

本県特産緑茶・ビワ葉を原料とした高機能性茶葉の開発

食品・環境科 主任研究員 玉屋 圭
食品・環境科 科 長 前田 正道
総合農林試験場 東彼杵茶業支場 主任研究員 宮田 裕次
総合農林試験場 東彼杵茶業支場 主任研究員 野田 政之

長崎県産の未利用資源であるビワ葉と緑茶番茶を原料とした発酵茶の製造方法を確立した¹⁾。本発酵茶は専門員による官能試験の結果、優れた味、香りを有することが示された。本報告では、発酵茶が有する中性脂肪低下作用を検討するために、*in vitro* での評価(膵リパーゼ阻害性)を実施した。

1. 緒言

近年、食生活の欧米化とともに、がん、循環器系疾患、アレルギー等の生活習慣病が若年から老年層にわたって増大している。それに伴って、機能性食品の売り上げが年々増加(特定保健用食品の市場規模(2005年); 6229億円(日本健康・栄養食品協会調べ))している。今後の高齢化の進展や医療費の増大等を考慮すると、この分野は更なる成長を遂げると予想されることから、疾病リスクを軽減する機能性食品の開発は新事業の創出及び育成に繋がると考えられる。

一方、長崎県の園芸特産品であるお茶は近年の輸入茶の増大により、番茶の価格が低下している。同じく園芸特産品であるビワも競争果実の多様化の影響を受けていることから、葉などの未利用部分を用いた新たな製品開発が急務とされている。

そこで我々は本県産の未利用資源である緑茶とビワ葉を利用した発酵茶の製造方法を確立した¹⁾。

本研究では、本発酵茶の健康機能性(中性脂肪低下作用)を検討するために、膵リパーゼ阻害性を測定した。

2. 実験方法

発酵茶は最も高い香味が得られた条件(緑茶番茶とビワ葉の混合比9:1)で製造したものを使用した。なお、発酵茶の原料である緑茶は7月採取された三番茶を使用した。同じく発酵茶の原料であるビワ葉も7月に採取されたものを使用した。

発酵茶葉20gを熱水1L中で10分間攪拌し、ろ過により得られたエキスを濃縮後、凍結乾燥によって粉末を得た。本検討にはこの乾燥粉末を用いた。

① 発酵茶の膵リパーゼ阻害性

ブタ膵臓由来リパーゼ(Type VI-S)及び膵リパーゼの疑似基質4-methylumbelliferyl oleate(4-MU)はシグマ製を使用した。活性測定は以下のように実施した³⁾。水に溶解したサンプル25 μ lをマイクロプレートに添加し、13 mM Tris-HCl containing 0.15 M NaCl and 1.3 mM CaCl₂ (pH8.0)に溶解した基質(0.1 mM 4-MU)を50 μ l添加した後に、25 $^{\circ}$ C、5分間プレインキュベートした。同じ緩衝液に溶解した酵素溶液(50 U/ml)を25 μ l添加し、酵素反応を開始した。25 $^{\circ}$ C、30分間反応させた後に、0.1 M クエン酸ナトリウム(pH4.2)溶液を1ml添加し、反応を停止させた。リパーゼにより遊離した4-methylumbelliferone量を蛍光光度法(励起波長; 355 nm、蛍光波長; 460 nm)により測定した。

② カテキン及びテアフラビンの分析

茶の主要成分であるカテキン類、茶葉の発酵によって生成する紅茶色素のテアフラビン類の膵リパーゼ阻害性を測定した。茶中のカテキン類として、(-)-エピカテキン(EC)、(-)-エピカテキンガレート(ECG)、(-)-エピガロカテキン(EGC)、(-)-エピガロカテキンガレート(EGCG)の4種類を測定に供した。これらのカテキン類の標品は、株式会社フナコシ製を用いた。

また、テアフラビン類として、テアフラビン(TF)、TF-3-モノガレート(3-TF)、TF-3'-モノガレート(3'-TF)、及びTF-3, 3'-ジガレート(3, 3'-TF)の4種類を測定した。標品には和光純薬製のものを使用した。

3. 実験結果

① 発酵茶の膵リパーゼ阻害性

本年度に製造した発酵茶のリパーゼ阻害性を表1に示

した。発酵茶は22.3 µg/mlと高い阻害性を有していた。昨年度の発酵茶と比較するとほぼ同等の阻害性を有しており、均一の品質を有する発酵茶が製造出来ることが示された。

表5 発酵茶のリパーゼ阻害性

	IC ₅₀ (µg/ml)
発酵茶 (20年製造)	22.3
発酵茶 (19年製造)	13.6

本プロジェクト研究では、発酵茶が優れた血糖値上昇抑制作用を有することを明らかにしてきた¹⁾。その作用機序としては、二糖類分解酵素に対する阻害性が想定された。これまでの検討で、4年間に渡り発酵茶のマルターゼ阻害性を評価してきた結果、活性値 IC₅₀ は0.05 ~ 0.15 mg/ml と一定の範囲にある²⁾ことを確認した。

本試験においても、膵リパーゼ阻害性は一定の値を示しており、マルターゼ阻害性の結果と合わせて考慮すると、製造時期の発酵茶品質に及ぼす影響はほとんど見受けられないことがわかった。

② カテキン及びテアフラビンの膵リパーゼ阻害性

発酵茶における機能性成分を明らかにすることを目的として、緑茶由来のカテキン、並びにカテキンの酸化生成物であるテアフラビンの膵リパーゼ阻害性を測定した。

表2 カテキン類のリパーゼ阻害性

	IC ₅₀ (µg/ml)
EGC	1000
EGCg	0.59
EC	187
ECg	5.27

カテキン4種の中では、没食子酸を有するEGCg及びECgが高い阻害性を有していた。特に、EGCgは0.59 µg/mlと高活性を示しており、同じガレート体のECgの10倍高いものであった。通常、緑茶にはEGCgは7~8%含まれており⁴⁾、緑茶の有する中性脂肪低下作用⁵⁾にはEGCgが大きく関わっていることが示唆された。

本発酵茶にもEGCgは1%程度含有されて)おり、本

発酵茶の機能に関与していることが推察された。

さらに、2分子のカテキンが酸化重合して得られるテアフラビン類については、カテキンと同様にガレート体が強い活性を示し、特に2つのガレート基を有する3,3'-TFが0.56 µg/mlと優れた阻害性を有していた。

表3 テアフラビン類のリパーゼ阻害性

	IC ₅₀ (µg/ml)
TF	1908
3-TF	26.5
3'-TF	5.00
3,3'-TF	0.56

3,3'-TFのリパーゼ阻害性については、中井らが茶ポリフェノールについて検討⁶⁾した際に報告している。その値はであり、本検討で得られた活性値とほぼ同等であった。しかしながら、3,3'-TFの中性脂肪低下作用については未解明である点が多く、検討を続けていく予定である。

本研究では、テアフラビンのマルターゼ阻害性について検討を行っており、4種の中でも3-TFが最も強い活性を有することを示した。さらに、3-TFはマルトースを負荷したSDラットに対して低用量(10 mg/kg)で顕著な血糖値上昇抑制作用を示すことをはじめて明らかにした²⁾。

TFの機能性については、これまでに抗酸化性などが報告されているが、脂質代謝改善作用に関してはメカニズムなど不明確な点が多い。本研究では、TFの健康機能について解明を行っていく予定である。

4. 考 察

今回、発酵茶の機能性、特にAGH阻害性及びDPPHラジカル消去活性を検討した結果、両項目に関して高い活性を有することが明らかとなった。この結果は発酵茶が生体内において血糖値上昇抑制及び抗酸化作用を有する可能性が高いことを示していた。

本発酵茶の製造法については、既に特許申請を行っている²⁾。今回の検討では、発酵茶が原料である緑茶やピワ葉よりも高い活性を示す結果が得られた。この結果は、本製造法が原料の有する成分を生かして、さらに高い機能性を生み出す可能性があることが示された。

本研究は長崎県試験研究機関連携プロジェクトとし

て、長崎県工業技術センター、長崎県総合農林試験場東彼杵茶業支場(中核機関)、長崎県果樹試験場、九州大学大学院農学研究院、長崎シーボルト大学看護栄養学部、長崎大学大学院医歯薬学総合研究科が参画して研究推進を行った。

参考文献

- 1) 玉屋 圭、前田正道、宮田裕次：長崎県産の未利用資源を活用した機能性茶葉の開発、日本食品科学工学会第51回大会、47(2004)
- 2) 玉屋 圭、前田正道、宮田裕次ら：特願 2005-002583(2004)
- 3) L.-K. Han, Y. Kimura, M. Kawashima, T. Takaku: *Int J. Obes.*, 25, 1459 (2001)
- 4) Y. Yamaguchi, M. Hayashi, H. Yamazoe, M. Kunitomo: *Proc. Intern. Sympo. Tea Science (ISTS)*, Shizuoka, 322 (1991)
- 5) K. Nakagawa, M. Ninomiya, T. Okuda, N. Aoi, LR. Juneja, M. Kim, K. Yamanaka, T. Miyazawa: *J. Agric. Food Chem.*, 47, 3967 (1999)
- 6) M. Nakai, Y. Fujii, S. Asami, Y. Toyoda-Ono, T. Iwashita, H. Shiba, Y. Kiso: *J. Agric. Food Chem.*, 53, 4593-4598 (2005)