

分離大豆たん白質投与妊娠ラットにおけるカルシウム及び亜鉛の利用について

CALCIUM AND ZINC 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

Bioavailabilities of dietary calcium and zinc were examined using a balance method in pregnant rats fed one of diets containing 10 and 20% SPI with or without 0.3% methionine supplementation (named as 10SM, 20SM, 10S and 20S, respectively). Levels of dietary calcium and zinc were about 0.4% and 35 ppm, respectively. Results obtained were as follows: 1) Anorexia in the 10S group of rats in late pregnancy was improved by methionine supplementation. This resulted in the comparable nitrogen retention and fetal growth with those in 20S or 20SM group. 2) Bioavailabilities of calcium and zinc were higher in the 20S group than in the 10S group. Methionine supplementation to the 10S diet resulted in an increased utilization of dietary calcium or zinc, however, this was not a case in 20% SPI diet. 3) Total nitrogen retention during entire period of pregnancy correlated positively with total calcium retention, dependent on the dietary protein levels. However, total nitrogen retention related positively to total zinc retention, independent of protein levels in diets, indicating that both nutrients may be stored in same organs and tissues. 4) From the results of present and previous studies from our laboratory, we concluded that total amounts of calcium and zinc retention primarily generally depended on their amounts ingested. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn.* 8, 34-39, 1987.

成人ではともかく実験動物では分離大豆たん白質 (SPI) の第1制限アミノ酸は含硫アミノ酸であり、そのたん白質の利用度は動物性たん白質より一般に低い¹⁾。また、大豆たん白質分離の操作によってもなお残存するフィチン酸のためミネラル、特にカルシウム (Ca) や亜鉛 (Zn) の利用が SPI 摂取時には悪いとされている²⁾。

我々は既に発育期ラットにメチオニン (Met) 補足 SPI 食を投与するとたん白質栄養価の改善と同時に Ca の吸収利用も増大することを報告した³⁾。このことは、SPI への Met 補足は N や Ca の利用を亢進させるのみならず他の微量元素の吸収利用をも改善する可能

性を示している。そこで今回は妊娠ラットの Ca と Zn の吸収利用に及ぼす SPI の量と質 (Met 補足) の影響について観察した。

実験方法

体重約200 g の SD 系妊娠白ネズミに妊娠期間中、4 種の飼料すなわち、SPI を10または20%としこれに Met を補足したものとししないもの (10S: 10% SPI 食, 10SM: 10% SPI+0.3% Met 食, 20S: 20% SPI 食, 20SM: 20% SPI+0.6% Met 食) のいずれか1つを自由摂取させた (Table 1)。

飼料中のミネラルは AIN-76 配合 (オリエンタル酵

母，ロット番号60072，昭和59年頃の製品）を用いたがメーカーが塩混合調製に際し，リン酸 Ca の無水物を用いるべきところ，2水和物を用いたため Ca 含量は AIN 処方（0.52%）より低く約0.41%であった。他の元素は AIN-76 の処方通り含まれていた。

その他の実験方法については前報⁴⁾と同じである。なお Zn の測定は原子吸光法による。

Table 1. Composition of experimental diets (g/kg diet)

	10%		20%	
	SPI (10S)	SPI+Met (10SM)	SPI (20S)	SPI+Met (20SM)
SPI ¹	100	100	200	200
L-Met	0	3	0	6
Starch	524	522	457	453
Sucrose	261	260	228	226
	〔 Corn oil 50, Vitamin mix. ¹³ 13, Cellulose 20, Salt mix. ² 35 〕			
Found				
N ³	13.1	13.6	26.0	26.8
Ca ³	3.8	3.8	3.9	4.0
Zn ⁴	31.9	31.6	37.7	37.7

¹Fujiipro-R. ²Modified AIN 76

³mg/g diet. ⁴μg/g diet.

結果と考察

摂食量，体重増加量及び飼料効率

各種実験食投与動物の摂食量及び体重の経日変化を Fig. 1 に示した。摂食量は妊娠前半期，10S 群がやや多いが4群間に大差はない。しかし，妊娠末期にはいずれの群も摂食量を減じ，特に10S 群で顕著であった。この群の体重増加量は4群中最低で飼料効率も低値を示した。妊娠期間中の摂食量，体重増加量及び飼料効率を Table 2 に示した。各群の摂食量は336～379 g の範囲にあったが体重増加に対する Met 補足効果は10%たん白レベルで顕著であった。しかし，20%レベルでは明らかではなかった。飼料効率は10S 群が0.19と低かったが他の3群は0.37前後であった。

窒素，カルシウム及び亜鉛出納

妊娠全期間の N 出納の結果を Table 3 に示した。Met 補足による見掛けの吸収率への影響は無く10及び20%群でそれぞれ 86，91%であった。しかし，10% SPI レベルにおいては Met 補足により尿中 N 排泄量

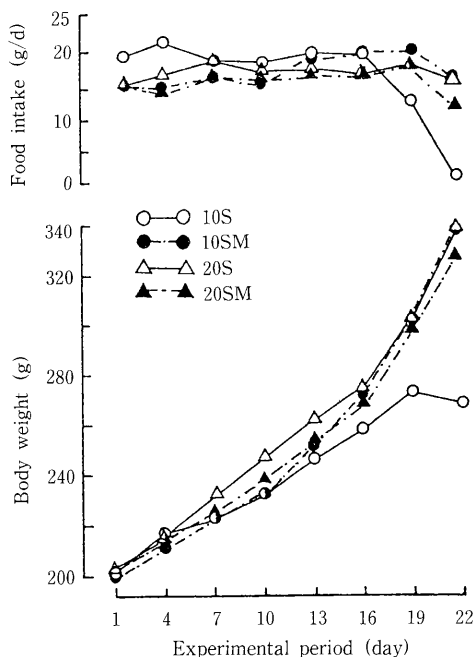


Fig. 1. Food intake and changes in body weight

が抑制され，その結果，N蓄積が1.19から2.27 g へと増加した。このような Met 補足効果は20%レベルではみられなかった。

次に Ca 出納のデーターを Table 4 に示した。

見掛けの Ca 吸収率は飼料たん白含量の増加及び Met の補足の両方により増加したが，その効果は量的改善より質的改善（Met 補足）でより大であった。Met 補足による見掛けの Ca 吸収率の増加は糞 Ca 排泄の低下によっているが，真の Ca 吸収が高まったのか，或いは内因性 Ca 排泄が減じたのかは明らかではなく，この点は将来の課題である。

Table 5 には Zn 出納の結果を示した。10%たん白レベルにおける Met 補足により糞 Zn 低下を示し見掛けの Zn 吸収率，蓄積量を増加させた。一方20%群の見掛けの Zn 吸収率，蓄積量，蓄積率は10%群のそれらに比し高かったが，これら諸量に対する Met 補足効果はみられなかった。

胎仔発育と蓄積カルシウム及び亜鉛の母仔分布

妊娠22日目の受胎物（子宮，胎仔，胎盤及び羊水）重量と胎仔重量を Table 6 に，また，母体大腿骨と胎仔中の Ca 及び Zn 含量を Table 7 に示した。10S 群の受胎物及び胎仔重量は妊娠末期の摂食量低下を反映して他の3群より軽かった。また10S 群の Ca 蓄積量は他の3群に比し若干低く，これは母体大腿骨や胎仔

Table 2. Food intake and body weight gain

		No.	Food intake	Body weight		Weight gain	Food efficiency
				Day 1	Day 22		
			g/21 days	g	g	g/21 days	
10S	(4)		352±33	201±2	269±20	68±20	0.19±0.04
10SM	(7)		369±54	198±8	337±26 ¹	138±21 ¹	0.38±0.03 ¹
20S	(5)		379±49	204±15	339±10 ¹	135±24 ¹	0.36±0.03 ¹
20SM	(5)		336±33	201±9	327±19	126±22	0.37±0.04

Each value represents the mean±SD. ¹p<0.01 to 10S group.

Table 3. Nitrogen balance during pregnancy

	Intake	Feces	Urine	Balance	Apparent absorpt.	Rate of retention
	mg/21 days				%	%
10S	4.61±0.43	0.66±0.13	2.76±0.12	1.19±0.36	86±1	26±6
10SM	5.01±0.73	0.70±0.10 ¹	2.04±0.36 ²	2.27±0.37 ²	86±2	45±3 ²
20S	9.86±1.27 ²	0.90±0.15	5.26±0.55 ²	3.69±0.60 ²	91±1 ²	37±2 ²
20SM	8.98±0.87 ⁴	0.78±0.07	4.54±0.54 ⁴	3.66±0.31 ⁴	91±0 ⁴	41±2 ^{3,5}

Each value represents the mean±SD. ^{1,2}p<0.05, p<0.01 to 10S group. ^{3,4}p<0.05, p<0.01 to 10SM group. ⁵p<0.05 to 20S group.

Table 4. Calcium balance during pregnancy

	Intake	Feces	Urine	Balance	Apparent absorpt.	Rate of retention
	mg/21 days				%	%
10S	1324±123	829±130	24±3	472±9	38±4	36±4
10SM	1403±206	705±121	43±16 ¹	655±85 ²	50±2 ²	47±2 ²
20S	1468±189	827±79	64±26 ²	577±108	43±4	39±4
20SM	1360±131	700±67 ³	45±14	615±74	49±3 ³	45±3 ³

Each value represents the mean±SD. ^{1,2}p<0.05, p<0.01 to 10S group. ³p<0.05 to 20S group.

Table 5. Zinc balance during pregnancy

	Intake	Feces	Urine	Balance	Apparent absorpt.	Rate of retention
	mg/21 days				%	%
10S	11.24±1.05	10.11±0.90	0.37±0.05	0.76±0.21	10±1	7±1
10SM	11.66±1.71	9.50±1.53	0.40±0.07	1.76±0.35 ²	19±3 ²	15±3 ²
20S	14.31±1.84 ¹	11.05±1.41	0.26±0.05 ²	2.65±0.49 ²	23±2 ²	18±2 ²
20SM	12.70±1.23	9.63±0.93	0.62±0.14 ⁴	2.45±0.35 ⁴	24±1 ⁴	19±1 ³

Each value represents the mean±SD. ^{1,2}p<0.05, p<0.01 to 10S group. ^{3,4}p<0.05, p<0.01 to 10SM group.

Table 6. Reproductive performance

Wt. of conception product		Litter size	Weight of	
			fetus	fetuses
g			g	g
10S	55.0±2.0	11.0±1.2	3.8±0.5	41.6±2.3
10SM	70.8±10.7 ¹	12.3±2.4	4.5±0.3 ¹	55.3±8.8 ¹
20S	73.9±5.0 ²	12.6±1.5	4.5±0.4	56.4±3.1 ²
20SM	71.6±8.1	12.0±1.6	4.6±0.1	55.0±6.3

Each value represents the mean±SD. ^{1,2}p<0.05, p<0.01 to 10S group.

Table 7. Mineral balance and its distribution

	10S	10SM	20S	20SM
Calcium				
fetus (mg)	10.0	10.9 ¹	11.5	10.3
fetuses (mg)	109	133	144 ²	123
dam's femur (mg)	55	65	73	73
balance (mg/21 d)	472	655 ²	577	615
Zinc				
fetus (μg)	57	63	65	68
fetuses (μg)	618	763 ¹	815 ¹	806
dam's femur (μg)	157	175	184	190
balance (μg/21 d)	765	1760 ²	2647 ²	2447 ³

^{1,2}p<0.05, p<0.01 to 10S group. ³p<0.01 to 10SM group.

中の Ca 量が低い傾向を示したと一致している。しかし、10SM、20S 及び 20SM の 3 群の Ca 蓄積量には大差なく、従って母体大腿骨や胎仔中 Ca 量もこれを反映し著しい群間差は認められなかった。

一方、Zn の挙動は Ca とは異なっていた。即ち、Zn 蓄積量は飼料のたん白含量或いは Met 補足の有無により大きく異なっていた。しかし、母体大腿骨や胎仔中の Zn 量は 10S 群でやや低かったものの蓄積総量でみられた程の大きな差は 4 群間でみられなかった。このことは Zn は胎仔、母体骨以外の組織にも蓄積していることを示唆している。

蓄積カルシウム、亜鉛及び窒素の相互関係

Fig. 2 は妊娠期間中の Ca 及び Zn の蓄積総量と N 蓄積総量との関係を全例 (n: 21) について示したものである。まず、N 蓄積量 (X) と Ca 蓄積量 (Y) との間には飼料たん白レベルにより 2 つの異なる回帰直線式、すなわち、たん白レベル 10% では

$$Y = 0.16X + 0.28 \quad (n = 11, p < 0.001)$$

たん白レベル 20% では

$$Y = 0.18X - 0.06 \quad (n = 10, p < 0.001)$$

が得られたがいずれも N 蓄積量の増加に伴い Ca 蓄積量も増加することを示している。飼料たん白レベルの差によって 2 つの異なる回帰直線が得られた理由は明らかではない。しかし、一般に高いたん白レベルでは低い場合に比し、尿中 Ca 排泄が多くなることが分っており、その結果、Ca 蓄積が相対的に減じたことが理由の 1 つとして考えられるが、これは今後検討すべきである。

次に N 蓄積量 (X) と Zn 蓄積量 (Y') の関係を見ると Ca の場合と異なり飼料たん白レベルによる差はみられず、

$$Y' = 0.69X + 0.06 \quad (n = 21, p < 0.001)$$

で示される 1 つの回帰直線式が得られた。このことは Zn 蓄積が N の蓄積に依存しており、両者の蓄積部位が同じであることを示唆している。

Greger ら⁵⁾は健康な思春期の女性を対象に 30 日間にわたり Zn と N の出納実験を行い、両元素の蓄積量の間に、有意な正相関を認めている。

カルシウム及び亜鉛の摂取量と蓄積量との関係

生体におけるミネラルの吸収利用は食物側、生体側の種々の要因に支配されているがミネラルの摂取量も一要因である。そこでこれ迄に我々が得た実験結果から Ca と Zn について摂取量と蓄積量との関係を総合的に検討した。

たん白源として SPI, SPI+Met, 全卵、卵白及びカゼインを用い、その投与レベルを 10 或いは 20% とし、妊娠及び非妊娠ラットについて 21 日間の飼育実験で得られた結果について検討した。なお飼料のミネラルは今回の実験 (Ca: 0.41%) を除き全て AIN-76 配合 (Ca: 0.52%) を用いている。Fig. 3 は Ca についての成績で摂取量 (X) と蓄積量 (Y) との間に

$$Y = 0.16X + 125 \quad (n = 16, p < 0.05)$$

の回帰直線で示される有意の関係がみられた。しかし、今回の SPI での実験 (図の 13, 14, 15 及び 16) は既述の如く Ca レベルが低い飼料で行なわれたので、この 4 点を除いた場合は

$$Y = 0.40X - 82 \quad (n = 12, p < 0.05)$$

の関係が得られた。なお、SPI を用いて、今回と同様の実験を通常の AIN 配合 (Ca レベル 0.52%) で行なえば Fig. 3 の 4 点 (13~16) は右方へ移動し、後者の回帰直線式に適合することが予測されるが、この点は再検討の予定である。いずれにしても、個々の成績はともかく全般的にみると Ca 摂取量が多いと蓄積量も多くなることが明らかとなった。

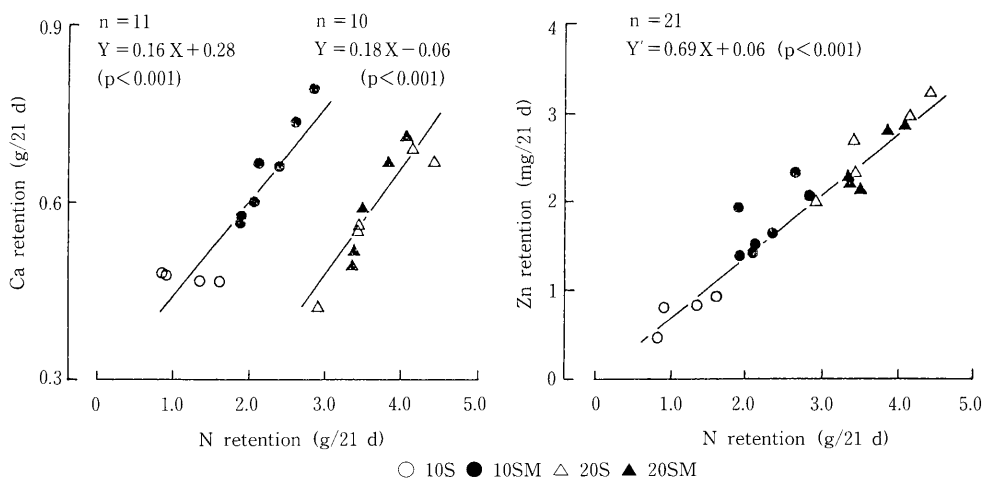


Fig. 2. Relation of nitrogen retention to calcium or zinc retention

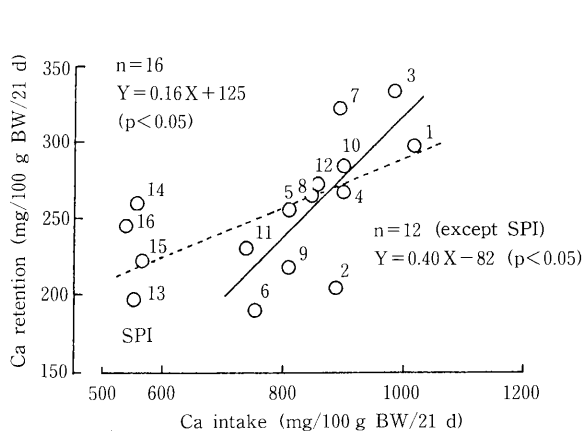


Fig. 3. Relation of Ca intake to Ca retention

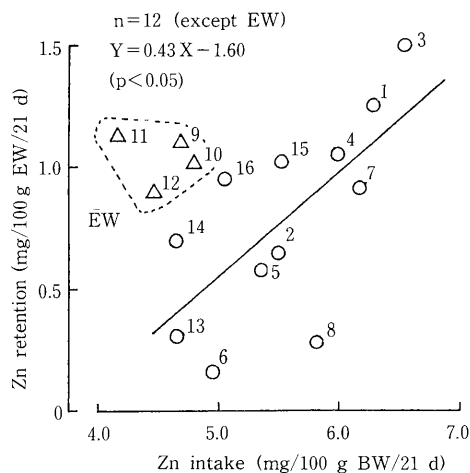


Fig. 4. Relation of Zn intake to Zn retention

- | | |
|-----------------------------|------------------------------|
| 1 : 10% Casein-pregnant. | 9 : 10% Egg white-pregnant. |
| 2 : 10% Casein-virgin. | 10 : 10% Egg white-virgin. |
| 3 : 20% Casein-pregnant | 11 : 20% Egg white-pregnant. |
| 4 : 20% Casein-virgin. | 12 : 20% Egg white-virgin. |
| 5 : 10% Whole egg-pregnant. | 13 : 10% SPI-pregnant. |
| 6 : 10% Whole egg-virgin. | 14 : 10% SPI+Met-pregnant. |
| 7 : 20% Whole egg-pregnant. | 15 : 20% SPI-pregnant. |
| 8 : 20% Whole egg-virgin | 16 : 20% SPI+Met-pregnant. |

次に Zn について同様に摂取量 (X) と蓄積量 (Y) との関係を示した (Fig. 4). 全16例についてみると両者の相関はないが卵白を除いた12例についてみると

$$Y = 0.43X - 1.60 \quad (n=12, p < 0.05)$$

の有意の相関が得られ、Ca 同様、摂取量の増加は蓄積量の増加をもたらすことが分かった。なお、卵白食で

はこの回帰式の上方に離れており、少ない摂取量で高い Zn 蓄積をおこすことが分る。即ち、Zn の生体利用の面からみると卵白は特異的なたん白質であるといえるが、Stuart ら⁶⁾も同様所見を認めており、その解明は将来に残されている。

要 約

体重約200 g の妊娠白ネズミに10及び20%の SPI あ
るいはこれに Met 補足したものをたん白源とした飼
料を妊娠期間中与え、その時の胎仔発育や Ca 及び Zn
の利用について観察し次の結果を得た。

- 1) Met 補足或いは飼料たん白含量の増加は妊娠末
期の著しい摂食量低下を防ぎ、飼料効率や N 蓄
積量を増加し、正常な胎仔発育をもたらした。
- 2) Ca の吸収利用に Met 補足及び飼料たん白レベ
ルの増加は有効に作用した。
- 3) Zn の吸収利用に対し Met 補足効果は10%たん
白レベルで顕著で、20%たん白レベルではみられ
なかった。また、飼料たん白レベルが高いと Zn
の吸収利用が大となった。
- 4) N 蓄積量と Ca 蓄積量との間には10%と20%群
でそれぞれ正相関がみられた。一方、N 蓄積量と
Zn 蓄積量の間にはたん白レベルに関係なく1つ
の正相関関係が得られた。
- 5) 一般に Ca と Zn の蓄積量は摂取量に依存し、摂
取量が多いと蓄積量も増加することを今回及び
従来の実験データをもとにして結論づけた。

文 献

- 1) 新山喜昭, 坂本貞一 (1981): 妊娠ラットにおけ
る分離大豆たん白質の利用効率とメチオニン, ス
レオニン補足効果. 大豆たん白質栄養研究会会
誌, **2**, 67-71.
- 2) O' Dell, B. L. (1969): Effect of dietary compo-
nents upon zinc availability. *Am. J. Clin.*
Nutr., **22**, 1315-1322.
- 3) 坂本貞一, 文 福實, 上西一弘, 新山喜昭(1986):
発育期ラットの Ca 利用に及ぼす摂取たん白質
の質の影響. 第40回日本栄養・食糧学会講演要旨
集, 124頁
- 4) 新山喜昭, 坂本貞一 (1984): 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, **5**, 53-58.
- 5) Greger, J. L., Abernathy, R. P. and Bennett, O.
A. (1978): Zinc and nitrogen balance in ado-
lescent females fed varying levels of zinc and
soy protein. *Am. J. Clin. Nutr.*, **31**, 112-116.
- 6) Stuart, S. M., Ketelsen, S. M., Weaver, C. M. and
Erdman, J. W. Jr. (1986): Bioavailability of
zinc to rats as affected by protein source and
previous dietary intake. *J. Nutr.*, **116**, 1423-
1431.