



ブラッドオレンジ果汁における抗酸化活性、糖質分解酵素阻害能およびアントシアニン

上田茂登子*・志水 恒介**・佐々木勝昭**・渡辺 克美*・宇都宮直樹**、***

* 近畿大学農学部食品栄養学科

** 近畿大学附属農場

*** 近畿大学農学部農業生産科学科

Antioxidant activities, inhibitory activity of saccharide-hydrolyzing enzymes and anthocyanins in blood orange juice

Motoko UEDA*, Kohsuke SHIMIZU**, Katsuaki SASAKI**,
Katsumi WATANABE* and Naoki UTSUNOMIYA **、***

* *Department of Food and Nutrition, Faculty of Agriculture, Kinki University,
3327-204, Nakamachi, Nara-shi, Nara 631-8505, Japan*

** *The Experimental Farm, Kinki University,
2355-2, Yuasa, Yuasa-cho, Arita-gun, Wakayama 643-0004, Japan*

*** *Department of Agricultural, Science, and Technology, Faculty of Agriculture, Kinki University,
3327-204, Nakamachi, Nara-shi, Nara 631-8505, Japan*

Synopsis

The anthocyanins of blood orange juice obtained from 'Moro' were determined. A high-performance liquid chromatographic method was used to identify and quantify anthocyanins of the blood orange juice. Anthocyanins were identified and quantified in 'Moro' orange juice, including cyanidin 3-glucoside, cyanidin, pelargonidin 3- glucoside, and pelargonidin.

Antioxidant activities of 'Moro' orange juice were measured using the DPPH method, linoleic acid peroxidation, β -carotene bleaching method, and xanthine oxidase-inhibitor method. According to these assays, the 'Moro' orange juice showed comparatively high antioxidant and xanthin oxidase-inhibitory potentials.

The inhibitory activity of 'Moro' orange juice against yeast α -glucosidases and human saliva α -amylase was compared. 'Moro' orange juice is thought to have inhibited α -glucosidases and α -amylase. These results suggest that 'Moro' orange juice has an inhibitory effect on saccharide digestion in the intestine based on inhibition of the activity of saccharide-hydrolyzing enzymes.

Keywords: 'Moro' blood orange, anthocyanins, antioxidant activity, α -glucosidase, α -amylase, inhibition

1. はじめに

カンキツには多くの種類があり、そのうちのスイートオレンジ類には普通系、ネーブルオレンジ、ブラッドオレンジおよび無機オレンジの4群がある¹⁾。ブラッドオレンジは、日本では近年、愛媛県宇和島地域で'Tarocco'が栽培されており²⁾、和歌山県有田郡では'Moro'の栽培が試みられている。

ブラッドオレンジは紫がかった濃赤色の果肉を

持った果実である。熟度が進むと果肉は血液がにじんだようになる着色オレンジで、果汁が赤色を呈する。ブラッドオレンジには3つの主な品種が存在する。スペインの'Sanguinello'、その'Sanguinello'が変異してできたとされるイタリアの'Tarocco'、そしてシチリア島の'Moro'である。'Sanguinello'や'Moro'は果肉の赤色が濃く、'Tarocco'は赤色がやや薄いのが特徴である^{3,4,5)}。果汁の赤色を生じさせている色素はアントシアニン系色素に起因する。アントシアニ

ンは植物の花や果実に広く分布している色素だが、カンキツにおいて果実がアントシアニン色素を持っているのはブラッドオレンジだけである。

アントシアニンは多くの種類の果実に含まれ、その機能性が注目されている。ブラッドオレンジは果汁に多くのアントシアニンを含んでおり、その機能性が解明されることにより、果汁の利用方法を拡大させる可能性が高い。しかし、ブラッドオレンジ果実の機能性成分に関する研究は数少ない。そこで、本研究ではブラッドオレンジ‘Moro’の果汁に含まれるアントシアニン色素と抗酸化活性、糖質分解酵素阻害能について調査した。

2. 材料および方法

平成23年2月下旬に和歌山県有田郡植栽‘Moro’樹から果実を採取し供試した。果実は果皮を取り除いたのち、果汁を搾り取った(図1)。

果汁の遊離糖および有機酸の測定

搾汁した果汁はメンブランフィルターでろ過したのち、10 μ Lを高速液体クロマトグラフ(島津製作所製、LC-10AS、RID-6A、SPD-10A)を用いて、遊離糖と有機酸の分析を行った。

遊離糖の分析 分析条件は、カラム：Shim-pack SCR-101C (7.9 mm \times 30 cm)、移動相：水、温度：80 $^{\circ}$ C、流速：1.0 mL/min、検出器：示差屈折計とした。

有機酸の分析 分析条件は、カラム：Shim-



果実と横断面

図1 ブラッドオレンジ果実

pack SCR-101H (7.9 mm \times 30 cm)、移動相：過塩素酸で pH2.1 に調整した水、温度：40 $^{\circ}$ C、流速：1.0 mL/min、検出器：紫外分光光度計 (210 nm) とした。

果汁の還元型アスコルビン酸の測定

果汁中の還元型アスコルビン酸はヒドラジン比色法⁶⁾で測定した。つまり、標準アスコルビン酸、試料、5%メタリン酸(ブランク)をそれぞれ1 mLとり、標準アスコルビン酸と5%メタリン酸(ブランク)には0.2% 2,6-ジクロロフェノールインドフェノール(以下 DPIP)溶液 0.25 mL、試料には0.2%チオ尿素・メタリン酸溶液 0.75 mLを加えた。20分放置後、標準アスコルビン酸と5%メタリン酸(ブランク)にはチオ尿素・メタリン酸溶液 0.25 mL、続いて標準アスコルビン酸と試料に2% 2,4-ジニトロフェニルヒドラジン(以下 DNP)硫酸溶液 0.25 mLを加えてオサゾンを生じさせた。50 $^{\circ}$ Cの恒温槽で1時間加温した後、水冷した。水冷しながら85%硫酸 1.25 mLを標準アスコルビン酸、試料および5%メタリン酸(ブランク)に加えた。次に5%メタリン酸(ブランク)にDNP 0.25 mLを加え、室温で30分間放置した後、520 nmで比色定量を行った。

果汁のアントシアニンの組成と含量および総ポリフェノールの測定

遊離糖および有機酸で用いた分析用試料を用いた。

総アントシアニン含量は Sondheimer の方法に従って測定した⁷⁾。試料 100 μ L に pH2.0 および pH3.4 の Sørensen 緩衝液 (0.1 M クエン酸ナトリウム-塩酸) 1 mL を加える。各 pH の抽出液を分光光度計で 500 nm の吸光度を測定し、両者の吸光度の差 (ODpH2.0 - ODpH3.4) を求めた。同様にシアニジンを用いて検量線を作成し、測定値をシアニジン含量として算出した。

アントシアニンの組成と含量の測定は、分析用試料を 3 μ L 取り、高速液体クロマトグラフ(島津製作所製、LC-10AS、SCL-10A、SPD-10A)に供した。

分析条件は、カラム：Inertsil ODS-2 (4.6 mm \times 25 cm)、移動相：A液 アセトニトリル：水/0.1%ギ酸 (99.9 : 0.1) = 10 : 90、B液 アセ

トニトリル：水/0.1%ギ酸 (99.9 : 0.1) = 35 : 65 のグラジエント溶出を行った。グラジエント条件はA液0分から60分で100%から20%、60分から85分で20%から0%とした。その他の条件は、温度：40°C、流速：1.0 mL/min、検出器：可視分光光度計 (520 nm) とした。アントシアニンの標準物質はフナコシ株式会社製を用いた。

総ポリフェノール含量の測定はフォーリンデニス法で行った⁷⁾。つまり、試料 1.0 mL に 1 N フェノール試薬 1.0 mL を加え混合し、3分後に10%炭酸ナトリウム 1.0 mL を加えて室温で1時間放置し、その後 700 nm で吸光度を測定した。果汁 100 mL 当たりのカテキン相当量 (mg) として示した。

機能性成分の評価

機能性評価は抗酸化活性と糖質分解酵素阻害能について検討した。なお抗酸化活性評価は、ブラッドオレンジ果汁と同じスイツオレンジ系のネーブルオレンジ果汁とアントシアニン系 (シアニジン) 色素を含むレッドオニオン外皮を用い比較した。ネーブルオレンジおよびレッドオニオンは大阪府内のスーパーマーケットで購入した。ネーブルオレンジは手で搾汁し、遠心分離 (15,000 rpm、20分) 後、上澄液 (果汁) を用いた。レッドオニオンは外皮 2.9 g をミルで粉碎し、10倍量の0.5%塩酸メタノールで抽出後、遠心分離 (15,000 rpm、20分) にかけて、この上澄液つまりアントシアニン抽出液 (以後、抽出液) を用いた。

1. 抗酸化活性の測定

1-1. DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) ラジカル消去活性⁸⁾

果汁または抽出液 800 μ L に 0.5 M トリス緩衝液 (pH7.4) を 200 μ L、0.5 mM DPPH エタノール溶液 1 mL を加えよく混合し、遮光状態で 50°C、20分放置した。その後50%エタノール 2 mL を加え、10分後に 517 nm における吸光度を測定した。ブランクとして水を用いた。DPPH 消去活性は次の式で求めた。

$$\text{DPPH ラジカル消去活性 (\%)} = (\text{ブランクの吸光度} - \text{試料液の吸光度}) / (\text{ブランクの吸光度}) \times 100$$

また、果汁または抽出液 100 mL 当たりの没食子酸相当量 (mg) を求めた。

1-2. リノール酸の過酸化度を示すロダゲル法⁹⁾

1-2-1. 酸化反応液の調製

1.3%リノール酸を含むエタノール 1.0 mL、0.1 M リン酸緩衝液 (pH7.0) 1.0 mL、水 0.5 mL、果汁または抽出液 50 μ L およびラジカル発生剤として 0.5 M AAPH (2,2'-Azobis (2-amidinopropane)-Dihydrochloride) 10 μ L をよく混合、密閉し、37°C で一晩放置した。この際、ブランクとしてエタノールをまた、抗酸化剤としてブチルヒドロキシアニソール (BHA) を添加したものをを用いた。

1-2-2. 抗酸化活性の測定

70%エタノール 4.7 mL、30%チオシアン酸アンモニウム 100 μ L に1-2-1のリノール酸酸化反応液 100 μ L を加え攪拌した。次に 0.02 M の塩化鉄 (II) を含む3.5%塩酸溶液 100 μ L を加えよく混合し、正確に3分後、500 nm における吸光度を測定した。抗酸化活性は次の式で求めた。

$$\text{抗酸化活性 (\%)} = (\text{ブランクの吸光度} - \text{試料液の吸光度}) / (\text{ブランクの吸光度}) \times 100$$

また、果汁または抽出液 100 mL 当たりの BHA 相当量 (mg) を求めた。

1-3. β -カロテン退色法¹⁰⁾

β -カロテン溶液 (100 mg/100 mL クロロホルム)、リノール酸溶液 (10 g/100 mL クロロホルム)、Tween40 溶液 (20 g/100 mL クロロホルム) を調製し、それぞれを 0.5 mL、0.2 mL、1.0 mL ずつ 200 mL 三角フラスコに取り、窒素ガスでクロロホルムを完全に飛ばした後、100 mL の蒸留水を加え溶解し、リノール酸- β -カロテン溶液を調製した。次に、この溶液 45 mL に 4 mL の 0.2 M リン酸緩衝液 (pH6.8) を加え静かに攪拌した後、4.9 mL を試験管に分注し、これに 100 μ L の果汁または抽出液を添加し、すばやく 50°C の反応槽に移し 5分毎に 470 nm の吸光度を測定した。BHA 1 mg/100 mL を標準液として β -カロテンの退色速度を果汁または抽出液と比較することにより相対的な抗酸化活性を測定した。なお表示法を検討した結果、反応開始後15分から45分までの吸光度の減少値を用いた。計算式は以下の通りである。

$$B/A = \text{試料液 (15分後の 470 nm の吸光度} - \text{45分後の 470 nm の吸光度}) / \text{BHA 1 mg/100 mL (15分後の 470 nm の吸光度} - \text{45分後の 470 nm の吸光度)}$$

また、果汁または抽出液 100 mL 当たりの BHA 相当量 (mg) を求めた。

1-4. XOD 阻害作用¹¹⁾

果汁または抽出液 200 μ L、基質溶液 (キサンチン) 1 mL、50 mM リン酸ナトリウム緩衝液 (pH7.8) 1.8 mL を混和し、37°C でインキュベートし、0 分から10分毎に 290 nm の吸光度を測定した。酵素はキサンチンオキシダーゼ (XOD、11.5 U/mL、ナカライテスク株式会社) を用いた。1 U は 1 分間当たり 1 μ mol の尿酸を生成する活性である。試料液の活性はモル吸光係数: $1.22 \times 10^4 \text{ cm}^{-1}$ より求めた。本実験では測定値が120分の時点で一定になったため、計算値は0分時と120分時のものを用いて計算を行った。

XOD 阻害率は、以下の計算式を用いて示した。

XOD 阻害率 (%) = $(1 - \text{試料液を添加した場合の尿酸生成量} / \text{XOD を添加した場合の尿酸生成量}) \times 100$

2. 糖質分解酵素阻害能の測定¹²⁾

2-1. 酵母由来 α -グルコシダーゼ阻害作用

0.4 M スクロースを含む 0.1 M リン酸ナトリウム緩衝液 (pH6.7) 1,875 μ L、0.1 M リン酸ナトリウム緩衝液 (pH6.7) 150 μ L、1%塩化ナトリウム水溶液 375 μ L を混合した基質溶液 2.4 mL および果汁と 1.0 U/mL α -グルコシダーゼ (オリエンタル酵母工業株式会社) を含む 0.1 M リン酸ナトリウム緩衝液 (pH6.7) 溶液の当量混合液 (ポリフェノール/グルコシダーゼ混合液) をそれぞれ 37°C で10分間プレインキュベートした。その後、基質溶液にポリフェノール/グルコシダーゼ混合液 600 μ L を加えて 37°C で30分間インキュベート後、直ちに 2 M 水酸化ナトリウム水溶液 375 μ L を加えて反応を停止させた。次に 1%ジニトロサリチル酸水溶液 375 μ L を加え、沸騰水中10分間加熱した。冷却後、540 nm で吸光度を測定し、 α -グルコシダーゼ活性阻害率を算出した。

阻害率 (%) = $((\text{対照の吸光度} - \text{対照ブランクの吸光度}) - (\text{試料液の吸光度} - \text{試料液ブランクの吸光度})) / (\text{対照の吸光度} - \text{対照ブランクの吸光度}) \times 100$

2-2. ヒト唾液由来 α -アミラーゼ阻害作用

0.5%デンプンを含む 0.1 M リン酸ナトリウム緩衝液 (pH6.7) 1,875 μ L、0.1 M リン酸ナトリウム緩衝液 (pH6.7) 150 μ L、1%塩化ナトリウ

ム水溶液 375 μ L を混合した基質溶液 2.4 mL および果汁と 0.25 U/mL α -アミラーゼ (Type IX-A-ヒト唾液由来 α -アミラーゼ、1,000~3,000 U、SIGMA) を含む 0.1 M リン酸ナトリウム緩衝液 (pH6.7) 溶液の等量混合液 (ポリフェノール/アミラーゼ混合液) は、それぞれ 37°C で10分間プレインキュベートした。その後、基質溶液にポリフェノール/アミラーゼ混合液 600 μ L を加えて混合し、37°C で30分間インキュベート後、直ちに 2 M 水酸化ナトリウム水溶液 375 μ L を加えて反応を停止させた。次に 1%ジニトロサリチル酸水溶液 375 μ L を加え、沸騰水中10分間加熱した。冷却後、540 nm の吸光度を測定し、 α -アミラーゼ阻害率を算出した。

阻害率 (%) = $((\text{対照の吸光度} - \text{対照ブランクの吸光度}) - (\text{試料液の吸光度} - \text{試料液ブランクの吸光度})) / (\text{対照の吸光度} - \text{対照ブランクの吸光度}) \times 100$

3. 結 果

遊離糖、有機酸および還元型アスコルビン酸含量

表1にはブラッドオレンジ果汁における遊離糖、有機酸および還元型アスコルビン酸含量を示した。糖組成は主にグルコースとフルクトースで構成されていた。有機酸はクエン酸が主要成分であった。還元型アスコルビン酸含量は、果汁 100 mL に 86.5 mg 含まれていた。

アントシアニンの組成と含量および総ポリフェノール含量

総アントシアニンは果汁 100 mL にシアニジン

表1 ブラッドオレンジ果汁の遊離糖、有機酸および還元型アスコルビン酸含量

成分	果汁 (g/100 mL)
スクロース	2.03 \pm 0.37
グルコース	6.29 \pm 0.24
フルクトース	4.56 \pm 0.14
全糖	12.9 \pm 0.25
クエン酸	1.14 \pm 0.30
リンゴ酸	0.17 \pm 0.02
総酸	1.31 \pm 0.12
還元型アスコルビン酸	0.0865 \pm 0.0006

平均値 \pm 標準偏差 (n=3)

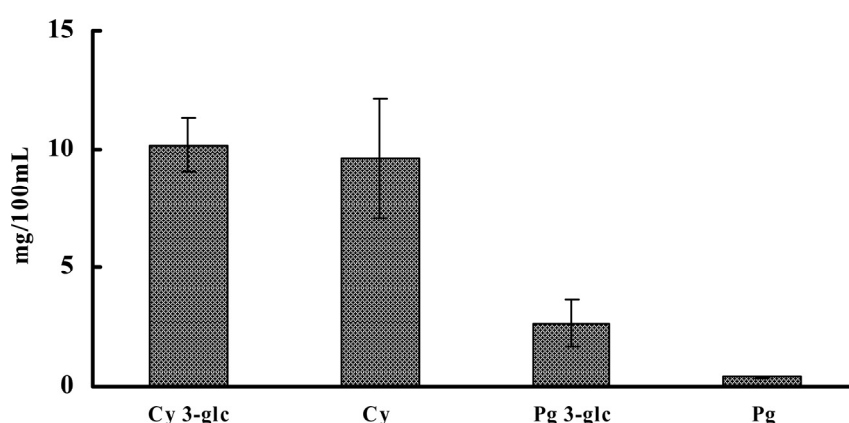


図2 ブラッドオレンジ果汁のアントシアニン組成と含量
 Cy 3-glc : シアニジン 3-グルコシド Cy : シアニジン
 Pg 3-glc : ペラルゴニジン 3-グルコシド Pg : ペラルゴニジン

換算で 31.8 ± 1.5 mg 含まれていた。アントシアニン色素の定量を行った結果は図2に示すとおりで、ブラッドオレンジ果汁における主要な色素はシアニジン 3-グルコシド（クリサンテミン）とシアニジンであった。ブラッドオレンジ果汁のアントシアニンはシアニジン系の色素がほとんどを占めていた。総ポリフェノールは 100 mL 中に 157.4 ± 6.3 mg（カテキン相当量）が含まれていた。その総ポリフェノールの約20%はアントシアニン系色素であった。

機能性成分の評価

ブラッドオレンジ果汁、ネーブルオレンジ果汁およびレッドオニオン外皮抽出液の抗酸化活性の結果は表2に示すとおりである。

1. 抗酸化活性

1-1. DPPH ラジカル消去活性

ブラッドオレンジ果汁は 100 mL あたり没食子酸相当量として 15.2 ± 0.2 mg となった。ネーブルオレンジ果汁では活性が見られなかった。レッドオニオン外皮抽出液の没食子酸相当量 (15.6 ± 1.3 mg/100 mL) はブラッドオレンジ果汁と同程度であった。阻害率で比較してもブラッドオレンジ果汁10.1%、レッドオニオン外皮抽出液10.2%の DPPH ラジカル消去活性を示した。

1-2. リノール酸の過酸化度を示すロダン鉄法

ブラッドオレンジ果汁 100 mL 当たりの BHA 相当量は 84.1 ± 1.6 mg であった。レッドオニオン外皮抽出液では 113.6 ± 1.6 mg/100 mL とブラッドオレンジ果汁よりもやや高い抗酸化活性を

表2 ブラッドオレンジ果汁、ネーブルオレンジ果汁およびレッドオニオン外皮抽出液の抗酸化活性

	抗酸化活性							
	DPPH ラジカル消去活性		リノール酸過酸化度 (ロダン鉄法)		β -カロテン退色法		XOD 活性	
	阻害率 (%)	相当量 ¹⁾	阻害率 (%)	相当量 ²⁾	阻害能(B/A) ³⁾	相当量 ⁴⁾	阻害率 (%)	
ブラッドオレンジ果汁	10.1 ± 0.5	15.2 ± 0.2	66.8 ± 1.1	84.1 ± 1.6	0.345 ± 0.046	81.0 ± 2.0	59.6 ± 3.5 ⁵⁾	
ネーブルオレンジ果汁	—	—	—	—	0.956 ± 0.053	98.1 ± 10.5	—	
レッドオニオン外皮抽出液	10.2 ± 1.9	15.6 ± 1.3	79.4 ± 1.4	113.6 ± 1.6	0.732 ± 0.101	90.9 ± 9.3	36.7 ± 5.2 ⁵⁾	

平均値 \pm 標準偏差 (n=3)

— : なし

1) : 没食子酸 mg/100 mL

2) : BHA mg/100 mL

3) : 1 mg BHA/100 mL を 1 とした相対値

4) : BHA mg/100 mL

5) : 5 倍希釈

示した。しかし、ネーブルオレンジ果汁では抗酸化活性が認められなかった。

1-3. β -カロテン退色法

ブラッドオレンジ果汁 100 mL 当たりの BHA 相当量が 81.0 ± 2.0 mg であった。ブラッドオレンジ果汁はネーブルオレンジ果汁 (98.1 ± 10.5 mg/100 mL)、レッドオニオン外皮抽出液 (90.9 ± 9.3 mg) と比較すると、やや低い抗酸化活性を示した。特にネーブルオレンジ果汁は β -カロテンの退色を抑制した。

1-4. XOD 阻害活性

XOD 阻害活性はネーブルオレンジの原果汁において見られず、レッドオニオンの外皮抽出液の 5 倍希釈で 36.7% の阻害率が認められた。一方、ブラッドオレンジ果汁の阻害率は 5 倍希釈で 59.6% であり、高い XOD 活性阻害が認められた。生体内での抗酸化活性を測定する一方法である XOD 活性は、ブラッドオレンジ果汁、レッドオニオン外皮抽出液の順に強く抑制した。

2 糖質分解酵素阻害能

2-1. 酵母由来 α -グルコシダーゼ阻害作用

ブラッドオレンジ果汁に含まれるポリフェノール含量と α -グルコシダーゼ阻害活性の関係を図 3 に示した。果汁 1 mL に 0.16 mg のポリフェノールが含まれていると 30.6%、0.3 mg が 82.5%、1.6 mg が 99.6% の阻害率となり、酵母由来 α -グルコシダーゼ阻害作用が見られた。

2-2. ヒト唾液由来 α -アミラーゼ阻害作用

図 3 にはブラッドオレンジ果汁に含まれるポリフェノール含量と α -アミラーゼ阻害活性の関係も示している。果汁 1 mL に 0.16 mg のポリフェノールが含まれていると 55.4%、0.3 mg が

99.2%、1.6 mg が 100% の阻害率となり、酵母由来 α -グルコシダーゼと共にヒト唾液由来 α -アミラーゼにおいても阻害作用が示唆された。

4. 考 察

カンキツ類では果汁中の糖はスクロースが主要成分であるが⁴⁾、ブラッドオレンジではグルコース、フルクトースが主成分となっていた。還元型アスコルビン酸含量は、例えば、一般的なカンキツ類 (30~40 mg/100 g) の約 2~3 倍含有されていた⁴⁾。ブラッドオレンジの果汁中のアントシアニンは、主にシアニジン 3-グルコシド (クリサンテミン) とシアニジンであり、その含量はシアニジン換算で 31.8 ± 1.5 mg/100 mL であった。食品素材中の個々のアントシアニン含量を測定したデータは少ないが、オウトウでは 2~4 mg/100 g 新鮮重、果肉まで赤いクラブアップル (ジェネバ) の果汁で 1 mg 程度/100 g 新鮮重、長ナス外果皮で 50~100 mg/100 g 新鮮重、ベリー類で 10~80 mg/100 g 新鮮重が報告されている^{13,14)}。シアニジン系色素を多く含む食品のアントシアニン含量については、五十嵐らが食用菊の 'モッテノホカ' で 1~2 mg/100 g 新鮮重、赤カブの 'アツミカブ' で 20~30 mg/100 g 新鮮重であることを報告しており¹⁵⁾、それらの食品と比べて、ブラッドオレンジ果汁には比較的多くのアントシアニンが含まれていた。ネーブルオレンジ果汁では、DPPH 消去活性法とリノール酸の過酸化度 (ロダン鉄法) による抗酸化活性は認められなかったが、ブラッドオレンジ果汁ではそれらによる抗酸化活性が認められた。ブラッドオレンジ果

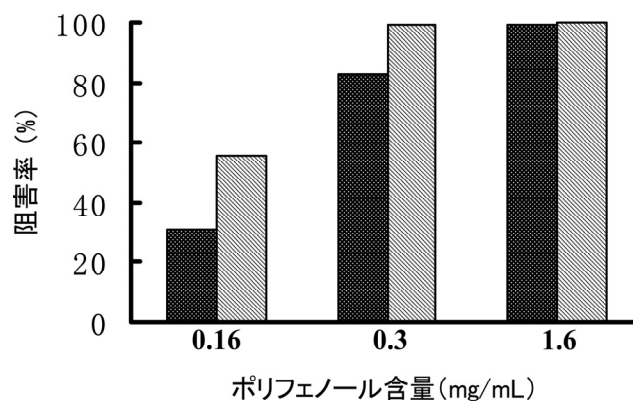


図3 ブラッドオレンジ果汁の糖質分解酵素阻害能

■: 酵母由来 α -グルコシダーゼ □: ヒト唾液由来 α -アミラーゼ

汁の活性は、レッドオニオン外皮抽出液と比較して、DPPH 消去活性では同程度であり、リノール酸の過酸化度（ロダン鉄法）ではやや劣った。また β -カロテン退色法では、ブラッドオレンジ果汁の抗酸化活性がネーブルオレンジ果汁およびレッドオニオン外皮抽出液に比べて劣った。一方、XOD 阻害活性法では、ブラッドオレンジ果汁の抗酸化活性が優れていることが示され、ハーブ類の一種であるセージと同程度の活性となった¹⁶⁾。

本実験ではブラッドオレンジ果汁における抗酸化活性を DPPH ラジカル消去活性法、リノール酸の過酸化度（ロダン鉄法）、 β -カロテン退色法および XOD 阻害活性法で評価した。

活性酸素生成系である XOD 活性の阻害は酸化ストレスを低減することができる。これら活性酸素種が組織障害を引き起こすと考えられており、XOD が虚血性疾患などによる組織障害に関与していることが示唆されている¹⁷⁾。さまざまな農作物の抗酸化活性について調べられているが、抗酸化活性はポリフェノール含量に比例して高まり^{10,18)}、主にアントシアニン色素を含んでいる農作物に顕著であった^{19,20)}。同じスイートオレンジ系柑橘であるネーブルオレンジ果汁の抗酸化活性はブラッドオレンジ果汁と比べ低値を示したことから、アントシアニン色素の抗酸化活性への関与が示唆された。アントシアニン色素を有するレッドラズベリーは、シアニジン、ペラルゴニン系アントシアニンと多量のエラジタンニン、サングイン H-6 を含有し、それらの抗酸化活性の寄与が確認された²¹⁾。同じスイーツオレンジ系柑橘であるネーブルオレンジ果汁は、リノール酸の過酸化度（ロダン鉄法）および XOD 阻害活性に基づく抗酸化作用がブラッドオレンジ果汁よりも低値を示していた。しかし、 β -カロテン退色法ではブラッドオレンジ果汁より高い抗酸化活性を示した。ネーブルオレンジ果実中のクロロゲン酸、ヘスペリジン、ルテオリン、ミリセチン、ナリンゲニン、 p -クマリン酸およびケルセチンの拮抗的、付加的、相乗的相互作用が認められ、フラボノイド類の相互作用の関与が考えられ、アントシアニンの他にフラボノイド、アスコルビン酸などが抗酸化活性に影響していることが示唆された^{22,23)}。

本実験では、ブラッドオレンジ果汁に本来含ま

れる糖質やタンパク質を蒸留水で平衡化したダイヤイオン HP20 カラム（三菱化学）に負荷し、蒸留水による溶出で除去した。そして、酵母由来 α -グルコシダーゼとヒト唾液由来 α -アミラーゼ活性の阻害能について検討を行った。その結果、両酵素において阻害作用が認められ、特に、低濃度のポリフェノールでヒト唾液由来 α -アミラーゼ活性を強く阻害した。

アントシアニンは、基質とグルコシル基の結合を阻害するアカルボースと同様な α -グルコシダーゼ阻害剤として作用することが報告されており²⁴⁾、この阻害作用に果汁中のポリフェノール（アントシアニン）の関与が示唆された。田村らは、おとぎり草茶のヒト食後血糖上昇抑制作用と抗酸化能は茶に含有されるポリフェノールによるものと推察している²⁵⁾。

本実験の結果からブラッドオレンジ果汁は、生体調節機能を持つ可能性が示されたが、その利用のためにはさらに詳細な分析が必要である。

5. 要 約

ブラッドオレンジ果汁の機能性として、抗酸化活性と糖質分解酵素阻害能について評価した。抗酸化活性は DPPH ラジカル消去活性、リノール酸の過酸化度（ロダン鉄法）、 β -カロテン退色法および XOD 活性の 4 種類で測定した。抗酸化活性の結果は DPPH ラジカル消去活性、リノール酸の過酸化度（ロダン鉄法）、 β -カロテン退色法および XOD 活性阻害率がそれぞれ 15.2 ± 0.2 mg 没食子酸/100 mL、 84.1 ± 1.6 mg BHA/100 mL、 81.0 ± 2.0 mg BHA/100 mL および $59.6 \pm 3.5\%$ （5 倍希釈）を示し、抗酸化能が認められた。糖質分解酵素阻害能では、酵母由来 α -グルコシダーゼおよびヒト唾液由来 α -アミラーゼに阻害作用が見られ、特に低濃度のポリフェノールにおいてヒト唾液由来 α -アミラーゼ阻害活性が高かった。これらの抗酸化活性と糖質分解酵素阻害にはブラッドオレンジ果汁に含まれるポリフェノール（主にアントシアニン）が関与していると示唆された。

6. 引用文献

- 1) 伊藤三郎 (1991) 果実の科学. pp.136-137、

- 朝倉書店、東京。
- 2) 平岡芳信・逢阪江理・開俊夫 (2010) ブラッドオレンジの加工に関する研究 (第1報). 愛媛県産業技術研究所研究報告、No. 48、pp. 28-31.
 - 3) (社) 農山漁村文化協会 (2000) 果樹園芸大百科 1 カンキツ. pp. 75-77、(社) 農山漁村文化協会、東京.
 - 4) (社) 日本果汁協会 (1997) 最新 果汁・果実飲料事典. pp. 36、71-77、朝倉書店、東京.
 - 5) 杉浦明・宇都宮直樹・片岡郁雄・久保田尚浩・米森敬三 (2008) 果実の事典. pp. 226-227、朝倉書店、東京.
 - 6) 日本食品工業学会 食品分析法編集委員会編 (1982) 食品分析法. pp. 466-471、光琳、東京.
 - 7) 作物分析法委員会 (1975) 栄養診断のための栽培植物分析測定法. pp. 395-399、pp. 422-423、養賢堂、東京.
 - 8) 梶本五郎・村上智嘉子 (1999) 各種市販茶の抗酸化性とそれらの成分. 日本栄養・食糧学会誌、52(4)、pp. 209-218.
 - 9) 白坂憲章・暮松亜紀・金銅信之・金銅俊二・飯田雅弘・長谷川豪宏・村上哲男・吉栖肇 (1999) 梅酒の抗酸化性と抗酸化物質の単離と同定. 日本食品科学工学会誌、46(12)、pp. 792-798.
 - 10) 津志田藤二郎・鈴木雅博・黒木柁吉 (1994) 各種野菜類の抗酸化性の評価および数種の抗酸化成分の同定. 日本食品工業学会誌、41(9)、pp. 611-618.
 - 11) 谷口直之 (1994) 活性酸素実験プロトコール測定法・遺伝子解析・病態生理モデル. pp. 158-160、秀潤社、東京.
 - 12) 齋藤優介・西繁典・小疇浩・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 α -アマラーゼおよび α -グルコシダーゼ阻害活性. 日本食品科学工学会誌、54(12)、pp. 563-567.
 - 13) 菅原哲也・野内義之・五十嵐喜治 (2006) ジェネバ (クラブアップル) 果汁のポリフェノール成分とラジカル消去活性. 日本食品科学工学会誌、53、pp. 232-235.
 - 14) 立山千草・五十嵐喜治 (2006) ナス果菜の栽培品種・部位別アントシアニン量、クロロゲン酸量およびラジカル消去活性. 日本食品科学工学会誌、53、pp. 218-224.
 - 15) 五十嵐喜治 (2008) 食品素材によるアントシアニンの成分特性と機能・利用. 日本調理科学会誌、41(3)、pp. 167-175.
 - 16) 増田勝己・久保千恵・鳴瀬みどり (2009) 食用植物と香辛料のキサンチンオキシダーゼ阻害活性について. 仁愛女子短期大学研究紀要、第41号、pp. 29-36.
 - 17) 市田公美 (2011) 臓器障害リスクプレーヤーとしてのキサンチンオキシダーゼ. 血圧、18(7)、pp. 18-21.
 - 18) Fukushima Yoichi, Ohie Takashi, Yonekawa Yasuhiko, Yonemoto Kohei, Aizawa Hiroki, Mori Yoko, Watanabe Makoto, Takeuchi Masato, Hasegawa Maiko, Taguchi Chie, Kondo Kazuo (2009) Coffee and green tea as a large source of antioxidant polyphenols in the Japanese population. J. Agric. Food Chem., 57(4), pp. 1253-1259.
 - 19) 須田郁夫・沖智之・増田真美・小林美緒・比屋根理恵・古田収・西場洋一 (2003) 沖縄主要農作物の抗酸化活性とポリフェノール含量. 九州沖縄農業研究成果情報、No. 18 下巻、pp. 655-656.
 - 20) 農業・生物系特定産業技術研究機構 九州沖縄農研センター (2004) 九州沖縄農業研究センターにおける最近の主要研究成果、第7集平成16年、pp. 17.
 - 21) Mullen W., Mcginn J., Lean M. E. J., Maclean M. R., Crozier A., Gardner P. Duthie G. G., Yokota T., (2002) Ellagitannins, flavonoids, and other phenolics in red raspberries and their contribution to antioxidant capacity and vasorelaxation properties. J. Agric. Food Chem., 50(18), pp. 5191-5196.
 - 22) Wang S. Y., Jiao H. (2000) Scavenging capacity of berry crops on superoxide radicals, hydrogen peroxide, hydroxyl radicals, and singlet oxygen. J. Agric. Food Chem., 48(11), pp. 5677-5684.
 - 23) Freeman Brenner L., Eggett Dennis L., Parker Tory L., (2010) Synergistic and antagonistic interactions of phenolic com-

- pounds found in navel oranges. J. Food Sci., 75(6), pp. C570-C576.
- 24) Yang Yao, Wei Sang, Mengjie Zhou and Guixing Ren (2010) Antioxidant and α -glucosidase inhibitory activity of colored grains in China. J. Agric. Food Chem., 58(2), pp. 770-774.
- 25) 田村朝子・山岸あづみ・三原法子 (2009) おとぎり草茶のヒト食後血糖上昇抑制作用と抗酸化能. 日本家政学会誌、60(7)、pp. 673-680.