

## 水耕栽培野菜の抗酸化活性とミネラル含有量の測定

田中智子<sup>1</sup>、岡本成美<sup>2</sup>、外山真理<sup>2</sup>、岩月聡史<sup>2</sup>、茶山健二<sup>2</sup>

<sup>1</sup>神戸女子短期大学 食物栄養学科

<sup>2</sup>甲南大学 理工学部 機能分子化学科

(受理日 2018年9月21日, 採択日 2018年9月26日)

### 1. はじめに

人間をはじめ多くの生物は生命維持に必要なエネルギーを得るため、多くの酸素を必要とし、細胞内で消費する。生体内に取り込まれた酸素の一部は他の分子と結びつき、スーパーオキシドアニオン、過酸化水素、ヒドロキシラジカル、一重項酸素といった活性酸素に変化する。これらの活性酸素は反応性が高く、タンパク質、脂質、酵素そしてアミノ酸などを酸化変性させ、細胞機能を低下させる。生体内で活性酸素が過剰に生成されると、酸化ストレス状態になり、糖尿病、高血圧、動脈硬化、ガンなどをはじめとする様々な生活習慣病や老化現象の促進がみられるようになる<sup>1)</sup>。

このような酸化ストレスに対して、生物は優れた防御システムによって自らを守っている。それらの役割を担うものを総称して抗酸化物質 (antioxidant) といい、その活性を抗酸化能と呼んでいる。この抗酸化能に対する、新たな評価法を規格基準法として適用する必要があると考えられる。更に、抗酸化能に基づく新たな品質評価方法の策定、ならびに公定分析法への適用が検討事項となっている<sup>2) 3)</sup>。我々は、抗酸化ビタミンとして知られているビタミンC (VC) とビタミンE (VE) のうち、VEの水溶性モデル物質であるトロロックス (6-hydroxy-2,5,7,8-tetra-methylchroman-2-carboxylic acid) と比較検討を行うことで野菜の抗酸化能を測定している<sup>3)</sup>。

試料とした野菜は、生活習慣病の予防<sup>4) 5)</sup> やミネラル摂取源として、さらに、食品抗酸化能としても、生体調節機能を調整するための重要な食材の1つである。しかし、成人1日あたりの野菜の摂取目標量は350g以上であるが、平成27年の国民栄養調査の結果では、平均285.5gにまで減少し、若い人ほどその摂取量は減少しており、20歳代では平均242.0gとなっている<sup>6)</sup>。本実験では、2種類の水耕栽培レタスを用い、茎部位と葉部位の抗酸化能を測定すると共に、多元素同時測定が可能な誘導結合プラズマ発光分光分析法を用いて、カルシウム (Ca)、カリウム (K)、マグネシウム (Mg)、ナトリウム (Na)、リン (P)、鉄 (Fe)、亜鉛 (Zn)、銅 (Cu) およびマンガン (Mn) の9元素の含有量を測定することで、これまで十分に検討がなされたことはなかった抗酸化能とこれらの元素の含有量の関係について、葉部位および茎部位に分けて比較検討をおこなった。

## 2. 実験

### 2.1 試薬

抗酸化物質測定標準物質のトロロックス、蛍光プローブ試薬としてフルオレセイン、ラジカル開始剤として 2,2-アゾビス(2-メチルプロピオンアミジン)二塩酸塩 (AAPH)、溶媒として 0.01mol/L リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) を用いた。ミネラル含有量測定標準液としては、Ca、Cu、Fe、K、Mg、Mn、Na、P、Zn および内標準物質であるイットリウム (Y) の原子吸光用標準液 (1000 ppm) を用いた。いずれの試薬も和光純薬社製のものをを用いた。

### 2.2 装置

抗酸化物質測定測定には、VERSA max マイクロプレートリーダーを使用した。マイクロプレートは、Becton Dickinson Labware 社製の 96well マイクロプレートを用いた。

ミネラル含有量測定は、セイコーインスツルメンツ製 Vista-MPX ICP 発光分光分析装置および日立製作所製ゼーマン偏光原子吸光度計 Z-5310 使用し、測定条件は前報<sup>7) 8)</sup>に従った。

### 2.3 測定試料

試料の野菜は、2016年6月から2017年2月に阪神電気鉄道株式会社より提供のあった水耕栽培のフリルレタスとグリーンリーフを用いた。試料は、それぞれ葉部位(葉)と茎部位(茎)に2分割して用いた。抗酸化物質およびミネラル測定における試料の前処理の詳細は、前報を参照されたい<sup>7) 8)</sup>。

### 2.4 統計処理

抗酸化活性 (R 値) およびミネラル含有量により得られた各分析試料のデータについて統計処理を行い、有意差検定を行った。統計処理には Excel 2010 (Microsoft 社製) を用いた。

## 3. 実験結果と考察

### 3.1 フルオレセイン吸光度の経時変化の測定例

Figure 1 に示された種々の濃度の標準物質トロロックスおよびフルオレセインが共存する水溶液を用いて抗酸化測定すると、水溶液の吸光度減少の経時変化を示すグラフが得られる。ここで、フルオレセインの吸光度が減少する前の安定した直線と減少し始めてから傾きが安定している直線の交点における時間を Lag phase と呼ぶ。そして、横軸に抗酸化物質濃度、縦軸に Lag phase をプロットし、Fig.2 のような検量線を作成した。標準物質であるトロロックスを基準にして抗酸化活性 (R) を評価した。

いずれの場合も 3 点以上の Lag phase が観測され、検量線はほぼ直線となった。様々な試料の測定を行い、各試料の検量線を作成した。評価は、標準物質であるトロロックスの抗酸化活性を 4.00 とし、これを基準としてそれぞれの測定試料の抗酸化活性 (R) を以下の式で算出した。

$$R = (4.00 \times \text{試料の検量線の傾き}) / (\text{トロロックスの検量線の傾き})$$

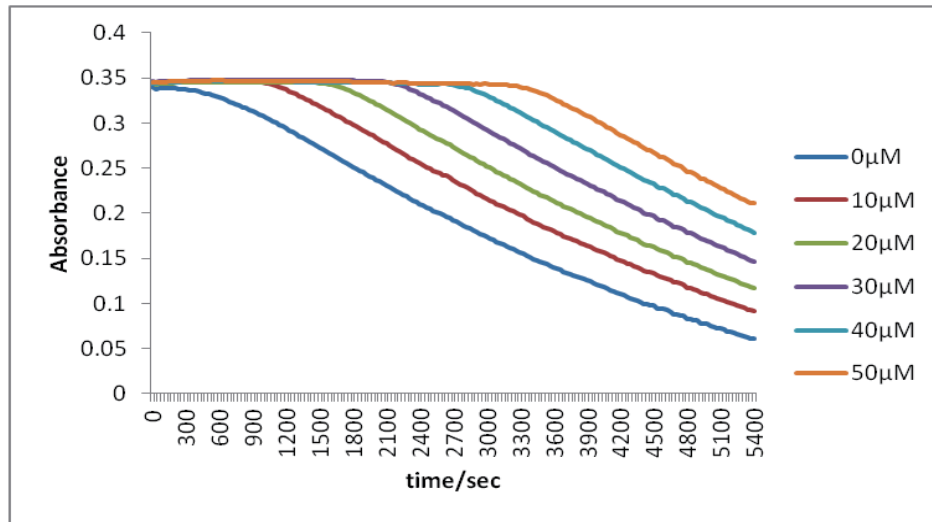


Fig. 1 フルオレセインを含む溶液の吸光度減少の経時変化

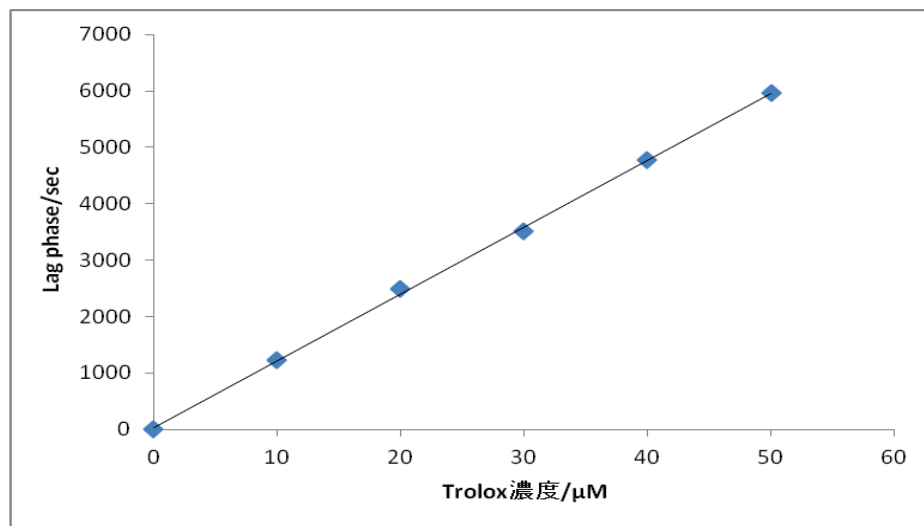


Fig. 2 トロロックスの検量線

### 3.2 フリルレタスとグリーンリーフの部位別抗酸化活性 (R 値)

水耕栽培のフリルレタスとグリーンリーフの抗酸化活性 (R 値) は、2016年8月から2017年1月まで各月2回、茎と葉の各試料につき3回測定した。各月と6ヶ月間の平均値と標準偏差を Fig.3 に示した。

抗酸化活性 (R 値) は、フリルレタスとグリーンリーフ共に、いずれの月も茎より葉が高く、グリーンリーフの抗酸化活性は、6ヶ月間の平均値と12月栽培の葉はフリルレタスより高い結果となった。さらに、茎と葉より計算からレタス全体の抗酸化活性を求めると、フリルレタスは  $0.86 \pm 0.35$ 、グリーンリーフは  $1.11 \pm 0.46$  となり、グリーンリーフの方が高い抗酸化活性を示した。栽培環境はほぼ同じであると考えられるが、栽培時期や品種により差が認められた。一方、土壌栽培のレタス類の抗酸化活性 (R 値) は、サニーレ

タス  $2.5 \pm 0.2$ 、グリーンリーフ  $1.9 \pm 0.2$  の結果が得られ<sup>7)</sup>、水耕栽培野菜より高い値が得られた。水耕栽培は、土壌栽培より条件は均一と考えられるのにも関わらず半年間の標準偏差が大きくでたのは、栽培場所である部屋や棚の位置による違いによる、栄養分の吸収率が関係している可能性が推測される。

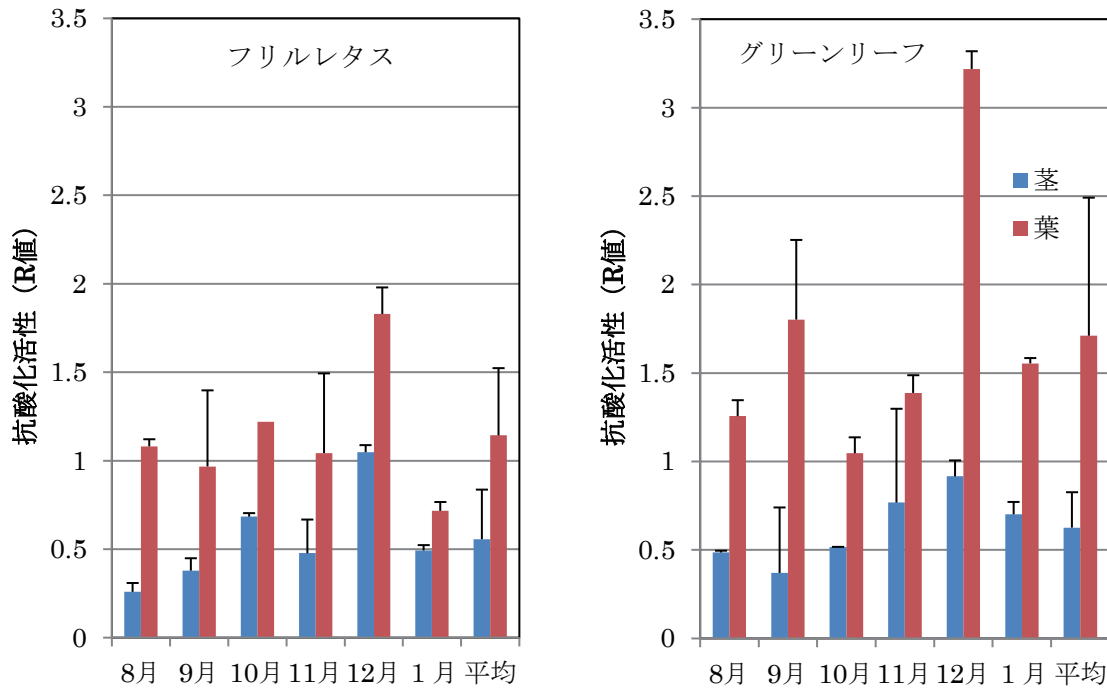


Fig.3 フリルレタスとグリーンリーフの部位別抗酸化活性 (R 値)

### 3.3 フリルレタスとグリーンリーフの部位別ミネラル含有量

水耕栽培のフリルレタスとグリーンリーフの葉と茎のミネラル含有量は、各試料に 5 回測定し、6 ヶ月間の平均値と標準偏差を Fig.4 および Fig.5 に示した。多量ミネラルで 1 番多く含まれていたものは K で、次いで Ca、P、Mg、Na となり、微量ミネラルでは Fe が多く含まれていた。

フリルレタスの部位別平均では、多量ミネラルでは、Ca と Mg で茎に比べ葉が有意に多くなり ( $p < 0.05$ ) Na を除いて葉に多い傾向が認められた。また、微量ミネラルでは、Mn で茎より葉が有意に多くなったが、Cu と Fe は茎で有意に多くなった ( $p < 0.05$ )。p 値は帰無仮説が正しいという前提において、それ以上、偏った検定統計量が得られる確率を示し、ここでは p 値が 0.05 未満を統計的に有意とみなした。多くのミネラルが、茎に比べ葉に多く含まれていた結果は、土壌栽培と同じ傾向を示した<sup>8)</sup>。

グリーンリーフの部位別平均では、多量ミネラルでは、Ca と Mg で茎に比べ葉が有意に多くなり ( $p < 0.05$ )、フリルレタスと同じく Na を除いて葉に多い傾向であった。一方、微量ミネラルの Mn と Zn は、葉に多く含まれていた。

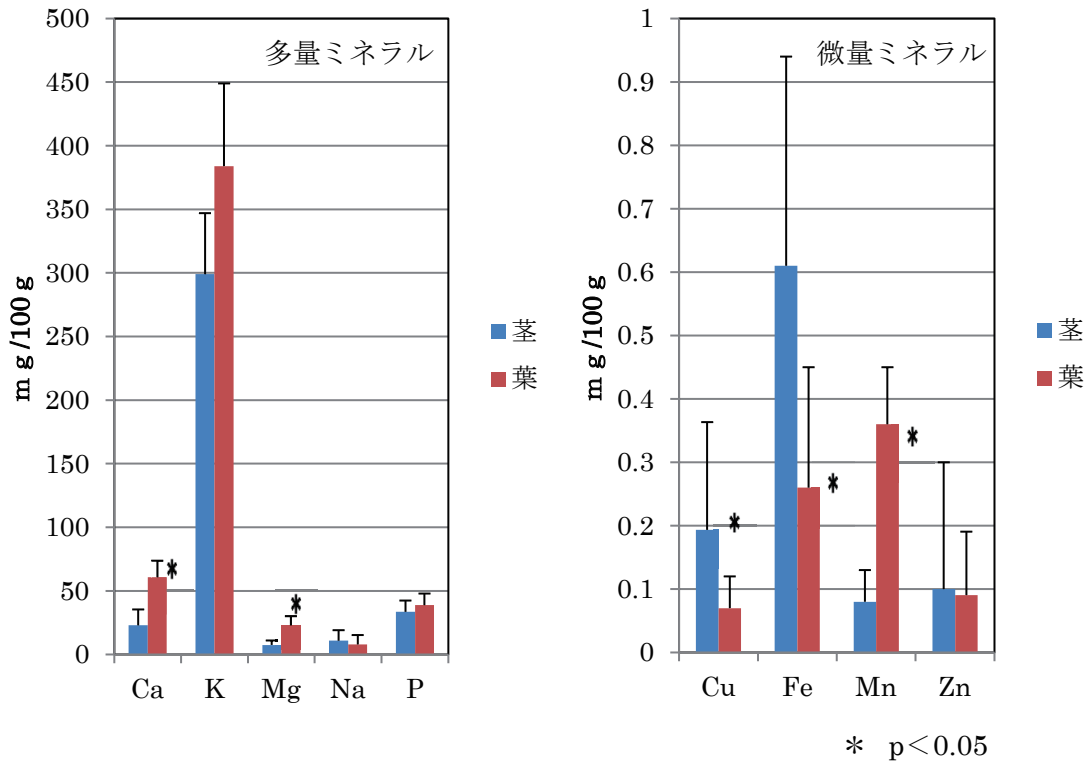


Fig. 4 フリルレタス 6ヶ月間の平均部位別ミネラル量

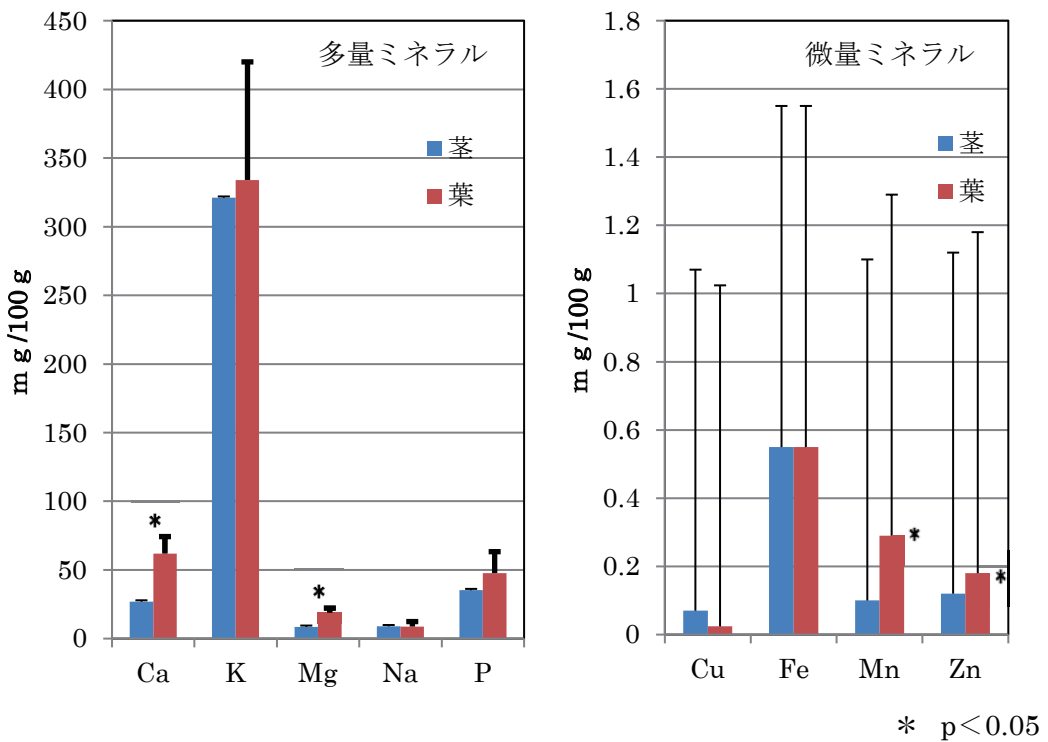


Fig. 5 グリーンリーフ 6ヶ月間の平均部位別ミネラル量

### 3.4 水耕栽培レタスの栽培月別ミネラル含有量

フリルレタスのミネラル含有量を8月～1月の栽培月別変化を Fig.6 に示した。ミネラル含有量は、茎と葉のミネラル量の合計値とした。

K は栽培月により変動が見られ8月から12月にかけて減少していたが、1月で増加し、12月が一番少なかった。K は月別に変動があるように見えるが、含有量が多いので実験誤差の可能性も否定できない。微量ミネラル含有量の Cu が12月で多くなっている理由は不明である。

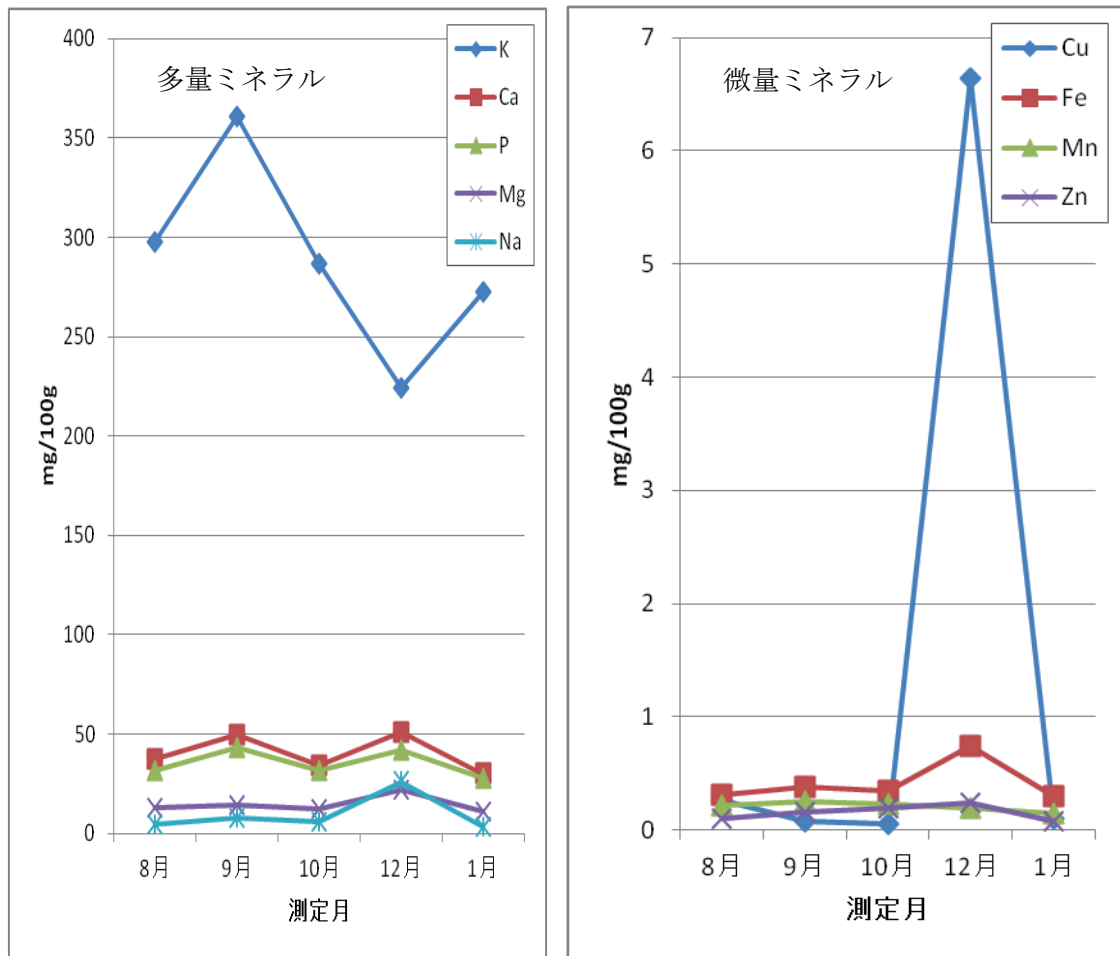


Fig. 6 フリルレタスの月別のミネラル含有量変化

グリーンレタスのミネラル含有量を8月～1月の栽培月別変化を Fig.7 に示した。ミネラル含有量は、茎と葉のミネラル量の合計値とした。K はフリルレタスと同様に12月に減少するという傾向を示したので、栽培条件に関係があるのかもしれない。一方、Ca、P、Mg、Na は、大きな変化はなく栽培月による違いは、ほとんどないと考えられる。

微量ミネラルでは、Cu が10月、Fe は11月に非常に多く含まれており、フリルレタスの12月のCuの増加とあわせてこれらの原因は、今後の研究課題として残った。

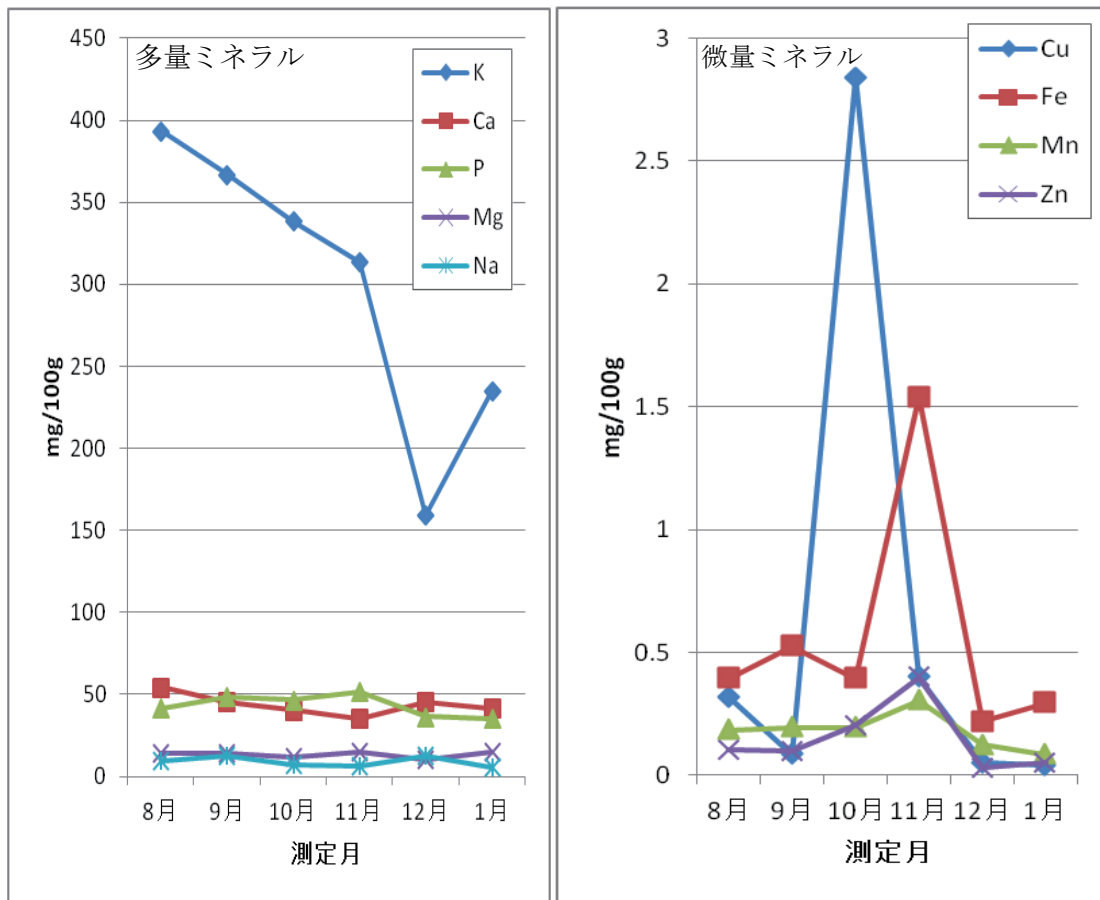


Fig. 7 グリーンリーフの月別のネラル含有量変化

#### 4. まとめ

水耕栽培であるフリルレタスとグリーンリーフの部位別抗酸化活性とミネラル含有量を8月から翌年1月の6ヶ月間測定し以下の結果を得た。

抗酸化活性 (R 値) は、いずれの栽培月も葉部位が茎部位より高く、特にグリーンリーフの12月と6ヶ月平均値は、葉部位が有意に高い結果となった ( $p < 0.05$ )。

ミネラル含有量は、フリルレタスの Ca、Mg、Mn およびグリーンリーフの Ca、Mg、Mn、Zn で、葉部位が茎部位より有意に多く ( $p < 0.05$ )、抗酸化活性と正の相関があることが示唆された。今後継続して様々な食品を調べることで、抗酸化活性とミネラル含有量の相関に加え、食品の機能性評価についてさらに多くの知見が得られることを期待したい。

#### 謝辞

本研究を行うにあたって野菜をご提供頂きました、阪神電気鉄道株式会社様はじめ、ご

協力いただきました甲南大学工学部機能分子化学科環境・計測化学研究室の院生ならびに学部学生の皆様に心より感謝申し上げます。

#### 参考文献

1. 水上茂樹, 五十嵐脩, 「活性酸素と栄養」, 光生館, pp. 1-11 (1995).
2. 細川純嗣, 岩橋均, “栗渋の抗酸化活性評価その1 (Fluorescein, Pyrogallol Red 法)”, *食品中の健康機能性成分の分析法マニュアル*, 第7項, 産技連/食品機能成分分析研究会編 (2012).
3. 小俣葉, 二木鋭雄, *FRAGRANCE JOURNAL* **36**, 95-98 (2008).
4. Hyun Ja Kim, Sun Young Lim, Jung-Sug Lee, Sohee Park, Aesun Shin, Bo Youl Choi, Taichi Shimazu, Manami Inoue, Shoichiro Tsugane, Jeongseon Kim, *Cancer Science*, **101**, 508-516 (2010).
5. Yasushi Nakamura, Tomoaki Matsuo, Shigehisa Okamoto, Akiyoshi Nishikawa, Toshio Imai, Eun Young Park, Kenji Sato, *Genes and Environment*, **30**, 41-47 (2008).
6. <http://www.mhlw.go.jp/file/04-Houdouhappyou-10904750-Kenkoukyoku-Gantaisakukenkouzoushinka/kekkgaiyou.pdf> 厚生労働省, 2017年5月.
7. 茶山健二, 大池志織, 丹田孝平, 田中智子, 岩月聡史, 脇田慎一, *甲南大学紀要 理工学編*, **61**, 29-43 (2014).
8. 田中智子, 石田康浩, 奥田まなみ, 茶山健二, *神戸女子短期大学論攷*, **59**, 47-54 (2014).



## Correlation between antioxidant activities of hydroponic vegetables and their mineral contents

Satoko Tanaka<sup>1</sup>, Narumi Okamoto<sup>2</sup>, Mari Toyama<sup>2</sup>,  
Satoshi Iwatsuki<sup>2</sup>, Kenji Chayama<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Food and Nutritional Science, Kobe Women's Junior College, 4-7-2 Minatojima-Nakamachi, Chuo, Kobe 650-0046, Japan

<sup>2</sup> Department of Chemistry Functional Molecules, Faculty of Science and Engineering, Konan University, 8-9-1 Okamoto, Higashinada, Kobe 658-8501, Japan

(Received September 21, 2018, Accepted September 26, 2018)

**Abstract:** Many kinds of minerals and antioxidants are contained in foods. However, correlation between antioxidant activities and mineral contents have not been discussed in detail. In this study, therefore, we examined antioxidant activities of two typical hydroponic lettuces (i.e., furl lettuce and green leaf lettuce) and their mineral contents.

Antioxidant activities were measured by using Trolox (6-hydroxy-2, 5, 7, 8-tetra-methylchroman-2-carboxylic acid) as a typical water-soluble model compound of vitamin E. Mineral contents were measured simultaneously for multiple elements using Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry (ICP-AES).

As a result, antioxidant activities of both lettuces at the leaf part and green leaf lettuce were higher than those at the stem part. In the same manner, mineral contents of those contents at the leaf part were also larger than the stem part. Thus, we found for the first time appreciable correlations between the mineral contents and the antioxidants activities in such hydroponic vegetables.