

収穫時期の違いによるへべズの品質および機能性の変化*

酒井 美穂*¹・木下 哲次*²・一政 洋介*³・奥野 智子*⁴

Change in Quality and Functionality of Hebezu in Every Harvest Time

Miho SAKAI, Tetsuji KINOSHITA, Yousuke ICHIMASA and Tomoko OKUNO

当県特産の香酸柑橘であるへべズについて、収穫時期毎の品質および機能性の変化を調査した。その結果、品質については、収穫前期で果肉酸度が高く、収穫後期で果実に占める果肉の割合や、果肉の糖含量が増加した。よって、収穫前期は酢やドレッシング類、後期はジュースや菓子類の加工に適することが考えられた。また、機能性については、収穫前期で果肉および果皮のフラボノイド含量が高く、後期で果肉および果皮の総ビタミンC (V.C) 含量が高くなった。さらに果皮の肝がん細胞増殖抑制作用は収穫前期で高くなる傾向にあった。以上の結果より、使用部位や収穫時期を選択することで機能性素材としての利用の可能性が期待された。

キーワード：へべズ、香酸柑橘、収穫時期、フラボノイド、がん細胞増殖抑制

1 はじめに

筆者らは、これまで当県産農産物の付加価値の向上、機能性食品の開発を目的として農産物の機能性を網羅的に評価してきた^{1) 2)}。本研究では、先の評価により見出された作物のうち、へべズに注目し研究を進めている。当県特産の香酸柑橘であるへべズは、カボスやユズ同様、酢として食されている。そこで、新規加工品や機能性素材など新たな利用可能性を探るため、品質および機能性成分の変化を収穫時期毎に調査した。

2 実験方法

2-1 使用原料および前処理

へべズは、露地栽培物の出荷が始まる8月から果皮が黄化する11月までの約4ヶ月間、日向市生産者より提供を受けた。指定した木より20個体ずつ、約2週間ごとに採取し、果皮と果肉に分けた。果皮は凍結乾燥後に粉碎し、果肉はフードプロセ

ッサーで粉碎後、一部はナイロンろ布を使って手で絞り果汁を得、残りは凍結保存あるいは凍結乾燥粉末とし、試験に供した。

2-2 収穫時期による品質変化

1) 果実重量および果肉、果皮の重量の測定

収穫時期毎に20個体ずつ果実の重量を測定し平均果実重量を求めた。その後、果肉および果皮に分け、各部位の重量を測定した。

2) 果肉の酸度および糖の測定

果肉酸度は、果汁を用い滴定法で測定した。測定値はクエン酸量に換算し重量%で示した。糖含量はHPLCにより測定した。凍結した果肉に適量の蒸留水を加え、摩砕後定容した。0.45 μmフィルターでろ過し、そのろ液をHPLC分析に供した。HPLCの測定条件は以下のとおりであった。

装置：島津高速液体クロマトグラフ

検出器：示差屈折率

カラム：COSMSIL Sugar-D (4.6mm×250mm)

カラム温度：30℃

移動相：80%アセトニトリル溶液

流量：1ml/min

2-3 収穫時期による機能性成分変化

1) 果肉および果皮のV.C測定

* 機能性を活かす加工技術の開発：へべズおよびブルーベリーの機能性を活かした食品開発（第1報）
* 1 食品開発部
* 2 東臼杵南部農業改良普及センター
* 3 日向農業協同組合
* 4 財団法人 宮崎県産業支援財団（現 宮崎県農村計画課）

V.C含量はHPLC法により測定した³⁾。凍結した試料を粉砕し秤量後、直ちに5%メタリン酸を加え摩砕した。定容後0.45 μ mフィルターでろ過し、①ろ液と、②ろ液を中和しDTT溶液で還元したものを、HPLC分析に供した。また①を還元型V.C (AsA) ②を総V.Cとし、②から①を差し引いた値を酸化型V.C (DAsA) とした。HPLCの測定条件は以下のとおりであった。

装置：JASCO PU980

検出器：紫外 (242nm)

カラム：Inertsil ODS-3 (4.6mm \times 250mm)

カラム温度：30 $^{\circ}$ C

移動相：1%メタリン酸溶液

流量：1ml/min

2) 果肉及び果皮のフラボノイド測定

フラボノイド含量はHPLC分析により測定した⁴⁾。凍結乾燥粉末100mgをメタノール：dimethyl sulfoxide (DMSO) (1:1) にて3回抽出し、抽出液を併せて定容後、0.45 μ mフィルターでろ過しHPLC分析に供した。HPLCの測定条件は以下のとおりであった。

装置：島津高速液体クロマトグラフ

検出器：フォトダイオードアレイ

カラム：Mightsil RP-18 (4.6mm \times 250mm)

カラム温度：40 $^{\circ}$ C

移動相：A液；10mMリン酸溶液

B液；メタノール

流量：0.75ml/min

グラジエント：B液20% (2分) \rightarrow 45% (43分) \rightarrow 50% (5分) \rightarrow 20% (5分)

3) 果皮の肝がん細胞増殖抑制活性の測定

凍結乾燥粉末1gに30mlの80%エタノールを加えてボルテックスで30秒かくはんし、NO.5Aのろ紙で吸引ろ過した。そのろ液をエバポレーターで濃縮し、凍結乾燥後抽出物を得た。抽出物はDMSOに再溶解し供試した。細胞はHLE, HLF, Huh-7の3種の肝がん細胞を用いた。細胞懸濁液 (1×10^4 cells/ml) を96穴プレートに50 μ l添加し、24時間接着させた。DMSOで希釈した試料を培地に懸濁させ、あらかじめ細胞を接着させてある96穴プレートに50 μ lずつ分注した。48時間培養後、テトラカラーワン試薬10 μ lを加えてさらに

3時間培養し、650nmの吸光度を参考波長として450nmの吸光度をマイクロプレートリーダーで測定した。測定は3連で行い、細胞にDMSO1 μ lを添加したものをcontrolとし、細胞増殖はcontrolの平均吸光度に対する百分率で算出した。また、対control%が50%の時の試料濃度をIC₅₀として増殖抑制活性を示した。

4) カタラーゼ添加によるがん細胞増殖抑制試験

最終濃度が50U/mlになるようにカタラーゼを添加した培地を用いて、3)と同様に肝がん細胞増殖抑制試験を実施した。

3 結果および考察

3-1 収穫時期による品質変化

果実重量は収穫後期になるほど増大した。果実に占める果肉の重量割合は10月上旬から11月上旬にかけて相対的に高く、果皮の重量割合は8月上旬から9月中旬にかけて高くなった (図1, 2)。

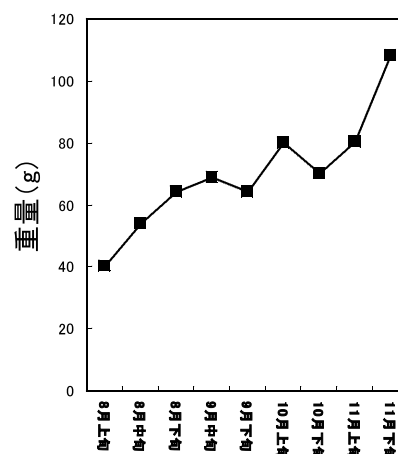


図1 収穫時期毎の果実重量

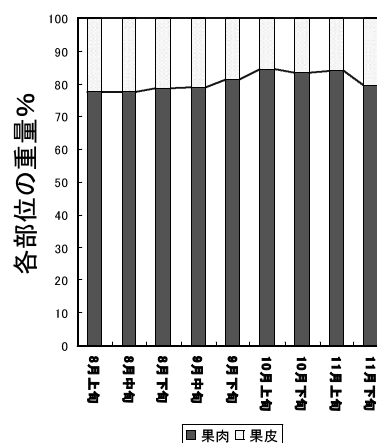


図2 収穫時期毎の各部位重量割合

果肉中の糖は、ショ糖、ブドウ糖、果糖で構成されており、その総量は10月上旬から11月上旬にかけて高くなった。果肉酸度は、8月上旬から9月下旬にかけて高く、それ以降は低下する傾向にあった(図3, 4)。

以上の結果より、果肉は、収穫前期で酸が高いため、酢やドレッシングなどの加工に適すること、収穫後期で果実に占める果肉の割合が高く、糖含量が高くなることから、ジュースや菓子類の加工に適することが考えられた。

3-2 収穫時期による機能性変化

収穫時期毎のV.C含量を測定した。結果、果肉および果皮の総V.C含量は収穫後期に増加した。また、増加した総V.Cは、抗酸化作用を有するAsAがほとんどであった。これらの傾向は、ウン

シュウミカンの果肉および果皮でも同様であるとの報告がある^{5) 6)}(図5-1, 5-2)。

次に収穫時期毎のフラボノイド含量を測定した。果肉および果皮からはナリルチン、ナリンギン、ヘスペリジン、ネオヘスペリジンの4種のフラボノイドを検出した。果肉及び果皮ともに収穫前期に検出したフラボノイドの総量が高い傾向が認められた(図6-1, 6-2)。

さらに、これまでの研究²⁾で活性を認めているへべズ果皮肝がん細胞増殖抑制活性を、収穫時期毎に評価した。既報²⁾で、ポリフェノールを培地に添加すると過酸化水素が発生し、がん細胞の増殖を抑制することを報告している^{7) 8) 9) 10)}。へべズ果皮も前述よりポリフェノールを含んでいることから、カタラーゼ添加試験を実施し、その増殖

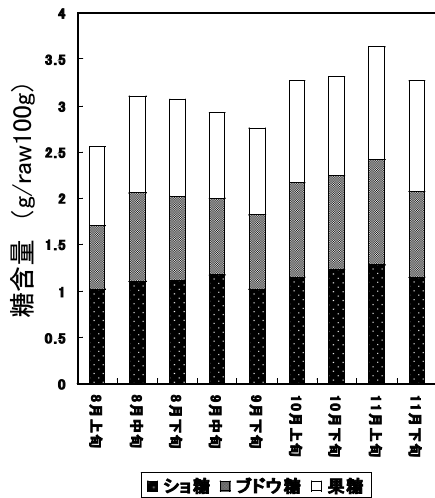


図3 収穫時期毎の果肉糖含量

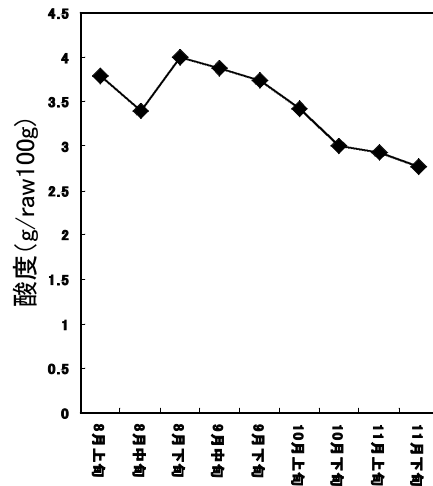


図4 収穫時期毎の果肉酸度

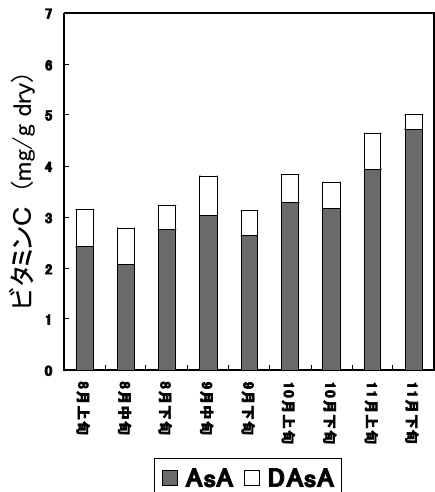


図5-1 収穫時期毎の果肉V.C含量

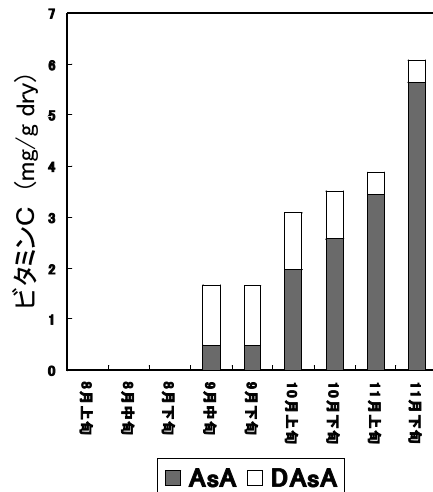


図5-2 収穫時期毎の果皮V.C含量

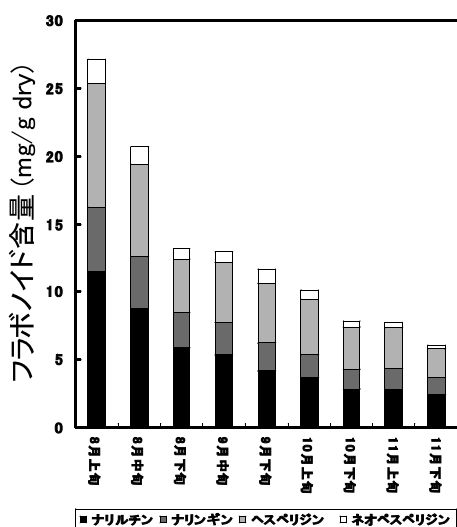


図6-1 収穫時期毎の果肉フラボノイド含量

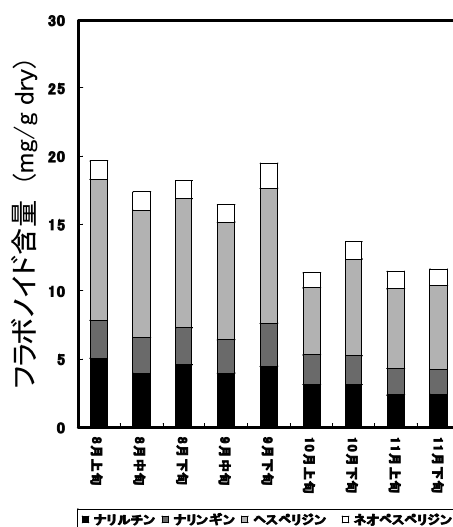


図6-2 収穫時期毎の果皮フラボノイド含量

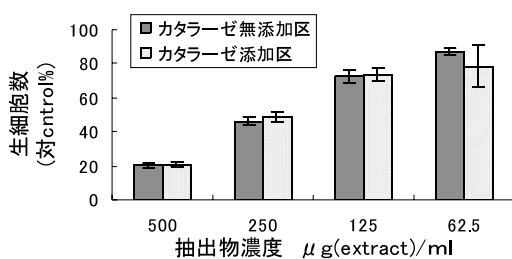


図7-1 ヘベズ果皮HLE増殖抑制活性

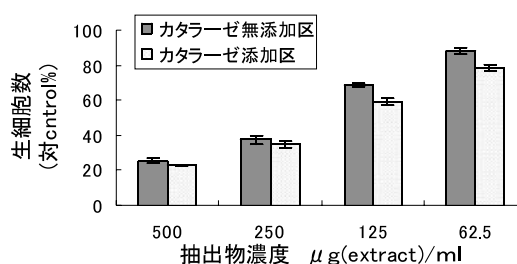


図7-2 ヘベズ果皮HLF増殖抑制活性

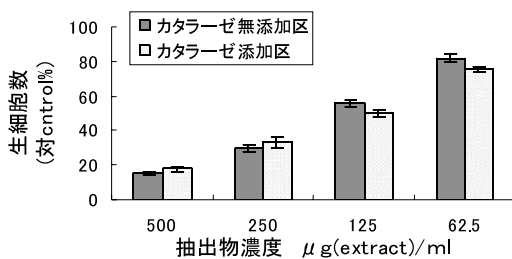


図7-3 ヘベズ果皮Huh-7増殖抑制活性

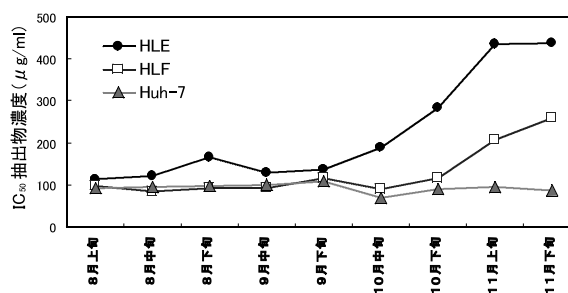


図8 収穫時期毎のヘベズ果皮肝がん細胞増殖抑制活性 (IC₅₀)

抑制要因を検討した。その結果、HLE、HLF、Huh-7、いずれの細胞の増殖抑制作用も阻害されなかったことから、ヘベズ果皮のがん細胞増殖抑制作用は過酸化水素に起因しないことが推測された(図7-1, 7-2, 7-3)。次に収穫時期毎の肝がん細胞増殖抑制活性を検討した。すると収穫前期から中期にかけて活性が高く、後期に低

くなる傾向が認められた(図8)。収穫後期に減少する成分としてフラボノイドが考えられたため、今回検出された4成分の肝がん増殖抑制活性を確認した。しかし、いずれの成分にも濃度依存的な増殖抑制作用は認められなかった(図9-1, 9-2, 9-3, 9-4)。

4 まとめ

へべズの収穫時期毎の品質および機能性を検討した結果は以下のとおりであった。

- 1) 果肉は、収穫前期は酸度が高いため酢やドレッシングなどの加工に適し、収穫後期は糖含量が高く果実に占める果肉の割合が高くなるためジュースや菓子類の加工に適することが考えられた。
- 2) 果肉および果皮の総V.C含量は収穫後期に増加した。増加した総V.CはAsAがほとんどであった。
- 3) 果肉および果皮からナリルチン、ナリンギン、ヘスペリジン、ネオヘスペリジンの4種のフラボノイドを検出した。果肉及び果皮ともに収穫前期に各フラボノイドの総量が高い傾向が認められた。
- 4) カタラーゼ添加試験より、へべズ果皮の肝がん細胞増殖抑制作用は、過酸化水素に起因しないことが分かった。
- 5) へべズの肝がん細胞増殖抑制活性は収穫前期から中期で高く、後期になるほど低下する傾向が認められた。
- 6) 今回検出したフラボノイド4成分に濃度依存的な肝がん細胞増殖抑制作用は認められなかった。

5 参考文献

- 1) 柚木崎千鶴子, 小村美穂, アショク・クマル・サーカー, 岡部玲二, 宮崎県工業技術センター・食品開発センター研究報告, 48, p.91-98 (2003).
- 2) 酒井美穂, 柚木崎千鶴子, 岡部玲二, 宮崎県工業技術センター・品開発センター研究報告, 50, p.87-93(2005).
- 3) 池ヶ谷賢次郎, 高柳博次, 阿南豊正, 茶業研究報告, 71.
- 4) 市ノ木山浩道, 園芸学会雑誌別冊, 第73巻, 2号, p.109
- 5) 伊藤三郎ら, 果実の科学, 朝倉書店, p.52-53 (1991).

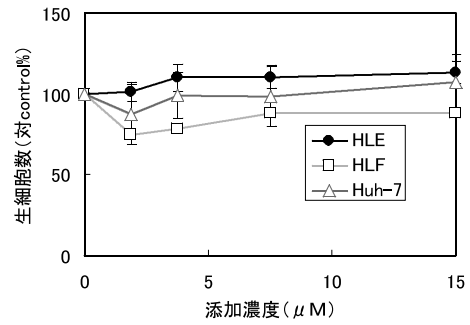


図9-1 ナリルチン肝がん細胞増殖抑制活性

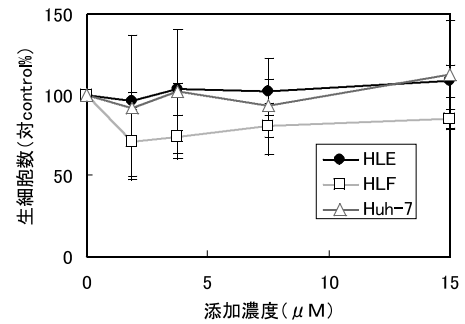


図9-2 ナリンギン肝がん細胞増殖抑制活性

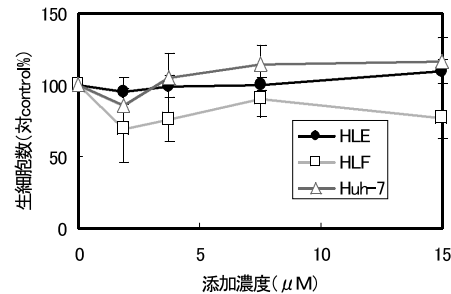


図9-3 ヘスペリジン肝がん細胞増殖抑制活性

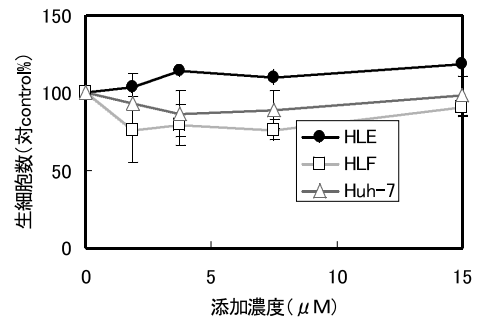


図9-4 ネオヘスペリジン肝がん細胞増殖抑制活性

- 6) 松尾友明, 伊藤三郎, 化学と生物, 15, p.732-736
- 7) Lee Hua Long, Marie Veronique Clement, Barry Halliwell, BBRC, 273, 1, p.50-53 (2000)
- 8) Phing Chian Chai, Lee Hua Long, Barry Halliwell BBRC, 304, 4, p.650-654 (2003)
- 9) 久保田芳美, 湯浅(小島)明子, 湯浅勲, 生活科学研究誌, Vol.2 (2003)
- 10) Hiroshi Nakagawa, Keiji Hasumi, Je-Tae Woo, Kazuo Nagai, Masaaki Wachi, Carcinogenesis Vol25, 9, p.1567-1574 (2004)