

## 2020年度 新産業創出研究会「研究成果報告書」

「野菜の新たな健康機能性(活性アルデヒド消去能)成分を高めた食品素材の開発」

[ 山口大学・教授 ] [ 真野 純一 ]

[山口県産業技術センター・コーディネータ] [宮川 英二]

### 1. はじめに

糖尿病、動脈硬化等の生活習慣病やがん、神経変性疾患などは体内で発生する活性酸素が共通の原因となっており、活性酸素を解毒消去する抗酸化物質は食品の重要な機能性成分である。活性酸素は細胞の脂質を酸化し、毒性の強いアクロレインなどの「活性アルデヒド(RAL)」を生じる。RAL はタンパク質や核酸を酸化修飾する主因であり、活性酸素による病態の要因であることが、さまざまな研究から近年明らかにされた。このため RAL を消去する物質は「第二の抗酸化物質」として医薬分野等で有用性が注目されている(図1)。本研究開発は、植物のもつ「第二の抗酸化物質」である活性アルデヒド(RAL)消去物質を分離同定して動物細胞への効能を評価することによって、国産野菜に新たな付加価値を与えると同時に、RAL 消去能を高く保つ野菜パウダーの製法を開発し、新たな機能性食品素材の開発を目指した。

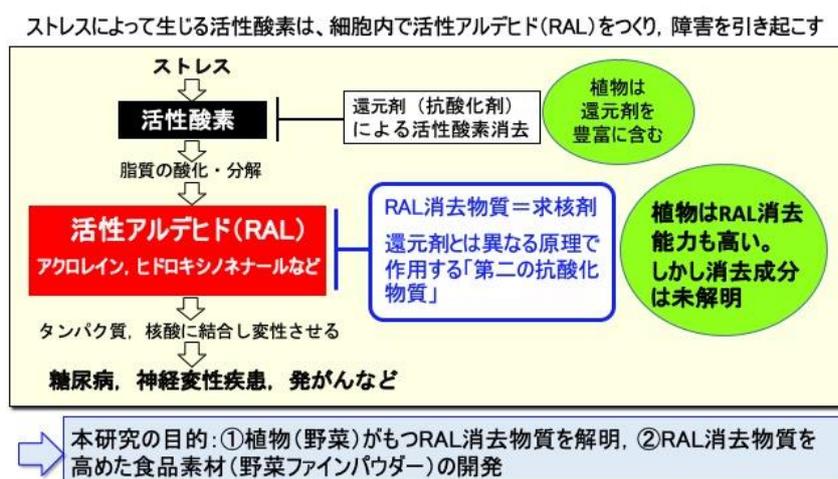


図1. 本研究の背景と目的

研究代表者は、植物のもつ RAL 消去物質を探索する目的で、植物抽出液によるアクロレイン解毒能力を網羅的に解析し、ホウレンソウなど数種類の野菜に高い RAL 消去能力を見出した。しかし、この RAL 消去物質の化学構造や生体への効能は未解明である。そこで本研究開発は、RAL 消去能の高い野菜から新規な RAL 消去物質を分離精製し、構造を特定し動物細胞の酸化ストレス改善への有効性を評価するとともに、RAL 消去物質を多く含む食品素材(野菜ファインパウダー)を製造し、新たな機能性食品素材の開発を目指す。本研究は国産野菜に新たな有用性、付加価値を与える。また成分の特定と有効性検証によって、機能性表示食品及び特定保健用食品開発への発展も期待できる。

### 2. 概要

植物素材のもつRAL消去物質を探索するため、三笠産業(株)の製造する15種類の野菜ファインパウダーの抽出液のアクロレイン消去能を定量した。乾物重あたりのアクロレイン消去能は、大きいものでは134 nmol グルタチオン当量/g、小さいものでは検出限界以下であった。この結果、RAL 消去物質を単離精製する素材として、比較的アクロレイン消去能が高かった「ゆずファインパウダー」を選択した。ゆず

ファインパウダーの水抽出液に対し複数のクロマトグラフィー分離を行い、RAL 消去成分を含む 4 種の異なる画分を得た。今後さらにこれらを精製し、RAL 消去成分の化学構造を決定する。

### 3. 研究成果および今後の課題

#### 3-1. 野菜ファインパウダーの RAL 消去能比較

三笠産業(株)製の 15 種類の野菜ファインパウダー(さつまいも、焼き安納芋、ムラサキイモ、明日葉、かぼちゃ、ごぼう、小松菜、しょうが、とうもろこし、にんじん、ブロッコリー、ほうれん草、れんこん、ゆず、レモン)の RAL 消去能を以下の手順により評価した。

- － パウダーを 80%エタノールに懸濁し、ろ過、遠心分離後、上清を集める。
- － 塩酸添加(10 mM)によりタンパク質を酸変性させ、遠心分離によって除く
- － 上清を重炭酸ナトリウムで中和し、抽出液とする。
- － リン酸カリウム緩衝液(pH 7.0)に抽出液とアクロレイン(0.2 mM)を混合し 10 分間静置する。
- － 2,4-ジニトロフェニルヒドラジンを加え、酸性条件下でアクロレインを誘導体化する。
- － アクロレインのヒドラゾン誘導体を HPLC で定量し、抽出液による減少量を求める。
- － アクロレイン消去能をグルタチオン(GSH)の濃度に換算し(グルタチオン当量(GSHeq))、野菜ファインパウダー1 g あたりの RAL 消去成分含量を mol GSHeq/g として表す。

結果を図2に示す。ファインパウダー重量あたりのアクロレイン消去能は大きいものでは 260 nmol GSHeq/g、小さいものでは検出限界以下であった。

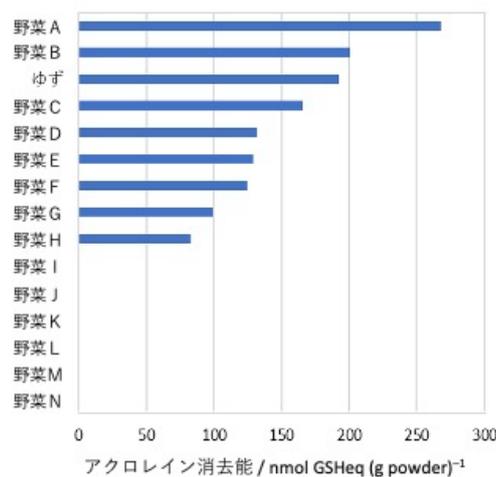


図 2. 野菜ファインパウダーのアクロレイン消去能比較. 未発表データのため、ゆず以外の野菜・果物の名称は伏せる。

#### 3-2. ゆずファインパウダーからの RAL 消去成分の精製

アクロレイン消去能の高い製品のなかで、ゆずは柑橘であり山口県にも関連性が深いことから、RAL 消去成分の精製をゆずファインパウダーを対象として開始することにした。ファインパウダーの原材料となるゆずの産地(産地1, 2)によって RAL 消去能が約 2 倍程度異なることを見出した(表1)。より高い消去能を示した産地1のゆずファインパウダーから RAL 消去成分を精製することとした。

表 1. ゆず産地によるファインパウダーの RAL 消去活性の違い

産地	アクロレイン消去活性(nmol GSHeq/g)
1	134
2	80

産地 1 のゆずファインパウダーを水で抽出し、ODS カラムにより逆相クロマトグラフィーを行ったが、アクロレイン消去活性はカラムに全く結合せず、極性の高い物質であることが示された。つぎにアミノカラムによる親水性クロマトグラフィーを行い、結合／溶出特性の異なる 4 種類のRAL消去活性画分①～④を得た(図3)。活性画分①はカラムに結合しなかった成分で比較的親水性が低いもの、②はカラムに結合し、極性の比較的低い溶媒で溶出された成分、そして③、④はカラムに強く結合し、極性の高い溶媒で溶出された成分である。これらのなかでアクロレイン消去能が多いと思われる③、④の画分をそれぞれ集め、さらに精製を進める予定である。

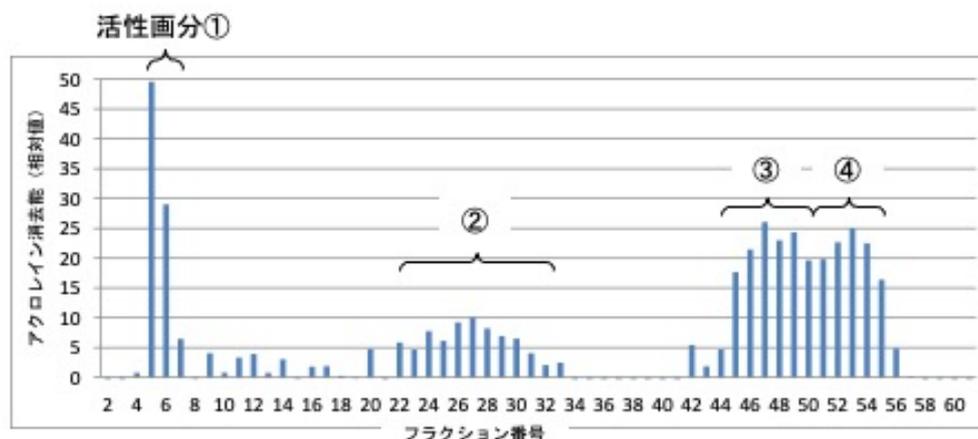


図3. アミノカラム親水性クロマトグラフィーによるゆずファインパウダー抽出液中のアクロレイン消去成分の分離.

### 3-3. 今後の課題

ゆずファインパウダーに含まれる RAL 消去物質は極性の高い物質であることがわかった。RAL 消去能を示す物質として植物には多種類のポリフェノールが含まれることが知られているが、ゆずファインパウダーの RAL 消去成分は、逆相クロマトグラフィーで分離できずアミノカラムに結合することを考えると、ポリフェノール類とは異なる種類の化合物であると考えられる。今後はアミノカラムで分離した上記②～④の活性画分を大量に調製し、それぞれから RAL 消去物質を単離し構造決定する必要がある。

単離した RAL 成分の有用性は、動物細胞へのストレス軽減効果で検証し、さらに動物個体での効果も評価する必要がある。これらの検証によって、ゆずファインパウダーに含まれる成分の健康への効果が示されるはずである。

### 4. おわりに

ゆずファインパウダーからRAL消去物質を単離精製するという目標は研究期間内に達成できなかったが、活性成分のクロマトグラフィー特性から判断すると、植物に多く含まれる RAL 消去成分であるポリフェノール類とは異なるように思われる。今後精製を進めていけば、新奇なRAL消去化合物が得られるものと期待できる。

### 5. 本研究の今後の計画

- ① 野菜ファインパウダーの活性アルデヒド消去能比較結果を論文発表する。
- ② ゆずの RAL 消去成分を単離精製し、構造を決定する。新奇化合物であれば特許を申請する。既知化合物であれば標準品を入手し、精製標品と同様の RAL 消去能を示すことを検証する。さらに、この RAL 消去物質(新奇化合物、既知化合物にかかわらず)の動物への影響を調べるため、動物細胞に投与し、細胞のストレス障害軽減を評価する。さらに疾病モデル動物に投与し、個体への影響を評価

する。これらの結果を論文発表する。

- ③ ゆず以外にも高い RAL 消去活性を示した他の野菜ファインパウダーからも同様に消去成分を精製し、上の②と同様に構造決定、生理活性評価を行う。

## 6. その他

- (1) 出願特許(タイトル・出願番号・発明者・特許権者など)

なし

- (2) 投稿論文(タイトル・学会名等)

Catechins in green tea powder (matcha) are heat-stable scavengers of acrolein, a lipid peroxide-derived reactive carbonyl species.

Koichi Sugimoto, Kyoko Sakai, Norika Fujiya, Yasumasa Matsuoka, Hiroyuki Fujii and Jun'ichi Mano

*Food Chemistry*, Vol. 355, 129403.

- (3) 本研究会の参加企業・団体名

三笠産業株式会社



競輪の補助事業

この報告書は、競輪の補助により作成しました。

<https://jka-cycle.jp>