

食品の機能性に関する研究

—抗酸化活性の関与成分について—

佐野一成・山本展久・徳田正樹

食品産業担当

Research of Function of the Food

-Analysis for Antioxidant Activity-Participating Components-

Kazunari SANNO, Nobuhisa Yamamoto, Masaki TOKUDA

Food Industry Section

要 旨

農林水産物や加工食品の差別化・高付加価値化のバックデータとして、また、機能性表示食品の届出にも必要となる、機能性関与成分の分析技術を確認することを目的に、ベビーリーフ等をモデル試料として抗酸化活性に寄与するポリフェノール類の分離・定量を試みた。リーフレタス類では特徴的な成分であるチコリ酸を多く含み、アブラナ科植物では各成分の含有量は高くないものの、多くの種類のポリフェノール類が含有されることが分かった。また、ショウガのジンゲロール／ジンゲロールの定量分析の可能性について検討した。

1. はじめに

食品の表示をめぐるのは、「消費者に分かりやすい表示」への改正を目指して消費者庁が中心となって取りまとめが行われ、平成27年4月1日に食品表示法／新食品表示基準が施行された。これにより、成分表示が義務化されるとともに、かなりハードルは高いものの科学的根拠に基づいて食品の効果・効能の標榜が可能になる機能性表示食品が新たに規定された。食品に機能性を表示するためには、関与成分の同定と定量分析が必須となっており、県内食品関連企業による機能性表示食品開発を支援するためには、様々な機能性関与成分の分析技術を蓄積し、分析環境を整備することが求められる。

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と連携し、抗酸化性関与成分の分析に取り組むこととした。

今年度は、ベビーリーフ等をモデル試料として成分の分離・同定、定量分析について検討を行った。

2. 方 法

2.1 分析試料

(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。

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℃で保管した。ショウガは剥皮、細断後、同様に真空凍結乾燥を行い、粉碎後-30℃で保管した。

2.2 抽出液の調製

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、20℃、暗所にて 16 時間振とうした後、遠心分離 (4,000rpm, 20 分) し上清と沈殿物を分離した。沈殿物に対して同様に 80%エタノール 2.5ml を 2 回添加・攪拌、遠心分離の操作を 2 回繰り返す、得られたすべての上清を合わせて 20ml に定容して測定試料とした。

2.3 LC 分析

Waters ACQUITY UPLC-PDA-XevoQ-Tof システムに、Waters ACQUITY UPLC HSS-T3 (100Å, 1.8µm, 2.1mm x 150mm) カラムを付し、ギ酸水溶液／アセトニトリルによるグラジエント分析を行った。その他の LC 分析条件は Table 1 のとおり。

Table 1 LC 分析条件

カラム	ACQUITY UPLC HSS-T3 2.1mm x 150mm
カラムオープン	45°C
流速	0.3ml/min
溶離液	A:0.1% ギ酸/水 B:0.1% ギ酸/アセトニトリル
グラジエント	0-1.5min A:99.0 -15min A:99.0 → 70.0% -19min A:70.0 → 5.0%
試料注入量	1μl
PDA 検出器	210-800nm scan/sec 抽出波長 324.729nm
XevoQ-ToF	ソース温度 150°C 脱溶媒 350°C, 800L/min

3. 結果と考察

3.1 LC 分析条件

保有する複数の Waters ACQUITY UPLC カラム (BEH C18, HSS-C18, BEH-Amide) による分析も検討し、ピーク分離の状況から、最も分離が良かった HSS-T3 カラムを選択した。また、カラムサイズについても、100mm のカラムに比べて 150mm のカラムで分離が向上したため、ACQUITY UPLC HSS-T3 (2.1mm x 150mm) を選定した。

3.2 ベビーリーフのポリフェノール類分析

レッドサラダ (RS), アイスバーグ (IB), グリーククリスピー (GC), レッドケール (RK), ブラックケール (BK), ミズナ (MN), ピノグリーン (PG) の 7 品目 14 点からポリフェノール画分を抽出し、LC 分析を行った。RS, IB, GC はレタス (キク科アキノノゲシ属) に、ケール (RK, BK) 及び MN, PN はアブラナ科アブラナ属に分類される。

レタス 3 品種では Fig. 1 に示すように、含有量の差は品種間で大きいものの、検出される成分は比較的少なく、主要な数成分がその大部分を占めていた。同定できた成分の定量結果を Table 2 に示した。①, ②の成分は標準物質を分析して保持時間, MS 分析結果から同定した。③, ④のピークについては標準物質を未入手のため、既報¹⁾ 及び別のケルセチン配糖体との UV スペクトル比較, MS 分析結果等から成分を推定した。定量の結果、特徴的な成分であるチコリ酸の含有量が比較的多く、赤系リーフレタスの RS で特に多くなっていた。RS ではケルセチン-3-マロニルグルコシドと思われる成分も非常に多くなっていた。赤系リーフレタスに含まれると考えられるシアニジン系の化合物は今回の分析試料では明確には検出されていない。

一方、アブラナ科の 4 種では、Fig. 2 に示すようにレタス 3 種と比べて多くの成分が検出されて複雑な組成であることが分かった。現時点では同定できている成分が

ほとんどないため、ピーク面積が含有量を反映していると仮定して比較 (Fig. 3) すると、RS が突出して多く、次いでアブラナ科の 4 種が多かった。アブラナ科の中でもより近縁の MN, PG (アブラナ属ラパ種) は組成が類似している一方で、ケール類 (RK, BK アブラナ属ヤセイカンラン種) では近縁種でも特徴がやや異なっていた。

栽培ロットごとの成分変動について、試料採取回数が最多であった RS を例に見てみると、成分によっては栽培ごとに大きく含有量が変動しているものがあつた。栽培日数や時期、期間中の日照・温度等の影響を受けていると考えられ、同じ品質の作物を出荷するためには、栽培条件と成分顔料との関連を詳細に検討する必要があると思われる。

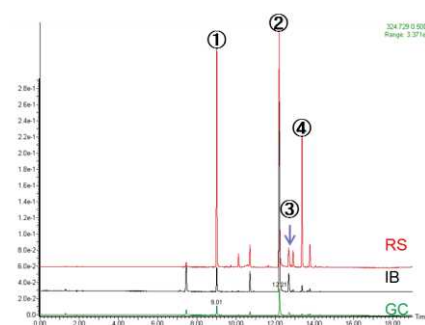


Fig. 1 レタス類 (RS, IB, GC) の分析実施例

Table 2

	RS	IB	GC
①クロロゲン酸	3.66	0.44	0.14
②チコリ酸	3.06	1.33	0.29
③ケルセチングルクロニド	0.68	0.45	0.10
④ケルセチン-3-MG	4.28	0.19	0.04

micro-mol/g-FW

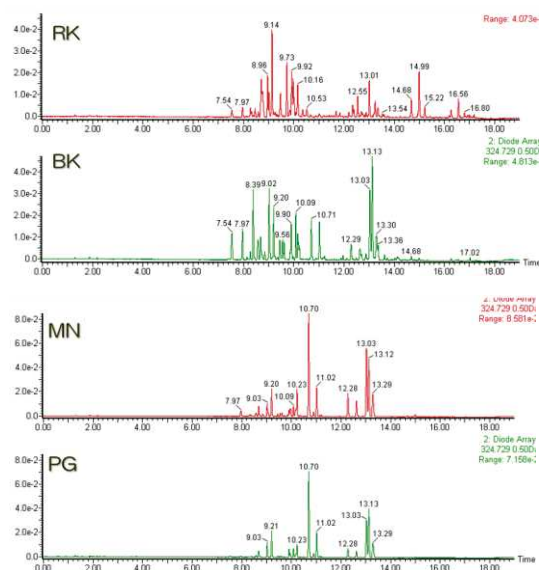


Fig. 2 アブラナ科作物 (RK, BK, MN, PG) の分析実施例

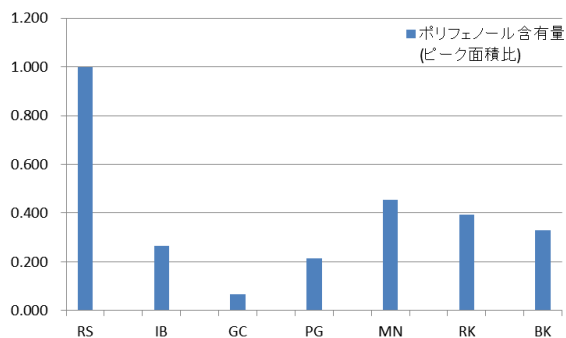


Fig. 3 ポリフェノール含有量の推定 (ピーク面積比)

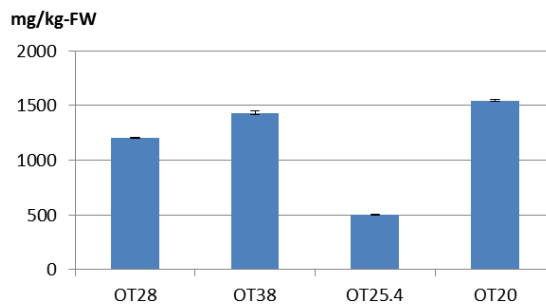


Fig. 6 6-ジンゲロール含有量 (新鮮重当)

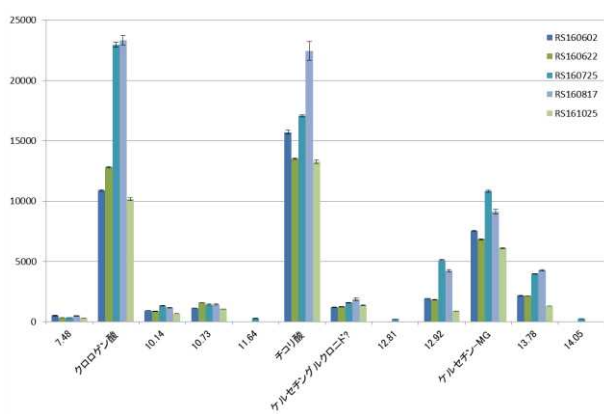


Fig. 4 栽培ロットごとのポリフェノール含有量の変動

3.3 ショウガのポリフェノール類分析

4 圃場で収穫されたショウガについて分析を行った。PDA の抽出波長はショウガの代表的な機能性成分であるジンゲロール及びショウガオール検出を目的として 279.729nm とした。また、ジンゲロール等のほか、ベビーリーフの LC 条件では溶出しにくい成分が多かったため、グラジエント条件も一部変更した。抽出波長での最大のピークは6-ジンゲロールに相当するものであった。

6-ジンゲロールの定量結果を Fig. 6 に示す。今回は定量していないが、微量の6-ショウガオールと思われるピ

ークも検出されている。供試試料の6-ジンゲロール含有量は乾物換算で1.0-1.9g/100g程度で、国産の一般的なショウガの含有量と同程度であった。本分析条件ではカラムへの吸着成分が多く、固相抽出を行っている分析例もあるため、継続的に分析する場合は前処理法を検討する必要がある。

4. まとめ

ベビーリーフのポリフェノール類分析については、リーフレタス類の主要構成成分の定量が可能となった。ピーク面積比、総ポリフェノール量(別報)との比較から、最も含有量の多いレッドサラダの例で全体の70~80%程度が、今回同定できた4成分で占められることが推定された。未同定成分の同定には次年度以降も取り組む予定である。多数のピークが検出されているため、含有成分の定性を進めるためにも、加水分解等によりアグリコンとして評価する手法も検討する。

ショウガのジンゲロール等の分析については、分析カラムへの負荷を軽減するため、試料前処理方法や分析用カラムの検討をする必要がある。また、ショウガの辛さを簡易的に定量評価するニーズがあるため、測定可能な指標で辛さ(ジンゲロール量)と相関が取れるのがないか検討し、ショウガエキスの辛さの簡易評価できる方法を見出したい。

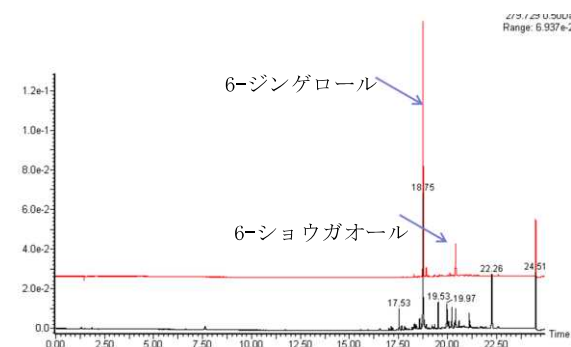


Fig. 5 ショウガ抽出液の分析例

参考文献

- 1) 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)