

# クリ品種‘ぼろたん’における果皮中の可溶性タンニン含量および抗酸化性

鶴永 陽子\*・三島 晶太\*\*・高橋 哲也\*

Yoko TSURUNAGA, Shota MISHIMA and Tetsuya TAKAHASHI

Soluble tannin content and antioxidative activity in the pericarp of Japanese chestnut cultivar ‘Porotan’

## 要 約

近年、果皮の剥皮性に優れた新品種クリ‘ぼろたん’が開発された。我々は‘ぼろたん’特有の剥皮性を利用し、果皮について健康食品素材、食品の物性改良素材、抗菌素材としての可能性を明らかにし、それらの効果を最大限に発揮させるための最適条件について研究している。本報では、‘ぼろたん’の果皮について歩留まりや色調などの特性ならびに可溶性タンニンを効率良く抽出する方法について検討した結果、以下のことが明らかになったので報告する。

- (1) ‘ぼろたん’と‘銀寄’の果皮色、歩留まり、可溶性タンニン含量について比較実験を行ったところ、ほぼ同等の結果が得られた。
- (2) ‘ぼろたん’について、蒸煮（3分間）、蒸熱（3分間）、電子レンジ（2分間）による剥皮を行い、果皮の可溶性タンニン含量の比較を行ったところ、電子レンジ加熱が最も高い数値を示した。
- (3) 20, 40, 60, 80, 100%の含水エタノール溶媒を用いて、エタノール濃度が可溶性タンニン含量に及ぼす影響を検討したところ、40%エタノール抽出区がもっとも抽出効率が優れていた。
- (4) 水および40%エタノール溶液を用いて、抽出時間および温度が可溶性タンニン含量に及ぼす影響について検討した。その結果、水抽出区では100℃抽出の3もしくは6時間抽出区が最も抽出効率が高かった。また、40%エタノール溶液区は、一部例外はあるものの、各温度処理区で水抽出よりも高い結果が得られた。特に80℃処理区の3および6時間抽出区の抽出効率が高かった。

【キーワード：ぼろたん、剥皮性、可溶性タンニン、DPPH ラジカル捕捉活性、鬼皮・渋皮エキス】

クリ果実は主に、甘露煮、渋皮煮、グラッセ、栗ご飯などに加工調理されているが、その際、クリには堅い鬼皮と渋皮があるため、剥皮処理に多大な労力を必要としてきた<sup>1)</sup>。その中、独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構果樹研究所により果皮の剥皮性に優れた新品種クリ‘ぼろたん’が開発された<sup>2)</sup>。‘ぼろたん’の普及によりクリ果実の調理加工時間が大幅に削減されると期待されているが、我々は鬼皮と渋皮に着目した。クリの鬼皮・渋皮には高濃度の可溶性タンニンが含有されていることから、抗菌性、抗酸化性など多面的な機能が期待される素材であるが、これまでの品種では剥皮処理が困難であるため、クリの果皮は活用されることはほとんどなかった。我々は‘ぼろたん’特有の剥皮性を利用し、果皮について健康食品素材、食品の物性改良素材、抗菌素材としての可能性を明らかにし、それらの効果を最大限に発揮させるための最適条件について検討している。本報では、‘ぼろたん’の果皮について歩留まりや色調などの特性を明らかにし、次に鬼皮および渋皮から可溶性タンニンを効率良く抽出する方法について検討した結果を報告する。

## 実験方法

### 実験1 ‘ぼろたん’果皮の特性調査

#### (1) 品種間の比較

‘ぼろたん’の果皮について、果皮歩留まり、色調、可溶性タンニン含量を、日本の代表的なクリ品種である‘銀寄’と比較した。供試材料であるクリ‘ぼろたん’ならびに‘銀寄’は熊本県産のものを使用した。剥皮処理はレンジ（2分間）で行った。

#### (2) 産地間の比較

熊本県、茨城県産の‘ぼろたん’について可溶性タンニン含量の比較を行った。熊本県産は熊本フルーツセンターから購入し、筑波産は独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構果樹研究所より入手した。

#### (3) 剥皮時の加熱処理方法による違い

‘ぼろたん’について、蒸煮（3分間）、蒸熱（3分間）、電子レンジ（2分間）による剥皮を行い、可溶性タンニン含量の比較を行った。

#### (4) 分析方法

色調は、ミノルタ社製CR-13を用いL\*, a\*, b\*を測定した。

歩留まりは、全重1kgのクリをはかりとり、剥皮処理

\* 島根大学教育学部人間生活環境教育講座

\*\* 島根大学大学院生物資源科学研究科農林生産科学専攻

を行い、剥皮前後の重量から果皮歩留まりを算出した。

可溶性タンニン含量は、剥皮後に果皮を60℃、12時間通風乾燥し、クラッシャーで荒く砕き、オスターブレンダー、次にワンダーブレンダー、最後に振動ミルを用いて粉碎した。得られた粉末を1mmふるいにとおし、通過したものを分析試料とした。粉末約0.3gに80%メタノールを添加し、ホモジナイザーで2分間攪拌処理した。得られた抽出液を適宜希釈し、フォーリン法<sup>3)</sup>により可溶性タンニン含量を測定した。数値はmgカテキン相当量/100g乾物重 (dry wight; DW) で表した。

## 実験2 抽出条件と可溶性タンニン含量

粉碎程度ならびに抽出方法の違いが‘ぼろたん’果皮の可溶性タンニン含量ならびにラジカル捕捉活性に及ぼす影響について検討した。

### (1) 粉碎程度と可溶性タンニン含量

粉碎程度が可溶性タンニン含量に及ぼす影響について検討した。試料は、クラッシャーで荒砕きし、オスターブレンダーで粉碎した処理区、その後ワンダーブレンダーで粉碎した処理区、さらに振動ミル (VIBRATING TI-100) によって微粉碎した処理区の3処理区を用いた。また、各処理区で得られた粉末を、走査電子顕微鏡 (日立社製, HITACHI S-3000N) を用いて、加圧電圧15kV, 倍率50倍で観察した。

### (2) 抽出条件と可溶性タンニン含量ならびにDPPHラジカル捕捉活性

鬼皮・渋皮より可溶性タンニンを効率よく抽出できる方法を検討した。まず、20, 40, 60, 80, 100%の含水エタノール溶媒を用いて、エタノール濃度が可溶性タンニン含量に及ぼす影響を検討した。また、水および40%エタノール溶液を用いて、抽出時間および温度が可溶性タンニン含量に及ぼす影響について検討した。

### (3) 測定方法

可溶性タンニン含量は、フォーリン法<sup>3)</sup>により、DPPHラジカル捕捉活性の測定は須田らの方法<sup>4)</sup>に従った。

## 結果および考察

### 実験1 ‘ぼろたん’果皮の特性調査

蒸煮 (3分間)、蒸熱 (3分間)、電子レンジ (2分間) による剥皮を行い、作業効率を検討したところ、電子レンジが最も剥皮しやすかったので、電子レンジによる剥皮方法を用いた。表1に‘ぼろたん’ならびに‘銀寄’の色調を示す。両品種ともほぼ同等の値を示し、色調に関しては、品種間差は小さいことがわかった。

表2 ‘ぼろたん’ならびに‘銀寄’の色調

	L*	a*	b*
ぼろたん	30.0±1.3	15.5±1.8	12.0±2.2
銀寄	28.7±2.8	16.7±2.0	10.7±3.2

試料は、熊本フルーツセンターより購入した。  
値は、平均値±標準誤差 (n=10)

次に、‘ぼろたん’ならびに‘銀寄’の果実全体に占める果皮部分の歩留まりを図1に示した。レンジで加熱処理 (2分間) 後に剥皮処理をおこなった‘ぼろたん’ならびに‘銀寄’の果皮部 (鬼皮と渋皮) の歩留まりは、それぞれ16.6, 16.5%であった。剥皮性では‘銀寄’よりも‘ぼろたん’の方が優れているものの、歩留まりでは‘ぼろたん’の優位性は認められなかった。甘露煮、渋皮煮などの加工品を製造する際、本実験により16%程度の果皮が産業廃棄物として処理されると予想される。産地単位で考えるとかなりの量であるため、果皮の有効活用が望まれる。

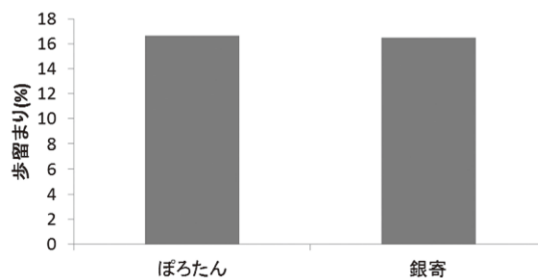


図1 ‘ぼろたん’‘銀寄’の歩留まり  
栽培地は両品種とも熊本県

また、レンジ (2分間) で剥皮処理を行った熊本県産の‘ぼろたん’ならびに‘銀寄’について可溶性タンニン含量の比較を行った。その結果、‘ぼろたん’ならびに‘銀寄’の可溶性タンニン含量は、それぞれ11,690, 19,950mg カテキン相当量/100gDWで‘銀寄’の方が高い値を示した (図2)。可溶性タンニン含量の結果から判断すると‘銀寄’の方が優れた素材といえるが、‘銀寄’やその他の従来品種の場合、包丁で果皮部をそぎ取るようにして剥皮処理を行うことから、剥皮に膨大な労力を要し、果肉部分が果皮部に付着したままとなる。食品分野、工業分野ならびに医療分野等での実用化を考えた場合、果肉が付着したままだと安全性および衛生面で問題がある。そのため、剥皮処理においてそれらの問題のない‘ぼろたん’の利用が望まれる。他の農産物、山野草類と比較しても、‘ぼろたん’は非常に高い可溶性タンニン含量を示しており、様々な分野において有効活用が見込める有望な素材であることが本実験から明らかとなった。

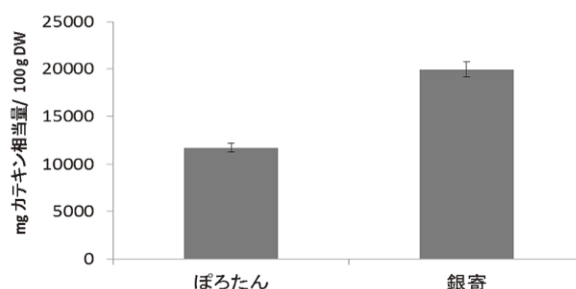


図2 品種と可溶性タンニン含量

平均±標準偏差 (n=6)  
栽培地は両品種とも熊本県。  
抽出は80%メタノール溶液を用いた。

次に、‘ぼろたん’について、熊本県、茨城県産の可溶性タンニン含量の比較を行った。剥皮のための加熱処理は両者ともレンジ（2分間）とした。その結果、熊本県産、茨城県産の‘ぼろたん’の可溶性タンニン含量は、それぞれ11,690、11,140mgカテキン相当量/100gDWとほぼ等々の値であった（図3）。

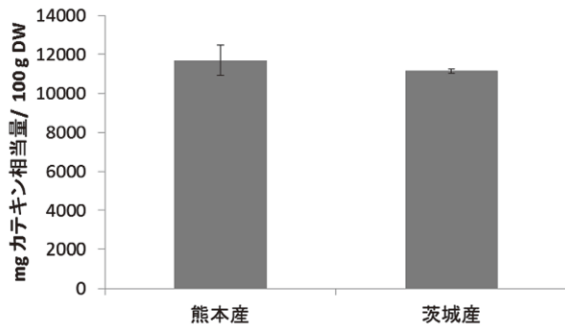


図3 産地と可溶性タンニン含量 (n=6)  
平均±標準偏差 (n=6)  
品種は‘ぼろたん’、剥皮処理は電子レンジ2分間。  
抽出は80%メタノール溶液を用いた。

図4に剥皮時の加熱処理方法が可溶性タンニン含量に及ぼす影響について検討した結果を示した。‘ぼろたん’について、蒸熱を3分間（図5(a)）、蒸煮を3分間（図5(b)）、電子レンジを2分間（図5(c)）施して剥皮処理し、60℃で12時間通風乾燥した試料について可溶性タンニン含量の比較を行った。その結果、可溶性タンニン含量は、電子レンジ（2分間）処理区が最も高く13,780mgカテキン相当量/100gDWで、続いて蒸熱処理区が11,180mgカテキン相当量/100gDW、蒸煮処理区が10,330mgカテキン相当量/100gDWであった（図4）。可溶性タンニンは、一部が水に可溶であるため、蒸煮ならびに蒸熱処理区では加熱処理中に水に可溶性タンニンが溶出し、レンジ処理区と比較すると可溶性タンニン含量が低くなったものと考えられる。

実験2 各種条件と果皮の可溶性タンニン含量

可溶性タンニンには、抗菌性、抗酸化性などの機能があるとされている。そのため、素材から効率よく可溶性タンニンを抽出することが望まれる。そこで、本実験では粉碎程度、抽出方法の違いが‘ぼろたん’果皮の可溶性タンニン含量ならびにDPPHラジカル捕捉活性に及ぼす影響について検討した。抽出溶媒として、食品分野、工業分野などへの技術移転、実用化を想定して、熱水ならびに含水エタノール溶液を用いた。

(1) 粉碎程度と可溶性タンニン含量ならびにDPPHラジカル捕捉活性

粉碎程度が可溶性タンニン含量に及ぼす影響について検討した。用いる粉末は、クラッシャーおよびオスターブレンダーで荒砕きしたもの（図6(a)）、その後ワンダーブレンダーで粉碎したもの（図6(b)）、さらに振動ミル（HEIKO SAMPLE MILL (VIBRATING TI-100)）によって微粉碎したもの（図6(c)）の3処理区を用いた。

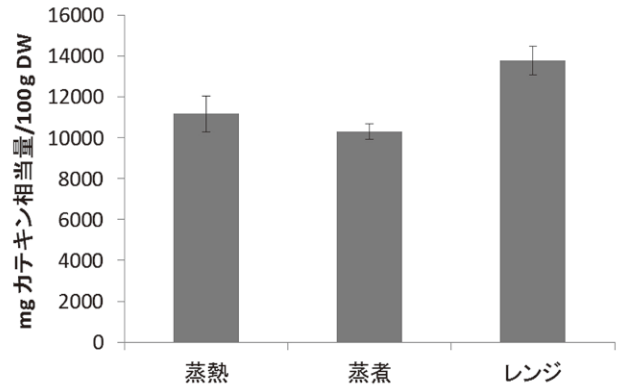


図4 剥皮時の加熱方法と可溶性タンニン含量  
棒は標準偏差 (n=6)  
剥皮は、蒸熱(3分間)、蒸煮(3分間)、レンジ(2分間)で実施した。  
抽出は80%メタノール溶液を用いた。

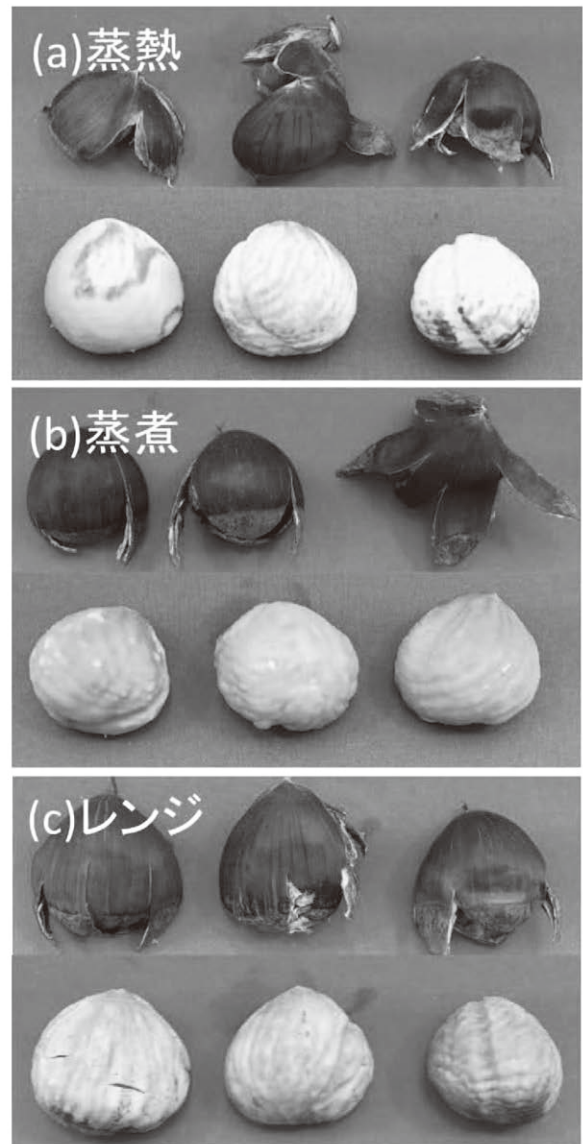


図5 剥皮処理のこなる果皮および果肉  
(a) 蒸熱処理3分間  
(b) 蒸煮処理3分間  
(c) レンジ処理2分間



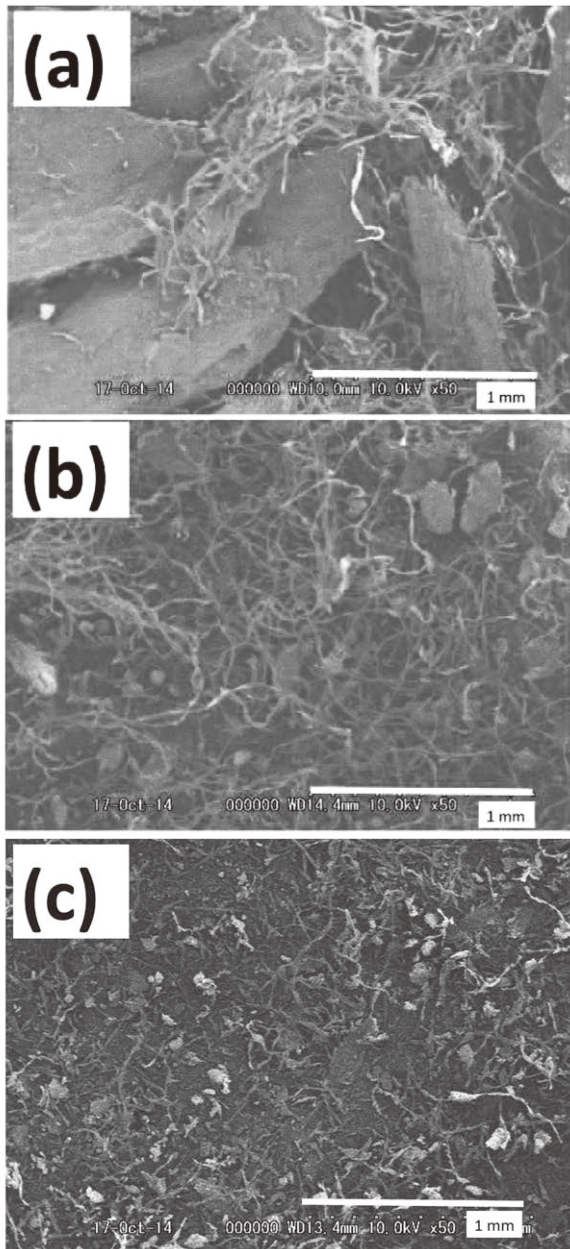


図6 粉碎程度の異なる果皮のSEM画像

- (a) クラッシャー+オスターブレンダー (2分)  
 (b) クラッシャー+オスターブレンダー (2分)+ワンダーブレンダー (30秒)  
 (c) クラッシャー+オスターブレンダー (2分)+ワンダーブレンダー (30秒)+振動ミル  
 白い横棒は1 mmを示す

その結果、クラッシャーとオスターブレンダーのみの粉碎では、図6 (a) に示すとおり粒子の形状が不均一で、大きい固まりが混在していることから、可溶性タンニン含量は980mgカテキン相当量/100gDWと低く、可溶性タンニン含量 (図7) ならびにDPPHラジカル捕捉活性 (図8) の値のばらつきも他処理区と比較して大きかった。クラッシャーとオスターブレンダーで得られた粉末をさらにワンダーブレンダーで粉碎すると繊維質の粉体が得られた (図6 (b))。さらに、ワンダーブレンダーで得られた粉体を振動ミルで碎した。振動ミルにより粒度は細くなる傾向が肉眼で確認できたが、それによる可溶性タンニン含量の上昇は認められず、両者とも

5,500mgカテキン相当量/100gDW程度であった (図7)。DPPHラジカル捕捉活性に関しても可溶性タンニン含量と同様の結果で、クラッシャーとオスターブレンダーのみの粉碎では、160 $\mu$ mol Trolox 相当量/gDWであったものの、さらにワンダーブレンダーで粉碎すると550 $\mu$ mol Trolox 相当量/gDWとなり、振動ミルでの粉碎をくわえることで570 $\mu$ mol Trolox 相当量/gDWとなった。

以上のことから、可溶性タンニン含量の抽出効率を向上させるには、大きな固まりがなくなる程度 (図6 (b) 程度) の粉碎が好ましいことが明らかとなった。

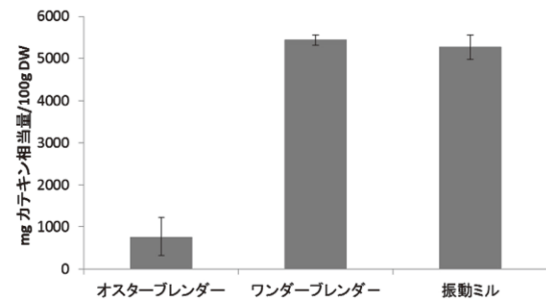


図7 粉碎程度と可溶性タンニン含量

棒は標準偏差 (n=6)

オスターブレンダー：クラッシャーとオスターブレンダーによる粉碎  
 ワンダーブレンダー：クラッシャーとオスターブレンダーによる粉碎後、ワンダーブレンダーで粉碎  
 振動ミル：クラッシャー、オスターブレンダーとワンダーブレンダーによる粉碎後、振動ミルで粉碎

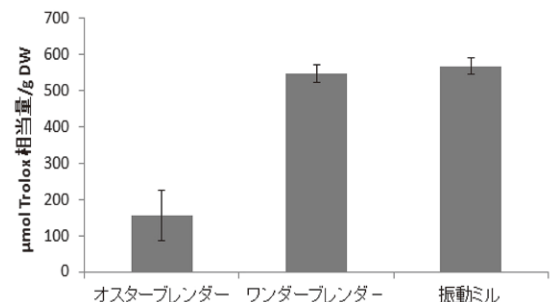


図8 粉碎程度とDPPHラジカル捕捉活性

棒は標準偏差 (n=6)

クラッシャー：クラッシャーとオスターブレンダーによる粉碎  
 ワンダーブレンダー：クラッシャーとオスターブレンダーによる粉碎後、ワンダーブレンダーで粉碎  
 振動ミル：クラッシャー、オスターブレンダーとワンダーブレンダーによる粉碎後、振動ミルで粉碎

## (2) エタノール濃度と可溶性タンニン含量ならびにDPPHラジカル捕捉活性

20%エタノール、40%エタノール、60%エタノール、80%エタノール、100% (v/v) エタノールを用いて、渋皮と鬼皮からの可溶性タンニン含量を最も効率よく抽出できるエタノール濃度を検討した。その結果、40%エタノール抽出区がもっとも抽出効率が良く9,100mgカテキン相当量/100gDWであった。ついで、20%および60%エタノール抽出区の数値が高く約7,400mgカテキン相当量/100gDWであった。抽出溶媒のエタノール濃度を40%以上にすると、エタノール濃度が高くなるに従い、抽出効率も低下することがわかった。100%エタノール抽出区では2,080mgカテキン相当量/100gDWしか可溶性タンニン含量が認められず、40%エタノール抽出区の5分の1程度

であった。これらのことから、エタノール濃度により可溶性タンニンの抽出効率が大きく左右されることが確認された(図9)。また、DPPHラジカル捕捉活性も可溶性タンニンとほぼ同様の結果であった。抽出溶媒のエタノール濃度を40%以上にすると可溶性タンニンと同様に、エタノール濃度が高くなるに従い活性値が低下することがわかった。80%および100%エタノール抽出区ではそれぞれ約410, 210  $\mu\text{mol Trolox}$  相当量/gDWしかラジカル捕捉活性が認められず、40%エタノールのそれぞれ2分の1, 4分の1程度であった。これらのことから、エタノール濃度によりDPPHラジカル捕捉活性を示す成分の抽出効率が大きく左右され40%が最も優れていることが確認された(図10)。

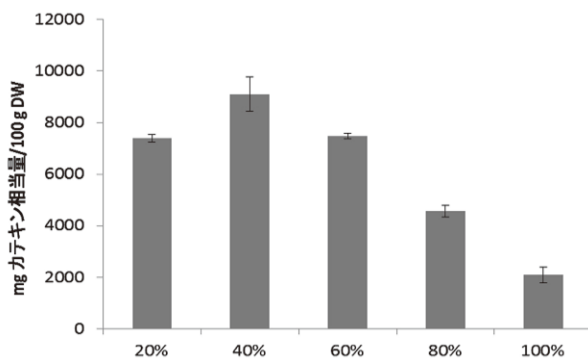


図9 エタノール濃度と可溶性タンニン含量

棒は標準偏差 (n=6)  
ホモジナイザーで2分間攪拌処理

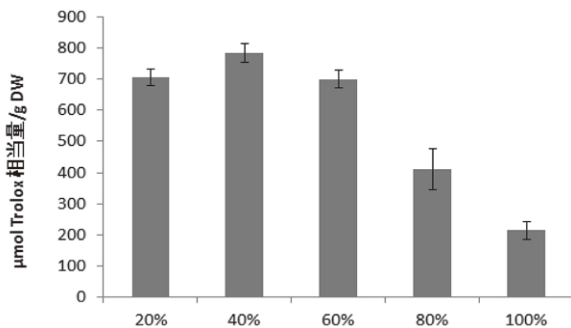


図10 エタノール濃度とDPPHラジカル捕捉活性

棒は標準偏差 (n=6)  
ホモジナイザーで2分間攪拌処理

### (3) 抽出温度および時間と可溶性タンニン含量

図9より、可溶性タンニン含量は40%含水エタノールの値がもっとも高いことが明らかとなった。そこで、安全面から考えた場合に溶媒として使用しやすい水と、有機溶媒として40%エタノールを用いて抽出温度の違いが可溶性タンニン含量に及ぼす影響について検討した。温度は、常温、40 $^{\circ}\text{C}$ 、60 $^{\circ}\text{C}$ 、80 $^{\circ}\text{C}$ 、100 $^{\circ}\text{C}$ (100 $^{\circ}\text{C}$ は水抽出のみ)とした。

その結果、水抽出では100 $^{\circ}\text{C}$ 抽出区の3時間および6時間抽出区が最も可溶性タンニン含量が高く11,000mgカテキン相当量/100gDWであった。100 $^{\circ}\text{C}$ による高温加熱処理においても可溶性タンニン含量の低下が認められな

かったことから、鬼皮・渋皮に含まれる可溶性タンニンは熱に強い成分であることが示唆された。また、抽出温度別にみても、常温、40 $^{\circ}\text{C}$ 、60 $^{\circ}\text{C}$ 、80 $^{\circ}\text{C}$ 、100 $^{\circ}\text{C}$ で、それぞれ550~2,260, 2,150~3,840, 3,760~5,060, 6,120~7,770, 8,530~11,110mgカテキン相当量/100gDWの範囲となっており、温度が上昇するほど、溶媒に抽出される可溶性タンニン含量が増加する結果となった。(図11)。

40%エタノール抽出では80 $^{\circ}\text{C}$ 抽出区の3時間および6時間抽出区が最も可溶性タンニン含量が高く12,700mgカテキン相当量/100gDWであった。80 $^{\circ}\text{C}$ による加熱処理においても可溶性タンニン含量の低下が認められなかったことから、鬼皮・渋皮に含まれる可溶性タンニンは比較的熱に強い成分であることが示唆された。また、抽出温度別にみても、常温、40 $^{\circ}\text{C}$ 、60 $^{\circ}\text{C}$ 、80 $^{\circ}\text{C}$ で、それぞれ4,790~4,900, 5,950~6,980, 6,320~8,570, 8,900~12,570mgカテキン相当量/100gDWの範囲となっており、温度が上昇するほど、可溶性タンニン含量が増加する結果となった。しかし、水抽出と比較すると、抽出温度の影響は小さかった(図12)。

### (4) 抽出温度および時間とDPPHラジカル捕捉活性

可溶性タンニン含量と同様に、抽出溶媒として水、ならびに40%エタノールを用いた。加熱温度は、常温、40 $^{\circ}\text{C}$ 、60 $^{\circ}\text{C}$ 、80 $^{\circ}\text{C}$ 、100 $^{\circ}\text{C}$ (100 $^{\circ}\text{C}$ は水抽出のみ)とした。

その結果、水抽出では100 $^{\circ}\text{C}$ 抽出区の3時間および6時間抽出区が最もDPPHラジカル捕捉活性が高く830  $\mu\text{mol Trolox}$  相当量/gDWであった。100 $^{\circ}\text{C}$ による高温加熱処理においてもDPPHラジカル捕捉活性の低下が認められなかったことから、鬼皮・渋皮に含まれるDPPHラジカル捕捉活性を示す抗酸化成分は熱に強い成分であることが示唆された。また、抽出温度別にみても、常温、40 $^{\circ}\text{C}$ 、60 $^{\circ}\text{C}$ 、80 $^{\circ}\text{C}$ 、100 $^{\circ}\text{C}$ で、それぞれ125~280, 260~406, 386~510, 545~640, 710~850  $\mu\text{mol Trolox}$  相当量/gDWの範囲となっており、温度が上昇するほど、DPPHラジカル捕捉活性が増加する結果となった。(図13)。

40%エタノール抽出では80 $^{\circ}\text{C}$ 抽出区の3時間および6時間抽出区が最もDPPHラジカル捕捉活性が高く920  $\mu\text{mol Trolox}$  相当量/gDWであった(図14)。80 $^{\circ}\text{C}$ による高温加熱処理においてもDPPHラジカル捕捉活性の低下が認められなかったことから、鬼皮・渋皮に含まれるDPPHラジカル捕捉活性を示す抗酸化成分は比較的熱に強いことが示唆された。また、抽出温度別にみても、常温、40 $^{\circ}\text{C}$ 、60 $^{\circ}\text{C}$ 、80 $^{\circ}\text{C}$ で、それぞれ315~470, 500~590, 500~710, 640~900  $\mu\text{mol Trolox}$  相当量/gDWの範囲となっており、温度が上昇するほど、DPPHラジカル捕捉活性が増加する結果となった。しかし、水抽出と比較すると、40%エタノール抽出区は温度の影響は小さかった(図13, 図14)。特に、常温処理区と比較すると水抽出が125~280, 40%エタノール抽出が315~470  $\mu\text{mol Trolox}$  相当量/gDWであり、水の場合は抽出効率を上げるために高温の加熱処理が必須であるが、40%エタノールの場合には常温でも比較的抽出が可能となったことが明らかとなった。

### 今後の展望

本実験により、クリ新品種‘ぼろたん’の果皮特性および可溶性タンニンやラジカル捕捉活性に関与する成分を効率よく抽出する方法を明らかにできた。今後は、本実験結果をもとに、‘ぼろたん’の果皮・渋皮エキスを大量に製造し、加工食品や工業製品等の開発や実証研究を実施する予定である。

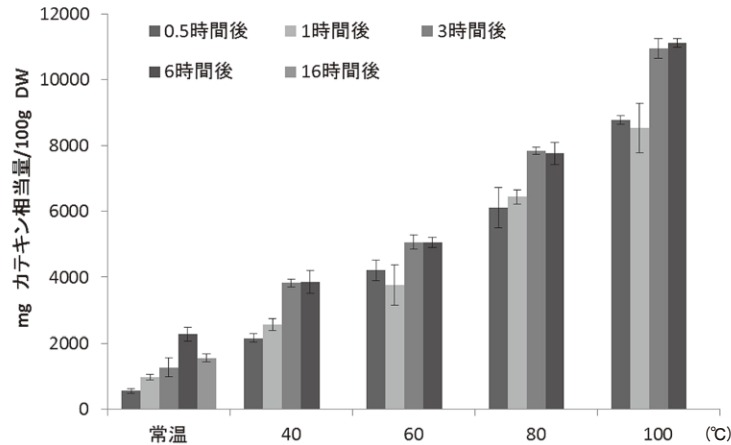


図11 水抽出における抽出温度および時間と可溶性タンニン含量  
棒は標準偏差 (n=6)

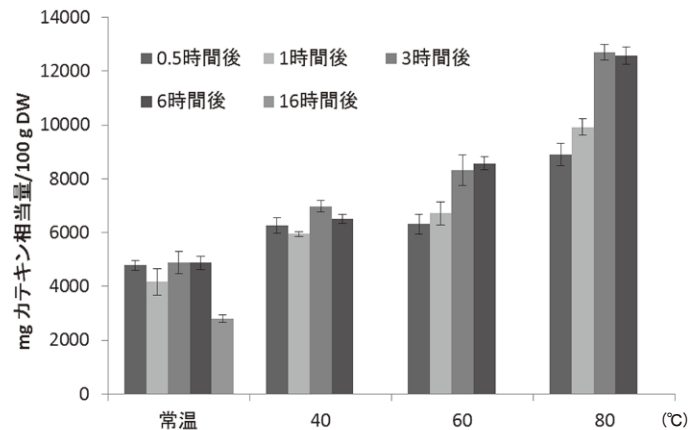


図12 40%エタノール抽出における抽出温度および時間と可溶性タンニン含量  
棒は標準偏差 (n=6)

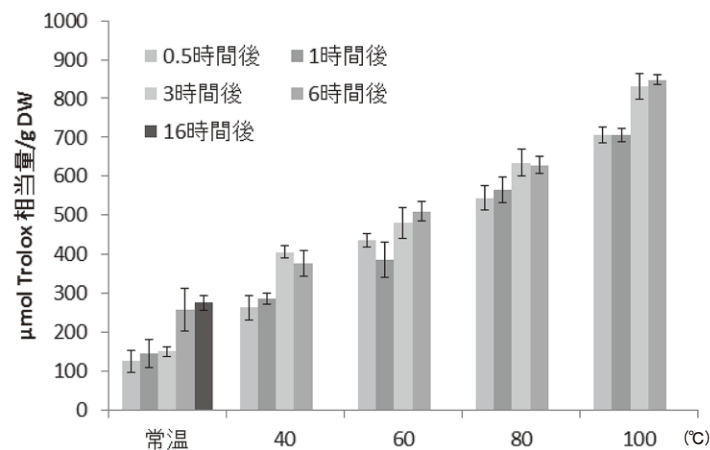


図13 水抽出における抽出温度および時間とDPPHラジカル捕捉活性  
棒は標準偏差 (n=6)

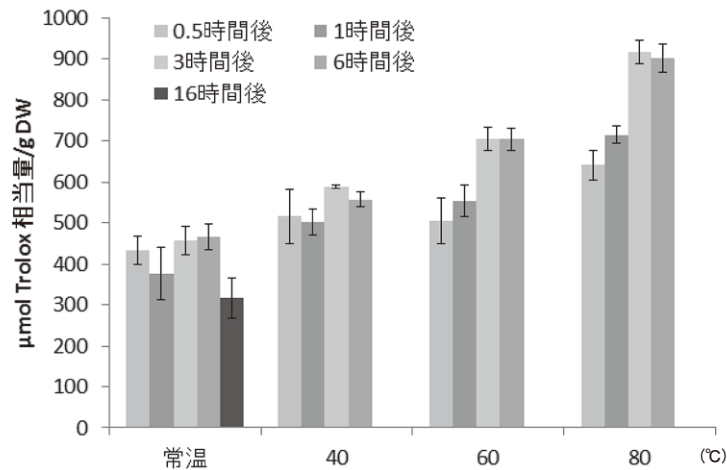


図14 40%エタノール抽出における抽出温度および時間とDPPHラジカル捕捉活性  
棒は標準偏差 (n=6)

## 引用文献

- 1) 真部孝明：クリの成分と加工法に関する研究（第8報）薬品による渋皮および果肉表層剥離に対する試み，日本食品工業学会誌，17，247-251（1970）
- 2) 齋藤寿広，壽和夫，澤村豊，阿部和幸，寺井理治，正田守幸，高田教臣，佐藤義彦，平林利郎，佐藤明彦，西端豊英，樫村芳記，小園照雄，福田博之，木原武士，鈴木勝征，内田誠：ニホングリ新品種‘ぼろたん’，果樹研報，9，1-9（2009）
- 3) Swain, T and W. E. Hillis：The phenolic constituents of prunus domestica. I. The quantitative analysis of phenolic constituents, J. Sci. Food Agric., 10, 63-68（1959）
- 4) 須田郁夫：食品機能研究法，光琳，東京，p.218-220（2000）

## 謝辞

試料の提供ならびに実験のご助言を頂きました農研機構果樹研究所 齋藤寿広上席研究員に深く感謝致します。

## 付記

本研究は，農林水産省 食料生産地域再生のための先端技術展開事業「被災地の早期復興に資する果樹生産・利用技術の実証研究」により実施されました。