

産学官連携による緑茶の機能・嗜好性を強化した飲料の開発を目指して

| | |
|-------|--|
| メタデータ | 言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-05-24 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 竹下, 温子, 池ヶ谷, 篤, 大塚, 由梨菜, 田澤, みさき, 浅沼, 俊倫, 山下, 里恵 メールアドレス: 所属: |
| URL | https://doi.org/10.14945/00010147 |

産学官連携による緑茶の機能・嗜好性を強化した飲料の開発を目指して

Development of beverage to fortify the function and palatability of green tea through collaboration among industry university government

竹下温子¹ 池ヶ谷篤² 大塚由梨菜³ 田澤みさき³ 浅沼俊倫⁴ 山下里恵⁴

Takeshita Haruko, Ikegaya Atushi, Otuka Yurina, Tazawa Misaki, Asanuma Toshimichi, Yamashita Ric

Abstract

Of green teas, 'benifuuki green tea (BG)' is widely known for containing much epigallocatechin-3-O-gallate and has the high function. Nevertheless, it is not generally preferred because of bitter taste. In order to enhance BG palatability, function, BG beverage products containing different components for summer and winter were developed through collaboration among industry-university-government. (1) BG, Honyama green tea (H)—mostly cultivated in Shizuoka, Japan—, Black tea (T), Roasted green tea (R) were blended by a ratio of 50:40:8:2, respectively to make an attempt to improve the flavor. (2) Ginger which has a similar anti-adiposity effect with BG was added. Thus, the beverage product for winter was preferred by 65% of the 102 samples. Furthermore, the function of them was investigated *in vitro* and *in vivo*. The beverage products for winter and summer inhibited pancreatic lipase activity *in vitro*. That is, those helped preventing fat absorption. *In vivo*, the beverage product for winter showed a tendency of weight reduction ($p>0.065$) in a high fat diet. On the other hand, the one for summer significantly showed weight reduction and fat surrounding the ovary. The ones for summer and winter in a high fat diet significantly reduced liver weight. It suggests the beverage products are beneficial for anti-adiposity effect.

キーワード：産学官連携、緑茶、松葉、機能性

諸言

緑茶は、近年多岐に渡る機能性が報告され¹⁻⁴⁾、それぞれの機能成分とその作用機序までもが明らかにされつつある⁵⁾。特にもともと紅茶の品種であった「べにふうき」は、エピガロカテキン-3-O-(3-O-メチル)ガレート(EGCG 3-Me)を多く含み⁷⁾、このメチル化カテキンは体内吸収率が高いことや⁸⁾、血中体留時間が長いことから⁹⁾、その機能が体内で効果的に発揮されることが明らかとされ、その機能性が高く評価されている。また、昨今、食の欧米化、さらには運動不足による肥満やメタボリックシンドローム

が問題視され、その改善の一つとして機能性食品が注目されている。特に平成27年4月から施行された機能性表示食品制度は現時点で313の登録がなされ、そのうち161件が抗肥満や、脂肪吸収抑制に関わるもの¹⁰⁾であると言われている。つまり抗肥満関連に消費者の関心が高まっていると言えるが、これら機能性を高めた食品は一概においしいとは言いがたい。先にあげた緑茶の機能成分であるカテキンも、嗜好面では苦味や渋味を呈すことでも知られる。べにふうきは、その効能を高めるために、適期適採ではなく硬葉になってから摘み取られるため、他の品種に比べ非常に苦渋味が強くなり飲用しづらいのが特徴である。

緑茶は、一般的には嗜好飲料としての価値が高く、取引

1. 家政教育講座 2. 静岡県農林技術研究所

3. 総合科学課程消費生活専攻 4. 静岡県工業技術研究所

価格も新茶に比べ、機能成分が多く苦渋味が強くなる2番茶、3番茶となるとその価格は大きく下落する¹¹⁾。昔から「良薬は口に苦し」と言われるが、機能性食品は薬のように即効性があるものは少なく、長い期間継続してこそ、その効果が発揮されるものも多い。つまり長期摂取して体質改善を図るという考え方が必須であり、そのためには美味しさをある程度追求する必要がある。

よって本研究では、まず嗜好性を高め、長く続けてもらえる商品開発を目指すことを大きな目標とし、有限会社平成エンジニアリングの協力を得て、産学官連携により①機能性の高い「べにふうき」緑茶の風味改善 ②機能性成分の分析 ③ *in vitro*, *in vivo* 実験による機能性の評価 ④商品の嗜好調査の4点から緑茶の嗜好性・機能性を強化した飲料の商品化を目指した。

機能性の強化は、前田らが抗アレルギー作用について緑茶と生姜を組み合わせることによって、その効果が増強されることを報告している¹²⁾。よって我々は、緑茶の多くの効能の中で、現代のニーズに合わせた脂肪蓄積抑制作用について、同様の機能性を持つ生姜を組み合わせ、その効果を強化していく事を目的とした。

実験方法

1. 商品開発

a. 材料および粉末化

商品開発用の材料はすべて静岡県産のものを使用した。緑茶は機能性の高い3-メチルエピガロカテキンガレートを多く含む「べにふうき」(B: Bnifuuki Greentea, 株式会社新幹線サブから入手)、さらにべにふうきの風味改善に使用した茶葉である本山茶 (H: Honyama Green tea, 株式会社喜作園入手)、ほうじ茶 (R: Roast Green tea, 株式会社喜作園入手)、紅茶 (B: Black Tea, 平成エンジニアリングから入手) は、すべてやぶきた品種を用いた。また、緑茶の色味改善の目的から血流改善効果が報告されている松葉、味にまろやかさを持たせるために用いたライスマルクは平成エンジニアリングから入手し、茶葉4種、松葉、ライスマルクは平成エンジニアリングが有している微粉碎技術によって粉末化したものをサンプルとした。更に機能性強化のために使用した生姜は、駿河区久能で栽培された葉生姜の古根を洗浄後、85℃の温水で30分間ブランチングし、-30℃で保存したものを、使用時に解凍し、フードプロセッ

サーで約5mm角に粉碎した。粉碎された生姜を55℃で10分乾燥後、85℃で30分熱風殺菌し試料とした。

b. 商品化に向けた茶配合比率の決定

前述したように、べにふうきはEGCG 3'Meが他品種にくらべ豊富に含まれ、その機能性を高めるために「硬葉」で摘み取られるため、苦渋味が強くなる。よってまずは、風味改善を検討するため、静岡県で栽培・商品化されているやぶきた品種から作られた本山茶 (H)、ほうじ茶 (R)、紅茶 (T) との配合比率を決定した。配合には工業技術研究所にて過去にGC/MSで分析した緑茶・紅茶・ほうじ茶のかおりのデータから、新茶の香りに近づくように化学的に比率を定め、H→T→Rの順でBにブレンドし、ブレンドした茶葉1gに対して100mLの水を加え攪拌、室温で1時間静置後、不織布でろ過した液を試料とした。これらの試料を、茶のかおり分析にて高度に訓練された研究員によって分析型官能評価を行い、最も好まれる混合茶葉の比率を決定した。

c. 生姜の配合比率の決定と商品化

茶葉の配合比率が決定した後(以後決定した茶葉を「混合茶葉」と記す)、機能性強化のために添加する生姜を含めた配合比率を決定した。混合茶葉1gに対して生姜粉末を0.1~0.3g添加し、これに水を100mL加え、冷蔵庫内(約5℃)で18時間静置して抽出した。その後、不織布でろ過した液を試料溶液とした。これらの試料を商品開発に携わる6名のメンバーによって吟味した。その後、平成エンジニアリングの意見を反映し、水出し抽出の夏用茶(パック)と、茶および生姜粉末をライスマルクでとろみをつけてそのまま飲む冬用茶(ステック)の2種類の組成を決定した。それぞれの商品組成を表1と表2に示す。

表1. 夏用商品の組成

| 1L用組成 | 分量(g) |
|-----------------|-------|
| べにふうき緑茶(粉末) | 2.85 |
| 本山茶(粉末) | 2.3 |
| 和紅茶(藤枝産;粉末) | 0.68 |
| ほうじ茶(静岡県産;粉末) | 0.17 |
| 種生姜(久能産、乾燥、粗粉碎) | 1.15 |
| 松葉(静岡県産、素粉碎) | 1.15 |
| 一袋合計 | 8.3 |

表2. 冬用商品の組成

| 1包(13g)の組成 | 分量(g) |
|------------------|--------|
| てんさい糖 | 7 |
| ライスマルク | 5 |
| べにふうき緑茶(静岡産) | 0.475 |
| 本山茶(やぶきた; 静岡市産) | 0.38 |
| 紅茶(やぶきた; 藤枝産) | 0.115 |
| ほうじ茶(やぶきた; 静岡県産) | 0.028 |
| 種生姜(静岡市 久能産) | 0.08 |
| 松葉(静岡産) | 0.1 |
| 一包合計 | 13.178 |

d. 商品に用いた混合茶葉と生姜の機能性成分の測定

2つの商品の機能性成分量を調べるために、混合茶葉は主要な8種類のカテキンである、カテキン(C)、ガロカテキン(GC)、カテキンガレート(Cg)、ガロカテキンガレート(GCg)、エピカテキン(EC)、エピガロカテキン(EGC)、エピカテキンガレート(ECg)、エピガロカテキンガレート(EGCg)量を測定した。生姜は脂肪蓄積抑制効果で知られるジングロールのうち最も生姜に多く含まれている6-ジングロールについて、茶葉・生姜粉末、および夏用に調整された組成(表1)を不織布に包み、夕方冷蔵庫に入れ、翌日飲むことを想定し、5°C、18時間抽出したものをを用いた。どちらも高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用い、茶カテキンは稲垣ら¹³⁾の方法に、6-ジングロールはWohlmuthら¹⁴⁾の方法に準じ測定を行った。

2. 銅試薬法を用いた腓リパーゼ活性阻害測定(*in vitro*)

a. サンプル調整

サンプルは実際に冬用商品に入っている混合茶葉(T)と生姜(G)の粉末をそれぞれ単独でサンプルとし用いたものと、冬用商品の配合割合でTとGを混合させたもの(W)を用いた。また夏用商品は水出し抽出液(5°C18時間)を凍結乾燥によって粉末化したもの(S)をサンプルとした(図1)。加えるサンプル量は、Ikedaら¹⁵⁾が報告した腓リパーゼ活性阻害効果のある茶葉カテキン量から算出した。

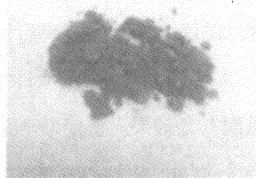


図1. 夏用抽出液の粉末の様子

b. 実験方法

遊離脂肪酸の測定は、韓ら¹⁶⁾が報告している銅試薬法の变法によって行った。基質液0.5 mL(トリオレイン1.65 mg、レシチン20.63 mg、コール酸ナトリウム1 mg)を含み、0.1% NaClでpH 7.0に調整した0.1 M TES緩衝液20 mLを入れ超音波にて溶解した溶液)に2%の腓リパーゼ溶液1 mL(豚由来; Sigma社)、サンプル調製時に添加量を計算したサンプルを50 mLファルコンチューブに加え、37°Cで1時間、腓リパーゼによる反応を行った。次にクロロホルム・ヘプタン(1:1, v/v)溶液を3 mL加え、10分間振盪させ脂質を抽出した後、3,000 rpm、10分遠心した。上層の水層を除去し、よく混ぜた下層を1 mLとり銅試薬0.5 mL加え、10分振盪した。その後3,000 rpmで10分遠心し、上層0.4 mLを試験管にとり、バソクプロイン溶液を等量加え、さらにこの液をクロロホルムで8倍希釈し、480 nmの波長で吸光度測定を行った。

c. 統計処理

得られたデータは平均値±標準誤差で示した。また統計処理はエクセル統計を用い高脂肪食群(C; Control)に対するDunnettの多重比較検定を行った。

3. 動物を用いた脂肪蓄積抑制効果の検討(*in vivo*)

a. 実験動物および飼育条件

動物はC57BL/6Jマウスの雌5週齢をチャールズリバーより28匹購入し、高脂肪食群(Control: n=10)、松葉単独群(Matuba: n=6)、夏用商品群(Summer: n=6)、冬用商品群(Winter: n=6)の5群に振り分け1週間の順化を行った。飼育環境は、室温24±2°C、湿度60±10%、明期は12時間(8~20時)とした。飼育方法は1つのスチールケージに3匹ずつ飼育し、床敷にはペーパークリーン(SLC社)を用いた。餌箱はローデンカフェを使用し、順化中はAIN-93G粉末試料(オリエンタル酵母)、本実験では表3の飼料組成に従い粉末試料を作成し、各群に供した。餌と水は自由摂食・摂水とし、本試験の投与期間は9週間とした。

b. 飼料組成

飼料の基準となる高脂肪食は稲垣ら¹³⁾が使用していたHi-Fat Diet 32(日本クレア社)の配合に準じ、脂質量を35.88%とした。更にS群は腓リパーゼ活性測定と同様に処理した粉末をC群のセルロースに置換し、M群は夏用商品の抽出率を参考に松葉添加量を計算し決定した後、C群の

セルロースに置換した。最後に W 群は、今まで緑茶を用いた脂肪蓄積抑制効果実験でその効果が報告されている茶葉 2 g を基準とし^{13,17)}、冬用商品の配合から混合茶葉および生姜量を算出し、S 群のセルロースに置換した(表3)。

表3. 各群の飼料組成

| | 高脂肪食(C) | 夏用商品(S) | 冬用商品(W) (g) | | 松葉(M) |
|----------------|---------|---------|-------------|-------------------|-------|
| | (g) | | ライスマイルク | 10g中 | (g) |
| コーンスターチ | 5.07 | 5.07 | — | 7.71 ^C | 5.07 |
| シュクロース | 16.92 | 16.92 | 14* | — | 16.92 |
| ライスマイルク | — | — | 10 | — | — |
| カゼイン | 30.22 | 30.22 | 30 | 0.61 | 30.22 |
| コーン油 | 5 | 5 | 4.12 | 0.09 | 5 |
| 牛脂(粉末) | 15.88 | 15.88 | 15.88 | — | 15.88 |
| ペニバナ油 | 15 | 15 | 14 | — | 15 |
| セルロース | 5 | 1 | 2.644 | — | 4.6 |
| 混合茶葉 | — | — | 1.996 | — | — |
| 生姜 | — | — | 0.16 | — | — |
| 松葉 | — | — | 0.2 | — | 0.4 |
| 抽出液(凍結乾燥) | — | 4 | — | — | — |
| ビタミン混合(AIN-76) | 5 | 5 | 5 | — | 5 |
| ミネラル混合(AIN-77) | 1.4 | 1.4 | 1.4 | — | 1.4 |
| DL-メチオニン | 0.3 | 0.3 | 0.3 | — | 0.3 |
| 重曹石炭酸コリン | 0.2 | 0.2 | 0.2 | — | 0.2 |
| 合計 | 99.99 | 99.99 | 99.99 | — | 99.99 |

*冬用商品はてんさい糖に置き換えた。またライスマイルクに含まれる3大栄養素はそれぞれ相当する食品に置換した。

c. 解剖方法

9 週間投与と実験後、6 時間絶食し麻酔(ペントバルビタール)を腹腔投与後、ヘパリン添加シリンジを用いて心臓から採血を行い、採血後、即座に頸椎脱臼より安楽死させ、各臓器(心臓、脾臓、肝臓、副腎、腎臓)と子宮周囲の内臓脂肪組織を摘出、重量を測定後、液体窒素にて臓器および脂肪組織を急速に凍結し、-80℃で使用するまで保存した。採血液は遠心後、血清を採取し分析時まで-80℃で保存した。

d. 血中および肝臓・糞中脂質量の測定

肝臓・糞中の脂質抽出にはクロロホルム・メタノール法を用い脂質を抽出後、和光純薬の測定キットを用いて、血清とともに中性脂肪(TG)の測定を行った。

e. 統計処理

得られたデータは平均値±標準誤差で示した。また統計処理はエクセル統計を用い高脂肪食群(HF)に対するDunnettの多重比較検定を行った。

4. 商品の嗜好型官能評価について

動物実験の評価まで終わり、商品化が進んだ冬用商品について嗜好調査を行った。

a. 調査内容

調査内容は、対象者把握のため、性別、年代を問い、その後、色や香り、味覚(甘味、旨味、渋味、辛味、総合評価)の全7項目について5点評価法により調査した。また、価格設定に関する問いや、生姜緑茶に対する印象、普段の飲料摂取傾向等を問い、商品の改善点を探った。

b. 調査対象者

一般11名(内訳:男性7名、女性4名)、静岡大学の家政教育を専攻する学生を主とした51名(内訳:男性5名、女性46名)、高校生38名(内訳:男性15名、女性23名)の計102名(内訳:男性27名、女性63名)を調査対象とした。

c. 調査日時

平成26年11月~平成27年1月の間で行った。

d. 分析方法

得られた結果はマイクロソフトExcel 2010を用いて解析した。

結果および考察

1. 商品開発

本山茶の配合によるべにふうき緑茶の風味改善を検討した結果、本山茶の比率が高くなるほど、風味は向上した(図2)。風味を良好にするためには、4~5割以上の本山茶を配合することが必要であると考えられた。更に新茶の香りに近づけるために、本山茶:べにふうき緑茶を50:50で配合した混合緑茶に、6パターンの比率で紅茶をブレンドした。その結果、混合茶に対して紅茶を92:8で配合することによって、紅茶の添加を感じさせず、風味を向上することに成功した。しかしながら全体として香ばしさがやや低下したため、微量のほうじ茶を配合し、香ばしさを付与させるとともに、全体の配合を再調整し、各茶葉の比率をべにふうき緑茶:本山茶:紅茶:ほうじ茶=50:40:8:2とした。

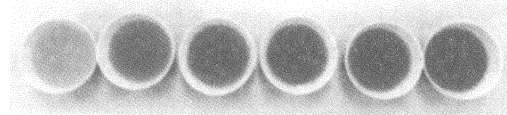


図2. べにふうき緑茶および本山茶配合の色合い(本商品は左から3番目と四番目の間で配合された)

次に機能性を強化するために加える生姜の添加量を検討した。機能性は確保できても味が悪ければ、長期摂取に繋がらない。よって生姜を混合茶葉1gに対して、0.1~0.3%加え、風味を検討した結果、生姜の辛味をやや感じるが、風味が落ちない最適な添加量が0.175~0.2gの範囲であることがわかった。0.2g以上生姜を加えると、辛味が強く嗜好

性に繋がらないと判断した。よって、生姜の添加量は効果がより現れるように、嗜好の良い最大の0.2gの添加量とした。更に色合いについて指摘があり、緑色を強化するために、血流改善作用が知られている松葉も生姜同様0.2g加えることとした。以下図3は実際に販売する際のパッケージイメージである。左が夏用商品（商品名：爽瘦茶）、右が冬用商品（商品名：温瘦茶）である。

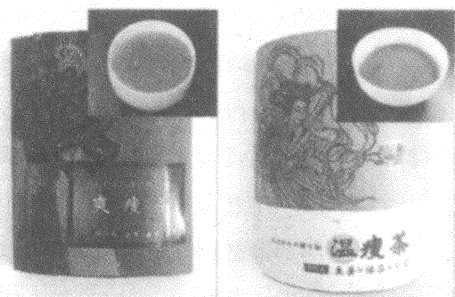


図3. パッケージのイメージと抽出の様子
(左：爽瘦茶（夏用） 右：温瘦茶（冬用）)

2. 機能性成分の測定

風味改善を求めて配合した茶葉や生姜の原料に含まれる、カテキン量、6-ジングロール量を測定した結果、お茶カテキンは表4に示すように、原料のべにふうき茶葉に対して、混合茶葉の非メチル化カテキン量は約1/2に抑えられてしまった。更に水出し抽出でどの程度カテキンが抽出されるか検討したところ、抽出率は総カテキンとして約75%であることが判った。機能性が高いとされるガロイル基を持ったカテキンは概ね50%の抽出率となった。更に6-ジングロールについては、22.7mg/gで、吉田ら¹⁸⁾が報告している0.66mg/g DWと比較すると、生姜の90%が水分であるため、今回使用した久能の葉生姜の種生姜にも同等の機能性成分が含まれていることが示された。更に水抽出より6-ジングロール量は9.21mg/gとなり40%の抽出率であることが判った。

表4. べにふうき、混合茶、混合茶水抽出のカテキン量

| mg/g | べにふうき緑茶 (原料; B) | 混合茶葉 (B:H:T:R= 50:40:8:2) | 水抽出液 |
|--------|--------------------|---------------------------------|-------|
| C | 1.13 | 0.33 | 0.44 |
| GC | 3.09 | 1.35 | 1.31 |
| CG | 0 | 0.21 | 0.04 |
| GCG | 0.15 | 0.17 | 0.07 |
| EC | 10.51 | 6.84 | 7.42 |
| EGC | 34.56 | 22.85 | 26.13 |
| ECG | 19.44 | 7.41 | 2.95 |
| EGCG | 66.9 | 34.28 | 16.48 |
| 総カテキン量 | 135.78 | 73.44 | 54.84 |

3. 銅試薬法を用いた腓リパーゼ活性阻害測定 (*in vitro*)

in vitro 試験によって、腓リパーゼ活性の阻害効果を確認したところ、コントロール (C) の腓リパーゼ活性率を100%とした時に、夏用商品 (S) は1%水準で、冬用商品 (w) は5%水準で有意に低値を示し、脂肪吸収阻害を確認することができた。しかしながら、冬商品を分解し、茶単独、生姜単独で腓リパーゼ活性を確認したTとGと比較すると、茶単独の方が茶と生姜を組み合わせた冬商品よりも、有意に腓リパーゼ活性を阻害したことから、茶と生姜を組み合わせることで、脂肪吸収阻害の作用機序に拮抗が生じることが明らかとなった。しかしながら水抽出された夏用商品では混合茶葉単独よりもより強い阻害効果を示しており、水抽出液を用いた方がより効果的に腓リパーゼ活性を阻害することが明らかとなった (図4)。

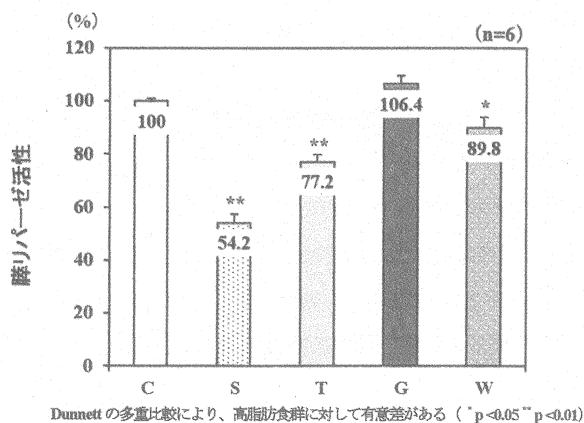


図4. 腓リパーゼ活性の測定 (*in vitro*)

4. 動物を用いた脂肪蓄積抑制効果の検討 (*in vivo*)

in vivo 試験によって生体内の脂肪蓄積抑制効果の検討を行った。まず食べている量に差がないか摂食量について、全ての群でC群を対照に統計処理を行ったところ、有意差は見られず、摂食量が体重に影響を与えないことが明らかとなった (図5)。次に体重量はS群で、C群に比べ5%水準で有意に低値を示し、抗肥満効果が現れることが判った。また、W群も9週目でC群に比べ減少傾向にあることが示唆された。さらに体重増加量で比較すると (表5)、S群は1%、W群は5%水準で有意にC群に対して低値を示しており、どちらの商品も抗肥満作用を示すことが明らかとされた。また松葉が抗肥満効果を示す可能性もあったため、M群の松葉単独投与も行ったが、抗肥満効果は見られなかった (図6)。

次に臓器・組織重量の結果について体重1gあたりで有

意差が得られたものについて考察していく(表5)。まず、S群は、内臓脂肪組織量がC群より有意に低値を示し、生体でも脂肪蓄積抑制効果をはっきりと確認することができた。次にW群は肝臓重量が有意に低値を示し、更に肝臓中の中性脂肪(TG)量もC群と比較して有意に低値を示した(表6)これは先行研究と同様、肝臓中のβ酸化の亢進が肝臓中のTG量を減少させ、肝重量の減少を導いたと考えられた。また、M群およびS群で腎臓に肥大が確認された。W群については、松葉が半量であるため、この作用は見られなかったと考えられる。松葉には血流改善効果があり、松葉に含まれるケルセチンがこの効果を示しているとされているが、このケルセチンは、より高濃度の場合

酸化を促進するような「プロオキシダント」として働くことも知られている¹⁹⁾。よって、本商品に含有した松葉に含まれるケルセチンがプロオキシダントとして働き、腎臓に障害が現れた可能性が示唆された。さらに水出し抽出したS群では腎肥大がより強く現れているため、水によって抽出されたカテキンなどと相乗的に作用した可能性も考えられる。よって今後、松葉投与量について詳細な検討が必要であることが明らかとなった。

最後に血中、肝臓中、糞中のTG量について考察していく。S群はC群に対して肝臓および糞中TG量が有意に低値を示し、W群はすべてにおいて有意に低値を示した。In vitro試験で行った腓リパーゼ活性の結果と照らし合わせると、S群は1%水準で、W群は5%水準でどちらも腓リパーゼ活性の阻害を示していたことから、糞中TG量の有意な増加は、腓リパーゼ活性の阻害によるものであることを裏付けた。次に、肝臓中TG量はC群に対してS群、W群で有意に低値を示した。このことは、肝臓中の脂質異化が亢進していることを示している。最後に血中TG量について、W群で有意に低値を示した。血中TG量の減少は脂肪細胞での脂肪合成抑制の結果であり、体内代謝が脂肪蓄積抑制に向かっている事を示唆した。

これらの結果により、二つの商品の中でも夏商品は、有意に脂肪蓄積抑制効果を示すことが明らかとなったが、腓リパーゼ活性を抑制した脂肪吸収抑制の効果が高く、体内の脂質代謝がより異化方向に進んでいるのは冬用商品であることが明らかとなった。また松葉は濃度によって腎肥大を起こす可能性があり今後の検討課題となった。

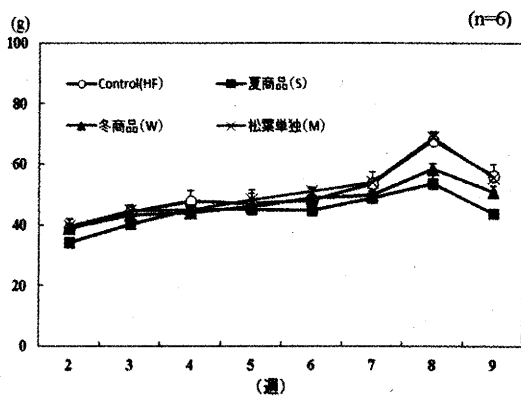
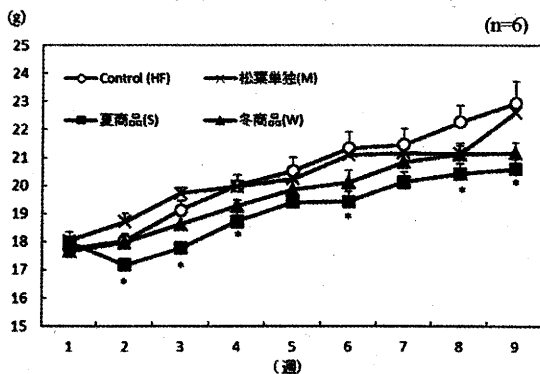


図5. 飼育期間中の摂食量 (in vivo)



Dunnettの多重比較により、高脂肪食群に対して有意差がある (*p<0.05)

図6. 飼育期間中の体重量 (in vivo)

表6. 肝臓・血清・糞中の中性脂肪量 (in vivo)

| | C | S | W | M |
|-----------|------------|-------------|--------------|------------|
| 肝臓(mg/g) | 10.60±2.65 | 6.52±1.98** | 10.40±0.88* | 14.40±2.50 |
| 血清(mg/dL) | 38.20±2.20 | 34.77±2.01 | 27.60±0.78** | 36.43±2.52 |
| 糞(mg/g) | 8.10±0.17 | 9.36±0.84** | 9.35±0.58* | 8.66±0.50 |

Dunnettの多重比較により、高脂肪食群に対して有意差がある (*p<0.05**p<0.01)

表5. 体重・臓器・組織の重量 (in vivo)

| | | C | S | W | M |
|------|-----------|-------------------|----------------------|------------------------|---------------------|
| 体重 | Start (g) | 17.73±0.29 | 17.97±0.37 | 1.776±0.11 | 18.03±0.13 |
| | Finish(g) | 22.38±0.59 | 20.60±0.35* | 21.17±0.38 | 22.61±0.36 |
| | 増加量(g) | 4.88±1.00 | 2.63±0.40** | 3.51±0.41* | 4.59±0.43 |
| 臓器重量 | 心臓(g) | 0.112±0.002(4.9) | 0.103±0.003*(5.0) | 0.108±0.002(4.9) | 0.111±0.002(4.9) |
| | 腎臓(g) | 0.267±0.004(11.7) | 0.270±0.006(13.1)** | 0.254±0.005(11.6) | 0.284±0.004*(12.6*) |
| | 肝臓(g) | 0.989±0.029(43.1) | 0.858±0.024** (41.6) | 0.852±0.028** (38.7**) | 0.997±0.018(44.1) |
| | 脾臓(g) | 0.081±0.003(3.5) | 0.078±0.001(3.7) | 0.076±0.004(3.5) | 0.085±0.003(3.8) |
| | 副腎(mg) | 6.47±0.32(0.28) | 6.80±0.13(0.3) | 5.80±0.25*(0.2*) | 6.80±0.10(0.3) |
| 組織重量 | 内臓脂肪(g) | 0.334±0.083(13.8) | 0.136±0.015*(6.6*) | 0.264±0.042(11.9) | 0.268±0.048(11.7) |

()内は体重1gあたりの値を示している。

Dunnettの多重比較により、高脂肪食群に対して有意差がある (*p<0.05**<0.01)

Dunnettの多重比較により、高脂肪食群に対して有意傾向にある (*0.05<p<0.07)

5. 冬用商品の嗜好調査

色、香り、味覚に関するアンケート調査結果を図7に、総合評価を図8に示す。総合評価では、好き、やや好きと答えた人（以後「好印象」と記す）が全体の39%で、普通まで含めると65%の人が飲める印象を持ったことがわかった。しかしながら、やや嫌い・嫌い（以後「後退印象」と記す）と回答した人が、35%を占めた。よってこの評価につながった理由を探るため、見た目や味の評価を直接確率計算を用いて比較し、検討を行った。その結果、辛味について強い・やや強いと回答した人が、5%水準で有意に総合評価にて後退印象を示していることが判った。他の視覚、嗅覚、味覚に関する項目については総合評価で苦手とした関係性は見られず、本商品の後退印象を持たせたのは辛味であることが明らかとなった。よって、万人に好かれる機能性飲料を目指すのであれば、辛味を与えるきっかけになっている生姜の量を減らす必要があることが明らかとなった。その他、甘味が強いや、渋みが弱いとの回答が多かったが、統計的に後退印象との関連性は見られなかった。

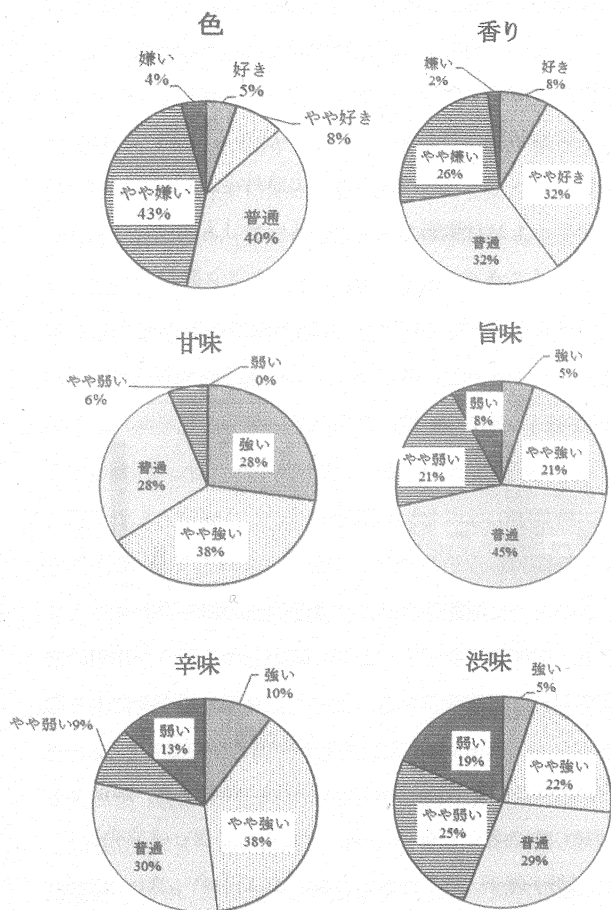


図7. 色・香り・味覚に関する5段階評価 (n=102)

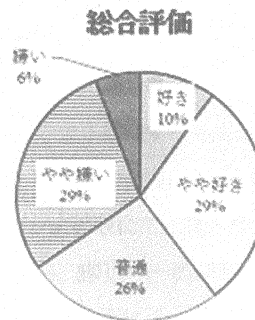


図8. 冬用商品の総合評価 (n=102)

また、視覚である色については、47%の人が後退印象を持ったにも関わらず、有意差が得られなかったことから、人が決める美味しさは視覚よりも、味覚に強く依存していることが明らかとなった。

次に、茶の飲用頻度と商品材料へのイメージに関する調査結果を図9に示す。茶の飲用頻度は、一日3回以上が最も多く51%で、1回以上が31%と高い割合を示した。しかしながら、今回の商品に入っている材料の中で何が身体にいいと思うかという質問に関しては、86%が生姜と答え、緑茶は22%にとどまった。緑茶は通常飲用はするが、機能性と言われると生姜の方が高いと考えている消費者が多いことが判った。

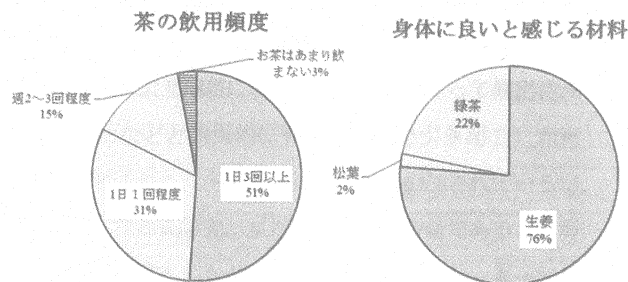


図9. 茶の飲用頻度と材料へのイメージ (n=102)

次に冬季によく飲む飲料について質問したところ、多くはお茶系で、緑茶41%、紅茶18%、コーヒ、麦茶が14%であった。コーヒの比率が低かったことや、冬場でも麦茶が登場してきたことは、嗜好調査の年齢構成が結果に影響を与えた可能性が高いと考えられた(図10;左)。次に冬場の飲み物の代替飲料として本商品を購入したいかという問いに対しては、20%がはいと答えたが、80%はいいえと答え(図10;右)、通常飲用するような嗜好飲料としての代替えにはおよばないことが判明した。

まとめ

産学官連携で、緑茶の機能性・嗜好性を強化した飲料の開発を試みた結果、水抽出用の夏用商品、粉末化した材料にとろみをつけてそのまま飲用する冬用商品の2つの商品を考案し、機能性・嗜好性の両方から検討を行った。

その結果、*in vitro* 試験にて、夏・冬用商品のどちらもコントロールに比べ、腓リパーゼ活性が有意に抑制された。この結果を裏付けるように *in vivo* 試験では、夏・冬用商品ともに糞中脂質量がコントロールより有意に増加し、脂肪が体内に吸収されず体外に排出された、つまり脂肪の吸収抑制作用が示唆された。更に *in vivo* 試験にて夏用商品は内臓脂肪量の有意な減少、冬用商品は、肝臓中のβ酸化の亢進により肝臓中中性脂肪量および肝臓重量が有意に減少したと考えられた。これらのことより夏・冬用商品の有意な体重減少は、腓リパーゼ活性阻害による脂肪吸収抑制や体内での脂質代謝亢進の二つの効果による脂肪蓄積抑制作用であると考えられた。

しかしながら、夏用商品は、松葉単独とともにコントロール群と比較し、腎肥大を発症していることが明らかとなった。この原因として、松葉に含まれるケルセチンは、高濃度の状況下で酸化を促進するような「プロオキシダント」として働くことも知られており、本商品に含有した松葉に含まれるケルセチンがプロオキシダントとして作用し、腎臓に障害が現れた可能性が示唆された。さらに夏用商品群では腎肥大がより顕著に現れており、水によって抽出されたカテキンなどと相乗的に腎障害作用を引き起こした可能性も示唆された。冬用商品にも松葉は添加されているが、今回検討した松葉単独、夏用商品の半分の量であることが、腎肥大発症に繋がらなかった要因と考えられた。よって今後、松葉中のケルセチン濃度を測定し、腎肥大を引き起こす量の検討と、そのメカニズムを明らかにする必要がある。

このように機能性食品は、食品同士の組み合わせにより、相乗・相加効果を示す一方で、障害となるような作用の増強をも行う可能性がある。よって、食品の組合せにより機能性を向上させる商品を開発する場合には組み合わせ量の詳細な検討や評価、さらに毒性が現れた場合、そのメカニズムを解明し、報告していく必要があると考えられた。

本研究によって、開発を目指した飲料について、松葉は色合いの調整に加えられたものであったため、松葉を抜いた商品化への検討を考慮しながら、産学官で連携し、さら

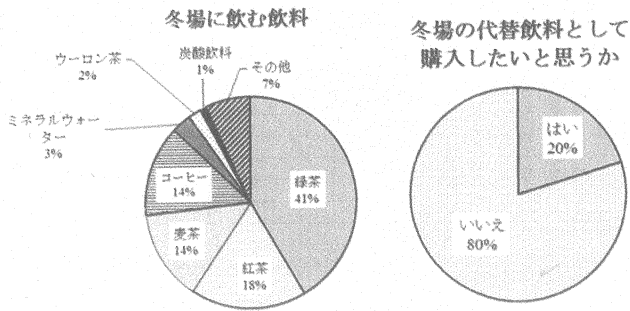


図10. 冬場に飲む飲料と商品代替購買意欲 (n=102)

最後に、購入する価格と機能性付加価値による購買意欲についての結果を図11に示す。価格設定については、対象者が10, 20代を中心としているためか、全体の約7割が500円未満と回答した。しかし、500円未満と500円以上で、「ダイエット効果があると記載されていた場合購入しようと思うか」、という問いに関して直接確率計算を用いて検討を行ったところ、500円以上で購入すると答えた者は、機能性付加価値による購買意欲について「はい」と回答する傾向がみられた。また、冬場に良く飲む飲料の代替飲料としては購入すると回答した人は20.7%であったのに対し、ダイエット効果があれば購入すると回答した者は52.5%であった。これらの結果より、通常の嗜好飲料としては高い評価は得られなかったが、機能性飲料としては半数以上の人が購入したいと考え、また機能性によっては多少価格設定が高くても購入される傾向にあることが分かった。

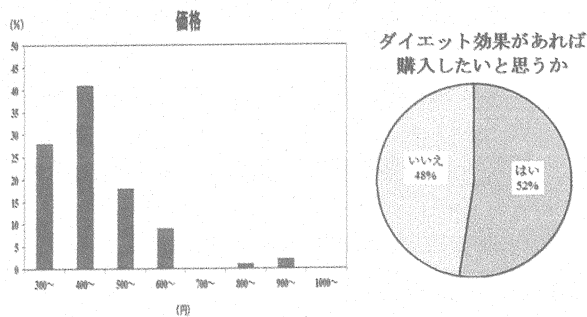


図11. 商品購入の価格帯と機能性付加価値による購買意欲 (n=102)

今回は、調査対象における男性の割合や30代以上の回答者が少なかったため、性別や世代による回答の違いが見られなかった。今後は対象者を幅広く定め、年齢や性別層における需要を探っていく必要がある。

に安全な商品の提供を目指していく。

本研究は平成 27 年度「地域課題に関わる産学共同研究委託事業」の助成金を得て行った。

謝辞

本研究を行うに当たり、多方面でご尽力・ご協力下さった平成エンジニアリング堀部 成司 様に深く御礼申し上げますとともに、三保の松原での嗜好調査にご協力下さいました、静岡県立静岡農業高等学校 教諭 櫻井正剛 様および、農業高校の生徒さんに深謝致します。またアンケート調査にご協力下さった被験者の皆様に感謝申し上げます。

参考・引用文献

- 1) Senba. Y *et al.*(1999) Stopped-flow and spectrophotometric study on radical scavenging by tea catechins and the model compounds. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 47: 1369-1374
- 2) Frank T. Michael B. (2009) The potential role of green tea catechins in the prevention of the metabolic syndrome-A review. *Phytochemistry* 70:11-24
- 3) Sabu m Chacko *et al.* (2010) Beneficial effects of green tea: A literature review. *Chinese Medicine* 5:13
- 4) Masuda. S *et al.* (2014) 'Benifuuki' green tea Containing O-methylated catechin reduces symptoms of Japanese cedar pollinosis: a randomized, double-blind, placebo controlled trial. *Allergology international* 63:211-217
- 5) Murase. T. *et al.* (2002) Beneficial effects of tea catechins on diet-induced obesity: stimulation of lipid catabolism in the liver. *International Journal Obesity*, 26:1459-1464
- 6) Chikako Sugiura *et al.* (2012) Catechins and Caffeine inhibit fat accumulation in mice through the improvement of hepatic lipid metabolism. *Journal of obesity*
- 7) 山本 万里 (2006) 総説 抗アレルギー作用のある茶葉成分 *補完代替医療学会誌* 3(2): 53-60
- 8) 佐野 満昭 他 (2000) 茶成分の抗アレルギー作用 *Fragrance J* 28:46-52
- 9) 織谷 幸太 他 (2009) 「べにふうき」緑茶による脂肪蓄積抑制の作用機序 *日本食品科学工学会誌* 56(7): 412-418
- 10) 消費者庁 機能性表示に関する状況 (取得日: 2017年1月4日) <http://www.caa.go.jp/foods/index23.html>
- 11) 静岡県茶業の現状「お茶白書」(2010) *静岡県経済産業部農林業局茶業農産課* p.70
- 12) 山本 万里 他 (2005) 季節性アレルギー性鼻炎有症者を対象とした「べにふうき」緑茶の抗アレルギー作用評価並びに「しょうが」による抗アレルギー作用の増強効果 *日本食品科学工学会誌* 52(12):584-593
- 13) 稲垣 宏之 他 (2011) 高脂肪食摂取マウスにおける「べにふうき」緑茶の脂肪蓄積抑制効果 *日本食品科学工学会誌* 56(7): 403-411
- 14) Wohlmut H. *et al.*(2005) Gingerol content of diploid and tetraploid clones of ginger. *J. Agric. food chem*, 53:5772-5778
- 15) Ikeda I. *et al.* (1988) Tea catechins with a galloyl moiety suppress postprandial hypertriglycerolemia by delaying lymphatic transport of dietary fat in rat. *The journal of nutrition*, 5:155-159
- 16) 韓 立坤 他 (2005) ショウガの抗肥満作用について *薬学雑誌* 25(2): 213-217
- 17) Sayama K. *et al.* (2000) Effects of green tea on growth, food utilization and lipid metabolism in mice. *In Vivo*, 14; 481-484.
- 18) 吉田 真美、平林佐央理 (2015) ショウガ中の6-ジンゲロールの加熱調理による変化 *日本調理科学会誌* 48(6): 398-404
- 19) Jonson MK, Loo G.(2000) Effects of epigallocatechin gallate quercetin on oxidative damage to cellular DNA. *Mutant Res*, 459:211-218