

機関番号：13601

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20300240

研究課題名 (和文) 薬用果実の加工調理に伴う機能性成分の変化とその制御

研究課題名 (英文) Changes in functional compounds and their control during processing of medicinal fruit

研究代表者

濱渦 康範 (HAMAUZU YASUNORI)

信州大学・農学研究科・准教授

研究者番号：90283241

研究成果の概要 (和文)：機能性成分を生かしたカリンの加熱加工条件を見出す目的で、含有成分の加熱による変化と、加熱加工品の品質・機能性を調べた。加熱はプロシアニジンを変性・分解させ、低分子成分、ラジカル消去力および赤色を増加させるとともに、ペクチンの可溶化と低分子化をもたらした。熱水抽出エキスをを用いたゼリーおよび果肉全体を用いた果肉ペーストへの加工は、ともに 2～4 時間の長時間加熱により品質や機能性が向上すると考えられた。

研究成果の概要 (英文)：To identify suitable conditions for thermal processing of Chinese quince fruit which maximize the effect of the functional compounds, changes in semi-purified components during heating and evaluation of the quality and functional potential of thermal-processed products were investigated. Heat treatment caused breakdown of procyanidin polymers that resulted in the increment of low molecular compounds, free radical scavenging capacity and red color intensity as well as solubilization and degradation of pectin. Quality and functionality of jelly and paste made from Chinese quince seemed to be improved with extended boiling times of 2–4 hours.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2009年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2010年度	1,800,000	540,000	2,340,000
年度			
年度			
総計	5,500,000	1,650,000	7,150,000

研究分野：園芸食品利用学

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：カリン果実、ポリフェノール、プロシアニジン、ペクチン、加熱、熱水抽出エキス、果肉ペースト

1. 研究開始当初の背景

カリン、マルメロ、サンザシなどの薬用果実を食品利用するには通常、加工調理が行われる。これらの果実はポリフェノールや食物繊維成分の含量が多いが、それらの加熱による変化や機能性への影響は十分調査されていない。カリンやマルメロには長時間の加熱が行われる加工調理法があり、このような

場合には機能性成分の変化の調査が極めて重要と考えられる。

2. 研究の目的

本研究の目的はカリンとマルメロを材料とし、伝統的・一般的な加熱加工を行う際の加工条件がポリフェノール及び食物繊維成分の性状をいかに改変させるか調査し、その

変化をうまく利用した活用法を見出すことである。

3. 研究の方法

(1)加工素材となる果実の調査・分析

南信地方で生産されているカリン（毛涯かりん）およびマルメロ（スマルナ種）の成熟果実を材料とした。ポリフェノール成分、食物繊維成分、有機酸含量を中心に果実成分を比較し、加工素材としての特徴や適性の相違を調査した。

(2)粗精製ポリフェノールおよび細胞壁調製物を用いた加熱処理の影響調査（モデル実験）

カリン果実から有機溶媒抽出と固相抽出によって粗精製ポリフェノールを得、クエン酸溶液中で異なる時間加熱処理し、組成変化をHPLC-PDAおよびLC-MS/MSによって調査した。また、果肉のアルコール不溶性固形物

(AIS)を調製し、含有されるペクチン質を調べるとともに、クエン酸溶液との加熱処理によっておこる変化を、溶媒分画と各画分に含まれるuron酸の比色分析およびHPSECによるピーク分子量の測定によって調査した。

(3)機能性向上を意図した加熱加工品の製造および品質・機能性成分の確認

カリンおよびマルメロの果肉を異なる時間（0.5〜4 h）煮沸抽出し、砂糖とさらに加熱してゲル化させ、「エキスゼリー」を調製した。また、カリン果肉を異なる時間（1〜4時間）煮沸し、全体をペースト状にしてから砂糖とゲル化させた「果肉ペースト」を調製した。品質評価として、官能検査を行うとともに、測色色差計もしくは抽出液の吸光度測定により赤味の強さを、音叉型振動式粘度計で粘度を測定し、果肉ペーストについてはフォースゲージによる破断抗力の測定も行った。Brix値およびpHも適宜調査した。その他の成分分析は、エキスゼリーについては、フォリン-チオカルト法で総ポリフェノールを、ジメチルフェノール法でuron酸含量を調べるとともに、ゲル化前の熱水抽出液に含まれる多糖類のピーク分子量をHPSECで調べた。果肉ペーストについては、可溶性および不溶性プロシアニジンとチオリシスおよびHPLC-PDAで分析し、カテキンユニットの総量と平均重合度を調べた。また、滴定酸含量を調査し、色調との関連を調査した。ラジカル消去活性の調査にはDPPHラジカル溶液を用い、可溶性画分については適量を混合し、不溶性画分については固形分を一定時間懸濁後に517 nmの吸光度を測定し、消去率を求めた。

4. 研究成果

(1)カリンおよびマルメロの含有成分

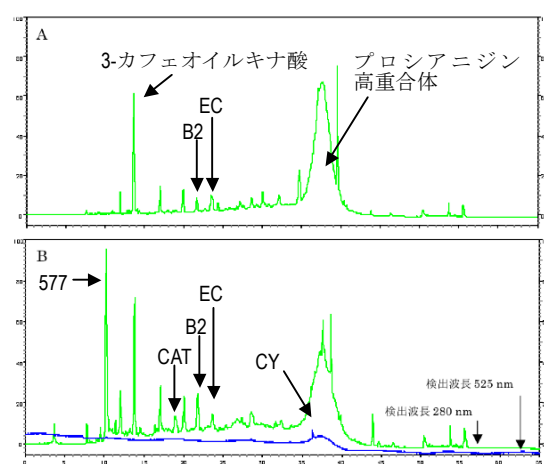
カリンは果肉100 g（新鮮重）当たりポリ

フェノールを 1270 ± 69 mg、ペクチンを（ポリウロニドとして） 840 ± 40 mg、セルロースを 1.9 ± 0.03 g、リグニンを 2.1 ± 0.02 g 含み、果汁には滴定酸を $2.0 \pm 0.1\%$ 、可溶性固形物を $14.1 \pm 0.2\%$ 含んでいた。一方、マルメロはポリフェノールを 303 ± 28 mg、ペクチンを 790 ± 20 mg、セルロースを 0.85 ± 0.002 g、リグニンを 0.81 ± 0.01 g 含み、果汁には滴定酸を $0.76 \pm 0.03\%$ 、可溶性固形物を $13.7 \pm 0.7\%$ 含んでいた。また、カリンおよびマルメロは果肉100 g中に不溶性プロシアニジンそれぞれ 267 ± 9.5 mg および 190 ± 6.3 mg 含んでいた。これらより、カリンは含有成分がマルメロよりも多く、特にポリフェノール、不溶性食物繊維成分、有機酸の含量が多いことが分かった。

(2)粗精製ポリフェノールおよび細胞壁調製物に対する加熱処理がプロシアニジンおよびペクチン質に及ぼす影響

①カリンの粗精製ポリフェノールの加熱による変化

カリンポリフェノールはプロシアニジン高重合体が主成分であり、吸収利用性が低いと考えられたが、有機酸存在下で加熱することによって一部を断片化および低分子化することができ、未同定の分子量600以下の成分の増加とともに、3量体以下のプロシアニジンやカテキン、エピカテキン、シアニジンおよびプロトカテキンなどの低分子ポリフェノール類が増加することが明らかとなった。これらの成分の増加はクエン酸2〜4% (w/v) 存在下、2時間程度の加熱が最も効率がよいことが分かった（第1図）。

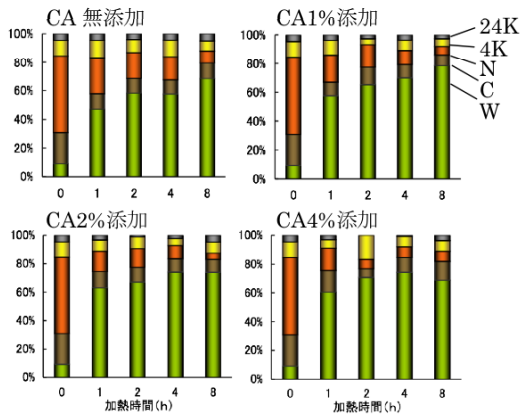


第1図 カリンポリフェノールの2% (w/v) クエン酸溶液中における加熱前(A)および加熱2時間後(B)のHPLCクロマトグラム(280 nmおよび525 nm)

B2, プロシアニジン B2; EC, エピカテキン; CAT, カテキン; 577, m/z=577の未同定成分; CY, シアニジン

②カリンの細胞壁調製物（アルコール不溶性固形物；AIS）の加熱によるペクチン質の変化

カリンのペクチン質は成熟果でもほとんどが不溶性ペクチン（炭酸ナトリウム可溶性ペクチン）であり，総ペクチン（ポリウロニド）に占める水溶性ペクチンの割合は 9.4%であった。AIS を沸騰水中で加熱処理した場合，1 時間で不溶性ペクチンが減少し，水溶性ペクチンの増加が認められ，この変化は有機酸の存在下で促進された（第2 図）。1% (w/v) クエン酸溶液中で 4 時間，あるいは 2% (w/v) クエン酸溶液中で 2 時間，煮沸することによって効果的に変換がおり，総ペクチンの約 80%が水溶性ペクチンとなった。また，ゲル濾過 HPLC により不溶性ペクチンの消失とともに水溶性ペクチンの増加と，ピーク分子量の低分子方向へのシフトが確認された。



第2図 カリンAISの加熱処理に伴うペクチン質の変化

CA, クエン酸; 24K, 24%KOH可溶画分; 4K, 4%KOH可溶画分; N, Na₂CO₃可溶画分; C, CDTA可溶画分; W, 水可溶画分

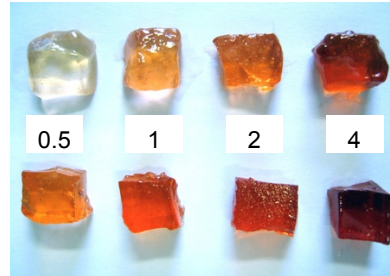
(3) 果実加工品の加熱調理時間と製品の特徴
①エキスゼリー

ゼリーの素材となる熱水抽出物について調査したところ，果肉を2時間煮沸した抽出エキスは，果実中の全ポリフェノールよりも低分子化合物の比率が高いポリフェノール組成であった。この結果は，粗精製ポリフェノールを用いた加熱モデル実験の結果と類似していたが，低分子成分の生成率はモデル実験の場合よりも少なかった。また，ペクチンを含む多糖類画分をゲル濾過クロマトグラフィーで分析したところ，煮沸1時間までにピーク分子量の急激な低下がみとめられ，加熱による不溶性ペクチンの分解・可溶化と水溶性ペクチンの分解によって平均分子量が低下したことが示唆された。

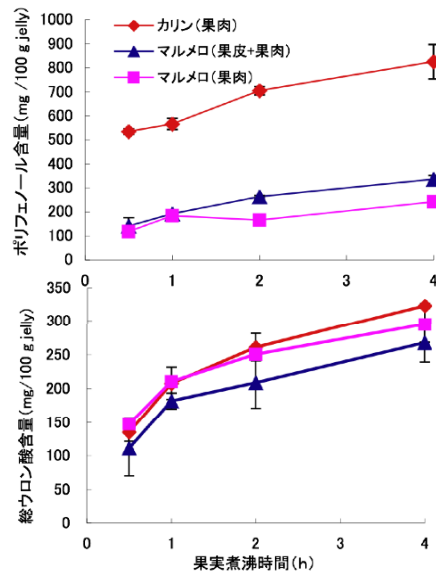
果肉の熱水抽出物を砂糖と加熱調理してゲル化させた「エキスゼリー」は，カリンを素材とした場合，ポリフェノール含量がマルメロゼリーよりも4~5倍多く，赤色の発現もカ

リンゼリーの方がより短時間で濃くなった（第3図）。

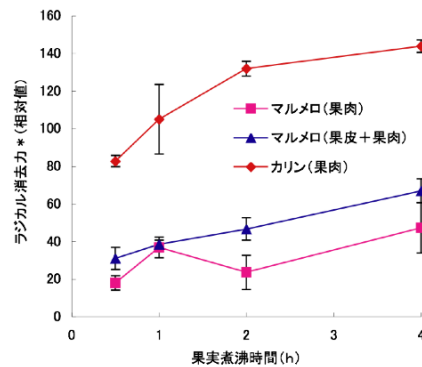
加熱時間（煮沸抽出時間；0.5, 1, 2 および 4時間）の影響としては，加熱時間が長いほど赤味は強く，粘度は高く，総ポリフェノール含量および総ウロン酸含量は多く，ラジカル消去活性は強くなった（第4および5図；粘度については省略）。



第3図 煮沸抽出時間の異なるマルメロおよびカリンエキスを使用して調製したゼリー上段，マルメロ；下段，カリン
数値は果肉煮沸時間を示す



第4図 煮沸抽出時間の異なるエキスより調製したマルメロおよびカリンゼリーのポリフェノール(上)および総ウロン酸(下)含量

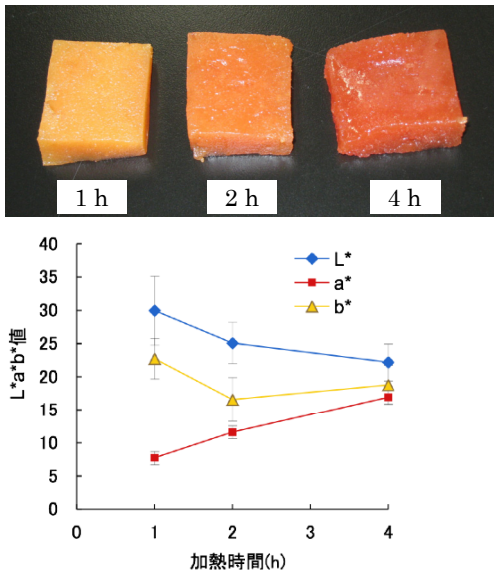


第5図 煮沸抽出時間の異なるエキスより調製したマルメロおよびカリンゼリーのDPPHラジカル消去能
*50%消去における希釈倍数

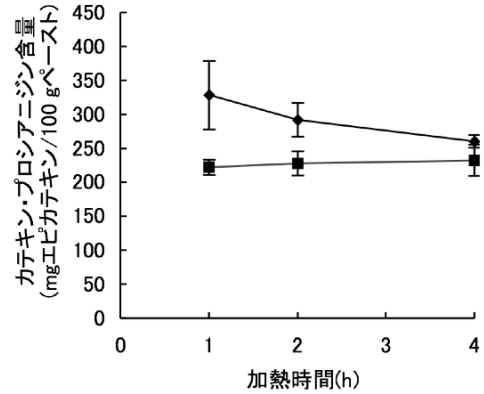
②果肉ペースト

煮沸した果肉全体をペースト化して砂糖でゲル化させた「果肉ペースト」は、マルメロと同様にカリンで調製可能であった。赤味の形成は官能検査における評価が高かったが、その色調は加熱調理時間と有機酸濃度に影響されることが分かった。特に顕著な赤味を形成させるためには有機酸含量の高い果実を使用し、4時間の加熱で有機酸濃度が1.0%以上となるように調製することが望ましいと考えられた。また、果実の不溶性固形分に含まれる結合型（不溶性）ポリフェノールは果肉ペースト調製後にもみとめられ、この加工調理法はカリン果実の機能性成分をより幅広く活用していると考えられた。

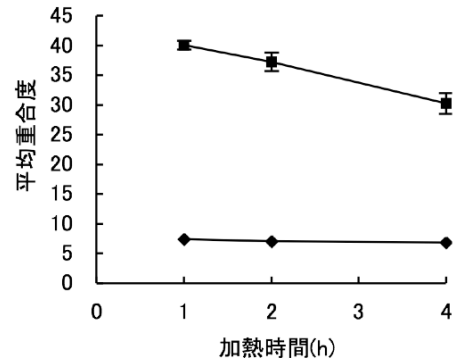
加熱調理時間（1, 2 および 4時間）の影響としては、加熱時間が長いほど赤味は強くなり（第6図）、粘度および硬度は低い傾向であった。また、可溶性ポリフェノールについては、総ポリフェノールは増加がみとめられたが、カテキン・プロシアニジン類の総量は加熱時間が長いほど少なくなった（第7図）。可溶性ポリフェノール画分のカテキン・プロシアニジンの平均重合度は、調理前の果肉のそれと比較して顕著に低下したが、加熱調理時間1~4時間では変化がほとんどみとめられなかった（第8図）。一方、不溶性プロシアニジンに対する加熱時間の影響は、含量には影響しなかったが、平均重合度は加熱調理時間とともに減少し、1時間ではmDP = 約40、4時間ではmDP = 30であった。また、ペーストのDPPHラジカル消去活性は可溶性画分に大部分が集まっており、加熱調理時間4時間のものが特に強い傾向であった（第9図）。



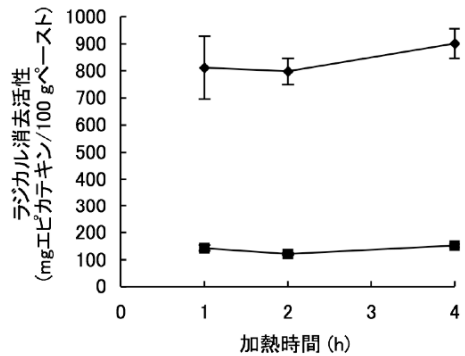
第6図 加熱調理時間の異なるカリン果肉ペーストの外観および色調



第7図 加熱調理時間の異なるカリン果肉ペーストの可溶性(◆)および不溶性(■)画分におけるカテキン・プロシアニジン含量



第8図 加熱調理時間の異なるカリン果肉ペーストの可溶性(◆)および不溶性(■)画分に含まれるカテキン・プロシアニジン類の平均重合度



第9図 加熱調理時間の異なるカリン果肉ペーストにおける可溶性成分(◆)および不溶性固形分(■)のDPPHラジカル消去能

以上のように、カリンやマルメロにおいて機能性成分として重要性が高いと考えられるポリフェノールやペクチン質は加熱の影響により変化が大きいことが示され、主要ポリフェノールであるプロシアニジン高重合体の変

化は単量体や 2量体成分あるいはプロトカテク酸などの低分子フェノール酸類を増加させる点では生体における吸収利用性を向上させる可能性が示唆され、同時に赤色の着色を生み出す点では製品の外観品質を向上させることに寄与していた。また、食物繊維成分である不溶性ペクチンは加熱により可溶化し、生食には硬すぎる果肉を軟化させ、果肉ペーストへの加工を容易にしたり、熱水抽出液へのペクチンの溶出率を高めたりする効果があることが示された。これらの成分変化は有機酸の終濃度と加熱時間に影響されることが確認され、カリンのように有機酸、プロシアニジン、不溶性ペクチンの含量が高い果実を加熱し、煮詰めることによる成分の改変は、含有成分の特徴を上手く利用した加工法であると考えられた。

結論として、熱水抽出エキスゼリーの調製には、マルメロであれば 4時間、カリンでは 2時間以上の煮沸抽出を行うことが、外観品質や機能性成分の改良・溶出、およびラジカル消去能の点で有効であると考えられた。カリンの果肉ペーストについては、可溶性画分のみならず不溶性固形分にもポリフェノールとラジカル消去能がみとめられたこと、素材の果実にはリグニンなどの不溶性繊維も多く、これらの機能性も期待できることを合わせて考えると、この加工調理法はカリンの機能性成分を十分に活かした加工法であると思われる。製品の品質・機能性向上の点では、4時間の長時間加熱加工を行ったものに優位性があると考えられた。

今回の研究成果は、カリンやマルメロの健康食品利用に際して長時間加熱を行うという古来の経験的な知恵を、科学の目で確認したものといえるかも知れない。

今後はこれらの加熱加工品について、機能性の検証を *in vivo* 試験などで実施していく必要がある。以前の研究において、カリンポリフェノールには強い抗胃潰瘍活性がみとめられ、重合度の高いプロシアニジンはその活性が強いことを見出している。また加熱処理したカリン粗精製ポリフェノールをラットに経口投与したとき、血液の抗酸化力を向上させることも見出している。今回、長時間の加熱加工により調製した果肉ペーストには重合度の高いプロシアニジンがある程度残存していることが確認され、また、加熱処理した粗精製ポリフェノールや熱水抽出エキスには吸収可能な低分子成分の増加がみとめられた。従って長時間加熱処理されたポリフェノールを含むゼリーや果肉ペーストについても、抗胃潰瘍活性などの消化管保護作用や、吸収されたポリフェノールによる血管保護など循環系において発揮される機能を有する可能性が期待できる。

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 1 件)

Yasunori Hamauzu & Yukari Mizuno (2011) Non-extractable procyanidins and lignin are important factors in the bile acid binding and radical scavenging properties of cell wall material in some fruits. *Plant Foods for Human Nutrition* 66: 70-77. 査読有.

[学会発表] (計 4 件)

① 濱渦康範・岸田真里菜・小林麻美
カリン果肉ペーストの品質、ポリフェノール成分およびラジカル消去活能に及ぼす加熱調理時間の影響

園芸学会平成23年度春季大会 平成23年3月20日 宇都宮大学農学部

② 中村和敏・濱渦康範

加熱処理によるカリンポリフェノールの組成変化とその吸収利用性への影響

園芸学会平成23年度春季大会 平成23年3月20日 宇都宮大学農学部

③ Hamauzu, Y., Nakamura, K. & Ooji, Y. Long-time heating improves the functionality of Chinese quince and quince fruit products. 28th International Horticultural Congress (IHC Lisboa 2010) 平成 22 年 8 月 26 日 Lisboa Congress Center

④ 濱渦康範・辻谷知子・陰地由里香

カリンおよびマルメロ果実の機能性成分の煮沸抽出と抽出エキスを用いたゼリーの調製
園芸学会平成22年度春季大会 平成22年3月22日 日本大学生物資源学部

6. 研究組織

(1) 研究代表者

濱渦 康範 (HAMAUZU YASUNORI)

信州大学・農学研究科・准教授

研究者番号：90283241