

成人男子における分離大豆たん白質 へのメチオニン補足効果

EFFECT OF METHIONINE SUPPLEMENTATION TO SOY PROTEIN
ISOLATE ON SHORT-TERM NITROGEN BALANCE IN ADULT MEN

岸恭一・前川みどり・山本茂・志塚ふじ子（徳島大学医学部）
井上五郎（中村学園大学）

Kyoichi KISHI, Midori MAEGAWA, Shigeru YAMAMOTO and Fujiko SHIZUKA
Department of Nutrition, School of Medicine, The University of Tokushima,
Tokushima 770

Goro INOUE

Department of Food and Nutrition, Nakamura Gakuen College, Fukuoka 814

ABSTRACT

Soybean protein has been believed to be deficient in sulfur-containing amino acids and the protein nutritional value is improved by the addition of methionine in the growing rat. In the present study effective level of methionine supplementation to soy protein isolate (SPI) was evaluated by a short-term nitrogen balance method at two levels of nitrogen intake in 12 healthy young men. There were two 11-day experimental diet periods allowing a 3-day free-choice, adequate diet period between them. Methionine was added to SPI during the second diet period. One period consisted of one protein-free day followed by a 10-day low protein diet period. The nitrogen intake levels of SPI (Fujipro R) were 60 and 90 mg N/kg/day and L-methionine was supplemented at 1.0 and 1.5% of SPI. Mean nitrogen balance was -17.9 ± 5.1 mg N/kg/day ($n=5$) at 60 mg N/kg/day and was -19.4 ± 5.6 mg N/kg/day ($n=5$) when 1.0% methionine was added, indicating no beneficial effect. When the intake of SPI nitrogen was increased to 90 mg N/kg/day, apparent nitrogen balance was nearly zero ($+1.5 \pm 10.1$ mg N/kg/day, $n=7$). But again we found no improvement in nitrogen balance by supplementing either 1.0 or 1.5% methionine. It was appeared that sulfur-containing amino acids of well-manufactured SPI were not limiting for adults in this short-term nitrogen balance study.

食品加工技術の進歩に伴い、大豆から高純度の分離大豆たん白質（以下 SPI）が生産されるようになった。SPI は畜肉加工品、スナック食品、冷凍食品、菓子類、その他数多くの用途に利用されている。SPI はその製造過程における加熱処理などにより、生大豆に含まれている栄養障害因子は減少しており、消化吸収率も高くなっている。しかし生大豆たん白質と同様 SPI の第一制限アミノ酸は含硫アミノ酸であり、SPI 食投与ラットの成長は全卵、カゼイン、ラクトアルブミンなどの動物性たん白質投与時よりも劣っている^{1,2)}。しかし、3 % L-メチオニンの単独添加によって、ラットはラクト

アルブミンと同様の良好な体重増加を示す³⁾。したがって大豆たん白質を幼・小児に用いる場合、通常メチオニン補足が行われており^{3,4)}、メチオニン添加により動物性たん白質の代用となり得る。

今回われわれは、成人男子について SPI への至適メチオニン添加レベルを決める目的で、SPI を唯一のたん白質源とする食事を用いて、短期間の窒素出納試験を行い、血中 N 成分および脂質成分などに及ぼすメチオニン添加の影響を観察した。

実験方法

健康な成人男子延べ12人を被験者として用いた。被験者の体重および身長を Table 1 に示した。38歳と41歳の2例を除いた他は、20歳前後の男子大学生である。

窒素出納試験期間の構成は原則的に既報³⁾のとおりである。実験単位は11日間とし、無たん白質食1日、日常食品低たん白質食3日およびSPI低たん白質食7日からなる (Fig.1)。低たん白質食に早く適応させ、実験

期間を短くするため、1日の無たん白質食期をおいた。日常食品混合たん白質食とSPIたん白質食のN摂取レベルは同一とした。3日間の日常食品たん白質食期を設けることにより単調な低たん白質食に対する被験者の負担を軽くした。3日間の自由食期をはさんで同じ食事期間を2回繰り返した。ただし、2回目のSPI食期にはメチオニンを添加した。

SPI (フジプロ R) を唯一の窒素源とし、摂取窒素レベルは60および90mgN/kg/日の2段階とした。以前の

Table 1. Characteristics of the subjects

Group	Age	Body weight	Body height	BMR*
		kg	cm	kcal/kg
SPI 60 mg N/kg 1.0% Met	23	76.9	178.5	21.43
	23	62.9	159.0	24.80
	20	63.9	176.8	23.36
	20	54.4	164.5	30.62
	19	65.5	169.2	24.08
SPI 90 mg N/kg 1.0% Met	41	56.9	172.5	22.20
	38	57.9	162.0	23.27
	20	56.4	174.7	21.71
	21	60.4	166.9	21.91
SPI 90 mg N/kg 1.5% Met	20	64.9	177.2	21.91
	19	45.0	169.4	24.65
	19	64.2	169.1	21.67

* Basal metabolic rate

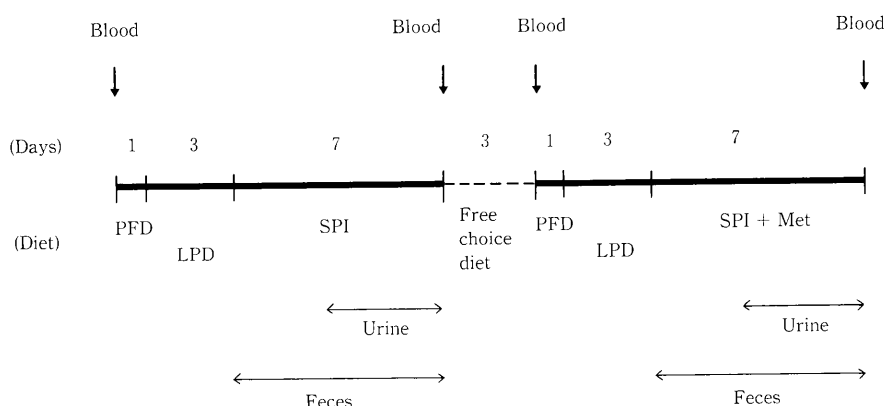


Fig. 1 Experimental design.

Each diet period consisted of 1-day protein-free diet (PFD), 3-day conventional low protein diet (LPD) and 7-day soy protein diet with (SPI + Met) or without (SPI) L-methionine supplementation. A 3-day break was allowed between two diet periods during which free-choice, adequate diet was fed. Blood analyses and anthropometries were conducted at the start and the end of each diet period (indicated by arrows in the figure).

結果⁵⁾で SPI の窒素平衡維持量が118mgN/kg/日であったので、メチオニン補足効果が得られやすいと考えられる負の窒素出納の範囲で実験をした。L-メチオニンの添加は SPI (N×6.25) に対して1.0%と1.5%とした(ただし、60mgN/kg/日の窒素摂取の場合は1.0%のみ添加した)。Table 2 に示すように、1.0%添加でほぼ FAO/WHO (1973) ⁶⁾ の評点パターンの含硫アミノ酸量となり、1.5%添加すると牛肉および魚肉の含硫アミノ酸量に匹敵する。SPI は Table 3 に示すような組成のカマボコとして与えた。カマボコは少量の醤油をかけるか、煮付けて食べさせた。メチオニンはオブラートに包んでカマボコを摂取する時に服用させた。その他の食事組成は Wang ⁵⁾ の実験に用いたものと同じであり、摂取エネルギーは維持エネルギーを目標にして定め、12人平均45.2±1.4 kcal /kg/日であった。

Table 2. Content of sulfur-containing amino acids

	(mg/gN)
SPI	156-174
Casein	201
Lactalbumin	357
Egg	362
Beef	249
Fish	253
Rice	229
Gluten	231
FAO/WHO (1973)*	220

* Taken from provisional amino acid scoring pattern⁶⁾

Table 3. Composition of SPI kamaboko (%)

Ingredients	Content
SPI	18.83
Water	71.55
Oil (soybean)	4.67
Starch (potato)	4.67
Sugar	0.15
NaCl	0.10
Lemon	0.03

体重は毎朝測定し、24時間尿と毎日の糞を採集した。糞は SPI 食期 7 日間をひとまとめにして、総窒素量を測定した。尿については総窒素、尿素、アンモニアおよびクレアチンを分析した。SPI 食期末 4 日間の尿中窒素量の平均値を用いて窒素出納を算定した。SPI 食期前後に採血し、また身体計測および基礎代謝の測定を行った。血液は一般性状、血漿窒素成分および脂質成分について分析した。

実験結果

60および90mgN/kg/日の摂取窒素レベルにおいて、体重がやや低下する傾向を示した例もあるが、SPI 食末期とメチオニン添加 SPI 食末期の間には差は見られなかった。また、基礎代謝、上腕囲、皮脂厚に対してもメチオニン添加は影響しなかった。

各摂取窒素レベルにおける窒素出納の変化を Fig.2 に示した。90mgN/kg/日の摂取窒素においてメチオニンを 1%添加すると、2 例は窒素出納がほとんど変化せ

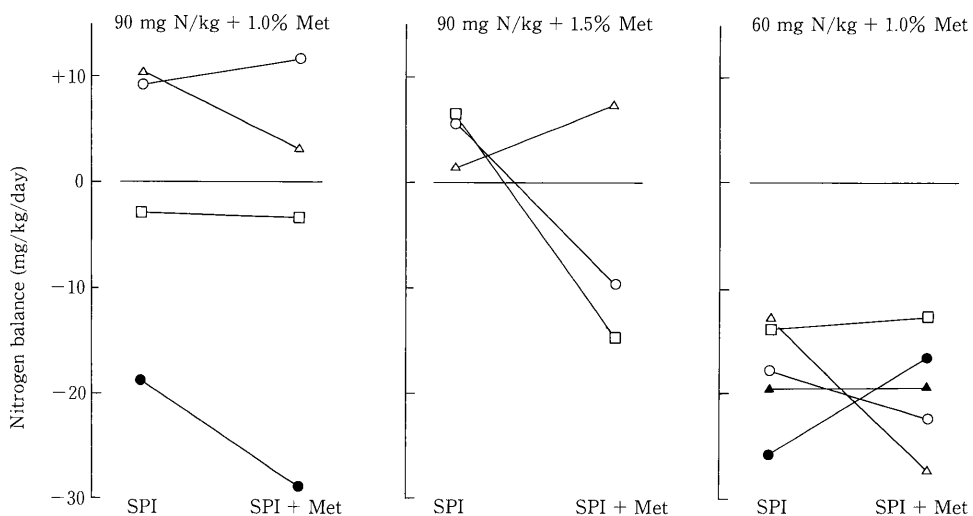


Fig. 2 Effect of methionine supplementation on nitrogen balance in young men fed soy protein isolate

ず、他の2例は低下する傾向が見られた。また、1.5%添加においては1例に改善効果が見られたものの、他の2例は逆に窒素出納が負になった。摂取窒素レベルを60mgN/kg/日に制限し、L-メチオニンを1%添加して

窒素出納が改善されたのは1例であり、2例は逆に低下し、他の2例は変化しなかった。各摂取窒素レベルにおける窒素出納の平均値を Table 4 に示した。90 mg N/kg/日の SPI 摂取における7例の窒素出納の平均

Table 4. Nitrogen balance in young men fed soy protein isolate

		(mg/kg/day)			
N level mg/kg		Intake N	Fecal N	Urinary N	N balance
60	SPI (5)*	60.5±0.9	14.0±2.9	64.4± 6.6	-17.9± 5.1
	SPI+1.0% Met (5)	61.2±1.1	12.8±1.0	67.8± 4.7	-19.4± 5.6
90	SPI (4)	90.6±6.4	15.2±1.6	75.9±13.7	- 0.5±13.6
	SPI+1.0% Met (4)	91.2±5.9	15.4±2.7	80.0±18.9	- 4.2±17.5
90	SPI (3)	91.1±0.8	14.9±0.4	71.9± 2.7	+ 4.4± 2.6
	SPI+1.5% Met (3)	92.5±0.7	16.3±1.8	81.8±10.4	- 5.6±11.6

* Figures in parentheses are numbers of subjects.

Table 5. Efficiency of protein utilization of soy protein isolate in young men

N level mg/kg		D ¹	BV ²	NPU ³
60	(5) ⁴ SPI	98±5	48±10	46± 8
	(5) SPI+1.0% Met	100±2	43± 9	43± 9
	(4) SPI	97±2	59± 9	57± 8
90	(4) SPI 1.0% Met	97±3	57± 9	55± 8
	(3) SPI	98±1	57± 3	55± 3
	(3) SPI+1.5% Met	96±2	45±12	44±13

1 Digestibility

2 Biological value

3 Net protein utilization

4 Numbers of subjects

Table 6. Blood analyses in men fed soy protein isolate*

(90 mg N/kg/day, 1.0% Met, n = 4)

	SPI		SPI+Met	
	Control	Expt.	Control	Expt.
Hematocrit	43.6	44.9	42.8	43.4
Hemoglobin (g/100 ml)	16.6	15.9	15.7	15.8
Total protein (g/100 ml)	6.6	6.8	7.0	6.6
Albumin (g/100 ml)	4.7	4.2	4.4	4.3
Prealbumin (mg/100 ml)	31	25	26	25
Urea N (mg/100 ml)	14	7	11	6
Total lipid (mg/100 ml)	384	479	415	477
Triglyceride (mg/100 ml)	87	129	116	123
Total cholesterol (mg/100 ml)	196	143	141	163
HDL-cholesterol (mg/100 ml)	67	59	63	60
GOT (Karmen unit)	11	15	9	20
GPT (Karmen unit)	3	3	6	14

* At the start (Control) and the end (Expt.) of each dietary period.

は $+1.5 \pm 10.1 \text{ mg/kg/日}$ であり、ほぼ零出納となった。これにメチオニンを1%添加しても窒素出納は -0.5 ± 13.6 ($n=4$) から $-4.2 \pm 17.5 \text{ mg/kg/日}$ ($n=4$) と有意の差を示さず、添加レベルを1.5%に上げると、有意の変化ではないが $+4.4 \pm 2.6$ ($n=3$) から $-5.6 \pm 11.6 \text{ mg/kg/日}$ ($n=3$) と逆に低下した。

SPIの利用効率をTable 5にまとめた。SPIの消化吸収率は従来から報告されているように97~98%と非常に良好であった。生物価は48~58であった。生物価に対してもメチオニン添加による上昇は認められず、1.5%メチオニン添加時には有意ではないが、生物価は57から45へと低下した。90mgN/kg/日の摂取窒素レベルにおいてメチオニンを1.0%添加した場合の血液検査結果をTable 6に示した。1.5%メチオニン添加および摂取窒素60mg/kg/日への1.0%メチオニン添加の場合も同様であつが、ヘマトクリット、ヘモグロビン、血漿総たん白質濃度、アルブミン濃度、尿素濃度にメチオニン添加効果はまったく認められなかった。代謝回転の速いプレアルブミン量にもメチオニン添加は影響しなかった。血漿GOT、GPTも変化せず、また脂質成分にもメチオニン添加による一定の傾向は示されなかった。

考 察

大豆は脂肪と共にたん白質を高濃度に含み、重要なたん白質源の一つとなっているが、含硫アミノ酸量が少なく、一般に動物性たん白質よりも質が劣ると考えられている。実際、大豆たん白質に少量のメチオニンを添加するか、メチオニン含量の高い食品と組み合わせることにより、その質を向上させることができる⁷⁾。Fomon and Ziegler⁴⁾は、SPIにメチオニンを補足することにより、幼児における体窒素貯留、成長は牛乳を基本にした食事組成のものと差がなかったと報告している。しかし、幼児のSPI摂取をエネルギー比で9.3%にしてL-メチオニンを補足しても、血清尿素濃度は有意に低下するものの、体窒素貯留、成長および血清アルブミン濃度に差は見られていない。Zezulka and Calloway⁸⁾は、成人男子にSPIを3.0、4.5あるいは6.0gN/日の3レベルで与え、L-メチオニン添加効果を調べている。窒素レベルを一定とするため、グリシンとアラニンを加えて総窒素摂取量をすべて9.0gN/日とした。いずれのSPI摂取レベルにおいても、食事中の含硫アミノ酸量を900mg/日になるようにL-メチオニンを添加すると、窒素出納に明らかな改善を見ている。しかし、彼女らの用いたSPIの含硫アミノ酸量は107mg/gNであり、今回われわれが用いた160mg/gNのSPIに比べ著

しく低い。

成人男子について行ったKies and Fox⁹⁾の研究では、SPIからの摂取窒素を4gN/日にしてDL-メチオニンを1%添加した場合、窒素出納は一部改善されたが、8gN/日に上げるとメチオニン添加効果はまったく見られなかった。Youngら¹⁰⁾も、82mgN/kg/日のSPI摂取においては、メチオニン非添加SPIあるいは1.1%メチオニン添加SPIは全卵と窒素出納に差はないが、1.6%添加すると全卵より劣る成績を得ている。またSPI摂取を128mgN/kg/日に上げるとメチオニン添加はまったく効果がない。今回われわれは成人男子について90mgN/kg/日のSPI摂取で、メチオニン添加を1.0%および1.5%の2レベルで行ったが、いずれのレベルにおいても窒素出納、尿中窒素成分、血漿窒素成分、血漿脂質成分などに明らかな影響がでなかった。また、SPI摂取を60mgN/kg/日に下げて、明らかに窒素出納が負になる所でメチオニンを1%添加しても、やはり効果は見られなかった。Scrimshawら¹¹⁾、Waylerら¹²⁾、Istfanら¹³⁾も短期間の窒素出納実験においては、SPIは牛乳や牛肉などの良質の動物性たん白質と変わらない栄養価をもつと結論している。さらにYoungら¹⁴⁾は、長期間のたん白質栄養状態に及ぼす影響を観察するため、8人の成人男子に0.8g ($N \times 6.25$)/kg/日のSPIを84日間与え、SPIのみで窒素平衡を維持することが可能であり、長期間の投与においても牛肉と差がなかったと報告している。

SPIのアミノ酸組成をFAO/WHO (1973年)⁶⁾の評点パターン(mg/gN)と比較すると、低値を示すのは含硫アミノ酸のみである。小児にとって良質のたん白質は成人にとっても良質であるといえるが、逆は必ずしもあてはまらないので、評点パターンは小児のアミノ酸必要量を基準にして定められている。それゆえ、評点パターン中の含硫アミノ酸量は成人にとっては高値であると考えられる。また、Harper¹⁵⁾はFAO/WHO (1973年)の評点パターンは含硫アミノ酸必要量を過大に見積もっている可能性のあることを指摘している。今回の成績並びに以上の考察から、良質のSPI製品は、成人における短期間の窒素平衡維持に対して、含硫アミノ酸は不足していないと考えられた。

文 献

- 1) 井上五郎, 岸恭一, 八木郁子 (1980): 分離大豆たん白質へのメチオニン補足量に関する研究. 大豆たん白質栄養研究会会誌, 1, 6-9.
- 2) 山口迪夫, 岩谷昌子, 宮崎基嘉 (1980): 分離大豆たん白質の制限アミノ酸とその補足効果. 大豆たん

白質栄養研究会会誌, 1, 10-15.

- 3) Graham, G. G., Placko, R. P., Morales, E., Acevedo, G. and Cordano, A. (1970): Dietary protein quality in infants and children. VI. Isolated soy protein milk. *Am. J. Dis. Child.*, **120**, 419-423.
- 4) Fomon, S. J. and Ziegler, E. E. (1979): Soy protein isolates in infant feeding, in "Soy Protein and Human Nutrition", ed. by Wilcke, H. L., Hopkins, D. T. and Waggle, D. H., Academic Press, New York, pp. 79-99.
- 5) Wang, M.-F., Kishi, K., Takahashi, T., Komatsu, T., Ohnaka, M. and Inoue, G. (1983): Efficiency of utilization of soy protein isolate in Japanese young men. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **29**, 201-216.
- 6) Report of a Joint FAO/WHO *Ad Hoc* Expert Committee (1973): Energy and Protein Requirements. Wld.Hlth.Org.Tech.Rep.Ser., No. 522.
- 7) Bressani, R., and Elías, L.G. (1968): Processed vegetable protein mixtures for human consumption in developing countries. *Adv. Food Res.*, **16**, 1-103.
- 8) Zezulka, A.Y. and Calloway, D.H. (1976): Nitrogen retention in men fed varying levels of amino acids from soy protein with or without added L-methionine. *J. Nutr.*, **106**, 212-221.
- 9) Kies, C. and Fox, H.M. (1971): Comparison of the protein nutritional value of TVP, methionine enriched TVP and beef at two levels of intake for human adults. *J. Food Sci.*, **36**, 841-845.
- 10) Young, V.R., Puig, M., Queiroz, E., Scrimshaw, N.S. and Rand, W.M. (1984): Evaluation of the protein quality of an isolated soy protein in young men: relative nitrogen requirements and effect of methionine supplementation. *Am. J. Clin. Nutr.*, **39**, 16-24.
- 11) Scrimshaw, N.S., Wayler, A.H., Murray, E., Steinke, F.H., Rand, W.M. and Young, V.R. (1983): Nitrogen balance response in young men given one of two isolated soy proteins or milk proteins. *J. Nutr.*, **113**, 2492-2497.
- 12) Wayler, A., Queiroz, E., Scrimshaw, N.S., Steinke, F.H., Rand, W.M. and Young, V.R. (1983): Nitrogen balance studies in young men to assess the protein quality of an isolated soy protein in relation to meat proteins. *J. Nutr.*, **113**, 2485-2491.
- 13) Istfan, N., Murray, E., Janghorbani, M. and Young, V.R. (1983): An evaluation of the nutritional value of a soy protein concentrate in young adult men using the short-term N-balance method. *J. Nutr.*, **113**, 2516-2523.
- 14) Young, V.R., Wayler, A., Garza, C., Steinke, F. H., Murray, E., Rand, W.H. and Scrimshaw, N. S. (1984): A long-term metabolic balance study in young men to assess the nutritional quality of an isolated soy protein and beef proteins. *Am. J. Clin. Nutr.*, **39**, 8-15.
- 15) Harper, A.E. (1979): Human requirements for lysine and sulfur-containing amino acids, in "Soy Protein and Human Nutrition", ed. by Wilcke, H.L., Hopkins, D.T. and Waggle, D.H., Academic Press, New York, pp. 171-186.