

## ブロッコリー中の部位別ビタミンC含量の分析

### Analysis of Vitamin C Content in Each Part of Broccoli

黒須泰行<sup>\*1</sup>、藤澤美智恵<sup>\*1</sup>、小川昭二郎<sup>\*2</sup>

Yasuyuki KUROSU, Michie FUJISAWA, Shojiro OGAWA

(\*<sup>1</sup> 国際学院埼玉短期大学 専攻科 健康栄養専攻、

\*<sup>2</sup> お茶の水女子大学大学院 人間文化研究科 人間環境科学専攻)

#### 1. はじめに

最近の国民栄養調査結果によると、日本人の平均栄養素摂取量はカルシウムを除いて所要量を充足している。しかし、ビタミンは個々にみれば過不足の変動が大きいことが指摘されている。これは、野菜、芋類の摂取量に個人差変動の大きいことが一因であると推定される。さらに、野菜類の摂取と無縁になりがちなインスタント食品や加工食品が普及していること、野菜嫌いの傾向などの問題がビタミンの過不足の問題を増長している<sup>1)</sup>。

ビタミンの中でもビタミンC(V.C)は変動が大きいといわれている。ヒトや動物の体内で作られないのがビタミンだが、V.Cは異なる。ヒトはV.Cを作ることができないが、大多種の哺乳動物は作ることができる。ヒトと同じように、V.Cを作れない哺乳動物は、サル、モルモットぐらいで例外的な存在である。そのため、必要量をすべて食事などによって外部から摂取する必要があるため、ビタミンB<sub>1</sub>やB<sub>2</sub>の所要量が1mg前後であるのに対し、V.Cは所要量100mgと非常に多量である。補酵素として働いている他のビタミンとは異なり、V.Cは壞血病予防の他、抗酸化作用、コラーゲンの生成、生体異物の代謝、コレステロール・脂肪酸の代謝、アミノ酸・ホルモンの代謝など、還元による鉄分吸収の促進、発がん性物質の一つであるニトロソアミンの生成抑制な

ど多岐にわたって働いている<sup>2,3)</sup>。

V.Cは、ストレスや喫煙、飲酒<sup>4)</sup>などでも損失されやすく、現代社会では、様々な要因からストレスを感じる人や喫煙者、飲酒者が多いことからも、生活習慣の中で変動しやすいビタミンである。生活習慣以外でも、V.Cを含む食材自体を調理する過程でV.Cは損失されやすい。外食産業が発達し、中食や惣菜が多く利用される現代の食生活では、調理してから食するまでの時間が長くなっているので、V.Cの酸化も進むと考えられている<sup>5)</sup>。V.Cは非常に酸化されやすいだけでなく、水溶性が高く流出されやすい特徴を持っている。従つて、調理操作過程において、食材中のV.Cが損失される可能性が高いことが指摘されている<sup>6)</sup>。そこで、調理操作過程において食材中のV.Cがどの位損失されるのかを検証するために、実験を行った。

V.Cは、野菜類に多く含まれており、なかでもブロッコリーはV.Cを100g中に120mg<sup>7)</sup>と多量に含み、生、茹で(煮物)、電子レンジ加熱など様々な調理法で食される興味深い食材の一つである。本研究では、ブロッコリーの部位別のV.C含有量、次に各部位の調理操作の違いによるV.C残存量の変化を検討した。ブロッコリー中のV.Cの定量法は、一般的に使用される2,4-ジニトロフェニルヒドラジン法などの比色法ではなく、夾雜物の影響を受け

ない、且つ簡便な高速液体クロマトグラフィー(HPLC)により行った。

## 2. 実験方法

### 2.1 試料及び試薬類

試料のブロッコリーは、愛知県産の市販品を6個購入し使用した。図1のように、ブロッコリーを花芽、枝、茎の3部位に分けて、実験に使用した。

未加熱処理の場合は、採取した部位をそのまま使用し、茹で処理の場合は、鍋に1000mlの水を加え、50gの試料を加えて加熱

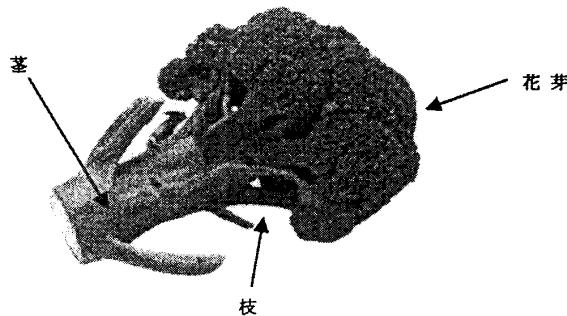


図1 ブロッコリーの部位と名称

(100°C) した。電子レンジ処理の場合は、50gの試料を500kW(試料はラップに包む)で調理した。加熱条件はブロッコリーを一般的に調理する加熱方法を参考にして決定した。

試薬類には以下のものを使用した。トリクロロ酢酸(TCA)、海砂、リン酸ニナトリウム、ジチオスレイトール(DTT)、ビタミンC(アスコルビン酸、V.C、還元型V.C)、アセトニトリル、ジブチルアミン、酢酸。すべて和光純薬工業から購入し、使用した。水は蒸留水(GS-200、アドバンテック東洋製)を使用した。

### 2.2 試薬の調製

#### ① 酢酸ジブチルアミン緩衝液(HPLC用溶離液)

- 1Lメスシリンダーに蒸留水を900mL入れる。
- 酢酸0.57mLを1Lメスシリンダー(蒸留水

900mL)に加える。

- 100mLメスシリンダーにアセトニトリル(ACN)を20mL入れる。
- ジブチルアミン1.7mLを100mLメスシリンダー(ACN20mL)に加えて、よく溶かす。
- 1Lメスシリンダーの酢酸溶液をスターラーで攪拌しながら、ジブチルアミン溶液を酢酸溶液にゆっくり少しづつ加える。
- 攪拌(30分以上、上層部にジブチルアミンが浮いていないことを確認する)。
- 蒸留水を加えて、1Lにする。
- pHメーターで確認しながら、pH5.2にする(適宜10%酢酸溶液使用)。

#### ② 0.3%DTT溶液

30gのDTTを10mLの蒸留水に溶解する。(用時調製、氷上保存とする)

#### ③ ビタミンC標準液

10mgのビタミンCを10mLの5%TCA溶液に溶解する(0.01%、用時調製)。0、12.5、25、50、100ug/mLに5%TCA溶液にて希釈する。酸化を防止するために、氷上で処理と保存を行う。

### 2.3 ビタミンC(V.C)の定量法

野菜のV.Cとデヒドロアスコルビン酸(DHA、酸化型V.C)の定量には、2,4-ジニトロフェニルヒドラジン比色法<sup>6,8)</sup>、ヒドラジン-薄層クロマトグラフィー(TLC)<sup>9)</sup>を用いた報告や、HPLC法を用いた報告<sup>6,9)</sup>がある。本研究で採用したHPLCプレ還元法は、未修飾のV.Cを還元前後で測定することにより、総V.Cと還元型V.Cを求める方法で、従来の酸化型の方法と比較して、反応操作がシンプルで簡便な方法である。検出は、V.Cの吸収極大である260nmを使用した。分離は、分子の疎水度の差を利用して分離する逆相モードのHPLCを使用した。

### 2.4 高速液体クロマトグラフィー

装置と分離条件を以下に示した。

分離カラム: Unison UK-C18(インタクト)、

カラムサイズ：内径 4.6mm、長さ 15cm、カラム温度：40°C、移動相：10mM ジブチルアミン酢酸緩衝液 (pH5.2)、流量：0.8mL /min、検出波長：260nm、試料注入量：20 μL、ポンプ：LC-5A (島津製作所製)、検出器：SPD-2AM(島津製作所製)。

## 2.5 検量線の作成

10mg の V.C をメスフラスコにとり、5% の TCA 溶液にて 100mL に定容した (0.01%)。適宜 5% TCA 溶液で希釈し (0, 12.5, 25, 50, 100 μg/mL)、検量線を作成した。各ポイントにおける分析回数 n=6。相関係数  $R^2=0.996$ 、CV 値は 1-7% で、信頼性の高い検量線を得た。

## 2.6 試料の調製法

- 1) ブロッコリーの各部位の試料 5g をとり、海砂 1g を加えて、5% TCA 溶液 10mL とともによく磨碎した。その後、全体を 5% TCA 溶液により 50mL に定容した。
- 2) 0.45 μm フィルターで濾過後、HPLC に 20 μL 注入し、ピーク面積を求めた (還元型 V.C の定量)。各試料は、ブロッコリーの個体を変えて分析し (n=3~6)、その平均値を使用した。
- 3) 残りの試料溶液を遠心分離 (3000rpm, 10min) 後、上澄みを 0.45 μm フィルターで濾過した。
- 4) 得られた濾過液 2mL に、6% リン酸ニナトリウム溶液 3mL を加え攪拌し、pH を 7 にした (pH 試験紙で適宜確認)。
- 5) 0.3% DTT 溶液 0.5mL を加え、室温で 10 分間放置した。
- 6) 20 μL を HPLC に注入し、ピーク面積を求めた (総 V.C の定量)。各試料は、ブロッコリーの個体を変えて分析し (n=3~6)、その平均値を使用した。

## 3. 結果

酸化型 V.C 量は、還元後に測定した総 V.C 量から、直接に抽出後に直接分析した還元型

V.C 量により算出した。

### 3.1 未加熱処理ブロッコリーの部位別におけるビタミン C 定量

未加熱処理ブロッコリーの V.C 定量について行った結果を図 2 に示した。

図 2 より、花芽の総 V.C 量は、111±9.3mg/100g (平均値±標準偏差、以下同様)、枝では 127±5.6mg/100g、茎では 88±6.0mg/100g であり、枝、花芽、茎の順で有意な差をもって V.C が含まれていた (t-test P<0.05)。

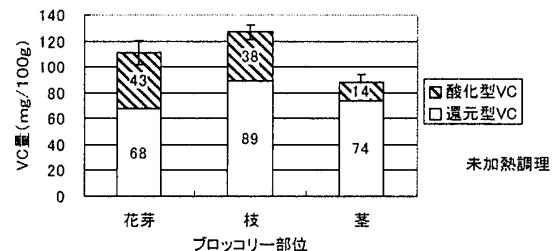


図 2 未加熱処理ブロッコリーの部位別ビタミン含量 (n=6、平均値±CV 値)

### 3.2 茹で加熱処理ブロッコリーのビタミン C 定量

茹で加熱処理を行った花芽、枝、茎における V.C 量の時間変化を図 3, 4, 5 に示した。

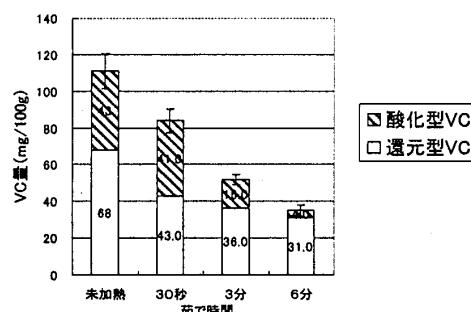


図 3 花芽における茹で時間と残存ビタミン C 量の関係 (n=3-6)

図 3 より、花芽では、未加熱の総 V.C 量は 111±9.3mg/100g (平均値±標準偏差、以下

同)、茹で 30 秒では  $84 \pm 6.6$  mg/100g、茹で 3 分では  $52 \pm 2.8$  mg/100g、茹で 6 分では  $35 \pm 3.2$  mg/100g となり、茹で時間とともに急速に減少した。還元型 V.C も時間とともに減少してはいるが、30 秒以後は大きく減少せず、酸化型は 6 分で著しく減少した。

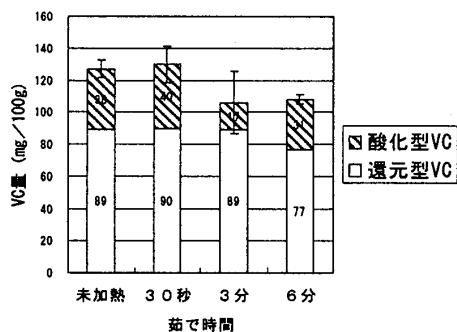


図 4 枝における茹で時間と残存ビタミン C 量の関係 (n=3-6)

枝では(図 4)、未加熱の総 V.C 量は、 $127 \pm 5.6$  mg/100g、茹で 30 秒では  $130 \pm 11.4$  mg/100g、茹で 3 分では  $106 \pm 19.4$  mg/100g、茹で 6 分では  $108 \pm 2.9$  mg/100g となり、時間とともに、やや減少傾向を示したが、花芽のような顕著な減少は観察されなかった。また還元型 V.C 量は茹で時間全体を通して大きな変化は観察されなかった。酸化型 V.C 量は、増減する変動が見られた。

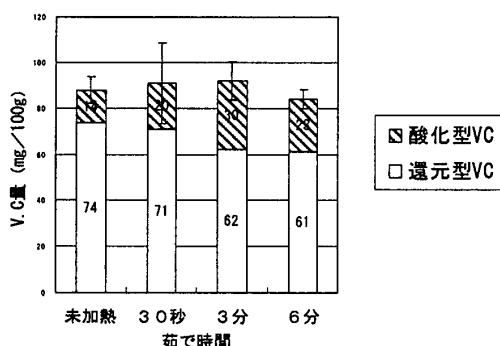


図 5 茎における茹で時間と残存ビタミン C 量の関係 (n=3-6)

茎では(図 5)、未加熱の総 V.C 量は  $88 \pm 6.0$  mg/100g、茹で 30 秒では  $91 \pm 17.6$  mg/100g、茹で 3 分では  $92 \pm 8.2$  mg/100g、茹で 6 分では  $84 \pm 4.1$  mg/100g であった。総 V.C 量は茹で時間に対して、関係が観察されなかった。また還元型、酸化型 V.C 量においても、ほとんど変化がなかった。

### 3.3 電子レンジ加熱処理ブロッコリーのビタミン C 定量

電子レンジ加熱処理を行った花芽、枝、茎における V.C 量の時間変化を図 6、7、8 に示した。

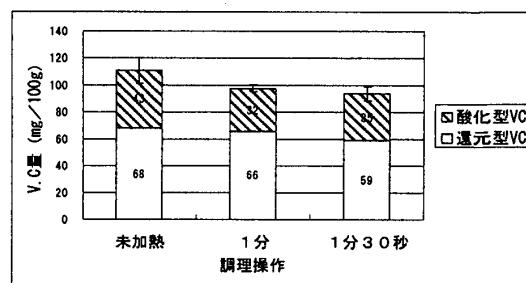


図 6 花芽におけるレンジ時間と残存ビタミン C 量の関係 (n=3)

花芽では(図 6)、未加熱の総 V.C 量は  $111 \pm 9.3$  mg/100g、レンジ 1 分では  $98 \pm 2.6$  mg/100g、レンジ 1 分 30 秒では  $94 \pm 5.5$  mg/100g となり、わずかに減少しているが、ほとんど変化が見られなかった。茹で加熱と大きく異なり、V.C 量が減少しないことが確認された。また還元型、酸化型 V.C 量、両者ともに大きな減少は観察されなかった。

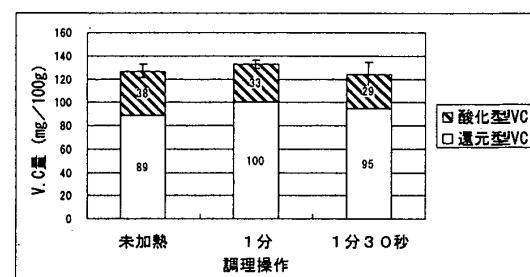


図 7 枝におけるレンジ時間と残存ビタミン C 量の関係(n=3-6)

レンジによる枝部分の調理では(図7)、未加熱の総V.C量は $127\pm5.6\text{mg}/100\text{g}$ 、レンジ1分では $133\pm3.7\text{mg}/100\text{g}$ 、レンジ1分30秒では $124\pm10.9\text{mg}/100\text{g}$ となり、枝部分においても花芽同様、茹で調理と比較して、総V.C量に有意な変化は認められなかつた。また酸化型V.C量は、レンジ時間とともにやや減少することが観察された。

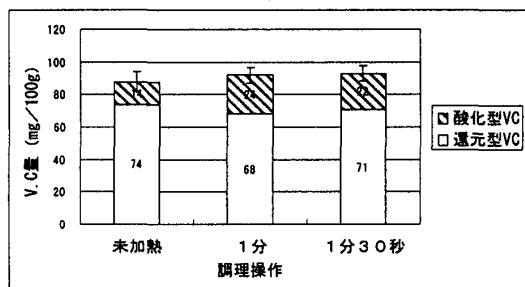


図8 基におけるレンジ時間と残存ビタミンC量の関係(n=3)

図8で示したように、基部分では、未加熱の総V.C量は $88\pm6.0\text{mg}/100\text{g}$ 、レンジ1分では $92\pm4.7\text{mg}/100\text{g}$ 、レンジ1分30秒では $93\pm4.7\text{mg}/100\text{g}$ であった。基部分においても、花芽、枝部分同様に、総V.C量の変化は観察されなかつた。また酸化型V.C量は、レンジ時間とともにやや減少する傾向が観察された。

以上の結果をまとめると、未加熱のものは枝、花芽、基の順で総V.C含量が多いことがわかつた。茹で加熱では、調理時間とともに、花芽、枝において総V.C含量が顕著に減少した。その理由として水への流出が主に考えられる。基部分で顕著に減少しなかつたことは、表面積が小さいことと、繊維質で硬く細胞が破壊されにくく、V.Cが流出しにくいものと推定した。

レンジ加熱では、すべての部位においてV.C含量の顕著な減少が無かつた。この理由は、茹で加熱のような水への流出がないことが最大の要因であると考えられる。また酸化関連酵素の失活も有利に働いたと考えられる。調

理は空気中における加熱であるので、酸化型V.C量が調理時間とともに増加することが予測されたが、顕著な増加傾向は観察されなかつた。

#### IV. 考察

国民栄養調査の結果<sup>10)</sup>に基づく成人のV.C摂取量は1日当たり $106\text{mg}$ となっており、一般には所要量(第6次改訂案:100mg)より多く摂取されていると考えられている<sup>5)</sup>。V.Cの摂取量が充足している場合でも、それは平均値で、個人別にみると変動が大きいとされる<sup>11)</sup>。野菜は部位によりV.C量が異なる<sup>6)</sup>という報告があることから、ブロッコリーを3つの部位に分け、部位別におけるV.C含有量、また調理操作におけるV.C量の変動について、反応操作がシンプルであるHPLCプレ還元法を用いて定量を行つた。

その結果、未加熱のものを部位別にみると枝、花芽、基の順でV.C含量が多いことがわかつた(図2)。茹で加熱では、花芽、枝では、時間の経過とともに減少がみられたが、基においてはあまり変化がなかつた。これは、基の表面積が小さく、皮が厚いことで流出が抑えられていると考えられる。電子レンジ加熱では、例えば、花芽の場合、1分30秒経過しても、ほとんどV.C量の減少は見られなかつた(図6、残存率84.7%)のに対し、茹で加熱の場合、30秒の経過(残存率75.7%)で未加熱時と比較し約25%の減少が観察され(図3)、総V.Cの残存率が高い結果が得られた<sup>9,12)</sup>。一般に電子レンジ加熱をした場合に、V.Cの残存率が高い理由として、食品の急速な内部温度の上昇により短時間にV.C酸化酵素が失活するため、V.Cの酸化分解がおこらないことが考えられる<sup>10)</sup>。電子レンジ調理は短時間の加熱処理であるため、外見上の美しさを保ち、さらに食品を内部から加熱するために熱効率が高く、短時間に調理され<sup>10)</sup> V.Cの損失も少ないことが明らかである。したがつて、新鮮な

野菜を電子レンジ調理するという最も簡単な調理方法が、V.Cを有効に摂取する方法であるといえる<sup>13)</sup>。

ブロッコリーは野菜類のなかでも、V.C含有量は100g中に120mg<sup>7)</sup>と非常に多い。その他に、カロチン（ビタミンA）、ビタミンB群、リン、カリウム、食物繊維なども多く含んでいるため、皮膚や粘膜の抵抗力を強める、血糖値を正常に保つ、便秘の改善などの効果が期待できる。ブロッコリーを食する場合、花芽（花蕾：からい）というつぼみの集まった部分が好まれるが、茎にも同様にV.Cが含まれているので、捨てずにぜひ食材として調理に利用すべきである。

今回の実験結果より、未加熱調理や、水を使用せず、急速に過熱して組織の破壊以前に酵素が失活してしまうようなレンジ調理では、総V.Cはほとんど失活することなく安定であることを実証した。還元型V.Cと酸化型V.Cの生理学的効力は同じであるとみなされており<sup>14)</sup>、電子レンジ調理によるV.Cの損失はほとんどないため、電子レンジ調理が推奨される。

## V. 参考文献

- 1) 金子佳代子、石川和子、福田加代子他：野菜摂取量の健康状態に及ぼす影響。日本栄養・食糧学会誌, 38, 359-362 (1985)
- 2) 村田晃：ビタミンCの多様な作用と作用機作。日本農芸化学会誌, 64, 12, 1843-1845 (1990)
- 3) 村田晃：新ビタミンCと健康-21世紀のヘルスケア-。共立出版、東京 (1999)
- 4) 村田晃、小林千恵、白石育子他：飲酒の血漿ビタミンC濃度に及ぼす影響。ビタミン, 77, 12, 625-632 (2003)
- 5) 大羽和子、山本淳子、藤江歩巳他：市販新鮮野菜および惣菜のビタミンC量。日本家政学会誌, 53, 1, 57-60 (2002)
- 6) 桐渕壽子、川嶋かほる：調理時におけるアスコルビン酸の変化。日本家政学会誌, 38, 10, 877-887 (1987)
- 7) 香川芳子：五訂食品成分表2002. 94-95. 女子栄養大学出版部、東京 (2002)
- 8) 辻村卓、日笠志津、笠井孝正：2,4-ジニトロフェニルヒドラジンを内部標準として用いる高速液体クロマトグラフィーによる食品中ビタミンCの定量。ビタミン, 70, 5・6, 241-248 (1996)
- 9) 長島和子：電子レンジ加熱調理による野菜類のビタミンC含量の変化。千葉大学教育学部研究紀要, 28, 269-274 (1979)
- 10) 厚生労働省健康・栄養情報研究会（編）：平成13年国民栄養の現状。第一出版、東京 (2003)
- 11) 日本ビタミン学会：ビタミンハンドブック⑤ビタミンと医学。69 (1996)
- 12) 鈴木優子：加熱による食品中のアスコルビン酸の変化について。弘前学院短期大学紀要, 20, 37-40 (1984)
- 13) 山中すみへ、佐藤ひろみ、西村正雄：電子レンジ調理におけるビタミンCの損失。立正女子大学紀要, 8, 39-42 (1974)
- 14) 桐渕壽子：食品中のビタミンCの測定。28. 3. 日本調理科学会誌, 66-72 (1995)
- 15) 大羽和子：野菜の切断・放置、生食調理に伴うビタミンC量およびアスコルビン酸オキシダーゼ活性の変化。日本家政学会誌, 41, 8, 715-721 (1990)