

糠漬け大根における γ -オリザノール含量 γ -Oryzanol content of rice-bran-pickled radish内田麻子*[§] 大原和幸* 長阪玲子* 潮 秀樹*

Asako Uchida Kazuyuki Ohhara Reiko Nagasaka Hideki Ushio

Nukaduke (rice bran pickling) is a traditional Japanese method for pickling vegetables in rice bran. Rice bran contains rice bran oil (RBO), the most characteristic bioactive component in RBO, γ -oryzanol, being a mixture of ferulic acid esters of triterpene alcohols or plant sterols. γ -Oryzanol studies have indicated important physiological actions such as a serum cholesterol-lowering effect. The amounts of γ -oryzanol in raw radish and in six commercial rice-bran-pickled radish products were measured by HPLC. The raw radish was pickled in the rice bran, and changes in the amounts of γ -oryzanol, moisture and salinity were analyzed. The distribution of γ -oryzanol fluorescence in the pickled radish was also observed under ultraviolet light irradiation. It was revealed that the rice-bran-pickled radish accumulated γ -oryzanol during the pickling process. Although the accumulated amount in *nukaduke* was relatively modest when compared with the physiologically effective amount, a long-term intake of rice-bran-pickled radish might exert the physiological action of γ -oryzanol.

キーワード：米糠 rice bran； γ -オリザノール γ -oryzanol；糠漬け *nukaduke* (rice bran pickling)；大根 radish；生理活性 physiologically effective

緒 言

糠漬けは、塩を加えた米糠に大根、きゅうり、なすやにんじんなどの野菜を漬けた日本の伝統食品である。また、伝統的に米糠は農業、食品産業及び化粧品産業で使用されており、有用微生物の繁殖能増強効果、保湿作用、美肌作用を有することなどが知られていた。

米糠油の主要な構成脂質はトリアシルグリセロールであり、その構成脂肪酸はオレイン酸、リノール酸、パルミチン酸で、これらが全体の約90%を占める点で他の植物油脂と類似している。しかし、米糠油には成長促進作用を有するビタミンEに類似した作用を有するステリルフェレートのような不けん化物が全脂質中の5%以上を占め、他の植物性油脂中ではわずか0.3~0.9%であることから、米糠油における不けん化物の多さが分かる^{1),2)}。米糠油の不けん化物としては、植物性ステロール、トリテルペンアルコール、4-メチルステロールがあげられる。この中で40%以上もの値を占める植物性ステロール³⁾については、血中コレステロール値の低下作用、結腸ガン、肺ガン、前立腺ガンなどの抑制作用が報告されている^{4)~9)}。

γ -オリザノールは米糠油に含まれる不けん化物の組成物として単離、構造解析され、植物性ステロールやトリテルペンアルコールとフェルラ酸がエステル結合した化合物の混合物である。 γ -オリザノール自身は植物に広く分布するが特に米糠に多く含有されている。その後の研究によ

って、 γ -オリザノールは血中コレステロールの低下作用、抗菌作用、肌の美白作用などの生理活性を有することが報告されている^{10)~14)}。 γ -オリザノールの血中コレステロール値低下作用のメカニズムについては完全に解明されたわけではないが、エステルを形成している植物性ステロール構造に起因するものと考えられている¹⁵⁾。このように、米糠中に含まれる植物性ステロールおよび γ -オリザノールはそれぞれ有用な生理活性を有している。

そこで本研究では、上述の生理活性を有する米糠を利用した加工食品である糠漬けに注目した。すなわち、糠漬け工程中に米糠の活性成分が野菜へと移行するならば、糠漬けを摂取することで、上述した生理活性を期待することができる。そこで、米糠の有効成分のうち、健康機能性素材としても最近注目を浴びている γ -オリザノールに注目し、市販糠漬け大根に含まれる γ -オリザノール濃度を測定した。また、糠漬け中における γ -オリザノールの大根への移行についても検討した。

実験方法

1. 実験材料

東京都内で市販されている6品の糠漬け大根製品(A, B, C, D, E, F)を購入し、水で洗浄して外部に付着している糠を取り除いて試料とした(表1)。大根は市販のものを用い、糠漬け用米糠は国産産業株式会社製を用いた。

2. 糠漬け大根の作製

食塩150gを沸騰水0.8Lに溶解して冷却した後、800gの米糠と混和させ糠床とした。大根は外皮から約3mmの厚さの部分を取り除いて一辺3cm角の立方体(約15g)に切り、この立方体12個を、一つの糠床に25℃で12日

* 東京海洋大学

(Tokyo University of Marine Science and Technology)

§ 連絡先 東京海洋大学 海洋科学部 〒108-8477

東京都港区港南4-5-7

TEL 03(5463)0615 FAX 03(5463)0627

糠漬け大根における γ -オリザノール含量

表1. 6種の市販糠漬け大根

試料	皮の有無	糠漬け日数
専門店A	無	2~3
専門店B	無	2~3
専門店C	有	4~6
専門店D	有	1
専門店E	有	16
市販店F	有	発酵エキスに1日

間漬けた。一日に1回の割合で糠床をかき混ぜ、空気を十分混入させた。

3. 脂質抽出液の調製

細切した試料につき、Bligh&Dyer法にて全脂質を抽出した。得られた全脂質をアセトニトリル、酢酸、蒸留水94:2:6 (v/v) 混合溶液に溶解後、0.2 μ mのマイクロフィルター (PTFE, ADVANTEC TOYO) でろ過したものを以下に述べる高速液体クロマトグラフィーによる γ -オリザノール濃度の測定に供した。

4. γ -オリザノール濃度の測定

移動相をアセトニトリル、酢酸、蒸留水94:2:6 (v/v) 混合溶液とし、固定相をRP-18 GP 250-4.6 (3 μ m, 関東化学), 流速を1 ml/minとした高速液体クロマトグラフィーシステムで分離を行い, SPD 10-AV (島津製作所) にて325 nmの紫外線吸光度で定量を行った。各値は実験の測定値から求めた平均値 \pm 標準偏差 (n=3) で示した。

5. 水分含量の測定

約5gの試料について常圧加熱乾燥法の恒量値より、水分含量を測定した。各値は平均値 \pm 標準偏差 (n=3) で示した。

6. 塩分濃度の測定

約15gの試料についてMohr法により、塩分濃度を測定した。各値は平均値 \pm 標準偏差 (n=3) で示した。

7. 蛍光顕微鏡による観察

市販大根の皮を除去せずに、中央約20cm幅を切り取った。さらに約20cm大根を縦に2分した一方を、25 $^{\circ}$ Cで糠床に12日間漬けた。一日に1回の割合で糠床をかき混ぜ、空気を十分混入させた。随時、糠漬け大根を端から約2cm扇形に切断し、切断面から約5mm幅に切り (図1)、これをマイクロカバーガラス (MATSUNAMI) 上に設置して、対物レンズ (UApo 20 \times 340, オリンパス), 接眼レンズ (WH 10 X-H/22, オリンパス) およびキセノ

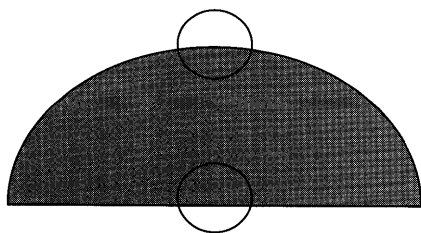


図1. 糠漬け顕微鏡観察部位

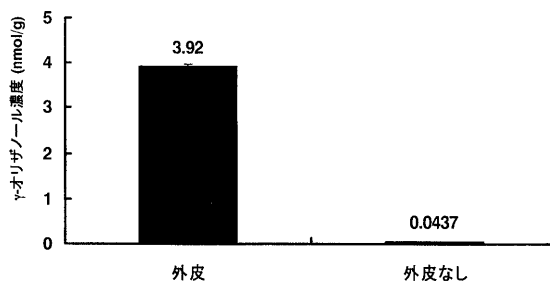
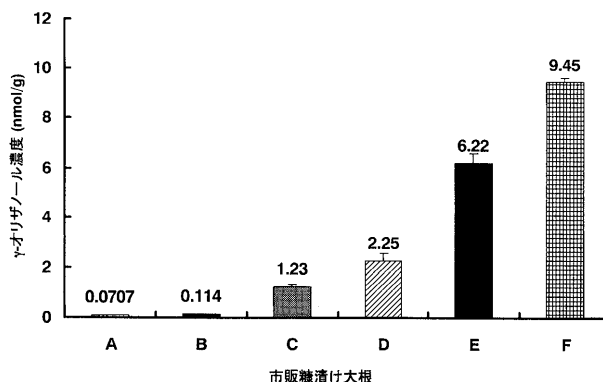
ン光源を装備した倒立顕微鏡 (IX-70, オリンパス) にて蛍光観察した。バンドパスフィルター (MBP 340 W 25, オリンパス) によって340 nmの紫外光を糠漬け大根に落射し、外皮側 (図1上部) と内部側 (図1下部) において得られた蛍光像をデジタルカメラで撮影した。

実験結果および考察

1. 生大根と市販糠漬け大根の γ -オリザノール含量

まず、高速液体クロマトグラフィーで大根と米糠自体の γ -オリザノール含量を測定した。その結果、大根の外皮のみでは3.92 nmol/gと、外皮を取り除いた大根では0.0437 nmol/gと、外皮に γ -オリザノール含量が多いことが明らかとなった (図2とする)。これは、米などでも外皮を含む糠に γ -オリザノールが多く分布し、胚乳部にはほとんど存在しないという結果と類似するものである。また米糠の γ -オリザノール含量は、93.5 nmol/gであり、これは大根の外皮の約25倍、および外皮を取り除いた大根の約2千倍もの値である。

次いで、6種の異なる糠漬けから得られた全脂質について γ -オリザノール含量を測定したところ、製品によって大きな差が認められた (図3)。製品AおよびBでは0.0707 および0.114 nmol/g、製品C, D, EおよびFでは1.23, 2.25, 6.22 および9.45 nmol/gと大きく分けて2つのグループに分けられた。前者のグループの γ -オリザノール含量は、後者グループのそれよりも含量が少なかった。こ

図2. 大根皮の有無による γ -オリザノール濃度の差異
平均値 \pm 標準偏差 (n=3)図3. 6種の市販糠漬け大根の γ -オリザノール濃度
AB皮なし, CDEF皮あり, 平均値 \pm 標準偏差 (n=3)

の原因として、表1より前者のグループでは外皮が除去されていたのに対し、後者のグループでは外皮が含まれていたことがこの含量差に反映されたものと考えられる。また、市販糠漬け大根 C, D, E, F の後者グループの間にも、 γ -オリザノール含量差が見られた。この差の原因として、外皮の含有差、大根の γ -オリザノール含有差、糠床の γ -オリザノール含有差、および糠漬け日数の違いが原因であると思われる。

したがって、 γ -オリザノールの摂取という観点からは、外皮を積極的に摂取すべきであると考えられる。糠漬け等の漬物ではそのまま外皮を除かずに加工する場合が多く、また加工中に外皮が柔軟になり、適度なテクスチャーを示すようになる。したがって、外皮を積極的に摂取する方法としても外皮を含んだ大根の漬物への加工は有効であるものと考えられる。なお、大根の生育状況や収穫季節によって γ -オリザノール含量が変化する可能性もあり、今後詳細な検討が必要である。

一方、製品Fの γ -オリザノール含量は他の製品に比べて高かったが、その原因としては上述した外皮における高い含量以外に、調製法の差が関与する可能性もある。製品Fでは、本来の糠漬け工程を踏まず、大根を米糠発酵エキスに1日浸漬している。現時点で、本製品に関する詳細な調製法等の情報がないため、即断はできないが、何らかの要因によって γ -オリザノールが浸透しやすかったものとも考えられる。今後の検討課題である。

2. 糠漬け工程中における γ -オリザノールの移行

糠漬け工程中における米糠 γ -オリザノールの根への移行を明らかにするために、外皮を除いた大根を12日間糠床に漬け、経時的に大根中の γ -オリザノール含量を測定した(図4, 縮小)。大根中の γ -オリザノール含量は3日目までは比較的速やかに増加したが、その後は糠漬け日数の経過に伴ってほぼ直線的に γ -オリザノール含量が増加し、12日では0.31 nmol/gに達した。したがって、糠漬け中に米糠の γ -オリザノールが大根へ移行することが明らかになった。一方、糠漬け中の大根の水分含量を測定したところ(図5)、糠漬け日数3日目までは大根の水分

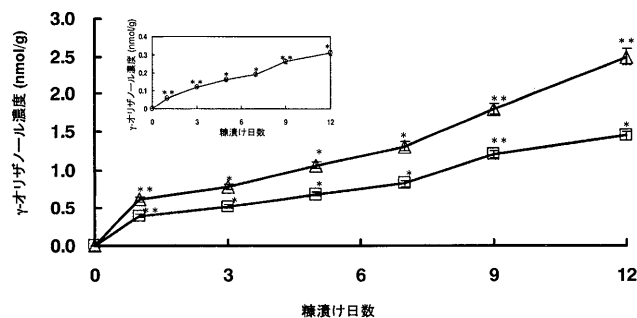


図4. 糠漬け大根の γ -オリザノール濃度変化

○糠漬け後重量比, □乾物量比, △(乾物量-塩分量)比, 平均値±標準偏差 (n=3), 前日に対する有意差 (* $P<0.01$, ** $P<0.001$)

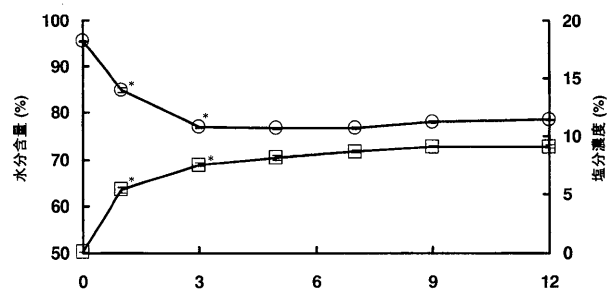


図5. 糠漬け大根の水分含量と塩分濃度変化

○水分含量, □塩分濃度, 平均値±標準偏差 (n=3), 前日に対する有意差 (* $P<0.001$)

含量は著しく減少した。3日目以降では、水分含量は一定であり、平衡状態に達したと言える。水分含量から糠漬け大根重量を乾物重量に換算し、グラフに示した(図4)。 γ -オリザノール含量の増加が糠漬け1日目著しく大きいことがわかる。その後、3日目から7日目まではほぼ直線的に γ -オリザノール含量が増加し、7日目以降はまた γ -オリザノール含量の増加が大きくなった。したがって、1日目で脱水と γ -オリザノール含量の移行が同時に起こるため、 γ -オリザノール含量の増加が見かけ上速やかに進行したものと考えられる。また、比較的極性の低い γ -オリザノール含量の大根中への移行は水の存在によって阻害を受ける可能性があるが、大根の水分含量が平衡状態に達したため、3日目から7日目までの大根への γ -オリザノール含量の移行速度は一定であり、また7日目以降では移行速度が大きくなった。7日目以降の γ -オリザノール含量の移行速度が大きくなった原因は、水分含量の平衡状態化だけではないと思われる。そこで、 γ -オリザノール含量の増加に及ぼす塩分含量の影響を調べるため、糠漬け大根中の塩分濃度を測定した(図5)。塩分濃度は糠漬け日数1日目で5.36%と著しく増加し、その後9日目の塩分濃度9.13%に達するまでは比較的穏やかに塩分が移行した。また、12日目の塩分濃度は9日目とほぼ等しく、9日目で塩分濃度は平衡状態に達したと言える。ここで水分含量と同様に、乾物重量からさらに塩分量を引いた値に換算し、グラフに示した(図4)。乾物量-塩分量あたりの γ -オリザノール量を見ると、1日目までの γ -オリザノール移行速度が著しく大きい。その後1日目から7日目まで γ -オリザノール濃度はほぼ直線的に増加し、 γ -オリザノールの移行速度はほぼ一定である。さらに7日目以降では、1日目から7日目の γ -オリザノール移行速度よりも大きくなった。1日目までの γ -オリザノール移行速度が著しく大きいのは、先ほど述べた通り1日目で脱水と γ -オリザノール含量の移行が同時に起こるためだと考えられる。さらに γ -オリザノール含量の移行速度が7日目以降で大きくなったのは、塩分の大根への移行が平衡状態となり、 γ -オリザノールが大根へ移行しやすくなったからではないかと考えられる。大根は組成の大半が水分であり、塩分

糠漬け大根における γ -オリザノール含量

は水に溶解しやすいため、大根への移行が速やかに行われ、9日目では塩分濃度が平衡状態に達した。一方、比較的極性の低い γ -オリザノールは脂質として移行するので塩分よりも大根へ移行しにくく、糠漬け日数12日目でも γ -オリザノールの移行はプラトーに達しなかった。本研究では糠漬けの日数は12日までとしたが、漬ける日数を増加させると、糠床の γ -オリザノール含量93.5 nmol/gと平衡状態に達するまで、糠漬け大根中の γ -オリザノール含量は増加するものと予想される。

3. 糠漬け大根の蛍光顕微鏡による γ -オリザノール観察

糠漬け日数0日から12日目までの、外皮側、内部側の γ -オリザノールの局在、および暗視野像での外皮側、内部側を図6に示した。 γ -オリザノールは340 nmの紫外光照射によって青色の蛍光を発する。外皮側の最も外側において、内部には見られない著しく蛍光が強い部分が確認できる。この強い蛍光部が外皮であり、視覚的にも γ -オリザノール含量が高いことが明らかになった。糠漬け日数が増えるにつれて、外皮側、内部側ともに蛍光が強くなり、 γ -オリザノールが大根に移行することが明らかになった。さらに、外皮側の皮層と内部側の中心柱部分を比較すると、蛍光強度が内部側中心柱で強かった。すなわち、糠漬け大根において、外皮の有無と根の内部構造によって米糠の γ -オリザノールの浸透性が異なるものと考えられた。外皮側では、外皮がより蛍光を強く発しており、 γ -オリザノールは外皮に特に多く局在しているのが確認された。よって、外皮側では γ -オリザノールは、外皮に蓄積されやすく、内部の皮層に γ -オリザノールが移行しにくいものと推測された。

さらに、糠漬け大根に蓄積された γ -オリザノール濃度

が、生理活性を有することができる値であるかどうかを検討した。Seetharamaiah and Chandrasekhara (1988)¹⁶⁾は、マウスに30日間(1 mg/日/1 kg 体重)において γ -オリザノールを与えたところ、肝臓コレステロール値が下がるとしている。また、 γ -オリザノールの血中コレステロール低下作用が人間においても報告されており、高脂血症の患者に γ -オリザノールを3ヶ月(300 mg/日)投与したところ、総コレステロール値および低比重リポ蛋白コレステロール値が下がるという結果が得られている¹⁷⁾。一方、糠漬け大根へ移行した γ -オリザノール濃度は12日目でも0.31 nmol/gであり、先に述べたようなコレステロール値を下げる作用を得るためには、1日に約1 t以上の糠漬けを摂取しなければならない。つまり、 γ -オリザノールが米糠中へ移行し蓄積した濃度は、 γ -オリザノールの生理活性作用が発揮されるといえる濃度に対してわずかであり、糠漬けを摂取したからといってすぐに体に有益な効果を期待することはできない。長期的に糠漬けを摂取したならば、生体内に γ -オリザノールが蓄積され、緒言に述べたような生理活性作用が発揮される可能性もあるものと考えられる。

結 語

以上の結果より、糠漬け大根には米糠から移行した γ -オリザノールが蓄積されることが明らかになった。糠漬け日数とともに γ -オリザノール濃度は増加し、米糠の γ -オリザノール濃度と平衡状態になるまで移行は続くと考えられた。また大根の外皮に γ -オリザノールが特に多く含有されていることから、 γ -オリザノールの摂取という観点からは、外皮を積極的に摂取すべきであると考えられる。

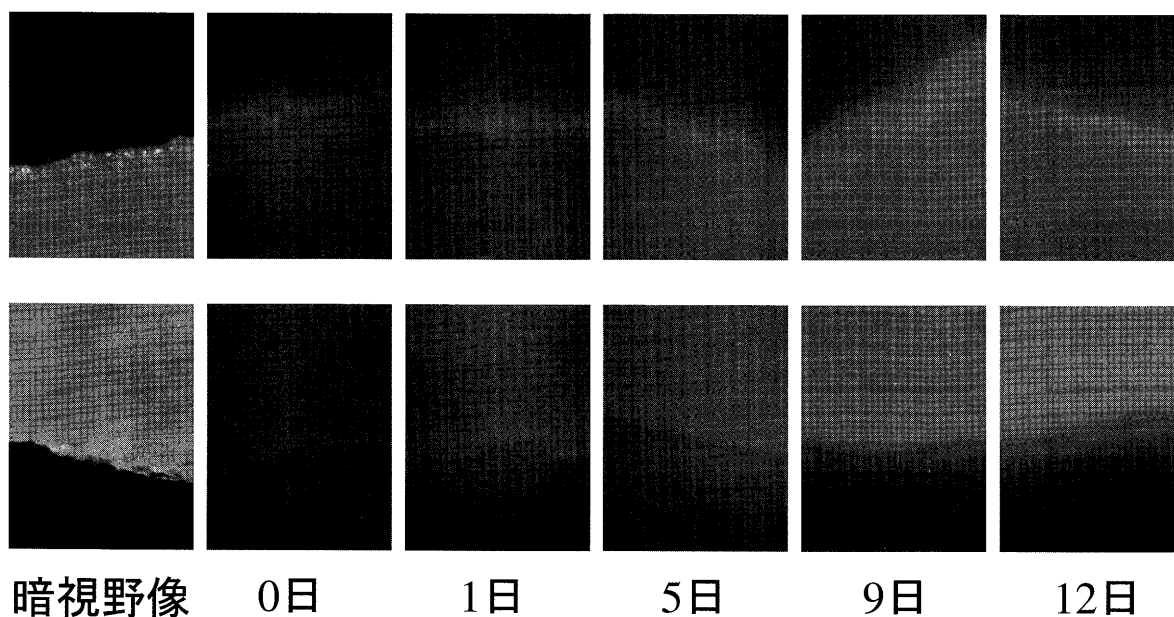


図6. 糠漬け大根の外皮側(上図)、内部側(下図)における γ -オリザノールの局在
顕微鏡倍率: 暗視野像110倍, 蛍光像200倍

糠漬けでは積極的に外皮を利用しており、有効的な加工食品と言える。なお本研究では、外皮を取り除いた大根を用いて γ -オリザノール濃度を測定したが、紫外光顕微鏡観察において外皮の有無により γ -オリザノールの移行しやすさが異なることが示唆されたので、今後は外皮を含む大根を用いた γ -オリザノール濃度の測定が必要であると考えられる。

ここでは、米糠から大根へ γ -オリザノールがどの程度移行し蓄積されたかのみに留まったが、糠漬け大根を継続的に摂取した時の、 γ -オリザノールの種々の生理活性作用が発揮されるかどうかを明らかにするためには、人体における γ -オリザノールの消化・吸収率とその過程を考慮する必要があり、その点については今後のさらなる検討課題である。

なお、本研究は財団法人東和食品研究振興会学術奨励金を受けて行われたものである。

文 献

- 1) Nicolosi, R.J., Rogers, E.J., Ausman, L.M. and Orthoefer, F.T. (1992), *Rice bran oil and its health benefits*. Rice Science & Technology (Marshall, W., and Wadsworth, J., eds). Marcel Dekker, Inc., New York
- 2) Reeves III, J.B. and Weihrauch, J.L. (1979), Composition of foods. Fats and oils, in *Agriculture Handbook* No. 8-4, United States Department of Agriculture Science and Education Administration, Washington, D. C.
- 3) Sayre, B. and Saunders, R. (1990), Rice bran and rice bran oil, *Lipid. Tech*, **2** (3), 72-76
- 4) Lichtenstein, A.H., Ausman, L.M., Carrasco, W., Gualtieri, L.J., Jenner, J.L., Ordovas, J.M., Nicolosi, R.J., Goldin B.R. and Schaefer, E.J. (1994), Rice bran oil consumption and plasma lipid levels in moderately hypercholesterolemia on human serum cholesterolemic humans, *Arterioscler. Thromb*, **14**, 549-556
- 5) Rukmini, C. and Raghuram, T.C. (1991), Nutritional and biochemical aspects of the hypolipidemic action of rice bran oil: a review, *J. Am. Coll. Nutr*, **10**, 593-601
- 6) Marlene, M.M., Richard, T., Silvia, M. and Michael, L.

- (2005), Rice bran oil, not fiber, lowers cholesterol in humans, *Am. J. Clin. Nutr*, **81**, 1, 64-68
- 7) Nguyen, T. (1999), The cholesterol-lowering action of plant stanol esters, *J. Nutr*, **129**, 2109-2112
- 8) Awad, A.B. and Fink, C.S. (2000), Phytosterols as anticancer dietary components: evidence and mechanism of action, *J. Nutr*, **130**, 2127-2130
- 9) Maud, N.V., Peter, L.Z., Gert, W.M. and Martijn, B.K. (2000), Effect of plant sterols from rice bran oil and triterpene alcohols from sheanut oil serum lipoprotein concentrations in humans, *Am. J. Clin. Nutr*, **72**, 1510-1515
- 10) Norton, R.A. (1995), Quantification of steryl ferulate and p-cumarate esters from corn and rice, *Lipids*, **30**, 269-274
- 11) Rong, N., Ausman, L.M. and Nicolosi, R.J. (1997), Oryzanol decreases cholesterol absorption and aortic fatty streaks in hamsters, *Lipids*, **32**, 303-309
- 12) Sugano, M. and Tsuji, E. (1997), Rice bran oil and cholesterol metabolism, *J. Nutr*, **127**, 521 S-524 S
- 13) Xu, Z. and Godber, J.S. (1999), Purification and identification of components of γ -oryzanol in rice bran oil, *J. Agric. Food Chem*, **47**, 2724-2728
- 14) Xu, Z., Hua, N. and Godber, J.S. (2001), Antioxidant activity of tocopherols, tocotrienols, and γ -oryzanol components from rice bran against cholesterol oxidation accelerated by 2,2'-azobis (2-methylpropionamide) dihydrochloride, *J. Agric. Food Chem*, **49**, 2077-2081
- 15) Harwood, H.J., Jr, Chandler, C.E., Pellarin, L.D., Bangert, F.W., Wilkins, R.W., Long, C.A., Pettinti, J.L., Savoy, Y.E. and Mayne, J.T. (1993), Pharmacologic consequences of cholesterol absorption inhibition: Alteration in cholesterol metabolism and reduction in plasma cholesterol concentration induced by the synthetic saponin β -tigogenin cellobioside (CP-88818; tiqueside), *J. Lipid Res*, **34**, 377-395
- 16) Seetharamaiah, G.S. and Chandrasekhara, N. (1988), Hypocholesterolemic active of oryzanol in rats, *Nutr. Rep. Int*, **38**, 927-935
- 17) Yoshino, G., Kazumi, T., Amano, M., Takeiwa, M., Yamasaki, T., Takashima, S., Iwai, M., Hatanaka, H. and Baba, S. (1989), Effect of γ -oryzanol on hyperlipidemic subjects. *Current Therapeutic Res*, **45**, 975-982

(平成 18 年 10 月 13 日受付, 平成 19 年 3 月 7 日受理)

和文抄録

糠漬けは、野菜を米糠に漬けた日本の伝統的な漬物である。米糠油中の最も代表的な生理活性物質である γ -オリザノールは、フェルラ酸がトリテルペンアルコールや植物性ステロールとエステル結合した化合物の混合物である。 γ -オリザノールは血中コレステロールの低下などの生理活性作用を示すことが報告されている。HPLCを用いて、生大根と6種の市販糠漬け大根中の γ -オリザノールを測定した。実際に生大根を米糠に漬け、糠漬け大根中の γ -オリザノール量の変化を、水分含量および塩分濃度とともに測定した。紫外蛍光顕微鏡を用いて、糠漬け大根中の γ -オリザノールを観察した。これらの結果から、糠漬け工程中に γ -オリザノールが糠漬け大根へ蓄積されることが明らかになった。糠漬け大根に蓄積される γ -オリザノール量は、生理活性作用を有する濃度と比較すると少量であったが、長期間に渡って糠漬け大根を摂取するならば、 γ -オリザノールが有する種々の生理活性作用を期待できる可能性が示唆された。