

# 茶葉飲料のポリフェノールレベルとフリーラジカル捕捉機能， ならびにプロシアニジン類の抗酸化機能の検証

佐々木文之・石川 絵理・長利 卓・佐藤 玲子・竹本 成孝  
本田 真也・藤兼 洋一・鈴木 喬士・長田 恭一

食品栄養化学研究室

(2005年10月14日受付)

## 緒 論

活性酸素やフリーラジカルによる生体傷害反応が発癌や老化につながり，種々の疾病の発症要因になることが明らかにされており，その予防が広い視点から注目されている(1-3)。活性酸素やフリーラジカルは，薬物，金属，虚血・再灌流，ストレスなどが原因となって生成し，生体内の脂質やタンパク質，糖，DNAの主鎖の切断，あるいは，塩基の修飾を起して，生体膜の傷害や遺伝子の傷害に至る(4)。このような作用に対して，生体には活性酸素，フリーラジカルの生成をできるだけ抑える 予防的抗酸化物，できるだけ速やかに活性酸素，フリーラジカルを消去，捕捉，安定化する ラジカル捕捉型抗酸化物，活性酸素，フリーラジカルの作用によって生じた損傷を修復し，失ったものを再生する 修復・再生抗酸化物，必要に応じて防御機構を誘導し，特定の場に抗酸化酵素などを遊走させる， 適応機能が生体には備わっている(4)。しかし，現社会では，多様なストレスに応答して，生体内で多量の活性酸素ならびにフリーラジカル産生が誘発され，上記の防御機能では消去しきれず，種々の生活習慣病発症を誘導している可能性が指摘されている。

茶葉飲料などに含まれているカテキン類は，古くから抗酸化作用や抗発癌プロモーター作用が認められ，発癌予防の観点から注目されている。カテキン類は多価芳香族炭化水素の2個以上の水素がヒドロキシル基で置換されたポリフェノール群の一種であり，その構造はflavan-3-ol類が順次縮合した縮合型タンニンという基本構造を成し，緑茶には図1に示すようにエピカテキン(epicatechin)，エピガロカテキン(epigallocatechin)，エピカテキンガレート(epicatechin gallate)，エピガロカテキンガレート(epigallocatechin gallate)が含まれている。タンニンには，縮合型カテキン類の他に加水分解性タンニンであるガロタンニンやエラジタンニン，カフェタンニン，シソ科タンニン，エラジタンニンオリゴマーなどがある(5)。

抗酸化剤の機能は，ラジカル捕捉，水素供与，電子供与，過酸化分解，一重項酸素クエンチャー，酵素阻害，およびシネルギストなどがあるが，カテキン類などの機能は，自動酸化を阻止するラジカル捕捉のタイプが主要な機能と考えられる。すなわち，各タンニンがラジカルスカベンジャーとして働き，脂質過酸化の連鎖反応で生じたラジカルを消去すると考えられ，その抑制効果は - トコフェロールやアスコルビン酸の数倍も持続すると考えられている(6)。すなわち，茶葉飲料に含まれているポリフェノールが生体に有効な形態で利用されるならば，その積極的摂取で生体内の抗酸化システムは強化されるであろう。

本稿では，市販および自作の茶飲料に含まれるカテキンのポリフェノールレベル，各茶葉飲料のフリーラジカル捕捉機能，およびカテキンオリゴマーで，今後の新規健康飲料やサプリメント素材として期待されるりんご未熟果実由来プロシアニジン化合物の抗酸化機能を調べた。

## 材 料 と 方 法

### 1. 使用した市販茶葉飲料と茶葉

A 社製グアバ葉配合・沖縄島茶，B 社製高濃度カテキン飲料，C 社製ウーロン茶，D 社製紅茶葉より冷水で作成した紅茶を試料とした。

### 2. 試料のポリフェノール濃度測定

各サンプルを，適宜脱イオン水で希釈し，Decenditらの方法(7)に従ってバニリン・硫酸試薬を使用し，(+)-カテキン当量で各サンプル中に含まれるポリフェノール濃度を算出した。

### 3. 茶葉飲料の抗酸化機能

各サンプルの抗酸化機能について，Bloisの方法(8)に従って，DPPHラジカル捕捉作用からその強度を比較した。すなわち，各サンプルを適宜希釈し，1mM DPPH-

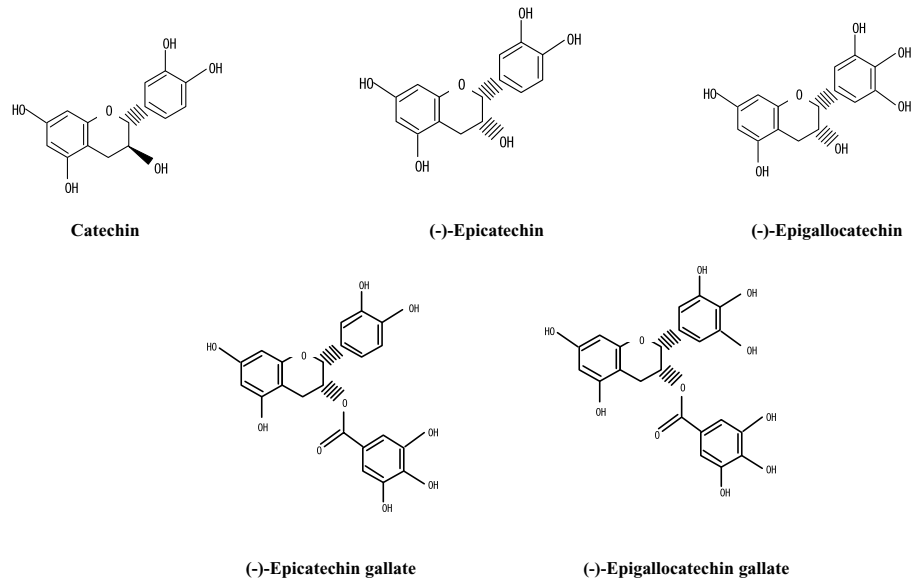


Fig. 1. Structures of representative catechins in green tea

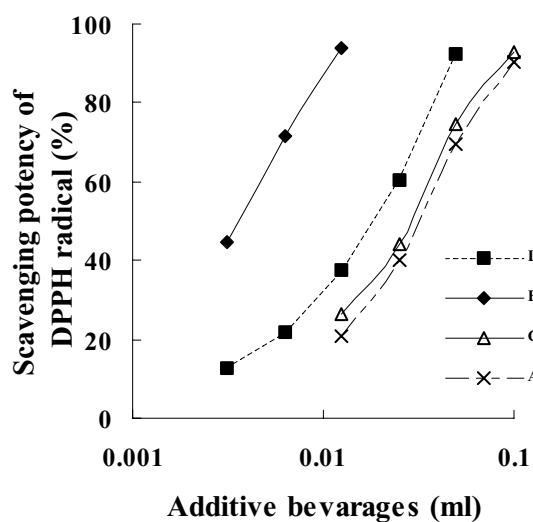


Fig. 2. The dose-dependent DPPH radical scavenging potency of each tea beverage.

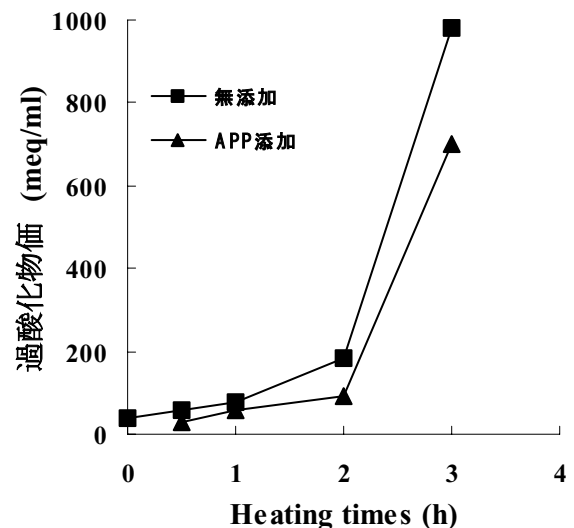


Fig. 3. The antioxidant activity of procyanidins rich powder from unripe apple on peroxidation of linseed oil by heating.

MeOH 溶液に加えよく混合して室温で 30min 静置した後、517nm で吸光度を測定した。その時の吸光度の差より、DPPH ラジカルの消去率を算出した。

#### 4. プロシアニジン化合物の抗酸化機能

約 1g の精秤した亜麻仁油に、りんご未熟果実由来プロシアニジン化合物 (6.4mg/ml) の MeOH 溶液を 1ml 加え (対照は無添加)、100 の恒温乾燥器で、0.5、1、2 および 3 時間加熱した後に、公定法 (9) に従って過酸化物価を測定した。

## 結 果

### 1. 茶飲料中のポリフェノール濃度の定量

標準で用いた (+)-カテキン当量で算出した結果、各茶葉飲料のポリフェノール量は、A 社製グアバ葉配合 - 沖縄島茶 (A 茶) は 260ug/ml、B 社製高濃度カテキン飲料 (B 茶) が 1482ug/ml、C 社製ウーロン茶 (C 茶) が 235ug/ml、D 社製紅茶葉より冷水で作成した紅茶 (D 茶) が 647ug/ml であった。

### 2. 茶飲料中の DPPH ラジカル捕捉機能

A 茶、B 茶、C 茶、D 茶の DPPH ラジカル消去の容

量依存による変動を図2に示す。B茶が最もDPPHラジカル捕捉機能に優れており、続いてD茶、さらに、C茶とA茶が同程度で、最も捕捉機能が弱かった。この順位は、先に定量したポリフェノール濃度の順位と同じであり、茶葉飲料に含まれているカテキン類濃度がDPPHラジカルの捕捉機能に大きく寄与することを示唆している。

DPPHラジカルを50%捕捉する時に添加した各茶葉飲料は、A茶は0.0375ml、B茶は0.00360ml、C茶が0.0323ml、D茶が0.0199mlであった。先に定量した各サンプルのポリフェノール濃度から、DPPHラジカルを50%捕捉する時に添加した各サンプルのポリフェノール量は、B茶が最も少なく5.33ugであり、次いで、C茶が7.57ug、A茶が9.76ugと続き、紅茶は12.90ugと最も多くのポリフェノールを必要とする結果となった。

### 3. プロシニジン化合物の抗酸化機能

・リノレン酸を50%以上含む亜麻仁油にりんご未熟果実由来プロシニジン化合物を添加して加熱した結果、過酸化物質価の変動は、図3に示すように、プロシニジン化合物を添加しなかった油脂よりも、添加したときの油脂の過酸化物質価は全体的に下回った。プロシニジン化合物添加による油脂の過酸化制御効果を算出した結果、ラジカル連鎖反応誘導期(1-2時間)では68.5%、ラジカル連鎖反応増幅期(2-3時間)では23.8%の制御効果を示した。しかし、反応時間が経過するにつれて、プロシニジン化合物による油脂の過酸化制御機能は低下していくことが観察された。

## 考 察

### 1. 茶葉飲料中のポリフェノール濃度

4種類の茶葉飲料に含まれるポリフェノール濃度を定量したところ、B茶には1本(340g)あたりで540mgのカテキンが存在していた。一方、A茶には1本(500ml)あたり、250mgのポリフェノールが存在していた。このようなポリフェノール含有量の差異は、各種茶葉飲料の製造行程に違いがあるからであろう。例えば、紅茶は茶生葉を陰干して、萎凋、揉捻、発酵、乾燥などを経て製品化する。このときに行われる発酵はカテキン類を減少させ、それに伴って数種の赤～赤褐色の色素が生成される。良質な紅茶ほどカテキン類は多く、抗酸化活性が強い品種とされているが、本実験で用いた紅茶葉は一般に入手できるものなので、カテキン濃度は緑茶に比べると幾分低くなると考えられる。しかし、本実験では紅茶葉から時間を掛けて色素を抽出しなかった点、ならびに湯ではなく冷水を用いて色素を溶出した点を考慮すると、本来であれば、さらにポリフェノール濃度は高くなったものではないかと考えられる(10)。烏龍茶も半発酵茶で、茶葉を日光にあて、萎びさせながら酸化酵素を

ある程度まで作用(発酵)させた後、釜で炒って酵素を破壊してから揉んで製品としている(10)。A茶は、グアバの葉により生産されているが、グアバ(和名; 番石榴(ばんざくろ))は亜熱帯植物の一つで、日本では沖縄県の北部の山岳地帯に多く自生しており、その製造法は葉の部分乾燥処理した後、これを煎じてお茶として飲用される。グアバの抗酸化成分はケルセチンであるとされている(11)。ただし、B茶については厚生労働省が認定している特定保健用食品として高濃度茶カテキンを意図的に加えていることから、ポリフェノール濃度が高くなるのは当然の結果であろう。

### 2. 茶飲料中ポリフェノールのDPPHフリーラジカル捕捉機能

本実験で用いた茶葉飲料にはカテキン類が存在しており、それらは抗酸化機能を有しているため、フリーラジカルを捕捉する能力があると考えられる。そこで、各種茶葉飲料のDPPHラジカルの消去活性を算出したところ、ラジカルを50%消去する時に供した茶葉飲料量から、抗酸化機能はB茶>D茶>C茶>A茶となり、B茶が最も強い抗酸化力を有していることが予想された。また、茶葉飲料に含まれるポリフェノール濃度によるラジカル50%消去に要する1mlあたりのポリフェノール重量を算出したところ、B茶が5.33ug、C茶が7.57ug、A茶が9.76ug、D茶が12.90ugとなった。D茶はラジカル50%消去時の量が2番目に少ない抗酸化能を示したにもかかわらず、ポリフェノールの量は最も高くなった。このような現象が生じた原因にはD茶以外の市販茶葉飲料には保存性を保つために、少量のビタミンCが加えられているが、D茶は茶葉から直接抽出しているため、ビタミン類は全く入っていない。すなわち、ビタミンCのラジカル捕捉作用も示されるであろうから、ラジカル50%消去時のポリフェノール量は少なくなってしまう可能性がある。さらに、D茶は、発酵によりカテキン類の減少とともに、赤や赤褐色の色素、すなわち、テアフラビンやその縮合物であるテアルビジンという成分が産生する。これらの抗酸化能については、種々のカテキン類と比較した例がないものの、他の製品に含まれるポリフェノール類より劣るのであれば、D茶が他の茶飲料よりポリフェノール濃度が高いにもかかわらず、ラジカル消去に多量を費やすのは予測できる。しかしながら、テアフラビン等の抗酸化機能は比較的強いことが他の研究で報告されているので前者の原因が本研究で得られた結果に寄与しているものと思われる。

### 3. 不飽和脂肪酸におけるプロシニジンの抗酸化機能

りんご未熟果実由来プロシニジンを添加した亜麻仁油は過酸化物質価上昇を低下させ、ラジカル反応誘導期である反応1-2時間では約7割、ラジカル反応増幅期である反応2-3時間では約25%反応を抑制した。このよう



に、プロシアニジン化合物を約 65 % 有し、その大半が 2 - 3 量体であるりんご未熟果実由来プロシアニジン化合物は、過酸化されやすい多価不飽和脂肪酸を 50 % 以上含む油脂の過酸化反応を効果的に抑制することが明らかである。おそらく、構造中の多数の水酸基がラジカル種を還元して安定化させていることが予想される。しかし、反応初期と比較して反応時間が長くなると、過酸化抑制機能は弱くなってきた。これは、ラジカル反応増幅期に基質であるラジカル種が著しく増大するのに対して、それらを捕捉するプロシアニジン化合物が減少していくために生じているものと思われる。一方、8 量体以上のプロシアニジン化合物を含むホップ由来のプロシアニジン化合物を使用して、亜麻仁油を用いた同様の試験を行った結果、ラジカル反応誘導期では 62.4 %、ラジカル反応増幅期では 37.4 %、過酸化反応が抑制された。このように、りんご未熟果実由来プロシアニジン化合物の方が、少し脂質過酸化制御効果が強いことが伺える。この違いの原因は、おそらくプロシアニジン化合物重合度の違い、あるいは、その他に含まれる微量成分の影響も無視できないものと思われる。今後、モノマー成分であるカテキンと、これらのプロシアニジン化合物の抗酸化強度を同じ条件で比較検討したいと考えている。さらに、各ポリフェノール類のバイオアベイラビリティは、未だに不明な部分が多く、この部分も考慮していかなければならないと思われる。

## 摘 要

4 種類 (A 社製グアバ葉配合 - 沖縄島茶, B 社製高濃度カテキン飲料, C 社製ウーロン茶, D 社製紅茶葉より冷水で抽出した紅茶) の茶葉飲料中に含まれているポリフェノールレベルとフリーラジカル捕捉機能、ならびに、多価不飽和脂肪酸を多く含む亜麻仁油にりんご未熟果実由来プロシアニジン化合物 (APP) を加えて加熱した場合の脂質過酸化防止機能を検討した。その結果、各茶葉飲料のポリフェノールレベルは、A 社製グアバ葉配合 - 沖縄島茶 (A) が 260ug/ml, B 社製高濃度カテキン飲料 (B) が 1482ug/ml, C 社製ウーロン茶 (C) が 235ug/ml, D 社製紅茶葉より冷水で抽出した紅茶 (D) が 647ug/ml であった。DPPH ラジカル捕捉機能は、 $B > C > A > D$  の順に捕捉機能が強かった。すなわち、茶葉飲料のフリーラジカル捕捉機能は、その中に存在するポリフェ

ノール濃度と構成する成分に依存していることが伺えた。APP を亜麻仁油に添加した場合に、油脂の過酸化は抑制された。とくに、APP は加熱時間が 1 - 2 時間であるラジカル反応誘導期を強く抑制することが明らかとなった。

## お わ り に

本稿は、17 年度応用生命工学科 3 年生の実習で行われた結果であり、比較的新規な知見を含み、かつ、とくに立派な報告書をはじめて見出したので、その報告書を改訂し、本人の了解を得てここに公表する。

## 引 用 文 献

1. 浅田浩二・活性酸素種の生理作用・活性酸素種の化学・第 3 章・日本化学会編・季刊化学総説 No.7, 学会出版センター・東京・p.133-146, 1990
2. HALLIWELL, B. and GUTTERIDGE, J.M.C. In chapter 8 in "Free Radicals in Biology and Medicine, second ed", Oxford University Press, Oxford. p.416-493, 1989.
3. McCORD J.M. Oxidative stress related disease-overview. In chapter 51 in "Critical reviews of oxidative stress and aging", eds by Cutler R.G and Rodoriguez H. World Scientific Press, Singapore. P.883-895, 2003.
4. 二木鋭雄・抗酸化物質：フリーラジカルと生体防御・二木鋭雄, 島崎弘幸, 美濃真編 学会出版センター・東京・p.3-15, 1994.
5. 西岡五夫・茶のポリフェノール・茶の化学 第 4 章・村松敬一郎編・朝倉書店・東京・p.115-123, 1991.
6. 藤田勇三郎, 駒越圭子, 丹羽ゆかり・タンニン及びフラボノイドによる自動酸化抑制機構 (第 3 報.) 薬学誌, 108, 538-537, 1988.
7. DECENDIT, A., MERILLON, J. M. Condensed tannin and anthocyanin production in Vitis vinifera cell suspension cultures. Plant Cell Reports 15, 762-765, 1996.
8. BLOIS, M. S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, Nature 4617, 1199-1200, 1958.
9. 日本油化学会・基準油脂分析試験法 (I) 2.5.2. p.1-2, 1996.
10. 岩浅 潔・茶の加工科学・茶の化学 第 3 章・村松敬一郎編・朝倉書店・東京・p.52-63, 1991.
11. MIEAN K.H., Mohamed S. Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin, and apigenin) content of edible tropical plants. J. Agric. Food Chem. 49, 3106-3112, 2001.

## Studies on levels of polyphenolic compounds in commercial tea beverages, their free radical scavenging activities, and antioxidant activity of procyanidins

Fumiyuki SASAKI, Eri ISHIKAWA, Suguru OSARI, Reiko SATO, Naritaka TAKEMOTO,  
Shinya HONDA, Youichi FUJIKANE, Takashi SUZUKI, Kyoichi OSADA

*Laboratory of Food and Nutrition Chemistry*

### SUMMARY

The levels of polyphenolic compounds and antioxidant activities of 4 species of tea beverages ( A: Okinawa-Shimacha combined guava leaf; B: Catechin beverage having high level of catechin; C: Oolong tea; D: Black tea from commercial black tea leaf ) were examined. Moreover, the antioxidant activity of procyanidins compounds rich powder from unripe apple ( APP ) on linseed oil was examined. The level of polyphenolic compounds of each beverage was in the decreasing order B ( 1482ug/ml ) > D ( 647ug/ml ) > A ( 260ug/ml ) > C ( 235ug/ml ). The DPPH radical scavenging potency of each beverage was in the decreasing order B > C > A > D. Therefore, the free radical scavenging potency depended on both the level and the component of polyphenolic compound. The peroxidation of linseed oil was inhibited by addition of APP. Especially, the additive APP interfered with the inducing period of radical chain reaction.

Bull. Fac. Agric. & Life Sci. Hirosaki Univ. No. 8 : 24 - 28, 2005