

桑の実ジュースの成分と飲料開発

渡邊 悟*、星野浩子*、篠原尚子*、中村 渡**、坂上 宏***

Components and Commercialization of Mulberry Juice

Satoru WATANABE*, Hiroko HOSHINO*, Naoko SHINOHARA*,
Wataru NAKAMURA** and Hiroshi SAKAGAMI***

We analyzed components of the mulberry juice, of which the biological activities are recently watched with interest, and developed the functional mulberry juice drink.

- (1) The mulberry juice was rich in protein and dietary fibers, in comparison with the other fruit juices and poor in carbohydrate.
- (2) Iron and vitamin K contents of the juice were high in comparison with other fruit juices.
- (3) The amount of polyphenols in the juice was relatively lower than that in green tea. The main polyphenols were chlorogenic acid isomers and cyanidin-3-glucoside.
- (4) Amino acid analysis demonstrated that asparagine, alanine and γ -amino butyric acid were rich in the juice, that seemed to be one of the reason of anti-stress activity.
- (5) The functional drink was developed by mixing the mulberry juice with apple juice, which is more popular drink, to reduce the precipitate without losing so much iron, but rather adding refreshing taste.

緒言

日本では1970年くらいまで養蚕業がさかんで、地方のいたる所で桑をみかけ、桑の実を食べた経験をもつ人は少なからずいた。しかしながら、養蚕業の衰退とともに、桑の栽培面積は減少し、桑の実を食することはめったになくなり、五訂増補日本食品標準成分表（以下、成分表）にも記載がない。一方で、桑の実は果実であり、その栄養価の高さ¹⁻³⁾や機能性の高さ⁴⁾が知られている。しかしながら、桑の実の利用に関する研究が少ないのが現状である。⁵⁾

そこで我々は、大量に調達できる桑の実を入手し、その100%果汁の成分を調べ、飲みやすい機能性飲料の開発をおこなったので、ここに報告する。

実験方法

1. 材料

飲料開発に用いた桑の実は、2007年に中国北京市大興区古桑園で収穫された「龍桑」という品種で、収穫後直ちに-30℃で凍結保存したものである。「龍桑」は成長が速く低温に強い品種で、実は小さいが多収穫という特徴がある。成分分析の試料としては、中村カイロ協会が、「龍桑」の実から商品化した100%果汁の「桑の実ジュース」を用いた。一方、機能性飲料の開発には、冷凍の「龍桑」の実(200kg/缶)を用いた。

2. 試薬

食物繊維測定キット、アミノ酸分析用標準ミックス

Keywords: Mulberry juice, Component analysis, Commercialization of the drink

*東京聖栄大学健康栄養学部、**中村カイロ(株)、***明海大学歯学部

(20アミノ酸ミックスおよび生体成分用標準) および DPPH (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) は和光純薬工業社製のものをを用いた。その他の試薬類は市販品特級あるいはそれに準ずるものをを用いた。

3. 一般成分、無機質、ビタミンの定量

桑の実ジュースの一般成分、無機質、ビタミンの定量は、日本食品分析センターに依頼し、成分表の分析方法で定量した。⁹⁾

4. 食物繊維の定量

食物繊維の定量は、食物繊維測定キットを用い、プロスキー変法⁹⁾の改良法 (WAKO 法) で定量した。すなわち酵素処理条件は、pH 6.3 において耐熱性アミラーゼで 95~100°C 30 分処理したのち、プロテアーゼとアミログルコシダーゼで同時に 60°C 30 分間処理した。

5. アミノ酸分析

桑の実ジュース 0.5 mL に 10% トリクロロ酢酸 0.5 mL を加え、その上清を遠心分離 (1,000 ×g, 4°C, 5 min) により回収し、日立製作所社製のアミノ酸自動分析計 L-8800 の試料とした。18 種以外のアミノ酸のピークがみられたので、20アミノ酸ミックスと生体分析用標準物質も同時に分析して各アミノ酸の定量を行なった。

6. ポリフェノール類の定性・定量

総ポリフェノール類の定量は Folin-Denis 法⁷⁾で行なった。クロロゲン酸類の定性・定量はカテキン類の分析条件と同じ HPLC⁸⁾で行い、325 nm で追跡した。シアニジン-3-β-D-グルコシドの同定・定量は島津製作所に依頼し、LC/MS⁹⁾により行なった。LC/MS の分析条件を以下に示す。使用機器: LCMS-2010A

カラム: Shim-pack VP-ODS (2.0 mm i.d. × 150 mm)

移動相: A 液; 0.1% 酢酸水溶液

B 液; 0.1% 酢酸を含むアセトニトリル

流量: 0.2 mL/min, 15 min までグラディエント

温度: 40°C

試料注入量: 2 μL

イオン化モード: ESI (+)

分析モード: scan 測定 (m/z 100-600)

SIM 測定 (m/z 449, 287)

取り込み時間: 0.5 sec/scan

7. DPPH ラジカル消去能の測定¹⁰⁾

8 mg の DPPH を 50 mL のエタノールに溶解し、これを蒸留水で 100 mL に定容した。この DPPH 溶液 3.6 mL に適宜希釈した試料 400 μL を加えて混合し、室温で正確に 30 分放置後、517 nm の吸光度を測定した。コントロールは、試料の代わりに蒸留水を加えて同様に測定した。標準物質としてエピガロカテキンガレート (EGCG) を用い、DPPH ラジカルの減少に伴う吸光度の減少量とコントロールの値から検量線を作成し、試料のラジカル消去能を算出した。

実験結果および考察

1. 桑の実ジュースの一般成分、無機質、ビタミン

成分表に掲載されている、温州みかん、マンダリンオレンジ、グレープフルーツ、パイナップル、ブドウ、リンゴのジュースの各成分値¹¹⁾と、桑の実ジュースの成分値を Table 1 に示す。一般成分では、桑の実ジュースは他のジュースに比べて、炭水化物が少なくたんぱく質が若干多かった。無機質において特筆すべきことは、鉄の量が 2 mg/100 g と格段に多いことであった。ビタミンにおいては、ビタミン K の量が他ではほとんど 0 であるのに対して 12 μg/100 g であった。食物繊維は他で少量しか認められないのに対して、水溶性が 0.3 g/100 g、不溶性が 0.8 g/100 g、総量が 1.1 g/100 g であった。これはジュース製造時の膜処理での残存も考えられるが、桑の実ジュースの特性で、膜処理で清澄化したにもかかわらず、保存中に沈殿物が生じやすいことにつながると思われた。

2. アミノ酸

桑の実ジュースのアミノ酸分析結果を Table 2 に示す。アスパラギン、アラニン、γ-アミノ酪酸 (GABA)、セリン、アスパラギン酸の順に多く、100 mL 飲むとアスパラギンは約 100 mg、GABA は 16 mg 以上をそれぞれ摂取できることになる。これらのアミノ酸は、報告例のあるストレス緩和作用¹²⁻¹⁴⁾に寄与する可能性がある。

3. ポリフェノール類

ポリフェノール類の成分値を Table 3 に示す。一般の緑茶(熱水抽出液)のポリフェノール量は 186.4 mg/100 mL であり、桑の実ジュースはそれより若干少ない 152.06 mg/100 mL であったが、DPPH ラジカル消去能を比較したところ、両者とも 20 倍希釈で 68.4% と 20.4% であり、

Table 1. Components of straight fruit juices.

	Straight fruit juice						
	Mulberry	Satsuma mandarine	Valencia orange	Grapefruit	Pineapple	Grape	Apple
	per 100g						
Energy (kcal)	33	41	42	40	41	55	44
Moisture (g)	91.5	88.5	87.8	88.7	88.2	84.8	87.7
Protein	0.9	0.5	0.8	0.6	0.3	0.3	0.2
Lipid	trace	0.1	trace	0.1	0.1	0.2	0.1
Carbohydrate	7.3	10.6	11.0	10.3	11.0	14.5	11.8
Ash	0.3	0.3	0.4	0.3	0.4	0.2	0.2
Na (mg)	4	1	1	1	1	1	3
K	143	130	180	180	210	30	77
Ca	13	8	9	9	22	3	2
Mg	11	8	10	9	10	14	3
P	17	11	20	12	13	7	6
Fe	2.0	0.2	0.1	0.1	0.4	0.1	0.4
Zn	0.1	Tr	Tr	Tr	0.1	0.1	Tr
Cu	0.02	0.02	0.04	0.03	0.03	0.02	0.03
Mn	0.08	0.03	0.02	0.01	0.87	0.13	0.03
α -Carotene (μ g)	0	2	7	0	0	0	0
β -Carotene (μ g)	11	53	12	0	9	0	0
Retinol equivalent (μ g)	1	35	3	0	1	0	0
Vitamin D (μ g)	0	0	0	0	0	0	0
α -Tocopherol (mg)	0	0.2	0.2	0.2	trace	0	0.1
Vitamin K (μ g)	12	0	0	trace	0	trace	0
Vitamin B ₁ (mg)	0.02	0.06	0.07	0.04	0.04	0.02	0.01
Vitamin B ₂ (mg)	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
Niacin (mg)	0.6	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1
Vitamin B ₆ (mg)	0.03	0.03	0.06	0.03	0.07	0.05	0.03
Vitamin B ₁₂ (μ g)	0	0	0	0	0	0	0
Folic acid (μ g)	4	15	25	11	9	1	3
Pantothenic acid (mg)	0.26	0.14	0.14	0.23	0.19	0.06	0.21
Vitamin C (mg)	0	29	22	38	6	trace	3
Dietary fiber (g)	1.1	0.0	0.3	0.1	0.0	0.1	trace
soluble	0.3	0.0	0.2	0.1	0.0	0.1	trace
insoluble	0.8	0.0	0.1	0.0	0.0	trace	trace

Components except for dietary fiber in mulberry juice were analyzed by Japanese Food Research Lab.

Data of other juices were derived from the standard tables of food composition in Japan, Fifth Revised and Enlarged Edition.¹¹⁾

Table 2. The amounts of Amino acids in mulberry juice.

Amino acids	nmol/mL	mg/100 mL
Asp	1060±17	14.11
Thr	317±4	3.78
Ser	1600±18	16.81
Asn	7499±89	99.08
Glu	536±6	7.89
Gly	118±1	0.89
Ala	2343±24	2.09
Cit	16±12	0.28
α-ABA	115±6	1.19
Val	442±10	5.18
Met	174±2	2.60
cysta	8±0	0.18
Ile	253±9	3.32
Leu	574±8	7.53
Tyr	884±9	16.02
β-Ala	112±7	1.00
Phe	471±12	7.78
GABA	1613±22	16.63
MEA	93±10	0.57
Orn	8±0	0.11
Lys	28±1	0.41
Arg	404±4	7.04

Table 3. Anti-oxidative components in mulberry juice.

Anti-oxidative components	nmol/mL	mg/100 mL
Polyphenols		152.06
3-Caffeoylquinic acid	151	5.34
5-Caffeoylquinic acid (chlorogenic acid)	703	24.87
4-Caffeoylquinic acid	334	11.82
Cyanidin 3-glucoside	1495	67.19

ポリフェノール量との相関が乏しくラジカル消去に関わる成分の違いによるものと思われた。HPLC 分析により、クロロゲン酸類が 40 mg/100 mL 以上であり、LC/MS 分析によりシアニジン-3-グルコシドが約 67 mg/100 mL 含まれることがわかった。桑の実ジュースの抗酸化能に寄与

するポリフェノール類は主にクロロゲン酸類とシアニジン-3-グルコシドであると思われた。なお、LC/MS 分析結果とシアニジン-3-グルコシドの構造を Fig 1 に示す。

4. 機能性飲料としての可能性の追求

桑の実の生物活性としては、抗ストレス作用¹²⁻¹⁴⁾、抗腫瘍活性¹⁵⁾、抗 HIV 活性¹⁶⁾、そして抗菌活性⁴⁾の報告がある。抗ストレス作用はマウスでの実験で、ストレスによる血漿中の過酸化物質の上昇を抑制した¹³⁾が、ヒトでも同様な効果があるか調べる必要がある。桑の実ジュースは、ヒト口腔扁平上皮癌細胞に対しては細胞傷害活性が低かったが、ヒト T 細胞白血病細胞 MT-4 に対しては比較的高い細胞傷害活性を示した。¹⁵⁾ ヒト T 細胞白血病細胞 MT-4 を HIV で感染させたものと、非感染のものにそれぞれ桑の実ジュースを加えて 50% の細胞を生存させる濃度を比較したところ、抗 HIV 活性が低いながらブルーベリーより高かった。¹⁶⁾ また桑の実ジュースはいくつかの歯周病関連の細菌に対して発育を阻止した。⁴⁾

これらの生物活性から、代替医療の飲料としての可能性も考えられるが、表示において直接これらの生理活性を謳えないという難点がある。しかし機能性飲料の可能性を考慮すると、鉄分が多いということで栄養機能食品としての商品化が考えられた。規格基準にあっていれば栄養機能食品といえるわけで、鉄は下限値 2.25~上限値 10 mg¹⁷⁾であり、桑の実ジュースは 100 mL で約 2 mg 摂取できるので、仮に桑の実ジュース 120 mL を一日摂取すれば、規格基準を満たすことになる。桑の実ジュース 100% はそのまま飲めるが、720 mL ビンで市販されており、この商品は、量的に多い、沈殿ができてしまう、

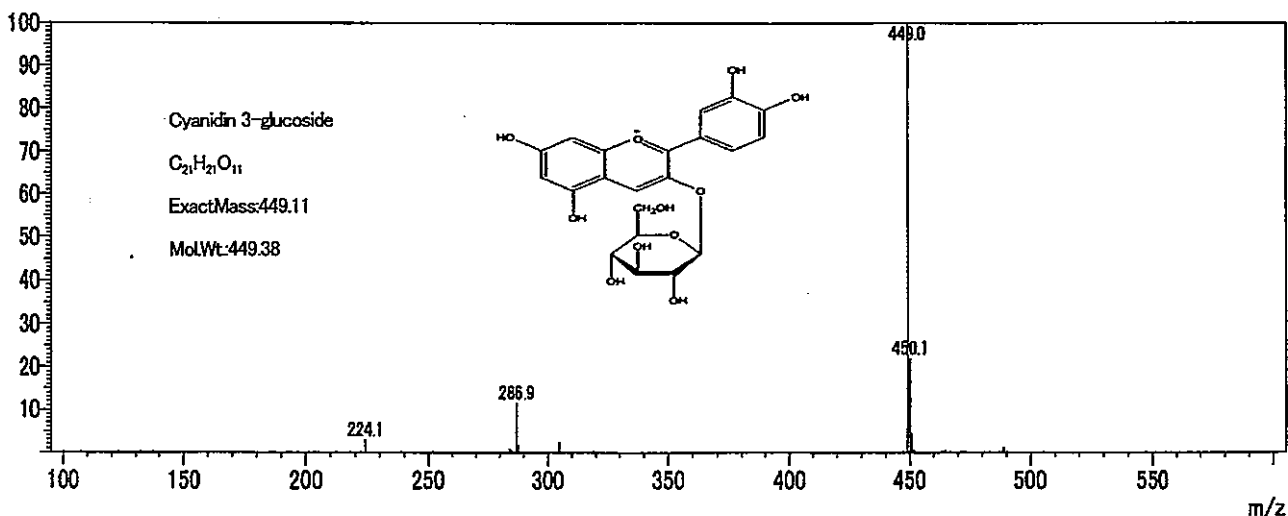


Fig. 1 LC-MS spectrum and structure for cyanidin-3-glucoside.

味に抵抗がある、という3つの問題点で改良が求められた。そこで、冷凍の桑の実を解凍して膜処理後、リンゴジュースと混合し、殺菌後パックして500 mLのミックスジュース「桑の実と林檎のチカラ」を商品化した。商品には栄養機能食品(鉄)の表示をし、商品の特徴を「ストレス時代の果汁飲料」、「懐かしい故郷の味」とした。表示ラベルをFig 2に示す。3つの問題点は改善されたが、沈殿が以前よりは少ないものの生じてくるのが問題として残った。

今後、日本の誇れる文化の一つである桑関連産業を継承するべく、桑の実の利用を検討する必要がある。

鉄は、赤血球を作るのに必要な栄養素です。
桑の実と林檎のチカラには、鉄と抗酸化能の高いポリフェノール(アントシアニンなど)が豊富に含まれています。

栄養成分表示(200gあたり)	
エネルギー	88kcal
たんぱく質	1.4g
脂質	0.2g
炭水化物	20g
ナトリウム	6.8mg
鉄	3.0mg

(日本食品分析センター調べ)

本品は、多量摂取により疾病が治癒したり、より健康が増進するものではありません。1日の摂取目安量を守ってください。
摂取目安量: 1日 150ml~650ml

Fig. 2 Indication for the developed drink.

要約

機能性が注目されている桑の実ジュースの成分分析をおこない、飲料開発をおこなった。

- (1) 他の果実ジュースと比較するとたんぱく質がやや多く、炭水化物は少なかった。しかし、食物繊維は1%ほど含まれていた。
- (2) 無機質では鉄が多いのが特徴で、ビタミンでは他のジュースに少ないビタミンKが多かった。
- (3) ポリフェノール量は一般の緑茶よりやや少なく、主成分はシアニジン-3-グルコシドとクロロゲン酸類であった。
- (4) アミノ酸分析の結果、アスパラギン、アラニン、γ-アミノ酪酸の順で多く、ストレス緩和作用に寄与する成分と思われた。

- (5) 鉄に注目して栄養機能食品と表示できるべく、リンゴジュースとミックスすることにより、飲みやすい付加価値の高い機能性飲料を商品化した。

謝辞

「桑の実と林檎のチカラ」の製造を快く引き受けてくれましたニック食品(株)と商品開発に支援していただきました(社)食医同源之会に厚く御礼申し上げます。

文献

- 1) Liu X, Xiao G, Chen W, Xu Y, Wu J.: Quantification and purification of mulberry anthocyanins with macroporous resins., *Journal of Biomedicine & Biotechnology*, 5, 326-331 (2004).
- 2) Song W, Wang HJ, Bucheli P, Zhang PF, Wei DZ, Lu YH: Phytochemical profiles of different mulberry (*Morus* sp.) species from China., *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 9133-9140 (2009).
- 3) Akbulut M, Ozcan MM: Comparison of mineral contents of mulberry (*Morus* spp.) fruits and their pekmez (boiled mulberry juice) samples. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60, 231-239 (2009).
- 4) 坂上 宏ら: 代替医療としての桑の実ジュースの機能性. *New Food Industry*, 48 (11), 31-39 (2006).
- 5) 長谷川真由美、林 一也、津久井亜紀夫: 桑の実ジャム製造におけるアントシアニン色素の安定性. *日本食生活学会誌*, 20(4), 38-42 (2010).
- 6) 文部科学省ら編: 五訂増補日本食品標準成分表分析マニュアル, (2005).
- 7) 篠原和毅ら編著: 食品機能研究法, 光琳, p318(2001).
- 8) 後藤哲久、長嶋 等、吉田優子、木曾雅昭: 市販緑茶の個別カテキン類とカフェインの分析. *茶研報*, 83, 21-28 (1996).
- 9) 津久井亜紀夫: アントシアニン (アントシアニン類). 新・食品分析法[III], 日本食品科学工学会, p99-110 (2006).
- 10) 荒木裕子、篠原尚子、渡邊 悟: 蓮茶の DPPH ラジカル消去能およびポリフェノール成分について. *東京聖栄大学紀要*, 1, 3-8 (2008).

- 11) 文部科学省ら編：五訂増補日本食品標準成分表 (2005).
- 12) Sakagami H, Asano K, Satoh K, Takahashi K, Terakubo S, Shoji Y, Nakashima H, Nakamura W: Anti-stress activity of mulberry juice in mice. *In Vivo*, 20, 499-504 (2006).
- 13) Sakagami H, Asano K, Satoh K, Takahashi K, Kobayashi M, Koga N, Takahashi H, Tachikawa R, Tashiro T, Hasegawa A, Kurihara K, Ikarashi T, Kanamoto T, Terakubo S, Nakashima H, Watanabe S and Nakamura W: Anti-stress, anti-HIV and vitamin C-synergized radical scavenging activity of mulberry juice fractions. *In Vivo*, 21, 499-506 (2007).
- 14) Naderi GA, Asgary S, Sarraf-Zadegan N, Oroojy H, Afshin-Nia F: Antioxidant activity of three extracts of *Morus nigra*. *Phytotherapy Research*, 18, 365-369 (2004).
- 15) Satoh R, Kishino K, Morshed SRM, Takayama F, Otsuki S, Suzuki F, Hashimoto K, Kikuchi H, Nishikawa H, Yasui T and Sakagami H: Changes in fluoride sensitivity during in vitro senescence of human normal oral cells. *Anticancer Res.*, 25, 2085-2090 (2005).
- 16) Nakashima H, Murakami T, Yamamoto N, Sakagami H, Tanuma S, Hatano T, Yoshida T and Okuda T: Inhibition of human immunodeficiency viral replication by tannins and related compounds. *Antiviral Res.*, 18, 91-103 (1992).
- 17) 栄養調理関係法令研究会編：栄養調理六法（平成 22 年版）、第三編 健康増進 第六章 特別用途表示等 p695、新日本法規 (2009).