

## 亜熱帯性植物モリンガの生体調節機能評価 Evaluation of the Physiological Function of Moringa

小木曾加奈 Kana Kogiso

**Abstract:** *Moringa oleifera* is the most widely cultivated species of the genus *Moringa*, which is the only genus in the family Moringaceae. The tree is grown mainly in semi-arid, tropical, and subtropical areas. *Moringa* leaves have been used as a herbal remedy from India. It has an impressive range of medicinal uses with high nutritional value. *Moringa* leaf is rich in protein, vitamins and minerals (Met, Cis, Trp, Lys, V.A., beta-carotene, V.C., Ca, Fe, K and etc.)

In this study, we measured the superoxide dismutase (SOD) activity and total polyphenol content of *Moringa* leaf tea. The SOD assay kit WST-1 (Dojindo Molecular Technologies, Inc) was used for the measurement of SOD activity *in vitro* for the *moringa* tea sample. It measured it by using the microplate reader (BIO-RAD Model 550) by 450 nm. The total phenolic content of extracts was determined using the Folin-Denis Method by 700 nm.

As results, *Moringa* tea extract solution had the SOD activation of 64.5%, the content of a total polyphenol of the *Moringa* tea was 9.57 mg/100 ml. The content of the total polyphenol of *Moringa* leaf was 4.107 g/100 g (240  $\mu$ mol/g) in gallic acid equivalents.

**Key words:** モリンガ; *Moringa oleifera* Lamarck; Leaf tea; 抗酸化活性; antioxidant activity; total polyphenol; 食品成分分析; 機能性

### 1、はじめに

モリンガ (*Moringa oleifera*) は、インド原産の亜熱帯性植物である。アジア、アフリカ各国では葉・花・果実が食品として用いられるほか<sup>1-5)</sup>、種子からは油脂が採取され、日本でも近年沖縄で栽培がなされてきている。主に熱帯から亜熱帯にかけ、葉と花を香味野菜として摂食されている。モリンガ葉にはビタミン A や C、 $\beta$ -カロテンを豊富に有し、ミネラルとしてカルシウム、鉄、カリウムが豊富である<sup>6)</sup>。そのような中、筆者は昨年度本紀要にてモリンガ葉の水蒸気蒸留水中に含硫黄成分を含んでいることを報告した<sup>7)</sup>。今回はモリンガの有効利用方法の検討として生体調節機能評価を行うこととした。評価方法としてモリンガ葉について SOD 阻害活性<sup>8-10)</sup>を測定すると共に、総ポリフェノール含量 (Folin-Denis 法)<sup>11,12)</sup>で測定した。またポリフェノールの概要を Tof-MS で分析を行った。以上の結果から亜熱帯性植物モリンガの生体調節機能の可能性について評価した。

### 2、方法

#### (1) モリンガ葉サンプル

モリンガ乾燥葉 0.35 g に熱湯 100℃、150 ml を注ぎ 20 分間抽出した。それをさらにメンブランフィルター (アドバンテック株式会社 アセテートセルローズ 孔径 0.45  $\mu$ m、直径  $\phi$  47 mm) でフィルタリングしたものを原液サンプルとした。

これらを 5 倍容に薄めたものをサンプルとして使用した。

#### (2) SOD 阻害活性分析方法：

各種サンプルにおける Superoxide dismutase (SOD) の活性酸素消去活性を、SOD Assay Kit WST-1 (Dojindo Molecular Technologies, Inc) を用いて測定した。測定方法は測定キットに含まれる Technical Information に従った。

#### I、測定溶液調製方法

WST solution 1 ml を Buffer solution 19 ml で希釈したものを WST working solution とした。Enzyme solution をピペティングにより混合した後、15  $\mu$ l を取り、Dilution buffer 2.5 ml で希釈したも

のを Enzyme working solution とした。

## II、活性酸素消去活性測定手順

96 穴マイクロプレートの各 well に、サンプル溶液 (sample、sample control) もしくは DDW (double distilled water) を 20  $\mu$ l ずつ入れ、WST working solution を 200  $\mu$ l ずつ加えピペティングした。Sample control と blank control の well に Dilution buffer を 20  $\mu$ l ずつ加えた。Sample と blank の well に Enzyme working solution を 20  $\mu$ l ずつ加え、30 秒後にパーソナルインキュベーターに入れて 37℃、20 分間インキュベートした。インキュベート後、27 秒後にマイクロプレートリーダー (BIO-RAD Model 550) を用い、波長 450 nm で吸光度を測定した。阻害率 (%) は下記の計算式に吸光度を代入して算出した。

活性酸素消去活性(阻害率%) =  $\frac{[(A_{\text{blank}} - A_{\text{b.c.}}) - (A_{\text{sample}} - A_{\text{s.c.}})]}{(A_{\text{blank}} - A_{\text{b.c.}})} \times 100$   
で計算を行った。

## (3) 総ポリフェノール含量 (Folin-Denis 法)

測定方法：

総ポリフェノール含量は Folin-Denis 法<sup>11,12)</sup>に準拠し、没食子酸を標準物質として検量線を作成した後、定量を行った。モリンガ茶 5 倍容抽出液 0.4 ml に 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 溶液 0.4 ml、水 3.0 ml、フォーリン試薬 0.2 ml を加えて全量 4.0 ml とし、よく混和後、室温で 30 分間放置し、700 nm における吸光度を測定した。別に没食子酸 (和光純薬製) を標準物質として用い検量線を作成した。全てのサンプルは 2 点作成し、その平均結果から総ポリフェノール含量を算出した。

## (4) LC-MS 測定方法：

Analytical Instruments : Waters Xevo QT of MS  
Column: GL Science Intersil ODS-3 4.6 \* 250 mm  
ColumnTemp. 40 degree

refrigerator ColumnTemp. 10 degree

Elute late : 0.5 ml/min

A : 0.1% V/V formic acid in water

B : 0.1% V/V formic acid in acetonitrile

A : B 90 : 10  $\rightarrow$  B : 10%  $\uparrow$  / 5 min 30 min

B : Elute : 10  $\rightarrow$  60%

## 3、結果

SOD 活性の結果から、モリンガ茶抽出物には 150 ml に 0.35 g、すなわち 2.33 mg/ml で 64.5% の活性酸素消去能が存在した。また濃度勾配を検討し 0.467 mg/ml で 27% の活性酸素消去能が存在した。検量線を引いたところ、以下ようになった (図 1)。この検量線から、モリンガ茶の 50% 活性酸素消去濃度は 1.77 mg/ml であることがわかった。

モリンガ茶 5 倍容抽出液は吸光度が平均 0.089 であった。没食子酸の検量線 (図 2) から、モリンガ茶 5 倍容抽出物には 1.91 mg/100 ml、すなわちモリンガ茶の元の濃度では総ポリフェノール含量は 9.57 mg/100 ml であることがわかった。このお茶は抽出時の濃度であるため、お茶そのものの含量に換算すると、没食子酸換算で 4.107 g/100 g、すなわち、240  $\mu$ mol/g であった。

ToF-MS の結果から、成分の分子組成が明らかになり、ACD MS マネージャーで分子の検討をしたところ、5.004 分にカテキンが、5.5 分にイソフラボンが予想された。また、その他 4 か所でポリフェノール関連の物質 (2-フェニルクロメニウム) が予

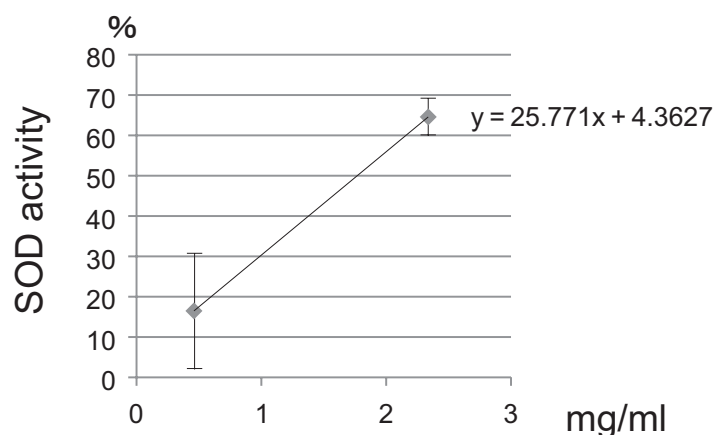


図 1 モリンガ茶における SOD 活性の検量線

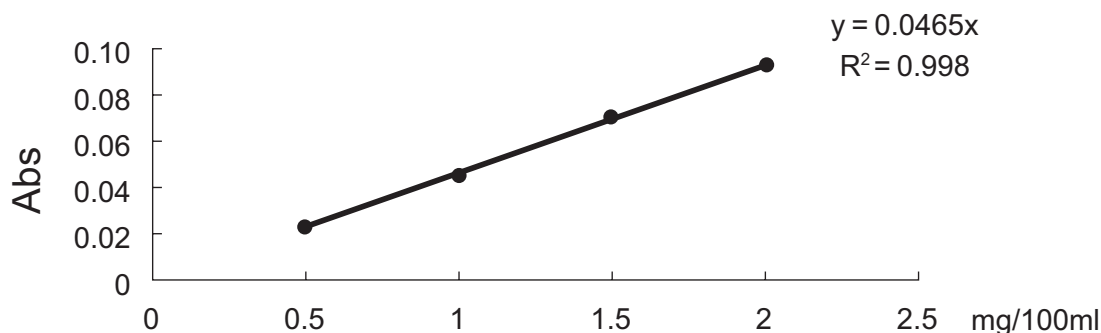


図2 総ポリフェノール含量検量線

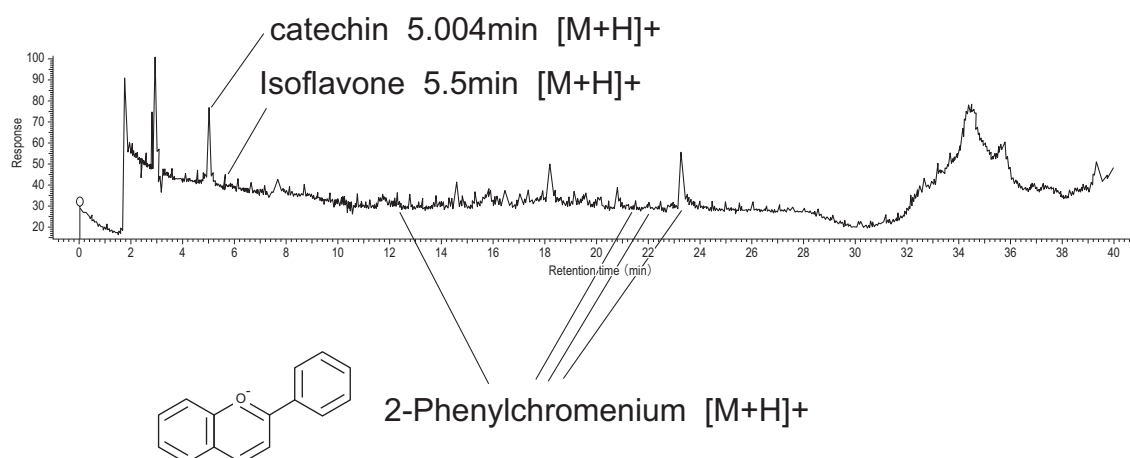


図3 モリンガ茶における ToF-MS の結果と ACD MS マネージャでの分子予想

想された。今後、これらの成分については具体的に成分決定をしたい。

#### 4、考察

今回、亜熱帯性植物モリンガの生体調節機能評価として抗酸化活性を検討した。SOD 活性、総ポリフェノール含量からモリンガ茶はお茶で煮出す濃度 (350 mg/150 ml、すなわち 3.5 g/1.5 L) で抗酸化活性があった。お茶にはポリフェノール類が多く含まれているため、活性酸素消去能があったのではないかと考えられる。なお、今まで報告されていたのは、モリンガ生葉（新葉）での活性酸素消去能である<sup>13)</sup>。この新葉の報告ではビタミンC 含量および全フェノール含量が多いと活性酸素消去能が高いと結論付けていたが、今回は乾燥葉であり、これはむしろポリフェノール類の方が活性酸素消去能を引き出した可能性が高そうである。ビタミンC は加熱などに弱いため、乾燥葉には残りにくいと考えられる。

一方、日本の山野草を検討した文献<sup>14)</sup>によると、ポリフェノール含量が多いほど、抗酸化活性が高い

という文献がある。これらの文献から鑑みるにモリンガ茶も山野草程度のポリフェノールを含んでいることがわかった。

以上のことから、モリンガ葉の熱水抽出物から生体調節機能として抗酸化活性が評価できた。この活性は熱水抽出物を濃縮せず、お茶としての飲用でその可能性が示唆された。

#### 5、謝辞

乾燥モリンガ葉については暮らしっく村株式会社よりお譲り頂きました。本当に感謝申し上げます。また長野県工業技術総合センター食品技術部門加工食品部研究員の唐沢秀行様には ToF-MS 測定にあたり、大変お世話になりました。また ACD MS マネージャにおける分子予想には富士通株式会社 バイオ IT 事業開発本部 古田一匡様にお世話になりました。ここに厚く御礼申し上げます。

#### 6、付記

本研究の実施にあたっては、暮らしっく村株式会

社（千葉県鴨川市北風原 88）より平成 22 年度長野県短期大学受託研究：「亜熱帯性植物モリंगाからの蒸留水およびオイルの有効利用方法の検討」を受けて行ったものである。

## 7、参考文献

- 1) Quattrocchi, Umberto: CRC world dictionary of plant names: common names, scientific names, eponyms, synonyms, and etymology, Volume 3. CRC Press. pp. 1731. ISBN 084932677 X. (2000).
- 2) National Research Council: Lost Crops of Africa: Volume II: Vegetables ISBN 978-0-309-10333-6 (2006)
- 3) Orwa et al.: WORLD AGROFORESTRY CENTER. Agroforestry database. (2009)  
<http://www.worldagroforestry.org/Sites/TreeDBS/AFT/SpeciesInfo.cfm?SpID=1169>
- 4) A. Roloff, H. Weisgerber, U. Lang, B. Stimm: Enzyklopädie der Holzgewächse, Handbuch und Atlas der Dendrologie ISBN:978-3-527-32141-4  
[http://www.wiley-vch.de/books/sample/3527321411\\_kap1.pdf](http://www.wiley-vch.de/books/sample/3527321411_kap1.pdf)
- 5) Kristin Davis: 'The Moringa Tree' by Dr. Martin L. Price, 1985, revised by ECHO Technical Note (2000)
- 6) TOBA SAMUEL ANJORIN I, PIUS IKOKOH AND SIMON OKOLOANJORIN et al.: Mineral Composition of Moringa oleifera Leaves, Pods and Seeds from Two Regions in Abuja, Nigeria. Int. J. Agric. Biol., Vol. 12, No. 3, (2010)
- 7) 小木曾 加奈：亜熱帯性植物モリंगा葉の水蒸気蒸留水について，長野県短期大学紀要，第 65 号，9-12 (2010)
- 8) H. Ukeda, D. Kawana, S. Maeda and M. Sawamura.: Biosci. Biotechnol. Biochem., 63, 485 (1999).
- 9) H. Ukeda, A. K. Sarker, D. Kawana and M. Sawamura.: Anal. Sci., 15, 353 (1999).
- 10) [http://www.dojindo.co.jp/letterj/096/commercial\\_01.html](http://www.dojindo.co.jp/letterj/096/commercial_01.html)
- 11) Folin, O. and Denis, W.: J. Biol. Chem., 22, 305-308, (1915)
- 12) Folin-Denis 法: Appel HM., Govenor HL., D'Ascenzo M., Siska E., Schultz JC.: Limitations Folin assays of foliar phenolics in ecological studies. J. Chem. Ecol. 27: 761-778. (2001)
- 13) Sato, T., Gueco, L.S. and Engle, L. M.: Evaluation of functional properties of Horseradish Tree (Moringa spp.). Kasetsart University, Bangkok, Thailand, 16-19. AVRDC Progress Report 2003 (2002)
- 14) 浦部貴美子, 酒井久仁子, 灘本知憲：野草抽出物の DPPH ラジカル消去活性、日本家政学会 59(11)929-934 (2008)