

# 認知機能の維持・改善に資する、高溶解ヘスペリジン食品の開発

(高溶解ヘスペリジン素材の製造技術の確立と本素材を使った機能性表示食品の上市)

食品開発支援センター 主任研究員 中山 久之  
食品開発支援センター 専門研究員 宮田 裕次  
食品開発支援センター 主任研究員 森 友美

青ミカンやミカン加工残渣は大量に廃棄されているが、フラボノイドの一種であるヘスペリジンを豊富に含む。ヘスペリジンの摂取は認知機能の維持・改善など健康寿命の延伸に寄与する可能性が示されているが、体内への吸収が悪く、食品への展開が困難である。本研究では、ヘスペリジンの可溶性に関する基盤技術を応用し、生理落果したミカンやミカン加工残渣を活用した、ヘスペリジンの高溶解化素材を開発するとともに、本素材からヘスペリジンを高収率でエキス回収し、粉末化する技術を確認する。さらに、高溶解ヘスペリジン素材のヒトでの認知機能の維持・改善効果を明らかにし、機能性表示食品として商品化することを目標とする。本報では、生理落果ミカンおよびミカン加工残渣の成分特性やヘスペリジンの高収率エキス製造のための、食品加工機器を用いたヘスペリジンの溶解量向上方策について報告する。

## 1. 緒言

ミカンに含まれるヘスペリジンは、血流改善などの機能性を有し<sup>[1]</sup>、成熟した果実よりも摘果される未熟果に高濃度に含まれる。しかし、ヘスペリジンは水に極めて難溶のため、体内への吸収量が少ないことから<sup>[2]</sup>、食品への加工展開が制限されている。これまでに、摘果した果実を緑茶三番茶葉とともに製茶機械で揉み込んで乾燥させることで、テルペン系の香りを有する発酵茶（以下、ミカン発酵茶）が製造でき、含まれるヘスペリジンの溶解量が向上することを明らかにしてきた<sup>[3]</sup>。そこで、本センターでは、県内外の大学や食品企業と共同で、ミカン発酵茶のヒトでの機能性を追究し、摘果ミカン食品として利用する仕組みづくりを行っている。しかし、コスト削減やフードロスの防止が強く求められている昨今、摘果だけでなく、生理落果する果実やミカン加工残渣の活用ニーズが高まっている。なお、生理落果は、果実が肥大する過程で樹から自然に果実が落果する生理現象のことで、7月上旬頃までに6割以上のミカン果実が生理落果するとされる<sup>[4]</sup>。ヘスペリジンはミカン果皮の内側のアルベドと呼ばれる部位に多く局在するため、アルベド部が最大化する6月頃に生理落果する果実はヘスペリジンが豊富に含まれると推察される。また、缶詰加工の際に排出されるミカン加工残渣（ミカン果皮）についても、豊富なヘスペリジン供給源と考えられる。

ヘスペリジンは、疎水性のヘスペレチン部分と親水性のルチノース部分から構成され、水溶液中ではヘスペレチン部分が強固に会合することで結晶となり、こ

のことが水への溶解量低下の主要因となっている。ミカン発酵茶は、カテキン類や紅茶ポリフェノール類といった水溶性成分を含んでおり、これら成分がヘスペレチン部分と会合し、ヘスペリジン同士の結晶化を妨げることで溶解量が向上すると推察される。しかし、ミカン発酵茶に含まれるヘスペリジンの熱水や含水熱エタノールへの溶解量は40%程度で<sup>[3]</sup>、その他は溶解しないか、あるいは溶解しても再結晶化するものと推察される。機能性表示食品として消費者庁から受理されている機能性原料の多くがエキス粉末として取引され、様々な食品に展開されていることから、ミカン発酵茶から高収率でヘスペリジンをエキス回収し、それを保持して粉末にすることができれば、ミカン発酵茶の加工用途の幅が広がり、取引の拡大に寄与すると考えられる。予備試験にて、ミカン発酵茶を水とともにオートクレーブ処理するとヘスペリジンの溶解量が更に高まることを明らかにしていることから、オートクレーブと同じ原理の食品加工機器を用いることでも、ミカン発酵茶に含まれるヘスペリジンの溶解量が向上すると推察される。

そこで本報告では、ミカン発酵茶の原料として用いることを目的に、生理落果果実やミカン加工残渣のヘスペリジン含量や香気成分等を調査した。また、ミカン発酵茶を原料としたエキス粉末の製造技術を確認するため、レトルト殺菌装置や加圧・減圧攪拌機といった食品加工機器を用いて、モデル水溶液やミカン発酵茶のヘスペリジンの溶解量向上方策について検討した。

## 2. 実験方法と結果

### 2. 1 生理落果果実とミカン果皮の特性

生理落果果実は農林技術開発センター果樹・茶研究部門のカンキツ圃場より入手した。樹の下にネットを張り、2021年5月31日から同年6月14日まで、概ね3日おきに落果した果実を収集した(写真1)。ミカン果皮は、県内でミカン缶詰を製造している食品製造事業者より供与を受けた。ヘスペリジンの定量は、これら2つの原料を乾燥させ、DMSO-MeOHの混合溶媒に懸濁し、ろ過したものをHPLC分析に供試した。また、ミカン果皮を原料にミカン発酵茶を製造し、それに熱水を加え、SPME-GC/MS法により香り成分を分析した。

生理落果果実を緑茶抽出液と混合し10分程放置すると抽出液の色が褐色に変化することが観察された(写真2)。緑茶に含まれるカテキン類が酸化するとポリフェノール酸化酵素の影響により、橙赤から赤褐色のテアフラビンやテアルビジン等の紅茶ポリフェノール類に変化する<sup>[5]</sup>。緑茶抽出液の色が褐色に変化したのは、生理落果果実に含まれるポリフェノール酸化酵素の影響により、カテキン類が紅茶ポリフェノール類に変化したためと推察される。つまり、生理落果果実はポリフェノール酸化酵素の活性が高く、緑茶を発酵茶に変換させる触媒的作用があることが示唆され、ミカン発酵茶の製造時間短縮やそれに伴うコスト削減に寄与する可能性がある。ヘスペリジン量については、ミカン発酵茶の原料として用いられる直径27mmの摘果果実の場合、過去3か年の調査から、乾燥重量1gあたり165mgほどであるのに対して、生理落果果実と果皮はそれぞれ395mgおよび80.3mgであった(図1)。そのため、生理落果果実は貴重なヘスペリジン供給源となる。一方、果皮のヘスペリジン含量は少なかったものの、果皮を原料にミカン発酵茶を製造すると、d-リモネンやγ-テルピネンといった、ミカン由来の爽やかな香り成分が多く検出されたことから、香りの付与や嗜好品向けの商品開発などに応用できると考えられた(図2)。



写真1 ネットを使った生理落果果実の収集方法



写真2 生理落果果実による、緑茶の酸化効果  
(左：果実無し、中央：摘果果実、右：生理落果果実)

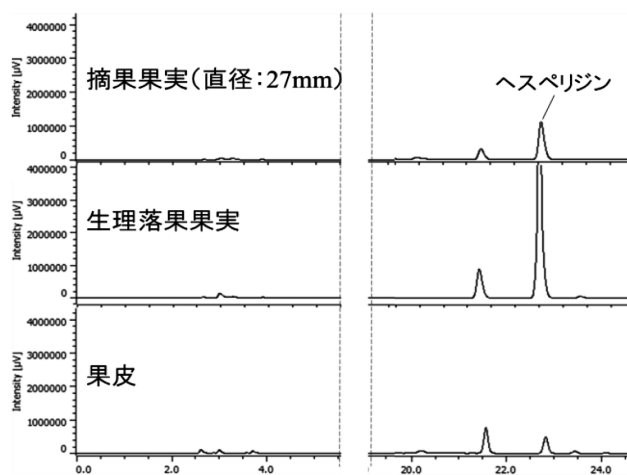


図1 ヘスペリジンのHPLCクロマトグラム

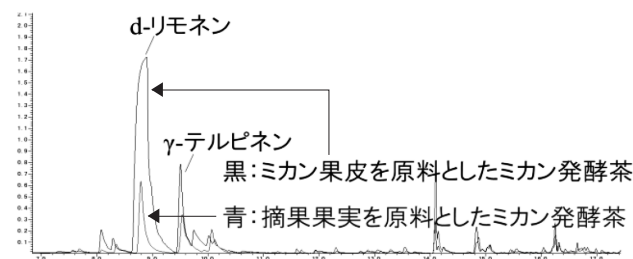


図2 香り成分のトータルイオンクロマトグラム

### 2. 2 ヘスペリジンの溶解量向上方策

ヘスペリジンはエタノール等の有機溶媒にも難溶であることが知られるが、ヘスペリジンの溶解には加熱温度が顕著に影響することが示唆されており、ヘスペリジンの含量が多いほど、必要となる溶解熱のエネルギーも大きくなることが報告されている<sup>[6]</sup>。ミカン発酵茶中のヘスペリジンの溶解には、カテキン類などの成分が関与することを明らかにしているため、モデル水溶液を用いて加熱温度と成分添加によるヘスペリジンの溶解量について検討した。ヘスペリジンとテアシネンシン(TS)あるいはエビガロカテキンガレート(EGCg)の懸濁液を80℃のウォーターバス中で20分、あるいはオートクレーブ(121℃、20分)で加熱

処理後、室温で2時間静置してろ過したものを HPLC 分析に供試した。図3の結果は、ヘスペリジンが最大で溶解した量を示す。その結果、ヘスペリジンの溶解には、オートクレーブ加熱による影響が大きく、さらに、TS や EGCg の添加で溶解量が高まることが分かった。成分単体でみた場合、TS はヘスペリジンの溶解量向上に強く影響することが明らかとなったが、ミカン発酵茶に含まれる成分の総量で比較すると、最も寄与する成分は EGCg であると考えられる。ただし、ヘスペリジンは一旦溶解しても貯蔵中に急速に再結晶化することが確認されていることから<sup>[6]</sup>、ヘスペリジンの再結晶化の防止法についても検討した。ヘスペリジンに EGCg、 $\beta$ -シクロデキストリン ( $\beta$ -CD) あるいはビタミン C (VC) のいずれか、あるいは複数を 4 mL の蒸留水に懸濁してオートクレーブ (121℃、20 分) で加熱処理し、室温で2時間静置して溶解したヘスペリジンの分析を行った。同様に保存1か月後のヘスペリジン含量を分析した。加熱後2時間と比較すると、加熱後1か月は3割ほどしかヘスペリジンが溶解しておらず、既報<sup>[6]</sup>のとおり大部分が再結晶化することが分かった。 $\beta$ -CD は工業的に生産される最も安価なシクロデキストリンの一種で、疎水性物質をその分子内に取り込んで包含化合物を形成し、溶解量を向上させる作用がある<sup>[7]</sup>。そのため、 $\beta$ -CD 単体でもヘスペリジンの溶解量は向上したが、その保持力は弱かった(図4)。VC についても単体でヘスペリジンの溶解量を向上させた。VC 単体でヘスペリジンが溶解したメカニズムは不明であるものの、EGCg と VC を組み合わせることで、ヘスペリジンの溶解量の保持力が高まることが明らかとなった。VC が EGCg の酸化を抑制することで、EGCg による溶解量の保持力が維持されると推察される。さらに、レトルト殺菌装置および加圧・減圧攪拌機による加熱処理 (125℃、30 分) での、ミカン発酵茶を原料としたヘスペリジンの溶解量についても検討した。水に対する茶葉の割合が 1.0% 前後だと、ほぼ 100% のヘスペリジンが熱水に溶解することが分かったが、茶葉の割合が増えるとヘスペリジンの溶解量が極端に低下した(図5)。レトルト殺菌装置や加圧・減圧攪拌機による加熱温度はせいぜい 130℃ほどであり、この時の熱エネルギーでヘスペリジンを最大限可溶化しようとする、ミカン発酵茶(葉)の割合の上限は 1.0% 前後であることが分かった。現在、これらの結果を踏まえ、ミカン発酵茶のエキスを原料に、スプレードライヤーによる粉末化

試験を実施している(写真3)。

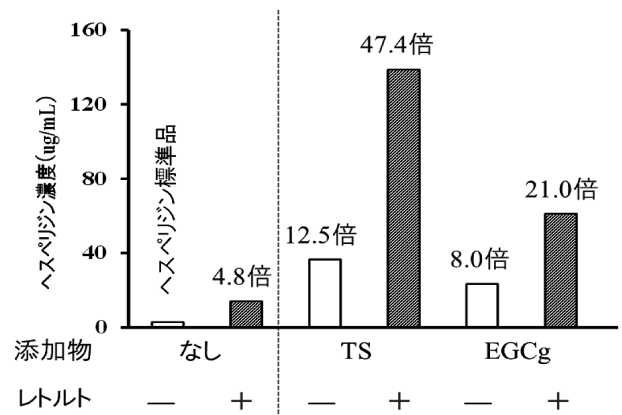


図3 ヘスペリジン最大溶解度の比較  
(-: 処理なし、+: 処理あり)

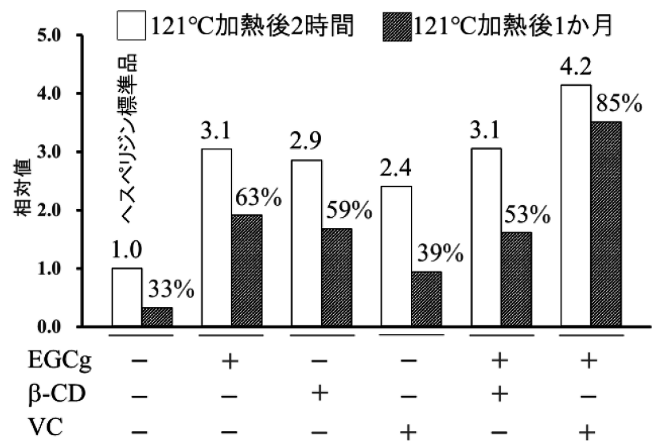


図4 ヘスペリジンの溶解量保持効果の比較  
(-: 添加なし、+: 添加あり)

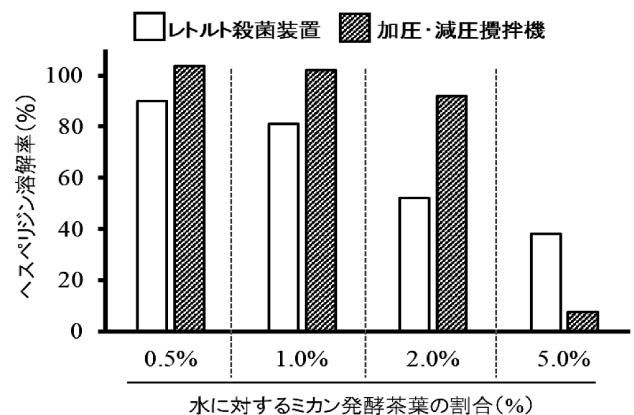


図5 ミカン発酵茶割合とヘスペリジンの溶解率



写真3 ミカン発酵茶のエキス粉末 (試験中)

### 3. 結言

ミカン発酵茶の原料として用いることを目的に、生理落果果実やミカン加工残渣のヘスペリジン含量や香氣成分等を調査した。また、ミカン発酵茶を原料としたエキス粉末の製造技術を確認するためには、ヘスペリジンの高収率エキスを製造する必要があるため、ヘスペリジンの溶解量向上方策について検討した。

生理落果果実はヘスペリジンを高濃度に含んでおり、また、ポリフェノール酸化酵素の活性が高かった。そのため、ミカン発酵茶の原料として有望であることが分かった。ミカン缶詰製造時に排出されるミカン果皮に関して、ヘスペリジン含量はやや少なかったものの、ミカン由来の爽やかな香氣成分が多く含まれていたことから、香氣の付与や嗜好品向けの商品開発に応用できると考えられた。

ヘスペリジンの溶解量向上には、カテキン類の存在下でオートクレーブ等での加熱が有効と判断され、ヘスペリジンの再結晶化を防止するためには、ビタミンCの添加が有効であることが分かった。オートクレーブやレトルト殺菌装置あるいは加圧・減圧攪拌機といった食品加工機器による加熱で、ヘスペリジンを最大限可溶化するための、水に対するミカン発酵茶葉の割合の上限は1.0%前後であると考えられた。

### 参考文献

- [1] Jung UJ, Lee MK, Park YB, Kang MA, Choi MS. Effect of citrus flavonoids on lipid metabolism and glucose-regulating enzyme mRNA levels in type-2 diabetic mice. *Int J Biochem Cell Biol*, 38, pp.1400-1403, 2006.
- [2] Yamada M, Tanabe F, Arai N, Mitsuzumi H, Miwa Y, Kubota M, et al. Bioavailability of glucosyl hesperidin in rats. *Biosci Biotechnol Biochem*, 70, pp.1386-1394, 2006.

- [3] 中山 久之, 田中 隆, 宮田 裕次, 齋藤 義紀, 松井 利郎, 荒牧 貞幸ほか. ミカン未熟果と緑茶三番茶葉を混合して製造した可溶性ヘスペリジン含有発酵茶の開発. *日本栄養・食糧学会誌*, 67, pp.95-103, 2014.
- [4] 尾形 凡生, 藤田 博之, 塩崎 修志, 堀内 昭作, 河瀬 憲次, 加藤 彰宏. AVGによるウンシュウミカン生理落果の制御. *園芸学雑誌*, 66, pp.235-244, 1997.
- [5] 田中 隆. 植物ポリフェノールに関する化学的研究とその紅茶色素生成機構解明への展開. *薬学雑誌*, 128, pp.1119-1131, 2008.
- [6] 森 太蔵, 岩本 嘉伴. 温州ミカン果汁中のヘスペリジンの挙動に関する研究-II. *東洋食品研究所研究報告*, 16, pp.45-50, 1985.
- [7] 原 耕三, 橋本 仁. サイクロデキストリンの応用. *澱粉科学*, 33, pp.152-161, 1986.