

# シーベリー果汁に搾汁残渣抽出液を添加すると酸化剤による酸化を抑制する

坂田理子<sup>1</sup>・小嶋道之<sup>1,2</sup>

(受付 : 2021 年 4 月 28 日, 受理 : 2021 年 7 月 23 日)

Addition of juice residue extracts to seaberry juice inhibits oxidation by oxidants

Riko SAKATA<sup>1</sup>, Michiyuki KOJIMA<sup>1,2</sup>

## 摘 要

シーベリー果汁の DPPH ラジカル消去活性は、酸化剤を添加して 30 分後には酸化剤添加前の  $26.9 \pm 0.9\%$  まで顕著に低下した。しかし、搾汁残渣である果皮&果肉抽出液に同様の条件で酸化剤を添加したときには酸化剤添加前の  $73.4 \pm 1.8\%$ 、種子抽出液に添加した場合には酸化剤添加前の  $88.8 \pm 2.0\%$ 、パルプ部抽出液に添加した場合には酸化剤添加前の  $58.5 \pm 2.3\%$  で、それらの酸化の進行は、果汁のそれよりも遅いことが示された。

果汁の酸化剤による酸化を抑制する目的で、果汁に各残渣抽出液を添加して、DPPH ラジカル消去活性の残存率に及ぼす影響を検討した。シーベリー果汁に種子抽出液を混合して両者の合計ポリフェノール濃度を 2 倍にしたところ、酸化剤添加 30 分後の DPPH ラジカル消去活性残存率は  $84.4 \pm 3.3\%$ 、果皮&果肉抽出液を混合して両者の合計ポリフェノール濃度を 2 倍にしたときの残存率は  $76.6 \pm 1.5\%$ 、パルプ部抽出液を混合して両者の合計ポリフェノール濃度を 2 倍にしたときの残存率は  $72.2 \pm 1.1\%$ 、いずれにおいても果汁単独のときに比べて酸化が顕著に抑制された。さらに、果汁に添加する種子抽出液のポリフェノール濃度を 2 倍、3 倍に増大して同様の酸化実験をおこなったところ、添加量に依存して DPPH ラジカル消去活性の保持率が有意に増大した。一方、種子以外の残渣抽出液のポリフェノール濃度を 2 倍、3 倍に増大しても、DPPH ラジカル消去活性の保持率に有意な増大は認められなかった。これらの結果は、シーベリー果汁に 3 種類のいずれの残渣抽出液を添加しても酸化の抑制効果はみとめられるが、特に種子抽出液の添加は、果汁の酸化抑制に高い効果のあることを示している。

キーワード : 果汁、果汁残渣の利用、抗酸化活性、ポリフェノール、ビタミン C

---

<sup>1</sup> 帯広畜産大学食品科学研究部門

<sup>1</sup> Department of Food Production Science, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Obihiro, Japan

<sup>2</sup> 帯広畜産大学人間科学研究部門

<sup>2</sup> Department of Human Sciences, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Obihiro, Japan

連絡先 : 小嶋道之, [kojima@obihiro.ac.jp](mailto:kojima@obihiro.ac.jp)

Address Correspondence : Michiyuki KOJIMA, [kojima@obihiro.ac.jp](mailto:kojima@obihiro.ac.jp)

## 緒言

シーベリー (*Hippophae rhamnoides* L.) はグミ科ヒツポファエ属の落葉低木で、サジーやスナヂグミとも呼ばれている。寒冷地域や乾燥地域など、厳しい環境でも生育できる植物で、北欧、ロシア、カナダ、中国など広い範囲に自生しており、商業的な栽培もおこなわれている (Kalia ら 2011)。しかし、日本には自生しておらず、約 20 数年前に北海道や東北地方などにいろいろな品種が導入され、試験栽培されてきた。現在は、穂別町や余市町、士幌町や帯広市等で栽培がおこなわれていて、黄色～オレンジ色の小果実が収穫されている。シーベリーは落葉性灌木で小果梗の形態をとり、果実の周りの枝に棘が多数あるために、果実収穫には注意が必要である (Harrison ら 2002)。また、果実の販売は限定的であるが、果汁のみならず、種子、葉、樹皮などからの加工品が化粧品、医薬品、食品、飼料などとして、国外で複数の商品に利用されている (Li ら 1996)。国内産のシーベリーを使った果汁、炭酸飲料、ヨーグルト、ジャムなども販売されている。しかし、まだ知名度が低く、基盤となる基礎データも少なく、全国的な商品展開はできていない状況にある。

シーベリー果実は、ビタミン C やビタミン E、カロチノイド、フラボノイド、油脂類などを豊富に含んでおり、ポリフェノールとしては、ミリセチン、ケルセチン配糖体、イソラムネチン配糖体、プロアントシアニンなどを含んでいる (Mironov 1989; Rösch ら 2004; Shilpa ら 2016)。また、シーベリー果実の抽出液には、抗酸化作用 (Swaroop ら 2005; Yang ら 2007)、抗菌作用 (Puupponen-Pima ら 2005)、抗腫瘍作用 (Teng ら 2006) 等が報告されているし、シーベリー葉抽出物に抗酸化作用や抗肥満作用のあることも報告されている (西ら 2007)。体内における抗酸化作用、例えば活性酸素の消去作用は、癌や心臓疾患等の予防に繋がることが知られている (Bravo ら 1998; Eberhardt ら 2000)。

シーベリー果実より得られた圧搾果汁は、パルプ部を含んでいて不透明な黄褐色をしている。これを一晚程度

静置すると 2 層に分離する。その上層 (黄褐色のパルプ部) と下層 (淡黄色の果汁) が混合した色調は、食欲を向上させる色であり、圧搾果汁として商品化されている。しかし最近では、パルプ部を除いた淡黄色の果汁も商品として利用されるようになってきているが、その酸化安定性などに関する研究はほとんどおこなわれてない。一般に、圧搾後の果汁は加熱処理などにより急速に酸化が進み、ビタミンやポリフェノールなどの栄養素が減少する (菌田ら 2016)。そのため、加工品には酸化防止剤が添加されているが、果実圧搾後の残渣抽出液を添加して、シーベリー果汁の酸化抑制の可能性について明らかにしようとした。この研究報告では、シーベリー果汁の酸化剤による影響、果汁を絞った残渣から得られた抽出液の酸化剤による影響、果汁と残渣抽出液の混合果汁の酸化剤による影響について明らかにすることを目的とした。

## 実験方法

### 1. 試料の調製

シーベリー (*Hippophae rhamnoides* L.) 果実は、2020 年 8 月、ときいろファーム (帯広市岩内町) で収穫したものをを用いた。凍結保存した果実 400 g は秤量し、スロージューサー (Siroca SS J-110) を用いて果汁 (パルプ部を含む) と搾汁残渣; 果皮と果肉、種子に分離した。果汁 (パルプ部を含む) は、13,000rpm、10 分間、15℃ で遠心分離をおこない、淡黄色の溶液 (以下、果汁と呼ぶ) と上澄み (以下、パルプ部と呼ぶ) に分別した。パルプ部は果汁残渣として、以下の実験試料として用いた。果皮&果肉、種子は、凍結乾燥機 EYELA FDU-830 で処理した後、それぞれを粉砕機 (Rong Tsong T-351) により粉砕して用いた。パルプ部、果皮&果肉および種子粉砕物は、約 4 倍容の 80%エタノールを加えて、30 分間、超音波抽出をおこない、遠心分離 (3,000 rpm、10 分間) により上清を得た。同様の抽出操作を 4 回おこない、得られた全ての上清を合わせて秤量した。各抽出液は、濃縮乾固して蒸留水に再溶解後、各実験試料とした。

酸化実験 1 : 果汁と各残渣抽出液に酸化剤を添加した

ときの影響

果汁、パルプ部抽出液、種子、果皮&果肉抽出液のポリフェノール量が0.1 mg/mlになるように調製した。酸化剤には、10 mM 硫酸銅溶液を用いた（小嶋ら 2006）。酸化剤は、最終濃度が0.8 mMになるように添加して、抗酸化活性、ポリフェノール量、ビタミンC含量について、添加直後（0分）から120分後まで経時的に測定した。

酸化実験2：果汁と残渣抽出液を混合した果汁混合液に酸化剤を添加したときの影響

ポリフェノール量0.1 mg/mlに調製した果汁、およびポリフェノール量0.1 mg/ml、0.2 mg/ml および0.3 mg/mlに調製したパルプ部抽出液、種子抽出液、果皮&果肉抽出液を用いて実験をおこなった。調製した各濃度の残渣抽出液と果汁とを混合して、果汁混合液0.2；混合液のポリフェノール濃度が0.2 mg/ml、果汁混合液0.3；混合液のポリフェノール濃度が0.3 mg/ml、果汁混合液0.4；混合液のポリフェノール濃度が0.4 mg/mlを準備した。各混合液に最終濃度0.8 mM  $\text{CuSO}_4$  となるように酸化剤を添加して、添加直後（0分）および30分経過後のDPPHラジカル消去活性を測定した。また、果汁のみ（ポリフェノール量0.1 mg/ml）における酸化剤添加の経時変化は、コントロール実験としておこなった。

## 2. DPPH ラジカル消去活性（抗酸化活性）の測定（韓ら 2005；小嶋ら 2006）

抗酸化活性の評価は、DPPH ラジカル消去活性によりおこなった。希釈した分析試料50  $\mu\text{l}$ 、エタノール100  $\mu\text{l}$ 、DPPH 試薬150  $\mu\text{l}$ をマイクロプレートに加えてよく混和後、暗所、室温で15分間静置した後、マイクロプレートリーダーの530 nmにおける吸光度を測定した。抗酸化活性はトロロックス相当量 ( $\mu\text{mol/g}$ )として算出した。

## 3. ポリフェノール含量の測定

ポリフェノール含量はFolin-Chiocalteau法に従い測定した（韓ら 2005；齋藤ら 2010）。希釈した試料100  $\mu\text{l}$ に蒸留水300  $\mu\text{l}$ 、50%Folin 試薬400  $\mu\text{l}$ を加えて混和後、3分間静置し、10%炭酸ナトリウム水溶液400  $\mu\text{L}$ を加え

てよく混合した。ウォーターバス（30°C）で30分間反応させた後、遠心分離（3,000 rpm、10分間）をおこない、得られた上清の760 nmの吸光度を測定した。ポリフェノール含量はカテキン相当量 (mg/g)として算出した。

## 4. ビタミンC含量の測定

ビタミンC含量は、小型反射式光度計RQフレックスを用いて測定した（立山 2009）。この装置による測定値はppmで表示されるので、次式によりビタミンC含量 (mg/100 g)に換算した。ビタミンC含量 (mg/100 g) = 測定値表示 ppm  $\times$  希釈倍率  $\times$  0.1

## 5. 果汁、パルプ部抽出液、果皮&果肉抽出液、種子抽出液のLH-20カラムによるポリフェノール画分画の分離

果汁、パルプ部抽出液、果皮&果肉抽出液、種子抽出液の一部は、それぞれ減圧乾固後、1.0 mlのエタノールに再溶解した。それらはSephadex LH-20カラム（15  $\times$  0.8 cm, Amersham Biosciences）に載せて、エタノール、メタノール、60%アセトンを各々20 ml用いて順次溶出させ、溶出液は1.5 mlづつ分画した。各溶出画分のポリフェノール量を測定して、ポリフェノール画分画の割合を求めた。

## 6. 統計分析

全てのデータは3回以上測定して、平均値 $\pm$ 標準偏差で表した。データ間の有意差検定にはSAS 7.1ソフトのTukeyスチューデント検定を用いた ( $p < 0.05$ )。また、成分量と抗酸化活性との関連について相関分析を行った。

## 結果と考察

### 1. シーベリー果汁および各残渣抽出液に含まれるDPPHラジカル消去活性、ポリフェノール含量およびビタミンC含量の比較

シーベリー果実より搾汁された果汁重量は、全体の62.9%、残渣のそれは37.1%で、残渣の内訳は、果皮&

果肉 20.6%、種子 3.0%、パルプ部 12.6%であった。また、シーベリー果汁の DPPH ラジカル消去活性は  $2.15 \pm 0.03 \mu\text{mol/g}$ 、果皮&果肉抽出液のそれは  $0.99 \pm 0.01 \mu\text{mol/g}$ 、種子抽出液のそれは  $5.10 \pm 0.04 \mu\text{mol/g}$ 、パルプ部抽出液のそれは  $0.51 \pm 0.03 \mu\text{mol/g}$  で、種子抽出液が最も高い値を示した（表 1、それぞれ果実新鮮重当たりで表した）。

ポリフェノール含量は、種子抽出液が最も高い値 ( $1.09 \pm 0.01 \text{ mg/g}$ ) を示し、順に果汁 ( $0.87 \pm 0.03 \text{ mg/g}$ )、果皮 & 果肉抽出液 ( $0.28 \pm 0.01 \text{ mg/g}$ )、パルプ部抽出液 ( $0.09 \pm 0.01 \text{ mg/g}$ ) で、パルプ部抽出液のそれが最も低い値を示した（表 1）。各々のポリフェノール含量と DPPH ラジカル消去活性との間には高い正の相関がみられ、相関係数  $r=0.9686$  であった。

また果汁は、ビタミン C を多く含んでいた ( $1.01 \pm 0.03 \text{ mg/g}$  新鮮果実重、表 1)。搾汁残渣である果皮 & 果肉抽出液のビタミン C 含量は、果汁のその約 1/2 量以下 ( $0.45 \pm 0.03 \text{ mg/g}$ ) で、最も低かったのはパルプ部抽出液 ( $0.19 \pm 0.01 \text{ mg/g}$ ) で、種子抽出液では測定限界値以下であった（表 1）。Bock ら (1990) は、セルロースアセテート膜でろ過したシーベリー果汁のビタミン C

含量は 100g 当たり 70mg であったと報告しており、今回はその値よりも高い値であった。この差異は果汁調製法の違いによるのかもしれない。種子抽出液以外において、ビタミン C 含量と DPPH ラジカル消去活性との間には高い正の相関関係が認められ、相関係数  $r=0.9994$  であった。

また、シーベリー果汁、果皮 & 果肉抽出液、種子抽出液、パルプ部抽出液を LH-20 カラムにより重分画して、それら重画分に含まれるポリフェノール含量を比較したところ、果汁では、モノマー型:オリゴマー型:ポリマー型ポリフェノールの割合が 50 : 21 : 29、果皮 & 果肉抽出液のそれは 36 : 44 : 20、種子抽出液のそれは < 1 : 22 : 79、パルプ部抽出液のそれは 35:33:32 であった（表 2）。これらの LH-20 カラムによる重画分の分離パターン結果から、果汁ポリフェノールと果皮&果肉ポリフェノールおよびパルプ部ポリフェノールの重画分組成はほぼ同じ傾向を示しているが、種子ポリフェノールの重画分組成はそれらとは顕著に異なっていること、果汁ではモノマー型ポリフェノールが主要であるのに対し、種子抽出液ではポリマー型ポリフェノールが主要であることが明らかになった。

表 1 シーベリー果実より得られた果汁、果皮&果肉抽出液、種子抽出液、パルプ部抽出液の DPPH ラジカル消去活性 ( $\mu\text{mol/g}$ )、ポリフェノール含量 ( $\text{mg/g}$ ) およびビタミン C 含量 ( $\text{mg/g}$ )

シーベリー果実	DPPHラジカル消去活性 ( $\mu\text{mol/g}$ 新鮮果実重)	ポリフェノール量 ( $\text{mg/g}$ 新鮮果実重)	ビタミンC量 ( $\text{mg/g}$ 新鮮果実重)
果汁	$2.15 \pm 0.03$ b	$0.87 \pm 0.03$ b	$1.01 \pm 0.03$ a
果皮&果肉抽出液	$0.99 \pm 0.01$ c	$0.28 \pm 0.01$ c	$0.45 \pm 0.03$ b
種子抽出液	$5.10 \pm 0.04$ a	$1.09 \pm 0.01$ a	n.d.
パルプ部抽出液	$0.51 \pm 0.03$ d	$0.09 \pm 0.01$ d	$0.19 \pm 0.01$ c

n.d.; 検出限界以下、アルファベットが異なる場合は有意差あり( $p<0.05$ )を示している。

表 2 シーベリーの果実、果皮&果肉抽出液、種子抽出液およびパルプ部抽出液の LH-20 カラムによるポリフェノール組成の特徴

シーベリー果実	ポリフェノール組成(%)		
	モノマー型	オリゴマー型	ポリマー型
果汁	50.1	20.7	29.2
果皮 & 果肉抽出液	36	44.4	19.6
種子抽出液	<0.1	21.8	78.2
パルプ部抽出液	34.5	33.9	31.6

2. シーベリーの果汁、各々の搾汁残渣抽出液に酸化剤を添加したときの DPPH ラジカル消去活性、ポリフェノール含量、ビタミン C 含量の経時的变化

シーベリーの果汁、搾汁残渣の抽出液；果皮 & 果肉抽出液、種子抽出液、パルプ部抽出液に酸化剤を添加したときの DPPH ラジカル消去活性は、酸化剤添加直後（0分）から 120 分まで、いずれにおいても値は経時的に低下した（表 3）。すなわち、酸化剤添加直後（0分）における果汁の DPPH ラジカル消去活性は  $0.547 \pm 0.001 \mu\text{mol/ml}$  であり、酸化剤添加 30 分後における果汁の DPPH ラジカル消去活性は  $0.147 \pm 0.005 \mu\text{mol/ml}$  を示した。すなわち、酸化剤添加直後（0分）の値を 100 とした時、酸化剤添加 30 分後の値（抗酸化能保持率）は  $26.9 \pm 0.9\%$  であった。また、90 分後の抗酸化能保持率は  $3.5 \pm 0.5\%$  となり、ほとんどの抗酸化活性を失っていた。酸化剤添加直後（0分）における果皮 & 果肉抽出液の DPPH ラジカル消去活性が  $0.346 \pm 0.003 \mu\text{mol/ml}$ 、種子抽出液のそれが  $0.483 \pm 0.004 \mu\text{mol/ml}$ 、パルプ部抽出液のそれが  $0.292 \mu\text{mol/ml}$  の試料を用いて実験したが、酸化剤添加 30 分後の DPPH ラジカル消去活性は、いずれも果汁にみられた急激な酸化は認められず、果皮 & 果肉抽出液の抗酸化能保持率は  $73.4 \pm 1.8\%$ 、種子抽出液の抗酸化能保持率は  $88.8 \pm 2.0\%$ 、パルプ部抽出液の抗酸化能保持率は  $58.5 \pm 2.3\%$  であった（表 3）。さらに、60 分から 120 分まで DPPH ラジカル消去活性におよぼす影響を検討したが、酸化剤添加 30 分以降の減少は若干であり、いずれも果汁の変動に比べれば顕著な変化とはいえない。特に、種子抽出液の DPPH ラジカル消去活性は、酸化剤

添加 120 分後においても抗酸化能保持率が  $84.3 \pm 1.9\%$  を示し、高い抗酸化能を保持していた。

各試料中のポリフェノール量は、 $0.1 \text{ mg/ml}$  に調製して実験をおこなっているため酸化剤添加直後（0分）のポリフェノール量は全て同じであった。しかし、酸化剤を添加してからポリフェノール含量は、経時的な差異が認められた（表 4）。すなわち、種子抽出液は、酸化剤を添加して 30 分後のポリフェノール残存率（ $97.2 \pm 4.1\%$ ）が最も高く、次いで果皮 & 果肉抽出液（ $89.0 \pm 1.6\%$ ）、パルプ部抽出液（ $86.6 \pm 1.9\%$ ）の順に低く、果汁のそれは最も低い値（ $62.9 \pm 0.5\%$ ）であった。また、種子抽出液は、酸化剤添加 120 分後においてもポリフェノールの残存率が  $93.6 \pm 3.9\%$  を示し、他の抽出液に比べて最も高い値であった。これらの結果から、種子抽出液のポリフェノールは、今回用いた酸化剤に強い抗酸化作用を持つポリフェノールを含んでいることが推察された。

果汁のビタミン C 含量は  $1.01 \pm 0.03 \text{ mg/g}$ 、果皮 & 果肉抽出液のそれは  $0.45 \pm 0.03 \text{ mg/g}$ 、パルプ部抽出液のそれは  $0.19 \pm 0.01 \text{ mg/g}$  であった。また、種子抽出液のビタミン C 含量は、今回の分析法では検出限界以下であった。果皮 & 果肉抽出液の酸化剤添加 30 分後のビタミン C 残存率（ $84.2 \pm 8.7\%$ ）は最も高く、次いでパルプ部抽出液（ $77.8 \pm 4.5\%$ ）、果汁（ $73.0 \pm 6.8\%$ ）であり、3 者間における顕著な差異は認められなかった（表 5）。また、ビタミン C 含量を 120 分まで経時的に測定したところ、いずれにおいてもビタミン C 含量が経時的に減少していたが、3 者間における顕著な違いは認められなかった。

表 3 シーベリー果汁、果皮 & 果肉抽出液、種子抽出液およびパルプ部抽出液に酸化剤；最終濃度  $0.8 \text{ mM}$  硫酸銅を加えて混和後の経時的な DPPH ラジカル消去活性の保持率（%）

時間(分)	果汁		果皮&果肉抽出液		種子抽出液		パルプ部抽出液	
0	100	a	100	a	100	a	100	a
30	$26.9 \pm 0.9$	b	$73.4 \pm 1.8$	b	$88.8 \pm 2.0$	b	$58.5 \pm 2.3$	b
60	$13.7 \pm 1.1$	b	$71.0 \pm 2.0$	c	$87.5 \pm 2.6$	b	$51.8 \pm 2.6$	c
90	$3.5 \pm 0.5$	b	$69.3 \pm 1.7$	d	$85.6 \pm 1.0$	b	$48.5 \pm 1.8$	c
120	$3.5 \pm 0.1$	b	$69.8 \pm 1.5$	d	$84.3 \pm 1.9$	b	$48.8 \pm 0.9$	c

保持率は、反応開始(0分)の値を100とした時の相対値として表した。反応開始時に対して各反応時間後の値について有意差評価をおこなった。アルファベットが同じ場合は有意差なし、異なる場合は有意差あり( $p < 0.05$ )を示している。

表4 シーベリー果汁、果皮&amp;果肉抽出液、種子抽出液およびパルプ部抽出液に酸化剤；最終濃度 0.8mM 硫酸銅を加えて混和後の経時的なポリフェノール含量の保持率 (%)

時間(分)	果汁		果皮&果肉抽出液		種子抽出液		パルプ部抽出液	
0	100	a	100	a	100	a	100	a
30	62.9 ± 0.5	b	89.0 ± 1.6	b	97.2 ± 4.1	a	86.6 ± 1.9	b
60	60.0 ± 0.4	c	86.5 ± 0.6	b	96.1 ± 1.9	a	85.0 ± 0.4	b
90	55.2 ± 1.9	d	89.5 ± 0.9	b	97.7 ± 4.7	a	86.5 ± 1.3	b
120	62.6 ± 1.2	bc	87.4 ± 1.8	b	93.6 ± 3.9	a	81.0 ± 1.3	c

保持率は、反応開始(0分)の値を100とした時の相対値として表した。反応開始時に対して各反応時間後の値について有意差評価をおこなった。アルファベットが同じ場合は有意差なし、異なる場合は有意差あり( $p < 0.05$ )を示している。

表5 シーベリー果汁、果皮&amp;果肉抽出液、種子抽出液およびパルプ部抽出液に酸化剤；最終濃度 0.8mM 硫酸銅を加えて混和後の経時的なビタミンC含量の保持率 (%)

時間(分)	果汁		果皮&果肉抽出液		種子抽出液	パルプ部抽出液	
0	100	a	100	a		100	a
30	73.0 ± 6.8	b	84.2 ± 8.7	bc		77.8 ± 4.5	b
60	70.4 ± 2.3	b	77.5 ± 6.9	cd	n.d.	71.0 ± 10.4	bc
90	69.5 ± 3.6	b	71.8 ± 8.5	cd		59.5 ± 4.5	cd
120	64.8 ± 2.6	b	67.4 ± 3.6	d		55.2 ± 4.5	d

n.d.; 検出限界以下

保持率は、反応開始(0分)の値を100とした時の相対値として表した。反応開始時に対して各反応時間後の値について有意差評価をおこなった。アルファベットが同じ場合は有意差なし、異なる場合は有意差あり( $p < 0.05$ )を示している。

表6 シーベリー果汁に果皮&amp;果肉抽出液、種子抽出液およびパルプ部抽出液を3通りのPP濃度に調整した果汁混合液に酸化剤を添加して30分後のDPPHラジカル消去活性の残存率 (%)

調製した果汁の名称	果汁のPP濃度 (mg/ml)	残渣抽出液のPP濃度 (mg/ml)	酸化剤添加30分後のDPPHラジカル消去活性の残存割合 (%)		
			果汁+種子抽出液	果汁+果皮&果肉抽出液	果汁+パルプ部抽出液
果汁混合液 0.2	0.10	0.10	84.4 ± 3.32	76.6 ± 1.52	72.2 ± 1.06
果汁混合液 0.3	0.10	0.20	93.1 ± 3.84	78.1 ± 2.13	73.2 ± 7.91
果汁混合液 0.4	0.10	0.30	97.0 ± 1.53	81.3 ± 2.95	73.3 ± 3.71

酸化剤添加前のDPPHラジカル消去活性の値を100として相対値で表した。アルファベットが同じ場合は有意差なし、異なる場合は有意差あり( $p < 0.05$ )を示している。

### 3. シーベリー果汁にポリフェノール濃度の異なる残渣抽出液を混合し酸化剤を添加したときのDPPHラジカル消去活性

酸化実験2において、果汁に各残渣抽出液を添加した果汁混合液を用いて、酸化剤を添加したときの酸化抑制の効果について実験をおこなった。すなわち、果汁に同じポリフェノール濃度の種子抽出液、果皮&果肉抽出液、パルプ部抽出液をそれぞれ加えた混合果汁液0.2を準備して、それらに酸化剤を添加して30分後のDPPHラジカ

ル消去活性値を求めた(表6)。種子抽出液を添加した果汁(果汁混合液0.2)に酸化剤を加えて30分後のDPPHラジカル消去活性の抗酸化能残存率(果汁混合液0.2の酸化剤添加直後(0分)の値に対する割合)は、84.4 ± 3.3%、同様に果皮&果肉抽出液を添加した果汁に酸化剤を加えたときの抗酸化能残存率は76.6 ± 1.5%、パルプ部抽出液を添加した果汁に酸化剤を加えたときの抗酸化能残存率は72.2 ± 1.1%であった。いずれの果汁混合液0.2においても、果汁のみの酸化剤添加30分後

の抗酸化能残存率 (26.9 ± 0.9%) に比べて高い値を示した (表 6)。

また、添加する残渣抽出液のポリフェノール量を 2 倍、3 倍と増やした果汁混合液 0.3 や果汁混合液 0.4 を調製して、それらの酸化剤添加実験をおこなったところ、種子抽出液の添加ポリフェノール量を増やした試料は、酸化剤を加えて 30 分後の DPPH ラジカル消去活性が、ポリフェノール濃度に依存して高い値を示した (表 6)。すなわち、種子抽出液は DPPH ラジカル消去活性の酸化を強力に抑制し果汁に酸化剤を加えたときに抗酸化能を保持することが示された。しかし、果皮&果肉抽出液およびパルプ部抽出液のポリフェノール量を増やして果汁に加えても、酸化剤添加による DPPH ラジカル消去活性の残存率にポリフェノール濃度による影響はほとんど認められなかった。

これまでに、果実における加工処理と抗酸化活性やポリフェノール含量との関連について、いくつかの報告がある。大池ら (2012) は、白桃を湯煮 (ブランチング) すると、ポリフェノールが湯に溶出することにより白桃の抗酸化活性が有意に低下するが、ビタミン C にはほとんど影響を与えないことを報告している。ただし、リンゴ、梨、ブルーベリー、ブドウなど他の果実においては、湯煮による抗酸化活性の低下はみられないことを報告している。また、下橋ら (2003) は、キウイフルーツやアメリカンチェリー、イチゴなどを調理加工、加熱処理しても、それらの DPPH ラジカル消去活性にほとんど影響を及ぼさないことを報告している。また、電子レンジ加熱はポリフェノール酸化酵素を不活性化されるために、湯煮加熱に比べてポリフェノールの酸化が起きにくいこと (平井ら 2006) や、果実を電子レンジで 1 分間加熱した果実ポリフェノール含量は、未加熱果実のそれよりも高くなる事を報告している (中川ら 2007)。これらの報告は、加熱処理による酸化の状況、成分や機能性の変化は、果実の種類により違いのあることを示している。シーベリー種子には、ポリマー型ポリフェノールを多く含んでいた。種子ポリフェノールに多く含まれるポリ

マー型ポリフェノールが果汁の酸化抑制に影響を及ぼしたのかもしれないが、詳細は今後の課題である。

## 参考文献

- Bock W, Felkenheuer W, Dongowski G, Kroll J, Schweider C, Baars H, Sievert B. 1990. Method for enhanced processing of raw juice from sea buckthorn berries. GDR Patent DD 275 775 A3
- Bravo L. 1998. Polyphenols: Chemistry, dietary sources metabolism, and nutritional significance. *Nutrition reviews*. 56(11):317-33
- Eberhardt MV, Lee CY, Liu RH. 2000. Antioxidant activity of fresh apples. *Nature* 405:903-904
- Harrison JE, and Beveridge HJT. 2002. Sea buckthorn cv. Indian Summer: Fruit structure. *Canadian Journal Botany* 80:399-409
- 韓立坤, Xiao-Jie Gong, 河野志穂, 齋藤雅人, 木村善行, 奥田拓道. 2005. ショウガの抗酸化作用について. *油化学* 125:213-217
- 平井俊次, 千裕美, 近藤民恵, 2006. 加熱処理が果実のポリフェノール化合物に与える影響. *飯田女子短期大学紀要*. 23:75-79
- Kalia RK, Singh R, Rai MK, Mishra GP, Singh SR, Dhawan AK. 2011. Biotechnological interventions in SB (*Hippophae* L.): Current status and future prospects. *Trees - Structure and Function*. 25(4):559-575
- Li TSC, Schroeder WR. 1996. Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.): a multipurpose plant. *Hot Technology*. 6:370-380
- Mironov VA. 1989. Chemical composition of *Hippophae rhamnoides* of different populations of the USSR: In Proceedings of the First International Symposium on the Sea Buckthorn, October 19-23 Xi'an, China
- 小嶋道之, 山下慎司, 西繁典, 齋藤優介, 前田龍一郎.

2006. 小豆ポリフェノールの生体内抗酸化活性と肝臓保護作用. 日本食品科学工学会誌 53(7):386-392
- 中川泰代, 大澤真由美, 山口直彦. 2007. 果物の加熱処理に伴う抗酸化機能の変化. 愛知学泉大学・短期大学紀要 42:35-39
- 西繁典, 齋藤優介, 小嶋浩, 弘中和憲, 小嶋道之. 2007. シーベリー葉ポリフェノールによる高脂肪食投与雄マウスの抗肥満効果. 日本食品科学高学会誌 54(11):477-481
- 大池奈津希, 川俣幸一. 2012. 果実ポリフェノール量および抗酸化活性への電子レンジ加熱, 湯煮加熱(ブランチング)の影響. 栄養学雑誌 70(3):207-212
- Puupponen-Pimia R, Nohynek L, Hartmann-Schmidlin S, Kahkanen M, Heinonen M, Maatta-Riihinen K. and Oksman-Caldentey KM. 2005. Berry phenolics selectively inhibit the growth of intestinal pathogens: Journal of Applied Microbiology. 98:991-1000
- Rösch D, Krumbein A, Mügge C, and Kroh LW. 2004. Structural investigations of flavonol glycosides from Sea Buckthorn(*Hippophaë rhamnoides*)pomace by NMR spectroscopy and HPLC-ESI-MSn: Journal of Agricultural and Food Chemistry. 52:4039-4046
- 齋藤優介, 西繁典, 小嶋浩, 弘中和憲, 小嶋道之. 2007. 豆類ポリフェノールの抗酸化活性ならびに $\alpha$ -アマラーゼおよび $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性. 日本食品工業学会誌 54(12):563-567
- Shilpa G. Patil, Anand K. Chaudhary. 2016. Unexplored therapeutic treasure of Himalayan sea buckthorn berry: An opportunity for rejuvenation applications in Ayurveda. International Journal of Green Pharmacy. 10(4):S164
- 下橋淳子, 寺田和子. 2003. 果実のラジカル消去能と食品の加熱および褐変化によるラジカル消去能への影響. 駒沢女子短期大学研究紀要 36:1-6
- Swaroop A, Sinha AK, Chawla R, Arora R, Sharma RK and Kumar JK. 2005. Isolation and characterization of 1,3-dicapryloyl-2-linoleoylglycerol: a novel triglyceride from berries of *Hippophae rhamnoides*. Chemical and Pharmaceutical Bulletin. 53:1021-1024
- 藺田邦博, 玉田葉月, 浅野(白崎)友美, 橋本沙幸. 2016. リンゴ果汁の褐変及びDPPHラジカル消去活性に対する柑橘系果実果汁添加の影響 金城学院大学論集 自然科学編 12(2):29-36
- Teng BS, Lu YH, Wang ZT, Tao XY, and Wei DZ. 2006. In vitro anti-tumor activity of isorhamnetin isolated from *Hippophae rhamnoides* L. against BEL-7402 cells. Pharmacological research. 54:186-194
- 立山千草. 2009. 小型反射式光度計システムによる緑茶のL-アスコルビン酸含量の簡易測定について. 県立新潟女子短期大学研究紀要 46:229-233
- Yang ZG, Li HR, Wang LY, Li HY, Lu SG, Wen XF, Wang J, Daikonya A, and Kitanaka S. 2007. Triterpenoids from *Hippophae rhamnoides* L. and their nitric oxide production-inhibitory and DPPH radical-scavenging activities, Chemical and Pharmaceutical Bulletin. 55:15-18

## Abstract

The DPPH radical scavenging activity of seaberry juice was significantly decreased to 26.9±0.9% of that before the addition of oxidant after 30 min of addition of oxidant. However, when the oxidant was added to the juice residue, peel and pulp extract, under the same conditions, their oxidation was 73.4±1.8% of that before the addition of the oxidant, 88.8±2.0% of that before the addition of the oxidant when it was added to the seed extract, and 58.5±2.3% of that before the addition of the oxidant when it was added to the pulp part extract. The progression of oxidation was shown to

be slower than that of fruit juice.

In order to inhibit the oxidation of fruit juice by oxidants, the effect of adding each residue extract to the juice on the residual DPPH radical scavenging activity was investigated. When the seed extract was mixed with the seaberry juice and the total polyphenol concentration of both was doubled, the residual rate of DPPH radical scavenging activity after 30 minutes of addition of the oxidant was  $84.4 \pm 3.3\%$ . When the peel and pulp extract was mixed and the total polyphenol concentration of both was doubled, the residual rate was  $76.6 \pm 1.5\%$ . When the pulp extract was mixed with the pulp extract and the total polyphenol concentration of both was doubled, the residual rate was  $72.2 \pm 1.1\%$ . In all cases, oxidation was significantly suppressed compared to fruit juice alone. Furthermore, when the concentration of polyphenols in the seed extract added to the juice was increased two-fold or three-fold, the retention of DPPH radical scavenging activity was significantly increased depending on the amount added. On the other hand, there was no significant increase in the retention of DPPH radical scavenging activity when the concentration of polyphenols in the extract of residues other than seeds was increased two-fold or three-fold. These results indicate that the addition of any of the three residue extracts to the seaberry juice has an inhibitory effect on oxidation, but the addition of the seed extract in particular is highly effective in inhibiting the oxidation of the juice.

**Keywords:** fruit juice, utilization of fruit juice residues, antioxidant activity, polyphenols, vitamin C