

プラムとブルーベリーに含まれるポリフェノール量と

抗酸化性との相関

宮下淳一¹・小嶋道之¹

(受理：2005年4月28日)

The correlation between polyphenol quantity and antioxidative property which are included in the plum and the blueberry.

Jyunichi Miyasita¹, Michiyuki Kojima¹

摘 要

プラム 6 品種 (アーリーリバー, ローブドサージェン, オパール, チェーアン, サンタス, パープルアイ) とブルーベリー 9 品種 (ランコカス, ウエイマウス, ノースランド, ジューン, パトリオット, ブルーレイ, ハーバート, バークレイ, ダロー) を 5% 酢酸メタノールで抽出し, 機能性成分 (総ポリフェノール, 総アントシアニン) と抗酸化活性を比較した。プラムではローブドサージェン, チェーアン, サンタスの 3 品種が, ブルーベリーではノースランド品種が高いポリフェノール量を示した。両果実の抽出液ともに, 総ポリフェノール量と抗酸化活性との間には顕著な正の相関関係が認められた。HPLC 分析の結果, ブルーベリーの主要なポリフェノールはアントシアニンで, ブルーンのそれはネオクロロゲン酸であった。ポリフェノールとアントシアニンの相関図を用いることで, 両果実の品種を詳細に区別することができることを提案する。

キーワード：抗酸化活性, ポリフェノール, アントシアニン, プラム, ブルーベリー

緒 言

プラムはバラ科サクラ属スモモ亜族に属し, 約 30 種あり, アジア東部に分布するニホンスモモ, アジア西部からヨーロッパにかけて分布するヨーロッパスモモ, 北アメリカに分布するアメリカスモモの 3 種が代表的なものである。また, ブルーンはヨーロッパスモモの中で乾果に適するグループの総称である。近年, プラムの機能性はポリフェノールの作用によることが示されており, 機能性の高い果実であることが報告されている¹⁻³⁾。

北海道にはオオバスノキ, ナツハゼ, コケモモなど野生のベリー類も自生しているが, ブルーベリーはアメリカ原産で, ツツジ科スノキ属の落葉低木であり, 昭和の中頃に日本に導入された。近年, ブルーベリー果実が目によい作用をするアントシアニンを含み, 機能性が高いことが報告されている⁴⁻⁸⁾。本研究では, 北海道産のプラム 6 品種, ブルーベリー 9 品種を使用して, 果実の特性および抗酸化活性を検討することで機能性パラメーターの違いから品種を区別する簡便な評価法を示すことを目的とした。

¹ 帯広畜産大学畜産科学科食料生産科学講座

¹ Laboratory of Food Nutritional Science, Department of Food Production Science, School of Agriculture, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, (Hokkaido, 080-8555,) Japan

実験方法

1. 実験材料

小果樹であるブルーベリー9品種とプラム6品種は、長沼町にある北海道立中央農業試験場で栽培したものを摘果して、直ちに冷蔵保存で輸送した。ブルーベリーは、ランコカス、ウェイマウス、ノースランド、ジューン、パトリオット、ブルーレイ、ハーバート、ダロー、バークレイの9品種、プラムは、アーリーリバー、オパール、チェーアン、ロードサージェン、サンタス、パープルアイの6品種を用いた。

2. 抽出液の調製⁹⁾

ブルーベリーは、重量及び長さを測定して平均重量に近いものから約70gを量り取り、ミキサーでホモジナイズした。ピューレー試料12.5gは直ちに5%ギ酸メタノールを加えて抽出液を調製した。また、プラムは、平均重量に近いものから約150g(もしくは4個体以上)を選択して、細切した試料25gに5%ギ酸メタノールを加えてホモジナイズして抽出液を調製した。残渣は同様の操作を3回以上繰り返し、最終的な溶液量を250ml(褐色メスフラスコに回収)とした。これらは機能性評価のための試料として用いた。

3. 機能性パラメーターの測定

(1) 総ポリフェノール量の測定¹⁰⁾

総ポリフェノール量の測定は、ホーリン・デニス常法に従い測定した。没食子酸相当量に換算して、100gおよび1個体当りの量として算出した。

(2) 総アントシアニン量の測定⁸⁾

総アントシアニン量の測定には、pH-differential法に従い測定した。総アントシアニン量は、シアニジン3-グルコシド量に換算して、100gおよび1個体当りの量として算出した。

(3) 抗酸化活性の測定¹¹⁾

抗酸化活性はDPPHラジカル消去法で測定した。すなわち、試料0.2mlを試験管に取り、1.8mlの蒸留水と2mlのDPPH反応液を加えて混合後、暗所15分後にトロロックス換算量として求めた。

4. ポリフェノール組成のHPLC分析

試料0.1mlは窒素乾固して、0.8mlの蒸留水に再溶解した。溶解液は0.45 μ mフィルターを通してHPLC用の試料とした。ろ液20 μ lはPhenomenex C18(4.6mm \times 250mm)カラムを連結したHPLCに供した。カラム温度は40 $^{\circ}$ C、溶出溶媒は0.1%トリフルオロ酢酸を含む蒸留水(溶離液A)と0.1%トリフルオロ酢酸を含むアセトニトリル(溶離液B)を用いて、溶離液Bが8%から30%まで30分間で上昇するグラジエント条件(流速1ml/min)で行った。検出器は島津SPD-10ADvpを用い、アントシアニンの定量は市販化合物を内部標準としてピーク面積の値から算出した。

結果及び考察

1. 果実重量とアントシアニン、ポリフェノール量との関係

1個当たりのブルーベリーの重さは、1.44~2.25gの範囲であり、プラムのそれは22.7~96.9gで、両果実の重量差は10倍~50倍であった(Table 1)。ブルーベリー品種の中で、アントシアニンとポリフェノール含量が高いのは、ハーバード、ノースランド品種であった。また、パトリオットとブルーレイは中粒種であるが、アントシアニンやポリフェノール量が低かった。ブルーベリー9品種のアントシアニンと重量およびポリフェノール量と重量との相関関係はほとんど認められなかった($R^2=0.55$, $R^2=0.42$)。プラム品種の中では、ロードサージェンとオパールの重量(サイズ)は似ていたが、前

Table 1 ブルーベリーとプラムの重量、アントシアニン、ポリフェノール、抗酸化活性の特徴

	品種名	重量 (g/個)	アントシアニン (mg/個)	ポリフェノール (mg/個)	抗酸化活性 (μ mol/個)	抗酸化活性 (μ mol/g)
ブルーベリー	1 ランコッカス	1.44±0.1	2.6±0.10	5.2±0.08	32.0±1.4	22.2±1.0
	2 ウエイマウス	1.46±0.1	2.3±0.04	4.8±0.11	30.2±0.6	20.7±0.4
	3 ノースランド	1.46±0.1	2.8±0.04	6.2±0.13	36.1±0.3	24.7±0.2
	4 ジューン	1.47±0.1	2.5±0.08	5.2±0.15	31.5±1.3	21.4±0.9
	5 パトリオット	1.52±0.1	1.9±0.03	4.3±0.05	27.2±0.6	17.9±0.4
	6 ブルーレイ	1.81±0.2	1.6±0.08	4.3±0.24	28.6±0.7	15.8±0.4
	7 ハーバート	1.98±0.1	2.7±0.03	6.4±0.27	39.0±0.8	19.7±0.4
	8 バークレイ	2.25±0.1	2.4±0.03	5.9±0.15	36.7±1.4	16.3±0.6
	9 ダロー	2.25±0.1	2.4±0.16	6.2±0.13	38.3±1.1	17.0±0.5
プラム	1 アーリーリパー	22.7±2.0	4.1±0.4	27.7±1.6	197.5±6.8	8.7±0.3
	2 ロープドサージェン	31.8±2.1	0.8±0.6	78.3±11.6	483.4±44.5	15.2±1.4
	3 オパール	34.6±3.2	<0.1	58.5±7.5	359.8±55.8	10.4±1.7
	4 チェーアン	46.1±6.5	2.7±2.3	102.9±10.5	663.8±69.2	14.4±1.5
	5 サンタス	55.3±4.7	7.0±1.3	119.0±9.6	757.6±83.0	13.7±1.5
	6 パープルアイ	96.9±5.5	0.4±0.7	143.9±23.3	862.4±67.8	8.9±0.7

者のアントシアニン量とポリフェノール量は後者のそれよりも顕著に多かった。プラム 6 品種の果実重量差は 3 倍以上あり、ポリフェノール量は重量にほぼ比例して増加することが示されたが、アントシアニン量と重量との関連はまったく認められなかった。これらの結果は、両果実のアントシアニンやポリフェノール量は重量に関係のないことを示している。

アントシアニンやポリフェノールの果実内での分布状態は、表面に局在している場合と全体に分散している場合の主に 2 つの可能性が考えられる^{1,3,5)}。多くの場合、ポリフェノール類は外敵から身を守るために果皮部分に局在していることが多い。しかし、果肉部分にもポリフェノールが含まれていて、大きな果実ほど果皮と果肉の割合が小さくなる。また、大きい果実では、果皮を取

り除いて食べる場合もあり、果肉に含まれるポリフェノール量も重要と考えられる。

2. ポリフェノールと抗酸化活性の関係

ブルーベリー9 品種およびプラム 6 品種の果実抽出液に含まれるポリフェノール量およびその抗酸化活性を比較したところ、顕著に高い相関関係が認められた(相関係数 $R^2=0.99$, Fig. 1)。この結果は、ブルーベリーおよびプラム果実の品種に関係なく、ポリフェノール量と抗酸化活性との間に正の相関関係があることを示している。すなわち、ブルーベリーとプラムの抗酸化活性の能力を知る指標として、果実抽出液に含まれるポリフェノール量を利用できることが示唆された。

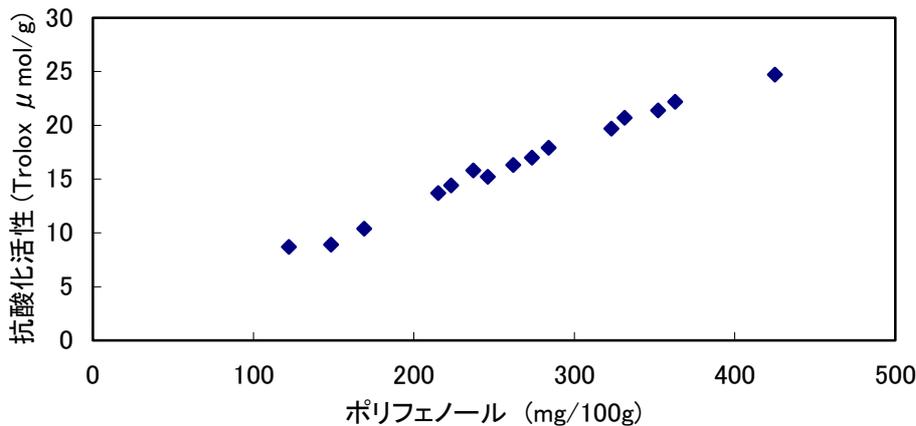


Fig 1. ポリフェノールと抗酸化活性との相関関係

3. アントシアニンと抗酸化活性の関係

ブルーベリーおよびプラム果実に含まれるポリフェノール類は、アントシアニン類やクロロゲン酸類である^{1,4)}。アントシアニン量と抗酸化活性との関連を検討したところ、ブルーベリーにはアントシアニン量が多いのに対し、プラムのアントシアニン量は品種によって顕著に異なっていた (Table 1)。ブルーベリー品種では、ブルーレイやパトリオットのアントシアニン量が他の品種(1個当たり 2.3~2.7mg)に比較して低い値であった。また、プラム品種の中では、サンタスのアントシアニン量は顕著に高かったが、オパール、パープルアイ、ローブドサージェンのそれはごくわずかであった。すなわち、ブルーベリーのアントシアニン量と抗酸化活性との間には相関関係が認められたが、プラムのそれにはまったく関係が認められなかった。これらの結果は、プラムのアントシアニン量は、抗酸化活性に関係しない因子と考えてよいことを示している。ただし、アントシアニン類は表皮色に影響するものであるので、外観としての評価には必要であると考えられる。

4. ブルーベリーとプラムに含まれるポリフェノール組成の比較

ブルーベリーとプラムの組成を比較検討したところ、アントシアニン組成は両果実で顕著に異なっていた³⁻⁵⁾。すなわち、ブルーベリーのアントシアニンは 16 種類が認められたのに対し、プラムのそれはシアニジンとペオニジン配糖体の 2-4 種類のみに限られていた (Table 2)。また、ブルーベリーの主要なアントシアニンは赤紫色を呈するマルビジン配糖体であったが、プラムのそれは赤色を呈するシアニジン配糖体であった。両果実のクロロゲン酸類の組成も異なっていて、ブルーベリーではクロロゲン酸、プラムではネオクロロゲン酸が主要であった。それらの構造の違いは、カフェ酸とコーヒー酸との結合様式が異なる異性体である。ポリフェノール量が最も多い品種と少ない品種の組成を両果実で比較したところ、ブルーベリーではクロロゲン酸の量に顕著な差が認められ、プラムではネオクロロゲン酸とシアニジン配糖体の量に差が認められた (Table 2)。

Table 2 ブルーベリーとプラム品種に含まれるポリフェノール組成及び含量の比較

ポリフェノール	ブルーベリー				プラム			
	ハーバート		ブルーレイ		パープルアイ		アーリーリバー	
	mg/10個	(%)	mg/10個	(%)	mg/個	(%)	mg/個	(%)
ネオクロロゲン酸	-		-		60.4	61.6	12.8	48.7
クロロゲン酸	7.7	19.3	9.5	31.6	7.0	7.1	1.8	6.7
クリプトクロロゲン酸	-		-		10.2	10.4	2.9	10.9
ρ -クマル酸	-		-		9.5	9.7	<0.1	<0.1
ルチン	-		-		9.7	9.8	1.9	7.1
未同定 1	0.9	2.3	0.9	2.9	-		-	
未同定 2	2.2	5.6	1.6	5.4	-		-	
未同定 3	1.1	2.8	1.1	3.6	-		-	
シアニジン 3-ガラクトシド	0.2	0.5	0.3	0.9	-		-	
シアニジン 3-グルコシド	0.2	0.5	0.1	0.3	0.2	0.2	1.8	6.8
シアニジン 3-ルチノシド	-		-		1.1	1.1	4.1	15.7
マルビジン 3-ガラクトシド	7.4	18.7	5.2	17.3	-		-	
マルビジン 3-グルコシド	3.8	9.6	2.4	8.0	-		-	
マルビジン 3-アラビノシド	4.5	11.2	4.0	13.3	-		-	
マルビジン 3-アセチルガラクトシ	0.2	0.5	<0.1	<0.1	-		-	
マルビジン 3-アセチルグルコシド	1.1	2.8	0.7	2.3	-		-	
デルフィニジン 3-ガラクトシド	2.5	6.4	0.9	2.9	-		-	
デルフィニジン 3-グルコシド	1.0	2.5	0.3	1.0	-		-	
デルフィニジン 3-アラビノシド	1.3	3.4	0.6	1.8	-		-	
ペオニジン 3-ガラクトシド	1.1	2.7	0.5	1.5	-		-	
ペオニジン 3-グルコシド	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	-		<0.1	
ペオニジン 3-ルチノシド	-		-		-		1.0	3.8
ペチュニジン 3-ガラクトシド	2.3	5.8	1.0	3.4	-		-	
ペチュニジン 3-グルコシド	1.5	3.8	0.7	2.4	-		-	
ペチュニジン 3-アラビノシド	<0.1	<0.1	0.2	0.5	-		-	
ペチュニジン 3-アセチルグルコシ	0.7	1.6	0.3	1.2	-		-	
合計	39.8		30.1		98.0		26.3	

5. ポリフェノールとアントシアニンとの相関図による品種の評価法

両果実の機能性のみを考える場合には、ポリフェノール量を指標にすると良いことが示された (Fig. 1)。しかし、ブルーベリーのポリフェノール量とアントシアニン量とは、重量当たりでも、個体当たりでも高い相関関係を示し、詳細な品種情報：色 (アントシアニン) と機能性 (ポリフェノール) を2次元パラメーターとして示すことで品種の特徴を顕著に示すことができる (Figs. 2, 3)。さらに重量順 (小さい側から) に番号で示すことで、大きさのパラメーターも知ることができる。

プラムのポリフェノール量とアントシアニン量との相関関係は全くみられなかった (Figs. 2, 3)。すなわち、プラムに含まれるポリフェノールの大部分はネオクロロゲン酸であり、アントシアニン量は顕著に低く、かつ品種により異なっていた (Table 1)。このことから、プラムの抗酸化活性を考える場合の因子としては、アントシアニンを考えなくてもよいといえる。しかし、アントシアニンは果実表皮色 (赤紫色) に影響を与える重要な成分であり、チェーアンは全体に赤紫色をしているのに対して、パープルアイのそれは緑色のところどころに淡赤色を示す程度で、両品種の外観が顕著に異なっていた。どの品種を選択して利用するかは目的によって違っ

ている。例えば、プラムの大粒品種の中で機能性の高いのは、個体あたりではパープルアイであるが、100g 当りではチェーアンやサンタスであった。また、種皮色が赤くて機能性が高い品種はサンタスであった。これらを考慮して、プラムにおいてもポリフェノール (機能性) とアントシアニン (色) の相関図で示すことで品種を区別化することができる (Figs. 2, 3)。ただし、プラムのアントシアニン量に関しては果実の外観からも評価しやすい。これらのデータは、加工に使用する場合としては100g 当りのポリフェノール量とアントシアニン量との関係図を用い、青果として果実を利用する場合としては1個当りのポリフェノール量とアントシアニン量との関係図を用いることにより、果実の用途別利用を考えて図を選択できると考えられるので、個体当たりと100g 当りの図を選択して使うことも必要となろう (Figs. 2, 3)。これらの成果は、果実の利用を考えた栽培品種の選定が可能となる基礎データと考えている。

謝辞：この研究に関する予備実験をしていただいた小川順子さんに感謝します。この研究は北海道重点領域特別研究事業および帯広畜産大学 21 世紀 COE プログラム研究の一環で行われた。

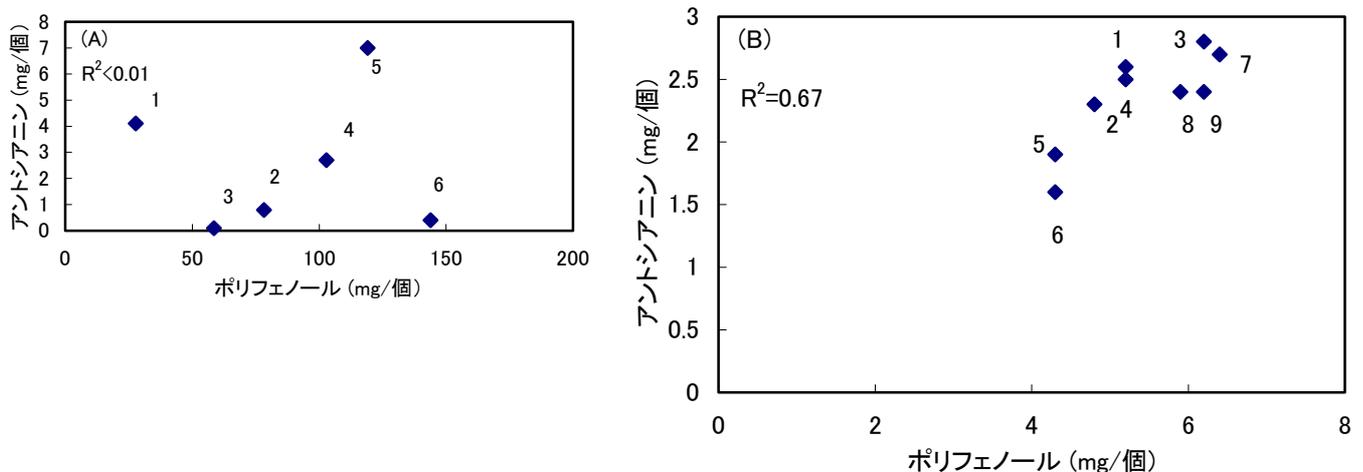


Fig. 2 プラムとブルーベリー1個当りに含まれるポリフェノール量とアントシアニン量による相関図
(A) プラム 1; アーリーリバー, 2; ローブドサージェン, 3; オパール, 4; チェーアン, 5; サンタス, 6; パープルアイ
(B) ブルーベリー 1; ランコッカス, 2; ウエイマウス, 3; ノーランド, 4; ジューン, 5; パトリオット, 6; ブルーレイ, 7; ハーバート, 8; パークレイ, 9; ダロー

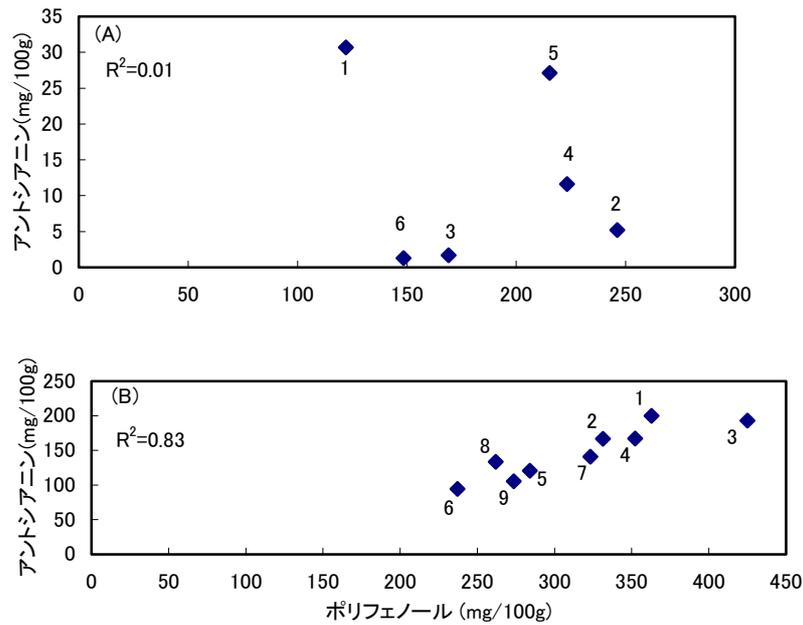


Fig. 3 プラムとブルーベリー100g当りに含まれるポリフェノール量とアントシアニン量による相関図

- (A) プラム 1; アーリーリバー, 2; ロードサージェン, 3; オパール, 4; チェーアン, 5; サンタス, 6; パールアイ
 (B) ブルーベリー 1; ランコッカス, 2; ウェイマウス, 3; ノースランド, 4; ジューン, 5; パトリオット, 6; ブルーレイ, 7; ハーバート, 8; パークレイ, 9; ダロー

引用文献

- Kim, D.O., Jeoug, S.W. and Lee, C.Y., Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivar of plums. *Food Chemistry*, 81, 321-326 (2003).
- Chopra, R.N., Nayer, S.C. and Chopra, I.C., Glossary of Indian Medical Plants; C.S.I.R. New Delhi, India, 205 (1956).
- Chun, O.K., Kim, D.O., Moon, H.Y., Kang, H. and Lee, C.Y., Contribution of Individual Polyphenolics to Total Antioxidant Capacity of Plums. *J. Agric. Food Chem*, 51, 7240-7245 (2003).
- Kalt, W., Ryan, D.A., Duy, J.C., Prior, R.L., Ehlenfeldt, M.K. and Vander, K.S.P. Interspecific Variation in Anthocyanins, Phenolics, and Antioxydant Capacity among Genotypes of Highbush and Lowbush Blueberries (*Vaccinium* Section *cyanococcus* spp). *J. Agric. Food Chem.*, 49, 4761-4767 (2001).
- Ehlenfeldt, M.K., Prior, R.L., Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) and Phenolics and Anthocyanin Concentrations in Fruit and Leaf Tissues of Highbush Blueberry. *J. Agric. Food Chem.*, 49, 2222-2227 (2001).
- Matsumoto, H., Nakamura, Y., Tachibanaki, S., Kawamura, S. and Hirayama, M., Stimulatory Effect of Cyanidin 3-Glycosides on the Regeneration of Rhodopsin. *J. Agric. Food Chem*, 51, 3560-3563 (2003).
- Tominaga, S., Matsumoto, H., Tokunaga, T. and Hirayama, M., Effects of blackcurrant anthocyanosides on visual function. Proceeding of the 2nd ICOFF, 2nd ICOFF Secretariat., Kyoto, Japan, p143 (1999).
- Subramani, S., Casimir, C.A. and Gerard, K., Phenolic Compounds and Antioxydant Capacity of Georgia-Grown Blueberries and Blackberries. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 2432-2438 (2002).
- 菅原龍幸, 前川昭男. 新食品ハンドブック, 建帛社, 1-14 (2000).

- 10) Otto, F., Denis, W., A colorimetric method for the determination of phenols (and phenol derivatives) in urine. *J. Biol Chem*, 12(2), 306-309 (1915).
- 11) Brand, W.W., Cuvelier, M.E. and Berset, C., Use of radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Technol*, 28, 25-30 (1995).

Abstract

Six plum varieties (Early rivers, Robe de sargenant, Opal, Chairn, Sunctus, Purple ais) and 9 blueberry cultivars (Rancocas, Weymouth, Northland, June, Patriot, Blue ray, Herbert, Berkeley, Darrow) cultivated in Hokkaido in 2004 were subjected to polyphenol extraction using 5% formic acid methanol, to quantify polyphenols and anthocyanins and to compare the antioxidative activity. The Robe de Sargenant, Chairn, and Sunctus varieties of plum and the Northland variety of blueberry showed the highest polyphenol content and also nosides combined antioxidative activity. In both species there was a strong positive correlation of polyphenol levels and antioxidative activity. HPLC analysis indicated that the main polyphenol in blueberries was anthocyanin, while that in plums was neochlorogenic acid. We conclude that by the correlation of polyphenol and anthocyanin, the varieties of both fruits can be clearly distinguished.

Keyword: antioxidative activity , polyphenol, anthocyanin, plum, blueberry