

飯綱町産リンゴの機能性成分に関する研究(2)

加工工程によるプロシアニジンへの影響

誌名	長野県工業技術総合センター研究報告 = Research reports of Nagano Prefecture General Industrial Technology Center
ISSN	18813119
著者名	山崎, 慎也 栗林, 剛 丸山, 裕史
発行元	長野県工業技術総合センター
巻/号	16号
巻号補足	
掲載ページ	p. 250-254
発行年月	2021年10月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター

Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



飯綱町産リンゴの機能性成分に関する研究(第2報)* —加工工程によるプロシアニジンへの影響—

山崎慎也*¹ 栗林 剛*¹ 丸山裕史*²

A Study on the Functional Ingredients of Apples Produced in Iizuna Town (2nd Report) -Effect of Food Processing on Procyanidins-

Shinya YAMAZAKI, Takeshi KURIBAYASHI and Hirofumi MARUYAMA

昨年の研究において、長野県飯綱町で栽培されている古来種および西洋種のリンゴについてプロシアニジン組成の分析を行った結果、古来品種の“高坂”および一部の西洋品種にプロシアニジンが豊富に含まれていることが明らかとなった。そこで本研究では、昨年度分析の対象としなかった一部の西洋品種を加えた飯綱町産リンゴのプロシアニジン組成を分析するとともに、ジュース、ジャムの加工工程におけるプロシアニジンの消長について検討を行った。

キーワード：リンゴ、プロシアニジン、機能性表示成分、高坂、西洋品種

1 緒 言

ポリフェノールの一種であるプロシアニジン類は、カテキンやその異性体であるエピカテキンが複数結合した重合体として存在し、現在15量体まで確認されている(図1)。量体による機能性の違いについては未知の部分が多いが、例えば5量体以上の重合体については特に高いリパーゼ活性阻害作用が報告されている¹⁾。プロシアニジンはブドウやカカオ、リンゴなどに多く含まれており、肥満や高血糖予防効果、LDLコレステロール値の低下、抗アレルギー作用、抗酸化作用などの様々な健康機能性が報告されている^{2~7)}。特にリンゴは長野県の代表的な農作物の一つであり、全国的にも生産量、摂取量ともに多い果実である。

リンゴ由来プロシアニジンは、平成27年消費者庁により施行された「機能性表示食品制度」によって、一部の商品において機能性表示成分としての届け出がなされている。その商品の多くで、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構(農研機構)が公表している生鮮食品9品目に関する研究レビューが利用されており、一食あたり「リンゴ由来プロシアニジン(プロシアニジンB2相当)110 mg」の摂取で「内臓脂肪を減らす」効果を表示することができる。しかし、本制度では糖分やカロリーの過剰摂取につながるような摂取量を要する場合は機能性表示に適さないとしており、そのためにはできるだけ少量

の摂取で多くの機能性成分が摂取できる、すなわち機能性成分が豊富に含まれている素材を選ぶことが望ましい。

昨年度の研究において、筆者らはリンゴの産地として知られている長野県飯綱町の多様な品種のリンゴについてプロシアニジン組成の分析を行い、飯綱町の古来品種である“高坂”や、“フラワー・オブ・ケント”など一部の西洋品種に、プロシアニジンが豊富に含まれていることを明らかにした⁸⁾。特に“高坂”は成熟果でも一粒30~40g程度の非常に小玉の品種であるが、プロシアニジン2~7量体の合計量が300~400 mg/100gと、一般的な“ふじ”の10倍程度も含まれていた。“ふじ”や“シナノゴールド”といった市場における主要な品種はプロシアニジン含有量が比較的少なく、これらを原料に用いて製造される加工品で機能性表示を行おうとすると、機能性表示に必要な成分量を摂取するために過剰な摂取量が要求されることが懸念される。しかし、プロシアニジン高含有品種を用いることで、適度な摂取量で機能性表示が可能な食品の開発が期待できる。

そこで本研究では、昨年度分析の対象としなかった一部の西洋品種や未熟果を加えて、令和2年度産の飯綱町産リンゴのプロシアニジン組成を分析するとともに、特にプロシアニジン含有量の高かった品種“高坂”を用いたジュースおよびジャム加工試験を行い、加工工程におけるプロシアニジンの消長について検証を行った。

2 実験方法

2.1 試料

パール(未熟, 成熟), 高坂(未熟, 成熟), プラムリーズ・

* 受託研究

*¹ 加工食品部

*² 飯綱町役場

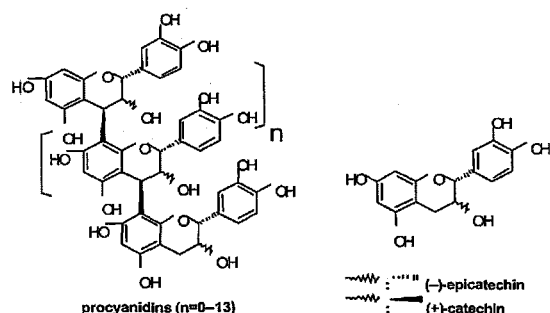


図1 プロシアニジンの構造式(参考文献9より引用)

シードリング(未熟, 成熟), ベル・ド・ボスクープ(未熟, 成熟), エグレメント・ラッセル, グラニースミス, ふじ(未熟, 早採り, 成熟), 秋映(未熟), シナノスイート(未熟)を用いた。検体のリングは, 提供者である「いいづなアップルミュージアム」で主に色づき等の外観から, 6~7割程度の成熟度合のものを「未熟果」, 9~10割程度の成熟度合のものを「成熟果」として判断されたものを試験に用いた。

上記品種について, 皮付きもしくは皮剥きのリングを芯を抜いて8等分に切断し, そのうち4切れをさらに2, 3個に切ってから液体窒素で冷却し, 真空凍結乾燥した。乾燥後の試料はミルサーで粉碎し, 粉末状にして脱酸素剤, および乾燥剤とともに酸素・水蒸気バリア性の袋に包装した状態で, 試料調製まで5℃以下の冷暗所に保管した。

2. 2 試薬

プロシアニジン2~7量体の標準試薬は市販されていないため, 既報⁸⁾に従い調製したものをを用いた。なおここで各多量体試料のプロシアニジン濃度は, 和光純薬(株)製プロシアニジンB2(純度 $\geq 98\%$, HPLC)を標準試薬として, プロシアニジンB2当量として求めた。

2. 3 試料調製

粉末状にした試料を約0.3 g秤り取り, メタノールを10 mL加え, 50℃で5分間超音波処理を行った後30分ほど50℃で放置し, その後流水で冷却した。成分を十分に抽出するため試料を10℃以下の冷暗所で一晩静置し, この上清を0.45 μm のメンブレンフィルターでろ過したものを試料溶液とした。

ジュース加工試験については, 高坂(未熟)を原料とし, 4つ割りにした原料に2%ビタミンCを重量の5%加え, ミルサーで粉碎後, 手押し式搾汁機で搾汁した。搾汁直後の液を5 mL採取し, 残りの搾汁液を袋に入れ真空包装し, 90℃15分の加熱後, 流水で冷却した。搾汁直後, および加熱処理後の液をそれぞれ5 mL採取し, 等量のエタノールを加えてよく振り混ぜ, 0.45 μm のメンブレンフィルターでろ過したものを高速液体クロマトグラフ測定に供した。

ジャム加工試験については, 高坂(未熟)を包丁で細かく裁断し, 原料に対し90%重量の砂糖を加えて鍋で煮込み, 熱い状態のまま瓶に充填し, キャップを締め放冷

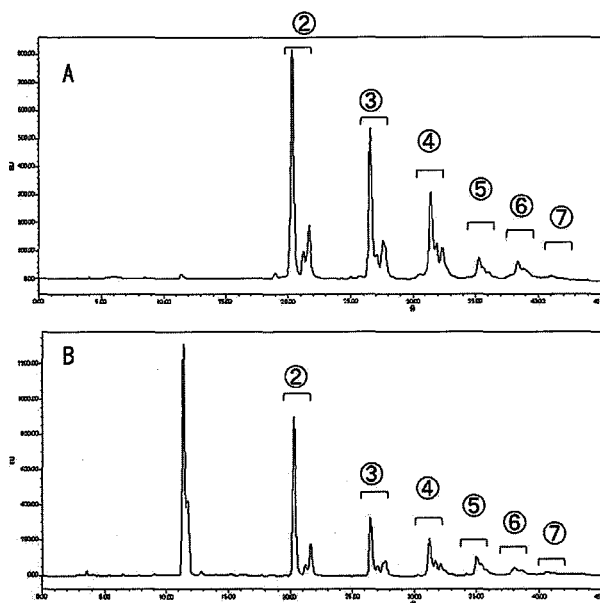


図2 プロシアニジンの HPLC クロマトグラム(A: 標準試料 B: 高坂(未熟)) (図中の②~⑦は2量体~7量体のピークであることを表す)

後, 10℃以下の冷蔵庫で保管した。ジャムは2 g採取し, 10 mLのアセトン:水:酢酸(70:29.5:0.5)混合溶媒を加えてよく振り混ぜ, 10分間超音波処理したものを, 0.45 μm のメンブレンフィルターでろ過し, 高速液体クロマトグラフ測定に供した。

2. 4 高速液体クロマトグラフによる定量

既報⁹⁾に従い, 蛍光検出器を備えた高速液体クロマトグラフ(Waters_1525_2707_2475, 日本ウォーターズ製)により, プロシアニジン(2~7量体)の定量を行った。測定条件は下記の通り。得られるクロマトグラフの例を図2に示す。

装置: Waters_1525_2707_2998_2475(蛍光検出器)

カラム: Inertsil sil-100A(5 μm , 4.6 $\times$ 250 mm)

カラム温度: 30℃

流速: 1.0 mL/min

測定波長: 励起波長 276 nm, 測定波長 316 nm

溶離液: A ヘキサン:メタノール:酢酸エチル=8:3:1

B ヘキサン:メタノール:酢酸エチル=2:3:1

B(%) 0 min(0)→10 min(0)→40 min(100)→45 min(100)
→45.1 min(0)→55 min(0)

また上記の測定方法は非水溶性の溶離液を用いていることから水分を含んだ試料については適さないため, ジュースおよびジャム加工試験のサンプルについては, obara らの方法¹⁰⁾を参考に, 下記の条件によりプロシアニジン(2~7量体)の定量を行った。

装置: Waters_1525_2707_2998_2475(蛍光検出器)

カラム: Inertsil WP-300 Diol(5 μm , 4.6 $\times$ 250 mm)

カラム温度: 30℃

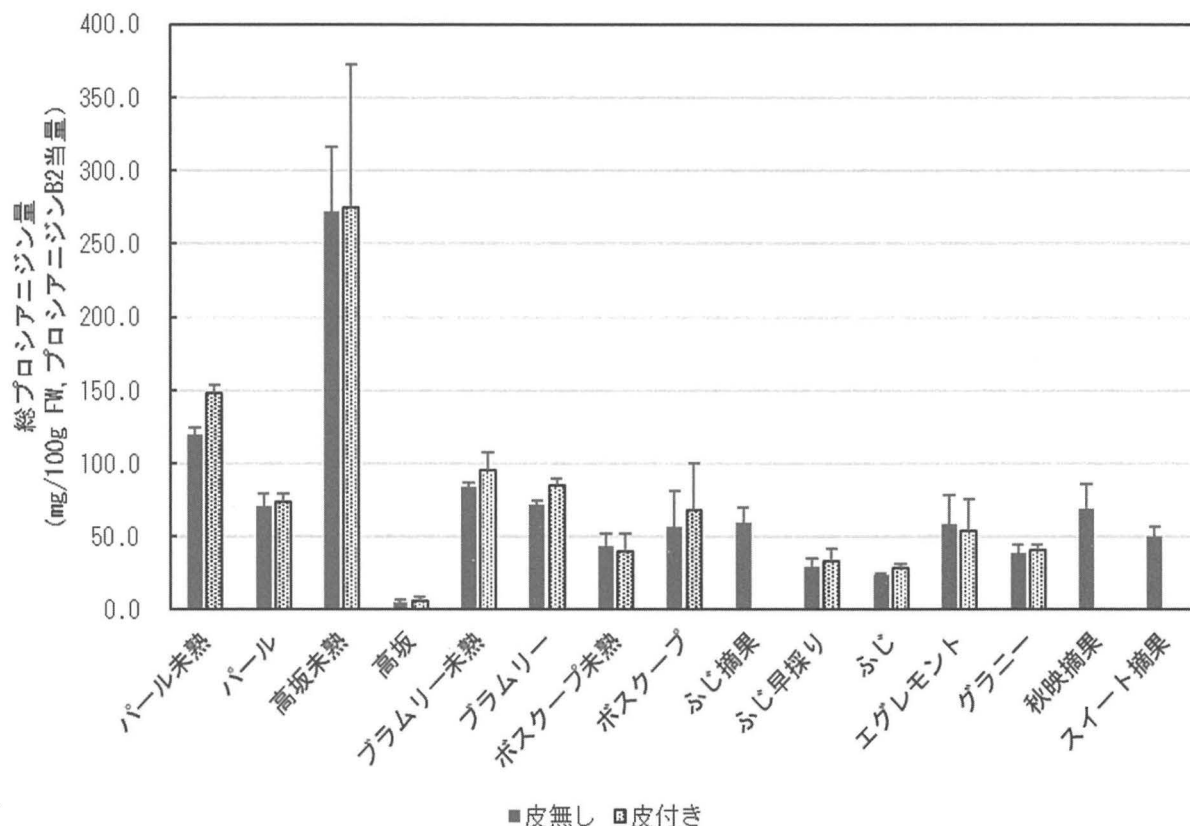


図3 異なるリンゴ品種のプロシアニジン組成
(n=3, エラーバーは標準偏差) (FW: 生鮮重量あたり)

流速: 1 ml/min

測定波長: 励起波長 230 nm, 測定波長: 321 nm

溶離液: A アセトニトリル: 酢酸=98:2

B メタノール: 水: 酢酸=95:3:2

B(%) 0 min(7)→3 min(7)→60 min(30)→70 min(100)
→70.1 min(7)

3 実験結果及び考察

3.1 プロシアニジン組成

各品種リンゴのプロシアニジン含有量を図3に示す。含有量は2~7量体の合計値で表しており、2量体であるプロシアニジンB2当たりの量として表している。現在申請が受理されている機能性表示食品では、りんご由来プロシアニジン110 mg(プロシアニジンB2として)が一日の摂取量の基準とされている。今回測定した品種では、パール(未熟, 成熟), 高坂(未熟), ブラムリー(未熟, 成熟)が比較的プロシアニジン含有量が多かった。なお“高坂”は, 昨年度の研究において非常に高いプロシアニジン含有量を示しており, 本年度においても未熟果は同様に高い数値であった一方, 成熟果は非常に低い含有量であった。濱渦らによれば, プロシアニジン類やその構成単位であるカテキン類をはじめとするポリフェノール類は, 単位重量当たりの含有量は未熟果ほど多く成熟するにつれて減少するが, 果実一個あたりに含まれるポリフェノール類

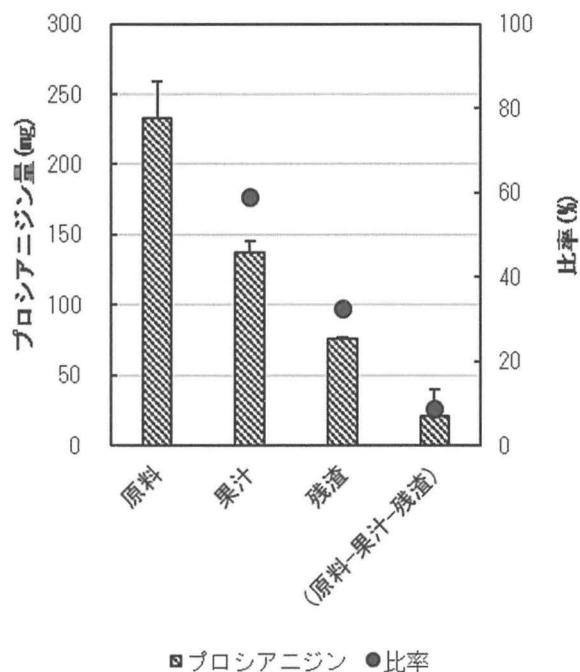


図4 高坂リンゴのジュース加工工程におけるプロシアニジンの消長(n=3, エラーバーは標準偏差)

の量自体は成熟によって大きく変化することはない, 5量体以上の高分子の比率が増加するという¹¹⁾。高坂(成熟)

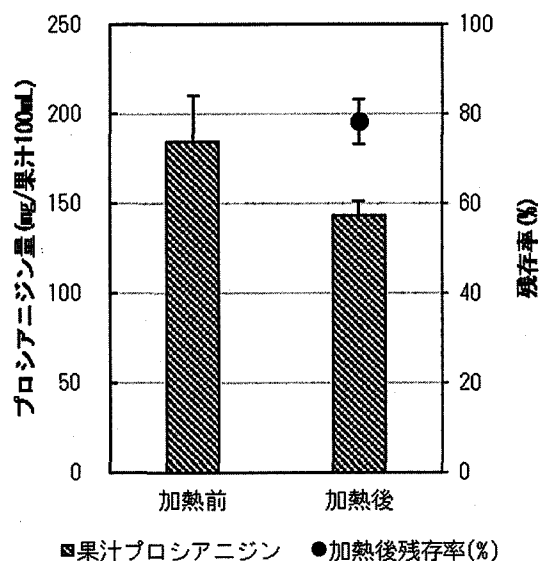


図5 高坂リンゴジュースの加熱によるプロシアニジンの消長 (n=3, エラーバーは標準偏差)

の数値が非常に低くなったのは、濱渦らの報告から推測すると、成熟が一定以上進んだところで急激にプロシアニジンの高分子化が進み、本分析方法によって検出されない形態に変化した可能性が考えられる。

プロシアニジン含有量の多い“高坂”を用いるためには、果皮に青みが残るような成熟手前の果実を選択的に用いることや、市販の非破壊熟度計による熟度値とプロシアニジン含油量の相関性を調べることなどで可能になると考えられる。

3. 2 加工によるプロシアニジンの消長への影響

ジュース加工工程におけるプロシアニジンの消長を図4に示す。左の縦軸は各工程におけるプロシアニジン量 (mg), 右の縦軸は原料を100とした場合の各工程のプロシアニジンの比率 (%) を表している。本ジュース搾汁における、原料に対する搾汁液の歩留まりは約6割程度であり、プロシアニジンの割合もおおよそ歩留まりと同程度であると考えられた。一番右の(原料-果汁-残渣)は、原料の数値から果汁および残渣のプロシアニジン量の数値を差し引いたもので、搾汁機本体への付着、もしくは搾汁中の酸化等により失われた分と推測される。また搾汁液の加熱前後のプロシアニジン量を図5に示す。実際のジュース加工では搾汁後、容器に充填される前もしくは充填後に加熱殺菌が施される。図5の結果から、加熱処理後も約8割のプロシアニジンが残存しており、“高坂”を原料としたジュースは最終製品においても非常に高濃度のプロシアニジン含有することが示唆された。

また“高坂”の原料、およびジュース、ジャムのプロシアニジン量を比較したものを表1に示す。ジュースおよびジャムは最終的に加熱処理までされたものの数値を示しており、残存率は原料の含有量に対する加工品の含有

表1 高坂を原料とした加工品のプロシアニジン量

試料形態	プロシアニジン量 (mg/100 g or 100 mL)	原料に対する残存率 (%)
高坂(未熟)	275	
ジュース	143	52.0
ジャム	61.0	22.2

量の比率として計算した。ジュースは比較的多くプロシアニジンが残っており、機能性表示食品として期待できる結果であったが、ジャムについては4分の1程度にまで減少していた。ジャムは多量の砂糖を加えているためリンゴ由来の成分は半分程度に薄められることや、ビタミンCなどの酸化防止剤を加えられずに組織を破壊しながら加熱されることで昇温中の酵素反応、および加熱によるポリフェノールの酸化が促進されるため、プロシアニジンの減少が進んだものと推測される。

4 結 論

飯綱町産リンゴのプロシアニジン含有量の分析、および“高坂”の加工試験を行った結果、以下の結論を得た。

- (1) 各品種のプロシアニジン含有量を分析した結果、高坂(未熟)、パール、プラムリーズ・シードリングに比較的多くプロシアニジンが含まれていた。またある時点を過ぎて成熟しすぎた“高坂”は、プロシアニジン2~7量体がほとんど検出されなかった。
- (2) “高坂”を原料としてジュース加工工程におけるプロシアニジンの消長について検討した。その結果、搾汁の時点で6割程度まで減少し、最後の加熱処理工程を経た後は原料の5割程度まで減少した。ジャムは最終的に2割程度まで減少していた。

参考文献

- 1) Sugiyama, H., et al. Oligomeric Procyanidins in Apple Polyphenol Are Main Active Components for Inhibition of Pancreatic Lipase and Triglyceride Absorption. *J. Agric. Food Chem.* 55, p.4604-4609 (2007)
- 2) 調節-プロシアニジンの肥満・高血糖予防効果. *化学と生物*. 52(8), p.493-495 (2014)
- 3) 東知宏, 長田恭一, 相倉悦子, 今坂浩, 半田正之. りんご未熟果実由来ポリフェノール摂取による肥満予防作用. *日本食品科学工学会誌*. 60(4), p.184-192 (2013)
- 4) Ravn-Haren G., et al. “Intake of whole apples or clear apple juice has contrasting effects on plasma lipids in healthy volunteers”. *European Journal of Nutrition*. 52(8), p.1875-1889 (2013)

- 5) Akazome Y., et al. "Apple Polyphenols Influence Cholesterol Metabolism in Healthy Subjects with Relatively High Body Mass Index". *Journal of Oleo Science*. 56(8), p.417-428 (2007)
- 6) 庄司俊彦. リンゴポリフェノールの食品素材としての応用. *日本食品科学工学会誌*. 53(3), p.159-164 (2006)
- 7) Yanagida A., et al. "Inhibitory effects of apple polyphenols and related compounds on carcinogenic factors of mutans Streptococci". *J. Agric. Food Chem.* 48, p.5666-5671 (2000)
- 8) 山崎慎也, 栗林 剛, 丸山裕史. 飯綱町産リンゴの機能性成分に関する研究. *長野県工技センター研報*. No.15, p.F19-22 (2020)
- 9) 山崎慎也, 中田光彦, 大澤克己. 長野県産のリンゴおよびネギの機能性成分に関する研究. *長野県工技センター研報*. No.12, p.F19-24 (2017)
- 10) Obara M., et al. "Procyanidin Concentrations and H-ORAC of Apples Cultivated in Japan". *Food Science and Technology Research*. 22(4), p.563-568 (2016)
- 11) 濱渦康範, 飯島悦子, 伴野潔. リンゴ果実の発育に伴うカテキン類およびプロシアニジン類の含量・組成の変化. *園芸学会雑誌*. 68(6), p.1184-1193 (1999)