

成人男子における分離大豆たん白質 へのL-メチオニン補足効果

NUTRITIVE EFFECTS OF L-METHIONINE SUPPLEMENT
TO THE SOY PROTEIN ISOLATE IN HUMAN BODY

小石秀夫・奥田豊子・三好弘子（大阪市立大学生生活科学部）

Hideo KOISHI, Toyoko OKUDA and Hiroko MIYOSHI

Faculty of the Science of Living, Osaka City University, Osaka 558

ABSTRACT

Nutritive effects of L-methionine supplement to the soy protein isolate (SPI) were examined on 5 male adult human subjects. The experimental diets were composed of following 3 diets, one-day protein free diet, three-day low protein habitual diet and seven-day low protein SPI diet containing 99 mg N/kg/day weight/day. The 3 kinds of diets were given without interruption (first experiment). Three days after the first experiment, the second experiment, in which the SPI diet was supplemented with L-methionine at a level of 1.0 or 1.5 % of protein, was repeated. There were no significant differences between the SPI diet and SPI+Met diet on nitrogen balance, availability of food energy, blood protein status or plasma cholesterol concentration.

分離大豆たん白質 (SPI) の栄養価は含硫アミノ酸を補足することにより向上することが、動物実験により報告されている^{1,2)}。しかしヒトに対する栄養価は、含硫アミノ酸補足により向上するかどうか諸説があり³⁾明らかではない。SPI をヒトの食品として用いている現在、この点を明らかにすることは重要な意味を持つと思われる。

そこで、男子学生を被験者とし、SPI に L-メチオニン (Met) を補足し、その効果を主として窒素出納の面より検討した。

えた。この実験を3日間の自由食期をはさんで2回繰り返したが、実験食の初めはたん白源を SPI のみとし、2度目にはこれにさらに Met を添加した。添加した Met 量は、SPI のたん白質 (N×6.25) に対し1.0% (2名) および1.5% (3名) の割合とした。エネルギー摂取量は体重維持を目標とし、約43kcal/kg を与えた。また脂肪は、エネルギー比で約25%とした。ビタミンおよび塩類は不足しないように補足した。

実 験 方 法

1. 計画および試料採取

男子学生 5 名 (19歳～23歳) 平均年齢 21.4 ± 1.8 歳を被験者とし、実験の内容をよく説明してその同意を得た。被験者に無たん白食を1日投与した後、3日間日常食品低たん白食 (窒素90 mg/kg/日) (LPD) を与え、引続き同じたん白質量の実験食 (SPI) を7日間与

Table 1. Subjects

Subject	Age	Height (cm)	Weight (kg)
R	21.1	172.4	60.5
Y	23.4	163.0	61.0
W	22.6	164.8	57.7
B	18.7	170.9	49.6
G	21.2	169.4	69.0
Mean±SD	21.4±1.8	168.0±4.0	59.6±7.0

被験者の年齢および体格を Table 1 に、食餌組成を Table 2 に示した。またこれら必須アミノ酸組成（計算値）を Table 3 に示した。実験に用いた SPI はカマボコ様に加工したものを用いた。組成は Table 4 の通りである。

なお献立は、LPD 食も SPI 食も 90 mgN/kg のたん白質を含ませるように作ったが、実測の結果、LPD 食では 85.5 mg/kg, SPI 食では 99.2 mg/kg となった。

尿は朝 8 時より翌朝 8 時までを 24 時間尿として、全期間毎日全量を採取した。糞はマーカーとしてカルミ

ンを用い、LPD 期 3 日間, SPI 期 7 日間および LPD 期 3 日間, SPI+Met 期 7 日間をそれぞれまとめて採取した。これを乾燥後秤量し、ミキサーで粉碎した。尿は採取後定容し、正確にその 1/10 をとってエバポレーターおよび真空凍結乾燥後エネルギー測定用試料とした。他の一部は 4℃ に保存し、各種の定量に用いた。

血液は各食期の前後に肘静脈より約 8 ml を採取し、実験に供した。

2. 分 析

食品の総窒素量は 1 日分を調理後乾燥粉碎し、その

Table 2. Compositions of experimental diet
(g/60 kg body weight/day)

Ingredient	Protein free diet (PFD)	Low protein diet (LPD)	SPI diet (SPI)
Rice		220	
Chicken		40	
Sweet pepper		100	
Onion		200	
Potato		200	
Apple		100	
Harusame		10	
Soy sauce		15	
Vegetable oil		30	
Salt		5	5
Kona-ame	250	50	80
Corn starch	200	100	200
Shortening	70	40	72
Sugar	65	40	50
SPI paste			210.3
Agar	5		5
Vitamin mix. ¹	3T	3T	3T
Mineral mix. ²	9.11	9.11	9.11
Energy* kcal	2555	2502	2514
Protein* g	0	33.7	37.2
Nitrogen** g	0	5.05	5.95
Fat* g	71.4	74.7	83.3

* From standard tables of food composition in Japan (1982)

** Measured

- 1 One tablet of vitamin (Takeda Chemical Industries, Ltd) contained 1000 IU retinol palmitate, 100 IU ergocalciferol, 5 mg fursulthiamine, 2 mg riboflavin, 3 mg pyridoxine hydrochloride, 25 mg niacinamide, 5 µg cyanocobalamine, 75 mg ascorbic acid, 5 mg tocopherol acetate, 15 mg calcium pantothenate, 46.8 mg precipitated calcium carbonate and 34 mg dibasic calcium phosphate.
- 2 One hundred grams of mineral mixture contained 39.25 g KHCO₃, 25.11 g CaCO₃, 21.74 g KH₂PO₄, 10.78 g MgSO₄·7H₂O, 2.91 g FeC₆H₅O₇·6H₂O, 0.1314 g CuSO₄·5H₂O, 0.0366 g MnSO₄·4H₂O, 0.0316 g ZnCl₂ and 0.0067 g KI.

Table 3. Amino acid composition of experimental diet

(mg/g of total nitrogen)

Diet	Ileu	Leu	Lys	S-AA		Phe	Tyr	Thr	Trp	Val
				Sum	Met					
LPD	251	389	310	212	121	223	241	208	69	310
SPI	297	447	424	149	70	326	227	266	91	305
SPI+1.5% Met	295	443	420	232	153	323	225	264	90	302
SPI+1.0% Met	295	444	421	205	126	324	225	264	90	303
FAO/WHO (1973)	250	440	340	220		380		250	60	310

Table 4. Compositions of SPI paste

Ingredient	%	Fujiopro R	%
Fujiopro R	18.83	Water	6.0
Water	71.55	Crude protein	85.2
Soy bean oil	4.67	Crude fat	0.2
Potato starch	4.67	Crude ash	4.4
Sugar	0.15	Crude fiber	0.1
Salt	0.10	Carbohydrate	4.1
Flavor	0.03		
Total	100.00	Total	100.0

一部を用いてセミマイクロキールダール法により測定した。尿中窒素成分は総窒素量をセミマイクロキールダール法で、尿素およびアンモニアはウレアーゼ・インドフェノール法により、クレアチニンはフォリン変法により測定した。

尿、糞および食品のエネルギー含量は、それらの乾燥粉末を用いてボンブカロリーメーター(島津 CA-3 型)により測定した。

血液は全血について、毛細管高速遠心法でヘマトク

リット値、シアンメトヘモグロビン法でヘモグロビンを測定した。血漿の総たん白質濃度はビウレット法で、アルブミン濃度は BCG 法で測定した。またライトマン・フランケル法により GOT および GPT を測定した。総コレステロールは酵素法で、HDL-コレステロールはヘパリン・マンガンで分画して測定した。

得られた成績は原則として平均値±SD で示し、Student の t test により差の有意性を検討した。

結果および考察

前期の実験食はたん白源を SPI のみとし、後期には SPI に Met を添加した。3 名にはたん白質量の 1.5% の Met を、2 名に 1.0% を与えたが、両者にはすべての成績で差を認めなかったため、成績はすべて SPI 食と SPI+Met 食に分けて整理した。

尿中窒素成分を Table 5 に示した。各食期で成績の安定した終り 3～4 日の平均値を示している。クレアチニン、クレアチニン係数、総窒素、尿素窒素、総窒素に対する尿素窒素の割合、アンモニア窒素のいずれも、SPI 食と SPI+Met 食とに有意の差を認めない。

Table 5. Nitrogen in urine

		SPI	SPI+Met
Creatinine	g	1.47±0.17*	1.36±0.15
Creatinine index	mg/kg	25±1	23±1
Total nitrogen	g	4.33±0.73	4.05±0.69
Urea nitrogen	g	3.52±0.83	3.16±0.82
Urea-N/total-N	%	81±3	79±7
Ammonia nitrogen	g	0.14±0.04	0.17±0.06

* Mean±SD

Table 6. Nitrogen in feces

		SPI	SPI+Met
Total nitrogen	g/day	0.82±0.10*	0.83±0.12
N-intake - total-N/N-intake	%	86±1	86±2

* Mean±SD

Table 7. Nitrogen balance

	(g/day)	
	SPI	SPI+Met
Nitrogen intake	5.92	5.97
Fecal nitrogen	0.82±0.10*	0.83±0.12
Absorbed nitrogen	5.10	5.14
Urinary nitrogen	4.33±0.73	4.05±0.69
Nitrogen balance	+0.77±0.38	+1.09±0.39

* Mean±SD

ただ、摂取窒素量が99mg/kgと一定であったにもかかわらず、SPI+Met食の方が尿中排泄総窒素量がやや減少し、そのうちの尿素窒素も減少の傾向を示していた。

糞中に排泄された窒素量はTable 6に示した。SPI食の糞中総窒素量は0.82～0.83g/日であった。この中には未吸収窒素と共に内因性窒素排泄量も含まれているが、摂取窒素量から糞中総窒素量を差し引いて見掛けの吸収量とし、見掛けの窒素吸収率を計算すると86%となった。これらの実験食の前3日間に摂取したLPD食では、糞中総窒素量が1.08～1.25g/日となり、見掛けの吸収率が75～78%であったのと比べ、消化吸収率

は優れていた($P<0.01$)。しかし、SPI食にMetを添加しても、糞中窒素量には何も差を認めなかった。

Table 7に窒素出納の成績を示した。SPI食でもSPI+Met食でも窒素出納は正を示したが、Met添加により平均値では窒素蓄積量が増加した。しかし例数が少ないためか有意差はみられなかった。

摂取食品、糞および尿の物理的燃焼価はTable 8の通りである。SPI食にMetを添加すると、糞中のエネルギー量はやや減少するが、エネルギーの吸収率や利用率としてみればSPI食もMet添加食も同じ値となった。

なお、尿中エネルギーをたん白質の代謝産物に由来するとみなし、尿中の窒素量当たりのエネルギー量をみると、Table 9のように、SPI食は $1.85\text{kcal}/\text{N}\times 6.25\text{g}$ となり日本人の日常食 $1.31\text{kcal}/\text{N}\times 6.25\text{g}$ ⁴⁾に比べ大きな値となる。しかしこの値は体重当たりの摂取たん白質量により変わり、成人男子では $Y=11.55-2.44X$ (X =体重1kg当たりのたん白質摂取量、 Y =尿中窒素1g当たりのエネルギー量)という式が成立する⁴⁾ので、たん白レベルをこの実験食の $101.2\text{mg}\times 6.25/\text{kg}$ (たん白 $0.63\text{g}/\text{kg}$)として計算すると、日本人の日常食

Table 8. Energy absorption

		SPI	SPI+Met
Energy intake ¹	kcal	2,682±280 ²	2,697±256
Energy in feces ¹	kcal	85±14	75±14
Absorbed energy	kcal	2,597	2,622
Energy in urine ¹	kcal	49±5	47±15
Rate of absorption	%	97±1	97±1
Availability	%	95±0	95±1

1 By bomb calorimetry

2 Mean±SD

Table 9. Energy in urine

	SPI	SPI+Met
kcal/day	49.4±4.8*	46.7±15.0
Nitrogen/day	4.33±0.73	4.17±0.71
kcal/nitrogen	11.5±1.2	11.1±2.3
kcal/ $\text{N}\times 6.25$	1.85±0.18	1.77±0.37

* Mean±SD

Table 10. Blood status

		SPI	SPI+Met
Hematocrit (%)		45.2 ±1.7*	45.5 ±2.0
Hemoglobin (g/100 ml)		15.5 ±0.6	15.8 ±0.6
Plasma	Protein		
	Total (g/100 ml)	6.67±0.33	6.56±0.37
	Albumin (g/100 ml)	4.69±0.14	4.49±0.18
	Urea nitrogen (mg/100 ml)	8.72±1.39	5.48±1.19***
	GOT (U)	22±6	24±6
	GPT (U)	38±17	39±3
	Cholesterol		
	Total (mg/100 ml)	194±60	207±58
	HDL- (mg/100 ml)	52±15	57±16

* Mean±SD

*** $p<0.001$, compared with SPI

では1.60 kcal/N×6.25に匹敵し、やはり SPI 食ではやや大きい値となった。しかし SPI 食に Met を添加しても有意な差を認めなかった。

血液で得られた成績を Table10にまとめた。ヘマトクリット、ヘモグロビン濃度は共に正常値で、SPI 食と SPI+Met 食とに差を認めない。血漿中の総窒素量、アルブミン量にも差を認めなかった。尿素窒素は SPI+Met 食で有意に ($P < 0.001$) 低下した。SPI 食に Met を添加したことで、窒素出納の成績では食餌窒素の利用がやや良くなる傾向がみられたが、それが血漿尿素窒素に反映したのかもしれない。GOT、GPTは共に正常値で、Met 添加で影響はみられない。

総コレステロールの値はやや高い。今回の5名の被験者の実験開始時の値は、SPI 食の前で、275, 217, 207, 156, 149mg/100ml と個人間の差が大きく、また SPI+Met 食の前も、330, 210, 249, 201, 154mg/100ml であった。これらの値を較べると SPI 食あるいは SPI+Met 食ではいずれも低下の傾向を示したが、個人間の変動が大きく有意差はみられない。Met 添加では SPI 食に比べむしろやや増加した。HDL-コレステロールも同じ傾向を示した。

今回の実験成績では、1日の無たん白食、3日間の低たん白食で食前歴の影響をできる限り除き、引き続いて SPI 食および SPI+Met 食の実験を行ったが、SPI 食と SPI+Met 食とで著明な差を認めなかった。用いた SPI 食は、Table 3 のように必須アミノ酸組成は同たん白質レベルの日常食に比べ、ロイシン、リジン、スレオニンなどが特に優れているが、含硫アミノ酸が著明に少ない。これに Met をたん白質の1.0%ないし1.5%添加すると、必須アミノ酸組成は著明に改善される。SPI 食に Met を添加しても差を認めなかったのは、SPI 食が含硫アミノ酸以外の必須アミノ酸の必要量をほぼ満たしており、成人に対してはこの程度の含硫アミノ酸不足はほとんど影響を及ぼさないのではなかろうか。ただしこれは総摂取たん白レベルにもよるであろう。

今回の実験では、窒素量で99 mg/kg を与えたが、このレベルをさらに下げれば、あるいは何か差を示したかもしれない。摂取たん白レベルあるいは実験期間を変えてさらに検討したい。

要 約

SPI に L-メチオニン (Met) を添加し、その栄養効果を知る目的で、成人男子5名を被験者とし、1日無たん白食、3日間低たん白日常食に引き続き7日間 SPI 食 (窒素99 mg/kg) を与え、3日間の自由食の後同じ実験を繰り返した。後の実験では、SPI 食に Met をたん白質に対し1.0~1.5%添加した。

その結果、窒素出納、食エネルギー利用率、血液たん白性状、血漿コレステロール値のいずれにも、SPI 食と SPI+Met 食とで著明な差を認めなかった。

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, 6-8.
- 2) McLaughlan, J.M.(1979): Fatty liver in rats fed soya protein isolate with added methionine. *Nutr. Rep. Int'l.*, 19, 27-35.
- 3) Scrimshaw, N.S. and Young, V.R.(1979): Soy protein in adult human nutrition: a review with new data, in "Soy Protein and Human Nutrition", ed. by Wilcke, H.L., Hopkins, D.T. and Waggle, D.T., Academic Press, New York, pp. 5-17.
- 4) 科学技術庁資源調査会編 (1982): 科学技術庁資源調査資料第99号「日本食品標準成分表の改訂に関する調査試料—日本人における油脂類の利用エネルギー測定調査結果および主要食品の利用エネルギー値—」