

「兵庫県内の食品産業廃棄物の有効利用を目指した新規な健康機能性食品の開発」

神戸学院大学栄養学部栄養学科

水品 善之

1 研究の背景と目的

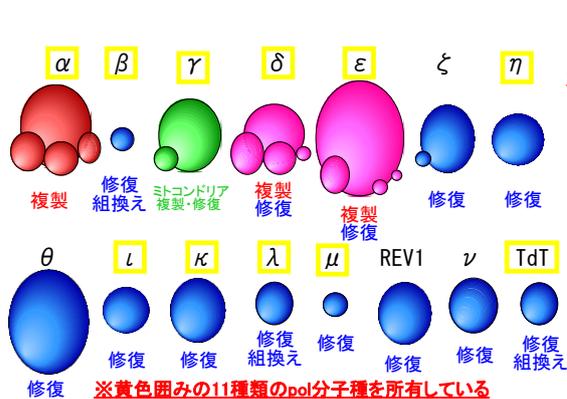
兵庫県は、伝統的に食品の製造・加工が盛んであり、食品企業が数多くある。『食品の製造・加工の工程で生じる廃棄物（食品産業廃棄物）』に注目した。これらは、食品素材の非可食部や食品加工の副産物であり、多くの栄養素や有効成分が含まれている。しかし、現状ではほとんどが有効活用されておらず、手付かずの未利用資源となっている。そこで、産学連携研究・地域貢献研究として兵庫県内の食品企業から食品産業廃棄物を提供してもらい、哺乳類の DNA 合成酵素（DNA ポリメラーゼ, pol）阻害活性が強い廃棄物を選抜してから、pol 分子種に対する選択的な阻害活性成分を探索した。そして、活性本体を同定（化学構造の決定）してから、pol 阻害活性に基づいた生理活性（抗炎症活性や抗アレルギー活性）を調査した。

原価 0 円の食品産業廃棄物から高付加価値の機能性食品を開発、商品化することが最終目標であり、本研究においてはその足掛かりとなる基礎研究を実施した。

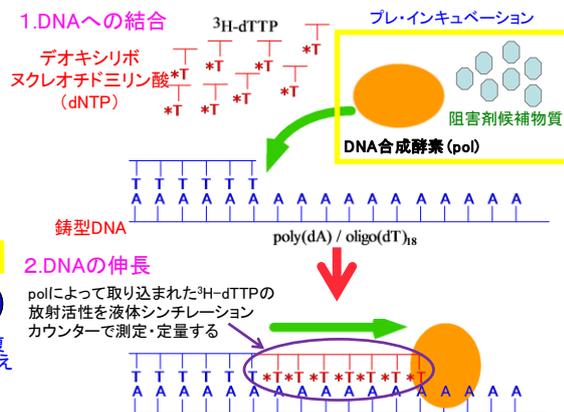
2 研究方法・研究内容

(1) 哺乳類 pol の大量供給と pol 活性測定

哺乳類に 15 種類ある pol 分子種【図 1】のうち、11 種類については世界中の一流 pol 研究者との共同研究より、精製酵素の供給方法を確立しており、連続的なスクリーニングの要求に耐えられる状態である。pol 阻害活性測定法は、基質として合成 DNA である poly(dA)/oligo(dT)₁₈ と放射性標識デオキシリボヌクレオチドである [³H]-dTTP を用いて、pol による放射線同位元素 (RI) の取り込みをシンチレーションカウンターで測定する方法（特許取得：特許 第 3821867 号）を実施した【図 2】。



【図 1】哺乳類の pol 分子種 (15 種類)



【図 2】pol 活性測定方法

(2) 食品産業廃棄物の準備

兵庫県内の食品企業から加工食品の製造工程で生じる廃棄物を提供してもらった。具体的には、神戸市の白鶴酒造（株）から兵庫県産酒米と粳（うるち）米の「米糠（こめぬか）」、西宮市の辰馬本家酒造（株）から清酒製造工程で生じる「処理された活性炭（廃炭）」などである。食品廃棄物ではないが、大豆加工品 3 種類（水煮大豆、蒸し大豆、蒸し発芽大豆）を神戸市の（株）小倉屋柳本から提供していただいた。

(3) 食品産業廃棄物から pol 分子種選択的阻害剤の単離・精製と構造決定

(2) で選抜された食品産業廃棄物を出発材料として、pol 分子種選択的阻害活性を指標にしリカゲルカラムクロマトグラフィー、ゲル濾過カラムクロマトグラフィーなど各種カラムクロマトグラフィーを駆使することにより pol 阻害剤を完全精製した。そして、NMR, MS, GC-MS, IR, UV などの機器分析により化学構造を決定した。

(4) 見いだした pol 阻害剤の生理活性調査

見いだされた pol 阻害剤について、(1) の哺乳類 pol 分子種選択的阻害活性、マウス耳介に起炎剤 TPA (12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate) で誘導した炎症 (浮腫) に対する抗炎症活性、マウスを使った抗 I 型アレルギー活性 (受身皮膚アナフィラキシー反応: PCA 反応による) を測定した。

構造が同定された pol 阻害剤が既知物質で市販試薬があれば購入して精製品との生理活性比較を行った。

3 研究成果

(1) 酒米の米糠から単離・精製した pol 阻害剤: フェルラ酸シクロアルテニル

兵庫県産のうるち米 (品種: はえぬき) と酒米 (品種: 白鶴錦) から米糠を準備した。その際に、①赤糠 (精米歩合 89~100%位まで出てくる糠)、②中白 (同 81~88%)、③上白 (同 75~80%) の3種類を調整した【図3】。これらをエタノールおよび *n*-ヘキサンで抽出して脂溶性成分を得た。



【図3】うるち米 (左) と酒米 (右) の米糠①~③

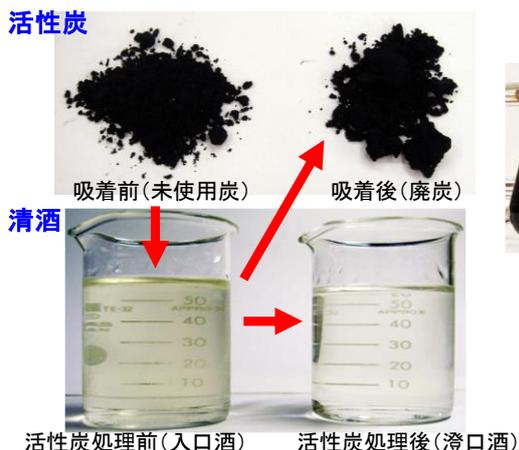
米糠のエタノールおよび *n*-ヘキサン抽出物には pol 阻害活性が見られた。*n*-ヘキサン抽出物の方がエタノール抽出物よりも若干阻害が強かった。うるち米と酒米で差は見られなかったが、①赤糠は②中白および③上白より強い pol 阻害を示した。そこで、酒米の①赤糠から pol 阻害活性を指標にして、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより活性成分を単離・精製して、構造解析した。その結果、 γ -オリザノール的一种、フェルラ酸シクロアルテニル (FCA)【図4】であった。そこで、FCA とその部分構造であるフェルラ酸【図4】とシクロアルテノール【図4】の市販試薬を用いたところ、FCA のみ pol 阻害活性を示した。また、FCA は TPA で誘導した浮腫に対する抗炎症活性を示したが、フェルラ酸とシクロアルテノールは示さなかった。FCA は pol 阻害活性に基づいた抗炎症活性が期待できる。



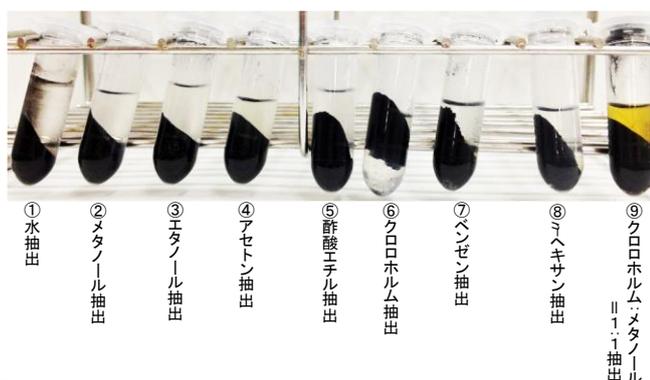
※本研究は次の学術雑誌に掲載された。Y. Mizushina *et al.* (2013) *Food Chemistry* 141, 1000-1007.

(2) 清酒製造工程で生じる廃炭から単離・精製した pol 阻害剤：チロソール

日本酒の製造工程において、醗酵が終わった醪（もろみ）を搾って清酒と酒粕に分離させるが、一般的には搾った清酒に活性炭を加え、滓（オリ）や色素、雑味成分などを吸着させ濾過して除去する。この処理された活性炭（廃炭）に吸着された日本酒由来成分に注目した。廃炭は、2013 年冬季の日本酒製造（商標名：黒松白鹿）で生じたものを辰馬本家酒造（株）から提供された【図 5】。

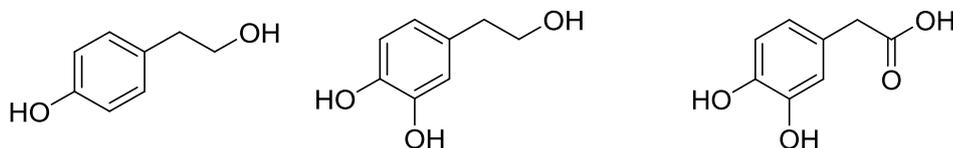


【図 5】日本酒製造で生じる処理された活性炭（廃炭）



【図 6】廃炭から各種有機溶媒による吸着成分の溶出

廃炭から吸着成分が最も効率よく抽出される有機溶媒はクロロホルム：メタノール＝1：1であった【図 6】。この抽出物には複数の pol 阻害物質が存在することを確認したので、pol 阻害活性を指標に活性物質の一つを単離・精製した。¹H-および ¹³C-NMR による構造解析の結果、チロソール[4-(2-Hydroxyethyl)phenol]【図 7】であった。哺乳類 pol 群は 4 つのファミリーからなるが、本物質は全ての pol ファミリー分子種を阻害した。本物質には、マウス耳介の抗炎症活性および抗アレルギー活性（PCA 反応抑制活性）が見られた。チロソールの類似体（アナログ）として 3-Hydroxytyrosol および 3,4-Dihydroxyphenylacetic acid の市販試薬を購入して生理活性を調査した結果、これらには哺乳類 pol 阻害活性、マウス耳介抗炎症活性、抗アレルギー活性は見られなかった。チロソール全体の構造、特に 2 つの水酸基が活性に重要であることが示唆された。



【図 7】チロソール (Tyrosol) 3-Hydroxytyrosol 3,4-Dihydroxyphenylacetic acid

※本研究は 2014 年 1 月 10 日の神戸新聞・朝刊・3 面（総合面）「日本酒廃棄物でアレルギー抑制、神院大と辰馬本家酒造、成分発見、健康食品など活用目指す」に掲載された。

(3) 大豆加工品の生理活性比較

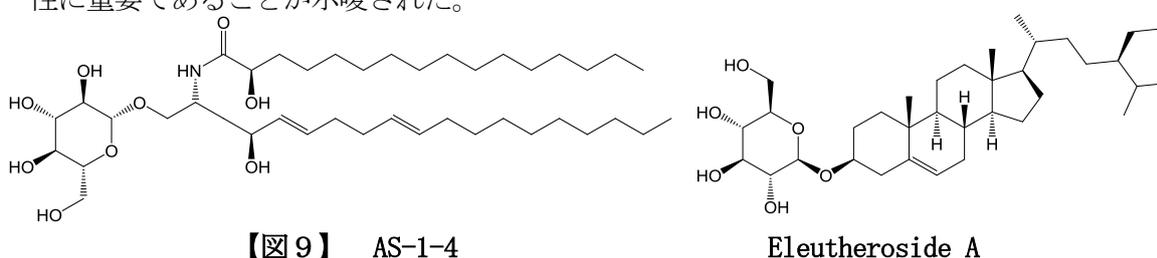
同じ産地・ロットの大豆を使った加工品、①水煮大豆、②蒸し大豆、③蒸し発芽大豆、の 3 種類を凍結乾燥後【図 8】、エタノール抽出した。これら抽出物の哺乳類 pol 阻害活性、マウス耳介抗炎症活性を調査した。その結果、③蒸し発芽大豆が最も強い pol 阻害

阻害活性を示した。そして、抗炎症活性についても③蒸し発芽大豆が最も強かったことから、大豆加工によって pol λ 阻害活性に基づいた抗炎症作用が期待できる。



【図8】大豆加工品の凍結乾燥物 (①水煮大豆、②蒸し大豆、③蒸し発芽大豆)

③蒸し発芽大豆から pol λ 阻害活性を指標に単離・精製した物質2つの化学構造を解析した結果、セレブロシドの AS-1-4 とステロイド配糖体の eleutheroside A であった【図9】。これらはいずれもグルコース配糖体であり、この配糖体構造が pol λ 阻害活性や抗炎症活性に重要であることが示唆された。



【図9】 AS-1-4

Eleutheroside A

※本研究は次の学術雑誌に掲載された。Y. Mizushima *et al.* (2014) *Food & Function* 5, 696-704.

4 生活や産業への貢献および波及効果

食品産業廃棄物から pol 分子種選択的阻害活性という科学的根拠に基づいた抗炎症作用を有する機能性食品・健康補助食品の開発に成功すれば、次の①～③が期待できる。

- ①原価0円の食品産業廃棄物から見いだした高付加価値の機能性食品を安価で販売
- ②兵庫県内の食品産業の活性化
- ③見いだした機能性食品・健康補助食品の摂取によって医薬品に頼ることのない元気で健康な県民の増加、すなわち健康寿命の延伸

本研究では、日本酒製造で使われる酒米の米糠から γ -オリザノール的一种、フェルラ酸シクロアルテニル、日本酒製造の活性炭処理した廃炭からチロソールを pol 阻害剤として同定に成功した。そして、これらには抗炎症作用があることを確認した。同定した成分を pol 阻害活性に基づいた『機能性食品』として開発することが期待できる。食品廃棄物(副産物)とは言え、食品由来の成分であるため副作用(毒性)は無く安全・安心であると考えられる。また、既存の医薬品(抗炎症剤)と併用する『健康補助食品』としての開発も期待できる。

今後は、経済産業省などの補助金を活用しながら、見いだした有効成分を高含有する食品廃棄物の安価な分画方法を開発して、抗炎症機能性食品(もしくは補助食品)としての商品化を目指していきたい。