

未焙煎・焙煎ゴマ油の熱メタノール抽出物投与ラットに おける脂質過酸化抑制効果

辻原 命子・福田 靖子

Inhibitory Effect of Dietary Consumption of Hot Methanol Extracts from Unroasted and Roasted Sesame Oils on Lipid Peroxidation in Rats

Nobuko TSUJIHARA and Yasuko FUKUDA

緒 言

ゴマは植物学的にはゴマ科 (*Pedaliaceae*) ゴマ属 (*Sesamum*) の一年生草本で種子を食用としている。またゴマ種子は脂質約50%, タンパク質約20%, 糖質約20%を含む代表的な油糧種子であり, 栄養的機能のみでなく, おいしい食品としての機能, さらに生体調節機能など三次機能まで備えたすぐれた食品として知られている¹⁾。近年, ゴマの特殊成分としてゴマリグナン類が多く同定された¹⁾。リグナン類の機能として, 油脂に対する抗酸化作用²⁾, ビタミン増強作用³⁾, 血圧低下作用⁴⁾, アルコール分解促進作用⁵⁾, 血清脂質低下作用⁶⁾, 脂肪酸-酸化誘導剤としての作用^{7), 8), 9), 10)}ならびに脂肪酸の合成抑制^{7), 8), 9), 10)}など多彩な生理作用が報告されている。これらゴマリグナン類は, 種子に0.7%以上含まれ, 搾油工程でほぼ全量が油に抽出される。またゴマ油は一般の植物油と異なり, 焙煎した香りが珍重され焙煎が強いほど酸化安定性(自動酸化および熱酸化)に優れることが油の実験で確認されている^{11), 12)}。

そこで本研究では, 未焙煎油として生原油, ゴマサラダ油, 焙煎油として強焙煎油および弱焙煎油中のトリグリセリド以外のメタノール可溶性抽出区分の生体内における抗酸化作用について検討した。

実験方法

1. 熱メタノール可溶性成分の抽出方法

熱メタノール可溶性成分の抽出方法は, 図1に示した。試料のゴマ油100gにメタノール200gを加えて溶解し, 70℃の恒温槽(東京理化)で30分加温抽出した。これを室温に放冷した後, さらに-20℃で10時間凍結させ, 上層を500mL容ナスフラスコに分取した。下層のトリグリセリドは, 再びメタノールを加えて再抽出し, 凍結させた後, 上層を分取して1回目の上層と混合した。この上層をロータリーエバポレーター(EYELA, CA-111)で濃縮(40℃, 30分)し, メタノールを完全留去した。得られた濃縮物を熱メタノール可溶性区分(以下褐色区分と略記)とし, 実験に供試した。

2. 実験動物の飼育条件

生後5週齢のWistar系雄ラット(日本エスエルシー(株), 浜松市)31匹を用いた。飼料組成は表1に示したとおり, カゼイン25%, コーンオイル9.0%, セルロース4.0%, ミネラル混合4.0%, ビタミン混合2.0%および -コーンスターチ56%を基本飼料とし, 試験食群には, 褐色区分(セサミン含有量24~50mg)を0.5%添加し, ミキサー(KENMIX-MAJOR)を用いて混合した。ラットは褐色区分無添加の無添加(対照)群, 未焙煎の生原油群, ゴマサラダ油群, 焙煎した強焙煎油群および弱焙煎油群の計5群に分け, 各群6匹ずつとした。飼育は各群ステンレス製の個別ケージを用い, 実験環境に慣らすため, 購入後5日間予備飼育した後, 試験食投与を開始した。飼育期間中は週1回体重を測定し, 飼料摂取量は毎日の残存量を差し引いて算出した。飲水は水道水を投与し自由摂取とした。飼育室は, 室温 23 ± 1 , 相対湿度 55 ± 5 %, 12時間採光下(7:00 a.m. ~ 7:00 p.m. 明所)の条件で3週間飼育した。

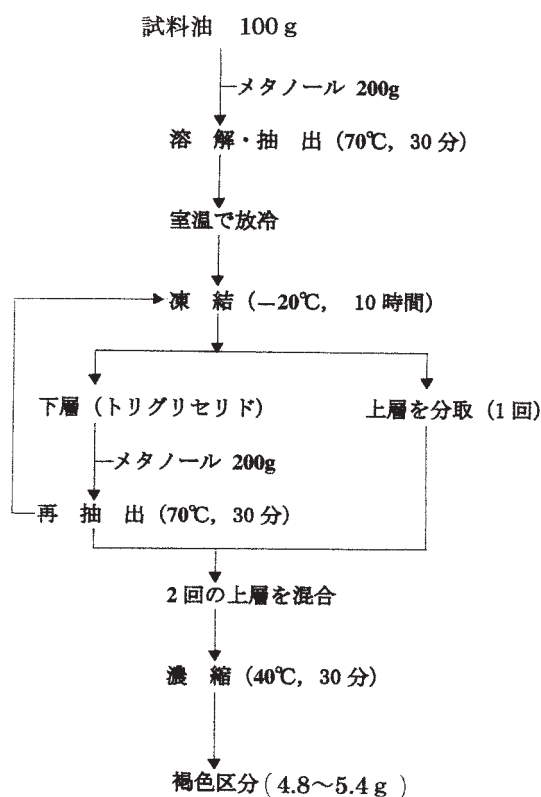


図1 ゴマ油・熱メタノール可溶性成分抽出法

3. 臓器の摘出と血清分離

ラットは飼育終了後, 10時間絶食させ軽いエーテル麻酔を施して解剖, 採血し, 肝臓および腎臓を摘出して各湿重量を求め, 組織は還流した後, 生理食塩水で洗浄し, 80 のフリーザー(SANYO MDF 192)に保存した。

血液は採血後30分間室温に静置し, 3,000r.p.m.で10分間遠心分離(KUBOTA, KC-70)した上清を血清サンプルとした。

4. 熱メタノール可溶性抽出物(褐色区分)中セサミン量の分析

生原油, ゴマサラダ油, 強焙煎油および弱焙煎油それぞれの熱メタノール抽出物区分(褐色区分)のリグナン量をHPLC(Shimadzu-LC6ADシリーズ 検出器UV290nm, Develosil ODS-5, 4.6 mm×250mm, 野村化学製, 送液はMeOH:H₂O=75:25, 流速1.0mL/min)で分析した。そして生原油, ゴマサラダ油, 強焙煎油および弱焙煎油に含まれる粗リグナン抽出物のセサミン量を算出した。またゴマサラダ油については, 脱色工程で約50%がエピセサミンに変化するためセサミンおよびエピセサミンの合計をセサミン含有量とした。

5. 血清成分の分析

総コレステロール(T-cho)は、和光純薬工業(株)のキット試薬、総コレステロールEテストワコー(コレステロールオキシダーゼ・DAOS法)を用いた。トリグリセリド(TG)は(株)アズエルのネスコートTGキットGN(L-グリセロール3-リン酸オキシダーゼ・酵素法)を用いた。チオバルビツール酸(TBA)反応陽性物質(TBARS)は、内藤ら¹³⁾の方法により測定した。

6. 肝臓および腎臓のチオバルビツール酸反応陽性物質(TBARS)の測定

凍結しておいた臓器(肝臓および腎臓)を3mM-トリス塩酸バッファ(3mM-Tris, 2.5M-ショ糖, 0.1mM-EDTA pH7.4)を用いて10%ホモジネートとした。これを試料溶液とし、内藤ら¹³⁾の方法により測定した。

7. 統計処理

得られたデータは、分散分析を行い、F値が有意($p < 0.05$)である場合には、DuncanのMultiple range testを用いて各群の平均値間の有意差($p < 0.05$)検定をおこなった。

表1 熱メタノール抽出物投与ラットの飼料組成(%)

材 料	無添加群	試験食群
カゼイン ¹⁾	25.0	25.0
コーンオイル ²⁾	9.0	9.0
セルロース ¹⁾	4.0	4.0
ミネラル混合 ³⁾	4.0	4.0
ビタミン混合(AIN-76) ⁴⁾	2.0	2.0
コーンスターチ ¹⁾	56.0	56.0
ゴマ油・熱メタノール抽出物	—	0.5
褐色区分・セサミン量	—	24~50mg

1)日本クレア(株)、2)和光純薬工業(株)、3)ハーバー混合(オリエンタル酵母(株))

4)オリエンタル酵母(株)。

結果および考察

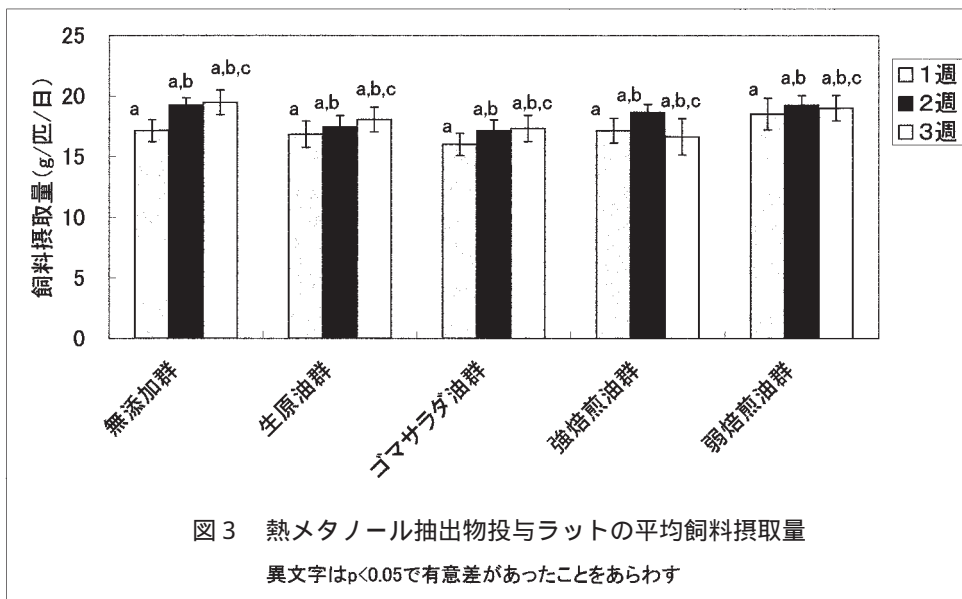
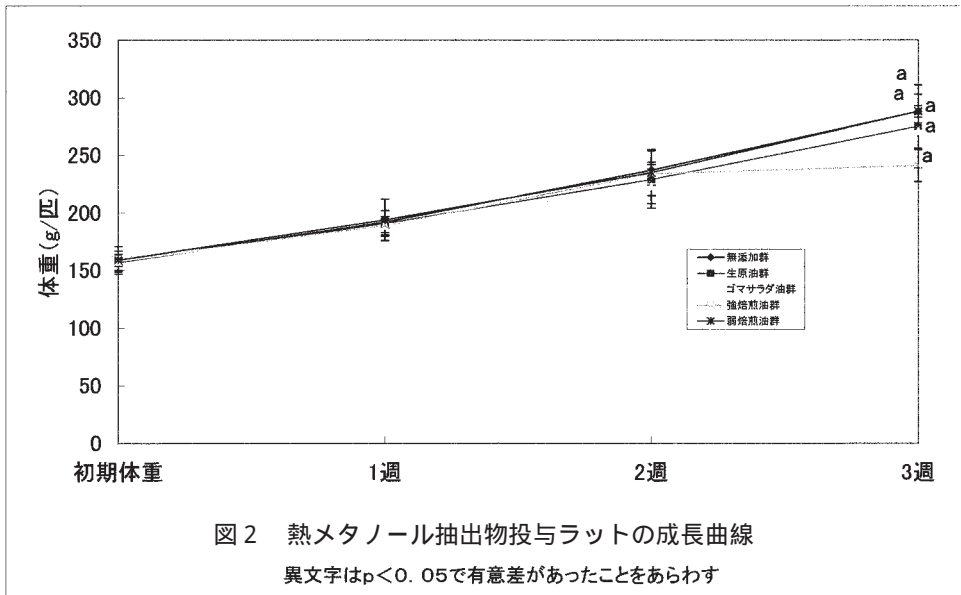
1. 熱メタノール可溶性抽出物(褐色区分)中のセサミン含有量

本実験に用いた生原油、ゴマサラダ油、強焙煎油および弱焙煎油中に含まれる褐色区分5g中のセサミン量は25~50mgであった。種子を焙煎して搾油するゴマ油では、焙煎条件により、香りだけでなく油の色も濃褐色となり、さらに抗酸化性も著しく高まることがわかっている¹¹⁾。さらにこの要因は、焙煎温度が高いほど油の褐変度ならびに酸化安定性が高くなると報告されている^{11), 12), 14)}。

2. 体重および平均飼料摂取量

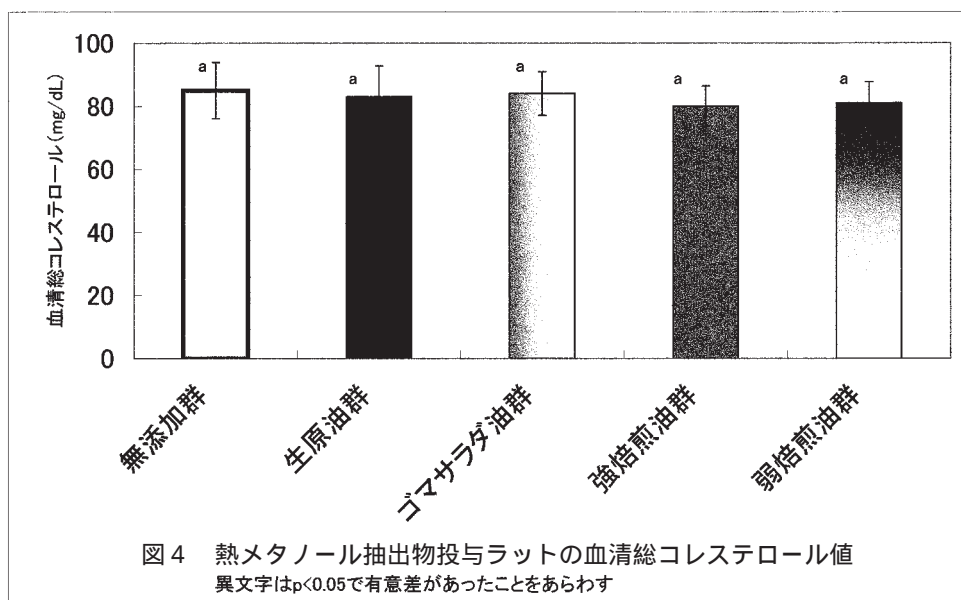
試験食投与期間中のラットの体重は図2に、平均飼料摂取量は図3に示した。体重は各群間に有意差がなく、飼育期間を通じていずれの群も生育は順調であった。また平均飼料摂取量も体重と同様に群間に有意差を認めなかったが、強焙煎油群の飼育3週目にわずかな減少傾向が観察された。これは今回投与した褐色区分は、ヒトには香ばしくて好ましいと感知されるゴマ油の焙煎の香りであっても、ラットの場合、焦げ臭のような焙煎風味は、あまり好まない傾向にあることが想定されていた。そのため強焙煎油の褐色区分は、ラットには経口的に好まれない

かったものと思われる．しかし本実験に用いた褐色区分は，褐色および淡褐色と焙煎温度により調製されているため色はついていたが，強い焙煎の香りはほとんどなく，溶媒のメタノールも完全に留去されていたため，摂取量に有意差が認められたり，成長に及ぼすほどの影響はなかったものと思われる．

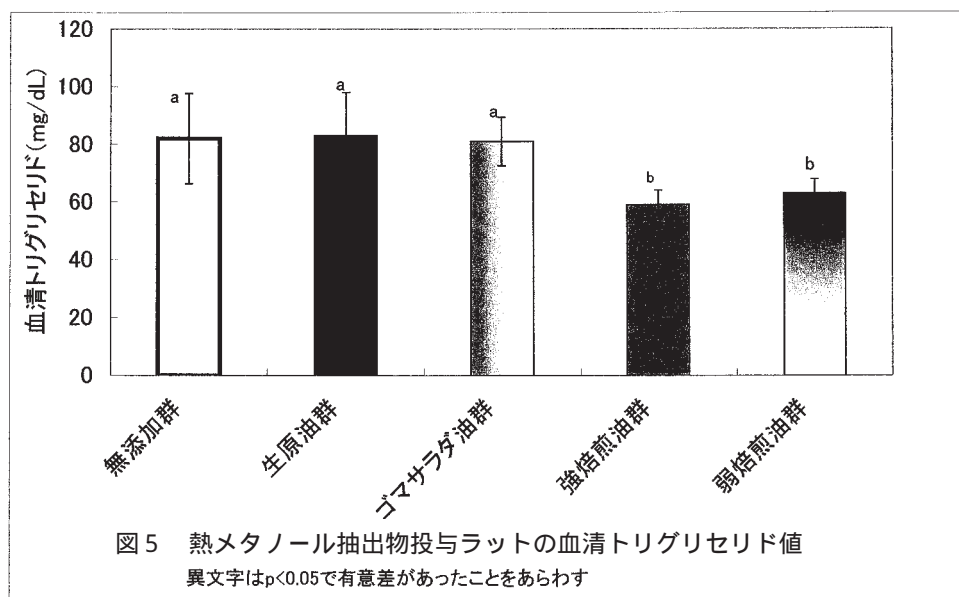


3. 血清脂質成分の変化

血清の総コレステロール (T-chol) 値は図 4 に示したとおり、未焙煎の生原油群に比べて強



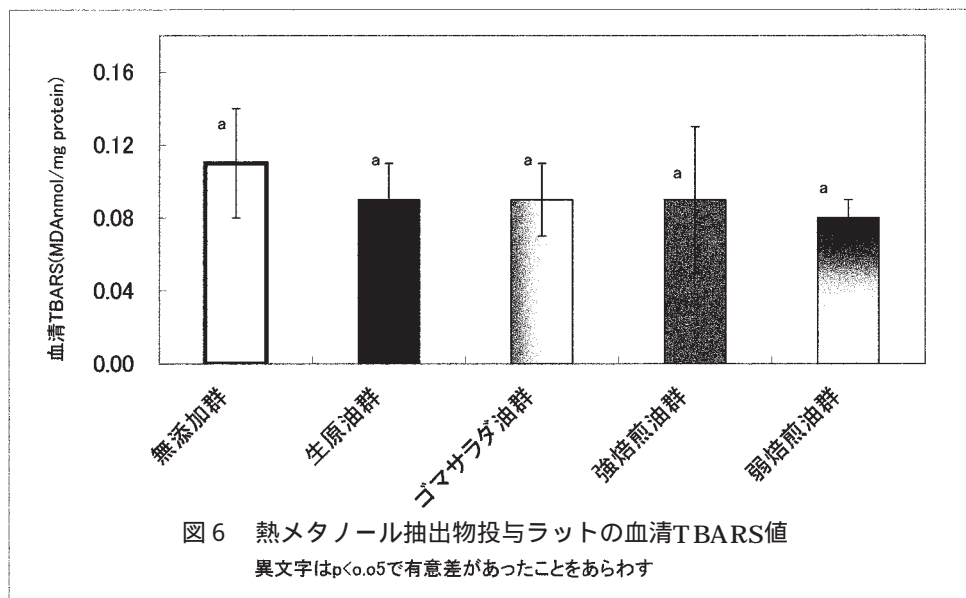
焙煎油群および弱焙煎油群でわずかに低下の傾向を示したが、群間にほとんど差は見られなかった。また血清のトリグリセリド (TG) 値の測定結果を図 5 に示した。TG は生原油群に比べて強焙煎油群と弱焙煎油群で有意 ($p < 0.05$) に低下し、なかでも強焙煎油群は最も低値となった。一般にゴマ種子中には、特徴的に存在するリグナン化合物が約 0.7% 以上含まれ、ゴマあるい



はゴマ油中の主要リグナンであるセサミンには、その機能性として脂質代謝の改善^{8),9),10)}や血清脂質の低下作用⁶⁾が知られている。これらの報告ではセサミンの投与量が、著者らの実験のほぼ10倍量となっている。また血清総コレステロール値の低下は、コレステロールを添加した高コレステロール食投与の場合に顕著な低下がみられると報告⁶⁾されている。本実験はコレステロール無添加食投与であり、褐色区分にセサミンが含まれてはいたが、コレステロール値の有意な低下には至らなかった。さらにTGが生原油群に比べて強焙煎油群ならびに弱焙煎油群で低下が顕著であったのは、セサミンの影響というよりは、むしろ焙煎により生じた褐色成分がTGの合成抑制につながったものと推察している。

4. 血清TBARS値の変化

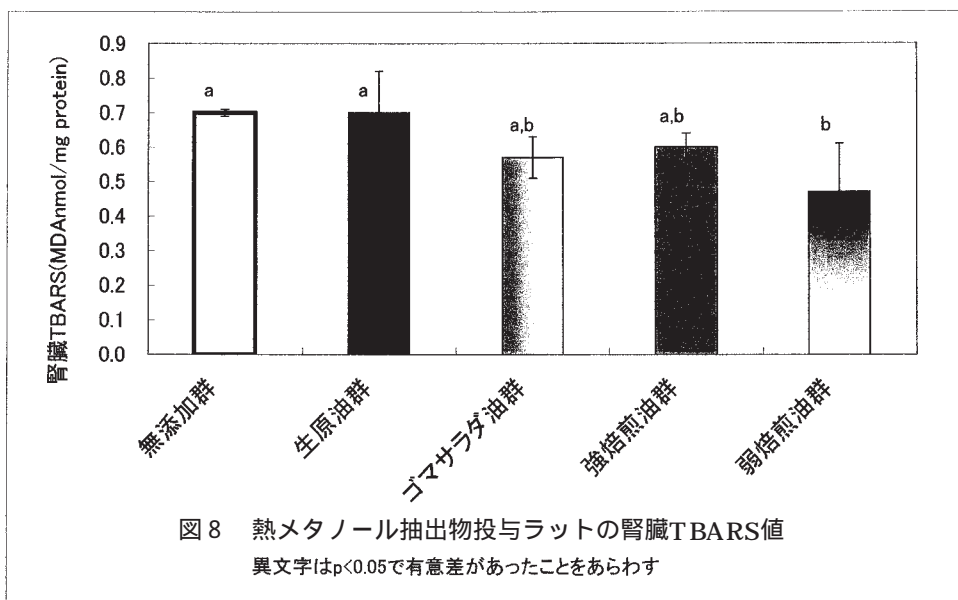
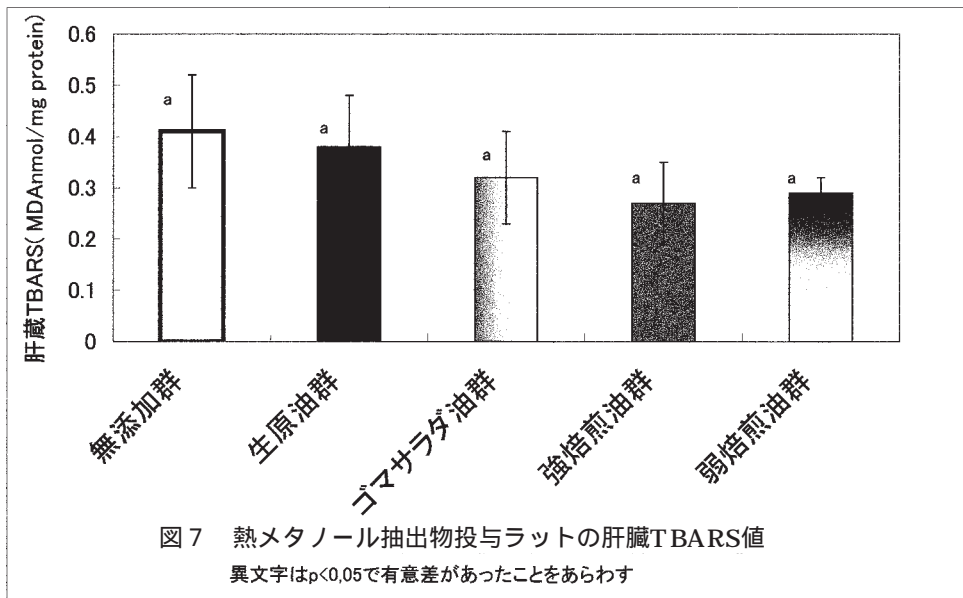
図6に血清TBARS値の測定結果を示した。血清中の過酸化脂質濃度の指標であるTBARS濃



度は、強焙煎油群では、未焙煎の生原油群およびゴマサラダ油群とほとんど差がみられず、弱焙煎油群でわずかに低下の傾向であった。TBARS値が焙煎強度による有意な差を認めなかったのは、飼育期間が3週(21日)と短期間であったため、褐色区分(ゴマ油・熱メタノール抽出物)投与による過酸化脂質の抑制効果が観察できなかったことも考えられる。しかし、無添加(対照)群と比較した場合、わずかではあるが褐色区分投与群で低下の傾向を示し、セサミンあるいはセサミン以外の褐色区分に含まれる成分が関与していることも推察できる。

5. 肝臓および腎臓のTBARS値の変化

肝臓および腎臓のTBARS値は、それぞれ図7、図8に示した。肝臓のTBARS値は、群間に有意な差は認められなかったが、強焙煎油群が最も低い傾向となり、次いで弱焙煎油群<ゴマサラダ油群<生原油群の順となった。これは血清TG値とまったく同様の傾向を示しており、未焙煎・生原油群の褐色区分に含まれるセサミンをはじめとするリグナン類の作用だけでなく、焙煎により生じたメラノイジン様物質などの抗酸化成分が関与していると考えられる。また腎



臓のTBARS値は、生原油群に比べて弱焙煎油群で有意に低下し、焙煎度の高い強焙煎油群と生原油群間には有意な差は認められなかった。焙煎度の高い強焙煎油群で有意な低下がみられなかったことについては、今後さらに検討する必要がある。

本研究では、未焙煎・焙煎ゴマ油に含まれるグリセリド以外のメタノール可溶性成分（褐色区分）を抽出し、これら褐色区分のうち焙煎強度の強い強焙煎油における褐色区分の血清脂質の改善、とくに血清TGの低下、肝臓および腎臓への脂質過酸化抑制の効果が推察されたことにより、褐色区分に含まれる酸化抑制成分のさらなる研究を展開したい。

要 約

6週齢のWistar系雄ラットを用い、ゴマ油熱メタノール抽出物無添加の無添加（対照）群、生原油群、ゴマサラダ油群、強焙煎油群および弱焙煎油群の5群に分け、無添加（対照）群以外の試験食群4群には、各ゴマ油・熱メタノール抽出物を0.5%添加した飼料を経口投与し3週間飼育した。そしてゴマ油・熱メタノール可溶性抽出区分の酸化抑制効果をみるとともに血清脂質、肝臓および腎臓のTBARS値を調べた。

結果は、以下のとおり

飼育期間中の体重および平均飼料摂取量は、群間に有意差がなく、いずれの群も生育は順調であった。血清総コレステロール（T-chol）濃度は、生原油群に比べて褐色区分の強焙煎油群および弱焙煎油群でわずかに低下の傾向であった。血清トリグリセリド（TG）値は、生原油群に比べて強焙煎油群および弱焙煎油群が有意（ $p < 0.05$ ）に低下し、強焙煎油群はもっとも低値となった。過酸化脂質濃度の指標である血清TBARS値は、生原油群に比べ強焙煎油群と差がなく弱焙煎油群でわずかに低下の傾向であった。肝臓のTBARS値は、群間に有意差がみられなかった。腎臓のTBARS値は、生原油群に比べて弱焙煎油群で有意（ $p < 0.05$ ）に低下したが、強焙煎油群と有意な差はみられなかった。

本研究を行うにあたり、試料を提供していただきました「かどや食品株式会社」に謝意を表します。

また、本研究の一部は本学における特別研究助成（平成15～16年度）により行われたものであることを記し、謝意を表します。

文 献

- 1) 福田靖子：伝統食品の研究，ゴマの歴史と科学，No.17，9-14（1996）
- 2) W. D. MacRae, G. H. N. Towers： *Phytochemistry*, 23, 1207-1220（1984）
- 3) 飯塚佳恵，並木満夫，山下かなへ： -トコフェロールを含むトコフェロール，トコトリエノール同族体混合物に対するゴマリグナン物質のビタミンE活性増強効果，家政誌，48(7)，575-581（1997）
- 4) S. Kiya, Y. Matsumura, S. Morimoto, K. Akimoto, M. Furuya, N. Oka and K. Tanaka： Antihypertensive Effects of Sesamin. . Protection against Two-Kidney, One-Clip Renal Hypertention and Cardiovascular Hypertrophy, *Biol.Pharm. Bull.*, 32, 629-638（1995）
- 5) K. Akimoto, Y. Kitagawa, T. Akamatsu, N. Hirose, M. Sugano, S. Shimizu and H. Yamada： Protective Effects of Sesamin against Liver Damage Caused by Alcohol or Carbon Tetrachloride in Rodents, *Ann. Nutr. Metab.*, 37, 218-224（1993）
- 6) Y. Hirose, T. Inoue, K. Akimoto, K. Nishimura, M. Sugano, S. Shimizu and H. Yamada： *J Lipid Res.*, 32, 629-638（1991）
- 7) L. Ashakumary, I. A. Rouyer, Y. Takahashi, T. Ide, N. Fukuda, T. Aoyama, T. Hashimoto and M. Sugano： *Metabolism*, 48, 1303-1313（1999）
- 8) 井出 隆：食品成分による肝臓脂肪酸変化と合成系の制御，栄食誌，55（2），105-110（2002）

- 9) 井出 隆：食品成分による肝臓脂肪酸代謝と血清脂質濃度調節機能，日食工誌，48 (8)，555-563 (2001)
- 10) T. Ide, L. Ashakumary, Y. Takahashi, M. Kushiro, N. Fukuda and M. Sugano : Sesamin, a sesame lignan, decreases fatty acid synthesis in rat liver accompanying the down-regulation of sterol regulatory element binding protein-1, *Biochimica et biophysica Acta*, 1534, 1-13 (2001)
- 11) 小泉幸道：日食工誌，43，689-694 (1996)
- 12) 福田靖子，中田徳子：スライスアーモンドとゴマ種子の焙煎温度が抗酸化性に及ぼす影響，日食工誌，46 (12)，786-789 (1999)
- 13) 内藤周幸，山中 健：動脈硬化性疾患と過酸化脂質．日本老年医学会誌，15，187-191 (1987)
- 14) 福田靖子：ゴマの機能性成分．食品と開発，32 (6)，11-13 (1997)

Abstract

The effect of dietary consumption of hot methanol extracts from unroasted and roasted sesame oils on lipid peroxidation was investigated using male Wistar rats each weighing about 280g. The rats were divided into 5 groups; control, unroasted sesame oil, sesame salad oil, heavy-roast sesame oil and light-roast sesame oil groups. All the rats were fed a 20% casein, 9 % corn oil, 4 % cellulose, 4 % mineral mixtures 2 % vitamin mixtures and 56% -corn starch for 3 weeks. The experimental diets groups were prepared by adding to this diet a 0.5% hot methanol extracts from unroasted or roasted sesame oils. There was no significant difference in either body weight or food intake between any of the experimental diet groups and the unroasted sesame oil group. The serum total cholesterol levels in the heavy-roast sesame oil and the light-roast sesame oil groups tended be lower than that in the un-roasted sesame oil group. The serum triglyceride levels was significantly lower in the roasted sesame oil groups than in the unroasted sesame oil groups. The serum TBARS levels in the roasted sesame oil groups showed no significant differences compared with the un-roasted sesame oil group. The liver TBARS levels in the roasted sesame oil groups showed no significant differences compared with the unroasted sesame oil group. Although the TBARS levels in kidney reduced in the heavy-roast sesame oil group. These results suggest that the hot methanol extract from heavy-roast sesame oil improves lipid peroxidation and serum lipids in rats.

要旨：日本語訳

体重約280gのWistar系雄ラットを用いてゴマ種子・熱メタノール抽出物の過氧化物抑制効果を調べた。ラットは対照群，非焙煎のゴマ油群，ゴマサラダ油群，強焙煎ゴマ油群，弱焙煎ゴマ油群の5群に分けた。飼料はカゼイン20%，コーンオイル9%，セルロース4%，ミネラル混合4%，ビタミン混合2%，コーンスターチ56%とし3週間飼育した。試験食群には，ゴマ油・熱メタノール抽出物を0.5%添加した。体重および平均飼料摂取量は群間に有意差はなかった。血清T-chol濃度は未焙煎油群に比べて強焙煎および弱焙煎油群が低下の傾向であった。血清TG濃度は未焙煎油群に比べて強焙煎油群が有意に低下し、次いで弱焙煎油群が低値となった。血清TBARS値は，群間に有意差がなかった。焙煎油群の肝臓のTBARS値は，未焙煎油群と比べて有意差はなかった。しかし，腎臓のTBARS濃度は，非焙煎油群に比べて焙煎油群が有意の低値となった。

以上の結果より，強線焙煎油・熱メタノール抽出物の血清脂質ならびに脂質過酸化の抑制が示唆された。