

山口県徳地産カワラケツメイ茶の機能性

Antioxidant and lipase inhibitory activities of hot water extract of Kawaraketsumei (*Cassia mimosoides* L. var. *nomame*) cultivated at Tokuji, Yamaguchi人見英里^{*,#}, 磯村裕佳^{**}, 三浦由紀子^{*}Eri Hitomi^{*}, Hiroka Isomura^{**}, and Yukiko Miura^{*}

(要約)

カワラケツメイ茶は河原や野原に自生するマメ科の1年草であるカワラケツメイ (*Cassia mimosoides* L. var. *nomame*) を9~10月頃さや状の果実(豆果)が未熟なうちに刈り取り、長さ2~3 pに粗く刻んで日干しにし、焙煎したものである。本研究では山口県産カワラケツメイ茶の機能性として、抗酸化性とリパーゼ阻害活性について検討した。

山口県徳地産カワラケツメイ茶葉(カワラケツメイ全体、葉、種それぞれの未焙煎・焙煎茶葉;計6種)を用い、茶葉5 gを蒸留水500mlで、それぞれ3~15分浸出した。この浸出液について総ポリフェノール量、DPPHラジカル消去能を測定した。また、生理作用としてブタ豚リパーゼを用い*in vitro*系でのリパーゼ阻害作用の検討を行った。

焙煎済みの茶葉、特に葉の部分5~10分間浸出するとポリフェノールが効率よく抽出された。抗酸化性の指標であるDPPHラジカル消去能では、ポリフェノールと同様に浸出時間が長くなるにつれて消去能も上昇し、ポリフェノール量とDPPHラジカル消去能には強い相関が認められた($r=0.94$)。リパーゼ阻害活性については、全体を焙煎したカワラケツメイ浸出液が同条件で浸出した他の徳地産健康茶(よもぎ、びわの葉、柿の葉、どくだみ)に比べて高い阻害作用を示した。

キーワード: カワラケツメイ、*Cassia mimosoides*、抗酸化性、リパーゼ阻害

Key words: Kawaraketsumei, *Cassia mimosoides*, antioxidant activity, lipase inhibition

カワラケツメイ (*Cassia mimosoides* L. var. *nomame*、河原決明)は、本州、九州、四国の河原や野原、道端に自生するマメ科カワラケツメイ属の1年草である。草丈は40~50cmとなり、7月頃黄色い5弁花を咲かせて、サヤエンドウを小型にしたような果実を斜め上向きに結ぶ。9~10月頃さや状の果実(豆果)が未熟なうちに、地上部の茎葉を根ぎわから刈り取り、長さ2~3 pに粗く刻んで日干しにしたものを、昔から飲み薬としては煎じて煮詰めて、お茶としては軽く焙じ煮立ててから飲まれている¹⁾。豆茶、ざら茶、だら茶、弘法茶、葉が合歡の木に似ていることから合歡茶などとも呼ばれ、効能として民間の伝承では便秘、利尿作用の他、眼精疲労にも効果があるとされている²⁾。また、古くからの食習慣として、山口県や島根県では、茶粥を食する習慣があるが、茶粥に用いる茶としては、番茶のほか、カワラケツメイ茶や同じくカワラケツ

イ属の植物エビスグサを用いたハブ茶が用いられてきたことが報告されている³⁾。

山口市徳地地域では、徳地商工会を中心に地域資源の再活用を切り口に全国への情報発信、および特産品の全国展開を行っている⁴⁾。休耕田を利用してカワラケツメイを栽培し主原料とする「とくち健康茶」の開発事業を進めており、「とくち健康茶」を地域ブランドとして確立し、平成20年、国の全国展開支援事業の認定を受け、カワラケツメイを活用した新製品を開発し全国展開している。徳地地域で、カワラケツメイを無農薬栽培することで、幼虫がその葉を唯一の餌とする環境省や県の絶滅危惧種に選定されているツマグロキチョウ(棲黒黄蝶)を守ることもつながっている。

本研究では、この徳地産カワラケツメイについて、その機能性を探索することを目的とし、抗酸化性としてDPPHラジカル捕捉能および含有されるポ

* 山口県立大学 看護栄養学部 栄養学科

** 山口県立大学 生活科学部 栄養学科

#連絡先 hitomi@yamaguchi-pu.ac.jp

*Yamaguchi Prefectural University, Department of Human Nutrition

**Yamaguchi Prefectural University, Department of Life Science

#Corresponding Author (hitomi@yamaguchi-pu.ac.jp)



写真1 徳地で栽培されるカワラケツメイ



写真2 ツマグロキチョウ

リフェノール量を調べた。

また、近年、カワラケツメイを含水エタノールで抽出・精製したポリフェノールが、リパーゼ阻害作用、抗肥満効果を持つ健康食品として市販されている⁵⁾。そこで、徳地産カワラケツメイについても、一般的に飲用される濃度の茶の状態において、このような作用が見出されるかどうかについての検討が必要であると考え、ブタ腭リパーゼを用い *in vitro*系でのリパーゼ阻害作用の検討を行った。

実験方法

1. 試料及び試薬

カワラケツメイ茶葉は、とくち健康茶企業組合より供与していただいた以下の6種類の茶葉(写真3)を用いた。①カワラケツメイ全体(全体とは、葉、茎、種を含むことを示す)・未焙煎、②カワラケツメイ全体・焙煎、③カワラケツメイ葉・未焙煎、④カワラケツメイ葉・焙煎、⑤カワラケツメイ種・未焙煎、⑥カワラケツメイ種・焙煎

これらの茶葉5gをティーポット中の蒸留水500mlで煮沸し、浸出時間を3分、5分、10分、15分とし、浸出時間終了後、直ちにろ過した。室温まで冷却した後に、煮沸によって蒸発した水分を補うために500mlに定容し、測定に使用するまで冷凍(-20℃)保存した。

他の健康茶との比較実験では、とくち健康茶企業組合より供与していただいた徳地産よもぎ(焙煎)、びわの葉(焙煎)、柿の葉(未焙煎)、どく



写真3 カワラケツメイ試料

だみ(未焙煎)を用い、上記と同様の方法で、5分ないし10分間それぞれの茶葉の浸出を行った。

実験に用いた試薬は、和光純薬株式会社または、シグマ・アルドリッチ社製のものを用いた。

2. 総ポリフェノール量の測定⁶⁾

上述のカワラケツメイ浸出液を3倍に希釈した試料1mlを試験管に入れ、Folin-Ciocalteu試薬1mlを加えて攪拌したものを3分間放置後、10%Na₂CO₃1mlを加えて混合した。これを室温で1時間放置したものを検体とし、760nmで吸光度測定した。同条件で没食子酸を用いて検量線を作成し、結果は没食子酸当量で表した。

3. DPPHラジカル消去活性の測定

DPPHラジカル消去能の測定はNanjoらの方法⁷⁾に従って行った。すなわち、140μM DPPHエタノール溶液1.2mlを1.5ml容セルに入れ、適宜希釈したカワラケツメイ浸出液0.05mlを加えて攪拌後、分光光度計で5分間、30秒ごとに517nmで吸光度を測定した。ブランクテストとして、浸出液の代わりに蒸留水0.05mlを用いた。標準物質としてTrolox(EtOH)溶液を用い、各茶浸出液のDPPHラジカル消去能の比較は、反応時間300秒を反応終了点とし、その吸光度より以下の式を用いてDPPHラジカル消去率(%)を求め、Trolox当量(mM)として表した。

$$\text{DPPHラジカル消去率}(\%) = \{1 - (\text{各サンプル}$$

ルの吸光度/ブランクの吸光度) } ×100

4. リパーゼ阻害活性の測定

リパーゼ阻害活性は、Nakaiらの方法⁸⁾を一部改変して行った。

緩衝液は13mM Tris-HCl, 150mM NaCl, 1.3mM CaCl₂ (pH 8.0)を用いた。実験に使用したリパーゼは、ブタ膵臓由来リパーゼ (Lipase from porcine pancreas, Type II, SIGMA)を用い、本実験状況下では0.2mg/mL付近まで一次式に従って活性が増加することを確認した上で、0.2mg/mLとなるように緩衝液で希釈して使用した。

基質としては、合成基質4-methylumbelliferyl oleate (4MU, Flula)を用い、10mMとなるようにDMSOで希釈して使用時まで-20℃で保存し、測定直前に上記緩衝液で0.1mMに希釈して用いた。

活性測定は、マイクロプレートに希釈した浸出液25μLを阻害剤として入れ、基質0.1mM 4MU 50μLを加えて攪拌した。さらに0.2mg/mLリパーゼ25μLを加え、37℃で30分間反応後、反応停止剤として0.1M 第二クエン酸ナトリウム-HCl溶液 (pH4.2) 100μLを加えた後、生じた蛍光をexcitation 360nm、emission 460nmにてマイクロプレートリーダーを用いて測定した。なお個々の測定ごとにリパーゼを加える前に反応停止剤を添加したブランクを置いた。個々の検体の測定値からブランクの測定値を減じた値をもとに、以下の式から阻害活性を算出した。

$$\text{阻害率 (\%)} = (1 - B/A) \times 100$$

A: コントロール (蒸留水) の測定値

B: サンプルの測定値

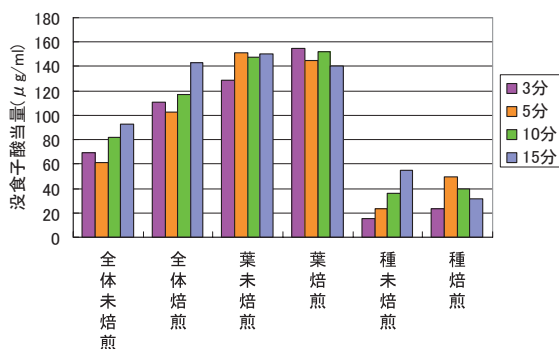


図1 カワラケツメイ茶の部位別、浸出時間別総ポリフェノール量

実験結果

1. 総ポリフェノール量

カワラケツメイの部位別、浸出時間別の総ポリフェノール量を図1に示す。総ポリフェノール量は、一般に市販されている葉、茎、種を含む全体では、未焙煎に比べて焙煎したもので、いずれの浸出時間においても、高い値を示した。また、全体に比べ、未焙煎、焙煎ともに葉のみ方が高かった。種については、焙煎、未焙煎ともに全体や葉に比べて低い値を示した。

浸出時間別では、全体では、浸出時間が長くなるにつれて、浸出液中のポリフェノールが高くなったが、葉においては5分以上ではほぼ同程度となり、葉では、5分の浸出時間でも十分成分の抽出がなされるが、全体では葉に比べて抽出されにくい茎が含まれることから、浸出に時間を要することが考えられた。

カワラケツメイ及び他の徳地産健康茶の総ポリフェノール量を図2に示す。健康茶の中では、よもぎが最も高いポリフェノール量を示し、カワラケツメイ全体、柿の葉、どくだみは同程度であった。びわの葉はやや低い値を示した。浸出時間では、5分に比べて10分が高い値を示したものの、大きな差はなかった。

2. DPPHラジカル消去活性

部位別、浸出時間別のDPPHラジカル消去能を図3に示す。DPPHラジカル消去活性は、未焙煎の葉で最も高い値を示し、次いで焙煎葉であった。種においては、焙煎したものの方が未焙煎に比べていずれの浸出時間でも高い値を示した。全体焙煎においては、10分の浸出時間で最も高い値を示したが、葉においては、いずれの浸出時間でも大きな変化はな

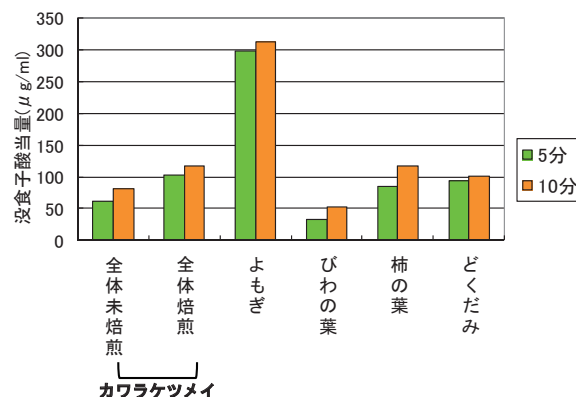


図2 カワラケツメイ及び他の健康茶の総ポリフェノール量

かった。

カワラケツメイ及び他の健康茶のDPPHラジカル消去能を図4に示す。健康茶の中で最も高いDPPHラジカル消去能を示したのは、よもぎであり、次いでどくだみ、焙煎したカワラケツメイ、柿の葉、びわの葉の順であった。浸出時間では、よもぎ以外では、10分の浸出の方が5分の浸出よりも、高い値を示した。

3. カワラケツメイの総ポリフェノール量とDPPHラジカル消去活性の相関

カワラケツメイの総ポリフェノール量とDPPHラジカル消去活性の相関を図5に示す。カワラケツメイにおいては、ポリフェノール量とラジカル消去能は、相関係数0.94と高い正の相関を示し、カワラケツメイに含まれるポリフェノールがラジカル消去に寄与していることが考えられた。

4. リパーゼ阻害活性

カワラケツメイのリパーゼ阻害活性について、3分、5分、10分、15分浸出した浸出液それぞれを用

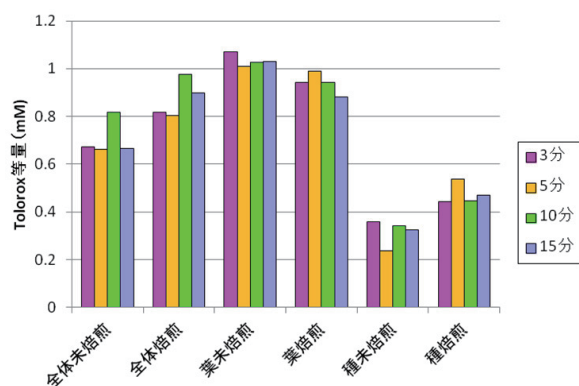


図3 カワラケツメイの部位別、浸出時間別DPPHラジカル消去能

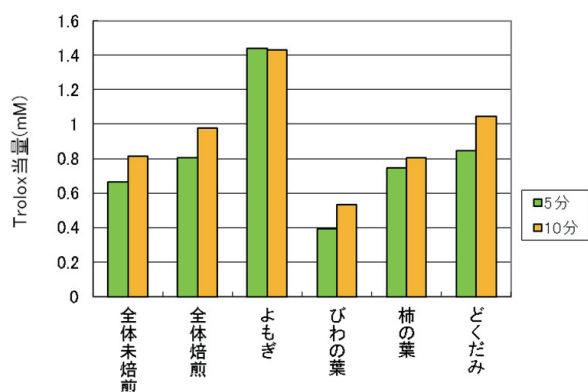


図4 カワラケツメイ及び他の健康茶のDPPHラジカル消去能

いて活性を測定したところ、3分、5分の浸出液に比較して、10分、15分の浸出液で高い阻害活性を示し、10分と15分では、その差はほとんどなかった（データ示さず）。そこで、10分間浸出した浸出液を用いた場合のカワラケツメイの部位別リパーゼ阻害活性を図6に示す。原液を用いて測定したところ、種以外では、ほぼ100%の阻害率を示したために、希釈して測定を行った。その結果、他の部位と比べて全体焙煎が最も高く、次いで未焙煎、焙煎の葉が高い阻害活性を示した。種については、5倍希釈でほとんど活性が見られないことから、種のリパーゼ阻害活性は弱いものと考えられた。

カワラケツメイ及び他の健康茶のリパーゼ阻害活性を図7に示す。試料としては、図6と同様に10分間浸出した浸出液を用いた。原液を用いた場合、カワラケツメイ以外でも柿の葉、どくだみでほぼ100%の阻害活性を示したことから、希釈して活性を測定した。その結果、10倍希釈においても50%以上の阻害を示したのは、カワラケツメイのみであり、他の健康茶よりもカワラケツメイはリパーゼ阻害において、強い活性を持つことが示された。

考察

本研究から、徳地産カワラケツメイは、抗酸化性を有し、その抗酸化性は含有されるポリフェノールによるものであることが推察された。カワラケツメイ茶は、緑茶や番茶と比較して、渋みや苦みがなくすっきりとした味わいのある茶であるが、実験からポリフェノールが含有されていることが確認された。

カワラケツメイのポリフェノールについては、以前から抗酸化性の観点よりもリパーゼ阻害の観点から検討がなされてきた。志村らは、既に1993年に広く天然物からリパーゼ阻害物質のスクリーニングを

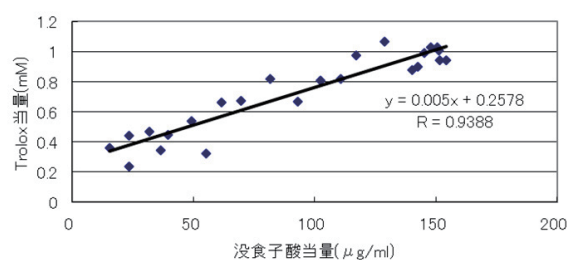


図5 カワラケツメイの総ポリフェノール量とDPPHラジカル消去活性の相関

行い、カワラケツメイの有機溶媒抽出物に高いリパーゼ阻害作用のあることを見出し報告した⁹⁾。志村らは、さらにその活性成分の一つがクロロフィル関連物質であるフェオホルビドaであることを報告している¹⁰⁾。

クロロフィル分解により生成する物質であるフェオホルビドは、光過敏性皮膚炎の原因物質であることが知られている。しかし、カワラケツメイは植物体を十分に乾燥後、焙煎したものを熱水で浸出して茶として飲用に供されるものであり、フェオホルビドは脂溶性成分であることから湯に溶けだすことはほとんどないことが考えられる。しかし、浸出液(茶)としてではなく、カワラケツメイを粉末化したものをパンやクッキーなどに混ぜて直接摂取するような場合は、その摂取量が多量になり過ぎないように注意が必要と考えられる。

志村らはカワラケツメイから縮合型タンニンを主体とする分画を得、高いリパーゼ阻害活性を持つことを報告している¹¹⁾。本研究では、カワラケツメイに含まれるポリフェノールの本体がどのような構造の物質であるかについての検討は行っていないが、カワラケツメイに縮合型タンニン(プロアントシアニジン)が含有されるという報告から、カワラケツメイに含まれるタンニン等のポリフェノールが抗酸化性についても寄与していることは十分に考えられる。

本研究により、カワラケツメイの浸出液は、通常飲用される濃度のものを10倍に希釈しても、他の健康茶と比較して強いリパーゼ阻害活性を持つことが確認された。

志村らの報告¹¹⁾では、カワラケツメイから有機溶媒による抽出した抽出物を用いているが、本研究

から、熱水中での浸出によっても、リパーゼ阻害作用を持つポリフェノールが浸出液中に得られることが確認された。

近年、食事から摂取する脂肪が増加してきたことや、メタボリックシンドロームについての啓発が進んだことから、食事での脂肪の吸収を抑える食品素材についての関心が高まってきている。その中で、カワラケツメイ抽出物についても、リパーゼ阻害により脂肪の吸収を抑えることが期待され、脂質異常症を伴う肥満者を被験者としたヒト試験において、0.3-3.0g/日の抽出物を3カ月摂取した場合にも、副作用なく体重、血中中性脂肪、血中総コレステロールの有意な低下がみられたことが報告されている¹²⁾。

カワラケツメイを茶として摂取する場合には、抽出物の摂取と異なり、その摂取濃度が低いことから、リパーゼ阻害による減量効果や脂質代謝改善効果を期待することは適切ではないが、前述の報告¹²⁾では抽出物を3カ月の長期間大量に摂取しても副作用が見られなかったことから、食習慣からだけでなく、健康茶としての安全性が確認されたと考えられる。

(財)日本食品分析センターによる分析結果から、カワラケツメイ茶葉および浸出液にはカフェインは含まれていないことが確認されており¹³⁾、高齢者や幼児に対しても飲みやすい健康茶であると考えられる。

謝辞

本研究を行うにあたり、カワラケツメイはじめ各種の健康茶試料、カワラケツメイとツマグロキチョウの写真をご提供いただきましたとくち健康茶企業組合のみなさまに感謝申し上げます。なお、この研

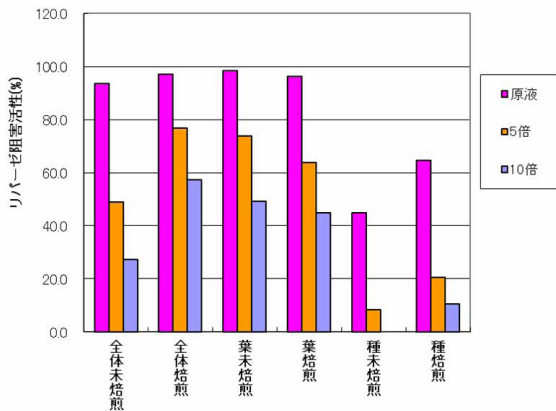


図6 カワラケツメイの部位別リパーゼ阻害活性

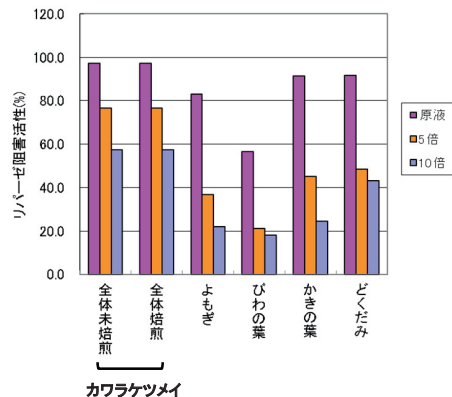


図7 カワラケツメイ及びその他の健康茶のリパーゼ阻害活性

究は、平成20年度地域資源∞全国展開支援事業の一環として行われたものである。

参考文献

- 1) 田中孝治：薬草健康法－効きめと使い方がひと目でわかる，講談社，p.81 (1995) .
- 2) 長谷川佳哉：機能性健康茶読本、東洋医学舎，p.144 (1997) .
- 3) 早川史子，岡崎章子，猪口智子，韓順子：島根県・山口県の茶粥習俗，日本食生活学会誌，**19**，33-43 (2008) .
- 4) 徳地商工会全国展開ホームページ <http://www.y-shoko.com/tokujisk/kenkocha/index.html> (2011年12月19日ダウンロード)
- 5) トヨタマ健康食品株式会社ホームページ <http://www.blue-rose.jp/casia.html> (2011年12月19日ダウンロード)
- 6) 真部孝明:フローチャートで見る食品分析の実際, 幸書房, p.79 (2003)
- 7) F.Nanjo, K.Goto and Y.Hara : Radical scavenging activity of tea catechins and their related compounds. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **63**, 1621-1623 (1999) .
- 8) Nakai M, Fukui Y, Asami S, Toyoda-Ono Y, Iwashita T, Shibata H, Mitsunaga T, Hashimoto F, Kiso Y.:Inhibitory effects of oolong tea polyphenols on pancreatic lipase in vitro., *J. Agric. Food Chem.*, **53**, 4593-4598 (2005) .
- 9) S.Shimura, W.Tsuzuki, S.Kobayashi, and T.Suzuki : Screening of Lipase Inhibitors from Natural Materials., *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **40**, 214-217 (1993) .
- 10) 志村進, 都築和香子, 伊東禧男, 小林正一, 鈴木建夫：カワラケツメイ中のリパーゼ阻害成分，日本農芸化学会誌，**67**，1583-1589 (1993) .
- 11) 志村進, 都築和香子, 伊東禧男, 小林正一, 鈴木建夫：カワラケツメイのタンニン含有画分のリパーゼ阻害効果，日本食品工業学会誌，**41**，561-564 (1994) .
- 12) 住野清一，村上透，山本学，志村進，伊東禧男：高脂血症を伴う肥満患者に対するLipase

inhibitor (CT-II) の投与効果，肥満研究，**4**，217-222 (1998) .

- 13) 財団法人日本食品分析センター 分析試験成績書 第409010213-001号、第409010213-002号，2009年1月21日