

[Research Note]

ブルーベリーのアントシアニン組成とブルーベリー・ワインの生理的効果

佐藤充克・鈴木由美子・矢内隆章・生駒 元・高松秀和・花牟礼研一
メルシャン酒類研究所 〒251-0057 藤沢市城南 4 丁目 9-1

Composition of Blueberry Anthocyanins and the Physiological Effects of
Ingestion of Blueberry Wine

Michikatsu SATO, Yumiko SUZUKI, Takaaki YANAI, Gen IKOMA, Hidekazu
TAKAMATSU, and Ken'ichi HANAMURE
Wines and Spirits Research Institute, Mercian Corporation,
9-1, Johnan 4-chome, Fujisawa 251-0057, JAPAN

The anthocyanin composition of concentrated juice of blueberry was analyzed, and the physiological effects of its ingestion, focusing on recovery from asthenopia (eye-fatigue), were examined by administering a red wine formulated with the blueberry juice to 39 volunteers for 1 week. The anthocyanin composition of the concentrated juice of lowbush blueberry (bilberry, *Vaccinium myrtillus* L.) was analyzed by HPLC. The anthocyanin composition of wild blueberry was found to differ from that of *Vitis vinifera* grapes. The major anthocyanin in blueberry was delphinidin-glycoside while that in grape juice was malvidin-glycoside. The content of anthocyanins was in the order delphinidin, cyanidin, petunidin, and malvidin-glycoside. Blueberry wine ingestion (180 mL/d for 7 days) clearly influenced recovery from asthenopia, with 70% of the volunteers responding positively. This percentage of effectiveness against asthenopia is exactly the same as that obtained in a randomized, double-blind, cross-over trial conducted by Kajimoto et al. (Proceedings of the 2nd Symposium on the Functionality of Blueberries, Jpn. Blueberry Assoc., pp. 31-35, 1998) with 20 asthenopia patients. The effectiveness of blueberry wine in treating asthenopia was thus confirmed.

Key words: asthenopia, blueberry wine, anthocyanins, red wine, benefits for health

緒言

近年、ブルーベリーは健康食品として注目され、サプリメント以外にも、ジャムやヨーグルト、あるいはワインを始め種々の飲料に利用され、国内での栽培面積も増加している。これは、「ブルーベリーが眼に良い」ことが広く知られて来たことによると考えられる。第二次大戦中、英国空軍のパイロットが、ブルーベリージャムの大量摂取により、薄明りの中でも、ものが良く見えたことが発端となり、ヨーロッパで生理効果の研究が進んだ。その結果、眼性疲労などに著効が認められ、イタリア、フランスでは既に医薬品として使用されている。

ブルーベリーが日本に入ってきたのは 1951 年のことであるが、1980 年頃までは消費も栽培面積も拡大せず、目立たない存在であった。しかし、その青紫の美しい色と、爽やかな酸味が受け容れられ、生

食の他、ジャムやケーキなどに使用されるようになった。その後、消費は徐々に拡大し、国内生産量も 1994 年頃には 485 トンに達した。1994 年以降は順調に栽培も消費も拡大している。特に 1996 年頃からは、健康食品としての地位が確立し、眼に良いという機能が注目され、消費が急拡大している。

ブルーベリーの代表的な品種としては、ビルベリー(Bilberry)ともいわれる北欧産野性種 *Vaccinium myrtillus* L., カナダ東南部や米国メイン州で栽培され、ジャムなど加工用に使用される *V. augustiflorum* Michaux, 日本でも栽培されている寒冷地向きの品種、*V. corymbosum* および *V. australe*, 更に暖地向きの品種で、果実が登熟前に兎の眼のように赤くなることから、ラビットアイ・ブルーベリーと呼ばれる *V. ashei* Reade などが知られている。ブルーベリーは病害に強く、種々の栽培適性の品種があり、しかも酸性土壌が好適な栽培土壌であることから、

2000 年 9 月 4 日受理

日本での栽培に適している。

この内、北欧産野性種のアントシアニン抽出物は VMA (*Vaccinium myrtillus* Anthocyanin) と称され、アントシアニン含量が他の品種より 2~3 倍多く、イタリア、フランス、ニュージーランドでは、医薬としての応用研究が行われ、眼性疲労などに対する医薬品として認可・販売されている。

ブルーベリーの活性本体はアントシアニンであり、赤ワインと味的にも組成的にも相性が良いと考えられ、広い健康効果も期待されるので、ブルーベリーに赤ワインを配合したブルーベリー赤ワインを調製した。これをボランティアに投与し、眼に及ぼす効果を調べ、若干の知見を得たので報告する。ここでは、ブルーベリーの品種によるアントシアニン組成の相違も調べたので報告する。

材料と方法

北欧産ローブッシュ・ブルーベリー (*Vaccinium myrtillus* L.) の 6 倍濃縮果汁を原料として使用した。ブルーベリー果汁を 1% (w/v) 濃度になるように 50% MeOH 溶液で希釈し、pH を塩酸で 2.0 に調整した。これを Capcellpac C18 UG 120Å カラム (資生堂) を使用した HPLC 分析に供した。HPLC 条件の詳細を第 1 図に示す。溶離液として 0.4% リン酸とアセトニトリルを用いグラジエント溶出した。ブルーベリーワインは市販赤ワインにブルーベリー果汁を添加・調製し、180 mL 宛小瓶に詰め、ボランティアに夕食時に毎日一本、7 日間にわたり飲用させた。ブルーベリー・ワインの飲酒効果は、インタビュー方式で聞き取り調査を行った。

結果と考察

1. ブルーベリー・アントシアニンについて

ブルーベリー・アントシアニンの特徴(1)は、アグリコン (アントシアニン) の種類はブドウと同じであるが、ブドウでは 3 位に付加する糖がグルコースだけであるのに対し、グルコース、ガラクトース、アラビノースの 3 種であることが挙げられる。アグリコンは、マルビジン、シアニジン、デルフィニジン、ペオニジン、ベチュニジンの 5 種がある。従って、これだけでも 15 種のアントシアニンが含まれることになる。第 2 図にブルーベリー・アントシア

【分析条件】

Column: CAPCELLPAC C18 UG 120Å (資生堂)

Column size: 4.6×250 mm

Particle size: 5µm

Solution A: 0.4% (v/v) phosphoric acid

Solution B: 80% (v/v) AcCN + 20% solution A

Gradient time program (Soln. B conc.)

0 min 10%, 0→30 min 17.5%, 30→60 min 50%,

60→65 min 10%, 80 min stop.

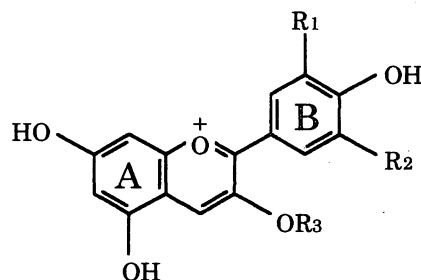
Fflow rate: 1.0 mL/min

Column temperature: 40°C

Injection volume: 10 µL

Detection: UV at 525 nm

第 1 図 ブルーベリー・アントシアニンの HPLC 分析条件.

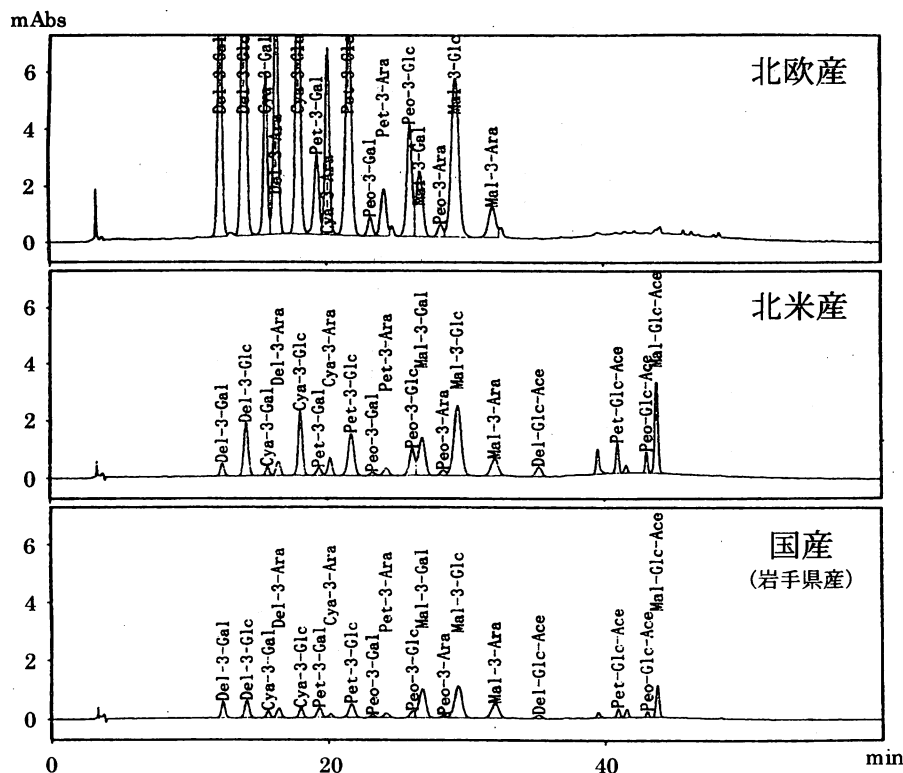


R₁, R₂ = OCH₃: malvidin - glycoside
 R₁ = OH, R₂ = H: cyanidin - glycoside
 R₁, R₂ = OH: delphinidin - glycoside
 R₁ = OCH₃, R₂ = OH: petunidin - glycoside
 R₁ = OCH₃, R₂ = H: peonidin - glycoside
 R₃ = Glucose, Galactose, Arabinose

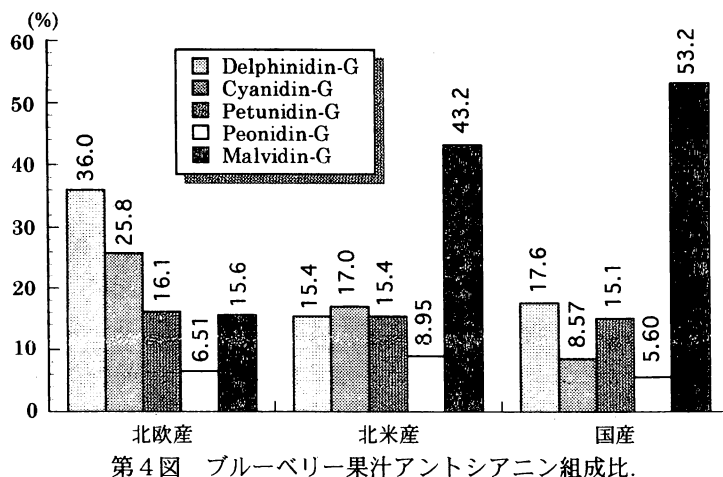
第 2 図 ブルーベリー・アントシアニンの構造.

ニンの構造を示す。日本では、北欧産、北米産、国産濃縮果汁が入手できる。果汁を元の濃度に希釈し、HPLC で分析したクロマトグラムを第 3 図に示す。図から明らかのように、北欧産ブルーベリー果汁にはアントシアニンが多量に含まれ、他の品種と組成比も異なる。特に、北米産および日本産ブルーベリーには、アントシアニン配糖体のアセチル体が含有されていたが、北欧産果汁にはアセチル体は含まれていなかった。第 4 図にアントシアニンの組成比を示すが、北欧産野性種にはデルフィニジン・グリコシドが多く含まれることが分かる。北米産、国産果汁には、ブドウに圧倒的に多いマルビジン・グリコシドが多く、北欧産野性品種と組成が大きく異なる。

アントシアニンには活性酸素消去能などの抗酸化活性がある(2)。一般に、ポリフェノールの抗酸化能はアントシアニン・アグリコン B 環 (第 2 図) に結合した水酸基の数及び位置に依存する。Shahidi と Wanasundara (3)、はアントシアニン・アグリコン



第3図 ブルーベリー果汁のHPLCプロファイル。



第4図 ブルーベリー果汁アントシアニン組成比。

の抗酸化能をラジカル消去活性にて調べ、その活性をビタミン E の水溶性誘導体である、Trolox の等量 (TEAC, mM) で示している。活性はデルフィニジン (4.44 ± 0.11 mM) > シアニジン (4.4 ± 0.12 mM) > ペオニジン (2.22 ± 0.2 mM) > マルビジン (2.06 ± 0.1 mM) であり、北欧産野性種に多量に含まれる、デルフィニジンは最も活性が高い。しかし、3 位にグルコースが付いたアントシアニンでは何れも活性は低下し、活性がアグリコンの 60~70% となるが、マルビジン-3-グルコシド (1.78 ± 0.02 mM) の場合はその

低下程度は少ない。ワイン醸造専用品種、ヴィティス・ヴィニフェラ (*Vitis vinifera*) の果皮には、マルビジン-3-グルコシドが最も多量に存在する。

カリフォルニア大学の Frankel ら(4)はレシチン-リポソーム系にて、種々のアントシアニンのヒト LDL の銅触媒による酸化に対する抗酸化能を比較している。それによると、マルビジンの抗酸化能が一番高く、デルフィニジン、シアニジン、ペラルゴニンは逆にプロオキシダント活性を示した。アントシアニンには銅のキレート作用もあり、その作用は単純ではないようである。

北欧産野性種ブルーベリーに含まれるアントシアニンで一番

多いのはデルフィニジン・グリコシドであるが、二番目に多いのはシアニジン・グリコシドである。最近、名古屋大学の澤ら(5)は、ラットにシアニジン・グルコシドを投与し、血漿中に配糖体そのまま吸収されることを確認し、その大部分はプロトカテキュ酸に代謝されることを示した。プロトカテキュ酸も高い抗酸化能を有することから、アントシアニンが生体内で有効に作用することを示した。

2. ブルーベリー・アントシアニンの生理作用

ヨーロッパを中心とする種々の薬理・臨床試験の結果、以下に示す多くの効果が報告されている(6)。

①網膜のロドプシン再合成の活性化

ロドプシンが光の刺激を脳に伝えるが、ロドプシンは光により徐々に分解される。ブルーベリー・アントシアニンは、ロドプシンの再合成を活性化する。ロドプシンの再合成が促進されることで、視力の向上、暗所視野適応力増強、視野の拡大などの効果が得られる。

②毛細血管保護効果

網膜毛細血管の抵抗性を増強する。ビタミン P 様活性を示し、毛細血管の浸透性を減少する。従って、眼の充血が改善する。ヒトでの投与試験で、肩こりや腰のこりが改善するのも、この効果によると考えられる。

③抗酸化作用

白内障の水晶体混濁は、タンパクのグリケーションが主要な原因であるが、ブルーベリー・アントシアニンは、このグリケーションを防止する。また、活性酸素も消去する。

④抗潰瘍活性

胃粘液の分泌を増加し、潰瘍になりにくくする。また、癌細胞増殖に関与する酵素を阻害する。

⑤結合組織の強化

コラーゲンに直接作用し、架橋を促進し、コラーゲン基質を強化する。また、コラーゲン分解酵素を阻害する。

以上の作用から、癌性疲労、網膜症、末梢血管病、関節炎などに効果のあることが報告されている。

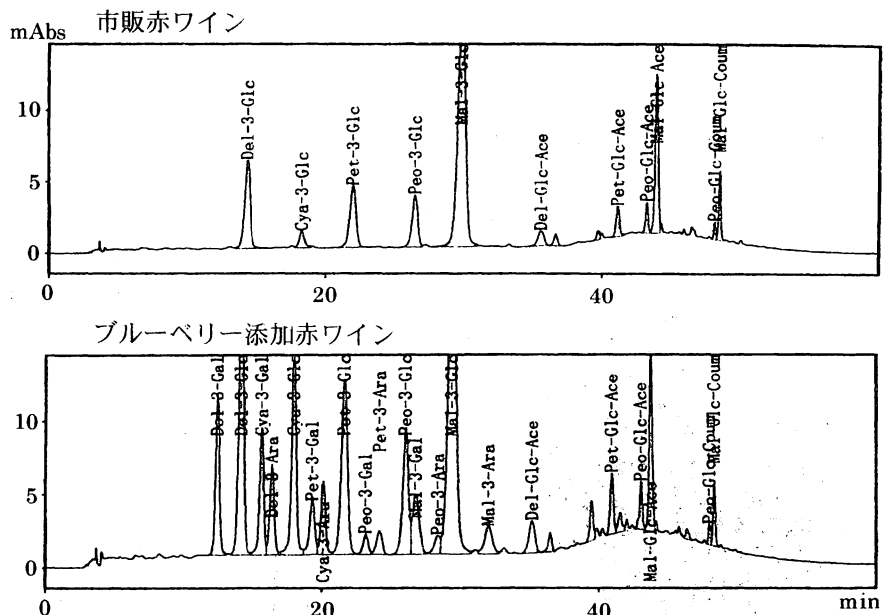
3. ブルーベリー果汁を配合した赤ワインの飲用試験

野性種のブルーベリー果汁にはデルフィニジン・グリコシドが多いが、このアントシアニンはフラボノイドの B 環にフェノール性水酸基が 3 ケ付加しており (第 2 図)、抗酸化能が高い。

赤ワインについても、フランス人は動物性脂肪の摂取量が多いのに、心臓病 (虚血性心疾患) が少ないという、所謂「フレンチ・パラドックス」を解く鍵が、赤ワイン・ポリフェノールであるという研究(7)から、種々の薬効が明らかになっている。即ち、強力な活性酸素消去能(2)、悪玉コレステロールである LDL の酸化防止(8)による動脈硬化予防、強い血小板凝集阻害(9)による血栓症予防、抗癌効果(10)や痴呆、アルツハイマー症に対する効果(11)などである。我々は赤ワインの活性酸素消去活性の所在を検討し、活性を代表す

るのは含まれるアントシアニン画分であり、しかもモノマーではなく、オリゴマーあるいはポリマーの画分であることを明らかにした(12)。赤ワインにおいても、アントシアニンの重要性が指摘される。赤ワインには血流増加作用もあり(13)、ブルーベリー・アントシアニンの毛細血管保護効果と同様の作用と考えられる。以上、ブルーベリーは赤ワインと類似の効能を有することが指摘されるが、赤ワインを飲んでも眼に利いたというケースは報告されていない。そこで、赤ワインにブルーベリーを添加し、眼にも良い赤ワインの開発を考えた。

我々は、北欧産ブルーベリー果汁を赤ワインに配合し、ブルーベリー・ワインを調製した。薬用として効果のあるブルーベリー・アントシアニンの投与量は約 60 mg/day であるので、ブルーベリー・アントシアニンの含有量を 350 mg/L とし、且つガリック酸換算の総ポリフェノールが約 3000 mg/L である、ブルーベリー赤ワインを調製した。第 5 図に使用した赤ワインと、ブルーベリー濃縮果汁を添加したブルーベリー・ワインの HPLC プロファイルを示す。赤ワインにブルーベリーを配合すると、極めて複雑なアントシアニン組成になることが分かる。得られたブルーベリー・ワイン 180 mL を飲用すると、63 mg のブルーベリー・アントシアニンを摂取することになる。そこで、年齢が 40 から 50 歳のボランティア (n = 39、男性 20 名、女性 19 名) に夕食時、ブルーベ



第 5 図 赤ワインとブルーベリー添加赤ワインの HPLC プロファイル。

第1表 ブルーベリー含有赤ワインの眼に対する効果

パネルNo.	性別	年齢	眼に対する効果			眼に対する効果のコメント
			著効	改善	不変悪化	
M1	男	45	○			眼の疲れが取れた。
M3	男	59		○		眼が爽やかになった。
M4	男	48		○		首、頭のコリがない。
M6	男	40	○			眼の奥の痛みが全くない。
M7	男	47		○		熟睡し、眼がすっきりした。
M9	男	59	○			眼精疲労感じない。
F1	女	59	○			眼がはっきり見える。
F2	女	57		○		体調がよい。
F3	女	57		○		眼がすっきりした。
F4	女	48	○			視力が回復し、良く見える。
F5	女	42	○			目が疲れない。肩コリない。
F6	女	50		○		目の疲れ緩和された。
F7	女	51	○			目が疲れない。
F8	女	61	○			眼のしょぼつきがなくなった。
F9	女	52		○		朝、眼がぼんやりしなくなった。
F10	女	44		○		細かい時が良く見える。
F11	女	42	○			コンピューターで目が疲れない。
F12	女	43	○			眼精疲労に効いた。
F14	女	43		○		朝眼がしょぼつかない。

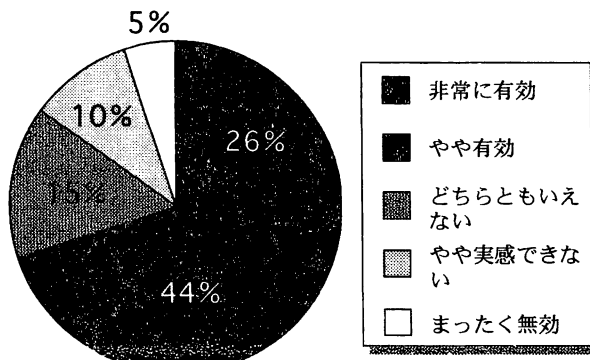
り、極めて優秀な成績であった。また、肩こりや腰のこりがなくなったという被検者も複数認められた。これは、ブルーベリー・アントシアニンの毛細血管保護効果と、赤ワインポリフェノールの血流増加作用が働いたものと考えられる。以上から、ブルーベリー果汁を含む赤ワインは、眼性疲労を含む、赤ワインの効果とブルーベリーの効果の双方が期待できるものと考えられた。

リー・ワインを毎日 180 mL、1 週間飲用して貰い、主として眼に対する作用を調べた。飲用効果は、毎日聞き取りにて行った。

ブルーベリー・ワインを飲用し、好ましい効果のあったコメントと結果の一部を第1表に示す。コメントとして、眼が疲れない、眼性疲労に効果がある、眼のしょぼつきが改善した、夜更かししてもテレビがよく見える、コンピューターを長時間使用しても眼が疲れない、熟睡でき、朝の目覚めが良いなどが得られた。被検者には白内障の患者も含まれていたが、ブルーベリー赤ワインの飲用で眼の調子が良く、白内障の薬を飲み忘れたとのコメントもあった。結果をまとめると(第6図)、ブルーベリー赤ワインの一週間の飲用により、26%の被検者で眼に対し非常に有効、44%がやや有効と回答した。非常に有効とやや有効を合計すると、70%の被検者で有効であ

要約

1. ブルーベリー果汁各品種のアントシアニン分析を行った。その結果、医薬原料としても使用されている北欧産ブルーベリー(*Vaccinium myrtillus* L.)は他の品種に比べ、デルフィニジンやシアニジン配糖体が多く、ブドウに多いマルビジン配糖体の相対量は少なかった。
2. アントシアニンの分析の結果、北米産および日本産ブルーベリーにはアントシアニン配糖体のアセチル体が含有されていたが、北欧産果汁にはアセチル体は含まれていなかった。
3. 北米産ブルーベリーは総ポリフェノール量は多いが、ブドウと同じマルビジン配糖体が多く、その他のアントシアニンは少なかった。生食用に向く日本産ブルーベリーは、総ポリフェノール量もアントシアニン量も他の品種と比べ、少なかった。
4. 北欧産ブルーベリー果汁を赤ワインに配合し、毎日 180 mL を 1 週間投与する試験を行ったところ、被験者 39 名中 70% で眼に対する効果が指摘され、ブルーベリー・ワインの眼性疲労に対する有効性が示唆された。



第6図 ブルーベリー・ワインの眼に対する有効性。

引用文献

1. 佐藤充克. アントシアニン-食品の色と健康、大庭理一郎、五十嵐喜治、津久井亜紀夫編著、建帛社、pp. 106-123 (2000).

2. Sato, M., N. Ramarathnam, Y. Suzuki, T. Ohkubo, M. Takeuchi, H. Ochi. *J. Agric. Food Chem.*, 44: 37-41 (1996).
3. Shahide, F., P. K. J. Wanasundara. *Crit. Rev. Food Sci. Nitr.*, 32: 67-103 (1992).
4. Satue-Gracia, M. T., M. Heinonen, E. D. Frankel. *J. Agric. Food Chem.*, 45: 3362-3367 (1997).
5. Tsuda, T., F. Horio, T. Osawa. *FEBS Lett.*, 449: 179-182 (1999).
6. 伊藤三郎. *Food Style* 21, 2: 43-49 (1998).
7. Renaud, S., M. de Lorgeril. *Lancet*, 339: 1523-1526 (1992).
8. Frankel, E. N., A. L. Waterhouse, J. E. Kinsella. *Lancet*, 341: 1103-1104 (1993).
9. Bertelli, A. A. E., A. Bertelli, et al. *Int. J. Tiss. Reac.*, 17: 1-3 (1995).
10. Jang, M., J. M. Pezzuto, et al. *Science*, 275: 218-220 (1997).
11. Orgogozo, J. -M., S. Renaud, et al. *Rev. Neurol. (Paris)*, 153: 185-192 (1997).
12. Sato, M. et al. 'Food Factors for Cancer Prevention.' H. Ohigashi, T. Osawa, et al. eds., *Spring-Verlag Tokyo*, pp. 359-364 (1997).
13. Sato, M., K. Namiki. *Proceedings of the Symposium, 'Polyphenols, Wine and Health.'* Bordeaux, France, pp. 7-8 (1999).