

# 食品の機能性に関する研究

## —SOAC分析法の検討—

徳田正樹・山本展久・佐野一成  
食品産業担当

# Research of Function of the Food

## —Examination of Single Oxygen Absorption Capacity (SOAC) Assay Methods—

Masaki TOKUDA・Nobuhisa YAMAMOTO・Kazunari SANO  
Food Industry Section

### 要 旨

食品の抗酸化能に着目した商品開発や技術相談に対応するため、農産物・食品の主要な抗酸化物質であるカロテノイドの抗酸化能評価法であるSOAC法について、当センターでの評価体制の整備および評価技術の確立を目的として、農業・食品産業技術総合研究機構 食品研究部門が作成した「SOAC分析法（プレートリーダー測定法）」（以下手順書）<sup>(1)</sup>に基づき分析を行った。また、トマトの抗酸化活性についての検討も、併せて実施した。

カプサンチンを標準物質として検討した結果、室間共同試験（以下室間試験）の結果と比較しても、精度良く再現性の高い分析が実施できていた。また、マイクロプレートのサンプル位置によるSOAC値の変動は許容できる範囲であることが確認された。

トマトのSOAC値は、収穫時期により大きく異なっていた。同じ灌水条件でも、2.7～3.7倍の開きがあった。また、灌水多量区（pF1.6）のトマトの方が、概ねSOAC値が高い傾向であった。さらに、トマトの色相（a/b値）とSOAC値の関係について検討した結果、灌水多量区（pF1.6）のトマトに相関はほとんど見られなかった。通常灌水区（pF2.0）では、若干の相関関係が見られたが、相関係数は0.384と低かった。

### 1. はじめに

生活習慣病や多くの疾病に、生体内での酸化反応によるストレスが関与していることが広く知られるようになり、抗酸化能を有する食品への関心が高まっている。

食品に含まれる抗酸化物質は、生体内で発生する過剰な活性酸素を除去し、生体成分の酸化を防ぐことによって、健康の維持・増進に役立つと期待されており、その活性を数値化するための様々な方法が開発されてきた。

当センターで研究を続けてきたH-ORAC法も抗酸化能評価法の1つで、大手食品企業や大学、国立研究機関により設立されたAOU（Antioxidant Unit）研究会において、抗酸化能評価の標準手法として検討が重ねられてきた。<sup>(2), (3), (4), (5)</sup>

今回、H-ORAC法では評価できなかったカロテノイド系抗酸化物質についても、SOAC法による評価が可能となり、手順書がH29年3月末に公開された。<sup>(6), (7)</sup>

消費者や食品企業からは、抗酸化能測定値の表示に対する期待が高まっている。今後、抗酸化能を有する食品の生活習慣病の予防効果や摂取目安量などを明らかにするためには、食品に含まれる抗酸化物質の総量を数値化することが重要であり、当センターでのSOAC法による評

価技術の確立と評価体制の整備が必要である。<sup>(8), (9), (10), (11)</sup>

これにより、多様な食品の抗酸化能評価が可能となり、抗酸化能を指標とした農水産物・加工食品の高付加価値化・ブランド化や技術相談への対応に活用できる。

そこで、本年度は手順書に基づき分析を実施することで、分析の再現性や正確性について検討することとした。

併せて、大分県農林水産研究指導センター（以下農林研究センター）で栽培、収穫したトマト（みそら64：赤採りトマト）のSOAC法による抗酸化能評価を行うこととした。

### 2. 実験方法

#### 2.1 分析試料

手順書作成にあたって実施された室間試験で用いられたカプサンチンを試料とした。

カプサンチン4.8mgを測定溶媒（クロロホルム50：エタノール50：重水1）で溶解し、10に定容したものを使用した（使用濃度8.16  $\mu$ M）。

#### 2.2 SOAC法

手順書に準じて分析を行った。

24 穴マイクロプレート（アイテックサイエンス社製）を用い、プレートリーダー（DTX880 型、ベックマン・コールター）にて測定を行った。

### 2.3 トマトの SOAC 法による抗酸化能評価

#### 2.3.1 供試材料

農林研究センターで灌水開始点（pF1.6, 2.0）の異なる条件で栽培されたみそら 64（赤採りトマト）を時期別に採取し、24 サンプルを供試した。

トマトは、へたを取り、可食部をミキサーで破碎後、液体窒素で凍結し、真空凍結乾燥を行った。凍結乾燥品はブレンダーで粉碎し、測定に供するまで-30℃で保管した。

#### 2.3.2 抽出液の調製

乾燥粉末 0.25g に測定溶媒 10ml を加え、超音波洗浄槽で冷水中 5 分処理した後、遠心分離（1,600×g, 10min）し上清と沈殿物を分離した。沈殿物に溶媒を加え、同じ操作を 4 回繰り返し、得られた上清を 50ml に定容し測定試料とした。<sup>(12)</sup>

#### 2.3.3 色調

乾燥粉末の色調を、分光測色計（CM-3500d, KONICA MINOLTA）を用いて測定した。

## 3. 結果及び考察

### 3.1 SOAC 法による分析結果の解析

カプサンチンの測定値の解析結果を Table 1 に示した。

Table 1 SOAC 法による測定値の解析結果

試料名	カプサンチン（室間試験）	
測定回数	4	—
分析点数	11	—
平均値 (mol α-Toc/mol)	126.9	129.6
標準偏差(mol α-Toc/mol)	7.4	9.7
変動係数 (%)	5.8	—
真度充足率 (%)	100	—
精度充足率 (%)	100	—

4 回の測定で 11 点の測定値を得た。得られた測定値を解析した結果、平均値 126.9 mol α-Toc/mol、標準偏差 7.4 mol α-Toc/mol、変動係数 5.8%であった。室間試験の結果と比較しても、精度良く再現性の高い分析が実施できていることがわかった。

また、全ての測定値が、手順書による真度（カプサンチンの室間試験での平均値±室間再現標準偏差の 2 倍：129.6±19.4mol α-Toc/mol）および精度（Z スコア<2： $Z = | \text{カプサンチンの測定値} - \text{カプサンチンの測定値の平均値} | \div 9.7$ （室間試験での中間標準偏差））を満たしており、分析の信頼性も充分であると考えられる。

H-ORAC 法の分析では、測定するレーンにより、ORAC 値が大きくなったり小さくなったりすることがわかっており、当センターの機器で、各レーン間の測定値にどの程度の変動があり、その変動が許容できる範囲にあるか解析を行った。SOAC 法についても、サンプルの位置による変動が許容できる範囲かどうか、同様に解析を行った。各サンプル位置での測定値の解析結果を Table 2 に示した。

サンプル位置	平均値 (mol α-Toc/mol)	標準偏差 (mol α-Toc/mol)	変動係数 (%)	P-値
1	132.0	6.1	4.6	0.224
2	124.7	3.6	2.9	
3	123.0	10.6	8.6	

Table 2 各サンプル位置毎の測定値の解析結果

一元配置分散分析の結果、P-値は 0.224 であった。有意水準を 5%に設定した場合、サンプル位置による有意差はなかった。

以上の結果より、サンプル位置による SOAC 値の変動は許容できる範囲であることが確認された。

### 3.2 トマトの抗酸化活性

分析に使用した試料と凍結乾燥の結果を Table 3 に示した。

新鮮物の水分含量は、いずれも 94%前後であった。

Table 3 凍結乾燥結果

灌水開始点	収穫日	入手日	新鮮物水分 (%)	凍結乾燥粉末水分 (%)	1g新鮮重相当量(g)
pF1.6	7/24	7/26	94.39	14.30	0.0654
		7/31	8/2	93.74	14.81
	8/17	8/23	93.74	16.09	0.0746
		8/21	8/23	93.64	14.84
	8/31	9/6	93.87	15.23	0.0724
		9/4	9/6	93.74	13.34
	9/26	9/27	94.82	12.91	0.0594
		10/10	10/11	94.27	12.93
	10/17	10/18	94.28	12.23	0.0651
		10/24	10/25	94.67	12.88
	11/1	11/8	94.03	14.81	0.0701
		11/6	11/8	94.63	14.43
	(平均値)			(94.15)	(14.07)
pF2.0	7/24	7/26	94.34	14.18	0.0660
		7/31	8/2	93.65	14.35
	8/17	8/23	93.10	15.58	0.0818
		8/21	8/23	93.80	15.50
	8/31	9/6	92.73	15.66	0.0862
		9/4	9/6	93.33	13.65
	9/26	9/27	94.64	13.85	0.0622
		10/10	10/11	94.17	12.62
	10/17	10/18	94.42	11.71	0.0632
		10/24	10/25	94.95	13.16
	11/1	11/8	95.33	15.50	0.0553
		11/6	11/8	93.79	12.90
	(平均値)			(94.02)	(14.05)

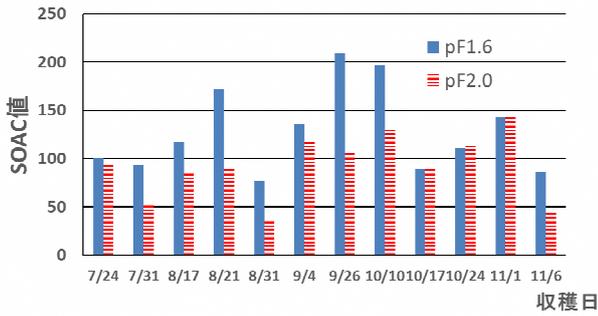


Fig.1 トマトの SOAC 値

収穫時期別に SOAC 法により抗酸化活性の測定を行った結果を Fig.1 に示した。また、測定値の解析結果を Table 4 に示した。SOAC 値は、収穫時期により大きく異なっていた。同じ灌水条件でも、収穫時期により SOAC 値は 2.7~3.7 倍の開きがあった。また、灌水多量区 (pF1.6) のトマトの方が、概ね SOAC 値が高い傾向であった。

栽培方法との関連については、今後さらに検討を重ねる必要がある。

Table 4 トマトの SOAC 値の解析結果

灌水開始点	分析点数	平均値 (mol α-Too/mol)	標準偏差 (mol α-Too/mol)	変動係数 (%)	最大値	最小値
pF1.6	12	127.5	44.25	34.70	208.5	76.8
pF2.0	12	92.4	39.42	36.16	142.4	39.3

トマトの色相 a/b 値が、着色程度の指標となるという報告<sup>(13)</sup>があることから、a/b 値と SOAC 値の関係について解析を行った結果を、Fig. 2, 3 に示した。

灌水多量区 (pF1.6) のトマトに相関は、ほとんど見られなかった。通常灌水区 (pF2.0) では、若干の相関関係が見られたが、相関係数は 0.384 と低かった。

今回、トマトの色調と SOAC 値には、明確な相関は確認できなかった。これは、分析に用いた抽出液が、H-ORAC 法の抽出方法に準じて調製したものであるため、SOAC 値に影響を及ぼす抗酸化物質を十分に抽出できていない可能性がある。今後、様々な食品の SOAC 値を測定する際に

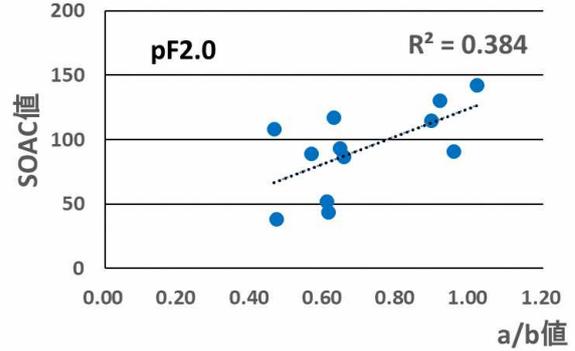


Fig.3 トマトの SOAC 値と色相 (a/b) の関係

は、それぞれの食品に適した抽出方法を検討することが必要になってくると考えられる。

#### 4. まとめ

生活習慣病の予防や健康の維持を目的として、機能性表示食品が多く商品化されるようになり、消費者や食品企業からは抗酸化能測定値の表示に対する期待が益々高まっている。

本研究では、H-ORAC 法では評価できなかったカロテノイド系抗酸化物質の評価が可能な SOAC 法について、当センターでの評価体制の整備および評価技術の確立を行った。

当センターの施設環境で、カプサンチンを標準物質として検討した結果、精度良く再現性の高い分析が実施可能となり、SOAC 法についての分析技術を確立することができた。

併せて、トマトを対象に SOAC 法による抗酸化能評価を行い、色調との関係性について検討したが、明確な相関関係は見られなかった。今後、SOAC 値と簡易評価が可能な成分との相関を明らかにすることができれば、抗酸化能の高い作物の育種や抗酸化能を高める栽培技術の検討等へ活用できる可能性がある。

今回、H-ORAC 法に加え SOAC 法の分析が可能になったことにより、多様な食品の抗酸化能を総合的かつ正確に評価できるようになった。今後、さらに商品開発や品質評価への活用が期待される。

#### 参考文献

- (1) 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 食品研究部門他：SOAC 分析法（プレートリーダー測定法）（2017）
- (2) 食品総合研究所他：H-ORAC 分析法標準作業手順（2013）

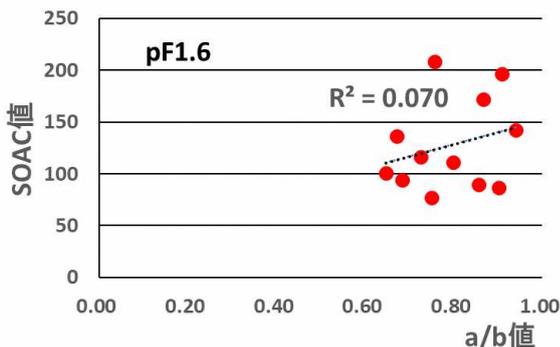


Fig.2 トマトの SOAC 値と色相 (a/b) の関係

- (3) 渡辺純, 沖智之, 竹林純, 山崎光司, 津志田藤二郎, 食品の抗酸化能測定法の統一化を目指して, 化学と生物 (2009)
- (4) 渡辺純, 食品の抗酸化能の統一的評価法の確立を目指して, 食品工業 (2010)
- (5) 津志田藤二郎, 標準となる抗酸化能測定法の選定と抗酸化指標の表示について, 食品と開発 (2010)
- (6) 向井和男, 大内綾, 寺尾純二, カロテノイドの抗酸化能: その評価と測定, 食品と開発 (2010)
- (7) 向井和男, 大内綾, 食品の抗酸化能一重項酸素消去活性評価法 (SOAC 法) の開発, オレオサイエンス (2013)
- (8) 大脇進治, 食品の抗酸化指標「ORAC」分析とその展望, 食品と開発 (2010)
- (9) Watanabe *et. al.* , *Analytical Sciences* (2012)
- (10) 石川祐子, 農産物・食品の抗酸化能評価法開発と測定の意義, 食糧 (2016)
- (11) 石川祐子, 食品素材・成分の抗酸化性, 農水産物機能性活用推進事業報告書 (2009)
- (12) 伊藤秀和, 堀江秀樹, トマトのリコペンの最適抽出溶媒の選定とこれを用いた簡易迅速定量法 (2010)
- (13) 繆冶煉, 堀部和雄, 加藤元保, 青木勝平, 岩井静子 トマト果実の色と食味の関係, 植物工場学会誌, 12 (2000)