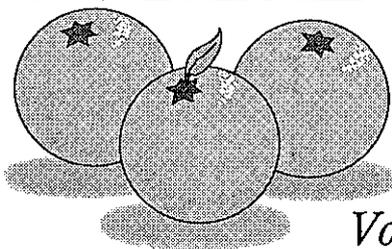


うんしゅうみかんの

美感講座



Vol. 8

うんしゅうみかんに 含まれるセラミドに ついて

ユニチカ(株)

向井克之

帯広畜産大学

大西正男

はじめに

セラミドは、ヒトの皮膚最外層である角質層の細胞間脂質の主成分として40~60%を占める物質である。その他の成分としてコレステロールやコレステロールエステル、遊離脂肪酸などと共にラメラ構造を形成し、表皮の機能を支えている物質でもある¹⁾。セラミドは、その親水性部分に水分子を保持することにより水分の蒸散を抑え、角質層のバリア機能に重要な役割を果たしている²⁾。角質層は、レンガとモルタルの関係によく例えられ、細胞間脂質がモルタルのように細胞の角化によって生じた角質細胞を覆うことでその機能を発揮している³⁾。図1に示すように、セラミドは身体の内部からの水分の蒸散を防止すると共に、外部からの細菌、ウイルス、ダニ、花粉などさまざまな外部刺激物質やアレルギーなどの身体への侵入を防止するバリア機能を担っている。また、セラミドは加齢に伴い減少し^{4) 5)}、ドライスキン、シワ、肌荒れ、アトピー性皮膚炎の原因となることが明らかになっている。

セラミドは、長鎖塩基であるスフィンゴシンのアミノ基に長鎖脂肪酸が酸アミド結合したものの総称であり、

スフィンゴ脂質の一種である。スフィンゴ脂質は、1884年に、J. L. W. Thudichumが脳に存在する脂質を発見して、これをスフィンゴシンと名付けた⁶⁾。このスフィンゴ脂質は、動物だけでなく、植物にも存在し、数多くの分子種が存在することが明らかとなっている。最近、植物中に含まれるグルコシルセラミドを食品として摂取することにより、角質層中のセラミド量を増加できることが明らかになりつつあり、注目を集めている。そこで現在では、小麦、米糠、こんにゃく芋、とうもろこし、ビート、大豆、キノコなどさまざまな植物由来のグルコシルセラミドが食品素材として販売されている。セラミドを食品として摂取した場合に期待できる機能性としては、皮膚の保湿作用⁷⁾以外にも、アトピー性皮膚炎改善⁸⁾、美白作用⁹⁾、大腸がん予防¹⁰⁾、ピロリ菌の胃定着抑制¹¹⁾、LDLコレステロール低下作用⁷⁾などがある。

本稿では、現在までに食品素材として販売されていない果物由来のセラミドとなるうんしゅうみかん由来のセラミドについて、うんしゅうみかん中のセラミド含有量およびその構造について分析した結果を紹介する。

1. うんしゅうみかん中のセラミド含有量

ヒト血清中で観察される主要カロテノイド6種類の一つであるβ-クリプトキサンチンは、うんしゅうみかんに特異的に多く含まれることが知られている。このβ-クリプトキサンチンもセラミドと同じく脂質類であり、うんしゅうみかんに含まれるセラミド(グルコシルセラミド)と共にβ-クリプトキサンチンの含有量を測定した。セラミドについては、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)-蒸発光散乱検出器(ELSD)法¹²⁾で、β-クリプトキサンチンについては、HPLC-紫外可視検出器法¹³⁾で測定

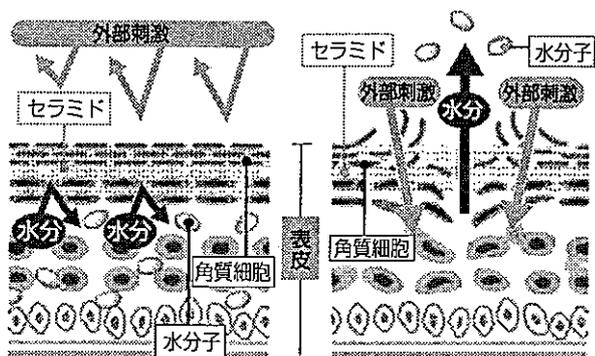


図1 表皮におけるセラミドの役割

表1 うんしゅうみかん中のセラミドおよびβ-クリプトキサンチン含有量

部位	セラミド (mg/100g)	β-クリプトキサンチン (mg/100g)
果実(乾燥)	23.0	15.4
果皮(乾燥)	35.6	19.6

を行った。その結果、表1に示すように、うんしゅうみかん乾燥果実(へた、果皮、種子を除いたもの)と乾燥果皮中のセラミドとβ-クリプトキサンチンの含有量は、両者ともに果皮の方が若干多く存在することが明らかとなった。また、その果実中の含有量は、セラミドが23mg/100g、β-クリプトキサンチンが15mg/100gであり、セラミドの含有量が若干高い程度であった。

2. 酵素処理うんしゅうみかん中のセラミド含有量

セラミドおよびβ-クリプトキサンチン含有量は、果実よりも果皮の方が高いことが明らかとなったが、うんしゅうみかんにおいて果皮は基本的には可食部ではなく、残留農薬の問題など安全面において保証が難しいため、酵素処理うんしゅうみかんの製造には剥皮した原料を用いることとした。酵素処理うんしゅうみかんは、セラミド、β-クリプトキサンチンなどが濃縮された食品素材で、その製造プロセスを図2に示す。剥皮したうんしゅうみかんを搾汁した残さ(パルプ)にセルラーゼ・ヘミセルラーゼ・プロテアーゼなどの酵素を添加することで、水不溶性食物繊維などを酵素分解し水溶性にした後、水洗することでセラミドやβ-クリプトキサンチンなどが簡単かつ安全に濃縮することができる¹⁴⁾。原料となる

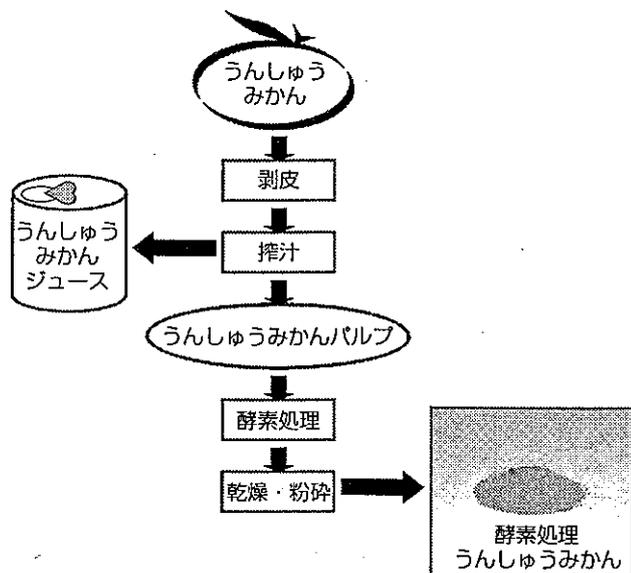


図2 酵素処理うんしゅうみかんの製造方法

表2 酵素処理によるセラミドとβ-クリプトキサンチンの濃縮

	セラミド (mg/100g)	β-クリプトキサンチン (mg/100g)
うんしゅうみかんパルプ	39.2	19.3
酵素処理うんしゅうみかん	1370	291

うんしゅうみかんパルプは、剥皮したうんしゅうみかんから製造され、果実に相当する部分であるが、ジュースを搾汁した残さ中の含有量は果実(表1)に比べて、表2に示すようにセラミド、β-クリプトキサンチンともに高くなっており、原料として最適であると判断した。さらに、酵素処理することにより高含有量化が可能であり、酵素処理うんしゅうみかん中には、セラミドが約1.4%、β-クリプトキサンチンが約0.3%含まれていることが分かる。酵素処理によって、セラミドは約35倍、β-クリプトキサンチンは約15倍濃縮されたことになる。

3. 植物由来セラミドの構造

スフィンゴ糖脂質は、植物をはじめとして動物、真菌などにも幅広く存在する。スフィンゴ糖脂質は、動物にはグルコースが結合したグルコシルセラミドとガラクトースが結合したガラクトシルセラミドが存在するのに対し、植物(真菌)ではほとんどがグルコシルセラミドとして存在する。植物のグルコシルセラミドは、グルコースと脂肪酸、スフィンゴイド塩基の3つの成分で構成される。そのうち、スフィンゴイド塩基は、図3に示すようにジヒドロキシ型およびトリヒドロキシ型が存在し、さらに4位と8位に不飽和結合が存在し、シス・トランス異性体が存在するものもある^{15, 16)}。真菌においては、9位にメチル基が存在することが特徴で、植物とは若干構造が異なることが知られている¹⁷⁾。また、動物におけるスフィンゴイド塩基は、ジヒドロスフィンゴシン、4-トランス-スフィンゲニン、4-ヒドロキシルスフィンガニンが中心であるため、セラミドの構成種は比較的単純で

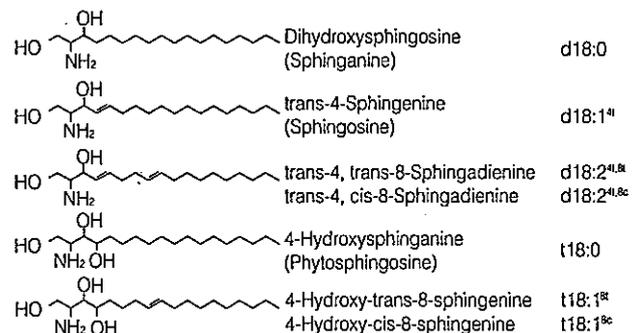


図3 セラミドに含まれるスフィンゴイド塩基の構造

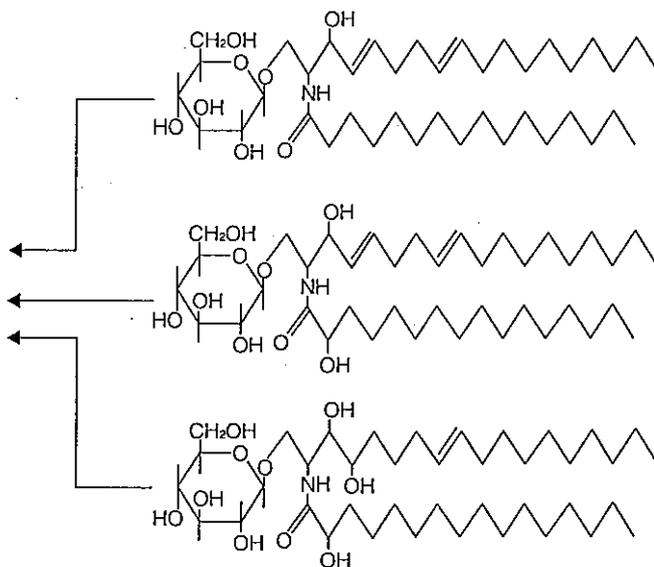
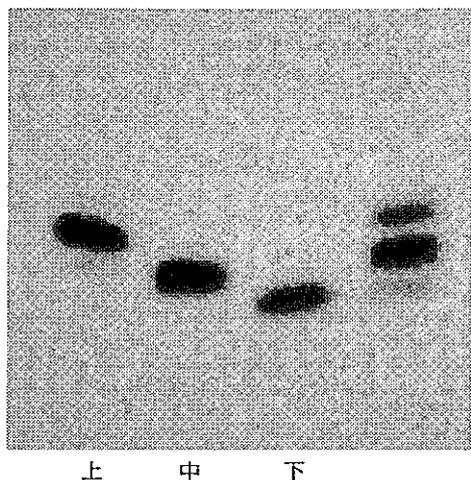


図4 うんしゅうみかんセラミドの主な構造

表3 うんしゅうみかんセラミドの脂肪酸およびスフィンゴイド塩基の組成

分子種	構成%			
	うんしゅうみかん	りんご ²⁰⁾	こんにゃく ⁷⁾	米糠 ²¹⁾
脂肪酸				
16:0	9	0	0	0
24:0	2	0	0	0
16h:0	63	64	9	0
18h:0	<1	<1	27	8
20h:0	<1	<1	15	31
22h:0	6	12	19	19
24h:0	11	15	8	25
スフィンゴイド塩基				
t18:0	3	1	<1	6
t18:1 ^{Bt}	26	17	6	3
t18:1 ^{Bc}	20	36	22	25
d18:1 ^{At}	7	<1	1	1
d18:2 ^{At, Bt}	18	11	9	13
d18:2 ^{At, Bc}	22	34	57	50

あり、現在までに、膜たん白質結合型のものも含めて10種類程度のセラミドの存在が確認されている^{18, 19)}。それに対して、植物は8位に不飽和結合をもつ構成種が多く、植物セラミドの構成を複雑にしている。

4. うんしゅうみかんセラミドの構造解析

酵素処理うんしゅうみかんをエタノールにより加熱還流抽出し、セラミドを含む画分を抽出した。この画分をアセトン洗浄、メタノール沈殿、HP-セルロファイナラムクロマトなどにより精製し、最終的に分取薄層クロマトグラフィー(TLC)によりうんしゅうみかんセラミドを精製した。精製したセラミドを展開溶媒としてクロロホルム-メタノール-水(65:25:4)によりTLC展開した結果

を図4に示す。うんしゅうみかんセラミドは、大きく3つのスポットに分離することができた。そこで、3つのスポットをそれぞれ分離し、各成分の構造解析をガスクロマトグラフィー(GC)およびガスクロマトグラフ質量分析計(GS-MS)を用いて実施した。図4における上スポットからは16:0(炭素数が16で不飽和結合を含まない)を主体とするノルマル型脂肪酸と8-トランス体を主体としたスフィンガジエニンが、中スポットからは長鎖型をわずかに含む16h:0(水酸基をもつ炭素数16で不飽和結合を含まない)を主体とする2-ヒドロキシ脂肪酸と8-システを主体としたスフィンガジエニンが、下スポットからは実質的に16h:0のみの脂肪酸と8-トランス体と8-システを含む4-ヒドロキシスフィンガニンが検出された。さらに、3スポットをすべて混合して実施した構造解析の結果を表3に示す。脂肪酸については、炭素数16の2-ヒドロキシ脂肪酸(16h:0)が多く、スフィンゴイド塩基では8-トランス体と8-システの4-ヒドロキシスフィンガニンと8-トランス体と8-システのスフィンガジエニンの4成分が等量程度ずつ検出された。脂肪酸組成およびスフィンゴイド塩基についても、同じ果実であるりんご²⁰⁾に似た組成を示していることが分かるが、他の植物由来のセラミドと大きく異なっているのが、ノルマル型の脂肪酸を含むところである。植物由来セラミドの脂肪酸は、2-ヒドロキシ型がほとんどでノルマル型の脂肪酸を含むことは少ないが、うんしゅうみかんセラミドは、炭素数16を主体としてその他の脂肪酸(18:0、22:0、23:0、24:0、25:0、26:0)も含めて13.9%のノルマル型の脂肪酸を含むことが明らかとなった。また、TLCによる分析で米糠、こんにゃく由来などのセラミドであればス

フィンゴイド塩基の水酸基の数によって2つのスポットに分かれていたものが、このノルマル型の脂肪酸を含むことで、脂肪酸の水酸基の数によってもう1つスポットが増えることが図4の通り確認された。

おわりに

セラミドは、身体内部からの水分の蒸散防止と外部刺激からの防御という2つの大きな役割を担っている。植物セラミドは、美容系の食品素材として、サプリメント、ドリンク、ヨーグルト、菓子、ゼリーなどとして多くの食品に配合されており、今後はさらに多くの食品に配合されていくものと期待される。うんしゅうみかん由来のセラミドは、現在までに食品素材として販売されていない果物(フルーツ)由来のセラミドであり、酵素処理することにより原料である剥皮うんしゅうみかんパルプから容易に濃縮することが可能であることが明らかとなった。また、その構造解析を実施したところ、従来の植物にはあまり含まれないノルマル型の脂肪酸を約14%含んでいることが明らかとなった。この組成の違いが、植物の膜脂質としてどのように機能しているのか、またこれらをヒトが摂取した場合にどのような機能性に違いが生じるのかは明らかではないが、その食品機能性の解明やそれらの作用機序の解明も含めて今後の研究の進展を期待したい。

参考文献

- 1) D. C. Swazendruher *et al.*: *J. Invest. Dermatol.*, 92, 251-257 (1989)
- 2) G. Imokawa *et al.*: *J. Dis. Sci. Tech.*, 10, 617-641 (1989)
- 3) P. M. Elias *et al.*: *J. Invest. Dermatol.*, 80, 44-49 (1983)
- 4) 正木仁ほか: 日本皮膚科学会誌, 96, 189-193 (1986)
- 5) G. Imokawa *et al.*: *J. Invest. Dermatol.*, 96, 523-526 (1991)
- 6) J. L. W. Thudichum: *The Chemistry of the Brain*, Bailliere, Tindall and Cox, London (1884)
- 7) 向井克之: *BIOINDUSTRY*, 19(8), 16-26 (2002)
- 8) H. Kimata: *Pediatric Dermatol.*, 23, 386-389 (2006)
- 9) M. Kinoshita *et al.*: *J. Oleo Sci.*, 56(12), 645-648 (2007)
- 10) 間 和彦: *オレオサイエンス*, 7, 141-149 (2007)
- 11) 大崎敬子ほか: *無菌生物*, 34, 61-63 (2004)
- 12) M. Kashima *et al.*: *J. Oleo. Sci.*, 51, 347-354 (2002)

- 13) 隅田孝司ほか: 日本食品科学工学会誌, 46, 467-472 (1999)
- 14) 向井克之ほか: *FOOD STYLE* 21, 11 (8), 39-43 (2007)
- 15) M. Ohnishi *et al.*: *Lipids*, 17, 803-810 (1982)
- 16) M. Ohnishi *et al.*: *Biochim. Biophys. Acta*, 752, 416-422 (1982)
- 17) N. Takakuwa *et al.*: *FEMS Yeast Res.*, 2, 533-538 (2002)
- 18) M. Ponc *et al.*: *J. Invest. Dermatol.*, 120, 581-588 (2003)
- 19) J. P. Vietzke *et al.*: *Lipids.*, 36, 299-304 (2001)
- 20) N. Takakuwa *et al.*: *Bioresouce Tech.*, 96, 1089-1092 (2005)
- 21) 上沢 愛ほか: 帯大研報, 20, 199-206 (1997)

むかい・かつゆき/Katsuyuki Mukai

1989年 東京工業大学大学院理工学研究科修了、同年 ユニチカ(株)入社、1994年 理学博士(東京工業大学)、2001年 中央研究所グループ長、現在に至る

専門・研究テーマ: 生化学、微生物学

最近の主な研究や活動: 機能性食品素材の開発

著書・論文: 機能性糖質素材の開発と食品への応用(シーエムシー出版、2005年)など

おおにし・まさお/Masao Ohnishi

1974年 帯広畜産大学大学院農産化学専攻修了、引き続き同大学で農畜産物中の脂質の構造、代謝、機能および利用に関する研究に取り組む。1983年 農学博士(北海道大学)、1989~1991年 テキサス大学オースチン校博士研究員、1998年 帯広畜産大学教授(畜産科学科畜産生命科学講座細胞分子制御科学分野)、現在に至る

専門・研究テーマ: 食品科学、脂質生化学

最近の主な研究や活動: スフィンゴ脂質の発酵生産と食品機能性、機能性を重視した農畜産物の高付加価値化など

著者・論文: 最新畜産物利用学(分担、朝倉書店、2006年)、M. Tamura *et al.*: Simultaneous production of sphingolipids and ethanol by *Kluyveromyces thermotolerans*, *Folia Microbiol.*, 51(3), 191-195 (2006)、M. Kinoshita *et al.*: Prevention of melanin formation by yeast cerebroside in B₁₆ mouse melanoma cells, *J. Oleo Sci.*, 56(12), 645-648 (2007) など