香煎茶加工したオクミドリ碾茶,ベニフウキ緑茶,ベニフウキ紅茶, セイロン紅茶の糖吸収抑制作用

芳野恭士 *1·窪田巧輝 *1·杉本奈央 *1·清水 篤 *2

Suppressive Effects of Kosencha-processed 'Okumidori' tencha, 'Benifuuki' green tea, 'Benifuuki' black tea, and Ceylon black tea on Absorption of Saccharides

Kyoji YOSHINO *1, Kohki KUBOTA *1, Nao SUGIMOTO *1, Atsushi SHIMIZU *2

Abstract: In this study, we investigated the suppressive effects of Kosencha-processed teas prepared from green tea, Tencha (a kind of green tea), and black tea on the absorption of saccharides. Kosencha-processed tea is a secondary fabricated tea product which is made by a treatment with high temperature and high pressure. In in vitro study, the inhibitory functions of the extracts prepared from 'Yabukita' green tea, 'Okumidori' Tencha, and 'Benifuuki' green tea on rat small intestinal α-glucosidase activities were stronger than those of Benifuuki black tea and Ceylon black tea. These functions of the extracts from the Kosencha-processed teas tended to be lower than those of the corresponding original teas. The strongest functions were observed in cases of Okumidori Tencha. In in vivo study, starch and sucrose were orally administered simultaneously with the extracts of Okumidori Tencha and its Kosencha to 4-week-old male ddY mice. The oral administration of the extracts of Okumidori Tencha and its Kosencha suppressed the elevations of the plasma glucose levels as well as Yabukita green tea and its Kosencha. No distinct effects on the activities of mouse small intestinal amylase, maltase, and sucrase were observed. Kosencha-processed teas could be a novel beneficial beverage for inhibiting the absorption of saccharides.

Key Words: Camellia sinensis, Leaf, Kosencha, Green tea, Black tea, Saccharide

1. はじめに

茶(Camellia sinensis L.) は、世界中で摂取されている飲料の1つである。日本における茶の生産量は、平成17年まで急激に増加し、その後は微減して一定となっている[1]。この生産量の増加は、緑茶飲料の消費拡大によるものであり、現在、緑茶飲料の約85%がペットボトル容器で製造されている[2]。緑茶飲料の生産量は、経年変動の少ない他の茶飲料を大きく上回っている[3]。一方で、日本における緑茶の栽培品種は'ヤブキタ'が75%を占めており、他の品種はなかなか増加しない状況にある[1]。今後、消費者の多様な需要に合わせて、味、香り、色の違い、機能性の違い、食品に添加する形状等、様々な栽培品種や加工方法の利用が求められるものと考えられる[1,3]。

*1 物質工学科

Department of Chemistry & Biochemistry

*2 サンダイヤ株式会社

Sundia Co., Ltd.

茶は、その栽培方法の違いにより「煎茶」や「覆い茶」などがあり、また、摘採後の発酵による1次加工で「緑茶」、「烏龍茶」、「紅茶」が製造される。さらには、これら1次加工茶を原料として2次加工を行うことで、「プーアル茶」や「香煎茶」といった加工茶が製造されている。香煎茶加工は、緑茶などの1次加工茶を飽和水蒸気下で高温(160~200℃)、高圧処理するものであり、茶の渋味の軽減と香ばしさの付加、クリームダウン現象の防止、一般細菌や耐熱性菌の殺菌が期待される[4]。

我々は、これまでにヤブキタ緑茶と烏龍茶、それにこれらを香煎茶加工した茶葉エキスについて、糖消化酵素活性の阻害作用があることを報告してきた[4,5]。そこで、今回は'オクミドリ'を栽培品種とする覆い茶の一種である碾茶、国内紅茶用の栽培品種である'ベニフウキ'から製造された緑茶と紅茶、それに一般的なセイロン紅茶の4種について、それぞれ香煎茶加工したものを用いて、その糖消化酵素活性の阻害作用について検討した。

2. 材料および方法

2. 1 茶の試料およびその抽出物の調製

ヤブキタ緑茶、オクミドリ碾茶、ベニフウキ緑茶、ベニフウキ紅茶、セイロン紅茶およびこれらを香煎茶加工した茶は、香煎茶研究会より供与された。それぞれの茶葉 $20~\mathrm{g}$ に、 $2.5~\mathrm{L}$ の熱水を加え $10~\mathrm{分間抽出した}$ 。抽出液をろ紙でろ過後、ろ液を凍結乾燥することでそれぞれの抽出物を得た。

各抽出物の葉からの収量は、ヤブキタ緑茶 18.5%(w/w)、その香煎茶 26.0%、 オクミドリ碾茶 21.0%、その香煎茶 31.4%、ベニフウキ緑茶 25.7%、 その香煎茶 31.5%、ベニフウキ紅茶 31.3%、その香煎茶 21.4%、セイロン紅茶 22.3%、 その香煎茶 18.6%である[6]。ヤブキタ緑茶、オクミドリ碾茶、セイロン紅茶の収量はほぼ違いが見られないが、ベニフウキでは特に紅茶での収量が他よりも多い。また、碾茶を含む緑茶では香煎茶加工により収量が増加するのに対し、紅茶では香煎茶加工で低下する。



図1 各種茶葉とその抽出物の外観

A ヤブキタ緑茶, B ヤブキタ緑茶香緑茶, C オクミドリ碾茶, D オクミドリ碾茶香煎茶, E ベニフウキ緑茶, F ベニフウキ緑茶香煎茶, G ベニフウキ紅茶, F ベニフウキ紅茶香煎茶, F

J セイロン紅茶香煎茶

図1に、各種茶とその抽出物の写真を示す。緑茶と碾茶 では、香煎茶加工で茶葉および抽出物の褐色化が見られた が、紅茶では抽出物の色が薄くなった。

2. 2 in vitro での茶抽出物の糖消化酵素活性阻害作用 の測定[7]

シグマ社製のラット小腸アセトンパウダー50 mg に 0.1 M リン酸緩衝液(pH6.5)15 mL を加え、超音波処理 を 2 分間行った後、遠心分離を行った。得られた上清を、 糖消化酵素である α -グルコシダーゼの溶液として用いた。

基質(マルターゼ活性を測定する場合には2%マルトー ス水溶液、スクラーゼ活性を測定する場合には 4%スク ロース水溶液) $0.4 \, \text{mL}$ に、 α -グルコシダーゼ溶液 $0.5 \, \text{mL}$ 、 評価試料溶液(茶抽出物溶液またはコントロールとして 水)0.1 mL を加え、37℃で 30 分間反応させた。反応後、 反応溶液に 0.05N 水酸化ナトリウム溶液 1 mL を添加、 混合して反応を停止させた。この溶液のグルコース濃度 を和光純薬工業社製臨床検査用測定キット、グルコース CII-テストワコーを用いて測定した。茶抽出物としては、 ヤブキタ緑茶、ヤブキタ緑茶香煎茶、オクミドリ碾茶、 オクミドリ碾茶香煎茶、ベニフウキ緑茶、ベニフウキ緑 茶香煎茶、ベニフウキ紅茶、ベニフウキ紅茶香煎茶、セ イロン紅茶およびセイロン紅茶香煎茶を用いた。反応時 間0分の試料として、上記の操作とは別に、基質、酵素 および評価試料を混合した直後に反応を停止させた溶液 を用意し、グルコース濃度の測定を行った。なお、α-グ ルコシダーゼ溶液は、使用する当日に調製したものを用 いた。以下の式を用いて、酵素活性の阻害率を算出し、 各茶水抽出物について 50%阻害濃度(IC50値)を求めた。 同じ実験を3回行い、平均±標準偏差を求めた。

阻害率(%) =
$$\frac{[(C30) - (C0)] - [(I30) - (I0)]}{[(C30) - (C0)]} \times 100$$

 C0: コントロールの反応時間 0 分の吸光度(505 nm)

 C30: コントロールの反応時間 30 分の吸光度(")

 I0: 評価試料添加の反応時間 0 分の吸光度(")

 I30: 評価試料添加の反応時間 30 分の吸光度(")

2. 3 マウスの糖吸収に対する茶抽出物の影響[7]

日本 SLC 社より購入した、4 週齢の雄性 ddY 系マウスを用いた。マウスは、12 時間間隔で照明が点灯・消灯する 25℃の部屋で飼育し、実験中は水道水と実験動物用標準飼料を自由に摂取させた。実験の全期間を通じて、実験動物の取り扱いは、文部科学省「研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針」に準じた「沼津工業高等専門学校における動物実験に関する指針」の規定

に従った

マウスを1群5匹に分け、それぞれにスターチまたはスクロースの160 mg と、茶抽出物100 mg を含む水溶液0.5 mL を経口投与した。投与30分後、エーテル麻酔下でマウスの心臓より採血し、血漿を調製した。血漿グルコース濃度は、前述の臨床検査用キットを用いて測定した。茶の抽出物と糖の両方を含まない水のみを投与した対照群、糖のみを含む水溶液を投与した糖投与群も用意した。茶抽出物としては、ヤブキタ緑茶、ヤブキタ緑茶、オクミドリ碾茶およびオクミドリ碾茶香煎茶を用いた。

また、マウス小腸における糖の消化酵素活性を、次のように測定した。前項の実験において、茶の抽出物と糖の投与30分後に、マウスの小腸上部を約10cmの長さで採取し、生理食塩水で20%ホモジネートを調製した後、11,000×gで30分間遠心分離した。得られた上清を粗酵素液とし、糖の消化酵素の活性を測定した。粗酵素液に基質としてスターチまたはスクロースを加えたときに生成するグルコース量を前述の臨床検査用キットで測定し、マルターゼ+アミラーゼおよびスクラーゼの活性を、小腸1gあたり1時間に生成するグルコースのmg数で表記した。マウスの実験データは、平均土標準偏差で表記した。マウスの実験データは、平均土標準偏差で表記した。実験群間の平均値の差の有意性については、一元配置分散分析法(one-way ANOVA)で解析し、続けてTukeyの多重比較法を用いて検定した。p<0.05を統計学的に有意であるとした。

3. 結果および考察

3. 1 in vitro での茶抽出物の糖消化酵素活性阻害作用 オクミドリ碾茶、ベニフウキ緑茶、ベニフウキ紅茶、セイロン紅茶、および比較対照としてのヤブキタ緑茶とそれらの香煎茶の抽出物について、ラット小腸マルターゼおよびスクラーゼの活性に対する IC_{50} 値を測定した結果を図2に示す。

いずれの茶抽出物もマルターゼとスクラーゼの活性を 阻害したが、香煎茶加工することによりその活性が低下す る傾向が見られた。ただし、2.1に示したように緑茶お よび碾茶では香煎茶加工により抽出物の収量が増加する ことから、同重量の茶葉で飲用した場合には、これら糖消 化酵素の活性に対する作用の差は軽減されるものと予想 される。

茶の1次加工方法の違いで比較すると、いずれの糖消化 酵素活性に対する阻害作用も、緑茶と碾茶の方が紅茶に比 較して強いことがわかった。この結果は、in vitro での α - グ

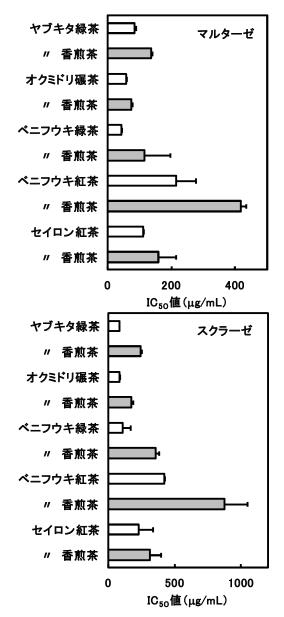


図 2 ラット小腸マルターゼ活性およびスクラーゼ活性に 対する 10種の茶抽出物の阻害作用 平均値±標準偏差. N=3.

ルコシダーゼ活性に対する阻害作用が紅茶よりも緑茶で強い、また、ラットにおける糖吸収抑制作用も紅茶よりも緑茶で強い[8]というこれまでの報告と一致している。

次に栽培品種の違いで比較すると、2種の緑茶では、マルターゼ活性に対する阻害作用はヤブキタよりもベニフウキで、スクラーゼ活性に対する阻害作用はベニフウキよりもヤブキタで、それぞれ強かった。ベニフウキは国産の紅茶用栽培品種として開発されたものであり、ヤブキタに比較してカテキン含量が高い[9]だけでなく、その茶葉には抗アレルギー作用を持つメチル化カテキンが含まれている[10]。メチル化カテキンは、ベニフウキを発酵させて紅茶にすると低減することから、現在、その緑茶と紅茶の両

方が製造されている。また、ベニフウキ緑茶を香煎茶加工した場合、メチル化カテキンの約 65%が残存する[11]。オクミドリ碾茶のマルターゼおよびスクラーゼ活性の阻害作用は、これら2種の緑茶よりも強かった。碾茶は、摘採前に茶樹を被覆して栽培する覆い茶の1種であり、生葉を蒸して柔捻せずに乾燥させて製造する。香ばしいかぶせ香とアミノ酸含量の高さが特徴で、これを粉末にすると抹茶になる。近年、煎茶の生産量が漸減しているのに対し、碾茶を含む覆い茶の生産量は、粉末として食品に添加する等の利用もあってか、主生産地の近畿および東海地方において増加している[12]。2種の紅茶の中では、マルターゼおよびスクラーゼのいずれにおいても、セイロン紅茶の方がベニフウキ紅茶よりもその活性阻害作用が強かった。

2. 3 マウスの糖吸収に対する茶抽出物の抑制作用

in vitro でのラット小腸マルターゼおよびスクラーゼの活性阻害作用が強かったオクミドリ碾茶とその香煎茶について、スターチまたはスクロースを単回経口投与したマウスでの、茶抽出物の同時投与における血糖値上昇抑制作用について検討した。比較対照として、ヤブキタ緑茶とその香煎茶についても同様の検討を行った。結果を図 3(A) に示す。

スターチおよびスクロースともに、糖のみを投与したマウスの血糖値は対照群に比較して上昇する傾向が見られた。スターチの投与では、用いた4種の茶抽出物のいずれも血糖値の上昇を抑制する傾向が見られたが、特にオクミドリ碾茶で有意な効果が認められた。スクロースの投与では、用いた4種の茶抽出物のいずれも血糖値の上昇を有意に抑制したが、やはりオクミドリ碾茶の効果が最も強かった。オクミドリ碾茶香煎茶の効果は、ヤブキタ緑茶香煎茶よりも強かった。これらの結果から、オクミドリ碾茶とその香煎茶は、ヤブキタ緑茶とその香煎茶に比較して強い糖吸収抑制作用が期待できるものと考えられる。

このときのマウス小腸の糖消化酵素活性を測定した結果を図3(B)に示す。スターチを投与したマウスの小腸では、スターチを基質としたときのグルコースの生成量は、各群間で著しい差は認められず、対照群に比較してオクミドリ香煎茶投与群でのみ有意に高い値が見られた。スクロースを投与したマウスの小腸では、スクロースを基質としたときのグルコースの生成量は、対照群に比較して有意に低かった。4種の茶抽出物投与群では、スクロース投与群に比較して低下する傾向が見られた。しかし、スターチ、スクロースのいずれの実験でも、4種の茶抽出物を投与したマウス小腸の糖消化酵素の活性の高さと in vitro でのその活性阻害作用の強さとの間に一定の関係は認められず、茶抽

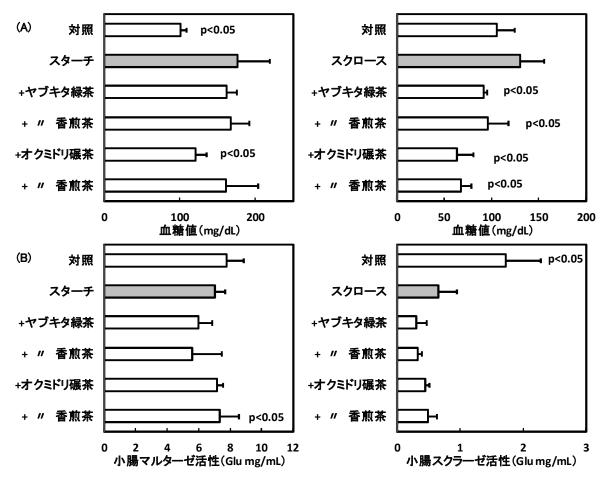


図3 各種茶抽出物の糖投与マウスの血糖値と小腸糖消化酵素活性に対する作用 平均値±標準偏差. N=5. 糖投与群との有意差を図中に示した.

出物が示したマウス血糖値上昇抑制作用への糖消化酵素活性阻害作用の影響については明確にはならなかった。これは、マウス小腸の糖消化酵素活性が上昇しなかったために茶抽出物のそれに対する阻害作用が評価し難かったためと考えられる。in vitro で観察されたこれら茶抽出物の糖消化酵素活性阻害作用は、マウスにおける糖吸収抑制作用の一部には寄与しているものと予想される。

茶の糖吸収抑制作用に関わる成分としては、ポリフェノールがある。ヤブキタ緑茶の葉中にはカテキン類の単量体が約15%含まれており[9]、その糖消化酵素活性阻害作用が知られている[13]。紅茶にも、単量体のカテキン類は緑茶の約40%は残存している[14]。また、紅茶に含まれるカテキン2量体のテアシネンシンA、ウーロンテアニンガレート、さらにはテアフラビン類にも、糖消化酵素活性阻害作用や糖吸収抑制作用がある[15-17]。本研究で用いた茶抽出物中の総ポリフェノール量は、ヤブキタ緑茶、オクミドリ碾茶、ベニフウキ緑茶はほぼ同程度であり、これらより少ないベニフウキ紅茶とセイロン紅茶はやはり同程度である[6]。これらのことから、緑茶、碾茶および紅茶に認められる糖吸収抑制作用には、それぞれに含まれるポリフェノ

ール成分が関与しているものと考えられる。しかし、それ ぞれの茶抽出物の作用の強さの違いに関係する成分は、今 のところ明確になっておらず、香煎茶加工された茶抽出物 の有効成分も含め、その解明は今後の課題である。

4. 参考文献

- [1] 根角厚司 (2014): 第 29 回茶学術研究会講演会講演要旨, pp.67-70.
- [2] 戸田雅雄 (2009): 食品と容器, 50, 618.
- [3] 原 征彦 (2013): 茶学術研究会公開シンポジウム「世界のお茶事情 甘くないお茶の広がり」, pp.21-24.
- [4] 芳野恭士, 清水康夫, 他 (2015): New Food Industry, **57**, 1-10.
- [5] 芳野恭士, 善養寺優香, 他 (2016): 沼津高専研究報告, **50**, 87-90.
- [6] 芳野恭士, 杉本奈央, 他 (2018): *J. Technol. Educ.*, **25**, 37-45.
- [7] K. Yoshino, Y. Miyauchi, et al. (2009): Biosci. Biotechnol. Biochem., 73, 1096-1104.

- [8] 吉川友佳子, 松浦寿喜, 他 (2006): 日本食品化学学会誌, **13**, 51-55.
- [9] 山本(前田)万里, 佐野満昭, 他 (2001): 日本食品科学工学会誌, **48**, 64-68.
- [10] 佐野満昭, 芳野恭士 (2013): 内分泌・糖尿病・代謝内 科, **36**, 303-308.
- [11] 清水康夫 (2014): 交流, **53**, 20-21.
- [12] 農林水産省統計部 (2014/2016): 作物統計.
- [13] Y. Hara, M. Honda (1990): Agric. Biol. Chem., 54,

- 1939-1945.
- [14] 芳野 恭士, 原 征彦 (1993): 沼津高専研究報告, **27**, 87-91.
- [15] T. Matsui, T. Tanaka, et al. (2007): J. Agric. Food Chem., 55, 99-105.
- [16] 福井祐子, 岩下 孝, 他 (2008): 天然有機化合物討論 会講演要旨集 50, pp.475-480.
- [17] 芳野恭士, 中戸川 奨, 他(2012): 沼津高専研究報告, **46**, 331-336.