

分離大豆たん白質投与妊娠ラットにおけるカルシウム利用について

CALCIUM UTILIZATION IN PREGNANT RATS FED SOY
PROTEIN ISOLATE

新山喜昭・坂本貞一（徳島大学医学部）

Yoshiaki NIIYAMA and Sadaichi SAKAMOTO

Department of Nutrition, School of Medicine, The University of Tokushima,
Tokushima 770

ABSTRACT

Effects of different sources in dietary protein and calcium on calcium utilization were investigated in pregnant rats by an apparent balance method. Pregnant rats of the Sprague-Dawley strain, weighing about 190 g, were fed one of the four combinations of diets containing SPI or casein and crystalline CaCO_3 or egg shell. Protein and calcium in diets were maintained at levels of 20% and 0.6%, respectively. All groups of pregnant rats showed gradual increases in their food consumption throughout pregnancy, except for terminal 2 or 3 days. Total food consumption during pregnancy was influenced only by the dietary proteins, not by sources of dietary calcium. However, food efficiency was affected by both factors. Efficiency of the diet containing SPI and egg shell was the lowest. There were no differences in calcium content of fetuses from four groups of dams. Regardless of dietary calcium sources, pregnant rats receiving casein diets retained about 700 mg of calcium during pregnancy with 36 to 38% of apparent absorption rates. On the other hand, absorption rate and retention in rats receiving SPI were influenced appreciably by the calcium source in diets. Rats receiving diets containing crystalline CaCO_3 and egg shell retained about 500 mg and 800 mg of calcium, respectively, during pregnancy and calcium content in femur from the latter animals was high. Reasons why a combination of SPI and egg shell resulted in an increased calcium utilization are obscure, and have to be studied further.

前報¹⁾ではカルシウム (Ca) を0.6%含む20%分離大豆たん白質 (SPI) 食あるいは20%カゼイン食を妊娠動物に投与し、飼料中たん白質源の差がCa代謝に及ぼす影響を観察した。その結果、SPI食投与群ではカゼイン食投与群に比し妊娠期間中のCa吸収率やCa蓄積量は若干低い。胎仔形成や胎仔のCa量に差はなく、また母体大腿骨Ca量も両群間でほぼ等しいことを示した。

ところで最近の国民栄養調査によれば、国民のCa摂取量は所要量より依然として低いことが報告²⁾されており、昨今の健康食品ブームと相俟って、種々のCa源を

用いたCa強化食品が市販されているのが現状である。そこで今回はCa源として卵殻粉を用いて実験を行い、妊娠ラットにおけるCaの吸収・利用について検討した。

実験方法

体重約190gのSD系の妊娠シロネズミを被験動物とし（対照として非妊娠シロネズミを使用）、妊娠期間中、Table 1に示したようなたん白質20%、Ca0.6%の飼料を自由に摂取させた。飼料のたん白質源にはSPIある

Table 1. Composition of experimental diets

Calcium source Protein Source Designation	Crystal CaCO ₃		Egg shell	
	Casein	SPI	Casein	SPI
	C-Ca	S-Ca	C-Es	S-Es
Casein	20.0	—	20.0	—
SPI (Fujiro R)	—	20.0	—	20.0
Starch	44.5	44.3	44.4	44.2
Sucrose	22.2	22.1	22.2	22.1
Corn oil	5.0	5.0	5.0	5.0
Salt mixture ¹	5.0	5.0	3.5 ²	3.5 ²
Vitamin mixture	1.3	1.3	1.3	1.3
Cellulose powder	2.0	2.0	2.0	2.0
L-Methionine	0.3	0.6	0.3	0.6
Egg shell powder ³	—	—	1.6	1.6
By analysis				
Calcium	0.59	0.58	0.57	0.60
Phosphorus	0.51	0.48	0.52	0.50
Ca/P	1.16	1.26	1.10	1.21

1 : Harper's mineral mixture.

2 : Harper's mineral mixture without CaCO₃ and CaHPO₄.

3 : Containing (%) ... Ca 37.7, P 0.106, Mg 0.376,
Na 0.096.

いはカゼインを用いた。Ca 源には結晶炭酸 Ca または卵殻粉を用いた。したがって実験食はカゼイン-炭酸 Ca 食 (C-Ca), カゼイン-卵殻食 (C-Es), SPI-炭酸 Ca 食 (S-Ca) と SPI-卵殻食 (S-Es) の 4 群となった。飼料中の塩混合組成は Harper 塩を基本とし、卵殻粉を用いる場合は Ca 塩を除いた Harper 塩に 0.6% Ca

に相当する卵殻粉を加えた。各飼料中の Ca の実測値は飼料 100 g 当たり 0.57~0.60 g, リン (P) は 0.48~0.52 g であった。卵殻粉はキューピー(株)の提供によるがその製造法と成分組成を Fig. 1 に示した。

水は脱イオン水を自由に飲ませた。実験期間中、毎日体重、摂食量を測定し、また 3 日単位で全期間採尿、

Preparation	Composition	
Whole egg	Moisture	0.5%
↓	Crude protein	5.1
Washing with water	Ash	95.3
↓		
Cracking	Ca	37.7%
↓ ↘	(95%)	
Shell Egg white + yolk	P	0.106
↓	Mg	0.376
Spin to remove the adhering egg white	K	0.041
↓	Na	0.096
Crushing	Fe	0.002
↓		
Drying at 350°C		
↓		
Grounding (400 mesh)		

Fig. 1 Preparation of egg shell powder and its composition

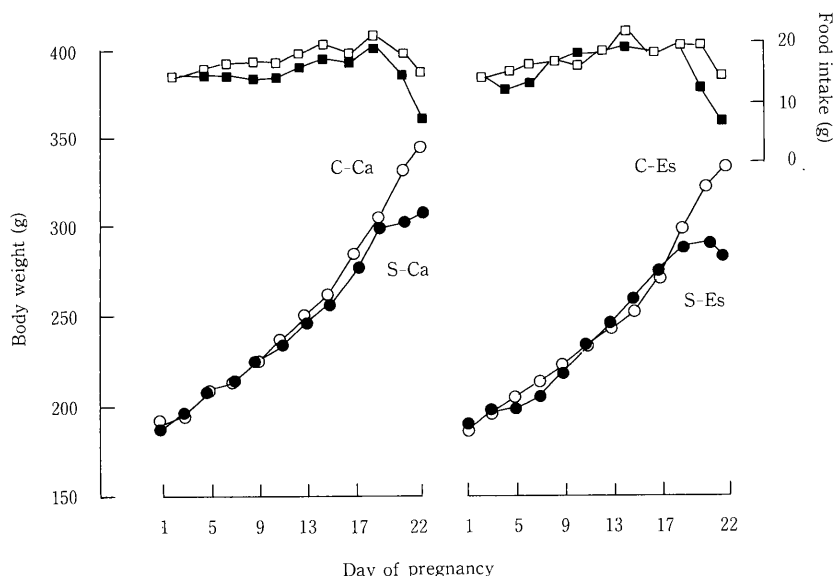


Fig. 2 Changes in food intake and body weight of pregnant rats receiving diets differing in protein and calcium sources.

採便を行い窒素(N)およびCa出納を観察した。動物は22日目に断頭屠殺し受胎物および母体大腿骨Ca量とP量を測定した。NとCaの測定法は前報¹⁾と同じであり、P測定はTassky法³⁾によった。

結果と考察

1. 摂食量, 体重増加量および飼料効率

各種の実験食投与妊娠動物の摂食量および体重の経日変化をFig. 2に示した。

摂食量は4群とも、妊娠の進行に伴い増加したが妊娠末期には減少した。この末期における食欲低下はカ

ゼイン群に比しSPI群が大きく、特にS-Es群で顕著で、これが体重増加に大きく影響した。

妊娠全期間中の摂食量, 体重増加量および飼料効率をTable 2に示した。妊娠動物の21日間の総摂食量は投与たん白質源により差が認められたが, Ca源による差は認められず, SPI食群は325g (S-Ca群 324g, S-Es群 326g) カゼイン食群は366g (C-Ca群369g, C-Es群363g)であった。

鈴木ら⁴⁾は発育期のネズミにCaを0.5%含み, マグネシウム(Mg)を0.06%あるいは0.20%含んだ18%カゼイン食を40日間投与し飼料中Mg量が高くなると摂食

Table 2. Food intake and weight gain during pregnancy

No.	Food intake	Weight gain	Food efficiency
g/21 days			
Pregnant			
C-Ca (7)	369±36 ²	162±18 ³	0.44±0.02 ³
S-Ca (5)	324±37 ³	119±27 ^{1,3}	0.36±0.05 ^{1,3}
C-Es (7)	363±18 ²	146±13 ³	0.40±0.03 ³
S-Es (12)	326±53	96±25 ^{1,3}	0.29±0.03 ^{1,3}
Non-pregnant			
C-Ca (7)	309±23	52±9	0.17±0.03
S-Ca (4)	278±15	46±8	0.17±0.03
C-Es (6)	318±22	50±12	0.16±0.03
S-Es (12)	317±24	45±12	0.14±0.03

Each value represents the mean±SD.

¹: p < 0.01 to casein group.

^{2,3}: p < 0.05, p < 0.01 to non-pregnant group.

量が低下するとしている。なお本実験に用いた卵殻粉のMg量は0.376%とかなり多いが、これを用いた飼料100g当たりのMgは約0.07%であり高Mg食とはなっておらず、したがってこの程度のMgが摂食量に影響を及ぼしてはいない。

一方、体重増加量に対してはたん白質源およびCa源ともに影響を示した。すなわち、SPI食群の21日間の体重増加量はカゼイン食群より約30%低く、また卵殻食群は炭酸Ca食より低値(SPI群20%減、カゼイン群は10%減)を示した。この結果、S-Es群の体重増加量は96gともっとも少なく、飼料効率も0.29と最低であった。卵殻Caを用いた飼料の効率が低いことの理由はまったく不明で今後の検討課題である。

非妊娠群では妊娠群ほど、飼料中のたん白質源やCa源の差が摂食量や体重増加量に影響を与えなかった。

2. 胎仔発育

各群の受胎物の発育状況をTable 3に示した。胎仔数には飼料による差は認められず、1腹当たり11~13匹であったが、受胎物総量や胎仔1匹当たりの重量は

SPI食群がカゼイン食群よりやや低く、特にS-Es群の受胎物総量は64.4gであり、1匹の胎仔重量は4.3gと他群に比しもっとも低い値を示した。しかし、1匹のCa量や1腹の全胎仔のCa量は、それぞれ10.5~10.9μgと115~135mgで4群間に差はなかった。

S-Es群の胎仔発育の抑制は妊娠末期における摂食量の減少(摂取エネルギーとたん白)のためであろう。またLaiら⁵⁾はCaレベルの異なる飼料を妊娠動物に与えた際、胎仔中のCa量は食餌Ca量とは無関係に一定であり、Ca欠乏食投与時には母体から胎仔へCa移動が効果的に起こることを示したが、このことは今回の実験でも確かめられた。

3. 窒素出納

妊娠期間中のN出納と飼料たん白の栄養価をTable 4に示した。妊娠群全体としては約9~10gのNを摂取し約3gのNを蓄積した。SPI食群の摂取N量はカゼイン食群より約1.4gほど低かったので蓄積量もやや少なかったが、逆に生物価は約4%ほど高くなった。またいずれの妊娠群も非妊娠群よりNを0.8~1.5g多く蓄

Table 3. Reproductive performance

	Wt of products of conception	Litter size	Fetus weight	Calcium in	
	g		g	fetus	fetuses
				mg	mg
C-Ca	83.7±11.8	13.0±2.2	4.91±0.28	10.46±1.11	135±21
S-Ca	72.6±8.0	11.4±2.0	4.59±0.46	10.93±1.89	127±37
C-Es	78.2±14.8	12.1±2.0	4.87±0.50	10.80±1.24	132±31
S-Es	64.4±6.6 ¹	11.0±2.0	4.32±0.40	10.55±0.95	115±17

Each value represents the mean±SD.

¹: p<0.05 to casein group.

Table 4. Nitrogen balance and nutritive values

	Intake	Balance	BV	True digestibility
	g/21 days			%
Pregnant				
C-Ca (7)	10.19±0.98 ⁴	3.09±0.30 ⁴	44.6±3.0 ⁴	95.7±0.6
S-Ca (5)	8.84±0.92 ¹	2.87±0.41 ⁴	49.2±3.6 ^{1,4}	94.7±1.0
C-Es (7)	10.47±0.55 ⁴	3.16±0.34 ⁴	43.8±2.6 ⁴	96.0±0.7
S-Es (7)	9.03±1.64 ¹	2.80±0.64 ³	47.6±3.7 ^{1,4}	94.4±0.8 ²
Non-pregnant				
C-Ca (7)	8.52±0.64	1.60±0.20	32.8±2.1	96.4±0.7
S-Ca (4)	7.68±0.42	1.88±0.25	40.4±3.3 ²	94.3±0.8 ²
C-Es (6)	9.02±0.58	1.83±0.29	33.5±2.1	95.3±0.4
S-Es (6)	8.50±0.35	2.00±0.24	38.5±3.2 ²	93.5±0.9 ²

Each value represents the mean±SD.

^{1,2}: p<0.05, p<0.01 to casein group.

^{3,4}: p<0.05, p<0.01 to non-pregnant group.

積し、かつ生物価も高く算出されており、これまでに報告⁶⁾したように妊娠時にはたん白質の利用が良くなっていることを示している。

4. カルシウム出納

Table 5 に妊娠および非妊娠動物に各実験食を投与した際の Ca 出納と見掛けの Ca 吸収率を示した。妊娠動物の Ca 摂取量は摂食量を反映し、SPI 食群はカゼイン食群よりやや少なかった。

カゼイン食群では Ca 源の違いによる Ca 吸収率や蓄積量に差はなく、約36～38%の Ca 吸収率を示し、ほぼ700mgの Ca を保留した。これに対し SPI 食群では Ca 源による差は著明で S-Es 群は S-Ca 群より Ca 吸収率は13%高く、Ca を約300mg多く蓄積した。同傾向の所見

は非妊娠群でも見られた。

速水⁷⁾は Ca 代謝に関する総説のなかで純粋な Ca 化合物（例えば炭酸 Ca、乳酸 Ca やリン酸 Ca など）や他物質と Ca の混合物（かきがら、卵殻や脱脂粉乳など）の Ca 利用には大差がないことを紹介している。また沢村ら⁸⁾は炭酸 Ca、乳酸 Ca およびグルクロン酸 Ca を含む飼料を発育期と成熟期のネズミに投与し Ca 利用を観察した結果、Ca 要求量の高い幼若シロネズミでは Ca 源による Ca の吸収、保留に差はなく、成熟ネズミでそれらに差が生じたとしている。本実験では卵殻由来の Ca と結晶炭酸 Ca との吸収、保留に差がみられたのであるが、Ca の吸収、利用に対し動物の年齢、生理的狀態（妊娠）や共存する他の栄養素、とくにたん白質源

Table 5. Calcium balance during pregnancy

	Intake	Feces	Urine	Balance	Apparent absorption	Retention
	mg/21 days				%	%
Pregnant						
C-Ca	2187±211 ⁴	1337±174	141±54 ³	709±163	38.7±7.1	32.4±7.4
S-Ca	1880±216 ¹	1322±259	55±16 ^{2,3}	503±93 ¹	30.2±5.6	27.2±6.6
C-Es	2084±104 ⁴	1328±118	61±20	695±141 ³	36.2±5.6	33.2±5.8
S-Es	1957±315	1107±217 ¹	48±30	801±185	43.3±5.9 ^{1,3}	40.9±6.7 ¹
Non-pregnant						
C-Ca	1828±137	1174±120	87±36	568±77	35.9±3.3	31.1±3.7
S-Ca	1612±88 ¹	1186±128	29±5 ²	396±58 ²	26.6±4.2 ²	24.7±4.3 ¹
C-Es	1823±124	1259±130	48±18	516±105	31.0±5.2	28.4±5.6
S-Es	1903±146	1126±145	27±24	750±164 ²	37.6±6.2 ¹	39.3±7.3 ²

Each value represents the mean±SD.

^{1,2} : p < 0.05, p < 0.01 to casein group.

^{3,4} : p < 0.05, p < 0.01 to non-pregnant group.

Table 6. Calcium and phosphorus contents in femur

	Weight			Calcium		Phosphorus		Ca/P
	Dry	Defat.	Ash	Conc. ¹	Total	Conc. ¹	Total	
	g			mg/g	mg	mg/g	mg	
Pregnant								
C-Ca	325±19	319±19	210±11	214±31	68±10	85±11	28±3	2.45±0.14
S-Ca	357±15 ²	343±12 ²	211±10	195±21	67±9	86±7	30±3	2.25±0.07 ²
C-Es	334±29	327±27	218±16	253±5	83±7	97±3	32±2	2.60±0.08
S-Es	337±24	329±23	217±14	243±17	80±9	104±8 ²	34±4	2.35±0.08 ³
Non-pregnant								
C-Ca	336±11	329±11	221±9	224±35	74±13	90±10	30±4	2.47±0.15
S-Ca	340±13	333±17	207±11 ²	194±20	65±10	87±5	29±3	2.23±0.11 ²
C-Es	329±26	323±25	216±16	256±7	83±8	100±2	32±2	2.58±0.08
S-Es	352±25	345±24	227±15	233±32	80±11	97±14	34±5	2.40±0.17 ²

Each value represents the mean±SD.

¹ : Amount per fat free dry weight.

^{2,3} : p < 0.05, p < 0.01 to casein group.

などが関与しているものと推定される。この点は今後さらに検討を要する。

5. 母体大腿骨のCa量

Ca蓄積の指標として母体大腿骨の分析値をTable 6に示した。骨の乾燥重量や脱脂乾燥重量には飼料による差はなかったが、灰分重量は非妊娠群のC-Es群を除き卵殻食投与動物で重くなる傾向にあった。また骨Ca量やP量は投与たん白の差は影響せず、Ca源により影響を受けるようで、卵殻食群の骨中Ca量は81.4mg、P量は32.9mgであり炭酸Ca群の68.5mgと29.1mgより高くなる傾向にあった。しかし妊娠第一日における骨Ca量はかなりまちまちであって（データは示さなかった）、したがってCa出納実験から求めた蓄積量と妊娠末期の母体骨Caとは必ずしも同傾向を示さないことがあった。

文 献

- 1) 新山喜昭, 坂本貞一 (1983): 分離大豆たん白質投与妊娠ラットにおけるカルシウム利用について. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **4**, 46-51.
- 2) 厚生統計協会 (1983): 厚生指標; 国民衛生の動向, **30**, p. 109.
- 3) Taussky, H.H. and Shorr, E. (1953): A microcolorimetric method for the determination of inorganic phosphorus. *J. Biol. Chem.*, **202**, 675-685.
- 4) Suzuki, K., Kanke, Y. and Goto, S. (1978): Effects of dietary phosphorus level on calcium and magnesium balance. *Eiyogaku Zashi (Jpn. J. Nutr.)*, **36**, 77-84.
- 5) Lai, A. Ito, K., Komatsu, K. and Niiyama, Y. (1984): Effect of various levels of dietary calcium during pregnancy on maternal calcium utilization and fetal growth in rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **30**, 285-295.
- 6) 新山喜昭, 坂本貞一 (1980): 妊娠動物における分離大豆たん白質の利用効率. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **1**, 20-23.
- 7) Hayami, H. (1969): Assessment of calcium metabolism. *Eiyogaku Zashi (Jpn. J. Nutr.)*, **22**, 71-93.
- 8) Sawamura, T. and Goto, S. (1973): The availability of calcium salts. *Eiyo To Shokuryo (J. Jpn. Soc. Food Nutr.)*, **26**, 365-369.