東京家政学院大学紀要　第 44 号　2004 年　自然科学・工学系　抜刷
（2004 年 8 月発行）

ビワポリフェノールの抗酸化作用および
プロシアニジンのイオウ化分解による重合度の推定

中　村　アツコ

ビワポリフェノールの抗酸化作用および プロシアニジンのイオウ化分解による重合度の推定

中　村　アツコ

ビワ（*Eriobotrya japonica*）の皮，実，芯，種の４組織からメタノール，続いて含水アセトン可溶物を抽出し，それぞれに含まれるポリフェノール類を分析し，α-トルエンチオールを用いたイオウ化分解反応によりプロシアニジンの重合度を推定した。抽出液のDPPHラジカル補足能を測定した結果，ラジカル補足能はポリフェノール中のPAの含有率と重合度との積に相関があるように示唆された。

Key words：ビワ（*Eriobotrya japonica*），プロシアニジン重合度，α-トルエンチオール
DPPHラジカル補足能，エピカテキンベンジルチオール

ビワ（*Eriobotrya japonica*）はリンゴ，カリン，モモなどと同じくバラ科に属し馴染みの果実である。これらはポリフェノール類の含量が高く，衝撃を受けた個所，皮を剥いた果肉表面や切り口などは強い褐変を起こす。民間では，ビワの葉酒，ビワ茶葉など健康飲料として利用されている。ちなみに学名の*Eriobotrya*（ビワ属）は*erion*（軟毛）と*botrys*（ぶどう）の意味で，軟毛でおおわれた果実がブドウのように房状になる様に由来している。リンゴ果肉抽出物のポリフェノールに関しては多くの報告があるが，ビワポリフェノールに関しては多くは分かっていない。ビワポリフェノールを抽出し，その組成と抗酸化作用について調べるとともに，イオウ化分解を用いてポリフェノールの１種であるプロシアニジンポリマーの重合度を推定した。

1　実験方法

1-1　試供試料および分析試料の調整

≪試供試料≫静岡県島田市野田の畑より平成13年６月中旬に収穫したビワを手作業により，皮，

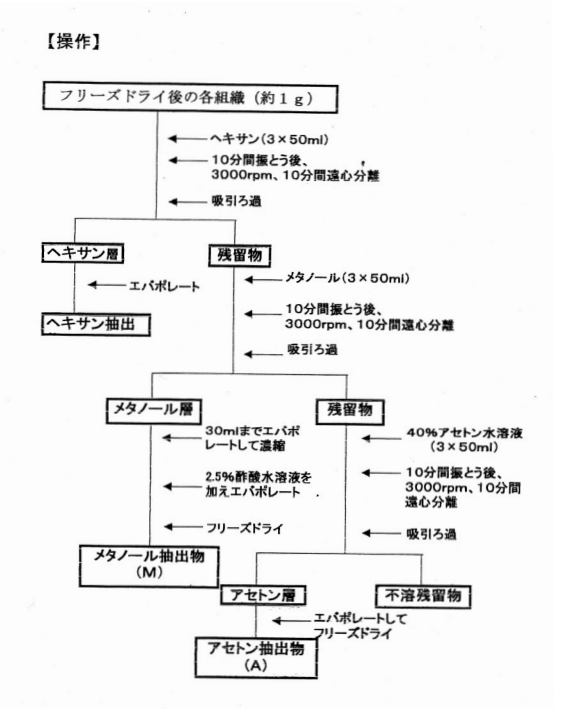

図１　ビワポリフェノール抽出作業図

家政学部家政学科

実，芯，種の４組織に分け，酸化防止のため，３％ギ酸水溶液を散布した後，凍結乾燥し冷凍庫に保存し，適宜分析に用いた。
≪ポリフェノールの抽出≫凍結乾燥した各組織を粉砕し，適量を秤量し，まずヘキサンで脂質など脂溶性物質を除去した。次にメタノールで低分子ポリフェノール性物質を，ついで40％アセトンで高分子ポリフェノール性物質を抽出した。以後，メタノール画分をＭ画分，アセトン画分をＡ画分として示す。

1-2　ポリフェノールの定量

総ポリフェノールの定量はフォリン－デニス法を用い（+）カテキンとして，プロシアニジンは塩酸－ブタノール法によりアントシアニンとして常法により定量した。

1-3　DPPH ラジカル補足能の測定

DPPH 溶液（DPPH20mg をエタノール 50ml に溶解したのち水 50ml を加え不溶物をろ過したもの）3.6ml に適当濃度に希釈した試料溶液 0.4ml を混和し，室温で 30 分放置後，517nm の吸光度を測定し，濃度既知の BHA 溶液（1,2,3,4mg% 溶液）の検量線と対応させた。

1-4　プロシアニジンのイオウ化分解[1)]

ＭおよびＡ画分の溶液 0.50ml に３％塩酸メタノール溶液 0.5ml と 5.0% α－トルエンチオールメタノール溶液 1.0ml を混和し，減圧封管中で，Ｍ画分は 40℃下 30 分，Ａ画分は 50℃下 10 分間イオウ化分解を行った。図に示したように，プロシアニジンはカテキンユニットが４位と８位または４位と６位で縮重合した構造になっている。縮重合分子数によって低分子から高分子までに分布した混合物の総称である。イオウ化分解反応により，重合体の末端からはエピカテキンが延長部分からは α－トルエンチオール化エピカテキン(エピカテキンベンジルチオール)が生成する。重合度が高いほど α－トルエンチオールが消費されることになる。カテキンユニットはカテキンのこともあるが，ビワではエピカテキンであった。反応混合物を HPLC 分析し，エピカテキン増加モル数と α－トルエンチオール減少モル数とから重合度を求めた。本来は生成したエピカテキンベンジルチオールのモル数を用いるべきであるが，エピカテキンベンジルチオールの標準物質を得ることができなかったので，α－トルエンチオールの減少モル数を用いた。

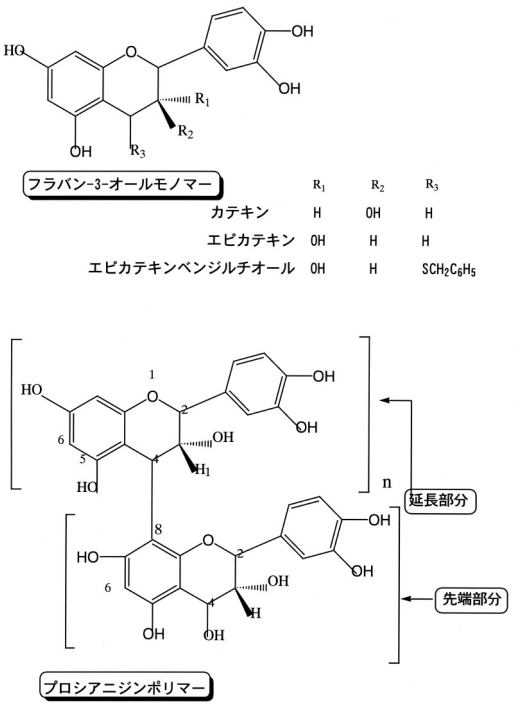

図２　プロシアニジンのイオウ化分解生成物

1-5　液体クロマトグラフィー（HPLC）分析条件

機種；JASCO PU-1580
カラム；CrestPak C18T-5，室温
検出波長；280nm
移動相；2.5% 酢酸／アセトニトリル＝８／２
流量；1.0ml/min

2　結果および考察

2-1　ビワ各組織の質量組成・抽出物組成

表１　ビワ各組織の質量組成・抽出物組成

	実	皮	芯	種
質量組成(%)	47.0	22.0	19.0	12.0
ヘキサン画分(%)	0.3	0.6	0.9	1.4
M 画分(%)	20.9	45.3	34.4	3.0
A 画分(%)	10.8	11.2	11.3	9.4
不溶残留物(%)	68.0	42.9	53.4	86.2

抽出物は種以外はメタノール画分（M 画分）の占める割合が多かった。

2-2 各組織のポリフェノール組成とプロシアニジン（PA）の重合度

表２にビワ 100g 中の各組織のポリフェノール含有量とイオウ化分解で求めたプロシアニジン（PA）の重合度を示した。図３は HPLC チャートの一部である。

2-3　DPPH ラジカル補足能

総ポロフェノールの DPPH ラジカル補足能を同質量の BHA の補足能と比べて示した。DPPH ラジカル補足能と総ポリフェノールとの相関，総ポリフェノール中 PA の占める率との相関，PA の重合度との相関はみられないが，皮と芯からの

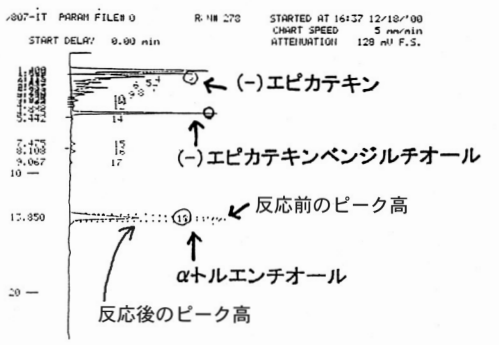

図３　イオウ化分解後の HPLC チャート

チャート上の点線は反応前のα-トルエンチオールのシグナル

アセトン抽出物の高いラジカル消去能からみて，PA の占める率と重合度の積とに相関があるようである。すなわち高分子量の PA の含有率が高いとラジカル補足能も高いと示唆された。[2)]

これまでの多くの文献では，PA の重合度は薄層クロマトグラフィーにより分離した後，塩酸ブタノールでの発色の度合で推定されている。[3),4)] ここに用いたイオウ化分解は反応物の定量に基づくので良い方法と考えられるが，反応試薬と副生成物の催涙性，皮膚・粘膜刺激性が難点である。反応生成物のエピカテキンベンジルチオールを分取して標準物質を得ようとしたが，反応混合物中のベンジル基の催涙性，皮膚・粘膜刺激性が強く困難を極め達成できなかった。

表２　ビワ各組織の質量組成・抽出物組成

組織	実(47.0g 中)		皮(22.0g 中)		芯(19.0g 中)		種(12.0g 中)		ビワ 100g 中合計
	M 画分	A 画分	M 画分	A 画分	M 画分	A 画分	M 画分	A 画分	
総ﾎﾟﾘﾌｪﾉｰﾙ量	57	378	128	200	37	152	458	1263	2671
PA 量（%）*	0.94 (1.6)	10.9 (2.9)	17.8 (13.9)	38.2 (19.1)	11.0 (29.7)	28.2 (18.6)	59.7 (13.0)	20.1 (0.02)	187 (7.0)
PA 重合度	1.7	7.9	1.5	6.5	2.0	12.5	3.5	16.7	

*(%)はそれぞれの組織の総ﾎﾟﾘﾌｪﾉｰﾙ量に対する PA のパーセント

表３　DPPH ラジカル補足能（総ポリフェノール 1μg 当たり）

組織	実		皮		芯		種	
	M 画分	A 画分	M 画分	A 画分	M 画分	A 画分	M 画分	A 画分
ラジカル補足能	0.73	0.20	0.06	3.30	1.17	2.20	1.47	0.53

謝辞　この実験に協力いただいた本学卒業生の市田真理子さんに感謝いたします。

参考文献

1）Sylvain Guyot, Nathalie Marnet, Djamel Laraba, Philippe Sanoner, and Jean-Francois Drillean ; J. Agric. Food Chem. 1998, 46. 1698-1705
2）有賀俊明，細山浩 , 徳武昌一，山越純；日農芸誌，74 , p3-10（1999）
3）山王丸靖子，片山脩，樫村芳記，金子勝芳；
4）日食工誌，45, p37-43（1998）
5）濱渦康範，飯島悦子；日食工誌, 46, 645-651（1998）