

## 市販蔬菜・果実の加熱処理液汁のDNA切断活性

野中, 美智子  
九州大学農学部食糧化学教室

古野, 信也  
九州大学農学部食糧化学教室

西山, 和夫  
宮崎大学農学部

篠原, 和毅  
農林水産省食品総合研究所

他

<https://doi.org/10.15017/23308>

---

出版情報：九州大学農学部学藝雑誌. 43 (1/2), pp.55-59, 1989-01. 九州大学農学部  
バージョン：  
権利関係：

## 市販蔬菜・果実の加熱処理液汁の DNA 切断活性

野中美智子・古野信也・西山和夫<sup>1)</sup>  
篠原和毅<sup>2)</sup>・村上浩紀・大村浩久

九州大学農学部食糧化学教室  
(1988年9月13日 受理)

### DNA- breaking Activity of Heat-treated Juices from Vegetables and Fruits in the Market

MICHIKO NONAKA, SHINYA FURUNO, KAZUO NISHIYAMA,  
KAZUKI SHINOHARA, HIROKI MURAKAMI  
and HIROHISA OMURA

Laboratory of Food Science, Faculty of Agriculture,  
Kyushu University, Fukuoka 812

#### 緒 言

近年食品の正常成分でありながら変異原性を示すものがあることが見出され、発癌性と関連して加工食品だけでなく天然食品の安全性についても大きな問題を提供するに至った (Stich *et al.*, 1976)。我々はさきに変異原性物質や発癌性物質に DNA 切断能があることを認め、DNA の損傷が催奇、発癌などの異常現象の要因となることを推定するとともに、*in vitro* ならびに *in vivo* で DNA 切断を確認する試験系を確立し、食品の安全性確認の手法となることを示した (山藤, 1970; 大村ら, 1978)。他方我々は食品の加工、貯蔵ないし調理の過程において起こる代表的褐変反応であるアミノカルボニルの反応の中間生成物も DNA 切断能ならびに突然変異誘起能を有することを認めており、天然食品および加工食品中にはこのような生理活性をもつ未知の化合物が多種多様含まれていることが予想される。そこで本研究においては天然食品、特に市販蔬菜・果実の DNA 切断作用を検定した。

#### 材料と方法

##### 1. 蔬菜・果実の液汁の調製

市販の蔬菜・果実をジューサーで低温粉碎し、液汁を 4°C に一夜放置後、8000 rpm で 20 分間遠心分離し、

その上清を pH 6~7 に調整した。さらに 120°C で 20 分間加熱した後、pH 6~7 に調整し、8000 rpm で 20 分間遠心分離して得た上清を加熱液汁とした。この加熱液汁を 1 M NaOH で 50°C、2 時間処理した後、濃塩酸で pH 6~7 に調整し 8000 rpm で 20 分間遠心分離して得た上清をアルカリ処理液汁とした。また、加熱液汁を 3% HCl で 100°C、150 分間処理した後、10 N NaOH で pH 6~7 に調整し 8000 rpm で 20 分間遠心分離して得た上清を酸処理液汁とした。加熱液汁 2.5 ml をシイタケ由来のフェノールオキシダーゼ 0.4 ml、1 M 酢酸緩衝液 0.6 ml と混合し、37°C で 6 時間保温したものをフェノールオキシダーゼ処理液汁とした。

##### 2. DNA 切断能試験

市販蔬菜・果実の液汁 30  $\mu$ l と 5 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-2.5 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> の緩衝液に溶解した DNA 溶液 (1 mg/ml) 30  $\mu$ l を混合し、37°C で 150 分間保温した。続いて 0.3% プロモフェノールブルー-10  $\mu$ l を加え、0.4  $\mu$ g/ml のエチジウムブロマイドを含む 0.7% アガローススラブゲル中で 20 V、15 mA、12 時間の電気泳動を行なった。但しアガロースは pH 8.6 の 85 mM トリス-2.5 mM EDTA-89 mA ホウ酸緩衝液で溶解した。また DNA の泳動位置は DNA がエチジウムブロマイドと結合して蛍光を発することを利用して測定した。各泳動位置の DNA 量はその蛍光の強さから推定した。そしてこれを対照区と比較することに

1) 宮崎大学農学部

2) 農林水産省食品総合研究所

よつて試料の DNA 切断作用及びその強度を判定した。また泳動終了後、フナ UV ライト照射下に赤色フィルターを用いて DNA-エチジウムブロマイド複合体の写真撮影も行なつた。DNA は仔牛胸腺 DNA および  $\lambda$  ファージ DNA を使用した。

### 結果および考察

カボチャ加熱液汁の仔牛胸腺 DNA 切断作用について経時的変動を調べた。その結果、Fig. 1 のようにカボチャ加熱液汁と DNA 溶液の反応時間が 0.5~5 時間の間で延長するのに伴ない、高分子 DNA が減少し、低分子化された DNA が増加するという傾向が認められた。従つて野菜・果実液汁の DNA 切断能試験において DNA 溶液との反応時間は 2.5 時間とした。

24 種の市販野菜・果実から調製し、共存する DNase を失活させるために加熱処理した液汁について仔牛胸腺および  $\lambda$  ファージ DNA 切断活性を調べた (Table 1 および 2)。その結果、仔牛胸腺 DNA を切断したのはカボチャ、ゴボウ、ナス、シイタケ、ハクサイの白色部分と緑色部分、セロリー、ネギ、ニラ、ホウレンソウ、キュウリ、シュンギク、ピーマン、キャベツ、タマネギ、ニンジン、ナシ、カキ、トマト、ニンニク、ダイコン、ミカンの 21 種であつた。それらの切断作用の強度は相対的にカボチャ、ゴボウ、ナス、キュウリなど 10 種が最も強く、シュンギク、ピーマン、キャベツ、トマトなど 8 種が中程度で、ニンニク、ダイコン、ミカンの 3 種が弱かつた。リンゴ、パイナップル、レモンは仔牛胸腺 DNA を切断しなかつた。またピーマンおよびキャベツは  $\lambda$  ファージ DNA を切断したが、その切断作用の強度は仔牛胸腺 DNA の場合より弱かつた。

一方シュンギク、トマト、ニンニクは  $\lambda$  ファージ DNA を切断しなかつた。このように仔牛胸腺 DNA と  $\lambda$  ファージ DNA の間で切断の程度に差異が

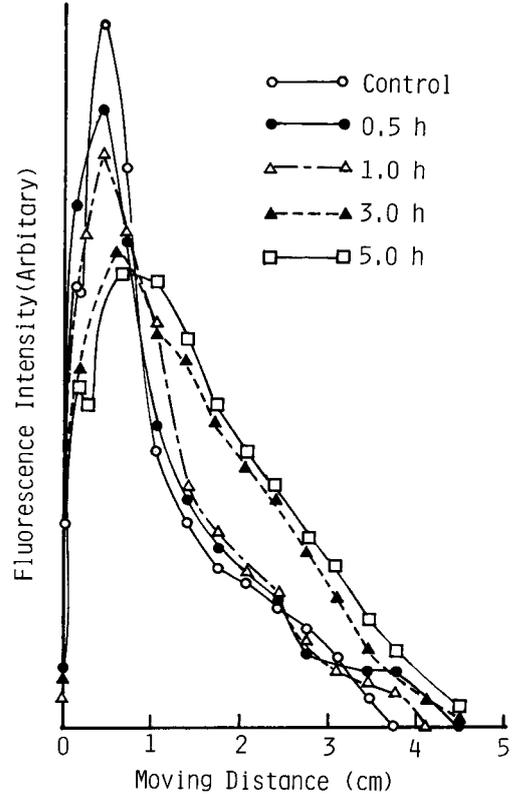


Fig. 1. Time course of DNA-breaking action of pumpkin juice.

Table 1. Breakage of calf thymus DNA by some vegetable juices.

Vegetables	Relative activity	Vegetables	Relative activity
Pumpkin	##	Green pepper	+
Burdock	##	Cabbage	+
Eggplant	##	Onion	+
Shiitake	##	Carrot	+
Chinese cabbage		Pear	+
(White part)	##	Kaki	+
(Green part)	##	Tomato	+
Celery	##	Garlic	+
Welsh onion	##	Radish	+
Chinese leek	##	Orange	+
Spinach	##	Apple	-
Cucumber	##	Pineapple	-
Garland chrysanthemum	+	Lemon	-

見られたのは、前者が所々に単鎖の部分を持つ鎖状の2重鎖構造であるのに対して、後者は環状の2重鎖構造であることが一因であろうと考えられる。

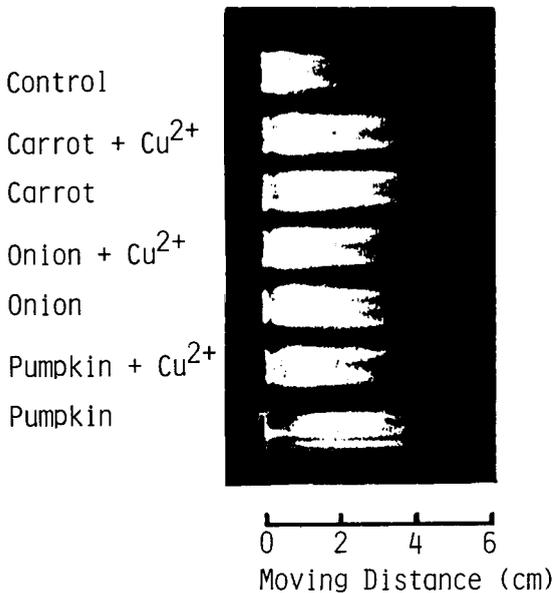
他方、食品中のポリフェノール化合物やレダクトン類のDNA切断作用が $\text{Cu}^{2+}$ の共存によつて助長されることが知られている。そこで野菜の加熱液汁について $\text{Cu}^{2+}$ 共存下におけるDNA切断作用を検討した。ニンジン、タマネギ、カボチャの加熱液汁を $1\ \mu\text{M}\ \text{Cu}^{2+}$ 共存下で仔牛胸腺DNAに作用させた結果、Fig. 2に示した電気泳動パターンのように、いずれのDNA切断作用も $\text{Cu}^{2+}$ の共存しない場合より低下した。さらにカボチャ加熱液汁による電気泳動パターンをデンストメーターで分析し、DNAの泳動距離と蛍光強度すなわちDNA量の関係を調べた (Fig. 3)。その結果、カボチャ加熱液汁の仔牛胸腺DNA切断活性は $1\ \mu\text{M}$

$\text{Cu}^{2+}$ の共存によつて明らかに低下した。同様にしてキャベツ加熱液汁について調べた結果、その仔牛胸腺DNA切断活性は $1\ \mu\text{M}\ \text{Cu}^{2+}$ の共存によつて僅かながら上昇した (Fig. 4)。従つて市販野菜の液汁が有するDNA切断物質には、 $\text{Cu}^{2+}$ 共存によつてその活性が低下するタイプと上昇するタイプがあることが推察された。

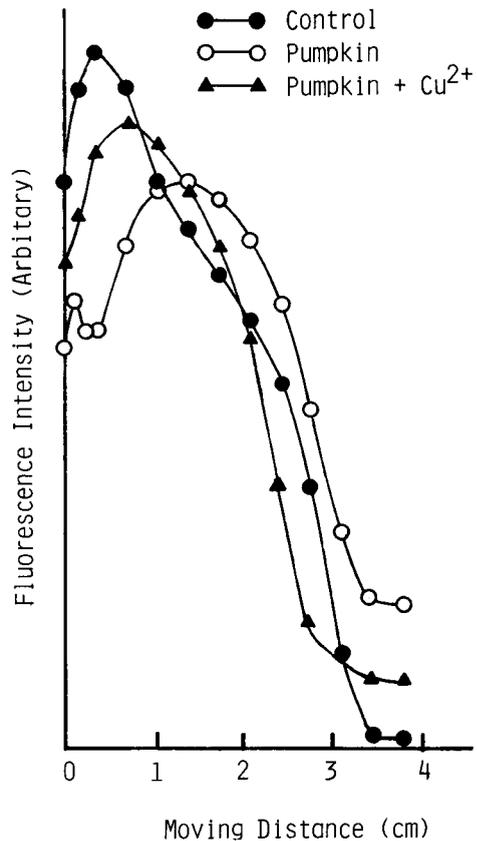
前述のように市販野菜・果実の液汁はDNA切断活性物質を含有することが推定されたが、これらの物質はDNA切断活性を有するアスコルビン酸やポリフェノール化合物等のレダクトン化合物であることが考えられる。そこで市販野菜の加熱液汁をアルカリ、酸、あるいはフェノールオキシダーゼで処理したものについて仔牛胸腺DNA切断活性を調べた (Table 3)。その結果、シュンギク、ピーマン、ニンニク、トマトの加

**Table 2.** Breakage of  $\lambda$ -phage DNA by some vegetable juices.

Vegetables	Relative activity
Green pepper	+
Cabbage	+
Garland chrysanthemum	-
Tomato	-
Garlic	-



**Fig. 2.** DNA-breaking action of some vegetable juices in the presence or absence of  $\text{Cu}^{2+}$ .

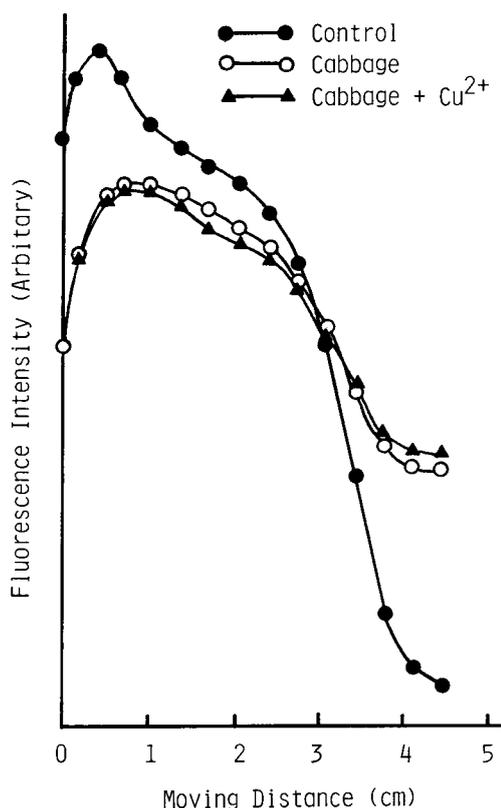


**Fig. 3.** DNA-breaking action of pumpkin juice in the presence or absence of  $\text{Cu}^{2+}$ .

**Table 3.** Breakage of calf thymus DNA by some vegetable juices treated with acid, alkali or phenoloxidase.

Vegetables	Relative activity			
	Untreatment	Acid treatment	Alkali treatment	Phenoloxidase treatment
Pumpkin	##	+	*	*
Garland chrysanthemum	##	+	-	-
Green pepper	##	+	-	-
Garlic	##	+	-	-
Tomato	+	-	-	-
Cabbage	+	-	*	-

\* : not examined

**Fig. 4.** DNA-breaking action of cabbage juice in the presence or absence of  $\text{Cu}^{2+}$ .

熱液汁が有する仔牛胸腺 DNA 切断活性はアルカリ処理によって完全に失活することを認めた。一方、トマト、キャベツの DNA 切断活性は酸処理によって完全に失活することを認めた。カボチャ、シュンギク、ピーマン、ニンニクの DNA 切断活性は酸処理によつてわ

ずかに失活するものの維持されることを認めた。従つてシュンギク、ピーマン、ニンニクの加熱液汁はレダクトンのように酸性下では安定でアルカリ性下で失活するような DNA 切断物質を含有することが推察された。またシュンギク、ピーマン、ニンニク、トマト、キャベツの加熱液汁の仔牛胸腺 DNA 切断活性はフェノールオキシダーゼ処理によって完全に失活することを認めた。従つて、これらの野菜加熱液汁の DNA 切断作用にはポリフェノール化合物が関与していることが示唆された。

## 要 約

24 種の市販野菜および果実の加熱処理液汁についてアガローススラブゲル電気泳動法による DNA 切断能試験を行なつた。

1. DNA 切断活性が認められたのはカボチャ、ゴボウ、ナス、シイタケ、ハクサイ、セロリー、ネギ、ニラ、ホウレンソウ、キュウリ、シュンギク、ピーマン、キャベツ、タマネギ、ニンジン、ナシ、カキ、トマト、ニンニク、ダイコン、ミカンであつた。そして DNA 切断活性が認められなかつたのはリンゴ、パイナップル、レモンであつた。

2.  $\text{Cu}^{2+}$  イオンはニンジン、タマネギ、カボチャの DNA 切断活性を減少させたが、キャベツの活性はわずかに増強させた。

3. フェノールオキシダーゼはシュンギク、ピーマン、ニンニク、トマト、キャベツの DNA 切断活性を失活した。

以上のことから、数種の市販野菜・果実はポリフェノール化合物のような DNA 切断活性物質を含有することが示唆された。

## 文 献

Stich, H. F., J. Karim, J. Koropatnick and L. Lo  
1976 Mutagenic action of ascorbic acid.  
*Nature*, 260 : 722-724

山藤一雄 1970 食物・癌・分化. 秀巧社, 福岡.  
大村浩久 1978 レダクトン類に関する研究. 栄養と  
食糧, 31 (1) : 9-26

## Summary

DNA-breaking activity of heat-treated juices from 24 kinds of vegetables and fruits in the market was analyzed by use of agarose slab gel electrophoresis.

1. DNA-breaking activity was detected in the heat-treated juices from pumpkin, burdock, eggplant, shiitake, Chinese cabbage, celery, whelsh onion, Chinese leek, spinach, cucumber, garland chrysanthemum, green pepper, cabbage, onion, carrot, pear, kaki, tomato, garlic, radish and orange, while the activity was not detected in those from apple, pineapple and lemon.

2.  $\text{Cu}^{2+}$  ion decreased DNA-breaking activity of carrot, onion and pumpkin, but slightly enhanced the activity of cabbage.

3. The activity of garland chrysanthemum, green pepper, garlic, tomato and cabbage was inactivated by phenoloxidase.

These findings suggest that some vegetables and fruits in the market contain DNA-breaking substances such as polyphenol compounds.