

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 23 日現在

機関番号：12102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26630416

研究課題名(和文) マイクロギャップ法の開発による食品のin vitro胃消化挙動の微視的解析

研究課題名(英文) Microscopic in vitro observation of the gastric digestion behavior of food particles by developing a micro-gap method

研究代表者

市川 創作 (ICHIKAWA, Sosaku)

筑波大学・生命環境系・教授

研究者番号：00292516

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：胃は物理的消化や化学的消化により、食品の微細化や食品成分の分解などが行われる重要な消化器官である。胃における食品の消化状態は、栄養成分の吸収に影響すると考えられ、胃における食品の消化挙動を観察・評価することは、消化特性が制御された食品の設計・開発の基礎として有用である。本研究では、微小空間を利用して食品粒子の消化挙動を微視的にin vitroで観察・評価できるマイクロギャップ法を開発した。また、この新規手法により食品粒子のモデルとして用いた豆腐粒子の消化挙動を可視化し、定量的に評価することができた。

研究成果の概要(英文)：Stomach is the important digestive organ where the food is disintegrated and digested by a combination of physical and chemical processes. The digestion of food in stomach would affect the absorption of nutrients in the following intestinal tract. Observation and analysis of the digestion of food in stomach will bring the useful knowledge for the design and development of digestibility-controlled foods. In this research study, a micro-gap method was newly developed. This new method enabled the microscopic in vitro observation of the gastric digestion behavior of food particles. Using this method, the digestion behavior of small Tofu (bean curd) particles as a model of food particles could be visualized and then analyzed quantitatively.

研究分野：生物化学工学、食品工学

キーワード：食品 消化 胃 マイクロギャップ マイクロ流路 微視的観察 微粒子 in vitro消化

1. 研究開始当初の背景

(1) 胃は、ヒトの消化管をなす器官の一つであり、嚥下により送達された食塊の消化ならびに胃消化物（び汁）の十二指腸への排出を行っている。胃内部では、物理的消化プロセス（ぜん動運動）や化学的消化プロセス（胃酸、消化酵素）による食品粒子の微細化や食品成分の分解等が行われている。胃消化物の状態は栄養成分の吸収にも影響すると考えられ、食品の胃消化挙動を観察・評価することは、消化特性が制御された食品の設計・開発の基礎として有用である。

(2) ヒト等の動物による食品の *in vivo* 胃消化試験は、体内における食品の消化挙動を直接把握することができるが、種々の制約がある。そのため、試験管等を用いた振とう法による食品の *in vitro* 胃消化試験が一般的に行われている（引用文献①）。

(3) 本研究課題の研究担当者らは最近、振とう法では困難なヒト胃のぜん動運動、胃液の分泌、ならびに胃消化物の排出を模擬可能な胃消化シミュレーターを開発し、食品の *in vitro* 胃消化挙動の観察・評価を進めてきた（引用文献②）。この研究を推進する中で、これまでの *in vitro* 消化試験では評価されていない、食品粒子の消化挙動の微視的観察・評価法の開発が必要であるとの着想に至った。

(4) そこで、食品粒子の微視的な胃消化挙動を解析可能な *in vitro* 胃消化評価技術（マイクロギャップ法）を開発することを本研究の目標とした。微小空間に封入されている食品粒子の胃消化動態を装置外からリアルタイムで顕微鏡観察でき、なおかつ微視的な胃消化挙動も経時的に観測・評価できる「マイクロギャップ法」を開発することができれば、従来法では困難であった様々な食品の微視的な胃消化挙動を観察・評価できるようになる。また、本法により得られる結果は、胃消化シミュレーター（引用文献②）を用いたマクロスケールでの食品の胃消化動態の解明に有用な知見となり得るとともに、消化特性が高度に制御された機能性食品や医療用食品の開発にも寄与すると期待される。

2. 研究の目的

(1) 微小空間を利用した食品粒子の *in vitro* 胃消化評価技術としてマイクロギャップ法を開発する。具体的には、高さがミクロスケールの空間（マイクロギャップ）を有するマイクロチップを作製し、食品粒子の *in vitro* 胃消化挙動を微視的に観察・評価できる手法を開発する（図 1）。

(2) 次に、開発したマイクロギャップ法により、食品粒子の微視的な胃消化挙動を観察・評価する。

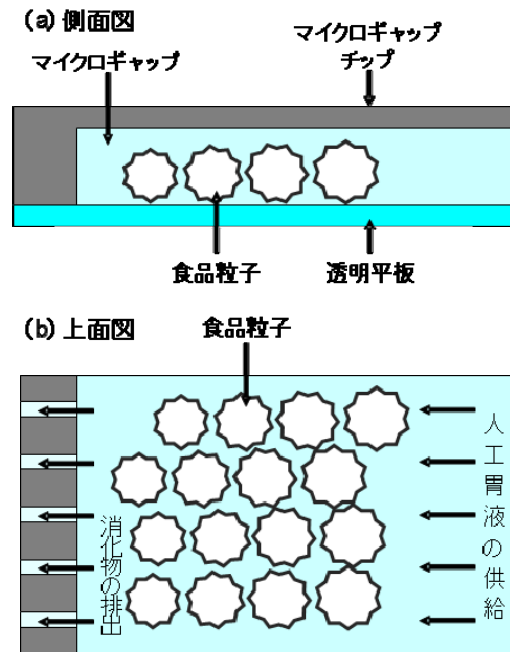


図 1 マイクロギャップ法の模式図

3. 研究の方法

(1) マイクロギャップ基板を装備したホルダー（引用文献③）と、人工胃液供給部、胃消化物回収部、食品粒子の微視的挙動の観察部から構成される *in vitro* 胃消化評価システムを構築した（図 2 a）。ホルダー内部において、マイクロギャップ基板を透明平板に圧着させることにより、マイクロ空間を形成した（図 2 b）。

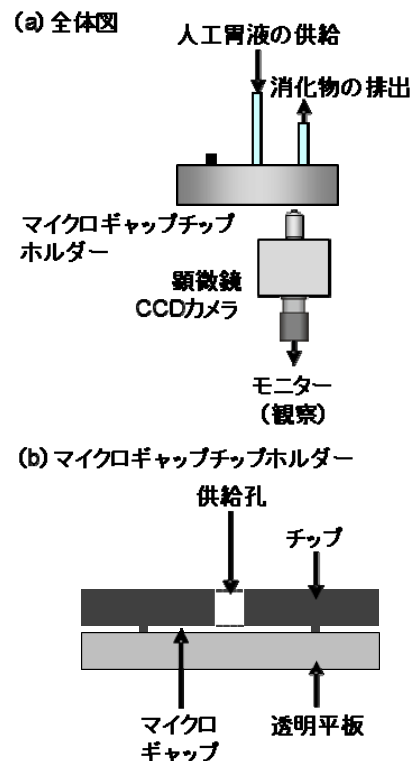


図 2 マイクロギャップ法による微小空間を利用した *in vitro* 胃消化評価システム

(2) 食品粒子のモデルとして豆腐粒子を使用した。絹ごし豆腐を、フードプロセッサを用いて約 15 秒間処理し微細化した。得られた豆腐微粒子を目開き 72 μm と 52 μm の金属メッシュを用いて分級することにより、粒子径が約 50~70 μm の範囲の豆腐微粒子を調製した。

人工胃液は、NaCl を 8.8 g/L、タンパク質分解酵素ペプシンを 1.0 g/L の濃度で Milli-Q 水に溶解した後、HCl で pH を 1.3 に調整して使用した (引用文献①)。

(3) 調製した豆腐微粒子は、シリンジポンプを用いて試料挿入口 (図 3 a) から高さ 100 μm のギャップ (図 3 b) に導入した。その後、人工胃液を、別のシリンジポンプを用いて図 3 a の消化液流入口より連続的に流入し、豆腐微粒子と接触させた。

胃消化試験は、胃の標準的な滞留時間である 180 分間行った (引用文献①)。人工胃液の流入流量は、胃内流動の流速を考慮して 3 mL/h とした (引用文献④)。消化試験中、顕微鏡で豆腐微粒子の 2 次元断面積を経時的に測定することで、粒子のサイズ変化を評価した。

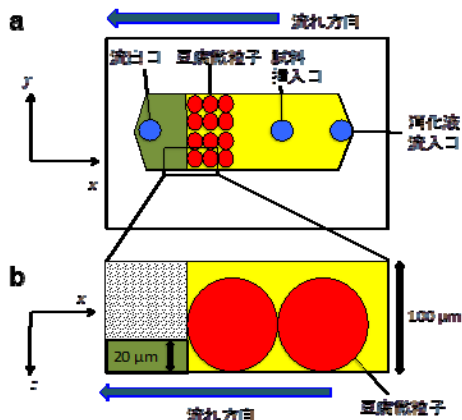


図 3 マイクロギャップ法による豆腐微粒子の in vitro 胃消化挙動の評価

4. 研究成果

(1) マイクロギャップ内に豆腐微粒子を保持し、これに人工消化液を流した結果、粒子サイズが経時的に減少する様子が観察された (図 4)。

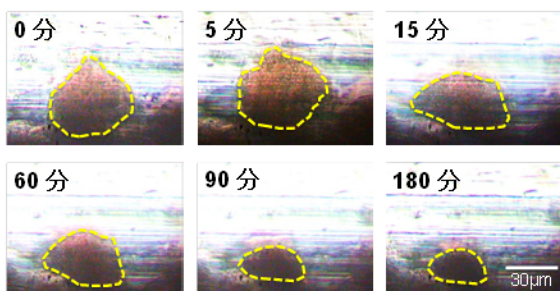


図 4 マイクロギャップ法を用いた豆腐微粒子の胃消化挙動の観察結果 破線は着目している豆腐微粒子

(2) 異なる 3 つの豆腐微粒子の消化挙動をマイクロギャップ法により観察・評価し、豆腐微粒子の残存率を求め、その経時変化を図 5 に示した。いずれの豆腐微粒子においても、そのサイズは消化試験開始直後に急激に減少し、60 分後に開始直後のサイズの 50% 程度にまで減少した。その後、サイズの減少速度は低下し、消化試験終了時 (180 分後) においても、開始直後の約 40% のサイズの微粒子がマイクロギャップ内に残存した (図 5)。

一方、タンパク質分解酵素ペプシンを添加せずに調製した人工胃液を連続的に流入した場合、豆腐微粒子のサイズに変化は無く、消化が進行しないことがわかった。

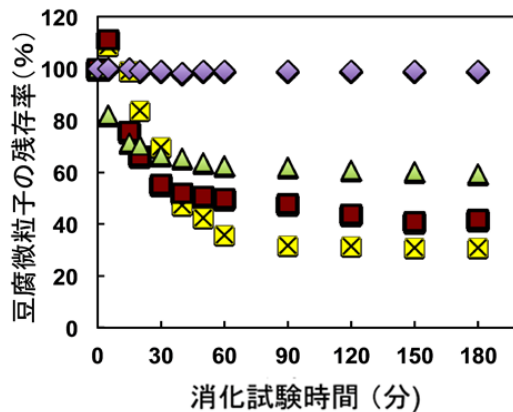


図 5 マイクロギャップ法により観測した消化試験に伴う豆腐微粒子 (3 つの異なる豆腐微粒子 ▲, ■, □) のサイズの変化 ◆ はタンパク質分解酵素ペプシンを添加せずに調製した人工胃液を連続的に流入した場合

(3) 豆腐粒子と人工胃液をフラスコ内で振とうさせて消化試験を行った (図 6)。その結果、粗タンパク量の時間変化の傾向はサイズ変化の結果 (図 5) と対応していることがわかった。

消化試験時間 180 分後でも、乾燥重量割合で約 20% の粗タンパク質が残存していることから (図 6)、ヒトの胃においても、胃消化後にペプシンで分解されないタンパク質が豆腐微粒子中に残存し、微粒子のまま小腸へ排出される可能性が示唆された。

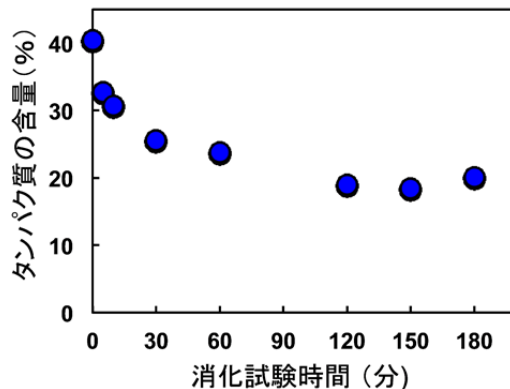


図 6 消化試験の進行に伴う豆腐微粒子中の粗タンパク量の経時変化

(4) 本研究により、微小空間を利用して食品粒子の消化挙動を微視的に *in vitro* で観察・評価できるマイクロギャップ法を開発できた。また、この新規手法により食品粒子のモデルとして豆腐粒子の消化挙動を可視化し、その変化を定量的に評価できた。

(5) 本研究で開発したマイクロギャップ法を利用することで、今後、食品粒子の微細な胃消化挙動を系統的かつ詳細に解明することが期待される。得られる知見から、ヒトの胃の消化特性に合わせた食品の加工・改質が期待される。

また、マイクロギャップ法により、食品の微細構造と微視的な胃消化挙動との相関も明らかにすることが期待される。微細構造と胃消化特性が精密に制御された新たな高齢者食、スポーツ食等の設計・開発に有用な知見が得られるものと期待される。

<引用文献>

- ① D.J. McClements, Y. Lin, Review of *in vitro* digestion models for rapid screening of emulsion-based systems, *Food Funct.*, 1, 32-59 (2010)
- ② H. Kozu, Y. Nakata, M. Nakajima, M.A. Neves, K. Uemura, S. Sato, I. Kobayashi, S. Ichikawa, Development of a human gastric simulator equipped with peristalsis function for the direct observation and analysis of the food digestion process, *Food Sci. Technol. Res.*, 20, 225-233 (2014).
- ③ I. Kobayashi, K. Uemura, M. Nakajima, Generation characteristics of highly uniform nonspherical droplets of soybean oil using microchannel array devices, *Food Biophys.*, 3, 132-139 (2008).
- ④ H. Kozu, I. Kobayashi, M.A. Neves, M. Nakajima, K. Uemura, S. Sato, S. Ichikawa, PIV and CFD studies on analyzing intragastric flow phenomena induced by peristalsis using a human gastric flow simulator, *Food Funct.*, 5, 1839-1847 (2014).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

①Tachta Erlangga, 神津 博幸, 中嶋 光敏, Marcos A. Neves, 植村 邦彦, 佐藤 誠吾, 小林 功, 市川 創作, マイクロギャップ法を用いた食品微粒子の胃消化挙動の微視的観察, 日本食品工学会第 16 回 (2015 年度) 年次大会, 2015 年 8 月 10~11 日, 広島市立大学 (広島県, 広島市)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

市川 創作 (ICHIKAWA, Sosaku)

筑波大学・生命環境系・教授

研究者番号: 00292516

(2) 研究分担者

小林 功 (KOBAYASHI, Isao)

国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所・主任研究員

研究者番号: 70425552

(3) 連携研究者

なし