

図3 官能評価結果 (かけ醤油)

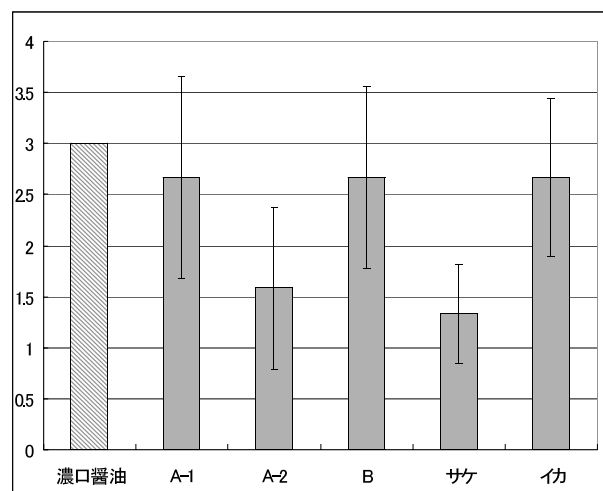


図4 においに関する評価

以上の結果から、A-1、Bは比較的魚臭の抑えられた製品であり、呈味的にも大豆を原料とする市販品と似た日本人になじみやすい製品であることが分かった。

#### 4 まとめ

- 1) ブリミンチに加熱処理を加えて仕込んだものは、加熱により魚肉が変性し、発酵が安定したと思われた。
- 2) 醤油の成分は、A-2よりA-1の方が無塩可溶性固形分や水溶性窒素、アミノ酸態窒素の含量が高くなった。
- 3) 麴歩合が高いと、魚臭が抑えられた製品ができた。
- 4) ブリミンチを加熱に加熱処理を加えて仕込むことにより、魚臭を抑えた製品を作ることができた。

#### 5 参考文献

- 1) 船津保浩, 日本食品科学工学会誌, **49**, 1 (2002)
- 2) 船津保浩, 小長谷史郎, 加藤一郎, 竹島文雄, 川崎賢一, 井野慎吾, 日本水産学会誌, **66**, 1026 (2000)
- 3) 鈴木敦士, 渡部終五, 中川弘毅: “タンパク質の科学” 朝倉書店 (1998)

## ニガウリの機能性成分の分画と成分の特定\*

鶴田 哲也\*<sup>1</sup>・森下 敏朗\*<sup>2</sup>

Extraction and Specification of the Physiological functionality ingredient of *Momordica charantia*

Tetsuya TSURUTA and Toshiro MORISHITA

宮崎産にがうり「こいみどり」のメタノール抽出画分に含まれる脂質代謝改善物質（機能性成分）として配糖体に注目し、その構造について検討した。こいみどりに含まれる配糖体を抽出し、核磁気共鳴装置、ガスクロマトグラフ質量分析計で分析した。こいみどり中の配糖体は、パルミチン酸、リノレン酸、ステアリン酸の脂肪酸配糖体（糖脂質）が多く含まれていることが明らかとなった。

キーワード：ニガウリ、抽出、脂質代謝改善、配糖体

### 1 はじめに

近年、野菜に含まれる成分に高血圧、糖尿病などの生活習慣病を防ぐ効果やガン抑制効果が見いだされ、様々な野菜について機能性と有効成分について研究が進められている。

これまで当センターの研究において、ニガウリは、ラットの血清及び肝臓トリグリセリド濃度を顕著に低下させることを明らかにした<sup>1)</sup>。また、当県で栽培されている3種類のニガウリ（こいみどり、パワフルレイシ、百成）について検討した結果、こいみどりのメタノール抽出画分は、ラットの肝臓トリグリセリド濃度及びコレステロール濃度を顕著に低下させることが判明した<sup>2)</sup>。このように脂質代謝改善作用を有する成分は、メタノール抽出画分に含まれていることが明らかとなったが、その成分は特定できていない。今回、機能性成分として配糖体に注目し、こいみどりのメタノール画分に含まれる配糖体を取り出し、その成分について検討を行ったので報告する。

ンチング処理した後（100℃、2 min）、凍結乾燥を行い、摩砕機にて粉末処理したものを実験試料とした。

2-2 こいみどりーメタノール抽出画分の作成  
こいみどり粉末に10倍量のヘキサンを加え、1時間攪拌した後、吸引濾過を行った。この操作を2回繰り返し行い、濾液を減圧濃縮しヘキサン抽出画分を得た。残渣にアセトンを加え、ヘキサン抽出と同様の操作を行い、アセトン抽出画分を、アセトン抽出後の残渣にメタノールを加え、同様の操作を行いメタノール抽出画分を得た（図1）。

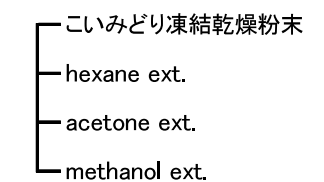


図1 こいみどり溶媒分画方法

### 2 実験方法

#### 2-1 こいみどり粉末の作成

こいみどりは種子部を取り除き、可食部をブラ

#### 2-3 メタノール抽出画分から配糖体の分画

メタノール抽出画分に蒸留水を加え溶解し、酢酸エチルを加え、分液ロートにより抽出した。水相は、再度酢酸エチルを加え抽出し、酢酸エチル相、水相に分液した。次に、水相に水飽和ブタノールを加え、分液ロートで抽出操作を3回繰り返し行

\* 食品評価に関する研究  
\* 1 食品開発センター 客員研究員  
\* 2 食品開発部

った<sup>3)</sup>。分液したブタノール相は溶媒を減圧留去し、配糖体画分（ブタノール相）を得た。水相は、凍結乾燥を行った（図2）。

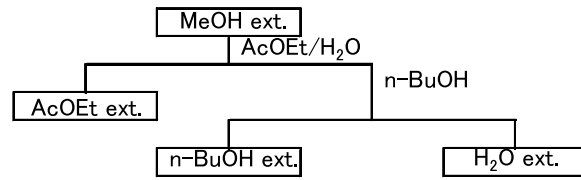


図2 メタノール抽出物の配糖体分画方法

ブタノールは沸点の高い溶媒であり、上記の方法は濃縮の際、かなりの時間を必要とした。そこで配糖体を効率的に分離するため、多孔性吸着樹脂HP-20の使用を検討した。HP-20は使用前、一晚メタノールに浸し活性化、蒸留水で洗浄、水分を除去した。使用するHP-20量は、分離するメタノール抽出画分の20倍グラム相量とした。メタノール抽出画分に少量の蒸留水を加え溶解し、HP-20に滴下、一晚放置して担持させた。翌日オープンカラムに充填、HP-20の3倍量の蒸留水で糖画分を溶出した。続いてメタノールで溶出し、配糖体画分を得ることができた<sup>4)</sup>。

#### 2-4 TLCによる配糖体のパターン分析

各実験過程で得た配糖体画分は、薄相シリカゲルクロマトグラフィー（TLC）を使用し分析した。TLCは、溶媒で展開した後、20%硫酸を噴霧・加熱することで現れるパターンを確認した。

#### 2-5 シリカゲルクロマトグラフィーによる配糖体の分画

配糖体画分は、順相シリカゲルクロマトグラフィーを用いて分画した。溶媒はクロロホルム：メタノール：水=10：3：1→6：3：1→0：0：1を使用して溶出した。

#### 2-6 配糖体の加水分解

配糖体の非糖部（アグリコン）の分析を行うため、完全酸加水分解を行った。配糖体画分を少量のメタノールで溶解し、2N-硫酸を加え、加熱還流（100℃, 30min）により、配糖体の糖部と非糖部を加水分解した。室温にてしばらく放置、冷却し、クロロホルムを加え分液ロートにより抽出した。分液したクロロホルム相の溶媒を減圧留去し、非糖

部（加水分解物）の分析試料を得た。

#### 2-7 配糖体の分析

シリカゲルクロマトグラフィーで分画した配糖体及び加水分解物は、核磁気共鳴装置（日本電子㈱、AL400 FT-NMR）とガスクロマトグラフ質量分析計（㈱島津製作所、GCMS-QP5050）により分析した。NMR測定溶媒は、重ピリジン-*d*<sub>5</sub>を使用した。GCMS測定は、J&W社のDB-5（0.53mm×30m）カラムを使用した。

### 3 結果及び考察

#### 3-1 こいみどり粉末の各溶媒抽出画分の収量

こいみどり粉末（300g）を溶媒で溶出した結果、ヘキサン抽出画分1.4%、アセトン抽出画分6.0%、メタノール抽出画分15.1%の回収量で各抽出画分を得た。

#### 3-2 配糖体の回収量

ブタノールを使用した場合及びHP-20を使用した場合の配糖体画分の回収量は、それぞれ21.7%、16.3%であった。回収量の差は、ブタノールを使用した場合は抽出操作の際、ブタノール相の含有水に遊離の糖が溶解するのに対し、HP-20を使用した場合は、完全に糖が除去することに起因するものと考えられる。

#### 3-3 TLCによる配糖体のパターン分析

数種の混合溶媒を使用して展開溶媒を検討した結果、クロロホルム：メタノール：水=10：3：1（下層）で最も良い分離パターンを示した。

ブタノール及びHP-20により得た配糖体画分を展開すると、スポットの位置は同じ場所にあることが確認できた（写真1）。この結果から、どちらの方法を用いても、同じ成分を得ることができると考えられる。大量に配糖体の処理を行う場合は、操作が簡便性であるHP-20を使用する方が効率の良い方法であると言える。

展開したTLCのスポットから、R<sub>f</sub>値の算出を行い、TLC上部から順にNo. 1～No. 8とした（表1）。

表1 展開した配糖体のR<sub>f</sub>値

No.	R <sub>f</sub> value
1	0.79
2	0.77
3	0.72
4	0.67
5	0.63
6	0.48
7	0.47
8	0.16 ~ 0

写真1

#### 3-4 配糖体画分の分画

ブタノールを使用して得た配糖体画分（2.86g）は、順相シリカゲルクロマトグラフィーを使用して再分画した。分画した各フラクションはTLCを用いてR<sub>f</sub>値を確認し、同一成分のフラクションを回収した。集めたフラクションの溶媒を減圧留去した後、回収量を算出した（表2）。極性の小さい（R<sub>f</sub>値の大きい）成分No. 1～No. 7は、回収量が低く、極性の大きいNo. 8は、回収量が多い結果となった。最も回収量の多かったNo. 8から分析を行った。

表2 配糖体画分の分画及び回収量

No.	R <sub>f</sub> value	yield	
		mg	%
1	0.79	5	0.17
2	0.77	1	0.03
3	0.72	65	2.27
4	0.67	21	0.73
5	0.63	52	1.82
6	0.48	100	3.50
7	0.47	42	1.47
8	0.16 ~ 0	1248	43.64
total	-	1534	53.63

#### 3-5 配糖体画分 No. 8 の分析

No. 8 とNo. 8 の加水分解物の分析はNMR及びGCMSを使用した。No. 8 の<sup>1</sup>H-NMRチャートを図3に示す。4～6 ppmに認められるピークは、糖由来であり、0.5～4 ppmのピークは非糖部（アグリコン）由来であると考えられる。1 ppm、1.5 ppm付近は、末端メチル基や直鎖メチレン鎖由

来のピークである。

図4は、No. 8加水分解物の<sup>1</sup>H-NMR測定チャートである。プロトンピークから、脂肪酸であることが伺える。5.4 ppm付近のピークは、不飽和結合炭素に結合したプロトン由来であることから、不飽和脂肪酸の存在が確認できる。

No. 8加水分解物の脂肪酸分析をGCMSを用いて行った（図5）。25.74、29.29、29.71分にピークが認められ、分子量はそれぞれ、284、278、256であった。脂肪酸の標準サンプルを測定し、分子量とリテンションタイムを比較した結果、25.74分のピークはパルミチン酸、29.29分のピークはリノレン酸、29.71分のピークはステアリン酸であることが分かった。

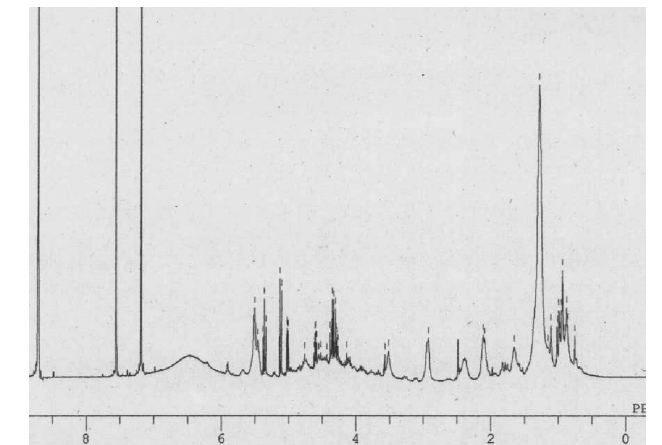


図3 <sup>1</sup>H-NMR chart of No.8

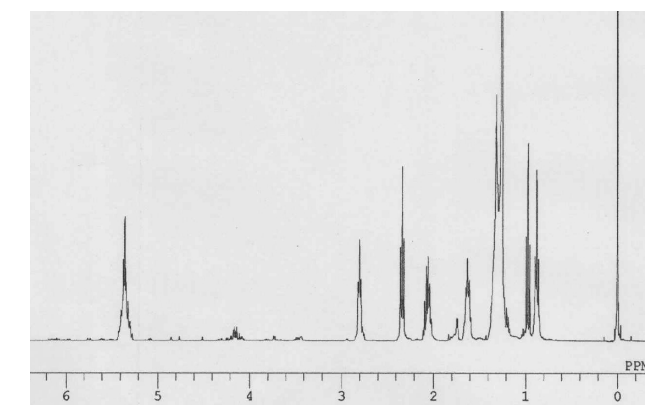


図4 <sup>1</sup>H-NMR chart of hydrolysis of No.8

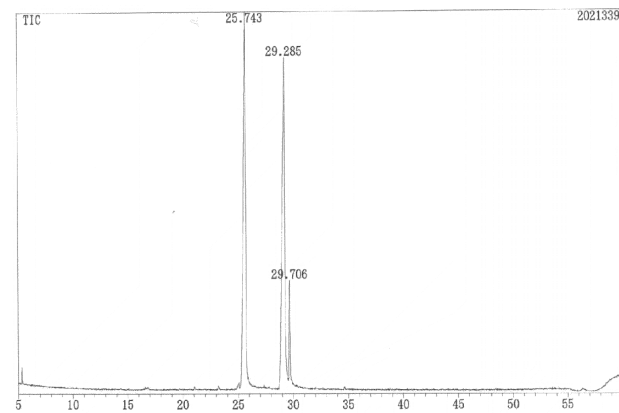


図5 GCMS spectrogram hydrolysis of No.8

以上の結果から、配糖体画分No. 8 は、前記3種類の脂肪酸を非糖部に持つ化合物であることが明らかとなった。

#### 4 まとめ

こいみどりのメタノール抽出画分中の配糖体について検討した。配糖体画分No. 8の分析を行い、非糖部（アグリコン）の構造は、  
 パルミチン酸  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$   
 $\alpha$ -リノレン酸  $\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$   
 ステアリン酸  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$   
 であると判明した。順相シリカゲルクロマトグラフィーで回収した成分の大部分はNo. 8であり、ニガウリに含まれている配糖体の主要成分であると考えられる。

現在、これら配糖体に脂質代謝改善作用があるか確認していない。しかし、パルミチン酸、ステアリン酸、リノール酸、リノレン酸を含むガラクトシルグリセロール類（糖脂質）に、抗コレステロール作用があるという報告例があり、ニガウリの配糖体は、このような構造をした糖脂質ではないかと推測している。今後、分画した配糖体に脂質代謝改善作用があるか検討を進める予定である。

#### 5 参考文献

- 1) Anura P. Jayasoorina, Masanobu Sakono, *Journal of Ethnopharmacology*, **72**, 331 (2000)
- 2) 柚木崎千鶴子, 河野幹雄: 特開2000-93778
- 3) 名取信策, 池川信夫, 鈴木真言: “天然有機化合物実験法” 講談社 (1982)
- 4) 伏谷伸宏, 廣田洋: “天然有機化合物の構造解析” シュパ・リソナー・フエテック東京 (1994)

## 桑葉を利用したリキュールの開発\*

岡崎 益己<sup>\*1</sup>・柏田 雅徳<sup>\*2</sup>・水谷 政美<sup>\*2</sup>・工藤 哲三<sup>\*2</sup>・野田 信三<sup>\*3</sup>

Development of Liqueur made from Mulberry Leaves

Masumi OKAZAKI, Masanori KASHIWADA, Masami MIZUTANI, Tetsuzo KUDO  
and Shinzo NODA

桑葉のリキュールへの応用を目的として、桑葉の機能性について検討した。桑葉濃縮液をイオン交換樹脂カラムクロマトグラフ等を用いて分画し、各溶出画分の抗酸化活性、ACE阻害活性及び $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性について比較を行い活性画分を特定した。また、含水エチルアルコール抽出と熱水抽出による各抽出液の各機能性を比較したところ、含水エチルアルコール抽出の方が高く、リキュールへの応用が可能であることを確認した。

キーワード：桑葉、リキュール、 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害、1-デオキシノジリマイシン、含水エチルアルコール抽出

#### 1 はじめに

桑葉は高い機能性を持つ天然素材としてその利用が有望視されている<sup>1)</sup>。特に、桑葉の成分として存在する1-デオキシノジリマイシンは、小腸粘膜内の消化酵素である $\alpha$ -グルコシダーゼの働きを阻害する。このことから、桑葉は多糖類から単糖類への分解を抑制し、血糖値の上昇を抑制して、糖尿病や肥満予防に効果があるといわれている<sup>2)</sup>。

桑葉抽出液について、多孔質合成吸着樹脂カラムクロマトグラフ、イオン交換樹脂カラムクロマトグラフを用いて分画し、各溶出画分の抗酸化活性(DPPHラジカル消去能)、ACE阻害活性、 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性について検討した。また、イオン交換樹脂カラムクロマトグラフによる溶出画分について、1-デオキシノジリマイシンの定量を行った。さらに、桑葉の熱水抽出液と含水エチルアルコール抽出液の抗酸化活性、 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性を測定し、桑葉中の機能成分の溶出率の比較を行った。

#### 2 実験方法

##### 2-1 供試試料

桑葉は、トヨタマ健康食品(株)より提供されたものを用いた。

##### 2-2 桑葉の熱水抽出液の抗酸化活性及び $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性

桑葉1.0gを蒸留水100mlに投入し、80℃、20分間加熱抽出したものを吸引ろ過後、100mlに定容して試験液とした。対照として市販緑茶葉を同様に処理して試験液とした。

抗酸化活性、 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性の測定は、前報<sup>3)</sup>に従って行った。抗酸化活性の測定には、各試験液を80%エチルアルコール水溶液で5倍に希釈後、0.45 $\mu\text{m}$ のフィルターでろ過して使用した。 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性の測定には、各試験液を50%ジメチルスルホキシド水溶液で30倍希釈後、0.45 $\mu\text{m}$ のフィルターでろ過して使用した。

##### 2-3 桑葉濃縮液の多孔質合成吸着樹脂カラムクロマトグラフによる分画及び各溶出画分の機能性評価

桑葉の熱水抽出液のろ液100mlを80℃、2mlまで減圧濃縮し、桑葉濃縮液とした。

\* 発酵食品に関する研究  
 \* 1 現 延岡保健所  
 \* 2 応用微生物部  
 \* 3 トヨタマ健康食品(株)