

カレーの調理過程におけるラジカル捕捉活性の変化

高村仁知, 山口智子*, 林恵里奈*

藤本さつき*, 的場輝佳**

(奈良女子大学生生活環境学部, *奈良女子大学大学院人間文化研究科)

原稿受付平成 11 年 2 月 2 日; 原稿受理平成 11 年 8 月 31 日

Change in Radical-Scavenging Activity while Cooking Curry

Hitoshi TAKAMURA, Tomoko YAMAGUCHI, * Erina HAYASHI, *

Satsuki FUJIMOTO* and Teruyoshi MATOBA**

Faculty of Human Life and Environment, Nara Women's University, Nara 630-8506

** Graduate School of Human Culture, Nara Women's University, Nara 630-8506*

The change in radical-scavenging activity while cooking curry made from spices, vegetables, and meat was analyzed by the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl-HPLC method. Fifteen kinds of spices generally used in curry all possessed radical-scavenging activity. In particular, the activity of clove, allspice, and cinnamon was extremely high and comparable with that of vegetables. After heating, the radical-scavenging activity of the combination of vegetables and meat increased, while that of mixed spices decreased. Vegetables as well as spices contributed the radical-scavenging activity of curry. In the present research, one serving of curry and rice contained 363 μmol Trolox eq of radical-scavenging activity. The spices contributed approximately 45% of the total radical-scavenging activity of curry and rice.

(Received February 2, 1999; Accepted in revised form August 31, 1999)

Keywords: radical-scavenging activity ラジカル捕捉活性, curry and rice カレーライス, spice スパイス, vegetable 野菜, meat 肉, heating 加熱.

1. 緒言

食物には、従来から知られている栄養成分以外に、ガン・老化・生活習慣病などを予防する新しい機能(三次機能)を持つ成分が含まれていることが見出されて以来、食生活の重要性が見直され、食事献立の工夫に高い関心が寄せられている。これまでの研究によると、体内で発生するフリーラジカルが遺伝子の損傷や生体膜脂質の酸化などを引き起こし、ガン・老化・生活習慣病などの要因になっていることが指摘されている(吉川 1997; 吉川と内藤 1997)。このような背景の中で、従来から抗酸化剤として知られている成分が、ラジカル捕捉活性を持つことから、食素材中の抗酸化成分がガン・老化・生活習慣病などの予防に有効であると期待されている。これまでの研究では食品中からの新たな抗酸化成分の検索や個々の成分の化学構

造、抗酸化能や生理機能の解明などに重点が置かれてきた。実際の食生活においては、食品は加熱などの調理・加工操作が加わったものであることを考慮すると、これらの過程で抗酸化成分が化学変化をうけることにより、そのラジカル捕捉活性がどのように変化するかを明らかにすることは、三次機能を活かした食事献立を工夫する上で重要である。しかし、これらに関する検討はほとんど行われていない。

スパイスには、食欲増進をもたらす辛味作用、肉や魚の臭みを消す矯臭作用、香りを付加しておいしくする腑香作用、特有の色素による着色作用などがあり、世界各国で広く用いられている。また、スパイスは高い抗酸化活性(Chipault *et al.* 1952; 藤尾等 1969; 平原等 1974; 中谷 1989)や抗菌作用(Bullerman *et al.* 1977; Shelef *et al.* 1980; 中谷 1989)を持つことが報告されている。わが国でもスパイスはカレーをはじめとし、様々な形で食卓に登場しており、特に、カレー

** 連絡者

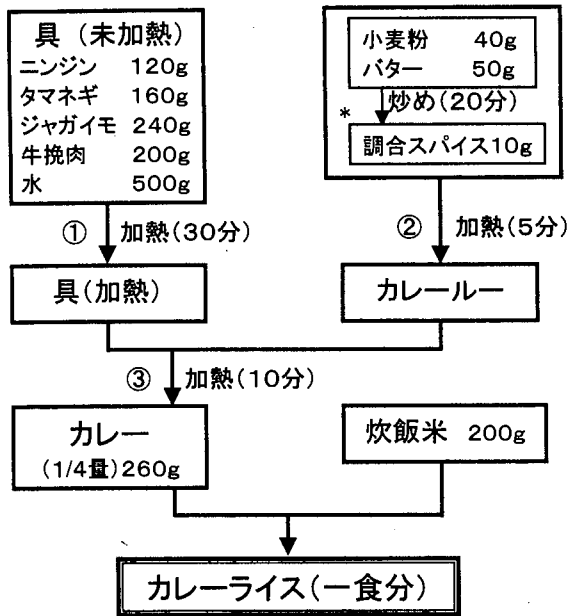


図1. カレーライスの調理レシピの概略

調合スパイスの配合割合は表1に示した。材料の量は4食分で、カレーライス1食分はカレー260g、炊飯米200gである。

ライスは、スパイスを多用したわが国独特の料理で、しかも、世代を超えて広く食されている庶民的な献立の一つである。そこで、本研究では、カレーライスを取り上げ、スパイスおよび野菜・肉などの具からカレーライスにいたるまでの調理過程におけるラジカル捕捉活性の変化を追跡し、調理の各段階におけるラジカル捕捉活性の効力を評価した。

2. 実験材料および方法

(1) 試薬および材料

1,1-ジフェニル-2-ピクリルヒドラジル (DPPH) および2-アミノ-2-ヒドロキシメチル-1,3-プロパンジオール (Tris) は特級試薬をナカライテスク (京都) より購入した。エタノール (特級) および高速液体クロマトグラフ用メタノールは和光純薬工業 (大阪) より購入した。6-ヒドロキシ-2,5,7,8-テトラメチルクロマン-2-カルボン酸 (Trolox) は Aldrich Chemical Co. Inc. (Milwaukee, WI, U.S.A.) より購入した。水として、MILLI-Q Labo (日本ミリポア) により調製した超純水を用いた。スパイスはハウス食品 (株) より供与された、コリアンダー、カルダモン、クミン、フェネグリーク、フェネル、メース、クローブ、シナモン、オールスパイス、ブラックペッパー、ホワイトペッパー、トウガラシ、ジンジャー、マスタード、ター

表1. スパイスの配合

スパイス		配合割合 (%)
香味料	コリアンダー	27
	カルダモン	5
	クミン	8
	フェネグリーク	4
	フェネル	2
	メース	2
	クローブ	2
	シナモン	4
辛味料	オールスパイス	4
	ホワイトペッパー	4
	トウガラシ	4
色調料	ジンジャー	4
	ターメリック	30
合計		100

メリックの15種類を用いた。ニンジン、タマネギ、ジャガイモ、牛挽肉、小麦粉 (薄力粉)、米は、スーパーマーケット (奈良市) から購入した。

(2) 試料の調製

1) カレーライスの調製

図1にカレーライス1食分を調製するためのレシピの概略を示す。カレーライスの調理過程を、調合スパイス、具 (未加熱)、具 (加熱)、カレールー、カレー、カレーライスの6段階に分け、以下のように調製した。調合スパイスは、中程度の辛さのカレーをモデルに、13種類のスパイスを用いて表1に示した配合割合で調製した (浜田 1970)。カレールーは小麦粉40gをバター50gで20分炒め、室温まで冷却後、調合スパイス10gを加え、さらに5分加熱した (暮らしの設計編集部 1994)。具 (未加熱) はニンジン30g、タマネギ40g、ジャガイモ60gを細かく刻み、牛挽肉50gと混合した。具 (加熱後) は具 (未加熱) に水を加え、30分加熱したものである。カレーは加熱後の具にカレールーを加え、さらに10分加熱した。カレーライスは、炊飯米200gとカレー260gを合わせた。

2) 分析用試料の調製

今回、カレーの調製に用いた13種類にブラックペッパーとマスタードを加えた計15種類のスパイスについて、各1.0gを秤量し、80%エタノール10mlを加え30分振盪抽出した後、遠心分離 (27,000×g, 4℃, 20分) し、上清を採取した。その残渣にさら

に80%エタノール10 mlを加えて同様の処理を行い、得られた上清を合わせて80%エタノール抽出液とした。さらに、その残渣に水を加え、上記と同様の処理により2回抽出し、得られた上清を合わせて水抽出液とした。

未加熱の具は、上記の割合の野菜類を細かく刻みよく混和した後、14.4 gを秤量し、80%エタノールを加えて速やかにポリトロンホモジナイザー(Kinematika Polytron Homogenizer PT-MR 2000)で20~30秒磨砕した。粉碎液に牛挽肉5.6 gを加え、スパイスの場合と同様の処理法に従って振盪抽出および遠心分離を行い、80%エタノール抽出液および水抽出液を得た。加熱後の具およびカレー、カレーライスには市販の家庭用フードプロセッサで均一化した。調合スパイス2 g、加熱後の具30 g、カレールー2 g、カレー20 g、カレーライス30 gをそれぞれ秤量し、上記の操作に従って80%エタノール抽出液および水抽出液を調製した。また、バター3 g、小麦粉5 g、炊飯米7 gをそれぞれ秤量し、同様の抽出処理を行った。

(3) ラジカル捕捉活性の測定

ラジカル捕捉活性の測定はDPPH-HPLC法を用いて行った(Yamaguchi *et al.* 1998)。アルミホイルを巻いて遮光した試験管に、100 mm Tris-HCl緩衝液(pH 7.4) 800 μ lと試料抽出液(適宜希釈) 200 μ lを加え、さらに0.5 mm DPPHエタノール溶液1 mlを加えた。温室で20分反応させた後、HPLC分析を行った。100 mm Tris-HCl緩衝液1 mlと0.5 mm DPPH溶液1 mlの反応後を盲検とし、試料抽出液のかわりに0.5 mm Troloxを200 μ l添加した反応液(最終濃度50 μ M)をラジカル捕捉活性の基準とした。HPLC分析は、島津LC-6Aポンプ、SPD-10AV可視紫外検出器、C-R6Aクロマトパックを用いた。カラムはTSK-GEL Octyl-80Ts (4.6 \times 150 mm, 東ソー)を使用した。移動相にはメタノール/水(70:30, v/v)を用い、流速1 ml/分、検出波長517 nm、室温にて分析した。試料の注入は、サンプルループ(20 μ l)を用いて行った。

ラジカル捕捉活性の評価は、DPPHラジカルのクロマトグラムピーク面積より、以下の式に従って算出した。

ラジカル捕捉活性 (μ M Trolox eq)

$$= (A - B) / (A - C) \times 50$$

A: 盲検のピーク面積, B: 試料抽出液を添加した

ときのピーク面積, C: Trolox (最終濃度50 μ M)を添加したときのピーク面積。

さらに、次式に従い、1 gあたりのラジカル捕捉活性をTrolox相当量として算出した。

ラジカル捕捉活性 (μ mol Trolox eq/g)

$$= D \times 2 / 1,000 \times 20 / 0.2 / E \times F$$

D: 試料抽出液のラジカル捕捉活性 (μ M Trolox eq),

E: サンプル量 (g), F: 希釈率。

また、カレーの各調理段階におけるラジカル捕捉活性は1食あたりの活性に換算して表示した。

3. 結果および考察

本研究においては、試料から有効成分を抽出するにあたり、脂溶性成分の抽出のために80%エタノールを、水溶性成分の抽出のために水を用いて行った。両抽出で得た活性の合計量を各試料のラジカル捕捉活性として、以下論議を進めることとする。

(1) スパイスのラジカル捕捉活性

スパイス15種類についてラジカル捕捉活性をスクリーニングした結果を表2に示す。分析したスパイスすべてに活性が認められたが、その活性の強さは種類によって多様であった。活性が最も高いクローブと最も低いホワイトペッパーとでは約160倍の違いが見られた。活性強度の順に、15種類のスパイスを500 μ mol Trolox eq/g以上、500 μ mol未満で50 μ mol以上、50 μ mol未満の3グループに分類すると、クローブ、オールスパイス、シナモンは極めて高い活性を持つグループ、次いでターメリック、メース、ジンジャー、クミン、フェネルのグループで、マスタード、ブラックペッパー、フェネグリーク、トウガラシ、カルダモン、コリアンダー、ホワイトペッパーが最も活性の低いグループであった。比較のため、野菜類(ホウレンソウ、ブロッコリー、ピーマン)の可食部乾燥重量1 gあたりの活性を表2に加えた。スパイスの水分含量は5~8%であった。水分含量を差し引いてスパイス類と野菜類と比較した場合でも、スパイス類のラジカル捕捉活性は野菜類とほぼ同等以上であるといえる。

これまでのスパイスの活性成分に関する研究より、クローブやオールスパイスのオイゲノール、ターメリックのクルクミン、トウガラシのカプサイシンなどに、特に強い抗酸化活性が認められている(藤尾等 1969; Cort 1974; Osawa and Namiki 1985; Farag *et al.* 1989; 中谷 1989; 河智 1992)。本研究においても、

表2. スパイスのラジカル捕捉活性

	ラジカル捕捉活性*		
	80%エタノール抽出液	水抽出液	合計
	($\mu\text{mol Trolox eq/g}$)		
クローブ	1,551 \pm 192	561 \pm 66	2,112 \pm 127
オールスパイス	456 \pm 19	156 \pm 11	612 \pm 19
シナモン	481 \pm 9	85 \pm 4	566 \pm 5
ターメリック	131 \pm 13	7 \pm 1	138 \pm 13
メース	110 \pm 9	5 \pm 4	115 \pm 8
ジンジャー	79 \pm 13	6 \pm 3	85 \pm 13
クミン	58 \pm 9	23 \pm 4	80 \pm 13
フェネル	41 \pm 2	32 \pm 2	73 \pm 1
マスタード	44 \pm 4	5 \pm 1	49 \pm 5
ブラックペッパー	27 \pm 4	16 \pm 1	43 \pm 5
フェネグリーク	9 \pm 1	19 \pm 2	28 \pm 1
トウガラシ	19 \pm 6	7 \pm 5	26 \pm 7
コリアンダー	11 \pm 1	11 \pm 2	21 \pm 3
カルダモン	12 \pm 2	8 \pm 2	20 \pm 3
ホワイトペッパー	12 \pm 0	1 \pm 2	13 \pm 2
	($\mu\text{mol Trolox eq/g}$ 乾燥重量)**		
ハウレンソウ	72 \pm 6	61 \pm 9	133 \pm 15
ブロッコリー	65 \pm 7	12 \pm 1	77 \pm 8
ピーマン	30 \pm 2	34 \pm 5	64 \pm 7

*データは3回の測定の前平均 \pm 標準偏差で示した。 **可食部乾燥重量あたりの活性。

これらの成分を有するスパイスに高いラジカル捕捉活性があることが確認された。また, Chung *et al.* (1997) は2-デオキシリボース酸化法によるOHラジカル捕捉活性を指標に, 多種類のスパイスのラジカル捕捉活性を測定した結果, クローブ, オールスパイス, マスタード類に高い活性があることを報告している。本研究ではマスタードには高い活性は認められなかった。この相違は測定方法の相違によるのかもしれない。また, Chung *et al.* は, スパイスのメタノール抽出液を濃縮し, 一定濃度に溶解して活性を測定しているため, 抽出液中に活性成分以外の物質が少ないと活性が高く, 活性成分以外の物質が多いと活性が低くなったことも考えられる。

(2) カレーの調理過程におけるラジカル捕捉活性の変化

カレーの調理過程で用いられる材料および調理中の各段階におけるラジカル捕捉活性を表3に, 調理過程の各段階における加熱処理に対するラジカル捕捉活性の変化を表4に示す。これらの結果は, 一連の調理操

作を3回繰り返して得た結果の前平均値である。本研究では, 1食あたりを基準に, ラジカル捕捉活性およびその変化量を論議することにする。

1) 加熱調理前の活性

今回用いた調合スパイス(表1)は, 13種類のスパイスからなる中程度の辛さのカレーを意図して調合したものである(浜田 1970)。調合スパイスの1食あたりの使用量は2.5g(10g \times 1/4)である。表1および表2から計算した1食あたりの活性は, 389 $\mu\text{mol Trolox eq}$ であるが, 実際の活性は318 μmol であった(表3)。この調合による活性減少の詳細は明らかでなく, 今後の検討課題としたい。

一方, 材料の活性の大部分は, 具(ニンジン, タマネギ, ジャガイモ, 牛挽肉)と調合スパイスによるもので, 小麦粉, バター, 炊飯米には, 痕跡量程度であった(表3)。加熱前の材料の活性総量に対するスパイスの占める割合は約80%であった。

2) 加熱調理後の活性

加熱操作で顕著な活性の変化が見られたのは, 具の

カレーの調理過程におけるラジカル捕捉活性の変化

表3. カレーライスの各調理過程におけるラジカル捕捉活性

	ラジカル捕捉活性* ($\mu\text{mol Trolox eq/食}$)		
	80%エタノール抽出液	水抽出液	合計
加熱調理前			
具 (未加熱)	63 \pm 28	11 \pm 6	75 \pm 33
調合スパイス	268 \pm 15	50 \pm 2	318 \pm 15
小麦粉	tr	tr	tr
バター	tr	tr	tr
炊飯米	tr	tr	tr
加熱調理後			
具 (加熱後)	183 \pm 31	22 \pm 9	205 \pm 39
カレールー	128 \pm 11	33 \pm 8	162 \pm 17
カレー	279 \pm 48	33 \pm 14	312 \pm 54
カレーライス	309 \pm 56	54 \pm 27	363 \pm 76

tr: 痕跡量. *データは3回の測定の平均 \pm 標準偏差で示した.

表4. ラジカル捕捉活性に対する加熱操作の影響

加熱操作	ラジカル捕捉活性* ($\mu\text{mol Trolox eq/食}$)		変化率**
	加熱前	加熱後	
① 具の加熱	75 \pm 33	205 \pm 39	2.74
② 調合スパイス・小麦粉・バターからのカレールーの調製	318 \pm 15	162 \pm 17	0.51
③ 具 (加熱) とカレールーからのカレーの調製	366 \pm 42	312 \pm 54	0.85

*データは3回の測定の平均 \pm 標準偏差で示した. **変化率=加熱後の活性/加熱前の活性.

加熱 (図1, 過程①) による増加とカレールー調製時の加熱 (図1, 過程②) による減少であった (表4). 特に, 野菜類と牛挽肉では煮る調理操作によって, 活性が約3倍に増加した. Maeda *et al.* (1992) は, 野菜類を煮加熱すると, OHラジカル捕捉活性が著しく増加することを報告している. 彼等は, この原因は煮加熱中に細胞組織が軟化し, 活性成分が抽出しやすくなったことによると説明している. 本研究における, 具の加熱による活性の増加は, Maeda *et al.* が指摘するように野菜類に由来する活性の増加であると考えられる. 一方, 調合スパイス, 小麦粉, およびバターからカレールーを調製する加熱過程で, スパイスに由来する活性が約50%減少した. 5分間の加熱であったが, バター共存下でのフライパン高温加熱 (約150 $^{\circ}\text{C}$) であったために, スパイスの活性成分が何らかの化学変化を受けたことが原因であると考えられる. 山本と宮本 (1990) は, 食用油脂に対するスパイスの抗酸化性は, 加熱により低下することを報告している. 本研

究においても, スパイスの活性が加熱により減少することが認められており, これは, スパイスからカレーライスを調製する過程での最も大きな活性減少であった. スパイスからカレールーを調製する際の加熱による活性減少は, カレーライスの調理過程で最も大きいので, ラジカル捕捉活性の高いカレーライスを調製するためには, カレールーの調理過程に注意が必要である. 目下, 種々のスパイスの持つラジカル捕捉活性の加熱安定性について検討を進めている.

カレーは, 具 (加熱) とカレールーを混ぜてさらに加熱したものである (図1, 過程③). この加熱過程で, 約20%の活性が減少した (表4). このことは, カレーを煮込み過ぎるとラジカル捕捉活性が減少することを示している. なお, 本研究で調製したカレーライスの1食分の活性は, 363 $\mu\text{mol Trolox eq}$ で, これは, トコフェロール141mgの活性に相当する (Yamaguchi *et al.* 1998). また, カレーライスの全ラジカル捕捉活性に対するスパイスの占める割合は, お

よそ45%であった。

4. 要 約

スパイスと野菜・肉類を調理して、カレーライスを作るまでの各過程におけるラジカル捕捉活性の変化をDPPH-HPLC法により解析した。カレーに用いられる15種類のスパイスのスクリーニングを行った結果、すべてにラジカル捕捉活性がみられ、特に、クローブ、オールスパイス、シナモンに高い活性がみられた。野菜類と比較してもその活性は同等以上であった。カレーの調理過程では、野菜・肉を合わせた具では加熱により活性が増加した。一方、調合スパイスでは加熱により活性の減少がみられた。カレーではスパイスだけでなく野菜もその活性に大きく寄与していた。本研究のカレーライス1食分は363 μ mol Trolox eqの活性を有し、カレーライスの全ラジカル捕捉活性に対するスパイスの占める割合は、およそ45%であった。

スパイスを提供していただきました、ハウス食品(株)野村幸弘様に感謝いたします。

引 用 文 献

- Bullerman, L. B., Lieu, F. Y., and Seier, S. A. (1977) Inhibition of Growth and Aflatoxin Production by Cinnamon and Clove Oils. Cinnamic Aldehyde and Eugenol, *J. Food Sci.*, **42**, 1107-1109
- Chipault, J. R., Mizuno, G. R., Hawkins, J. M., and Lundberg, W. O. (1952) The Antioxidant Properties of Natural Spices, *Food Res.*, **17**, 46-55
- Chung, S. K., Osawa, T., and Kawakishi, S. (1997) Hydroxyl Radical-Scavenging Effects of Spices and Scavengers from Brown Mustard (*Brassica nigra*), *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **61**, 118-123
- Cort, W. M. (1974) Hemoglobin Peroxidation Test Screens Antioxidants, *Food Technol.*, **28**, 60-66
- Farag, R. S., Badei, A. Z. M. A., Hewedi, F. M., El-Baroty, G. S. A. (1989) Antioxidant Activity of Some Spice Essential Oils on Linoleic Acid Oxidation in Aqueous Media, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **66**, 792-799
- 藤尾秀治, 日吉 明, 浅利喬泰, 住江金之 (1969) 凍結乾燥食品の油脂の酸化防止法に関する研究 (第3報) 凍結乾燥食品における香辛料と野菜の抗酸化性について, *食工誌*, **16**, 241-246
- 浜田 扶 (1970) カレー食品と香辛料—主としてカレー粉と香辛料について—, *ジャパンフードサイエンス*, **12**, 51-56
- 平原文子, 高居百合子, 岩尾裕之 (1974) 油脂に関する香辛料の抗酸化性について (第1報) 貯蔵および加熱における抗酸化性について, *栄養誌*, **32**, 1-8
- 河智義弘 (1992) 香辛料の生理作用について, *食品と科学*, **11**, 48-58
- 暮らしの設計編集部 (編) (1994) 『カレー自慢』, 中公文庫, 中央公論社, 東京, 24-27
- Maeda, H., Katsuki, T., Akaike, T., and Yasutake, R. (1992) High Correlation between Lipid Peroxide Radical and Tumor-Promoter Effect: Suppression of Tumor Promotion in the Epstein-Barr Virus/B-Lymphocyte System and Scavenging of Alkyl Peroxide Radicals by Various Vegetable Extracts, *Jpn. J. Cancer Res.*, **83**, 923-928
- 中谷延二 (1989) 香辛料の抗酸化性, 抗菌性, 『香辛料成分の食品機能』, 光生館, 東京, 69-96
- Osawa, T., and Namiki, M. (1985) Natural Antioxidants Isolated from *Eucalyptus* Leaf Waxes, *J. Agric. Food Chem.*, **33**, 777-780
- Shelef, L. A., Naglik, O. A., and Bogen, D. W. (1980) Sensitivity of Some Common Food-Borne Bacteria of the Spices Sage, Rosemary, and Allspice, *J. Food Sci.*, **45**, 1042-1044
- Yamaguchi, T., Takamura, H., Matoba, T., and Terao, J. (1998) HPLC Method for Evaluation of the Free Radical-Scavenging Activity of Foods by Using 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **62**, 1201-1204
- 山本由喜子, 宮本悌次郎 (1990) 食品の加熱調理による市販香辛料の抗酸化効果の変化, *調理科学*, **23**, 81-84
- 吉川敏一 (1997) 『フリーラジカルの科学』, 講談社, 東京, 125-198
- 吉川敏一, 内藤裕二 (1997) 成人病 (生活習慣病) の予防, 『フリーラジカルと疾病予防』, 建帛社, 東京, 89-114