

県産資源を活用した機能性食品素材の開発

豊川哲也、鎌田靖弘、与座江利子

1 はじめに

人間は何千年もの間、自然界から有用な動植物を採取し利用してきた。また、現在利用されている薬剤の多くが自然界から得られた化合物をモデルとして開発されている。南西諸島は東洋のガラパゴスと呼ばれるほど多様な生物種が存在する地域であり、生物資源の集積度は極めて高く、医薬品や機能性食品素材の開発の面で潜在的な優位性が認められる。しかし、熱帯・亜熱帯地域の特徴として生物資源の多様性に富む反面、量的ポテンシャルは貧弱であることから、こうした原料を利用するにあたっては多用な生物資源を活用した軽薄短小かつ高付加価値型の製品開発が求められている。また、近い将来到来する高齢化社会では医療費の高騰が予想されるが、沖縄県は日本一の長寿県であるにもかかわらず、医療負担額は全国で最下位である。これは、長寿者の病気が少ない（健康である）ことと関連があると指摘されており、その要因の一つに伝統的な食材の関与が指摘されており、伝統的食事・食材の価値が見直されている。こうした高齢でありながら病気が少ないという沖縄型の特徴は、日本全体が高齢化社会を迎えつつある現在注目に値するものであり、沖縄県の食品素材に「高齢でありながら健康である」ためのヒントが隠されているといっても過言ではない。近年の研究の進展により、食品中に生体機能を調節する物質が存在し、栄養の吸収・免疫機能・物質代謝などを制御していることが明らかになりつつあり、こうした食品の機能を従来の栄養（1次機能）や味覚（2次機能）と区別して食品の第3次機能とよび、農学・栄養学・生化学などの分野で精力的に研究が行われている。本研究の最終的な目標は、沖縄県の豊富な生物資源を利用した高付加価値型製品の開発を行うことであり、その第一歩として伝統的食材の機能性について ACE 阻害活性、抗酸化活性、メラニン合成阻害活性、 α -アミラーゼ阻害活性および抗菌活性の検索を行った。

2. 検索試料と抽出液の調製

2-1 検索試料名と前処理および被検液の調製

本実験で入手した 62 種類の試料の生物資源または加工品名、学名、方言名、採取・購入場所および部位等を表 1 に示す。入手した試料は当日新鮮なうちに -40 °C の冷凍庫で凍結保存した。

表 1-1 検索試料となる生物名および加工品名など

生物和名および加工品名	学名	方言名	採取・購入場所および時期	備考
アカメガシワ	<i>Mallotus japonicus</i> (Thunb.) Muell. Arg.	ヤマユーナ	1999年8月 沖縄県公設市場	樹皮
アキノワスレグサ	<i>Hemerocallis fulva</i> L. var. <i>sempervirens</i> M. Hotta	クワンソウ	1999年8月 沖縄県公設市場	全草
アダン	<i>Pandanus odoratissimus</i> L. f.	アダン	1999年11月 石垣島	新芽
アマチャヅル	<i>Gynostemma pentaphyllum</i> (Thunb.) Mak.		1999年8月 沖縄県公設市場	葉部

表1-2

生物和名および 加工品名	学名	方言名	採取・購入場所および 時期	備考
イバラノリ	<i>Hypnea charoides</i> <i>Lamouroux</i>	モーイ	1999年8月 沖縄県公設市場	全草
ウイキョウ	<i>Foeniculum vulgare</i> Miller <i>Foeniculum</i>	ウイチョー、イ ーチョーパー	1999年8月 沖縄県公設市場	葉部、種子
ウコン	<i>Curcuma longa</i> L.(= <i>C.domestica</i> Valeten)	ウッチン、秋ウ コン	1999年6月 具志川市	根茎部
マクリ	<i>Digenea simplex</i> C. agardh	海人草、ナチ ヨーラ	1999年8月 沖縄県公設市場	全草
エラブウミヘビ	<i>Laticauda semifasciata</i> (Reinwardt)	イラブー	1999年8月 沖縄県公設市場	乾燥粉末
オオタニワタリ	<i>Asplenium antiquum</i> Makino	フィラムシル ー	1999年11月 石垣島	新芽
オゴノリ	<i>Gracilaria verrucosa</i> Papenfuss	カーナ	1999年11月 石垣島	全草
オトコヨモギ	<i>Artemisia japonica</i> Thunb.		1999年3月および 7月具志川市	地上部
ガジュツ	<i>Curcuma zedoaria</i> Roscoe <i>Curcuma</i>	ガゼツ、紫ウ コン	1998年3月 具志川市	根茎
カラシナ	<i>Brassica juncea</i> Czern. et Coss.		1999年6月 具志川市	葉部
カワラヨモギ	<i>Artemisia capillaris</i> Thunb.		1999年3月および 7月具志川市	葉部
キリンサイ	<i>Eucheuma denticulatum</i> Collins et Harvey	スーナ	1999年11月 石垣島	全草
クダモノケイソウ	<i>Passiflora edulis</i> Sims	パッションフル ーツ	1999年8月、 沖縄県公設市場、 糸満市	果実 醸造酒 全草
クビレツタ	<i>Caulerpa lentillifera</i> J. Agardh	海ぶどう	1999年8月 沖縄県公設市場	全草
月下美人	<i>Epiphyllum strictum</i> Br. & Rose		1999年10月 那覇市	花
ゲットウ	<i>Alpinia speciosa</i> K. Schum.	サンニン	1999年10月 具志川市	葉部
極楽鳥花	<i>Strelizia reginae</i> Banks	ストレリツチャ ー	1999年10月 南風原町	全草
サルカケミカン	<i>Toddalia asiatica</i> Lamk.	サラカチャー サラカチ	1999年8月 沖縄県公設市場	樹皮
シマヤマヒハツ	<i>Antidesma pentandrum</i> Merr.	アワグミ、ヤン トウシビヤマ	1999年10月 石垣市	種子部
ジュズダマ	<i>Coix lachryma-jobi</i> L.	シシダマ	1999年8月 沖縄県公設市場	地上部
シンロカイ	<i>Aloe barbadensis</i> Mill.	ロカイ、アロエ	1999年10月 具志川市	葉部
スクカラス	<i>Siganus spinus</i> (Linnaeus)	アミアイゴ、ス ク	1999年8月 沖縄県公設市場	全体
ツルムラサキ	<i>Basalla alba</i> L.	ジーピン	1998年7月 沖縄市	果実部
ニガウリ	<i>Momordica charantia</i> L. var. <i>pavel</i> Crantz	ゴーヤー	1999年8月 沖縄県公設市場	実
ニシヨモギ	<i>Artemisia princeps</i> Pamp. Var. <i>orientalis</i> Hara	フーチパー、 ヤタフツィ	1999年3月および 6月 具志川市	葉部
ネコノヒゲ	<i>Orthosiphon stamineus</i>	クミスクチン	1999年8月	地上部

表1-3

生物和名および 加工品名	学名	方言名	採取・購入場所お よび時期	備考
	<i>Benth.</i>	ネコヒゲソウ	沖縄県公設市場	
パイナップル	<i>Ananas comosus Merr.</i>	タイナップ	1999年8月 沖縄県公設市場	果実
バナナ	<i>Musa × paradisiaca L.</i> <i>ssp. Sapientum O. kuntze</i>	バサナイギー	1999年8月 沖縄県公設市場	果実
パパイヤ	<i>Carica papaya L.</i>	パパヤー、マ ンジュイー	1999年8月 沖縄県公設市場	果実 未熟果、熟果
キョウオウ	<i>Curcuma aromatica Salisb.</i>	ヤマウッチン 春ウコン	1999年3月 具志川市	根茎
バルバドスチェリ ー	<i>Malpighia glabra L.</i>	アセローラ	1999年8月 糸満市	醸造酒
バンジロウ	<i>Psidium guajava L.</i>	グアバ、バン シルー	1999年8月 沖縄県公設市場	果実、葉部
ヒトエグサ	<i>Monostroma ninidum</i> <i>Wittrock</i>	アーサー	1999年8月 沖縄県公設市場	全草
ヒハツモドキ	<i>Piper retrofractum Vahl</i>	ヒハチ、フィフ アチ	1999年10月 石垣市	種子部
ヒラミレモン	<i>Citrus depressa Hay.</i>	シークワーサ ー、クガニー	1999年8月 沖縄県公設市場	果実
へちま	<i>Luffa cylindrica Roem.</i>	ナーベラー	1999年8月 沖縄県公設市場	未熟果
ベニバナボロギク	<i>Crassocephalum</i> <i>crepidioides S. Moore</i>		1999年3月およ び5月 具志川市	葉部
ホオズキ	<i>Physalis alkekengi L. var.</i> <i>franchetii Hort.</i>	トーハナ	1999年8月 沖縄県公設市場	葉部
ホソバワダン	<i>Crepidiastrum lanceolatum</i> <i>Nakai</i>	ニガナ、モー ンジャナ	1999年8月 沖縄県公設市場	全草
マンゴー	<i>Mangifera indica L.</i>	マンゴー	1999年8月 沖縄県公設市場	果実
モズク	<i>Cladosiphon okamuranus</i> <i>Tokida</i>	スヌイ	1994年 糸満市	全草
らっきょう	<i>Alium chinense G. Don</i>	島らっきょう	1999年8月 沖縄県公設市場	全草
リュウキュウヨモ ギ	<i>Artemisia campestris L.</i>	ハママーチ、 ニタカヨモ ギ、インチン グサ	1998年7月およ び3月具志川市	葉部
ボタンボウフウ	<i>Peucedanum japonicum</i> <i>Thunb.</i>	サクナ、チョー ミーグサ(長 命草)	1999年8月 沖縄県公設市場	全草
ニンジン(東洋系)		チデークニ 島ニンジン	1999年8月 沖縄県公設市場	全草
甘藷		ンム、紅芋	1999年8月 沖縄県公設市場	品種名:宮農3 6号、ビセ、全 草
ネンジュモ		モーアーサ インクラゲ	1999年8月 沖縄県公設市場	全草
アテモヤ			1999年8月 沖縄県公設市場	果実
サトウキビ		ウージ	1999年11月 西原町	蒸煮バガス
くま			1998年 中国福建省	胆嚢

表 1 - 4

生物和名および 加工品名	学名	方言名	採取・購入場所お よび時期	備考
アガリクス茸			1999年11月 西原町	全草
アオリイカ		シルイチャー	1998年11月 浦添市	イカスミ
山羊		ヒージャー	1999年10月 具志川市	皮付き肉
八重山カズラ		エーマカンダ	1999年 具志川市	葉部
トウフヨウ A, B			1999年8月 那覇市,本部町	瓶詰め
泡盛蒸留粕		カシジェー	1998年 豊見城村	
腐乳			1998年 中国天津市	瓶詰め
エンサイ		エンツアイ	1999年8月 沖縄県公設市場	葉部

試料は適宜解凍して前処理を行った。すなわち、葉草類等のすでに乾燥品として入手した試料は適当な大きさに細切した後、遠心粉碎機 (MRK-Retsch, ZM100) にて破碎し 0.5mm のメッシュを通過した画分を抽出操作に供した。生鮮品 (野菜・果実など) は適当な大きさにカットし、凍結乾燥後同様に遠心粉碎機にて破碎した。海藻類など塩蔵品として入手した試料は、充分量の蒸留水で数回塩抜きした後、凍結乾燥し破碎した。前処理した試料を部位別に分け、抽出操作を行った。抽出操作は、ほとんどの試料で高速溶媒抽出装置 (日本ダイオネクス (株)、ASE-200) を使用した。すなわち、乾燥重量で 0.5-5g の試料を 5g のケイソウ土とともに抽出セルに添加し、抽出溶媒; 50%エタノール、溶媒量; 25ml、抽出温度; 82 °C、抽出時間; 10分、抽出回数; 2回の条件で抽出操作を行った。以上のスキームに従わなかった試料からの抽出法および被検液の調製法は後述するとおりである。62 種類の試料を部位別に分けたことにより、90 種類のアッセイに供する被検液が得られた。表 2 に被検液名とその由来となる試料名、前処理法、抽出に供し

表 2 - 1 被検液名の定義

被検液名	生物和名および加 工品名	前処理法	乾重量	抽出溶媒	抽出液量	可溶性固 形分
アカメガシワ	アカメガシワ	乾品を粉碎	5g	50%EtOH	40ml	3
クワンソウ	アキノワスレグサ	凍結乾燥後粉碎	2g	50%EtOH	40ml	2.6
アダン	アダン	凍結乾燥後粉碎	1g	50%EtOH	40ml	0.2
アマチャヅル	アマチャヅル	乾品を粉碎	5g	50%EtOH	30ml	3.6
モーイ	イバラノリ	塩抜・凍結乾燥後粉碎	2g	50%EtOH	25ml	1.4
ウイキョウ(実)	ウイキョウ	乾品を粉碎	5g	50%EtOH	40ml	2.4
ウイキョウ(葉)	ウイキョウ	凍結乾燥後粉碎	2g	50%EtOH	35ml	1.2
ウコン	ウコン	40°Cで乾燥後粉碎	5g	50%EtOH	50ml	1.6
海人草	マクリ	塩抜・凍結乾燥後粉碎	2g	50%EtOH	45ml	0.8
イラブー	エラブウミヘビ	乾品を粉碎	5g	50%EtOH	50ml	1
オオタニワタリ	オオタニワタリ	凍結乾燥後粉碎	1g	50%EtOH	20ml	1.8
カーナ	オゴノリ	塩抜・凍結乾燥後粉碎	1g	50%EtOH	20ml	4.2
オトコヨモギ3月	オトコヨモギ	70°C温風乾燥後破碎	5g	50%EtOH	50ml	1
オトコヨモギ7月	〃	70°C温風乾燥後破碎	5g	50%EtOH	50ml	1.4

表 2 - 2

被検液名	生物和名および加工品名	前処理法	乾重量	抽出溶媒	抽出液量	可溶性固形分
ガジュツ	ガジュツ	40°Cで乾燥後粉碎	5g	50%EtOH	50ml	1.4
カラシナ	カラシナ	70°C温風乾燥後破碎	2g	50%EtOH	50ml	0.6
カワラヨモギ3月	カワラヨモギ	70°C温風乾燥後破碎	5g	50%EtOH	50ml	2
カワラヨモギ7月	〃	70°C温風乾燥後破碎	5g	50%EtOH	50ml	1.6
スーナ	キリンサイ	塩抜・凍結乾燥後粉碎	1g	50%EtOH	10ml	0.2
パッションフルーツ	クダモノトケイソウ	凍結乾燥後粉碎	5g	50%EtOH	35ml	3
パッションフルーツワイン	〃	原液を使用				8
ウミブドウ	クビレツタ	塩抜・凍結乾燥後粉碎	0.5g	50%EtOH	3ml	
月下美人	月下美人	凍結乾燥後粉碎	0.5g	50%EtOH	40ml	0.2
ゲットウ(葉)	ゲットウ	凍結乾燥後粉碎	2g	50%EtOH	40ml	1.4
ゴクラクチョウカ(花)	極楽鳥花	凍結乾燥後粉碎	5g	50%EtOH	50ml	2.8
ゴクラクチョウカ(茎)	〃	凍結乾燥後粉碎	5g	50%EtOH	50ml	2.4
ゴクラクチョウカ(葉)	〃	凍結乾燥後粉碎	5g	50%EtOH	50ml	1.8
サラカチ(調製)	サルカケミカン	70°Cで乾燥後粉碎	5g	50%EtOH	50ml	0
サラカチ(市販)	〃	乾品を粉碎	5g	50%EtOH	40ml	2.2
シマヤマヒハツ	シマヤマヒハツ	乾品を粉碎	0.5g	50%EtOH	40ml	0.4
シシ玉(葉)	ジュズダマ	乾品を粉碎	5g	50%EtOH	27ml	1.6
シシ玉(実)	ジュズダマ	乾品を粉碎	2g	50%EtOH	40ml	0
アロエ(皮)	シンロカイ	凍結乾燥後粉碎	1g	50%EtOH	20ml	
アロエ(中身)	〃	凍結乾燥後粉碎	0.5g	50%EtOH	20ml	1
スクカラス	スクカラス	塩抜き後熱水抽出	26.6g	蒸留水	340ml	1
ツルムラサキ	ツルムラサキ	凍結乾燥後粉碎	2g	50%EtOH	40ml	1.2
ニガウリ	ニガウリ	凍結乾燥後粉碎	2g	50%EtOH	35ml	2
ニシヨモギ3月	ニシヨモギ	70°Cで乾燥後粉碎	5g	50%EtOH	50ml	1
ニシヨモギ6月	〃	70°Cで乾燥後粉碎	5g	50%EtOH	50ml	2.2
ハママーチ	リュウキュウヨモギ	70°Cで乾燥後粉碎	5g	50%EtOH	40ml	2
パイン	パイナップル	凍結乾燥後粉碎	2g	50%EtOH	40ml	3.8
島バナナ	バナナ	凍結乾燥後粉碎	5g	50%EtOH	22ml	5.8
パパヤ(未熟実)	パパヤ	凍結乾燥後粉碎	5g	50%EtOH	20ml	10
パパヤ(熟果)	〃	破碎後凍結乾燥	—	50%EtOH	—	3.2
春ウコン	キョウオウ	70°Cで乾燥後粉碎	5g	50%EtOH	50ml	1.4
アセロラワイン	バルパドステリー	原液を使用		原液		9.4
グワバ(葉、市販)	バンジロウ	乾品を粉碎	5g	50%EtOH	35ml	4.2
グワバ(葉、調製)	〃	70°Cで乾燥後粉碎	5g	50%EtOH	50ml	2.4
グワバ(実)	〃	凍結乾燥後粉碎	2g	50%EtOH	30ml	2.6
アーサ	ヒトエグサ	塩抜・凍結乾燥後粉碎	2g	50%EtOH	35ml	0.4
ヒハチ	ヒハツモドキ	乾品を粉碎	5g	50%EtOH	40ml	2.4
シークワーサー(皮)	ヒラミレモン	凍結乾燥後粉碎	5g	50%EtOH	30ml	5.2
シークワーサー(実)	〃	凍結乾燥後粉碎	2g	50%EtOH	40ml	2
へちま	へちま	凍結乾燥後粉碎	2g	50%EtOH	42ml	2.2
ベニバナボロギク3月	ベニバナボロギク	70°Cで乾燥後粉碎	5g	50%EtOH	50ml	2.2
ベニバナボロギク5月	〃	70°Cで乾燥後粉碎	5g	50%EtOH	50ml	1.2
ホウズキ	ホオズキ	70°Cで乾燥後粉碎	5g	50%EtOH	40ml	1.6
ニガナ(根)	ホソバワダン	凍結乾燥後粉碎	2g	50%EtOH	45ml	2.2
ニガナ(葉)	〃	凍結乾燥後粉碎	5g	50%EtOH	30ml	4.6
マンゴー	マンゴー	凍結乾燥後粉碎	5g	50%EtOH	35ml	3
モズク多糖類	モズク	既報の通り調製*		蒸留水		0.4
島らっきょう	らっきょう	凍結乾燥後粉碎	5g	50%EtOH	35ml	8
リュウキュウヨモギ3月	リュウキュウヨモギ	70°Cで乾燥後粉碎	5g	50%EtOH	50ml	1.4
リュウキュウヨモギ7月	リュウキュウヨモギ	70°Cで乾燥後粉碎	5g	50%EtOH	50ml	2.4
サクナ(根)	ボタンボウフウ	凍結乾燥後粉碎	5g	50%EtOH	40ml	2

表 2-3

被検液名	生物和名および加工品名	前処理法	乾重量	抽出溶媒	抽出液量	可溶性固形分
長命草7月	"	70°Cで乾燥後粉碎	5g	50%EtOH	50ml	3
長命草3月	"	70°Cで乾燥後粉碎	5g	50%EtOH	50ml	2.4
宮農36(本体)	甘藷	60°Cで乾燥後粉碎	2g	50%EtOH	50ml	0
宮農36(葉)	"	60°Cで乾燥後粉碎	2g	50%EtOH	50ml	0.2
宮農36(茎)	"	60°Cで乾燥後粉碎	2g	50%EtOH	50ml	0.4
ピセ(本体)	"	70°Cで乾燥後粉碎	2g	50%EtOH	50ml	0
ピセ(葉)	"	70°Cで乾燥後粉碎	2g	50%EtOH	50ml	0.2
ピセ(茎)	"	70°Cで乾燥後粉碎	2g	50%EtOH	50ml	0.2
島ニンジン	ニンジン	凍結乾燥後粉碎	2g	50%EtOH	42ml	2.2
アテモヤ	アテモヤ	凍結乾燥後粉碎	5g	50%EtOH	20ml	3.2
バガス	サトウキビ	乾品を粉碎	2g	50%EtOH	40ml	1.4
熊胆囊	くま	現品を蒸留水に溶解 (1mg/ml)	1mg	蒸留水	1ml	0.2
アガリクス	アガリクス	乾品を粉碎	2g	50%EtOH	40ml	1.8
イカスミ	アオリイカ	凍結乾燥後粉碎	1g	50%EtOH	40ml	0.4
山羊	山羊	砕凍結乾燥後粉碎	2g	50%EtOH	40ml	0.4
八重山カズラ	八重山カズラ	70°Cで乾燥後粉碎	2g	50%EtOH	50ml	0.6
トウフヨウA固形部	トウフヨウ	遠心分離、上清を使用	247g	蒸留水	650ml	
トウフヨウAつけ汁	"	"	100ml	蒸留水	350ml	
トウフヨウB固形部	"	"	300g	蒸留水	750ml	
トウフヨウBつけ汁	"	"	15ml	蒸留水	350ml	
蒸留粕	泡盛蒸留粕	遠心分離、上清を使用	1L	蒸留水	900ml	2.8
腐乳	腐乳	遠心分離、上清を使用	32.4g	蒸留水	120ml	7.2
モーアーサ	ネンジュモ	塩抜・凍結乾燥後粉碎	2g	50%EtOH	40ml	0.6
クミスクチン	ネコヒゲソウ	乾品を粉碎	5g	50%EtOH	37ml	2.2
エンサイ	エンサイ	70°Cで乾燥後粉碎	2g	50%EtOH	50ml	3.8

た試料の乾重量、抽出液量および可溶性固形分 (ATAGO, Hand Reflect Meter で測定) を示す。なお、抽出液は最終的に 0.45 μ m のメンブレンフィルターでろ過し、各アッセイに用いた。

トウフヨウおよび腐乳からの被検液の調製

固形部：食用とする固形部 300g に蒸留水 600ml を添加し、ホモジュナイザー (POLYTRON) でホモジュナイズし、12,000rpm で 60 分遠心分離を行った。得られた上清を再遠心しケイソウ土ろ過を行った。沈殿部分は蒸留水 400ml で再抽出しケイソウ土ろ過後上清画分とあわせて被検液とした。

つけ汁部：つけ汁 100ml に蒸留水 200ml を添加しホモジュナイズした後、12,000rpm で 60 分間遠心分離を行いケイソウ土ろ過を行った溶液を被検液とした。

スクカラスからの被検液の調製

可食部 26.6 g を 200ml の蒸留水に 20 分 x 2 回浸漬し脱塩を行った。固形部を 200ml の蒸留水を加えホモジュナイズし、沸騰水浴中で 10 分間加熱した。放冷後、12,000rpm, 60 分の条件で遠心分離しケイソウ土ろ過を行った。沈殿画分はさらに 200ml の蒸留水を添加しホモジュナイズした後、遠心分離してケイソウ土ろ過を行った。得られた抽出液を合わせて被検液とした。

泡盛蒸留粕からの被検液の調製

蒸留粕は 11,000rpm, 30min の条件で遠心分離を行い上清画分を被検液とした。

熊胆囊およびもずくから多糖類の被検液の調製

熊胆囊は中国福建省で入手した。これは既に凍結乾燥などの処理を施されたサンプルであり、50%エタノールに 1mg/ml となるように溶解し被検液を調製した。モズク多糖類は既報¹⁾のとおり調製したものを、50%エタノールに 1mg/ml の濃度となるように溶解し被検液を調製した。

3. アンジオテンシン変換酵素 (ACE) 阻害活性

現在、死亡数の高い三大疾病は脳血管疾患、心疾患および悪性新生物となっており、前二者は高血圧疾患と極めて高い関係があるといわれている。アンジオテンシン変換酵素 (ACE) は、強い血圧上昇作用を引き起こす引き金の役割を担っている酵素であり、ACE を阻害することにより高血圧の治療を行うことが可能である。近年、種々の食品からさまざまな機能性ペプチドが見いだされており ACE 阻害ペプチド^{2,3)}についても、さまざまな研究がなされている。鈴木ら⁴⁾は仙台市の市場等から購入した試料 107 種類について、ACE 阻害活性を検討している。しかしながら、本沖縄県独自の食材について ACE 阻害活性を検討した例は少ない。そこで、本節では沖縄地域で利用される食材について ACE 阻害活性を検討することとした。

3-1 実験方法

ACE 阻害活性は、Chuman と Chan の方法⁵⁾に準じて測定した。基質として、Hippuryl L-histidyl L-leucine を用い 608mM 塩化ナトリウムを含むホウ酸緩衝液 (pH8.3) に基質濃度が 7.6mM となるように溶解した。ACE (Sigma) はウサギ肺アセトンパウダー由来のものを用い、上記ホウ酸緩衝液に 67U/ml となるように溶解した。ACE 阻害活性は遊離した馬尿酸量を HPLC システムで測定し、コントロールとの生成比を求め ACE 活性 (%) とした。

3-2 エタノール濃度の影響の検討

試料からの抽出は 50%エタノールを用いているため、エタノールの ACE 活性に与える影響を検討した (図 1)。被検液として 25, 50, 75%エタノール溶液を用いたところ、蒸留水を被検液としたときと比べると、ACE 活性はそれぞれ平均で約 97, 37, 5%となりエタノールの濃度が増加するにともなって活性が低下することが認められた。ただし、エタノールが 25%の場合では蒸留水と有意差 (t test, n=3, P<0.05) が認められなかったことから、ACE 阻害活性の検索を行うにあたっては抽出液を 2 倍に希釈してエタノール濃度を 25%とした抽出液を被検液として、25%エタノールをコントロールとして用いた。

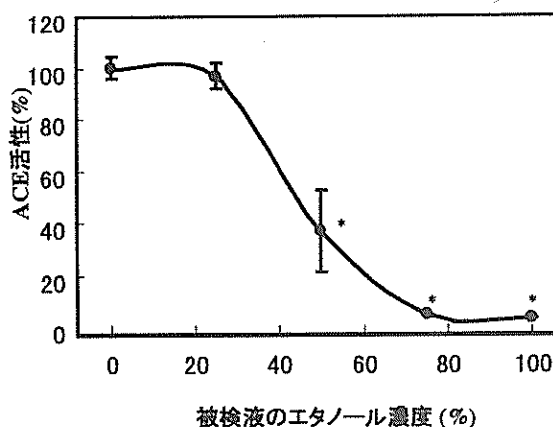


図1 被検液のエタノール濃度がACE活性に与える影響

縦軸は67mU/mlのACE溶液50 μ l、15 μ lの蒸留水、7.6mMの基質125 μ lを37 $^{\circ}$ Cで30分間反応させたときの活性を100%とする。図中のエラーバーは標準偏差(n=3)を示し、有意差(P<0.05)が認められた場合は肩にアスタリスクを付した。

3-3 ACE阻害活性を有する被検液の検索

表3に各被検液のACE活性に与える影響を示す。被検液88種類中49種類にACE阻害活性が有意($n=3$, $P<0.05$)に認められた。近年種々の食品中からACE阻害物質が得られており、ペプチド類²⁴⁾、ポリフェノール類⁷⁾、カテキン類⁸⁾等が報告されている。厚生省が特定保険用食品として認定した「血圧が高めの人々の食生活の改善に役立つ食品」として、牛乳のカゼイン分解物を利用した飲料が市販されている。この飲料の様に、工業製品として発展させるためには、原料を安価かつ大量に得る必要がある。検索した試料は市場などで容易に入手できるものであり、副産物および未利用資源も含まれるためこうした条件に合致する。また、薬草類や加工品類は独自の風味を有するものであり、嗜好性に優れた機能性食品を開発することが可能である。高血圧症は、現在我が国の人口の約20%にあたる2,000万人が罹患しているとされている。高血圧は、脳疾患および血管障害の重要な因子であり血圧を適正に管理することは、生活習慣病を予防する上で非常に重要である。高齢化社会を迎えるにあたり、病気を予防する食品の位置づけは今後一層重要になると考えられることから、今回検索を行い活性が認められた試料は重要な食品群と捉えることができる。

表3 被検液のACE活性に与える影響

順位	被検液	ACE活性(%)			
1	カラヨモギ7月	2.76±0.38*	47	グアバ(実)	69.88±0.63*
2	ウイキョウ	3.99±0.04*	48	トウフヨウA(固形部)	74.06±33.46*
3	パッションフルーツ	4.15±0.12*	49	ベニバナボロギク5月	75.66±0.72*
4	リュウキュウヨモギ3月	4.26±0.12*	50	ゲットウ(葉)	81.98±5.76
5	リュウキュウヨモギ7月	4.31±0.51*	51	ツルムラサキ	84.62±3.48
6	アセロライン	5.17±0.75*	52	長命草3月	86.09±7.64
7	トウフヨウB(つけ汁)	6.09±0.27*	53	パイン	87.87±2.65
8	パパイ(野)	6.68±0.16*	54	島バナナ	88.65±1.69
9	アテモヤ	7.61±1.21*	55	海ぶどう	88.79±3.70
10	パッションフルーツ	8.41±0.18*	56	シマヤマヒハツ	92.79±5.41
11	春ウコン	8.64±1.16*	57	シークワサー(実)	93.44±2.39
12	極楽鳥花(花)	9.59±0.57*	58	備瀬(葉)	93.83±7.77
13	カラシナ	9.87±1.84*	59	ホオズキ	97.16±4.16
14	トウフヨウB(固形部)	10.32±0.07*	60	アーサー	98.01±2.13
15	極楽鳥花(茎)	11.24±1.80*	61	モーイ	100.45±4.28
16	ヘチマ	11.76±1.55*	62	マンゴ	101.08±3.95
17	シークワサー(皮)	11.92±0.27*	63	イカスミ	101.40±0.95
18	八重山カズラ	12.22±1.76*	64	山羊肉	102.64±0.28
19	アマチャヅル	13.50±1.41*	65	オオタニワタリ	104.65±3.51
20	ニガナ(葉)	14.78±1.42*	66	ういきょう(葉)	106.11±0.17
21	グアバ(葉)	15.34±1.11*	67	カーナ	106.21±5.08
22	ヨモギ	16.37±5.59*	68	宮農36(茎)	106.31±4.98
23	ホヨモギ3月	18.35±1.92*	69	島らつきょう	106.44±8.50
24	オトコヨモギ7月	19.41±3.71*	70	シンロカイ(葉肉部)	106.46±2.96
25	ニガウリ	21.81±14.15*	71	アダン	106.74±2.19
26	極楽鳥花(葉)	22.05±1.44*	72	シシ玉(玉)	107.88±5.97
27	サクナ(根)	22.85±0.95*	73	海人草	109.09±0.76
28	クワンソウ	22.94±3.25*	74	月下美人	109.71±4.35*
29	ガジュツ	24.15±5.97*	75	長命草7月	109.90±1.70*
30	蒸留粕	24.78±1.11*	76	熊の胆嚢	113.57±1.85*
31	パパイ(果)	27.85±4.94*	77	アガリクス	115.13±0.56
32	ハママーチ	30.74±2.03*	78	ワダン 6/8	115.58±3.95
33	ニシヨモギ6月	33.31±7.71*	79	スーナ	117.00±5.67
34	シシ玉(葉)	39.98±1.70*	80	宮農36(葉)	122.36±0.53*
35	ニガナ(根)	42.57±4.01*	81	備瀬(茎)	124.60±7.46
36	クミスクチン	48.48±7.84*	82	スクカラス	124.77±10.53
37	バガス	54.03±1.34*	83	備瀬(本体)	125.68±1.62*
38	腐乳	54.25±1.90*	84	ニシヨモギ3月	126.52±4.48
39	島ニンジン	57.73±3.44*	85	ベニバナボロギク3月	127.03±2.80*
40	アカメガシワ	58.25±2.82*	86	宮農36(本体)	127.62±4.83*
41	イラブー	58.41±6.95*	87	モズク多糖類	130.59±9.34
42	ウコン	58.92±5.33*	88	モーアーサ	137.59±2.13*
43	カラヨモギ3月	62.73±8.40*	ACE 活性はコントロール (25%エタノール) の活性を 100%として、コントロールに対する平均値(%)±標準偏差(n=3)で示した。アスタリスクは有意差(P<0.05)を示す。		
44	グアバ 7月	63.61±2.91*			
45	サラカチ	67.79±3.44*			
46	ヒハチ	68.69±3.60*			

4 抗酸化性

我々ヒトを含む多くの生物は酸素を利用して生命の維持を図っているが、酸素を利用する過程で生成されるフリーラジカルや活性酸素が、脂質の過酸化・老化・発がん・循環器疾患など深い関わりを持つことが指摘されており、日常的に摂取される食品中に含まれる抗酸化物質が注目を集めている。また、工業的に生産される化粧品や加工食品には多くの抗酸化剤が使用されているが、近年の生活者の天然指向により安全な天然物由来の抗酸化剤の利用が求められている。このような背景から、ラジカルスカベンジ法による被検液の抗酸化活性を検討した。

4-1 実験方法

抗酸化性は DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) に対する被検液のラジカル消去能を測定することにより行った。DPPH はそれ自身が安定なラジカルであり、ラジカル消去物質が存在すると非ラジカル体に変化する。この変化を 510nm の吸光度を測定することにより測定した。また、本実験では測定の迅速化を図るため市場らの方法⁹⁾を採用した。すなわち、1.5mM の DPPH をエタノールに溶解し、蒸留水で2倍に希釈して 0.75mM DPPH 溶液を調製した。次にマイクロプレート

の各 well に約 66 - 0.01% (V/V) の希釈系列をもうけた被検液 100 μ l を添加し、更に 50 μ l の DPPH 溶液を添加・混合して 20 分後の 515nm の吸光度を測定した。被検液の代わりに 50%エタノールを添加した場合の吸光度を 100% として、吸光度 50% に相当する希釈濃度を求め IC₅₀ とした。図 2 に被検液の典型的な DPPH ラジカル消去能の濃度依存曲線を示す。縦軸が DPPH ラジカルの消去量、横軸が被検液の希釈倍率である。被検液の希釈倍率が増加するにともない、DPPH ラジカルの消去量も低下する。このグラフより、125 μ M の DPPH ラジカルを消去する被検液の濃度 (V/V)、すなわち IC₅₀ を求めた。

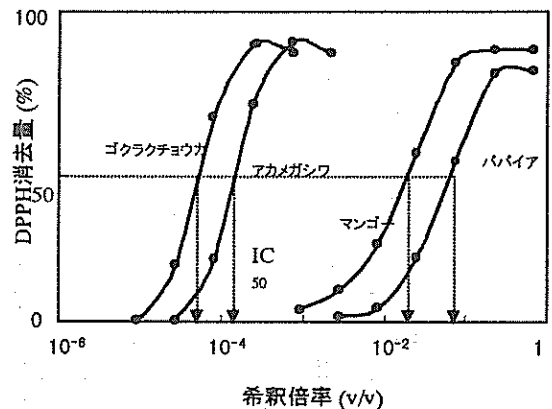


図2 被検液の典型的なDPPHラジカル消去曲線(用量反応曲線)

縦軸にDPPHの消去量(250 μ MのDPPHを消去した場合を100%とする)を、横軸に被検液の希釈倍率をとり、その用量応用曲線よりDPPHを50%消去するときの被検液の希釈倍率、すなわちIC₅₀を算出した。

4-2 抗酸化性を有する被検液の検索

現在、私たちの食卓は様々な加工食品で溢れており、工業規模で生産される加工食品には様々な食品添加物が使用されている。現在認可されている添加物は十分安全性が考慮されたものであるが、消費者の天然物指向の高まりとともに食品添加物も天然物由来という履歴が求められるようになってきている。こうした傾向が更に強まると添加物無使用ということに収斂すると予想されるが、現在の食生活の豊かさはこうした添加物に支えられている面が大きく、食品の安全性を確保する上からも添加物の使用はやむを得ないのが現状である。こうした背景の中、天然物由来の抗酸化成分の開発が望まれている。沖縄県特産の農水産物を原料として、抗酸化作用を有する食品素材を開発することができれば、その市場規模から経済的効果は大きいと考えられる。その際のポイントとしては価格とともに、汎用性が求められる。すなわち、どのような食品にも添加可能であるような、クセのない味・香りであることが重要である。表4に各被検液の IC₅₀ を示す。測定した 90 の被検液中、75 種類の被検液で IC₅₀ が測定可能であった。評価した被検液は、

表4 各被検液の抗酸化活性

順位 被検液	IC ₅₀
1 スクカラス	0.0010
2 宮農36 (本体)	0.0012
3 オトコヨモギ 7月	0.0014
4 極楽鳥花	0.0015
5 クミスクテン	0.0015
6 アセロラワイン	0.0019
7 オトコヨモギ 3月	0.0020
8 カワラヨモギ 7月	0.0020
9 カワラヨモギ 3月	0.0020
10 ハママーチ	0.0020
11 グァバ(実)	0.0020
12 ゲットウ	0.0025
13 極楽鳥花(花)	0.0028
14 サラカチ	0.0028
15 八重山カズラ	0.0029
16 ニガナ(葉)	0.0032
17 ニシヨモギ 3月	0.0033
18 シシ玉(葉)	0.0040
19 バガス	0.0041
20 宮農36 (葉)	0.0043
21 アテモヤ	0.0045
22 グァバ(葉)	0.0046
23 アカメガシワ	0.0047
24 ワダン	0.0052
25 長命草 7月	0.0054
26 ベニバナホロキク 5月	0.0055
27 ヒハチ	0.0062
28 シークァーサー(皮)	0.0063
29 リュウキュウヨモギ 7月	0.0064
30 パッションフルーツ	0.0065
31 サクナ(根)	0.0068
32 極楽鳥花(茎)	0.0074
33 リュウキュウヨモギ 3月	0.0074
34 ニシヨモギ 6月	0.0076
35 備瀬 (茎)	0.0085
36 シマヤマヒハツ	0.0116
37 ウイキョウ(種子)	0.0124
38 ベニバナホロキク 3月	0.0136
39 ウイキョウ(葉)	0.0139
40 グァバ 7月	0.0146
41 アマ茶ヅル	0.0164
42 ウコン	0.0180
43 長命草 3月	0.0193
44 ヨモギ	0.0195
45 アダン	0.0201
46 ツルムラサキ	0.0211
47 ニガナ(根)	0.0211
48 マンゴー	0.0223
49 ホオズキ	0.0245
50 備瀬 (葉)	0.0269
51 アガリクス	0.0340
52 島バナナ	0.0425
53 からし菜	0.0570
54 イラブー	0.0582
55 春ウコン	0.0589
56 オオタニワタリ	0.0651
57 サラカチ	0.0709
58 パパヤ(未熟果)	0.0716
59 エンサイ	0.1046
60 トウフヨウB(固型部)	0.1055
61 パパヤ(熟果)	0.1210
62 パイン	0.1361
63 備瀬 (本体)	0.1478
64 シークァーサー(実)	0.1656
65 へちま	0.1670
66 シシ玉(玉)	0.1785
67 クワンソウ	0.1986
68 島ニンジン	0.1991
69 蒸留粕	0.2150
70 島らっきょう	0.3006
71 トウフヨウB(つけ汁)	0.3034
72 ガジュツ	0.3707
73 カーナ	0.4363
74 もずく	0.4454
75 月下美人	0.5601
76 宮農36 (茎)	-
77 トウフヨウA(固型部)	-
78 パッションフルーツワイン	-
79 腐乳	-
80 にがうり	-
81 モーアーサ	-
82 海人草	-
83 モーイ	-
84 アーサ	-
85 シンロカイ(葉肉部)	-
86 イカスミ	-
87 山羊肉	-
88 熊の胆のう	-
89 海ぶどう	-
90 スーナ	-

*) IC₅₀ は、125μM の DPPH を消去する被検液の希釈倍率を示し、-は活性が弱く IC₅₀ が算出できないことを示す。

あくまで抽出物であり、乾重量を求め真の比活性を測定することが必要である。今後は、更なる応用にむけて物質の単離・同定、加工食品に添加した際の抗酸化活性について検討を行うことが必要である。

5 メラニン合成調節活性

「色の白いは七難隠す」のたとえを持ち出すまでもなく、透き通るような白い肌は古来より女性のあこがれであった。また、一方では健康的な小麦色の肌への回帰も近年認められるようになっている。皮膚の褐色化すなわち日焼けは、紫外線により表皮基底層のメラノサイトが活性化されることで、メラニン生産が過剰になるために引き起こされる。活性化されたメラノサイトは増殖やメラニン生産を活発にし、ケラチノサイトへメラニンを合成するメラノゾームを転送し肌の褐色化が引き起こされるため、紫外線の照射から DNA の損傷の防止や皮膚の保護がなされる。老人性斑紋やいわゆるシミは、いつまでもメラノサイトが活性化されている異常な状態であるためメラニンが過剰に生産され、周りの正常な組織に比べ黒く見える。本実験では、こうしたメラニンの生産過剰による肝斑の発症を抑える被検液を検索するため、黒色腫である B16 細胞を用いてメラニン合成阻害物質を検索した。また、オゾンホールの出現などにより、ヨーロッパなどの高緯度地帯では異常な紫外線を浴びる恐れが生じており、事実北欧では皮膚ガンが発症率が増加している。メラニンが多い有色人種は白色人種に比べて皮膚ガンになる確率が低いと言われており、メラニンを増加させる物質の検索も、今後重要性を増してくるものと考えられることから、メラニン合成を促進する抽出液についても検討した。

5-1 実験方法

マウスメラノーマ B16F0 細胞は、大日本製薬より購入した。培養は 10%の牛胎児血清 (Hyclone) を含むダルベッコの MEM 培地 (Gibco, BRL) を用い、37℃、5% CO₂ 下で培養した。アッセイに用いた細胞の継代数は、購入後 3 回以内のものを用いた。抽出液のメラニン合成に与える影響の検討は Shoji¹⁰⁾らの方法を参考に行った。すなわち、初発細胞密度を 5×10^4 cells/ml とし、細胞懸濁液 5ml を 6cm ディッシュ (Falcon 3002) に巻き込んだ。一晚培養後、新鮮培地へ交換して 50 μ l の被検液を添加した。さらに培養 3 日目に同様の操作を繰り返した。培養 4 日目に培地を吸引除去し、1N 水酸化ナトリウム 1ml を添加して細胞を破壊すると同時にメラニンを溶解させ、475nm の吸光度を測定し合成メラニン (Sigma) を用いて予め作成した検量線からメラニン含量を求めた。ネガティブコントロールとして 50%エタノール溶液を用い、さらにポジティブコントロールとしてメラニン生成抑制効果が確認されている 25mM アルブチン溶液および 1mg/ml コウジ酸溶液と比較を行った。被検液の添加によるメラニン含量の違いが細胞毒性によるものかどうかを判定するために、細胞毒性の有無を MTT assay により確認した。すなわち、初発細胞密度を 5×10^4 cells/ml とし、100 μ l を 96well マイクロプレートに巻き込み (1 ウェルあたり細胞数 500)、一晚培養後、新鮮培地 200 μ l へ交換して 2 μ l の被検液を添加した。培養 5 日目に MTT assay を行い、570nm の吸光度を測定し、細胞数を算出して細胞毒性の有無を確認した。

5-2 エタノール濃度がメラニン合成に与える影響の検討

被検液を添加する事により、培地中のメタノール濃度が 0.5%となることからエタノール濃度の

細胞増殖およびメラニン合成に与える影響を検討した。その結果、培地中のエタノール濃度が 2% までは細胞増殖に影響を与えないことが認められた (図 3)。また、データは示さないが、被検

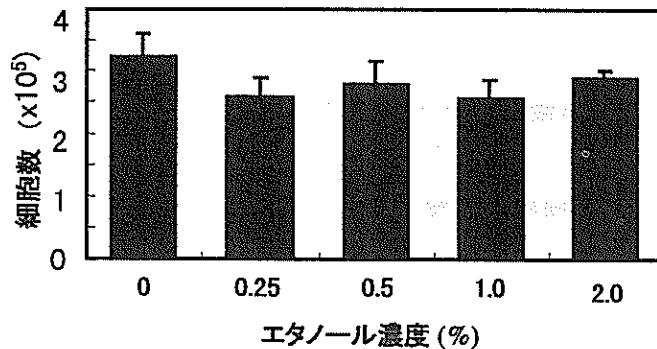


図3 エタノールがB16細胞の増殖に与える影響
初発細胞数を 1×10^5 cells/mlとし、所定の濃度となるようにエタノールを添加して4日後の細胞数 (n=8) をMTTアッセイより測定した。すべての濃度において、有意差は認められなかった ($P < 0.05$)。

液を添加した場合に最終的に培地には 0.5%のエタノールを含むことになるが、この濃度ではメラニン生産性も、影響を受けないことが認められた。なお、50%エタノール溶液を添加した時の被検区をコントロールとした。

5-3 メラニン合成阻害活性および促進活性を有する被検液の検索

表 5 に各被検液の B16 細胞に対するメラニン合成および細胞増殖に与える影響を示す。見かけ上のメラニン合成において被検液 68 種類の内メラニン合成抑制活性を示し、かつコントロールと有意差 ($P < 0.05$) を示した被検液が 18 種類認められ、促進活性を示すものが 20 種類認められた。また、25mM アルブチンより高い活性を示す被検が 10 種、コウジ酸より高い活性を示すものが 13 種類認められた。さらに、コントロールに対して増殖促進効果を示す被検液が 19 種類認められた。また、合成抑制ならびに合成促進効果が単なる細胞数の増減に起因したものかどうかを明らかにするために、メラニン合成活性に有意差が認められた被検液について MTT アッセイを行い細胞数を求めた。培養 4 日目にコントロールは 1 ウエルあたり細胞数約 10,000 となりコンフルエントな状態に達した。MTT アッセイの結果、アカメガシワ、ホウズキおよびベニバナボロギクを添加した試験区で強い細胞毒性が認められ、これら被検液の見かけ上のメラニン合成活性が細胞毒性によるものであることが明らかとなった。他の試験区では、初発細胞数よりも細胞数は増加していることから、細胞増殖に関して毒性効果は認められなかった。しかしながら、細胞数が 800-3,300 cells/well と大きく異なるため、メラニン合成に関してこの数値のみでは一概に比較はできない。そこで、細胞 1,000 個あたりのメラニン量を算出した (表 6)。その結果、見かけ上メラニン合成を促進している被検区でも、実際は細胞あたりのメラニン合成が低下していることが認められた。以上のことより、被検液のマウス B16 細胞に対する効果は以下のグループに分類された。

1. 細胞毒性を示すもの： アカメガシワ、ホウズキ、ベニバナボロギク
2. メラニン合成を抑制し、細胞増殖に影響を与えないグループ： ヒハチ、アルブチン、コウジ酸、バガス
3. メラニン合成を抑制し、かつ細胞増殖を促進するグループ： 春ウコン、ハママーチ、オオタニワタリ、パッションフルーツ、ワダン、アーサ、シークワーサー（実）、島バナナ、モーアーサ、腐乳、パパイヤ、ヘチマ、アダン、アロエ、ウイキョウ（種子）、海人草、
4. メラニン合成を抑制し、かつ細胞増殖も抑制するグループ： サラカチ、シークワーサー（皮）、ウコン、アテモヤ
5. メラニン合成を促進し、細胞増殖に影響を与えないグループ： アロエ（皮）
6. メラニン合成を促進し、かつ細胞増殖を促進するグループ： イラブー
7. メラニン合成を促進し、かつ細胞増殖を抑制するグループ： エンサイ、サクナ（根）、ゴクラクチョウカ（花）、宮農 36（葉）、グワバ（葉）
8. 見かけ上メラニン合成に変化が認められないグループ： グワバ（実）他 58 種類

美白だけを目的とするなら、メラニン合成を抑制し細胞増殖に影響を与えないグループが望ましいが、細胞増殖抑制がある被検液でも細胞増殖能は保たれている。アルブチンやコウジ酸も高濃度では細胞毒性を示すことから、今後は濃度を考慮に入れた検討を行い、さらにスクリーニングを行う必要がある。また、細胞増殖を促進するグループは、老化にともない皮膚の細胞数が減少する自然老化皮膚を改善する可能性を有しており、更なる検討を有するものである。メラニン合成を促進し細胞増殖を促進するグループは、毛根周囲のメラノサイトを活性化する可能性を有することから、白髪をターゲットとした育毛剤の開発につながる可能性がある。

表5 被検液がメラニン合成活性および細胞増殖に与える影響

順位	被検液	メラニン合成活性(%)	コントロールに対する細胞数(%)
1	ウコン	7.2±4.6*	49.4±15.5*
2	アカメガシワ	12.0±0.4*	12.0±0.9*
3	サラカチ	12.0±1.1*	67.4±17.9*
4	シークワサー(皮)	12.9±3.3*	63.9±10.0*
5	ホオズキ	17.4±2.3*	35.2±24.8*
6	春ウコン	33.8±5.1*	117.0±27.3*
7	ヒハチ	45.6±2.2*	99.3±12.1
8	ハママーチ	48.8±10.6*	139.8±37.5*
9	エンサイ	51.5±3.3*	59.8±9.9*
10	サクナ(根)	61.3±4.9*	80.6±8.3*
11	アルブチン	62.9±2.1*	88.9±9.5
12	ベニバナホロキク3月	66.5±11.8*	38.7±27.7*
13	宮農36(葉)	67.8±4.5*	67.8±7.5*
14	アテモヤ	70.5±4.7*	116.6±15.7*
15	コウジ酸	73.7±7.4*	91.0±9.6
16	極楽鳥花(花)	78.1±6.2*	78.1±12.7*
17	グアバ(実)	86.3±11.0	142.5±31.2*
18	クミスクテン	88.4±5.9	70.9±39.0*
19	バガス	88.7±3.8*	136.9±15.5*
20	アマ茶ヅル	89.2±2.7	103.9±33.2
21	グアバ(葉)	89.4±7.0*	57.3±3.7*
22	オトコヨモギ	89.4±8.3	207.8±9.5*
23	備瀬(茎)	89.9±5.5	60.8±7.3*
24	クワンソウ	92.8±9.9	105.1±11.5
25	シマヤマヒハツ	93.3±11.4	100.1±9.8
26	ヨモギ	93.7±5.7	97.3±4.1
27	備瀬(葉)	94.2±2.2	—
28	宮農36(本体)	95.2±10.5	—
29	シシ玉(葉)	97.6±6.6	—
	Cont.	100.0±14.7	—
30	米糠 No.3	100.9±12.3	—
31	八重山カズラ	101.0±6.4	—
32	ニガナ(葉)	102.3±8.4	—
33	パイン	107.7±17.6	—
34	リュウキュウヨモギ	109.7±7.8	—
35	長命草	111.2±7.3	—
36	モーイ	113.0±5.4	—
37	カラシナ	113.9±6.7	—
38	ガジュツ	115.5±13.2	—
39	マンゴ	115.6±10.1	—
40	島ニンジン	117.0±12.2	—
41	極楽鳥花(葉)	117.1±4.5	—
42	サンニン	121.1±13.7*	—
43	シシ玉(玉)	122.1±2.1	—
44	ワダン	124.5±8.4*	95.2±11.2*

45	島らつきょう	124.5±3.4	79.3±6.8*
46	ウイキョウ(種子)	125.2±5.6*	84.5±8.8*
47	海人草	125.4±6.9*	82.6±4.4*
49	イラブ	130.4±8.3*	62.2±8.1*
50	アガリクス	130.6±6.9	83.6±3.4*
51	イカスミ	131.9±4.6*	92.8±10.4
52	島ぼなな	132.2±6.4*	83.5±15.4*
53	モーアーサ	132.3±13.0*	83.3±16.9*
54	ニガナ(根)	132.5±17.7	88.8±13.2*
55	ツルムラサキ	134.1±6.6	81.3±14.3*
56	シークワサー(実)	134.5±7.3*	84.5±14.3*
57	腐乳	134.6±5.5*	82.4±12.8*
58	モズク	136.4±28.9	83.9±12.5*
59	ヘチマ	138.7±6.5*	82.4±13.0*
60	アロエ(皮)	142.6±5.0*	96.9±9.0
61	アダン	143.2±19.8*	83.9±11.0*
62	アーサ	143.3±12.7*	83.4±4.5*
63	ウイキョウ(葉)	145.0±20.5	83.5±5.6*
64	備瀬(本体)	146.9±5.4*	96.7±8.4
65	蒸留粕	146.9±2.5*	100.9±5.3
66	宮農36(茎)	147.1±5.0	93.1±9.4*
67	オオタニワタリ	152.3±16.3*	89.1±7.7
68	パッションフルーツ	153.2±6.9*	88.3±8.8*
69	アロエ	157.5±11.6*	81.1±15.4*
70	パパヤ	158.7±4.2*	82.8±5.6*
71	ニガウリ	175.8±28.7	75.8±7.2*

数値はコントロール(50%エタノール溶液)に対する平均±標準偏差 (n=3)で表した。また、危険率 5%で有意差が認められる場合は、右肩にアスタリスクを付けた。—は測定をしなかった。

表 6 細胞 1000 個あたりのメラニン量

被検液名	細胞1000個あたりのメラニン量(μg)		
春ウコン	0.15	ヘチマ	0.36
サラカチ	0.17	アダン	0.36
ハママーチ	0.17	アロエ	0.36
シークワサー(皮)	0.21	ウイキョウ(種子)	0.37
ヒハチ	0.28	海人草	0.39
アロエ(皮)	0.28	アルブチン	0.47
オオタニワタリ	0.30	バガス	0.52
パッションフルーツ	0.30	コウジ酸	0.53
ワダン	0.31	アテモヤ	0.56
アーサ	0.32	Cont.	0.60
シークワサー(実)	0.33	イラブ	0.65
島ばなな	0.34	アマ茶ヅル	0.91
モーアーサ	0.34	エンサイ	1.06
腐乳	0.35	サクナ(根)	1.26
パパヤ	0.35	極楽鳥花(花)	1.79
ウコン	0.36	宮農36(葉)	3.02
		グアバ(葉)	71.46

6 α-アミラーゼ阻害活性

糖尿病食事療法においては、インスリン需要を軽減し、また合併症に至るリスクを予防するという見地から、食後高血糖の回避の重要性が指摘されている。α-アミラーゼ阻害物質およびグルコアミラーゼ阻害物質はデンプンの消化・吸収を阻害することにより血糖値やインスリンの上昇を抑制させ、肥満や糖尿病の予防または治療に有用であると考えられている。本実験では特に米を摂取した時の血糖上昇抑制機能を検索する目的で、米デンプンに対するα-アミラーゼ阻害活性を有する抽出液を検索した。

6-1 実験方法

α-アミラーゼ阻害活性は、里山らの方法¹²⁾を改変して行った。すなわち、α-アミラーゼ(Wako, From *Bacillus stearothermophilus* 5200unit/mg)をトリス-塩酸緩衝液(10mM, pH7.5)に溶解し、適宜希釈して使用した。米デンプン(Sigma)をクエン酸緩衝液(0.1M, pH6.0)に濃度1.0%(w/v)となるように懸濁しこれを沸騰水浴中で5分間加熱して糊化した。この糊化液と等量の3.2%(w/v)寒天溶液を60℃で混合し、マイクロプレートウォッシャーで96孔マイクロプレートの各ウェルに200μlずつ分注し、放冷固化して基質プレートを作成した。阻害活性の測定は、11unitに調製したα-アミラーゼ溶液の1/10量の被検液を混合した溶液(α-アミラーゼの濃度は最終的に10unitとなる)を調製し、37℃で10分間プレインキュベートした基質プレートの各ウェルに添加し、37℃で5分間インキュベート後、マイクロプレートリーダーで655nmの吸光度($A_{655\text{ initial}}$)を測定した。さらに1時間37℃でインキュベートし同様に吸光度($A_{655\text{ 1h}}$)を測定した。縦軸に5分後と1時間後の吸光度の差($\Delta A = A_{655\text{ initial}} - A_{655\text{ 1h}}$)を、横軸にα-アミラーゼ活性をとりプロットすると、両者は良好な相関関係を示し(図4)測定の信頼性としては十分なものであると考えられた。ただし、プレート間では近似曲線の傾きが有意に異なることから、各プレートで0.1, 1, 10 unit/mlに調製したα-アミラーゼ溶液を添加した区を検量区間として設け、残りの9区間について被検液の活性を求めた。

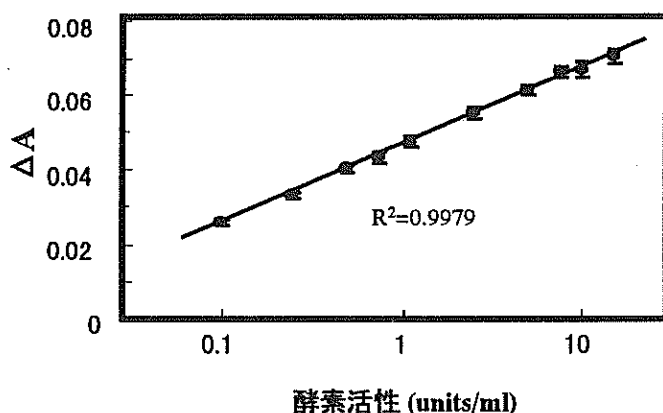


図4 α -アミラーゼ活性と ΔA の関係

ΔA の定義: 反応開始 5 分後と 1 時間後の吸光度の差。基質: 1.6%の寒天を含む0.5%(w/v)の米タンパク200 μ l、酵素溶液: 25 μ l、エラーバーは8 μ lの標準偏差 (n=8) を示す。

6-2 エタノールおよび着色試料が α -アミラーゼ活性に与える影響の検討

被検液の代わりに、10-100%エタノールを α -アミラーゼ溶液と1:9の割合で混合しエタノールの α -アミラーゼ活性に与える影響を検討した(図5)。その結果、エタノール濃度が上昇す

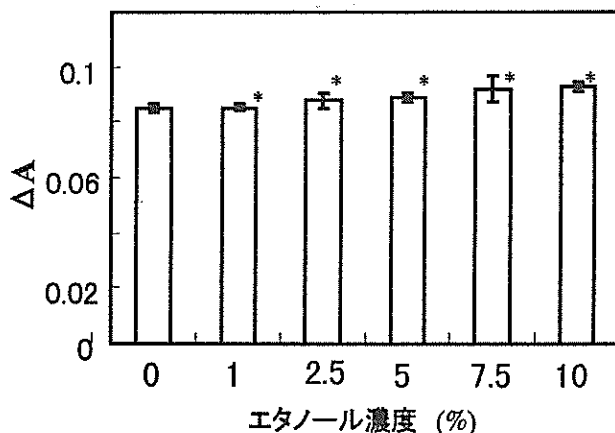


図5 被検液のエタノール濃度と α -アミラーゼ活性の関係
アスタリスクはコントロールに対して有意差(P<0.05)が認められたことを示す。

るにともない、みかけ上の活性が上昇する傾向が認められた。このことから、 α -アミラーゼ溶液は、50%エタノールを溶媒として用いた。データは示さないが、この場合も活性と ΔA 間には、良好な相関関係が認められた。抽出液の色調は赤一茶色の低波長領域がほとんどであり、測定波長の655nmでの影響はほとんどないと考えられる。そこで、予備試験により α -アミラーゼ阻害活性を有しないことが明らかとなっているサラカチ(極大波長325nm)をモデルとして着色試料の影響を検討した。すなわち、サラカチ被検液を混合した α -アミラーゼ溶液の最終活性が、10-0.1unitとなるように調製した溶液について活性を測定したところ、サラカチ被検液の影響はほとんど認められず着色溶液についても充分測定可能であることが認められた(図6)

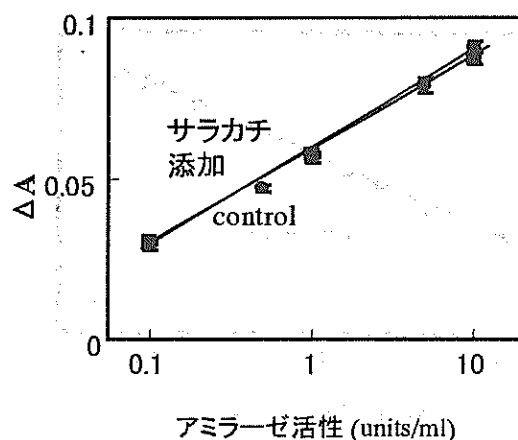


図6 着色試料が測定系に与える影響

6-3 α-アミラーゼ阻害活性を有する被検液の検索

表7に各被検液のα-アミラーゼ活性に与える影響を示す。90 サンプル中 35 種類の被検液が有意にα-アミラーゼ活性を阻害することが認められた。特に活性の強かった 11 種類について限外ろ過（分画分子量 10,000）による活性の変化、および水抽出とエタノール抽出における活性の違いを検討した。限外ろ過は膜のアルコール耐性の問題から、被検液を蒸留水で希釈し 30% アルコール濃度となるように調製した。表8に、限外ろ過前後の活性、および限外ろ過後の活性をろ過前の活性で除した比活性を示す。シークワサー（実）、ゴクラクチョウカ（花、葉、茎）、グアバ、ゲットウ、アカメガシワにおいて、限外ろ過膜を通過した画分が通過前の溶液よりアミラーゼ活性が上昇することが認められ、これら被検液中の活性物質が分子量 10kDa 以上であることが示唆された。その他のサンプルにおいては、有意な差 ($P < 0.05$) は認められなかった。抽出液の比較を行うため蒸留水とエタノールを抽出溶媒として被検液を調製したところ（表9）、アカメガシワ、グアバ、シークワサー（実）、パッションフルーツ、ゴクラクチョウカ（茎）ではアルコール抽出が、サクナ（根）では水抽出において活性が高いことが認められた。残りのサンプルでは顕著な違いは認められなかった。以上のように、抽出溶媒の検討や膜分離を検討することにより、より効率的な物質生産が可能である。

表7 各被検液の α アミラーゼ阻害活性

順位	被検液	添加後の活性(U)
1	ゲットウ(葉)	0.01±0.01*
2	グアバ 7月(葉、調整)	0.02±0.02*
3	極楽鳥花(花)	0.02±0.02*
4	グアバ(葉、市販)	0.07±0.05*
5	極楽鳥花(葉)	0.12±0.02*
6	アカメガシワ	0.13±0.11*
7	極楽鳥花(莖)	0.40±0.02*
8	サクナ(根)	0.81±0.03*
9	アセロラワイン	0.98±0.01*
10	パッションフルーツワイン	1.12±0.01*
11	シークァーサー(実)	1.51±0.01*
12	パッションフルーツ	3.02±0.08*
13	グアバ(実)	3.14±0.01*
14	シマヤマヒハツ	4.04±0.01*
15	エンサイ 7月	5.03±0.03*
16	備瀬(葉)	5.48±0.01*
17	アデモヤ	6.30±0.01*
18	ベニバナホロキク 3月	7.02±0.01*
19	島バナナ	7.22±0.09
20	宮農36(莖)	7.40±0.01*
21	トウフヨウB(固型部)	7.61±0.01*
22	ニシヨモギ 6月	7.61±0.01*
23	リュウキュウヨモギ 7月	7.62±0.01*
24	島人参	7.63±0.03
25	モーイ	7.67±0.03
26	宮農36(葉)	7.76±0.01*
27	腐乳	7.89±0.01*
28	スクカラス	8.26±0.01*
29	ベニバナホロキク 5月	8.29±0.01*
30	アーサ	8.31±0.03
31	シシ玉(葉)	8.38±0.03
32	ヨモギ	8.39±0.01*
33	海ぶどう	8.44±0.01
34	カワラヨモギ 7月	8.53±0.01*
35	シンロカイ(葉肉部)	8.69±0.01
36	長命草 7月	8.80±0.01*
37	にがうり	9.15±0.03
38	ウコン	9.20±0.02*
39	ニシヨモギ 3月	9.38±0.01
40	クミスクチン	9.66±0.04
41	備瀬(莖)	9.74±0.01
42	リュウキュウヨモギ 3月	9.81±0.01
43	トウフヨウA(固型部)	10.01±0.01
44	オトコヨモギ 7月	10.02±0.01
45	ガジュツ	10.15±0.02*
46	月下美人(花)	10.30±0.01
47	ホオズキ	10.37±0.01*
48	アガリクス	10.40±0.01
49	オオタニワタリ	10.50±0.01
50	ウイキョウ(葉)	10.50±0.01
51	パパイヤ(未熟果)	10.67±0.03*
52	山羊肉	10.73±0.01
53	ツルムラサキ	10.79±0.01
54	蒸留粕	11.07±0.01
55	クワンソウ	11.24±0.01
56	アマ茶ヅル	11.33±0.03
57	八重山カズラ	11.34±0.02
58	シシ玉(玉)	11.41±0.01
59	カーナ	11.51±0.01
60	バガス	11.51±0.01
61	もずく	11.70±0.01
62	アダン	11.75±0.01
63	サラカチ(調整)	11.98±0.02
64	カワラヨモギ 3月	11.99±0.01
65	熊胆のう	12.01±0.01*
66	シークァーサー(皮)	12.12±0.03*
67	マンゴー	12.16±0.08*
68	ウイキョウ(種子)	12.55±0.11*
69	モーアーサ	12.68±0.01*
70	備瀬(本体)	12.86±0.01*
71	長命草 3月	13.19±0.01*
72	パパイヤ(熟果)	13.31±0.01*
73	イカスミ	13.31±0.01*
74	からし菜	13.50±0.02*
75	イラブー	14.14±0.08*
76	ワダン	14.53±0.02
77	島らっきょう	14.79±0.04*
78	海人草	14.83±0.01
79	パイン	14.90±0.01*
80	ハママーチ	14.91±0.05*
81	春ウコン	14.92±0.02*
82	宮農36(本体)	15.22±0.02*
83	ヒハチ	15.50±0.01*
84	ニガナ(根)	15.76±0.04*
85	オトコヨモギ 3月	16.40±0.01*
86	ニガナ(葉)	16.64±0.04*
87	トウフヨウB(つけ汁)	16.68±0.01*
88	へちま	17.50±0.09*
89	スーナ	18.54±0.01*
90	サラカチ(市販)	21.33±0.11*

アスタリスクはコントロールに対して有意差(n=8, P<0.05)が認められたことを示す。

表 8 限外ろ過後の被検液の活性

被検液	限外ろ過前の活性	限外ろ過後の活性	活性比
サクナ(根)	11.12±0.01	6.33±0.01	0.5
アテモヤ	8.49±0.01*	7.65±0.01	0.9
パッションフルーツワイン	5.15±0.01	5.86±0.01	1.1
アセロラワイン	5.41±0.01	6.80±0.01	1.2
パッションフルーツ	2.23±0.01	3.19±0.01	1.4
シークァーサー(実)	3.88±0.01	5.90±0.01	1.5*
極楽鳥花(葉)	3.24±0.10 (×10 ⁻¹)	2.62±0.01	8.0*
極楽鳥花(茎)	5.20±0.10 (×10 ⁻¹)	6.14±0.01	11.8*
グァバ 7月(葉、調製)	7.63±9.01 (×10 ⁻³)	1.21±0.16 (×10 ⁻¹)	15.8*
グァバ(葉、市販)	3.83±11.66 (×10 ⁻³)	6.91±1.65 (×10 ⁻²)	18.0*
極楽鳥花(花)	1.77±0.38(×10 ⁻¹)	5.09±0.01	28.7*
ゲットウ(葉)	7.05±0.79 (×10 ⁻²)	6.08±0.01	86.2*
アカメガシワ	9.02±11.1 (×10 ⁻³)	5.25±0.01	582.0*

活性比のアスタリスクは、限外ろ過の前後において有意差(n=8, P<0.05)が認められたことを示す。

表 9 水抽出と 100%エタノール抽出法の違いがアミラーゼ活性に与える影響

	100%EtOH抽出	水抽出	活性比
サクナ(根)	9.52±0.01	2.03±0.01 ^a	0.21*
極楽鳥花(花)	7.69±0.01 ^a	8.03±0.01 ^a	1.04*
ゲットウ	5.84±0.01	6.32±0.01 ^a	1.08
アテモヤ	8.10±0.01	9.99±0.01	1.23
アカメガシワ	< 1×10 ⁻² ^a	1.32±0.69 (×10 ⁻²) ^a	1.89*
シークァーサー(実)	4.51±0.01 ^a	10.70±0.01	2.37*
極楽鳥花(茎)	4.24±0.07 (×10 ⁻¹) ^a	1.14±0.01 ^a	2.68*
グァバ 7月(葉、調製)	3.85±0.07 (×10 ⁻¹) ^a	1.46±0.01 ^a	3.79*
グァバ(葉、市販)	1.11±0.08 (×10 ⁻¹) ^a	4.33±0.06 (×10 ⁻¹) ^a	3.90*
パッションフルーツ	1.15±0.01 ^a	9.46±0.01	8.22*

活性比のアスタリスクは、抽出法の違いによりにおいて有意差(n=8, P<0.05)が認められたことを示す。

7 抗菌活性

冷蔵設備の発達していない時代、人々は様々な方法で食品の保存を行ってきた。燻製は、食品中の水分を減少させるとともに燻煙中の様々な化合物が抗菌的に作用し、食品の腐敗を抑えていることが知られている。また、漬け込み液の香辛料の抗菌成分が作用していることも明らかにされている。日本でもショウガやわさびなどを利用して、食品の腐敗を防いできた歴史がある。本実験では、大腸菌を用いて抗菌活性を測定した。

7-1 実験方法

抗菌活性は、振とう温度勾配培養装置 (ADVANTEC, TN-2612) を用いて測定した。大腸菌 (IAM 12119) を EC 培地 (栄研化学株式会社) 9ml に 1 白金耳接種し 37 °C で一晚培養した。翌日、菌

体の懸濁液の 660nm の濁度を測定した後、吸光度として 1.0 になるように滅菌水で希釈した。EC 培地 9ml と被検液 1ml および大腸菌懸濁液 50 μ l を混合したのち、温度勾配培養装置にて 37 $^{\circ}$ C で毎分 30rpm 振とう培養して 660nm の濁度を 48 時間経時的に測定した。なお、本条件では 50% エタノールで抽出した被検液を培地と混合すると溶解性の違いにより濁りが生じ測定が困難であることから、抽出溶媒を蒸留水とした。

7-2 抗菌活性を有する被検液の検索

図 7 に細菌増殖における経時的濁度の変化、すなわち細菌増殖曲線を示す。細菌の増殖とともに濁度は経時的に増加し 48 時間後には、吸光度は約 2.0 となった。増殖曲線より増殖速度を示す $\Delta A/t$ (増殖曲線の接線の傾き) および菌体数を示す ΔA (48 時間後の吸光度) を求めた。抗菌活性が認められた被検液の $\Delta A/t$ および ΔA を表 10 に示す。最も活性の高い被検液はシマヤマヒハツであり、コントロールと比較して増殖速度は 1/10 以下、菌体数は約半分となった。本

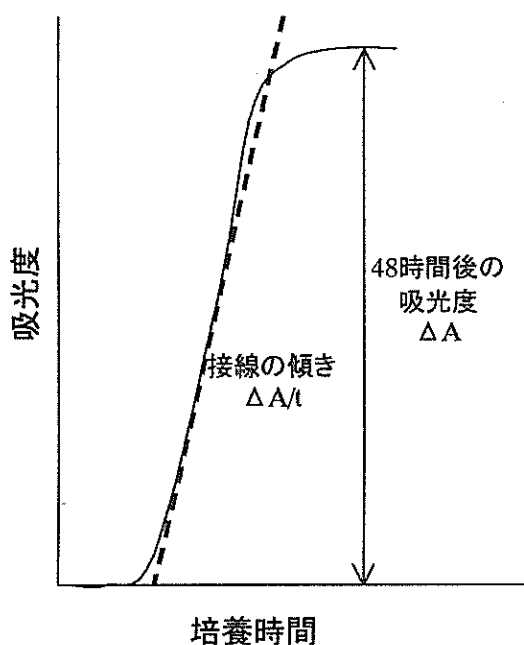


図 7 細菌増殖における吸光度の変化

表 10 各被検液が細胞増殖に与える影響

	ΔA	$\Delta A/t$
コントロール	2.02	0.614
極楽鳥花 (葉)	1.773	0.460
極楽鳥花 (茎)	2.217	-
極楽鳥花 (花)	2.173	0.672
パパイヤ (未熟果)	2.605	-
クワンソウ	2.482	-
ヨモギ	2.398	0.310
シークワサー (皮)	2.822	0.795
シシ玉 (葉)	2.622	-
ヒハチ	2.537	0.350
グワバ (葉)	1.811	0.180
ハママーチ	2.572	-
パッションフルーツ	2.319	0.353
アカメガシワ	1.668	0.250
ウイキョウ	2.686	1.28
サクナ (根)	2.486	0.344
ゲットウ (葉)	2.312	0.432
熊胆囊	1.061	0.071
シマヤマヒハツ	0.903	0.073

(-)はコントロールと差異が認められないため算出しなかった。

実験は大腸菌を用いて抗菌活性を検討したが、今後は虫歯の原因菌と言われているミュータンス菌や食中毒の原因菌であるサルモネラ菌等でも同様の検討をしていく予定である。

8 まとめ

沖縄県の生理活性を有する生物資源、および食資源を検索する目的で 62 種の試料より 90 種の被検液を調製し、その被検液についてアンジオテンシン変換酵素阻害活性、抗酸化活性、メラニン合成阻害・促進活性および α -アミラーゼ阻害活性を検討した。その結果、49 種類の被検液に

ACE 阻害活性、75 種類の被検液に抗酸化活性、2 種類にメラニン合成抑制活性、1 種類にメラニン合成促進活性、35 種類に α -アミラーゼ阻害活性が認められた。本実験で用いた被検液は50%エタノールによる抽出操作を行ったものであり、多成分の混合系としての評価である。元来、食品は多成分系からなるマトリックスであり、多成分系の評価として本実験は意義あるものといえよう。しかしながら、食品は医薬品とは異なり摂取に関して無制限であることから安全性に関して十分な議論が必要である。本実験では、古来より食用とされてきた資源を中心に検索を行ったことから、通常の食品として摂取する場合、特に安全に関して問題はないと考えられる。ただし、これら資源より特定の生理活性成分を抽出し、濃度を高めた形で摂取する場合は特段の配慮が必要である。また、本実験は生体外での試験であることから、真の効果を動物実験などで検証する必要がある。

謝辞

本事業の一部は食糧庁の「平成11年度米成分の高度加工・利用技術開発事業」により行ったものであり、感謝の意を表します。また、一部のサンプルを提供していただきました沖縄県農林水産部園芸試験場根茎作物研究室の金城哲男様に感謝申し上げます。

特記

本事業の一部について特許出願中でありますので、本事業報告を元に商品開発などを検討される場合は、工業技術センターまでご相談くださるようお願いいたします。

参考文献

- 1) 田村ら、モズクオリゴ糖及びアルギン酸等の製造と利用に関する研究、沖工試研究報告第22号、p17-34、(1995)
- 2) 関英治、長島克裕、松井利郎、長島豊、イワシ筋肉由来アルカリプロテアーゼ分解物からのアンジオテンシンI変換酵素阻害ペプチドの分離精製、日本食品工業学会誌、Vol. 40, No. 11, 737-791 (1993)
- 3) 新居ら、イズミエビ熱水抽出液および酵素分解液の血圧上昇抑制作用、日本食品工業学会誌、Vol. 45, No. 11, 671-675 (1998)
- 4) 吉井ら、鶏卵由来オリゴペプチドの血圧降下作用、日本食品工業学会誌、Vol. 46, No. 2, 45-50 (1999)
- 5) 鈴木健夫、石川宣子、目黒、食品中のアンジオテンシンI変換酵素阻害活性脳について、日本農芸化学会誌、Vol. 57, No. 11, pp1143-1146 (1983)
- 6) Cusman, D. W., Cheung, H. S., Sabo, E.F and Ondetti, M. A.: Biochemistry, 16, 5484 (1977)
- 7) 斉藤義幸ら、清酒、および副産物中のアンジオテンシン変換酵素阻害物質、日本農芸化学会誌、Vol. 66, No. 7, pp. 1081-1087, (1992)
- 8) 原征彦、松崎妙子、鈴木健夫、茶成分のアンジオテンシンI変換酵素阻害能について日本農芸化学会誌、Vol. 61, No. 7, pp. 803-808, (1987)

- 9) 市場、喜屋武、有用性物資源の多目的利用のための加工製造システムの研究開発（第一報）、
沖工技セ研究報告第1号、p9-22、(1998)
- 10) Shoji et. al., Progressive effects of Phoridzin on melanogenesis in B16 mouse melanoma cells, Biosci.
Biotech. Biochem., Vol. 61(12), 1963-1967, 1997
- 11) 里山ら、マイクロプレートを用いる α -アミラーゼ活性の簡易測定法、日本農芸化学会誌、Vol.
72, No. 8, pp.933-936, (1998)

編 集 沖縄県工業技術センター

発 行 沖縄県工業技術センター

〒904-2234 沖縄県うるま市字州崎 12 番 2

T E L (098)929-0111

F A X (098)929-0115

U R L <https://www.pref.okinawa.lg.jp/site/shoko/kogyo/>

著作物の一部および全部を転載・翻訳される場合は、当センターにご連絡ください。