

原 著

## チャ花粉のカフェインとカテキン

上野實朗\*・小西茂毅\*\*・石川文字\*\*\*

Caffeine and catechins in Tea Pollens

Jitsuro UENO\* Shigeki KONISHI\*\* and Fumiko ISHIKAWA\*\*

(受付：1985年5月31日)

## まえがき

上野は1984年1月15日に玉川大学で開かれた第6回ミツバチ科学研究会で「花粉とその利用法 健康食品へのアプローチ」と題して養蜂家たちに講演を行った。座長は東京大学薬学部・薬品分析化学の教授・中嶋暉躬・薬学博士であった。

養蜂家や健康食品業者の質問は花粉の化学成分とくにホルモン・ビタミンなど人間に有用な成分であった。しかし静岡の養蜂家から、冬に咲く花は少ない。そこで静岡ではミツバチがチャの花のミツや花粉をとりにつく。しかし静岡の養蜂家のいう「ハチがカゼをヒク」という現象があるという。それは、チャの花にとまってミツや花粉をたべるとミツバチは死ぬことが多い。チャのミツや花粉はミツバチには有害なのではないか。チャのミツや花粉の化学成分は何か、調べられているのなら教えてほしい。また調べられていないならば大学で調べてほしいという切望がでた。これについて静岡以外の養蜂家からも同様な意見が出され、さらに花粉の毒性についても質

問がでた。例えば猛毒なトリカブトの花粉も調べてほしいと希望が出た。同席の座長・中嶋教授も薬品分析学上から花粉の化学成分はよく分っていないから、この問題は興味があると付言した。

上野はチャのアルカロイドであるカフェインとチャタンニンと称されるカテキン類が花粉にもある可能性を説明した。しかしすぐに反論が出た。静岡の茶は人間には有益なのだから、ミツバチがなめても死ぬのはおかしいという。そこで上野は、いくら茶がよい飲料でも人間がバケツに何杯も、濃い茶をのんだら病気になるだろう。だから問題はチャ花粉にカフェインがあるか否かである。微量のカフェインでもミツバチが多量にたべたら有害と考えると話をした。そして静岡大学農学部農芸化学科助教授の小西茂毅博士にチャ花粉の化学分析を依頼した。小西ら<sup>1)</sup>はすでにチャ花粉の無機成分について分析しているが、今回小西の指導で卒業研究の一部として石川文字がカフェインとカテキンの分析を行った。本報告はその結果である。

第6回ミツバチ科学研究会の報告は日本花粉学会

\*静岡市瀬名189 静岡大学名誉教授

\*\*静岡大学農学部農芸化学教室

\*\*\*静岡大学農学部農芸化学教室 (現在、静岡県生活科学検査センター)

\*Sena 189, Shizuoka, 420 Japan

\*\*Faculty of Agriculture, Shizuoka University, Shizuoka, 422 Japan

会誌 30-1 p. 74 (昭和 59 年 6 月) にあるので参照されたい。

この内容は来る 1985 年 10 月中旬に名古屋で行われる第 30 回国際養蜂会議でも発表したい。

## 実験材料および方法

### 1) 花粉の分析

チャ花粉は 1978 年と 1982 年の 10 月に静岡大学周辺の茶園 (やぶきた) より採取し、 $-15^{\circ}\text{C}$  で貯蔵したものをを用いた。花粉 1.00 g に石英砂 (1 g)、80 % アセトンを加え、乳鉢で摩砕し、全量を約 50 ml として一昼夜浸漬した。その抽出液をろ紙 (東洋 No. 6) にて吸引ろ過した。次いでそのろ液を分液ろ斗に取り、等量の n-ヘキサンを加えて色素を除き、下層のアセトン層を分取した。それをエバポレーター ( $30^{\circ}\text{C}$  ~  $40^{\circ}\text{C}$ ) にて脱アセトンした。その濃縮液を 1978 年採取のものは 50 ml に、1982 年採取のものは 25 ml に定容にした。その一定量 (2~3 ml) をミリポアフィルター (孔径  $0.45\ \mu\text{m}$ ) にてろ過した。そのろ液をマイクロシリンジで  $10\ \mu\text{l}$  取り、高速液体クロマトグラフ (HPLC: 島津 LC-3 A 型) に注入し、カフェインとカテキンを定量した。この分析方法は広瀬ら<sup>2)</sup>の方法を一部改変したもので、その分析条件は第 1 表に示した。この分析方法ではタンニン含量 (茶公定分析法) の約 1.05~1.1 倍量が定量出来、カテキ

ンのほぼ全量が溶出される<sup>2)</sup>。なお物質の同定定量は個々の標準物質の内部添加により行った。

### 2) 花粉および培地の分析

花粉は前記の 1982 年 10 月に採取したもののみを用いた。培地は蔗糖 8%、カルシウム 0.5 mM、マグネシウム 0.01 mM、カリウム 0.02 mM、ナトリウム 0.05 mM を含む pH 4.8 の 40 ml 水溶液で、ホウ素 (B) を与えない場合と与えた場合の 2 処理を設けた。1 処理につき花粉 0.2 mg を 0.04 g ずつ 5 シャーレ (プラスチック製) に均一に散布し、20 時間、 $25^{\circ}\text{C}$  で培養した。培養後ろ紙で吸引ろ過した。ろ液は  $30\sim 40^{\circ}\text{C}$  で濃縮し、濃縮液を 10 ml の定容にした。ろ紙上に残った花粉および花粉管は 1) と同様アセトンで抽出し、10 ml の定容にした。各々をマイクロシリンジで  $10\ \mu\text{l}$  を取り、HPLC にてカフェイン、カテキンを定量した。

## 実験結果および考察

花粉中にカフェイン、カテキンの存在することを HPLC のクロマトグラムで第 1 図に示した。1982 年採取の花粉ではカフェインとカテキンのうちエピガロカテキン (EGC: Epigallocatechin)、エピカテキン (EC: Epicatechin)、エピガロカテキンガレート (EGCG: Epigallocatechin gallate)、エピカテキンガレート (ECG: Epicatechin gallate) が存在したが、1978 年採取の花粉ではそのうちエピカテキンとエピカテキンガレートは同定できなかった。一般に茶葉にはこれら 4 種を含め 8 種類存在する。なお未知物質として 1982 年花粉では 5 種類、1978 年花粉では 4 種類のピークが認められた。第 1 図は方法で述べたごとく両年の花粉抽出液濃度が 1 : 2 で異なるので単純にピークの高さで比較することはできない。そこで計算によるカフェイン、カテキン含量を算出し、その結果を第 2 図に示した。両年の花粉を比較してみると、全般的に 1982 年採取の花粉の方が g 当りに含まれるカフェイン、カテキン含量、また未知物質の含量が多かった。このことは冷凍保存を行っていても、年月を経ると酸化を受けるなどして成

Table 1 Conditions of HPLC analysis

column	: Shim-pack CLS-ODS
column size	: $6.0\ \text{mm}\phi \times 15\ \text{cm}$
column temperature	: ambient $20^{\circ}\text{C}$
flow rate	: 1.0 ml/min
pressure	: 140 kg/cm <sup>2</sup>
carrier composition	: N,N-dimethylformamide 15% acetate 3% acetonitril 1% water 81%
amount of sample	: $1 \times 10^{-7}\ \text{l}$
detector	: uv-280 nm
chart speed	: 3.4 mm/min
detector absorbance	: 0.04

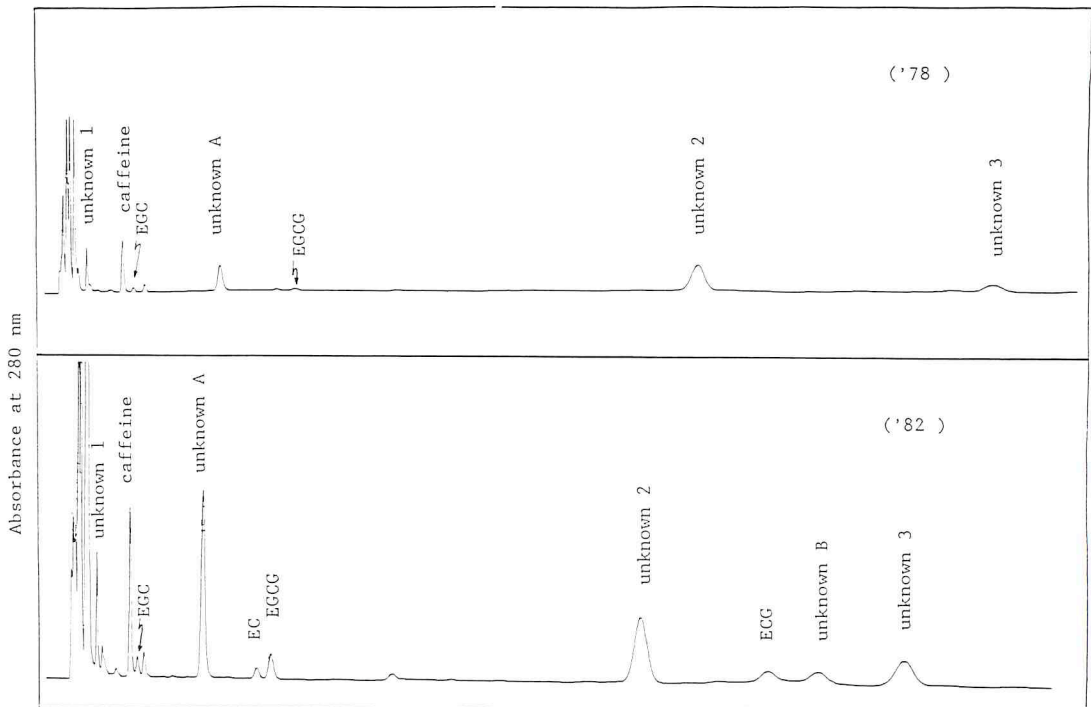


Fig. 1 HPLC elution profiles showing the existence of caffeine and catechins in tea pollens  
 EGC: (-)-Epigallocatechin, EGG: (-)-Epigallocatechin gallate, EC: (-)-Epicatechin, ECG: (-)-Epicatechin gallate

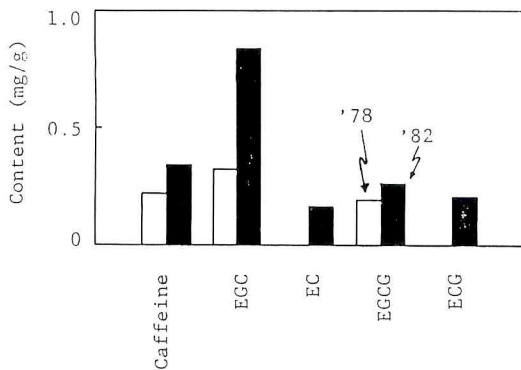


Fig. 2 Contents of caffeine and catechins in tea pollens

分含量の減少をきたしたと推定される。外観を見ても、1978年の花粉は1982年の花粉より色があせていたことからもうかがえよう。また未知物質の種類が多く、かつピークも明瞭に表われたので、今後これ

らの物質の同定が必要となる。

花粉を液体培地中で発芽、生長させ、その花粉および花粉管中のカフェイン、カテキンを検索した結果が第2表のとおりである。カフェインのみが認められ、カテキンや未知物質は検出できなかった。カフェイン量はB欠除下で多く、B添加で少なかった。このことはB欠除によって発芽率が劣り、未発芽花粉が多かったことによると推定される。

一方、培養液中のカフェイン、カテキンを検索し

Table 2 Caffeine content in tea pollens and culture medium on the 24 hrs after germination

	Pollens	Culture medium
-B	16.1(%)	75.9(%)
+B	2.0	74.0

Caffeine content (0.345 mg/g) in tea pollen grains=100%

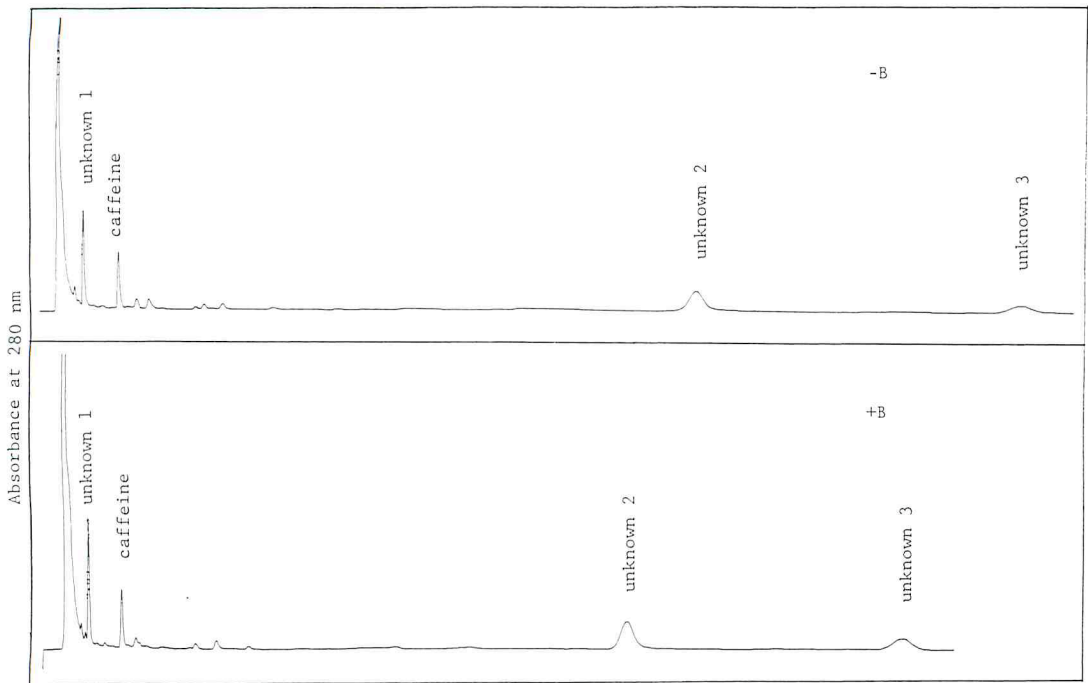


Fig. 3 HPLC elution profiles showing the existence of caffeine released into the medium during tea pollen tube growth  
+B: with boron, -B: without boron

た結果を第3図に示した。カフェイン量は花粉粒中に存在した量の74~76%が20時間の培養中に培地に放出された。

これらのことから、チャの花粉が発芽し、花粉管が生長するにともなって花粉から多量のカフェインが放出されること、またカテキンは生長の過程で代謝されるか、重合などにより溶出されにくくなると推定された。

### 要 約

チャの花粉粒および発芽した花粉ならびに培養培地中のカフェイン、カテキンの存在を高速液体クロマトグラフによって検索、定量した。

チャの花粉粒中にカフェインが存在し、その多く

は発芽過程で培地に放出された。

チャの花粉粒中にカテキンが存在した。その中でエピガロカテキン、エピガロカテキンガレート、エピカテキン、エピカテキンガレートが検出された。しかし花粉が発芽した場合、発芽花粉やその培地にはほとんど見いだされなかった。

### 謝 辞

本研究に使用したカテキンの標準物質は農林水産省茶業試験場の岩浅潔博士、および西条了康博士(現野菜試験場)より分譲していただいた。また本研究の遂行に際して静岡大学農学部 森田明雄、北村修治君の助力を得た。ここに感謝の意を表します。

## 文 献

- 1) 横田博実・小西茂毅：花粉培養法の植物栄養学分野への導入のためのチャ花粉培養法の検討 土肥誌 52  
239～245 (1981)
- 2) 広瀬真一・玉田重吉：茶のカテキン類の高速液体クロマトグラフィーによる定量 茶業研究報告 50  
51～55 (1079)

## Summary

Caffeine and catechins in tea pollen grain, tubes and its culture medium were determined by the high-performance liquid chromatography. Caffeine in tea pollen grains was detected, and almost released into the culture medium during pollen tube growth. Epigallocatechin, epigallocatechin gallate, epicatechin and epicatechin gallate of catechins in tea pollen grain were detected, and the catechins were little observed in the pollen tubes and the medium during germination.

# こんなにあります, アレルゲン

アレルギー抗原(アレルゲン)の種類は無数といわれています。これに備えるために、「多品種少量生産」という経済的二律背反に敢えて取り組んでいます。長くて苦しいアレルギー性疾患診療の一助として!

## A list of ALLERGEN EXT. "TORII" For scratch and intradermal testings

### I. House dust preparation

House dust

### II. Pollens

Pine, red  
Humulus japonicus  
Chrysanthemum  
Japanese cedar  
Ragweed  
Goldenrod  
Orchard grass  
Pinus thunbergii  
Flag  
Spinach

### III. Foods

#### (1) Cereals

Barley  
Pice flour  
Buckwheat flour  
Bread  
Wheat flour  
Konnyaku flour  
Maize flour  
Glutinous rice flour

#### (2) Eggs and Milks

Whole egg  
Egg white  
Milk (Cow's)  
Cheese  
Egg yolk  
Quail's egg  
Milk (skimed)

#### (3) Meats

Rabbit  
Whale  
Pork  
Smoked Bacon  
Beef  
Chicken  
Mutton

#### (4) Fishes

Jack mackerel  
Iwashi  
Bonito  
Flatfish  
Salmon  
Shark  
Sea-bream  
Flying fish  
Flounder  
Tuna  
See-eel  
Eel  
Barracuda

Sand borer  
Mackerel  
Pacific saury  
Cod  
Half-dried Bonito  
Yellow tail

#### (5) Shellfishes

Short-neck clam  
Squid  
Lobster  
Crab  
Clam  
Abalone  
Sea-urchin  
Oyster  
Octopus

#### (6) Vegetables

Azuki beans  
Kidney beans, dried  
Soybeans, immature  
Cucumber  
Arrow-head  
Burdock  
Sweet potato  
Peas with pod, immature  
Champignon  
Ginger  
Broadbeans, immature  
Bamboo shoot  
Red pepper  
Eggplant  
Carrot  
Welsh onion  
Japanese butterbur  
Japanese honeywort, blanchings  
Bakeri garlic  
Wasabia japonica  
Asparagus  
Aralia cordata  
Cabbage  
Ginkgo seeds  
Pepper  
Sesame seeds  
Taro  
Lentinus edodes  
Potato  
Celery  
Japanese radish  
Onion  
Tomato  
Allium tuberosum greens  
Garlic  
Lotus  
Spinach  
Peanuts  
Head lettuce

### Bracken

#### (7) Fruits

Almond  
Strawberry  
Japanese persimmon  
Cherry  
Japanese pear  
Banana  
Grape  
Apple  
Apricot  
Fig  
Japanese chestnuts  
Bitter orange  
Summer orange  
Loquat  
Citrus junos

#### (8) Others

Yeast, Baker's  
Cocoa  
Soy sauce  
Laver  
Hope  
Undaria pinnatifida  
Koji  
Kelp  
Chocolate  
Hijikia-fusififormis  
Miso

### IV. Epidermals

Dog hair  
Cow's leather  
Chicken feather  
Hog hair  
Rabbit hair  
Cattle hair  
Cat hair  
Sheep, wool

### V. Miscellaneous

Flax  
Silk  
Japanese cedar (wood)  
Tatami  
Kapok  
Sandal-wood  
Wheat straw  
Cotton  
Rice plant, dried  
Newspaper  
Buckwheat chaff  
Tea-ground  
Japanese cypress (wood)  
Pine (wood)  
Rice chaff  
Smoke (cigarette)

「トリイ」のアレルゲン各種についての適応症、用法・用量、  
使用上の注意等については製品添付の説明書をご参照ください。

製造  
発売元



鳥居薬品株式会社  
東京都中央区日本橋本町3-3

ALG5312