

食品の機能性に関する研究

—抗酸化活性の評価と加工処理による変動について—

徳田正樹・山本展久・佐野一成

食品産業担当

Research of Function of the Food

—Evaluation for Antioxidant Activities and Influence of Food Processing—

Masaki TOKUDA・Nobuhisa YAMAMOTO・Kazunari SANO

Food Industry Section

要 旨

県内に農業参入した企業が生産する農産物の抗酸化能を評価することにより、商品の差別化や商品価値の向上を図り、企業の経営安定につなげることを目的として、主力商品であるベビーリーフについて品種別、時期別の抗酸化活性に着目し、品質評価を行った。また、ショウガとカンショについて、加工処理が抗酸化活性に与える影響について検討した。

ベビーリーフは、品種により抗酸化活性に大きな差が認められ、特にレッドサラダが、他の品種と比較して非常に高い抗酸化活性を示した。また、夏季に栽培、収穫されたものの抗酸化活性が高かった。HORAC 値、DPPH ラジカル消去活性、総ポリフェノール含量の各分析値間に、非常に高い相関が見られた。

ショウガでは、圃場の状態により抗酸化活性が変動することが確認された。また、収穫直後より貯蔵後の抗酸化活性が高いことから、貯蔵中に抗酸化成分の増加や変化等が起きている可能性が示唆された。

カンショの抗酸化活性関与成分は皮の部分に多く含まれていることがわかった。また、加熱処理により抗酸化活性の増加が認められた。増加の程度は、「焼き」加工よりも「蒸し」加工の方が大きかったが、わずかな差だったことから、さらなる検討が必要であると考えられる。

1. はじめに

機能性表示食品制度の開始により、かつてないほど機能性食品市場は賑わいを見せており、県内の食品関連企業も大きな関心を寄せている。

当センターでは、今後増加することが予想される機能性に着目した商品開発や技術相談に対応するため、平成 26 年度から 2 年間の研究に取り組み、食品の抗酸化能評価手法である HORAC (Hydrophilic Oxygen Radical Absorbance Capacity: 活性酸素吸収力) 法について、評価体制の整備および評価技術の確立を行った。

食品の抗酸化能を評価することは、農産物や食品のブランド化、高付加価値化にもつながり、抗酸化能に着目した新商品開発にも活用できるため、センターに対する期待も大きい。

そこで、今回、県内に農業参入した企業が生産する農産物の抗酸化活性を評価することにより、商品の差別化や商品価値の向上を図り、企業の経営安定につなげることを目的とした研究課題に取り組むこととした。

本年度は、当該企業の主力商品であるベビーリーフについて検討することとした。

ベビーリーフは、発芽後 10~30 日程度の若い葉菜の総称であり、彩りや味の異なる数種類の葉を混ぜて販売されている。近年、手軽さや健康的なイメージから需要が拡大しており、今後さらに拡大が予想される品目である。

用いられる野菜の種類は様々で特に決まりは無く、彩りが良いように組み合わせられているが、種類は 40 種類を超え、まだ増える傾向にあると言われている。

したがって、どの野菜を選択し、どのように組み合わせる販売するかが、販売戦略の大きなポイントとなる。需要の拡大により大規模経営体の参入も目立つようになり、市場での競争も厳しくなることが予想される。抗酸化活性を 1 つの指標として、商品の品質特性を明らかにすることができれば、市場で有利に販売することも可能になる。

そこで、本研究ではベビーリーフの品種別、時期別の抗酸化活

性に着目して、品質評価を行った。

また、新たに取扱いを開始したショウガとカンショについて、それぞれの抗酸化活性と加工処理が抗酸化活性に与える影響について検討した。

2 実験方法

2.1 供試材料

(有)ワタミファーム臼杵農場で栽培されたベビーリーフ 7 品種を、季節毎に採取し計 14 種類を供試した。また、ショウガは異なる圃場で栽培されたものを用いた。

カンショは豊後大野市産の「べこはるか」を用いた。

ベビーリーフは、入手後速やかに液体窒素で凍結し、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°C で保管した。

ショウガおよびカンショは剥皮、細断後、同様に真空凍結乾燥を行い、粉碎後 -30°C で保管した。

2.2 抽出液の調製

抗酸化活性測定用の抽出液は、乾燥粉末 1g と海砂 5g を混合後、MVA 溶液 (メタノール 90 : 蒸留水 9.5 : 酢酸 0.5) 10ml を加え、超音波洗浄槽で 37°C 、5 分処理した後、遠心分離 (1,600 \times g, 10 分) 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。

総ポリフェノール含量測定用の抽出液は、新鮮物重量 1g 相当量の乾燥粉末に 80%エタノール 2.5ml を加え、10 秒間攪拌後、さらに 80%エタノール 2.5ml を加え、10 秒間攪拌、室温、暗所にて 16 時間静置した後、遠心分離 (3,000rpm, 20 分) し上清と沈殿物を分離した。沈殿物に同様に 80%エタノール 2.5ml を 2 回加え、再度遠心分離により得られた上清を 10ml に定容し測定試料とした。

2.3 加工処理

ショウガは、剥皮、細断後、真空凍結乾燥および 60°C で通風乾燥し、粉碎後 -30°C で保管した。また、電子レンジを使用し、500W で 5 分処理したものを真空凍結乾燥し、粉碎後 -30°C で保管した。

カンショは、剥皮、細断後、スチームコンベクション (MIC-5TB3, ホシザキ電機) を使用し、「蒸し」加工は 100°C で 30 分、「焼き」加工は 200°C で 40 分処理したものを真空凍結乾燥し、粉碎後 -30°C で保管した。

2.4 H-ORAC 法

「H-ORAC 分析法標準作業手順書」に準じて分析を行った。

96 穴マイクロプレート (FALCON, #353072) 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。

2.5 DPPH 法

国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 九州沖縄農業研究センターで実施されている方法に準じて、96 穴マイクロプレート (FALCON, #353072) 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。

2.6 総ポリフェノール含量

フォリンチオカルト法により分析を行った。

抽出液のエタノール濃度が 20%を超えない範囲で適宜希釈し、希釈液 1ml にフェノール試薬 (Wako 製市販品の 10 倍希釈液) 5ml を加えた後、8 分以内に 7.5%炭酸ナトリウム溶液 4ml を加え、60 分室温放置後、分光光度計 (V570, 日本分光) で 765nm の吸光度を測定した。

なお、検量線は没食子酸を用いて作成し、総ポリフェノール含量を没食子酸相当量として求めた。

2.7 ミネラル

乾燥粉末 0.5g を白金製蒸発皿に入れ、電気マッフル炉を用い 500°C で灰化した。灰化後、6N 塩酸少量を加え、ホットプレート上で加熱して蒸発乾固させた。さらに、蒸留水を加え加温後、6N 塩酸を適宜加え、塩酸の最終濃度が 0.1N になるように定容した。

Na, K は、原子吸光分析装置 (SOLLAAR S-4, サーモエレクトロン), Mg, Ca, P, Fe, Zn, Mn は、高周波プラズマ発光分析装置 (SPS3520UV-DD, エスアイアイ・ナノテクノロジー) にて測定を行った。

3. 結果及び考察

3.1 ベビーリーフ

3.1.1 抗酸化活性と総ポリフェノール含量

分析に使用した試料と凍結乾燥の結果を Table 1, 2 に示した。栽培日数は全ての品種で 30 日前後であり、新鮮物の水分含量はいずれも 90%前後であった。

Table 1 供試材料

品種名	入手日	播種日	収穫日	栽培日数
ブラックケール	5/23	4/26	5/23	28
切葉レッドケール	5/23	4/26	5/20	25
	6/22	5/4	5/31	28
	12/6	10/31	12/5	36
アイスバーグ	6/2	5/6	5/31	26
	10/25	9/29	10/25	27
レッドサラダ	6/2	6/2	6/21	20
	6/22	5/17	6/20	35
	7/25	6/24	7/25	32
	8/17	7/20	8/16	28
	10/25	9/27	10/25	29
グリーンクリスピー	8/17	7/20	8/16	28
ピノグリーン	12/6	11/8	12/5	28
ミスナ	12/6	11/8	12/5	28

Table 2 凍結乾燥結果

品種名	入手日	新鮮物水分 (%)	凍結乾燥粉末水分 (%)	1g新鮮重相当量(g)
ブラックケール	5/23	88.17	6.04	0.1259
切葉レッドケール	5/23	88.76	4.78	0.1180
	6/22	92.69	7.03	0.0786
	12/6	92.77	3.88	0.0752
アイスバーグ	6/2	95.01	7.52	0.0539
	10/25	94.84	6.85	0.0553
レッドサラダ	6/2	93.77	9.13	0.0686
	6/22	93.29	7.03	0.0722
	7/25	91.20	5.89	0.0935
	8/17	90.62	5.73	0.0995
	10/25	93.50	5.20	0.0686
グリーンクリスピー	8/17	94.34	6.25	0.0603
ピノグリーン	12/6	93.93	4.30	0.0634
ミズナ	12/6	93.21	3.67	0.0704

ベビーリーフの品種による抗酸化活性の差異を評価するため、反応機序の異なるH-ORAC法とDPPHラジカル消去法により測定した。また、抗酸化活性関与成分である総ポリフェノール含量の測定も行った。測定結果をTable 3に示した。品種により、抗酸化活性および総ポリフェノール含量には大きな差が認められた。特にレッドサラダが、他の品種と比較して非常に高い抗酸化活性を示した。アイスバーグ、グリーンクリスピーは活性が低かった。

活性の高かったレッドサラダについて、収穫時期により活性に大きな差が見られたので、一元配置分散分析を行った結果、有意水準を1%に設定した場合、収穫時期により有意差があることが確認された。

さらに、各収穫時期間でH-ORAC値、総ポリフェノール含量についてt検定を行った結果、有意水準1%で有意差が確認され、夏季に栽培、収穫されたものの方が抗酸化活性が高いことが統計的に確認された。

Table 3 ベビーリーフの抗酸化活性

品種名	入手日	H-ORAC値 (μmol TE / g-FW)	DPPHラジカル消去活性 (μmol TE / g-FW)	総ポリフェノール含量 (mg / g-FW)
ブラックケール	5/23	41.52	9.09	2.38
切葉レッドケール	5/23	54.08	8.37	2.19
	6/22	26.39	6.08	1.41
	12/6	28.00	5.88	1.39
アイスバーグ	6/2	20.96	5.25	1.21
	10/25	16.20	3.18	0.77
レッドサラダ	6/2	114.74	31.77	5.19
	6/22	117.38	32.10	5.04
	7/25	196.69	56.60	8.17
	8/17	188.88	54.79	7.43
	10/25	89.95	19.67	3.46
グリーンクリスピー	8/17	11.41	2.99	0.59
ピノグリーン	12/6	23.80	5.03	1.24
ミズナ	12/6	33.40	6.35	1.59

また、各分析値間の相関を検討した結果をFig 1, 2, 3に示した。各分析値間に、非常に高い相関が見られたことから、ベビーリーフの抗酸化活性の主要成分として、水溶性のポリフェノール類が関与していることが確認された。また、抗酸化活性に寄与している成分は、ベビーリーフ類では品種が異なっても

同様の物質なのではないかと考えられた。ベビーリーフ類については、分析が容易な総ポリフェノール含量を測定することで、抗酸化活性を推測できる可能性がある。さらに、DPPHラジカル消去活性が、ORAC値を推定する方法として利用できる可能性も示唆された。

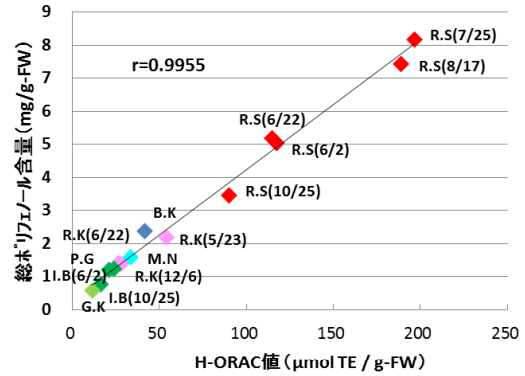


Fig. 1 H-ORAC値と総ポリフェノール含量との関係

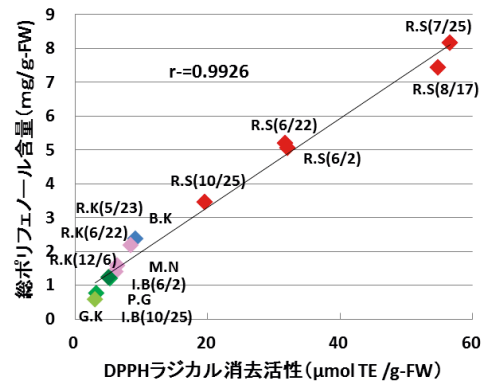


Fig. 2 DPPHラジカル消去活性と総ポリフェノール含量との関係

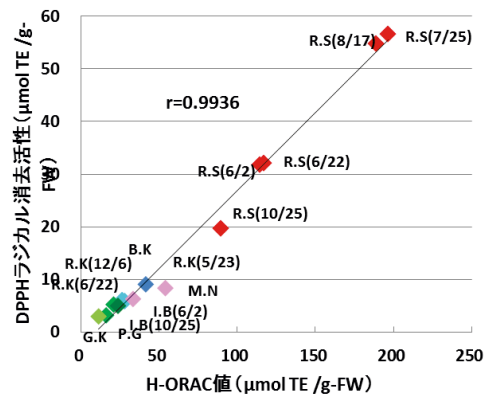


Fig. 3 H-ORAC値とDPPHラジカル消去活性との関係

3.1.2 ミネラル

抗酸化活性と食品成分の関連性の有無を検討するため、ベビーリーフのミネラル分析を行った。測定結果を Table 4 に示した。リーフレタス（日本食品標準成分表）と比較すると、ケール系（ブラックケール、切葉レッドケール）では Mg, Ca が多く含まれていた。また、レタス系（アイスバーグ、レッドサラダ、グリーンクリスピー）、小松菜系（ピノグリーン）、ミズナは、いずれも Mg が多く含まれていたが、その他の成分はリーフレタスと同様の傾向を示した。

以上の結果から、抗酸化活性とミネラル分の明確な関連性については認められなかった。

Table 4 ベビーリーフのミネラル分

品種名	入手日	Na	K	Mg	Ca	P	Fe	Zn	Mn
(mg/100g-FW)									
ブラックケール	5/23	16	510	87	345	44	0.2	0.7	0.60
切葉レッドケール	5/23	6	650	67	236	49	0.1	0.5	0.40
	6/22	5	428	48	176	37	1.1	0.4	0.23
アイスバーグ	12/6	6	436	37	150	37	0.1	0.3	0.34
	6/2	5	424	20	64	19	0.1	0.3	0.28
レッドサラダ	10/25	3	488	23	57	19	0.3	0.3	0.41
	6/2	4	447	23	62	27	1.7	0.4	0.56
	6/22	5	559	26	56	31	0.7	0.5	0.31
	7/25	9	622	38	107	23	1.4	0.4	0.44
	8/17	11	732	35	95	24	0.8	0.4	0.79
グリーンクリスピー	10/25	5	569	24	54	30	0.7	0.3	0.45
	8/17	4	515	28	87	19	0.2	0.3	0.46
	12/6	4	388	27	107	47	0.5	0.4	0.26
ミズナ	12/6	3	335	24	144	44	0.8	0.4	0.23
リーフレタス(参考)		6	490	15	58	41	1.0	0.5	0.34

3.2 ショウガ

3.2.1 栽培圃場の影響

圃場条件による抗酸化活性の変動について検討した。異なる圃場で栽培されたショウガの分析結果を Table 5 に示した。OT25.4 の圃場で栽培されたショウガの活性が他の圃場のものと比較してかなり低かった。OT25.4 での収量が、他の圃場と比較して 4~6 割程度と圃場の状態が悪かったことから、圃場の状態により生産物の抗酸化活性が大きく変動することが確認された。このことは、同一品目、同一品種のものであっても、圃場の状態を改善することにより抗酸化活性を高めることができる可能性を示唆している。

Table 5 異なる圃場で栽培されたショウガの抗酸化活性

材料名(圃場番号)	H-ORAC値 ($\mu\text{mol TE/g-FW}$)	DPPHラジカル消去活性 ($\mu\text{mol TE/g-FW}$)	総ポリフェノール含量 (mg/g-FW)
ショウガ(OT28)	20.05	8.43	1.71
ショウガ(OT38)	22.10	10.84	1.86
ショウガ(OT25.4)	14.79	4.95	0.87
ショウガ(OT20, 2015年産)	15.86	5.95	2.00

抗酸化活性との関連性を検討するため、ミネラル分析を行った結果を Table 6 に示した。日本食品標準成分表と比較すると、K, P, Fe が多く含まれていた。OT25.4 はミネラル分全体の量も大幅に少なく、内容成分が薄いのではないかと考えられた。

Table 6 ショウガのミネラル分

材料名(圃場番号)	Na	K	Mg	Ca	P	Fe	Zn	Mn
(mg/100g-FW)								
ショウガ(OT28)	3	446	29	15	52	1.0	0.3	1.20
ショウガ(OT38)	3	394	21	17	38	2.5	0.3	1.17
ショウガ(OT25.4)	2	179	12	6	19	0.2	0.1	0.85
ショウガ(OT20, 2015年産)	3	437	31	14	35	1.1	0.3	4.57
ショウガ(食品成分表)	6	270	27	12	25	0.5	0.1	5.01

3.2.2 乾燥方法及加熱処理の影響

乾燥方法及加熱処理による抗酸化活性の変動について検討した。乾燥方法の違いによる分析結果を Table 7 に示した。t 検定を行った結果、有意水準 1% で乾燥方法の違いにより H-ORAC 値に有意差があることが確認された。また、総ポリフェノール含量には有意水準 5% で有意差があることが確認された。DPPH ラジカル消去活性に有意な差は認められなかった。

Table 7 乾燥方法の異なるショウガの抗酸化活性

材料名(乾燥方法)	H-ORAC値 ($\mu\text{mol TE/g-FW}$)	DPPHラジカル消去活性 ($\mu\text{mol TE/g-FW}$)	総ポリフェノール含量 (mg/g-FW)
ショウガ(凍結乾燥)	15.47	4.90	1.31
ショウガ(60°C乾燥)	12.13	5.02	1.26

加熱処理の影響について検討した結果を Table 8 に示した。15 年産のショウガで、加熱することにより抗酸化活性が増加することが統計的に確認された。また、収穫直後より貯蔵後のショウガの抗酸化活性が高いことから、貯蔵中に抗酸化成分の増加や変化等が起きている可能性が推察された。

いずれの結果も統計的には有意差が確認されたものの、その差はわずかであることから、今後さらに検討を重ねる必要がある。

Table 8 加熱処理・貯蔵が抗酸化活性におよぼす影響

材料名(収穫年・処理法)	H-ORAC値 ($\mu\text{mol TE/g-FW}$)	DPPHラジカル消去活性 ($\mu\text{mol TE/g-FW}$)	総ポリフェノール含量 (mg/g-FW)
ショウガ(2015年)	20.05	8.43	1.47
ショウガ(2015年, 加熱)	22.10	10.84	1.84
ショウガ(2016年)	14.79	4.95	1.24
ショウガ(2016年, 加熱)	15.86	5.95	1.30

3.3 カンショの抗酸化活性におよぼす加熱処理の影響

カンショの各部位別および加熱処理による影響について検討した結果を Table 9 に示した。

カンショの抗酸化活性関与成分は皮の部分に多く含まれていることがわかった。また、加熱処理により抗酸化活性の増加が認められた。増加の程度は、「焼き」加工よりも「蒸し」加工の方が大きかったが、わずかな差だったことから、さらなる検討が必要であると考えられる。

Table 9 加熱処理が抗酸化活性におよぼす影響

材料名(部位・処理法)	H-ORAC値 (μ mol TE /g-FW)	DPPHラジカル消去活性 (μ mol TE /g-FW)	総ポリフェノール含量 (mg/g-FW)
カンショ(皮・生)	50.73	13.64	1.07
カンショ(皮付き・生)	11.46	3.23	0.46
カンショ(皮なし・生)	5.10	1.05	0.30
カンショ(皮なし・蒸し)	8.96	3.25	0.45
カンショ(皮なし・焼き)	7.11	2.61	0.37

4. 今後の計画

ベビーリーフについては、7品種について抗酸化活性の評価を行い、その品質特性を明らかにすることができたが、特に抗酸化活性の高かったレッドサラダについて、引き続き、時期別、年次別の変動について検討する。また、他の品種や新たな品種についての検討も併せて実施する。さらに、圃場や栽培方法等の違いがおよぼす影響についても検討していきたい。

ショウガについては、貯蔵中に抗酸化活性が変動することが示唆されたことから、貯蔵期間との関連性について明らかにしたいと考えている。

さらに、カンショを中心に他の野菜類についても、加熱処理と抗酸化活性との関連性について検討を加えたい。

謝辞

本研究を行うにあたり、試料の提供をしていただいた(有)ワタミファーム臼杵農場 農場長 西岡亨祐氏に心よりお礼申し上げます。

参考文献

- (1) 佐藤和憲：ベビーリーフの需要特性と周年供給ニーズへの対応、野菜情報 (2016)
- (2) 中原採種場(株)HP：ベビーリーフ
- (3) HORTI HP：ベビーリーフとは？
- (4) 食品総合研究所他：H-ORAC分析法標準作業手順 (2013)
- (5) 九州 沖縄農業研究センター：DPPH ラジカル消去活性測定法 (2009)
- (6) 九州沖縄農研報告：リーフレタスのDPPH ラジカル消去成分 (2014)
- (7) 文部科学省他：日本食品標準成分表 (2010)
- (8) 沖智之, 佐藤麻紀, 吉永優, 境哲文, 菅原晃美, 寺原典彦, 須田郁夫, 有色サツマイモのDPPH ラジカル消去能とORAC (活性酸素吸収能), 日本食品科学工学会誌, 56 (2009)
- (9) Watanabe *et al.*, *Analytical Sciences* (2012)
- (10) 佐藤明子, 渡辺純, 後藤真生, 石川(高野) 祐子, Oxygen radical absorbance capacity法によるスモモの抗酸化活性評価, 日本食品科学工学会誌, 57 (2010)
- (11) 山梨県工業技術センター研究報告：地域特産物の抗酸化力向上に関する研究 (2011)
- (12) 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)

(13) 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)

(14) 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)