

各種香煎茶の in vitro におけるリパーゼ活性阻害作用

芳野恭士 *1・後藤健太 *1・天野萌菜 *1・清水 篤 *2

Inhibitory Effects of Various Kosencha Extracts on Lipase Activities in vitro

YOSHINO Kyoji *1, GOTO Kenta *1, AMANO Mona *1, SHIMIZU Atsushi *2

Abstract: Multiple health beneficial effects of tea have been interested. Kosencha is produced by treating first processing teas like green tea, oolong tea, and black tea at high temperature and high pressure. Kosencha is characterized by less astringency and bitterness compared to the original tea. In this study, inhibitory effects of some kinds of Kosencha on lipase activity were examined in in vitro method. Aqueous extracts of Kosencha produced from green teas, oolong tea, and black tea showed the inhibitory effects on porcine pancreatic lipase activity, though the functions of Kosencha were slightly weaker than those of the corresponding original teas, except 'Okumidori' tencha, one of the green teas. 3-Amino-1-ethylglutarimide which is produced from L-theanine, one of the tea amino acids, and polyphenolic compounds such as tea catechin monomers and the derivatives would contribute to this function of Kosencha. These results suggested that Kosencha could affect lipid metabolism-improving effects as same as the original teas.

Key Words: Kosencha, Tea, Lipase, Lipid absorption, Amino acid, Polyphenol

1. はじめに

メタボリック症候群は、生活習慣病の一つである循環器系疾患の発症リスクを高めることで問題となっているが、その原因として糖や脂質の過剰摂取による肥満が挙げられる[1]。茶 (*Camellia Sinensis* L.) には、糖や脂質の消化酵素である α -グルコシダーゼとリパーゼの活性を阻害することで、その体内吸収を穏やかにする効果があることが知られている[2,3]。しかし、緑茶の国内生産量は近年ほぼ変化しておらず、その原因としてヤブキタ品種の使用が多く飲料としての多様性に乏しいことや[4]、緑茶の渋みが一部の消費者に好まれないことなどがあるものと考えられる。

香煎茶は、緑茶、烏龍茶、紅茶といった一次加工茶を飽和水蒸気下で加圧・加熱(160~200°C)処理することにより、渋味を軽減させた二次加工茶である[5]。緑茶の香煎茶には、肥満患者における痩身作用と心血管障害リスクの軽減作用があることが報告されており[6]、また、緑茶を含む様々な茶を香煎茶加工したものに糖吸収抑制作用があること

も確認されている[7-10]。また、肥満は継続的な炎症を伴うが[11]、各種香煎茶には炎症を抑制する作用もある[12]。そこで、本研究では香煎茶の抗肥満作用に関する別のメカニズムとして、種々の一次加工茶を香煎茶加工したものについて、その in vitro における脂質消化酵素リパーゼの活性に対する阻害作用について検討した。

2. 材料および方法

2. 1 用いた茶試料

以下の一次加工茶およびその香煎茶を実験に用いた。' '中の名称はそれぞれの栽培品種名である。次項以降では、' 'を省略する。

- 1) 'べにふうき'緑茶とその香煎茶
- 2) 'おくみどり'碾茶とその香煎茶
- 3) 中国産烏龍茶とその香煎茶
- 4) セイロン紅茶とその香煎茶

このうち、'べにふうき'は、花粉親の'枕 Cd86'と種子親の多田系インド雑種である'べにほまれ'を交配させた紅茶品種である。'おくみどり'は、花粉親の'静岡在来 16号'と種子親の'やぶきた'を交配させた緑茶品種である。

2. 2 茶のエキスの調製

前項に示した 8 種の一次加工茶とその香煎茶について、

*1 物質工学科

Department of Chemistry & Biochemistry

*2 サンダイヤ株式会社

Sundia Co., Ltd.

茶葉 8 g を 1 L の沸騰水に加えて 10 分間抽出を行った後ろ過し、抽出液の凍結乾燥を行い各茶のエキスを得た。それぞれのエキスの葉からの収量を表 1 に示す。

2. 3 in vitro でのリパーゼ活性阻害作用の測定

試料として水または適当な濃度の茶エキス水溶液を用い、その 10 μL に DS ファーマ社製ヒト血中リパーゼ活性測定用試薬リパーゼキット S の発色液 330 μL を加え、さらに 0.05 mg/mL ナカライテスク社製ブタ膵臓リパーゼ溶液 17 μL を加えて攪拌した。これにキットの基質液を 33 μL 加えて攪拌し、30°C で 30 分間インキュベートした後、キットの反応停止液 667 μL を加えて攪拌した。同じ試料について基質液を加える前にインキュベートして反応停止液を加えた後、基質液を加えたものも用意した。それぞれの反応液の 412 nm における吸光度を測定し、基質液を先に入れた方を ODA、後に入れた方を ODB とした。得られた吸光度を用いて、次式によりリパーゼ活性阻害率を算出し、茶エキスとの関係から、それぞれの 50% 阻害濃度 (IC₅₀ 値) を算出した。

$$\text{阻害率}(\%) = \left(1 - \frac{\text{茶エキスの ODA} - \text{茶エキスの ODB}}{\text{水の ODA} - \text{水の ODB}} \right) \times 100$$

反応前の試薬は氷冷して用い、インキュベート開始以降は反応液を遮光した。反応原理は、合成基質である三酪酸ジメルカプロールをブタ膵臓リパーゼで分解して生成するジメルカプロールを、5,5'-ジチオビス (2-ニトロ安息香酸) 試薬で発色させる反応を利用している。

3. 結果および考察

べにふうき緑茶、おくみどり碾茶、中国産烏龍茶、セイロン紅茶とそれぞれの香煎茶のエキスについて、ブタ膵臓リパーゼ活性に対する IC₅₀ 値を測定した結果を表 2 に示す。いずれの茶エキスにも in vitro においてブタ膵臓リパーゼ活性を阻害する効果が認められたため、それぞれの原料茶とその香煎茶に脂質の吸収抑制作用があることが期待さ

れる。本実験で用いたべにふうき緑茶、中国産烏龍茶、セイロン紅茶については、香煎茶加工を行うことでリパーゼ活性阻害作用が低下する傾向が見られた。ただし、べにふうき緑茶など、緑茶を香煎茶加工すると表 1 に見られるようにそのエキスの収量が高まることから、通常の食事において茶葉からの浸出液を摂取する場合には、原料緑茶と香煎茶でリパーゼ活性阻害作用はあまり差がないものと予想される。

一方、おくみどり碾茶では香煎茶加工によりリパーゼ活性阻害作用が高まることがわかった。その理由は不明だが、碾茶特有の成分に関係することが予想される。碾茶は葉の摘採前に遮光し、摘採後に蒸して乾燥させた緑茶の一種であり[13]、これを粉末状にしたものが抹茶として用いられている。おくみどりなどを遮光した茶葉には、グルタミン酸誘導体であるテアニン等の遊離アミノ酸が多く含まれる[14]。テアニン (図 1) には、ストレス軽減作用等の保健作用があることが知られている[15,16]。宮下らは、緑茶を亜臨界水抽出することにより、テアニンから 3-アミノ-1-エチルグルタルイミド (AEG) (図 1) が形成されることを報告している[17]。AEG は、環状テアニンとも呼ばれる。AEG にはアンジオテンシン変換酵素活性に対する阻害作用があるため[18]、血圧上昇の抑制効果が期待される。近年、L-グルタミンをオートクレーブ処理することで、亜臨界水抽出の場合と同様に 3-アミノグルタルイミドが形成されることが報告されている[19]。香煎茶加工は、オートクレーブ処理に似た加工法であるため、テアニンを多く含むおくみどり碾茶を香煎茶加工すると、テアニンから AEG が形成される可能性がある。

そこで、おくみどり碾茶とその香煎茶について、茶葉中のいくつかの遊離アミノ酸の含量を測定した結果を表 3 に示す。松田ら[14]は、摘採前に遮光していないやぶきた緑茶ではテアニンの含量が 1620 mg/100 g 茶葉、おくみどり緑茶でも 1240 mg/100 g 茶葉であるとしている。今回用いたおくみどり碾茶のテアニン含量は、3300 mg/100 g 茶葉

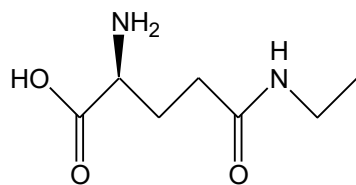
表 2 各種茶エキスのブタ膵臓リパーゼ活性に対する 50% 阻害濃度

茶試料	IC ₅₀ 値 ($\mu\text{g/mL}$)
べにふうき緑茶	90.1 \pm 2.7
べにふうき緑茶香煎茶	96.2 \pm 2.8
おくみどり碾茶	107.7 \pm 5.9
おくみどり碾茶香煎茶	91.1 \pm 10.3
中国産烏龍茶	66.6 \pm 14.8
中国産烏龍茶香煎茶	108.3 \pm 29.0
セイロン紅茶	84.1 \pm 5.3
セイロン紅茶香煎茶	129.8 \pm 12.1

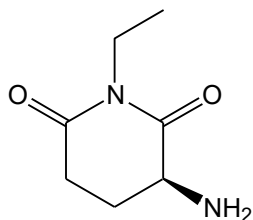
IC₅₀ 値 : 50% 阻害濃度。

表 1 各種茶エキスの葉からの収量

茶試料	収量 (% , w/w)
べにふうき緑茶	23.3
べにふうき緑茶香煎茶	29.5
おくみどり碾茶	21.6
おくみどり碾茶香煎茶	32.2
中国産烏龍茶	19.9
中国産烏龍茶香煎茶	18.1
セイロン紅茶	22.8
セイロン紅茶香煎茶	19.1



テアニン



3-アミノ-1-エチルグルタルイミド (AEG)

図1 テアニンと3-アミノ-1-エチルグルタルイミドの化学構造

と上記の緑茶に比較して高く、遮光により遊離アミノ酸の含量が高く保たれたものと考えられる。これに対し、おくみどり碾茶の香煎茶中のテアニン含量は 230 mg/100 g 茶葉と、香煎茶加工により 10%以下に低下した。一方、AEG 含量はおくみどり碾茶で 300 mg/100 g 茶葉であるのに対し、その香煎茶では 2200 mg/100 g 茶葉と上昇し、香煎茶加工で AEG が形成されていることが確認できた。AEG のリパーゼ活性阻害作用への寄与については、今後検討する必要がある。また、おくみどり碾茶とその香煎茶には、やぶきた緑茶とその香煎茶とそれぞれ同程度のポリフェノール成分が含まれている[20]。緑茶中に含まれるカテキン類や烏龍茶や紅茶に含まれるその重合体には、リパーゼ活性阻害作用があることが知られていることから[21,22]、今回用いた一次加工茶およびその香煎茶の同作用に対するポリフェノール成分の関与も考えられる。

表3 おくみどり碾茶およびその香煎茶中の遊離アミノ酸関連成分の含量

成分	碾茶	碾茶香煎茶
L-アスパラギン酸	1400	1100
L-グルタミン酸	1100	330
L-セリン	190	130
L-グルタミン	300	ND
L-アルギニン	460	200
L-テアニン	3300	230
AEG	300	2200

単位：mg/100 g 茶葉。AEG：3-アミノ-1-エチルグルタルイミド，ND：検出限界以下。(株)エコプロリサーチ調べ(蛍光誘導体化-高速液体クロマトグラフィー法)。

4. まとめ

べにふうき緑茶、おくみどり碾茶、中国産烏龍茶、セイロン紅茶とそれぞれの香煎茶のエキスに、in vitro におけるブタ膵臓リパーゼ活性に対する阻害作用があることを確認した。このことは、これらの茶エキスを食事の際に摂取した場合、糖と同様に脂質の吸収も穏やかにする効果が期待できることを示唆しており、これらの作用が緑茶香煎茶で報告されている瘦身効果のメカニズムの一部であると推測される。やぶきた緑茶、べにふうき緑茶、セイロン紅茶を香煎茶加工すると、その茶葉中のカテキン類は元の茶の 53.0~62.5%に低下するが、総ポリフェノール量では 73.0~89.3%が残存する。特にやぶきた緑茶では、カテキン類は総ポリフェノールの約 86%を占めているので、香煎茶加工で 89.3%が残存するポリフェノール成分には、カテキン類の分解物や重合物などが多く含まれるものと考えられる。今後、動物を用いた in vivo の実験系においてもその脂質吸収抑制作用を確認するとともに、この効果に寄与する成分についてさらに検討する必要がある。

参考文献

- [1] Sato, K., Arai, H., et al. (2008): *J. Med. Invest.*, **55**, 183-195.
- [2] 吉川友佳子, 松浦寿喜, 他 (2006): 日本食品化学学会誌, **13**, 51-55.
- [3] 榮 昭博, 関崎悦子 (2005): 桐生短期大学紀要, **16**, 13-17.
- [4] 根角厚司 (2014): 第 29 回茶学術研究会講演会講演要旨, p.67.
- [5] 鳴嶋茂治, 清水康夫, 他: 特許出願 2012 17176, 特許公開 2013 34469.
- [6] Katanasaka, Y., Miyazaki, Y., et al. (2020): *Biol. Pharm. Bull.*, **43**, 675-681.
- [7] 芳野恭士, 清水康夫, 他 (2015): *New Food Industry*, **57**, 1-10.
- [8] 芳野恭士, 善養寺優香, 他 (2016): 沼津高専研究報告, **50**, 87-90.
- [9] 芳野恭士, 窪田巧輝, 他 (2019): 沼津高専研究報告, **53**, 41-46.
- [10] 芳野恭士, 芳野広起, 他 (2019): 沼津高専研究報告, **53**, 47-51.
- [11] 小川佳宏 (2011): 日薬理誌, **138**, 178-181.
- [12] 芳野恭士, 石川伸之輔, 他 (2019): 沼津高専研究報告, **53**, 53-55.

-
- [13] 島田和子, 竹下 円, 他 (2000): 日本食品科学工学会誌, **47**, 254-259.
- [14] 松田智子, 松ヶ谷祐二, 他 (2016): 茶業研究報告, **121**, 9-15.
- [15] Juneja, L. R., Chu, D.-C., *et al.* (1999): *Trends in Food Sci. Technol.*, **10**, 199-204.
- [16] Yoto, A., Motoki, M., *et al.* (2012): *J. Physiol. Anthropol.*, **31**, 28.
- [17] Miyashita, T., Okamura, T., *et al.* (2014): *Studies in Science and Technology*, **3**, 45-48.
- [18] 宮下知也, 横田 正, 他 (2015): 科学・技術研究, **4**, 95-100.
- [19] Sandal, I., Bhattacharya, A., *et al.* (2011): *BMC Chem. Biol.*, **11**, 1.
- [20] 芳野恭士, 杉本奈央, 他 (2018): 技術・教育研究論文誌, **25**, 37-45.
- [21] Nakai, M., Fukui, Y., *et al.* (2005): *J. Agric. Food Chem.*, **53**, 4593-4598.
- [22] 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.