

牡蠣より調製した亜鉛濃縮画分に含まれる亜鉛吸収促進物質の分離と性状

小 邨 奈 未¹⁾, 安 部 麻美子¹⁾, 松 田 芳 和¹⁾, 荒 川 泰 昭²⁾,
稲 生 大 作³⁾, 福 永 健 治³⁾, 吉 田 宗 弘³⁾

(¹⁾日本クリニック中央研究所*, (²⁾静岡県立大学公衆衛生学・生体衛生学**,

(³⁾関西大学工学部生物工学科食品工学研究室***)

Separation and Characterization of Zinc Absorption-Promoting Substance in Zinc-rich Fraction Prepared from Oyster

Nami KOMURA¹⁾, Mamiko ABE¹⁾, Yoshikazu MATSUDA¹⁾, Yasuaki ARAKAWA²⁾,
Daisaku INO³⁾, Kenji FUKUNAGA³⁾ and Munehiro YOSHIDA³⁾

¹⁾Central Research Institute, Japan Clinic Co., Ltd.

²⁾Department of Hygiene and Preventive Medicine, Faculty of Health Sciences, The University of Shizuoka

³⁾Laboratory of Food and Nutritional Sciences, Department of Biotechnology,
Faculty of Engineering, Kansai University

Summary

We have already prepared a zinc rich fraction (ZRF) from oyster and estimated that the ZRF contained a zinc absorption-promoting substance (FC substance). In the present study, we attempt to separate and characterize the FC substance. When the ZRF was analyzed by high performance liquid chromatography with a column of Asahipak GS-220 and a mobile phase of 1% acetic acid, more than ten peaks were detected in absorption at 254 nm. Among these peaks, one peak co-eluted with zinc was recovered as "FC fraction" estimated to contain the FC substance. Amino acid analysis showed peptide(s) rich in lysine and histidine was present in the FC fraction.

亜鉛は多くの酵素の活性発現に必須であり、欠乏した場合には重篤な皮膚炎や味覚障害などを引き起こす。わが国の食事摂取基準では、亜鉛の推定平均必要量 (EAR) を成人男性7~8 mg/日、成人女性6 mg/日、推奨量 (RDA) を成人男性8~9 mg/日、成人女性7 mg/日としている¹⁾。この数値は鉄とほぼ同じであることから、亜鉛は鉄に匹敵するほど必要性の大きな微量ミネラルといえる。一方、平成15年の国民健康・栄養調査成績は、亜鉛の1日摂取量がEARを下回っているヒトが20~30%存在することを示している²⁾。このようなヒトは、亜鉛の摂取量をRDAまで増加することを目指すべきとされている。

平成15年の国民健康・栄養調査成績によれば²⁾、日本人の亜鉛摂取にもっとも寄与の大きい食品群は穀物 (31.7%) であり、次いで肉類 (18.3%) である。植物性食品と動物性食品の比は58:42であり、植物性食品の寄与がやや大きい。しかし、穀物をはじめとする植物性食品の亜鉛含量は、生育土壌の亜鉛濃度とpHに依存すると考えられ、すべてが食品成分表の記載値どおりである保証はない。さらに植物性食品には、亜鉛吸収を阻害するフィチン酸、食物繊維、ポリフェノール類などが含有されており、含有亜鉛の有効性は低い可能性がある。一方、穀物に次ぐ亜鉛供給源である肉類

*所在地：京都市右京区太秦開日町10-1 (〒616-8555)

**所在地：静岡市駿河区谷田52-1 (〒422-8526)

***所在地：吹田市山手町3-3-35 (〒564-8680)

の摂取を高めることは、脂肪摂取量を増加させる懸念があり、望ましくない。また、牡蠣をはじめとする海産物にはきわめて高濃度の亜鉛を含むものがあるが、このような海産物を生鮮食品として日常的に摂取できるヒトは少ない。以上のことから、亜鉛摂取量の少ないヒトに対して、亜鉛を高濃度に含有する食品素材を開発する必要があるといえる。

われわれは、牡蠣肉エキス抽出後の残渣より、亜鉛を高濃度に含有する画分 (Zinc-rich fraction: ZRF) を調製し、含有される亜鉛が無機亜鉛化合物に比較して効率良くラット組織に取り込まれることを報告した³⁾。さらに、ZRFを含むラット飼料の人工消化試験やZRFの高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いた分析によって、ZRF中に亜鉛の消化吸収を促進する物質 (Free carrying物質: FC物質) の存在する可能性を指摘した^{3, 4)}。本報告は、ZRFを高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で分画し、存在が予想されるFC物質の分離と性状について検討を試みたものである。

実験方法

1. ZRFの溶解性の検討

ZRFは日本クリニック(株)において調製されたものを用いた。ZRF(乾燥粉末, 亜鉛含有量9.6%) 10 mgに種々の溶媒10 mlを加え、十分に攪拌後、37℃に30分間放置した。放置後、再度、十分に攪拌してから遠心して、上清と沈澱に分離した。上清に溶解している亜鉛濃度を原子吸光光度計で測定し、亜鉛の溶解率を算出した。

2. HPLCによる分析

ZRF 10 mgに1%酢酸10 mlを加え、攪拌、37℃での30分間保温後の遠心によって得られる上清をHPLCによって分析した。HPLCの条件は次のとおりである。カラム, Asahipak GS-220HQ; 移動相, 1%酢酸; 検出, 254 nmとICPMSにおける質量数64と66。

3. HPLC溶出物の回収と分析

上述のHPLCによる分析における溶出物に関して、亜鉛を含有する画分をFC画分として回収した。回収したFC画分は凍結乾燥後、6 Mの塩酸を加えて加水分解し、分解液中のアミノ酸組成を調べた。

結果と考察

ZRF(乾燥物)の一般成分分析結果は以下のとおりであった(単位は%)。水分2.7, 粗タンパク質43.4, 粗脂肪1.2, 灰分40.1, 食物繊維1.5, 炭水化物11.1, グリコーゲン6.1。亜鉛含有量は9.6%であり、亜鉛以外の灰分の大半は塩化ナトリウムとリン酸カルシウムであった。

ZRFに含有される亜鉛は、水や中性付近の緩衝液にはほとんど不溶であったが、0.1 Mの塩酸、およびクエン酸を含有する緩衝液にはほぼ100%可溶であった。また1%酢酸には約60%が可溶であった。

既報⁵⁾のごとく、クエン酸存在下では、含有亜鉛の大半がFC物質から遊離している可能性が大きいため、1%酢酸条件下でZRFの分析をすすめることにした。ZRFを1%酢酸に溶解後、HPLCで分析したところ、Fig. 1に示すように10個以上のピークが認められ、うち1つは亜鉛の溶出位置と一致した。

亜鉛含有ピークをFC画分として回収し、その吸収スペクトルを解析したところ、280 nm(タンパク質由来)、260 nm(核酸由来)、254 nm(SHと金属の結合に由来)に吸収極大は認められなかった。回収画分を凍結乾燥したところ、吸湿性の高い粉末が得られた。

FC画分の凍結乾燥物を加水分解してアミノ酸組成を調べた結果を、もとのZRF粉末と比較してTable 1にまとめた。FC画分のアミノ酸量は総重量の10%未満であり、アミノ酸組成はZRF粉末と大きく異なっていた。すなわち、FC画分のアミノ酸中、リジンとヒスチジンの割合がきわめて高く、この2種のみで半分以上を占めていた。また、芳香族アミノ酸やシスチンは検出されなかった。

以上より、回収したFC画分には、部分分解したグリコーゲンが大量に含まれている可能性が高いが、リジンとヒスチジンを特異的に多く含むペプチドも少量存在していると考えられた。リジンやヒスチジンは亜鉛と錯体を形成する能力が高いことから、このペプチドがFC物質と大きく関連している可能性があると思われる。

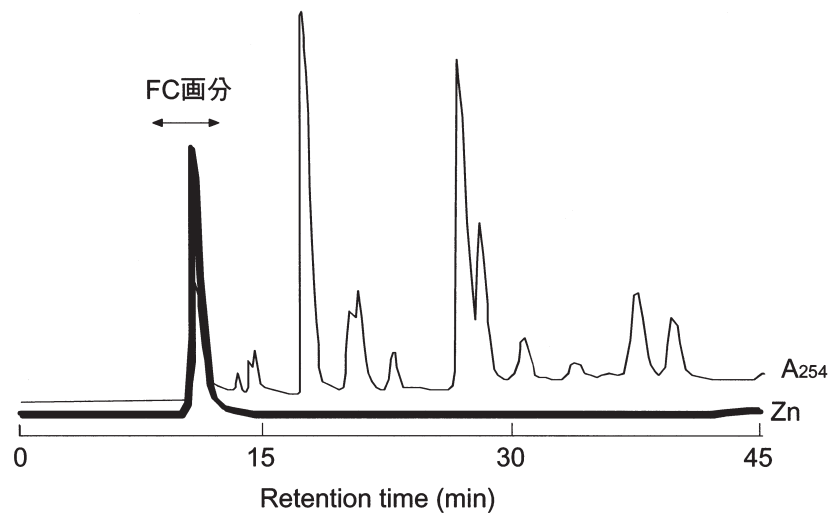


Fig. 1 Elution pattern of ZRF in HPLC.

Table 1 Amino acid composition of ZRF powder and FC fraction (%)

| Amino acids | ZRF powder | FC fraction |
|---------------|------------|-------------|
| Arginine | 11.0 | ND |
| Lysine | 12.2 | 30.4 |
| Histidine | 3.8 | 24.7 |
| Phenylalanine | 2.3 | ND |
| Tyrosine | 3.2 | ND |
| Leucine | 5.1 | ND |
| Isoleucine | 3.0 | 2.5 |
| Methionine | 1.6 | ND |
| Valine | 4.4 | 3.2 |
| Alanine | 7.3 | 7.0 |
| Glycine | 7.9 | 9.2 |
| Proline | 6.4 | ND |
| Glutamic acid | 11.3 | 7.0 |
| Serine | 6.5 | 5.7 |
| Threonine | 3.8 | 1.9 |
| Aspartic acid | 9.1 | 8.5 |
| Tryptophan | 0.4 | ND |
| Cystine | 0.7 | ND |

本研究は、平成18年度関西大学学術研究助成基金（共同研究）において、研究課題「水産廃棄物に含有される機能性食品成分の有効利用に関する研究」として研究費を受けたものの成果として公表するものである。

参考文献

- 1) 厚生労働省 (2005) 日本人の食事摂取基準 [2005年版], 第一出版, 東京: pp.177-183.
- 2) 厚生労働省 (2006) 平成15年国民健康・栄養調査報告, 第一出版, 東京.
- 3) Matsuda Y, Kitani S, Kitani S, Fukunaga K, Yoshida M (2003) Preparation of zinc-rich powder from oysters and evaluation of its bioavailability. *Biomed Res Trace Elem* 14: 302-306.
- 4) 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) 牡蠣の酸可溶性画分に含有される亜鉛の栄養有効性. *微量栄養素研究* 18: 63-66.
- 5) 吉田宗弘, 平田 登, 木谷祥子, 松田芳和 (2002) 牡蠣から調製した亜鉛濃縮物の性質. *微量栄養素研究* 19: 43-46.