研 究 ノ ー ト

生薬の抗酸化性について

広末トシ子*・川井英雄*・細貝祐太郎*

On the Antioxidative Activities of Crude Drugs

TOSHIKO HIROSUE, HIDEO KAWAI
and YUTARO HOSOGAI

The antioxidative activities of water, ethanol and ether-soluble fractions from 24 Japanese pharmacopoeia crude drugs on methyl-linolenate were investigated in the comparison of BHA. The results indicated that the presence of strong antioxidative substances in the water-, ethanol- and ether-soluble fractions obtained from both *Caryophylli Flos* and *Glycyrrhizae Radix*.

(Received Apr. 14 1978)

従来、油脂に対し抗酸化力を有する天然物の1つとして香辛料が知られ多くの報告^{1)~7)}がある。またその有効成分についてはいくつかのものが知られている^{8)~20)}。著者らは香辛料と同じ天然物である生薬について現在まで油脂に対する抗酸化性がほとんど知られていないことから、比較的薬効の弱いものを対象としてえらび、それぞれの蒸留水、エタノールおよびエーテル抽出物についてリノール酸メチルを基質とし、チオシアン鉄およびチオバルビツール酸法によって酸化防止効果を検討したので報告する。

1. 実験方法

(1) 試料

試料として第9改正日本薬局方に収められる次の各部位の生薬 24 種を使用した。

皮類 (Cortices): ケイヒ; 根茎類 (Rhizomata): サンヤク, ショウキョウ, ソウジュツ, タクシャ, ビャクジュツ; 根類 (Radices): カンゾウ, キキョウ, シャクヤク, トウキ, モッコウ; 葉類 (Folia): ケイガイ, ゲンノショウコ, ジュウヤク, ソヨウ, シャゼンソウ; 果実類 (Fructus): ウイキョウ, キジツ, サンショウ, チンピ; 種子類 (Semina): ケツメイシ, シュクシャ, ヨ

クイニン; 花類 (Flores): チョウジ

(2) 試料の調製

あらかじめミキサーで細切した各試料の粉末 5g に蒸留水, エタノールおよびエーテルをそれぞれ 50 ml 加え, 振とう器で振とうののち, 室温に 24 時間放置した。その後, 蒸留水抽出液は 6,000 rpm 5 分間遠心し, その上澄を濾過し全量を 50 ml とした。エタノールおよびエーテル抽出液はそのまま濾過し全量を 50 ml とした。

(3) 基質

リノール酸メチル (東京化成工業製) を用い, エタノールに溶解し 0.1M 濃度とした。

(4) 抗酸化力試験

基質 10 ml に各試料の抽出液を生薬に換算して 3 % になるように添加し, pH 7.0 のリン酸緩衝液で全量を 50 ml としたものを 100 ml 容共栓フラスコに移し, 40°C の恒温槽中に遮光保存した。また, 抗酸化力比較のため, BHA をリノール酸メチル 1kg に対し 0.2g の割合で基質に添加したもの, ブランクとして基質溶媒のエタノールに各試料抽出液を添加したものと及びエタノールのみを使用し, 同条件下に保存した。そして, 保存期間中経時的にチオシアン鉄法^{27)~29)}により過酸化物を, GRIEWACH 法^{30,31)}により TBA 値を測定し, それぞれの吸光度の増減から抗酸化力を判定した。

2. 実験結果および考察

(1) 蒸留水抽出物の場合

基質に抽出物を添加し吸光度 1 に達するに 10 日以上要し, 明らかに効果を現わしたものを図 1 に示した。この結果抗酸化性の認められたチョウジとカンゾウの抽出物は実験開始後, 35 日経過しても過酸化物と TBA 値の増加が認められなかった。これに対し, BHA では過酸化物は 22 日, TBA 値は 20 日経過しそれぞれ増加を開始した。また, 10 日以前にそれぞれの吸光度が 1 に達したものにキジツ他, 図に示されていない 19 種がありこれらに抗酸化力はほとんど認められなかった。

(2) エタノール抽出物の場合

(1) の場合と同様, 過酸化物と TBA 値の吸光度が 1 に達するに 10 日以上を要し, 効果の認められたものを

* 女子栄養大学食品衛生学研究室 (東京都豊島区駒込 3 丁目 3-24-3)
Laboratory of Food Hygiene; Kagawa Nutrition College, 24-3, Komagome 3-chome,
Toshima-ku, Tokyo

図1. 生薬の蒸留水抽出物の抗酸化活性

条件: 基質に対し生薬として3%となるよう各生薬の抽出物を添加し, さらに pH7.0 リン酸緩衝液を加え, 40°C 恒温, 遮光保存。
効力の判定: 過酸化物は, チオソラン鉄法により, TBA は, GRIEWAHN 法による。

[A] 過酸化物……○—○: 対照 (生薬無添加), △—△: BHA (リノール酸メチル 1kg に対し 0.2g 添加), 1: ウイキョウ, 2: ショウキョウ, 3: チョウジ, 4: カンゾウ。

[B] TBA……○—○: 対照 (生薬無添加), △—△: BHA (リノール酸メチル 1kg に対し 0.2g 添加), 1: ウイキョウ, 2: ショウキョウ, 3: チョウジ, 4: カンゾウ。

図2. 生薬のエタノール抽出物の抗酸化活性

条件: 図1に同じ, 効力の判定: 図1に同じ。

[A] 過酸化物……○—○: 対照 (生薬無添加), △—△: BHA (リノール酸メチル 1kg に対し 0.2g 添加), 1: ウイキョウ, 2: ゲンノショウコ, 3: ケツメイシ, 4: ヒヤクジュツ, 5: ジュウヤク, 6: ケイガイ, 7: チンピ, 8: ソヨウ, 9: ケイヒ, 10: ソウジュツ, 11: ショウキョウ, 12: チョウジ, 13: カンゾウ。

[B] TBA……○—○: 対照 (生薬無添加), △—△: BHA (リノール酸メチル 1kg に対し 0.2g 添加), 1: トウキ, 2: シュクシャ, 3: シャクヤク, 4: ウイキョウ, 5: モッコウ, 6: キジツ, 7: ヒヤクジュツ, 8: ゲンノショウコ, 9: ジュウヤク, 10: ケツメイシ, 11: チンピ, 12: ケイガイ, 13: ソヨウ, 14: ケイヒ, 15: ソウジュツ, 16: ショウキョウ, 17: チョウジ, 18: カンゾウ。

図2に示した。この結果, ケイヒ, ソウジュツ, ショウキョウ, チョウジ及びカンゾウの場合は BHA より強い抗酸化性を示し, とくにカンゾウの場合は全く上昇が認められなかった。これに対し, 10日以前にそれぞれの吸光度が1に達した効果が弱かったもののうちタクシャおよびサンヤクは, 逆に酸化を促進する傾向にあった。

(3) エーテル抽出物の場合

(1) および (2) の場合と同様, 過酸化物と TBA 値の吸光度が1に達するに 10日以上を要し効果の認められ

たものを図3に示した。この結果, チョウジ, ショウキョウおよびカンゾウは BHA に比べて強い抗酸化性が認められた。これに対し 10日以前にそれぞれの吸光度が1に達したのものにはタクシャ他8種がありほとんど抗酸化性は認められなかった。

これらの知見から, チョウジおよびカンゾウは, いずれの抽出物も非常に強い抗酸化性を示すことが判明した。チョウジの場合は酸化防止力を有する成分として既にオイゲノールおよびワニリン^{17,18)}などが報告されてい

図 3. 生薬のエーテル抽出物の抗酸化活性

条件: 図1に同じ, 効力の判定: 図1に同じ。

[A] 過酸化物質……○—○: 対照 (生薬無添加), △—△: BHA (リノール酸メチル 1kg に対し 0.2g 添加), 1: ゲンノショウコ, 2: ケイガイ, 3: チンビ, 4: シュウヤク, 5: ソヨウ, 6: ソウジュツ, 7: チョウジ, 8: ショウキョウ, 9: カンゾウ。

[B] TBA……○—○: 対照 (生薬無添加), △—△: BHA (リノール酸メチル 1kg に対し 0.2g 添加), 1: キジツ, 2: シュウヤク, 3: ケツメイシ, 4: ケイヒ, 5: シュクシヤ, 6: ケイガイ, 7: ゲンノショウコ, 8: ビヤクジュツ, 9: チンビ, 10: ソヨウ, 11: ソウジュツ, 12: ショウキョウ, 13: チョウジ, 14: カンゾウ。

る。しかしカンゾウの場合、その抗酸化成分については報告が知られていない。

そこでカンゾウの抗酸化成分を検索する目的で石油エーテル抽出物と甘味成分であるグリチルリチンを添加し、同様にそれぞれの効力判定を行なったが、いずれも抗酸化力はほとんど認められなかった。この結果からグリチルリチン以外の成分に効力があることが考えられるので、それらについて現在実験を実施している。

3. 要約

日本薬局方収載の 24 種の生薬について、蒸留水、エタノール及びエーテル抽出を行ない。それぞれの抽出物について、リノール酸メチル・エタノール溶液を基質とし、チオシアン鉄法及び TBA 法によって BHA と比較し抗酸化力の判定を行なった。

その結果、カンゾウ及びチョウジの場合はいずれの抽出物でも強い効力を示した。とくに、カンゾウの場合は効力が顕著であり、さらにその有効成分を検索するため石油エーテル抽出物と甘味成分であるグリチルリチンについて試験を行なったが、これらには効力は認められなかった。

終りに、御助言を頂いた丸善化成株式会社の掛川邦男氏に御礼申し上げます。

文 献

- 1) CHIPAULT, J.R., MIZUNO, G.R., HAWKINS, J.M. and LUNDBELG, W.O.: *Food Res*, 17, 46 (1952).
- 2) CHIPAULT, J.R., MIZUNO, G.R. and LUNDBELG, W.O.: *Food Technol*, 10, 209 (1956).
- 3) 木原芳次郎・井上タツ: *食品工誌*, 9, 290 (1962).

- 4) 平原文子・高居百合子・岩尾裕之: *栄養学雑誌*, 32, 1 (1974).
- 5) 渡辺 幸雄・綾野雄幸: *栄養と食糧*, 27, 181 (1974).
- 6) 斎藤 浩・木村雄吉・坂本知紀: *栄養と食糧*, 29, 404 (1976).
- 7) 斎藤 浩・木村雄吉・坂本知紀: *栄養と食糧*, 29, 505 (1976).
- 8) KALOYERAS, S.A.: *J. Am. Oil Chemist's*, 24, 39 (1947).
- 9) LEWIS, E.J. and WATTS, B.M.: *Food Res.*, 23, 274 (1958).
- 10) 大平敏彦: *香辛料の化学* (産業図書 K.K.), p. 198 (1959).
- 11) WAKIL, S.J.: *J. Lipid Res.*, 2, 1 (1961).
- 12) HERRMANN, K.: *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 116, 224 (1962).
- 13) PRATT, D.E. and WATTS, B.M.: *J. Food Sci.*, 29, 27 (1964).
- 14) PRATT, D.E.: *J. Food Sci.*, 30, 737 (1965).
- 15) 木村 進・塩田和子: *食品工誌*, 13, 95 (1966).
- 16) 木村 進・宮崎君枝: *食品工誌*, 13, 100 (1966).
- 17) BRIESKORN, C.H.: *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 141, 10 (1969).
- 18) 藤尾秀治・日吉 明・浅利喬泰・住江金之: *食品工誌*, 16, 241 (1969).
- 19) 梶本五郎: *栄養と食糧*, 22, 611 (1969).
- 20) 藤尾秀治: *ニューフードインダストリー*, 11, (8) 25 (1969).
- 21) 益山新六: *油化学*, 19, (181) 675 (1970).
- 22) 岡田 美津子・越智厚子: *ビタミン*, 43, 237 (1971).

- 23) 今泉勝己・菅野道廣・和田正太: 栄養と食糧, 25, 322 (1972).
- 24) 斎藤 浩・浅利 喬泰: 栄養と食糧, 29, 289 (1976).
- 25) 菅野安弘・藤本健四郎・金田尚志: 食品工誌, 24, (3), 日本食品工業学会第24回大会研究発表会講演要旨, P. 127 (1977).
- 26) 川島啓助・伊藤 博・千畑一郎: ニューフードインダストリー, 19, (7), 21 (1977).
- 27) STINE, C. M., HARLAND, H. A., CAULTER, S. F. and JENESS, R.: *J. Dairy Sci.*, 202 (1954).
- 28) KOCH, R. B., STERN, B. and FERRARI, C. G.: *Arch. Biochem. Biophys.*, 78, 165 (1958).
- 29) 満田久輝・安本教博・岩見公和: 栄養と食糧, 19, 210 (1966).
- 30) GRIEWAHN, J. and DANBERT, B. F.: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 25, 26 (1948).
- 31) 市川朝子・藤井 聡・河本正彦: 食品工誌, 22, 159 (1975).

(昭和53年4月14日受理)

アルファルファの緑葉蛋白濃縮物の 簡単な調製法とその組成について

野口 肇*・猪野金利***・佳山良正**

A Simple Preparation Method and the Composition of Alfalfa Leaf Protein Concentrates

HAJIME NOGUCHI, KANATOSHI INO
and YOSHIMASA KAYAMA

Crude leaf protein concentrates (LPC) were precipitated by adjusting the pH of the leaf extractant (pH 7.2) to 3.8 and this precipitate was washed with 90% acetone for several times. The color of dried LPC was light gray and the average yield was 1.75 g per 100 g fresh leaves, which corresponded to about 30% of the total proteins contained in the leaves. The composition of LPC was as follows: protein: 88.4%, lipid: 1.3%, ash: 2.6% and water: 7.0%. The result of amino acid analysis showed that the content of methionine was low but the amino acid pattern of the LPC gives fairly high level of the essential amino acids than that of the FAO reference protein. Mineral composition of the two LPC preparations revealed marked differences between samples as in the case of Wang and Kinsella.

(Received May 4, 1978)

牧草のアルファルファの緑葉に含まれる蛋白質を抽出調製した粉末は緑葉蛋白濃縮物 (leaf protein concentrates, 略して LPC) と呼ばれ, 1942 年 PIRIE¹⁾ がこれ

を食糧として利用するための研究を行なって以来, 世界的に広くこれに関する研究が活発に行なわれてきている。現在では LPC は人間の蛋白食品としての効果と可能性が認められ^{2,3)}, そのための大量生産法の開発もすでに行なわれている^{4,5)}。われわれもアルファルファやクローバーの緑葉蛋白質の食品化に関心を持ち, 3 年来付属農場においてこれを栽培し, LPC の抽出, 調製およびその組成に関する研究, さらに LPC のラットによる栄養学的研究も行なってきた。わが国での栽培が適しているクローバーの LPC の研究の前段階としてアルファルファの LPC の研究から出発し, 従来報告されている LPC よりも蛋白含有量の多いものを調製することができたので, 研究結果を報告する。

1. 実験方法

(1) 試料

当大学付属農場で栽培したアルファルファ (品種: デュビュイ) を用いた。刈取り後 3 週間で新たに生育した新鮮な葉から LPC の調製を行なった。

(2) LPC の抽出と調製

刈取った葉をただちに水洗し, 水を切ってからこれを家庭用ジューサー (富士電機 JC 5406 G) にかけ搾汁した。搾汁受容器には 0.2 M リン酸緩衝液 (pH 7.2, 20 mM メタ重亜硫酸ナトリウムを含む) をあらかじめ入れておき, 搾汁と緩衝液の体積比が 1:1 になるようにした。得られた抽出液は 10,000 rpm で 30 min 遠沈して不溶物を除去したのち, 5 N 塩酸をはげしく攪拌しながら加え pH を 3.8 に調節した。1 晩低温室 (4°C) に放置後, プフナーロート (濾紙 No. 2 使用) で吸引濾過した。濾紙上の残留沈殿物は緑色であって, これが粗

* 名古屋大学農学部食品工業化学科

** 名古屋大学農学部付属農場 (名古屋市千種区不老町)

Dept. of Food Science & Technology and **University Farm, Nagoya University, Chikusa-ku, Nagoya

*** 現在: 名古屋製酪 K K 研究開発部 (名古屋市天白区中砂町)

Present Address: Research Laboratory, Nagoya Seiraku Co., Tenpaku-ku, Nagoya