

いろいろな消化薬を用いた脂肪の消化の実験教材化への可能性

吉田 安規良

YOSHIDA Akira

琉球大学教育学部

【キーワード】 脂肪 消化 実験教材 中学理科

1. はじめに

中学校第2学年の理科(第2分野 生物)では、脂肪が消化され脂肪酸とグリセリンに分解されることを学習する。しかしデンプンが糖に消化分解されるのとは異なり、脂肪の消化分解を定性的に実験で確認する教材は1947年以降の小中学校の理科教科書には採用されていない¹⁾。

そこで、中学校の理科室程度の施設・設備ならびに中学生程度の観察実験技能で脂肪の消化を定性的に確認する教材実験を開発することを目的とした研究をこれまで行ってきた。既に、市販の消化薬の1つである「ビオフェルミン健胃消化薬錠」(武田薬品工業株式会社)から調製した人工消化液(0.5%リパーゼ AP6 水溶液)を用いて、市販のオリーブ油が消化分解されグリセリンが生成することをナトリウム-銅(II)-グリセリン錯体法²⁾で確認する実験方法を報告した^{3,4)}。

今回は、他の消化薬から調製した人工消化液での実験結果を報告する。

2 方 法

試薬は、エタノールは1級以上、それ以外は全て特級以上のものを用いた。消化薬は、脂肪消化酵素以外の成分が多く含まれていないものを外装の含有成分表で判断し選択した。今回はバランサー胃腸薬(大正製薬株式会社)、新ビオヂアス錠(天野商事株式会社)、ハイウルソ顆粒(佐藤製薬株式会社)、ワカモト消化薬(わかもと製薬株式会社)を用いた。また、脂肪分解酵素を含んでいない消化薬として新タカヂア錠(三共株式会社)でも実験を行った。基質となるオリーブ油は AJINOMOTO オリーブオイルエクストラバージン(株式会社J-オイルミルズ)を用いた。

(1) 人工消化液の調製

人工消化液は、ビオフェルミン健胃消化薬錠での

実験結果⁴⁾を踏まえ、0.5%(W/V)リパーゼ AP6 または AP12 水溶液、もしくは1.2%(W/V)ニューラーゼ水溶液とした⁵⁾。新タカヂア錠では、0.5%(W/V)タカヂアスターゼ N1 水溶液とした。

Table 1 各消化薬に含まれている酵素量と人工消化液の pH

消化薬名	脂肪分解 酵素名と 含有量	溶解量	人工消化液の pH	
			非加熱	加熱変性
バランサー胃腸薬	リパーゼ AP6 30 mg [3包中]	1包 / 6.0 mL	9.33	9.14
新ビオヂアス錠	リパーゼ AP12 30 mg ニューラーゼ 90 mg [9錠中]	9錠 / 6.0 mL	6.28	6.24
ハイウルソ顆粒	リパーゼ AP6 30 mg [3包中]	3包 / 6.0 mL	4.96	5.09
ワカモト消化薬	ニューラーゼ 240 mg [9錠中]	9錠 / 20 mL	5.84	5.80
新タカヂア錠	タカヂアスターゼ N1 200mg [4錠中] (非脂肪分解酵素)	1錠 / 50 mL	7.04	6.91
ビオフェルミン健胃消化薬錠[参考]	リパーゼ AP6 90 mg ニューラーゼ 210 mg [6錠中]	3錠 / 9.0 mL	5.79	5.69

Table 1 に示すように所定の酵素量を含む消化薬を適量の水に溶解し、20 分攪拌・抽出し、不溶成分を10 分間遠心分離 (x. c. f. 48000×g) した上澄みを用いた。また、これを加熱沸騰させ、生じた沈殿をデイスパーザブルメンブレンフィルター (ADVANTEC 東洋 DISMIC 25HP045AN) で除去した溶液を加熱変性消化液として用いた。

(2) 消化の実験

試験管に人工消化液 1.0 mL とオリーブ油 1.0 mL を加え 1 分間試験管ミキサーで攪拌し、40℃で 24 時間インキュベートした。反応終了 1 時間前に再度 1 分間試験管ミキサーで攪拌した。

(3) グリセリン生成の確認

試験管中の人工消化液（下層）とオリーブ油（上層）が 2 層に分離していることを確認し、ピペットでオリーブ油が混入しないように人工消化液を 0.25～0.50 mL 採取した。採取した溶液 0.50 mL に対して 21%(W/V)水酸化ナトリウム水溶液 0.50 mL、エタノール 3.0 mL、10%塩化銅(II)エタノール溶液 0.30 mL の割合で混合し、エタノールで全量を 5.0 mL とした。これを 1～2 分間試験管ミキサーで激しく攪拌した後、10 分間遠心分離 (r.c.f. 12000×g) した。上澄みの 350～750 nm における吸収スペクトルを測定するとともに呈色の度合いを目視で確認した。また、人工消化液のみで錯体が形成しないことも確認した。

3. 結果と考察

(1) ナトリウム-銅 (II) -グリセリン錯体法と人工消化液との反応性について

始めに、各人工消化液自体が今回の錯体生成による呈色に及ぼす影響について実験した。Table 2 は 0 時間及び 24 時間インキュベート後の人工消化液のみのサンプルで、ナトリウム-銅 (II) -グリセリン錯体法を用いた時の 635 nm における吸光度の平均値である。

Table 2 人工消化液のみの 635 nm における吸光度の平均値 ± S.E

人工消化液	0 時 間		2 4 時 間 後	
	非加熱	加熱 変性	非加熱	加熱 変性
バランサー	0.032 ± 0.006 (4)	0.030 ± 0.001 (5)	0.034 ± 0.000 (4)	0.034 ± 0.018 (8)
ビオチアス	0.056 ± 0.003 (4)	0.164 ± 0.004 (6)	0.056 ± 0.001 (4)	0.167 ± 0.003 (8)
ハイウルソ	0.059 ± 0.003 (4)	0.023 ± 0.004 (5)	0.065 ± 0.001 (4)	0.027 ± 0.054 (8)
ワカモト	0.031 ± 0.001 (6)	0.052 ± 0.004 (4)	0.034 ± 0.002 (6)	0.044 ± 0.006 (5)
タカチア	0.018 ± 0.001 (4)	0.032 ± 0.001 (4)	0.027 ± 0.001 (4)	0.031 ± 0.003 (4)

(n) : number of determination, control: purified water

非加熱のビオチアスとワカモトの消化液は 600 nm 付近に吸収ピークを示した。加熱変性したビオチア

スの消化液では、肉眼でも紫色を呈していることが判明できた。また加熱、非加熱ともバランサーとハイウルソの消化液は、黄色を呈した。ハイウルソの場合、加熱の有無に関わらずエタノールを加えると多量の沈殿を生じた。加熱変性したビオチアス、ワカモト、タカチアの消化液は 550 nm 付近に吸収を示した。インキュベートの前後で吸収スペクトルに大きな差はなく、全ての消化液は 635 nm 付近に極大を示さず、青色を呈していないことから、グリセリンの生成検出に影響はないと判断した。(Fig 1、2)

(2) 各消化薬における脂肪の消化の度合いについて

(1) の結果を踏まえ、各消化液を用いてオリーブ油の消化の実験を行った。Table 3 は 0 時間におけ

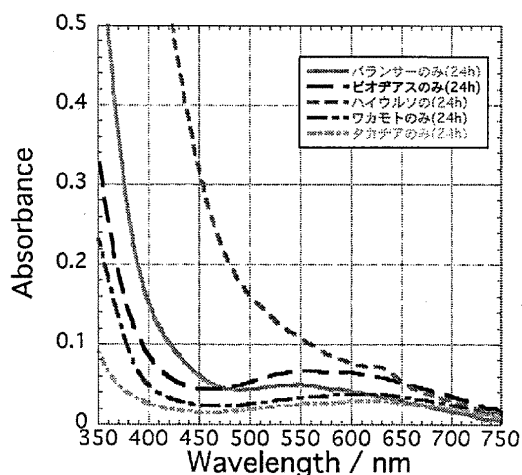
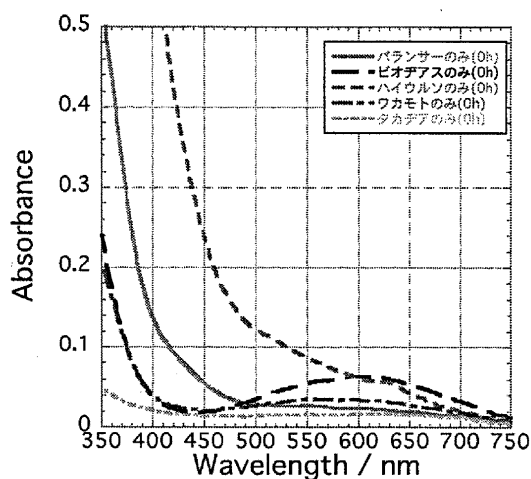


Fig 1 人工消化液のみの吸収スペクトル (上: 0 時間、下: 24 時間後)

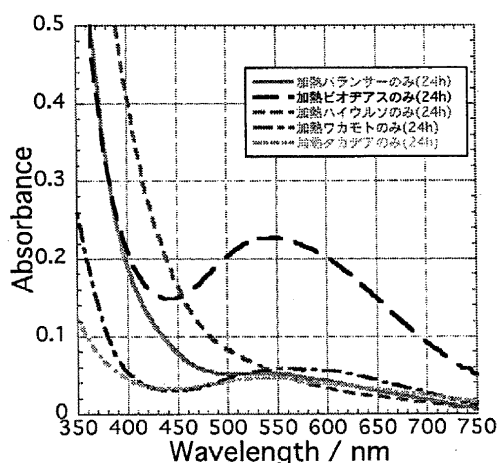
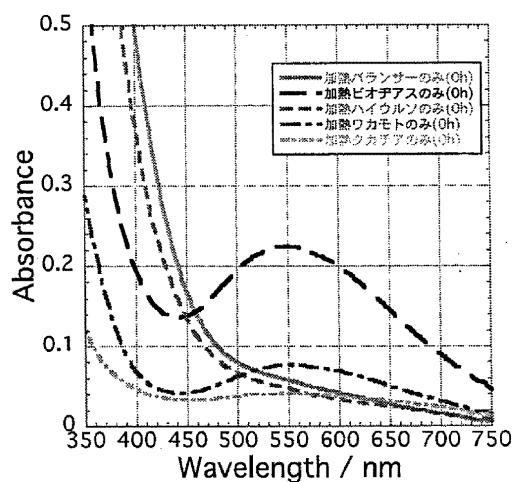


Fig.2 加熱変性人工消化液のみの吸収スペクトル
(上: 0時間、下: 24時間後)

Table 3 0時間における各サンプルの635 nmでの吸光度の平均値 $\pm$ S.E

人工消化液	非加熱	加熱変性
バランサー	0.037 $\pm$ 0.003 (4)	0.084 $\pm$ 0.014 (4)
ビオチアス	0.081 $\pm$ 0.005 (8)	0.161 $\pm$ 0.003 (7)
ハイウルソ	0.076 $\pm$ 0.005 (4)	0.071 $\pm$ 0.013 (3)
ワカモト	0.057 $\pm$ 0.006 (6)	0.064 $\pm$ 0.003 (8)
タカチア	0.045 $\pm$ 0.007 (4)	0.034 $\pm$ 0.002 (16)

(n): number of determination, control: purified water

る各サンプルの635 nmにおける吸光度の平均値、Fig. 3は吸収スペクトルである。

各サンプルの呈色は、目視で確認する限り人工消化液のみの時と同様であり、吸収スペクトル(Fig. 3)にもグリセリンの存在を示すピークは見られな

った。このことからサンプルの採取でのオリーブ油の混入や消化液自体の界面活性作用がないと判断した。

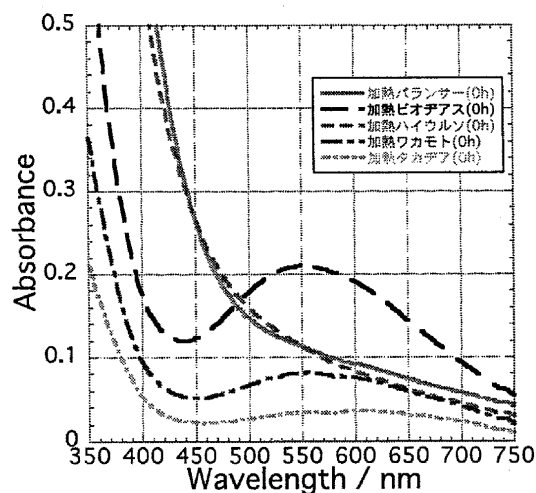
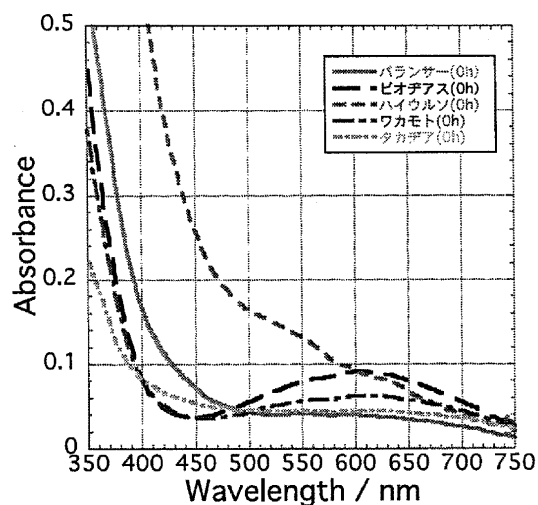


Fig.3 0時間のサンプルの吸収スペクトル (上: 非加熱、下: 加熱変性)

24時間反応後のサンプルでは、ビオチアスとワカモトの消化液で青く呈色した。特にビオチアスの場合、遠心せずに放置した上澄みを見ても明らかに青色を呈していた。一方バランサー、ハイウルソ、タカチアならびに全ての加熱変性消化液は青色を呈さなかった。Table 4は635 nmでの吸光度の差の平均値、Fig. 4は24時間後のサンプルと0時間のサンプルの吸収差スペクトルである。青色を呈したビオチアスとワカモトの消化液では630~635 nm付近にグリセリンの存在を示す吸収ピークが見られた。ニューラーゼとリパーゼ AP12を比較した場合、単位量あた

りの消化力はAP12のほうが高い³⁾。さらに、バイオヂアスには両方の消化酵素が含まれている。このことは、ワカモトの呈色がバイオヂアスの呈色よりも弱いことと関係していると考えられる。

Table 4 635 nmにおける各サンプルの24時間後の吸光度と0時間の吸光度の差の平均値 $\pm$ S.E

人工消化液	非 加 熱	加 熱 変 性
バランサー	0.020 $\pm$ 0.001 (4)	0.018 $\pm$ 0.017 (4)
バイオヂアス	0.176 $\pm$ 0.018 (5)	0.019 $\pm$ 0.007 (6)
ハイウルソ	-0.008 $\pm$ 0.002 (4)	-0.026 $\pm$ 0.004 (4)
ワカモト	0.055 $\pm$ 0.003 (6)	-0.003 $\pm$ 0.001 (6)
タカヂア	-0.003 $\pm$ 0.004 (4)	0.005 $\pm$ 0.001 (19)

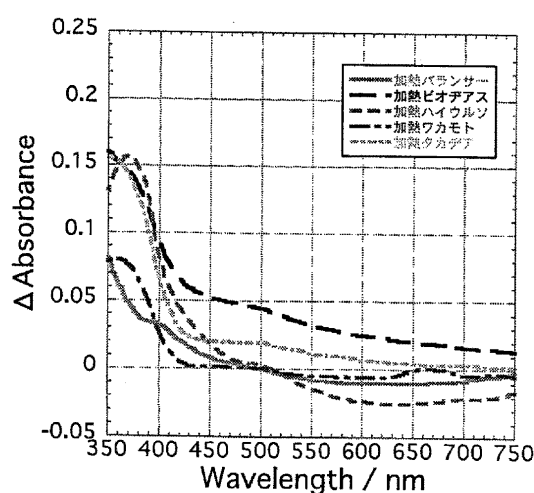
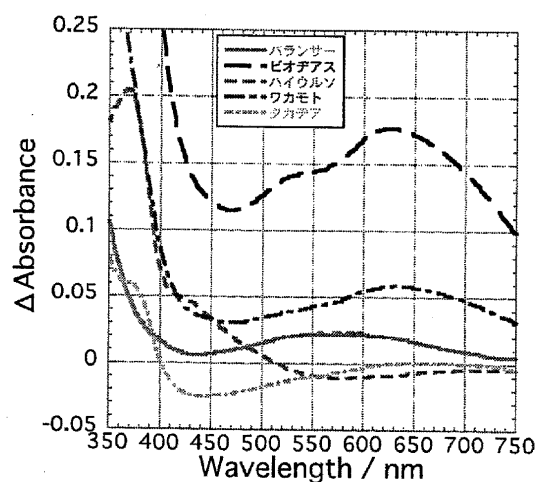


Fig 4 反応前後の吸収差スペクトル (上: 非加熱、下: 加熱変性)

脂肪分解酵素が含まれているのにも関わらず、バランサーとハイウルソから調製した人工消化液では呈色しなかった。これは、pHの影響と消化液中に含まれている他の成分の影響が考えられる。リパーゼAP6、AP12及びニューラーゼとも至適pHは5.0～7.5の範囲であり³⁾、バランサーから調製した人工消化液のpHは反応に不利な条件である。ハイウルソの場合には、エタノール添加の段階で多量の沈殿が生じた。バイオフェルミンの場合でも、沈殿が多いと塩化銅(II)エタノール溶液添加時に錯体を形成せず、呈色しない場合もあった⁴⁾。このことから、沈殿が錯体形成を阻害した可能性もあると考えられる。

4. おわりに

一連の実験結果から、脂肪分解酵素が含まれている市販の胃腸薬から人工消化液を調製し、そのpHが含有酵素の至適pHの場合、オリーブ油を消化分解してグリセリンを生成することを定性的に確認できた。この結果から、この実験が教材として利用可能であると考えられる。

今後は、中学校の理科室程度の施設・設備、中学生程度の実験観察技能を考慮し、遠心分離を用いずにろ過などで一連の実験を行っても同様の結果が得られるのかを確認する必要がある。

【 附 記 】

本研究の一部は、科学研究費補助金若手研究 (A) 「中学校理科におけるタンパク質・脂肪の消化の理解を深める教材実験開発」(課題番号 17683007) の助成事業であることを附記し、この場を借りて感謝の意を表します。

【 文 献 】

- 1) 吉田安規良: 「1947 年以降の小中学校におけるタンパク質・脂肪の消化に関する指導内容の変遷」, 化学と教育 (投稿中)
- 2) F. Spagnolo: Spectrophotometric Determination of Glycerol as sodium-Cupri-Glycerol Complex, *Anal. Chem.*, 25 (10), 1566-1568 (1953)
- 3) 吉田安規良・比嘉渚: 「中学校での脂肪の消化を理解する実験教材開発のための基礎的研究」, 日本理科教育学会北海道支部会誌, 17, 7-12 (2005)
- 4) 吉田安規良: 「中学校で脂肪の消化を確認する実験方法について」, 日本化学会第 86 春季年会講演予稿集 2-MI-31 (2006)
- 5) 天野エンザイム製品情報 (医薬用酵素): <http://www.amano-enzyme.co.jp/jp/productinfo/medical01.html> (2006 年 4 月現在)