

発酵脱脂大豆給与がラットの亜鉛、鉄および銅吸収に及ぼす影響

平林美穂¹⁾・松井 徹¹⁾・矢野史子²⁾・矢野秀雄¹⁾

(¹⁾京都大学農学部*, (²⁾近畿大学生物理工学部**)

Effects of the Fermented Soya-bean on Absorption of Zinc, Iron and Copper in Rats

Miho HIRABAYASHI, Tohru MATSUI, Fumiko YANO* and Hideo YANO

*Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Kyoto University, *Department of Biotechnical Science, Faculty of Biology-oriented Science and Technology, Kinki University*

Effects of the removal of phytate from defatted soya-bean by fermentation on absorption of zinc, iron and copper were investigated. Rats were fed diets containing defatted soya-bean (DS), fermented defatted-soya-bean (FDS) or fermented defatted-soya-bean added with phytate (FDS + phytate) for 19 d. During the last 5 d, the apparent absorption of zinc, iron and copper were determined. At the end of the feeding trial, digesta in the upper and the lower half of the small intestine was separately collected to measure the solubility of minerals. Apparent absorption of zinc and copper were significantly ($P < 0.05$) higher in rats fed the FDS than animals fed the DS. Furthermore, femoral zinc concentration was greater in the FDS group than the DS group. Surprisingly, apparent absorption of zinc and copper, and femoral zinc concentration were higher in rats fed the FDS + phytate than rats fed the FDS. Solubility of zinc and iron were increased by feeding the FDS with or without phytate in both segments. We conclude that the fermentation of DS improves absorption of zinc and copper. Phytase in the FDS is suggested to be still active in the digestive tract and to degrade phytate in digesta. However, the disappearance of added phytate could not be enough to account for these results. The lower phosphorylated inositols in the FDS might improve mineral absorption.

大豆製品はヒトおよび動物の良質なタンパク質源として用いられているが、フィチン酸（イノシトール-6リン酸）を多く含んでいる。フィチン酸は亜鉛の吸収を阻害する^{1,2,3)}が、加熱処理⁴⁾やフィターゼ添加処理²⁾によりフィチン酸を除去すると亜鉛の利用性は向上することが報告されている。脱脂した大豆を麹菌で発酵処理すると脱脂大豆中のフィチン酸は検出以下となることが認められ、さらに処理後

*所在地：京都市左京区北白川追分町（〒606-01）

**所在地：和歌山県那智郡打田町西三谷930（〒649-64）

の脱脂大豆にフィターゼ活性が確認できた⁵⁾。そこで本試験では発酵脱脂大豆給与がラットの亜鉛吸収に及ぼす影響を検討した。また鉄および銅は亜鉛同様、生体に必須の微量元素であり、吸収のメカニズム、吸収部位において亜鉛と相互作用を持つことが知られている^{6,7)}。フィチン酸が鉄や銅と結合することは知られているが⁸⁾、亜鉛と同様に吸収を阻害するかどうかは明らかとなっていない。そこで発酵脱脂大豆給与が鉄および銅吸収に及ぼす影響もあわせて検討した。

実験方法

動物は6週齢ウイスター系雄ラット18頭を用いた。試験食はタンパク質源として400g/kgの脱脂大豆あるいは発酵脱脂大豆を用いた。さらにタンパク質源は発酵脱脂大豆とし、脱脂大豆に含まれるフィチン酸と同量のフィチン酸を添加した試験食も作成した。動物を3区にわけそれぞれの試験食を2週間給与した後、5日間吸収試験を行い亜鉛、鉄および銅の見かけの吸収率を求めた。吸収試験の後、小腸内容物を採取し、ホモジナイズと遠心分離により可溶画分と全画分に分け亜鉛、鉄、銅の溶解率を求めた。また大腿骨を採取し、亜鉛含量を測定した。統計処理はSAS⁹⁾のGLMプロシジヤを用い1元配置分散分析を行った後、Duncanの多重検定により平均値間の差の検定を行った。溶解率については試験食、小腸部位、動物および各因子の交互作用について3元配置の分散分析を、動物の効果は試験食の効果に巣ごもりであることを考慮し行なった。

結果と考察

発酵脱脂大豆区の見かけの亜鉛吸収率は脱脂大豆区より有意に高い値を示し (Table 1)、発酵処理に

Table 1. Effect of the fermentation of defatted-soya-bean on apparent zinc absorption, zinc solubility in the small intestine and zinc concentration in the femur¹

	Dietary groups			Significance ⁵	
	DS ²	FDS ³	FDS+phytate ⁴	Diet	Segment
Apparent absorption, %	1.0±4.1 ^b	19.9±2.4 ^a	31.0±5.4 ^a	**	—
Solubility, %					
Upper segment ⁶	38.9±4.1 ^b	67.7±6.9 ^a	56.8±10.4 ^{ab}	**	**
Lower segment ⁷	20.9±3.5 ^b	50.4±4.0 ^a	48.3±4.1 ^a		
Femoral zinc, $\mu\text{g/g}$ dry matter	238±8 ^c	273±8 ^b	315±8 ^a	**	—

1 Values are means \pm SEM. Means within a row not sharing the same superscript are significantly different (Duncan's multiple range test, $P < 0.05$).

2 Diet consisting defatted soya-bean.

3 Diet consisting fermented defatted-soya-bean.

4 Diet consisting fermented defatted-soya-bean added with phytate.

5 Statistic effect: *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; NS, not significant ($P > 0.05$). The other effect and interactions are not significant.

6 Digesta in the upper half of the small intestine.

7 Digesta in the lower half of the small intestine.

より亜鉛吸収が向上することが示唆された。フィチン酸添加区の見かけの亜鉛吸収率も脱脂大豆区より有意に高値を示した。この結果より、発酵脱脂大豆中のフィターゼが消化管においても活性を有し、添加したフィチン酸を分解した可能性が示唆された。フィチン酸添加区の亜鉛の吸収率は有意ではないが発酵脱脂大豆区より高い傾向を示した。Lönnerdal ら¹⁰⁾はイノシトール-5リン酸と-6リン酸はラットの亜鉛吸収を阻害するがイノシトール-3リン酸と-4リン酸は阻害しなかったと報告している。Tao ら¹¹⁾はイノシトール-5リン酸や-6リン酸を日本うずらに給与すると脛骨中の亜鉛含量が減少したが、-3リン酸あるいは-4リン酸の給与は脛骨中の亜鉛含量を増加させたと報告している。またイノシトールと結合しているリン酸基数が減少するにつれてイノシトールリン酸化合物と他のミネラルとの結合力が弱まるという報告¹²⁾から、低リン酸イノシトール化合物は亜鉛と弱い結合体を形成し、吸収を高める可能性が考えられる。そこで、フィチン酸添加区では添加したフィチン酸が分解された結果、低リン酸イノシトール化合物が生成し、それが亜鉛吸収をさらに高めた可能性が推察された。

発酵脱脂大豆区の亜鉛の溶解率は小腸上部においても下部においても脱脂大豆区より有意に上昇した。フィチン酸添加区の亜鉛溶解率は小腸上部において有意な差ではなかったが脱脂大豆区より高く、下部では脱脂大豆区より有意に高値を示した。以上の結果から発酵処理による亜鉛溶解率の増加が見かけの吸収率増加に寄与したと示唆された。またフィチン酸添加区の溶解率は発酵脱脂大豆区と差がみられないことから、フィチン酸分解産物は亜鉛の可溶性を高めることによるのみ吸収を高めたのではなく、亜鉛吸収を促進する直接的な作用を持つ可能性が推測された。

発酵脱脂大豆区の大腿骨中亜鉛含量は脱脂大豆区より有意に増加した。フィチン酸添加区の大腿骨中亜鉛含量も脱脂大豆区より有意に増加し、さらに発酵脱脂大豆区よりも増加した。これは見かけの吸収率の結果を反映しており、亜鉛吸収が促進されただけでなく亜鉛の生体内利用性も向上したことが示唆された。

見かけの鉄吸収率に試験食による差は見られなかった (Table 2)。一方、小腸における鉄の溶解率は発酵脱脂大豆区およびフィチン酸添加区で上部では有意ではなかったが脱脂大豆区より高く、小腸下部においては脱脂大豆区より有意に上昇した。イノシトール-5リン酸および-6リン酸は鉄溶解率を低下させるが、イノシトール-3リン酸と-4リン酸は鉄溶解率を高めることが報告されている¹³⁾。発酵処理によるフィチン酸の分解およびフィターゼによる添加したフィチン酸の低リン酸化が鉄溶解率を高めたことが示唆された。ラットの鉄の吸収は小腸粘膜細胞により調節されているという報告¹⁴⁾から、本試験では溶解率が上昇しても必要量以上の鉄は吸収されず見かけの吸収率には反映しなかった可能性が考えられた。

発酵脱脂大豆区の見かけの銅吸収率は脱脂大豆区と比較して有意に増加した (Table 3)。フィチン酸添加区の見かけの銅吸収率は発酵脱脂大豆区よりも高値を示し、亜鉛の見かけの吸収率と同様な傾向を示した。小腸での銅溶解率は試験食による差は見られなかった。銅はフィチン酸と複合体を最も形成しやすいミネラルである¹⁵⁾が、銅-フィチン酸複合体の溶解率は高いことが報告されている^{15,16)}。本試験でもフィチン酸は銅と複合体を形成しても不溶化せず、脱脂大豆区と発酵脱脂大豆区の銅溶解率に差がみられなかったと考えられた。フィチン酸と結合した銅の吸収性は明らかではないが、本試験において

Table 2. Effect of the fermentation of defatted-soya-bean on apparent iron absorption, iron solubility in the small intestine¹

	Dietary groups			Significance ⁵	
	DS ²	FDS ³	FDS+phytate ⁴	Diet	Segment
Apparent absorption, %	19.3±0.7	15.5±4.8	27.1±6.4	NS	—
Solubility, %					
Upper segment ⁶	19.0±5.9	41.7±10.9	43.7±7.7	**	NS
Lower segment ⁷	6.2±0.7 ^b	38.6±7.2 ^a	32.0±6.1 ^a		

1 Values are means ± SEM. Means within a row not sharing the same superscript are significantly different (Duncan's multiple range test, P<0.05).

2 Diet consisting defatted soya-bean.

3 Diet consisting fermented defatted-soya-bean.

4 Diet consisting fermented defatted-soya-bean added with phytate.

5 Statistic effect : *, P<0.05 ; **, P<0.01 ; NS, not significant (P>0.05). The other effect and interactions are not significant.

6 Digesta in the upper half of the small intestine.

7 Digesta in the lower half of the small intestine.

Table 3. Effect of the fermentation of defatted-soya-bean on apparent copper absorption, copper solubility in the small intestine¹

	Dietary groups			Significance ⁵	
	DS ²	FDS ³	FDS+phytate ⁴	Diet	Segment
Apparent absorption, %	7.5±2.1 ^c	19.0±1.7 ^b	32.4±5.0 ^a	**	—
Solubility, %					
Upper segment ⁶	26.2±3.8	32.3±12.7	20.3±5.7	NS	**
Lower segment ⁷	45.1±9.2	50.6±10.4	59.5±6.0		

1 Values are means ± SEM. Means within a row not sharing the same superscript are significantly different (Duncan's multiple range test, P<0.05).

2 Diet consisting defatted soya-bean.

3 Diet consisting fermented defatted-soya-bean.

4 Diet consisting fermented defatted-soya-bean added with phytate.

5 Statistic effect : *, P<0.05 ; **, P<0.01 ; NS, not significant (P>0.05). The other effect and interactions are not significant.

6 Digesta in the upper half of the small intestine.

7 Digesta in the lower half of the small intestine.

発酵処理によるフィチン酸の除去が、銅の溶解性を変化させずに銅の吸収性を高めたことから、フィチン酸態銅の吸収性は低いことが示唆された。一方、フィチン酸添加区において発酵脱脂大豆区より銅吸収が高い原因については明らかとはならなかった。

脱脂大豆に発酵処理を施すことは、脱脂大豆中の栄養素を損なうことなくミネラルの吸収を高める点で非常に有用であることが示された。現在環境負荷の低減のために家畜飼料中への亜鉛および銅添加量

の減少が求められているが、発酵脱脂大豆を飼料に利用することがこの問題の解決法になると考えられる。また発酵処理を施した脱脂大豆および発酵処理を施した大豆タンパク質は食品への応用が期待できる。

フィチン酸の微量元素への影響およびミネラル間の相互作用についてはまだ不明な点が多い。またイノシトール低リン酸化合物はミネラル吸収を高める可能性があることが本試験から推察できたが、さらなる詳細な検討が必要であると思われる。

参 考 文 献

- 1) Forbes, R. M., Weingartner, K. E., Parker, H. M., Bell, R. R. & Erdman, J. W., Jr. (1979) Bioavailability to rats of zinc, magnesium and calcium in casein-, egg-, and soy protein-containing diets. *J. Nutr.* 109 : 1652-1660.
- 2) Lei, X., Ku, P. K., Miller, E. R., Ullrey, D. E. & Yokoyama, M. T. (1993) Supplemental microbial phytase improves bioavailability of dietary zinc to weaning pigs. *J. Nutr.* 123 : 1117-1123.
- 3) Lo, G. S., Settle, S. L., Steinke, F. H. & Hopkins, D. L. (1981) Effect of phytate : zinc molar ratio and isolated soybean protein on zinc bioavailability. *J. Nutr.* 111 : 2223-2235.
- 4) Sandberg, A. -S. & Anderson, H. (1988) Effect of dietary phytase on the digestion of phytate in the stomach and small intestine of humans. *J. Nutr.* 118 : 469-473.
- 5) Ilyas, A., Hirabayashi, M., Matsui, T., Yano, H., Kikushima, T., Takebe, M. & Hayakawa, K. (1995). A note on the removal of phytate in soybean meal using *Aspergillus usami*. *Asian-Australasian J. Anim. Sci.* 8 : 135-138.
- 6) Payton, K. B., Flanagan, P. R., Stinson, E. A., Chodirker, D. P., Chamberlain, M. J. & Valberg, L. S. (1983) Studies on the bioavailability of zinc in humans : intestinal interaction of tin and zinc. *Am. J. Clin. Nutr.* 37 : 566-571.
- 7) Valberg, L. S., Flanagan, P. R., PhD, & Chamberlain, M. J. (1984) Effects of iron, tin, and copper on zinc absorption in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 40 : 536-541.
- 8) Noran, K. B. & Duffin, P. A. (1987) Effects of phytate on mineral bioavailability. In vitro studies on Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} and Zn^{2+} (also Cd^{2+}) solubilities in the presence of phytate. *J. Sci. Food Agric.* 40 : 79-85.
- 9) SAS Institute Inc. (1985) SAS User's Guide : Statistics, 5th ed. SAS Institute, Cary, NC.
- 10) Lönnerdal, B., Sandberg, A-S., Sandström, B. & Kunz, C. (1989) Inhibitory effect of phytic acid and other inositol phosphates on zinc and calcium absorption in suckling rats. *J. Nutr.* 119 : 211-214.
- 11) Tao, S. H., Fox, M. R. S., Phillippy, B. Q., Fry, B. E., Dohnston, M. L. & Johnston, M. R. (1986) Effect of inositol phosphates on mineral utilization. *Federation of american societies of experimental biology* 45 : 819.
- 12) Kaufman, H. W. & Kleinberg, T. (1971) Effect of pH on calcium binding by phytic acid and its inosi-

- tol phosphoric acid derivations on the solubility of their calcium salts. Arch. Oral Biol. 16 : 445-460.
- 13) Sandberg, A. -S., Carlsson, N. -G. and Svanberg, U. (1989) Effects of inositol tri-, tetra-, penta-, and hexaphosphates on in vitro estimation of iron availability. J. Food Sci. 54 : 159-161.
 - 14) Conrad, M. E., Weintraub, L. R. & Cosby, W. H. (1964) The Role of the Intestine in Iron Kinetics. J. Clin. Invest. 43 : 963-974.
 - 15) Vohra, P., Gray, G. A. & Kratzer, F. H. (1965) Phytic acid-metal complexes. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 120 : 447-449.
 - 16) Jacobsen, T. & Slotfeldt-ellingsen, D. (1983) Phytic acid and metal availability : study of Ca and Cu binding. Cereal Chem. 60 : 392-395.