

未利用資源の活用による食品素材の開発に関する研究

- レンコンの *in vitro* における機能性評価について -

食品工業部

鶴田裕美 柘植圭介 吉村臣史

江口良寿 小金丸和義

県内農産物の出荷調整時に発生する規格外品の野菜および果物を新たな食品素材として有効利用するために、その1つとして県内産レンコン2品種の抗酸化性および膵リパーゼ阻害活性について評価した。その結果、レンコンの品種および抽出方法によって若干差異はあるものの、いずれも比較的高いポリフェノール含量と抗酸化性が認められた。また、膵リパーゼ阻害活性も認められ、抗肥満作用などを有する機能性食品素材として利用できる可能性も考えられる。

1. はじめに

佐賀県は、レンコン、タマネギ、アスパラガス、ミカンなど農産物の生産量が多い地域である。しかし、これらの農産物は、近年、消費者が見た目の良い商品を好む傾向にあることから、形の悪い農産物は、出荷時に長さを切り揃えたり、廃棄されたりしている。また、豊作の場合は、流通価格の下落を防ぐために、廃棄処分して出荷量の調整が行なわれる。レンコンについては、収穫時期の終盤に収穫されたものに関しては、通常より水分が少なく、味が劣ることから、そのほとんどが圃場の外に廃棄放置され、腐敗臭などが問題となっている。これらの農産物のうち、規格外品として県内で廃棄されている量は、総量で約2,000トンにも及ぶと言われている。

しかし、野菜や果物の多くは、食物繊維、ビタミン、ミネラル、カロテノイド、ポリフェノールなど体調を整える栄養成分を有することが知られている。例えば、タマネギに関しては、硫黄化合物やポリフェノールの一種であるケルセチンを多く含み、血中の脂質低下作用、抗酸化作用、血小板凝集抑制作用などが報告されている¹⁾。アスパラガスについては、アスパラギン酸、ルチンを多く含み、抗酸化能が高いことが知られており、サポニン類の抗ガン作用も細胞試験系で確認されている²⁾。ミカンについても、ヘスペリジンなどフラボノイド類の機能性について報告が多数存在する。これらのことを考慮すると、多くの有効な機能性成分が出荷調整によって大量に廃棄処分されていると考えられる。

そこで、本研究では、これらの農産物の規格外品を加工して、食品素材や機能性素材として有効利用することを目的とした。しかし、レンコンについては、栄

養学的な機能性に関する研究報告が少ないため、まず、はじめに、レンコンの機能性評価について検討することとした。今回の実験では、佐賀県内で一般的に栽培されている「金澄8号」および佐賀県農業試験研究センターの改良品種である「さが白祥」の2品種のレンコンを用いた。レンコンは、野菜の中でも比較的高い抗酸化性を有することが報告されていることより、抗酸化性の評価方法の一つであるDPPHラジカル消去活性を測定し、その活性成分として、ポリフェノールの関連性についても検討した³⁾。近年、ポリフェノールの抗肥満作用を訴求した特定保健用食品の開発が話題となっている^{4),5)}。そこで、レンコンについても食事からの脂質吸収に関わる酵素である膵リパーゼの阻害活性について *in vitro* 系で調べた。また、総ポリフェノールの抽出は、一般的に80%メタノールを用いて行なわれる場合が多いが、含まれているポリフェノールや試料の種類によっては、抽出され難い場合もあるので、80%アセトン抽出による比較も同時に検討したので報告する。

2. 実験方法

2.1 試料および試薬

レンコンは、佐賀県農業試験研究センター・白石分場で収穫された「金澄8号」および「さが白祥」の2品種を用いた。試薬は、没食子酸(和光純薬)、炭酸ナトリウム(和光純薬) フォーリン・チオカルト試薬(和光純薬)、1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)(和光純薬) 2-morpholinoethanesulphonic acid (MES)(同仁化学)、trolox (BIOMOL)、リパーゼ測定キットS(大日本製薬株式会社) lipase from porcine pancreas, Type (SIGMA)を用いた。

2.2 試料の調製

水洗いしたレンコンを真空凍結乾燥後、粉碎し、試料とした。試料1gに抽出溶媒として、80%メタノール(MeOH)または80%アセトン(Ac)を50mLに加え、1時間攪拌抽出後、遠心分離(3,000rpm, 5分間)、上清を回収した。この操作を3回繰り返し、回収した抽出液をろ紙を用いてろ過した。さらに、抽出液を減圧濃縮後、抽出溶媒で50mLに定容し、80%MeOH抽出液、80%Ac抽出液とした。

2.3 総ポリフェノール量の測定

総ポリフェノール量の測定には、Folin-Ciocalteu法⁶⁾を一部改良して用いた。すなわち、60μLの蒸留水を入れた96穴マイクロプレートに10μLのサンプル溶液を加え、2倍希釈したフォーリン・チオカルト試薬15μLを加えて攪拌し、室温で5分間静置した。さらに、2%炭酸ナトリウム溶液75μLを加え、攪拌し、室温で15分間静置後、750nmの吸光度を測定した。標準物質に没食子酸を用いて検量線を作成し、サンプルの総ポリフェノール量を没食子酸当量として換算した。

2.4 DPPHラジカル消去活性の測定

DPPHラジカル消去活性を須田らの方法⁷⁾を用いて測定し、抗酸化能の評価を行なった。すなわち、96穴マイクロプレートに200mM MES緩衝液(pH6.0)50μL、適宜希釈したサンプル液50μLを加え攪拌し、エタノールに溶解した200μM DPPH溶液を加え、室温で20分間反応後、520nmの吸光度を測定した。標準物質には、抗酸化物質であるTroloxを用いて検量線を作成し、DPPHの退色率からサンプルの抗酸化能をTrolox当量として換算した。

2.5 隣りパーゼ阻害活性測定

隣りパーゼ活性の測定法は、リパーゼ測定キットSを用い、付属の測定方法を一部改良して行なった。すなわち、48穴マイクロプレートにサンプル30μL(対照には抽出溶媒を使用)、発色液(発色原液: 付属緩衝液: 蒸留水=1:1:6で調製)160μL、50μg/mLリパーゼ溶液(0.1M NaClを含む0.1M Tris-HCl, pH7.0に溶解)20μLを加え、攪拌後、30で5分間加温した。その後、基質液20μLを加え、攪拌し、30分間加温後(ブランクは、反応停止液を先に加える)反応停止液400μLを加え、攪拌し、412nmの吸光度を測定した。

$$\text{阻害率 (\%)} = 100 - \frac{(\text{Sample } A_{412} - \text{Sample blank } A_{412})}{(\text{Control } A_{412} - \text{Control blank } A_{412})} \times 100$$

3. 結果および考察

3.1 総ポリフェノール量

レンコンの凍結乾燥を行った結果、水分含量は、「金澄8号」で81.64%、「さが白祥」で80.16%であった。表1にレンコン乾燥粉末の80%Acおよび80%MeOH抽出における総ポリフェノール量を示す。乾燥粉末あたりの総ポリフェノール量は、両品種においてMeOHよりもAc抽出で高値を示し、レンコンのポリフェノールについては80%MeOHよりも80%Acで抽出効率が高いことが確認された。また、新鮮重量100gあたりに換算すると、80%Ac抽出における「さが白祥」の総ポリフェノール量は「金澄8号」よりも約20%多いことが認められた。

3.2 DPPHラジカル消去活性

表2に各抽出物のDPPHラジカル消去活性を測定した結果を示す。乾燥粉末あたりでは、Ac抽出でMeOH抽出より高い活性が認められ、Ac抽出では「さが白祥」が高値を示し、MeOH抽出では「金澄8号」で活性が高かった。この傾向は、新鮮重量100gあたりに換算しても同様であった。また、総ポリフェノール量とDPPHラジカル消去活性の相関を調べた結果、高い正の相関が認められ、レンコンに認められる抗酸化性は、ポリフェノール量に依存する可能性が示唆された(図1)。

表1 抽出溶媒の違いにおけるレンコンの総ポリフェノール量の比較(没食子酸当量)

サンプル	乾燥粉末 (mg/g)	新鮮重量 (mg/100g)
金澄8号		
80%Ac	10.8	197.6
80%MeOH	8.7	159.8
さが白祥		
80%Ac	11.9	235.9
80%MeOH	8.7	172.1

表2 抽出溶媒の違いにおけるレンコンのDPPHラジカル消去活性の比較(Trolox当量)

サンプル	乾燥粉末 (μmol/g)	新鮮重量 (mmol/100g)
金澄8号		
80%Ac	161.4	2.96
80%MeOH	99.9	1.83
さが白祥		
80%Ac	197.0	3.91
80%MeOH	85.9	1.70

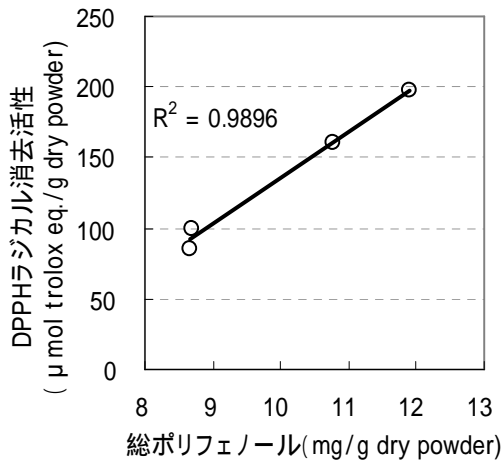


図1 レンコン抽出物における総ポリフェノール量とDPPHラジカル消去活性の相関

3.3 膵リパーゼ阻害活性

図2に各抽出物のリパーゼ阻害活性を測定した結果を示す。レンコン抽出物2.5mg/mLにおける膵リパーゼ阻害活性は、MeOH抽出物よりもAc抽出物で高い活性を示し、レンコンの品種による大差はなかった。また、総ポリフェノール量の多い抽出物で膵リパーゼの阻害活性が高かったことより、レンコン中に膵リパーゼ阻害作用を有するポリフェノール成分が含まれる可能性も示唆された。

4. おわりに

近年、野菜、果物およびその成分に関する研究が盛んに行なわれ、疫学調査においても野菜、果物の摂取量が多いほどガンやメタボリックシンドロームの発症

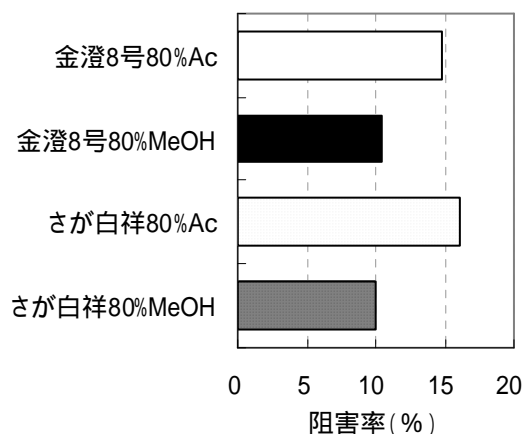


図2 レンコン抽出物の膵リパーゼ阻害活性 (酵素反応時: 2.5mg/mL dry powder)

リスクが低下することが報告されている⁸⁾。しかし、レンコンの機能性に関する報告は少なく、規格外品を新たな食品素材として有効利用するためには、まず、レンコンの機能性について評価を行う必要がある。本研究では、県内産2品種のレンコンについてDPPHラジカル消去活性および膵リパーゼ阻害活性の測定を行った。その結果、抽出方法および品種によって若干差異はあるものの、野菜の中でも比較的高いポリフェノール含量と抗酸化性が認められ、レンコンに抗酸化性および膵リパーゼ阻害活性を有するポリフェノール成分が含まれる可能性が見出された。今後は、さらに有効成分の特定および*in vivo*における実験を行なう予定である。

最後に、本研究にあたり試料提供および御助言を賜りました佐賀県農業試験研究センターに深謝致します。

参考文献

- 1) Hubbard GP, Wolfram S, de Vos R, Bovy A, Gibbins JM, Lovegrove JA. Ingestion of onion soup high in quercetin inhibits platelet aggregation and essential components of the collagen-stimulated platelet activation pathway in man: a pilot study. *Br J Nutr.* **96** (3):482-8 (2006)
- 2) Shao Y, Chin CK, Ho CT, Ma W, Garrison SA, Huang MT.: Anti-tumor activity of the crude saponins obtained from asparagus. *Cancer Lett.*, **104** (1) : 31-36 (1996).
- 3) 津志田藤二郎ほか: 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**, 611-618(1994)
- 4) Nakai M, Fukui Y, Asami S, Toyoda-Ono Y, Iwashita T, Shibata H, Mitsunaga T, Hashimoto F, Kiso Y.: Inhibitory effects of oolong tea polyphenols on pancreatic lipase in vitro. *J Agric Food Chem.*, **53** (11): 4593-8 (2005).
- 5) Tsuchida, T., Itakura, H. and Nakamura, H.: Reduction of body fat in humans by long-term ingestion of catechins. *Prog. Med.*, **22**, 2189-2203 (2002).
- 6) Sun T, Tang J, Powers JR.: Effect of pectolytic enzyme preparations on the phenolic composition and antioxidant activity of asparagus juice. *J Agric Food Chem.*, **53** (1): 42-48 (2005).
- 7) 須田郁夫, 食品機能研究法, 光琳, 218-220 (2000).
- 8) Baxter AJ., Coyne, T., McClintock, C.: Dietary patterns and metabolic syndrome- a review of epidemiologic evidence. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.*, **15** (2), 134-142 (2006)