

食品中の健康機能性成分の分析法マニュアル

平成22年3月作成

四国地域イノベーション創出協議会
地域食品・健康分科会 編

s-food@m.aist.go.jp

海藻（褐藻類）のフコステロール

作成者：徳島県立工業技術センター 主任研究員 吉本亮子

1. 海藻（褐藻類）について

1. 1 概要

海藻はその色調により、緑藻、褐藻、紅藻に分けられ、それぞれ機能性に富んだ成分を有している。また、中でも褐藻類は大型になる種が多く、生産技術の発展とあいまって、重要な食料資源となっている。

コンブは、主に北海道で収穫されている。食用など産業上有用なものとして、マコンブ、リシリコンブ、ミツイシコンブなど15種が知られている。加工用途としては、素干し昆布、おぼろ昆布、すきこんぶ、塩こんぶ、昆布茶など多岐にわたる。またガニアシやガゴメコンブなどを使って、機能性を重視した商品開発も盛んに行われている。

ワカメは、日本近海の温帯海域に生息し、ほとんどが養殖により生産されている。加工用途は湯通し塩蔵加工が最も多く、三陸海岸周辺が主要な生産地である。また、島根県の板わかめ、徳島県、兵庫県の灰干しわかめ、長崎県のもみわかめなど日本各地に伝統食品的な加工品が見られる。徳島県の糸ワカメは灰干しワカメの二次加工品として古くから生産されてきた。製造工程上、原藻からの成分変化が少ないと考えられる。

サガラメは暖海系の多年生褐藻類である。静岡県相良付近から高知県室戸岬付近に生息する。同じ大型の褐藻類、ワカメやコンブに比べると利用用途は低いですが、細く切って煮熟乾燥させたものが市販されている。



図1. 1-1 コンブ素干し品



図1. 1-2 糸ワカメ

その他の食用褐藻類として、ヒジキやモズク、アカモクなどがある。

褐藻類の生鮮物の脂質含量は非常に少なく、ワカメ生鮮物では約 0.2% 程度である。しかしながら、フコステロール、脂肪酸（アラキドン酸、EPA）、フコキサンチンなどの重要な機能性成分が含まれている。



図 1. 1-3 サガラメ煮干し品

1. 2 食品あるいは含有成分の機能性

フコステロールには、血中コレステロールレベルの低下作用や血栓予防効果があるとされる。近年、 β -シトステロールなどの植物ステロールにコレステロールの吸収を抑制する働きがあるとして、それらのエステル体を関与成分とした特定保健用食品が認可されている。フコステロールも植物ステロールと同様の構造的特徴を有することから、同様の効果が期待されている。

1. 2. 1 フコステロールを含む食品

フコステロールは褐藻類に特有のステロールで、細胞膜の構成成分である。ワカメ、コンブ、ヒジキ、モズク、アラメなどに含まれる。

<引用・参考文献>

1. 伊波国彦ら、日本農芸化学会、日本栄養食糧学会、日本食品科学工学会 西日本支部合同大会 p49 (2000)
2. 伊波国彦ら、マリンバイオテクノロジー学会大会講演要旨集, 5, 24 (2001)

2. フコステロールについての説明

フコステロールの化学構造を図 2-1 に示す。植物ステロールとしては、 β -シトステロール、スチグマステロール、カンペステロールなどが知られているが、いずれも非常に類似した構造を有している。

ワカメ中のフコステロール含有量は、葉状部（乾燥）1 g あたり 2.1mg、コンブ 1.0mg、ヒジキ 0.5mg、モズク 0.4mg との報告がある¹⁾

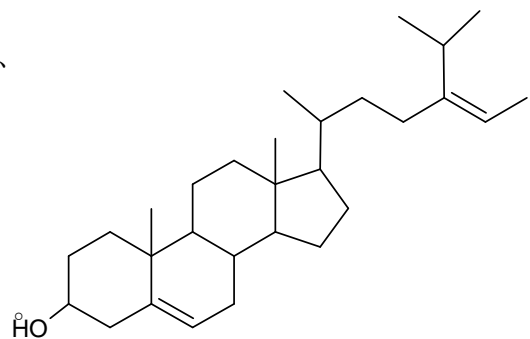


図 2 - 1 化学構造

3. 定量分析の方法について

フコステロールは通常、脂質のケン化、抽出、メチル化などの煩雑な前処理を経

てガスクロマトグラフィー (GC) で定量される。ここでは、GC 及び超高速液体クロマトグラフィー-質量分析計システム (UPLC-MS) による方法を述べる。

3. 1 準備する器具など

[抽出]

1. ホットプレート
2. 還流冷却管付三角フラスコ (100ml)
3. 分液漏斗 (500ml、300ml 容)
4. 漏斗
5. ロータリーエバポレーター
6. 窒素ボンベ
7. ナス型フラスコ (300ml)
8. メスフラスコ (10ml)

[UPLC-MS を用いた分析]

9. UPLC-MS システム (カラム恒温槽 (50℃ が保てるもの) が必須)
10. C8 逆相カラム (Acquity UPLC BEH C8 2.1mm I.D. x100mm、1.7 μm、waters 製)

[GC を用いた分析]

11. ガスクロマトグラフシステム FID 検出器が必須
12. キャピラリーカラム (DB-1、0.53mm I.D. ×15m、膜厚 1.00 μm、J&W 製)

[試薬]

1. 水酸化カリウム (特級)
2. エタノール (特級)
3. 沸騰石
4. ジエチルエーテル
5. 無水硫酸ナトリウム
6. フコステロール (95%、Sigma 社)
7. 5α-コレスタン (GC 内部標準用)
8. メタノール (LC/MS 用)
9. 蒸留水 (LC/MS 用)

3. 2 分析用試料の前処理・調製方法

1. 粉碎均質試料 5g を精秤し、100ml 三角フラスコに入れる。
2. 水酸化カリウム 3.3g、蒸留水 5ml、エタノール 50ml、沸騰石を加え、還流冷却管を装着し、ホットプレート上で穏やかに沸騰させながら 1 時間加熱する。
3. 放冷後、固形物が残っていたらホモジナイズする。
4. 500ml 分液漏斗に移し、水 150ml で洗い込む。
5. ジエチルエーテル 100ml を加え 5 分間振り混ぜ、その後 5 分間静置する。
6. 下層の水層を別の 300ml 分液漏斗に採取し、ジエチルエーテル 50ml を加え 5 分間振とう後、5 分間静置する。これをさらに 1 回繰り返す。
7. ジエチルエーテル層を集め、水 40ml で 4 回洗浄する。

8. ジエチルエーテルを無水硫酸ナトリウムで脱水し、300ml ナス型フラスコにろ過する。
9. 40℃に設定した水槽を備えたロータリーエバポレーターで、窒素ガスを吹き付けながら濃縮し、脂質を得る。
10. メタノールで10mlにメスアップし、分析用試料とする。

3. 3 ガスクロマトグラフィーによる分析方法

(1) 分析条件

検出器、カラム恒温槽、溶媒の流量等の条件は以下の通りとする。

カラム温度：260℃

注入部・検出器温度：280℃

検出器：FID

注入量：1 μ l

キャリアーガス：He 4lml/min.

カラム流量：7ml/min.

(2) 定性及び定量

- ① 分離された物質の定性は保持時間により行う。
- ② 定量は.5 α -コレスタンを用いた内部標準法による。

3. 4 UPLC-MS による分析方法

(1) 移動相の調製

移動相 A 及び移動相 B を以下のように調製する。

A 液：アセトニトリル-99.5%ギ酸 (95.9+0.1、v/v)

B 液：水-99.5%ギ酸 (99.9+0.1、v/v)

(2) UPLC 条件

- ① 恒温槽、溶媒の流量等の条件は以下の通りとする。
カラム温度：50℃
注入量：10 μ L
流速：0.6ml/min
- ② 移動相溶媒の混合比（イソクラティック）：A 液 73%、B 液 27%。

(3) MS 条件

イオン化：ESI (+)

ソース温度：140℃

キャピラリー電圧：3.3kv

コーン電圧：20V

(4) 定性及び定量

- ① 分析試料は試料濾過用フィルターを通し分析に供する。
- ② 分離された物質の定性は保持時間およびマススペクトルによる質量電荷比 (m/z) により行う。
- ③ 定量は標準試料を用いた絶対検量線法による。

4. 分析例

4. 1 ガスクロマトグラフィーによる分析例

分離された物質は保持時間から(標準物質と比べ)特定する。定量には標準試料を用い、クロマトグラムのピーク面積から濃度を算出する。以下に典型的なクロマトグラムを示す。

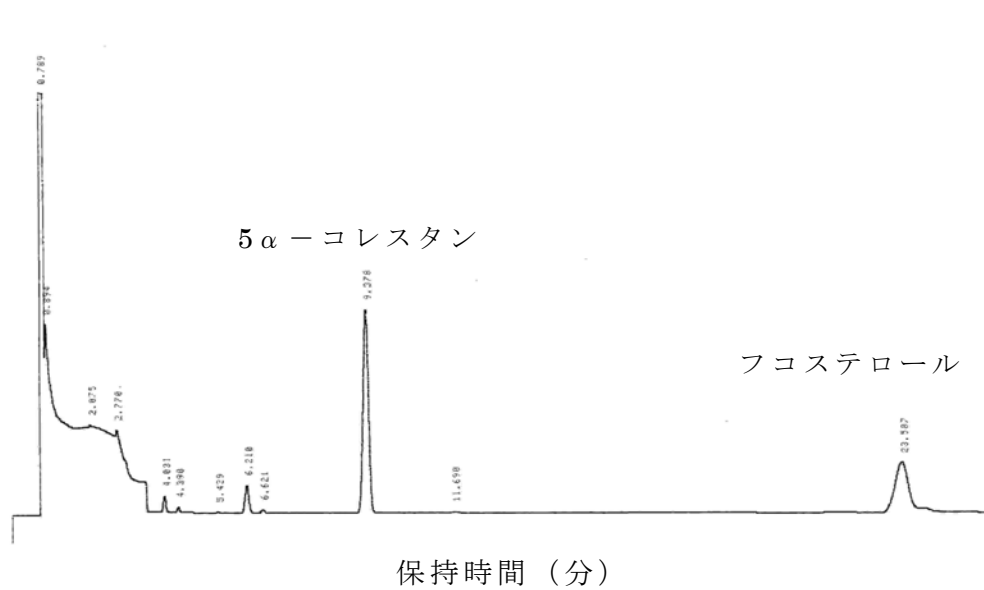


図 4. 1-1 フコステロールのガスクロマトグラム

4. 2 UPLC-MS による分析例

分離された物質は保持時間から(標準物質と比べ)特定する。定量には標準試料を用い、クロマトグラムのピーク面積から濃度を算出する。以下にフコステロールのマススペクトル(図 4. 2-1)及びトータルイオンクロマトグラフ(図 4. 2-1)を示す。

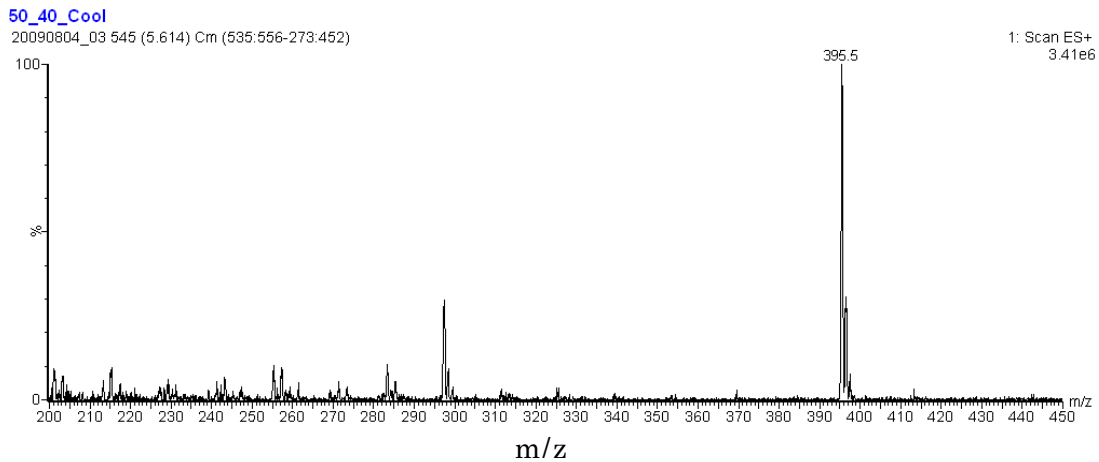


図 4. 2-1 フコステロールのマススペクトル

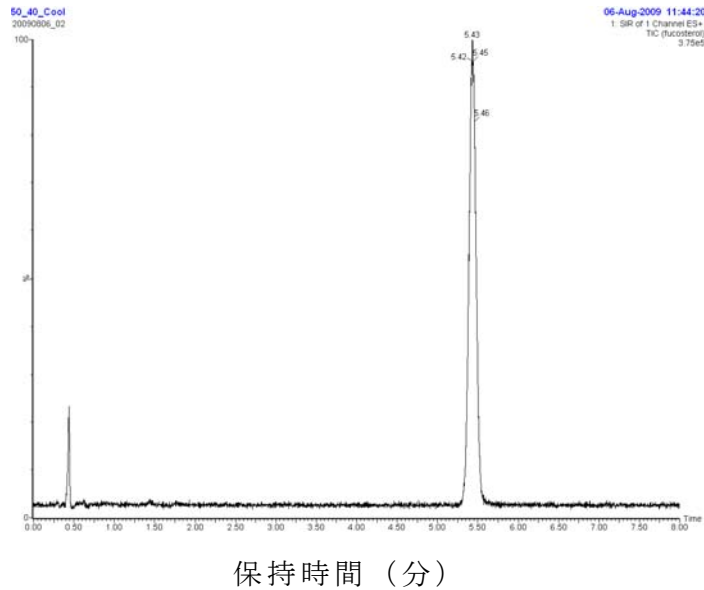


図 4. 2 - 2 フコステロールのトータルイオンクロマトグラム

5. 食品の分析結果例

上記 UPLC-MS による手法を用いて、徳島県産の食用褐藻類製品のフコステロール量を定量した。その結果を下記表に示す。

表 5 - 1 徳島県産食用褐藻類製品のフコステロール

試料	フコステロール含有量[mg/g]
煮熟乾燥サガラメ	2.7
素干しコンブ	3.2
糸ワカメ	9.2

(※注意) なおこの測定結果は一例であり、褐藻類一般の分析結果ではない。

6. 分析上の留意、注意点

抽出した試料は変化しやすいため速やかに分析を行う。保存する場合は、窒素置換して密封し低温で保存する。

7. その他

特になし。

8. 定量法に関する引用・参考文献

1.加藤信子：東海女子短期大学紀要、第 11 号、53-60 (1985)

— 以上 —

[トップページに戻る](#)