

平成 21 年度厚生労働科学研究費補助金(食品の安心・安全確保推進研究事業)
分担研究報告書

一般的な野菜に含まれる抗酸化物質の定性・定量

分担研究者 松本輝樹 独立行政法人国立健康・栄養研究所 食品保健機能プログラム 研究員
研究協力者 沖 智之 独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構
九州沖縄農業研究センター 機能性利用研究チーム 研究員

【目的】 抗酸化サプリメントの有効性・安全性を、通常の食生活からの抗酸化物質摂取を鑑みて評価する一連の研究のうち、本研究では日本において一般的に食される野菜に含まれる抗酸化物質の定性及び定量を行った。

【方法】 平成 20 年家計調査で購入重量が記載されている 23 種類の野菜の、抗酸化能の測定を H-ORAC (Hydrophilic-Oxygen Radical Absorbance Capacity) 法で、総ポリフェノール含量の測定をフォーリン・チオカルト法で、含有ポリフェノールの定性及び定量を HPLC にて行った。

【結果及び考察】 23 種類の野菜について、抗酸化能と含量ポリフェノール量との関連性を調べた結果、両者の間に強い相関が認められ、野菜の抗酸化能に及ぼす含有ポリフェノールの寄与が大きいことが示唆された。そこで、日本における一般的な野菜摂取状況を反映した「モデル野菜」について含有ポリフェノールの定性及び定量を行った結果、カフェ酸、ケルセチン等のポリフェノールがアグリコンとして検出された。「モデル野菜」を健康日本 21 における野菜摂取目安量である 350 g 摂取した場合、検出されたポリフェノールアグリコンを総計として 25.3 mg (特に含量の多いカフェ酸は 12.6 mg (クロロゲン酸として 12.0 mg)、ケルセチンは 7.3 mg) 摂取すると推算された。

A. 研究目的

野菜・果物類を中心とした食品に含まれている抗酸化物質は、がんを始めとする生活習慣病の予防に寄与するとして、大きな注目を集めている。そのため、現在、抗酸化ビタミン (ビタミン C, E, β-カロテン) や食品由来の抗酸化物質 (ポリフェノール、カロテノイドなど) を含有する「いわゆる健康食品」(抗酸化サプリメント) が多数流通している。ところが、これらの抗酸化サプリメントの有効性・安全性に関する科学的根拠は充分とは言いがたい。近年、

Bjelakovic らは抗酸化サプリメントの健康影響に関する論文をメタ解析し、ビタミン C およびセレンium 摂取の有効性は示されず、β-カロテン、ビタミン A 及びビタミン E の摂取では総死亡率が上昇するという解析結果を報告している [1]。抗酸化ビタミンであるビタミン C、ビタミン E 及び β-カロテンについては、日本人の食事摂取基準 (厚生労働省) により、必要量、耐容上限量が定められている (ビタミン C に関しては体内貯留が低いため耐容上限量は定められていない)。しかし、抗酸化ビタミン

以外の食品由来の抗酸化物質に関してはその摂取の目安を示す科学的根拠は少ない。

本研究では、通常の食生活からの抗酸化物質摂取状況を把握し、それと比較することで抗酸化サプリメントの有効性・安全性を評価するための一連の研究のうち、一般的な野菜に含まれる抗酸化物質の定性及び定量を行った。

B. 研究方法

【サンプル】

総務省統計局による 2008 年家計調査に 1 世帯あたりの購入重量が記載されている 23 種類の野菜（キャベツ、ほうれんそう、はくさい、ねぎ、レタス、ブロッコリー、もやし、かんしょ、ぱれいしょ、さといも、だいこん、にんじん、ごぼう、たまねぎ、れんこん、たけのこ、さやまめ、かぼちゃ、きゅうり、なす、トマト、ピーマン、生しいたけ）及び日本人の野菜摂取状況を反映した「モデル野菜」を用いた。「モデル野菜」の詳細については「日本において一般的に食されている野菜類からの抗酸化物質一日摂取量の推定（分担：竹林）」参照。

【抗酸化能の測定】

抗酸化能の測定には、ビタミン C、ポリフェノール類等の水溶性抗酸化物質の抗酸化力を反映する H·ORAC (Hydrophilic-Oxygen Radical Absorbance Capacity) 法を用いた。結果は生鮮野菜可食部 1 g あたりに含まれる抗酸化物質をトロロックスのモル数に換算して表した ($\mu\text{mol Trolox equivalent (TE)}/\text{g}$)。詳細については「日本において一般的に食されている野菜類からの抗酸化物質一日摂取量の推定（分担：竹林）」参照。

【総ポリフェノール含量の測定】

総ポリフェノール含量の測定は、フォーリン・チオカルト法を用いた。結果は生鮮野菜可食部 1 g あたりに含まれるポリフェノール量を没食子酸の重量に換算して表した (mg gallic acid equivalent (GAE)/g)。詳細については「一般的な野菜に含まれる抗酸化物質抽出法の検討（分担：沖）」参照。

【ポリフェノールの定性及び定量 [2]】

各野菜の凍結乾燥品を混合し「モデル野菜」を構築した。検体に、酸化防止剤 (EDTA、アスコルビン酸) を加えた後、メタノール/水/酢酸 = 90/9.5/0.5 を加え、ボルテックス、振とう、超音波処理を行い、抗酸化物質を抽出した。抽出液を濃縮後 β -グルコシダーゼにより酵素分解を行い、ポリフェノールの配糖体をアグリコンに変換した。メタノールを加え超音波処理を行った後、メンブレンフィルターにてろ過し、マルチチャンネル電気化学検出器を接続した HPLC にて含有ポリフェノールを分析した。

C. 結果及び考察

野菜の ORAC 値は親油性画分より親水性画分の方が大きいことが報告されている [3]。野菜中には親水性抗酸化物質としてポリフェノールが豊富に含まれているため、一般的に摂取されている 23 種類の野菜について、H·ORAC 値と総ポリフェノール含量を測定し、両者の相関を調べた（図 1）。その結果、これらの二つの数値は非常に高い正の相関を示し ($r = 0.965, P < 0.01$)、野菜の示す抗酸化能に含有ポリフェノールが大きく寄与していることが示唆された。

そこで、日本における一般的な野菜摂取状況に基づき各野菜の凍結乾燥品から構築した「モデル野菜」について含有ポリフェノールの

定性及び定量を行った（「モデル野菜」中の各野菜の組成比は「日本において一般的に食されている野菜類からの抗酸化物質一日摂取量の推定（分担：竹林）」表1 参照）。含有ポリフェノール（アグリコンとして）の定性・定量結果を表1に示した。カフェ酸、ケルセチン、*p*-クマロ酸、フェルラ酸、ゲニステイン、ダイゼインが検出され、これらのポリフェノールの「モデル野菜」中の含量を合計すると 7.23 mg/100 g となった。また、カフェ酸の大部分はクロロゲン酸として含まれていることが明らかとなった。「モデル野菜」を健康日本21における野菜摂取目安量である 350 g 摂取した場合、上記のポリフェノールを合計として 25.3 mg（特に含量の多いカフェ酸は 12.6 mg（クロロゲン酸として 12.0 mg）、ケルセチンは 7.3 mg）摂取すると推算された。

D. 結論

抗酸化サプリメントの有効性・安全性を、通常の食生活からの抗酸化物質摂取を鑑みて評価する一連の研究のうち、本研究では野菜類に含まれる抗酸化物質の定性及び定量を行った。日本において一般的に食されている23種類の野菜について、ポリフェノール含量と抗酸化能の関連性を調べたところ、両者の間に強い相関が認められた。従って、野菜の抗酸化能には含有されているポリフェノールの寄与が大きいことが示唆された。そこで、日本における一般的な野菜摂取状況に基づき各野菜の凍結乾燥品から構築した「モデル野菜」について含有ポリフェノールの定性及び定量を行った結果、カフェ酸、ケルセチン等のポリフェノールが検出された。「モデル野菜」を健康日本21における野菜摂取目安量である350 g 摂取した場合、検出されたポリフェノー

ルを総計として 25.3 mg（特に含量の多いカフェ酸は 12.6 mg（クロロゲン酸として 12.0 mg）、ケルセチンは 7.3 mg）摂取すると推算された。

E. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

F. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし

<参考文献>

- [1] Bjelakovic G., Nikolova D., Gluud L. L., Simonetti R. G., Gluud C., Mortality in randomized trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention: systematic review and meta-analysis. *JAMA*, **297**, 842-857 (2007).
- [2] 平井哲也, ポリフェノール分析法の研究開発. フードリサーチ, **627**, 33-36 (2007).
- [3] Wu X., Beecher G. R., Holden J. M., Haytowitz D. B., Gebhardt S. E., Prior R. L., Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. *J. Agric. Food Chem.*, **52**, 4026-4037 (2004).

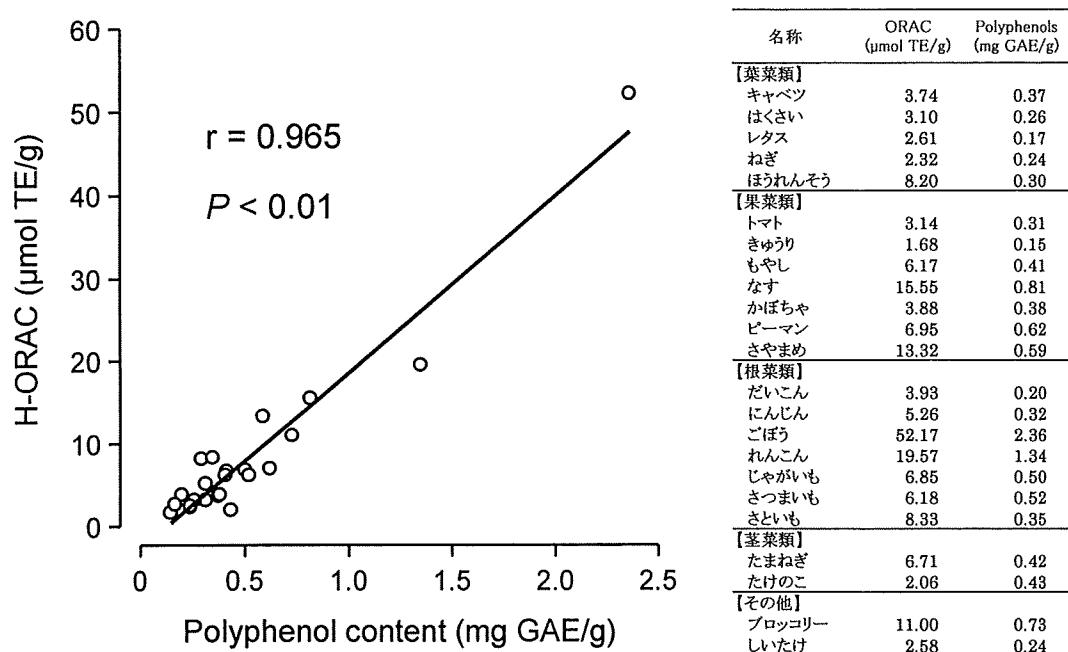


図 1. 日本において一般的に食されている野菜類の抗酸化活性とポリフェノール含量

表 1. 「モデル野菜」中に含まれるポリフェノール含量分析結果

	生鮮品中含量 (mg/100 g)
caffeic acid ^a	3.61
quercetin	2.08
p-coumaric acid	0.80
ferulic acid	0.57
genistein	0.12
daidzein	0.05

^a chlorogenic acid として 3.44 mg/100 g を含有

以下のポリフェノール類は未検出あるいは定量下限(凍結乾燥品で 0.1 μg/g)未満

gallic acid, m-aminobenzoic acid, σ-resorcylic acid, gentisic acid, protocatechuic acid, gallo catechin, 2,3-dihydroxy benzoic acid, p-aminobenzoic acid, β-resorcylic acid, p-hydroxy benzoic acid, epigallo catechin, vanillic acid, catechin, γ-resorcylic acid, syringic acid, salicylic acid, σ-aminobenzoic acid, sesamol、vanillin、epicatechin、epigallocatechin gallate、syringaldehyde、gallocatechin gallate、scopoletin、7-hydroxy coumarin、epicatechin gallate、catechin gallate、σ-coumaric acid、ellagic acid、fisetin、eriodictyol、glycitein、luteolin、kaempferol、hesperetin、myricetin、naringenin、apigenin、galangin、chrysin、eugenol、theaflavin-3-gallate、theaflavin-3'-gallate、theaflavin-3,3'-gallate

平成 21 年度厚生労働科学研究費補助金(食品の安心安全確保推進研究事業)
分担研究報告書

食品の抗酸化データベース作成

分担研究者 卓 輿鋼 独立行政法人 国立健康・栄養研究所
情報センター 健康・栄養情報プロジェクト プロジェクトリーダー

【目的】 平成 20 年家計調査で購入重量が記載されている野菜（23 種、全生鮮野菜購入重量の 85 % をカバー）について、抗酸化物質含有量に関する文献等の情報を調査した。また、食品中に含まれている代表的な抗酸化物質の健康影響について文献調査を行った。

【方法】 抗酸化物質含有量に関する文献等の情報については、機能性食品因子データベース (<http://www.nihon.go.jp/FFF/index.jsp>) や Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Databases (<http://www.ars-grin.gov/duke/>) にて調査を行う。食品中含まれている代表的な抗酸化物質の健康影響については、PubMed 文献データベースにて調査する。抗酸化物質の健康影響について、RevMan メタ分析専用ソフトと Stata 統計ソフトを用いてメタ分析を行い、総合評価する。

【結果及び考察】 23 種の野菜のうち、上記機能性因子データベースでは、19 種の野菜についてポリフェノール含有量のデータがあり、結果を表にまとめた。抗酸化物質含有量に関する情報は限定的で信頼できる情報は少なく、分析を行った施設間の測定方法の違いや検体の産地または季節の違いにより、報告されたデータにはばらつきがあると考えられる。そのため、どのように食品中に抗酸化物質の含有量を決定して食品の抗酸化データベースを作成するかは今後の課題である。食品中含まれている代表的な抗酸化物質の健康影響について、PubMed 文献データベースを検索した結果、いくつかの代表的な抗酸化物に関して、無作為化比較試験での評価結果が報告されていた。今後、関連論文の全文入手し、健康影響に関するデータを抽出し、可能な場合は系統的レビューまたはメタ分析にて評価を行う予定である。

A. 研究目的

現在カテキン及びケルセチンといったポリフェノール等の天然の抗酸化物質を含有する「いわゆる健康食品」（抗酸化サプリメント）が多数流通している。ところが、抗酸化サプリメントの摂取目安量を示す科学的根拠は乏しい。現時点で、抗酸化サプリメントの有効性・安全性評価が充分に行われていない一つの原因として、日常的に食事から摂取している抗酸化

物質量の把握がなされていないため、抗酸化サプリメント中に含まれる抗酸化物質量を食経験に照らし合わせて評価することができないことが挙げられる。

本研究では、平成 20 年家計調査で購入重量が記載されている野菜（23 種、全生鮮野菜購入重量の 85 % をカバー）について、抗酸化物質含有量について、文献等の情報を調査した。また、食品中に含まれている代表

的な抗酸化物質の健康影響について文献調査を行った。

B. 研究方法

抗酸化物質含有量に関する文献等の情報については、機能性食品因子データベース [1] や Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Databases [2] にて調査した。食品中含まれている代表的な抗酸化物質の健康影響については、PubMed 文献データベース [3] にて調査した。抗酸化物質の健康影響について、RevMan メタ分析専用ソフトと Stata 統計ソフトを用いてメタ分析を行い、総合評価を行う [4]。

C. 結果

23 種野菜のうち、上記機能性因子データベースでは、19 種の野菜についてポリフェノール含有量のデータがあり、結果を表にまとめた（表 1）。抗酸化物質含有量に関する情報は限定的で、信頼できる情報が少なかった。

食品中に含まれている代表的な抗酸化物質の健康影響について、PubMed 文献データベースで検索を行った結果、いくつかの代表的な抗酸化物に関して無作為化比較試験で評価されていることが明らかになった（表 2）。

D. 考察

抗酸化物質含有量に関する文献等の情報については、分析を行った施設間の測定方法の違いや検体の産地または季節の違いにより、報告されたデータにはばらつきがあると考えられる。そのため、どのように食品中に抗酸化物質の含有量を決定して食品の抗酸化データベースを作成するかは今後の課題である。

食品中に含まれている抗酸化物質の健康影響については、今後、今回の PubMed データベースの検索で得られた論文の全文入手し、健康影響の結果データを抽出し、可能な場合は系統的レビューまたはメタ分析にて評価を行う予定である。

E. 結論

日本人が普段よく食している野菜に含まれている抗酸化物質の含有量に関する情報は限定的で、信頼できる情報が少なかった。今後、抗酸化物質含有量や抗酸化力を測定する方法を標準化すると共に、実際に多くの野菜や果物の抗酸化含有量を測定する必要があると考えられる。

食品中に含まれている代表的な抗酸化物質の健康影響について、PubMed 文献データベースでは、いくつかの無作為化比較試験での評価結果が報告されている。今後、これらをさらに系統的レビューまたはメタ分析にて評価する予定である。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし

＜参考文献＞

- [1] 機能性食品因子データベース.

- URL: <http://www.nih.go.jp/FFF/>. Accessed May 18, 2010.
- [2] Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Databases.
URL: <http://www.ars-grin.gov/duke/>. Accessed May 18, 2010.
- [3] PubMed.
URL:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>/. Accessed May 18, 2010.
- [4] Taku K, Melby MK, Takebayashi J, Mizuno S, Ishimi Y, Omori T, Watanabe S. Effect of soy isoflavone extract supplements on bone mineral density in menopausal women: meta-analysis of randomized controlled trials. *Asia Pac J Clin Nutr.* **19:** 33-42 (2010).

表1. 19種野菜のポリフェノール類含量 (mg/100g)*

*翌日はまだこぼれ出不可

表2. PubMedにおける代表的な抗酸化物質の健康影響に関する文献*

抗酸化物質	無作為化比較試験の文献数	
日本語名	英語名	
カフェ酸	Caffeic acid	3
クロロゲン酸	Chlorogenic acid	10
フェルラ酸	Ferulic acid	11
p-クマル酸	p-Coumaric acid	1
ダイゼイン	Daidzein	116
ゲニステイン	Genistein	137
ケルセチン	Quercetin	88

*検索日:2010年5月18日

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名 ル名	論文タイトル	書籍全体の 編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
なし							

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
なし					

