褐変 Glucosamine のラット血清脂質 及び肝臓脂質の脂肪酸組成に与える 影響について

小柳津周*・田村 弘**

Effects of Free Glucosamine and its Browning Products on Fatty Acid Compositions of Serum and Liver Lipids in Rats

Makoto OYAIZU* and Hiroshi TAMURA**

* Musashino Nutrition College, 3-12-5, Minami
Ikebukuro, Toshima-ku, Tokyo 171

* Experimental Animal Center, School of
Medicine, Teikyo University, 2-11-1,
Kaga, Itabashi-ku, Tokyo 173

In the previous paper, we reported that browning products of glucosamine (BGA) lowered the proportion of the total polyenoic acids in total lipids of serum and liver of rats. In this paper, the fatty acid composition of serum and liver lipid classes in rats administered free glucosamine (FGA) and BGA were examined by means of thin layer chromatography (TLC) and gas liquid chromatography (GLC). The results obtained were as follows; (1) Serum and liver lipid could be separated into seven classes (sterol esters, triacylglycerines, free fatty acids, 1,2-, 1,3-diacylglycerines, sterols and compound lipids). (2) Fifteen to twenty fatty acids were found in the serum and liver lipid; the major fatty acids were C16:0, C18:0, C18:1, C18:2 and C20:4. (3) Total polyenoic acid content in serum of the rats administered FGA was higher than that of the animals administered BGA.

(Received Sep. 5, 1989)

著者らは、すでに Glucosamine 及びその褐変物質の抗酸化性^{1)~4)}、さらにそれらを投与したラット血清中の T-Chol 及び TG 量の増加抑制傾向ならびに BGA の脂肪酸に与える影響を認めている⁵⁾。

そこで、ラットについてさらに詳しく FGA 及び

BGA が血清及び肝臓総脂質の脂質組成や各脂質の脂肪酸組成に与える影響を検討した。

1. 供試動物及び実験方法

1. 飼育条件及び総脂質の抽出

供試動物、飼料配合割合、摂餌量及び投与期間については前報⁵⁾の条件に従った。さらに、FGA, BGA 及びグルコサミン塩酸塩 (GA-HCl) の性状と血清及び肝臓からの総脂質 (TL) の抽出は前報⁵⁾と同様に行った。

2. 血清、肝臓 TL の脂質組成及び各脂質の脂肪酸組成

薄層クロマトグラフィー (以下、TLC) による TL の分画は、和田ら⁶⁾及び山田ら⁷⁾の方法により行った。さらに同定は、標準脂質との Rf 値の比較により行った。

また、血清及び肝臓の各脂質の脂肪酸の分析は、日立 163 型ガスクロマトグラフィー (GLC) により前報⁵⁾と同様に行った。

2. 結果及び考察

1. 血清及び肝臓の脂質組成

血清及び肝臓 TL について (TLC 分画により) ステロールエステル (以下、SE), トリアシルグリセリド (以下、TG), 遊離脂肪酸 (以下、FFA), ステロール (以下、ST), 複合脂質 (以下、CL), 1,2-, 1,3-ジアシルグリセリドの7種を検出した。各群の血清及び肝臓の脂質組成には違いがなかった。また、TG が最も多いと推定された。

2. 血清及び肝臓の各脂質の脂肪酸組成

各血清及び肝臓 TL の上記7画分のうち、SE, TG, FFA, CL の脂肪酸組成を Table 1 と 2 に示した。

血清中の各脂質の脂肪酸は、15~17 種類を認め、その主要脂肪酸は、C16:0, C18:0, C18:1, C18:2, C20:4 であり C18:1, C18:2 が全脂肪酸の 40~50 % を占めた⁸⁾。また、CL, TG, FFA の総飽和脂肪酸、モノエン酸、ポリエン酸量を Fig. 1 に示した。各群間で総飽和酸、モノエン酸、ポリエン酸量に差が認められた。

すなわち、CL のモノエン酸量は、Control>BGA>GA-HCl>FGA の順で多く、ポリエン酸量は、FGA>BGA>GA-HCl>Control の順であった。TG のモノエン酸量は、GA-HCl>FGA>Control>BGA の順であり、ポリエン酸量は、FGA>GA-HCl>BGA>Control の順であった。FFA のモノエン酸量は、BGA>GA-HCl>Control>FGA の順であり、

* 武蔵野栄養専門学校 (〒171 東京都豊島区南池袋 3-12-5)

** 帝京大学医学部 (〒173 東京都板橋区加賀 2-11-1)

Table 1 Composition of main fatty acids of serum lipid in the rats (wt%)

Fatty acids	DG*	Sterol esters	Triacylglycerines	Free fatty acids	Compound lipids
C14 : 0	C	6.23±1.3 ^b	3.78±0.5**	4.57±1.0	5.34±0.9
	HCl	5.26±0.1	0.49±0.2 ^b	10.14±0.0	5.49±0.1
	F	0.23±0.1	0.49±0.3 ^b	7.12±3.9	4.31±3.8
	B	10.56±0.2	3.83±2.1	6.04±2.7	1.78±0.6 ^a
C16 : 0	C	11.57±1.4	21.37±1.1	14.87±1.1	11.01±2.0
	HCl	10.92±1.0	16.27±2.2 ^{ab}	20.43±0.3	11.80±1.4
	F	14.57±1.4	21.11±13.11	13.96±7.8	11.58±4.2
	B	20.17±1.3	23.08±2.5	10.40±1.0 ^c	9.42±3.2
C16 : 1	C	6.62±1.5	4.86±1.2	7.88±2.3	4.52±1.0
	HCl	6.03±0.3	Tr.***	Tr.	Tr.
	F	8.46±0.1	0.03±0.0	0.79±0.2	Tr.
	B	5.64±0.9	3.27±1.6	0.94±0.3	6.75±3.5
C18 : 0	C	7.76±0.4	9.29±0.4	12.66±2.3	6.57±1.3
	HCl	8.48±0.7	1.23±0.1 ^{ab}	10.10±1.1	5.90±0.6
	F	10.18±1.0	2.18±1.1 ^{ab}	9.91±1.8	8.38±4.4
	B	6.05±2.3	7.06±1.3	5.69±2.0 ^{acd}	5.09±1.4
C18 : 1	C	10.90±2.2 ^{bcd}	28.98±5.5 ^c	15.17±3.6	33.89±1.1
	HCl	24.21±1.1	42.15±7.9	30.99±13.9	32.28±9.9
	F	21.88±3.7	32.33±2.3 ^c	23.78±13.9	26.63±9.8
	B	28.93±5.2	24.39±2.1 ^c	33.16±0.9	28.72±3.4
C18 : 2	C	36.59±5.5	19.11±4.0 ^{bcd}	33.99±11.6	10.45±0.6 ^{cd}
	HCl	37.65±2.4	34.94±2.5	24.51±6.1	26.55±2.8
	F	35.26±6.8	37.18±10.4	27.45±4.6	31.31±2.7
	B	13.76±2.0 ^{abc}	28.79±8.4	35.60±1.9	12.76±3.9 ^{cd}
C18 : 3	C	0.34±0.0	0.66±0.0	Tr.	Tr.
	HCl	Tr.	2.59±0.8	Tr.	Tr.
	F	0.03±0.0	0.35±0.1 ^d	0.32±0.0	0.02±0.0
	B	0.42±0.2	1.65±1.0	1.77±1.6	0.09±0.0
C20 : 0	C	0.20±0.0	0.94±0.0	0.11±0.0	Tr.
	HCl	Tr.	0.59±0.1	1.13±0.2	0.50±0.1
	F	0.03±0.0	Tr.	0.71±0.2	0.18±0.0
	B	0.32±0.0	Tr.	2.85±2.1	0.92±0.4
C20 : 4	C	1.57±0.6	4.11±0.3	3.37±0.6	23.64±6.9
	HCl	7.39±2.7	1.73±0.4 ^{abd}	2.51±0.4	15.00±5.0
	F	5.99±5.6	4.94±0.5	2.83±0.2	14.64±5.2 ^b
	B	4.75±1.5	4.16±1.9	3.07±1.6	31.66±1.8
C20 : 5	C	3.61±1.4	1.76±0.9	0.12±0.0	1.06±1.2
	HCl	Tr.	Tr.	Tr.	2.16±0.4
	F	Tr.	0.48±0.4	10.62±4.3	Tr.
	B	5.79±2.8	2.28±0.4	Tr.	1.25±0.9
C22 : 6	C	7.16±1.3	2.56±0.1	4.31±0.6	1.44±1.0
	HCl	Tr.	Tr.	Tr.	Tr.
	F	1.45±0.4 ^a	1.10±1.7	1.42±0.2	0.72±0.8
	B	Tr.	0.85±0.2 ^a	0.27±0.0	0.12±0.0
Unknown	C	6.27±5.4	1.84±1.9	1.95±2.5	2.08±2.1
and	HCl	0.06±0.0	0.01±0	0.19±0.0	0.32±0.0
Others	F	0.92±0.3	Tr.	1.09±0.2	2.23±0.5
	B	3.51±0.0	0.64±0.0	0.21±0.0	1.44±0.0

* Dietary group, C : Control, HCl : Glucosamine-HCl, F : Free glucosamine, B : Browning pigments products of glucosamine, ** Values are the means±S.D., *** Trace

^{a, b, c, d} = Significantly different from the corresponding control at p<0.01, BGA at p<0.01, GA-HCl at p<0.01, and FGA at p<0.01, respectively

Table 2 Composition of main fatty acids of liver lipid in the rats (wt%)

Fatty acids	DG*	Sterol esters	Triacylglycerines	Free fatty acids	Compound lipids
C14 : 0	C	0.39±0.3**	0.54±0.2	2.23±1.0 ^d	1.02±0.9
	HCl	1.41±0.1	0.30±0.0	1.22±0.2	2.16±0.2
	F	0.60±0.2	0.35±0.1	6.06±2.4	4.64±1.7
	B	0.49±0.1	0.54±0.1	1.07±0.1	1.24±0.9
C16 : 0	C	13.60±2.4	31.30±4.1	22.90±3.1 ^c	18.60±2.7
	HCl	17.41±2.0	31.83±2.6	34.22±2.2	27.78±4.4
	F	14.24±2.5	34.05±0.4	28.38±0.4	13.83±0.4 ^{ac}
	B	21.09±7.4	28.96±6.3	21.75±4.0 ^c	15.04±4.2
C16 : 1	C	Tr.***	Tr.	Tr.	1.40±0.3
	HCl	0.05±0.0	Tr.	Tr.	3.14±0.2
	F	0.14±0.0	Tr.	Tr.	3.66±0.8
	B	0.81±0.6	Tr.	Tr.	2.71±1.4
C18 : 0	C	12.16±1.4	Tr.	14.89±3.3 ^a	14.40±1.6
	HCl	8.27±0.4	2.37±0.1 ^b	7.45±0.1 ^a	8.00±0.5 ^a
	F	5.89±1.6 ^a	2.29±0.2 ^b	7.96±2.4 ^a	7.64±0.4 ^a
	B	3.68±1.9 ^{ac}	4.00±0.9	7.27±0.6	8.41±2.5 ^a
C18 : 1	C	44.38±2.7	30.51±3.5 ^b	28.63±4.4 ^b	36.00±5.1
	HCl	28.32±2.6 ^{abd}	31.84±5.1 ^b	22.17±3.6 ^b	20.62±4.1 ^{ab}
	F	48.33±3.8	29.33±1.2	23.80±3.3	30.70±7.4 ^a
	B	44.97±4.3	36.16±1.2	36.73±2.2	40.07±1.8
C18 : 2	C	19.10±2.1	34.34±1.8	12.98±1.6	23.20±0.6
	HCl	26.38±3.0 ^a	29.29±3.0	19.11±2.1	28.68±4.0
	F	26.73±5.5 ^a	27.89±1.3	22.37±4.2 ^a	20.93±0.7
	B	22.97±1.6	27.47±5.3	22.29±3.0 ^a	18.54±3.0 ^c
C18 : 3	C	Tr.	Tr.	Tr.	0.12±0.0
	HCl	0.11±0.0	Tr.	0.25±0.1	0.92±0.2
	F	0.24±0.1	0.18±0.0	Tr.	0.43±0.1
	B	0.10±0.0	0.33±0.0	0.25±0.0	0.51±0.1
C20 : 0	C	0.04±0.0	Tr.	Tr.	Tr.
	HCl	1.82±0.1	0.36±0.0	1.11±0.2	Tr.
	F	Tr.	0.95±0.1	0.17±0.0	0.87±0.1
	B	0.47±0.1	0.46±0.0	0.36±0.1	0.14±0.0
C20 : 4	C	10.13±2.3	3.31±1.3	4.29±2.0	2.88±0.3
	HCl	9.93±1.6	3.82±0.3	9.31±1.1	2.12±0.2
	F	3.31±0.5 ^{ac}	3.71±0.5	4.65±3.7	3.46±0.7
	B	4.36±1.3 ^{ac}	3.01±0.1	4.02±0.3	1.86±0.8
C20 : 5	C	0.19±0.0	Tr.	11.93±2.9	1.12±0.5 ^c
	HCl	6.13±2.0	Tr.	1.98±1.7	5.97±1.9 ^c
	F	0.50±0.1	Tr.	4.97±1.7	11.48±6.2
	B	0.29±0.1	Tr.	1.79±0.4	4.74±2.6 ^c
C22 : 6	C	Tr.	Tr.	Tr.	Tr.
	HCl	Tr.	Tr.	2.72±0.3	Tr.
	F	Tr.	0.66±0.2	1.30±0.3 ^b	0.56±0.2
	B	0.76±0.5	Tr.	3.12±0.4	5.47±6.4
Unknown and Others	C	0.01±0.0	Tr.	2.15±0.5	1.26±
	HCl	0.02±0.0	Tr.	0.46±0.2	0.62±
	F	Tr.	0.59±0.0	0.52±0.0	1.80±
	B	0.77±0.5	Tr.	1.35±0.2	1.27±

* Dietary group, C : Control, HCl : Glucosamine-HCl, F : Free glucosamine, B : Browning pigments products of glucosamine, ** Values are the means±S.D., *** Trace

^{a, b, c, d} = Significantly different from the corresponding control at p<0.01, BGA at p<0.01, GA-HCl at p<0.01, and FGA at p<0.01, respectively

Fig. 1 Changes of saturated, monoenoic and polyenoic acids of compound lipids, free fatty acids and triacylglycerines in serum and liver total lipids of rats

Saturated acids : s, Monoenoic acids : m, Polyenoic acids : p

ポリエン酸量は、FGA>Control>BGA>GA-HClの順であった。

さらに、CL, TG, FFA のポリエン酸量は FGA, BGA が高値で推移し、逆に、CL, FFA の FGA のモノエン酸量や TG の BGA のモノエン酸量が低い値を示した。このことから、FGA, BGA にはポリエン酸を高く保つ作用があるものと推察された。また、ポリエン酸量は、FFA, TG で変動が大きく、CL で高い値を示したが、その減少がどの脂質で影響を示すか明らかにすることは出来なかった。

一方、肝臓中の各脂質の脂肪酸は、17~20 種類を認めた。これらの主要脂肪酸は、C 16:0, C 18:0, C 18:1, C 18:2, C 20:4 の 5 種であり 50~60% を占めた。また、CL, TG, FFA のモノエン酸量、ポリエン酸量については CL, FFA の GA-HCl と FFA の FGA のモノエン酸量で低値を示した以外、各群間で明らかな差が認められなかった。すなわち、Fig. 1 に示す CL のモノエン酸量は、BAG>Control>FGA>GA-HCl の順であり、ポリエン酸量では、GA-HCl>

BGA>FGA>Control の順であった。TG のモノエン酸量は、BGA>FGA>Control>GA-HCl の順であり、ポリエン酸量では、BGA>FGA>GA-HCl>Control の順であった。FFA のモノエン酸量は、BGA>Control>FGA>GA-HCl の順であり、ポリエン酸量では、FGA>GA-HCl>Control>BGA の順であった。FFA, TG のポリエン酸量は比較的に高値で推移したが、FFA, CL のモノエン酸量や CL のポリエン酸量では変動の幅が大きかった。

ところで、肝臓の複合脂質中のアラキドン酸や血漿中 TG のリノール酸は割合が抗酸化剤の種類によって全く異なること⁹⁾やメイラード反応生成物は生体内でも抗酸化性を示し、過酸化脂質の生成を抑制する¹⁰⁾ことが知られている。強い抗酸化性が確認された BGA⁴⁾は血清や肝臓 TL の脂肪酸レベルでの作用は認められなかったが、血清や肝臓の構成脂質及び脂肪酸の中で、特に影響があると考えられる CL で、ポリエン酸量の変動が大きかった。このことから、FGA や BGA がポリエン酸の代謝に少なからず影響を与えているものと考えら

れた。また、前報⁵⁾で降コレステロール作用を示した、FGA と BGA ではポリエン酸量が比較的に高値で推移したことからポリエン酸の変動がコレステロールの低下に結びついているものと考えられる。

3. 要約

遊離 Glucosamine 及びその褐変物質を投与したラットの血清及び肝臓脂質を TLC で分画した後、それぞれの脂質の脂肪酸組成を測定し、以下の結果を得た。

1. TLC による脂質分画では、血清及び肝臓で7種の画分を認めた。

2. 血清及び肝臓の CL, FFA, TG, SE の主要脂肪酸は、C 16:0, C 18:0, C 18:1, C 18:2, C 20:4 であった。

3. FGA は血清の各脂質のポリエン酸の減少を抑制したが、BGA では、血清及び肝臓の各脂質において脂肪酸の変動に明らかな傾向を示さなかった。

終わりに、本研究の一部は日本食品工業学会第36回大会に於いて発表致しました。

文 献

- 1) 小柳津周：栄養学雑誌, **44**, 307 (1986).
- 2) 小柳津周：栄養学雑誌, **46**, 35 (1988).
- 3) 小柳津周：日食工誌, **35**, 771 (1988).
- 4) 小柳津周：日食工誌, **35**, 40 (1988).
- 5) 小柳津周・田村 弘：日食工誌, **36**, 873 (1989).
- 6) 和田正太・菅野道弘：九大農芸誌, **26**, 505 (1972).
- 7) 山田 実・林 賢治：日水誌, **41**, 1143 (1975).
- 8) 安田正秀・藤田 直・水谷泰久：薬学雑誌, **285**, 99 (1979).
- 9) 長 修司・菅野道広：農化, **49**, 27 (1975).
- 10) グェン ウァン チェン：農化, **61**, 979 (1987).

(平成元年9月5日受理)