

野菜ジュース調製時の還元型及び酸化型ビタミン C の変化

Changes of Ascorbic Acid and Dehydroascorbic Acid Content during the Process of Vegetable Juice

分部麻希* 村上千秋* 丸山武紀* 新谷 勲*
 (Maki Wakebe) (Chiaki Murakami) (Takenori Maruyama) (Isao Niiya)

The oxidation of ascorbic acid in vegetable juices during storage was studied.

Various types of vegetable juice were prepared by a household mixer, and the contents of ascorbic acid and dehydroascorbic acid were determined by HPLC with post-column conversion.

The change in the ascorbic acid content of a vegetable juice during storage differed according to the kind of vegetable. The oxidation of ascorbic acid in the green pepper juice could be suppressed by a heat treatment and by pH control. The addition of lemon juice, vinegar and milk also suppressed the decrease of ascorbic acid in the various types of vegetable juices.

キーワード：アスコルビン酸 Ascorbic acid；デヒドロアスコルビン酸 Dehydroascorbic acid；野菜ジュース Vegetable juice；アスコルビン酸酸化酵素 Ascorbate oxidase；酸化 Oxidation；高速液体クロマトグラフィー HPLC

緒 言

野菜や果物はビタミン C (VC) の主要な供給源であり、それらのジュースは VC を他の栄養素と共に摂取できるので、一般家庭でも手軽に作られている。調理をする際に組織が破壊されると野菜や果物の VC は、アスコルビン酸オキシダーゼにより急速に酸化される。通常、食品中の酸化型アスコルビン酸 (DAsA) は微量であり、体内で還元型アスコルビン酸 (AsA) に変換される。このため DAsA の生物学的効果は AsA と同等にみなされ、食品中の VC 含有量は通常これらの合計値¹⁾で表されている。しかし、家庭で作る野菜ジュースは青臭さなど、飲みにくい欠点があり、さらに野菜の種類やその組み合わせ、または調製方法により DAsA 量が増加することが考えられる。老人や幼児などは DAsA の体内での吸収率や還元率など不明な点も多いので、AsA と DAsA を分けて測定する必要がある。野菜の調理法による AsA 及び DAsA 量

の変化については、ヒドラジン法を用いた多くの報告²⁻⁵⁾があり、最近では HPLC を用いて分別定量した報告^{6,7)}もある。そこで、本報では簡便で短時間に AsA 及び DAsA を分別定量できる HPLC 法を用い、家庭で野菜ジュースを作る場合の、保存安定性に及ぼす因子について検討した。基本的な諸条件の検討は、年間を通して VC 量の変動が比較的少なく⁸⁾入手しやすいピーマンを用いて行った。さらに、調味料及び副原料が野菜の種類及びそのジュースに及ぼす影響についても検討した。

実験方法

1. 実験材料及び試薬

野菜ジュースにはピーマン、パセリ、セロリ、レタス、キャベツ、ほうれん草、ニンジン、トマト、イチゴを供した。これらは小売店から購入し、直ちに実験に使用した。

AsA は和光純薬工業製、DAsA は Aldrich 社製を用いた。

2. 野菜ジュースの調製方法

ジュースの調製には家庭用ミキサーを用いた。各野

* 財団法人 日本食品油脂検査協会
 (Japan institute of oils & fats, other foods inspection, foundation)

菜は1cm角程度に切り、その野菜に4倍量の水を加え、1分間攪拌してジュースとした。

3. AsA 及び DAsA の定量

試験溶液は適宜2%メタリン酸溶液で定容後、0.45 μ mのメンブランフィルターでろ過してHPLC検液とした。HPLCは、安居ら⁹⁾の方法に準じ、ポストカラム誘導体化法で行った。分析条件はカラム: Shim-pack SCR-101 N 7.6mm i.d. $\times$ 300mm, 移動相: 1mM EDTA $\cdot$ 2Na 含有10mMしゅう酸緩衝液(pH 3.8), 流量: 1ml/min, 反応液: 50mM水素化ホウ素ナトリウム含有100mM水酸化ナトリウム溶液, 流量: 0.4ml/min, 検出波長: 300nmである。

実験結果及び考察

1. 水溶液における AsA 及び DAsA の安定性

1) 温度による影響

AsA 及び DAsA 標準品をそれぞれ蒸留水で100 μ g/mlに調製し、その溶液を5, 25, 50 及び 90°Cで5

時間保存した。AsA 及び DAsA 水溶液の各温度における残存率の変化を表1に示した。

AsA 及び DAsA 水溶液のpHはいずれも3.8だった。AsAの残存率は5~50°Cでは温度の上昇に伴い低下したが、50°Cと90°Cの残存率に差は認められなかった。一方、DAsAの残存率は低温では高いが、温度が高く長時間になるにつれて低下し、特に90°Cで著しかった。しかし、AsAとDAsAの和、すなわち総VC量の比較では、5, 25, 50°Cの各温度で両者により差はみられなかった。

2) pH による影響

0.1Mクエン酸・0.2Mリン酸塩緩衝液(McIlvaine)でpHを4, 5, 6, 7に調整した溶液で、AsA 及び DAsA 標準品をそれぞれ100 μ g/mlに調製した。その溶液を25°Cで5時間保存した。保存時間と残存率の関係を表2に示した。

AsAの残存率はpH4~pH7の範囲で5時間後でもほとんど低下しなかった。一方、DAsAの残存率は

表1. AsA 及び DAsA の安定性に及ぼす温度の影響

			100 μ g/ml 水溶液				
			残存率 (%)				
			調製直後	0.5 時間	1 時間	3 時間	5 時間
5°C	AsA 水溶液	AsA	100	98	97	96	93
		DAsA	0	2	3	4	7
		総 VC	100	100	100	100	100
	DAsA 水溶液	AsA	0	0	0	0	0
		DAsA	100	100	100	99	99
		総 VC	100	100	100	99	99
25°C	AsA 水溶液	AsA	100	98	95	87	71
		DAsA	0	2	5	13	29
		総 VC	100	100	100	100	100
	DAsA 水溶液	AsA	0	0	0	0	0
		DAsA	100	100	100	96	94
		総 VC	100	100	100	96	94
50°C	AsA 水溶液	AsA	100	93	79	48	12
		DAsA	0	6	19	41	54
		総 VC	100	99	98	89	66
	DAsA 水溶液	AsA	0	0	0	0	0
		DAsA	100	97	90	71	58
		総 VC	100	97	90	71	58
90°C	AsA 水溶液	AsA	100	82	72	51	17
		DAsA	0	12	12	2	8
		総 VC	100	94	84	53	25
	DAsA 水溶液	AsA	0	0	0	0	0
		DAsA	100	61	26	2	0
		総 VC	100	61	26	2	0

野菜ジュース調製時の還元型及び酸化型ビタミンCの変化

表2. AsA 及び DAsA の安定性に及ぼす pH の影響

100 µg/ml クエン酸リン酸塩緩衝液
保存温度: 25°C

			残存率 (%)				
			調製直後	0.5 時間	1 時間	3 時間	5 時間
pH 4	AsA 緩衝液	AsA	100	100	98	97	98
		DAsA	0	0	0	1	2
		総 VC	100	100	98	98	100
	DAsA 緩衝液	AsA	0	0	0	0	0
		DAsA	100	100	100	99	100
		総 VC	100	100	100	99	100
pH 5	AsA 緩衝液	AsA	100	100	97	97	97
		DAsA	0	0	0	1	2
		総 VC	100	100	97	98	99
	DAsA 緩衝液	AsA	0	0	0	0	0
		DAsA	100	100	100	94	90
		総 VC	100	100	100	94	90
pH 6	AsA 緩衝液	AsA	100	100	99	97	99
		DAsA	0	0	0	1	1
		総 VC	100	100	99	98	100
	DAsA 緩衝液	AsA	0	0	0	0	0
		DAsA	100	91	82	62	56
		総 VC	100	91	82	62	56
pH 6.5	AsA 緩衝液	AsA	100	99	99	98	99
		DAsA	0	1	1	1	1
		総 VC	100	100	100	99	100
	DAsA 緩衝液	AsA	0	0	0	0	0
		DAsA	100	81	61	26	14
		総 VC	100	81	61	26	14
pH 7	AsA 緩衝液	AsA	100	99	98	97	95
		DAsA	0	1	1	1	1
		総 VC	100	100	99	98	96
	DAsA 緩衝液	AsA	0	0	0	0	0
		DAsA	100	57	30	4	1
		総 VC	100	57	30	4	1

pH 4 ではほとんど低下しなかったが、pH 6～pH 7 の範囲では1時間後に著しく低下した。従って、DAsA は AsA より安定な pH 域が狭いことがわかった。

2. 各野菜ジュースでの安定性

野菜ジュースは4回繰り返し分析を行い、その平均値を用いた。

1) 野菜の種類による影響

野菜ジュースによく用いられるトマト、セロリ、ピーマン、キャベツ、ほうれん草、イチゴ、パセリ及びレタスで調製したジュースを、25°C で5時間保存した。AsA 及び DAsA の残存率と保存時間の関係を表3

に示した。なお、各生野菜中の VC 含量は、トマト 19 mg/100g, セロリ 8mg/100g, ピーマン 68mg/100g, キャベツ 57mg/100g, ほうれん草 43mg/100g, イチゴ 64mg/100g, ニンジン 5mg/100g, パセリ 123mg/100g, レタス 3mg/100g で、野菜の種類によってかなり差がみられた。ここでは、各野菜がジュース調製時及び保存中に AsA に与える影響を調べることを目的としているため、ジュース調製時に野菜 100g につき 200mg の AsA 標準品を添加した。

トマトジュースでは AsA の時間経過による変化が少なく安定しており、DAsA の生成も少なかった。セ

表 3. AsA を添加した野菜ジュースにおける VC の消長

AsA 添加量: 200mg/野菜 100g

保存温度: 25°C

野菜ジュース	調製直後の VC 量 ($\mu\text{g/ml}$)		残存率 (%) n=4			
			調製直後	1 時間	3 時間	5 時間
ト マ ト pH 4.4	440	AsA	96	94	91	90
		DAsA	4	6	9	10
		総 VC	100	100	100	100
セ ロ リ pH 4.9	416	AsA	96	72	64	53
		DAsA	4	28	36	47
		総 VC	100	100	100	100
ピーマン pH 4.7	537	AsA	98	80	68	58
		DAsA	2	20	28	30
		総 VC	100	100	96	88
キャベツ pH 5.4	516	AsA	95	76	61	54
		DAsA	5	23	35	39
		総 VC	100	100	96	93
ほうれん草 pH 5.7	489	AsA	98	89	82	66
		DAsA	2	11	19	29
		総 VC	100	100	91	95
イチゴ pH 3.9	531	AsA	97	80	72	61
		DAsA	3	14	22	21
		総 VC	100	94	94	82
ニンジン pH 5.4	415	AsA	93	60	34	27
		DAsA	7	28	39	47
		総 VC	100	88	73	74
パセリ pH 5.4	650	AsA	65	51	45	43
		DAsA	35	46	42	39
		総 VC	100	97	87	82
レタス pH 6.1	409	AsA	0	0	0	0
		DAsA	100	93	85	79
		総 VC	100	93	85	79

ロリジュースでは時間経過により, AsA の低下に伴い DAsA 含量は増加したが, 総 VC 量は 5 時間後でも変わらなかった。ピーマン, キャベツ, ほうれん草及びイチゴの各ジュースでは, AsA の残存率は時間経過と共にわずかに低下し, それに伴い総 VC 量も減少した。ニンジン及びパセリジュースでは, AsA の残存率は 5 時間後で 27 及び 43% と低くなり, 総 VC 量は 5 時間後では約 80% まで減少した。レタスジュースでは調製後 AsA は直ちに DAsA に変化したが, 5 時間後でも

約 80% 残存していた。ニンジンのような根菜類では, 切断・放置すると一時期 AsA の合成が増大し, 総 VC 量が増加することが知られている¹⁰⁾。しかしニンジンジュースでは, そのような VC の増加は認められなかった。野菜ジュースを調製した場合, その種類と時間経過による AsA 及び DAsA の消長にかなりの違いがみられた¹¹⁾。このように, 野菜や果物の種類によってアスコルビン酸酸化酵素の活性やその量も異なるので野菜ジュースを作り保存する場合には, これらを考慮す

野菜ジュース調製時の還元型及び酸化型ビタミンCの変化

る必要がある。

2) ジュース調製後の加熱による影響

ピーマンでジュースを調製後、直ちに 60 及び 90°C の湯浴槽につけ、その温度に達した時点からの経時変化を未加熱と比較した。またジュース調製後直ちに電子レンジ(シャープ, RE-M 15 型, 出力 500 W, 発振周波数 2,450 MHz)で加熱し、加熱開始後 1, 3, 5 分と未加熱の残存量を比較した。さらにそれらを 25°C で 24 時間保存した。加熱温度と加熱時間による残存量の関係を図 1 に示した。

60°C 加熱では、未加熱と比べて AsA の残存率は低下したが、加熱時間による AsA 及び DAsA の残存率に差がなく、いずれも総 VC として約 60% 残存していた。これらを 24 時間保存すると、未加熱と同様に全て DAsA に変化し、総 VC として約 20% 残存していたにすぎなかった。一方、90°C 加熱では、未加熱と比べ加熱処理直後の DAsA は極微量で、総 VC としての残存率は低下し、加熱時間による差はみられなかった。これらを 24 時間保存すると、未加熱ではすべて DAsA に酸化されているのに対し、加熱処理を行ったものは、AsA が約 30% と多く残存していた。電子レンジ加熱の場合、1 分間の加熱では温度上昇期に DAsA

が約 30% まで増加したのに対し、3 及び 5 分間加熱処理を行ったものは、その DAsA が全て失われ、AsA のみが約 60% 残存していた。このときのジュースの温度は、1 分で 65°C、3 及び 5 分で 92°C だった。これは初期の 1 分間が温度上昇時に相当し、AsA は DAsA に変化したが、以降の持続した高温により DAsA が消失したものである。これらを 24 時間保存すると、1 分間加熱処理したものは未加熱と同様に全て DAsA に変化したが、3 及び 5 分加熱処理では、AsA が約 50% 残存していた。従って、AsA は加熱により減少するが、90°C 程度の高温または電子レンジ加熱で容易に酸化酵素の活性を抑制することができた。

3) pH による影響

クエン酸・リン酸塩緩衝液 (McIlvaine) を用いて pH 3~7 のピーマンジュースを調製した。25°C で 1 時間保存し、pH と AsA 残存量の関係を図 2 に示した。

緩衝液中の AsA (表 2) はどの pH でも安定だったが、野菜ジュースにすると、野菜の組織が破壊され、酸化酵素等が影響してくる。ピーマンジュースにおける AsA の残存量は pH 5.5 付近で最も低く、pH 4 以下または pH 7 以上では高かった。特に pH 3.5 付近では AsA の残存量は高く、AsA の酸化を抑制すること

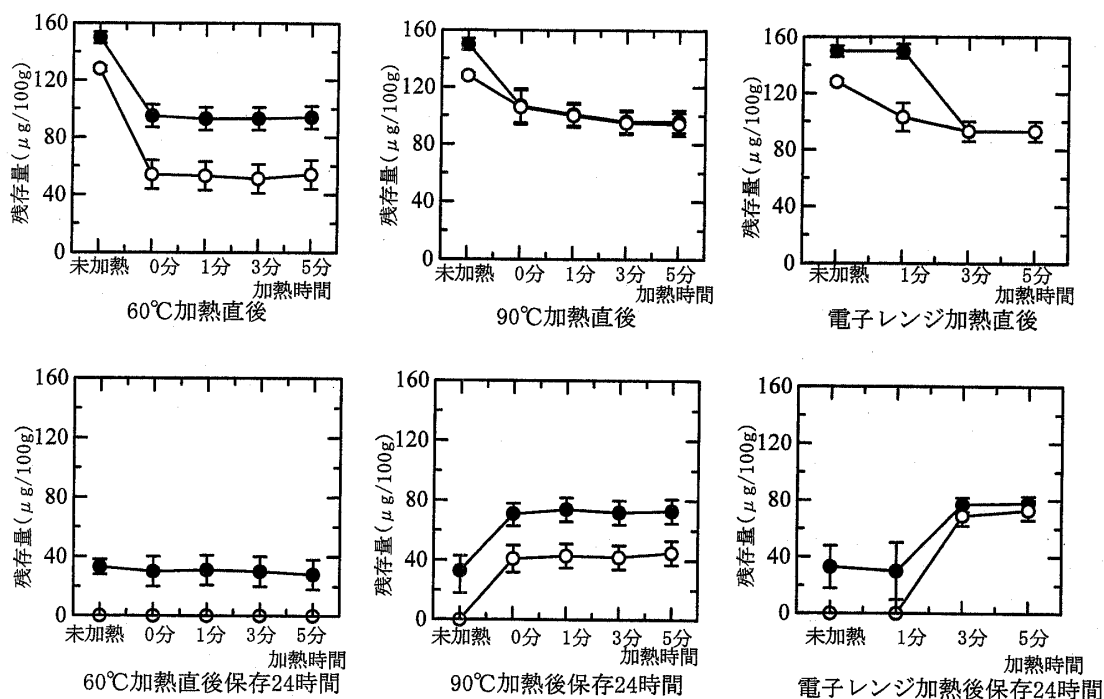


図 1. ピーマンジュース調製後の加熱による影響

ピーマンの VC 量: 76 mg/100 g

ジュース調製後の VC 量: 150 μg/ml

保存温度: 25°C

●: 総 VC ○: AsA

野菜ジュース調製時の還元型及び酸化型ビタミンCの変化

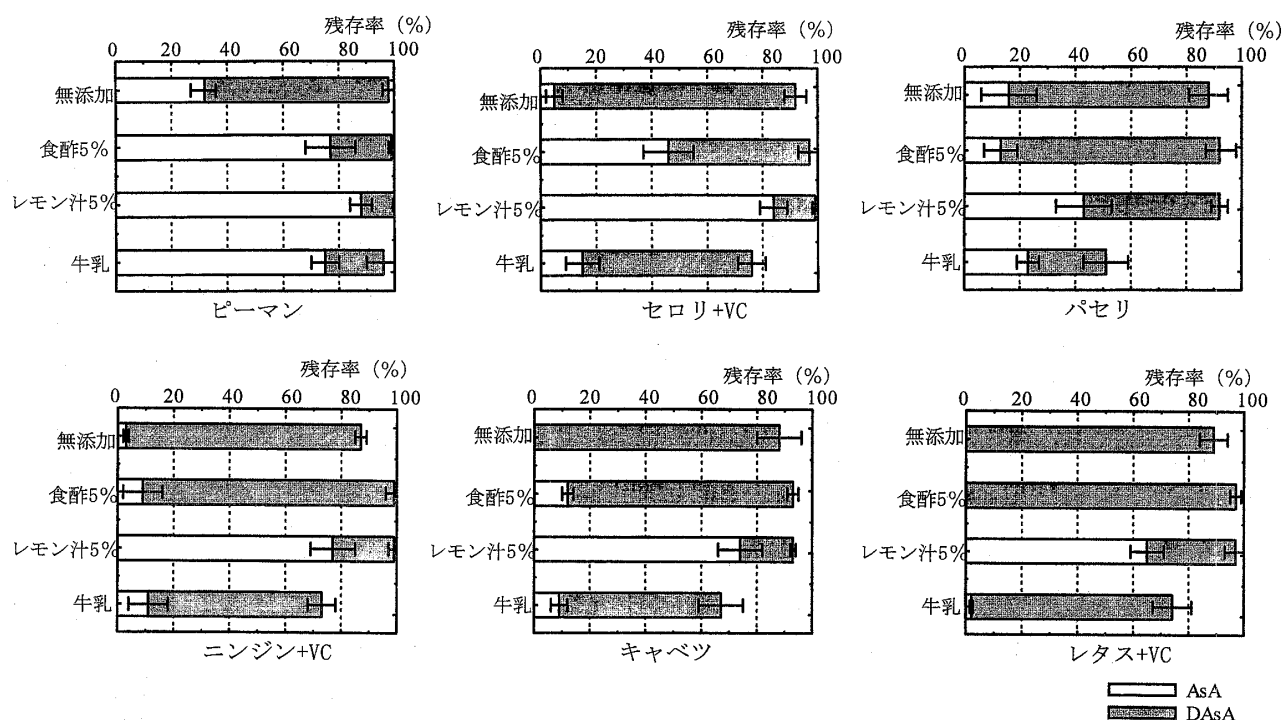


図3. 調味料および副原料の各野菜ジュースへの応用
ジュース調製後1時間における残存率 (%)
保存温度: 25°C
セロリ, ニンジン, およびレタスにはAsA添加
AsA添加量: 50mg/100g 野菜

ースで116, 132 $\mu\text{g}/\text{ml}$ だった。表3では野菜100gに対してAsA標準品を200mg添加したので、ジュース調製後1時間のAsA残存率はレタスジュースを除いて高かったが、ここではジュース中のVC量が少ないためAsA残存率は低かった。ピーマン以外の野菜ジュースでも、牛乳はややAsAの酸化を抑制したが、総VC量では逆に減少した。この原因は牛乳を加えることにより、pHが7付近になるためDAsAの安定性が悪くなり、総VC量が減少したものと考えられる¹²⁾。食酢5%の添加では、抑制作用が大きく見られたのはセロリジュースのみで、ほかの野菜ジュースにはあまり効果がなかった。これらのことから、野菜ジュースの調製時には使用する野菜の組み合わせやベースとする水や果汁などを考慮する必要があると考える。

要 約

1) AsA及びDAsA標準水溶液の温度による安定性を比較すると、5~50°CではAsAの方が安定性が悪

く、90°CではDAsAの方が悪かった。

2) AsA及びDAsA標準溶液のpHによる安定性を比較すると、AsAはpH4~pH7の範囲で安定だが、DAsAはpHが高いほど不安定であった。

3) 野菜ジュース中のAsA及びDAsAの挙動は野菜の種類によって異なり、保存中にAsAがほとんど酸化されないもの、ジュース調製中にすべてDAsAに酸化され、保存中に総VCが著しく低下するものまで様々だった。

4) ジュース調製後の加熱の影響は、加熱により総VCは低下するが、高温または電子レンジ加熱では、24時間保存後の残存率は未加熱に比べて高かった。

5) ピーマンジュースのpHによるAsAの安定性はpH4以下またはpH7以上で良く、pH5.5付近で最も悪かった。

6) ピーマンジュースの場合、食酢、レモン汁、牛乳の添加が効果的だった。パセリ、キャベツ、セロリ、ニンジン及びレタスの各ジュースではレモン汁が特に効果的であったが、牛乳の添加で、無添加に比べ総VCの残存率が低下した。

なお、本報の御校閲を頂きました(財)日本食品油脂

検査協会技術部長青山稔博士に深謝致します。本研究の要旨は日本調理学会平成 10 年度大会 (名古屋) で発表した。

文 献

- 1) 科学技術庁資源調査会編 (1982) 四訂日本食品標準成分表, 大蔵省印刷局
- 2) 桐淵壽子 (1995) 食品中のビタミン C の測定, 日調科誌, **28**, 210-23.
- 3) 林宏子 (1990) 紅葉おろしのビタミン C, 調理科学, **23**, 361-366.
- 4) 藤田秋治, 広瀬福子, 内山由子 (1969) ヒドラジン法によるビタミン C 定量法の検討とクロマトグラフィーによる真値の定量, ビタミン, **40**, 17-26.
- 5) 林宏子 (1993) 食品中のビタミン C の安定性に関する基礎的検討, 調理科学, **26**, 12-26.
- 6) K. Kusunoki, T. Hara, M. Fujita, Y. Minari, T. Tadokoyo, S. Innami, A. Maekawa (1998) Histochemical observation and cellular distribution of ascorbic acid in persimmon leaves, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **44**, 11-23.
- 7) 辻村卓, 日笠志津, 笠井孝正 (1996) 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**, 241-248.
- 8) 辻村卓, 小松原晴美, 荒井京子, 福田和子 (1997) 出回り期が長い食用植物のビタミン及びミネラル含有量の通年成分変化 [1], ビタミン, **71**, 67-74.
- 9) Y. Yasui, M. Hayashi (1991) Simultaneous determination of ascorbic acid and dehydroascorbic acid by high-performance liquid chromatography, *Anal. Sci.*, **7**, 125-128.
- 10) 大羽和子 (1990) 野菜の切断・放置, 生食調理に伴うビタミン C 量及びアスコルビン酸オキシダーゼ活性の変化, 家政誌, **41**, 715-721.
- 11) 桐淵壽子, 川嶋かほる (1987) 調理におけるアスコルビン酸の変化, 家政誌, **38**, 877-887.
- 12) 大羽和子 (1996) 新鮮野菜のアスコルビン酸オキシダーゼ, 日調科誌, **29**, 120-124.

(1999 年 6 月 10 日受理)