酵母発酵茶の製造条件の検討及び ラットにおける血糖値上昇抑制作用

¹⁾ 福寿園(株)C.H.A研究開発センター

²⁾ 奈良女子大学大学院人間文化研究科 共生自然科学専攻応用微生物学研究室

³⁾ 武庫川女子大学生活環境学部 食物栄養学科食品衛生学研究室

渡辺 祐子^{1) 2)}・松浦 寿喜³⁾・早川 潔¹⁾・植野 洋志²⁾

(平成21年 3 月30日受理)

Post-fermented green tea with yeast and effects on suppression of glucose absorption in rats

Yuko Watanabe^{1) 2)}, Toshiki Matsuura³⁾, Kiyoshi Hayakawa¹⁾ and Hiroshi Ueno²⁾

¹⁾ Fukujyuen Co., C.H.A Laboratory

²⁾ Nara Women's University

³⁾ Mukogawa Women's University

Summary

The unsterilized tea leaves were fermented by *Saccharomyces cerevisiae* which is widely used for food production. The growth of *S. cerevisiae* and other bacteria were monitored with different concentrations of sucrose and water. Under the condition of 5% sucrose and 28% water, the optimum growth of *S. cerevisiae* was observed while the growth of other bacteria was suppressed. The levels of catechins and bitterness were decreased after the fermentation.

The inhibitory effects of the fermented and unfermented tea suspensions and extracts on intestinal absorption of glucose were examined in rats using portal cannulae. No differences in the glucose absorption levels as well as the inhibitory effects were observed between the fermented and unfermented tea when they were administered as the form of suspension. However, the glucose absorption was clearly suppressed and the inhibitory effects were sustained longer for the fermented tea than the unfermented tea when administered as the extracts. Our results suggest that the intestinal glucose absorption can be inhibited and the inhibitory effects may be sustained by drinking the fermented tea. The low levels of EGCG and ECg in the fermented tea extract also indicate that the presence of water soluble components

¹⁾ 〒619-0223 京都府木津川市相楽台3丁目1-3

²⁾ 〒630-8506 奈良県奈良市北魚屋西町

³⁾ 〒663-8558 兵庫県西宮市池開町6-46

produced by the fermentation process may have a effect on lowering the blood glucose level. These observations suggest that the fermented tea has health-promoting benefits.

Key words :	Post-fermented tea,	後発酵茶
	Blood glucose level	血糖値
	Catechin	カテキン
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	酵母

緒 言

茶は不発酵茶・半発酵茶・発酵茶・後発酵茶の4種類に大別される。不発酵茶は緑茶のように茶葉を収穫後すぐに加熱することにより、酵素を失活させ茶葉中の成分変化を停止させた茶である。半発酵茶と発酵茶の2種類は茶葉中の酵素の働きにより茶葉の成分を変化させた茶であり、それぞれ、烏龍茶と紅茶がある。これに対して、後発酵茶は茶葉に微生物を繁殖させることにより、茶葉の成分を変化させた茶である¹⁾。後発酵茶としては、プアール茶が有名である。

茶葉にはカテキン類(渋味成分:10~25%),カフェイン類(苦味成分:2~4%)、テアニン・グルタミン酸等のアミノ酸(旨味成分:1~4%),食物繊維(30~50%)などが含まれている。中でも緑茶カテキンには抗酸化^{2,3)},抗腫瘍⁴⁾,血圧上昇抑制⁵⁾,糖質吸収抑制^{6,7)},抗菌・抗ウイルス作用⁸⁾,抗アレルギー⁹⁾,消臭,脂質代謝改善等の生理機能が報告されている^{10,11)}。

不発酵茶はガレート型カテキンが豊富であり,半発酵茶・発酵茶は重合カテキンが増加し,後発酵茶は微生物により,カテキンが分解されていると推測されている¹²⁾。カテキンには糖質吸収抑制効果^{6),13),14)}があることから,カテキンが減少すると糖質吸収抑制効果は低下し,糖質が過剰に吸収された結果脂肪が蓄積し,肥満が誘発されると推定されている。しかし,後発酵茶の一種であるプアール茶はカテキンが少ないにもかかわらず,抗肥

満作用のあることが報告されている¹⁵⁾。これらのことから,発酵により生じたカテキン以外の成分が肥満抑制に何らかの効果を示す可能性があり,微生物の発酵に関して詳細な検討が必要と考えられる。

今回,微生物で発酵した茶のモデルとするため,前報¹⁶⁾の麹菌に引き続き,単一の微生物である酵母での培養を検討した。すなわち,食品製造で汎用され安全性が高いとされている微生物の中から,低水分での培養が可能で¹⁷⁾,エタノールを生成するため細菌の増殖が少ないと考えられる酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)を選択し,後発酵による成分変化とラットの血糖値上昇抑制作用の有無について検討したので報告する。

実 験 方 法

・使用酵母(*Saccharomyces cerevisiae*):ドライイースト(日清製粉製)をポテトデキストロース培地で培養分離した酵母を10%麦芽汁培地で24時間前培養して使用した。

・酵母の測定:

希釈平板培養法によりポテトデキストロース寒天培地で30℃,48時間培養後のコロニーを計測した。

・使用茶葉:

- 茶葉1:不発酵茶
(スリランカ産2005年摘採)
- 茶葉2:煎茶
(国産,秋冬番茶,2005年摘採)
- 茶葉3:煎茶
(国産,二番茶,2005年摘採)

・茶葉中での酵母の発酵条件の検討:

茶葉1 (一般生菌数3,000cfu/g 以下, 水分含量5%) 300 gを, スクロース添加量(茶葉の0, 2, 5, 10%)と水分添加量(茶葉の1/4, 1/3, 1/2, 1/1量添加で, それぞれ, 23, 28, 35, 50%)を変化させ, これに前培養した酵母3mLを接種した後よく混合し, 1Lのビーカーに入れ, 30℃で1~6日間, 静置培養した。これらへの酵母の繁殖により適正なスクロース添加量と水分添加量を求めた。

・酵母発酵茶葉試料の調製:

茶葉1~3 (一般生菌数3,000cfu/g 以下, 水分含量5%) 300 gに, スクロース15 gと水100gを加え, これに前培養した酵母3 mLを接種した後よく混合し, 30℃で1から6日間, 静置条件下で発酵させた。発酵した茶葉は時間経過にしたがい約50 gを採取し, 90℃で加熱し, 水分が5%以下(乾燥減量法より測定)になるまで乾燥し, それぞれの目的に応じて, 成分分析, 官能評価又は血糖値上昇抑制効果の試料に供した。

・カテキン類及びカフェインの分析¹⁸⁾:

乾燥した茶葉0.1 gを粉碎し80℃, 100mLの湯で30分抽出した液を試料とし, 株式会社島津製作所製高速液体クロマトグラフ(LC-6A)で分析した。分析条件は, 移動層0.1mol/Lリン酸緩衝液(pH3.0)・アセトニトリル混液(7~30%グラジエント), カラムTSK-GELODS-80Tm(内径4 mm×長さ250mm), カラム温度40℃, 流速1.0mL/min, 注入量10 μ L, 検出波長280nmを用いた。

・官能評価:

試料に5日間酵母で発酵した茶葉1と発酵していない茶葉1を用い2点比較法で比較した。茶葉1は茶葉1~3の中で最もEGC g含量が高く渋みが強いいため, 発酵の効果が顕著だと考えて使用した。

茶葉3 gに熱湯200mLを加え, 3分抽出した液につき, コク, 旨み, 甘み, 渋みを福寿園CHA研究センターの所員10人がパネラー

となり評価した。

・ラットにおける血糖値上昇抑制作用:

試料: 5日間酵母で発酵した茶葉1と発酵していない茶葉1を用いた。

懸濁液: 茶粉末1 gを蒸留水10mLに分散した後, 小型細胞破碎装置(東京理科器械株式会社製CD-1000型)にて15分間粉碎し調製した。

抽出液: 粉碎した茶葉20 gに70℃に加温した蒸留水180mLを加え30分間70℃に加温したまま攪拌した後, 速やかに10分間3,000rpmで遠心分離し, 得られた上清を試料とした。

使用動物: 4週齢のSprague-Dawley系雄性ラット(Jcl;SD, 日本クレア(株))を購入し, 室温23 $\pm$ 1℃, 湿度55 $\pm$ 7%, 明暗周期12時間(明期8:00-20:00)の条件下で飼育した。固形試料MF(オリエンタル酵母株式会社)及び水は自由に与え, 4週間予備飼育後(8週齢), 実験に供した。

胃瘻および門脈カテーテル留置ラットモデルは既報¹⁹⁾に従って作成した。ラットをステンレス製代謝ケージ内で24時間個別飼育し, この間固形試料MF及び水(水道水)は自由に与えた。これらのラットを16時間絶食したのち, 15%スクロース水溶液をペリスターポンプで270mL/kg/dayの速度で持続投与した。投与開始2時間後, 門脈血中グルコース濃度が一定となったことを確認したラットに上記試料を懸濁液又は抽出液で7.2mL/kg投与した。

採血: 試料投与後0~150分まで10分間隔で門脈血50 μ Lを採血した。血液は, 遠心分離して血漿とし, 血漿中グルコース濃度はグルコース測定用キット(富士ドライケム4000V: 富士フィルム株式会社)を用いて測定した。阻害作用の持続時間は, 各種茶投与後の各時間の門脈血漿中グルコース濃度を投与前の門脈血漿中グルコース濃度と比較し, 有意差が認められる時間帯として表示した。なお, 動物実験は「武庫川女子大学動物実験指針」に

則って実施した。

統計処理：実験データは平均値±標準誤差で示した。各種茶投与後の各時間帯の門脈血中グルコース濃度と、投与前の門脈血中グルコース濃度群間の有意差検定はBonferroni/Dunnの多重比較検定（Stat View-J5.0）により行った。

実験結果

1. 茶葉中での酵母の発酵条件の検討

300 g の茶葉 1 に、それぞれ 0, 6, 15, 30 g のスクロースと水100gを加え、これに前培養した酵母 3 mL を接種した後よく混合し、1 L のビーカーに入れ、30℃で1～3日間、静置培養した。

その結果、図1に示すように、15 g のスク

ロース添加（茶葉比 5 %）により最も繁殖が促進された。スクロース無添加では、酵母の増殖は遅く、カビ等の汚染微生物の生育が認められた。

次に、茶葉比 5 % のスクロースを添加した茶葉 1 の水分含量を23～50%に変化させて繁殖状況を検討した。その結果、図2に示すように、28%以上の水分含量（茶葉重量の1/3の水の添加）が必要であった。この時、培養開始時の細菌数を抗微生物地を用いて確認したところ、細菌類のコロニーは1 g 当たり103以下であり、培養1日以降も増殖が見られなかった。

以上の結果、茶葉の培養は特に断りのない限り、殺菌処理なしの茶葉にスクロース 5 %

図1 茶葉中での酵母培養に及ぼすスクロース添加の影響

1, 6, 15, 30 g のスクロースと水100gを加えた茶葉（使用茶葉 茶葉 1）300 g に、酵母を接種後、30℃で1～3日間、静置培養。

図2 茶葉中での酵母培養に及ぼす水分添加の影響

15 g のスクロースと水を加え、水分含量を23, 28, 35, 50%になるように設定した茶葉（使用茶葉 茶葉1）300 g に、酵母を接種後30℃で1～6日間、静置培養

を添加し、水分含量28%で行った。

2. 酵母発酵による茶葉成分の変化

3種類の茶葉につき発酵前後のカテキン量、カフェイン量を測定した（表1）。また、茶葉1の酵母発酵による経時変化を図3に示

した。その結果、発酵により茶カテキン、特にEGCgは著しく分解していたが、カフェインはほとんど変化しなかった。

カテキンの分解を考慮し、発酵時間は5日間とした。

表1 発酵前後のカテキン量・カフェイン量の変化

	茶葉1		茶葉2		茶葉3	
	スリランカ産 発酵前	スリランカ産 酵母発酵5日目	日本産(秋番茶) 発酵前	日本産(秋番茶) 酵母発酵5日目	日本産(二番茶) 発酵前	日本産(二番茶) 酵母発酵5日目
EGC	3.06±0.04	1.98±0.03**	4.34±0.03	2.30±0.05**	4.58±0.04	2.70±0.05**
EC	0.44±0.01	0.26±0.01**	0.50±0.00	0.23±0.01**	0.65±0.01	0.79±0.03*
EGCg	9.36±0.08	6.32±0.08**	4.50±0.04	2.64±0.07**	9.05±0.07	5.68±0.11**
ECg	2.04±0.02	1.39±0.02**	0.76±0.01	0.45±0.01**	1.38±0.02	0.71±0.03**
総カテキン	14.9±0.15	9.95±0.14**	10.1±0.08	5.62±0.14**	15.66±0.13	9.88±0.22**
caffeine	3.35±0.03	3.41±0.03	1.46±0.02	1.48±0.02	2.42±0.02	2.53±0.03

(水分補正後、平均±標準誤差 (n = 3))

** : $p < 0.01$ * : $p < 0.05$ (処理していない茶葉と比較)

図3 茶葉中での酵母培養における茶葉のカテキン量・カフェイン量の変化（乾燥物換算）
15gのスクロースと水100gを加えた茶葉（使用茶葉 茶葉1）300gに、酵母を接種後30℃で9日間、静置培養

3. 酵母発酵による茶葉の官能評価の変化

茶葉1を用いて酵母で発酵させた茶の官能評価の変化について検討した（表2）。その結果、渋みは危険率1%以下で減少した。また、旨味、甘味が増加したという意見もあったが、有意差はなかった。

4. 酵母発酵によるラットの糖質吸収抑制作用の変化

酵母発酵前後の茶葉1を粉碎し、その10%懸濁液を投与して、血糖値上昇抑制作用を調べた（図4）。発酵前では投与直後から糖質吸

収が抑制され、血糖値が急激に低下した。しかし、発酵すると投与直後の血糖値の低下とその後の上昇がいずれも穏やかになる傾向が見られた。発酵前の茶葉では有意に血糖値が低下した時間は60分間であり、発酵後の茶葉は有意に血糖値が低下した時間は50分間であった。

次に、茶は抹茶のように懸濁液で摂取するよりも抽出液で摂取することが一般的であることから、懸濁液と同量の抽出液を調製し、血糖値上昇抑制作用を調べた。抽出液は成分の抽出を十分行うため、70℃で30分間抽出した。カテキン類の抽出を確認したところ、表

表2 酵母発酵茶の官能評価結果

	発酵前が強い	変わらない	発酵後が強い
旨み	0	7	3
渋み	10**	0	0
コク	2	5	3
甘み	0	6	3
旨み+甘み	0	4	6

**： $p < 0.01$ （処理していない茶葉と比較）

3に示すようにほぼ100%抽出されていた。図5に示すように発酵前の茶葉抽出液では、懸濁液より投与直後の血糖値降下及びその回復は急激であり、有意に血糖値が低下した時間は40分間であった。発酵後の茶葉抽出液は発酵前の茶葉抽出液に比べて、投与直後の血糖値の低下は小さかったが、血糖値の上昇が穏やかであった。そのため、有意に血糖値が低下した時間は発酵前に比べて長くなり、50

分間であった。特に有意差はなかったが、平均血糖値は抽出前は70分で160mg/mLを超えたのに対し、発酵後は80分まで血糖値が160mg/mL以下であった。このように、発酵前後の抽出液においては、いずれも糖質吸収抑制作用を示し、発酵前ではサンプル投与直後に急激な血糖値下降が起こるのに対し、発酵後では糖質吸収抑制作用が持続する傾向が見られた。

図4 スリランカ緑茶(未発酵(上)・発酵後(下))懸濁液投与時の門脈血中グルコース濃度の変化
使用ラット：胃瘻および門脈カテーテル留置ラットモデル，投与量：7.2mL/Kg
グルコース濃度は平均値±標準誤差で示した。
***： P (危険率) < 0.001 **： $P < 0.01$ *： $P < 0.05$
(グルコース濃度を投与前の門脈血漿中グルコース濃度と比較)

表3 血糖値降下実験に供した抽出液・懸濁液のカテキン量・カフェイン量

	懸濁液濃度 (mg/mL)		抽出液濃度 (mg/mL)	
	発酵前	発酵後 (発酵期間 5 日)	発酵前	発酵後 (発酵期間 5 日)
EGC	3.06	1.99	3.03	2.04
EC	0.44	0.25	0.82	0.60
EGCg	9.36	6.34	8.25	6.41
ECg	2.04	1.40	2.68	2.04
caffeine	3.35	3.41	2.21	2.16

(n = 1)

図5 スリランカ緑茶 (未発酵 (上)・発酵後 (下)) 抽出液投与時の門脈血中グルコース濃度の変化
使用ラット：胃瘻および門脈カテーテル留置ラットモデル，投与量：7.2mL/Kg
グルコース濃度は平均値±標準誤差で示した。

*** : $P < 0.001$ ** : $P < 0.01$ * : $P < 0.05$

(グルコース濃度を投与前の門脈血漿中グルコース濃度と比較)

考 察

緑茶の主要成分の1つであるカテキン類(10~25%含有)には糖質吸収抑制、脂質代謝改善等の生理機能が報告されている。特に、糖質吸収抑制作用はin vitroでEGCgとECgのスクラーゼ、マルターゼ活性阻害⁶⁾、in vivo(マウス)でEGCgとECgの糖質吸収抑制作用⁷⁾が報告されており、緑茶の抗肥満効果の1つと考えられている。プーアル茶はカテキンが分解されて多いものでも1.5%程度しか含まれていないにもかかわらず¹²⁾抗肥満作用があることが報告されている¹⁵⁾。このことから、後発酵茶の抗肥満効果にはカテキンではなく、別の発酵生成物が関与している可能性もあると考えられる。

今回、食品で汎用される安全な微生物であること、緑茶カテキンの抗菌作用の影響を受けにくいこと⁸⁾、低水分下で生育可能であること¹⁷⁾、抗菌作用を持つエタノールを生成すること等を考慮し、酵母(*S. cerevisiae*)を用いて茶の発酵を検討した。

酵母による茶葉の発酵は、まだほとんど報告されていない。そこで、発酵後の乾燥の容易さも考慮に入れて、後発酵茶と同じ固体条件下での発酵による成分、効能や香味の変化について調べた。さらに、酵母発酵茶におけるラットの血糖値上昇阻害作用について検討した。

まず、酵母の発酵条件について調べた。緑茶に水を加え加熱殺菌すると緑茶の色や香味が著しく失われるので、混入細菌による汚染度の少ない緑茶を用い、無殺菌条件下で酵母発酵を行なうことにした。酵母は緑茶に水分を添加しただけでは生育が遅延し、カビ類の繁殖が認められた。そこで、生育条件を検討した結果、茶葉にスクロースを添加すると酵母は速やかに繁殖した。酵母が生育するためには緑茶のみでは糖質が不足していたと考えられる。しかし、糖質の添加量を茶葉の10%

に増やすと酵母の生育が遅れた。これは、浸透圧の上昇による生育阻害と考えられた。また、酵母の生育に必要な水分含量を検討したところ、水分23%では生育せず、28%以上の水分含量で生育することがわかった。そこで、緑茶に5%のスクロースを添加後、水を添加し28%の水分含量とし、 1.5×10^6 cells/g以上のパン酵母を接種して培養したところ、茶葉の殺菌処理なしでも、茶葉に含まれる混入細菌は増殖できず、ほぼ酵母のみを培養することができた。酵母の生育により、緑茶中の混入細菌やカビの生育が抑えられる理由としては、酵母の生産するエタノールによる細菌の生育抑制が考えられる。

次に、発酵茶葉(乾燥後)の成分と香味の変化を調べた。前報¹⁶⁾の麹菌では、タンナーゼによるガレート基の加水分解が起こり、ガレート体のカテキンであるEGCgとECgが減少し、加水分解カテキンであるEGCやECが増加していた。しかし、今回の酵母では、発酵茶葉はすべてのカテキン類が減少しており、それに伴い麹菌発酵茶に比べ官能評価での渋みの低減が認められた。また、甘みが消失し、発酵直後にエタノール臭がすることより、添加したスクロースは酵母により消費されたと推定される。

さらに、発酵前後でのラットの血糖値上昇抑制作用の変化を検討した。

懸濁液を投与した場合、発酵するとEGCgとECgが減少するため(表1)、投与直後の血糖値の低下が穏やかになり、結果として血糖値上昇抑制時間は短縮された。しかし、懸濁液ではカテキンの溶解速度や他の成分(不溶性食物繊維等)の影響も考えられた。

そこで、茶は通常抽出液として飲まれることを考慮し、再度抽出液での実験を行った。投与直後の発酵前の抽出液では溶解しているEGCgやECgの濃度が高いため、スクラーゼの阻害効果が強く、投与直後の糖質吸収が大きく抑制された⁶⁾と推測される。一方、発

酵後の抽出液は、EGCgやECgが減少しているため血糖値上昇抑制作用は大きくはなかった⁷⁾が、効果の持続が認められた。プーアル茶の例もあり、EGCgやECg以外の血糖値上昇抑制効果を持続させる水溶性成分の存在が示唆される。

血糖値上昇抑制効果を他の薬剤と比較すると、対照薬であるアカルボースは1回分を10mLに溶解し2.4mL/kg投与した時、持続時間が120分になること、及び、作用時間が120分未満では作用持続時間が阻害剤の投与量に比例することが報告されている¹⁹⁾。これを利用し120分に達するのに必要とされる倍率を乗じてアカルボース相当量を算出した。発酵前抽出液の場合1gを10mLで抽出した液を7.2mL/kgと3倍量投与した時、40分作用が持続したことから、アカルボース1錠相当量を算出すると、発酵前茶葉9g(1g×3×120分/40分)の茶からの抽出物と算出された。同様に、発酵後では7.2g(1g×3×120分/50分)の茶から抽出した量に相当すると推定された。これより、発酵の有無を問わず有効な血糖値上昇抑制作用が1回当たり10g以下の茶葉で得られることが明らかになった。特に、酵母発酵茶は発酵前の茶葉に比べて渋みが軽減されており飲みやすいため、日常的に無理なく摂取できると考えられる。

成分を特定するには至らなかったが、酵母発酵茶には血糖値上昇抑制の持続に関与した水溶性成分が含まれている可能性が示唆された。また、酵母発酵茶は大きな血糖値降下を伴わず活性が持続するので、食品として摂取する場合の安全性から考えると、非常に好ましい傾向といえる。また、渋みが大幅に軽減されるという利点もあり、機能性食品として有望と考えられる。

摘 要

発酵による効果を調べるために、食品でよく使われている微生物である酵母(*Saccharomyces*

cerevisiae)により発酵させた茶について、その成分変化と糖質吸収抑制作用について検討した。

スクロースと水の含量を変えて茶葉中での酵母の生育について検討した結果、スクロースと適度な水を加えた殺菌していない茶葉に酵母を接種すると、酵母が優先的に繁殖し、酵母発酵茶が得られた。できた酵母発酵茶はカテキン類が分解されており、渋みが軽減されていた。

次に、ラットの小腸からのスクロースの吸収阻害を調べた。懸濁液では発酵の前後でほとんどスクロースの吸収に差は認められなかったが、抽出液では発酵により吸収抑制作用の持続が認められた。持続効果があることから、機能性食品として有望であると思われる。さらに、発酵によりEGCgとECg以外の血糖値上昇抑制作用のある水溶性成分の増加が示唆された。

引 用 文 献

- 1) 宮川金次郎(1994): 後発酵茶の成分。さんえい出版, 東京, p65-128.
- 2) Liu Z., L. P. Ma, B. Zhou, L. Yang and Z. L. Liu (2000): Antioxidative effects of green tea polyphenols on free radical initiated and photosensitized peroxidation of human low density lipoprotein. *Chem. Phys. Lipids*, 106 (1), 53-63.
- 3) Salah N., N. J. Miller, G. Paganga, L. Tijburg, G. P. Bolwell and C. Rice-Evans (1995): Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidants. *Arch. Biochem. Biophys.*, 322(2), 339-346.
- 4) Lambert J. D and C. S. Yang (2003): Mechanisms of cancer prevention by tea constituents. *J. Nutr.*, 133(10), 3262S-3267S.
- 5) Potenza M. A, F. L. Marasciulo, M. Tarquinio, E. Tiravanti, G. Colantuono, A. Federici, J.

- A. Kim, M. J. Quon, and M. Montagnani (2007) : EGCG, a green tea polyphenol, improves endothelial function and insulin sensitivity, reduces blood pressure, and protects against myocardial I/R injury in SHR. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 292(5), E1378-E1387.
- 6) Oki T., T. Matsui, and Y. Osajima (1999) : Inhibitory effect of alpha-glucosidase inhibitors varies according to its origin. *J. Agric. Food Chem.*, 47(2), 550-553.
- 7) Matsumoto N, F. Ishigaki, A. Ishigaki, Y. Iwashina and Y. Hara (1993) : Reduction of Blood Glucose Levels by Tea Catechin. *Bioscience, biotechnology and biochemistry*, 57, 525-527.
- 8) Hamilton-Miller J. M. (1995) : Antimicrobial properties of tea (*Camellia sinensis* L.) . *Antimicrob. Agents. Chemother.*, 39(11), 2375-2377.
- 9) Tachibana H.; Y. Fujimura and K. Yamada (2004) : Tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate associates with plasma membrane lipid rafts: lipid rafts mediate anti-allergic action of the catechin. *Biofactors*, 21, (1-4), 383-385.
- 10) 村松敬一郎・小国伊太郎・伊勢村護・杉山公男・山本（前田）万里（2002）：茶の機能－生体機能の新たな可能性．学会出版センター：東京，pp.13-426.
- 11) Hara Y. (1994) : Physiological functions of tea polyphenols: Part 2. *Am. Biotechnol. Lab.*, 12(9), 18.
- 12) 中林敏郎・伊奈和夫・坂田完三（1991）：緑茶・紅茶・烏龍茶の化学と機能．弘学出版，pp.78.
- 13) Honda M. and Y. Hara (1993) : Inhibition of Ratt Small Intestinal Sucrase and α -Glucosidase Activities by Tea Polyphenols. *Bioscience, biotechnology and biochemistry*, 57(1) 123-124.
- 14) Gamberucci A., L. Konta, A. Colucci, R. Giunti, J. E. Magyar, J. Mandl, G. Banhegyi, A. Benedetti and M. Csala (2006) : Green tea flavonols inhibit glucosidase II. *Biochem Pharmacol.*, 72(5), 640-646.
- 15) 奥田拓道（2001）：健康茶の抗肥満作用（第1報）．日本体質学雑誌，63，60-65
- 16) 渡辺祐子・早川潔・植野洋志（2008）：麹菌による茶葉の呈味改善．家政誌，59，999-1004
- 17) Guerzoni M. E., G. Suzzi, C. R. Lerici, R. Bartolini and G. Testa (1976) : Water activity and food stability. I. Effects on viability of *Saccharomyces cerevisiae* cells (author's transl). *S Ta Nu* 6 (5-6), 295-300.
- 18) Ikegaya K., H. Takayanagi and T. Anan (1990) : Method of tea analysis. 茶研報 71, 43-74.
- 19) 松浦寿喜・吉川友佳子（2004）：各種健康茶のラットにおける糖質吸収抑制作用．薬学雑誌，124(4)，217-223.
- 20) Chand Pasha G. R. (2005) : Nutritional and medical improvement of black tea by yeast fermentation. *Food Chemistry*, 89, 449-453.
- 21) Hata Y., H. Ishida, E. Ichikawa, A. Kawato, K. Suginami and S. Imayasu (1998) : Nucleotide sequence of an alternative glucoamylase-encoding gene (*glaB*) expressed in solid-state culture of *Aspergillus oryzae*. *Gene*, 207(2), 127-134.