

牡蠣に含まれる亜鉛の人工消化試験における動態

辻 貴之¹⁾, 阪口正洋¹⁾, 保田亮二¹⁾, 福永健治²⁾,
松田芳和³⁾, 太田隆男³⁾, 柴田幸雄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***)

In Vitro Digestibility of Zinc Contained in Oyster

Takayuki TSUJI¹⁾, Masahiro SAKAGUCHI¹⁾, Ryoji YASUDA¹⁾, Kenji FUKUNAGA²⁾, Yoshikazu MATSUDA³⁾,
Takao OHTA³⁾, Yukio SHIBATA³⁾, Munehiro YOSHIDA¹⁾

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

Faculty of Engineering, Kansai University

²⁾Department of Public Health, Kansai Medical University

³⁾Central Research Institute, Japan Clinic Co. Ltd.

In vitro digestibility of zinc contained in oyster was studied. Oyster (*Crassostrea gigas*) was boiled in water for 5 min and then homogenized. The homogenate was incubated with Tris-HCl buffer (pH 7.4) or 0.1N HCl. Rate of soluble zinc in Tris buffer or 0.1 N HCl was 15 or 87%, respectively. When the homogenate was digested with pepsin in 0.1 N HCl, the rate of soluble zinc was increased to 92%, but when the pepsin-digest was further digested with trypsin, the rate of soluble zinc was lowered to 56%. In a Sephadex G-25 gel chromatography of the pepsin digest, zinc was recovered in one low molecular weight (<10,000) fraction. This zinc fraction was further digested by trypsin because zinc was recovered in plural lowered molecular weight fractions in a fractionation of the pepsin-trypsin digest by Sephadex G-25.

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、日本人の平均的摂取量は1日10mg前後

* 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：京都市下京区中堂寺南町17 京都リサーチパーク (〒600-8813)

と報告されていることから不足が懸念されている¹⁾。一方、牡蠣は亜鉛を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。われわれは牡蠣の亜鉛濃度には明確な季節変動のあることを認めた²⁾。しかし牡蠣中亜鉛の存在形態についてはあまり知られていない。一般に食品中の微量ミネラルは、食品ごとにその有効性に差があるといわれており、牡蠣中亜鉛についてもその有効性を解明する必要がある。本研究では、牡蠣中亜鉛の有効利用を図るための基礎的な情報を得る目的で、牡蠣に含まれる亜鉛の人工消化試験時の動態について検討した。

実験方法

生牡蠣の可溶性亜鉛の検索：1998年4, 6, 8, 11月に広島湾内で採取された養殖マガキ (*Crassostrea gigas*) のむき身をホモジナイズし、4倍量の50mMトリス塩酸緩衝液 (pH 7.4) で希釈後、10,000 × g, 120分間の遠心によって上清と沈澱に分離し、それぞれの亜鉛濃度を原子吸光法で測定した。さらにそれぞれの可溶性画分3mlをSephadex G-75カラムクロマトグラフィー (20mmφ × 60cm, 1画分6.2ml) で分画し、亜鉛含有成分を検索した。

人工消化試験における亜鉛の動態：1998年11月に広島湾内で採取された養殖マガキのむき身1個体分(約20g)を、5倍量の沸騰蒸留水中で5分間加熱した。加熱終了後むき身を取り出し、ホモジナイズした。ホモジネート5gに200mgのペプシンを含む0.1N塩酸100mlを加え、37℃で3時間反応させた。反応終了後、1Nの水酸化ナトリウム溶液でpHを7.6に調整し、5mgの結晶トリプシンを含む10mlのトリス塩酸緩衝液 (50mM, pH 7.4) を加え、37℃でさらに3時間反応させた。反応終了後の人工消化物は速やかに遠心して上清と沈澱に分離し、それぞれのFolin反応陽性物質と亜鉛濃度を測定した。また可溶性画分5mlをSephadex G-25カラムクロマトグラフィー (30mmφ × 80cm, 1画分8.8ml) で分画し、各画分の280nmの吸光度と亜鉛含量を測定した。

結果と考察

4, 6, 8, 11月に採取した牡蠣における可溶性亜鉛の割合は8~22%の範囲であり、採取月による明瞭な差を認めなかった。Fig. 1はこれら4つの月に採取した牡蠣の可溶性画分をSephadex G-75ゲルクロマトグラフィーで分画し、各画分の280nmにおける吸光度と亜鉛濃度を測定したものである。6月を除く月の亜鉛の溶出パターンやピークの位置はほぼ一致しており、6月を除く3つの月に採取された牡蠣に含まれる可溶性亜鉛は分子量数万以上の高分子画分と分子量数千の画分に分離された。以上のことより牡蠣に含まれる亜鉛は、量的にも質的にも季節的变化してはいるが、食用とされる11月から5月に採取されたものは比較的安定していると判断できた。

Fig. 2は、11月に採取された牡蠣をボイル後、調製したホモジネートから種々の条件で可溶化されるFolin反応陽性物質と亜鉛の割合を示したものである。Folin反応陽性物質はアミノ酸やペプチドに相当するので、この数値は牡蠣のタンパク質の消化の進行を示す。ボイル牡蠣のホモジネートに20倍量のトリス緩衝液を加えた場合、可溶化される亜鉛は15%に過ぎなかった。これは生牡蠣のホモジネートにトリス緩衝液を加えた場合と同様の数値であった。またボイル牡蠣の可溶性画分のSephadex G-75ゲルクロ

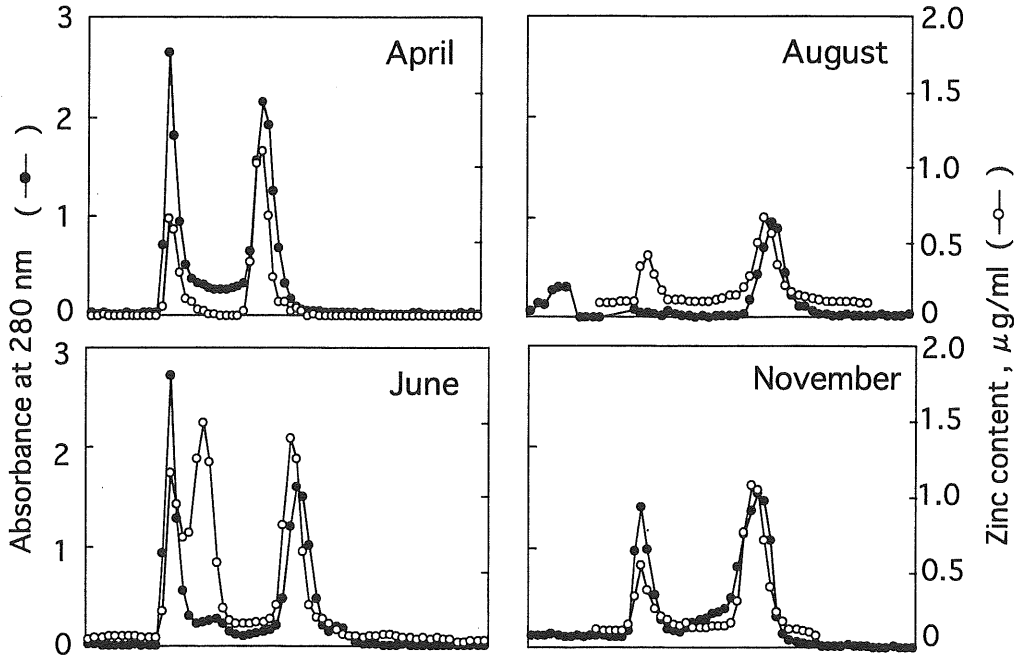


Fig. 1 Fractionation of soluble fraction of oyster collected on April, June, August and November by Sephadex G-75 chromatography

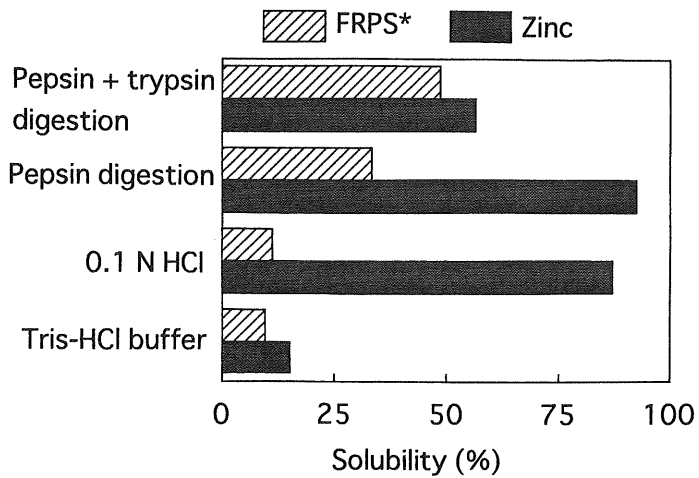


Fig. 2 Solubilization of zinc and Folin reaction positive substances from homogenate of boiled oyster
FRPS: Folin reaction positive substances

マトグラフィーの分画パターンも、Fig. 1に示した生牡蠣の場合と同一であった。このことから牡蠣を5分間ボイルしても、含有される亜鉛画分に大きな変化は生じていないと判断された。

これに対して、ボイル牡蠣のホモジネートに20倍量の0.1N塩酸を加えると87%の亜鉛が可溶化された。塩酸を加えた後に、3時間ペプシン消化を行うと90%以上の亜鉛が可溶化された。このペプシン消化物をpH7.6に調整し、さらにトリプシン消化した場合には、56.3%の亜鉛が可溶性画分に回収された。

Fig. 3はペプシン消化物の可溶性画分をSephadex G-25で分画し、280nmの吸光度と亜鉛含量を測定した結果を示したものである。上段はトリス緩衝液、下段は0.1N塩酸をそれぞれ展開溶媒としている。いずれの場合も亜鉛は分子量数千付近に単一のピークとして検出され、Fig. 1に示した生牡蠣の可溶性画分に存在した高分子性亜鉛はまったく認められなかった。生牡蠣の高分子画分に認められた亜鉛は結合が緩やかなため、酸性条件下で遊離したものと考えられた。またこれらのクロマトグラフィーにおける亜鉛の回収率がほぼ100%であることから、高分子画分から遊離した亜鉛は分子量数千の画分に移行したと推測された。分子量数千の亜鉛画分は酸性条件下でも亜鉛が遊離していないことから、牡蠣には亜鉛ときわめて親和性の高いペプチドが存在すると考えられた。

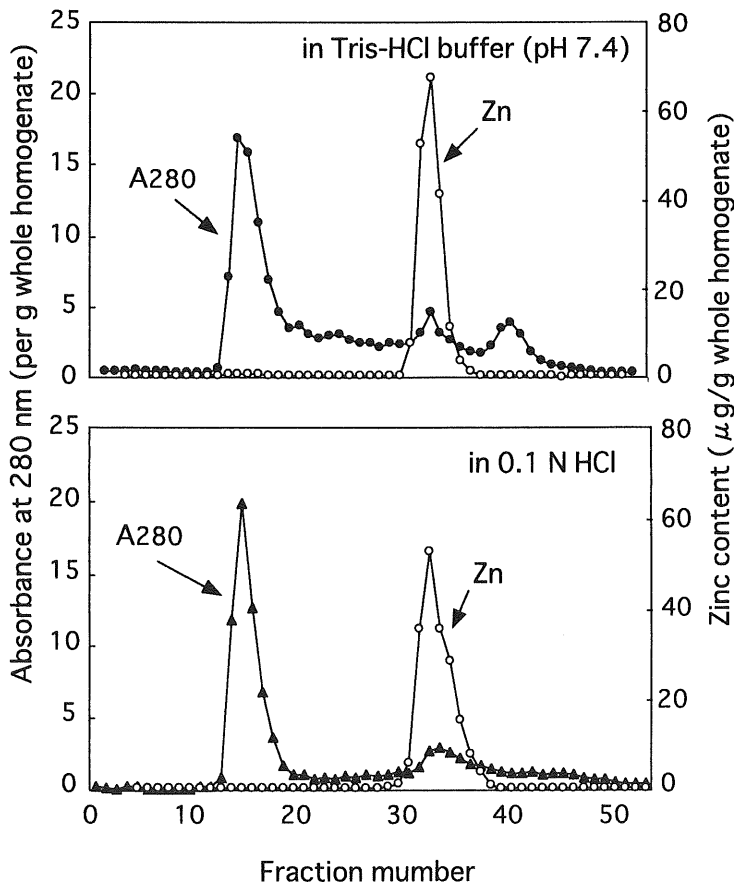


Fig. 3 Fractionation of pepsin-digest of boiled oyster homogenate by Sephadex G-25 chromatography

Fig. 4は、ペプシン-トリプシン消化物の可溶性画分をSephadex G-25で分画した結果である。ペプシン消化物の場合 (Fig. 3) と比較して亜鉛濃度のピークの位置は低分子側に移行し、その後もいくつかのピークが認められた。このことから、亜鉛を含有するペプチドが、トリプシンによって、部分的ではあるが、消化されていることが確認できた。

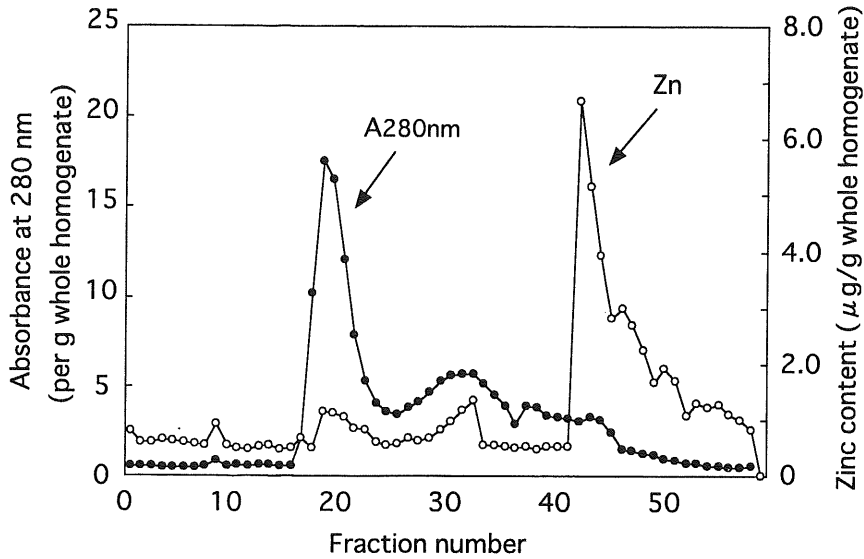


Fig. 4 Fractionation of pepsin-trypsin digest of boiled oyster by Sephadex G-25 chromatography

以上のことから牡蠣の亜鉛は、①胃酸存在下においては容易に可溶化される、②吸収部位である小腸のpH環境では、未消化であれば可溶化率は低いが、タンパク質分解酵素による消化が進行すれば50%以上が可溶化される、③タンパク質分解酵素による消化が進行すると低分子化される、と考えられた。牛肉中の亜鉛はトリプシン消化後も分子量1万以上のタンパク質に非特異的に結合していることが報告されており³⁾、牡蠣中亜鉛が消化とともに低分子化されることはきわめて特徴的といえる。詳細はさらに検討が必要であるが、今回の結果からは、牡蠣に含有される亜鉛の消化吸収性は少なくとも牛肉中のそれよりも高いと予想できる。

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) 池田小夜子 (1980) 栄養と食糧: 33, 385.