



## 抹茶アイスクリームの風味を長持ちさせるための検討 多機能性タンパク質ラクトフェリンの利用

本研究は、日本農芸化学会2013年度大会において開催された「ジュニア農芸化学会」で発表された。ラクトフェリンは、近年注目を集めている機能性素材であり、一部ではすでに製品化され始めている。今回、明快なアプローチと実用化の可能性も高い研究であることから、和文誌編集委員会から高い評価を受けた。



### 本研究の背景、実験方法および結果

**【目的】** 抹茶アイスクリームは、酸化による影響を受けやすく変色の問題もあるため、大手企業では、アイスクリームの中でも特に抹茶アイスクリームには特殊な対策を施しているようである。しかし、こういった対策をするための設備を整えるには、多くのコストがかかってしまう。そこで、設備を整えなくても抹茶アイスクリームの劣化を抑える方法について、抗酸化作用をもつラクトフェリン (以下LF)<sup>(1)</sup>に着目し、抹茶アイスクリームの酸化をLFによって防ぐことができるか、アイスクリームと抹茶それぞれの酸化の程度を測定して検証した。また、LFは鉄が約20%結合していることから、酸化の抑制に鉄が関係していると考え、そのままのLF (以下native-LF) と鉄を除去したapo-LFを用い、LFの効果を検証した。

### 【方法】

1. LF添加試料の調製 アイスクリームと同じ成分を配合した試料溶液に、native-LF, apo-LFをそれぞれ、溶液の1%量添加し、4℃、70 rpmで28日間振とうした。7日ごとに試料を採取し、脂質およびタンパク質の酸化測定に供した。
2. 脂質の酸化測定 7日ごとに試料 (0.2 mL) を採取

し、試料中の脂質の酸化の程度を既報のTBARS法<sup>(2)</sup>に従い2-チオバルビツール酸 (TBA) 溶液と反応させ、532 nmの吸光度を測定した。吸光係数 $\epsilon = 1.56 \times 10^5$ から以下の式を用いてTBARS値を算出した。

$$A = \epsilon \times C \times L$$

A: 吸光度, C: TBARS値 (mol/L), L: 光路長 (cm)

3. タンパク質の電気泳動 7日ごとに採取した試料 (1 mL) を遠心分離し2層に分かれた下層部から25  $\mu$ Lを採取し、試料用緩衝液 (0.5 M Tris-HCl緩衝液 (pH = 6.8) 0.125 mL, 70%グリセロール0.100 mL, 10%SDS 0.200 mL, 2-メルカプトエタノール0.050 mL, 蒸留水0.500 mL) に溶解し3分間煮沸後、BPB溶液を添加した。SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE) を行い、電気泳動後のタンパク質はCBBで染色した。

4. LF添加カテキンSTDのHPLC分析 カテキンSTD (ポリフェノン70S) の溶液に0.25% apo-LFを添加し、0, 6, 24, 48時間経過時のカテキン類の変化量をHPLC<sup>(3)</sup>で測定した。なお、アイスクリーム中の脂質の検証結果より、native-LFよりapo-LFのほうが酸化抑制に効果的であったため、この実験ではapo-LFのみを用いた。

### 【結果と考察】

1. アイスクリーム中の脂質、タンパク質の酸化に対するLFの抑制効果 4℃で振とうしたLF無添加試料, LF (native-LFおよびapo-LF) 添加試料のTBARS値を28日間測定した。TBARS値の変化量 ( $\Delta$ TBARS値) を調べたところ、脂質のTBARS値はLF無添加試料では0日目の数値を大きく上回ったのに対し、LF添加試料の

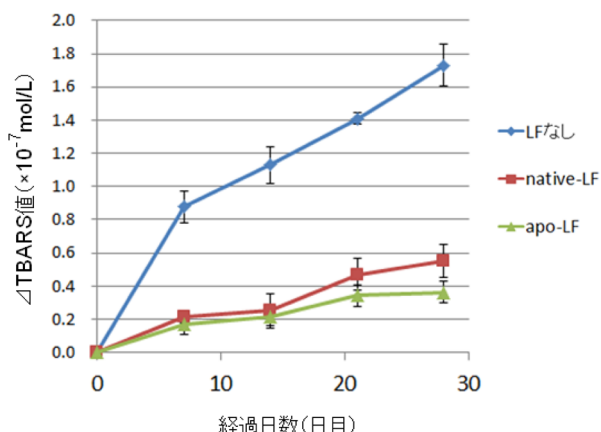


図1 ■ 経過日数に伴った脂質のTBARS値の変化

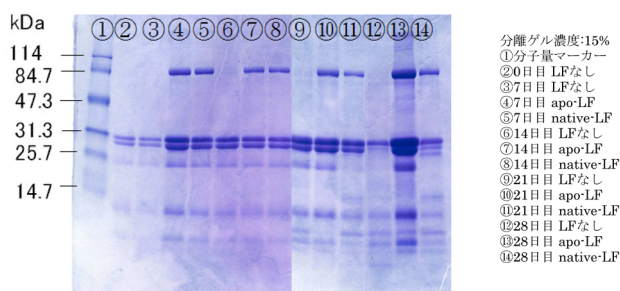


図2 ■ アイスクリーム試料の電気泳動パターン

数値は0日目の数値からほぼ変化しなかった (図1). このことから脂質の酸化はLFによって抑制できると言える. 不飽和脂肪酸の酸化は鉄などの遷移金属の存在により促進されるため, アイスクリームに含まれている鉄も脂質酸化を誘導する<sup>(4,5)</sup>. 鉄結合性タンパク質であるLFを添加したことにより, アイスクリーム中の鉄とLFが結合することで, 脂質の酸化を抑制したと考えられた. また, native-LFとapo-LFの酸化の抑制効果を比較すると, apo-LF添加試料はわずかにTBARS値が低いことから, apo-LFのほうがより効果的であった. これは, 約20%鉄結合しているnative-LFよりも, 鉄結合していないapo-LFのほうがより多くの鉄と結合するためだと考えられる.

脂質中のタンパク質についても28日間測定したところ, 21日目以降, 非常にわずかではあるが低分子量のバンドが増えていた (図2). LF添加試料においても低分子量のバンドが同様に認められていることから, 時間の経過とともにアイスクリーム中のタンパク質が分解されている可能性がある. しかし, 脂質の酸化は7日目にすでに変化が現れていたことから, タンパク質の劣化は脂質に比べると遅く, 短期の保存においてタンパク質は酸化による影響をほとんど受けないと考えられた.

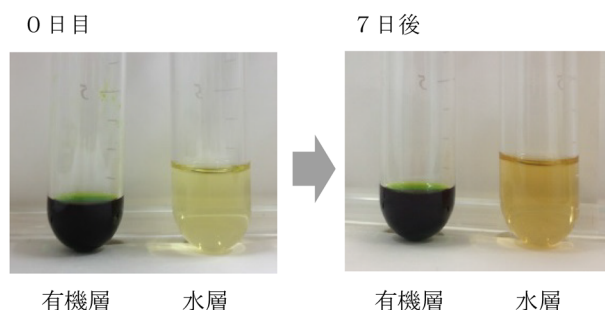


図3 ■ 抹茶の有機層と水層の変色の様子

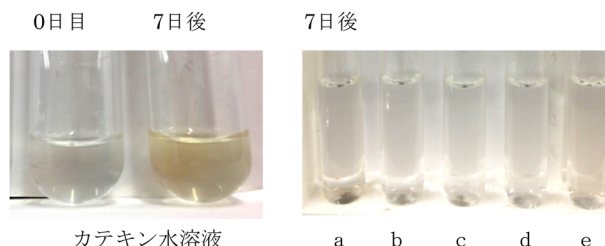


図4 ■ 抹茶の水溶性成分の7日後の変色の様子

a: カフェイン, b: アスコルビン酸, c: グリシン, d: グルコース, e: L-グルタミン酸.

2. 抹茶およびカテキン類の変色に対するLFの抑制効果  
抹茶の変色にかかわる成分を調べるため, 抹茶を水に溶かした後, エーテルを加えて遠心分離して水層と有機層に分け, 時間経過したそれぞれの色を確認した. 有機層には色の変化が見られなかったのに対し, 水層は0日目では無色だったが, 7日後では茶色く変色した (図3). したがって, 抹茶に含まれる水溶性成分が変色にかかわると考えられた. そこで, 報告されている主な水溶性成分<sup>(6,7)</sup>をそれぞれ蒸留水に溶かし, 変色を確認した. カテキン以外の成分は無色のまま変色しなかったことから, これらの成分は抹茶の変色に関係していないと考えられた. カテキン入り水溶液は7日後, 無色から茶色く変色した (図4). このことから, カテキンが抹茶の変色に関係している可能性が高いと考えられた.

そこで, カテキン溶液に0.25% apo-LFを添加した場合のカテキン類の時間経過に伴う変化量をHPLCで測定した. 図5に示したように, 48時間経過すると, LF無添加ではカテキンが20%以下に減少したが, apo-LFを添加したものはカテキンの量にほとんど変化がなかった. これは, ほかのカテキン類 (ガロカテキン, エピガロカテキン, エピカテキン, エピガロカテキンガレート, ガロカテキンガレート, エピカテキンガレート, カテキンガレート) でも同様の結果となった. この結果から, カテキン類の減少はLFによって抑制されたと考えられた. また, LFを添加したものは目視でも色の変化は認められなかった.

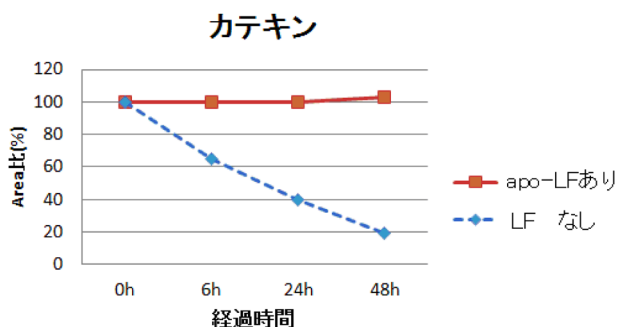


図5 ■ カテキン量の変化

**【研究のまとめ】** アイスクリーム中の脂質は酸化するが、LFがそれを抑制した。抹茶の変色はカテキンによるものと考えられるが、LFを添加するとカテキン類の量にほとんど変化が生じず、変色は抑制された。以上の結果から、LFを添加した抹茶アイスクリームを製造すれば、特殊な設備がなくても、酸化されにくくなり味が長持ちすると考えられる。



#### 本研究の意義と展望

本校ではオリジナルアイスクリームを販売しているが、大手企業のような設備は整っていないため、抹茶アイスクリームの販売には苦勞している。このことをきっかけに身近な食品に興味をもったことと、玉川学園と玉川大学農学部による高大連携プログラムが発端となって本研究が始まった。LFは、哺乳類の涙や母乳などに含まれる鉄結合性糖タンパク質であり、抗酸化作用のほ

か、免疫力を高める作用、病原性細菌に対する抗菌作用、乳酸菌やビフィズス菌に対する増殖促進作用などさまざまな機能をもっている。LFの添加は、抹茶アイスクリームの製造を簡易化するだけでなく、健康維持機能の点からも興味深いものであると期待される。

発表者は、抹茶アイスクリームの酸化や変色について観察しLFの効果を定量的に検証するためにさまざまな方法を検討した。実験結果を定量的に示すことはたいへん重要であり、その方法を個人研究として一人で地道に試行錯誤し続けた姿勢は高く評価できる。

今後、添加するLFの最適な量を検討し、実際にLF入りの抹茶アイスクリームを作り、実用化に向けて研究が進展していくことを期待したい。

謝辞：研究を進めるに当たり、さまざまなご指導をいただき、LFや文献資料の提供をしていただきました玉川大学農学部の富田信一先生に深く感謝申し上げます。

#### 文献

- 1) 島崎敬一：“機能性タンパク質・ペプチドと生体利用”，建帛社，2010，pp. 93-124.
- 2) 松下雪郎：栄養と食糧，**34**, 523 (1981).
- 3) 後藤哲久：“食品機能研究法”，篠原和毅，鈴木建夫，上野川修一編著，光琳，2000，pp. 328-331.
- 4) 塩田 誠：日本食品保蔵科学会誌，**34**, 159 (2006).
- 5) 上野 宏：Milk Science，**61**, 105 (2012).
- 6) 池ヶ谷賢次郎，高柳博次，阿南豊正：茶業研究報告，**60**, 79 (1984).
- 7) 松村敬一郎，小國伊太郎，伊勢村護，杉山公男，山本万里：“茶の機能”，学会出版センター，2002，pp. 1-426.

(文責「化学と生物」編集委員)