

ラットにおける梅酢カルシウムの利用性の検討

高杉 諭, 大森 英之, 松井 徹, 矢野 秀雄
(京都大学大学院農学研究科*)

Availability of plum-vinegar (umezu) calcium in rats

Satoshi TAKASUGI, Hideyuki OMORI, Tohru MATSUI and Hideo YANO
Division of Applied Biosciences, Graduate School of Agriculture, Kyoto University

Plum-vinegar calcium is a byproduct of producing "plum wine". The present study was designed to compare the availability of calcium in plum-vinegar calcium (PV) with calcium carbonate (CAR) and calcium citrate (CIT). Rats were given diets containing one of 3 calcium sources at a level of 50% or 100% of calcium requirement for 4 weeks. Femur was collected and we measured defatted weight, density, ash weight, ash density and calcium content. All bone parameters increased with dietary calcium in rats given each calcium source. Femoral defatted weight, density, ash weight, and ash density were higher in PV group than in CAR group ($p < 0.05$) when dietary calcium was low. These parameters did not differ between PV group and CIT group. When dietary calcium was high, femoral defatted weight was higher in CIT group than in the other groups ($p < 0.05$) and the bone parameters did not differ between PV group and CAR group. We suggested that the availability of plum-vinegar calcium or calcium citrate was higher than calcium carbonate when intake of calcium source was low. Calcium citrate showed higher availability than the other calcium sources at high intake of calcium source but the advantage of plum-vinegar calcium disappeared. High content of sodium may interfere with calcium availability in plum-vinegar calcium when its intake is high.

梅干の製造副産物である梅酢は脱塩、脱酸、発酵され梅ワインとして活用されている。しかし、この脱酸工程の炭酸カルシウム (Ca) 添加によって生じる「梅酢Ca」は有効に利用されていない。この梅酢Caはクエン酸Caが主体であるがその他少量のリンゴ酸やナトリウムも含まれている。

現在一般的に用いられるCa源としては炭酸Caや炭酸Ca主体である貝殻、鶏卵殻がある。炭酸Caは水溶液中で弱アルカリ性を示す。そのため腸内のCa溶解性は低下し、その吸収性は必ずしも高くないことが報告されている¹⁾。一方、クエン酸Caは腸内のpHを上昇させないことが示唆されており、Caの溶解性増加を介して吸収性を高めるとされている²⁾。しかしながら、クエン酸Caの利用性は炭酸Caと比較して差がないとする報告も多い³⁾⁻⁵⁾。梅酢Caはクエン酸Ca主体であり、その利用性は明らかとなっていない。

本試験ではラットを用いて梅酢Caの利用性を、炭酸Caならびにクエン酸Caと比較検討した。

実験方法

供試動物として、4週齢のウイスター系雄ラット38匹を用いた。ラットには試験期間を通して飼料および水を自由摂取させた。すべてのラットに対照飼料としてAIN-93Gを1週間給与した後に、試験飼料を4週間給与した。試験飼料

*所在地：京都市左京区北白川追分町 (〒606-8502)

は AIN-93G に準拠し、Ca 源を炭酸 Ca、クエン酸 Ca および梅酢 Ca（東農園）とし、Ca 水準を要求量の 50% および 100% とした 6 区を設けた（Table. 1）。なおミネラルの増減分はコーンスターチの量を減じることにより調製した。本試験で供試した梅酢 Ca はクエン酸ならびに Ca 主体であり、Ca の約 5% のナトリウム、クエン酸の約 5% のリンゴ酸を含んでいた（Table. 2）。

試験終了時に、エーテル麻酔下で放血屠殺後、大腿骨を採取した。大腿骨は付着している組織を取り除いた後に体積を測定した。次いでエタノールおよびジエチルエーテルにより脱脂を行い、脱脂乾燥重量を測定した。骨体積ならびに脱脂乾燥重量から骨比重を求めた。その後 600℃、48 時間乾式灰化を行い、骨灰分重量を測定した。骨灰分重量と骨体積から灰分密度を求めた。また、灰化物を 0.1N 塩酸で適切な濃度に希釈し、原子吸光法で Ca を測定した。

統計検定は SAS の GLM プロシジャー⁶⁾ により、Ca 源と Ca 水準に関する二元配置検定を行った。また、これらの効果が有意 ($P < 0.05$) となった場合は、最小自乗分析により平均値間の差の検定を行った。

Table 1 Composition of experimental diets (g/kg diet).

| Calcium level (%) ^a | Calcium carbonate | | Calcium citrate | | Plum-vinegar calcium | |
|--------------------------------|-------------------|-------|-----------------|-------|----------------------|-------|
| | 50 | 100 | 50 | 100 | 50 | 100 |
| Casein | 200.0 | 200.0 | 200.0 | 200.0 | 200.0 | 200.0 |
| Cornstarch | 391.3 | 385.0 | 385.2 | 372.9 | 384.2 | 371.0 |
| α -Cornstarch | 132.0 | 132.0 | 132.0 | 132.0 | 132.0 | 132.0 |
| Sucrose | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 |
| Corn oil | 70.0 | 70.0 | 70.0 | 70.0 | 70.0 | 70.0 |
| Cellulose | 50.0 | 50.0 | 50.0 | 50.0 | 50.0 | 50.0 |
| Mineral mix ^b | 35.0 | 35.0 | 35.0 | 35.0 | 35.0 | 35.0 |
| Vitamin mix ^c | 10.0 | 10.0 | 10.0 | 10.0 | 10.0 | 10.0 |
| L-Cystine | 3.0 | 3.0 | 3.0 | 3.0 | 3.0 | 3.0 |
| Choline bitartrate | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 |
| Calcium carbonate | 6.2 | 12.5 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Calcium citrate | 0 | 0 | 12.3 | 24.6 | 0 | 0 |
| Plum-vinegar calcium | 0 | 0 | 0 | 0 | 13.3 | 26.5 |
| (Calcium content) | 2.5 | 5.0 | 2.5 | 5.0 | 2.5 | 5.0 |

a : The percentage of required calcium. b : Mineral mixture was based on AIN-93G without Ca.

c : Vitamin mixture was based on AIN-93G.

Table 2 Composition of plum-vinegar calcium.

| | | |
|-------------|-----------|-------|
| Water | (g/100g) | 5.4 |
| Calcium | (g/100g) | 18.9 |
| Sodium | (g/100g) | 1.06 |
| Magnesium | (g/100g) | 0.107 |
| Potassium | (g/100g) | 0.025 |
| Iron | (mg/100g) | 1.84 |
| Manganese | (mg/100g) | 0.58 |
| Zinc | (mg/100g) | 0.15 |
| Citric acid | (g/100g) | 63.5 |
| Malic acid | (g/100g) | 3.92 |
| Oxalic acid | (g/100g) | 0.01 |

結果と考察

Ca源ならびにCa水準は大腿骨体積に影響しなかった (Table. 3)。大腿骨脱脂重量ならびに比重に及ぼすCa水準ならびにCa源の効果は有意 ($p < 0.05$) であり、梅酢Ca摂取ラットの脱脂重量以外ではCa水準の上昇に伴い有意に ($p < 0.05$) 増加した。低Ca水準の場合、脱脂重量は梅酢Ca摂取ラットが炭酸Ca摂取ラットと比べ有意に ($p < 0.05$) に高い値となり、クエン酸Ca摂取ラットが炭酸Ca摂取ラットと比べ高い傾向 ($p = 0.054$) にあった。比重は炭酸Ca摂取ラットと比べ、他の2種のカルシウム源摂取ラットで有意に ($p < 0.05$) 高い値となった。高Ca水準ではクエン酸Ca摂取ラットの脱脂重量は他のCa源摂取ラットと比較し有意に ($p < 0.05$) 高かったが、比重は各Ca源間で差は認められなかった (Table. 3)。

大腿骨灰分重量ならびに灰分密度はCa源とCa水準の影響を受け ($p < 0.05$)、灰分重量では交互作用も有意に近かった ($p = 0.052$)。Ca源に関わらずCa水準の上昇に伴い灰分重量ならびに灰分密度は有意に ($p < 0.05$) 増加した。低Ca水準の場合、炭酸Ca摂取ラットの灰分重量ならびに灰分密度は他のCa源摂取ラットと比較し有意に ($p < 0.05$) 低かった。高Ca水準ではクエン酸Ca摂取ラットの灰分重量は高く、梅酢Ca摂取ラットとの間に有意な ($p < 0.05$) 差が認められた。一方、梅酢Ca摂取ラットと炭酸Ca摂取ラットの間には差は認められなかった。灰分密度は各Ca源の間に有意な差は認められなかった (Table. 3)。

大腿骨中Ca量はCa水準の影響を受けたが ($p < 0.05$)、Ca源の効果は有意ではなかった。Ca源の相違に関わらず、大腿骨中Ca量はCa水準上昇に伴い有意に ($p < 0.05$) 増加した (Table. 3)。

このように低Ca水準では体積を除いたほとんどすべての骨パラメーターで、クエン酸Ca主体である梅酢Caは炭酸Caよりも高く、クエン酸Caとほぼ同等の値を示した。このことから添加量 (Ca量) が少ない場合には、梅酢Caは炭酸Caと比べ利用性が高いことが明らかとなり、クエン酸Caは梅酢Caとほぼ同等の利用性であることが示唆された。クエン酸CaはCa要求量を満たしていない場合でも骨のCa取り込みを促進することが知られている⁷⁾。本試験の結果はこの報告と一致した。

一方、高Ca水準では骨パラメーターの一部はクエン酸Ca摂取ラットが炭酸Ca摂取ラットと比べ高い値を示したが、クエン酸Ca主体の梅酢Ca摂取ラットでは炭酸Ca摂取ラットとの間に差が認められなかった。本試験では全区間でCaの量を要求量の50%、100%となるように調節したが、他のミネラルに関しては調節を行わなかった。そのため梅酢Ca飼料では他の飼料と比べて、ナトリウムが低Ca水準で約12.1%、高Ca水準で約21.6%多く含まれていた。ラットにおいてナトリウムの過剰摂取は骨中Caを減少させるという報告がある⁸⁾。高水準の梅酢Ca摂取時におけるCa利用性の低下はこのナトリウム摂取増加に起因する可能性がある。

本試験では梅酢Ca中の微量成分が利用性を高めることを期待して、あえて粗精製の梅酢Caを供試した。梅酢Caを

Table 3 Effect of dietary calcium source and its level on femoral parameters in rats.

| Ca Level* | Ca Source | 50 | | | 100 | | | P-value | | |
|-----------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|---------|--------|-------|
| | | Carbonate | Citrate | Plum-vinegar | Carbonate | Citrate | Plum-vinegar | Source | Level | S × L |
| n | | 6 | 6 | 7 | 6 | 6 | 7 | | | |
| Volume | (mm ³) | 675 ± 21 | 680 ± 5 | 688 ± 15 | 696 ± 21 | 720 ± 12 | 683 ± 15 | NS | NS | NS |
| Defatted weight | (mg) | 398 ± 9 ^a | 424 ± 6 ^{ab} | 431 ± 5 ^{bc} | 453 ± 15 ^c | 481 ± 5 ^d | 451 ± 11 ^c | 0.024 | 0.0001 | 0.088 |
| Density | (mg/cm ³) | 590 ± 8 ^a | 624 ± 8 ^b | 627 ± 10 ^{bc} | 651 ± 8 ^{cd} | 668 ± 9 ^d | 661 ± 9 ^d | 0.013 | 0.0001 | NS |
| Ash weight | (mg) | 236 ± 5 ^a | 253 ± 4 ^b | 259 ± 3 ^b | 279 ± 9 ^{cd} | 295 ± 3 ^d | 277 ± 7 ^c | 0.027 | 0.0001 | 0.052 |
| Ash density | (mg/cm ³) | 350 ± 7 ^a | 372 ± 5 ^b | 377 ± 8 ^b | 402 ± 5 ^c | 409 ± 7 ^c | 406 ± 6 ^c | 0.039 | 0.0001 | NS |
| Ca content | (mg) | 90 ± 2 ^a | 96 ± 2 ^a | 97 ± 1 ^a | 106 ± 3 ^b | 110 ± 3 ^b | 106 ± 3 ^b | 0.099 | 0.0001 | NS |

Carbonate, calcium carbonate; Citrate, calcium citrate; Plum-vinegar, Plum-vinegar calcium; n, number of rats.

*Calcium level (percentage of required calcium)

Values are means ± S.D. Values with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$). NS = not significant

より精製しナトリウム含量を減じることで高Ca水準飼料給与時においてもクエン酸Caと同等の利用性を示す梅酢Caが調製可能であると推察された。

参考文献

- 1) Chonan, O., Matsumoto, K. and Watanuki, M. (1995) Biosci. Biotech. Bioch. 59: 236.
- 2) Sakhaee, K., Bhuket, T., Adams-Huet, B. and Rao, D. S. (1999) Am. J. Ther. 6: 313.
- 3) Heaney, R. P., Recker, R. R. and Weaver, CM. (1990) Calcified Tissue Int. 46: 300.
- 4) Heaney, R. P., Dowell, M. S. and Barger-Lux, M. J. (1999) Osteoporosis Int. 9: 19.
- 5) Levenson, D. I. and Bockman, RS. (1994) Nutrition. Review. 52: 221.
- 6) Cary, N. C. (1985) SAS Institution Inc.
- 7) Harvey, J. A., Kenny, P., Poindexter, J. and Pak, C. Y. (1990) J. Am. Coll. Nutr. 9: 583.
- 8) Chan, E. L. and Swaminathan, R. (1998) J. Nutr. 128: 633.