

# DDT 摂取ラットの代謝変動に及ぼすアミノ酸混合食 の影響と食餌フィチン酸

岡崎 由佳子 片山 徹之

## Abstract

This study was conducted to examine the effect of dietary 1.02% sodium phytate on growth, relative weights of tissues, serum cholesterol, liver triglyceride and hepatic aminopyrine N-demethylase activity in rats fed a casein- or amino acid-based diet with or without 0.07% 1,1,1-trichloro-2,2-bis (p-chlorophenyl) ethane (DDT) for 13 days. Dietary DDT and the amino acid-based diet generally suppressed growth rate and food intake. These protein-related effects were significantly alleviated by the administration of dietary phytate. Liver weight, which was generally suppressed by phytate intake, was markedly elevated by DDT intake. In the rats fed diets without DDT, the amino acid-based diet reduced liver weight regardless of dietary phytate intake. Dietary DDT and the amino acid-based diet elevated testis weight and lowered adipose tissue weight. However, the present dietary manipulation had no effect on kidney weight. Dietary DDT significantly elevated serum cholesterol and liver triglyceride levels, as well as the hepatic activity of aminopyrine N-demethylase. This enhancement of serum cholesterol level and hepatic activity of aminopyrine N-demethylase by DDT was especially prominent in rats fed the amino acid-based diet. Dietary DDT enhanced, whereas the amino acid-based diet reduced liver triglyceride levels. Dietary phytate depressed the liver triglyceride levels regardless of DDT intake, but only in rats fed the casein-based diet. This study suggests that some effects of DDT intake might be potentiated by the amino acid-based diet and some effects reliant on protein source might be depressed by phytate intake.

## 1. はじめに

最近、中国において牛乳や粉ミルクにメラミンが混入され、乳幼児などに腎結石の被害が生じていることが報告された<sup>1)</sup>。食の安全に注意が払われている我が国でも、中国から輸入された原材料に起因すると思われるメラミンが食品中から検出された。このような有機合成化合物の食品混入や食品汚染は、残留農薬やポストハーベスト、環境汚染物質、突発的な食品製造上の事故など様々な原因で生じ、食の安全上の問題として度々取り上げられてきた。食料自給率の低い我が国では、特にこのような問題を国際的な問題として考えてい

く必要もあろう。これら有機合成化合物の中で、脂溶性の低分子化合物は生体異物と称され、栄養学的に詳細に検討がなされてきた<sup>2)</sup>。環境汚染物質の 1,1,1-trichloro-2,2-bis (p-chlorophenyl) ethane (DDT) や PCB をラットに摂取させると、肝臓の薬物代謝酵素が誘導され、脂肪肝が生じ、血清コレステロールが上昇するなど脂質代謝の変動が引き起こされる<sup>2)</sup>。

フィチン酸は穀類や豆類に 1～5% 程度含まれる食品成分で、ビタミン様物質であるミオイノシトールを母骨格とし、6 個のリン酸基を有している。フィチン酸はリン酸基にカルシウム、鉄、亜鉛などの無機質をキレートし、その吸収を抑制す

ることがよく知られており、栄養学的には非栄養素の中でも抗栄養素因子として考えられてきた<sup>3)-5)</sup>。著者らは、フィチン酸の母骨格であるミオイノシトールが抗脂肪肝作用を有していることから、フィチン酸も脂肪肝を抑制するのではないかと考えて研究を行ってきた<sup>6)-9)</sup>。その結果、ミオイノシトールと同様に食餌フィチン酸が DDT 摂取による肝臓脂質の蓄積を抑制することを見出した<sup>6)-9)</sup>。その機構としては、DDT 摂取による肝臓の脂肪酸合成関連酵素活性の上昇を抑制することが関係していることを示した<sup>6)-9)</sup>。Sakamoto らは、H<sup>3</sup> でラベルしたフィチン酸をラットの胃に投与した場合、投与1時間後に血清中にミオイノシトールあるいはミオイノシトールリン酸の形で存在することを示した<sup>10)</sup>。著者らは、ミオイノシトールと等モルのフィチン酸を摂取させた場合に、ミオイノシトールを摂取させた場合とほぼ同程度に肝臓中の遊離ミオイノシトール含量やリン脂質中に占めるホスファチジルイノシトール含量の割合が増加することを示した<sup>8),9)</sup>。それ故、フィチン酸による抗脂肪肝作用は、フィチン酸が消化吸収の過程でミオイノシトールに代謝され、発揮されているものと推定した<sup>8),9)</sup>。

著者らは、フィチン酸の体内ミオイノシトール含量への影響を検討する実験において、カゼインにミオイノシトールが混入している可能性を考慮して、カゼインの組成に基づいたアミノ酸混合を用いた<sup>8),9)</sup>。興味あることにフィチン酸は DDT 添加、無添加に拘わらず、ラットの摂食量および成長を顕著に促進し、このような効果は食餌ミオイノシトールには見られなかった<sup>8),9)</sup>。これまでカゼインをタンパク質源とした場合には、食餌フィチン酸 (0.5~1.0%) はラットの食餌摂取量や成長に有意な影響を与えなかった。一方、ラットの食餌にタンパク質源としてアミノ酸混合食を用いると、タンパク質そのものを用いた場合と比較して食餌摂取量が減少し、成長の遅延が生じることが知られている<sup>11)-13)</sup>。

これらの事実からフィチン酸がアミノ酸の吸収や代謝に何らかの影響を与えている可能性が考えられる。本実験では、基本食としてタンパク質源をカゼインとカゼインの組成に基づいたアミノ酸混合を用いた場合に DDT による代謝変動にどのような差異が生じ、フィチン酸摂取がどのような影響を与えるかについて検討を加えた。

## 2. 実験方法

### 1) 実験動物と飼育

実験動物として初体重約 62 g のウイスター系雄ラット (広島実験動物株) を用いた。市販の固形飼料で3日間予備飼育し、体重が等しくなるように1群5匹の8群に群分けした。これらの群は、フィチン酸添加あるいは無添加のカゼイン基本食またはアミノ酸混合食に振り分けられ、このうち半数の4群には、DDT を含む食餌を、残りの4群には DDT を含まない食餌を与えた。飼育期間は13日とした。飼育室の温度は 24±1°C とし、明暗周期は12時間 (明期は 8:00-20:00) とした。餌と飲水は自由に摂取させた。飼育最終日の朝 8:00 に餌を抜き取り、午後1時から3時の間にエーテル麻酔し、下大動脈より血液を採取し、血清を分離した。肝臓、腎臓、睪丸、腎臓周囲の脂肪組織および精巣周囲の脂肪組織をすばやく取り出し、重量を測定した。肝臓の一部は4倍量の 0.14 M KCl でホモゲナイズし、10,000×g で10分間冷却遠心した。この上澄みを用いて、aminopyrine N-demethylase 活性を測定した。残りの肝臓と血清はトリグリセリドおよびコレステロールを定量するまで、-80°C にて保存した。

### 2) 実験飼料

カゼイン食およびアミノ酸混合食の基本組成を Table 1 に示した。DDT 摂取群には DDT を 0.07% 添加した。フィチン酸添加食群には 0.2% ミオイノシトールと等モルとなるフィチン酸ナトリウム 1.02% を添加した。DDT およびフィチン酸ナトリウムの添加分はショ糖と置き換えた。アミノ酸混合は Table 2 に示したようにカゼインのアミノ酸組成に基づいて調製した<sup>14)</sup>。ただし、カゼイン食で添加される L-cystine も含めて調製した。カゼインに含有される粗タンパク質は 85% であり、Hara らの方法を参考にショ糖で N 含量を合わせた<sup>15)</sup>。

### 3) 測定方法

実験飼料投与期間の体重と飼料摂取量は毎日測定した。肝臓の脂質は Folch ら<sup>16)</sup> の方法で抽出した。肝臓のトリグリセリド含量は、トリグリセリド G-テストワコー (和光純薬工業) を用いた Danno ら<sup>17)</sup> の方法で定量した。肝臓の aminopyr-

Table 1 Composition of basal diets

Ingredients	Casein	Amino acid mixture
	g/kg diet	
Casein <sup>1</sup>	200	—
Amino acid mixture <sup>2</sup>	—	200
L-Cystine <sup>3</sup>	3	—
Sucrose	500	503
Potato starch	150	150
Corn oil	50	50
Cellulose powder	50	50
Mineral mixture <sup>4</sup>	35	35
Vitamin mixture <sup>4</sup>	10	10
Choline bitartrate	2	2

<sup>1</sup> Casein (Wako Pure Chemicals Co., Ltd., Osaka, Japan)

<sup>2</sup> Composition of an amino acid mixture that simulated casein is shown in Table 2. The mixture was made isonitrogenous with the casein diet by the addition of a small amount of sucrose (see Table 2). This composition includes L-cystine addition to the diet.

<sup>3</sup> It is decided to recommended L-cystine at 3g/kg diet as the supplement to the AIN-93G rodent diet.

<sup>4</sup> Mineral and vitamin mixtures for AIN-93 rodent diet.

ine N-demethylase 活性は、Tani らの方法<sup>18)</sup> にしたがって 37°C で 12 分間に生成されるホルムアルデヒドを定量した。血清コレステロールは、コレステロール C-テストワコーを用いて定量した。

#### 4) 統計処理

統計処理は三次元分散分析を行った後、Duncan<sup>19)</sup> の多重比較検定により危険率 5% 以下を有意として、各群間の有意差を検定した。

### 3. 実験結果

Figure 1A に示したように、13 日間の成長は DDT 摂取により遅延する傾向が見られ、アミノ酸混合基本食でフィチン酸を添加していない群では、この遅延は有意であった。DDT 摂取に拘わらず、アミノ酸混合基本食はカゼイン基本食に比較して顕著な成長の遅延を引き起こした。このアミノ酸混合基本食による成長の遅延は食餌フィチン酸により有意に緩和された (Figure 1A)。このときの食餌摂取量を Figure 1B に示した。食餌摂取量は本実験の食餌条件によりほぼ成長と同様な傾向を示した。

Table 3 に 100 g 体重当たりの組織重量を示した。肝臓重量は DDT 摂取により著しく増大した。DDT 無摂取群では、アミノ酸混合基本食群でカゼイン基本食群と比較して顕著に肝臓重量が低下

Table 2 Composition of the amino acid mixture<sup>1</sup>

Amino acid	Amount
	g/kg mix
L-Arginine	31.50
L-Histidine	22.64
L-Isoleucine	41.84
L-Leucine	75.80
L-Lysine-HCl	79.98
L-Methionine	22.64
L-Cystine	18.21
L-Phenylalanine	43.31
L-Tyrosine	45.78
L-Threonine	32.98
L-Tryptophan	10.34
L-Valine	49.22
L-Alanine	22.64
L-Aspartic acid	60.05
L-Glutamic acid	178.67
Glycine	15.79
L-Proline	100.90
L-Serine	47.74
Sucrose <sup>2</sup>	to make 1kg

<sup>1</sup> All amino acids were crystallized.

<sup>2</sup> Sucrose was added to balance the nitrogen concentration to that of the casein diet.

した。アミノ酸混合基本食によるこの効果は DDT 摂取群では観察されず、結果的に DDT 摂取の肝臓肥大効果はアミノ酸混合基本食群 (70%) がカゼイン基本食群 (34%) と比較して顕著であった。タンパク質源に関係なく食餌フィチン酸は DDT 摂取による肝臓肥大効果を有意に緩和した (Table 3)。睾丸重量は DDT 摂取およびアミノ酸混合食により増大し、アミノ酸混合食による睾丸肥大効果は食餌フィチン酸により緩和された (Table 3)。睾丸重量の変動は、おもに体重の変化によるものであり、実際の湿重量には変化が認められなかった (未表示データ)。脂肪組織重量は、部位に拘わらず、DDT 摂取およびアミノ酸混合基本食により減少した。脂肪組織の変動は、食餌摂取量と高い相関が見られた (Table 3)。腎臓重量は本実験の食餌操作による有意な影響を受けなかった (Table 3)。

DDT 摂取、アミノ酸混合基本食および食餌フィチン酸の血清コレステロール、肝臓トリグリセリドおよび肝臓 aminopyrine N-demethylase 活性への影響について Table 4 に示した。血清コレステロールは DDT 摂取により顕著に増加し、この増加はアミノ酸混合基本食群で顕著であった (Table 4)。本実験では、食餌フィチン酸による有意な影響は認められなかった (Table 4)。肝臓トリ

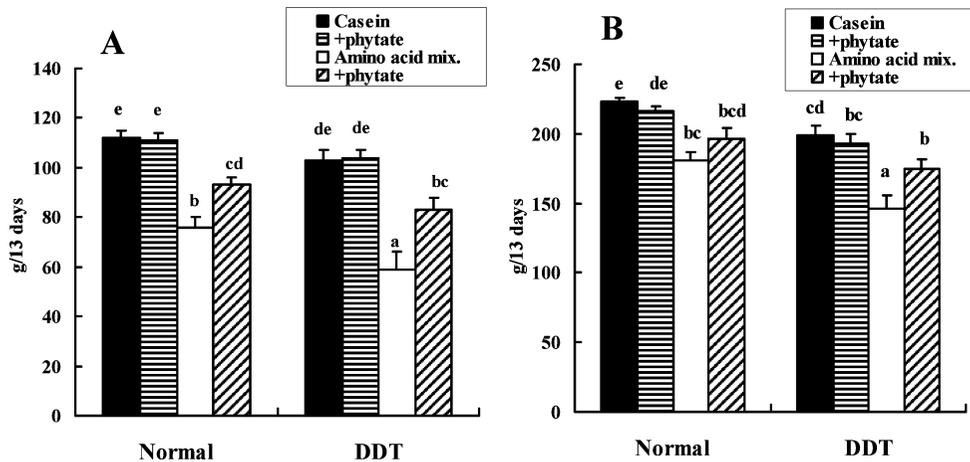


Figure 1 Effect of dietary 1.02% sodium phytate on growth (A) and food intake (B) in rats fed casein or the amino acid mixture based diets with or without 0.07% DDT for 13 days. Values are presented as mean  $\pm$  SEM (n=5). Values with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ) as determined by 3-way ANOVA and post hoc Duncan multiple range test. Normal indicates the diets without DDT; DDT, 0.07% DDT diets; casein, casein based diets; +phytate, casein based diet containing 1.02% sodium phytate diet; Amino acid mix., amino acid based diet; +phytate, amino acid based diet containing 1.02% sodium phytate.

グリセリドは DDT 摂取により顕著に増加し、DDT 摂取、無摂取に拘わらず、アミノ酸混合基本食により減少した。食餌フィチン酸は DDT 摂取の有無に拘わらず、カゼイン基本食群において肝臓トリグリセリド量を抑制した (Table 4)。アミノ酸混合基本食群においては、食餌フィチン酸の肝臓トリグリセリドへの有意な効果は認められなかった (Table 4)。肝臓 aminopyrine N-demethylase 活性は、DDT 摂取により顕著に増加し、この増加はアミノ酸混合基本食群で特に顕著であった。アミノ酸混合基本食群においてのみ、DDT 摂取による肝臓 aminopyrine N-demethylase 活性の増大は食餌フィチン酸により有意に抑制された (Table 4)。

#### 4. 考察

これまでの報告<sup>2)</sup>と一致して、DDT 摂取により肝臓の肥大、血清コレステロールの上昇、肝臓薬物代謝酵素の一種である aminopyrine N-demethylase 活性の上昇が生じた (Table 3, 4)。DDT 摂取によるこれらの効果は、一般的にアミノ酸混合基本食により増強された (Table 3, 4)。生体異物によるこれらの代謝変動がタンパク質の

レベルや質に影響を受けることが知られている<sup>20),21)</sup>。さらに近年、様々なペプチドの機能性が明らかにされてきている。本研究の結果の原因や機構は明確ではないが、DDT 摂取による代謝変動あるいは DDT の吸収や代謝にカゼインのペプチドが何らかの影響を与える可能性を示している。

著者らの以前のアミノ酸基本食を用いた研究では、DDT 摂取による肝臓トリグリセリドや血清コレステロールの増加は食餌フィチン酸により抑制された<sup>8),9)</sup>。本実験では同様な結果は得られなかった (Table 4)。DDT 摂取による肝臓トリグリセリドの増加は、カゼイン基本食群においてのみ食餌フィチン酸によって抑制され、アミノ酸混合基本食群では顕著な影響は認められず、血清コレステロールの上昇も食餌フィチン酸によって緩和されなかった (Table 4)。この原因のひとつとして、本実験では DDT 摂取のアミノ酸基本食群においてフィチン酸添加食で以前の実験<sup>8),9)</sup>と比較して、食餌摂取量が顕著に回復しており、このことが関係しているのかもしれない。今後は食餌摂取量を等しくして検討を加える必要もあるだろう。

タンパク質とそのタンパク質に基づいたアミノ酸混合を比較した場合に、アミノ酸混合をタンパク質源とした場合の方がラットの成長や摂食量が

**Table 3** Effect of dietary 1.02% sodium phytate on relative weights of liver, kidney, testis and adipose tissue in rats fed casein or the amino acid mixture based diets with or without 0.07% DDT for 13 days<sup>1</sup>

Group	Liver wt.	Kidney wt.	Testis wt.	Adipose Tissue wt.		
				Epididymal	Perirenal	Total
	% of body weight					
Normal						
Casein	4.27±0.14 <sup>b</sup>	0.949±0.020	0.909±0.008 <sup>a</sup>	0.959±0.056 <sup>c</sup>	1.132±0.056 <sup>d</sup>	2.091±0.122 <sup>d</sup>
+ Phytate	4.01±0.10 <sup>b</sup>	0.891±0.070	0.925±0.027 <sup>a</sup>	0.915±0.054 <sup>bc</sup>	1.022±0.086 <sup>cd</sup>	1.937±0.122 <sup>cd</sup>
Amino acid mixture	3.41±0.06 <sup>a</sup>	0.937±0.015	1.102±0.044 <sup>bc</sup>	0.728±0.072 <sup>ab</sup>	0.609±0.111 <sup>ab</sup>	1.337±0.056 <sup>e</sup>
+ Phytate	3.45±0.08 <sup>a</sup>	0.919±0.028	1.002±0.043 <sup>ab</sup>	0.816±0.106 <sup>bc</sup>	0.777±0.056 <sup>bc</sup>	1.593±0.188 <sup>e</sup>
DDT						
Casein	5.71±0.11 <sup>de</sup>	0.954±0.023	0.951±0.027 <sup>a</sup>	0.726±0.037 <sup>ab</sup>	0.739±0.052 <sup>b</sup>	1.465±0.066 <sup>e</sup>
+ Phytate	5.38±0.11 <sup>cd</sup>	0.983±0.028	1.009±0.023 <sup>b</sup>	0.736±0.048 <sup>ab</sup>	0.680±0.076 <sup>ab</sup>	1.417±0.120 <sup>e</sup>
Amino acid mixture	5.81±0.11 <sup>e</sup>	0.982±0.009	1.280±0.081 <sup>d</sup>	0.553±0.097 <sup>a</sup>	0.408±0.157 <sup>a</sup>	0.961±0.253 <sup>e</sup>
+ Phytate	5.21±0.19 <sup>c</sup>	0.966±0.018	1.141±0.008 <sup>c</sup>	0.593±0.036 <sup>a</sup>	0.567±0.087 <sup>ab</sup>	1.160±0.102 <sup>e</sup>
	Significant effect as determined by 3-way ANOVA					
Protein source	0.0001	NS	0.0000	0.0020	0.0001	0.0002
Phytate	0.0013	NS	NS	NS	NS	NS
DDT	0.0000	NS	0.0009	0.0002	0.0002	0.0001
Protein source×Phytate	NS	NS	0.0141	NS	NS	NS
Protein source×DDT	0.0002	NS	NS	NS	NS	NS
Phytate×DDT	0.0387	NS	NS	NS	NS	NS
Protein source×Phytate×DDT	NS	NS	NS	NS	NS	NS

<sup>1</sup> Values are means±SEM (n=5). Values with different letters are significantly different (p<0.05) as determined by Duncan's multiple-range test.

**Table 4** Effect of dietary 1.02% sodium phytate on serum cholesterol, liver triglyceride and hepatic aminopyrine N-demethylase activity in rats fed casein or the amino acid mixture based diets with or without 0.07% DDT for 13 days<sup>1</sup>

Group	Serum cholesterol	Liver triglyceride		Hepatic aminopyrine N-demethylase activity		
	mmol/L	μmol/g tissue	μmol/100g body wt.	μmol/12 mins/g tissue	μmol/12 mins/100g body wt.	
Normal						
Casein	3.48±0.21 <sup>bcd</sup>	75.3±7.9 <sup>c</sup>	324±40 <sup>b</sup>	1.12±0.08 <sup>a</sup>	4.8±0.3 <sup>a</sup>	
+ Phytate	3.13±0.20 <sup>bc</sup>	43.0±2.8 <sup>ab</sup>	172±10 <sup>a</sup>	1.12±0.10 <sup>a</sup>	4.5±0.3 <sup>a</sup>	
Amino acid mixture	2.95±0.18 <sup>ab</sup>	50.3±3.4 <sup>b</sup>	171±11 <sup>a</sup>	1.18±0.05 <sup>a</sup>	4.0±0.2 <sup>a</sup>	
+ Phytate	2.80±0.23 <sup>a</sup>	47.2±1.4 <sup>ab</sup>	162±4 <sup>a</sup>	1.16±0.05 <sup>a</sup>	4.0±0.1 <sup>a</sup>	
DDT						
Casein	3.74±0.26 <sup>cd</sup>	110.1±10.7 <sup>d</sup>	632±71 <sup>c</sup>	2.28±0.19 <sup>b</sup>	13.0±1.0 <sup>b</sup>	
+ Phytate	3.62±0.08 <sup>cd</sup>	66.6±4.4 <sup>bc</sup>	357±18 <sup>b</sup>	2.71±0.18 <sup>bc</sup>	14.6±1.0 <sup>bc</sup>	
Amino acid mixture	4.02±0.19 <sup>d</sup>	72.3±4.2 <sup>c</sup>	421±31 <sup>b</sup>	3.51±0.12 <sup>d</sup>	20.4±0.6 <sup>d</sup>	
+ Phytate	3.91±0.15 <sup>d</sup>	70.3±5.4 <sup>c</sup>	367±33 <sup>b</sup>	3.20±0.11 <sup>cd</sup>	16.7±1.0 <sup>c</sup>	
	Significant effect as determined by 3-way ANOVA					
Protein source	NS	0.0019	0.0006	0.0000	0.0001	
Phytate	NS	0.0000	0.0000	NS	NS	
DDT	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	
Protein source×Phytate	NS	0.0001	0.0006	0.0363	0.0131	
Protein source×DDT	0.0139	NS	NS	0.0001	0.0000	
Phytate×DDT	NS	NS	NS	NS	NS	
Protein source×Phytate×DDT	NS	NS	NS	0.0476	0.0071	

<sup>1</sup> Values are means±SEM (n=5). Values with different letters are significantly different (p<0.05) as determined by Duncan's multiple-range test.

低くなり、栄養的に劣っていることが知られており、その原因について検討がなされてきた<sup>11)-13)</sup>。興味あることに以前の報告と一致して、アミノ酸混合基本食における成長の遅延や食餌摂取量の減少は、食餌フィチン酸によって回復した<sup>8),9)</sup> (Figure 1A, 1B)。一方、カゼイン基本食群では、食餌フィチン酸による成長や食餌摂取量への顕著な影響は認められなかった。遊離のアミノ酸の吸収がペプチドの吸収と比較して良好でないことが知られており、著者らはフィチン酸がアミノ酸の吸収や代謝に何らかの影響を与えているのではないかと推察している<sup>8),9)</sup> (Figure 1A, 1B)。最近、フィチン酸がアントシアンの吸収を高めることが明らかとなっている<sup>22)</sup>。アミノ酸の吸収に与える食餌フィチン酸の効果についても検討したいと考えている。

#### 引用文献

- 1) Gossner CM-E, Schlunt J, Embarek PE, Hird S, Lo-Ho-Wong D, Beltran JJO, Teoh KN, Tritscher A. (2009) The Melamine incident: implications for international food and feed safety. *Environ. Health Perspect.* 117: 1803-1808.
- 2) 吉田昭 (1990) 生体異物による代謝変動と制御に関する栄養学的研究 日本農芸化学会誌, 64 : 1343-1348.
- 3) Rimbach G, Pallauf J. (1999) Effect of dietary phytate on magnesium bioavailability and liver oxidant status in growing rats. *Food Chem Toxicol* 37: 37-45.
- 4) Zhou JS, Erdman JW. (1995) Phytic acid in health and disease. *CRC Crit Rev Rev Food Sci Nutr* 35: 495-508.
- 5) 久保隆昌, 窪川直秀, 吉原一年, 細川純, 広津孝弘, 鈴木博雄 (1990) フィチン酸の亜鉛吸収阻害作用の *Rhizopus acetoinus* 細胞壁多糖による抑制 日本農芸化学会誌, 72 : 825-834.
- 6) Okazaki Y, Kayashima T, Katayama T. (2003) Effect of dietary phytic acid on hepatic activities of lipogenic and drug-metabolizing enzymes in rats fed 1,1,1-trichloro-2,2-bis (p-chlorophenyl) ethane(DDT). *Nutr Res.* 23: 1089-1096.
- 7) 岡崎由佳子, 片山徹之 (2005) フィチン酸の栄養的再評価 — ミオイノシトールとの共通性を中心に — 日本栄養・食糧学会 58 : 151-156.
- 8) 岡崎由佳子 (2005) 環境汚染物質による代謝変動に対する食餌ミオイノシトールおよびフィチン酸の影響 — 高等学校家庭科教育における環境汚染物質の学習内容の検討も含めて — (研究番号 16-334). 平成 16 年度笹川科学研究助成に係る研究完了報告書および収支報告書の提出について pp.2-4.
- 9) Okazaki Y, Katayama T. (2008) Dietary inositol hexakisphosphate, but not *myo*-inositol, clearly improves hypercholesterolemia in rats fed casein-type amino acid mixtures and 1,1,1-trichloro-2,2-bis (p-chlorophenyl) ethane. *Nutr Res.* 28: 714-721.
- 10) Sakamoto K, Vucenik I, Shamsuddin AM. (1993) [3H] Phytic acid (inositol hexaphosphate) is absorbed and distributed to various tissues in rats. *J. Nutr* 123: 713-720.
- 11) Itoh H, Kishi T, Chibata I. (1974) Plasma amino acids and stomach contents of rats fed casein and the corresponding amino acid mixture. *J. Nutr* 104: 386-393.
- 12) Ebihara K, Imamura Y, Kiriyama S. (1979) Effect of dietary mineral composition on nutritional equivalency of amino acid mixtures and casein in rats. *J. Nutr* 109: 2106-2116.
- 13) Chiji H, Harayama K, Kiriyama S. (1990) Effects of feeding rats low protein diets containing casein or soy protein isolate supplemented with methionine or oligo-L-methionine. *J. Nutr* 120: 166-171.
- 14) Reeves PG, Nielsen FH, Fahey Jr GC. (1993) AIN-93purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J. Nutr* 123: 1939-1951.
- 15) Hara H, Narakino H, Kiriyama S, Kasai T. (1995) Induction of pancreatic growth and proteases by feeding a high amino acid diet does not depend on cholecystokinin. *J. Nutr* 125: 1143-1149.
- 16) Folch J, Lees M, Sloane-Stanley GH. (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol Chem* 226: 497-509.
- 17) Danno H, Jincho Y, Budiyanto S, Furukawa Y, Kimura S. (1992) A simple enzymatic quantitative analysis of triglycerides in tissues. *J Nutr Sci Vitaminol* 38: 517-521.
- 18) Tani T, Kato N, Horio F, Yoshida A. (1981) Characteristic properties of isolated soy protein in the metabolic changes due to dietary polychlorinated biphenyls. *Nutr Res.* 1: 83-92.
- 19) Duncan DB. (1955) Multiple range and multi-

- ple F test. *Biometrics* 11: 1-6.
- 20) Kato N, Tani T, Yoshida A. (1980) Effect of dietary level of protein on liver microsomal drug-metabolizing enzymes, urinary ascorbic acid and lipid metabolism in rats fed PCB-containing diets. *J. Nutr* 110: 1686-1694.
- 21) Kato N, Tani T, Yoshida A. (1981) Effect of dietary quality of protein on liver microsomal mixed function oxidase system, plasma cholesterol and urinary ascorbic acid in rats fed PCB. *J. Nutr* 111: 123-133.
- 22) Matsumoto H, Ito K, Yonekura K, Tsuda T, Icchiyanagi T, Hirayama M (2007) Enhanced absorption of anthocyanins after oral administration of phytic acid in rats and human. *J. Agric Food Chemr* 55: 2489-2496.