

紫芋およびピオーネ成分中の抗酸化酵素活性促進物質の解明

— 食品機能性簡易評価法の自然食品への応用 —

川西 秀樹・浜田 博喜*・益岡 典芳*

岡山理科大学 大学院理学研究科 総合理学専攻

*岡山理科大学 理学部 臨床生命科学科

(2005年9月12日受付、2005年11月7日受理)

1. 緒言

近年食生活の欧米化に過食や偏食に加え、経済の発達に伴った運動不足が原因となり、糖尿病、高脂血症、高血圧、動脈硬化などの生活習慣病やアトピー性皮膚炎や花粉症などのアレルギー性疾患の発症率が増加し、深刻な問題となってきている。¹⁻⁷⁾ そのような状況下で、国民の健康志向に対し、サプリメントや健康飲料などの栄養補助食品や、病気の予防や治療効果など特別な機能を持った特定保健用食品の開発が進められ、多くの研究が行われている。また、近年では、生活習慣病になる前に予防しようといった観点から、最も簡単に生活習慣病の予防、及び健康の維持が期待できる食事によるセルフメディケーションが注目されてきている。⁸⁻¹⁰⁾ しかし、食品の機能性に関する研究は、まだ始まったばかりで、すべての食品の機能性を網羅するまでには至っていない。¹¹⁻¹²⁾ それ故に、逸早い食品全体を指標とした機能性を評価、および成分の分析・解明が必要となっている。

これまで著者らは、従来より食品の抗酸化評価に用いられている1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPHラジカル) 捕捉活性試験、および電子スピン共鳴 (ESR) スピントラップ法によるスーパーオキシドアニオンラジカル捕捉活性 (SOD 様活性) 測定法によって直接的なラジカル消去能を測定した。さらに、グルタチオンペルオキシダーゼ (GPx) およびカタラーゼ (CAT) などの抗酸化酵素に、様々な食品が与える影響を測定し、

間接的なラジカル消去能を調べた。そして、得られた結果を総合的に判断することで、食品の抗酸化能の新評価法を提案し実施してきた。その評価によって抗酸化活性による食品の差異が明らかになってきた。¹³⁾

本研究では、新評価法に加えたGPxの酵素活性を活性化させる高い能力が認められた紫芋と、CAT活性を活性化させる高い能力が認められたピオーネに注目し、その成分を単離・精製を行い、各酵素活性に影響を及ぼす成分を検討したので報告する。

2. 実験方法

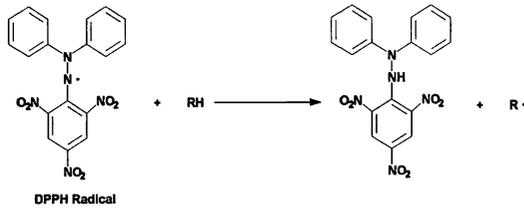
2-1. 抽出方法

日本薬局方によって定められている方法であるエタノール抽出法を用いて、栄養学、調理学等の書籍に記載されている¹⁴⁻¹⁸⁾ 五訂日本食品標準成分表、食生活・健康の向上に役立つ諸表、および献立作成表などを参考にし、設定した食品の一食あたりの平均摂取量 (生活活動強度II 身長170 cm 成人男子)[食品可食部のみ]を抽出に用い、50% エタノールで37℃で1日静置抽出を行った。抽出後、抽出液を濾別し、残渣は、再度同様の方法 (50% エタノール) で、2回抽出を行った。その後、抽出液を合わせてロータリーエバポレーター (Iwaki Asahi Techno Glass Co., Ltd., REN-1 Series) で、40℃で減圧濃縮を行ないエタノールの除去を行った。エタノールの除去後、濃縮液を凍結乾燥機 (Labconco[®] Freezedry-3 NL-200) で、凍結乾燥して試料とした。

2-2. 機能性評価法

2-2-1. DPPH ラジカル捕捉活性測定試験

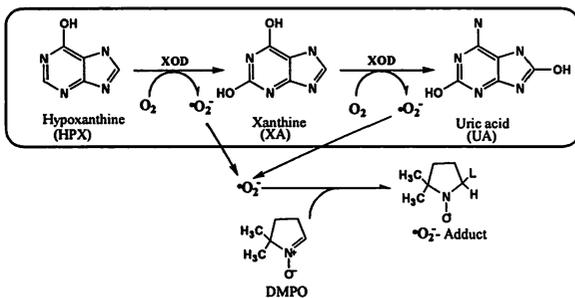
試料は 1ppm の濃度になるように 50% エタノールに溶解した。次に DPPH (和光純薬) を、エタノールで溶解させ、0.15 mM に調製した。DPPH エタノール溶液と試料 500 μl ずつを、それぞれ加えよく攪拌した。その後、室温 (25 $^{\circ}\text{C}$) 暗所にて 30 分反応後、分光光度計 (Hitachi, U-2800) にて、517 nm の波長を測定した (スキーム 1)。ラジカル消去活性は、対照として 50% エタノールの吸収を 100% として、試料の吸光度の減少率で表した。同様の方法にて、 α -トコフェロールの DPPH ラジカルの活性を測定し、検量線を作成し、 α -トコフェロール値に換算して表した。¹⁹⁻²¹⁾



スキーム 1. DPPH ラジカル消去反応

2-2-2. SOD 様活性測定

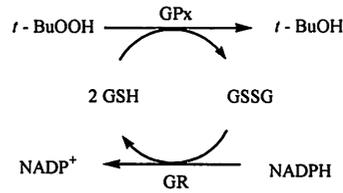
試料は 50% エタノールに溶解し 1000ppm の濃度に調製した。それを、ESR 測定装置 (JEOL, JES-FR 30ES) を用いて、HPX-XOD (ヒポキサンチン-キサンチンオキシダーゼ [EC 1.1.3.22]) 系によって発生するスーパーオキシドの DMPO 付加体の ESR スペクトル (ESR-スピントラップ法) を測定した (スキーム 2)。²¹⁻²²⁾ ラジカルスカベンジング活性は、対照 (H_2O) と比較し、その減少からラジカル消去活性を算出した。さらに、試料として superoxide dismutase [EC 1.15.1.1] (和光純薬, 牛の赤血球由来, Cu,Zn SOD) による検量線を作成し、SOD 様活性として表した。



スキーム 2. HPX-XOD 系 ESR 法

2-2-3. GPx 活性に与える影響

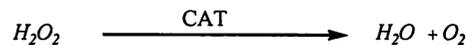
1 mM glutathione (還元型) (東京化成, GSH), 0.5 mM *tert* - butyl hydroperoxide (Sigma), 0.2 mM β -NADPH (Sigma), 1 units glutathione reductase [EC 1.6.4.2] (Sigma, パン酵母由来), および最終濃度 1ppm の試料を含む 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 6.5) に glutathione peroxidase [EC 1.11.1.9] (Sigma, 牛の赤血球由来 GPx) 0.2 units を加え反応を行った (スキーム 3)。²³⁻²⁷⁾ 測定は、分光光度計を用いて、340 nm の吸光度の減少を時間変化で測定し、酵素活性を求めた。GPx 活性への影響は、対照 (50% エタノール) を 1.0 として、fold で表示した。



スキーム 3. GPx 系抗酸化試験

2-2-4. CAT 活性に与える影響

30% 過酸化水素 (関東化学) を 0.1M リン酸緩衝液で希釈し、30 mM 過酸化水素を調製した。²⁸⁾ 調製した過酸化水素 3 ml に、50% エタノールにて溶解した試料を最終濃度 1ppm になるように加えよく攪拌した。それを石英セルに移した後、分光光度計にセットし、1.24 units/ μl の catalase [EC 1.11.1.6] を 50 μl 加えるのと同時に、240 nm の吸光度の減少を時間変化で測定し、酵素活性を求めた (スキーム 4)。CAT 活性に与える影響は、対照 (50% エタノール) を 1.0 として、fold で表示した。



スキーム 4. CAT系抗酸化試験

2-2-5. 統計解析

測定は、1 試料あたり 10 回以上行った。測定値は、平均値 ± 標準偏差 (mean±SE) で表した。有意差は、student t-test で行った。

2-3. 紫芋成分中の抗酸化性物質の特定

2-3-1. 紫芋成分の HPLC 分析

グルタチオンペルオキシダーゼ試験法において強い活性を示した紫芋 (サツマイモアントシアニン系品種アヤマラサキ, *Ipomoea batatas* L. Lam. cv. aymurasaki) 中の²⁹⁻³³⁾ GPx 活性化物質の単離・分析を行った。JASCO 製 HPLC (807-IT 型 インテリジェントインテグレート, co-2065 型 インテリジェント UV 検出器, PU-2089 型 溶媒低圧グラジエントポンプ) にて分析を行った。分析は COSMOSIL 5C18-PAQ Packed Column Waters (ϕ 4.6×150 mm) カラムを使用し、流速 1.0 mL/min, カラム温度 40 °C, 移動層 CH₃CN (Solvent A), 0.1% TFA 水溶液 (Solvent B): 100% Solvent B, 0 min; 100 ~ 80% Solvent B, 25 min; 80 ~ 75% Solvent B, 45min の条件下で、濃度 1000ppm の紫芋抽出物 10 μ l を HPLC によって分析した。

2-3-2. 紫芋成分の単離・精製および構造決定

多孔性イオン交換、陽イオン交換、および陰イオン交換にてそれぞれ単離・精製を行った。多孔性イオン交換は、50 g の DIAION HP-20 樹脂 を ϕ 24×200 mm のカラムに充填し、5 倍量の純水で溶出を行った。その後、エタノールを加えてゆき順次溶出を行った。陽イオン交換は、スチレン系 強酸性イオン交換樹脂 IR-120 B を 50 g 使用し、 ϕ 10×500 mm のカラムに充填し、1 N HCl にて、流速 15 mL/min, で溶出を行い、1 分毎に 1 フラクションとした。1 時間後、純水にて洗浄を行い、1 N NaOH にて更に 1 時間溶出を行った。陰イオン交換は、スチレン系ゲル形 強塩基性 陰イオン交換樹脂 IRA-400 J (I 形) を用い、1 N NaOH にて、流速 15 mL/min, で溶出を行い、1 分毎に 1 フラクションとした。1 時間後、純水にて洗浄を行い、1 N HCl にて更に 1 時間溶出を行った。³⁴⁾ それぞれの得られたフラクションは

濃縮後、NMR (JEOL 製核磁気共鳴装置) および、質量分析装置 (LC-MASS) で分析を行った。

2-3-3. 紫芋成分の活性試験

単離構造決定した標品が GPx 活性に与える影響を 2-2-3 の方法で測定した。

2-4. ピオーネ成分中の抗酸化性物質の特定

2-4-1. ピオーネ成分の HPLC 分析

カタラーゼ試験法において強い活性化を示したピオーネ (ブドウ 欧米雑種 <巨峰 (欧米種)×カノンホールマスカット (欧州種)>, *Vitis labrusca* Bailey) の³⁵⁻³⁷⁾ HPLC 分析を行った。分析は、2-3-1 と同様の方法で行った。さらに、比較対照として、ブドウ抽出物およびマスカット抽出物の HPLC 分析も同様に行った。³⁸⁾

2-4-2. アントシアニン類の定量

2-4-1 と同様の方法で、各 1 mM の濃度に調節した Cyanidin (Cy), Cyanin (Cyanidin 3-*O*- β -D-glucoside, Cy 3-glc), Keracyanin (Cyanidin 3-*O*- β -D-rhamnosyl glucoside, Cy 3-rut), Malvidin (Mv), Malvin (Malvidin 3-*O*- β -D-glucoside-5-*O*- β -D-glucoside, Mv-3,5-diglc), Oenin (Malvidin 3-*O*- β -D-glucoside, Mv 3-glc), Peonidin (Pn), Peonidin 3-*O*- β -D-glucoside (Pn 3-glc), Delphinidin (Dp) 標準液の 1, 3, 5, 10 μ l を HPLC 分析し、それぞれの分析結果から絶対検量線を作成した。その値からピオーネ抽出物に含まれているアントシアニンの定量を行った。

2-4-3. ピオーネ成分の単離・精製および構造決定

ピオーネ抽出物 1 g/mL を、2-3-2 と同様の方法で、単離・精製を行ない、そこで得られた試料を、JEOL 製核磁気共鳴装置を用い NMR 分析を行った。さらに、質量分析装置(LC-MASS)で質量分析を行った。

2-4-4. ピオーネ単離物の活性試験

単離構造決定した標品が CAT 活性に与える影響を 2-2-4 の方法で測定した。

表 1. 抗酸化試験結果

	DPPH	ESR	CAT	GPx
	α-トコフェロール換算値 (mM/g)	SOD 様活性値 ($\times 10^3$ U/g)	酵素活性に与える影響 (fold)	酵素活性に与える影響 (fold)
たまご	0.0005	25.54 *	N.D.	31.56 ± 2.60 *
にんじん	0.030	2.35 **	-	N.D.
米	N.D.	-	1.15 ± 0.28	N.D.
小麦	-	N.D.	1.84 ± 0.070 **	-
トウモロコシ	-	N.D.	1.77 ± 1.25 **	-
ピーマン	0.37 ***	-	-	-
トマト	0.54	-	0.39 ± 0.42 ***	10.03 ± 2.36 *
キャベツ	0.115	N.D.	1.08 ± 0.07	2.67 ± 0.20 **
ニンジン	0.16	1.43	N.D.	-
梅干	-	2.49 **	N.D.	1.50 ± 0.09 ***
りんご	0.03	-	0.88 ± 0.033	N.D.
みかん	0.02	0.72	0.79 ± 0.017	0.82 ± 0.22
紫芋	0.81 **	8.84 ***	1.05 ± 0.10	14.27 ± 1.62
コーヒー	9.81 *	N.D.	5.95 ± 0.27 *	31.02 ± 5.80 *
そば	0.000	-	N.D.	-
大根	0.002	1.36	1.02	1.93 ± 0.11
ゴボウ	0.07	-	N.D.	-
黒大豆	7.89 *	4.79 *	1.33 ± 0.15	8.52 *
クロの葉	0.095	6.44 *	1.23 ± 0.024	8.42 ± 1.18 *
イチゴ	0.12	-	0.97 ± 0.0077	N.D.
ブルーベリー	0.10	-	4.23 ± 0.30 *	-
ピーナツ	10.54 *	1.82	3.36 ± 0.69 **	N.D.
バナナ	0.02	-	N.D.	6.27 ± 1.78
キュウ	N.D.	4.09 *	0.87 ± 0.15	1.44 ± 0.13
ライ麦	0.034	15.63 *	0.90 ± 0.10	15.29 ± 2.97

※ 平均値 ± SEM (n = 10 ~ 15). *P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001 コントロールに比べ有意差あり。
 N.D. = not determined CAT 活性, GPx 活性は, コントロールの活性を1として比較した。
 DPPH ラジカルを100%消去するのに必要なビタミンE 量は 106.9 μM である。
 緑茶の SOD 様換算値 は 2.88 × 10³ U/g ワインの SOD 様換算値 は 0.60 × 10³ U/g

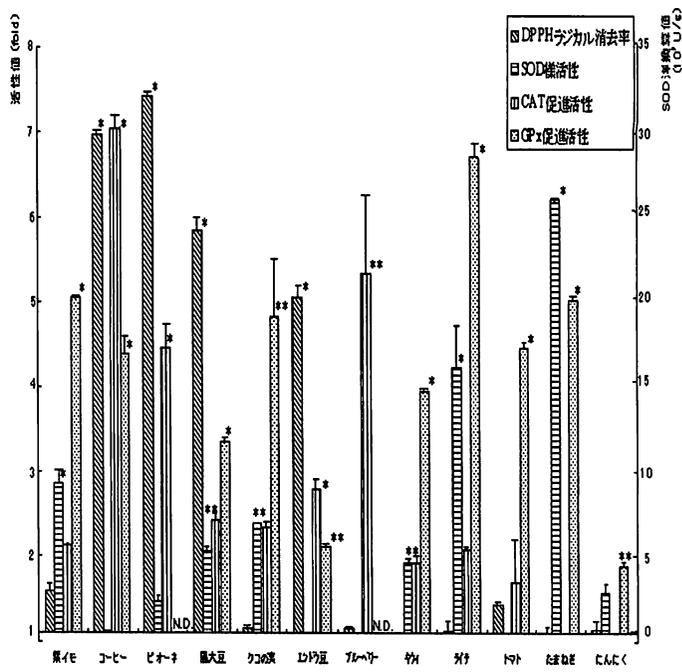


図 1. 総合的な抗酸化試験評価

※コントロールを1とする N.D., not determined
 *P < 0.05, **P < 0.01, コントロールに比べ有意差あり。

3. 実験結果

3-1. 抗酸化試験結果

2-2 の方法にて測定した DPPH ラジカル捕捉活性, ESR-スピントラップ法による SOD 様活性, CAT および GPx などの抗酸化酵素の活性化を表 1 に示した。またそれらの結果を基に, 抗酸化力が強いとされている食品¹¹⁻¹²⁾の結果をまとめた一部を図 1 に示した。¹³⁾

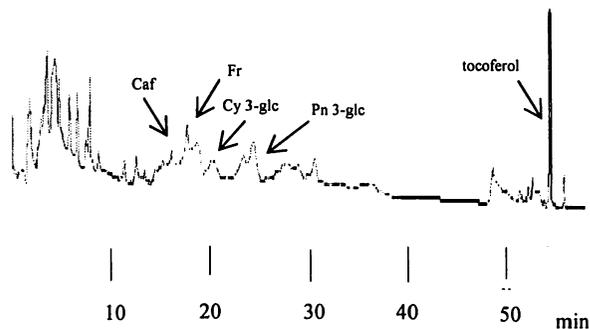


図 2. 紫芋抽出物の HPLC 分析結果

起こり難かったため構造決定には至らなかった。

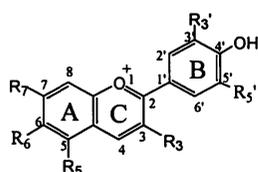
3-2. 紫芋成分中の抗酸化物質の特定

3-2-1. 紫芋成分の HPLC 分析結果および成分決定

紫芋の HPLC 分析を行った結果を図 2 に, 基本的なアントシアニン系化合物の構造を図 3 に示す。紫芋にはこのような基本的なアントシアニン系化合物は少なく,²⁸⁻³⁰⁾ より水溶性に富んだ化合物(後述)を豊富に含んでいる事が確認された。そこで, 単離・精製および構造決定を行った結果, Caffeic acid (Caf), Ferulic acid (Fr), Cy 3-glc, Pn 3-glc, Tocopherol を含んでいる事が確認された (図 4)。しかし, Rt.10 min までのピークは, 単離・精製が難しく, さらに LC-MASS によるイオン化が

3-2-2. 紫芋成分の活性試験

GPx 活性試験を行った結果, Caf, Fr を加えると, GPx 活性の大変強い活性化が見られた。しかし, アントシアニン (Cy 3-glc, Pn 3-glc) が酵素活性に与える影響を確認したところ, 活性化は, ほとんど見られなかった (表 2)。



略号	英名	和名	O-環		A-環		B-環		色
			R ₆	R ₅	R ₆	R ₇	R _{7'}	R _{8'}	
Ap	Apigenidin	アピゲニジン	H	OH	H	OH	H	H	橙黄
Lt	Luteolinidin	ルテオリジン	H	OH	H	OH	OH	H	橙
Tr	Tricinidin	トリセチニン	H	OH	H	OH	OH	OH	赤
Pg	Pelargonidin	ペラルゴニン	OH	OH	H	OH	H	H	橙
Au	Aurantidin	オーランチニン	OH	OH	OH	OH	H	H	橙
Cy	Cyanidin	シアニン	OH	OH	H	OH	OH	H	赤紫
5MCy	5-Methylcyanidin	5-メチルシアニン	OH	OMe	H	OH	OH	H	赤紫
6OHCy	6-Hydroxycyanidin	6-ヒドロキシシアニン	OH	OH	OH	OH	OH	H	赤
Pn	Peonidin	ペオニン	OH	OH	H	OH	OMe	H	赤紫
Rb	Rosinidin	ロシニン	OH	OH	H	OMe	OMe	H	赤
Dp	Delphinidin	デルフィニン	OH	OH	H	OH	OH	OH	紫
6OHDp	6-Hydroxydelphinidin	6-ヒドロキシデルフィニン	OH	OH	OH	OH	OH	OH	紫
Pt	Petunidin	ペチュニン	OH	OH	H	OH	OMe	OH	紫
Pl	Pulchelinidin	プルケリジン	OH	OMe	H	OH	OH	OH	紫
Mv	Malvidin	マルビジン	OH	OH	H	OH	OMe	OMe	紫
Hs	Hsautidin	ヒルスチジン	OH	OH	H	OMe	OMe	OMe	紫
Eu	Europinidin	ユウロピニン	OH	OMe	H	OH	OMe	OH	紫
Cp	Capsanthinidin	カプサンチニン	OH	OMe	H	OH	OMe	OMe	紫

図3. 基本的なアントシアニンの構造様式

表2. 抗酸化試験結果

	GPxに与える影響 (fold)
1000ppm 紫芋抽出液	14.27 ± 1.62
Caffeic acid (Caf)	3.41 ± 0.241
Ferulic acid (Fr)	3.47 ± 0.147
Cyanidin 3-O-β-D-glucoside (Cy 3-glc)	1.03 ± 0.001
Peonidin 3-O-β-D-glucoside (Pn 3-glc)	1.12 ± 0.064

※ 標準品は 1 μM 当たりの活性値

3-3. ピオーネ成分中の抗酸化性物質の特定

3-3-1. ピオーネ成分の HPLC 分析結果および成分決定

ピオーネの HPLC 分析を行った結果、ピオーネ抽出物は、ブドウ抽出物およびマスカット抽出物と比較して、多数のアントシアニンを含んでいることが確認された(図5～7)。^{33, 39-41)} また、その成分の単離・精製および構造決定を行った結果、Cy, Pn, Mvを基本構造とするアントシアニンおよび、Citric acid, Ascorbic acid (AA), Catechin, Gallic acid (GA), Caffeic acid (Caf) を含んでいる事が確認された(図8)。定量結果、ピオーネ抽出物 10 μl あたり, citric acid 118.3 p mol, AA 596.9 p mol, GA 62.7 p mol, Cy 3,5-diglc 111.5 p mol, Mv 3,5-diglc 985.2 p mol, Cy 3-rut 3.82 n mol, Mv 3-gen 1.38 n mol, Cy 3-glc 502.4 p mol, Dp 3-glc 462.2 p mol, Mv 3-glc 922.7 p mol 含有していることが明らかとなった。

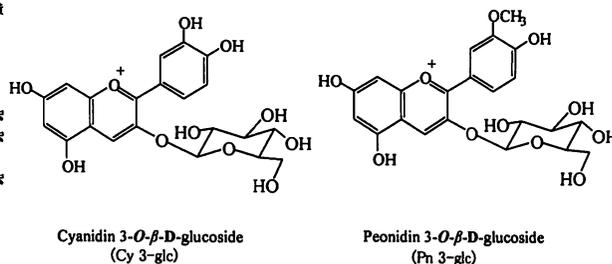
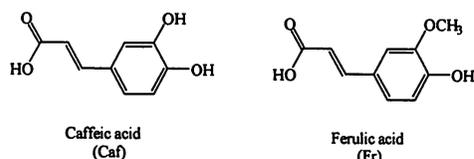


図4. 紫芋から単離した化合物の構造

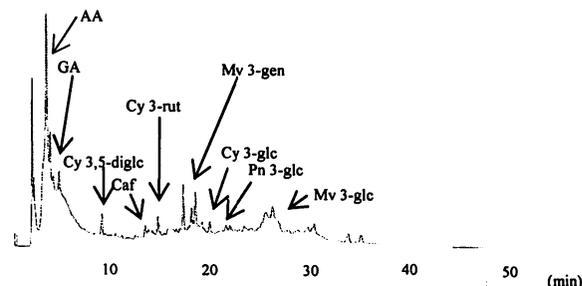


図5. ピオーネ抽出物の HPLC 分析結果

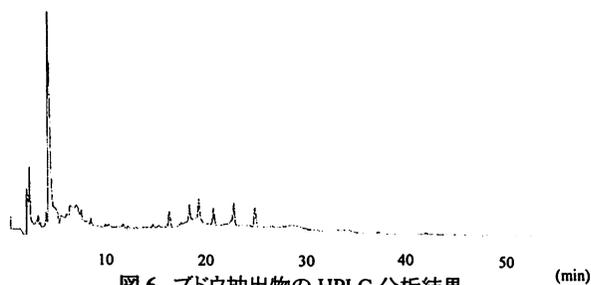


図6. ブドウ抽出物の HPLC 分析結果



図7. マスカット抽出物の HPLC 分析結果

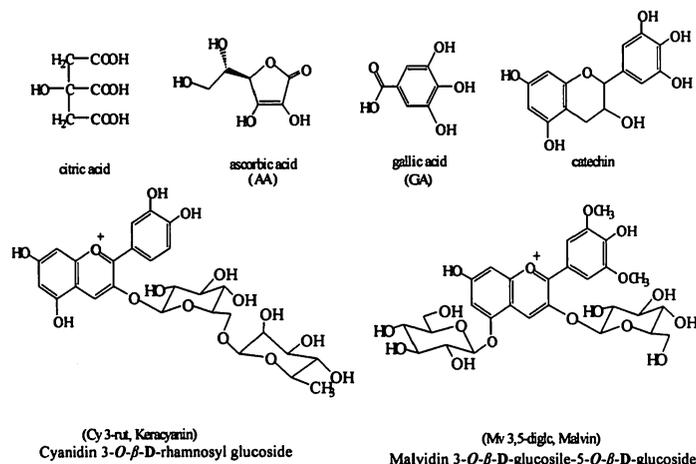


図 8. ピオーネに含まれる化合物の構造

3-3-2. ピオーネ単離物の活性試験

CAT 活性試験を行った結果、AA、GA、Caf には CAT 活性の活性化能力は見られなかった。しかし、アントシアニンでは CAT 活性の強い活性化能力が見られた (表 3)。

4. 考察

それぞれの抗酸化試験法を行い、それらを用いた食品の評価を行った結果、各酵素の種類やその作用の違いにより、酵素活性に与える影響に違いが見られた。ポリフェノール類を多く含んでいるとされている食品では、GPx 活性に与える影響も大きく、アントシアニン系色素を含んでいる食品では、CAT 活性に強い影響を与えることが確認された。このことは、紫芋成分中の GPx 活性に与える物質として⁴²⁻⁴⁸⁾ Caf および Fr (ポリフェノール) で高い活性が見られたものの、Cy 3-glc、Pn 3-glc などのアントシアニンではあまり効果が見られなかった点や、逆にピオーネ成分中の CAT 活性に与える物質として、ポリフェノール類よりアントシアニン類の方が CAT 活性に強い影響を与えることによる。DPPH ラジカル消去活性や ESR スペクトル測定 (SOD 様活性) 等の抗酸化物質がラジカル消去に直接関与する反応で、強い抗酸化活性が見られる食品でも、CAT や GPx 等の抗酸化酵素に働きかけ酵素を活性化させ、間接的にラジカル消去に関与している反応系で、活性化を示さない食品も多数見られたことは、我々の開発した食品機能性評価法¹³⁾の有効性と

表 3. 抗酸化試験結果

	CATに与える影響 (fold)
1000ppm ピオーネ抽出液	3.36 ± 0.069
Cyanidin (Cy)	1.20 ± 0.004
Cyanidin 3-O-β-D-rutinosylglucoside (Cy 3-ru)	0.99 ± 0.021
Malvidin (Mv)	1.27 ± 0.087
Malvidin 3-O-β-D-glucoside (Mv 3-glc)	0.94 ± 0.024
Malvidin 3-O-β-D-glucoside-5-O-β-D-glucoside (Mv 3,5-di-gluc)	0.93 ± 0.010
Peonidin (Pn)	1.19 ± 0.033
Peonidin 3-O-β-D-glucoside (Pn 3-glc)	1.44 ± 0.092
Delphinidin (Dp)	1.37 ± 0.076
アントシアニン混合液	1.74 ± 0.125

※ 標準品は 1 μM 当たりの活性値

共に、様々な食品を満遍なく効率的に摂取することが未然的な病気の発症を予防することにとって重要であると考えられる。

次に、紫芋成分の HPLC 分析および成分分析を行った結果、単離・精製および構造決定が困難でありピークの同定には至らなかったが、文献値を参考にし、⁴⁹⁾ ピークの様式が、かなり類似していたことから、それぞれのピークは図 9 のような Cy および Pn に caffeyl および ferulyl 体の結合したアシル化アントシアニンであろうと推測された。構造式を図 10 に示す。また、文献値によるとアシル化アントシアニンは、570 nm の分子吸光係数が大きいことから、³³⁾ HPLC 分析を行った結果、ピーク高さは Caf などに比べ 5 倍ほどの強度があるが、実際量は Caf よりも少量しか含まれていないのではないかと推測された。そのことから、GPx 活性を活性化する物質は、アントシアニン系化合物ではなく、ポリフェノール類が関与していると考えられる。

ピオーネ成分の HPLC 分析を行った結果、ピオーネ抽出物は、多数のアントシアニンを含んでいることが確認され、また、その成分の単離物の CAT 活性試験を行った結果、アントシアニンを加えると、CAT 活性の強い活性化が見られたことから、CAT 活性を活性化する物質は、アントシアニン系化合物であることが示唆された。また、抽出液をそのまま測定した時の活性は、単一物

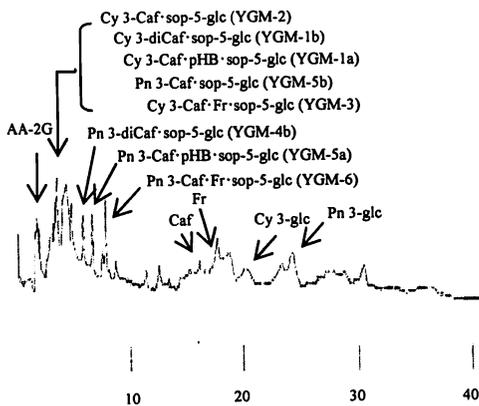


図9 紫芋抽出物の HPLC 分析結果

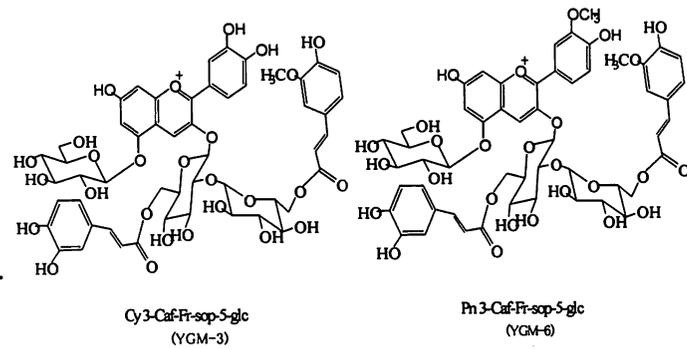


図10. アシル化アントシアニンの構造

の活性の総合計よりも大きいことから、それらの化合物を混合して測定した。単一で活性を測定したときよりも、活性化能力が高まったことから、アントシアニン系化合物および他の成分による相乗効果が予想された。

5. 謝辞

本研究を行うにあたり、ご協力を頂きました諸先生方に心より感謝致します。

6. 文献

- 1) Minako Nagao; Are Heterocyclic Amines in Cooked Foods Human Carcinogens?, *Foods Food Ingredients Journal Japan*, **194**, 25–31 (2001)
- 2) Minako Nagao; A new approach to risk estimation of food-borne carcinogens, –heterocyclic amines– based on molecular information, *Mutat. Res.*, **431**, 3–12 (1999)
- 3) 小田嶋 成和; “化学物質と癌の発生”, 学会出版センター, 116–122 (1984)
- 4) Ross Robert Olney; Atherosclerosis -An inflammatory disease, *N. Engl. J. Med.*, **340**, 115-126 (1999)
- 5) Leonard S. Lilly; *Pathophysiology of Heart Disease*, A Collaborative Project of Medical Students and Faculty, Second Edition, (2000)
- 6) Krinsky, NI; Antioxidant functions of carotenoids, *Free Rad. Biol. Med.*, **7** (6), 617-35 (1989)
- 7) Steven R. Tannenbaum; A New Paradigm for DNA Damage by Reactive Oxygen and Nitrogen Species, *Foods Food*

Ingredients Journal Japan, **194**, 5–9 (2001)

- 8) Hiroshi Maeda; Carcinogenesis by Free Radicals and Cancer Prevention with, *Foods Food Ingredients Journal Japan*, **194**, 17–23 (2001)
- 9) 矢崎 義雄; “最新虚血性心疾患—新しい展開と診療の実際”, 永井書店 (1999)
- 10) Rui Hai Liu, Kelly L. Wolfe; Role of Plant-based Whole Food in the Prevention of Chronic Diseases, *Foods Food Ingredients Journal Japan*, **208** (6), 465–476 (2003)
- 11) Japan Food Research Laboratories, “食品の機能を評価する”, **22** (2001)
- 12) 村上 明, 森光 康次郎, 食品素材&食品成分別 機能性リスト, “食と健康 -情報のウラを読む-”, 丸善, (2002)
- 13) 川西 秀樹, 益岡 典芳, 石原 浩二, 中島 伸佳, 浜田 博喜; 食品予防医学を指標とした食品機能性評価法の開発とそれを用いた自然食品の評価, *日本栄養・食糧学会誌*, (投稿中)
- 14) 東京都健康局, 東京都生活文化局; “健康食品取扱マニュアル”, 薬事日報社, 6-231 (2000)
- 15) 谷村 顕雄; 食品添加物公定書解説書, 7, 廣川書店, E1-F30 (1999)
- 16) 国立健康・栄養研究所監修, 山田 和彦, 松村 康弘編; “健康・栄養食品アドバイザー・テキストブック”, 第一出版 (2003)
- 17) 科学技術庁資源調査会編; “五訂 食品成分表”, 医歯薬出版 (2003)
- 18) 島田 敦子, 畑江 敬子; “調理学”, 朝倉書店, (1995)

- 19) 富永 仁士, 小林 由佳, 後藤 隆志, かせ村 一夫, 野村 正人; DPPH radical-scavenging Effect of Several Phenylpropanoid Compounds and Their Glycoside Derivatives, *YAKUGAKU ZASSHI*, **125** (4), 371–375 (2005)
- 20) Santosh Kumar S, Priyadarsini KI, Sainis KB.; Free radical scavenging activity of vanillin and *o*-vanilin using 1,1-diphenyl 1-2-picryl hydrazyl (DPPH) radical, *Redox Report*, **7** (1), (2002)
- 21) Aniya Y, Koyama T, Miyagi C, Miyahira M, Inomata C, Kinoshita S, Ichiba T.; Free radical scavenging and Hepatoprotective Action of the Medicinal Herb, *Crassocephalum crepidioides* from Okinawa Islands, *Biol. Pharm. Bull.*, **28** (1), 19 - 23 (2005)
- 22) Hiroyuki Ukeda, Ashok K. Sarker, Daisuke Kawana and Masayoshi Sawamura; Flow-injection chemiluminometric assay of superoxide dismutase, *Analytica Chimica Acta*, **438**, 137-142 (2001)
- 23) “肝と薬物代謝”, *BIO Clinica*, **15** (7), (2000)
- 24) 鎌滝 哲也; “薬物代謝酵素”, 東京化学同人, 42 - 350 (2003)
- 25) Robert K. Murray, Paryl K. granner, Peter A. Mayes, Victor W. Rodwell; *Harper's Biochemistry*, **61**, 837 – 843 (2001)
- 26) Mark Percival; Phytonutrients & Detoxification, *Clinical Nutrition Insights*, **5** (2), (2001)
- 27) Michael J. Pabst, Willam H. Habig, William B. Jakoby; Glutathione S-Transferase A, *The Journal of Biological Chemistry*, **249** (22), 7140 – 7150 (1974)
- 28) Aebi HE; Catalase. In: Bergmeyer HU, eds. *Methods of enzymatic analysis*, Weinheim: Verlag Chemie, **3** (3), 273–286 (1983)
- 29) 大庭理 一郎, 五十嵐 喜治, 津久井 亜紀夫; アントシアニン –食品の色と健康-, 建吊社 (2000)
- 30) 宮崎 丈史, 都築 和香子, 鈴木 建夫; “園学誌”, **60**, 217 (1991)
- 31) 宮崎 丈史; “園学誌”, **61**, 197 (1992)
- 32) 津久井 亜紀夫, 鈴木 敦子, 権名 隆次郎, 林 一也; “日食科工誌”, **46**, 148 (1999)
- 33) K. Hayashi, N. Ohara, A. Tsukui; *Food Sci Technol., Int.*, **2**, 30 (1996)
- 34) T. Shimizu, T. Muroi, T. Ichi, M. Nakamura and K. Yoshihira; “食衛誌”, **38**, 34 (1997)
- 35) Bakker, J. and Timberlake, C.F.; *J. Sci. Food Agric.*, **36**, 1325 (1985)
- 36) 岩科 司; “食品工業”, **37** (12), 52 (1994)
- 37) K. Igarashi, K. Takanashi, M. Makino and T. Yasui; *Nippon Shokuhin Kougyo Gakkaishi*, **36**, 852 (1989)
- 38) Wang H, Race EJ, Shrikhande AJ.; Characterization of anthocyanins in grape juices by ion trap liquid chromatography-mass spectrometry., *J Agric Food Chem.*, **51** (7), 1839 ~ 1844 (2003)
- 39) 木村 進, 中林 敏郎, 加藤 博通; “光琳”, 23 (1995)
- 40) Macheix, J-J., Fleuriet, A., Billot, J.; “Fruit phenolics”, CRC Press, eds. Boca Raton, Florida, (1990)
- 41) T. Kondo, K. yosida, A. Nakagawa, *et al*; *Nature*, **358**, 515 ~ 518 (1992)
- 42) 山川 理, 須田 郁夫, 吉本 誠; “FFIジャーナル”, **178**, 169 ~ 78 (1998)
- 43) 吉本 誠, 山川 理, 須田 郁夫; “食品と開発”, **33** (8), 15 ~ 17 (1998)
- 44) M. Yoshimoto, S. Okuno, T. Kumagai, M. Yoshinaga and O. Yamakawa; *JARQ*, **33**, 143 ~ 148 (1999)
- 45) A. Tukui, K. Hayashi; *New Food Industry*, **39** (1), 33 ~ 38 (1997)
- 46) 須田 郁夫, 吉本 誠, 山川 理; “FFIジャーナル”, **181**, 59 ~ 69 (1999)
- 47) 杉田 浩一, 松ヶ野 一郷, 須田 郁夫, 山川 理; “食品工業”, **41** (13), 50 ~ 58 (1998)
- 48) T. Miyazawa, K. Nakagawa, M. Kudo, K. Muraishi and K. Someya; *J. Aaric. Food Chem.*, **47**, 1083 ~ 1091 (1999)
- 49) K. Odake, N. Terahara, N. Saito, K. Toki and T. Honda; *Phytochemistry*, **31**, 2127 (1992)

Activation factors of antioxidant enzyme activity in a purple sweet potato and a pione

- Application of a functional estimation method for foods -

Hideki KAWANISHI, Hiroki HAMADA* and Noriyoshi MASUOKA*

Graduate School of Science, Department of Applied Science, Faculty of Science

** Department of Life Science, Faculty of Science*

Okayama University of Science

1-1 Ridai-cho, Okayama 700-0005, Japan

(Received September 12, 2005; accepted November 7, 2005)

Purple sweet potato extract strongly activated glutathione peroxidase but did not catalase activity. On the other hand, pione extract specifically activated catalase but did not glutathione peroxidase. Present investigation was planned to pursue activation factors for these enzymes in each extract. The extracts were separated using column chromatography. The compounds isolated were identified by using HPLC, NMR and LC-MS. Purple sweet potato extract contained caffeic acid, ferulic acid, cyanidin 3-*O*- β -D-glucoside and peonidin 3-*O*- β -D-glucoside. Pione extract contained ascorbic acid, cyanidin 3-*O*- β -D-glucoside, cyanidin 3-*O*- β -D-rhamnosyl glucoside, malvidin 3-*O*- β -D-glucoside, malvidin 3-*O*- β -D-glucoside-5-*O*- β -D-glucoside, malvidin 3-gentiobioside and so on. From their abilities for enzyme activations, it is deduced that glutathione peroxidase is activated by polyphenols and that catalase is activated by antocyanins.