

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

オリーブの糖脂質群

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. オリーブの糖脂質について

1. 1 概要

香川県の小豆島で栽培されるオリーブは、日本で初めて栽培に成功したオリーブとして知られ、現在でも日本一の生産量を誇る特産品である。また、小豆島地域はオリーブ栽培の特産区に指定されており、その生産や加工においてはほとんど日本で唯一と言っていいほどである。

オリーブは、主に食品としてそのまま利用されるほか、食用油、ピクルスなどの加工品などに使用されている。主な製品としてはオリーブ油が知られているが、搾油された残りのものは廃棄物として未利用となっている。この未利用の廃棄物は、果肉や種の油分や水分以外はすべて残っていることから、この残渣にはオリーブを構成する生体成分の多くは残されたままである。特に、細胞膜に埋込まれている糖脂質成分などは、すべて未利用で廃棄されている。

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。特に植物に含まれる糖脂質はその含量が比較的多いこと、また、食品加工した際の廃棄成分に含まれることなどから、産業利用が試みられている。その活性は幅広く、主に皮膚の保湿や免疫系への関与、さらには抗ガン作用の可能性も報告されている。

オリーブにおいても、他の植物と同様に、加工時に残渣が未利用廃棄物となる。従って、他の植物と同様に、この搾油残渣より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 オリーブの糖脂質の機能性

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(1)。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

イ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

一般に植物は糖脂質の含量が高く、米などを始め、トウモロコシ、コンニャク、マイタケ等から抽出された糖脂質が市場に出回っている。その多くは、祖抽出物として利用されており、市場にも祖抽出物として流通している場合が多い。

<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や植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。スフィンゴシンは植物では様々な構造が知られており、これと結合する脂肪酸の多様性から多様なものが存在する可能性がある。ここでは、主に観察される主要なスフィンゴシンからなる糖脂質について言及する。

次に糖鎖部分であるが、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。一方、植物ではグルコースが一分子結合したタイプの糖脂質しか見いだされておらず、植物では糖鎖部分の多様性はないと考えられている。

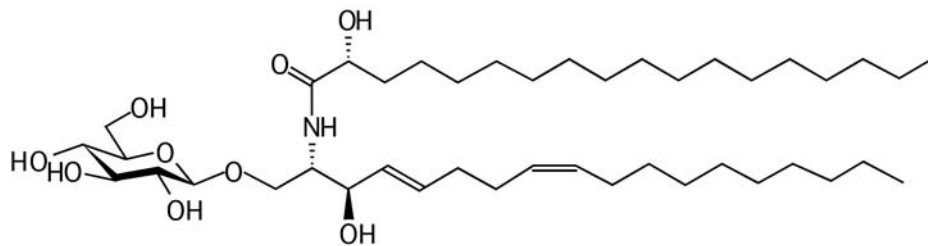


図1 植物由来の糖脂質の構造

3. 定量分析の方法について

オリーブ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)を用いた分析手法について述べる。また、糖鎖部分の解析については「オリーブの糖脂質糖鎖の構造決定法」で別途述べる。

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

オリーブの採油滓 20g に対して、ヘキサン 25ml、2-プロパノール 55ml を加えて、ミキサーで採油滓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

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 30 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

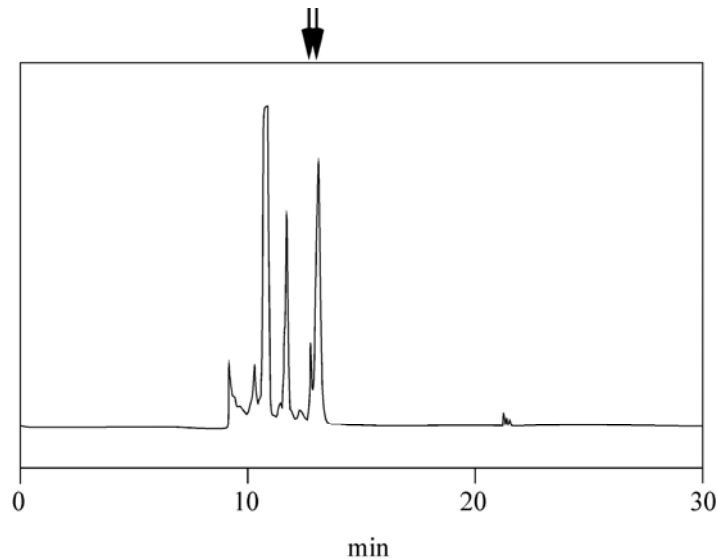


図 2 HPLC によるオリーブ糖脂質の分析

矢印で示されたものが糖脂質由来のピークと考えられる。このピークは標準品のグルコシルセラミドとほぼ同じ位置に溶出してきており、この時点でグルコシルセラミドと考えられる。さらに詳細に分析するためには糖の構造解析が必要となる(「オリーブの糖脂質糖鎖の構造決定法」を参照)。これらのピークの前に出てくるものは、溶出時間より主にステリルグルコシドであると考えられる。

5. 分析上の留意、注意点

植物の糖脂質の抽出物にはステリルグルコシドが含まれてくる。HPLC で分析する場

合には溶出時間などが非常に近いため、必ず標準品のグルコシルセラミドとの比較を行う必要がある。

—以上—

[トップページに戻る](#)