

分離大豆たん白質の トリプシン消化マクロペプチドと ミネラルとの相互作用

INTERACTION OF TRYPTIC MACROPEPTIDES OF
SOY PROTEIN ISOLATE WITH MINERALS

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

A small amount of macropeptides is formed in the distal small intestine of rat receiving SPI diet.

The present study has been conducted in an attempt to demonstrate whether this peptide fraction concerns any interaction with certain minerals, especially of alkaline-earth ions. Feeding 20% SPI diet together with ^{45}Ca significantly lowered the amount of the radioactivity in total gastro-small intestinal contents, but enhanced those in the large intestinal contents, which was measured 6hr after the beginning of food intake.

No pronounced effect on the distribution in the contents of Ca or Fe, either soluble or insoluble form, was observed.

In *in vitro* experiments, testing for binding and for inhibition power against phosphate precipitation with alkaline-earth ions, tryptic SPI peptide fraction had not any specific effect compared with casein phosphopeptide or a peptide fraction from egg yolk.

前報¹⁾で、SPI 摂取時のラット小腸管腔内に微量のトリクロル酢酸可溶性マクロペプチド類が生成することを報告した。このような物質の存在が種々のミネラルの利用性にどのような影響を及ぼすか検討した。

実験方法

前報¹⁾と同様、20% SPI 食をミール・フィーディング法で摂取したラットの全小腸内容物の分析を行ったほか、同時に経口投与した ^{45}Ca の4時間の出納および *in vitro* における SPI トリプシンマクロペプチドのミネラルとの相互作用を測定した。

(実験1) 前報¹⁾と同様、指標として2%ポリエチレングリコール(PEG)含有20% SPI 食をあらかじめ10日間20%カゼイン食でミール・フィーディングの訓練

をした Wistar 系雄ラット(体重 100 g, 静岡実験農協)に投与し、摂取開始2時間後に、 $^{45}\text{CaCl}_2$, 5 μCi をストマックチューブで胃内に投与し、摂取開始6時間後に麻酔下全小腸を摘出して、内容物を氷冷生理的食塩水で定量的に洗い出し、 ^{45}Ca を測定した。

(実験2) 上記と同様な飼育条件下で、2.5時間ミール・フィーディング後の全小腸内容物中 Ca および Fe を定量した。

(実験3) SPI のトリプシン消化物を Sephadex G-25 および Biogel P-6 で順次ゲル濾過して得た粗マクロペプチド(分子量 3,000 程度)について、カラム平衡法により Ca 結合量を測定した(Fig. 1)。またアルカリ土類カチオンについて、リン酸-カチオン混合飽和液からの沈殿形成に対するマクロペプチドの阻止効果の有

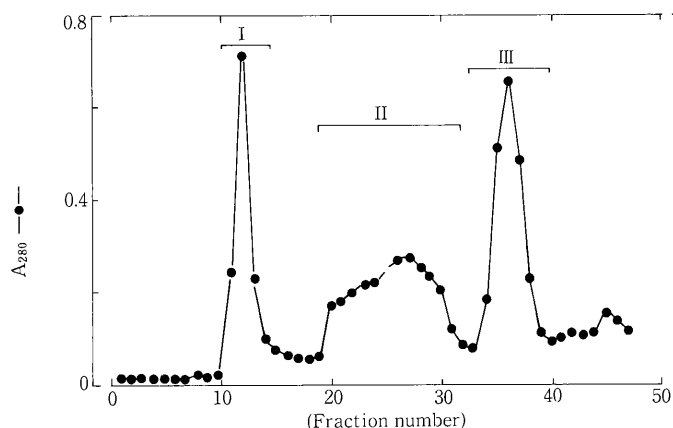


Fig.1 Gel filtration profile of SPI on Biogel P-6

無を検討した。

結果と考察

1. 20 % SPI 食摂取時の ^{45}Ca の 4 時間出納 (実験 1)

カゼイン群及び 10 %乳糖添加群との比較を 2^2 要因分析で示した (Table 1)。試験食は最終日のみ 1 回投与したので、体重や摂取量には差がない。SPI 群では胃一全小腸内 ^{45}Ca が少なく、対照的に大腸内 (盲腸も含む) の量が多かった。前者では主として胃内の量が少ないことから、SPI 食では摂取後の内容物の移動が速く、大腸に集積していくものと説明することができる。乳

糖は逆に大腸中の移行を促進することが知られているので、この考え方は妥当と思われる。また Ca の大腸における吸収は殆んど考えられないので、消化管内残存 ^{45}Ca を吸収されない区分として考え、吸収率を摂取量に対するパーセンテージで表わすと、カゼイン群との間に有意な差は認められなかった。実際に門脈血中の ^{45}Ca 量にも差がなかった。

2. SPI 摂取時の小腸内 Ca および Fe 量 (実験 2)

上記実験と同様、2.5 時間後の全小腸内容物について、遠沈上澄と沈殿の Ca および Fe を原子吸光法で定量した。Fig. 2 に示したように、可溶性 Ca は SPI 区でカゼイン区より低く、前報¹⁾の結果に一致した。また可溶性 Fe もカゼインや卵黄より低く、また卵黄に見るよう

Table 1. ^{45}Ca remaining in the gastro-small intestinal contents, large intestinal contents, urinary ^{45}Ca excretion, ^{45}Ca absorption, and ^{45}Ca deposition in the femur expressed as percent of dose.

Diet	Casein	+10%Lactose	SPI	+10%Lactose	Factor		
					L	P	L×P
Body wt. (g)	132.7±1.9	132.8±2.4	133.2±2.5	132.7±2.4	NS	NS	NS
Gastro-small intestine	44.4±8.8	40.4±6.4	15.4±2.5	21.0±4.3	NS	*	NS
Large intestine	22.8±4.0	13.1±1.5	45.6±6.2	27.7±3.6	**	**	NS
Urine	0.5±0.1	0.8±0.1	0.5±0.1	0.6±0.2	NS	NS	NS
Absorption##	32.9±7.7	46.5±7.0	37.1±5.5	51.3±3.9	*	NS	NS
Femur	1.5±0.3	1.9±0.4	2.0±0.2	2.2±0.3	NS	NS	NS

Values refer to means±SEM of 5 rats. Results are analyzed by 2^2 factorial method.

NS: non-significance, * $p<0.05$, ** $p<0.01$. L: lactose, P: protein

Absorption=100-[^{45}Ca in the gastro-small intestine + ^{45}Ca large intestine]

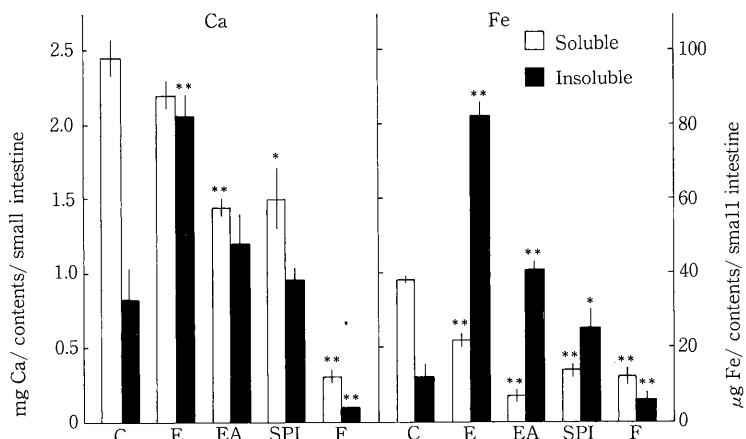


Fig.2 Amounts of Ca and Fe in the small intestinal contents from the rats fed casein(C), egg yolk(E), egg albumin(EA) or SPI, or on fasting. Avg. from 4 rats in each group with SEM. (signif. from C, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.)

な著しい不溶性 Fe の増加は認められなかった。結果的に特に顕著な差は認められなかった。

3. *in vitro* における SPI トリプシンマクロペプチド分画とミネラルとの相互作用

分子サイズから推定した単一ペプチドとしての分子量 (3,000 として) 当たりの Ca 結合量は 1 mole 以下で、特に強い結合とは認められなかった (Fig. 3)。またカゼインのマクロホスホペプチド (CPP) やポリグルタミン酸では、リン酸カルシウムから hydroxyapatite

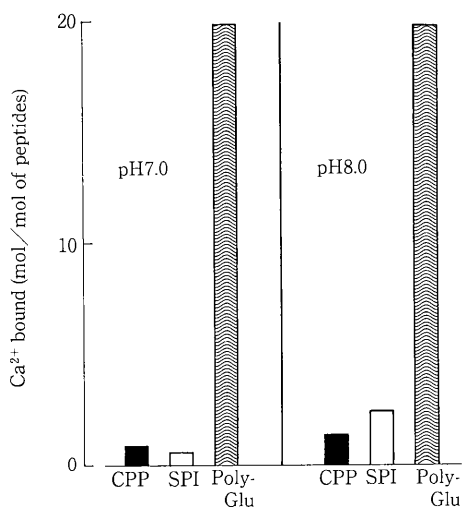


Fig.3 Ca²⁺ ion bound to CPP, SPI and Poly-Glu

の結晶形成を強く阻止する作用があるが、SPI-ペプチドは全くこのような作用が認められず、他のアルカリ土類イオンの場合でも、無添加区との間に差がなかつ

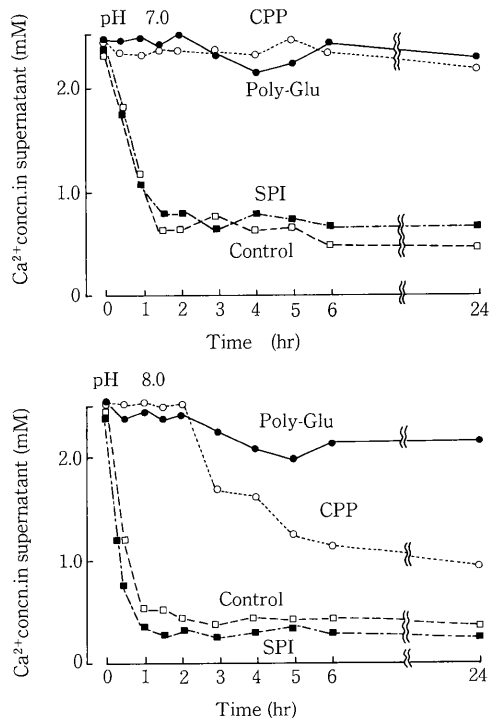


Fig.4 Effect of various peptides on the inhibition of Ca²⁺ precipitation

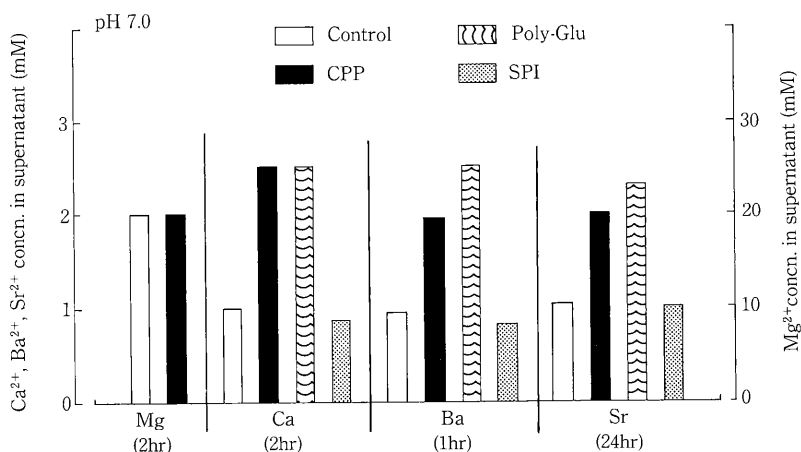


Fig.5 Effect of various peptides on the inhibition of Mg, Ca, Ba and Sr precipitation

た (Fig. 4, 5)。

以上の結果から, SPI 摂取の際, 小腸下部で生成するマクロペプチドは, 鉄やアルカリ土類イオンと特に顕著な相互作用を示さないものと考えられる。

従来大豆たん白質のミネラル吸収性に対する影響については, 必ずしも一致した見解が得られていないが, 試料が異なるほか, 比較たん白質との栄養価の相違や, 摂取量の違いなどが異なった結論を導きやすい要因である²⁾。

本実験では, ⁴⁵Ca 投与後 4 時間内の全消化管内容量から「吸収量」を推定したが, 前述のように試験食の 1 回投与のために, 栄養価や摂取量の差は無く, 内因性 Ca に対する ⁴⁵Ca の寄与は少ないために, 少なくとも

も 4 時間内での真の Ca 吸収率を反映するものと考えられる。一方, 大腸内 ⁴⁵Ca が SPI で多いことは, 全体の Ca 利用に関して何等かの影響を及ぼすものと考えられ, 今後の検討が必要であろう。

文 献

- 1) 内藤博, 野口忠 (1981): 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. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **2**, 19-22.
- 2) 吉田勉, 大森孝子 (1972): 窒素および無機質の出納におよぼす飼料中たんぱく質の影響について. 栄養学雑誌, **30**, 103-110.