 20% of cod liver oil.

Table 4. Amino acid contents in 100 g of basal diet.

	Casein ¹⁾ 7.5 g mg	L-Amino acid mix. 3.85 g mg	EAAPSLM ²⁾ mg/N 1.5 g
Ileu	415	5	420
Leu	636	96	732
Lys	507	3 ³⁾	509
Met+Cys	219	84 ⁴⁾	303
Phe+Tyr	710	103 ⁵⁾	813
Thr	271	73	344
Try	85	34	119
Val	468	29	497
Arg	258	270 ⁶⁾	
His	191	210 ⁷⁾	
Ala	212	180	
Asp	468	405	
Glu	1,459	1,245	
Gly	126	105	
Pro	744	645	
Ser	421	360	
N	1,006	494	

1) amino acid pattern of casein was cited from "Amino Acid Content of Foods" by M.L. Orr and B.K. Watt, 2) essential amino acid pattern of school lunch menus, 3) L-lysine·HCl, 4) L-methionine, 5) L-phenylalanine, 6) L-arginine·HCl, 7) L-histidine·HCl·H₂O.

ン塩酸塩（飼料 I）である。

2. 飼育動物と飼育方法

購入した 3 週齢の SD 系白ネズミ雄を，体重を平均化して 1 群 5 匹に分け，1 匹ずつ代謝ケージに入れ，20～23℃ の室温で 21 日間実験食で飼育した。この飼育期間中，飼育開始から 9 日間を実験予備期間，9 日から 21 日までの 12 日間を実験対象期間とした。なお飼育期間中，飼料と水は自由に与え，摂取飼料量は毎日，体重は 3 日ごとに測定した。

3. たん白質効率比，生物価，肝キサンチンオキシダーゼ活性と肝脂肪の測定

たん白質効率比 (PER) は，実験対象の期間，すなわち，飼育 9 日から 21 日までの 12 日間について体重増加量と摂取飼料中のたん白質量を求めて，算出した。

生物価 (BV) については，飼育 18 日から 21 日までの 3 日間の尿と糞を採取して窒素を測定した。別に無たん白質群の尿ならびに糞の窒素を測定して生物価の算出に用いた。なお，窒素測定はケルダール法⁵⁾によった。

肝キサンチンオキシダーゼ活性 (XOA) と肝脂肪については，飼育 21 日後に断頭，採血したのちに摘出した肝を，秤量後，0.04 M リン酸緩衝液にてホモゲナイズし，全容を 25 ml とした。この溶液の一定容について XOA と肝脂肪量を測定した。XOA の測定は村松らの方法⁶⁾，肝脂肪量の測定は酸分解法⁷⁾によった。

結果と考察

実験1

1. 白ネズミの成長状態

平均初体重 59 g の白ネズミを 21 日間実験食で飼育した。その体重増加状態を Fig. 1 に示した。この図において、飼料 A (基本飼料) 群をコントロールとして他の群の成長状態を見ると、いちばん成長がよかったのは F (基本飼料+0.15% L-メチオニン+0.05% L-トリプトファン) 群であり、つぎに F 群よりは少し劣るが、C (基本飼料+0.3% L-メチオニン) 群と B (基本飼料+0.15% L-メチオニン) 群が同じような成長曲線を示した。また、E (基本飼料+0.25% L-リジン塩酸塩) 群は飼

Fig. 1. Body weight changes of rats (Experiment 1).

●: Diet A (Basal), □: Diet B (Basal+0.15% L-Met), ▲: Diet C (Basal+0.30% L-Met), △: Diet D (Basal+0.05% L-Try), ■: Diet E (Basal+0.25% L-LysHCl), ○: Diet F (Basal+0.15% L-Met+0.05% L-Try)

育 9 日目までは多少良好な成長状態であったが、それ以後は A 群と平行する状態であった。一方、D (基本飼料+0.05% L-トリプトファン) 群は A 群とほとんど同じ成長状態であった。

2. 摂取飼料量と体重増加量 (Table 5)

実験対象の飼育 9 日から 21 日までの 12 日間の 1 匹当りの飼料摂取状態は体重増加曲線 (Fig. 1) と同一傾向を示し、F 群 (253g) > C 群 (248g) > B 群 (244g) > E 群 (187g) > A 群 (177g) > D 群 (170g) であった。また、12 日間の体重増加量は 1 匹当たり F 群 (81g) > C 群 (77g) > B 群 (74g) > E 群 (44g) > D 群 (42g) = A 群 (42g) であり、コントロールの A 群とその他の各群との間で統計処理をすると、危険率 5% で有意差 (以下、有意差とは危険率 5% で統計処理をした場合をいう) が認められたのは、F、C、B の 3 群であった。

3. たん白質の質評価と肝脂肪 (Table 6)

PER は、F 群 (3.35) > C 群 (3.24) > B 群 (3.18) > D 群 (2.62) > E 群 (2.48) > A 群 (2.47) であり、F、C、B の 3 群は A 群と比べて有意に高かった。BV は、B 群 (77) > F 群 (76) > C 群 (75) > E 群 (70) > D 群 (69) = A 群 (69) であり、B、F、C の 3 群は A 群と比べて有意に高かった。XOA は、F 群 (205) > B 群 (180) = C 群 (180) > E 群 (103) > A 群 (101) > D 群 (98) であり、F、B の 2 群は A 群と比べて有意に高かった。

以上のような体重増加量とたん白質の質の評価方法から判断して、飼料 B、C、F の各群において、またこの 3 飼料群のうちでもとくに F 群においてアミノ酸の補足効果が現われていると考えられる。この 3 群において共通することは、L-メチオニンを補足していることであり、メチオニンが制限アミノ酸であると思われる。しかし、この 3 群の肝脂肪量を Table 6 に見ると、B 群は 7.2%、C 群は 5.8%、F 群は 7.1% であり、これら 3 群は A 群の肝脂肪量 (4.9%) とくらべて有意差を認めるほど肝に脂肪が蓄積していた。

Table 5. Food intake and body weight gain of rats (Experiment 1).

Group		Food intake (9-21th days) g	Body weight		Body weight gain (9-21 th days) g
			9 th day g	21 th day g	
A	Basal	177±12*	91±3	133±8	42±5
B	Basal+0.15% L-Met	244± 6**	102±2	176±4	74±2**
C	Basal+0.30% L-Met	248± 6**	103±2	179±4	77±3**
D	Basal+0.05% L-Try	170±11	89±2	132±6	42±4
E	Basal+0.25% L-Lys·HCl	187± 5	100±3	144±2	44±3
F	Basal+0.15% L-Met +0.05% L-Try	253± 8**	107±3	188±7	81±4**

* standard error of mean for 5 rats.

** significantly different from the group A by t test ($p < 0.05$).

Table 6. Protein quality and liver fat of rats (Experiment 1).

Group	PER	BV	XOA (liver) O ₂ μl/hr/g	Liver fat %
A	2.47±0.16*	69±1	101±11	4.9±0.2
B	3.18±0.04**	77±2**	180±27**	7.2±0.2**
C	3.24±0.04**	75±2**	180±43	5.8±0.2**
D	2.62±0.08	69±1	98±14	4.2±0.2
E	2.48±0.16	70±2	103±19	4.7±0.3
F	3.35±0.10**	76±1**	205±20**	7.1±0.7**

* standard error of mean for 5 rats.

** significantly different from the group A by t test ($p<0.05$).

実験 2

実験 1 において補足効果がいちばん現われていた飼料 F 群に、さらにアミノ酸を補足して肝に蓄積した脂肪を除去しようとした。

ところで, Harper⁽⁸⁾ らによると, 8~9% カゼイン飼料へ 0.3% DL-メチオニンを添加すると白ネズミに脂肪肝を認める。しかしスレオニンを補足することによって脂肪肝は認められなくなる。また, 白米を唯一のたん白源とする飼料で白ネズミを飼育すると脂肪肝に陥るが, リジンとスレオニンの補足によって脂肪肝は阻止できるといわれている。そこで, このような脂肪肝の防止方法に準拠して, Table 3 に示したように, 飼料 F にスレオニン, リジンを補足した飼料を調製した。

1. 白ネズミの成長状態

平均初体重 49 g の白ネズミを 21 日間実験食で飼育した。この場合の体重増加状態は, Fig. 2 に示したように, 飼料 F (基本飼料 + 0.15% L-メチオニン + 0.05% L-トリプトファン) 群がいちばんよく, A (基本飼料) 群がもっとも悪かった。肝に蓄積した脂肪を除去する目的でスレオニン, リジンを補足したグループのうち, H (飼料 F + 0.25% L-リジン塩酸塩) 群と I (飼料 F + 0.20% L-スレオニン + 0.25% L-リジン塩酸塩) 群はほとんど同じ成長状態であった。この 2 群は, 飼育初期においては, 成長が F 群よりも少し劣ったが, 飼育 6 日からは F 群の成長曲線と平行状態であった。G (飼料 F + 0.20% L-スレオニン) 群の成長状態は, 飼育 3 日から H, I の両群よりも少しずつ劣り, 飼育 21 日には 17~18 g 差ができた。

2. 摂取飼料量と体重増加量 (Table 7)

実験対象の飼育 9 日から 21 日までの 12 日間における摂取飼料量は, 1 匹当り F 群 (233 g) > H 群 (221 g) > I 群 (200 g) > G 群 (199 g) > A 群 (143 g) であった。これらの摂取飼料量は体重増加曲線 (Fig. 2) と同一傾向を示している。また, 実験対象の 12 日間における体重増加量は, 1 匹当り F 群 (81 g) = H 群 (81 g) > I 群 (78

Fig. 2. Body weight changes of rats (Experiment 2)

● : Diet A (Basal), ○ : Diet F (Basal + 0.15% L-Met + 0.05% L-Try), ▲ : Diet G (Diet F + 0.20% L-Thr), △ : Diet H (Diet F + 0.25% L-Lys HCl), ■ : Diet I (Diet F + 0.20% L-Thr + 0.25% L-Lys HCl)

g) > G 群 (71 g) > A 群 (33 g) であり, A 群とくらべて他の各群はいずれも有意に高かった。

3. たん白質の質評価と肝脂肪 (Table 8)

PER は, I 群 (3.91) > H 群 (3.73) > G 群 (3.66) > F 群 (3.58) > A 群 (2.45) であり, A 群とくらべて他の各群はいずれも有意に高かった。BV は, I 群 (85) > G 群 (82) > H 群 (79) > F 群 (78) > A 群 (70) であり, A 群とくらべて他の各群はいずれも有意に高かった。また, I 群は他の各群よりも有意に高かった。XOA は, I 群 (290) > F 群 (197) > H 群 (183) > G 群 (173) > A 群 (87) であり, A 群とくらべて I, F, H の 3 群が有意に高かった。

以上, このように I 群は, 体重増加では G, H 両群よりも平均値で多少劣るが, たん白質の栄養評価では他の

Table 7. Food intake and body weight gain of rats (Experiment 2).

Group		Food intake (9-21 th days) g	Body weight		Body weight gain (9-21 th days) g
			9 th day g	21 th day g	
A	Basal	143±13*	86±5	119±9	33±4
F	Basal+0.15% L-Met+0.05% L-Try	233±12**	101±3	182±9	81±8**
G	Basal+0.15% L-Met+0.05% L-Try +0.20% L-Thr	199±6**	90±4	161±8	71±4**
H	Basal+0.15% L-Met+0.05% L-Try +0.25% L-Lys·HCl	221±12**	97±2	178±8	81±7**
I	Basal+0.15% L-Met+0.05% L-Try +0.20% L-Thr+0.25% L-Lys·HCl	200±6**	99±2	177±2	78±2**

* standard error of mean for 5 rats.

** significantly different from the group A by t test ($p<0.05$).

Table 8. Protein quality and liver fat of rats (Experiment 2).

Group	PER	BV	XOA (liver) O ₂ μl/hr/g	Liver fat %
A	2.45±0.09*	70±3***	87±26	4.8±0.1
F	3.58±0.21**	78±1***	197±23**	8.2±1.1**
G	3.66±0.09**	82±1***	173±53	4.4±0.5
H	3.73±0.11**	79±1***	183±35**	7.5±0.6**
I	3.91±0.07**	85±0***	290±45**	4.7±0.1

* standard error of mean for 5 rats.

** significantly different from the group A by t test ($p<0.05$).*** significantly different from the group A or I by t test ($p<0.05$).

いずれの群よりもすぐれており、しかも Table 8 に示したように、肝脂肪量も基本飼料の A 群の 4.8% とほとんど同一の 4.7% であった。なお、肝における脂肪蓄積の防止には、スレオニン補足が役立っているようであり、I 群のほかにもスレオニンを補足した G 群の肝脂肪量も 4.4% というように低かった。

ところで、実際に学校給食の献立を立案する場合、たん白質の質の向上をはかるために、どのアミノ酸に留意すればよいか。この動物実験の結果から推論するならば、メチオニンをはじめとしてトリプトファン、スレオニン、リジンの各量を高めて行く方向で献立を作成すればよいように思われる。

要 約

先に求めた学校給食の必須アミノ酸パターン¹⁾は、窒素 1g 当りイソロイシン 280 mg, ロイシン 488 mg, リジン 339 mg, 含硫アミノ酸 202 mg, 芳香族アミノ酸 542 mg, スレオニン 229 mg, トリプトファン 79 mg, バリン 331 mg であった。また、E/T 比は 2.49 であった。このアミノ酸パターンのたん白質を含む飼料へのアミノ

酸補足動物実験を、白ネズミを用いて行なった。

実験 1 において、基本飼料（飼料 A）のたん白質は学給アミノ酸パターンを示すたん白質であり、カゼイン 7.5% と L-アミノ酸混合 3.85% から合成した。この飼料のたん白質含量は 9.38% である。この基本飼料に次のようなアミノ酸を補足して実験飼料とした。すなわち、基本飼料+0.15% L-メチオニン（飼料 B）、基本飼料+0.30% L-メチオニン（飼料 C）、基本飼料+0.05% L-トリプトファン（飼料 D）、基本飼料+0.25% L-リジン塩酸塩（飼料 E）、基本飼料+0.15% L-メチオニン+0.05% L-トリプトファン（飼料 F）である。このような基本飼料と実験飼料で 3 週齢の白ネズミを 21 日間飼育し、体重増加、PER、BV、肝 XOA を測定して、アミノ酸の補足効果を調べた。その結果、飼料 B、C、F の 3 飼料群で補足効果を認めた。しかし、この 3 群は脂肪肝に陥っていた。そこで、この脂肪肝の防止を目的として実験 2 を行なった。アミノ酸補足効果のあった 3 飼料のうち、いちばん効果のあった飼料 F にさらにアミノ酸を補足した飼料を調製した。すなわち、飼料 F+0.20% L-スレオニン（飼料 G）、飼料 F+0.25% L-リジン塩

酸塩（飼料H），飼料F+0.20% L-スレオニン+0.25% L-リジン塩酸塩（飼料I）である。これらの飼料と飼料A，Fの5種類で，実験1と同様に動物実験を行なった。その結果，飼料I群は，体重増加では平均値でF，Hの両群よりは多少劣るが，PER，BV，肝XOAでは，他のいずれの群よりも抜群によく，肝脂肪量も基本飼料群と同じような正常値であった。

終わりに臨み，ご指導を賜りました大阪市立衛生研究所付設栄養学院長川北兵蔵博士，大阪府立大学教授本田幸一郎博士，同北岡正三郎博士に深謝いたします。

文 献

- 1) 神戸 保，川北兵蔵：栄養と食糧，22, 480 (1969)

- 2) 大磯敏雄編：食品のアミノ酸含量表，p. 48 (1969)，第一出版（東京）
- 3) 科学技術庁資源調査会編：日本食品アミノ酸組成表（1966），大蔵省印刷局
- 4) 吉村寿人訳：蛋白必要量，FAO 蛋白必要量委員会報告（1957），第一出版（東京）
- 5) 永原太郎，岩尾裕之：食品分析法，p.87 (1955)，柴田書店（東京）
- 6) Muramatsu, K. and Ashida, K. : *Agr. Biol. Chem.*, 25, 702 (1961)
- 7) 永原太郎，岩尾裕之：食品分析法，p.100 (1955)，柴田書店（東京）
- 8) Harper, A.E., Monson, M.J., Benton, O.A., Winje, M.E. and Elvenjem, C.A. : *J. Biol. Chem.*, 206, 151 (1954)
- 9) Harper, A.E., Winje, M.E., Benton, D.A. and Elvenjem, C.A. : *J. Nutrition*, 56, 187 (1955)

（昭和47年9月28日受理）