

健康食品素材と成分の活性評価に関する研究

鎌田靖弘

本研究は、県内健康食品業界からの要望を受け、県内企業が興味を示す素材に対し活性評価を行った。県内企業へのアンケート調査を行った結果、評価を要望する素材として「シークワサー」や「ウコン」など 17 種類が選択された。機能性評価項目として「生活習慣病予防系の酵素阻害活性試験」の要望が最も多かったため、その一つである高尿酸値予防（痛風予防）に関連するキサンチンオキシダーゼ阻害活性を選択した。また、加工・製造に関するワード調査では、「衛生管理」「ISO/HACCP」「工程（リスク）管理」などの製造管理や「成分分析」などの品質管理の向上が必要であることが分かった。選択した素材の中から長命草とエンサイを用いて、50%および 100%EtOH 抽出液中のキサンチンオキシダーゼ阻害活性を測定した結果、いずれにも活性が認められ、長命草はクロロゲン酸以外の成分、エンサイはイソクロロゲン酸類、カフェ酸が活性成分の一つであると示唆された。

1 緒言

これまで、当センターで構築した生物資源ライブラリと機能性データベースを活用し、関連特許取得と共に、健康食品業界支援として「素材の機能性評価と一部の成分分析¹⁻⁵⁾」及び「製造技術（顆粒・錠剤加工）の開発⁶⁻⁹⁾」等を行ってきた。また、業界からの関心が高い春ウコンに関する研究では、秋ウコンや紫ウコンと比較して多く含まれる特徴な成分が、モノテルペンである 1,8-シネオールとセスキテルペンであるクルディオンであることも報告した¹⁰⁻¹¹⁾。

一方で、平成 29 年度に開催した生物資源利用技術研究会（県内健康食品製造業 5 社と関連団体 4 社で構成）では、県内企業が現在使用している素材や成分について、新たな機能性研究を課題化してほしいとの要望を受けた。

そこで本研究では、県内企業が興味を示す素材や期待する機能性、更には加工・製造関連のキーワード調査をし、新たな機能性（活性）評価系として、高尿酸血症（痛風）予防の指標となるキサンチンオキシダーゼ阻害活性の評価体制を立ち上げ、一部の選択素材や含有成分に関し活性評価を行った。

2 実験方法

2-1 県内で使用している素材と機能性調査

平成 31 年 1 月 29 日に工業技術センター主催で開催した食品技術セミナーにて、参加者アンケート調査を行った。調査方法は図 1 のように、「その他」を設けた上で、商品の企画、開発又は製造において興味のある【素材】として 30 種類(その他含む)の中から、複数回答有りのチェック方式で選択するものとした。素材名は県内企業が分かりやすいように一部は方言名とした。同様に、【機能】と、加工・製造に関する【ワード】としても

チェック方式で調査した。

4) 貴社商品の企画、開発又は製造において、ご興味があるものがありましたらご教示ください。
(複数回答可)

【素材】
秋ウコン 春ウコン 紫ウコン ゴーヤー ヘチマ
パパイア クワンソウ ヨモギ類 アロエ クミスクチン
メタバオ メタバオ シマグワ モロヘイヤ モリンガ
ノニ 長命草 エンサイ バタフライピー カラキ
月桃 トゲドコロ トウガン 紅イモ シークワサー
パッションフルーツ モズク もろみ酢 バガス
その他 ()

【機能】
線虫を用いた抗老化試験 ORAC法などの抗酸化測定
生活習慣病予防系の酵素阻害活性試験
メタボロミクスの成分分析
核内受容体レポーターアッセイ全般
抗酸化系のレポーターアッセイ
生活習慣病予防系のレポーターアッセイ
その他 ()

【ワード】
衛生管理 異物分析・除去 ISO/HACCP 工程（リスク）管理
社内教育 乾燥 粉碎 殺菌 発酵 微粉碎
造粒 抽出 濃縮 液体乾燥（スプレードライ）
打錠 錠剤コーティング 乳化・分散 充填 包装
植物エキス末 成分分析（NIR等）
その他 ()

図 1 アンケート調査用紙

2-2 試料の調製

今回アンケートで選択が多かった 17 素材の内、県内企業が使用している素材として長命草（ボタンボウフウ、サクナ）を、未だ製品として定着していないが、県内企業が興味を示す沖縄伝統的素材の一つであるウンチュー（エンサイ）の 2 素材を評価対象試料とした。各々の乾燥粉末 1 g に 50%エタノール（EtOH）を 20 mL 入れた条件と、乾燥粉末 1 g に 100%EtOH を 20 mL 入れた条件で、1 時間の振とう抽出を行い、遠心分離後（10,000 rpm、20 分）の上清を実験に供した。抽出液中の固形分

量 (mg/mL) は、遠心エバポレーター (Savant SPD-2010 : サーモフィッシャー・サイエンティフィック (株)) にて溶媒を除去し、乾固物重量から求めた。

2-3 機能性評価法

2-1 の結果を基に、生活習慣病に関係する酵素阻害活性評価として要望が多かった、高尿酸値予防 (痛風予防) に関連するキサンチンオキシダーゼ阻害活性を選択した。

Nguyen, M.T.T らの方法¹²⁾と Aladdin らの方法¹³⁾を改良しスケールダウンした。基質液はキサンチン (富士フィルム和光純薬 (株)、一級試薬) 1 mg を 200 mM リン酸緩衝液 (pH 7.8) 30 mL に溶解させた。酵素液は牛乳由来キサンチンオキシダーゼ (SIGMA-Aldrich 社) 6 mg (5 units) を同緩衝液で 40 倍希釈し、試験直前に同緩衝液で更に 10 倍希釈し希釈酵素液とした。阻害活性のポジティブコントロールとして Aroprinol (富士フィルム和光純薬 (株)) を用いた。8 連 PCR チューブに希釈酵素液 40 μ L、試料 10 μ L 入れ、37 $^{\circ}$ C、5 分間の予備反応をさせた後、基質液 100 μ L を入れて 37 $^{\circ}$ C、10 分間反応させた。反応後ただちに 99 $^{\circ}$ C、15 分間の熱失活をさせ、遠心分離 (4,500 rpm、10 分間) 後の上清 36 μ L を 96 穴のマイクロプレートに移した。尿酸 C-テストワ

コー (富士フィルム和光純薬 (株)) の発色液 180 μ L を加え、37 $^{\circ}$ C、5 分間反応させた後、吸光度 555 nm で尿酸を測定した。

3 結果

3-1 県内素材と機能性のアンケート調査

セミナー参加者の内、36 名 (18 社) より回答が得られた。商品企画、開発又は製造に興味のある【素材】についての結果を図 2 に示す。回答数が最も多かった素材はシークワーサーで、次にノニと続いた。その他の項目には、オオバギ、黒糖、シャリンバイ、タブノキの回答があった。

本結果を基に、県内企業からのヒアリング等も考慮して、シークワーサー (ヒラミレモン)、ノニ (ヤエヤマアオキ) の他に、秋ウコン (ウコン)・春ウコン (キョウオウ)・紫ウコン (ガジュツ)、パパイヤ、モリンガ、モロヘイヤ、ヨモギ類、クミスクチン (ネコノヒゲ)、月桃、ゴーヤー (ニガウリ)、長命草 (ボタンボウフウ)、グアバ、ウンチュー (エンサイ)、シマグワ、トゲドコロの 17 素材を選択し、本研究では、県内企業が健康食品原料として使用している長命草と、県内企業が興味を示す沖縄伝統的素材の一つであるウンチューの 2 素材を選択した。

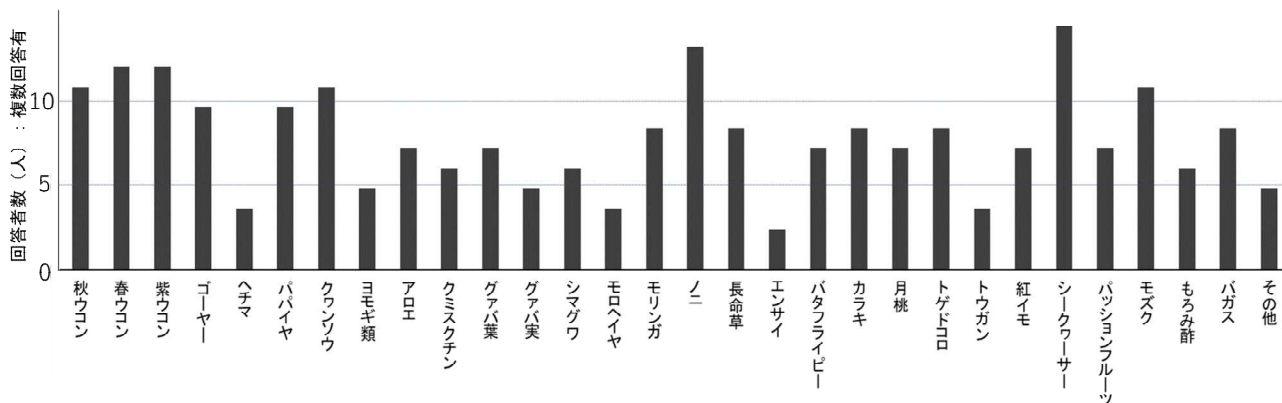


図 2 県内素材に関するアンケート調査結果

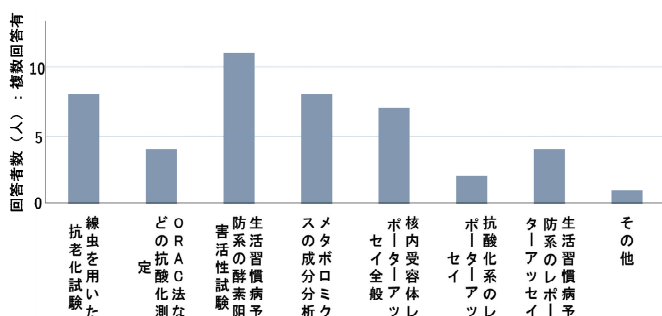


図 3 機能性評価に関するアンケート調査結果

【機能】についてのアンケート結果を図 3 に示す。回答数が最も多かった機能性評価は、「生活習慣病予防系の酵素阻害活性試験」であり、次に「メタボロミクスの成分分析」と「線虫を用いた抗老化試験」が同列で、「核内受容体レポーターアッセイ全般」と続いた。その他の項目には、抗アレルギー活性、抗炎症活性の回答があった。本研究では、生活習慣病予防系の酵素阻害活性試験の中から、高尿酸値予防 (痛風予防) に関連するキサンチンオキシダーゼ阻害活性を選択した。

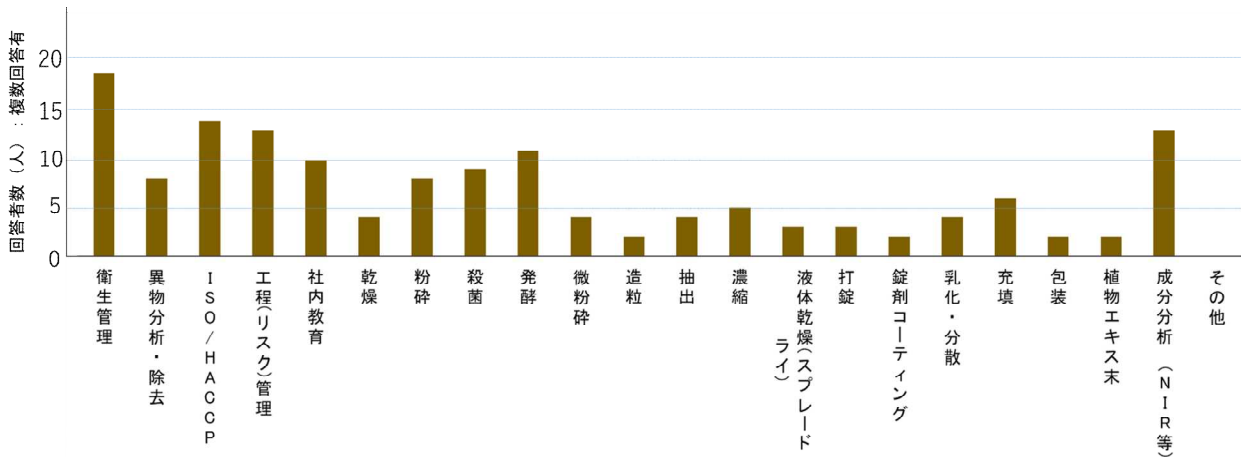


図4 加工・製造関連のキーワードに関するアンケート調査結果

加工・製造関連の【ワード】についてのアンケート結果を図4に示す。回答数が最も多かったワードは、「衛生管理」であり、次に「ISO/HACCP」「工程(リスク)管理」「成分分析(NIR等)」が同列で、「発酵」と続いた。この事から、県内健康食品製造業界でも、安全・安心を第一にしていることが推察されると同時に、成分分析等の品質管理の向上、並びに発酵等の付加価値向上にも技術課題があると推察された。

3-2 キサンチンオキシダーゼ阻害活性

キサンチンオキシダーゼ阻害活性は、高尿酸値予防(痛風予防)と関連しており、生活習慣病予防系の酵素阻害活性試験として評価されている。本活性の原理を図5に示す。

食品中に存在する核酸塩基であるプリン体は、体内の酵素によりヒポキサンチンからキサンチン、更に代謝されて尿酸となり排泄される。ところが、レバーやタラコ等の過剰摂取によってプリン体が多く取り込まれると高尿酸血症となり、やがて足の関節などに尿酸の結晶が沈着して、関節に激しい炎症が急激に発症する痛風となる。

そこで、キサンチンから尿酸に代謝する酵素であるキサンチンオキシダーゼを阻害することで、尿酸への代謝を緩やかに抑える原理である。

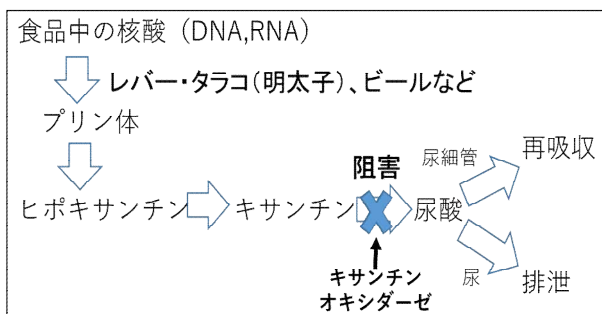


図5 キサンチンオキシダーゼ阻害活性の原理

長命草とウンチェーの 50%および 100%EtOH 抽出液中の固形分量 (mg/mL) およびキサンチンオキシダーゼ阻害活性 (IC₅₀: 50%阻害するのに必要な濃度 (mg/mL)) を表1に示す。その結果、抽出液 1mL 当たりの活性は、50%EtOH 抽出物と比較して、100%EtOH 抽出物の方が長命草では約3倍、エンサイでは2倍高かった。しかしながら、固形分量は 100%EtOH 抽出物と比較して、50%EtOH 抽出物の方が長命草では約7倍、エンサイでは4.7倍多かった。この事から、活性成分の中には脂溶性成分が含まれていると推察された。

表1 長命草とエンサイ抽出液中の固形分量とキサンチンオキシダーゼ阻害活性 (IC₅₀)

	IC ₅₀ (mg/mL)	固形分量 (mg/mL)
長命草50%EtOH抽出物	3.03	35.7
長命草100%EtOH抽出物	0.96	5.1
エンサイ50%EtOH抽出物	2.10	29.2
エンサイ100%EtOH抽出物	1.28	6.2

長命草にはクロロゲン酸¹⁴⁾が、エンサイにはイソクロロゲン酸が含まれていることが報告されている¹⁵⁾。そこで、クロロゲン酸とイソクロロゲン酸、それらの前駆体であるカフェ酸およびキナ酸のキサンチンオキシダーゼ阻害活性を調べた。その結果、表2に示すようにエンサイに含有しているイソクロロゲン酸類 (a, b, c) とその構成成分の一つであるカフェ酸が活性を示した。一方、キナ酸とクロロゲン酸には活性は認められなかった。データには示さないが、エンサイ中にはクロロゲン酸とカフェ酸が含有していることを確認している。この事から、長命草はクロロゲン酸以外の成分、エンサイは

イソクロロゲン酸類、カフェ酸が活性成分の一つであると示唆された。本活性のポジティブコントロールである Aroprinol の IC₅₀ 値は 0.32 μg/mL であり、桁違いの強い活性を示したことから、これと同等の活性を得るためには、安全性も確保しながら、エキス粉末等の濃縮が必要となる。

表2 長命草及びエンサイ中に含有する各成分のキサンチンオキシダーゼ阻害活性 (IC₅₀)

	IC ₅₀ (mg/mL)
イソクロロゲン酸a	0.28
イソクロロゲン酸b	0.25
イソクロロゲン酸c	0.16
カフェ酸	0.08
キナ酸	N.A.
クロロゲン酸	N.A.

※ N.A.: 活性なし

4 まとめと今後の課題

本研究より、以下のことが分かった。

- ① アンケート調査結果および県内企業からのヒアリング等も考慮して、県内企業が興味を示す素材として、シークワサー、ノニの他に、秋ウコン・春ウコン・紫ウコン、パパイヤ、モリンガ、モロヘイヤ、ヨモギ、クミスクチン、月桃、ゴーヤー、長命草、グアバ、エンサイ、シマグワ、トゲドコロの17種類を選択した。
- ② 県内企業が要望する機能性評価は、アンケート調査結果から、第一に「生活習慣病予防系の酵素阻害活性試験」、次に「メタボロミクスの成分分析」、「線虫を用いた抗老化試験」、更には「核内受容体レポーターアッセイ全般」であることが分かった。
- ③ 加工・製造に関係するアンケート調査結果から、「衛生管理」「ISO/HACCP」「工程(リスク)管理」などの製造管理や「成分分析」などの品質管理の向上を求めていることが分かった。
- ④ 長命草とエンサイの50%および100%EtOH抽出液には、生活習慣病予防系の酵素阻害活性試験の一つである、高尿酸値予防(痛風予防)に関連するキサンチンオキシダーゼ阻害活性を有すること、長命草はクロロゲン酸以

外の成分、エンサイはイソクロロゲン酸類、カフェ酸が活性成分の一つであることと示唆された。今後は、活性を高めるため、安全性も確保しながら、エキス粉末等の濃縮が必要となる。

5 謝辞

本研究を遂行するに当たり、長命草とエンサイ乾燥粉末を提供して頂いた金秀バイオ株式会社に深くお礼申し上げます。

本研究は、令和元年～3年度の工業研究費(単独)「健康食品素材と代表的成分の活性評価と加工技術に関する研究(2019技003)」として実施した。

6 参考文献

- 1) 豊川哲也、鎌田靖弘、与座江利子; 県産資源を活用した機能性食品の開発; .; 沖縄県工業技術センター研究報告.; 2000.; 2.; pp.35-57.
- 2) 鎌田靖弘、豊川哲也; 県産資源を活用した機能性素材の開発.; 沖縄県工業技術センター研究報告.; 2001.; 3.; pp.77-89.
- 3) 鎌田靖弘、豊川哲也、照屋正映、吉田安彦、花城薫、新垣美香、上地美香; 県産資源を活用した機能性素材の開発-in vitro試験での機能性評価-.; 沖縄県工業技術センター研究報告.; 2002.; 4.; pp.77-84.
- 4) 鎌田靖弘、豊川哲也、市場俊雄; 県産資源を活用した機能性素材の開発-病態モデル動物を用いた効果確認試験-.; 沖縄県工業技術センター研究報告.; 2002.; 4.; pp.85-92.
- 5) 鎌田靖弘、豊川哲也、比嘉賢一、藤野哲也、有銘興博、与那覇 恵; 血糖値改善機能を有する発酵グアバの開発; 沖縄県工業技術センター研究報告.; 2002.; 4.; pp.111-117.
- 6) 鎌田靖弘、大石千明; 高品質・低コスト製品を目指した粉体加工技術に関する研究—県内健康食品粒製品の物性評価と粉体加工の基礎技術の確立—; 沖縄県工業技術センター研究報告.; 2006.; 8.; pp.17-24.
- 7) 鎌田靖弘、西川一好、大石千明; ウコン類における錠剤成形の技術開発; 沖縄県工業技術センター研究報告.; 2007.; 9.; pp.1-5.
- 8) 鎌田靖弘、大石千明、西川一好; 高品質・低コスト製品を目指した粉体加工技術に関する研究—ビール酵母を用いた錠剤化の検討—; 沖縄県工業技術センター研究報告.; 2007.; 9.; pp.7-10.
- 9) 鎌田靖弘、西川一好、大石千明; エンサイを用いた健康食品の錠剤開発; 沖縄県工業技術センター研究報

告.; 2008.; 10.; pp.17-22.

10) 鎌田靖弘、上原真希子、天願朝隆; 春ウコン (キョウオウ) の成分に関する実態調査; 沖縄県工業技術センター研究報告.; 2012.; 15.; pp.23-27.

11) 照屋盛実、鎌田靖弘、玉村隆子、伊波千晶; 3種ウコンの精油比較; 沖縄県工業技術センター研究報告.; 2013.; 16.; pp.1-5.

12) Mai Thanh Thi Nguyen, Suresh Awale, Yasuhiro Texuka, Quan Le Tran, Hiroshi Watanabe Shigetoshi Kadota.; Xanthine Oxidase Inhibitory Activity of Vietnamese Medicinal Plants.; *Biol. Pharm. Bull.* 2004.; 27 (9); 1414-1421.

13) Nor-Ashila Aladdin, Khairana Husain, Juriyati Jalil, Carla Wulandari Sabandar, Jamia Azdina Jama.; Xanthine oxidase inhibitory activity of a new isocoumarin obtained from *Marantodes pumilum* var. *pumila* leaves.; *BMC Complementary Medicine and Therapies.*; 2020.; 20.; 324

14) Chia-Chen Chen, Dinesh Chandra Agrawal Maw- Rong Lee, Ren-Jye Lee, Chao-Lin Kuo, Chi-Rei Wu1, Hsin-Sheng Tsay, Hung-Chi Chang.; Influence of LED light spectra on *in vitro*somatic embryogenesis and LC-MS analysis of chlorogenic acid and rutin in *Peucedanum japonicum* Thunb.: a medicinal herb.; *Bot. Stud.*; 2016, 57:9

15) 湧田裕子、豊川哲也、奥平留美子、市場俊雄、市村年昭、丸山 進.; エンサイの血糖値上昇抑制効果に関する研究.; 沖縄県工業技術センター研究報告.; 2004.; 6.; p.4

Study to evaluate the activity of health food materials and their components

Yasuhiro KAMADA

Okinawa Industrial Technology Center

Upon the request of the prefectural health food industry, this study evaluated the activity of materials that received interest from companies within the prefecture. Based on a questionnaire survey of companies within the prefecture, 17 materials requested to be evaluated were selected, including “Shequasar” and “Turmeric.” As “a study on enzyme inhibitory activities for the prevention of lifestyle-related diseases” was the most frequently requested functional evaluation item, xanthine oxidase inhibitory activity, which was relevant to the prevention of elevated uric acid (prevention of gout), was selected from these activities. In addition, a survey of words related to processing and manufacturing highlighted the need to improve manufacturing control such as “hygiene control”, “ISO/HACCP”, and “process (risk) control”, and quality control such as “ingredient analysis.” Among the selected materials, measurement of xanthine oxidase inhibitory activity in the 50% and 100% EtOH extracts of *Peucedanum japonicum* and *Ipomoea aquatica* showed that both materials had activity and suggested that components other than chlorogenic acid were contained as active components in *Peucedanum japonicum*, and isochlorogenic acids and caffeic acid were in *Ipomoea aquatica*.

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。