

栗渋皮を利用した新規機能性製品の開発

樋口誠一*¹ 海野まりえ*² 高橋広子*² 竹内了*² 仲島日出男*³

Japanese Chestnut Peel as Functional Food Materials

HIGUCHI Seiichi*¹, UMINO Marie*¹, TAKAHASHI Hiroko*², TAKEUCHI Satoru*²,
NAKAJIMA Hideo*³

抄録

栗渋皮を用いて菓子類の試作を行った。栗渋皮はポリフェノール成分の損失が少ない条件でロースト処理を行い、特徴的な風味を持たせたものを用いた。試作品のアンケート調査では概ね良い評価を得ることができた。一方、問題点としては、渋皮の風味が弱いという意見や、ざらつきが気になるという意見があげられた。これらの解決策として、商品特徴を生かす栗渋皮の添加割合や方法の検討、より幅広い用途のための微粉化などが考えられた。また、栗渋皮の機能性評価として抗がん作用について検討した結果、がん細胞の増殖抑制効果が認められ、栗渋皮成分が抗がん作用を有する可能性が示唆された。

キーワード：栗，渋皮，ポリフェノール，機能性食品

1 はじめに

近年、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。

そこで我々は県の特産品のひとつである栗の未利用部分、渋皮に着目し、その加工特性や含有機能性成分などについて検討を行ってきた。その結果、渋皮は高分子ポリフェノールであるプロアントシアニジン¹⁾を約30%と豊富に含んでおり、抗酸化作用などの機能性を有していることや、栗渋皮独特の渋味と風味が菓子類に適していることなどが分かった¹⁾⁴⁾。また、近年育種された渋皮の剥

皮性の良い栗新品種「ぼろたん」⁵⁾の渋皮も従来品種と同様に扱えることが確認された⁴⁾。

本研究では栗渋皮の機能性に加えて、その独特の渋味と風味をより生かした菓子類を開発すべく、栗渋皮のロースト処理について検討するとともに、菓子類の試作試験を行い、この試作品についてアンケート調査を行った。

また、栗渋皮ポリフェノールの機能性についても検討を行った。栗渋皮ポリフェノールの主成分であるプロアントシアニジンは植物界に普遍的に存在しているが⁶⁾、特にブドウ種子由来のプロアントシアニジンでの研究例が多く、抗酸化作用や抗がん作用など様々な食品機能性が報告されている⁷⁾⁸⁾。しかし、栗渋皮ポリフェノールの機能性は、消化酵素の阻害などの報告⁹⁾¹⁰⁾にとどまり、抗がん作用などの報告はほとんどない。そこで我々は栗渋皮プロアントシアニジンの抗がん作用について検討することとした。

*¹ 北部研究所 生物工学担当

*² 北部研究所 技術支援交流室

*³ 現 産業支援課

2 実験方法

2.1 供試試料及び加工

栗の甘露煮製造の際に排出される渋皮（乾燥重量として約 80%の果肉も含む）を試料として用いた。本品は冷蔵保存後、熱風乾燥機にて 135℃で約 6 時間乾燥処理後、160℃もしくは 180℃でロースト処理を行った。

2.2 総ポリフェノール量の測定

乾燥及びロースト処理後の試料から渋皮部分を分離し、家庭用ミキサーで粉碎した。この渋皮試料の 80%メタノール抽出液について、総ポリフェノール量を Folin-Ciocalteu 法¹¹⁾により測定した。なお、標準物質として(+)-カテキン水和物（シグマ社製）を用いた。

2.3 試作及びアンケート調査

2.3.1 パン、クッキー及びチョコレート

菓子類の試作には、渋皮部分と果肉部分を分離せずにそのまま家庭用ミキサーで粉碎後、30 メッシュのふるいにかけて、これを通過したものをロースト栗渋皮粉末とした。

パンについては、フランスパンの一種であるリュスティックを試作した。このパンについてはロースト栗渋皮粉末を小麦粉に対して 5%、クッキーでは 10%、チョコレートについては原料の 10%を添加したものを製作した。いずれも試作は埼玉県内のメーカーに依頼した。

アンケート調査は平成 22 年度 SAITEC 研究発表会（平成 22 年 7 月 14 日）にて、20~70 代の男女 51 名の来場者の協力を得て実施した。

2.3.2 メロンパン、チーズケーキ、スパイスクッキー及び渋皮クッキー

メロンパンではロースト栗渋皮粉末をビスケット生地部分に使用し、この部分の生地の小麦粉の 10%を置換して製作した。チーズケーキでは、ロースト栗渋皮粉末の熱水抽出液を用いてレアチーズ生地を作製するとともに、残った抽出後の栗渋皮を台生地として使用した。スパイスクッキーはオールスパイスパウダーに加えてロースト栗渋皮粉末を 10%添加したものを製作した。さらに、ロースト栗渋皮粉末を練り込まずに、直接クッキー

一にまぶした渋皮クッキーも製作した。いずれも試作は埼玉県内のメーカーに依頼した。

試作品のアンケート調査は女子栄養大学学生、20 代女性 35 名の協力を得て実施した。

2.4 マウス白血病細胞を用いた細胞増殖抑制作用の評価

マウス白血病細胞株 P388 を用いて細胞増殖抑制作用を評価した¹²⁾。P388 細胞株は 10%ウシ胎児血清を含む RPMI-1640 培地(シグマ社製)で、37℃、5% CO₂ の条件下で培養した。試料として、栗渋皮のみの乾燥物の 80%メタノール抽出液から溶媒を留去し、凍結乾燥したのを用いた。この抽出物のジメチルスルフォキシド(DMSO)溶液をリン酸緩衝生理食塩水(PBS)で適宜希釈し、この 2 μ l を 96 穴マイクロプレートに分注した。ここに培地に浮遊させた P388 細胞懸濁液(5 \times 10⁴/ml) 100 μ l を加えてよく混合し、48 時間培養した。Premix WST-1 (タカラバイオ(株)製) 10 μ l を加えて 37℃、5% CO₂ で 2 時間インキュベート後、650nm の吸光度を参照波長として 450nm の吸光度をマイクロプレートリーダーで測定した。細胞増殖率は 20% DMSO/PBS を添加したコントロールの平均吸光度に対する比率として算出した。

3 結果及び考察

3.1 栗渋皮のロースト処理

供試した試料は、栗の甘露煮製造の際に包丁でカットして排出された、渋皮及び果肉表層部である。本品の乾燥処理を行っているとき、温度を上げロースト処理をすることにより、よい香りがたつことが分かったので、ロースト処理について検討を行った。既報⁴⁾において、渋皮の乾燥工程ではポリフェノール含量がほとんど減少しないことを確認しているが、水分がなく、品温が高くなるロースト処理でポリフェノール成分が安定であるかどうか、160℃で 2 時間、もしくは 180℃で 4 時間までロースト処理を行い、総ポリフェノール量を評価した。その結果、図 1 に示すとおり、160℃では 2 時間、180℃では 1 時間までは安定で

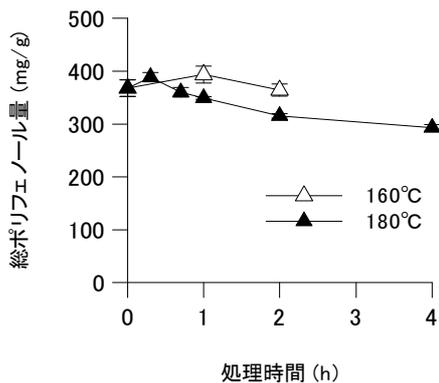


図1 ロースト処理とポリフェノール含量
誤差線は標準偏差 (n=3) を表す

あったが、180°Cではその後徐々に減少する傾向が見られた。また、外観では、160°Cの処理では明るい茶色であるが、180°Cでは焦げ茶色であり、ローストが進んでいた。さらに処理を続けるとローストが進みすぎ、徐々に黒くなったり、焦げ臭が強く感じてしまうなどの欠点が強くなった。実際に 160°C・1 時間、180°C・1 時間処理のロースト栗渋皮を使ったクッキーで比較したところ、180°Cではロースト臭が強すぎたのに対して、160°Cではほどよい香りが感じられた。以上の結果より、その後の菓子試作に用いる原料としては 160°C・1 時間のロースト処理したものを用いることとした。

3.2 試作及びアンケート調査

試作したパン、クッキー及びチョコレートのアンケート調査結果を図2に示す。味についての5点満点の評点では、パンは平均4.1点、クッキーは4.4点、チョコレートは3.9点であり、概ね良い評価であった。渋皮の添加が分かるかという質問に、分かったと回答した人はパンで22%、クッキーで14%のみで、添加が分からなかった回答者が多かった。また、両者とも添加量を増やした方がよいという意見があった。より渋皮の特徴を生かすためには、さらに添加量を増やすなどの検討を行う必要があると思われた。一方、チョコレートでは、渋皮の添加が分かった人は48%と多かったが、渋皮のざらつきが気になるとの意見も多かった。渋皮は微粉碎されておらず、粒径の大きいものも混ざっている。これがなめらかなチ

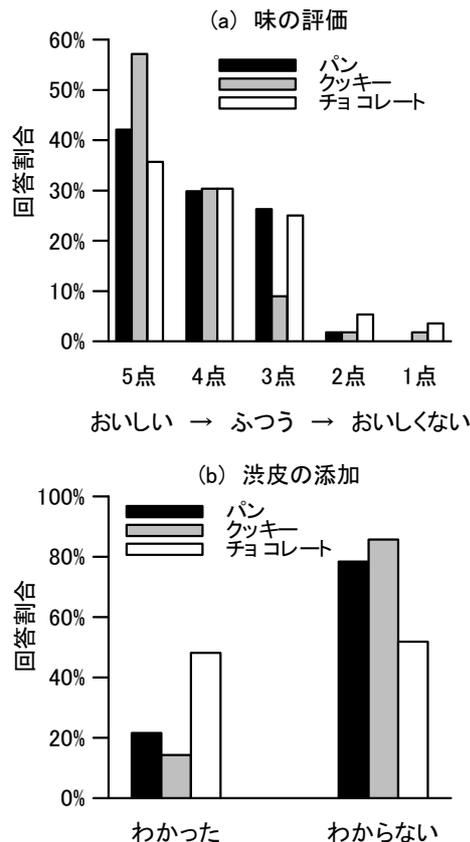


図2 試作パン、クッキー及びチョコレートのアンケート結果

ョチョコレートの中に存在しているため違和感を生じていると思われた。今後、様々な商品への利用を考えると栗渋皮の微粉化が必要であると考えられた。

また、試作したメロンパン、チーズケーキ、スパイスクッキー及び渋皮クッキーのアンケート調査結果を図3に示す。味についての評点では、メロンパンは平均4.2点、チーズケーキは4.8点、スパイスクッキーは4.8点、渋皮クッキー3.7点であり、概ね良い評価であった。メロンパンでは栗渋皮の添加量はビスケット生地への10%であったが、風味が弱いという意見があった。チーズケーキやクッキーでは、コーヒーやココアのような苦味や風味、シナモンなどのスパイスとの相性の良さなどが評価された。渋皮のざらつきについては、メロンパンでは81%、チーズケーキでは64%、スパイスクッキーでは71%の人が気にならないと答えた。メロンパンやクッキーでは、サクサクした食感と栗渋皮との相性がよいと思われ

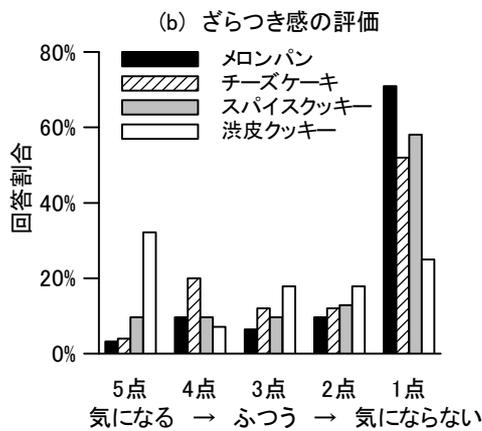
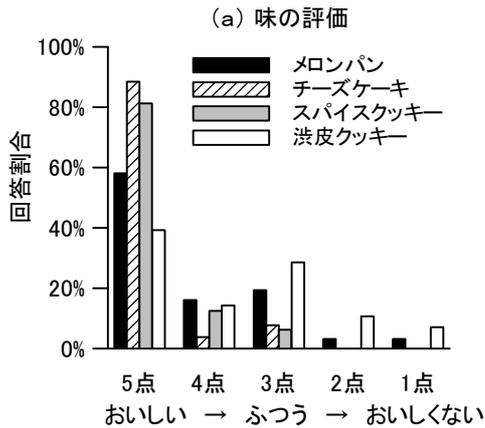


図3 メロンパン、チーズケーキ、スパイスクッキー及び渋皮クッキーのアンケート結果

た。また、チーズケーキでは渋皮をそのまま使わず、抽出液と抽出後の渋皮を使用したことでざらつき感を解消し、良い評価へとつながった。

一方、渋皮クッキーはシンプルなクッキーにロースト栗渋皮をまぶしたものである。ほどよい苦味や渋味がアクセントになっているとの意見があり、練り込むだけではなく、直接菓子類にまぶす方法も有効であると思われた。その一方で、栗渋皮のざらつきが気になるという評価も多く、渋皮の微粉化が必要であるということが分かった。

3.3 マウス白血病細胞を用いた細胞増殖抑制作用の評価

がんのメカニズムは非常に複雑であり、様々なものが考えられる。そこで、まず一次スクリーニングとして、抗がん作用検定用の標準細胞株の一つであるマウス白血病細胞株 P388 を用い、栗渋皮の成分にがん細胞の増殖抑制効果があるか検討

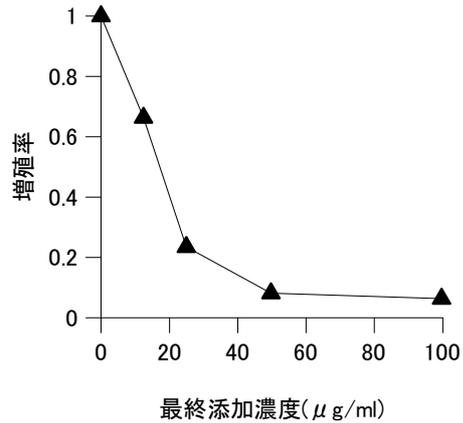


図4 栗渋皮抽出物のマウス由来白血病細胞株P388に対する増殖抑制効果

を行った。

その結果、図4のとおり、栗渋皮抽出物はP388細胞株に対して増殖抑制を示し、その50%阻害濃度(IC₅₀)は約17μg/mlと見積もられた。このことから、栗渋皮抽出物が抗がん作用を持つ可能性が示唆された。プロアントシアニジンは抗がん作用を有することがブドウ種子、松樹皮、ベリー類などで確認されており、一部では臨床試験も実施されている¹³⁾。その作用メカニズムについては、研究対象や条件などによりいくつかの案が提示されている¹³⁾。一方、プロアントシアニジンは高分子であり、バイオアベイラビリティや代謝に関しては未知な部分も多いため、生体内の作用について議論の余地が残されている状況である¹⁴⁾⁻¹⁶⁾。いずれにしても、今回の結果のみではがん細胞に特異的な増殖抑制作用であると断定はできず、今後さらに検討を行っていく予定である。

4 まとめ

栗渋皮を用いて菓子類の試作を行った。果肉を含んだ栗渋皮について、ポリフェノール成分が損失しない条件でロースト処理を行い、特徴的な風味を持たせたロースト栗渋皮粉末を用いた。試作品のアンケート調査の結果では、概ね良い評価を得ることができた。また、混合するという添加法以外に、抽出液や抽出後の渋皮を使う、あるいは直接まぶすなどの方法も有効な手段であることが

分かった。今後の課題としては、商品特徴を生かす栗渋皮の添加割合や添加方法の検討、より幅広い用途での利用のための微粉化などが考えられた。

また、栗渋皮の機能性として、抗がん作用について検討した結果、がん細胞の増殖抑制効果が認められ、栗渋皮成分が抗がん作用を有する可能性が示唆された。

謝 辞

本研究において、試作及びアンケートに御協力いただきました、boulangerie Matsuoka、(有)三河屋、(株)ファンタ・グラス新野、(株)味輝、(有)クニタケ、女子栄養大学及び当所研究発表会御来場者の皆様に感謝申し上げます。

また、細胞増殖抑制作用の評価は、農林水産省補助事業、(社)日本食品科学工学会による食品機能性評価支援センター事業で実施された結果です。この場を借りてお礼申し上げます。

参考文献

- 1) 仲島日出男, 樋口誠一 : 埼玉県内植物資源由来のポリフェノール類の探索および利用, 農業および園芸, **86**, (2011) 341
- 2) 樋口誠一, 仲島日出男 : 「機能性食品素材・栗渋皮」の加工食品への利用, *New food industry*, **52**, (2010) 3
- 3) 樋口誠一, 高橋学, 早川淳一, 吉川麻美, 国分由梨, 仲島日出男 : 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—, 埼玉県産業技術総合センター研究報告, **7**, (2009) 46
- 4) 樋口誠一, 仲島日出男 : 県産素材を用いた高付加価値食品の開発—栗ポリフェノールの利用—, 埼玉県産業技術総合センター研究報告, **8**, (2010) 35
- 5) 齋藤寿広ら : ニホングリ新品種 ‘ぼろたん’, 果樹研報, **9**, (2009) 1
- 6) Aron, P. M. and Kennedy, J. A. : Flavan-3-ols: Nature, occurrence and biological activity, *Mol.*

- Nutr. Food Res.*, **52**, (2008) 79
- 7) 山口典男 : 植物ポリフェノール含有素材の開発—その機能性と安全性—, シーエムシー出版, (2007) 233
- 8) Prior, R. L. and Gu, L. : Occurrence and Biological Significance of Proanthocyanidins in the American Diet, *Phytochemistry* **66**, (2005), 2264
- 9) 川崎健司, 白水智子, 勝井真紀 : クリ皮から抽出されたポリフェノールの脂質吸収抑制効果, 日本食品科学工学会誌, **56**, (2009) 545
- 10) Tsujita T., Takaku T. and Suzuki T. : Chestnut Astringent Skin Extract, an α -Amylase Inhibitor, Retards Carbohydrate Absorption in Rats and Humans, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **54**, (2008) 82
- 11) 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
- 12) 新本洋士, 木村俊之, 鈴木雅博, 山岸 賢治 : 東北地域農産物のマウス白血病細胞増殖に対する作用, 日本食品科学工学会誌, **48**, (2001) 787
- 13) Nandakumar, V., Singh, T. and Katiyar, S.K. : Multi-targeted prevention and therapy of cancer by proanthocyanidins, *Cancer Lett.*, **269**, (2008) 378
- 14) Manach C., Williamson G., Morand C., Scalbert A. and Remesy C. : Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies, *Am. J. Clin. Nutr.*, **81**, (2005) 230S
- 15) Rios L.Y., Bennett R.N., Lazarus S.A., Remesy C., Scalbert A. and Williamson G. : Cocoa procyanidins are stable during gastric transit in humans, *Am. J. Clin. Nutr.*, **76**, (2002) 1106
- 16) Deprez S., Brezillon C., Rabot S., Philippe C., Mila I., Lapierre C. and Scalbert A. : Polymeric proanthocyanidins are catabolized by a human colonic microflora into low molecular weight phenolic acids, *J. Nutr.*, **130**, (2000) 2733