

令和 3 年 6 月 14 日現在

機関番号：83303

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K14430

研究課題名（和文）メイラード反応が創出するほうじ茶の機能性解明

研究課題名（英文）Roasted tea functions created by maillard reaction

研究代表者

笹木 哲也（Tetsuya, Sasaki）

石川県工業試験場・化学食品部・専門研究員

研究者番号：00504846

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：緑茶を焙煎したほうじ茶は豊かな香りを持つ日本を代表するお茶であるが、その研究報告は少なく、機能性についても十分に解明されていない。そこで、本研究では、ほうじ茶の焙煎時に生じるメイラード反応に着目し、その反応生成物である香り成分とメラノイジンの機能性解明を試みた。その結果、ほうじ茶のおいしさ形成に重要な香り成分がピラジン類であることを特定し、そのピラジン類がリラックス効果を示すことを明らかにした。また、メラノイジンを含む高分子画分をほうじ茶から抽出し、その高分子画分の抗酸化性は焙煎が深くなるほど上昇することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

お茶は健康に良い飲み物として鎌倉時代に日本に伝来されて以来、和食に不可欠な飲料として生活の中に定着している。その中で、ほうじ茶は日本固有のお茶として独自の地位を築いてきた。ほうじ茶の機能性を明らかにする本研究の成果は、ほうじ茶の疾病予防等への活用の可能性を提案するとともに、ほうじ茶に日本型食生活・食文化における新たな地位を与えるものであり、ひいては日本茶の魅力向上が期待できる。

研究成果の概要（英文）：Roasted tea, a representative tea of Japan, has characteristic aroma generated by roasting at high temperature. In this study, the functionality of Maillard reaction product in roasted tea was investigated. First, pyrazines generated by roasting were important compounds to increase preference score in sensory evaluation. Second, pyrazines showed GABAA receptor activity and anxiolytic activity in mice which were the indicators of relaxing effect. Third, high molecular weight fraction separated from roasted tea shows antioxidative effect that were increased with an increase in the roasting degree of tea.

研究分野：食品科学

キーワード：ほうじ茶 香り成分 メイラード反応

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

緑茶を焙煎したほうじ茶は豊かな香りを持つ日本を代表するお茶であるが、その研究報告は少なく、機能性についても十分に解明されていない。一方で、ほうじ茶は日本固有のお茶として和食文化に深く根付いていることから、緑茶とは異なる新たな日本茶の機能性がほうじ茶に秘められているものと考えられる。緑茶と比較してほうじ茶に特徴的に含まれる成分は、焙煎時のメイラード反応(アミノ酸と糖の縮合反応)で生成する香り成分とメラノイジンである。これら成分に注目することで、ほうじ茶特有の生理活性の解明が期待できる。

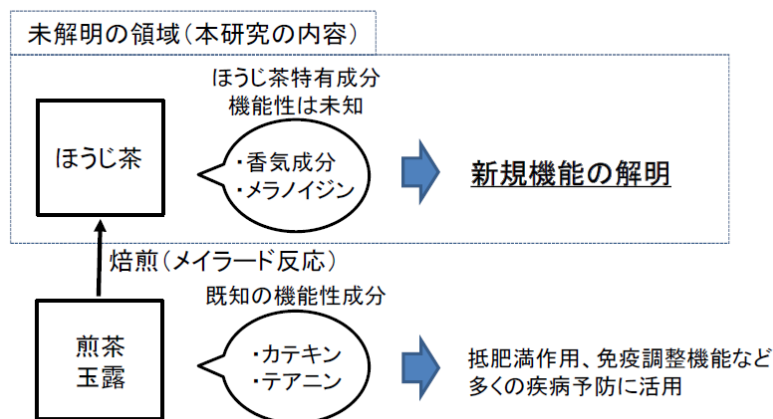


図1 研究戦略のイメージ図

2. 研究の目的

本研究は、ほうじ茶の焙煎時に生じるメイラード反応に着目し、その反応生成物である香り成分とメラノイジンの機能性を解明することで、ほうじ茶の新たな価値創造と新規食品素材や医薬品への活用の技術基盤確立を目指す。

3. 研究の方法

(1) おいしさ形成に重要な香り成分の特定

大学生による市販ほうじ茶の嗜好性評価を行い、Gas Chromatograph Mass Spectrometer (GC-MS) で得られた香り成分データと比較することで、おいしさ形成に重要な香り成分を特定する。またほうじ茶に含有する成分は多く、複雑な解析となることから、近年発達しているメタボローム解析の技術を活用する。

(2) ほうじ茶香り成分のリラックス効果の解明

ほうじ茶の主要香り成分であるピラジン類について、抑制性神経伝達を司る GABA_A 受容体への応答、およびマウスの十字迷路試験により抗不安効果を明らかにする。さらに、ほうじ茶についても同じ評価を行い、ほうじ茶の抗不安効果を明らかにする。

(3) ほうじ茶メラノイジンの分離と抗酸化性および構造評価

メラノイジンを含む高分子画分をほうじ茶から分離する方法を検討する。さらに、得られた高分子画分の抗酸化性などを評価し、その機能性を明らかにする。また、各種分光分析、成分分析により、ほうじ茶メラノイジンの構造を評価する。

4. 研究成果

(1) 市販ほうじ茶 6 商品について香り成分分析と官能評価を行い、メタボローム解析により各データの相関関係を解析した。官能評価は大学生 52 名による嗜好性試験とした。ほうじ茶の香り成分を Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE) 法で抽出し、回収した成分を GC-MS で分析した。また、分析成分の網羅性向上を目的として、ほうじ茶をシリル化剤で誘導体化した後、GC-MS することで、有機酸、糖の含有データを取得した。

香り成分と呈味成分のデータ統合し(全 135 成分)、主成分分析を行った。その結果、スコアプロットにおいて、官能評価で好まれたほうじ茶はプロット中心部に位置していたことから、平均的な香り成分パターンのほうじ茶が好まれていたことが確認された。また、好まれなかったほうじ茶はプロット中心部から大きく離れていたことから、香り成分パターンが大きく異なることが確認された。

Orthogonal partial least squares (OPLS) 回帰分析により、分析データから官能評価スコアを高精度で予測する式を作成した(図2)。また、各香り成分の variable importance in projection (VIP) 値を解析した結果、好まれたほうじ茶にはピラジン類が多く含まれ、好まれないほうじ茶にはアルデヒド類が多く含まれていることが確認された。ピラジン類は、ほうじ茶の香り成分の中でも最も香り寄与の高い成分であることも報告されている^{1,2}。これらの結果から、ピラジン類はほうじ茶のおいしさ形成に重要な香り成分であると言える

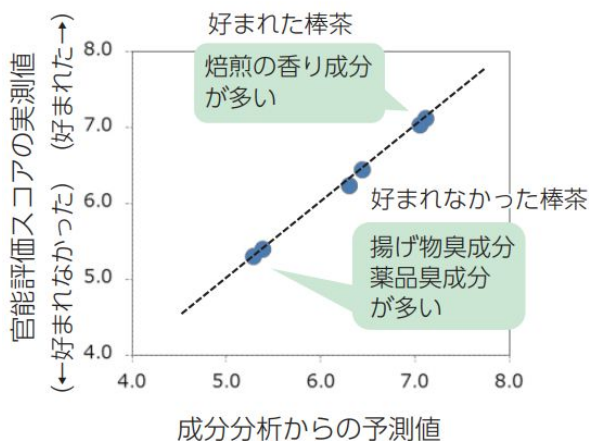


図2 官能評価スコアの予測値と実測値の相関性

(2) ほうじ茶香り成分のリラックス効果の解明

ほうじ茶の主要香り成分であるピラジン類をターゲットとして、そのリラックス効果を検証した。具体的には、中枢神経系においてリラックス効果に主要な働きをしている GABA_A 受容体をアフリカツメガエルの卵母細胞に発現させた後、ピラジン類の純品を灌流させた。GABA_A 受容体の活性は、二電極膜電位固定法により電気生理学的に測定した。その結果、一部のピラジン類で高い活性を示し(図3)、これらピラジン類は抗不安効果を有している可能性が示唆された。

さらに、動物実験によるピラジン類の抗不安効果を検証した。具体的には、腹腔内投与したマウスの高架式十字迷路試験により、オープンアームとクローズアームの侵入回数を比較した。その結果、ピラジン類を投与したマウスはコントロールのマウスよりも、オープンアームへの侵入率が優位に高く、ピラジン類の抗不安効果が示された。

ほうじ茶についても、GABA_A 受容体への活性評価、マウスの高架式十字迷路試験を行った。その結果、ほうじ茶は抗不安効果を示すことが明らかとなった。

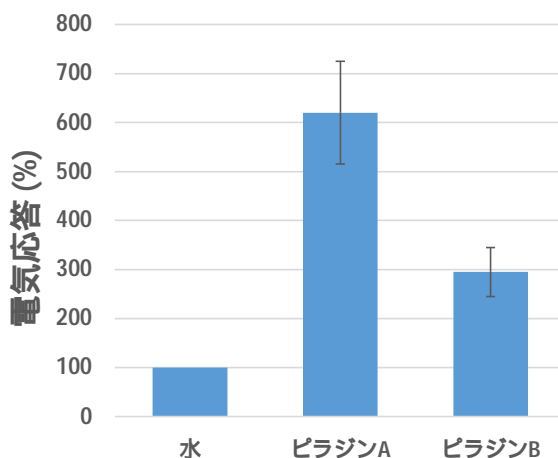


図3 ピラジン類のリラックス評価

(3) ほうじ茶メラノイジンの分離と抗酸化性および構造評価

メラノイジンを含む高分子成分をほうじ茶から抽出するため、限外濾過による抽出条件を検討した。加圧型の攪拌式限濾過装置を用いて、複数の限外濾過膜により抽出を試みた結果、公称分画分子量 5 kDa 以上のセルロース系限外濾過膜により、メラノイジンを含む高分子成分を回収できた。また、焙煎度の異なるほうじ茶を作成し、高分子画分の抽出を行った結果、焙煎の深

いほうじ茶ほど高分子成分の含有量は増加し、抗酸化性（ORAC 値）も焙煎が深くなるほど上昇する傾向を示した（図 4）。

メラノイジンの構造評価については、茶の高分子成分を分画分子量 5 kDa のセルロース系限外濾過膜、および分画分子量 5 kDa の遠心式限外濾過フィルターでメラノイジンを含む画分を回収し、この凍結乾燥粉末を評価試料とした。緑茶およびほうじ茶を試料として、焙煎による高分子成分の構造変化を、デュマ燃焼法による全窒素定量分析、赤外分光法、核磁気共鳴分光法により評価した。焙煎による窒素量変化、赤外分光スペクトルの変化は確認されなかったものの、核磁気共鳴スペクトルのガラツクロン酸由来ピークが鮮明になったことから、低分子化などの構造変化が示唆された。

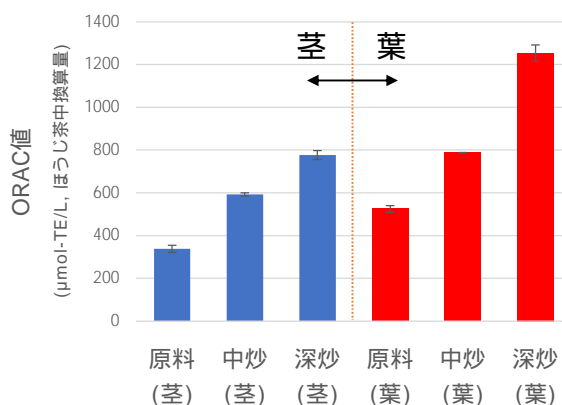


図 4 ほうじ茶高分子画分の抗酸化性

(4) まとめ

ほうじ茶のおいしさ形成に重要な香気成分がピラジン類であることを特定し、そのピラジン類がリラックス効果を示すことを明らかにした。また、メラノイジンを含む高分子画分をほうじ茶から抽出し、その高分子画分の抗酸化性は焙煎が深くなるほど上昇することを明らかにした。

< 引用文献 >

- 1) Sasaki, T., Koshi, E., Take, H., Michihata, T., Maruya, M., Enomoto, T. (2017). Characterisation of odorants in roasted stem tea using gas chromatography-mass spectrometry and gas chromatography-olfactometry analysis, *Food Chemistry*, Vol.220 (1), 177-183.
- 2) Mizukami, Y., Sawai, Y., Yamaguchi, Y. (2008). Changes in the Concentrations of Acrylamide, Selected Odorants, and Catechins Caused by Roasting of Green Tea, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol.56 (6), 2154-2159.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Sasaki Tetsuya, Tanase Yuuki, Yonezawa Toshihiko, Michihata Toshihide, Kawamura-Konishi Yasuko	4. 巻 24
2. 論文標題 Metabolomics Profiling of Roasted Stem Tea Using Gas Chromatography-Mass Spectrometry and a Sensory Test	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Food Science and Technology Research	6. 最初と最後の頁 1059 ~ 1067
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3136/fstr.24.1059	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Sasaki Tetsuya, Yuikawa Natsuko, Tanihiro Nana, Michihata Toshihide, Enomoto Toshiki	4. 巻 26
2. 論文標題 The Effects of Roasting Conditions on the Physical Appearance Traits and Aroma and Taste Components of Roasted Stem Tea	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Food Science and Technology Research	6. 最初と最後の頁 643 ~ 654
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3136/fstr.26.643	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ochiai Nobuo, Sasamoto Kikuo, Sasaki Tetsuya, David Frank, Sandra Pat	4. 巻 1628
2. 論文標題 Fractionated stir bar sorptive extraction using conventional and solvent-assisted approaches for enhanced identification capabilities of aroma compounds in beverages	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Chromatography A	6. 最初と最後の頁 461475 ~ 461475
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chroma.2020.461475	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 笹木哲也	4. 巻 287
2. 論文標題 加賀棒茶の香り	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 香料	6. 最初と最後の頁 57-64
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 笹木哲也, 櫻田美奈, 安藤史織, 宮澤利男, 小西康子
2. 発表標題 焙煎度の異なるほうじ茶のメタボローム解析
3. 学会等名 第12回メタボロームシンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 笹木哲也, 安藤史織, 落合伸夫, 宮澤利男, 笹本喜久男
2. 発表標題 ほうじ茶の官能評価特性と香味成分の評価～新規香気吸着法SA-SBSE を活用して～
3. 学会等名 日本食品科学工学会第66回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Seiya Tanaka, Takaaki Ishibashi, Tetsuya Sasaki
2. 発表標題 Study of metabolism for polyphenols using LC/MS/MS and metabolomics of Japanese green tea "Kaga Boucha" using GC/MS
3. 学会等名 The 7th International Conference on Food Factors (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山田康枝, 沖田裕司, 西居和哉, 矢吹智, 笹木哲也
2. 発表標題 ほうじ茶に特異的に含まれる成分の機能解析
3. 学会等名 日本農芸化学会2020年度大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山田康枝, 沖田裕司, 矢吹智, 西居和哉, 北村悠仁, 笹木哲也
2. 発表標題 ほうじ茶に特徴的な成分のGABAA受容体および神経芽細胞腫細胞株SK-N-SHへの効果
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	山田 康枝 (Yamada Yasue) (00166737)	近畿大学・工学部・教授 (34419)	
連携研究者	榎本 俊樹 (Enomoto Toshiki) (70203643)	石川県立大学・生物資源環境学部・教授 (23303)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------