

沖縄産薬草の機能性品質管理指標の確立

— 最適栽培条件、機能成分、機能・成分相関、機能定量分析法 —

豊川哲也、湧田裕子、知念光浩¹、市場俊雄

本研究では、県産資源の機能性を活用した製品の品質管理指標を作成するために、ニシヨモギ、バンジロウ、リュウキュウヨモギ、カワラヨモギ、オトコヨモギおよびボタンボウフウの最適栽培条件、機能・成分相関、機能定量法について検討した。植物が発揮する機能性は、栽培条件により大きく変化することが認められた。特に収穫時期と日照条件は機能性に大きく影響する因子であると考えられた。機能・成分の相関に関しては、マルターゼおよびスクラーゼ阻害活性に関与する成分がポリフェノール類であることを明らかにし、各ポリフェノール類の阻害活性に対する重要度を寄与率で算出した。機能定量法の開発では、HPLCを用いて成分量を直接測定する方法、フォーリン・チオカルテ法を利用した吸光度法および目視法を開発した。

1 はじめに

植物の機能性を活用した食品・医薬品、化粧品などの開発・生産においては、目的とする機能の安定的発現の維持が非常に重要である。しかしながら、植物は個体差、季節変動、栽培条件等の違いにより含有する成分が大きく変動するため、機能を安定して発現させることが困難である。そこで、本研究では沖縄の代表的薬草であるニシヨモギ、バンジロウ、リュウキュウヨモギ等に関して、機能と成分の関係を定量的に明らかにすることで、生産現場で実施可能な機能評価法・機能成分定量法を開発し品質管理指標とすることで、製品の信頼性を確立することを目的とした。また、原料品質は製品の質を大きく左右するため、原料となる植物の栽培条件が機能に与える影響について検討した。

2. 実験方法

2-1 植物抽出液の調製

使用した植物は、平成11年に農業試験場具志川支場の管理圃場で栽培されたものを用いた。機能性に関与する栽培条件の因子として、収穫月、土壌、日照条件を設定

した。土壌に関してはジャーガル、島尻マーヅ、国頭マーヅの3水準を、日照条件に関しては通常の温室で栽培した自然日照および紫外線カットフィルムを使用して栽培した紫外線カットの2水準を設定した。収穫月は、3月から12月の間に適宜収穫し2～5水準を設定した。表1に植物名および収穫月を示す。

収穫した植物は、70℃で通風乾燥後フードプロセッサにて粉末化した。機能性試験に供する植物抽出液を、高速溶媒抽出装置（日本ダイオネクス社、ASE200）を用いて、試料重量：5g、抽出溶媒：50%エタノール、抽出圧力：2000 psi、抽出時間：10分、抽出回数：2回の条件で調製した。

2-2 機能性評価

マルターゼ阻害活性¹⁾、スクラーゼ阻害活性²⁾、アンジオテンシン変換酵素(ACE)阻害活性³⁾、抗酸化活性³⁾およびリパーゼ阻害活性⁴⁾は、いずれも既報のとおり測定した。なお、抗酸化活性値は125mMのDPPHを消去する量(mg/ml)で示した。すなわち、抗酸化活性値は値が小さいほど高活性である。その他の活性は、コントロー

表1 共試植物和名、学名、方言名

和名	部位	学名	方言名	収穫月
ニシヨモギ	全草	<i>Artemisia indica willd.</i>	フーチバー	3, 5, 7, 9, 11
バンジロウ	葉	<i>Psidium guajava L.</i>	バンシルー	7, 11, 2
リュウキュウヨモギ	全草	<i>Artemisia campestris L.</i>	ハママーチ、インチングサ	7, 9, 11, 2
カワラヨモギ	全草	<i>Artemisia capillaris Thunb.</i>		3, 5, 7, 9, 11
オトコヨモギ	全草	<i>Artemisia japonica Thunb.</i>		5, 7, 9, 11, 2
ボタンボウフウ	葉	<i>Peucedanum japonicum Thunb.</i>	チョーミーグサ、サクナ	7, 12

1 非常勤職員

ルの値を100とした場合の阻害活性(%)で示した。

2-3 HPLCによる機能性成分の定量

各サンプルのクロマトグラムを、HPLC (Waters, Alliance, column; cadenza cd-C18 50 x ϕ 4.6mm、検出器フォトダイオードアレイ996)を使用し、サンプル負荷量10 μ l、移動相1%酢酸を含む水-メタノールもしくは水-アセトニトリルのリニアグラジュエントの条件で得た。なお、各条件は以下のとおりである。

ニシヨモギ：水-メタノール、15-50%、溶出時間24分

バンジロウ：水-アセトニトリル、11-20%、溶出時間10分

オトコヨモギ、カワラヨモギ：水-メタノール、10-50%、溶出時間12分

リュウキュウヨモギ：水-メタノール、10-90%、溶出時間12分

2-4 ポリフェノールの定量

ポリフェノールの定量は、フォーリン・チオカルテ法⁵⁾にて行った。

2-5 統計処理

統計処理は、EXCEL (マイクロソフト社) およびEXCEL統計およびEXCEL多変量解析 (エスミ社) を使用

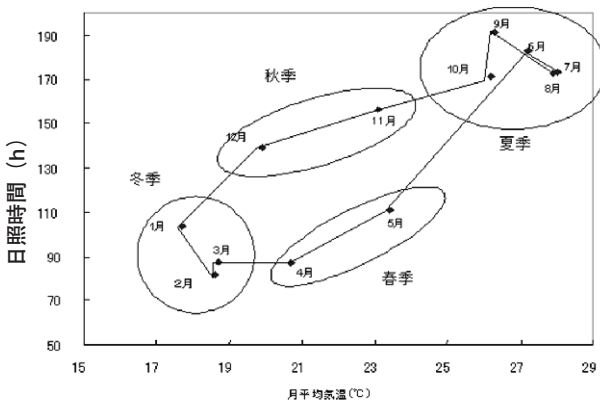


図1 2000年3月から2001年2月までのクライモグラム

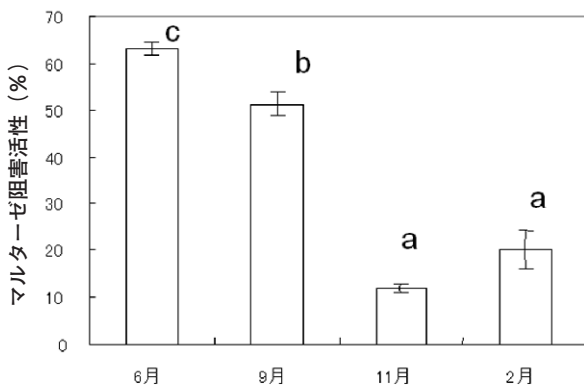


図2 収穫時期がニシヨモギマルターゼ阻害活性に与える影響

した。数値は平均値 \pm 標準誤差で示す。t検定の結果、有意水準 $\alpha < 0.05$ で有意差が認められた場合「*」を、 $\alpha < 0.01$ で認められた場合「**」をグラフ中のカラムの右上に示した。Tukeyの多重検定の結果、有意水準 $\alpha < 0.05$ で有意差が認められた場合、カラム右上にアルファベットを付し、異なるアルファベットで有意差を示した。すなわち、異なる文字間には有意差が認められたことを示す。

3. 結果および考察

3-1 栽培条件の違いが機能性に与える影響

図1に2000年3月から2001年2月までの日照時間と平均気温のクライモグラムを示す。6月から10月までを夏季、11、12月を秋季、1月から3月までを冬季、4月および5月を春季と定義する。また、抗酸化性に関しては、既報⁶⁾のデータを使用した。

3-1-1 ニシヨモギの栽培条件について

表2にニシヨモギ抽出液の各活性値を、表3に分散分析を行い因子の効果を判定した結果を示す。また、効果が確認できた因子に関しては水準毎にプーリングを行い、2水準の場合はt検定、3水準以上の場合にはTurkeyの郡集合比較を行い母平均の差の検定を行った。

解析の結果、各活性とも栽培条件の影響を大きく受けることが認められた。マルターゼ阻害活性の場合、6月収穫・自然日照・ジャーガル土壌で栽培したサンプルの阻害活性が67%の最大値を示したのに対し、11月収穫・紫外線カット、ジャーガル栽培のサンプルの阻害活性が8.3%の最小値を示し、約8倍の差が認められた。同様に最大値と最小値を比較した場合、スクラーゼ阻害活性で4.8倍、リパーゼで3.7倍、抗酸化活性で40倍、ACE阻害活性で約4倍であった。収穫時期に関しては、マルターゼおよびスクラーゼ阻害活性では6月と9月の夏季収穫サンプルに(図2, 3)、ACE阻害活性に関しては9月収穫サンプルに(図4)高い活性が認められた。また、収穫月と日照条件間に交互作用が認められ、9月収穫かつ日

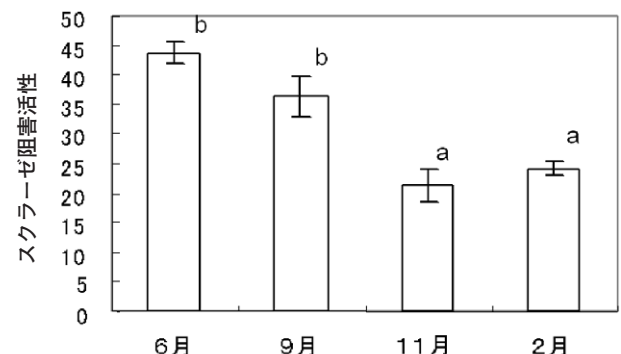


図3 収穫時期がニシヨモギスクラーゼ阻害活性に与える影響

表2 栽培条件の異なるニシヨモギより調製した抽出液の各活性値

収穫月	土壌	日照条件	マルターゼ 阻害活性(%)	スクラーゼ 阻害活性(%)	リパーゼ 阻害活性(%)	抗酸化活性 (mg/mL)	ACE阻害活性(%)
6月	ジャーガル	自然日照	67.5	42.1	44.4	0.09	62.1
6月	国頭マーシ	自然日照	57.9	43.2	19.7	0.16	54.9
6月	島尻マーシ	自然日照	61.2	35.8	30.4	0.10	39.5
6月	ジャーガル	UVカット	64.7	45.2	53.2	0.15	18.8
6月	国頭マーシ	UVカット	64.4	46.9	55.4	0.10	22.0
6月	島尻マーシ	UVカット	63.6	48.4	29.4	0.20	24.4
9月	ジャーガル	自然日照	49.2	41.9	40.9	0.07	72.3
9月	国頭マーシ	自然日照	57.5	48.1	42.6	0.09	68.7
9月	島尻マーシ	自然日照	47.3	36.2	33.0	0.11	67.0
9月	ジャーガル	UVカット	59.8	36.2	44.8	0.10	53.5
9月	国頭マーシ	UVカット	51.7	24.1	39.2	0.06	61.2
9月	島尻マーシ	UVカット	42.9	31.0	19.8	0.04	47.7
11月	ジャーガル	自然日照	9.8	23.6	44.5	0.20	59.5
11月	国頭マーシ	自然日照	13.0	24.4	39.1	0.12	38.1
11月	島尻マーシ	自然日照	12.2	28.1	38.6	0.11	34.2
11月	ジャーガル	UVカット	8.3	10.1	40.4	0.24	56.0
11月	国頭マーシ	UVカット	12.5	17.7	43.2	0.26	76.2
11月	島尻マーシ	UVカット	14.9	23.3	32.7	0.26	63.7
2月	ジャーガル	自然日照	41.1	29.5	62.9	0.78	43.2
2月	国頭マーシ	自然日照	18.3	22.2	49.9	1.58	55.4
2月	島尻マーシ	自然日照	13.7	20.5	63.3	0.70	59.4
2月	ジャーガル	UVカット	12.6	22.8	60.1	0.99	40.8
2月	国頭マーシ	UVカット	18.0	24.3	72.8	0.76	37.6
2月	島尻マーシ	UVカット	17.2	25.3	35.0	0.95	47.6

表3 分散分析による効果の判定 (ニシヨモギ)

	マルターゼ 阻害活性	スクラーゼ 阻害活性	リパーゼ 阻害活性	抗酸化活性	ACE 阻害活性
変動因	判定	判定	判定	判定	判定
因子(A)	[**]	[**]	[*]	[**]	[*]
因子(B)	[]	[]	[]	[]	[]
因子(C)	[]	[]	[*]	[*]	[]
因子(AB)	[]	[]	[]	[]	[]
因子(AC)	[]	[*]	[]	[]	[*]
因子(BC)	[]	[]	[*]	[]	[]
因子(ABC)	[]	[]	[]	[]	[]

変動因 A:収穫月、B:土壌、C:日照条件

*: P>0.05以下で有意差有り, **: P>0.01以下で有意差有り

照条件の場合に最大値69.3% (P<0.05で有意)を示した。抗酸化活性については、11月収穫サンプル以外がいずれも高活性を示した(図5)。一方、リパーゼ阻害活性は2月の冬季に収穫した場合に高活性が認められた(図6)。また、土壌と日照条件の交互作用が認められ、夏季収穫かつ自然日照の場合(40.4%)の場合と比較して、夏季収穫かつUVカットの場合(46.8%)に阻害率が高くなる傾向が認められた。抗酸化活性では、日照条件の因子効

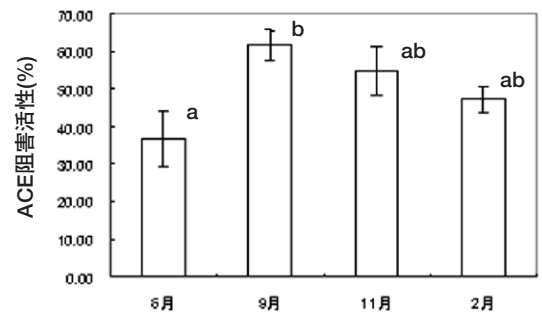


図4 収穫時期がニシヨモギACE阻害活性に与える影響

果が有意に確認され(図7)、自然日照の場合がUVカットの場合よりも活性が高くなる傾向が認められた。

以上をまとめると、マルターゼおよびスクラーゼ阻害活性に関しては収穫時期が重要であり夏季収穫が高活性を示すこと、リパーゼ阻害活性に関しては冬季収穫かつジャーガル土壌栽培が高活性を示すこと、抗酸化活性では収穫時期が冬季以外かつ自然日照の場合に、ACE阻害活性では、夏季から秋季にかけての収穫かつ自然日照条件の場合に高活性の収穫物が得られることが認められた。

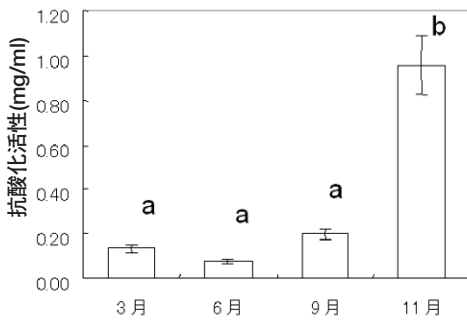


図5 収穫時期がニシヨモギ抗酸化活性能に与える影響

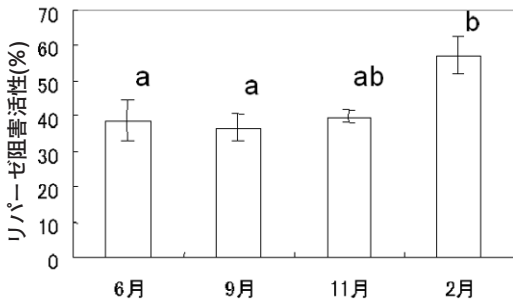


図6 収穫時期がニシヨモギリパーゼ阻害活性能に与える影響

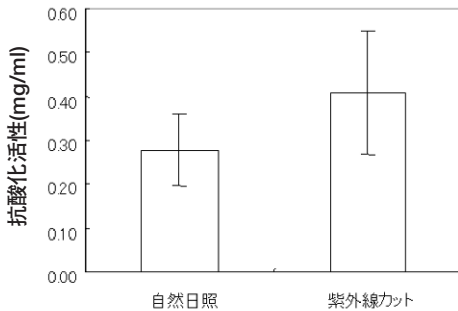


図7 日照条件がニシヨモギ抗酸化活性能に与える影響

3-1-2 バンジロウの栽培条件について

バンジロウ抽出液の各活性値を表4に、分散分析を行い因子の効果を判定した結果を表5に示す。なお、リパーゼ阻害活性に関しては原液では活性値が71%-97%と活性が高く解析が困難であったため、2倍希釈して活性値を再測定および解析した。効果が確認できた因子に関して、ニシヨモギと同様に各水準間の群集合比較を行った。バンジロウ抽出液の各活性は、収穫月および日照条件（特に日照条件）に大きく影響されることが認められた。収穫月に関しては、スクラーゼ阻害活性（図8）で7、11、2月収穫サンプルの順に活性が高くなる傾向が認められた。ACE阻害活性（図9）、抗酸化活性（図10）、リパーゼ阻害活性（図11）に関しては、11月収穫のサンプルの活性が最も高いこと、2月および7月収穫のサンプルの活性が同程度であることが認められた。日照条件に関しては、全ての活性において自然日照条件が高活性を示した（図12-15）。土壌に関しては、因子の効果は認められなかった。交互作用については、抗酸化能で収穫月と自然日照間で（最大値：7月収穫・日照、0.0167mg/ml）

に、マルターゼ阻害活性に関して全因子の交互作用が認められた。

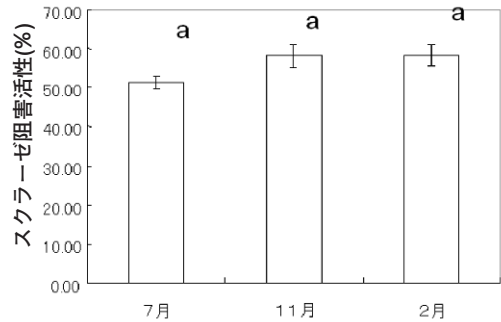


図8 収穫月がバンジロウスクラーゼ阻害活性能に与える影響

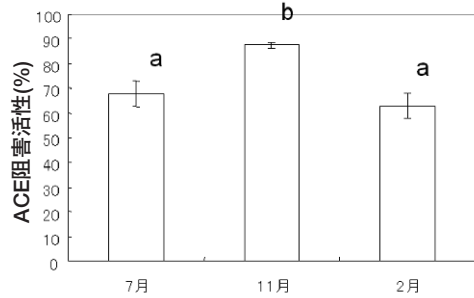


図9 収穫月がバンジロウACE阻害活性能に与える影響

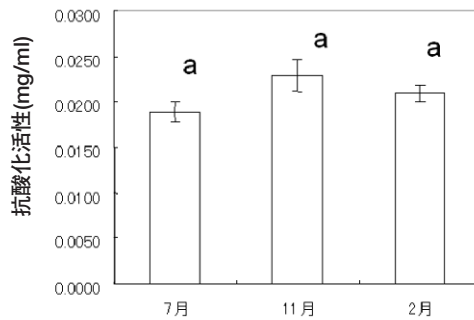


図10 収穫月がバンジロウ抗酸化活性能に与える影響

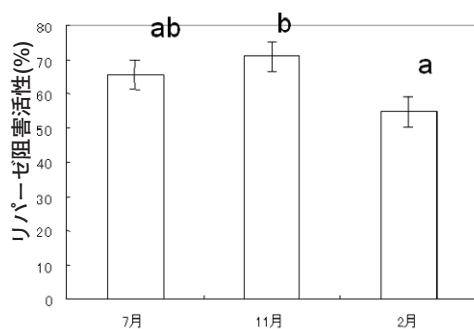


図11 収穫月がバンジロウリパーゼ阻害活性能に与える影響

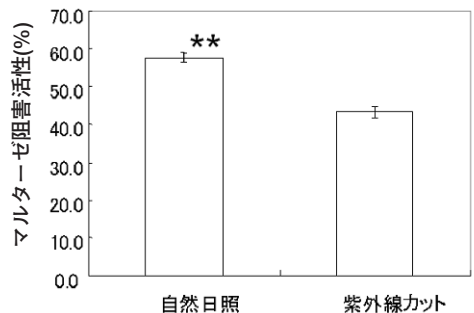


図12 日照条件がバンジロウマルターゼ阻害活性能に与える影響

表4 栽培条件の異なるバンジロウより調製した抽出液の各活性値

収穫月	栽培土壌	日照条件	マルターゼ 阻害活性(%)	スクラーゼ 阻害活性(%)	リパーゼ 阻害活性(%)	リパーゼ阻害 活性(%)2倍稀釈)	ACE阻 害活性(%)	抗酸化活性 (mg/ml)
7月	ジャーガル	自然日照	60.5	55.6	98.9	65.9	27.8	0.015
7月	国頭マージ	自然日照	55.9	55.9	87.0	45.1	45.6	0.013
7月	島尻マージ	自然日照	57.7	55.1	92.3	52.3	76.7	0.020
7月	ジャーガル	UVカット	44.2	47.0	76.6	59.5	85.4	0.022
7月	国頭マージ	UVカット	46.4	44.6	68.4	51.3	87.0	0.022
7月	島尻マージ	UVカット	48.0	48.5	96.6	78.7	80.8	0.023
7月	ジャーガル	自然日照	53.8	50.6	90.7	56.1	81.6	0.021
7月	国頭マージ	自然日照	59.0	59.3	98.6	88.0	78.9	0.019
7月	島尻マージ	自然日照	47.7	54.8	97.7	86.9	59.9	0.012
7月	ジャーガル	UVカット	43.8	48.2	86.0	67.9	56.5	0.021
7月	国頭マージ	UVカット	34.6	44.0	74.2	54.6	67.5	0.021
7月	島尻マージ	UVカット	49.2	51.5	97.7	79.3	66.7	0.018
11月	ジャーガル	自然日照	61.6	63.8	102.7	76.5	85.2	0.017
11月	国頭マージ	自然日照	60.6	63.2	98.9	76.7	86.0	0.015
11月	島尻マージ	自然日照	62.5	66.5	99.0	82.4	80.5	0.013
11月	ジャーガル	UVカット	32.7	42.2	86.3	41.9	89.2	0.030
11月	国頭マージ	UVカット	41.1	48.2	93.5	51.5	87.7	0.028
11月	島尻マージ	UVカット	43.9	53.9	97.5	66.1	79.1	0.025
11月	ジャーガル	自然日照	66.3	75.9	92.5	82.4	89.0	0.017
11月	国頭マージ	自然日照	59.2	59.6	88.5	79.2	92.2	0.024
11月	島尻マージ	自然日照	61.9	62.0	91.5	90.1	91.1	0.019
11月	ジャーガル	UVカット	40.4	42.7	82.5	60.0	92.2	0.028
11月	国頭マージ	UVカット	46.5	53.8	84.9	62.4	92.6	0.028
11月	島尻マージ	UVカット	55.2	66.6	94.7	81.4	86.4	0.030
2月	ジャーガル	自然日照	46.9	64.0	90.3	58.7	50.0	0.020
2月	国頭マージ	自然日照	59.6	59.9	95.3	77.3	64.0	0.016
2月	島尻マージ	自然日照	54.2	64.2	93.9	78.4	78.1	0.019
2月	ジャーガル	UVカット	47.1	51.2	94.5	61.5	41.8	0.020
2月	国頭マージ	UVカット	34.8	37.5	75.4	27.0	54.1	0.026
2月	島尻マージ	UVカット	38.8	46.5	94.9	57.4	36.6	0.020
2月	ジャーガル	自然日照	51.0	61.0	89.5	42.4	40.7	0.023
2月	国頭マージ	自然日照	66.5	73.3	98.1	66.7	75.1	0.015
2月	島尻マージ	自然日照	51.8	65.1	91.6	45.7	61.8	0.023
2月	ジャーガル	UVカット	40.8	62.1	82.7	53.5	88.1	0.022
2月	国頭マージ	UVカット	40.7	53.7	76.4	38.2	86.0	0.024
2月	島尻マージ	UVカット	47.4	59.9	89.0	48.0	79.0	0.023

表5 分散分析による効果の判定

変動因	マルターゼ阻害活性 判定	スクラーゼ阻害活性 判定	リパーゼ阻害活性 判定	抗酸化活性 判定	ACE阻害活性 判定
因子(A)	[]	[*]	[*]	[*]	[**]
因子(B)	[]	[]	[]	[]	[]
因子(C)	[**]	[**]	[*]	[**]	[]
因子(AB)	[]	[]	[]	[]	[]
因子(AC)	[]	[]	[]	[*]	[]
因子(BC)	[*]	[]	[]	[]	[]
因子(ABC)	[*]	[]	[]	[]	[]

変動因 A:収穫月、B:土壌、C:日照条件

* : P>0.05で有意差有り

** : P>0.01で有意差有り

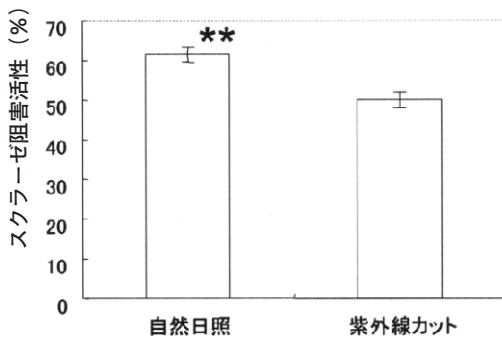


図13 日照条件がバンジロウスクラレーゼ阻害活性能に与える影響

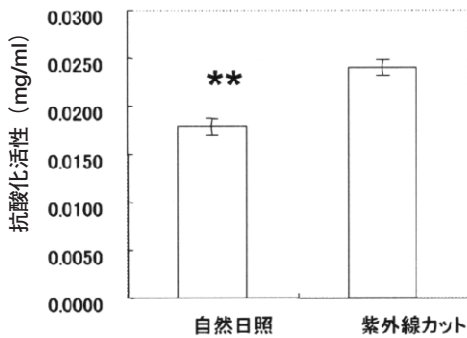


図15 日照条件がバンジロウ抗酸化活性能に与える影響

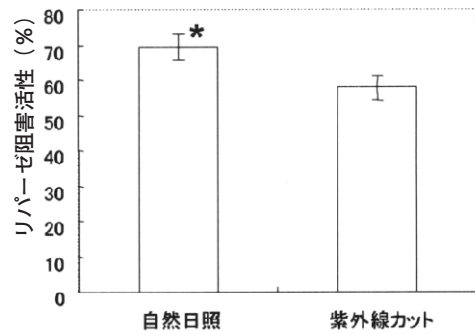


図14 日照条件がバンジロウリパーゼ阻害活性能に与える影響

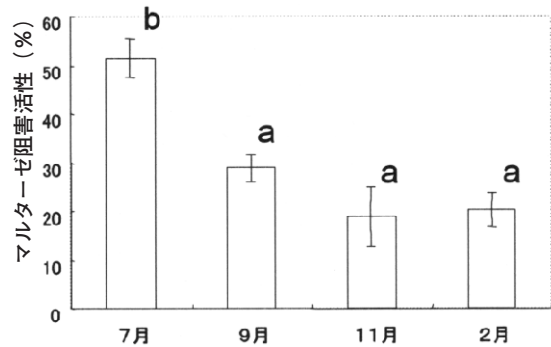


図16 収穫時期がリュウキュウヨモギマルターゼ阻害活性能に与える影響

以上、バンジロウではマルターゼ阻害活性では11月収穫・自然日照・ジャーガル土壌栽培の場合に、スクラレーゼ阻害活性では、夏季収穫かつ自然日照の場合に、ACE阻害活性、抗酸化活性、リパーゼ阻害活性に関しては、秋季収穫かつ自然日照栽培で高活性の収穫物が得られることが認められた。

3-1-3 リュウキュウヨモギの栽培条件について

リュウキュウヨモギ抽出液の各活性値を表6に、分散分析を行い因子の効果を判定した結果を表7に示す。効果が確認できた因子に関して、各水準間の群集比較を行った。収穫時期に関しては、マルターゼ(図16)、スクラレーゼ(図17)、ACE阻害活性(図18)および抗酸化活性(図19)で夏季収穫のサンプルの活性が高く、収穫時期が秋季から冬季に向かうに連れて活性が低下することが認められた。逆にリパーゼ阻害活性(図20)は冬季収穫サンプル活性が高く、夏季収穫サンプルは低活性を示すことが顕著に認められた。栽培土壌に関しては、ACE阻害活性でジャーガル、国頭マージ、島尻マージの順で活性が低くなる傾向を示した(図21)。日照条件に関しては、因子効果の認められたすべての活性で、自然日照条件が高活性を示した(図22-24)。交互作用に関しては、マルターゼおよびACE阻害活性で収穫月と土壌間および土壌と日照間に交互作用が有意に認められた。マルターゼ阻害活性では、収穫月と土壌間(最大値:7月収穫日照条件、59.4%)および土壌と日照間(最大値:ジャーガル・日照条件、41.8%)に交互作用が有意に認められた。

以上、リュウキュウヨモギではマルターゼおよびスクラレーゼ阻害活性に関しては夏季収穫かつ自然日照条件の場合に、リパーゼ阻害活性に関しては冬季収穫の場合に、ACE阻害活性および高酸化活性では夏季収穫かつ自然日照かつジャーガル土壌栽培の場合に、高活性の収穫物が得られることが認められた。

3-1-4 カワラヨモギの栽培条件について

カワラヨモギ抽出液の各活性値を表8に、分散分析を行い因子の効果を判定した結果を表9に示す。効果が確認できた因子に関して、各水準間の群集比較を行った。マルターゼ及びスクラレーゼ阻害活性に関しては因子の効果は認められなかった。ACE阻害活性では、収穫時期に関して夏季収穫サンプルが高活性であることが認められた(図25)。逆に、リパーゼ阻害活性では冬季収穫サンプルが高活性であった(図26)。抗酸化活性に関しては、3月収穫サンプルが最も高活性であり、夏季サンプルは活性が低いことが認められた(図27)。栽培土壌に関しては、ACE阻害活性において島尻マージで栽培したサンプルの活性が低くなる傾向が認められた(図28)。日照条件に関しては、ACE阻害活性(図29)で紫外線カットサンプルの活性が高くなる傾向が、抗酸化活性(図30)では有意に高くなることが認められた。

カワラヨモギのマルターゼ及びスクラレーゼ阻害活性は特に因子の効果は認められなかった。ACE阻害活性に関しては夏季収穫かつ紫外線カットかつ島尻土壌以外の場合が、抗酸化活性では冬季収穫かつ自然日照の場合に高活性の収穫物が得られることが認められた。

表6 栽培条件の異なるリュウキュウヨモギより調製した抽出液の各活性値

収穫月	栽培土壌	日照条件	マルターゼ 阻害活性(%)	スクラーゼ 阻害活性(%)	リパーゼ 阻害活性(%)	ACE阻 害活性(%)	抗酸化活性 (mg/ml)
7月	ジャーガル	自然	58.2	41.0	-5.5	25.6	0.28
7月	国頭	自然	65.2	51.8	10.9	42.0	0.55
7月	島尻	自然	54.8	39.8	-7.9	27.6	0.32
7月	ジャーガル	UVカット	39.3	20.1	20.2	65.7	0.84
7月	国頭	UVカット	45.3	16.1	0.1	47.9	0.3
7月	島尻	UVカット	45.7	26.1	-10.0	23.7	0.51
9月	ジャーガル	自然	35.7	16.9	11.6	67.2	0.15
9月	国頭	自然	31.3	22.5	9.1	37.3	0.36
9月	島尻	自然	32.1	15.7	17.0	52.0	0.12
9月	ジャーガル	UVカット	18.6	13.3	18.8	55.5	0.24
9月	国頭	UVカット	22.7	15.3	15.9	25.0	0.17
9月	島尻	UVカット	33.7	19.7	18.8	14.0	0.28
11月	ジャーガル	自然	41.4	30.9	36.7	32.4	0.32
11月	国頭	自然	28.9	23.3	16.6	24.9	0.71
11月	島尻	自然	24.2	3.0	20.0	30.4	0.36
11月	ジャーガル	UVカット	5.8	-12.1	29.2	67.4	0.75
11月	国頭	UVカット	11.2	4.3	37.9	52.9	0.46
11月	島尻	UVカット	2.3	4.3	23.7	40.3	0.65
2月	ジャーガル	自然	32.1	11.3	57.5	33.9	0.26
2月	国頭	自然	13.7	4.3	38.9	9.2	0.99
2月	島尻	自然	22.6	7.4	48.8	29.1	0.37
2月	ジャーガル	UVカット	9.1	6.1	48.0	39.4	0.74
2月	国頭	UVカット	17.0	5.6	47.4	22.0	0.47
2月	島尻	UVカット	26.3	12.6	39.2	21.3	0.87

表7 分散分析による効果の判定 (リュウキュウヨモギ)

変動因	マルターゼ 阻害活性	スクラーゼ 阻害活性	リパーゼ 阻害活性	抗酸化活性	ACE 阻害活性
変動因	判定	判定	判定	判定	判定
因子(A)	[**]	[**]	[**]	[**]	[*]
因子(B)	[]	[]	[]	[]	[**]
因子(C)	[**]	[**]	[]	[**]	[]
因子(AB)	[]	[]	[]	[]	[]
因子(AC)	[*]	[]	[]	[]	[**]
因子(BC)	[*]	[]	[]	[]	[*]
因子(ABC)	[]	[]	[]	[]	[]

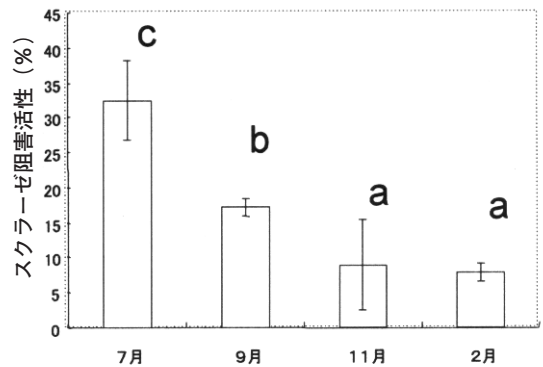


図17 収穫時期がリュウキュウヨモギスクラーゼ阻害活性能に与える影響

変動因 A:収穫月、B:土壌、C:日照条件

*: P>0.05で有意差有り, **: P>0.01で有意差有り

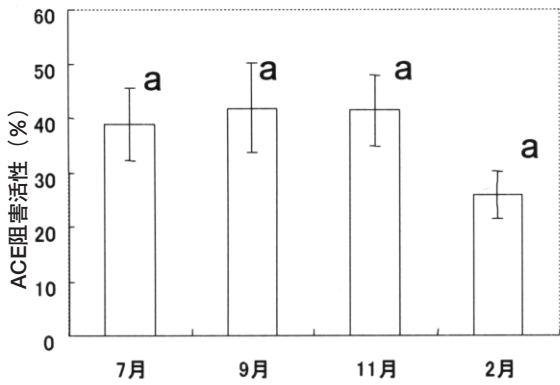


図18 収穫時期がリュウキュウヨモギACE阻害活性能に与える影響

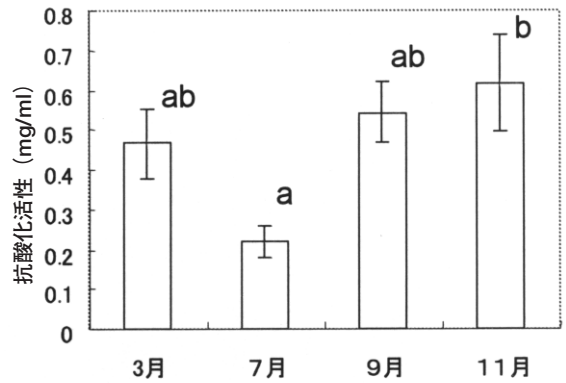


図19 収穫時期がリュウキュウヨモギ抗酸化活性能に与える影響

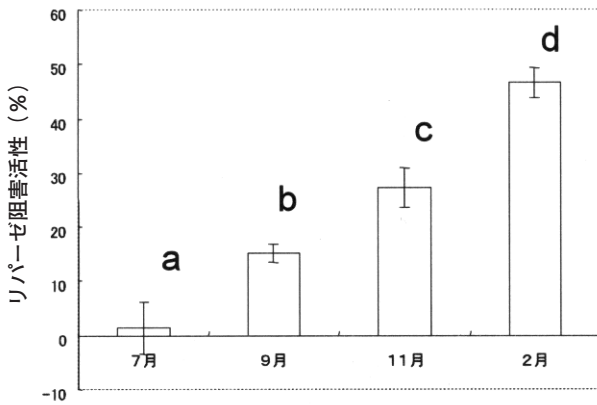


図20 収穫時期がリュウキュウヨモギリパーゼ阻害活性能に与える影響

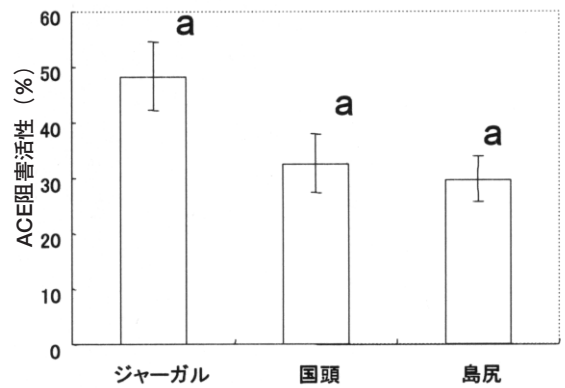


図21 栽培土壌がリュウキュウヨモギACE阻害活性能に与える影響

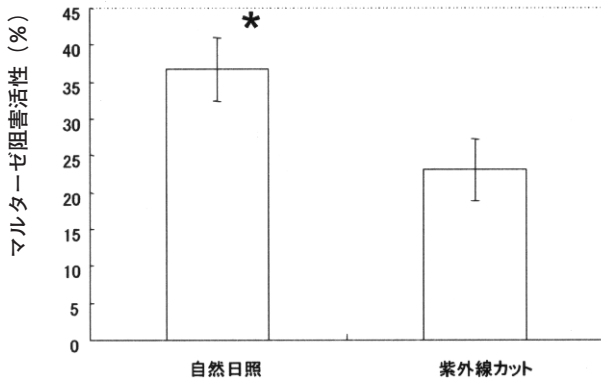


図22 日照条件がリュウキュウヨモギマルターゼ阻害活性能に与える影響

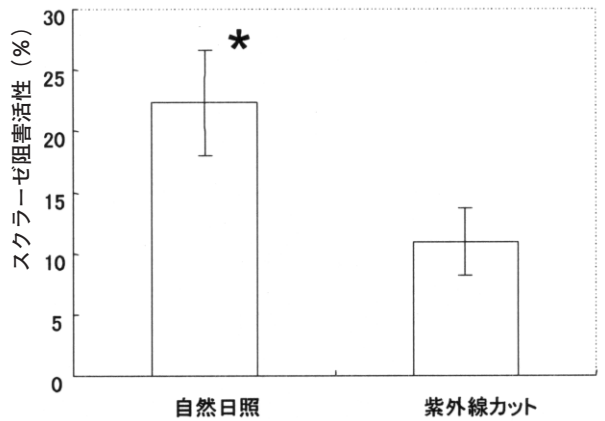


図23 日照条件がリュウキュウヨモギスクラーゼ阻害活性能に与える影響

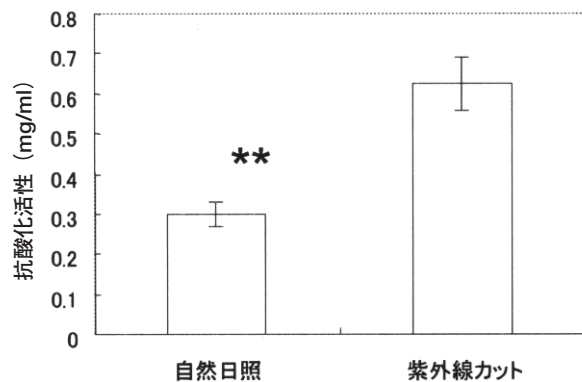


図24 日照条件がリュウキュウヨモギ抗酸化活性能に与える影響

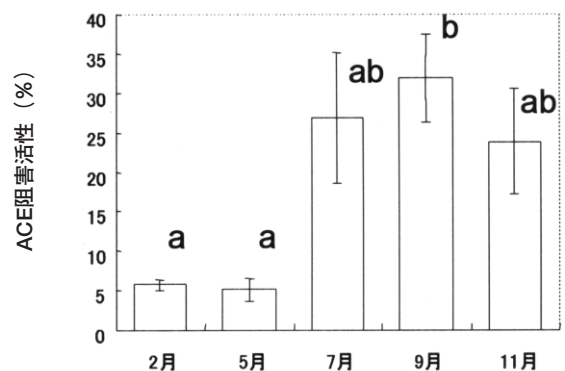


図25 収穫時期がカラヨモギACE阻害活性能に与える影響

表8 栽培条件の異なるカワラモギより調製した抽出液の各活性値

収穫月	栽培土壌	日照条件	マルターゼ 阻害活性(%)	スクラーゼ 阻害活性(%)	リパーゼ 阻害活性(%)	ACE阻 害活性(%)	抗酸化活性 (mg/ml)
2月	国頭	カット	47.97	34.30	44.63	6.34	0.15
2月	国頭	自然	17.97	22.38	37.66	8.81	0.23
2月	島尻	カット	11.22	19.19	43.86	3.96	0.21
2月	島尻	自然	15.56	23.26	34.65	4.53	0.09
2月	ジャーガル	カット	28.07	28.49	25.15	4.70	0.14
2月	ジャーガル	自然	21.55	29.94	25.91	5.90	0.09
5月	国頭	カット	18.44	26.45	-1.00	5.05	0.31
5月	国頭	自然	17.03	32.56	16.77	7.72	0.24
5月	島尻	カット	9.51	35.17	0.83	7.18	0.38
5月	島尻	自然	3.11	24.71	14.94	7.03	0.29
5月	ジャーガル	カット	17.73	27.03	35.01	5.94	0.31
5月	ジャーガル	自然	21.73	40.12	25.09	-1.96	0.13
7月	国頭	カット	21.43	24.13	-8.03	47.47	0.45
7月	国頭	自然	27.13	27.33	-3.72	23.38	0.24
7月	島尻	カット	17.97	31.98	6.32	-2.13	0.29
7月	島尻	自然	24.52	23.63	0.52	13.35	0.26
7月	ジャーガル	カット	15.30	9.89	-2.47	51.95	0.35
7月	ジャーガル	自然	30.20	31.59	3.97	27.05	0.17
9月	国頭	カット	20.13	27.47	29.75	35.55	0.58
9月	国頭	自然	39.88	35.16	20.38	42.83	0.23
9月	島尻	カット	23.23	5.49	13.15	15.70	0.62
9月	島尻	自然	19.40	25.27	16.80	13.51	0.52
9月	ジャーガル	カット	23.57	21.70	21.09	38.95	0.68
9月	ジャーガル	自然	30.99	34.89	20.64	44.89	0.23
11月	国頭	自然	25.48	23.90	24.54	6.36	0.26
11月	国頭	カット	19.24	24.73	36.52	48.12	0.53
11月	島尻	カット	17.04	26.37	31.97	12.86	0.69
11月	島尻	自然	24.13	28.57	25.26	17.77	0.42
11月	ジャーガル	カット	19.69	24.45	29.95	40.14	0.53
11月	ジャーガル	自然	21.09	35.44	32.42	17.88	0.42

表9 分散分析による効果の判定 (カワラヨモギ)

変動因	マルターゼ 阻害活性	スクラーゼ 阻害活性	リパーゼ 阻害活性	抗酸化活性	ACE 阻害活性
変動因	判定	判定	判定	判定	判定
因子(A)	[]	[]	[**]	[**]	[**]
因子(B)	[]	[]	[]	[]	[**]
因子(C)	[]	[]	[]	[**]	[*]
因子(AB)	[]	[]	[]	[]	[**]
因子(AC)	[]	[]	[]	[]	[*]
因子(BC)	[]	[]	[]	[]	[]
因子(ABC)	[]	[]	[]	[]	[]

変動因 A:収穫月、B:土壌、C:日照条件

*: P>0.05で有意差有り, **: P>0.01で有意差有り

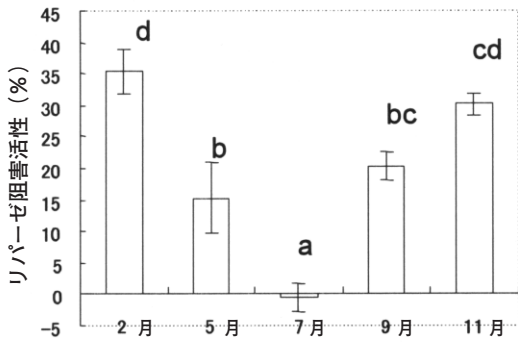


図26 収穫時期がカワラヨモギリパーゼ阻害活性能に与える影響

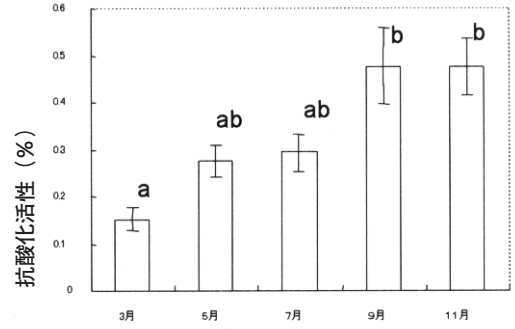


図27 収穫時期がカワラヨモギ抗酸化活性能に与える影響

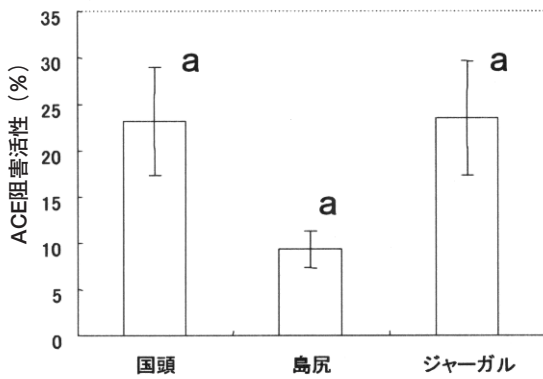


図28 栽培土壌がカワラヨモギACE阻害活性能に与える影響

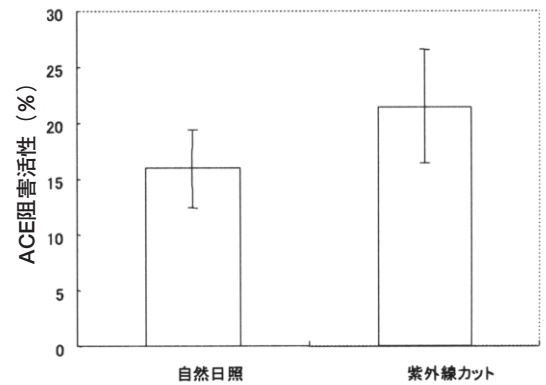


図29 日照条件がカワラヨモギACE阻害活性能に与える影響

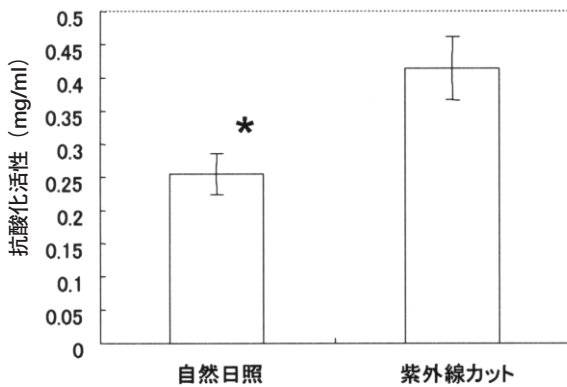


図30 日照条件がカワラヨモギ抗酸化活性能に与える影響

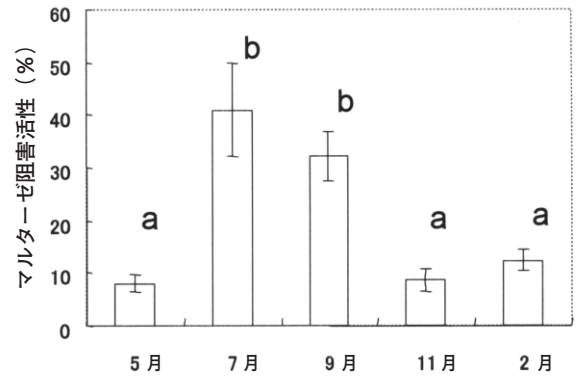


図31 収穫時期がオトコヨモギマルターゼ阻害活性能に与える影響

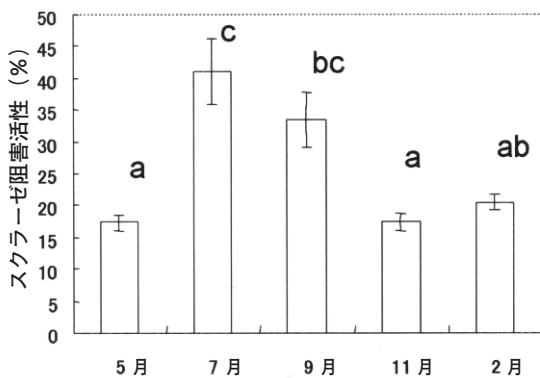


図32 収穫時期がオトコヨモギスクラーゼ阻害活性能に与える影響

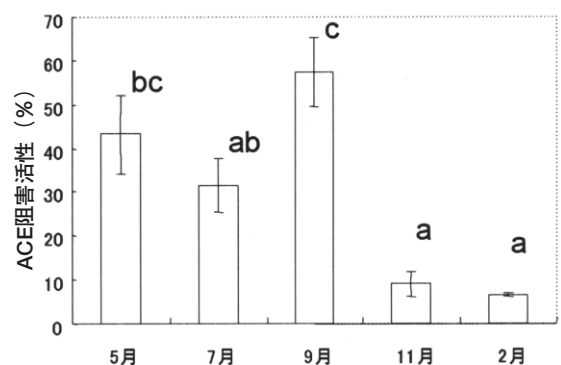


図33 収穫時期がオトコヨモギACE阻害活性能に与える影響

3-1-5 オトコヨモギの栽培条件について

オトコヨモギ抽出液の各活性値を表10に、分散分析を行い因子の効果を判定した結果を表11に示す。効果が確認できた因子に関して、各水準間の群集合比較を行った。収穫時期に関しては、マルターゼ（図31）、スクラーゼ（図32）、ACE阻害活性（図33）および抗酸化活性（図34）で夏季収穫サンプルの活性が有意に高いことが認められた。リパーゼ阻害活性（図35）に関しては、冬季収穫サンプル（2月）の活性が有意に高いことが認められた。栽培土壌に関しては、マルターゼ（図36）、スクラーゼ阻害活性（図37）および抗酸化活性（図38）のいずれもジャーガル、国頭マージ、島尻マージの順で活性が高くなる傾向が認められた。日照条件に関しては、マルターゼ阻害活性（図39）で紫外線カットのサンプルが高活性を示す傾向が、抗酸化活性（図40）で自然日照のサンプルの活性が高い傾向が認められた。交互作用に関しては、収穫時期と日照条件間に、マルターゼ（最大値：7月収穫紫外線カット59.6%、有意差有り）、スクラーゼ（最大値：7月収穫紫外線カット52.0%、有意差有り）、リパーゼ阻害活性（最大値：2月収穫紫外線カットおよび自然日照47.4%、有意差有り）および抗酸化活性（最大値：11月収穫紫外線カット0.077mg/ml、有意差有り）に交互作用が認められた。

オトコヨモギに関しては、マルターゼおよびスクラーゼ阻害活性で夏季収穫かつ紫外線カットかつ島尻マージ栽培の場合に、ACE阻害活性で夏季収穫かつ自然日照の場合に、抗酸化活性で夏季収穫かつ島尻マージかつ紫外線カットの場合に、リパーゼ阻害活性では冬季収穫の場合に高活性のサンプルが得られることが認められた。

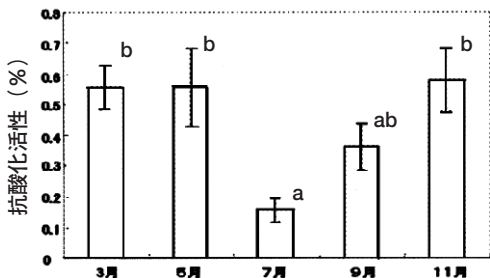


図34 収穫時期がオトコヨモギ抗酸化活性能に与える影響

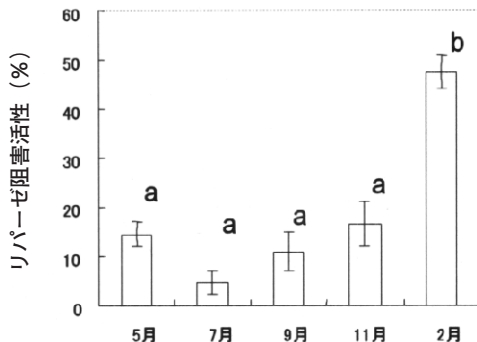


図35 収穫時期がオトコヨモギリパーゼ阻害活性能に与える影響

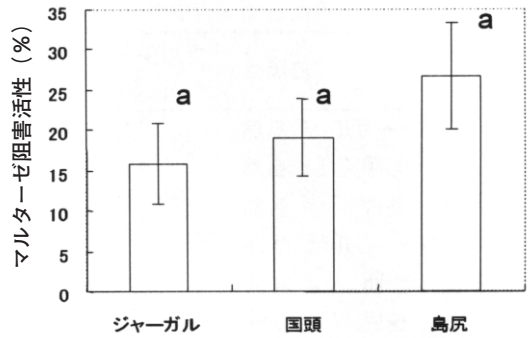


図36 栽培土壌がオトコヨモギマルターゼ阻害活性能に与える影響

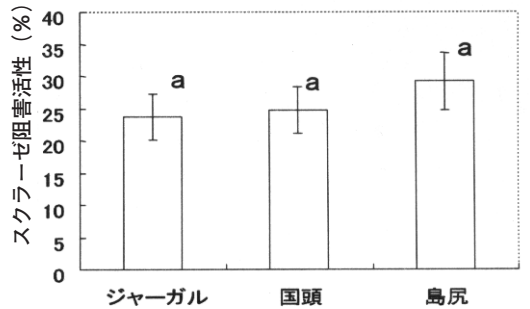


図37 栽培土壌がオトコヨモギスクラーゼ阻害活性能に与える影響

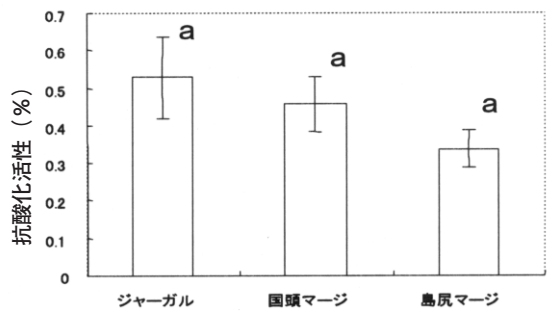


図38 栽培土壌がオトコヨモギ抗酸化活性能に与える影響

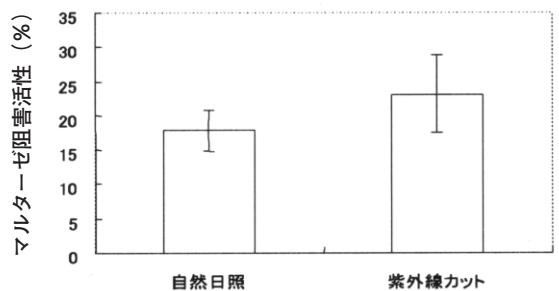


図39 日照条件がオトコヨモギマルターゼ阻害活性能に与える影響

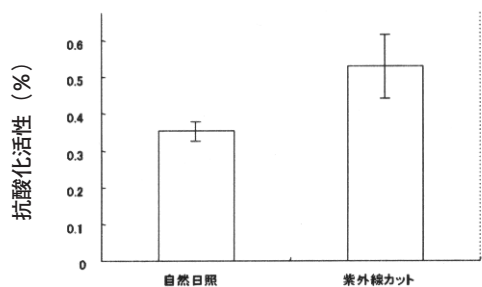


図40 日照条件がオトコヨモギ抗酸化活性能に与える影響

表10 栽培条件の異なるオトコモギより調製した抽出液の各活性値

収穫月	栽培土壌	日照条件	マルターゼ 阻害活性(%)	スクラーゼ 阻害活性(%)	リパーゼ 阻害活性(%)	ACE阻 害活性(%)	抗酸化活性 (mg/ml)
5月	ジャーガル	自然	3.37	18.06	20.40	18.90	0.41
5月	国頭	自然	9.55	18.59	11.70	20.82	0.35
5月	島尻	自然	9.48	13.61	11.76	39.10	0.39
5月	ジャーガル	カット	3.31	14.92	10.64	73.56	1.15
5月	国頭	カット	9.42	16.23	24.04	63.69	0.64
5月	島尻	カット	13.05	22.25	8.64	42.69	0.39
7月	ジャーガル	自然	24.19	27.75	9.52	27.92	0.23
7月	国頭	自然	19.29	29.32	-2.53	31.51	0.27
7月	島尻	自然	23.36	32.98	0.76	46.13	0.21
7月	ジャーガル	カット	55.06	50.26	9.99	39.21	0.09
7月	国頭	カット	50.41	48.95	0.53	39.99	0.1
7月	島尻	カット	73.46	56.81	10.46	4.66	0.04
9月	ジャーガル	自然	24.57	34.55	16.87	60.48	0.25
9月	国頭	自然	36.73	40.05	21.40	39.19	0.29
9月	島尻	自然	42.97	47.38	19.81	64.04	0.28
9月	ジャーガル	カット	17.52	20.80	8.08	80.33	0.73
9月	国頭	カット	25.87	21.08	-0.89	29.83	0.38
9月	島尻	カット	45.64	36.18	0.45	69.38	0.24
11月	ジャーガル	自然	7.86	18.23	22.71	22.14	0.33
11月	国頭	自然	9.60	19.94	1.46	13.20	0.44
11月	島尻	自然	14.03	20.51	3.50	2.39	0.38
11月	ジャーガル	カット	6.61	16.24	24.43	5.58	0.97
11月	国頭	カット	0.06	11.11	26.46	4.32	0.8
11月	島尻	カット	14.28	18.23	21.12	6.28	0.55
2月	ジャーガル	自然	5.49	21.08	50.51	5.30	0.42
2月	国頭	自然	18.83	22.22	45.67	5.67	0.5
2月	島尻	自然	18.02	23.65	46.25	5.77	0.55
2月	ジャーガル	カット	10.22	15.38	58.52	6.15	0.71
2月	国頭	カット	10.54	20.23	50.19	7.61	0.81
2月	島尻	カット	11.60	20.51	33.72	7.90	0.35

表11 分散分析による効果の判定 (オトコモギ)

	マルターゼ 阻害活性	スクラーゼ 阻害活性	リパーゼ 阻害活性	抗酸化活性	ACE 阻害活性
変動因	判定	判定	判定	判定	判定
因子(A)	[**]	[**]	[**]	[**]	[**]
因子(B)	[**]	[**]	[]	[*]	[]
因子(C)	[**]	[]	[]	[**]	[]
因子(AB)	[]	[]	[]	[]	[]
因子(AC)	[**]	[**]	[*]	[*]	[]
因子(BC)	[]	[]	[]	[**]	[]
因子(ABC)	[]	[]	[]	[]	[]

変動因 A:収穫月、B:土壌、C:日照条件

*: P>0.05で有意差有り, **: P>0.01で有意差有り

3-1-6 ボタンボウフウの栽培条件について

ボタンボウフウ抽出液の各活性値を表12に、分散分析を行い因子の効果を判定した結果を表13に示す。効果が確認できた因子に関して、各水準間の群集合比較を行った。収穫時期に関しては、ACE阻害活性(図41)および抗酸化活性(図42)で夏季収穫サンプルの活性が有意に高いことが認められた。日照条件に関しては、抗酸化活性(図43)で自然日照サンプルの活性が高いことが有意に認められた。栽培土壌に関しては、抗酸化活性(図44)においてジャーガル、国頭マージ、島尻マージの順に活性が高くなる傾向が認められた。交互作用に関しては、抗酸化活性で収穫時期と日照条件で3月収穫自然・日照条件のサンプルが最大値(0.39mg/ml、有意差有り)を示し、土壌と日照条件でジャーガル土壌栽培・日照条件のサンプルが最大値(0.72mg/ml)を示した。

ボタンボウフウでは、ACE阻害活性で夏季収穫の場合に、抗酸化活性で夏季収穫かつ自然日照かつジャーガル土壌栽培の場合に高活性のサンプルが得られることが認められた。

以上、各植物とも栽培条件により諸活性が大きく変化することが認められた。特に収穫時期と日照条件は収穫物の機能性に大きく影響する因子であると考えられる。収穫時期に関してはリパーゼ阻害活性において夏季収穫サンプルと比較して冬季収穫サンプルの活性が高い傾向が認められた。その他の活性に関しては、概して夏季収穫サンプルの活性が冬季に比べて高くなる傾向が認められた。日照条件に関しては、マルターゼ・スクラーゼ阻害活性および抗酸化活性では自然日照条件が、ACE阻害活性では紫外線カット条件が活性の高いサンプルが得られる傾向が認められた。栽培土壌に関しては、明確な傾向は認められなかった。

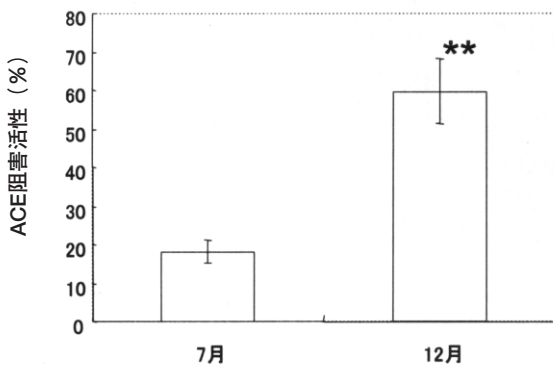


図41 収穫時期がボタンボウフウACE阻害活性に与える影響

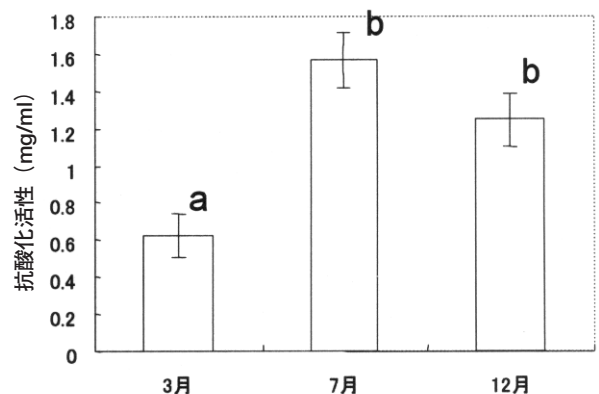


図42 収穫時期がボタンボウフウ抗酸化活性に与える影響

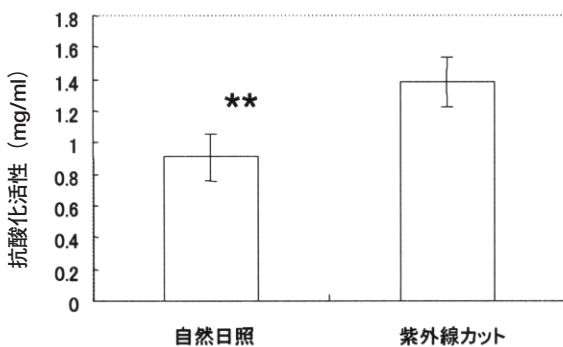


図43 日照条件がボタンボウフウ抗酸化活性に与える影響

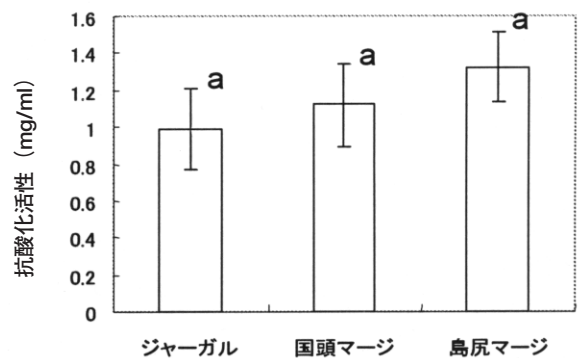


図44 栽培土壌がボタンボウフウ抗酸化活性に与える影響

表12 栽培条件の異なるボタンボウフウより調製した抽出液の各活性値

収穫月	栽培土壌	日照条件	マルターゼ 阻害活性(%)	スクラーゼ 阻害活性(%)	リパーゼ 阻害活性(%)	ACE阻 害活性(%)	抗酸化活性 (mg/ml)
3月	ジャーガル	自然日照	—	—	—	—	0.3
3月	ジャーガル	紫外線カット	—	—	—	—	0.68
3月	国頭マージ	自然日照	—	—	—	—	0.32
3月	国頭マージ	紫外線カット	—	—	—	—	0.89
3月	島尻マージ	自然日照	—	—	—	—	0.55
3月	島尻マージ	紫外線カット	—	—	—	—	0.98
7月	ジャーガル	自然	15.89	19.09	0.58	13.58	1.11
7月	国頭	自然	6.69	11.11	-1.03	32.04	1.21
7月	島尻	自然	13.14	18.52	22.30	28.18	1.52
7月	ジャーガル	カット	14.66	16.24	1.10	27.81	1.84
7月	国頭	カット	10.03	13.68	11.96	25.00	2
7月	島尻	カット	9.97	9.97	-29.25	8.89	1.72
7月	ジャーガル	自然	19.65	24.50	-45.31	4.77	—
7月	国頭	自然	2.11	25.07	-34.38	-0.58	—
7月	島尻	自然	6.16	28.77	-30.50	12.41	—
7月	ジャーガル	カット	8.15	21.37	-32.40	19.68	—
7月	国頭	カット	13.31	20.23	-20.97	28.87	—
7月	島尻	カット	12.96	21.37	-56.82	17.70	—
12月	ジャーガル	自然	10.50	22.51	3.81	39.68	0.76
12月	国頭	自然	19.24	17.09	-22.95	33.59	0.91
12月	島尻	自然	11.44	22.51	-0.88	35.13	1.48
12月	ジャーガル	カット	6.48	11.89	-8.43	24.06	1.25
12月	国頭	カット	-1.09	-3.10	0.07	26.02	1.38
12月	島尻	カット	15.02	-0.39	-26.83	40.19	1.7
12月	ジャーガル	自然	4.70	-2.40	2.86	68.69	—
12月	国頭	自然	8.60	1.48	-6.01	78.01	—
12月	島尻	自然	2.87	-0.96		93.35	—
12月	ジャーガル	カット	0.57	4.19	-9.10	93.84	—
12月	国頭	カット	1.72	-7.50	6.57	92.58	—
12月	島尻	カット	2.18	12.27	9.81	91.08	—

— は、サンプルの欠損により測定しなかったことを示す。

表13 分散分析による効果の判定 (ボタンボウフウ)

変動因	マルターゼ 阻害活性	スクラーゼ 阻害活性	リパーゼ 阻害活性	抗酸化活性	ACE 阻害活性
因子(A)	[]	[]	[]	[**]	[**]
因子(B)	[]	[]	[]	[**]	[]
因子(C)	[]	[]	[]	[**]	[]
因子(AB)	[]	[]	[]	[]	[]
因子(AC)	[]	[]	[]	[**]	[]
因子(BC)	[]	[]	[]	[**]	[]
因子(ABC)	[]	[]	[]	[]	[]

変動因 A:収穫月、B:土壌、C:日照条件

*: P>0.05で有意差有り, **: P>0.01で有意差有り

3-2 機能と成分の相関性の解析

前節では、栽培条件が機能に与える影響を検討し、植物の履歴により活性が大きく異なることを明らかにした。このように、植物資源は個体差や季節変動が大きいいため、機能性食品・化粧品・医薬品等への利用に当たっては、膜分離、分別沈殿、クロマトグラフィーなどにより機能性成分を基準範囲内に制御し、活性値の制御を行う必要がある。そのためには、機能発現の関与成分およびその諸特性を解明することが重要である。しかしながら、植物には多種多様な成分が含まれており、複数の化合物が共同して機能発現にかかわっていると考えられる。そこで、クラスター分析および因子分析などの多変量解析の手法を用いて、機能と成分の関係を明らかにし成分の変量で機能性を数量化することを試みた。

3-2-1 ニシヨモギの機能性および機能性成分について

図45にニシヨモギ抽出液のクロマトグラムを示す。図に示す各ピークの面積および諸活性値を変数クラスターとして合併後の距離計算をウォード法にて、原データ距離計算をマハラノスの汎距離にてクラスター分析を行った。図46にクラスター分析結果のデンドログラムを示す。なお、クラスター分析とはデータ間の類似度に基づいて、その類似度の近いものから順にまとめていく方法である。ニシヨモギの場合、Peak 1, 4, 6とマルターゼ阻害活性、抗酸化活性およびスクラーゼ阻害活性の関連性が、Peak

2, 5とリパーゼ阻害活性の関連性が認められた。また、ACE阻害活性に関連するピークは検出されていないことなどが認められた。各ピークの保持時間およびUVスペクトルより、Peak 1はクロロゲン酸、Peak 4はイソクロロゲン酸a、Peak 6はイソクロロゲン酸bと推定された。各成分の構造式を図47に示す。Peak 2, 3, 5に関しては未同定であるが、Peak 5はカフェ酸に起因する256nmの極大ピークを示すことから、クロロゲン酸と類似のカフェ酸誘導体である可能性が示唆された。

ニシヨモギの機能性と成分の関係を、より客観的に理解するために因子分析を行った。因子分析は、多数の変量間に潜む共通の要因（共通因子）を探り出し、共通因子という少数の新たな観念の変量で代表させ、この少数の変量から変数や固体の類似性あるいはポジショニングを明らかにするという手法である。表14に各ピーク面積と諸活性値の因子分析結果（因子数4）を示す。固有値が第3因子で1.0以下になること、累積寄与率が第2因子までで60%を超えることから、第2因子までを解析の対象とした。以後、因子数の採用基準には、固有値が1.0以上、累積寄与率60%を一応の目安とすることとした。図48に因子分析後の因子負荷量の散布図を示す。第1因子軸は、抗酸化性、マルターゼ、スクラーゼ阻害活性が高い因子得点を示すことから、抗糖尿病スケールと解釈した。また、その成分には、カフェ酸誘導体であるPeak 4, 6, 1が関与していることが示唆された。第2因子軸はリパーゼ阻害活性が高い因子得点を示すことから、抗高脂血症ス

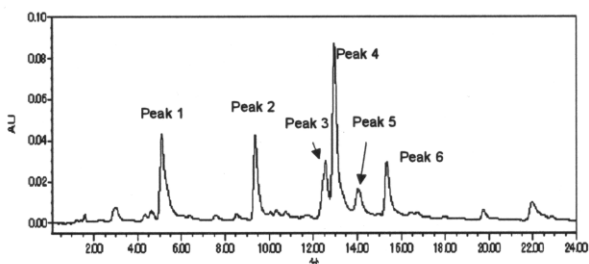


図45 ニシヨモギ抽出液のクロマトグラム

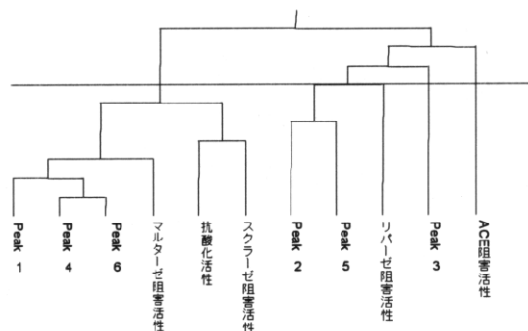


図46 ニシヨモギクロマトグラムの各ピークと諸活性のデンドログラム

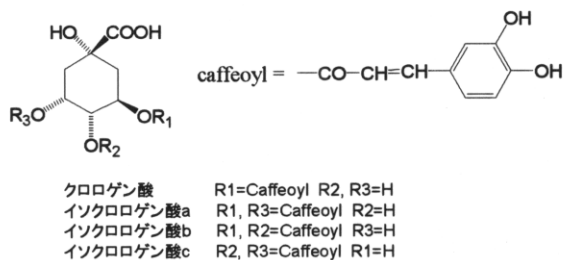


図47 ニシヨモギ機能成分の構造式

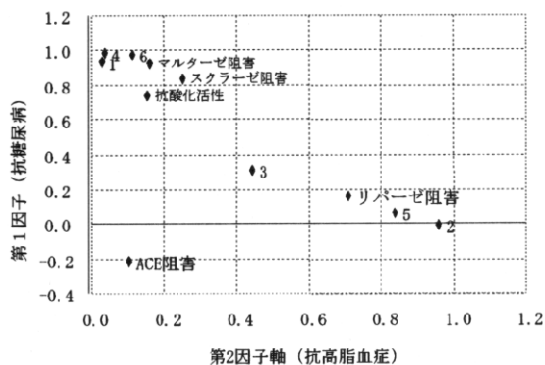


図48 ニシヨモギ因子負荷量の散布図(回転後、バリマックス法)

ケールと解釈した。また、その関与成分はPeak 2,5であることが示唆された。次に、各ピークが各活性にどの程度影響を与えているかを検討するため、各活性ベクトルに対する各ピークベクトルの正射影長を求め、寄与率を算出した(表15)。マルターゼ、スクラーゼ阻害活性および抗酸化性ともPeak 4, 6, 1で累積寄与率が70%を超えることが認められた。また、各化合物のマルターゼ阻害活性のIC₅₀を測定したところクロロゲン酸が11mg/ml、イソクロロゲン酸aが31.mg/ml、イソクロロゲン酸bで0.48mg/mlとなり比較的強活性を示すことから、これら3種の化合物が活性本体であることが示唆された。リパー

表14 ニシヨモギクロマトグラム各ピークと諸活性の因子分析結果

	因子1	因子2	因子3	因子4
Peak 4	0.9886	0.0373	-0.1185	-0.0240
Peak 6	0.9741	0.1138	-0.1085	-0.0398
Peak 1	0.9382	0.0298	-0.3325	0.0751
マルターゼ阻害率%	0.9285	0.1617	-0.0223	0.2107
スクラーゼ阻害活性	0.8390	0.2526	-0.0840	0.2969
抗酸化活性	0.7424	0.1558	-0.1224	0.6014
Peak 2	-0.0066	0.9604	-0.1887	0.2042
Peak 5	0.0630	0.8387	0.1752	0.0534
リパーゼ阻害活性	0.1620	0.7094	0.2246	-0.2060
ACE阻害活性	-0.2096	0.1042	0.6562	-0.0372
Peak 3	0.3049	0.4444	-0.0406	0.2716
固有値	5.09	2.47	0.71	0.66
寄与率(%)	46.28	22.43	6.43	6.04
累積寄与率(%)	46.28	68.70	75.14	81.18

表15 各活性ベクトルへの正射影像から求めた寄与率および累積寄与率

活性名	寄与率	累積寄与率
マルターゼ阻害活性		
Peak4	26.0	26.0
Peak6	25.8	51.8
Peak1	25.3	77.1
Peak3	11.6	88.8
Peak5	5.7	94.5
Peak2	5.5	100.0
スクラーゼ阻害活性		
Peak1	23.7	23.7
Peak6	23.7	47.4
Peak4	23.6	71.0
Peak3	12.7	83.7
Peak2	8.8	92.5
Peak5	7.5	100.0
抗酸化活性		
Peak1	24.6	24.6
Peak4	23.1	47.7
Peak6	22.8	70.5
Peak3	14.5	85.0
Peak2	9.1	94.1
Peak5	5.9	100.0
リパーゼ阻害活性		
Peak5	31.69	31.7
Peak2	29.80	61.5
Peak3	14.99	76.5
Peak6	11.12	87.6
Peak4	8.25	95.9
Peak1	4.15	100.0

ゼ阻害活性に関しては、Peak 5, 2で累積寄与率が60%を超えることが認められた。

ニシヨモギは、抗糖尿病因子と解釈した第1因子の累積寄与率が46.3%と高く、その関与成分はクロロゲン酸類であった。合成樹脂であるHP20(三菱化成)による分画がクロロゲン酸には効果的であることを明らかにしており⁶⁾⁻⁸⁾ 機能制御法として有望であると考えられる。

3-2-2 バンジロウの機能性および機能性成分について

図49にバンジロウ抽出液のクロマトグラムを示す。各ピークの高さおよび諸活性値を変数クラスターとしてニシヨモギの場合と同様にクラスター分析を行った(図50)。デンドログラムからは、マルターゼ、スクラーゼ、リパーゼ阻害活性、Peak 2, 9, 4, 7, 8, 5, 6, 10のグループとACE阻害活性単独、抗酸化活性単独およびPeak 1, 3のグループの4グループに分類されることが認められた。各ピークの保持時間およびUVスペクトルより、Peak4はクエルセチン-ガラクトピラノシド、Peak5はクエルセチン-グルコピラノシド、Peak6はクエルセチン-キシロピラノシド、Peak7はクエルセチン-アラビノピラノシド、Peak8はクエルセチン-アラビノフラノシドPeak9がクエルセチン-フコピラノシドであると推定された。各成分の構造式を

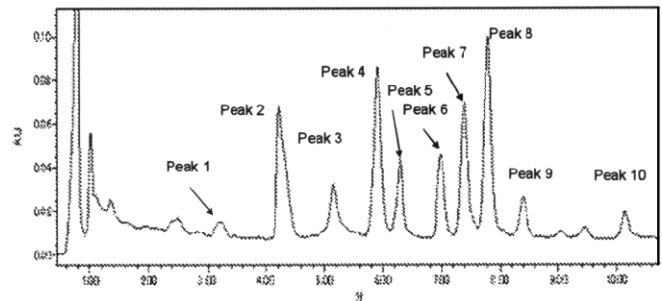


図49 バンジロウ抽出液のクロマトグラムと各ピークのUVスペクトラム

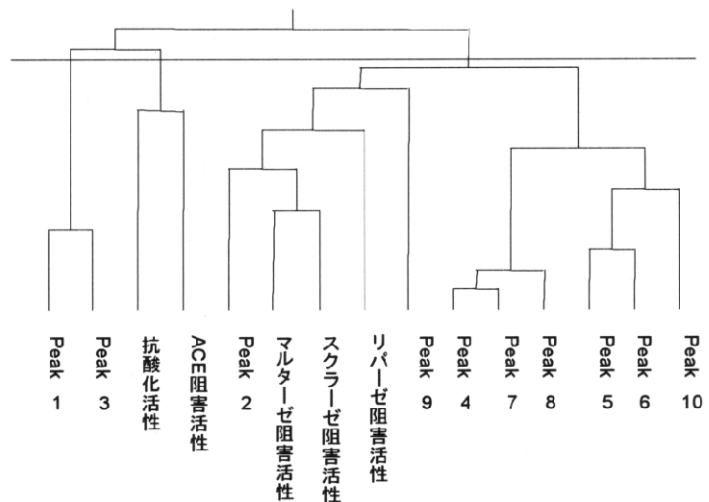


図50 バンジロウクロマトグラムの各ピークと諸活性のデンドログラム

図51に示す。Peak 1, 2, 3に関しては未同定であるが、Peak 2, 3はケルセチンに類似したUVスペクトルを示すことから、ケルセチン配糖体である可能性が示唆された。因子分析の結果を表16に示す。固有値は第5因子においても1.0以上の値を示したが、第3因子までで累積寄与率が60%を超えたことから、第3因子までを解析の対象とした。図52に因子分析後の因子負荷量の散布図を3次元グラフで示す。第1因子軸はマルターゼ阻害スケール、第2因子軸はスクラーゼ阻害スケール、第3因子はリパーゼ阻害スケールと解釈した。各ピークの各活性への寄与率を表17に示す。マルターゼ、スクラーゼ、リパーゼ阻害活性および抗酸化性のいずれにおいてもPeak 8, 6, 7, 4, 2, 5, 10のグループの関与が認められた。しかし、各ピークの寄与率に顕著な差は認められなかった。また、各化合物のマルターゼ阻害活性の比活性 (1mg/ml)は、ケルセチン-ガラクトピラノシドで17.6%、ケルセチン-グルコピラノシドで20.0%、ケルセチン-キシロピラノシドで28.0%、ケルセチン-アラビノピラノシド43.4%、ケルセチン-アラビノフラノシド24.0%、ケルセチン-フコピラノシドで19.4%であった。個々の化合物間では活性の違いが認められるが、含有量の違いにより顕著な

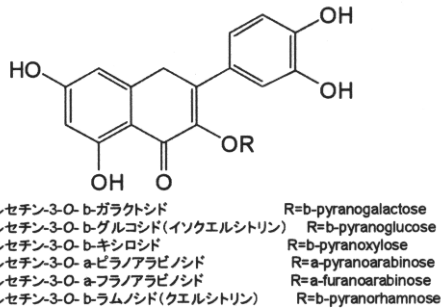


図51 バンジロウ機能成分の構造式

表16 バンジロウクマトグラム各ピークと諸活性の因子分析結果

	因子1	因子2	因子3	因子4	因子5
Peak 5	0.9585	0.1578	0.1234	0.0250	-0.0427
Peak 6	0.9138	0.0585	0.3795	0.0852	-0.0504
Peak 4	0.7997	0.2372	0.2803	0.3549	-0.1909
Peak 8	0.7906	0.2339	0.4360	0.3160	-0.0147
Peak 10	0.7204	-0.2958	0.3167	0.3499	-0.1564
Peak 7	0.7191	0.2900	0.3689	0.4542	-0.1267
マルターゼ阻害活性	0.6553	0.3627	0.5894	0.1451	0.0942
Peak 3	0.0572	0.9633	-0.0766	0.1391	0.0338
Peak 1	0.1226	0.9231	0.2181	-0.0011	0.1417
スクラーゼ阻害活性	0.3326	0.6274	0.5293	0.2571	0.0676
Peak 2	0.4635	0.0698	0.6803	0.1385	0.1866
リパーゼ阻害活性	0.2609	0.0740	0.6060	0.2503	-0.1059
Peak 9	0.2152	0.1427	0.2103	0.6962	-0.1385
ACE阻害活性	-0.1061	0.1669	0.0225	-0.1455	0.9063
抗酸化活性	-0.5004	-0.0374	-0.4775	-0.0267	0.3508
固有値	5.20	2.68	2.45	1.26	1.13
寄与率(%)	34.69	17.84	16.32	8.38	7.51
累積寄与率(%)	34.69	52.53	68.85	77.23	84.74

寄与率の差が認められなかったと考えられる。すなわち、バンジロウの高いマルターゼ、スクラーゼ、リパーゼ阻害活性および抗酸化性は、数種の化合物により発揮されるものではなく、多数の化合物の集積によって発揮されるものと考えられる。バンジロウの機能性成分が、ケルセチン配糖体であることが示唆されたことから、活性成分の制御法としては、合成樹脂HP20による分画が有効⁸⁾⁹⁾だと考えられた。

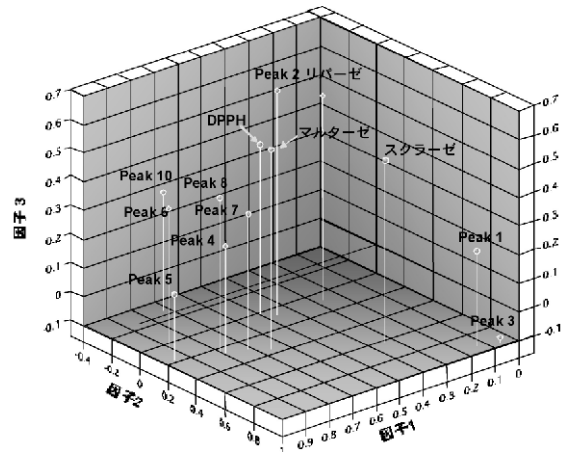


図52 バンジロウ因子負荷量の散布図(回転後、バリマックス法)

表17 各活性ベクトルへの正射影から求めた寄与率および累積寄与率

活性名	寄与率	累積寄与率
マルターゼ阻害活性		
Peak8	13.2	13.2
Peak6	12.4	25.6
Peak7	12.4	38.0
Peak4	11.8	49.8
Peak2	11.2	61.0
Peak5	11.1	72.1
Peak10	8.6	80.6
Peak1	8.1	88.8
Peak9	5.9	94.7
Peak3	5.3	100.0
スクラーゼ阻害活性		
Peak1	12.7	12.7
Peak7	12.4	25.1
Peak8	12.3	37.4
Peak4	11.0	48.4
Peak3	10.6	59.0
Peak2	10.4	69.4
Peak6	9.6	79.0
Peak5	8.3	87.3
Peak9	7.6	94.9
Peak10	5.1	100.0
リパーゼ阻害活性		
Peak8	13.6	13.6
Peak7	13.4	27.1
Peak2	13.3	40.4
Peak4	12.1	52.5
Peak6	12.0	64.5
Peak10	11.1	75.6
Peak9	9.2	84.7
Peak5	8.3	93.1
Peak1	5.2	98.3
Peak3	1.7	100.0

3-2-3 リュウキュウヨモギの機能性および機能性成分について

図53にリュウキュウヨモギ抽出液のクロマトグラムを示す。各ピークの高さおよび諸活性値を変数クラスターとしてニシヨモギの場合と同様にクラスター分析を行った(図54)。デンドログラムからは、マルターゼ、スクラーゼ阻害活性、Peak 1, 2, 8, 6, 10, 7のグループ、Peak 3, 5, 4, 12のグループ、ピーク11, 12のグループ、その他3活性の6グループに分類されることが認められた。各ピークの保持時間およびUVスペクトルより、Peak 1はネオクロロゲン酸、Peak 2はクロロゲン酸、Peak6はイソクロロゲン酸c、ピーク7はイソクロロゲン酸a、peak11はイソクロロゲン酸bであると推定された。ネオクロロゲン酸の構造式を図55に示す。Peak 4, 7, 10, 12はカフェ酸に由来する235nmの極大吸収を示すことから、カフェ酸誘導体である可能性が示唆された。因子分析の結果を表18に示す。固有値は第4因子においても1.0以上の値を示

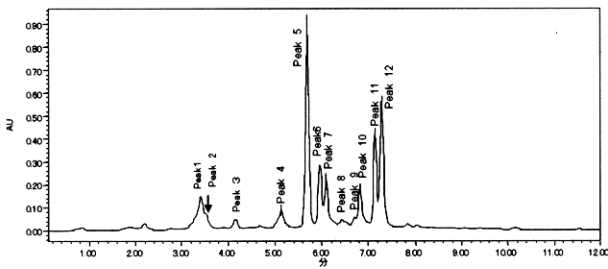


図53 リュウキュウヨモギ抽出液のクロマトグラム

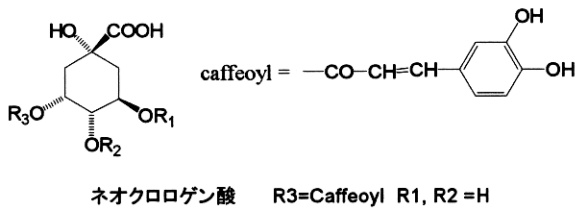


図55 ネオクロロゲン酸の構造式

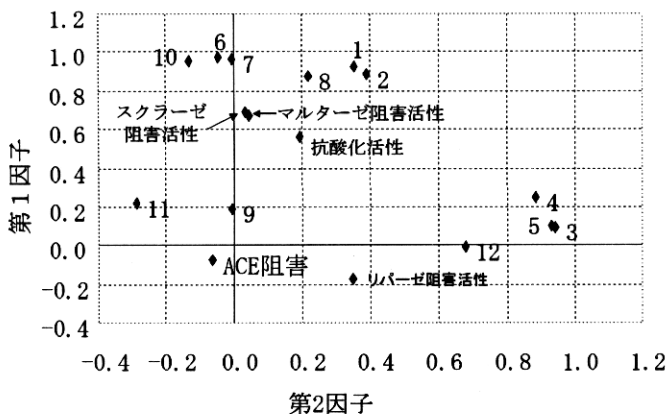


図56 リュウキュウヨモギ因子負荷量の散布図(回転後、バリマックス法)

したが、第2因子までで累積寄与率が60%を超えたため第2因子までを解析の対象とした。図56に因子負荷量の散布図を示す。第1因子軸はニシヨモギと同様に抗糖尿病スケールと解釈した。第2因子軸は高い因子得点を示すPeak3, 4, 5, 12に関する情報が少なく解釈不能であるが、新たな機能性を示す可能性が高いと考えられることから、新規機能性に関して検討を行いたい。リュウキュウヨモギは、因子1の寄与率が高いことから抗糖尿病型の薬草であると考えられた。各ピークの各活性への寄与率を表19に示す。マルターゼ、スクラーゼ阻害活性および抗酸化活性においてPeak 7, 2, 6, 10, 1のグループで累積寄与率がいずれも60%を超えたことから、これら成分が機能性に関与する主要な成分であることが認められた。これら主用成分も、ポリフェノール類であると考えられることから、活性成分の制御法としては、合成樹脂HP20による分画が有効⁸⁾⁹⁾だと考えられた。

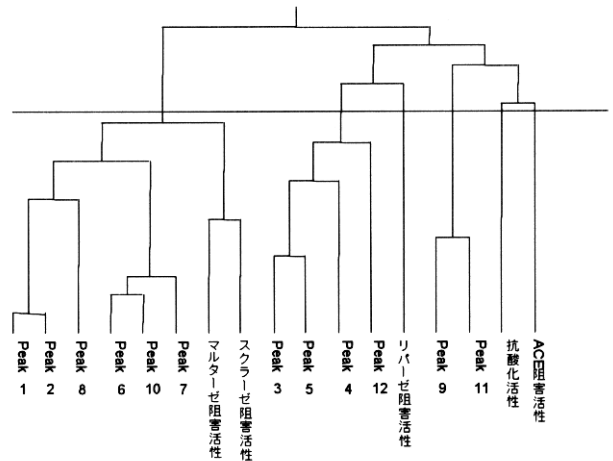


図54 リュウキュウヨモギクロマトグラムの各ピークと諸活性のデンドログラム

表18 リュウキュウヨモギクロマトグラム各ピークと諸活性の因子分析結果

	因子1	因子2	因子3	因子4
Peak 6	0.9777	-0.0463	0.1794	0.0019
Peak 7	0.9662	-0.0039	0.2263	0.0862
Peak 10	0.9500	-0.1338	0.1802	0.0042
Peak 1	0.9237	0.3545	0.0864	0.1000
Peak 2	0.8858	0.3888	0.1709	0.1619
Peak 8	0.8718	0.2173	-0.1251	0.1925
マルターゼ阻害活性	0.6881	0.0351	0.4915	0.4895
スクラーゼ阻害活性	0.6748	0.0468	0.4441	0.4575
抗酸化活性	0.5639	0.1928	0.0299	0.6290
Peak 3	0.0916	0.9425	-0.2485	0.1288
Peak 5	0.1008	0.9332	-0.1339	0.0952
Peak 4	0.2465	0.8842	0.0465	-0.2188
Peak 12	-0.0120	0.6779	-0.1682	0.2945
Peak 9	0.1926	-0.0063	0.9424	-0.2658
Peak 11	0.2222	-0.2867	0.8433	-0.2895
リパーゼ阻害活性	-0.1761	0.3490	-0.8033	-0.2705
ACE阻害活性	-0.0745	-0.0632	0.2231	-0.4126
固有値	6.64	3.59	3.01	1.48
寄与率(%)	39.05	21.14	17.72	8.73
累積寄与率(%)	39.05	60.19	77.91	86.64

表19 各活性ベクトルへの正射影像から求めた寄与率および累積寄与率

活性名	寄与率	累積寄与率
マルターゼ阻害活性		
Peak7	14.4	14.4
Peak2	13.8	28.3
Peak6	13.4	41.6
Peak10	13.0	54.7
Peak1	13.0	67.7
Peak8	11.3	79.0
Peak9	8.2	87.2
Peak11	7.3	94.5
Peak4	2.1	96.5
Peak5	1.5	98.0
Peak12	1.4	99.3
Peak3	0.7	100.0
スクラーゼ阻害活性		
Peak7	14.3	14.3
Peak2	13.8	28.1
Peak6	13.3	41.5
Peak1	13.1	54.6
Peak10	12.9	67.5
Peak8	11.4	78.9
Peak9	7.7	86.6
Peak11	6.8	93.5
Peak4	2.3	95.8
Peak5	1.7	97.5
Peak12	1.5	99.0
Peak3	1.0	100.0
抗酸化活性		
Peak2	14.0	14.0
Peak1	13.5	27.5
Peak8	13.4	40.9
Peak7	12.5	53.4
Peak6	11.3	64.7
Peak10	10.7	75.4
Peak3	6.3	81.7
Peak12	6.3	88.0
Peak5	6.0	94.0
Peak4	3.6	97.6
Peak9	-0.7	96.9
Peak11	-1.8	95.1

3-2-4 カワラヨモギの機能性および機能性成分について

図57にカワラヨモギ抽出液のクロマトグラムを示す。各ピークの高さおよび諸活性値を変数クラスターとしてクラスター分析を行った(図58)。デンドログラムからは、マルターゼ阻害活性を含むPeak 1, 5, 6, 9のグループ、スクラーゼ阻害活性を含むPeak 3, 8, 7, 14, 15のグループ、リパーゼ阻害活性を含むPeak 2, 16, 4, 10のグループ、Peak 11, 12, 13のグループ、その他2活性の5グループに分類されることが認められた。各ピークは未同定である。因子分析の結果を表20に示す。固有値は第7因子においても1.0以上の値を示したが、第4因子までで累積寄与率が60%を超えたため、第4因子までを解析の対象とした。しかしながら、因子2および4は指標となる活性が含まれていないことから、因子1および3を解析の対象とした。図59に因子負荷量の散布図を示す。第1

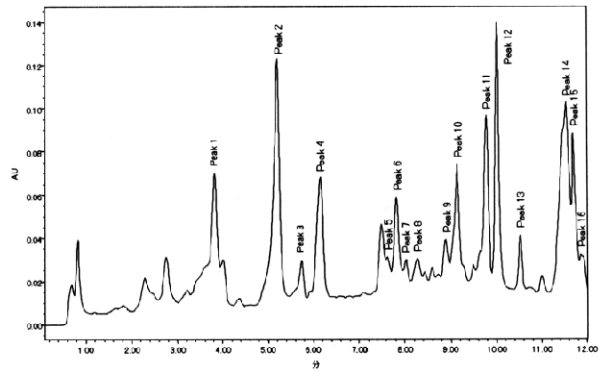


図57 カワラヨモギ抽出液のクロマトグラム

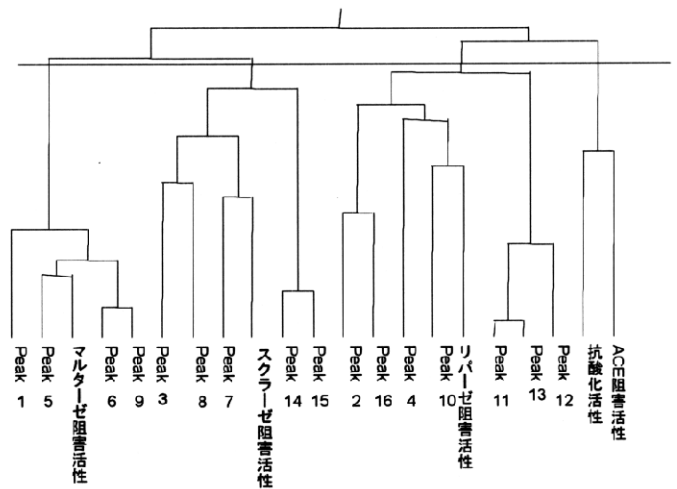


図58 カワラヨモギクロマトグラムの各ピークと諸活性のデンドログラム

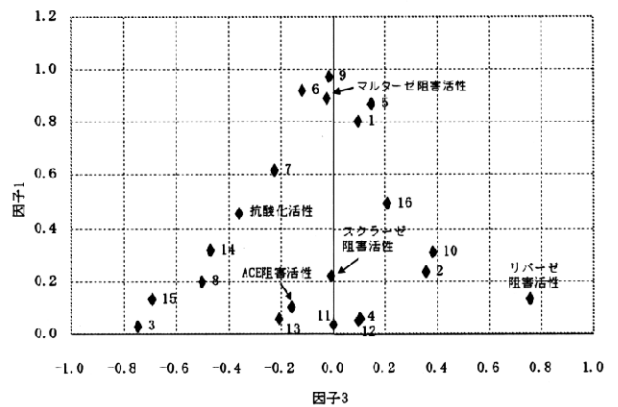


図59 カワラヨモギ因子負荷量の散布図(回転後、パリマックス法)

因子軸はマルターゼ阻害スケール、第3因子軸はリパーゼ阻害スケールと解釈した。カワラヨモギは、因子1の寄与率が大きいため抗糖尿病の薬草であると考えられた。各ピークの各活性への寄与率を表21に示す。マルターゼ阻害活性では、Peak 9, 6, 5, 1のグループの関与が、リパーゼ阻害活性に関しては、正の相関は認められなかったがPeak3が寄与率13%と負の相関を示したが顕著なものではなかった。活性成分の制御法に関しては、成分が未同定であることから今後の検討課題としたい。

表20 カワラヨモギマトグラム各ピークと諸活性の因子分析結果

	因子1	因子2	因子3	因子4	因子5	因子6	因子7
Peak 9	0.9732	0.1537	-0.0151	0.0682	0.0398	0.0445	-0.0069
Peak 6	0.9179	0.0624	-0.1196	0.0982	0.0787	0.3089	-0.0502
マルターゼ阻害活性	0.8911	-0.1347	-0.0232	0.1200	0.1473	0.1410	0.0149
Peak 5	0.8693	0.0926	0.1445	0.3595	0.1106	-0.0110	0.0668
Peak 1	0.8038	0.1688	0.0963	0.2549	-0.1825	0.1982	0.2468
Peak 7	0.6155	-0.0510	-0.2248	-0.1429	0.2136	0.6056	0.0101
Peak 11	0.0352	0.9742	0.0003	-0.0305	0.1354	-0.0090	0.0810
Peak 13	0.0580	0.9632	-0.2059	-0.1130	-0.0700	0.0877	0.0303
Peak 12	0.0547	0.8801	0.0974	0.1946	-0.0835	-0.0173	0.0096
Peak 2	0.2365	0.6443	0.3562	0.3435	-0.1845	0.1464	0.3034
リパーゼ阻害活性	0.1301	-0.0063	0.7552	0.0409	0.0290	0.1485	0.2905
Peak 16	0.4962	0.2313	0.2081	0.7823	-0.1310	0.0860	0.0581
Peak 14	0.3172	-0.0479	-0.4717	0.7775	-0.0154	-0.0035	-0.1094
Peak 15	0.1298	0.0438	-0.6946	0.6709	-0.1040	-0.0390	-0.1642
Peak 10	0.3122	0.2780	0.3793	-0.0807	0.6634	0.0206	0.1362
ACE	0.1008	-0.3702	-0.1574	-0.0723	0.6000	-0.1554	-0.3203
スクラーゼ阻害活性	0.2223	0.0966	-0.0080	0.0396	-0.0994	0.6930	-0.0148
Peak 4	0.0611	0.1175	0.1035	-0.0679	-0.0370	-0.0151	0.7614
Peak 8	0.1974	-0.3246	-0.5008	0.0225	0.4638	0.2849	0.2593
抗酸化活性	0.4592	-0.0443	-0.3585	0.1916	-0.5236	0.4476	0.2287
Peak 3	0.0274	0.0402	-0.7440	0.1078	-0.0564	0.3363	0.0878
二乗和	5.22	3.56	2.71	2.15	1.52	1.48	1.12
寄与率(%)	24.86	16.93	12.88	10.23	7.23	7.06	5.35
累積寄与率(%)	24.86	41.79	54.67	64.90	72.13	79.19	84.54

表21 各活性ベクトルへの正射映像から求めた寄与率および累積寄与率

活性名	寄与率	累積寄与率
マルターゼ阻害活性		
Peak9	14.7	14.7
Peak6	14.2	28.9
Peak5	13.8	42.8
Peak1	12.5	55.3
Peak7	9.4	64.7
Peak16	8.6	73.3
Peak14	6.8	80.1
Peak8	4.1	84.2
Peak10	3.9	88.1
Peak15	3.5	91.6
Peak2	2.8	94.4
Peak3	0.9	95.2
Peak4	0.7	95.9
Peak12	-0.8	95.1
Peak13	-1.5	93.6
Peak11	-1.8	91.8
リパーゼ阻害活性		
Peak2	10.0	10.0
Peak10	9.1	19.1
Peak4	7.6	26.8
Peak16	6.8	33.5
Peak1	6.5	40.0
Peak5	6.4	46.5
Peak9	2.9	49.4
Peak12	2.2	51.5
Peak11	0.5	52.1
Peak6	0.5	52.5
Peak7	-2.3	50.2
Peak13	-3.8	46.4
Peak8	-6.9	39.6
Peak14	-7.9	31.6
Peak15	-13.3	18.3
Peak3	-13.3	5.0

3-2-5 オトコヨモギの機能性および機能性成分について

図60にオトコヨモギ抽出液のクロマトグラムを示す。各ピークの高さおよび諸活性値を変数クラスターとしてクラスター分析を行った(図61)。デンドログラムからは、マルターゼ、スクラーゼ阻害活性を含むグループ、Peak 7, 9, 15, 14のグループ、リパーゼおよびACE阻害活性を含むグループの3グループに分類されることが認められた。各ピークは未同定である。因子分析の結果を表22に示す。固有値は第4因子においても1.0以上の値を示したが、第2因子までで累積寄与率が60%を超えたため第2因子までを解析の対象とした。図62に因子負荷量の散布図を示す。第1因子軸は抗糖尿スケールと捉えることができるが、やや不明確である。第2因子軸は抗酸化スケールと解釈できるが、抗糖尿因子の影響も受けていると考えられる。全体としては、抗糖尿的な傾向が強いと考えられる。各ピークの各活性への寄与率を表23に示す。いずれの活性も、特定の成分の関与は認められなかった。オトコヨモギは、今回検討した諸活性に関しては、抗糖尿型の薬草であると考えられた。オトコヨモギの機能性も、バンジロウと同様に数種の化合物により発揮されるものではなく、多数の化合物の集積によって発揮されるものと考えられた。活性成分の制御法に関しては、成分が未同定であることから今後の検討課題とした。

以上、3-2節では各植物の機能性と成分の関係について検討を行ってきた。全体として、抗糖尿的要素に関しては適切な解釈が可能であった。すなわち、マルターゼおよびスクラーゼ阻害活性は、抗酸化活性と関連が深く、その成分はポリフェノール類であることが推察された。しかしながら、ACE阻害活性ならびにリパーゼ阻害活性については十分な解釈ができなかった。これは、本実験で成分定量に採用したオクタドデシル基を担体とす

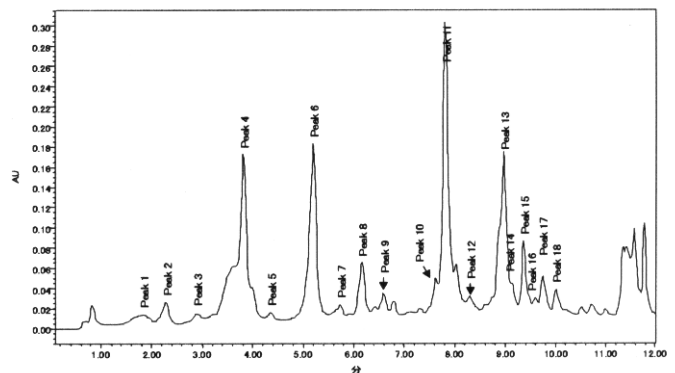


図60 オトコヨモギ抽出液のクロマトグラム

表22 オトコヨモギマトグラム各ピークと諸活性の因子分析結果

	因子1	因子2	因子3	因子4
Peak 10	0.9660	0.1703	0.0751	0.0567
Peak 13	0.9550	0.1731	0.1316	0.0291
Peak 4	0.9519	0.2326	0.1521	-0.0629
Peak 2	0.9439	0.2927	0.0871	0.1158
Peak 1	0.9349	0.3181	0.0998	0.0872
Peak 5	0.9139	0.3699	0.0841	0.0215
Peak 11	0.8873	0.2926	0.0663	0.1717
Peak 12	0.8413	0.4926	0.1055	0.0231
マルターゼ阻害活性	0.8283	0.3666	-0.0149	0.3145
スクラーゼ阻害活性	0.7352	0.4766	0.0006	0.3536
Peak 18	0.7093	0.3472	0.2066	0.1965
Peak 16	0.6126	0.5524	0.2721	0.3857
Peak 14	0.5524	0.2482	-0.4624	0.0174
Peak 17	0.5321	0.4961	0.3895	0.4971
Peak 7	0.5054	0.7320	-0.0220	0.0313
Peak 9	0.2533	0.7147	-0.0389	0.1283
Peak 15	0.1115	0.6958	-0.3111	-0.1743
Peak 3	0.4856	0.6891	0.3111	0.2272
抗酸化活性	0.3776	0.6591	0.0976	-0.0791
Peak 8	0.0721	-0.0973	0.8380	0.1628
Peak 6	0.4064	0.1680	0.7509	-0.1702
ACE阻害活性	-0.0212	-0.1284	0.0902	0.7160
リパーゼ阻害活性	-0.1568	-0.1239	0.0612	-0.6794
二乗和	10.45	4.37	2.05	1.85
寄与率(%)	45.42	19.00	8.92	8.06
累積寄与率(%)	45.42	64.41	73.34	81.39

表23 各活性ベクトルへの正射影像から求めた寄与率および累積寄与率

活性名	寄与率	累積寄与率
マルターゼ阻害活性		
Peak2	7.3	7.3
Peak1	7.2	14.5
Peak5	7.1	21.6
Peak11	7.1	28.7
Peak12	7.0	35.7
Peak10	6.9	42.6
Peak13	6.8	49.4
Peak4	6.7	56.1
Peak16	6.5	62.6
Peak18	6.1	68.8
Peak17	6.1	74.9
Peak3	5.7	80.5
Peak7	5.5	86.1
Peak14	4.4	90.5
Peak9	4.0	94.5
Peak6	2.6	97.2
Peak15	2.3	99.5
Peak8	0.5	100.0
スクラーゼ阻害活性		
Peak2	7.0	7.0
Peak1	7.0	14.0
Peak12	6.9	20.9
Peak5	6.9	27.8
Peak11	6.8	34.6
Peak16	6.8	41.5
Peak10	6.5	48.0
Peak17	6.5	54.4
Peak13	6.4	60.8
Peak4	6.3	67.1
Peak3	6.1	73.3
Peak18	6.1	79.4
Peak7	5.9	85.2
Peak9	4.6	89.8
Peak14	4.3	94.1
Peak15	2.8	96.9
Peak6	2.6	99.5
Peak8	0.5	100.0
抗酸化活性		
Peak7	7.4	7.4
Peak12	7.2	14.6
Peak3	7.2	21.7
Peak5	6.6	28.3
Peak16	6.5	34.8
Peak1	6.2	41.1
Peak9	6.1	47.2
Peak2	6.1	53.2
Peak4	5.9	59.1
Peak17	5.8	64.9
Peak11	5.7	70.7
Peak18	5.5	76.2
Peak13	5.4	81.5
Peak15	5.3	86.9
Peak10	5.3	92.2
Peak6	3.9	96.1
Peak14	3.6	99.6
Peak8	0.4	100.0

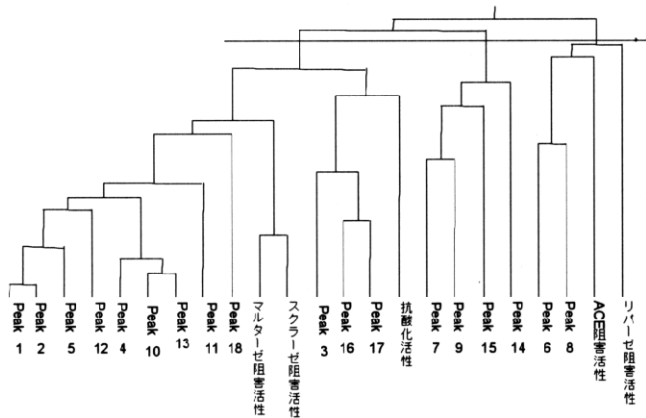


図61 オトコヨモギマトグラムの各ピークと諸活性のデンドログラム

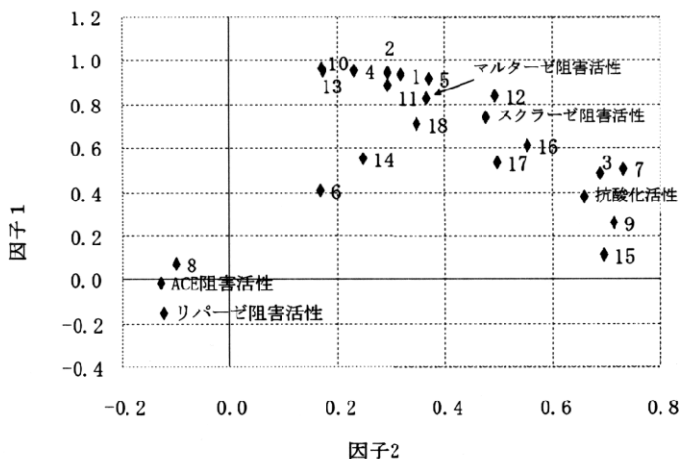


図62 オトコヨモギ因子負荷量の散布図(回転後、バリマックス法)

疎水クロマトグラフィーでは、活性物質の定量が行えなかったためだと考えられる。リパーゼ阻害活性は脂肪酸などの疎水性物質、ACE阻害活性に関してはペプチド類が活性に関与する成分であると考えられるので、薄層クロマトグラフィーやイオン交換クロマトグラフィー等による成分定量法を採用し再解析を行いたい。

3-3 定量的機能評価

前節では、クラスター分析および因子分析などの多変量解析等の手法を用いて、機能と成分の関係を明らかにし、機能性成分の量的制御法について考察した。品質管理において機能性を管理するには、機能性成分に着目した定量的機能評価が重要だと考えられることから、機能性管理指標となる定量的機能評価法について検討した。

3-3-1 HPLCを用いた機能定量法の検討

各植物のクロマトグラムから得られた各ピーク面積およびピーク高さを説明変数とし、各活性値を目的変数として回帰分析ならびに重回帰分析を行い、活性値を数種の成分で回帰できるかを検討した。重回帰分析に関しては、説明変数の選択を増減法にて、F値の設定を2として行った。それでも多重共線性が検出された場合は、適宜説明変数の選択を行った。なお、回帰分析ならびに重回帰分析はすべての組み合わせについて検討した(表24)が、活性の定量という観点から自由度修正済み決定係数が0.75以上かつ分散分析のP値が0.05以下のものについてのみ記述する。両条件を満たしたものは、ニシヨモギおよびバンジロウのマルターゼ、スクラーゼ阻害活性、カワラヨモギおよびオトコヨモギのマルターゼ阻害活性であり、得られた重回帰式を用いることにより機能の定量測定が可能である。なお、相関分析表は紙面の都合上割愛するが、各活性とピークのデンドログラムを(図46、50、54、58、61)参照されたい。得られた重回帰式を表25-30に、縦軸を実績値、横軸を理論値とした散布図を図63-67に示す。実線は回帰直線である。オトコヨモギのマルターゼ阻害活性に関しては、Peak2で単回帰できたので阻害活性とピーク高の散布図を図68に示す。重回帰式中の偏回帰係数は、説明変数の目的変数に対する影響力を示し、標準偏回帰係数は説明変数の重要性を示す。すなわち、偏回帰係数は各成分の力価(活性の強さ×含有量)を、標準偏回帰係数は活性の強さ(例えばIC₅₀値や比活性)を示すものと考えられる。今回、分析を行ったHPLC分析は分析時間が1件体当たり10-30分と短く、日常的な機能性の品質管理に対応するものである。

表24 重回帰分析により得られた自由度修正済み決定係数および分散分析のP値

植物名および活性名	自由度修正済み決定係数	P値
ニシヨモギ		
マルターゼ阻害活性	0.844	3.5E-10
スクラーゼ阻害活性	0.759	1.3E-07
リパーゼ阻害活性	0.369	9.7E-04
ACE阻害活性	0.310	6.7E-03
抗酸化活性	0.628	1.2E-05
バンジロウ		
マルターゼ阻害活性	0.880	2.0E-15
スクラーゼ阻害活性	0.757	2.7E-11
リパーゼ阻害活性	0.132	1.7E-02
ACE阻害活性	0.120	3.8E-02
抗酸化活性	0.449	3.8E-06
リュウキュウヨモギ		
マルターゼ阻害活性	0.662	4.4E-06
スクラーゼ阻害活性	0.650	9.8E-07
リパーゼ阻害活性	0.672	1.1E-05
ACE阻害活性	0.060	1.3E-01
抗酸化活性	0.496	2.9E-04
カワラヨモギ		
マルターゼ阻害活性	0.873	3.2E-11
スクラーゼ阻害活性	0.226	5.3E-03
リパーゼ阻害活性	0.590	3.6E-06
ACE阻害活性	0.350	2.7E-03
抗酸化活性	0.568	2.2E-05
オトコヨモギ		
マルターゼ阻害活性	0.937	2.6E-14
スクラーゼ阻害活性	0.236	1.8E-02
リパーゼ阻害活性	0.340	1.4E-03
ACE阻害活性	0.7248	2.5E-04
抗酸化活性	0.602	5.1E-06

表25 ニシヨモギマルターゼ阻害活性の重回帰分析結果

[重回帰式]			
説明変数名	偏回帰係数	標準偏回帰係数	P値
Peak 4	4.1E-05	0.9110	1.0E-10
Peak 2	1.4E-05	0.1703	3.9E-02
定数項	13.2691		

表26 ニシヨモギスクラーゼ阻害活性の重回帰分析結果

[重回帰式]			
説明変数名	偏回帰係数	標準偏回帰係数	P値
Peak 1	3.6E-05	0.8345	6.2E-08
Peak 5	1.4E-05	0.2560	2.1E-02
定数項	18.3503		

表27 バンジロウマルターゼ阻害活性の重回帰分析結果

[重回帰式]			
説明変数名	偏回帰係数	標準偏回帰係数	P 値
Peak 2	2.5E-05	0.3692	6.3E-05
Peak 3	2.1E-05	0.3080	1.1E-05
Peak 6	7.6E-05	0.5705	5.0E-08
定数項	25.9257		

表28 バンジロウスクラーゼ阻害活性の重回帰分析結果

[重回帰式]			
説明変数名	偏回帰係数	標準偏回帰係数	P 値
Peak 1	9.E-05	0.5297	1.9E-06
Peak 7	3.E-05	0.5122	3.3E-06
定数項	43.2900		

表29 カワラヨモギマルターゼ阻害活性の重回帰分析結果

[重回帰式]			
説明変数名	偏回帰係数	標準偏回帰係数	P 値
Peak 9	9.E-05	0.6445	6.6E-04
Peak 13	-9.E-05	-0.1958	1.5E-02
Peak 8	5.E-05	0.1777	2.0E-02
Peak 5	4.E-05	0.2733	9.9E-02
定数項	17.1076		

表30 オトコヨモギマルターゼ阻害活性の回帰分析結果

[式の係数と精度]	
関数式名	自然対数
式の係数	a = 19.502
	b = -168.208

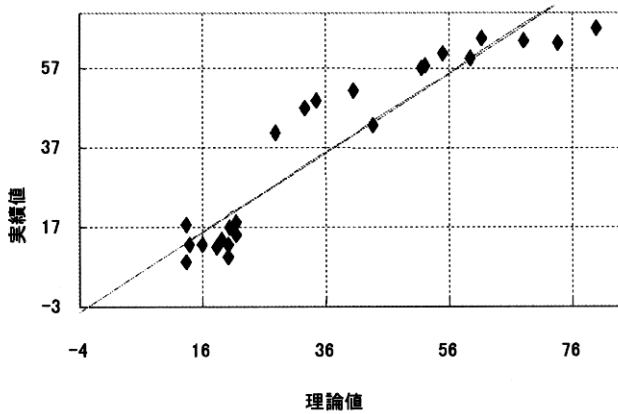


図63 ニシヨモギマルターゼの理論値と実績値の散布図

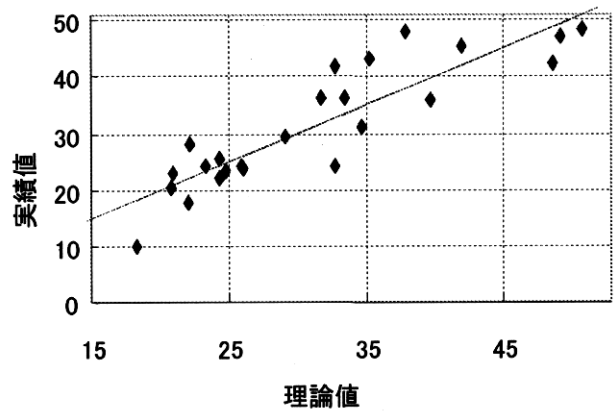


図64 ニシヨモギスクラーゼ阻害活性の理論値と実績値の散布図

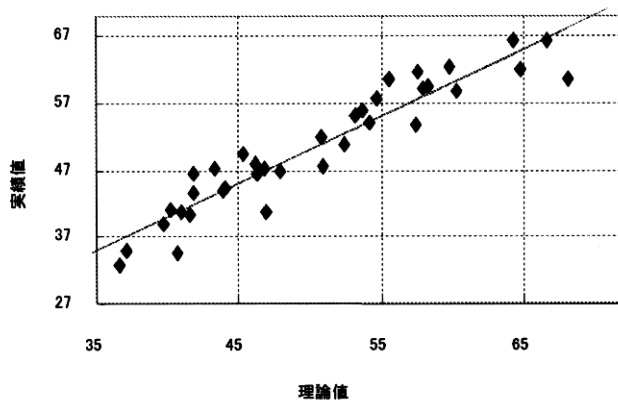


図65 バンジロウのマルターゼ阻害活性の理論値と実績値の散布図

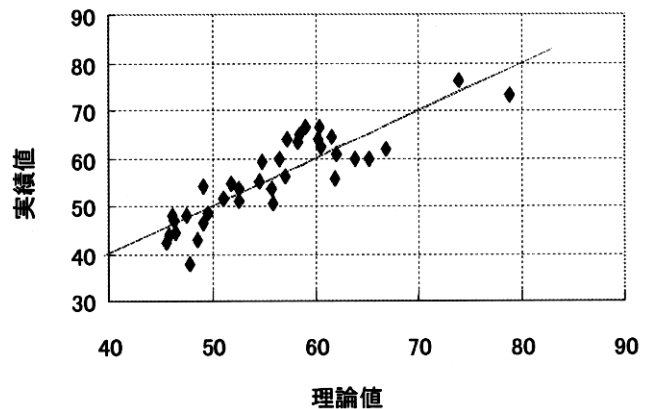


図66 バンジロウのスクラーゼ阻害活性の理論値と実績値の散布図

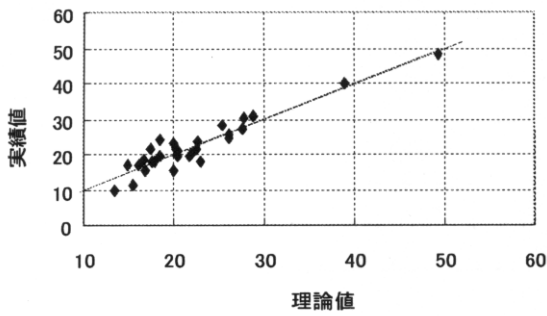


図67 カワラヨモギのマルターゼ阻害活性の理論値と実績値の散布図

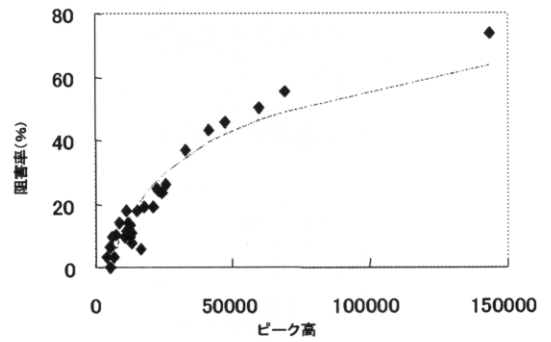


図68 オトコヨモギのマルターゼ阻害活性のピーク高と阻害活性の散布図

表31 各植物のマルターゼ及びスクラーゼ阻害活性値と抗酸化活性値との相関

植物名および活性名	修正済み決定係数
ニシヨモギ	
マルターゼ	0.9057
スクラーゼ	0.8088
バンジロウ	
マルターゼ	0.3439
スクラーゼ	0.1601
リュウキュウヨモギ	
マルターゼ	0.6836
スクラーゼ	0.5134
カワラヨモギ	
マルターゼ	0.2273
スクラーゼ	0.2100
オトコヨモギ	
マルターゼ	0.6409
スクラーゼ	0.6527

表32 回帰分析により得られた自由度修正済み決定係数および分散分析のP値

植物名および活性名	自由度修正済み決定係数	P値
ニシヨモギ		
マルターゼ阻害活性	0.889	1.0E-11
スクラーゼ阻害活性	0.816	2.2E-09
リパーゼ阻害活性	0.008	2.9E-01
ACE阻害活性	0.001	3.3E-01
抗酸化活性	0.008	2.9E-01
バンジロウ		
マルターゼ阻害活性	0.884	1.1E-17
スクラーゼ阻害活性	0.643	2.6E-09
リパーゼ阻害活性	0.499	9.0E-07
ACE阻害活性	0.315	2.2E-04
抗酸化活性	N/A	3.4E-01
リュウキュウヨモギ		
マルターゼ阻害活性	0.753	2.5E-08
スクラーゼ阻害活性	0.628	2.3E-06
リパーゼ阻害活性	0.320	3.2E-01
ACE阻害活性	0.005	3.0E-01
抗酸化活性	N/A	7.8E-01
カワラヨモギ		
マルターゼ阻害活性	0.401	1.3E-04
スクラーゼ阻害活性	0.149	2.2E-02
リパーゼ阻害活性	N/A	3.5E-01
ACE阻害活性	N/A	4.6E-01
抗酸化活性	0.786	9.5E-11
オトコヨモギ		
マルターゼ阻害活性	0.893	2.6E-15
スクラーゼ阻害活性	0.842	5.8E-13
リパーゼ阻害活性	0.014	2.4E-01
ACE阻害活性	N/A	7.4E-01
抗酸化活性	0.518	4.4E-06

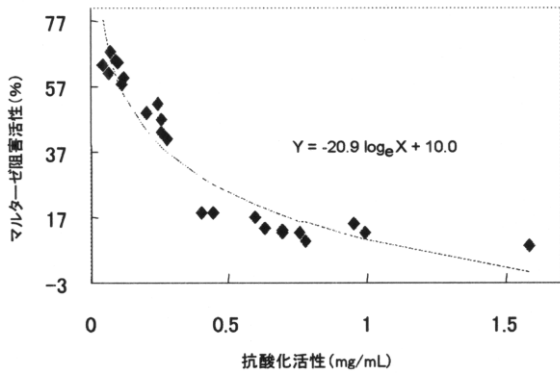


図69 ニシヨモギマルターゼ阻害活性値とDPPH値の散布図

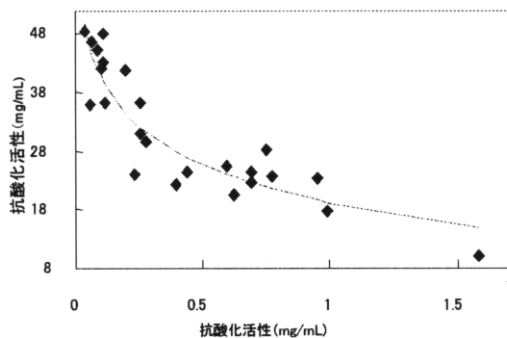


図70 ニシヨモギスクラーゼ阻害活性値とDPPH値の散布図

N/A は回帰できなかったことを示す。

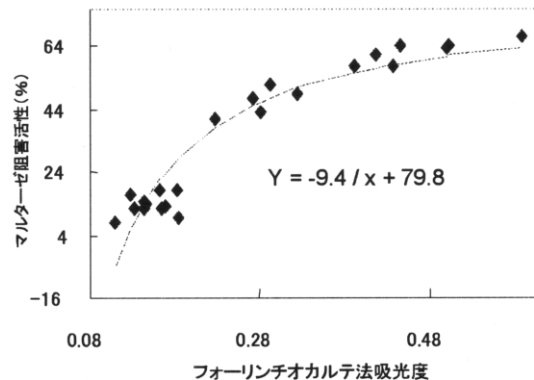


図71 ニシヨモギマルターゼ阻害活性値とフォーリンチオカルテ法吸光度値の散布図

3-3-2 簡易分析法の検討

HPLC分析は精度が高く信頼性に優れたものであるが、零細企業や生産現場への導入は困難である。これまでの解析で、マルターゼ及びスクラーゼ阻害活性は抗酸化活性と相関が高く、その関与成分がポリフェノール類であることが明らかにした。抗酸化活性の測定はDPPH法を用いたことから、本法を用いれば、直ちにマルターゼ及びスクラーゼの機能定量が可能であると考えられた。表31に、各植物のマルターゼ及びスクラーゼ阻害活性値と抗酸化活性値に関して回帰分析を行い、得られた修正済み決定係数を示す。また、図69および図70にマルターゼおよびスクラーゼ阻害活性値とDPPH値の散布図を示す。解析の結果、ニシヨモギのマルターゼおよびスクラーゼ阻害活性で抗酸化活性との相関が高いことが認められ、DPPH法がニシヨモギのマルターゼおよびスクラーゼ阻害活性の機能定量に適用可能であることが示唆された。しかしながら、DPPH法は使用する溶媒が限定され、エタノールの場合100-50%の範囲でのみ適用可能である。そこで、溶媒に限定されない方法として、ポリフェノール類の定量分析法であるフォーリン・チオカルテ法に着目し、簡易機能定量法の開発を試みた。植物毎の各活性値を目的変数とし、フォーリン・チオカルテ法により得られた吸光度を目的変数として回帰分析を行った。なお、定量性を確保するためにバンジロウは10倍希釈、カワラヨモギは2倍希釈、その他の植物抽出液は5倍希釈して試験に供した。表32に回帰分析により得られた自由度修正済み決定係数および分散分析のP値を示す。分析はすべての組み合わせについて検討したが、活性の定量という観点から自由度修正済み決定係数が0.75以上かつP値が0.05以下のものに関してのみ、フォーリン・チオカルテ法にて得られた吸光度と各活性の散布図および回帰式を示す(図71-78)。回帰分析の結果、ニシヨモギ、バンジロウ、リュウキュウヨモギ、オトコヨモギのマルターゼ阻害活性、ニシヨモギ、オトコヨモギのスクラーゼ阻害活性、ニシヨモギ、カワラヨモギの抗酸化活性がフォーリン・チオカルテ法により定量的に測定できることが明らかとなった。そこで、生産現場での使用を想定した機能表評価法を作成した。図79にそのスキームを示す。ジュースやお茶(煮出液)などの場合は、生産物がサンプル溶液として使用可能であるが、茶葉や錠剤などの場合は前処理としての抽出作業が必要になる。しかしながら、抽出に関しては製品形態により個々に抽出溶媒、時間、温度、回数などを検討する必要があるため検討の対象外とした。本評価法では、標準試料との比較により活性度を評価するが吸光度計が未導入の場合や、利便性を考慮して目視比較の可能性を検討した。吸光度を約0.1-1.0に調整した

発色液を調製し、年齢が20代-50代の被験者37人に発色の強い順に並べ替えを行わせた。正答率を表33に示す。吸光度が0.7以上の場合、誤答が目立つ傾向が認められた。また、年齢によっても正答率に大きな違いが認められた。今回の試験は、廊下や事務室などでも行ったことから、採光条件やバックグラウンドの条件を統一し、トレーニング等をおこなうことにより正答率は増すと考えられる。また、吸光度が0.6以下の場合20代では正答率100%であることから、発色範囲の厳格化や評価適格者の配置などを考慮すれば本評価法は十分実用に耐えるものと考えられる。

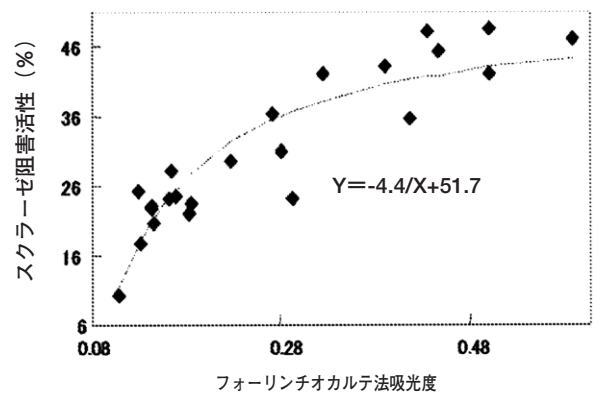


図72 ニシヨモギスクラーゼ阻害活性値とフォーリンチオカルテ法吸光度値の散布図

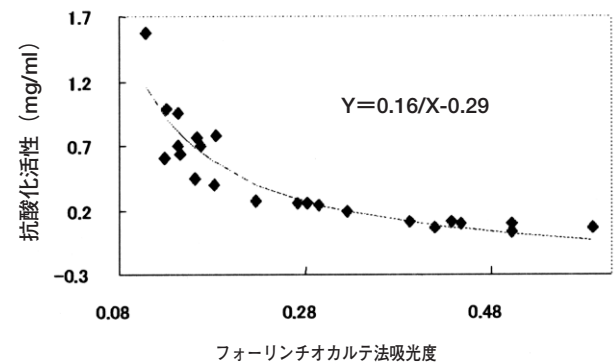


図73 ニシヨモギ抗酸化活性値とフォーリンチオカルテ法吸光度値の散布図

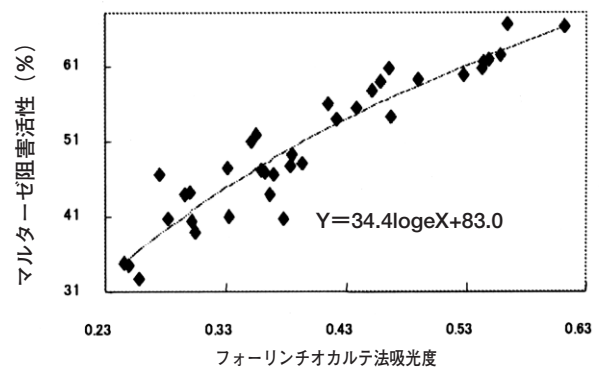


図74 バンジロウマルターゼ阻害活性値とフォーリンチオカルテ法吸光度値の散布図

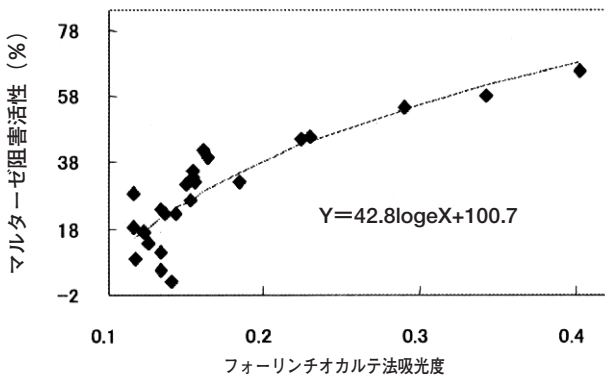


図75 リュウキュウヨモギマルターゼ阻害活性値とフォーリンチオカルテ法吸光度値の散布図

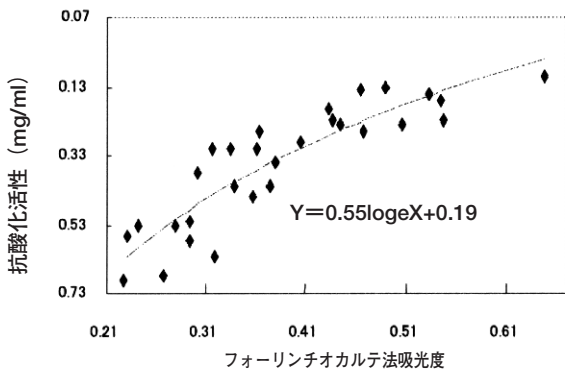


図76 カワラヨモギ抗酸化活性値とフォーリンチオカルテ法吸光度値の散布図

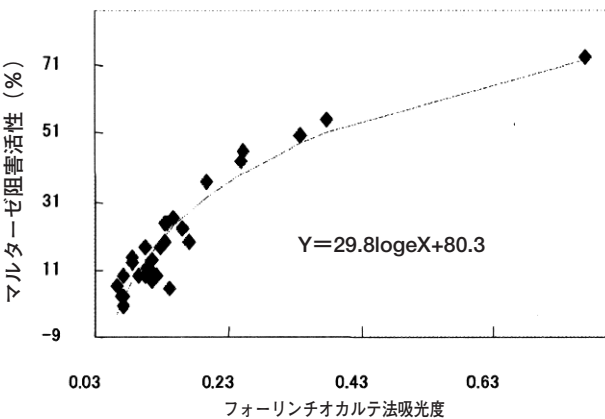


図77 オトコヨモギマルターゼ阻害活性値とフォーリンチオカルテ法吸光度値の散布図

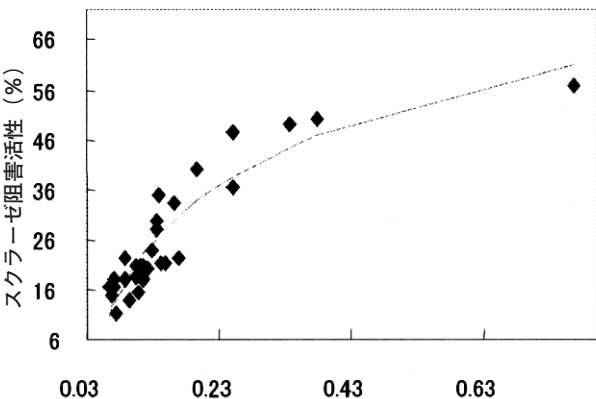


図78 オトコヨモギスクラーゼ阻害活性値とフォーリンチオカルテ法吸光度値の散布図

標準試料溶液およびサンプル(100μl)

- ←蒸留水(10ml)
- ←フォーリンチオカルテ試薬(0.48ml)
- ←20%炭酸ナトリウム溶液(1.4ml)

攪拌

1時間放置

発色液

標準試料溶液と比較して力価を判定

図79 マルターゼおよびスクラーゼ阻害活性目視評価法のスキーム

表33 並べ替えの正答率

吸光度	正答率		
	全数 (n=37)	-40代 (n=22)	50代- (n=15)
1.042	91.2	100.0	80.0
0.895	82.4	95.5	66.7
0.800	58.8	72.7	53.3
0.697	52.9	72.7	33.3
0.592	100.0	100.0	100.0
0.493	97.1	100.0	93.3
0.404	100.0	100.0	7.1
0.292	100.0	100.0	100.0
0.200	100.0	100.0	100.0
0.973	100.0	100.0	100.0

4. まとめ

本研究では、県産資源の機能性を活用した食品・医薬品、化粧品等の安定的機能発現の維持を達成するための品質管理指標を作成するために、ニシヨモギ、バンジロウ、リュウキュウヨモギ、カワラヨモギ、オトコヨモギおよびボタンボウフウの栽培条件、機能・成分相関、成分制御法および機能定量法について検討した。植物が発揮する機能性は、栽培条件により大きく変化することが認められた。特に収穫時期と日照条件は機能性に大きく影響する因子であると考えられた。

機能・成分の相関に関しては、マルターゼおよびスクラーゼ阻害活性に関与する成分がポリフェノール類であることを明らかにし、各ポリフェノール類の阻害活性に対する重要度を寄与率で算出した。

機能定量法の開発では、HPLCを用いて成分量を直接測定する方法、DPPH法およびフォーリン・チオカルテ法を利用した吸光度法および目視法を開発した。

本研究は、平成15年度「沖縄県地域結集型共同研究事業」により実施されたものです。

参考文献

- 1) 鎌田靖弘、豊川哲也、照屋正映、吉田靖彦、花城薫、新垣美香、上地美香、県産資源を利用した機能性素材の開発－in vitro 試験での機能性評価－、工業技術センター研究報告第4号、(2002)
- 2) 豊川哲也、鎌田靖弘、照屋正映、上地美香、新垣美香、市場俊雄、シマニシキソウおよびモクマオウ抽出物の血糖値上昇抑制効果、工技センター研究報告第5号、(2003)
- 3) 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素材の開発、工技センター研究報告第2号、(2000)
- 4) 豊川哲也、鎌田靖弘、照屋正映、上地美香、新垣美香、市場俊雄、沖縄県産植物抽出物のリパーゼ阻害活性、工業技術センター研究報告第5号、(2003)
- 5) Ritta Jukunen-Tiitto, Phenolic Constituents in the Leaves of Northern Willows: Methods for the Analysis of Certain Pehnolics, *J. Agric. Food Chem.* 1985, 33, 213-217.
- 6) 市場俊雄、喜屋武裕子、有用生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2報）、工技センター研究報告第2号、(2000)
- 7) 二糖類分解酵素阻害物質の製造方法、特願2004-023594
- 8) 湧田裕子、豊川哲也、市場俊雄、エンサイの α -グルコシダーゼ阻害物質の解明、工技センター研究報告第6号、(2004)
- 9) 市場俊雄、喜屋武裕子、有用生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1報）、工技センター研究報告第2号、(1999)

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。