

## 寒冷地生物資源の利用に関する研究 ( ) \*

岸 敦\*\*、大澤 純也\*\*

本報では、経験的に健康に良いとされている雑穀、海藻などの県産食品の消費拡大と加工原料としての新規利用法の開発を目的に先端技術である超臨界抽出法を利用し、従来の抽出法では取り出せなかった有効成分の抽出について試験を行った。

水を溶媒として常温常圧から超臨界状態までの様々な温度・圧力の条件による成分の抽出と抽出物の生理的機能性について検討した。また、併せて高温高圧処理技術の食品加工への応用についても検討した。

キーワード：雑穀、海藻、超臨界抽出法、生理的機能性

## Searchig for Physiological Functional Components in Various Foods Made in Iwate Prefecture ( )

KISHI Atsushi and OHSAWA Junya

IwatePrefecturehasseveralspecialproductssuchas millets andseaweeds. But almost allof them areeatensimplybypeoplewhoaretakingcareofhelth. Tomakethemmorepopularandmore use, wehavebeensearchingforusefullmaterialswithphysiologicalfunctons. In this study, extracts of millets andseaweeds under variousconditionsoftemperatureandpressurehadbeenaccomplishedand thebotheffectsofantiallergicand antioxidant ofextracts wereexamined. Additionally, theextraction methodwithhigh-temperatureandhigh-pressurewaterhavebeen used, andcausedgoodresultsinfood processing.

**keywords: millets, seaweeds, supercriticalHOfuid, physiologicalfunctions.**

### 1 緒 言

雑穀は小麦などに対しアレルギー反応を示す体質の人々が食べても食物アレルギーを引き起こさないことが、また、海藻も健康に良いことは古来より経験的に知られているが、現在は両者共に健康食嗜好の人々に消費が限られている。このような県特産品の食品としてのさらなる消費拡大と加工原料としての新規利用法開発には、生理的機能性を検索し周知することが非常に有効である。超臨界流体を用いた抽出法は従来法と比較して抽出効率が良いことから、いままでは抽出されなかったり、抽出量が少なすぎて活性を見落としていた成分も効率的に抽出できると考えられる。さらに、超臨界流体中で成分の変化が起こり活性が上昇し、結果的に生理活性が高い物質の抽出が期待される。今回は前回までの機能性検索の結

果から酵素反応レベルでの抗アレルギー効果が高く再現性があった試料について、培養細胞を用いて抗アレルギー効果を検討した結果と、本事業の企業サイドへの応用として高温高圧処理技術の食品加工への利用について検討した結果について報告する。

### 2 実験方法

#### 2 - 1 原材料

実験サンプルとして、ヒエ、アワ、キビ、アマランサス、アラメ、マツカワ、ヒラメ、キビプロラミン、メカブ、ウニカラ、ホヤ、イネモミ、アマランサス葉（ラルシャーグ赤、ヤナギバ緑）、ヤマブドウ8系統（ワイン用搾り滓）、ツリニンジン、ドングリ、漆木粉、ヤーコン葉を使用した。

\* 生物資源の高度利用化技術に関する研究（地域ものづくり対策事業費補助金事業）

\*\* 応用生物部

2-2 成分抽出

図1のようなバッチ式超臨水界抽出用反応槽を用いて、乾燥、粉末化したサンプルを反応容器に水と共に密封し加熱抽出を行った。



図1 バッチ式超臨水界抽出反応槽及び反応容器

表1に抽出条件を示す。抽出試料量は全て100mgとした。Aは15mlプラスチックチューブを用いローターで抽出。B～Eは内容量10.5mlのステンレスパイプに密封しBとCはシリコンオイルパスで、DとEはソルトパスで抽出した。B～Eにおける抽出時間は設定温度に達してからの時間である。

表1 バッチ式超臨水界抽出反応条件

抽出条件	抽出温度 ( )	抽出圧力 (bar)	抽出水量 (ml)	抽出時間
A	4	1	3.5	一晚
B	130	150	9.8	1min
C	180	122	9.3	1min
D (亜臨界)	300	86	5.0	1min
E (超臨界)	400	300	3.5	1min

2-3 抽出成分の機能性の検討

2-2の方法に従って抽出した成分について培養細胞を用いた測定系での抗アレルギー効果、アポトーシス誘導効果および抗菌効果を検討した<sup>1-4)</sup>。

3 実験結果及び考察

3-1 培養細胞を用いた抗アレルギー効果の検討

酵素ヒアルロニダーゼを用いた測定系で高い抗アレルギー効果を示した試料(アラメ、メカブ、ホヤカラ、ヤーコン葉)に関して、培養細胞(RBL-2H3)を用いて生体レベルに近い状態での抗アレルギー効果を検討した(図2)。型アレルギー反応では肥満細胞や好塩基球の細胞表面のFcレセプターにIgE抗体が幾つも結合し、さらに、IgE抗体に抗原が結合することによりIgE同士が互いに架橋される。それが刺激となってヒスタミンなどの化学伝達物質が細胞から放出され、鼻炎等のアレルギー反応が引き起こされる。このアレルギー反応の一部である化学伝達物質の放出を阻害する物質は、アレルギー反応の流れを妨げることになることから抗アレルギー効果を持つ物質となる。ラット好塩基球白血病細胞(RBL-2H3)は、以上のような型アレルギー反応のモデルと成り得る一連の機能を持つため、本細胞を用

いて抗原-抗体複合体の刺激による化学伝達物質放出の阻害効果を測定することで、抗アレルギー効果の指標とすることができる。以上のことから、図2の阻害率(%)の値が高いほど抗アレルギー効果を示すこととなる。その結果、酵素レベルで高い抗アレルギー効果を示した試料は、培養細胞を用いた測定系においても全て対応の抗アレルギー効果を示した。その効果の高さは全ての試料において抽出条件Aで最高であり、B、Cと抽出条件が高温高压になるに従い効果が落ちてゆき、且つ酵素を用いた測定系に比べ値が低いという傾向を示した。

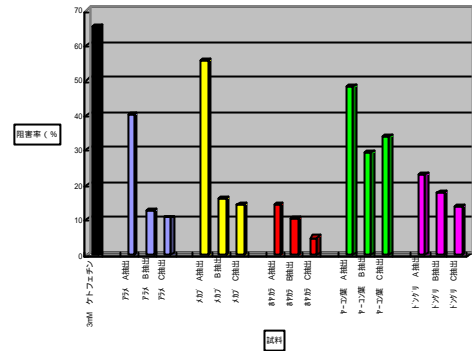


図2 培養細胞を用いた抗アレルギー効果の測定結果

3-2 アポトーシス誘導についての検討

3-1の結果から、ヤーコン葉は酵素および培養細胞の両測定系で高い抗アレルギー効果を示した。ヤーコン葉抽出物を用いて培養細胞での抗アレルギー効果を検討していると、その過程において、細胞が丸くなるという形態変化が観察された。本手法で使用しているRBL-2H3の様な附着細胞の場合、細胞が丸くなるという形態変化は細胞が生育に不都合な状態におかれたときに見られ、やがて死滅するということがしばしば観察される。また、別の細胞を用いてヤーコン葉抽出物が細胞増殖に与える影響を検討したところ、細胞が死滅するという結果を得ている。従って、ヤーコン葉抽出物には細胞死を誘導する効果(アポトーシス誘導効果)がある可能性が示唆された。この可能性について、アポトーシス誘導を蛍光発色により検定する方法を用いて検討したところ、コントロールである水と比較すると若干アポトーシスを誘導しているようであるが不明瞭なものであった。(表2、図3)。

表2 アポトーシス誘導実験結果

試料	FITC蛍光強度
水	-
スタロソ <sup>®</sup> リン	+++
ヤーコン葉 A抽出	+
ヤーコン葉 B抽出	+
ヤーコン葉 C抽出	+
ホヤカラ A抽出	+
ホヤカラ B抽出	+
ホヤカラ C抽出	+

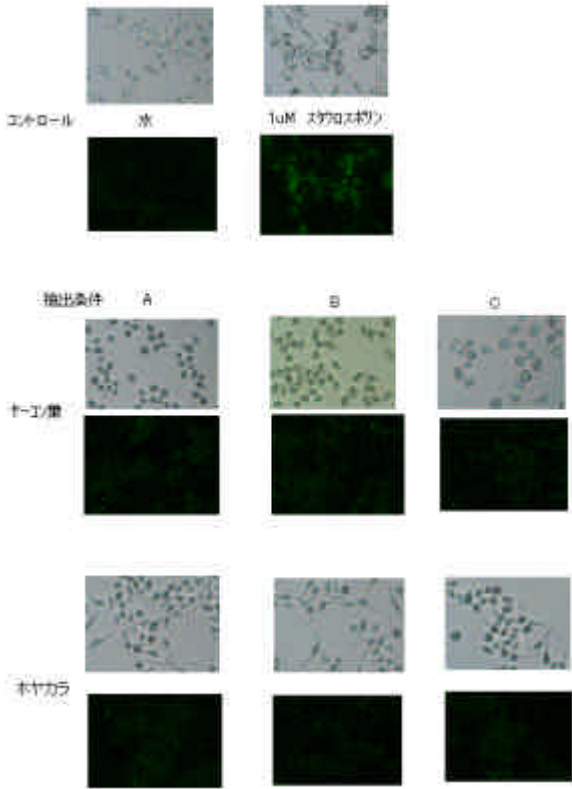


図3 ヤーコン葉のアポトーシス誘導

3-3 ヤーコン葉の抗菌効果の検討

32の結果からはヤーコン葉にアポトーシス誘導効果があるか否かは明確とならなかったが、細胞に形態変化を引き起こす以上、生体組織に対して何らかの作用を示す成分があると考えられる。

ヤーコン葉にはそれを食するような害虫がつかない、さらに野積みにしても腐敗しにくいという特徴がある。このことから、何らかの生物毒性のある成分が含まれている可能性がある。生物毒性の活用法としては抗菌または静菌効果が考えられるため、この点について検討したところ、図4および、表3の様な結果を得た。ヤーコン葉抽出物の抗菌効果はB抽出物で最も高く、代表的な抗生物質であるアンピシリン(Amp)10ug/mlの半分程度であった。C抽出物ではその約半分となり、A抽出物では抗菌効果は認められなかった。

コントロール



ヤーコン葉



A抽出 B抽出 C抽出

図4 ヤーコン葉抽出物ハロー試験

表3 ヤーコン葉抽出物ハロー試験

試料	阻止円(mm)
水	-
Amp 100ug/ml	10
ヤーコン葉 A抽出	-
ヤーコン葉 B抽出	4.4
ヤーコン葉 C抽出	2.3

\*阻止円の大きさは試験紙片の外端から阻止円の円周までの距離の平均

この結果は、図2の培養細胞を用いた抗アレルギー効果の測定結果と一致しない。よって、ヤーコン葉抽出物における抗アレルギー効果を示す物質と抗菌作用を示す物質は異なるものである可能性が示唆された。以上の結果から、ヤーコン葉は抽出条件の違いにより抗アレルギー効果や抗菌効果を別個に示すことが明らかとなった。

3-4 高温高圧処理の食品加工への利用

機能性成分抽出に用いた高温高圧～超臨界抽出法は溶媒が少量であり処理時間が短いため、味を薄くすることなく短時間で加熱処理が可能である。この特徴を食品加工に利用するために梅肉及び牡蠣を複数の条件で高温高圧処理し、処理後のサンプルについて味、色、臭いの諸点を検討した。結果として穏和な処理条件によって諸点を改善できることが明らかとなった(図5)

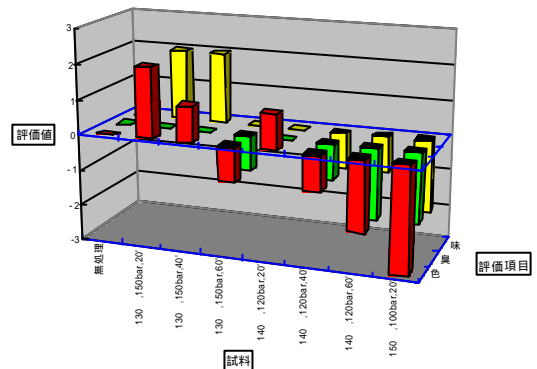


図5 高温高圧処理梅肉の官能検査

それらの中で最も好ましいと思われる処理サンプルを用いて調味液を試作し既製品と比較した。梅肉については高温高圧処理により色彩的にプラスの効果があること(図6)、牡蠣については高温高圧処理したエキスは海鮮調味



図6 梅肉の高温高圧処理

液調製の際に一般的に使用する昆布エキスと類似の効果があるという結果が得られた(表4)。

表4 試作調味液組成

	海鮮調味液(-)	海鮮調味液(+)	梅酢調味液(-)	梅酢調味液(+)
昆布だし	50	50		
昆布エキス	18	0	3	3
塩	10	10		
梅酢			70	55
ビートグラニュー糖	7	7	10	10
加塩炭酸	9	9	7	7
本みりん	5	5	6	6
牡蠣抽出エキス	0	10		
水ヤギ抽出エキス	0	8		
梅肉抽出エキス			0	15
酵母エキス	1	1	1	1
種なし唐辛子	0.3	0.3		
水			3	3
合計	100	100	100	100

結論として、市販梅酢の代わりに高温高圧処理梅肉、市販昆布エキスの代わりに高温高圧処理牡蠣と高温高圧処理ホヤカラといったように、高温高圧処理物を使用することにより市販の原料を使用した場合と遜色のない試作品を調製することができた。

#### 4 結 言

前年度に続き、県特産食品を試料として、超臨界流体を利用する水抽出成分中の生理的機能性について検討し、良好な結果を得た。今後は本研究で得られたいくつかの有効抽出物について、さらに詳細な性質の検討と有効成分の精製を進める予定である。また、本研究で確立された抽出法と機能性評価系を用いてさらに他の試料について研究を行う予定である。

本研究は中小企業庁地域ものづくり対策事業費補助金事業の一環により実施した。調味液の試作等は共同研究者である(株)八木澤商店に委託したものである。

#### 文 献

- 1) 中込和哉,高木しのぶ,畑田清隆,岡修一:花粉症研究会会報 10,8-15(1998)
- 2) Asada,M.,Sugie,M.,Inoue,M.,Hongo,S.,Murata,K.,Irie,S.,Takeuchi,T.,Tomizuka,N.and Oka:S.Biosci. Biotech. Biochem.1030-1032(1997)
- 3) 津志田藤二郎ら:日食工誌 41(9),611-618(1994)
- 4) 片岡正博ら:生薬学会誌46(1),25-29,1992
- 5) 岸 敦,大澤純也岩手県工業技術センター研究報告 6.8386(2000)
- 6) 岸 敦,大澤純也岩手県工業技術センター研究報告 7.6164(2001)