

論文

茶の機能性成分分析およびテアニンと 緑茶のリラックス効果についての検証

高岡 素子・田口 莉穂・前澤 志織・岡 恵理子

神戸女学院大学大学院人間科学部 環境・バイオサイエンス学科

Analysis of functional ingredients of tea and
verification of relaxation effects of theanine and green tea

Motoko Takaoka, Riho Taguchi, Shiori Maezawa, Eriko Oka

(Department of Biosphere, Faculty of human Sciences, Kobe College)

Abstract

Tea originated from China and is a beverage with the longest history in the world. Earlier people used to drink tea for its benefits, but is now a regular beverage that is a globe favorite due to its distinctive flavor. Various physiologically active substances are present in tea, and in recent years, various physiological effects of tea leaf ingredients linked to prevention of cancer and adult diseases have been proved, and there are high expectations from the functionality of tea.

We analyzed the functional ingredients present in tea extracts using several various tea samples such as green tea, black tea, and Chinese tea. Tannin content was high in black tea, while in green tea and Chinese tea, tannin content was almost the same.

Healthy young women (n=6) were asked to consume green tea, 200 mg theanine, and water, and relaxation effect before and after consumption was measured. A significant decreasing trend was observed in the heart rate and cortisol value for women who consumed theanine. There was no change observed in the physiological index of women who consumed green tea, but significant induction of relaxation was observed in the subjective index obtained with a questionnaire.

Key words : green tea, black tea, theanine, relaxation

キーワード : 緑茶、紅茶、テアニン、リラックス誘導

はじめに

茶 (*Camellia sinensis*) はツバキ科の常緑樹で、アジアを中心にアフリカ、南アメリカ、ロシアなどで広く栽培されている。嗜好品としての茶は中国を起源としており、世界で最も長い歴史を持つ飲料である。かつてはその効能を目

的に飲まれていたが、独特の風味を持つことにより現在では世界的に嗜好飲料として常飲されている。

茶には、様々な生理活性物質が含まれている。これまで報告されている茶の機能性は、高血圧や動脈硬化の予防や、弛緩性便秘、虫菌予

防、眼病や抗コレステロールなどの作用が報告されている（林 1994）。近年、茶の機能性についての研究が活発化し毎年200件以上の成果が公表されている（Nakamura 2010）。

一方、人口動態統計の年間推計によると、悪性新生物、心疾患は日本人の死因の上位を占め（厚生労働省HP 2016）、これらはいずれも体内組織の酸化やストレスとの関わりがあると言われる。それに対し、緑茶の主な産地である静岡県では胃癌による死亡率が少ないことが報告され、茶の摂取頻度とガンと関係が示唆された。近年、茶葉成分の抗ガン、成人病予防につながる様々な生理作用のエビデンスが証明され、世の健康志向も高まる中、茶の機能性の研究に大きな関心と期待が寄せられるようになった（村松 1991）。

嗜好品である茶はその製法の違いにより、生葉を発酵させないで作る緑茶、発酵させて作る紅茶、両者の中間に分類される半発酵のウーロン茶などの中国茶、発酵前に酵素を失活させ、後に微生物によって発酵させたプーアル茶などの後発酵茶などに分類される。

茶にはタンニン、カテキン、テアニン、カフェインなどの特定成分が含まれ、茶の品質や薬効と密接に関係している。特に多機能生理活性物質とされるものはポリフェノールであるカテキン類である。カテキンは茶の渋み成分であり、殺菌作用や成人病予防作用などの効果があることが認められている。また緑茶に含まれるL-テアニンは茶葉中に最も多く含まれているアミノ酸で、旨味の主成分である。一方、カフェインは高価なお茶ほど多く含まれていると言われる、眠気を抑制し、精神活動を高め、疲労回復、心臓機能の促進、利尿作用などの効果を有している。カフェインはかつてテインと呼ばれ、古くから知られているアルカイドの一つで、カフェインを含む植物は60種類もあると報告されている（林 1994）。

昨今、子供から大人までさまざまなタスク

に追われストレスを抱えている人は少なくない。慢性的なストレスは心身に悪影響を及ぼすため、身体のためにも心身をリラックスさせることの重要性が説かれている（小池ら 2007）。厚生労働省HPにおいて、ストレスサインに気づいたら早めのセルフケアが大切であることが述べられている（厚生労働省HP 2016）。

「茶を飲むとリラックスする」と感じている人は少なくない。小林らはテアニン服用による脳波への影響について検討し、テアニン摂取がリラックスをもたらすことが確認され（1998）、茶に含まれるテアニンがリラックスを誘導することが報告された。しかしながら、実際に茶を摂取した場合のリラックス効果について詳細に調べられた研究は多くない。

よって本研究では、茶葉の特性を調べるために産地や製造法の異なる6種類の茶葉の抽出物を用いて、抗酸化性、タンニン含量、アミノ酸解析について分析し、それぞれの茶の特徴を明らかにしようと試みた。さらに、若年女性を対象とし、テアニンおよび茶の摂取後のストレスの生理的指標である心拍数と唾液コルチゾール解析、主観的指標である感情についてのアンケート調査を行い、これらの結果を総合してリラックス状態を評価し、テアニンおよび茶摂取とリラックス誘導の関係を明らかにすることを目的とした。気軽に飲める茶の摂取によるストレス軽減やリラックス効果について評価し、茶を飲むことでストレス軽減や疾患予防、生活の質の向上に役立てる可能性についてアプローチした。

材料および方法

実験 1. 6種の茶葉抽出液の成分比較

1. 材料及び方法

1) 試料（茶葉）

ダーズリン・ザ ファーストフラッシュ（インド産 （株）ルピシアB）

ニルギリ・ブロークン（インド産 （株）

ルピシアSA)

水仙（中国福建省産（株）ルピシアB)

鉄観音（中国福建省産（株）ルピシアB)

モンハイプーアル（中国雲南省産（株）ルピシアSA)

八女星野村 玉露（日本福岡県産（株）ルピシアM)

以下試料6種をダーズリン・ニルギリ・水仙・鉄観音・プーアル・玉露と略す。今回用いた茶は、製造法により不発酵茶（玉露）、半発酵茶（水仙・鉄観音）、発酵茶（ダーズリン・ニルギリ）および後発酵茶（プーアル）に分類される。

2) 方法

(1) 茶葉からの抽出液調整

各試料0.5gを秤量し、沸騰した蒸留水25mlを加え2分間に攪拌した後、50ml容フラスコで定容し抽出液とした。その後定性用ろ紙（5A 110mm／東洋濾紙（株））を用い、抽出液をろ過したものをサンプルとした

(2) タンニンの定量

タンニンの定量は酒石酸鉄比色法を用い、可視分光光度計（GeneQuant100／GEヘルスケアバイオサイエンス（株））を用い、540nmで吸光度を測定しカテキン量を定量した。

(3) DPPHラジカル補足活性法による抗酸化性の測定

アスコルビン酸溶液を検量線作成に用い、DPPH法により、抗酸化性を測定した。

(4) オルトフタルアルデヒド蛍光法による遊離アミノ酸およびテアニンの解析

遊離アミノ酸およびテアニンの測定には高速液体クロマトグラフィー（GL7400システム／ジーエルサイエンス製）を使用し、オルトフタルアルデヒド蛍光法で分析した。

3) 統計処理

統計処理はエクセル統計（（株）社会情報サービス）：対応あるt検定または一元配置分散分析（Tukey）を行い、有意水準は $P<0.01$ また

は $P<0.05$ 以下とした。

実験2. テアニンとお茶摂取によるリラックス効果の検証

1) 材料及び方法

(1) 試料

茶は八女星野村玉露（日本福岡県産（株）ルピシアM）、L-テアニン（和光）、奥大山の天然水（SUNTORY）を試料として供試した。茶葉を5.0g計量し、沸騰した天然水250mlを加え、1分間攪拌した後、室温まで冷ましたものを用いた。L-テアニンは200mgを食品用コーンカプセル（（株）松屋）に入れ試料とした。

(2) 被験者

学生7名（平均 $21.4 \pm$ 標準偏差1.0歳）を被験者として協力を依頼した。実験期間は2015年9月～11月に実施した。被験者には事前に実験の主旨および方法を伝え、実験参加の同意が得られた人に対し、同意書の提出と実験協力を依頼した。実験の6時間前からアルコールおよびカフェインを含む飲料の摂取および実験2時間前から水以外の飲料の摂取を禁止することを依頼した。その他の食習慣や生活習慣には制限を設けなかった。

(3) 方法

1人の被験者に対し、水、テアニンおよび緑茶摂取の各3回の実験を実施した。また先行研究（小林加奈理ら 1997）より、テアニン200mg摂取によりテアニンのリラックス効果が認められていたことから、テアニンは200mgカプセル1個を水140mlで摂取とした。本実験のテアニン分析結果を参照し、テアニン200mg摂取するための玉露の抽出液は218.68mlであったため、緑茶は250ml摂取とした。

すべての被験者は実験と実験の間に1日以上ウォッシュアウトを設けた。またコルチゾールの日内変動を考慮し、3回の実験は同時間帯で行った。測定は 6 m^3 （ $1.80\text{m} \times 1.80\text{m} \times 1.88\text{m}$ ）程度の密閉された実験室を使用し、室温 23 ± 2

℃、湿度 $45 \pm 5\%$ に設定した。被験者は別室で感情プロフィールアンケート調査 (Profile of Mood States ;以下 POMS) を行い、測定室に入室した。

入室後、足を伸ばした状態でソファに座らせて15分間安静にさせた。次に脱脂綿 (サリベットコットン / SARSTEDT) を1分間咀嚼させて唾液採取した後、自律神経計 (パルスアナライザープラス TAS9 view / (株) YKC) を用い、左手の中指で心拍数を2分30秒間測定した。その後、140mlの水または140mlの水と200mgのテアニンカプセルまたは250mlの緑茶を摂取後、20分間安静にさせた。試料はすべて室温とした。安静後、同条件で心拍数を測定後、唾液を採取、アンケート調査を行った。

①唾液中のコルチゾール濃度解析

唾液中のコルチゾールは、Salivary cortisol enzyme immunoassayキット (SALIMETRICS) を用いて定量した。

4) 統計処理

統計処理はエクセル統計 ((株) 社会情報サービス) : 対応ある2群の差の検定 (t 検定)、一元配置分散分析 (Tukey) を行い、有意水準は $P < 0.05$ 以下とした。

結果及び考察

実験1. 6種の茶葉抽出液の成分比較

タンニン含量はニルギリで最も多く、次いでダージリン、玉露、水仙、鉄観音、プーアルの

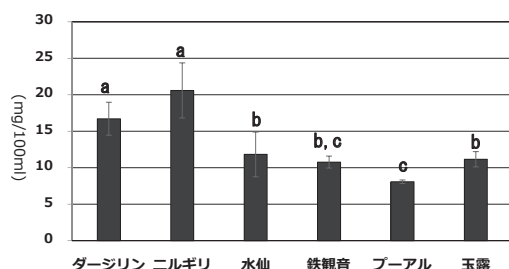


図1 各抽出液のタンニン含量の比較
異なるアルファベット間で有意差あり ($p < 0.05$)

順であった (図1)。以上の結果から、タンニンは完全に発酵させたダージリン、ニルギリなどの紅茶で高く、緑茶と中国茶は最も高かったニルギリの半量程度であった。

ポリフェノールの中で、多数のフェノール性ヒドロキシ基を持つ複雑な芳香族化合物の総称をタンニンと言い、苦みまたは渋味を呈し、茶の葉を用いる嗜好品の中では、その味覚を決める重要な物質とされ、緑茶においてはポリフェノールの大部分がタンニンであることが報告されている (松村 1991)。不発酵茶である玉露は摘茶後ただちに加熱処理することにより酸化酵素を失活させるため、カテキンが他の物質に変換されないが、半発酵茶である中国茶や発酵茶である紅茶は、ポリフェノールオキシダーゼの作用によりカテキンが酸化され、テアフラビンやその中間成分などの酸化重合物に変換される。以上のことから、緑茶のタンニン含量は生葉と大きな違いはなく、中国茶や紅茶のタンニン含量は製造過程で減少していると考えられたが、今回の結果では、紅茶のタンニン含量は緑茶よりも高い傾向を示した。この理由については明らかにできなかった。

一方、抗酸化性についてビタミンC相当濃度に換算して示した。抗酸化性はダージリンで最も高く、次いで玉露、ニルギリ、鉄観音、水仙、プーアルの順で (図2)、ダージリン、ニルギリ、玉露で高い傾向を、水仙・鉄観音・プーアルらの中国茶では低い傾向を示した。

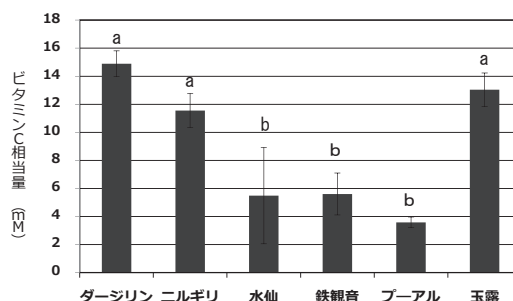


図2 DPPHラジカル補足活性法による各抽出液の抗酸化性の比較
異なるアルファベット間で有意差あり ($p < 0.05$)

茶に含まれる抗酸化性成分は、カテキン、テアフラビンなどがあり、カテキン類は化学構造にフェノール性OH基を多く持っていることから抗酸化性が高いと考えられる。また、カテキン類の抗酸化性はカフェインやビタミンCが共存するとさらに強められることも証明されている（松村 1991）。カテキン類の含量は緑茶で高く、発酵工程を経る紅茶や中国茶ではカテキン類が酸化重合するためカテキン含量は低い。よって、緑茶である玉露の抗酸化性に寄与した主成分はカテキンであると考えられる。

発酵茶である紅茶には、緑茶と同様に抗酸化活性を有することが数多く報告されている（Serafini et al., 1996; 芳野&原 1993）。しかし、紅茶中のカテキン含量は緑茶の約3分の1と少なく（芳野&原 1993）、紅茶は発酵過程を経ることにより緑茶とは異なる新規の抗酸化成分が生成されていることが示唆されている。紅茶の発酵過程でカテキンから生成するテアフラビン類やテアルビジン類にはカテキン同様の強い抗酸化活性があることが報告されており（Yoshino et al., 1994）、これらの物質が紅茶の抗酸化性に寄与していると考えられる。

それに対し、半発酵茶（水仙・鉄観音）・後発酵茶（プーアル）のカテキン含量は、発酵茶（ニルギリ・ダージリン）・不発酵茶（玉露）のカテキン含量と比較し極めて低く、テアフラビン含量も非常に低い（松村 1991）。以上のことから、鉄観音、水仙、プーアルなどの中国茶は発酵過程で抗酸化性を有するカテキンが減少し、また発酵が不十分ためテアフラビン生成量も低いいため、抗酸化性が低かったと考えられる。

次に、遊離アミノ分析の結果を表1に示した。遊離アミノ酸総量が最も多かったのは玉露で、次いでダージリン、ニルギリと続き、鉄観音、プーアル、水仙の順であった。遊離アミノ酸総量は緑茶の玉露で最も高く、紅茶ではその半分以下、中国茶では、玉露の10分の1以下

と低い値を示した。茶葉に生育過程で日光が当たることにより茶葉中のアミノ酸が消失または変化する。玉露は生育時に日光を遮るため、アミノ酸含量が高いことが報告されている（山西 1992）。

一方、アミノ酸のテアニンに関しては玉露で最も多く、ダージリンとニルギリで玉露の半分程度、水仙、鉄観音、プーアルでは低かった（表1）。テアニン含量は茶の代表的なうま味成分であり、お茶に特有のアミノ酸である。テアニンは栽培環境によって影響を受け、覆下栽培、遮光条件や窒素施肥によって著しく増加し（林 1994）、テアニン含量と緑茶の品質との間には正の相関がみられると言われている（松村 1991）。またテアニンは日光が当たることによってカテキンに変化するため、緑茶栽培中に遮光するのはテアニンが渋みを呈するカテキンへ変化することを抑制するためであり、今回用いた玉露は旨味を重視される種類のお茶であり、遮光栽培によりテアニン含量が高かった可能性が示唆される。

実験2. テアニンとお茶摂取によるリラックス効果の検証

心拍変動は簡易に自律神経を評価する手段として有意性が高く評価されている。心拍数は活動時や緊張すると値が高くなり、安静時などリラックスしている状態であると値が低くなる傾向があることが報告されている（南谷ら 2008）。

摂取前の心拍数の値を1と定め、変化率を図

表1 各抽出液に含まれる遊離アミノ酸総量とテアニン含量の比較（平均±標準偏差）

| | アミノ酸総量(mg/100g) | | | テアニン(mg/100g) | | |
|-------|-----------------|---|-------|---------------|---|-------|
| ダージリン | 26.16 | ± | 5.53 | 9.56 | ± | 6.09 |
| ニルギリ | 12.82 | ± | 2.49 | 15.33 | ± | 7.21 |
| 水仙 | 0.74 | ± | 0.40 | 0.32 | ± | 0.08 |
| 鉄観音 | 1.64 | ± | 0.28 | 0.76 | ± | 0.14 |
| プーアル | 1.47 | ± | 0.77 | 0.10 | ± | 0.04 |
| 玉露 | 63.96 | ± | 22.60 | 91.45 | ± | 13.65 |

3に示した。テアニン摂取、緑茶摂取（以下茶摂取）後の心拍数は摂取前と比較し下降したのに対し、水摂取では摂取後の心拍は摂取前と比較して上昇した。また、テアニン摂取群と水摂取群、テアニン摂取前後（ $P<0.05$ ）で有意な差が見られ、テアニン摂取後は心拍数が減少しリラックス誘導されることが認められた。テアニンを服用すると小腸で吸収されて腸管に入り（Kitaoka et al., 1996）、血中に入って脳関門を經由して脳に入ることが確認されている（横越 2010）。またKimuraらはL-テアニン摂取が極度のストレスに対する心拍数および唾液中免疫グロブリンaの減少をもたらしたことを示し（2007）、本実験でも同様な傾向を示した。テアニン摂取と同様に茶摂取でも心拍数がわずかな減少が見られたが、有意な変化ではなかった。

一方、カフェインは血管収縮作用（Higgins & Kavita 2013）、覚醒作用や解熱鎮痛作用とともに、眠気、倦怠感、頭痛に対する効果がある（中村 2004; 若松&辛島 2011）。カフェインをテアニンと同時に摂取すると、相互作用によってリラックスの誘導が阻害され、覚醒を促す働きがあることが認められている（Einöther et al., 2010; Kelly et al., 2008）。緑茶にはテアニンとカフェインがともに含まれているため、これらの作用が同時に起こり、心拍数が減少しなかったと考えられる。

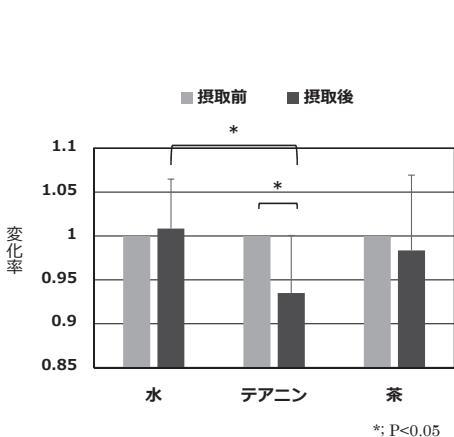


図3 摂取前後の心拍数変化率の比較

視床下部でストレスが認知されると下垂体に命令を出し、下垂体はダメージを回復させるため副腎にストレス軽減ホルモン分泌の指示を出す。これが副腎皮質ホルモンである「コルチゾール」であり、心理的・身体的ストレスの指標として用いられる（灘岡 2008）。

水、テアニン、茶摂取前のコルチゾール値をコントロールとして1と定め、それぞれの試料の摂取後の変化率を図4に示した。水と茶摂取は摂取前と比較して値が上昇したのに対し、テアニン摂取では摂取後に値が低くなる傾向を示したが、個人差が多く群間に有意な差は見られなかった。以上の結果より、テアニン摂取のコルチゾール値が水摂取群よりも低いことから、テアニン摂取群はストレス状態が抑制する傾向を示したと考えられた。カフェインはコルチゾール分泌を増やすことが報告されており（Lovallo et al., 2005）、今回の実験でも茶摂取群のコルチゾール値が摂取前より高かったのは、茶に含まれているカフェインがコルチゾール分泌に影響したと考えられる。

気分を測る尺度としてPOMSを用い、試料の摂取前と摂取後の変化量を図5に示した。全ての項目において試料間で有意な違いは見られなかったが、それぞれの試料の摂取前後では、摂取後に茶摂取で「緊張－不安」、「疲労」、「怒

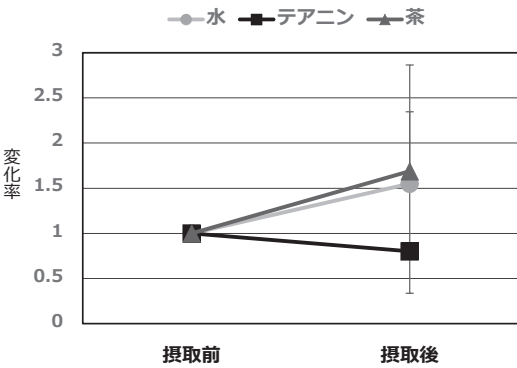


図4 摂取前後の唾液中コルチゾール値変化率の比較

り－敵意」、「混乱」で有意な改善 ($p<0.05$)、水摂取で「緊張－不安」が有意に改善された ($p<0.05$)。茶の摂取により「緊張－不安」、「疲労」、「怒り－敵意」、「混乱」が改善され、精神が落ち着き、リラックスが誘導されることが認められた。

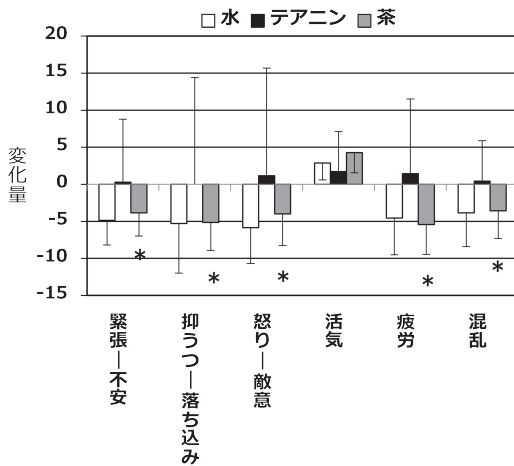


図5 摂取前後のPOMS得点変化量の比較

*、各抽出液摂取前後での有意差あり ($p<0.05$)

L-テアニンおよびカフェインを同時に摂取することで、過酷な職務に対するパフォーマンスを改善することに有益であることが報告されており (Owen et al., 2008)、緑茶摂取でも同様なことが期待される。それに対し、テアニン摂取で改善が見られなかったのは、カプセルに詰められたテアニンを摂取したため、被検者に不安が生じた可能性が考えられる。

以上の結果から、緑茶の摂取により生理的指標である心拍数、コルチゾール値についてはリラックス状態を誘導することが認められず、これはカフェインの影響が大きかったと考えられる。一方、主観的指標であるアンケート調査 (POMS) の結果から、気分が改善されリラックス状態が誘導されていることが認められた。緑茶にはさまざまな機能性成分が含まれており、摂取することで主観的にリラックスが誘導

される可能性が示唆された。機能性成分を豊富に含み、リラックス誘導効果を有する緑茶を、普段の生活に習慣的に取り入れることで、人々の心身の健康向上が期待される。

引用文献

- 林 栄一 (1994) そこが知りたいベストセレクトお茶の効き目 KKベストブック, 東京.
- .Nakamura, Y., (2010) The past and future of studies on tea and cancer prevention. *Genes Environ*, **32**, 67–74.
- 厚生労働省 平成28年 (2016) 人口動態統計の年間推計
<http://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/jinkou/suikei16/dl/2016suikei.pdf> (2018/1/10).
- 村松敬一 (1991), シリーズ<食品の科学>茶の科学, 朝倉書店, 東京
- 小池眞規子・藤巻貴之・渋谷昌三 (2007) リラックス感尺度作成の試み—大学生を対象として—. 目白大学心理学研究, **3**, 1-11.
- Serafini M, Ghiselli A, Ferro-Luzzi A.. (1996) In vivo antioxidant effect of green and black tea in man. *Eur. J. Clin. Nutr.*, **50**, 28-32.
- 芳野恭士・原征彦 (1993) 茶カテキン類およびテアフラビン類の高速液体クロマトグラフィーによる定量法. 沼津高専研究報告, **27**, 87-91.
- Yoshino.Y., Y. Hara, M. Sano & I Tomita (1994) Antioxidative effects of black tea theaflavins and thearubigin on lipid peroxidation of rat liver homogenates induced by tert-butyl hydroperoxide, *Biol. Pharm.Bull.*, **17**, 146-149.
- 山西貞 (1992) ポピュラーサイエンス お茶の科学, 裳華房, 東京.
- 小林加奈理・長戸有希子・青井暢之・L. R. ジュネジャ・金 武祚・山本 武彦・杉本助男

- (1998) L-テアニンのヒトの脳波に及ぼす影響. 日本農芸化学会誌, **72**, (1998) 153-157.
- 南谷晴之・林佐千男・永田隆信 (2008) ストレス・疲労にともなう心拍変動: ニューラルネットワークによる自律神経活動の評価. 電子情報通信学会信学技法, 115-122.
- Kitaoka, S., H. Hayashi, H. Yokogoshi & Y. Suzuki (1996) Transmural change associated with the in vitro absorption of theanine in guinea pig intestine. Biosci. Biotechnol. Biochem., **60**, 1768-1771.
- 横越 英彦 (2010) テアニン-緑茶に含まれるテアニンの脳神経系への影響 (特集 認知症と機能性食品). Functional food, **3** (3), 238-243.
- Kimura K, Ozeki M, Juneja LR, Ohira H. (2007) L-Theanine reduces psychological and physiological stress responses. Biol Psychol., **74**(1), 39-45.
- Higgins John P & Kavita M. Babu (2013) Caffeine reduces myocardial blood flow during exercise. The American Journal of Medicine, **126**(8), 730.e1- 8.
- 中村万里子 (2004) : 大学生の心身健康状態と睡眠状況の臨床心理学的研究. 臨床教育心理学研究, **30**(1), 107-122.
- 若松恵介・辛島光彦 (2011) うつ伏せ姿勢による昼休みの短時間仮眠の効果について. 東海大学紀要情報通信学部, **4** (1), 40-46.
- Einöther SJ, Martens VE, Rycroft JA, De Bruin EA. (2010) L-Theanine and caffeine improve task switching but not intersensory attention or subjective alertness. Appetite, **54**(2), 406-409.
- Kelly SP, Gomez-Ramirez M, Montesi JL, Foxe JJ. (2008) L-Theanine and Caffeine in Combination Affect Human Cognition as Evidenced by Oscillatory alpha-Band Activity and Attention Task Performance. J. Nutr., **138**(8), 1572-1577.
- 灘岡勲 (2008) 脳と栄養ハンドブック, 古賀良彦 (編), サイエンスフォーラム, 東京.
- Lovallo WR, Whitsett TL, al'Absi M, Sung BH, Vincent AS, Wilson MF. (2005) Caffeine Stimulation of Cortisol Secretion Across the Waking Hours in Relation to Caffeine Intake Levels, Psychosom Med., **67**(5), 734-739.
- Owen GN, Parnell H, De Bruin EA, Rycroft JA (2008) The combined effects of L-theanine and caffeine on cognitive performance and mood. Nutritional Neuroscience, **11**(4), 193-198.