

植物内ポリフェノールの増量方法の発見

東京都市大学名誉教授 近藤雅雄

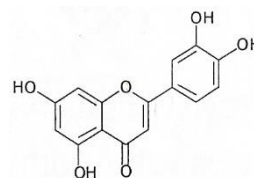
現代人の免疫能は低下し、特に高齢者の免疫能は著しく低下している。その主な原因として、急速な食生活の変化、肥満、加齢、ストレスなど、各種酸化ストレスによる影響が示唆されている。この活性酸素が原因で起こる各種疾病の防御を目的としてフラボノイド類の摂取が注目されている。フラボノイド類には約5-7,000種ともいわれる多数の物質が報告され、その構造は極めて似ているが、その抗酸化機能は各種異なる。これらフラボノイドの標準統一分析方法は未だになく、各々の抗酸化物質の抗酸化能についてもはっきりしていない。

そこで、約30種類の抗酸化物質についてその作用を検討すると同時に、世界に先駆けてUV検出器とHPLC分析による各種フラボノイドの一斉同時自動分析法の開発を行った。さらに、各種野菜・果物のフラボノイドを分画定量し、その含有量およびペンタキープ(ALA肥料、コスモ石油(株))投与による影響を検討した。その結果、これまでに多くの抗酸化物質の中で、ルテオリンが細胞内・外での活性酸素消去能が最も高いことを証明し、さらに、ALAを投与し栽培した植物のフラボノイドおよびミネラル量に及ぼす影響について検討を行った。その結果、ルテオリン(図)をはじめフラボノイド類が平均約10倍増量することを見出した。

1. 野菜中の各種フラボノイドのHPLC分析法の開発

1) 材料と方法

標準フラボノイド類は市販のクロロゲン酸、カフェ酸、フェラル酸、3' 4' 8' tetra-hydroxyflavone、ルチン、ケルセチン、ルテオリン、ヘスペレチン、ケンフェロール、アピゲニン、イソラムネチンなどを用いた。HPLCは通常のシステムのほか、UV検出器(波長350nm)、ODS逆相カラム(4.6×150mm)、移動相メタノール/酢酸系を用いた。野菜類は市販の白ピーマン、青ピーマン、赤唐辛子、青唐辛子、梨、茶、枝豆を用いた。



2) 結果と考察

(1) 抗酸化能の検討

約30種類の抗酸化物質について、ヒトリンパ球培養細胞に各種抗酸化物質を加えた後、X線による酸化ストレスを与えた。その結果、量依存的に細胞内外にて抗酸化能を最も強く有していたものはルテオリンであった。

(2) 標準フラボノイド類の分析方法

11種類のフラボノイドならびにその配糖体について、HPLCの分析条件を検討した。溶媒など各種検討の結果、各フラボノイド類の標準物質はすべて約25分以内に完全に分離され、また、すべて原点を通る直線性を得た。同時再現性(CV)もクロロゲン酸の0.88以外はすべて0.4以下であり、極めて良好であった。検出限界は0.08~1.43ngで11種類の平均は0.3ngであった。

(3) 各種フラボノイドの抽出方法

抗酸化能の強いルテオリンおよびケルセチンは野菜ならびに生体内では配糖体の形で存

在するが、テオリン配糖体については標準物質がなく、この配糖体を分解すべく、酸・加水分解法について検討した。すなわち、3N-HCl～0.1N-HClの塩酸・加水分解について検討した結果、0.1N-HClの添加が最も適していることが分かった。しかしながら、加水分解によって、他のフラボノイド類の回収率が減少することから、野菜からの抽出方法としてはメタノール抽出法と酢酸エチル抽出の2種類ならびに酸・加水分解法を用いた。

(4) 各種野菜中の各種フラボノイド量

ピーマンからは検討した10種のフラボノイド類がすべて検出された。中でもルチン、ケルセチンとルテオリンが83～98%を占めた。フラボノイド量の最も多いのは茶葉であった。

2. ピーマンの各種ミネラル及びフラボノイド量に対するペンタキープの影響

1) 材料と方法

標準抗酸化物質はクロロゲン酸、カフェ酸、フェラル酸、3' 4' 8' tetrahydroxyflavone、ルチン、ケルセチン、ルテオリン、ヘスペレチン、ケンフェロール、アピゲニン、イソラムネチン、エピガロカテキン、ルシゲニン、ダイドジン、ラミナリン、レスベラトール、ダイドゼイン、デルフイニジクロロイド、フェオニジクロロイド、シアニジクロロイド、Luteolin-7-o-Glucoside、ナリンゲニン、ミルセチンの23種類を用いた。分析はHPLCシステム、UV検出器(波長350nm)、ODS逆相カラム(4.6×150mm)を、移動相はメタノール/酢酸系(A液:80%メタノール/50%酢酸、B液:10%メタノール/5%酢酸)を用いた。植物はピーマン類、梨、枝豆、茶(葉、茎)を用いた。これら植物を一般で使用されている肥料とALAを添加したペンタキープ肥料にて栽培し、植物中の各種フラボノイド類と各種元素濃度を測定した。元素濃度はICP-MSおよびICP-AEにて測定した。

2) 結果

植物中のフラボノイド分析の結果、ピーマン類(緑ピーマン、白ピーマン、赤唐辛子、青唐辛子)中の各種フラボノイドは加水分解法によって各々9種類のフラボノイド類の定量を可能にしたが、その他、約35種類の未知の物質が含まれていることがわかった。さらに、ペンタキープ処理したピーマンでは無処理5,204に対して約10倍の48824ng/gであった。同様に梨は3.5倍、枝豆は1.4倍、茶葉は1.1倍などと植物によって異なるが、ポリフェノール量が増量した。ミネラルへの影響では、ピーマンではZn, Cr, Cu, Fe, Tiが、茶ではLi, Ca, Ba, Srが、梨ではZn, Cr, Fe, Ni, Mn, Al, Cdが、各々2倍以上増量し、ALA投与によって良い方向に変化することが分かった。

参考文献

1. 近藤雅雄ほか: 野菜中の各種フラボノイドのHPLC分析法の開発) 第91回日本食品衛生学会学術講演会2006.5、東京
2. 近藤雅雄ほか: 各種植物へのデルタ・アミノレブリン酸投与がフラボノイド及びミネラルの各生産量に及ぼす影響、第34回ポルフィリン研究会学術大会、2007.5、東京
3. 近藤雅雄ほか: ピーマンの各種ミネラル及びフラボノイド量に対するペンタキープの影響、第94回日本食品衛生学会学術講演会プログラム、2007.10、静岡市
4. 近藤雅雄ほか: 植物のポリフェノール増量剤、整理番号:P04631808、特願2006-217805.
5. Kondo M et al: Polyphenol-content-increasing agent for plant、PCT/JP2009/064190.