

ブルーベリー葉ポリフェノール含有量の採取時期 および加熱処理による変動

若生 豊*・近藤 士靖**・馬 東建***

論文要約

ブルーベリーには抗酸化作用の強いアントシアニンをはじめとするファイトケミカル類が豊富に含まれており、健康に役立つ様々な作用があるが、とりわけ目の健康維持作用は良く知られている。私たちは、ブルーベリー葉の茶を製造する際の適切な条件を明らかにする目的で、各採取時期の葉ポリフェノール含有量や茶製造に欠かせない加熱処理によるポリフェノールの損耗について検討した。葉のポリフェノール含有量は約 100 ~ 180 mg /g-dry weight、プロアントシアニジンの含有量は約 6 ~ 12.5 mg /g-dry weight のレベルの範囲にあった。6月中旬から10月下旬までに採取された試料のポリフェノール含量を分析した結果、10月を境に大幅に含有量が上昇した。また、ポリフェノール含有量は加熱処理を行った試料と非加熱試料のものとで差は認められず、今回の加熱条件ではポリフェノールの損耗は生じていないことが示唆された。

キーワード：ブルーベリー、ポリフェノール、プロアントシアニジン、加熱処理、抗酸化活性

The Levels of Blueberry Leaf Polyphenol Content in each Harvest Date and the Polyphenol Lose Caused by Heat Treatment.

Yutaka WAKO*, Shinobu KONDOU**, and Donjian MA***

ABSTRACT

Blueberries contain phytochemicals are beneficial to health, particular in maintaining eye health. Blueberry leaves are also used for their health benefits as herbal tea. To develop the optimum tea manufacturing, we clarifies polyphenol content in each harvest season, and investigate the polyphenol lose caused by heat treatment. Blueberry leaf have 100 ~ 200 mg/g of polyphenol, and 4.0 ~ 12.5 mg/g of proanthocyanidin. The level of the polyphenol increase about twice after October the middle of month. The polyphenol seems not to be lost by the heat treatment in this test

Keywords : *Blueberry, polyphenol, proanthocyanidin, heat treatment, antioxidative activity*

平成 28 年 1 月 8 日受理

* 工学部バイオ環境工学科・教授

** 工学部バイオ環境工学科・4 年

*** 大学院機械・生物化学工学専攻・博士課程 1 年

1. 緒言

ブルーベリーは北米大陸原産の落葉性または常緑性の果樹であり、ツツジ科 (Ericaceae) スノキ属 (*Vaccinium* L.) に分類される。その中で名称に「ブルーベリー」という言葉が含まれる植物は、39種のうちに20種ある。そのなかでも経済栽培上重要な種類としては、ハイブッシュブルーベリー (*V. corymbosum* L. などに由来)、ラビットアイブルーベリー (*V. virgatum* Ait. に由来)、ローブッシュブルーベリー (*V. angustifolium* Ait. および *V. myrtilloides* Michx. に由来) の三種が挙げられる。近年、世界的規模でブルーベリーの栽培面積および果実の需要が急増しており、我が国においても過去10年間で栽培面積および収穫量は2.5倍に増加した¹⁾。

第二次世界大戦中、イギリス空軍のあるパイロットはブルーベリージャムが好物であったが、ブルーベリージャムを食べると夕暮れでも物がはっきりと見えたという逸話から、ブルーベリーの健康への関与に関心をもたれるようになった。ブルーベリーには果物・野菜類の中でも、特に抗酸化作用の強いアントシアニンをはじめとするポリフェノール類が豊富に含まれており、この点に着目した機能性に関する多くの研究が盛んに行われている。その結果、現在、抗酸化作用に基づくと思われる抗腫瘍作用や循環器系に対する効果等数多くの研究知見が報告されている²⁾。

一般にポリフェノールは抗酸化作用をはじめ、抗菌、抗炎症作用、血糖値上昇抑制作用などの機能が知られ、また植物性食品中には比較的多く含まれていることから、食物繊維とともに、これを生かした多数の健康食品が商品化されていて、特定保健用食品として認められている製品も少なくない。中でもブルーベリーを用いた商品はその代表的なものの一つであり、広く利用されている。一方、欧米ではブルーベリー葉から作られる茶もハーブティーとして利用されている。ブルーベリーの葉には果実を上回る量のポリフェノールが含まれていて、茶あるいは葉の抽出物には、口内炎の改善や、血糖の上昇抑制効果が明らかにされてきた。最近、Sakaidaらは、ブルーベリー葉に高血圧予防の可能性を見出している³⁾。高血圧自然発症ラット (Spontaneously Hypertensive Rat: SHR) により血圧上昇への影響について検討を行い、対照群に比べて収縮期血圧が有意に低値を示すことを報告している。このような背景から日本でもブルーベリー葉の茶が開発され出回るようになってきた。

青森県におけるブルーベリーの収穫量は73.0トンであり、南郷地区も主要な生産地となっている⁴⁾。植物の葉を不発酵茶あるいは抽出エキス末原料に加工する際には、一般的に風味と保存性を高めるために、蒸し、加熱、乾燥処理を施す必要があるが、この工程で生じる葉内の機能性成分の変化はなるべく抑えることが肝要となる。本研究ではブルーベリー葉の茶の製造において、

加熱・乾燥処理によってポリフェノール含有量がどのように変化するかを検討を行い、機能性成分を損なうことなく風味が優れた処理条件を見出すための基礎的知見を得ることを目的とした。また、葉収穫の異なる時期の試料について含有量の比較も行い、栽培時期と含有量についても調査を行った。



Fig.1 Northern highbush blueberry (*Vaccinium* L. *corymbosum* L.)

2. 材料および実験方法

2.1 供試試料および試薬

調査した試料のブルーベリー葉は、南郷地区で栽培されているノーザンハイブッシュ (Northern highbush blueberry) 系の品種の葉で、6月から10月下旬までに採取し提供されたものを分析に供した。供試試料の採取時期、栽培農場、処理条件を Table. 1 へ示した。栽培農場はその頭文字で表した。処理条件は、乾燥のみのものが一点で、他は加熱処理を施しており、条件により heat 1 および heat 2 と区別した。ただし、詳しい加熱方法や条件については開発に関わる内容でここでは伏せている。供試試料は5mm角ほどに粉碎したものであるが、2点はさらに細かく粉碎しティーバッグに仕上げた試作品であった。標準試料の没食子酸は Wako pure chemical industry Ltd. (Ohsaka, Japan) より、(-) -Epigallocatechin gallate は KISHIDA CHEMICAL Co.,Ltd. (Ohsaka, Japan) よりそれぞれ購入した。フォルリン試薬 (フェノール試薬) は Wako pure chemical industry Ltd. (Ohsaka, Japan) より購入した。抗酸化能測定試薬 (SOD Assay Kit-WST) は Dojindo (Tabaru, Japan) より購入した。

2.2 総ポリフェノールの定量

総ポリフェノール量の測定は Folin-Denis 法⁵⁾ により行った。測定原理は、フェノール性水酸基がアルカリ性でリタングステン酸、モリブデン酸を還元して生ずる青色を700~770nmで比色定量する方法。ブルーベリー葉の乾燥試料をブレンダーにより粉碎後、3倍量の80%メタノールで加熱抽出し分析試料とした。水750μl、段

Table 1 Harvest date, cultivation farm name and heat treatment of blueberry leaves

No.	harvest date	farm	treatment	remarks
1	6/15	H	blast dry	
2	6/15	H	heat 1	
3	8/27	H	heat 1	tea bag
4	9/21	M	heat 1	
5	9/22	M	heat 1	
6	9/22	K	heat 1	
7	9/24	M	heat 1	
8	10/9	M	heat 2	
9	10/9	M	heat 2	
10	10/27	M	heat 2	
11	10/27	M	heat 2	tea bag

The leaf of blueberry (species name; Northan highbush) cultivated in Hachinohe region was used for the research sample. H,M,K are name of the cultivation farmhouse. Leaves were heated treated with different methods as "heat 1" and "heat 2".

階希釈した試料 50 μ l、2 倍希釈したフォーリン試液 50 μ l を試験管にとり室温で 5 分間放置した。さらに飽和炭酸ナトリウム水溶液 100 μ l を加えて室温、遮光下で 30 分間反応させ 750nm の吸光度を測定した。総ポリフェノール含量は乾燥重量 1g あたりの没食子酸相当量(mg/g-dry weight) で表した。

2.3 総プロアントシアニジンの定量

総プロアントシアニジンの定量は菅原らの方法⁶⁾に基づき、バニリン法の簡易測定法で行った。粉末試料 100 mg にメタノール 1ml、1% (w/v) バニリン/メタノール 2ml、25% (v/v) 硫酸/メタノール 2ml を順に添加し、その都度よく攪拌した。室温で 15 分間振盪した後、さらにメタノール 1ml を加えて攪拌し、遠心分離 (3500rpm、室温) により上清を得た。この上清について 500nm における吸光度を測定することにより定量した。総プロアントシアニン含量は乾燥重量 1g あたりの (—) — エピガロカテキンガレート相当量として算出した。

2.4 スーパーオキシドラジカル消去活性

市販のキット (SOD Assay Kit-WST) を利用し NBT 法のホルマザンを WST-1 ホルマザンに置き換えた改良法に従って行った。キサントニン - キサントニンオキシダーゼをスーパーオキシド生成系とし、WST-1 ホルマザンのスーパーオキシドによる還元反応で生じる発色を測定した。消去活性 (阻害活率) は、スーパーオキシド生成系に試料を加えた群 (sample)、スーパーオキシド生成系のみからなる群 (blank1)、キサントニンと試料から

なる群 (blank2)、キサントニンのみからなる群 (blank3) の各反応系の吸光度測定結果より、次に示す式に従って求めた。試料は 80% エタノール溶液に溶解し調製した。

$$\text{阻害率(\%)} = \frac{[(A_{\text{blank1}} - A_{\text{blank3}}) - (A_{\text{sample}} - A_{\text{blank2}})]}{(A_{\text{blank1}} - A_{\text{blank3}})} \times 100$$

3. 実験結果

3.1 ブルーベリー葉のポリフェノール含有量

ブルーベリー葉の総ポリフェノールおよび総プロアントシアニン含有量を Table.2 へ示した。試料番号は、Table.1 に示した供試試料の番号を示している。総ポリフェノールの含有量は概ね、100 ~ 180mg/g-dry weight のレベルの範囲にあり、他の報告⁷⁾と同レベルであった。6 月 15 日採取の番号 1 の供試試料は高温の加熱は行わず乾燥処理を施したもののみであり、番号 2 では高温で加熱処理を行った試料であるが、両者の総ポリフェノール含有量はいずれも約 97mg/g-dry weight と差は無くこの加熱条件ではポリフェノールの損耗は生じていないことが示唆される。他は、全て加熱処理を施した試料であり、採取時期も離れていて加熱処理法も異なるもあり、単純な比較はできないが、番号 4、8、9、10 の総ポリフェノール含有量は 100 ~ 180mg/g-dry weight のレベルにあり、これらの試料ではポリフェノールの損耗は生じていない可能性が窺われたが、番号 5、

Table 2 Polyphenol and proanthocyanidin contents of the blueberry leaves

No.	Polyphenol		Proanthocyanidin
	mg/g		mg/g
1	97.2 ± 1.59		—
2	97.6 ± 1.01		—
3	36.4 ± 0.89		4.07 ± 0.05
4	105.2 ± 8.11		6.07 ± 0.16
5	60.6 ± 2.24		—
6	63.8 ± 17.83		6.45 ± 0.14
7	44.1 ± 1.37		—
8	174.4 ± 6.76		12.13 ± 0.92
9	180.3 ± 8.92		12.65 ± 0.08
10	188.6 ± 6.10		12.29 ± 0.06
11	83.9 ± 1.09		5.79 ± 0.55

The leaf polyphenol and proanthocyanidin was determined with folin-denis assay, and with vanilline-hydrochloric acid assay respectively. Data represent the mean of three determination ± standard deviation.

6、7の総ポリフェノール含有量は約45～60mg/g-dry weightであり番号1の非加熱の試料に比べかなり低い値を示していた。また、ティーバッグの形状に加工した番号番号3、11の総ポリフェノール含有量は同時期の試料の含有量に比べかなり低い値となっている。総プロアントシアニジン量は約6～12.5mg/g-dry weightのレベルの範囲にあり、他の報告⁷⁾とはやや低いがほぼ同レベルであった。しかし、プロアントシアニジンに対する加熱の影響は番号1および2の試料で分析を行うことができず不明である。また、ティーバッグの形状に加工した番号番号3、11ではポリフェノールと同様に同時期の試料の含有量に比べ低い値となっていた。

3.2 採取時期によるポリフェノール量の比較

採取時期による総ポリフェノールおよび総プロアントシアニジン含量の比較をFig.2へ示した。ただしティーバッグ形状の試料のデータは除いた。いずれの含有量も10月を境に大幅に上昇し、増加の倍率も両者でほぼ同率であった。10月以降ブルーベリーの葉は紅葉をはじめ赤紫に変色する。番号4、5、6の試料は採取時期が9月21日および22日と同時期であったが、含有量は大きく異なり分析上で誤差が生じたことも考えられ再検討が必要である。

3.3 ブルーベリー葉抽出物の抗酸化活性

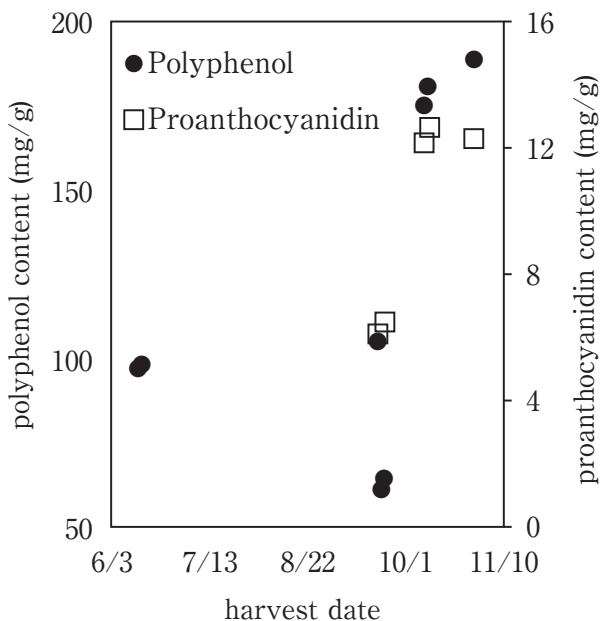


Fig 2. The change of polyphenol and proanthocyanidin levels in the blueberry leaf as a function of harvest date.

After October the middle of month, the leaf turned red. Data represent the mean of three determination.

ブルーベリーの機能性の根幹はその高い抗酸化活性にあることからブルーベリー抽出物の抗酸化活性をスーパーオキシドラジカル消去作用により評価した。採取日が9月21日(番号4)、10月9日(番号8)、10月27日(番号10)と異なる試料について比較を行った結果をFig.2に示した。抗酸化能は抽出に供した試料の乾燥重量($\mu\text{g/ml}$)に対するスーパーオキシドラジカル産生阻害活性をパーセントで表した。いずれの時期もほぼ同様の活性を示したが、50%のスーパーオキシドラジカル産生阻害活性を与える各試料の IC_{50} 値は、番号4(9月21日)の試料が66.4 $\mu\text{g/ml}$ 、番号8(10月9日)が48.5 $\mu\text{g/ml}$ 、番号10(10月27日)が57.4 $\mu\text{g/ml}$ と計算され、紅葉している番号8、10の試料の方が採取日の若い番号4の試料に比べ活性が強い傾向が示された。これらの総ポリフェノール量はTable.2, Fig.2で示されるように番号8、10の試料では番号4の試料に比べ紅葉に伴い増加していた。

4. 考察

近年、ブルーベリーの需要は著しく増大し、特にブルーベリーのサプリメントは多くの人々に浸透し根付いているように思われる。我が国における栽培面積も過去10年間で拡大し、収穫量は2.5倍に増加した。一方、ブルーベリーの葉は欧米ではハーブティーに利用されて来たが、最近国内においてもブルーベリー葉から茶を作る

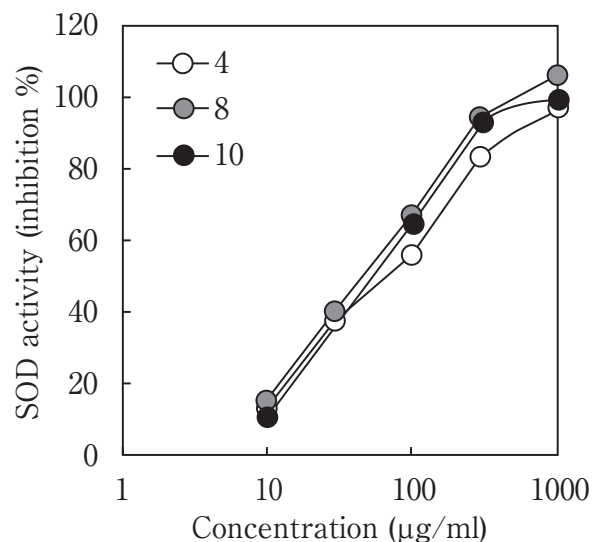


Fig 3. Comparison of superoxide radical scavenging activity of the blueberry leaf extracts between sample 4, 8 and 10. Data represent the mean of three determinations.

取組が始まりいくつかの商品も販売されるようになって
いる。

緒言でも触れたように青森県におけるブルーベリーの
収穫量は73.0トンであり、南郷地区は主要な生産地と
して栽培が盛んである。本研究ではブルーベリー葉の茶
を製造するに際して、ブランチングあるいは風味形成に
不可欠となる加熱・乾燥処理によるポリフェノールの損
耗や収穫時期による含有量の変化について予備的な調査
を行った。南郷地区で栽培されているノーザンハイブツ
シュ系の品種の葉について総ポリフェノールの含有量を
調査した結果、概ね100~180mg/g-dry weightのレベ
ルの範囲にあった。加熱・乾燥処理においては、処理効
率の観点よりより高温での操作が望まれるが、色調の劣
化やポリフェノールの損耗、抗酸化活性の低下などが懸
念される。宮崎県食品開発センターの報告では、180℃
で7分間処理した乾燥葉のプロアントシアニン含量は
凍結乾燥葉の57.3%にまで減少することを示していて、
150℃以下では大きな減少が見られないことを確認して
いる⁷⁾。本検討において同一サンプルの、高温の加熱は
行わず乾燥処理のみを施したものと高温で加熱処理を
行った処理条件の異なる試料に比較を行ったところ、両
者の総ポリフェノール含有量はいずれも約97mg/g-dry
weightと違いは認められず、この加熱条件(heat 1)
ではポリフェノールの損耗は生じていないことが示唆さ
れた。次に収穫時期によるポリフェノールの含有量と抗
酸化活性の変化を検討した。6月中旬から10月下旬ま
でに採取された試料について総ポリフェノールと一部は
プロアントシアニジンの含有量を調査した(Fig. 2)。処
理条件に若干の差異もあり単純な比較はできないが、い
ずれの含有量も10月を境に大幅に上昇した。この時期
はブルーベリーの紅葉が始まる時期である。紅葉の原因
となる赤色素はアントシアニン類であることが知られ
ており、紅葉に伴う赤色素の生産によりポリフェノー

ルおよびプロアントシアニン量が増大したことが示唆
された。さらに、9月21日(番号4)および10月9日
(番号8)、10月27日(番号10)の採取日が異なる三試
料について抗酸化活性の比較を試みた。総ポリフェノー
ル含量は10月以降に採取した二つの試料は9月採取の
試料に比べ1.7および1.8倍多かったが、三つに試料の
50%の抗酸化活性を与える試料濃度を示すIC₅₀値には
大きな違いは認められなかった。しかし、10月以降に
採取した二つの試料のIC₅₀値(番号8; 48.5μg/ml、番号
10; 57.4μg/ml)は、9月採取の試料のIC₅₀値(66.4μg/
ml)に比べ低く活性が高まっている傾向を示したが、
ポリフェノールの変化ほど大きな活性上昇ではなかつ
た。紅葉で生じてくるアントシアニン類の抗酸化活性は
強くない可能性も考えられる。

ブルーベリーの葉には果実を上回る量のポリフェノー
ルが存在する。現在特に利用されることの無い葉を活用
し健康に役立つ商品を作り出すことは可能と考えられ、
新たな製品の開発が期待される。

5. 参考文献

- 1) 伴 琢也: 園芸学研究:13 (3)、185-191 45 (2014)。
- 2) 佐藤充克. アントシアニン—食品の色と健康、建帛
社、pp. 106-123 (2000)。
- 3) H.Sakaida, K. Nagao, et al.: Biosci. Biotechnol.
Biochem., 71, 2335-2337 (2007)。
- 4) 農林水産省 平成 22 年産特産果樹生産動態調査。
- 5) Folin, O., Denis, W.: J. Biol. Chem., 22, 305-308
(1915)。
- 6) 菅原晃美、沖 智之,: 九州沖縄農業研究成果情報、
20、543-544 (2005)。
- 7) 松浦 靖、甲斐 孝憲,: 宮崎県工業技術センター・宮
崎県食品開発センター研究報告 56, 81-85 (2011)。