

生コーヒー豆の亜臨界水抽出による機能性飲料の製造

横田 正 (愛知学泉短期大学 食物栄養学科, tyokota@gakusen.ac.jp)

加藤 久喜 (静岡大学 農学部, k_kato@tacr.co.jp)

宮下 知也 (静岡大学 創造科学技術大学院, t-miyashita@nikkenfoods.co.jp)

衛藤 英男 (静岡大学 農学部, srqe4yjl@qc.commufa.jp)

Functional drinks from raw coffee beans by sub-critical water extraction

Tadashi Yokota (Nutrition and Food Sciences, Aichi Gakusen College, Japan)

Kyuki Kato (Faculty of Agriculture, Shizuoka University, Japan)

Tomoya Miyashita (Graduate School of Science and Technology, Shizuoka University, Japan)

Hideo Etoh (Faculty of Agriculture, Shizuoka University, Japan)

要約

現在、コーヒーは様々な疾患のリスクの減少や予防などの研究が報告されており、非常に機能性のある嗜好性飲料といえる。亜臨界水を用いて、生コーヒー豆を抽出することで、より多くの成分を抽出できることが期待される。そこで、熱水抽出サンプル（通常のコーヒー）と亜臨界水抽出サンプルとの官能評価、各成分の比較を行った。官能評価では3 MPa、200 °C、3分の抽出が最も熱水抽出サンプルに近かった。凍結乾燥物重量は、熱水抽出サンプルよりも2倍以上を示した。タンパク質、総アミノ酸、グルコース、全糖、クロロゲン酸類、桂皮酸類、カフェイン、トリゴネリン、およびメラノイジンにおいても高抽出量であった。さらに、抗酸化活性も高くなり、機能性が期待できるコーヒー様エキスが製造できた。

キーワード

コーヒー豆, 亜臨界水抽出, クロロゲン酸, 抗酸化活性, メラノイジン

1. はじめに

コーヒーは、世界で飲用される最も代表的な嗜好飲料の一つであり、発見当初から眠気防止や疲労回復などの作用を持つことで注目されてきた(栗原, 2004)。さらに近年、2型糖尿病発症リスクの低減 (Eduardo et al., 2004)、ガン予防 (Lee et al., 2007; Inoue et al., 2005)、アルツハイマー病予防 (Renata et al., 2011)、パーキンソン病予防 (Ross et al., 2000) や聴覚障害改善 (Hong et al., 2008) など様々な生理活性が報告されている。コーヒーに含まれる特徴的な成分としてカフェイン、クロロゲン酸、桂皮酸類、トリゴネリンなどが挙げられ、これらの成分が様々な疾患のリスク低減や予防に関与していると考えられている。

一方、以前より天然物からの抽出において亜臨界水を用いた研究が行われている。ヘマトコッカスからの亜臨界水抽出では、疎水性成分のアスタキサンチンをより効率的に抽出でき (Etoh et al., 2012)、大麦からの亜臨界水抽出では、より機能性を持った麦茶様エキスを得ることが報告されている (Kulkarni et al., 2008)。生コーヒー豆からの亜臨界水抽出を行うことで、通常のコーヒーよりも特徴的な成分が多く抽出されることにより、今までにない機能性を有したコーヒー様エキスが製造できることが考えられる。そこで、本研究では、生コーヒー豆の亜臨界水抽出物と、焙煎コーヒー豆の熱水抽出物（通常のコーヒー）を比較し、新しい機能性コーヒー飲料の開発を目的とし、官能評価やタンパク質、総アミノ酸、全糖、グルコース、クロロゲン酸、桂皮酸類、カフェイン、トリゴネリンおよびメラノイジンについて分析、定量を行い、抗酸

化活性を測定した。

2. 実験方法

2.1 試料

(1) コーヒー豆

生コーヒー豆は、市販のブラジルサントスNo. 2を使用した。亜臨界水抽出では生コーヒー豆のまま、熱水抽出では中煎りのコーヒー豆を用い、これらをミルによって粉碎し使用した。

(2) 抽出方法

亜臨界水抽出は生コーヒー豆粉末物 10 g に水 250 ml を加え、亜臨界水抽出装置 (静甲株式会社製) にかけて (Etoh et al., 2012; Miyashita et al., 2014)、圧力3MPa、到達温度は、160、180、200、220、240 °C に設定し、各温度に達した後その温度で1、3、5分間保持し抽出した。また、熱水抽出は焙煎コーヒー豆粉末物 10 g を 90 °C の熱水 180 ml で抽出した。これらを濾紙によって濾過し、それぞれ亜臨界水抽出サンプル、熱水抽出サンプルとした。

2.2 官能評価

コーヒーに近い風味を持つ 200、220、240 °C の温度で、保持時間3分の亜臨界水抽出サンプル3種類を東京アライドコーヒーロースターズ株式会社のエキスパートパネル3名 (内2名はコーヒー鑑定士所有) に官能評価を依頼した。評価項目は液色、香りの質、酸味、苦味、渋味で評価した。さらに亜臨界水抽出サンプルと同じコーヒー豆の中煎りの熱水抽出サンプルと比較し数値化した。

2.3 各成分の定量

亜臨界水抽出サンプル、熱水抽出サンプルを凍結乾燥し、

それぞれ以下のように調整して、各成分の測定サンプルとした。

タンパク質、総アミノ酸、全糖の測定は、凍結乾燥物を蒸留水に溶かし5 mg/mlに調製したもの、グルコースの測定は、凍結乾燥物2 mgに蒸留水10 μ lを加えたもの、クロロゲン酸類、桂皮酸類、カフェインの測定は、凍結乾燥物を70 %エタノールで溶解し2 mg/mlになるように調整したもの、トリゴネリンの測定は凍結乾燥物を蒸留水で溶解し2 mg/mlになるように調整した。また、メラノイジンは抽出サンプルを100倍に希釈したものとした。

(1) タンパク質の定量

Protein Quantification Kit (株同仁化学研究所製) で処理したサンプルの吸光度(600 nm)を測定し、タンパク質量を算出した。

(2) 総アミノ酸の定量

測定サンプルを0.45 μ mメンブレンフィルターで濾過し、アミノ酸分析機(株日立ハイテクノロジーズ製L-8900型)に供し、16種類のアミノ酸について分析し、これらを合計して総アミノ酸量とした。

(3) 全糖の定量

フェノール-硫酸法を用いて、標準試料にグルコースを使用し、グルコース相当量として算出した。

(4) グルコースの定量

ABEE (4-アミノ安息香酸エチルエステル) 標識試薬によって標識化されたグルコースを、HPLCで分析し定量する方法を用いた。測定サンプルにABEE標識試薬を40 μ l加えた後、混合し、80 $^{\circ}$ Cで60分保ったことで標識化した。そこに、蒸留水とクロロホルムを200 μ lずつ加え混合し、上層を0.45 μ mメンブレンフィルターで濾過しHPLCで分析した。グルコースも同様に行い検量線を作製し、グルコース量を算出した。HPLCの使用カラム、測定条件は以下の通りであった。

Column: Honepak C18 (ϕ 4.6 \times 75 mm), Mobile phase A: 0.2M K/B buffer, Mobile phase B: CH₃CN, Gradient: Mobile phase B 0 \rightarrow 20 min (0 \rightarrow 6 %), 20 \rightarrow 35 min (6 \rightarrow 50 %), 35 \rightarrow 45 min (50 \rightarrow 50 %), Flow rate: 1 ml/min, Temp.: 45 $^{\circ}$ C, Detector: 305 nm

(5) クロロゲン酸 (3-カフェオイルキナ酸、5-カフェオイルキナ酸)、桂皮酸類 (コーヒー酸、フェルラ酸)、カフェイン、トリゴネリンおよびニコチン酸の定量

測定サンプルを0.45 μ mメンブレンフィルターで濾過しHPLC (JASCO社製、MD-910)で分析した。各成分の標準試料も同様に行い検量線を作製し、各成分量を算出した。各成分を測定したHPLCの使用カラム、測定条件は以下の通りであった。

・ クロロゲン酸

Column: Inertsil ODS-2 (ϕ 3.0 \times 250 mm), Mobile phase A: 0.05M CH₃COOH 3 % CH₃CN, Mobile phase B: 0.05M CH₃COOH 100 % CH₃CN, Gradient: Mobile phase B 0 \rightarrow 5

min (0 \rightarrow 0 %), 5 \rightarrow 20 min (0 \rightarrow 20 %), 20 \rightarrow 35 min (20 \rightarrow 20 %), 35 \rightarrow 45 min (20 \rightarrow 100 %), 45 \rightarrow 60 min (100 \rightarrow 100 %), Flow rate: 0.43 ml/min, Temp.: 40 $^{\circ}$ C, Detector: 325 nm

・ 桂皮酸類

Column: ODS-UG-5 (ϕ 4.6 \times 250 mm), Mobile phase A: 10 mM H₃PO₄, Mobile phase B: MeOH, Gradient: Mobile phase B 0 \rightarrow 30 min (5 \rightarrow 50 %), 30 \rightarrow 40 min (50 \rightarrow 50 %), 40 \rightarrow 50 min (50 \rightarrow 70 %), Flow rate: 1 ml/min, Temp.: 40 $^{\circ}$ C, Detector: 325 nm

・ カフェイン

Column: ODS-UG-5 (ϕ 4.6 \times 250 mm), Mobile phase A: 10 mM H₃PO₄, Mobile phase B: MeOH, Gradient: Mobile phase B 0 \rightarrow 30 min (5 \rightarrow 50 %), 30 \rightarrow 40 min (50 \rightarrow 50 %), 40 \rightarrow 50 min (50 \rightarrow 70 %), Flow rate: 1 ml/min, Temp.: 40 $^{\circ}$ C, Detector: 260 nm

・ トリゴネリン

Column: ODS-UG-5 (ϕ 4.6 \times 250 mm), Mobile phase A: 10 mM H₃PO₄, Mobile phase B: MeOH, Gradient: Mobile phase B 0 \rightarrow 15 min (0 \rightarrow 0 %), 15 \rightarrow 20 min (0 \rightarrow 70 %), Flow rate: 1 ml/min, Temp.: 40 $^{\circ}$ C, Detector: 265 nm

(6) メラノイジンの定量

各測定サンプルを400 nmの吸光度を測定した。メラノイジンは分子量に関わらず400 nmで測定した場合、正の相関を示すという報告 (Hirano et al., 1996) を用いて、吸光度からそれぞれのメラノイジン量を比較した。

2.4 抗酸化活性の測定

(1) TASキット (total antioxidant status, RANDOX社製) 活性試験

各抽出サンプルの凍結乾燥物を、70 %エタノールに溶解し、1 mg/mlに調製、測定サンプルとした。さらにBlankとして蒸留水、ControlとしてトロロックスStandardを使用した。マイクロチューブにChromogen 1 ml、そこにBlank、Controlもしくはサンプル20 μ lを加えた。よく混合した後、37 $^{\circ}$ Cにインキュベートした。次に600 nmにて初期吸光度を測定した。この後、Substrate 200 μ l加え3分後、吸光度を測定した。吸光度から初期吸光度を差し引き、サンプルのトロロックス当量の抗酸化能を算出した。

(2) ペルオキシナイトライト消去活性試験 (Tuda et al., 2000)

各抽出サンプルの原液を蒸留水で10倍希釈し、測定サンプルとした。この測定サンプル1 mlと50 mMリン酸バッファーに溶解した0.36 mg/mlのL-チロシン溶液1 mlを混合し、ペルオキシナイトライトを20 μ l加え、5分反応させた後、0.45 μ mメンブレンフィルターで濾過し、HPLCで分析した。測定サンプルの代わりに蒸留水も同様に測定して、Controlとした。各サンプルのL-チロシンと3-ニトロチロシンの面積比とControlのL-チロシンと3-ニトロチロシンの面積比を比較し、抽出物の10倍希釈でのペルオキシナイトライト消去活性として抗酸化力を算出した。

3. 実験結果および考察

3.1 官能評価

今回の亜臨界水抽出サンプルの中で、明らかにコーヒーの風味でない160℃と180℃以外の200、220、240℃の温度で、保持時間3分の亜臨界水抽出サンプルの官能評価の結果を表1に示した。200℃から220℃、240℃と温度が上昇するにつれて酸味、渋みが強くなる傾向にあり、240℃になると飲用できるレベルではなかった。香りにおいても、温度上昇とともに質が低下していった。従って、200℃で抽出したサンプルが、熱水抽出物と比較して、酸味、渋味が少し強く、苦味は弱く、香りもレギュラーコーヒーよりもインスタントコーヒーに近いという特徴ではあったが、この中では最もコーヒーに近いという結果を得た。大麦を亜臨界水により抽出した麦茶様エキスを製造した研究では（Kulkarni et al., 2008）、200℃前後が最も良い評価を得ていたことから、コーヒーや麦茶のような焙煎したものを抽出する飲料の場合、200℃前後での亜臨界水抽出が最も良いと思われる。また、温度上昇と共に酸味が強くなることに関しては、過去の研究において単糖が亜臨界水処理によって有機酸になるという報告（藤村他, 2014）があることから、生コーヒー豆から抽出された単糖、もしくは多糖から加水分解して生成した単糖が有機酸になったことにより、酸味が強くなったものと考えられる。渋味については抽出温度が高すぎる場合、渋味を有する雑味成分もより抽出されたため強くなったことが考えられる。

3.2 凍結乾燥物重量の測定

凍結乾燥物重量は、亜臨界水抽出サンプルのほうがほとんどの温度帯で約2倍以上の抽出量であった（表2）。また、温度帯による変化は、160℃から220℃までは増大し、その後やや減少した。これは、焦げが生じたため温度の上昇と共にメイラード反応やカラメル化反応が進行し、高分子化合物が多量に生成され、濾過の過程において濾過されずに残渣とな

り、減少したものと考えられた。いずれにしても、亜臨界水抽出サンプルはある一定の温度、保持時間に関しては、それらの上昇に伴い抽出量が增大することが明らかになった。このことから、コーヒー豆においては亜臨界水抽出のほうが熱水抽出よりも抽出能が高く、より機能性に期待できるエキスが製造できると考えられた。

3.3 各成分の定量

(1) タンパク質

タンパク質量は、亜臨界水抽出サンプルの方が200℃、1分までは高い値を示したがそれ以上の温度帯、保持時間では少なくなった（表2）。官能評価で最も良い評価を得た200℃、3分と比較するとほぼ同じ値であった。温度帯による変化としては、160℃から上昇するにつれて減少した。これは温度上昇と共に加水分解されたために減少したものと思われる。

(2) 総アミノ酸

総アミノ酸量は、亜臨界水抽出サンプルのほうがすべての温度帯で高い値を示した（表2）。最も多く抽出された160℃、5分では約68倍、官能評価で最も良い評価を得た200℃、3分では約20倍と非常に高い値を示した。温度帯による変化としては、160℃から温度が上昇するにつれて、総アミノ酸量は減少した。先に述べたようにタンパク質が加水分解したことが予想され、アミノ酸量は増大すると思われたが、実際には減少した。これは後述するが、メイラード反応によりアミノ酸が減少したものと考えられた。

(3) 全糖

全糖量は、亜臨界水抽出サンプルのほうが、すべての温度帯で高い値を示した（表2）。官能評価で最も良い評価を得た200℃、3分と比較すると約3倍という高い値を示した。さらに温度による変化としては160℃から温度

表1：亜臨界水抽出サンプルの官能評価

	亜臨界水抽出サンプル		
	200℃	220℃	240℃
液色	黄色寄りの茶色 (浅煎りコーヒーの色調に近い)	茶色 (コーヒーらしい色調)	赤寄りの茶色 (ややコーヒーの色調に比べ赤みが強い)
香りの質	・ サツマイモのような甘い香り ・ 生っぽいグリーン臭	・ 赤ワインの発酵したような香り(アルコールの香り) ・ 焼きイモ臭 ・ 高麗人参の香り ・ かつおだし様の香り	・ ケロシン臭(灯油臭) ・ 焼きイモの焦げた香り ・ ゴムの焦げた香り ・ 高麗人参の香り ・ かつおだし様の香り
酸味	浅煎りの酸味の強いコーヒーレベル	強い酸味(コーヒーにはない強い酸味)	かなり強い。飲用できるレベルの酸味ではない
苦味	かろうじて少し感じられる。	あまりない。	あまりない。(香りが苦い)
渋味	やや強い。	強い。果物の皮のような渋味。	強い。後味に強く残る。
総合評価	全サンプル中、最もコーヒーに近いが、レギュラーコーヒーではなくインスタントコーヒーに近い香りをもつ。酸味は強め。	コーヒーよりクセ、酸味、渋味が強い。甘い香りと焦げた香りを感じる。	酸味が突出して強い。焦げた香りを感じる。コーヒーとは違うものと評価した。

注：10段階評価について。香りの質は、数値が大きいほどレギュラーコーヒーに近く、小さいほどコーヒーらしくない香りを示す。酸味、苦味、渋味は、熱水抽出物(通常のコーヒー)の強さを5とし、数値が大きいほど強く、数値が小さいほど弱いことを示す。

表2：熱水および亜臨界水抽出サンプルの凍結乾燥物および各成分量(生コーヒー豆10g中)

サンプル	凍結乾燥物重量(g)	タンパク質(mg)	総アミノ酸(mg)	全糖(mg)	グルコース(mg)	
熱水抽出物	1.48	9.4	8.4	187	4.9	
160 °C	1 min	2.81	36.3	540.4	382	57.8
	3 min	2.92	36.5	554.1	399	102.3
	5 min	3.05	41.3	567.2	418	138.4
180 °C	1 min	3.40	24.7	521.9	461	197.1
	3 min	3.72	31.5	432.3	512	223.1
	5 min	4.08	34.9	435.0	544	297.2
200 °C	1 min	4.19	15.9	176.2	559	254.8
	3 min	4.29	9.3	162.9	570	285.9
	5 min	4.79	4.5	180.3	631	297.1
220 °C	1 min	4.56	2.2	119.4	607	154.4
	3 min	4.62	1.9	56.0	606	135.3
	5 min	4.98	0.4	51.4	669	71.8
240 °C	1 min	4.74	0.2	31.0	623	42.3
	3 min	4.42	0.0	29.5	529	41.4
	5 min	4.06	0.0	37.2	387	18.4

が上昇するにつれて、全糖量は増大し、240 °Cを超えると抽出量は減少した。今回は全糖量を測定したため、加水分解による多糖、少糖、単糖の変化を見ることが出来なかった。従って240 °Cまで増大したのは、単純に抽出量が増えたことによるものであり、その後減少したのは、高温によりメイラード反応やカラメル化反応が進行したためであると考えられる。

(4) グルコース

グルコース量は、亜臨界水抽出サンプルのほうが、すべての温度帯で高い値を示した(表2)。生コーヒー豆にはマンナンをはじめとした多糖類が含まれているために、加水分解によってグルコースがより多く抽出されたと考えられた。グルコース量は200 °Cまで温度帯の上昇に伴い増大したが、220 °C以降では減少した。これは加水分解によって増大し、メイラード反応、及びカラメル化反応によって減少したためと考えられた。

(5) クロロゲン酸

3-カフェオイルキナ酸、5-カフェオイルキナ酸いずれも、亜臨界水抽出サンプルのほうが熱水抽出サンプルよりも高い値を示した(表3)。温度帯の変化では、160 °Cが最も多く抽出され、温度が上昇するに伴い減少していった。これは加水分解によってコーヒー酸とキナ酸とに分解していることや、メラノイジン生成に関与しているために減少したと思われた。しかし官能評価の最も良い評価を得た200 °C、3分と比較しても、3-カフェオイルキナ酸は7倍以上、5-カフェオイルキナ酸は約4倍、熱水抽出サンプルよりも高い抽出量を示したので、抗酸化活性等の機能が期待できる結果となった。

(6) 桂皮酸類

コーヒー酸、フェルラ酸は、ほぼすべての温度帯で亜臨界水抽出サンプルのほうが熱水抽出サンプルよりも高い

値を示し(表3)、高い抗酸化活性が期待できる結果となった。温度帯による変化としては、コーヒー酸とフェルラ酸のいずれも180 °Cまで温度が上昇するのに伴い、抽出量が増大し、その後減少した。前述のクロロゲン酸が温度の上昇に伴い減少していることから、増大すると予想されたが、これはコーヒー酸とフェルラ酸がメラノイジン生成に関与しているために減少したものと考えられる。

(7) カフェイン

カフェイン量は、亜臨界水抽出サンプルのほうがすべての温度帯で高い値を示した(表3)。官能評価の最も良い評価を得た200 °C、3分は、約1.6倍の量であった。温度帯による変化としては、温度が上昇するにつれて、徐々に抽出量は減少していった。これはカフェインが熱によって昇華したためと推測された。

(8) トリゴネリン

トリゴネリン量は、ほぼ全てにおいて亜臨界水抽出サンプルの方が高い値を示し(表3)、温度帯によって大きな変化は見られなかった。トリゴネリンは、脳神経ネットワークの再構築を促すことが期待されており(東田他, 2001)、現在ではトリゴネリンが豊富に含まれたトリゴネコーヒーが販売されている。トリゴネリンを豊富に含む亜臨界抽出サンプルは、脳神経の活性化などの機能が期待できる。

(9) メラノイジン

メラノイジン量は、亜臨界水抽出サンプルの方が熱水抽出サンプルよりも200 °Cまでは少なく、220 °Cからは多くなった(表3)。官能評価において最も評価の良かった200 °C、3分の色彩が浅煎りコーヒーに近いという結果からメラノイジンが少ないことが予想され、これらの結果と一致した。温度帯による変化としては温度が上昇す

表3：熱水および亜臨界水抽出サンプルの各成分量(生コーヒー豆10g中)

サンプル	3-カフェオイル キナ酸(mg)	5-カフェオイル キナ酸(mg)	コーヒー酸 (mg)	フェルラ酸 (mg)	カフェイン (mg)	トリゴネリン (mg)	メラノイジン* (吸光度)
熱水抽出物	6.5	41.6	0.60	0.22	89	44.1	0.048
160 °C	1 min	64.1	285.2	5.60	0.68	178	96.5
	3 min	85.2	348.4	8.84	1.29	221	97.3
	5 min	73.5	281.1	8.63	0.95	186	95.9
180 °C	1 min	73.3	272.8	10.41	1.21	177	99.3
	3 min	70.6	250.3	10.80	1.31	180	97.5
	5 min	82.4	295.4	13.53	1.79	199	132.0
200 °C	1 min	68.4	241.0	11.13	1.46	177	95.8
	3 min	47.2	164.0	6.22	1.56	140	101.4
	5 min	47.4	148.3	6.40	1.18	130	121.3
220 °C	1 min	44.9	171.6	5.12	1.42	169	101.1
	3 min	41.1	158.4	4.57	1.31	155	96.8
	5 min	32.7	127.1	2.61	0.97	145	98.8
240 °C	1 min	15.2	66.0	2.05	0.76	149	117.0
	3 min	10.5	49.9	1.48	0.69	137	17.0
	5 min	7.5	35.1	1.32	0.00	150	95.9

注：*メラノイジンは、100倍希釈液の400 nmの吸光度を示す。

るのに伴い、メラノイジン量も増大する。これは温度が高くなるに従ってメイラード反応が進行し、メラノイジンが増大したと考えられる。さらに細かく見てみると、200 °Cで明らかに量が増え、さらに220 °Cで急激に増大している。先述のように、総アミノ酸、クロロゲン酸、コーヒー酸、フェルラ酸は200°Cで顕著に減少しており、これら成分がメイラード反応に関与するものと考えとも一致する。他にも、結果は示していないが、メイラード反応で反応しやすい塩基性アミノ酸量も200 °Cにおいて減少していた。さらにグルコースが220 °Cで急激に減少しており、メラノイジンも220 °Cで増大していることからそれぞれの挙動に相関がみられた。

3.4 抗酸化活性の比較

(1) TASキット活性

TASキット活性は、亜臨界水抽出サンプルのほうですべての温度帯で高い活性を示した(表4)。官能評価で最も良い評価を得た200 °C、3分と比較してもトロロックス当量で約2.2倍と高い抗酸化活性を示した。温度帯による変化は、温度上昇と共に抗酸化活性も上昇した。

(2) ペルオキシナイトライト消去活性

ペルオキシナイトライト消去活性は、亜臨界水抽出サンプルのほうですべての温度帯で高い活性を示した(表4)。官能評価で最も良い評価を得た200 °C、3分と比較しても消去率で約1.7倍と高い抗酸化活性を示した。温度帯による変化は、温度上昇と共に抗酸化活性も上昇した。これはTASキット試験についても同じ傾向となっており、どちらの抗酸化試験においても、熱水抽出サンプルよりも高い抗酸化活性を示し、また、温度上昇と共に抗酸化活性も上昇した。

表4：熱水および亜臨界水抽出サンプルのTASキット活性およびペルオキシナイトライト消去活性

サンプル	TASキット活性 (トロロックス当量) (mmol)	ペルオキシナイト ライト消去活性
熱水抽出物	3.0	39.4
160 °C	1 min	5.9
	3 min	6.4
	5 min	6.2
180 °C	1 min	6.7
	3 min	6.2
	5 min	7.0
200 °C	1 min	6.9
	3 min	6.5
	5 min	8.0
220 °C	1 min	6.7
	3 min	9.6
	5 min	9.0
240 °C	1 min	11.1
	3 min	10.6
	5 min	10.9

今回測定した成分の中で、抗酸化活性が認められている成分は、クロロゲン酸類、桂皮酸類、メラノイジンが挙げられる。この3つの成分の中で、抗酸化活性の変化同様、温度上昇と共に抽出量が増大し続けたのはメラノイジンだけである。クロロゲン酸類は160 °Cで、桂皮酸類では180 °Cで最も高い抽出量を示した後に減少していった。これら3成分においてメラノイジンが最も抗酸

化活性に寄与していることが考えられる。しかし、メラノイジン量は、200℃まで熱水抽出の方が多かったにも関わらず、抗酸化活性はその温度帯でも亜臨界水抽出のほうが高かった。これは、他の2つの抗酸化物質の影響の他にも、今回測定していない化合物の存在も考えられる。熱水では抽出されず、亜臨界水で抽出される化合物や、亜臨界のような高温で生成する化合物の中にも高い抗酸化活性を有するものがあることも考えられる。今後、これら成分の機能性について解明されれば、さらなる機能性をもったエキスの製造が期待できる。

4. まとめ

生コーヒー豆の亜臨界水抽出を行い、焙煎コーヒー豆の熱水抽出と比較した。その結果、官能評価では、熱水抽出に比べるとインスタントコーヒーに近い香りであったが、3 MPa、200℃、3分で抽出したものが最も良い結果が得られた。また、凍結乾燥物重量は2倍以上を示し、タンパク質、総アミノ酸、全糖、グルコース、クロロゲン酸類、桂皮酸類、カフェインおよびトリゴネリンの生成量においても高い値を示した。抗酸化活性も高い値を示し、機能性を有するコーヒー様エキスが製造できた。また、クロロゲン酸の量は160℃が、桂皮酸類の量は180℃が、メラノイジン、抗酸化活性は240℃が最も高い値となるなど、抽出温度によって成分量や抗酸化活性において異なる値を示した。目的によって抽出物の量をコントロールすることで、新たな機能性食品開発の可能性が広がることを期待できる。また、亜臨界水抽出によって新たな機能性成分の存在が考えられたため、さらに研究を進めている。

引用文献

- Eduardo, S. M., Walter, C. W., Alberto, A., JoAnn, E. M., Michael, F. L., Meir, J. S. and Frank, B. H. (2004). Coffee consumption and risk for type 2 diabetes mellitus. *Annals of Internal Medicine*, Vol. 140, No. 1, 1-8.
- Etoh, H., Maejima, Y., Imaeda, Y., Sugiyama, S., Tokuyama, S., Kato, H., Kulkarni, A. and Maoka T. (2012). Extraction of astaxanthin by sub-critical water from the green algae *Haemato-coccus pluvialis*. *Carotenoid Science*, Vol. 17, 15-17.
- 藤村庄・桑田実・原田修・宮本知左子・吉田和利 (2014). 植物性食品加工副産物の亜臨界水処理による生理活性物質の生産と利用. 中小企業技術開発産学官連携促進事業, 平成14年度先端基礎技術, Vol. 11, 1-9.
- 東田千尋・小松かつ子・中村憲夫・服部征雄 (2001). コーヒー成分トリゴネリンは脳神経ネットワークの再構築を促すか?. *食品工業*, Vol. 44, No. 8, 27-32.
- Hirano, M., Miura, M. and Gomyo, T. (1996). A tentative measurement of brown pigments in various processed foods. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, Vol. 60, No.5, 877-879.
- Hong, B. N., Yi, T. H., Park, R., Kim, S. Y. and Kang, T. H. (2008). Coffee improves auditory neuropathy in diabetic mice. *Neuroscience Letters*, Vol. 441, No.3, 302-306.
- Inoue, M., Yoshimi, I., Sobue, T. and Tsugane, S. (2005). Influence

of coffee drinking on subsequent risk of hepatocellular carcinoma. *Journal of the National Cancer Institute*, Vol. 97, No. 4, 293-300.

- Kulkarni, A., Yokota, T., Suzuki, A. and Etoh, H. (2008). Subcritical water extraction of barley to produced a functional drink, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, Vol. 72, No. 1, 236-239.
- 栗原久 (2004). コーヒー、茶、ココア、コーラ飲料の歴史. 初版, 学会出版センター.
- Lee, K. J., Inoue, M., Otani, T., Iwasaki, M., Sasazuki S. and Tsugane S. (2007). Coffee consumption and risk of colorectal cancer in population-based prospective cohort of Japanese men and women. *International Journal of Cancer*, Vol. 121, No. 6, 1312-1318.
- Miyashita, T., Okamura, T., Ijima, Y., Suzuki, H., Shibata, D., Takaya, Y., Tanaka, H. and Etoh, H. (2014). (S)-3-Amino-1-ethylglutaramide from green tea (*Camellia sinensis*). *Studies in Science and Technology*, Vol. 3, No. 1, 45-48.
- Renata, V. A., Eliane, M. S. O., Márcio, F. D. M., Grace, S. P. and Tasso, M. S. (2011). Chronic coffee and caffeine ingestion effects on the cognitive function and antioxidant system of rat brains. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, Vol. 99, No. 4, 659-664.
- Ross, G. W., Abbott, R. D., Petrovitch, H., Morens, D. M., Masaki, K. H., Blanchette, P. L., Curb, J. D., Popper, J. S. and White, L. R. (2000). Association of coffee and caffeine intake with the risk of Parkinson disease, *The Journal of the American Medical Association*, Vol. 283, No.20, 2674-2679.
- Tsuda, T., Kato, Y. and Osawa, T. (2000). Mechanism for the peroxynitrite scavenging activity by anthocyanins. *FEBS Letters*, Vol. 484, No. 3, 207-210.

(受稿：2014年10月27日 受理：2014年11月8日)