

## 機能性を活かす加工技術の開発\* —ゴボウ加工時のクロロゲン酸類の消長—

十川 隆博\*<sup>1</sup>・酒井 美穂\*<sup>1</sup>・柚木崎 千鶴子\*<sup>1</sup>・日高 照利\*<sup>1</sup>  
河野 通義\*<sup>2</sup>・松井 俊行\*<sup>2</sup>

Development of Processing Technology that Makes the Best Use of Functionality  
Changes of Chlorogenic Acid by Processing of Burdock

Takahiro TOGAWA, Miho SAKAI, Chizuko YUKIZAKI, Terutoshi HIDAKA,  
Michiyoshi KAWANO and Toshiyuki MATSUI

ゴボウを原料として、機能性を保つ加工条件を開発するため、宮崎県農協果汁株式会社で製造しているゴボウピューレの製造工程ごとのクロロゲン酸類の挙動について検討を行った。ゴボウピューレ製造工程中で剥皮の際にクロロゲン酸類が大きく減少したが、剥皮以降の加熱処理、摩砕処理ではクロロゲン酸類に大きな変化は見られなかった。クロロゲン酸類が剥皮の際に減少するのは、クロロゲン酸類が多く含まれる表皮の除去と、酵素反応によるクロロゲン酸類の酸化による減少が原因ではないかと推察された。

キーワード：ゴボウ、クロロゲン酸、加工、抗酸化活性、ポリフェノール

### 1 はじめに

当センターでは、これまで県内産農産物について、DPPHラジカル消去活性、総ポリフェノールの測定を行ってきた。DPPHラジカル消去活性の高かった作物の中で、ゴボウについては主たる活性成分がクロロゲン酸であることが分かっている<sup>1) 2)</sup>。

本研究においては、宮崎県農協果汁株式会社で製造しているゴボウピューレの製造工程毎のクロロゲン酸類の定量を行い、その消長について検討を行ったので報告する。

### 2 実験方法

#### 2-1 原材料および前処理

ゴボウピューレは、宮崎県農協果汁株式会社で製造工程毎（原料→剥皮→ブランチング→摩砕処理→微細処理→製品）にサンプリングを行い、

−20°Cで冷凍保存した。冷凍した試料は、真空凍結乾燥装置（株式会社セントラル科学貿易、DURA-DRY II MP型）により凍結乾燥し、乾燥物を超遠心粉碎機（MRK&RETSCH, EM-1型）で0.5mmのスクリーンを通して粉碎し、以降の試験に供した。

#### 2-2 DPPHラジカル消去活性測定

試料に適量の80%エタノール溶液を加えてかきまぜながら10分間抽出し、0.45 μmフィルターでろ過し試料抽出液とした。試料抽出液をpH6.0で、有色安定ラジカルである1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH,和光純薬)と反応させ、反応液の520nmにおける吸光度を96穴マイクロプレート法にて測定し、ゴボウピューレ100gあたりのTrolox (Aldrich) 相当量として表示した。

#### 2-3 総ポリフェノール分析

試料0.1gを遠沈管に取り、80%メタノール2mlを加えて懸濁し10分間超音波処理した後、3000rpmで10分間遠心分離し、上清を得た。この操作をさらに2回繰り返して上清を集め、10mlにメスアップした後0.45 μmフィルターでろ過し

\* 機能性を活かす加工技術の開発（第3報）

\* 1 食品開発部

\* 2 宮崎県農協果汁株式会社 研究開発部

た。この抽出液について、フォーリンーチオカルト法で総ポリフェノールを定量し、ゴボウピューレ100gあたりのクロロゲン酸 (SIGMA) 相当量として表示した。

#### 2-4 クロロゲン酸類の定量<sup>3) 4)</sup>

2-3 で得た抽出液を用いて、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) でクロロゲン酸および1,5-ジカフェオイルキナ酸 (ChromaDex) の定量を行った。HPLCの測定条件は以下のとおり。装置：日本分光 GULLIVER PU-980 検出器：SPD-M10AVP 測定波長：UV327nm カラム：Phenomenex Luna 3u C18 (2) 2.0×150mm 移動相:A液 (水:ギ酸=100:0.25) B液 (アセトニトリル:ギ酸=100:0.25) グラジエント：B液；10% (5分) -10→100% (25分) -100% (5分)

#### 2-5 ゴボウの剥皮試験

ゴボウをカットして表皮と芯の部分に分け、それぞれ80%メタノールを加えてホモジナイズし、250mlにメスアップした後0.45  $\mu$ mフィルターでろ過した。この抽出液を用いて、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) でクロロゲン酸および1,5-ジカフェオイルキナ酸 (ChromaDex) の定量を行った。HPLCの測定条件は2-4と同じ。

#### 2-6 ポリフェノールオキシダーゼ活性の測定<sup>5) 6)</sup>

試料10gに100mlの0.1Mリン酸緩衝液 (pH6.8) を加え、氷冷しながら超音波洗浄機で10分間処理した。処理した液を遠心分離 (10,000rpm, 20分間) し、その上澄み液をろ過し、0.1Mリン酸緩衝液 (pH6.8) で100mlにメスアップし粗抽出液とした。氷冷しながら粗抽出液に80%飽和となるように硫酸アンモニウムを加え、4°Cで1昼夜放置後、遠心分離 (10,000rpm, 20分間) により沈殿を集め、少量の0.1Mリン酸緩衝液 (pH6.8) に溶解した後、透析膜を用いて同一緩衝液に対して24時間透析した。膜内液を0.1Mリン酸緩衝液 (pH6.8) で100mlにメスアップし粗酵素液とした。

ポリフェノールオキシダーゼ活性は、基質としての40mg/lクロロゲン酸0.15mlおよび0.1Mリン酸緩衝液 (pH6.8) 2.75mlに粗酵素液0.1mlを添加し、30°Cで振盪下で、一定時間反応後327nmにおける吸光度を測定し、反応前後の吸光度の差で表示した。

#### 2-7 ゴボウのブランチング試験

以下の3つの試験区でブランチング試験を行い、いずれも冷凍し、真空凍結乾燥装置 (株式会社セントラル科学貿易, DURA-DRY II MP型) により凍結乾燥 (FD) し、乾燥物を超遠心粉砕機 (MRK&RETSCH, EM-1型) で0.5mmのスクリーンを通して粉砕し、クロロゲン酸及び1,5-ジカフェオイルキナ酸 (ChromaDex) の定量を行った。

- (1) コントロール：剥皮およびブランチング無し。
- (2) 試験区1：ゴボウを熱湯中で10分間ブランチングした後、剥皮した。
- (3) 試験区2：ゴボウを剥皮して10分間放置した後、熱湯中で10分間ブランチングした。

### 3 結果

#### 3-1 ゴボウピューレ製造工程中のDPPHラジカル消去活性と総ポリフェノールの変化

ゴボウピューレ製造工程中のDPPHラジカル消去活性と総ポリフェノールを測定した結果を図1に示した。

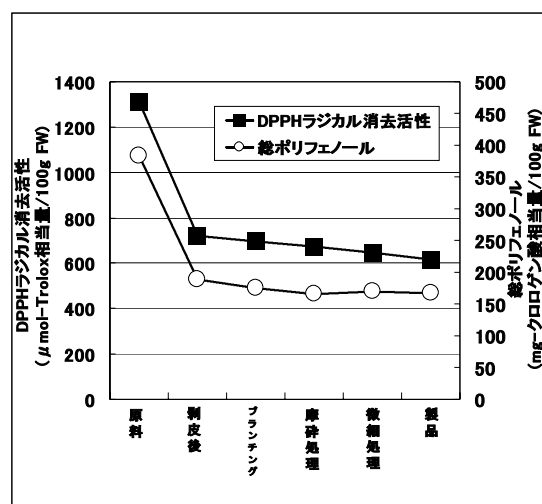


図1 DPPHラジカル消去活性と総ポリフェノール

ゴボウピューレ製造工程中のDPPHラジカル消去活性および総ポリフェノール量は原料段階で1311.2  $\mu$  mol-Trolox相当量/100gFW, 348.3mg-クロロゲン酸相当量/100gFWであったものが、剥皮

後に721.9  $\mu$  mol-Trolox相当量/100gFW, 189.7mg-クロロゲン酸相当量/100gFWといずれも2分の1程度に減少した。しかし、その後の工程では大きな変化は確認されず、最終製品は618.1  $\mu$  mol-Trolox相当量/100gFW, 168.0mg-クロロゲン酸相当量/100gFWを有していた。

### 3-2 ゴボウピューレ製造工程中のクロロゲン酸と1,5-ジカフェオイルキナ酸の変化

ゴボウピューレ製造工程中のクロロゲン酸と1,5-ジカフェオイルキナ酸を測定した結果を図2に示した。

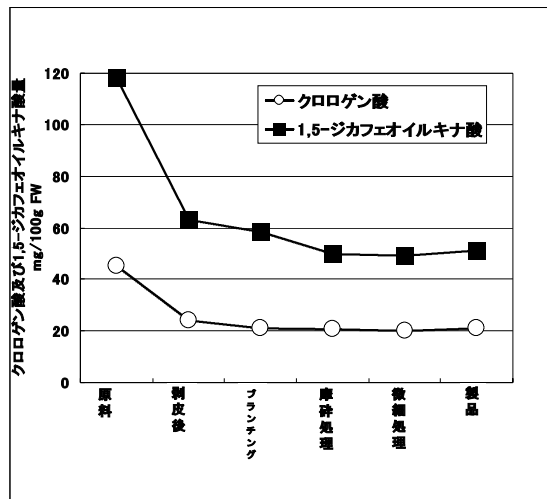


図2 クロロゲン酸と1,5-ジカフェオイルキナ酸の変化

ゴボウピューレ製造工程中のクロロゲン酸および1,5-ジカフェオイルキナ酸原料段階で45.1mg/100gFW, 117.9mg/100gFWであったものが、剥皮後に24.1mg/100gFW, 63.2mg/100gFWといずれも2分の1程度に減少した。しかし、その後の工程では大きな変化は確認されず、最終製品は20.9mg/100gFW, 51.1mg/100gFWを有していた。

### 3-3 DPPHラジカル消去活性に占めるクロロゲン酸類の寄与

クロロゲン酸および1,5-ジカフェオイルキナ酸標準品のDPPHラジカル消去活性4451  $\mu$  mol-Trolox相当量/gdry, 4630  $\mu$  mol-Trolox相当量/gdryから、各工程における2成分の寄与率を求

めると、図3に示すとおり合計で47.9%~56.9%となり、大きな差は認められなかった。

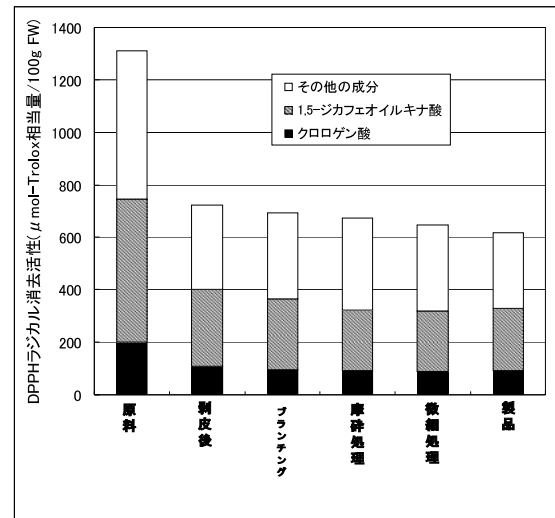


図3 DPPHラジカル消去活性に占めるクロロゲン酸類の割合

### 3-4 総ポリフェノールに占めるクロロゲン酸類の寄与

1,5-ジカフェオイルキナ酸標準品の総ポリフェノール活性はクロロゲン酸とほぼ同じであることから、各工程における2成分の寄与率を求めると図4に示すとおり合計で40.8%~46.1%となり、大きな差は認められなかった。

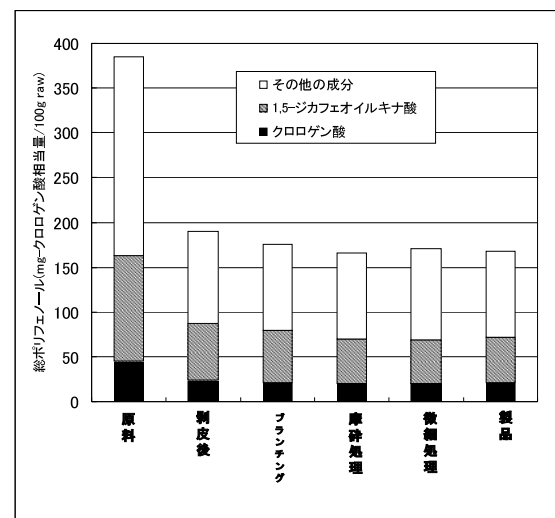


図4 総ポリフェノールに占めるクロロゲン酸類の割合

### 3-5 剥皮によるクロロゲン酸類の減少

製造工程において剥皮後にDPPHラジカル消去活性，総ポリフェノールおよびクロロゲン酸類が大きく低下した原因を確認するために，剥皮試験を行った。

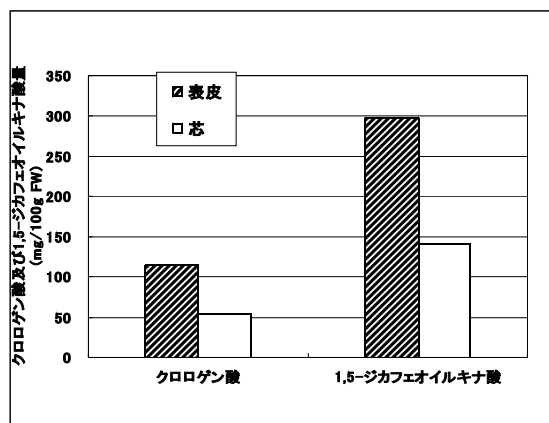


図5 ゴボウの部位別のクロロゲン酸類

その結果，図5に示すように表皮のクロロゲン酸および1,5-ジカフェオイルキナ酸量は114.7mg/100gFW，298.2mg/100gFWであったのに対し，芯では53.4mg/100gFW，141.0mg/100gFWであった。すなわち，クロロゲン酸および1,5-ジカフェオイルキナ酸のいずれも，表皮に芯の2倍程度多く含まれていた。

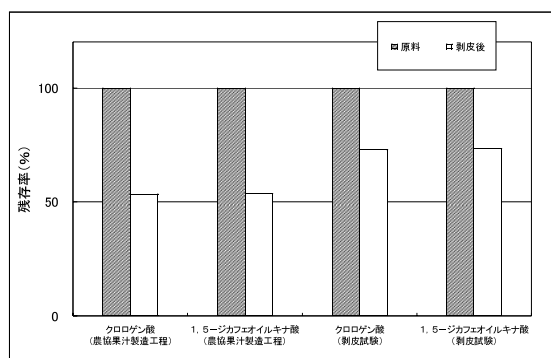


図6 ゴボウ剥皮時のクロロゲン酸類の残存率

宮崎県農協果汁株式会社の製造工程と，剥皮試験の結果をもとに，剥皮前後のクロロゲン酸と1,5-ジカフェオイルキナ酸の残存率を図6に示した。宮崎県農協果汁株式会社の製造工程ではクロ

ロゲン酸および1,5-ジカフェオイルキナ酸が約50%減少しているのに対し，剥皮試験ではクロロゲン酸および1,5-ジカフェオイルキナ酸が約30%減少した。

### 3-6 ゴボウピューレ原料およびブランチング後のポリフェノールオキシダーゼ活性

ゴボウピューレ原料およびブランチング後の凍結乾燥粉末試料を用いて，ポリフェノールオキシダーゼ活性を測定した。

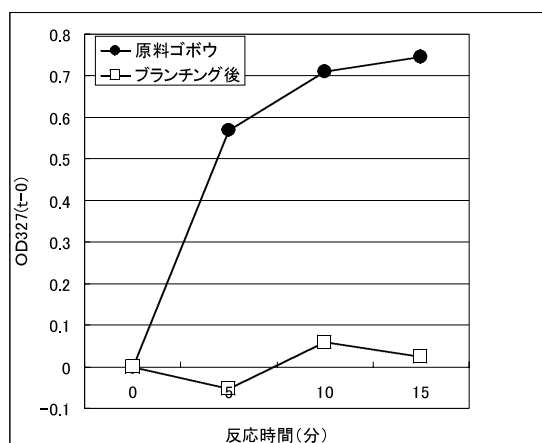


図7 ゴボウのポリフェノールオキシダーゼの酵素活性

図7に示すように，原料ゴボウにはポリフェノールオキシダーゼ活性が確認されたが，ブランチング後試料にはポリフェノールオキシダーゼ活性は確認されなかった。

実際の製造工程では，約10分程度ゴボウを水洗しながら表面を削るように剥皮している。この剥皮工程中にポリフェノールオキシダーゼによる酸化が促進され，クロロゲン酸類が減少するのではないかと推察された。

### 3-7 ゴボウのブランチング試験

クロロゲン酸類の減少に対する，剥皮と酸化の影響を確認するために，3つの試験区でクロロゲン酸および1,5-ジカフェオイルキナ酸量の比較を行った。図8に示すように，試験区1ではコントロールに対してクロロゲン酸および1,5-ジカフェオイルキナ酸ともに40%程度減少した。試験区2ではコントロールに対して，クロロゲン酸と1,5-ジカフェオイルキナ酸ともに50%以上減少した。



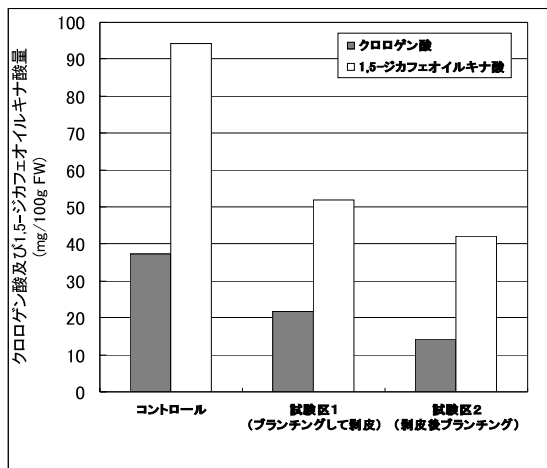


図8 ゴボウ剥皮時のクロロゲン酸類の残存率

以上の結果から、剥皮の前にブランチング処理して酵素を失活することにより、クロロゲン酸類の酸化を抑制できることが確認できた。

#### 4 まとめ

ゴボウを用いて宮崎県農協果汁株式会社のごぼうピューレ製造工程中のクロロゲン酸類の変化を調べ、ゴボウの剥皮試験およびブランチング試験を行い、クロロゲン酸類の変化を調べたところ、以下の知見が得られた。

- (1) 製造工程中では、原料のゴボウを剥皮した際にDPPHラジカル消去活性、総ポリフェノール、クロロゲン酸および1,5-ジカフェオイルキナ酸のいずれも2分の1程度に減少したが、その後の工程ではいずれも大きな変化は確認されなかった。また、DPPHラジカル消去活性に占めるクロロゲン酸と1,5-ジカフェオイルキナ酸の寄与率の合計は約47.9%~56.9%であり、総ポリフェノールに占めるクロロゲン酸と1,5-ジカフェオイルキナ酸の寄与率の合計は約40.8%~46.1%であった。
- (2) ゴボウの部位別のクロロゲン酸類の分析結果より、剥皮工程で、クロロゲン酸類を多く含む表皮を除去することが、DPPHラジカル消去活性、総ポリフェノールの低下に影響しているのではないかと推察された。
- (3) 工場の剥皮工程において、ポリフェノールオキシダーゼによりクロロゲン酸類の酸化が

促進しているのではないかと推察された。

- (4) 剥皮の前にブランチング処理して酵素を失活することにより、クロロゲン酸類の酸化を抑制できることが確認できた。

#### 5 参考文献

- 1) 柚木崎千鶴子, 小村美穂ら, 県内産農産物の抗酸化活性, 宮崎県工業技術センター・食品開発センター研究報告, 48, p.91-98 (2003)
- 2) アショク・クマル・サーカー, 柚木崎千鶴子ら, 宮崎県産農産物から抽出したフェノール類の抗酸化活性評価におけるHPLC-DPPHオンラインスクリーニング, 宮崎県工業技術センター・食品開発センター研究報告, 49, p.103-106 (2004)
- 3) Makiko, T., Kazuko, N., Seiichiro, I., and Masatsune, M., Changes in Caffeic Acid Derivatives in Sweet Potato (*Ipomoea batatas* L.) during Cooking and Processing, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 70 (1), p.172-177 (2006)
- 4) 王蓉, 綾野秀志, 古本敏夫ら, ゴボウ中のクロロゲン酸関連成分含量の品種間差異, *日本食品科学工学会誌.*, 48, p.857-862 (2001)
- 5) 藤田修二, 東野哲三, 温州ミカンのピロガロール酸化酵素及びフロログルシノール酸化酵素の精製とそれらの性質, *日本農芸化学会誌*, Vol.53, No.7, p.233-240 (1979)
- 6) 東野哲三, 藤田修二, 温州ミカン未熟果の褐変とポリフェノール酸化酵素活性, *栄養と食料*, Vol.29, No.2, p.125-126 (1976)