



山菜類の総ポリフェノール量の定量とスーパーオキシド消去能

○齋藤佑¹, 日塔優太¹, 大木乃梨子², 佐原俊博³, 丸谷美由貴⁴, 尾形健明¹
(山形大院理工¹, 山形大工², 山形県立小国高校³, 山形県立米沢興譲館高校⁴)

緒言

・在来野菜・伝統野菜としての山菜

全国で上位を占める山形県産農作物¹
 全国1位 サクランボ(2位), ラ・フランス(9位), タラの芽, ワラビ
 全国2位 -
 全国3位 スイカボ(8位), ぶどう(5位)
 全国4位 メロン, りんご(7位)
 全国5位 米 (1位)
 その他 山形県産牛肉(4位)・豚肉(3位) ()は県産出額順位

地域文化学・スーパーサイエンスハイスクール(SSH)指定校の活動の一環として山菜に注目・研究
 → 山形県立小国高校・山形県立米沢興譲館高校と高大連携

ワラビ, ゼンマイは置賜が全体の6-7割の出荷量

・山菜の味とポリフェノールの関係

“大人の味”と称される“キドさ”(標準語で“エグさ”にあたる方言)

→ ポリフェノールに主に由来

・山菜の付加価値向上

食品の3大機能(栄養, 嗜好・食感, 健康性・生体調節機能)の健康性機能(抗酸化能・活性酸素消去能)として

¹ <http://www.zennoh-yamagata.or.jp/rice/2012/agri.html>

目的

山菜に含まれる総ポリフェノール量(TPC)とスーパーオキシド消去能の関係

結果と考察

Table 1. 使用した山菜・伝統野菜

No.	名前	数	産地	高校	
1-6	コシアブラ	3	小国	小国高校	
7-20	ワラビ	8	小国/山形		
21-24	ウルイ	2	小国		
25-26	シオデ	1			
27	コゴミ	1			
28-29	赤コゴミ	2			
30-33	青コゴミ	2			
34	アズキナ	1			
35-38	シドケ	2			
39-40	タラの芽	2			
41	アケビ	1			
42-46	ゼンマイ	3			
47-48	フキ	2			
49	キノメ	1			
50-53	ウド	2			
54-55	フキノトウ	1			
56-57	シドケ	1			
58-93	ウコギ	29	米沢		米沢興譲館高校
94	ヤマウコギ	1	高畠		
95-101	ゴーヤ	6	米沢		
102-110	ナス	6			
111-114	シソ	3			
115-117	モロヘイヤ	2			
118-119	キュウリ	2			
120	ハクサイ	1			
121	ツルムラサ	1			
122	パセリ	1			
123	オカヒジキ	1			
124	シシトウ	1			

Table 2. 使用した山菜・伝統野菜(抜粋)

No.	種類, 部位, 産地, 状態
42	ゼンマイ 1 先端 小国 生
46	3 乾燥
47	フキ 全部 小国 生
49	キノメ
61	ウコギ 2 新梢 米沢 生
83	19 葉
91	27
94	ヤマウコギ 高畠

- ・在来野菜・伝統野菜を124種類に分け, TPCの測定を行った所, ほとんどの試料で試料100 [g]あたりのTPC値が300 [mg]以下であった.
- ・試料の中でもTPCが特に高いものを, 各校4サンプルを抽出し, そのスーパーオキシド消去能を測定した. (Table 2)

結論

- ・在来野菜・伝統野菜を124種類に分け, FC法でTPCを測定した.
- ・特にTPCの高い8サンプルについてはスーパーオキシド消去能を競争反応を利用したESRスピントラップ法で評価した.
- ・TPCとスーパーオキシド消去能の相関関係を確認したところ, (概ね)本法で評価した結果は, TPC値に対してスーパーオキシド消去能が正の相関を示した.
- ・本法に加えてHPLCなどで詳細な成分分析を行い, 実験条件などの改良を行う必要が有る.

謝辞

試料の採取, 実験にご協力頂いた下記の先生・生徒の皆さんに深く感謝申し上げます.

山形県立小国高校
 ・荒川 麻実・笠原 万智・齋藤 玲於奈・伊藤 拓美・伊藤 滯奈・内藤 千捷
 山形県立米沢興譲館高校
 ・鈴木 真利奈先生・後藤 禎補先生・熊坂 克先生・庄司 裕美・前山 みなみ
 ・小椋 貴文・赤木 里帆・五十嵐 みずほ・尾崎 夕香・佐野 舜一・伊藤 里咲・遠藤 七海
 ・佐久間 玲那・高橋 愛理・横川 千夏・小池 真鈴・伊藤 優菜子・永峯 和

実験方法

フードプロセッサー
 山菜 10 [g] (×124種類, Table.1)
 80 vol.% エタノール 50 [mL] (80% EtOH)
 粉碎後
 200 mL ビーカー (w/スターラーチップ)
 80% EtOH 50 [mL]
 攪拌・抽出 (10 [min])
 静置 (3 [min])
 上澄み液をスクリュウ管にサンプリング(試料溶液)

試料調製
 96-ウェル セル
 試料溶液 100 [μL]
 フェノール試薬 100 [μL]
 反応・静置 (3 [min])
 20 wt.% Na₂CO₃ 100 [μL]
 反応 (10 [min])
 UV-Vis 測定
 マイクロプレート・リーダー
 吸光度@700nm

電解セル
 電解生成スーパーオキシド
 定電位電解 -0.75 [V]/10 [min]以上
 定電流電解 -0.4 [mA]/測定終了まで
 電解生成スーパーオキシド
 0.05 M (CH₃CH₂)₂NClO₄ (DMSO soln.)
 電源装置
 Glassy Carbon (WE), Ag (RE), Pt (CE)
 Sintered Glass

マイクロテストチューブ (w/スターラーチップ)
 適宜希釈した試料溶液 200 [μL]
 電解生成スーパーオキシド 50 [μL]
 8.7 [M] DMPO 20 [μL]
 ESR バリスタルティックポンプ
 Magnet Cell
 ドレイン
 ESRスピントラップ法

競争反応の原理

$$\frac{I_0}{I} - 1 = \frac{k_{\text{Sample}} [\text{Sample}]_0}{k_{\text{DMPO}} [\text{DMPO}]_0}$$

$$I_0, I: \text{ESR信号強度}$$

$$k: \text{二次反応速度定数, } []: \text{終濃度}$$
 DMPO (5,5-dimethyl-pyrroline N-oxide) → ESR silent
 電解生成 O₂⁻ → ESR Detectable (DMPO-Adduct)
 試料溶液 → 反応生成物

² N. Fujita, Y. Saito, Y. Nitto, T. Ito, H. Mizuguchi, M. Endo, T. Ogata, *Stud. in Sci. and Technol.* (科学・技術研究), 1(2), 2012

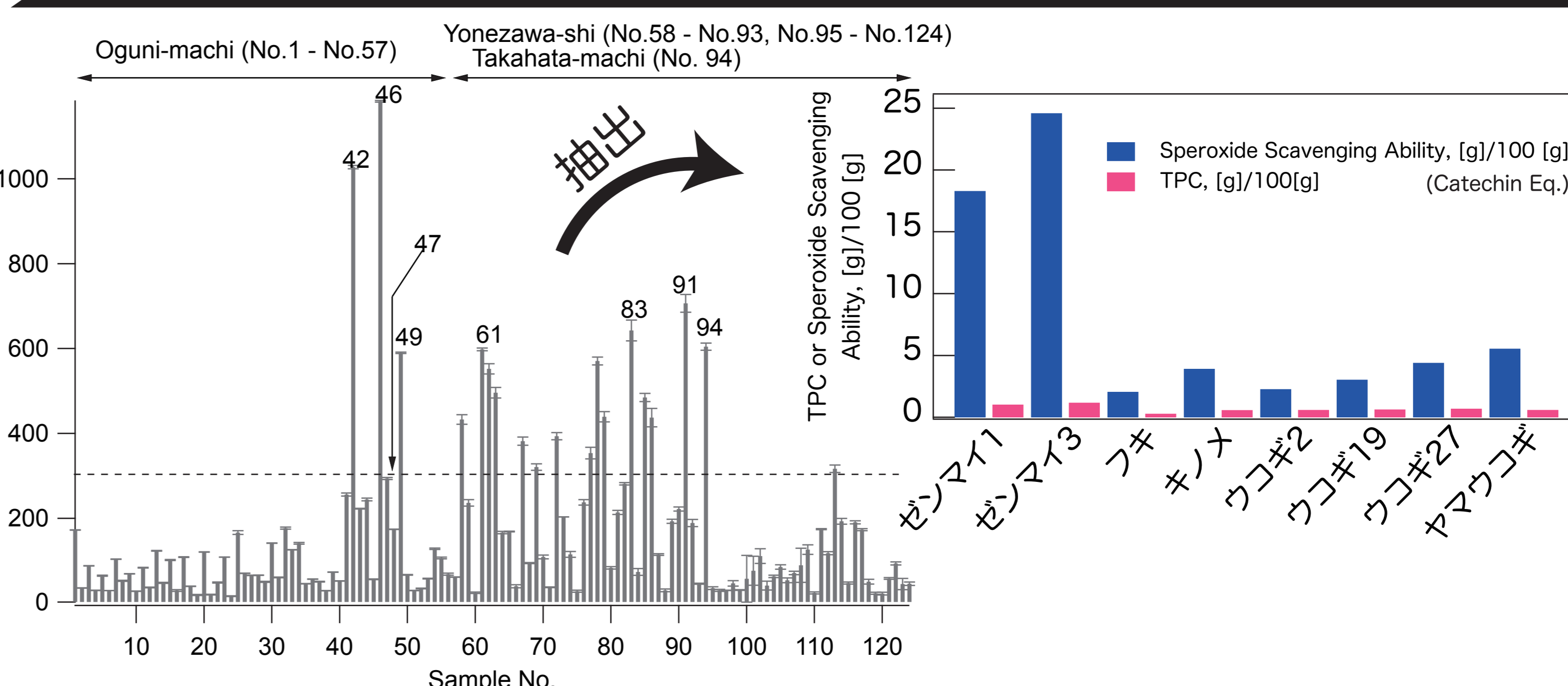


Fig. 1. TPCとスーパーオキシド消去能(ともにCatechin Eq.)

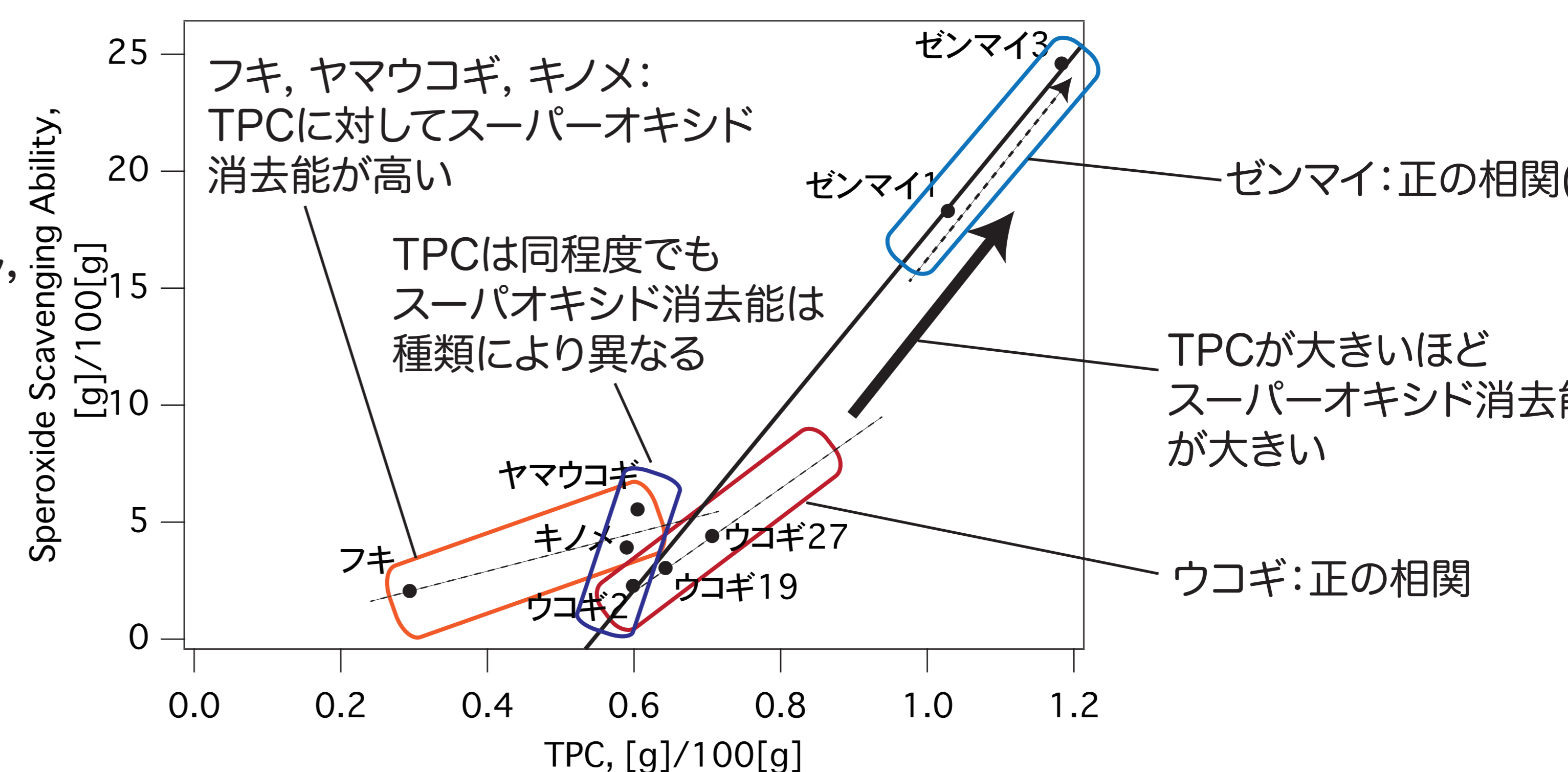


Fig. 2. TPCとスーパーオキシド消去能の相関(軸はともにCatechin Eq.)

- ・抽出した8サンプルのFC法によるTPC値は, Max/Min比=およそ4倍
- ・抽出した8サンプルのESRスピントラップ法によるスーパーオキシド消去能は, Max/Min比=およそ12倍
- ・スーパーオキシド消去能は必ずしもTPCによらない.
- ・TPCとスーパーオキシド消去能の大小関係の傾向は, 測定法によらず試料の種類により概ね正の相関が有る.
- ・ゼンマイは, 他の試料に比べTPC・スーパーオキシド消去能ともに高い.
- ・ウコギは, TPC値とスーパーオキシド消去能の関係に正の相関
スーパーオキシド消去能は, 新梢より葉が高い.
- ・TPCが同程度のウコギ(新梢), ヤマウコギ, キノメのスーパーオキシド消去能は新梢に対しておよそ1.7倍, 2.4倍と試料の種類で差がみられた.
- ・フキはTPC, スーパーオキシド消去能ともに低いが, TPCから類推されるスーパーオキシド消去能より実測値は高い.