

9 米油に関する研究

(第1報) 米ヌカ油の中性脂肪区分について

北海道立衛生研究所 (所長 中村 豊)
森 量 夫
松 田 和 子

緒 言

栄養素としての油はカロリー源として重要であるばかりでなく、生理的にも極めて広範囲の作用をもっている。日本人は古来白米食を習慣とする国民であり、従つて毎年生産される米糠も可成りの量に達している筈である。

米糠中には約18%の脂肪が含まれているが、同時に存在するリパーゼの作用のため食用に適せず、脂肪源の乏しい我が国であるにもかかわらず放置されていた。しかし近時精白後極めて速やかに米糠を集荷、油を抽出し、精製米油として市販されるに至つた。

著者らは、米糠油を栄養学的に再検討し、その脂質の組成、構造を明らかにしようと考えこの研究を行つた。従來の研究をみると混合脂肪酸についての分析や不飽和化物中の特定成分の検索^{1) 2)}などがみられ、特に土屋氏^{3) ~10)}らのOryzanol についての一連の研究が注目されている。

著者らは米糠油のあるがままの姿をできるだけ忠実に明らかにしようと考え、その第1報として主として中性脂肪のグリセライド組成につき検討した結果を報告する。

実験材料及び方法

試料：試料は札幌周辺の精米所より集荷した米糠より抽出した原油であり、これは北光製油株式会社より贈与を受けた。

精製方法¹¹⁾：試料原油を J. M. Makivvin らの方法により精製した。即ち粗脂油中には、その中に含まれる複合脂質、主として燐脂質が存在する場合、これに非脂肪性の窒素化合物が溶解してくる可能性がある。これらの物質を除くため含有窒素量が一定量になるまで粗脂油を塩化マグネシウム溶液と振盪する。即ち含有窒素 2.0mM に相当する粗脂油をクロロホルム 80ml に溶解し、同量の 0.25M 塩化マグネシウム水溶液と烈しく振盪し、安定した乳化状態とし、室温に放置後非分離部分は凍結、融解し、遠心沈澱してクロロホルム層を分取する。この操作をくりかえし、含有窒素量が一定になつた時に精製されたものとする。従つてここに言う精製油とは、市販されている精製食用油とは本質的に異なるものである。

恒数の測定：酸価、鹼化価及び沃素価は常法によつた。

但し沃素価は Wijs 法によつた。

中性脂肪区分の分離：常法に従い遊離脂肪酸を除去し、マグネシウム飽和アセトンにて燐脂質を沈澱し、残つた部分、即ち中性脂肪及び不飽和化物の混合物を試料とした。

中性脂肪区分のカラムクロトグラフィー¹²⁾：試料は Edward J. Barron らの方法に従いシリカゲルを用いカラムクロマト分析を行つた。即ちシリカゲルは Cica 印カラムクロマト用のものを 110°C に 3 時間乾燥し、溶剤は何れも再蒸溜精製したものである。カラムは内径 35mm、長さ 30cm のガラス管の末端にガラス製の濾過板及びコックを付したものである。シリカゲルは管につめる前に順次エーテル、ベンゼン 15% 含有 n-ヘキサン及び n-ヘキサンで洗い、最後に n-ヘキサンに懸濁し、管に流下した。溶媒は n-ヘキサン、ベンゼン 15% 含有ヘキサン、エーテル 5% 含有ヘキサン、エーテル 15% 含有ヘキサン、エーテル 30% 含有ヘキサン、エーテル 50% 含有ヘキサン及びエーテルを順次用いた。シリカゲルの量はゲル 1g に対し油 20mg の割合である。溶媒の流下速度は毎分 2.5ml とし、50ml 毎に受器を交換した。流出物の重量は溶媒を減圧、炭酸ガス気流中で除去後、更に蒸気乾燥器中で減圧、75°C 以下で乾燥した。

グリセリンの定量：過沃素酸化法¹³⁾によつた。

ステリンの定量¹⁴⁾：Liebermann-Burchard 反応の変法によつた。

脂肪酸の定量：脂肪酸組成はガスクロマトグラフィーにより行つた。即ち柳本 GCG-2 型を用い、運転条件は原則として、カラム-EGS-Celite、温度-200°C、ガス-ヘリウム、流速-毎分 55ml、減衰器感度-2 及び 4 mV である。ガスクロマトグラフィー用の試料は常法により鹼化、混合脂肪酸とし、3.5% 塩酸含有無水メタノール中で 4 時間還流し、メチルエステルとした。以上の操作はすべて窒素気流中で行つた。

シリカゲル薄層クロマトグラフィー：シリカゲルの薄層の調製は原則として Stahl¹⁵⁾の方法によつた。即ち薄層クロマト用のシリカゲル (Kiesel-Gel nach Stahl) をメタノール、水、1:1 の混合溶液 2.5 倍量に懸濁し、平滑清浄なガラス板に 250 μ の厚さに流し、室温で乾燥後 105°C で 30 分乾燥した。溶媒はヘキサン：エーテル、7:3 の混液であ

る。

結果及び考察

1 精製油の恒数

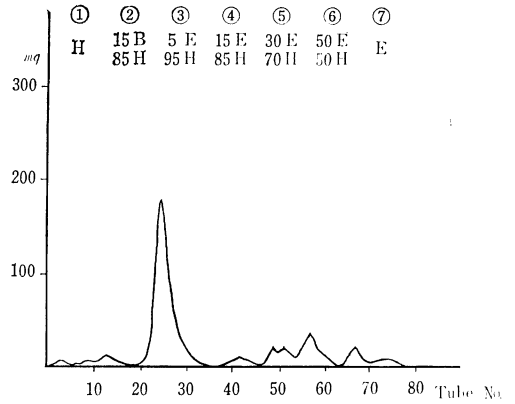
常法に従い測定した精製油の恒数は次の如くである。酸価 26.3, 鹼化価 186.3, 沃素価 103.3 であつた。

2 中性脂肪及び不飽和化区分のシリカゲルカラムクロマトグラフィ

試料を前記の方法によりシリカゲルカラムクロマト分析を行った結果、第1図の如き流出曲線を得た。

Barron らの結果によると各フラクションは順に hydrocarbon, sterol ester, triglyceride 及び遊離の脂肪酸, 遊離の sterol, diglyceride, 未確定物質, monoglyceride がそれぞれ含まれている筈である。著者らの場合は2及び4のフラクションを一層鮮明に分けるために Liebermann-Burchard 反応を併用しつつ溶出を行った。その結果3及び5のフラクションに著しいピークを得

Fig 1 Columnchrometogram of neutral lipid fraction



た。

収量は回収率 91.38% であつた。これら7つのフラクションにつき、その組成を明らかにするため分析を行った。その結果は第1表に示してある。

Table 1 Constitution of each fraction

Fraction	1	2	3	4	5	6	7
Solvent	Hexan	15% in B H	5% in E H	15% in E H	30% in E H	50% in E H	Ether
Yield (mg)	7.3	26.5	627.0	64.5	259.7	45.9	42.1
(%)	0.63	2.27	53.89	5.54	22.32	3.94	3.61
Fatty Acid (%)		3.62	88.7		80.0	477	70.3
Glycerin (%)			9.6		13.8	trace	12.1
F. A./Gly.			3.04		1.89		1.1
Sterol (mg)		12.46		23.7			

フラクション3はその中に含まれる脂肪酸とグリセリンの比が3.04であり、且つこのフラクションはステリンの反応は全く見られない。又フラクション5は脂肪酸とグリセリンの比が1.89であり、同様にステリンの反応がみられない。更にそれぞれのフラクションにおける脂肪酸とグリセリンの占める割合は前者は98.3%, 後者は93.8%であり、これらの事実より考え、フラクション3は triglyceride, フラクション5は di-glyceride と考えられる。従つてこの精製米糠中性油には約 22% の di-glyceride が含まれていることになる。

フラクション2及び4は何れも著しいステリンの反応を示すが、その収量は Liebermann-Burchard 反応によるステリンの定量結果と一致しない。これはいずれも3及び5のフラクションが混入した結果によるものと考えられ、ステリンの分離については今後一層の検討を要するものと思われる。

フラクション1は全く痕跡程度であつた。

フラクション6及び7については、その収量が少く、フラクションは、グリセリンと脂肪酸のモル比から考え、mono-glyceride と考えられるが、フラクション6と共に未

確認であり、今後の検討にまちたい。

3 シリカゲル薄層クロマトグラフィによる確認

フラクション3及び5は分析の結果、それぞれ tri-glyceride 及び di-glyceride であることが推定されたが、これを一層明らかにするため、シリカゲル薄層クロマトグラフィによる定性分析を行った。結果は第2図の如くである。

即ちフラクション3においては、 $R_f=0.95$ の部分に極めて濃厚なスポットを生じ、他は痕跡程度の着色であつた。これに対しフラクション5においては $R_f=0.95$ の所には全くスポットと見られず、 $R_f=0.27$ の部分にスポットを生じた。この溶媒を用いた場合は、tri-glyceride は殆ど上端近くに、mono-glyceride⁽⁶⁾は殆ど原点に止ることは、O. S. Privetts⁽⁶⁾により明らかであり、この結果からみてもフラクション3及び5はそれぞれ tri- 及び di-glyceride であることが明らかである。

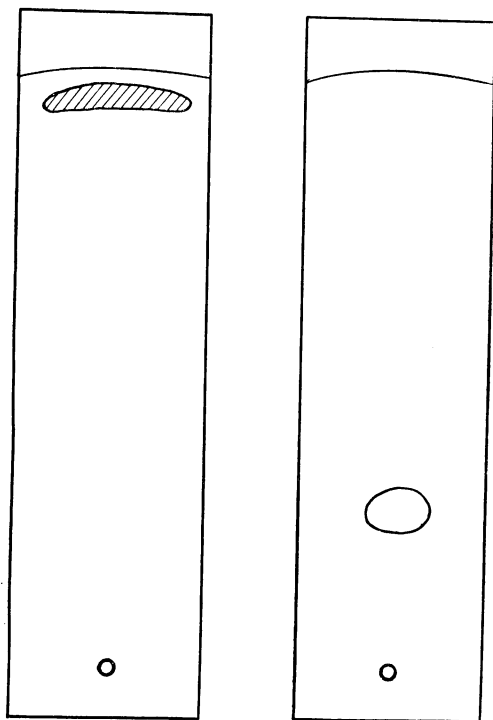
4 tri- 及び di-glyceride フラクションの脂肪酸組成について

両フラクションがどのような脂肪酸より構成されているかをみるために、ガスクロマトグラフィにより脂肪酸の

Fig 2 Thin-layer silica-gel chromatogram of glycerides

Fract. 3

Fract. 5



Solvent. Hexan : Ether 7 : 3

定性定量分析を行った。結果は第3図及び第2表に示す如くである。

Fig 3 Gaschromatograms of glyceride fractions

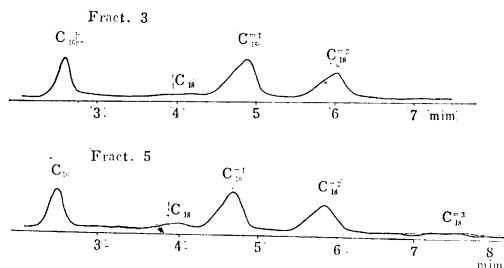


Table 2 Contents of fatty acids

	C ₁₆	C ₁₈	C ₁₈ ⁼¹	C ₁₈ ⁼²
Di-glyceride (%)	23.34	4.50	41.44	29.73
Tri-glyceride (%)	24.65	3.72	39.53	32.09

即ち両グリセライドはその脂肪酸組成については殆ど差はないが、di-glyceride 区分において極めて微量ながらリノレン酸の存在が認められた。このクロマトグラムよりそれぞれの脂肪酸の割合を定量したのが第2表である。その含量比は両フラクションの間で殆ど差は認められなかつ

た。ただし di-glyceride 中に認められたリノレン酸は殆ど痕跡程度であつたのでこの定量から除外した。

以上の結果より考えると、著者らが精製して得た米糠油の中性脂肪区分には可成りの量の di-glyceride が存在していた。これは先にも指摘した如く、米糠中のリパーゼの作用によるものであり、いかに米糠の回収を早く行つても一つの企業として行つ場合には、精白操作と原油抽出の間に可成りの時間があることはさげ得ないことであり、米糠油のもつ宿命と言はねばならない。しかし di-glyceride 及び mono-glyceride が多く含まれることは、それだけグリセライドに遊離の水酸基を多く含むことになり、親水性を増し、食用油、特に天ぷら油として用いる場合に好ましからざる性状を呈することは言をまたない。

要 約

精白後速やかにヘキサンで抽出した米糠原油を精製し、これより、中性脂肪及び不純物の混合フラクションを得た。このフラクションをシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより7つの部分に分別し、フラクション3及び5に著しい流出物を得た。この2つの流出区分につきグリセリン及び脂肪酸の定量、シリカゲル薄層クロマトグラフィーを行い、それぞれ tri-glyceride 及び di-glyceride であることを明らかにした。又ガスクロマトグラフィーにより両グリセライドの脂肪酸組成及びその含量を明らかにした。

終りに臨み、この研究の一部を援助された道立衛生研究所、川端純一、佐藤芳枝の両氏及び試料を贈与下された北光油脂株式会社に謝意を表します。

尚、この研究は日本栄養食糧学会において発表した。

文 献

- 1) Seiko Yamashita : J. Biochem. (Japan), 35, 393 (1942).
- 2) 加藤あき子 : 日本油脂化学会誌, 2 (No. 4), 34 (1949).
- 3) 土屋友太郎, 金子良平 : 東京工業試験場報告, 45, 252 (1950).
- 4) 土屋友太郎, 金子良平 : 東京工業試験場報告, 45, 307 (1950).
- 5) 金子良平, 土屋友太郎 : 日本工業化学会誌, 54, 737 (1951).
- 6) 土屋友太郎, 金子良平 : 東京工業試験場報告, 49, 57 (1954).
- 7) 金子良平, 土屋友太郎 : 日本工業化学会誌, 57, 526 (1954).
- 8) 土屋友太郎, 大久保オサム : 日本特許公告, 8827, 11月1日 (1951).
- 9) 土屋友太郎, 加藤アキオ, 大久保オサム : 日本特許公告, 9600, 11月27日 (1959).

- 10) Motokichi Ota : Chem. Pharm. Bull. (Jokyo), 8, 5 (1960).
- 11) J. M. Mckivvin & W. E. Taylor : J. Biol. chem., 178, 17 (1949).
- 12) E. J. Barron & D. J. Hanahan : J. Biol. chem., 231, 493 (1958).
- 13) D. J. Hanahan & E. J. Barron : Feder. Proc., 16, 191 (1957).
- 14) 川端純一 : 北海道立衛生研究所報, 12, 142 (1961).
- 15) E. Shahl : Chemiker Ztg., 82, 323 (1958).
- 16) O. S. Privett, M. L. Blank & W. O. Lundberg : J. Am. Oil Chemist' Soc., 38, 312 (1961).

Studies on the Edible Oils (Part 1)

On the Neutral Lipid Fraction of Rice Bran Oil

Kazuo Mori and Kazuko Matsuda
(Hokkaido Institute of Public Health)

Crude rice bran oil, which was extracted with hexan 10-20 hours after rice-cleaning, was purified with $MgCl_2$ by J. M. Mc-Kivvin's method¹¹⁾. Its acid value was 26.3 and iodine value 103.3.

The mixture of neutral lipid and unsaponifiable matter was separated and fractionated into 7 fractions with silica-gel by the method of E. J. Barron¹²⁾.

Fraction (F.) 2 and F. 4 were strongly positive for Liebermann-Burchard reagents and great peaks were obtained in F. 3 and F. 5. Molar ratio of glycerin to fatty acid of F. 3 was 3.04 and that of F. 5 was 1.89.

As the result of silica-gel thin layer chromatography (Solvent, hexan : ether, 7 : 3)¹⁶⁾, each fraction had only one spot, that is Rf of F. 3 was 0.95 and that of F. 5 was 0.27.

From above results it was considered that F. 3 and F. 5 were tri- and di-glyceride respectively.

Fatty acids component and their ratio were determined with gas chromatography.