

山梨県産キノア種子に含まれる抗酸化性物質 フラボノイド配糖体の調理に伴う変化

山梨大学教育人間科学部
廣瀬 裕子・堀込 知己
山梨県総合農業技術センター
石井 利幸・上野 直也・竹丘 守

Influence of Cooking upon the Antioxidative Flavonoid Glycosides in Quinoa Seeds Cultivated in Yamanashi

University of Yamanashi
Yuko HIROSE, Tomoki HORIGOME
Yamanashi Prefectural Agritechology Center
Toshiyuki ISHII, Naoya UENO and Mamoru TAKEOKA

要 約

山梨県産新規作物“キノア”を栽培し、その加工特性を明らかにするため、種子中の機能性成分であるフラボノイド類の含有量、総フェノール量、DPPHラジカル捕捉活性を測定し、調理の影響を評価した。

Abstract

Quinoa, a grain crop of Andean origin, was cultivated in Yamanashi. To evaluate the nutritional advantages of cooked quinoa seeds, the contents of flavonoids, total phenolic content, and DPPH radical scavenging ability of quinoa seeds were evaluated.

1. 緒 言

キノア (*Chenopodium quinoa* Willd.) は南米原産で、その栽培の歴史は紀元前5000年にさかのぼるといわれ、米や小麦のように主食として広く使用されていたが、スペインの統治以後は、もろこしなどが主食として利用されるようになったことに伴い、一部の地域だけで限定的に利用されていた¹⁾。キノアは炭水化物 (67–74%)、たんぱく質 (8–22%)、脂質 (2–10%) を含むばかりでなく、ビタミン、ミネラル、食物繊維などに富む優れた食材であることから、1970年代から世界的に注目を集めるようになったが、日本ではこれまでにほとんど栽培されたことはなかった。

近年の生活習慣病の顕在化などにより、食品は栄養素の供給源としての機能ばかりでなく生体調節機能を持つことが重要視されている。「地域農産素材等の機能性解明と高付加価値製品の開発」の一環として、新規作物“キノア”を山梨県特産品として栽培し、これを用いた機能性食品を開発することを目標として、すでに、Sea level type NL-6が山梨県での栽培に適した品種であるこ

となど、キノアの栽培条件を確立することができた²⁾。

引き続き、キノア種子の機能性成分に関する検討を行ってきた。キノア種子は、汎用の穀類と比較して抗酸化性が高いことに着目して、抗酸化活性成分を検討したところ、クエルセチンあるいはケンフェロールをアグリコンとして3単位の糖が結合したquercetin 3-O-(2",6"-di-O- α -rhamnopyranosyl)- β -galactopyranoside (1), quercetin 3-O-(2",6"-di-O- α -rhamnopyranosyl)- β -glucopyranoside (2), quercetin 3-O-(2"-O- β -apiofuranosyl-6"-O- α -rhamnopyranosyl)- β -galactopyranoside (3), kaempferol 3-O-(2",6"-di-O- α -rhamnopyranosyl)- β -galactopyranoside (4) を分離・同定することができた。これらの化合物は、他の穀類には検出されなかった。また、強い抗酸化性を有するクエルセチン配糖体1, 2, 3の含有量が、南米産のキノア種子に比べて山梨県産種子では高いことなど、山梨県産キノア種子は抗酸化性に優れた特徴ある食材であることを明らかにすることができた。

本研究では、山梨県産キノア種子の特徴である抗酸化性に注目して、基本的な調理加工によるフラボノイド類

の含有量および抗酸化性への影響について検討した。

2. 実験方法

2-1 試料

山梨県総合農業技術センターにより栽培されたSea level type NL-6系統キノア種子を使用した。

2-2 粗抽出液の調製

キノア種子粉末100 mgに、メタノール/水 (2:1 v/v) 5 mlを加え、50°Cで60 min加熱し、メンブレンフィルターでろ過後、10 mlのメスフラスコで定容とした。

2-3 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) によるフラボノイド類の分析

粗抽出液を減圧濃縮後、固相抽出用カートリッジ (InertSep C18, ジーエルサイエンス) でクリーンアップし、HPLCで分析した。HPLCによる分析条件は、固定相=ODS 4.6×250mm Inertsil ODS-SP, 移動相=W/MeCH/AcOH (A) =90:8:2 (v/v/v), (B) =50:48:2 (v/v/v), 溶出方法:(A) について、0~35 min 87%, 35~60 min 87-50%, 流速=1 ml/min, 検出=370 nm, カラム温度:40°Cとした。

2-4 総フェノール量の定量³⁾

粗抽出液 1 mlに、水 3 mlと 5 倍希釈したフェノール試薬 1 mlを加え攪拌後、10%炭酸ナトリウム水溶液 1 mlを加え、室温で 1 h 放置後、760 nmにおける吸光度を測定した。没食子酸の各種濃度の溶液について同様の測定を行った結果を用いて、没食子酸相当量 (gallic acid mg E/100 g FW) として粗抽出液の総フェノール量を算出した。

2-5 1,1-ジフェニル-2-ピクリルヒドラジル (DPPH) ラジカル捕捉活性の測定⁴⁾

粗抽出液 2 mlに150 μ M DPPHメタノール溶液 2 mlを加え、よく振り混ぜた後、室温暗所に30 min放置後、517 nmにおける吸光度を測定し、次式からラジカル捕捉率を算出した。

$$\text{DPPHラジカル捕捉率 (\%)} = [(A-B) / A] \times 100$$

ただし、Bは測定試料を含む反応溶液の吸光度、Aは空試験溶液の吸光度とした。

各種濃度の6-ヒドロキシ-2,5,7,8-テトラメチルクロマン-2-カルボン酸 (Trolox) メタノール溶液のDPPHラジカル捕捉率を測定し、粗抽出液のラジカル捕捉率をTrolox相当量 (Trolox μ mol E/100 g FW) として算出した。

2-6 フラボノイド配糖体から加水分解により遊離するアグリコンの定量

2-3で使用した抽出液 1 mlに1.6 mgのアスコルビン酸メタノール溶液と1.6M塩酸水溶液2.0 mlを加え、内部標準であるモリンのメタノール溶液を加えた後、沸騰水中で1 h還流加熱した。加熱後メンブレンフィルターでろ過し、10 mlのメスフラスコで一定容積とし、HPLCに注入した。HPLCの分析条件は、固定相: ODS (6×150 mm, YMC), 移動相: 0.01M H₃PO₄ aq. soln/EtOH (68:32 v/v), 流速: 1 ml/min, 検出: 350 nm, カラム温度: 40°Cとした。

あらかじめ濃度既知のクエルセチンおよびケンフェロールの分析を行い、注入量とピーク面積の関係を求め、加水分解溶液中のクエルセチンおよびケンフェロールを定量した。

2-7 調理モデルによるキノア種子の加工

2-7-1 水浸漬処理

キノア種子10 gに水50 mlを加え、室温で放置した。ろ過後、ろ液を50 mlの一定容積とし、メンブレンフィルターでろ過し、HPLCに注入した。

2-7-2 水加熱処理

キノア種子 5 gと水50 mlをビーカーに取り、シャーレでフタをして、ガスバーナーで加熱した。沸騰してからの時間を加熱時間とした。加熱終了後、ろ過し、100 mlの一定容積とし、メンブレンフィルターでろ過し、HPLCに注入した。

2-7-3 高温加熱処理

粉碎したキノア種子をシャーレに取り、所定の温度 (140, 160, 180°C) にあらかじめ加熱してある電気定温乾燥機で一定時間 (10, 20, 30 min) 加熱した。

3. 結果

3-1 種子の脱皮処理によるフラボノイド含有量への影響

キノア種子を収穫後、天日乾燥し、試験用小型脱穀機 (白川農機具製作所 CR13) で脱穀、風力選別 (大屋式坪刈試験用小型唐蓑 B3M) をした後、山本スパイラル精米機で白度 2~5 の 4 段階で脱皮処理した 4 種のキノア種子を調製した。

脱皮未処理のキノア種子においては、フラボノイド 1 (65.1±1.4 mg/100 g FW), 2 (12.21±0.2 mg/100 g FW), 3 (37.9±1.0 mg/100 g FW), 4 (46.0±1.4 mg/100 g FW) が検出された。一方、脱皮処理した4種の試料においては、フラボノイド類は未処理試料の100-106%検出された。種子の外皮を若干取り除くことによ

って、含有量が100%以上になったことから、外皮はフラボノイド類の蓄積部位ではないこと、苦味除去などのために行う若干の脱皮処理は、フラボノイド類を含まない部位の除去につながり、抗酸化成分であるフラボノイド類の損失にはならないことが明らかとなった。

3-2 水浸漬処理によるフラボノイド含有量への影響

キノア種子外皮に含まれる苦味成分の除去のために、水浸漬処理を行うことが多い。キノア種子の水浸漬液をHPLCで分析し、水に溶出したフラボノイド類を定量した。その結果、水浸漬の時間が延長されるに従い検出されるフラボノイド類の量は増加したが、24時間の浸漬でも溶出量は種子中の含有量の1%以下であった。水浸漬処理により、フラボノイド類が損失することはほとんどないことが確認できた。

3-3 水加熱処理によるフラボノイド含有量への影響

キノア種子は茹でて、サラダなどのトッピングに使用する、あるいはさまざまな食材とともに煮込み、茹で汁と具材をあわせて摂取するスープなどに使用される。このような水とともに茹でる加工がフラボノイド含有量に及ぼす影響について検討した。

10, 20, 30 分間加熱した後の茹で汁に溶出したフラボノイド類を定量した結果を、図1に示す。

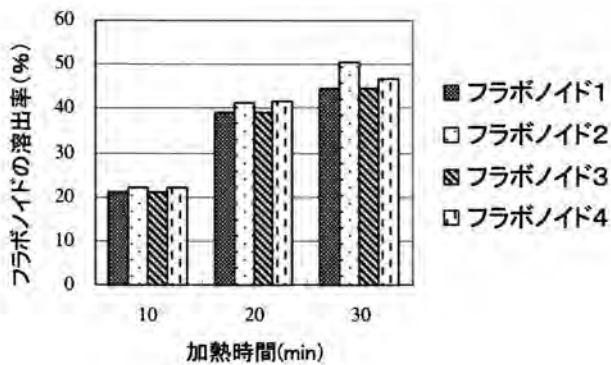


図1 水加熱処理により溶出したフラボノイド (n=3)

フラボノイド1-4の間で、溶出率に大きな相違はなかった。加熱時間の増加に伴い、茹で汁に溶出するフラボノイド量は増加し、キノア種子が食べやすい硬さになる20分の加熱では、約40%のフラボノイドが水へ溶出することが確認された。

3-4 高温加熱処理によるフラボノイド含有量と抗酸化性への影響

キノア種子を粉碎し、小麦粉と混合してクッキーやパンなどに加工する高温加熱処理によるフラボノイド類の含有量および抗酸化性への影響について検討した。

粉碎したキノア種子を高温加熱後、粗抽出液を調製

し、総フェノール量およびDPPHラジカル捕捉活性を測定した。また、粗抽出液をクリーンアップした後、HPLCに注入し、フラボノイドの定量を行ったのち、加水分解して遊離するクエルセチンおよびケンフェロールを定量した。フラボノイド含有量および加水分解して遊離するクエルセチン等の含有量、総フェノール量、DPPHラジカル捕捉活性は、未加熱試料の測定結果に対する変化率（フラボノイド類の場合は残存率）として算出した。なお、加熱により水分等が失われ重量が減少したため、それぞれの測定結果は、加熱前の試料に対する測定結果に換算して算出した。

フラボノイド類の加熱後の残存率を図2に示す。

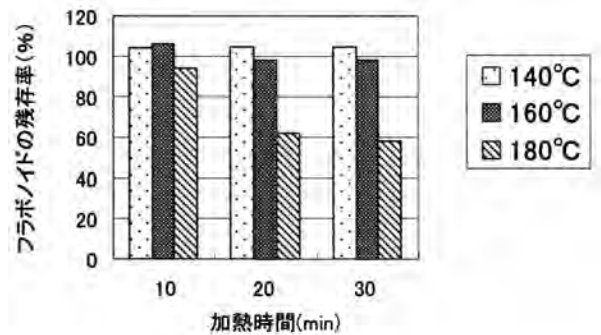


図2 高温加熱によるフラボノイド含有量の変化 (n=3)

フラボノイド配糖体の構造の違いによる残存率に対する相違はなかった。加熱温度140および160°Cでは、30分加熱した後もフラボノイド類はほとんど残存していたが、180°Cの加熱では加熱時間が20分以上になると、残存率は60%に低下し、加熱によるフラボノイド類の減少が大きかった。

加熱後の総フェノール量を、未加熱試料の結果と比較した結果を図3に示す。

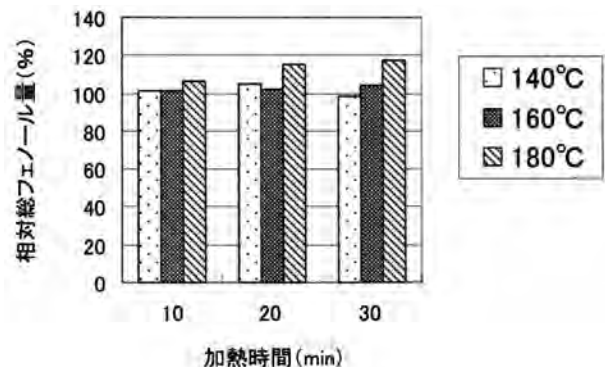


図3 高温加熱による総フェノール量の変化 (n=3)

すべての試料において未加熱試料の98%以上の総フェノール量が定量された。特に、フラボノイド類の含有量が減少した180°Cで、20あるいは30分加熱した試料に

においては、未加熱試料の105–117%に相当するフェノール量が検出され、総フェノール量の若干の増加が観察された。

次に、DPPHラジカル捕捉活性について未加熱試料の

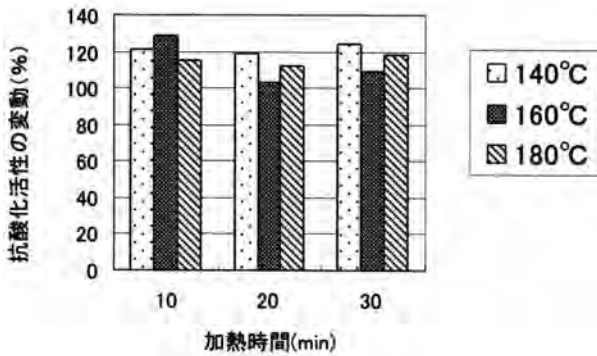


図4 高温加熱による抗酸化性の変化 (n=3)

活性と比較した結果を図4に示す。

未加熱試料の100–120%に相当する抗酸化性が確認できた。高温加熱によりフラボノイド含有量は減少したにもかかわらず、フェノール性物質の含有量および抗酸化活性は上昇する結果となった。高温加熱によりフラボノイド配糖体は分解するが、遊離生成したクエルセチン等のアグリコンは保持されたのではないかと推定された。そこで、酸による加水分解を行い、遊離するクエルセチンとケンフェロールを定量し、未加熱試料の結果と

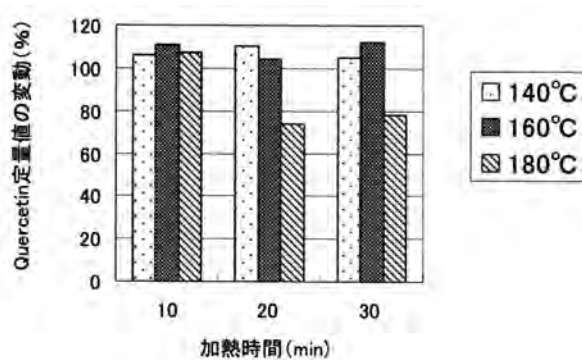


図5 加水分解により遊離するクエルセチンの定量結果の変化 (n=3)

比較した。その結果を図5に示す。

フラボノイド含有量の大きな減少が観察された180°Cで20または30分加熱した試料では、クエルセチンの定量結果も大きな減少を示した。しかし、フラボノイドの残存率の減少に比較してその減少率は若干低かった。ケンフェロールの定量についても、ほぼ同様な結果が得られた(詳細なデータは省略)。

配糖体が加熱により壊れた結果、アグリコンとして存在するクエルセチンが加水分解で生成したクエルセチンと合わせて定量されたため、フラボノイド類の残存率よ

りは高いクエルセチンの定量結果が得られたと推定された。クエルセチンはフラボノイド類の中で、最も強い抗酸化性を示す。一方、クエルセチンの水酸基に糖が結合した配糖体は、遊離のクエルセチンに比べて抗酸化性は低いことがよく知られている。高温加熱により遊離したクエルセチンが配糖体として存在していたときより強い抗酸化活性を示したことにより、加熱後の試料が未加熱試料より高い抗酸化性を示したと推定したが、加熱後の抗酸化活性の増大をクエルセチンの遊離量だけでは説明できない。クエルセチン配糖体以外の成分が加熱により変動し、抗酸化活性に大きく貢献している可能性もあると考えられた。詳細については、今後検討したい。

4. 結 言

キノア種子の機能性成分であるフラボノイド類は

1. 苦味成分の除去の処理などのために行う脱皮あるいは水浸漬処理によって、損失することは少ない。
2. 水中で加熱すると水に溶出するため、スープのように煮汁ごと摂取する調理では問題ないが、茹でこぼす調理はフラボノイド類の有効活用には適さない。
3. 高温加熱により、フラボノイド類は壊れるが、生成するクエルセチン等が抗酸化活性を増強するので、高温加熱による調理は、キノア種子の食材としての機能を十分生かす調理法である。

植物に含まれるフラボノイド類は、抗酸化作用や各種酵素の活性阻害作用により心疾患の予防、高血圧低下作用、抗ガン作用、糖尿病の抑制、アルツハイマー病の予防などに役立つとして注目され⁵⁾、身近な食用植物におけるフラボノイド類の含有量がアメリカ農務省(USDA)によるデータベースとして公開されている⁶⁾。収録されている植物の中でクエルセチン含有量が高いものは、緑茶(乾燥葉, 662 mg/100 g)、ケーパー(ハーブ, 234 mg/100 g)、ソバ(23.1 mg/100 g)、タマネギ(21.4 mg/100 g)などをあげることができる。キノア種子のクエルセチン含有量(山梨産平均60.3 mg/100 g)は、これらに匹敵し、主食として日常的に利用可能な食品であることから、その機能性成分の健康への効果は大いに期待できる。

参考文献

- 1) Colin Wrigley et al. : Encyclopedia of Grain Science, Elsevier Academic Press, P.1-8 (2004)
- 2) 石井利幸, 上野直也, 竹丘守, 磯部勝孝, 勝田真澄 : 山梨県におけるキノアの優良系統とその発芽特性, 日作紀, 76 (別1), P.140-141 (2007)
- 3) V. L. Singleton and J. A. Rossi : American Journal

- of Enology and Viticulture, **16**, P.144-158 (1965)
- 4) 篠原和毅, 鈴木建夫, 上野川修一編著: 食品機能研究法, 光琳, P.218-220 (2000)
- 5) C. A. Rice-Evans and L. Packer: Flavonoids in Health and Disease, Marcel Dekker, New York, P.437-481 (1997)
- 6) USDA Database for the Flavonoid Content of Selected Foods, release 2.1 (2007). URL: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/Flav/Flav02-1.pdf>

成果発表状況

学会発表

- 1) 廣瀬裕子, 石井利幸, 竹丘守: 山梨県産擬穀類キノアに含まれるポリフェノール類の分離・構造解析, 第46回日本油化学会, 京都, 2007
- 2) 廣瀬裕子, 吉田綾子, 鈴木安由子, 石井利幸, 竹丘守: 山梨県産擬穀類キノア種子に含まれるポリフェノールの食品化学的評価, 第62回日本栄養・食糧学会, 埼玉, 2008
- 3) 廣瀬裕子, 鈴木安由子, 竹丘守, 石井利幸, 上野直也: 山梨県産擬穀類キノア種子に含まれる生理活性物質フラボノイド類の分析, やまなし産学官連携研究交流事業, 山梨, 2008
- 4) 鈴木安由子, 堀込知己, 廣瀬裕子, 藤田智之, 石井利幸, 竹丘守, 長沼孝文: 山梨県産擬穀類キノア種子と汎用穀類に含まれるフラボノイド類の分析, 第47回日本油化学会, 東京, 2008
- 5) 廣瀬裕子, 鈴木安由子, 堀込知己, 嶋津優弥, 清田広輝, 藤田智之, 石井利幸, 竹丘守, 長沼孝文: 山梨県産擬穀類キノア種子に含まれるフラボノイド類の分析と調理に伴う変化, 日本農芸化学会関東支部2008年度大会, 山梨, 2008
- 6) 廣瀬裕子, 鈴木安由子, 石井利幸, 竹丘守, 長沼孝文: 山梨県産キノアの機能性成分の分離・構造解析, 日本農芸化学会2009年度大会, 福岡, 2009
- 7) 石井利幸, 上野直也, 竹丘守: 山梨県平坦地におけるキノア (Sea-levelタイプ) の栽培特性, 第97回日本作物学会関東支部会, 栃木, 2008