

「八戸桑茶」の製造工程における 蒸し度と γ -アミノ酪酸抽出量の関係

片山 裕美[†]・田畑 智章^{††}・早狩 進^{†††}・高橋 晋^{††††}

Relationship between degree of steaming on manufacturing process and the amount of γ -aminobutyric acid extracted from “Hachinohe mulberry leaf tea”

Yumi KATAYAMA[†], Tomoaki TABATA^{††}, Susumu HAYAKARI^{†††} and Susumu TAKAHASHI^{††††}

ABSTRACT

In recent years, the production of special products using mulberry leaves has nationwide widespread for the reconstruction of mulberry gardens, which had been abandoned due to the decaying of the sericulture industry. Nanbu Soken Co., Ltd., located in Hachinohe city, Aomori prefecture, has developed "Hachinohe mulberry leaf tea" for the reconstruction of the mulberry gardens in Hachinohe city and Hashikami town. In this study, the relationship between the degree of steaming on manufacturing process and the amount of γ -aminobutyric acid (GABA) extracted from the tea was investigated by HPLC analysis. Quantitative analysis with a hydrolysis method revealed that the content of GABA in mulberry tea was reduced by 30% compared to them of original leaves. In addition, it was clarified that the extracted amount of GABA increased by 2.2 times through changing degree of steaming.

Key Words: Mulberry leaf, Mulberry leaf tea, γ -Aminobutyric acid, GABA, HPLC

キーワード: 桑葉, 桑茶, γ -アミノ酪酸, GABA, HPLC

1. はじめに

昭和初期の日本では全国の農家で養蚕業が盛んに行われていた。最盛期の昭和4年には、全国の農家の約40%にあたる220万戸が養蚕に従事し、

全耕地の約10%の62万ヘクタールで桑の栽培が行われていた。また、生糸や絹織物の輸出額は輸出総額の44%を占め、養蚕業は国内最大の輸出産業でもあった¹⁾。青森県内でも養蚕業は行われており、八戸市を含む三戸地域や上北地域で盛んに行われていた²⁾。しかし、昭和30年代以降になると和装需要の減退、生糸・絹製品の輸入増大等により、徐々に国内での繭や生糸の生産量は低落傾向を辿り、養蚕に用いられた桑園の多くが耕作放棄地となっていった。

近年、桑の葉に含まれる豊富な栄養成分が注目され、山梨県市川三郷町、群馬県桐生市、神

令和 4年 1月 31日 受付

[†] 工学部生命環境科学科・講師

^{††} 工学部生命環境科学科・学部4年

^{†††} 南部桑研株式会社・代表

^{††††} 工学部生命環境科学科・教授

奈川県相模原市、島根県桜江町などでは、養蚕向けでは無い、桑の葉や桑の実を用いた地域色豊かな特産品づくりに取り組む活動が行われている³⁵⁾。一例として、桑の葉には糖尿病予防のL-デオキシノジリマイシンや肥満予防の水溶性食物繊維、高血圧予防や精神安定作用をもつγ-アミノ酪酸 (GABA) などが豊富に含まれていることから⁶⁾、桑の葉を茶葉に加工した「桑茶」が、健康保持・増進機能となる食品成分を多く含む「機能性食品」として広く親しまれている。

青森県においても、八戸市にある南部桑研株式会社の階上工場では、遊休地となっている桑園の復興と地域振興を目的として、桑の葉の生産から桑茶の製造、販売までを行っている。同社では「機能性食品」としての桑茶の品質向上を目指し、桑茶に含まれる健康成分に主眼を置いた、成分ロスを少なくする製造工程を常に模索している。

そこで本研究では、同社商品の「八戸桑茶」の品質向上を目指し、加工前後の桑葉に含まれるGABAの定量分析を行った。具体的には、桑の葉および桑茶葉のGABA含有量の比較から茶葉に加工することによるロス量の評価、そして、製造工程の一つである蒸熱工程における蒸し度と桑茶葉からのGABA抽出量の関係性から、より多くのGABA抽出量が得られる条件の検討をした。

2. 実験方法

2.1 加水分解法による GABA の定量分析

南部桑研株式会社の桑園から採取 (2020年6月26日) した桑の葉を風乾した後、ミルで粉砕した粉末と、既存の製造工程で製造された「八戸桑茶 (煎茶タイプ)」 (図1) をミルで粉砕した粉末を加水分解法の試料とした。

試料中のGABA含有量の分析には、フェニルチオカルバニル (PTC) 誘導体化した後、UV検出器を用いた高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いた⁸⁻¹⁰⁾。

加水分解法による分析は以下の手順で行った。

桑の葉の粉末100 mgと6 N塩酸 5 mLをミニバキュームチューブ (8 mL容) に入れ、110 °Cのオイルバス中で、24時間の加水分解を行った。ろ過後、ろ液をエバポレーターで乾固させ、蒸留水10 mLを加え再度乾固させたものを、0.1 mol/L塩酸で溶解した。この溶液を20 μL分注し、減圧乾燥を1時間行った後、洗浄液 (エタノール : 蒸留水 : トリエチルアミン=2 : 2 : 1) 10 μLを加え、再度、減圧乾燥を30分間行った。そこに、PTC誘導体化試薬 (エタノール : 蒸留水 : トリエチルアミン : イソチオシアン酸フェニル=7 : 1 : 1 : 1) を20 μL添加し、室温で30分間の反応後、減圧乾燥を1時間行った。減圧乾燥後、サンプル希釈液 (50 mM リン酸ナトリウム緩衝液 pH7 : アセトニトリル=95 : 5) を100 μL加え、HPLC分析を行った。HPLCの分析条件は下記の通りである。また、表1にグラジエント条件を示す。



図1 八戸桑茶 (煎茶タイプ)
(製造日 2020年7月30日)

HPLC分析条件

装置 : SHIMADZU, LC-10Aシリーズ
カラム : Tosoh TSKgel ODS-120A (250×4.6 mm)
カラム温度 : 46 °C
流速 : 1 mL/min
注入量 : 10 μL
検出器 : UV検出器 (254 nm)

表1 グラジエント条件

時間 (min)	移動相A ¹ (%)	移動相B ² (%)
2.5	100	0
21.0	56	44
21.5	0	100
26.0	0	100
26.5	100	0

¹移動相A: 0.14M 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH6.4) : CH₃CN=94 : 6、

²移動相B: CH₃CN : H₂O=6 : 4、

2.2 熱水抽出法による GABA の定量分析

桑茶葉 1.0 g を蒸留水 100 mL に入れ、98 °C の熱水抽出を 30 分間行った。ろ過後、抽出液とアセトニトリルを 1:3 で混合し 30 分間静置したものを、1700 G で 15 分間の遠心分離し、上澄み液をエバポレーターで 5 mL 以下になるまで濃縮した。濃縮液から 20 μL 採取し、加水分解法と同様に誘導体化を行い、HPLC 分析をした⁸⁾。

3. 結果と考察

3.1 桑の葉および桑茶葉の GABA 含有量

茶葉に加工する前後の桑の葉の GABA 含有量を分析し、製品加工による GABA のロス量を求めた。

図2にPTC誘導体化した桑の葉(a)と八戸桑茶(b)の加水分解物のクロマトグラムを示す。いずれも約12.5分にGABA由来のピークが検出された。また、標準GABA溶液の測定から、未反応のイソチオシアン酸フェニル等に起因するピークが約29分~33分にみられた。その他のピークは、GABAと同様にPTC誘導体化されたアミノ酸であると考えられるが同定には至っていない。しかし、どのピークに関しても八戸桑茶の方がピーク強度が小さく、製品加工の工程でアミノ酸が減少していることが示唆される。

表2にHPLCクロマトグラムのピーク面積から算出した桑の葉と八戸桑茶のGABA含有量を示す。GABA含有量は桑の葉が4.35 mg/g-dry、八戸桑茶が3.13 mg/g-dryであり、本分析に使用した八戸桑茶では、製品加工する工程で約30%減少していることが明らかとなった。

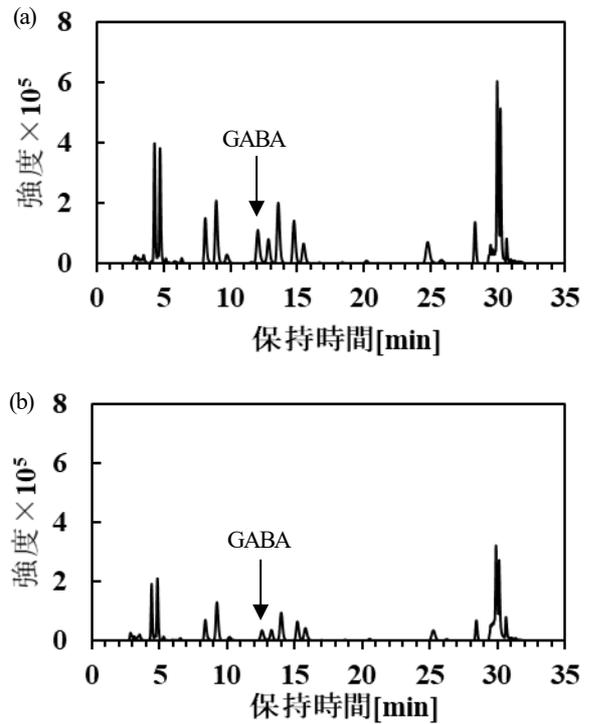


図2 PTC誘導体化した加水分解物のクロマトグラム
(a) 桑の葉, (b) 八戸桑茶

表2 桑の葉と桑茶の GABA 含有量

	GABA 含有量 [mg/g-dry]
桑の葉 ¹	4.35 ± 1.63
八戸桑茶 ²	3.13 ± 0.73

¹N=5, ²N=6

3.2 蒸し度と GABA 抽出量の関係

桑の葉を八戸桑茶へ加工する過程で、GABAの成分ロスが認められた。八戸桑茶は、収穫→洗浄→蒸熱→乾燥の工程で製造される。そこで、蒸熱工程の蒸し度を改善することで成分ロスを抑えられるのではないかと考えた。

図3(a)は実際使用している桑茶製造の蒸し器の写真である。白矢印に沿って洗浄後の桑の葉がベルトコンベアーに乗って移動し、筒状の蒸し器に入る。黄色丸印で示している部分にスチームを噴出する装置が2カ所取り付けられており、

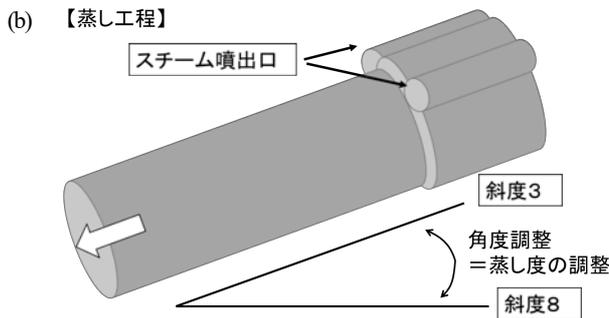


図3 桑茶製造に用いられている蒸し器
(a)蒸し器の全体写真, (b)蒸し器の模式図

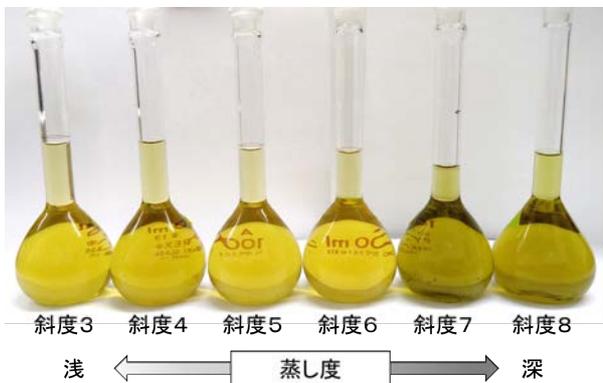


図4 斜度ごとの桑茶の比較

桑の葉はスチームを吹き付けられ筒状を移動する間に蒸されていく。図3 (b)の模式図で表すように、蒸し度は筒状の蒸し器の角度を変更することで蒸し具合を調整することが可能である。

図4に斜度ごとの桑茶の比較を示す。蒸し器の角度は斜度3～斜度8の6段階に調整することができ、斜度3が浅蒸し状態、斜度8が深蒸し状態となる。深蒸しになるほど桑茶の色は濃い緑色に変化しているのが分かる。

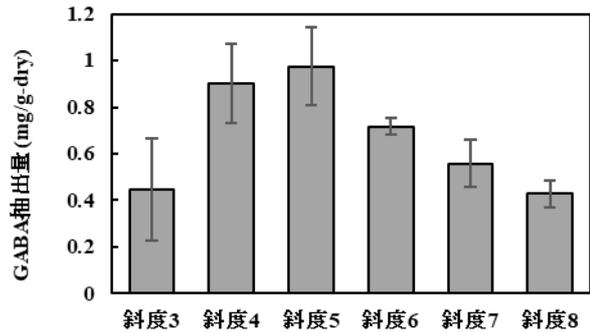


図5 斜度ごとのGABA抽出量の比較

加水分解法でGABA含有量分析に用いた八戸桑茶は斜度8の深蒸しで製造したものを使用した。そこで斜度ごとに製造した桑茶を、熱水抽出法によって溶出したGABA量の比較を行った。

図5に斜度ごとに製造した桑茶のGABA抽出量を示す。GABA抽出量は斜度3から斜度5にかけて大きくなり、最大1.0 mg/g-dryとなった。

桑葉は大きく硬い葉であるため、浅蒸しでは硬さが残り、熱水抽出してもGABAが溶出しにくい状態であると考えられる。一方で、斜度5から深蒸し状態になるとGABA抽出量が小さくなる傾向がみられた。深蒸し状態では蒸気ドレン水中にGABAが流出したと考えられる。

以上より、斜度によってGABA抽出量に大きく差が生じることが明らかとなった。加水分解法の試料に使用した斜度8と比べ、最も抽出量が多い斜度5は2.2倍多く抽出することが出来ている。また、同じ斜度8でも加水分解法では2.49 mg/g-dryの抽出量であったのに対して、熱水抽出法では0.43 mg/g-dryであり、加水分解法に対して約20%の抽出量となった。熱水抽出法ではGABAの大部分が茶殻に残留していることが分かった。

また、今回の検討では、斜度の違いが蒸す時間や桑葉の温度変化にどれほどの影響があるのか定量化できていない。今後、さらに製造工程と成分量の関係性を検討するためには、蒸し度の定量化が必要である。

4. まとめ

本研究では、八戸市にある南部桑研株式会社の商品である「八戸桑茶」の品質向上を目指し、加工前後の桑葉に含まれる GABA の定量分析を行った。加水分解法による桑の葉および桑茶葉の GABA 含有量の比較から、製品加工によって GABA 含有量が約 30%減少することが明らかとなった。また、製造工程の一つである蒸熱工程で使用する蒸し器の角度（斜度）を一段階ごと変更し、桑茶からの GABA 抽出量の比較をしたところ、最も深蒸し状態である斜度 8 から斜度 5 にすると抽出量が 2.2 倍に増加することが明らかとなった。斜度の変更により GABA がより多く含まれる桑茶への改良が可能となり、現在は斜度を変更してより多くの GABA を摂取可能な桑茶の製造を行っている。また、加水分解法と熱水抽出法の比較から、熱水抽出法では GABA の大部分が茶殻に残留していることが分かった。よって、すでに商品として販売されている微細粉化した桑茶葉を湯に溶かして飲むことが出来るパウダータイプは、未抽出分の GABA も効率的に摂取可能であると考えられる。

今後、さらに健康成分がより多く含まれる桑茶の開発を進めていくためには、蒸し度の定量化も必要であると考えられる。

謝 辞

本研究の一部は、令和2年度八戸市産官学共同研究開発支援事業（八戸インテリジェントプラ

ザ）の助成により行われました。また、桑葉の収穫の際にご協力いただきました、南部桑研株式会社の従業員の皆様に感謝申し上げます。

参考文献

- 1) 農林水産省, 今後の蚕糸業のあり方に関する検討会中間論点整理, 平成 18 年 8 月 11 日.
- 2) 児玉吉勝, 青森県の養蚕振興と今後の課題, 蚕糸技術, 第 121 号, pp.9-15, 1983 年
- 3) 農林水産省関東農政局, 平成 28 年度関東食料・農業・農村情勢報告, pp.39-43, 2017
- 4) ハンソンミン, 変革は人にあり ハンソンミンさん山梨県市川三郷町 株式会社桑郷代表取締役: 異国で一から始めた有数の桑茶会社 耕作放棄地に桑を植え将来三〇へクターに, AFC フォーラム, 67(9), pp.25-27, 2019
- 5) 町田順一ほか, (短報) 桑茶の製造方法, 群馬県蚕業試験場研究報告, 第 8 号, pp.27-28, 2002 年
- 6) 藤林真美ほか, GABA 経口摂取による自律神経活動活性化, 日本栄養・食糧学会誌, 61 巻 3 号, pp.129-133, 2008
- 7) 佐々木泰弘, 河野元信, ギャバ (GABA) の効能と有効接種量に関する文献的考察, 美味技術研究会誌, No.15, pp.32-37, 2010
- 8) 菅原龍幸, 前川昭男, 新食品分析ハンドブック, 建帛社, pp.38-39.
- 9) 宮崎絵梨, 大野一仁, 漬物の γ -アミノ酪酸, 食品中の健康機能性成分の分析法マニュアル, 平成 22 年
- 10) 太田敬子ほか, 高速液体クロマトグラフィーによる水耕栽培茶の遊離アミノ酸およびカフェインの同時定量, 日本農芸化学会誌, 69 巻 10 号, pp.1331-1339, 1995 年

要 旨

近年、養蚕業の衰退に伴い耕作放棄地となっていた桑園の復興のため、桑の葉を活用した特産品づくりが全国的に広まっている。青森県八戸市にある南部桑研株式会社は、八戸市や階上町内の桑園の復興のため「八戸桑茶」を開発した。桑茶には、血圧上昇抑制効果や精神安定作用のある γ -アミノ酪酸（GABA）が多く含まれていることが分かっているが、本製品の成分分析はこれまで検討されていなかった。

そこで本研究では、同社商品の「八戸桑茶」の品質向上を目指し、桑葉または桑茶葉に含まれる GABA の定量分析から、茶葉に加工することによるロス量の評価、および製造工程の一部である蒸熱工程における蒸し度と桑茶葉からの GABA 抽出量の関係性について検討した。加水分解法による GABA の定量分析から、桑茶への製品加工によって含有量が約 30%減少することが明らかとなった。また、蒸熱工程で使用する蒸し器の角度調整によって桑茶葉からの GABA 抽出量が 2.2 倍に増加することが明らかとなった。

キーワード: 桑葉, 桑茶, γ -アミノ酪酸, GABA, HPLC