

県産桑茶を用いた保健機能食品の開発に関する研究(第2報)

江藤 勸*・山本展久*・佐野一成*・佐藤幸生**・望月 聡***

*材料科学部**農業技術センター茶業特産部***大分大学教育福祉科学部

Development of Functional Foods Using Mulberry Cultivated in Oita (2nd. Report)

Susumu ETO*・Nobuhisa YAMAMOTO*・Kazunari SANO*・Yukio SATO**・Satoshi MOCHIZUKI***

*Materials Science and Technology Division **Division of Tea and Industrial Corps,Oita Prefectural Agricultural Research Center

***Faculty of Education and Welfare Science, Oita University

要旨

県産桑茶を用いた保健機能食品の開発を目的として、茶葉で γ -アミノ酪酸(GABA)を増加させる効果が報告されている嫌気処理と好気処理を組み合わせを行い、各サンプルに含有される各アミノ酸含有量および桑茶による血糖値上昇抑制作用の指標として α -グルコシダーゼ阻害活性を測定した。嫌気処理については処理時間に応じて血圧上昇抑制作用のあるGABAの蓄積とそれに対応したグルタミン酸(Glu)とアスパラギン酸(Asp)の減少が認められたが、好気処理との組み合わせによるGABAの増加は見られなかった。

高血圧自然発症ラットを用いた嫌気処理をした桑茶の血圧上昇抑制作用の検討では、有意な差は認められなかったものの、条件によっては抑制の傾向が見られた。

1. はじめに

農業技術センター茶業特産部では、桑葉を原料とした高品質茶生産のための栽培と加工技術の開発を行い、既存の製茶設備が利用可能な上、飽きない美味しい桑茶の製造技術を開発している。

この桑茶に含まれる血糖値上昇抑制作用や血圧降下作用をもつ機能性成分を増加させる栽培・加工技術を確立させる事を目的として調査研究を行ったところ、血糖値上昇抑制作用の指標とされる α -グルコシダーゼ阻害活性が極めて高いことと、生葉の嫌気処理より血圧上昇抑制作用のあるGABAの蓄積することが明らかとなった¹⁾。

本報では、さらに高濃度のGABAを蓄積させる製造方法の検証とGABAを高濃度含む桑茶の血圧上昇抑制作用について高血圧自然発症ラットを用いた検討を行った。

2. 実験方法

2.1 桑葉試料の作成

桑葉「はやてさかり」の葉柄を除いて各試験区で2kgの適熟葉をそれぞれ収穫した。1~2cm幅に細断した後、蒸し(98℃1分間)→粗揉(55℃20分間)→揉捻(10分間)→乾燥(75℃60分間)の工程を経て得られた荒茶を密封し分析に供するまで5℃で保存した。

嫌気処理は、桑葉を細断した直後にアルミ製の袋に入れて真空処理(15秒間)と窒素ガス封入処理(15秒間)を行った後、5℃で24,48,72時間保存して行い、その後上記の工程で荒茶に加工した。また、好気処理との組み合わせでは、24,48時間保存した後、5℃環境下で開封し、1時間空気

に触れさせた後、再び嫌気処理、荒茶加工を行った。

それぞれの桑茶を2gずつ採取し、98℃の精製水100mlで3分間抽出した後、ろ過した抽出液を分析に供した。

2.2 成分分析

各桑葉抽出液についてアミノ酸の濃度を全自動アミノ酸分析機(日本電子(株) JLC-500/V)により測定した。

2.3 α -グルコシダーゼ阻害活性の測定

藍谷等²⁾の方法を一部改変して行った。ラット小腸アセトンパウダー(SIGMA製)に、約10倍量の0.1Mマレイン酸緩衝液(pH6.0)を加えて懸濁し、超音波処理および遠心分離した上清を酵素標品とした。

マルトースを基質として用い、0.1Mマレイン酸緩衝液(pH6.0)で10倍に希釈した桑葉抽出液を添加して37℃、10分間の予備加熱を行った後、酵素液を添加し、37℃、60分間の酵素反応を行った(酵素最終濃度0.5mg/ml、基質最終濃度50mM)。反応後、反応液と同容量の精製水を加えて2分間煮沸して反応を停止させた。

酵素反応によってマルトースが分解して生じた反応液中のグルコース量をGlucose-Bテストワコー(和光純薬製)を用いて測定し、桑葉抽出液による α -グルコシダーゼ阻害活性を算出した。

2.4 血圧上昇抑制作用の評価

5週齢の雄性高血圧自然発症ラット: SHR/Izm(以下SHR)を11週齢まで予備飼育した後、1群8匹の4グループに分

けて、飲料水として水道水を与える群(Control), 通常の桑茶を与える群(NTML), 通常の桑茶に 85.9mg/L となるよう GABA を添加したものを与える群(NTML+GABA)及び嫌気処理により 85.9mg/L の GABA を蓄積した桑茶を与える群(ATML)を設定した。

血圧測定にはラット用非観血式自動血圧測定装置(ソフトロン BP-98A)を用いて、心拍数、収縮期血圧、拡張期血圧、平均血圧を測定した。

3. 実験結果及び考察

3.1 嫌気・好気処理による桑茶のアミノ酸含有量の変化

嫌気処理による桑茶のアミノ酸含有量については、前報¹⁾と同様に処理時間に応じて Glu の減少と GABA の蓄積が認められた。また、同様に Asp の減少も確認されたが、これはオキサロ酢酸を介した Glu とのアミノ基転移反応による共役系の影響と考えられた(Fig.1)。

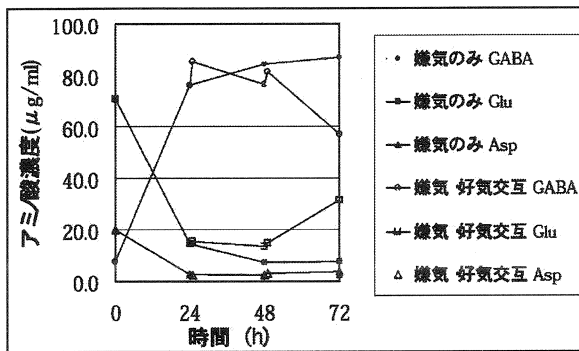


Fig.1 嫌気・好気処理による桑茶のアミノ酸含有量の変化

澤井等²⁾によると茶葉に於いては嫌気処理の後、葉を好気条件にさらすと桑茶中のアラニン(Ala)からアミノ基転移反応により Glu が生じ、この後さらに嫌気処理をすることで高濃度の GABA が蓄積できたとしている。同様のことが桑茶に応用できるか否かを検証するため 24,48 時間の嫌気処理の後、1 時間の好気処理を行った桑茶を調製したが、好気処理による Glu 含有量の回復や GABA の蓄積増加などの効果は認められなかった(Fig.1)。この原因として本報の嫌気処理方法が 5℃ で長時間行っているため、GABA に転換できるアミノ酸をほとんど消費してしまっていると考えられた。実際、嫌気処理したサンプルでは高濃度に蓄積した GABA 以外のアミノ酸は濃度が低下しているものが多く、Ala についても同様であった。

また、逆に処理過程が増えることにより、嫌気処理が不十分となったサンプルが複数認められ、GABA を桑茶に蓄積させる製造方法としては単純な1回の嫌気処理の方が良好であると思われた。

3.2 嫌気・好気処理による桑茶の α-グルコシダーゼ阻害活性の変化

桑茶の血糖値上昇抑制作用の本体は、1-デオキシノジリマイシン(DNJ)であることは既に明らかにされているが³⁾、DNJ の直接定量は困難であることから、その作用機構である α-グルコシダーゼの阻害活性を測定することとした。

結果として、全ての桑茶サンプルで 10 倍希釈しても 60% 以上の強力な α-グルコシダーゼ阻害活性が認められたが、嫌気処理も好気処理も DNJ の含有量に影響しないことが予想された(Fig.2)。

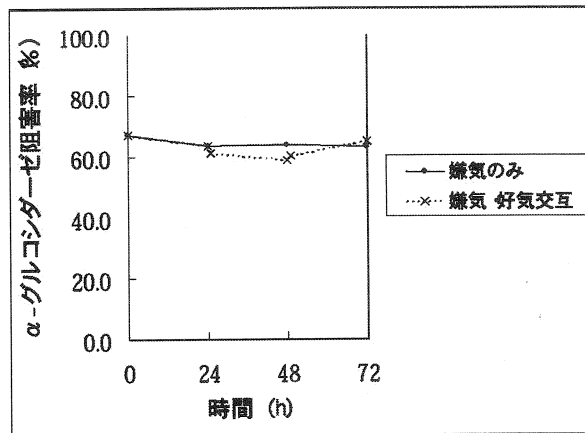


Fig.2 嫌気・好気処理による桑茶の α-グルコシダーゼ阻害活性の変化

3.3 高濃度 GABA 含有桑茶の血圧上昇抑制作用の検討

嫌気処理により高濃度の GABA を蓄積した桑茶葉を混合して ATML 群のラットに与える桑茶を調製した。調製した桑茶に含まれる GABA の濃度は 85.9mg/L であったため、通常の桑茶に 85.9mg/L となるよう GABA を添加したものを与える NTML+GABA 群も設定した。

桑茶を与え始めた 11 週齢から 18 週齢までの血圧に対する桑茶の効果については、Control 群を含めた全ての群の血圧上昇にバラツキが大きく、高濃度の GABA を含む桑茶に血圧上昇抑制の傾向は認められなかった(Fig.3)。

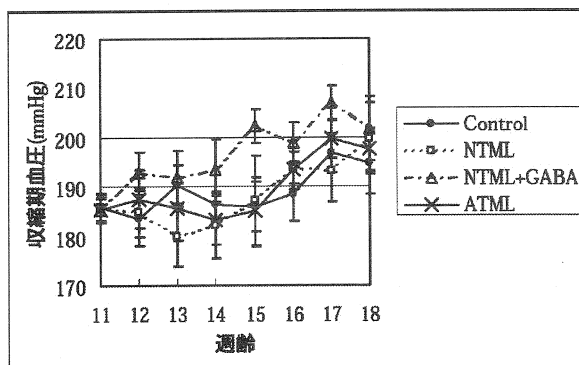


Fig.3 高濃度 GABA 含有桑茶の血圧上昇抑制作用

この原因として、長期に渡る血圧に対する効果を測定する場合、遺伝的に血圧が上昇する傾向にある SHR であっても、全ての試験群に於いて安定した血圧上昇傾向に至る条件を整える必要があることが判明した。その条件とは、具体的には高濃度の塩分を摂取させるか蛋白欠乏食を与えることである。このことより、ラットの飼料をこれまで使用した通常食から蛋白欠乏食に変更し、20 週齢から 24 週齢までの GABA を含む桑茶に血圧上昇抑制を検討した(Fig.4)。飼料を変更した後は、GABA を含む桑茶を与えた群(NTML+GABA 及び ATML)はほとんど Control より低く、GABA による血圧上昇抑制の傾向が認められたが、その差は有意なものではなかった。

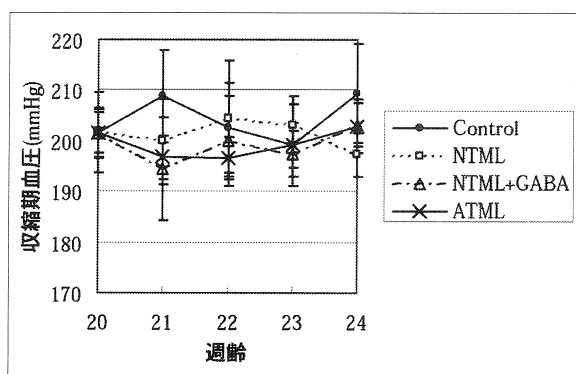


Fig.4 高濃度 GABA 含有桑茶の血圧上昇抑制作用 (飼料変更後)

これについては、高血圧を発症した後では、血圧上昇抑制作用を有する GABA の効果が出にくかったためと思われ、当初の高血圧発症前(11 週齢)から蛋白欠乏食を与えながら、GABA を含む桑茶の血圧上昇抑制作用を再評価する必要があったと考えられた。しかし、平成 16 年の夏に相次いだ台風の直撃により、桑圃場が大打撃を受けたため再試験を行うための桑葉が確保できなかったため、再試験は来年度以降に持ち越さざるを得なかった。

4. まとめ

県産桑茶を用いた保健機能性食品の開発の可能性について検証したところ次の知見が得られた。

- (1)アミノ酸含有量については嫌気処理時間に応じた GABA の蓄積と、Glu, Asp の減少が認められたが、好気処理との組み合わせによる変動は認められなかった。
- (2)α-グルコシダーゼ阻害活性についてはどの様な処理によっても強い阻害活性に変化は見られなかった。
- (3)高血圧自然発症ラットを用いた高濃度の GABA を蓄積した桑茶による血圧上昇抑制作用の検討では、有意な差は認められなかったものの、実験条件によっては抑制の傾向が見られた。

桑葉を用いた健康食品は多数製造されており、その多くは血糖値上昇抑制作用に焦点をあてたものであるが、特定保健用食品に認定されているものは未だ無い。今回の加工処理により、高濃度の GABA を蓄積した桑茶により血圧上昇抑制作用を動物実験、臨床実験等で明らかに出来れば、作用機構がわかりやすいため「血圧が高めの方の食品」としての認定の可能性も高いものとする。

参考文献

- 1) 江藤他:大分県産業科学技術センター平成 15 年度研究報告,116(2003)
- 2) 藍谷他:日本食品科学工学会誌,50(2003)187
- 3) 澤井他:(独)農業・生物系特定産業技術研究機構・野菜茶業研究所平成 14 年度研究報告(2004)
- 4) 八並一寿:月刊フードリサーチ,5(2000)28-31