

ホウレンソウのORAC値への収穫後処理と茹で時間の影響

清水 恒・渡辺 満

(農研機構 東北農業研究センター)

Influence of the Post-harvest Treatment and Boiling Time on the Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) of Spinach

Hisashi SHIMIZU and Mitsuru WATANABE

(NARO Tohoku Agricultural Research Center)

℃で保管し、凍結乾燥後粉碎して試料とした。

1 はじめに

ヒトの体内の活性酸素種は疾病の発症や老化等に関与すると考えられており、活性酸素種を消去する抗酸化物質を含む野菜や果物等食品の抗酸化能は、疾病予防や老化抑制等に役立つ可能性があるとして注目されている。

Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC)法は、食品の抗酸化能測定法の一つであり、汎用性や結果の生体適合性が高いことから、統一的な抗酸化能測定法として普及が図られている。既に様々な食品のORAC値が発表されているが、市販されている食材・食品の測定値が主であり、圃場で収穫された農産物のORAC値や流通・加工中のORAC値の変化については、ほとんど検討されていない。

そこで、野菜の主要品目の一つであるホウレンソウについて、収穫後の処理方法の違いと、茹で調理を行った場合の茹で時間の違いが、ORAC値に及ぼす影響について検討を行ったので、その結果を報告する。

2 試験方法

(1) 供試試料の調製

処理方法の影響の分析に使用したホウレンソウは、東北農業研究センター内のビニールハウスで平成23年10月～12月に栽培した「朝霧」で、収穫後4群に分けた。一群は、収穫後すぐに液体窒素で冷凍し、もう一群は、収穫後すぐに板状のドライアイスで挟んで冷凍した。残り2群は冷蔵し、収穫3時間後と24時間後に-80℃のフリーザーに入れて冷凍した。冷凍した試料は-80℃で保管し、凍結乾燥後粉碎して試料とした。

茹で時間の影響の分析には、市販されているホウレンソウと寒締めホウレンソウを使用した。常に沸騰させたお湯で茹で、茹で時間は、試料投入後、15秒、30秒、1分、2分、4分、6分(寒締めホウレンソウは、15秒、30秒、1分、2分)とした。茹でた後、ただちに冷水中で1分間冷却し、キムタオルで水気を除去して-80℃のフリーザーで冷凍した。冷凍した試料は、-80

(2) 試料抽出液の調製

凍結乾燥後の粉末試料を0.1g秤取し、ヘキサン:ジクロロメタン(v:v=1:1)で抽出した。30秒懸濁し、遠心分離後上清を回収した。抽出は5回行い、回収した上清は遠心エバポレータで濃縮後、窒素ガスを吹き付けて溶媒を除去し、DMSO 5ml 加えたものを親油性成分の抗酸化能(L-ORAC)測定試料溶液とした。

続いて、抽出後の固体残渣にメタノール・水・酢酸溶液(v:v:v=90:9.5:0.5, 以下MWA溶液とする)を加え、超音波洗浄器で5分間抽出し、遠心分離後、上清を回収した。抽出は2回行い、MWA溶液で25mlに定容したものを親水性成分の抗酸化能(H-ORAC)測定試料溶液とした。

(3) ORAC測定

食品機能性評価マニュアル集に掲載されているORAC法²⁾に基づき、96 well マイクロプレート (FALCON, #353072)に測定用試料溶液 35 μ L、Fluorescein 溶液(110.7nmol/L:75mmol/L リン酸緩衝液 pH7.4) 15 μ L を加え、37℃に保ったプレートリーダー(TECAN Infinite200 PRO)を用い、Fluorescein溶液の蛍光強度を測定した(Em: 485nm, Ex: 535nm)。その後、APH(2,2'-azobis(2-amidinoopropene) dihydrochloride) 溶液(L-ORACでは63.4mmol/L, H-ORACでは31.7mmol/L:75mmol/L リン酸緩衝液 pH7.4)を50 μ L添加して振とう攪拌後、添加2分後から2分間隔で蛍光強度の経時変化を測定した(L-ORAC:120分間, H-ORAC:90分間)。蛍光強度を記録したグラフの曲線下面積を算出し、100g新鮮重あたりのTrolox相当量(mmol TE/100g FW)としてORAC値を表示した。

L-ORACは、Huangら¹⁾の方法に準拠し、試料溶液とTrolox標準溶液(96.9 μ mol/L:75mmol/L リン酸緩衝液 pH7.4)の希釈溶媒に、7%(w/v)メチル- β -シクロデキストリン・アセトン水溶液(v:v=1:1)を用いて測定した。

また、L-ORAC値と H-ORAC値を加算し、総ORAC値(T-ORAC値)を算出した。

3 試験結果及び考察

(1) 収穫後の処理方法のORAC値の影響

液体窒素区とドライアイス区ではH-ORAC値、L-ORAC値、T-ORAC値に差は認められなかった。3時間冷蔵した試料は、収穫後直ちに冷凍した試料よりL-ORAC値は大きくなったが、H-ORAC値は減少した。24時間冷蔵した試料は、3時間冷蔵した試料よりH-ORAC値とT-ORAC値が減少した(図1)。

(2) 茹で時間のORAC値への影響

H-ORAC値とT-ORAC値は、茹で時間が長くなると減少する傾向を示した(図2)。L-ORAC値は、茹で時間が30秒までは減少し、それ以上茹で加熱しても変化しなかった。寒締めハウレンソウにおいても、同様の傾向が認められたが、L-ORAC値の減少量は小さかった。(図3)。

収穫後の冷蔵することによりL-ORAC値が増加し、H-ORAC値が減少したことから、圃場で採取した試料のORAC値を測定する際には、収穫後の処理方法を出来るだけ揃える必要があることが示された。圃場で収穫直後に液体窒素で急速に冷凍することが望ましいが、実施は困難であることから、収穫後、ドライアイス、または保冷剤等で冷却しておき、圃場から戻り次第、速やかに冷凍することが良いと思われた。

冷蔵によるL-ORAC値の増加については、原因は不明であり、更に検討する必要がある。

茹で調理による影響について、H-ORAC値は、茹で時間が2分間の時、茹でる前より17%減少し、寒締めハウレンソウでは23%減少した。これは、収穫後24時間冷蔵時の減少率(26%)より小さかったことから、茹で調理によるH-ORAC値への影響は、収穫後冷蔵保存による影響よりも小さいと判断した。

本試験で使用した試料の初期のORAC値は、H-ORAC値で2359~3287 $\mu\text{mol TE}/100\text{g FW}$ 、L-ORAC値で513~3869 $\mu\text{mol TE}/100\text{g FW}$ 、T-ORAC値で3002~7158 $\mu\text{mol TE}/100\text{g FW}$ と、差異が認められることから、品種や栽培条件等でORAC値が異なる可能性が示されたので、今後より多くの試料について分析を行い、ハウレンソウのORAC値に関する情報を収集する必要がある。

4 ま と め

ハウレンソウのORAC値は、収穫後冷蔵すると、L-ORAC値が大きくなり、H-ORAC値は減少した。茹で調理すると、H-ORAC値とT-ORAC値は、茹で時間が長くなるに従って減少し、L-ORAC値は、茹で時間が30秒

までは減少するが、それ以上は変化しなかった。

引 用 文 献

- 1) Huang, D.; Ou, B.; Hampsch-Woodill, M.; Flanagan, J. A.; Deemer, E. K. 2002. Development and Validation of Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay for Lipophilic Antioxidants Using Randomly Methylated β -Cyclodextrin as the Solubility Enhancer. J. Agric. Food Chem. 50:1815-1821.
- 2) 沖 智之, 竹林 純, 山崎 光司. 2008. (2) ORAC法. 食品機能性評価マニュアル集第II集(日本食品科学工学会). 79-86.

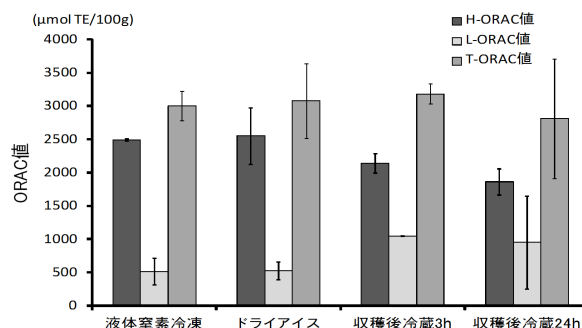


図1 収穫後の処理方法とORAC値の関係

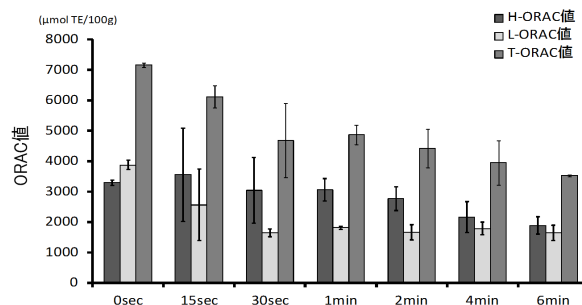


図2 茹で調理における茹で時間とORAC値の関係

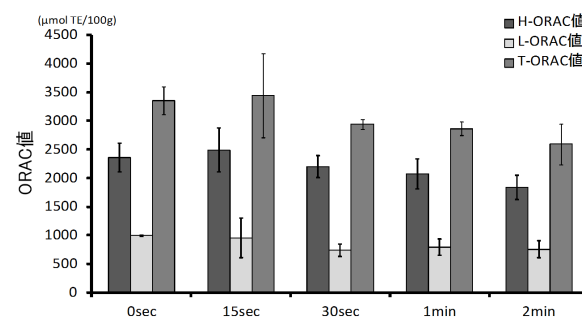


図3 寒締めハウレンソウの茹で時間とORAC値