

山梨県産果実の総ポリフェノール含量と そのDPPHラジカル消去活性

木村 英生・長沼 孝多・小嶋 匡人・小松 正和・恩田 匠・辻 政雄

Polyphenol Contents and Antioxidative Activity of Fruits Produced in Yamanashi Prefecture

Hideo KIMURA, Kota NAGANUMA, Masato KOJIMA,
Masakazu KOMATSU, Takumi ONDA and Masao TSUJI

要 約

山梨県産のスモモを含む果実10種のポリフェノール含量とDPPHラジカル消去活性について調査したところ、スモモとプルーンが高いポリフェノール含量とDPPHラジカル消去活性を示した。また、スモモ9品種中ではソルダムが最も高いポリフェノール含量とDPPHラジカル消去活性を示した。ソルダムは、フラボノイド含量、アントシアニン含量及びプロアントシアニン含量においても、スモモ9品種中で最も高い数値を示した。

Abstract

The antioxidative activity and polyphenol contents of plum, grape, peach, nectarine, persimmon, prune, nectarin, apple, pear and cherry were investigated, respectively. Plum and prune showed higher antioxidative activity as compared with other fruits. Then, when plums of 9 varieties (sordum, taiyo, kelsecy, redbutte, komanishiki, kiyou, riou, queen rosa, and santa rosa) were examined further, sordum showed highest activity. Moreover, Sordum showed high contents of polyphenol, flavonoid and proanthocyanidin.

1. 緒 言

近年、生活習慣病（高血圧、肥満、高脂血症及び糖尿病）患者やその予備軍は、増加の一途を辿る傾向にある。生活習慣病の発症には、生体内での活性酸素・フリーラジカルの過剰発生が関連しており、ポリフェノール類をはじめとする、抗酸化物質による活性酸素・フリーラジカルの消去が、その予防に有効であるとした報告^{1) 2)}が蓄積しつつある。

一般に、野菜や果実は、アントシアニン、カテキン、クロロゲン酸などのポリフェノール類を多く含むことから、健康食材として再評価されるケースが増えている。そのため、全国的にも地域特産の野菜、果実などを用いて、抗酸化、血圧上昇抑制、抗ガン及び抗アレルギーなどの機能性の探索^{3) 4)}が行われている。

山梨県は、果樹王国として全国に知られ、モモ、ブドウ、スモモは生産量日本一を誇る。また、甲州小梅などの梅の産地でもあり、さらにカキ、リンゴ、ナシなども各地域で生産されている。山梨県の主要な果実のひとつであるスモモは、バラ科サクラ属の植物で、原産地は西アジアのコーカサス地方である。様々な品種が世界中に

広まっており、日本においては、ニホンスモモ（学名：*Prunus salicina*）の各品種が、山梨県のほか和歌山県などで生産されている。欧米や、日本では主に長野県などで栽培されているプルーン（西洋スモモ）については、その抗酸化活性等に関する報告^{5) 6)}があるが、ニホンスモモにおいては、いくつかの品種について一般成分の調査と比較が行われている⁷⁾のみで、抗酸化活性等の機能性評価を実施した例は少なかった。

西洋スモモについては、Kimら^{6) 8)}が、その抗酸化活性とポリフェノール含量及びフラボノイド含量との相関を調べ、それぞれの高い相関が認められることを報告している。さらに各ポリフェノール成分についても調べ、主要なポリフェノールはネオクロロゲン酸としている。また、小嶋ら⁹⁾は、寒冷地（北海道）でも生産可能な品種を対象に、抗酸化活性とポリフェノール含量、ネオクロロゲン酸量、アントシアニン含量及びポリフェノール重合体量との相関を調べ、抗酸化活性とネオクロロゲン酸との相関は低いことを示し、スモモの主要な抗酸化活性成分はポリフェノール重合体と推察している。また、KAYANOら¹⁰⁾も、スモモのプロアントシアニン

やタンニンなどの重合体が抗酸化活性に関係している可能性を示唆している。

そこで、本研究では、山梨県産果実、特に日本スモモの主要品種を対象に、その機能を明らかにするため、DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) ラジカル消去活性を求め、ポリフェノール含量、フラボノイド含量、アントシアニン含量及びプロアントシアニジン含量との相関について調査した。

2. 実験方法

2-1 供試果実

供試果実には、モモ (*Prunus persica*)、ブドウ (*Vitis spp.*)、スモモ (*Prunus salicina*)、ウメ (*Prunus mume*)、西洋ナシ (*Pyrus communis L.*)、プルーン (*Prunus domestica*)、カキ (*Diospyros kaki L.*)、リンゴ (*Malus pumila var. domestica*)、ネクタリン (*Prunus persica var. nucipersica*)、サクランボ (*Prunus avium*) の10種類 (32品種) を用いた。また、スモモについては、ソルダム、太陽、ケルシー、貴陽、こま錦、サンタローザ、クインローザ、レッドビュート及び李王の9品種を用いた。これらの果実には、いずれも山梨県内で平成16、17年度に収穫された、適熟のものを使用した。

2-2 分析試料液の調製

供試果実 (果皮及び果肉) 数個を細断して、ホモジナイズした後、20gを採取し、破碎後の終濃度が80%となるよう99.5%エタノールを加え、15分間加熱還流抽出した。冷却後ホモジナイザーで破碎し、濾紙 (ADVANTEC No.2, TOYO ADVANTEC 社製) で濾過した。残渣を回収し、80%エタノールを加えて同様に加熱還流を行い、濾紙 (ADVANTEC No.2) で濾過した。濾液はすべて合わせて45℃で減圧濃縮を行い、蒸留水で50mlに定容した。この液を濾紙 (ADVANTEC No.5C, TOYO ADVANTEC 社製) で濾過したものを分析試料とした。

2-3 ポリフェノール含量の測定

ポリフェノール含量は、既報¹¹⁾に準拠してフォーリン・チオカルト試薬を用いて定量した。すなわち、分析試料0.1mlに蒸留水0.9mlを加え、10倍に希釈した後、蒸留水で2倍希釈したフォーリン・チオカルト試薬1mlを加えて攪拌した。3分後、0.4mol/l炭酸ナトリウム水溶液5mlを加え攪拌した後、試験管を50℃で5分間保持した。試験管を1時間水冷後、分光光度計で765nmの吸光度を測定した。

このとき、没食子酸水溶液により検量線を作成し、ポリフェノール含量を没食子酸相当量 (mg/100g) で算出した。

2-4 DPPHラジカル消去活性の測定

DPPHラジカル消去活性の測定は、須田らの方法¹²⁾に従った。はじめに、(a) 分析試料とエタノールの混液 (1:4) と、(b) 0.4mmol/l DPPHエタノール溶液、200mmol/l MES (2-morpholinoethanesulphonic acid) buffer (pH6.0) 及び20%エタノールの混液 (1:1:1) を調製した。1試料につき、6本の試験管を使用し、1本毎に0.9mlずつ (b) の混液を分注した。次に各試験管に80%エタノールで濃度を6段階に調整した (a) 液をそれぞれ加えて反応させた。この反応液について、(a) 液を加えてから20分後の520nm吸光度を分光光度計で測定した。

このとき、Troloxを標準試薬として用い、抗酸化物質量をTrolox相当量 (μ mol/100g) で算出した。

2-5 フラボノイド含量の測定

フラボノイド含量測定はDac-Ok Kimら⁶⁾の方法に従って行った。すなわち、分析試料1mlに対し蒸留水4mlを加えて希釈し、5%亜硝酸ナトリウム溶液0.3mlを加えて5分後、10%塩化アルミニウム溶液0.3mlを加えた。さらに1分後1mol/l水酸化ナトリウムを2ml加え、蒸留水で全量を10mlとし、510nmの吸光度を測定した。

このとき、(+)-カテキン溶液で検量線を作成し、総フラボノイド量は (+)-カテキン相当量 (mg/100g) で算出した。

2-6 アントシアニン含量の測定

アントシアニン含量測定は須田ら⁴⁾の方法に従って行った。すなわち、分析試料2.5ml (果実重量1g相当) を凍結乾燥させ、1%トリフルオロ酢酸水溶液5mlを加えて16時間室温で放置した。これを遠心分離 (3000rpm, 10分間, 室温) した後、上清を回収して1%トリフルオロ酢酸水溶液で全量を10mlとし、530nmの吸光度を測定した。

このとき、シアニジン-3-グルコシドを標準試薬として検量線を作成し、アントシアニン含量はシアニジン-3-グルコシド相当量 (mg/100g) で算出した。

2-7 プロアントシアニジン含量の測定

プロアントシアニジン含量の測定はKAYANOらの方法¹⁰⁾に従った。すなわち、分析試料2.5ml (果実重量1g相当) を凍結乾燥し、0.07%硫酸鉄 (II) 溶液20mlに溶解させ、反応試料とした。反応試料5mlを95℃で1時間保持し、0.6N塩酸/n-ブタノールで5倍希釈したものを測定試料として550nmの吸光度を測定した。

このとき、デルフィニジンの0.6N塩酸/n-ブタノール溶液により検量線を作成し、プロアントシアニジン含量をデルフィニジン相当量 (mg/100g) で算出した。

3. 結果と考察

3-1 供試果実のDPPHラジカル消去活性及びポリフェノール含量

山梨県内で生産されているスモモ9品種及び主要な果実9種(合計32品種)について、そのDPPHラジカル消去活性及びポリフェノール含量を調べた結果を表1に示した。

DPPHラジカル消去活性は、スモモ(ソルダム)が最も高く、1777 μ mol/100gであった。続いてブルー(ハニーブルー)及びブドウ(甲州)がそれぞれ1588及び1100 μ mol/100gを示した。一方、ポリフェノール含量は、スモモ(ソルダム)、ブルー(ハニーブルー)において246mg/100g、189mg/100gと高く、続いてブドウ(甲州)が160mg/100gと高い値を示した。スモモでは、ソルダム以外に太陽及びケルシーなどが高いポリフェノール含量とDPPHラジカル消去活性を示した。

このように、供試果実中ではソルダム(スモモ)が最

も高いポリフェノール含量とDPPHラジカル消去活性を示すことが明らかになった。また、スモモについて高い数値を示したのは、ブルー(西洋スモモ)であり、太陽及びケルシー(スモモ)なども、供試果実中でスモモ、カキ、リンゴなどと比較して上位を占めていることから、スモモ類が豊富なポリフェノール含量と高い抗酸化活性を示すことが示唆された。

3-2 スモモの抗酸化活性を示す成分の検討

スモモにおけるDPPHラジカル消去活性を示す原因物質を推察するため、ポリフェノール含量に加えて、フラボノイド含量、アントシアニン含量及びプロアントシアニジン含量を測定した。この結果を表2に示した。また、ポリフェノール含量、フラボノイド含量、アントシアニン含量及びプロアントシアニジン含量とDPPHラジカル消去活性との相関について図1～4に示した。

表1に示したとおり、スモモ9品種中、ソルダムは

表1 供試果実のポリフェノール含量及びDPPHラジカル消去活性

果実(品種)	DPPHラジカル消去活性 (μ mol Trolox/100g)	ポリフェノール含量 (mg-没食子酸相当量/100g)
スモモ(ソルダム)	1777	246
スモモ(太陽)	823	133
スモモ(ケルシー)	717	136
スモモ(こま錦)	701	117
スモモ(レッドビュート)	664	117
スモモ(貴陽)	504	104
スモモ(クインローザ)	426	65
スモモ(李王)	384	62
スモモ(サンタローザ)	314	55
ブドウ(甲州)	1100	160
ブドウ(レッドクイーン)	959	140
ブドウ(ピオーネ)	801	120
ブドウ(巨峰)	644	100
ブドウ(ベリーA)	469	89
ブドウ(デラウエア)	466	66
ブドウ(ネオマスカット)	375	45
ブドウ(甲斐路)	227	34
ブドウ(ロザリオ)	151	25
モモ(あかつき)	312	53
モモ(金桃)	220	29
モモ(加納岩白桃)	206	20
ブルー(ハニーブルー)	1588	189
ブルー(セネカ)	367	73
ブルー(スタンレイ)	305	54
リンゴ(ふじ)	270	29
カキ(富有)	238	31
カキ(次郎)	228	28
西洋ナシ(ラ・フランス)	225	37
サクランボ(高砂)	193	41
ウメ(豊後)	172	22
ウメ(甲州小梅)	90	9
ネクタリン(秀峰)	164	26

表2 スモモのフラボノイド含量及びプロアントシアニン含量

品種	フラボノイド含量 (mg-カテキン相当量/100g)	アントシアニン含量 (mg-シアニン-3-グルコシド相当量/100g)	プロアントシアニン含量 (mg-デルフィニジン相当量/100g)
ソルダム	216	4.3	35
太陽	92	2.5	13
ケルシー	85	0.02	22
こま錦	68	0.01	13
レッドビュート	80	3.3	19
貴陽	54	1.5	10
クイーンローザ	31	1.1	5
李王	41	0.1	11
サンタローザ	24	1.0	2

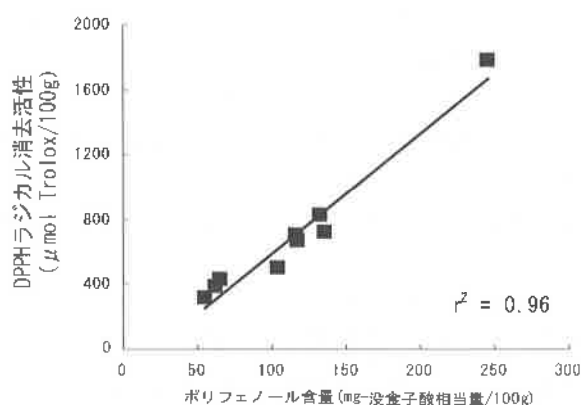


図1 スモモのポリフェノール含量とDPPHラジカル消去活性

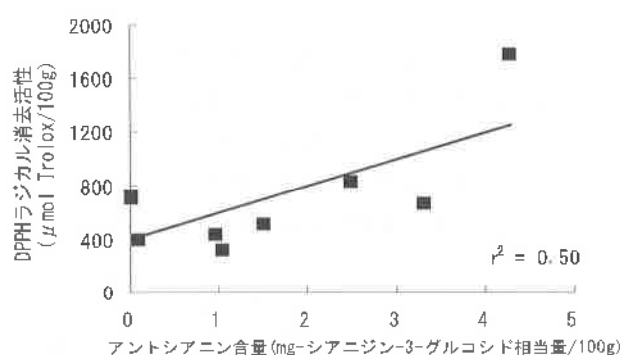


図3 スモモのアントシアニン含量とDPPHラジカル消去活性

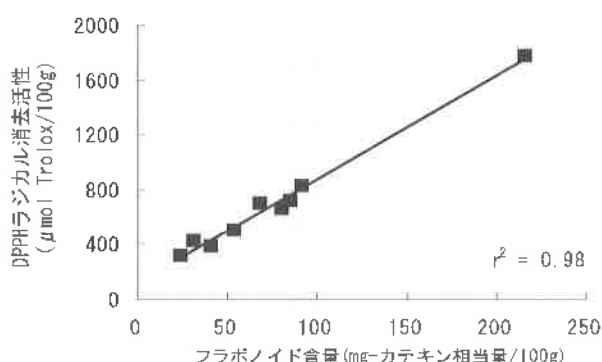


図2 スモモのフラボノイド含量とDPPHラジカル消去活性

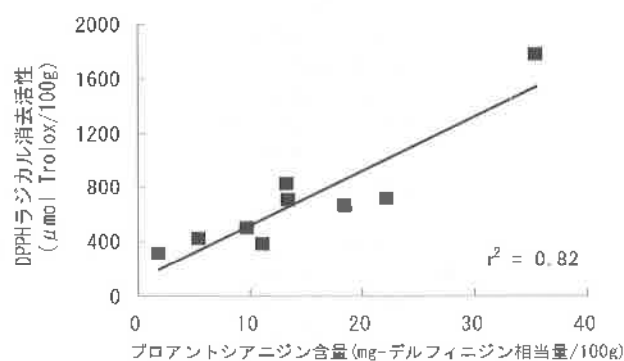


図4 スモモのプロアントシアニン含量とDPPHラジカル消去活性

最も高いポリフェノール含量を示し、フラボノイド含量、アントシアニン含量及びプロアントシアニン含量においても、それぞれ216、4.3及び35mg/100gと最も高い数値を示した。ソルダム以外では、太陽、ケルシー及びレッドビュートなどが高い数値を示した。

スモモのDPPHラジカル消去活性とポリフェノール含量との相関については、図1に示したように、高い相関 ($r^2=0.96$) が認められ、ポリフェノールが活性の原因物質であることが推察された。

次に、スモモのポリフェノール組成についてさらに検討するため、分析試料中のフラボノイド含量を測定した。フラボノイド含量とDPPHラジカル消去活性との間には高い相関 ($r^2=0.98$) が認められ (図2)、ポ

リフェノール含量とDPPHラジカル消去活性との相関 ($r^2=0.96$) と同等以上に高く、スモモ中の抗酸化性物質はフラボノイドと考えられた。

また、試料中のアントシアニン含量とDPPHラジカル消去活性の間には相関がほとんど認められなかった (図3, $r^2=0.50$) が、ソルダムや太陽など抽出液が淡赤色から濃赤色となる品種のみでは、この相関が比較的高くなり ($r^2=0.78$)、スモモの抗酸化活性にアントシアニン含量が一定の影響を与えている可能性が示唆された。

小嶋ら⁹⁾の報告では、スモモ中にはクロロゲン酸等のポリフェノールが豊富に含まれているが、その抗酸化活性はプロアントシアニン等のポリフェノール重合体に強く関係している可能性を推察している。今回の試料においても、ポリフェノール重合体が抗酸化活性の主要な

原因成分である可能性があることから、試料中のプロアントシアニジン含量についても測定を試みた。

スモモのプロアントシアニジン含量とDPPHラジカル消去活性との間には、図4に示したように相関性 ($r^2=0.82$) が認められた。ポリフェノール含量及びフラボノイド含量との相関と比較すると低い値であるが、アントシアニン含量との相関よりは十分に高い値であり、小嶋らが示したポリフェノール重合体との相関 ($r^2=0.85$) とほぼ同等であることから、日本スモモにおいても、プロアントシアニジンなどの重合体が、抗酸化活性へ強く寄与している可能性が示唆された。スモモ中に含まれる、抗酸化活性の主要な原因成分については、今後さらに検討を進めたい。

これまで、ニホンスモモのポリフェノール含量や抗酸化活性について調べた例は、大石早生¹³⁾、ソルダム¹³⁾などについてあるのみであり、本研究のように品種別に調べて比較した例は、寒冷地(北海道)でも生産可能な品種について調査した小嶋ら⁹⁾の報告があるのみであった。本研究により、スモモ果実の主要な品種についてのポリフェノール含量及びDPPHラジカル消去活性を明らかにすることができた。またソルダム、太陽及びケルシーなどの品種は、他の果実と比較して、ポリフェノールを豊富に含み、果実の中でも抗酸化活性が高いことが示唆された。

4. 結 言

山梨県産のスモモ9品種及び果実10種のポリフェノール含量とDPPHラジカル消去活性について調査したところ、スモモが高いポリフェノール含量とDPPHラジカル消去活性を示すことが明らかになった。スモモ中ではソルダムが最も高いポリフェノール含量とDPPHラジカル消去活性を示した。

ソルダムは、フラボノイド含量、アントシアニン含量及びプロアントシアニジン含量においても、スモモ9品種中で最も高い数値を示した。

本研究により、スモモ果実がポリフェノールを豊富に含み、果実の中でも比較的高い抗酸化活性を示すことが明らかになった。

参考文献

- 1) 石見佳子：植物ポリフェノールの機能性と安全性、食品と開発、35, p.5-7 (2000)
- 2) 吉川敏一：抗酸化サプリメントの現状と展望、アンチエイジング医学、1, p.17-22 (2005)
- 3) 津志田藤二郎、鈴木雅博、黒木柁吉：各種野菜類の抗酸化性の評価及び数種の抗酸化成分の同定、食科工、41, p.611-618 (1994)

- 4) 須田郁夫、沖智之、西場洋一、増田良美、小林美緒、永井沙樹、比屋根理恵、宮重俊一：沖縄県産果実類・野菜類のポリフェノール含量とラジカル消去活性、食科工、52, p.462-471 (2005)
- 5) 深井洋一、松澤恒友：プルーンの成分特性と抗酸化能、食科工、47, p.97-104 (2000)
- 6) Dae-Ok Kim, Ock Kyoung Chun, Young Jun Kim, Quantification of Polyphenolics and their Antioxidant Capacity in Fresh Plums, *J. Agric Food Chem*, 51, p.6509-6515 (2003)
- 7) 小宮山美弘、原川守、小沢俊治：成熟に伴うスモモ果実の理化学組成の変化、食科工、26, p.305-310 (1979)
- 8) Ock Kyoung, Dae-Ok Kim, Hae Yeon Moon, Contribution of Individual Polyphenolics to Total Antioxidant Capacity of Plums, *J. Agric Food Chem*, 51, p.7240-7245 (2003)
- 9) 小嶋道之、宮下淳一、前田龍一郎、稲川裕、村松裕司：プラム中の抗酸化活性を有する機能性成分、食科工、52, p.507-511 (2005)
- 10) Kayano, S., Fukutsuka N., Suzuki T., Quantitative Evaluation of Antioxidant Components in Prunes, *J. Agric Food Chem*, 51, p.1480-1485 (2003)
- 11) 辻政雄、木村英生：山梨県工業技術センター研究報告、15, p.34-39 (2000)
- 12) 篠原和毅、鈴木建夫、上野川修一編著：食品機能研究法、光琳、p.218 (2000)
- 13) 木村俊之、山岸賢治、鈴木雅博、新木洋士：農産物のラジカル消去能の検索、食科工、49, p.257-266 (2002)