

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：37109

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K02419

研究課題名(和文) 穀類中の非抽出性ポリフェノールの分析法の確立とその応用

研究課題名(英文) Establishment of analytical method for non-extractable polyphenols in cereals and its application

研究代表者

沖 智之 (Oki, Tomoyuki)

中村学園大学・栄養科学部・教授

研究者番号：60414851

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題では、穀類とその調理加工品における、従来の方法では検出されなかったポリフェノールの存在とその量を明らかにすることを目的として、酸性の含水有機溶媒では抽出されない非抽出性ポリフェノールの分析をおこなった。黒大豆と茶大豆の種皮ではポリフェノールの一種であるプロアントシアニジンが非抽出性成分として存在しており、非抽出性プロアントシアニジンが全体の20%未満で存在することを示した。茶大豆の調理加工品では、生豆と煎り豆の種皮中における非抽出性プロアントシアニジン量は、抽出性プロアントシアニジン量より少ないが、煮豆と蒸し豆では非抽出性ポリフェノールの方が多いいことを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

食品中のポリフェノールは、健康に良い影響を与えるかもしれない植物由来化合物として注目されており、その摂取と健康の維持増進との関連性が解明されつつある。本研究結果により、これまで見落とされていた非抽出性ポリフェノールが穀類中に存在すること、また調理加工により非抽出性ポリフェノールが増大することが明示された。このことから、一部の食品ではこれまでの報告より多くのポリフェノールを体内に取り込んでいることが示唆され、食事からのポリフェノール摂取量を調査する上で、非抽出性ポリフェノールの存在は考慮すべきであると提案できる研究成果と考えられる。

研究成果の概要(英文)：In this research project, non-extractable polyphenols that could not be extractable in acidic aqueous organic solvents were analyzed in order to determine the presence and amount of polyphenols in cereals and their processed products that are not detectable by conventional methods. In the seed coats of black and brown soybeans, proanthocyanidins, a type of polyphenol, were present as a non-extractable component. Non-extractable proanthocyanidins in the seed coat of black and brown soybeans were shown to be present in less than 20% of the total. In cooked processed black soybean products, the amount of non-extractable proanthocyanidins in the seed coat of raw and roasted beans was less than the amount of extractable proanthocyanidins, but the amount of non-extractable polyphenols was higher in boiled and steamed beans.

研究分野：食品科学

キーワード：豆類 ポリフェノール 非抽出性 加熱調理

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

ポリフェノールは一般的に水と有機溶媒(エタノールやアセトンなど)の混合液(含水有機溶媒)に易溶である。また弱酸性の溶液中では化学構造に変化がなく安定であるという性質を持つと認識されている。一方で、食品中のポリフェノールを分析機器で測定するためには、食品から取り出す(抽出する)操作が不可欠であり、ポリフェノールの特性上、酸性の含水有機溶媒がポリフェノール抽出に頻用されている。

しかし近年になり、野菜、果実、ナッツ、シリアル等の一部の食品で酸性の含水有機溶媒では抽出されないポリフェノール(非抽出性ポリフェノール)が存在することが明らかとなっている。食品から従来法(酸性の含水有機溶媒)で抽出されるポリフェノールは氷山の一角であり、食品には非抽出性ポリフェノールの方が多く存在していることを示唆する報告もある。そのため、従来法で分析された食品中のポリフェノールにより見積もられたポリフェノール摂取量は、真のポリフェノール摂取量からかけ離れている可能性がある。

他方、食品中のポリフェノールの摂取は心血管系疾患のリスク低減など健康の維持増進との関連性が解明されつつある。一方で、疾患のリスク低減と関連性がないもしくは低いという報告も見受けられ、一貫した見解が得られていないケースもある。

### 2. 研究の目的

真のポリフェノール摂取量を見積もるためには、従来法で食品から抽出されるポリフェノール量に、非抽出性ポリフェノール量を加えたデータベースが不可欠であり、そのデータベースを活用することにより、より信頼性の高い疫学調査の実施が可能となると考えられる。そこで、ポリフェノール摂取が健康の維持増進に貢献するのかという問いに対して、真のポリフェノール摂取量が不明なために一貫性のある明瞭な回答が導き出せてないという仮説のもと、穀類とその調理加工品の非抽出性ポリフェノールの量を明らかにする研究を実施する。

本研究では、食品からの真のポリフェノールの摂取量を推定可能なデータベースの構築することを最終ゴールとして、まず食品群から国内において摂取量が多い穀類とその調理加工品中の非抽出性ポリフェノールの量を明らかにすることを目的とする。

### 3. 研究の方法

#### (1) 試料からのポリフェノールの抽出

試料に酸性の含水有機溶媒(アセトン:水:酢酸 = 70:29.5:0.5)を加えて、ポリフェノールを抽出した。抽出の操作は3回繰り返した。ポリフェノールを抽出した後の残さは減圧下で乾燥することにより、非抽出性ポリフェノール用の試料とした。

#### (2) 酸加水分解によるプロアントシアニジンの定量

酸性の含水有機溶媒で抽出したポリフェノールを含む溶液は減圧下で濃縮乾固した後、ブタノール塩酸溶液を添加して加熱することで、ポリフェノールの加水分解を行った。非抽出性ポリフェノール用の試料には直接、ブタノール塩酸溶液を添加して加熱することで、ポリフェノールを加水分解して抽出した。得られた反応液の540nmにおける吸光度を測定した。プロアントシアニジン量はシアニジンで作成した検量線を用いてシアニジン相当量で算出した。

#### (3) アルカリ処理による非抽出性ポリフェノールの抽出および定量

非抽出性ポリフェノール用の試料へ濃度が異なる水酸化ナトリウム水溶液を添加して所定の温度でアルカリ処理を行った。得られた溶液中のポリフェノールはフォーリン・チオカルト法で定量した。ポリフェノール量は没食子酸で作成した検量線を用いて没食子酸相当量で算出した。

#### (4) 大豆の加熱調理

大豆の加熱調理には、一般的な豆類の調理法である水煮、蒸し、煎りを選択した。大豆は、加熱に供する前に豆重量の10倍量の水を加えて、10℃で16時間の浸漬により、吸水させた。浸漬後の豆は5分間の水切り後に、水煮、蒸しもしくは煎りの加熱調理に供した。

##### 水煮加熱

浸漬後の大豆に水を入れて加熱した。加熱には電磁調理器を用い、強火で沸騰後、微沸騰状態で45分間の水煮加熱を行った。加熱後、大豆をざるにあげた状態で放冷したものを試料とした。

##### 蒸し加熱

浸漬後の大豆をざるに入れて蒸し器の内部中央で加熱した。加熱には電磁調理器を用い、強火で沸騰後、沸騰状態を維持したまま90分間の蒸し加熱を行った。加熱後、放冷したものを試料として用いた。

##### 煎り加熱

浸漬後の大豆を天板に並べて、180℃のオープン内で30分間の煎り加熱を行った。加熱後、放冷したものを試料として用いた。

#### 4. 研究成果

##### (1) 種皮色が異なる大豆に存在する非抽出性ポリフェノール

試料中のポリフェノールを酸加水分解して抽出する分析法を用いて、大豆の分析を行った。大豆の種皮から酸性の含有有機溶媒でポリフェノールを抽出後の残さを試料にして、ブタノール塩酸溶液を添加後、加熱したところ、黒色、茶色、紅色および緑色の大豆の種皮の残さから得られた反応液では、濃淡はあったが赤色を呈した。さらに、反応液における吸収スペクトルの形状がアントシアニンと類似していたことから、残さにはプロアントシアニンが非抽出性成分として存在することが示された。反応液の吸光度から算出した非抽出性プロアントシアニン量は、黒色 > 茶色 > 紅色 > 緑色の順であった(図1)。この順は、大豆の種皮から酸性の含有有機溶媒で抽出されるプロアントシアニン量と同一であった。また、黒大豆と茶大豆の種皮では非抽出性プロアントシアニン量は、抽出性プロアントシアニン量の20%未満であり、有色大豆種皮中の非抽出性ポリフェノールの存在とその量を明らかにすることができた。

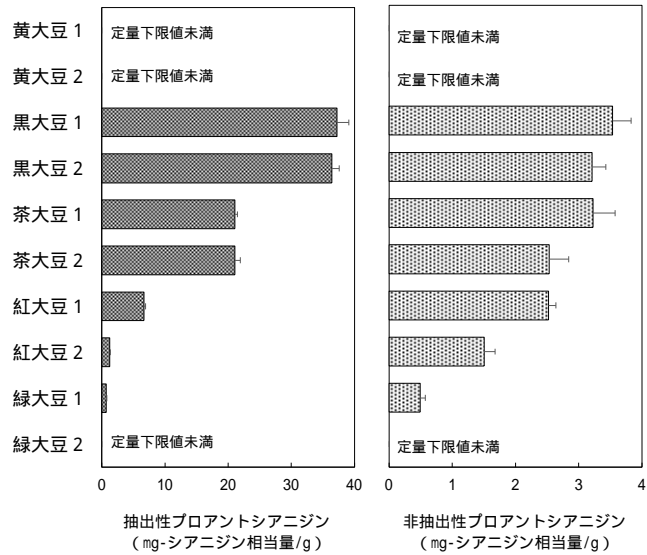


図1 大豆種皮中の抽出性および非抽出性プロアントシアニン量

##### (2) 雑豆に存在する非抽出性ポリフェノール

雑豆の種皮中における、抽出性および非抽出性ポリフェノール量を酸加水分解法で測定した。抽出性プロアントシアニン量は紫花豆で最も多く、最も少ない赤えんどう豆の約8.3倍であった。非抽出性プロアントシアニン量は、黒さげ豆で最も多く、最も少ないレッドキドニー豆の約5.1倍であった。このことより、一部の雑豆類の種皮には、ポリフェノールの一種であるプロアントシアニンが非抽出性成分として存在していることが示された。

##### (3) 加熱調理による大豆種皮中の非抽出性ポリフェノール

黒大豆から加熱調理品(煮る、蒸す、煎る)を調製し、試料中のポリフェノール量を酸加水分解法で測定した。種皮中の抽出性ポリフェノール量は、生豆 > 煎り豆 > 煮豆 > 蒸し豆の順であった(図2)。生豆と煎り豆の非抽出性ポリフェノール量は、抽出性ポリフェノール量より少なかったが、煮豆と蒸し豆では非抽出性ポリフェノールの方が多かった。

茶大豆から加熱調理品(煮る、蒸す、煎る)を調製し、試料中の抽出性および非抽出性ポリフェノール量を測定した。種皮中の抽出性ポリフェノール量は、生豆 > 煎り豆 > 煮豆 > 蒸し豆の順であった。生豆と煎り豆の非抽出性ポリフェノール量は、抽出性ポリフェノール量より少なかったが、煮豆と蒸し豆では非抽出性ポリフェノールの方が多かった。抽出性および非抽出性ポリフェノールの合計量は、煎り豆では生豆と同程度であったが、煮豆と蒸し豆では半分以下にまで減少した。

これらの結果より、加熱調理により非抽出性ポリフェノール量が抽出性ポリフェノール量より多くなる食品が存在することを明示できた。

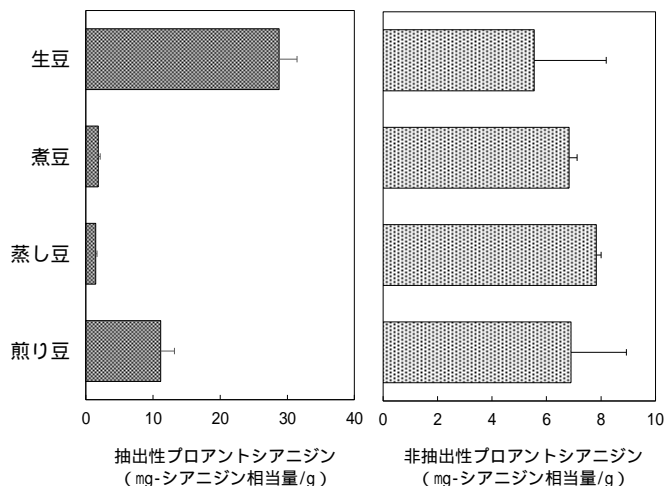


図2 黒大豆の加熱調理品中の抽出性および非抽出性プロアントシアニン量

##### (4) アルカリ溶液による非抽出性ポリフェノールの抽出条件の検討

黒大豆と赤米から酸性の含有有機溶媒でポリフェノールを抽出後の残さを試料にして、各種アルカリ水溶液を用いて、非抽出性ポリフェノールの抽出を試みた。アルカリ処理後の溶液中のポリフェノールをフォーリン・チオカルト法で定量したところ、アルカリ水溶液により非抽出性ポリフェノールが抽出されることが判明した。そこで、非抽出性ポリフェノールの抽出条件とし

て、水酸化ナトリウム濃度、抽出温度、及び抽出時間を選定し、それら条件の最適化を行った。最適化した条件を用いて、非抽出性ポリフェノール量と従来法で抽出されるポリフェノール量とを比較したところ、黒大豆種皮と赤米中の非抽出性ポリフェノール量は、それぞれ従来法でのポリフェノール量の約30%と約70%であった。

(5) 黒大豆加工品からアルカリ溶液で抽出した非抽出性ポリフェノール

黒大豆の市販加工品の種皮に存在する酸性の含水有機溶媒で抽出されるポリフェノール量は、煎り豆 > 蒸し豆 > 煮豆の順であった。黒大豆の市販加工品から酸性の含有有機溶媒でポリフェノールを抽出後の残さを試料にしてアルカリ処理で抽出できた非抽出性ポリフェノールは、酸加水分解法での結果と異なり、3種類の調理加工品で抽出性ポリフェノールよりも多かった。煎り豆において、酸加水分解法とアルカリ処理法とで異なる結果が得られたが、前者がプロアントシアニジンの加水分解物を測定しており、後者がプロアントシアニジンを含むポリフェノール類を測定していることから、分析法の違いに起因していると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 折田綾音、董丹々、沖智之
2. 発表標題 有色大豆種皮に存在するプロアントシアニジンの探索
3. 学会等名 日本食品科学工学会第69回大会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	折田 綾音  (Orita Ayane)  (20828173)	中村学園大学・栄養科学部・助手   (37109)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------