

数種のミニトマトの色素および機能性成分の比較

宮崎 早花¹⁾・新庄 裕介²⁾・高橋 佳琳³⁾
上野 敬司²⁾・園田 高広¹⁾・小野寺 秀一²⁾

A Comparison of the Pigments and Functional Ingredients of Several Cherry Tomato Varieties

Sayaka MIYAZAKI¹⁾, Yusuke SHINJO²⁾, Karin TAKAHASHI³⁾, Keiji UENO²⁾, Takahiro SONODA¹⁾, Shuichi ONODERA²⁾
(Accepted 6 December 2018)

I. 背景と目的

ミニトマトは大玉トマトと同じくナス科に属する作物で、両者ともに、日頃、目にする機会の多い野菜の一つである。平成29年の農林水産省の調査では、トマトの作付面積は夏秋のトマトで7,980 ha、夏秋のミニトマトで1,440 ha、冬春のトマトで4,030 ha、冬春のミニトマトで1,040 haであり^[1]、日本の多くの地域で栽培され、周年、出荷されている。トマトには、豊富な糖やペクチン質、有機酸、アミノ酸が含まれ、生食だけではなく、多様な調理、加工法により、広く利用されている。また、トマトには、 γ -アミノ酪酸 (GABA)^[2] やリコピン、 β -カロテンなど^[3] の機能性成分が含まれており、人の健康に貢献する野菜の一つとも言える。リコピン、 β -カロテンはトマトに含まれる主要な色素成分であり、抗酸化作用を示すカロテノイドである^[4]。

近年、ミニトマトの栽培方法にはソバージュ（粗放的な）栽培や露地栽培^[5] など、様々な栽培方法が増えており、また、品種は赤だけではなく、オレンジ、緑色、紫色などの異なるものや形が丸型や楕円形などがある。このミニトマトの多様な色は色素成分含量の違いによるもので、抗酸化作用についても違いが見られると予想される。

本研究では、‘アイコ’、‘CF トスカーナバイオレット’、‘CF プチぷよ’、‘ロッソナポリタン’、‘オレンジキャロル’、‘みどりちゃん’、‘CF シシリアンルージュ’の7品種の色素成分、抗酸化活性の違いを分析し、品種の特徴を調べることを目的とした。

II. 実験材料及び実験方法

1. 実験材料

ミニトマトは酪農学園大学で栽培された‘アイコ’、‘CF トスカーナバイオレット’、‘CF プチぷよ’、‘ロッソナポリタン’、‘オレンジキャロル’、‘みどりちゃん’、‘CF シシリアンルージュ’を用いた。使用サンプルは、2017年7月18日に収穫し、実験に使用するまで冷凍保管した。

2. 使用試薬

アセトン（特級試薬）、ヘキサン（特級試薬）、メタノール（特級試薬）、エタノール（99.5%、特級試薬）、ケルセチン、炭酸ナトリウム、DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl)、酢酸（特級試薬）、リン酸水素二カリウム（特級試薬）、リン酸二水素カリウム（特級試薬）、AAPH (2,2'-Azobis Dihydrochloride) は全て和光純薬工業株式会社のものを用いた。MES 緩衝液 (pH 6.1)、Trolox (\pm)-6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid)、Fluorescein sodium salt、フォーリン・デニス試薬はシグマアルドリッチジャパンのものを使用した。

3. Brix 糖度及び酸度

それぞれの品種3玉を包丁で8等分に切り、希釈用ビーカーに搾り器で搾ったトマト抽出液を用いて、ポケット糖酸度計 (PAL-BX ACID F5, アタゴ) により糖度を算出した。酸度については、トマト抽

¹⁾ 酪農学園大学農食環境学群循環農学類

Department of Sustainable Agriculture, Rakuno Gakuen University, 582 Bunkyo-dai-Midorimachi, Ebetsu, Hokkaido 069-8501, Japan

²⁾ 酪農学園大学農食環境学群食と健康学類

Department of Food Science and Human Wellness, Rakuno Gakuen University, 582 Bunkyo-dai-Midorimachi, Ebetsu, Hokkaido 069-8501, Japan

³⁾ 酪農学園大学大学院酪農学研究科食品栄養科学専攻

Graduate School of Dairy Sciences, Rakuno Gakuen University, 582 Bunkyo-dai-Midorimachi, Ebetsu, Hokkaido 069-8501, Japan

出液を蒸留水で 50 倍に希釈した液を用いて、測定した。

4. 色素分析 (クロロフィル a, クロロフィル b, β -カロテン, リコペン)

色素成分は永田らの方法^[6]で求めた。ミニトマト 1 玉を半分になり、1 g を精秤した。これをアセトン:ヘキサン (4:6) 20 ml で、30 秒間ホモジナイズし、抽出液を調製した。この抽出液の吸光度 (663 nm, 645 nm, 505 nm, 453 nm) を測定し、以下の式を用いて濃度 (mg/100 ml) を計算した。

式

クロロフィル a の濃度 = $0.999A_{663} - 0.0989A_{645}$

クロロフィル b の濃度 = $-0.328A_{663} + 1.77A_{645}$

リコペンの濃度 =

$-0.0458A_{663} + 0.204A_{645} + 0.372A_{505} - 0.0806A_{453}$

β -カロテンの濃度 =

$0.216A_{663} - 1.22A_{645} - 0.304A_{505} + 0.452A_{453}$

5. ビタミン C

ミニトマト半分を 8 等分に切り、その一部を搾り器で抽出し、蒸留水で 5 倍に希釈したものを、簡易反射式光度計 RQ フレックス 10 (Merck) を用いてビタミン C 量を測定した。

6. 総ポリフェノール含量の定量分析

総ポリフェノール含量はフォーリン・デニス法^[7]により求めた。抽出液は 1 玉のミニトマトを切った後、4 g 量り取り、80%メタノール (40 ml) で 2 分間ホモジナイズした。遠心分離 (4°C, 8000×g, 15 分) した後、フィルターろ過 (孔径 0.45 μ m) したものを抽出液とした。ケルセチンを標準試料として検量線の作成に用い総ポリフェノール含量をケルセチン当量として求めた。抽出液 (原液, 5 倍希釈抽出液) 及びケルセチン溶液 (0, 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50 ppm) をそれぞれ 96 穴マイクロプレートに 80 μ l を分注し、更に 80 μ l のフォーリン・デニス試薬を加えた。プレートを攪拌し、5%炭酸ナトリウムを 80 μ l 加え、攪拌した後、室温で 60 分間放置した。その後、マイクロプレートリーダー SYNERGY HTX (BioTek 社) で、700 nm の吸光度で測定した。ケルセチン溶液の濃度と吸光度から検量線を作成し、各試料液中の総ポリフェノール含量をケルセチン当量で、データにまとめた。

7. 抗酸化活性の測定

抗酸化活性は上記の総ポリフェノール抽出液を用いて DPPH ラジカル消去活性測定法^[8]と親水性酸素ラジカル吸収能 (H-ORAC) 測定法^[9,10]により測定した。

DPPH ラジカル消去活性は、マイクロプレートに抽出試料液、2.5, 5, 10 倍希釈液 (50%エタノールに溶解)、各濃度の Trolox 溶液 (1, 0.04, 0.02, 0.01 μ mol/L) を 100 μ l 分注したあと、DPPH 反応試薬 (0.5 mM DPPH, 0.15 mM MES) を 100 μ l を加え、混合し、アルミホイルで遮光して、10 分間室温静置した後、マイクロプレートリーダー SYNERGY HTX (BioTek 社) で、550 nm の吸光度で測定した。サンプルの吸光度を用いて、サンプルブランク (蒸留水) の吸光度を差し引き、DPPH 反応試薬からサンプルブランクの引いた差の検量線から DPPH 消去能を求めた。

H-ORAC 値の測定は、マイクロプレートに調製した測定試料 (原液, 50, 250, 1250 倍希釈液)、各濃度の Trolox 溶液 (500, 250, 125, 62.5 μ mol/L) を 37°C に加温したマイクロプレートリーダー SYNERGY HTX (BioTek 社) にセットし、蛍光検出波長を励起波長 485 \pm 20 nm, 検出波長 530 \pm 25 nm で、蛍光強度の経時変化を 2 分間間隔で 45 回 (90 分間) 測定し、ORAC 予測値を算出した。ORAC 予測値を算出した希釈倍率で再度測定し算出した。

8. 統計処理

測定したデータは 3 玉の平均値 \pm 標準誤差で示し、統計解析は、IBM 社の SPSS (Ver.19) を用い、一元配置の分散分析後、Tukey の多重比較で検定した。有意水準は 5% とし、有意差がある場合は異なるアルファベットで示した。総ポリフェノール含量については 1 玉の値とした。

III. 実験結果

1. Brix 糖度及び酸度

Brix 糖度は 'CF シシリアンルージュ', 'みどりちゃん' が 'オレンジキャロル', 'ロソソナポリタン' に比べて有意に低い値であった (図 1 A)。また、酸度は 'みどりちゃん' が 'CF トスカーナバイオレット' に比べて有意に高い値であった (図 1 B)。

2. クロロフィル a, クロロフィル b, リコペン, β -カロテン

クロロフィル a 及びクロロフィル b の含有量に

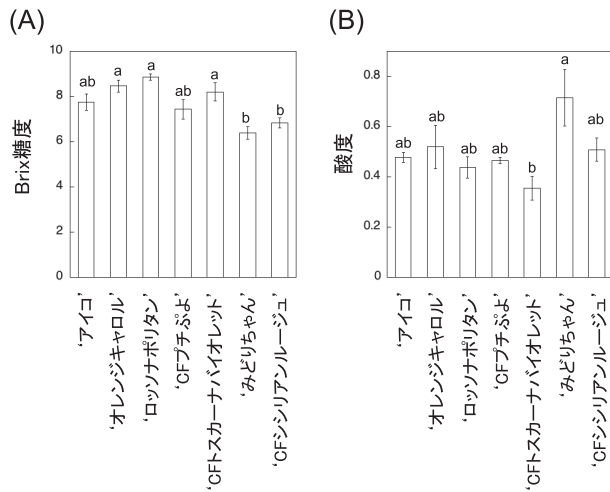


図1 ミニトマト各品種のBrix糖度 (A) 及び酸度 (B) グラフの値, エラーバーは平均値±標準誤差で示し, 有意水準5%で有意差がある場合, アルファベットで示した。

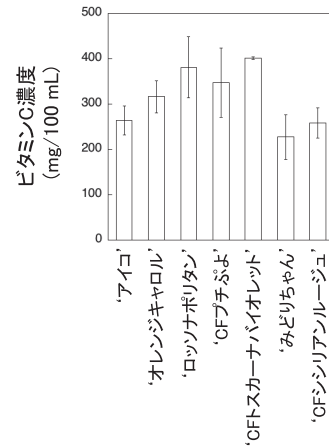


図3 ミニトマト各品種のビタミンC濃度 グラフの値, エラーバーは平均値±標準誤差で示し, 有意水準5%で有意差がある場合, アルファベットで示した。

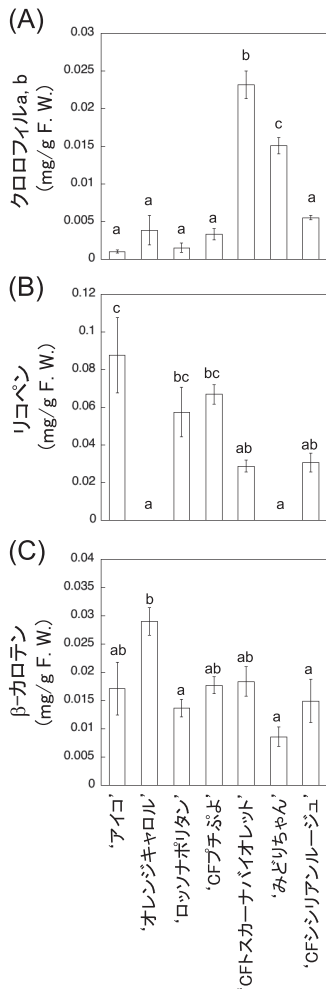


図2 ミニトマト各品種の色素成分クロロフィルaとb (A), リコペン (B) 及びβ-カロテン (C) 含量 グラフの値, エラーバーは平均値±標準誤差で示し, 有意水準5%で有意差がある場合, アルファベットで示した。

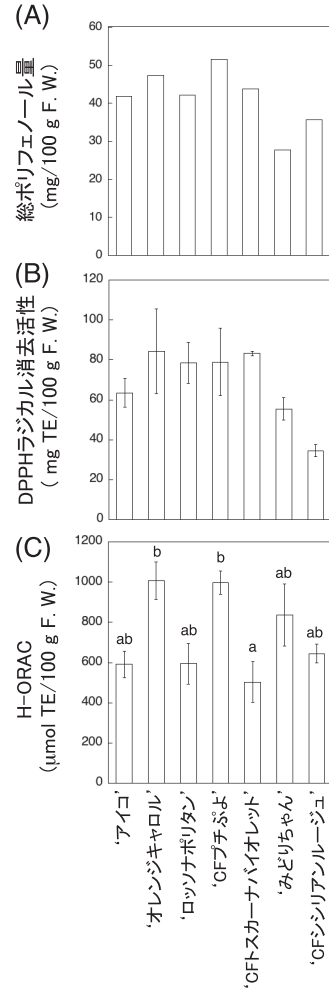


図4 ミニトマト各品種の総ポリフェノール (A), DPPH ラジカル消去活性 (B), H-ORAC 値 (C) のグラフの総ポリフェノール量は1玉の値で示した。他のグラフの値, エラーバーは平均値±標準誤差で示し, 有意水準5%で有意差がある場合, アルファベットで示した。

については、'CF トスカーナバイオレット' 及び 'みどりちゃん' が他品種に比べ有意に高い値を示した(図 2 A)。

リコペンについては 'アイゴ' が、'オレンジキャロル'、'CF トスカーナバイオレット'、'みどりちゃん'、'CF シシリアンルージュ' に比べて有意に高く、'ロッソナポリタン'、'CF プチぶよ' においても、'オレンジキャロル'、'みどりちゃん' と比べて有意に高い値であった(図 2 B)。

β -カロテンについては 'オレンジキャロル' が、'ロッソナポリタン'、'みどりちゃん'、'CF シシリアンルージュ' と比べて有意に高い値であった(図 2 C)。

3. ビタミン C

結果は図 3 に示した。全品種で有意な差は見られなかった。

4. 総ポリフェノール含量及び抗酸化活性

総ポリフェノール含量の結果は図 4 A に示した。全品種で 27.7~51.6 mg/g F. W であった。

DPPH ラジカル消去能で求めた抗酸化活性の結果は図 4 B に示した。全品種で有意な差は見られなかった。H-ORAC 値の結果は図 4 C に示した。'オレンジキャロル' 及び 'CF プチぶよ' が、'CF トスカーナバイオレット' と比べて有意に高い値であった。

IV. 考 察

Brix 糖度はどの品種も 6~8 程度であったが、酸度では 'みどりちゃん' が、品種の中で著しく高く、実際に食べた印象と一致する。色素分析において、'CF トスカーナバイオレット'、'みどりちゃん' のクロロフィル a 及び b 含量は、他品種の値と比べ有意に高い値を示したが、リコペン含量は他の品種の値と比べ低い傾向であった。'CF トスカーナバイオレット' は紫色が強く、また、'みどりちゃん' は緑色の見えるのはこのためと考えられる。赤色のミニトマトの 'アイゴ' では、リコペン含量が高く、またオレンジ色のミニトマトでは 'オレンジキャロル' ではリコペンが少なく、 β -カロテンが高い値を示しており、色素成分の含量と色の関係の一致が確認できた。

抗酸化活性では DPPH ラジカル消去活性法において全品種で有意な差は見られないが、H-ORAC では 'オレンジキャロル'、'CF プチぶよ' がそれぞれ他品種より高い傾向を示しており、測定方法により異なっていた。本試験に用いた抗酸化活性測定は親

水性の抗酸化物質を主に対象とし、測定原理の違いにより、同一試料においても抗酸化能が異なることが知られている^[11]。本試験においても各種の抗酸化物質の含有量の差異により、違いが見られたと考えられる。しかしながら、抗酸化物質であるビタミン C と総ポリフェノールでのみの測定のため、他の親水性の抗酸化物質の含有量の違いも可能性として考えられる。

トマトの主要な抗酸化成分はカロテノイドの脂溶性成分であり、水溶性成分を対象とする DPPH ラジカル消去活性や H-ORAC 法ではなく、本来は親油性酸素ラジカル吸収能 (L-ORAC) 測定法^[12] が望ましい。また、最近、カロテノイドの抗酸化活性測定法として一重項酸素消去能評価法 (SOAC 法) が提案されている^[13-15]。今後はミニトマトの抗酸化活性評価に、L-ORAC 法、SOAC 法を取り入れ、品種間や栽培方法での違いを評価し、ミニトマトのより詳細な違いを探ることを今後の課題としたい。

V. 謝 辞

本研究は、2017 年度 酪農学園大学共同研究 (2017-1) の助成を受けたものである。

参 考 文 献

- [1] 農林水産統計「平成 29 年産指定野菜(秋冬野菜等)及び指定野菜に準ずる野菜の作付面積、収穫量及び出荷量」, 2018.
http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/sakumotu/sakkyou_yasai/attach/pdf/index-26.pdf
- [2] Saito T., C. Matsukura, M. Sugiyama, A. Watahiki, I. Ohshima, Y. Iijima, C. Konishi, T. Fujii, S. Inai, N. Fukuda, S. Nishimura, H. Ezura. 2008. Screening for γ -aminobutyric Acid (GABA)-rich Tomato Varieties. J. Japan. Soc. Hort. Sci., **77**, 242-250.
- [3] Aizawa K., T. Inakuma 2007. Quantitation of carotenoids in commonly consumed vegetables in Japan. Food Sci. Technol. Res., **13**, 247-252.
- [4] Di Mascio P., S. Kaiser, H. Sies. 1989. Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. Arch. Biochem. Biophys., **274**, 532-538.
- [5] 北條怜子, 柘植一希, 樋口洋子, 山初仁志, 加藤正一, 藤尾拓也, 岩崎泰永, 元木 悟. 2017. 露地夏秋どりミニトマトのソバージュ栽培における収量および品質 園芸学会 **16**, 138.
- [6] 永田雅靖, 山下市二. 1992. トマト果実に含ま

- れるクロロフィル及びカロテノイドの同時、簡便定量法. 日食工誌, **39**, 925-928.
- [7] Folin, O., W. Denis. 1915. A colorimetric method method for the determination of phenols (and phenol derivatives) in urine. *J. Biol. Chem.*, **22**, 305-308.
- [8] 須田郁夫. 2000. 機能性研究, 「食品機能研究法」, 篠原和毅, 上野川修一, 鈴木建夫編, 光琳, 218-220.
- [9] Watanabe J., T. Oki, J. Takebayashi, K. Yamasaki, Y. Takano-Ishikawa, A. Hino, A. Yasui, 2012. Method validation by interlaboratory studies of improved hydrophilic oxygen radical absorbance capacity methods for the determination of antioxidant capacities of antioxidant solutions and food extracts. *Anal. Sci.*, **28**, 159-165.
- [10] 渡辺純, 沖智之, 竹林純. H-ORAC 分析法標準作業手順書
fmr.or.jp/ffd/ffmanual/manual4020101.pdf
- [11] 渡辺純, 沖智之, 竹林純, 山崎光司, 津志田藤二郎. 2009. 食品の抗酸化能測定法の統一化を目指して ORAC 法の有用性と他の測定法との相関性. *化学と生物*, **47**, 237-243.
- [12] Watanabe J., T. Oki, J. Takebayashi, K. Yamasaki, Y. Takano-Ishikawa, A. Hino, A. Yasui, 2013. Improvement of the lipophilic-oxygen radical absorbance capacity (L-ORAC) method and single-laboratory validation. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **77**, 857-859.
- [13] Ouchi A, K. Aizawa, Y. Iwasaki, T. Inakuma, J. Terao, S. Nagaoka, K. Mukai, 2010. 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.
- [14] Aizawa K., Y. Iwasaki, A. Ouchi, T. Inakuma, S. Nagaoka, J. Terao, K. Mukai, 2011. 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.
- [15] 若木学, 石川(高野) 祐子. 国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 食品研究部門 SOAC 分析法 (プレートリーダー測定法) fmr.or.jp/ffd/ffmanual/manual4020103.pdf

Abstract

In this study, we analyzed the differences in functional ingredients of seven cherry tomato varieties: 'Aiko', 'CF Toscana Violet', 'CF Puchi Puyo', 'Rosso Neapolitan,' 'Orange Carroll', 'Midori Chan', and 'CF Sicilian Rouge'. We also investigated the characteristics of these varieties.

While conducting the experiments, we used a sugar acidity meter (Atago Co., Ltd.) to measure the Brix sugar concentration and acidity. Pigment compositions (chlorophyll a, chlorophyll b, lycopene, and β carotene) were measured by analyzing the light absorbed (at 663nm, 645nm, 505nm, and 453nm) by tomato extract, using a solution of acetone and hexane (4:6). We then calculated the composition from the measured findings using the method of Nagata, et al. Vitamin C was measured using a simple reflective photometer (RQ Flex). Antioxidant activity was measured using an 80% ethanol extract. The total polyphenol content was measured using the Folin-Denis method, the DPPH radical-scavenging ability and the ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) value.

The Brix sugar concentration in each variety ranged from about 6 to 8. 'Midori Chan' and 'CF Sicilian Rouge' had lower concentrations than the other varieties. 'Midori Chan' had the highest acidity rating among the varieties investigated. 'CF Toscana Violet' and 'Midori Chan' had the highest values in terms of "chlorophyll a" and "chlorophyll b" values among all the varieties. We found that the highest level of lycopene was in the 'Aiko' variety. 'Orange Carroll' had the highest β carotene level. There were no significant differences in the amounts of vitamin C and total polyphenols, and DPPH radical scavenging ability. ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) was the highest for 'CF Puchi Puyo'.

In the future, we plan to investigate these varieties further, using the SOAC method, to evaluate their antioxidant activity in terms of carotenoids.

