

原 著

各種油脂の *in vitro* 消化により形成された ミセル中の脂肪酸組成

本屋敷麻由子^{*1} 松本義信^{*2} 守田哲朗^{*1,2}

要 約

シロザケの卵リン脂質中に含まれるドコサヘキサエン酸 (DHA) の乳児栄養学的効用をマグロ魚油の場合と *in vitro* の実験で比較検討した。すなわち、新生児の十二指腸条件下 (pH6.0, グリココール酸/タウロコール酸 (G/T 比) 0.5) と幼児から成人の十二指腸条件下 (pH7.5, G/T 比2.0) においてコントロール油 (植物油), A 油 (コントロール油にシロザケの卵リン脂質を混合), B 油 (コントロール油にマグロ魚油を混合) の3種の供試油をリパーゼ消化し, 形成されたミセル層から遊離脂肪酸 (FFA), モノグリセライド (MG), ジグリセライド (DG) およびトリグリセライド (TG) を抽出, 分離後, 脂肪酸量および消化移行率を測定した。

その結果, ミセル中の総脂質量と消化移行率は, すべての供試油において新生児の十二指腸条件下が幼児から成人の条件下より有意に低値であった。これは, 新生児の脂肪消化の未熟性によると解した。しかし, 新生児の条件下での消化移行率は, 供試油間で有意差がなく, シロザケの卵リン脂質は, マグロ魚油と同様に使用できることが示唆された。

ミセル中の各脂質の重量およびその構成比率は, 新生児の十二指腸条件下では幼児から成人の条件下に比べてFFAが少なく, MGとDGが多かった。しかし, 新生児の条件下でのミセル中の脂質構成比率は, 供試油間で有意差がなく, ここでもシロザケの卵リン脂質は, 新生児にも使用できることが示唆された。

DHA の消化移行率は, エイコサペンタエン酸 (EPA) のそれと同様, A, B 両油とも新生児の十二指腸条件下において幼児から成人の条件下より低値であった。また, 幼児から成人の条件下では, A, B 両油間に有意差がなかったが, 新生児の条件下では, A 油が B 油より有意に低値となった。このことは, シロザケの卵リン脂質は, 幼児から成人ではマグロ魚油同様, DHA 強化の目的で使用できるが, 新生児にはマグロ魚油ほど有効でないことを示した。

以上, 新生児の十二指腸条件下におけるミセル中の総脂質量と脂質分画の成績は, 両油間で有意差がなかったが, DHA や EPA の成績だけは意に反して A 油が B 油より劣るという結果を得た。

緒 言

n-3 系列長鎖多価不飽和脂肪酸 (n-3 脂肪酸) は, 哺乳動物の脳や網膜などの中樞神経系に多量に含まれており, n-6 系列長鎖多価不飽和脂肪酸 (n-6 脂肪酸) とともに, 細胞膜の機能やエイコサノイドの動態に影響を与えている。

人乳脂肪には n-3 脂肪酸, n-6 脂肪酸が比較的多く含まれている¹⁻⁵⁾ ので, 胎内での蓄積量が少なく^{6,7)}, より長鎖の不飽和脂肪酸に転換する能力も低い^{8,9)} 低出生体重児では, これらの栄養学的効果が期待される。しかし, 牛乳脂肪を植物油で置換し

た人工乳には, 炭素数20以上の n-3 脂肪酸は含まれず, n-6 脂肪酸も少ない。わが国における最近の人工乳は, 置換脂肪として植物油とともに魚油が使用され, n-3 脂肪酸, 特にドコサヘキサエン酸 (DHA) が強化されている。

ところで, DHA は魚油のほかに, 魚卵のリン脂質中にも豊富に含まれている。そこで, 著者らは代表的な魚卵であるシロザケの卵に注目し, そのリン脂質中の DHA の乳児栄養学的効用を検討する目的で, *in vitro* 脂肪消化におけるミセル中の総脂質量, 脂肪分画および脂肪酸組成をマグロ魚油消化の場合のそれらと比較した。

*1 川崎医療福祉大学大学院 医療技術学研究科 臨床栄養学専攻 *2 川崎医療福祉大学 医療技術学部 臨床栄養学科 (連絡先) 本屋敷麻由子 〒701-0193 倉敷市松島288 川崎医療福祉大学

研究方法

1. 供試油

研究に供した油は、コントロール油、それにシロザケ卵リン脂質を添加した A 油、マグロ魚油を添加した B 油の 3 種類である。コントロール油は市販の調製粉乳用としてパーム油、オレオ油、ヤシ油、トウモロコシ油などを混合した植物油である。シロザケ卵リン脂質（日本油脂株式会社）、マグロ魚油（日本油脂株式会社、サンオメガ DHA23）は恵与されたものである。これら供試油の脂肪酸組成を表 1 に示した。DHA 含量は、A 油では 0.47%、B 油では 0.48%であった。

表 1 供試油の脂肪酸組成

脂肪酸	(%)		
	コントロール油	A 油	B 油
C 8 : 0	0.20	0.20	0.20
C10 : 0	0.30	0.30	0.30
C12 : 0	1.70	1.90	1.90
C14 : 0	1.80	2.00	2.00
C16 : 0	16.60	17.50	17.50
C16 : 1	1.40	1.60	1.60
C18 : 0	7.30	7.80	7.70
C18 : 1	32.20	34.60	34.70
C18 : 2	28.60	25.60	25.60
C18 : 3	3.10	2.80	2.80
C20 : 4	0.05	0.10	0.10
C20 : 5	ND ¹⁾	0.21	0.16
C22 : 6	ND	0.47	0.48

¹⁾Not detected

2. 胆汁酸および消化酵素

2.1. 胆汁酸

Glycocholic acid sodium salt (G: 半井化学) と Taurocholic acid sodium salt (T: 半井化学) を G/T 比 0.5 と 2.0 に混合して使用した。

2.2. 胆汁酸

Lipase (Sigma, Type2, Crude) 2g を 0.1M リン酸緩衝液で全量 20ml に溶解した。

3. 消化用基質溶液の調製

消化用基質溶液の調製、リパーゼ消化、ミセル溶液の分離、分析試料の調製などの流れを図 1 に示した。

pH6.0 (新生児の十二指腸 pH)、あるいは pH7.5 (幼児から成人の十二指腸 pH) の 0.1M リン酸緩衝液に NaCl 449mg、CaCl₂ 55.7mg および上記胆汁酸の

混合物 1.05g と、供試油のうちのいずれか 1 種類 1.5g を加え、緩衝液で 50ml に定容した。これらをホモジナイザー (日本精機, AM-5) で 5,000rpm、10 分間、さらに超音波装置 (シャープ株式会社, UT-305) で 10 分間それぞれ均質化して消化用基質溶液とした。

4. リパーゼ消化およびミセル溶液の分離

各消化用基質溶液 16ml にリパーゼ溶液 4ml を加えて 37 恒温槽中で常時振盪 2 時間消化した。消化開始 1 時間後、pH を確認し、低下していれば 10% NaOH を滴下、調製した。消化終了後、沸騰水中に 2 分間浸して反応を停止させた。ついで、各消化試料を 37、34,000rpm、2 時間超遠心分離 (BECKMAN, XL-A) し、ミセル相の溶液 10ml を採取した。

5. ミセル中の総脂質量

ミセル溶液を分液ロートに移し、3NHCl 2ml を添加後、直ちにジエチルエーテル:石油エーテル = 1:1 混合溶液を加えて振盪、遊離脂肪酸 (FFA)、モノグリセライド (MG)、ジグリセライド (DG) およびトリグリセライド (TG) の混合物を抽出した。分離したエーテル層を無水硫酸ナトリウムで 1 晩脱水後、ロータリーエバポレーター (ヤマト科学株式会社, RE52) でエーテルを除去してミセル中の総脂質量とその分画の測定に供した。

6. ガスクロマトグラフィー (GLC) による脂肪酸の定量法

FFA, MG, DG および TG の混合物を GLC でそれぞれに分画、定量した。以下に GLC の分析条件を示した。

6.1. 消化生成物の定量

分析機種: GC-15A (島津製作所)

カラム: ULBON HR-1, 内径 0.24mm × 長さ 50m
カラムオープン温度: 50 から 110 までは 12 / 分の昇温, 110 から 170 までは 6 / 分の昇温, 170 から 300 までは 12 / 分の昇温, 300 以降は一定
検出器温度: 300

注入口温度: 300

検出器: 水素炎イオン化検出器 (FID)

キャリアーガス (He): 1.4kg/cm²

脂質ピークの同定はガスクロマトグラフィー・マススペクトロメトリー (GC-MS) で行い、定量は FFA, MG, DG 各々について GLC 分析による定量曲線をつくり、作図的に求めた定量式を用いて算出した。GC-MS は M-80B (日立製作所) を、カラムは DB-1 (内径 0.257mm × 長さ 30m) を用いた。他の分析条件は、前記条件と同様とした。

6.2. 脂肪酸定量

つぎに、エイコサペンタエン酸 (EPA) や DHA などの微量の長鎖不飽和脂肪酸のミセル中の重量と

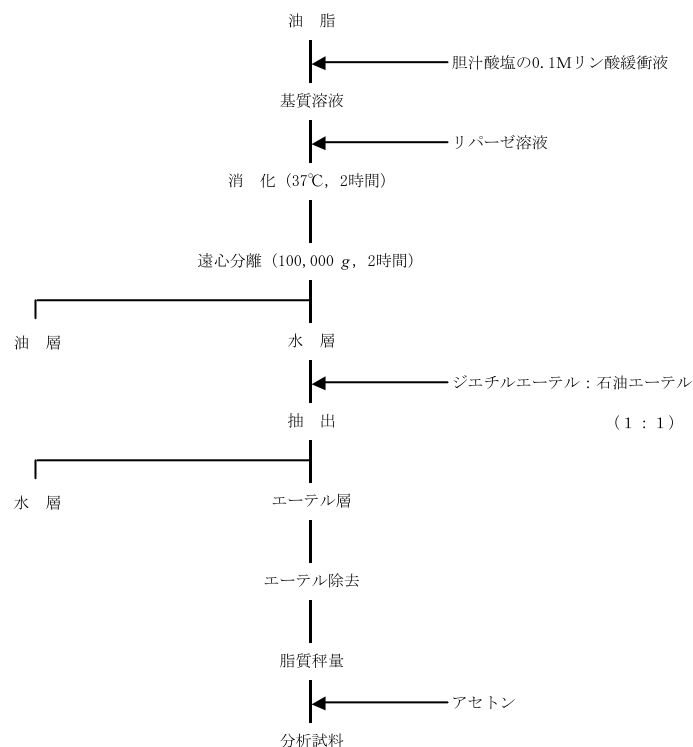


図1 消化基質溶液の調製，リパーゼ消化，ミセル溶液の分離および分析試料の調製

消化移行率を測定するために，Lepage と Roy の方法¹⁰⁾ に準じて，メチルエステル化を行った。すなわち，精秤した消化前各供試油と，それらの消化生成物であるミセル中の脂質混合物に，内部標準物質（トリデカン酸）を加えたメタノール：ベンゼン = 1 : 1 溶液 2 ml に溶解した後，塩化アセチル 200 μl を加えて 100 ， 1 時間加熱，メチルエステル化した後，6% K₂CO₃ 5 ml を加えて振盪，ついで 3,000 rpm 3 分間遠心分離し，ベンゼン層を採取，GLC 分析した。以下にこの際の GLC の分析条件を示す。

分析機種：GC-15A（島津製作所）

カラム：HR-Thermon-3000B，内径 0.25 mm × 長さ 50 m

カラムオープン温度：170 から 205 までは 2 / 分の昇温，205 以降は一定

検出器温度：205

注入口温度：205

検出器：水素炎イオン化検出器（FID）

キャリアーガス（He）：1.4 kg/cm²

各脂肪酸値（mg）は，既知の内部標準物質の重量との比率から求め，各脂肪酸のミセル中への消化移行率を求めた。

7. 測定値の検討

測定値は平均値 ± 標準偏差であらわした。供試油間の平均値の有意差検定は一元配置の分散分析を

行った上で，有意差が認められた項目についてのみ Fisher's PLSD の post hoc test を適用した。

結 果

1. ミセル中の総脂質量と消化移行率

pH7.5 G/T 比 2.0 条件下あるいは pH6.0 G/T 比 0.5 条件下におけるコントロール油，A 油，B 油のミセル中総脂質量と消化移行率の成績を表 2 に示した。

表 2 ミセル中の総脂質量と消化移行率

pH, G/T 比	供試油	総脂質量 ¹⁾ (mg)	消化移行率 (%)
pH7.5, G/T 比 2.0	コントロール油	164.2 ± 9.2	68.4 ± 3.1
	A 油	165.6 ± 7.6	69.0 ± 3.4
	B 油	162.2 ± 8.1	67.5 ± 3.8
pH6.0, G/T 比 0.5	コントロール油	140.8 ± 4.0	58.7 ± 1.7
	A 油	137.7 ± 7.5	57.4 ± 3.1
	B 油	137.6 ± 9.2	57.3 ± 3.8

¹⁾ 供試油 240 mg 当たり

1.1. pH7.5, G/T 比 2.0 条件下での検討

ミセル中の総脂質量と消化移行率は，A 油，コントロール油，B 油の順であったが，それらの差は有意でなかった。

1.2. pH6.0, G/T比0.5条件下での検討

ミセル中の総脂質量および消化移行率は、コントロール油, A油, B油の順であったが, それらの差は有意でなかった.

2. ミセル中の総脂質量と消化移行率

両pH, G/T比条件下における各供試油の Retention time (Rt) 値別脂質重量と構成比率の成績を表3と表4に示した. 各供試油間の検討はこれらの FFA, MG および DG 別合計値について行った. なお, pH7.5, G/T比2.0条件下における A油のガスクロマトグラムを図2に示した.

2.1. pH7.5, G/T比2.0条件下での検討(表3)

FFA, MG および DG の重量と構成比率は, 各供試油とも FFA が最も多く, 続いて MG, DG の順

であり, それらの差は有意であった.

各脂質についてみると, FFAではコントロール油と B油が重量, 構成比率とも A油より若干高値であったが, それらの差は有意でなかった. MGとDGは A油が重量, 構成比率ともコントロール油と B油より若干高値であったが, それらの差も有意でなかった.

2.2. pH6.0, G/T比0.5条件下での検討(表4)
FFA, MG および DG の重量と構成比率は, 各供試油とも FFA が最も多く, 続いて MG, DG の順であり, それらの差は有意であった.

各脂質についてみると, FFAでは A油が重量, 構成比率ともコントロール油と B油より若干高値であったが, それらの差は有意でなかった. MGでは重量は A油が最も多く, 続いてコントロール油, B

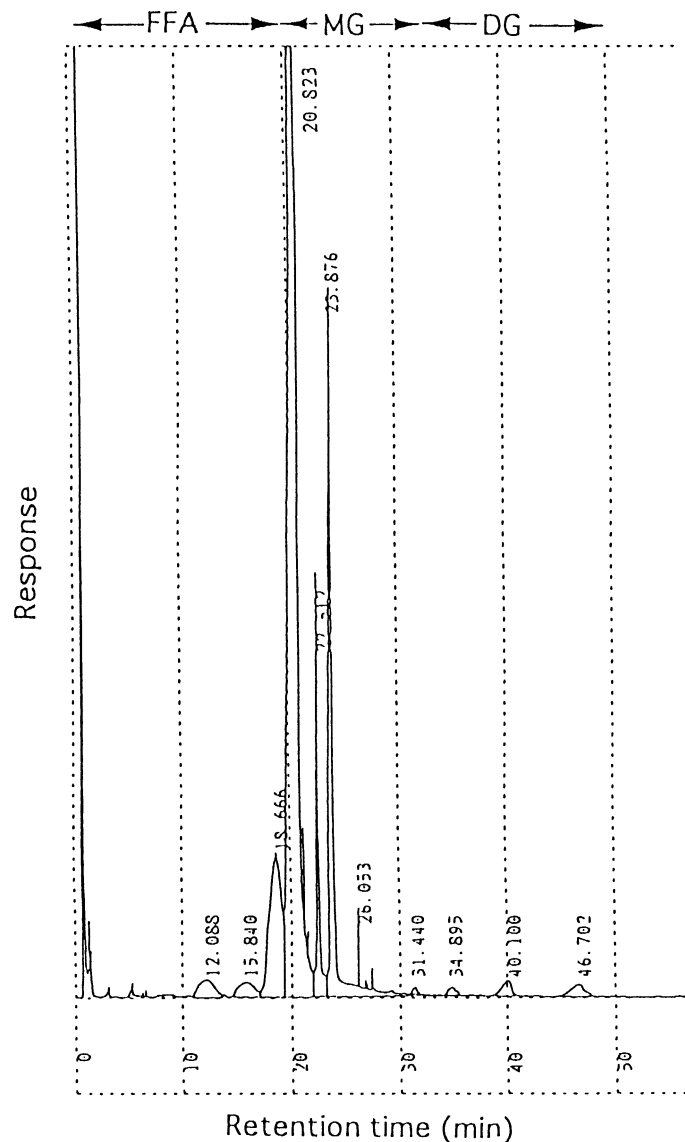


図2 ミセル中の脂肪分画のガスクロマトグラム
(pH7.5, G/T比2.0:A油)

表3 pH7.5, G/T 比2.0条件下でのミセル中の脂肪重量と構成比率

Rt (min)	コントロール油		A 油		B 油	
	重量 (mg)	構成比率 (%)	重量 (mg)	構成比率 (%)	重量 (mg)	構成比率 (%)
6 (C 8 : 0)	0.39 ± 0.03	0.25 ± 0.02	0.34 ± 0.04	0.21 ± 0.01 *	0.32 ± 0.05	0.21 ± 0.02 *
9 (C10 : 0)	0.39 ± 0.01	0.25 ± 0.01	0.35 ± 0.04	0.21 ± 0.01 *	0.33 ± 0.04	0.21 ± 0.01 *
12 (C12 : 0)	2.35 ± 0.08	1.50 ± 0.03	1.98 ± 0.22 *	1.23 ± 0.04 *	1.80 ± 0.25 *	1.13 ± 0.03 ***
16 (C14 : 0)	1.53 ± 0.15	0.98 ± 0.08	1.42 ± 0.24	0.88 ± 0.04	1.30 ± 0.21	0.84 ± 0.06
18	1.54 ± 0.34	0.98 ± 0.20	2.04 ± 0.56	1.26 ± 0.21	2.29 ± 0.28 *	1.50 ± 0.27
18 (C16 : 0)	8.70 ± 1.95	5.54 ± 1.14	8.14 ± 2.26	5.02 ± 0.84	9.31 ± 0.88	6.09 ± 0.96
19 (C16 : 1)	3.45 ± 0.37	2.20 ± 0.18	2.49 ± 0.41 *	1.54 ± 0.07 **	2.49 ± 0.21 *	1.63 ± 0.14 *
20 (C18)	82.76 ± 8.79	52.70 ± 4.35	80.47 ± 13.27	49.80 ± 2.10	83.06 ± 6.96	53.86 ± 0.77 ▼
FFAの合計	101.11 ± 11.63	64.40 ± 5.94	97.23 ± 16.88	60.15 ± 3.44	100.90 ± 7.43	65.47 ± 2.00
23	9.51 ± 2.02	6.10 ± 1.55	11.93 ± 1.54	7.48 ± 0.90	10.06 ± 2.64	6.52 ± 1.50
24	36.24 ± 4.08	23.13 ± 2.69	39.01 ± 4.86	24.36 ± 1.59	34.95 ± 3.38	22.64 ± 0.36
27	0.46 ± 0.04	0.29 ± 0.03	0.72 ± 0.13 *	0.44 ± 0.07 *	0.47 ± 0.04 *	0.31 ± 0.02 ▼
33	0.39 ± 0.08	0.25 ± 0.05	0.39 ± 0.05	0.24 ± 0.01	0.29 ± 0.05	0.19 ± 0.02 *
MGの合計	46.60 ± 5.02	29.77 ± 3.79	52.05 ± 6.45	32.52 ± 2.86	45.77 ± 5.35	29.66 ± 1.86
38	1.70 ± 0.33	1.08 ± 0.19	2.06 ± 0.32	1.28 ± 0.03	1.81 ± 0.46	1.16 ± 0.20
45	3.35 ± 1.42	2.14 ± 0.90	4.34 ± 0.49	2.73 ± 0.38	2.93 ± 0.97	1.87 ± 0.48
53	4.09 ± 2.09	2.61 ± 1.32	5.30 ± 0.92	3.32 ± 0.54	2.91 ± 1.42	1.84 ± 0.79
DGの合計	9.14 ± 3.79	5.83 ± 2.38	11.70 ± 1.53	7.33 ± 0.88	7.65 ± 2.84	4.87 ± 1.46

*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001, vs コントロール油; ▼P<0.05, vs A油.

表4 pH6.0, G/T 比0.5条件下でのミセル中の脂肪重量と構成比率

Rt (min)	コントロール油		A 油		B 油	
	重量 (mg)	構成比率 (%)	重量 (mg)	構成比率 (%)	重量 (mg)	構成比率 (%)
6 (C 8 : 0)	0.35 ± 0.04	0.22 ± 0.04	0.38 ± 0.04	0.23 ± 0.03	0.31 ± 0.02	0.22 ± 0.03
9 (C10 : 0)	0.30 ± 0.03	0.20 ± 0.02	0.32 ± 0.08	0.19 ± 0.01	0.26 ± 0.01	0.18 ± 0.02
12 (C12 : 0)	1.74 ± 0.22	1.14 ± 0.08	1.85 ± 0.45	1.10 ± 0.07	1.37 ± 0.06	0.97 ± 0.09 *
16 (C14 : 0)	0.98 ± 0.08	0.65 ± 0.05	1.36 ± 0.62	0.80 ± 0.21	0.84 ± 0.21	0.60 ± 0.09
18	1.31 ± 0.16	0.86 ± 0.12	1.83 ± 0.50	1.03 ± 0.15	1.12 ± 0.07	0.79 ± 0.10
18 (C16 : 0)	8.57 ± 1.61	5.63 ± 1.21	11.82 ± 5.68	7.32 ± 2.08	7.93 ± 3.98	5.62 ± 2.20
19 (C16 : 1)	2.80 ± 0.24	1.86 ± 0.09	2.74 ± 0.80	1.60 ± 0.16	2.47 ± 1.10	1.75 ± 0.37
20 (C18)	63.46 ± 2.84	42.14 ± 1.44	74.20 ± 22.10	45.16 ± 4.95	61.37 ± 8.38	43.52 ± 1.91
FFAの合計	79.51 ± 3.93	52.70 ± 2.71	94.50 ± 30.00	57.43 ± 7.23	75.67 ± 13.04	53.65 ± 4.16
23	14.62 ± 0.80	9.72 ± 1.08	14.86 ± 3.22	8.63 ± 0.95	13.91 ± 2.56	9.87 ± 0.87
24	40.11 ± 4.79	26.68 ± 1.59	41.24 ± 4.33	23.78 ± 4.93	35.40 ± 2.17	25.10 ± 3.64
27	0.30 ± 0.06	0.20 ± 0.03 ▼	0.44 ± 0.11	0.28 ± 0.01	0.27 ± 0.04	0.19 ± 0.05 ▼
33	0.75 ± 0.11	0.50 ± 0.04	0.71 ± 0.20	0.41 ± 0.07	0.64 ± 0.02	0.45 ± 0.06
MGの合計	55.78 ± 4.60	37.10 ± 1.12	57.25 ± 7.42	33.10 ± 5.51	50.22 ± 0.75	35.60 ± 2.87
38	3.02 ± 0.26	2.00 ± 0.06	3.31 ± 1.07	1.97 ± 0.31	2.84 ± 0.37	2.01 ± 0.08
45	5.83 ± 1.01	3.98 ± 0.45	6.35 ± 1.20	3.68 ± 0.57	5.69 ± 0.14	4.03 ± 0.43
53	5.90 ± 2.06	4.22 ± 1.18	6.86 ± 1.43	3.82 ± 1.16	6.63 ± 0.91	4.71 ± 1.01
DGの合計	14.75 ± 3.23	10.20 ± 1.63	16.52 ± 3.19	9.47 ± 1.71	15.16 ± 0.74	10.75 ± 1.37

*P<0.05, vs コントロール油; ▼P<0.05, vs A油.

油の順であったが、構成比率はコントロール油, B油, A油の順であった。しかし、それらの差はすべて有意でなかった。DGでは重量, 構成比率とも各供試油間で有意差はなかった。

3. ミセル中の各脂肪酸量と消化移行率

各供試油の消化前脂肪酸量を表5に、両pH, G/T比条件下における各供試油のミセル中総脂肪酸量と

消化移行率の成績を表6と表7にそれぞれ示した。なお、pH7.5, G/T比2.0条件下におけるA油のガスクロマトグラムを図3に示した。

3.1. pH7.5, G/T比2.0条件下での検討(表6)

ミセル中の個々の脂肪酸量は、各供試油とも消化前の脂肪酸量を反映して増減した。消化移行率は、脂肪酸により多少の違いはあったが、一般に飽和脂

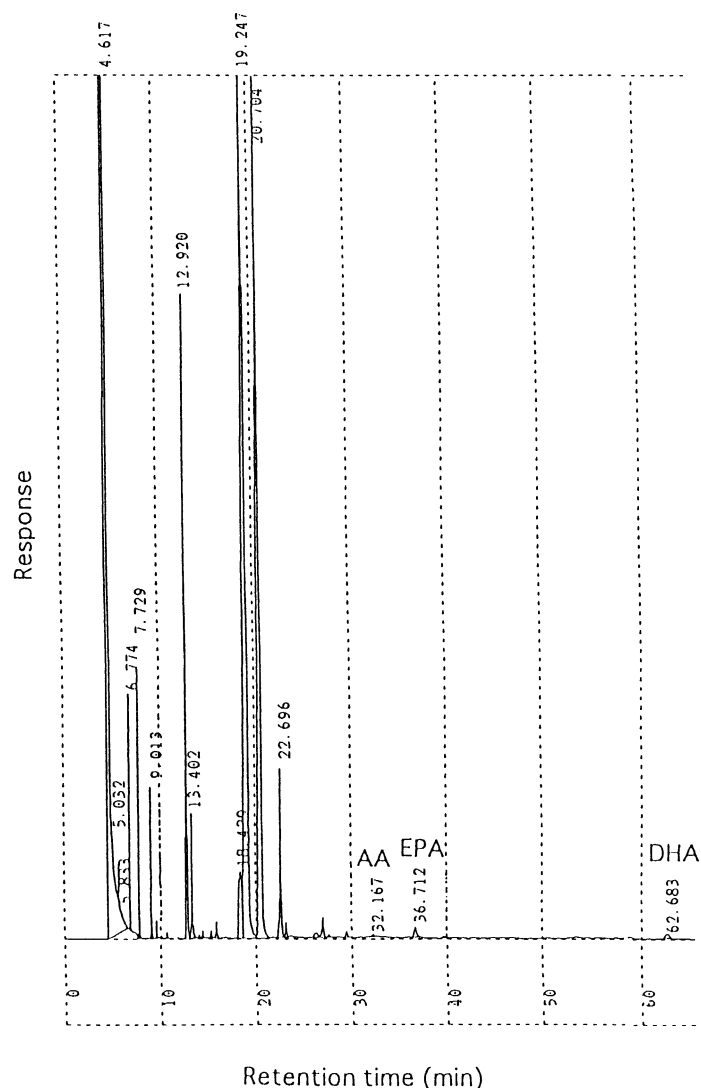


図3 ミセル中に含有する脂肪酸のガスクロマトグラム
(pH7.5, G/T比2.0:A油)

表5 各供試油の消化前脂肪酸量¹⁾

脂肪酸	(mg)		
	コントロール油	A油	B油
C8:0	0.30	0.26	0.29
C10:0	0.61	0.53	0.55
C12:0	5.26	4.28	4.42
C14:0	4.94	4.58	4.46
C16:0	43.75	44.36	45.16
C16:1	4.40	4.32	4.66
C18:0	20.39	20.62	20.07
C18:1	91.95	93.44	95.00
C18:2	69.92	68.66	69.83
C18:3	10.27	8.36	8.31
C20:4	0.06	0.08	0.07
C20:5	ND ²⁾	0.89	0.65
C22:6	ND	1.17	1.17

¹⁾ 供試油240 mg 当たり.

²⁾ Not detected.

脂肪酸では炭素数の増加にしたがい悪くなり、また、同じ炭素数の不飽和脂肪酸では、二重結合の増加にしたがい良好になった。供試油間の比較では、脂肪酸量、消化移行率とも、ミリスチン酸(C14:0)と α -リノレン酸(C18:3)がA油とB油においてコントロール油より有意に高値であった。パルミチン酸(C16:0)は、A油においてB油より有意に高値であった。なお、EPA(C20:5)とDHA(C22:6)の消化移行率は、A油では $91.0 \pm 9.6\%$ と $59.3 \pm 8.3\%$ 、B油では $100.0 \pm 0.9\%$ と $66.7 \pm 7.4\%$ であり、両油間に有意差は認められなかった。

3.2. pH6.0, G/T比0.5条件下での検討(表7)

ミセル中の個々の脂肪酸量および消化移行率は、pH7.5, G/T比2.0条件下の場合と類似の傾向にあった。供試油間の比較では、脂肪酸量、消化移行率と

表6 pH7.5, G/T 比2.0条件下でのミセル中の脂肪酸量と消化移行率

脂肪酸	コントロール油		A 油		B 油	
	脂肪酸量 (mg)	消化移行率 (%)	脂肪酸量 (mg)	消化移行率 (%)	脂肪酸量 (mg)	消化移行率 (%)
C10:0	0.57 ± 0.06	93.4 ± 8.3	0.51 ± 0.05	96.2 ± 4.2	0.55 ± 0.07	100.0 ± 4.2
C12:0	4.41 ± 0.36	83.8 ± 6.9	3.79 ± 0.15	88.6 ± 3.5	3.36 ± 0.30	86.0 ± 6.7
C14:0	3.31 ± 0.24	67.1 ± 4.8	3.30 ± 0.04*	72.0 ± 3.1*	3.27 ± 0.19*	73.3 ± 4.2*
C16:0	21.16 ± 2.61	48.4 ± 13.2	21.30 ± 1.81	48.0 ± 4.1	23.84 ± 2.09	52.8 ± 2.4
C16:1	3.29 ± 0.24	74.8 ± 5.5	3.56 ± 0.08	82.4 ± 1.7	3.04 ± 0.45▼	65.2 ± 9.7▼
C18:0	7.86 ± 2.02	38.5 ± 9.9	6.95 ± 1.99	33.7 ± 9.7	9.63 ± 0.75	48.0 ± 3.7
C18:1	72.15 ± 2.40	78.5 ± 2.6	77.51 ± 1.76	80.9 ± 1.9	76.86 ± 9.10	80.9 ± 9.6
C18:2	55.11 ± 1.90	78.8 ± 2.7	57.26 ± 2.30	83.4 ± 3.4	56.49 ± 6.26	80.9 ± 9.0
C18:3	6.36 ± 0.29	61.9 ± 2.9	6.67 ± 0.03*	79.8 ± 0.3*	6.70 ± 0.71*	80.6 ± 8.6*
C20:4	0.05 ± 0.01	83.8 ± 8.3	0.06 ± 0.01	75.0 ± 6.3	0.05 ± 0.02	71.4 ± 21.8
C20:5	ND ¹⁾	ND	0.81 ± 0.09	91.0 ± 9.6	0.65 ± 0.12	100.0 ± 0.9
C22:6	ND	ND	0.69 ± 0.10	59.3 ± 8.3	0.78 ± 0.09	66.7 ± 7.4

¹⁾Not detected.**P*<0.05, vs コントロール油; ▼*P*<0.05, vs A油.

表7 pH6.0, G/T 比0.5条件下でのミセル中の脂肪酸量と消化移行率

脂肪酸	コントロール油		A 油		B 油	
	脂肪酸量 (mg)	消化移行率 (%)	脂肪酸量 (mg)	消化移行率 (%)	脂肪酸量 (mg)	消化移行率 (%)
C10:0	0.37 ± 0.09	60.9 ± 14.2	0.34 ± 0.03	63.7 ± 5.7	0.33 ± 0.03	60.5 ± 5.3
C12:0	3.67 ± 0.23	69.8 ± 4.5	2.84 ± 0.17	66.3 ± 4.0	3.17 ± 0.12▼	71.7 ± 2.6▼
C14:0	2.88 ± 0.39	58.2 ± 8.0	2.67 ± 0.11	58.3 ± 2.5	2.94 ± 0.30▼	65.8 ± 6.8▼
C16:0	23.30 ± 3.12	53.2 ± 7.2	24.27 ± 1.38	54.7 ± 3.1	22.23 ± 6.38	49.2 ± 14.2
C16:1	2.81 ± 0.25	64.0 ± 5.6	2.52 ± 0.25	59.2 ± 4.3	3.36 ± 0.46	72.2 ± 9.9
C18:0	8.17 ± 1.95	40.0 ± 9.6	10.06 ± 0.52	48.8 ± 2.5	8.88 ± 5.35	44.2 ± 26.6
C18:1	58.70 ± 2.97	63.9 ± 3.2	54.57 ± 2.82	58.4 ± 3.0	65.20 ± 9.43	68.6 ± 9.9
C18:2	43.92 ± 1.99	62.8 ± 2.9	40.14 ± 2.02	58.5 ± 3.0	47.73 ± 6.97	68.3 ± 10.0
C18:3	4.98 ± 0.20	49.4 ± 3.4	4.73 ± 0.24	56.5 ± 2.9	7.61 ± 3.03	80.7 ± 18.4
C20:4	0.04 ± 0.01▼	72.2 ± 9.6▼	0.03 ± 0.01	41.7 ± 7.2	0.06 ± 0.02▼	85.7 ± 24.8▼
C20:5	ND ¹⁾	ND	0.40 ± 0.04	45.0 ± 4.9	0.56 ± 0.10▼▼	86.8 ± 13.9▼▼
C22:6	ND	ND	0.24 ± 0.03	20.7 ± 2.7	0.64 ± 0.19▼▼	54.6 ± 16.1▼▼

¹⁾Not detected.▼*P*<0.05, ▼▼*P*<0.01, ▼▼▼*P*<0.001, vs A油.

モラウリン酸(C12:0)とC14:0がB油においてA油より有意に高値であった。アラキドン酸(C20:4)は、コントロール油とB油においてA油より有意に高値であった。EPAとDHAは、B油が86.8±13.9%と54.6±16.1%で、A油の45.0±4.9%と20.7±2.7%より有意に高値であった。

考 察

n-3脂肪酸,なかでもDHAの摂取は低出生体重

児に必須であり,最近の低出生体重児用人工乳は,植物油とともに魚油を乳脂肪の置換脂肪として使用し,DHAを強化している.DHAは魚油のほかに,魚卵リン脂質中にも豊富に含まれている.シロザケは,わが国では最も一般的なサケであり,広く食用に供されている.新巻などにも加工されているが,その際,卵を含む内臓部は除去され,廃棄物となっている¹¹⁾.わが国では,シロザケの卵は塩蔵品(いくら)として賞味されているが,諸外国では,廃棄

されることが多い。著者らは、DHA の供給源としてこの安価であるシロザケの卵リン脂質に注目し、これに含まれる DHA の乳幼児栄養学的効用をマグロ魚油の場合と *in vitro* の実験で比較検討することとした。

ところで、新生児や幼児乳児の十二指腸 pH は 6.0 付近にあり、幼児から成人の pH である 7.5 よりも低い¹²⁾。また、胆汁酸の抱合形態は、出生後しばらくはグリシン抱合型よりタウリン抱合型が優位であり、しかも、このタウリン優位は、母乳栄養では出生後比較的長く続くのに対して、人工栄養児では 1 か月もするとグリシン優位に変わるといわれている¹²⁾。そこで、本研究では、新生児の十二指腸の条件下 (pH 6.0, G/T 比 0.5) と幼児から成人の十二指腸の条件下 (pH 7.5, G/T 比 2.0) において各供試油にリパーゼ溶液を加えて消化させ、形成されたミセル相から FFA, MG, DG および TG を抽出、分離後、脂肪酸量およびその消化移行率を測定した。

まず、ミセル中の総脂肪量と消化移行率は、すべての供試油において新生児の十二指腸の条件下のほうが幼児から成人の条件下より有意に低値であった。新生児、特に低出生体重児は年長児に比べ、膵リパーゼの活性、胆汁酸の分泌、小腸粘膜細胞からの吸収などの諸機能の発達が未熟である。なかでも、胆汁酸は脂肪の乳化、リパーゼの活性化、ミセル形成など脂肪の消化吸収全般にわたり重要な作用を有するが、低出生体重児は、胆汁酸貯蔵量が少なく、十二指腸胆汁酸もミセル形成の臨界濃度以下である¹²⁾。これらのことを考慮すると、新生児の十二指腸条件下における脂肪のミセルへの消化移行が幼児から成人の条件下のそれより劣るという成績は当然であり、新生児にとって生理的な結果であるといえる。しかし、新生児の条件下での消化移行率は、各供試油間で有意差がなかった。このことは、シロザケの卵リン脂質が総脂肪量でみるかぎり、マグロ魚油と同様、新生児にも使用できることを示唆している。

つぎに、ミセル中の各脂質の重量と構成比率であるが、重量は新生児の十二指腸条件下では、幼児から成人の条件下に比べて FFA が少なく、MG と DG が多かったが、その差は B 油の FFA においてのみ有意であった。構成比率も新生児の条件下では各脂質の重量と同様の成績であったが、有意差だけが異なっており、B 油の FFA と MG において、A 油の DG においてそれぞれ有意であった。すなわち、新生児の十二指腸の条件下での成績が幼児から成人の条件下での成績より劣っていたが、これも前記した新生児の脂質消化の未熟性によるものであり、当然な結果と考えられた。しかし、新生児の条件下での構成比率は、

幼児から成人の条件下での構成比率と同様、FFA が最も多く、続いて MG, DG の順であったことと、それら構成比率には供試油間で有意差がなかったことなどから、FFA, MD, DG などの脂質分画の成績でもまた、シロザケの卵リン脂質は、マグロ魚油同様、新生児にも使用できることが示唆された。

つぎに、個々の脂肪酸のミセル中への移行率は、新生児の十二指腸条件下と幼児から成人の十二指腸条件下のどちらであっても、飽和脂肪酸では炭素数の増加にしたがい悪くなり、また、同じ炭素数の不飽和脂肪酸では二重結合の増加にしたがい良好になった。山本ら¹³⁾は各種油脂について、藤岡¹⁴⁾は市販の調製粉乳についてそれぞれ *in vitro* 消化実験で、ミセル中の脂肪酸組成をみているが、彼らの成績も著者らの成績とよく一致した。一般に、食事脂肪は、炭素数の長い飽和脂肪酸が主に構成されているものほど消化吸収が悪く、不飽和脂肪酸の含量が多いものほどよいが、著者らの成績はこの既知の事実を改めて証明したものである。

最後に、本研究の主目的である DHA の消化移行率は、EPA のそれと同様、A, B 両油とも新生児の十二指腸条件下において幼児から成人の十二指腸条件下より低値であったが、A 油のみ有意差が認められた。すなわち、新生児の十二指腸条件下での消化性が劣っており、脂肪消化の未熟性を示した。しかし、幼児から成人の十二指腸条件下での消化移行率は、A, B 両油間で有意差がなかったが、新生児の十二指腸条件下のそれは、A 油が B 油より有意に低値であった。このことは、シロザケの卵リン脂質は、幼児から成人では、マグロ魚油同様、DHA 強化の目的で使用できるが、新生児にはマグロ魚油ほど有効ではないことを示した。

1987年、Carlson ら¹⁵⁾は、EPA を多く含む魚油を低出生体重児に与えると、児の発育が遅延すると述べた。それ以来、EPA は乳児にとって不必要な油であると考えられるようになり、DHA 強化の目的で調製粉乳に使用される魚油としては、DHA よりも EPA の多いイワシの油ではなく、DHA が多くて EPA の比較的少ないマグロの油が好んで用いられている。シロザケの卵リン脂質を加えた A 油の EPA 含量は 0.21% で、マグロ魚油を加えた B 油の 0.16% より若干多かったが、問題にするほどの量とは考えられない。

以上、著者らは、シロザケの卵リン脂質中に含まれる DHA の乳幼児栄養学的効用をマグロ魚油の場合と *in vitro* の実験で比較検討した結果、新生児の十二指腸条件下におけるミセル中の総脂肪量と脂肪分画の成績には両油間で有意差がなかったが、DHA

や EPA などの長鎖多価不飽和脂肪酸の成績だけは、意に反して前者が後者より劣るという成績を得た。これは、DHA や EPA などが他の脂肪酸に比べて微量なために生じたのか、本研究では確かめることができなかった。今後、実験条件を変えるなどして検討を重ねる必要があると思われる。また、本研究は、試験管内という限られた条件下での一モデル実験であり、複雑な生体内消化でのすべてを正確に反映しているとは限らない。置換脂肪としてシロザケの卵リン脂質を使用した人工乳を調整し、これによ

る低出生体重児や乳児の哺育研究が必要であることは申すまでもない。

終わりに、本研究にご指導頂いた明治乳業研究所米久保明得博士、ならびに川崎医療福祉大学臨床栄養学科高木茂明教授に感謝いたします。

なお、本研究は平成10～11年度糧食研究会研究費の補助によるものである。

本論文の要旨は、第26回日本小児栄養消化器病学会(平成11年9月)において発表した。

文 献

- 1) Gibson RA and Kneebone GM: Fatty acid composition of human colostrum and mature breast milk. *American Journal of Clinical Nutrition*, **34**, 252-257, 1981.
- 2) Bitman J, Wood L, Hamosh M and Mehta NR: Comparison of the lipid composition of breast milk from mothers of term and preterm infants. *American Journal of Clinical Nutrition*, **38**, 300-312, 1983.
- 3) 米久保明得, 有馬祐史, 山本良郎: 日本人の母乳組成に関する研究(第3報). *小児保健研究*, **46**, 349-352, 1987.
- 4) 井戸田正, 桜井稔夫, 菅原牧裕, 松岡康浩, 石山由美子, 村上雄二, 森口宏康, 竹内政弘, 下田幸三, 浅居良輝: 最近の日本人乳組成に関する全国調査(第2報). *日本小児栄養消化器病学会雑誌*, **5**, 159-173, 1991.
- 5) 岡本ふさ子: 未熟児母乳および成熟児母乳における脂肪酸組成の比較研究. *日本小児栄養消化器病学会雑誌*, **6**, 123-135, 1992.
- 6) Clandinin MT, Chappell JE, Leong S, Heim T, Swyer PR and Chance GW: Intrauterine fatty acid accretion rates in human brain: implication for fatty acid requirements. *Early Human Development*, **4**, 121-129, 1980.
- 7) Clandinin MT, Chappell JE, Heim T, Swyer PR and Chance GW: Fatty acid accretion in fetal and neonatal liver: implications for fatty acid requirements. *Early Human Development*, **5**, 7-14, 1981.
- 8) Clandinin MT, Chappell JE and Heim T: Do low weight infants require nutrition with chain elongation-desaturation products of essential fatty acids? *Progress Lipid Research*, **20**, 901-904, 1981.
- 9) Carlson SE, Rhodes PG and Ferguson MG: Docosahexaenoic acid status of preterm infants at birth and following feeding with human milk or formula. *American Journal of Clinical Nutrition*, **44**, 798-804, 1986.
- 10) Lepage G and Roy CC: Direct transesterification of all classes of lipids in a one-step reaction. *Journal of Lipid Research*, **27**, 114-120, 1986.
- 11) 日下兵衛, 滝川光広, 坪内寿彦, 太田静行: シロザケ内臓部脂質の脂肪酸組成. *油化学*, **34**, 60-61, 1985.
- 12) 守田哲朗: 小児栄養におけるタウリンの意義. *小児科*, **37**, 1419-1427, 1996.
- 13) 山本良郎, 米久保明得, 飯田耕司, 土屋文安, 亀高正夫: 脂肪酸組成あるいは分子内脂肪酸配置を異にする油脂の *in vitro* 消化において生成されたミセル溶液の組成. *栄養と食糧*, **32**, 179-186, 1979.
- 14) 藤岡仁: 新生児の脂肪消化における Taurine 抱合型胆汁酸の有用性に関する研究. *日本小児雑誌*, **91**, 3266-3275, 1987.
- 15) Carlson SE, Phodes PG, Rao US and Goldger DE: Effect of fish oil supplementation on the omega-3 fatty acid content of red blood cell membranes in preterm infants. *Pediatric Research*, **21**, 507-510, 1987.

(平成14年10月31日受理)

Fatty Acid Composition of Micellar Solutions Formed During *in vitro* Digestion of Various Fats

Mayuko HONYASHIKI, Yoshinobu MATSUMOTO and Tetsuro MORITA

(Accepted Oct. 31, 2002)

Key words : VARIOUS FATS, FATTY ACID, MICELLAR SOLUTION,
IN VITRO DIGESTION

Abstract

This study was designed to investigate the possible effects of docosahexanoic acid (DHA), a salmon roe phospholipid, on *in vitro* lipid digestion under conditions found in young infants. Solutions of control oil (plant oil), oil A (control oil + phospholipids from salmon roe), and oil B (control oil + tuna oil) were digested *in vitro* with lipase under conditions found in the duodenums of both young infants (pH 6.0, glycocholic acid (G) / taurocholic acid (T) ratio of 0.5) and older infants to adults (pH 7.5, G / T ratio of 0.5). Subsequently, free fatty acids, monoglyceride, diglyceride and triglyceride, as well as their respective fatty acid contents, were measured in the micellar phase.

The total amount of fat products and digestibility were significantly lower under conditions found in young infant's duodenum in all solutions. However, the composition of the respective fat contents and the digestibility of oil A and oil B solution did not differ under conditions found in young infants. The DHA and eicosapentaenoic acid (EPA) digestibilities in both oil A and B were also significantly lower under these conditions.

It was concluded that the total amount of fat products and the composition of the fat contents in oil A were similar those in oil B under conditions found in the duodenums of young infants, although DHA and EPA digestibilities in oil A were significantly lower than those in oil B.

Correspondence to : Mayuko HONYASHIKI Master's Program in Clinical Nutrition, Graduate School of Medical Professions, Kawasaki University of Medical Welfare
Kurashiki, Okayama, 701-0193, Japan
(Kawasaki Medical Welfare Journal Vol.12, No.2, 2002 375-384)