

きび蛋白質の栄養価

田代 操・牧 善輔

An Evaluation of the Nutritive Value of Proso Millet Protein.

MISAO TASHIRO and ZENSUKE MAKI

Millet flour (MF), alkaline-extracted protein (EP) and residue (RD) were prepared from proso millet, and the nutritive value of their proteins was evaluated by biological and chemical methods.

Growth experiment with young rats fed a 10% level of protein diets for 21 days indicated that the gain in weight of rats fed the EP diet was higher than a casein diet, however no weight gain was observed in the case of the rats fed the MF diet. The values of protein efficiency ratio and net protein ratio for EP were 3.12 and 5.02, respectively, and they were almost same level to those of casein. In biological value estimation with adult rats fed a 5% level of protein diets for 3 days, the values obtained were as follows: EP 92.3, MF 60.8, RD 70.5, gluten 68.2 and casein 71.4, however the differences in the other four values except EP could not be regarded as significant. The *in vitro* protein digestion showed that EP was significantly digested by pepsin but not trypsin. On the other hand, the digestibility of EP was similar to that of gluten and casein by pepsin-pancreatin method. Amino acid analyses revealed that the values of amino acid score for EP, MF and RD were 100, 26.7 and 9.1, respectively based on the 1973 FAO/WHO "provisional scoring pattern," and lysine was the first limiting amino acid except tryptophan of MF and RD.

These results suggest that EP is better in its protein quality than casein, while lysine supplementation seems to be required for the utilization of MF and RD.

I 緒 言

世界的人口増加にともなう食糧不足, 特に蛋白質の不足は深刻化しつつあり, 新しい蛋白質源の開発と利用が急務となっている. 近年そのような意味から, 酵母やバクテリア等の Single Cell Protein¹⁾, アルファルファ等の緑葉蛋白質²⁾, さらに南極オキアミ蛋白質^{3,4)}などの開発利用並びに栄養価検討が進められ, 一方, これら新蛋白質とは別に既存の蛋白質資源である大豆蛋白質, 穀類蛋白質についてもその有効的利用が考慮され, 今後これらの研究はますます重要となってきている. ところで, 主食としての米, 小麦以外の穀類, 特にあわ, きび等の雑穀はその高い蛋白含量にもかかわらず, 現在ほとんど利用されておらず, またその貯蔵性の良さと成育範囲の広いことを考えるとこれらの雑穀は食糧源の一つとして再評価される必要があると思われる.

本報においては, きびの食糧への再利用という観点からその蛋白質の栄養価を検討したのでその結果を報

告する. 栄養価の評価は, きび粉, きびアルカリ抽出蛋白質, 抽出残渣それぞれについて白ネズミを用いる生物試験と人工消化実験及びアミノ酸分析をおこない, 体重増加量, 生物価, 消化率, アミノ酸価等について牛乳蛋白質カゼイン並びに小麦蛋白質グルテンと比較検討することによりなされた.

II 実験材料及び方法

1) 試料の調製

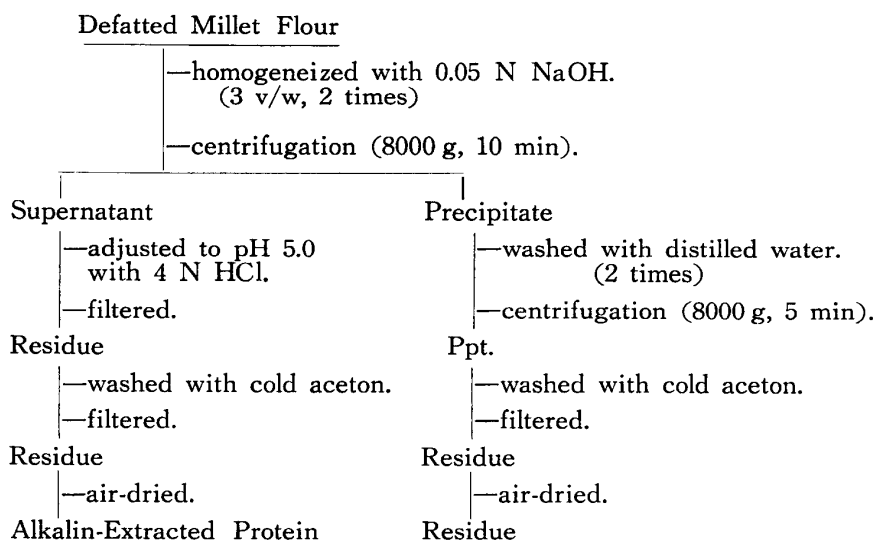
市販のきび(白きび)を脱穀後穀を除去し, コーンミルにて粉碎して60メッシュを通る粉末として, きび粉を得た.

きび抽出蛋白質, 抽出残渣は, まずきび粉を4倍量のn-ブタノールで脱脂し, 風乾脱脂きび粉よりScheme 1に示す方法で調製した.

2) 分析方法

窒素の定量はA. O. A. C. のマイクロケルダール法によっておこない, 蛋白質量はN×6.25により計質した.

Scheme 1. Preparation Procedure of Alkaline-Extracted Protein and Residue from Defatted Millet Flour.



アミノ酸分析は常法により、試料を 6N 塩酸で 110°C, 24時間加水分解し、アミノ酸自動分析機（日立 KLA 5型）を用いて分析した。なお、トリプトファンについては定量をおこなわなかった。

3) 生物試験

a) 成長実験, PER, FE, NPR

生後 4 週, 体重 60~70g のウイスター系, 雄, 白ネズミを用い, きび粉, きびアルカリ抽出蛋白質の 2 試料, ならびに比較対照としてカゼイン, グルテンを蛋白質源として用い, 1 区 5 頭として 4 区に分け 21 日間飼育した。なお, NPR (Net Protein Ratio) 測定のために別に無蛋白食区 (5 頭) を設け, 7 日間飼育した。

Table 1. Composition of Diets.

	Diets				
	Casein	Gluten	MF*	EP**	Protein-free
Casein	10				
Gluten		10			
MF*			86		
EP**				13	
α-Starch	10	10		10	10
Corn starch	58	58		55	68
Cellulose powder	8	8		8	8
Vegetable oil	6	6	6	6	6
Salt mixture	6	6	6	6	6
Vitamin mixture	2	2	2	2	2
Protein level	8.89	8.48	9.63	9.91	0

*MF, millet flour.

**EP, alkaline-extracted protein from millet

飼料組成は表 1 に示すごとく, 約 10% 蛋白質レベルになるよう調製した。使用したアルファ澱粉, カゼイン, 野菜油, ミネラル及びとうもろこし澱粉, ビタミン混合物はオリエンタル酵母工業 K. K. より, 浮紙粉末, グルテンは半井化学薬品 K. K. より購入した。ミネラル及びビタミン混合物の組成を表 2 に示す。

上記飼料を 1 日 1 回, 一定時間に水と共に更新して自由摂取させ, 1 日の食餌量及び体重増加量も同時に測定した。白ネズミの飼育は温度 21~25°C, 湿度 60~70%, 12 時間ごとに明暗に保たれた動物飼育室でおこなわれた。

PER (Protein Efficiency Ratio), FE (Feed Efficiency) は 21 日間の, また NPR は 7 日間の摂取食餌量と体重増加量から評価された。

b) 生物価, 消化率

ウイスター系白ネズミ (雄, 体重 350~450g) を用い, きび粉, きび抽出蛋白質, 残渣, さらに比較対照としてカゼイン, グルテンの 5 つの試料を蛋白質源として用い 1 区 5 頭, 5 区に分け代謝ケージで飼育した。

飼料組成は表 3 に示すごとく約 5% 蛋白質レベルになるよう調製した。試験期間は 6 日間, 最初の 3 日間を予備期間とし後の 3 日間について毎日糞を集め, 飼料摂取量及び体重も同時に測定した。尿は 3 日間まとめて採取し一検体とした。

本実験においては, 石井らの報告⁵⁾に従い, 生物価及び消化率の算出には各区のネズミについて無蛋白食期間を設けず, 各試験区と並行して別に無蛋白飼料区を設け, これを標準として各区の内因性窒素を次式に

Table 2. Composition of Vitamin Mixture and Salt Mixture.

Vitamin Mixture (values/100g)			
Vitamin A acetate	50,000 IU	Biotin	2 mg
Vitamin D ₃	10,000 IU	Folic acid	20 mg
Vitamin B ₁ -HCl	120 mg	Ca-pantothenate	500 mg
Vitamin B ₂	400 mg	p-Aminobenzoic acid	500 mg
Vitamin B ₆ -HCl	80 mg	Niacin	600 mg
Vitamin B ₁₂	0.05 mg	Inositol	600 mg
Vitamin C	3000 mg	Cholin-HCl	20,000 mg
Vitamin E	500 mg		
Vitamin K ₃	520 mg		
Salt Mixture (g/100g)			
KH ₂ PO ₄	25.72 g	Fe-citrate	3.18 g
CaH ₄ (PO ₄) ₂ · H ₂ O	14.56 g	ZnCO ₃	0.11 g
NaH ₂ PO ₄ · H ₂ O	9.35 g	MnSO ₄	0.12 g
Ca-lactate	35.09 g	CuSO ₄	0.03 g
NaCl	4.66 g	KI	0.01 g
MgSO ₄ · 3H ₂ O	7.17 g		

Table 3. Composition of Diets.

	Diets					
	Casein	Gluten	MF*	EP**	RD***	Protein-free
Casein	5					
Gluten		5				
MF*			50			
EP**				6		
RD***					64	
α-Starch	10	10	10	10	10	10
Corn starch	63	63	18	62	4	68
Cellulose powder	8	8	8	8	8	8
Vegetable oil	6	6	6	6	6	6
Salt mixture	6	6	6	6	6	6
Vitamin mixture	2	2	2	2	2	2
Protein level	4.45	4.24	5.60	4.87	5.00	0

*MF, millet flour. **EP, alkaline-extracted protein from millet.

***RD, residue after extraction of protein from millet.

より算出した.

代謝性糞中窒素

$$= \frac{\text{無蛋白区の糞中窒素量} \times \text{試験区の摂取食餌量}}{\text{無蛋白区の摂取食餌量}}$$

内生尿中窒素

$$= \frac{\text{無蛋白区の尿中窒素量} \times \text{試験区のネズミ体重}}{\text{無蛋白区のネズミ体重}}$$

なお、その他用いた飼料成分及び実験条件は先と同様であった。

4) 人工消化試験

a) ペプシン法

蛋白試料溶液 (50mg/ml of 0.1N HCl) 2ml に pepsin 溶液 (2回再結晶 Sigma 社製, 2.5mg/ml of 0.1N HCl) 1ml を加え, 37°Cで30分~24時間消化させた. 各消化時間後, 10%三塩化酢酸 (TCA) 3ml を加え反応を停止させ, 1日放置した後濾過し, 濾液の一定量を分取してケルダール分析をおこなった. 一方, 同量の試料全N量, 可溶性 (非蛋白態) N量, さ

らに酵素由来のN量も分析した。

消化率の計算は試料を各時間酵素で処理した後の非蛋白態Nから0時間での非蛋白態Nと各時間後の酵素由来の非蛋白態Nを差し引き、それを0時間の蛋白態Nで除し百分率で表わした。

b) トリプシン法

蛋白試料及び trypsin (2回再結晶 Sigma 社製) を0.1Mリン酸緩衝液 pH 8.0に溶解して用いた以外はペプシン法と同様の操作をおこない消化率を求めた。

c) ペプシン・パンクレアチン法

Akeson と Stahmann の方法⁶⁾に準じておこなった。すなわち、試料溶液 (10mg/ml of 0.1N HCl) 2 ml に pepsin 溶液 (0.3mg/ml of 0.1N HCl) 1 ml を作用させ、37°Cで3時間消化させた。消化後、0.2 N NaOH 1.5ml を加え反応溶液を中和し、さらに pancreatin 溶液 (pancreatin NF・Difco 社製、2 mg/1.5ml of 0.1M phosphate buffer, pH 8.0) 1.5ml を加え、37°Cで24時間消化させた。消化後、10%TC A 6 ml で反応を停止させ1日放置後濾過し、濾液の一定量を分取してケルダール分析をおこなった。同量の試料全N量、可溶性N量、さらに酵素由来のN量も分析し、消化率の計算はペプシン法と同様にしておこなった。

III 実験結果及び考察

1) 試料の蛋白質含量

実験に使用した各種蛋白質試料の蛋白質含量を表4に示す。きび粉は約11%、きびアルカリ抽出蛋白質は約80%、蛋白抽出後のきび粉残渣は約8%の粗蛋白質を含有していた。また、抽出蛋白質の収量はきび粉1 kg 当り約21gであった。

2) 成長実験, PER, FE, NPR

図1に4種類の蛋白食及び無蛋白食を与えた白ネズミの体重増加曲線を示す。明らかに抽出蛋白食区の方

Table 4. Protein Content of Nitrogen Sources.

Casein	88.9%
Gluten	84.8
MF*	11.2
EP**	76.2 ^a , 81.2 ^b
RD***	7.8

*MF, millet flour

**EP, alkaline-extracted protein from millet.

***RD, residue after extraction of protein from millet.

^a, Preparation used for the growth experiment of rats. ^b, Preparation used for the estimation of BV, digestibility test and amino acid analysis.

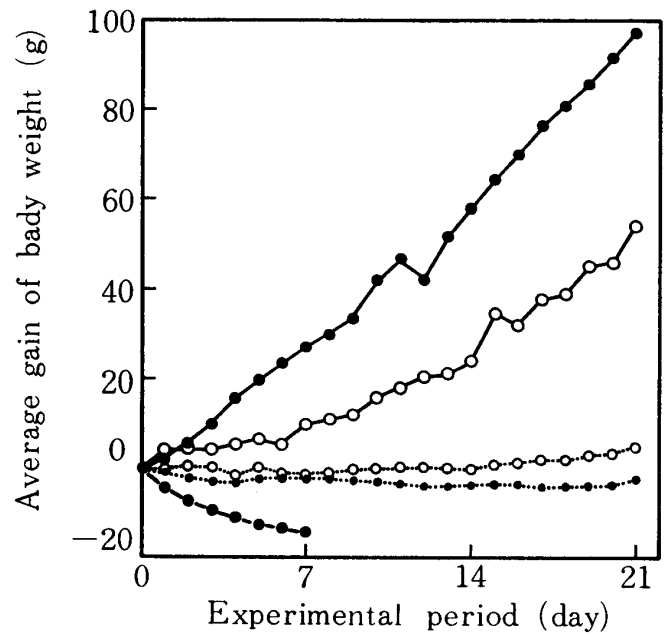


Fig. 1. Growth curves of rats fed the experimental diets. Growth experiment with young rats (initial age, 4 weeks; initial weight, 60-70 g) was carried out at a about 10% level of protein diets for 21 days. Plots represent mean of five rats per group. ○—○, casein diet; ○····○, gluten diet; ●····●, millet flour diet; ●—●, alkaline-extracted protein diet; ●—●, protein-free diet.

がカゼイン食区よりも体重増加の著しいことが認められる。一方、きび粉食区及びグルテン食区においては体重の増加はほとんど認められず単に維持されたのみであった。一般に良質の蛋白質は体に留まって体蛋白質となる量が多く、その点からすると抽出蛋白はカゼインに勝る良質蛋白質と考えられる。

表5に約10%蛋白質レベルでの成長実験から評価されたPER, FE, NPRの値を示す。白ネズミの体重増加量は先に述べたように抽出蛋白食区の方がカゼイン食区より勝っていたが、PER, NPR値では両者はほとんど変わらず有意差は認められなかった。これは摂取蛋白量の相違が原因で、すなわち抽出蛋白食区のネズミはカゼイン食区に比べ最初の1週間まで約1.8倍、3週間の合計では約1.6倍の蛋白質を摂取していた。一方、グルテン、きび粉におけるPER及びNPR値は明らかに有意の差でカゼイン、抽出蛋白より低く、これら穀類蛋白質は成長期の白ネズミに対しては有効な蛋白源とはならないことを示している。通常植物蛋白質、特に穀類蛋白質の栄養価は動物性蛋白質より劣っており、グルテン及びきび粉で得られた結果はそれを肯定している。しかしながら、抽出

Table 5. PER, FE and NPR of Nitrogen Sources. ¹

Nitrogen sources	PER	FE	NPR
Casein	2.84±0.31 ^{a,2}	0.253±0.028 ^a	5.07±0.74 ^a
Gluten	0.04±0.22 ^b	0.034±0.018 ^b	3.27±0.52 ^b
MF*	—	—	2.86±0.43 ^b
EP**	3.12±0.22 ^a	0.312±0.022 ^c	5.02±0.27 ^a

*MF, millet flour. **EP, alkaline-extracted protein.

¹ Values represent mean of five rats per group±SD.

² Values without common superscripts are significantly different (p<0.05).

Table 6. BV, TD, Nitrogen Balance, and NPU of Nitrogen Sources. ¹

Nitrogen Sources	BV	TD (%)	N balance (mg/day)	NPU ²
Casein	71.4±6.82 ^a	97.8±3.19	-31.2±19.9	69.8
Gluten	68.2±19.1 ^b	96.2±5.67	-53.6±35.2	65.6
MF*	60.8±7.42 ^c	99.2±1.83	-27.3±12.9	60.3
EP**	92.3±7.05	99.7±0.58	-14.2±30.8	92.0
RD***	70.5±9.56 ^a	96.7±2.17	-21.0±13.2	68.2

*MF, millet flour. **EP, alkaline-extracted protein from millet.

***RD, residue after extraction of protein from millet.

¹ Values represent mean of five rats per group±SD.

^a (p<0.05), ^b (p<0.01), ^c (p<0.001), values are significantly different from the value of EP group.

² NPU, Net protein utilization=BV×TD/100.

蛋白質に関しては、それがきびより抽出された植物性蛋白質であるにもかかわらず、動物性蛋白質であるカゼインと同等かもしくはそれより優れている栄養価を示し、興味ある結果となった。おそらく、これは抽出蛋白質が非常にバランスのとれたアミノ酸組成を有する蛋白質としてきび粉より抽出されたことを示唆している。

3) 生物価, 消化率, 窒素出納, 正味蛋白質利用率,

表6に5種類の蛋白源の生物価 (Biological Value, BV), 真の消化率 (True Digestibility, TD) さらに窒素出納 (Nitrogen Balance), 正味蛋白質利用率 (Net Protein Utilization, NPU) の値を示す。抽出蛋白質の BV 値は明らかに他の4種の蛋白源の BV より高く、成熟期のネズミにおいても有効な蛋白質であることが示唆された。一方、きび粉, 抽出残渣についても、カゼイン, グルテンの比較蛋白質とその BV に有意差はなく、成熟期においてはこれらは充分利用できるものと思われる。真の消化率に関しては、値はどの区においても高く、これらの蛋白源は消化吸収に関しては問題点はないと考えられる。また、NPU 値は抽出蛋白質が最も高く、他のものは60~70でほとんど変わりなかった。

なお、本実験は約5%蛋白質レベルでおこなった

が、この条件では各区共窒素出納は僅かに負となり、また試験白ネズミの体重も僅かに減少した。今後蛋白質レベル10%程度での実験も必要と思われる。

4) 人工消化試験

きびアルカリ抽出蛋白質及び比較対照としてカゼイン, グルテンの消化性を *in vitro* の方法を用いて検討した。図2はペプシン消化の, 図3はトリプシン消化の time course を示している。また、表7にはペプシン・パンクレアチン法によって求めた各蛋白質の消化率を示している。抽出蛋白質の消化率はペプシン法では非常に良く (24時間で92.4%), トリプシン法ではペプシン法よりやや悪く82.6%となった。一方、比較蛋白質として用いられたカゼインはトリプシンで、グルテンはペプシンで非常に良く消化された。これら得られた結果は白ネズミを用いた *in vivo* での消化率 (表6) と必ずしも一致せず、これは *in vitro* の単純な系では各蛋白質の溶解性の異りや酵素の基質特異性に合致するアミノ酸残基含有量の多少が結果に大きな影響を及ぼすためであると思われる。したがって消化性の良否を簡便に決定するために用いられる *in vitro* 法は、その使用にさいしては適当な方法の選択が充分注意されねばならないと思われる。

5) アミノ酸組成

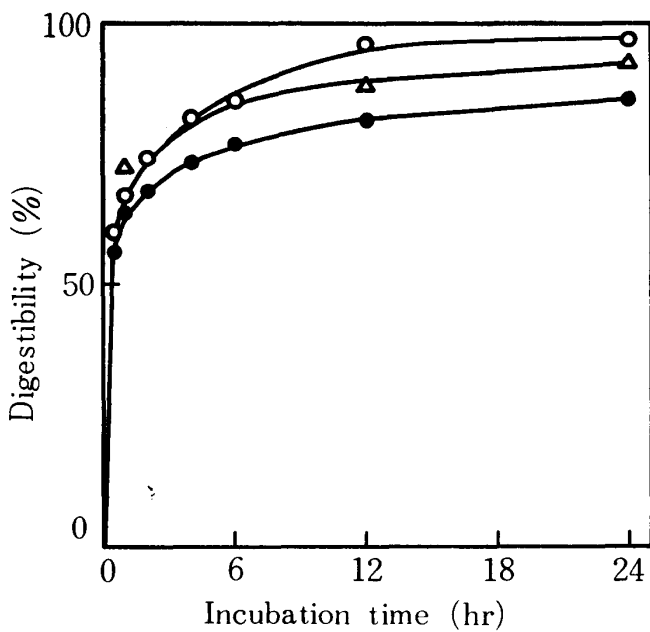


Fig. 2. Time course of *in vitro* pepsin digestion of casein, gluten, and alkaline-extracted protein. The incubation mixture consisted of 2 ml of protein solution (50 mg/ml of 0.1 N HCl) and 1 ml of pepsin solution (2.5 mg/ml of 0.1 N HCl), and the reaction was carried out at 37°C for 0.5, 1, 2, 4, 6, 12, and 24 hours, respectively. After the incubation, the reaction was terminated by the addition of 3.0 ml of 10% trichloroacetic acid. The resultant precipitate was removed by filtration and a portion of the filtrate was used to determine the nitrogen content by micro-Kjeldahl method. ●—●, casein; ○—○, gluten; △—△, alkaline-extracted protein.

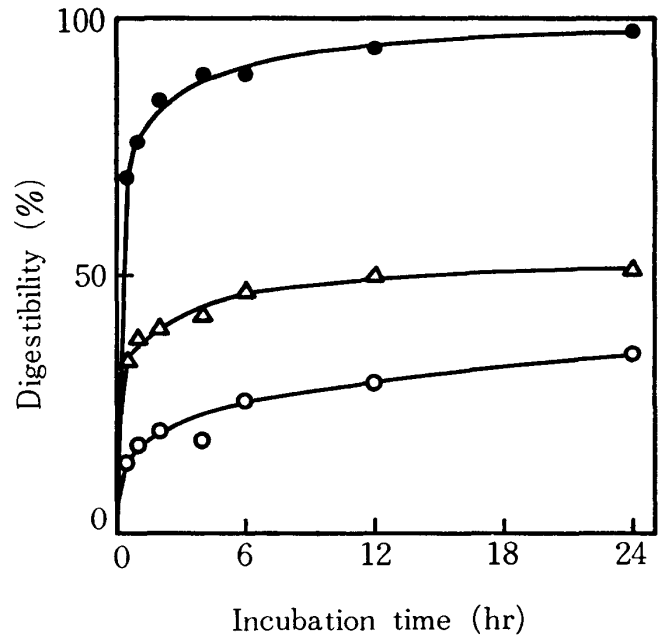


Fig. 3. Time course of *in vitro* trypsin digestion of casein, gluten, and alkaline-extracted protein. Proteins and trypsin were dissolved in 0.1 M phosphate buffer, pH 8.0. Experimental procedure was the same as that used in Fig. 2. ●—●, casein; ○—○, gluten; △—△, alkaline-extracted protein.

Table 7. Digestibility of Casein, Gluten and Alkaline-Extracted Protein by *in vitro* Pepsin-Pancreatin Method.

Proteins	Digestibility (%)
Casein	93.3
Gluten	91.8
EP*	82.6

*EP, alkaline-extracted protein from millet.

表 8 にきび粉、きびアルカリ抽出蛋白質、抽出残渣及び比較蛋白質としてのカゼイン、グルテンのアミノ酸組成を示す。

きび粉、残渣のアミノ酸組成はよく似ており、グルタミン酸、アラニン、ロイシンの含量が高くリジンの含量が低い。一方、抽出蛋白質は、白ネズミでの成長実験の結果から予想された様に、きび粉や残渣とは異なり、リジン含量が比較的高く、バランスの良いアミノ酸組成を有している。

1973年の FAO/WHO エネルギー・蛋白質必要量に関する合同特別専門委員会報告⁷⁾の暫定アミノ酸評点パターンに対する各試料の chemical score (amino acid score) は表 8 に示されるように、きび粉26.7, 抽出蛋白質100, 残渣9.1であり、また、比較蛋白質であるカゼインは98.8, グルテンは28.5であった。これらの値はトリプトファンを除外して得られた値であるが、いずれも動物実験から求められた栄養価の値と相

関があるように思われた。さらに、各蛋白質源の第一制限アミノ酸は、きび粉、残渣はグルテンと同様リジンであったが、抽出蛋白質は score 100 で示されるように必須アミノ酸における制限はなかった。

以上の結果は、きびアルカリ抽出蛋白質がカゼインに勝るすぐれた栄養価を有する蛋白質であることを示している。しかしながら、抽出蛋白質の利用にさいしてはその抽出の困難性や収量の悪さが問題となると思われる。

また、きび粉の利用に関しても不足するリジン等のアミノ酸の補強が必要であると考えられる。

IV 要 約

市販のきびよりきび粉、きびアルカリ抽出蛋白質、抽出残渣を調製し、それらの蛋白質の栄養価を白ネズ

Table 8. Amino Acid Composition of Protein Sources. ¹

Amino acid	FAO/WHO pattern	Casein	Gluten	MF*	EP**	RD***
Lysine	5.5	8.18	1.57	1.47	5.77	0.50
Histidine		3.06	1.89	1.99	2.64	2.01
Arginine		3.39	3.56	2.99	7.83	2.10
Aspartic acid		5.54	3.11	6.36	7.97	6.05
Threonine	4.0	3.95	2.48	3.19	4.74	3.02
Serine		5.36	4.69	6.26	4.63	7.52
Glutamic acid		21.37	37.66	23.33	15.21	26.66
Proline		11.14	13.14	8.22	6.43	9.35
Glycine		1.84	3.20	1.51	5.44	1.41
Alanine		2.73	2.71	10.29	6.75	12.00
Cystine + Methionine	3.5	3.98	3.54	3.33	5.16	3.27
Valine	5.0	5.75	3.95	5.34	6.42	5.34
Isoleucine	4.0	4.94	3.56	4.24	4.27	4.57
Leucine	7.0	8.69	6.88	12.96	8.56	12.55
Tyrosine + Phenylalanine	6.0	10.08	8.06	8.52	8.18	3.47
Tryptophan	1.0					
Amino acid score		98.8	28.5	26.7	100	9.1

¹ Grams amino acid per 100 g protein.

*MF, millet flour. **EP, alkaline-extracted protein from millet.

***RD, residue after extraction of protein from millet.

ミを用いる生物試験とアミノ酸分析により、牛乳蛋白質カゼイン及び小麦蛋白質グルテンと比較検討しつつ評価した。

10%蛋白質レベルでの幼白ネズミ成長実験から、抽出蛋白質食のネズミはカゼイン食のネズミより生育がすぐれ、また抽出蛋白質の PER, NPR, FE 値もそれぞれ3.12, 5.02, 0.312となり、これらの値はカゼインと同程度であった。一方、きび粉は成長期のネズミに対しては体重を維持させるだけの効果しか認められなかった。

5%蛋白質レベルでの成熟白ネズミに対する生物価判定では、抽出蛋白質は92.3という高い生物価を有することが示され、さらに、きび粉、残渣もその値はそれぞれ60.8, 70.5となりカゼイン及びグルテンと有意差がなかった。

人工消化実験においては、抽出蛋白質はトリプシンよりもペプシンによりよく消化された。また、ペプシン・パンクレアチン法ではその消化率はカゼインやグルテンと同程度であった。

アミノ酸分析から、抽出蛋白質のアミノ酸組成は非常にバランスのよいことが示されたが、きび粉、残渣の組成においては穀類に特徴的な低いリジン含量及び高いグルタミン酸含量が認められた。1973年 FAO/

WHO 暫定アミノ酸パターンに対するアミノ酸価も抽出蛋白質は100となったが、きび粉、残渣はそれぞれ26.7, 9.1となり、リジンの制限アミノ酸となることが示された。

以上の結果より、きびアルカリ抽出蛋白質は成長期、成熟期共にその栄養価の高いことが立証されたが、きび粉及び残渣は成長期の蛋白質源としてはあまり効果はなく、その利用にさいしてはリジン等のアミノ酸の補強が必要であると考えられた。

本研究を進めるにあたって多大の仕事を分担されました小林恵子氏に深謝します。

(1977年7月29日受理)

引用文献

- 1) 金森正雄, 伊吹文男, 三好正満, 田代 操: 環境科学総合研究所年報, 第3巻, p.72 (1976)
- 2) G. O. Kohler and E. M. Bickoff: *Third Intern. Congr. Food Sci. & Technol.*, Washigton, p.290 (1970)
- 3) 松本恵子, 一寸木宗一, 浜倉大全, 前川昭男, 鈴木隆雄: 栄養と食糧, **29**, 347 (1976)
- 4) 松本恵子, 一寸木宗一, 浜倉大全, 前川昭男, 鈴木隆雄: 栄養と食糧, **29**, 307 (1976)

- 5) 石井孝彦, 神立 誠, 亀高正夫 : 栄養と食糧, **27**, 103(1974)
- 6) W. R. Akeson and M. A. Stahmann: *J. Nutr.*, **83**, 257 (1964)
- 7) 井上五郎訳, 必須アミノ酸研究委員会編: エネルギー・蛋白質の必要量 (FAO/WHO 合同特別専門委員会報告), 医歯薬出版, p.62 (1974)