

総 説

カロテノイド含有野菜のヒト健康への寄与
およびその利用に関する研究
(平成 25 年度日本食品科学工学会賞)

稲 熊 隆 博*

帝塚山大学現代生活学部食物栄養学科

Study of Carotenoid Activity in Vegetables : Application to Food Development

Takahiro Inakuma*

Department of Food and Nutrition, Faculty of Contemporary Human Life Science,
Tezukayama University, 3-1-3 Gakuen-Minami, Nara-shi, Nara 631-8585

Carotenoids are known to be superior quenchers of singlet oxygen. Thus, carotenoids, which are present in various vegetables, are widely thought to exert many health benefits and anti-aging effects. This study investigated the health effects of carotenoid and carotenoid-rich vegetable intake at each stage of life. Among carotenoids, the use of lycopene can be cost-prohibitive. Thus, attempts were made to extract lycopene from tomato skin using SC-CO₂ (supercritical-carbon dioxide). Further, the carotenoid content, a potential antioxidant source, of 70 vegetables in Japan was determined by reversed-phase HPLC. These results were applied to the development of carrot juice and space food. Additionally, a new assay method to quantify the singlet oxygen absorption capacity (SOAC) of antioxidants, including carotenoids, and vegetable extracts was proposed. (Accepted Mar. 20, 2015)

Keywords : Carotenoid, antioxidant, life stage, carrot juice, space food, extraction, ORAC and SOAC methods

キーワード : カロテノイド, 抗酸化, ライフステージ, キャロットジュース, 宇宙食, 抽出, ORAC 法, SOAC 法

日本人の平均寿命は、男性は世界第 5 位で 79.64 歳、女性は世界第 1 位で 86.39 歳である (平成 25 年度)。ただ、自分で自分のことができる健康寿命は男性は 70.42 歳、女性は 73.62 歳であり、計算上誰かにお世話になる年数は男性で約 9 年、女性で約 13 年となる¹⁾。人生の最期を考えると社会、地域、家族、そして個人においても不安が募る。超高齢社会では、「健康寿命の延伸」は重要なテーマといえる。

「健康寿命の延伸」するためには、日々新たな体が作られていることを理解しなければならない。言い換えれば、日々の適度な運動や休養そして食生活の大切さが挙げられる。特に、食生活において野菜にはビタミン、無機質の栄養素や食物繊維などの栄養成分が含まれることから、野菜摂取の重要性は皆の知るところである。

さらに、野菜に新しい価値が発見された。1980 年代に緑黄色野菜の摂取ががんのリスクを低下させるという報告である²⁾。また、1989 年に DiMascio らが野菜の色の成分であるカロテノイドによって、活性酸素の一種である一重項酸素を消去し得ることを示した³⁾。活性酸素は、呼吸によって体内に取り込まれた一部の酸素から作り出される。喫煙や

不規則な生活などの環境の悪化によって、さらに体内で過剰な活性酸素ができる。活性酸素は酸素の中でも他の分子への攻撃力が強いことから、過剰な産生は老化を進め、がんや動脈硬化に由来する心疾患や脳血管疾患などの生活習慣病やメタボの発生など、各種の疾患にもつながる。トマト、ニンジン、赤ピーマンは緑黄色野菜の代表であり、それぞれ特徴のあるカロテノイドを含有していることから、緑黄色野菜には前述の栄養素や栄養成分だけでなく、野菜の色であるカロテノイドが健康に寄与することが考えられた。

そこで、緑黄色野菜を代表するカロテノイド含有野菜とそのカロテノイドを対象に、ライフステージにおける健康への寄与について、明らかにすることに取り組んだ。その中で、カロテノイドの抽出、特にリコペンの抽出を検討した。これらの結果をもとに、キャロットジュースや宇宙食などの商品開発に取り組んだ。また、緑黄色野菜に含有されているカロテノイドの分析を試みた。特に、抗酸化評価において、カロテノイドの簡易的な測定法がなかったため、その確立をおこなった。それらの内容をまとめる。

1. ライフステージにおける健康への寄与

健康寿命の延伸を考えるにあたり、人間の体は日々新たに作られることを前述した。そこで、食生活が身体に与える寄与についてライフステージ別に研究に取り組んだ。ライフステージ別にみると、胎児期（妊娠期）、幼年期、学童期は健康な身体を作る時期であり、青年期、壮年期は健康な身体を維持・向上させる時期である。そして、老年期では健康な身体を低下を防ぐ時期である。どの時期においても十分な栄養を摂取しなければならない。そのためには、野菜摂取が重要であることは理解されているが、カロテノイド含有野菜およびそのカロテノイドの摂取について、幼年期、壮年期、そして老年期を代表してここでは述べる。

(1) 幼年期

幼年期の重要な健康課題はアレルギーであるが、近年、免疫系に対しても、カロテノイドが良い影響を及ぼすことが様々な研究で明らかにされてきている。その一つは、カロテノイドの抗酸化作用によるものである。免疫を担当する細胞の一つである好中球は、体内に侵入した細菌を殺すために、活性酸素の一種を生産して利用しているが、この活性酸素が好中球自身や隣接する細胞を傷つけることがある。これを、カロテノイドが抑制することが判っている⁴⁾。さらに、 β -カロテンなどのカロテノイドが、免疫に関係する細胞である白血球やリンパ球、T細胞の機能を高めたり増殖を促進したりすることも知られている⁵⁾。

そこで、後述するが、開発したキャロットジュースを国立医薬品食品研究所穂山先生に持ち込み、動物試験によるキャロットジュースの抗アレルギー作用について検討した。I型アレルギーの評価系には、雌性BALB/cマウスの腹腔内にDNP 化卵白アルブミンをIgE抗体の産生を惹起するとされている水酸化アルミニウムとともに投与して感作させ、その7日後にDNP基と免疫的に交差反応性を有する塩化ピクリルを耳に塗布し、炎症による耳の肥厚を測定する手法を用いた。そして、初回免疫の2週間前また

は翌日からマウスの飲料水を市販のニンジンジュースに切り替え、水道水を摂取させた対照群および免疫処置を行わなかった無処置群と比較した。また、2回目の免疫から1週間後に採血を行い、血中のDNP特異的抗体量を測定するとともに、脾細胞を摘出し、そのサイトカイン産生量を評価することで、Th1/Th2バランスについて考察した。

塩化ピクリル塗布1時間後の、各群のマウスの耳厚測定結果を図1に示した。1回目の感作の2週間前からニンジンジュースを飲用していたマウスにおいては、耳肥厚の増大が対象群と比較して有意に抑制され、無処置群とほぼ同等であった。また、1回目の感作翌日からニンジンジュースを飲用した場合においても、ほぼ同様の結果を得た。このことから、ニンジンジュースの継続的な摂取はI型アレルギーの発症に対して抑制的に作用することが示唆された。また、効果を得るための飲用開始時期は、感作成立の前後いずれでもよいと考えられた。

図2にDNP特異的抗体および総IgEの力価を示した。抗原感作により、総IgE量はニンジンジュース群、対照群ともに増加したが、特異的IgE量は、ニンジンジュースを飲用したマウスの方が対照群よりも少なかった。また、特

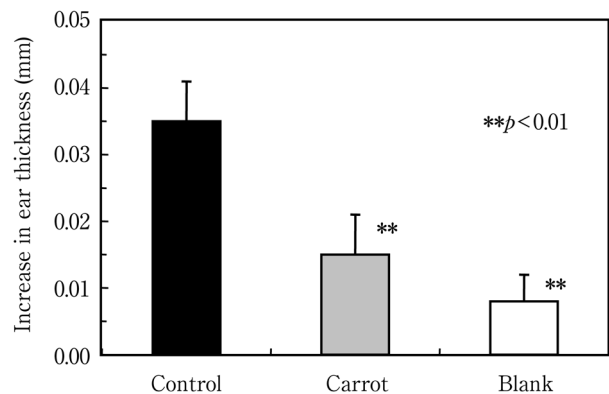


図1 塩化ピクリル塗布1時間後の耳の肥厚
Bars represent mean values \pm S.D. of 5 mice

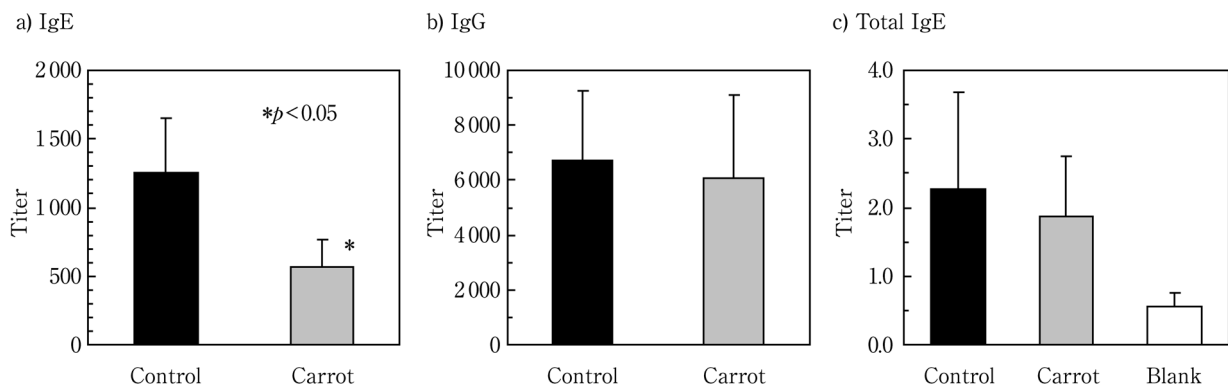


図2 二次免疫一週間後のDNP特異的IgE (a), IgG (b), 総IgE量 (c)
Bars represent mean values \pm S.D. of 5 mice

異的 IgG 量は両者で差はなかった。飲用により抑制が認められた特異的な IgE の産生は Th2 型サイトカインにより増加することが知られている。また、摘出した脾臓から得られた細胞を抗原で再刺激して 3 日間培養し、培養上清のサイトカイン量を EIA により測定したところ、ニンジンジュースの飲用により、Th1 型サイトカインである IFN- γ や IL-12 は対照よりも有意に高値を示し、Th2 型の IL-4 は有意に低値であった (図 3)。以上の結果から、ニンジンジュースの飲用は、免疫感作により Th2 側にシフトした Th1/Th2 バランスを Th1 側に調節することにより、I 型アレルギーの発症を抑制すると考える⁶⁾。また、その後の研究により、その有効成分が β -カロテンであることを明らかにした⁷⁾。

(2) 壮年期

壮年期ではがんや動脈硬化による生活習慣病の予防やメタボ対策が大切である。

まず、がんについて述べる。年々がんの罹患患者数全体は増加し、近い将来には、二人に一人はがんで亡くなるといわれている。しかし、がんの中でも、胃がんは最近 20 年間で減少しているのに対して、肺がんや大腸がんが急激に増加している⁸⁾。がんは遺伝するといわれるが、発症の主要原因が遺伝性のがんは非常に少なく、全体の 5% 程度に過ぎない。実は、食事が一番大きな原因である⁹⁾。日本では、食生活が北米化の傾向を示すにいたってから、北米諸国に多い大腸がん、肺がん、乳がん、前立腺がんなどが確実に増えてきている。

がんの発生原因として、酒やタバコ、ストレス、紫外線の影響もあるが、これらのストレスにより体内に取り込まれた酸素の一部が活性酸素となり、がんの発生に関与していると考えられる。活性酸素は、遺伝子である DNA を損傷させ、正常な細胞をがん細胞へと変化させてしまう。細胞のがん化の促進を、リコペンや β -カロテン、カプサンチンといったカロテノイドが抑制することを明らかにした。たとえば、発がん物質に対して、1000 倍リコペンが存在すると 100% 発がんを抑制することを明らかにした¹⁰⁾。

そこで、カロテノイド、およびカロテノイドを含む緑黄色野菜の摂取による大腸がんの発がん抑制作用について、動物試験により検討すべく、発がん剤 (N-メチルニトロソ尿素) を与えたラットにリコペン (濃度 17ppm)、またはトマトジュース (リコペン濃度 17ppm) を自由摂取させた。その結果、表 1 に示したように、リコペン摂取群では発がんを抑制する傾向を示したものの、統計的な有意差は得られなかったのに対して、トマトジュース摂取群では大腸がんの発生が有意に減少した¹¹⁾。この結果は、カロテノイド

表 1 NMU 誘導大腸発がんに対するトマトジュースの抑制効果

実験群	匹数	がん発生数	ラット当りのがん個数
コントロール	24 匹	13 匹 (54%)	0.6 個
リコペン	24 匹	8 匹 (33%)	0.4 個
トマトジュース	24 匹	5 匹 (21%)*	0.3 個*

*コントロール群に対して $p < 0.05$ で有意差有り
秋田大、カゴメの共同研究

表 2 トマトジュース摂取前後のヒト血漿および LDL-コレステロール中のカロテノイド、 α -トコフェロール含量

		ルテイン	クリプトキサンチン	リコペン	β -カロテン	α -トコフェロール
血漿	摂取前	0.17	0.16	0.05	0.02	15.4
	摂取後	0.55	0.15	0.60	0.46	44.6
LDL-コレステロール	摂取前	0.20	0.26	0.11	0.15	28.1
	摂取後	0.29	0.14	0.73	0.87	35.6

単位：血漿 ($\mu\text{mol/l}$)、LDL-コレステロール (nmol/mg タンパク)

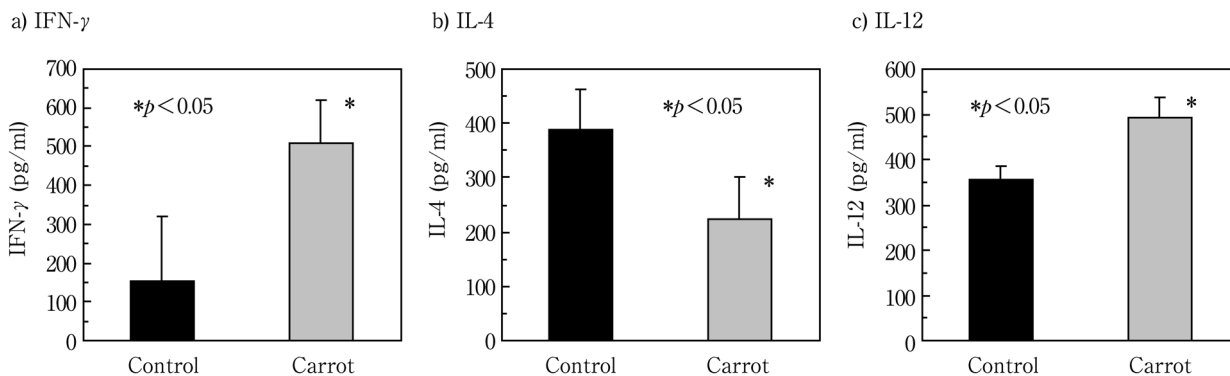


図 3 抗原再刺激による脾細胞からのサイトカイン産生量

Bars represent mean values \pm S.D. of 5 mice

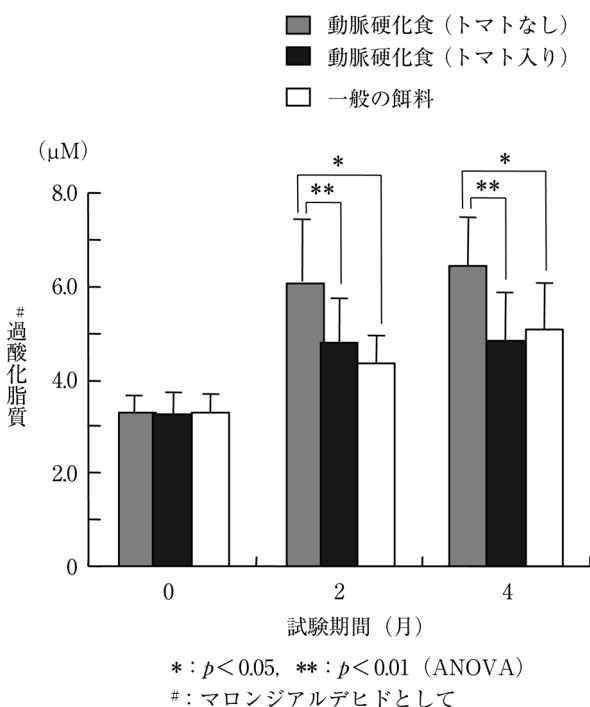


図4 トマトの過酸化脂質生成抑制作用 (動物での試験)

であるリコペンが有効成分であるが、トマトで摂取する方がより効果が高いことを示している。

次に、昭和30年代の日本人の死因には脳血管疾患であり、動物性食品(蛋白質、脂質)の摂取不足と塩分の摂り過ぎにより、血管が細く血管壁がもろくなるのが原因であった。現在でも、脳血管疾患は日本人の死因の第3位であり、その原因は食生活の変化による動脈硬化といわれている。循環器系疾患のもう一つの代表的な病気である虚血性心疾患も、心臓の筋肉に血液を供給している血管が硬くなる(動脈硬化状態)ことに起因している。つまり、現在の日本人の、循環器系疾患の多くには、動脈硬化が関与していると考えられる。動脈硬化が起こる直接的原因として、血液中のLDL-コレステロールの酸化、HDL-コレステロールの比率の低下、血中コレステロール濃度の増加(高脂血症)や血栓の生成などがあるが、特に血液中のLDL-コレステロールの酸化は大きな要因といわれている。

トマトジュースの飲用試験において、吸収されたりコペンやβ-カロテンは、主にLDL-コレステロールに分布することから、LDL-コレステロールの酸化防止にはカロテノイドが有効であることが推測される。そこで、脂質過多の飼料を与えて動物実験を行なったところ、同じ脂質過多の食餌でも、トマトが入っている餌で飼育した実験動物の血中過酸化脂質濃度は、トマトが入っていない餌で育てた群と比較して低く抑えられた(図4)。また、この実験で用いた動物の血管を調べた結果、トマトが入っていない食餌で飼育した群の血管には、動脈硬化症の症状が見られたのに対して、トマト入りの餌を摂取した群では正常に保

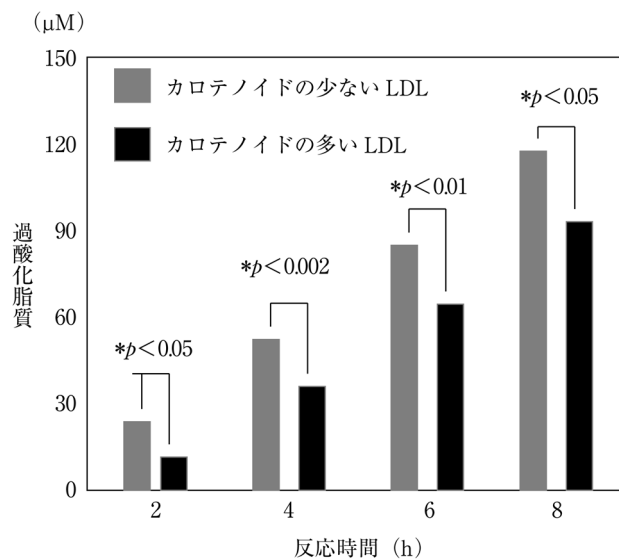


図5 カロテノイドのLDL-コレステロール酸化抑制作用 (トマトジュース飲用試験)

たれた。

ヒトの試験では、男性を被験者として食生活を調整し、LDL-コレステロール中のカロテノイドが少ない状態と多い状態をつくりだした後、血液を採取し、同じ条件で酸化させ過酸化脂質の生成量を調査した。その結果、カロテノイドの多いLDL-コレステロールの方が、過酸化脂質の生成量が少なく、酸化に対して抵抗性があることが認められた(図5)¹³⁾。女性についても同様の結果を得ている。これらは、トマトに含まれるリコペンなどのカロテノイドによる抗酸化作用によると考えられる¹⁴⁾。ヨーロッパでの疫学調査では、血中カロテノイド濃度が高いほど、急性心筋梗塞にかかりにくい、という結果が得られている¹⁵⁾。

(3) 老年期

老化とは、「生物が成熟後から死にいたるまでの期間に、時間に依存して進行するあらゆる現象」を意味している。具体的には、肌の艶が落ちてきたり、しわが多くなったり、頭髮が白くなったり薄くなったりする外見の老化や、白内障、骨がもろくなる骨粗鬆症、記憶力が悪くなったり物忘れが多くなる学習・記憶能の減退などが挙げられる。これらの現象は、年をとるに従って、多かれ少なかれ、誰にでも現れるものであり、平均寿命が延びた現在では不可避なものといえる。しかし、避けることはできなくても、これらの現象の発現を遅らせたり、程度を軽くすることは可能であると考えられる。人間の体は、酸素を燃やすことによりエネルギーを得ていることから、あらゆる部位で、加齢に伴い、活性酸素の酸化作用による障害が起こる。動脈硬化も、加齢に伴って、活性酸素によりどんな人の血管でも進行し、その程度の強弱により脳卒中や心筋梗塞などを発症する人もいる。動脈硬化は、活性酸素による血管の老化現象である、とも言える。また、血管と同様のことが、皮

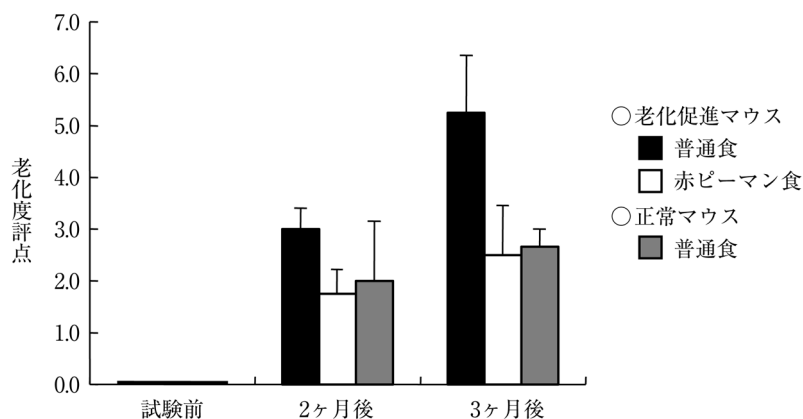


図 6 赤ピーマンの老化遅延作用

膚や脳の老化についてもいえる。体内での、活性酸素による酸化作用が老化の原因であるならば、生活習慣病と同様に、抗酸化物質であるカロテノイドで、発症を抑制、遅延させることができる。

老化遅延作用に対するカロテノイドの作用を、動物試験で赤ピーマンやトマトを用いて検証した¹⁶⁾。この実験には、普通のマウス（正常マウス）と、それよりも早期に老化現象が現れるマウス（老化促進マウス）を用いた。マウスの老化の程度は、マウスの外見や行動などの変化を点数化した老化度評点と、学習・記憶能の試験により評価した。餌の中に 20% の赤ピーマン乾燥粉末を加えた飼料を用いて、3ヶ月間の摂取試験を行なったところ、通常の餌で飼った老化促進マウスは、正常マウスと比較して老化が進行したのに対し、赤ピーマン摂取の老化促進マウスでは、老化の進行がほぼ正常なレベルに抑制された（図 6）。老化度評点が高くなる（老化が進む）と、毛が抜け、皮膚の状態も悪くなる。赤ピーマンを摂取していたマウスでは、そのような状態が抑制されたことから、肌の老化にも効果があると考えた。学習・記憶能は、マウスが暗い場所を好む性質を利用して測定した¹⁶⁾。明るい部屋と暗い部屋が、小さな扉でつながった装置を用意し、マウスを明るい部屋に入れると、居心地の良い暗い部屋に移動する。この時、暗い部屋に入った時点でマウスに不快な電気ショックを与える。すると、学習・記憶能が衰えていないマウスはそれを覚えていて、次の日に明るい部屋に入れられても、暗い部屋に移動しようとしな。すなわち、明るい部屋に留まった時間を、学習・記憶能の指標とした。初日は、どのマウスも学習していないので、直ちに暗室側に移動した。2日目以降に、学習・記憶能の差が現れ、普通食で育った老化促進マウスは、正常マウスよりも早く明るい部屋に移動してしまっただけで、赤ピーマン食を食べていたマウスでは、正常マウスと遜色ない学習・記憶能を示した。これらのことから、赤ピーマンの摂取は、老化全般にわたって抑制効果が期待できることがわかった。また、トマトでも同様の

試験を行なったところ、学習・記憶能は赤ピーマンと同じく、良い状態で維持される結果が得られた¹⁶⁾。

2. リコペンの抽出

研究を開始するにも、リコペンは高価であった。そこで、トマトジュース製造時に発生する搾汁残渣の利用を検討した。残渣である果皮には多くのリコペンが含まれている。抽出に関しては、当時名古屋大学の小林猛先生の指導の下、香辛料の抽出技術の研究を進めていた。黒コショウからの辛味成分の液化二酸化炭素による抽出¹⁷⁾やトウガラシからの辛味成分の液化二酸化炭素による抽出である¹⁸⁾。それらの結果をベースに、超臨界二酸化炭素による抽出を行った。通常、果皮を乾燥させるが、それによりリコペンが減少する。超臨界二酸化炭素法にて、エントレーナーとしてエタノールを用いることで乾燥なしで残渣である果皮から直接にリコペンを抽出する技術を開発した¹⁹⁾。

3. 野菜に含まれるカロテノイド含量の測定

食品に含まれるカロテノイドを摂取することが健康への寄与につながるということが明らかになってきたことから、これらの食品の個々のカロテノイド含量が必要となった。野菜の場合、Mangles は、120 種類の食品のカロテノイド含量を示したデータベースを表した²⁰⁾。USDA-NCC カロテノイドデータベースも、非常に貴重な結果である²¹⁾。しかし、品種、気候、および生育条件の異なる特性のため、日本で栽培されている野菜のカロテノイド含量が当てはまるとは限らない。同様なことが、果物についても報告されている²²⁾。そこで、日本で一般的に消費されている野菜中のカロテノイド含量を測定することにした。逆相 HPLC を用いて、日本の野菜 70 種類中のカロテノイドの定量分析を行なった。α-カロテンは、70 種類の野菜の 55 種類で検出された。β-カロテン、70 種類すべて；リコペン、4つのタイプのトマトと金時ニンジン；カプサンチン、2つのタイプの赤ピーマンのみ；ルテイン、70 種類中の 68 種類；ゼアキ

表3 キャロット搾汁工程の比較 (従来方式とFS方式)

従来方式	FS方式
原料	原料
ブランチング	剥皮
剥皮	破碎
破碎・磨砕	搾汁 (フレッシュスチーザー)
加熱	殺菌
搾汁 (デカンター)	製品
殺菌	
製品	

サンチン, 70種類中の30種類; β -クリプトキサンチン, 70種類中の12種類の野菜で検出された. 全ての葉菜類は β -カロテンとルテインを比較的高い割合で含有していた. トマトにはリコペンが, 赤ピーマンにはカプサンチンが特異的に含まれていた. 根においては, オレンジ色のニンジンには α -カロテンと β -カロテンが高含有され, 金時ニンジンには高い割合のリコペンが検出された. その他の部位, 結球, 豆, さや, 花序, 若芽などには, カロテノイドはそれほど多くは含まれなかった²³⁾.

4. カロテノイド含有野菜を用いた食品開発

カロテノイド含有野菜を用いた食品は, 素材として野菜素材缶詰, 例えばピューレやペースト, 調味料としてトマトケチャップやソースなど, 昔から多く存在する. ここでは, 野菜の色の健康への寄与を考慮した食品を2つ上げる.

(1) キャロットジュース

1989年の野菜調査の結果, 子供が嫌いだ, 食べさせたい野菜の第1位がニンジンであった²⁴⁾. 言い換えれば, 親が子供に食べさせたい野菜がニンジンであった. そこで, 子供でも飲めるニンジンジュースの開発を試み, 1992年に商品化することができた.

従来の製造方法を表3に示す. ニンジン洗净後, ブランチングを行う. 理由は, 酵素が働くと, 色や味が悪くなるためである. また, この工程があるため連続工程が組めなかった. ブランチング後, 剥皮を行い, グレーダーやミルによる破碎, 磨砕を行う. さらに加熱を行い, 遠心分離機 (デカンター) やフィルタープレスを用いて搾汁することにより, 殺菌され, Brix42° まで濃縮される. 濃縮は, 多重効用の真空加熱方式が一般的であり, 殺菌条件を考慮して濃縮後は-20℃で冷凍保管する.

この方式で問題になるのは, 加熱工程が多いことである. そのため, 加熱臭があると同時に, 果汁の β -カロテン含量が低くなる. 特に, 果汁の β -カロテン含量は, ブランチングによって大きく影響を受ける (図7). また, 遠心分離による搾汁のためパルプ成分に含まれるニンジン特有のおいしさを十分に取り出すことができない.

そこで考えたのがフレッシュ・スチーズ (FS) 方式で

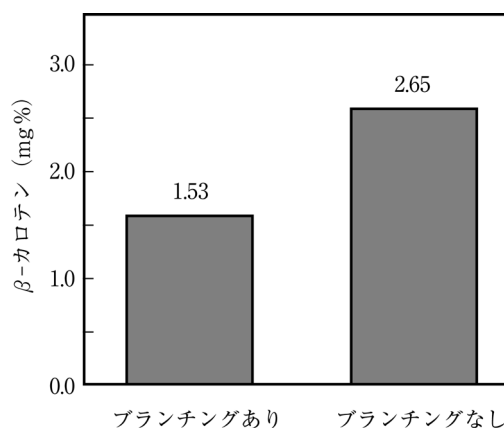


図7 ブランチングによるキャロット汁への影響

表4 搾汁方式による品質比較

		従来方式	FS方式
Brix (%)		8.1	8.2
カロ テ ン (mg%)	α -カロテン	1.1	1.5
	β -カロテン	2.3	3.6
	総カロテン	3.4	5.1
色	L	32.0	32.5
調	a/b	0.78	0.93

ある. この方法は, ブランチング工程がないため, 連続的にニンジン原料を処理することができる. また, 全工程において余り熱を加えないため, 従来よりも果汁中の β -カロテン含量が高くなる. また, 搾汁方法として, 遠心分離ではなく, 本来の搾汁を基本にしたフレッシュ・スチーザー (FS) を用いる. さらに, 従来よりも β -カロテン含量が高く, ニンジン特有のおいしさを取り出すことが可能となった.

従来の方式とFS方式のニンジン汁の品質を比較すると表4に示したように差が明らかであった. また, ニンジン汁を製造する場合, ニンジンパルプが発生した. 従来のパルプは, 細かく磨砕されピューレ状態であり, 加熱臭が強く, 食素材として利用することは困難であった. しかし, FS方式では, 固形が残っているため, 惣菜などに利用できる. また, 加熱工程が少ないため, 加熱臭はほとんどなくなった. それにより, さらに利用可能性が広がった²⁵⁾²⁶⁾.

(2) 宇宙食の開発

宇宙食は, これまでアメリカやロシアを中心とした国々で開発されており, 日本独自の宇宙食はまだない. 2008年に若田宇宙飛行士が国際宇宙ステーションに長期滞在するにあたり, 日本人のための食事として「宇宙日本食」を提供するプロジェクトが2001年に始まった. 当初より参画し, 様々な経緯を経て, 2007年6月27日に第1回宇宙日本食として野菜飲料ゼリーのトマトタイプとニンジンタイプ

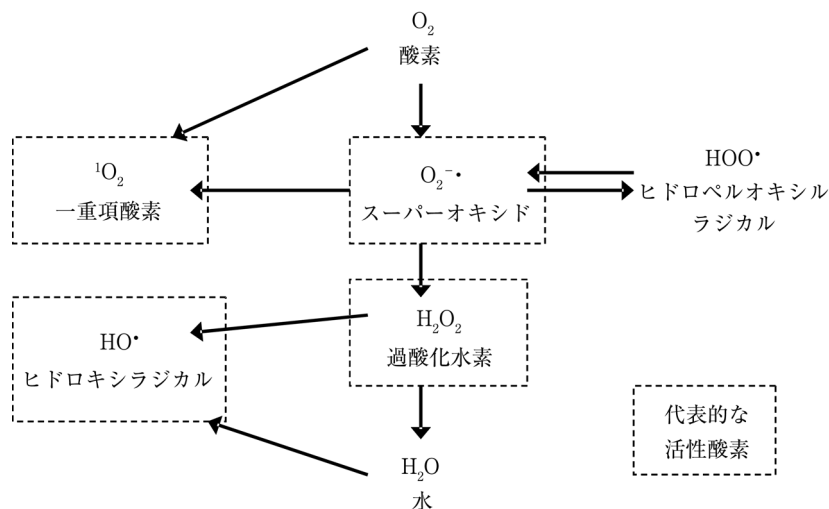


図 8 生体内での活性酸素の生成

プ、調味料としてトマトケチャップと野菜ソースで4品が認証された。宇宙でも野菜摂取が重要であり、認証された4品についてまとめる

宇宙での生活においては、放射線による活性酸素の影響、無重力による便秘やカルシウムなどの吸収低下による問題が挙げられている。これら諸問題は、宇宙ステーションでの生活に影響するだけでなく、今後、宇宙飛行士の健康にとっても大きく関わってくると考えられる。

野菜には、「体の調子を整える」とされるビタミンやミネラルの供給源としての価値である。実際にビタミンA、C、鉄は、日本人にとって供給源として第一位であり、カルシウムも牛乳・乳製品に続いて第二位である。さらに、食物繊維の供給源としても、野菜は第一位である。これらの栄養機能に加え、野菜の色の一つであるカロテノイドが含まれている。

例えば、トマトに含まれるリコペンには、宇宙での健康の維持にも寄与すると考えられる報告がなされてきている。マウスの腹部に放射線を照射すると小腸に障害が観察されるが、照射前にリコペンを摂取させることによりその障害を低減すること²⁷⁾、また骨粗しょう症モデルマウスにリコペンを摂取させることにより、骨密度の低下を抑制することが明らかにされている²⁸⁾。宇宙での生活をより良くするために、野菜の寄与が期待される²⁹⁾。

・野菜飲料ゼリー

宇宙空間では無重力であるため、地上と同様の形態では使用できない。そこで、適切な粘度を与えたゼリー飲料をスパウト容器で提供した。野菜のベースとしては、トマトとニンジンの2タイプとした。トマトタイプには、リコペンを多く含む赤系のトマトを活用し、赤ピーマンを加えた。ニンジンタイプは、ニンジンを中心として多くの野菜をブレンドしている。いずれも、フルーツで飲みやすい味に仕上げている。

・調味料

トマトケチャップは、トマトをタマネギや糖類、酢などで味付けした、トマトのおいしさが生きている調味料である。赤は食欲をそそる色であるので、食欲の増進に寄与することは間違いないと考えている。

また、ソースも野菜を起源とする調味料である。今回は、最も粘度が高いとんかつタイプを使用している。様々な野菜と果実を使い、香辛料の味で食欲をそそることであろう。

5. カロテノイドの抗酸化評価

活性酸素の種類には、代表的なものとしてラジカル系のスーパーオキシド、ヒドロキシラジカル、水との反応でヒドロキシラジカルなどになる過酸化水素、そして一重項酸素の4種類が存在する(図8)³⁰⁾

リコペンをはじめとするカロテノイドにおいて、Monaghanら³¹⁾1932年にカロテンやビタミンAにリノール酸の酸化を抑制することを明らかにした。しかし、試験管内ではラジカル補足ではビタミンEより弱いことから、一重項酸素消去作用と考察された。そして、Di Mascioら³⁾によって一重項酸素の消去が決定づけられた。

食品に関して、報告されている抗酸化作用の簡易的な測定方法の例を表5に示す。フリーラジカルであるペルオキシラジカルの消去活性で測定する方法としてORAC(Oxygen Radical Absorption Capacity)法が開発され³²⁾、米国では既に多くの食品についてその値がホームページで開示された。また、一部の食品にはその値が記載され、販売された。しかし最近、理由は不明であるが、ホームページでは閲覧できなくなっている。他には、TRAP法、DPPH法、そしてSOD活性を測定する方法などが報告されている。これらは、分光光度計や蛍光光度計など、比較的簡単な装置で測定可能である。

一方、一重項酸素消去における測定は競争反応が用いら

れる。一重項酸素の発生方法として、光照射、過酸化水素と次亜塩素酸の反応、そしてエンドペルオキシド (EP) がある。増感剤のローズベンガルなどの色素に光照射する方法は、比較的簡単に一重項酸素を発生させることができるが、光照射による抗酸化物質や共存する他の成分の劣化が起こるため良い方法とは言えない。また、過酸化水素と次亜塩素酸との反応を利用する方法も同様であるが、酸化力が強く他の反応を起こしてしまう可能性がある。一方、EP を用いる方法は、選択的に一重項酸素を発生させることができる。しかし、この試薬は市販されておらず、EP の簡便な合成方法を東北大学薬学部大島吉輝先生と共同で研究を進め、現在では一般試薬として市販されるまでになっている³³⁾。そこで、EP を用いた一重項酸素消去活性の測定を検討した。

指示薬としてジフェニルベンゾフラン (DPBF) を用いて、エタノール溶液中で EP を 35°C に加熱することで一重項酸素を発生させ、吸光度 413nm でポリフェノールの抗酸化測定を検討していた³⁴⁾。そこで、抗酸化物質の一重項酸素消去を DPBF の分解速度を用いて把握することで抗

酸化物質の一重項酸素消去速度を得られると考えた。ただし、カロテノイドは脂溶性が高く、エタノールには完全に溶解しないものも存在する。そのため、カロテノイドの溶解性の高い溶媒を検討し、エタノール、クロロフォルム、重水の混合溶媒を用いることとした。この溶媒は、Di Mascio ら³⁾ がゲルマニウム検出器で分析した溶媒と同じものであり、カロテノイドの溶解性が高いだけでなく、ゲルマニウム検出器の結果と比較できる利点がある。

また、カロテノイドが DPBF の分解を測定する 413nm で吸収を持つ可能性があることから、各カロテノイドのモル吸光係数と 413nm における吸収を確認した (表 6)。その結果、カロテノイドは 413nm で吸収があり、ベースラインの補正が必要であることがわかった。その他、溶媒中での試薬の安定性を検討した。最終的には溶媒にはエタノール、クロロフォルム、重水の混合溶媒 (50:50:1, v/v/v) とし、一重項酸素発生剤として EP を、一重項酸素消去の指示薬には DPBF を用いることにした。具体的な測定方法を図 9 に示す。検出器は通常の UV-Vis の分光光度計を用いるが、それに 6 連移動式セルフォルダを取り付けた。このセルフォルダは 6 つのセルの分光度を継時的に分析することができる。この方法を SOAC (Singlet Oxygen Absorption Capacity) 法を名づけた³⁵⁾。

一成分にて SOAC 法を用いて抗酸化能を評価した結果を表 4 にまとめた。カロテノイドの k_Q (サンプル: 各カロテノイド) 値は、リコペン>アスタキサンチン> β -カロテン>カプサンチン>ゼアキサンチン> α -カロテン>ルテイン> β -クリプトキサンチンの順に減少した³⁶⁾。なお、この結果は Di Mascio らの報告³⁾ した α -トコフェロールや各カロテノイドの反応速度定数と測定方法の違いから多少のずれはあるものの、カロテノイドの活性の順位などはほぼ同じであり、本測定方法の妥当性がうかがえる。

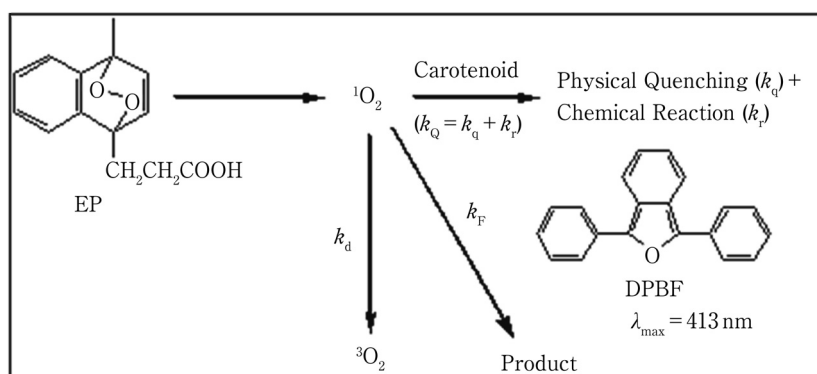
さらに表 7 の右端に α -トコフェロールの k_Q を 1 としたときの相対的な一重項酸素消去能を示した。それぞれのカ

表 5 食品の抗酸化能の分析方法の一例

方法	活性酸素種
ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)	ペルオキシラジカル (ROO [•])
TRAP (Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter)	ペルオキシラジカル (ROO [•])
DPPH (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)	DPPH ラジカル (DPPH [•])
SOD (Superoxide Dismutase)	スーパーオキシド (O ₂ ^{•-})
?	一重項酸素 (¹ O ₂)

表 6 EtOH/CHCl₃/D₂O (50:50:1) 溶媒中でのカロテノイド、分析に使用する試薬の紫外・可視光の最大吸収 (λ_{max}) とモル吸光係数 (ϵ)

成分	λ_{max}/nm ($\epsilon/M^{-1}cm^{-1}$)
Lycopene	479 (160000), 511 (140000), 452 (110000), 298 (40500), 413 (40900)
Astaxanthin	486 (124000), 413 (35600)
β -Carotene	459 (133000), 485 (117000), 277 (21500), 413 (56800)
Capsanthin	481 (106000), 292 (18700), 413 (32900)
Zeaxanthin	459 (129000), 485 (114000), 278 (21900), 413 (55200)
α -Carotene	453 (138000), 481 (123000), 270 (24000), 413 (64700)
Lutein	452 (126000), 480 (113000), 269 (26000), 413 (61100)
β -Cryptoxanthin	459 (95100), 485 (82400), 262 (22700), 413 (43500)
α -Tocopherol	237 (1930), 293 (2980)
Endoperoxide (EP)	236 (1630)
EP-precursor	290 (7670), 281 (6350), 239 (9130)
DPBF	413 (20900), 315 (7950), 264 (25600), 413 (20900)



溶媒：EtOH：CHCl₃：D₂O = 50：50：1 (v/v/v)

一重項酸素発生剤：Endoperoxide (EP)

*一重項酸素は、EP を 25℃ 以上に加熱することで発生

一重項酸素消去の指示薬：Diphenylbenzofuran (DPBF)

図 9 カロテノイドの一重項酸素消去活性の測定

カロテノイドには α -トコフェロールの 50 から 100 倍くらいの一重項酸素消去活性を有しており、リコペン α -トコフェロールの 100 倍以上の活性を持つことを確認した。

次に、二成分系での評価を行った結果様々な成分が存在する場合においても、それらの成分は相加的・相乗的もしくは相殺的な影響を示すことはなく、その k_Q は理論上含まれている成分の k_Q の和で算出できる。

実際のサンプルとしてカロテノイドを多く含む野菜である赤ピーマン、ニンジン、トマトを用いた結果、ニンジンはほぼ理論値と実測値は一致したが、トマトや赤ピーマンは実測値の方が高い値を示した。このことは、ニンジンに含まれる主なカロテノイドは α -カロテン、 β -カロテンであり、その k_Q はすでに得られており、理論値に加算することでニンジンに一致する。トマトは k_Q が得られていないフィトエン、フィトフルエンなどの他のカロテノイドが存在すること、また赤ピーマンにも未知のカロテノイドや他の成分が含まれていることにより、理論値と実測値が一致しないと考えた。このことは、食品の一重項酸素消去活性を分析する場合、カロテノイド含量を分析して、その値から k_Q を算出すると誤差が生じることになり、実際はサンプルの測定が必要であることを示唆している。また、キュウリ、カボチャなどの野菜やミカン、メロンなどの果物、パーム油などの油脂を含む、30 種に上回る食品に関しても SOAC 法の定量が可能であった^{37)~39)}。

6. ま と め

抗酸化作用の研究は、老化遅延や疾病予防などに関係し、健康寿命の延伸に繋がる重要なテーマである。ただ、健康寿命の延伸を図るためには、抗酸化物質を体内に必要量保持していく必要がある。抗酸化物質を確保するには、体内で抗酸化物質をどう作っていくか、または体外から抗酸化

物質を吸収して体内へ取りこんでくるかを研究しなければならない。

ライフステージで考えると青年期までは自然と体内で酸化作用を持つ酵素や物質が作られるようである。しかし、高齢化した場合に多くの抗酸化物質を体内で作出す研究はいまだはっきりしていない。一方、体外から抗酸化物質を吸収してとりこんでくる方法として、カロテノイド含有野菜で代表されるような野菜の摂取が重要である。しかし、野菜の摂取は厚生労働省が目標としている量には達していない。さらに、野菜をサラダで摂取してもほとんどカロテノイドは体内に吸収されない⁴⁰⁾。体外から抗酸化物質を吸収しとりこんでくるには量と質の確保が重要である。

体内で抗酸化物質を作り出す研究についてはこれからの研究として、今すぐに取り組まなければならない研究として、野菜の摂取量の向上のための研究と抗酸化物質、例えばカロテノイドの吸収を考慮した野菜加工や調理の研究である。今まさにその研究に取り組んでいる。

本研究は筆者が在籍したカゴメ株式会社において遂行したものである。終始ご指導とご助言を戴きました東京大学名誉教授故中村道徳先生、お茶の水女子大学名誉教授故福場博康先生、京都大学名誉教授故土井悦四郎進先生並びに徳島大学大学院名誉教授寺尾純二先生、愛媛大学名誉教授向井和男先生に衷心より感謝致します。また研究を共に推進して戴いたカゴメ株式会社研究開発本部のスタッフに深く感謝致します。

表7 α -トコフェロール、カロテノイドの一重項酸素消去定数 (k_Q^{Sample}) と α -トコフェロールとの相対値 ($k_Q^{\text{Sample}}/k_Q^{\alpha\text{-Toc}}$)

サンプル	k_Q^{Sample} ($\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$)	k_Q^{Sample} (Av.) ^a ($\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$)	$k_Q^{\text{Sample}}/\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ Di Mascio et al. ^b (Beutner et al.) ^c	k_Q^{Sample} (Av.)/ $k_Q^{\alpha\text{-Toc}}$ (Av.)
α -トコフェロール	1.24×10 ⁸ 1.33×10 ⁸ 1.36×10 ⁸	1.31×10 ⁸	8.5×10 ⁷	1.00
リコペン	1.43×10 ¹⁰ 1.31×10 ¹⁰ 1.41×10 ¹⁰	1.38×10 ¹⁰	9.4×10 ⁹ (8.8×10 ⁹)	105
アスタキサンチン	1.16×10 ¹⁰ 1.23×10 ¹⁰ 1.14×10 ¹⁰	1.18×10 ¹⁰	7.3×10 ⁹ (9.0×10 ⁹)	90.1
β -カロテン	1.10×10 ¹⁰ 1.04×10 ¹⁰ 1.11×10 ¹⁰	1.08×10 ¹⁰	4.2×10 ⁹ (8.4×10 ⁹)	82.4
カプサンチン	9.36×10 ¹⁰ 1.16×10 ¹⁰ 1.07×10 ¹⁰	1.06×10 ¹⁰	—	80.9
ゼアキサンチン	1.04×10 ¹⁰ 1.02×10 ⁹ 1.11×10 ¹⁰	1.05×10 ¹⁰	3.0×10 ⁹	80.2
α -カロテン	1.08×10 ¹⁰ 8.82×10 ⁹ 9.66×10 ⁹	9.76×10 ⁹	5.7×10 ⁹	74.5
ルテイン	9.16×10 ⁹ 9.14×10 ⁹ 9.43×10 ⁹	9.24×10 ⁹	2.4×10 ⁹	70.5
β -クリプトキサンチン	7.04×10 ⁹ 7.25×10 ⁹ 7.63×10 ⁹	7.31×10 ⁹	1.8×10 ⁹	55.8

^a Experimental errors in the rate constants (k_Q^{Sample} (av)) were estimated to be <5%. ^b Di Mascio, P. et al., *Arch. Biochem. Biophys.*, 1989; Di Mascio, P. et al., *Methods Enzymol.*, 1992. ^c Beutner, S. et al., *J. Sci. Food Agric.*, 2001.

文 献

- 厚生科学審議会地域保健健康増進部会, 次期国民健康づくり運動プラン策定専門委員会「健康日本21(第二次)の推進に関する参考資料」p.25(2010).
- 平山 雄, がん予防学, メディサイエンス社(1987).
- Di Mascio, P., Kaiser, S. and Sies, H., Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. *Arch. Biochem. Biophys.*, **274**, 532-538 (1989).
- Brevard, P.B., *Internat. J. Vit. Nutr. Res.*, **63**, 21-25 (1993).
- Jyonouchi, H., et al., *Nutr. Cancer*, **21**, 47-58 (1994).
- Akiyama, H., et al. *Biol. Pharm. Bull.*, **22**, N6, 551 (1999).
- Sato, Y., Akiyama, H., Suganuma, H., Watanabe, T., Nagaoka, M.H., Inakuma, T., Goda, Y. and Maitani, T., *Biol. Pharm. Bull.*, **27**, 978-984 (2004).
- 厚生労働省, 人口動態統計.
- 日本ビタミン学会編, ガンの予防(健康の科学シリーズ(5)), 学会センター関西学会出版センター(1997).
- Tsushima, M., Maoka, T., Katsuyama, M., Kozuka, M., Matsuno, T., Tokuda, H., Nishino, H. and Iwashima, A., *Biol. Pharm. Bull.*, **18**, 227-233 (1995).
- Narisawa, T., Fukaura, Y., Hasebe, M., Nomura, S., Oshima, S., Sakamoto, H., Inakuma, T., Ishiguro, Y., Takayasu, J. and Nishino, H., *Jpn. J. Cancer Res.*, **89**, 1003-1008. (1998).
- Franceschi, S., Bidol, E., La Vecchia, C., Talamini, R., D'Avanzo, B. and Negri, E., *Int. J. Cancer*, **59**, 181-184 (1994).
- Oshima, S., Ojima, F., Sakamoto, H., Ishiguro, Y. and Terao, J., *J. Agri. Food Chem.*, **44**, 2306-2309 (1996).
- Suganuma, H. and Inakuma, T., *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **63**, 78-82 (1999).
- Kohlmeier, L., Kark, J.D., Gomez-Gracia, E., Martin, B.C., Steck, S.E., Kardinaal, A.F., Ringstad, J., Thamm, M., Masaev, V., Riemersma, R., Martin-Moreno, J.M., Huttanen, J.K. and Kok, F.J., *Am. J. Epidemiol.*, **146**, 618-626 (1997).
- Suganuma, H., Hirano, T. and Inakuma, T., *J. Nutr. Sci. Vitaminology*, **45**, 143-149 (1999).
- 安本光政, 岡崎隆志, 稲熊隆博, 小林 猛, 液化二酸化炭素による黒胡椒の辛味成分と揮発性成分の抽出, 日本食品科

- 学工学会誌, **41**, 102-107 (1994).
- 18) 安本光政, 稲熊隆博, 岡崎隆志, 小林 猛, 液化二酸化炭素による唐辛子の辛味成分の抽出, 日本食品工業学会誌, **41**, 565-567 (1994).
- 19) 稲熊隆博, 安本光政, 古口 勝, 小林 猛, 超臨界二酸化炭素によるリコピンの抽出率に及ぼすトマト果皮の乾燥方法の影響, 日本食品科学工学会誌, **45**, 740-743 (1998).
- 20) Mangles, A.R., Holden, J.M., Beecher, G.R., Forman, M.R. and Lanza, E., Carotenoid content of fruits and vegetables : an evaluation of analytic data. *J. Am. Diet. Assoc.*, **93**, 284-296 (1993).
- 21) Holden, J.M., Eldridge, A.L., Beecher, G.R., Buzzard, I.M., Bhagwat, S. and Davis, C. S., *J. Food Composition and Analysis*, **12**, 169-196 (1999).
- 22) Yano, M., Kato, M., Ikoma, Y., Kawasaki, A., Fukazawa, Y., Sugiura, M., Matsumoto, H., Oohara, Y., Nagao, A. and Owaga, K., Quantitation of carotenoids in raw and precessed fruits in Japan. *Food Sci. Technol. Res.*, **11**, 13-18 (2005).
- 23) Aizawa, K. and Inakuma, T., Quantitation of carotenoids in commonly consumed vegetables in japan. *Food Sci. Technol. Res.*, **13**, 247-252 (2007).
- 24) 稲熊隆博, 石黒幸雄, ヒット食品開発の発想と技術 キャロットジュース, 学会出版センター (1996).
- 25) 稲熊隆博, 立澤弘久, 石黒幸雄, 日本食品科学工学会誌, **43**, 85-90 (1996).
- 26) 稲熊隆博, 菅沼大行, ニンジンの一般成分と機能性, 地域農産物の品質・機能性評価 (津志田藤二郎ら編集), pp.171-174, (株)サイエンスフォーラム (2000).
- 27) 伊藤要子, 倉部輝久, 稲熊隆博, 石口恒男, マウス腹部放射線障害に対するリコペンの防御作用, 日本臨床生理学会雑誌, **34**, 5-16 (2004).
- 28) 山根理学, 中村真子, 石見佳子, 稲熊隆博, 老化促進マウスのライフステージにおけるリコピンの骨代謝調節作用, 第 62 回日本栄養・食糧学会大会講演要旨集, p.210, 埼玉 (2008).
- 29) 森 啓信, 小泉一愉, 稲熊隆博, 日本食品科学工学会誌, **55**, 355-356 (2008).
- 30) 高市真一ら, カロテノイドーその多様性と生理活性, 裳華房 (2006).
- 31) Monaghan, B.R. and Schmitt, F.O., The effects of carotene and of vitamin A on the oxidation of linoleic acid. *J. Biol. Chem.*, **96**, 387-395 (1932).
- 32) Ou, B., Hampsch-woodill, M. and Prior, R.L., *J. Agri. Food Chem.*, **49**, 4619-4626 (2001).
- 33) Endoperoxide (EP), WAKEN B TECH Co., Ltd.
- 34) Mukai, K., et al., *Free. Radic. Biol. Med.*, **39**, 752 (2005).
- 35) Ouchi, A., Aizawa, K., Iwasaki, Y., Inakuma, T., Terao, J., Nagaoka, S. and Mukai, K., Kinetic study of the quenching reaction of singlet oxygen by carotenoids and food extracts in solution. Development of singlet oxygen absorption capacity (SOAC) assay method. *J. Agric., Food Chem.*, **58**, 9967-9978 (2010).
- 36) Aizawa, K., Iwasaki, Y., Ouchi, A., Inakuma, T., Nagaoka, S., Terao, J. and Mukai, K., Development of singlet oxygen absorption capacity (SOAC) assay method 2, measurement of the SOAC values for carotenoids and food extracts. *J. Agric. Food Chem.*, **59**, 3717-3729 (2011).
- 37) 岩崎裕子, 高橋慎吾, 相澤宏一, 稲熊隆博, 大内 綾, 向井和男, 長岡伸一, 寺尾純二, 第 65 回日本酸化ストレス学会, P.53 (2012).
- 38) 相澤宏一, 高橋慎吾, 岩崎裕子, 稲熊隆博, 大内 綾, 長岡伸一, 寺尾純二, 向井和男, 第 65 回日本酸化ストレス学会, S1-4 (2012).
- 39) 石川絵理, 大内 綾, 長岡伸一, 向井和男, 泉澤勝弘, 小池泰介, 第 9 回日本トコトリエノール研究会 演題 2 (2012).
- 40) Reboul, et al., Bioaccessibility of carotenoids and vitamin E from their main dietary sources. *J. Agric. Food Chem.*, 8749 (2006).

(平成 27 年 3 月 20 日受理)