

福井梅(紅映)果汁粉末食投与がラットの成長および血清成分に及ぼす影響

谷 政八*・池田 涼子*・浦本 裕美*・村上 亜由美**・岡村 友理香*
梅林 由佳*・岩本 奈那恵*・大塚 麻椰*・酒井 美佳*・山吉 理詠*

仁愛大学人間生活学部* 福井大学教育地域科学部**

Effect of feeding Fukui plum (Benisasi) fruit juice powder on the growth and serum constituent of rats

Masahachi TANI, Ryouko IKEDA, Hiromi URAMOTO,
Ayumi MURAKAMI, Yurika OKAMURA, Yuka UMEBAYASHI
Nanae IWAMOTO, Maya OUTSUKA, Mika SAKAI, Rie YAMAYOSHI

*Faculty of Human Life, Jin-Ai University ** Faculty of Education and Regional Studies, Fukui University

福井梅の品種には、主に「紅映(べにさし)」が栽培されている。福井梅は、機能性としてポリフェノールを多く含み、抗酸化活性も高い。炭水化物量は他の梅と差がなく、クエン酸、リンゴ酸などを含み、甘くまろやかな味である。また、旨味成分の遊離アミノ酸やミネラルのカルシウム、カリウム、マグネシウムを多く含み、梅干しや梅ワイン、梅ジュースなど優れた特徴がある。本研究では、梅果汁粉末の総ポリフェノール含量(クロロゲン酸相当)は、 $2.58 \pm 0.16 \text{ mg/g}$ 、抗酸化能の活性は、平均 $3.6 \mu \text{ mol Torolox/g}$ であった。梅果汁を粉末化した製品をラットの食餌に 0.5%、3.0%濃度を投与し血液成分の影響を検討した。ラットの生育には対照と比較し影響なかった。肝臓重量は高値 ($p < 0.05$) に認めた。血清グルコースは、他の成分と拮抗して血糖値の上昇を抑制し、血糖値が低下 ($p < 0.05$) した。総コレステロール、中性脂質は C 群と U3.0 群の間に低値 ($p < 0.05$) に認めた。盲腸内容物の pH は、3%濃度で高値 ($p < 0.05$) となった。

キーワード：：福井梅(紅映)、梅果汁粉末、ポリフェノール、ラット、血清

福井の特産品である福井梅は、嶺南地区で約 70% を占めている。しかし、福井県の収穫量は、和歌山県の「南高」という品種の 3 割程度と少なく、梅の流通全体の 1% であり、知名度は低い。また、福井梅の出荷は、地域的なこともあり、他の産地より遅いため、品質の高い梅干しや梅ワイン、梅ジュースなどに加工しているにすぎない¹⁾。

福井梅の品種は、主に「紅映(べにさし)」が栽培されている。紅映の特徴は、果実の陽光面がほんのりと赤く着色するが、果皮の毛(もうじ)が細くて薄いため、果実面に光沢がありきれいに見える。また、果実が小ぶりで、種子が非常に小さく果肉が分厚い。果汁は多く、果皮が薄く、柔らかく肉厚な食感があるので梅干の場合、色鮮やかに仕上がる。一方、果皮が薄いために「黒星病」に罹り易く果皮が破れ商品のロス

となり、生産者にとって問題となる。食品成分は、炭水化物が他の梅と差が無いものの、有機酸のクエン酸、リンゴ酸含量などを含み、甘くまろやかな味である。また、旨味成分の遊離アミノ酸やミネラルの中でもカルシウム、カリウム、マグネシウムを多く含み、紅映には優れた特徴がある²⁾。現在、これらの特徴を補てんする福井梅の機能性に関する栄養生理的な報告が少ない。

本研究では、「紅映梅 100% 果汁」を食品素材とした「紅映梅果汁粉末」に着目した。この粉末は、梅果汁含有量の異なる飼料として作製し、ラットに食餌投与することにより、血液や臓器への影響を観察し、栄養生化学的観点から基礎的な研究データを得ることを目的とした。また、本研究の供試料は、飲料「紅映梅 100% 果汁」、食品素材とした「紅映梅果汁粉末」の

二種類を入手し、in vitro におけるポリフェノール成分の抗酸化性やラジカル捕捉性等の試験をおこない、福井梅の持つ第三次機能の生体内のラジカルや活性酸素の消去作用ならびに抗酸化作用などを示す生理活性成分についても検討した。また、果汁飲料は、他社飲料商品と比較するために官能検査で“おいしさ”を評価した³⁾。

実験方法

1. 「梅 100%果汁」および「梅果汁粉末」の

機能性化合物の分析

主要有機酸（クエン酸）は、規定アルカリ試薬により滴定をおこない酸度測定値の有機酸量は、クエン酸相当量として算出した。

ポリフェノール化合物は、フォーリン・チオカルト法に準じ、果汁抽出液に 10% (w/v) 炭酸ナトリウム：1 モル/L 水酸化ナトリウム溶液、水、フォーリン試薬を加えてよく混和後、室温で 30 分間放置し、760nm における吸光度を測定した。別にクロロゲン酸を標準物質として検量線を作成し、これより総ポリフェノール含量を算出した⁴⁾。

抗酸化能は、2つの測定法の評価でおこなった。①抗酸化能の試薬キット (Potential Antioxidant(PAO) assay Kit) は銅イオンの還元反応 ($\text{Cu}^{++} \Rightarrow \text{Cu}^+$) を利用し、サンプルの抗酸化能をマイクロプレートリーダー (測定波長 490nm) で測定した。研究用試薬は、日研ザイル (株) 日本老化制御研究所製を使用した。

② DPPH ラジカル捕捉活性は、試薬 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl-エタノール溶液にポリフェノール抽出溶液を混和し、30℃、30 分間反応 (遮光下) させた後、エタノールを対照とし、517nm における吸光度を測定した。試料の調製は、果汁 2ml にエタノール 8ml を加え、振とう後遮光下で一晩放置した。遠心分離後、沈殿に 80% エタノールを加え振とう後、再び遠心分離を 3 回繰り返す、上清液を集め 25ml に定容抽出液とした。粉末は一端水溶液とし (25 倍希釈)、果汁と同様に 80% エタノール抽出液とした。なお、DPPH 溶液は使用直前に調製した。

DPPH ラジカル消去能の測定は、Sigma 社製

Trolox を検量線に用いて分光測定法にておこなった⁵⁾。

2. 実験動物試験

ラットは Wistar 系、雄、5 週齢 18 匹を 3 群に分けた (日本チャールス・リバー株式会社)。コントロール群の飼料を用いて予備飼育をして順応させ、体重などの個体差を観察した。1 群 6 匹とし、できるだけ同じになるように群分けをおこない、実験飼料 3 群の投与を 5 週間飼育管理した。飼料組成は、AIN-93G を基準にコントロール食 (C 群)、紅映梅果汁粉末 (梅果汁末 16%、デキストリン 84%) を飼料の 0.5% (U0.5 群)、3.0% (U3.0 群) に 3 群間の粉末試料をエネルギー量 394.8 (kcal) に調製した [表 1]。

表 1 飼料組成 (100g 当たり)

項目	C 群 (g)	U0.5 群 (g)	U3.0 群 (g)
コーンスターチ	52.95	50.32	37.2
ミルクカゼイン	20.0	20.0	20.0
スクロース	10.0	10.0	10.0
大豆油	7.0	7.0	7.0
ミネラル混合 **	3.5	3.5	3.5
ビタミン混合 *	1.0	1.0	1.0
L-シスチン	0.3	0.3	0.3
重酒石酸コリン	0.25	0.25	0.25
BHQ	0.0014	0.0014	0.0014
セルロース	5.0	4.5	2.0
紅映梅果汁粉末 ***	0	3.13	18.75

* AIN-93 ビタミンミックス ** AIN-93 ミネラルミックス *** 紅映梅果汁粉末 (福井県産) (梅果汁末 16%、デキストリン 84%)

飼育管理室は、温度 24 ~ 25℃、湿度 55 ~ 60% の静かで清潔に保つ環境条件で、12 時間毎の昼夜照明を設定した。飼育ケージは、個別に飼育し、糞や尿の採取は、出納実験の 3 日間代謝ケージで飼育し排泄糞および排泄尿を採集した。

実験中の飼料投与量は、自由摂取法とし、飼料の投与量と残渣量を記録した。体重測定、飼料効率などの栄養評価をおこなった。

3. 解剖・保存

手順は、実験書に準拠した⁶⁾。採取した臓器は重量を測定し、液体窒素で凍らせ -80℃ 冷凍庫で保管した。血液は、飼育後に断首して、VENOJECT II 真空採血管に採取し 1500rpm、10 分間遠心分離し、血清

部分を検体とした。

4. 生化学自動分析装置の測定

生化学自動分析装置は、富士ドライケム 3500V（富士フィルムメディカル株式会社）を用いた。また、FeC-テストワコー（和光純薬工業株式会社）（Nitroso-PSAP 直接法）で測定した。

検査項目には、血清中の GLU（グルコース）、BUN（尿素窒素）、HDL（HDL コレステロール）、TCHO（総コレステロール）、TG（中性脂肪）、TP（総タンパク）、GOT（グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ；AST）、GPT（グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ；ALT）、Ca（カルシウム）、P（無機リン）、Mg（マグネシウム）、Na（ナトリウム）、K（カリウム）、Fe（鉄）を測定した。

5. 統計処理

基本統計量で各群の平均と標準偏差を求めた。また、群の個体数（n=6）より、Smirnoff 定数（1.996）を用いて上限と下限を求めた。

SPSS Statistics 17.0 を用いた。5%の有意水準で判定した。

結 果

1. 梅果汁の機能性化合物の分析

食品素材の梅果汁 100% 中のクエン酸相当量は、 $876 \pm 10 \text{ mg} / 100 \text{ mL}$ であり、梅果汁粉末は、 $8 \pm 0.05 \text{ g} / 100 \text{ g}$ であった。総ポリフェノール量（クロロゲン酸相当）は、梅果汁 100% は、 $71.76 \pm 2.21 \text{ mg} / 100 \text{ mL}$ であり、梅果汁粉末は、 $2.58 \pm 0.16 \text{ mg} / \text{g}$ であった。PAO 抗酸化能（抗酸化能（Cu 還元力：尿酸相当）は、梅果汁 100% は、 $201.1 \pm 22.5 \text{ mg} / 100 \text{ mL}$ であり、梅果汁粉末は、 $9.9 \pm 1.2 \text{ mg} / \text{g}$ であった。

抗酸化能（DPPH ラジカル消去能）は、梅果汁 100% は、平均 $110 \mu \text{ mol Trolox} / 100 \text{ mL}$ であり、梅果汁粉末は、平均 $3.6 \mu \text{ mol Trolox} / \text{g}$ であった。供試した梅加工品の有機酸含有量は、クエン酸相当量としたが、他の有機酸やアスコルビン酸も含有してい

る。PAO 抗酸化能測定法および DPPH ラジカル法で消去能が認められ活性力が他の食品と比較しても有意である。紅映梅 100% 果汁では、高い抗酸化能が認められ、高い活性値が認められた。果汁は、市販品の比較によっては、果汁の固形分含量の違いがあるので異なる場合がある。供試品の紅映梅 100% 果汁の固形分含量は、8.3% であった。他社の透明果汁には、9.6% と高いものもあった。粉末の 80% エタノール抽出は、粉末に添加してあるデキストリンや果汁に含まれるペクチンなどの多糖類の影響で前処理に困難があり、一端水溶液にして抽出を行ったが、希釈倍率が高くなってしまふことと、共沈により抽出効率が低下した。

このことは、共雑物質の除去の検討が必要である。また、粉末についても、本法による DPPH ラジカル消去能の測定をさらに検討する必要がある。梅果汁の抗酸化機能の定量方法が確立されておらず、指標の異なる測定方法を併用して総合的に評価を行うことが必要である。

2. 動物栄養試験

飼料に投与した梅果汁粉末には、クエン酸が含まれ、梅果汁粉末の酸度（クエン酸）は 7% であることから、U3.0 群の飼料 100g 当たりには、クエン酸 210mg、U0.5 群の飼料 100g には、クエン酸 35mg 含まれている。

動物栄養試験では、成長曲線 [図 1] に、3 群間で

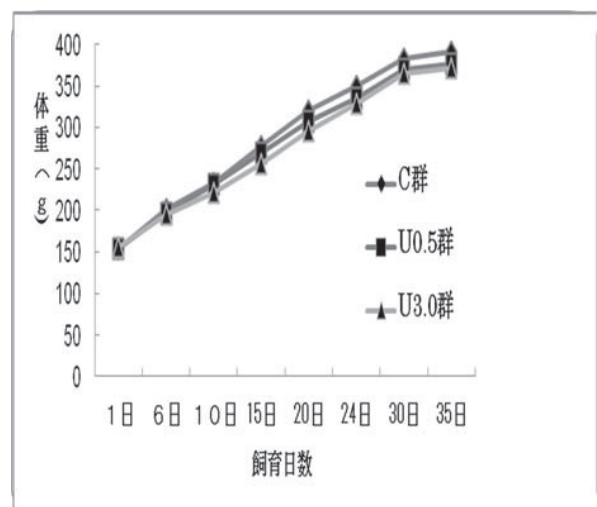


図 1 梅果汁粉末を飼料に混合することによる体重変化データは平均値で表し（n=6）、3 群間には有意差なしとした。

5%の有意水準で有意差が認められなかった。なお、飼料効率は、3群間で5%の有意水準で有意差が認められなかった。飼育期間中の観察では、飼料の摂取、飲水の摂取、尿排泄の状況には特に異常はなかった。摂食の状況と発育について、梅果汁粉末のエネルギー量は各飼料で差がないため、摂食量に群間で有意差が見られないことから、飼料のエネルギー量の違いが体重にもたらした影響はないと考察する。

3. 血清の生化学値に及ぼす影響

血清では、総タンパク質、GOT (AST), GPT (ALT), HDL コレステロールに3群で5%の有意差が認められなかった。グルコースは、C群とU3.0群、C群とU0.5群の間に5%の有意差が認められた。特に梅果汁粉末群では、グルコースの値が低下した。クエン酸がクエン酸回路だけでなく、解糖系や糖新生に影響していることがわかった⁷⁾。クエン酸は、解糖系を抑制

し、糖新生を促進する作用があるが、本実験では血糖値の上昇よりも有意に血糖値を低下させた。

尿素窒素は、C群とU0.5群の間に高値の有意差が認められた。特に、U0.5群はU3.0群と比べ尿素窒素の値が高くなった。クエン酸の効果は、オキサロ酢酸が産生されれば、尿素回路へアミノ基が供給されることになり、血清尿素窒素の値が高くなったことに関係している⁸⁾。

総コレステロール、中性脂質は、C群とU3.0群の間に5%で有意差が低値に認められた。特に梅果汁粉末では、中性脂質の値が低下した。クエン酸は、脂肪酸の合成の調節に関与することが分かっており、脂肪酸合成は、糖あるいはエネルギーが充足し、脂肪酸が不足している場合に促進される⁹⁾。クエン酸は脂肪酸の合成を促進することが考えられ、脂肪酸が増加し、体脂肪に変わって体重が増加したと見られる結果は得られなかった。鉄、カルシウムは、C群と比べて梅果

表2 梅果汁粉末飼料摂取がラットの血清生化学値に及ぼす影響

	Control diet	0.5% powder	3.0% powder
グルコース (mg/dl)	161.3 ± 20.5	138.2 ± 11.9 *	137.5 ± 5.7 *
総タンパク質 (g /dl)	5.7 ± 0.6	5.3 ± 0.3	5.4 ± 0.2
尿素窒素 (mg/dl)	14.6 ± 1.1	17.9 ± 2.4 *	15.4 ± 2.2
AST(U/l)	7.3 ± 0.5	5.4 ± 0.5	5.8 ± 0.4
ALT(U/l)	108.3 ± 15.5	86.7 ± 13.2	74.5 ± 10.1
HDL- コレステロール (mg/dl)	48.5 ± 9.8	46.3 ± 7.5	43.8 ± 5.2
総コレステロール (mg/dl)	76.3 ± 10.1	69.8 ± 16.6	66.8 ± 11.8 *
中性脂質 (mg/dl)	62.8 ± 23.4	61.6 ± 33.6	52.2 ± 17.6 *
Fe (μg/dl)	4.99 ± 0.8	6.41 ± 1.0	6.49 ± 0.7 *
Mg(mg/dl)	2.0 ± 0.2	1.1 ± 0.2 *	2.1 ± 0.2
Ca (mg/dl)	8.7 ± 1.4	8.9 ± 2.1	10.6 ± 0.5
IP (mg/dl)	8.8 ± 0.9	5.7 ± 1.1 *	8.7 ± 1.1
Na(mEq/l)	131 ± 10.1	112 ± 9.4 *	123 ± 6.6
K (mEq/l)	7.3 ± 0.5	5.4 ± 0.5 *	5.8 ± 0.4 *

データは平均値±標準偏差で表す (n=6). * p < 0.05 でコントロール群との有意差を示す。

表3 梅果汁粉末飼料摂取がラットの臓器重量に及ぼす影響

g / 体重当たり	Control diet	0.5% powder	3.0% powder
肝臓	14.60 ± 1.30	15.19 ± 1.35 *	15.62 ± 1.94 *
脾臓	1.00 ± 0.08	1.07 ± 0.11	0.92 ± 0.10
腎臓	2.88 ± 0.14	3.13 ± 0.20	3.12 ± 0.20
大腿骨	1.53 ± 0.04	1.45 ± 0.09	1.53 ± 0.05
盲腸	2.89 ± 0.28	3.17 ± 0.69 *	3.82 ± 0.64 *
内容物 p H	6.90 ± 0.07	6.95 ± 0.13	7.16 ± 0.13 *

データは平均値±標準偏差で表す (n=6). * p < 0.05 でコントロール群との有意差を示す。

汁粉末を加えた群が高い傾向が見られた。

鉄は、クエン酸などの有機酸やアスコルビン酸と水に可溶性キレート錯体を形成することにより¹⁰⁾、吸収が促進される。U0.5群とU3.0群が共に血清鉄が高い傾向を示したのは、梅のクエン酸により鉄の吸収が促進されたためと考えられる。マグネシウム、無機リンは、C群とU0.5群の間に5%で有意差が認められた。ナリウム、カリウムは、C群とU0.5群との間に5%で有意差が認められ梅果汁粉末を加えたいずれも値の低下傾向が見られた。（表2）

4. 臓器重量に及ぼす影響

体重100g当たりの臓器重量について、肝臓と盲腸（内容物）は、C群とU0.5、U3.0群との間に5%で有意差が認められた。また、盲腸内容物のpHはU3.0群が高くpH7.2とアルカリ性に傾いていた。U3.0群の腸内がアルカリ性に傾いた原因として、梅果汁粉末の影響と考えられた。梅にはクエン酸などの有機酸が多いものの、カルシウムやカリウムなどに分類される⁷⁾。したがって、梅果汁当たり3%の飼料は、ラットの腸内をアルカリ性に傾けたため、盲腸内容物と糞の色が黒くなっていた。C群は黄色に近い糞の色をしており、U0.5群でも糞の色が黄土色に近かった。なお、理想的な便の色は、黄色に近いと言われているが、腸内細菌のバランスに大きく影響されていると考えられている。腸内が善玉菌優勢では弱酸性となり、悪玉菌が多い状態になるとアルカリ性に傾く。腸内が弱酸性であると便は黄色に近づき、アルカリ性に傾いていると便の色は黒ずんでいくとされている。なお、臓器の観察で異常は認められなかった。（表3）

要約

本研究では、「紅映梅果汁粉末」に着目し、梅果汁粉末の主要な有機酸のクエン酸相当量と抗酸化作用を有するポリフェノール活性を測定した。また、梅果汁含有量の異なる飼料を作成し、ラットに食餌投与することにより、血液や主な臓器への影響を観察し、栄養生化学的観点から基礎的な研究データを得ることを目的として実験をおこなった。

ラット予備実験では、果汁濃度の結果に差が出るように設定し、しかし酸味が強く摂食量に影響が出ない範囲を考慮し、梅果汁当たり0.5%濃度と3%濃度と決定した。

実験から得られた結果からは、以下のとおりである。

血清グルコースについて、クエン酸は解糖系を抑制し、糖新生を促進する作用があると予想されるものの果汁中の他の成分と拮抗して血糖値の上昇を抑制し、血糖値が低下させた。

血清中性脂肪について、クエン酸は脂肪酸の合成を促進させることなく体重に有意差が認められなかった。しかし、U3.0群は、C群、U0.5群より血清中性脂肪の生成を低下させた。今後、体重以外に体脂肪や肝臓など栄養生理の面に関する分析が必要である。

ミネラル類については、C群よりマグネシウム、リン、ナトリウム、カリウムがU3.0群で低値に有意差を認めた。今後、腎臓、肝臓、骨中などの分析が必要である。鉄について、U3.0群で血清鉄や貯蔵鉄が高いという傾向があった。鉄はクエン酸やアスコルビン酸によって吸収が促進されるため、梅果汁粉末の他の有機酸やアスコルビン酸を測定することが必要である。

この基礎的な研究データを参考に、梅果汁当たりの適正な濃度を確認することが今後の課題である。

謝辞

本実験に際して、解剖実習に協力していただいた健康栄養学科の卒業学生のみなさん、坂本達昭先生、学科助手の方々にお礼申し上げます。また、福井県食品加工研究所所長小林恭一氏にお礼申し上げます。

なお、本研究は平成25、26年度福井県大学連携リーグ連携研究推進事業の一環である。実験は、本学動物実験倫理委員会の承認を得たものである。

参考文献

- 1) 福井うめ「健康」クラブ <http://info.pref.fukui.lg.jp/noutikusan/ume/hikaku/1/1intro.html> (2013年10月)

- 2) 渡辺 毅, 福井の梅 紅サシ (2004 年)
(株) 福井新聞社
- 3) 谷 政八研究代表, 平成 25 年度福井県大学連
携リーグ連携研究推進事業 実績研究報告書,
(2014 年 3 月)
- 4) 松本清著, 食品分析 機器分析から応用まで,
(2008 年 3 月), 株式会社 培風館
- 5) 篠原和毅, 鈴木建夫, 上野川修一編著: 食品機能
研究法, (2000 年), 光琳 (東京)
- 6) 谷 政八著代表, 生理・生化学実験 [第四版], (2007
年), (株) 地人書館
- 7) 奥 恒行編集, 基礎から学ぶ生化学, (2011 年),
(株) 南江堂
- 8) 榊原隆三著, 分子栄養学, (2011 年), (株) 建帛
社
- 9) 伊東蘆一, 木元幸一, 小林修平著, 生化学・分子
生物学, (2010 年), (株) 建帛社
- 10) 五十嵐脩, 江指隆年著, ビタミン・ミネラルの科
学, (2011 年), (株) 朝倉書店