

資料

植物性食品抽出成分の抗変異原活性

小原 章 裕, 平 松 直 子

(兵庫女子短期大学, *兵庫県立姫路短期大学)

平成 8 年 9 月 26 日受理

Antimutagenic Activity in Extracts of Plant Foods

Akihiro OHARA and Naoko HIRAMATSU*

Hyogo Women's College, Kakogawa 675-01

*Himeji College of Hyogo, Himeji 670

Most plant foods such as vegetables, fruit, seaweed and mushrooms contain antimutagenic or anticarcinogenic compounds. These compounds may be altered or lost during processing and cooking. Therefore, it is very important to investigate the change in antimutagenicity of a food due to processing and cooking. The objective of the first stage of this study was to examine the antimutagenicity of water-soluble and fat-soluble substances in plant foods. Food samples were selected from popular seasonal vegetables that are commonly available. The water-soluble fraction and fat-soluble fraction were extracted from each freeze-dried plant food with a 0.1 M phosphate buffer and methyl alcohol, respectively. The antimutagenic activity was evaluated by the Ames method to examine the mutagenicity of Trp-P-1, Trp-P-2 and 2-hydroxy-(1-N-nitrosoindolyl) propionic acid (NIHP) toward *Salmonella typhimurium* TA 98.

Twenty percent of the forty plant juices tested reduced the mutagenicity of Trp-P-1 by more than 50 %, and 35 % of the extracts from the other 29 vegetables reduced mutagenicity of NIHP by more than 50 %. Eighty three percent of the water-soluble fractions extracted from 24 freeze-dried plant foods showed antimutagenic activity toward Trp-P-2. On the other hand, only 25 % of the fat-soluble fractions from the freeze-dried plant foods showed antimutagenicity, although a few of them demonstrated very strong activity. Seventeen percent of the tested plant foods had antimutagenicity in both the water-soluble and fat-soluble fractions. Most of the plant foods tested contained antimutagens in their water-soluble fractions.

(Received September 26, 1996)

Keywords: antimutagenic activity 抗変異原活性, vegetables 野菜類, fruits 果物, seaweed 海藻類, fungi キノコ類.

1. 緒 言

動物性食品の加熱調理時に生成される変異原物質, ヘテロサイクリックアミン類は, ガン原性を有する化合物として広く知られている (杉村 1995). また, ニトロ化合物のように, 食品の貯蔵加工中に成分どうしが反応して生じる変異原物質もある (Ohara *et al.* 1988 ; Mizuno *et al.* 1987). 一方, 野菜類, 果物類など植物性食品の中には, これら変異原性を抑制する作用を有しているものが多くあり, その作用機構としては, 薬物代謝酵素系の阻害 (リグニン様物質およびポ

リフェノール重合体), 変異原物質の分解 (ペルオキシダーゼ), 吸着作用 (食物繊維), 還元性 (アスコルビン酸) などが挙げられている (太田と並木 1988).

また, 野菜, 果物ジュースから抽出した高分子画分を, 100℃で 20 分間加熱処理したものと, そのまま未処理のものについて抗変異原性を調べたところ, 数種の野菜については, 加熱処理したものも未処理のものも共に抑制活性があったとの報告もある (Shinohara *et al.* 1988).

また, ハーブ類は, Trp-P-2 に対して非常に強い抑

制活性を有しており、その本体は、オレガノからガランジンとケルセチン (Kanazawa *et al.* 1995), ペパーミント, セージ, タイムからルテオリン (Samejima *et al.* 1995) であったとの報告もある。

各種植物性食品に含まれる変異原抑制物質の本体を明らかにすることは非常に大事なことはあるが、どのような食品に抗変異原性があるのか、また、抑制成分の加工調理過程での消長を調べることも、「健全な食生活を組み立てる」という点では非常に重要な意味がある。

本報では、その点に着目し、各種変異原物質に対する植物性食品のジュースが有する抗変異原性ならびに植物性食品の水溶性、脂溶性どちらの抽出画分にその活性が強い比較検討した。

2. 実験材料および実験方法

(1) 変異原抑制試料の調製

変異原物質 Trp-P-1 に対して 40 種類, NIHP に対して 29 種類, Trp-P-2 に対して 24 種類の季節ごとに一般に市販され食用に供されている代表的な植物性食品(野菜類, 果物類, キノコ)を, 必要に応じて種子, 皮を除去した後, 10 g をジュース (サンヨー SJ-G 661) に供して 7~9 ml のジュースを採取し, 濾過除菌を行い変異原抑制試験試料溶液とした。

また, 水溶性画分および脂溶性画分の抗変異原性を検討する試料は, 次のような手順で調製した。試料とする食品を液体窒素中で凍結し, 手際よくワーリングブレンダーで破碎後, 凍結乾燥を行った。乾燥物 1 g を 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.4) 100 ml 中で 12 時間放置し, 上澄み液を濾過除菌したものを, 水溶性画分とした。同様の操作でメタノールで抽出したものを減圧留去後, DMSO に溶解させたものを脂溶性画分とした。

(2) 抗変異原性試験

1) 抗変異原性の測定

抗変異原性の測定は, フレームシフト型の変異原性に対する検出感度の高い *Salmonella typhimurium* TA 98 株を用いて評価することができ (Kato and Yamazoe 1987), 実際には変異原物質に試料溶液を作用させ, その際に生じた復帰変異コロニー数の変化によって算出した。

変異原物質としては薬物代謝酵素群によって代謝活性化をうけて変異原性を誘発するトリプトファンの熱分解産物 Trp-P-1, Trp-P-2, および酸性条件下での亜

硝酸とトリプトファンの反応生成物で N-ニトロソ化合物であり薬物代謝活性を必要とせずに直接変異原性を示す, 2-ヒドロキシ-3-(1-N-ニトロソインドリル)-プロピオン酸 (NIHP と略す) (Ohara *et al.* 1988) を用いた。

すなわち, 変異原物質溶液 0.1 ml に試料溶液 0.1 ml を 30 分間, 37℃でインキュベートした後, 薬物代謝系酵素群を含む S-9 Mix またはリン酸緩衝液 0.5 ml および, 前培養した菌懸濁液 (*S. typhimurium* TA 98) 0.1 ml を加え, 37℃で 20 分間再びインキュベートした後, ソフトアガーを 2 ml 加え, 最少グルコース寒天培地に重層し, 37℃で 48 時間培養後, 生じた復帰変異コロニーの数を計測した。

抗変異原性は次の式によって算出した。

$$\text{抗変異原性 (\%)} = (1 - B/A) \times 100$$

A: 変異原物質のみの復帰コロニー数, B: 変異原物質と試料溶液の混液の復帰コロニー数。

また, サンプルの毒性の有無をしらべるために変異原試験による生菌数測定も同時に行った。

抗変異原性を測定するための変異原物質は, 必須アミノ酸の一つであるトリプトファン由来のガン原物質の中で最もガン原性の高い (杉村 1995) Trp-P-1 を ① 各種植物性食品抽出液の抗変異原性を測定するために用いた。使用濃度は, プレートあたり 150 ng 添加し, その際に生じた復帰変異コロニー数は 700 であった。また, トリプトファン由来の N-ニトロソ化合物, NIHP, については Trp-P-1 と同じ復帰変異コロニー数を示すプレートあたり 160 ng を添加した。また ② 各種植物性食品抽出液の変異原抑制成分の溶解性の測定では, Trp-P-2 を変異原物質として用いた。Trp-P-2 は, 同じ濃度で Trp-P-1 に比べ復帰変異コロニー数が高くなるため, Trp-P-2 を用いることにより抑制成分の抗変異原性の活性測定感度を高めた。Trp-P-1 と同程度の復帰変異コロニー数を誘発するプレートあたり 20 ng を添加した。

2) 培地

i) 最少グルコース寒天培地: Vogel Bonner 最少培地 (硫酸マグネシウム 7 水塩 0.2 g, クエン酸 1 水塩 2 g, リン酸二カリウム 10 g, リン酸水素アンモニウムナトリウム 3.5 g を水 100 ml に溶解したもの) と寒天溶液 (Difco Bacto Agar 15 g を水 800 ml に溶解したもの) およびグルコース溶液 (D-グルコース 20 g を水 100 ml に溶解したもの) をそれぞれ別々に高圧蒸気滅菌後, 混合してその 25 ml を 1 プレートと

した。

ii) ソフトアガー： Difco Bacto Agar 0.7%-塩化ナトリウム 0.6%溶液を高圧蒸気滅菌後、1/10 容量の 0.5 mM L-ヒスチジンおよび 0.5 mM ビオチン溶液を添加したもの。

3) S-9 Mix の調製

薬物代謝酵素群を含むラット肝ホモジネート 100 μ l に塩化マグネシウム 8 μ mol, 塩化カリウム 33 μ mol, グルコース-6-リン酸 5 μ mol, NADH 4 μ mol, NADPH 4 μ mol, ATP 5 μ mol, リン酸緩衝液 100 μ mol を加え蒸留水で 1 ml とした。

3. 実験結果および考察

(1) 各種植物性食品抽出液の抗変異原性

ガン原性のある変異原物質, Trp-P-1, に対する各種植物性食品抽出物の抗変異原性について図 1 に, また直接変異原物質, NIHP, に対する各種植物性食品抽出物の抗変異原性を図 2 にまとめた。

70%以上抑制したものを++++, 70%未満 50%以上抑制したものを+++, 50%未満 30%以上抑制したものを++, 30%未満 10%以上抑制したものを+, 10%未満のものを-であらわした。

図 1 に示したように, 本実験に使用した 40 種類の植物性食品のうち, Trp-P-1 に対して 50%以上抑制したものが, ダイコン葉, アスパラガスなど全体の約 20%あった。

マーケットバスケット方式による 1 日に摂取する変異原性を復帰コロニー数であらわすと 270,000 である(大村 1986)。このすべての変異原性が Trp-P-1 由来であるとして換算すると, 150 μ g に相当する。そこで, 150 μ g の Trp-P-1 の変異原性を抑制するのに必要な食品の換算量を, 活性の強かった植物性食品について算出し表 1 にまとめた。それぞれの食品は 200g 以下で変異原性が抑制されている。一般に「1 日の植物性食品摂取の目安が 300 g」と言われている(神立等 1993)が本実験結果もこれを支持した。

また, 図 2 に示したように NIHP に対して 50%以上抑制したものが, トマト, キウイフルーツ, ナス, キャベツなど実験に使用した 29 種類の植物性食品の約 35%あった。

これら変異原性を抑制する食品群は例外もあるが, 大部分のものが食品成分表においてアスコルビン酸や β -カロテン等還元性を有する成分含量の高い食品群に属している傾向がみられた。表 2 に示したように食

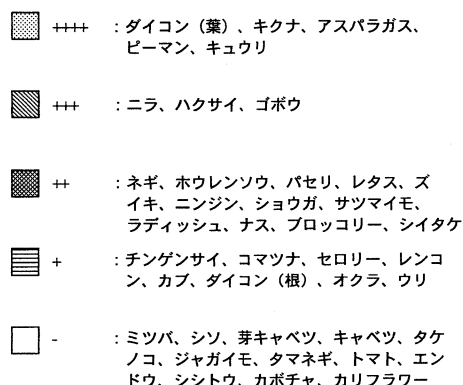
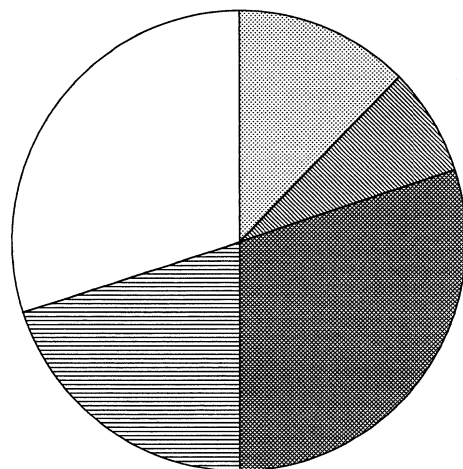
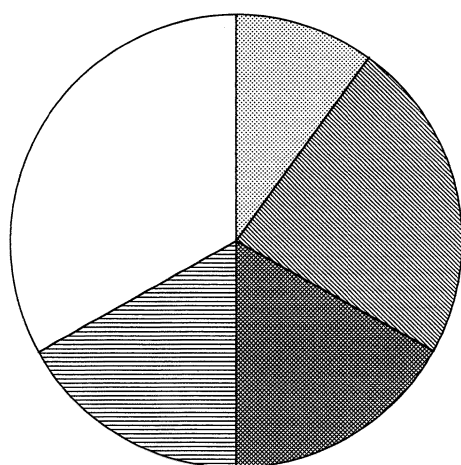


図 1. Trp-P-1 に対する各種植物性食品ジュースの抗変異原性

表 1. Trp-P-1 の変異原性を抑制するために必要な植物性食品換算量

食品名	抗変異原性 (%)	Trp-P-1 150 μ g の変異原性を抑制する食品換算量 (g)
ダイコン (葉)	85	128
キクナ	71	153
アスパラガス	74	145
ピーマン	96	112
キュウリ	78	134
ニラ	65	165
ハクサイ	64	164
ゴボウ	53	242

品に含まれる還元性成分標品の NIHP に対する抑制活性を調べたところ, 強弱の差はあるが大部分のものに



- +++ : トマト、タマネギ、キウイフルーツ
 ▨ ++ : ナス、キャベツ、ブロッコリー、ニンジン、ダイコン(根)、スダチ、エノキ、シメジ
 ▩ + : アスパラガス、イチゴ、シイタケ
 ▤ + : コマツナ、トウガラシ、ブドウ、スダチ、メロン
 □ - : ハクサイ、キクナ、ネギ、ゴボウ、ホウレンソウ、レモン、ミカン、リンゴ、パイナップル、バナナ

図2. NIHP に対する各種植物性食品ジュースの抗変異原性

表2. 各種還元性食品成分の NIHP に対する抗変異原性

	mg/plate	抗変異原性 (%)
アスコルビン酸	0.25	25.0
グルタチオン	1.00	-30.0
チアミン	0.10	30.9
システイン	1.00	65.0
α -トコフェロール	1.00	47.3
β -カロテン	0.70	6.0

NIHP 0.16 μ g/plate.

抗変異原性が認められた.

(2) 各種植物性食品抽出液の変異原抑制成分の溶解性

各種植物性食品には変異原抑制成分が含まれていることは、図1および図2の実験結果や他の多くの研究

結果から明らかである (Shinohara *et al.* 1988; Kanazawa *et al.* 1995; Samejima *et al.* 1995). そこで、これら抑制成分の食品調理加工過程における消長を調べる目的で、各種植物性食品の凍結乾燥物を用い、水抽出画分(水溶性画分)とメタノール抽出画分(脂溶性画分)のどちらに抑制成分が多いかについて比較検討した.

ガン原性を示す変異原物質, Trp-P-2, に対する各種食品の水溶性画分, 脂溶性画分の抗変異原性を、茎葉菜類については図3に、根菜類とイモ類については図4に、果菜類については図5に、海藻類とキノコ類については図6にまとめた.

茎葉菜類については、ネギ、カリフラワー、キャベツ、レタスの水溶性画分に抗変異原性が認められたが、脂溶性画分には全く認められなかった(図3). 果菜類についても水溶性画分に同様の結果がみられた(図5).

根菜類については、タマネギ、ゴボウの水溶性画分に、ダイコンやキリボシダイコンについては脂溶性画分に若干の抗変異原性が認められた(図4). 図には示していないが、Trp-P-2 にキャベツ、ホウレンソウ、ダイコン、ニンジンのジュースを作用させたとところキャベツで-120%と変異原性を抑制せず逆に増幅させてしまい、他の物も同様の結果となった. この原因としては、水溶性画分の抑制成分が脂溶性画分により相殺されたためあるいは、薬物代謝酵素群に対して何らかの影響を与えた等が考えられる.

海藻類やキノコ類については、今回測定したものについてワカメ以外には、水溶性、脂溶性画分共に抗変異原性があり、特にエノキダケの脂溶性画分に非常に

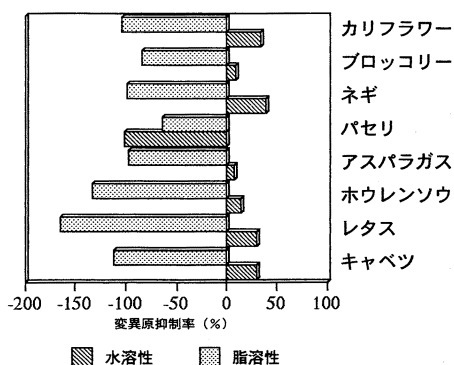


図3. Trp-P-2 に対する脂溶性画分, 水溶性画分の抗変異原性(茎葉菜類)

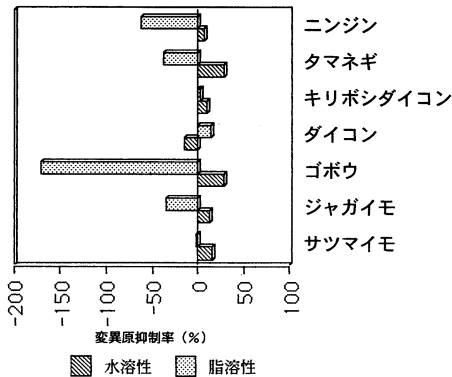


図4. Trp-P-2 に対する脂溶性画分，水溶性画分の抗変異原性（根葉菜類）

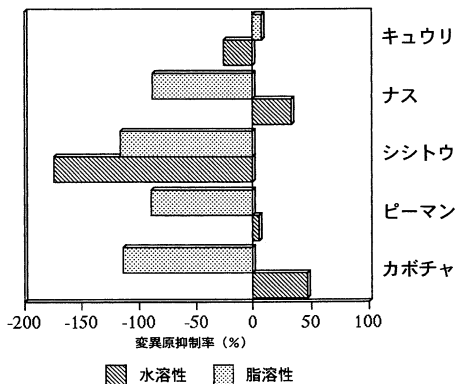


図5. Trp-P-2 に対する脂溶性画分，水溶性画分の抗変異原性（果菜類）

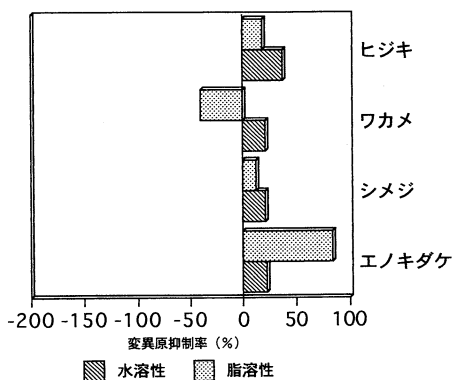


図6. Trp-P-2 に対する脂溶性画分，水溶性画分の抗変異原性（海藻類，キノコ類）

強い活性が認められた（図6）。

全体的に見ると，抗変異原性としては50%以下の

ものが多かったが，検索した24種類の食品群の中で83%の食品の水溶性画分に抗変異原性が認められた。

脂溶性画分については，2，3の食品に非常に強い抗変異原性を有しているものもあるが，全体としては25%の食品にしか抗変異原性は認められず，逆にTrp-P-2の変異原性を増幅させてしまうものが多く認められた。

また，水溶性画分，脂溶性画分ともに抗変異原性を有していたのは，全体の17%であった。

変異原抑制成分としてよく知られているものには，ビタミン類，含硫化合物，ポリフェノール類やパーオキシダーゼを中心とした酵素類などが挙げられるが（太田と並木1988），これら抑制物質の大部分が水溶性成分であることから，今回の実験結果はこれらの報告を裏付ける結果となった。

本実験操作において，一般に言われている変異原抑制成分のうち，食物繊維や極性の低い成分等は抽出されておらず，この結果だけで植物性食品の有効性の有無は判断できないが，水溶性画分，脂溶性画分共に抗変異原性を有していない食品は全体の8%と，植物性食品には抗変異原性を有しているものが多く，「健全な食生活を組み立てる」という意味でも変異原抑制成分の溶解性を考慮にいたした調理を行い，バランスよくバラエティーに富んだ摂取を心掛けるべきであろう。

引用文献

- 神立 誠，山本善男，小笠原ゆり（監修）（1993）『新編食品成分表』，一橋出版，東京，226-229
- Kanazawa, K., Kawasaki, H., Samejima, K., Ashida, H., and Danno, G. (1995) Specific Desmutagens (Antimutagens) in Oregano against a Dietary Carcinogen, Trp-P-2, Are Galangin and Quercetin, *J. Agric. Food Chem.*, **43**, 404-409
- Kato, T., and Yamazoe, Y. (1987) Metabolic Activation and Covalent Binding to Nucleic Acids of Carcinogenic Heterocyclic Amines from Cooked Foods Amino Acid Pyrolysates, *Jpn. J. Cancer Res.*, **78**, 297-311
- Mizuno, M., Ohara, A., Danno, G., Kanazawa, K., and Nataka, M. (1987) Mutagens Formed from Butylated Hydroxyanisole Treated with Nitrite under Acidic Conditions, *Mutate Res.*, **176**, 179-184
- Ohara, A., Mizuno, M., Danno, G., Kanazawa, K., Yoshioka, T., and Nataka, M. (1988) Mutagen Formed from Tryptophan Reacted with Nitrite in Acidic Solution, *Mutate Res.*, **206**, 65-71
- 大村浩久（1986）食品加工と変異原の問題，『食品の加工と栄養科学』（日本農芸化学会編），朝倉書店，東京，182-199

- 太田敏博, 並木満夫 (1988) 抗突然変異物質とその作用機構, 化学と生物, **26**, 161-172
- Samejima, K., Kanazawa, K., Ashida, H., and Danno, G. (1995) Luteolin: A Strong Antimutagen against Dietary Carcinogen, Trp-P-2, in Peppermint, Sage, and Thyme, *J. Agric. Food Chem.*, **43**, 410-414
- Shinohara, K., Kuroki, S., Miwa, M., Kong, Z.L., and Hoshida, H. (1988) Mutagenicity of Dialyzates of Vegetables and Fruits, *Agric. Biol. Chem.*, **52**, 1369-1375
- 杉村 隆 (1995) ヘテロサイクリックアミンの変異・がん原性に関する研究, 環境変異原研究, **17**, 7-21