

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

アコヤガイの糖脂質群

作成者：産業技術総合研究所 健康工学研究センター
生体機能評価チーム長 仲山 賢一

1. アコヤガイの糖脂質について

1. 1 概要

アコヤガイは真珠の生産に利用され、愛媛県で養殖されている。真珠の生産が主の目的であるため、貝自体は真珠を取り出された後、食用として僅かに利用される他には利用されずに廃棄されているのが現状である。この未利用の廃棄物のうち、貝本体には糖脂質を含む部位が含まれていることから、糖脂質成分の抽出が可能である。

生体に含まれる糖脂質成分は、その構造にセラミド成分を含んでいることから、近年、機能性成分として利用することが盛んになっており、様々な利用が試みられている。特に海産生物に含まれる糖脂質は免疫系への作用が確認され医薬品成分としての利用が考えられているものが知られており、利用価値が高いと考えられている。また、植物の糖脂質同様、セラミドを含んでいることから、皮膚の保湿等煮も効果が期待できる。従って、未利用のアコヤガイから糖脂質を抽出することで、破棄物の有効利用が可能となる。

1. 2 アコヤガイの糖脂質の機能性

糖脂質は一般的に様々な効果があるといわれている。その多くは、免疫系との関わりにより有効であるとされているが、一部は直接的な抗ガン効果や神経系への作用なども報告されている。その作用メカニズムは学術的に研究もされており、糖脂質の機能の一部は、糖タンパク質との糖鎖同士の相互作用による結合によるものであるとする学術論文が発表されている。このように糖脂質の機能は糖鎖部分の寄与が大きいと考えられるが、経口摂取された場合、消化管などでの分解により、セラミドやスフィンゴシンに分解され吸収されることが知られており、セラミドやスフィンゴシン由来の効果が観察されることも知られてきている。スフィンゴシンやセラミドは、糖脂質とはまた異なる生理作用が報告されていることから、食品として経口摂取される場合

は様々な効果が期待できる。

1. 2. 1 類似の糖脂質を含む食品

貝類の糖脂質については現在のところ製品化はされてはいない。海綿などに含まれる α ガラクトシルセラミドは、免疫細胞の活性化がよく知られており、癌の治療への応用が検討されているが、作用が強力であり食品として用いられることはない。

<引用・参考文献>

1. Kawashima N, Yoon SJ, Itoh K, Nakayama K., J Biol Chem. Vol.284, pp6147-6155, 2009

2. 糖脂質類についての説明

糖脂質は、様々な種類が知られているが、ここでは一般的に動物で観察されるセラミドを含む糖脂質についての説明をする。

糖脂質の基本的な構造を図1に示す。脂質部分はセラミドと呼ばれるものであり、スフィンゴシンという塩基部分とそれに結合する脂肪酸部分に分かれる。

Rで示された部分が糖鎖であるが、動物では非常に多様な糖鎖が結合していることが知られている。特にナマコなどの海産の生物から取得される糖脂質にはシアル酸などの酸性糖が多く含まれている。アコヤガイでは、以下の分析法で述べるように複数の糖が結合した糖鎖が結合していると考えられる。

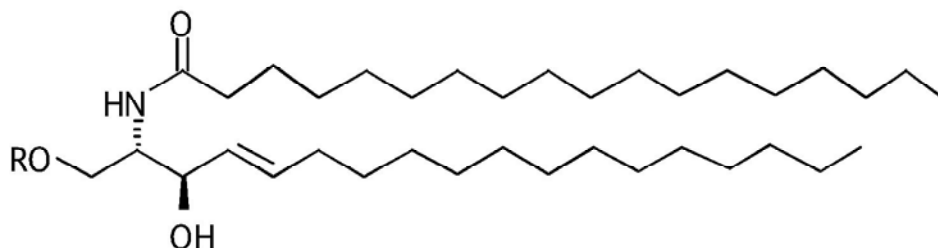


図1 糖脂質の構造

3. 定量分析の方法について

アコヤガイ由来の糖脂質の抽出および分析方法について述べる。糖脂質は、紫外吸収や蛍光などを持たないことから、その検出には、糖部分の染色などが用いられてきた。しかしながら、この手法では微量の糖脂質の検出は不可能であり、定量性もないことから、本マニュアルでは高速液体クロマトグラフィーと蒸発光散乱検出器 (ELSD) を用いた分析手法を用いる。

3. 1 準備する器具など

1. 有機溶媒に耐性のあるミキサー(ステンレス製)
2. ブフナー漏斗
3. 濾紙、セライト
4. ロータリーエバポレーター
5. 分液漏斗
6. C18 Sep-Pak カートリッジカラム
7. 2液グラジェントの出来る高速液体クロマトグラフシステム、蒸発光散乱検出器 (ELSD)
8. シリカゲルカラム (4.6x150mm)

[試薬]

1. ヘキサン(試薬特級)
2. 2-プロパノール(試薬特級)
3. Milli-Q 水
4. クロロホルム
5. メタノール
6. NaCl

3. 2 分析用試料の前処理・調製方法

アコヤガイの身の部分 20g に対して、ヘキサン 25ml、2-プロパノール 55ml を加えて、ミキサーでアコヤガイを破砕しながら糖脂質を抽出する。抽出は、1 分間の破砕を 3 回繰り返すことにより行う。破砕抽出後、ブフナー漏斗に濾紙をセットし、必要であればセライトを濾紙上にひき、吸引濾過を行う。濾過された残渣は、2-プロパノール、ヘキサン、水の 55:25:20 の混合溶液で、再度ミキサーを使用した抽出を行う。

合計 2 回行った抽出濾過液を合わせ、ロータリーエバポレーターで減圧濃縮を行う。完全に溶媒を除くために、エタノールを加えながら、濃縮を行う。完全に溶媒が除去され乾固したら、クロロホルム、メタノールの 2:1 の液を 45ml 加えて抽出乾固物を溶解する。溶解したら、分液ロートに移し、水を 7.5ml 加えよく攪拌する。攪拌後静置し、液層が分離するのを待つ。分離した上層を糖脂質画分として集め、下層は減少した上層と同じ量のクロロホルム、メタノール、0.1% NaCl 水溶液 (1:10:10) を加え、分液漏斗で激しく攪拌する。攪拌後、液が二層に分かれるのを待つが、このとき必要で

あれば一晩放置する。二層に分かれたら、上層を糖脂質画分として集める。この操作は2〜3回繰り返す。

上層は一つに集め、ロータリーエバポレーターで減圧濃縮を行う。

3. 3 HPLC による分析方法

(1) 移動相の調製

移動相はA液としてクロロホルムを、B液として95%メタノール：5%水の混合溶媒を用いる。

(2) 分析条件

分離用カラムはシリカゲルを担体とするものを用いる。カラムのサイズは直径4.6mm、長さ150mmのものを用いる。移動相は1mL/minで、初期状態はA液：99%、B液：1%でカラムを平衡化し、サンプルをアプライした後、15分後にB液：25%まで直線的に溶媒濃度を上げ、20分後にはB液：90%、21分後にはB液：100%にそれぞれ直線的に溶媒濃度を上げる。溶出は40分後まで行い、検出は蒸発光散乱検出器(ELSD)で行う。

(3) 定性及び定量

定量は標準品であるコンニャクから分離されたグルコシルセラミドを用い、そのピークの面積値から定量を行う。

4. 分析例

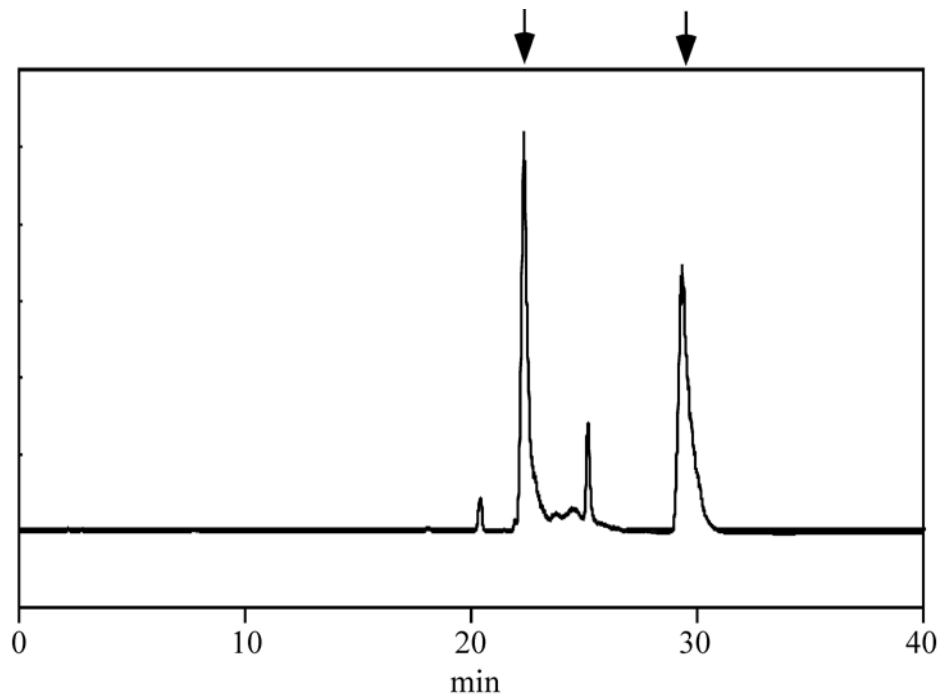


図 2 アコヤガイの糖脂質の HPLC による分析

分析によって得られたデータから、アコヤガイの糖脂質は、22 分付近に溶出して

くるピークは、ガングリオシド GM3 とほぼ同じ位置である。このことから、22 分のピークは糖が 3 残基セラミドに結合している糖脂質であることが分かる。また、30 分付近のピークはさらに糖が結合した糖脂質であると予想される。これ以外のピークについては、280nm の紫外吸収を持つものであり、糖や脂質のみからなる糖脂質由来とは考えられないものである。

5. 分析上の留意、注意点

アコヤガイは非常に硬いため、糖脂質抽出の際に破砕が完全にされない場合がある。効率のよい抽出のためには完全に破砕できるまでミキサーを使用する。

——以上——

[トップページに戻る](#)