卵白食, 卵白酵素分解物または遊離アミノ酸混合食を 投与した幼若ラットの成長の比較†

柴田 克己*, 鈴木 徹**, 岩井 和夫***

* 帝国女子大学食物学科

** エーザイ株式会社研究二部

*** 京都大学食品工学科

Comparison of Growth among Young Rats Fed on a Diet of Egg White, Enzymic Hydrolysate of Egg White and a Mixture of Free Amino Acids†

Katsumi SHIBATA,* Toru SUZUKI** and Kazuo IWAI***

* *Department of Food Science and Nutrition, Teikoku Women's
University, Moriguchi, Osaka 570*

** *Tokyo Research Laboratories, Eisai Co., Ltd., Koishikawa 4,
Bunkyo-ku, Tokyo 112*

*** *Department of Food Science and Technology, Kyoto
University, Kyoto 606*

Nippon Eiyō Shokuryō Gakkaishi (*J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.*) 40, 279~285 (1987)

Various egg white proteolysates were prepared by incubating egg white with a *Rhizopus* protease for various times. The nutritional values of the proteolysates were determined from examinations of the growth of young rats. Among the proteolysates, small peptides (EWP-5) with a percentage hydrolysis of 18.3 were found to be excellent. The nutritional value of EWP-5 was higher than that of an amino acid mixture simulating egg white, and about the same as that of egg white in paired feeding. The activities of serum alkaline phosphatase, total cholesterol and phospholipid were higher in the amino acid mixture group than in the egg white and EWP-5 groups. A comparison of growth among rats fed a diet of purified egg protein, casein, soy protein isolate, egg white, EWP-5 and an amino acid mixture simulating EWP-5 was performed. The results showed that the gain in body weight of the EWP-5 group was superior to that of the rats given soy protein isolate, amino acid mixture simulating EWP-5, casein and egg white, and about the same as that of the group given purified egg protein. Although the first limiting amino acid of EWP-5 is tryptophan (amino acid value, 67), no supplemental effect of tryptophan on the EWP-5 diet was observed. The present study demonstrated that small peptides are utilized more efficiently than a protein and amino acid mixture.

(Received December 18, 1986)

タンパク質は、消化管においてアミノ酸にまで完全に分解された後に吸収利用されるものといわれてきた。しかし、近年低分子ペプチドも腸管より直接吸収され、その吸収機構もアミノ酸とは異なった独自のものがあり、

吸収速度もアミノ酸よりも早いと考えられるようになってきた¹⁾²⁾。これらのことから、タンパク質、低分子ペプチドならびにアミノ酸の三つの窒素源の形態による吸収の違いにより、それらの体内での利用効率も異なることが容易に想像される。この考え方にに基づき多くの研究が行われてきているが、実験条件等の違いから、まだ統一的結論が得られていない³⁾。

しかし、実際面において、病院での術後等の栄養管理として経管栄養剤が多用されるようになってきており、これら経管栄養剤の窒素源としてすでにタンパク質、タ

† 卵白酵素分解物の栄養価に関する研究 (第1報)
Studies on the Nutritional Value of an Enzymic Hydrolysate of Egg White (Part 1)

* 〒570 守口市藤田町 6-173

** 〒112 東京都文京区小石川 4-6-10

*** 〒606 京都市左京区北白川追分町

Table 1. Hydrolysis of egg white proteolysates. Egg white proteolysate (1-5) were prepared by incubating egg white with a *Rhizopus* protease at various hours.

Egg white proteolysate (EWP)	Percent hydrolysis*
EWP-1	2.9
EWP-2	4.3
EWP-3	7.2
EWP-4	16.2
EWP-5	18.3

* Percent hydrolysis was calculated from the following equation; Percent hydrolysis = (Amino-nitrogen/Total-nitrogen) × 100.

ソバク質分解物ならびにアミノ酸が使用されるようになってきている。そのため、これらの形態の異なる窒素源の栄養成分としての特徴を明らかにしていくことはきわめて重要である。

著者らは、良好なアミノ酸組成をもちながらその熱凝固性のために栄養素材としての利用が遅れている卵白に着目し、酵素分解によって熱凝固性を失わせた分解物を調製し、これらと未分解卵白およびアミノ酸混合物との窒素形態の異なる三者について、栄養価の比較を行うとともに、他のタンパク質素材との比較検討を行った。

実験材料と方法

1. 化学薬品

飼料に用いたアミノ酸は味の素㈱より供与をうけた。大豆分離タンパク質 (SPI) は不二製油㈱より入手した。精製全卵タンパク質 (PEP), オリエンタル配合のビタミン混合およびミネラル混合はオリエンタル酵母㈱より購入した。コーン油は日本食品化工㈱より、 α -コーンステーチは日澁化学㈱より購入した。ビタミンフリーミルクカゼイン、ショ糖、セルロースパウダー、大豆油は和光純薬工業㈱より購入した。ペントバルビタールナトリウムは大日本製薬㈱より購入した。

2. 卵白酵素分解物 (EWP) の調製

EWP は卵白 (EW) を *Rhizopus* 属の酸性プロテアーゼによって加水分解することにより調製した。なお加水分解時間を変えることにより、EWP-1~EWP-4 の4種類の EWP を得た。EWP-5 は EWP-4 の高分子成分を除いたもので平均分子量約 700 のペプチド混合物である。これら EWP-1~EWP-5 の分解率を Table 1 に、また EWP-4 および EWP-5 の Sephadex G-75 ゲル濾過パターンを Fig.1 に示した。さらに EWP-5 の

Fig.1. Gel filtration pattern (Sephadex G-75) of egg white proteolysate-4 (EWP-4(A)) and egg white proteolysate-5 (EWP-5(B)).

A sample of EWP-4 or EWP-5 (260 mg) was dissolved in 100 ml of water and it was adjusted to pH 11.0 with 1N NaOH. The solution (0.5 ml) was applied on a Sephadex G-75 (15×900 mm), which had been equilibrated with 1/15M potassium phosphate buffer, pH 7.0. The 3-ml fractions were collected at the flow-rate of 30 ml/hr. The elution pattern was monitored at 220 nm.

Fig.2. Gel filtration pattern (Sephadex G-15) pattern of egg white proteolysate-5. Chromatographic conditions were the same as in Fig.1 except the flow rate of 24 ml/hr.

Sephadex G-15 ゲル濾過パターンを Fig.2 に示した。アミノ態窒素はホルモール法⁴⁾により、総窒素はケルダール法⁵⁾により測定した。

3. 動物および飼料

1) 第一実験 4週齢の雄 Wistar 系ラットを静岡県実験動物協同組合より購入した。購入後の4日間はオリエンタル酵母社製の固形飼料 MF を自由摂取させた。その後、Table 2 に示した窒素源 15% を含む飼料を、アミノ酸混合食を先行群とした paired-feeding 法にて与えた。なお水は自由に与えた。

Table 2. Compositions of experimental diets (Experiment I).

Diet	N-Source ^{a)} (%)	α -Corn- starch (%)	Sucrose (%)	Soybean oil (%)	Mineral mixture ^{b)} (%)	Vitamin mixture ^{b)} (%)	Cellulose powder (%)
EW ^{c)}	16.54	48.46	20	5	5	1	4
A.A. ^{d)} (simulated the amino acid pattern of egg white)							
	15.55	49.45	20	5	5	1	4
EWP ^{e)} -1	17.50	47.50	20	5	5	1	4
EWP-2	17.60	47.40	20	5	5	1	4
EWP-3	17.85	47.15	20	5	5	1	4
EWP-4	18.94	46.06	20	5	5	1	4
EWP-5	17.14	47.86	20	5	5	1	4

^{a)} The content of amino acid in each diet was adjusted to 15%.

^{b)} Oriental's mixture was used.

^{c)} EW=egg white.

^{d)} A.A.=amino acids mixture.

^{e)} EWP=egg white proteolysate.

Table 3. Compositions of experimental diets (Experiment II).

Diet	N-Source ^{a)} (%)	α -Cornstarch (%)	Sucrose (%)	Corn oil (%)	Mineral mixture ^{b)} (%)	Vitamin mixture ^{b)} (%)
EW ^{c)}	9.59	53.71	26.7	5	5	1
EWP-5 ^{d)}	10.00	53.30	26.7	5	5	1
A.A. ^{e)} (simulate the amino acid pattern of egg white proteolysate-5)						
	9.08	54.22	26.7	5	5	1
EWP-5+Trp ^{f)}	10.00	53.279	26.7	5	5	1
PEP ^{g)}	8.88	54.31	26.7	5	5	1
Casein	8.99	54.31	26.7	5	5	1
SPI ^{h)}	10.00	53.30	26.7	5	5	1

^{a)} The content of nitrogen in each diet was adjusted to 1.311%.

^{b)} Oriental's mixture was used.

^{c)} EW=egg white.

^{d)} EWP-5=egg white proteolysate-5.

^{e)} A.A.=amino acids mixture.

^{f)} Twenty one mg of Trp was added to the 100 g diet.

^{g)} PEP=purified egg protein (obtained from Oriental Yeast Kogyo Co., Ltd.).

^{h)} SPI=soy protein isolate (obtained from Fuji Oil Co., Ltd.).

2) 第二実験 3週齢の雄 Sprague Dawley 系ラットを日本クレア(株)より購入後、ただちに Table 3 に示した窒素含量 1.311% の飼料にて、自由摂取法で飼育した。

第一、第二実験とも、ラットは底が金網になっているケージに個別に入れ飼育した。室温は $22 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度は 60% 前後に調節し、6~18 時は明、18~6 時は暗とした。体重および飼料の摂取量の測定は午前 9~10 時に行った。

4. 生化学的検査

栄養状態の判定の一つの指標とするために、血液の生化学的検査を行った。実験終了日の午前 9 時ごろにラットをペントバルビタールナトリウム麻酔下で開腹し、大動脈より注射器を用いて採血した。血液を 30 分間室温に放置後、血餅をはがし、3,000 rpm で 5 分間遠心分離を行い、上清を得、これを血清とした。血清は氷冷し、財団法人体質研究会血液研究所(京都)に送付し、分析を依頼した。

Table 4. Comparison of body weight gains and food efficiency ratio (FER) between rats fed the diets of egg white, amino acids mixture (simulated egg white), and egg white proteolysates (Experiment I). Rats were kept for 21 days.

Diet	Gain in body weight (g)	Food intake (g)	FER
EW	83.3±2.5 ^{a)e)}	268.6±7.9 ^{a)e)}	0.31±0.01 ^{a)d)}
A.A. (EW)	79.5±3.3 ^{a)}	296.2±8.6 ^{b)}	0.27±0.01 ^{b)}
EWP-1	87.4±1.4 ^{c)e)}	270.0±5.4 ^{c)d)e)}	0.32±0.01 ^{a)d)}
EWP-2	84.0±1.7 ^{a)e)}	281.1±2.3 ^{a)b)d)}	0.30±0.01 ^{a)b)e)}
EWP-3	87.6±0.9 ^{a)e)}	287.0±2.0 ^{a)b)}	0.30±0.004 ^{a)}
EWP-4	89.8±0.7 ^{b)}	283.9±3.2 ^{a)b)}	0.32±0.004 ^{c)d)e)}
EWP-5	90.6±3.0 ^{d)e)}	266.9±2.5 ^{e)}	0.34±0.01 ^{c)d)}

Values are means±SE for 7 rats. Different superscript letter in the same column means statistically significant difference at $p<0.05$. Abbreviations of the diets are the same as in Table 2.

5. 有意差検定

平均値間の有意差検定は分散分析 (F -検定) を行い、有意でない場合は Student の t -検定により、また有意であった場合には Cochran-Cox の検定により行った。

実験結果

1. 第一実験：加水分解率の異なる EWP, EW およびアミノ酸混合食の栄養価の比較

分解率の異なる EWP を用い、どの程度分解したものが栄養価が高いかを、幼若ラットの成長を指標として調べた。また同時に加水分解前の EW、もしくは EW のアミノ酸組成をまねたアミノ酸混合とも比較した。Table 4 に示したように、幼若ラットの体重増加量および飼料効率比は平均値では EWP-5 食が最も高い値を示し、アミノ酸混合食が最も低い値を示した。卵白の加水分解率の高いほうが、栄養価も高い傾向が認められた。

窒素源 15% レベルで最も幼若ラットの成長が良好であった EWP-5 につき、さらに窒素源レベルを 7% および 25% に変え、EW ならびに EW のアミノ酸組成をまねたアミノ酸混合と幼若ラットの成長を指標として栄養価を比較した。その結果、窒素源 15% レベルと同じく、7% および 25% レベルでも EW 食群と EWP-5 食群間には体重増加量および飼料効率比に有意差を見いだすことはできなかったが、これら 2 群はアミノ酸混合食群より有意に高い値を示した (データは省略した)。

栄養状態判定の指標とするために、血中アルカリホスファターゼ (ALP) 活性、全タンパク質 (TP) 量、アルブミン/グロブリン (A/G) 比、全コレステロール (T-Cho) 量、中性脂肪 (TG) 量、遊離脂肪酸 (NEFA) 量、リン脂質 (PL) 量および尿素量を測定した。Table 5 に示したように、窒素源 15% レベルでは EW 食群と、EWP-5 食群の間には血中指標全般にわたって有意差を

見いだすことはできなかったが、これら 2 群とアミノ酸混合食群においては、ALP 活性、T-Cho および PL 量に差が見いだされ、これらの値すべてアミノ酸混合食群のほうが高い値を示した。同様の結果が窒素レベル 7% および 25% でも認められた (データは省略した)。

2. 第二実験：EWP-5, EWP-5 のアミノ酸組成をまねたアミノ酸混合、EW, PEP, Casein および SPI の栄養価の比較

一般的に利用されている窒素源である PEP, Casein, SPI と EWP-5 の栄養価を比較した。また同時に EW, EWP-5 のアミノ酸組成をまねたアミノ酸混合の栄養価とも比較した。さらに、Rama Rao ら⁶⁾ の幼若ラットに対する最低アミノ酸必要量パターンから計算すると EWP-5 の第一制限アミノ酸は Trp でありその値は 67 となるので、EW の Trp レベルと同じになるように、EWP-5 に遊離の Trp を添加し、その添加効果を調べた。Table 6 に示したように、体重増加量は、SPI < Casein < A.A. < EW < EWP-5 = EWP-5 + Trp = PEP であり、EWP-5 は SPI, Casein および EW よりも高い栄養価を示し、PEP とほぼ等しかった。EWP-5 + Trp 群と EWP-5 群の体重増加量はほぼ等しく Trp の添加効果は認められなかった。

実験 I と異なり、自由摂取法で行っているため飼料摂取量は飼料により若干異なり、PEP 群が 441 g と多く食べ、SPI 群が 310.9 g と最も少なかった。

飼料効率比を比べると、SPI < Casein < A.A. < EW < PEP < EWP-5 = EWP-5 + Trp となり、体重増加量と同じく EWP-5 群が最も高い値を示した。すなわち、EWP-5 は本実験条件下では、SPI, Casein, EW および PEP よりも栄養価が高いことが見いだされた。特筆すべきことは、EWP-5 のアミノ酸価が 67 と低いのに第一制限アミノ酸の Trp の添加効果がまったく認められな

Table 5. Comparison of biochemical indices of serum between rats fed the diets of egg white, amino acids mixture (simulated egg white) and egg white proteolysate-5 (Experiment I).

	EW	EWP-5	A.A. (EW)
Alkaline phosphatase (U)	26.4±0.5 ^{a)}	28.7±1.9 ^{a)}	36.3±0.1 ^{b)}
Total protein (g/dl)	4.9±0.2	5.0±0.1	4.8±0.1
Albumin/Globulin	3.1±0.1	3.1±0.1	3.1±0.1
Total-Cholesterol (mg/ml)	65±2 ^{a)}	64±3 ^{a)}	76±1 ^{b)}
Triglyceride (mg/dl)	46±4	48±9	53±5
None esterified fatty acid (mEq/l)	0.64±0.04	0.84±0.08	0.70±0.04
Phospholipid (mg/dl)	168±5 ^{a)}	166±6 ^{a)}	190±2 ^{b)}
Urea (mg/dl)	4.3±1.1	4.3±0.5	4.8±1.5

Values are means±SE for 4 rats. Different superscript letter in the same line means statistically significant difference at $p<0.05$. Abbreviations of the diets are the same as in Table 2.

Table 6. Comparison of body weight gain, food intake and food efficiency ratio (FER) between rats fed the diets of egg white proteolysate-5, amino acids mixture (simulated egg white proteolysate-5), egg white, purified egg protein, casein and soy protein isolate (Experiment II). Rats were kept for 31 days.

Diet	Body weight gain (g)	Food intake (g)	FER
EW	96.4±4.1 ^{a)}	360.0±9.1 ^{a)}	0.26±0.01 ^{a)}
EWP-5	119.7±6.6 ^{b)}	386.3±2.4 ^{b)e)}	0.31±0.01 ^{b)c)}
EWP-5+Trp	123.5±6.8 ^{b)}	381.0±14.2 ^{a)e)}	0.32±0.01 ^{b)e)}
A.A. (EWP-5)	85.3±4.5 ^{a)e)}	346.9±9.1 ^{a)f)}	0.24±0.01 ^{c)}
PEP	127.9±9.9 ^{b)}	441.0±17.3 ^{c)}	0.29±0.02 ^{a)e)}
Casein	73.9±4.4 ^{c)e)}	341.1±14.7 ^{a)f)}	0.22±0.01 ^{c)}
SPI	52.5±5.3 ^{d)}	310.9±14.8 ^{d)f)}	0.17±0.01 ^{d)}

Values are means±SE for 5 rats. Different superscript letter in the same column means statistically significant difference at $p<0.05$. Abbreviations of the diets are the same as in Table 3.

かったことである。

考 察

第一実験の EWP-5 群と A.A. (EW パターン) 群において EWP-5 のほうが体重増加量および飼料効率比が有意に高かったこと、および第二実験の EWP-5 群と A.A. (EWP-5 パターン) 群においても EWP-5 のほうが有意に高かったことは、低分子ペプチドとして存在しているアミノ酸のほうが、遊離状態で存在しているアミノ酸より有効に体タンパク質合成に利用されていることを意味していると思われる。

タンパク質とアミノ酸混合食との栄養効果の比較において、伊藤ら⁷⁾は、アミノ酸混合食群は高浸透圧のために摂食量の低下が起き、その結果体重増加量がタンパク

質食群より劣ると報告している。しかし、第二実験では自由摂取法で行ったが、EW 食群ならびに EWP-5 食群に比して、アミノ酸混合食群に顕著な摂食量の低下は認められなかった。

EW を酵素加水分解して、高分子画分を除去し、低分子ペプチドのみにした EWP-5 は未消化体の EW 食もしくは EW のアミノ酸組成をまねた A.A. 食よりもアミノ酸価 (Rama Rao ら⁸⁾の幼若ラットの最低アミノ酸必要量パターンを使用して EW および EWP-5 のアミノ酸価を計算すると、両者ともに第一制限アミノ酸は Trp でおおのその値は 80 と 67 となる) は低いにもかかわらず有意に高い成長速度と飼料効率比を示した。この結果は、低分子ペプチドの優秀性を示す一つの貴重なデータである。EWP-5 が EW よりも Trp が少なく

Table 7. Essential amino acid pattern of N-sources used in this experiment.

Amino acid	Rama Rao ⁶⁾ *	Purified egg protein ⁹⁾	Milk casein ¹⁰⁾	Soy protein isolate ¹⁰⁾	EW	EWP-5
His	2.5	2.4	3.0	2.3	2.5	2.7
Arg	2.1	6.5	3.8	5.9	5.8	6.0
Ile	5.5	5.8	5.5	4.8	5.4	5.4
Leu	7.0	9.0	9.7	7.3	9.1	9.1
Lys	9.0	7.1	8.3	5.8	7.2	7.3
Met	1.6	3.5	2.8	1.1	4.3	4.0
Cys	3.4	2.1	0.4	1.0	2.8	2.6
Total	5.6	7.1	3.2	2.1	7.1	6.6
Phe	4.2	5.5	5.3	4.6	6.2	6.0
Tyr	3.0	4.3	5.9	3.1	3.9	3.8
Total	7.2	9.8	11.2	7.7	10.1	9.8
Thr	5.0	4.8	4.8	2.8	4.6	4.7
Val	5.5	6.7	6.9	5.0	6.3	7.7
Trp	1.5	1.5	1.6	1.6	1.2	1.0

Values are expressed as g/16 g N.

* This number means the Reference number.

制限になっていると思われるのに、実際には栄養価が高かった一つの理由としては、EWP-5 が酵素分解に対して抵抗性のある高分子成分が除かれ、吸収されやすい低分子ペプチド成分だけになったためではないかと考えられる。一方、山本ら⁸⁾はカゼイン、カゼイン酵素分解物ならびにカゼインと同じ組成のアミノ酸混合物の三者の異なる窒素源のラットの成長に与える影響を検討しているが、飼料摂取量、体重増加量ともに差がないと報告している。これはわれわれの結果とは異なっていた。この違いは、飼料に用いた窒素源のアミノ酸組成の差異に起因するのかもしれない。

窒素源の形態の違いによって成長に差がでたので、この差の出る原因を探る一つの方法として血中の生化学的指標を検討した。その結果、A.A. 食 (EW パターン) 群の ALP 活性が EW 食群および EWP-5 食群よりも有意に高い値を示し、A.A. 食群のラットにおいては肝機能に影響を与えている可能性が示唆された。また、A.A. 食群の T-Cho 含量および PL 含量も EW 食群および EWP-5 食群よりも有意に高く、脂質代謝にも異常をきたしている可能性が示唆された。

一般的によく利用されているタンパク質である PEP, Casein, および SPI 食と EWP-5 食を与えた幼若ラットの成長および飼料効率比を比較した結果、EWP-5 は Table 7 に示した値から計算するとそのアミノ酸価は 67 となり比較的低いにもかかわらず、SPI 食群、Casein

食群よりも有意に高く、PEP 食群とほぼ同じ体重増加量を示し、かなり良好な窒素源となることが見いだされた。この原因は、前にも述べたが、EWP-5 が酵素分解に対して抵抗性のある部分が除かれたためであろう。また A.A. 食 (EWP-5 パターン) 群よりも有意に EWP-5 食群のほうが体重の増加量が高く、また EWP-5 の未変化体である EW よりも有意に高い値を示した。この実験 (第二実験) では自由摂取法であるが、タンパク質である EW, 加水分解した低分子ペプチドである EWP-5, A.A. (EWP-5 パターン) 食群ともに飼料摂取量において大差は認められなかった。また EWP-5 の第一制限アミノ酸である Trp を添加してもまったくその添加効果が認められなかった。このことは EWP-5 の Trp 制限は、アミノ酸価ほど制限になっておらず、低分子ペプチド中の Trp は遊離 Trp もしくはタンパク質中の Trp よりもかなり有効に体内で利用されると考えられた。

要 約

卵白 (EW) を *Rhizopus* 属の酸性プロテアーゼにより、種々の時間分解したペプチドを調製し、その栄養価を幼若ラットの成長から求めた。EW 酵素分解物中では、分解率が最も高い低分子ペプチドである EWP-5 が最も栄養価が高かった。また、EWP-5 の栄養価は未変化体である EW および EW のアミノ酸組成に相当するアミノ酸混合よりも高かった。アミノ酸混合食群の血中

アルカリホスファターゼ活性は、EW 食群の値より有意に高い値を示し肝機能に支障をきたしている可能性が示唆されたが、低分子ペプチドである EWP-5 食群では認められなかった。一般的によく使用されている精製全卵タンパク質、カゼイン、分離大豆タンパク質、EW および EWP-5 の栄養価を比較した結果、EWP-5 食群の体重増加量は、分離大豆タンパク質、カゼインおよび EW 食群よりも有意に高く、精製全卵タンパク質群とほぼ同じ値を示した。EWP-5 の第一制限アミノ酸は Trp であるが、Trp の添加効果は認められなかった。以上のことから、低分子ペプチドである EWP-5 は未消化体である EW、もしくはアミノ酸混合食よりも良好な窒素源であると考えられる。

文 献

- 1) 萩原 博, 高野康夫: 医学のあゆみ, **94**, 408

- (1975)
- 2) 荒井綜一: 栄養と食糧, **31**, 247 (1978)
- 3) 山本 茂: 日本栄養・食糧学会誌, **39**, 81 (1986)
- 4) 京都大学農学部食品工学教室(編): 食品工学実験書(上), 547 (1970), 養賢堂(東京)
- 5) 京都大学農学部食品工学教室(編): 食品工学実験書(上), 537 (1970), 養賢堂(東京)
- 6) Rama Rao, P.B., Norton, H.W. and Johnson, B.C.: *J. Nutr.*, **73**, 38 (1961)
- 7) Itoh, H., Kishi, T., Ema, M. and Chibata, I.: *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **22**, 457 (1976)
- 8) Yamamoto, S., Korin, T., Anzai, M., Wang, M-F., Hosi, A., Abe, A., Kishi, K. and Inoue, G.: *J. Nutr.*, **115**, 1436 (1985)
- 9) Yamaguchi, M. and Kandatsu, M.: *Agric. Biol. Chem.*, **37**, 809 (1973)
- 10) 細谷憲政, 印南 敏, 五島孜郎(編): 小動物を用いる栄養実験, 130 (1980), 第一出版(東京)

(1986年12月18日受理)