

カキに含有される亜鉛の消化性

吉田 宗弘¹⁾, 隅田 奈都美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**)

Digestibility of Zinc Contained in Oysters

Munehiro YOSHIDA¹⁾, Natsumi SUMIDA¹⁾, Yoshikazu MATSUDA²⁾

¹⁾Laboratory of Food and Nutritional Sciences, Faculty of Engineering, Kansai University

Yamate Suita Osaka 564-8680, Japan

²⁾Japan Clinic Co. Kai-nichi Uzumasa Ukyo Kyoto 615-8555, Japan

Summary

To obtain information on the luminal absorption of oyster (*Crassostrea gigas*) zinc, the zinc action during an *in vitro* protease digestion of oysters was examined. More than 90% of the zinc was solubilized at pH 1.3 or 3.0 irrespective of the pepsin digestion. The solubilized zinc was partially re-precipitated by neutralization and trypsin digestion did not solubilize the re-precipitated zinc. When the pepsin digestion was performed at pH 5.0, the ratio of soluble zinc in trypsin digest decreased. When the trypsin digest was fractionated by Sephadex G-25, zinc was eluted later than the peptide fragments. These results indicate that the pH of the stomach juice rather than peptides released by the digestion of oyster protein highly contributes to the solubilization of oyster zinc in small intestine.

カキは亜鉛を大量に含有する食品として知られており、亜鉛の摂取不足が懸念される日本人の亜鉛の供給源として有望である。一方、食品中ミネラルの栄養有効性は、様々な要因によって影響を受けるため、化学分析値との間にしばしば大きな齟齬を生じる場合がある¹⁾。したがって、亜鉛の供給源としてのカキの位置付けを厳密に行うには、カキ中亜鉛の栄養有効性について精査する必要がある。

亜鉛の場合、栄養有効性にもっとも大きく影響するのは消化吸収率である。亜鉛の消化管からの吸収は様々な食事由来の共存成分の影響を受け、一般にはアミノ酸、ペプチド、有機酸類は促進的に、フィチン酸や食物繊維類は抑制的に作用するといわれている²⁾。本研究では、カキ中亜鉛の栄養有効性を明らかにする第一歩として、カキのみを摂取した場合を想定し、カキをプロテアーゼ類で処理した場合の含有亜鉛の動態を検討した。

実験方法

1. 試料：2002年4月に広島湾北部で採取された養殖マガキ (*Crassostrea gigas*) の4個体 (殻面積：28.9 ± 6.1 cm², むき身重量：19.7 ± 3.9 g) を試料とした。
2. カキ中の可溶性亜鉛の分析：カキむき身を1個体ずつ、ブレンダー (Cell Master CM-100) にてホモジナイズした。ホモジネートの5 gを20 mlのトリス塩酸緩衝液 (pH 7.4, 50 mM) と混合した後、遠心分離 (6,000 × g, 20分) した。得られた上清を高速液体クロマトフィー (HPLC) で分析した。分析条件は以下のとおりである。カラム, TSK-GEL2000SW_{XL} (Tosoh); 移動相, トリス塩酸緩衝液 (pH 7.4, 50 mM) または0.1 M塩化ナトリウム; 検出, 280 nm

*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)

の吸光度と質量数66のイオン粒子（誘導結合プラズマ質量分析器（島津ICPM-8500）でモニター）。またこれとは別に上清5 mlをSephadex G-25を充填したカラム（3.0 ϕ \times 40 cm）で分画（溶媒：トリス塩酸緩衝液（pH 7.4, 50 mM）または0.1 M塩化ナトリウム）し、各画分の亜鉛濃度（原子吸光で分析）と280 nmの吸光度を測定した。

3. プロテアーゼによる消化試験：カキホモジネート1 gに100 mgの豚由来ペプシンを含む0.1 N塩酸50 mlを加え、37℃で3時間反応させた。この反応系のpHは1.3であった。異なるpH条件下でペプシン消化を行う場合は、ホモジネートをペプシン水溶液と混合し、よく攪拌してから1 M塩酸を滴下してpHを調整した。ペプシン消化終了後、反応液に1 M水酸化ナトリウムを滴下してpHを7.4に調整し、10 mgの結晶トリプシンを加えて、37℃で16時間さらに反応させた。各消化段階において、一定量の反応液を採取して遠心分離し、上清に含まれる亜鉛を測定して、可溶性亜鉛の割合を算定した。またこの上清5 mlを、0.1 M塩化ナトリウムを移動溶媒としたSephadex G-25カラムクロマトグラフィーで分析した。

結果と考察

カキホモジネートに含まれる亜鉛の約20%がトリス塩酸緩衝液に可溶であった。Figure 1はカキホモジネートの可溶性画分を4種のゲルクロマトグラフィーの系で分析した結果をまとめたものである。HPLCで分画した場合（Fig. 1-a, b）、移動溶媒の種類とは無関係に、亜鉛は高分子のタンパク質と同じ位置に溶出された。しかし、Sephadex G-25

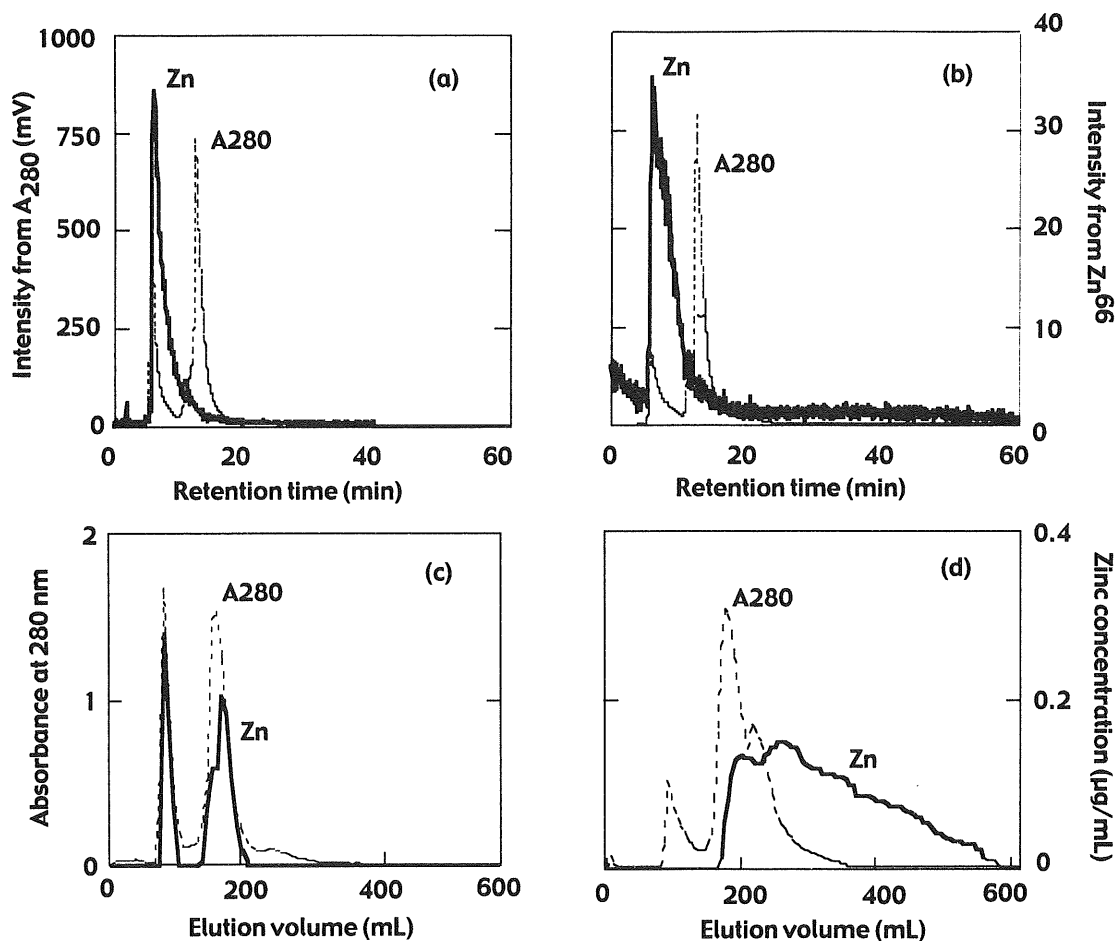


Fig. 1 Typical elution patterns in fractionation of soluble fractions of whole homogenate of oyster. (a) fractionated by a TSK-GEL 2000SW_{XL} with Tris-HCl buffer (pH 7.4, 50 mM) in HPLC-ICPMS system; (b) fractionated by a TSK-GEL 2000SW_{XL} with 0.1 M NaCl in HPLC-ICPMS system; (c) fractionated by a Sephadex G-25 with Tris-HCl buffer (pH 7.4, 50 mM); (d) fractionated by a Sephadex G-25 with 0.1 M NaCl.

Table 1 Effect of *in vitro* protease digestion on solubilities of zinc and nitrogen in oysters

Digestion step	Solubility (%)	
	Zinc	Nitrogen
20% homogenate in Tris-HCl buffer (pH 7.4)	22.5 ± 3.5 ^a	30.2 ± 6.5 ^b
2% homogenate in 0.1N HCl (pH 1.3)	93.8 ± 2.2 ^c	13.6 ± 4.5 ^a
Pepsin digest (pH 1.3)	94.9 ± 0.3 ^c	25.4 ± 3.9 ^b
Neutralization of pepsin digest (pH 7.4)	68.1 ± 1.0 ^b	23.5 ± 4.2 ^b
Trypsin digest (pH 7.4)	68.6 ± 4.2 ^b	40.9 ± 4.2 ^c

Values (means ± SD, n = 4) in the same column not sharing a common superscript letter differ significantly ($p < 0.05$).

Table 2 Effect of pH condition during pepsin digestion on the solubility of zinc in oysters

Digestion step	pH 1.3	pH 3.0	pH 5.0
Pepsin digest	93.7 ± 3.6 ^b	93.3 ± 5.0 ^b	60.3 ± 4.8 ^a
Trypsin digest (pH 7.4)	70.2 ± 5.7 ^b	62.3 ± 6.8 ^b	40.8 ± 5.5 ^a

Values (means ± SD, n = 4) in the same row not sharing a common superscript letter differ significantly ($p < 0.05$).

で分析した場合には異なる結果が得られた。すなわち、トリス緩衝液を溶媒とすると、亜鉛は280 nmの吸光度にほぼ対応して2つのピークに別れて溶出され (Fig. 1-c), 0.1 M塩化ナトリウムを溶媒とすると、亜鉛は280 nmの吸光度とは無関係に幅の広いピークとして溶出された (Fig. 1-d)。これらのことは、カキの可溶性画分中で、亜鉛はタンパク質ときわめて緩やかにしか結合していないことを示している。カキの可溶性画分には、亜鉛と結合した分子量1万前後のメタロチオネイン様タンパク質の存在が報告されている^{3,4)}。このタンパク質はゲルろ過クロマトグラフィーやイオン交換クロマトグラフィーによって精製されているが、精製過程中的亜鉛の遊離や結合状態の変化は報告されていない³⁾。ゆえにFig. 1の結果は、カキ中のメタロチオネイン様亜鉛結合タンパク質の存在を否定するものといえる。カキ中のメタロチオネイン様亜鉛結合タンパク質に関しては、今後の詳細な検討が必要と思われる。

プロテアーゼを用いた消化試験の各段階での可溶性亜鉛の割合をTable 1にまとめた。0.1 N塩酸中では、ペプシン消化とは無関係に90%以上の亜鉛が可溶化された。消化液を中和すると、一部の亜鉛が再沈澱して可溶化率は約70%に低下した。トリプシン消化は可溶性窒素の割合は増加させたが、亜鉛の可溶化には影響を及ぼさなかった。

ペプシン消化をpH 1.3ではなく、pH 3.0またはpH 5.0で行った場合の結果をTable 2に示した。ペプシン消化時のpHを5.0にすると、可溶性亜鉛の割合は、ペプシン消化終了直後が約60%、トリプシン消化終了時が約40%であり、明らかに低下が認められた。以上のことは、カキ亜鉛の消化管での可溶化に対しては、カキタンパク質の消化によって出現するペプチドやアミノ酸ではなく、胃内pHがきわめて大きな意味を持っていることを示唆している。

Figure 2は、pH 1.3でペプシン消化を行い、中和後トリプシン消化試験を行ったときの各段階での可溶性画分をSephadex G-25で分析した結果をまとめたものである。ペプシン消化後の可溶性画分の分画パターンは、未消化の場合 (Fig. 1-d) とほぼ同じであった。トリプシン消化後の場合は、亜鉛の溶出位置はさらに遅れ、ペプチド断片の溶出位置とは完全に分離した。亜鉛とカキタンパク質の間に存在した緩やかな相互作用が、カキタンパク質の消化に伴ってさらに低下し、クロマトグラフィーの担体として用いた樹脂との吸着作用の影響によって亜鉛の溶出が遅れたと考えられる。すなわち、カキタンパク質の消化にともなって出現するペプチドやアミノ酸類と亜鉛の親和性は、未消化のカキタンパク質よりも小さいと推察される。

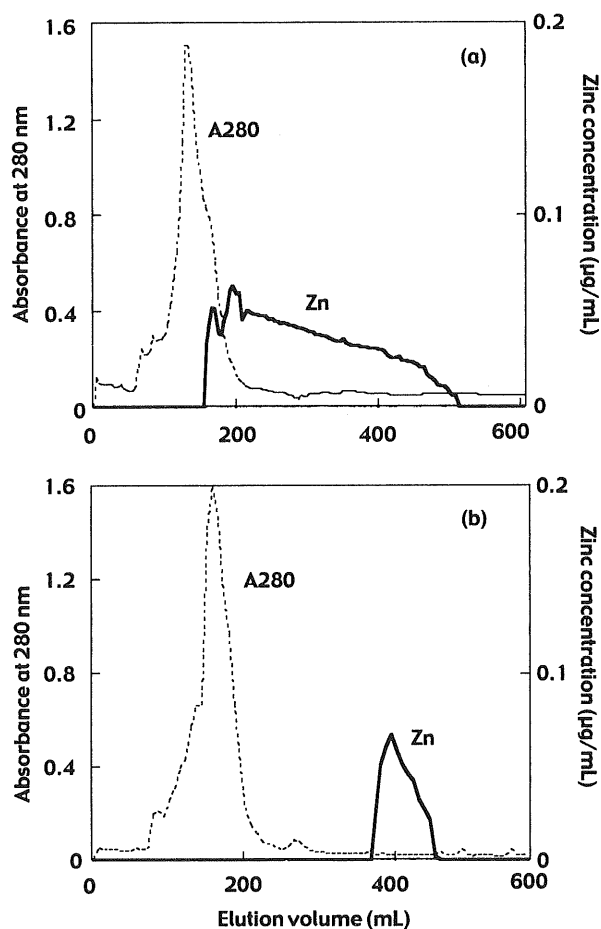


Fig. 2 Typical elution patterns in the fractionation of the soluble fraction of oyster protease digest by Sephadex G-25 with 0.1 M NaCl. (a) pepsin digest; (b) pepsin-trypsin digest.

今回の結果は、カキのみを大量に摂取し、かつ水分の大量摂取などによって胃液が希釈され胃内pHが十分に低下しなかった場合に、十二指腸以降でのカキ亜鉛の可溶化率が低下することを意味している。日常の食生活では、カキ亜鉛は胃で十分可溶化されて、有効に利用されるものと考えられるが、カキから亜鉛を濃縮して高亜鉛含量の食品素材を調製する場合には、あらかじめ酸処理するなどの方法を用いて亜鉛の溶解性を高めておく必要がある。

参考文献

- 1) 吉田宗弘 (2003) ミネラル事典, 朝倉書店, 東京: pp.117.
- 2) Lönnerdal B (2000) J Nutr. 130: 1378S.
- 3) Alonso JI and Matin-Mateo MC (1996) Biol. Trace Elem. Res. 53: 85.
- 4) Isami G, Andreani G, Kindt M and Carpené E (2000) Cell. Mol. Biol. 46: 311.