

平成24年度地域産学連携支援委託事業
第2回アグリ技術シーズセミナー

五島ツバキ葉と緑茶葉を混合した
中性脂肪低減効果を有する
発酵茶の開発



長崎県立大学シーボルト校
地域連携センター長
看護栄養学部教授
田中一成

平成24年10月18日
日本自転車会館

ツバキ葉と緑茶三番茶葉を揉捻混合した 発酵茶の開発

- ・原料単価の下落
- ・不摘採茶葉(三番茶葉)の増加

- ・五島列島原生林の9割以上
- ・未利用のツバキ葉

未
利
用
資
源



長崎県産茶

9:1の割合で混合

ツバキ葉

カテキン

混
合

カテキンの酸化を
促進する成分
サポニン含有

混合発酵茶とは

University of Nagasaki, Siebold



緑茶生葉



揉捻機



ツバキ生葉

緑茶生葉＋ツバキ生葉

揉捻・酸化

ツバキ葉揉捻混合茶葉

異種葉揉捻および酸化

世界初の
製法

緑茶製造より低コスト・省力化が可能

- * 製造時間 60% 短縮
- * 製造コスト 70% 削減
- * 新たな設備投資不要

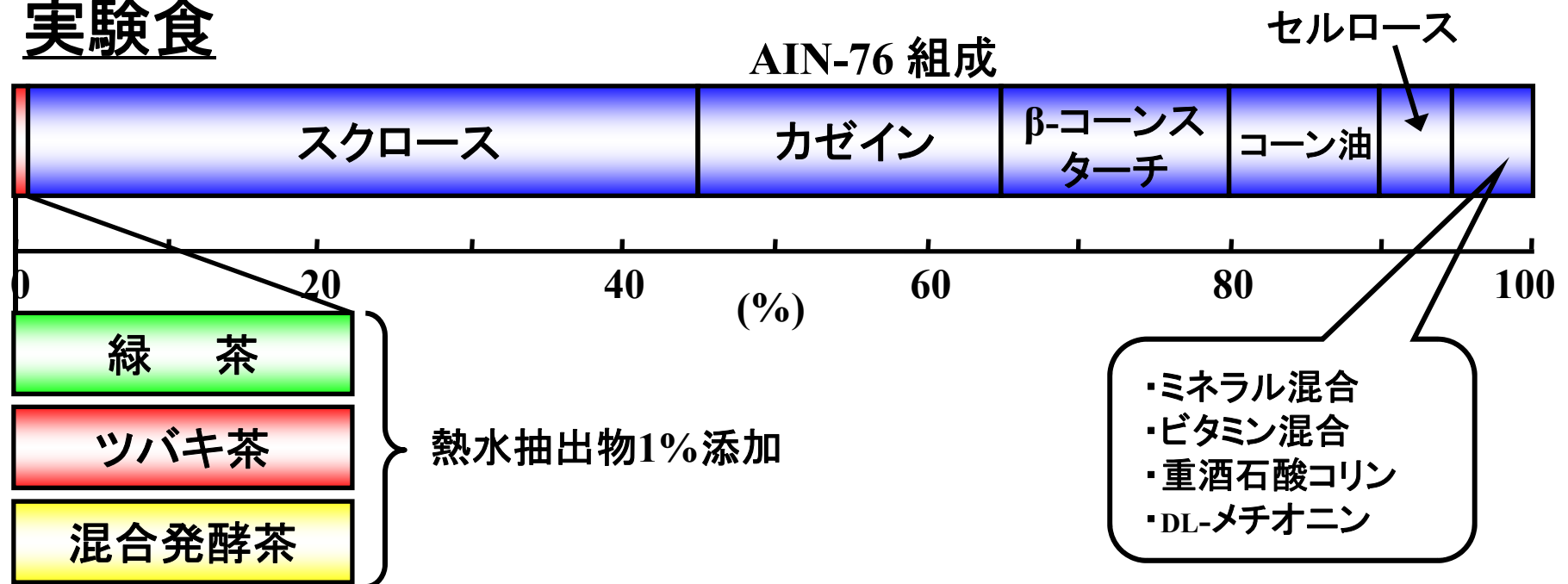
紅茶風味

さまざまな機能性

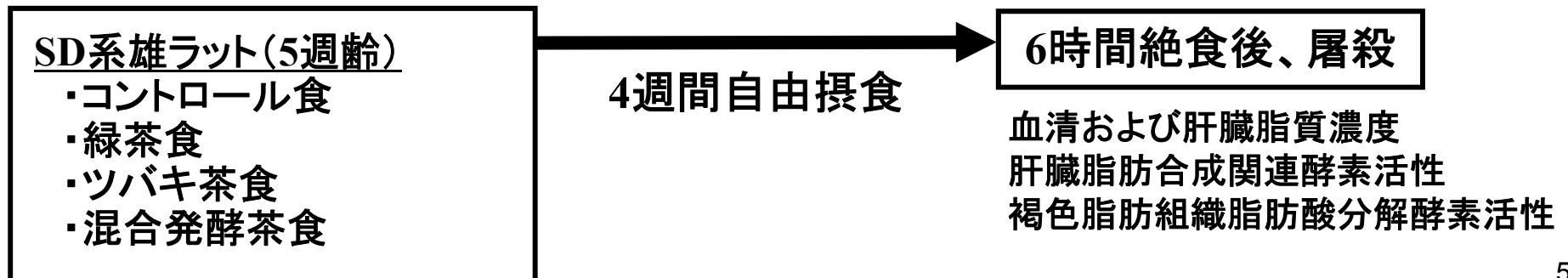
- * 血糖値上昇抑制作用
- * 中性脂肪低下作用
- * コレステロール低下作用
- * 体脂肪低下作用
- * 抗酸化作用

ラット脂質代謝に及ぼす影響

実験食



実験方法



体重, 摂食量および肝臓重量

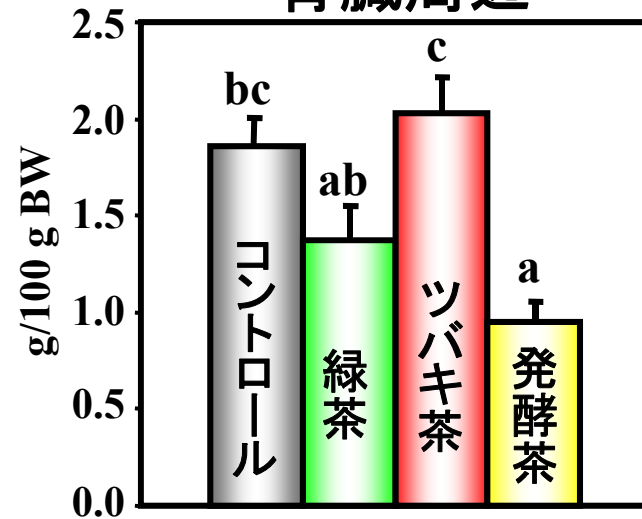
	コントロール	緑 茶	ツバキ茶	混合発酵茶
初体重 (g)	164±5	167±4	166±3	166±2
最終体重 (g)	240±10 ^a	236±6 ^a	243±12 ^a	190±6 ^b
摂食量 (g/day)	26.4±1.0	27.0±0.7	27.2±1.0	24.7±0.3
肝臓重量(g/100 g 体重)	8.0±0.3 ^a	7.7±0.1 ^a	7.5±0.3 ^a	6.4±0.2 ^b

平均±標準誤差 (n=6-7)

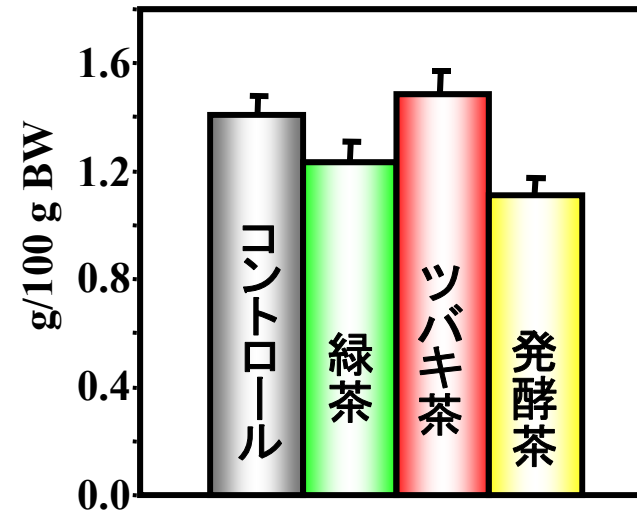
ab, 有意差あり, $p<0.05$

白色脂肪組織重量

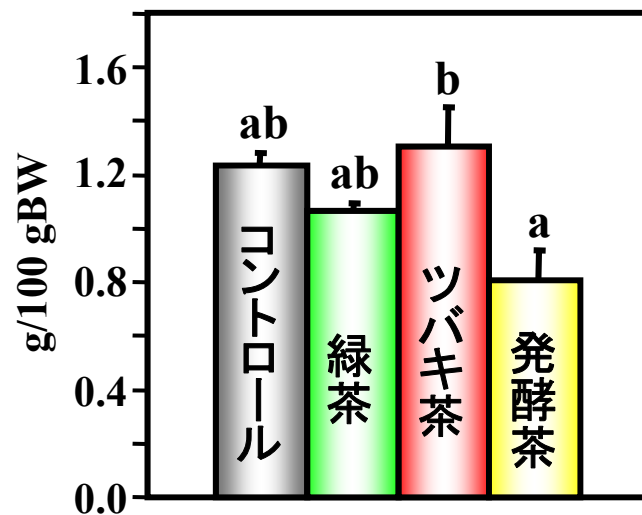
腎臓周辺



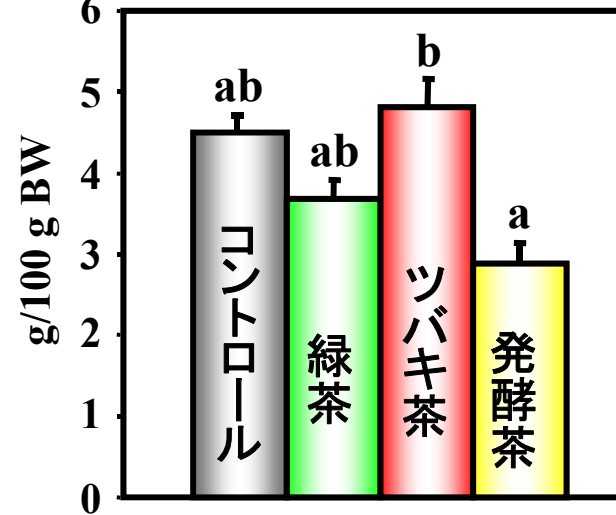
睾丸周辺



腸間膜



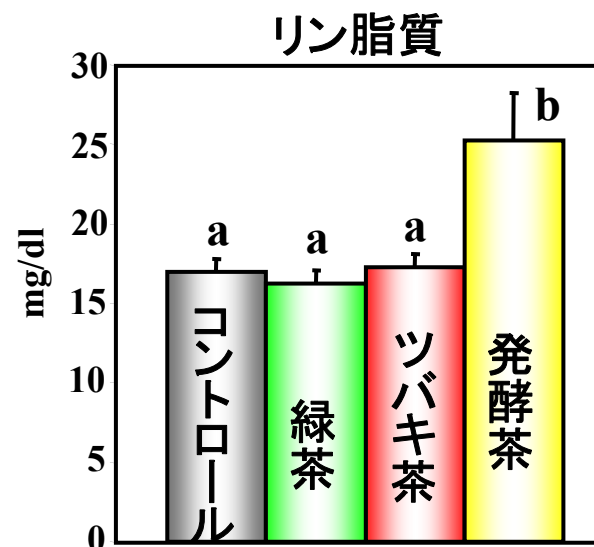
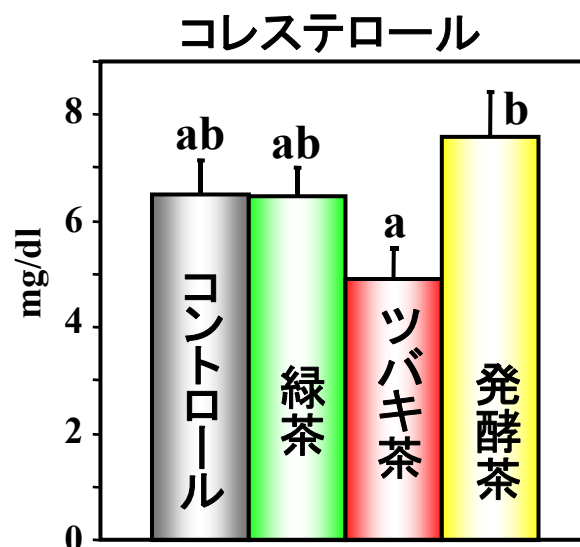
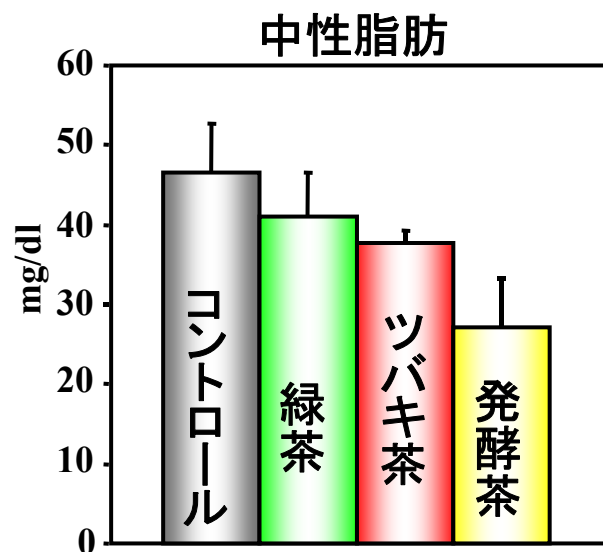
総重量



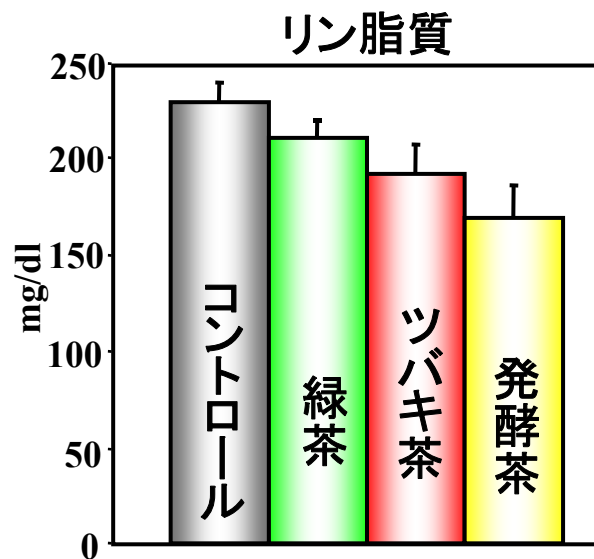
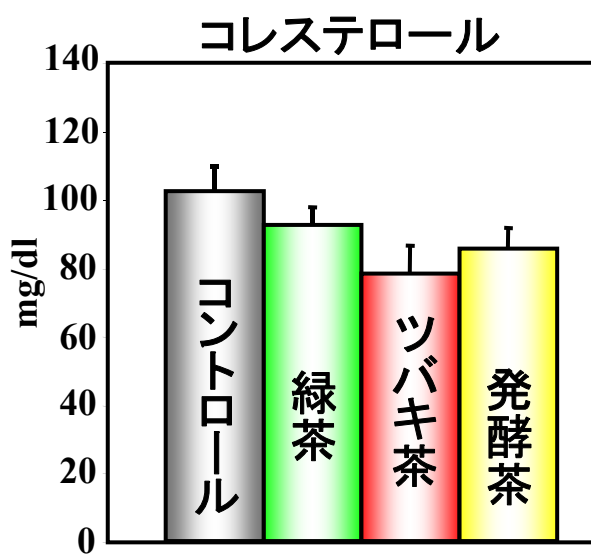
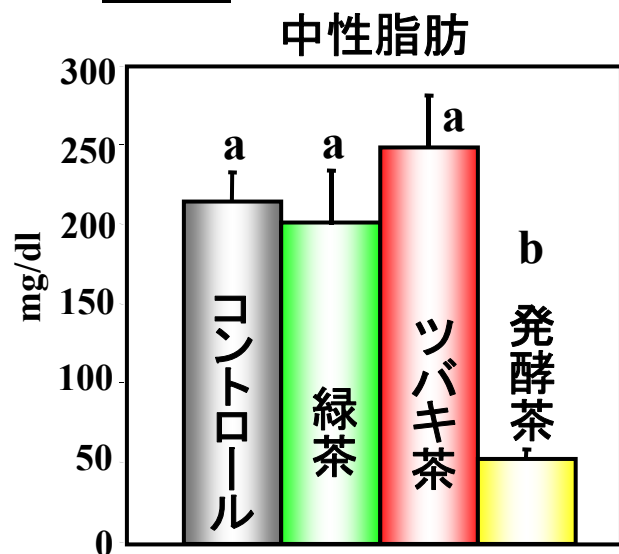
平均±標準誤差 (n=6-7)
ab, 有意差あり, $p < 0.05$

脂質濃度

肝臓

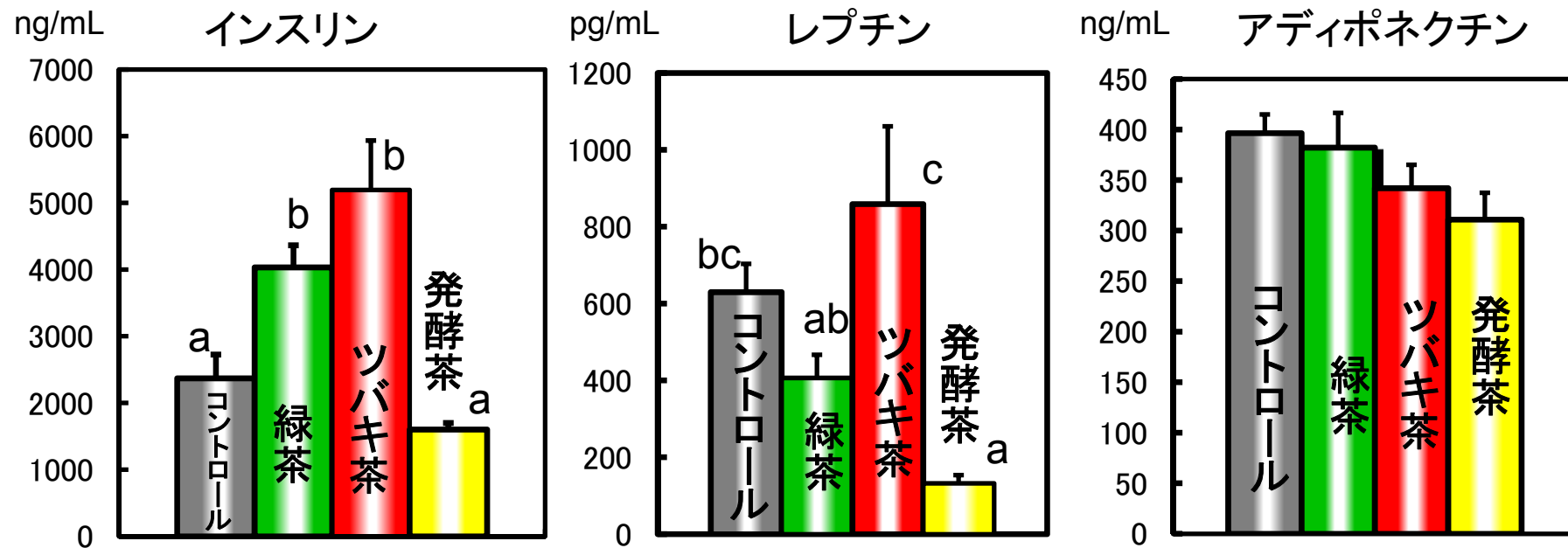


血清



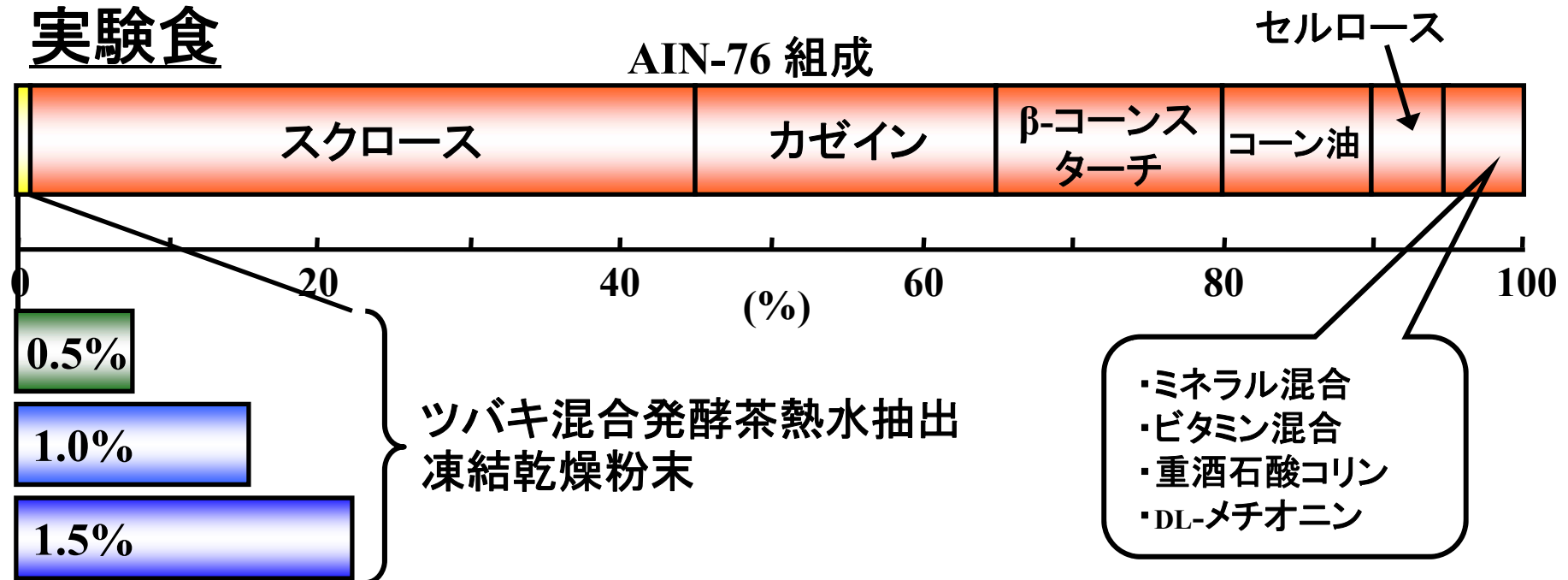
平均±標準誤差 (n=6-7)、ab, 有意差あり, $p < 0.05$

血清インスリン、レプチン、アディポネクチン濃度



平均±標準誤差 (n=6-7)
abc, 有意差あり, $p < 0.05$

添加量の違いがラット脂質代謝に及ぼす影響



方法

SD系雄ラット(5週齢)

- ・コントロール食
- ・0.5%食
- ・1.0%食
- ・1.5%食

4週間自由摂食

6時間絶食後、屠殺

血清および肝臓脂質濃度
肝臓脂肪合成関連酵素活性
褐色脂肪組織脂肪酸分解酵素活性

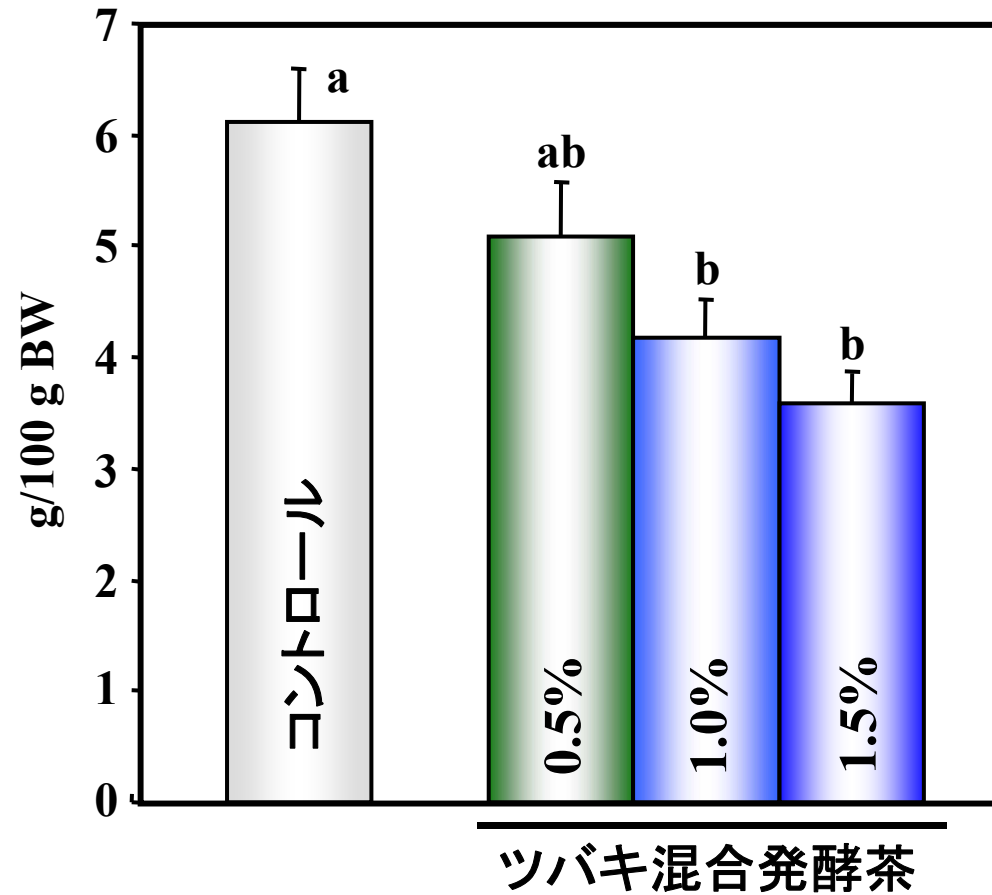
体重, 摂食量および肝臓重量

	コントロール	ツバキ混合発酵茶		
		0.5%	1.0%	1.5%
初体重 (g)	164±2	163±4	164±7	164±2
最終体重 (g)	436±4 ^a	433±17 ^a	409±13 ^{ab}	373±4 ^b
摂食量 (g/day)	27.2±0.5	26.9±0.9	25.1±0.8	24.6±0.3
肝臓重量 (g/100 g 体重)	3.90±0.06	3.62±0.19	3.50±0.16	3.51±0.08

平均±標準誤差 (n=6)

ab, 有意差あり, $p<0.05$

総白色脂肪組織重量



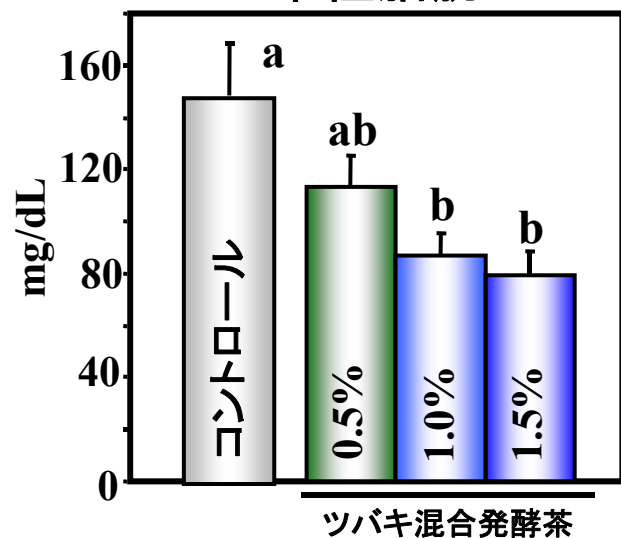
平均±標準誤差 (n=6)
ab, 有意差あり, $p < 0.05$

血清脂質濃度

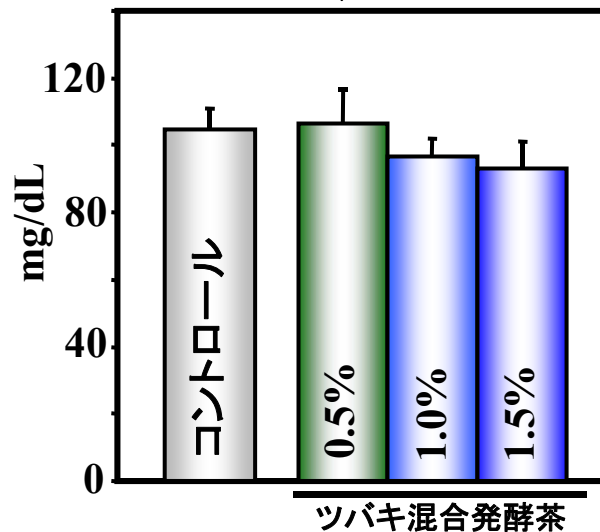
University of Nagasaki, Siebold



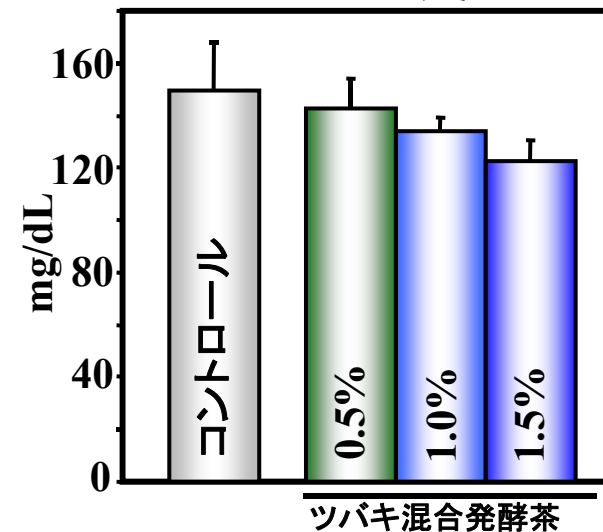
中性脂肪



コレステロール

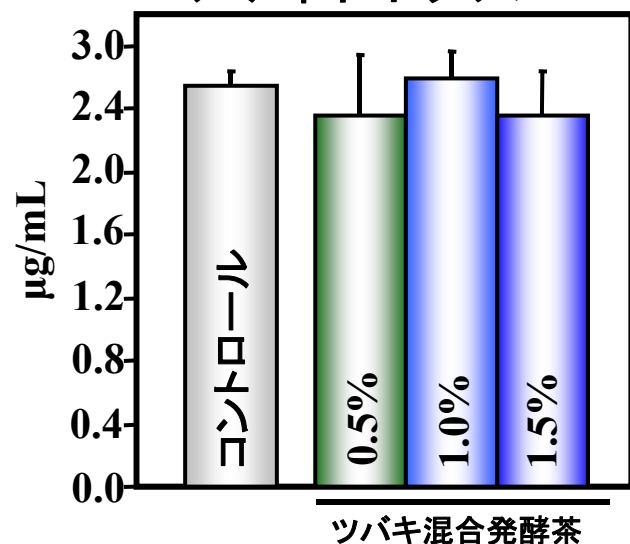


リン脂質

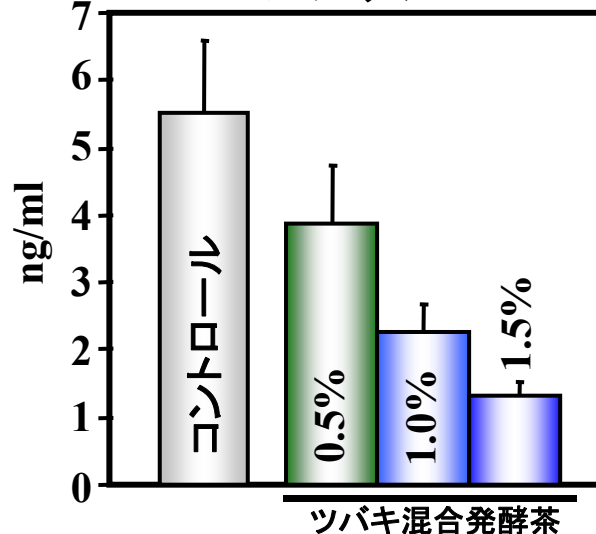


血清ホルモン濃度

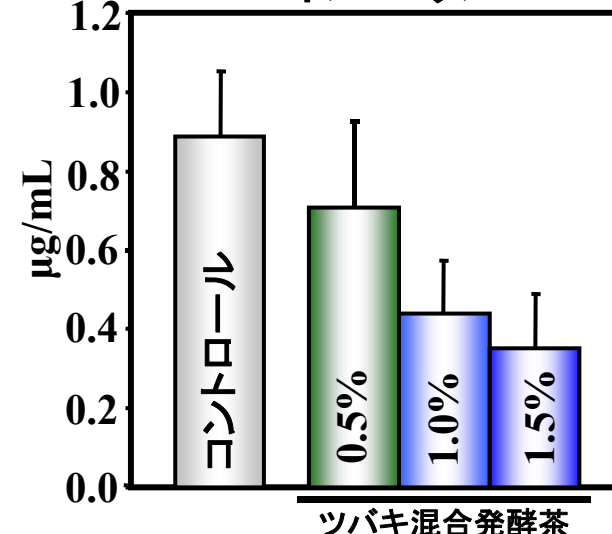
アディポネクチン



レプチン

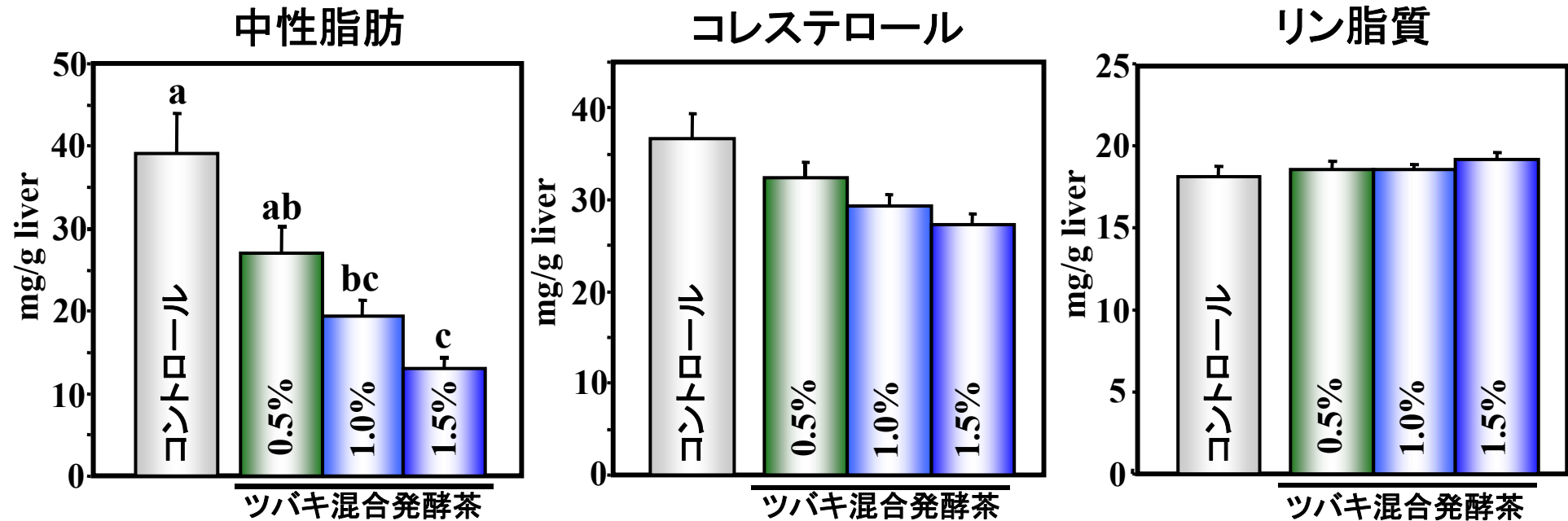


インスリン



平均±標準誤差 (n=6). ab, 有意差あり, $p<0.05$

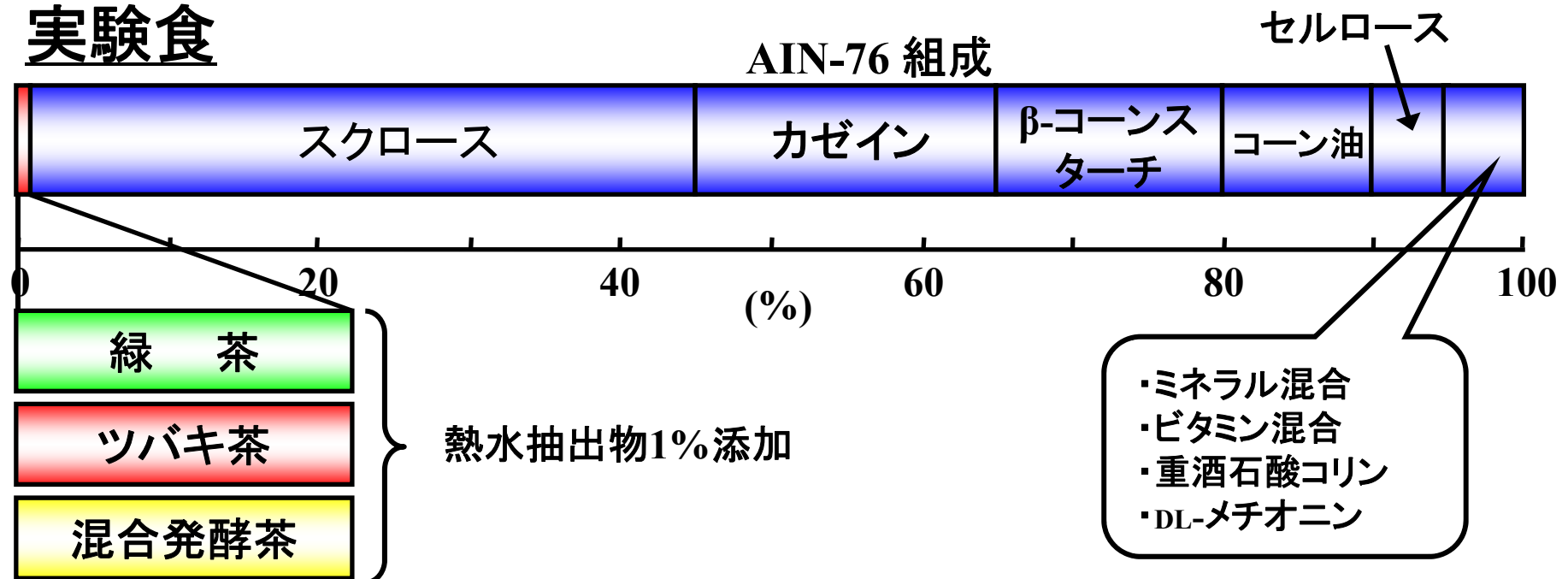
肝臓脂質濃度



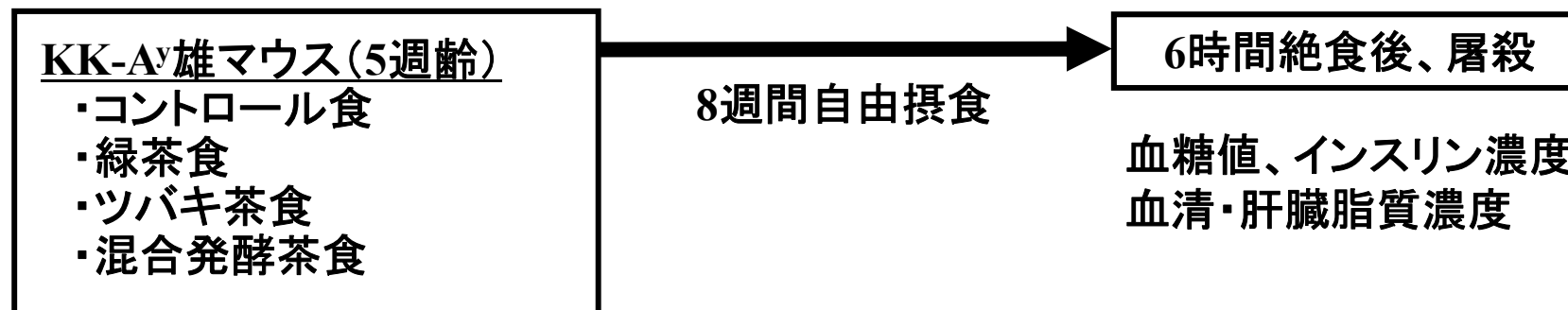
平均 ± 標準誤差 (n=6)
abc, 有意差あり, $p < 0.05$

2型糖尿病を自然発症するKK-A^yマウスの血糖値に及ぼす影響

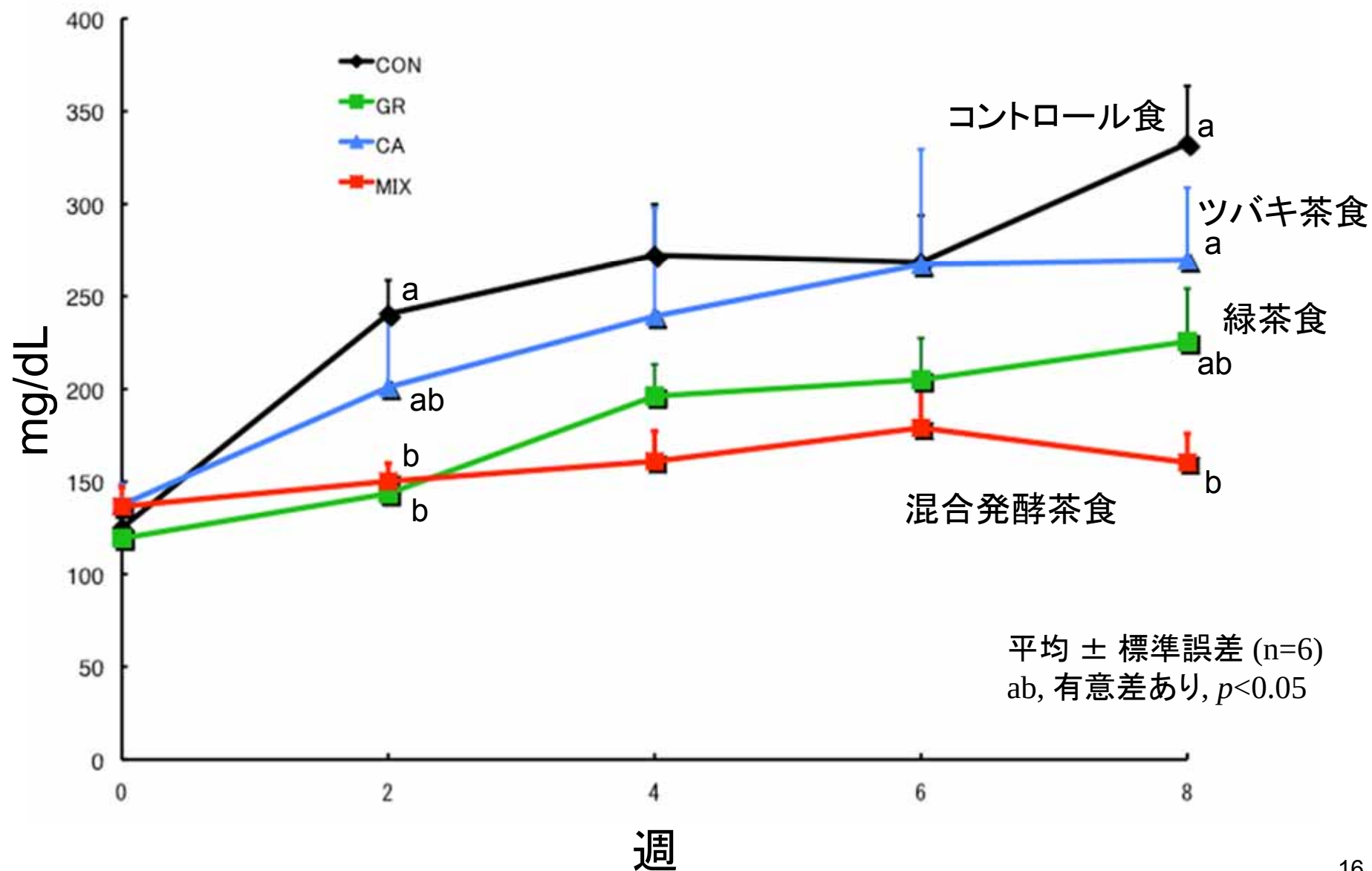
実験食



実験方法



Blood glucose levels



ラット血糖上昇に及ぼす影響 --- 糖負荷試験

Gastric administration to SD rats (9 weeks, fasting for 12 hours)

1. Sample solution

- Control: 5 mL 0.2% CMC water solution/kg BW
- **Mix tea: 200 mg** freeze-dried powder of mix tea-extract /5 mL 0.2% CMC water solution /kg BW

↓ After 5-10 min.

2. **Maltose** or **Sucrose: 200 mg**/5 mL water/kg BW

↓ After 0, 30, 60, 120 min.

Blood drawn from tail

Measurement of serum glucose levels



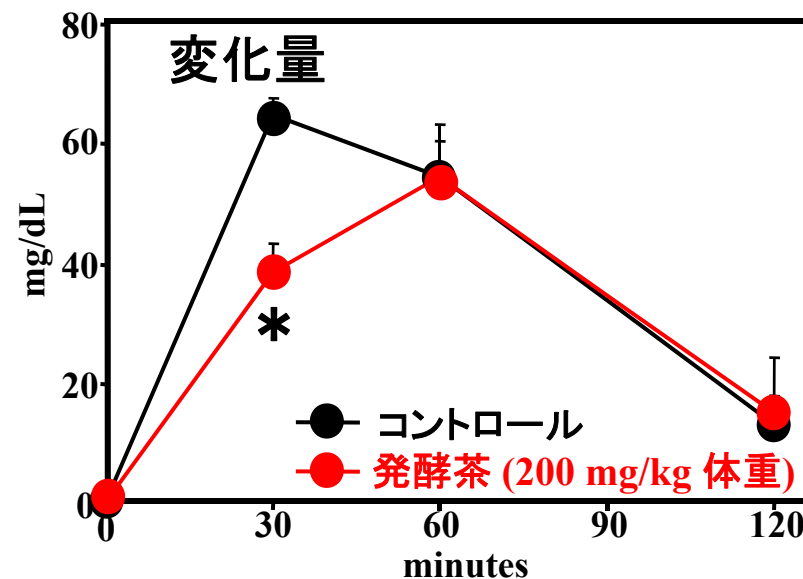
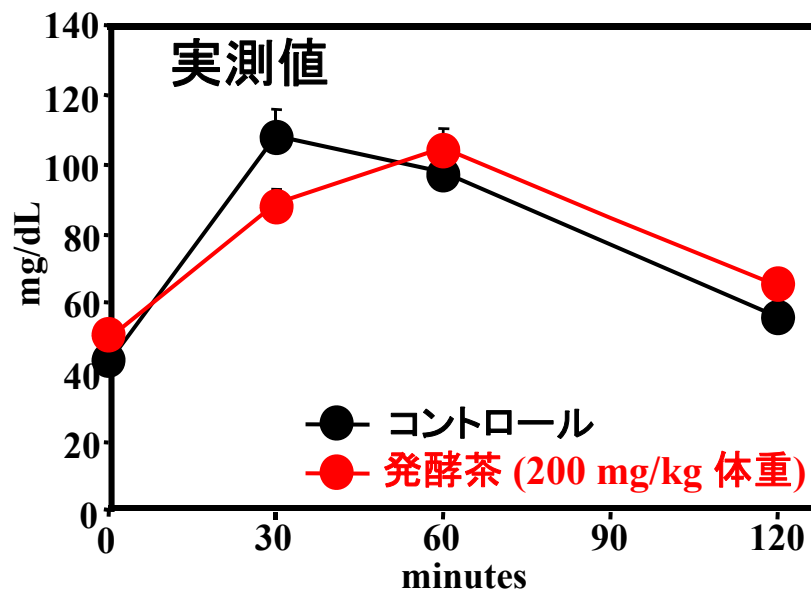
エタノール
抽出液

BW, body weight

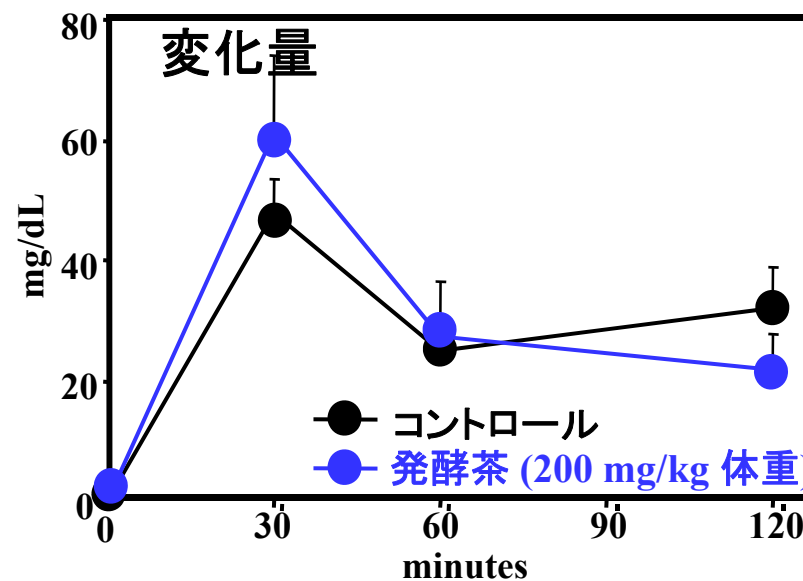
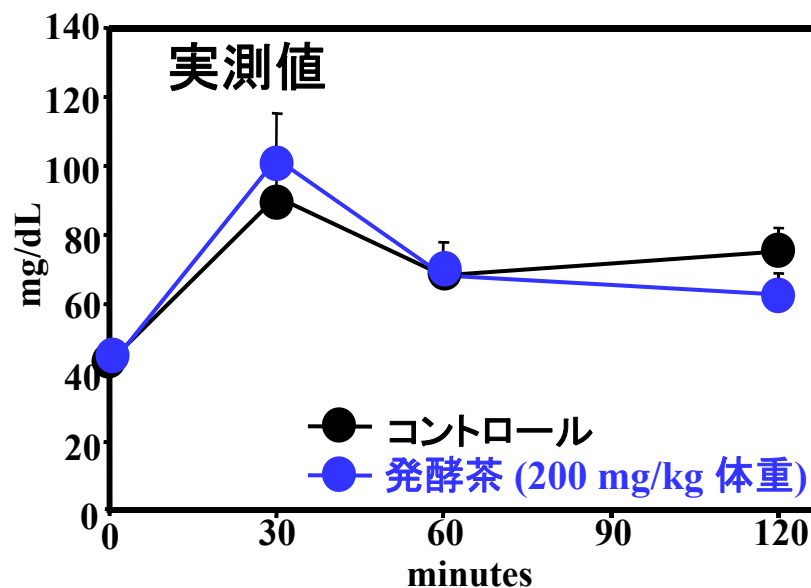
CMC, carboxymethylcellulose

マルトース負荷後の血清グルコース濃度

University of Nagasaki, Siebold



スクロース負荷後の血清グルコース濃度



平均±標準誤差 (n=6), * $p<0.05$: コントロール群に対して有意差あり¹⁸

ラット食後高脂血症に及ぼす影響 油脂負荷試験

University of Nagasaki, Siebold



Gastric administration to SD rats (8 weeks, fasting for 12 hours)

1. Sample solution

- Control: 5 mL 0.2% CMC water solution/kg BW
- **Mix tea: 200 or 400 mg** freeze-dried powder of mix tea-extract
/5 mL 0.2% CMC water solution
/kg BW

↓ After 5-10 min.

2. Intralipid (fat emulsion containing 10% soybean oil): 1.5 mL oil/15 mL/kg BW

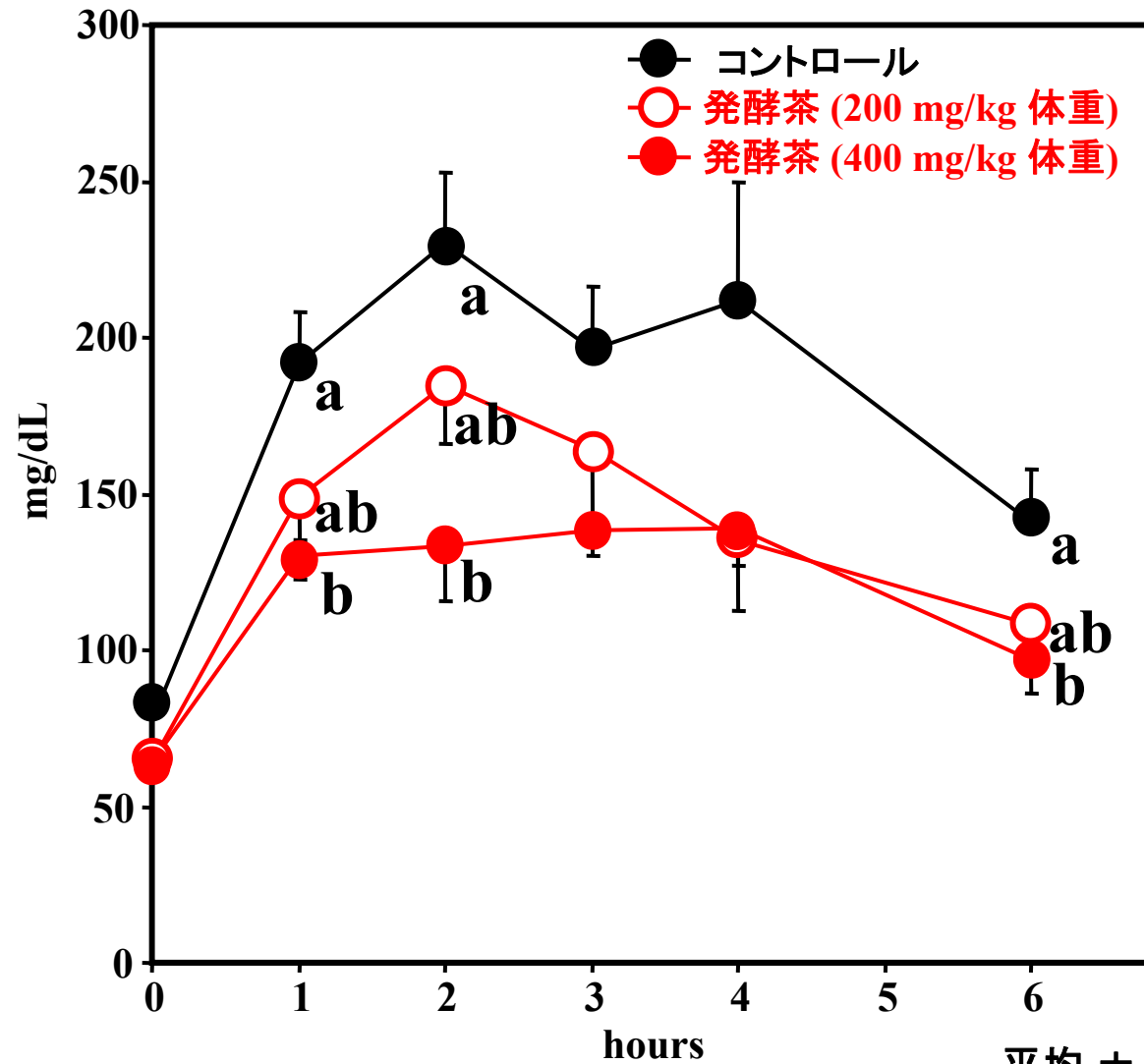
↓ After 0, 1, 2, 3, 4, 6 hours

Blood drawn from tail

↓
Measurement of serum triacylglycerol levels

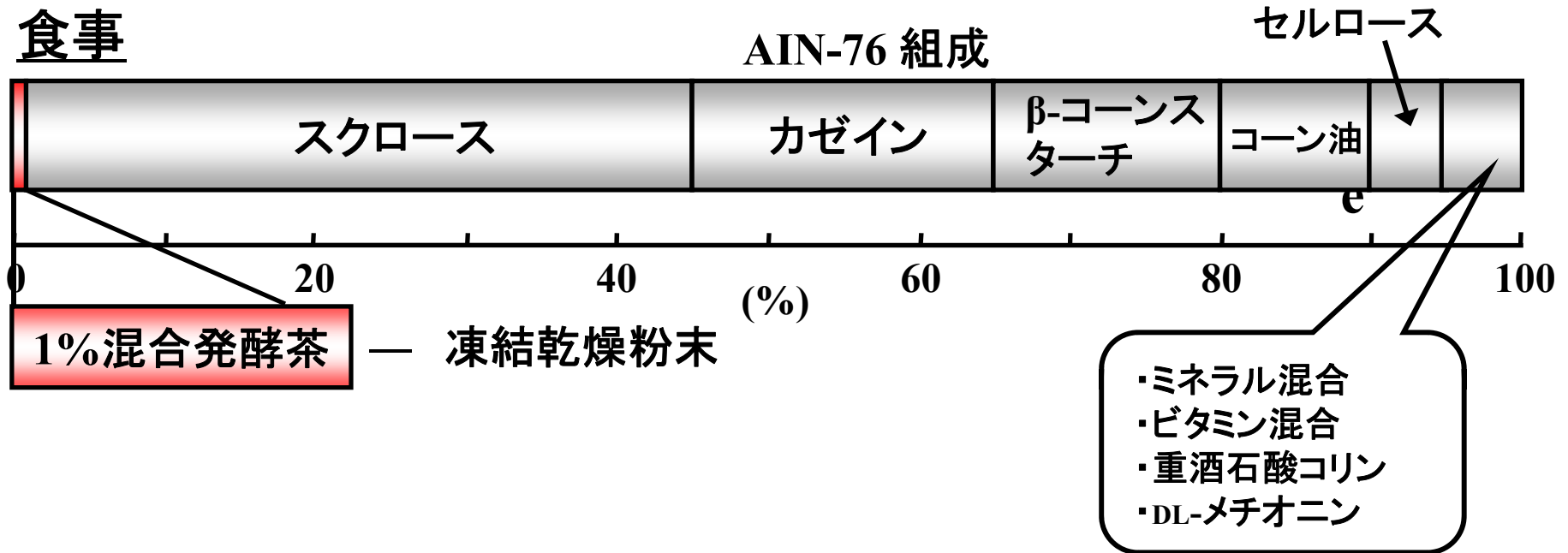
BW, body weight; CMC, carboxymethylcellulose¹⁹

油脂負荷後の血清中性脂肪濃度

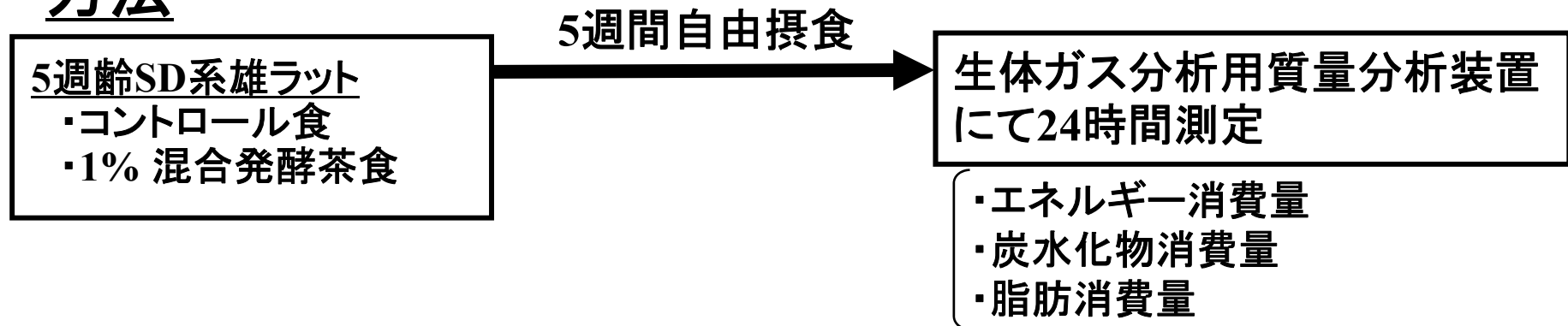


平均 ± 標準誤差 (n = 8-9)
ab, 有意差あり, $p < 0.05$

ラットのエネルギー代謝測定

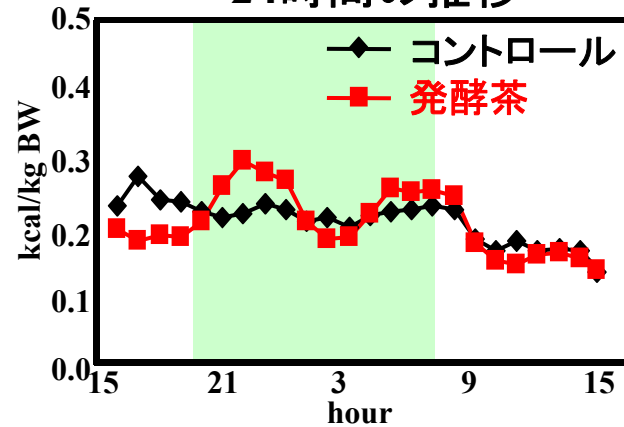


方法



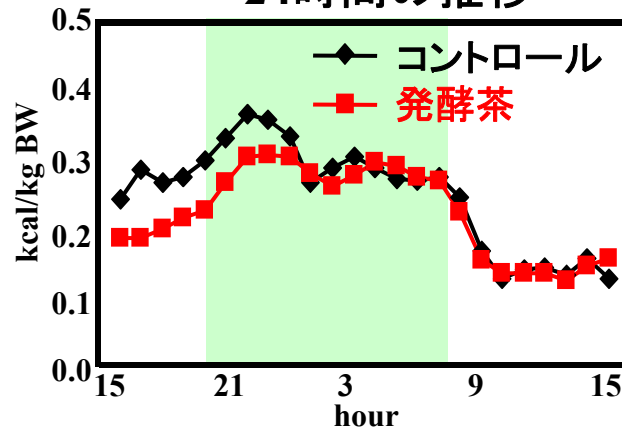
エネルギー消費量

24時間の推移



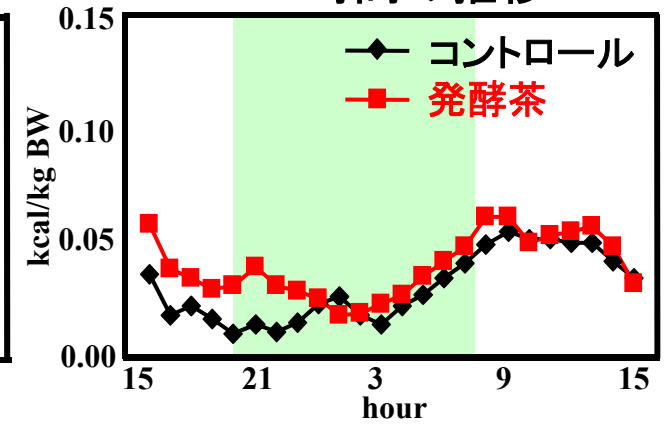
炭水化物消費量

24時間の推移



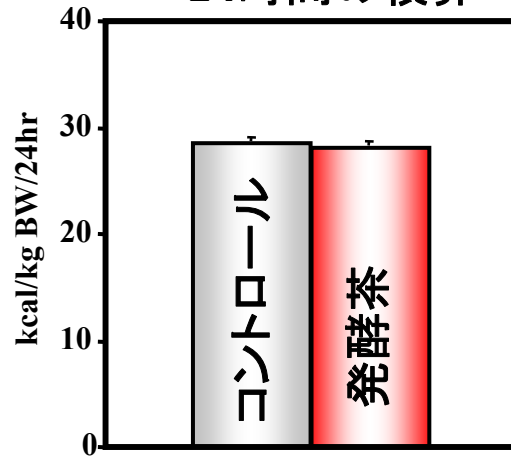
脂肪消費量

24時間の推移

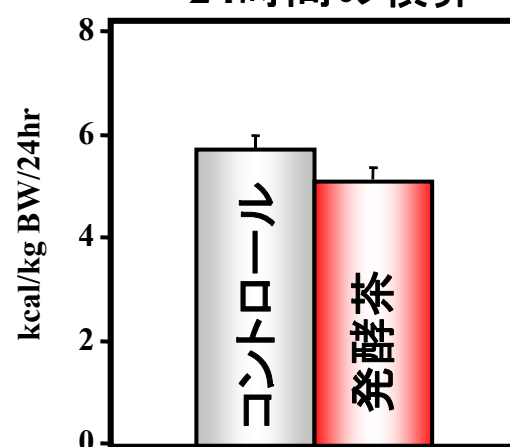


□ 明期 (8:00~20:00)
 ■ 暗期 (20:00~8:00)

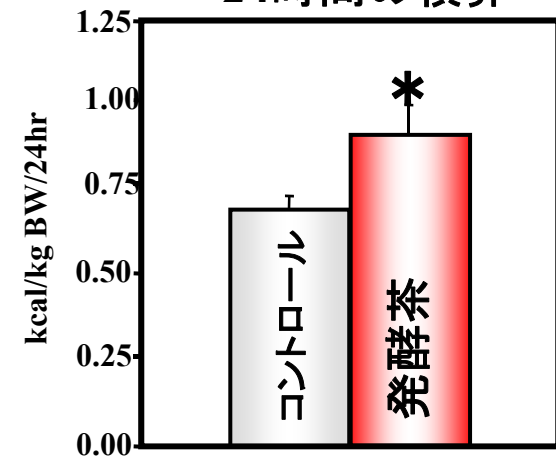
24時間の積算



24時間の積算

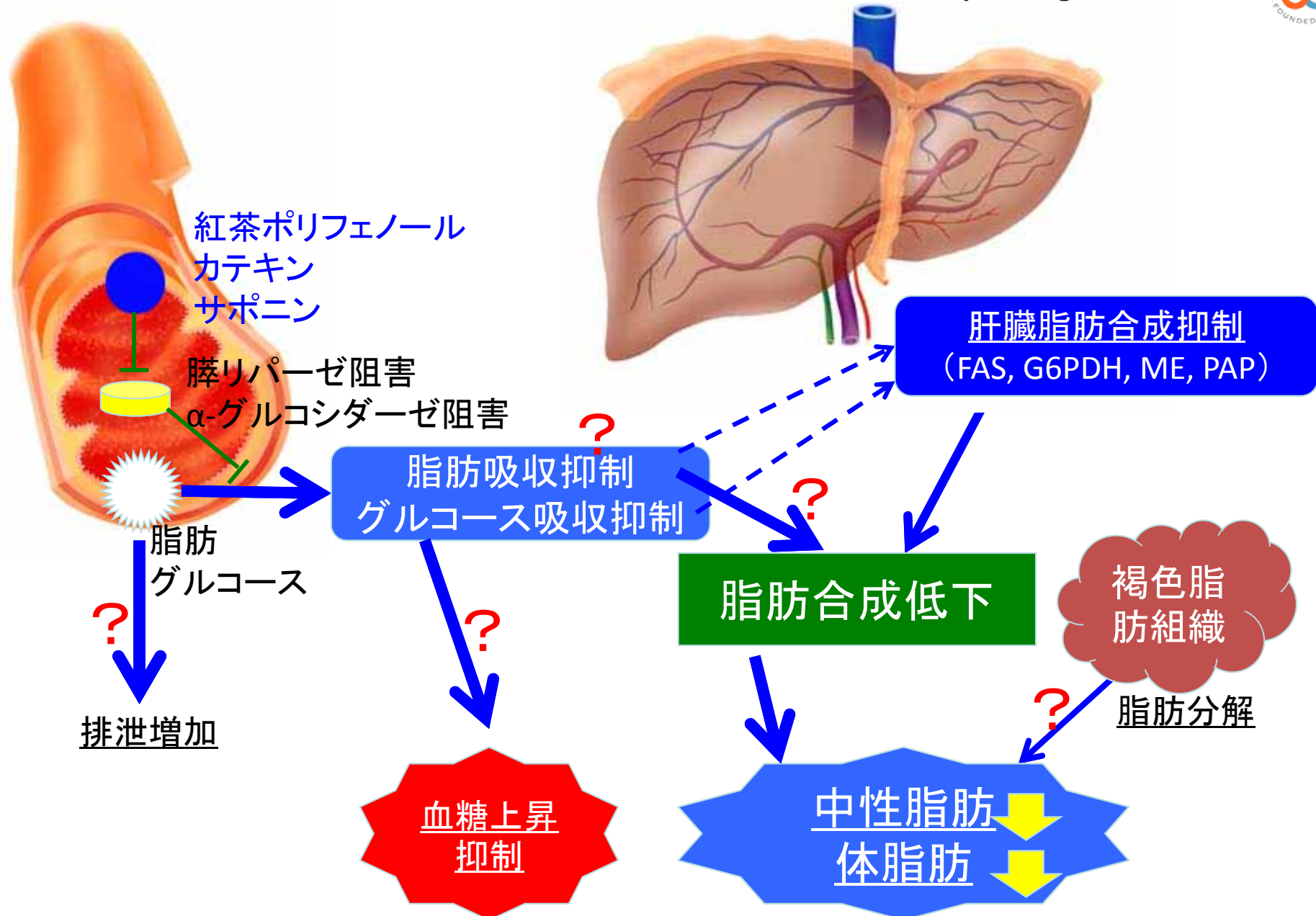


24時間の積算



平均 ± 標準誤差 (n = 6)

*, $p < 0.05$ でコントロール群に対して有意差あり



ヒト食後血糖上昇に及ぼす影響 --- 糖負荷試験

被験者の背景

長崎県職員	
年齢 (歳)	44.0 ± 1.28
身長 (cm)	168.0 ± 0.97
体重 (kg)	65.5 ± 1.17
体脂肪率 (%)	19.7 ± 0.83

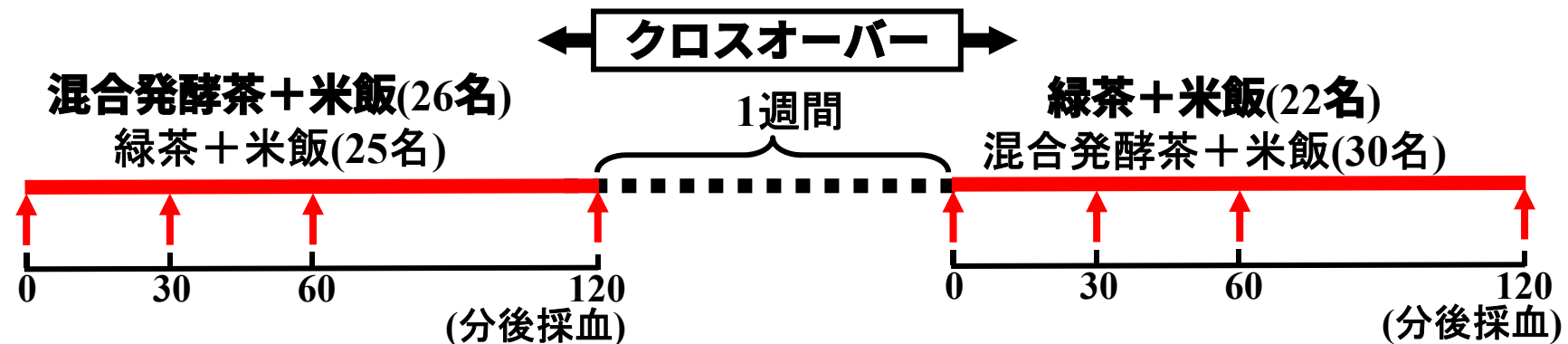
平均値 ± 標準誤差

試験飲料

- 混合発酵茶飲料 350 mL
- 緑茶飲料 (プラセボ) 350 mL

実験方法

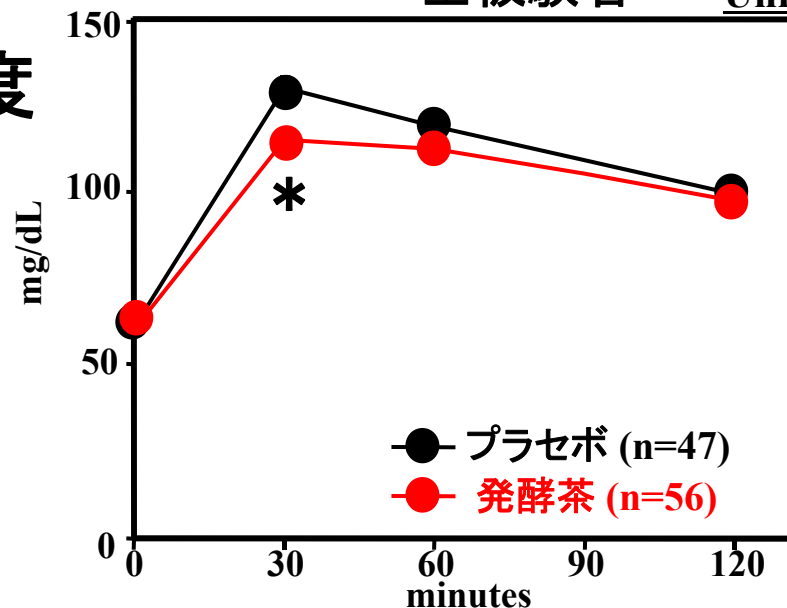
- 試験当日前夜22時以降絶食
- 試験当日朝9時に、米飯300 gおよびふりかけと同時に混合発酵茶あるいは緑茶を摂取
- 0, 30, 60, 120分後に指より採血、血清グルコース濃度の測定
- クロスオーバー試験



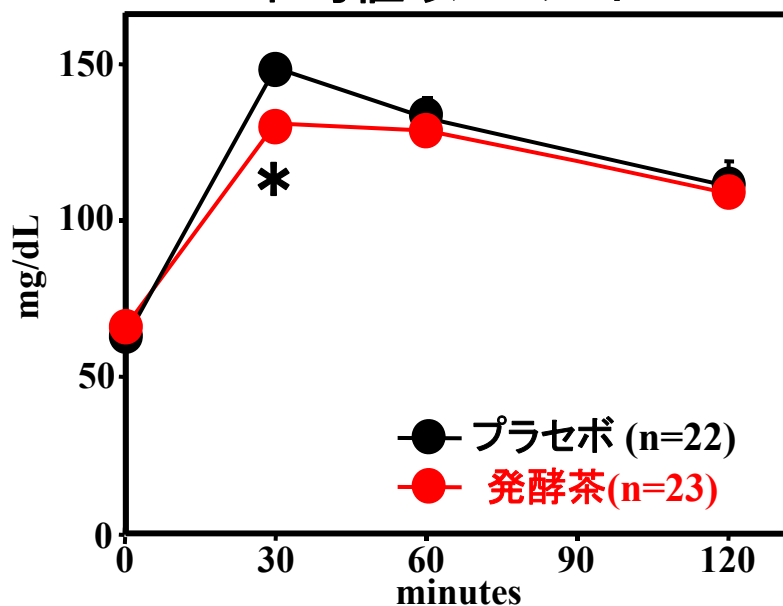
食後血清 グルコース濃度

全被験者

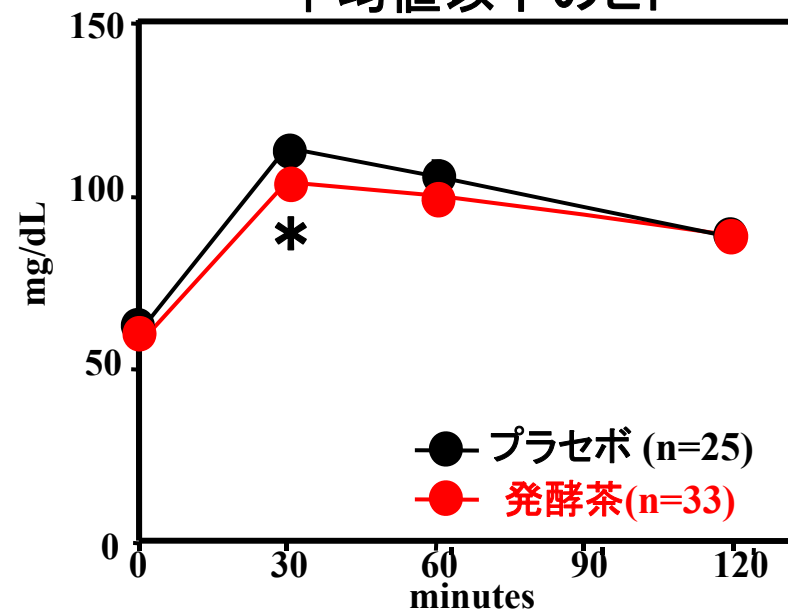
University of Nagasaki, Siebold



食後30分後における血糖値が
平均値以上のヒト



食後30分後における血糖値が
平均値以下のヒト



平均 ± 標準誤差, *: $p < 0.05$ でコントロール群に対して有意差あり

ツバキ混合発酵茶のヒト長期摂取試験

University of Nagasaki, Siebold



○被験者(長崎県職員 他)

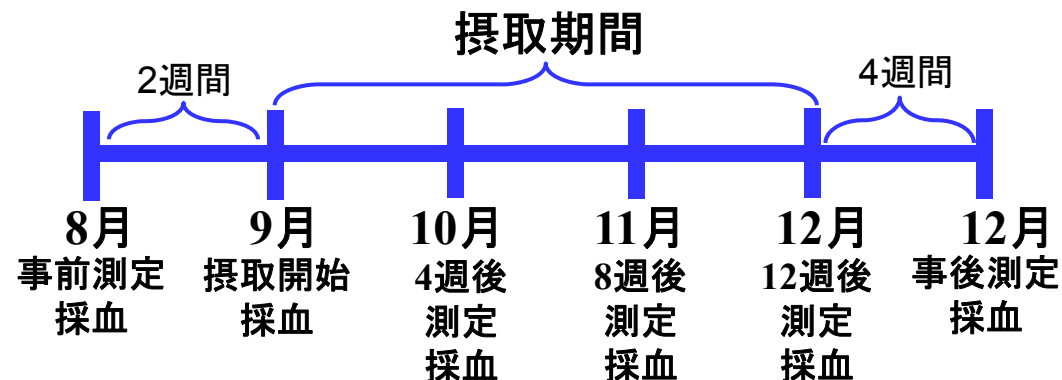
	ツバキ混合発酵茶群 n=27(うち女性7)	プラセボ(緑茶)群 n=26(うち女性5)
年齢(歳)	44.6±2.1	48.5±1.7
身長(cm)	167.9±1.5	164.3±1.1
体重(kg)	63.9±2.3	63.2±1.9
最高血圧(mmHg)	124.2±4.8	121.9±3.1
最低血圧(mmHg)	76.8±3.1	74.9±2.3

○実験計画

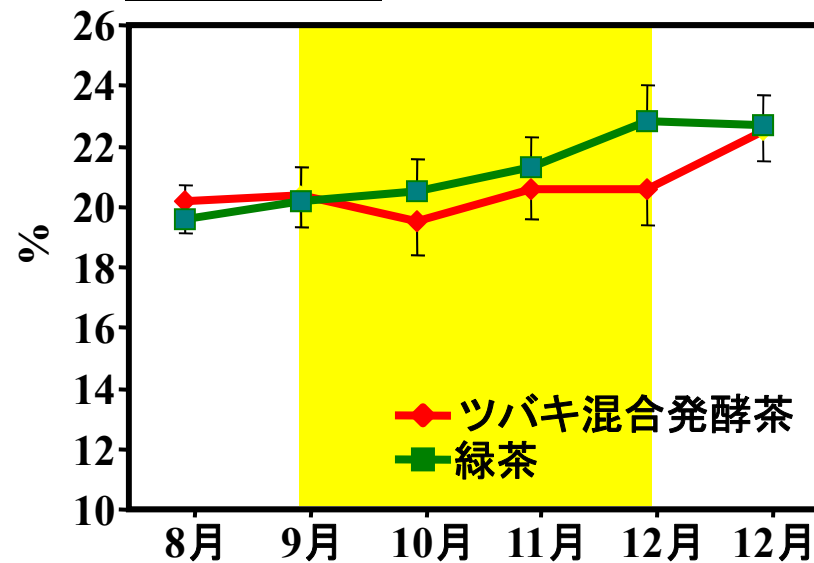
摂取期間:3ヶ月間

摂取量:ツバキ混合発酵茶もしくはプラセボ(緑茶)を、食事と共に朝昼晩3回摂取

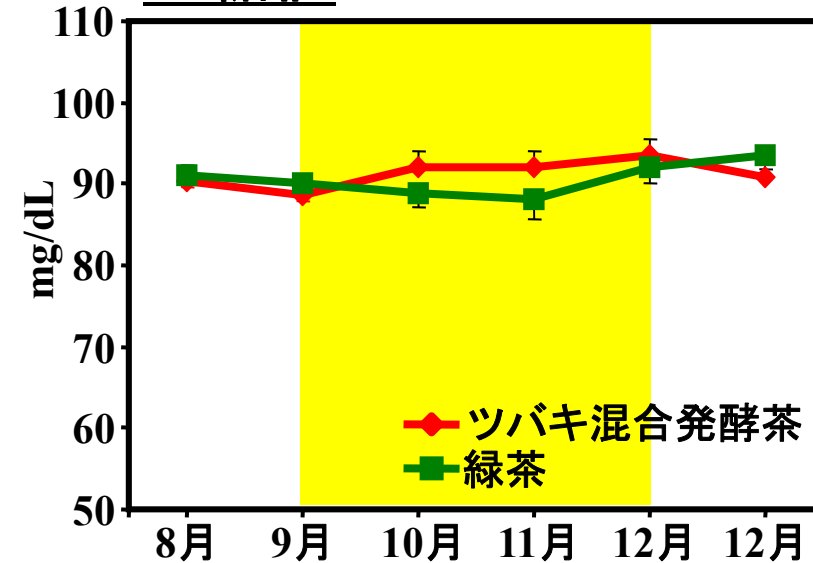
測定項目:体重、体脂肪率、血圧、血液成分 他



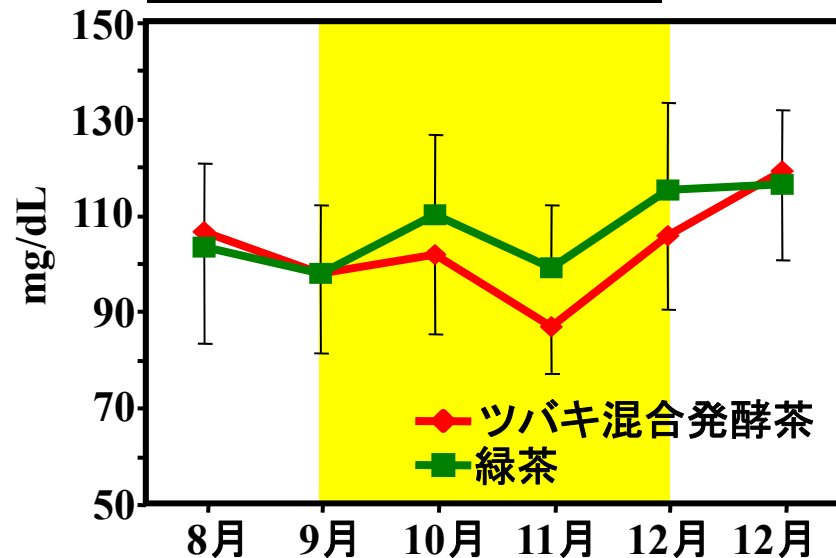
体脂肪率



血糖値



血清中性脂肪濃度



平均値±標準誤差 (n=14~27)

■ 摂取期間

ツバキ混合発酵茶の安全性(外部委託試験)

細菌を用いる復帰突然変異試験

ツバキ発酵茶の突然変異誘起性を調べる目的で、「医薬品の遺伝子毒性試験に関するガイドラインについて」(平成11年11月1日 医薬審第1604号)の「遺伝子毒性試験ガイドライン」に従い、4菌株を用いて復帰突然変異試験を実施した。

復帰変異コロニー数の増加は認められなかったことから、検体の突然変異誘起性は、陰性と判断された。

ラットを用いた急性経口毒性試験(限度試験)

試験群に2000mg/kg用量の検体を、対照群に溶媒対照として注射用水を、雌雄ラットに単回経口投与し、14日間観察を行った。

その結果、観察期間中に死亡例は認められなかったことから、検体のラットにおける単回経口投与によるLD50値は、雌雄ともに2000mg/kg以上であるものと考えられた。

ラットを用いた反復投与毒性試験(28日間試験)

4および2%ツバキ発酵茶群ならびに基礎飼料群の3群を設定し、各飼料を28日間自由摂取させた。

その結果、一般状態、摂餌量、血液学的検査、肉眼的検査および病理組織学的検査で検体に起因すると考えられる変化は観察されなかった。検体は明らかな全身毒性を発現しないものと判断された。

ツバキ混合発酵茶は

(糖代謝)

- ・血糖値を抑制する
- ・ α -グルコシダーゼ活性を阻害する
- ・ラットおよびヒトの食

血糖上昇を抑制する

小腸からの糖質の吸収を阻害し、血糖上昇を抑制することで、糖代謝を改善する可能性が示唆された

(脂質代謝)

- ・血清と肝臓の中性脂肪濃度を低下させる
- ・肝臓脂肪合成酵素活性を抑制する
- ・ラットの食後中性脂肪濃度を低下させる
- ・脂肪のエネルギー消費量を増大させる

体脂肪、中性脂肪を低下させる

小腸からの脂肪吸収を抑制し、肝臓脂肪合成を抑制し、脂肪エネルギー消費量を増大させることで、脂質代謝を改善する可能性が示唆された

(安全性)

急性毒性試験、28日間経口毒性試験において、安全性が確認された

安全性が高い

経口突然変異試験において

お問い合わせ先

長崎県立大学シーボルト校
地域連携センター

T E L 095－813 － 5500

e-mail katanaka@ sun.ac.jp