

茶浸出液中に含まれるポリフェノール類の リパーゼ活性に及ぼす影響

石井智恵美・中林みどり

茶は揚子江、メコン川、イラワジ川、ブラマプトラ川などが集まる中国西南部の雲南省から、ビルマ北部、アッサム地方にわたる山地が原産地¹⁾と考えられているが、現在は東南アジアを中心に広く栽培され、様々に加工されて、世界の人口の約半分は茶を飲んでいると言われている。茶には生葉を発酵させてつくる紅茶、発酵させないでつくる緑茶、両者の中間の半発酵茶（ウーロン茶）などがあるが、我国における茶の生産のほとんどは緑茶である。茶に含まれる主要な化学成分のうち、他の植物に比べて特異²⁾なものとしては、テアニン、カフェインを含むこと、カテキン類の含有量が多いことがあげられる。

カテキン類は茶の苦渋味の主体であり、一般に総称してタンニンと呼ばれている。茶のタンニンがカテキン類の混合物であることは辻村ら³⁾によってすでに明らかにされており、煎茶の乾物100g中、粗タンニンとして12.9g~14.7g²⁾含まれている。中でも(-)-エピガロカテキンガレート⁴⁾⁵⁾⁶⁾のカテキン部分は苦味を、そのガレート部分は渋味を呈⁷⁾すると言われている。これらはすべて分子中に多数のフェノール性水酸基をもっていることから、ポリフェノールに分類されている。

カフェインは核酸系物質（プリン塩基のひとつ）であり、熱水によく溶けて苦味を呈する（苦味閾値0.0007M⁷⁾）。茶での含有量は乾物100g中2.5~5.5gであり、特に第一、二葉にその存在が集中している。⁸⁾

テアニンは玉露の旨味の本体であると言わ

れ、1950年に酒戸⁹⁾によってこれがL-グルタミン酸の γ -エチルアミドであることが確認されている。その含有量は煎茶（乾物100g中）で平均1.5g、全遊離アミノ酸中の50%以上を占めている。¹⁰⁾

著者らはすでにスクリーニング試験¹¹⁾において緑茶浸出液にリパーゼ活性の阻害作用のあることを報告しているが、今回は茶の特殊成分の中でも特に含有量の多いポリフェノール類（エピガロカテキンガレート、エピカテキンガレート、エピカテキン、没食子酸、タンニン酸）についてリパーゼ活性に与える影響を検討した。また、これらポリフェノールについて含有量の多いカフェインについてもあわせて試験した。

実験方法

1. 試料

茶葉は狭山産の煎茶を用いた。

2. 試薬

エピカテキンガレートは栗田工業(株)より、エピガロカテキンガレート、エピカテキン、没食子酸、タンニン酸、カフェインはSIGMA A社より購入した。

リパーゼはブタすい臓リパーゼ（SIGMA）を用いた。

3. 茶浸出液の調製

茶浸出液は「茶のおいしい入れ方」¹²⁾に従って、茶葉 3 g, 湯量 80 ml, 湯の温度 80℃抽出時間 1分 (1人分) で得た。

4. リパーゼ活性の測定

前報¹³⁾に従ってリパーゼ活性を測定し、計算により阻害率を求めた。リパーゼ添加量は反応混合液 6 ml 中 0.025 mg (550 ユニット) とした。

結果と考察

1. 茶浸出液による影響

反応混合液 6 ml 中に茶浸出液が 1, 2, 3 ml 入るように調製してリパーゼ活性の測定を行った。図 1 に示すように、リパーゼ活性は茶浸出液 1 ml 添加では 42%, 2 ml 添加では 57%, 3 ml 添加では 67% 阻害された。また、この茶浸出液を凍結し解凍する操作を繰り返した場合、そのリパーゼ阻害活性に影響を与えるかどうかを観察した(図 2)。その結果、上記操作を 2 回繰り返した後の浸出液は阻害活性をほとんど失った。

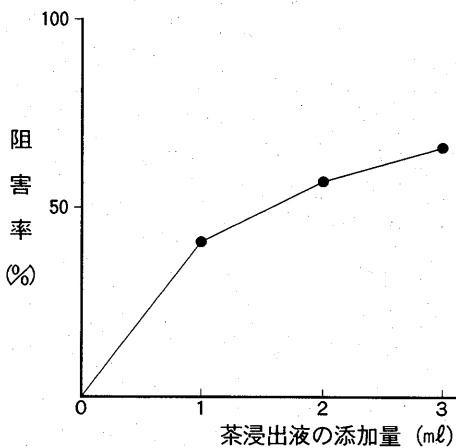


図 1 茶浸出液のリパーゼ活性におよぼす影響
反応条件：温度 37℃, 酵素 550 units
pH 7.0, 茶浸出液量 上記

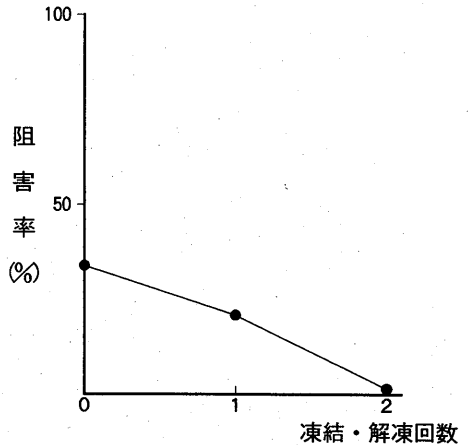


図 2 凍結・解凍操作が茶浸出液のリパーゼ阻害活性におよぼす影響

反応条件：温度, 酵素, pH は図 1 に示した 茶浸出液 0.5 ml

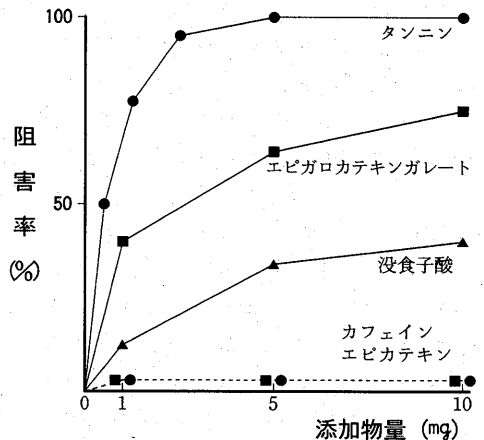


図 3 リパーゼ活性におよぼす添加物の影響

反応条件：温度, 酵素, pH は図 1 に示した 添加物量 上記

2. ポリフェノール類およびカフェインによる影響

煎茶の浸出液にタンニンは 0.045%, カフェインは 0.03% 含まれる¹⁴⁾ことからリパーゼの反応混合液 6 ml 中に添加物が各 1, 5, 10 mg 入るように調製した。これらの反応混合液中に占める濃度は 0.017%, 0.083%, 0.17

%となる(タンニン酸が重合度の一定でない物質の混合液であったため、図3の横軸の表示はモルあるいはモル濃度とせず添加量mgの表示とした)。本実験で茶浸出液の主要成分でないタンニン酸を用いたのは、タンニン酸が通称タンニンとして市販されているので参考として結果を比較するためである。

結果は図に示す通り、タンニン酸は強くリパーゼ活性を阻害した。その阻害率は2.5mg添加95%、5mg添加で100%であった。タンニン酸にはタンパク質の凝固作用があることから、リパーゼがタンニン酸によって変性するため活性低下を生じたと思われる。

茶浸出液に含まれるポリフェノール類の基本的構造(フラバン-3-オール)の2の位置にカテコール環が結合したエピカテキンはリパーゼ活性を阻害しなかった。しかし、エピカテキンの没食子酸エステルであるエピカテキンガレートは5mg添加でリパーゼ活性を65.5%阻害した(詳細は省く)。

フラバン-3-オールの2の位置にピロガロール環が結合し、さらに没食子酸がエステル結合したエピガロカテキンガレートも1mg添加で40%、5mg添加で64%、10mg添加で75%の阻害率を示した。そこでやはりタンパク質凝固作用を持つ没食子酸を単独で添加してみると、1mg添加で15%、5mg添加で35%、10mg添加で40%の比較的弱い阻害率を示した。

カフェインにはリパーゼの阻害活性が認められなかった。

これらの結果により、茶浸出液に含まれるポリフェノール類の主要成分にリパーゼの阻害活性があるか否かは、フラバン-3-オールの2の位置にカテコール環が結合するかピロガロール環が結合するかというよりは、フラバン-3-オールの3の位置の水酸基に没食子酸がエステル結合しているか否かによるものではないかと推測される。しかし、没食子酸を単独で添加した場合におけるリパーゼ活

性の阻害率の低さと、全くリパーゼを阻害しないエピカテキンにこの没食子酸が結合した時に出現してくる強い阻害効果との関係を明確にするには、さらに詳細な検討が必要である。また、茶浸出液を凍結・解凍する操作を2度繰り返すとリパーゼの阻害活性が消失するのは没食子酸部分に何らかの変化が生ずるためと考えられる。

要 約

1. 茶浸出液にはリパーゼの阻害活性があった。また、茶浸出液の凍結・解凍を繰り返すとリパーゼ阻害活性は消失した。
2. エピガロカテキンガレート、エピカテキンガレートにはリパーゼの阻害活性があったが、エピカテキンには認められなかった。
3. タンニン酸には強いリパーゼ阻害活性があった。
4. 没食子酸の単独での添加では比較的弱い阻害活性を認めた。
5. カフェインにはリパーゼ阻害活性は認められなかった。

文 献

- 1) 守屋毅：NHKブックス398「お茶のきた道」日本放送出版協会(1981)
- 2) 村松敬一郎：茶の化学，朝倉書店(1992)
- 3) M. Tsujimura：Pap. I.P.C.R., 10, 253(1929), 10, 63(1930), 15, 155(1931), 24, 149(1934), 26, 186(1935)
- 4) A.E. Bradfield et al：J. Chem. Soc., 32, (1947)
- 5) A.E. Bradfield：Chem. and Ind., 28, 242(1946)
- 6) A.E. Bradfield et al：J. Chem. Soc. 2249(1948)
- 7) 中林敏朗他：緑茶・紅茶・烏龍茶の化学

と機能, 弘学出版(1994)

- 8) P. van Romburgh et al.: "All About Tea" vol.1, The Tea and Coffee Trade Journal Company, New York(1935)
- 9) 酒戸弥二郎: 農化, 23, 262(1950)
- 10) 池ヶ谷賢二郎他: 野菜茶試験報B (金谷) 2, 47(1988)
- 11) 谷口宏吉他: 明大農研報, 69, 15(1985)
- 12) 池ヶ谷賢二郎: 食の科学, 117, 29(1987)
- 13) 石井智恵美他: 食工誌, 35, 430(1988)
- 14) 志賀リツ他: 聖心ウルスラ学園短期大学紀要, 21, 20(1990)