

# ワイルドライス (*Zizania palustris*) に含まれる脂質と ポリフェノールの特性

相沢修<sup>§</sup>、齋藤優介、西繁典、小疇浩\*、弘中和憲\*、小嶋道之  
(受付: 2007年4月27日, 受理: 2007年6月22日)

Properties of the Lipids and Polyphenols in Wild Rice (*Zizania palustris*) Seeds

Osamu Aizawa<sup>§</sup>, Yusuke Saito, Shigenori Nishi, Hiroshi Koaze\*,  
Kazunori Hironaka\* and Michiyuki Kojima

## 摘要

ワイルドライス (*Zizania palustris* L., K<sub>2</sub> 品種) は、炭水化物 (68%) が主要成分のデンプン性種子で、他にタンパク質 14%、灰分 2%、脂質 1.4%などを含有していた。また、種実に含まれる脂質は、中性脂質が 75%で、リン脂質 15%と糖脂質 10%から成り、中性脂質の主要クラスはトリアシルグリセロール (TG) で、全脂質の 68%を占めていた。品種間における脂質成分と組成割合には、ほとんど差異は認められなかった。TG の主要分子種は、パルミトイルジリノレン (PLL)、パルミトイルリノレオイルリノレニン (PLLn)、ジリノレオイルリノレニン (LLLn)、トリリノレン (LLL)、オレオイルリノレオイルリノレニン (OLLn) などで 60%を占め、他に少なくとも 11 種類の分子種が認められた。また、TG の構成脂肪酸位置分析により、sn-1, 3 位には 16:0、18:2 および 18:3 が、sn-2 位には 18:2、18:3、18:1 および 16:0 が認められた。また、4 種類のステロール脂質; 遊離ステロール (FS)、ステロールエステル (SE)、ステリルグリコシド (SG)、アシルステリルグリコシド (ASG) の構成デスマチルステロール (DeMS) は、全てシトステロール > カンペステロール > スチグマステロールの順であったが、SE の構成デスマチルステロールであるスチグマステロールの割合は、他クラスのそれに比べて約 10%程度低い値を示した。また、種実のポリフェノール含量は 0.04%-0.06%、種皮のそれは 0.18%-0.28%であり、品種により含量が顕著に異なっていた。しかし、種実ポリフェノール組成は、品種間では同様に、分子量が 534 及び 564 の 2 種類の構造未知のポリフェノールであった。

キーワード: 脂質、トリアシルグリセロール、分子種、ポリフェノール、ワイルドライス

## I 緒言

ワイルドライス (*Zizania palustris* L.) は、アメリカ東部メイン州からウィスコンシン州とカナダ東部から

南のフロリダ州までの河畔湿地帯や沼地などの淡水と汽水の双方に自生している大型の野草である。収穫量は少量であるが、古くはアメリカン・インディアンの採集

帯広畜産大学畜産科学科食料生産科学講座、食品栄養科学研究室 (<sup>§</sup>現、昭和商事(株)研究開発室)、\*食品工学研究室 (Laboratory of Food Nutritional Science, \*Laboratory of Food engineering, Department of Food Production Science, School of Agriculture, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, 080-8555, 11, nishi-2-sen, inada-cho, obihiro, Hokkaido, Japan <sup>§</sup>The research and development section, Showa Shoji Co., 862-8014, 23-gou, 12-ban, Ishihara-1-choume, Kumamoto, Japan

食糧として、また現在は、商業栽培が行われ、風味と歯切れの良さが好まれる高価なデリカシーとして利用されている(Oelke et al. 1982; Hayes et al. 1989)。ワイルドライスは耐冷性が強く、イネの生えない寒冷湿地にも生育しやすい点で、将来の有用な穀物遺伝資源として注目されている(小山 1984)。また、ワイルドライスの蛋白質含量は約 14%で、玄米の 2 倍程度含まれ、ビタミン B 群もイネより多いことが報告されている(Terrell et al. 1975; Oekle 1976; Wang et al. 1978)。しかし、熟果が落ちやすく、果実が同時には熟さないなどの利用上の欠点があり、栽培品種としてさらなる改良が必要である。また湿地や沼地に生えているために機械化が困難で、収穫方法の検討も必要である。今回は、ワイルドライスの栄養機能性を解明する一環として、北海道で試験的に栽培された 2 品種のワイルドライス種実に含まれる主要な脂質の特徴と、ポリフェノール含量および抗酸化活性について明らかにした。

## II 実験方法

北海道音更町で試験栽培されたワイルドライスの K<sub>2</sub> 品種と Netum 品種は、手作業で種皮を除き、種実のみを脂質成分の分析に用いた。また、一般成分の分析、全脂質の抽出、各脂質クラスの分画および構成脂肪酸分析等は既報に従った(Kojima et al. 2006; 小嶋ら 1991; 間野ら 1989)。トリアシルグリセロール (TG) の構成脂肪酸位置分析は、パンクレアチンリパーゼを用いて検討した(間野ら 1989)。ステロールエステル (SE) 画分は、1N-エタノール性水酸化カリウムを加えて 100°C で 2 時間加熱分解後、また極性ステロール脂質はメタノリシス後、それぞれ薄層クロマトグラフィー (TLC) で構成 DeMS を分取して、内部標準として 5 $\alpha$ -コレステレンを用い、ガスクロマトグラフィー (GC) により組成分析を行った(小嶋ら 1991)。TG 分子種分析は、ODS カラムを接続した Shimadzu LC-6A 高速液体クロマトグラフィー (HPLC、島津製作所) を用い、流速 1ml/min、RI 検出器 (ERC-7520 型) を用いて行った(間野ら 1989)。また、粉碎した種実及び種皮の 75%エタノール抽出液は、濃縮乾固後に蒸留水で 1 mg/ml に溶解して HP-20 カ

ラムに供し、吸着画分のエタノール溶出液をワイルドライスのポリフェノールとした。ポリフェノール含量と成分分析および抗酸化活性の測定は前報に従った(小嶋ら 2006)。また、LC-MS 分析は島津製作所分析センターに依頼した。

## III 結果および考察

### 1. 脂質成分の特性

ワイルドライス ; K<sub>2</sub> 品種の主要成分は、約 68%が炭水化物であり、タンパク質は約 14%、無機質は約 2%、脂質は約 1.4%であった。ワイルドライスの脂質含量は、穀物の代表である玄米 (*Oryza sativa* L.) のそれと比較すると若干低かったが、タンパク質含量はそれの約 2 倍高い値を示した(小山 1984)。

K<sub>2</sub> 品種の全脂質に含まれる主要な構成脂肪酸は、パルミチン酸 (16:0, P)、オレイン酸 (18:1, O)、リノール酸 (18:2, L) およびリノレン酸 (18:3, Ln) で、4 者で全体の約 98%以上を占めていた。また、全脂質の C16 酸/C18 酸値は 0.29 で玄米のそれと類似した値であったが、全脂質の不飽和化の程度; 18:1 に対する 18:2 と 18:3 の和の値は 0.25 で、玄米全脂質の不飽和化の程度(Nakamura et al. 1995)よりも顕著に大きな値であった。この理由として、玄米全脂質に比べワイルドライス全脂質の 18:1 の割合が低く、18:3 の割合が高いことに起因していると判断した(データ省略)。

種実に含まれる中性脂質、糖脂質およびリン脂質の割合は 75:11:17 であり、中性脂質クラスは TG が最も主要で約 61%を占めていた(Table 1)。また、主要なリン脂質クラスは 4 種類で、ホスファチジルコリン(PC)はリン脂質中約 27%と主要で、次いでホスファチジルエタノールアミン(PE)、ホスファチジルイノシトール(PI) およびホスファチジルグリセロール(PG)が 4:2:1 の割合で認められた。また、糖脂質画分の主要成分は、ASG とジガラクトシルジアシルグリセロール(DGDG)で、それらの相対割合は糖脂質中で各々約 20%、SG およびセラミドモノヘキリシド(CMH)は各々約 10%含まれていて、モノガラクトシルジアシルグリセロール(MGDG)は微量(全脂質中 1%)であった。

Table 1 Fatty acid composition of wild rice K2 variety

	TG	MGDG	DGDG	ASG	PE	PC	PI	PG
16:0	20	12	11	42	25	28	42	34
18:0	1	3	3	6	3	2	4	8
18:1	16	10	9	16	14	22	10	16
18:2	41	25	25	17	38	35	26	18
18:3	22	50	52	19	19	13	18	22
Others	<1	<1	<1	<1	1	<1	<1	2
Ratio in TL	68	1	2	3	4	7	2	1
U.I.*	1.74	2.10	2.15	1.07	1.47	1.31	1.16	1.20

\*Unsaturation index = (%18:1+%18:2×2+%18:3×3)/(100)

各脂質クラスの脂肪酸組成は、TG、PE および PC のグループ、DGDG および MGDG のグループ、ASG、PI および PG のグループでそれぞれに特徴が認められた (Table 1)。主要な脂質クラスである TG の脂肪酸組成は、全脂質のそれをよく反映していて、TG の 18:1 に対する 18:2 と 18:3 の和は、玄米のそれとは著しく異なっていた (Nakamura et al. 1995)。また、PE と PC の C16 酸/C18 酸値は、PI と PG のそれとは若干違いが認められ、後者の方が前者よりも 16:0 の割合が高く、18:1 及び 18:2 の割合が低いことに由来することが推察された。また、ワイルドライスリン脂質の不飽和の程度は、玄米リン脂質のそれらよりも顕著に高かったが、ワイルドライスの各リン脂質クラスに 18:3 含量が高いことに由来することが推察された。また、主要なグリセロ糖脂質である MGDG と DGDG の構成脂肪酸組成は、両者とも 18:3 が主要で、約 50%以上を占めていたが、玄米グリセロ糖脂質の組成とは顕著に異なっていた (Nakamura et al. 1995)。また、ここでは詳細を示していないが、K<sub>2</sub> 品種と Netum 品種の各脂質クラスの脂肪酸組成には注目すべき違いはほとんど認められなかった。

種実から調製した TG を逆相 HPLC に供して TG 分子種分析を行ったところ、少なくとも 16 種の分子種ピークが検出された (Table 2)。前報 (間野ら 1989) と同様にして分子種同定を行ったところ、主要 TG 分子種は、PLL、PLLn、LLLn、LLL、OLLn、POL 等であり、18:2 や 18:3 を含む分子種が多く、米糠のそれとは顕著に異なっていた (間野ら 1989)。特に、米糠 TG には 18:3 を含有する PLLn や LLLn 分子種は 2%未満しか含まれてい

なかったが、ワイルドライスでは各々 10%以上含有されていた (Table 2)。また、パンクレアチンリパーゼを用いたワイルドライス TG の sn-2 位の主要な構成脂肪酸を検討したところ、18:2、18:3、18:1 および 16:0 が認められ、Table 2 で示したワイルドライスの TG 分子種組成が多様であること、sn-2 位にも若干ではあるが 16:0 を構成成分とする TG 分子種が存在することを支持した。また、ワイルドライス 2 品種の TG 分子種には顕著な差は認められなかった (Table 2)。

Table 2 Molecular species of TG in wild rice (%)

TG species	K2	Netum
LnLnLn	0.9	1.4
LLnLn	3.4	3.0
LLLn	10.5	11.8
PLnLn	6.3	4.9
LLL	9.9	9.5
OLLn	9.8	9.5
PLLn	12.3	12.1
OLL	5.5	5.1
PLL	17.3	18.2
PPLn	2.7	2.8
OOL	2.9	2.4
POL	8.2	7.8
PPL	4.9	5.6
OOO	1.0	1.2
POO	2.9	2.9
PPO	1.5	1.7

Abbreviation: Ln: linolenic acid, L: linoleic acid, O: oleic acid, P: palmitic acid

植物のステロール脂質として 4 クラス: SE、FS、SG および ASG が存在するが、その 4 クラスのステロール脂質を構成している主要な DeMS 組成を Table 3 に示した。いずれのステロール脂質でも、シトステロールが最も多い構成ステロールであり、次いでカンペステロール、ス

Table 3 Sterol composition in wild rice

Variety	DeMS	FS	SE	SG	ASG
K2	Campesterol	19.6	25.6	18.0	17.0
	Stigmasterol	16.9	4.1	12.4	15.5
	Sitosterol	63.6	70.3	69.6	67.5
Netum	Campesterol	21.5	27.5	18.9	20.4
	Stigmasterol	15.1	5.7	13.0	14.4
	Sitosterol	63.4	66.8	68.1	65.2
Ratio in TL(%)		4	1	2	3

Abbreviation; FS: free sterol, SE: sterol ester, SG: sterylglycoside, ASG: acylsterylglycoside

チグマステロールであった。しかし、SE の構成ステロールは他のクラスのそれとは構成割合が異なり、スチグマステロールが 4-6%程度で他のクラスに比べ 1/2 - 1/4 を占めていた。

## 2. ポリフェノール含量と特性

ワイルドライスの種実に含まれるポリフェノール含量は、K<sub>2</sub> 品種が 572.2 μg/g、Netum 品種が 405.7 μg/g であったが、両品種ともに種皮のポリフェノール含量は種実のそれよりも高い値を示した (Table 4)。品種により、ポリフェノール含量は多少異なり、Netum 品種の種皮に含まれるポリフェノール含量は、K<sub>2</sub> 品種のそれよりも約 1.5 倍程度高い値を示し、品種により差異のあることが推察された。しかし、種実のポリフェノール含量は、逆に K<sub>2</sub> 品種の方が高い値を示した。また、ワイルドライスに含まれるポリフェノール含量と DPPH 法による抗酸化活性との間には、正の相関関係が認められた (データ省略)。また、両品種の種実ポリフェノールを逆相 HPLC に供して成分分析を行ったところ、両品種共に 2本のピークが認められた。LC-MS 分析により、それぞれのピークの分子量は、m/z534 及び m/z 564 であった。また、種皮に含まれるポリフェノール成分は、種実のそれとは顕著に異なり、少なくとも 10 ピークが認められ、LC-MS 分析の結果、各ピークの分子量は m/z380、m/z410、m/z440 等であったことから、溶出時間の異なるピークの間で分子量が同じであったことから、複数の異性体の存在を推定している。今後、成分単離後に、抗酸化活性本体の構造を解明したいと考えている。

Table 4 Polyphenol content of seed and husk in wild rice

Variety		Polyphenol (μg/g)
K2	Seed	572.2±20.0
	Husk	1783.6±39.8
Netum	Seed	405.7±11.4
	Husk	2758.9±46.1

このように、品種や部位の違いにより含まれるポリフェノール含量および組成に違いのあることが示唆されたことから、今後、品種の特性を考慮したワイルドライス素材の探索、品種改良、その利用等が期待される。

**謝辞:** この研究は帯広畜産大学 21 世紀 COE プログラム研究の一環として行った。

## 参考文献

- Hayes PM, Stucker RE, Wandrey GG. 1989. The domestication of American wildrice (*Zizania palustris* Poaceae). *Economic Botany* 43:203-214
- 小嶋道之, 長澤丈志, 古川直樹, 毛利英孝, 大西正男, 伊藤精亮. 1991. マメ科種子中のグリセロ脂質、ステロール脂質およびスフィンゴ脂質の化学的特性. *日本食品科学工学会誌* 38:1076-1085
- Kojima M, Shimizu H, Ohba K. 2006. Dietary fiber quantity and particle morphology of an (bean paste) prepared from starchy pulses. *Journal of Applied Glycoscience* 53:85-89
- 小嶋道之, 山下慎司, 西繁典, 齋藤優介, 前田龍一郎. 2006. 小豆ポリフェノールの生体内抗酸化活性と肝臓保護作用. *日本食品科学工学会誌* 53:386-392

- 小山鐵夫. 1984. 資源植物学, pp. 145-147, 170-171, 講談社, 東京
- 間野康男, 大西正男, 佐々木茂文, 小嶋道之, 伊藤精亮, 藤野康彦. 1989. 米糠および数種の油糧種子中のトリアシルグリセロールの分子種. 日本栄養・食糧学会誌 42:251-258
- Nakamura T, Ohnishi M, Kojima M, Mano Y, Inazu O, Ito S. 1995. Comparative analyses of fatty acid compositions in rice grain glycerolipids among three cultivars with different chilling susceptibilities. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 59:2309-2311
- Oelke EA. 1976. Amino acid content in wild rice (*Zizania aquatica* L.) grain. *Agronomy Journal* 68:146-148
- Oelke EA, Grava J, Noetzel D, Barron D, Percich J, Schertz C, Strait J, Strucker R. 1982. Wild rice production in Minnesota, pp1-38, University of Minnesota, Agricultural Extension Service, St. Paul
- Terrell EE, Wisner WJ. 1975. Protein and lysine contents in grains of three species of wild rice (*Zizania*: Gramineae). *Botanical Gazette* 136:312-316
- Wang HL, Swain EW, Hesselstine CW, 1987. Gumbwann MR. Protein quality of wild rice. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 26:309-316

(OLLn), but at least 11 other molecular species were found. A position analysis of TG fatty acids showed 16:0, 18:2, and 18:3 at positions sn-1 and -3, and 18:2, 18:3, 18:1, and 16:0 at position sn-2. Desmethyl sterols, constituting the free sterols (FS), sterol esters (SE), steryl glycosides (SG), and acylsteryl glycosides (ASG) were in the order of sitosterol > campesterol > stigmaterol. However, the ratio of the desmethyl sterol stigmaterol to the other sterol lipids was about 10% lower in SE than in other classes. Polyphenol content was 0.04-0.06% in seed and 0.18-0.28% in seed coat, but varied markedly among cultivars. However, seed contained the same two unknown polyphenols, with molecular weights of 534 and 564, regardless of cultivar.

**Keyword** : lipids, triacylglycerol, molecular species, polyphenol, wild-rice

## Abstract

The seeds of wild rice (*Zizania latifolia* L., K2 cultivar) are starch-rich and contain carbohydrate (68%), as the main component. Besides carbohydrate, the seed contains 4% protein, 2% the non-combustible residue and 1.4% lipid. The lipids are about 75% neutral lipid, 15% phospholipid, and 10% glycolipid. The major class of the neutral lipids are the triacylglycerols (TG), which make up about 68% of total lipids. Lipid components and their composition vary little among cultivars. The main molecular species that make up 60% of TG, were palmitoyl dilinolein (PLL), palmitoyllinoleoyl linolenin (PLLn), dilinoleoyl linolein (LLLn), trilinolein (LLL), and oleoyllinoleoyl linolein