

クワ葉茶の製造方法が色調, 可溶性総ポリフェノール含量 ならびにラジカル捕捉活性に及ぼす影響

鶴永 陽子*・斉藤 真苗**・三島 晶太***

Yoko TSURUNAGA, Minae SAITO and Shota MISHIMA

Effects of Manufacturing Method on Color, Radical-Scavenging Activity, and Soluble Total Polyphenol Content in Mulberry Leaf Tea

要 約

島根県で茶用として栽培されているクワ葉について、蒸熱および焙煎処理の温度と時間の違いがクワ葉茶の色調、可溶性総ポリフェノール含量およびDPPHラジカル捕捉活性におよぼす影響について検討した。その結果、目指す製品によって適する処理方法が異なることが明らかとなった。緑色の退色結果から判断すると、蒸熱処理よりも焙煎が大きく影響し、緑色を保持したクワ茶を製造するためには焙煎処理条件は150℃以下が好ましいことがわかった。可溶性総ポリフェノール含量およびDPPHラジカル捕捉活性の結果から判断すると、機能性の高いクワ茶を製造するためには蒸熱処理温度は80℃以上が良いことがわかった。さらに、可溶性総ポリフェノール含量は焙煎温度で大きく左右されないが、DPPHラジカル捕捉活性は250℃ 3分間以上の焙煎処理で活性値が対照区と比較して高くなることがわかった。

【キーワード：製造方法, クワ葉茶, 可溶性総ポリフェノール, ラジカル捕捉活性, 色調】

茶には多くの生理的機能があることが近年の研究によって明らかにされている。例えば、緑茶の抗酸化性¹⁾、血圧上昇抑制作用¹⁾、血糖上昇抑制作用¹⁾、抗ウイルス作用¹⁾などの機能性が明らかにされている。また、ツバキ科のチャ葉以外の材料から作られた健康茶も消費者の安全、健康維持の志向を背景に機能性が評価されてきている。

一方、原料供給の面から健康茶をみた場合、いわゆる地域資源と分類される在来種には、優れた機能性を有した未利用植物が数多くあることから^{2)~4)}、それらは健康茶素材として有望視されている。また、全国各地で地域資源を地域振興や新産業の創出に活用する動きが活発化している。民間薬として利用されることもあるクワは、その機能性成分についても注目されており、クワ葉の食品機能をまとめた研究も報告されている⁵⁾。島根県内では江津市桜江町でクワの葉および果実の栽培が盛んで、その加工品は特産品となっている。クワに関しては、島根県産業技術センターが実施した勝部ら^{6) 7)}の一連の報告がある。それらによると、クワ葉に含まれるフラボノールには抗酸化作用があり⁶⁾、クワ茶製造の際の乾燥温度はフラボノール含量に大きく影響を与えることが明らかにされているもの⁷⁾、他の製造工程については研究がなされていない。筆者らは、これまでに柿葉茶、ヤマモモ葉茶について、蒸熱や焙煎などの条件によって機能

性成分が大きく影響を受けることを報告しており^{8)~10)}、クワ茶についても同様のことが考えられる。

そこで、本研究ではクワ葉茶の蒸熱ならびに焙煎処理が茶葉の色調、DPPHラジカル捕捉活性、可溶性総ポリフェノールに及ぼす影響について検討し、クワ葉茶の高付加価値化に資することを目的とした。

研究方法

(1) 原料

クワは、平成23年9月に桜江町桑茶生産組合（島根県江津市）より入手した。葉を十分に洗浄し、水切りを行った。その後、一晚冷蔵で保存したものを製茶試験に供した。

(2) クワ葉茶の製造方法

蒸熱、乾燥、粉碎、焙煎処理の順に処理を施した。製茶行程および処理方法を図1に示す。

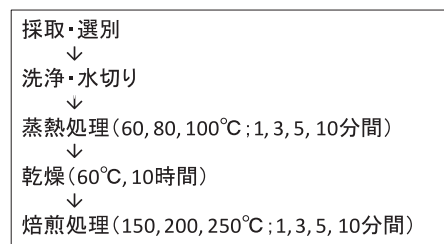


図1 クワ葉茶の製造工程

対照区は、蒸熱処理を施さず、乾燥を60℃10時間実施して製造。なお、焙煎処理も施していない。

* 島根大学教育学部自然環境教育講座

** 道草プロジェクト代表

*** 島根県農業技術センター栽培研究部果樹科

1) 蒸熱処理

蒸熱処理は, ポリフェノールオキシダーゼなどの酸化酵素群を失活させ, 製造中のポリフェノールおよびアスコルビン酸の酸化を防ぐ¹¹⁾。本研究では, 抗酸化活性および抗酸化成分を保持させるための最適な蒸熱処理温度および蒸熱処理時間を検討した。具体的には, 蒸熱処理温度として60℃, 80℃, 100℃処理区を, 蒸熱処理時間として0分, 1分, 3分, 5分, 10分間処理区を設定した。蒸熱処理を行わなかった対照区は乾燥(60℃)のみを行った。蒸熱60℃, 80℃処理区はスチームコンベクションオープン(SANYO社製, SOB-VS10)を用いた。蒸熱100℃処理区は電気式蒸し機(T-fal社製, スチームクッカーウルトラコンパクトVC100571)を用いた。いずれの処理区においても, 葉が重ならないようにならべた後, 蒸熱処理を施した。

2) 乾燥処理

蒸熱処理の後, 乾燥機(YAMATO社製, DN-61)で乾燥を60℃で10時間実施した。

3) 乾燥葉の粉碎処理

オスターブレンダー(SUN BEAM OSTER社製, Osterrizer 16-speed)で細かく粉碎し, ふるい(1mmメッシュ)にかけた。その後, ラミジップに封入し, 分析時まで保存した。

4) 焙煎処理

焙煎処理には, 焙煎香を付与し, 苦味を軽減し, 飲みやすくする効果がある。しかし, 焙煎処理は高温加熱処理であるため, 有効な抗酸化成分が分解される可能性もある。そこで, 抗酸化性の面から, 最適な焙煎温度および時間を検討した。焙煎処理温度として150, 200, 250℃処理区を設定し, それぞれの温度処理区について焙煎処理を0, 1, 3, 5, 10分間施した。なお, 焙煎処理の検討には, 蒸熱無処理のクワの乾燥葉を用い, 焙煎処理にはホットプレート(AS ONE社製, HI-1000)を使用した。

(3) 分析方法

1) 色調

色差(L*値, a*値, b*値)は島津製作所製分光光度計UV-3100で測定し, カラー解析ソフト(P/N206-65207)により算出した。その際, スリット幅2.0nm, サンプルングピッチ0.5nmの条件とし, 硫酸バリウムを標準白色物質としてベースライン補正を行った。

2) 抽出方法

ポリフェノールの分析は, 抽出効率を良くするため含水アルコールで行うのが一般的である¹²⁾。しかし, 本研究では茶としての評価を目的とするため, 抽出溶媒に熱水を用いた。試料200mgに純水20mlを添加し, 沸騰水中で10分間加熱抽出し, 50mlに定容後濾過した。

3) 可溶性総ポリフェノール含量

可溶性総ポリフェノールは, フォーリンチオカルト試薬を用いたフォーリン法¹³⁾によって測定し, (+)-カテキン相当量として表した。

4) DPPHラジカル捕捉活性

ラジカル捕捉活性の測定は, 安定的なDPPH

(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)ラジカルを用いる須田¹⁴⁾の方法に準じて, ビタミンEの合成類似物質であるTrolox(6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid)相当量で表した。

結果および考察

(1) 色調

L*値a*値b*値表色系(JIS Z 8729)を用いて測定した。蒸熱処理による色調変化を図2に, 写真を図3に示す。

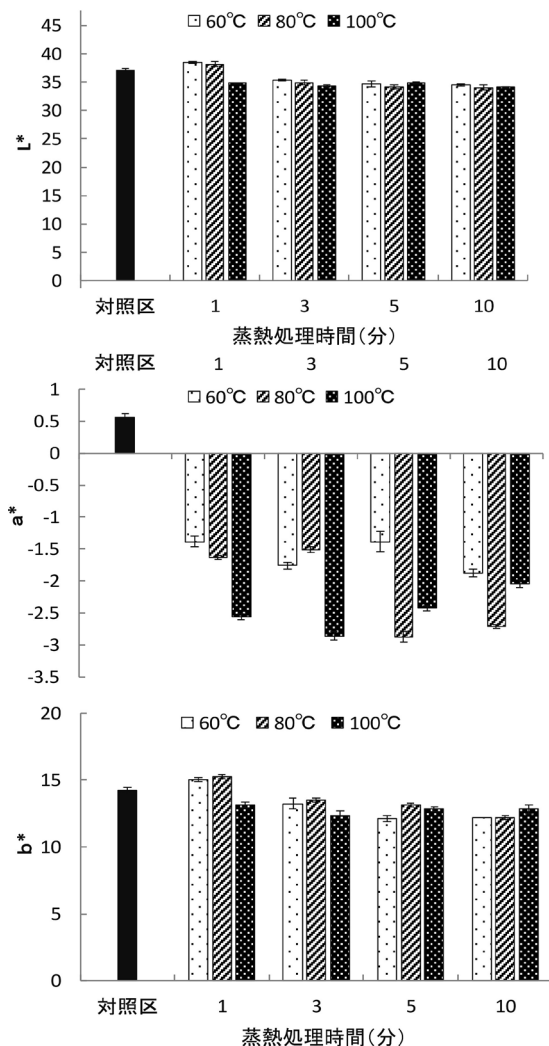


図2 蒸熱処理が色調に及ぼす影響
平均値±標準誤差 (n=7)

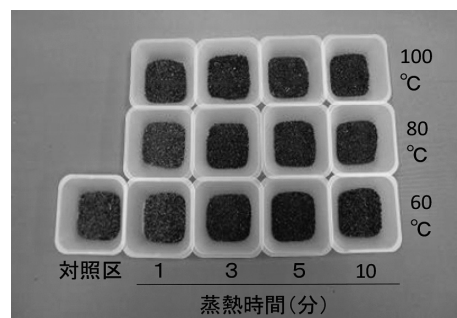


図3 蒸熱処理が茶葉の外観に及ぼす影響

L*値ならびにb*値は蒸熱処理の温度および時間の影響は少なく、それぞれ+34~38, +12~15の範囲であった。a*値は対照区が+0.6で、蒸熱処理を施した区では-1.3~-2.9となりマイナスの値を示した。a*値はプラス側で赤、マイナス側で緑であることを意味している¹⁵⁾ことから、蒸熱処理を施したクワ葉茶は対照区と比較すると緑色が強いといえる。特に、蒸熱処理温度が80℃の場合は、処理時間3分間のa値が-1.5であるのに対し、5分間では-2.9となり最も緑色を残すことが出来た。蒸熱処理温度が100℃の場合は処理時間3分間で最も緑色を鮮やかにすることができた(図3)。以上のことをまとめると、蒸熱処理によって影響を最も受けるのはa*値で、クワ葉茶は緑色が鮮やかな製品が好まれることから、蒸熱温度80℃の場合は5分間、100℃の場合は3分間が最も適切であり、過度の蒸熱処理を行うとa*値が上昇し、緑色が退色することが示された。クロロフィルは酸に対して非常に不安定で、酸性条件下ではフェオフィチンに変化し、緑色が著しく退色することが知られている¹⁶⁾。本研究において、過度の蒸熱処理で葉の緑色が退色した理由として、80℃では5分、100℃では3分以上の蒸熱処理により葉の表皮や葉肉細胞などの細胞壁が損傷し、クワの葉に含まれる酸性物質がクロロフィルと接触したことが原因と考えられた。

次に、焙煎処理による色調変化を図4に、写真を図5に示す。L*値(明度)について、焙煎処理150℃区は焙煎時間の長短に関わらず、ほぼ一定の値を示し、対照区とほぼ同程度の値を示した。200℃および250℃では焙煎時間が長くなるにつれて値が低下した。特に250℃でその傾向が顕著であった。a*値は、焙煎処理を行わなかった対照区が最も負の値が大きく、焙煎処理を行うことでa*値の値が高まる傾向が認められた。その程度は焙煎処理温度および時間に大きく左右されていた。焙煎処理200℃処理区では3分間処理区で、焙煎250℃処理区では1分間処理区でa*値がプラスに転じた。焙煎処理150℃区はb*値はその時間の長短に関わらず、対照区とほぼ同程度の値を示した。200℃および250℃では焙煎時間が長くなるにつれて値が低下する傾向が認められ、その傾向は250℃処理区で顕著であった。これらのことから、150℃処理区では処理時間を長くするとa*値が増加し緑色が少しずつ退色するが、L*値、b*値は大きく影響を受けないことがわかった。一方、焙煎温度200℃以上の処理区では、a*値が大幅に増加し赤みが増すことから、時間が長くなるほど褐変が進むことがわかった(図4、図5)。

200℃以上の焙煎処理を行うことで、茶葉は顕著に褐変化するが、それはアミノカルボニル反応が関与していると考えられる。Ananは緑茶葉の焙煎について、モデル実験を行い、アミノ酸の一種であるテアニンとグルコースの反応によりアマドリ化合物が生成されることを確認し報告している¹⁷⁾。さらに、アミノカルボニル反応は、一般的に加熱温度が10℃上がると、反応速度が3~5倍速くなるといわれているため¹⁸⁾、温度によって褐変の程度が異なり、150℃では褐変が認められなかったが(図5)、

200℃および250℃の高温処理区では茶葉が著しく褐変したものと推察された。

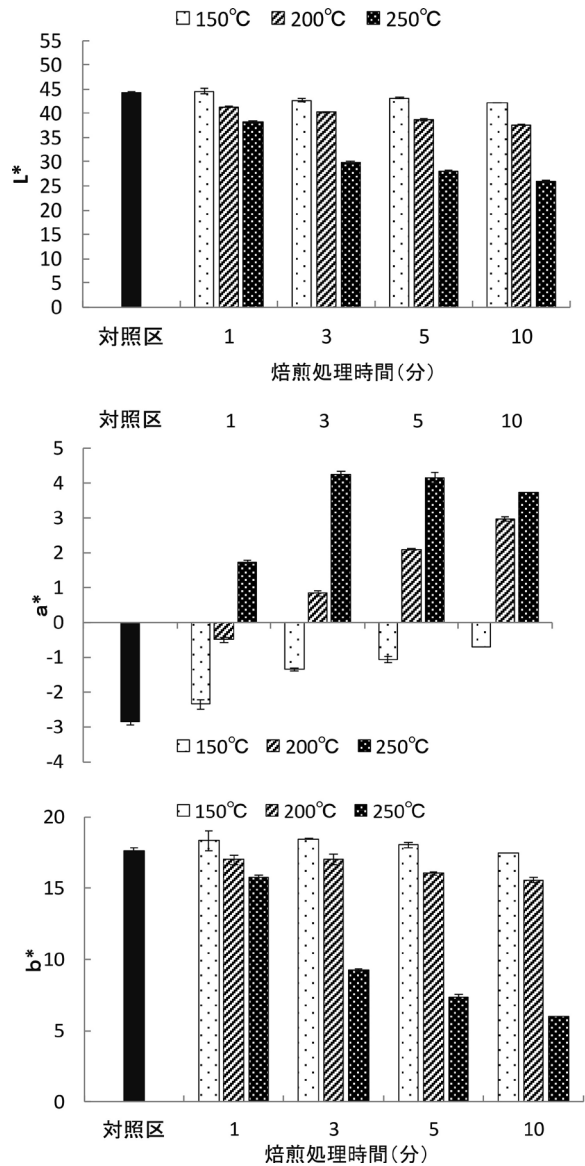


図4 焙煎処理が色調に及ぼす影響
平均値±標準誤差 (n=7)

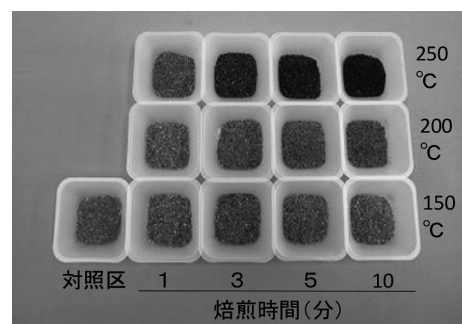


図5 焙煎処理が茶葉の外観に及ぼす影響

(2) 可溶性総ポリフェノール含量

蒸熱処理が可溶性総ポリフェノール含量に及ぼす影響を図6に示した。蒸熱処理を施すことで、ポリフェノー

ルオキシダーゼなどポリフェノールの酸化に関与する酵素群が失活し、可溶性総ポリフェノールの残存量が高まることが予想されたが、本実験でその効果は確認できなかった(図6)。また、60℃処理区においては、3分、5分ならびに10分処理区において対照区よりも可溶性総ポリフェノールの値が低い結果となった。これはポリフェノールオキシダーゼが作用したことによるポリフェノールの重合(不溶化)が原因と推察している。ポリフェノールオキシダーゼは比較的熱に対して抵抗性があることが知られ、これを完全に失活させるためには80℃で10~20分の加熱処理が必要と考えられている¹⁹⁾。60℃処理区では、失活温度に到達しておらず、逆にポリフェノールオキシダーゼが積極的に作用したと考えられる。今後ポリフェノールオキシダーゼ活性を測定し、原因を明らかにする必要がある。

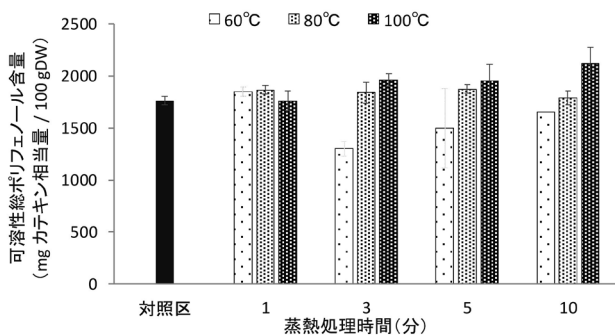


図6 蒸熱処理が可溶性総ポリフェノール含量に及ぼす影響
平均値±標準偏差 (n=6)

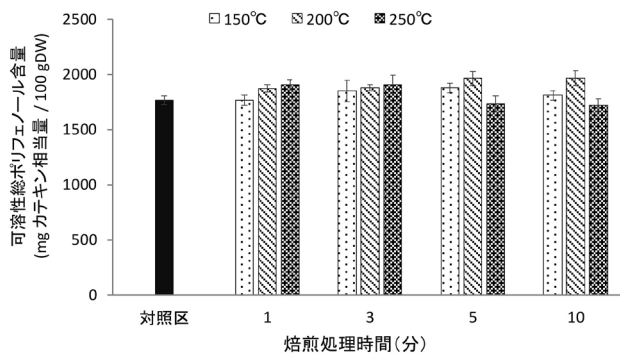


図7 焙煎処理が可溶性総ポリフェノール含量に及ぼす影響
平均値±標準偏差 (n=6)

焙煎処理が可溶性総ポリフェノール含量に及ぼす影響を図7に示した。蒸熱処理を行った処理区の可溶性総ポリフェノール含量は1,300~2,120mgカテキン相当量/100g DW (図6)で、焙煎処理をおこなった処理区の可溶性総ポリフェノール含量は1,720~1,970mgカテキン相当量/100g DW (図7)であった。

我々は、柿葉茶の焙煎処理温度および時間と抗酸化成分含量について検討し、柿葉茶の主要なポリフェノールとされるアストラガリンおよびイソケルシトリンは、150℃の焙煎処理では時間を長くしても微減にとどまり、200℃および250℃以上では大きく値が減少し、特に250℃処

理区では1分間で両成分とも完全に分解されることを報告している²⁰⁾。さらに、アカメガシワでは、250℃の焙煎処理で可溶性総ポリフェノール含量が激減した¹⁰⁾。しかし、クワ葉茶では焙煎温度および時間が可溶性総ポリフェノール含量に及ぼす影響は、これまで筆者が報告した柿の葉²⁰⁾ならびにアカメガシワの葉¹⁰⁾よりも小さいことがわかった。以上のことから、可溶性総ポリフェノール含量の高いクワ葉茶を製造する場合、焙煎処理よりも蒸熱処理が大きく影響し、蒸熱処理温度は100℃処理が適していることがわかった。

(3) DPPHラジカル捕捉活性

蒸熱60℃処理区では、対照区と比較すると蒸熱処理3分以上の区では活性が低くなった。蒸熱80℃処理区は時間の長短に関わらずほぼ一定で、100℃処理区では蒸熱処理3分以上で活性が若干高くなった(図8)。これらのことから、クワ葉茶のDPPHラジカル捕捉活性に影響を及ぼす主成分は100℃の蒸熱処理でも分解されない比較的熱に強い成分であることが示唆された。

焙煎処理区については、150℃および200℃処理区では全ての処理時間で対照区と同程度の活性であった。250℃区では、対照区と比較して3分以上の処理区で活性が上昇し、焙煎1, 3, 5, 10分処理区で、それぞれ130, 211, 182, 164 (μmol トロロックス相当量/gDW)であった(図9)。

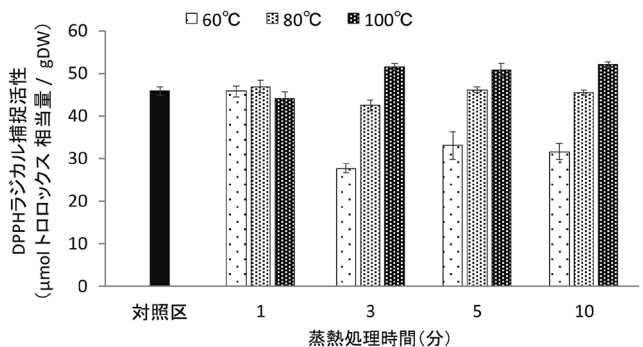


図8 蒸熱処理がDPPHラジカル捕捉活性に及ぼす影響
平均値±標準偏差 (n=6)

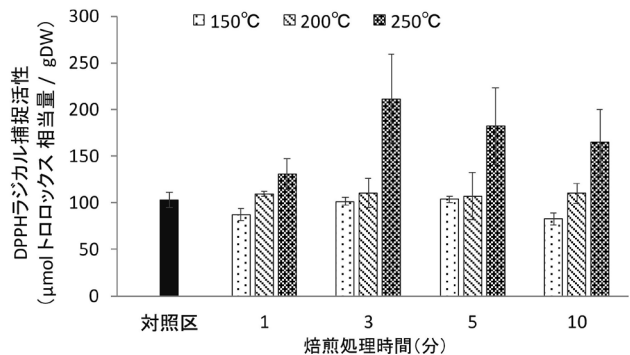


図9 焙煎処理がDPPHラジカル捕捉活性に及ぼす影響
平均値±標準偏差 (n=6)

焙煎処理区において対照区よりも活性が向上した処理区が確認された理由として、焙煎処理によって生じた褐変物質などの影響が考えられる。焙煎温度が高いほど茶

葉の明度が下がっている(図4)が、これは焙煎が高温加熱処理であるため、茶葉中のアミノ基とカルボニル基を含む成分によるアミノカルボニル反応がすすみ、メラノイジンなどの褐変物質が生成したものである。アミノカルボニル反応によって生成した褐変物質は抗酸化性を有する報告がなされている²¹⁾。また、焙煎250℃処理区の3分以上の処理区で焙煎時間が長くなるほど活性が低下した理由としては、焙煎の高温加熱処理によって、クワの抗酸化性を示す主成分の減少が考えられた。焙煎処理中には、アミノカルボニル反応による抗酸化性を示す褐変物質の生成、高温加熱処理による抗酸化成分の分解が同時に生じており、それらが複合的に作用してDPPHラジカル捕捉活性の値に影響したと考えている。よって、焙煎温度250℃3分間までは、焙煎処理による抗酸化成分の生成がその分解よりも大きかったため、対照区よりもラジカル捕捉活性値が高まるものの、3分以上の処理区からは抗酸化成分の分解がその生成を上回ったため、5分間、10分間と焙煎処理時間を長くするとラジカル捕捉活性が下がったものと推察している。

引用文献

- 1) 伊奈和男, 坂田完三, 富田勲, 伊勢村護: 茶の化学成分と機能, 弘学出版, 東京, p.105-119 (2002)
- 2) 勝部拓矢: ラット好塩基球白血病細胞 (RBL-2H3) を用いた脱顆粒抑制活性の測定, 県内食品素材の機能性成分の解析と高付加価値化食品の開発研究報告書 (平成11年度~平成13年度 県立試験研究期間連携推進事業), 島根県, p.116-120 (2002)
- 3) 豊川哲也, 鎌田康弘, 与座江利子: 県産資源を活用した機能性食品素材の開発, 沖縄工業技術センター研究報告, 35-57 (2000)
- 4) 増田俊哉, 小山保夫, 稲葉謙, 戸井由紀子, 荒田智裕, 竹田美雄, 仲本勝男, 國永秀樹, 西里さおり, 野中亮: 沖縄産食薬用植物エタノール抽出物の抗酸化関連活性, 日本食品科学工学会誌, 49, 662-661 (2002)
- 5) 八並一寿: 桑葉の食品機能, FOOD FUNCTION, 3, 127-138 (2007)
- 6) Katsube, T., Imawaka, N., Kawano, Y. and Yamazaki, Y.: Antioxidant flavonol glycosides in mulberry (*Morus alba* L.) leaves isolated based on LDL antioxidant activity, Food chemistry, 97, 25-31 (2006)
- 7) Katsube, T., Tsurunaga, Y., Sugiyama, M. and Furuno, T.: Effect of air-drying temperature on antioxidant capacity and stability of polyphenolic compounds in mulberry (*Morus alba* L.) leaves- Food Chemistry, 113, 964-969 (2009)
- 8) 鶴永 陽子, 高林 由美, 西 万二郎, 鈴木 芳孝: 市販柿葉茶22種類の総アスコルビン酸含量, アストラガリン含量, ポリフェノール含量およびラジカル捕捉活性の差異, 日本家政学会誌, 62, 437-444 (2011)
- 9) 鶴永 陽子, 松崎 一, 松本 敏一, 富川 康之, 板村 裕之: 製造工程がヤマモモ葉茶のアスコルビン酸含量, ポリフェノール含量およびラジカル捕捉活性に与える影響, 日本食品保蔵学会誌, 32, 221-227 (2006)
- 10) 鶴永 陽子, 山下 稚香子, 三島 晶太, 松本 敏一: 蒸熱および焙煎処理の温度および時間がアカメガシワ葉茶に及ぼす影響, 日本食生活学会誌, 25, 13-19 (2014)
- 11) 青柳康夫, 筒井知己: 標準食品学総論, 医師薬出版, 東京, p.170-171 (2007)
- 12) 津志田藤二郎: ポリフェノールの分析技術, 食品と開発, 40, 11-13 (2005)
- 13) Swain, T and W. E. Hillis: The phenolic constituents of *prunus domestica*. The quantitative analysis of phenolic constituents, J. Sci. Food Agric., 10, 63-68 (1959)
- 14) 須田郁夫: 食品機能研究法, 光琳, 東京, p.218-220 (2000)
- 15) 長尾慶子, 香西みどり編著: 調理科学実験で使う客観的測定法「調理科学実験」, 第2版, 建帛社, 東京, p.118-119 (2009)
- 16) 長澤浩子編著: 食べ物と健康「食品学・食品機能学・食品加工学」, 第2版, 医薬薬出版株式会社, 東京, p.84 (2014)
- 17) Anan, T.: Changes of Chemical Compounds during Green Tea Manufacturing, JARQ, 22, 195-199 (1988)
- 18) 青柳康夫, 筒井知己: 標準食品学総論, 医師薬出版, 東京, p.170-171 (2007)
- 19) 長澤浩子編著: 食べ物と健康「食品学・食品機能学・食品加工学」, 第2版, 医薬薬出版株式会社, 東京, p.123 (2014)
- 20) 鶴永陽子, 高林由美, 西万二郎: 市販柿葉茶 22 種類の総アスコルビン酸含量, アストラガリン含量, ポリフェノール含量およびラジカル捕捉活性の差異, 日本家政学会誌, 62, 437-444 (2011)
- 21) 下橋淳子: 褐変物質のDPPHラジカル消去能, 駒沢女子大学研究紀要, 37, 17-22 (2004)

謝 辞

クワ葉を提供頂きました桜江町クワ茶生産組合に深く感謝いたします。