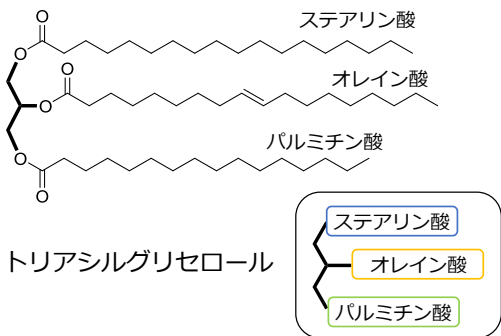


油脂（トリアシルグリセロール）の結合位置別に脂肪酸組成を分析する新しい酵素法

キーワード：油脂、脂肪酸分布分析、リパーゼ

食用油脂

我々が日常的に栄養源として摂取する動植物油脂の主成分であるトリアシルグリセロール (TAG) には脂肪酸が3分子含まれていますが、その構成比率はその由来によって異なります。例えば、植物由来の油脂であるオリーブオイルはオレイン酸 (C18:1; 炭素数 18、二重結合数 1)、大豆油はリノール酸 (C18:2; 炭素数 18、二重結合数 2) の含有量が高いのが特徴です。また、チョコレートの原料であるカカオ脂は飽和脂肪酸と呼ばれるパルミチン酸 (C16:0; 炭素数 16、二重結合数 0)、ステアリン酸 (C18:0; 炭素数 18、二重結合数 0)、オレイン酸という3つの脂肪酸が主成分です。すなわち、TAGに含まれる脂肪酸の種類と比率を分析すると、油脂の種類の手推しもできます。



脂肪酸の配置は美味しさの秘密

チョコレートは、常温では固形で、指でバリッと割れ、口に含んだ時に溶けて、クリーミーさや甘味とともにカカオの香りがたち「美味しい」と感じられます。チョコレートの原料、カカオ脂の TAG の α 位には、炭素数 16 や 18 の飽和脂肪酸が、 β 位にはオレイン酸が主に結合していて、すなわちカカオ脂は飽和脂肪酸-オレイン酸-飽和脂肪酸という特徴的な脂肪酸の配置を持ちます。チョコレートが口どけの良さなどの「美味しさ」を示すのは、この脂肪酸配置を持つカカオ脂が、テンパリング (温度調整) 技



トリアシルグリセロールの構造と特徴

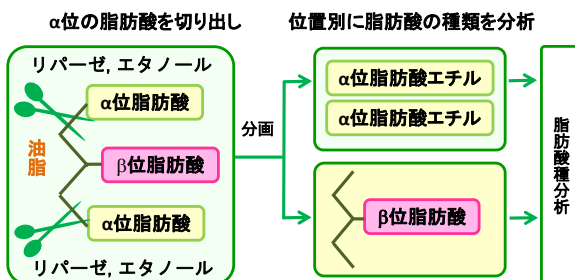
術によって形成する結晶構造にあると解明されています¹⁾。

また、母乳中の乳脂の α 位には、炭素数が4や6の短鎖脂肪酸が位置しています。そして、分解酵素分泌が少ない乳児でも分解・吸収しやすく、栄養になり易い性質を示すと言われています。

新規分析法開発の背景

既存の脂肪酸分布分析法である、ブタ暁や微生物由来のリパーゼ (油脂加水分解酵素) を用いた方法 (ISO 6800-1997、日本油化学会制定基準油脂分析試験法 推奨法 2-2013) では、短鎖脂肪酸を含む乳脂や高度不飽和脂肪酸を含む魚油は適用範囲外でした。

高度不飽和脂肪酸とは、炭素数が20以上、不飽和結合が4以上の脂肪酸の総称で、イワシ油やマグロ油に多く含まれるエイコサペンタエン酸 (EPA, C20:5) やドコサヘキサエン酸 (DHA, C22:6) が代表的です。神経細胞の発達に重要で、循環器疾患を予防・治療する効果があり、抗ガン・抗うつ作



新規分析法の原理概説

用や認知症に対する効果に対する研究も多く進められ、魚油の積極的な摂取も推奨されています。そのため世界的に魚(油)の需要が高まって、供給不足が予測されることから、新たな供給源の探索が始まっており、高度不飽和脂肪酸を含む油脂に適用できる簡便な分析法の開発が求められてきました。

このような背景のもと、当研究所では、短鎖脂肪酸や高度不飽和脂肪酸を含む油脂に適用できる、新たな方法(基準油脂分析試験法 2.4.5-2016)を開発しましたので紹介します。

TAGのβ位に結合する脂肪酸組成の分析法²⁾

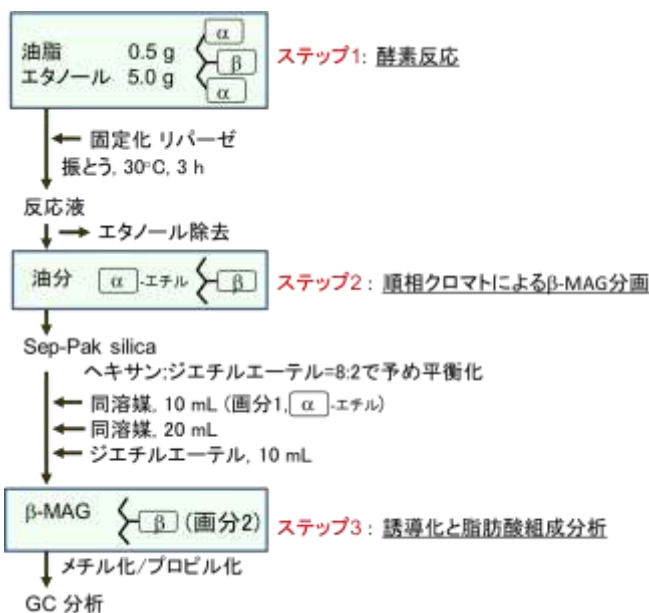
本法は主に3つのステップから構成されます。

ステップ1: TAGとエタノールをリパーゼで処理し、α位脂肪酸をエチルエステル型、β位脂肪酸をモノアシルグリセロール(MAG)型に変換します。

ステップ2: 次にこれをシリカゲルカラムクロマトグラフィーで各成分に分画します。

ステップ3: 最後に、画分2として得られたβ-MAGをアルキルエステルに変換し、脂肪酸種をガスクロマトグラフィーで分析します。この時、原料の油脂(TAG)も誘導化して脂肪酸組成を分析します。

このように、本法は簡便で実施しやすく、高い再現性を得られるのが特長です。また、下図には、30℃での液体の油脂を分析対象とした条件を記載しましたが、ステップ1の酵素反応開始前に反応液を約40℃にして加温溶解することで乳脂に、または、ステップ1の反応温度を変えることで融点約50℃のパーム油にも適用でき、融点の異なる様々な油の分析への応用が可能です。



分析の流れ

乳脂やイワシ油の分析例

本法を用いた、乳脂³⁾やイワシ油⁴⁾の分析例を紹介しします(表1および表2)。乳脂では、短鎖脂肪酸(C4, C6)がα位に、C14がβ位に偏って存在していることがわかります。一方、イワシ油では、長鎖脂肪酸C18, C18:1, C18:2がα位に、C14や高度不飽和脂肪酸に分類されるドコサペンタエン酸(C22:5)、ドコサヘキサエン酸(22:6)がβ位に偏在していることがわかります。

このような情報は、脂質の栄養機能の推定、加工油脂デザインに有用です。

表1 乳脂の分析例

| 脂肪酸 (C数:二重結合数) | 乳脂 | α位 | β位 |
|-------------------|------|------|------|
| 4:0 | 3.0 | 4.3 | 0.3 |
| 6:0 | 2.0 | 2.7 | 0.4 |
| 8:0 | 1.3 | 1.4 | 1.0 |
| 10:0 | 2.9 | 3.1 | 2.5 |
| 12:0 | 4.5 | 3.9 | 5.5 |
| 14:0 | 11.2 | 8.1 | 17.3 |
| 16:0 | 33.1 | 32.1 | 35.0 |
| 16:1 | 1.6 | 1.2 | 2.2 |
| 18:0 | 8.8 | 11.1 | 4.0 |
| 18:1 | 21.8 | 23.9 | 17.7 |
| 18:2 | 2.4 | 2.1 | 3.0 |

表2 イワシ油の分析例

| 脂肪酸 (C数:二重結合数) | イワシ油 | α位 | β位 |
|-------------------|------|------|------|
| 14:0 | 6.8 | 5.0 | 10.4 |
| 16:0 | 16.0 | 15.1 | 17.7 |
| 16:1 | 8.7 | 8.1 | 10.0 |
| 16:3 | 1.2 | 1.0 | 1.5 |
| 16:4 | 1.8 | 1.6 | 2.2 |
| 18:0 | 3.3 | 4.9 | - |
| 18:1 | 11.9 | 15.5 | 4.7 |
| 18:2 | 1.3 | 1.9 | - |
| 18:4 | 2.8 | 2.8 | 2.6 |
| 20:4 | 1.2 | 1.7 | - |
| 20:5 | 18.5 | 22.7 | 10.2 |
| 22:5 | 2.2 | 1.2 | 4.4 |
| 22:6 | 12.2 | 5.8 | 25.0 |

引用文献

- 古谷野哲夫:日本結晶学会誌, 56, 319 (2014)
- 日本油化学会制定基準油脂分析試験法 2.4.5-2016
- K. Yoshinaga *et al.*:J. Oleo Sci., 65, 291 (2016)
- Y. Watanabe *et al.*:J. Oleo Sci., 64, 1193 (2015)