

鳥取県産農産物の抗アレルギー活性の測定

【保健衛生室・食品衛生室】

最首信和* 斎尾美春 岩永千歳

*現 鳥取県食肉衛生検査所

概要

県内産農産物を対象とし、水、アセトン、メタノールで抽出した成分のヒアルロニダーゼ活性阻害を測定することで、各農産物の抗アレルギー活性を評価した。

県内産農産物48種(81検体)について、ヒアルロニダーゼ活性阻害を測定したところ、栗(渋皮)、カリン(皮)、ザクロ(皮)に高い阻害が認められ、通常、可食部とされていない果物の皮に強い抗アレルギー活性のあることがわかった。

1 はじめに

生体内において、異物に対して過剰な免疫反応を起こすことをアレルギーという。

近年、アレルギー症状を呈する人は増加しているといわれている。

鳥取県の食物アレルギーの実態を把握するため、昨年、県内の中学生以下を対象としたアンケート調査を行った。¹⁾

その結果によると、アレルギーの傾向としては全国的傾向とほぼ一致したが、食物アレルギーに悩む人は多く、薬に頼らずにアレルギー症状の緩和を望む人が多いことがわかった。

そこで、県内で生産される農産物を部位別(実・皮・種)にわけ、抗アレルギー活性を測定し、アレルギー抑制効果のある食材を検索することとした。

すでに確立された方法であるヒアルロニダーゼ活性阻害を測定することで、各農産物の抗アレルギー活性を評価した。ヒアルロニダーゼは、ヒアルロン酸の加水分解酵素でヒスタミンの放出時に分泌され、ヒスタミンの生成と正の相関があるといわれている。²⁾

従来から、多くの機関で農産物の抗アレルギー成分については研究されているが³⁾、この研究では、特に、通常廃棄する部分についての活性をあわせて調べることにした。

2 実験方法

1) 試料

県内産の農産物48種(81検体)を販売店で購入し試料とした。

2) 試薬

ヒアルロニダーゼ Type IV-S from Bovine testes (Sigma 製)

ヒアルロニダーゼ 8 mg を 0.1 M 酢酸バッファー (pH4.0) 2 ml に溶解した。

ヒアルロン酸 (Sigma 製)

ヒアルロン酸 8 mg を 0.1 M 酢酸バッファー 10 ml に溶解した。

Compound 48/80 (Sigma 製)

Compound 48/80 2mg、塩化カルシウム二水和物 15 mg を酢酸バッファー 4 ml に溶解した。

p-ジメチルアミノベンズアルデヒド(p-DAD)

p-DAD 5 g、10 N 塩酸溶液 6 ml、酢酸 44 ml を混合し、使用直前に酢酸で 10 倍にうすめた。

3) 使用機器

高速破砕機 (株)セントラル科学貿易

ポリトロン PT10-35

恒温装置 ヤマト科学(株) BK-53

分光光度計 (株)島津製作所 UV1600

4) 方法

(1) 試料の調製

各農産物を一定量採取し、アセトン、水、メタノー

ルの3種類の溶媒で抽出した。

農産物 10g に対し、溶媒は 25 ml 加えた。ホモジナイズし、遠心分離した後ろ過し、試料抽出液とした。

測定直前に、アセトン及びメタノールの抽出液は、窒素を吹き付けて溶媒を除去し、それぞれ 10%アセトン、10%メタノールに溶解した。

(2)ヒアルロニダーゼ活性阻害率測定

前田らの報告²⁾を参考に、実施した。

各抽出液 0.1 ml にヒアルロニダーゼ溶液を 0.05 ml 加えた。37 で 20 分放置した後、Compound48/80 を 0.1 ml 加えた。37 で 20 分放置した後、ヒアルロン酸 0.25 ml を加えた。

37 で 40 分放置した後、0.4 N 水酸化ナトリウムを 0.1 ml 加えた。ホウ酸カリウム溶液 0.1 ml を添加し、沸騰水浴中で 3 分間加熱後、室温まで冷却した。試験管を氷中に移し、*p*-DAD 試薬を 6 ml 加えた。37 で 20 分放置後、585 nm の吸光度を測定した。

阻害率は以下の式に基づき求めた。

$$\text{阻害率(\%)} = \{(A - B) - (C - D)\} / (A - B) \times 100$$

- A) 対照溶液の 585 nm における吸光度
- B) 対照溶液の blank の吸光度
- C) 試料溶液の吸光度
- D) 試料溶液の blank の吸光度

阻害率が 90%以上であったものについては、試験溶液を希釈し、阻害率の変化を測定した。

3 結果

試料とヒアルロニダーゼの阻害率を表に示す。阻害率が 70%以下のものは、「-」で示した。

3 種の溶媒のそれぞれの抽出成分すべてにおいて、阻害率が高かったのは、栗(渋皮)、かりん(皮)、ザクロ(皮・実)であった。

アセトン抽出成分で阻害率が高かったものは、枝豆(実)、ブルーベリー(皮)、デラウェア(皮)、プルーン(皮)、ピオーネ(皮)、ハニービーナス(皮)、栗(実)、ぎんなんであった。

メタノール抽出成分で阻害率の高かったものは、枝豆(実)、赤しそであった。

抗アレルギー剤として使用されているクロモグリク酸ナトリウムをポジティブコントロールとして用いた。これは一日あたり 50~100 mg を使用量としている。1 mg/ml の濃度のとき、約 50%の阻害率を示した。

阻害率が 90%以上のものについては、抽出液を希釈して阻害率を測定した。

水抽出においては、栗(渋皮)、かりん(皮・実)、ザクロ(皮・実)について阻害率の変化をみたところ、希釈率に応じて減少した。(図1)

メタノール抽出においては、赤しそ、栗(渋皮)、枝豆(実)、かりん(皮・実)、ザクロ(皮・実)について希釈による阻害率の変化をみた。栗(渋皮)は、15 倍希釈でも 90%以上の阻害率を示した。(図2)

アセトン抽出においては、ブルーベリー(皮)、デラウェア(皮)、ピオーネ(皮)、ハニービーナス(皮)、栗(外皮・渋皮)、枝豆(実)、かりん(皮・実)、ザクロ(皮・実)について、阻害率の変化をみた。かりん(皮)とザクロ(皮)は、5 倍希釈でも 90%以上の阻害率を示した。栗(渋皮)は、15 倍希釈でも 90%以上の阻害率を示した。

以上のことから、栗の渋皮に強い抗アレルギー活性をもつ成分が含まれていることが示唆され、水に不溶の成分であると考えられた。

4 考察

今回、県内農産物 4 8 種(81 検体)のスクリーニングを行った。部位ごとにわけ、それぞれのヒアルロニダーゼ活性阻害率を測定した。

通常は、食べない皮の部分にも活性が認められたものもあり(栗、ザクロ、ブドウ類)、皮に含まれる成分にも着目する必要があることがわかった。

特に、栗の渋皮に強い抗アレルギー活性があることがわかり、ふだん食べない部分を抗アレルギーの目的で活用できる可能性が示唆された。

今回の実験では、生の状態で均一化し、そのまま試験に用いているため、相互に比較することは難しい。しかしながら、ヒアルロニダーゼ活性阻害が明らかに認められたものがあった。

また、通常は生で食べることが少ない農産物は、調理の過程(酢漬け等)でヒアルロニダーゼ活性阻害がどう変化していくのか興味もたれる。

表) 各農産物のヒアルロニダーゼ阻害活性

阻害率(%)

農産物名	部位	アセトン	水	メタノール
青じそ	葉	-	-	-
赤しそ	葉	-	-	95%
あけび	皮	-	-	-
あけび	実	-	-	-
アスパラガス	実	-	-	-
いちじく	皮	-	-	-
いちじく	実	-	-	-
枝豆	皮	-	-	-
枝豆	実	99%	-	95%
おくら	実	-	-	-
オレンジ	実	-	-	-
柿	皮	-	-	-
柿	実	-	-	-
かぼちゃ	皮	-	-	-
かぼちゃ	種	-	-	-
かぼちゃ	実	-	-	-
かぼちゃ	皮	-	-	-
かぼちゃ	実	-	-	-
かぼちゃ	皮	-	-	-
かぼちゃ	種	-	-	-
かぼちゃ	実	-	-	-
かりん	皮	101%	99%	99%
かりん	実	100%	98%	-
キャベツ	葉	-	-	-
巨峰	皮	-	-	-
巨峰	実	-	-	-
ぎんなん	実	99%	-	-
栗	皮	97%	-	82%
栗	渋皮	98%	100%	128%
栗	実	100%	-	-
グレープフルーツ	実	-	-	-
ごぼう	皮	-	-	-
ごぼう	実	-	-	-
米ぬか	実	-	-	-
ザクロ	皮	102%	92%	97%
ザクロ	実	99%	89%	92%
さつまいも	皮	-	-	-
さつまいも	実	-	-	-
しそ穂	実	-	-	-

農産物名	部位	アセトン	水	メタノール
しまうり	皮	-	-	-
しまうり	実	-	-	-
白ネギ	葉	-	-	-
白ネギ	白根	-	-	-
スイカ	皮	-	-	-
スイカ	種	実施せず	-	-
スイカ	実	-	-	-
大根菜	葉	-	-	-
つるむらさき	実	-	-	-
デラウエア	皮	91%	-	-
デラウエア	実	-	-	-
トマト	皮	-	-	-
トマト	実	-	-	-
長いも	皮	-	-	-
長いも	実	-	-	-
梨(秋栄)	皮	-	-	-
梨(秋栄)	実	-	-	-
梨(幸水)	皮	76%	-	-
梨(幸水)	実	-	-	-
梨(20世紀)	皮	-	-	-
梨(20世紀)	実	-	-	-
にかうり	実	-	-	-
ハーブ	葉	-	-	-
パセリ	実	-	-	-
ハニーピーナス	皮	101%	-	-
ハニーピーナス	実	-	-	-
ピオーネ	皮	95%	-	-
ピオーネ	実	-	-	-
フルーツマト	皮	-	-	-
フルーツマト	実	-	-	-
ブルーベリー	皮	102%	-	-
ブルーベリー	実	-	-	-
ブルーン	皮	91%	-	-
ブルーン	実	-	-	-
ブルーン	皮	-	98%	86%
ブルーン	実	-	95%	-
未熟ブルーン	実	-	-	-

農産物名	部位	アセトン	水	メタノール
ブロッコリー	芯	-	-	-
ブロッコリー	実	-	-	-
ほうれん草	葉	-	-	-
またたび	実	-	-	-
みょうが	実	-	-	-
むかご	実	87%	-	-
モモ	皮	-	-	-
モモ	実	-	-	-
らっきょう	実	-	-	-
らっきょう	実	-	-	-
らっきょう	実	-	-	-

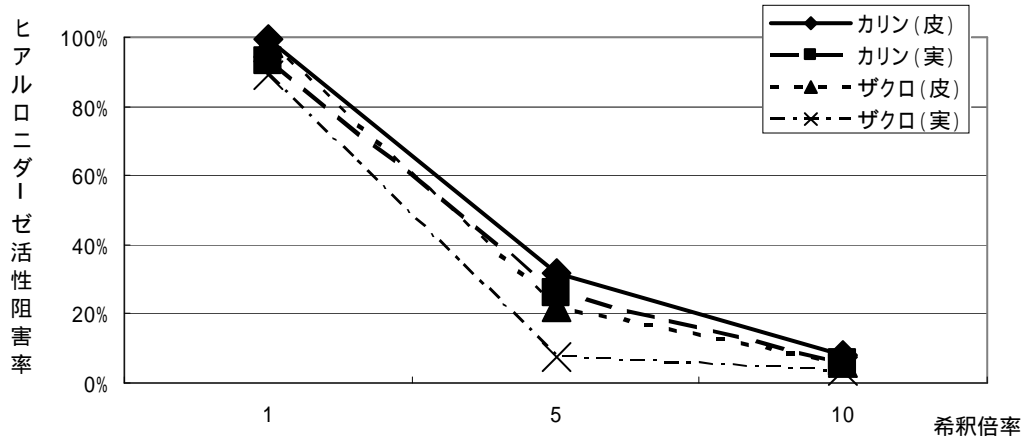


図1 水抽出成分の希釈による阻害率の変化

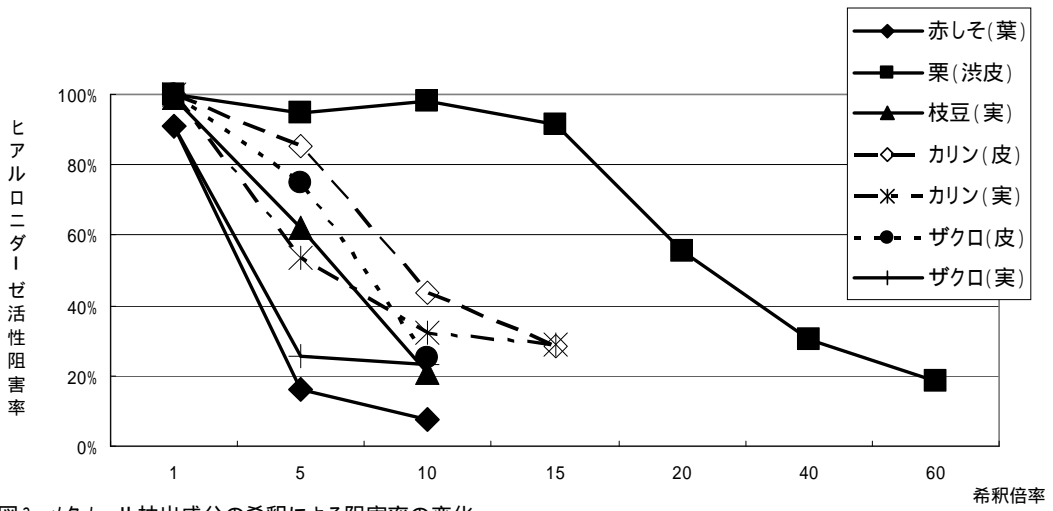


図2 メタノール抽出成分の希釈による阻害率の変化

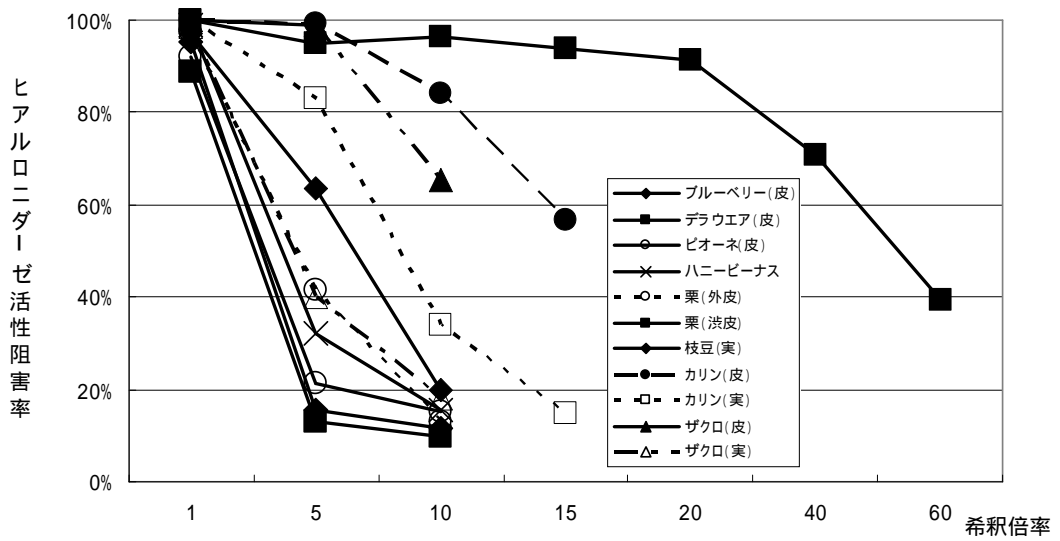


図3 アセトン抽出成分の希釈による阻害率の変化

5 参考文献

- 1) 鳥取県衛生環境研究所報 46, 49-59 (2005)
 - 2) 前田有美恵ら：食衛誌 31, 233-237 (1990)
 - 3) 星野香織ら：食衛誌 39, 72-77 (1998)
- 青柳光敏ら：北海道立衛生研究所報 47, 46-51 (1997)
- 加来志保子ら：熊本県立大学環境共生学部紀要 1, 17-25(2000)