

# 分離大豆たん白質の消化過程で生成する ペプチド類の栄養的意義

THE FORMATION OF MACROPEPTIDES AND THE DISTRIBUTION  
OF CALCIUM-FORMS IN THE SMALL INTESTINE OF RATS  
GIVEN A DIET CONTAINING SOY PROTEIN ISOLATE

内藤 博・野口 忠（東京大学農学部）

Hiroshi NAITO and Tadashi NOGUCHI

Department of Agricultural Chemistry, The University of Tokyo

## ABSTRACT

Slight but definite amount of macropeptides in the small intestine was formed shortly after feeding a diet containing soy protein isolate (Fujipro R, SPI).

In the similar experimental condition that the rats meal-fed a 20% SPI diet for 1.5hr, the amount of soluble Ca as well as of soluble P in the intestinal lumen, was much less than the rats given casein, and also was slightly but significantly less than the rats given amino acid mixture simulating casein or egg albumin.

In contrast, the amount of insoluble Ca was the highest in SPI group.

These results suggest that the feeding soy protein isolate may little favor the stimulation in Ca absorption in distal portion of small intestine where passive type of transport occurs. The relation of the formation of macropeptides to the process that insoluble Ca-phosphate complex grows in the lumen was not elucidated, since there seemed to be another possibility that the presence of the small amount of organic phosphorus may also aggravate the solubilization of Ca salts.

食物たん白質は摂取後、小腸管腔内で速やかに水解されて、オリゴペプチドやアミノ酸の形で吸収されるが、なおプロテアーゼの作用を免かれた微量のペプチド結合部分が、小腸下部に残留して徐々に水解される。筆者らはカゼイン含有食を摂取させたラットの回腸下部からマクロホスホペプチド (CPP) を単離し、これがカゼイン分子中のホスホセリン局在部分に相当することを明らかにし<sup>1,2)</sup>、同時にこのペプチドの存在により、管腔内のカルシウムが可溶化されることを観察した<sup>3)</sup>。このような現象はカゼインのみならず他の食物たん白質摂取時においても認められ<sup>1)</sup>、マクロペプチドの性質により、種類の栄養素特にミネラルと相互作用を示す可能性が考えられる。本研究は分離大豆たん白質（フジプロ R）摂取時におけるマクロペプチド生成の有無と、Ca, P などとの関連性を検討することを目的とした。

## 実験方法

体重 100g の Wistar 系雄ラット（静岡実験農協）を 20% カゼインを含む基礎飼料で、2 週間 10:00~11:30 の 1.5 時間内で摂取するようにミール・フィーディングを行い、最後の 2 日間に 4 匹 1 群としてカゼイン (C)、アミノ酸混合 (AA: カゼイン組成に相当したもの)、卵アルブミン (EA) およびフジプロ R (SPI) をそれぞれ 20% 含む実験飼料 (Table 1) を 1.5 時間摂取させた。最終食摂取後 1 時間において（全消化時間として 2.5 時間）麻酔下開腹し、直ちに小腸を上半部と下半部に分けて結さし、各内容物を生理的食塩水で洗い出し、遠心上澄と沈殿部に分けて、それぞれ可溶性と不溶性の Ca および P として定量した。Ca は原子吸光法により、P はモリブデン青比色法で、いずれも過塩素酸湿式酸化後定量し

**Table 1. Composition of experimental diets (g/kg)**

| Ingredients         |                          |
|---------------------|--------------------------|
| Protein*            | 200                      |
| Corn starch         | 680                      |
| Soybean oil         | 45                       |
| Cellulose powder    | 5                        |
| Mineral mixture     | 40 Rogers & Harper(1965) |
| Vitamin mixture     | 8 NRC (1972)             |
| Choline chloride    | 2                        |
| Polyethylene glycol | 20 Carbowax 4000         |

\* An amino acid mixture [simulated for casein; Ahrens (1966) ] egg albumin, or Fujipro R was substituted for casein.

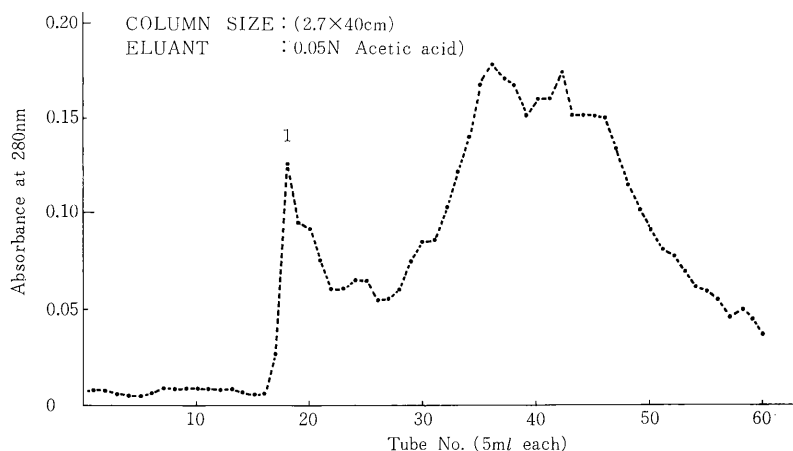
た。また別に同様な条件でSPI食を摂取させたのち、2.5時間後の全小腸内容物遠心上澄をトリクロル酢酸で沈殿させた上澄について、Sephadex G-25 のゲル透過を行

い、0.05M 酢酸溶出による 285nm の紫外吸収を測定した。

## 結果と考察

最終日における1.5時間の摂取量は、各群とも全く等しく、飼料中2%添加したポリエチレングリコール(PEG:カーボワックス 4000)の小腸上半部、下半部における分布も群間に有意差が認められなかった(Table 2)。この結果からフジプロR含有食は、他の良質な食餌たん白質と同様、食物の腸管内の移動に特異的な変化は認められないことが明らかである。

また Fig. 1 に示すように Sephadex G-25 による溶出パターンから、void volume の附近にピークが出現することが認められた。すなわちフジプロRについてもカゼインの CPP と同様、分子量1,000~5,000程度のマクロペプチド類が小腸下部に残存することが示唆された。



**Fig. 1** Chromatography on Sephadex G-25 of the TCA-soluble fractions of the intestinal contents of the rats fed soy protein diet.

**Table 2. Food intake and the amount of polyethylene glycol (PEG) in the small intestinal contents of rats at 2.5 hr after ingestion of diets containing casein, amino acid mixture, egg albumin or soy protein as the protein source (Mean values with their standard errors for four rats/group)**

| Dietary protein            | Casein             | Amino acid         | Egg albumin        | Soy protein          |
|----------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|----------------------|
| Body-wt (g)                | 131.1±2.3          | 129.8±2.9          | 133.3±3.3          | 130.0±1.8            |
| Food intake (g/kg body-wt) | 50 ±3 <sup>a</sup> | 37 ±2 <sup>b</sup> | 37 ±3 <sup>b</sup> | 42 ±2 <sup>a,b</sup> |
| PEG (mg)                   |                    |                    |                    |                      |
| Portion of intestine       |                    |                    |                    |                      |
| Upper                      | 2.7±0.4            | 3.6±0.2            | 3.0±0.2            | 3.3±0.6              |
| Lower                      | 22.5±1.5           | 21.3±2.8           | 21.1±2.5           | 24.6±1.7             |
| Total                      | 25.2±1.4           | 24.9±2.9           | 24.1±2.6           | 27.9±1.4             |

a, b: Values within the same horizontal row with different superscripts are significantly different ( $P < 0.05$ ).

**Table 3. Amino acid composition of the peptide fractions (Tube Nos. 17–21) obtained by the gel filtration on Sephadex G-25 of the TCA-soluble fractions of the intestinal contents of rats fed on soy protein diet.**

|     | $\mu\text{mole/content}$ |
|-----|--------------------------|
| Asp | 1.67                     |
| Thr | 2.12                     |
| Ser | 3.27                     |
| Clu | 1.41                     |
| Gly | 2.18                     |
| Ala | 1.54                     |
| Val | 2.04                     |
| Ile | 0.47                     |
| Leu | 0.55                     |
| Tyr | 0.28                     |
| Phe | 0.30                     |
| Lys | 0.63                     |
| His | 0.34                     |
| Arg | 0.24                     |
| Pro | 1.30                     |

マーカーとして加えた PEC の量を Table 2 から食餌中の比率としてこの分画のたん白質量として算出すると

1.5mg 程度の微量であるが、この食餌の消化吸収時、常にこの程度の量のマクロペプチドが生成していることが考えられる。この粗分画のアミノ酸組成は、Asp, Thr, Ser, Clu, Gly, Ala, 等の親水性アミノ酸が比較的多く、特に Ser が多いのが特徴的である。(Table 3)。

大豆たん白群における小腸内特に下部の可溶性 Ca 量は、C, AA および EA 群のいずれよりも低かった。これは食餌由来の Ca% として表現すると特に明らかである(可溶性 Ca/PEG//Ca/食餌中。PEG, Table 4)。これとは対照的に、不溶性 Ca は SPI 群が最も多かった (Table 5)。

以上の結果から、SPI は僅かではあるが腸管内の Ca を不溶化に傾ける性質を持つことが示唆される。しかし AA や EA 群との差は殆ど認められなかった。また可溶性 P も Ca とほぼ同様な傾向を示し、不溶性 Ca は主としてリン酸 Ca のような形で形成されることが推定された (Table 6)。また可溶性 Ca/P 比をとってみると C, SPI 両群のものが高い。これはカゼインではホスホセリンに由来するものであるが、SPI 群でも微量の有機性

**Table 4. Soluble calcium in the small intestinal contents of rats at 2.5 hr after ingestion of diets\* containing casein, amino acid mixture, egg albumin or soy protein as the protein source (Mean values with their standard errors for four rats/group)**

| Dietary protein           | Casein                       | Amino acid                   | Egg albumin                  | Soy protein                  |
|---------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| Soluble Ca (mg)           |                              |                              |                              |                              |
| Portion of intestine      |                              |                              |                              |                              |
| Upper                     | 0.36 $\pm$ 0.06              | 0.27 $\pm$ 0.04              | 0.28 $\pm$ 0.02              | 0.24 $\pm$ 0.03              |
| Lower                     | 2.28 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup> | 1.16 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup> | 1.19 $\pm$ 0.13 <sup>b</sup> | 0.82 $\pm$ 0.05 <sup>c</sup> |
| Total                     | 2.64 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup> | 1.43 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup> | 1.47 $\pm$ 0.13 <sup>b</sup> | 1.06 $\pm$ 0.05 <sup>c</sup> |
| Percentage of dietary Ca* |                              |                              |                              |                              |
| Upper                     | 54.8 $\pm$ 4.4 <sup>a</sup>  | 32.8 $\pm$ 0.4 <sup>b</sup>  | 39.9 $\pm$ 2.8 <sup>ab</sup> | 33.8 $\pm$ 2.7 <sup>b</sup>  |
| Lower                     | 43.9 $\pm$ 2.1 <sup>a</sup>  | 24.1 $\pm$ 2.1 <sup>b</sup>  | 24.3 $\pm$ 0.8 <sup>b</sup>  | 14.2 $\pm$ 0.6 <sup>c</sup>  |
| Total                     | 44.7 $\pm$ 2.5 <sup>a</sup>  | 25.3 $\pm$ 2.0 <sup>b</sup>  | 26.4 $\pm$ 0.4 <sup>b</sup>  | 16.6 $\pm$ 1.0 <sup>c</sup>  |

a, b, c: Values within the same horizontal row with different superscripts are significantly different (P 0.05).

\* (Soluble Ca/PEG in the small intestinal content)/(Ca/PEG in diet)  $\times$  100.

**Table 5. Insoluble calcium in the small intestinal contents of rats at 2.5 hr after ingestion of diets containing casein, amino acid mixture, egg albumin or soy protein as the protein source (Mean values with their standard errors for four rats/group)**

| Dietary protein          | Casein                       | Amino acid                   | Egg albumin                  | Soy protein                  |
|--------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| Insoluble Ca (mg)        |                              |                              |                              |                              |
| Portion of intestine     |                              |                              |                              |                              |
| Upper                    | 0.06 $\pm$ 0.01              | 0.05 $\pm$ 0.01              | 0.08 $\pm$ 0.01              | 0.05 $\pm$ 0.01              |
| Lower                    | 1.47 $\pm$ 0.23 <sup>a</sup> | 1.64 $\pm$ 0.31 <sup>a</sup> | 2.04 $\pm$ 0.22 <sup>a</sup> | 2.90 $\pm$ 0.11 <sup>b</sup> |
| Total                    | 1.53 $\pm$ 0.23 <sup>a</sup> | 1.69 $\pm$ 0.32 <sup>a</sup> | 2.12 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup> | 2.95 $\pm$ 0.12 <sup>b</sup> |
| Percentage of dietary Ca |                              |                              |                              |                              |
| Portion of intestine     |                              |                              |                              |                              |
| Upper                    | 10.9 $\pm$ 0.9               | 6.8 $\pm$ 1.6                | 11.3 $\pm$ 1.6               | 7.4 $\pm$ 2.3                |
| Lower                    | 26.3 $\pm$ 3.9 <sup>a</sup>  | 35.8 $\pm$ 9.4 <sup>ab</sup> | 41.6 $\pm$ 3.4 <sup>b</sup>  | 50.6 $\pm$ 3.0 <sup>b</sup>  |
| Total                    | 25.0 $\pm$ 3.5 <sup>a</sup>  | 31.4 $\pm$ 8.3 <sup>ac</sup> | 37.7 $\pm$ 3.2 <sup>b</sup>  | 45.2 $\pm$ 1.8 <sup>b</sup>  |

a, b: Values within the same horizontal row with different superscripts are significantly different (P < 0.05).

**Table 6. Soluble phosphorus in the small intestinal contents of rats at 2.5 hr after ingestion of diets containing casein, amino acid mixture, egg albumin or soy protein as the protein source (Mean values with their standard errors for four rats/group)**

| Dietary protein         | Casein                   | Amino acid               | Egg albumin                | Soy protein              |
|-------------------------|--------------------------|--------------------------|----------------------------|--------------------------|
| Soluble phosphorus (mg) |                          |                          |                            |                          |
| Portion of intestine    |                          |                          |                            |                          |
| Upper                   | 0.29 ± 0.05 <sup>a</sup> | 0.12 ± 0.02 <sup>b</sup> | 0.12 ± 0.01 <sup>b</sup>   | 0.25 ± 0.03 <sup>a</sup> |
| Lower                   | 1.50 ± 0.11 <sup>a</sup> | 0.14 ± 0.01 <sup>b</sup> | 0.28 ± 0.05 <sup>c</sup>   | 0.31 ± 0.03 <sup>c</sup> |
| Total                   | 1.79 ± 0.12 <sup>a</sup> | 0.26 ± 0.03 <sup>b</sup> | 0.40 ± 0.05 <sup>b,c</sup> | 0.56 ± 0.05 <sup>c</sup> |
| Percentage of dietary P |                          |                          |                            |                          |
| Portion of intestine    |                          |                          |                            |                          |
| Upper                   | 43.9 ± 3.4 <sup>a</sup>  | 20.7 ± 1.0 <sup>b</sup>  | 25.9 ± 1.8 <sup>b</sup>    | 50.0 ± 5.8 <sup>a</sup>  |
| Lower                   | 28.0 ± 3.2 <sup>a</sup>  | 4.6 ± 0.7 <sup>b</sup>   | 8.2 ± 0.6 <sup>c</sup>     | 8.2 ± 0.9 <sup>c</sup>   |
| Total                   | 29.6 ± 3.2 <sup>a</sup>  | 6.9 ± 1.0 <sup>b</sup>   | 10.8 ± 0.4 <sup>c</sup>    | 12.8 ± 1.5 <sup>c</sup>  |

a, b, c: Values within the same horizontal row with different superscripts are significantly different ( $P < 0.05$ ).

**Table 7. Ca/P ratio and organic phosphorus contents of the soluble fraction from small intestine of rats fed 1.5 hours of 20% protein diets**

| Dietary protein | Casein      | Amino acid   | Egg albumin  | Soy protein  |
|-----------------|-------------|--------------|--------------|--------------|
| Ca/P ratio      |             |              |              |              |
| Upper           | 1.25 ± 0.12 | 2.36 ± 0.09* | 2.28 ± 0.08* | 1.00 ± 0.04  |
| Lower           | 1.55 ± 0.12 | 8.28 ± 0.97* | 4.33 ± 0.37* | 2.64 ± 0.21* |
| Total           | 1.50 ± 0.07 | 5.61 ± 0.48* | 3.66 ± 0.20* | 1.93 ± 0.14* |
| Organic P (mg)  |             |              |              |              |
| Upper           | 0.05        | 0.02         | 0.01         | 0.05         |
| Lower           | 0.31        | 0.03         | 0.02         | 0.09         |
| Total           | 0.36        | 0.05         | 0.03         | 0.14         |

\* Significantly different from casein group:  $P < 0.05$ .

P(過塩素酸分解前後の全P量)が存在した (Table 7)。これは phytate の存在に基づくものかも知れない。

以上の実験結果から、分離大豆たん白質ではカゼインに比較して小腸下部の可溶性 Ca 量が少ない結果が得られたが、アミノ酸混合食や卵アルブミン食とは大きな差が認められなかった。筆者らの別の実験結果からは、カゼインはアミノ酸混合食や卵アルブミン食に比べて Ca の小腸下部における吸収量が多いことが明らかにされたが<sup>4,5)</sup>、動物全体の Ca 利用性はあまり差がないものと考えられる<sup>4,6)</sup>。

食餌中のたん白質と種々のミネラルとの相互作用については卵黄のリンたん白質と鉄の結合のように利用性を低下させる性質や、これと対照的に、カゼインのように Ca や Fe の利用性を高めるものがあり、筆者らはこれらはいずれも腸管内で生成するマクロペプチドによるものと推定しているが、分離大豆たん白質から生成するマクロペプチド類が果してミネラルと相互作用を示すか否かについては今後検討する予定である。

## 文 献

- 1) Naito, H., Kawakami, A. and Imamura, T. (1972): *In vivo* formation of phosphopeptide with calcium-binding property in the small intestinal tract of the rat fed on casein. *Agric. Biol. Chem.*, **36**, 409-415.
- 2) Naito, H. and Suzuki, H. (1974): Further evidence for the formation *in vivo* of phosphopeptide in the intestinal lumen from dietary  $\beta$ -casein. *Agric. Biol. Chem.*, **38**, 1543-1545.
- 3) Lee, Y.S., Noguchi, T. and Naito, H. (1980): Phosphopeptides and soluble calcium in the small intestine of rats given a casein diet. *Br. J. Nutr.*, **43**, 457-467.
- 4) Lee, Y.S., Noguchi, T. and Naito, H. (1979): An enhanced intestinal absorption of calcium in the rat directly attributed to dietary casein. *Agric. Biol. Chem.*, **43**, 2009-2011.
- 5) Lee, Y.S., Noguchi, T. and Naito, H. (1981): Intestinal absorption of calcium in the rat given diets containing casein or amino acid mixture. Role of casein phosphopeptides. *Br. J. Nutr.*, in press.
- 6) Forbes, R.M., Weingartner, K.E., Parker, H.M., Bell, R.R. and Erdman, Jr., J.W. (1979): Bioavailability to rats of Zn, Mg, and Ca in casein, egg, and soy protein-containing diets. *J. Nutr.* **109**, 1652-1660.