

茶の不溶性タンパク質を酵素分解した新規調味料の開発*

小玉 誠^{*1}・水谷 政美^{*2}・高嶋 和彦^{*3}

Development of the new seasoning which carried out enzyme decomposition
of the insoluble tea protein

Makoto KODAMA, Masami MIZUTANI and Kazuhiko TAKASHIMA

嗜好品の価値が低下し需要の低くなる二番茶、三番茶の付加価値を高めるために、茶葉の食材化を検討した。茶葉に含まれる生理活性成分であるカテキンを活用しつつ、茶葉に含まれる多くのタンパク質を利用するために、酵素によりタンパク質を分解した調味料の開発を目指した。

本研究により、茶葉タンパクの処理に適切な酵素を選定し、また、カテキンの機能性を保持しつつその苦味を抑制する方法を明らかにした。これらの結果から、麹による処理が有効であることが示唆され、茶葉を原料とした味噌の試作を行った。

キーワード：茶、調味料、味噌、苦味抑制、麹

1 はじめに

宮崎県の荒茶生産量は3,230t(平成13年度)と全国第4位である。近年、一番茶の価格は安定しているが、苦味が増し嗜好品の価値の低下する二番茶、三番茶等の価格は半値以下となり、摘採や加工コストに合わなくなっている。このような二番茶、三番茶を用いた加工品を開発し、需要を高めることが望まれていた。

茶葉には多くのタンパク質が含まれていることが知られており、このタンパク質を利用し、調味料とすることが考えられた。酸加水分解し、タンパク質のアミノ酸化を試みた結果、茶の風味が消失し、また、茶の機能性成分であるカテキンを分解する結果が得られた。

そこで、酸分解ではなく、酵素を用いた茶タンパクのアミノ酸化により、茶の風味および生理活性機能を保持した調味料の開発を検討することとした。

本研究により、茶タンパクの処理に有効な酵素

剤を選定し、また、茶の苦味を抑制する方法を明らかとした。さらに、茶葉を原料とした味噌を試作したので、その結果を報告する。

2 実験方法

2-1 成分分析等

茶葉は、宮崎県総合農業試験場茶業支場より提供された「やぶきた」の二番茶を用いた。

全窒素はケルダール法により測定した。

遊離アミノ酸は、試料にアルコール濃度が80%となるようにエタノールを加え、遠心分離することにより除タンパクを行い、上澄液を減圧乾固させたものを0.02N HClで定容後、0.20 μ mのフィルターでろ過し、アミノ酸分析に供した。

タンパク質加水分解アミノ酸は、試料に6N HCl(1%フェノール)を加え、減圧雰囲気下で110 $^{\circ}$ C、24時間加水分解し、減圧乾固させたものを0.02N HClで定容後、0.20 μ mのフィルターでろ過し、アミノ酸分析に供した。

高速アミノ酸分析装置は、L-8800形(日立計測器サービス(株)製)を使用した。

総タンニン量の分析には酒石酸鉄吸光度法を用いた。

* 農林畜水産物を用いる食品開発に関する研究

*1 食品開発部

*2 応用微生物部

*3 現 中部農業改良普及センター

カテキン類の分析は後藤らの方法に基づいて、茶カテキンの主成分であるエピガロカテキンガレート(EGCg)、エピガロカテキン(EGC)、エピカテキンガレート(ECg)、エピカテキン(EC)、カテキン(C)、カフェイン(Caf)、没食子酸(Gal)の7成分の分析を行った。

2 - 2 酵素処理試験

茶葉タンパクを分解する酵素および酵素剤の選定を行った。試験には9種の酵素剤を用いた。

茶葉1gを100ml溶液中に分散させ、酵素剤を0.05g添加し、各酵素の最適pH、最適温度条件下で振盪し、24時間後の水溶性タンパク質の増加量を測定した。タンパク質量の測定は、Lowry-Folin法を用いた。

2 - 3 苦味抑制試験

5gの茶葉を100mlの熱水中で5分間抽出した抽出液を試験溶液とした。

ポリフェノールオキシダーゼの作用を検討するため、試験溶液にカキおよびリンゴの果汁を添加し、48時間後および120時間後のカテキン類の分析および官能評価を行った。

また、タンナーゼの作用を検討するため、同様の試験を行った。

2 - 4 味噌の試作

水分、塩分およびタンパク質量を一定とし、大豆と茶葉の配合比率を変化させた味噌を5種類試作した。配合方法を表1に示す。

表1 茶葉入り味噌配合割合

単位：g					
乾燥大豆	250	180	150	150	93.75
(蒸煮大豆)	(550)	(396)	(330)	(330)	(206)
茶葉(2番茶)	-	15	75	75	187.5
麦麹	250	187.5	187.5	187.5	187.5
塩	109.4	82.1	82.1	82.1	82.1
水	2.3	20	92	92	227
タンナーゼ	-	-	-	0.75	-
総仕込量	911.7	700.6	766.6	766.6	890.3
タンパク比 (大豆：茶)	-	25:1	4:1	4:1	1:1
重量比 (大豆：茶)	-	12:1	2:1	2:1	1:2

2 - 5 機能性評価試験

味噌醸造中において各酵素の働き等によりカテキン類が変化し、全体としての生理活性機能に影響を及ぼすことが考えられた。茶カテキンの生理活性機能としては活性酸素消去能が挙げられるため、その評価法としてDPPHラジカル消去能の測定を行った。

測定法は須田らの方法に基づいた。

3 結果及び考察

3 - 1 成分分析

茶葉のタンパク質量、遊離アミノ酸およびタンパク質加水分解アミノ酸の分析結果を表2に示す。

タンパク質量は、一番茶では22g/100g含んでおり、二番茶、三番茶の順に少なかった。しかし、二番茶、三番茶でも15g/100g以上のタンパク質を含んでいた。

遊離アミノ酸は、一番茶が最も多く、特に茶の甘味成分として知られるテアニンについては、一番茶では2300mg/100gであったのに対し、二番茶では560mg/100gであった。

表2 茶葉のタンパク質、遊離アミノ酸およびタンパク質加水分解アミノ酸 mg/100g

	一番茶	二番茶	三番茶	秋整枝
遊離アミノ酸				
Asp	221.0	174.4	143.0	190.8
Ser	133.0	80.7	67.0	94.4
Glu	330.6	254.1	202.5	380.5
The	2,295.6	560.5	284.9	953.3
タンパク質加水分解アミノ酸				
Asp	1,882.7	1,837.5	1,565.4	1,450.2
Thr	897.9	894.1	765.7	694.1
Ser	1,020.6	987.0	841.4	784.0
Glu	3,563.0	2,485.3	2,058.5	2,264.5
Gly	1,051.8	1,047.0	884.9	804.8
Ala	1,104.6	1,087.2	929.3	840.4
Cys	100.3	98.0	79.0	68.5
Val	989.3	986.3	837.5	730.3
Met	377.6	400.0	336.5	311.7
Ile	821.5	821.5	690.8	590.2
Leu	1,669.5	1,690.7	1,434.3	1,283.5
Tyr	718.4	696.8	606.8	539.1
Phe	926.8	943.7	806.3	723.3
His	479.8	481.6	397.1	349.9
Arg	1,473.6	1,183.0	980.8	963.4
Pro	918.0	941.9	800.8	709.6
タンパク質量	22,556.0	19,020.5	15,903.1	15,532.2

タンパク質加水分解アミノ酸を分析したところ、グルタミン酸が約2割を占め、アスパラギン酸、ロイシン等が多かった。アミノ酸組成を比較したところ、一番茶で若干グルタミン酸の比率が高かったが、他のアミノ酸についてはほとんど変わりはなかった。

以上のことから、茶葉が調味料原料となるために十分なタンパク質を保有しており、アミノ酸組成からもグルタミン酸、アスパラギン酸等の旨味を呈するアミノ酸を多く含むことが確認できた。

カテキン類の分析結果を図1に示す。一番茶で13g/100g含み、二番茶、三番茶となるに連れてカテキン類の総量は増加し、三番茶では15g/100g以上のカテキンを含んでいた。成分としてはEGCgを最も多く含み、EGC、ECg、EC等も多く検出した。

3-2 酵素処理試験

茶葉酵素処理液の24時間後の水溶性タンパク質増加量を図2に示す。

各酵素とも約60~70mgの水溶性タンパク質の増加量を示したが、特にプロチンFN、酸性プロテアーゼおよびスミチームFPが茶葉タンパクの処理に有効であることが示された。

3-3 苦味抑制試験

試験溶液にリンゴ、カキの果汁、タンナーゼ、味噌麹を加え、120時間処理後のカテキン類の分析結果を図3に示す。

カキ果汁添加物にはほとんど変化は見られなかったが、リンゴ果汁添加物ではカテキン類が全体的に減少した。タンナーゼを添加したものは、EGCgが著しく減少し、ECgが減少し、EGC、ECが増加した。味噌麹添加物においても、EGCgの減少が見られた。

官能試験を行ったところ、カテキン類の減少が確認されたリンゴ果汁添加物では、苦味が増強していた。一般的にタンニン酸化重合物は一量体タンニンよりも苦味強いことから、リンゴ果汁に含まれるポリフェノールオキシダーゼの作用により、カテキンが酸化重合を起こし、苦味のより強い成分が生成されたためと考えられた。また、タンナーゼを添加した溶液では、苦味の減少が見

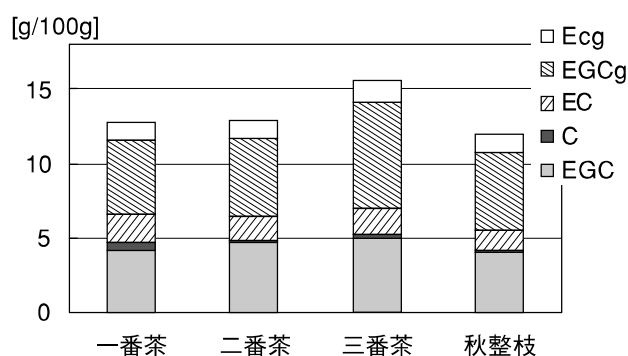


図1 茶葉中のカテキン類

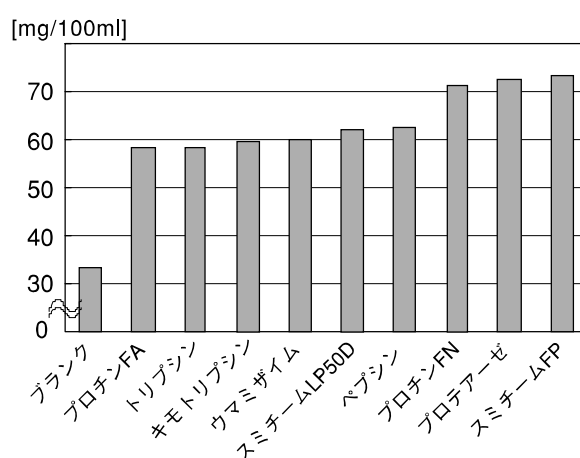


図2 水溶性タンパク質増加量

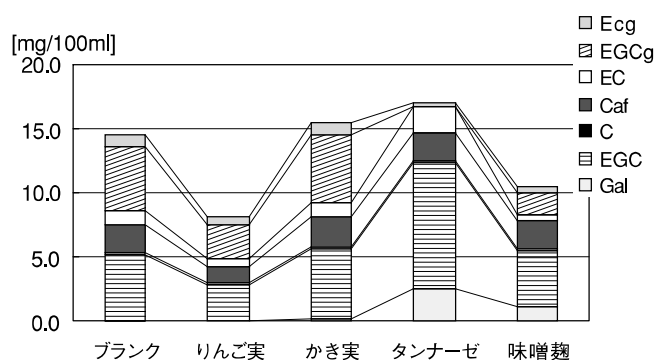


図3 試験溶液中カテキン類の変化

られた。これは、EGCgやECg等のガレート基を持つ成分がタンナーゼの働きにより、ガレート基を脱離し、苦味の弱いEGC、ECに変化したためと考えられた。味噌麹添加物についても苦味の減少が見られたが、これは麹菌がタンナーゼを生成しているため、タンナーゼ添加時と同様の効果が得られているためと考えられた。

表3 茶葉入り味噌1ヶ月醸造後分析結果

	仕込塩分	水分	全窒素	水溶性窒素	ホルモール窒素	タンパク溶解率	タンパク分解率	総アミノ酸量	グルタミン酸
	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[mg/100g]	[mg/100g]
ブランク	12	40.1	2.04	1.160	0.447	56.9	21.9	3,412.9	528.6
25:1	12	40.2	2.04	1.109	0.410	54.4	20.1	3,113.1	502.6
4:1	12	41.2	1.93	0.937	0.307	48.5	15.9	2,387.6	368.9
4:1+タンナーゼ	12	39.6	1.85	0.854	0.260	46.1	14.0	2,090.2	332.4
1:1	12	40.6	1.64	0.358	0.127	21.8	7.8	1,061.5	113.8

3 - 4 味噌の試作

酵素処理試験の結果から味噌麹から産出される酸性プロテアーゼが、茶葉タンパクの処理に有効であること、また、味噌麹が茶葉の苦味抑制に有効なタンナーゼを産出することが示唆された。

以上のことから、茶葉の酵素処理には麹を用いることが有効であると判断し、茶葉入り味噌の試作を試みた。

表1の配合割合で試作した味噌の1ヶ月後の分析結果を表3に示す。

茶葉含有量の多い味噌ほど、水溶性窒素、総遊離アミノ酸およびグルタミン酸量が低く、うまく醸造されていないことが示唆された。茶葉タンパク質の分解が効率良く進まなかったためとも考えられるが、茶葉の持つカテキンが強い抗菌性を持つため麹菌が死滅した影響も考えられた。

呈味的にも茶葉を多く含む味噌は、味噌本来の旨味が弱く、呈味性も低かった。しかし、配合の味噌は味噌本来の旨味は低く味噌としての価値は低いものの、茶の風味や特有の苦味・甘味等を持ち、活用法によっては新規調味料原料として利用できると考えられた。

この茶味噌を用いて、ドレッシングとふるふき大根の練り味噌を試作した。いずれについても、味噌の旨味と茶の風味を合わせ持つ調味素材を調製することができた。

3 - 5 機能性評価試験

配合、の味噌の配合直後と3ヶ月醸造後のDPPHラジカル消去能を測定した。

配合直後、3ヶ月後ともに、約500nmol Trolox相当量/mgを示し、タンナーゼの作用による、ラジカル消去能の減少は見られなかった。

4 まとめ

- (1) 茶葉タンパクの処理に適切な酵素剤を選定し、その1つに麹菌 (*Aspergillus oryzae*) から産出される酸性プロテアーゼが挙げられた。
- (2) カテキンを主体とする茶の苦味の抑制方法として、タンナーゼによる処理が有効であることを明らかにした。また、麹菌についてもタンナーゼを産出するため、同様の効果が得られることがわかった。
- (3) 麹菌が茶の処理に有効であることが示唆され、茶葉入り味噌の試作を行った。
- (4) 茶葉含有量が高いほど、発酵がうまく進まず、旨味の低い味噌が調製された。苦味は抑制され、茶葉の風味を持つ味噌が調製された。
- (5) 茶葉を食材とすることにより、茶葉の持つ機能性成分を効率良く摂取することができた。

今回試作した茶味噌は、醸造段階で茶葉を添加することにより、茶葉タンパクを麹により分解し調味素材とする目的があったが、茶葉タンパクの酵素処理自体は、効果が上がらなかった。一方、麹菌の生成するタンナーゼが茶カテキンの苦味抑制に効果があることが確認できた。

このため、茶葉を添加する味噌を製造する場合には、一般的に製造された生味噌の中に茶葉を添加することにより、茶由来の苦味を抑制し、茶特有の風味や甘味を引き立たせることが効果的と考えられた。このように製造した味噌は、茶の風味を持ちつつ、味噌由来の旨味を持つ調味料原料として、広く利用可能であると考えられた。

5 参考文献

- 1) 村松敬一郎．茶の科学．朝倉書店，1990．