

魚油中に生成する共役型高度不飽和脂肪酸に関する研究

学位論文内容の要旨

共役脂肪酸とは、分子内に共役2重結合を持った脂肪酸の総称である。共役脂肪酸としては共役2重結合を1個有する共役リノール酸(CLA)についての研究が殆どであり、その生理作用に関する研究報告も多数ある。CLAは主として、チーズやミルクといった乳製品、反芻胃を持った陸上畜肉中、水素添加油中などに微量含まれることが報告されている。

しかし、天然物中にはCLA以外の共役脂肪酸も存在する。例えばある特定の植物種子油中には共役リノレン酸(CLN)が見出されており、また、海藻中には共役イコサペンタエン酸(CIPA)も存在する。アラキドン酸、イコサペンタエン酸(IPA)、ドコサヘキサエン酸(DHA)といった不飽和度が高い脂肪酸では、化学構造的に共役異性化は起こりやすいとされており、天然物中においてもこれらの不飽和脂肪酸に由来する共役脂肪酸の存在が予想される。だが、現在のところ、CLA以外の共役脂肪酸についての研究報告は多くはない。そこで、本研究では、こうした共役脂肪酸の食品素材中における存在と、その分析法についての検討を行った。

第1章では、最近の健康志向に端を発した沖縄長寿食ブームによって注目を集めており、我が国を始めアジア各国で広く食されているニガウリについて検討し、ニガウリの種子油中にCLNが高濃度で含まれていることを示した。しかし、一部の地域を除いては、ニガウリの種子自体を食品として用いることは少なく、実際に食べているのは種子を除いた部分である。そこでニガウリ果肉中における共役脂肪酸の存在について検討を行ったところ、ニガウリの果肉中にも共役脂肪酸としてCLNが含まれていることが初めて示された。このことは、ニガウリを食品として用いていることで、CLNを直接摂取していることを示している。更に、果肉中に含まれるCLN異性体(9t,11t,13c-18:3)は種子油中に含まれているもの(9c,11t,13t-18:3)とは異なることも明らかとなった。また、漢方薬としてその種子が直接利用されているキササゲ種子油中の共役脂肪酸の存在についての検討も行ったところ、ニガウリ同様、キササゲ種子油中にもCLNが多量に見出された。更に、このキササゲ種子油中にはCLNの他、CLAも含まれていることが示された。こうした複数の異なる共役脂肪酸の同時摂取による生体効果はまだ検討されていないが、今後、期待される研究の一つであると思われる。

また、これまで陸上の植物、および動物からの共役脂肪酸は見出されているものの、海産物中での存在については僅かな報告があるだけである。そこで、第2章では我が国で食用とされている海産物を中心に共役脂肪酸に関する更なる検索を行った。これまで、魚油中に共役脂肪酸の存在が報告されているが、その他の海洋動物中からは見出されていない。また、海藻では僅かに紅藻中から発見されているだけである。そこで、最も可能性の高い動物として海洋哺乳類を選択し、アザラシ並びにクジラに含まれる油脂中の共役脂肪酸について検討を行った。その結果、アザラシ油やクジラ油中にも共役脂肪酸が含まれていることが確認され、HPLCクロマトグラム並びにそのUVスペクトルから、こうした共役脂肪酸はCLA、CLN以外の共役ジエン酸、共役トリエン酸からなっていることが分かった。更にクジラの皮下脂肪中には共役ジエン酸が多く検出されたのに対し、脳には共役ジエン酸に比べて共役トリエン酸の方が多く含まれていた。また、これらの共役脂肪酸はHPLC分析において、標品となるCLNや

CLA と比較して相同性が高いものも含まれていたが、その HPLC 上での保持時間が異なる成分については、炭素数が 18 よりも多い脂肪酸のそれぞれ共役ジエン酸、並びに共役トリエン酸である可能性が高いと考えられた。その他、脂質組成の分析結果から、大脳組織において共役脂肪酸はステロール並びに、リン脂質中に多く存在している可能性が高いことが推定され、その機能性に関する研究には興味を持たれる。

こうした共役脂肪酸を多量に含有する植物種子油は、食用油としては利用されていない。そこで、第 3 章では、我が国において最も一般的な食用植物油である大豆油中の共役脂肪酸の存在について検討した。その結果、大豆油中にも CLN や CLA といった共役脂肪酸が含まれていることが示されたが、大豆油中に含まれていた共役型高度不飽和脂肪酸は、その精製工程において生ずるものであることが明らかとなった。また、こうした共役脂肪酸の分析法の確立を検討する過程において、硝酸銀を用いた手法により非常に効果的に共役脂肪酸を濃縮出来ることが分かった。硝酸銀はこれまでも脂質の不飽和度による分画法として、古くから利用されてきた。その原理は、2 重結合と銀イオンとの間に形成される π 結合の強弱を利用するものである。しかし、この錯体形成は共役脂肪酸の場合には必ずしも当てはまらず、薄層クロマトグラフィー上では共役脂肪酸は飽和やモノエン脂肪酸と同様の挙動を示すことが分かった。従って、本研究で用いた AgNO_3 -TLC 分画の方法は、その他の共役脂肪酸の濃縮にも応用可能であり、且つ、効果的で非常に有効な手段であると考えられる。また、市販されている魚油についても同様の検討を行ったところ、大豆油と同じくその製造工程においても共役型脂肪酸が生成することが明らかとなった。

ところで、共役型脂肪酸は対応する非共役型の脂肪酸に対して、著しく酸化に対する安定性が低いと考えられる。そこで、第 4 章では市販の魚油を用いて、含まれている共役型脂肪酸が油脂の酸化安定性に及ぼす影響について検討を行い、第 5 章では油脂の酸化に伴い生ずるアルデヒド類などの臭気性成分に関する分析を行った。また、第 5 章においては、ガスクロマトグラフィー(GC)での高温分析時に障害となるセプタム由来成分の溶出がないインジェクター、すなわちセプタムフリーのインジェクター(SFI)を装備した GC 用いて、臭気性成分の分析時に汎用される固相マイクロ抽出(SPME)法への応用を試みた。その結果、各アルデヒド類の分離、およびその保持時間に関しては非常に良好な再現性で分析可能であることが示された。SFI は現段階ではまだ市販されておらず、今後更に改良が加えられていくであろう装置である。まだ解決しなければならない問題点はあるものの、そのユニークな構造の特性上、これまで高感度での分析が不可能であった高沸点物質の分析への応用の他、GC による分析が可能となる試料の幅が広がることが期待される。本研究は SFI を装備した GC で SPME 法を応用した極めて少ない検討例であり、非常に意義のある研究と言える。

以上、本研究により、我々が日常において食品として摂取している天然物中にも共役脂肪酸の存在が確認された。こうした共役脂肪酸を含む天然物は今後、新たな機能性食品として再認識されるべき天然物であると考えられる。また、ヒトへの応用のためには、機能発現の詳細なメカニズムの解明や安全性の確認が必須であり、本研究で開発した共役脂肪酸の分析に関する知見は、こうした検討に資するものと思われた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 宮 下 和 夫

副 査 教 授 板 橋 豊

副 査 准教授 細 川 雅 史

学 位 論 文 題 名

魚油中に生成する共役型高度不飽和脂肪酸に関する研究

共役脂肪酸とは、分子内に共役2重結合を持った脂肪酸の総称で、共役2重結合を1個有する共役リノール酸(CLA)についての研究報告が主である。しかし、天然物中にはCLA以外の共役脂肪酸も存在する。例えばある特定の植物種子油中には共役リノレン酸(CLN)が見出されており、また、海藻中には共役イコサペンタエン酸(CIPA)も存在する。アラキドン酸、イコサペンタエン酸(IPA)、ドコサヘキサエン酸(DHA)といった不飽和度が高い脂肪酸では、化学構造的に共役異性化は起こりやすいとされており、天然物中においてもこれらの不飽和脂肪酸に由来する共役脂肪酸の存在が予想される。だが、現在のところ、CLA以外の共役脂肪酸についての研究報告は多くはない。そこで、本研究では、こうした共役脂肪酸の食品素材中における存在と、その分析法についての検討を行った。本研究で得られた成果は以下の通りである。

1. 共役トリエン脂肪酸の分析法の検討

共役トリエン脂肪酸の分析法の確立のため、ニガウリのCLNを分析した。その結果、ニガウリでは、種子油中だけでなく、果肉中にも共役脂肪酸としてCLNが含まれていることを初めて明らかにした。また、果肉中に含まれるCLN異性体(9t, 11t, 13c-18:3)は種子油中に含まれているもの(9c, 11t, 13t-18:3)とは異なることも明らかにした。その他、漢方薬としてその種子が直接利用されているキササゲ種子油中の共役脂肪酸の存在について検討したところ、ニガウリ同様、キササゲ種子油中にもCLNが多量に含まれていることを明らかにした。以上の検討はいずれも高速液体クロマトグラフィー

(HPLC)を用いた分析によるものであり、HPLC法が共役トリエン脂肪酸を分析するのに最も適した方法であることを明らかにした。

2. 水産動物中に含まれる共役トリエン脂肪酸

アザラシ並びにクジラに含まれる油脂中の共役脂肪酸について検討を行い、アザラシ油やクジラ油中にも共役脂肪酸が含まれていることを明らかにした。HPLCクロマトグラム並びにそのUVスペクトルから、これらの共役脂肪酸はCLA、CLN以外の共役ジエン酸、共役トリエン酸であることを見出した。また、クジラの皮下脂肪中には共役ジエン酸が多く検出されたのに対し、大脳には共役ジエン酸に比べて共役トリエン酸の方が多く含まれていることも見出した。

3. 油脂精製中に生成する共役脂肪酸

精製大豆油中の共役脂肪酸の存在について検討し、その精製工程において

CLNやCLAといった共役脂肪酸が生成することを明らかにした。また、この際、硝酸銀を用いた手法により非常に効果的に共役脂肪酸を濃縮出来ることも明らかにした。硝酸銀はこれまでも脂質の不飽和度による分画法として、古くから利用されてきた。その原理は、2重結合と銀イオンとの間に形成される π 結合の強弱を利用するものである。しかし、この錯体形成は共役脂肪酸の場合には必ずしも当てはまらず、薄層クロマトグラフィー上では共役脂肪酸は飽和やモノエン脂肪酸と同様の挙動を示すことを示した。従って、本研究で用いたAgNO₃-TLC分画の方法は、その他の共役脂肪酸の濃縮にも応用可能であり、かつ、効果的で非常に有効な手段であると考えられる。また、市販されている魚油についても同様の検討を行ったところ、大豆油と同様に、その製造工程において共役型脂肪酸が生成することを明らかにした。

4. 油脂の酸化に及ぼす共役トリエン脂肪酸の影響

市販の魚油を用いて、含まれている共役トリエン脂肪酸が油脂の酸化安定性に及ぼす影響について検討を行い、共役トリエン脂肪酸の存在により、魚油の酸化劣化が促進されることを見出した。油脂の酸化劣化によりアルデヒド類などの臭気性成分が生成するので、この臭気成分の分析法についても検討を行った。一般に臭気成分は、ガスクロマトグラフィー(GC)で分析するが、この分析時に障害となるセプタム由来成分の溶出がないインジェクター、すなわちセプタムフリーのインジェクター(SFI)を装備したGCを用いて、臭気性成分の分析時に汎用される固相マイクロ抽出(SPME)法への応用を試みた。その結果、この新規の分析法を用いることで、各アルデヒド類の良好な分離と正確な定量が可能となることを明らかにした。本研究はSFIを装備したGCでSPME法を応用した極めて少ない検討例であり、非常に意義のある成果と言える。

以上、本研究により、我々が日常において食品として摂取している天然物中にも共役脂肪酸の存在が確認できた。特に油脂の精製工程中で共役トリエン脂肪酸が生成し、これが油脂の劣化に深く関わるのが初めて明らかにされた。魚油中には、ドコサヘキサエン酸(DHA)やエイコサペンタエン酸(EPA)といった機能性脂肪酸が多く含まれているが、酸化安定性の著しく低いことが大きな問題となっている。本研究の成果は、より安定性に優れた油脂の精製法を確立する上で貴重な知見となる。また、本研究で開発した共役脂肪酸や臭気成分の新規分析法は、油脂の品質維持にも大きく資するものである。よって審査員一同は本研究の申請者が博士(水産科学)の学位を授与される資格のあるものと判定した。