

氏 名	吉田 淳子
学 位 の 種 類	博士（栄養科学）
学 位 記 番 号	博栄甲第 0009 号
学位授与の日付	平成 22 年 3 月 12 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当（課程博士）
研 究 科 専 攻	栄養科学研究科 栄養科学専攻
学位論文題目	Determination of free and bound phenolic acids, and evaluation of antioxidant activities and total polyphenolic contents in selected pearled barley (精白大麦における遊離型・結合型フェノール性有機酸と抗酸化活性・総ポリフェノール含量の評価)
主論文公表雑誌	Food Science and Technology Research (第 16 巻,第 3 号,215 頁～224 頁,2010 年)
論文審査委員	(主査) 古賀 信幸 (副査) 吉岡 慶子 (副査) 太田 英明 (副査) 山口 政俊 (福岡大学) (副査) 早川 浩 (福岡歯科大学)

論文内容の要旨

穀類中の結合型フェノール性有機酸を対象として、高速液体クロマトグラフ（HPLC）を用いた分析法を新規に確立するため、UV 検出器（UVD）と電気化学検出器（ECD）による比較を行った。HPLC-UVD 分析によって、10 種類の市販穀類試料からフェルラ酸 2.5-21.7mg/100g、赤米、玄米から *p*-クマル酸が認められた。HPLC-ECD 分析に用いる移動相の検討により、100 mmol リン酸二水素ナトリウム (pH3.1) /SDS (10mg/L) /EDTA (10mg/L) /10%アセトニトリルを用いる条件を設定した。HPLC-ECD 分析によって、全ての試料からコーヒー酸 (0.002-0.075mg/100g)、フェルラ酸 (1.9-76.5mg/100g) が、赤米から *p*-クマル酸の存在を確認した。含量が微量であるコーヒー酸が検出されたこと、さらに、黒米のフェルラ酸は 3.5 倍高く検出されたことから、HPLC-ECD を用いたフェノール性有機酸の微量成分分析が可能であることを認めた。以後の結合型フェノール性有機酸の分析は、アルカリ加水分解、結合型フェノール性有機酸の抽出、HPLC-ECD を組み合わせた新規な分析方法によって測定した。

次に、精白大麦および大麦糠、各 20 種類（5 品種、15 育成系統）の結合型フェノール性

有機酸含量の測定を行った。供試した精白大麦の結合型フェノール性有機酸は、フェルラ酸 (4.3–34.2mg/100g)、シナピン酸 (0.025–0.445mg/100g)、コーヒー酸 (0.002–0.016mg/100g) を検出した。大麦糠においてはフェルラ酸 107.2–473.7mg/100g であり、精白大麦の 3.5–30 倍で検出された。大麦中の結合型フェノール性有機酸は、全ての品種においてフェルラ酸が最も多く、特に糠層に多く存在することが確認された。

遊離型フェノール性有機酸の分析は、アセトン：水：酢酸 (85：14.5：0.5, v/v) 溶液によって、抽出を行い、プロシアニジン、カテキン、総ポリフェノール含量を測定した。精白大麦中の総ポリフェノール 152.4–324.0mg 没食子酸当量/100g、プロシアニジン 12.2–80.3 mg/100g、カテキン 0.1–28.2mg/100g であった。結合型フェノール性有機酸含量が高値を示した品種において、プロシアニジン、カテキン含量も同様に高い値を示すことを認めた。大麦糠では、プロシアニジンが 4–13 倍、総ポリフェノールは 2–5 倍程度高い値を示した。

大麦中の抗酸化力を評価するため、1,1-dephenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) ラジカル消去活性と活性酸素吸収能 (ORAC) を測定した。精白大麦において、DPPH ラジカル消去活性は 403–1501 μ mol Trolox 当量/100g、ORAC 値は 1050–3816 μ mol Trolox 当量/100g であった。遊離型、結合型フェノール性有機酸、総ポリフェノール含量が高い精白大麦は、DPPH ラジカル消去活性、ORAC 値ともに約 2 倍高い抗酸化活性を示した。大麦糠の DPPH ラジカル消去活性、ORAC は精白大麦と比較して、最大で 11 倍の活性が確認された。また、精白大麦中からは DPPH ラジカル消去活性 ORAC 共に検出限界以下の品種が認められたが、大麦糠においては全ての品種から両活性を検出した。

供試した大麦の遊離型、結合型フェノール性有機酸と抗酸化活性の相関を確認した。精白大麦の総ポリフェノール含量と DPPH ラジカル消去活性は $r=0.875$ ($p<0.01$)、ORAC は $r=0.881$ ($p<0.01$) と高い相関を示した。結合型フェノール性有機酸と総ポリフェノールとの相関係数は、遊離型フェノール性有機酸との相関よりも高いことを認めた。これらは、結合型フェノール性有機酸は、精白大麦中の抗酸化活性に対して大きく寄与していることを示唆するものである。農作物や食品の抗酸化作用を評価する手法は、原理が異なる評価法を用いた場合、測定値が必ずしも一致しない報告も見受けられる。しかしながら、本研究では、DPPH ラジカル消去活性と ORAC の相関係数は、精白大麦：0.980 ($p<0.01$)、大麦糠：0.860 ($p<0.01$) となり、高い相関を得た。

論文審査結果の要旨

我が国では、食生活の欧米化に伴い、肺がん、結腸がん、乳がんによる死亡率は増加傾向にあり、これらの予防に高い関心が寄せられている。生体内で過剰に発生した活性酸素やフリーラジカルは疾病や老化の一因であり、これらを消去する抗酸化作用を持つ食品の摂取は、健康の維持・増進に有効であると考えられ、全粒穀類製品の積極的な摂取が、慢性疾患や、がんの発生リスクを軽減させることから注目を集めてきた。これらの作用に対

しては、穀類中の食物繊維や、抗酸化活性を示すプロシアニジン、ケイ皮酸などのフェノール性化合物の関与が明らかにされている。また、穀類の細胞壁構成多糖とエステル結合してフェルラ酸が存在していることから、類似体が存在することが予想された。そこで、穀類中のフェノール性成分の正確な分析法の確立が望まれ、また、大麦における抗酸化成分の存在は明らかにされているが、定量分析など詳細な研究が少なく、基礎的知見の蓄積が不可欠とされていた。

本論文では、高速液体クロマトグラフ（HPLC）を用いた分析法を新規に確立するため、UV 検出器（UVD）と電気化学検出器（ECD）による比較を行った。さらに、大麦の基礎的知見を蓄積するため、遊離型、結合型フェノール性成分、総ポリフェノール、抗酸化活性の分析を行い、それらの相関について検討を行っている。

まず、HPLC-UVD 分析法と HPLC-ECD 分析法を比較により、HPLC-ECD 分析は微量成分の分析が可能であることを確認している。次いで、アルカリ加水分解（ケン化処理）、フェノール性有機酸の抽出、HPLC-ECD 分析を組み合わせた分析方法を新規に確立している。その分析方法を用いた大麦における研究分析結果から、フェルラ酸、シナピン酸、コーヒー酸の存在を確認し、結合型フェノール性有機酸ではフェルラ酸が大部分を占めること、また、糠層に多く存在することを明らかにしている。遊離型ポリフェノールの分析として、総ポリフェノール含量の測定、カテキンならびにプロシアニジン含量の測定を行い、結合型フェノール性有機酸含量が高値を示した大麦において、プロシアニジン、カテキン含量も同様に高い値を示すことを示している。抗酸化活性の分析には、2 種類の測定法を用いて評価を行い、これらの相関の確認によって、結合型フェノール性有機酸は、白大麦中の抗酸化活性に対して大きく寄与していることを示唆している。

以上、本論文は、結合型フェノール性成分の新規分析法を確立し、大麦の遊離型、結合型フェノール性成分、総ポリフェノール、抗酸化活性を測定することにより、多くの基礎的知見を示しており、本学の学位論文として適格であると判断した。

最終試験結果の要旨

学位論文の内容に対して専門的見地から、以下のような質問を行った。

1. 結合型フェルラ酸をケン化後、検出するのに利用した紫外検出器（UV 検出器）と電気化学検出器（ECD 検出器）の原理の相違を述べよ。
2. 分離ピークで同定した既知ピークの間にある高いピークはどのような化合物に基づいているか。考えはあるのか。
3. 関東皮 87 号と関東皮 88 号は同じ品種であると思われるが、抗酸化性に違いがあるのはどのように考えられるのか。
4. DPPH ラジカル消去能と ORAC による抗酸化性による測定が相違する食品の品目は何かあるのか。

5. ORAC法は他に食品で測定されているのか。
6. 大麦糠中の成分を有効利用する方法はどのようなものが考えられるのか。
7. ビール麦用、麦飯用、飼料用大麦の特性について今回の研究から分かることを述べよ。
8. 結合型フェノール性有機酸の構造とその分布についての関係を述べよ。
9. 結合型フェノール性有機酸は生体にどのような形で吸収されるのか。
10. 今後この研究が社会にどのように貢献できるのか。

さらに、関連専門分野から質問を行った結果、適格な回答が得られたので、審査員合議の上、最終試験に合格したものと判定した。