

課題名：未利用資源作物としての紫蘇全草抽出成分の機能性食品への応用を目指した6次産業の本格的企業化に向けた具体的問題点の解決

実施機関 ジャパンローヤルゼリー株式会社

連携機関 東北大学大学院工学研究科
有限会社 大郷グリーンファーマーズ

➤ はじめに

本事業は未利用資源の機能性食品化を旨に、産業廃棄物等として処理されている紫蘇全草から有効成分を簡略な方法で抽出し食品添加物等として応用することで、紫蘇生産地における地域資源を活用した農産物生産者による新事業および新たな雇用を創出することを目的としている。

農水省生産局農産部園芸作物課および農水省平成24年度地域特産野菜生産状況によると、紫蘇における農産廃棄物等は年間9,581～1万4,922tと概算され、これを有効利用することは6次産業化に基づく農産物利用の促進に大きく貢献すると考えられた。

実施機関では、すでに紫蘇等の抽出物を有効成分として含む抗ヘリコバクター・ピロリ活性物質について詳細に検討し、特許化している。平成27年度事業では、青紫蘇全草エキス末が抗ヘリコバクター・ピロリ活性を有する極めて有望な製品となり得ることを明らかにし、事業化の可能性が極めて高いことを実験的に実証してきた。本事業ではこれらの調査を踏まえ、最終製品を高品質なものとするための可能性調査を実施した。

➤ 事業化可能性調査の実施体制

実施体制は、代表機関をジャパンローヤルゼリー（株）に置き、内部組織のJRJ 蜂医科学研究所が抽出・濃縮、分離・分画、*in vitro* 生物活性、抗菌活性、製品化の検討を担当。東北大学大学院工学研究科は分画精製・同定を行い、（有）大郷グリーンファーマーズは紫蘇の無農薬栽培、廃棄物回収、洗浄・細切・乾燥を担当した。さらに、4機関において適宜、情報共有化を図った。Fig.1にこれらの相互連携の関係と役割分担を示した。

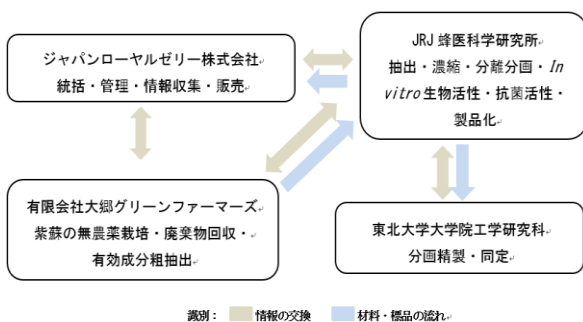


Fig.1 事業実施の役割分担

➤ 事業化可能性調査の取組

1. 紫蘇生産現場での農産廃棄物の処理に関する調査研究

青紫蘇の栽培、全草の収穫、洗浄、細切、乾燥の過程において、一般生菌数を減少させる生産方法を検討する。特に、洗浄に関する最適法の研究では、青紫蘇の①非洗浄②プール洗浄③プール洗浄+すすぎ（1回）+脱水（1回）④プール洗浄+すすぎ（2回）+脱水（2回）の機械洗浄および試験室内での各種洗浄を主に比較する。

2. 抽出法の研究

各種溶媒を用いた抽出法の検討を通じ、有効成分の食品産業への応用、製品の安全性と安価な方法を考慮して製造した青紫蘇熱水抽出エキス末について、エキスの脱色方法および各種抽出方法の検討を行い、抗ヘリコバクター・ピロリ活性および色の関係性について検討する。抗ヘリコバクター・ピロリ活性の強い画分を得ることができた超臨界抽出についてさらに検討を進める。

3. 農産物廃棄物中の残留農薬に関する検討

青紫蘇葉の市販製品の栽培時に使用している残留農薬の分析を実施する。有機栽培の青紫蘇およびそれを用いて製造した青紫蘇熱水抽出物の残留農薬の分析を実施する。両者の分析結果をもとに栽培条件の検討を行う。

4. 青紫蘇全草熱水抽出エキス末の胃粘膜上皮細胞に対する作用に関する研究

胃粘膜上皮細胞株を用いて *in vitro* 組織培養を行い、青紫蘇全草熱水抽出エキス末が *in vivo* で安全に使用できることを確認する。

➤ 事業化可能性調査の成果と課題

1. 洗浄法に関する検討

（1）一般生菌数と抗ヘリコバクター・ピロリ活性

青紫蘇の栽培、全草の収穫、洗浄、細切、乾燥の過程において、一般生菌数を減少させる生産方法の検討を行った。その結果、実験室的には流水すすぎをすることにより、一般生菌数の減少が認められた。今後は、遠心除菌法についても改善を試みる予定である。

（2）残留農薬に関する検討

農産廃棄物中の残留農薬について検討した。まず、市販製品の分析結果においてイミダクロプリド 1.1ppm およびペルメトリン 0.12ppm が検出された。一方、青紫蘇

熱水抽出エキス末製造の原料として使われた生青紫蘇は、生産者の栽培記録により農薬は一切使用していないことを確認した。この青紫蘇乾燥物中の残留農薬分析の結果、ダイムロン（除草剤）0.01ppm が検出されたが、この数値は残留農薬の一律基準内を超えてはいなかった。さらに、加工した青紫蘇熱水抽出エキス末ではダイムロンは検出されなかった。

一方、無農薬栽培の青紫蘇から、青紫蘇乾燥物や青紫蘇熱水抽出エキス末を製造した場合、農薬飛散（ドリフト）防止対策が十分なされていれば、これらの中の残留農薬は基準値内で製造することができ、本栽培法による栽培の重要性が示唆された。

2. 青紫蘇全草乾燥物の溶媒抽出試験

各種溶媒抽出の結果、安価・安全に製造できた黒褐色の青紫蘇熱水抽出エキス末と、リフラックスあるいは冷水抽出等の各種条件での抽出比較を行った。

エキス色は異なり、水、50%エタノール、エタノール抽出のいずれにも抗ヘリコバクター・ピロリ活性が認められた。高極性と低極性に異なる活性物質が含まれている可能性がある。

3. 青紫蘇全草熱水抽出エキス末の脱色に関する検討

青紫蘇全草熱水抽出エキス末の脱色処理は、活性炭を用いて、水、エタノール50%、次いでエタノール処理することにより行った。

その結果、エタノール50%および99.5%抽出画分では、黒褐色色素を脱色（それぞれ透明な浅茶色と浅黄色）することに成功し、いずれも抗ヘリコバクター・ピロリ活性をもつことから有効な脱色法であると考えられた。特に99.5%抽出液では、単位抽出エキス重量のヘリコバクター・ピロリに対する抗菌活性を表す比活性値は青紫蘇全草熱水抽出エキス末の24倍を示し、他と比べて、きわめて高い抽出選択性を示した。

なお、エタノール99.5%で直接的に脱色を試みた結果、抗ヘリコバクター・ピロリ活性は認められなかった。活性炭量の最適化の検討は、水で抽出した場合は20%で処理すると最も抽出量が多く、逆にエタノールで抽出した場合は50%で処理すると最も抽出量が多かった。

4. オートバイオアッセイ

活性炭により脱色した青紫蘇熱水抽出エキスの99.5%エタノール抽出画分は、2次元TLCのヘリコバクター・ピロリによるオートバイオアッセイを行った結果、ヘリコバクター・ピロリの生育阻止ゾーンを確認した。今後、抗ヘリコバクター・ピロリ活性を示した活性成分の回収・単離精製を行い、構造解析に供する予定である。

5. 超臨界流体を用いた成分の分離・分取

本研究では、超臨界CO₂単独、並びに超臨界CO₂+EtOHの抽出について実施した。その結果、抗ヘリコバクター・ピロリ活性が約67~235倍に濃縮された。そこで、最も強い抗ヘリコバクター・ピロリ活性を示した超

臨界CO₂抽出について調べたところ、各試料で非常に強い抗ヘリコバクター・ピロリ活性が認められた。しかしながら、抽出試料の量は十分とはいえず、現在、処理量拡大のための超臨界CO₂抽出および亜臨界抽出法の検討を行っている。

6. 青紫蘇全草熱水抽出エキス末の生物活性

ヒト由来胃粘膜上皮細胞(JCRB0254 MKN45:腺がん、低分化型)へ青紫蘇全草熱水抽出エキス末を段階希釈したサンプルを添加した場合の生存細胞数の変化について検討した結果、食物の胃排出時間を2時間と想定すると、抗ヘリコバクター・ピロリ活性の10倍濃度(50mg/mL)のものを作用させても安全であると考えられた。

7. 抗ヘリコバクター・ピロリ活性物質の製造諸経費、利益に関する算出と新事業の実効性の検討

青紫蘇全草熱水抽出エキス末の製造費は1gあたり12.3円と算出された。空腹時にヨーグルト100gを食する場合、胃の中でヘリコバクター・ピロリに対して活性を示すには、空腹時胃液50mLに加えて、食後の胃液分泌量50mLを想定すると、ヨーグルト100g中に200mg(約2.5円・薬品の1/5量)の青紫蘇全草熱水抽出エキス末が含まれている必要がある。

また、脱色青紫蘇全草エキス末の抗ヘリコバクター・ピロリ活性は、青紫蘇全草熱水抽出エキス末の約24倍の力価があったが、食品の場合、有効成分含有量は薬品の1gよりも少ない利用となることから、事業化が見込める価格で提供できることが示唆された。さらに今後、商品として普及させるために、より安価な製品の製造法を確立し、事業化する予定である。

➤ 今後の取組の方向性

本事業では、産業廃棄物等として処分されている青紫蘇全草から熱水抽出エキス末を比較的安価で生産できることを確認した。青紫蘇全草熱水抽出エキス末が、十分なヘリコバクター・ピロリに対する抗菌活性を有し、生物薬剤学的・薬物動態学的に検討した結果、空腹時に青紫蘇全草熱水抽出を用いるならば、十分採算のとれる製品を作ることができると考えられた。高活性の脱色青紫蘇全草エキス末1g相当量の製造費は実験室的スケールでのデータ基準であることから、工業ベースでのより安価な製造法を確立していく。

さらに今後は、抗ヘリコバクター・ピロリ活性を示した成分の構造解析、亜臨界処理の紫蘇ペーストならびに無色濃縮画分の活性評価なども行う予定である。

【お問い合わせ】

実施機関名称：ジャパンローヤルゼリー（株）
担当者： JRJ 蜂医科学研究所 所長 山口喜久二
TEL： 03-3662-3881
e-mail： j-niino@jrj.co.jp