

《原著論文》

京都府和東町産「べにふうき」のメチル化カテキン含有量と *in vitro* における腸内細菌の増殖への影響

O-methylated catechin content of 'Benihuuki' tea harvested in Wazuka Town (Soraku, Kyoto) and effects of green tea on enterobacterial growth *in vitro*

川崎 祐子 北 紀子*
(Yuko KAWASAKI) (Noriko KITA)

中嶋 尚子* 眞鍋 翠*
(Naoko NAKAJIMA) (Midori MANABE)

Abstract : 'Benihuuki', a green tea cultivar, has recently attracted particular attention for its health benefits, including pollinosis-preventing effects, which have been attributed mainly to (-)-epigallocatechin-3-*O*-(3-*O*-methyl)-gallate (EGCG3"Me). In this study, Benihuuki tea leaves grown without shading in Wazuka Town (Soraku, Kyoto) and their boiled-water extract were evaluated for their EGCG3"Me content in comparison with Yabukita tea leaves harvested from the same tea garden in the same season (August 2011). The results show that, EGCG3"Me was only found in the Benihuuki samples, with an amount (per 100 g of dry material) of 2.97 g for the leaf and 2.30 g for the extract (extraction rate, 77.4%), respectively. When examined for their effects on the growth of five major strains of enterobacteria *in vitro*, these extracts of the two cultivars showed antibacterial activities against *E. coli*, *C. clostridioforme*, *B. vulgatus*, and *L. acidophilus*, while exerting a growth-promoting effect on *B. bifidum*. This growth-promoting effect tended to be greater with the Yabukita sample.

Key words : 緑茶, べにふうき, メチル化カテキン, 腸内細菌

緒 言

茶はツバキ科の照葉樹 (*Camellia sinensis* L.) の葉や茎から製造され、世界で最も広く飲用される嗜好飲料である。茶は製造方法により不発酵茶・半発酵茶・発酵茶の大きく3つに分類されるが、中国や日本で古くから飲用されてきた緑茶は不発酵茶であり、収穫後すぐに蒸熱または釜炒りして茶葉の持つ酸化酵素を失活させたの

ち、乾燥して保存性を高めたものである¹⁾。

日本では年間 85,000 t もの荒茶（生葉を蒸熱、揉捻などの工程を経て乾燥させた段階の茶）が生産されており²⁾、飲料用の緑茶や茶粉末入り加工品などの原料となる。全国の荒茶生産量は多い順に静岡県、鹿児島県、三重県、宮崎県、京都府（平成 23 年度）³⁾となっており、このうち京都府は、煎茶のほかに碾茶（抹茶原料）、玉露など的高级緑茶を多く生産しているのが特徴的である。いわゆる「宇治茶」というブランド名で呼ばれる緑茶の主産地は、京都府南部に位置する宇治市、相楽郡和東町・南山城村、綴喜郡宇治田原町などであり、これら

同志社女子大学生生活科学部

*同志社女子大学生生活科学部 2011 年度卒業生

の地域で京都府の9割以上の荒茶が生産されている。京都府内では相楽郡和東町が38.3%であり、荒茶生産量第1位となっている(平成23年度)⁴⁾。これらの地域で多く製造される抹茶や玉露は、渋味を抑えるために茶樹全体を覆いで遮光して栽培される(被覆栽培)。これに対し、煎茶などに加工するための茶樹では非被覆栽培が行われる。

緑茶には、抗酸化性、抗腫瘍性、抗アレルギー作用、抗菌・抗ウイルス作用、抗う蝕性など多様な生理作用が知られている^{1,5)}。作用の主体は緑茶特有のポリフェノールであるカテキン類のほか、各種ビタミン類やサポニン、カフェインなどが挙げられる。緑茶に含まれる主要なカテキン類には、含有量が多い順に(-)-Epigallocatechin-3-O-gallate (EGCG)、(-)-Epigallocatechin (EGC)、(-)-Epicatechin-3-O-gallate (ECG)、(-)-Epicatechin (EC) などがある(図1)。茶葉に含まれる総カテキン類は乾物重量で10~20%程度とされる。これらのうちEGCGの含有率が最も高く、全カテキン中の約50%を占め、一般に生理活性も強いことが知られている¹⁾。

緑茶の品種には「やぶきた」「ゆたかみどり」「おくみどり」「さえみどり」などがあるが、品種別では「やぶきた」が全国の栽培面積の76%を占めている(平成20年度)²⁾。最近、花粉症予防効果^{6,7)}で注目を浴びている「べにふうき」は、紅茶用品種の「べにほまれ」を母親に、「枕 Cd 86」を父親に交配され、1993年に命名登録(農林登録)、1995年に品種登録(種苗登録)された紅

茶・半発酵兼用品種である。抗アレルギー作用のほかに脂肪蓄積抑制効果⁸⁾や血圧上昇抑制作用⁹⁾も報告されている。その効果の主体とされるのがメチル化されたEGCG、なかでも(-)-Epigallocatechin-3-O-(3-O-methyl)-gallate (EGCG3[™]Me)である(図1)。べにふうきの乾燥茶葉にはEGCG3[™]Meを含むメチル化カテキンが0.8~2.5%程度含まれるのに対し、やぶきた茶葉には含まれない。また、べにふうき茶葉を紅茶用に製造するとメチル化カテキンは消失する。メチル化カテキンは二番茶葉で最も含有量が多くなり、水溶性で、高温で溶出されやすい^{8,10)}。

茶葉に含まれるメチル化カテキン量は、産地や気候、栽培条件、摘葉条件などによって左右される。そこで本研究では、2011年8月に京都府相楽郡和東町で収穫されたべにふうきの茶葉と熱湯抽出液に含まれるEGCG3[™]Me量を定量し、同じ茶園で同時期に収穫されたやぶきた品種との比較を行った。

また、緑茶の抗菌性については、食中毒原因菌や病原性細菌、インフルエンザウイルスに対する抗菌性など多数報告がある¹¹⁻¹⁷⁾が、液体培養後の生菌数を平板培養法で直接カウントすることにより抗菌活性を測定した報告は見当たらない。本研究では、ヒト腸内細菌として知られる細菌のうち代表的な菌株を用いて、*in vitro* において2品種の熱湯抽出液が試験菌の増殖に与える影響について若干の検討を行ったので合わせて報告する。

実験方法

1. 使用茶葉

実験に使用したやぶきた、べにふうき茶葉は、いずれも京都府相楽郡和東町にて非被覆栽培され、2011年8月下旬に機械摘みされた二番茶で、30秒蒸熱した後乾燥させた。これを茶葉用ミルサーで5分間粉碎し、ふるいにかけ250~710 μmの間のものを茶粉末とした。-20℃で小分けにして保管し、使用直前に常温に戻して実験に使用した。茶粉末の水分含量は常法にて求め、測定した各成分値は水分含量を換算して乾燥茶葉100gあたりで示した。

2. 抽出液の調製

(1) 茶葉に含まれるカテキン類の抽出

茶葉そのものに含まれるカテキン類を定量するため、茶粉末250mgを2%リン酸:エタノール(1:1)20mlで30℃、60分間抽出し、蒸留水で25mlにメスアップ後、ろ過した上清中のカテキン類の含有量を定量した。

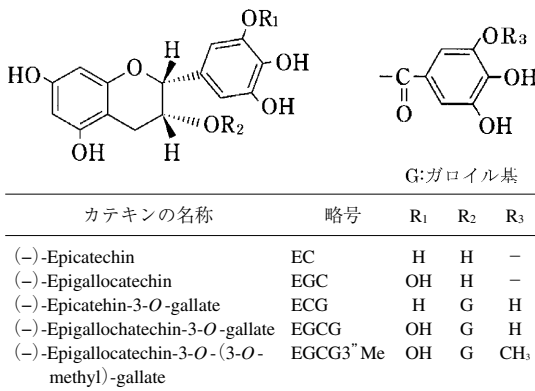


図1 茶葉に含まれる主要なカテキンの構造^{a)}
^{a)}：新版緑茶・中国茶・紅茶の化学と機能(アイ・ケイコーポレーション)¹⁾図Ⅲ-1より改変。

(2) 茶葉の熱湯抽出

緑茶を喫飲することを想定して、茶カテキン類の中でも特に EGCG3”Me を効率よく抽出させるため、山本(前田)らの報告¹⁸⁾を参考に熱湯抽出を行った。茶粉末 4 g を沸騰した蒸留水 200 ml に入れて 10 分間煮沸抽出した。ろ液を 25℃, 10620 g で 10 分間遠心分離した上清を各実験に用いた。

3. 茶カテキン類の定量分析

茶葉および熱湯抽出液中に含まれるカテキン類の定量は、HPLC 法にて測定した。測定条件は野菜茶業研究所のカテキン類同時分析法に基づいて行った^{19, 20)}。定量用標準物質として、EC, ECG, EGC, EGCG, EGCG3”Me は長良サイエンス(株)、L-ascorbic acid (AsA), caffeine は和光純薬工業(株)製を使用した。

カラムは Wakopak C 18-5 (4.6 mm×150 mm), ガードカラムは Wakopak C 18-5 (4.6 mm×10 mm), カラム温度 40℃, 検出波長は UV 242 nm (EGC, AsA), UV 272 nm (EGCG, EC, EGCG3”Me, ECG, caffeine), 注入量 20 μm, 流速 1 ml/min で、移動相 A は蒸留水:アセトニトリル:リン酸 (400:10:1), 移動相 B はメタノール:移動相 A (1:2) を表 1 の条件でグラジエントして測定を行った。

茶葉および熱湯抽出液ともに、0.45 μm フィルターに通したものを測定に使用した。

4. 熱湯抽出液の抗菌性試験

(1) 試験菌

表 1 HPLC による茶カテキン類分析のためのグラジエント条件

時間	移動相 A	移動相 B	備考
0~2 分	80%	20%	
2~27 分	20%	80%	直線的に上昇させる
27~37 分	上記条件を保つ		
37.01~50 分	80%	20%	

抗菌性試験には、*Escherichia coli* K12 (無芽胞のグラム陰性, 通性嫌気性桿菌), *Clostridium clostridioforme* JCM 1291 (胞子を形成するグラム陽性, 嫌気性桿菌), *Bacteroides vulgatus* IFO 14291 (無芽胞のグラム陰性, 嫌気性桿菌), *Lactobacillus acidophilus* JCM 1028 (無芽胞のグラム陽性, 通性嫌気性桿菌), *Bifidobacterium bifidum* JCM 1255 (無芽胞のグラム陽性, 嫌気性桿菌) の 5 種類の菌株を使用した(表 2)。

(2) 培養条件および培地の調製

抗菌性試験の培地, 培養温度, 培養条件は表 2 に示した。生菌数測定用培地にはさらに寒天 1.5% (*C. clostridioforme* は 1.0%) を加えた。*E. coli* に使用したブイヨン培地は一般的な組成(蒸留水 1000 ml に対し肉エキス(極東(株)) 10 g, Bacto™ ペプトン 10 g, NaCl 2 g, pH 7.2), それ以外の菌に対しては GAM ブイヨン培地(ニッスイ(株))を使用した²¹⁾。

各菌を液体培地 5 ml に 1 白金耳接種し, 24 時間または 48 時間培養したものを前培養菌液とした。*E. coli* の前培養のみ振とう培養 (140 rpm) を行った。また, 嫌気培養には Anaero Pack 嫌気(三菱ガス化学(株))を使用した。

その他一般の試薬はナカライテスク(株), 和光純薬(株)製のものを購入した。

(3) 抗菌試験法

抗菌試験用培地は, 表 2 に示した各培地を所定の 2 倍濃度となるように蒸留水に溶解して 2.5 ml ずつ試験管に入れてオートクレーブ滅菌した。これに, 0.45 μm 滅菌済みフィルターで滅菌した熱湯抽出液(または対照として滅菌水) 2.5 ml ずつを入れて混合した。嫌気状態で 5 時間保管した培地に各菌の前培養液を 0.05 ml 添加し, 全ての菌を静置で本培養した。培養後に滅菌生理食塩水で段階希釈し, 生菌数用測定培地に 1 ml を混釈 (*E. coli* は平板培地に 0.1 ml を塗布) した後, 本培養と同じ条件で培養し, コロニー数を測定した。各菌ともシャーレ 3 枚の平均をとり, 1 ml あたりの生菌数を算出した。

表 2 抗菌性試験に用いた菌株および培養条件

使用菌株	培地	培養温度	培養時間	酸素条件
<i>Escherichia coli</i> K12	ブイヨン	37℃	24 時間	好気
<i>Clostridium clostridioforme</i> JCM1291	GAM ブイヨン	37℃	48 時間	嫌気
<i>Bacteroides vulgatus</i> IFO14291	GAM ブイヨン	37℃	48 時間	嫌気
<i>Lactobacillus acidophilus</i> JCM1028	GAM ブイヨン	37℃	48 時間	嫌気
<i>Bifidobacterium bifidum</i> JCM1255	GAM ブイヨン	37℃	48 時間	嫌気

結果および考察

1. 緑茶2品種における茶カテキン類の比較

(1) 茶葉に含まれる茶カテキン類の含有量

2011年8月収穫の京都府和東町産のべにふうき、やぶきた茶葉に含まれる主要なカテキン類をHPLC法にて定量した。参考として、茶葉中の含有量が多いAsA, caffeineも同時に測定した(図2に272nmでのクロマトグラムを示した)。ピーク面積を基に算出した乾燥茶葉100gあたりの重量を表3に示した。その結果、べにふうきではEGCG3"Me量は2.97g/100g乾物重量であったがやぶきたでは検出限界以下となった。測定した5種類の茶カテキン類の合計はべにふうき22.38g/100g乾物重量、やぶきた18.54g/100g乾物重量となった。AsAの含有量は2品種の茶葉で大きな差は見られなかったが、caffeineはべにふうきのほうがやや多かった。

(2) 熱湯抽出液の茶カテキン類の含有量

緑茶2品種の熱湯抽出液に含まれる茶カテキン類をHPLC法にて定量し、抽出に使用した茶粉末(4g)より換算して乾燥茶葉100gあたりの重量を求めた(表4)。茶葉そのものの結果と同様、やぶきたではEGCG3"Meは検出限界以下であったのに対し、べにふうきでは2.30g/100g乾物重量であった。熱湯抽出による茶カテキン類の合計はべにふうき18.18g/100g乾物重量、やぶきた15.59g/100g乾物重量であった。

表3、表4を基に算出した熱湯によるEGCG3"Meの

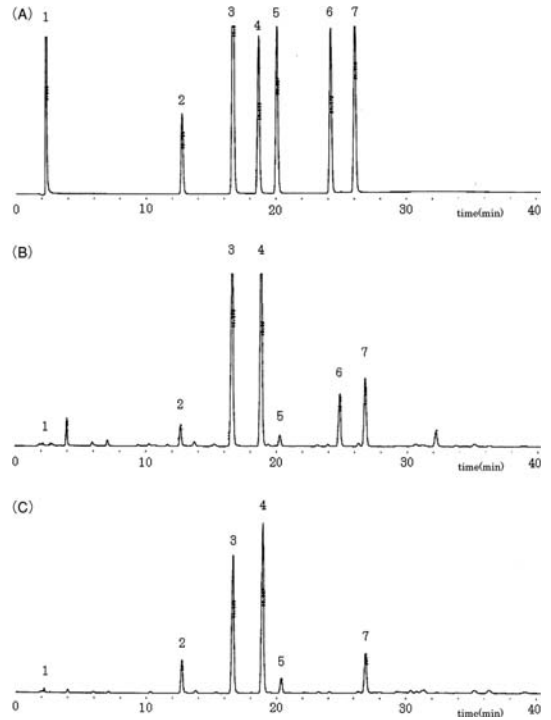


図2 茶葉中カテキン類のHPLCによるヒストグラム(272nm)
(A) 茶カテキン類混合標準, (B) やぶきた茶葉, (C) べにふうき茶葉
1; AsA, 2; EGC, 3; caffeine, 4; EGCG, 5; EC, 6; EGCG3"Me, 7; ECG

表3 緑茶2品種の茶葉に含まれる茶カテキン類, AsA, caffeine (g/100g乾物重量)

品種	EGC	EGCG	EC	EGCG 3"Me	ECG	AsA	caffeine	カテキン合計 ^b
やぶきた	7.34	7.90	1.58	N.D. ^a	1.63	0.436	3.05	18.54
べにふうき	4.34	10.7	1.20	2.97	3.17	0.502	4.85	22.38

^a N.D.: 検出限界以下。

^b カテキン合計: AsA, caffeine 以外の数値の合計。

表4 緑茶2品種の熱湯抽出液に含まれる茶カテキン類, AsA, caffeine (g/100g乾物重量)

品種	EGC	EGCG	EC	EGCG 3"Me	ECG	AsA	caffeine	カテキン合計 ^b
やぶきた	6.54	6.12	1.60	N.D. ^a	1.33	0.611	3.27	15.59
べにふうき	3.98	8.24	1.18	2.30	2.48	0.608	4.78	18.18

^a N.D.: 検出限界以下。

^b カテキン合計: AsA, caffeine 以外の数値の合計。

抽出率は77.4%となった(表5)。1999年に野菜茶葉研究所(静岡県)の圃場で収穫されたべにふうき茶葉のEGCG3TMMe含有量は約1.5g/100g乾物重量、熱湯抽出液は13~15mg/100ml、熱湯による抽出率76.7%と報告されている¹⁰⁾。これと比較し、本実験で使用した和東産べにふうき茶葉のEGCG3TMMe含有量は約2倍であった。

本実験では熱湯抽出液を抗菌性試験用培地に添加するため、抽出時の水に対する茶粉末の量を野菜茶葉研究所の2倍量で行った。そのため、熱湯抽出液100mlあたりに対するカテキン量については単純な比較は行えなかった。

2. 熱湯抽出液が試験菌の増殖に与える影響

両品種の熱湯抽出液を液体培地に添加し、試験菌の増殖に与える影響をコロニー計測法にて測定した。結果は表6に示した。対照の生菌数に対する熱湯抽出液を添加したときの生菌数の割合を求め、3回分の実験結果の平均値を比較した。その結果、4つの試験菌で熱湯抽出液の添加により増殖が抑制された。このうち *E. coli* に対する抗菌性が最も高かった。一方、*B. bifidum* でのみ増殖が促進された。べにふうき熱湯抽出液のほうがカテキン合計量が多かったにもかかわらず、各試験菌とも2品種の熱湯抽出液で増殖への影響に大きな差は見られなかった。このことから、EGCG3TMMeの存在は抗菌活性に大きな影響を与えず、茶カテキン類以外の抽出物が関与

表5 緑茶2品種の茶カテキン類の熱湯抽出による抽出率(%)^{a)}

品種	EGC	EGCG	EC	EGCG 3 TM Me	ECG	カテキン合計 ^{c)}
やぶきた	89.1	77.5	101	N.D. ^{b)}	81.6	84.1
べにふうき	91.7	77.0	98.3	77.4	78.2	81.2

^{a)} 抽出率(%)：表4の熱湯抽出液(蒸留水200mlに茶葉4g)における各茶カテキン量を乾物重量100gあたりの量に換算したものを、表3の茶葉中茶カテキン量(g/100g乾物重量)で割って抽出率(%)を求めた。

^{b)} N.D.：検出限界以下。

^{c)} カテキン合計：AsA, caffeine 以外の数値の合計における抽出率。

表6 緑茶2品種の熱湯抽出液が試験菌の増殖に及ぼす影響^{a)}

使用菌株	対照(滅菌水)		やぶきた		べにふうき	
	($\times 10^6$ colonies/ml)	(%) ^{b)}	($\times 10^6$ colonies/ml)	(%) ^{b)}	($\times 10^6$ colonies/ml)	(%) ^{b)}
<i>Escherichia coli</i> K12	356		42.9		26.5	
	340		33.1		20.5	
	222	100	26.9	11.3	24.1	8.11
<i>Clostridium clostridioforme</i> JCM1291	180		88.3		121	
	281		75.0		118	
	156	100	47.3	35.4	63.3	49.9
<i>Bacteoides vulgatus</i> IFO14291	174		37.7		66.7	
	677		198		379	
	296	100	152	34.1	182	51.9
<i>Lactobacillus acidophilus</i> JCM1028	840		707		427	
	698		475		416	
	770	100	573	75.5	516	59.1
<i>Bifidobacterium bifidum</i> JCM1255	20.5		79.7		32.4	
	18.0		74.7		19.5	
	30.3	100	75.3	351	35.4	128

^{a)} 試験菌の増殖：各試験菌とも3回分の実験結果を示した。1実験につき緑茶熱湯抽出液または滅菌水添加培地に植菌後、表2の条件で培養し、段階希釈を行ってシャーレ3枚に塗布し、生じたコロニーの平均を求めた。

^{b)} %：対照(滅菌水添加)の生菌数に対する各熱湯抽出液添加での生菌数の割合(%)を求め、3回の平均値で示した。

している可能性も考えられた。

腸内細菌の中でもいわゆる善玉菌と呼ばれる乳酸桿菌、ビフィズス菌に対する緑茶抽出物や茶カテキン類の抗菌性についてはこれまでも様々な報告がある。原ら²²⁾は 1000 ppm、中山ら¹⁴⁾は 2000 ppm の緑茶抽出物でも乳酸桿菌やビフィズス菌に対して生育阻害は認められなかったとし、Lee ら²³⁾は紅茶ポリフェノールで両菌属に対する抗菌効果は低かったとしている。一方、西山ら²⁴⁾は平均 0.4 mg/ml の緑茶カテキン混合物で各種乳酸菌の生育が阻止されたとした。このほか、緑茶飲用によるヒト糞便中のビフィズス菌の増加²⁵⁾やパッチ式攪拌培養系での (+)-Catechin によるビフィズス菌の増殖促進²⁶⁾などの報告があり、茶カテキン類が善玉菌をはじめとする腸内細菌の増殖に与える影響については全容が解明されているとは言えないのが現状である。本実験で用いた熱湯抽出液では、培地への添加により 1/2 に希釈された総カテキン濃度はやぶきたで 1.48 mg/ml、べにふうきで 1.72 mg/ml に相当し、この濃度において *L. acidophilus* では増殖が抑制され、*B. bifidum* では促進されるという結果が得られた。また、*B. bifidum* に対する増殖促進効果はやぶきたのほうが高い傾向にあった。これらの結果は *in vitro* での単独菌株における増殖の動向を見たものであり、実際のヒト腸内においては多種多様な細菌が存在し、宿主であるヒトから受ける影響も大きいことから、茶カテキン類が腸内環境に対してどのような影響を与えるかを本結果のみで論ずることは難しい。しかし、平板培地での MIC 法やカップ法、ウェル法など従来の方法では対照と比較したときの試験菌の増殖の増減を明確にすることはできなかった。本方法では生菌数を直接カウントすることにより、*in vitro* での緑茶抽出液の影響をより正確に確認することができた。

EGCG のほとんどは吸収されずに大腸に到達する²⁷⁾ことから、食餌として摂取された茶カテキン類は腸内に達してから腸内細菌と相互作用し、代謝を受けると考えられる。緑茶成分は品種や産地、収穫年によって大きく異なるため、それらの条件が腸内細菌の増殖に与える影響についても考慮する必要があり、今後さらなる検討を要する。

要 約

最近、緑茶の 1 品種であるべにふうきが花粉症予防効果などで注目されている。その効果の主体は EGCG³Me とされる。べにふうきは鹿児島県で試験的栽培されたのち各地の茶園に広まり、京都府下でも栽培されている

が、京都府産べにふうき茶葉に含まれる EGCG³Me 量を検討した報告は見当たらない。そこで本研究では、2011 年 8 月に京都府相楽郡和東町で非被覆栽培されたべにふうきの茶葉と熱湯抽出液に含まれる EGCG³Me 含有量を定量し、同じ茶園で同時期に収穫されたやぶきたとの比較を行った。その結果、EGCG³Me はべにふうきでのみ検出され、茶葉では 2.97 g/100 g 乾物重量、熱湯抽出液では 2.30 g/100 g 乾物重量、熱湯による抽出率 77.4 %であった。

また、これら 2 品種の熱湯抽出液を用いて 5 種類の代表的な腸内細菌の増殖への影響を *in vitro* で検討した。その結果、*E. coli*、*C. clostridioforme*、*B. vulgatus*、*L. acidophilus* では両品種とも抗菌的に作用し、*B. bifidum* では増殖を促進した。この促進効果はやぶきた熱湯抽出液のほうが高い傾向にあった。これらの作用への茶カテキン類の関与の程度や他の腸内細菌の増殖への影響、EGCG³Me と EGCG での作用の違いなど、今後さらに検討する必要がある。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、北碾茶工場および松井碾茶工場から茶葉をご提供いただきましたことに深く感謝申し上げます。

参考文献

- 1) 伊奈和夫, 坂田完三, 鈴木壯幸, 南条文雄, 郭雯飛: 新版 緑茶・中国茶・紅茶の化学と機能. アイ・ケイコーポレーション (2007).
- 2) 農林水産省: 茶をめぐる事情 (平成 24 年 7 月公表). http://www.maff.go.jp/j/seisan/tokusan/cha/pdf/cha_1207.pdf.
- 3) 農林水産省: 平成 23 年産茶生産量 (主産県) (平成 24 年 3 月 15 日公表). <http://www.e-stat.go.jp/SG1/estat/List.do?lid=000001087011>.
- 4) 京都府: 平成 23 年度京都府茶業統計. <http://www.pref.kyoto.jp/nosan/11700012.html>.
- 5) Cabrera, C., Artacho, R. and Gimenez, R.: Beneficial Effects of Green Tea – A Review. *J. Am. Coll. Nutr.* 25(2), 79–99 (2006).
- 6) 安江正明, 池田満男, 永井寛, 佐藤克彦, 満田博充, 山本 (前田) 万里, 藪根光晴, 中川聡史, 梶本佳孝, 梶本修身: 通年性アレルギー性鼻炎患者を対象とした 'べにふうき' 緑茶の抗アレルギー作用並びに安全性評価. *日本臨床栄養学会誌*, 27

- (1), 33–51 (2005).
- 7) Maeda-Yamamoto, M., Ema, K., Monobe, M., Shibuichi, I., Shinoda, I., Yamamoto, T. and Fujisawa, T.: The efficacy of early treatment of seasonal allergic rhinitis with benifuuki green tea containing *O*-methylated catechin before pollen exposure: an open randomized study. *Allergology International*, 58, 437–444 (2009).
- 8) 織谷幸太, 松井悠子, 栗田郁子, 木下洋輔, 川上晋平, 柳江高次, 西村栄作, 加藤正俊, 齊正彦, 松本一朗, 阿部啓子, 山本(前田)万里, 亀井優徳: 「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 (2009).
- 9) Kurita, I., Maeda-Yamamoto, M., Tachibana, H. and Kamei, M.: Antihypertensive Effect of Benifuuki Tea Containing *O*-Methylated EGCG. *J. Agric. Food Chem.* 58(3), 1903–1908 (2010).
- 10) 山本(前田)万里, 佐野満昭, 松田奈帆美, 宮瀬敏男, 川本恵子, 鈴木直子, 吉村昌恭, 立花宏文, 袴田勝弘: 茶の品種, 摘採期と製造法によるエピガロカテキン 3-*O*-(3-*O*-メチル) ガレート含有の変動. *日本食品科学工学会誌*, 48(1), 64–68 (2001).
- 11) 原征彦, 渡辺真由美: 茶ポリフェノール類のボツリヌス菌に対する抗菌活性. *日本食品工業学会誌*, 36(12), 951–955 (1989).
- 12) 原征彦, 石上正: 茶ポリフェノール類の食中毒細菌に対する抗菌活性. *日本食品工業学会誌*, 36(12), 996–999 (1989).
- 13) Taguri, T., Tanaka, T. and Kouno, I.: Antibacterial Spectrum of Plant Polyphenols and Extract Depending upon Hydroxyphenyl Structure. *Biol. Pharm. Bull.*, 29(11), 2226–2235 (2006).
- 14) 中山素一, 重宗尚文, 徳田一, 古田可菜子, 松下知世, 古澤千尋, 宮本敬久: 緑茶抽出物の抗菌活性と pH の影響. *防菌防黴*, 36(7), 439–448 (2008).
- 15) 戸田真佐子, 大久保幸枝, 大西玲子, 島村忠勝: 日本茶の抗菌作用および殺菌作用について. *日本細菌学会誌*, 44(4), 669–672 (1989).
- 16) 西川武志, 小林菜津美, 岡安多香子, 山田玲子, 磯貝浩, 山下利春: 茶およびカテキン含有飲料の病原性大腸菌に対する増殖抑制効果の検討. *腸内細菌学雑誌*, 20, 321–327 (2006).
- 17) Song, J., Lee, K. and Seong, B.: Antiviral effect of catechins in green tea on influenza virus. *Antiviral Res.*, 68(2), 66–74 (2005).
- 18) 山本(前田)万里, 前原明日香, 江間かおり, 水上裕造, 加藤史子, 廣野久子, 物部真奈美: 「べにふうき」緑茶抽出条件の違いによるメチル化カテキン含有量及びフェオホルビド生成量の変動. *茶業研究報告*, 104, 43–50 (2007).
- 19) 堀江秀樹, 山本(前田)万里, 氏原ともみ, 木幡勝則: 茶葉中カテキン類分析のための抽出方法の検討. *茶業研究報告*, 94, 60–64 (2002).
- 20) Maeda-Yamamoto, M., Nagai, H., Suzuki, Y., Ema, K., Kanda, E. and Mitsuda, H.: Changes in *O*-methylated catechin and chemical component contents of 'Benifuuki' green tea (*Camellia sinensis* L.) beverage under various extraction conditions. *Food Sci. Technol. Res.*, 11(3), 248–253 (2005).
- 21) 内村泰, 岡田早苗: 乳酸菌実験マニュアル—分離から同定まで—. 朝倉書店 (1992).
- 22) 原征彦: 茶カテキン類の機能性とそれらの応用例. *日本食品保蔵科学会誌*, 26(1), 47–54 (2000).
- 23) Lee, H. C., Jenner, A. M., Low, C. S. and Lee, Y. K.: Effect of tea phenolics and their aromatic fecal bacterial metabolites on intestinal microbiota. *Res. Microbiol.*, 157, 876–884 (2006).
- 24) 西山隆造, 小崎道雄: 乳酸菌の生育におよぼす緑茶抽出液の阻害物質について (その2). *日本農芸化学会誌*, 49(12), 629–633 (1975).
- 25) Goto, K., Kanaya, S., Ishigami, T. and Hara, Y.: The effects of tea catechins on fecal conditions of elderly residents in a long-term care facility. *J. Nutri. Sci. Vitaminol.*, 45, 135–141 (1999).
- 26) Tzounis, X., Vulevie, J., Kuhnle, G. C., George, T., Leonczak, J., Gibson, G. R., Kwik-Urbe, C. and Spencer, J. P. E.: Flavanol monomer-induced changes to the human faecal microflora. *British J. Nutrit.*, 99, 782–792 (2008).
- 27) Manach, C. and Donovan, J.L.: Pharmacokinetics and metabolism of dietary flavonoids in humans. *Free Radic. Res.*, 38, 771–785 (2004).

(2012年11月9日受理)