

<<短 報>>

埼玉県産農産物の機能性に関する研究

第1報 (ブロッコリー)

平野泰志*

Study on Functionality in the Agricultural Products in Saitama.

First Report (Broccoli)

Yasushi HIRANO

「健康・元気・長生き」に対する消費者・実需者のニーズが高まっているなか、農産物の健康機能性の評価、機能性成分に富んだ品種の開発、成分含量変動要因解明に基づく成分含量安定化技術が「産地づくり」には必要である。

近年、色々な野菜で機能性が調べられてきたが、品種、部位、栽培方法などによる変動については情報が乏しい。

そこで、「彩の国ブランド農産物」の新たな魅力を掘り起こすため、機能性の解析に取り組んだ。第1報ではブロッコリーについてポリフェノール類や抗酸化能、機能性多糖などの特性を解明した。ブロッコリーは生産量 15,300 t (平成 27 年産野菜生産出荷統計,農林水産省) で全国第2位を誇る本県にとって重要な農作物である。

なお、本報告は「機能性農産物の開発と高付加価値化(事業名:オーダーメイド型産地づくり事業)(2016~2020)」による成果の一部(2016年度成績)であることを付記する。

材料および方法

1 材料

畑作では「おはよう」,「グリーンキャノン」,「直緑」,「マラソン」および「グランドーム」の5品

種、水田作では「おはよう」および「グランドーム」の2品種を用いた。栽培管理は、「栽培暦(秋どり作型)」に従い実施した。

2 試薬

(β -Glc) Yariv 抗原は Biosupplies より、1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DHHP) は同仁化学社より、Folin-Ciocalteu's (フェノール試薬) は関東化学より、TroloxTM は東京化成から、Gum arabic および没食子酸は和光純薬から購入した。その他の試薬は一般の特級試薬をそのまま使用した。

3 方法

(1) 粗多糖類

プロテオグリカンの主成分中の一種類であるアラビノガラクトタンプロテイン (AGP) は (β -Glc) Yariv 抗原を用いて測定した (Hirano et al. 1994)。1mg/mL Yariv 抗原溶液 80 μ L, 5 M NaCl 60 μ L を 2 mL のエンペンチューブにとり、溶解した 1% アガロース (W/V) 2 mL を混和して、1mL の先切りチップでスライドガラスに均一に広げる。

アガロースが固まったらパスツールピペットで吸引して穴を開ける。穴に正確に試料 1 μ L を滴下する。

保湿したタッパ内で 1 晩静置する。乾燥後、紙に

* 品種育成・ブランド育成担当

Halo を写し取り，大きさを測定した。

(2) ポリフェノール類

簡易測定はパックテスト ポリフェノール(K.K. 共立理化学研究所)を使用した。機器分析法は Folin and Denis (1915), 沖(2008b)の方法に準じて測定した。試料を 80% エタノール 500 μ L と蒸留水 500 μ L を混和した。その溶液に使用時に調製したフェノール試薬 1000 μ L を加え 3 分間攪拌した。10% (W/V) 炭酸ナトリウム溶液 1000 μ L 加え，攪拌後 60 分間静置し，分光光度計 DU-640 (ベックマン) で 750nm の吸光度を測定した。対照として没食子酸溶液を用いた。

(3) 抗酸化能

須田ら (2005), 沖(2008a)の方法に準じて測定した。50%エタノールの試料 600 μ L に 200mM MES, pH6.0 300 μ L と 400 μ M DPPH エタノール溶液 300 μ L を混合した。20 分間室温で静置後，520nm の吸光度を測定した。対照として Trolox 溶液を用いた。

(4) グルコース

糖組成成分であるグルコースの簡易測定は 2 段階酵素法の新ウリエース Ga (テルモ) を使用した。機器分析法は 3 段階酵素法のグルコース C II - テストワコー (和光純薬) を使用して分光光度計 DU-640 (ベックマン) で 505nm の比色定量した。

4 成分の多い部位の検討

ブロッコリーは品種「グランドーム」を供試した。花蕾，葉および茎の各部位の生重量 500mg を測り，50mM トリス-塩酸緩衝液 (TE)，pH8.0 1.0mL を加え，乳鉢と乳棒で磨砕後，全量を 2.5mL とした。遠心分離 (8,000rpm, 10 分間, 4 $^{\circ}$ C) し，上清画分を回収した。分析に供するため，上清 1.0mL を分取し，粗抽出液 (200mg 生重量/mL) とした。各部位の諸汁液を供試して機能性成分を測定した。今回は同一の粗汁液成分を測定するため，抽出溶液として TE を使用した (鈴木ら, 2002)。それぞれ 2 反復で実施した。

5 成分の多い系統の選抜

「1 材料」で示した品種を供試した。

供試試料の調製は「4 成分の多い部位の検討」と同様に実施した。

結果および考察

粗多糖類

プロテオグリカンの一種類であるアラビノガラクトタンプロテイン (AGP) は特異的に反応する (β -Glc) Yariv 抗原で Halo (赤い円) の直形サイズ (図 1) を画像解析 (high (dot), width (dot) の積の平方根値) から AGP 量を算出する方法 (図 2) で簡易かつ適正に測定が可能であった。高濃度 (5 μ L) 以上では hole が十分に拡散されない傾向が認められた。

Gum arabic (市販 AGP)

0 μ L 1 μ L 2 μ L 3 μ L 4 μ L 5 μ L



図 1 AGP を特異的に検出する (β -Glc) Yariv 抗原による hole

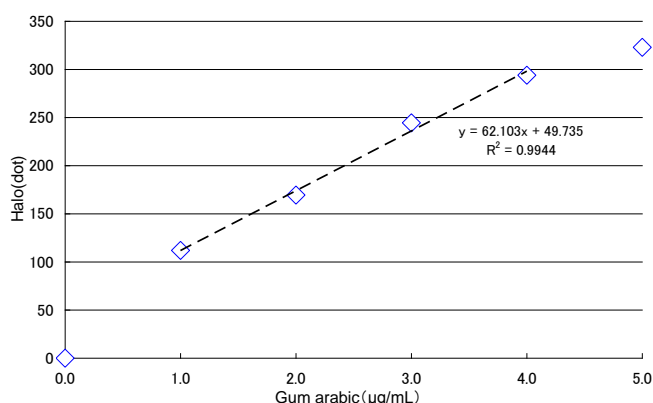


図 2 標準物質の Halo の数値化

(0 μ g/mL および 5 μ g/mL Gum arabic を除いて標準曲線を算出)

ポリフェノール類

簡易測定キット (フォーリン・デニス法) はカラーシートで比較して濃度を想定するので，中間的な濃度の判断が出来なかった。また，反応後，色調の変化があった (図 3)。

フェノール試薬によるフォーリン・チオカルト法により比色定量では測定範囲が 20 μ g/mL ~ 110 μ g/mL と直線的であり正確な測定が可能であった (図 4)。

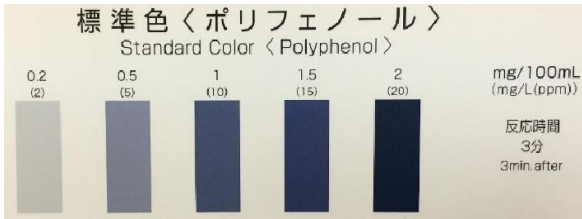


図3 ポリフェノールの簡易測定



図6 グルコースの簡易測定

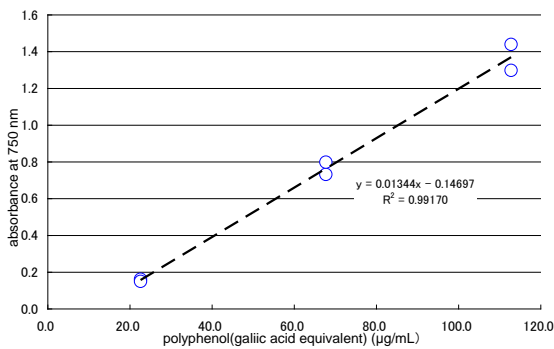


図4 標準物質によるポリフェノール類の測定
(750nmにおける吸光度)

グルコース測定キット（和光純薬：3段階酵素法）での比色定量は測定範囲が 0mg/mL ～ 3.0mg/mL と広く、直線性も高く、正確に測定が可能であった（図7）。

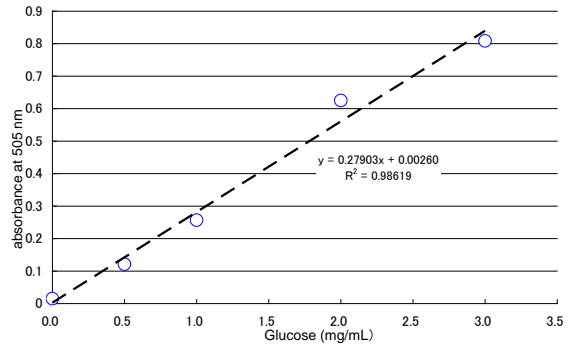


図7 標準物質によるグルコース測定キットを用いた比色定量

抗酸化能

抗酸化能は、Trolox を標準物質との相対濃度として DHHP ラジカル消去活性による比色定量により簡易に測定することができた。測定範囲は 0µM ～60µM であった（図5）。

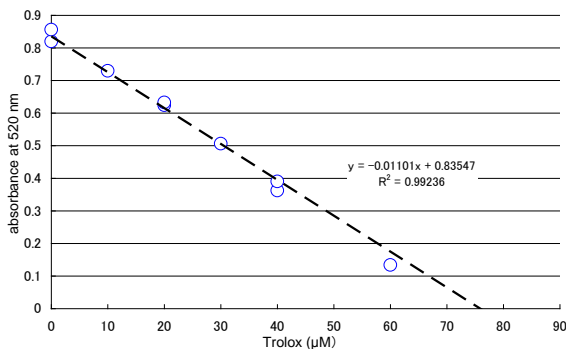


図5 標準物質 Trolox の DHHP ラジカル消去活性測定
(520nmにおける吸光度)

グルコース

簡易測定キット（テルモ：2段階酵素法）で測定した場合、低濃度では正確性を欠いた。カラーシートで比較して濃度を想定するので、中間的な濃度の判断ができず、客観性を欠いていた（図6）。

成分の多い部位の検討

(β-Glc) Yariv 抗原でアラビノガラクトタンプロテイン (AGP) 量を算出した結果、ブロッコリー花蕾 100g 当たり 56.2µg, 葉には 26.5µg が含まれ、花蕾：葉の量比は 1:0.5 であった。

ポリフェノール類をフォーリン・チオカルト法で比色定量した結果、ブロッコリー花蕾 100g 当たり 173mg 没食子酸当量が含まれていた。

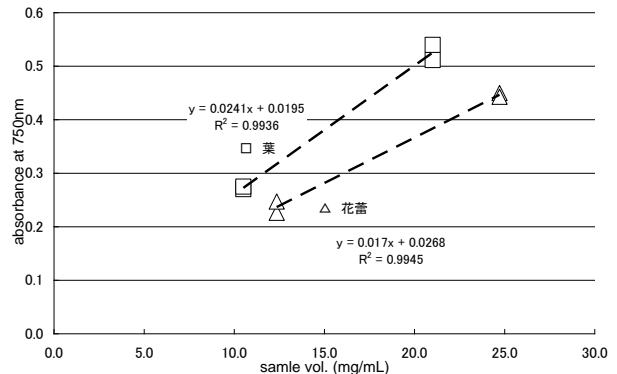


図8 花蕾，葉ポリフェノール類の測定

未利用部分の葉には約 233mg 当量が含まれ、花蕾：葉の量比は 1:1.3 であった (図 8)。

抗酸化能はブロッコリー花蕾 100g 当たり約 359 μ g Trolox 当量が含まれていた。未利用部分の葉も検討した結果、葉の部分には約 489 μ g Trolox 当量が含まれていた。花蕾：葉の量比は 1:1.4 であった (図 9)。

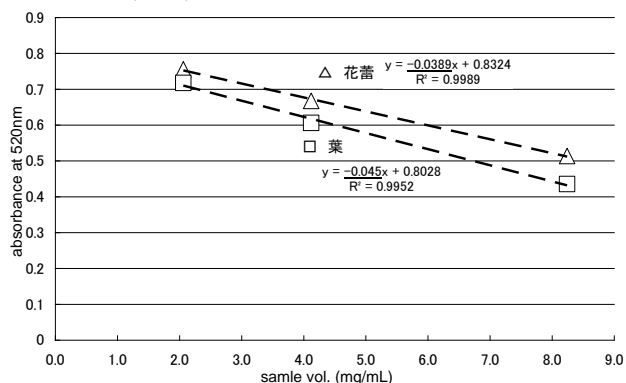


図 9 花蕾、葉の DHHP ラジカル消去活性測定

糖組成成分をグルコース測定キットで比色定量した結果、ブロッコリー花蕾 100g 当たり 0.19g グルコース当量が含まれていた。未利用部分の葉には約 0.14g 当量が含まれていた。花蕾：葉の量比は 1:0.7 であった (図 10)。

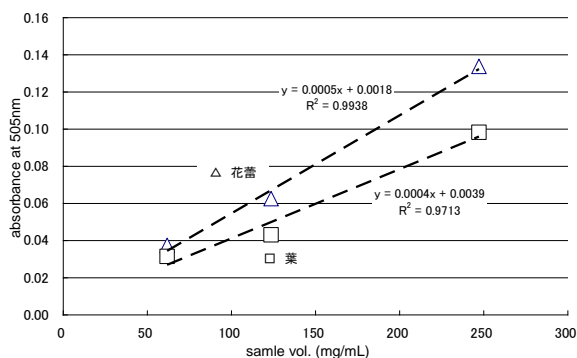


図 10 花蕾、葉のグルコース測定

成分の多い系統の選抜

畑作では「おはよう」、「グリーンキャノン」、「直緑」、「マラソン」、「グランドーム」の 5 品種を、水田作では「おはよう」、「グランドーム」の 2 品種のアラビノガラクトンプロテイン (AGP) 量、ポリフェノール類、抗酸化能及び糖組成成分のグ

ルコース量を定量した。

ポリフェノール類は「おはよう」が畑作、水田作ともに高く、栽培条件では「おはよう」は畑作の方が、「グランドーム」は水田作の方が高い傾向であった。

抗酸化能は「おはよう」がポリフェノール類とは逆の傾向であった。抗酸化能対ポリフェノール類比は農作物ではほぼ一定の傾向があると報告 (高橋ら, 2007; 須田ら, 2005) されており、今回も 1.6 から 1.7 と一定の傾向が認められたが、グランドームは約 2.0 で抗酸化能が高かった。

糖類では単糖のグルコースは「おはよう」が多く、「マラソン」が少なかった。それ以外の品種ではほぼ同量であった。

また、AGP も同様な傾向が認められたが、認知症予防、NK 細胞活性化、腸内フローラ改善など“新たな機能性”のある「プロテオグリカン (多糖質)」の主要成分である AGP がブロッコリーでも存在していたことが初めて示された。

それぞれの機能性成分は全体平均 (AGP: 52 μ g, ポリフェノール類: 112 μ g, 抗酸化能: 198 μ mole, グルコース 0.52g) に比べて畑作 (AGP: 52 μ g, ポリフェノール類: 111 μ g, 抗酸化能: 193 μ mole, グルコース 0.50g) よりも水田作 (AGP: 53 μ g, ポリフェノール類: 115 μ g, 抗酸化能: 211 μ mole, グルコース 0.56g) の方がわずかに多い傾向が認められた (水田作 b を除く) が、その差はわずかであった (表 1)。品種、栽培条件で t 検定したが有意差は認められなかった ($p > 0.05$)。

また、収穫適期後、ほ場に残った作物はアントシアニンと考えられるポリフェノールが生じていた。ポリフェノール量、抗酸化能は高かったが、AGP 量、グルコース量は低く、雪下栽培と異なり、呼吸により消費された結果と考えられる。なお、食味はえぐみが強く、適期に収穫することが重要であると示唆された。

表1 品種別、栽培条件別の機能性成分

品種	栽培条件	AGP μg/100g	ポリフェノール類 μg GA/100g	抗酸化能		生重量100g当たり
				μmole/100g	ポリフェノール類	グルコース g/100g
おはよう	畑作	61.3	121.9 (0.990)	197.8 (0.969)	1.62	0.63 (0.998)
グリーンキャノン	畑作	52.1	101.4 (0.970)	179.5 (0.983)	1.77	0.47 (0.954)
直縁	畑作	54.8	115.5 (0.977)	204.2 (0.969)	1.77	0.55 (0.983)
マラソン	畑作	42.8	110.3 (0.983)	178.5 (0.991)	1.62	0.39 (0.963)
グランドーム	畑作	47.4	105.2 (0.951)	204.1 (0.968)	1.94	0.46 (0.905)
おはよう	水田作	54.1	118.6 (0.996)	186.6 (0.943)	1.57	0.56 (0.968)
グランドーム	水田作	52.0	110.7 (0.976)	235.3 (0.935)	2.13	0.55 (0.980)
グランドーム	水田作b	41.8	162.1 (0.997)	260.9 (0.969)	1.61	0.33 (0.983)

():R2値

栽培条件：畑作 熊谷市須賀広、水田作 熊谷市玉井

AGP：アラビノガラクトタンパク質、GA：没食子酸 (Gallic acid)

グランドーム 水田作 b は収穫適期より約 1 か月後に採取 (全体に紫色を呈す)

引用文献

Hirano Y., Tsumuraya Y. and Hashimoto Y. (1994) :
Characterization of spinach leaf
a-L-arabinofuranosidases and b-galactosidases
and their synergistic action on an endogenous
arabinogalactan-protein.

PHYSIOLOGIA PLANTARUM 92:286-296

沖 智之 (2008a) :「食品機能性評価マニュアル集
第II集」, 食品機能性評価支援センター編, 71-78

沖 智之 (2008b) :「食品機能性評価マニュアル集
第III集」, 食品機能性評価支援センター編, 1-7

Otto Folin and W. Denis (1915)

A COLORIMETRIC METHOD FOR THE
DETERMINATION OF PHENOLS (AND

PHENOL DERIVATIVES) IN URINE.

J.Biol. Chem. 22:305-308.

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 (2005) :
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, 462-471.

鈴木誠・渡辺敏郎・三浦麻子・原島恵美子・中川
靖枝・辻啓介 (2002) : Folin-Denis 法による総
ポリフェノール量測定のための抽出溶媒の検討.
日食工誌 49, 507-511.

高橋学・樋口誠一 (2007) : 県内植物資源に由来す
る機能性ポリフェノールの探索. 埼玉県産技総
セ研報 5.