

# 美容・健康機能性に優れた青森県ブランド素材に関する試験・研究開発

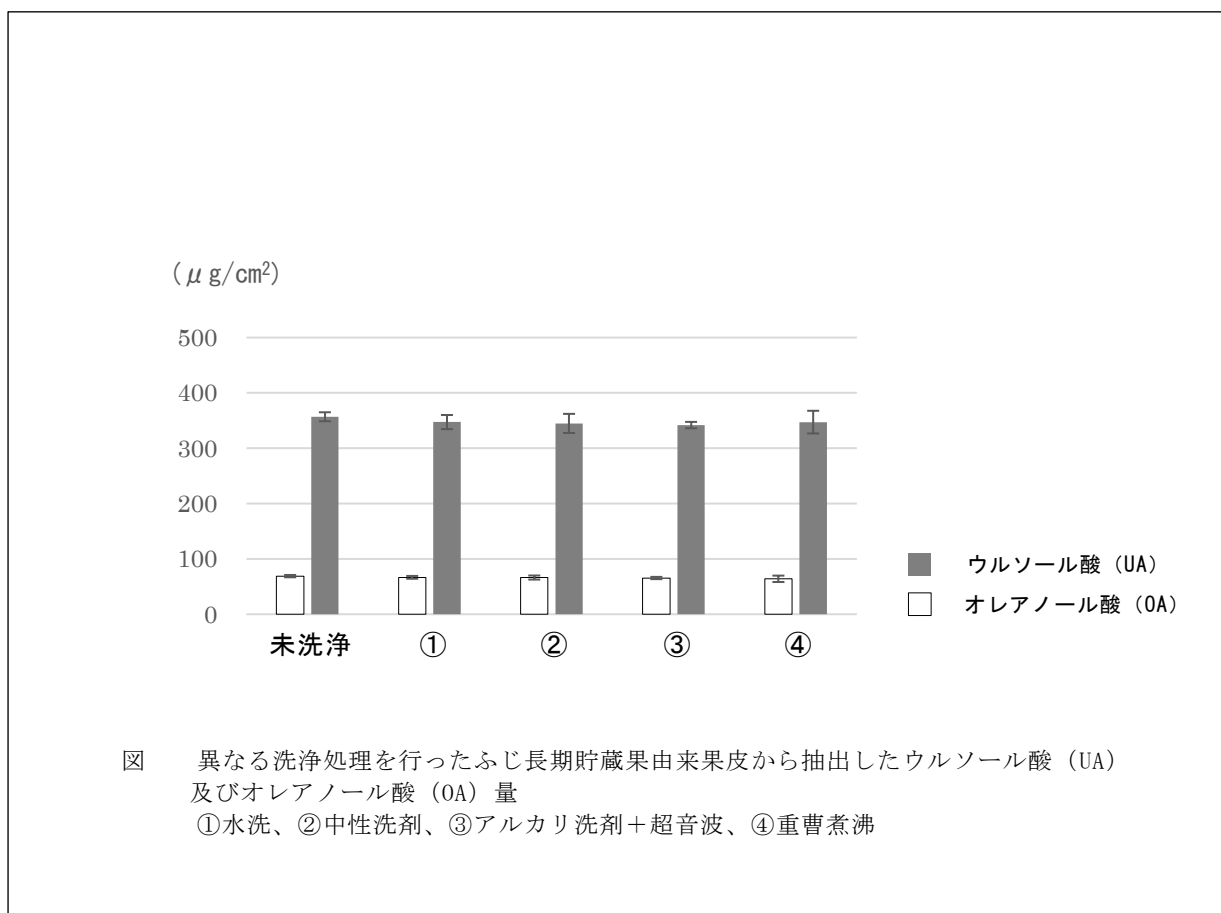
## －表面洗浄によるリンゴ果皮ウルソール酸量への影響－

Research and development of Aomori brand materials with beauty and healthy functions

-Effect of fruit surface washing on the amount of ursolic acid in apple peel -

五十嵐 恵

青森県の特産果樹であるリンゴの果実は、プロシアニジン類を始めとしたポリフェノール、ビタミン C、食物繊維など多くの美容健康機能性成分を含むことが知られている。果皮に特異的に含まれる美容健康機能性成分の一つとしては、ウルソール酸に代表されるトリテルペノイド類が挙げられる。これまでに国内品種間での比較を行い、特に多い品種の中に青森県育成品種の千雪が含まれること、半年にわたる長期冷蔵貯蔵を経た果実や油上がりした果実であっても抽出される果皮ウルソール酸量にはほぼ影響しないことを見出した。リンゴ果皮のウルソール酸は果皮細胞外のクチクラ層に蓄積することが報告されていることから、令和3年度は果実表面の洗浄による抽出量への影響について調査した。その結果、中性洗剤やアルカリ洗剤による単純な表面洗浄ではほとんど抽出量に影響しないことが分かった。収穫果実は加工の前処理として何らかの洗浄処理を施されることが必須であるが、多少念入りな洗浄をした場合でも、有用成分であるトリテルペノイドの減少については考慮する必要はないと考えられた。



## 1. 目的・背景

青森県の特産果樹であるリンゴの果実は、プロシアニジン類を始めとしたポリフェノール、ビタミンC、食物繊維など多くの美容健康機能性成分を含むことが知られている。果皮に特異的に含まれる美容健康機能性成分の一つとしては、ウルソール酸に代表されるトリテルペノイド類が挙げられる。これまでに国内品種間での比較を行い、特に多い品種の中に青森県育成品種の千雪が含まれること、半年にわたる長期冷蔵貯蔵を経た果実や油上がりした果実であっても抽出される果皮ウルソール酸量にはほぼ影響しないことを見出した。リンゴ果皮のウルソール酸は果皮細胞外のクチクラ層に蓄積することが報告されていることから、令和3年度は果実表面の洗浄による抽出量への影響について調査した。

## 2. 実験方法等

### (1) 果実材料

ふじと千雪の2品種を材料として供した。ふじは約5か月のCA貯蔵に加えて2か月普通冷蔵した長期貯蔵果、千雪は適期収穫果を用いた。

### (2) 洗浄処理

2品種とも各3果ずつ、共に以下に示す4通りの洗浄を行った。①水洗（水道水に漬けてスポンジで周囲を擦り洗いにより洗浄）、②中性洗剤洗浄（5mlの中性洗剤を溶かした5Lの水道水（pH7）に5分間漬けた後、スポンジで周囲を擦り洗いして流水で洗浄）、③アルカリ洗剤洗浄（pH9のアルカリ洗剤液に浸して5分間の超音波処理を行った後、スポンジで周囲を擦り洗いして流水で洗浄）、④重曹液による煮沸（50g食品用重炭酸ナトリウムを溶解した500ml水道水をホットスターラーにより90℃以上に加熱したものに1分間浸した後、流水で洗浄）。更に、ふじについては未洗浄果も比較用として加えた。

### (3) 果皮サンプリング

コルクボーラー（No.6, 内径11.5mm）を用いて、1果の4方向から5枚ずつ（計20枚）の果皮ディスクをサンプリングした。1条件についてそれぞれ3果のサンプルを調整し、成分抽出まで-30℃で凍結保存した。

### (4) 果皮トリテルペノイド抽出

凍結果皮からのトリテルペノイド抽出にはクロロホルムとメタノールの混合溶媒（2:1/vol、以下CM溶媒）を用いた。40mlのCM溶媒（補正用として、1mg相当のグリチルレチン酸を添加）に20枚の凍結果皮ディスクを投入し、100rpmで10分間混合した後室温で一晩静置した。ガラスろ過器を用いて果皮ディスクを除いた後、ナスフラスコに入れてエバポレーターにより溶媒を除去した。フラスコ内に残った固形物を再度メタノールで溶解し、20mlに定容して抽出液とした。

### (5) ウルソール酸量定量分析

1mlの抽出液を1.5ml遠心チューブにとって15,000rpmで10分間遠心し、上清を分析用サンプルとした。分析はACQUITY UPLC H-Class System (Waters)により実施し、条件は以下のとおりとした。

【分析条件】 使用カラム：BEH130C18、2.1x100mm、1.7μm

検出器：フォトダイオードアレイ

（検出波長 210nm/ウルソール酸、250nm/グリチルレチン酸）

カラム温度：35℃、サンプル温度：8℃  
 移動相：メタノール：水=95:5、流速 0.12ml/min、分析時間 5分  
 サンプル注入量：1 μl

### 3. 結果

水洗、中性洗剤洗浄、アルカリ洗剤洗浄では外観への影響はいずれも見られなかった。重曹煮沸したものでは、果皮表面に赤色に着色した滲出液の発生が見られた（図1）。

クロロホルムメタノールにより抽出されるトリテルペノイド量を果皮面積あたりで比較したところ、ふじ、千雪共に洗浄処理によるウルソール酸及びオレアノール酸抽出量の違いはいずれも認められなかった（図2及び図3）。ふじでは未洗浄果も比較群に加えたが、洗浄果において両トリテルペノイド量が有意に減少することはなかった。



図1 重曹煮沸・静置したふじ果実果皮表面に赤い浸出液の発生が見られる。

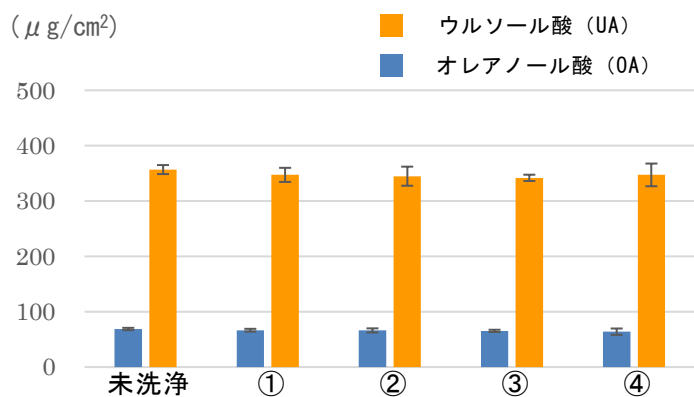


図2 異なる洗浄処理を行ったふじ長期貯蔵果由来果皮から抽出したウルソール酸 (UA) 及びオレアノール酸 (OA) 量  
 ①水洗、②中性洗剤、③アルカリ洗剤+超音波、④重曹煮沸

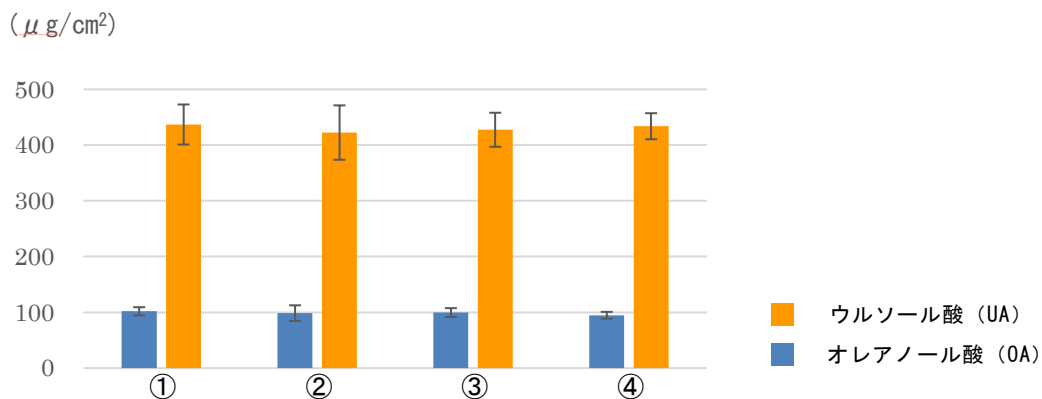


図3 異なる洗浄処理を行った千雪収穫摘果（成熟果）由来果皮から抽出したウルソール酸 (UA) 及びオレアノール酸 (OA) 量  
 ①水洗、②中性洗剤、③アルカリ洗剤+超音波、④重曹煮沸

### 4. 考察・まとめ

リンゴ果皮成分であるウルソール酸及びオレアノール酸は果皮細胞外のクチクラ層の構成成分であることが報告されている (Trivedi et al. 2019, Zhang et al. 2020) ことから、物理的又は化学的洗浄処理により減少する可能性について検討したところ、中性洗剤やアルカリ洗剤

による単純な表面洗浄ではほとんど抽出量に影響しないことが分かった。また、重曹で短時間煮沸したものでも、果実表面からアントシアニンを含むと思われる赤色の滲出液が発生するなど表皮細胞へのダメージが一部見られたにも関わらず、抽出量の減少が見られなかった。アルカリ処理により果実表面のワックスは一部除去されたと考えられたが、予想に反して果皮トリテルペノイドの抽出量は未洗浄果や水洗したものと有意差はなかった。Poirier ら (2018) は、果皮表皮細胞とクチクラワックスの両方に多量のウルソール酸及びオレアノール酸が検出されたと報告している。洗浄による減少がほとんど見られなかったことについては、クチクラ層内でのこれら成分の沈着が比較的安定したものであることに加え、細胞内に留まっている分も少なくはないためと考えられた。

収穫果実は加工の前処理として何らかの洗浄処理を施されることが必須である。果皮細胞外に分泌される成分の活用を検討した場合、洗浄処理による大幅な減少が懸念されたが、本試験により多少念入りの洗浄をした場合でも、有用成分であるトリテルペノイドの減少については考慮する必要はないことが確認された。

## 5. 謝辞

植物材料を提供していただいたりんご研究所品種開発部及び関係各位に感謝します。

## 6. 参考文献

Trivedi et al. (2019) Developmental and environmental regulation of cuticular wax biosynthesis in fleshy fruits. *Front. Plant Sci.* 10:431

Zhang et al. (2020) Advances in Biosynthesis, regulation, and function of apple cuticular wax. *Front. Plant Sci.* 11:1165

Poirier et al. (2018) Differential partitioning of triterpenes and triterpene esters in apple peel. *J. Agric. Food Chem.* 66 (8): 1800-1806