

## 魚肉タンパク質がリン過剰存在下におけるカルシウムの可溶性に及ぼす影響

須田 理子, 宮内 一匡, 細見 亮太, 吉田 宗弘, 福永 健治

(関西大学 化学生命工学部 食品栄養化学研究室\*)

**Influence of Fish Protein on Calcium Solubility under Excess Phosphorus Conditions during an In Vitro Digestion Assay**

Satoko SUDA, Kazumasa MIYAUCHI, Ryota HOSOMI, Munehiro YOSHIDA and Kenji FUKUNAGA

*Laboratory of Food and Nutritional Science, Faculty of Chemistry Materials and Bioengineering, Kansai University***Summary**

Phosphorus (P) is used as phosphates in a wide variety of processed food, such as fish cake, processed meat, cheese, frozen bakery products and carbonated beverages. Depending on individual dietary patterns, such additives may increase the intake of P. Excess dietary P is associated with a risk of inhibiting calcium (Ca) absorption in the intestine. Phosphates are added to surimi to improve water retention and prevent alteration during freezing. However, there is a tendency for consumers to avoid surimi because of the added phosphates. Currently, no information is available concerning the P and Ca solubility effect of fish protein (FP), which is contained in surimi. Therefore, we investigated the influence of FP on P and Ca solubility in vitro experiment. Experimental diets were formulated as follows: normal-P (0.3% P wt/wt, potassium dihydrogenphosphate) diet, high-P (1.5% P wt/wt, potassium dihydrogenphosphate) diet and high-polyphosphate (1.5% P wt/wt, sodium polyphosphate) diet. The protein source of each experimental diet was FP or chicken breast protein (CP). The experimental diets were exposed to simulated gastric digestion including HCl and pepsin for 120 min (pH 2.0) and then small intestinal digestion including NaHCO<sub>3</sub> and pancreatin for 120 min (pH 7.4). When the high-polyphosphate diets were digested, the FP diet tended to be higher Ca solubility than the CP diet ( $p = 0.10$ ). When the normal-P and high-P diets were digested, there were no significant differences in the Ca solubility between the FP and CP diets. The obtained results indicate that FP might enhance Ca solubility under excess polyphosphate conditions.

平成 24 年国民健康・栄養調査において、リン (P) 摂取量は男性で平均 1,046 mg/1 人 1 日、女性で平均 902 mg/1 人 1 日であると報告されている<sup>1)</sup>。ただし、この調査では加工食品に添加されている P は加算されていないため、実際にはこれ以上の P が摂取されている<sup>2)</sup>。長期にわたり慢性的に P を過剰摂取すると、カルシウム (Ca) の吸収抑制、腎機能の低下、副甲状腺機能亢進などの健康被害を引き起こす可能性が高くなる<sup>3)</sup>。P の過剰摂取によって吸収が抑制される Ca は、飽食の時代と言われて久しい現在でも推奨量に達していない唯一の栄養素である<sup>1)</sup>。その摂取量の不足は、骨粗鬆症の危険因子になっているゆえに、食品添加物として利用されている P の危険性に対して警鐘が鳴らされている。しかし、日本の伝統的食品であるかまぼこなどの水産練り製品の原料として用いられる冷凍すり身には、保存時の変性防止や製品の食感向

上を目的に重合リン酸塩が添加されている。消費者の食品添加物への関心の高まりから、重合リン酸塩を使用した練り製品は忌避される傾向にある。この影響を受け、無リンすり身が開発されたが、形成される加熱ゲルの物性において劣ることが報告されている<sup>4)</sup>。

Ca 吸収は腸管内で他の成分との相互作用によって大きく影響を受けることが知られている。Ca 吸収を促進する成分としてカゼインホスホペプチド、牛骨粉中の窒素源、ビタミン D、有機酸など、吸収を抑制する成分として、P、シュウ酸、フィチン酸、タンニンなどが報告されている<sup>3,5)</sup>。また近年では、大豆タンパク質や小麦胚芽タンパク質の加水分解物から、Ca と複合体を形成し可溶化を促すペプチドが発見されている<sup>6,7)</sup>。しかし、練り製品中の魚肉タンパク質 (FP) が P および Ca の吸収に及ぼす影響について、報告は皆無である。また、一般的にミネラル

\*所在地：大阪府吹田市山手町3-3-35 (〒564-8680)

の吸収利用性は小腸内腔での、可溶化が必要条件となることが知られている<sup>8)</sup>。そのため本研究では、FP 給餌による生体での P および Ca 吸収に及ぼす影響を検討していく前に、リン酸塩及び重合リン酸塩過剰存在下において、FP が Ca の可溶性に及ぼす影響を人工消化試験により評価した。また、FP はスケトウダラ (*Theragra chalcogramma*) から精製し、スケトウダラと脂質含量やタンパク質含量が近いニワトリささ身を対照タンパク質とした。

## 実験方法

### 1. タンパク質の調製

スケトウダラ可食部とニワトリささ身をミンサーで細切し、冷蒸留水で十分に水洗いした。次いでアセトンによる脱水・脱脂、*n*-ヘキサンによる脱脂を行い、凍結乾燥したものを FP およびニワトリささ身タンパク質 (CP) とした。なお、FP および CP の収率はそれぞれ 10.5% (wt/wt) および 9.1% (wt/wt) であった。

### 2. 分析方法

粗タンパク質量はミクロケルダール法により求めた。各タンパク質を硫酸および過酸化水素による湿式灰化後、P はモリブデンブルー法<sup>9)</sup>、Ca は原子吸光光度計 (AA-6200, 島津製作所社製) で測定した。

タンパク質のアミノ酸組成は、各タンパク質を 6 N 塩酸で 110°C, 24 時間条件で酸加水分解後、フェニルイソチオシアネートによるプレカラム誘導体化法により分析した。分析条件は以下のとおりである。装置: CCPM 一式 (東ソー社製), カラム: Wakopak Wakosil-PTC (4.0 mm × 250 mm, 和光純薬工業社製), カラム温度: 40°C, 移

動相: A 液 PTC-Amino Acids Mobile Phase A, B 液 PTC-Amino Acids Mobile Phase B (共に和光純薬工業社製), グラジエント条件: 0 → 20 min, B = 0 → 70%, 検出波長: UV 254 nm, 流量: 1 mL。クロマトグラムにおけるアミノ酸の同定はアミノ酸混合標準液 H 型 (和光純薬工業社製) を用いて行った。

タンパク質の分子量は Laemmli の方法に従い、ポリアクリルアミド電気泳動 (SDS-PAGE) にて測定した<sup>10)</sup>。すなわち、タンパク質を 2% SDS + 8 M 尿素 + 20 mM Tris-HCl (pH 8.8) + 2% 2-メルカプトエタノール溶液に加熱溶解 (100°C, 5 分) し、アクリルアミド濃度 15.0% の分離ゲルで電気泳動後、クーマシーブリアントブルー R-250 にて染色した。脱色は、30% メタノール + 10% 酢酸溶液でゲルの背景が透明になるまで行った。分子量マーカーは、SDS-PAGE Standard Broad Range (Bio-rad 社製) を用いた。

### 3. 餌料調製

Table 1 に人工消化試験に用いた餌料組成を示した。AIN-93G 組成<sup>11)</sup> をもとに、リン酸二水素カリウム (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) で P 量を全体の 0.3% (通常リン餌料), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> で P 量を 1.5% (高リン餌料), ポリリン酸ナトリウム (重合度, 3 および 4) で P 量を 1.5% (高ポリリン酸餌料) に調製した。各餌料のタンパク質源は FP または CP とした。またタンパク質をカゼインに 100% 置換したカゼイン餌料, タンパク質をコーンスターチに 100% 置換した無タンパク質餌料も同様に調製した。各餌料の FP と CP 餌料の P および Ca 濃度は同等となるように調製した。

### 4. 人工消化試験

人工消化試験は Hosomi らの方法を一部改変して行っ

**Table 1** Composition of experimental diets.

	Normal-phosphorus diet (P = 0.3%, Ca = 0.5%)		High-phosphorus diet (P = 1.5%, Ca = 0.5%)		High-polyphosphate diet (P = 1.5%, Ca = 0.5%)	
	FP	CP	FP	CP	FP	CP
	g/100 g					
Fish protein	19.77	—	19.77	—	19.77	—
Chicken breast protein	—	20.0	—	20.0	—	20.0
Dextrinized corn starch	13.2	13.2	13.2	13.2	13.2	13.2
Corn starch	38.759	38.801	33.482	33.529	34.809	34.799
Sucrose	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
Cellulose	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
AIN-93G mineral mix <sup>†</sup>	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
Potassium dihydrogenphosphate	1.221	0.949	6.498	6.221	—	—
Sodium polyphosphate <sup>§</sup>	—	—	—	—	5.171	4.951
AIN-93 vitamin mix	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
L-Cystine	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.30
Choline bitartrate	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
Soybean oil	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0

Diets were prepared based on the AIN-93G formula.

<sup>†</sup> Excluding KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.

<sup>§</sup> Containing 28.6% phosphorus (wt/wt).

た<sup>12)</sup>。すなわち各餌料を100 mL容三角フラスコに2.5 g秤量し、蒸留水50 mLを加えた。塩酸でpH 2.0に調整し、豚由来ペプシン50 mgを加え反応を開始した。37℃、100 rpmで振盪し、120分間消化を行った。その後炭酸水素ナトリウム溶液でpH 7.4に調整後、豚由来パンクレアチン40 mgを加え同様に120分間消化した。ペプシン消化ではpH 2.0、パンクレアチン消化ではpH 7.4になるように経時的に調整した。

消化開始0, 5, 15, 30, 60, 120, 125, 135, 150, 180および240分後に人工消化液を1.5 mL容エッペンチューブに0.2 mL採取し、600 × g, 20秒間遠心分離した上清を分析試料とした。上清のP濃度はモリブデンブルー法<sup>9)</sup>、Ca濃度はカルシウムE-テストワコー（和光純薬工業社製）により測定した。なお、高ポリリン酸餌料のPについては、硫酸を添加し90℃で80分間加熱しオルトリン酸に加水分解後測定した<sup>13)</sup>。また、上清のアミノ酸量はトリニトロベンゼンスルホン酸吸光光度法を用いて測定し、加水分解率を求めた<sup>14)</sup>。

## 5. 統計処理

得られた測定値は、平均値 ± 標準誤差で示した。統計解析には、Stat View J-5.0（ヒューリンクス社製）を用い、反復測定による二元配置分散分析を行った。なお、有意水準は  $p < 0.05$  とした。

**Table 2** Chemical composition of FP and CP.

	FP	CP
	g/100 g	
Crude protein	94.2	93.1
Phosphorus	0.11	0.42
Calcium	0.04	0.04

**Table 3** Amino acid composition of FP and CP.

	FP	CP
	% (wt/wt total amino acids)	
Alanine	6.10	6.10
Arginine	7.03	7.16
Aspartic acid <sup>†</sup>	12.63	11.72
Glutamic acid <sup>§</sup>	18.06	17.63
Glycine	3.82	3.82
Histidine	2.10	2.77
Isoleucine	4.71	5.17
Leucine	8.52	8.76
Lysine	9.70	9.66
Methionine	2.95	2.72
Phenylalanine	3.33	3.79
Proline	2.95	2.65
Serine	4.44	3.93
Threonine	4.68	4.96
Tyrosine	3.92	4.13
Valine	5.06	5.03

<sup>†</sup> Aspartic acid + asparagine.

<sup>§</sup> Glutamic acid + glutamine.

## 結果と考察

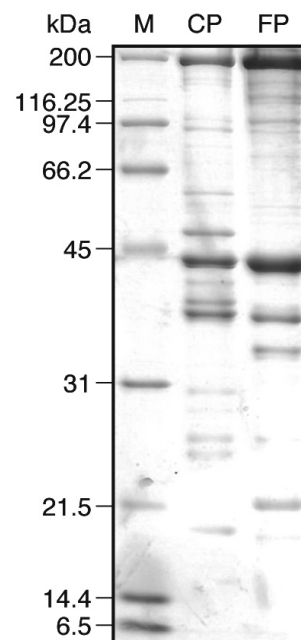
### 1. FP および CP の一般成分組成およびタンパク質性状

Table 2に粗タンパク質、PおよびCa量を示した。FPに含まれるP量はCPと比べ低値であった。CP調製の際にはFPと同様に十分な水洗いを行ったが、P量に差が出たことから、ささ身に含まれるP化合物は遊離しにくい特徴があると推測される。Fig. 1にFPおよびCPのSDS-PAGEの結果を示した。各タンパク質ともに十分に水洗いをおこなっているために、筋基質および筋形質タンパク質のバンドは見られず、筋原繊維タンパク質であるミオシン重鎖（約200 kDa）とアクチン（約45 kDa）のバンドが濃くみられた。またFPおよびCPの主要なタンパク質のバンドに大きな違いはみられなかった。Table 3にFPおよびCPのアミノ酸組成を示した。FPおよびCPのアミノ酸組成についても大きな相違はみられなかった。

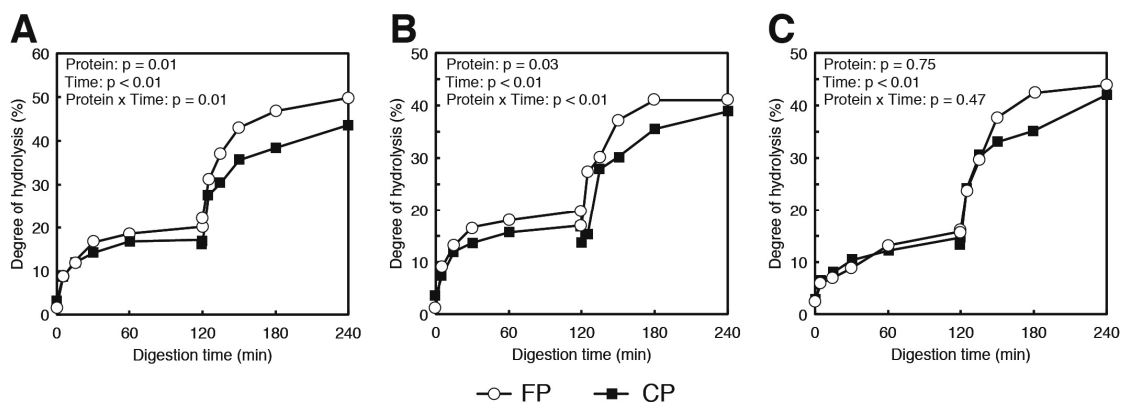
### 2. 通常リン餌料

Fig. 2Aに通常リン餌料の人工消化過程におけるタンパク質加水分解率を示した。FP餌料はCP餌料と比較し、パンクレアチン消化過程の加水分解率が有意に高かった ( $p = 0.01$ )。

Fig. 3Aおよび3Bに通常リン餌料の人工消化過程における遊離PおよびCa濃度を示した。CP餌料と比較すると、FP餌料の遊離P濃度はペプシン及びパンクレアチン消化過程で有意に高い値を示した ( $p = 0.02$ )。しかし、FPはCPよりもタンパク質中に含まれているP量が少ないため、餌料中に含まれるPの化学形態の違いが影響していることが考えられる (Table 2)。またペプシン消化過



**Fig. 1** SDS-PAGE patterns of FP and CP. SDS-PAGE was performed using 15.0% polyacrylamide separation gel; Lane (M), molecular weight marker; Lane (FP), fish protein; Lane (CP), chicken breast protein.

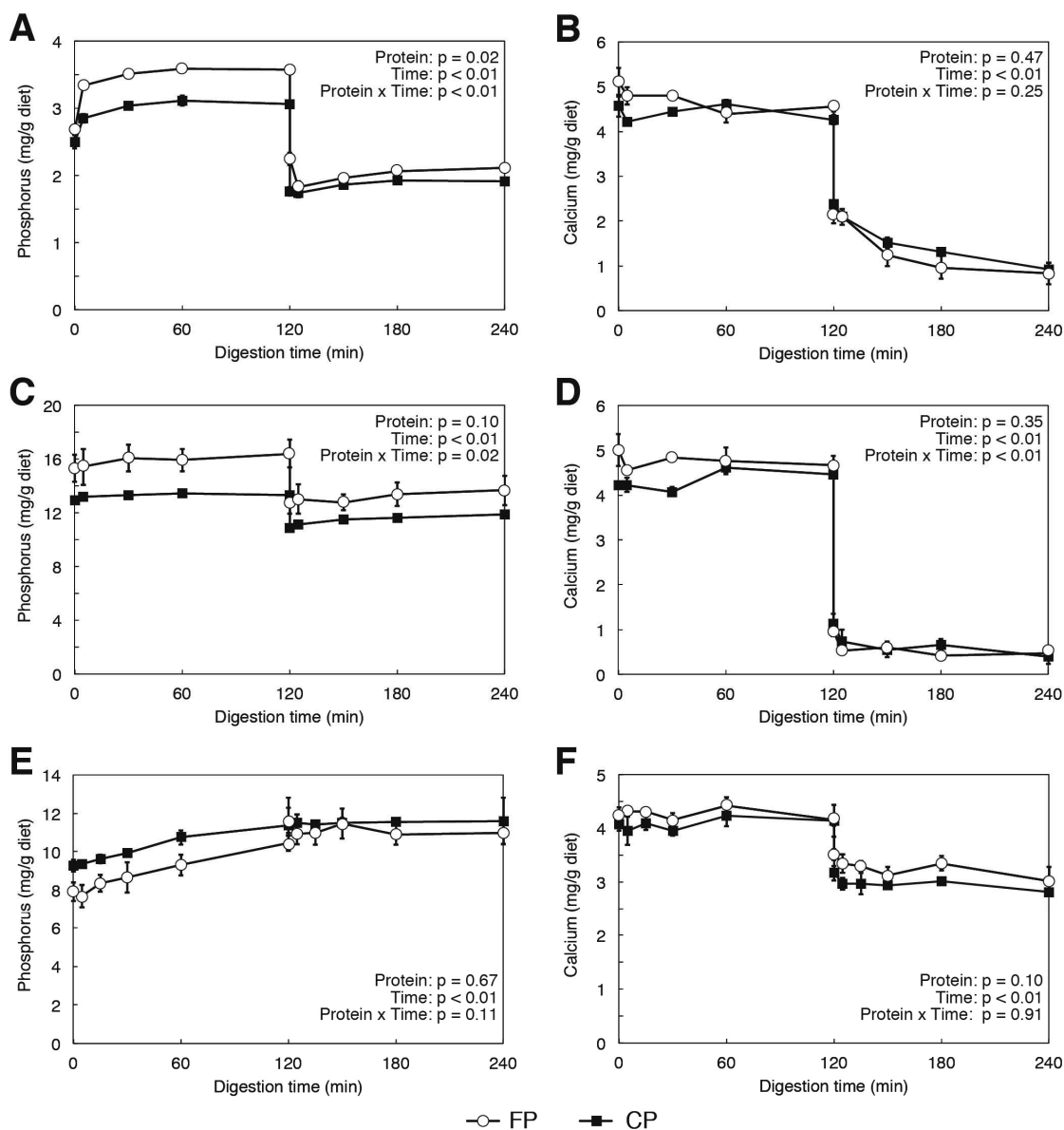


**Fig. 2** Course of protein digestibility of FP and CP diets prepared using pepsin (added at time 0 min) and pancreatin (added at time 120 min) digestion.

Each point represents means  $\pm$  SEM (n = 3).

Degree of hydrolysis = Amino acid content of supernatant/Amount of protein  $\times$  100

(A) Normal-phosphorus diet, (B) High-phosphorus diet, (C) High-polyphosphate diet.



**Fig. 3** Course of soluble phosphorus and calcium concentration prepared using pepsin (added at time 0 min) and pancreatin (added at time 120 min) digestion.

Each point represents means  $\pm$  SEM (n = 3).

(A) Soluble phosphorus content of normal-phosphorus diet, (B) Soluble calcium content of normal-phosphorus diet, (C) Soluble phosphorus content of high-phosphorus diet, (D) Soluble calcium content of high-phosphorus diet, (E) Soluble phosphorus content of high-polyphosphate diet, (F) Soluble calcium content of high-polyphosphate diet.



程では餌料中Pのほとんどが遊離しており、パンクレアチン消化過程では約50%のPが遊離していた。ペプシン消化過程におけるFPおよびCP餌料の遊離Ca濃度は $4.63 \pm 0.17$  mg/g,  $4.26 \pm 0.11$  mg/g (mean  $\pm$  SEM, n = 3)であった。しかし、パンクレアチン消化過程ではタンパク質の加水分解率が高くなるにつれて (Fig. 2A), 遊離Ca濃度の低下傾向がみられ、240分ではFPおよびCP餌料それぞれ、 $0.75 \pm 0.19$  mg/g,  $0.92 \pm 0.14$  mg/g (mean  $\pm$  SEM, n = 3)まで低下した (Fig. 3B)。一方、無タンパク質餌料の遊離PおよびCa濃度は、FPとCP餌料と同様の傾向を示した (データ未掲載)。以上から遊離Ca濃度の低下は、タンパク質加水分解率とは無関係に餌料中の他の成分が消化されることに起因していると考えられる。しかし、高リンおよび高ポリリン酸餌料でパンクレアチン消化過程における遊離Caの減少はみられなかった (Fig. 3D, 3F)。またカゼイン餌料では、パンクレアチン消化過程の遊離Ca濃度は $2.80 \pm 0.13$  mg/g (mean  $\pm$  SEM, n = 3)と高値を示した (データ未掲載)。これは消化過程に生成したカゼインホスホペプチドにCaが結合し、可溶化されたためであると考えられる<sup>15)</sup>。

### 3. 高リン餌料

Fig. 2Bに高リン餌料の人工消化過程におけるタンパク質加水分解率を示した。FP餌料はCP餌料と比較し、ペプシンおよびパンクレアチン消化過程の加水分解率が有意に高かった (p = 0.03)。

Fig. 3Cおよび3Dに高リン餌料の人工消化過程における遊離PおよびCa濃度を示した。通常リン餌料と比較し、高リン餌料の人工消化過程における遊離P濃度は、餌料P濃度と同様に約5倍高値を示した。またFP餌料の遊離P濃度は、CP餌料と比較してペプシンおよびパンクレアチン消化過程で高い傾向にあった (p = 0.10)。

高リン餌料は通常リン餌料と比較し、ペプシン消化過程の遊離Ca濃度はほぼ同等であったが、パンクレアチン消化過程ではより低値を示す傾向にあった。このことから、高リン餌料中のCaは、オルトリン酸と結合することで可溶化を阻害されていると考えられる。パンクレアチン消化過程におけるFPおよびCP餌料の遊離Ca濃度は $0.47 \pm 0.11$  mg/g,  $0.39 \pm 0.16$  mg/g (mean  $\pm$  SEM, n = 3)であった。FP餌料では遊離P濃度が高値な傾向があり (p = 0.10), Caとの不溶化を抑制していることが期待されたが、遊離Ca濃度との関連は確認されなかった。カゼイン餌料のパンクレアチン消化過程における遊離Ca濃度は $3.20 \pm 0.23$  mg/g (mean  $\pm$  SEM, n = 3)であり、高リン餌料においても通常リン餌料と同様に高値を示した (データ未掲載)。一方、無タンパク質餌料の遊離P濃度はほぼ0 mg/gであったことから (データ未掲載), FPおよびCPはカゼインより微弱であるが高リン条件下でCaを可溶化させていると予測される。

### 4. 高ポリリン酸餌料

Fig. 2Cに高ポリリン酸餌料の人工消化過程におけるタンパク質加水分解率を示した。FP餌料はCP餌料との間で有意な差はみられなかった。

Fig. 3Eおよび3Fに高ポリリン酸餌料の人工消化過程における遊離PおよびCa濃度を示した。遊離P濃度は、通常リンおよび高リン餌料とは異なり、パンクレアチン消化に移行する際のpH変化では大きな影響を受けなかった。高リン餌料と比較し、各餌料ともに遊離P濃度が低値を示す傾向にあったことから、重合リン酸は可溶化しにくいことが考えられる。各餌料で消化時間の経過とともに遊離P濃度の有意な上昇がみられたが (p < 0.01), ペプシン消化過程でpH調整に用いている塩酸によるポリリン酸の加水分解が起き、可溶性が高くなったことが原因と考えられる。パンクレアチン消化過程の遊離Ca濃度は、通常リン餌料・高リン餌料と比較し高値を示す傾向にあった。この結果から、高ポリリン酸餌料ではpHの変化によって遊離P濃度の溶解性が変わらないため、遊離Ca濃度はPの影響を受けずにpHの変化のみが影響していると予測される。またポリリン酸はオルトリン酸よりCaと結合しにくく、高ポリリン酸条件下では逆にCaの可溶化を促進している可能性もある。今後詳細なメカニズムについて検討していく必要があると考えられる。一方、FP餌料の遊離Ca濃度は、CP餌料と比較し高い傾向にあった (p = 0.10)。食品から摂取したCaは、小腸上部では活性型ビタミンDの調節を受けるCaトランスポーターから能動輸送で吸収され、小腸下部では濃度差による受動輸送で吸収される<sup>16)</sup>。EDTAキレート態の利用性で論じられているように、可溶性がただちに生体内での利用性を反映するとは限らない。しかし、ミネラルの吸収は可溶化が必要条件となる<sup>17)</sup>。そのためパンクレアチン消化過程は小腸内を想定しているため、FP餌料における遊離Ca濃度の上昇傾向はCa吸収を促す可能性があると考えられる。

一般的な冷凍すり身には、保水性や弾力性を向上させるためにソルビトールなどの糖類に加え0.2%前後の重合リン酸塩が添加されている。特に重合リン酸塩はCa吸収を阻害することから忌避されており、無リンすり身が製造されるようになった背景がある。しかしながら、すり身の製造においてリン酸塩は優れた魚肉タンパク質変性防止効果を持つため、無リンすり身は長期冷凍保存安定性や加熱によるゲル化強度などの点で満足できるものではなかった<sup>4)</sup>。本研究で行った人工消化試験の結果からは、Ca可溶化に及ぼす重合リン酸塩の影響はオルトリン酸塩よりも小さく、またFPは畜肉タンパク質であるCPと比較し、Caの可溶化を促す傾向があることが確認された。しかし、ポリリン酸は小腸刷子縁膜に存在するホスファターゼによって加水分解を受けるが、人工消化試験ではホスファターゼを含まないために加水分解が起きていない<sup>18)</sup>。そのため今後動物実験において、高ポリリン酸餌料におけるFPのCa吸収に与える影響を明らかにしていく必要があると考えら

れる。

これまでにアミノ酸組成の違いがCa吸収に影響を与えることが報告されており、ヒスチジン、グリシン、アルギニンは促進、スレオニン、グルタミン酸、アスパラギン酸は抑制する<sup>19)</sup>。本研究に用いたFPおよびCPのアミノ酸組成を比較すると、Ca吸収に影響を与える各アミノ酸濃度に大きな差はみられなかった (Table 3)。またタンパク質の分子量を比較しても大きな差は確認されなかった (Fig. 1)。しかし、通常リン餌料・高リン餌料において、人工消化過程での消化率はFP餌料で有意に高い値を示した (Fig. 2)。さらにタンパク質加水分解物中に含まれるペプチドにCaと複合体を形成し可溶性を促す効果が報告されている<sup>6,7)</sup>。これらのことから高ポリリン酸餌料で確認されたパンクレアチン消化過程のCa可溶性増大は、消化過程で生成されるペプチドの違いが影響していると考えられる。

## 謝 辞

本研究の遂行にあたり、研究助成金を供与頂きました公益財団法人浦上食品・食文化振興財団に対し厚く御礼申し上げます。

## 参考文献

- 1) 厚生労働省 (2014) 平成 24 年国民健康・栄養調査報告. <http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/eiyou/h24-houkoku.html> : pp. 54-65, 2014 年 8 月 9 日 アクセス.
- 2) 厚生労働省 (2009) 日本人の食事摂取基準 [2010 年版], 第一出版, 東京 : pp. 201-217.
- 3) 鈴木和春 (2003) リン, ミネラルの辞典 (糸川嘉則編), 朝倉書店, 東京 : pp. 184-195.
- 4) 山口敦子, 阿部洋一, 石下真人, 鮫島邦彦, 新井健一 (2000) 凍結貯蔵中のスケトウダラ冷凍すり身のゲル形成能に及ぼす重合リン酸塩の効果. 日本水産学会誌, 66: 481-488.
- 5) Heaney RP, Recker RR, Weaver CM (1990) Absorbability of calcium sources: the limited role of solubility. *Calcif Tissue Int* 46: 300-304.
- 6) Bao XL, Lv Y, Yang BC, Ren CG, Guo ST (2008) A study of the soluble complexes formed during calcium binding by soybean protein hydrolysates. *J Food Sci* 73: C117-C121.
- 7) Liu FR, Wang L, Wang R, Chen ZX (2013) Calcium-binding capacity of wheat germ protein hydrolysate and characterization of Peptide-calcium complex. *J Agric Food Chem* 61: 7537-7544.
- 8) Sato R, Noguchi T, Naito H (1986) Casein phosphopeptide (CPP) enhances calcium absorption from the ligated segment of rat small intestine. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 32: 67-76.
- 9) 松本和子, 酒井健 (1987) モリブデン・ブルーの発色とリン定量への応用 (化学への招待). *化学と教育* 35: 420-423.
- 10) Laemmli UK (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685.
- 11) Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC Jr (1993) AIN-93 purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr* 123: 1939-1951.
- 12) Hosomi R, Fukunaga K, Arai H, Kanda S, Nishiyama T, Yoshida M (2011) Fish protein decreases serum cholesterol in rats by inhibition of cholesterol and bile acid absorption. *J Food Sci* 76: H116-H121.
- 13) 青木隆子, 國崎直道 (1989) 水産ねり製品中のオルトおよび重合りん酸塩含量について. *日本水産学会誌* 55: 2167-2171.
- 14) Adler-Nissen J (1979) Determination of the degree of hydrolysis of food protein hydrolysates by trinitrobenzenesulfonic acid. *J Agric Food Chem* 27: 1256-1262.
- 15) 内藤博 (1986) カゼインの消化時生成するホスホペプチドのカルシウム吸収促進機構. *日本栄養・食糧学会誌* 39: 433-439.
- 16) Zhuang L, Peng JB, Tou L, Takanaga H, Adam RM, Hediger MA, Freeman MR (2002) Calcium-selective ion channel, CaT1, is apically localized in gastrointestinal tract epithelia and is aberrantly expressed in human malignancies. *Lab Invest* 82: 1755-1764.
- 17) Wasserman RH, Taylor AN (1976) *Handbook of Physiology* 7, Endocrinology ed. by GD Auerbach, American Physiological Society, Washington, D.C.: pp. 137-155.
- 18) Goldstein DJ, Rogers CE, Harris H (1980) Expression of alkaline phosphatase loci in mammalian tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A* 77: 2857-2860.
- 19) 南勝一 (1970) カルシウムの腸管吸収について. *中国短期大学紀要*, 1, 51-61.