

牡蠣から調製した亜鉛濃縮物の性質

吉田 宗弘¹⁾, 平田 登¹⁾, 木谷 祥子¹⁾, 松田 芳和²⁾
(¹⁾関西大学工学部食品工学研究室*, (²⁾日本クリニック中央研究所**)

Characteristics of Zinc-rich Fraction Prepared from Oyster

Munehiro YOSHIDA¹⁾, Noboru HIRATA¹⁾, Sachiko KITANI¹⁾, Yoshikazu MATSUDA²⁾
¹⁾Laboratory of Food and Nutritional Sciences, Faculty of Engineering, Kansai University
²⁾Japan Clinic Co., Kyoto, Japan

Summary

We have already obtained zinc-rich fraction (ZRF) from boiled oyster by extraction with 0.1 N HCl followed by neutralization and heating (patent No. 3267962). In the present study, to evaluate a nutritional availability of the ZRF, several characteristics of the ZRF were investigated. An insolubilization of zinc in the 0.1 N HCl-extract of boiled oyster was promoted with an elevation of pH. In particular, a rapid insolubilization was observed at pH 6.5 to 7.5 independently to the insolubilization of ninhydrin positive substances. This indicates that zinc recovered into the ZRF by the neutralization is mostly present as zinc hydroxide. Zinc in the ZRF was more soluble in solutions containing citrate or casamino acids than zinc as a form of zinc carbonate. Zinc in the ZRF could be solubilized by digest of protein or organic acids in a digestive tract; intestinal absorption of zinc in the ZRF may be higher than that of zinc carbonate.

牡蠣は亜鉛を特異的に高濃度に含有する食品として知られており、亜鉛の供給源として注目されている。牡蠣を原料とした食品素材として牡蠣の熱水抽出物である牡蠣肉エキスが市販されている。しかし牡蠣中の亜鉛は熱水へはほとんど溶出しなため、その大半（約90%）は熱水抽出後の残渣とともに廃棄されていた。われわれはこの残渣に含有される亜鉛を0.1N塩酸で抽出し、抽出液を中和・加熱することによって牡蠣亜鉛の70~80%を濃縮物（Zinc-rich fraction: ZRF）として回収する技術を確認した¹⁾。あわせてZRFに含有される亜鉛が無機の炭酸亜鉛よりも効率よくラットの骨に取り込まれ、ZRF中の亜鉛の栄養有効性が高いことを明らかにした²⁾。

本研究では、動物実験によって示唆されたZRF中亜鉛の高栄養有効性を確認する目的で、ZRF中亜鉛の存在形態と溶解性を検討した。

実験方法

養殖マガキ (*Crassostrea gigas*) のむき身（1個体重量約20 g）に5倍量の沸騰蒸留水を加え5分間煮沸した。煮沸後のむき身に10倍量の0.1N塩酸を加え、37℃で24時間緩やかに振盪し抽出を行った。この塩酸抽出液に1N水酸化ナトリウムを加えてpHを4~9に調整し、室温に30分間静置後、析出した沈殿を6000×g、20分の遠心分離で除き、上清に残存している亜鉛とニンヒドリン陽性物質を定量した。

*所在地：吹田市山手町3-3-35（〒564-8680）

**所在地：京都市右京区太秦開日町10-1（〒616-8555）

亜鉛換算で450 μg に相当するZRF（日本クリニック社調製¹⁾，亜鉛含有量4.5%），または塩基性炭酸亜鉛に蒸留水，トリス緩衝液（pH 7.4, 50 mM），クエン酸緩衝液（pH 3.0, 50 mM），または0.5～5.0%カザミノ酸水溶液をそれぞれ10 ml加えて十分に攪拌した後，不溶物を6000 \times g, 20分の遠心分離，およびメンブレンフィルター（0.45 μm ）で除き，上清に溶解している亜鉛を定量した。また，クエン酸緩衝液を使用した場合の上清をHPLC-ICPMS（カラム：TSK-GEL G2000WXL，移動相：クエン酸緩衝液（pH 3.0, 50 mM），亜鉛の検出：質量数66）で分析した。

結果と考察

煮沸したマガキむき身の塩酸抽出液中亜鉛濃度は27.3 ppm (4.2×10^{-4} M)，ニンヒドリン陽性物質濃度はロイシンを標準物質としたとき1.25 mg/mlであった。

Fig. 1は，塩酸抽出液を種々のpH条件下においたとき，不溶化せずに上清に残存する亜鉛とニンヒドリン反応陽性物質の比率を示したものである。酸性側のpHでは亜鉛とニンヒドリン陽性物質の不溶化はほぼ並行していたが，中性付近においては亜鉛のみが急激に不溶化し，pH 7では不溶物（ZRF）に亜鉛の約85%，ニンヒドリン陽性物質の約60%が回収された。

日本クリニック社が調製したZRFのアミノ酸組成を測定すると，生のマガキむき身に比較してアルギニンとリジンの割合が高かった（マガキむき身約14%，ZRF約27%）。ZRF中の亜鉛はこれらのアミノ酸によって構成される塩基性ペプチドに吸着・結合している可能性が考えられるが，**Fig. 1**に示した結果は，少なくとも中性付近での亜鉛の不溶化がペプチドの不溶化とは独立して生じることを意味している。亜鉛水和物の溶解性が中性から弱アルカリ性において著しく低いことが知られており³⁾，中性付近のpHで沈殿する亜鉛はその大半が水酸化亜鉛であると思われる。以上より調製したZRFは水酸化亜鉛と塩基性ペプチド類の混合物と考えられる。

Table 1は，種々の溶液に対するZRF中亜鉛の溶解性を炭酸亜鉛と比較したものである。ZRF中の亜鉛は蒸留水や中性付近の緩衝液には不溶であったが，クエン酸緩衝液には可溶であった。また中性付近のpHであってもカゼインの加水分解物であるカザミノ酸溶液には濃度依存的に可溶であった。また，表には記載していないが中性付近のトリス緩衝液にクエン酸を加えた場合にもZRF中の亜鉛は可溶であった。これに対して，塩基性の塩である炭酸亜鉛は，蒸留水や中性付近の緩衝液にはほとんど溶解せず，クエン酸やカザミノ酸溶液に対する溶解性もZRFに比較して低かった。

Fig. 2にZRFのpH 3.0のクエン酸緩衝液可溶画分をHPLC-ICPMSで分析した結果を示した。ZRF中の亜鉛の溶出位置は硝酸亜鉛（無機の亜鉛イオン）を同じ条件で分析した場合と同じであった。このことはクエン酸緩衝液中で亜鉛がZRFに含まれるペプチド類とは無関係な形態で存在していることを意味している。したがって，ZRFの亜鉛は，一部

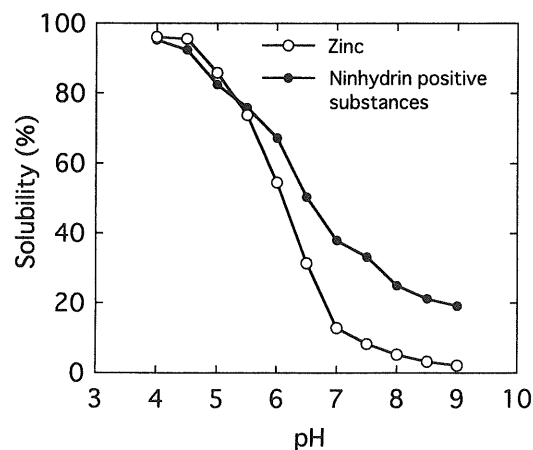
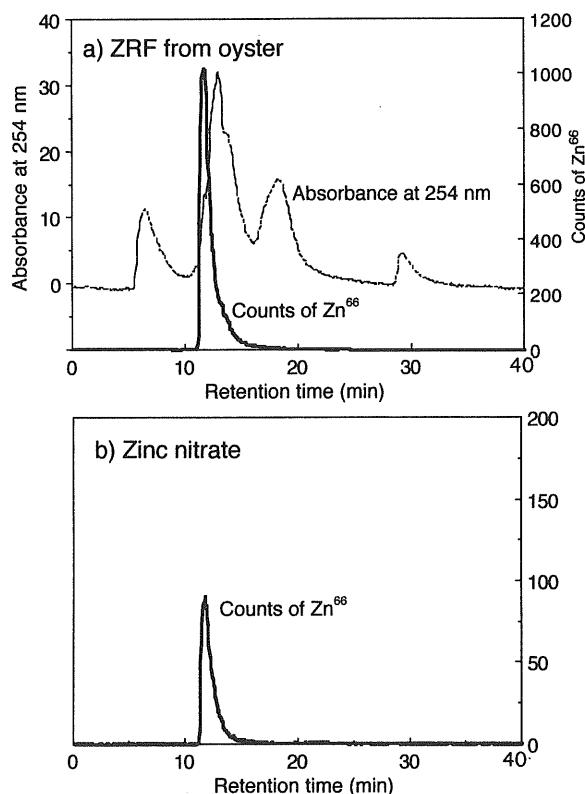


Fig.1 Dependency of pH for insolubilization of zinc and ninhydrin positive substances in 0.1 N HCl-extract from boiled oyster.

Table 1 Solubility of zinc in zinc-rich fraction (ZRF) from oyster and zinc carbonate

Solvent	Solubility (%)	
	ZRF	Zinc carbonate
Water	9.3 ± 2.1	2.3 ± 0.8
Tris buffer, pH 7.4, 50 mM	7.5 ± 0.6	8.4 ± 0.9
Citrate buffer, pH 3.0, 50 mM	80.6 ± 5.2	32.3 ± 3.2
Casamino acids, 0.5%	53.4 ± 2.1	27.5 ± 1.4
Casamino acids, 1.0%	71.0 ± 1.7	45.7 ± 6.9
Casamino acids, 5.0%	86.0 ± 5.0	76.5 ± 4.7

**Fig. 2** Analysis of ZRF from oyster by HPLC-ICPMS.

a) Ten mg of the ZRF were mixed with 10 ml of sodium citrate buffer (50 mM, pH 3.0). After the centrifugation with 6,000 x g for 20 min, the supernatant was applied onto the HPLC-ICPMS system.

b) Standard zinc solution (5 ppm Zn in 0.1% HNO₃) was applied onto the HPLC-ICPMS system.

Condition of the system was as follows: column, TSK-GEL G2000WXL; mobile phase, sodium citrate buffer (50 mM, pH 3.0); flow rate, 1.0 ml/min; detection, absorbance at 254 nm and counts of Zn⁶⁶.

がたとえ塩基性のペプチドに吸着・結合していたとしてもその親和力はきわめて弱く、有機酸やアミノ酸などの他の成分に容易に吸着・結合して可溶化すると考えられる。

亜鉛はその化学形態とは無関係に0.1 Nの塩酸に可溶である。たとえば、マガキむき身のホモジネートに0.1 N塩酸を加えると含有される亜鉛の90%以上が可溶化される⁴⁾。しかし胃酸のpHは分泌時には1未満であるが、胃酸と食塊と混和した状態の胃内pHは3~4をこえているといわれている⁵⁾。ゆえに食品中亜鉛の一部は胃で可溶化されずに十二指腸に到達している可能性があり、十二指腸以降の消化管内で食品中亜鉛と共存する可能性のある有機酸やアミノ酸が

亜鉛をどの程度可溶化するかを検討することは意味がある。Table 1に示したように、クエン酸やアミノ酸混合物（カザミノ酸）による可溶化の程度は、ZRFに含有される亜鉛の方が炭酸亜鉛よりも大きかった。したがって先の動物実験²⁾において、ZRFに含有される亜鉛が無機の炭酸亜鉛よりも効率よく骨に取り込まれたのは、消化管内においてZRF由来の亜鉛が炭酸亜鉛よりも可溶化されやすく、効率よく吸収されたことを反映しているのかもしれない。

文 献

- 1) 製法特許 No.3267962
- 2) 辻 貴之, 菊池祐子, 中塚千晶, 木谷祥子, 福永健治, 西山利正, 松田芳和, 吉田宗弘 (2001) 微量栄養素研究 18: 63.
- 3) Wilber WG, Hunter JV, Balmat J (1980) Zinc in the Environment, Part I (ed. by JO Nriagu), p. 229-266, John Wiley & Sons.
- 4) 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.
- 5) 武藤泰敏 (1976) 消化と吸収, p.110-131, 第一出版.