

佐賀県産アスパラガスの高付加価値化を目指した抽出物製造方法の検討

食品工業部
岩元彬

アスパラガスの高付加価値化及び廃棄部分の有効利用を目的に、脱顆粒阻害活性を有する抽出物製造方法を検討した。50-90℃の水蒸気で加熱したアスパラガスから作製した抽出物のβ-ヘキサソミニダーゼ放出への影響を検討した結果、70℃以上の水蒸気で加熱処理を行ったアスパラガスに特に強い放出阻害活性を認めた。また、この傾向は凍結乾燥や露点制御型熱風乾燥に供したアスパラガスでも同様に確認されることを明らかにした。

1. はじめに

近年、国民の健康志向の高まりに伴い、健康機能の維持、改善が期待できる農作物素材を使用した機能性食品が数多く販売されるようになってきた。また、このような生理機能を有する食品素材は化粧品分野などでも広く利用され始め、地域農作物素材の高付加価値化や商品価値の低い廃棄部分の有効利用に繋がる新産業として注目されている。

一方、著者は2,790tの収穫量（平成28年、全国3位）を誇る佐賀県産アスパラガスについて、アレルギーの発症に関与する脱顆粒反応を阻害する機能を見出し、その経口投与によってアトピー性皮膚炎モデルマウスの皮膚炎症症状が改善することを明らかにした^{1,2)}。また、このような脱顆粒阻害活性を有する抽出物はアスパラガスの可食部だけではなく、通常廃棄される切下部（根本部分）でも同様に得られることを突き止めた。そのため、アスパラガス可食部、もしくは切下部を機能性素材として活用することが期待されるが、アスパラガスの加工特性は明らかになっておらず、機能性素材としての利用範囲が判断できない状況にあった。

そこで、本研究では脱顆粒阻害活性を高めるアスパラガス抽出物作製条件の特定を目的とし、加熱処理及び乾燥処理が細胞の脱顆粒阻害活性に与える影響を評価したので報告する。

2. 実験方法

2.1 アスパラガス粉末試料の調製

アスパラガスはJA佐賀中部より購入した可食部を用いた。アスパラガスは購入当日に、平山式低温スチーム電気鍋（スチーミング調理技術研究会）を用いて、まず50℃、60℃、70℃、80℃及び90℃の水蒸気で10分間加熱処理することで5つに区分した。次

いで、それらを凍結乾燥機（Labconco, FZ-12CS STD）または露点制御型熱風乾燥機（木原製作所, SM10S-EH-DPC）を用いて乾燥させた。露点制御型熱風乾燥機では、まず乾球38℃で10時間乾燥し、次いで乾球48℃で7時間乾燥した後に、乾球60℃で9時間乾燥した。このように凍結乾燥あるいは露点制御型熱風乾燥によって得られた乾燥物は粉砕機（大阪ケミカル, FM-1）で粉末化し、アスパラガス粉末試料とした。

2.2 アスパラガス抽出物の調製

アスパラガス粉末4.0gを精秤し、200 mLの50%（v/v）エタノール水溶液を加え、室温で4時間攪拌した。それを遠心分離（10,000 x g, 30分間, 4℃）により上澄み液を回収し減圧濃縮した後に、遠心濃縮機（SP Scientific, miVac QUATTRO concentrator）を用いて乾固処理を行い、抽出物とした。

次いでアスパラガス抽出物100 mgに50%（v/v）エタノール水溶液1 mLを添加して攪拌した後に、遠心分離（10,000 x g, 15分間, 4℃）により得られた上澄み液を後述する脱顆粒試験に用いた。

2.3 ラット好塩基球様細胞株 RBL-2H3 を用いた脱顆粒試験

アレルギー炎症反応の原因である脱顆粒反応は、脱顆粒中の酵素β-ヘキサソミニダーゼの放出率で評価した³⁾。ラット好塩基球様細胞株 RBL-2H3（国立研究開発法人医学基盤・健康・影響研究所）は10%ウシ胎児血清（FBS, Gibco）を含むダルベッコ改変イーグル培地（DMEM, Gibco）で継代培養した。

対数増殖期の細胞をトリプシンで剥離後、Modified Tyrode (MT) buffer (pH 6.8, Sigma-Aldrich)で2回洗浄し、脱顆粒試験に使用した。5.0×10⁵ cellsの細胞を終濃度100 µg/mLのアスパラガス抽出物を添加した50 µM Calcium ionophore A23187含有MT bufferで懸

濁し、37°C で 30 分間反応させた。これに対し、サンプル溶媒である 0.05% (v/v) エタノール水溶液を添加し、同様に反応させたものをコントロールとした。5 分間水冷後、10,000 x g で 3 分間遠心分離を行い、上清 50 μL を回収した。これに 125 μL の 0.1M Citrate buffer, pH4.0 に溶解した 2 mM 4-Nitrophenyl-N-acetyl-β-D- glucosaminide (Sigma- Aldrich) を加え、37°C で 30 分間反応させた。反応溶液に 250 μL の 0.1M Carbonate buffer, pH10 を加えて反応停止後、200 μL ずつ 96 ウェルマイクロプレートに分注し、415 nm の吸光度をマイクロプレートリーダー (M5-ZX, Molecular Devices) で測定した。β-ヘキサソミニダーゼ放出率は以下の式(1)により算出した。

$$[\beta\text{-ヘキサソミニダーゼ放出率 \%}] = \left(\frac{[A_{Sample}] - [A_{Negative}]}{[A_{Positive}] - [A_{Negative}]} \right) \times 100 \quad (1)$$

ここで、[β-ヘキサソミニダーゼ放出率]は反応液内の β-ヘキサソミニダーゼ放出率 (%) を、[A_{sample}]はアスパラガス抽出物を添加した場合の吸光度を、[A_{positive}]はコントロールにおける吸光度を、[A_{negative}]は Calcium ionophore A23187 を添加しなかった場合のコントロールにおける吸光度を示している。

2.4 統計解析

得られたデータは、GraphPad PRISM version 6.0 (GraphPad Software Inc.)を用い、Tukey 検定で解析した。

3. 結果及び考察

表 1 にアスパラガス粉末 4.0 g から調製した抽出物の回収率を示す。その結果、凍結乾燥処理を行ったアスパラガス粉末に対し、露点制御型乾燥処理を行った粉末では、抽出物の回収率がやや低い傾向にあった。凍結乾燥処理後のアスパラガスは乾燥前と比べ、多少の収縮はあるものの形態に大きな変化はなかったが、露点制御型熱風乾燥を行ったものは硬く収縮した。これらの結果から、形態の変化による植物組織の濃縮等が、抽出物の回収率に影響を与えている可能性が考えられた。

図 1 (a) に前述の 5 区分温度で加熱処理した後に凍結乾燥を行ったアスパラガス抽出物の β-ヘキサソミニダーゼ放出率を示す。この結果から、70°C 以上の水蒸気で加熱したアスパラガス抽出物において、未加熱のものとは比有的に β-ヘキサソミニダーゼ放出

表 1 アスパラガス抽出物の回収率

試料	回収率 (%)	
	凍結乾燥	露点制御型乾燥
未処理	55.1	53.9
50°C	54.3	53.6
60°C	57.2	51.1
70°C	54.7	49.0
80°C	53.3	52.8
90°C	53.5	51.7

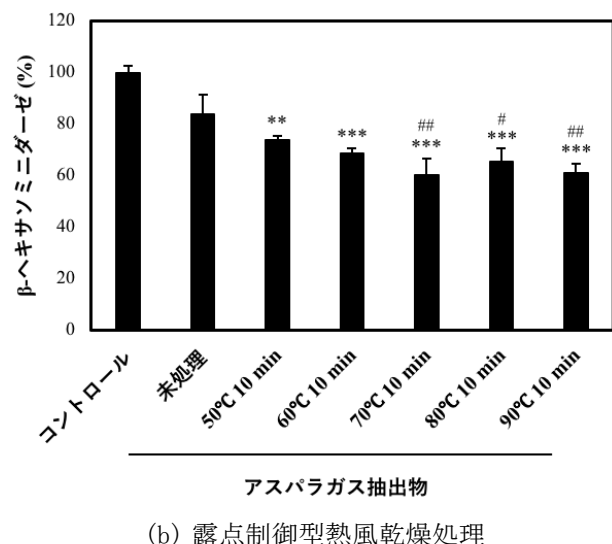
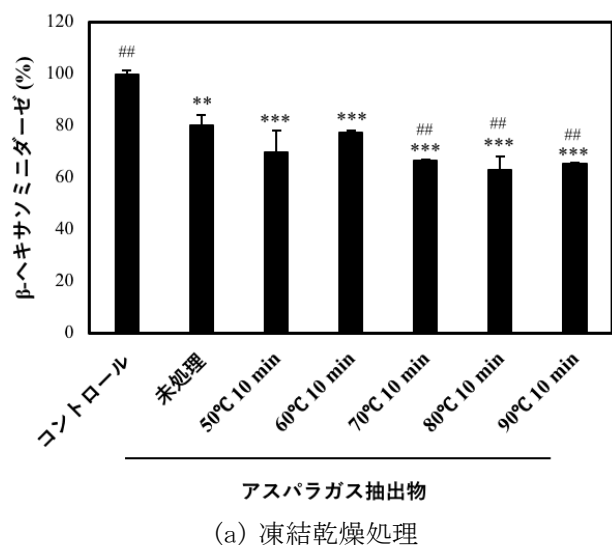


図 1 β-ヘキサソミニダーゼ放出に及ぼすアスパラガス抽出物の効果

測定値は 3 連の実験の平均値であり、エラーバーは±標準偏差を表す。*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 vs コントロール, #p<0.05, ##p<0.01 vs 未処理を示す。

が抑制されることが示された。これらの結果から、アスパラガス中の β -ヘキサソミニダーゼ阻害成分は70℃以上の加熱により生成するもの、もしくは効率的に抽出されるようになるものであることが示唆された。また、この傾向は露点制御型熱風乾燥処理を行ったアスパラガス抽出物でも同様に認められた

(図 1 (b))。加えて、凍結乾燥処理と露点制御型熱風乾燥処理を行ったアスパラガス抽出物の β -ヘキサソミニダーゼ放出阻害率には有意な変化は確認されなかった。したがって、アスパラガスの β -ヘキサソミニダーゼ放出阻害活性には、成分の変性が少ないとされる凍結乾燥と効率的な温風乾燥とされる露点制御型熱風乾燥といった乾燥方法の違いは影響を与えないことが示された。

4. おわりに

本研究では、アスパラガスの高付加価値化を目的に、脱顆粒阻害活性を高める抽出物作製条件を検討した。

加熱処理条件の検討では、50-90℃の水蒸気で加熱したアスパラガスの β -ヘキサソミニダーゼ放出に与える影響を調べたところ、70℃以上で加熱したもので活性の強い抽出物が得られることを見出した。ま

た、乾燥処理方法の検討では、凍結乾燥と露点制御型熱風乾燥処理の β -ヘキサソミニダーゼ放出阻害活性への影響を評価した結果、これらの乾燥方法の違いは活性にほとんど影響しないことを明らかにした。

以上、本研究で得た有用機能を高めるアスパラガス抽出物作製方法に関する知見は、アスパラガスを利用した機能性素材開発に役立つものであった。

研究を実施するにあたって使用したマイクロプレートリーダーは、電源立地地域対策交付金で導入した装置である。

参考文献

- 1) 岩元彬, 瀬部和美, 特願 2017-051310 「 β -ヘキサソミニダーゼ放出抑制用及び/又は IgE 産生抑制用の組成物」(2017.3.16)
- 2) 岩元彬, 瀬部和美, 特願 2017-051311 「アスパラガス抽出物の製造方法及びアスパラガス抽出物」(2017.3.16)
- 3) Ishida M, Nishi K, Watanabe H, Sugahara T, Inhibitory effect of aqueous spinach extract on degranulation of RBL-2H3 cells, *Food Chem*, **136** (2), 322-327 (2013)