

‘水ナス’果実の抗酸化活性並びに外傷によるその活性の増大

橋田浩二^{1*}・中村 隆¹・森田尚文²・今堀義洋²・鈴木敏征¹・池田英男²

¹大阪府立食とみどりの総合技術センター 583-0862 大阪府羽曳野市尺度442

²大阪府立大学大学院農学生命科学研究科 599-8531 大阪府堺市学園町1-1

Antioxidative Activity in Eggplant ‘Mizu-nasu’ Fruit and its Enhancement after Injury

Koji Kitsuda^{1*}, Takashi Nakamura¹, Naofumi Morita², Yoshihiro Imahori², Toshiyuki Suzuki¹ and Hideo Ikeda²

¹Agricultural, Food and Environmental Sciences Research Center of Osaka Prefecture, Habikino, Osaka 583-0862

²Graduate School of Agriculture and Biological Sciences, Osaka Prefecture University, Sakai, Osaka 599-8531

Summary

The antioxidative activities of normal and injured eggplant ‘Mizu-nasu’ fruit were evaluated using Trolox, which is a 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging reagent. In normal ‘Mizu-nasu’ fruit, there was a positive correlation ($r=0.93$, $n=9$) between anthocyanin concentration and the radical scavenging activity of the peel of ‘Mizu-nasu’ fruit. The amount of chlorogenic acid in the pulp of ‘Mizu-nasu’ fruit was $1.4 \mu\text{mol/g} \cdot \text{f.w.}$ About half of the radical scavenging activity of the pulp was attributed to the chlorogenic acid in the pulp. The peel contributed 15.9% of the activity of its whole fruit, and the pulp contributed 84.1%. The injured part ($6.69-8.05 \mu\text{mol}$ of Trolox equivalent/g) had stronger activity than the normal part ($3.46-4.73 \mu\text{mol}$ of Trolox equivalent/g) of the fruit. These results suggest that injured fruit could be worth using as a polyphenol-rich-food.

キーワード： DPPH ラジカル消去活性, 外傷, 抗酸化活性, 水ナス

緒 言

大阪府特産の‘水ナス’は、大阪府泉州地域を中心に生産されている一地方品種である。‘水ナス’果実の浅漬は全国的に人気を博しているが、生産者の経営安定化のためには、浅漬原料としてのみではなく、内容成分に着目した加工用途を開発するなど、販路の多様化を図る必要がある。近年の消費者は、食品に対して、栄養やおいしさのみならず、健康に寄与する機能性をも求めている。そこで、‘水ナス’果実の機能性を調査し、含有される有用成分とその効果を明らかにすることができれば、機能性食品の素材としての販路を新たに開拓することが可能と考えられる。

ナスの機能性として、Azumaら(1999)が抗酸化活性を、Shinoharaら(1988)が抗変異原性をそれぞれ報告している。さらに、ナス由来のアントシアニンについても高い抗酸化活性を有する(Igarashiら, 1993; Nodaら, 1998; Sugimotoら, 2003)ことが報告されている。しか

しながら、ナスでは果皮色が異なることをはじめとして、品質の品種間差が大きい。そのため、地方品種の利用法を検討するには、その品種を試料として各種成分や機能性を評価する必要がある。

‘水ナス’の果実品質について、貯蔵中のアスコルビン酸およびフェノール含量の変化(阿部ら, 1980; 阿部・黒岡, 1998)や漬物加工適性(橘田, 2003)に関する報告や、品質評価技術として果皮色の非破壊定量法(橘田ら, 2003)に関する報告はあるが、果実の抗酸化活性に関与する成分を調査した報告は見当たらない。

そこで本報では、食品中の抗酸化活性評価法として広く用いられている1, 1-ジフェニル-2-ピクリルヒドラジル(DPPH)ラジカル消去活性の測定によって、‘水ナス’果実の抗酸化活性を明らかにするとともに、抗酸化活性に関与する成分を調査した結果を報告する。さらに、‘水ナス’果実は、栽培中に外傷を受けると等級は低下するが、外傷によって果実の抗酸化活性はむしろ増加することを見出したので、これについても報告する。

2004年9月8日 受付. 2004年12月22日 受理.

* Corresponding author. E-mail: kitsuda@afr.pref.osaka.jp

材料および方法

1. 供試材料

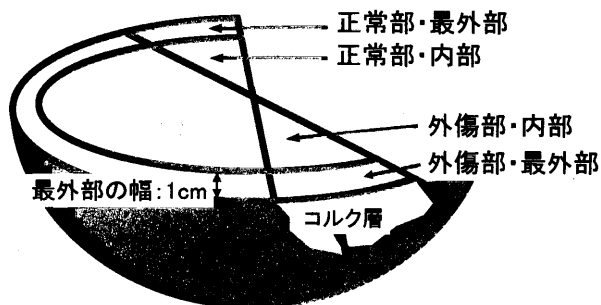
実験材料として、大阪府立食とみどりの総合技術センター内ビニルハウスで慣行栽培し、1個 200 g 程度の収穫適期となった‘水ナス’果実を用いた。また、等級外品である外傷‘水ナス’果実には、栽培中に葉との摩擦などによって外傷を受け、果実表面の一部がコルク層となった果実(以下、外傷果実とする)を用いた。なお、調査はすべて2003年5月から6月の間に行った。

2. 外傷がない‘水ナス’の外果皮および果肉における主要ポリフェノール成分とDPPHラジカル消去活性との関係

外果皮中のアントシアニン含量は、三浦(1996)に準じて測定した。まず外果皮 0.20 g を 1% 塩酸含有 80% エタノール中で摩砕し、ろ紙(No. 5A)でろ過した。残渣は、再抽出を3回行い、ろ液を合わせて 100 ml に定容し、525 nm における吸光度を測定した。同時に、抽出液の DPPH ラジカル消去活性を測定し、アントシアニン含量との相関を求めた。これらの測定は1果実から1点ずつ、9果実について行った。

果肉中のクロロゲン酸含量は、上田(2000)の方法を一部改変して以下の方法によって測定した。すなわち、果肉 2.0 g を 80% エタノール中で摩砕し、3回の抽出を行い、20 ml に定容した抽出液を Varian 社製 BOND ELUT-C18 で粗精製した後、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で測定した。HPLC には、島津製作所(株)製ポンプ(LC-9型)にカラム SP-120-5-ODS-BP (6 mm i.d. × 250 mm, 40°C, ダイソー(株)製)を連結した装置を用いた。溶離液は、0.1% ギ酸含有 25% アセトニトリル水溶液とし、1.0 ml/分 の速度で流した。検出は 254 nm で行った。

部位によって抗酸化活性に差がある可能性が高いため、果実を外果皮と果肉に分け、果肉をさらに最外部、種子周辺、および中央部の各部位に分け、それぞれの部位の重量および DPPH ラジカル消去活性を測定した。3果実について調査し、それぞれの部位の平均値を示した。それぞれの抽出液の DPPH ラジカル消去活性は、須田



第1図 外傷果実における DPPH ラジカル消去活性の調査部位とその呼称

(2000)の方法に準じて、Tris-HCl 緩衝液 (pH 7.4) 0.8 ml に検液 0.2 ml および 0.5 mM の DPPH エタノール溶液 1.0 ml を混合し、暗所で 20 分間、室温下で反応させた後に 517 nm の吸光度を測定した。試料の測定結果は、既知の抗酸化成分である Trolox の 0~500 μ M で作成した検量線を用いて Trolox 当量に換算し、生体重 1 g 当たりのラジカル消去活性として示した。

3. 外傷が‘水ナス’果肉中の DPPH ラジカル消去活性に及ぼす影響

第1図のように、外傷果実を外傷部と正常部に分け、さらにそれぞれの果肉を、幅 1 cm の最外部と、それより内側の内部に分けた。それらの試料について、前述の方法で DPPH ラジカル消去活性を測定した。3果実について調査した。

4. 統計解析

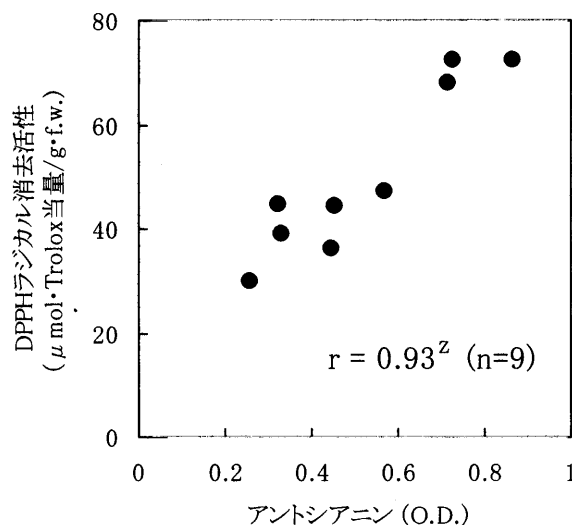
アントシアニン含量と DPPH ラジカル消去活性との相関には、ピアソンの相関係数の有意性検定を行った。外傷果実の部位間比較には、エス・ピー・エス・エス(株)製統計ソフト「SPSS11.0J」を用いて、一元配置分散分析を行った後、Tukey の多重比較によって有意差を検定した。

結果

1. 外傷がない‘水ナス’の外果皮および果肉における主要ポリフェノール成分と DPPH ラジカル消去活性との関係

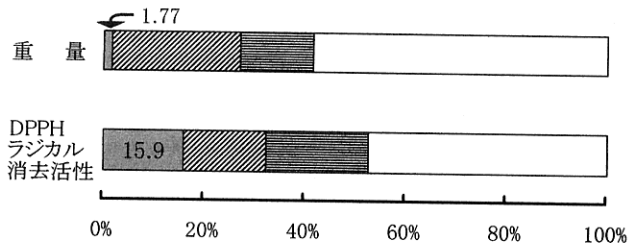
外果皮中のアントシアニン含量と DPPH ラジカル消去活性との関係を第2図に示す。個体のアントシアニン幅は O.D. で 0.25~0.87 となり、個体間で3倍以上の差が見られた。一方、DPPH ラジカル消去活性は 30~73 μ mol・Trolox 当量/g・f.w. となり、2倍以上の差があった。

両者の間には正の相関が認められ、相関係数 $r=0.93$



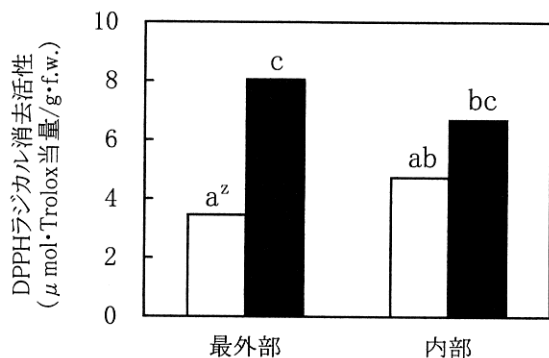
第2図 ‘水ナス’外果皮におけるアントシアニン含量と DPPH ラジカル消去活性との関係

^z5%の危険率で有意性あり(ピアソンの相関係数の有意性検定による)



第3図 ‘水ナス’外果皮におけるアントシアニン含量と DPPH ラジカル消去活性の寄与割合 (n=3)

■ 外果皮, ▨ 果肉最外部, ▩ 果肉種子周辺, □ 果肉中央部



第4図 外傷果実の正常部と外傷部における DPPH ラジカル消去活性

□ 正常部, ■ 外傷部

²異なる文字間には5%の危険率で有意あり (Tukeyの多重比較による, n=3)

(n=9)であり, 統計的に有意であった。

果肉抽出液の HPLC 分析では保持時間約 7.8 分に最も大きなピークが見られ, これはクロロゲン酸のピークと一致した。そのときのクロロゲン酸含量は $1.4 \mu\text{mol/g}\cdot\text{f.w.}$ であった。

外果皮は, 果実1個当たりで見ただけの場合, 重量では 1.77% を占めるだけであったが, DPPH ラジカル消去活性では 15.9% を占めた (第3図)。一方, 最外部, 種子周辺, 中央部に分けた果肉部分において, 種子周辺は重量では 14.5% と小さかったが, DPPH ラジカル消去活性では 20.5% と, 比較的大きな割合を占めた。

2. 外傷が ‘水ナス’ 果肉中の DPPH ラジカル消去活性に及ぼす影響

外傷果実の最外部における DPPH ラジカル消去活性は, 正常部では $3.46 \mu\text{mol}\cdot\text{Trolox 当量/g}\cdot\text{f.w.}$ であったのに対し, 外傷部では $8.05 \mu\text{mol}\cdot\text{Trolox 当量/g}\cdot\text{f.w.}$ と有意に高かった。同様に内部では, 正常部が $4.73 \mu\text{mol}\cdot\text{Trolox 当量/g}\cdot\text{f.w.}$ に対して, 外傷部は $6.69 \mu\text{mol}\cdot\text{Trolox 当量/g}\cdot\text{f.w.}$ と高い傾向にあった (第4図)。

コルク層となった外傷部の外果皮からは, アントシアニンは検出されなかった。

考 察

‘水ナス’正常果の外果皮では, アントシアニン含量が高くなるほど DPPH ラジカル消去活性が高くなったことから, 外果皮で DPPH ラジカル消去活性に關与する主要成分は, アントシアニンであると推定できる。

‘水ナス’果肉抽出液を HPLC 分析したクロマトグラムには, 保持時間がクロロゲン酸標準品と一致し, ピーク面積が最大であるピークを確認した。このことから, 果肉は, 多量のクロロゲン酸を含有していると考えられる。

クロロゲン酸標準品 1 mol の DPPH ラジカル消去活性は Trolox 2 mol 相当であり, 試料中のクロロゲン酸による DPPH ラジカル消去活性は $2.80 \mu\text{mol}\cdot\text{Trolox 当量/g}\cdot\text{f.w.}$ と算出された。これは総活性 ($5.72 \mu\text{mol}\cdot\text{Trolox 当量/g}\cdot\text{f.w.}$) の約 1/2 に相当する。このことから, 果肉の DPPH ラジカル消去活性は多様な成分の活性の総和によるものであるが, その成分の中で最も重要なものは, クロロゲン酸であると推定される。阿部ら (1976) は, ‘千両’果実のフェノール物質の主なものクロロゲン酸であることを報告しているが, 今回の結果によって ‘水ナス’果実においても主要フェノール物質はクロロゲン酸であると考えられる。

果実1個の DPPH ラジカル消去活性に対する各部位の寄与割合を見た場合, 外果皮では重量比は 1.77% と小さかったが, 単位重量当たりの DPPH ラジカル消去活性が高かったため, 寄与割合は 15.9% と大きかった。一方, 果肉では, 重量比が 98.2% を占めるため, DPPH ラジカル消去活性は外果皮より低かったものの, 寄与割合は 84.1% を占めることになる。そのため, 単位重量当たりの DPPH ラジカル消去活性が高い外果皮とともに, 寄与割合が高い果肉もまた重要な部位であると判断できる。

等級外と判断される外傷果実の果肉について, 正常部と外傷部の DPPH ラジカル消去活性についてみると, 果肉最外部の外傷部の DPPH ラジカル消去活性は, 正常部に比して有意に高かった。したがって, ‘水ナス’果肉の DPPH ラジカル消去活性は, 外傷を受けるとさらに高まると考えられた。このことは, サツマイモの切断傷害組織に隣接する健全部でクロロゲン酸などが急激に増加する (瓜谷, 2001) 現象と同様と考えられる。

そのことから, 外傷により現状では等級外と判断される果実でも, より高い抗酸化活性を有する健康食品として販売できる可能性が示唆された。

摘 要

地方品種 ‘水ナス’果実の抗酸化活性を DPPH ラジカル消去活性測定法によって評価するとともに, 外傷被害が抗酸化活性に及ぼす影響を調査した。

外果皮中のアントシアニン含量と DPPH ラジカル消去活性の間には正の相関が認められ, 相関係数 $r=0.93$

(n=9)で、統計的に有意であった。

クロロゲン酸は、果肉中に多量に含まれており、果肉中のDPPHラジカル消去活性の約1/2の活性を示した。

外果皮では重量比は1.77%と小さかったが、単位重量当たりのDPPHラジカル消去活性が高かったため、寄与割合は15.9%と大きかった。果肉では、重量比が98.2%を占めるため、寄与割合は84.1%を占めた。

外傷果実の最外部におけるDPPHラジカル消去活性は、正常部では $3.46 \mu\text{mol} \cdot \text{Trolox当量} / \text{g} \cdot \text{f. w.}$ であったのに対し、外傷部では $8.05 \mu\text{mol} \cdot \text{Trolox当量} / \text{g} \cdot \text{f. w.}$ と有意に高かった。

以上のように、地方品種‘水ナス’の正常果実は抗酸化活性が高いこと、および外傷果実は抗酸化活性がさらに増加していることが明らかになり、近年関心が高まっている健康食品の中で、より高い抗酸化活性を有する素材として利用できる可能性が示唆された。

謝 辞 本論文を作成するにあたり、研究課題の調整にご尽力いただいた大阪府立産業開発研究所の松下 隆氏に感謝の意を表す。

引用文献

- 阿部一博・茶珍和雄・緒方邦安. 1976. ナス果実の低温障害に関する研究(第2報)低温障害発生に対する熟度ならびに収穫時季の影響. 園学雑. 45: 307-312.
- 阿部一博・茶珍和雄・緒方邦安. 1980. ナス果実の低温障害に関する研究(第6報)品種間におけるナス果実の貯蔵性とフェノール含量の関係について. 園学雑. 49: 269-276.
- 阿部一博・黒岡 浩. 1998. 数種栽培品種のナス果実のアスコルビン酸含量の相違と低温障害発生程度との関連. 日食保蔵誌. 24: 237-242.
- Azuma, K., K. Ippoushi, H. Ito, H. Higashio and J. Terao. 1999. Evaluation of antioxidative activity of vegetable extracts in linoleic acid emulsion and phospholipid bilayers. J. Sci. Food Agric. 79:2010-2016.
- Igarashi, K., T. Yoshida and E. Suzuki. 1993. Antioxidative activity of nasunin in Choja-nasu (little eggplant, *Solanum melongena* L. 'Choja'). Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi. 40: 138-143.
- 橋田浩二・入江正和・中村 隆・因野要一・西岡輝美・辻 博美. 2003. 非破壊迅速法による水ナス果皮中ナスニンの定量. 食科工. 50: 261-265.
- 橋田浩二. 2003. 高湿度貯蔵による水ナスの品質保持. 農流技研報. 253: 22-24.
- 三浦周行. 1996. アントシアニン. p. 653-660. 新・食品分析法編集委員会編. 新・食品分析法. 光琳. 東京.
- Noda, Y., T. Kaneyuki, K. Igarashi, A. Mori and L. Packer. 1998. Antioxidant activity of nasunin, an anthocyanin in eggplant. Res. Commu. in Mol. Patho. and Pharmacology. 102: 175-187.
- Shinohara, K., S. Kuroki, M. Miwa, Zwe-Ling Kong and H. Hosoda. 1988. Antimutagenicity of dialyzates of vegetables and fruits. Agric. Biol. Chem. 52: 1369-1375.
- Sugimoto, E., K. Igarashi and A. Takenaka. 2003. Preventive effect of dietary nasunin on galactosamine-induced liver injury in rats. Food Sci. Technol. Res. 9: 94-99.
- 須田郁夫. 2000. 分光学的抗酸化機能評価. p. 218-220. 篠原和毅・鈴木建夫・上野川修一編著. 食品機能研究法. 光琳. 東京.
- 上田悦範. 2000. 化学成分の変化. p. 133-141. 山口裕文・堀内昭作・森源治郎監修. 応用植物科学実験. 養賢堂. 東京.
- 瓜谷郁三. 2001. サツマイモの病傷害に伴うポリフェノール類の生成・酸化. p. 49-76. 瓜谷郁三編著. ストレスの植物生化学・分子生物学. 学会出版センター. 東京.