

## スウィートバジル種子由来の糖質に関する研究

山本展久\*・佐野一成\*・中島 佑\*\*

\*食品工業部・\*\*東北大学農学部

Characterization of Carbohydrate from Seed of Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.)

Nobuhisa YAMAMOTO\*・Kazunari SANO\*

Tasuku NAKAJIMA\*\*

\*Food Science and Technology Division・\*\*Faculty of Agriculture, Tohoku University

## 要 旨

スウィートバジル (*Ocimum basilicum* L.) は、その種子を水に浸しておくとも表面がゼラチン状になって、目のゴミ取りに使われたことから「目箒 (めぼうき)」の名がある。スウィートバジルが種子表面に産生するゼラチン状物質についてアルカリ抽出した結果、グルコース、キシロース、ガラクトース、アラビノース、マンノースを含む多糖類を検出した。その分子は非常に巨大であり、分子量分布も広いものであった。熱水抽出、エタノール沈殿、アルカリ抽出を組み合わせた抽出法で抽出した結果、7種の画分を得た。それらのうち、2種はグルコースのみから成る糖質であったが、その他は複雑な糖組成であった。これらの画分を酵素消化した結果、セルロース、デンプン、キシラン等の多糖類の存在が示唆された。

## 1. はじめに

スウィートバジル (*Ocimum basilicum* L.) は欧米各国を中心に広く利用されているハーブであるが、近年日本国内でも注目され始めた食材である。しかし、初めて日本に渡ってきたのは意外に古く、江戸時代に中国から漢方薬として伝えられた。和名では「目箒 (めぼうき)」と呼ばれ、種子を水に浸しておくとも表面がゼラチン状になって、目のゴミ取りに使われたため、目を掃除することからこの名がある<sup>(1)</sup>。

このゼラチン状の物質は多糖類であることが予想される。吸水して性状変化を起こすことから、特徴的な構造を有していると考えられ、糖質構造に興味を寄せられている。

動物と異なり、植物体は大量の多糖類を含んでいる。植物体を堅固なものにしているのは、細胞壁の構成成分である多糖類の一種のセルロースである。また、植物種子にはデンプンが多く含まれているとされている。今までのところ、多糖類は、核酸やタンパク質のように鋳型や設計図に従って合成されているという証拠は捕らえられていない。しかしながら、多糖類の構造は種類によってほぼ決まった構造を有している。たとえば、デンプンではグルコースが $\alpha$ -1,4結合で鎖状の構造をしており、ところどころで $\alpha$ -1,6結合によって分岐がある。

1984年から1986年にかけて行われた文部省の特定研究の中で、オリゴ糖に三次機能があることが明らかとなった。これまでに報告のある機能性としては、①抗う蝕性、②ビフィズス菌増殖活性、③整腸作用、④コレステロール抑制作用、⑤免疫促進活性、⑥カルシウム吸収促進活性などがあげられる<sup>(2)</sup>。

さらに、従来の食品学では栄養成分の利用効率を低下させるものと考えられてきた食物繊維のような植物多糖類も1970年代に入ってから活発に研究されるようになった<sup>(3)</sup>。高分子化合物である食物繊維は、①水を吸って膨潤する (保水性)、②水溶性の場合、水に溶けて粘度の高いゾルを形成し、食物成分の拡散を抑えて吸収を遅らせる、③酸性多糖はカルシウムなどの陽イオンを結合したり、ナトリウムイオンとカリウムイオンを交換する、などの物理化学的な特質をもっている。また、これらの作用により、体内に取り込まれた場合、①腸内有用菌の増殖促進、②消化管の動きの活性化、③内容物の消化管通過時間の短縮、④食事成分の消化吸収の抑制、などの働きをする。この結果、食物繊維摂取によって成人病予防などに効果をあげている<sup>(4)</sup>。

このように多糖類自体にも機能性があることが指摘され、さらにその分解物であるオリゴ糖にも機能性が期待されている。本研究で対象としたスウィートバジル種子

由来の多糖類は吸水しての膨張率が大きいことから、特異な糖質構造と、高度な機能性の発現という両面からの興味が寄せられている。

## 2. 実験方法

### 2.1 糖量の測定

フェノール硫酸法<sup>(5)</sup>、<sup>(6)</sup>に従った。サンプルを含む液100 $\mu$ lに2.5%フェノール1mlを加え攪拌した。これに濃硫酸2.5mlを液面に直接当たるように加え、攪拌した。反応液が充分冷めた後、490nmの吸光度を測定した。

### 2.2 スウィートバジル種子からの多糖類の抽出～1

スウィートバジル種子1gを100mlの蒸留水に一晩浸漬し、充分にゼラチン状物質を出現させた。種子を2N NaOH 300ml中で一晩攪拌した。抽出液E-1 (2N画分)と種子に分け、種子は4N NaOH 300ml中で5時間攪拌した。種子を除去し、抽出液E-2 (4N画分)を得た。E-1、E-2それぞれを蒸留水に対して一晩透析した。透析後、エバポレーターで30ml程に濃縮し、凍結乾燥した。

### 2.3 スウィートバジル種子からの多糖類の抽出～2

スウィートバジル種子5gについてScheme 1に示す方法で抽出した。F-IからF-VIIまでの画分を得た。

### 2.4 糖組成の分析

サンプル5mgを2Mトリフルオロ酢酸250 $\mu$ lに溶解し、

110 $^{\circ}$ C、4時間で加水分解した。エバポレーターで濃縮乾固した。蒸留水を加え再び濃縮乾固し、この操作を3回繰り返した。反応物を蒸留水250 $\mu$ lに溶解し、HPLC分析に供した。

HPLC分析の条件は、Shodex SP0810(8.0 $\phi$ ×300 mm)を分析カラムとし、80 $^{\circ}$ C、0.6ml/min(H<sub>2</sub>O)で行った。検出は示差屈折検出器を用いた。

### 2.5 オープンカラムによるゲル濾過クロマトグラフィー

TOYOPEARL HW-55F(15 $\phi$ ×720 mm)でゲル濾過を行った。溶離液としては蒸留水を用い、1mlずつのフラクションに分画を行った。溶出液について、2.1に従って糖量を測定した。

### 2.6 HPLCによるゲル濾過クロマトグラフィー

TSKgel G2000PWを用いてゲル濾過を行った。0.6ml/min(H<sub>2</sub>O)、室温の条件で分離し、示差屈折検出器を用いて検出した。

### 2.7 多糖類の酵素消化

サンプルおよび各酵素を0.1M酢酸緩衝液(pH5.7)に5mg/mlとなるように溶解した。サンプル液200 $\mu$ lと酵素液50 $\mu$ lと混合し、40 $^{\circ}$ Cで一晩反応させ、充分酵素消化を行った。反応液を2.6に示すゲル濾過クロマトグラフィーに供し、分解産物の出現を観察した。

## 3. 結果及び考察

### 3.1 多糖類の抽出～1

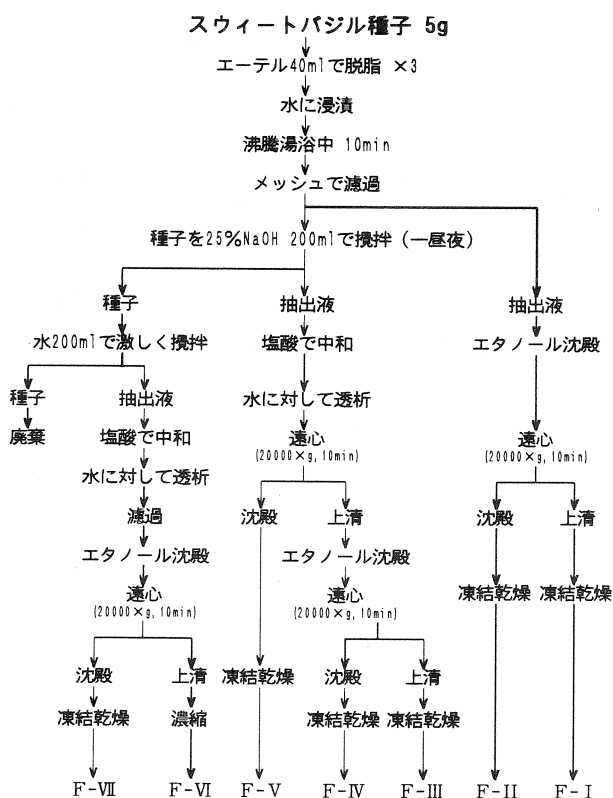
スウィートバジル種子からの多糖類の抽出について当初は常法に従い、0.1Nや0.5Nのアルカリ(NaOH)溶液で溶解させようと試みたが、種子周囲のゼラチン状物質は抽出されなかった。徐々にアルカリ濃度を上げていき、2.2に示すように2N(E-1)、4N(E-2)とかなり高濃度での画分を得た。

### 3.2 E画分の糖組成分析

E-1、E-2について2.4に従って糖組成を定性的に分析した。E-1からはグルコース(Glc)、キシロース(Xyl)、ガラクトース(Gal)がほぼ等量、アラビノース(Ara)とマンノース(Man)が微量検出された。E-2はXylをメインコンポーネントにGlc, Gal, Araを微量含んでいた。この結果、これらのすべてからなる単一の多糖類とは考えにくく、複数の多糖類、例えばキシランやセルロース、アミロース等、またはそれらに側鎖の付加したアラビノキシラン、キシログルカン等の混合物であると考えられた。E-2画分にXylを多く含むことからゼラチン質の深層部はキシラン層であることが推察された

### 3.3 E画分のゲル濾過クロマトグラフィー

E-1の分子量及びその分子分布を観察するために、2.5



Scheme 1 スウィートバジル種子からの多糖類の抽出

に従ってTOYOPEARL HW-55F(15φ×720 mm)によるゲル濾過クロマトグラフィーを試みた。結果をFig.1に示す。横軸はフラクション(1ml)番号を、縦軸は糖量(490nmでの吸光度)を表す。使用したゲルは排除限界( $V_0$ )が約40万(デキストラン)であり、今回のカラムでは50本目付近が $V_0$ である。Fig.1ではほぼ $V_0$ からピークが立ち上がり、広い分布を示したことから、かなりの巨大分子で、しかも広い分子量分布を持つことが確認された。糖組成から推察したように複数の多糖類の混合物であるとする、それらを分離することは非常に難しく、抽出段階で分離する必要がある。

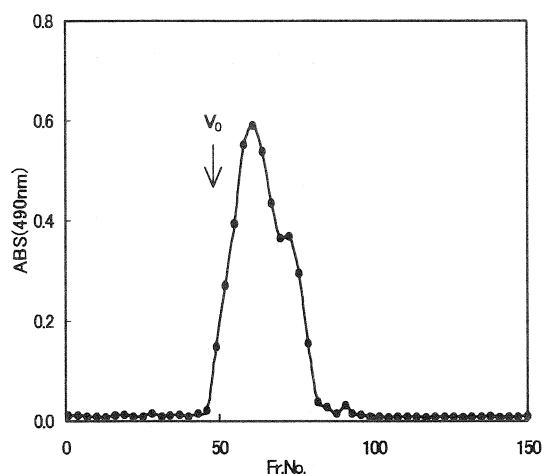


Fig.1 E-I画分のゲル濾過クロマトグラム

### 3.4 多糖類の抽出～2

以上の知見より抽出ステップを他段階に分けて抽出した。Scheme 1に示したように、さらに高濃度(25%, 6.25N)のアルカリ溶液を使用した。本法では、熱水抽出やエタノール沈殿を組み合わせるため、多糖類の表面から種子に向かって順々(F-I～F-VII)に皮をむくように抽出されていると考えられる。

### 3.5 F画分の糖組成分析

F-I, F-II, F-IV, F-V, F-VIIについて糖組成分析を行った。結果をTable Iに示す。Ara+Manで示したのは、分離定量ができなかったためである。Glcのみから構成される画分が2種(F-II, F-V)得られた。デンプンもしくはセルロースであると考えられる。その他の画分では再び複雑な組成を示した。F-Iは複合キシラン画分; F-IVはGal, Ara, Manからなるアラビノガラクトランのような複合糖質であると考えられる。F-VIIにはManは検出されず、Araのみであった。F-Iの複合キシラン画分は、熱水で抽出されてエタノールで沈殿しないため、低分子量であると推察された。F-IIは熱水で抽出されてエタノールで沈殿するため、水溶性の高分子量デンプンもしくはセルロ

Table I F画分の糖組成(%)

	Glucose	Xylose	Galactose	Arabinose+Mannose
F-I	9.5	46.7	23.8	20.0
F-II	100.0	-	-	-
F-IV	8.6	6.9	34.3	50.3
F-V	100.0	-	-	-
F-VII	15.2	23.9	23.9	37.0

ースであると推察された。F-IVはアルカリ可溶性水溶性高分子体、F-Vはアルカリ可溶性水不溶性の超高分子量体であることが考えられた。F-VIIは物理的に剥離溶解させたため、水溶性の高分子複合体であることは予想されるが、それ以上の情報はない。これらのフラクションについてはゲル濾過分析に供し、その分子量や分子分布を解析する必要がある。

### 3.6 F画分の酵素処理による糖質構造の推定

糖組成分析の結果から、F-Iはキシラン、F-II・F-Vはセルロースかデンプンであることが推定された。そこでF-Iにはキシランナーゼ、F-II・F-Vにはセルラーゼ及び $\alpha$ アミラーゼを作用させて分解の様子を観察した。さらにF-IV・F-VIIにもキシランナーゼを作用させた。結果をFig.2-1～Fig.2-7に示す。F-Iではキシランナーゼによる分解は見られなかった。F-II・F-Vではセルラーゼ、 $\alpha$ アミラーゼの両方で、F-IVはキシランナーゼで低分子化された。また、F-VIIではキシランナーゼの作用により低分子域に微量な分解物が検出された。F-Iはキシランと推察したが、バックボーンはキシランではなく、F-Iで検出されたキシロースは側鎖の可能性もある。F-II・F-Vはセルロースとデンプンの両方を、F-IV・F-VIIはキシランを含有していると考えられた。

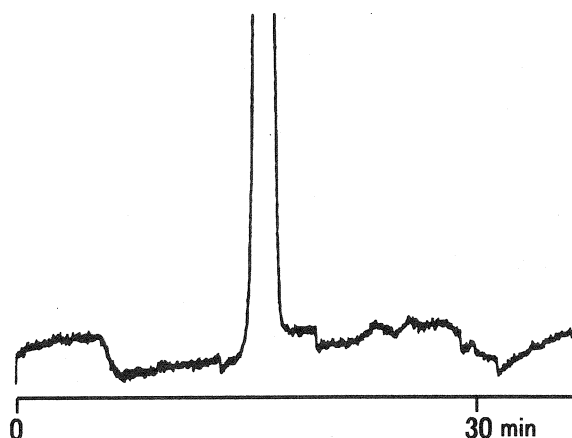


Fig.2-1 F-I画分のキシランナーゼ消化

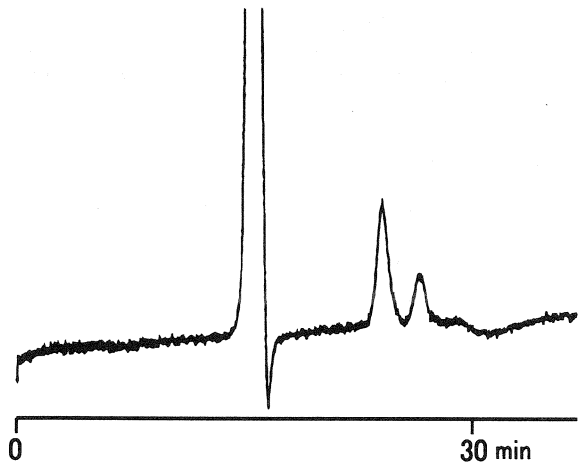


Fig.2-2 F-II画分のセルラーゼ消化

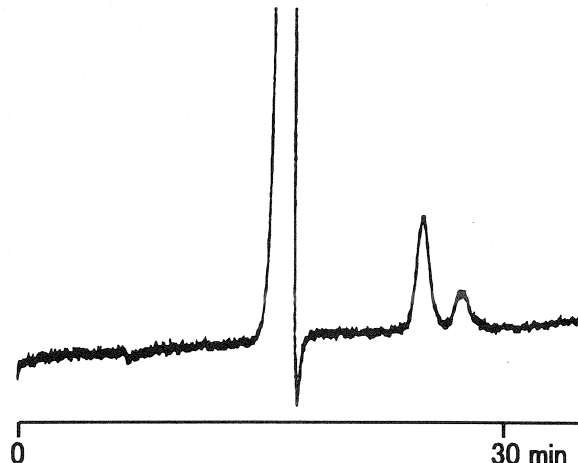


Fig.2-5 F-V画分のセルラーゼ消化



Fig.2-3 F-II画分の $\alpha$ アミラーゼ消化

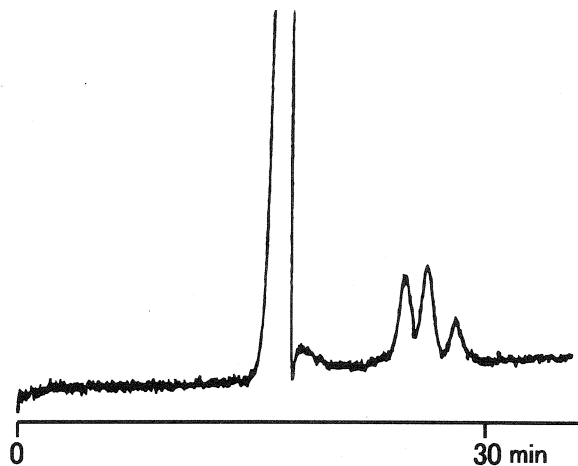


Fig.2-6 F-V画分の $\alpha$ アミラーゼ消化

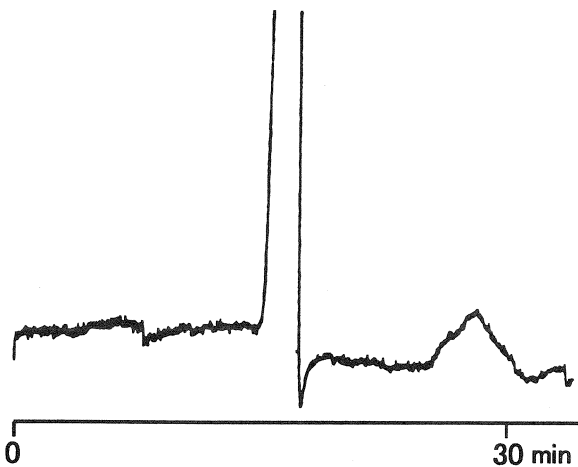


Fig.2-4 F-IV画分のキシラナーゼ消化

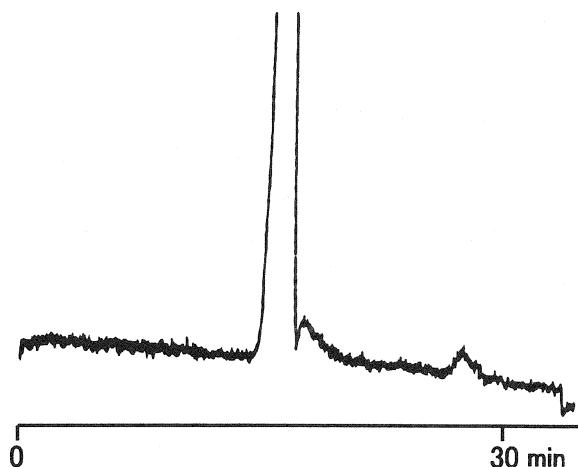


Fig.2-7 F-VII画分のキシラナーゼ消化

以上の結果から、アルカリ可溶画分には水不溶性の超高分子グルカンが存在し、その周りにはキシランやその他の糖の複合体が取り囲んでいることが示唆された。また、ゼラチン質の最表面には中程度の分子量を持った水溶性のグルカンが存在することが考えられた。

この酵素処理に供したのは、抽出しただけの未精製のサンプルであり、精製をしてからの検討が必要である。また、分解産物については、分取後、メチル化分析による構造解析に供する予定である。

#### 4. まとめ

スウィートバジル種子が種子表面に産生するゼラチン状物質についてアルカリ抽出した結果、

- (1)グルコース、キシロース、ガラクトース、アラビノース、マンノースを含む多糖類を検出した。その分子は非常に巨大であり、分子量分布も広いものであった。
- (2)熱水抽出、エタノール沈殿、アルカリ抽出を組み合わせた抽出法で抽出した結果、7種の画分を得た。それらのうち、2種はグルコースのみから成る糖質であったが、その他は複雑な糖組成であった。

(3)これらの画分を酵素消化した結果、セルロース、デンプン、キシラン等の多糖類の存在が示唆された。今後は、スケールアップした系での多糖類の抽出、精製を行い、得られたサンプルで酵素消化による構造推定、メチル化分析による結合様式の決定を経て種子糖質の構造把握を行いたい。

#### 謝辞

本研究の遂行にあたり、スウィートバジル種子を御提供下さった株式会社ファインド・ニュースに深く感謝いたします。

#### 参考文献

- 1)山口信夫, 赤井達男: *Foods & Food Ingredients Journal of Japan*, 161(1994), p27-35
- 2)新家 龍, 南浦能至, 北畑寿美雄, 大西正健:「糖質の科学」, (1998), p88-, 朝倉書店
- 3)印南 敏: *フードケミカル*, 9(1990), p35-
- 4)石倉敏治: *フードケミカル*, 10(1992), p65-
- 5)福井作蔵:「還元糖の定量法」, (1990), p50-
- 6)M.DUBOIS, *et al.*: *Anal.Chem.*, 28 (1956), p350-