

食品の機能性に関する研究（第2報）

—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 (2nd Report)

-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立することを目的に、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のほか、クロロゲン酸類やフラボノイド配糖体等が同定され、総ポリフェノール量・DPPH ラジカル消去活性への寄与率を検討した。品種によってポリフェノール類含有量の多寡がある一方で、同品種でも栽培ロットごとにポリフェノール類含有量が大きく変動していることが確認され、生鮮食品として機能性表示を検討するうえでの障壁となり得ることが想定された。

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。本研究ではリーフレタス類を中心とするベビーリーフをモデルケースとして、ポリフェノール(PP)類の分析を行った。本報では、リーフレタス類の分析結果を報告する

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を採取し供試した。H28～29年度の2年間で供試したベビーリーフは計11品目35点、うちリーフレタス類は4品目23点。分析試料一覧をTable 1に示したが、試料の来歴の詳細は別報¹⁾を参照。

ベビーリーフは、入手後速やかに液体窒素で凍結し、真空凍結乾燥後にブレンダーで粉碎し、-30℃で保管されたものを分析試料とした。

Table 1 供試試料一覧

品種名	略称	分類	
レッドサラダ	RS	リーフレタス	キク科アキノゲン属
グリーンクリスピー	GC		
アイスバーグ	IB		
レッドオーク	RO	ケール	アブラナ科アブラナ属
切葉レッドケール	RK		
ブラックケール	BK		
ビノグリーン	PG	コマツナ	
ミズナ	MN	ミズナ	
スイスチャード	SC	フダンソウ	ヒコ科フダンソウ属
ビート(ルビークイン)	BT		
グリーンスピナッチ	GS	ホウレンソウ	ヒコ科ホウレンソウ属

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、ギ酸アンモニウム水溶液/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 2 のとおり。

Table 2 LC 分析条件

カラム	ACQUITY UPLC HSS-T3 2.1mm x 150mm
カラムオープン	45℃
流速	0.3ml/min
溶離液	A:0.1% ギ酸/5mM NH ₄ -formate aq. 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% -20min A:70.0 → 50.0% -24min A:50.0 → 5.0% hold 2min
試料注入量	1μl
PDA 検出器	250-400nm
XevoQ-Tof	Capillary 3.0kV SamCone 23V ExCone 2.5V Source 150℃ Desolvation 350℃, 800L/min

3. 結果と考察

検出された各ピークについて、標準物質との溶出時間及び UV 吸収スペクトルの比較、MS 分析結果及び既報²⁾やデータベース³⁾からの含有情報等をもとに成分の同定を行った。標準物質が入手できなかった成分については、類似の物質を指標として含有量 (モル濃度) を推定した。

リーフレタス類 4 品種では、検出される成分は比較的少なく、共通する主要な数成分がその大部分を占めていた。同定された成分の定量結果 Fig. 1 に示した。定量の結果、クロロゲン酸のほか、特徴的な成分であるチコリ酸が比較的多く含まれていた。品種間で含有量が大きく異なっており、RS の含有量が際立って大きいことがわかる。複数回採取された品種について見ると、同品種でも栽培ロットにより含有量が大き

く変動していることが確認された。栽培ロット間の最大/最小の含有量差は RS で 3 倍以上、GC では 5 倍以上にも達していた。同時に播種し栽培日数のみが異なる RS171212 と RS171218 の比較からは、栽培日数の増加に伴い総 PP 量が増大していると推定され、栽培日数の調整である程度は含有量のコントロールができる可能性が考えられる。赤系リーフレタスの RS 及び RO ではチコリ酸以外にもケルセチン-マロニルグルコシド (MG) と同定された成分も多く含まれており、赤色素のシアニジン-MG も検出された。今回の LC 条件では、シアニジン-MG のピークがかなりブロードになっているため、アントシアン類の分析には条件の再検討が必要である。

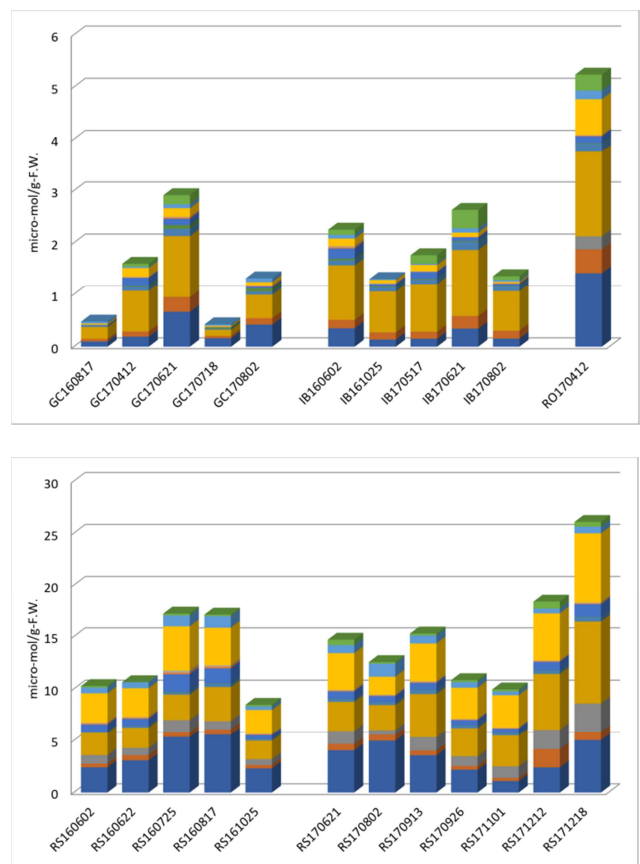
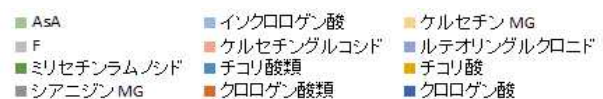


Fig. 2 レタス類のポリフェノール含有量



既報²⁾を参考に係数を乗じて総 PP 量及び DPPH ラジカル消去活性 (DPPH-RSA) を推定し、別に分析されている総 PP 含有量と DPPH-RSA への寄与率についても検討した (Fig. 3)。RS 以外のポリフェノール類含有量の少ない品種ではいずれの寄与率も概ね 3~8 割を占めており、品種間で寄与率の高低はバラつ

きがあるものの、双方の寄与率が連動している傾向が見られた。一方、含有量の多いRSは総PP含有量で概ね7~8割、DPPH-RSAで4~7割程度の寄与率であり、総PP量への寄与率に比べてDPPH-RSAへの寄与率が低い傾向がみられた。これらのことから、①【総PP量測定時にPPとして検出されるものの、LC分析では定量できていない成分】とともに、②【抽出法が異なるDPPH-RSA用試料にのみ抽出される成分】もDPPH-RSAに関与していると考えられるため、DPPH-RSA用の抽出を行った試料のLC分析等を今後実施し、残る関与成分についても検討する必要がある。また、標準物質の抗酸化活性の評価により、寄与率推定の精度が向上すると思われるため、必要に応じて実施を検討する。

4. まとめ

ベビーリーフをモデルサンプルとして、ポリフェノール類の同定・定量分析に取り組んだ。機能性表示を視野に入れた分析では、ある程度の量が含有されているケースが大部分であると考えられるため、含有情報のある主要な成分については、標準物質の入手が可能であれば十分に同定・定量分析が可能であると思われる。各成分の含有量は同品種でも栽培ロット間の変動

が大きく、含有比率も変動しており、生鮮食品として機能性表示を目指すうえで高い障壁となり得ることが伺える結果であった。

機能性に関与する成分が単一でない(エキス等)場合、機能性を表示するためには定量可能な成分の活性への寄与率の評価や、等質性を確認するためのパターン分析も必要となる。今回は未実施であるが、標準物質を用いた抗酸化活性評価を別に実施することにより、活性への寄与率が確認できるほか、溶出パターンにより等質性の確認も可能である。

今後は、アントシアニン類の分析条件についても再検討を行うとともに、ニーズに応じて機能性関与成分の分析について県内企業の機能性表示食品開発等の支援ができるよう取り組んでいく予定。

参考文献等

- 1) センター研究報告：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 - (2016, 2017)
- 2) 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)
- 3) Phenol Explorer: <http://phenol-explorer.eu/>

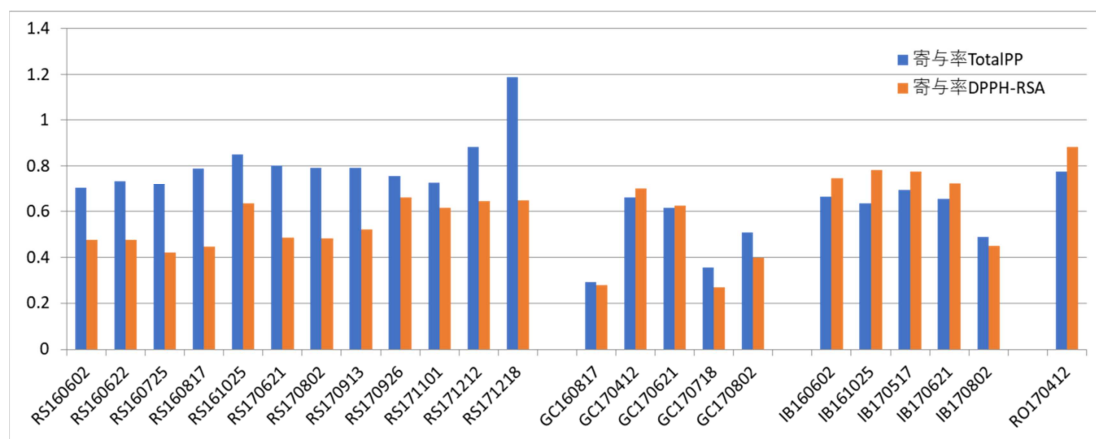


Fig. 3 総PP量/DPPH-RSA 寄与率