

脱脂エゴマ粕抽出物の抗酸化性

長谷川 撰・鬼頭 幸男

日本人の食生活の欧米化により脂肪のとりすぎが問題視されているが、脂肪の摂取量だけでなくその脂肪酸組成が人の健康に大きな影響を与えることがわかってきた。不飽和脂肪酸の摂取が不可欠であることから、従来ではリノール酸を多く含む食品の開発が進められてきた。しかしながら、n-6系脂肪酸とn-3系脂肪酸のバランスも健康と密接に関連することが明らかになるにつれ、n-6系脂肪酸であるリノール酸の過剰摂取が問題となっており、近年ではn-3系脂肪酸である α -リノレン酸が注目されるに至っている^{1) 2)}。

α -リノレン酸を多く含む食品として知られているエゴマ油（シソ油）には α -リノレン酸が約60%含まれており、n-3系脂肪酸の供給源として期待できる。一方では、不飽和脂肪酸である α -リノレン酸を多く含むエゴマ種子には、脂質の酸化を抑制するために何らかの抗酸化性物質を含んでいることが予想される。そこで、エゴマ油を搾った残渣である脱脂エゴマ粕から抗酸化性物質を抽出し、その抗酸化性について検討した。

実験方法

1. 試料及び試薬

脱脂エゴマ粕はオリザ油化株式会社より提供を受けた。抗酸化性の試験に用いる試料として、リノール酸（片山化学（株）、純度約65%）を使用した。また、 α -トコフェロール（和光純薬（株）、純度98%）は抗酸化性を比較するために使用した。その他の試薬類は特級試薬を使用した。

2. 各種溶媒を用いた脱脂エゴマ粕抽出物の調製

脱脂エゴマ粕3gに酢酸エチル、99.5%エタノールあるいはメタノール30mlを加えて20時間放置したのち遠心分離（3,000rpm、5分）を行い、溶媒をロータリーエバポレータで除去してそれぞれ酢酸エチル、エタノール、及びメタノール

抽出物とした。

また、熱水抽出物は次のように調製した。三角フラスコに脱脂エゴマ粕20.0gをとり、水200mlを加えて環流冷却器をつけて加温した。沸騰を開始してから1時間、ときどき振り混ぜながら加温を続けた。抽出液を吸引ろ過し、ろ液を凍結乾燥したのち4℃で保存した。

これらの抽出物の収率は表1のとおりであった。

表1 脱脂エゴマ粕抽出物の収率

溶媒	収率 (%)
酢酸エチル	1.77
99.5%エタノール	3.34
メタノール	6.05
熱水	10.2

3. 脱脂エゴマ粕分画物の調製

脱脂エゴマ粕中の抗酸化性物質についてさらに詳しく調べるために、次のように分画を行った。

三角フラスコに脱脂エゴマ粕30.0gとメタノール100mlを入れ、超音波洗浄器（（株）国際電気エルテック、UA100型）中で5分間処理し、脱脂エゴマ粕からの抽出を促進した後、2時間静置し、遠心分離（5,000rpm、10分間）を行って上澄液を得た。残渣について同様の処理を2回行い、上澄液をあわせて溶媒を除去し、メタノール抽出物を得た。これにメタノール40ml及びn-ヘキサン40mlを加えて分配を行った。メタノール層にさらに2回ヘキサン40mlを加えて分配を行い、ヘキサン層をあわせてヘキサン層画分（画分A）を得た。メタノール層は溶媒を除去後、水40mlと酢酸エチル40mlを加えて分配を行った。水層にさらに2回酢酸エチルを40mlずつ加えて分配を行い、酢酸エチル層をあわせて酢酸エチル層画分（画分B）を得た。水層画分にはn-ブタノール40mlを加えて分配を行い、水層にさらに2回n-ブタノール40mlを加えて分配し、水層画分（画分C）を得た。n-ブタノール層画分は溶媒を除去後、クロロホルム：メタノール：水

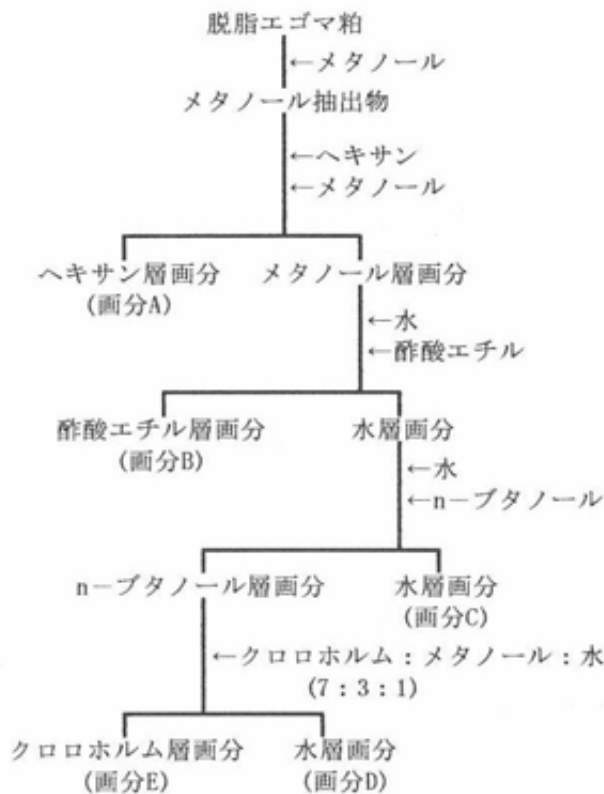


図1 脱脂エゴマ粕の分画法

(56ml : 24ml : 8ml) に再溶解し、水層画分 (画分D) とクロロホルム層画分 (画分E) を得た (図1)。各画分は溶媒を除去して収量を測定した後、それぞれの溶媒に再溶解して4℃で保存した。各画分の収量は、画分A=256mg、画分B=143mg、画分C=839mg、画分D=149mg、画分E=290mgであった。

4. 抗酸化性試験

一般に、抗酸化性物質の効果は、脂質の存在状況によって変化することが知られている。例えばFrankelら³⁾は、種々の抗酸化性物質をコーン油とコーン油の水懸濁液に添加し、抗酸化性物質の効果の水の有無で異なることを報告している。そこで、水の含まれる系としてリノール酸/エタノール/緩衝液の混合系 (緩衝液系) と、水の存在しない系 (リノール酸系) を用いて抗酸化性を比較することとした。

4.1 緩衝液系における抗酸化性

50ml 共栓三角フラスコに各溶媒を用いて抽出した抽出物または分画物を乾物重量として0.1mgとり、溶媒を除去後、95%エタノール10ml、リノール酸0.13ml、0.1Mリン酸緩衝液 (pH7.0) 10mlを加え、脱イオン水で全量25mlとして密栓し、40℃の暗所で保存した。これをリノール酸/エ

タノール/緩衝液系 (以下、緩衝液系と略す) による抗酸化性の評価系とし、経時的にサンプリングし、ロダン鉄法⁴⁾によってリノール酸の酸化物を測定し、500nmにおける吸光度で表した。

4.2 リノール酸系における抗酸化性

抽出物を乾物重量として1mgとなるように50mlピーカーにとり、減圧下で溶媒を除去後、リノール酸1gを添加したものをサンプルとし、40℃の暗所に入れて保存した。これをリノール酸系における抗酸化性の評価系とし、リノール酸の自動酸化に伴う重量増加を経時的に測定し、リノール酸の重量が5mg (0.5%) 増加するまでに要する時間を脂質酸化の誘導期とみなして抗酸化性を比較した。

実験結果及び考察

1. 脱脂エゴマ粕抽出物の抗酸化性

脱脂エゴマ粕抽出物の抗酸化性を図2に示した。図2 (a) から分かるように、緩衝液系においては、熱水抽出物がリノール酸の酸化を非常に強く抑制していた。次いでメタノール抽出物、エタノール抽出物、酢酸エチル抽出物にもリノール酸の酸化を抑制する効果が認められた。

また、 α -トコフェロールは脂質酸化の初期においてはコントロールよりも酸化物が多くなる傾向がみられたが、その後は緩やかな増加に転じ、酸化を抑制していた。脂質の酸化を抑制するために脂質にトコフェロールを添加する場合であっても、トコフェロールの添加量が多くなると、逆にトコフェロールが酸化を促進する場合がある⁵⁾。本実験においても、 α -トコフェロールが脂質の酸化を促進していた可能性がある。一方、エゴマ粕抽出物を添加した場合、試験開始後の一定期間は α -トコフェロールを添加したものよりも酸化が進みにくかった。

リノール酸系においては、図2 (b) にみられるように酢酸エチル抽出物が強い抗酸化性を示した。エタノール抽出物とメタノール抽出物にも抗酸化性が認められたが、熱水抽出物には抗酸化性が認められなかった。

このように、緩衝液系で強い抗酸化性が認められた熱水抽出物はリノール酸系では抗酸化性を示さず、逆に緩衝液系では弱い抗酸化性しか示さなかった酢酸エチル抽出物がリノール酸系では強い抗酸化性を示したことから、脱脂エゴ

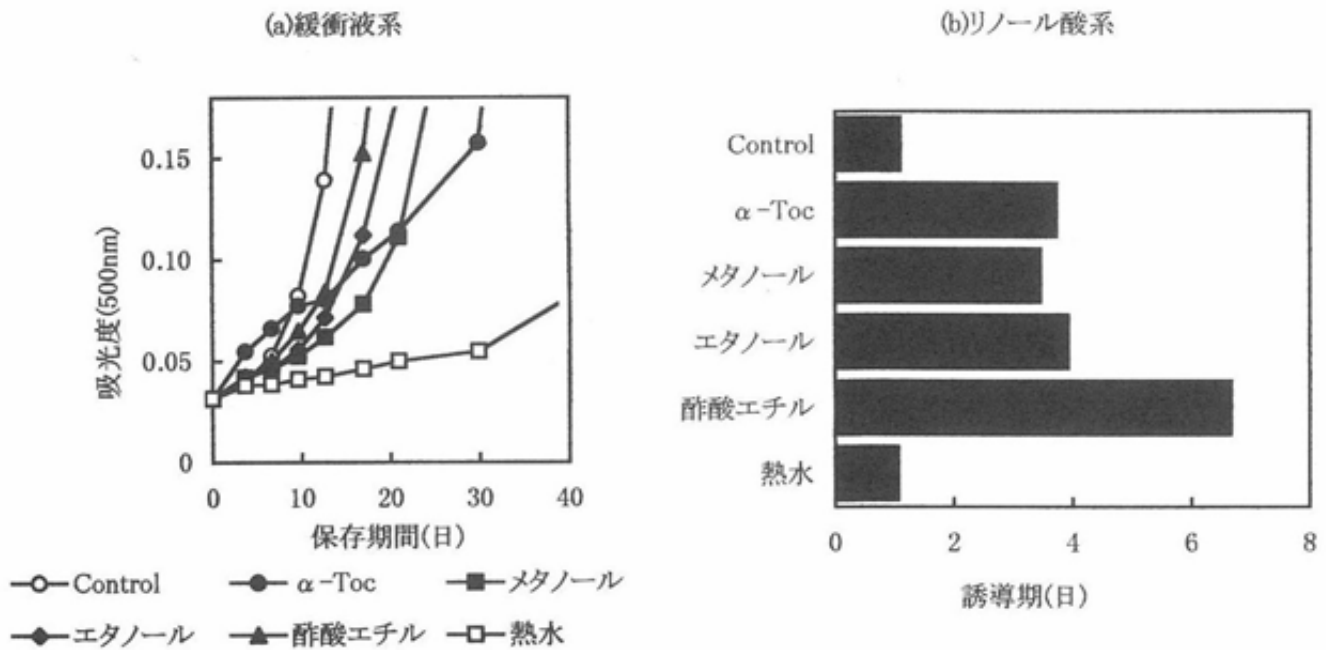


図2 脱脂エゴマ粕抽出物の抗酸化性

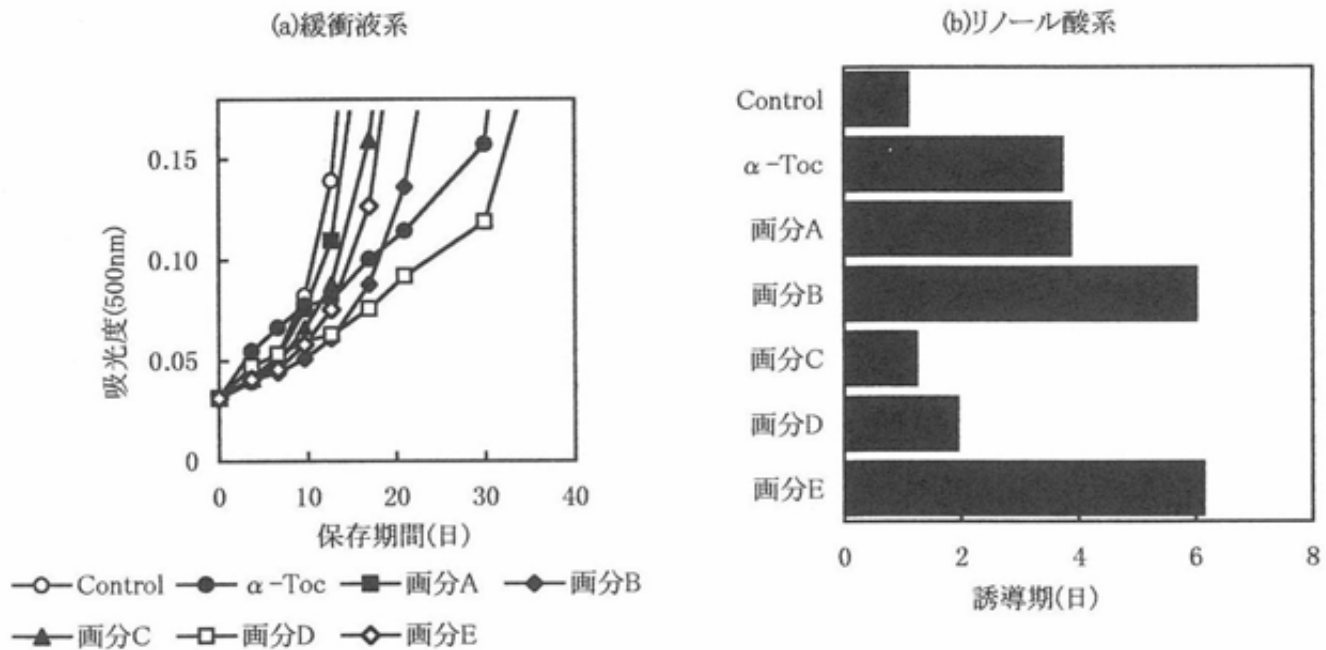


図3 脱脂エゴマ粕の分画物の抗酸化性

マ粕中には性質の異なる抗酸化性物質が何種類か含まれていると思われる。

山本ら^{6) 7)}はエゴマ粕のエタノール抽出物からアラキドン酸リポキシゲナーゼ阻害活性を有する主要な成分としてルテオリンを単離している。一方、Igileら⁸⁾はルテオリン及びその配糖体に抗酸化性があることを確認している。今回

の実験において、エタノール抽出物は抗酸化性を示していることから、脱脂エゴマ粕に含まれる抗酸化性物質の1つとしてルテオリンが存在している可能性が考えられた。

2. 分画物の抗酸化性

図3 (a) に示したように、緩衝液系において画分Dは試験開始直後の酸化物の生成量が他の画分

に比べてわずかに多く、その後は緩やかな増加に転じており、最終的にはどの画分よりも強い抗酸化性を示した。酸化抑制効果は試験の初期を除いて画分Dがもっとも強く、次いで画分B、画分E、画分C、画分Aの順であった。

また、図3 (b) から分かるように、リノール酸系では画分B、画分Eに強い抗酸化性が認められたが、画分Cと画分Dはほとんど抗酸化性を示さなかった。

以上のように、リノール酸系では α -トコフェロールと同程度の抗酸化性を示した画分Aが、緩衝液系では、最も抗酸化性が弱く、実験の初期を除いて強い抗酸化性を示した α -トコフェロールとは対照的であった。一方、 α -トコフェロールと画分Dの抗酸化性はリノール酸系と緩衝液系では全く逆であった。このように、分画物の抗酸化性は評価系によって強さの傾向が大きく異なっていたことから、各画分に含まれる抗酸化性物質はその含有量が異なるだけでなく、画分ごとに性質の違う、異なる物質が存在しているのではないかと考えられた。

今後、エゴマ粕中に含まれる抗酸化性物質を同定していく予定である。

要約

脱脂エゴマ粕より酢酸エチル、メタノール、エタノール、熱水を用いて抽出物を調製し、各抽出物の抗酸化性を緩衝液系及びリノール酸系で評価した。また、脱脂エゴマ粕より分画した5つの画分についても抗酸化性を調べた。

緩衝液系では脱脂エゴマ粕粉末、熱水抽出物、画分Dに強い抗酸化性が認められた。

リノール酸系では酢酸エチル抽出物、画分B、画分Eに強い抗酸化性が認められた。

緩衝液系とリノール酸系とでは抗酸化性を示す抽出物や画分が異なっていたことから、脱脂エゴマ粕には性質の異なる抗酸化性物質が複数含まれていると考えられた。

文献

- 1) 奥山治美・坂井恵子・森内敦子：食衛誌，30，1 (1989)
- 2) 平野二郎・磯田好弘・西沢幸雄：油化学，40，942 (1991)

- 3) Edwin N. Frankel・Shu-Wen Huang・Joseph Kanner・J. Bruce German：J. Agric. Food Chem.，42，1054 (1994)
- 4) 満田久輝・安本教傳・岩見公和：栄養と食糧，19，210 (1966)
- 5) 寺尾純二：食科工，43，775 (1996)
- 6) 山本浩代・関谷敬三：日本農芸化学会1997年度大会講演要旨集，P.172 (1997)
- 7) 山本浩代・関谷敬三：食品研究成果情報，9，18 (1997)
- 8) Godwin O. Igile・Wieslaw Oleszek・Marian Jurzysta・Stanislaw Burda・Michael Fafunso・Adetunde A. Fasanmade：J. Agric. Food Chem.，42，2445 (1994)