

沖縄県産パイナップル(*Ananas comosus* (L.) Merr.) におけるラジカル消去成分の品種間差異

西場 洋一^{1)*}・正田 守幸²⁾・崎山 澄寿²⁾・竹内 誠人²⁾・矢原 正治³⁾・福永 千紘³⁾・吉元 誠⁴⁾

(¹⁾九州沖縄農研・²⁾沖縄農研・³⁾熊本大学・⁴⁾鹿児島女子短期大学)

Cultivar difference of radical-scavenging components contained in pineapple
(*Ananas comosus* (L.) Merr.) harvested in Okinawa prefecture

Yoichi NISHIBA¹⁾, Moriyuki SHODA²⁾, Sumisu SAKIYAMA²⁾, Makoto TAKEUCHI²⁾,

Shoji YAHARA³⁾, Chihiro FUKUNAGA³⁾, Makoto YOSHIMOTO⁴⁾

(¹⁾Natl. Agric. Res. Cent. Kyushu Okinawa Reg., ²⁾Okinawa Pref. Agric. Res. Cent.,

³⁾Kumamoto Univ., ⁴⁾Kagoshima Women's Junior College)

パイナップルは南西諸島地域の強酸性土壌に適応可能な作物であり、沖縄県の地域経済にとって極めて重要な作物である。近年、消費者の健康志向の高まりを受け、健康機能性の面からパイナップルの付加価値を向上させることを目的としてパイナップルの機能性を評価する研究が盛んに行われている (Wenら 2002, Xieら 2005, Maら 2007)。特に、生活習慣病等の発症に生体内での活性酸素、フリーラジカルの過剰発生が関与しており、これらを消去する抗酸化成分を含む食材の摂取がこれら疾病の予防に有効であるとする知見が蓄積されていることから (石見 2000, 吉川 2005)、パイナップルについても果実や加工品の抗酸化性の調査が行われている (Murciaら 2001, 須田ら 2005, 吉元ら 2008)。しかしながら、パイナップル果実について、抗酸化性に関与する成分の詳細な解析や品種による違い等を調べた例はこれまで殆どなく、パイナップル果実の有する生理機能性には未解明な部分が多いのが現状である。

農作物の抗酸化成分を詳細に調べる方法として、オンラインHPLC (High Performance Liquid Chromatography)-DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) 法が知られている (Okiら 2006)。HPLCにより成分の分析を行うと同時に、HPLCカラムからの溶出液を常温で安定なラジカルであるDPPHと混合し、DPPHラジカルの消去に伴う吸光度の変化からHPLCクロマトグラム上のラジカル消去活性を有するピークを特定する手法である。本研究では、国産パイナップルの更なる高付加価値化に繋がる情報を得ることを目的とし、沖縄県で育成されたパイナップル品種・系統について果肉、および果皮からの抽出液をオンラインHPLC-DPPH法により分析し、ラジカル消去活性を有する成分の品種・系統間差異を調査した。

材料および方法

パイナップル果実は2008年および2009年に沖縄県農業研究センター名護支所にて収穫された品種・系統を供試した。果実を果肉と果皮に切り分け、それぞれをサイコロ状にカットして抽出処理まで冷凍保存した。抽出処理前に解凍、混和し、約2gを秤量して20 mL 80%エタノールを加えてホモジナイズした。室温で1時間振盪した後、遠心分離を行い上清を回収した。沈殿に対して再度20 mL 80%エタノールを加え、同様に振盪および遠心分離を行って上清を回収した。回収した上清を合わせ、80%エタノールにて50 mLにメスアップし抽出液とした。5 mLの抽出液を取り、5 mLヘキサンを加えて攪拌した後にヘキサン層を除去し、50℃、減圧下で溶媒を留去した。残渣を1 mL 80%エタノールに溶解し、フィルターを通してHPLC試料とした。

HPLCは既報 (Larrauriら 1997) に従い、条件を一部変更し以下の通り行った。カラムはNucleosil 5u C18 120A (250 mm, 4.6 mm I.D., Phenomenex社) にガードカラムを装着して使用した。溶離液はA液: 8.5 mMリン酸: メタノール (80 : 20, v/v), B液: メタノールとし、以下のようにB液濃度を変化させグラジエント溶出を行った。0分: 0%, 10分: 20%, 30分: 30%, 50分: 50%。溶離液流速は1 mL/分、カラム温度は40℃、試料注入量は10 μ Lとした。検出は多波長検出器 (MD-910, 日本分光) を使用し、ポリフェノール類の検出に多用される280 nm、およびフラボノイド類の検出に多用される320 nmにてピークの検出を行った。

HPLCクロマトグラム上のラジカル消去活性を有するピークを特定するため、ポストカラム反応によるオンラインHPLC-DPPH法 (Okiら 2006) を以下の条件で行った。20 μ mol/L DPPH/メタノールと0.2 mol/L MES (2-morpholinoethanesulfonic acid, monohydrate) 緩衝液

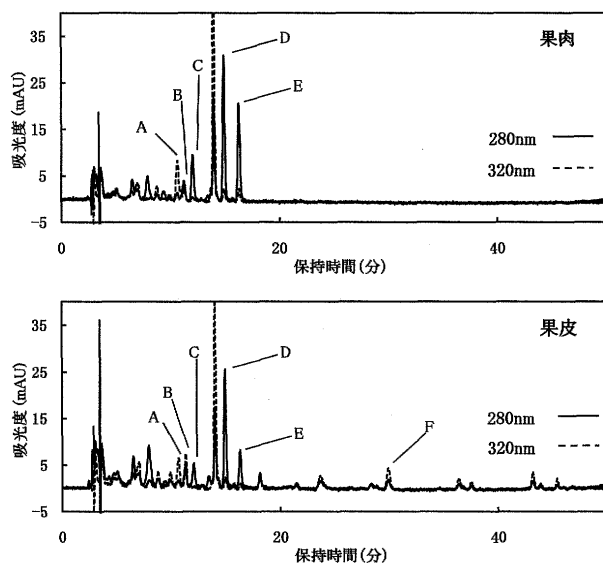
キーワード: ラジカル消去, 抗酸化, 機能性, パイナップル, 品種間差異

*連絡責任者: nishiba@affrc.go.jp

(pH 6.0) を 1 : 1 で混合してポストカラム反応液を調製した。1 台目の検出器 (MD-910) からの溶出液を反応液と混合し、反応コイル (polyetheretherketone tube, 0.25 mm I.D., 4 m, 60°C) を通して反応させた後 2 台目の検出器 (UV-970, 日本分光) により DPPH ラジカル消去による 517 nm 吸光度の低下を負ピークとして検出した。反応液は分析中 4°C に保持し、流速 0.5 mL/分 で送液した。1 台目の検出器 (MD-910) と 2 台目の検出器 (UV-970) の間のタイムラグは、既知のラジカル消去物質であるカフェ酸 (80% エタノール溶液) を試料としてオンライン HPLC-DPPH を行い、1 台目の検出器におけるピークと 2 台目の検出器における負ピークの保持時間を実測してその差から 0.76 分と決定した。

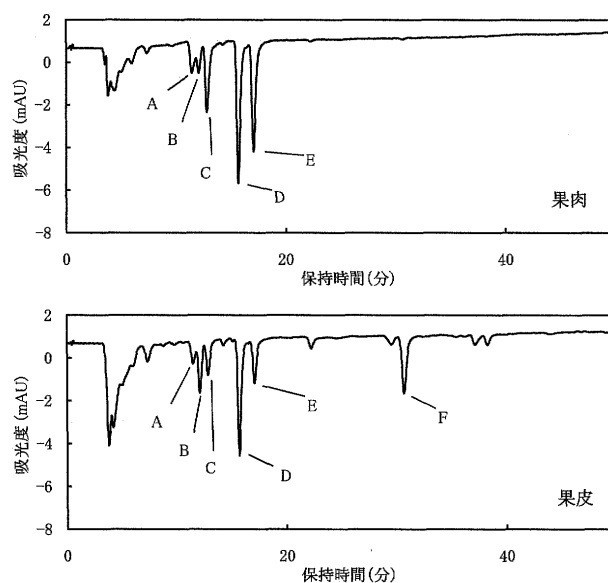
結果および考察

第 1 図にパインアップル抽出液を試料とした通常の HPLC の典型的なクロマトグラムを、第 2 図にそれに対応するオンライン HPLC-DPPH の典型的なクロマトグラムを示した (品種: 「ジュリオスター」, 2008 年産)。果肉の 80% エタノール抽出液のオンライン HPLC-DPPH クロマトグラムを見ると、主に 5 本のラジカル消去活性を有する負ピークが検出された。また、通常の HPLC クロマトグラム (280 nm または 320 nm) においても、これらの負ピークより 0.76 分早い保持時間の近傍にピークが検出されており、これらをパインアップル果肉抽出液における主要なラジカル消去物質であると推定した (ピーク A~E)。これらのピークは調査したパインアップルの品種・系統によりピークの大きさに差はあるものの、ピークの種類は共通してお



第 1 図 パインアップル果実抽出液の HPLC クロマトグラム。

「ジュリオスター」(2008 年産) を試料とし、280 nm および 320 nm で測定した。各ピークの保持時間 (分) は以下の通り。果肉 A : 10.69, B : 11.32, C : 12.05, D : 14.91, E : 16.29。果皮 A : 10.68, B : 11.32, C : 12.04, D : 14.91, E : 16.29, F : 29.89。



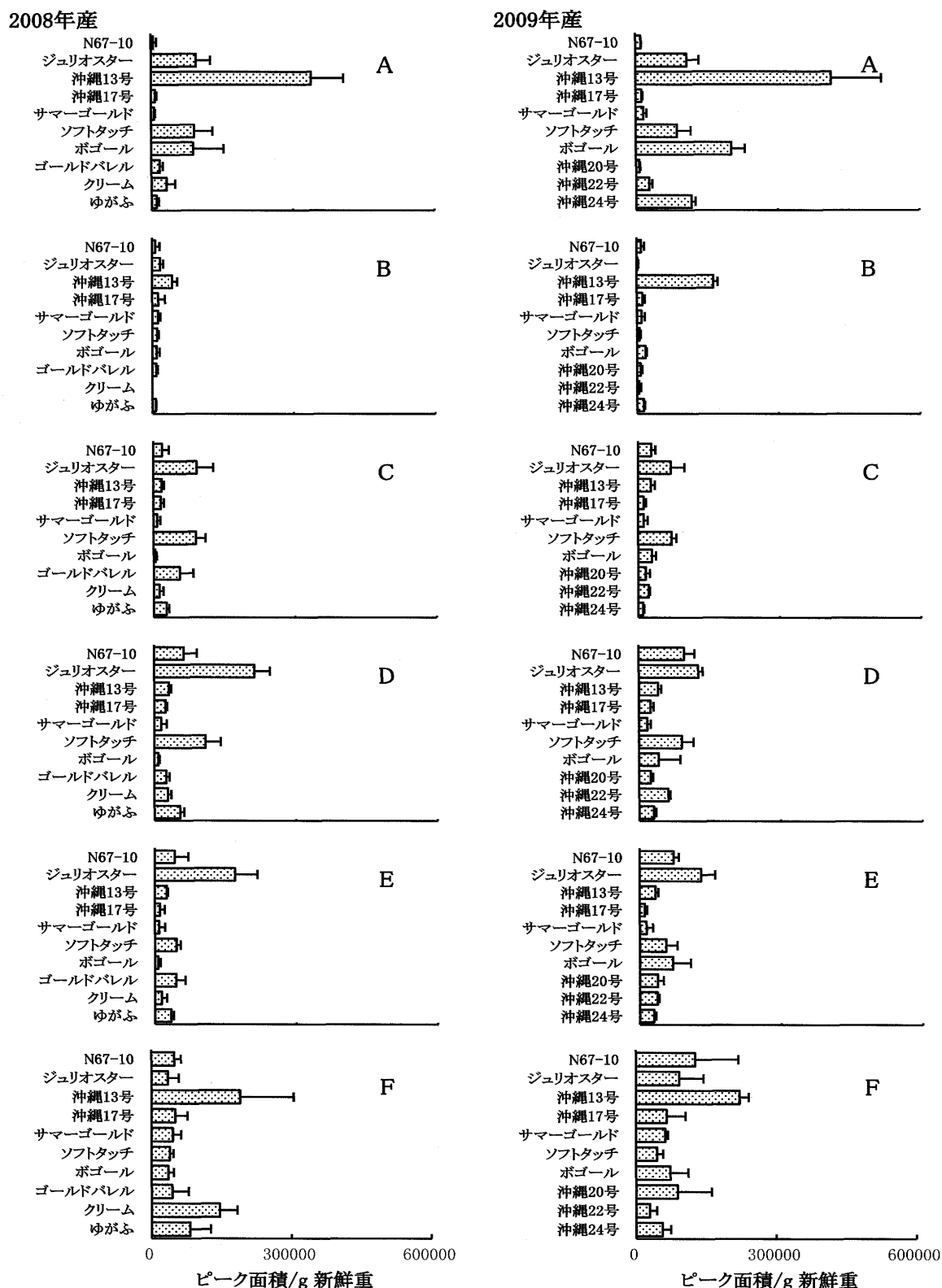
第 2 図 パインアップル果実抽出液の HPLC-DPPH クロマトグラム。

「ジュリオスター」(2008 年産) を試料とし、ポストカラムで混合した DPPH 溶液の退色を測定した (517 nm)。各ピークの保持時間 (分) は以下の通り。果肉 A : 11.44, B : 12.08, C : 12.83, D : 15.68, E : 17.06。果皮 A : 11.45, B : 12.07, C : 12.83, D : 15.68, E : 17.06, F : 30.68。

り、これら 5 種類の成分が今回分析したパインアップル品種・系統の果肉においてはラジカル消去成分として主要なものであると思われる。

一方、果皮抽出液のクロマトグラムにおいては果肉で観察されたピーク A~E に加えて、より保持時間の遅いピークがいくつか見出され、主要なピークを F とした。切り分けた果皮には果肉もまだ若干残っていたため、ピーク A~E に関しては果肉に由来するものである可能性が考えられるが、それ以降のピークに関しては果皮に特有のラジカル消去成分であると考えられる。また、今回使用した HPLC カラムは逆相系のカラムであることから、果皮には果肉に比べて脂溶性のラジカル消去成分が多く存在すると推察される。

ラジカル消去活性を有するピーク A~F について、沖縄県農業研究センター育成のパインアップルにおける品種・系統間差異を調査した。2008 年および 2009 年産のパインアップルについて分析を行った結果、パインアップルのラジカル消去成分含量は品種・系統により大きく差があることが明らかとなった (第 3 図)。2 年間に渡って入手可能であった 7 品種・系統について見ると (「N67-10」, 「ジュリオスター」, 「沖縄 13 号」, 「沖縄 17 号」, 「サマーゴールド」, 「ソフトタッチ」, 「ボゴール」), 年次によってピークの大きさに差はあるものの、品種・系統間の傾向にはある程度の共通性が見られた。ピーク A, B, F については「沖縄 13 号」が 2008 年産, 2009 年産共に最も高い傾向であった。一方、ピーク C, D, E に関しては「ジュリオスター」が両年で最も高い傾向を示しており、パインアップル果実におけるこれらのラジカル消去成分の含量の違いは遺伝的特性によ



るものであることが示唆された。

パインアップルの抗酸化性、ラジカル消去活性について、以前の報告では他の作物との比較において論じたものが主であったが (Murciaら 2001, 須田ら 2005), 実際にはパインアップルという作物の中でラジカル消去成分に大きな品種・系統間差異が存在することが今回の研究により明ら

かとなった。パインアップルの葉や加工品から抗酸化性、ラジカル消去活性を有するポリフェノールやフラボノイド等が見出された例はこれまでも報告されており (Wenら 2002, Maら 2007, Larrauriら 1997), 本研究において生の果実から見出された成分との関係に興味を持たれる。果肉や果皮に存在するラジカル消去成分が健康機能性にお

いて有用な物質であれば、沖縄県産のパインアップルに有望な品種・系統が存在すると考えられることから、国産の高機能性パインアップルの品種育成も可能であると思われる。今後、パインアップルの果肉および果皮から見出されたラジカル消去成分について、その有用性を検討すべく単離精製および化学構造の決定を行う必要がある。

摘 要

1. 沖縄県産のパインアップル品種・系統についてオンラインHPLC-DPPHにより主要なラジカル消去成分の分析を行った。果肉においては、主に5つのラジカル消去成分が存在すると推定された。また、果皮では果肉に見出された成分に加えて、より脂溶性が高いと推定されるいくつかのラジカル消去成分が検出された。
2. 2008年および2009年産のパインアップルについてラジカル消去活性を有するHPLCピークの品種・系統間差異を調査した。ラジカル消去活性を有するピークの大きさは品種・系統により大きく異なっており、ピークA, B, Fは「沖縄13号」が、ピークC, D, Eは「ジュリオスター」が2年間に渡り最も高い値を示した。
3. 以上の結果から、沖縄県で育成されたパインアップル品種・系統においてラジカル消去成分に大きな品種・系統間差異が存在することが明らかとなり、ラジカル消去成分を多く含有する高機能性パインアップル品種育成の可能性が示唆された。

本研究は農水省沖縄対応特別研究「沖縄北部地域における農業・食品産業の振興に必要な果樹等の安定生産・高付加価値利用技術の確立」(2007～2009年度)の一環として行われた。

引用文献

- 石見佳子 2000. 植物ポリフェノールの機能性と安全性. 食品と開発 35:5-7.
- Larrauri, J. A., Rupérez, P. and Calixto, F. S. 1997. Pineapple shell as a source of dietary fiber with

associated polyphenols. J. Agric. Food Chem. 45: 4028-4031.

- Ma, C., Xiao, S., Li, Z., Wang, W. and Du, L. 2007. Characterization of active phenolic components in the ethanolic extract of *Ananas comosus* L. leaves using high-performance liquid chromatography with diode array detection and tandem mass spectrometry. J. Chromatogr. A 1165: 39-44.
- Murcia, M. A., Jimenez, A. M. and Martinez-Tome, M. 2001. Evaluation of the antioxidant properties of Mediterranean and tropical fruits compared with common food additives. J. Food Prot. 64: 2037-2046.
- Oki, T., Kobayashi, M., Nakamura, T., Okuyama, A., Masuda, M., Shiratsuchi, H. and Suda, I. 2006. Changes in radical-scavenging activity and components of mulberry fruit during maturation. J. Food Sci. 71: C18-C22.
- 須田郁夫・沖智之・西場洋一・増田真美・小林美緒・永井沙樹・比屋根理恵・宮重俊一 2005. 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. 日食工誌 52: 462-471.
- Wen, L. and Wrolstad, R. E. 2002. Phenolic composition of authentic pineapple juice. J. Food Sci. 67: 155-161.
- Xie, W., Xing, D., Sun, H., Wang, W., Ding, Y. and Du, L. 2005. The effects of *Ananas comosus* L. leaves on diabetic-dyslipidemic rats induced by alloxan and a high-fat/high-cholesterol diet. Am. J. Chin. Med. 33: 95-105.
- 吉川敏一 2005. 抗酸化サプリメントの現状と展望. アーニチ・エイジング医学 1: 17-22.
- 吉元誠・西場洋一・倉田理恵・池宮秀和・仲宗根福則・正田守幸・竹内誠人・比嘉輝・上原栄 2008. パインアップル果皮搾汁液を原料とした酢の機能性. 日作九支報 74: 62-64.