

大豆に含まれるセレンの存在様式と セレノメチオニンの腸管吸収

SELENOMETHIONINE IN SOYBEAN PROTEINS AND
ITS INTESTINAL ABSORPTION

安本教傳¹⁾・鈴木鐵也¹⁾・吉田宗弘²⁾

¹⁾京都大学食糧科学研究所, ²⁾関西医科大学公衆衛生学教室

Kyoden YASUMOTO¹⁾, Tetsuya SUZUKI¹⁾ and Munehiro YOSHIDA²⁾

¹⁾Research Institute for Food Science, Kyoto University, Uji 611

²⁾Department of Public Health, Kansai Medical University, Moriguchi 570

ABSTRACT

Selenium contents of soybean flakes, protein concentrates, protein isolates, and protein subfractions were determined fluorometrically. On dry weight basis, selenium content exceeded the level of 0.5 μg per g protein in soybean flakes, whereas it ranged from 0.24 to 0.45 μg per g protein in the protein concentrates and the protein isolates. Similar values were obtained for the selenium content of the subfractions of proteins extracted from soybean flakes with 0.03 M tris-HCl buffer of pH 8.0. Several lines of evidence suggested that selenium occurs in soybean proteins largely in the form of or in close association with selenomethionine. The intestinal absorption of selenomethionine, selenocystine and sodium selenite was examined by using ligated intestine of rats. Among the tested selenium compounds selenomethionine disappeared most rapidly from the intestinal loop. Presented experimental data are consistent with the notion that selenium in soybean proteins occurs largely, if not entirely, as selenomethionine, which is readily absorbable from the intestinal lumen and nutritionally effective in retaining glutathione peroxidase activity in rats.

セレン (Se) は glutathione peroxidase の構成因子として知られる必須微量元素である^{1,2)}。中国の風土病である克山病が Se 欠乏症であると指摘されたり^{3,4)}、ヒトのいくつかの疾病において血中 Se 濃度の低下が報告されたことから^{5,6)}、食物より摂取される栄養素としての Se に対する関心が高まっている。日本人の Se 摂取状況は約200 $\mu\text{g}/\text{day}/\text{capita}$ であり⁷⁾、これは米国 NAS の定めた Se の所要量暫定値⁸⁾を量的に充分満足させるものである。しかし、Se は食品中で種々の化学形態で存在しており^{9,10)}、その栄養有効性にも差異のあることが知られている¹¹⁻¹⁴⁾。

われわれは昨年、大豆たん白質中においては Se が主としてセレノメチオニンの形態で存在していること、および、その栄養有効性が *in vivo* の栄養試験からは亜

セレン酸やミルクカゼイン中の Se に比べてやや劣ることを報告した¹⁵⁾。

近年、食品工業技術の進歩によって大豆たん白質をはじめとする各種の食品たん白質の分離精製が可能となったが、その際、Se のような微量栄養素がどのような挙動をとるかは栄養上のひとつの問題である。本研究は、大豆たん白質中の Se の栄養有効性をより詳細に評価する目的で、大豆における Se の分布と、大豆たん白質中の Se の主形態と考えられるセレノメチオニンの腸管吸収について検討を加えるものである。

実験方法

1. 大豆たん白質の抽出と分画

脱脂大豆フレーク (たん白質含量55.0%) 25 g より

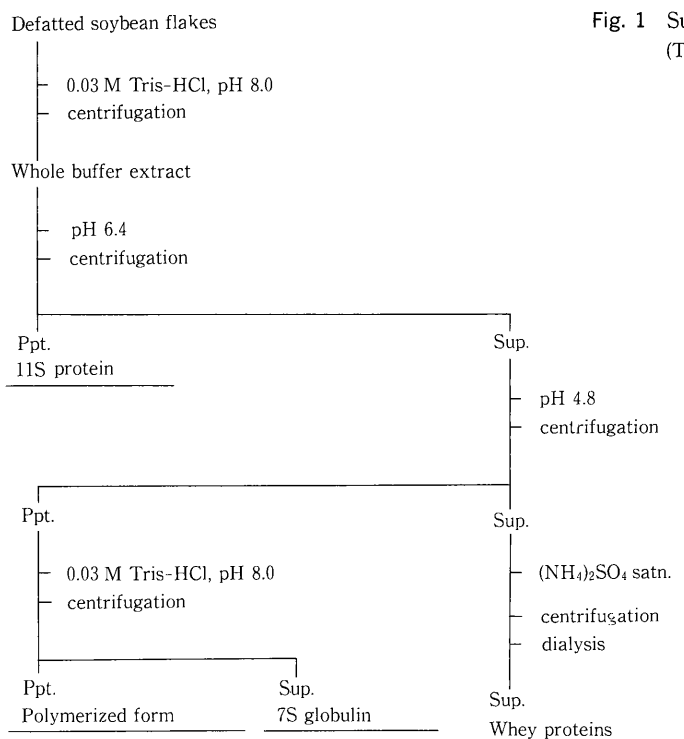


Fig. 1 Subfractionation of soybean proteins
(Thanh, V. H. and Shibasaki, K. 1976)

0.03M, pH8.0のトリス塩酸緩衝液を用いて大豆たん白質を抽出したのち、さらに Thanh and Shibasaki の方法¹⁶⁾に従って分画を行い、各分画の Se 含量を測定した。なお、抽出、分画の詳細は Fig. 1 に示したとおりである。

2. Se 化合物の腸管吸収試験

吸収試験にはあらかじめ市販固型試料（オリエンタル酵母株, MF）で1週間飼育したのち、一夜絶食させた体重約200 g の Wistar 系雄ラットを用いた。各ラットを sodium pentobarbital 50 mg/kg 腹腔内投与によって麻酔後、開腹し、毛細血管を傷つけないように注意深く小腸を取り出し、空腸部分に両端を糸で結んだ約10cmの長さのループを2つ作成した。各ループに亜セレン酸ナトリウム、セレノメチオニン、またはセレノシスチンを5 μ g Seを含む Krebs-Ringer 液1 mlを注入した。その後、各ループを腹腔に戻し、開腹部を外科用クランプではさみ、37℃に保温した。30分経過後、再び開腹してループを切り取り、ループ内液とループ組織中の Se を定量した。なお、非吸収性マーカーとしては phenol red を用いた。

3. 測定法

(1) Se：試料を硝酸一過塩素酸混液で湿式灰化した後、2,3-diaminonaphthalene を作用させて生ずる 4,5-benzpiaselenol の蛍光強度を測定する Watkinson 法¹⁷⁾

に従って求めた。

(2)たん白質：Lowry 法¹⁸⁾によるか、もしくはケルダール窒素に係数（6.25）を乗じて求めた。

結 果

1. 大豆たん白質中のセレン

Table 1 は脱脂大豆フレーク、市販の大豆たん白質（Fujipro Rを含む）、および、大豆フレークより0.03 M, pH8.0のトリス塩酸緩衝液で抽出した画分に含まれる Se をたん白質量あたりで比較したものである。脱脂大豆フレークにはたん白質 g あたり0.5 μ g 以上の Se が含まれていたのに対し、大豆たん白質として市販されている製品中の Se 含量はそれより2～6割低い値であ

Table 1. Selenium content of soybean proteins

Soybean protein products	Selenium content (μ g/g protein)
Soybean flake, A	0.52
Soybean flake, B	0.57
Soybean protein concentrate, A	0.43
Soybean protein isolate, A	0.45
Soybean protein isolate, B	0.24
Whole buffer extract*	0.40

* Prepared as described in Fig. 1 from soybean flake, B.

Table 2. Recovery of protein and selenium in soybean protein subfractions*

Subfractions	Protein recovery (g)	Selenium recovery	
		($\mu\text{g/g}$ protein)	(μg)
Whole buffer extract	11.3	0.40	4.5
11S globulin	1.8	0.35	0.66
7S globulin	4.3	0.36	1.51
Polymerized form	0.5	0.02	0.01
Whey proteins	0.9	0.58	0.50

* Prepared as described in Fig. 1.

った。一方、大豆フレークより抽出した画分中の Se 含量も、たん白質 8 あたり $0.4\mu\text{g}$ であり、たん白質分離操作の過程で Se が必ずしも濃縮されてこないことが示された。

Table 2 は大豆フレークより抽出した画分を Thanh と Shibasaki の方法に従ってさらに分画した際に、各画分に回収されるたん白質量と Se 量をまとめたものである。たん白質、Se とともに 7S globulin 画分に 50% 以上が回収された。一方、Se をたん白質 8 あたりで表示してみると、whey proteins 画分にやや Se が偏在する傾向が認められたが、極端に Se を多く含む画分はなかった。

2. 小腸ループにおけるセレン化合物の吸収

Table 3 は、小腸ループに Se 化合物を注入し 37°C にて 30 分間経過後、ループ内液より消失していた Se 量およびループ組織に蓄積していた Se 量をまとめたものである。注入したセレンメチオニンの約 90% がループより消失していた。一方、亜セレン酸とセレンシスチンは 30 分間経過後でも 50% 以上がループ内液に残存しており、正味の吸収率も約 3 割にすぎなかった。

考 察

近年の食品工業技術の進歩は、種々の食品たん白質の分離・精製を従来以上に可能にしている。食品中で Se は一般にたん白質画分に偏在するといわれている

が^{9,19)}、Table 1 に示した結果は大豆たん白質の分離(特に抽出)の過程で Se の一部が失われることを意味している。この原因としては、非たん白質態 Se の存在、あるいは、分離の過程におけるたん白質よりの Se の遊離、などが考えられるがその詳細についてはさらに検討を要する。われわれは以前、乳汁よりミルカゼインを分離・精製する過程で同様の現象の生じることを認め、精製カゼインを唯一のたん白質源として飼料などに用いる際には一定量の Se の強化が必要であることを指摘した¹¹⁾。このような Se の強化は大豆たん白質(特に大豆分離たん白質)を用いる際にも必要なのかもしれない。

われわれは昨年度の本研究会会誌において、大豆たん白質のプロナーゼ水解物中の Se のペーパークロマトグラフにおける挙動から判断すると、大豆たん白質中の Se の主形態はセレンメチオニンである可能性が強いと報告した。この仮説の実証を目的として、現在、大豆たん白質の水解物を fast atom bombardment mass spectrometry などの方法を用いて分析中である。試験的に得られた結果は、セレンメチオニンの形態であるという仮説を支持しているが、さらに詳細に検討して、別の機会に報告する。

セレンメチオニンの栄養有効性に関してはすでに多くの報告が提出されている^{20,21)}。組織中の glutathione peroxidase 活性を指標とする場合は、特殊な栄養条件²²⁾

Table 3. *In vivo* absorption of various selenium compounds in rat small intestine*

Compounds	Luminal disappearance	Tissue accumulation	Net absorption(%)
Selenomethionine	4.62 ± 0.20^b	0.22 ± 0.05^a	88
Selenocystine	2.23 ± 0.27^a	0.59 ± 0.07^b	33
Sodium selenite	1.87 ± 0.32^a	0.18 ± 0.03^a	34

* Luminal disappearance and tissue accumulation were expressed as μg selenium per loop per 30 min. Net absorption was calculated as follows: $[(\text{luminal disappearance} - \text{tissue accumulation})/5] \times 100$. Values are mean $\pm$ SEM for 6 loops; means in the same column not sharing a common superscript differ significantly at $p < 0.05$.

を除いて、その有効性は亜セレン酸に匹敵すると考えて差支えないであろう。

一方、セレン化合物の腸管吸収についての報告は比較的少ない。ハムスターの腸管を用いた実験^{23,24)}から、セレノメチオニンはメチオニンと同じ系によって能動輸送され则认为られている。Table 3の結果は吸収速度においてセレノメチオニンがセレノシスチンや亜セレン酸よりも効率が良いことを示しており、セレノメチオニンが能動輸送されるという仮説を支持するものである。しかしながら、セレノシスチンや亜セレン酸の吸収機構については不明の点が多い。今後、セレン化合物の腸管吸収についての系統的な研究が望まれる。

文 献

- 1) Thompson, J.N. and Scott, M.L. (1969): Role of selenium in the nutrition of the chick. *J. Nutr.*, **97**, 335-342.
- 2) Rotruck, J.T., Pope, A.L., Ganther, H.E., Swanson, A.B., Hafeman, D.G. and Hoekstra, W.G. (1973): Selenium: biological role as a component of glutathione peroxidase. *Science*, **179**, 588-590.
- 3) Keshan Disease Research Group of the Chinese Academy of Medical Sciences (1979): Observation on effect of sodium selenite in prevention of Keshan disease. *Chinese Med. J.*, **92**, 471-476.
- 4) Keshan Disease Research Group of the Chinese Academy of Medical Sciences (1979): Epidemiologic studies on the etiologic relationship of selenium and Keshan disease. *Chinese Med. J.* **92**, 477-482.
- 5) Aasath, J., Thomassen, Y., Alexander, J. and Norheim, G. (1980): Decreased serum selenium in alcoholic cirrhosis. *New Engl. J. Med.*, **303**, 944-948.
- 6) McConnell, K.P., Broghamer, Jr.W.L., Blotcky, A.J. and Hurt, O.J. (1975): Selenium levels in human blood and tissues in health and in disease. *J. Nutr.*, **105**, 1026-1031.
- 7) Yasumoto, K., Iwami, K., Yoshida, M. and Mitsuda, H. (1976): Selenium content of foods and its average daily intake in Japan. *Eiyo to Shokuryo (J. Jpn. Soc. Food Nutr.)*, **29**, 511-515.
- 8) Food and Nutrition Board (1980): Recommended Dietary Allowances, 9th rev. ed., National Academy of Sciences, Washington, D.C.
- 9) Franke, K.W. (1934): A new toxicant occurring naturally in certain samples of plant foodstuffs. II. The occurrence of the toxicant in the protein fraction. *J. Nutr.*, **8**, 609-613.
- 10) Underwood, E. J. (1977): Trace element in human and animal nutrition, 4th ed., Academic Press, New York, pp. 302-346.
- 11) Yoshida, M., Yasumoto, K., Iwami, K. and Tashiro, H. (1981): Distribution of selenium in bovine milk and selenium-deficiency in rats fed casein-based diets, monitored by lipid peroxide level and glutathione peroxidase activity. *Agric. Biol. Chem.*, **45**, 1681-1688.
- 12) Schwartz, K. and Foltz, C.M. (1958): Factor 3 activity of selenium compounds. *J. Biol. Chem.*, **233**, 245-251.
- 13) Mathias, M.M., Hogue, E.E. and Loosli, J.K. (1976): Biological value of selenium in bovine milk for rat and chick. *J. Nutr.*, **93**, 14-20.
- 14) Cantor, A.H., Scott, M.L. and Noguchi, T. (1975): Biological availability of selenium in feedstuffs and selenium compounds for prevention of exudative diathesis. *J. Nutr.*, **105**, 96-105.
- 15) 安本教傳, 岩見公和, 吉田宗弘 (1983): 大豆たん白質に含まれるセレンの栄養有効性と化学形態. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **4**, 35-40.
- 16) Thanh, V.H. and Shibasaki, K. (1976): Major proteins of soybean seeds. A straightforward fractionation and their characterization. *J. Agric. Food Chem.*, **24**, 1117-1122.
- 17) Watkinson, J.H. (1966): Fluorometric determination of selenium in biological material with 2, 3-diamino-naphthalene. *Anal. Chem.*, **38**, 92-97.
- 18) Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. (1951): Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275.
- 19) Millar, K. R. and Sheppard, A. D. (1972): α -tocopherol and selenium levels in human and cow's milk. *N. Z. J. Sci.*, **15**, 3-15.
- 20) Cantor, A.H., Langevin, M.L., Noguchi, T. and Scott, M.L. (1975): Efficacy of selenium in selenium compounds and feedstuffs for prevention of pancreatic fibrosis in chicks. *J. Nutr.*, **105**, 106-111.

- 21) Pierce, S. and Tappel, A.L. (1977) : Effects of selenite and selenomethionine on glutathione peroxidase in the rat. *J. Nutr.*, **107**, 475-479.
- 22) Yasumoto, K., Iwami, K. and Yoshida, M. (1979) : Vitamin B₆ dependence of selenomethionine and selenite utilization for glutathione peroxidase in the rat. *J. Nutr.*, **109**, 760-766.
- 23) McConnell, K. P. and Cho, G. J. (1965) : Transmucosal movement of selenium. *Am. J. Physiol.*, **208**, 1191-1195.
- 24) McConnell, K.P. and Cho, G.J. (1967) : Active transport of L-selenomethionine in the intestine. *Am. J. Physiol.*, **213**, 150-156.