

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

ナバナのカロテノイド類

作成者：高知県工業技術センター 主任研究員 森山 洋憲

1. ナバナについて

1. 1 概要

アブラナ科アブラナ属に分類され、菜の花 (rapeseed, Brassica spp.) とも呼ばれる。黄色い花の蕾と若い葉と茎とを食用とする。カロテンとビタミンCの含量が多い。春を楽しむ料理の添え物として利用される。葉や茎には独特の風味とほろ苦さがあるので、必ず下茹でして用いる。

市場では掻き取った脇芽を平たく袋詰めにした包装品が主流である。三重県桑名市長島町の栽培面積が170ha(2007年現在)と全国一で、「ナバナ発祥の地」と呼ばれてブランド化に成功している。

高知県ではハウスと露地で生産しており、12月～3月の期間を中心に若採りで開花前のものを収穫する。県内の主な産地は四万十市、四万十町、土佐清水市、大月町、須崎市、香美市、宿毛市である。200gの束包装にして、京浜あるいは中京地域に年間約500トン(全国24位、シェア5.4%)が供給される。



1. 2 ナバナの機能性

ナバナの属するアブラナ科の野菜は肺がんなどの抑制作用を示すことが明らかにされている¹⁾。また西・中央ヨーロッパの肺がん患者 2141 名、コントロール 2168 名を対象にした調査が行われ、アブラナ科野菜の摂取による肺がん予防効果が示唆されている²⁾。アブラナ科野菜に特異的に含まれるグリコシノレートは、ミロシナーゼの作用によってイソチオシアネート類に変化することにより辛味を呈する。

ナタネについてはグルコシノレート含量を調べた報告例がある³⁾。一方、ナバナについてはカロテンとビタミン C の含量も高いものの、系統的にその機能性に着目した研究例はない。

1. 2. 1 ナバナを含む食品

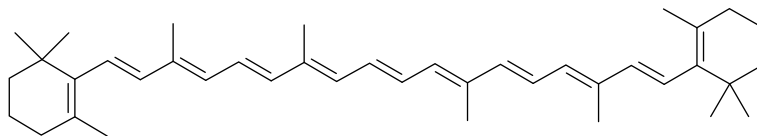
加工用原料としてはマイナーな存在である。外食あるいは中食向けの用途として需要がある。こうした用途向けに高知県でも H21 年度から冷凍ナバナの生産も行われるようになり、京阪神地域に出荷される。

<引用・参考文献>

1. Hecht S. S.: Adv. Exp. Med. Biol., 401, 1(1996)
2. Brennan, P., Szeszenia, D. N., et al.: LANCET, 366, 1558(2005)
3. 石田正彦, 奥山善直, 高島義人, 海妻矩彦: 育雑, 45, 357-364(1995)

2. カロテノイド類についての説明

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 -クリプトキサンチン、リコピン、ルテイン、ゼアキサンチンが挙げられる。 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(首の太いものが使いやすい)
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. 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紫外検出器(PDA 検出器)、カラム恒温槽(40°Cが保てるもの)が必須
5. 逆相カラム (Inertsil ODS-P、5 μ m、250×4.6 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℃、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 2 μ g/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 (2 μ m、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。

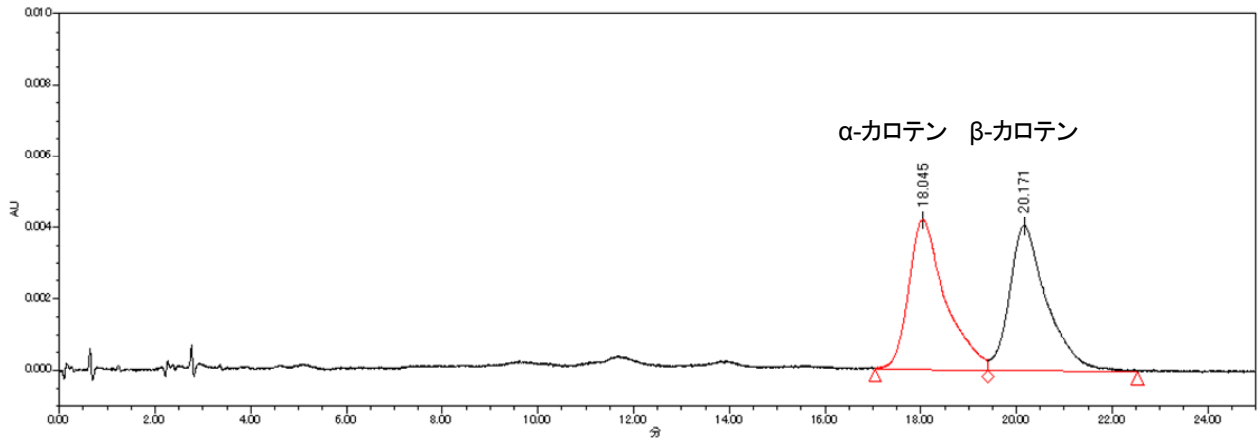


図 4. 1 - 1 標準物質の HPLC クロマトグラム

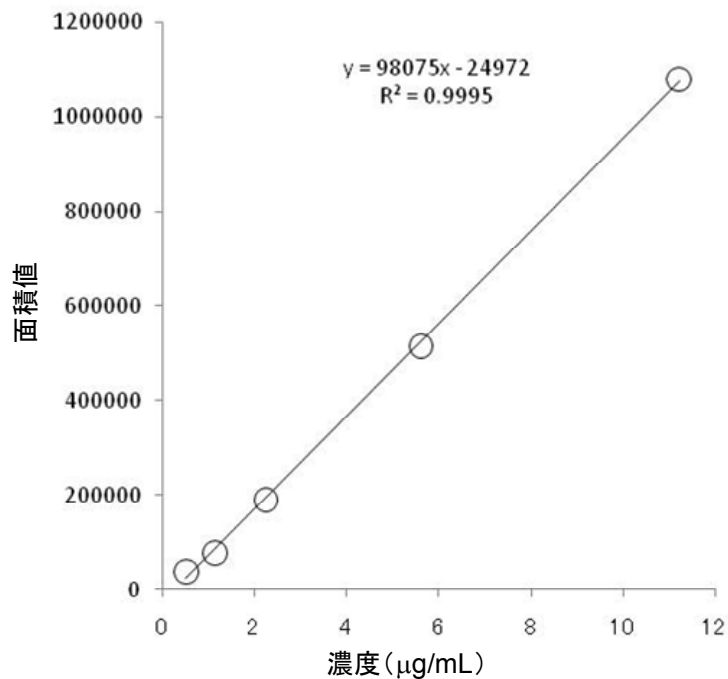


図 4. 1 - 2 β-カロテンの検量線作成例

4. 2 高速タイプ HPLC 装置による分析例

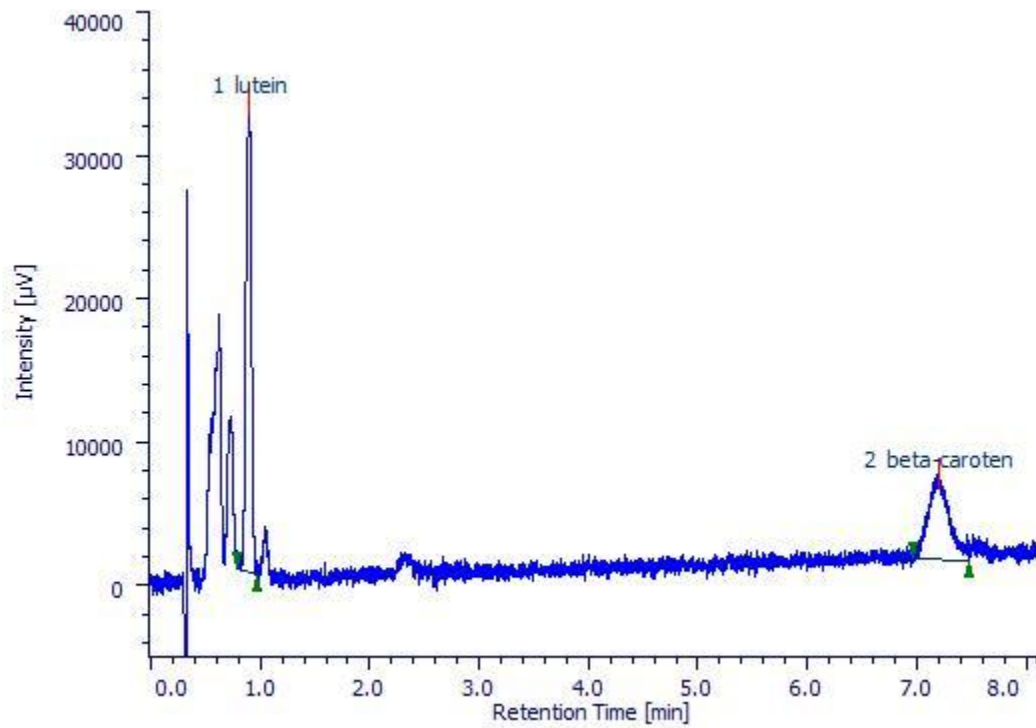


図 4. 2 - 1 ナバナの高速タイプ HPLC によるクロマトグラム

5. 食品の分析結果例

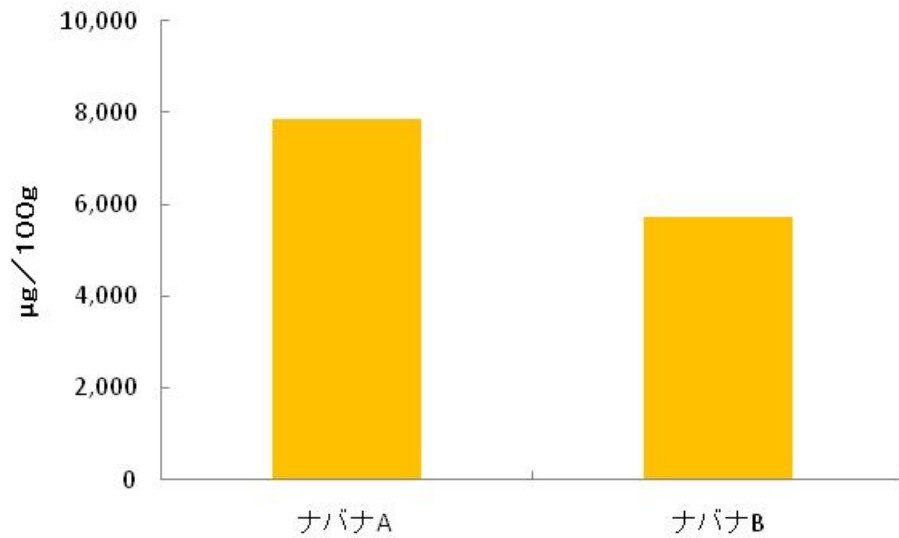


図 5 - 1 ナバナの β -カロテン量

(*注意) なおこの測定結果はあくまでも一例である。

6. 分析上の留意、注意点

特になし。

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](#)