

Afslutningsrapport

Mineralabsorptionsstimulerende komponenter i mælk

Mejeribrugets ForskningsFond

Rapport nr. 1995-5

December 1995



mejeriforeningen

danish dairy board

Afslutningsrapport

Mineralabsorptionsstimulerende komponenter i mælk

93S 2464 Å91 00029

Medarbejdere, adresse

Projektleder:

Professor Brittmarie Sandström, Forskningsinstitut for Human Ernæring, Levnedsmiddelcentret, Den Kongelige Veterinær- og Landbohøjskole, Rolighedsvej 30, 1958 Frederiksberg C.

Øvrige medarbejdere:

Forskningsadjunkt, PhD Marianne Hansen; Forskningsassistent, PhD Susanne Højbjerg,
Forskningsinstitut for Human Ernæring

Overlæge Sven Sølvsten Sørensen; Radiofysiker Mikael Jensen, Rigshospitalet afd. 4011, Blegdamsvej 9, 2100 Østerbro

Professor Bo Lönnerdal, Dept. Nutrition, University of California, Davis, 95616 Californien, USA

Mag. Scient. Per Solgaard, Forskningscenter Risø, Afdelingen for Miljøforskning, Postboks 49, 4000 Roskilde.

Forskningsinstitut f. Human Ernæring, KVL
27. Januar 1997 BMS,MH,SH

Forord

Dette projekt er et 3-årigt samarbejdsprojekt under Det Fødevareteknologiske Udviklingsprogram i samarbejde med Mejeribrugets ForskningsFond.

Projektets formål har været at undersøge muligheden for at forbedre mineraloptagelsen fra kosten hos mennesker.

Projektet inkluderer celleforsøg, dyreforsøg, samt en række forsøg på mennesker. Celleforsøgene og dyreforsøgene blev udført på University of California, Davis, mens human forsøgene blev udført på Forskningsinstitut for Human Ernæring i samarbejde med Rigshospitalet (radioisotopforsøg) og Forskningscenter Risø (stabil isotop forsøg).

Resumé

Formålet med dette projekt har været at undersøge virkninger af mælk og mælkekomponenter på biotilgængeligheden af sporelementer og mineraler. I projektet er anvendt stabile og radioaktive isotopteknikker, der gør det muligt med høj præcision at måle op tag af zink og calcium hos mennesker.

For at undersøge virkningen af mælk på zinkoptagelsen fra en kost med højt fytinsyreindhold fik 12 voksne mennesker en fytinsyre-rig kost i 6 uger. I 3 uger indeholdt kosten mælk (600 ml/dag) og i 3 uger var mælken erstattet med orange juice (400 ml/dag). Foreløbige resultater (n=9) viser ingen signifikant forskel i zinkoptagelsen ($X \pm SD$): juice $29\% \pm 17\%$; mælk: $21 \pm 11\%$.

I et tilsvarende forsøg (n= 12) vurderedes hvorvidt en eventuel effekt af mælk på zinkoptag kunne tilskrives calciumindholdet. Foreløbige resultater (n=5) viser at zinkoptagelsen fra fytinsyrerig kost ikke var forskellig ved indtag af 400 ml juice/dag ($25 \pm 8\%$), 600 ml mælk/dag ($33 \pm 14\%$) eller 600 ml vand + 800 mg calcium/dag ($32 \pm 12\%$). Hver kostperiode varede i 1 uge.

For at undersøge om den tidligere dokumenterede høje biotilgængelighed af zink og calcium fra mælk kan tilskrives fordøjelsesprodukter fra kasein, kasein fosfopeptider (CPP), blev CPP tilsat til måltider. Calcium- og zinkabsorption blev målt i rotter og mennesker:

-I rotteunger forbedrede CPP-tilsætning zink- og calciumabsorptionen med op til 50% fra semi-syntetiske måltider, børnemad og modermælkserstatning.

-I voksne mennesker blev zink- og calciumabsorptionen målt fra 5 måltidstyper (n=10-11 i hver gruppe). Fra en risbaseret børnemad (ingen fytinsyre) blev zink- og calciumabsorptionen forøget med ca. 25 %. Der var ingen effekt af CPP tilsat fytinsyreholdige brødmåltider eller fuldkornsbaseret børnemad.

Opsummeres resultaterne ses, at mælk ikke hæmmer zinkoptagelsen fra fytinsyrerig kost. CPP kunne forøge zink- og calciumoptagelsen fra visse kosttyper i rotter og mennesker, men synes ikke at være i stand til at modvirke den negative virkning af fytinsyre under de anvendte forsøgsbetingelser.

English summary

The aim of this project was to study the effect of milk and milk components on the bioavailability of trace elements and minerals. Stable and radioactive isotope techniques were used, which makes it possible to measure the uptake of zinc and calcium with high precision.

The effect of milk addition on zinc absorption from a high-phytate diet was studied in 12 human adults. A controlled high-phytate diet was given for 6 weeks with milk (3 weeks) or orange juice (3 weeks) added. Stable zinc isotopes were added to the diet and absorption was evaluated from fecal recovery of the isotopes. Preliminary results (n=9) show no significant difference in zinc absorption between the juice period: $29 \pm 17\%$ ($x \pm SD$) and the milk period: $21 \pm 11\%$.

In a study with similar design, zinc absorption (n=5) from a phytate-rich diet was not affected differently by daily intake of 400 ml orange juice ($25 \pm 8\%$), 600 ml milk ($33 \pm 14\%$) or 600 ml water + 800 mg calcium ($32 \pm 12\%$). Each intervention period was 1 week.

To study if the high bioavailability of zinc and calcium from milk can be ascribed to casein phosphopeptide (CPP), CPP were added to meals containing phytate as a known absorption inhibitor. Zinc and calcium absorption was measured in rats and humans:

In rat pups, addition of CPP improved zinc and calcium absorption by up to 50 % from semi-synthetic diets and from infant cereal and formula.

Zinc and calcium absorption from 5 meal types was determined in human adults. Each meal was served to 10-11 subjects with 0, 1 and 2 g CPP added at three different occasions. From a rice-based infant cereal (no phytate), CPP addition increased zinc and calcium absorption by approximately 25 %. No effect was observed when CPP were added to phytate containing bread meals or to a high-phytate whole-grain infant cereal.

In summary, milk given together with a high-phytate diet resulted in similar zinc absorption in humans as when juice or water+calcium were given. CPP were able to increase zinc and calcium absorption under some dietary conditions in rats and humans, but seemed not to be able to counteract the absorption depressing effect of phytate in humans under the tested conditions.

Formål

At identificere mælk og mælkekomponenters rolle for optagelse af zink og kalcium fra forskellige kosttyper.

Baggrund

Mælk og mælkeprodukter er væsentlige kilder til kalcium og også betydelige zinkkilder.

Anbefalede indtag af netop disse mineraler er meget omdiskuterede. Nyere undersøgelser af kalciumindtagets betydning for udvikling af knogleskørhed og forhøjet blodtryk har medført stigende bekymring for tilstrækkeligheden af vores kalciumindtag. Der er også sat spørgsmålstegn ved zinkindtagets tilstrækkelighed hos børn, gravide, ældre og syge. Et utilstrækkeligt indtag af zink kan medføre reduceret vækst, appetitløshed og nedsat immunforsvar.

Det er svært at fastlægge anbefalede indtag af zink og kalcium. Analyseverdier for kostens indhold af mineraler giver nemlig ikke oplysning om, hvad der reelt optages i organismen, da kun en del af dette indhold optages afhængigt af kostens sammensætning. F.eks. optages ca. 30-40% af kalciumindholdet i mælk, mens kun ca. 5 % af kalcium fra spinat optages (Heaney *et al.*, 1988). Zinkoptagelsen fra mælk er ligeledes rimelig høj, ca. 30% (Sandström *et al.*, 1983), mens zinkoptag fra kornprodukter ligger nede omkring 5-10% pga. disses høje indhold af fytinsyre (Sandström, 1989). Fytinsyre danner komplekser med zink, kalcium og jern og hæmmer derved optagelsen af disse mineraler fra bl.a. grove kornprodukter og bælgeplanter. Man kender ikke de komponenter i mælk, der fører til høj biotilgængelighed af mineraler fra mælk.

Fra sammensatte måltider afhænger zink- og kalciumoptagelsen af samspillet mellem forbindelser der virker positivt og forbindelser, der virker negativt på absorptionen.

Zink

Flere undersøgelser har vist, at den lave optagelse af zink fra et fytinsyrerigt måltid øges ved samtidig indtagelse af mælk eller mælkeprodukter (Sandström *et al.*, 1980 og 1983). En forklaring kunne være, at der i tarmen dannes nedbrydningsprodukter fra mælkeproteiner, såkaldte kaseinfosfopeptider (CPP). CPP dannes under fordøjelse af kasein og kan desuden fremstilles kemisk. Det er muligt at disse lavmolekylære forbindelser forebygger at zink indgår i tungtopløselige forbindelser med f.eks. fytinsyre og bliver ufordøjelige. Samtidig kunne de forklare den høje biotilgængelighed af zink fra mælk.

Dyreforsøg har vist, at et højt indhold af kalcium (uorganisk) i fytinsyrerigt foder giver en dårligere zinkudnyttelse. Om kalcium virker tilsvarende i mennesker er ikke klarlagt. Dette bør undersøges i relation til en potentiel negativ virkning af mælkens kalcium.

Kalcium

Den høje kalciumoptagelse fra mælk er blevet tilskrevet dannelse af CPP (Mellander, 1950), som hæmmer dannelsen af tungtopløselige kalciumkomplekser, således at kalcium findes i en mere fordøjelig form (Berrocal *et al.*, 1989). En række dyreforsøg tyder på at CPP stimulerer kalciumabsorptionen (Sato *et al.*, 1986; Mykkänen og Wasserman, 1980). Dette er dog ikke klarlagt, og desuden er der brug for humanforsøg for at kunne drage konklusioner om betydningen af CPP for human ernæring.

Dette leder til nærværende projekt, hvor effekten af mælk og isolerede mælkekomponenter (kalcium, mælkeproteiner og kaseinfosfopeptider) på zink- og kalciumbiotilgængelighed belyses fra forskellige vinkler.

Oplysninger indenfor dette område kan bidrage med viden til rådgivning om hvordan udnyttelsen af mineraler fra mange kosttyper forbedres og viden til fastsættelse af anbefalede næringsstofindtag. Desuden vil viden om enkeltkomponenter i mælk med gavnlige virkninger på mineraloptagelsen potentielt kunne udnyttes i functional foods.

Referencer

Berrocal R, Chanton S, Juillerat MA, Pavillard B, Scherz J, Jost R. Tryptic phosphopeptides from whole casein. II. Physicochemical properties related to the solubilization of calcium. *J Dairy Res* 1989; 56: 335-341.

Heaney RP, Weaver CM, Recker RR. Calcium absorbability from spinach. *Am J Clin Nutr* 1988; 47: 707-709.

Mellander O. The physiological importance of the casein phosphopeptide calcium salts. II. Peroral calcium dosage of infants. *Acta Soc Med Upsal* 1950;55:247-255.

Mykkänen HM, Wasserman RH. Enhanced absorption of calcium by casein phosphopeptides in rachitic and normal chicks. *J Nutr* 1980;110:2141-2148.

Sandström B, Arvidsson B, Cederblad Å, Björn-Rasmussen E. Zinc absorption from composite meals. I. The significance of wheat extraction rate, zinc, calcium and protein content in meals based on bread. *Am J Clin Nutr* 1980; 33: 739-45.

Sandström B, Cederblad Å. Zinc absorption from composite meals. II. Influence of the main protein source. *Am J Clin Nutr* 1980; 137: 726-9.

Sandström B, Cederblad Å, Lönnerdal B. Zinc absorption from human milk, cow's milk and infant formulas. *Am J Dis Child* 1983; 137: 726.

Sandström B, Keen CL, Lönnerdal B. An experimental model for studies of zinc availability from milk and infant formulas using extrinsic labelling. *Am J Clin Nutr* 1983; 38: 420.

Sandström B, Lönnerdal B. Promoters and antagonists of zinc absorption. I: Mills CF, Ed. *Zinc in human biology*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 1989: 351-363.

Sato R, Noguchi T, Naito H. Casein phosphopeptide (CPP) enhances calcium absorption from the ligated segment of rat small intestine. *J Nutr Sci Vitaminol* 1986;32:67-76.

Forsøgsoversigt

Undersøgelsen indbefatter primært humanforsøg, hvor zink- og/eller calciumabsorption er målt i unge raske mennesker. Basisforsøgene herfor udførte vi rotteforsøg og forsøg med cellekulturer fra humane tarmceller. Dette foregik i samarbejde med professor Bo Lönnerdal på University of California, Davis. I alle forsøg er benyttet avancerede isotopteknikker, som giver stor målepræcision og bevirker at man kan skelne mineralet i kosten fra mineral i organismen. Udover bestemmelse af zink og calcium op tag indgår et forsøg, hvor vi undersøgte kobber- og magnesiumabsorptionen.

Rotteforsøg

Effekten af tilsætning af mælkeproteiner (kasein og valleprotein) og af CPP (CPP og CPP(Na))* på zink- og calciumabsorption fra fytinsyreholdige måltider (fytinsyreholdige vandige opløsninger og fytinsyreholdig børnemad) blev undersøgt i 14 dage gamle rotteunger. Proteinet bovint-serum-albumin (BSA) blev brugt som "ikke-mælke protein" til sammenligning. Forsøgs måltidet blev mærket med radioisotoperne ^{65}Zn og ^{47}Ca . Seks timer efter rotterne havde fået testmåltidet blev de aflivet, hvorefter helkropsaktiviteten blev målt i en helkrops- γ -tæller.

* CPP: Kaseinfosfopeptid med højt calciumindhold.

CPP(Na): Kaseinfosfopeptid med højt natriumindhold

Humane tarmceller

Effekten af CPP-tilsætning på zinkudnyttelsen fra vandige fytinsyreholdige opløsninger blev undersøgt med cellekulturer. ^{65}Zn blev anvendt. Caco-2 celler voksede i plastik brønde indtil der var dannet et enkelt cellelag. De isotopmærkede opløsninger tilsættes, hvorefter den tilbageholdte aktivitet af ^{65}Zn i cellerne blev målt i en γ -tæller.

Humanforsøg 1. Måltidsforsøg med radio isotoper af zink og calcium

Effekten af CPP-tilsætning på zink- og calciumabsorptionen blev undersøgt fra fytinsyreholdige enkeltmåltider i 53 voksne mænd og kvinder:

A. Fytinsyreholdigt brød

B. Børnemad m/u fytinsyre (fuldkornshvedegrød, risbaseret grød)

Måltiderne blev mærket med ^{65}Zn og ^{47}Ca og aktiviteten af absorberet isotop blev bestemt i en helkropsmåler på Rigshospitalet.

Humanforsøg 2. Fuldkostforsøg med stabile isotoper af kobber og magnesium

Effekten af CPP på kobber- og magnesiumabsorptionen blev målt hos 8 forsøgspersoner (4♂ & 4♀) som fik en lav-fiber kost i 3 x 4 dage med 3 forskellige doser CPP i vandopløsning. Måltiderne blev mærket med de stabile isotoper ^{65}Cu og ^{26}Mg . Absorptionen blev bestemt ved analyse af stabile isotoper i fæces opsamlet under hele kostperioden.

Humanforsøg 3. Fuldkostforsøg med stabile isotoper af zink

Effekten af mælk på zinkoptagelse fra fytinsyrerig kost blev målt og sammenlignet med optag fra samme kost med juice i stedet for.

12 forsøgspersoner (5♂ & 7♀) deltog i dette randomiserede crossoverforsøg (2 x 3 uger).

Forsøgspersonerne indtog en standardiseret kost med højt fytinsyreindhold (1.9 g/10 MJ). Til kosten blev der tilsat 2 mg Zn/10 MJ. På dag 15 blev der i stedet for almindelig zink tilsat 2 mg ^{70}Zn /10 MJ. I hver periode blev der opsamlet urin og fæces 1 døgn før og 6 døgn efter administration af den stabile isotop. ^{70}Zn udskilt via fæces blev efterfølgende målt ved hjælp af ICP-MS på Forskningscenter Risø.

Humanforsøg 4. Fuldkostforsøg med stabile isotoper af zink

Effekten af mælk hhv. uorganisk kalcium (kalciumklorid) på zinkoptagelsen fra fytinsyre rig kost blev målt og sammenlignet med optag fra en tilsvarende kost med juice i stedet for.

12 frivillige forsøgspersoner (6♂ & 6♀) deltog i dette randomiserede cross-over forsøg (3 x 1 uge).

Kostens naturlige indhold af zink var 11 mg/10 MJ (uden mælk) eller 15 mg/10 MJ (med mælk), til dette blev der tilsat yderligere 2 mg Zn/10 MJ. På dag 3 blev der i stedet for almindeligt zink tilsat ⁷⁰Zn.

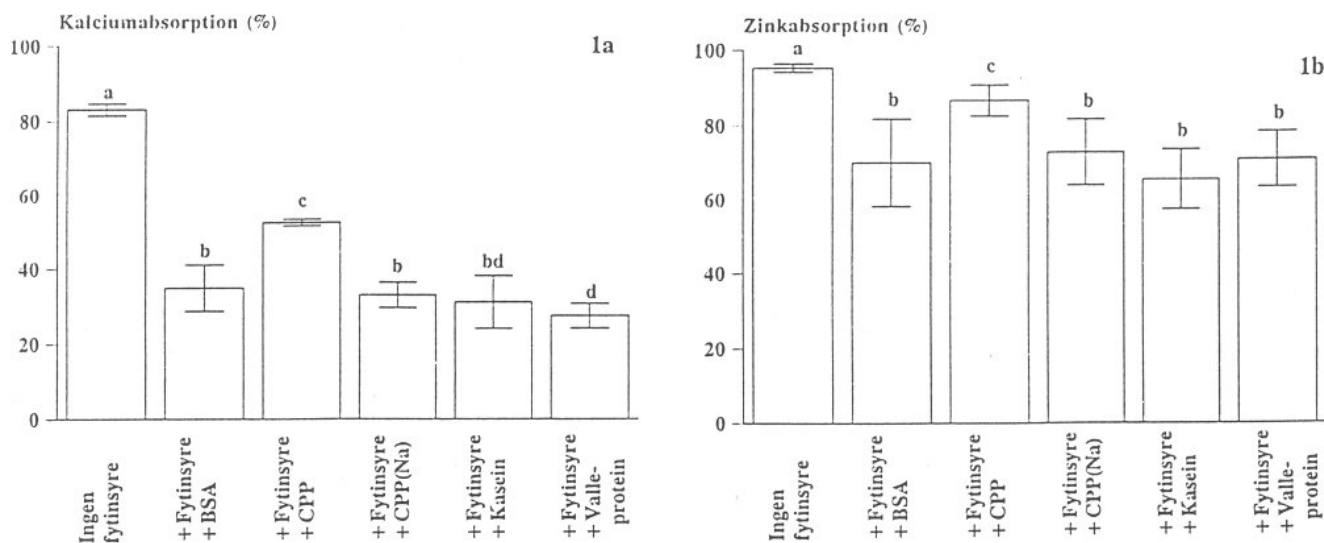
Fæces blev opsamlet 1 dag før og 5 dage efter administration af den stabile isotop og den stabile isotop blev efterfølgende målt i fæces ved hjælp af ICP-MS.

Resultater

Rotteforsøg

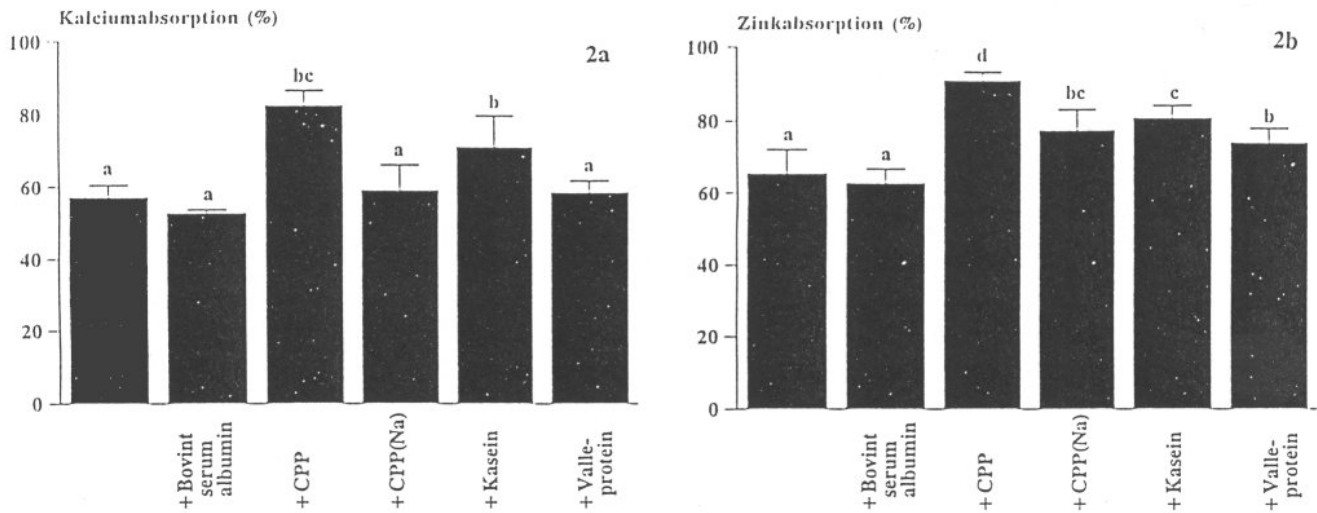
Vi målte zink- og kalciumabsorptionen hos rotteunger. Vi viste, at fytinsyre reducerer absorptionen af de to mineraler. Herefter undersøgte vi, om tilsætning af mælkeproteiner (kasein og valleprotein) og to typer CPP (CPP og CPP(Na)) kunne ophæve den negative virkning af fytinsyren i vandige fytinsyreholdige opløsninger samt i to typer fytinsyreholdig børnemad.

På Figur 1a ses en markant lavere kalciumabsorption fra en vandig opløsning ved tilsætning af fytinsyre ("Ingen fytinsyre, + BSA" sammenlignet med "+ Fytinsyre, + BSA"). Tilsætning af CPP til fytinsyreopløsningen gav en ca. 50% stigning i kalciumabsorptionen, hvorimod tilsætning af mælkeproteiner og CPP(Na) ikke havde en gavnlig virkning. Tilsvarende mønster fandtes med hensyn til zinkabsorptionen (Figur 1b), hvor CPP-tilsætning gav en forøgelse på 24%.



Figur 1a og 1b. Kalcium- og zinkabsorption fra fytinsyreholdige vandige opløsninger målt i rotteunger. Effekten af tilsætning af proteiner og CPP (3 %). Opløsningen indeholdt 5 % laktose. Data er middelværdi ± standardafvigelse. Barer med forskellige bogstaver er signifikant forskellige (P < 0.05).

CPP-tilsætning til børnemadsprodukterne havde også en gavnlig virkning på absorptionen af de to mineraler (Figur 2a og 2b). CPP-tilsætning medførte en stigning i kalcium og zinkoptagelsen på 45 % hhv. 39 %. Derimod var der ingen konsekvent virkning af mælkeproteiner og CPP(Na). Der var ingen generel "proteineffekt", idet tilsætning af BSA ikke medførte nogen ændret absorption.



Figur 2a og 2b. Kalcium- og zinkabsorption fra havrevælling (børnemad) målt i rotteunger. Effekten af tilsætning af proteiner og CPP (3 %). Data er middelværdi ± standardafvigelse. Barer med forskellige bogstaver er signifikant forskellige ($P < 0.05$).

Humane tarmceller

Vi viste, at zinkoptagelsen i cellerne blev reduceret ved fytinsyretilsætning. Tilsætning af CPP i små mængder havde en gavnlig effekt på zinkoptagelsen, men virkede negativt i større doser. Vi undersøgte den isolerede virkning af kalcium, idet CPP i dette celledsystem bidrog med et betydeligt kalciumindhold. Det viste sig at kalcium i sig selv hæmmede zinkoptagelsen. Dette er ikke overraskende, da zink, kalcium og fytinsyre i vandig opløsning og ved visse koncentrationer og pH kan danne nogle meget tungtopløselige komplekser. Det var i dette system ikke muligt at eliminere den negative effekt af kalcium, som sandsynligvis ikke ville være aktuel *in vivo*, hvorfor vi måtte forkaste denne model.

Humanforsøg 1. Måltidsforsøg med radio isotoper af zink og kalcium

Baseret på resultaterne fra rotteforsøgene valgte vi at undersøge CPP's virkning i mennesker. Vi undersøgte virkningen af CPP-tilsætning på zink- og kalciumabsorptionen fra:

- A. Fytinsyreholdige brødmåltider
- B. Børnemad m/u fytinsyre (fuldkornshvedegrød, risbaseret grød).

A. Fytinsyreholdige brødmåltider

Ti forsøgspersoner fik brød med moderat fytinsyreindhold serveret 3 gange. Hertil fik de et glas vand tilsat hhv. 0, 0.25 og 1 g CPP. Zink- og kalciumabsorptionen blev målt. Resultatet viser, at CPP-tilsætning ikke havde nogen effekt på hverken kalcium- eller zinkabsorptionen (Tabel 1). Det samme blev testet med brød med et højt fytinsyreindhold i 10 andre forsøgspersoner. Heller ikke her kunne CPP-tilsætning hæve kalcium- eller zinkabsorptionen (Tab. 1). Ydermere undersøgte vi, om kalciumtilsætning til brødene havde været årsag til CPP's manglende effekt på zinkabsorptionen (jævnfør forklaringen om dannelse af zink-kalcium-fytinsyre komplekset). Dette syntes ikke at være tilfældet, idet der heller ikke sås nogen effekt af CPP-tilsætning til høj-fytinsyreholdigt brød, som havde et *lavt* kalciumindhold.

Table 1. Effekten af CPP-tilsætning på kalcium- og zinkabsorptionen fra brødmåltider hos unge mennesker.

Brødtype	Kalciumabsorption (mg)			Zinkabsorption (%)		
	CPP (g)			CPP (g)		
	0	0,25	1	0	0,25	1
Moderat fytinsyre*	107 ± 22	102 ± 21	100 ± 34	14 ± 4,4	17 ± 6,6	16 ± 8,8
Høj fytinsyre*	91 ± 26	88 ± 24	104 ± 42	7 ± 1,6	8 ± 3,0	8 ± 2,6
Høj fytinsyre/lav Ca**	Ikke målt			8 ± 2,5	7 ± 2,3	7 ± 1,6

* Kalcium tilsat

** Kalcium *ikke* tilsat.

Data er middelværdi ± standardafvigelse. Der var ingen signifikant forskel på zink og kalcium absorption ved CPP-tilsætning.

B. Børnemad m/u fytinsyre (fuldkornshvedegrød hhv. risbaseret grød)

På baggrund af de positive resultater fra rotteforsøgene ønskede vi at undersøge om den manglende effekt af CPP i humanforsøgene skyldtes måltidstypen (flydende i forhold til fast kost), kostens fytinsyreindhold eller en for lav CPP dosis.

En gruppe forsøgspersoner (n= 11) fik derfor en risbaseret grød (ingen fytinsyre) og en anden gruppe (n= 11) personer en fuldkornsbaseret grød (højt fytinsyre). Begge typer grød blev igen givet tre gange men denne gang med højere CPP doser (0, 1 og 2 g).

CPP-tilsætning gav en høj-signifikant stigning ($p < 0,0004$) i kalciumabsorptionen fra den risbaserede børnemad ved tilsætning af CPP (Fig. 3a og b). Også zinkabsorptionen fra den risbaserede børnemad blev signifikant forbedret ($p < 0,04$) ved CPP-tilsætning. Stigningen lå på ca. 25 % for begge mineraler.

Derimod sås ingen virkning af CPP-tilsætning på hverken kalcium- eller zinkabsorptionen fra den fuldkornsbaserede grød (figur 3a og b).

■ A: Risbaseret grød ▨ B: Fuldkornsgrød

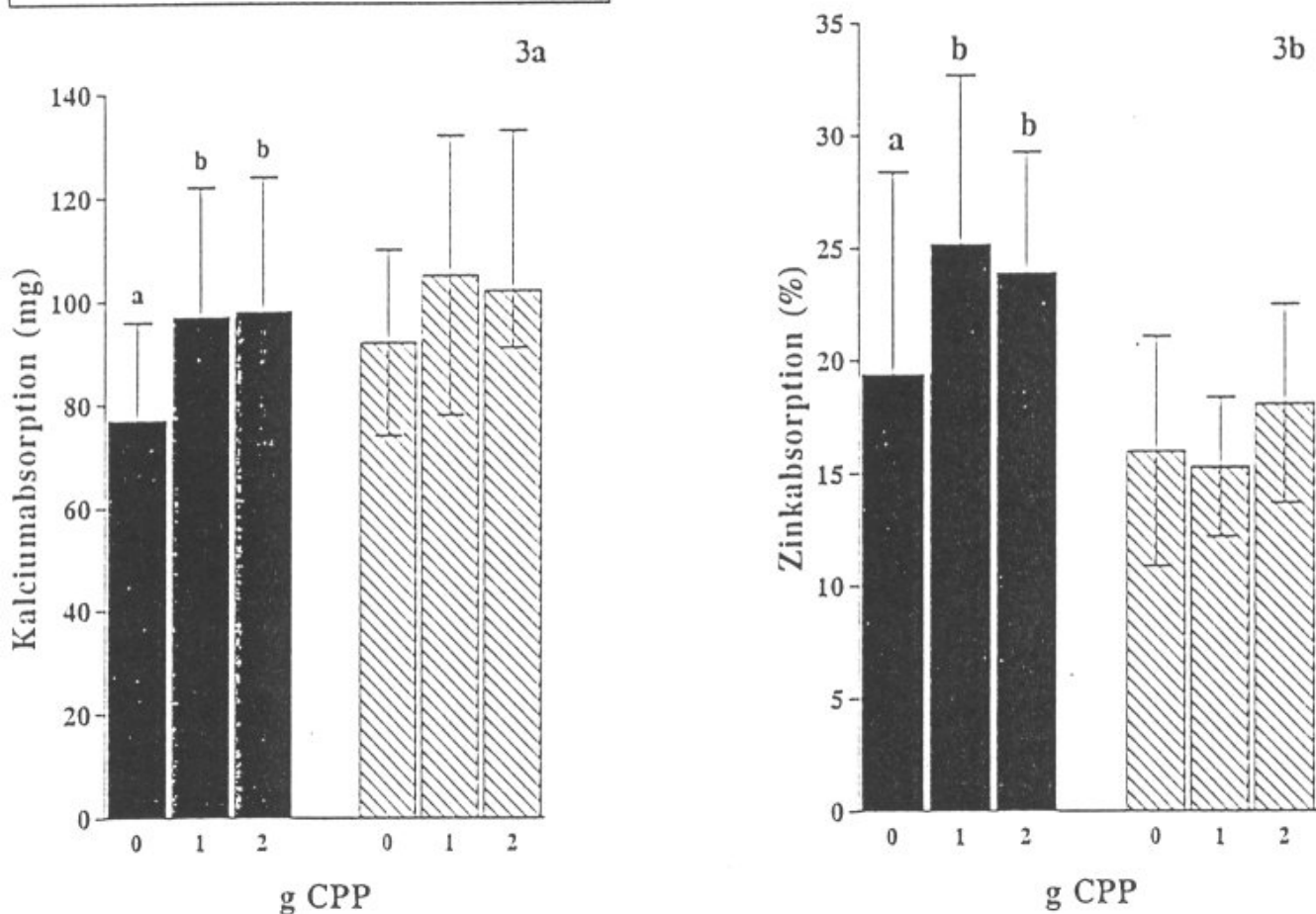


Fig. 3a, 3b. Effekten af CPP-tilsætning på calcium- og zinkabsorption i unge mænd og kvinder fra børnemad: Risbaseret børnemad (n= 11), ANOVA P=0,04 og fuldkornsgrød (n=11), ANOVA P=0,15. Data er middelværdi ± standardafvigelse. Barer med forskellige bogstaver er signifikant forskellige (P < 0,05).

Humanforsøg 2. Fuldkostforsøg med stabile isotoper af kobber og magnesium

Otte forsøgspersoner fik en lav-fiber kost i 4 dage. Kostperioden blev gentaget 3 gange med 3 doser af CPP (0; 0,25 og 1 g CPP dagligt) tilsat drikkevandet. Resultatet viste ingen effekt af CPP-tilsætning, idet kobberabsorptionen var henholdsvis (middelværdi ± standardafvigelse) 39,1±5,1 %, 37,9±9,3 % og 39,4±10,3 % og magnesiumabsorptionen 52,8±17,7 %, 58,5±13,9 % og 55,1±19,7 %.

Humanforsøg 3. Fuldkostforsøg med stabile isotoper af zink

Tolv forsøgspersoner fik en fytinsyrerig (1,9 g/10 MJ) kost i 2 x 3 uger. I den ene periode indtog forsøgspersonerne daglig 600 ml mælk til maden og i den anden periode fik de 400 ml juice til maden. Det totale zinkindtag var i mælke og juice perioden henholdsvis 15 og 11 mg/10 MJ. Foreløbige resultater (n=9) viste ingen statistisk forskel på zinkabsorptionen i de to perioder, hvor der blev indtaget juice (29 ± 17 %) eller mælk (21 ± 11 %). Dette svarer til at der i perioden med juice til maden i gennemsnit var en total absorption på 3,19 mg zink og i perioden med mælk blev absorberet totalt 3,15 mg zink.

Humanforsøg 4. Fuldkostforsøg med stabile isotoper af zink

Tolv forsøgspersoner fik i 3 x 1 uge en kontrolleret kost med henholdsvis mælk, juice eller vand + kalcium. Kostens indhold af zink, kalcium og fytinsyre fremgår af tabel 2. Foreløbige resultater (n = 5) viste ingen signifikant forskel i zinkabsorptionen i de tre perioder. Absorptionen i perioderne med mælk, juice og vand + kalcium var henholdsvis 33::t14%, 25::t8% og 32::t12%. Totalt blev der gennemsnitligt absorberet 4,95 mg zink i perioden med mælk, 2,75 mg zink i perioden med juice og 3,52 mg zink i perioden med vand + kalcium.

Tabel 2. Indholdet af zink, kalcium og fytinsyre per 10 MJ i den kost der blev benyttet i humanforsøg 3 og 4.

Kostperiode	Zink	Kalcium	Fytinsyre
Mælk	15 mg	855 mg	1900 mg
Juice	11 mg	280 mg	1900 mg
Vand + kalcium	11 mg	800 mg	1900 mg

Kommentar til humanforsøg 3 og 4. Fuldkostforsøg med stabile isotoper af zink

Der har været en del problemer med resultaterne vedrørende mængden af stabile isotoper i fæcesprøverne. Flere prøver er blevet reanalyseret. Da det er overordentlig vigtigt for både dette og fremtidige projekter at vi kan være sikre på resultaterne vil vi fortsat søge efter årsagerne til problemerne. De foreløbige resultater stemmer dog godt overens med tidligere observeret zinkabsorption fra mælk.

Perspektiver

I dette projekt fandt vi en gunstig virkning af CPP-tilsætning i en række forsøg:

Hos rotteunger gav CPP-tilsætning en markant forøget zink- og kalciumoptagelse (fra 10 til 50 %) fra fytinsyreholdige måltider, herunder børnemad og modermælkserstatning. I unge voksne mennesker sås en ca. 25 % stigning i både zink- og kalciumabsorptionen fra ris baseret børnemad, når CPP blev tilsat.

Selvom der ikke i alle delforsøg fandtes en effekt af CPP, peger resultatet i retning af en gunstig virkning. Der er derfor basis for at udforske CPP-virkningen nøjere, og se om de herværende positive fund kan bekræftes i yderligere humanforsøg, der ud fra vore nuværende erfaringer kan optimeres med hensyn til forsøgsbetingelserne.

På et internationalt møde om mælkeproteiner ("International Circle of Dairy Research Leaders") i Kiel, september 1996, hvor Marianne Hansen deltog, var der stor interesse om CPP's virkning i mennesker, idet der hidtil kun er lavet reagensglas- og dyreforsøg, hvor man tilmed har benyttet mindre nøjagtige metoder end de i herværende projekt anvendte.

Hvis opfølgende undersøgelser kan bekræfte de positive fund i vores projekt, kunne CPP have et potentiale som anvendelse i functional foods, specielt til befolkningsgrupper med et stort fysiologisk behov af mineralerne. CPP kunne desuden være et alternativ til kalciumtilskud til børn, gravide/ammende og ældre og give forøget mineraltilgængelighed fra forskellige typer sygehuskost.

Mælk har tilsyneladende ingen hæmmende effekt på zinkabsorptionen fra en fytinsyrerig kost. Der er umiddelbart ingen forskel på den procentuelle zinkabsorption når der indtages henholdsvis juice, mælk eller 600 mg calcium til en fytinsyrerig kost. Disse resultater indikerer at indtag af 600 mg calcium (vand + calcium) tilsyneladende ikke påvirker zink absorptionen fra en fytinsyrerig kost i negativ retning *in vivo*. Mælken indeholder mere zink end de øvrige to væsker og den totale zinkabsorption kan derfor øges ved indtag af mælk sammen med fytinsyrerige måltider. Hvis yderligere undersøgelser kan bekræfte disse resultater bør det derfor anbefales at børn, kvinder og ældre indtager mælk til maden da mælk samtidig har et højt indhold af calcium. Det ville være relevant ved efterfølgende undersøgelser at medtage mælkens og CPP's effekt på absorption af jern fra fytinsyrerige måltider, idet jernabsorptionen ligesom zinkabsorptionen hæmmes ved tilstedeværelse af fytinsyre i kosten.

Med baggrund af de resultater der opnåedes i dette projekt ville det være højst relevant at undersøge mælk og mælkeproteiners betydning for mineraludnyttelsen hos børn og gravide, som har et højt mineralbehov. Til dette formål er den stabile isotopteknik, der er anvendt i dette projekt, den eneste forsvarlige ud fra etiske overvejelser. Opsamling og analyser af fæcesprøver er dog meget personalekrævende og belastende for forsøgspersonerne. Validering af en stabil isotopmetode for calcium absorptionsmålinger, der er beregnet ud fra urinopsamlinger er i gang. Samlet har vi derefter et arsenal af følsomme metoder (radioisotop, stabile isotoper med fæcesopsamling, stabil isotop med urinopsamling) der kan benyttes til bestemmelse af mineralabsorption i små børn og voksne.

Publikationer

Hansen M. Effect of casein phosphopeptides on zinc and calcium absorption evaluated in experimental models and humans. Ph.D afhandling, Forskningsinstitut for Human Ernæring/Levnedsmiddelcentret, Den Kongelige Veterinær- og Landbohøjskole, Danmark. Oktober 1995.

Hansen M, Sandström B, Lönnerdal B. The effect of casein phosphopeptides on zinc and calcium absorption from high-phytate infant diets assessed in rat pups and Caco-2 cells. *Pediatric Research*, 40:547-552, 1996.

Hansen M. Mineralabsorptionsstimulerende komponenter i mælk. *Mælkeritidende* 29. nov 1996.

Hansen M, Sandström B, Jensen M, Sølvsten SS. Casein phosphopeptides improve zinc and calcium absorption from rice-based but not from whole-grain infant cereals (accepteret). *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*.

Hansen M, Sandström B, Jensen M, Sølvsten SS. Effect of casein phosphopeptides on zinc and calcium absorption from high- and low-phytate model meals in humans (indsendt).

