

技術報告**ナス科野菜の酸素ラジカル吸収能 (Oxygen radical absorbance capacity) の評価**石川 (高野) 祐子*¹⁾, 若木 学¹⁾, 斎藤 新²⁾, 河崎 靖³⁾, 山本 (前田) 万里¹⁾

¹⁾ 国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 食品研究部門
〒305-8642 茨城県つくば市観音台2-1-12

²⁾ 国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 本部
〒305-8517 茨城県つくば市観音台3-1-1

³⁾ 国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 野菜花き研究部門
〒305-8519 茨城県つくば市観音台3-1-1

Effects of variety and cultivation condition on antioxidant activities of solanaceous vegetables (*Solanaceae* spp.).Yuko Takano-Ishikawa*¹⁾, Manabu Wakagi¹⁾, Atsushi Saito²⁾,
Yasushi Kawasaki³⁾, Mari Maeda-Yamamoto¹⁾

¹⁾ Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization,
2-1-12 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8642

²⁾ Headquarter, NARO, 3-1-1 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8517

³⁾ Institute of Vegetable and Floriculture Science, NARO, 3-1-1 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8519

Abstract

Antioxidant activities of solanaceous vegetables (tomato, bell pepper, eggplant) were evaluated by oxygen radical absorbance capacity (ORAC) method. On solanaceous vegetables, the ORAC values were affected by variety, cultivation, osmotic stress. And the hydrophilic-ORAC value exhibited higher contribution to the total ORAC value than lipophilic ORAC.

The ORAC value of tomato were ranged 1268.5 'Indian wild no.112' to 293.9 'LAINATES' $\mu\text{mol TE}/100\text{g FW}$ (Hydrophilic; H-ORAC), and 125.4 'Red ore' to 43.6 'Nagakute 4gou'(Lipophilic; L-ORAC) on genetic resource and commercial varieties.

Comparison between open-field and greenhouse culture for 11 varieties, open-field culture displayed higher H-ORAC

* 連絡先 (Corresponding author) yuko@affrc.go.jp

values than those of greenhouse culture, significantly.

For bell pepper, the contribution of H-ORAC was higher than L-ORAC for total ORAC value. H-ORAC of 'Amatoubijin' (2643.3 ± 212.2) which belongs to sweet type of hot pepper, was approximately twice as varieties of bell pepper.

H-ORAC values of eggplants were tend to increase by osmotic stress, though the optimum EC was different.

Key words:

近年、生体内酸化ストレスとメタボリックシンドロームをはじめとする生活習慣病や老化、加齢性の疾患等との関係が解明されつつある¹⁾。そのため生体に元々備わったスーパーオキシドディスムターゼなど抗酸化酵素群の活性酸素除去機構に加え、食事から摂取する抗酸化物質も健康維持に重要ではないかと考えられるようになった。実際に、抗酸化成分を多く含む農産物・食品の摂取、あるいはPriorら²⁾の開発した抗酸化能評価値である酸素ラジカル吸収能 (Oxygen radical absorbance capacity: ORAC) 値の高い食事により脳卒中等のリスクが低減されるとの疫学的調査³⁾もある。そこで、本試験では抗酸化能の高い野菜生産技術の確立や抗酸化能の高い新品種の育成のための遺伝資源探索を目的として、ナス科野菜の抗酸化能を妥当性確認された測定法を用いてORAC値を評価し、品種・系統間差異、あるいは作期・栽培条件等による抗酸化能値の変動を明らかにした。

材料および方法

試薬類、ジクロロメタン (ナカライテスク)、メタノール、n-ヘキサン、酢酸、2,2'-Azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH)、リン酸水素二カリウム、リン酸二水素カリウム、ジメチルスルホキシド (DMSO) (以上和光純薬)、メチル-β-サイクロデキストリン (純正化学)、フルオレセインナトリウム塩、(±)-6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox[®]) (以上Sigma-Aldrich) は、すべて特級相当のグレードのものを用いた。

農研機構野菜茶業研究所 (現: 野菜花き研究部門) の安濃地区 (三重県津市) ならびに武豊地区 (愛知県知多郡武豊町) にて栽培されたナス科野菜 (トマト、ピーマン、ナス) の果実を供試した。供試品種の栽培履歴等は結果の項に記した。果実は収穫後直ちに凍結し、全量を凍結乾燥 (真空凍結乾燥機FD-20BU/SK01; 日本テクノサービス株式会社) した。凍結乾燥後、グラインドミックス (GM-200; Retsch社) により約300 μm粒度まで粉碎し、アルミパウチ袋に入れ、使用時

まで遮光密閉状態で-30 °Cで保存した。果菜類の凍結乾燥粉末約1 gを精秤し、メタノール洗浄済の海砂と混合した後、高速溶媒抽出装置 (ASE-350: 日本ダイオネクス社) を用いて、n-ヘキサン:ジクロロメタン (1:1) により抽出される親油性画分 (抽出条件: 溶媒を吸入して70 °C, 5分間静置後, 1500 psi (10.34 MPa) の圧力で60秒間パージを4回繰り返す) を抽出, 引き続きMWA溶媒 (メタノール:水:酢酸 = 90:9.5:0.5) を用いて抽出 (抽出条件: 溶媒を吸入して80 °C, 5分間静置後, 1500 psiの圧力で60秒間パージを4回繰り返す) を行い, 親水性画分を得た。親油性画分は窒素気流下で乾固, 親水性画分はMWA溶媒で50 mLに定容した後, それぞれ測定まで-80 °Cで保存した。

L-ORAC測定: 親油性画分はDMSO (5 mL) で再溶解した後, 7% (w/v) メチル-β-サイクロデキストリンを含む50%アセトン溶液で適宜希釈し, 渡辺らの改良法⁴⁾に従ってL-ORAC値を測定した。測定には96穴マイクロプレート (Falcon; #3072) を用い, 試料溶液 (35 μl) に110.7 nmolのフルオレセイン (115 μl) を蛍光プローブとして加え, ラジカル発生剤であるAAPH (63.4 mmol; 50 μl) との共存下での蛍光強度の経時変化 (0 ~ 120 min) をPowerscan HT (大日本ファーマメディカル) を用いて測定した。L-ORAC値は新鮮重量100 gあたりのTrolox相当量 (μmol TE/100 g FW) として示した。

H-ORAC測定: 親水性画分は, 75 mM リン酸緩衝液 (pH 7.4) を用いて適宜希釈し, 渡辺らの改良法⁵⁾に従ってH-ORAC値を測定した。測定には96穴マイクロプレート (Falcon; #3072) を用い, 試料溶液 (35 μl) に110.7 nmolのフルオレセイン (115 μl) を蛍光プローブとして加え, ラジカル発生剤であるAAPH (31.7 mmol; 50 μl) との蛍光強度の経時変化 (0 ~ 90 min) をPowerscan HTを用いて測定した。H-ORAC値は新鮮重量100 gあたりのTrolox相当量 (μmol TE/100 g FW) として示した。

統計処理

統計処理にはエクセル統計 (BellCurve) を用い、実験結果は一部を除き、平均値±標準偏差 (SD) で表した。一元配置分散分析の後、Tukey-Kramerの多重比較検定により危険率5%以下を有意差ありと判定した ($p < 0.05$)。

実験結果および考察

1. トマトの品種・系統ならびに栽培条件によるORAC値の差異

(1) 遺伝資源保存系統と栽培品種のORAC値の評価

農研機構野菜茶業研究所 (安濃) の一般露地圃場において、遺伝資源保存用の系統を28系統、ならびに一般に栽培されている9品種を2012年6~7月の適熟時に収穫した果実 (3~13個) を用い、これらを1群として反復無しで処理、評価した (図1)。なお、トマトの通常管理の施肥条件については、以下のとおりである。窒素 (N) 15 kg/10a, 可溶性りん酸 (P_2O_5) 36 kg/10a, 加里 (K_2O) 14 kg/10a, 可溶性苦土 (Mg) 16

kg/10a, くみあい被覆燐硝安加里413-100 (通称: エコロンG413-100) (ジェイカムアグリ株式会社) 107 kg/10a, 16粒状炭酸苦土石灰 (まぐかる) (白石カルシウム株式会社) 100 kg/10a, 17.5粒状過燐酸石灰 (協同肥料株式会社) 137 kg/10a, なお、全量を元肥にて行った。

遺伝資源保存用品種では、H-ORAC値が1268.5 '印度野生112' ~ 293.9 'LAINATES' $\mu\text{mol TE}/100\text{g FW}$ (以下同じ単位), L-ORAC値が125.4 'レッドオーレ' ~ 43.6 '長久手4号' の範囲であった。単年度かつ反復無しの結果であることから、統計解析は行えなかったが、栽培品種では、生食用大玉品種、加工用品種に比べ、ミニトマトあるいは中玉品種のORAC値が高かった。また、トマトの総ORAC値には親水性画分の寄与が高く、品種・系統間差異は主にH-ORAC値に由来するところが大きかった。遺伝資源保存系統のうち、'印度野生112' や '305-52-1-2-3' などの系統は大玉栽培品種の平均よりも高いORAC値を示したが、'印度野生112' を除く系統はいずれもミニトマト、中玉トマトよりもORAC値は低かった。

(2) 栽培品種のORAC値の評価

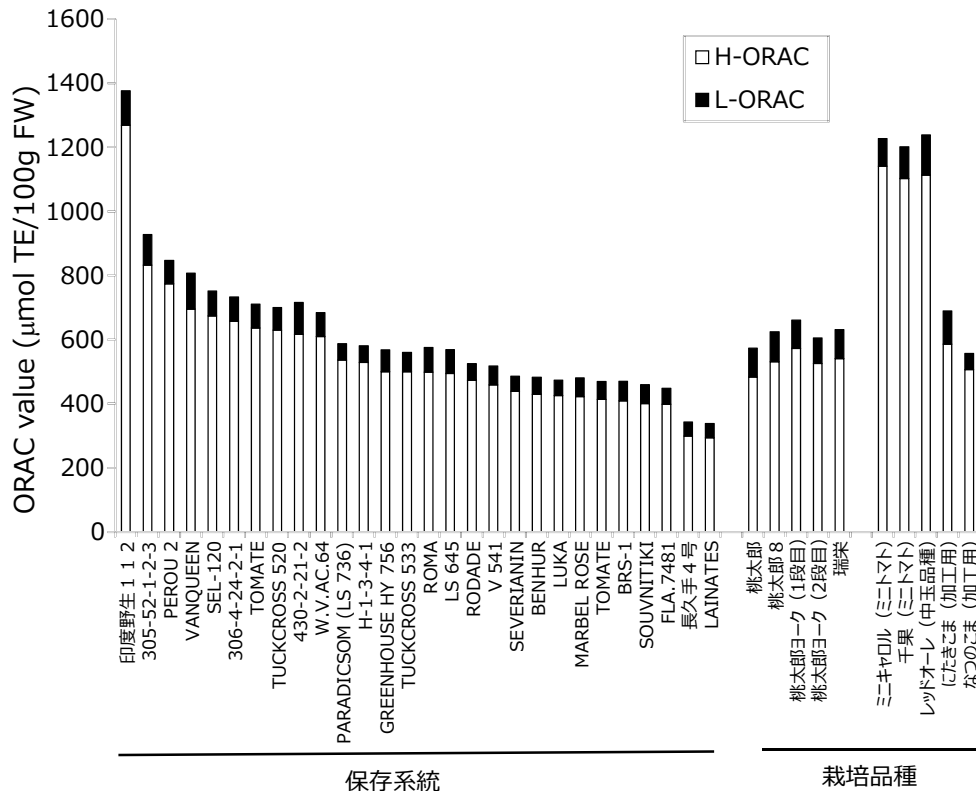


図1. トマト果実抗酸化能の保存系統・栽培品種間差異 (野菜茶業研究所・安濃)

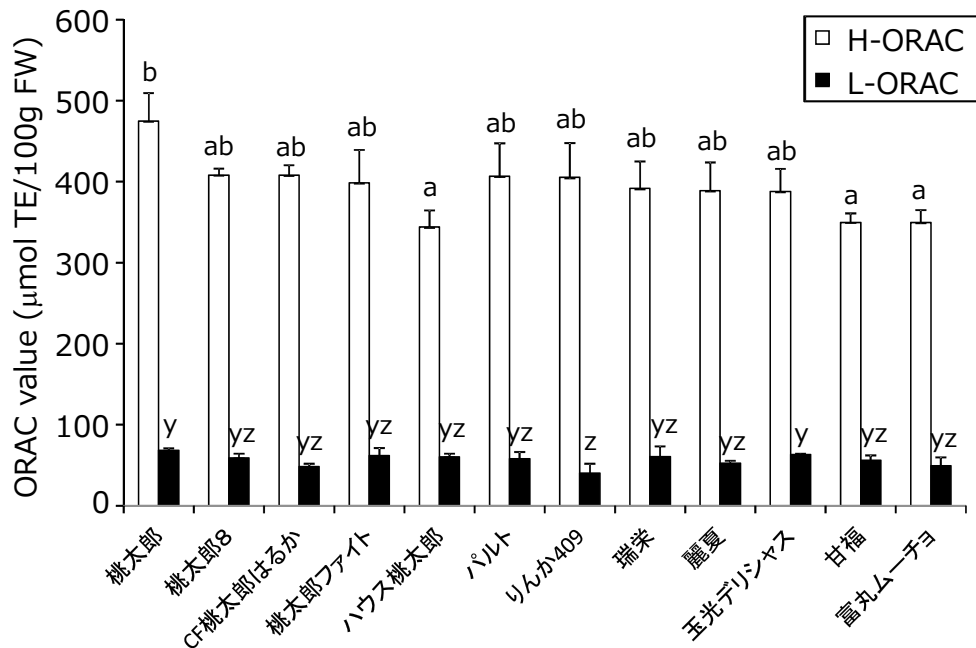


図2. トマト果実抗酸化能の品種間差異 (野菜茶業研究所・安濃)

土耕栽培で通常管理された大玉栽培品種の適熟果3果を1群として、3反復での評価を行った。異なるアルファベットは5%水準で有意差があることを示す。

安濃一般露地圃場において2013年6～7月に適熟時に収穫された大玉栽培品種12品種（通常管理）のORAC値を1群3果として3反復で評価した（図2）。栽培品種では、H-ORAC値が 474.8 ± 34.7 ‘桃太郎’～ 349.5 ± 15.3 ‘富丸ムーチョ’、L-ORAC値が 68.3 ± 2.7 ‘桃太郎’～ 48.4 ± 3.2 ‘CF桃太郎はるか’の範囲であった。桃太郎においては、H、L-ORAC値ともに、‘ハウス桃太郎’、‘甘福’、‘富丸ムーチョ’に比べ有意に高い値を示した。しかし、それ以外の品種ではORAC値の品種による有意差は認められず、通常管理された大玉品種で同じ時期に収穫された果実では、H、L-ORAC値ともに大きな違いはなかった。

(3) 栽培条件がORAC値に与える影響

通常管理下で露地とビニールハウスで同一の品種・系統を栽培した際に、栽培条件がORAC値に与える影響を明らかにするため、2014年6～7月に適熟時に収穫された品種・系統（大玉品種は3果を1群、中玉／ミニトマト品種は5果ないし10果を1群として3反復）を評価した（図3）。その結果、H-ORAC値は 988.9 ± 51.5 ‘ミニキャロル’（露地）～ 298.4 ± 33.6 ‘桃太郎ゴールド’（ビニールハウス）、L-ORAC値は 113.7 ± 14.6 ‘レッドオーレ’（ビニールハウス）～ $36.6 \pm$

16.5 ‘トマト安濃交9号’（露地）の範囲であった。H-ORAC値はいずれの品種・系統においても、露地栽培ではビニールハウス栽培よりも高い値を示した。L-ORAC値では、‘レッドオーレ’や‘カンパリ’において、H-ORAC値とは逆にビニールハウス栽培の方が有意に高い値であったが、その他の品種では明らかな傾向は認められなかった。

そこで、2015年も同様に品種数を増やして検討を行った（図4）。気象条件によりビニールハウス栽培の果実については、一部の品種のみの調査となったものの、昨年同様、同一品種においては露地栽培のORAC値はビニールハウス栽培よりも有意に高い値を示したことから、栽培方法がORAC値に影響を与えることが確認された。また生食用大玉品種よりもミニトマト品種‘アイコ’（ 611.8 ± 27.6 、‘イエローアイコ’（ 665.7 ± 14.9 ）、中玉品種‘シシリアンルージュ’（ 594.8 ± 57.3 ）の方が果皮色（赤、黄）にかかわらず高いH-ORAC値を示すことも確認された。

(4) 補光条件がトマトのORAC値に与える影響

武豊地区のビニールハウス内で2014年6月2日に定植、7月7日に第一果房以下を摘葉後、補光を開始した。補光は第1果房の約1m下方から、白色蛍光灯：ベッ

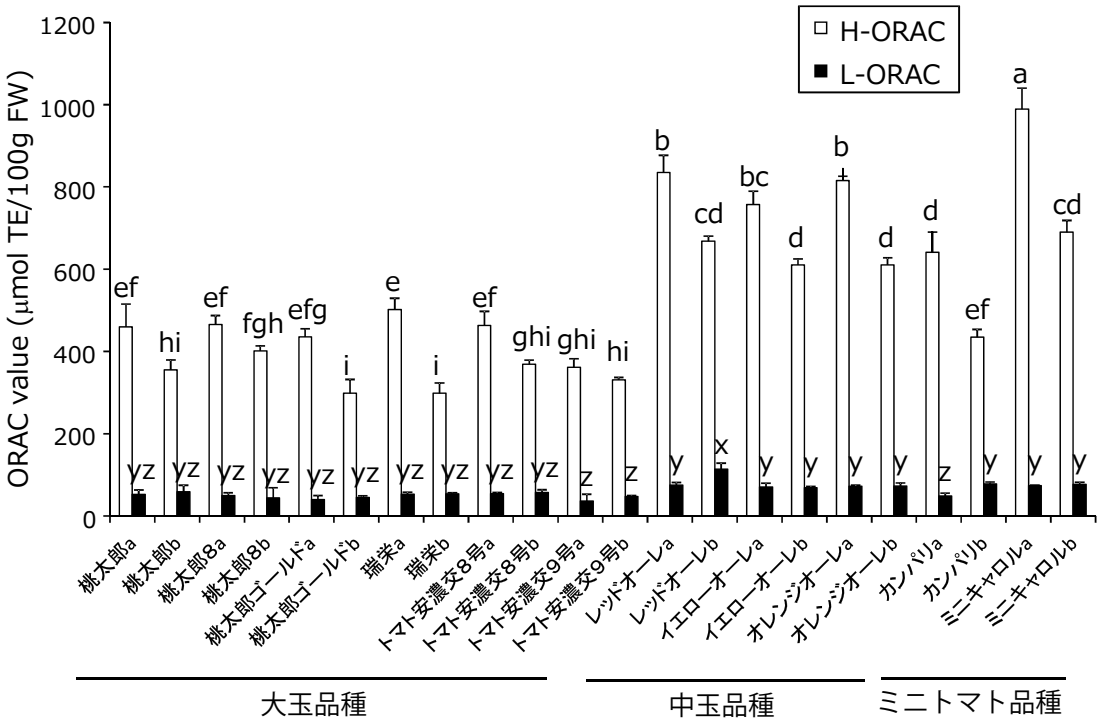


図3. トマト果実抗酸化能の品種間および栽培方法による差異 (2014年野菜茶業研究所・安濃)

2014年6～7月に収穫された、露地、およびビニールハウス栽培で通常管理された適熟果3果を1群として、3反復での評価を行った。品種名の後ろのaは露地栽培、bはビニールハウス栽培。異なるアルファベットは5%水準で有意差があることを示す。

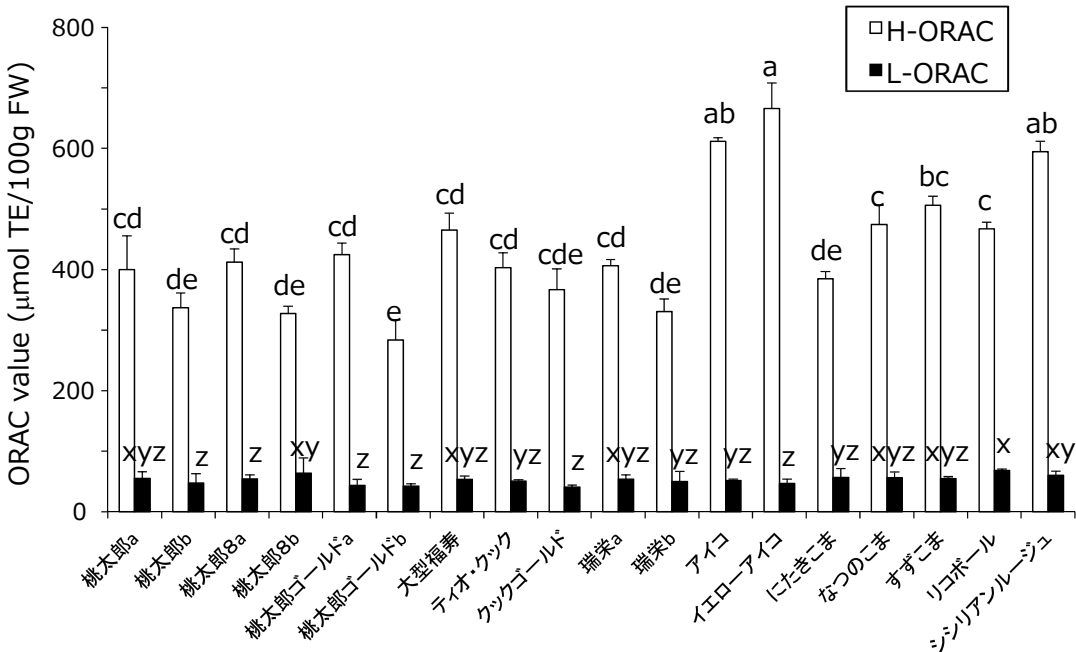


図4. トマト果実抗酸化能の品種間および栽培方法による差異 (2015年野菜茶業研究所・安濃)

2015年6～7月に収穫された、露地、およびビニールハウス栽培で通常管理された適熟果3果を1群として、3反復での評価を行った。品種名の後ろのaは露地栽培、bはビニールハウス栽培。異なるアルファベットは5%水準で有意差があることを示す。

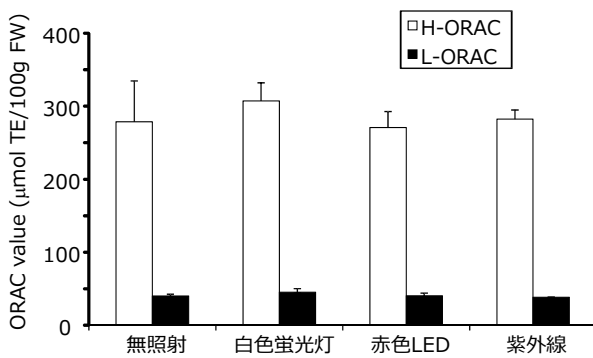


図5. トマト果実抗酸化能に与える収穫前補光処理の影響 (野菜茶業研究所・武豊)

2012年7月7日に第一果房以下を摘葉後、第1果房の約1m下方から、白色蛍光灯：ベッド1m当たり40W、赤色LED：同8W、紫外線ブラックライト：同40W、無照射とし、17:00～8:00の間補光処理を行った。収穫は7月22～28日、第一果房のみ。

ド1m当たり40W、赤色LED：同8W、ブラックライト：同40W、無照射とし、17:00～8:00の間手動にて行ない、7月22～28日に第1果房の果実を採取、評価した(図5)。いずれの照射区間でも有意差はなく、補光によるORAC値への影響は認められなかった。

トマト果実では品種・系統や栽培条件の違いが特にH-ORAC値に影響し、その結果としてORAC値の差異を生じることが確認された。H-ORAC値に寄与する抗酸化成分としては、ポリフェノール等が想定されるが、カロテノイド類の寄与はほとんどないことから、果肉色による違いは認められなかった。ミニトマト、中玉トマトにおいて高い値を示す理由としては、果実重に対する果皮の比率が高くなること、大玉品種と中玉/ミニトマト品種の栽培管理方法の違いが想定されるが、前者の寄与が高いのではないかと推察した。収穫前果実への補光の影響については、補光の有無、光源による差は認められなかった。

2. ピーマンの品種によるORAC値の差異

野菜茶業研究所(安濃)の一般露地圃場(通常管理)において、2012年6月に収穫されたピーマン栽培品種(9種類)とトウガラシ‘ピー太郎’(ハラペーニョ由来)、『甘とう美人’(甘長トウガラシ)2品種の5～10果を1群として、2反復での評価を行った(図6)。なお、ピーマンの通常管理の施肥については、窒素(N) 20 kg/10a、可溶性りん酸(P2O5) 40 kg/10a、加里(K2O) 19 kg/10a、可溶性苦土(Mg) 16 kg/10a、(く

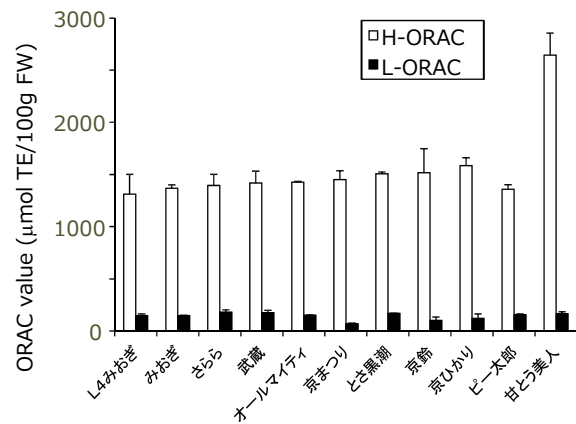


図6. ピーマン栽培品種の抗酸化能の品種間差異 (野菜茶業研究所・安濃)

2012年6月に収穫された、通常管理されたピーマン9品種、トウガラシ2品種の適熟果6～10果を1群として、2反復での評価を行った。

みあい被覆燐硝安加里413-100(通称：エコロング413-100)(ジェイカムアグリ株式会社) 143 kg/10a、16粒状炭酸苦土石灰(まくかる)(白石カルシウム株式会社) 100 kg/10a、17.5粒状過燐酸石灰(協同肥料株式会社) 137 kg/10a)、全量元肥にて施肥を行った。

ピーマン・トウガラシにおいてもトマトと同様にH-ORACの寄与が高く、品種による抗酸化能の差に対してもL-ORACよりもH-ORACの差が大きく影響した。今回供試した中で、『甘とう美人’(2643.3±212.2)は他のピーマン品種よりの方が高いH-ORAC値を示した。今回評価したトウガラシ品種は辛みのない品種であったが、抗酸化能の高さが供試品種に特有なものか、トウガラシ品種はピーマンに比べ高くなるのかについては品種を増やしてさらに検討する必要がある。

3. ナスの品種ならびに栽培条件によるORAC値の差異

2012年に野菜茶業研究所・武豊のビニールハウスにおいて、ナス2品種(‘筑陽’, ‘千両2号’)をNFT水耕にて栽培し、培養液(大塚A処方、EC：電気伝導度1.5 dS/m)に塩化ナトリウムを添加することで、3段階(0%, 0.1%, 0.5%)の塩ストレス条件を作成した。2月20日に播種、3月19日に定植し、第1果の果実肥大初期である4月23日に塩ストレス処理を開始、培養液はNaCl添加によりそれぞれ(EC 3.3, 9.0 dS/m)となった。ナスは株あたり5果を着果させ、5月に収穫した果実を着果部位(1～2節、3～5節)ごとに1群と

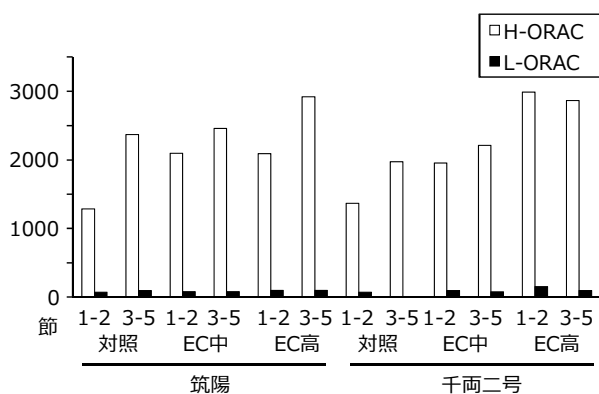


図7. 水分ストレスがナスの抗酸化能に与える影響とその品種間差異 (野菜茶業研究所・武豊)

2012年5月に収穫された、水耕栽培のナス2品種に2段階の水分ストレス (EC中: 対照 + 0.1% NaCl, EC3.3dS/m, EC高: 対照 + 0.5% NaCl/EC9.0dS/m) 処理を行い、着果部位による抗酸化能への影響を検討した。

して評価した (図7)。

ナスでは、トマトやピーマンよりも総ORAC値に対するH-ORAC値の寄与が高かった。着果部位とORAC値の関係では、筑陽では1~2節の果実に比べ、3~5節の果実の方が常にORAC値は高い傾向にあるが、千両2号では着果部位による明らかな傾向は認められず、むしろ3~5節の方が低い処理区もあり、品種による差があるのかも含め、着果部位の影響については、不明な点が多い。

また、トマトでは水分ストレスにより抗酸化能が増加するとされ、ナスでも同様の効果が期待されたが、H-ORAC値は水分ストレスにより高くなる傾向は認められるものの、'筑陽'では着果部位による影響の方がより大きいなど、H-ORAC値を増加させるのに適切なEC値は品種により異なる可能性が示唆された。

要約

生活習慣病等、様々な疾病が生体内酸化ストレスに起因することが知られるようになり、食事からの抗酸化物質の摂取の有効性についての検証が求められてきている。そのためには、妥当性確認された抗酸化能評価法により食品の抗酸化能を評価し、実際に食事として摂取している量を明らかにすることが重要である。そこで、本研究では酸素ラジカル捕捉能を評価するORAC法を用いて、ナス科野菜の品種・系統間、収穫時期等による抗酸化能の変動に関して基礎的な知見を

得ることを目的として試験を行った。その結果、ナス科野菜の抗酸化能は品種や収穫時期により影響を受けることが確認された。このことから、品種や栽培条件などを最適化することで、抗酸化能の高いナス科野菜の生産が可能になると考えられた。また、抗酸化能の高い品種の育成において、親系統の選抜をする際にも有用であると思われた。

本研究は、復興庁・農林水産省の「食料生産地域再生のための先端技術展開事業 (農宮2-02)」により行った。

本試験における試料調製ならびにORAC測定にあたり、ご協力をいただいた十山善子さん、山本充子さん、今野友美子さんに感謝申し上げます。

引用文献

- 1 Kalyanaraman, B., Teaching the basics of redox biology to medical and graduate students: Oxidants, antioxidants and disease mechanisms. *Redox Biol.*, **8**, 244-257 (2013).
- 2 Ou B. *et al.*, Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *J. Agric. Food Chem.*, **49**, 4646-19-26 (2001).
- 3 Rautiainen S. *et al.*, Total antioxidant capacity of diet and risk of stroke A population-based prospective cohort of women. *Stroke*, **43**, 335-340 (2012).
- 4 Watanabe *et al.*, Improvement and interlaboratory validation of the lipophilic oxygen radical absorbance capacity: determination of antioxidant capacities of lipophilic antioxidant solutions and food extracts. *Anal. Sci.* **32**, 171-175 (2016).
- 5 Watanabe *et al.*, Method validation by interlaboratory studies of improved hydrophilic oxygen radical absorbance capacity methods for the determination of antioxidant capacities of antioxidant solutions and food extracts. *Anal. Sci.* **28**, 159-165 (2012).
- 6 Proteggente AR *et al.*, The antioxidant activity of regularly consumed fruit and vegetables reflects their phenolic and vitamin C composition. *Free Radic. Res.*, **36**, 217-233 (2002).
- 7 Ehret DL. *et al.*, Tomato fruit antioxidants in relation to salinity and greenhouse climate. *J. Agric. Food Chem.*, **61**, 1138-1145 (2013).