

平成 30 年 6 月 19 日現在

機関番号：21102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K00875

研究課題名(和文) 食事から摂取するアミノ酸とたんぱく質の算出法の妥当性評価

研究課題名(英文) The validity of estimated dietary amino acid and protein values in the amino acid composition table 2015

研究代表者

乗鞍 敏夫 (Toshio, Norikura)

青森県立保健大学・健康科学部・講師

研究者番号：40468111

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、アミノ酸成分表を用いた推定値とアミノ酸分析値との違いから、アミノ酸成分表2015年版を用いた推定値の妥当性を評価した。分析値と推定値は14日間で評価した場合には顕著な違いは認められなかったが、1日単位で評価した場合には顕著な違いが度々見られた。これらの結果は、アミノ酸成分表には偶然誤差が存在するが、習慣的なアミノ酸の摂取量の評価に必要な系統誤差は小さいこと示唆している。今後、基準窒素量に窒素-たんぱく質換算係数を乗じて算出したたんぱく質量は、アミノ酸残基の総量から算出したたんぱく質量に換算する必要がある。本研究において、我々はこの換算係数(0.92)を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：In this study, validity of the estimated dietary amino acid values in the amino acid composition table (AACT) 2015 was examined by comparing differences between the estimated and analytical values, for 14 consecutive days' meals provided in an elder care facility. There were no major differences between the analytical and estimated values over the 14 days; however, noticeable daily differences sometimes emerged. These results indicate that the AACT 2015 may contain errors, but allows the estimation of habitual amino acid intake. In the near future, protein calculated as the sum of amino acid residues (PROTCAA) will become the international standard. It will be necessary to convert protein content calculated as reference nitrogen multiplied by a nitrogen to protein conversion factor (PROTRN) values to refer to past reports and data; we have determined a correction factor (0.92) for this conversion.

研究分野：複合領域(基礎栄養学)

キーワード：アミノ酸成分表 妥当性 アミノ酸分析 栄養価計算 ケルダール分析

1. 研究開始当初の背景

- ・ 国際連合食糧農業機関 (以下: FAO) の技術報告書 1) では、たんぱく質の好ましい算出法として、アミノ酸組成から算出する方法 (**アミノ酸組成に基づくたんぱく質**) を、国際標準として推奨している。
- ・ 食品成分表 2010 には、ケルダール法で分析した窒素量に、「窒素-たんぱく質換算係数 (表 1)」を乗じて算出した **窒素含量に基づくたんぱく質** が記載されている。

アミノ酸成分表の現状

- ・ 文部科学省は 24 年ぶりにアミノ酸成分表を改訂し、アミノ酸成分表 2010 を発表した。しかし、記載食品数は、食品成分表 1,878 食品のうち 337 食品 (17.9%) であり、たんぱく質含量 0 g の 70 食品を合わせても 1,471 食品のアミノ酸データが未記載である。なお、アミノ酸成分表 2015 では新たに 273 食品のアミノ酸成分値を追加予定である 2)。

高齢者におけるアミノ酸栄養

- ・ 高齢期には筋量と筋機能の低下を特徴とするサルコペニアが生じやすい。サルコペニアが進行すると、転倒・骨折のリスクを増大させ、寝たきりや要介護状態へと進行することが社会問題となっている。近年、アミノ酸の投与がサルコペニアの予防・改善に有効であるという介入研究が報告されている 3)。

本研究の着想に至った経緯

- ・ 近年、日本人高齢者が日常的に食事から摂取しているアミノ酸の調査が報告されている 4,5)。これらの調査は、アミノ酸成分表 2010 を用いているが、未記載食品 (1471 品目) のアミノ酸データを、類似するであろう食品をアミノ酸成分表 2010 から選定し、そのアミノ酸データに置き換えて算出している。これらの報告では、置き換えに起因する系統誤差が、アミノ酸摂取量の調査に与える影響については今後の課題としており、算出値の妥当性の評価は行われていない。
- ・ アミノ酸成分表 2010 に掲載されている 337 食品には、ケルダール法とアミノ酸分析法から算出したたんぱく質がともに掲載されている。これらの値を比較したところ、アミノ酸分析法から算出した値が総じて低値である。つまり、我が国がたんぱく質の算出法 (ケルダール法) は、国際標準のたんぱく質の算出法 (アミノ酸分析法) と系統誤差が生じている。これらの系統誤差はアミノ酸成分表の整備が不十分であるために生じている。アミノ酸成分表 2015 から算出したアミノ酸とたんぱく質の妥当性の評価は、たんぱく質の算出法の国際標準化や食事からのアミノ酸摂取量と疾病や生理との関連を調査するために必要不可欠である。この妥当性の評価には、比較基準

(ゴールド・スタンダード) となる化学分析が必要不可欠である。

調理損失

- ・ 食品成分表 2010 年版では、調理損失 (ゆで、炊き、焼き、フライ、蒸し、水戻し etc.) を考慮した値 (259 食品) が記載されている。より正確な栄養価計算をするためには、調理損失への対応が必要不可欠であるが、脂肪酸成分表とアミノ酸成分表は、いまだ調理損失に対応できていない。

【引用】

- 1) FAO の技術ワークショップ報告書, 2003
- 2) 文部科学省 資源調査分科会 第七期食品成分委員会 (第 9 回) 配布資料
- 3) 小林 久峰, サルコペニアとアミノ酸栄養, 52, 413-417, 2014
- 4) 加藤 友紀他, 地域在住中高年者のアミノ酸摂取量, 栄養学雑誌, 76, 299-310, 2013
- 5) H. Suga et al, Development of an amino acid composition database and estimation of amino acid intake in Japanese adults, Asia Pac. J. Clin. Nutr., 22, 188-199, 2013

2. 研究の目的

- ・ アミノ酸成分表 2015 の発表を機に、アミノ酸とたんぱく質の算出法の妥当性を評価する。
- ・ アミノ酸組成に基づくたんぱく質と、たんぱく質の系統誤差を補正するための「窒素-たんぱく質換算係数」を作成する。

3. 研究の方法

【分析サンプル】

高齢者福祉施設で提供頂いた 1 日分の常食 (朝食、昼食、間食、夕食) を分析試料として実験に供した。前処理法の妥当性の評価には 1 日分の給食 (6 人分 未添加 3 人分 脱脂分乳添加 3 人分) を、アミノ酸成分表 2015 年版を用いた栄養価計算の妥当性の評価には 14 日分の給食 (1 人分/日) を用いた。

【栄養価計算】

高齢者福祉施設から提供頂いた給食の献立およびエクセル栄養君 ver. 8.0 (建帛社 アミノ酸成分表 2015 年版を収載) を用いて、試料中のアミノ酸含量およびたんぱく質量を算出した。

【アミノ酸分析】

文部科学省資源調査分科会の報告書に記載された加水分解法 (酸加水分解法、アルカリ加水分解法、過酸化炭酸加水分解法) および HPLC 分析 (加水分解物に応じた 3 種類の方法) に準じて、アミノ酸自動分析装置から HPLC (蛍光検出) に変更して行った。

酸加水分解・HPLC 分析 (ポストカラム誘導体化法)

分析対象: アスパラギン酸、スレオニン、セ

リン、グルタミン酸、プロリン、グリシン、アラニン、バリン、メチオニン、イソロイシン、ロイシン、チロシン、フェニルアラニン、ヒスチジン、リジン、アルギニン

アルカリ加水分解・HPLC 分析（蛍光検出法）

分析対象：トリプトファン

過酸化化法・HPLC 分析（蛍光検出法）

分析対象：シスチン

【ケルダール分析】

分析試料を濃硫酸と分解促進剤の存在下での加熱により分解した。分解したサンプルに水酸化ナトリウムを添加した後に、ケルダール自動蒸留装置による水蒸気蒸留により試料中の窒素をホウ酸溶液中にホウ酸アンモニウムとして補足した。この液を硫酸で滴定することで試料中の窒素含量を測定した。試料中のたんぱく質含量は窒素含量に窒素-たんぱく質換算係数を乗じて算出した。

【脱脂・微粉末化】

ミキサー混合の試料を凍結乾燥法にて乾燥させた。乾燥後の試料にヘキサンを添加してミキサー混合で脱脂した試料を減圧条件下でヘキサンを除去（50℃ 3時間）した。さらに、ミルミキサーで微粉砕化した後に実験試料とした。

4. 研究成果

アミノ酸分析の妥当性を評価するため、Bovine Serum Albumin (BSA)と脱脂粉乳を加水分解およびアミノ酸分析をした (Fig.1)。BSA はアミノ酸配列が既知であるたんぱく質であるため理論値を、脱脂粉乳はアミノ酸成分表の収載値を、分析値と比較してアミノ酸分析の正確度を評価した。分析値のバラツキは標準偏差で示し、アミノ酸分析の精度を評価した。これらの実験結果により、本研究におけるアミノ酸分析の正確度と精度を評価することができた。

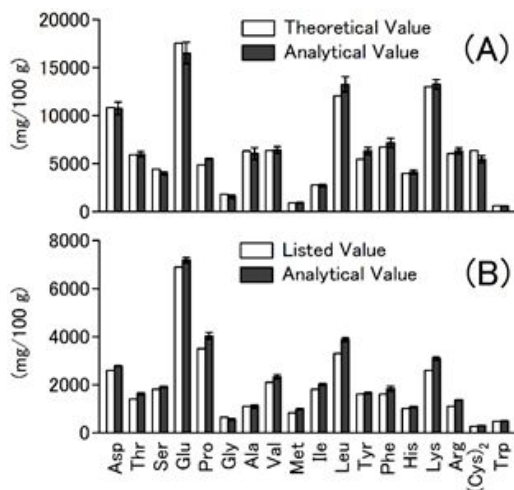


Fig.1 加水分解サンプルのアミノ酸分析の妥当性評価の結果 (A) BSA (B) 脱脂粉乳

文部科学省資源調査分科会の報告書には、ア

ミノ酸分析の前処理として必要となる脱脂・微粉末化法について記載されていない。そこで、アミノ酸分析前の前処理法である脱脂・微粉末化法の妥当性を評価するため、分析試料(1日分の給食)に脱脂粉乳を添加し、添加・回収実験を行った (Fig.2)。予想値は、脱脂粉乳未添加のアミノ酸分析値に添加した脱脂粉乳に含まれるアミノ酸量の和として算出した。

脱脂微粉末化法の検討過程において、熱風乾燥法 (80℃・1週間) で乾燥させていたが、一部のアミノ酸の回収率が低下したため (data not shown)、凍結乾燥法に変更したところ分析値と予想値の比較により、特定のアミノ酸を損失することなく脱脂・微粉末化ができたことが明らかとなった。

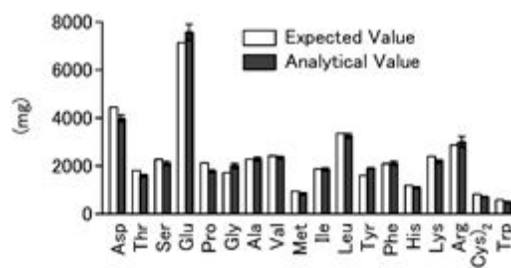


Fig.2 脱脂・微粉末化サンプルの添加回収実験

アミノ酸成分表 2015 年版を用いた栄養価計算の妥当性を評価するため、高齢者福祉施設で提供された連続する 14 日間の給食に含まれるアミノ酸量を栄養価計算と分析した。1日ごとで比較すると一部のアミノ酸において計算値と分析値の差が認められたが (Fig.3-B) 14 日間の平均値で比較するとすべてのアミノ酸において計算値と分析値の高い一致が認められた (Fig.3-A)。アミノ酸成分表 2015 年版は調理損失に未対応で、収載値に推定値が多いなどの課題があるが、優

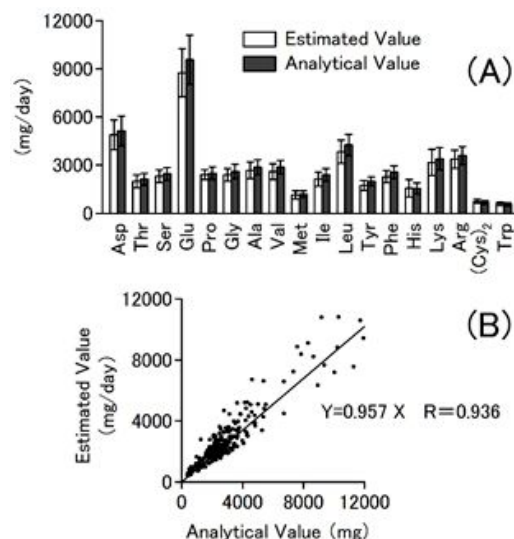


Fig.3 高齢者福祉施設で提供された給食のアミノ酸分析結果 (A) アミノ酸ごとの 14 日間の計算値と分析値の比較 (B) 1 日ごとの計算値と分析値の比較

先度が高い（日常的な摂取頻度と量が高い）食品は優先的に収載されているため、習慣的なアミノ酸摂取量を推し量るための基礎資料として有用であることが示唆された。

日本食品標準成分表に記載されているナイアシンは、ニコチン酸、ニコチン酸アミドの総称であるが、食事摂取基準では体内でトリプトファンを原料として生合成されるナイアシン量を算出（トリプトファン量の1/60）して評価している。しかし、これまでアミノ酸成分表の整備と妥当性の評価が遅れていたため、食事摂取基準ではトリプトファンの摂取量を推し量ることができず、たんぱく質の摂取量から推定量（たんぱく質量の1%）を算出していたが、この推定量の妥当性は十分に評価されていなかった。そこで本研究ではアミノ酸成分表に収載されているすべての食品について**窒素含量に基づくたんぱく質（PROTRN）**とトリプトファン含量を散布図にして相関関係を調べたところ、トリプトファン含量はPROTRNの約1.17%であった（Fig.4-A）。しかし、この散布図は利用頻度や量に基づく重みづけができていないため、我々は高齢者福祉施設で提供された14日間の給食についてPROTRNとトリプトファン含量を散布図にして相関関係を調べたところ、トリプトファン含量はPROTRNの約1.02%であった（Fig.4-B）。この結果は食事摂取基準においてトリプトファンの摂取量をたんぱく質の摂取量の1%として推定している係数（1%）の妥当性を示す結果であった。

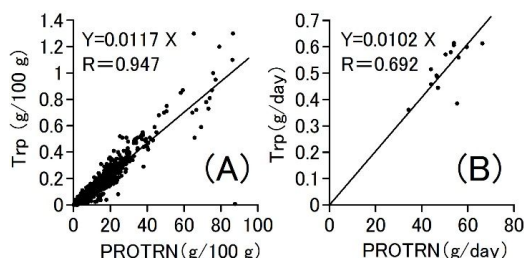


Fig.4

- (A) アミノ酸ごとの14日間の計算値と分析値の比較
 (B) 1日ごとの計算値と分析値の比較

たんぱく質の好ましい算出法として、アミノ酸組成から算出する方法（**アミノ酸組成に基づくたんぱく質 PROTCAA**）を、国際標準として推奨しているが、我が国ではアミノ酸成分表の整備が遅れているため、いまだにPROTRNが一般的に用いられている。なお、PROTCAAとPROTRNには明らかな系統誤差が存在するが、その詳細については十分に明らかにされていない。そこで、我々は本研究ではアミノ酸成分表に収載されているすべての食品についてPROTRNとPROTCAAを散布図にして相

関関係を調べたところ、PROTCAAはPROTRNの約84.9%であった。しかし、（Fig.5-A）、しかし、この散布図は利用頻度や量に基づく重みづけができていないため、我々は高齢者福祉施設で提供された14日間の給食についてPROTRNとトリプトファン含量を散布図にして相関関係を調べたところ、トリプトファン含量はPROTRNの約92.0%であった（Fig.5-B）。今後、我が国でも国際標準として推奨されているPROTCAAを用いた栄養業務が進められるが、その際にこれまでのPROTRNをPROTCAAに換算することが必要となる。その際に本研究で示した係数（0.92）が活用されることが期待される。

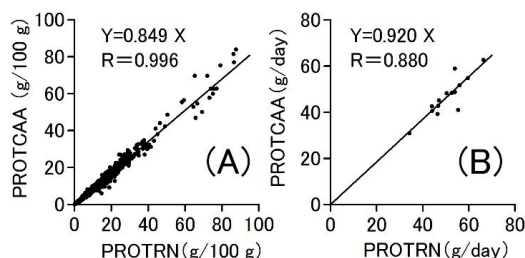


Fig.5

- (A) アミノ酸ごとの14日間の計算値と分析値の比較
 (B) 1日ごとの計算値と分析値の比較

5. 主な発表論文等

〔学会発表〕（計4件）

- 1) **乗鞍敏夫**、浅倉芳佳、堀越春香、藤田絵美理、齋藤長徳、アミノ酸成分表を用いた栄養価計算の妥当性評価、H28年度青森県栄養士会 栄養学術研究会、2016年5月
- 2) **乗鞍敏夫**、齋藤長徳、アミノ酸成分表を用いた栄養価計算の妥当性評価、第63回日本栄養改善学会学術総会、2016年9月
- 3) **乗鞍敏夫**、齋藤長徳、アミノ酸成分表2015年版を用いた栄養価計算の妥当性評価（加水分解前の処理条件の検討）、第64回日本栄養改善学会学術総会、2017年9月
- 4) **乗鞍敏夫**、館花春佳、齋藤長徳、今淳、アミノ酸成分表2015年版を用いた栄養価計算の妥当性の検証、第51回日本栄養・食糧学会東北支部大会、2017年10月

6. 研究組織

(1) 研究代表者

乗鞍 敏夫 (Norikura Toshio)
 青森県立保健大学・健康科学部・栄養学科・講師
 研究者番号：40468111

(2) 研究協力者

青森県立保健大学 健康科学部

栄養学科 学生

浅倉 芳佳 (Asakura Michika)

藤田 絵美理 (Fujita Emiri)

堀越 春香 (Horikoshi Haruka)

里村 真利亜 (Satomura Maria)

金田 礼加 (Kaneta Ayaka)

高橋 知邑 (Takahashi Chisato)

竹村 孝二 (Takemura Kouji)