

真空調理がブロッコリーの色素成分および抗酸化成分に及ぼす影響

梅本 真美¹⁾、池田 高紀²⁾、大石 つぐみ¹⁾、田中 俊治²⁾

Influence of Vacuum Cooking on Pigments and Antioxidants in Broccoli

Mami UMEMOTO, Takanori IKEDA, Tsugumi OISHI, Toshiharu TANAKA

Abstract

We investigated the influence of vacuum cooking on pigments and antioxidants in broccoli to clarify the usefulness of the vacuum cooking in terms of high holding the nutritional ingredients in vegetables. The color change of the broccoli was more suppressed by non-vacuum cooking than by vacuum cooking because residual amounts of chlorophyll b by the non-vacuum cooking was higher than by vacuum cooking. Ascorbic acid concentration of the broccoli in salt solution was more remained by non-vacuum cooking than by vacuum cooking in raw broccoli. On the other hand, total polyphenol concentration was generally more remained by non-vacuum cooking than by vacuum cooking. From these results, the decrease of ascorbic acid might be controlled by vacuum cooking with seasoning liquid including salt, but non-vacuum cooking could be superior in terms of keeping colors bright and remaining total polyphenol. In this study, the usefulness of vacuum cooking was indicated attributively. It is necessary to examine more particularly the characteristic of vacuum cooking.

Keywords ;antioxidants(抗酸化成分)、vacuum cooking(真空調理法)、broccoli(ブロッコリー)

1. はじめに

野菜や果物に含まれる抗酸化成分は活性酸素を除去する効果を持つことが知られているが、ビタミンCなどの抗酸化成分は調理による減少が著しく、食材に含まれる総ての成分を摂取することは容易ではない。先行研究

で、丹羽ら¹⁾はさつまいもについて真空調理に伴う抗酸化成分の変化を通常調理と比較検討している。吉村ら²⁾は色が大きな品質構成因子である野菜に対する真空度と加熱条件を求めることを目的に緑色野菜としてミツバを用いて、クロロフィルおよび分解物、官能

1) 大阪夕陽丘学園短期大学 2) 帝塚山学院大学

評価、ならびに微生物に対する影響を報告している。また、吉村³⁾、⁴⁾はカボチャ果実ならびにジャガイモ、生野⁵⁾、⁶⁾は実エンドウならびに大根を取り上げ、加熱後の成分変化に及ぼす温度と真空度の影響について報告している。諸岡⁷⁾はブロッコリーを真空調理法で調理する利点を明らかにすることを目的に調味料の浸透度の違いと順位法による官能評価(形状、色彩、ブロッコリーらしい味、うま味の強さ、塩味の強さ、味のしみ込み具合、食感、総合評価)について報告している。

本実験では、どのような調理法を用いることで調理後に残存する抗酸化成分を高く保持できるかを検討するため、ブロッコリーの冷凍工程の有無、調理法および調味液の違いが、ブロッコリーの色素成分(クロロフィル a, b)含有量並びに抗酸化成分(アスコルビン酸、総ポリフェノール)含有量に及ぼす影響を調べ、真空調理法の有用性について検証することにした。

2. 実験方法

2.1. 試料

使用したブロッコリーは長野県産で、試料調製当日に購入し、一房 15 g となるよう切り分けた。冷凍ブロッコリーは中国産有機ブロッコリーで、一房 15 g のものを使用した。

2.2. 試料の調製方法

(1) 調味液での調製

卓上型自動真空包装機トスパック V-280A (株式会社 TOSEI) を使用し、生と冷凍のブロッコリーを真空包装した。対照として包装しない試料についても同様の実験を行った。調味液は水道水、食塩水(順位法を用いて嗜好性を評価し、その評価が最も高かった濃度)、0.1%重曹水、5%酢水の4種類を使用した。食塩水濃度の設定では尾木⁸⁾が、味蕾の塩化ナトリウムによる塩味の味覚検査の回数を重ねることにより、感受性の高い舌となり、0.2

~0.3%の食塩濃度差を知覚したとの報告から、塩分濃度は0.2%ずつ減塩し、2.0~0.4%の7種類の食塩水を作成した。真空包装の試料はクックチルを想定しティルティングパンを用いて80℃で8分加熱後、ブラストチラーで5℃まで冷却後、再び80℃で8分加熱の2次加熱後、常温に置いた。非真空包装ではクックサーブを想定し各調味液を100℃に加熱後に試料を入れ、中心温度75℃を確認後、1分間茹でた後、室温に置いた。

(2) pH 値の違いによる試料の調製

pH4~11の計12種類の調味液を作成し、生のブロッコリーを加熱後、目視で色の変化を検証し、その後クロロフィルの吸光度測定を行った。目視での判定については、石井ら⁹⁾は、高品質のリンゴ等の果実において、収穫適期を判断するための指標として品種ごとに異なるカラーチャートを利用している。これは官能検査(感性情報の利用)であり、色の感じ方には個人差があることから、判断基準は統一されていないのが現状であるとの研究¹⁰⁾から、自作したカラーチャートを利用して色彩色差計測を行った。(図1)



図1.カラーチャート

pHの調製では、pH3:水 1L、酢 50mL、pH4:水 1L、酢 15mL、重曹水 15mL、pH5:水 1L、酢 7.5mL、重曹水 25mL、pH6:水 1L、酢 5mL、重曹水 22.5mL、pH7:水 1L、塩 10g、pH8:水 1L、重曹 4g、pH9:水 1L、重曹 10g、pH10:水 750mL、アルカリ水 250mL、pH11:アルカリ水 1Lを用いた。アルカリ水は電解水生成装置 ROX-10WB (ホシザキ株式会社、愛知)で精製した。

吸光度は、分光光度計(U-2900) Hitachi KOKI Co. を用いて測定を行う。試料は、pHの違いによる 12 種類のブロッコリー 15g を刻み、三角フラスコにいれ、アセトン 40mL を加え ULTRA-TURRAX T25 (IKA-labortechnik) で 5 分間均質化する。さらにアセトン 10mL を加えアルミホイルでふたをし、30 分間攪拌する。その後濾過し、濾液に 95%アセトン/水を加え 100mL に定容する。

クロロフィル a およびクロロフィル b のモル吸光係数は、いくつかの報告がされているが^{11),12)}、この中で、原子吸光法によりクロロフィルの定量をおこない、モル吸光係数を求めた Porra ら¹¹⁾の係数が最も信頼性が高いと言われている。663.6nm (クロロフィル a の吸収極大波長) および 646.6nm (クロロフィル b の吸収極大波長) を測定し、以下の式によって、80%アセトン水中におけるクロロフィル a (式 1)、およびクロロフィル b (式 2) の濃度を求めた。このとき、750nm における吸光度を差し引き計算した。

$$\text{クロロフィル a}(\mu\text{gCHl/mL}) = 12.25 \times \text{Abs}$$

$$663.6 - 2.55 \times \text{Abs} \quad (646.6 \text{ (式 1)})$$

$$\text{クロロフィル b}(\mu\text{gCHl/mL}) = 20.31 \times \text{Abs}$$

$$646.6 - 4.91 \times \text{Abs} \quad (663.6 \text{ (式 2)})$$

分子量はそれぞれ a (893.48) と b (907.46) であるので、モル濃度が必要な場合は、この数値を用いて換算する¹³⁾。

(3) アスコルビン酸の定量

試料は、真空調理並びに非真空調理で調製した生及び冷凍ブロッコリー (n=3) を使用した。

アスコルビン酸のスタンダードは、50 $\mu\text{g/mL}$ 、10 $\mu\text{g/mL}$ 、1 $\mu\text{g/mL}$ 、0.5 $\mu\text{g/mL}$ 、0.1 $\mu\text{g/mL}$ の 5 種類の濃度を作成した。

分析用試料の調製は細断した試料を均質化し、試料 10g を遠心管に採取した (n=3 計 36 個)。4%のメタリン酸 5mL を加えた後、2%のメタリン酸 30mL を加え、5 分間振とうし、超音波で 10 分間抽出後、2%メタリン酸溶液で 50mL に定容後、上清 2mL を試験管溶液に入れた。0.1%ホモシステイン溶液 1mL、10%リン酸水素二ナトリウム溶液 1mL を加え、水浴中で 40 $^{\circ}\text{C}$ 、20 分間加温し試料濾過用フィルターに通過させた。高速液体クロマトグラフィー (High Performance Liquid Chromatography) 条件は以下の通りである。

カラム: TSKgel-100V 4.6mm i.d. \times 250mm (5 μm)

移動相: 1.5%リン酸アンモニウム液 (pH3.8)

UV 検出器: 254nm

流速: 1.4mL/min

注入量: 10 μL

(4) 総ポリフェノールの定量

クロロフィルの定量で作成した各抽出液を用いた。検量線用標準液は没食子酸一水和物、95%アセトン/水を使用して 1、0.5、0.25、0.125、0.0625 mg/mL の 5 濃度調製 (各濃度 n=1) し、これを標準液とした。検量線用標準および各エキス液の総ポリフェノール量は、Folin-Ciocalteu 法¹⁴⁾を用いて測定した。

Folin-Ciocalteu 法とは、フォーリン試薬 (フェノール試薬) がフェノール性水酸基により還元されて呈色するのを利用する方法で 1.5mL マイクロチューブに、標準液あるいは各エキス液 (各 n=3) を各 20 μL 入れ、フェノール試薬 2 倍希釈液 40 μL 、蒸留水 40 μL を加え混和し、常温で 8 分間静置した。その

後、チューブに 7%炭酸ナトリウム水溶液 40 μ L と蒸留水 860 μ L を加えた後、常温で 2 時間置く。その後、溶液をシリンジフィルターで濾過後、750nm の波長で吸光度を測定した。標準液による検量線の式を用いて、総ポリフェノール量を没食子酸当量で算出した。

解析方法は SYSTAT ver.11 (HULINKS Inc.) を使用し、Tukey の検定と Holm 法で補正した Student の t 検定を用い、有意水準は 5%とした。

4. 結果

4.1. 食塩水濃度の決定

順位法を用いて嗜好性を評価し、各調理法による各食塩水濃度からパネル 5 名の嗜好性の評価が最も良い食塩濃度を採用した。

真空調理法では、生・冷凍ブロッコリーともに 0.8%がおいしいと感じ、非真空調理法では、生ブロッコリーでは 1%、冷凍ブロッコリーでは 0.8%がおいしいと感じた食塩濃度であった。

以上から本実験に使用する食塩水濃度は真空調理法では、生ブロッコリー・冷凍ブロッコリーともに 0.8%、非真空調理法では、生ブロッコリーは 1%が、冷凍ブロッコリーでは 0.8%とした。

4.2. 色彩色差計測

真空調理における蕾では、pH が高いほど濃い緑色であり、茎の色はバラつきがみられた。非真空調理における蕾では、pH が高いほど濃い緑色で、茎は緑色味を帯びていた。(図 2)

自作したカラーチャートに照らし合わせ、色彩色差計測を行った結果、真空調理に色調の変化が多くみられた。表 1 の結果は合致するカラーチャートのナンバーを記載した(表 1)。



図 2.pHの違いによる色調の変化
* 上段:真空調理法、下段:非真空調理法
左から pH11~3の順

表 1.色彩色差計測の結果

真空調理

pH	蕾				茎			
11	364	357	369	357	373	366	380	3935
10	364	357	375	357	370	362	377	367
9	363	361	368	357	370	362	376	367
8	362	364	370	357	370	363	377	367
7	378	356	369	356	459	366	456	366
6	385	371	392	392	391	378	389	385
5	385	371	392	392	3935	366	456	4525
4	4495	371	392	392	391	366	389	4515
3	4495	371	392	4495	459	366	380	459

非真空調理

pH	蕾				茎			
11	364	356	364	357	370	363	355	366
10	364	356	364	357	370	363	369	366
9	364	356	364	357	370	363	370	366
8	364	356	364	357	370	367	370	366
7	364	356	364	357	370	370	355	366
6	364	363	378	364	374	360	377	356
5	378	363	371	371	372	360	456	356
4	378	371	377	371	372	366	456	356
3	371	371	364	371	391	366	456	356

4.3. クロロフィルの含有量

クロロフィル a は調理法の違いにおいて、真空調理では非真空調理に比べ、食塩水と重曹水が低値を示したが、全体的に大きな違いは見られなかった。調味液の違いにおいて、非真空調理、真空調理とも、重曹水が最も高値を示し、酢水が最も低値を示した。(図3)

クロロフィル b は調理法の違いにおいて、真空調理では非真空調理に比べ、食塩水、酢水および重曹水で低値を示した。調味液の違いにおいて、非真空調理では、食塩水が最も高値を示し、酢水が最も低値を示した。真空調理では、重曹水が最も高値を示し、酢水が最も低値を示した。(図4)

4.4. アスコルビン酸の定量

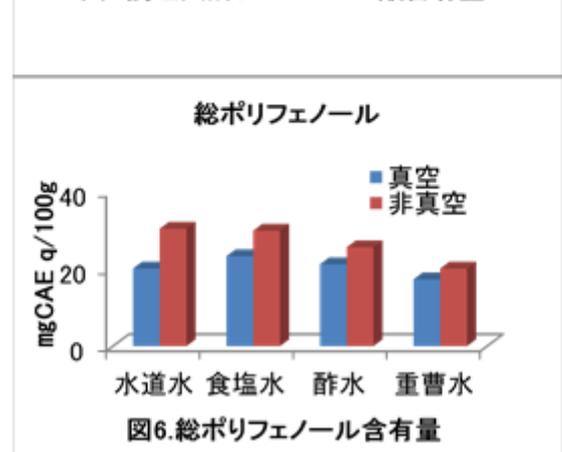
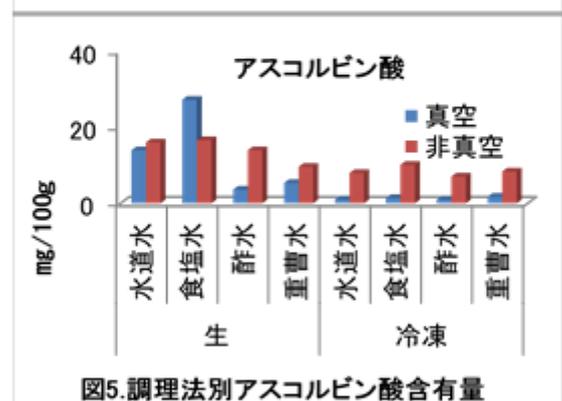
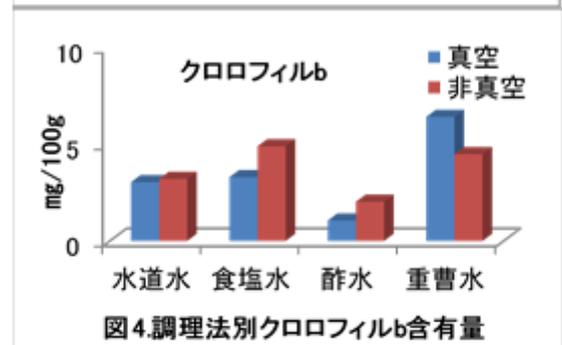
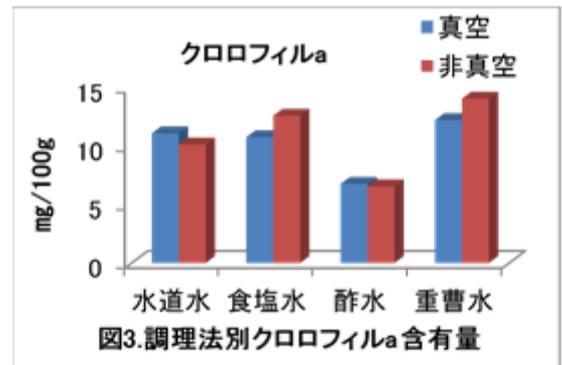
調理法の違いにおいて、真空調理では非真空調理に比べ、食塩水で有意に高値を示し、酢水で有意に低値を示した。

調味液の違いにおいて、非真空調理では有意な差は見られなかった。しかし真空調理では、食塩水で、他の3群に比べて有意に高値を示し、酢水では有意に低値を示した。(図5)

4.5. 総ポリフェノールの定量

調理法の違いにおいて、真空調理で非真空調理に比べ、水道水、酢水および重曹水で有意に低値を示した。

調味液の違いにおいては真空調理、非真空調理ともに有意な差は認められなかった。(図6)



5. 考察

pHの違いによる色調の変化では、真空調理より、非真空調理の方が深い緑色を呈した。また、アルカリ性の調味液が色調を保たれていた。この結果はクロロフィルを含む青物野菜を鍋で茹で調理する場合に揮発性酸が茹で湯に溶解することにより、茹で湯のpHが低下し緑色色素のクロロフィルが褐色のフェオフィチンに変化することにより色調が変化すると諸岡⁷⁾も報告している。本実験でも、クロロフィルaおよびbの結果において、重曹のアルカリ性による作用により真空、非真空調理ともに、クロロフィル残存量が多かったことから、色彩については非真空調理の方が適し、調味液はアルカリ性の調味液が適していると考えられる。また、真空調理で、褐色化が進んでいたのは、揮発性酸が大気中に発散出来ず、包装袋内に残留し茹で湯に溶解しているためと推定された。

抗酸化成分(アスコルビン酸)の含有量では、食塩水で調味した真空調理での含有量が最も多かった。

アスコルビン酸は熱、光、アルカリ性において酸化などの変化を受けやすく、調理による損失が大きい。一方で、真空調理法で調理すると非真空調理法と比較して、アスコルビン酸の残存量が多いとされている。しかし、本実験では真空調理では非真空調理に比べ、酢水で有意に低値を示した。

アスコルビン酸の酸分解は、強酸性下でなくても果汁などの弱酸性下(pH2~3)で嫌気状態でも徐々に起こる。例えば、缶詰グレープフルーツ果汁(pH3.5)のビタミンCは、50°C保温12週間後に70~95%が消失するという¹⁵⁾。そして、一般にアスコルビン酸の嫌気条件下の分解速度は好気条件下の1/10といわれるが、分解反応はアスコルビン酸濃度についてゼロ次反応であり、温度10°C上昇で分解速度は2.5~3.0倍になるという¹⁶⁾。よって、酸分解に加えて真空包装の影響が大きく作用し

たことで今回の結果が得られたと推察される。また、非真空調理の方が含有量が高い傾向が見られたのは、加熱温度よりも加熱時間の影響が大きいのではと考えられる。

抗酸化成分(総ポリフェノール)の含有量では、食塩水で調味した真空調理法は非真空調理法と同量の総ポリフェノール量を保持でき、食塩水を含む調味液で真空調理を行うと抗酸化成分の減少が抑制される可能性が示された。食塩水中の塩化物イオンが酸化酵素に結合して、酵素の働きを抑えたためだと推察される。

本実験で、抗酸化成分では、特に食塩水を含む調味液で真空調理を行うと抗酸化成分の減少が抑制される可能性が示された。しかし、全体的に非真空調理の方が残存量は多く、真空調理が有意に高値を示したものは生のブロッコリーの食塩水での調理のみであったため、再度試料を追加し、加熱温度と加熱時間の関係を中心に再実験する必要があることが示唆された。

謝辞

本調査に多大なるご協力をいただきました帝塚山学院大学の白川瑞季氏、込山裕季氏に深謝いたします。

参考文献

- 1) 丹羽悠輝・森山三千江・大羽和子：真空調理に伴う植物性食品の抗酸化機能成分の変化，日本調理科学会誌，Vol. 40, No. 4, pp. 257-265 (2007)
- 2) 吉村美紀・生野世方子・山内直樹：真空調理条件がミツバの品質におよぼす影響，Nippon Shokuhin Kagaku Kaishi Vol. 42, NO. 8, pp. 588-593(1995)
- 3) 吉村美紀・生野世方子・山内直樹：カボチャ果実の真空調理に伴う品質変化，日本食品低温保蔵学会誌，Vol. 19, No. 2, pp. 57-60(1993)

- 4) 吉村美紀・生野世方子・山内直樹：真空調理されたジャガイモの品質について，日本食品低温保蔵学会誌，Vol. 19, No. 4, pp. 173-177 (1993)
- 5) 生野世方子・吉村美紀・山内直樹：真空調理された実エンドウの品質について，日本食品低温保蔵学会誌，Vol. 19, No. 4, pp. 178-182 (1993)
- 6) 生野世方子・吉村美紀・山内直樹：大根の真空調理に伴う品質変化，調理科学，Vol. 26, No. 4 (1993)
- 7) 諸岡みどり：給食を目的とした真空調理法によるブロッコリー調理および官能評価，東北女子大学・東北女子短期大学紀要，No. 52, pp. 103-108 (2013)
- 8) 尾木千恵美・加藤信子：女子大生における塩味に対する味覚感覚，東海女子短期大学紀要，Vol. 20, pp. 43-55 (1994)
- 9) 石井雅樹・山根治起・土谷響造：色彩色差情報を用いた果実収穫適期の定量判定，秋田県立大学ウェブジャーナル B, Vol. 3, pp. 157-161 (2016)
- 10) PANTONE Colours: <http://www.pantone-colours.com/> (2016. 12. 15 最終参照)
- 11) Porra, R. J., W.A. Thompson, and P. E. Kriedemann: Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophyll a and b extracted with four different solvents. *Biochimica et Biophysica Acta*, 975, p. 384-394 (1989)
- 12) William P Inskeep and Paul R Bloom: Extinction coefficients of chlorophyll a and b in N, N-dimethylformamide and 80% acetone, *Plant physiology*, 77, pp. 483-485 (1985)
- 13) 田中亮一：クロロフィルおよびクロロフィル代謝経路中間体の抽出・定量法，低温科学，vol. 67, pp. 315-325 (2009)
- 14) 横塚弘毅ら：フォーリン・シオカルト法を用いた逆相系高速液体クロマトグラフィーによるフェノール化合物の分析-フェノールとフォーリン・シオカルト試薬との反応条件の至適化，*J. ASEV Jpn* , Vol. 12, No. 1, pp. 21-28 (2001)
- 15) Liao, Ming-Long and Seib, P. A.: *Food Chem.*, 30, 289 (1988)
- 16) Smoot, J. M. and Nagy, S. : *J. Agric. Food Chem.*, 28, 417 (1980)