

## 研究論文

## 剪定イチジク葉の有効活用に関する研究

鳥居貴佳\*<sup>1</sup>、近藤温子\*<sup>1</sup>、石川健一\*<sup>2</sup>

## Study on the Effective Utilization of Puned Fig Leaves

Takayoshi TORII\*<sup>1</sup>, Atsuko KONDO\*<sup>1</sup> and Kenichi ISHIKAWA\*<sup>2</sup>Food Research Center\*<sup>1</sup>

イチジク生産農家で剪定後に廃棄される葉を製茶原料に利用することを目的として、発酵、蒸し、焙煎が品質（色調、遊離アミノ酸量、ポリフェノール濃度、 $\beta$ -ヘキソサミニダーゼ遊離阻害率）に及ぼす影響を検討した。その結果、色調は発酵により a 値、b 値が未処理品と比較して高く、蒸しにより未処理品と比較して低くなった。遊離アミノ酸量は発酵により増加する傾向がみられたが、焙煎により減少した。ポリフェノール量及び $\beta$ -ヘキソサミニダーゼ遊離阻害率は発酵により増加する傾向がみられた。

## 1. はじめに

愛知県における平成 24 年度のイチジクの収穫量は 2726 t であり、栽培面積、産出額とともに全国 1 位である<sup>1)</sup>。主に生食用として消費される一方、規格外として取り扱われるイチジク果実や剪定後に廃棄される枝葉が多量に発生し、その用途の開発が求められている。我々は剪定後に廃棄される葉がイチジク茶に利用できると考え、発酵、蒸し、焙煎による成分の変化を検討した。茶の品質に重要な色調、旨みや苦渋味に関与すると考えられる遊離アミノ酸量やポリフェノール量、食品機能性に関して抗アレルギー作用（ $\beta$ -ヘキソサミニダーゼ遊離阻害率）の変化を調べた。なお、本報告の発酵とは紅茶や烏龍茶の製造と同様に葉に含まれる酵素等を作用させることである。

## 2. 実験方法

## 2.1 試料の調製

-20℃で凍結保存したイチジク葉（愛知県産、榊井ドーフイン）を材料とし、発酵、蒸し、焙煎を組み合わせてイチジク茶試料（試料 1 から試料 5）とした。蒸留水 100g あたり試料を 2g 添加し、沸騰後 15 分間保持した。放冷後に遠心分離を行い、上清を試料溶液としてそれぞれの分析に用いた。

## (1) 試料 1 の調製

イチジク葉に内在する酵素の作用による変化を抑制するために自然解凍後に電子レンジで約 15 分間急速加熱した。放冷後に 65℃で通風乾燥した。

## (2) 試料 2 の調製

自然解凍したイチジク葉を麺棒で揉捻し、25℃で発酵

させた。この後 65℃で通風乾燥した。なお、発酵時間はイチジク葉に含まれる内在酵素を十分に作用させ、品質の変化を顕著にするために 5 時間とした。

## (3) 試料 3 の調製

試料 2 と同様に自然解凍したイチジク葉を麺棒で揉捻し、25℃で 5 時間発酵させた。この後、加熱による品質の変化を検討するために万能蒸し器を用い、蒸籠に茶葉を広げて強い蒸気で約 20 分間処理した。放冷後に 65℃で通風乾燥した。

## (4) 試料 4 の調製

試料 1 と同様に自然解凍したイチジク葉を電子レンジで約 15 分間急速加熱し、放冷後に 65℃で通風乾燥した。焙煎による品質の変化を検討するために、フライパン上で加熱して色調が褐色になるまで焙煎した。

## (5) 試料 5 の調製

発酵と焙煎による品質の変化を検討するために、試料 2 と同様に自然解凍したイチジク葉を麺棒で揉捻し、25℃で 5 時間発酵させた後、65℃で通風乾燥した。これをフライパン上で加熱して色調が褐色になるまで焙煎した。

## 2.2 色調の測定

測色計（SE6000 型、日本電色工業(株)製）を用い、透過法により試料溶液の L 値、a 値、b 値を測定した。

## 2.3 遊離アミノ酸の測定

自動プレカラム誘導体化アミノ酸分析装置 Nexera X2 ((株)島津製作所製)を用い、以下の条件で測定した。

カラム:YMC Triart C18 1.9  $\mu$ m (3.0mmI.D.×75mm)

移動相 A : 20mmol/L リン酸緩衝液(pH6.5)

移動相 B : アセトニトリル/メタノール/水=45/40/15

\*1 食品工業技術センター 保蔵包装技術室 \*2 食品工業技術センター 保蔵包装技術室 (現産業技術センター 総合技術支援・人材育成室)

カラムオープン：35℃

検出器：RF-20Axs((株)島津製作所製)

Ex:350nm Em:450nm

## 2.4 ポリフェノール濃度の測定

2倍希釈したフェノール試薬（和光純薬(株)製）40μL、10%炭酸ナトリウム溶液100μL、蒸留水860μLおよび試料溶液40μLを混合し、暗所で1時間放置後に760nmにおける吸光度を測定した。タンニンを用いて検量線を作成し、試料溶液のポリフェノール濃度を求めた。

## 2.5 β-ヘキソサミニダーゼ遊離阻害率の測定

Sugiura らの方法<sup>2)</sup>に従った。肥満細胞のモデルとしてラット好塩基球白血病細胞（RBL-2H3細胞）を使用し、ウシ胎児血清、ペニシリンG、ストレプトマイシン含有 Minimum Essential Medium Eagle（シグマ社製）を用いて95% Air-5% CO<sub>2</sub>、37℃で培養を行った。細胞を播種し、ラットモノクローナル抗 DNP-IgE 抗体（アレルゲン IgE モデル）を培養液に加え、感作させた。細胞をタイロド緩衝液で洗浄した後、DNP-BSA（抗原モデル）を加え、細胞の脱顆粒を惹起させ、氷冷して反応を止めた後、上清を96ウェル平底マイクロプレートに移し、*p*-ニトロフェニル-N-アセチル-β-D-グルコサミドを加えて混和後、37℃で1時間反応させた。反応溶液に炭酸緩衝液（pH10）を加えて混和し、マイクロプレートリーダーにて吸光度405nmを測定した。以下の式によりβ-ヘキソサミニダーゼ（β-HEX）遊離阻害率（%）を求めた。

$$\beta\text{-HEX 遊離阻害率 (\%)} = \{1 - (C - D) / (A - B)\} \times 100$$

A：陽性対照の吸光度（試料の代わりにタイロド緩衝液を添加し、抗原刺激したもの）

B：陰性対照の吸光度（試料と抗原の代わりにタイロド緩衝液を添加したもの）

C：検体の吸光度（試料と抗原を添加したもの）

D：検体対照の吸光度（試料を添加し、抗原の代わりにタイロド緩衝液を添加したもの）

## 3. 実験結果及び考察

### 3.1 色調の変化

試料溶液の色調を測定した結果を表1に示す。試料1と試料2の試料溶液を比較すると、発酵によりa値、b値が増加し、赤みと黄色みが増した。一方、試料2と試料3の試料溶液を比較すると、蒸しによりa値、b値が低下した。試料1と試料4、試料2と試料5の試料溶液をそれぞれ比較すると、焙煎によりL値、b値の低下、およびa値が増加した。発酵による色調の変化は細胞内に含まれているポリフェノール等が空気中の酸素と接触

して酸化したために生じたものと考えられる。一方、蒸しによる色調の変化は蒸し器中で葉に付着する水蒸気により葉の内容物が溶出したために生じたものと考えられる。焙煎による色調の変化は一部の呈色成分が熱分解したために生じたものと考えられる。

表1 試料溶液の色調

	L値	a値	b値
試料1	60.5	3.5	29.0
試料2	57.5	8.8	32.8
試料3	61.0	4.5	30.1
試料4	42.1	20.1	27.8
試料5	35.3	22.6	23.6

### 3.2 遊離アミノ酸量の変化

甘味、苦味、酸味、旨味に関与する20種類の遊離アミノ酸量を測定した。結果を表2に示す。

表2 試料溶液の遊離アミノ酸量

	試料1	試料2	試料5
グリシン(甘味)	0.4	0.7	0.2
アラニン(甘味)	1.3	3.0	0.6
スレオニン(甘味)	1.1	1.7	0.2
プロリン(甘味)	0.3	1.2	0.1
セリン(甘味)	2.2	2.9	0.5
シトルリン(甘味)	0.4	0.4	0.1
リジン(甘味)	0.7	2.0	0.2
グルタミン(甘味)	0.7	1.1	0.1
フェニルアラニン(苦味)	1.1	2.2	0.1
トリプトファン(苦味)	0.6	0.8	0.1
アルギニン(苦味)	3.8	5.9	1.0
イソロイシン(苦味)	0.8	1.4	0.1
バリン(苦味)	1.2	1.9	0.2
ロイシン(苦味)	1.3	3.2	0.2
メチオニン(苦味)	0.0	0.5	0.0
オルニチン(苦味)	1.0	1.9	1.8
ヒスチジン(苦味)	1.0	0.9	0.2
アスパラギン酸(酸味・旨味)	2.4	2.7	1.1
グルタミン酸(酸味・旨味)	1.3	1.2	0.2
アスパラギン(酸味・旨味)	24.7	23.5	3.0

(単位:mg/100mL)

試料1の分析結果から、イチジク葉より遊離するアミノ酸はアスパラギン、アルギニン、アスパラギン酸、セリンが多く、中でもアスパラギンが他のアミノ酸よりも約10倍高濃度で遊離することがわかった。一般的な緑茶はテアニン含量が多く、グルタミン酸、アルギニン、アスパラギン酸が主要なアミノ酸である<sup>3)</sup>。本試験では

テアニン量の測定は行っていないが、緑茶とは遊離されるアミノ酸の種類と含有量が大きく異なり、イチジク茶の呈味は緑茶とは大きく異なると考えられた。

試料1と試料2の試料溶液を比較すると、発酵させることにより甘味、苦味に関与する多くのアミノ酸の濃度が高くなることがわかった。玉屋らは緑茶とびわ葉を発酵させた茶葉についての検討を行っており<sup>4)</sup>、発酵によりアミノ酸含量が低下することを報告している。現在のところ、アミノ酸濃度が高くなる要因が不明であり、更なる検討が必要である。

試料1と試料5の試料溶液を比較したところ、焙煎により多くのアミノ酸の濃度が低下した。これは加熱により分解されたために生じたものと考えられる。アミノ酸含量が減ることによりあっさりした風味になると考えられる。

### 3.3 ポリフェノール濃度の変化

ポリフェノールは苦味や渋味に大きな影響を与える。そこで、加工処理がポリフェノール濃度に与える影響を検討した。発酵を行った試料2と発酵を行っていない試料1および発酵後に焙煎を行った試料5の試料溶液のポリフェノール濃度を比較した。結果を図1に示す。

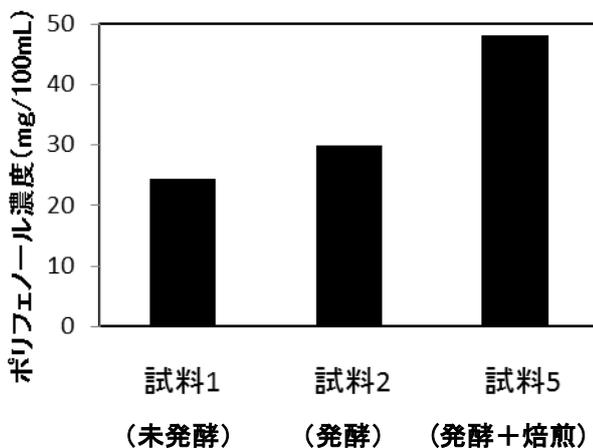


図1 加工処理によるポリフェノール濃度の変化

発酵を行った試料2と未発酵の試料1を比較すると、発酵によりポリフェノール濃度が約1.2倍高くなった。さらに発酵後に焙煎を行った試料5と試料2を比較すると焙煎を行うことにより約1.5倍高くなった。ポリフェノール総量が増加することは考えにくく、ポリフェノールの構造が加工により変化して測定に影響を与えていることが考えられる。一方、蒸しの影響を調べるために、発酵後に蒸しを行った試料3と発酵後に乾燥のみを行った試料2の試料溶液のポリフェノール濃度を比較した。結果を図2に示す。蒸しを行うことによりポリフェノ-

ール濃度が低下する傾向が認められた。これは蒸し器中で葉に付着する水蒸気により一部のポリフェノールが溶出したためであると考えられる。

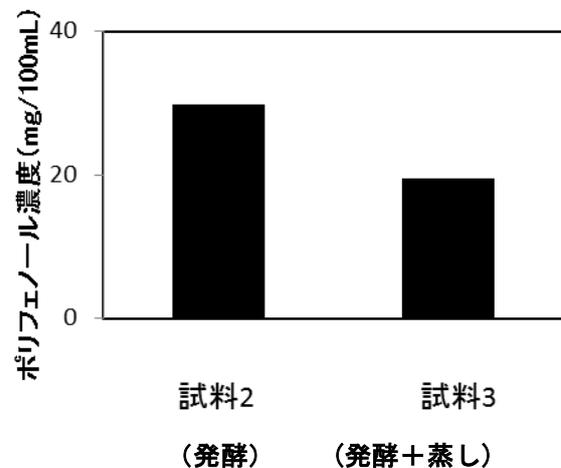


図2 蒸しによるポリフェノール濃度の変化

### 3.4 $\beta$ -ヘキサミンダーゼ遊離阻害率の変化

イチジク果実の抽出物には、 $\beta$ -HEXの遊離を阻害する活性が見出されており<sup>5)</sup>、アレルギーの予防や緩和が期待されている。イチジク葉にも $\beta$ -HEXの遊離を阻害する活性が見られれば、差別化できる大きな特徴となる。そこで、イチジク葉を乾燥させた試料1、発酵を行った試料2、発酵後に焙煎を行った試料5の試料溶液をそれぞれ細胞に添加し、 $\beta$ -HEX遊離阻害率の測定を行った。その結果を図3に示す。

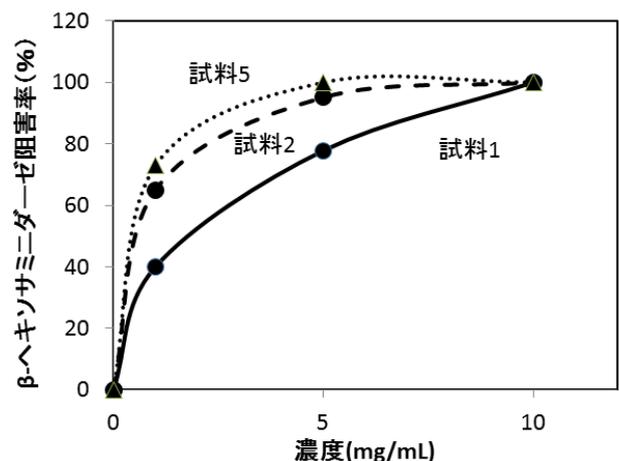


図3 加工処理による $\beta$ -HEX遊離阻害率の変化

どの試料も10mg/mLで細胞に添加するとほぼ完全に $\beta$ -HEXの遊離を阻害した。さらに発酵や焙煎を行うと $\beta$ -HEXの遊離を50%阻害する時の試料濃度(IC<sub>50</sub>)が低下し、 $\beta$ -HEXの遊離を阻害する効果が高くなるこ

とがわかった。この結果から新たな物質の生成が生じている可能性が考えられる。そこで物質の単離を試みるため、試料 1 と試料 2 の試料溶液をそれぞれ HP-20 樹脂に吸着させた。30%、60%、90%のメタノールで溶出操作を行い、得られた溶出面分の  $\beta$ -HEX の遊離阻害率を測定した。結果を図 4 に示す。

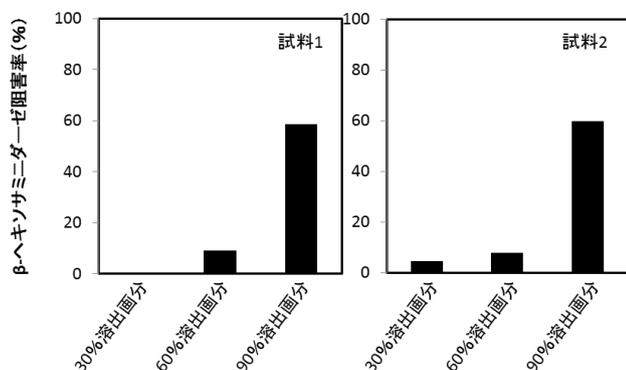


図 4 各種濃度のメタノール溶出面分の  $\beta$ -HEX 遊離阻害率の変化

30%メタノール溶出面分を添加した試験区において、発酵を行った試料 2 で約 10%の  $\beta$ -HEX 遊離阻害活性が認められた。一方、発酵をしていない試料 1 では認められなかった。この結果から、30%メタノール溶出面分には、発酵により生じた新たな  $\beta$ -HEX 遊離阻害活性を有する物質が存在していることが考えられる。

## 4. 結び

イチジク葉をイチジク茶として有効活用するために、加工処理（発酵、蒸し、焙煎）を行った試料溶液を調製した。その成分と機能性の変化について検討したところ、以下の結果を得た。

- (1) 色調は濃茶色を呈し、各加工処理により L 値、a 値、b 値が変化した。特に、焙煎することにより、L 値が大きく低下した。
- (2) 発酵により遊離アミノ酸量が増加する傾向がみられた。
- (3) 発酵や焙煎により  $\beta$ -ヘキソサミニダーゼの遊離を阻害する効果が高くなった。

今後、機能性を有する新規茶葉としての活用を目指していく予定である。

## 文献

- 1) 平成 24 年度特産果樹生産動態等調査（農林水産省）
- 2) Y.Sugiura, T.Torii, K.Matsuda and Y.Yamada : *Food Sci. Technol. Res.*, **15**(4), 423(2009)
- 3) 岩浅潔：茶の栽培と利用加工，P358(2001)，養賢堂
- 4) 玉屋圭，前田正道，宮田祐次，野田政之：長崎県工業技術センター研究報告，**8**，13(2008)
- 5) 鳥居貴佳，近藤徹弥，半谷朗，三井俊：愛知県産業技術研究所研究報告，**10**，82(2011)