日本茶と Manuka の脂質組成およびステロール組成

石川 博美*

Composition of Lipids and plant sterol in Japanese Tea and Manuka

Hiromi ISHIKAWA

要旨 広く植物界に分布する植物ステロールはコレステロールに類似した構造をもち、植物の脂溶性画分に豊富に存在し、様々な生理活性を持つことから注目されている。本研究では抗菌作用や抗炎症作用の効果が期待されている Manuka と、抗酸化作用があり生活習慣病予防に期待されている日本茶について、脂質組成を調べ不飽和脂肪酸や植物ステロールが多い事を示してきた。今回は季節による脂質組成や植物ステロールの変化や含有量の変化について比較検討し、季節による変動が大きい事を示した.脂質組成では秋の茶葉と茎、Manuka の樹皮にリン脂質の含有量が多く、脂肪酸組成では秋の茶葉とManuka の葉に n-3 系の α - リノレン酸の含有量が多かった.

植物ステロールは血漿コレステロール低下作用があることから日本茶や Manuka の生理作用との関連性が示唆されると共に、季節による変動が大きいことを示した.

キーワード:日本茶 Manuka 植物ステロール 脂肪酸

はじめに

抗菌効果や抗酸化作用などの効果が期待されている日本茶($Camellia\ sinensis$)と、同様の作用を持ちニュージーランドに広く分布している植物の $Manuka\ (Leptosupermone)$ について、これまで主に日本茶や $Manuka\ の葉や樹皮に含まれている油脂の脂質組成や脂肪酸組成について、また、定性的なステロール組成について報告を行い<math>^{1\sim3}$ 日本茶や $Manuka\ の葉や樹皮に飽和脂肪酸よりも <math>n-3$ 系の不飽和脂肪酸を多く含有し、ステロール類については β -シトステロールを多く含有していた事を前回報告した.

ステロール類は、動植物界に広く存在しており生物体の生合成にとって重要な有機物であり、植物ステロールが、T-CHOLおよびLDL-CHOLなどの血漿高コレステロール濃度を低下4)させる

ことは以前から知られている。著者が行った研究でも日本茶や Manuka には多くのステロール類を含有しており、植物ステロールはヒトにとって必須成分ではないが、日本人の場合は植物性食品から平均 400mg/日程度を摂取5)していることがわかっている。近年の健康志向から日本茶では深蒸し茶や秋番茶が多く利用されるようになった。以前は秋に採取される事がなかったお茶を秋に採取し秋番茶として飲まれている。そこで、今回はわれわれの日常生活に浸透している春と秋に採取した日本茶の葉と茎および Manuka の葉・樹皮のステロール含有量について検討すると共に脂質組成・脂肪酸組成についても比較検討を行った。

実験方法

1. 試料の抽出および分画

日本茶の生葉・茎と Manuka の葉および樹皮は従来の方法⁶⁾ により総脂質を得たのち、固相抽

^{*}いしかわ ひろみ 文教大学教育学部学校教育課程家庭専修

出により精製を行った. 総脂質は前回と同様の操作方法で各脂質に分画した.

クロロホルム:メタノール(2:1)で総脂質を抽出し、不純物を除去する目的で、溶媒にとかした濃いグリーンのクロロフィル色素を取り除くために、ENVI-Carb カラム(2層式固相抽出管)により色素を除去した。次にSep-Pak⁷⁾ カラムにより、中性脂質と複合脂質に分画した。ヘキサン、メタノール、クロロホルム:メタノール:水で溶出し、それぞれ、ヘキサン画分を中性脂質、メタノール画分を複合脂質とした。複合脂質(リン脂質)は、おもにホスファチジルエタノールアミン(PE)、クロロホルム画分を主に、ホスファチジルコリン(PC)とした。

2. 脂質の定性および定量

シリカゲル薄層板 (MERCK 製) を用いて薄層 クロマトグラフィー (TLC) を行った. 溶媒で 展開後, 乾燥させ50%の硫酸を噴霧して加熱発 色を行った. 展開溶媒としては (A) 石油エーテル:ジ・エチルエーテル:酢酸 (70:30:1) (B) 石油エーテル:ジ・エチルエーテル:酢酸 (50:50:1) (C) クロロホルム:メタノール:水 (65:35:8), (D) クロロホルム:メタノール:水 (60:40:10) を用いた.

脂肪酸メチルエステル化の調整は、塩酸メタノール法により行った。各画分の一定量の脂質に含まれる脂肪酸を脂肪酸メチルエステル化の形に遊離させるため、5%HCl-MeOHを1ml加え、125℃で1時間以上加熱し、メチル化を行った。メチル化後ヘキサンに転溶した溶媒の水洗を繰り返し精製後一定量に濃縮し、ガスクロマトグラフィーで脂肪酸の測定を行った。同時に標準物質との同定を行いながらその組成の測定を行った。

ガスクロマトグラフィーは、PACKARD-5890型を用い、充填剤はDB-23、カラム温度は昇温230℃、FID 検出器 250℃、キャリヤ-ガスはヘリウム(He)を用いた.

3. ステロールの測定

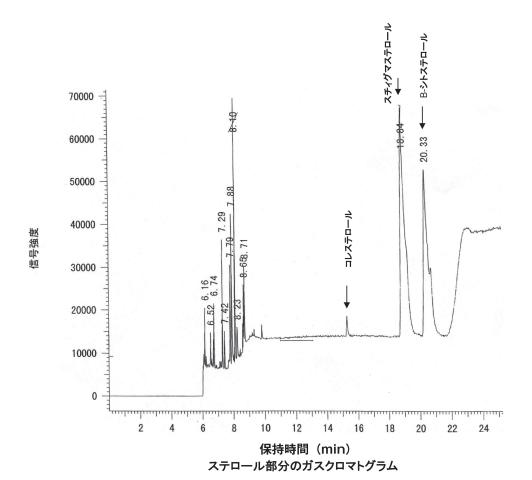
ステロールについては 1. の試料を酸,アルカリで加水分解して不ケン化物を得た.この,不ケン化物を薄層クロマトグラフィー(TLC)で展開させ分離し,ステロール部分を掻き取った.精製度をより高めるために分取したステロール部分を,再度,薄層クロマトグラフィーにて展開させ分離を行った.この分離したステロール画分を標準ステロール物質により同定を行った.ステロールの標準試料としては,コレステロール・エルゴステロール・カンベステロール・スティグマステロール・ β -シトステロール・ブラシカステロールの 6 種類のステロールを用いた.

ステロール画分をトリメチルシリル(TMS)化を行い、日立 M-9000GC/3DQMS、AI-7200オートインジェクターで分析を行った。カラム充填剤として、CP-SIL 8CB(0.25mm $\times 30$ m)を用い、カラム温度は50 $^{\circ}$ で昇温プログラムを条件として最高温度270 $^{\circ}$ とした。

4. 植物ステロールの同定

今回同定した植物ステロールの GC-MS スペクトルを図-1 に示す。ステロールの分子量に相当する分子ピーク(M)は、各種ステロールともに明瞭に検出 10 された。またステロール特有のフラグメントである M-15,M-18,M-33 の 3 つのフラグメントはいずれのステロールにおいても観察された。ステロール骨格に関連するフラグメントでは、 Δ^5 の位置に二重結合をもつコレステロール・カンベステロール・スティグマステロール・ β -シトステロール・ブラシカステロールはともに、213,231,255 のフラグメントを示した。 $\Delta^{5.7}$ の 2 つの二重結合をもつエルゴステロールでは、211,229,253 のフラグメントを検出した。

ステロールの側鎖に関連するフラグメントでは、側鎖に二重結合をもたないコレステロール・エルゴステロール・カンベステロール・ β -シトステロールは 273 のフラグメントを検出した. Δ^{22} の位置に二重結合をもつスティグマステロー



 $\frac{120}{120}$ $\frac{120}{12$

図1 新茶葉のステロール成分の GC/ MS パターン

質量数(m/z) β-シトステロールのマススペクトル

ル・ブラシカステロールは 271 のフラグメントを示した $^{11\sim13)}$. 今回の実験に使用した CP-SIL パックドカラムによる GC/MS のパターンを図 1 のマススペクトルに示す.

ガスクロマトグラムの(R, T22)をマススペクトルで分析し、質量を求めると TMS 誘導体の分子量に相当する親イオン 486 ± 1 (M)の分子ピークを示し、次いで 396 の質量数を検出したことから、標準物質の β -シトステロールと同定した。先に述べたように、213, 231, 255 のフラグメントが観察されたことから、この物質が β -シトステロールであることを確認した。各ステロールについても同じ方法で同定・確認を行った。

結果および考察

1) 日本茶と Manuka の水分および脂質含有量

表1に示したように、新茶の葉と茎および秋の 茶の葉の水分量はともに36%以上の含有量で あった. 秋の茶の茎に含有される水分含有量は約 16%で、新茶の茎に比べ約1/2の含有量であり、 春の新茶のみずみずしさや、柔らかさが伺える. Manuka の葉や樹皮の水分含有量 8%前後に比べ ると、新茶の葉・茎、秋の茶の葉はともに約4倍 の水分含有量であった. また. 脂質においては. 新茶の葉、秋の茶の葉ともに茶葉の全脂質含有量 が 2.3~2.9g/100g と Manuka の 17.5g/100g に 比 べ大変少ない値を示した. 食品成分表を参照する と、茶の脂質は約4~5g前後の含有量を表示し てあるがこれらは、すべて乾燥した状態での脂質 含有量であり、今回使用した茶葉と茎は、生の採 りたてのお茶の葉と茎を時間を置かずにすぐに使 用したので成分表より少ない値を示したと思われ る. 茶の脂質の研究は多くなされているが、生葉 については、阿南^{8,9)} らの報告があり、同様の値 を示していた. 成分を調べる上では. 茶として製 品になった物を分析するのでこの様な結果が出た ものと考えられる.

表1 脂質および水分の含有率

	日本茶 (新茶)		日本茶	(秋)	Manuka		
	葉	茎	葉	茎	葉	樹皮	
水分	37.7	36.0	36.2	16.5	9.7	7.7	
総脂質	2.9	0.7	2.3	0.6	17.5	0.7	
中性脂質	23.0	26.0	15.0	65.0	86.0	74.0	
リン脂質	67.0	73.0	61.0	29.0	10.3	25.0	

(単位;%)

茎に関しては新茶の茎、秋の茶の茎はいずれも Manukaの樹皮と同様の値を示していた.

近年ニュージーランドでは Manuka を紅茶などとブレンドしてお茶として飲用されている.

中性脂質・リン脂質では秋の日本茶の茎に、多くの中性脂質が含有されており新茶の茎に比べ2.5倍量であった。新茶の葉・茎はともに同量含有している事から、夏の太陽を充分に浴びると茎に中性脂質が蓄えられたものと考えられる。リン脂質は新茶の葉・茎および、秋の茶葉にに多く含有していた。

表 2 日本茶および Manuka のステロール 含有量

	日本茶(新茶)		日本茶(秋)		Manuka	
	葉	茎	葉	茎	葉	樹皮
β-シトステロール	3.3	26.8	13.5	2.61	23.4	62.1
コレステロール	1.0	0.72	7.78	1.2	0.92	1.56
カンベステロール	1.31	Tr.	0.94	0.9	0.8	3.07
スティグマステロール	3.6	12.7	29.1	0.4	10.1	8.41
ブラシカステロール	Tr.	Tr.	0.2	Tr.	0.2	0.28

(単位; mg/100g)

2) 日本茶の葉・茎と Manuka の葉と樹皮のステロール含有量

植物ステロールは β -シトステロール,カンベステロール,およびスチグマステロールを主成分とする C-28 またはC-29 のステロール類である。

植物ステロールはコレステロール (C-27) に 類似した構造をもち、植物の脂溶性画分に豊富に 存在する.

日本茶の新茶と秋の茶および Manuka のステロール含有量を表 2 に示す. Manuka の樹皮に62.1mg と多く、秋の茶の茎に 26.8mg, Manuka

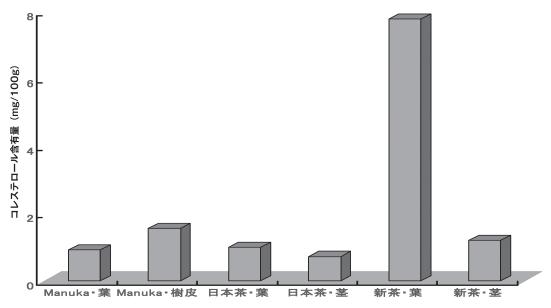


図 2 日本茶及び Manuka のコレステロール含有量

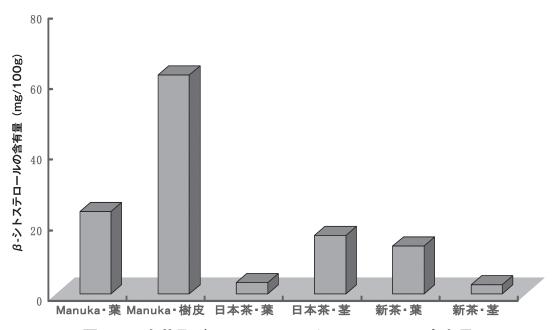


図3 日本茶及び Manuka のβ-シトステロール含有量

の葉および新茶の葉にやや多くの β -シトステロールを含有していた. 日本茶と Manuka の β ーシトステロールの含有量を図2に示す. 明らかに Manuka の樹皮に植物特有の β -シトステロール が特に多いことが分かる.

植物性コレステロールは新茶の葉に多く含有し

ており、7.78mg の量であった.

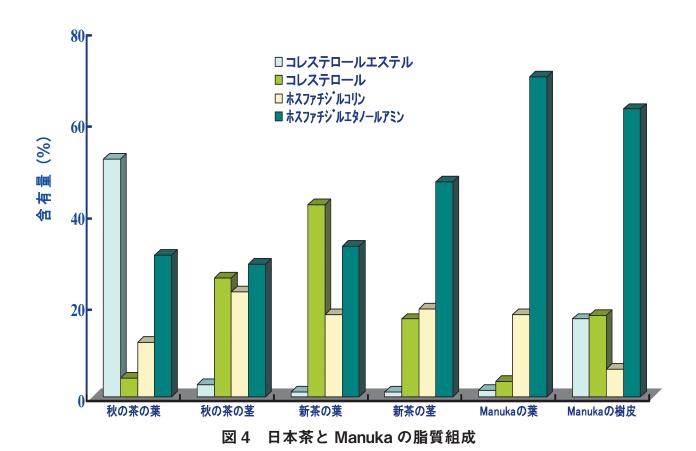
図3に示すように、他の新茶の茎や Manuka の葉・樹皮に比べ非常に多くのコレステロールを 含有していることが分かる. スティグマステロールが新茶の葉および秋の茶の茎に多く含有されていた. カンベステロール, ブラシカステロールも

表 2 に示すような含有量であった. ここには示していないが, エルゴステロールも微量検出され, 未知物質としてコレスタノールやシトスタノール・スティグマスタノールと思われるイオン分子を観察した.

3) 日本茶の葉・茎と Manuka の葉・樹皮の脂質 組成

日本茶と Manuka の脂質組成を図4に示す.

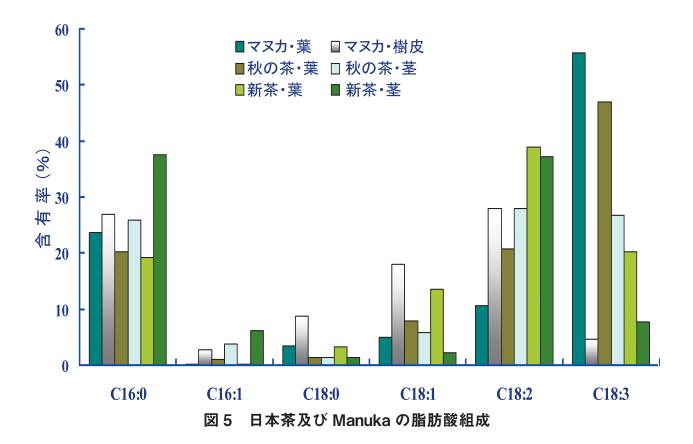
脂質組成(リン脂質)では秋の茶の葉・茎および Manuka の葉・樹皮に多くのホスファチジルエタ ノールアミン(PE)を含有しており、新茶の葉・茎、秋の茶の茎、にホスファチジルコリンの多いことが分かる。新茶の葉に植物性コレステロール含有量の高い傾向を示した。新茶の葉と秋の茶の葉ではコレステロールエステルとコレステロールの含有量が季節により逆転している事が分かる。リン脂質は細胞膜の主要な構成成分であり、生体内でのシグナル伝達にも関わる成分である。



4) 日本茶の葉・茎と Manuka の葉・樹皮の脂肪 酸組成

脂肪酸組成においては、これまで報告してきた様に多くの脂肪酸が検出されたが、微量なため、図 5 に示すように、主に、パルミチン酸($C_{14:0}$)、パルミトオレイン酸($C_{16:1}$)ステアリン酸($C_{18:0}$)、オレイン酸($C_{18:1}$)リノール酸($C_{18:2}$)リノレン酸($C_{18:3}$)を表示した.

Manuka の葉と秋の茶の葉に n-3 系の α -リノレン酸が 47% から 55% 以上と高値を示した.特に Manuka の葉には不飽和脂肪酸の α -リノレン酸が多く含まれていた.次いで新茶の葉,新茶の茎に n-6 系のリノール酸を 40% 以上含有し,Manuka の葉にパルミチン酸が約 40% に近い含有量であった.秋の茶の茎と Manuka の樹皮にパルミチン酸,オレイン酸,リノール酸がそれぞれ約 20% 前後含まれており,Manuka の葉,樹皮,日本茶の葉・茎ともに飽和脂肪酸よりも不飽和脂肪酸を多く含有していた.



まとめ

日本茶および Manuka の脂質組成を比較検討 した結果, Manuka の樹皮に, 植物性ステロール のβ-シトステロールが特に多く含有していた. また茶の葉の植物性コレステロール含有量は、春 と秋に明らかな差がみられ、新茶の葉に植物性コ レステロール含有量の高い傾向を示した. さらに 新茶の葉にリン脂質であるホスファチジルコリン の含有量が多く、秋の茶の葉・茎および Manuka の葉・樹皮に特にホスファチジルエタノールアミ ンの含有量が多かった. 脂肪酸組成では. Manuka の葉および秋の茶の葉にα-リノレン酸 (n-3系) の含有量が多かった. 植物界にはほと んど存在してないと思われていた植物性コレステ ロールも、Manuka および日本茶のすべての部分 (葉・樹皮・茎) に存在している事が確認された. 生体細胞の膜の主成分であるコレステロールが動 物界のみならず植物界にも存在している事が認め られた. 特に植物の表皮の部分に多くの植物性コ レステロールが集中しているように思われる.

『国民栄養調査』によると 20 歳以上の日本人の 3 人に 1 人が高コレステロール血漿と診断されており、これが動脈硬化性疾患多発の要因であると考えられる $^{14\sim17}$ 。 植物ステロールについては以前から植物ステロールでヒト臨床試験 $^{18\sim19}$ が行われており、T-CHOL の $10\sim20\%$ 低下が見られている。

植物ステロールおよびスタノールは近年食品としての利用が高まっており、植物ステロール/ステロールエステルを含む食用油脂等が特定保健用食品として利用されている。

以上のことから脂質組成の特性は、日本茶や Manuka の生理活性にも充分に関連する物と考え られる。

参考文献

1) 石川博美 (1999) 文教大学教育学部紀要, 33, 16-21

- 2) 石川博美(2001) 文教大学教育学部紀要,35,87-91
- 3) 石川博美 (2001) 文教大学教育学部紀要, 36, 83-87
- 4) 池田郁男 (1997) 食品と開発. 33. 2. 42-45
- 5) 菅野道廣 (1997) 日本農芸化学会誌, 71, 8, 769-776
- 6) Folch, J., Lees, M. and Slone-stanly (1957) G. A,: J. Biol, Chem., 226, 497 (1957)
- 7) J. G. Hamilton, K. Comai, Lipids, (1988) 23, 1146
- 8) 阿南豊正,中川致之(1977)食品工誌,24,6,305-310
- 9) 阿南豊正, 高柳博次 (1982) 食品工誌, 29, 9, 513-517
- 10) 丹羽利充 (1995) 化学同人, 最新のマススペクトロメトリー, 生化学・医学への応用
- 11) 山口晃弘(1970)学会出版,植物脂質代謝実験法
- 12) 日本油化学協会編(1982) 基準油脂分析試験法 2. 4:17-71
- 13) 日本生化学会編(1979) 生化学データブック I (ステロイドの化学構造, 性質), 1007-1024
- 14) 池田郁男: The lipid Vol. no.1 1994-1 101-105
- 15) 奥山治美: (2011) 油を味方につけよう
- 16) J. MariaLis-Balchin and L. Hart; J. Pharm. Pharm
- 17) 川崎勝, 内山貞夫, 2000, 秦野研究所 24-28
- 18) Lees AM, Mok HY, Lees RS, McCluskey MA, Grundy SM (1997) Plant sterols as cholesterollowering agents: Clinical trials in patients With hypercholesterolemia and studies of sterol balance. Atherosclerosis 28: 325–38
- 19) Farquhar JW, Smith RE, Dempsey ME (1956) The effect of beta sitosuterol on the serum lipids of young men with arteriosclerotic heart disease. Circulation 14: 77–82