

身近な教材を用いた生物工学実験（３）

— 油脂中の脂肪酸組成分析および野菜の抗酸化作用測定 —

笹村 泰昭*・遠藤 俊二**・岩波 俊介***・清水 祐一****

Bioengineering Experiment using Familiar Materials (3)

— Analysis of the fatty acid composition of edible oils and fats, and examination of the anti-oxidizing action of greens on oleic acid —

Yasuaki SASAMURA, Shunji ENDOH, Shunsuke IWANAMI and Yuichi SHIMIZU

要 旨

第４学年生物化学コース「生物工学実験」に新しいテーマを導入した。一つは日常食している油脂成分の脂肪酸組成分析実験で油脂中のグリセライドをメチルエステルとしガスクロマトグラフィー分析から求めた。もう一つはオレイン酸に対する抗酸化作用物質の探索である。乾燥野菜が抗酸化作用を有する結果が得られた。本実験から学生に食品を通じて化学学習の意義を認識させることが出来た。

Abstract

Two new experiments were adopted for our 4th grade students, one of which is an analysis of the fatty acid composition of edible oils and fats. The other is an experiment in which a search is made for greens which prevent oxidization of oleic acid. The opportunity to examine foods via chemical experimentation was a very useful theme for underlining the relationship existing between chemistry and the everyday life of the student.

１ はじめに

筆者らは４年生の「生物工学実験」において生活の中に身近にある材料、試料を取り上げ学生の興味を引くように心がけている¹⁾²⁾。本報もそのテーマ探索の一例である。学生実験において、動・植物の脂肪酸組成を分析することは、毎日の食事と化学との関係を見つめるきっかけを提供できると考えた。さらに野菜やお茶の抗酸化性について調べる実験を加えることで、「生化学」「食品化学」の授業での勉学意欲の向上につながることを期待した。

２ 試薬と使用機器

オレイン酸、ナトリウムメトキシドは和光純薬

* 教 授 物質工学科
** 技 官 技術専門職員 物質工学科
*** 助教授 物質工学科
**** 教 授 物質工学科

１級品、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、オレイン酸、リノール酸、リノレン酸のメチルエステルはいずれも和光ガスクロ標準品試薬を使用した。ガスクロマトグラフ装置 GC・7AG（島津）分析条件は図３に記載した。恒温槽は EYELA 製ソフトインキュベータ SLI-450ND を使用した。

３ 実験方法と結果

実験は２人一組８班の学生に対して油脂試料８種、ピーナツ、米糠、鰯、鮭の眼窩、菜種油、オリーブ油、牛脂、豚脂を選んだ。抗酸化機能を有する試薬として BHA、ビタミン C、E を、身近な材料として乾燥した茶葉、お茶を、野菜はほうれん草、にんじん、大根の葉の合計８種を選んだ。

３－１ 油脂からのグリセライドの抽出

試料の油脂からソックスレー抽出器を用いヘキサン抽出物を粗グリセライドとした。菜種油、オ

リーブ油、牛脂、豚脂については市販品をそのままエステル交換反応に供した。抽出操作の概略を図1に示した。操作は先ず円筒ろ紙に試料を計り取る。還流装置の下部の丸型フラスコにヘキサンを入れマントルヒーターに設置する。ヘキサンが加温され揮発、冷却、円筒ろ紙に溜まって溢れ出て丸底フラスコに流れもどるというサイクルを数回繰り返す。静置冷却後、還流装置の上部を外し、還流装置の内部に溜まっているヘキサンをフラスコに移し無水硫酸ナトリウムを加え脱水する。脱水したヘキサン溶液をロータリーエバポレーターで濃縮し得られた成分を粗グリセライドとした。結果を表1に示した。

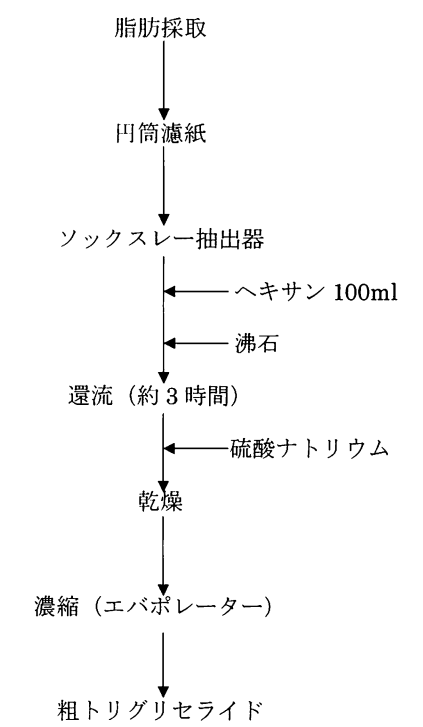


図1. 粗グリセライドの抽出操作

表1. 粗グリセライド収量

	試料量(g)	粗グリセライド(g)
ピーナツ	3.00	1.43
米糠	3.00	0.67
鰯	25.53	2.23
鮭の眼窩	13.25	0.23

3-2 エステル交換反応

得られたヘキサン抽出物を粗グリセライドと見なし、ナトリウムメチラートによるエステル交換反応を行った。油脂成分1.0g に対し1%-ナトリウムエチラートを2.5ml 加え⁴⁾、上部に塩化カル

シウム乾燥管をつけた還流冷却器を連結する。マグネチックスターラーで攪拌しながら60℃の油浴にて2時間加熱還流した。反応終了後、溶液の温度が常温になるまで放冷し、5%-塩酸を7.5ml 加えて中和し、ヘキサン10ml で2回抽出する。抽出液を水洗し乾燥後ガスクロ分析のサンプルとする。分析終了後は溶媒を除去し抽出物の重さをエステル収量とする。

操作の概略が図2、結果が表2である。

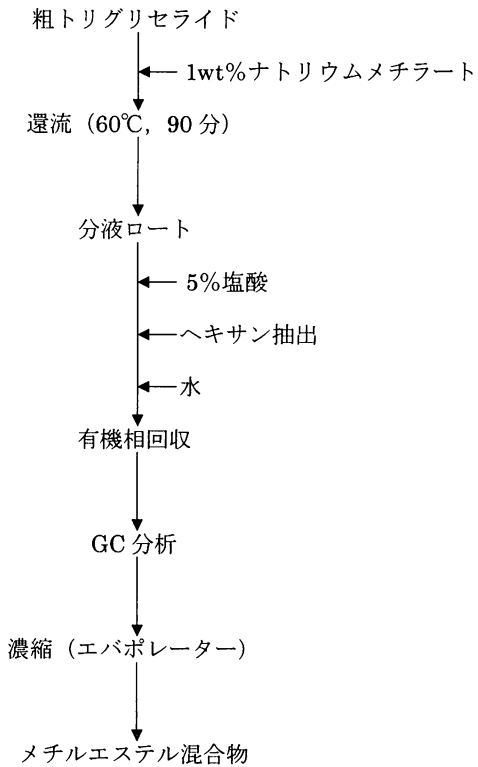


図2. エステル交換反応操作

表2. エステルの収量

	抽出量(g) (粗グリセライド)	エステル量 (g)	回収率 (%)
ピーナツ	1.43	1.15	80
米糠	0.67	0.52	77
鰯	2.23	1.83	82
鮭の眼窩	0.23	0.15	64
菜種油	1.09	0.85	78
オリーブ油	1.00	0.87	87
牛脂	1.03	0.93	90
豚脂	1.00	0.81	81

3-3 ガスクロマトグラフ分析

エステル交換後のヘキサン抽出物の GC 分析からそれぞれのピークの保持時間を比較することで脂肪酸メチルエステルを同定した。成分比は自動

面積測定装置クロマトパック E1A（島津）によるそれぞれのピークの面積比をそのまま成分比と読み替え感度補正はしていない。

標準品のクロマトグラムを図3に示した。

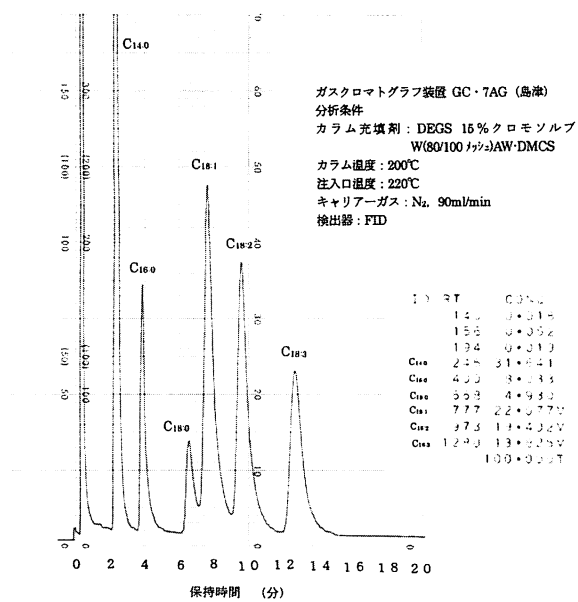


図3. 標品エステル混合物のガスクロマトグラム

分析結果が表3である。
この分析結果と教科書³⁾に記載されている表と比較する。学生は自らが実験で得られた結果と教科書の数値との比較することは大変有意義な体験と受け止めていた。

表3. 脂肪酸組成分析結果

	C14:0	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	その他
ピーナツ	trace	11.0	2.3	47.0	35.0	0.6	4.1
米糠	1.4	23.9	11.9	43.0	11.5	2.2	6.1
鰯	8.4	14.5	1.9	10.1	2.2	11.0	51.9
蛙の眼窩	3.8	24.0	21.0	37.0	0.4	2.7	11.2
菜種油	0.1	4.5	1.9	60.1	20.8	11.0	1.7
オリーブ油	trace	11.0	2.8	78.0	5.7	0.8	1.7
牛脂	4.7	27.0	18.0	40.0	3.4	1.5	5.4
豚脂	0.1	1.8	24.0	43.0	12.0	0.1	19.0

3-4 オレイン酸の重量変化の測定

オレイン酸の重量増加が二重結合への酸素付加であると想定し、試薬オレイン酸をシャーレに計り取り37℃の恒温槽に静置した。その重量変化を測定し酸化の進行の様子を調べた。何も加えない無添加のオレイン酸を指標すなわちブランクとし、試薬としてBHA、ビタミンC、ビタミンEを選び、身近な材料として乾燥した茶葉、お茶、ほうれん草、にんじん、大根の葉を各班に割り当

てた。茶がらおよび大根葉は電子レンジにて充分乾燥した後、ミキサーで細かく粉碎し、微細な部分を選別し試料とした。オレイン酸への添加量は試薬は0.2wt%，乾燥野菜は1.0wt%とした。添加後良く攪拌浸透し、37℃のインキュベータに静置する。その後は適当日数間隔で重量変化を測定する。添加物の無いブランクとの比較から各試料について抗酸化作用を検討した。結果を図4、5のグラフにまとめた。

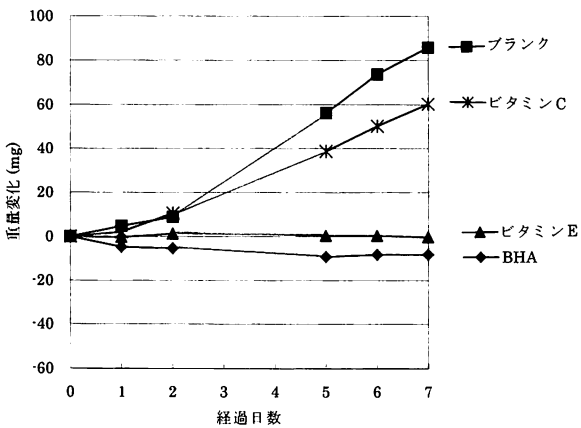


図4. 試薬の抗酸化性

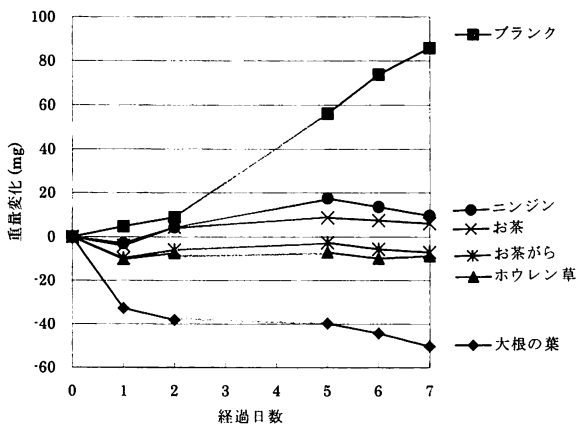


図5. 野菜の抗酸化性

何も添加していないブランクが1週間で約80mg（0.8%）の重量増加が認められた。ビタミンCは抗酸化性がほとんど無い。そのほかの試料については充分添加の効果が認められ抗酸化力があると言える。ダイコン葉添加の場合の重量の減少は乾燥不十分のための水分の蒸発によると推察した。

4 本実験を通じて学習・考察できた事項

本実験を通じ教師側から見て以下のような事項

について学習することができた。どの有機化学の教科書でも油脂の章に食材の油脂の脂肪酸組成が載っている。授業ではそれらの組成をグリセリンエステルのエステルの可能な組み合わせを考え構造を吟味して紹介している。実験通じての学習では、先ずグリセライドの構造式を1,2,3-プロパントリオールすなわちグリセリンとメチルエステルとして検出した脂肪酸とのエステルであることを復習した。油脂のヘキサシタン抽出物を粗グリセライドと見なしているがそれ以外にどのような物質が抽出成分の中に含まれているかを調べる課題を出した。エステル交換反応後の抽出成分をも含め炭化水素、高級アルコール、ステロイド、脂溶性ビタミンの可能性を示唆した⁵⁾。次いでエステル交換反応の機構について言及した。参考書⁶⁾には、単純な一価のアルコールとのエステルについて述べている。ナトリウムメチラートの量が触媒量であることからグリセライドの場合にも拡張して同様にアルコオキサイドが生成すると考えた。オレイン酸の酸化反応機構については小方⁷⁾ 並木⁸⁾ の記述が大変参考になった。実験はオレイン酸を使用したので、8-、9-、10-、および11-過酸化物が生成していると考えられる。リノール酸についても酸素が二重結合に直接付加し9-、10-、12-、13-の4種類の過酸化物が生成すると考えられている⁹⁾。ただし主生成物は13-ヒドロ過酸化-シス-9-トランス-11であるという⁷⁾。リノレン酸についてはさらに酸化が進みジ過酸化物の生成、さらに反応が進んだ炭素骨格の切断が進行することも考慮しなければならない⁸⁾。添加物の抗酸化作用については、ビタミンE、アスコルビン酸、BHAがラジカル捕捉剤とある¹⁰⁾。お茶や野菜の中に同一成分が含まれていることを示唆しているが定かではない。

5 ま と め

教科書³⁾に“Man ist was Man isst”(人はその人が食したものである)とある。また実験の説明は、-なぜ母は「礼亮、恵美、諭、祥子、淳、招久、潤、文之、宏幸、麻里子、圭祐、麻衣、祐美、佑紀、奈緒美、あすみ、和也、聡士! 野菜も一緒に食べないといけませんよ!」と言ったのか?-学生一人一人の名前を呼ぶことで始めた。添加物と抗酸化本実験が自分達の毎日の生活と密接な関係があることを強調する為の演出である。

実験結果から食材の油脂成分比を知ることがで

き、教科書、参考書の脂肪酸組成との比較が興味を引いた。抗酸化成分の検索は、卒業後の食生活に大いに参考になることを願っている。その後5年生の食品化学の授業へと繋げる。日頃口にしてある食品の抗酸化を調べる測定実験は日常生活と直接関係のある身近なこととして受け止められた。日常の生活と高専での化学の勉強とを結びつけることが出来る。この日常の生活の中で化学の知識が役立つことを実感させることができた。日頃口にしてある食材の脂肪酸組成を知ることにより意義を認めた。生化学の授業のみでの理解を深めることが出来た。

油脂の抽出とエステル交換反応は、高田純輝君(物質工学科4期生)、平田香織さん(同6期生)の卒業研究結果、学生実験として専攻科1年生白田大介君はじめ5人の学生と実施検討した結果に基づいて改良を加えた。また本報の実際のデータは現4年生の協力によるところが大きい。特にデータをまとめるに際し4年生の西村麻衣さん、西村祐美さんの協力を得た。

参考文献等

- 1) 笹村・遠藤・岩波・清水, 苫小牧高専紀要, 第37号, p.109 (2002)
- 2) 遠藤・岩波・清水・笹村, 苫小牧高専紀要, 第38号, p.99 (2003)
- 3) 後藤・磯部訳「バーゴイン有機化学」東京化学同人, p.528 (1984), 現在は、伊東・児玉「マクマリー有機化学概説」東京化学同人(2000)を使用している。
- 4) 山西 貞「食品学実験」産業図書, p.115 (昭和44年)
- 5) 志村・船津・小野寺・舟橋・瓜谷「改訂新版生物化学」, 朝倉書店, p.95 (1988)
- 6) 中西・黒野・中平訳「モリソンボイド有機化学」東京化学同人, p.1076 (1985)
- 7) 小方芳郎「有機化合物の酸化と還元」南江堂, p.47-48 (1963)
- 8) 並木・中村・川岸・渡邊「現代の食品化学」三共出版, p.139-146 (1993)
- 9) 川岸・中村「新しい食品化学」三共出版, p.48-52 (2000)
- 10) 中谷・飯淵・稲荷田・沖谷・久保田・藤田「食品化学」朝倉書店, p.147 (1995)

(平成15年11月28日受理)