

平成16年度

食品及び食品加工（調理）物中に含まれる有用抗酸化成分及び抗菌成分の探索

新 藤 一 敏

（日本女子大学家政学部食物学科）

1. はじめに

栽培技術の確立，品種改良，あるいは流通の拡大等により，最近になって目にふれるようになった新しい食材には多くのものがある。このような食材に関しては，それに含有される有用な生理活性成分に関する研究が未だ不十分であることが考えられる。

またこれまでに報告されている生理活性成分は元々食材に存在する物質であり，調理加工等により人工的に作り出される生理活性成分についてはほとんど報告がない。

そこで我々は，最近になって目にふれるようになった新しい食材そのものに含まれる，あるいはこれら食材を油炒めしたことに生じる有用な抗酸化成分，抗菌成分を探索することとした。

なお，抗酸化活性は生体への活性酸素による障害を良く反映し，動脈硬化や虚血性疾患の予防作用を反映すると考えられるラット脳脂質過酸化抑制作用¹⁾を指標とすることとした。

また，抗菌活性としては，食品腐敗の大きな要因となる好気性グラム陽性菌に対する抗菌成分について，代表的なグラム陽性菌タイプカルチャーである*Bacillus subtilis* ATCC 6633を用いて検討することとした。また，レトルト米飯より食品汚染微生物を単離，同定し，抗菌成分のこれら微生物に対する作用についても検討を行ったので，その結果も併せて報告する。

2. 実験方法

2.1 試薬，食材

本研究にはすべて特級グレードの試薬を用いた。食材は，東京都内にて2004年4 - 12月に一般の食料品店で購入した生鮮野菜類を使用した。

2.2 試験した食材，及び食材抽出エキスの調製

生理活性は，黄金タモギ（キノコ），行者ニンニク（ユリ科），セロリアック（セリ科），タアサイ（アブラナ科），ツワブキ（キク科），花ワサビ（アブラナ科），パスピエール（アカザ科）及びミズナ（アブラナ科）の8種類の食材について検討した。

（1）非熱処理食材エキスの調製：各食材200 g 前後を細切後，凍結乾燥した。これをミキサーで粉碎し粉末としたのち，500 ml容ビーカーに入れた。ここにジクロロメタン - メタノール（1：1）溶液0.2 lを加え，室温で1時間攪拌抽出した。抽出液を減圧ろ過後，ろ液を濃縮乾固し，非熱処理食材抽出エキスとした。

（2）熱処理食材エキスの調製：各食材200 g 前後を細切後，凍結乾燥した。これをミキサーで粉碎し粉末としたものをフライパンに入れた。ここに10 mlの植物油を加えて中火で10分間加熱した。その後これらを500 ml容ビーカーに入れ，ここにジクロロメタン - メタノール（1：1）溶液0.2 lを加え，室温で1時間攪拌抽出した。抽出液を減圧ろ過後，ろ液を濃縮乾固した。次に乾固物にヘキサン30 mlを加え超音波処理を行った。20分ほ

ど静置後上清を捨て（脱植物油）、沈殿物を熱処理食材抽出エキスとした。

2.3 ラット脳脂質過酸化抑制評価系

100 mMリン酸緩衝液（pH 7.4）0.6 ml中に、被検試料のメタノール溶液0.05 ml、1 mMアスコルビン酸0.1 ml及び蒸留水0.05 mlを添加し、37℃で5分間のプレインキュベーションを行った。ここにKuboらの方法²⁾により調製したラット脳ホモジネート（2.5%（w/v））を0.2 ml添加することで反応を開始させ、37℃で1時間、振とうしながらインキュベートを行った。その後、0.2 N塩酸中に20%（w/v）トリクロロ酢酸、0.5%（w/v）2-チオバルビツール酸を含む混合液1 mlを上記反応液に添加することで反応を停止した。これを100℃で30分間煮沸処理して発色させ、冷却後、3000 rpmで5分間遠心分離した。遠心分離上清の532 nmでの吸光度を測定した。

被検試料を含まないメタノール溶液での532 nmの吸光度をC（control）とした。またラット脳ホモジネートを添加しない場合の532 nmの吸光度をB（blank）とした。被検試料の吸光度がS（sample）であった場合、 $C - S / C - B$ を計算し、50%阻害値（ IC_{50} ）を求めた。

食品抽出エキスの抗酸化作用検討時には食品0.5 g分のエキス量を含む被検試料を最大濃度、パスピュールからの抗酸化物質の単離には各フラクション濃度を維持した被検試料を最大濃度とし、これを1/2ずつ希釈して試験した。

2.4 抗菌活性評価法

（1）接種用菌液の調製

Nutrient Agar（Difco）プレート上に良く生育した*Bacillus subtilis* ATCC 6633を一白金耳、滅菌したNutrient broth（Difco）培地（5 ml / 試験管）へ植菌し、30℃で24時間振とう培養して、これを接種用菌液とした。

（2）試験ディスクの調製

食材1 g分の抽出エキスをメタノール1 mlに溶解し、これを100 μ lずつペーパーディスク（東洋ろ紙，thick，8 mm）に浸透させた。これを室温で1時間以上乾燥後、使用した。

セロリアックからの抗菌成分の単離にあたっては、各精製画分溶液を100 μ lずつペーパーディスクに浸透させ、室温で3時間以上乾燥後、使用した。

（3）検定

検定用寒天培地はNutrient agarを使用した。オートクレーブで滅菌溶解した培地（100 ml）は、使用直前まで45℃の湯浴中で保存した。これに1接種用菌液を1%になるように添加し、よく攪拌後、10 mlずつクリーンベンチ内にて90 mm径の丸型シャーレに分注した。30分間クリーンベンチ内で放置し表面を乾燥させた後、②で調製したペーパーディスクを寒天上に設置した。

その後30℃のインキュベータ中で24時間培養後、ペーパーディスクの周囲に生じる阻止円の有無を確認した。

2.5 パスピュールからの抗酸化成分の精製

パスピュール53.7 gを細切後、凍結乾燥した。これをミキサーで粉碎し粉末（4.5 g）としたのち、2 l容ビーカーに入れた。ここにジクロロメタン-メタノール（1：1）溶液1 lを加えて、室温で1時間抽出を行った（2回）。抽出液を減圧ろ過し、ろ液を濃縮乾固した。

本抽出物をジクロロメタン-メタノール（1：1）溶液1.0 mlに溶解し、Toyopearl HW40（TOSOH）カラム（直径2.0 cm×長さ30 cm）に負荷して、同溶媒で展開した。溶出液をフラクションコレクターを用いて5.0 gずつ分画した。活性画分を集め濃縮したところ、255 mgであった。本分画をさらに逆相HPLC（カラム：SHISEIDO CAPSELPAC SG（10 mm×250 mm）、溶媒：45%メタノール、流速：3 ml/min、検出：UV254 nm）

にて精製したところ、保持時間13.5分に活性成分が1ピークとして溶出された。

2.6 セロリアックからの抗菌成分の精製

セロリアック2.5 kgを細切後、凍結乾燥した。これをミキサーで粉碎し粉末(256.3 g)としたのち、2 l容ビーカーに入れた。ここにジクロロメタン-メタノール(1:1)溶液1 lを加えて、室温で1時間抽出を行った(2回)。抽出液を減圧ろ過し、ろ液を濃縮乾固した。

本抽出物をジクロロメタン-メタノール(50:1)溶液5 mlに溶解し、silicagel 60 (Merck)カラム(直径3.0 cm×長さ30 cm)に負荷して、同溶媒で展開した。溶出液をフラクションコレクターを用いて10 gごとに分画した。各分画について抗菌活性を試験し、活性を示す分画を集め減圧下濃縮乾固した。

本分画をジクロロメタン-メタノール(1:1)溶液1.0 mlに溶解し、Toyopearl HW40 (TOSOH)カラム(直径2.0 cm×長さ30 cm)に負荷して、同溶媒で展開した。溶出液をフラクションコレクターを用いて5.0 gずつ分画することにより、活性成分はTLC上単一スポットに精製された。

2.7 構造解析

分光光度計はHITACHI U-1000を使用した。EI-MS (Electric Impact - Mass Spectrometry)測定はJEOL JMS-AX505W, NMR (Nuclear Magnetic Resonance)測定はBRUKER AMX400を用いた。

NMRスペクトルは、テトラメチルシランを内部標準として化学シフトを算出した。

2.8 食品汚染微生物の単離及び16SrRNA遺伝子法による同定

(1) 食品汚染微生物の単離

市販のレトルト米飯(殺菌処理済み)を、一般家庭厨房にて電子レンジ処理後開封した。米飯(200 g)を洗浄済みのプラスチック容器に移し替

え、フタをして室温で24時間放置した。その後、このうち10 g前後をクリーンベンチ内で滅菌済み50 ml容ファルコンチューブに移し、ここに滅菌済みの10 mMリン酸緩衝液(pH 7.0)を約3 g/mlとなるように加えた。よく攪拌後、上清50 µlをピペットマンを用いて、Nutrient Agarがコートされている90 mm径シャーレ上に接種した。コーンラージ棒で寒天上に広げたのち、シャーレを30のインキュベータ中で24時間培養した。

(2) 16S rRNA遺伝子の塩基配列決定

単離株のゲノムDNAはインスタジーンDNA精製マトリックス(BioRad)に懸濁し、56度で30分、100度で8分処理した。その後、15,000 rpmで1分遠心し、上清液を単離株のゲノムDNA溶液とした。平石の方法³⁾に従い、得られたゲノムDNAを鋳型として用いて、16S rRNA遺伝子断片をPCR法によって増幅した。

2.9 ファルカリンジオールと食品汚染微生物及び*Bacillus subtilis* ATCC 6633に対する増殖阻害作用

各微生物は1白金耳、500 ml容坂口フラスコ中のLB培地(Bacto Tryptone 1%, Yeast Extract 0.5%, 塩化ナトリウム0.7%) 100 ml (pH6.9)に植菌した。30, 180 rpmにて600 nmにおける吸光度(濁度)が1.5前後となるまで培養を行った。これを被試験化合物(ファルカリンジオール及びソルビン酸⁴⁾(比較対照)、を含むLB培地100 ml(ファルカリンジオールはDMSO300 µl, ソルビン酸は水300 µlに溶解させて添加)に1.0 mlずつ植菌し、1時間ごとに少量サンプリングして600 nmにおける各培養液の吸光度(濁度)を測定した。被試験化合物の最終濃度はファルカリンジオール110 µg/mg, ソルビン酸3,000 µg/mlを最大とし、それぞれ1/3ずつ希釈した5段階の濃度を設定して試験した。被試験化合物を含まない培養液の吸光度は4時間後に1.5前後となったので、ここで実

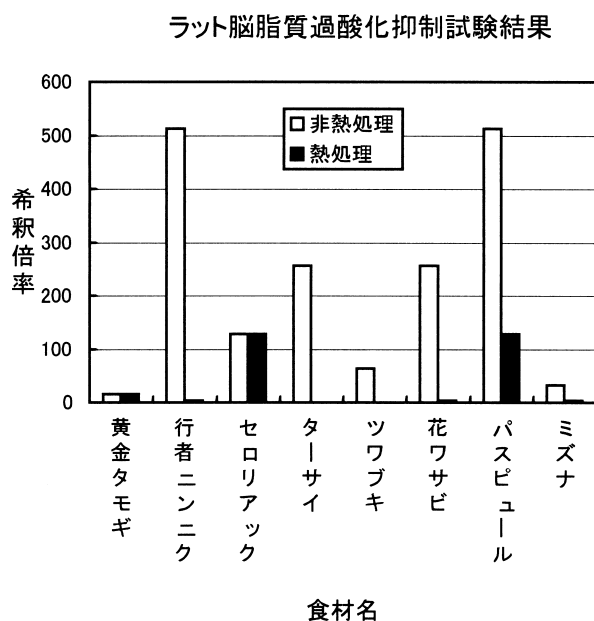


Fig. 1 各食材エキスのラット脳脂質過酸化抑制活性
食材0.5 g 分のエキスを順次希釈して試験し、脂質過酸化を50%以上抑制した希釈率を縦軸として示した。

Table 1 各食材エキスの抗*Bacillus subtilis*活性

食材名	阻止円直径 (mm)	
	非熱処理	熱処理
黄金タモギ	-	-
行者ニンニク	-	-
セロリアック	10	10
ターサイ	-	-
ツワブキ	-	-
花ワサビ	-	-
パスピュール	-	-
ミズナ	-	-

験を終了した。この吸光度をC (control) とした。また無菌状態の培養液の吸光度をB (blank) とした。被試験化合物を含む培養液の吸光度がS (sample) であった場合、 $C - S / C - B$ を計算し、50%阻害値 (IC_{50}) を求めた。

3. 実験結果

3.1 非熱処理及び熱処理食材エキスの抗酸化、抗菌作用の検討

各エキスのラット脳脂質過酸化抑制及び*Bacillus subtilis* ATCC 6633に対する抗菌作用についての検討結果を、それぞれFig. 1, Table 1に



Fig. 2 パスピュール写真



Fig. 3 セロリアック写真

示す。

今回用いた食材に関しては、抗酸化活性、抗菌活性いずれも、熱処理（油いため）による活性の上昇は観察されなかった。このため、今回試験した食材から人工的な生理活性成分の検討は困難と判断した。

食材そのものの抗酸化活性としては、パスピュール及び行者にんにくが強い作用を示した (Fig. 1)。活性成分の予備精製の結果、行者にんにくの抗酸化成分はタンニン様物質と判断されたため、これ以上の検討は中止した。一方、パスピュール (Fig. 2) の活性成分は低分子と判断された。また文献検索の結果、パスピュールに含まれる抗酸化成分の報告は見当たらなかったため、活性成分を単離、構造決定することとした。

食材そのものの抗菌活性としては、セロリアック (Fig. 3) のみが明確な抗菌作用を示した。予

備精製の結果活性成分は脂溶性の低分子と考えられたこと、また文献検索の結果セロリアックに含まれる抗菌物質に関する報告は見当たらなかったことから、活性成分の精製、構造解析を行うこととした。

3.2 パスピュールに含有される抗酸化成分の精製、構造解析

パスピュール53.7 g分の凍結乾燥粉末を溶媒抽出し、抽出液を濃縮乾固して重量を測定したところ4.5 gであった。これをゲルろ過カラムクロマトグラフィー、分取HPLCで精製し、抗酸化物質を単一ピークとすることができた。収量は112.5 mgであった。従って活性物質のパスピュール中の含有量は2.5 g/kg程度であると考えられた。

次に活性物質を重メタノールに溶解し、 ^1H NMRスペクトルを測定した。その結果、 δ 6.75 (d, $J=7.5\text{Hz}$), δ 6.92 (dd, $J=1.5, 7.5\text{Hz}$), δ 7.05 (d, $J=1.5\text{Hz}$)の信号が観測され、1,2,4 - 置換のベンゼン環の存在が確認された。また δ 6.25, δ 7.55に $J=15.0\text{Hz}$ で分裂したdoublet信号が観測され、トランス二重結合が1組存在することが判明した。さらに δ 2.0 - δ 5.30にかけて互いにカップリングした糖様の信号も観測された。以上の構造的特徴を有し、かつ抗酸化活性を有する物質としては、クロロゲン酸⁵⁾ (Fig. 4) が考えられた。そこで標品の ^1H NMR測定、HPLC分析を行ったところ、完全に活性物質と一致した。この結果から、活性物質をクロロゲン酸と同定した。

3.3 セロリアックに含有される抗菌成分の精製、構造解析

セロリアック2.5 kg分の凍結乾燥粉末を溶媒抽出し、抽出液を濃縮乾固して重量を測定したところ19.4 gであった。次にこれをシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製した。抗菌活性を有する分画を集め濃縮乾固したところ、重量は3.3 gであった。本分画をさらにゲルろ過カラムクロマト

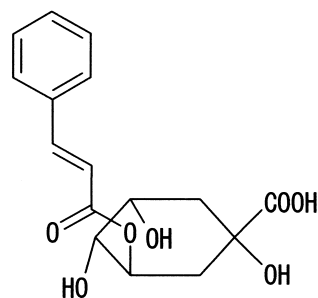


Fig. 4 クロロゲン酸構造

グラフィーを用いて精製し、抗菌活性化合物をTLC上単一スポットとすることができた。収量は230.5 mgであった。従って活性化合物のセロリアック中の含有量は100 mg/kg程度であると考えられた。

次に活性化合物のNMR解析(重クロロホルム中)を実施した。 ^1H NMRスペクトルでは、その積分値より22個分の信号が観測され、 ^{13}C NMRスペクトルでは計17本の信号が観測された。次に ^1H - ^1H COSY (Correlation Spectroscopy), HMQC (^1H Detected Multiple Quantum Coherence) スペクトルを測定して各 ^1H , ^{13}C 信号間の相関を検討した結果、活性物質には2組の二重結合が存在し、1つはエキソメチレン(C-1, C-2)で sp^3 メチン(C-3)と結合していること、もう一つはシス型($J=10.6\text{Hz}$)の二重結合(C-9, C-10)で sp^3 メチン(C-8)及びn-ヘプチル基(C-11~C-17)と結合していることが明らかとなった。また4本の4級炭素の化学シフト(δ 68.2, δ 69.7, δ 78.2, δ 79.6)から、2組の三重結合(C-4~C-7)が存在することも明らかとなり、以上で活性化合物を構成するすべての炭素の性質が判明した。ここまでで明らかとなった部分構造の組み合わせを考えると、2組の三重結合は連続しており、その両端が2つの sp^3 メチン(C-3及びC-8)と結合していることが強く示唆された。これはHMBQ(^1H Detected Multiple Bond Connectivity)スペクトルでH-3からC-4へ、H-8からC-6、

C - 7¹H - ¹³C遠隔スピン結合が観測されたことから支持され、活性物質の炭素骨格のつながり（C - 1 ~ C - 17）が完全に明らかとなった。判明した炭素骨格を有する化合物をCASデータベースで検索した結果、ファルカリンジオール⁶⁻⁸⁾（Fig. 5）（IUPAC名1,9 - heptadecadiene - 4,6 - diyne - 3,8 - diol, (3S, 8S, 9Z) - ）という化合物が登録されていた。観測された¹H, ¹³C NMRデータはファルカリンジオールの文献値⁸⁾と非常に良く一致した。またEI - MS（*m/z* 242に[M（C₁₇H₂₄O₂）⁺ - H₂O]ピーク⁸⁾, [α]_D²²（+251°（Et₂O, *c* 0.5））⁷⁾も文献値と良く一致したことから、活性物質をファルカリンジオールと同定した。

3.4 クロロゲン酸のラット脳脂質過酸化抑制活性

クロロゲン酸のラット脳脂質過酸化抑制活性を測定した結果、IC₅₀値は、34 μMであった。なお比較対照として測定したカテキン、α - トコフェロールのIC₅₀値は、それぞれ5.8 μM, 13.6 μMであった。

3.5 ファルカリンジオールの食品汚染微生物に対する抗菌活性

（1）食品汚染微生物の単離、同定

レトルト米飯汚染微生物の単離を実施したシャーレ上には約60個の微生物コロニーが観察された。肉眼的には乳白色の比較的大きい（直径2 - 3 mm）コロニーと、白色の小さな（直径1 mm以下）コロニーの2群に大別された。そこで各群のコロニーを一つずつ選択し、16S rRNA遺伝子に

よる同定を行った。

それぞれのコロニーについて、16S rRNA遺伝子断片をPCR法を用いて増幅し、911塩基、893塩基の塩基配列を決定した。得られた配列を用いてDNA Data Bank of Japan（DDBJ）及びRNA Database Project II（RDPII）の2種類のデータベースに対して相同性検索を行い、最も近縁な配列を検索した。その結果、乳白色大コロニー株は*Bacillus megaterium*、白色小コロニー株は*Microbacterium foliorum*が最も類似性が高かった。そこで、各種の基準株の16S rRNA遺伝子配列を用いて、塩基配列の類似度を計算した。その結果、乳白色大コロニー株は、*Bacillus megaterium* IAM 13418^Tの16S rRNA遺伝子の塩基配列（DDBJアクセッション番号、D16273）と、99.4%（894塩基 / 899塩基一致）、白色小コロニー株は、*Microbacterium foliorum* DSM 12966^Tの16S rRNA遺伝子の塩基配列（DDBJアクセッション番号、L37596）と、99.4%（868塩基 / 873塩基一致）の類似度を示した。厳密な同定にはそれぞれの基準株との更なる比較が必要であるが、16S rRNA遺伝子配列が99%以上の相同性を示す場合、同種である可能性が高いので、乳白色大コロニー株は*Bacillus megaterium*、白色小コロニー株は、*Microbacterium foliorum*と同定した。共に好気性のグラム陽性菌であった。

（2）ファルカリンジオールの食品汚染微生物及び*Bacillus subtilis* ATCC 6633に対する増殖阻害作用

ファルカリンジオールの一部グラム陽性菌及び糸状菌タイプカルチャーに対する抗菌作用はすでに報告されている⁹⁾。しかしながら実際の食品汚染微生物にどの程度の抗菌作用を示すかについての報告はない。そこで今回得られた食品汚染微生物（*Bacillus megaterium*, *Microbacterium foliorum*）

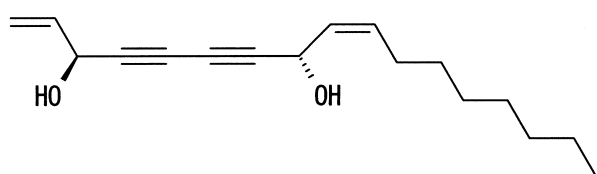


Fig. 5 ファルカリンジオール構造

Table 2 ファルカリンジオールは*Bacillus megaterium*, *Microbacterium foliorum*, *Bacillus subtilis* 増殖阻害活性

	<i>Bacillus megaterium</i>	<i>Microbacterium foliorum</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
ファルカリンジオール	30 µg/ml	70 µg/ml	70 µg/ml
ソルビン酸	740 µg/ml	2100 µg/ml	690 µg/ml

の増殖に対する作用を検討することとした。また、探索に用いた*Bacillus subtilis* ATCC 6633の増殖に対する作用も比較検討することとした。これら微生物を含むLB培地にファルカリンジオールを濃度別に添加して、食品腐敗微生物の増殖に与える影響を観察した。比較対照としてはソルビン酸を用いた。結果をTable 2に示す。ファルカリンジオールは検討した微生物の増殖を、ソルビン酸と比較して1/10～1/30の濃度で抑制した。

4. 結論と考察

今回の研究で、パスピュール中に強い抗酸化活性、セロリアック中に抗*Bacillus subtilis*作用が存在することを始めて見出した。さらに活性物質を精製、構造解析した結果、それぞれクロロゲン酸、ファルカリンジオールが活性本体であることを明らかとした。いずれも既知の物質であるが、これらの物質がそれぞれの食材に含まれることも、今回が初めての報告である。

パスピュールはアカザ科に属する野菜であり、塩味が強く、サラダや炒めものに利用される食材である。中に含まれるクロロゲン酸は植物に広く分布する物質であり、抗酸化作用の報告⁵⁾も存在する。今回の研究の結果、パスピュールはクロロゲン酸を多く含むことが明らかとなった。

セロリアック (*celeriac*, *Apium graveolens* L. var. *rapaceum* (Mill.) DC.) は根セロリとも呼ばれ、我々が通常食すセロリ (*celery*, *Apium graveolens* L. var. *dulce*) とは同一植物 (セリ科) の変種の関係にある。セロリアックはその根部を食す食材であり、セロリと同様の風味を有し、主

にゆでてサラダ等に利用されている食材である。

ファルカリンジオールはセリ科の植物間に分布することが知られており、身近な食品としてはニンジン中にも含まれることが報告されている^{8,9)}。セロリアックもセリ科に属する植物であるが、我々の知る限りでは、セロリアックにファルカリンジオールが含まれていることは、今回が初めての報告である。

ファルカリンジオールには今回指標とした抗*Bacillus*作用以外にも、抗カビ作用¹⁰⁾、神経細胞保護作用¹¹⁾などの有用な生理活性が報告されている。また今回の研究では、ファルカリンジオールは食品の保存料として利用されているソルビン酸と比較して、食品腐敗微生物に対しより低濃度で有効性を示すことも明らかとすることができた。

クロロゲン酸やファルカリンジオールは一般の食品に含まれており、我々が既に日常的に摂取してきた天然化合物であるため、安全性は高いことが期待される。今後さらに詳細な検討を行い、有用な活用の可能性を探っていきたい。

また今回探索した食材中には見当たらなかったものの、調理加工により生ずる生理活性成分が存在する可能性は少なからずあると考えている。今後、様々な食材での検討を継続していきたい。

謝 辞

本研究に対し、多大の御助成を下さいました浦上食品・食文化振興財団に厚く御礼申し上げます。

付 記

ファルカリンジオールに関する研究は、日本家

政学会誌 (Vol.57 No.4 , 209 ~ 214 (2006)) に掲載された。

文 献

- 1) 新藤一敏, 増井直子, 山田祐子, 浅野雅子, 中村良子 : ひね生姜中の抗酸化成分の分離・同定およびその耐熱性について, 日本家政学会誌, 55 (5), 375-380 (2004)
- 2) Kubo, K., Yoshitake, I., Kumada, Y., Shuto, K., and Nakamizo, N.: Radical Scavenging Action of Flunarizine in Rat Brain *In Vitro*, *Arch. Int. Pharmacodyn.*, 272 (2) 283-295 (1984)
- 3) 鈴木健一郎・平石明・横田明 (編), 微生物の分類・同定実験法—分子遺伝学・分子生物学的手法を中心に, シュプリンガーフェアラーク東京, 48-64 (2001)
- 4) 新村壽夫, 食品添加物の生化学と安全性 - 腸内細菌の作用 -, 地人書館, 152-158 (1979)
- 5) Kono, Y., Kobayashi, K., Tagawa, S., Adachi, K., Ueda, A., Sawa, Y., and Shibata, H.: Antioxidant activity of Polyphenolics in Diets. Rate Constants of Reactions of Chlorogenic Acid and Caffeic Acid with Reactive Species of Oxygen and Nitrogen, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1335 (3) 335-342 (1997)
- 6) Malcom, S., K.: Falcarindiol: an Antifungal Polyacetylene from *Aegopodium Podagraria*, *Phytochemistry*, 17 (5) 1002 (1978)
- 7) Lemmich, E.: Peucedanendiol, a New Acyclic Diterpenoid from *Peucedanum oreoselinum*, *Phytochemistry*, 18, 1195-1197 (1979)
- 8) Czepa, A., and Hofmann, T.: Structural and Sensory Characterization of Compounds Contributing to the Bitter Off-Taste of Carrots (*Daucus carota* L.) and Carrot Puree, *J. Agric. Food Chem.*, 51 (13) 3865-3873 (2003)
- 9) Lund, E. D., and White, M. J.: Polyacetylenes in Normal and Water-Stressed 'Orlando Gold' Carrots (*Daucus carota*) *J. Sci. Food Agric.*, 51, 507-516 (1990)
- 10) Satoh, A., Narita, Y., Endo, N., Nishimura, H.: Potent Allelochemical Falcarindiol from *Glehnia littoralis* F. Schm., *Biosci. Biotech. Biochem.*, 60 (1) 152-153 (1996)
- 11) Min, K., J., Lee, P., Son, D., Kim, H., and Yeou, K. S.: Falcarindiol Inhibits Nitric Oxide-Mediated Neuronal Death in Lipopolysaccharide-Treated Organotypic Hippocampal Cultures, *Neuroreport*, 14 (15) 1941-1944 (2003)

Research for antioxidant and antimicrobial compounds contained in raw or fried edible materials

Kazutoshi Shindo

(Department of Food and Nutrition, Japan Women's University)

We researched antioxidant (inhibitory activity toward lipid peroxidation of a rat brain homogenate) and antimicrobial (growth inhibitory activity on *Bacillus subtilis*) compounds contained in raw or fried edible materials, which became familiar in recent years. As the results, we isolated chlorogenic acid as antioxidant compound from perce pierre (*Salicornia europaea* L.) and falcarindiol as antimicrobial compound from celeriac (*Apium graveolens* L. var. *rapaceum* (Mill.) DC.) Chlorogenic acid was identified by the direct comparison of ^1H NMR spectrum and HPLC with an authentic sample. The structure of falcarindiol was determined by EI-MS and NMR spectral data (1D (^1H - and ^{13}C -NMR) and 2D (^1H - ^1H COSY, HMQC and HMBC) As far as we know, this is the first report on the presence of chlorogenic acid in paspule, and falcarindiol in celeriac.

The IC_{50} value of chlorogenic acid in rat brain homogenate model was $34\ \mu\text{M}$ (catechin $5.8\ \mu\text{M}$)

Two microbes (*Bacillus megaterium*, and *Microbacterium foliorum*) were isolated and identified as the food contaminants, and the antimicrobial activities of falcarindiol on these microbes were tested. Falcarindiol showed more potent antimicrobial activities compared to sorbic acid, which is used as a food additive.