ラットの血漿コレステロール値およびタンパク質 栄養価に及ぼす分離大豆タンパク質への エクストルージョン処理の影響

福井 健介, 青山 敏明

橋本 征雄, 山本 孝史

不二製油株式会社中央研究所栄養健康室

Effect of Extrusion of Soy Protein Isolate on Plasma Cholesterol Level and Nutritive Value of Protein in Growing Male Rats

Kensuke FUKUI, Toshiaki AOYAMA, Yukio HASHIMOTO
and Takashi YAMAMOTO

*Nutrition & Health Dept., Central Research Institute,
Fuji Oil Co., Ltd., Izumisano 598*

Nippon Eiyō Shokuryō Gakkaishi (*J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.*) 46, 211~216 (1993)

The effects of extrusion and frying of soybean protein isolate (SPI) on plasma cholesterol level and protein value were studied in growing male rats given five different diets. The control diet consisted of 20% casein. In the other diets, 50% of the casein in the control diet was replaced by SPI (N-SPI), SPI textured by extrusion (T-SPI), fried T-SPI (F-SPI) or fried chicken (F-Ckn). Total plasma cholesterol levels in the N-SPI, T-SPI, and F-SPI diet groups were significantly lower than in the control or F-Ckn group. Fecal neutral and acidic steroid excretion in the N-SPI, T-SPI, F-SPI and F-Ckn diet groups were all higher than in the control group. There were no differences in plasma cholesterol level, fecal steroid excretion, apparent protein digestibility or biological value among the N-SPI, T-SPI and F-SPI diet groups. These results suggest that extrusion and frying of SPI does not affect the protein value or plasma cholesterol-lowering effect of SPI.

Key Words cholesterol, soy protein isolate, extrusion, nutritive value, rat.

(Received September 14, 1992)

大豆タンパク質は優れた血中コレステロール濃度調節作用をもち栄養的にも優れたタンパク質として近年注目されてきており、加工食品用として年々需要が増加しその用途も広がってきている。そのうちわれわれは新しい大豆加工食品として、大豆タンパク質をエクストルージョンにより組織化したのちからあげにした「大豆からあげ」を開発し商品化してきた。ここで用いるエクストルーダーとはスクリーンを用いた連続押し出し処理装置のことである。この利点として高温・高圧処理をすることにより繊維状などのまったく違った物性を有する食品材料を生み出すこと、搬送、圧縮、混合、殺菌、調理、成形といった食品加工を短時間で連続的に行えることが

あげられる¹⁾²⁾。このうちでも10年前に発明された2軸型のエクストルーダーは近年になって食品の加工用として活発に開発研究が行われ、物性や成分に及ぼす基礎的な検討がなされるとともに^{3)~5)}、多くの素材で生産に応用されてきている⁶⁾。

ところで、分離大豆タンパク質(SPI)が血中コレステロール濃度調節効果をもつことについてはこれまでに数多くの実証がなされている⁷⁾⁸⁾。一方、組織化したSPIのタンパク質食品での効果も検討されている^{9)~11)}。しかし、加工処理の影響として原料と食品を同時に比較検討した報告は数多くない。本研究では、分離大豆タンパク質の栄養価ならびに血漿コレステロール調節作用について、エクストルージョンおよびからあげ処理の影響をみ

る目的で SPI そのもの (N-SPI), 組織化 SPI からあげ (F-SPI) および組織化のみ行った SPI (T-SPI) についてラットで調べた。

実験方法

1. 試料の調製

Fig.1 に大豆タンパク質の加工工程図を示した。まず従来からの方法で脱脂大豆から SPI (ニューフジプロ-R, 不二製油㈱製) が製造される (N-SPI)。その SPI にエクストルージョンを施して組織化 SPI を調製した (T-SPI)。組織化 SPI からあげ (F-SPI) はその T-SPI に衣として馬鈴薯デンプンをまぶして約 170°C の大豆油で 40 秒間フライをして調製した。エクストルージョンは幸和工業㈱製の同方向回転型二軸エクストルーダー (KEI 45 型, $L/D=25$) を用い、スクリュウ回転数 250 rpm, 原料供給量 25 kg/h, 水分量 30.2%, 最高処理温度 159°C および先端圧力 12~13 kg/cm² の運転

Fig.1. Scheme of soy protein processing.

SPI was textured with an extruder (Model KEI 45, co-rotative twin-screw extruder, Kowa Kogyo Co., Ltd., Osaka, Japan) at the following conditions; feeding rate (25 kg/h), screw rotation speed (250 rpm), moisture content (30.2%), max temperature (159°C) and extrusion pressure (12-13 kg/cm²).

条件で行った。一方, 比較食品タンパク質として用いた鶏からあげのサンプルは, 鶏肉 (若鶏のもも肉) の皮を除去してから 1 片 20~25 g に切断し, 次に衣として馬鈴薯デンプンをまぶして約 170°C の大豆油で 2~3 分フライしたものを用いた (F-Ckn)。T-SPI, F-SPI および F-Ckn の試験食の調製は, おおの凍結乾燥して粉末化したものを配合した。なお, 試験タンパク質サンプルの成分組成を Table 1 に示した。

実験飼料の組成は Table 2 に示した。試験食はいずれの食餌も 20% のタンパク質を含む。Control 食には全量カゼイン (ビタミンフリーカゼイン, オリエンタル酵母㈱製) を用いた。その他の各試験群では半分の 10% を試験タンパク質で置き換えた。各タンパク質源中のタンパク質含量はケルダール法 (ケルテックオートアナライザー 1030, 日本ゼネラル㈱製) を用いて窒素含量を定量し, 窒素-タンパク質換算係数として一律 6.25 を用いて粗タンパク質量を算出した。油分はタンパク質源中の油とあわせて 10% になるように大豆油を添加した。なお, すべての飼料にコレステロール 0.5% およびコル酸ナトリウム 0.125% を添加した。

2. 実験動物

実験動物は 5 週齢の Sprague-Dawley 系雄ラット (体重 130~150 g) を日本クレア㈱より購入し, 市販固型飼料 (CRF-1, オリエンタル酵母㈱製) で 1 週間予備飼育した後, 各群の体重が揃うように群分けを行い, 実験飼料で 4 週間飼育した。飼育は個別ケージにラットを入れ, 温度 23±1°C, 湿度 55±5% の 12 時間明暗サイクル (7:00-19:00 照明) で行った。水および飼料は自由に摂取させ, 摂食量および体重は毎日測定した。

27 日目の 18 時より絶食を開始し, 28 日目の 10 時よりネブタール麻酔下 (0.08 ml/100 g BW) で開腹し, ヘパリン処理した注射器で腹部大動脈より採血した。血液は 5°C, 3,000 rpm, 10 分間の遠心分離条件で血漿を分離し, 測定時まで凍結保存した。

3. 分析方法

血液成分のうち総コレステロール (T-Chol), HDL コ

Table 1. Composition of nitrogen source.

(%)

	Casein	Fried chicken	Fried, textured SPI	Textured SPI	SPI
Protein*	88.2	45.8	54.0	83.2	82.8
Fat	0.3	26.1	14.2	0.2	0.1
Ash	1.6	2.3	1.9	4.1	4.3
Moisture	4.0	0.2	2.9	6.6	5.4
Carbohydrates**	5.9	25.6	27.0	5.9	7.4

* Kjeldahl nitrogen-to-protein factor of 6.25 was used. ** By difference.

Table 2. Composition of experimental diets.

(%)

Components	Control	F-Ckn	F-SPI	T-SPI	N-SPI
Casein	22.7	11.3	11.3	11.3	11.3
Fried chicken	—	21.8	—	—	—
Fried, textured SPI	—	—	18.5	—	—
Textured SPI	—	—	—	12.0	—
SPI	—	—	—	—	12.1
Corn starch	38.0	34.8	35.0	37.6	37.5
Sucrose	19.0	17.4	17.5	18.8	18.8
Soybean oil	10.0	4.3	7.3	10.0	10.0
Vitamin mix. (AIN-76)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Mineral mix. (AIN-76)	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
Cellulose	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Choline bitartrate	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Cholesterol	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Sodium cholate	0.125	0.125	0.125	0.125	0.125

The dietary protein levels were set at 20%.

レステロール (HDL-Chol), トリグリセリド (TG), 総タンパク質 (TP), アルブミン (Alb), グルコース (Glu) および尿素窒素 (Urea-N) 濃度, GOT および GPT 活性を分析した。これらはいずれもドライケム 5500 (富士フィルム(株)製)を用いて行った。

タンパク質の出納をみるために試験食期 4 週目の 3 日間に代謝ケージを用いて糞および尿を採取した。それぞれの窒素をケルダール法を用いて定量し, タンパク質の見かけの消化率および生物価を次式に従って算出した。

見かけのタンパク質消化率

$$= \{(\text{摂取 N 量} - \text{糞 N 量}) / \text{摂取 N 量}\} \times 100$$

見かけの生物価

$$= \{(\text{摂取 N 量} - \text{糞 N 量} - \text{尿 N 量}) / (\text{摂取 N 量} - \text{糞 N 量})\} \times 100$$

また, 屠殺直前の 3 日間に糞の採集を行い, 排泄されたステロイド (中性, 酸性) を Grundy ら¹²⁾ の方法に従って分析した。

なお, すべての測定値および分析値について群ごとに平均値と標準誤差を出し, 有意差の検定は Duncan's multiple range test によって行った。

実験結果

1. 成長・窒素出納

Table 3 に体重, 摂食量, 飼料効率 (FER), タンパ

Table 3. Body weight, food intake, food efficiency ratio (FER), apparent protein digestibility (AD) and apparent biological value (BV) of rats fed experimental diets for 4 weeks.

Group	Body weight		Food intake (g/day)	FER	AD* (%)	BV*
	Initial (g)	Final (g)				
Control	193±1	402±9	22.3±0.6 ^a	0.347±0.009 ^a	95.5±0.2 ^a	44.2±1.0
F-Ckn	194±1	425±12	22.4±0.7 ^{a,b}	0.380±0.009 ^b	94.4±0.2 ^b	42.2±1.1
F-SPI	193±1	425±11	24.2±0.8 ^b	0.353±0.006 ^a	93.6±0.3 ^b	43.6±1.8
T-SPI	193±1	428±9	24.1±0.5 ^{a,b}	0.360±0.007 ^{a,b}	94.0±0.2 ^b	43.2±1.4
N-SPI	193±1	408±3	22.7±0.3 ^{a,b}	0.351±0.003 ^b	94.2±0.3 ^b	42.8±0.7

Values are means±SE of 9 rats. Values in vertical columns with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test. * Feces and urine were collected for 3 days in the fourth week. Nitrogen contents were determined by using Kjeltec Auto 1030 Analyser (Nippon General Trading Co., Tokyo, Japan).

ク質の見かけの消化率 (AD) ならびに生物価 (BV) の結果を示した。飼育終了時の動物の体重は各群間において有意な差がみられなかった。F-SPI 群の1日当りの摂食量は Control 群より有意に多かったが、その他の群には有意な差がみられなかった。F-SPI 群, T-SPI 群および N-SPI 群のタンパク質の見かけの消化吸収率はいずれも高い数値を示しており、どのタンパク質も良好に消化吸収されることが確認された。F-Ckn 群の飼料効率が他の4群に比べて高くなったが、SPI 系の3群はほぼ同等の値であった。逆に、生物価では F-Ckn 群に比べ、SPI 系の3群でむしろ高くなる傾向がみられたが、有意な差ではなかった。

2. 血漿コレステロールおよびトリグリセリド濃度

Table 4 に血漿脂質濃度を示した。F-Ckn 群の T-Chol 濃度は Control 群より有意に低かったが、F-SPI 群, T-SPI 群および N-SPI 群では F-Ckn 群よりも有意に低くなった。SPI 系3群の T-Chol 濃度はまったく変わらなかった。

また F-SPI 群と T-SPI 群の HDL-Chol 濃度が N-SPI 群より低くなる傾向がみられたが、全群間で有意差はなかった。

TG 濃度は SPI 系3群に比べて Control 群が高く、F-Ckn 群で低くなる傾向がみられたが、これも全群間で有意な差はなかった。

3. 一般血漿成分

動物の栄養状態などに関する知見を得るために調べた一般血漿成分 (TP, Alb, Glu, Urea-N, GOT, GPT) の結果を Table 4 に示した。F-SPI 群の Urea-N 濃度が Control 群に比べて低い値を示した以外にはそれぞれの群間に有意な差はみられず、少なくともこれらの血液性状からは特異な生理的変化はうかがえなかった。

4. 糞中ステロイド排泄量

大豆タンパク質が血中コレステロール濃度を調節する作用機構の一つとして糞中ステロイドの排泄を促進させることがあげられる。本試験の血中コレステロール濃度の結果の裏付けを確認するために糞中ステロイドの分析を行った。Table 5 に1日当りに糞中から排泄されたステロイドの量を示した。SPI 系3群のステロイド総排泄量はほとんど差がなくいずれも Control 群よりも有意に多く排泄されていることが確認できた。一方、F-Ckn 群のステロイド総排泄量は SPI 系3群と差がなかった。これらの傾向は酸性、中性のいずれのステロイドについても同様であった。

考 察

今回、SPI の血漿コレステロール調節作用ならびにタンパク質栄養価に及ぼすエクストルージョンおよびから

Table 4. Plasma components of rats fed experimental diets for 4 weeks.

Group	Total-cholesterol (mg/dl)	HDL-cholesterol (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)	Total-protein (g/dl)	Albumin (g/dl)	Glucose (mg/dl)	Urea-N (mg/dl)	GOT (IU/h)	GPT (IU/h)
Control	92.2±6.2 ^a	26.0±2.4	78.2±6.6	5.81±0.10	3.54±0.14	137±8	13.9±0.6 ^a	131±15	23.1±4.4
F-Ckn	79.1±1.7 ^b	24.7±2.2	60.2±3.1	5.59±0.10	3.38±0.11	138±7	13.1±0.4 ^{ab}	153±31	20.7±1.7
F-SPI	67.3±3.9 ^c	20.4±1.0	69.9±3.6	5.63±0.11	3.42±0.15	138±6	11.6±0.5 ^b	112±7	21.4±3.2
T-SPI	65.7±4.0 ^c	21.2±1.4	68.1±2.9	5.59±0.08	3.40±0.12	134±7	13.1±0.9 ^{ab}	113±6	20.6±3.4
N-SPI	66.4±3.0 ^c	25.2±1.5	69.9±2.9	5.57±0.09	3.42±0.13	142±7	12.9±0.4 ^{ab}	103±7	18.9±1.6

These plasma components were determined by using DRY-CHEM 5500 (Fuji Photo Film Co., Ltd., Tokyo, Japan).

Values are means±SE of 9 rats. Values in vertical columns with different superscript letters are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

Table 5. Fecal steroid excretion of rats fed experimental diets for 4 weeks.

Group	Neutral steroids (mg/day)	Acidic steroids (mg/day)	Total (mg/day)
Control	57.3±2.8 ^a	4.2±0.5 ^a	61.5±3.0 ^a
F-Ckn	67.9±3.2 ^b	6.2±0.5 ^b	74.1±3.0 ^b
F-SPI	67.7±2.7 ^b	6.8±0.7 ^b	74.5±2.2 ^b
T-SPI	71.0±2.9 ^b	7.3±0.3 ^b	78.2±2.8 ^b
N-SPI	71.2±3.0 ^b	6.7±0.5 ^b	77.9±2.8 ^b

Feces were collected for last 3 days of experimental period. Values are means±SE of 9 rats. Values in vertical columns with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

あげ処理の影響をみることを目的に研究を行った。

今回の結果より全群のラットの摂食量ならびに体重の増加量は順調で、正常に発育した。SPI 系 3 群の消化吸収率および生物価には差がみられなかった。このことは大豆に高温でエクストルージョンをしてもタンパク質の栄養価に望ましくない影響はないという古市らの報告¹³と一致した。大豆系 3 群の生物価は Control 群や F-Ckn 群とも差がなかったことより、SPI にこれらの処理を施しても良質なタンパク質栄養を保持したといえるであろう。

ラット血中の TP, Alb, Glu, GOT および GPT の分析値は各群間で有意な差がなく、これらの血液性状には特異な変化は観察されなかった。本試験での Urea-N の結果は全 5 群の中で Control 群が高い傾向、SPI 系 3 群が低い傾向を示した。Urea-N 値が低いことは N の保留にとって都合がよいことであると考えられる場合が多い。しかし、全群とも通常の変化の範囲であり、おそらく特異な生理的变化を示すものではないだろう。

大豆タンパク質の生理効果の一つとして血漿コレステロール調節作用がよく知られている。Sirtori ら^{9,10)}は高コレステロール血症患者に対して組織化した大豆タンパク質食品が血漿コレステロール濃度を低減する作用のあることを確認した。また、Kritchevsky ら¹¹⁾は組織化した植物性タンパク質が牛肉タンパク質やカゼインに比較して有意に血漿コレステロール濃度を低下させることをウサギを用いて確認している。われわれはラットを用いて、組織化を行った SPI がカゼインおよび鶏肉タンパク質に比べて有意にコレステロール上昇を抑えることを確認した。これと同時に加工度の異なる SPI を比較することにより、大豆タンパク質がもつ有意な血漿コレステロール低下作用は加工の有無に関わらず維持されることを確認した。

Nagata ら^{14,15)}、Huff ら¹⁶⁾は SPI がカゼインよりもステロイドの排泄を促進あるいは吸収を抑制して、血中コレステロールの調節作用に貢献することを報告している。Sugano ら^{17,18)}は大豆タンパク質の血中コレステロール濃度調節作用の一つとして非消化性の高分子画分に胆汁酸結合性の活性本体が含まれているという考え方を示している。このペプチドフラグメントはエクストルージョンやからあげ処理を行っても分解されにくいものと考えられ、SPI 系 3 群の血漿 T-Chol 濃度とステロイドの排泄量がほとんど同じ値を示した本研究の結果はこの考え方を支持するものであろう。また、SPI 系 3 群のステロイドの排泄量は Control 群より有意に多くなったことより、ステロイドの排泄促進または吸収抑制が血中コレステロール濃度を低下させる作用の一つとして働いていることが示唆された。

一方、吉田ら¹⁹⁾は大豆タンパク質による血清コレステロールの低下が単にステロイドの吸収阻害のみによる作用でないことを指摘している。ステロイドの排泄促進と吸収抑制以外に SPI によるコレステロール調節作用に関わる要因として、肝臓から血中へのコレステロール放出量の減少²⁰⁾、肝臓 LDL レセプター活性の上昇²¹⁾、ホルモンの影響²²⁾など多くのメカニズムが考えられている。今回、SPI 系 3 群の血漿 T-Chol 濃度は F-Ckn 群よりも有意に低かったにも関わらずステロイドの排泄量はこれら 4 群で差がなく、この血漿 T-Chol 濃度の差は前述のステロイドの排泄促進のみによって生じているのではないと考えられる。

以上のことから、SPI に対する本試験条件のエクストルージョンおよびからあげ処理では、タンパク質栄養価へ影響を示さず、さらに SPI の血漿コレステロール値低下作用は維持されていることが確認された。

要 約

分離大豆タンパク質 (SPI) に対するエクストルージョンおよびからあげ処理が血漿コレステロール値およびタンパク質栄養価に及ぼす影響を成長期の雄ラットを用いて検討した。対照を 20% カゼイン食 (Control) とし、そのカゼインの 50% を SPI (N-SPI)、エクストルージョンによって組織化した SPI (T-SPI)、その T-SPI をからあげにしたもの (F-SPI)、あるいは鶏肉をからあげ処理したもの (F-Ckn) で置き換えた計 5 種類の試験食を用いた。食餌中の油分は 10% に揃えて 0.5% のコレステロールを添加した。結果を以下に示す。

1) 大豆タンパク質系 3 群は、Control 群および F-Ckn 群に対して有意な血漿コレステロール濃度低下作用を示した。

2) 大豆タンパク質系 3 群および F-Ckn 群は、Con-

trol 群よりも糞中ステロイド排泄を促進した。

3) エクストルージョンおよびからあげ処理の有無に関係なく、大豆タンパク質系3群は同等の血漿コレステロール濃度低下作用を示した。

4) エクストルージョンおよびからあげ処理の有無に関係なく、大豆タンパク質系3群は Control 群および F-Ckn 群と同等の良好なタンパク質栄養価を示した。

文 献

- 1) 五十部誠一郎：機械誌, **92**, 435 (1989)
- 2) 野口明德：食品と容器, **27**, 126 (1986)
- 3) 五十部誠一郎, 野口明德：食工誌, **34**, 456 (1987)
- 4) 五十部誠一郎, 野口明德：食工誌, **35**, 471 (1988)
- 5) 安本教傳：食品機能 (藤巻正生監修), 397 (1988), 学会出版センター (東京)
- 6) 「食品と開発」編集部：食品と開発, **27**, 4, 38 (1992)
- 7) 菅野道廣：栄養誌, **40**, 93 (1987)
- 8) 山本孝史, 井上五郎：栄養誌, **44**, 155 (1991)
- 9) Sirtori, C.R., Gatti, E., Mantero, O., Conti, F., Agradi, E., Tremoli, E., Sirtori, M., Fraterrigo, L., Tavazzi, L. and Kritchevsky, D.: *Am. J. Clin. Nutr.*, **32**, 1645 (1979)
- 10) Fumagalli, R., Soleri, L., Farina, R., Musanti, R., Mantero, O., Nosedà, G., Gatti, E. and Sirtori, C.R.: *Atherosclerosis*, **43**, 341 (1982)
- 11) Kritchevsky, D., Tepper, S.A., Czarnecki, S.K., Klurfeld, D.M. and Story, J.A.: *Atherosclerosis*, **39**, 169 (1981)
- 12) Grundy, S.M., Ahrens, E.H., Jr. and Miettinen, T.A.: *J. Lipid Res.*, **6**, 397 (1965)
- 13) 古市幸生, 窪田靖司, 杉浦洋一, 梅川逸人, 高橋孝雄, 河野省一：栄養誌, **42**, 165 (1989)
- 14) Nagata, Y., Tanaka, K. and Sugano, M.: *Br. J. Nutr.*, **45**, 233 (1981)
- 15) Nagata, Y., Ishiwaki, N. and Sugano, M.: *J. Nutr.*, **112**, 1614 (1982)
- 16) Huff, M.W. and Carroll, K.K.: *J. Lipid Res.*, **21**, 546 (1980)
- 17) Sugano, M., Yamada, Y., Yoshida, K., Hashimoto, Y., Matsuo, T. and Kimoto, M.: *Atherosclerosis*, **72**, 115 (1988)
- 18) Sugano, M., Goto, S., Yamada, Y., Yoshida, K., Hashimoto, Y., Matsuo, T. and Kimoto, M.: *J. Nutr.*, **120**, 977 (1990)
- 19) 吉田 昭, 小田裕昭, 福井英夫：大豆たん白質栄養研究会誌, **10**, 63 (1989)
- 20) Sugano, M., Tanaka, K. and Ide, T.: *J. Nutr.*, **112**, 855 (1982)
- 21) Lovati, M.R., Manzoni, C., Canavesi, A., Sirtori, M., Vaccarino, V., Marchi, M., Gaddi, G. and Sirtori, C.R.: *J. Clin. Invest.*, **80**, 1498 (1987)
- 22) Nosedà, G., Fragiaco, C., Gatti, E., Descovich, G. and Sirtori, C.R.: *Pharmacol. Res. Commun.*, **14**, 867 (1982)

(1992年9月14日受理)