

## 県産食品素材を用いた機能性食品の開発

### — 栗ポリフェノールの利用 —

樋口誠一\*<sup>1</sup> 高橋 学\*<sup>2</sup> 早川淳一\*\* 吉川麻美\*\* 国分由梨\*\* 仲島日出男\*<sup>1</sup>

## Development of Functional Foods with Agricultural Products

### Harvested in Saitama Prefecture

#### — Utilization of Chestnut Polyphenol —

HIGUCHI Seiichi\*<sup>1</sup>, TAKAHASHI Manabu\*<sup>2</sup>, HAYAKAWA Junichi\*\*

YOSHIKAWA Mami\*\*, KOKUBUN Yuri\*\*, NAKAJIMA Hideo\*<sup>1</sup>

#### 抄録

栗渋皮に含まれるポリフェノールの機能性を有効活用した新製品を開発するため、栗渋皮ポリフェノールのもつ渋味の低減処理について検討するとともに、栗渋皮を利用した菓子類の試作を行った。栗渋皮ポリフェノールはその大部分が高分子のものであった。各種の食品素材について、渋味のマスクング作用を評価したところ、ゼラチン類、乳由来タンパク類、メチルセルロースなどが高い効果を示した。試作の結果、栗渋皮の利用により、抗酸化性などの機能性を付与した、特色ある菓子類製品の開発が可能であると考えられた。

キーワード：栗，ポリフェノール，抗酸化性，マスクング，機能性食品

## 1 はじめに

近年、メタボリックシンドロームをはじめとする生活習慣病の予防には、特定保健用食品などに代表される機能性食品が有効であるとの認識が、消費者の間に高まっている。そのため、県内の食品製造業者にとっても製品への機能性の付加は最大の関心事であり、消費者にアピールしやすい埼玉県産の機能性素材を求める声は多い。

これまでの研究結果で、栗やビワなどの植物素材について、その抗酸化活性が非常に高いことが確認された<sup>1)</sup>。栗は埼玉県で全国第5位の収穫量があり、県の特産品である。栗の渋皮に含まれるポリフェノールは、渋味を呈するなどの性質から高

分子性化合物であると考えられる。高分子性のポリフェノールとしては加水分解型タンニンと縮合型タンニン（プロアントシアニジン）があり、いずれも植物に広く存在している<sup>2)</sup>。特にプロアントシアニジンは抗酸化作用や心疾患及びガンの予防作用がある<sup>3)</sup>とされ、米国を中心に近年注目されつつある。しかし、栗渋皮ポリフェノールは、その渋味のために食品製造時に除去されることが多く、有効に利用されていない。本研究では栗渋皮ポリフェノールの機能性を有効活用した製品の開発を目的に、栗渋皮ポリフェノールの渋味低減処理の検討を行うとともに、栗渋皮を利用した菓子類の試作を行った。

## 2 実験方法

### 2.1 供試試料

分析用の栗渋皮粉末は、埼玉県内で収穫された

\*<sup>1</sup> 北部研究所 生物工学部

\*<sup>2</sup> 庄和浄水場

\*\* (株) サティス製菓

栗より調製した。まず栗全体を凍結乾燥し、渋皮のみを分別して粉碎した。一方、菓子類試作用の渋皮粉末としては、むき栗加工工場にて発生した果肉の付着した状態の渋皮より調製した。これを130℃で30分間熱風乾燥後、混在する果肉等を除去して粉碎し、30メッシュのふるいを通過したものを菓子類の試作に用いた。

## 2.2 ポリフェノールの測定

栗渋皮 80%メタノール抽出液について、総ポリフェノール量をフォーリンチオカルト法<sup>1)</sup>により、また、総プロアントシアニジン量をバニリン硫酸法<sup>4)</sup>により測定した。なお、いずれも標準物質として(+)-カテキン水和物(シグマ社製)を用いた。

栗渋皮ポリフェノールの分子量分布に関しては、順相高速液体クロマトグラフィー(順相HPLC)により評価した<sup>5)</sup>。移動相は(A)ジクロロメタン、(B)メタノール、(C)50% (v/v) 酢酸水溶液を使用し、表1のとおりグラジエント溶出した。カラムはジーエルサイエンス(株)製 Inertsil SIL-100A (φ4.6×250mm、5μm)を使用し、カラム温度 35℃、流速 1.0mL/min、検出は励起波長 276nm、蛍光波長 316nm で分析を行った。栗渋皮 70%アセトン抽出物をメタノールに再溶解し、10μLをこの測定に供した。

表1 順相HPLCの移動相組成

時間(分)	組成(%)		
	A	B	C
0	82.0	14.0	4.0
20	72.4	23.6	4.0
50	61.0	35.0	4.0
55	10.0	86.0	4.0
60	10.0	86.0	4.0
65	82.0	14.0	4.0

## 2.3 抗酸化活性の測定

栗渋皮エタノール抽出物について、DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)ラジカル消去能<sup>6)</sup>及び過酸化水素消去能<sup>7)</sup>を測定した。なお、比較としてそれぞれビタミンC、緑茶リキッド(一丸ファルコス(株)製)を用いた。

## 2.4 マスキング能(沈殿形成能)の評価

Hagerman らの方法<sup>8)</sup>に準じて、各種食品素材の渋味マスキング能の評価を行った。マスキング剤溶液(0.5mg/mL、0.2Mリン酸緩衝液(pH7.0))300μLにポリフェノール溶液(栗渋皮70%アセトン抽出物、3mg/mL水溶液)100μLを添加し、室温にて30分間静置した。10000rpmで5分間遠心分離後、沈殿を5%(v/v)トリエチルアミン/1%(w/v)ドデシル硫酸ナトリウム水溶液800μLに再溶解した。これに0.01M塩化第二鉄0.01M塩酸溶液を200μL添加し、15分後に510nmの吸光度を測定した。添加したポリフェノール量に対する沈殿を形成したポリフェノール量の比、沈殿形成率を求め、渋味マスキング能の指標とした。

## 2.4 菓子類の試作

### 2.4.1 和菓子の試作

和菓子としてまんじゅう及び団子の試作を行った。まんじゅうは以下のとおり作製した。砂糖14gに5~10mLの水を加えて溶かし、これに総量20gの小麦粉及び渋皮粉末(1、5、10%)、並びに膨張剤0.4gを添加して生地を作った。分割、成形または包餡した後、せいろを使用して10分間蒸した。

団子は次のとおり作製した。上新粉50gに熱湯45mLを添加して混捏し、せいろを使用して30分間蒸した。その後さらに混捏し、分割、成形した。渋皮粉末(1、5、10%)やマスキング剤を添加する場合は熱湯に懸濁させた後、上新粉に添加した。また、渋皮粉末を10%添加した試験区について、マスキング剤として乳たん白を2.5%添加して、その効果を確認した。

### 2.4.2 洋菓子の試作

洋菓子としてクッキー及びバターロールの試作を行った。クッキーは以下のとおり作製した。バター60gに砂糖40gをすり合わせ、さらに卵20g、牛乳5gを添加した。これに総量100gの小麦粉及び渋皮粉末(5、10%)を添加し、混ぜ合わせた。生地を冷蔵庫で1時間静置後、3mmの厚さに延ばして型抜きし、200℃で約10~12分焼成した。

また、バターロールについては、渋皮粉末を5%添加し、小麦粉及び渋皮粉末の総量を300gとして、常法により作製した。

### 3 結果及び考察

#### 3.1 栗渋皮のポリフェノール成分

栗渋皮の総ポリフェノール量は318mg/gであり、そのうち総プロアントシアニジン量は296mg/gと、そのほとんどを占めていた。また、順相HPLCでは分子量が低い順にポリフェノールが溶出されるが、図1に示すとおり、前半に比較的分子量の小さなピークがいくつか認められ、後半に高分子の大きなピークが認められた。この結果から、栗渋皮ポリフェノールの大部分が高分子のものであると考えられた。

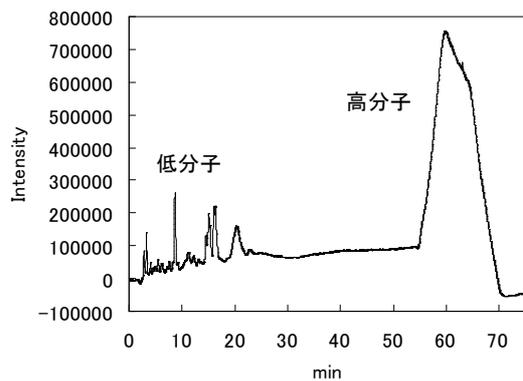


図1 栗渋皮ポリフェノールのクロマトグラム

#### 3.2 抗酸化活性の評価

栗渋皮エタノール抽出物の抗酸化性を評価したところ、50% DPPHラジカル消去濃度は0.06mg/mLであり、比較として用いたビタミンCの値0.04mg/mLとほぼ同等の強い抗酸化力を示した。また、50%過酸化水素消去濃度は8.5mg/mLであり、比較として用いた緑茶リキッドの値8.3mg/mLとほぼ同等の強い抗酸化力を示した。以上のとおり、栗渋皮ポリフェノールの強い抗酸化作用が確認された。

#### 3.3 マスキングによる渋味低減

栗渋皮はその名のとおり強い渋味を呈するため、そのままでは食味が悪く利用しにくい。この渋味は高分子ポリフェノール成分に由来するものである。高分子ポリフェノールは口腔内タンパク質などと不溶性複合体を生成しやすい性質を持っており、この沈殿形成が渋味に関連している<sup>9)</sup>。そこで高分子ポリフェノールと結合しやすいマスキング剤を使用し、口腔内タンパク質と高分子ポリフェノールとの沈殿形成を阻害することが、渋味低減処理に有効であると考え、タンパク質、糖質を中心とした各種食品素材について、栗渋皮ポリフェノールとの結合能のスクリーニングを行っ

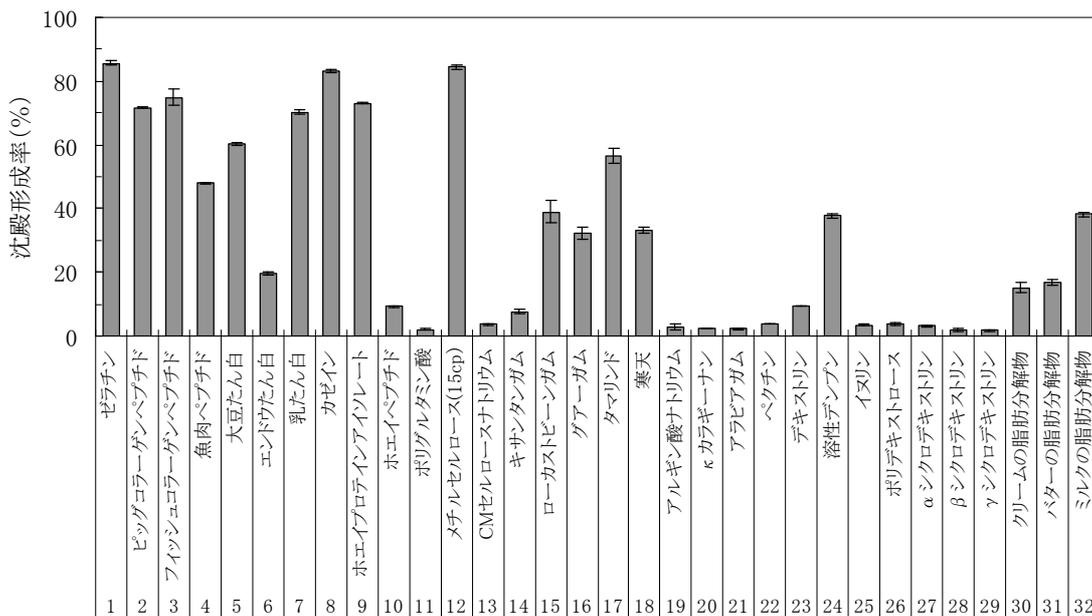


図2 各種食品素材の渋味マスキング効果

誤差線は標準偏差を示す

た。結果は図2に示すとおり、タンパク質ではゼラチン類、乳由来タンパク類が高いマスキング効果を示し、大豆たん白などが中程度の効果を示した。糖質では、メチルセルロースが高い効果を示し、増粘多糖類、溶性デンプンなどが中程度の効果を示した。その他では脂肪分解物が中程度の効果を示した。一般的にプロアントシアニジンは主に疎水結合や水素結合によりタンパク質などと結合し、沈殿を形成していると考えられ、高分子であるもの、立体構造が少ないもの、さらにプロリン含量が多いものに結合しやすい<sup>10)</sup>。栗渋皮ポリフェノールについても、プロリンの割合が多いゼラチン類、カゼインとの沈殿形成率が高く、これらと強く結合していると考えられた。また、沈殿形成率が高いマスキング剤でも、20%近くのポリフェノールが遊離体のままで存在しており、これは順相 HPLC の結果で認められた低分子性のポリフェノールではないかと推測された。

### 3.4 菓子類の試作

高タンパク質含量の和菓子モデルとして渋皮粉末入りまんじゅうの、低タンパク質含量のモデルとして渋皮粉末入り団子の試作試験を行った。マスキング剤は加工適性などを考慮し、乳たん白を用いた。栗渋皮ポリフェノールの添加方法として、渋皮粉末の直接添加と水抽出エキス添加の二通りが考えられた。予備試験を行ったところ、系に添加する水の量が少ない場合は、エキス及びマスキング剤を混合するとガム状になり、分散が困難となることがわかった。そこで、今回は渋皮粉末を材料として用いた。

試作したまんじゅう生地及び団子を図3に示す。まんじゅう、団子とも渋皮粉末添加量を増やしたときには、生地をまとめるために加水量を増

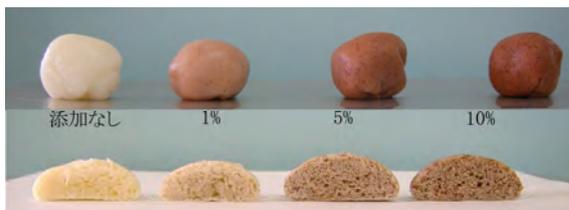


図3 試作した団子(上)とまんじゅう生地(下)

数字は渋皮の添加割合

やす必要があった。まんじゅうは多量に添加される砂糖の影響もあり、渋皮粉末を10%まで加えても渋味は強くなく、渋皮の特徴的な香りが感じられた。また、餡を包んでもきれいな生地を形成し、外観もよいものであったが、渋皮粉末添加量の増加とともに生地がかたくなる傾向を示した。

一方、団子では、渋皮粉末を1%添加したものではそれほど渋味は感じなかったが、5、10%添加したものでは渋味が強く感じられ、ざらつき感もあった。また、色味もかなり濃いものとなった。渋皮粉末10%添加試験区において、さらにマスキング剤として乳たん白を2.5%添加し、マスキング剤の効果を確認した。団子はまんじゅうと比較して組成が簡素であり、マスキング剤の効果を確認しやすいとすることができる。マスキング剤である乳たん白の使用により、渋皮粉末10%添加試験区で感じられた強い渋味が緩和されており、マスキング剤の渋味低減効果が認められた。

試作したバターロール及びクッキーを図4に示す。バターロール生地のミキシング時に、渋皮粉末を5%添加したものでは、無添加のものと比較して、生地のグルテン膜が破れやすく、また、パンの成形時においても生地の伸びが悪かった。これらのことから、渋皮粉末では生地形成の阻害作用が強いと考えられた。図4の焼き上がりを比較すると、渋皮粉末添加ではわずかに膨らみが劣っ

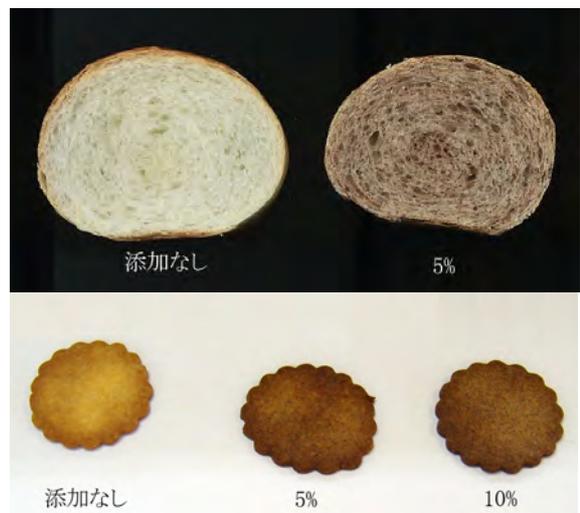


図4 試作したバターロールの断面(上)とクッキー(下)

数字は渋皮の添加割合

ていたが、焼成中にガスが抜けてしまうというほどではなかった。一方、クッキーでは渋皮粉末を添加したものは焼き上がりがかたくなる傾向がみられた。これら洋菓子類の試作ではマスキング剤は使用していないが、その味はやや渋味を感じる程度であった。また、高温で焼き上げるため、渋皮粉末がローストされたよい香りが感じられた。さらに、和菓子で感じられたざらつき感もなく食感も良好であった。

以上の結果より、渋皮粉末の添加量及び添加方法は品目により大きく調整する必要があると考えられた。特に糖分や油脂などの添加材料が少ないものはマスキング剤を添加したり、渋皮粉末の添加量を少なくしたりする必要があると考えられた。また、渋皮粉末添加によってかたさを生じるものがあつたが、これは製品ごとの渋皮粉末添加量の検討、あるいは添加剤を工夫することによって改善できると考えられた。

#### 4 まとめ

栗渋皮に含まれるポリフェノールを有効利用した機能性食品を開発するため、栗渋皮ポリフェノールの機能性評価を行うとともに、製品化の際に問題となる栗渋皮ポリフェノールの渋味低減処理について検討を行った。

栗渋皮ポリフェノールの大部分は高分子であると考えられ、また、抗酸化性は既存の抗酸化性素材と同様に、非常に高いものであることが確認された。また、種々の食品素材について栗渋皮ポリフェノールによる渋味のマスキング能を検討したところ、ゼラチン類、乳由来タンパク類、メチルセルロースなどが高い効果を示すことが明らかとなった。

さらに、渋皮粉末を添加したまんじゅう、団子、クッキー及びバターロールの試作試験を実施した。製品ごとに渋皮粉末の添加条件やマスキング剤の使用などの工夫が必要であったが、栗渋皮の添加により、風味や機能性を付加した特徴のある製品の開発が可能であると考えられた。

#### 謝 辞

本研究を進めるに当たり御指導いただきました東京農業大学の菊池修平准教授、野口智弘講師、並びに試料及び情報を提供していただきました埼玉県農業総合研究センター園芸研究所の酒井雄作担当部長に感謝の意を表します。

#### 参考文献

- 1) 高橋学, 樋口誠一 : 県内植物資源に由来する機能性ポリフェノールの探索, 埼玉県産業技術総合センター研究報告, **5** (2007) 81
- 2) 木村進, 中林敏郎, 加藤博通 : 食品の変色の化学, 光琳, (1995) 44
- 3) Prior, R. L. and Gu, L. : Occurrence and Biological Significance of Proanthocyanidins in the American Diet, *Phytochemistry* **66**, (2005), 2264
- 4) Sun, B. Ricardo-da-Silva, J. M. and Spranger, I. : Critical Factors of Vanillin Assay for Catechins and Proanthocyanidins, *J. Agric. Food Chem.*, **46**, (1998), 4267
- 5) Gu, L. Kelm, M. Hammerstone, J. F. Beecher, G. Cunningham, D. Vannozzi, S. and Prior, R. L. : Fractionation of Polymeric Procyanidins from Lowbush Blueberry and Quantification of Procyanidins in Selected Foods with an Optimized Normal-phase HPLC-MS Fluorescent Detection Method, *J. Agric. Food Chem.*, **50**, (2002) 4852
- 6) 篠原和毅, 鈴木建夫, 上野川修一 : 食品機能研究法, 光琳, (2000) 218
- 7) 丸善製菓株式会社 : 皮膚化粧品及び美容用飲食品, 特開 2008-291001
- 8) Hagerman, A. E. and Butler, L. G. : Protein Precipitation Method for the Quantitative Determination of Tannins, *J. Agric. Food Chem.*, **26**, (1978) 809
- 9) Haslam, E : *Practical Polyphenolics*, Cambridge University Press, (1998) 193
- 10) Bennick, A. : Interaction of Plant Polyphenols with Salivary Proteins, *Crit. Rev. Oral Biol. Med.*, **13**, (2002) 184