

ニワトリヒナにおけるアルファルファ緑葉 タンパク質の発育阻害作用とサポニンの生理作用

上 田 博 史*

Hiroshi UEDA*: Growth-Depressing Effect of Alfalfa Leaf Protein Concentrate
and Physiological Action of Saponins in Chicks

Abstract

The green crop fractionation was planned to use feedstuff efficiently by separating plant materials into two fractions; water-soluble protein fraction (leaf protein concentrate; LPC) as protein source for monogastric animals and fibrous residue as energy source for ruminants. However, feeding LPC prepared from alfalfa severely depressed chick growth rate. This adverse effect was attributed to the anorexia due to alfalfa saponins. The bitter taste of saponins was considered as factor suppressing the appetite, but a series of experiments has suggested that saponins impair physiological functions of animals by interfering with membrane sterols. The nutritive value of alfalfa LPC was improved by adding cholesterol, but blood cholesterol concentrations were not elevated. Alfalfa saponins partly accounted for the hypocholesterolemic effect of the LPC.

キーワード：サポニン，アルファルファ緑葉タンパク質，発育阻害作用，血清コレステロール降下作用

1. はじめに

畜産学の分野で、既成の飼料原料の有効利用や未利用資源の開発に携わった研究者は多い。地球上の食糧資源の枯渇や環境保全を考慮すれば、その必要性を誰もが認めているから。

資源の有効利用という観点に立てば、成功例の最たるものは大豆粕であろう。大豆種子は約37%のタンパク質と19%前後の脂肪を含み、種子の80%は採油用に利用される。大豆粕はその採油残渣で、タンパク質含量は45%を超え、アミノ酸組成も悪くない。生大豆は血球凝集素やプロテアーゼインヒビターなどの抗栄養因子を含むが、大豆粕の場合、粕製造中の加熱処理によって、これらの因子は失活する。嗜好性もよく、タンパク質源としてすべての家畜にほぼ無制限に与与することができる。しかし、国内での自給率は極めて低い。大豆粕以外にも、植物資源からは種々の油粕類やぬか類がつくられているが、栄養価、嗜好性、いずれ

をとっても大豆粕を凌駕するものはない (Table 1)。

かつては主要なタンパク質源であった魚粉が資源の枯渇という問題に直面していることや、世界的に畜産食品に対する需要が増加している現況を鑑みれば、大豆粕を代替できる新しい資源や利用法の開発は必須になる。

従属栄養生物である動物は、必要な栄養素を植物に依存する。しかし、タンパク質や炭水化物の利用性は動物によって大きな違いがある。ニワトリやブタのような単胃動物は体内で合成できない必須アミノ酸を外から摂取しなければならない。一方、ウシのように反芻胃をもつ動物では、尿素などの非タンパク態窒素化合物が反芻胃内微生物の作用により良質な菌体タンパク質に再合成され、宿主に利用される。また、単胃動物は消化酵素を欠くため、繊維質をほとんど利用できず、セルロースは地球上で最大の未利用資源になる。しかし、反芻動物は反芻胃内微生物に由来するセルラーゼの助けを借り、セルロースをエネルギー源として利用できる。このような動物の栄養生理学的な違いを利用し、牧草を成分分画して飼料資源の有効利用を図ろうと、ニワトリヒナを使った研究を開始したのは1980年初頭であった。

2004年4月9日受領

2004年5月31日受理

*畜産学研究室 (Laboratory of Animal Science)

†本論文は平成14年度日本家禽学会賞の対象となった研究のミニレビューである。

Table 1. Chemical composition and nutritive values of some feedstuff

	Moisture (%)	Crude protein (%)	Crude fat (%)	Crude fiber (%)	ME (Mcal/kg)
Pasture					
Alfalfa	79.0	5.7	0.7	4.8	—
Italian ryegrass	83.7	3.0	0.8	3.2	—
Conventional feedstuff					
Fish meal	7.6	53.5	12.9	2.1	2.53
Soybean meal	11.7	46.1	1.3	5.6	2.39
Rapeseed meal	12.3	37.1	2.2	9.7	1.69
Corn	13.5	8.0	3.8	1.7	3.27
Grain sorghum	13.2	8.8	3.2	1.8	3.22
Wheat bran	11.3	15.7	4.0	9.3	1.97
Alfalfa meal	9.3	17.5	3.0	22.4	1.39
Leaf protein concentrate (LPC)					
Alfalfa LPC	6.0	57.2	12.2	0.6	3.32
Italian ryegrass LPC	5.5	57.9	11.8	2.1	3.41
Purified feedstuff					
Soybean protein isolate	5.8	84.5	0.2	0.1	3.83
Milk casein	8.8	89.2	0.2	0.2	4.10

Adapted from Standard Tables of Feed Composition in Japan (2001) and Ueda et al. (1986).

2. 牧草の成分分画と緑葉タンパク質

アルファルファやイタリアンライグラスのような牧草は80%前後の水分を含み、単胃動物に対しては乾物中に難消化性成分が多いため、反芻動物のエネルギー源としてもつばら利用されている。しかし、粗繊維量に匹敵するタンパク質も含む (Table 1)。「牧草の成分分画」というアイデアの基本は、茎葉からタンパク質 (緑葉タンパク質または緑葉タンパク質濃縮物、以下 LPC) を抽出し、これをヒトを含む単胃動物のタンパク質源とし、残りの繊維部分を反芻動物のエネルギー源として活用しようというものである。

LPC を実験室規模で調製する場合、原料草を細切・圧搾し、水溶部と繊維残渣に分離することから始める (Fig. 1)。繊維残渣は乾草やサイレージに調製する。

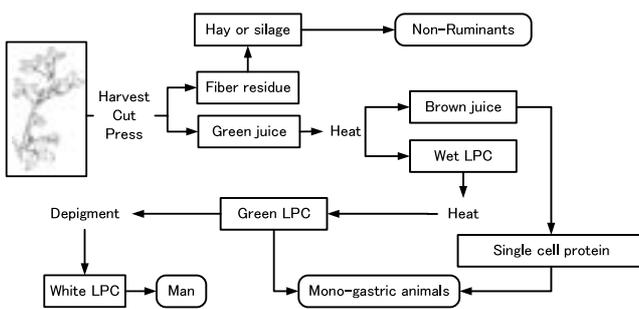


Fig. 1. Production of leaf protein concentrate (LPC) in green crop fractionation.

水溶部はクロロフィルを含み濃い緑色をしているので、グリーンジュースとよぶ。グリーンジュースを徐々に加温していくと、タンパク質が凝固沈殿し、これを乾燥すれば LPC が得られる。有機溶媒でクロロフィルを除けば脱色でき、ヒトにも利用できる。

最初の成果は、ラジノクローバーから調製した粗タンパク質含量53.8%の LPC で得られた (Ueda and Ohshima, 1982)。Fig. 2 に示したように、結果は栄養学の基本を絵に描いたようなものであった。第1制限アミノ酸のメチオニンを段階的に添加すると、ヒナの発育と窒素の蓄積率は増加し、血漿尿酸量は低下する。添加量が多くなるにつれ、血漿中のメチオニンは増加し、第2制限アミノ酸のリジンは逆に低下する。メチオニンの補足が必要なものの、粗タンパク質含量18%の半精製飼料の栄養価としては十分なものであった。

LPC の原料草としては、継続的に入手可能で、家畜に対して安全であることが必須条件になる。したがって、牧草だけではなくスズメノカタビラのような雑草も原料になりうる。マメ科牧草のアルファルファはタンパク質含量が高く収量も多いので、原料草としては最適であると期待した。しかし、結果は予想外のものであった。粗タンパク質含量、アミノ酸組成、エネルギー価は、ラジノクローバーやイタリアンライグラスから調製した LPC と同じであるにもかかわらず (Table 1)、アルファルファ LPC の給与はヒナの発育を阻害し、ときに死亡例までみられた (Ueda and

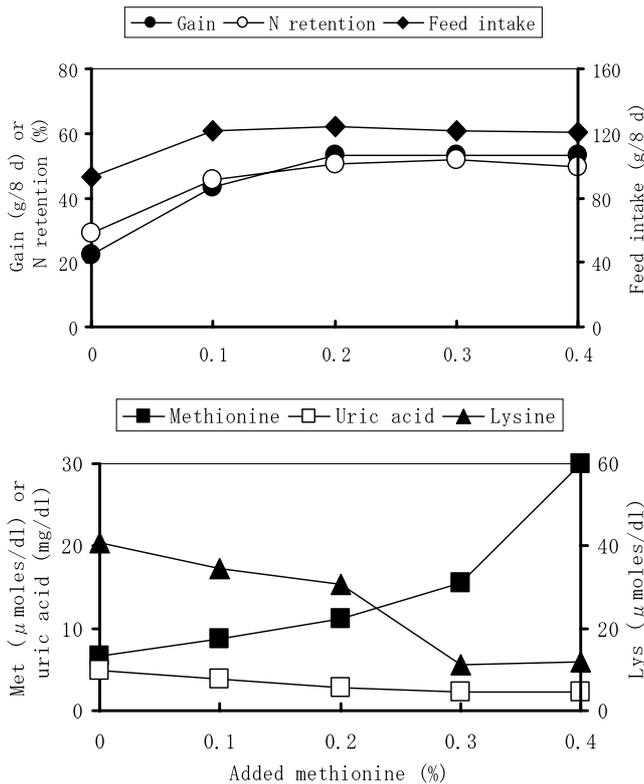


Fig. 2. Growth performance and blood components in chicks fed a diet containing ladino clover leaf protein concentrate and graded levels of methionine.

Ohshima, 1983).

アルファルファを加工した飼料には茎葉の乾燥粉末のアルファルファミールもある (Table 1). 粗タンパク質含量は比較的高いが、ニワトリに多給すると発育阻害や産卵率の低下をもたらすので、もっぱら卵黄の色素源として使われている。アルファルファミールは繊維含量が高いため、嗜好性が悪いというのが定説になっているが、LPCの場合、繊維質をほとんど含まないので、この考え方は当てはまらない。アルファルファLPCの栄養価は、グリーンジュースの段階でエタノールを加え、その可溶部を除くと改善される (Ueda et al., 1986). エタノールの洗浄効果はイタリアンライグラスやラジノクローバーではほとんどみられない。以上の結果を考慮すると、アルファルファLPCの害作用は、LPC調製時に有害物質が水溶部に移行し、タンパク質とともに濃縮された結果と考える方が理にかなっている。試行錯誤の末に、アルファルファミール中の発育阻害作用をもつ画分が発泡性や溶血作用をもつこと (Cheeke, 1978) を知り、サポニンにたどりついた。そこで、サポニンと親和性の強いコレステロールをアルファルファLPC飼料に添加すると、エタノール処理と同じ効果が得られた (Ueda et al.,

1986).

当時、われわれは Du Puits という品種から LPC を調製していたが、その後、サポニン含量を Du Puits の約20%に低減した新品種ナツワカバが愛知県農業総合試験場で開発された。これら二つの品種から調製したLPCの栄養価を比較すると、サポニン含量が発育阻害の程度と相関があることが示された (Ueda et al., 1987). 最後に、アルファルファの根からサポニンを抽出し、これを半精製飼料に添加すると発育阻害が生じ、コレステロールの同時添加で発育阻害が緩和されることから、アルファルファ製品の発育阻害にサポニンが関与していることを指摘した (Ueda and Ohshima, 1987; Ueda et al., 1996b). さらに、香川県に設置されたLPC生産のためのパイロットプラントで、低サポニン品種を原料草として大豆粕と同等の栄養価をもつアルファルファLPCの生産に成功した (上田・大島, 1989).

3. サポニン

サポニンは分子量約1,500~2,000の配糖体で、飼料原料、飼料添加剤、食品素材、生薬等になりうるサポニン含有植物として、アルファルファ以外に、クローバー、大豆、ひよこ豆、そら豆、カラス麦、茶、ユッカ、キラヤ、ほうれん草、薬用人参、甜菜、アスパラガス等があげられる。植物以外にはナマコやヒトデのサポニンが知られている (川崎・西岡, 1986).

サポニンは加水分解によりサポゲニンと糖を生じる (Fig. 3). 疎水性のサポゲニンと親水性の糖の存在により、サポニンは両親媒性となり界面活性作用を示す。サポニンという名称は、その水溶液を振盪すると石鹸のような持続性の泡を生じることに由来する。sapo はラテン語で石鹸を意味する。魚毒作用は古くから知られており、アフリカ原住民が野生の植物を切断し、川や池につけて魚を捕獲する方法はサポニンの

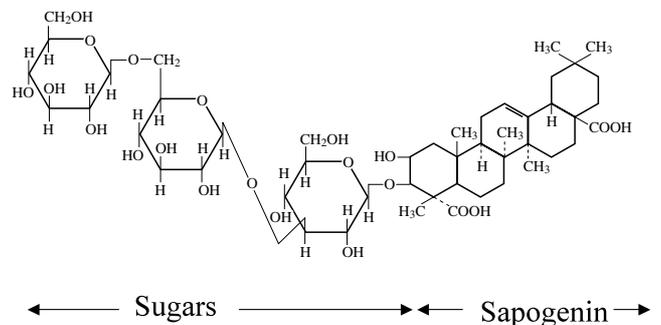


Fig. 3. Structure of alfalfa saponin containing medicagenic acid as sapogenin.

Sapogenin combines with three sugars at C3.

作用を巧みに利用した例である (Cheeke, 1980)。

サポゲニンの種類により、トリテルペン系サポニン (C30) とステロイド系サポニン (C27) に大別される。トリテルペン系サポニンもステロイド系サポニンも、アセチル CoA を出発物質として、スクアレンを経てスクアレン-2, 3-オキシドまではコレステロールと同じ系で合成される。トリテルペン系サポニン合成はここから別の系で行われる。ステロイド系サポニンは、光合成植物では、動物でみられるラノステロールではなく、シクロアルテノールがステロイドの前駆物質になる (Price et al., 1987)。その結果、動物はサポニンを、植物はコレステロールを合成できない。

トリテルペン系大豆サポニンには少なくとも5種のサポゲニンが報告されており、それぞれのサポゲニンにはグルコース、ガラクトース、アラビノースなど6種類の単糖のうち3種類が一つの糖鎖としてC3の位置に結合している。計算上、大豆には構造の異なる600種類ものサポニンが存在する (Oakenfull, 1981)。したがって、大豆サポニンは大豆中にある複数のサポニンの総称ということになる。サポゲニンが異なれば、サポニンの作用も異なる。アルファルファサポニンは発育阻害作用をもつが、大豆サポニンには発育阻害作用はない (Ueda, 1992b)。この違いはアルファルファサポニン中にあるサポゲニン、medicagenic acid に由来する (Cheeke, 1980)。

サポゲニンに一つまたは二つの糖鎖が結合したサポニンをそれぞれ monodesmoside と bisdesmoside サポニンとよぶ。サポニンには抗菌作用や抗カビ作用等があるが、水溶性で移動に適した bisdesmoside サポニンの場合、それらの作用は弱いか不活性である。しかし、植物病原体が侵入すると、損傷部位に移動し monodesmoside サポニンに変換され活性を示す。したがって植物におけるサポニンの存在意義を植物病原体に対する防御とする説がある (川崎・西岡, 1986)。

4. サポニンの発育阻害作用

アルファルファサポニン以外にも、かすみ草の根、茶の実、あるいは南米の常緑樹キラヤの樹皮から抽出したサポニンがニワトリヒナの発育を阻害することが知られている (Ueda, 1992b; Ueda and Tanoue, 2000b)。これらのサポニン給与でみられる発育阻害はコレステロールや植物ステロールをサポニンと同時に添加すると軽減される (Ueda and Tanoue, 2000a)。サポニンによる発育阻害とステロールによる緩和効果は、いずれも飼料摂取量の増減をとまなう (Fig. 4)。また、サポニン添加飼料に油脂を加えると、摂取エネルギーの増加により発育阻害は一部軽減する (Ueda and

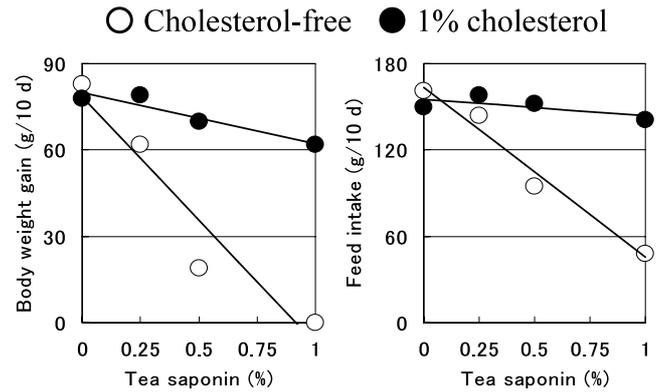


Fig. 4. Body weight gain and feed intake in chicks fed graded levels of tea saponin with or without cholesterol in chicks

Tanoue, 2000a)。したがって、サポニンによる発育阻害は飼料摂取量の低下によるものと考えerことは妥当であろう。しかし、飼料摂取量を低下させるメカニズムは現在まで明らかにされていない。サポゲニンが吸収されるとい報告はないので (Price et al., 1987)、血液を介して食欲中枢を刺激するという可能性は少ない。

サポニンが苦みをもつことから、味覚の関与を指摘するグループもある (Cheeke, 1980)。確かに鳥類も味覚をもち、キニーネのような苦み物質を忌避する。しかし、ニワトリの舌は一部角化し、味覚細胞の数も少なく、ニワトリのもつ味覚がヒトや他の動物と同じであるという確証はない (Mason and Clark, 2000)。二者択一の選択試験で、対照飼料とこれに硫酸キニーネを0.1%添加した飼料を同時に与えると、ラットはキニーネ添加飼料を完全に忌避する (Cheeke et al., 1978)。一方、ニワトリでは両飼料に対する選択性の差が明確ではなく、苦みに対する感受性がラットより劣ることがわかる (Cheeke et al., 1978; Ueda et al., 2002)。にもかかわらず、アルファルファ LPC 給与による飼料摂取量の低下は、ニワトリの方がラットよりも顕著である (Ohshima and Ueda, 1984)。

0.5%の硫酸キニーネを含む飼料を対照飼料と選択させると、すべてのヒナがキニーネ添加飼料に忌避を示す。しかし、サポニンの場合、そうはならない (Ueda and Shigemizu, 2001)。1%茶サポニン添加飼料と対照飼料を同型同色の給餌器で給与し、給餌器の位置を毎日変え8日間選択させると、最初は、半数ものヒナがサポニン添加飼料を選択する。この場合、総飼料摂取量も増体量も対照飼料を選択したヒナより減少する。このような悪影響が現れているにもかかわらず、すべてのヒナが対照飼料を選択するには数日を要する。このように、サポニン添加飼料に対する摂食応答

には、キニーネに対する反応とは異なり、個体差がある。

味覚の影響を避けるために、アルファルファサポニンや茶サポニンをカプセルに入れて腺胃に直接投与しても、飼料摂取量の低下が起こる。投与後はサポニン無添加飼料を給与しているにもかかわらず、飼料摂取量の低下は持続する。しかし、コレステロールを飼料に添加するか、あるいはカプセルを用いてサポニンと同時に腺胃に投与すれば、コレステロールの給与法にかかわらず、飼料摂取量の低下は起こらない (Ueda et al., 1996b; Ueda and Shigemizu, 1998)。

サポニン添加飼料に対するヒナの摂食行動を仔細に観察すると、キニーネのような忌避物質に対する反応とは異なり、摂取量の低下は飼料給与直後は穏やかで、一定の時間が過ぎたあと顕著になる。また、飼料からサポニンを除いても、食欲はすぐには回復しない (Ueda, 2001)。以上の現象は、サポニン給与による飼料摂取量の低下には味覚以外の因子が関与していることを示す。

茶サポニンを添加した飼料を対照飼料と等量になるように、ヒナのそ嚢に強制給餌すると、飼料がそ嚢内に滞留し、強制給餌を3日以上続けることができない。3日目のそ嚢内の滞留量は当日に投与した量より多く、前日に投与した飼料がまだ残っていることを示す (Fig. 5)。ユッカサポニンを飼料に2%添加すると発育阻害を生じるが、茶サポニンと同じように、強制給餌でそ嚢に飼料が滞留する。しかし、発育阻害作用のない1%添加ではこのような現象はみられない。飼料のそ嚢通過速度の遅延はアルファルファサポニン給与でもみられるが (Ueda et al., 1996b)、いずれもコレステロールを添加すると正常に戻る。茶サポニン添加飼料を12日間、1日6時間だけ制限給餌すると、毎日、常に一定量摂取したあと摂食行動は止まり、試験期間

中、飼料摂取量が増加することはなかった (Ueda et al., 2002)。この現象は、飼料のそ嚢通過速度の遅延で説明できる。

しかし、茶サポニンと同程度の発育阻害作用をもつキラヤサポニンの強制給餌では、飼料はそ嚢に滞留せず、飼料摂取量の低下には別の因子が介在している可能性を示した。キラヤサポニンを水溶液としてそ嚢に投与すると、血球容積比が上昇する。茶サポニンでも同じ現象がみられるが、血球容積比の上昇はキラヤサポニンの方が大きく、死亡例も観察される。キラヤサポニン投与による血球容積比の上昇はコレステロールを同時に投与すると抑制される (未発表)。

サポニン給与により、腸管上皮細胞の損傷や能動輸送の異常がラットで報告されており (Johnson et al., 1986; Story et al., 1984)、飼料の通過速度の遅延や血球容積比の上昇も、サポニンが腸管にダメージを与えた結果と考えられる。コレステロールの緩和効果を考えて、サポニンと細胞膜コレステロールとの結合が原因の一つと考えられるが、確認を得るまでにはいたっていない。

5. 植物性タンパク質とサポニンの血清コレステロール降下作用

アルファルファ LPC 給与による発育阻害は、前述したようにコレステロールを飼料に添加すると緩和される。このとき血清コレステロール濃度は上昇せず、LPC は血清コレステロール降下作用をもつ (Ueda et al., 1986; 1987)。近年、ヒトの虚血性心臓疾患と高コレステロール血症、特に LDL-コレステロール濃度の上昇とが密接な関係にあることを指摘する疫学的調査報告もあり (Dietschy, 1998)、食餌成分がコレステロール代謝に及ぼす影響については多大な関心が寄せられている。大豆タンパク質が血清コレステロール降下作用をもつことはよく知られており、そのメカニズムの解明には多くの研究者が携わってきた (Potter, 1995)。

大豆タンパク質もアルファルファ LPC もサポニンを含むが、大豆サポニンはヒナではコレステロール降下作用に関与していない (Ueda et al., 1996a)。一方、アルファルファサポニンは降下作用をもつが、タンパク質自体の効果より劣り、他の因子の関与が指摘される (Ueda et al., 1996b)。

血清コレステロール上昇作用をもつ動物性タンパク質のカゼインと比較すると、大豆タンパク質はアルギニン、含硫アミノ酸、グリシンなどのアミノ酸含量に違いが認められる。また、リジン・アルギニン比あるいはメチオニン・シスチン比などの関与も指摘されて

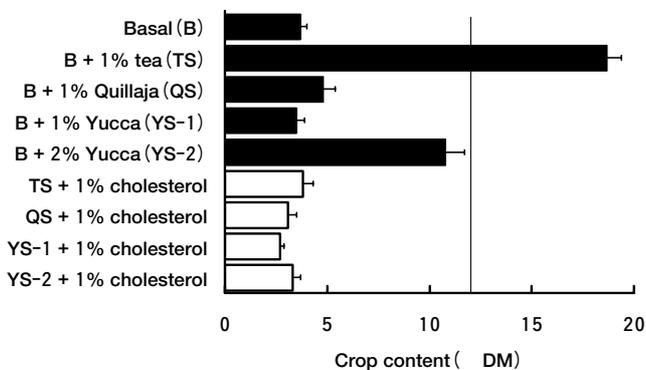


Fig. 5. Delayed crop emptying due to saponins and its alleviation by cholesterol addition in chicks. Chicks were force-fed 12 g of experimental diets, and crop content was measured 2 h after feeding.

きた。しかし、アミノ酸組成の差異を検討しても結論を得るには至らなかった (Ueda et al., 1995; Ueda and Fukui, 1996; Ueda, 1997)。むしろ、大豆タンパク質の一部あるいは全部を同じ組成のアミノ酸混合物で代替すると、血清コレステロール降下作用が失われることから、タンパク質の構造が関与する可能性の方が高い (Ueda and Fujisawa, 1997; Ueda and Kuroki, 2000)。実際に大豆タンパク質をプロテアーゼで加水分解し、可消化部と不消化部に分画してラットやヒナに給与すると、不消化部が強い血清コレステロール降下作用を示す (Sugano et al., 1988; Ueda, 2000; Ueda and Kuroki, 2000)。ヒナの場合、飼料中のカゼイン含量を増加しても、血清コレステロールは減少する。この場合でも、カゼインを加水分解すると作用が失われる (Ueda and Yokoyama, 2001)。

6. おわりに

この四半世紀に一度は舞台に登場した新しい飼料資源には、微生物タンパク質、肉骨粉など枚挙にいとまがない。しかし、そのほとんどは継続的に現場で利用されることなく消え去り、研究が継続している例も少ない。理由として次のようなことが考えられる。

①製品の栄養価は、大豆カスやトウモロコシのような長い歴史をもつ慣用の飼料原料と同じになるとしても、それらを凌駕することは決してない。LPC も然りである。LPC は、血清コレステロール降下作用という付加価値をもつが、これをヒトで活用するためには脱色等さらに処理が必要になる。

②一般に未利用資源はコストが高いという印象を与える。LPC 調製においても、加温や乾燥処理でエネルギーを消費する (Fig. 1)。また、グリーンジュースからタンパク質を除いた液体部 (その色からブラウンジュースとよぶ) については、糖質を多く含むため、微生物タンパク質の培養に使えるが (Ohshima and Ueda, 1983)、最終的には環境負荷物質に富む水分の排水処理が必要になる。サイレージ調製における乳酸発酵の基質としての利用を試みたが、試験は中断した。安い製品を国外から購入するか、あるいは自給率の向上を目指すか、現状では結論は出せない。

③一つ間違うと、肉骨粉のような悲劇を生む。LPC の場合も、回避することはできたが、サポニンのような有害物質がタンパク質同様に濃縮されるという危険性を有する。また、クロロフィルを含む LPC を産卵鶏に多給すると、卵黄が緑色になり、使用が制限される。

他にも、家畜排泄物や敷料、血粉、ミミズなどの飼料化はイメージが悪く、消費者に受け入れられない場

合もある。

著者自身には、なぜサポニンが発育を阻害するのかという新しい研究テーマが残った。しかし、国内に設置された3つのLPC生産施設は稼働を止めた。幸いなことに、成分分画のアイデアを高く評価した国が一つあった。人口もウシの飼養頭数も並はずれて多く、しかもヒトは牛製品を食さない国、インドであった。資源の有効利用は切に必要としない限り、それは無きに等しい、というのが歳月を費やした実験に携わった感想である。

サポニンは現在もいろいろな分野で利用されている。身近な例としてはビール、清涼飲料水、シャンプーなどにも発泡剤としてサポニンが添加されている。薬学領域ではサポニン含有生薬の研究が新たな展開をみせている。薬効には、去痰、鎮咳、消炎、解熱、鎮静、健胃、利尿、強精などがあり、いずれも医薬品として魅力ある応用領域を占めている。血清コレステロール降下作用をもつサポニンを動脈硬化の予防に利用しようという提言もある (Oakenfull, 1981)。畜産分野ではサポニンの発育阻害作用が指摘される一方、微量のユッカサポニンが排泄物から発生するアンモニアを減少させ、家畜の生産性を高める可能性も示唆されている (Katsunuma et al., 2000)。

サポニンは植物界に広く存在し、いわば世界中どこにでもある身近な資源の一つとして考えることができる。サポニンがもつ種々の性質を特定できれば、我々の生活により有効に利用できるであろう。

引用文献

- Cheeke, P.R., Pedersen, M.W. and England, D.C. (1978) Responses of rats and swine to alfalfa saponins. *Canadian Journal of Animal Science*, 58: 783-789.
- Cheeke, R. (1980) Biological properties and nutritional significance of legume saponins. In: *Leaf Protein Concentrates*. (Telek L and Graham HD eds.) pp.396-414. Avi Publishing. Connecticut.
- Dietschy, J.M. (1998) Dietary fatty acids and the regulation of plasma low density lipoprotein cholesterol concentrations. *Journal of Nutrition*, 128: 444S-448S.
- 独立行政法人 農業技術研究機構編 (2001) 日本標準飼料成分表.
- Johnson, I.T., Gee, J.M., Price, K., Curl, C. and Fenwick, G. R. (1986) Influence of saponins on gut permeability and active nutrient transport *in vitro*. *Journal of Nutrition*, 116: 2270-2277.
- 川崎敏男・西岡五夫 (1986) 天然薬物化学. pp.220-231. 廣川書店. 東京.
- Katsunuma, Y., Otsuka, M., Nakamura, Y., Toyoda, A., Takada, R. and Minato, H. (2000) Effects of the administration on *Yucca shidigera* saponins on pigs intestinal microbial population. *Animal Science Journal*, 71: 594-599.
- Mason, J.R. and Clark, L. (2000) The chemical senses in

- birds. In: Sturkie's Avian Physiology. (Whittow GC ed) pp.39-56. Academic Press. San Diego.
- Oakenfull, D. (1981). Saponins in food-A review. Food Chemistry, 6 : 19-40.
- Ohshima M and Ueda H. (1983) The nutritional evaluation of baker's yeast grown on oats leaf brown juice left after the separation of leaf protein concentrate in rats, chicks and pigs. Japanese Journal of Zootechnical Science, 54 : 543-554.
- Ohshima, M. and Ueda, H. (1984) Effects of some treatments on the yield and the nutritive value of lucerne leaf protein concentrate. Japanese Journal of Zootechnical Science, 55 : 584-590.
- Potter, S.M. (1995) Overviews of proposed mechanisms for the hypocholesterolemic effect of soy. Journal of Nutrition, 125 : 606S-611S.
- Price, K.R., Johnson, I.T. and Fenwick, G.R. (1987) The chemistry and biological significance of saponins in foods and feedstuffs. CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 26 : 27-135.
- Story, J.A., LePage, S.L., Petro, M.S., West, L.G., Cassidy, M. M., Lightfoot, F.G. and Vahouny, G.V. (1984) Interactions of alfalfa plant and sprout saponins with cholesterol in vitro and in cholesterol-fed rats. American Journal of Clinical Nutrition, 39 : 917-929.
- Sugano, M., Yamada, Y., Yoshida, K., Hashimoto, Y., Matsuo, T. and Kimoto, M. (1988) The hypocholesterolemic action of undigested fraction of soybean proteins in rats. Atherosclerosis, 72 : 115-122.
- Ueda, H. and Ohshima, M. (1982) The order of limiting amino acids in ladino clover leaf protein concentrate fed to chicks. Japanese Poultry Science, 19 : 227-233.
- Ueda, H. and Ohshima, M. (1983) Nutritive evaluation of leaf protein concentrates made from different crops in chicks. Japanese Poultry Science, 20 : 284-293.
- Ueda, H., Ohshima, M. and Kamada, M. (1986) The effects of processing methods and cholesterol addition on the nutritive value of leaf protein concentrates in chicks. Japanese Poultry Science, 23 : 195-202.
- Ueda, H., Ohshima, M. and Akitomo, I. (1987) Nutritive value and hypocholesterolemic effect of alfalfa leaf protein concentrates prepared from two different varieties in chicks. Japanese Journal of Zootechnical Science, 58 : 347-355.
- Ueda, H. and Ohshima, M. (1987) Effects of alfalfa saponin on chick performance and plasma cholesterol level. Japanese Journal of Zootechnical Science, 58 : 583-590.
- 上田博史・大島光昭 (1989) 低サポニン品種から調製したアルファルファ緑葉蛋白質のヒナと子豚に対する栄養価. 日本畜産学会報, 60 : 561-566.
- Ueda, H. (1992a) Effects of dietary protein and soybean saponins on plasma cholesterol concentration in chicks. Animal Science and Technology, 63 : 793-799.
- Ueda, H. (1992b) Effects of Gypsophila saponins on performance and plasma cholesterol concentration in chicks fed the diets different in casein content. Animal Science and Technology, 63 : 905-911.
- Ueda, H. and Ohshima, M. (1992) Hypocholesterolemic effect of alfalfa leaf protein concentrate and soybean protein isolate in chicks. Animal Science and Technology, 63 : 1032-1037.
- Ueda, H., Imanishi, T., Fukumi, R. and Kumai, S. (1995) Effect of dietary lysine and arginine addition on growth performance and serum cholesterol level in chicks. Animal Science and Technology, 66 : 412-421.
- Ueda, H., Matsumoto, A. and Goutani, S. (1996a) Effects of soybean saponin and soybean protein on serum cholesterol concentration in cholesterol-fed chicks. Animal Science and Technology, 67 : 415-422.
- Ueda, H. and Fukui, W. (1996) Effects of methionine and cystine on the cholesterol concentrations in the serum and liver of cholesterol-fed chicks. Animal Science and Technology, 67 : 533-540.
- Ueda, H., Kakutou, Y. and Ohshima, M. (1996b) Growth-depressing effect of alfalfa saponin in chicks. Animal Science and Technology, 67 : 772-779.
- Ueda, H. (1997) Effects of 18 amino acids individually added to the diet containing casein or soybean protein isolate on the serum cholesterol concentrations in chicks. Animal Science and Technology, 68 : 926-933.
- Ueda, H. and Fujisawa, Y. (1997) Partial substitution of amino acid mixture for soybean protein isolate or casein modifies the effects on serum and liver cholesterol concentrations in chicks. Animal Science and Technology, 68 : 1032-1038.
- Ueda, H. and Shigemizu, G. (1998) Effects of tea saponin, cholesterol and oils on the growth and feed passage rates in chicks. Animal Science and Technology, 69 : 14-21.
- Ueda, H. and Kuroki, T. (2000) Effects of undigested fraction of soybean protein isolate hydrolyzed by microbial proteases on serum and liver cholesterol concentrations in chicks. Japanese Poultry Science, 37 : 19-26.
- Ueda, H. (2000) Cholesterol-lowering effect of soybean protein isolate in chicks is partly lost by microbial protease digestion. Animal Science Journal, 71 : 57-62.
- Ueda, H. and Tanoue, K. (2000a) Comparative effects of phytosterols and plant oils on the growth depression in chicks fed Quillaja saponin. Animal Science Journal, 71 : 261-267.
- Ueda, H. and Tanoue, K. (2000b) Growth-depressing and cholesterol-lowering effects of Quillaja and tea saponins in chicks as influenced by diet composition. Animal Science Journal, 71 : 390-396.
- Ueda, H. and Yokoyama, A. (2001) Dietary protein sources modify the cholesterol-lowering effect of saponins in chicks. Journal of Poultry Science, 38 : 225-233.
- Ueda, H. (2001) Short-term feeding response in chicks to tea saponin. Journal of Poultry Science, 38 : 282-288.
- Ueda, H. and Shigemizu, G. (2001) Feeding response to tea saponin in chicks given diet selection. Journal of Poultry Science, 38 : 333-342.
- Ueda, H., Takagi, A., Katou, K. and Matsumoto, S. (2002) Feeding behavior in chicks fed tea saponin and quinine sulfate. Journal of Poultry Science, 39 : 34-41. 2002.

