県産食品資源に市場流通を促進するための評価技術の確立

－佐賀県産うれしの茶に対する味覚の客観的評価－

食品工業部
吉村臣史　鶴田裕美　澤田和敬
柘植圭介
茶業試験場
明石真幸　宮崎秀雄

各地域で生産した農林水産物や製造した加工食品における全国的な取組として，地域の特色を前面に出した独自ブランドが立ち上げられている．その取組の中で，農林水産業者や食品製造業者からは，食品素材や商品の風味を客観的に評価する技術の開発が求められている．本研究では，本県特産品の一つである「うれしの茶」をモデルとして，各種の機器分析を用いた風味に関する評価を行い，データの取得及びそれらデータの傾向の把握を試みた．その結果，味覚認識装置による分析において風味の全体的なバランス及び製法の違いや浸出時温度が風味へ及ぼす影響を評価できる可能性が示唆された．また，味覚認識装置による結果と他の機器分析による結果との相互解釈が困難な場合も見受けられた．今後は，マスキング効果など呈味に係る機能性などを考慮した詳細な検討が必要であると判断された．

１．はじめに

佐賀県において，農林水産業等の一次産業は主要産業の一つとしてあげられる（平成23年農業産出額1,243億円[1)]）．本県における全産業分野のうち，一次産業や食料品製造業，小売業，飲食店等の食品に関わる事業所数は，県内全事業所数の約22%，従業員数は全従業員数の約20%を占めている[2)]．各種製造業における製造品出荷額等においても，食料品・飲料製造業はおよそ3,445億円（県内製造業全体の約22%）であり，全国的にも著名な窯業や鉄鋼業，電子機器業等の製造品出荷額等を超える非常に重要な産業の一つである．このような状況の中，食料品・飲料製造に従事する事業者は中小事業者が多く，鉄鋼業や電気機器業と比較して事業所あたりの製造品出荷額等は半分以下となっており，今後の開発活動などの取組や技術的な支援が非常に重要である．

全国的な取組として，各地域の特色を表に出した独自ブランドを有した食品や，食品素材の機能性を活かした加工食品の開発など，農林水産物や加工食品の安全・安心，健康への配慮を強調した開発に重点が置かれている．食品の機能性に関する研究開発については，これまでも民間企業や大学，公設試等において積極的に取り組まれており，将来的に商品化されるものも増えてくるのではないかと予測される．

独自ブランド化への取組については，産地ごとに行政を交えた様々なブランドが立ち上がっており，本県では農業団体と連携し，厳しい基準で厳選した佐賀を代表する“最高級な”商品を創り出すことを目的に，「Premier-S」（プルミエ）というブランドネームを付して，積極的に首都圏や関西圏等への販路拡大に取り組んでいるところである．

そのような中，農林水産業者や食品製造業者からは，素材や商品の特徴・特性を客観的に把握し，消費者へのPR活動において提示することはできないか，というニーズが出されていた．食品の風味評価については，一般に難揮発性成分（主に味に関与）と揮発性成分（主に香りに関与）の2つに大別して実施され，検出された成分から，「旨味が強い」，「柑橘臭が強い」といった評価が行われている．これは，個々の成分が本来持つ特性と含有量から推察した結果であり，食品全体の風味を示したものとは言えない．

一方で，食品全体の風味を総括的に評価するための分析機器の開発がセンサー工学の観点から取り組まれており[3),4)]，現時点において数機種発売されている．そ

のような味覚認識装置により得られるデータは，客観的なデータであるものの，「苦味」，「旨味」などおおまかな味覚の方向性を示すものである．一方で，それぞれの食品において特有の官能評価用語があるが，その評価用語と味覚認識装置により得られた結果とが必ずしも一致するものではなく，食品独自の風味を示すことは非常に困難であるように思われる．そのため，当該装置による客観的なデータと官能評価用語との関連性を明確にするとともに，多くの基礎データに基づきデータの解釈を十分に吟味した上で風味評価に応用することが重要である．

個々の食品における味覚認識装置を用いた評価は幾つか報告[5)~7)]されているものの，風味を評価する基盤技術として体系的に検討，報告した例はほとんど見当たらない．最近では，医薬品開発においても風味の評価技術を導入する必要性について報告されており[8),9)]，農林水産業や食品関係業界に限らず，今後拡がっていくと予測され，学術的，基礎的な観点からの客観的な風味評価体系の確立が重要となる．

客観的なデータを得る利点として，他社や他産地との比較が容易になるとともに，自社製品の特徴把握や営業用 PR 資料への応用，食品開発への応用など様々な展開があげられる．

以上の背景から，本研究では風味を客観的に評価する技術の確立を目指すことを目的とする．本報告では本県特産品の一つである「うれしの茶」をモデル食品として，味覚認識装置並びに各種分析機器による測定を行い，基礎的なデータの取得及び得られる結果の傾向の把握を試みた．

２．実験方法

2.1 被験試料の準備

被験試料は，茶業試験場より提供いただいた．また，一部の分析では，「うれしの茶」の対照として量販店より茶葉を購入した．

2.2 茶浸出液の調製

(1) 抽出温度による茶の風味に及ぼす影響

蒸留水を予め所定の温度（50，70，90ºC）まで加温した．温水 200 mL に 4 g の茶葉を入れ，2 分間浸出後茶葉を取り出した．常温（室温）まで冷却後，ろ過（Size M1（JIS 規格 No.2 相当），150 mmi.d., Munktell & Filtrak GmbH,Germany）し浮遊物を除去した．

(2) 製茶方法の違いによる風味への影響

茶葉4 gをポリプロピレン製の茶漉し用袋に入れ，200 mLの熱湯を茶葉に直接触れるように注いだ．2 分間静置した後，茶葉の入った袋を取り出した．取り出す際には茶葉をしぼらず，自然落下にて回収できるものを粗浸出液として回収した．浸出液は，水蒸気漏れによる減量を防ぐために蓋をした状態で室温まで冷却した．冷却後，浸出液中に含まれる固形分をろ紙（Size M1（JIS規格No.2相当），150 mmi.d., Munktell & Filtrak GmbH,Germany）を用いて除去し，以後の各種分析用浸出液とした．

2.3 味覚認識装置による分析

(1) 茶浸出液の前処理

A 旨味測定用試料溶液の調製

茶浸出液中に含まれるポリフェノール類等の成分が味覚認識装置における旨味の測定に影響を及ぼすことから，分析前に除去処理を必要とする．この処理は，以下に従い行った．

茶浸出液にPolyvinylpolypyrrolidone（ナカライテスク株式会社製）を2%（w/w）以上となるように添加し十分に振とう，懸濁した後，4ºCにて一晩静置した．その後，4ºC，20,000 x *g*にて15分間遠心分離を行い，上澄み液をろ過した後，得られたろ液を味覚認識装置測定用試料溶液とした．

B 旨味以外の風味項目測定用試料溶液の調製

旨味以外の味覚については，前処理を行わずに測定可能であるため，茶浸出液をそのまま味覚認識装置における分析に供した．

(2) 味覚認識装置による測定

味覚認識装置は，インテリジェントセンサーテクノロジー社製 TS-5000Z（図 1，2009 年度電源立地地域対策交付金補助）を用いて行った．また，測定条件は任意に設定し測定を行った．

2.4 色彩の測定

紫外可視近赤外分光光度計（UV-3600，株式会社島津製作所製，2008 年度電源立地地域対策交付金補助）を用いて，2.2 節で調製した茶浸出液の吸収スペクトルを測定した．測定波長は，400 nm から 780 nm とし室温

において測定した．測定された吸収スペクトルから，機器付属のカラー測定ソフトウェア（UVPC カラー測定ソフトウェア Personal Spectroscopy Software Version 3.03）を用いて色彩の算出を行い，CIELAB 表色系における明度指数及びクロマティクス指数を算出した．

2.5 遊離アミノ酸組成の測定

(1) 遊離アミノ酸の誘導体化

2.2 で調製した茶浸出液 50 μL に内標準物質（L-Norleucine, 約 500 μg/mL）を溶解した溶液 5 μL を添加後，Acetonitrile 55 μL を加え十分混合し，30 分間室温にて静置した．遠心分離により浮遊物を沈殿除去した後，上澄み液を回収し遠心濃縮装置を用いて溶媒を留去した．留去後，乾固物に混合溶液（Triethylamine/Methanol/超純水 ＝2/1/1）を 20 μL 添加し十分に溶解した．溶解後，再度遠心濃縮装置により溶媒を留去し，乾固物に誘導体化用混合溶液（Phenyl isothiocyanate/Methanol/Triethylamine/超純水 ＝1/7/1/1）を 20 μL 添加し十分に溶解した後，20 分間室温に静置することにより誘導体化処理を行った．静置後，遠心濃縮装置を用いて再度溶媒留去した．乾固物に以後の液体クロマトグラフ（LC）を用いた分析において使用する溶離液（50 mM Sodium acetate/Acetonitrile = 97/3）を 100 μL 添加し，十分に溶解させた後，遠心分離により不溶物を沈殿，除去した（20,000 x *g*, 15 分間, 4ºC）．得られた上澄み液を孔径 0.2 μm のメンブレンフィルターにてろ過し，LC 分析に供した．

定量用検量曲線を作成するための標準試料として，Amino Acids Mixture Standard Solution, Type H（和光純薬工業株式会社製）に市販されている L-Theanine を所定量添加したものを用いた．

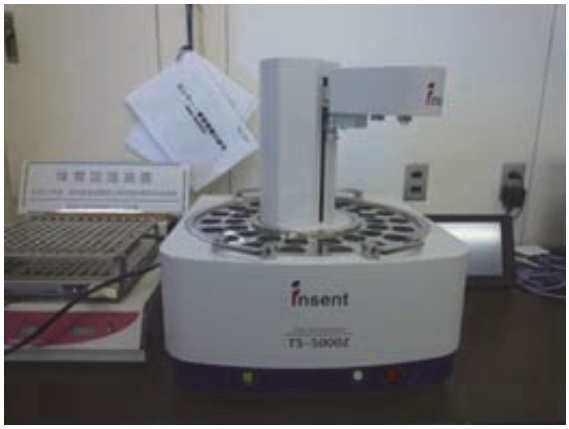

図１　味覚認識装置

表１　遊離アミノ酸分析における LC グラジエント溶出条件

分析時間（min）	溶離液 A（%）	溶離液 B（%）
0	100	0
5.0	70	30
9.5	35	65

(2) LC による測定

前項で調製した試料溶液を LC 分析に供した．LC における分析条件は以下に従った．

○ 分析装置； ACQUITY UPLC H-Class（Waters Co. 製，2011 年度ものづくり基盤技術支援整備事業補助）

○ 分析条件

- 分析カラム； ACQUITY UPLC BEH C18 (2.1 mm i.d. x 150 mm, Waters Co.製)
- 試料導入量； 1 μL
- カラム温度； 40ºC
- 溶離液； 50 mM Sodium acetate/Acetonitrile = 97/3（溶離液 A）, Acetonitrile/超純水 ＝6/4 (溶離液 B)
- 溶離液流速； 0.35 mL/min
- 溶離液グラジエント条件； 表１のとおり
- 検出器及び検出； フォトダイオードアレイ検出器を用いた波長 254 nm における吸光度測定

2.6 カテキン類・Caffeine の測定

(1) 前処理

2.2 で調製した茶浸出液に, 内標準物質として Vanillin を溶解した Acetonitrile 溶液（200 μg/mL）を等量加え，十分に混合した溶液を試料溶液として，以後の LC 分析に供した．

また，市販されている Gallocatechin（GC），Epigallocatechin（EGC），Catechin，Epicatechin（EC），Epigallocatechin gallate（EGCG），Gallocatechin gallate（GCG），Epicatechin gallate（ECG），Catechin gallate（CG）及び Caffeine を所定濃度に溶解した溶液を, 定量用検量曲線作成用標準試料溶液として用いた．

(2) LC による測定

前項で調製した試料溶液を LC 分析に供した．LC に

表２　カテキン類・Caffeine 分析における LC グラジエント溶出条件

分析時間（min）	溶離液 A（%）	溶離液 B（%）
0	95	5
2.8	70	30
3.0	0	100

おける分析条件は以下に従った.

○　分析装置；　ACQUITY UPLC H-Class（Waters Co. 製，2011 年度ものづくり基盤技術支援整備事業補助）

○　分析条件

- 分析カラム；　Wakopak Ultra C18-2（2.1 mm i.d. x 150 mm, 和光純薬工業株式会社製）
- 試料導入量；　1 μL
- カラム温度；　40ºC
- 溶離液；　超純水/Trifluoroacetic acid = 99.9/0.1（溶離液 A），　Acetonitrile/Trifluoroacetic acid = 99.9/0.1（溶離液 B）
- 溶離液流速；　0.55 mL/min
- 溶離液グラジエント条件；　表２のとおり
- 検出器及び検出；　フォトダイオードアレイ検出器を用いた波長 280 nm における吸光度測定

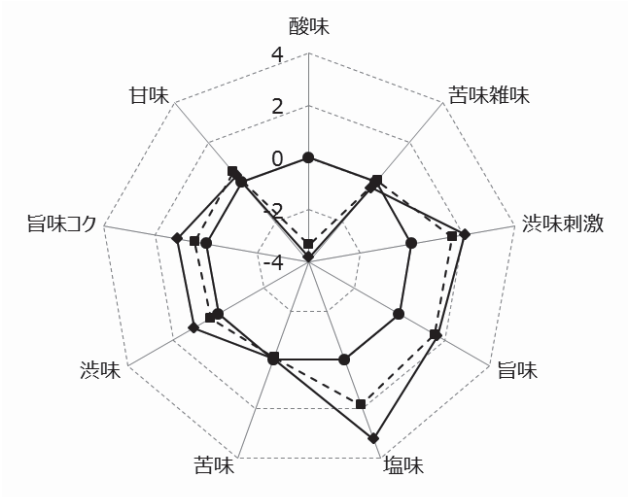

図２　各種茶葉浸出液の味覚認識装置による評価結果（70ºC 浸出液）

凡例：　●，市販蒸し茶；　■，うれしの産蒸し茶；　◆，うれしの産釜炒り茶

３．結果および考察

3.1 茶葉浸出液に関する味覚認識装置による評価

図２に市販茶葉，うれしの産蒸し茶及び釜炒り茶の茶葉から 70ºC にて浸出した際の浸出液の味覚認識装置における評価結果を示した．本結果は，市販蒸し茶を基準風味として，うれしの産蒸し茶及び釜炒り茶を測定した場合における各風味項目の差異を示している．50ºC 及び 90ºC においても同様の浸出評価を行ったが，各風味項目に関する変化のパターンは図２と同様の傾向を示した．この結果より，うれしの茶は市販茶と比較して“酸味”が低い可能性が示唆された. また，“旨味”や“渋味刺激”，“塩味”は市販茶より比較的高い数値を示す傾向であった.

図３は浸出時における水温が風味に及ぼす影響に関して，味覚認識装置を用い，うれしの産蒸し茶及び釜

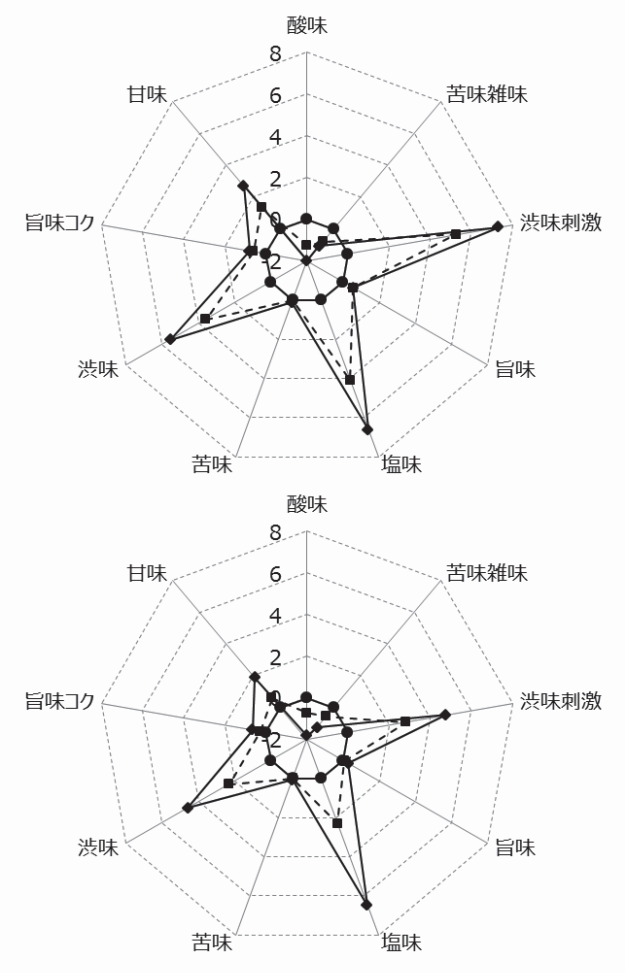

図３　うれしの産蒸し茶 <A> 及びうれしの産釜炒り茶 <B> における浸出時水温の風味に及ぼす影響に関する味覚認識装置による評価結果

凡例：　●，50ºC 浸出処理；　■，70ºC 浸出処理；　◆，90ºC 浸出処理

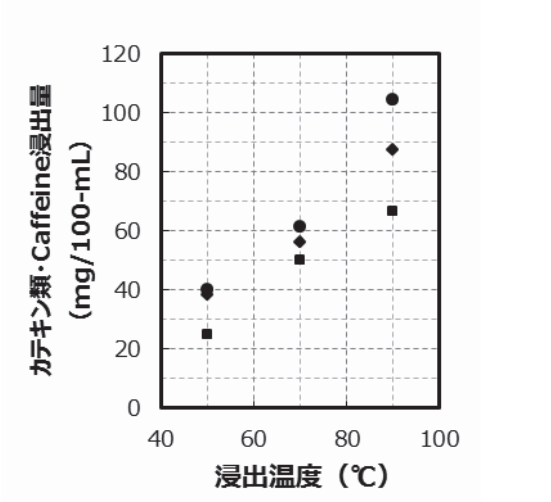

図４　各浸出温度における浸出液中へのカテキン類及び Caffeine の浸出挙動

凡例：　●，市販蒸し茶；　■，うれしの産蒸し茶；　◆，うれしの産釜炒り茶

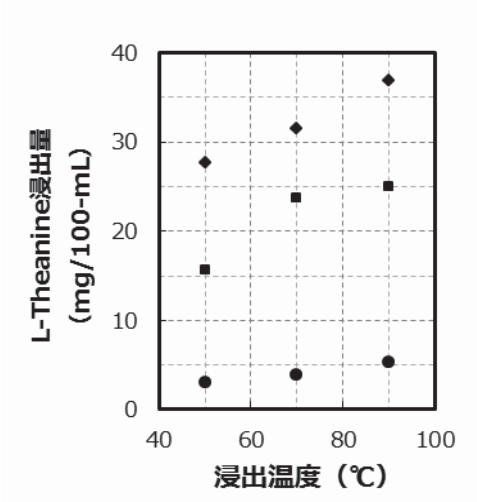

図５　各浸出温度における浸出液中への L-Theanine の浸出挙動

凡例：　●，市販蒸し茶；　■，うれしの産蒸し茶；　◆，うれしの産釜炒り茶

炒り茶について評価した結果である．この結果は，50ºC における浸出液の各風味項目と比較して，70ºC または 90ºC における各風味項目の差異を示したものである．図３＜A＞及び＜B＞両者において，浸出温度の上昇による“渋味刺激”や“渋味”，“塩味”の上昇が認められた．一般的に浸出時の水温の上昇または浸出時間の延長により，カテキン類や Caffeine といった苦味や渋味に関与する成分の液中への浸出量が多くなると言われている．

3.2 茶葉からのカテキン類等の浸出量及び味覚認識装置における風味項目との関係

図４では，各浸出時温度における市販蒸し茶及びうれしの産蒸し茶並びに釜炒り茶からのカテキン類，Caffeineの浸出量を示した．

市販蒸し茶は，うれしの産蒸し茶及び釜炒り茶と比べて多くのカテキン類及び Caffeine が液中へ浸出する傾向が認められた．成分では，EGC，EGCG 及び Caffeine の浸出量が大きく上昇する傾向が認められた．これらの結果は，図３に示した結果を補足するデータであると推察される．しかしながら，カテキン類及び Caffeine の浸出量について増加の傾向が認められるにもかかわらず，図２において“渋味”等の風味項目ではあまり大きな違いが認められない箇所もあり，風味項目と成分量との関係について，今後詳細に検討していきたい．

3.3 茶葉からのアミノ酸の浸出量及び味覚認識装置における風味項目との関係

遊離アミノ酸分析を実施したところ，一般に茶中に多く含まれ，茶の旨味に関与していると言われている L-Theanine が検出されており，全遊離アミノ酸含量の 6 割から 7 割を占めていた．また，カテキン類と同様に浸出温度の上昇に伴い液中への浸出量は増加した（図５）．今回の分析では市販蒸し茶においては，うれしの産の茶と比較して極端に浸出量は少なくなっており，適採時期など他因子の影響を受けている可能性が高いことから，今後注意が必要であると考えられた．

図２に示したように，“旨味”及び“旨味コク”については，市販蒸し茶と比較して一定の数値的な上昇は認められるものの，L-Theanine の浸出量の差異ほどの差は認められない可能性が高い．このような場合については，マスキング効果など他の風味への相加，相乗または相殺効果を及ぼしている可能性もあることから，今後詳細に検討していきたい．

3.4 紫外可視近赤外分光光度計による色調の評価

風味の一つとして，浸出液の色彩を測定することを目的に，茶葉からの浸出後における浸出液の色調を紫外可視近赤外分光光度計により測定した．その結果，浸出温度の上昇に伴い，a*値が低下及び b*値が上昇する傾向が認められた．すなわち，緑色及び黄色が増強する可能性が見られた．また，L*値は若干減少する傾向が見られたことから，明度が若干減少し，浸出温度が増加するに従い，全体的な色合いが濃くなる傾向にあるものと考えられた．

４．おわりに

以上の結果より，味覚認識装置において傾向的な結果は得られる可能性があるものの，機器分析による各種成分分析の結果を照らし合わせることによって，明らかにされるポイントや逆に課題となるポイントが示唆された．今後は，各種成分の風味としての機能性（マスキング効果や風味の増強など）等を考慮しながら，風味評価への味覚認識装置や各種機器分析の適用の可能性を評価し，様々な食品素材への応用を検討していきたい．

参考文献

1) 農林水産省「平成23年生産農業所得統計」；www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/nougyou_sansyutu/
2) 佐賀県「平成23年版佐賀県統計年鑑」；www.pref.saga.lg.jp/web/kensei/_1366/toukei/t-sougou/t-nenpou/_63661.html
3) K. Hayashi, M. Yamanaka, K. Toko, and K. Yamafuji, Multichannel taste sensor using lipid membranes; *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2(3), 205-213, 1990.
4) A. Legin, A. Rudnitskaya, Yu Vlasov, C. Di Natale, E. Mazzone, and A. D'Amico, Application of electric tongue for qualitative and quantitative analysis of complex liquid media; *Sensors and Actuators B: Chemical*, 65(1-3), 232-234, 2000.
5) 中原徳昭，古田幸，境田博至，甲斐孝憲，榊原陽一，西山和夫，水光正仁，本格焼酎の基本味を識別する脂質膜センサ； 日本食品科学工学会誌, 52(8), 355-365, 2005.
6) 福井裕，石田丈博，西村敏英，松田秀喜，本みりんの塩味・酸味抑制効果における官能評価と味覚センサーの分析結果との相関性； 日本調理科学会誌, 39(1), 49-56, 2006.
7) K. Chikuni, M. Oe, K. Sasaki, M. Shibata, I. Nakajima, K. Ojima, and S. Muroya, Effects of muscle type on beef taste-traits assessed by an electric sensing system; *Animal Science Journal.*, 81(5), 600-605, 2010.
8) V. Anand, M. Kataria, V. Kukkar, V. Saharan, and P.K. Choudhury, The latest trends in the taste assessment of pharmaceuticals; *Drug Discovery Today*, 12(5-6), 257-265, 2007.
9) K. Woertz, C. Tissen, P. Kleinebudde, and J. Breitkreutz, Taste sensing systems (electric tongues) for pharmaceutical applications; *International Journal of Pharmaceutics*, 417(1-2), 256-271, 2011.