

Manukaに含まれる脂肪酸およびステロール成分

石川 博 美*

Composition of Fatty Acid and Sterol in Manuka

Hiromi ISHIKAWA

【はじめに】

ニュージーランドに広く分布している植物のManuka(Leptosperme)は抗菌作用や抗炎症効果が高く、Manukaの葉・樹皮・樹液を循環器系や内臓疾患・皮膚疾患にと広範囲に利用されている。最近では、国内でもローズマリーとの相乗効果で咳を静める鎮咳効果¹⁾が高いと言う事から、のど飴として商品化された物もある。また、黄色ブドウ球菌²⁾への効果なども報告されており、Helicobacter Pylori 菌の0-157への効果からも、自然界への生理活性物質として近年、重要視されてきている。そこで、Manuka Oilについても抗菌効果や抗酸化作用に期待できるのではないかと考え、前回ManukaからManuka生来の葉と樹皮より抽出した脂質について、おもに脂質組成および脂肪酸組成について報告を行った³⁾。今回は、特に脂質が多く含有されている葉を中心として中性脂質とリン脂質の脂肪酸組成を分析するとともに、Manukaの葉および樹皮に含有されているステロール成分について検討を加えたので報告する。

【実験方法】

1) 試料調整

Manukaの葉および樹皮は、フリーズドライした後前回と同様の方法で抽出し総脂質を得た。これら総脂質からManukaの葉については、

色素(クロロフィル)を分離する目的でENVI-Carb(2層式固相抽出管⁴⁾)を用いて色素を取り除いた。その後、各脂質に分画する目的でSep-Pakシリカカートリッジ^{5,6)})を用いて、単純脂質(中性脂質)とリン脂質とに分画した。

色素(クロロフィル)を除去する方法として、ENVI-Carbカラムの内層を溶媒にて洗浄し内層を飽和状態にし、総脂質をクロロホルム:メタノール(2:1)に溶かしたカラム内層にゆっくり注ぎ込み、Manukaの脂質のみを流出させた。このろ液を全て回収し、窒素気流下にて溶媒を留去したものをManukaの葉の総脂質とした。

2) 脂質の分画

Sep-Pakシリカカートリッジの内層を溶媒で洗浄したのち、Manuka oil 約25mgを500 μ lのクロロホルムに溶かし、ガラス製注射器を用いてSep-Pakシリカカートリッジに注入する。気泡が生じないようにしてクロロホルム20mlの入った注射器に付け替え、約25ml/minの速度でクロロホルムを注入して単純脂質(中性脂質)を流出させる。つぎにメタノールでリン脂質を流出させる。それぞれ流出させたろ液を回収し、窒素気流下で溶媒を留去後各脂質を得た。

3) 脂肪酸組成の測定

脂肪酸組成の測定は前回と同様の方法により行った。つまり、2)で得られた各脂質の全脂質に含まれる脂肪酸を脂肪酸メチルエス

*いしかわ ひろみ 文教大学教育学部

テルの形で遊離させガスクロマトグラフィーで測定するために次の方法を用いた。各脂質(30mg)に5%HCL-MeOHを加え、100 以上で一時間以上加熱しメチルエステル化を行った。加熱後、純水とヘキサンを加え、ヘキサン層に脂質を移動させ水層部分を取り除き、水層を廃棄しヘキサン部分を窒素気流下で精製しガスクロマトグラフィー(GLC)の試料とした。

ガスクロマトグラフィーの条件はPACKARD-5890型、ステンレスカラム(2.5mm x30m)を用い充填剤はシリカゲルDB-23を使用した。カラム温度は昇温で230 , FID検出器で温度250 ; キャリヤーガスはヘリウム(He)で分析を行った。

4) ステロールの測定

植物ステロールについては薄層クロマトグラフィー(TLC)で分画した。溶媒は石油エーテル:ジ・エチルエーテル:酢酸(50:50:1・60:40:1・70:30:1)のいずれかを使用し、遊離脂肪酸区分とステロール区分とに分画し、ステロール区分を採取し、クロロホルム:メタノール溶液によりステロール脂質を抽出した。このステロール脂質をもう一度、TLCで分離し、ステロールの精製度をより高めた。分画した各ステロールを、標準物質により同定した。このステロール区分を、先と同じ方法により採取しシリカゲルを除去するため、クロロホルム:メタノールの溶媒に溶かしろ過後、溶媒を留去し各ステロール量を測定した。今回標準試料として Cholesterol, ergosterol, Campesterol, Stigmasterol, -Sitosterolの5種のステロールを用いた。

【実験結果および考察】

1. 脂質画分

Manukaの葉に含まれている不純物をENVI-Carbカラムにより除去した結果、Manuの葉に

含まれている総脂質量の回収量は約85%から90%であった。また、Sep-Pakカラムを通過させた後の脂質の比率は、葉の方では中性脂質・約74%、リン脂質・約23%であり、樹脂の方は中性脂質・約75%、リン脂質・25%であった。Manukaの葉、樹皮共に中性脂質とリン脂質の割合はほぼ同一量であった。

2. 中性脂質およびリン脂質の脂肪酸組成

中性脂質およびリン脂質における脂肪酸組成の測定結果をFig1.およびFig2.に示した。ミリスチン酸(C14:0)からパルミチン酸(C16:0)パルミトレイン酸(C16:1)ステアリン酸(18:0)オレイン酸(18:1)リノール酸(18:2)リノレン酸(18:3)アラキジン酸(20:0)アラキドン酸(20:4)までの9種類の脂肪酸が主に検出された⁷⁾⁻¹¹⁾。未同定の脂肪酸も含まれていたが、中性脂質の脂肪酸組成においては、Manukaの葉の方におもにn-3系の -リノレン酸が30%以上含有されておりパルミチン酸も含まれていた。また、樹皮には、パルミチン酸が24%、オレイン酸28%、そしてn-6系のリノール酸が25%含有されており、これらがおもな構成脂肪酸であった。いずれにおいても、飽和脂肪酸よりも、不飽和脂肪酸を多く含有していた。一方、リン脂質の脂肪酸組成においては、Manukaの葉に -リノレン酸が多く含有されており、ついでパルミチン酸も含まれていた。特に、フォスファチジルエタノールアミンやフォスファチジルコリンを主成分とするリン脂質画分において -リノレン酸が約56%と高い値を示した。

樹皮においては、パルミチン酸が約40%と多く、次いでオレイン酸と -リノレン酸がおもな構成成分であった。

3. ステロール

Manukaの葉および樹皮に含有されているステロール画分をTable 1, に示した.

定性的ステロール含有量ではあるが, 植物ステロールの主成分である β -シトステロールを主体として, カンベステロール, コレステロール, ステイグマステロールが主に含有されており, 他にブラシカステロールや未知物質も検出された. 植物には一般的に大変少ないとされているコレステロールが約20%前後含まれており, 未同定のステロールも検出された. β -シトステロール (SIT0) はカンベステロールやステイグマステロールとともに主要な植物ステロールの一種であり, 植物ステロールの中では最も量的に多く存在していると言われ, また報告されている⁽¹²⁾⁻⁽¹⁵⁾. 今回行ったManukaの葉および樹皮についても同様な結果が得られた. 従来, 植物ステロールとしては微量成分であると信じられてきたコレステロールが, 近年, 植物や果実などにも, 主要ステロールとして広く分布している事が判明しており, その主要ステロールであるコレステロールがManukaにも存在している事がわかった. ステロール類は化学構造がほとんど類似しており, 側鎖が一部異なっているだけのため, その分離はかなり難しく分析した結果を構造式から決定していく方法がより確実であると判断し, 現在ガスクロマトグラフィーおよびマススペクトロメトリー (GC/MS) での検討を行っている.

4. まとめ

1. Manukaの葉および樹皮には飽和脂肪酸より $n-3$ 系の不飽和脂肪酸が多く含有されており, $n-3$ 系の不飽和脂肪酸が多いといわれているしそ油やえごま油との類似性が見られた.

2. 植物には余り含まれていないと言われていた, コレステロールが含有されていた事は大変興味深い事であり, 植物ステロールで

ある β -シトステロール (SIT0) が多く含有されていた. これは血漿コレステロール (CHOL) 濃度低下作用を持つことが報告⁽¹⁶⁾⁻⁽¹⁸⁾されていることから, 今後, Manukaの生理機能や代謝とこれら脂質との関係が大きな課題であろうと考える.

参考文献

- 1) 上野慶一, 八巻芳夫, アロマ学会 (2000)
- 2) Justine K. Stockley, Chun-Han Chan and L.R. Williams., *Cosmetic, Aerosols & Toiletries in Australia*, 12, 4, 14-19. (2000)
- 3) Ishikawa Hiromi, 文教大学教育学部紀要. 33. 16 - 21 (1999)
- 4) 柴田 吉有, 小山 真由美 他: 食衛誌, 39. 241 - 250 (1998)
- 5) Rodriguez A, Sarda P, Boulot P, Leger CL, *Lipids Res.*, 34. 23-30 (1999)
- 6) 新生化学実験講座4, 脂質, 東京化学同人 (1991)
- 7) Thomas AB Sanders, *Amj. Clin Nutr.* 176-178 (2000)
- 8) Kris-Etherton, Denise Shaffer, *Amj Clin Nutr* 71, 179-188 (2000)
- 9) J. M. Ferguson, D. M. Tekrony, and D. B. Egli, *Published in Crop Sci.* 30. 179-182 (1990)
- 10) Harumi Okuyama, Yoichi Fujii, and Atsushi Ikemoto. *Journal of Health Science*, 46(3) 157-177 (2000)
- 11) 奥山 治美, *生化学*, 56, 10, 1234 - 250 (1984)
- 12) 田口 良, *ファルマシア* 36, 4, 283 - 287 (2000)
- 13) 池田郁男, *食品と開発*, 33, 2, 42 - 45 (2000)
- 14) 日比野 英彦 *日本油化学会* 46, 10,

65 74

- 15) 高津戸 秀, 糸川 恵美子, 阿部 文一, 他, 日本油化学会, 49, 7, 41 - 44 (2000)
- 16) 菅野 道廣, 日本農芸化学, 71, 8, 769 - 776 (1997)
- 17) 秋久 俊博, 日本油化学会, 35, 9, 716 - 724 (1986)
- 18) 山本 浩代, 食品工学, 30, 11, 43 - 48 (1997)

Table 1. Sterol Composition in Manuka Leaves and Chips(%)

	Cholesterol	Sitosterol	Campesterol	Stigmasterol
Leaves	19	39	21	21
Chips	21	30	28	6

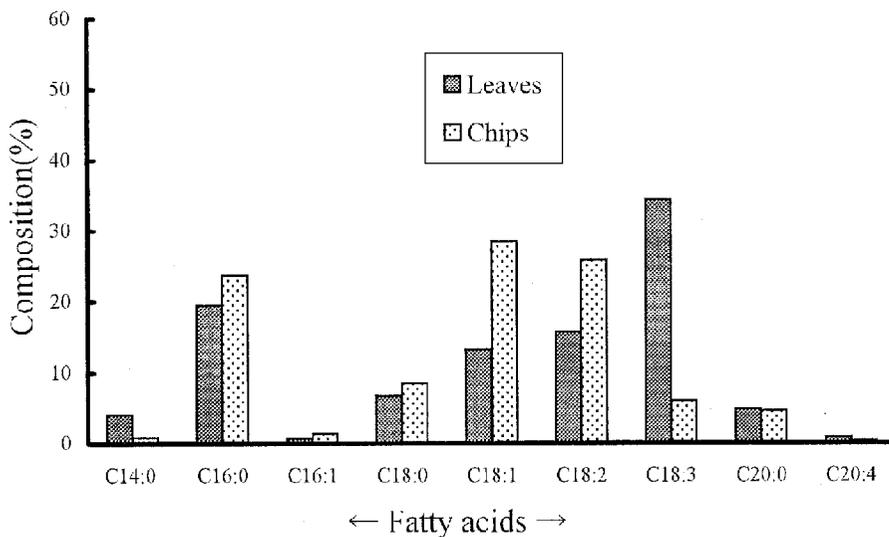


Fig.1 Fatty Acid Composition of Neutral Lipid in Manuka Leaves and Chips

Manukaに含まれる脂肪酸およびステロール成分

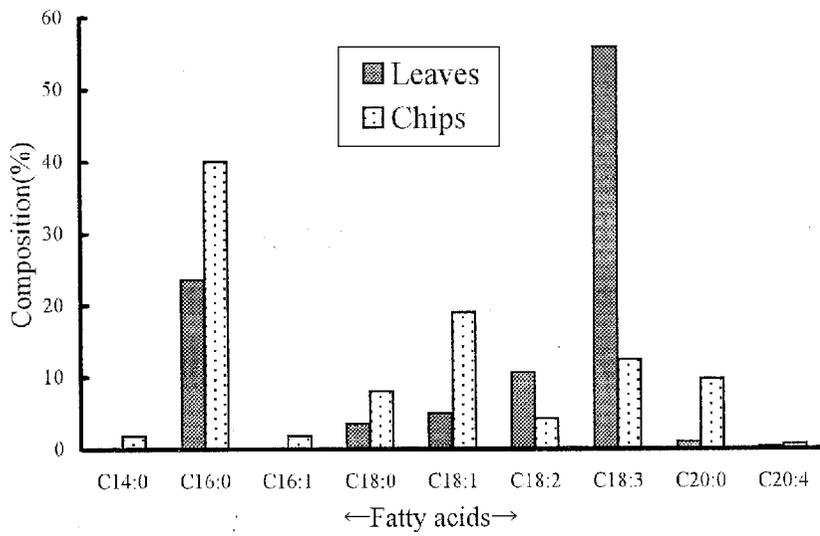


Fig.2 Fatty acid Composition of Phospho Lipid in Manuka Leaves and Chips