

牡蠣の酸可溶性画分に含有される亜鉛の栄養有効性

辻 貴之¹⁾, 菊池 祐子¹⁾, 中塚 千晶¹⁾, 木谷 祥子¹⁾,
福永 健治²⁾, 西山 利正²⁾, 松田 芳和³⁾, 吉田 宗弘¹⁾

(¹⁾関西大学工学部生物工学科食品工学研究室*, (²⁾関西医科大学公衆衛生学教室**,

³⁾日本クリニック中央研究所***)

Bioavailability of Zinc Contained in Acid Soluble Fraction of Oyster

Takayuki TSUJI¹⁾, Yuko KIKUCHI¹⁾, Chiaki NAKATSUKA¹⁾,
Shoko KITANI¹⁾, Kenji FUKUNAGA²⁾, Toshimasa NISHIYAMA²⁾, Yoshikazu MATSUDA³⁾, Munehiro YOSHIDA¹⁾

¹⁾Laboratory of Food and Nutritional Sciences, Department of Biotechnology, Kansai University

²⁾Department of Public Health, Kansai Medical University

³⁾Japan Clinic Co., Kyoto, Japan

Zinc (Zn) in Japanese oyster (*Crassostrea gigas*) was extracted and its bioavailability was evaluated. Extraction with 0.1N HCl was performed on a boiled Japanese oyster. After neutralization of the acid extract, precipitation formed was collected and used as the acid soluble fraction of boiled oyster (ASFO). Zn content of the ASFO was 3 to 10% in the dry basis. More than 70% of total Zn of raw Japanese oyster was recovered in the ASFO. In the fractionation by HPLC using TSK-GEL G2000SWXL, Zn in the ASFO was recovered in a single peak fraction with a molecular weight of about 6800. Zn level in this peak was increased by an exogenous addition of zinc chloride to the ASFO. Male weanling Wistar rats were pair-fed a low-Zn basal diet (Zn content, 1.4 ppm) or the basal diets supplemented with 5 ppm of Zn as zinc carbonate or the dry powder of the ASFO for 4 weeks. Zn contents of liver and tibia of the rats fed the diet supplemented with the ASFO were significantly higher than those of the rats fed the diet supplemented with zinc carbonate. These results indicate that Zn contained in the ASFO is more available than Zn in the form of zinc carbonate.

亜鉛はヒトを含む高等動物にとって必須の微量ミネラルである。わが国の亜鉛の所要量は第六次改定栄養所要量において成人1人1日9~12mgに設定されているが、日本人の平均的な摂取量は1日10mg前後と報告されており¹⁾, 摂取不足が懸念されている。

牡蠣は、他の食品に比較して著しく高濃度の亜鉛を蓄積しており、亜鉛の供給源として期待される。しかし牡蠣中亜鉛の化学形態や栄養有効性はほとんど知られていない。われわれはこれまで、牡蠣中亜鉛の形態や有効性を検討するためにいくつかの研究を行ってきた^{2,3)}。その過程において、牡蠣には亜鉛ときわめて親和性の大きい分子量数千の酸可溶性の成分が存在していると考えられた。そこで本研究では、牡蠣に含有される亜鉛の有効利用をはかる目的で、牡蠣の酸可溶性画分に含有される亜鉛の性質と栄養有効性について検討を行った。

*所在地：吹田市山手町3-3-35 (〒564-8680)

**所在地：守口市文園町10-15 (〒570-8506)

***所在地：京都市右京区太秦開日町10-1 (〒616-8555)

実験方法

1. 酸可溶性画分の調製と亜鉛回収率の検討

1999年10月に広島湾で採取された養殖マガキのむき身を実験材料とした。むき身（1個体湿重量, 6.4 ± 1.2 g）に5倍量の沸騰蒸留水を加え、5分間加熱した。ボイルむき身を取り出し10倍量の0.1N塩酸100mlを加え、37℃で24時間振盪した。得られた塩酸抽出液に1N水酸化ナトリウムを加えてpHを7付近に調整し、析出する沈殿を酸可溶性画分（Acid soluble fraction of oyster: ASFO）として遠心分離により集めた。

2. ASFO中の亜鉛含有成分の分析

以下の実験には日本クリニック(株)より供与されたASFOを用いた。ASFO 10 mgをクエン酸カリウム緩衝液（pH3.07）5 mlと混合し、37℃の恒温槽に30分放置した。遠心分離後の上清をTSK-GEL G2000WXLカラムを用いた高速液体クロマトグラフィー（HPLC）で分析し亜鉛含有成分の分離を試みた。また、ASFO 10 mgを5 mMの塩化亜鉛を含有するクエン酸カリウム緩衝液（pH3.07）5 mlと混合し、37℃の恒温槽に30分放置した。遠心分離により得られる上清を、上記と同様の条件でHPLCを用いて分析した。

3. 酸可溶性画分に含有される亜鉛の栄養有効性の検討

離乳直後のWistar系雄ラット18匹を3群に分け、1群にはカゼイン（20%）をタンパク質源とした亜鉛含量1.41 ppmの低亜鉛基本飼料を、他の2群には基本飼料に5 ppmの亜鉛を炭酸亜鉛またはASFOの形態で添加した飼料を与えてpair feedingにて4週間飼育した。飼育期間終了後、肝臓、血液、筋肉、脛骨を採取し、各組織（血液は血清と赤血球に分離）の亜鉛濃度を、原子吸光光度計を用いて測定した。

結果と考察

実験室において1個体（平均湿重量6.4 g）のマガキむき身より調製できたASFOは乾燥重量で 13.6 ± 3.6 mgであり、その亜鉛含有量は $5.68 \pm 1.70\%$ であった。実験に用いた牡蠣の亜鉛含量が1個体平均230 ppmであったことから、ASFOにはマガキむき身全体の亜鉛の73%が回収された計算になる。一方、ケルダール窒素はASFOではなく、0.1N塩酸による抽出後の残渣に68%が回収された。

日本クリニックから供与されたASFOの亜鉛含有量は3.27%であり実験室で調製したものよりやや低値であった。種々のpHの緩衝液に対する溶解性を検討したところ、ASFO中の亜鉛は中性付近の緩衝液にはほとんど溶解しなかったが、pH3前後のクエン酸緩衝液には80%近くが溶解した。

Fig. 1 (a) は、ASFO中の亜鉛含有成分をクエン酸緩衝液に溶解し、HPLCにより分離を試みたものである。亜鉛は単一の画分に回収された。分子量マーカーとの比較により、この画分の分子量は約6800と考えられた。ASFOと亜鉛イオンを含むクエン酸緩衝液の混合物のHPLCによる分析結果もFig. 1 (b) に示した。254nmの吸光度のパターンと亜鉛の溶出位置は未処理のASFOとほぼ同じであったが、亜鉛の溶出量は明らかに増加した。以上のことは、ASFO中には亜鉛と親和性の大きな分子量数千の成分（おそらくペプチド）が存在すること、そしてこの成分が亜鉛によって飽和されていないことを意味している。

栄養試験において、飼育期間終了後の各群ラットの体重（平均値±標準誤差, n=6）は、基本飼料投与群 220 ± 3 、炭酸亜鉛投与群 219 ± 6 、ASFO投与群 211 ± 4 gであり、有意差を認めなかった。また、いずれの群のラットにおいても、飼育期間中の様子や解剖所見において異常を認めなかった。これらのことから、ASFOには麻痺性貝毒や下痢性貝毒などの有害成分は含まれていないと判断された。

Table 1に、各群ラットの組織中亜鉛濃度をまとめた。血漿および赤血球においては、3群の間に亜鉛含量の差がほとんど見られなかった。肝臓と脛骨においては、ASFOを投与した群が基本飼料投与群よりも有意に高い亜鉛含量を示した。とくに脛骨におけるASFO投与群の数値は、炭酸亜鉛投与群の数値と比較しても有意に高かった。また筋肉では炭酸亜鉛またはASFOを投与した群が基本飼料投与群よりも高い亜鉛含量を示す傾向があった。以上のことは、ASFO中の亜鉛が炭酸亜鉛に比較して効率よく吸収されたことを意味する。

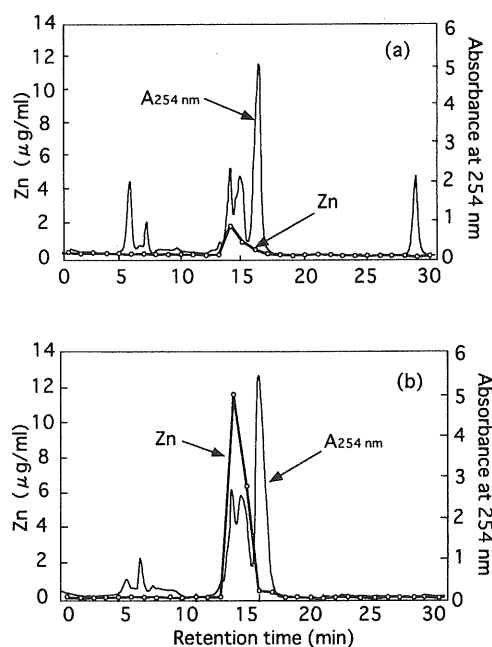


Fig. 1 Fractionation of ASFO by TSK GEL G2000SWXL in HPLC

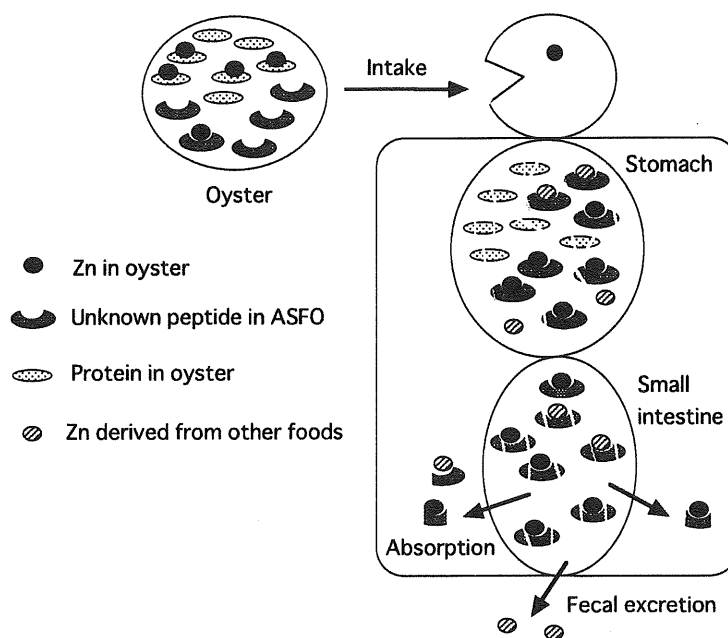


Fig. 2 Role of unknown peptide contained in ASFO in Zn absorption

Table 1. Tissue zinc contents in rats fed experimental diets

Diets	Zinc content ($\mu\text{g/g}$ wet weight or ml)				
	Plasma	Erythrocytes	Liver	Muscle	Tibia
Basal diet	0.29 ± 0.08^a	2.51 ± 0.11^a	20.8 ± 1.4^a	8.09 ± 0.60^a	13.2 ± 1.6^a
+ ZnCO_3	0.29 ± 0.07^a	2.41 ± 0.10^a	22.3 ± 0.7^{ab}	8.55 ± 0.40^a	11.8 ± 0.4^a
+ ASFO	0.29 ± 0.08^a	2.55 ± 0.03^a	25.0 ± 0.7^b	8.42 ± 0.60^a	17.2 ± 1.1^b

Values are means \pm SEM (n=6). Means in the same column not sharing a common superscript letter differ significantly ($p < 0.05$).

過去の実験結果^{2,3)}と今回の結果をもとに、牡蠣中亜鉛の消化吸収における動態を Fig. 2 のように推定した。生牡蠣中で亜鉛の大半は高分子のタンパク質等に結合しており、ASFO中に存在すると考えられる亜鉛と親和性の高いペプチドと結合しているものは少ない。しかし、いったん摂取されると、胃のpH条件下において、牡蠣亜鉛は高分子成分から解離し、その大半は酸可溶性画分に存在するペプチドに結合する。このペプチドは亜鉛で飽和されていないために、他の食事成分由来の亜鉛とも結合可能と考えられる。この亜鉛を結合したペプチドはその後も消化を受けるが、亜鉛とは結合した状態で小腸粘膜から効率よく吸収される。つまり、牡蠣のASFOに存在する、亜鉛ときわめて親和性の大きな未知の成分は、ミルク中のカゼインホスホペプチドと同様の作用によって、食餌由来の亜鉛の吸収率を高める可能性があると考えられる。以上より、ASFO中の亜鉛の栄養有効性はきわめて高く、ASFOは高亜鉛含量の食品素材として利用できる判断される。

文 献

- 1) 小林香苗, 鈴木継美 (1987) 栄食誌 40 : 233.
- 2) 吉田宗弘, 大原千加子, 福永健治, 松田芳和, 太田隆男, 柴田幸雄 (1999) 微量栄養素研究 16 : 105.
- 3) 辻 貴之, 阪口正洋, 保田亮二, 福永健治, 松田芳和, 太田隆男, 柴田幸雄, 吉田宗弘 (2000) 微量栄養素研究 17 : 153.