

## 20 米ぬか食用油に関する研究

### 第3報 オリザノールの抗酸化性について

北海道立衛生研究所 福 士 敏 雄

#### 緒 言

米ぬか油は抗酸化性があつて酸敗を起しにくく、品質の保存性が大きいことは古くから知られている<sup>1) 2)</sup>。最近では精製技術の進歩により食用油として利用されるようになったが、精製工程を経た食用油においてもその安定性が失われず、米ぬか食用油の長所となつている。著者はさきにこの食用油について実験を行ない、特に長時間加熱された場合に米ぬか油は大豆油、なたね油に比較して安定であり、過酸化価値および粘度の上昇が緩慢で酸敗臭の発生も遅いことを報告した<sup>3)</sup>。この米ぬか油には構造未知の酸化防止物質の存在が考えられ<sup>1) 4)</sup>、しかもトコフェロールと異つた耐熱性の物質であろうと推定される。今回この未確認の物質を検索したところ、その一部は土屋等<sup>5) 6) 7) 8)</sup>が米ぬか油から発見分離したオリザノール区分であることを認めたので報告する。

#### 実 験 方 法

##### 1 試 料

###### (1) 米ぬか食用油

北光製油株式会社(札幌市)において抽出、精製された市販品。

###### (2) オリザノール

上記米ぬか食用油から前報<sup>9)</sup>にしたがいアルミナカラムで吸着、分離した後、はじめアセトン・メタノール混液から結晶化し、更にアセトンにて再結晶を繰返して調製した。このものは白色結晶物 (mp 118~119.5°C) で、ヘプタン溶液における紫外線吸収スペクトルは231, 291, 315 mμに吸収極大を有し、その比吸収係数 ( $E_{1cm}^{g/l}$ ) はそれぞれ23.1, 29.0, 34.8である。

###### (3) *a*-トコフェロール

市販の特級試薬(関東化学)

##### 2 試料米ぬか食用油のフラクション分別

アルミナカラムにより3区のフラクションに大別し、その組合せについて安定性を実験した。すなわち米ぬか食用油50gを石油エーテル(bp40-60°C)100mlに溶解し、あらかじめ活性アルミナ100gおよび石油エーテルをもつて作ったカラムを通過させ、石油エーテルで充分洗滌する。吸着されずに流出する区分から溶媒を溜去して得られるものをAフラクションとした。次に石油エーテル・メタノール(10:1)混液でカラムを洗滌し、流下する着色区分を

Bフラクションとした。最後にアルミナをカラムからとり出し、水酸化カリウムを含むアルカリ性エーテル・メタノール(5:2)をもつて殆んど黄色を呈しなくなるまで抽出を行ない、この抽出液に水および希塩酸を加えて微酸性にしてエーテル層に転溶させる。エーテル層を充分水洗のち芒硝で脱水し、エーテルを溜去して得られる褐色粘稠物をCフラクションとした。

##### 3 抗酸化力の試験法(オープンテスト)

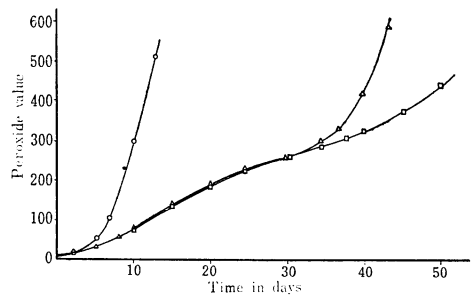
被検試料35gを径9cmのシャーレに入れ、蓋をのせた後45°Cの恒温器内に静置し、過酸化価値の上昇を経日的に測定した。また同時に酸敗臭発生日数を調査した。過酸化価値の測定は試料0.2~0.5gをとりLea法の改良法<sup>10)</sup>によつた。

#### 実験経過及び結果

##### 実験I 米ぬか食用油の抗酸化物質の検索

米ぬか油を石油エーテル溶液とし、アルミナカラムを通して得られるAフラクション(収量約84%)は非常に酸化され易く、これは抗酸化物質がアルミナに吸着除去される

**Fig. 1 Stabilities<sup>a</sup> of fractions<sup>b</sup> separated by alumina column treatment from the commercial refined edible rice bran oil.**



a By oven-test at 45°C, surface area ratio 1.82cm<sup>2</sup>/gm.

- b Fraction A: Non-adsorbed fraction on alumina column in petroleum ether.  
 Fraction B: Eluted fraction by petroleum ether-methanol (10:1)  
 Fraction C: Remains on column.  
 Symbols: —○—○—Fraction A. —△—△—Fraction A plus B.  
 —□—□—Fraction A plus B and C.

ためであろうと推定される。すなわち含有する抗酸化物質はB及びCフラクションに集約されていると考えられるので、A、A+B及びA+B+Cについてその安定性を比較した。その結果は Fig. 1 にしめすとおりである。

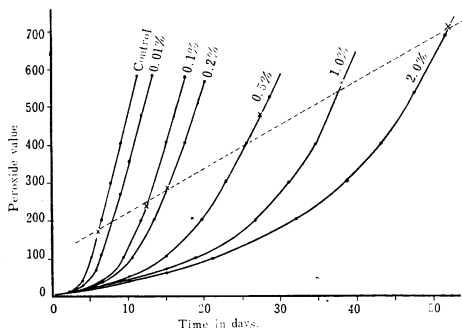
Aは抗酸化物質を含まないために酸化され易く、その過酸化物価は急激に上昇するが、これにBフラクションを加えると誘導期間が延長され、約35日目頃から急速な上昇が見られた。A+B+Cでは更に誘導期が伸びた。以上の結果からB及びCの両フラクションにそれぞれ抗酸化性を有する物質の存在が認められる。しかし前報において明らかにしたとおり、Bフラクションは着色グリセリドを主体とするが、トコフェロールもBに集められているから、Bを加えることによつて安定性が向上するのはこれに含まれるトコフェロールの作用によるものと考えられる。Cフラクションの成分については遊離脂肪酸とフェノール性物質が主体であつて、このフェノール性物質はアセトン・メタノール混液から再結晶するとn-ヘプタン溶液において 230, 291, 315m $\mu$ に吸収極大を有し、その比吸光係数と紫外線吸収スペクトルからオリザノールであると考えられた。この物質 250mg に2Nアルコール性水酸化カリウム40mlを加え還流加熱ケン化し、生成した酸性物質はベンゼン・メタノール混液から再結晶すると淡微黄色の針状結晶が得られ、mp は169—170°C でフェルラ酸と混融しても融点降下が認められなかつた。以上からCフラクションに含まれるフェノール性物質はフェルラ酸エステルで、いわゆるオリザノールであることを認めた。

この実験により米ぬか食用油に含まれるトコフェロール以外の抗酸化作用物質の少なくともその一つはオリザノールであることが推定された。

**実験II オリザノールの抗酸化性の確認**

実験Iからオリザノールが抗酸化効力をもつと考えられたので、次にオリザノールの添加による確認試験を行なつ

**Fig. 2 Relationship between oryzanol contents and change of peroxide value<sup>a</sup> or period to rancidity<sup>b</sup>.**



- a By oven-test at 45°C, surface area ratio 1.82 cm<sup>2</sup>/gm.
- b Symbol (X) indicated the rancidity occurrence.

**Table 1 Effects of oryzanol for autoxidation<sup>a</sup> of oil**

	Control <sup>b</sup>	Oryzanol %				
		0.1	0.2	0.5	1.0	2.0
Period to Peroxide value 100, days.	5.1	9.4	10.4	15.0	18.8	21.0
Period to rancidity, days.	6	13	15	27	38	52
Peroxide value at the rancidity occurrence, days.	180	220	270	480	570	716
Viscosities <sup>c</sup> (at 20°C) of oil after 30 days.	418.6	172.5	133.2	85.7	69.6	66.4

- a By oven-test at 45°C, surface area ratio 1.82 cm<sup>2</sup>/gm.
- b Control was prepared by alumina column treatment on the commercial edible rice bran oil, and free from antioxidants.
- c Viscosities (at 20°C) of these oils at the beginning of the test were 54.1-55.9.

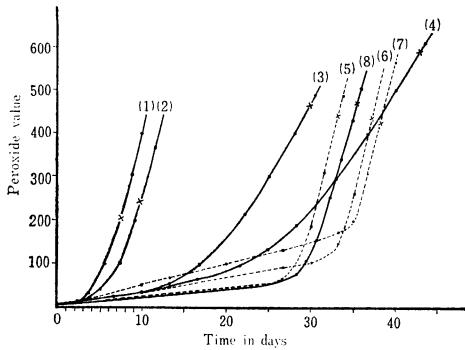
た。

Aフラクション油を基油とし、オリザノール含量がそれぞれ 0.01, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0及び2.0%になるように添加調製して実験した。結果は Fig. 2 ならびに Table 1 にしめた。通常の抗酸化剤の有効濃度である0.01%では効果が非常に弱い含有濃度を増加するにつれて過酸化物価の上昇が抑制され、一定の数値に達する期間が延長された。また酸敗臭発生期が著しく遅れ、同時に濃度が高い程度酸敗臭発生時における過酸化物価が高くなることも認められた。その関係は Fig. 2 にしめされるような直線関係にある。酸化が抑制されることは試料油の粘度変化からも認められ、オリザノール濃度が増すに従つて酸化重合が抑えられることを観察した。

**実験III オリザノールと $\alpha$ -トコフェロールの抗酸化性比較**

この両者の抗酸化作用の相異を調べる目的で、全く同じ条件のもとに比較試験した。オリザノール濃度は 0.01, 0.5, 1.0%,  $\alpha$ -トコフェロール濃度は 0.01, 0.025, 0.05%で、この他に両者それぞれ 0.01%ずつを混合したものについて実施した。結果はFig. 3のごとくでオリザノールについては実験IIとほぼ同様な結果が得られた。 $\alpha$ -トコフェロールは0.01%で強い効果が認められたが、0.01~0.05%の実験範囲では誘導期から対数期に入る際に過酸化物価はいずれも急角度で上昇した。この両者の抗酸化作用濃度はかなり異なるが、酸敗臭発生時の過酸化物価について比較すると、オリザノールは高濃度になると共に異臭発生時の過酸化物価が次第に高くなるという明らかな傾向があるの

Fig. 3 Comparison of the antioxidant activities between oryzanol and  $\alpha$ -tocopherol.



- (1) Control (2) Oryz. 0.01% (3) Oryz. 0.05%
- (4) Oryz. 1.0% (5)  $\alpha$ -toco. 0.01% (6)  $\alpha$ -toco. 0.025%
- (7)  $\alpha$ -toco. 0.05% (8) Oryz. 0.01% plus  $\alpha$ -toco. 0.01%

Oryz=oryzanol                       $\alpha$ -toco= $\alpha$ -tocopherol

× =Rancidity occurrence.

に対し、 $\alpha$ -トコフェロールでは 0.01~0.05% の間においてこの様な傾向は認められない。また両者の相異点として  $\alpha$ -トコフェロールは濃度が高い場合には誘導期における過酸化物価の値はむしろ低濃度のものより高く進行することが認められた。オリザノール及び  $\alpha$ -トコフェロールがそれぞれ 0.01% 混合された場合の結果は、その間に相乗効果は全く現われず、両者の合計効果として発揮された。

### 考 察

オリザノールは米ぬか油に含まれる数種のフェルラ酸エステルの混合物に対する総称であつて、その中性物質については土屋等<sup>6) 8)</sup>により2種のトリテルペンアルコールであると報告された。その後いろいろの研究者によりその構造が研究され、主体はトリメチルステリンであつて、今までに米ぬか油、米胚芽油及びその油サイから  $\beta$ -シクロオリステノール<sup>11)</sup>、シクロアルテノール<sup>12) 13) 14)</sup>、24-メチレンシクロアルタノール<sup>14) 15) 16)</sup>などが確認され、その他に2種のトリメチルステリン<sup>17)</sup>及びステリン<sup>13) 14)</sup>などのフェルラ酸エステルが報告された。また米ぬか以外からもオリザノール類似のフェルラ酸エステルの存在が発見されており、例えば加藤<sup>18)</sup>はトウモロコシ油サイから、土屋、間室<sup>19)</sup>は小麦ぬか油から、田中等<sup>20)</sup>は裸麦ぬか油からそれぞれオリザノール類似物質の存在を報告している。更に田村等はトウモロコシ胚芽油からジヒドロ- $\beta$ -シトステリンフェルラ酸エステル<sup>21)</sup>、小麦胚芽油からジヒドロ- $\alpha$ -シトステリンフェルラ酸エステル<sup>22)</sup>、アマニ油及びナタネ油からエイコサノールフェルラ酸エステル<sup>23)</sup>を発見している。しかし大豆油、ゴマ油及びサフラワー油についてはその存在を認めることが出来なかつたと報じている。

この一連の物質はいずれも紫外部に特徴ある吸収をもち、230~231, 291, 314.5~315m $\mu$ に極大を有するもので米ぬか油に最も多量に含まれ、その原油では 2.0%内外も含有されている。しかし精製油における含量は脱酸工程によつて左右され、一般の米ぬか食用油には 0.5~1.0% 程度含まれるものが多い様である。オリザノールの抗酸化力は決して強力なものではない。すなわち 0.01% では殆んどその効果を期待することは出来ないが 0.5% 以上になると相当の効果が現われ、2.0% では極めて強力となる。トコフェロールと共存した場合は一般にトコフェロールが先に抗酸化物質として働き、これが酸化などによつて消失しはじめる頃からオリザノールの効果が現われ、その合計効果が得られるものと推定された。

以上の実験から米ぬか油にあつては既知のトコフェロール以外に多量のオリザノールが存在し、これが安定性に大きく影響を与えているものと結論して差支えないだろう。オリザノールと  $\alpha$ -トコフェロールの抗酸化力を数的に比較することは必ずしも簡単ではない。それは両者それぞれの効力の現われ方が異なるためである。その相異点の第1は、 $\alpha$ -トコフェロールは 0.01% で強い効力を発揮するがその濃度を 0.05% 或いはそれ以上に増加しても油の安定期間がそれ程延長されず、更に高濃度になるとむしろ Prooxidant として作用することも知られている。すなわち濃度と効力が必ずしも平行しない。これに反してオリザノールはそれ自体の効力は比較的弱く、ある程度の濃度に達してはじめて実用的な効力が現われ、しかもこの実験の範囲では 2% に至るまで濃度の増加と共に抗酸化力も増強されることである。第2は過酸化物価の上昇の型である。 $\alpha$ -トコフェロールは誘導期と対数期の境界が明確であるのに対し、オリザノールでは全体に漸増をしめしその上昇は緩慢である。第3の相異点は酸敗臭発生に関するもので、 $\alpha$ -トコフェロールは 0.01~0.05% の間において、酸敗臭発生時の過酸化物価はほぼ似た数値をしめすが、オリザノールでは濃度の増加にしたがい過酸化物価がかなり高くないと酸敗臭を発生しないという傾向が認められた。このオリザノールの効果の中には過酸化物、例えば Hydroperoxide などの分解をある程度抑制する作用があるかも知れない。この両者の抗酸化力を比較するのに、共に濃度 0.01% において過酸化物価が 100 に達する日数を用いるならば、Fig. 3 から対照 5.5 日に対しオリザノール添加では 7.5 日であり、その延長日数は 2 日である。同様に  $\alpha$ -トコフェロールの場合は延長日数 22.5 日となるから、オリザノールと  $\alpha$ -トコフェロールの効力比は 1 : 11.2 となる。またこの濃度で酸敗臭発生日数の延長効果から比較すると 1 : 10 である。単に酸敗臭の発生期間から見ると  $\alpha$ -トコフェロール 0.01~0.05% とオリザノール 0.6~0.8% がほぼ匹敵するものと認められた。米ぬか食用油に含まれるトコフェロール含量は通常 0.05~0.1% の間にあり、オリザノ

ールは 0.5~1.0%の範囲にあるので、約 10 倍含有されていることになる。それ故この食用油においてはトコフェロールの抗酸化効果の他に、更にこれと同等のオリザノールの作用が発揮されているのでその安定性が非常にすぐれているものと認めた。

## 結 論

米ぬか油は自動酸化に対して安定であるが、その理由を知る目的で抗酸化物質の検索を行なった。その結果米ぬか油に含まれるオリザノール（フェルラ酸エステル）に酸化防止効果があることを認めた。オリザノール自体の抗酸化力はそれ程強くないが、濃度 0.5%以上になるとかなり強い効力を発揮した。

酸敗臭発生延長効果及び一定の過酸化値に達する日数について 0.01%濃度で  $\alpha$ -トコフェロールと比較すると、オリザノールの効力は  $\alpha$ -トコフェロールの $1/10$ であつた。しかし米ぬか油には比較的少量にオリザノールが含有されているので抗酸化性が強く、それが大きな特徴となつてゐることを認めた。

終りに臨み御助言、御校閲いただいた当所特別研究員 森量夫博士に深く感謝いたします。

## 文 献

- 1) 登 広三：工化 46 646 (1943)
- 2) R. O. Feuge and P. B. V. Reddi：J. Am. Oil Chemist's Soc., 26 349 (1949)
- 3) 福士敏雄：本誌 13 149 (1962)
- 4) 日本油化学協会編：「油脂化学便覧」  
p 51 丸善K.K. (昭和36年)
- 5) 金子良平，土屋知太郎：工化 57 526 (1954)
- 6) 土屋知太郎，加藤秋男，遠藤拓治：東工試 51 359 (1956)
- 7) 土屋知太郎，金子良平，大久保修：東工試 52 1 (1957)
- 8) 土屋知太郎，加藤秋男：東工試 53 230 (1958)
- 9) 福士敏雄：本誌 14 65 (1964)
- 10) 日本油化学協会編：「油脂化学便覧」p 359 丸善K.K (昭和36年)
- 11) 吉田 茂，高崎林治，末吉ひろみ：薬誌 76 1335 (1956)
- 12) 太田元吉，清水正夫：Pharm. Bull., 5 40 (1957)
- 13) 加藤秋男：油化学 10 623 (1961)
- 14) 加藤秋男：油化学 10 679 (1961)
- 15) 清水正夫，太田元吉：Chem. & Pharm. Bull., 8 108 (1960)
- 16) 太田元吉：Chem. & Pharm. Bull. 8 9 (1960)
- 17) 加藤秋男，土屋知太郎：油化学 10 741 (1961)

- 18) 加藤秋男：東工試 53 171 (1958)
- 19) 土屋知太郎，間室秀夫：東工試 53 238 (1958)
- 20) 田中章夫，土屋知太郎：油化学 12 26 (1963)
- 21) 田村利武，栄谷暢恭，松本太郎：日化 79 1011 (1958)
- 22) 田村利武，日比野猛，横山仁夫，松本太郎：日化 80 215 (1959)
- 23) 田村利武，松本太郎：油化学 10 625 (1961)

## 20 Studies on the Edible Rice Bran Oils (Part 3) Antioxidant Effects of Oryzanol

Toshio Fukushi

(Hokkaido Institute of Public Health)

A search for the other unknown antioxidant matters except tocopherols on the commercial refined rice bran oil was carried out. It was found that oryzanol (mixture of some ferulic acid esters) acted as antioxidant in rice bran oil. Antioxidant action of oryzanol was not so powerfull itself, however it appeared strongly at comparative high content such as 0.5% or more. Oryzanol extended remarkably the period to rancidity occurrence of oil, and retarded the increase of peroxide value.