ダイズタンパク質に含まれるセレンの 化学形態と栄養有効性

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)}京都大学農学部^{** 2)}関西医科大学^{***})

Chemical Form and Nutritional Efficiency of Selenium, An Essential Trace Element, Contained in Soybean Protein

Kyoden YASUMOTO,¹⁾ Tetsuya SUZUKI¹⁾ and Munehiro YOSHIDA²⁾

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

²⁾Kansai Medical College, Moriguchi 570.

Selenium content of soybean protein was determined by a fluorometric method, and its nutritional efficiency was assayed by feeding weanling rats the diet containing either one of these materials at 15% protein level. Nutritional availability of selenium, as assessed by measuring the dietary intake and fecal output and by correcting for the metabolic obligatory fecal loss, ranged between 75 and 80%. The hepatic selenium level and glutathione peroxidase activity were found closely associated with the amount of nutritionally available selenium in the diet. Pepsin digestion of soybean protein isolate was accompanied by a concomitant liberation of dialyzable selenium. Pronase digestion of pepsin-and pancreatin digest soybean protein gave rise to selenium-containing substances which located on paper partition chromatography or thin-layer chromatography at the same positions where selenomethionine located. Analytical data obtained by GC-MS confirmed an existence of selenomethionine in the digest.

^{*}所在地:京都府宇治市五ヶ庄(〒611)

^{**}所在地:京都市左京区北白川追分町(〒606)

^{***} 所在地:大阪府守口市文園町1(〒570)

These results indicate that selenium of soybean proteins occurs largely in the form of selenomethionine bound to proteins and its nurtitional efficiency is almost the same as selenite.

セレン (Se) は glutathione peroxidase (GSH-Px)の構成因子として知られる必須術量元素である $^{1,2)}$ 。中国の風土病である克山病が Se 欠乏症であるとの可能性が指摘されたり $^{3,4)}$ 、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 摂取状況は量的には過不足のない状態であると推定されている。しかし、食品中の Se の栄養有効性は Se の存在化学形態の多様性に伴って変化することが知られており $^{8\sim10}$ 、質的な評価の点でなお問題を残している。

われわれは、種々の食品中に含まれる Se の化学形態と栄養有効性 を解明する目的で研究をすすめており、本稿においてはダイズたん白質中に含まれる Se について得られた成績について論じる。

1. GSH-Px 活性を指標にした有効性の評価

現在までのところ,食品中に含まれる Se の有効性を判定する手段としては,対象食品を実験動物に投与して組織中の GSH-Px 活性を測定するという方法がもっとも一般的である。 図 1 は,離乳直後のラットに, 亜セレン酸態の Se を 0~ 5.0 μg/g 補足したカゼイン飼料を 3 週間投与した結果,得られる肝臓および赤血球中の GSH-Px 活性を示したものである。この図から低 Se 領域では肝臓中の GSH-Px 活性が高 Se 領域では赤血球中の GSH-Px活性が有効性判定の指標となり得ると判断される。ダイズたん白質をたん白質源として飼料を作成すると,その Se 含量は 0.1 μg/g 未満となるため,主として肝臓の GSH-Px 活性が有効性判定のためのひとつの指標になる。図 2 は,ダイズたん白質, カゼインおよび亜セレン酸補足カゼインをたん白質源とした飼料をラットに投与したとき,測定された肝臓の GSH-Px 活性および Se 含量と飼料中 Se 含量の関係を図示したものである。 種々の飼料で飼育したラットの肝 GSH-Px 活性と Se 含量は飼料中 Se 含量をよく反映しており,ダイズたん白質中の Se がカゼイン中の Se や亜セレン酸態 Se と同程度の有効性をもつことが示唆された。

2. 消化吸収性を指標にした有効性の評価

GSH-Px活性とともに消化吸収率も Se の有効性判定のひとつの指標となりうる。表

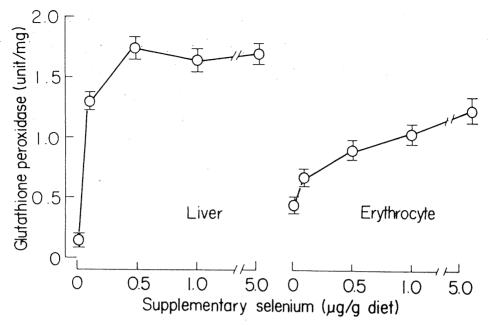


Fig. 1. Effect of graded levels of supplementary selenium on glutathione peroxidase activity in rat liver and erythrocyte

Rats were pair-fed for 3 weeks the basal case-based diet (Se content: $0.065 \mu g/g$) supplemented with indicated level of selenium as sodium selenite. Each point and its associated vertical bar represent the mean ± SEM for 4 rats.

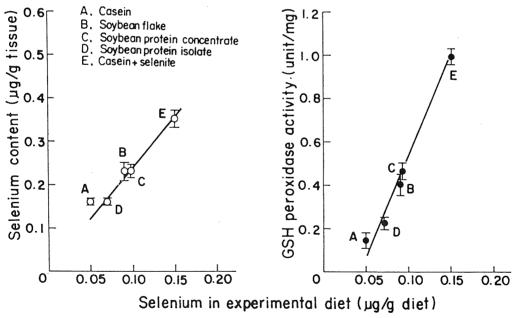


Fig. 2. Relationship of dietary selenium to hepatic glutathione peroxidase activity and

selenium content in rats fed various experimental diet

Rats were pair-fed for 3 weeks each experimental diet. Each experimental diet contained 15% level of the protein source: A, casein; B, soybean flake; C, soybean protein concentrate, D, soybean protein isolate; E, casein supplemented with 0.1 µg Se/g of sodium selenite. Each point and its associated vertical bar represent the mean ± SEM for 4 rats.

1 は図1 と同じ実験において、飼料中の Se の消化吸収率を糞中に排泄された Se 量をもとに算出した結果を示すものである。各飼料に含まれる Se の消化吸収率は、カゼインおよびこれに亜セレン酸を補足した飼料ではほぼ 90 %に近く、精製程度のことなるダイズたん白質を用いた飼料でも 70 ~ 80 %に達した。一方、ダイズたん白質を透析チューブに入れて pepsinを用いた in vitro の人工消化試験に供したところ、図3に示すように Se はたん白質の消

Diets	Dietary intake (µg Se/day/rat)	Fecal excretion (µg Se/day/rat)	Availability (%)
A	0.51 ± 0.01	$0.10 \pm 0.02(0.06)$	88.2 ± 2.8 ^b
В	0.85 ± 0.01	$0.21 \pm 0.03(0.17)$	80.0 ± 3.9 ^{ab}
С	0.88 ± 0.02	$0.26 \pm 0.03(0.22)$	75.0 ± 2.7^{a}
D	0.63 ± 0.04	$0.19 \pm 0.01(0.15)$	76.0 ± 2.0^{a}
· E	1.51 ± 0.01	$0.25 \pm 0.01(0.21)$	861±29 ^b

Table 1. Availability of dietary selenium at gastrointestinal level in rats

The data were obtained with the same animals in Fig. 2. Values given in parentheses represent the true fecal excretion of selenium corrected for metabolic, obligatory fecal loss, $0.04 \pm 0.01 \,\mu g$ Se/day. Availability was calculated as follows: availability = [Se intake - (fecal Se - obligatory Se)] /Se intake X 100. Values (means \pm SD for four rats) not sharing a common superscript in the same column are significantly different at p < 0.05.

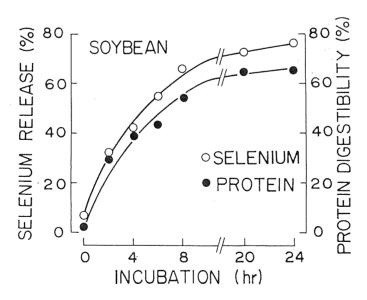


Fig. 3. Time cource of protein digestion and selenium release during pepsin treatment of soyprotein isolate.

The pepsin digestion was allowed to proceed within a cellophane tube so that the digestion products could be continuously removed. Aliquots of the tube content were withdrawn at intervals for the determination of remaining protein and selenium and for calculation of the degree of protein digestion and selenium liberation.

化に並行して透析可能な低分子の形態となって透析外液に出現することが判明した。これらの結果は、ダイズたん白質に含まれる Se が消化吸収率の点からも有効な Seであることを示している。

3. ダイズたん白質中のSe の化学形態

従来より Se はたん白質中で selenomethionine (Se-Met) もしくは selenocystine (Se-Cys) 残基の形態で存在しているといわれてきた。事実、ダイズたん白質より pepsin, pancreatin, pronaseを用いて調製したアミノ酸混合物を π 知力ロマトグラフィーまたは薄層クロマトグラフィーで分画すると、 Se は Se-Met と同じ Rf値の画分に回収された。このことはダイズたん白質中のSe がSe-Met の形態で存在していることを強く示唆するものであった。この仮説の実証を目的としてダイズたん白質の加水分解物を gas chromatography-mass spectrometry によって分析し、その結果、ダイズたん白質中に Se-Met の存在することを証明することができた(なお詳細については別の機会に報告する予定である)。

4. Se-Met の有効性

ダイズたん白質中の Se の主形態であると判明した Se-Metの有効性は亜セレン酸に匹敵するといわれている。表 2 は亜セレン酸、 Se-Met, Se-Cysの小腸ループよりの吸収率を

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

Table 2. In vivo absorption of various selenium compounds in rat small intestine*

Male rats weighing about 200 g were fasted for 24 hr before the experiment, and then anesthetized with an intraperitoneal injection (50 mg/kg body weight) of sodium pentobarbitol. After the anesthetization, the proximal jejunum was identified through a midline abdominal incision and a 10 cm in length of the loop, which was tied at both end, was carefully prepared without compromising the tissues. One ml of Krebs-Ringer solution containing 5 μ g of selenium as each selenium compound was injected into the loop. The loop was returned to the abdominal cavity, the abdomen was closed with sugical clamps and the animals were incubated at 37°C for 30 min. At the end of incubation period, the loop was taken out and the selenium remaining in the luminal solution and that acuumulated in the tissue of loop were determined.

^{*}Luminal disappearance and tissue accumulation were expressed as μ g selenium per loop per 30 min. Net absorption was calculated as follows: [(luminal disappearance-tissue accumulation) /5] X 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.

比較したものである。 Se-Met の吸収率(ループよりの消失量)は亜セレン酸や Se-Cys に比べて明らかに高い値であった。また,図 4 に示すごとく,あらかじめ Se 欠乏飼料で飼育したラットに上記の Se 化合物を毎日腹腔内投与したときの GSH-Px 活性の上昇は, 3 種類の Se 化合物間で差がなかった。

本稿において述べた実験成績は、ダイズたん白質中において Se が栄養上有効な形態で存在していることを示している。しかし、他の食品、特に魚肉中の Se についてはその低有効性を示唆する実験成績が多く提出されており $^{11\sim13}$ 、さらに検討を要すると考えられる。

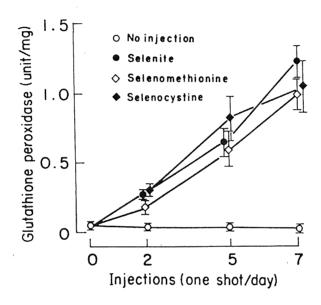


Fig. 4. Elevation of hepatic glutathione peroxidase by selenium administration in rats fed selenium-deficient diet.

After rats were fed the 20% casein diet deficient in selenium (Se content: 0.045 μ g/g) for 3 weeks, selenium compounds were injected intraperitoneally (50 μ g Se/kg body weight/day) for 7 days. Each point and its associated vertical bar represent the mean \pm SEM for 5 rats.

文献

- 1. THOMPSON, J. N. and M. L. SCOTT (1969) J. Nutr., 97:335
- 2. ROTRUCK, J. T., A. L. POPE, H. E. GANTHER, A. B. SWANSON, D. G. HAFEMAN and W. G. HOEKSTRA (1973) Science, 179:588
- Keshan Disease Research Group of the Chinese Academy of Medical Sciences (1979) Chinese
 Med. J., 92:471
- Keshan Disease Research Group of the Chinese Academy of Medical Sciences (1979) Chinese
 Med. J., 92:477
- 5. AASATH, J., Y. THOMASSEN, J. ALEXANDER and G. NORHEIM (1980) N. Engl. J. Med., 303:944-948
- 6. McConnell, K. P., Jr. W. L. Broghamer, A. J. Blotcky and O. J. Hurt (1975) J. Nutr., 105:1026
- 7. 安本教傳, 岩見公和, 吉田宗弘, 満田久輝 (1976) 栄養と食糧 29:511-515.
- 8. SCHWARTZ, K. and C. M. FOLTZ, (1958) J. Biol. Chem., 233: 245
- 9. MATHIAS, M. M, E. E. HOGUE and J. K. LOOSLI (1976) J. Nutr., 93:14
- 10. CANTOR, A. H., M. L. SCOTT and T. NOGUCHI (1975) J. Nutr., 105:96
- 11. CANTOR, A. H., M. L. LANGEVIN, T. NOGUCHI and M. L. SCOTT, (1975) J. Nutr., 105: 106
- 12. DOUGLASS, J. P., V. C. MORRIS, J. H. SOARES, Jr. and O. A. LEVANDER (1981) J. Nutr., 111:2180
- 13. YOSHIDA, M., K. IWAMI and K. YASUMOTO (1984) J. Nutr. Sci. Vitaminol., 30:395