

オイスターエキス中の亜鉛（その他金属）の存在形態

太田 隆男・中塚 正博・野村 潤一郎

大久保 雅啓・柴田 幸雄

（愛知医科大学学生化学教室*）

Distribution and Status of Zinc and Other Minerals in Oyster Extract

Takao OHTA, Masahiro NAKATSUKA, Jun-ichiro NOMURA

Masahiro OHKUBO and Yukio SHIBATA

Department of Biochemistry, Aichi Medical University

Raw oyster which contains various minerals such as zinc was extracted with hot water (80°C) and separated by gelfiltration (Sephadex G-50) to obtain the low molecular weight fraction. Zinc containing fraction was separated into two parts, one part was eluted at void volume and another part was eluted below about M. W. 2000.

Zinc in this fraction migrated less than Zinc²⁺ of zincsulfate. Then low molecular weight fraction was rechromatographed with Toyopearl HW-40 F. Amino acids, Ninhydrin reaction and ultra-violet absorption of this fraction were analyzed. Taurine, Pro, Gly, Ala were detected mainly in this fraction. Zinc in low molecular weight fraction was separated into three fractions. Main fraction of zinc was eluted at the same place where UV positive fraction was eluted. This UV positive fraction was purified by Dowex ion exchange chromatography. It was speculated Homarine with infrared spectrum and UV spectrum. The mixture of taurine and zincsulfate was also examined. It was separated by Sephadex G-10. Zinc in this mixture was eluted at the same place where zincsulfate was solely separated by Sephadex G-10.

微量金属類の生理作用や栄養学的な研究は近年数多くなされている¹⁾。微量金属の種類及び量において、水産のそれらと陸産の間には差がある。カキは高濃度に亜鉛を含む食品の一つである²⁾。我々はカキの抽出エキスを経口投与したアロキサン糖尿ラットにおいて、その血小板凝集能に対する影響及びGTTの結果その血糖値は、有意に低値を示すことを報告した^{3,4)}。

*所在地：愛知県愛知郡長久手町大字岩作字雁又21（〒480-11）

血糖値に対する亜鉛の作用については Scott が、結晶インシュリンとその構造維持の役割を示して以来⁵⁾、種々の研究がなされている。亜鉛の投与と血糖値については相反する研究がある^{6,7)}。我々は、亜鉛のカキ抽出エキス中での存在状態について検討を行ったので報告する。

実 験 方 法

I) カキ抽出エキス (OE) の調製は、前報告と同様で行った。

II) ゲルろ過クロマトグラム

調製した OE を凍結乾燥した後、再度蒸留水にて溶解後、セファデックス G-50及び G-10、トーヨーパール HW-40-F をゲルろ過材として使用し蒸留水にて溶出した。セファデックス G-10の場合、ろ材はあらかじめソジウムボロハイドライドにて還元し金属類との相互作用を軽減した。

III) 金属類の分析

常法に従い、湿式灰化した後、島津社製フレーム型原子吸光分析機にて分析した。

尚、ゲルろ過後の試料については、直接噴霧法とした。

IV) 紫外部吸収及びニンヒドリン陽性物質の検索

ゲルろ過後の溶出液に対して紫外部吸収 (O. D. 260, 280nm) とニンヒドリン反応を常法にて測定した。

V) アミノ酸分析

日立自動アミノ酸分析機にて常法に従い分析を行った。尚、Pro. 並びに Trp., Cys. については別途定量した。

VI) ろ紙電気泳動

低分子側の亜鉛を含んだ画分に対して、その電氣的泳動パターンを検討する目的で、水平式電気泳動装置 SJ-1078型 (アトー社製) を用い、東洋口紙 No.51A の原点にスポッティングし、支持電解質として 0.05M 酢酸ナトリウムを用いて、300V 定電圧で 1 時間泳動させた。比較検討の為、硫酸亜鉛の溶液もスポッティングし、同様に泳動させた。泳動時の経時的移動度を検討すると共に、各時間 (10分, 30分, 60分) において、ろ紙を 10mm 間隔で切断後、0.5% 硫酸 10ml で攪拌抽出後その部分の亜鉛及びアミノ酸分析を行った。

VII) タウリンと Zn のキレート化合物の調製及びゲルろ過 (セファデックス G-10) による確認

Zn とタウリンをモル比で 1 : 2 になるように水溶液を硫酸亜鉛及びタウリン (和光純薬製) で調製した後蒸留水を溶出液として溶出した。

VIII) トーヨーパール HW-40F で亜鉛を多量に含有するフラクションの精査

セファデックス G-50及びトーヨーパール HW-40F で分画した、亜鉛含有フラクションの中で最も多量に亜鉛を含むフラクションの紫外部吸収の検討及び活性炭処理、Dowex 50W×4 を使用して、陽イオン交換を 0 ~ 3 N 塩酸濃度勾配にて分配した。

結果及び考察

カキ抽出エキス中のセファデックス G-50での分画の結果, その分布は高分子部分 (Vo 付近) と, 低分子部分 (MW < 2000) に大別することが出来, 又その低分子部分は量的にも大きな部分を占めることが分かった。他の金属分布も大体同じ場所付近に溶出される。このことは, 他の陸上の植物, 大豆, 小麦胚芽等の亜鉛の分布とは明らかに相違する。再度のゲルろ過の結果からその低分子部分の亜鉛には 2 ~ 3 の分布が存在する様に思われる。

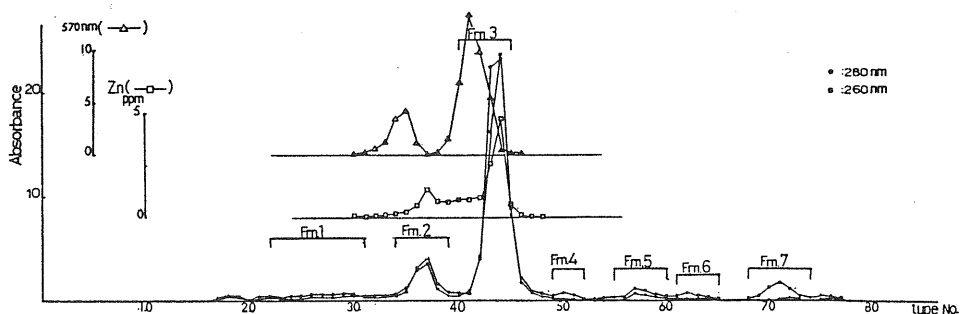


Fig.1. Gel chromatographic pattern of Zn and ninhydrine positive substances content (Toyopearl HW-40F).

Table 1. Amino acid composition of Zn-rich fraction

Tau	121.91
Asp	0.54
Gln	n.d.
Thr	2.12
Ser	1.67
Asn	n.d.
Glu	0.24
Pro	23.92
Gly	14.66
Ala	12.14
Cys	0.44
Val	1.54
Met	1.11
Ile	0.91
Leu	1.84
Tyr	n.d.
Phe	0.35
Lys	2.60
His	1.61
Trp	n.d.
Arg	2.72

μmol/ml

n.d. : not detected

その一番大きな Frn. は紫外部吸収 (260nm, 280nm) のピークと一致する (Fig. 1)。G-50にて分画した亜鉛高濃度含有分画の、遊離のアミノ酸分析を行った所、その部分にはタウリン, Pro. Ala. Gly. が多く含まれていた (Table 1)。又、口紙電気泳動の結果亜鉛含有 Frn. の移動度は小さく原点付近に留まり、硫酸亜鉛とはその挙動を異にした。又その部分のアミノ酸分析から、Tau. Ala. Gly. が主要な遊離アミノ酸であった (Fig. 2)。Tau. は含硫アミノ酸の一つであり一般にキレート化合物を作る場合が多い。その安定化定数については桜井らの報告がある⁸⁾。タウリンと金属類とがカキ中で Complex を作っているという中島らの報告がある⁹⁾。そこで Tau.-ZnSO₄ の Mixture をセファデックスG-10で溶出したが、Tau. と Zn は別々の位置に溶出された (Fig. 3)。このことにより Tau. と Zn は容易にはキレ-

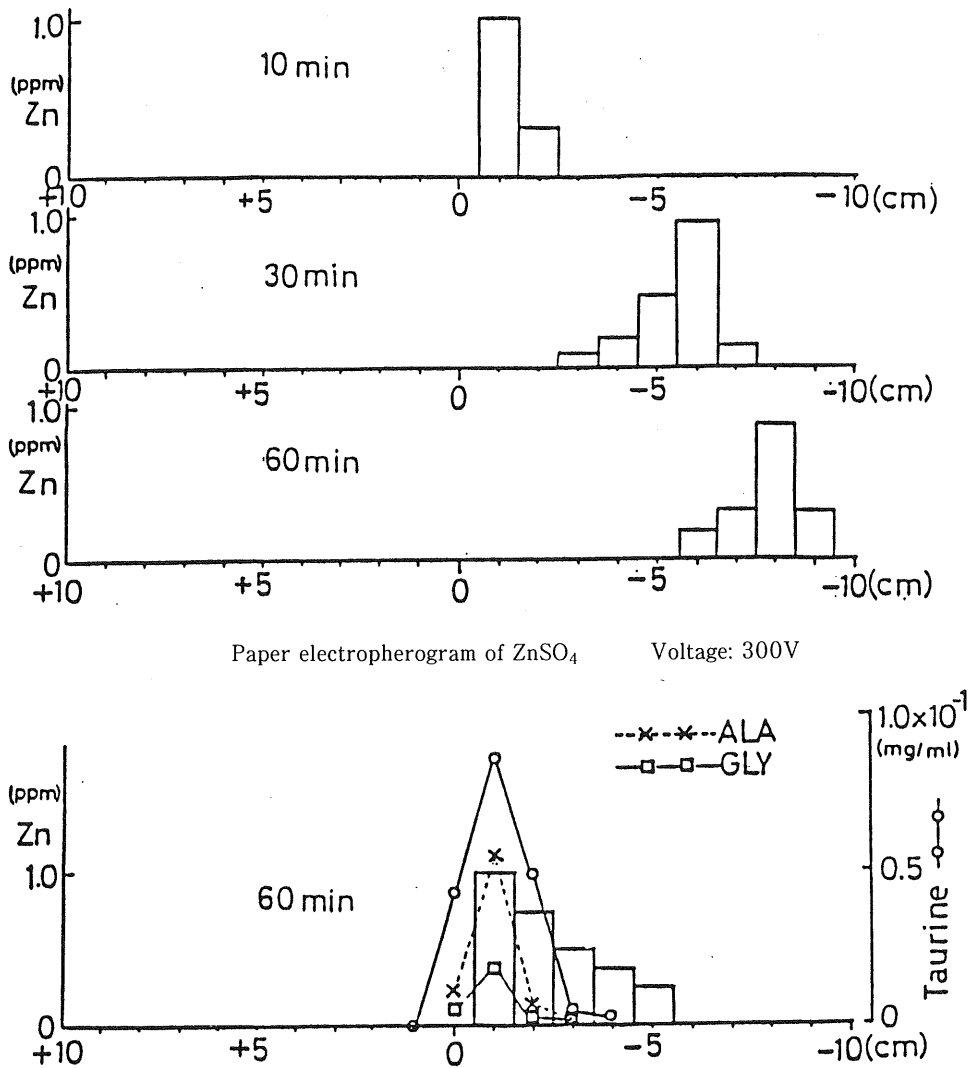


Fig. 2. Paper electropherogram of Zn and taurine in the low molecular weight fraction of oyster extract. Voltage: 300V

ト化合物を作らないのではないかと想定される。中島らの研究によればカキ中の Zn は Tau. とキレート化合物を作っているとの報告があるが、その可能性は本実験からは認められなかった。次に亜鉛高濃度含有 Frn. の紫外吸収的特徴 ($\lambda_{\text{Max}} = 272.8\text{nm}$) が核酸類、アミノ酸の一部とは異なる為、塩酸グラジエントにて分離した。この物質 (X) は紫外吸収、IR 等の結果からホマリンと推定しうる (Fig. 4)。ホマリンが、このように Zn が多く含まれる部分に多量に存在することは、今後、Zn との結合の可能性及び水産物中でのホマリンの存在意義に対して、有意義な事であると思われる。

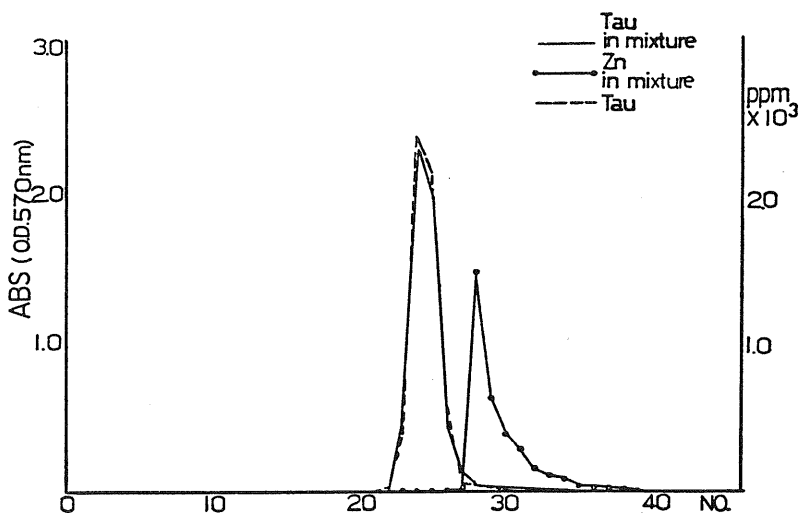


Fig. 3. Chromatography of taurine and taurine-Zn mixture on Sephadex G-10.

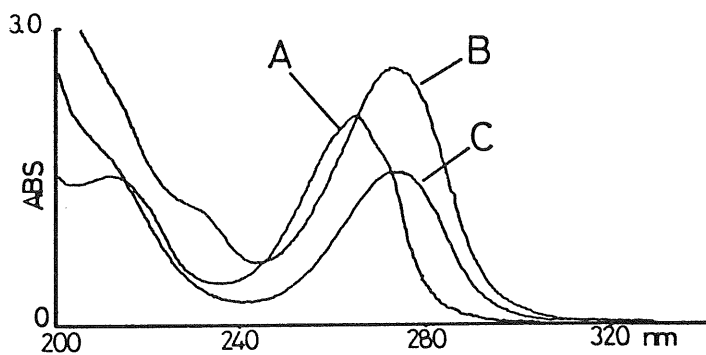


Fig. 4. UV absorbing curve of picolinic acid(A), homaline(B), component X(C).

謝 辞

ホマリン標品を頂き、又、種々のご意見を戴きました東京水産大学 平野敏行教授、研究の遂行に当たり数多くのご忠告、ご援助を戴きました(株)日本食品開発研究所 田中達郎博士、日本クリニック(株)野村光義社長に心から感謝致します。

文 献

- 1 . WALTER, M. ed (1986) Trace Elements in Human and Animal Nutrition-Fifth Ed. Academic Press (Orland) Ed. WALTER MERTZ
- 2 . HAMBIDGE, K. M. and N. F. KREKES, *ibid* : pp.100~104
- 3 . 太田隆男ら (1985) 微量栄養素研究 vol 2 : pp.169~180
- 4 . 太田隆男ら (1986) 微量栄養素研究 vol 3 : pp.61~68
- 5 . SCOTT, D. A. (1934) *Biochem. J.* 28 : 1592
- 6 . QUANTERMAN, J. et al. (1966) *Biochem. Biophys. Res commun.* 25 : pp.354
- 7 . KIRCHGESSNER, M. and H. ROTH (1980) In "Zinc in the Environment" Part.2. Wiley. New York : pp.71
- 8 . 桜井 弘 (1980) 含硫アミノ酸 3 : pp.305~310
- 9 . 児玉陽太郎ら (1981) *衛生化学* 27 : pp.56~61