ノ ー ト

市販ごま油中のステロールグリコシド及び二塩基酸の含有量

無類井建夫・和 中 康・関 洋子

日清製油株式会社研究所 (〒221 横浜市神奈川区千若町 1-3)

Content of Sterylglycosides and Dibasic Acids in Commercial Sesame Oil

Tateo MURUI, Kou WANAKA, and Hiroko SEKI

Research Laboratory, The Nisshin Oil Mills Ltd.

(1-3, Chiwaka-cho, Kanagawa-ku, Yokohama-shi, 〒221)

Residual sterylglucosides (SG) and octacosanedioic acid (DA 28) in commercial sesame oil were investigated for 17 brands of 12 manufacturers. A sensitive and precise method was developed to determine DA 28 content in oil. DA 28 was derived from 9-anthryldiazomethane in the presence of triacylglycerol and determined by HPLC equipped with a fluorescence detector. This method was rapid and applicable to routine analysis.

SG and DA 28 content differed considerably according to brand, from 1 to 300 ppm and 0 to 1500 ppm, respectively. The steps in oil processing would thus appear to markedly affect SG and DA 28 residue content.

1 緒 言

筆者らは先にごま種子の種皮にはオクタコサン二酸 (DA 28) を主とする二塩基酸が存在し、それは搾油工程で種子から抽出されてステロールグリコシドと共に製造過程で発生する沈殿物 (おり) の主要な構成成分¹⁾となっていることを報告した。DA 28 は油糧原料ではごま種子以外にもほとんど見られない脂質で、リグナン類と共にごま油の特徴を表す成分である。またステロールグリコシドは一般の油脂原料にも広く分布するが、強度の精製工程を経ないごま油では最終製品に残存することが予想され²⁾、DA 28 及びリグナン類と同様にごま油の特徴を示す微量成分と見なすことができる。ごま油の微量成分については以前からリグナン類^{3), 4)}に関心が集まり、既に多くの研究がなされている。ステロールグリコシドの生理的な活性⁵⁾や DA 28 の油脂物性に対する影響等についての詳細はいまだ不明ことが多いが、リグナン類と共にその作用には興味深いものがある。

ごま油の商品価値の多くはその独特な風味にあり、製造条件はその風味に微妙に影響することからメーカーごとに工夫がなされている。この製造条件の差異は脱おりの程度にも影響することは容易に推測される。しかしながら市販のごま油を対象として残存するおり成分の含有量を調べた例は少なく、また油脂中の微量の二塩基酸の

連絡者：無類井建夫

分析法についてはほとんど報告されていない。ごま油に期待される新たな機能性の評価及びその利用の見地からもこれらに関する資料を得ることは意義深いものである。

筆者らはまずごま油中の微量の DA 28 の分析法を確立し、ついで現在市販されているごま油を対象にしてステロールグリコシド及び DA 28 の含有量を調べたところ、商品により大きな差異のあることを認めたので報告する。

2 実 験

2.1 試 料

市場で入手できる純粋のごま油に限定し、12 社 17 商品を対象とした。

2.2 DA 28 の定量

9-アントリルジアゾメタン (フナコシ) 1 mg を試験管に採り、メタノール/酢酸エチル (6 : 4, vol/vol) 2 mL に溶解して誘導体化試薬溶液とした。ヘキサコサン二酸 (DA 26, フナコシ) 1 mg をメタノール/酢酸エチル (6 : 4, vol/vol) 10 mL に溶解し、その 1 mL を 100~500 倍に希釈して二塩基酸標準溶液とした。また試料ごま油約 250 mg を 10 mL メスフラスコに採り、メタノール/酢酸エチル (6 : 4, vol/vol) に溶解して試料溶液とした。

試料溶液 0.5 mL 及び誘導体化試薬溶液 0.5 mL を栓

付き小試験管 (13×100 mm) に採って混合し、室温に2 h 放置して HPLC 用検液とした。また各濃度の二塩基酸標準溶液 0.5 mL を同様に操作して検量線作成用の HPLC 検液とした。HPLC 検液を下記の条件で HPLC に供し、同条件で作成した検量線から、DA 28 を DA 26 に換算して含有量を算出した。

HPLC 条件 カラム：TSKgel ODS-120 T (4.6×150 mm, 東ソー), 溶離液：アセトニトリル/塩化メチレン混合液 (85/15~68/32, 35 min), 検出器：蛍光検出器 (フローセルを付けた 650-10 S, 日立), 検出波長：励起 365 nm, 放射 412 nm, 流量：1 mL/min。

2.3 ステロールグリコシドの分析

アシル型ステロールグリコシド (ASG) の含有量⁶⁾と、アシル化されていないステロールグリコシド (NSG) の含有量及びステロール組成⁷⁾はそれぞれを TLC で分画したのち、1-アントロイルニトリル誘導体化して HPLC により分析した。

3 結果及び考察

3.1 DA 28 分析条件の検討

二塩基酸の高感度分析については Imaoka⁸⁾らにより尿中のシュウ酸を 9-アントリルジアゾメタン誘導体化して分析する方法が報告されている。本報ではこの方法を基本にしてごま油中の DA 28 の分析に適した条件を検討した。なお誘導体化反応はメタノール中では著しく速いが⁹⁾本法では対象が油脂であること及び DA 28 はシュウ酸に比べて分子量が大きくメタノールには難溶性であることから試料溶液の調製にはメタノール/酢酸エチル混合液を用いた。二塩基酸の標準物質には入手が容易な DA 26 を用いた。

誘導体化に必要な条件を決めるため二塩基酸標準溶液を用いて反応した時のピーク面積が最大になる温度と時間を調べた。室温では2 h 経過するとピーク面積はほぼ一定値を示し、それ以上延長しても減少することはない。反応温度を高く (40℃) しても反応に要する時間及び反応終了時のピーク面積に変化は見られず、温度は反応速度にほとんど影響しなかった (Fig.-1)。したがって本法では誘導体化条件を室温で2 h とした。また反応終了時 (2 h) のピーク面積の変動から求めた反応の再現性は良好 (変動係数 2.0 %, 繰り返し 5) であった。さらに検量線は2~10 ng の範囲では良い直線性を示し、試料溶液の調製を250 mg/10 mL に固定した場合は検量線から DA 28 の含有量が約1 ppm のごま油にまで適用できることが推定された (Fig.-2)。本研究では本分析法が品質管理等に使用されることを想定して簡便性と迅速性を重視し、DA 28 を油脂からの分離または濃縮等の前処理をせずに油脂の共存下で直接誘導体化することを検討した。そこでどうもろこし油に DA

Fig.-1 Time course of derivatization.

Fig.-2 Calibration curve of 9-anthryldiazo-methane derivatives of DA 26.

26 を 50 ppm 添加したモデル油を調製し、その 12.5 mg を誘導体化したところ、高い回収率と良好な再現性 (回収率 99.0 %, 変動係数 2.4 %, 繰り返し 5) が得られ、多量の油脂が共存しても DA 26 の誘導体化反応は十分に進行することが判明した。本法による市販ごま油でのクロマトグラムの一例を Fig.-3 に示した。溶出にアセトニトリル/塩化メチレン混合液のグラジエントを用いると DA 28 は約 28 min に溶出し、含有量の多い試料では炭素数が2異なる2種類の同族体¹⁾も確認された。DA 28 の前に見られるピーク (A~G) は脂肪酸であることが標準脂肪酸の誘導体の保持時間から確認され、炭素数 16~24 の遊離脂肪酸が ECN 値¹⁰⁾の順に溶出していた。ごまは少量ではあるが DA 26 を含むこと、また一部の市販ごま油は DA 26 と保持時間が類似

A: linoleic, B: oleic, C: palmitic, D: stearic,
E: arachidic, F: behenic, G: lignoceric,
DA28: octacosanedioic, DA26: hexacosanedioic,
DA30: triacontanedioic

Fig.-3 Chromatogram of dibasic acids and fatty acids in commercial sesame oil (9-anthryldiazomethane derivatives)

する物質の妨害を受けるものがあったことから本法では DA 26 を標準とした検量線法を採用したが、特別に高い精度を必要としない場合は DA 26 を内標準物質に用いてより簡便化することもできた。

3・2 市販ごま油の分析

市場で入手した 17 種のごま油は色調及び透明性等の外観には明りょうな差異が有り、また風味には微妙な違いがあったが、脂肪酸組成にはほとんど差が認められずいずれも純粋のごま油であることが推定された。DA 28 及びステロールグリコシドの含有量は Table-1 に示すように、商品ごとに大きな差異が見られ、DA 28 は 1 ppm 以下から約 300 ppm まで種々の含有量を示したが、半数以上は 10~50 ppm であった。ステロールグリコシドも同様に数 ppm から 1000 ppm を越えるものまで広く分布し、NSG については検出されないものもあったが、多くは 50 ppm 以下であった。ASG は NSG より多く含まれ、大半の商品で 50~100 ppm であった。ごま種子では NSG の存在比率が ASG より高い (4 : 1)²⁾ にもかかわらず、ごま油では逆に ASG が多く含まれていた。これは ASG の油脂に対する溶解度が NSG より高いため脱おり工程でより多く残存したものと考えられる。またメーカーが同一でも異なる商品ではおり成分の含有量に大きな差が認められ、商品ごとに異

Table-1 Content of dibasic acid and steryl glycoside and sterol composition of non-acylated steryl glycoside.

Sample	Maker	Content (ppm)			Sterol composition (%)		
		DA 28	NSG	ASG	isofuco-	campe+ stigma-	sito-
1	A	10	3	39	6.9	16.9	76.4
2	A	1	0	3	—	—	—
3	B	45	13	122	7.8	12.6	79.6
4	B	3	5	11	1.4	14.3	84.2
5	C	288	41	245	8.5	13.7	77.8
6	D	52	15	114	7.4	14.1	78.5
7	D	29	16	68	8.6	16.2	75.2
8	E	12	4	57	7.8	15.8	76.4
9	F	14	4	62	8.3	12.5	79.2
10	F	1	0	6	—	—	—
11	G	25	94	205	11.9	15.1	73.0
12	H	11	5	37	10.4	12.3	77.3
13	I	14	6	88	8.9	11.9	79.2
14	J	33	3	99	10.7	8.8	80.5
15	J	30	11	95	7.9	14.4	77.7
16	K	8	9	59	8.7	14.4	79.9
17	L	21	416	1047	3.1	41.9	55.0

DA 28 : octacosanedioic acid

NSG : non-acylated steryl glycosides

ASG : acylated steryl glycosides

なる製造条件を採っているものと推定された。

No. 3, 5, 6, 11, 17 では ASG または NSG 含有量が、また No. 3, 5, 6 では DA 28 の含有量が他に比べて多いことが特徴であった。DA 28 の含有量の多いごま油はステロールグリコシドも多い傾向が認められ、穏やかな脱おり条件を経ていることが推定された。一方 No. 2, 4, 10 は DA 28 及びステロールグリコシドはほとんど含まれず、またクロマトグラム上の遊離脂肪酸のピークは他に比べて非常に小さく、1/30 程度であった。遊離脂肪酸は静置による脱おり工程では除けないことから、これら 3 商品は脱酸などの化学的処理により DA 28 が遊離脂肪酸と共に除去されたものと推定された。また No 17 は DA 28 の含有量が特別に多くないにも係わらず、ステロールグリコシドが他に比べて著しく多く含まれており、通常とは異なる工程を経ていることが予想された。このごま油の NSG を構成するステロール組成を調べたところシステロールの割合が他と比べて明らかに低い (Table-1) こと、及び脂肪酸組成からこの油が純粋のごま油であることが推定されることから、脱おり後にごまに由来しない ASG と NSG を、またはこれらを多く含むもの (濃縮リン脂質等) を添加したものと推定された。

4 ま と め

市販ごま油に存在する DA 28 の分析法として 9-アントリルジアゾメタン誘導体化した蛍光検出器を備えた HPLC で定量する方法を確立した。本法は油脂中の微

量の DA 28 を迅速かつ高感度に定量できる方法で、日常の分析に充分供し得るものであることが確認された。一般に食用油では商品による微量の脂質成分の含有量の差異は小さいが、ごま油ではおり成分の含有量は商品により大きく異なり、それは製造条件の特徴を反映し、また風味と同様に各商品の特徴の一つとなっていた。これらの含有量に関する知見はおり成分の生理的活性や油脂物性に対する効果等が明らかになった折にはごま油を評価する指標の一つに用いられるものと期待される。

(平成 5 年 (1993 年) 9 月 22 日受理)

文 献

- 1) 無類井建夫, 福島朱美, 油化学, 42, 519 (1993)
- 2) 福島朱美, 無類井建夫, 油化学, 42, 442 (1993)
- 3) T. Osawa, M. Nagata, M. Namiki, Y. Fukuda, *Agric. Biol. Chem.*, 49, 3351 (1988)
- 4) N. Hirose, T. Inoue, K. Nishihara, M. Sugano, K. Akimoto, S. Shimizu, H. Yamada, *J. Lipids Research.*, 32, 629 (1991)
- 5) T. Murui, Y. Yoshikawa, H. Takeuchi, S. Fujii, H. Mizobuchi, H. Takeuchi, *Biotech. Biosci. Biochem.*, 58, 494 (1994)
- 6) 無類井建夫, 関 洋子, 油化学, 42, 984 (1993)
- 7) T. Murui, K. Wanaka, *Biosci. Biotech. Biochem.*, 57, 614 (1993)
- 8) S. Imaoka, Y. Funae, T. Sugimoto, N. Hayahara, M. Maekawa, *Anal. Biochem.*, 128, 495 (1983)
- 9) 二村典行, 木下俊夫, ふんせき, 5, 305 (1982)
- 10) A. H. El-Hamdy, E. G. Perkins, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 58, 867 (1981)