

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 7 日現在

機関番号：15201

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22780031

研究課題名（和文）タンパク質添加による渋柿の脱渋メカニズムの解明と食品への応用

研究課題名（英文）The elucidation of removal of astringency mechanism of the astringent persimmon by the protein addition and application to the food.

研究代表者

鶴永 陽子（TSURUNAGA YOKO）

島根大学・教育学部・准教授

研究者番号：60517051

研究成果の概要（和文）：

タンパク質素材と渋柿の搾汁液を混合して柿タンニン-タンパク質複合体を形成させ、その脱渋効果および胃中での渋戻り効果を検討した。その結果、実験に使用したタンパク質素材のうち、高い脱渋効果が認められ、人工胃液により柿タンニン-タンパク質複合体からタンニンが遊離しやすいタンパク質素材は、エバミルク、ゼラチン、コラーゲン、豆乳であった。さらに、複合体形成を利用した柿ゼリーを製造した。

研究成果の概要（英文）：

The tannin-protein complex was formed by the mixing of protein materials with the astringent persimmon juice, removal of astringency effect and astringent juice return effect in the stomach were examined. When the protein component was evaporated milk, gelatin, collagen, or soy milk, then the tannin-protein complex effectively removed the astringency from astringent persimmon juice. The artificial gastric juices were able to break down the tannin-protein complexes releasing soluble tannin, when the protein component was evaporated milk, gelatin, collagen, or soy milk. In addition, we also produced persimmon jelly using the tannin-protein complexes.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011 年度	900,000	270,000	1,170,000
2012 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：調理科学，食品加工

科研費の分科・細目：農学・園芸学・造園学

キーワード：柿 persimmon；タンニン-タンパク質複合体 tannin-protein complex；

ゼリー jelly；脱渋；removal of astringency

## 1. 研究開始当初の背景

全国各地に多数の渋柿の品種が存在するにもかかわらず、渋柿を原料とした加工品は少ない。渋柿を食品の加工原料として用いるためには、先ず渋を抜く（脱渋）が必要であり、

アルコール法、ドライアイス法などの方法が用いられている。しかし、それらの脱渋方法では、加工工程の加熱処理で渋戻り（復渋）する問題があることから加工品への利用が限定されていた。そのような中、渋柿ペース

トに牛乳や豆乳などのタンパク質素材を加えて、柿タンニン-タンパク質複合体を形成させる渋抜き法が開発（特開 2009-065899）された。さらに、柿タンニンとタンパク質複合体は、渋柿加工で問題となっている復渋を抑制することから、様々な加工食品に渋柿を用いることが可能になると期待される。そこで、本研究では、まず脱渋効果の高いタンパク質を検索した。また、脱渋前の渋柿には抗酸化をはじめ多岐にわたる機能性があるが、脱渋すると機能性が消失することが明らかにされていることから、柿タンニンと複合体を形成しやすく、胃中で容易にタンニンを遊離するタンパク質素材を検索した。さらに、柿タンニンを用いた新しい渋柿の加工品を試作した。

## 2. 研究の目的

研究の背景を踏まえ、本研究では、柿タンニンにタンパク質素材を添加し、柿タンニン-タンパク質複合体を形成させ、脱渋する効果の高いタンパク質素材を検索した。また、胃中ではペプシンや胃酸の働きでタンパク質との複合体から柿タンニンが遊離し、その抗酸化性などの機能性を体内で還元させる可能性がある。このため、胃中で容易にタンニンを遊離するタンパク質素材についても検索した。

これらの結果をもとに、食べるときは渋くなく、体の中に入って機能性を発揮するという理想的なタンニン含有食品を試作した。その一例として、柿タンニンを添加したゼリーを試作した。

## 3. 研究の方法

### (1)原料

柿「西条」は、島根県農業技術センターで収穫された規格外品を用いた。未脱渋柿ペーストには、収穫後1昼夜冷蔵庫（10℃）で保管した規格外果実を用いた。脱渋柿ペーストには、収穫後、直ちに室温下で3日間かけてドライアイス脱渋法により脱渋した規格外果実を用いた。脱渋処理は室温条件下で行った。1果実当たりの重量は150~200gであった。柿タンニンエキスは、未脱渋ペーストをガーゼで搾汁後、遠心分離を行い、上澄み液を供試した。

### (2)脱渋処理の有無がペーストの特性に及ぼす影響

脱渋および未脱渋の柿について、ヘタおよび種子を取り除いたあと、4つ切りにし、さらに数ミリ程度にスライスし、皮ごと1000ml容量のオスターブレンダー（SUN BEAM OSTER社製、Osterrizer 16-speed）で均一になるまで約2分間磨砕した。磨砕処理は加水せずに行った。以下、ドライアイス法で脱渋した

後にペースト化したものを脱渋ペースト、脱渋処理を行わずにペースト化したものを未脱渋ペーストとした。また、ペーストの Brix 度については糖度計（ATAGO 社製、PAL-J）を、pH については pH 計（Eutech 社製、pH510）を用いて測定した。

### (3)柿タンニンを脱渋する効果の高いタンパク質素材の検索

豆乳、カゼインなど16種類のタンパク質素材について検討した。柿タンニン-タンパク質複合体を調製後、複合体5gに常温抽出区（約20℃）には80%メタノールおよび1%塩酸-メタノール溶液を、酸-加温抽出区には1%塩酸-メタノール溶液を加えて摩擦抽出後、40、60、80℃で加熱還流抽出を行った。各抽出液の可溶性タンニンをフォリン・チオカルト法を用いて測定し、カテキン相当量で表した。

### (4)人工胃液中の柿タンニン-タンパク質複合体のタンニン遊離程度の測定

柿タンニンエキスとそれぞれのタンパク質素材をオスターブレンダーで混和し、柿タンニン-タンパク質複合体を得た。複合体に、対照区は蒸留水を、胃液処理区には試薬で調整した人工胃液（0.2%NaCl, 0.32%Pepsin, pH2に調整）を添加し、37℃でインキュベートした。インキュベート0、30、60、120、180分後に各処理区の溶液について、可溶性タンニンをフォリン・チオカルト法を用いて測定し、カテキン相当量で表した。

### (5)柿ゼリーの試作

脱渋もしくは未脱渋ペースト200gに豆乳150gを添加して1000ml容量のオスターブレンダーを用いてミキシングした。豆乳は、石見食品株式会社（島根県浜田市）製の市販品を使用した。さらに、砂糖を100g、ゲル化剤（イナゲル AP-120S、伊那食品製）15g、水535gを添加して全重量を1,000gに調製した。以上の材料を十分に攪拌後、プラスチック製のプリンカップ（100ml）に100gずつ充填してパックシーラー（（株）シンワ機械製 SN-1A）でシールした。次に、ウォーターバスにシールしたプリンカップを倒れないように入れて重しをし、加熱殺菌を80℃で30分間行った。その後、水中にて放冷し、柿ゼリーを得た。1処理区につき3回ずつ調製した。

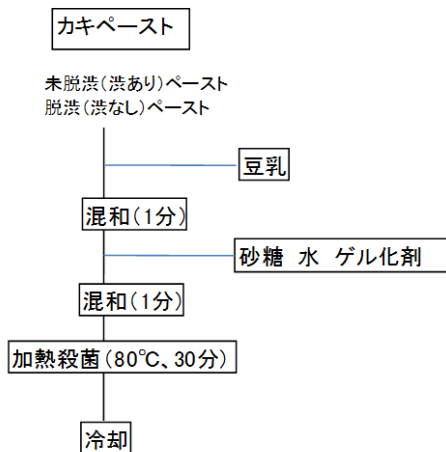


図 カキゼリーの製造方法

#### 4. 研究成果

(1) 脱渋処理の有無がペーストの特性に及ぼす影響

脱渋ペーストおよび未脱渋ペーストの顕微鏡写真を図に示した。脱渋処理を行うことにより、 $L^*$ 値および  $a^*$ 値が低下し、 $pH$ 、 $b^*$ 値および彩度は上昇した。水分含量および Brix 度については有意差が認められなかった。また、未脱渋ペーストは磨砕処理によって容易にペースト状にはなったものの、果肉同士の凝集および離水現象が認められた。さらに、脱渋ペーストのみ顕微鏡写真で棒状のものが複数観察された。

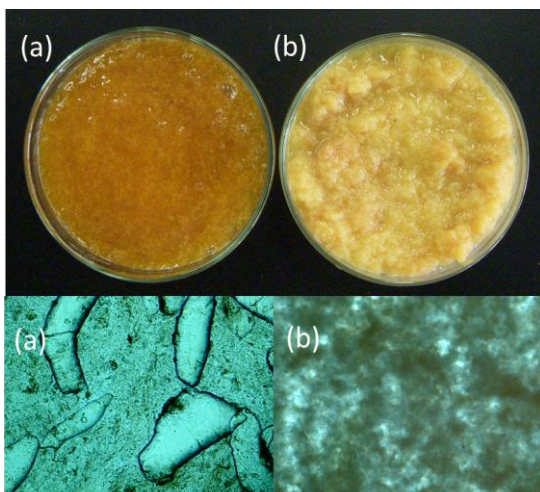


図 脱渋ペースト(a)および未脱渋ペースト(b)の写真(上)およびペーストのデジタル顕微鏡画像(下)

顕微鏡はaigo社製デジタル顕微鏡DMS012を使用し、倍率40倍で観察した。

(2) 柿タンニンを脱渋する効果の高いタンパク質素材の検索

タンパク質素材の違いによって柿タンニンの脱渋程度は大きく異なった。カゼイン、レシチンなど多くのタンパク質素材には脱渋効果が認められなかった。一方、エバミルク、ゼラチン、コラーゲン、豆乳は柿タンニンの脱渋効果が非常に高かった。また、1% HCl-メタノール溶液を用い、抽出温度を変えて柿タンニン-タンパク質複合体からのタンニンの抽出程度を検討したところ、ゼラチン、豆乳、コラーゲンは柿タンニンと強固な複合体を形成することが示唆された。

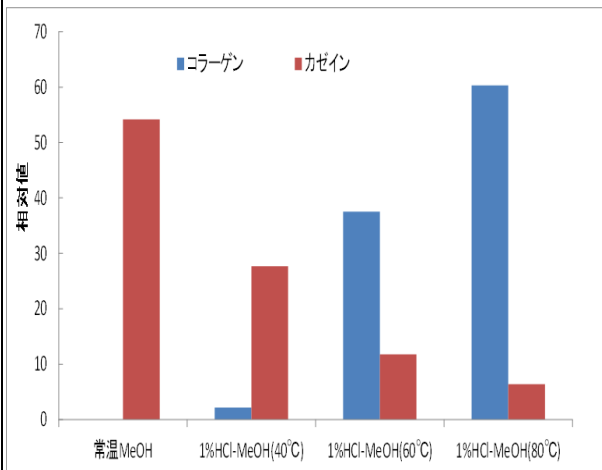


図 抽出条件によるカキタンニン-タンパク質複体のタンニン溶出量の相対値 (全タンニン含量を100とした)

(3) 人工胃液中の柿タンニン-タンパク質複体のタンニン遊離程度

実験に使用したタンパク質素材のうち、人工胃液を添加により柿タンニン-タンパク質複合体からタンニンが遊離しやすいものは、豆乳、エバミルク、ゼラチン、コラーゲンペプチドであった。

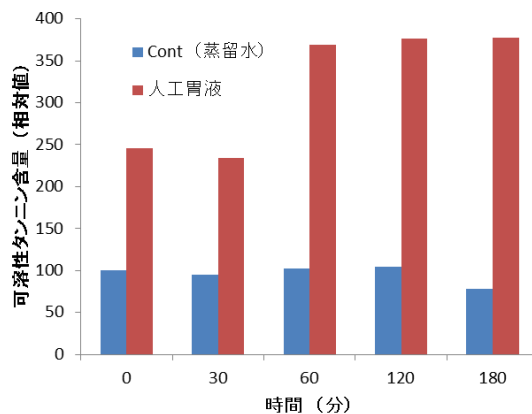


図 タンニン-タンパク質複合体から遊離した可溶性タンニン量 (エバミルク50%)

#### (4) 柿ゼリーの試作

(1)~(3)の結果を踏まえ、豆乳を使用したゼリーを試作した。

脱渋ペーストと未脱渋ペーストを用い、ペースト以外の材料および製造方法は同一の条件にして柿ゼリーを試作したところ、両者にはいくつかの相違点があった。

渋味の程度は可溶性柿タンニン含量と高い相関関係にあるため、脱渋および加熱による復渋の程度は可溶性柿タンニン含量を測定することで把握した。原料の柿ペーストの可溶性柿タンニン含量は、未脱渋ペーストが711.3 mg/100 g FWで、脱渋ペーストは30.0 mg/100 g FWであった。ドライアイス法による脱渋処理で、渋味成分である可溶性柿タンニンの大部分が不溶化したことが確認された。渋ガキにおける渋味の閾値は、可溶性柿タンニン含量 50 mg/100 g FW 以上とされているが、本研究で供した未脱渋ペーストの可溶性柿タンニン含量は、その値を大幅に超えており、そのままでは食することが出来ないほど強い渋味を呈していた。しかし、未脱渋もしくは脱渋ペーストを用いて製造した柿ゼリーの可溶性柿タンニン含量は、それぞれ12.4, 11.0 mg/100 g FWで両者の差異はほとんど無く、両者とも渋味もなかった。渋ガキの場合、脱渋処理の有無にかかわらず、ゼリーの標準的な加熱殺菌処理である80℃、30分の加熱処理を施すと復渋（可溶性タンニン値が上昇）するが、本研究ではどちらの柿ゼリーについても復渋は認められなかった。また、渋ガキペーストの重量割合が、試作柿ゼリーにおける全重量の20%であることからすると、未脱渋ペーストおよび脱渋ペーストを用いて製造した柿ゼリーには、計算上142 mg/100 g FWおよび6 mg/100 g FW程度の可溶性柿タンニンが含有すると推察される。前述したとおり、可溶性柿タンニンはタンパク質と強固に結合する性質を有することから、未脱渋ペースト中の可溶性柿タンニンと柿ゼリーを製造する際に添加した豆乳中のタンパク質との間で複合体が形成され、可溶性柿タンニンが不溶化したことに起因すると考えられた。また、脱渋ペーストを使用した柿ゼリーでは推論値(6.0 mg/100 g FW)よりも柿ゼリー(11.0 mg/100 g FW)の値が高くなっている。フォリン・チオカルト法を用いた可溶性タンニンの分析値には、タンパク質が影響する。前述どおり未脱渋ペーストの柿タンニンは可溶性の状態が存在することから、未脱渋ペーストを用いた柿ゼリーの場合、豆乳中のタンパク質は可溶性柿タンニンと強固な複合体を形成している。一方、脱渋ペーストの柿タンニンは大部分が不溶性の状態であるためタンパク質との反応性が低く、脱渋ペーストを用いた柿ゼリーでは、柿タンニンと未反応のタンパク質が多く存在する

と予測される。このことから、脱渋ペーストを用いた柿ゼリーの場合、可溶性柿タンニンとできなかった豆乳タンパク質がフォリン・チオカルト法の分析値に影響し、可溶性柿タンニンの推論値(6.0 mg/100 g FW)よりも柿ゼリーの実測値(11.0 mg/100 g FW)の値が高くなったものと考えられる。また、未脱渋ペーストを用いた柿ゼリーは、品質面で問題となる離水、復渋とも生じず、脱渋ペーストを用いた柿ゼリーの問題点を改善することができた。以上のことから、未脱渋ペーストと豆乳を混合することで、品質の優れた渋柿ゼリーの製造が可能となることが明らかになった。



図 脱渋ペースト(左)および未脱渋ペースト(右)を用いたカキゼリーの写真

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

##### 〔雑誌論文〕(計 4件)

- ① 鶴永陽子, 高橋哲也, 山下稚香子, 鈴木秀規, 牧慎也, 松本敏一, 松崎一, 近重克幸, 生田千枝子, 可溶性カキタンニンの化学反応性を利用した柿ゼリーの製造, 日本家政学会誌, 査読有, 63巻, 2012, 185-192
- ② 鶴永陽子, 山下稚香子, 高橋哲也, 生田千枝子, 脱渋処理がカキペーストの性質に及ぼす影響, 日本家政学会大会研究発表要旨集, 査読無, 64巻, 2012, 114
- ③ 鶴永陽子, 山下稚香子, 高橋哲也, 徳永瑞貴, タンパク質の違いがカキタンニン-タンパク質複合体の結合強度に及ぼす影響, 園芸学研究別冊, 査読無, 11巻, 2012, 223
- ④ 鶴永陽子, 高林由美, 橋原絢香, 羽田野真子, 横枕良美, 徳永瑞貴, タンパク質の違いが人工胃液中のカキタンニン-タンパク質複合体からの柿タンニン遊離程度に及ぼす影響, 園芸学研究別冊, 査読無, 10巻, 2011, 249

**〔学会発表〕(計 2件)**

①鶴永陽子, 山下稚香子, 高橋哲也, 生田千枝子, 脱渋処理がカキペーストの性質に及ぼす影響, 平成 24 年度日本家政学会, 2012 年 5 月 12 日, 大阪市立大学(大阪市)

②鶴永陽子, 山下稚香子, 高橋哲也, 徳永瑞貴, タンパク質の違いがカキタンニン-タンパク質複合体の結合強度に及ぼす影響, 平成 23 年度園芸学会春季大会, 2012 年 3 月 28 日, 大阪府立大学 (大阪府)

**6. 研究組織**

(1) 研究代表者

鶴永 陽子 (TSURUNAGA YOKO)

島根大学・教育学部・准教授

研究者番号 : 60517051