

平成 30 年 5 月 25 日現在

機関番号：82111

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K12331

研究課題名(和文)動物性脂肪に特有な嗜好因子の探索 - コレステロールを候補因子として -

研究課題名(英文) Search for animal-fat specific palatable factor - regarding cholesterol, as a candidate

研究代表者

佐々木 啓介 (Sasaki, Keisuke)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・畜産研究部門・ユニット長

研究者番号：20343981

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：マウスおよびヒトを用いた実験結果から、コレステロールは油脂の吸収後効果を通じた嗜好性には寄与しておらず、主として匂いを通じて嗜好性に影響を及ぼしているものと考えられた。揮発成分の分析結果から、コレステロールは油脂の匂いに影響を及ぼしており、それはトリアシルグリセロール以外の夾雑物との反応により生じる成分が関与する可能性があることが示唆された。コレステロール脂肪酸エステルは油脂の嗜好性に何らかの影響を及ぼしている可能性が考えられるデータを得たが、詳細な影響の解明には至らなかった。

研究成果の概要(英文)：Our studies in mice and trained panel suggested that cholesterol does not have post-ingestive effect for fat preference, but affects for fat preference via odour. According to analysis of volatile compounds using gas-chromatography-mass-spectroscopy, cholesterol affects fat odour, which is due to reaction with impurities other than triacylglycerol molecules. Furthermore, our study indicated that cholesterol fatty acid esters were considered to be one of potent contributor for fat preference, whereas we cannot clarify the effects of cholesterol fatty acid esters on fat preference in detail.

研究分野：畜産物科学

キーワード：コレステロール 油脂 動物性脂肪 嗜好性 匂い

1. 研究開始当初の背景

高脂血症や糖尿病の患者増は、国民医療費の増大をもたらしている。そこで、これら疾病の予防を目的として、脂肪の摂取制限、特に、動物性脂肪を多く含む食品の摂取を制限する栄養指導が多く行われている。また、植物性油脂を原料としつつも、動物性脂肪を適宜配合し、動物性脂肪らしいおいしさを付与した加工食品が開発されている。これらのことは、動物性脂肪は「指導しなければ摂取量を低減できない」とともに、「つつい摂取してしまう嗜好因子を含む」可能性を強く示唆している。

これまでに応募者らは、牛脂中にトリアシルグリセロールの嗜好性を修飾する画分が存在し、その主要成分の一つはコレステロールであることを明らかにしている(引用文献)。コレステロールは植物性脂肪には存在しない動物性脂肪特有な成分であることから、応募者らは「動物性脂肪は、植物性脂肪にはない特有な嗜好因子を有し、コレステロールはその有力な候補ではないか」と着想した。

2. 研究の目的

脂肪は哺乳動物にとって嗜好性の高い食品成分である。その嗜好性は、(1)脂肪それ自身や加熱等により生じる香りや味、すなわち官能特性と、(2)消化吸收後の栄養学的な働きとの関連学習で成立する吸収後効果の2つにより形成される(Manabe ら, " Fat Detection: Taste, Texture, and Post Ingestive Effects ", 2010)。本研究ではコレステロールを候補因子としてこの2つの観点、すなわち官能特性に影響するか、および)吸収後効果を有するかを検証し、コレステロールが動物性脂肪に特有な嗜好因子であるかを解明することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) コレステロールが脂肪の官能特性に及ぼす影響の解明

分析型官能評価による検証

脂肪およびコレステロールは無味無臭の物質であるが、コレステロールの存在下で何らかの揮発成分が生じ、これが匂いに影響を及ぼすことで嗜好性を発揮する可能性が考えられる。そこで、コレステロールを含まない食用油脂にコレステロールを溶解させ加熱した場合に油脂の香気が変化するかどうか、官能評価を用いて検証した。サンプルは、キャノーラ油にコレステロールを70での加熱処理もしくは超音波処理によって溶解させたものを調製した。これらを、対照サンプルであるコレステロールを含まないキャノーラ油と一緒に、官能評価直前まで90分間以上、70で加熱した。パネルは、農研機構畜産研究部門で選抜し、訓練を施した14名からなる分析型パネル(引用文献)を用いた。評価は2点法により行い、コレステロ

ールを含まないキャノーラ油とコレステロールを含むキャノーラ油の間で匂いの強い方がどちらであるかを回答させた。評価はコレステロールを加温処理により溶解させたものと、超音波処理により溶解させたものについて、それぞれパネル1名あたり3反復実施した。結果は3反復分の回答をプールし、コレステロールを含むキャノーラ油の方が強い匂いを有すると判定されたかどうかについて、二項検定(片側検定)を用いて検定した。

加熱によって生じる揮発成分の検証

コレステロールを含まない油脂にコレステロールを添加して加熱した場合に生じる揮発成分が、コレステロールを添加しない場合と比較して違いがあるかどうか、ガスクロマトグラフ-質量分析装置を用いて検討した。サンプルは、キャノーラ油にコレステロールを超音波処理によって溶解させたもの、および対照としてコレステロールを添加しないキャノーラ油を用いた、これらサンプルを熱脱着ガスクロマトグラフ-質量分析装置で分析した。熱抽出条件は、70に加熱されたガラス製チャンバーに秤量したサンプルを投入し、90分経過後に、一方から清浄な空気を100mL/分の流速で流し、もう一方にTenax捕集管を付し、流出してくるガスを15分間採取した。これを250に加熱して捕集した成分を脱着し、-130でコールドトラップした後に、250に加熱してガスクロマトグラフへ導入した。カラムはクロムパック社製CP-SIL5CB(内径0.25mm×60m、膜厚0.25μm)を用い、カラム温度条件は40で5分間保持してから10/分の速度で280まで昇温させた。キャリアガスの流速は1.0mL/分とした。質量分析は、230に設定したイオン源において電子イオン化法によりイオン化し、m/z30~600の範囲で質量を測定した。

また、キャノーラ油の脂肪酸組成やトリアシルグリセロール以外のキャノーラ油特有な夾雑物の影響を検証するため、高純度のトリオレインオイルにコレステロールを超音波処理で溶解させたサンプルについて、上記と同じ方法にて、コレステロールを含まないトリオレインオイルとの間で加熱時に生じる揮発成分に違いがあるかどうか検討した。

(2) コレステロールがマウスの脂肪摂取に及ぼす影響の解明

脂肪およびコレステロールは無味無臭の物質であるが、動物性脂肪に特有なコレステロールは、吸収後効果によりほ乳類において嗜好性を発揮する可能性が考えられる。そこで、コレステロールを添加した植物油とコレステロールを含まない植物油をマウスに呈示し、その摂取量から、コレステロールがマウスの脂肪の嗜好性に及ぼす影響とその要因について検討した。

コレステロールを含んだ油脂の2瓶選択実験

C57black/6J マウスを対照群、提示位置固定群、提示位置移動群の3群に分けた。サンプルは、キャノーラ油にコレステロールを1%(w/v)の濃度で溶解させたもの、および対照サンプルとしてコレステロールを含まないキャノーラ油を用いた。サンプルは、5mLシリンジに給水バルブを付したものに入れてマウスに呈示した。対照群に対しては、位置効果を検証するため、コレステロールを含まないキャノーラ油を2本、10日間に亘り呈示した。提示位置固定群には、コレステロール含有キャノーラ油とコレステロールを含まないキャノーラ油を呈示した。その際、10日間の呈示において、左右の位置を固定した。呈示位置移動群に対しては、コレステロール含有キャノーラ油とコレステロールを含まないキャノーラ油を、毎日左右の提示位置を変えて呈示した。全ての群において、油脂の摂取量を毎日測定した。

コレステロールを含んだ油脂エマルジョンの2瓶選択実験

前節 - (1)と同様にマウスを対照群、提示位置固定群、呈示位置移動群の3群に分けた。サンプルは、キャノーラ油に1%(w/v)の濃度でコレステロールを溶解させたもの、もしくはコレステロールを含まないキャノーラ油を、0.3%(w/v)キサンタンガム水溶液中に5%(v/v)の割合で分散させたエマルジョンとした。エマルジョンは、直径1cmのジェネレーターシャフトを装着したホモジナイザーで20000回転、120秒間攪拌することで調製した。このエマルジョンを - (1)と同様に2瓶選択法に供した。

コレステロール脂肪酸エステルを含んだ油脂エマルジョンの2瓶選択実験

C57Black/6J マウスをA群とB群の2群に分けた。サンプルは、トリオレインオイルに3%(w/v)の濃度でコレステロールもしくはコレステロールオレイン酸エステルを溶解させたもの、もしくはコレステロールを含まないトリオレインオイルを、前節 - (2)と同じ条件でエマルジョンに調製したものをを用いた。このエマルジョンを、A群にはコレステロールを含まないトリオレインオイルエマルジョンとコレステロールオレイン酸エステルを含んだトリオレインオイルエマルジョンを、B群にはコレステロール含有トリオレインオイルエマルジョンとコレステロールオレイン酸エステル含有トリオレインオイルエマルジョンをそれぞれ呈示し、4日間の2瓶選択実験を行った。4日間にわたり、左右の提示位置は固定した。

コレステロールおよびコレステロール脂肪酸エステルを含んだ油脂エマルジョンの1瓶法による嗜好試験

C57Black/6J マウスを対照区、コレステロール区、およびコレステロールエステル区の3群に分け、トリオレインオイル、3%コレステロール含有トリオレインオイル、3%コレステロールオレイン酸エステル含有トリオレインオイルを - (3)と同条件でエマルジョンとしたものをそれぞれ4日間呈示し、毎日摂取量を測定した。

4. 研究成果

(1) コレステロールが脂肪の官能特性に及ぼす影響の解明

分析型官能評価による検証

コレステロールを加温処理により溶解させた場合は、コレステロールを含む油脂と含まない油脂の匂いの強さに差は認められなかった一方、超音波処理により溶解させた場合は、コレステロールを溶解させた油脂の方がコレステロールを含まない油脂よりも有意に匂いが強いと判定された(表1)。このことから、コレステロールは油脂を加温することで生じる揮発性の匂いに影響を及ぼしていることが明らかとなったが、その影響はコレステロールの溶解の方法により異なっていた。

表1. コレステロール添加が加熱油脂の匂いの強さに及ぼす影響

溶解方法	「匂いがより強い」と回答した人数		
	対照	コレステロール含有	
加熱	26	15	ns
超音波処理	14	28	P<0.05

加熱によって生じる揮発成分の検証

コレステロールを溶解させたキャノーラ油と、コレステロールを含まないキャノーラ油を加温した場合に生じる揮発成分をガスクロマトグラフ-質量分析を行った結果では、コレステロール添加の有無で揮発成分のトータルイオンクロマトグラムに違いがみとめられた(図1)。コレステロールを添加した場合において、芳香族化合物やカルボニル化合物、アルケン類がコレステロール無添加のものと比較して2倍以上多く検出された(表2)。これらが(1) - における分析型官能評価において「匂いが強い」と判定された要因と考えられた。

しかし、コレステロールをトリオレインオイルに溶解させた場合は、コレステロールを含まないトリオレインオイルとの間に、加熱した場合に生じる揮発成分に違いはみとめられなかった。このことから、コレステロールが存在することで生じる脂肪の揮発成分は、その生成する反応において、脂肪酸組成の違いが何らかの役割を果たしているか、あるいはトリアシルグリセロール以外の夾雑物が寄与しているものと推察された。

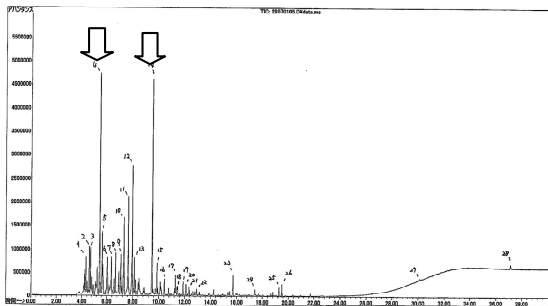
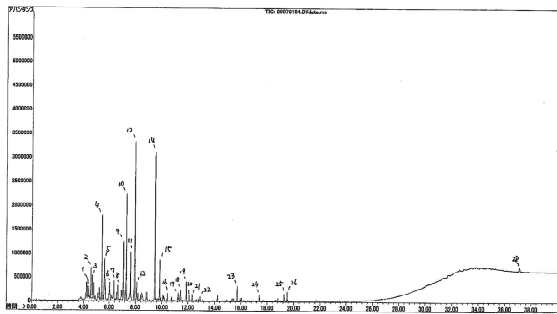


図1 . コレステロールを含まないキャノーラ油（上）および含むキャノーラ油（下）の揮発成分のトータルイオンクロマトグラム。コレステロールを含む下のパネルの方に高いピークが見られるのがわかる（矢印）

表2 . コレステロール添加キャノーラ油を加熱した際に生じる揮発成分とコレステロール無添加の場合と比較した量比、および推定されるにおい特性

推定成分名	コレステロール添加/無添加比	におい特性
エチルベンゼン	3.88	gassy odor, sweet, glue odor, glue
ベンゼン	3.59	
トルエン	3.16	synthetic, pungent, rubber, solvent-like, fruity, benzene-like odor, acid, paint, green
C5H10	3.04	orange oil, flower, peel-like, sweetish, vegetal, citrus-like, green lemon, tallow, roasty, sour, aldehydic, wax, fruity, soapy, lemon, sweet, musty, marine, baked, beefy, herbal, chemical fruity, cucumber, bergamot-like, green wood, tobacco, apple, metallic, refuse pail, fatty, cooking smell, sweat, meaty, burnt, hay, rancid
1,3-シクロヘキサジエン	2.98	
3-シクロヘプテン-1-オン	2.75	
デカナール	2.73	
ヘプテン	2.58	floral
オクテン	2.57	
1,3-ヘキサジエン	2.55	
1,3,6-ヘプタトリエン	2.32	
エチリデンシクロプロパン	2.20	

(2) コレステロールがマウスの脂肪摂取に及ぼす影響の解明
コレステロールを含んだ油脂の2瓶選択

実験

油脂の摂取重量を混合モデル分散分析した結果、コレステロールの添加は、マウスにおける油脂の摂取量に影響を及ぼしていなかった。ただし、油脂を直接呈示した場合、1日あたりの摂取量が100mg以下となり実験の精度に問題があることが分かった。このため、マウスに対する油脂の呈示試験にあたっては、エマルジョンなどの形である程度濃度を下げ、摂取量が大きくなる様工夫することが必要であると考えられた。

コレステロールを含んだ油脂エマルジョンの2瓶選択実験

前節の結果を踏まえ、5%油脂エマルジョンを用いた2瓶選択法を行った。その結果を混合モデル分散分析した結果、実験開始からの日数経過とコレステロール添加の有無は、マウスのエマルジョン摂取量に統計的に有意 ($P < 0.05$) な影響を及ぼしていた。コレステロール添加したエマルジョンの1日あたり摂取量は $0.144 \pm 0.177g$ (最小二乗平均値 \pm 標準誤差、以下同じ) であったのに比べ、コレステロールを添加しないエマルジョンは $0.328 \pm 0.077g$ であり、マウスはコレステロールを嗜好せず、むしろ忌避する事が示された。さらに、提示位置の固定もしくは移動の違いは摂取量に影響を及ぼさなかったことから、マウスはコレステロールの味もしくは匂いを感じ、これを忌避したものと推察された。

コレステロール脂肪酸エステルを含んだ油脂エマルジョンの2瓶選択実験

A群においては、コレステロールオレイン酸エステル添加の有無は、マウスにおけるエマルジョンの摂取量に影響を及ぼす傾向 ($P = 0.067$) がみとめられた。何も含まないトリオレインオイルエマルジョンの1日あたり摂取量は $0.463 \pm 0.307g$ であった一方、コレステロールオレイン酸エステル含有エマルジョンの1日あたり摂取量は $0.894 \pm 0.311g$ と、コレステロールオレイン酸エステルの添加はマウスの油脂の嗜好性を向上させる可能性が示唆された。しかし、B群においては、コレステロール含有トリオレインオイルとコレステロールオレイン酸エステル含有トリオレインオイルの間に摂取量の差は認められなかった。

コレステロールおよびコレステロール脂肪酸エステルを含んだ油脂エマルジョンの1瓶法による嗜好試験

前節においてコレステロール脂肪酸エステルがマウスにおける油脂の嗜好性に何らかの影響を及ぼしている可能性が考えられたことから、1瓶法を用いて検証を試みた。混合モデル分散分析の結果、呈示したエマルジョンの種類はマウスの摂取量に影響を及ぼしておらず ($P > 0.05$)、コレステロールお

よびコレステロール脂肪酸エステルともに、油脂に対して一瓶法で検出できるレベルの嗜好性の違いをもたらさないことが強く示唆された。

(3) まとめ

これらの結果を考え合わせると、コレステロールは油脂の匂いに影響を及ぼしており、それはトリアシルグリセロール以外の夾雑物との反応により生じる成分が関与する可能性があることが示唆された。また、コレステロールは油脂の吸収後効果を通じた嗜好性には寄与しておらず、主として匂いを通じて嗜好性に影響を及ぼしているものと考えられた。コレステロール脂肪酸エステルは油脂の嗜好性に何らかの影響を及ぼしている可能性が考えられるが、詳細な影響の解明には至らなかった。

<引用文献>

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表](計1件)

佐々木 啓介、大江 美香、本山 三知代、中島 郁世、Effects of cholesterol supplementation on fat preference in C57black/6 mice and on odour intensity assessed by a trained panel. 第17回アジア大洋州畜産学会・アブストラクト pp.345、2016

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐々木 啓介 (SASAKI, Keisuke)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・畜産研究部門・畜産物研究領域・食肉品質ユニット長

研究者番号：20343981

(2) 研究分担者

大江 美香 (OE, Mika)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・畜産研究部門・畜産物研究領域・食肉制御ユニット・主任研究員

研究者番号：90391383

中島 郁世 (NAKAJIMA, Ikuyo)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・畜産研究部門・畜産物研究領域・食肉品質ユニット・上級研究員

研究者番号：60355063

本山 三知代 (MOTOYAMA, Michiyo)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・畜産研究部門・畜産物研究領

域・食肉品質ユニット・主任研究員

研究者番号：20414683

(平成27年度まで)