

分離大豆たん白質と鉄, カルシウムの腸管内可溶化性および吸収性

SOLUBILITY OF CALCIUM AND IRON IN THE SMALL INTESTINAL CONTENTS OF RATS RECEIVING SOY PROTEIN ISOLATE AND THE RELATION TO THEIR ABSORPTION

内藤 博・佐藤隆一郎・野口 忠 (東京大学農学部)

Hiroshi NAITO, Ryuichiro SATO and Tadashi NOGUCHI

Faculty of Agriculture, The University of Tokyo, Tokyo 113

ABSTRACT

Solubility and absorption of Ca and Fe in the small intestinal contents of rats receiving a diet containing casein or soy protein isolate (SPI) were examined. These amounts were higher in casein group, which was exclusively located in distal small intestine. The absorption of ^{40}Ca and ^{45}Ca measured by a ligated ileal loop technique was also higher in casein group. These results were further confirmed by measuring ^{45}Ca femur uptake as well as comparing between caseinphosphopeptide (CPP) and tryptic SPI peptides instead of respective proteins, suggesting that the observed superiority in Ca absorption of casein is essentially due to the luminal formation of CPP, and SPI had no effect. The situation of Fe in these problems seemed to be ambiguous. One-day balance test of ^{59}Fe showed no significant difference between two groups, whereas there was much less amount of Fe in the luminal contents from SPI-fed rats.

食餌摂取後消化の過程で採集した小腸内容物の可溶性 Ca 量は Ca の吸収を反映することをすでに報告したが¹⁾, これは Ca の腸管一門脈間の濃度こう配の増加による受動輸送の促進に原因するものと推定した²⁾。ICP 発光分析法で内容物中の種々の金属イオン量を測定してみると食餌たん白質によって異なった傾向が得られた。今回は特に分離大豆たん白質 (SPI) 摂取時の鉄について検討し, あわせて Ca 吸収と SPI の消化中間ペプチドの性質についても検討した結果を報告する。

実験方法

体重100 g 前後の Wistar 系雄ラット (静岡実験動物) を Table 1 に示す20%カゼイン基礎飼料 (C₂₀) で約1週間ミールフィーディング1.5 hr の訓練を行い, 最終日に試験たん白質試料を摂取させ, 投与2.5時間後の内容物中 Ca と Fe のそれぞれ可溶性, 不溶性量を測定した。また ^{45}Ca , ^{59}Fe を直接結紮腸管内または経口的

に投与したのち, 腸管からの1~2時間の放射能消失から吸収量を推定した。また ^{45}Ca については大腿骨中への取込み量も測定した。

カゼインホスホペプチド (CPP) および SPI ペプチ

Table 1. Composition of diets

Protein*	20.0%
Corn starch	61.9
Soybean oil	5.0
Cellulose powder	5.0
Mineral mixture ⁺	5.0
Vitamin mixture ⁺⁺	1.0
Choline chloride	0.1
Polyethylene glycol	2.0

* Casein, purified egg yolk protein, egg albumin or soy protein isolate (Fujipro R)

⁺ Rogers-Harper (1965)

⁺⁺ NRC (1972)

Table 2. The amount of Ca in the whole small intestinal contents

	Casein	Egg yolk	Egg albumin	SPI
Soluble Ca (mg)	2.45±0.17	2.22±0.09	1.44±0.06	1.49±0.20
Insoluble Ca (mg)	0.82±0.23	2.06±0.14	1.21±0.19	0.96±0.18
Soluble/insoluble	2.99	1.08**	1.19**	1.55**
% of dietary Ca ^a	37.5±4.0	26.1±1.8*	23.4±2.5*	30.1±3.5

Values refer to mean±SE of four rats. *p<0.05, **p<0.01 between test protein and casein groups.

^a (Soluble Ca/PEG÷Ca/PEG in diet) ×100

ド(SPP):前者は β -カゼインからトリプシン消化の
のち精製した Arg₁-Arg₂₅ (2,927dal) のマクロホスホ
ペプチドでホスホセリン4残基を含み,うち3個は連
続結合している点が特異的である。SPP はフジプロ R
をトリプシンで消化したのち, TCA 沈殿上澄を中和
し, Toyopeul HW-40 (2.6×40cm) でゲル透過したマ
クロペプチド画分を凍結乾燥して供試した。

結果および考察

1. Ca の吸収におよぼすカゼイン, SPI の効果

1.5時間ミールフィーディングし,さらに1時間後採
取した全小腸内容物中の可溶性 Ca 量はカゼイン群のみ
が SPI 群も含めた他群より顕著に多いことは既報¹⁾の結
果と同様である (Table 2)。カゼインの Ca 可溶化に
対するこの特異的な効果は,著者らがすでに明らかに
したように,リン酸カルシウム結晶化に対する CPP の
阻止作用によるものであるが¹⁾, SPP にはその効果はま
ったく認められなかった (Fig.1)。

6 週齢ラットを C₂₀ 食で10日間4時間ずつのミールフ
ィーディング飼育後 C₂₀ と SPI₂₀ 群に分けて1.5時間摂
取させ,1.0時間後回腸下部に8cm長ループをつくり,
内容物存在のままで両群の比放射能値が等しくなるよ

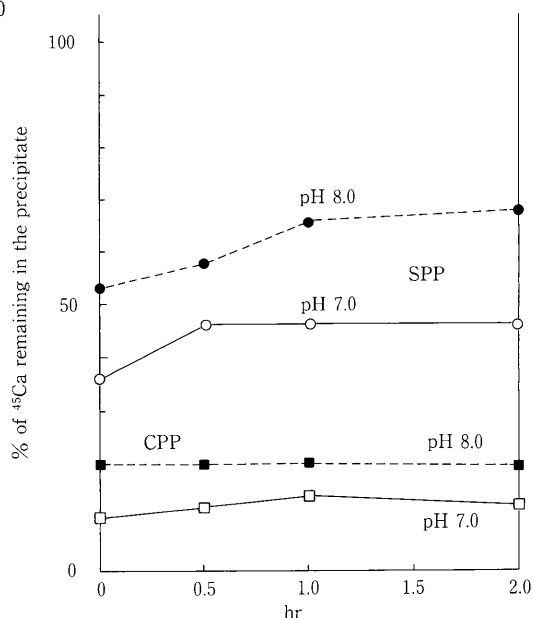


Fig. 1 Effect of CPP or SPI-peptide on the inhibition from Ca phosphate precipitation

To 3.5 ml, 5 mM phosphate buffer, 0.5 ml, 0.2 M ⁴⁵CaCl₂ and 1 mg/ml of peptide were added at 37°C. Portions of the supernatant. were drawn on varying time to measure soluble amount of Ca.

Table 3. The absorption of ⁴⁰Ca and ⁴⁵Ca, and ⁴⁵Ca uptake into femur from non-flushed ligated ileal loops of rats fed SPI diet

		Casein	SPI
Soluble ⁴⁰ Ca at zero time	(μg)	237.5±20.8	96.3±4.8**
Soluble ⁴⁰ Ca at 1.0 hr	(μg)	156.0±12.1	60.0±8.8**
Difference	(μg)	81.5	36.3
Soluble ⁴⁵ Ca at zero time	(×10 ⁻⁶ dpm)	12.2	2.72
Soluble ⁴⁵ Ca at 1.0 hr	(×10 ⁻⁶ dpm)	8.03±0.38	1.37±0.12
Difference	(×10 ⁻⁶ dpm)	4.17±0.55	1.35±0.13**
Specific activity at zero time		6.00×10 ⁻⁴	5.91×10 ⁻⁴
Specific activity at 1.0 hr		5.22	2.38
⁴⁵ Ca in femur	(×10 ⁻⁴ dpm/femur)	10.97±2.07	2.41±0.33
⁴⁰ Ca uptake into femur [#]		1.96±0.37	0.58±0.08*

: ⁴⁰Ca uptake ÷ ⁴⁵Ca of femur / (zero time sp. act. + final sp. act. of contents)

Values refer to mean±SE of four rats

うに⁴⁵Caを注入し、均一化後ゼロタイムおよび1時間にそれぞれのラットからループ内容物を採取して消失量から⁴⁰Ca、⁴⁵Caの吸収量を推定した(non-flushed method)。Table 3に示すようにカゼイン群では大豆群にくらべて、⁴⁰Ca吸収量は2.2倍、⁴⁵Caでは3.9倍も高

かった。またループ内比放射能と門脈血内⁴⁵Ca量から算出したCaの門脈血移行量もカゼイン群で高く、大腿骨中への取込みもほぼこれに比例した。

このような効果が、たん白質の消化中間産物としてのペプチドによるものか否かをしらべた。前実験と同

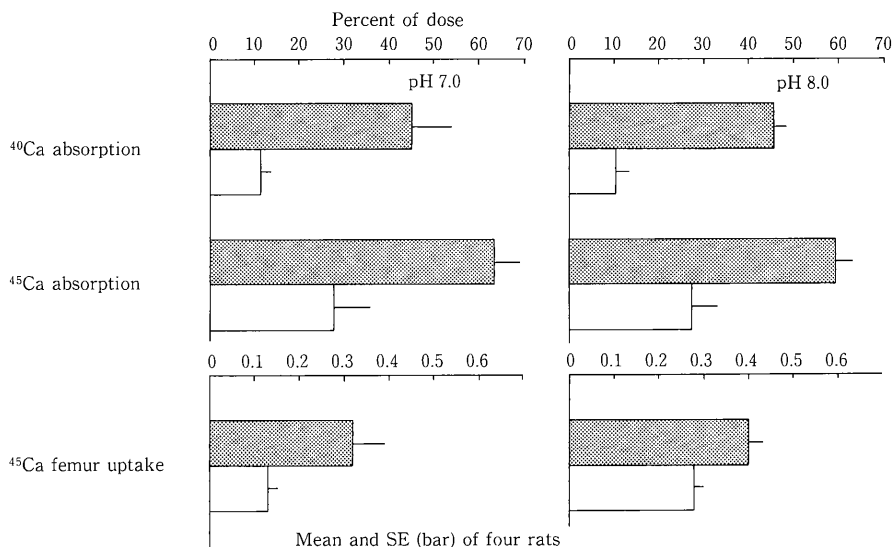


Fig. 2 Absorption of ⁴⁰Ca and ⁴⁵Ca and uptake of radioactivity 1.5 hr after injection of ⁴⁵Ca into ligated ileum *in situ* with caseinphosphopeptide (hatched bars) or SPI peptide (white bars)

Table 4. The amount of Fe in the whole small intestinal contents

	Casein	Egg yolk	Egg albumin	SPI
Soluble Fe (μg)	38.7±1.3	22.1±1.9	7.9±1.2	14.3±1.5
Insoluble Fe (μg)	12.3±4.1	82.3±3.9	41.4±1.8	25.3±5.7
Soluble/insoluble	3.15	0.27**	0.19**	0.57**
% of dietary Fe*	56.1±2.8	24.0±2.4**	13.4±1.3**	19.8±2.0**

Legends are similar as described in Table 2

Table 5. ⁵⁹Fe distribution in the small intestinal contents 1.5 hr after oral administration of ⁵⁹FeCl₃

	Casein	Egg yolk (+EDTA)	Egg yolk (-EDTA)	SPI
(Upper)				
Soluble Fe (cpm)	180±50	120±20	60±20	30±20
Insoluble Fe (cpm)	30±10	10±0	240±100	200±70
Soluble %	88.9±3.4	95.4±0.4	26.4±6.4**	22.5±7.9**
(Lower)				
Soluble Fe (cpm)	1030±240	3600±550	80±10	310±70
Insoluble Fe (cpm)	2080±210	1570±330	4410±1460	6260±1660
Soluble %	31.5±5.1	70.2±1.1**	2.2±0.5**	5.1±0.4**

** Significant from casein group, p<0.01. Mean±SE of four rats

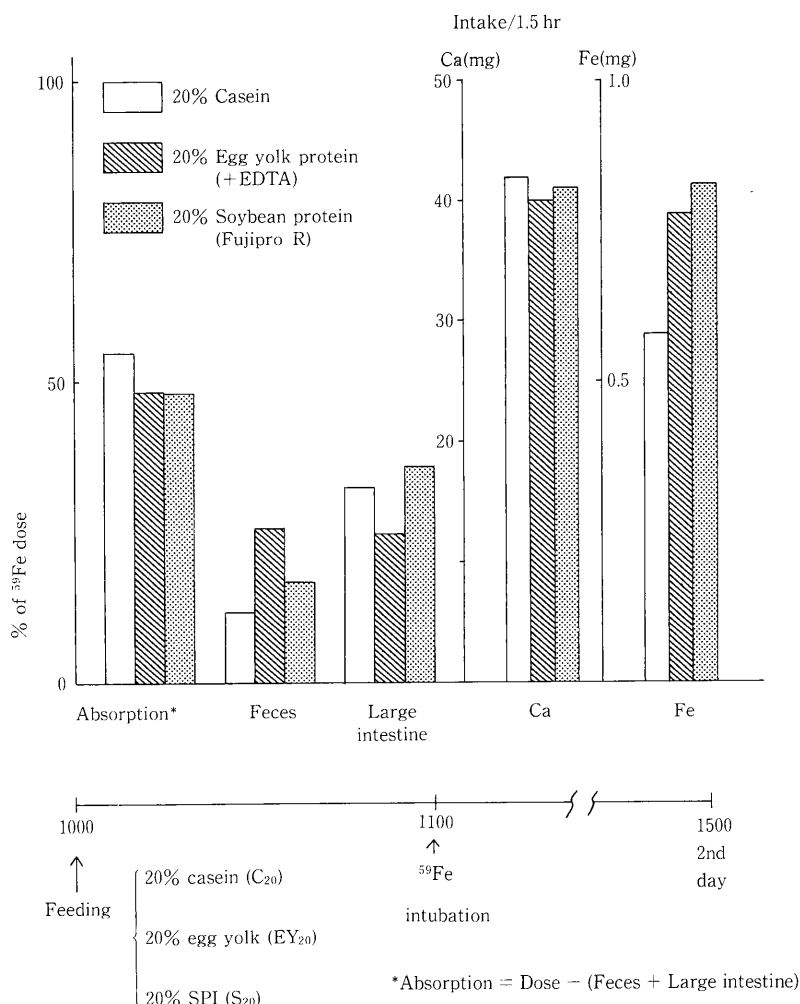


Fig. 3 One-day balance of ^{59}Fe with the diet containing casein, egg yolk or soy protein isolate

様、8 cmループをつくり、内容物を生理的食塩水で完全に洗いだしたのち、40mM リン酸緩衝液 (pH7.0または8.0) 0.2 ml 注入、つづいて40mM $^{45}\text{CaCl}_2$ (20 μCi) と CPP または SPP 各 1 mgの混合液0.2ml を注入し、麻酔下1.5時間放置したのち内容液を分析に供した (flushed method²¹)。Fig. 2 に示すように前実験と同様な結果を示し、Ca 吸収効果の違いはペプチドの特性に原因することが明らかとなった。ただし、両群の差はむしろ CPP の有効性に原因するものであり、特に SPP に Ca の吸収性を低下させる作用が存在するものとは考えられない。

2. Fe の吸収におよぼすカゼイン、SPI の効果

Ca と同様、可溶性 Fe 量はカゼイン投与群に比べて

卵たん白質や SPI は著しく低い値となった (Table 4)。卵黄は Fe と強く結合して吸収性を著しく低下させることが知られているが、EDTA 処理で結合鉄を除去することにより可溶性 ^{59}Fe 量はカゼインと同じレベルに上昇する。小腸下部ではむしろカゼインよりも高い値を示し、Fe の不溶化は著しく抑制されたことを示す (Table 5)。他方 ^{59}Fe 投与1時間のバランスを調べてみると、Fig. 3 に示すようにカゼイン、卵黄 (EDTA 処理)、および SPI の3群間に著しい差を見出すことはできなかった。

Fe の吸収量は Ca にくらべて著しく低く、またほとんどは小腸上部における能動輸送によるものと考えられているので、Ca のように小腸管腔内の濃度の上昇が

ただちに吸収の向上につながるものとは考えられないが、さらに検討を要する問題である。またその後の知見から、SPI の Fe 不溶化促進性はフィチン酸の存在によるものとは考えにくい。

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誌, 2, 19-22.
- 2) Lee, Y.S., Noguchi, T. and Naito, H. (1983): Intestinal absorption of Ca in rats given diets containing casein or amino acid mixture : the role of casein phosphopeptides. *Br. J. Nutr.*, 49, 67-76.