

梅果肉及び梅加工品の抗変異原性

玉置 ミヨ子
堀野 成代

著 言

梅 (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) は中国原産、バラ科サクラ属のスモモ亜属に属し、その果実は、中国では6世紀頃には青梅を燻煙乾燥した「烏梅」、塩漬けた「白梅」、梅肉エキスである「梅醬」などに加工し、薬として用いられていた。わが国でも平安時代には梅干しは薬として扱われ、戦国時代には消毒や貧血の気付け薬に、食中毒や流行病の予防、整腸、食欲増進にと野戦の食生活では貴重な存在であった。

薬用に発し、その後食用、酸味調味料にと幅広く利用されてきた梅果実は酸味が強いことから生食されることは無く加工によってのみ食される果実である。従ってその加工法も数多くあり、今日では従来の梅干しに加えて減塩梅干し、蜂蜜漬け、梅調味干し、梅酒、梅肉エキス、梅醬、梅ジャム、梅ゼリー、梅シロップ、梅調味料など種々様々な梅加工品が市場に出廻っている。

古来、梅の効用として言い伝えられてきた静菌、抗菌、解毒、整腸作用に加えて、近年、生活習慣病やガンの予防にも役立つと言われるようになったが、科学的に裏付ける論文は未だ数少ない。

健康食品としての梅に関心の高い昨今、著者らは原料の梅果実及び加工処理した塩漬梅、梅ジャム、梅肉エキス、梅酒、梅シロップについてサルモネラ菌を用いるAmes法¹⁾を利用した抗変異原試験法により、N-nitrosodimethylamin (NDMA) の変異原性抑制効果の有無を検討し、変異原性抑制効果を誘起する活性物質について検索を行い、若干の知見を得たので報告する。

実 験 方 法

1、実験材料及び試料の調製

梅 果 肉： 大阪市内のスーパーマーケットで購入した青梅及び黄色く熟した梅の果肉各5.0gを細片し、精製水15mlを加えて20,000r.p.m. 10min.ホモゲナイズの後、高速冷却遠心分離機で10,500r.p.m. 10min.遠心分離し、得られた上清を25mlに定容した。これをセルロースアセテート0.45 μ mのメンブランフィルター

でろ過滅菌したものを試料液とした。

梅ジャム：市販品及び自家製の梅ジャム5.0gを上記梅果肉試料調製と同様にホモゲナイズ、遠心分離後、25mlに定容し濾過滅菌したものを試料液とした。ジャムの製法は自家製ジャムの場合は、黄色に完熟した梅を軽く水洗後、水気をふき取り果肉の部分のみを摩り下ろし、果汁を絞って除いた残渣に80%の砂糖を加えてゼリー状になるまで加熱濃縮しジャムに仕上げた。市販品は熟した梅をたっぷりの水で加熱し梅が割れないようゆで、水を捨て新しい水を入れ、放置後、更に水を取り替えて酸を減らした梅の果肉を原料にジャムに仕上げた製品²⁾を購入した。

梅肉エキス：青梅の種子を取り除き果肉のみをジューサーにかけ得られた果汁を、飴状になるまで煮詰めて得た梅肉エキス0.5gに精製水を加え10.0mlにし、メンブランフィルターでろ過滅菌し、試料液とした。

梅シロップ：完熟した黄色の梅を軽く水洗し、水気をふき取った後、竹串で果肉に穴をあけ、梅と同量の砂糖を加えて室温（25～28℃）に数日間保ち、滲出してきた液を濾過滅菌したものを試料原液とした。

梅酒：前報³⁾のごとく青梅を、氷砂糖とともに35度焼酎に漬け込み、室温で一年間熟成して得られた梅酒を濾過滅菌して試料原液とした。

塩漬け梅：完熟した黄色の梅を軽く水洗後、水気をふき取り、梅果実重量の20%の塩をまぶして漬け込み、漬けあがった塩漬け梅の果肉5.0gについて梅果肉試料と同様の処理をし、塩漬け梅試料原液とした。尚、漬け込み中は冷温（3～4℃）と室温（25～28℃）に分けて保存した。

2、抗変異原性試験

抗変異原性の測定は既報⁴⁾のごとくAmesテスト¹⁾のプレインキュベーション法を更に改良して感度を上昇させた江幡ら^{5) 6)}の方法を用いた。50 μ gのN-nitrosodimethylamin (NDMA) に、これを代謝活性化させるため、アセトンと絶食によって誘導・調整したラット肝ミクロソームとコファクターの混合液 (S9-mix) を加え、対数増殖初期の*Salmonella typhimurium* TA100試験菌と共にインキュベーション (pH6.4, 37℃, 60min.) したのち、平板上に流して生育させたヒスチジン非要求性の復帰変異菌のコロニー数を測定し陽性コントロールとした。これに対し、プレインキュベーション時に試料を加えて同様に行い減少した変異菌数を測定し、陽性コントロールに対する減少比率を求めて抑制率とした。

尚、試料の毒性を調べるために変異原試験による生存菌数の測定も同時に行った。

結果及び考察

1、梅果肉及び梅加工品のNDMA変異原性抑制

梅加工品の原料となる青梅及び黄色く熟した梅の果肉部分、加工処理した市販品及び自家製の梅ジャム、塩漬け白梅果肉各10mg、自家製の梅肉エキス2.5mgの水抽出画分、自家製の梅酒・梅シロップ原液についてNDMA50 μ gの変異原に対する抑制の有無を検討した結果、原料青梅・黄色梅果肉、市販品・自家製ジャム、自家製梅肉エキスには抑制効果は全く見られなかったが、梅酒、梅シロップはほぼ100%、塩漬け梅果肉（室温、一か月漬け込み）は65%の抑制効果が見られた（Fig.1）。抑制効果が表れなかった前者は種子を除き処理したものである。顕著な抑制効果のあった後者は種子を含む梅果実を原料に加工処理されたものであることから、種子由来の成分がNDMA変異原抑制に関与しているのではないかと推察される。

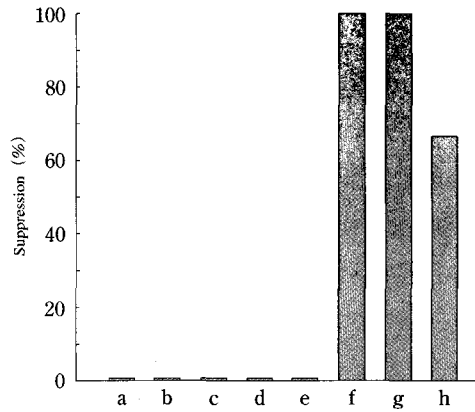


Fig.1 Suppression of NDMA-induced mutagenesis in *S.typhimurium* TA100 with the ume-flesh and the processed ume
 a : flesh of mature-green ume (water extract : 10mg eq. wt./plate)
 b : flesh of mature-yellow ume (water extract : 10mg eq. wt./plate)
 c : ready made ume-jam (water extract : 10mg eq. wt./plate)
 d : home made ume-jam (water extract : 10mg eq. wt./plate)
 e : home made ume-extract (water extract : 2.5mg eq. wt./plate)
 f : home made ume-liqueur (50 μ l/plate)
 g : home made ume-syrup (50 μ l/plate)
 h : home made shiozuke ume (water extract : 10mg eq. wt./plate)

2、梅酒のNDMA変異原性抑制

梅酒について試料濃度を変えて行ったNDMA変異原性抑制効果を見た結果、梅酒原液の10~200倍希釈液はNDMA（50 μ g/plate）の変異原性を用量依存的に抑制し、原液の200倍希釈で40%の抑制率を示した（Fig.2）。梅酒は極めて少量でNDMAの変異原性をほぼ完全に抑制する。梅酒における変異原抑制効果は梅酒製造時に用いられる原材料のアルコールが大きく影響し

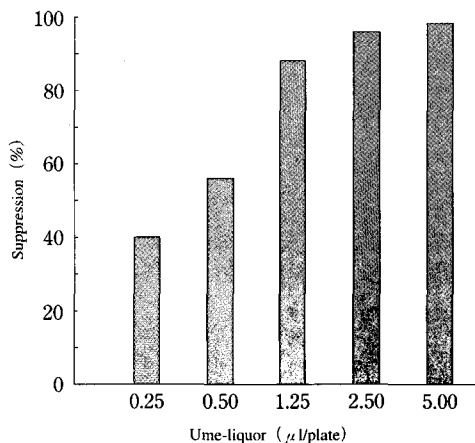


Fig.2 Suppression of NDMA-induced mutagenesis in *S.typhimurium* TA100 with the ume-liqueur

ていることは前報で報告したとおりである。³⁾

種子由来の成分を調べるにはアルコールを完全に除去した試料について実験する必要がある。

3、梅シロップのNDMA変異原性抑制

種子を含む梅果実に砂糖を加えて滲出してきた果汁つまり梅シロップについて試料添加濃度を変えてNDMA変異原抑制効果を見た結果、NDMA50 μ gの変異コロニー数は試料添加量の増加と共に減少し、抑制率は試料添加量の増加と共に上昇していることから、NDMAの代謝活性化による変異原抑制を認めた (Tab.1、Fig.3-a、Fig.3-b)。

梅シロップは室温 (25~28℃) で数日間保ち、製品としたもので漬け込み期間中に酵母によるアルコール発酵が起っていた可能性があり、かすかにアルコール臭が感じられたことからアルコールによる抑制効果が大きく影響していることも考えられる。アルコールが生成しない状態の梅シロップ試料について再実験の必要がある。

Tab.1 Suppressive effects of the ume-syrup on NDMA-induced reversion in *S.typhimurium* TA100

Dose of ume-syrup (μ l/plate)	Number of revertants per plate					Suppression (%)
	Plate No.			Mean \pm SD	None	
	1	2	3			
None(negative control)	130	119	108	119 \pm 11	0	
NDMA(positive control)	2722	3182	2921	2942 \pm 231	2823	0
NDMA +ume-syrup 2.5	2056	2604	2321	2327 \pm 274	2208	22
NDMA + 5.0	1512	1498	1582	1531 \pm 45	1412	50
NDMA + 10.0	698	685	665	683 \pm 17	564	80
NDMA + 12.5	615	603	576	598 \pm 20	479	83
NDMA + 25.0	391	354	378	374 \pm 19	255	91
NDMA + 50.0	156	150	135	147 \pm 11	28	99

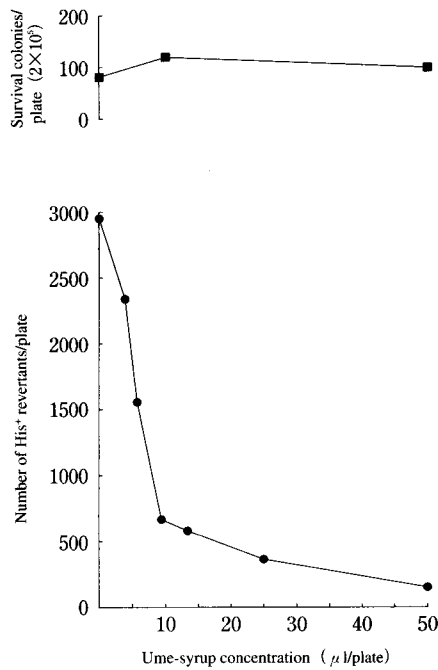


Fig.3-a The effects of increasing concentrations of the ume-syrup on NDMA-induced mutagenesis in *S.typhimurium* TA100

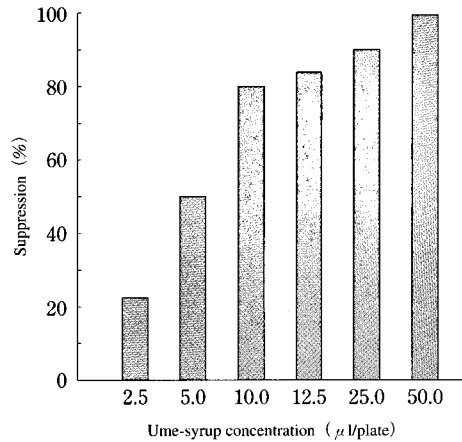


Fig.3-b Suppression of NDMA-induced mutagenesis in *S.typhimurium* TA100 with the ume-syrup

4、塩漬け梅のNDMA変異原性抑制

種子由来のNDMA変異原抑制作用を調べる為、種子を含む梅果実を原料にその製造工程に全くアルコールが関与しない梅加工品として「塩漬け梅」について変異原抑制実験を行った。

塩漬け梅は赤紫蘇と共に漬け込んだ紅梅漬けが一般的であることから始めに、紫蘇で赤く染まった梅についてNDMA変異原抑制作用の有無を見たところ、漬け汁（紅梅酢）・紅梅果肉共に高い抑制率を示した。しかし、紫蘇の葉自体にも抑制作用が見られたので紫蘇を使わない塩漬け白梅を実験材料とした。

塩漬け白梅果肉2.5mg、5.0mg、10.0mgの水抽出画分についてNDMA変異原抑制を見た結果、試料濃度の増加と共に変異コロニー数は減少し、試料の増加に比例して抑制率が高くなっていることから、紫蘇の葉の影響を受けない塩漬け白梅果肉に於いてもNDMAの代謝活性化による変異原抑制効果を認めた (Tab.2、Fig.4-a、Fig.4-b)。

種子を除去した原料梅果肉や梅加工品に見られなかったNDMA変異原抑制作用が種子ごと漬け込んだ塩漬け梅果肉に認められたことは種子中に含まれる成分が梅果肉に移行して

Tab.2 Suppressive effects of the shiozuke ume on NDMA-induced reversion in *S.typhimurium* TA100

Dose of water extract of Shiozuke ume (mg eq.wt./plate)	Number of revertants per plate				Suppression (%)	
	Plate No.			Mean±SD		None
	1	2	3			
None(negative control)	125	106	139	123 ± 17	0	
NDMA(positive control)	3158	2656	2869	2894 ± 252	2771	0
NDMA + 2.5	2103	1856	2144	2034 ± 156	1911	31
NDMA + 5.0	1709	1841	1970	1840 ± 131	1717	38
NDMA + 10.0	1457	1632	1605	1565 ± 94	1442	48

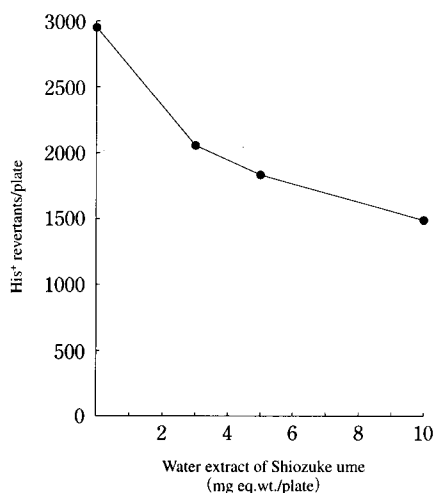
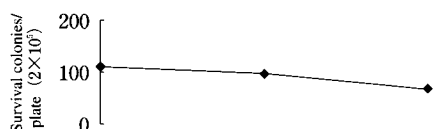


Fig.4-a The effect of increasing concentrations of the shiozuke ume on NDMA-induced mutagenesis in *S.typhimurium* TA100

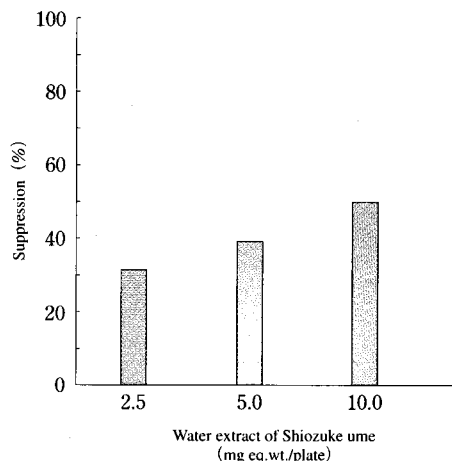


Fig.4-b Suppression of NDMA-induced mutagenesis in *S.typhimurium* TA100 with the shiozuke ume

きたと考えられる。

梅の種子部(胚)には青酸配糖体であるアミグダリンが含まれており、アミグダリンは加水分解酵素アミグダラーゼによりマンデル酸ニトリルとグルコースに分解される。更にプルナーゼ酵素が作用するとベンツアルデヒドとシアンに変化し、ベンツアルデヒドは更に酸化されて防腐効果の強い安息香酸に変化すると考えられている⁷⁾(Fig.5)。梅漬け中に

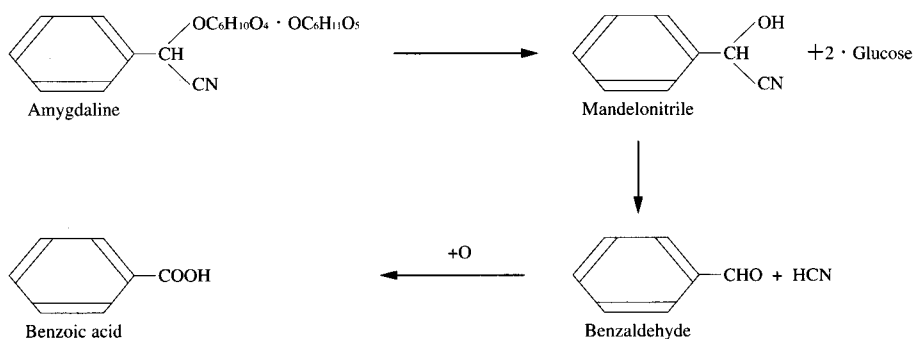


Fig.5 Degradation pathway of amygdaline

実際にこのような酵素反応が起っているかどうかを見るため、酵素作用の温度条件を室温(25~28℃)と冷蔵庫内(3~4℃)に変えて実験を試みた。その結果、室温に置いた漬け梅果肉に抑制効果があったにも拘らず3~4℃の冷蔵庫内に保った漬け梅果肉には抑制効果は全く見られなかった。これは冷蔵庫内の低温ではアミグダリン分解作用が起らなかったことを意味している。アミグダリンの最適pHは5.0であるが、畑中ら⁸⁾はpH2.9の酸性下においても緩慢ながら時間をかければ酵素分解が可能であったと報告していることから梅漬けのような強い酸性下にあっても、適温に長時間保つことにより、アミグダリン分解反応は起こっていると考えられる。

更に梅の漬け込み期間とNDMA変異原性抑制について見た結果、室温に一月置いた漬け梅の抑制率は65%、4か月後では48%、1年後は18%と漬け込み期間が長くなるにつれて抑制率は低下している (Tab.3、Fig6)。漬け込み中にベンツアルデヒドが更に分解、減

Tab.3 Suppressive effects of the shiozuke ume depends on pickling time on NDMA-induced revertation in *S.typhimurium* TA100

Pickling time (month)		Number of revertants per plate					Suppression (%)
		Plate No.			Mean ± SD	None	
		1	2	3			
1	Negative control	125	106	139	123 ± 17	0	65
	Positive control	3210	2965	2789	2988 ± 211	2865	
	Sample	998	1178	1198	1125 ± 110	1002	
4	Negative control	114	98	128	113 ± 15	0	48
	Positive control	3345	3056	3172	3191 ± 145	3078	
	Sample	1624	1768	1746	1713 ± 78	1600	
12	Negative control	125	142	138	135 ± 9	0	18
	Positive control	3245	2978	2789	3004 ± 229	2869	
	Sample	2478	2374	2613	2488 ± 120	2353	

少したことにより、抑制率が低下したと思われる。梅加工品貯蔵中のベンツアルデヒド含有量は貯蔵期間の経過と共に減少したと蜷川ら⁹⁾も報告している。更に確認の為、キシダ化学製、特級ベンツアルデヒド0.5 μ gを抑制効果のなかった冷蔵保蔵した梅酢に加えて同様にNDMA変異原抑制の影響を見たところ、試験菌株に対する毒性を示すことなくほぼ100%の抑制率を示した。

以上のことから塩漬け白梅におけるNDMA変異原抑制効果を誘起する機能性因子は最初から活性をもった形で存在しているのではなく、種子部に含まれる不活性化母物質アミグダリンが酵素により分解されていく途中で出現したベンツアルデヒドによるものであると思われる。

梅の加工品には古くからの梅干しや梅肉エキスを始め、最近には色々な梅加工品が製造されている。とりわけ長期保存性が効く梅干しなどは年数の経ったものほど価値が高いように思われているが、梅における発ガン抑制機能を期待するには種子中に含まれるアミグダリンの分解により生じるベンツアルデヒドを最大限に活かした処理工程、熟成保存期間などを考慮し、摂取することが望ましい。

梅果実には種子由来のアミグダリン分解産物ベンツアルデヒド以外にも抗変異原性、抗酸化機能等を有する種々の活性因子が存在している。著者らは前報³⁾で梅酒漬け梅凍結乾燥品の水抽出画分の酸加水分解物にも高いNDMA変異原性抑制効果が認められたことを報告した。また、堂ヶ崎ら¹⁰⁾は梅仁より得られたヘキササン抽出画分にAF-2変異原性抑制を認め、その本体は不飽和脂肪酸であったと報告し、白坂ら¹¹⁾は梅酒より抗酸化物質を単離し、リオネシノールと同定している。

今後も、尚一層、梅の機能性について科学的に解明され、特定成分の機能性をより生かした梅果実の加工利用がなされることを期待したい。

要約

梅加工品の原料である梅果肉と梅ジャム、梅肉エキス、塩漬け梅の水抽出画分および梅シロップ、梅酒などについてAmes法を用いて変異原物質N-nitrosodimethylamin (50 μ g/plate)に対する変異原抑制効果の有無を検討し、変異原抑制効果を誘起する活性物質の検索を行

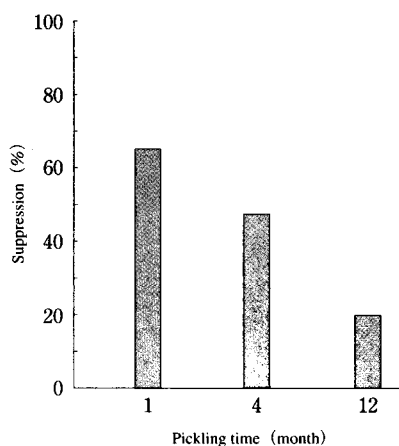


Fig.6 Suppression of NDMA-induced mutagenesis in *S.typhimurium* TA100 with the shiozuke ume depends on pickling time

った。

1. 梅果肉、梅ジャム、梅肉エキスなど種子を除いて処理した梅果肉や梅加工品には抗変異原性は見られなかった。
2. 種子と共に漬け込む梅酒、梅シロップは変異原性抑制作用が見られたが製造過程で含有されるアルコールが著しく影響しているものと思われる。
3. 塩漬け白梅果肉の冷温漬け込み（3～4℃）では抑制効果は見られなかったが、室温漬け込み（25～28℃）では抑制効果が見られた。しかし、漬け込み期間の経過と共に抑制率は減少した。

以上のことから、NDMA変異原性抑制効果を誘起する活性物質として梅の種子部に含まれる青酸配糖体アミグダリンの酵素分解により生じたベンツアルデヒドが関与していることが示唆された。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、アセトン絶食誘導ラット肝S9を提供して下さった古川秀之名城大学名誉教授並びに元大阪市立大学生活科学部 江幡淳子教授に謝意を表します。

文 献

- 1) D.M. Maron and B.Ames: Mutation Res.,113, 173 (1983)
- 2) 「地域資源活用 食品加工総覧Ⅱ」、農文協 (2001)
- 3) 玉置ミヨ子、堀野成代、江幡淳子: 相愛女子短期大学研究論集、49、97 (2002)
- 4) 玉置ミヨ子、堀野成代、: 相愛女子短期大学研究論集、45、23 (1998)
- 5) 江幡淳子他: 日本環境変異学会第21回プログラム要旨集 P.63 (1992)
- 6) J.ebata et al.:Mutat.Res.Suppl.,379, 175 (1977)
- 7) 伊藤三郎編集、「果実の科学」、朝倉書店 (1991)
- 8) 畑中久勝、金田吉男: 食衛誌、26、4 (1985)
- 9) 蟻川トモ子他: 日本家政学会誌、48、4 (1997)
- 10) 堂ヶ崎知格他: 薬学雑誌、112、8 (1992)
- 11) 白坂憲章他: 日本食品工学会誌、46、792 (1999)

