

大豆たん白質中の体脂肪蓄積抑制因子の検索

上曾山 博¹・長谷川 信^{*1}・元木 徹²

¹神戸大学大学院自然科学研究科 ²日本農産工業株式会社

Study on Search of Repressive Soybean Protein Components to Body Fat Accumulation

Hiroshi KAMISOYAMA¹, Shin HASEGAWA¹ and Tohru MOTOKI²

¹Graduate School of Science and Technology, Kobe University, Kobe 657-8501

²Nihon Nosan Kogyo K.K., Yokohama 220-8146

ABSTRACT

As a link in the chain of the discovery of physiologically active components of soybean protein in chicks, the present study was conducted to evaluate the effects of soy protein isolate and its enzymatic hydrolysate on body fat deposition in chicks. Firstly, chicks were fed with an 18% casein, soy protein isolate (SPI) or enzymatic hydrolysate of SPI for 3 weeks, and the comparative effects of soybean proteins on growth performance, adipose tissue weight, the triglyceride contents of plasma and liver were examined. SPI and enzymatic hydrolysate of SPI significantly reduced adipose tissue weight as compared with casein. Triglyceride content of liver was significantly lower in the enzymatic hydrolysate of SPI-fed than in the casein-fed chicks. Secondary, an enzymatic hydrolysate of SPI was fractionated with ion-exchange chromatography. Using a hydrophobic resin (HP-21) column, two fractions were obtained. The unadsorbed fraction was rich in hydrophilic amino acids, whereas the fraction eluted from the column with 50% ethanol was rich in hydrophobic amino acids. Chicks were fed with an 18% SPI, an enzymatic hydrolysate of SPI, or its fractions (unadsorbed and ethanol-eluted) for 3 weeks, and the comparative effects of various soybean proteins on growth performance, adipose tissue weight, the triglyceride contents of plasma and liver were examined. The ethanol-eluted fraction significantly reduced adipose tissue weight, whereas significantly elevated the concentration of plasma triglyceride as compared with SPI. From the results obtained above, the mechanisms accounting for the body fat-lowering effect of feeding a soybean protein in chicks were discussed. *Soy Protein Research, Japan* **5**, 86-91, 2002.

*〒657-8501 神戸市灘区六甲生野

Key words: soy protein isolate, adipose tissue, plasma triglyceride concentration, liver triglyceride content, fractions of enzymatic hydrolysate of SPI

脂肪組織は、全身へエネルギーを供給するための脂肪（トリグリセリド）を貯蔵する機能を有する高度に特殊化した組織である。脂肪組織のトリグリセリドの蓄積は、脂肪組織でのトリグリセリドの取り込み、合成および放出が変動することによって調節されている¹⁾。近年、鶏の体脂肪蓄積の抑制に関する研究が盛んに行われてきているが、鶏における体脂肪蓄積に影響を及ぼす要因の一つに栄養的要素が考えられる。この場合、最も基本になるのは飼料中のエネルギーおよびたん白質含量、そして両者の比率（カロリー・たん白質比、C/P比）であるといわれており²⁾、飼料中のエネルギー含量が増加すれば体脂肪量が増加し、たん白質含量が増加すれば逆に体脂肪は減少する、すなわち、体脂肪はC/P比の上昇によって増加することが示されている^{3,4)}。

しかし、体脂肪蓄積は上述のようなエネルギーおよびたん白質含量の量的要因だけではなく、たん白質源の違いによる質的要素によっても影響されることが示されている。体脂肪蓄積に関して、Shinjo et al.⁵⁾はラットにおいてカゼイン飼料と大豆たん白質飼料を等エネルギー条件下で給与した場合、大豆たん白質飼料はカゼイン飼料に比べ腹腔内脂肪量の低下効果を持つことを示唆し、同様に鶏においても大豆たん白質による腹腔脂肪量の低下効果が示唆されている⁶⁾。

そこで本研究は、鶏における体脂肪蓄積の制御法開発のための一環として、大豆たん白質中の体脂肪抑制因子の検索を最終目的に、大豆たん白質の酵素分解物とその極性に基づいて分画された画分の給与が鶏の体脂肪蓄積や肝臓ならびに血漿トリグリセリド濃度に及ぼす影響について検討した。

方 法

実験1, 2共に、供試鶏として単冠白色レグホーン種の初生雄雛を用い、飼料および水は自由摂取とした。

実験1

カゼイン、分離大豆たん白質およびその酵素分解物（分離大豆たん白質を平均ペプチド鎖長5～6に分解したものをたん白質源とする試験飼料を用いた。

まず、初生から5日齢まで幼雛用市販飼料を給与後、体重を測定し、各区の平均体重が等しくなるように、1区10羽ずつの3区に分けた。次に、Table 1に示した3種類の試験飼料で27日齢まで飼育後、断頭屠殺し、

採血して血漿を分離した。さらに、腹腔内脂肪組織および肝臓を摘出し、それぞれの重量を測定した。肝臓は液体窒素で凍結し、血漿と共に分析に供するまで-80℃で凍結保存した。血漿トリグリセリド濃度はFletcher⁷⁾の方法で測定し、肝臓トリグリセリド含量はFolchら⁸⁾の方法で肝臓から総脂質を抽出後、血漿トリグリセリドと同様の方法で測定した。

実験2

分離大豆たん白質、分離大豆たん白質酵素分解物およびそのカラム分画物（酵素分解物を疎水性吸着樹脂を用いてその極性に基づきカラム吸着画分と非吸着画分に分画し、乾燥・粉末化したもの）をたん白質源とする試験飼料を用いた。本実験に用いた各たん白質源のアミノ酸組成をTable 2に示した。分離大豆たん白質酵素分解物のカラム分画における吸着画分と非吸着画分の乾物収量比が20:80であったことから、その比率で飼料に配合し、不足するたん白質量はカゼインで補うと共に、NRC飼養標準を満たすべく、アミノ酸を補足した。なお、実験に使用した試験飼料の組成をTable 3に示した。

まず、初生から5日齢まで幼雛用市販飼料を給与後、体重を測定し、各区の平均体重が等しくなるように、1区10羽ずつの4区に分けた。次に、Table 3に示した4種類の試験飼料を27日齢まで給与後、実験1と同様に、肝臓および腹腔内脂肪組織を摘出し、加えて血漿を分離して、血漿ならびに肝臓のトリグリセリド含量を測定した。

結果と考察

実験1

3種類の試験飼料を成長中の鶏雄に給与し、飼料中のたん白質源の違いが体重、飼料効率、肝臓重量、腹腔内脂肪組織重量に及ぼす影響を調べると共に、血漿および肝臓のトリグリセリド濃度に及ぼす影響を調べた（Table 4）。

体重、飼料摂取量および飼料効率は、たん白質源の相違による影響はみられなかった。腹腔内脂肪組織重量は、カゼイン給与区に比べ、分離大豆たん白質および分離大豆たん白質酵素分解物給与区で有意に低くなった。血漿トリグリセリド濃度はたん白質源の相違による影響はみられなかったが、肝臓トリグリセリド含量は、分離大豆たん白質酵素分解物給与区で、他のた

Table 1. Composition of diets in experiment 1

Ingredients	Experimental group		
	Casein	SPI ¹	Enzymatic hydrolysate of SPI
		(g/100 g diet)	
Casein	19.14	—	—
SPI ¹	—	20.71	—
Enzymatic hydrolysate of SPI	—	—	20.29
DL-Methionine	0.31	0.27	0.27
L-Arginine-HCl	0.97	0.00	0.00
Glycine	0.36	0.00	0.00
Glucose	53.93	54.20	54.20
Soyean oil	2.00	2.00	2.00
Cellulose powder	15.53	15.06	15.48
Vitamine mixture ²	1.50	1.50	1.50
Mineral mixture ³	6.05	6.05	6.05
Choline-HCl	0.20	0.20	0.02
BHT	0.01	0.01	0.01
Crude protein (%)	18.00	18.00	18.00
Metabolizable enrgy (kcal/100 g diet)	285.00	285.00	285.00

¹ SPI; Soy protein isolate

² per kg of diet: (in mg) thiamine-HCl 6.0; riboflavin 9.0; niacin 50.0; Ca-D-pantothenate 20.0; pyridoxine-HCl 8.0; biotin 0.3; folic acid 2.0; menadione sodium bisulfite 2.0; inositol 1,000; B₁₂ 20 μg; A palmitate 25,000 USP units; D₃ 1,200 ICU; d-α-tocopheryl acetate 17.6 IU.

³ g per kg diet: CaCO₃ 19.1; Ca(H₂PO₄)₂·2H₂O 21.15; K₂HPO₄ 11.2; NaCl 6.0; MgCO₃ 2.08; FeSO₄ 0.2; ZnCO₃ 0.18; CuSO₄·5H₂O 0.51; MnSO₄·H₂O 0.51; KI 0.04; NaMoO₄·2H₂O 0.0025.

たん白質給与区に比べ有意に減少した。この結果はラットにおいて、分離大豆たん白質給与によって摂食量、体重についてはカゼイン給与と差異がみられないものの、分離大豆たん白質給与によって腹腔内脂肪組織重量および血漿トリグリセリド濃度がカゼイン給与に比べ有意に減少するとした報告^{5,9)}とはほぼ一致するものであった。

実験 2

4種類の試験飼料を成長中の鶏雄に給与し、飼料中のたん白質源の違いが体重、飼料効率、肝臓重量、脂肪組織重量に及ぼす影響を調べると共に、血漿および肝臓のトリグリセリド濃度に及ぼす影響を調べた (Table 5)。

吸着画分給与区において、体重が他の3区に比べ有意な低下を、飼料摂取量および飼料効率が低下の傾向をそれぞれ示した。この原因として、大豆たん白質酵素分解物の吸着画分は苦味が強いことから、嗜好性が悪いことが推察され、それ故、飼料摂取量ならびに体重が低下したものと考えられた。腹腔内脂肪組織重量は、吸着画分給与区で他の3区に対して有意に低い値を示した。肝臓中のトリグリセリド含量は分離大豆たん白質給与区で最も低い値を示し、非吸着画分給与区で最も高い値を示した。血漿トリグリセリド濃度は吸着画分給与区で他の3区に較べ高い値を示し、分離大豆たん白質給与区に対し有意差がみられた。

要 約

種々の動物において、摂取するたん白質の種類によって体脂肪蓄積が大きく影響を受け、特に大豆たん白質摂取時に顕著に抑制されることが報告されている。そこで、本研究は、鶏における体脂肪蓄積の制御法開発のための一環として、大豆たん白質中の体脂肪蓄積抑制因子の検索を最終目的に、大豆たん白質酵素分解物とその極性に基づいて分画された画分の給与が鶏の体脂肪蓄積や肝臓ならびに血漿トリグリセリド濃度に及ぼす影響について検討した。まず、カゼイン、分離大豆たん白質およびその酵素分解物 (分離大豆たん白質を平均ペプチド鎖長5~6に分解したものを唯一のたん白質源として調製した試験飼料を鶏に給与し、断頭屠殺により採血すると共に、腹腔内脂肪

Table 2. Amino acid composition of of proteins used in experiment 2 (%)

Amino acid	SPI	Enzymatic hydrolysate of SPI	Enzymatic hydrolysate of SPI	
			Adsorbed fraction	Unadsorbed fraction
Asp	11.71	12.06	11.33	12.62
Thr	3.96	3.68	3.45	3.84
Ser	5.35	5.13	4.25	5.52
Glu	19.94	22.11	13.28	27.14
Gly	4.21	4.04	3.94	4.12
Ala	4.29	3.84	2.94	4.42
Cys	1.31	1.25	1.5	1.13
Met	1.16	1.21	1.47	1.00
Val	4.11	4.27	4.84	4.00
Ile	4.16	4.18	5.98	3.15
Leu	7.81	6.81	8.61	5.41
Tyr	3.83	3.32	4.87	2.32
Phe	5.04	5.26	8.2	2.80
Lys	6.14	6.49	5.35	7.15
His	2.66	2.93	3.05	2.99
Arg	7.49	7.79	8.71	7.66
Pro	5.50	5.64	8.23	4.73
Trp	1.33	0.00	0.00	0.00

Table 3. Composition of diets in experiment 2

Ingredients	Experimental group			
	SPI	Enzymatic hydrolysate of SPI	Enzymatic hydrolysate of SPI	
			Adsorbed fraction	Unadsorbed fraction
	(g/100 g diet)			
Casein	—	—	16.12	4.01
SPI ¹	20.82	—	—	—
Enzymatic hydrolysate of SPI	—	19.79	—	—
Adsorbed fraction	—	—	3.79	—
Unadsorbed fraction	—	—	—	16.56
DL-Methionine	0.27	0.27	0.27	0.27
L-Arginine-HCl	—	—	—	—
Glycine	—	—	—	—
L-Threonine	—	0.03	—	—
L-Leucine	—	—	—	0.01
L-Tryptophane	—	0.17	—	0.17
Glucose	53.74	53.74	53.87	53.76
Soybean oil	2.17	2.19	2.03	2.15
Cellulose powder	15.24	16.06	16.16	15.3
Vitamine mixture ²	1.50	1.50	1.50	1.50
Mineral mixture ²	6.05	6.05	6.05	6.05
Choline-Cl	0.20	0.20	0.20	0.20
BHT	0.01	0.01	0.01	0.01
Crude protein (%)	18.00	18.00	18.00	18.00
Metabolizable energy (kcal/100 g diet)	285.00	285.00	285.00	285.00

¹ SPI; Soy protein isolate² See Table 1.

Table 4. Effect of SPI and its enzymatic hydrolysate on performance and the concentrations of plasma and liver triglycerides¹

	Experimental group		
	Casein	SPI ²	Enzymatic hydrolysate of SPI
Body weight (g)	293±9	297±8	302±7
Feed intake (g)	506.5	521.5	518.0
Feed efficiency (%)	0.46±0.02	0.47±0.02	0.48±0.01
Liver weight (g)	9.88±0.43	9.91±0.52	10.94±0.42
Adipose tissue weight (g)	2.66±0.26	1.59±0.25*	1.27±0.18*
Plasma triglycerides (mg/100 mL)	174±17	169±24	188±23
Liver triglycerides (mg/liver)	188±22	178±38	302±38*

¹ Values are means ± SEM of five chicks.

² Soy protein isolate

* : Significant at $P<0.05$ with respect to casein.

Table 5. Effect of SPI, enzymatic hydrolysate of SPI, its adsorbed and unadsorbed fractions on performance and concentrations of plasma and liver triglycerides in chicks¹

	Experimental group			
	SPI ²	Enzymatic hydrolysate of SPI	Enzymatic hydrolysate of SPI	
			Adsorbed fraction	Unadsorbed fraction
Body weight (g)	294±2	299±5	200±27*	300±7
Feed intake (g)	514	503	362	494
Feed efficiency (%)	0.45±0.00	0.46±0.01	0.37±0.07	0.47±0.01
Liver weight (g)	8.55±0.17	8.97±0.19	6.76±0.79	9.56±0.34
Adipose tissue weight (g)	2.72±0.19	2.38±0.20	1.17±0.30*	2.12±0.26
Plasma triglyceride (mg/100 mL)	112±19	115±6	174±29*	115±22
Liver triglyceride (mg/liver)	159±18	207±23	169±20	251±42

¹ Values are means ± SEM of five chicks.

² Soy protein isolate

*: Significant at $P<0.05$ with respect to SPI.

組織ならびに肝臓を摘出し、それぞれのトリグリセリド濃度を測定した。次に、分離大豆たん白質酵素分解物を、疎水性吸着樹脂を用いてその極性に基づきカラム吸着画分と非吸着画分の2画分に分離し、たん白質源としてこの2画分を含む4種類のたん白質（分離大豆たん白質、分離大豆たん白質酵素分解物、そのカラム吸着画分および非吸着画分）を用い、上述と同様に試験飼料を調製・給与後、断頭屠殺により採血すると共に、腹腔内脂肪組織ならびに肝臓を摘出し、それぞれのトリグリセリド濃度を測定した。その結果、カゼイン給与区に対して、大豆たん白質給与区および大豆たん白質酵素分解物給与区で、腹腔内脂肪組織重量が有意に低い値を示した。また、各種大豆たん白質給与区の中で、カラム吸着画分給与区のみが、体重および腹腔内脂肪組織重量に関して、有意に低い値を、また、血漿トリグリセリド濃度に関して、有意に高い値をそれぞれ示した。そして、大豆たん白質給与区に対して、カラム非吸着画分給与区>大豆たん白質酵素分解物区給与>カラム吸着画分給与区の順で、肝臓トリグリセリド含量が高い値を示した。

文 献

- 1) Belfrage P (1985) : *In : New Perspectives in Adipose Tissue*. Butterworth-Heinemann, PP, 121-144, London.
- 2) 村上 齊 (1994) : 鶏における体脂肪蓄積の制御. 畜産の研究, **48**, 684-688.
- 3) 秋葉征夫 (1990) : 鶏肉品質に関する諸問題. 畜産の研究, **44**, 975-980.
- 4) Jackson S, Summers JD and Leeson S (1982) : Effect of dietary protein and energy on broiler carcass composition and efficiency of nutrient utilization. *Poult Sci*, **61**, 2224-2231.
- 5) Shinjo S, Asato I, Arakaki S, Kina T, Kohrin T, Mori M and Yamamoto S (1992) : Comparative effect of casein and soy bean protein isolate on body fat accumulation in adult rats. *J Nutr Sci Vitaminol*, **38**, 247-253.
- 6) Honda K, Kamisoyama H, Kato H, Furuya N, Ishiwata H, Motoki T, Saito N and Hasegawa S (2000) : Comparative effect of isolated soybean protein and casein on body fat deposition in chicks. *Jpn Poult Sci*, **37**, 365-371.
- 7) Fletcher M J (1968) : A colorimetric method for estimating serum triglycerides. *Clin Chemi Acta*, **22**, 393-397.
- 8) Folch J, Lees M and Sloane-Stanley GA (1957) : A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem*, **226**, 497-509.
- 9) Baba N (1992) : Effect of casein versus soy protein diets on body composition and serum lipids levels in adult rats. *Nutr Res*, **12**, 279-288.