

茶カテキンの機能と調理時における構造的変化

佐野 満昭*

Mitsuaki Sano

はじめに

茶 (*Camellia sinensis*) はツバキ科に属する植物で、わが国では古くから保健飲料として珍重されてきた。鎌倉時代、禅師栄西は、その「喫茶養生記」の中で、「茶は養生の仙薬なり、延齡の妙術なり」と茶の効能を説き、喫茶を長寿の薬として推奨した。その後、わが国では、「茶の湯」という独特の精神文化を創生するなど、茶は他の食品ではみられない発展をしてきた稀有な食品といえる。近年、健康の維持増進に係る食品成分の研究が非常に盛んであり、その中において、茶は理想的な機能性食品の条件 (①経口摂取が可能、②有効成分や作用機序が明らか、③使

用者の安心感、④低価格、⑤無毒 (安全)、⑥高い有効性) によくあてはまることから、現在、茶の機能性に関する研究は、非常に活発である。また、緑茶 (抹茶) や紅茶の、香り、色、味など、それぞれの特徴を生かして、様々な料理や菓子類の素材としての利用も盛んである。本稿では、茶の主要な機能成分であるカテキンに焦点をあて、調理時の加熱処理などによる酸化や異性化反応、たんぱく質との反応による活性の変化を中心に解説する。

1. 茶成分と機能

茶葉には、香りや味などの嗜好性に関する成分とともに、図1に示すように抗酸化作用をはじめ、癌や動脈硬化、糖

カテキン類 (10~18%)

抗酸化作用

活性酸素・フリーラジカル消去作用、老化抑制作用

発がん抑制作用

抗腫瘍作用、突然変異抑制作用

血中コレステロール低下作用

血圧上昇抑制作用

動脈硬化抑制作用

血小板凝集抑制作用

血糖上昇抑制作用

抗肥満作用

抗アレルギー作用

腸内細菌叢改善作用

抗菌、抗ウイルス作用

食中毒予防 (食中毒菌、O-157 菌)、コレラ菌、白癩菌、インフルエンザ、エイズウイルス増殖抑制作用

虫歯予防作用

口臭予防 (脱臭作用) など

カフェイン (3~4%)

覚醒作用 (疲労感や眠気の除去)

利尿作用

強心作用

代謝促進作用

アミノ酸類

テアニン (0.5~3%)

うま味成分

リラックス作用

γ-アミノ酪酸 (0.1~0.2%)

血圧降下作用

() 内の数値は緑茶乾燥葉中の含量%

ビタミン類

ビタミンC (150~250 mg%)

抗酸化作用、ストレス解消、かぜの予防、

免疫系増強作用

ビタミンE (25~70 mg%)

抗酸化作用、心疾患抑制、免疫系増強作用、

老化抑制作用

β-カロテン (13~29 mg%)

抗酸化作用、眼疾患予防、発ガン抑制作用

複合多糖 (0.6%)

血糖低下作用

サポニン (0.1%)

抗喘息、血圧降下作用

食物繊維 (不溶性、水溶性食物繊維 30~40%)

便秘予防、大腸がん、糖尿病予防、

血中コレステロール低下作用、胆汁酸排泄促進作用

ミネラル (3~4%)

抗酸化作用、発ガン抑制 (亜鉛、セレン、マンガン、銅)

虫歯予防作用 (フッ素)

総カテキン量
乾燥茶葉重量
あたり 10~18%

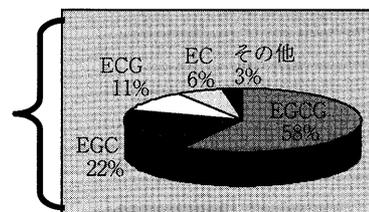


図1. 茶葉に含まれる主な生体調節機能成分

* 名古屋女子大学家政学部

(Faculty of Human Life and Environmental Sciences Nagoya Women's University)

§ 連絡先 名古屋女子大学 家政学部・食物栄養学科 〒467-8610 名古屋市瑞穂区汐路町3-40

名古屋女子大学・家政学部食物栄養学科・機能性研究室

TEL&FAX 052(852)9412

茶カテキンの機能と調理時における構造的変化

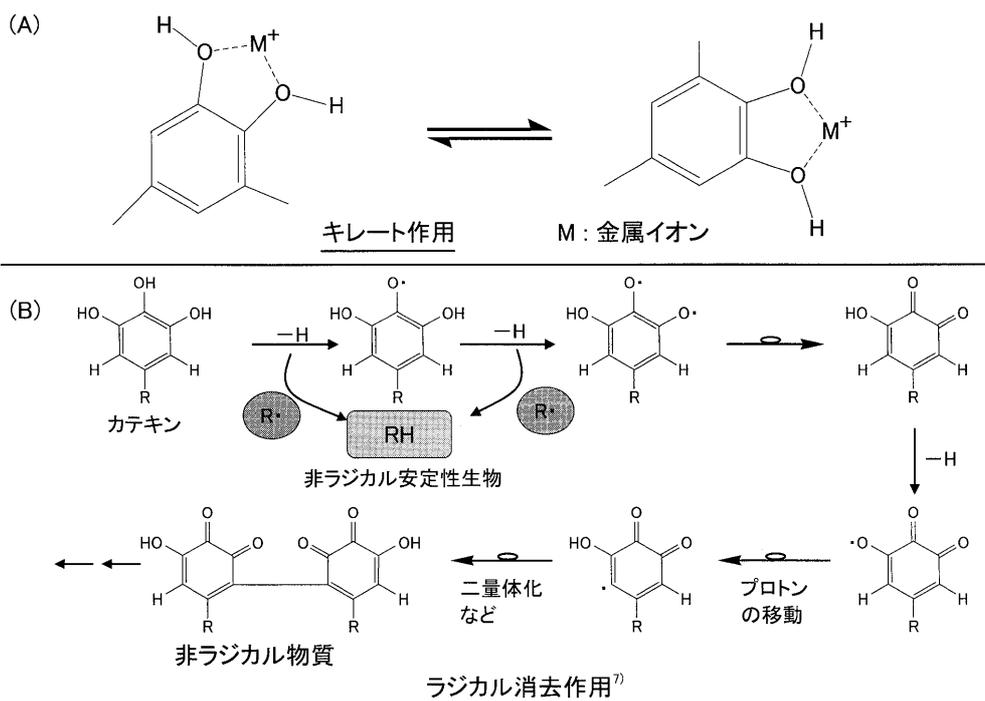


図3. カテキンの主な抗酸化機構

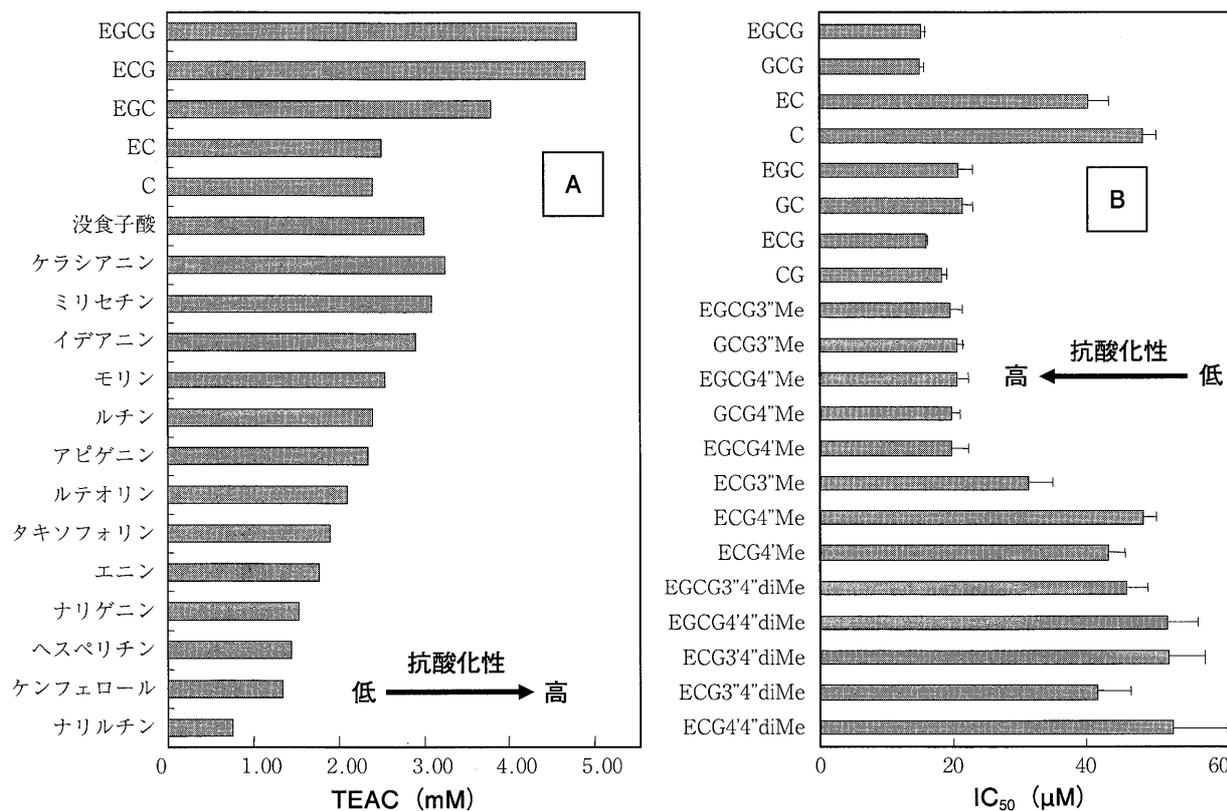


図4. 茶カテキン類およびフラボノイド類の抗酸化活性

A: ABTS ラジカルの捕捉活性 (ビタミン E 誘導体のトロロックス換算)⁸⁾
 B: AAPH 由来ペルオキシラジカルの捕捉活性 (アスコルビン酸換算)⁹⁾

図4は茶カテキンと植物に存在する主なフラボノイド類の抗酸化活性をABTS (2-2'-azino bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) から生ずるラジカルの捕捉効果⁸⁾や、

メチル化カテキン類や、後述するカテキンのC-2異性体について、AAPH (2-2'-azobis(2-amidinopropane)hydrochloride) から生ずるペルオキシラジカルの捕捉活

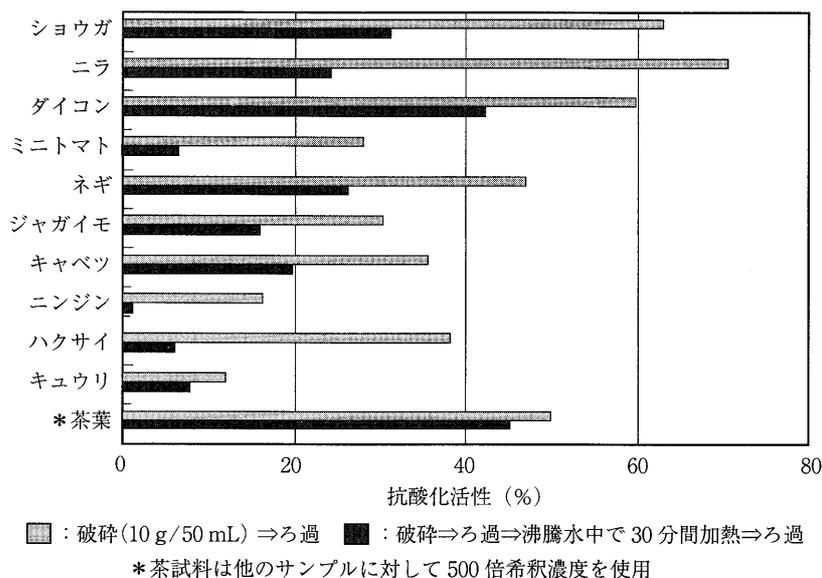


図5. 茶および野菜抽出液の加熱処理による抗酸化活性の変化⁹⁾

性⁹⁾を検討した結果である。茶カテキン、特にガロイル基(G)をもつカテキンは、同様な化学構造を有するフラボノイド類に比較し、最も高い活性を有することを示している(図4-A)。また、そのガロイル基に、メチル基が1つ置換した場合は、EGCGに比較し活性の低下はわずかであるが、2つ置換した場合には、顕著に抗酸化活性は低下する(図4-B)。

図5は、日常的に食する野菜類について、氷冷水中で破砕(10 g/50 mL 蒸留水)し、ろ過した抽出液のラジカル捕捉活性を比較するとともに、加熱処理による抗酸化活性への影響をペルオキシラジカルの捕捉活性より検討したものである⁹⁾。茶は、試料として乾燥緑茶葉を用いることから、水分含量がもともと他の野菜に比較し低いことを考慮する必要があるが、500倍希釈した場合の活性は、他の野菜の抽出液とほぼ同等の活性を示す。また、破砕しろ過後、ろ液をさらに30分間沸騰水中で加熱処理した場合、ほとんどの野菜の活性は低下するのに対し、茶の場合の活性の低下は非常に少ない。このように茶葉中の抗酸化に関する主な成分(カテキン類)は、他の野菜類に比較し、熱処理においても高い活性を維持するといえる。

一方、このように高い抗酸化活性を有するカテキンは、溶液の状態では、調理過程での加熱や加圧などの比較的緩和な条件においても、酸化による重合や分解、異性化など構造的変化をともなう反応や、食品中のタンパク質との結合が容易に起こる成分でもある。

3. カテキンの酸化

茶はその製造方法の違い、すなわち、生茶葉中のポリフェノールオキシダーゼによる酸化(発酵)の程度により、不発酵茶(緑茶)、半発酵茶(ウーロン茶)、発酵茶(紅茶)に大別される。この発酵過程でカテキンは大きく変化し、

種々の酸化物を生成する(図2参照)。例えば、紅茶の橙赤色の色素であるテアフラビン類はECやECGがEGCGやEGCと酵素的に酸化縮合し生成した二量体物である。また、同様に紅茶の色素である水溶性が高いテアルビジン類は、カテキンの酸化がさらに進み重合を繰り返し、あるいは一部が多糖やタンパク質と混合物を形成して高分子化したものである。一方、ECGやEGCGのようなエステル型カテキンでは、加水分解により没食子酸も遊離する。このような発酵過程でのカテキンの分解や重合物の生成は酵素的酸化反応だけでなく、空気酸化や、pH 7.4以上の弱アルカリ性の水溶液中においても引き起こされる¹⁰⁾。テアフラビンと同様なカテキン2量体物であるプロアントシアニジン類や、テアシネンシン類などの酸化重合物も酵素的、非酵素的酸化の過程で生成する¹¹⁾。最近、アルカリイオン水を利用して料理をつくる場合があるが、緑茶を材料として用い加熱処理をした場合、カテキンの一部が分解や酸化重合物に変化する可能性が高い。

また、酸化反応により生成したカテキン重合物も、分子内に抗酸化反応に関与する水酸基を多くもつことから、カテキンと同様に高い抗酸化性を有する。すなわち、カテキンは、抗酸化ビタミンなどとは異なり、酸化されても新たな高い抗酸化能を有する物質に変化する興味ある成分といえる。

4. カテキンの異性化

カテキン類は、C環の2および3位に2つの不斉炭素を有することから、理論的には4つの光学異性体が存在することになる(図6)、しかし実際は、沸騰水での長時間の茶葉の抽出や、飲料製造の加熱殺菌工程において、C環2位での異性化反応のみがおこる¹²⁻¹⁴⁾。表1は、標準のカテキンを90℃のリン酸緩衝液(pH 6.0)中で30分間浸漬し

茶カテキンの機能と調理時における構造的変化

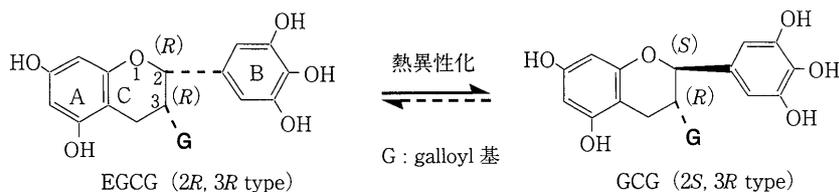


図6. カテキンの熱異性化反応

表1. 標準エピカテキン類による異性化反応⁹⁾

Catechins	(%)	
	15 min	30 min
C/EC	11.4	23.5
CG/ECG	11.3	23.6
GC/EGC	20.8	42.4
GCG/EGCG	18.7	37.0
GCG3 ^o Me/EGCG3 ^o Me	19.1	41.7
GCG4 ^o Me/EGCG4 ^o Me	14.2	30.4

標準カテキン (500 μM) 溶解リン酸緩衝液 (pH 6.0) を 90℃, 30分加熱処理

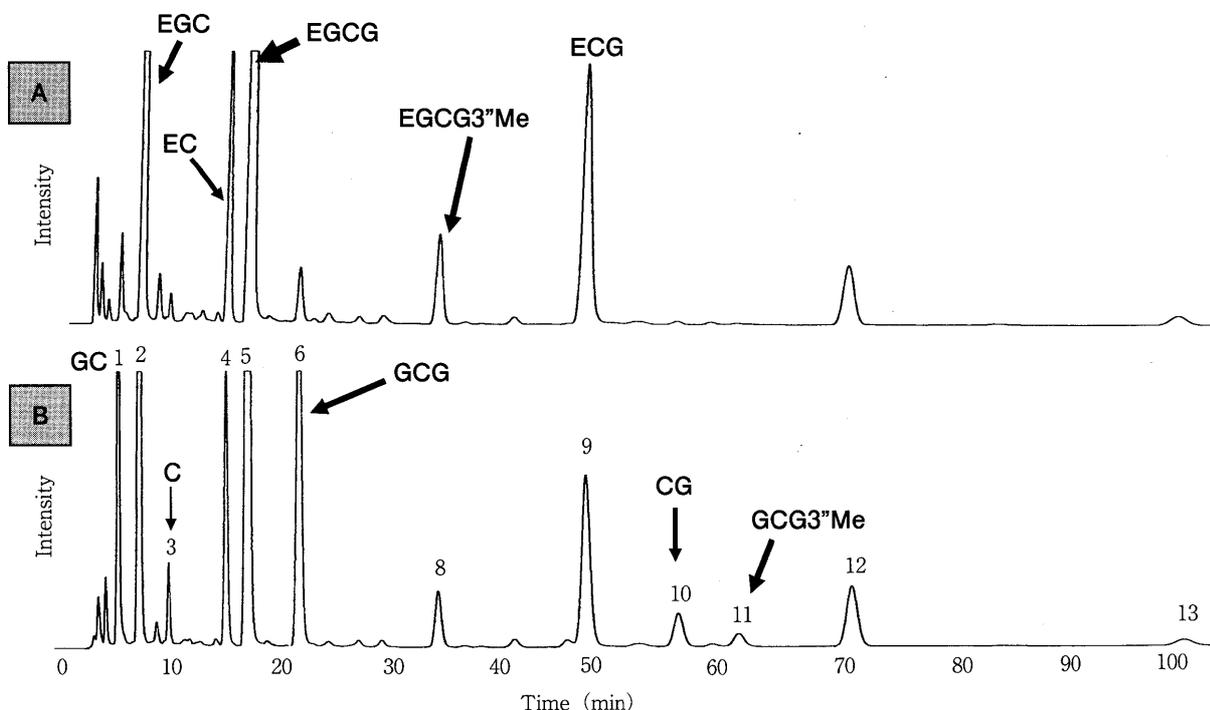
た場合の、異性化体と未変化のカテキンの量比を示す¹⁴⁾。標準のカテキンを用いて異性化率をみると、B環がカテコールタイプ (EC, ECG) よりピロガロールタイプ (EGCG, EGC, EGCG3^oMe, EGCG4^oMe) の方が異性化率は高い。C-2の異性化反応は、pH 4 以下での酸性溶液下では起きにくい¹⁵⁾が、加圧下や¹⁵⁾、pH 6 付近での熱処理により顕著

に反応は進行する^{13,14)}。一方、pH 7 以上での加熱では、前述したように分解や2量体化反応が引き起こされる。

図7-Aは、異性化が起きにくい条件 (50% アセトニトリル水溶液で、30℃, 40分) で緑茶葉から各種カテキンを抽出した場合、図7-Bは、90℃の熱湯で40分抽出した場合における抽出液中カテキンのHPLCクロマトグラムである。加熱処理により異性化体の増加が認められる⁶⁾。

市販のペットボトルの緑茶では、殺菌工程による異性化が顕著でEGCGなどの主要カテキンの異性化体の含量比は50%程度にもなる。

異性化することによる機能性の変化については、*in vitro* 下でのペルオキシラジカルの捕捉活性の検討ではC-2異性体の抗酸化活性は、対応するエピカテキン類とほとんど差がない (図4-B参照)⁹⁾。*in vivo* における検討では、ラットを用いたリンパへのコレステロール吸収の阻害実験で、オートクレーブ (120℃, 5分) で熱処理したカテキンは、未処理のカテキンに比較し阻害活性は増加する

図7. 加熱抽出におけるC-2異性体の生成⁶⁾

“べにほまれ”緑茶葉を (A) : 50% アセトニトリル水溶液で 30℃, 40分抽出, (B) : 熱湯 90℃ で 40分間抽出した際の抽出液中の各カテキンのHPLCクロマトグラム

ピーク 1: GC, 2: EGC, 3: C, 4: EC, 5: EGCG, 6: GCG, 8: EGCG3^oMe, 9: ECG, 10: CG, 11: GCG3^oMe, 12: 内部標準 (n-propyl gallate), 13: ECG3^oMe

と報告されている¹⁶⁾。一方、マウスを用いた遅延型アレルギーに対する抗アレルギー効果は、経口投与では、対応するエピカテキン類と異性体とでは差はないが、経皮投与においては、異性体の効果はエピカテキン類に比較し低いことを認めている¹⁷⁾。異性体を含めカテキン類の生体内での機能性の発現は、その吸収や代謝速度、代謝産物の活性の発現とも深く関係しているように思える。

5. カテキンとタンパクとの反応

カテキンはタンパク質との結合性が高いとされている。アルブミンは動植物の細胞、体液中に含まれるタンパク質であり、特に血清タンパクの大半を占めることから、カテキンの体内での機能性は、血清アルブミンとの反応物による影響を考慮する必要がある。図8は、牛血清アルブミン(BSA)と茶カテキンを、37°C、30分反応後、たんぱく質を除去(リンタングステン酸による沈殿法)後、遊離のカテキンから、結合率を比較した結果である。反応性は、EGCG \geq ECG $>$ EGC \geq ECの順となり、結合に対するガロイル基の重要性を示す。また、ガロイル基の3位、4位を1つあるいは2つメチル化した場合の比較では、EGCG $>$ EGCG3"Me $>>$ EGCG4"Me $>$ EGCG3"5"diMe $=$ EGCG3"4"diMeの順であり、これは限外ろ過法での結果ともよく一致していた。すなわち、BSAとの結合には、ガロイル基の隣接する2つの水酸基の重要性を示している¹⁸⁾。また、透析法により分画されたカテキン-BSA結合物の抗酸化活性は、EGCGやEGCG3"Meについては結合物の抗酸化活性は維持されることを認め、摂取後の体内でのカテキンの抗酸化活性の発現に、遊離体や抱合体物と同様、アルブミ

ン結合物も関与するものと考えられる。

一方、食品中のタンパク質とカテキンとの結合性の問題については、特に、ミルクを加えて飲む場合が多い紅茶に関して、ミルクカゼインのような乳タンパク質との結合がカテキンのもつ機能性に影響を及ぼす可能性がこれまで指摘されている¹⁹⁻²¹⁾。例えば、緑茶あるいは紅茶の抽出液をヒトに摂取させた場合、血漿の抗酸化能は、両茶抽出液の摂取後30分から45分でその効果は有意に増加するが、この際、ミルクと一緒に茶を摂取すると、活性はなくなる。これはカテキンがミルクのタンパク質と結合し吸収率の低下をもたらすためと考えられている¹⁹⁾。このようなミルク添加による抗酸化能の減弱については、抗酸化活性の増加がミルクにより影響されるという報告と^{19,20)}、されないという報告²¹⁾があり、また、茶抽出液とミルクとの混合比の問題や²²⁾、ミルクに含まれる脂肪画分が抗酸化能の発現に影響するとの指摘がなされている²³⁾。最近、Lorenzらは²⁴⁾、更年期を過ぎた健康な女性に、紅茶を500 mL飲ませ2時間後の血管径増加率を% FMD (Flow-Mediated Dilatation)として測定し、ミルクを加えた紅茶の結果と比較している。紅茶は動脈硬化などの血管障害を予防する効果が知られているが^{25,26)}、これは、紅茶中のカテキン由来のポリフェノールが、血管の拡張や柔軟性を高める物質(NO)の産生酵素(eNOS)の活性を高めるため、心臓病や動脈硬化の予防になると考えられている²⁷⁾。図9に示すように、対照として、同量の水を飲んだ場合と比較し、FMDは有意に増加したが、脱脂乳のミルクを10%加えた紅茶を摂取した場合には増加は認められない。また動脈の内皮細胞における紅茶のeNOS活性の増加を、ミルク

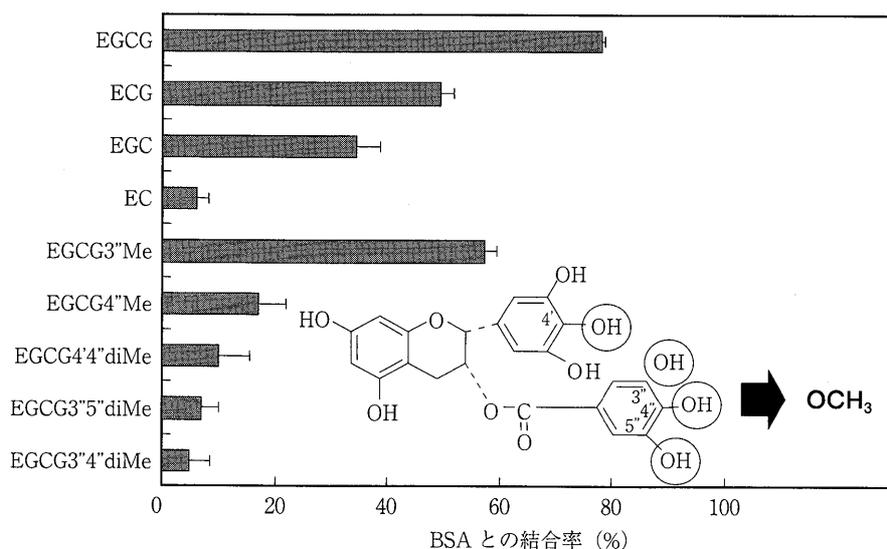


図8. カテキンと牛血清アルブミンとの結合反応¹⁸⁾

リン酸緩衝液 (pH 6.8) に溶解したカテキン (2.5 μ mol/mL) 100 μ l と BSA (25 mg/mL) 400 μ l を混和後 37°C、30分反応させた。反応液は、リンタングステン酸タンパク沈殿法によりタンパク質画分を除去し、残存する遊離カテキン量を測定 (BSAの代わりに、同量のリン酸緩衝液を加えた場合をコントロールとして、結合率を算出)

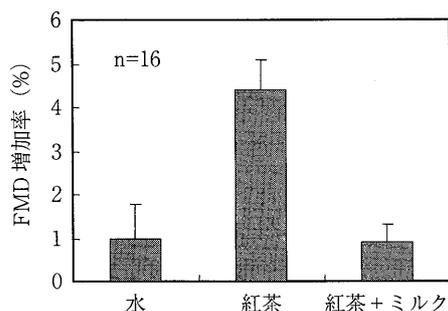


図9. 紅茶飲用による血管径増加率(FMD%)に対するミルク添加の影響²⁴⁾

更年期を過ぎた健康な女性 (n=16) に飲料 (水, 紅茶, 紅茶+10% 脱脂ミルク) を 500 mL 摂取させ, 2時間後の FMD を測定

は完全阻止することから, ミルク入り紅茶は, 紅茶がもつ血管の拡張や弾力性を高める効果を消失させると報告している。一方, アルブミンのようなタンパクとの結合物については, わずかに eNOs 活性を低下させる程度でほとんど影響しないと述べている。

茶カテキンの機能性研究はこれまで緑茶カテキンが中心で行われてきた。それは, 緑茶中のカテキンとしては EGCG などの 4 種のカテキンがほとんどであることと, それらのカテキンが試薬として市販され容易に入手可能であることが大きい。一方, 紅茶のような発酵茶では, カテキンからの酸化生成物が複雑で, 高分子物質を含め多岐にわたることから, 成分分析を含め分子レベルでの研究は緑茶に比較し遅れている。また, その機能性研究, 特に高い抗酸化性については, 多くの *in vitro* の評価系において認められており異論がない。しかしながら, このような *in vitro* での高い抗酸化性が *in vivo* で十分反映されたという報告は少ない²⁸⁾。このことは, カテキンの低い吸収性と, カテキンやその代謝物の体内動態 (どの程度, 抗酸化能を発現する部位にとどまるのか) が問題になると思われる。

文 献

- 1) 小國伊太郎 (2002), 茶の多用途利用, 茶の機能 (村松敬一郎, 他 編), 学会出版センター (東京), pp.403-407
- 2) 佐野満昭, 富田 勲 (1993), 茶の抗酸化性, フードケミカル, **9**, 24-31
- 3) Sano M., Suzuki N., Miyase T., Yoshino K. and Maeda-Yamamoto M. (1999), Novel anti-allergic catechin derivatives isolated from oolong tea, *J. Agric. Food. Chem.*, **47**, 1906-1910
- 4) Suzuki M., Yoshino K., Maeda-Yamamoto M., Miyase T. and Sano M. (2000), Inhibitory effects of tea catechins and O-methylated derivatives of (-)-epigallocatechin-3-O-gallate on mouse type-IV allergy, *J. Agric. Food. Chem.*, **48**, 5649-5653
- 5) 山本 (前田) 万里, 佐野満昭, 松田奈帆美, 宮瀬敏男, 川本恵子, 鈴木直子, 吉村晶恭, 立花宏文, 袴田勝弘 (2001), 茶の品種, 摘採期と製造法によるエピガロカテキン 3-O-(3-O-メチル) ガレート含量の変動, 日本食品科学工学会誌,

- 48, 64-68
- 6) Sano M., Tabata M., Suzuki M., Degawa M., Miyase T. and Maeda-Yamamoto M. (2001), Simultaneous determination of twelve tea catechins by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection, *Analyst*, **126**, 816-820
- 7) Senba Y., Nishioka T., Saito K., Yodhioka H. and Yoshiooka H. (1999), Stopped-flow and spectrophotometric study on radical scavenging by tea catechins and the model compounds, *Chem. Pharm. Bull.*, **47**, 1369-1374
- 8) Rice-Evans CA., Millar NJ. and Paganga G. (1996), Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids, *Free Rad. Biol. Med.*, **20**, 933-956
- 9) Sano M., Yoshida R., Yoshino K., Degawa M. and Miyase T. (2003), Determination of peroxy radical scavenging activity of flavonoids and plant extracts using an automatic potentiometric titrator, *J. Agric. Food. Chem.*, **51**, 2912-2916
- 10) Yoshino K., Suzuki M., Sasaki K., Miyase T. and Sano M. (1999), Formation of antioxidants from (-)-epigallocatechin gallate in mild alkaline fluids; such as authentic intestinal juice and mouse plasma, *J. Nutr. Biochem.*, **10**, 223-229
- 11) 伊奈和夫 (2002), 茶葉の成分化学, 茶の化学成分と機能 (伊奈和夫, 他 編), 弘学出版 (川崎), pp.6-19
- 12) Komatsu Y., Suematsu S., Hisanobu Y., Saigo H., Matsuda R. and Hara K. (1993), *Biosci. Biotech. Biochem.*, **57**, 907-910
- 13) 末松伸一, 久延義弘, 西郷英昭, 松田良子, 小松美博 (1995), 緑茶中のカフェイン, カテキン類の測定のための新しい抽出法, 日本食品科学工学会誌, **42**, 419-424
- 14) Suzuki M., Sano M., Yoshida R., Degawa M., Miyase T. and Maeda-Yamamoto M. (2003), Epimerization of tea catechins and O-methylated derivatives of (-)-epigallocatechin-3-O-gallate: Relationship between epimerization and chemical structure, *J. Agric. Food. Chem.*, **51**, 510-514
- 15) 黄素梅, 井上和美, 李岩, 田中隆, 石丸幹二 (2004), オートクレーブ処理した茶葉および茶ドリンクのカテキン成分, 日本食品化学学会誌, **11**, 99-102
- 16) Ikeda I., Kobayashi M., Hamada T., Tsuda K. and Goto H. (2003), Heat-epimerized tea catechins rich in gallic catechin gallate and catechin gallate are more effective to inhibit cholesterol absorption than tea catechins rich in epigallocatechin gallate and epicatechin gallate, *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 7303-7307
- 17) Yoshino K., Ogawa K., Miyase T. and Sano M. (2004), Inhibitory effects of the C-2 epimeric isomers of tea catechins on mouse Type IV allergy, *J. Agric. Food. Chem.*, **52**, 4660-4663
- 18) 渡邊章子, 速水美穂, 西村肅見, 石山絹子, 芳野恭士, 宮瀬敏男, 齊藤慎一, 松浦寿喜, 佐野満昭 (2006), メチル化カテキンの血漿アルブミンとの結合とアルブミン結合物の抗酸化活性について, 第 60 回日本栄養 食糧学会・大会講演要旨集, p.198
- 19) Serafini M., Ghiselli A. and Ferro-Luzzi A. (1996), *In vivo* antioxidant effect of green and black tea in man, *Eur. J. Clin. Nutr.*, **50**, 28-32
- 20) Langley-Evans SC. (2000), Consumption of black tea elicits an increase in plasma antioxidant potential in humans, *Int. J. Food Sci. Nutr.*, **51**, 309-315

- 21) Leenen R., Roodenburg AJ., Tijburg LB. and Wiseman SA. (2000), A single dose of tea with or without milk increases plasma antioxidant activity in human, *Eur. J. Clin. Nutr.*, **54**, 87-92
- 22) Gardner PT., McPhail DB. and Duthie GG. (1998), Electron spin resonance spectroscopic assessment of the antioxidant potential of teas in aqueous and organic media, *J. Sci. Food. Agric.*, **76**, 257-262
- 23) Robinson EE., Maxwell SR. and Thorpe G. H. (1997), An investigation of the antioxidant activity of black tea using enhanced chemiluminescence. *Free Radical Research*, **26**, 291-302
- 24) Lorenz M., Jochmann N., von Krosigk A., Martus P., Baumann G., Stangl K. and Stangl V. (2007), Addition of milk prevents vascular protective effects of tea, *Eur. Heart J.*, **28**, 219-223
- 25) Peters U., Poole C. and Arab L. (2001), Does tea affect cardiovascular disease? : A meta-analysis, *Am J. Epidemiol.*, **154**, 495-503
- 26) Nakachi K., Matsuyama S., Miyake S., Suganuma M. and Imai K. (2000), Preventive effects of drinking green tea on cancer and cardiovascular disease : epidemiological evidence for multiple targeting prevention, *Biofactors*, **13**, 49-54
- 27) Lorenz M., Wessler S., Follmann E., Michaelis W., Dusterhoft T., Baumann G., Stangl K. and Stangl V. (2004), A constituent of green tea, epigallocatechin-3-gallate, activates endothelial nitric oxide synthase by a phosphatidylinositol-3-OH-kinase-, cAMP-dependent protein kinase-, and Akt-dependent pathway and leads to endothelial-dependent vasorelaxation, *J. Biol Chem.*, **279**, 6190-6195
- 28) 佐野満昭, 富田 勲 (2002), 茶による生体内抗酸化能, 茶の機能 (村松敬一郎, 他 編), 学会出版センター (東京), pp. 72-78 / 佐野満昭, 芳野恭士 (2002), 茶の生体機能 (II), 茶の化学成分と機能 (伊奈和夫, 他 編), 弘学出版 (川崎), pp. 165-177