

加熱処理が野菜抽出物の抗酸化活性に及ぼす影響

久保田朗・山下純隆
(生産環境研究所)

機能性を維持、強化した加工品開発を目的に、四種の野菜について、加熱処理方法が抗酸化活性およびポリフェノール含量に及ぼす影響を検討した。

β -カロテン退色法で求めた抗酸化活性は、いずれの野菜においても、茹で加熱では生と比較して活性の低下が認められた。ハウレンソウの蒸し加熱、ナスの電子レンジ加熱、ニンジンの焼き加熱では活性が上昇した。ポリフェノール含量は、ハウレンソウ、ナスおよび葉ネギで茹で加熱により顕著に低下し、ナスの電子レンジ加熱やニンジンの焼き加熱では増加した。抗酸化活性(β -カロテン退色法)の強さとポリフェノール含量との間には、特にハウレンソウに強い正の相関が認められた。 β -カロテン退色法およびロダン鉄法による抗酸化活性の評価が、ほぼ一致するのはニンジンおよび葉ネギであった。加熱処理方法を選択することにより、生野菜のもつ抗酸化活性を保持、強化することが可能である。

[キーワード: 野菜, 加熱処理, 抗酸化活性, ポリフェノール含量]

Antioxidative Activity of Fresh and Heated Vegetable Extracts. KUBOTA Akira and Sumitaka YAMASHITA (Fukuoka Agricultural Research Center, Chikushino, Fukuoka 818-8549, Japan) *Bull. Fukuoka Agric. Res. Cent.* 19: 81-84 (2000)

Four vegetable extracts were investigated for the antioxidative activity polyphenol content and changes due to heat processing method. According to the β -carotene discoloring method, the antioxidative activity of the extracts from spinach, eggplant, carrot and welsh onion decreased due to the heat from boiling compared to the fresh extracts. The antioxidative activity of the extracts from steamed spinach, microwave-heated eggplant and baked carrot increased because of the heating process. The polyphenol content of the extracts from spinach, eggplant and welsh onion decreased significantly due to the heat of boiling. The polyphenol content of baked carrot and microwave-heated eggplant increased due to the heating process. A good positive correlation between the antioxidative activity by the β -carotene discoloring method and the polyphenol content level of the spinach extract was observed. The antioxidative activity estimations derived from the β -carotene discoloring method and the ferric thiocyanate method were the same for carrot and welsh onion. The antioxidative activity found in fresh vegetables remained and even increased because of the choice of a heating method.

[Key words: vegetables, heating process, antioxidative activity, polyphenol content]

緒言

最近の健康志向の高まりとともに、食品のもつ一次機能(栄養・エネルギー性)と二次機能(感覚・嗜好性)に加え、三次機能である生体調節機能がいわゆる食品の機能性として注目されている。植物性食品中の抗酸化成分は、単に食品の酸化的劣化の抑制効果だけでなく、活性酸素、フリーラジカルにより引き起こされる生体分子、組織の酸化的傷害を抑制し、最終的には老化や発ガン、種々の疾病の予防に寄与するものと考えられている^{1, 8)}。植物起源の抗酸化成分には水溶性と脂溶性があり、水溶性抗酸化成分として野菜や果実に含まれるケルセチン、コーヒー酸、カテキン、没食子酸などのポリフェノール類などがよく知られている^{7, 11)}。

機能性に富む農産物の生産や加工品の開発が求められる中、生鮮農産物の抗酸化活性については報告がある^{2, 10, 12)}が、加工処理による影響についてはほとんど報告されていない。生鮮農産物に高い抗酸化活性があっても加工品をつくる際に、茹で加熱などの加熱処理を行った場合、水溶性抗酸化成分が失われ、その活性が著しく

低下することが懸念される。

そこで本報告では、機能性を維持、強化した加工品開発を図るため、本県特産野菜のナスや葉ネギ並びにハウレンソウ、ニンジンについて、焼き・蒸し・茹でおよび電子レンジ加熱処理を行い、そのエタノール抽出物の抗酸化活性およびポリフェノール含量を測定し、農産物の加熱処理方法が機能性的変化に及ぼす影響について検討した。

材料及び方法

1 供試作物

福岡県農業総合試験場園芸研究所で栽培されたハウレンソウ‘ペガサス’、ナス‘筑陽’、ニンジン‘向陽二号’および葉ネギ‘雷山’を供試した。

2 試料溶液の調製

(1) 生野菜 4~5個体の野菜を細切りして、その中から部位に片寄りがないように20gを計り取り、100mLの80%エタノールとともにホモジナイザーで1,000rpm, 2分間磨砕し、No.2ろ紙でろ過した。ろ紙上の残渣を80%エタノールで洗浄し、洗液とろ液とを合わせ200mL

に定容し試料溶液とした。

(2) 加熱処理野菜 生野菜と同じく計り取った20gを次の四つの条件で加熱処理したのち、直ちに生野菜と同様の方法で試料溶液を調製した。

ア 焼き加熱 300W電熱器を用い、細切りにした生野菜を金網上に均一に並べ、約5分間加熱した。

イ 蒸し加熱 あらかじめ沸騰させた蒸し器の中に細切りにした生野菜を入れ、約10分間蒸した。

ウ 茹で加熱 500mLの脱イオン水を沸騰させた中に細切りにした生野菜を入れ、約5分間加熱した。

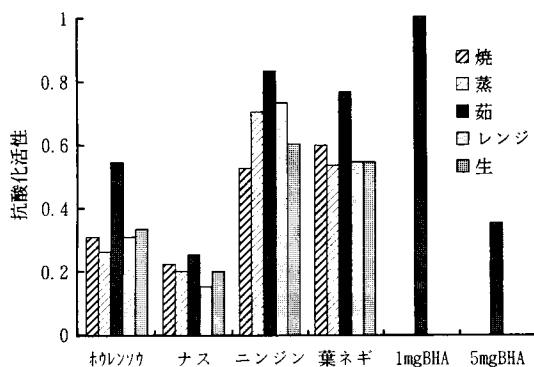
エ 電子レンジ加熱 出力600Wの電子レンジを用い、細切りにした生野菜をラップフィルムに包み、約3分間加熱した。

3 抗酸化活性の測定

(1) β -カロテン退色法 津志田らの方法¹²⁾に従い測定した。すなわち、 β -カロテン溶液(100mg/100mLクロロホルム)、リノール酸溶液(4g/100mLクロロホルム)、ツイーン40溶液(20g/100mLクロロホルム)を調製し、それぞれを0.5mL, 0.2mL, 1.0mLずつ200mL容三角フラスコに取り、窒素ガス通気によりクロロホルムを完全に除去した後、100mLの脱イオン水を加えて溶解し、リノール酸- β -カロテン溶液を調製した。この溶液90mLに0.2Mリン酸緩衝液(pH6.8)8mLを加え、静かに攪拌した後、4.9mLを試験管に分注し、これに0.1mLの試料溶液を添加・混合し、すばやく50℃の振とう恒温槽に移し、15分後から45分後までの吸光度(O.D. at 470nm)の減少量を測定した。抗酸化活性の強さは、試料溶液の代わりに食品添加物である合成酸化防止剤ブチルヒドロキシアニソール(BHA)の1mg/100mL80%エタノール(EtOH)溶液を用い、次式に従って試料溶液の吸光度の減少量(退色程度)をBHAのそれで除し、BHAに対する相対的な活性として求めた。したがって、BHAの活性値が1として、得られた数値が小さいものほど強い抗酸化活性を有することを表す。なお、比較として80%EtOHおよび5mg/100mLのBHAの活性も測定した。

$$\text{抗酸化活性} = \frac{\text{試料溶液}(15\text{分O.D.}-45\text{分O.D.})}{\text{BHA}(1\text{mg}/100\text{mL})(15\text{分O.D.}-45\text{分O.D.})}$$

(2) ロダン鉄法 野菜の抗酸化活性に関して測定方法による違いを検討するために、ロダン鉄法⁶⁾を用いた抗酸



第1図 加熱処理と抗酸化活性 (β -カロテン退色法)

1) 80% EtOHの抗酸化活性は約2を示す。

化活性を測定した。ロダン鉄法での評価における酸化反応系は石井らの方法²⁾に準じた。すなわち、2mLの2.8% (w/v) リノール酸含有EtOHを試験管に入れ、これに4mLの50mMリン酸緩衝液(pH7.0)、試料溶液2mL、脱イオン水2mLを加えて密栓後、40℃暗黒下の恒温器内に1週間静置した。抗酸化活性の検定は、各試料溶液を添加した反応液の酸化反応開始日と一週間後の吸光度(500nm)を測定し、生成した過酸化脂質量を比較することにより行った。結果は、各試料溶液の酸化反応開始日の吸光度を100とする指数で示し、得られた数値が小さいものほど強い抗酸化活性であることを表す。対照として、80%EtOHおよび合成酸化防止剤ジブチルヒドロキシトルエン(BHT)の1mg/100mL80%EtOH溶液を用いた。

4 ポリフェノール含量

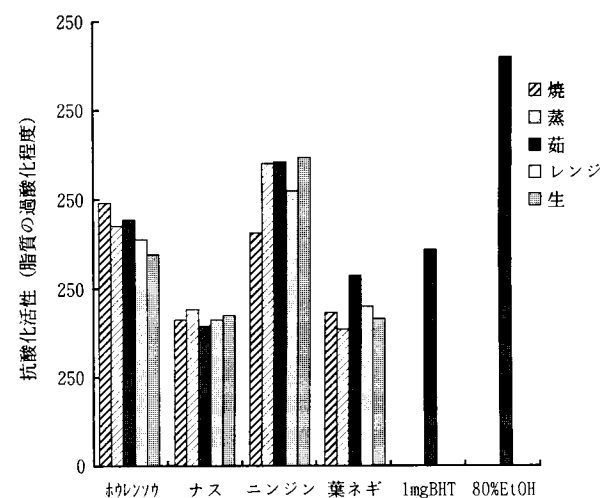
全ポリフェノールの定量はFolin-Denis法⁴⁾を用いて行い、没食子酸相当量として算出した。すなわち、試料溶液2mLに2倍希釈のフェノール試薬2mLを混和し、3分間放置後、10% (w/w) 炭酸ナトリウム溶液を加えて発色させ、1時間放置後、760nmでの吸光度を測定した。

結果

1 β -カロテン退色法

生および加熱処理をした野菜の β -カロテン退色法で求めた抗酸化活性を第1図に示した。生野菜の抽出物には、いずれの野菜においてもポジティブコントロールの1mg/100mLBHAより強い抗酸化活性が認められた。特にナスでは、5mg/100mLBHAよりも強い活性、ホウレンソウでは同程度の活性を示した。

加熱処理後の抗酸化活性を各々の生野菜と比較すると、いずれの野菜も茹で加熱において活性が低下した。ニンジンではさらに蒸し加熱、電子レンジ加熱でも活性がやや低下した。逆に、ホウレンソウの蒸し加熱、ナスの電子レンジ加熱およびニンジンの焼き加熱では、わずかながら活性が高まるものもみられた。これら以外で



第2図 加熱処理と抗酸化活性 (ロダン鉄法)

は、おおむね活性がほぼ保持された。

2 ロダン鉄法

生および加熱処理した野菜のロダン鉄法により求めた抗酸化活性を第2図に示した。生野菜の抽出物では、ナスおよび葉ネギにポジティブコントロールである1mg/100mLBHTより強い抗酸化活性が認められた。ホウレンソウはBHTとほぼ同等の活性、ニンジンもBHTともう一方のコントロールである80%EtOHとの中間ぐらいの弱い活性を示した。

加熱処理による抗酸化活性を各々の生野菜と比べると、ホウレンソウでは、いずれの加熱処理も活性がやや低下した。ナスでは、加熱処理の種類に係わらず、生と同程度の活性、葉ネギでは茹で加熱のみ活性がやや低下し、他は生と同程度の活性を示した。ニンジンでは、焼き加熱および電子レンジ加熱で活性がやや高くなった以外は生と同程度の活性を示した。

3 β-カロテン退色法とロダン鉄法との関係

β-カロテン退色法とロダン鉄法における抗酸化活性の評価の相関を第1表に示した。両手法による抗酸化活性の評価間には、ニンジンおよび葉ネギにおいて、有意な正の相関がみられたが、ホウレンソウでは相関がほとんどなく、ナスでは負の相関となった。

4 ポリフェノール含量

加熱処理の違いによる野菜抽出物のポリフェノール含量を第3図に示した。加熱処理した野菜のポリフェノール含量を各々の生野菜と比較すると、ホウレンソウおよび葉ネギではいずれの加熱処理でも低下し、特に茹で加熱の低下が顕著であった。ナスでは、茹で加熱において

第2表 抗酸化活性(β-カロテン退色法)とポリフェノール含量との関係

作物名	回帰式	相関係数	寄与率	摘要
ホウレンソウ	$y = -0.00876x + 0.92392$	-0.8768**	76.9%	n=7
ナス	$y = -0.00146x + 0.35200$	-0.5498	30.2%	n=7
ニンジン	$y = -0.00550x + 0.84820$	-0.7509	56.4%	n=7
葉ネギ	$y = -0.00311x + 1.01053$	-0.6661	44.4%	n=7

1) y: 抗酸化活性(β-カロテン退色法) x: ポリフェノール含量(Folin-Denis法) mg/100g
2) **: Pearsonの相関係数の検定により1%水準で有意性があることを示す。

第3表 抗酸化活性(ロダン鉄法)とポリフェノール含量との関係

作物名	回帰式	相関係数	寄与率	摘要
ホウレンソウ	$y = -0.25440x + 159.1306$	-0.4201	17.6%	n=5
ナス	$y = 0.06539x + 76.4181$	0.4356	19.0%	n=5
ニンジン	$y = -1.00507x + 190.0568$	-0.9555*	91.3%	n=5
葉ネギ	$y = -0.85011x + 144.3367$	-0.6982	48.8%	n=5

1) y: 抗酸化活性(ロダン鉄法) x: ポリフェノール含量(Folin-Denis法) mg/100g
2) *: Pearsonの相関係数の検定により5%水準で有意性があることを示す。

著しい低下をした以外は増加した。ニンジンでは、焼き加熱で顕著な増加を示したほかは生野菜とほぼ同量であった。

5 抗酸化活性とポリフェノール含量との関係

β-カロテン退色法により求めた野菜の抗酸化活性とポリフェノール含量との関係を第2表に示した。ホウレンソウでは、抗酸化活性(数値)とポリフェノール含量との間に有意な強い負の相関、すなわち、抗酸化活性の強さとポリフェノール含量との間では有意な強い正の相関が認められた。ナス、ニンジンおよび葉ネギにおける相関係数は、5%水準以上の有意性はないが、-0.55~-0.75で、活性の強さとポリフェノール含量との間に正の相関を示した。

ロダン鉄法による抗酸化活性とポリフェノール含量との関係を第3表に示した。抗酸化活性(数値)とポリフェノール含量との間には、ニンジンで有意な負の相関、つまり活性の強さとポリフェノール含量との間に有意な正の相関が認められた。葉ネギの相関係数は-0.70で、5%水準以上の有意性はないものの、活性の強さとポリフェノール含量との間に正の相関があったが、ホウレンソウおよびナスの相関は弱かった。

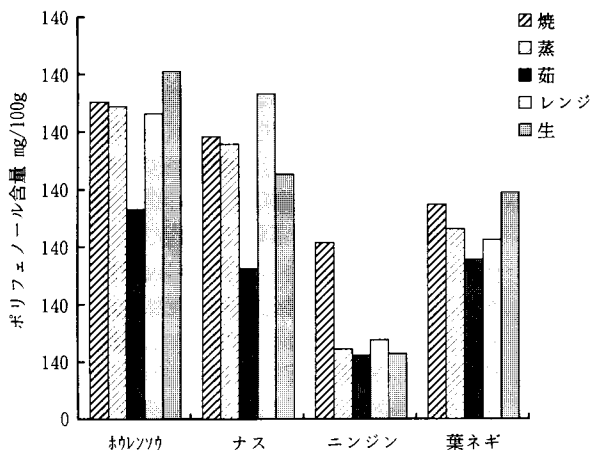
考 察

β-カロテン退色法およびロダン鉄法による抗酸化活性の評価を比較すると、活性の評価がほぼ一致するのはニンジンおよび葉ネギであった。ホウレンソウおよびナスにおいて、抗酸化活性の評価に相違がみられたのは、一つには野菜のもつ抗酸化成分の特異性によるものと考えられ、また二つの評価法における過酸化の方法や測定原理の相違であると思われる。両方法ともに不飽和脂肪酸であるリノール酸を過酸化基質としているものの、β-カロテン退色法は50℃・短時間・室内光下の過酸化処

第1表 β-カロテン退色法とロダン鉄法における抗酸化活性の評価の相関

作物名	相関係数	摘要
ホウレンソウ	0.1749	n=5
ナス	-0.4356	n=5
ニンジン	0.8883*	n=5
葉ネギ	0.9198*	n=5

1) *: Pearsonの相関係数の検定により5%水準で有意性があることを示す。



第3図 加熱処理とポリフェノール含量

理によりリノール酸から生成した過酸化脂質が β -カロテンの橙色を退色させることを利用しており、試料溶液中の抗酸化成分が過酸化脂質の生成そのものを抑制していると考えられる。一方、ロダン鉄法では40℃・長時間・暗黒下で生成した過酸化脂質が2価鉄を3価鉄に酸化し、この3価鉄がロダン化アンモニウムと反応して赤色のロダン鉄を生成することを用いている。このことから、試料溶液中の抗酸化成分が直接過酸化脂質の生成を抑制する場合と3価に酸化された鉄を還元する場合があると推察される。佐野ら⁹⁾も抗酸化活性を各種評価法により比較した結果、用いる基質や過酸化度の評価法の違いにより試料の活性順は必ずしも一致しないとしている。生体に対する農産物の抗酸化活性の評価は、生体による *in vivo* 法や生体臓器を用いる *ex vivo* 法で行うことが望ましいが、本報告のように *in vitro* 法で評価する場合は、ポジティブ・コントロールとして基準となる抗酸化物質を採用し、2つ以上の評価法を用いて併記することが必要であると考えられる。

津志田ら¹²⁾は、43種の生の野菜類ではポリフェノール含量の多いものが抗酸化活性(β -カロテン退色法)が強いと報告し、立山ら¹⁰⁾は食用のバラ属赤色花卉抽出液の高い抗酸化活性(β -カロテン退色法)にポリフェノール含量が寄与するとしている。同じ β -カロテン退色法において、ホウレンソウでは、抗酸化活性の強さとポリフェノール含量との間に強い正の相関があり、ナス、ニンジンおよび葉ネギには相関係数に5%水準以上の有意性はないものの、ポリフェノール含量の多いものに抗酸化活性が強くなる傾向があることから、一般的な生鮮農産物同様、加熱処理した野菜においても、抗酸化活性の強さへのポリフェノールの寄与が考えられる。

小泉ら⁵⁾は、ゴマ種子の焙煎温度が高いほど(温度範囲170℃~205℃)、強い抗酸化活性(重量法)を示すことを報告している。また、四訂食品成分表³⁾には、抗酸化活性に関与するビタミン類が記載されており、ホウレンソウ、ナスおよびニンジンの生と比較して茹で加熱では、水溶性成分のビタミンCは調理したものが減少するが、脂溶性成分であるビタミンAおよびEに由来するそれぞれの効力は同等か調理した方が増加していた。これらのことから、水溶性のポリフェノール含量が低下しても、加熱処理による脂溶性抗酸化成分の増加や成分変化に伴う抗酸化活性の効力の高まりが示唆される。

ロダン鉄法では、抗酸化活性の強さとポリフェノール含量との間に正の相関が認められるニンジンほかに、葉ネギでは相関係数に5%水準以上の有意性はないが、抗酸化活性の強さへのポリフェノール含量の関与が考えられる。

以上のことから、加熱処理による野菜の抗酸化活性の変化には、水溶性および脂溶性の抗酸化成分がともに関与することが考えられ、茹で加熱ではポリフェノールなどの水溶性抗酸化成分の損失が活性の低下に大きく影響しているものと推察される。また、ニンジンの焼き加熱やナスの電子レンジ加熱のように、ポリフェノール含量や脂溶性抗酸化成分を維持、増加させる加熱処理方法を選択することにより、抗酸化活性を保持、強化することが可能である。

今後は、農産物の加熱処理が抗酸化活性以外の機能性に与える影響、加工時に使用する砂糖や醤油などの農産物以外の成分との相乗効果を検討する必要がある。

引用文献

- 1) 井上正康編(1992)活性酸素と病態-疾患モデルからベッドサイドへ、東京:学会出版センター。
- 2) 石井現相・森元幸・梅村芳樹(1996)赤紫肉食ジャガイモのアントシアニンの抗酸化活性と食品化学的特性. 日食科工誌. **43** (8): 962-966.
- 3) 科学技術庁資源調査会編(1998)四訂日本食品標準成分表, 東京:女子栄養大学出版部, pp.230-233, pp.238-239.
- 4) 片山侑(1975)栄養診断のための栽培植物分析測定法(作物分析法委員会編), 東京:養賢堂, pp.422-423.
- 5) 小泉幸道・福田靖子・並木満夫(1996)ゴマ種子焙煎条件が油の酸化安定性に及ぼす影響. 日食科工誌. **43** (6): 689-694.
- 6) 満田久輝・安本教博・岩見公和(1966)リノール酸の自動酸化に対するインドール化合物の抗酸化作用. 栄養と食糧. **19** (3): 210-214.
- 7) 大澤俊彦(1996)食品中の生体機能調節物質研究法(川岸舜朗編), 東京:学会出版センター, pp.7-21.
- 8) 大澤俊彦・川岸舜朗(1992)食品の生体調節機能(千葉英雄編), 東京:学会出版センター, pp.79-85.
- 9) 佐野満昭・富田勲(1993)抗酸化物質の活性評価とその問題点. 食品と開発. **28** (10): 18-22.
- 10) 立山千草・本間伸夫・並木和子・内山武夫(1997)食用花卉に含まれるポリフェノール類含有量と抗酸化活性. 日食科工誌. **44** (4): 290-299.
- 11) 寺尾純二(1993)フラボノイド類の抗酸化活性とその評価. 食品と開発. **28** (10): 10-13.
- 12) 津志田藤二郎・鈴木雅博・黒木柁吉(1994)各種野菜類の抗酸化性の評価および数種の抗酸化成分の同定. 日食工誌. **41** (9): 611-618.