

## 加熱による緑茶浸出液の抗菌活性の増加

朝賀 昌志\*, 村井 恵子\*, 中西 律子\*, 青山好男

### An Increase in Antibacterial Activity of Green Tea Infusion by Heat-Treatment

Masashi Asaka, Keiko Murai,  
Ritsuko Nakanishi and Yoshio Aoyama

Effect of heat-treatment on antibacterial activity of green tea infusion against *Bacillus* spp. was studied. After the green tea infusion was heated at different temperatures, the green tea components were partitioned with chloroform, ethyl acetate, and 1-butyl alcohol. The ethyl acetate soluble fraction was further fractionated by reverse osmosis. After heat-treatment, the green tea infusions were sterilized by filtration and then inoculated with spore suspension. *B. subtilis* grew in the green tea infusion heated at 95°C. *B. subtilis* didn't proliferate in the green tea infusion heated at 120°C, but grew in this infusion from which tannic components were removed by polyvinylpyrrolidone. Also the antibacterial activity against *B. stearothermophilus* in green tea infusion was increased by heat-treatment. Concentrations of caffeine, theanine, and amino acid in green tea infusion didn't change by heating at 120°C. While four kinds of catechins decreased and their epimers increased by heating at 120°C, the catechins and their epimers showed the comparable antibacterial activity. Both the ethyl acetate and 1-butanol soluble fractions from both unheated and heated green tea infusions exhibited antibacterial activity, and the activity of the fractions from heated green tea was stronger than that from unheated green tea. On the only heated green tea, the fraction not passing through the membrane retained antibacterial activity. From these results, it was suggested that antibacterial components produced in green tea infusion by heating were lower polymers of catechin.

**Key words** : green tea, catechins, anti-bacterial activity, drink, heat-sterilization, *Bacillus* spp.

緑茶飲料は古来より愛飲されている飲料である。工業的に製造販売する容器詰め茶飲料が開発されて以来、その生産量が急速に伸びている。一般家庭で抽出して飲む場合には100℃以上に茶飲料を加熱することはない。しかし、工業的に生産される容器詰め茶飲料は通常100℃以上で加熱殺菌している。

緑茶のエピガロカテキンガレートと没食子酸の黄色ブドウ状球菌に対する抗菌性<sup>1) 2)</sup>が認められて以来、緑茶カテキン類の抗菌性が種々報告されている<sup>3)~9)</sup>、缶詰変敗原因菌であるボツリヌス菌<sup>6) 7)</sup>、*Bacillus* 属細菌などの耐熱性芽胞形成細菌<sup>7)</sup>に対する緑茶カテキン類の抗菌性

注 本論文は日本食品科学工学会誌, Vol.47, No.9, 708~715 (2000) 掲載論文を転載したものである。

\* : 元東洋食品研究所

も報告されている。カテキン類の構成成分である没食子酸<sup>2)~4) 9)</sup> や2次ポリフェノールである紅茶のテアフラビン類<sup>7) 8)</sup> も抗菌性を示すことが報告されている。一方、緑茶カテキン類を加熱するとエピマー化<sup>10)~12)</sup> や重合<sup>10) 11)</sup> が起こり、没食子酸も生成する<sup>10)</sup>、緑茶カテキン類はポリビニルピロリドン (以後 PVPP と略す) に吸着する<sup>13)</sup>。

そこで、緑茶浸出液を加熱処理することにより細菌に対する増殖抑制効果がどのように変化するのか、耐熱性芽胞形成細菌である *Bacillus* 属細菌を対象菌として検討したので報告する。

## 実験方法

### 1. 実験材料および供試菌

緑茶は1996年宇治産のやぶきた種一番茶より製造した煎茶を市場より購入し、使用時まで $-25^{\circ}\text{C}$ で保存した。(-) エピガロカテキングレート (EGCg), (-) エピガロカテキン (EGC), (-) エピカテキングレート (ECg), (-) エピカテキン (EC), (-) ガロカテキングレート (GCg), (-) ガロカテキン (GC), (-) カテキングレート (Cg), (-) カテキン (C) の精製標品とテアフラビン4種混合抽出物はフナコシ, PVPP はシグマ, 普通寒天培地は日水製薬, その他の試薬は特級および高速液体クロマトグラフ用を和光純薬工業より入手した。

試験に用いた *Bacillus* 属の菌株 *B. subtilis* (IAM12118), *B. licheniformis* (IAM13417), *B. stearothermophilus* (IAM11002 と IAM11062) は東京大学分子細胞生物学研究所細胞・機能高分子総合センターより入手した。

### 2. 緑茶浸出液の調製と緑茶缶詰の製造

煮沸して脱気したイオン交換水に緑茶茶葉を加え $60^{\circ}\text{C}$ で攪拌後、ナイロンろ布 (250メッシュ) でろ過することで緑茶浸出液を調製した。通常は1%茶葉, 3分間浸出したが、高濃度の浸出液は4%茶葉, 10分間浸出しイオン交換水で適時希釈した。

緑茶浸出液を $95^{\circ}\text{C}$ で200g容量の缶に充填, 窒素フロー後密封し, 小型レトルト装置を用い $120^{\circ}\text{C}$ で1.5分間加熱し, 緑茶缶詰を製造した。緑茶浸出液の抗菌活性に対する加熱処理時間と温度の影響を調べるために, 緑茶浸出液を蓋付試験管に入れ, 小型レトルト装置を用い $100^{\circ}\text{C}$ から $118^{\circ}\text{C}$ で一定時間加熱処理した。

### 3. 緑茶成分の分離

緑茶浸出液は溶媒抽出によりクロロホルム可溶性画分, クロロホルム不溶性画分, 酢酸エチル可溶性画分, 1-ブタノール可溶性画分と溶媒で抽出されない水溶性画分に分画した。なお溶媒抽出はそれぞれ3回行った。溶媒を減圧留去後各画分をイオン交換水に再溶解した。酢酸エチル可溶性画分は逆浸透膜 (日東電工製スルホン化ポリエーテルスルホン膜 NTR-7410, NaCl 阻止率10%) を用い, 透過画分と未透過分に分画した。

緑茶浸出液のタンニン類は, 2% (w/w) の PVPP を添加し30分攪拌後, 東洋濾紙 No 2 でろ過することで除去した<sup>13)</sup>。

### 4. 緑茶浸出液と緑茶成分の抗菌活性測定

#### 1) 芽胞懸濁液の調製

液体プロスで前培養後普通寒天培地に移し, *B. subtilis* は $30^{\circ}\text{C}$ , *B. licheniformis* は $37^{\circ}\text{C}$ , *B. stearothermophilus* は $55^{\circ}\text{C}$ 培養した後, 形成した芽胞を渦巻白金耳でかき取り滅菌水に懸濁した。芽胞懸濁液を遠心分離して芽胞を採集し, 再度滅菌水に懸濁した。この菌体洗浄操作を3回繰り返す。

返した後、菌体を滅菌水に懸濁し芽胞懸濁液とした。芽胞懸濁液は冷蔵保存し、接種直前に80℃、10分間加熱活性化処理した。

## 2) 抗菌活性測定

被験液に加熱活性化処理した芽胞懸濁液を $10^4$ cfu/mlになるように接種し所定温度で振とう培養し、普通寒天培地を用いたコロニーカウント法で経時的に培養液中の菌濃度を求め、増殖の有無により抗菌性を調べた。緑茶浸出液およびPVPP処理緑茶浸出液は0.2 $\mu$ mのフィルターでろ過除菌した液を被験液とした。緑茶缶詰は開缶内容を0.2 $\mu$ mのフィルターでろ過除菌し被験液とした。溶媒抽出および逆浸透で分離した各成分はイオン交換水に溶解後ろ過除菌し同量のろ過除菌したPVPP処理緑茶浸出液と混合して被験液とした。標品はPVPP処理緑茶浸出液に溶解後ろ過除菌して被験液とした。

なお、本試験は緑茶浸出液を加熱すると抗菌活性がどのように変化するか検討したものである。このため、加熱処理は緑茶浸出液など試料のみにを行い、接種した細菌芽胞は80℃の加熱活性化以外に加熱処理を施していない。

## 5. 緑茶飲料成分の分析法

試料の可溶性固形分は示差濃度計（アタゴ製デジタル示差濃度計 DD-5）で測定した。粗カテキンは酒石酸鉄試薬による比色法により測定した<sup>14)</sup>。緑茶カテキン類、テアフラビンおよび没食子酸は寺田らの方法<sup>15)</sup>を一部修正して高速液体クロマトグラフィーで分析した。カラムはShim-pack CLC-ODS (150mm $\times$ 6mm $\phi$ , 島津製作所), 移動相A液は0.1%アセトニトリル, 5%N,N-ジメチルホルムアミド, 0.1%リン酸溶液, 移動相B液はアセトニトリルを用い, 流速1.7ml/min, カラム温度43℃で溶出させ, 280nmの吸光度で検出した。その溶出条件は, 分析0分でB液1%から35分でB液18%になるように直線的にグラジエントしその後65分にB液60%になるように直線的にグラジエントして分析した。分析後B液90%で洗浄した後初期設定のB液1%に戻した。

カフェインはカテキン類と一緒に高速液体クロマトグラフィーで分析し, テアニンとアミノ酸はアミノ酸分析装置835 (日立製作所) を用いて測定した。

## 結 果

### 1. *Bacillus* 属細菌の緑茶浸出液での増殖

*Bacillus* 属細菌が緑茶浸出液で増殖できるかを調査した結果を Table 1 に示した。 *B. subtilis*

Table 1 Growth of *Bacillus* spp. in green tea infusion

<i>Bacillus</i> spp.	(°C)	Crude catechin (mg/100ml)			
		51.6	105.8	156.3	209.0
<i>B. subtilis</i> (IAM12118)	30	+	+	+	-
<i>B. licheniformis</i> (IAM13417)	37	-	-	-	-
<i>B. stearothermophilus</i> (IAM11062)	55	-	NT	NT	NT
<i>B. stearothermophilus</i> (IAM11002)	55	-	NT	NT	NT

The green tea infusion was sterilized by filtration and then inoculated with spore suspension. It was incubated at optimum temperature. +, bacteria grew; -, bacteria didn't grow; NT, not tested.

は増殖したが, *B. licheniformis*, *B. stearothermophilus* はほとんど増殖しなかった。そこで *B. subtilis* を以後の試験の対象菌とした。

## 2. 加熱処理による緑茶浸出液の抗菌性の変化

緑茶浸出液を加熱することにより抗菌性が変化するかを検討するために、製造した緑茶缶詰試料での増殖を調べた。その結果を Fig. 1 に示した。開缶後の被験液に芽胞懸濁液を接種しているため *B. subtilis* 芽胞は加熱殺菌処理などを受けていない。95℃加熱処理した緑茶浸出液で *B. subtilis* は増殖したが、PVPP でカテキン除去した浸出液の方が増殖速度が早かった。一方、120℃で加熱処理した緑茶浸出液では *B. subtilis* は増殖しなかったが、PVPP 処理することで *B. subtilis* は増殖し、その速度は PVPP 処理した95℃加熱緑茶浸出液と同程度であった。PVPP 処理後に120℃加熱処理した浸出液でも PVPP 処理緑茶浸出液と同じように増殖した。

そこで、緑茶浸出液を加熱することでどの程度抗菌性が增加するか調べるために、120℃加熱した緑茶浸出液と加熱していない緑茶浸出液の抗菌活性を比較した。その結果を Table 2 に示した。*B. subtilis* は、未加熱緑茶では粗カテキン156mg/100mlの浸出液で増殖できず、緑茶浸出液の抗菌活性は加熱処理で約3倍に増加した。

緑茶浸出液の抗菌活性が加熱処理時間と温度に影響するか調査した。その結果を Fig. 2 に示した。105℃では30分、110℃では10分、114℃では5分、118℃では1分加熱処理した緑茶浸出液で *B. subtilis* は増殖できなかった。

*B. subtilis* 以外の菌に対する緑茶浸出液の抗菌性について参考に調査した。*B. stearothermophilus*

は通常より低い濃度の緑茶浸出液で増殖したが、*B. stearothermophilus* に対する緑茶浸出液の抗菌活性も加熱処理で増加した。

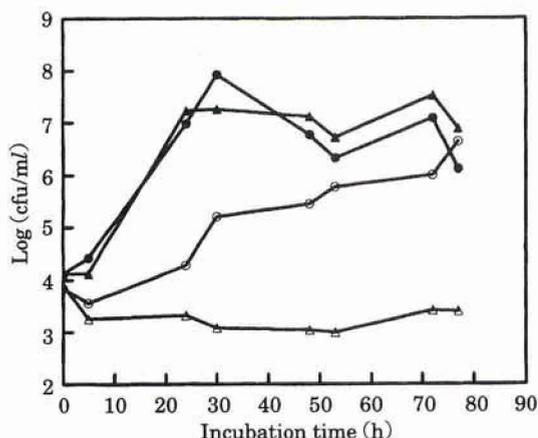


Fig. 1 Growth of *B. subtilis* in green tea infusion  
The green tea infusion was heated at different temperatures. After heat-treatment, the green tea infusions were sterilized by filtration and then inoculated with spore suspension. Those were incubated at 30°C. ○, green tea infusion heated at 95°C; ●, green tea infusion heated at 95°C, from which tannic components were removed; △, green tea infusion heated at 120°C; ▲, green tea infusion heated at 120°C, from which tannic components were removed.

## 3. 緑茶浸出液成分の比較

Fig. 1 で試験した被験液の粗カテキン、可溶性固形分、pH を Table 3 に示した。PVPP で処理すると、粗カテキンは 2 mg/100ml と処理前の浸出液の 5% 以下に減少

Table 2 Antibacterial activity of unheated and heated green tea infusion against *B. subtilis*

green tea infusion	Crude catechin (mg/100ml)			
	62.5	105.8	156.3	209.0
Unheated	+	+	+	-
Heated	-	NT	NT	NT

See Fig. 1 for condition of antibacterial assay. Unheated: green tea infusions weren't heated, heated: green tea infusion was heated at 120°C for 10min. +, bacteria grew; -, bacteria didn't grow; NT, not tested.

Table 3 Crude catechin, soluble solids, and pH in green tea infusion

Heat treatment	Green tea infusion			Tannic components were removed		
	pH	Brix*	Crude catechin (mg/100ml)	pH	Brix*	Crude catechin (mg/100ml)
95°C	5.50	0.282	54.7	5.72	0.176	2.3
120°C, 1.5min	5.53	0.285	55.0	5.62	0.176	2.4

\*Brix : soluble solids

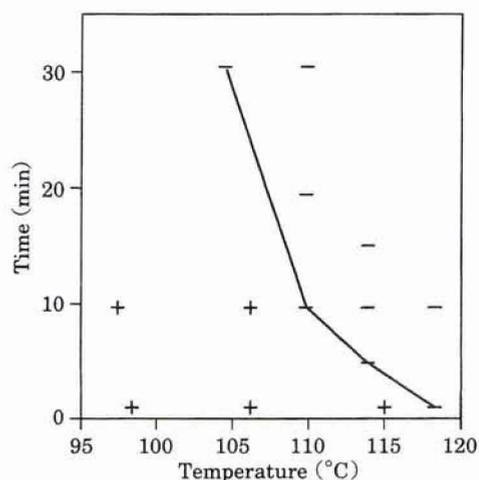


Fig. 2 Effects of temperature and time on antibacterial activity of heat-treated green tea infusion against *B. subtilis*  
See Fig. 1 for the conditions of the antibacterial assay. +, *B. subtilis* grew; -, *B. subtilis* didn't grow.

カテキン類はほとんど除去されていた。

緑茶浸出液中のカフェイン、テアニン、アミノ酸についても比較したが、加熱処理およびPVPP処理でこれらの成分は変化しなかった。

#### 4. カテキン類とその関連成分標品の抗菌活性比較

緑茶カテキン類とその関連成分の *B. subtilis* に対する抗菌活性を比較し、その結果を Table 5 に示した。EGC, EC, GC, C は 100mg/100ml でも *B. subtilis* の増殖を抑制しなかった。EGCg, ECg, GCg, Cg は 50mg/100ml で *B. subtilis* の増殖をほぼ抑制し、エピマー同士の抗菌活性は同じであった。関連成分である没食子酸とテアフラビンは EGCg と同程度の抗菌活性を示した。

#### 5. 緑茶加熱生成抗菌成分の分離

緑茶成分を溶媒抽出で分画した。これらの画分の *B. subtilis* に対する最小阻止濃度を Table 6 に示した。*B. subtilis* に対して抗菌活性が認められたのは、酢酸エチル可溶性画分と 1-ブタン

した。それに伴い、可溶性固性物は 0.11 減少し、pH は 0.1 高くなった。一方、加熱処理では緑茶浸出液の粗カテキン、可溶性固形分、pH はほとんど変化しなかった。

加熱処理によりカテキン類が変化して 2 次ポリフェノールを形成する可能性がある<sup>(10)(11)</sup>。そこで、カテキン類の構成成分である没食子酸や 2 次ポリフェノールなどの関連成分を加えた緑茶浸出液のタンニン類を高速液体クロマトグラフィーで分析した。その結果を Table 4 に示した。95°C 加熱緑茶浸出液は EGCg と EGC が主なカテキン類であり、ECg と EC は少なく、それらのエピマーがごくわずかに認められた。120°C 加熱緑茶浸出液では 4 種のカテキン類が減少し、それらのエピマーが増加していた。没食子酸は加熱処理でわずかに増加した。4 種のテアフラビンは未加熱と加熱緑茶浸出液のどちらにもほとんど認められなかった。PVPP 処理により、95°C と 120°C で加熱した緑茶浸出液のどちらもエピマーを含めた

Table 4 Catechin and gallic acid in green tea infusions

Green tea infusion	95°C	120°C 1.5min	Removed tannin
EGCg	20.97	13.91	0.11
GCg	1.9	9.17	0
EGC	19.56	11.61	0
GC	2.8	10.97	0.23
ECg	4.23	3.02	0
Cg	0.84	1.71	0.24
EC	4.8	3.06	0
C	0.69	2.34	0
Gallic acid	1.73	1.82	1.21

95°C, green tea infusion heated at 95°C ; 120°C 1.5min, green tea infusion heated at 120°C for 1.5min ; removed tannin, tannic components were removed from green tea infusion heated at 95°C. The concentration of each component was represented as mg/100ml.

Table 6 Minimum inhibitory concentration of ethyl acetate and 1-butanol soluble fractions against *B. subtilis*

Fraction	Green tea	Crude catechin (mg/100ml)
Ethyl acetate soluble	Unheated	52.6
	Heated	6.5
1-Butanol soluble	Unheated	102.0
	Heated	6.5

The green tea components were partitioned with chloroform, ethyl acetate, and 1-butanol. After removing solvents by evaporation, residues were dissolved in green tea infusion from which tannic components were removed. See Fig. 1 for the conditions of antibacterial assay. Minimum inhibitory concentration was represented as concentration of crude catechin dissolved in the tested solution.

る抗菌活性を比較した。その結果を最小阻止濃度として Table 7 に示す。未加熱緑茶では未透過画分に抗菌活性が認められなかったのに対し、120°C加熱緑茶では透過画分と未透過画分の両方に抗菌活性が認められ、未透過画分の最小阻止濃度は逆浸透法で分画する前の原液より低く、強

Table 5 Antibacterial activity of catechin, gallic acid and theaflavin against *B. subtilis*

Concentration (mg/100ml)	10	50	100
EGCg	+, +	+, -	- , -
GCg	+, +	- , +	- , -
EGC	+, +	+, +	+, +
GC	+, +	+, +	+, +
ECg	+	-	-
Cg	+	+, -	-
EC	+, +	+, +	+, +
C	+, +	+, +	+, +
Gallic acid	+	-	-
Theaflavin	+	-	-

Each component of catechin, gallic acid and theaflavin was dissolved in green tea infusion from which tannic components were removed. See Fig. 1 for the conditions of antibacterial assay. +, bacteria grew ; -, bacteria didn't grow.

ール可溶性画分であった。酢酸エチル可溶性画分では未加熱緑茶は52.6mg/100ml, 加熱緑茶は6.5mg/100ml, 1-ブタノール可溶性画分では未加熱緑茶は102mg/100ml, 加熱緑茶は6.5mg/100mlと、どちらの画分も加熱緑茶の方が強い抗菌活性を示した。抗菌活性の認められた酢酸エチル可溶性画分と1-ブタノール可溶性画分の高速液体クロマトグラムを Fig. 3 に示した。酢酸エチル可溶性画分は8種のカテキン類が主成分であった。1-ブタノール可溶性画分はEGCとGCを含んでいたがその他のカテキン類はごくわずかであった。抗菌活性を示さなかったクロロホルム可溶性画分はカフェインを含んでいた。

酢酸エチル可溶性画分を逆浸透法で透過画分と未透過画分に分け、*B. subtilis* に対す

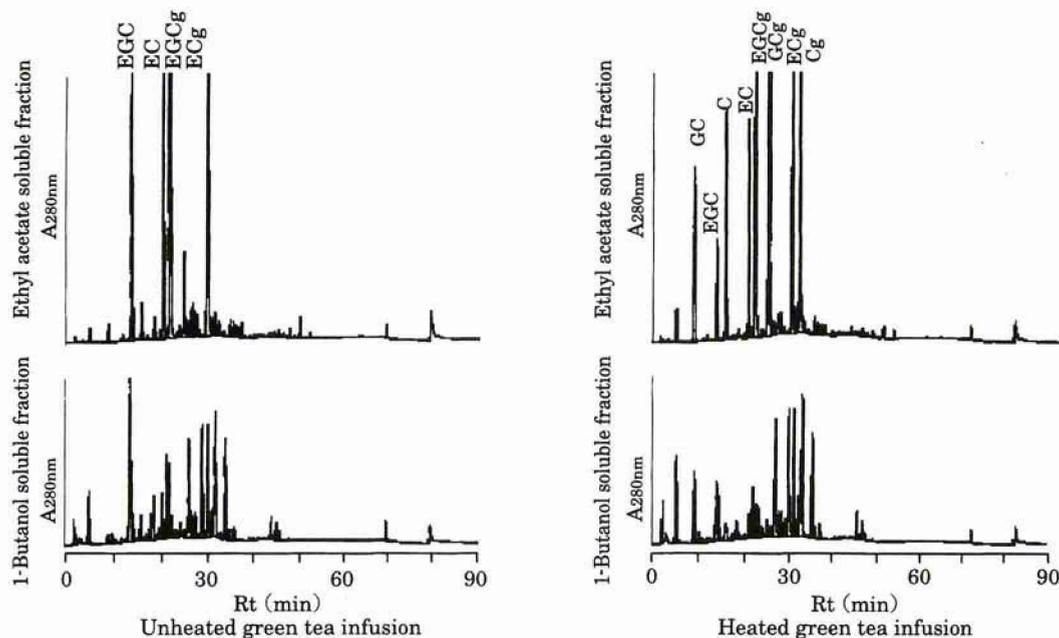


Fig. 3 Chromatograms of ethyl acetate and 1-butanol soluble fractions from unheated and heated green tea infusions

Table 7 Minimum inhibitory concentration of fractions against *B. subtilis* fractionated by reverse osmosis

Tea infusion	Fraction	Crude catechin (mg/100ml)
Unheated	Ethyl acetate	52.6
	Passing	38.4
	Not passing	>15.5
Heated	Ethyl acetate	6.5
	Passing	17.2
	Not passing	2.3

The ethyl acetate soluble fractions from the green tea infusions unheated and heated at 120°C were fractionated by reverse osmosis. See Fig. 1 and 6 for the conditions of antibacterial assay. Unheated : unheated green tea infusion, heated : green tea infusion heated at 120°C, ethyl acetate : the ethyl acetate soluble fraction, passing : the fraction passing through the membrane, not passing : the fraction not passing through it.

い抗菌活性を示した。

## 考 察

*B. subtilis* は *Bacillus* 属細菌中では緑茶カテキンに対し耐性が強い<sup>7) 8)</sup>と報告されている。今回の試験でも *Bacillus* 属細菌中で *B. subtilis* のみが緑茶浸出液で増殖した。このため、緑茶浸出液の抗菌活性測定は *B. subtilis* を対象菌とした。120°Cで加熱処理した緑茶浸出液では *B. subtilis* の増殖が認められなかった。緑茶浸出液での *B. subtilis* の増殖を比較すると、未加熱緑茶では粗カテキン156mg/100mlの浸出液で増殖できたが、120°C加熱緑茶では粗カテキン63mg/100mlの浸出液で増殖できず、緑茶浸出液の抗菌活性は加熱処理することにより約3倍に増加した。このことは、加熱処理により緑茶浸出液に抗菌成分が生成することを示している。PVPP処理後に120°C加熱処理した浸出液および加熱後PVPP処理した浸出液で *B.*

*subtilis* が増殖することは、PVPP に吸着する成分が加熱変化し、生じた物質が強い抗菌性を有し、この物質も緑茶カテキン類と同様に PVPP に吸着することを示唆している。緑茶カテキン類の加熱時の細菌に対する影響では、EGCg が加熱殺菌で耐熱性芽胞の死滅時間を短くする<sup>16)</sup>。また、85℃で加熱処理した煎茶飲料のボツリヌス菌芽胞が経時的に減少する<sup>6)</sup> ことが示されている。しかし、緑茶浸出液の抗菌活性が加熱で増加することについては報告されていない。今回認められたこの加熱で生成する緑茶抗菌成分は加熱温度に依存し、高温ほど短時間で生成することが推察される。

加熱処理および PVPP 処理で変化する緑茶成分を調べた。カフェイン、テアニン、アミノ酸は加熱処理、PVPP 処理でほとんど変化しなかった。したがって、これらは緑茶浸出液での抗菌成分の加熱による生成物ではないと考えられる。緑茶カテキン類は PVPP に吸着する<sup>13)</sup>。今回の試験でも PVPP 処理で緑茶カテキン類はほとんど除去された。このことから、カテキン類と加熱生成抗菌成分は関連していると考えられる。緑茶カテキン類の抗菌性はガレート型カテキンによる<sup>7)~9)</sup> ものであり、構成成分である没食子酸<sup>2)~4) 9)</sup> や2次ポリフェノールであるテアフラビン類<sup>7) 8)</sup> にも抗菌活性がある。一方、緑茶カテキン類を加熱するとエピマー化<sup>10)~12)</sup> や重合<sup>10) 11)</sup> が起こり、没食子酸も生成する<sup>10)</sup>。今回の試験で、緑茶カテキン類は加熱処理によりエピマー化した。しかし、緑茶カテキン類では、EGCg, ECg, GCg, Cg が50mg/100mlで *B. subtilis* の増殖を抑制し、*B. subtilis* に対する抗菌活性はこれら4成分で同じであった。このため、加熱処理による緑茶浸出液の抗菌活性の増加はカテキン類のエピマー化によるとは考えられない。没食子酸は加熱した緑茶浸出液で2mg/100mlと少なかったこと、テアフラビンは加熱処理した緑茶浸出液にも認められなかったことから、没食子酸とテアフラビンは抗菌活性の加熱処理による増加に関与していないと考える。

緑茶浸出液を溶媒抽出で分画し抗菌活性を調べた結果、酢酸エチル可溶性画分と1-ブタノール可溶性画分に強い抗菌性が認められた。クロロホルム可溶性画分、クロロホルム不溶性画分、水溶性画分には抗菌性はなかった。緑茶浸出液のカフェインはクロロホルムで抽出される<sup>13)</sup>。カフェインは *Vibrio metschnikovii*<sup>3)</sup>、*Staphylococcus aureus*<sup>9)</sup>、*Vibrio cholerae*<sup>9)</sup> に対し抗菌性を示さないことが報告されており、今回の *B. subtilis* に対しクロロホルム可溶性画分が抗菌性を示さなかった結果と一致した。カフェインは *V. metschnikovii* に対し抗菌性を示さないがカテキン類の抗菌性を増幅する<sup>3)</sup>。しかし、カフェインを含まない酢酸エチル可溶性画分と1-ブタノール可溶性画分のいずれも未加熱緑茶より加熱緑茶の方が抗菌活性は強かった。このため、加熱による緑茶浸出液の抗菌活性の増加にはカフェインは増幅効果としても関与していないと考えられる。

紅茶の抗菌成分はメチルイソブチルケトン可溶性画分、酢酸エチル可溶性画分と1-ブタノール可溶性画分を合わせたタンニン画分にある<sup>6)</sup>。今回の試験でも酢酸エチル可溶性画分と1-ブタノール可溶性画分に抗菌活性が認められた。

茶類成分の溶媒抽出による分離をみると、紅茶ではメチルイソブチルケトン可溶性画分にカテキン類とテアフラビン、1-ブタノール可溶性画分にテアルビジン、水溶性画分に酸化重合物が含まれている<sup>17)</sup>。緑茶浸出液を40~100℃で加熱すると温度が高いほど褐変が進行し褐変物質は溶媒抽出でブタノール可溶性画分と水溶性画分に認められている<sup>11)</sup>。一方、加熱の影響をみると、加熱により緑茶浸出液は褐変する<sup>11)</sup>。カテキン類の一部がエピマー化<sup>10)~12)</sup> または重合<sup>10) 11)</sup> し、没食子酸も生成する<sup>10)</sup>。このため、加熱緑茶の酢酸エチル可溶性画分と1-ブタノール可溶性画分には分子量の小さいカテキンの重合物が含まれていると考えられる。

酢酸エチル可溶性画分の逆浸透性法による分離を試みた結果、未加熱緑茶では透過画分のみに

抗菌活性が認められた。乳酸菌に対する緑茶抽出液の生育阻害成分はセロハンによる透析で外液にのみ認められており<sup>4)</sup>、今回の未加熱緑茶の結果と一致した。一方、加熱緑茶では未透過画分も強い抗菌活性を示した。これは、カテキンより分子量の大きい膜を透過しない抗菌成分が含まれていることを示唆している。ポリフェノールオキシダーゼで緑茶カテキン類を酸化させるとテアフラビン類以外の抗菌性を有する酸化重合物が生成することが報告されている<sup>18)</sup>。

以上のことから、加熱で緑茶浸出液に生成する抗菌成分は分子量の小さいカテキンの重合物であると推察した。

## 引用文献

- 1) 梶本五郎：日食工誌，10，1（1963）.
- 2) 梶本五郎：日食工誌，10，3（1963）.
- 3) 丹野憲二・野々村英夫：日食工誌，21，445（1974）.
- 4) 西山隆造・小崎道雄：農化，48，83（1974）.
- 5) 川村 淳・竹尾忠一：日食工誌，36，463（1989）.
- 6) 原 征彦・渡辺真由美・阪口玄二：日食工誌，36，375（1989）.
- 7) 原 征彦・渡辺真由美：日食工誌，36，951（1989）.
- 8) 原 征彦・石上 正：日食工誌，36，996（1989）.
- 9) 戸田真佐子・大久保幸枝・生貝 初・島村忠勝：日細菌誌，45，561（1990）.
- 10) Nakagawa, M : *Agr. Bio. Chem.*, 31, 1283 (1967).
- 11) 田中伸二：日食工誌，22，349（1975）.
- 12) Komatsu, Y., Suematsu, S., Hisanobu, Y., Saigo, H., Matsuda, R. and Hara, K. : *Biosci. Biotech. Biochem.*, 57, 907 (1993).
- 13) 池ヶ谷賢次郎：日食工誌，32，61（1985）.
- 14) 日本食品工業学会編：食品分析法（光琳，東京）p.813（1982）.
- 15) 寺田志保子・前田有美恵・増井俊夫・鈴木裕介・伊奈和夫：日食工誌，34，20（1987）.
- 16) 吉田衛市・植松英治・西山重幸：缶詰時報，74，1000（1995）.
- 17) 竹尾忠一・大沢キミコ：日食工誌，20，463（1973）.
- 18) 北條 寛・石上 正・南条文雄・原 征彦：日本農芸化学会1998年度大会講演要旨集，p.114，名古屋（1998）.