

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 16 日現在

機関番号：32670

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23700888

研究課題名(和文) 血中酸化ストレスを抑制する食材由来の新しい抗酸化成分の探索

研究課題名(英文) Screening study to search for antioxidative compounds in food materials.

研究代表者

大澤 絢子 (OSAWA, Ayako)

日本女子大学・家政学部・助教

研究者番号：00550287

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、「食材のin vitro抗酸化活性の評価」、「活性成分の単離・構造解析・同定」、「調理加工による活性成分変化の分析」を実施し、(1)菱の実に含有される抗酸化活性成分(没食子酸等)および菱茶エキスが有する次亜塩素酸消去能・鉄還元力能について、(2)養殖サケの魚肉に含有される抗酸化活性成分(カロテノイド)の構造とその抗酸化活性が加熱調理により受ける影響について、初めて明らかとすることができた。

研究成果の概要(英文)：A hot water extract of herbal tea from the seed with hard shell of *Trapa japonica* Flerov. showed moderate antioxidative activity against the rat brain homogenate model. We isolated the antioxidative compounds in the hard shell by chromatography, and examined the OXY-adsorbent test (hypochlorous acid scavenging model) and the BAP test (the ferric-reducing model), for the first time. These compounds were showed more potent as ascorbic acid.

We also analyzed the carotenoids in heat cooked (steamed, grilled, fried, and microwaved) Atlantic salmon fed mixtures of astaxanthin, adnirubin, and canthaxanthin, using HPLC, and compared with carotenoids contained in raw salmon for the first time. As a result, the cis-carotenoids derived from salmon fed carotenoids were clearly increased by heat cooking. We also examined the singlet oxygen quenching activities of the isolated trans- and cis-isomer carotenoids, and concluded that there were no significant differences between trans and cis-isomers.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：抗酸化活性成分 調理

## 1. 研究開始当初の背景

多くの生活習慣病や老化現象の一因として、活性酸素により生ずる組織(脂質やDNA等)の酸化障害があることは、種々の研究から既に疑いのないこととして理解されている。従って生体内で実際に抗酸化活性を示す食材成分の摂取は、上記疾患を予防するために極めて重要である。

栽培技術の確立、品種改良、あるいは流通の拡大等により最近になって目に触れるようになった食材は多い。このような食材に関しては含有される有用な生理活性成分に関する研究が未だ不十分であることが推測される。また、食材に含有される有用成分の探索研究では未調理の食材に含有される有用成分の同定及び抗酸化活性評価のみを実施したものも多く、これら有用成分含有食材を調理加工した際にこれらの成分がどのような構造に変化するか、また、これらの成分が経口摂取により血中にどの程度移行し、体内でどの程度の活性を有すかについての検討が未着手である場合も多い。そこで本研究では、より家庭生活に密接した生活科学的視点に基づき、実際に調理加工された食材中の抗酸化成分の変化や、抗酸化食材経口摂取後の血液中での抗酸化活性の変化について検討し、実際の生活におけるこれら食材の有用性を明らかにすることを旨とした。

## 2. 研究の目的

本研究では、生活科学という複合領域的な切り口に立脚し、「食材の *in vitro* 抗酸化活性の評価」「活性成分の単離・構造解析・同定」「調理加工による活性成分変化の分析」「経口摂取後に抗酸化活性成分が血中酸化ストレスに与える影響の評価」について一貫した研究を行い、これまで見逃されてきた、あるいは発見できなかった、我々が料理

として摂取した際に真に体内で有用性を示す食材・抗酸化成分の発見及び、それらに適した調理法の確立を目指す。

## 3. 研究の方法

まず、希少食材のエキスに対して *in vitro* 抗酸化活性試験(ラット脳脂質過酸化抑制活性系)を用いてスクリーニング評価を実施した。本試験において優れた活性を示し、かつ、活性成分の報告が見当たらない希少食材から当該抗酸化活性成分を単離し、HR-MS および NMR を用いて構造を解析した。単離した抗酸化活性成分は、血中での抗酸化力評価が可能なフリーラジカル測定装置 F.R.E.E (WISMERLL 社製)を用いた *in vitro* 抗酸化試験 {OXY 吸着テスト(次亜塩素酸消去能評価試験), BAP テスト(鉄還元力能評価試験)} で抗酸化活性の再評価を行い、それらの評価系での活性を明らかにした。

次に、見出した抗酸化活性成分含有食材を様々な条件により調理し、得られた調理済食材のエキスに対して抗酸化活性試験を行うことにより、対象食材の抗酸化活性保持に適した調理法を明らかにした。また、活性成分の調理による変化を DAD HPLC 分析により追跡し、調理により活性成分の構造が変化していた場合は、これを単離して構造を明らかにし、かつ、上記の抗酸化活性試験を用いてその活性を再検討した。

## 4. 研究成果

本研究では、まず、「食材の *in vitro* 抗酸化活性の評価」「活性成分の単離・構造解析・同定」「調理加工による活性成分変化の分析」を実施し、菱の実に含有される抗酸化活性成分(没食子酸等)および菱茶エキスが有する次亜塩素酸消去能・鉄還元力能について(以下、研究(1))、およびサケに含有

される抗酸化活性成分の経口摂取時（調理加工後）の構造と抗酸化活性について（以下、研究（2））、初めて明らかとすることができた。有用な抗酸化成分が含有される食材を調理加工後に経口摂取した際の血中抗酸化力の評価については、検討したものの、今回の研究では有用な結果を得ることはできなかった。

#### （1）菱茶に含有される抗酸化活性成分に関する研究

日本で飲用される様々な茶（煎茶、コーヒー、菱茶、ゴーヤ茶、麦茶、黒豆茶、そば茶）を調整し、ラット脳脂質過酸化抑制活性を用いてスクリーニング評価を実施した。本試験において、優れた活性を示した菱茶の抗酸化成分について検討を加えた。

菱茶の原材料である菱の実に含有される主な抗酸化成分は没食子酸(1)、1,2,3-トリガロイル-β-グルコシド(2)、1,6-ジガロイル-β-グルコシド(3)、1,2,6-トリガロイル-β-グルコシド(4)、オイゲニン(5)、1,2,3,6-テトラガロイル-β-グルコシド(6)であった（図1）。

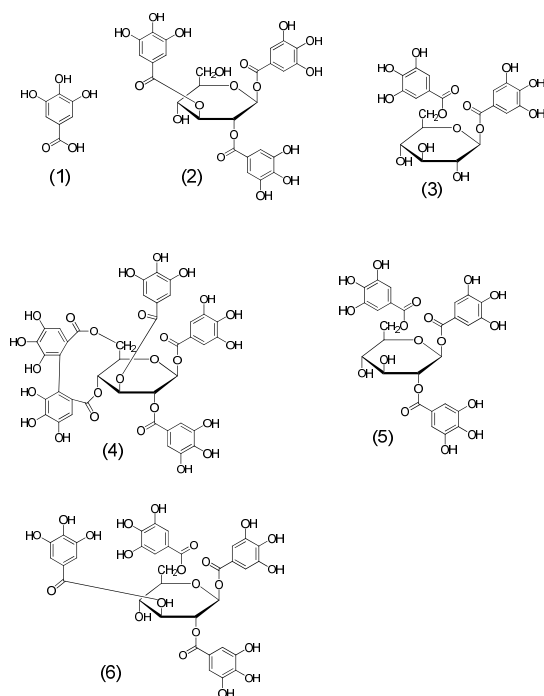


図1：菱の実に含有される抗酸化成分

ラット脳脂質過酸化抑制系における各成分の  $IC_{50}$  (50%阻害値) は、gallic acid が  $58 \mu\text{M}$ 、それ以外は  $0.2\text{-}0.3 \mu\text{M}$  程度であった。菱の実に存在するこれら 6 種の抗酸化成分は、熱水抽出中に重合し、菱茶中には遊離状態ではほとんど存在しないことが明らかとなった。抗酸化活性は遊離化合物の半分程度保持されていた。

また、本研究により、菱の実から得たこれら 6 種の抗酸化成分は、フリーラジカル測定装置 {F.R.E.E (WISMERLL 社製)} を用いた *in vitro* 抗酸化活性試験 {OXY 吸着テスト (次亜塩素酸消去能評価試験), BAP テスト (鉄還元力能評価試験)} において、優れた活性を示すことが初めて明らかとなった。

OXY 吸着テスト： $IC_{50}$

没食子酸(1)： $6 \mu\text{M}$ 、1,2,3-トリガロイル-β-グルコシド(2)： $1.4 \mu\text{M}$ 、1,6-ジガロイル-β-グルコシド(3)： $2.1 \mu\text{M}$ 、1,2,6-トリガロイル-β-グルコシド(4)： $1.6 \mu\text{M}$ 、オイゲニン(5)： $0.9 \mu\text{M}$ 、1,2,3,6-テトラガロイル-β-グルコシド(6)： $1.5 \mu\text{M}$ 、アスコルビン酸 (Positive Control)  $43 \mu\text{M}$ 。

BAP テスト： $IC_{50}$

没食子酸(1)： $32 \mu\text{M}$ 、1,2,3-トリガロイル-β-グルコシド(2)： $25 \mu\text{M}$ 、1,6-ジガロイル-β-グルコシド(3)： $29 \mu\text{M}$ 、1,2,6-トリガロイル-β-グルコシド(4)： $28 \mu\text{M}$ 、オイゲニン(5)： $15 \mu\text{M}$ 、1,2,3,6-テトラガロイル-β-グルコシド(6)： $26 \mu\text{M}$ 、アスコルビン酸 (Positive Control)  $90 \mu\text{M}$ 。

#### （2）養殖サケに含有されるカロテノイドおよびその抗酸化活性の調理による変化に関する研究

サケの身の赤色は、その身に蓄積されるカロテノイド（主にアスタキサンチン）由来のものであり、サケの養殖では身の色どりを豊かにするためにアスタキサンチン等のカロ

テノイドを添加した飼料を用いて養殖している。本研究では、色素源としてカンタキサンチン・アドニルビン・アスタキサンチン混合物を添加した飼料を投与した養殖サケを用いて、加熱調理により含有カロテノイドにどのような変化があるかを検討した。具体的には、サケの身に含有される脂溶性エキス（含カロテノイド）の抗酸化活性評価、活性成分（カロテノイド）の単離・構造解析・同定、調理加工による活性成分の構造および活性値の変化の検討を実施し、以下の4点を初めて明らかにすることができた。

サケの脂溶性エキスは活性酸素の一種である一重項酸素( $^1O_2$ )の消去能を有しており、当該 *in vitro* 試験においてエキス 60  $\mu$ L でアスタキサンチン 10  $\mu$ M と同等の優れた活性を示した。

サケの切身の脂溶性エキスに含有される $^1O_2$  消去活性成分は主に身に蓄積されているカロテノイドであることが明らかとなっている。今回用いた養殖サケにはトランス型のカンタキサンチン(7)、アドニルビン(8)、アスタキサンチン(9)、アドニキサンチン(10) (図2)が含まれていた。これらはサケの一般的な加熱調理(焼く、蒸す、揚げる、電子レンジ加熱)により5-20%がシス体(図2, 化合物(11)~(14))に変化した。調理前後でサケの身から得られる脂溶性エキスの $^1O_2$  消去活性の強さに変化はないことが初めて明らかとなった。

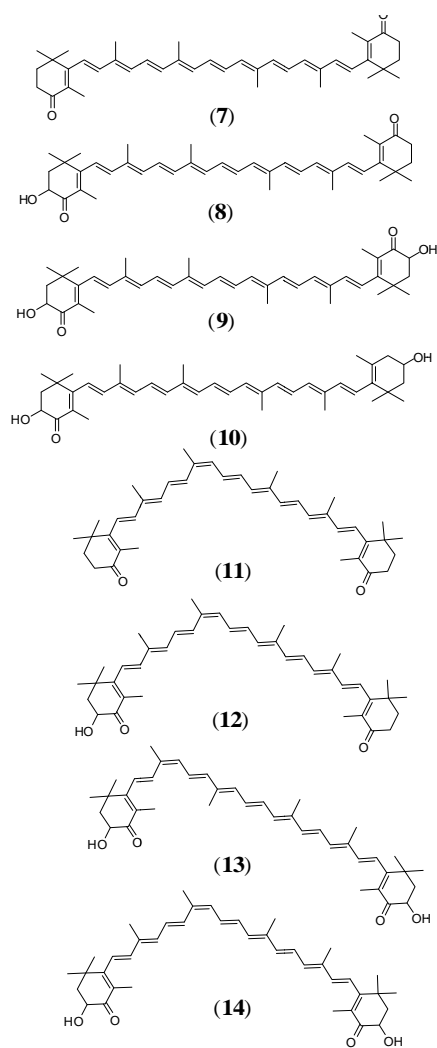


図2：養殖サケの切り身に含有されるカロテノイド（化合物(7)~(10)は調理前後のサケの切身に含有されたカロテノイド、化合物(11)~(14)は調理後のサケ切身で増加したカロテノイド）

加熱調理により生じるシス型カロテノイドの量は調理法により異なっており、電子レンジ加熱においてシス型カロテノイドが最も多く発生することが初めて明らかとなった。(図3)

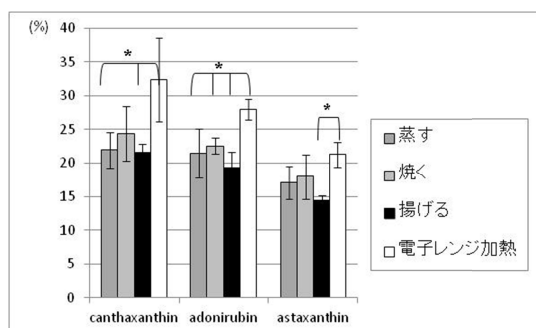


図3：4 手法（蒸す、焼く、揚げる、電子レンジ加熱）の加熱調理により増加したシス型カロテノイド量（％）の比較

加熱前のサケ切身に含有されるトランス型カロテノイド（化合物(7)～(10)）と、加熱調理後に増加したシス型カロテノイド（化合物(11)～(14)）をそれぞれ単離し、 $^1O_2$ 消去活性試験を実施したところ、それぞれ同程度（2-7  $\mu\text{M}$ ）の優れた活性を有することが初めて明らかとなった。

今後の展望としては、抗酸化食材摂取後の血中への抗酸化成分移行時間および移行量、消化後の構造等についてさらに詳細に明らかとした上で、これらが血中抗酸化力に寄与する可能性について検討していきたい。

#### 5．主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Ayako Osawa, Kumiko Ito, Nami Fukuo, Takashi Maoka, Hideki Tsuruoka, Kazutoshi Shindo., Changes of carotenoids in Atlantic salmon by heat cooking and the singlet oxygen quenching activities of the artificially produced carotenoids., Journal of Food Processing & Technology., 査読有, in press

〔学会発表〕(計 1 件)

大澤 絢子、伊藤 久美子、福尾 菜美、眞岡 孝至、鶴岡 秀樹、新藤 一敏、サケのカロテノイドおよびその抗酸化活性への調理による影響について、第 67 回日本栄養・食糧学会大会、2013 年 5 月、名古屋。

#### 6．研究組織

(1)研究代表者

大澤 絢子 (OSAWA Ayako)

日本女子大学家政学部食物学科・助教

研究者番号：00550287