

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

ニラのカロテノイド類

作成者：高知県工業技術センター 主任研究員 森山 洋憲

1. ニラについて (

1. 1 概要

ニラ（菰、Chinese chive、*Allium tuberosum*）は東アジアの原産である。中国では最も古い野菜のひとつであり、葉ニラのみでなく、花茎も花ニラとして利用される。我が国では9～10世紀頃から利用されていたが、その生産量は微々たるものであった。1960年代に入ってから需要が急増し、周年生産されるようになった。主な産地は栃木、群馬、高知、福島である。

高知県ではハウスと露地栽培で周年生産されている。100g入り袋、1kg入り袋（100gを10束）、高知県の特許技術であり、鮮度保持効果の高いパーシャルシール包装による出荷が行われている。高知県のニラ作付け面積は228ha、出荷量13900トンであり、シェア24.1は全国1位である（H19年産農林水産省統計）。



1. 2 食品あるいは含有成分の機能性

ネギ属植物であるニンニクやネギはアリル化合物を含んでおり、抗がん作用や抗血栓作用等の機能性を有することが知られている¹⁾。同様にニラもアリインとアリシンを含んでいる。ニラはカロテン、ビタミンE、フラボノールを多く含む農産物であり、健康増進効果を期待できる食材である。

1. 2. 1 ニラを含む食品

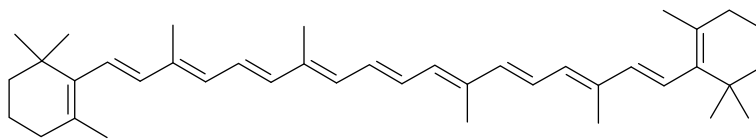
ニラはアリル化合物を含み、カロテン、脂溶性ビタミン、フラボノールも多く含む食材である。しかしながらネギ属であるニンニクやタマネギに比べると研究開発例が少なく、食品加工への応用例が数少ない。高知県では餃子や鍋の具材用として冷凍カットニラが出荷されている以外に特に加工例はない。

<引用・参考文献>

1. 関泰一郎, 有賀豊彦: バイオサイエンスとインダストリー, 64, 609-613(2006)
2. 森光康次郎, FOOD Style21, 6, 74-78(2002)

2. カロテノイドについての説明

カロテノイドは長鎖ポリエン構造を有する化合物である。酸素を含まない炭化水素化合物であるカロテンと酸素含有化合物であるキサントフィルに大きく区分される。食物に含まれる主要なカロテノイドとして α -カロテン、 β -カロテン、 β -クリプトキサニン、リコピン、ルテイン、ゼアキサニンが挙げられる。 β -カロテンを多く含む食材はニンジン、ビワ、ブロッコリー、ケール、レタス、ピーマン、カボチャ、ハウレンソウ、サツマイモ等である。カロテノイド類は疎水性が高く、ほとんど水に溶けない。また光、酸素、酸、温度に対して不安定であり、異性化、重合、分解を容易に生じる。



β -カロテン

3. 定量分析の方法について

ピロガロールを添加したアルカリ性条件下で試料をけん化した後、不けん化物を溶媒抽出し、HPLC装置で定量する方法（「栄養表示基準における栄養成分等の分析方法等について」：平成11年4月26日付衛新第13号準拠）である。

3. 1 準備する器具など

1. ウォーターバス

2. 100ml 容のメスフラスコ(首の太いもの使いやすい)
3. 試料濾過用フィルター(親水性テフロン膜を使用したもの、ポアサイズ 0.45 μ m、13mm 径)
4. 高速液体クロマトグラフシステム(分析システム例：ウォーターズ製デルタ 600 マルチソルベントシステム、2998 フォトダイオードアレイ検出器、カラムヒーター、Empower2)
5. 逆相カラム (Inertsil ODS-P、5 μ m、250 \times 4.6 I.D、ジーエルサイエンス製)
6. ガードカラム
7. エバポレーター
8. 振とう機

[試薬]

1. ピロガロール
2. ヘキサン (残留農薬試験用)
3. アセトン (残留農薬試験用)
4. エタノール (残留農薬試験用)
5. トルエン (特級)
6. 酢酸エチル (残留農薬試験用)
7. トコフェロール (DL- α -トコフェロール、ビタミン E)
8. BHT (2,6-Di-*t*-ブチル-*p*-クレゾール)
9. カロテン標準品 (シグマ製)

市販標準品の内容物全量 (10mg-25mg) をシクロヘキサン 100mL に定溶する。この溶液をエタノールで希釈し、0.01-8.0 μ g に調製したものを標準液として使用する。

前処理用溶液として 50ppmVE 含有 HAET 混合液 (ヘキサン、アセトン、エタノール、トルエンを容積比 10 : 7 : 6 : 7 で混合した液に 0.1%BHT と 0.5 μ g/mL トコフェロールとを添加)、50ppmVE 含有エタノール溶液 (エタノールでトコフェロールを 50mg/L に調製)、60%水酸化ナトリウム溶液、ヘキサン-酢酸エチル混合液 (9:1、v/v)、1%塩化ナトリウム溶液を準備する。

3. 2 分析用試料の前処理・調製方法

1. 切断後に均一化した試料を 100mL 容メスフラスコに採取する。
2. ピロガロール 3g を添加する。
3. HAET 混合液約 10mL を添加しつつ混合し、合計約 40mL 添加する。
4. VE 含有エタノール溶液を約 10mL 添加しつつ混合し、合計約 20mL 添加する。
5. 振とう 15 分間行い、VE 含有エタノール溶液で定容する。
6. 超音波処理を 10 分間行い、冷暗所に静置する。
7. 褐色の 50mL 容遠沈管にホールピペットで 10mL 採取する。
8. 60%水酸化カリウム溶液 1mL を添加する。
9. ウォーターバス中で 70 $^{\circ}$ C、30 分間けん化する。

10. 水冷後、1%塩化ナトリウム溶液 20mL
11. ヘキサン-酢酸エチル混合液 15mL 添加、振とう 5 分間、遠心分離（1500rpm、5 分間）後に上層を回収する。
12. 下層に 11 の操作を 2 回繰り返す、上層を回収する。
13. 上層 3 回分（11～12 の操作）をナス型フラスコに合わせて入れる。
14. エバポレーター（40℃、減圧条件下）で溶媒を適度に除去し、窒素ガスを吹き付けて乾固させる。
15. 乾固物を速やかにエタノールで溶解し、定容する。
16. 試験溶液中のβ-カロテン濃度を約 2μg/mL に調製する。
17. 試料ろ過用フィルターに通過させた試料を HPLC 装置に注入する。

3. 3 HPLC による分析方法

3. 3. 1 「HPLC 装置の場合」

(1) 移動相の調製

移動相 A は HPLC 用メタノール、移動相 B は HPLC 用エタノールである。

(2) 分析条件

- ① 検出器、恒温槽、溶媒の流量等の条件は以下の通りとする。

検出波長:455nm

恒温槽:40℃

流量:移動相 A、移動相 B の合計で毎分 1ml

- ② 移動相溶媒の混合比は以下のように調整する。

移動相 A と B の混合比率 9 : 1 のイソクラティックな溶出条件で 20 分間分析する。

(3) 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。PDA 検出器を使用するときはスペクトルを定性の補助、及び、ピークの純度確認に用いることが望まれる。
- ② 定量は標準試料を用いた、内標を用いない絶対検量線法による。内部標準物質を用いる分析方法もある¹⁾。

3. 3. 2 「高速タイプ HPLC 装置の場合」

(1) 移動相の調製

移動相アセトニトリルである。

(2) 分析条件

- ① 検出器、恒温槽、溶媒の流量等の条件は以下の通りとする。

検出波長:470nm

恒温槽:45℃

流量:移動相 A、移動相 B の合計で毎分 1.2ml

カラム:Inertsil ODS-3 (2μm、50×3.0 mmI.D.)

- ② 移動相溶媒の混合比は以下のように調整する。

イソクラティックな溶出条件で 8.5 分間分析する。

4. 分析例

4. 1 HPLC 装置による分析例

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フを図に示す。

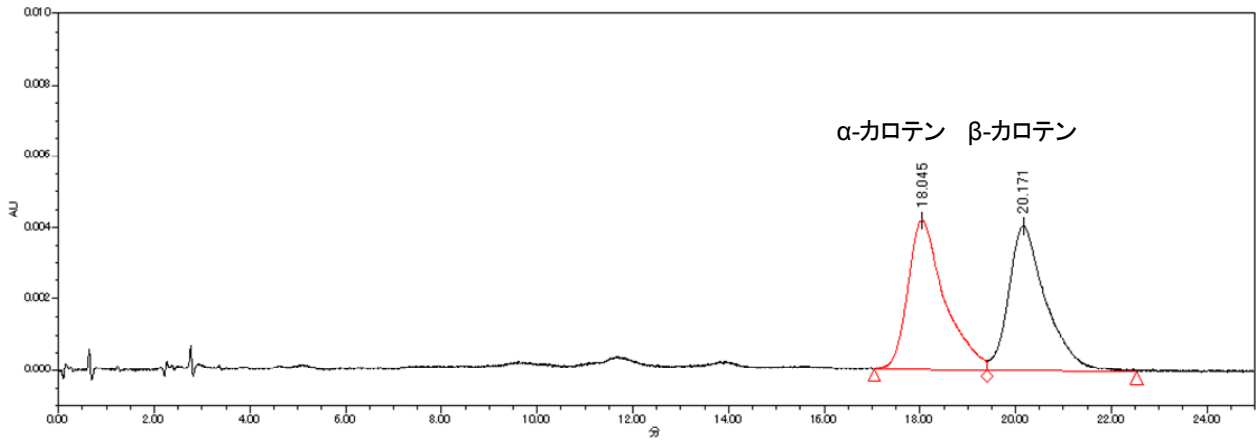


図 4. 1 - 1 標準物質の HPLC クロマトグラム

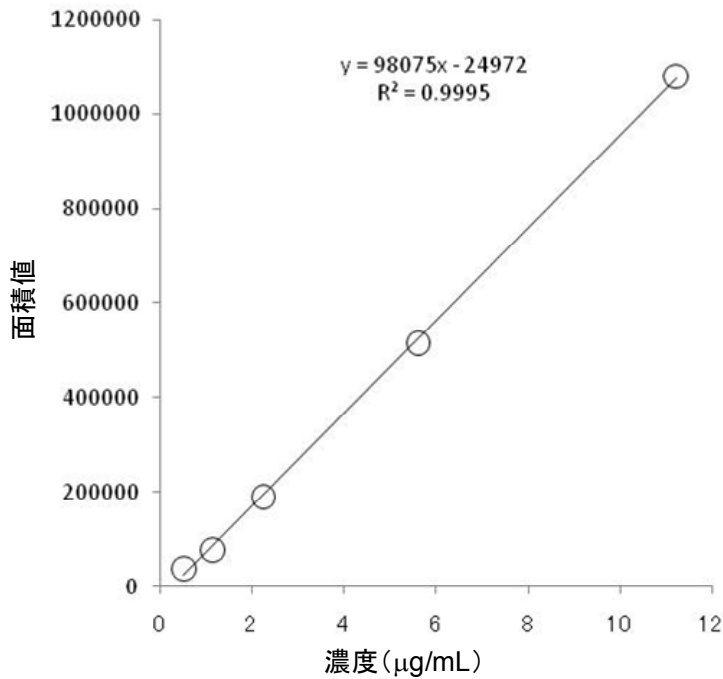


図 4. 1 - 2 β-カロテンの検量線作成例

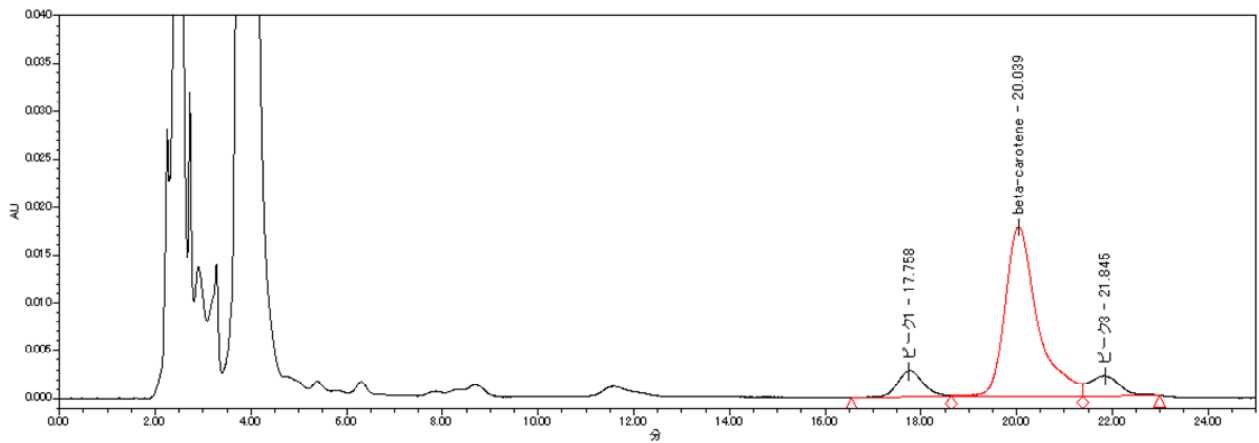


図 4 . 1 - 3 ニラの HPLC クロマトグラム

4 . 2 高速タイプ HPLC 装置による分析例

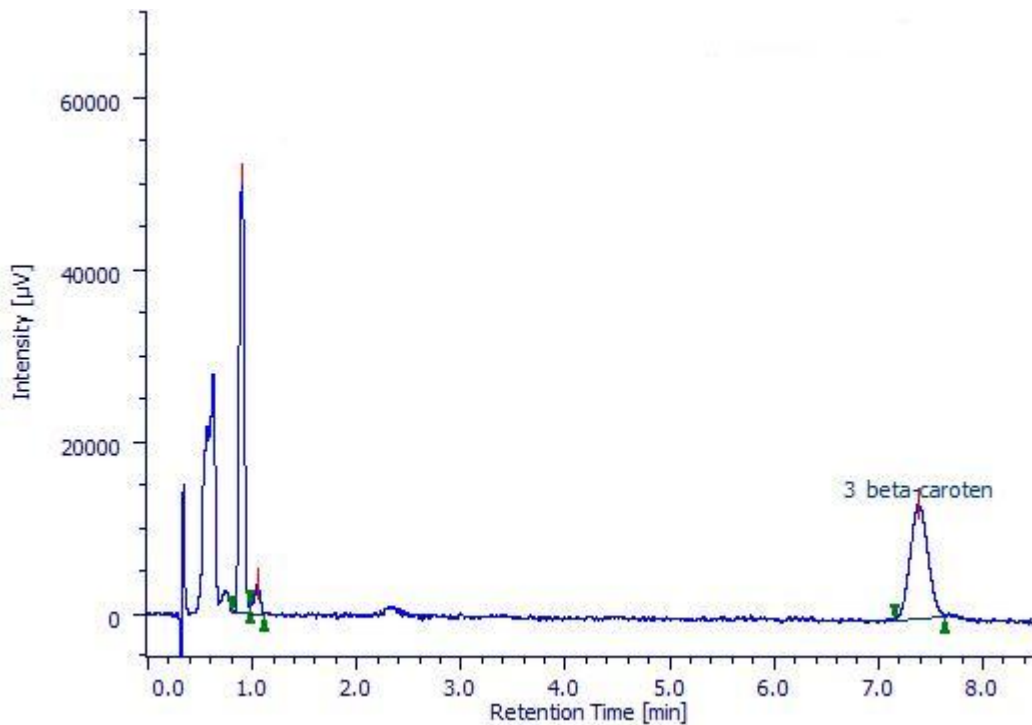


図 4 . 2 - 1 高速タイプ HPLC によるニラのクロマトグラム

5. 食品の分析結果例

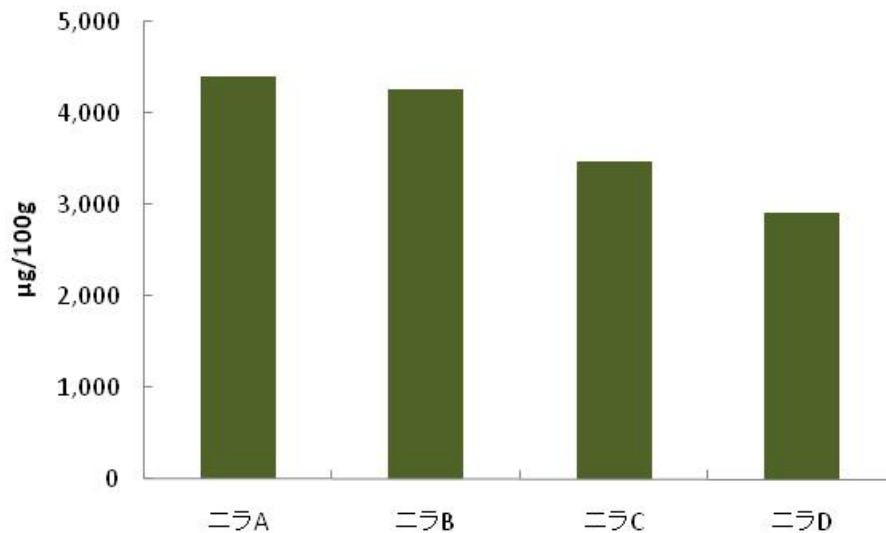


図5-1 高知県産ニラのカロテン量

(*注意) なおこの測定結果は高知県産ニラのごく一部の分析例である。

6. 分析上の留意、注意点

分解しやすい成分であるので、食品衛生検査指針等の注意事項に従って分析する必要がある。

7. その他

特になし。

8. 定量法に関する引用・参考文献

1. Khachik, F., Beecher, G. R., Lusby, W. R.: J. Agric. Food Chem., 34, 603-616 (1986)

—以上—

[トップページに戻る](#)