

県内植物資源に由来する機能性ポリフェノールの探索

高橋学* 樋口誠一*

Search for Functional Polyphenols from Local Plants

TAKAHASHI Manabu*, HIGUCHI Seiichi*

抄録

埼玉県内で栽培された野菜類の未利用部位を中心として、ポリフェノール含量及び抗酸化能の評価を行った。野菜類未利用部位の中では、茎よりも葉のポリフェノール含量及び抗酸化能が高くなる傾向が認められた。また、ポリフェノール含量と抗酸化能に相関が認められた。評価を行った試料中では、アカメガシワの葉、クリの葉、ビワの葉、サツマイモのベニアカの葉、さらにはオクラの種子の抗酸化能が高く、これらの未利用部位が機能性素材として有効であることが示唆された。

キーワード：ポリフェノール，抗酸化性，野菜，未利用植物資源

1 はじめに

高齢化社会の到来や医療費の増大などの社会的背景から、生活習慣病を予防する必要性がますます高まっている。その予防法として関心を集めているものが、機能性食品である。

機能性食品とは、医薬品とは異なり健康な人が長期間摂取することで病気を予防しようとするものである。そうした機能性食品の中で現在最も多く商品化されているものの一つとしてポリフェノール類が挙げられる。

生体内で発生する活性酸素やフリーラジカル類は、たんぱく質や核酸などの生体成分に損傷を与え、これが動脈硬化、虚血性心疾患などを引き起こすと考えられている。活性酸素の除去などにより、この生体成分の酸化を抑える働きが抗酸化性である。天然の抗酸化物質であるポリフェノール類の摂取による、食生活を通じたこれらの疾病の予防が注目されている¹⁾。

このような背景から、機能性を付与した特色あ

る製品開発を行うため、地域農産物からの新たな機能性をもったポリフェノール類の探索が各地で行われている²⁾⁻⁴⁾。埼玉県が首都圏向けの野菜類の産地であり、多様な野菜類が栽培されているという特色をもつことから、県内で栽培された野菜類に含まれる機能性ポリフェノールの探索を本研究の目的とした。特に、通常は利用されることなく廃棄される、葉を中心とした未利用部位に注目し、それらの有効利用を目的として、ポリフェノール含量と抗酸化性についての評価を行った。

2 実験方法

2.1 測定溶液の調製

各試料は、埼玉県農林総合研究センター園芸研究所及び埼玉県内の量販店、農家から手に入れた。一覧を表1に示す。試料は凍結乾燥後、家庭用ミキサーで粉碎し、測定まで5℃で保管した。

0.2 gの粉碎試料を200 ml三角フラスコに採取し、45 mlの80% (v/v) メタノールを加えた。マグネチックスターラーを使用し、300 rpmで1.5時間、室

* 北部研究所 生物工学部

表1 各試料のポリフェノール (PP)量及び抗酸化能 (n=3)

試料名	部位	PP量	抗酸化能	試料名	部位	PP量	抗酸化能
辛味大根	葉茎	13.0	4.1	ツルムラサキ	葉	8.6	9.3
辛味大根	根	2.3	3.5	ハマボウフウ	茎	8.2	12.0
辛味大根(赤)	根	3.8	4.7	ハマボウフウ	葉	15.0	21.0
サトイモ	葉	16.2	7.5	ネギ(白身)	実	2.3	3.6
サトイモ	茎	2.6	1.7	ピーマン	葉	24.4	50.9
ダイズ(黒豆)	葉	19.0	5.0	ミョウガ	葉	18.6	37.0
ダイズ(茶豆)	葉	14.9	3.9	トマト	葉	14.0	24.7
ミョウガ	茎	0.3	1.3	タンポポ	葉	28.1	4.6
オクラ	実	2.9	4.7	トウモロコシ	皮	1.5	3.1
オクラ	葉	15.6	8.2	ニンジン	葉	25.2	16.5
オクラ	種	68.9	86.5	イチジク	葉	16.3	20.6
ウド	葉	27.6	20.5	クリ	葉	71.1	123.3
サツマイモ				八つ頭(緑茎)	葉	17.2	8.4
秩父太白	葉	29.0	21.5	八つ頭(赤茎)	葉	17.6	7.3
ベニアカ	葉	76.3	82.0	クワイ	葉	22.6	34.6
ベニアズマ	葉	38.4	28.8	クワイ	茎	7.2	5.3
パープルスウィートロード	葉	31.6	25.8	カボチャ	葉	13.8	13.9
ベニアズマ	茎	16.6	16.1	リアスからし菜	葉茎	8.2	2.1
パープルスウィートロード	茎	16.5	15.9	リアスからし菜(緑菜)	葉茎	14.2	5.2
インゲン	実	7.1	21.2	サラダからし菜	茎	3.4	1.9
インゲン	葉	16.8	12.5	野口のらぼう菜	葉茎	11.4	10.7
アカメガシワ	葉	130.7	133.2	野口のらぼう菜	葉	9.9	3.0
ブロッコリー	葉	11.8	2.3	ちりめんのらぼう菜	葉	13.7	10.1
ブロッコリー	茎	7.3	8.2	比企のらぼう菜	葉	16.5	15.5
とうがらし	葉	22.0	12.5	カブ			
ビワ	葉	54.4	103.8	シロカモメ	葉茎	11.9	2.8
ナス	葉	22.6	112.0	天王寺カブ	実	1.5	3.7
埼玉青ナス	葉	26.4	16.7	みやま四季蒔子カブ	葉	11.6	5.5

ポリフェノール量の単位はmg-没食子酸当量・g⁻¹である。

抗酸化能はDPPHラジカル消去能で単位はmg-BHA当量・g⁻¹である。

温下で攪拌した。混合溶液を50 mlに定容後、東洋濾紙会社製DISMIC-25HPフィルターでろ過して測定溶液とした。

2. 2 総ポリフェノール量の測定

測定試料の総ポリフェノール量をFolin-Ciocalteu法により測定した⁵⁾。標準として没食子酸を使用し、試料中のポリフェノール量を没食子

酸換算で表した。没食子酸標準溶液または試料溶液200 μlに水4 ml、フェノール試薬5倍希釈液を1 ml加えた。この混合溶液に10% (w/v) 炭酸ナトリウム水溶液 1 mlを添加し、暗所で1時間反応させた後、760 nmの吸光度を測定した。

2. 3 DPPHラジカル消去による抗酸化能測定

須田の方法⁶⁾に準じて測定した。はじめに、測

定溶液2 mlに200 mM MES (2-Morpholinoethanesulphonic acid)緩衝液 (pH 6.0) 1 ml、蒸留水200 μ l、50% (v/v) メタノール 800 μ l を順次加えた測定溶液(a)及び200 mM MES緩衝液、蒸留水、メタノールを1:1:2 の割合で混合した溶液(b)をそれぞれ調製した。

6本の測定用試験管に200 mM DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) メタノール溶液を1 ml、200 mM MES緩衝液を500 μ l、蒸留水500 μ lを分注した。この6本の試験管それぞれに混合溶液(b)を2000、1950、1900、1800、1500、1000 μ l加えた。さらに測定溶液(a)をそれぞれに0、50、100、200、500、1000 μ lずつ加えて、(a)液の添加2分後における520 nmの吸光度を測定した。標準として、BHA (3(2)-t-butyl-4-hydroxyanisole) を使用し、検量線を作って抗酸化能をBHA換算で表した。

2. 4 ABTSラジカル消去による抗酸化能測定

Millerらの方法⁷⁾に準じて測定した。試料溶液30 μ lに6.1 μ MのMetmyoglobin及び610 μ MのABTS (2,2'-Azino-di-[3-ethylbenzthiazolinesulfonate])を含んだ80 mM リン酸緩衝液 (pH7.4) を1.5 ml混合した。その後、300 μ lの250 μ M過酸化水素水を添加し、3分後に600 nmの吸光度を測定した。標準としてTrolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid)を使用し、Trolox量と吸光度の検量線から、試料の抗酸化能をTrolox換算で表した。

2. 5 化学発光法による抗酸化能測定

久保田の方法⁸⁾に準じて測定した。はじめに、0.05 mM EDTA を含んだ0.1 M KH_2PO_4 緩衝液 (pH 7.5)を調製した。これを緩衝液(a)とした。

緩衝液(a)170 μ l、測定溶液10 μ l、300 μ MのMPEC (2-methyl-6-p-methoxyphenylethynyl-imidazopyrazinone)を含む緩衝液(a) 10 μ l、100 μ g/mlのXanthine Oxidaseを含む緩衝液(a) 60 μ lを試験管チューブに分注した。これに3.6 mM Hypoxanthineを含む緩衝液(a) 50 μ lを加え、添加後1分間の発光積算値を測定した。

発光阻害率は、測定溶液を入れた時の発光積算値を測定溶液の代わりに緩衝液(a)10 μ lを入れた時の発光積算値で割った値から算出した。

3. 結果と考察

3. 1 総ポリフェノール量

各試料の1gあたりに含まれるポリフェノール量を表1に示した。試料の大半のものは1gあたり20 mg-没食子酸等量以下であった。葉や茎などの未利用部位間でポリフェノール量を比較すると、葉のポリフェノール量が高くなる傾向が認められた。カブや辛味大根の根部のように、色素が少ないものはポリフェノール含有量が少なかった。大豆は茶豆と黒豆の2種類を測定したが、豆の色が大きく異なるにもかかわらず葉のポリフェノール含量に大差はなかった。評価を行った試料中では、サツマイモのベニアカの葉、アカメガシワの葉、クリの葉、ナスの葉、ビワの葉、オクラの種子などのポリフェノール量が多かった。

これらの中で、埼玉県の特産品に関連するという観点から注目されるのが、サツマイモの葉である。試験に供した試料は、ベニアズマ、ベニアカ、秩父太白、パープルスウィートロードの4品種であったが、これらの品種間では葉のポリフェノール量が大きく異なり、埼玉県在来品種であるベニアカが最も大きな値を示した。

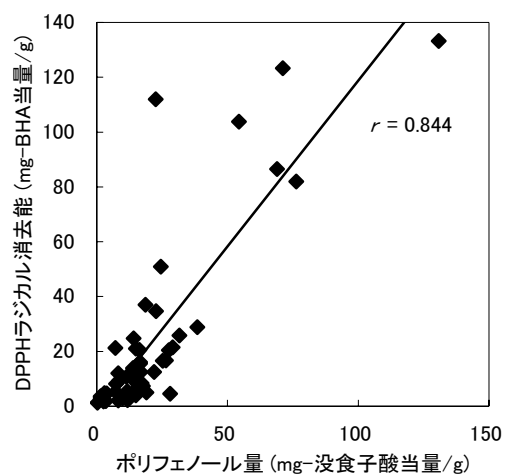


図1 ポリフェノール量と抗酸化能の相関

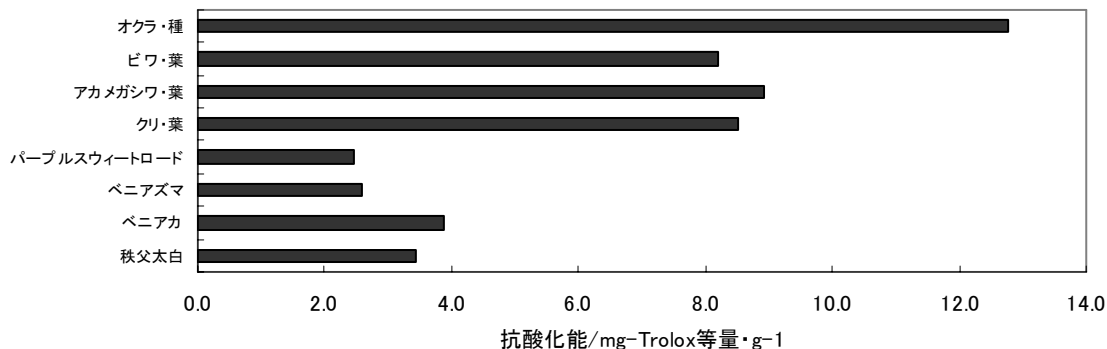


図2 各試料のABTSカチオンラジカル消去能

3. 2 抗酸化性の測定

各試料に関して、抗酸化性を調べるためにDPPHラジカル消去能を測定した。結果を表1に、またポリフェノール量との相関を図1にそれぞれ示す。ベニアカの葉、アカメガシワの葉、クリの葉、ビワの葉、オクラの種子など、ポリフェノール量の多い試料でDPPHラジカル消去能が高かった。野菜や果実などにおいて、ポリフェノール含量と抗酸化性の相関関係がこれまでも報告されているが⁹⁾、本研究において評価を行った野菜試料においても同様に、ポリフェノール含有量の多い試料ほど抗酸化能が高くなる傾向があることが確認された。

また、クリ、ビワ及びびなすの葉は、同程度のポリフェノール含有量のある他の試料と比較して抗酸化能が高く、優れた抗酸化能を持つポリフェノール類である可能性が示唆された。

サツマイモの葉、アカメガシワの葉、クリの葉、ビワの葉、オクラの種子など、DPPHラジカル消去能が高い試料について、ABTSカチオンラジカルを用いてさらに試験を行った。結果を図2に示した。DPPHとABTSの各ラジカル消去能試験では結果に違いが見られ、サツマイモの葉の4品種間での抗酸化性に大きな差が見られなかった。DPPHラジカルは安定であるため反応性が高いヒドロキシル基としか反応しないが、ABTSカチオンラジカルではヒドロキシル基に対する選択性が低い¹⁰⁾。そのため、ABTSカチオンラジカルは、DPPHラジカルでは反応しないフラボノイドとの間でもラジカル消去反応を生じる。ABTSカチオ

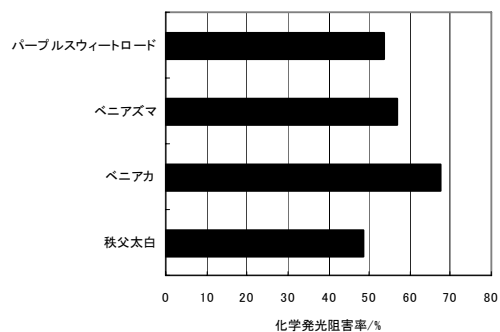


図3 サツマイモ(葉)の化学発光阻害

ンラジカルで抗酸化能の差が小さくなったのは、フラボノイドなどの反応性の低いヒドロキシル基を持つポリフェノール類の寄与によるものと推測された。

上記二つの試験は試験のしやすさから汎用されているが、モデルラジカルを用いたものであり、生活習慣病の一因となっている活性酸素に対しては効果が異なることも予測される。そこで、4品種のサツマイモの葉について、化学発光法により活性酸素消去能を測定した。化学発光法は酸素ラジカルの一つであるスーパーオキシドアニオンラジカルが抗酸化物質により消去されたことを、発光試薬MPECの発光阻害値で測定する方法である。結果を図3に示した。この試験においても、DPPHラジカルやABTSカチオンラジカルを用いた抗酸化能の測定結果と同様、他の3品種に比べてベニアカが高い抗酸化能を持っており、ベニアカの葉のポリフェノール類は活性酸素消去能を持つことが確認された。

4 まとめ

埼玉県内で栽培された野菜試料について新規機能性ポリフェノールの探索のために、その未利用部位を中心としてポリフェノール含量及び抗酸化能の評価を行った。

野菜の未利用部位の中では、茎よりも葉でポリフェノール含量及び抗酸化能が高くなる傾向が認められ、機能性ポリフェノールの探索源として葉の部分が有効であると思われた。また、ポリフェノール含量の多いものほど、抗酸化能が高くなることが確認された。

スクリーニングを行った試料の中では、アカメガシワ、クリ、ビワ、そしてサツマイモのベニアカの葉、さらにはオクラの種子の抗酸化能が高く、これらの未利用部位が機能性素材として有効であると考えられた。

謝辞

本研究を進めるに当たり、試料の提供及び助言をして頂いた埼玉県農業総合研究センター園芸研究所河野担当部長をはじめとする埼玉県農林部職員の方々に深く感謝の意を表します。また、化学発光法の測定に御協力いただいた(株)品質安全研究センター山路氏に心より感謝申し上げます。

参考文献

- 1) 酒井重男：ヒトの健康にやさしい食品成分，食の科学，**264**，(2000)，24
- 2) 須田郁夫，沖智之，西場洋一，増田真美，小林美緒，永井沙樹，比屋根理恵，宮重俊一：沖縄県産果実類・野菜類のポリフェノール含量とラジカル消去活性，日食工誌，**52**，10(2005)462
- 3) 池羽智子，鹿島恭子：県産野菜の抗酸化性の評価と加熱調理による変化，茨城県農業総合センター園芸研究所研究報告，**14**，(2006)27
- 4) Vinson, J A., Hao Y, Su X, and Zubik L : Phenol Antioxydant Quantity and Quality in Foods: Vegetables, J Agric Food Chem, **46**, (1998) 3630
- 5) 仲島日出男，樋口誠一，常見崇史，茂木八千代，矢嶋みづほ，川田由香，三浦理代：機能

性成分の効率的な利用による麺類の高付加価値化，埼玉県産業技術総合センター研究報告，**4** (2006) 62

- 6) 農林水産省農林水産技術会議事務局食品総合研究所編：食品の機能性評価マニュアル集,p16
- 7) Miller, N J, Rice-Evans, C , Davies, M J, Gopinathan, V, Milner, A: A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates, Clin.Sci., **84**, 4, (1993) 407
- 8) 久保田英博：食品成分の簡便かつ高感度な抗酸化能測定システムの開発，食品産業センター技術研究報告，**27**，(2001)47
- 9) 津志田藤二郎，鈴木雅博，黒木征吉：各種野菜類の抗酸化性評価および数種の抗酸化成分の同定，日食工誌，**41**，9(1994)611
- 10) Roginsky, V. and Lissi, E. A.: Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food, Food Chem., **92**,(2005)235