

令和 3 年 6 月 4 日現在

機関番号：34416

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K02196

研究課題名(和文)加熱処理による畜肉・魚肉に含有される鉄の栄養有効性および物理化学的性質の変化

研究課題名(英文)Changes in the nutritional availability of iron and physicochemical properties in meat and fish by heat-cooking

研究代表者

吉田 宗弘(YOSHIDA, Munehiro)

関西大学・化学生命工学部・教授

研究者番号：30158472

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、鉄の主要な供給源である畜肉・魚肉に含有される鉄の栄養有効性が加熱調理によってどのように変化するのか、人工消化モデル・実験動物を用いて明らかにすることを目的とした。その結果、加熱調理によって畜肉に含まれる鉄の栄養有効性が低下することが示唆された。一方、畜肉に含まれる鉄の化学形態の1つであるヘモグロビンを加熱しても、鉄栄養有効性は変化しなかった。このことから、畜肉に含まれる鉄以外の成分が加熱によって変化し、鉄の栄養有効性を低下させたと考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでの食品に含まれる鉄の栄養有効性に関する研究は、加熱調理した食品を対象としていなかった。本研究は畜肉・魚肉に含有される鉄の栄養有効性が加熱調理によってどのように変化するのかを明らかにすることを目的として実施した。その結果、加熱処理によって鉄の栄養有効性が低下することがラットを用いた試験において示唆された。この成果は、実際の食生活に応用できる鉄の調理および補給方法に役立つデータとなりうる。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to clarify how the nutritional availability of iron in meat and fish is affected by heat-cooking, using an in vitro digestion model and animal study. In this study, animal experiments suggested that the nutritional availability of iron in meat is reduced by heat-cooking. On the other hand, hemoglobin, the chemical form of iron in meat, showed no change in the nutritional availability of iron with or without heating. The results suggest that non-iron components reduced the nutritional availability of iron due to heat-cooking.

研究分野：栄養科学

キーワード：鉄 栄養有効性 畜肉 魚肉 ヘモグロビン

## 1. 研究開始当初の背景

日本標準食品成分表には食品に含有される栄養素の分析値が記載されており、この数値は国民健康・栄養調査などに利用されている。しかし、食品中の栄養素は、消化・吸収・輸送・代謝のプロセスを経てその機能を発現するため、栄養素の分析値と栄養上の有効量（栄養有効性）は必ずしも一致しない。とくに鉄は、植物性食品中において無機の三価鉄、動物性食品中においてヘム鉄で存在しているため、分析値と栄養有効性の乖離が大きい。また、ほとんどの食品は、食品成分を物理的・化学的に変化させる加熱という加工・調理のプロセスを経てから食される。したがって、食品中の鉄の栄養有効性を論じる場合には、現実の食生活を想定した上で、加熱調理の影響を検討する必要があると考える。しかし、これまでにビタミンといった熱に弱い栄養素について、加熱調理前後の含有量の変化に着目した研究はみられる。しかし、実際に加熱調理した食品に含まれている栄養素の有効性についてはあまり研究されていない。申請者らは、加熱調理した牛ロースを唯一の鉄源とする餌料を給餌したラットでは、血清鉄、血清トランスフェリン飽和率、血液ヘモグロビン濃度などの鉄栄養状態を示す指標が、非加熱の牛ロースを含む餌料よりも低くなることを予備試験において見出している。これらは、畜肉・魚肉を加熱調理することによって、鉄の栄養有効性が大きく変化する可能性を示している。しかし、鉄の栄養有効性に関して、加熱調理した食品を対象とした研究はこれまでほとんどないのが現状である。

## 2. 研究の目的

鉄の主要な供給源である畜肉・魚肉に含有される鉄の栄養有効性が加熱調理によって、どのように変化するのか、人工消化モデル・実験動物を用いて明らかにすることを目的とした。また、日本人の主食である米に着目し、精白米、炊飯米および老化米の鉄の栄養有効性に及ぼす影響も評価した。これにより加熱処理による畜肉・魚肉に含まれる鉄の栄養有効性の変化が明らかになり、実際の食生活に応用できる鉄の補給方法に役立つデータを得ることができる。

## 3. 研究の方法

### (1) 牛肉の加熱調理による鉄栄養有効性の変化

小売店より購入したオーストラリア産牛腿肉のブロックを厚さ 8 mm のスライスに切り分けた。このスライスを 200 ~ 250 で 5 分間ローストした。ローストした牛肉と生の牛肉を凍結乾燥後、ミルで細粉化し、ヘキサンをを用いて脱脂した。調製した 2 種の牛肉粉末のタンパク質、鉄の濃度はいずれも 88.5%、111 µg/g であった。タンパク質および鉄濃度が等量になるように設計した 3 種の餌料（カゼイン、生牛肉、ロースト牛肉）を調製した。4 週齢の Wistar 系雄ラット 3 群に分け、調製した 3 種の餌料をそれぞれに与えて 4 週間飼育した。飼育期間中、餌料と水は自由に摂取させた。飼育期間終了後にすべてのラットを処理し、血液、肝臓、腎臓を採取した。採取した臓器および血液の鉄関連パラメーターを測定した。

### (2) フリーズドライおよびスプレードライヘモグロビン粉末の鉄栄養有効性の評価

フリーズドライおよびスプレードライによって調製したヘモグロビン粉末（それぞれ FD-Hb および SD-Hb）を用いた。これらの鉄含量は、湿式灰化し、原子吸光光度計で測定した。鉄給源を硫酸鉄、FD-Hb、SD-Hb とする餌料（鉄濃度 20 ppm）を調製した。4 週齢の Wistar 系雄ラット 3 群に分け、調製した 3 種の餌料をそれぞれに与えた。飼育開始後 24 日目から 3 日間、ステンレス製代謝ケージを用いて、糞を全量採取した。28 日飼育後、常法により採血し、肝臓、腎臓および脾臓を採取した。得られた試料中の鉄濃度は、湿式灰化後、原子吸光光度計で測定した。また、FD-Hb および SD-Hb 粉末にシアン化ナトリウムを添加することで Met-Hb をシアンメトヘモグロビンに変換し、シアン化ナトリウム添加前後の 630 nm での吸光度の差から Met-Hb の比率を求めた。

### (3) 人工消化試験による鉄と他の成分との相互作用の評価

未加熱および加熱した畜肉および魚肉を添加した餌料を三角フラスコに秤量し、蒸留水を加え、塩酸で pH 2.0 に調整し、豚由来ペプシンを加え反応を開始した。37、120 分間消化を行った。その後 pH 7.4 に調整後、豚由来パンクレアチンを加え同様に 120 分間消化した。消化前、ペプシン消化後、パンクレアチン消化後の人工消化液を遠心分離した上清を分析試料とし、鉄濃度を原子吸光光度計で求め、バイオアクセシビリティを算出した。

### (4) 精白米、糊化米、老化米の鉄栄養有効性に及ぼす影響

精白された「こしひかり」を電気釜で炊飯し、暖かい間にステンレス製トレー内で均一に広げ、家庭用冷蔵庫において 4 で 24 時間放置した。放置によって表面が乾燥した炊飯米を凍結乾燥後、老化米試料とした。対照として、生デンプンの状態である未調理の精白米と糊化された状態で市販されている糊化米を同様に凍結乾燥後、細粉化し、それぞれ未調理米試料、糊化米試料とした。凍結乾燥したことによりいずれのコメ試料も水分含量は 5% となった。

4 週齢の Wistar 系雄ラット 18 匹を 6 匹ずつ 3 群に分け、それぞれに精白米、糊化米、老化米試料を主体とした飼料を自由摂取にて 4 週間与えた。飼育期間終了後、血液と肝臓を採取した。採取した血液についてヘモグロビン濃度の測定と血清生化学検査を行った。肝臓については原子吸光度法にて鉄濃度を測定した。

#### 4. 研究成果

##### (1) 牛肉の加熱調理による鉄栄養有効性の変化

ヘモグロビンと血清トランスフェリン飽和率は牛肉を与えた 2 群が有意に低く、肝臓と腎臓の鉄濃度もこの 2 群がカゼイン群よりも低値だった。牛肉を与えた 2 群を比較すると、ヘモグロビン、血清トランスフェリン飽和率、肝臓鉄濃度において、ロースト牛肉粉末を与えた群が生肉粉末を与えた群よりも低い値を示す傾向があった。ラットの成長に 3 群間で差がなかったことは、牛肉タンパク質がカゼインと同等に消化され利用されたことを意味しており、牛肉中铁の低栄養有効性の理由に牛肉の難消化性をあげることはいできない。ヘム鉄が有効に利用されるには、ヘム鉄が小腸粘膜細胞に取り込まれ、ヘムオキシゲナーゼによって無機鉄に分解される必要がある。われわれは、ラットではヘモグロビン由来の鉄が硫酸第一鉄に比較して見かけの吸収率が低いことを確認している<sup>1)</sup>。したがって、大半がヘム鉄と想定される牛肉中の鉄の栄養有効性がラットで低いのは、ラット小腸においてヘム鉄の取り込み、もしくはヘムオキシゲナーゼの活性が低く、消化管内で遊離したヘム鉄が小腸粘膜細胞を十分に通過できないためと思われる。

本研究の目的は加熱調理が牛肉中铁の栄養有効性に影響を与えるかどうかを確認することであった。この点に関して、ロースト牛肉を与えた群では、有意差ではなかったものの、生肉を与えた群よりも鉄状態の指標値が低くなる傾向を認めた。このことは、ローストという熱処理を伴った調理を行うと、牛肉中の鉄の有効性が低下する可能性を示すといえる。しかし今回の実験では、非加熱の生肉においても鉄の有効性がすでに相当に低くなったため、加熱の影響を十分に確認できなかった面がある。

##### (2) フリーズドライおよびスプレードライヘモグロビン粉末の鉄栄養有効性の評価

血液分析結果は、血清鉄、ヘモグロビンおよびヘマトクリット値は硫酸鉄群で Hb 粉末群 (FD-Hb および SD-Hb 群) と比較して、有意に高値であった。また、血清総鉄結合能、血清不飽和鉄結合能は Hb 粉末群で硫酸鉄群と比較して有意に高値であった。各臓器中の鉄濃度は、硫酸鉄群で Hb 粉末群と比較して有意に高値であった。このことから、Hb 粉末群と比較して硫酸鉄群の鉄栄養状態が良いと判断できる。

一方、乾燥方法の異なる Hb 粉末の 2 群について確認すると、血清鉄、ヘモグロビンおよびヘマトクリット値は FD-Hb および SD-Hb 群間に大きな違いはみられなかった。また、肝臓、腎臓および脾臓中の Fe 含量においても、FD-Hb および SD-Hb 群間に大きな違いはみられなかった。さらに、鉄の見かけの吸収率においても、FD-Hb および SD-Hb 群間に大きな違いはみられなかった。乾燥方法の異なる Hb 粉末のメト化率を測定したが、正確な値を出すことは出来なかった。このことから、畜肉に含まれる鉄の化学形態の 1 つである Hb は、加熱によって鉄の栄養有効性に影響を与えないと考えた。

##### (3) 人工消化試験による鉄と他の成分との相互作用の評価

実験に使用した畜肉と魚肉について、SDS-PAGE による分子量と HPLC 法によるタンパク質構成アミノ酸を測定したが、これらの測定項目に加熱調理は大きな影響を及ぼさなかった。

人工消化試験を行ったどの飼料においても、鉄のバイオアクセシビリティについて再現性のあるデータが得られなかった。この原因も調査したところ飼料中の鉄が均一に混合できていないことが原因と考えられた。飼料の混合方法 (ミキサー、乳鉢など) をいろいろ試したが、試した方法すべてにおいて鉄は均一に混合できなかった。飼料を用いた人工消化試験において鉄のバイオアクセシビリティを求めることができなかったため、畜肉および魚肉に含まれる鉄と他の成分との相互作用を明らかにできなかった。

##### (4) 精白米、糊化米、老化米の鉄栄養有効性に及ぼす影響

老化米を与えた群のラットの発育は、糊化米を与えた群と比較してやや抑制されており、飼育期間終了時点では体重増加量が平均値で約 30 g 少なかった。これに対して、未調理の精白米を与えた群の発育は糊化米を与えた群とはほぼ同等であった。老化米を与えた群では、ヘモグロビン濃度、トランスフェリン飽和率、肝臓鉄濃度が他群よりも有意に高値であった。坂田らは、無タンパク質食を 14 日間与えた 8 週齢ラットにおいて、ヘモグロビン、血清鉄、トランスフェリン飽和率、および血清ヘプシジン濃度が有意に上昇し、病理検査において肝臓に軽度の鉄沈着が生じることを認め、タンパク質やエネルギー栄養障害においてはヘプシジン合成が亢進するため、貯蔵鉄が増加するとしている<sup>2)</sup>。また、肥満ラットにおいて飼料投与量を 50% 制限すると、臓器に鉄沈着が生じることも報告されている<sup>3)</sup>。本実験で用いた老化米飼料は 12% のタンパク質を含んだものであったが、老化米投与群では糊化米投与群に比べて、血清のアルブミン値や総脂質濃度、および肝臓脂質濃度が低下しており、タンパク質およびエネルギー栄養状態が低下していることは明らかであった。本実験の老化米投与群で認められた鉄状態の指標の上昇にヘプシジ

ンが関わっているかは不明であるが、栄養状態の低下に伴って鉄の代謝に変化が生じ、体内鉄の分布に変化が生じることは明らかといえる。

以上のことから、加熱調理によって畜肉に含まれる鉄の栄養有効性が低下することが示唆された。一方、畜肉に含まれる鉄の化学形態である Hb を加熱しても、鉄の栄養有効性は変化しなかったことから、鉄以外の成分が加熱によって変化し、この影響で鉄の栄養有効性を低下させたと推測された。

## 5 . 参考文献

- 1) 中澤知奈美、柳井美穂、細見亮太、吉田宗弘、福永健治 (2016) ラットの鉄栄養状態に及ぼす硫酸鉄およびヘモグロビン給餌の影響 . 微量栄養素研究 33 : 49-54 .
- 2) 坂田文子、佐々木勝則、内田貴之、知久一雄、高後裕 (2014) タンパク質・エネルギー栄養障害ラットのヘプシジン誘導と鉄代謝に関する研究 . 栄食誌 67:245-253 .
- 3) 木村美恵子、石川円香、武田厚子、今西雅代、武田隆司、武田隆久 (2004) 50%制限食によるラット肝臓への鉄沈着 肥満ラット (Minko rat) に関する研究 (19) . Biomed Res Trace Elem 15:105-107 .

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 吉田宗弘, 泉井望希, 神田珠希, 細見亮太, 福永健治.	4. 巻 37
2. 論文標題 老化米の投与がラットの成長と鉄状態に及ぼす影響.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 微量栄養素研究	6. 最初と最後の頁 7-11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 吉田宗弘, 泉井望希, 神田珠希, 細見亮太, 福永健治.
2. 発表標題 老化米の投与がラットの成長と鉄状態に及ぼす影響
3. 学会等名 日本微量栄養素学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	細見 亮太 (HOSOMI Ryota) (20620090)	関西大学・化学生命工学部・准教授  (34416)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------