

生コーヒー豆エキス *COFFEE BEAN EXTRACT*

ダイエット・糖尿病予防
食品素材

- 生コーヒー豆エキス-P
(水溶性粉末、食品用途)
- 生コーヒー豆エキス-PC
(水溶性粉末、化粧品用途)



オリザ油化株式会社

ver. 4.1 HS

ダイエット・糖尿病予防
食品素材
生コーヒー豆エキス
COFFEE BEAN EXTRACT

1. はじめに

肥満は、過食や運動不足などが原因で発症し、生活習慣病のリスクファクターと考えられています。平成14年に国内で実施された糖尿病実態調査によると、糖尿病患者と将来発症の可能性のあるいわゆる糖尿病予備軍の総数は、1,620万人にのぼるとされ、予防や治療には肥満の解消が不可欠であると提言されています。

肥満や糖尿病の発症リスクが高まる中、健康食品業界におけるダイエット食品や糖尿病予防食品の市場規模は、拡大傾向にあります。脂肪をターゲットとしたダイエット素材には、脂肪代謝を促進するカプサイシン、脂肪の吸収量を減らすキトサン、さらに脂肪分解促進作用を有するシトラス・アウランティウムなどがあり、これらは生活習慣病予防のみならず、セルライトや水太りの解消、体脂肪減少など、美容的側面から女性の痩身をサポートする食品にも配合されています。一方、糖尿病予防素材としては、難消化性デキストリン、グアバ葉、バナバ葉などがあり、一部は特定保健用食品の表示許可成分の認定を受けております。このように、肥満と糖尿病は密接に関係し、それぞれの疾病予防を訴求した機能性素材の上市数も増加傾向にありますが、ダイエットと糖尿病予防の二つを同時に訴求した素材はほとんど見当たりません。

オリザ油化では、**糖尿病と肥満のケアが同時に可能な素材**について、調査を行った結果、**クロロゲン酸類**や**カフェイン**を豊富に含有する食品「コーヒー豆」の機能に着目しました。クロロゲン酸は、コーヒーの悪味や雑味の原因物質として永く敬遠されてきた成分ですが、ドイツの製薬会社によって、この成分が肝臓の**糖新生**に関与する**律速酵素グルコース-6-フォスファターゼ**の**選択的阻害剤**であることが明らかにされ、糖尿病治療薬創生のための合成研究が進みつつあります。また糖新生は、**ダイエット時における糖質の摂取制限によっても亢進**し、脂肪燃焼の場の一つである筋肉を減少させることから、太りやすい体質になるだけでなく、**ダイエット後のリバウンド**が懸念される生理現象です。糖新生を抑制するクロロゲン酸は、生豆中に焙煎時と比較して高濃度に含有されています。²⁾ このことから、**焙煎前のコーヒー豆は、糖尿病や肥満の予防に最適な素材**であると考えられます。一方、コーヒーのもう一つの主成分である**カフェイン**の重要な機能として、スポーツ時の運動効率や敏捷性を高めるとともに、**エネルギー消費と脂肪分解を促進**する働きがあることが知られています。昨今、スポーツ飲料としてのコーヒーやカフェインの有用性が注目されつつあるのも事実です。

弊社では、コーヒー生豆について、既報とは異なる観点から抗肥満作用の評価を行い、その有用性を確認した結果、この度「生コーヒー豆エキス」を上市

することとなりました。「生コーヒー豆エキス」に含有されるダイエット機能成分については、クロロゲン酸を 24%以上、クロロゲン酸類（クロロゲン酸、フェルラ酸、*p*-クマル酸、カフェ酸およびジカフェオイルキナ酸など）を 45%以上になるようにそれぞれ含有量を厳密に規格化しております。さらに製品特長として、**水溶性が非常に高い**ことから、アミノ酸含有飲料を始めとする各種ダイエット機能性飲料への配合を推奨します。「生コーヒー豆エキス」は、ダイエット時のリバウンド対策を考えたダイエット食品や糖尿病予防を目的とした様々な商品にお使いいただけるものと考えております。

- 1)
- 2) Moon J. K. et al., Role of roasting conditions in the level of chlorogenic acid content in coffee beans: correlation with coffee acidity. *J. Agric. Food Chem.* **57**, 5365-9 (2009).

コーヒーの生豆

コーヒーの実

2. コーヒーの効能

(1) くすりとしてのコーヒーの歴史

歴史上、コーヒーに関する最古の記述は、11世紀のイスラム世界にまで遡ります。出典によると、イスラムの名医ラーゼスは、コーヒーを胃薬として使用していたようです。飲料としての利用が定着した16世紀になると、カフェインによる覚醒作用は、イスラムを経てヨーロッパに伝わり、アルコールにかわる刺激が、19世紀の産業革命に活気を与えたということです。今日、カフェインは薬理学の教科書にも記載され、その中枢興奮、覚醒および利尿作用は広く知られるところとなっております。さらに近年、コーヒーについて、以下の研究結果が報告され、刺激物から健康飲料^{*}へとコーヒーに対する人々の意識は変わりつつあります。

* Fukushima Y. et al., Coffee and green tea as a large source of antioxidant polyphenols in the Japanese population. *J. Agric. Food Chem.* **57**, 1253-9 (2009).

(2) ストレスによって生じる活性酸素を除去

コーヒーのカフェインに、精神的ストレスを緩和する作用があることはよく知られていますが、飲料の中で最も強い抗酸化活性を有するコーヒーには、ストレスによって生じる活性酸素を消去する働きが期待できます。

Pellegrini N., *et al.*, Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different *in vitro* assays. *J. Nutr.* **133**, 2812-9 (2003).

(3) 二日酔いを解消し、肝硬変を予防する

カフェインは、肝臓や腎臓の働きを活発にするので、二日酔いの原因となるアセトアルデヒドの分解を早めるとともに、利尿作用により分解物の排出が促進されます。さらに、1日にコーヒーを2杯以上飲む人は、肝硬変による死亡リスクが軽減すると報告されています。¹⁾ また最近では、ウイルス性肝炎に対する予防効果に関する報告もあります。²⁾

1) Tverdal A., *et al.*, Coffee intake and mortality from liver cirrhosis. *Ann. Epidemiol.* **13**, 419-23 (2003).

2) Inoue M., *et al.*, Effect of coffee and green tea consumption on the risk of liver cancer: cohort analysis by hepatitis virus infection status. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* **18**, 1746-53 (2009).

(4) HDL-コレステロールを上げ、動脈硬化を予防

HDL-コレステロールの数値が高い人は、動脈硬化を起こしにくいと言われています。コーヒーの飲用により、このHDL-コレステロールが増加したという報告があります。

Ehrlich A., *et al.*, Effect of processed and non-processed coffee samples on gastric potential difference. Study with healthy male *Helicobacter pylori*-positive and *Helicobacter pylori*-negative volunteers. *Arzneimittelforschung* **49**, 626-30 (1999).

(5) 直腸ガンのリスクを軽減

愛知県ガンセンターから、1日にコーヒーを3杯以上飲む人は、直腸ガンになる危険度が半減するという調査結果が報告されています。この作用にはコーヒー中に含まれるクロロゲン酸の、抗腫瘍細胞活性の寄与が考えられます。

Inoue M., *et al.*, Tea and coffee consumption and the risk of digestive tract cancers: data from a comparative case-referent study in Japan. *Cancer Causes Control* **9**, 209-16 (1998). Jiang Y., *et al.*, Induction of cytotoxicity by chlorogenic acid in human oral tumor cell lines. *Phytomedicine* **7**, 483-91 (2000).

3. コーヒー生豆中の糖尿病予防およびダイエット成分

コーヒー生豆中には、クロロゲン酸を主体としたケイヒ酸誘導体が高濃度に含有されています。コーヒー摂取後、クロロゲン酸類は血中でカフェ酸の硫酸あるいはグルクロン酸抱合体として存在し、血中濃度は摂取1時間後にピークに達します¹⁾。また、コーヒーとして摂取したクロロゲン酸の約3分の1が吸収されると報告されています²⁾。近年では、Farahら³⁾がコーヒー生豆由来のクロロゲン酸類の吸収性が高いことを報告しています。クロロゲン酸の抗糖尿病作用に関する研究として、肝臓における糖新生の最終段階の酵素であるグルコース-6-フォスファターゼ阻害作用⁴⁾やインスリン分泌促進作用⁵⁾が報告されています。糖新生は、ダイエット時における糖質の摂取制限によっても亢進し、脂肪燃焼の場の一つである筋肉を減少させることから、ダイエット後のリバウンドが懸念される生理現象です。したがってクロロゲン酸には、ダイエット時のサポート機能も期待できます。さらに臨床では、毎日90 mg 摂取することにより、食後過血糖を平均で15~20%抑制したという報告もあります⁶⁾。

ダイエットにおいては、カフェインも重要な成分です。安静時のカフェイン摂取は、血中アドレナリンの上昇を伴うグルコース消費の促進を惹起します⁷⁾。一方、運動前の摂取では、換気機能や脂肪分解が促進し⁸⁾、運動効率や持久力が

向上することが報告されています⁹⁾。このように安静時、運動時の摂取によるダイエットサポート機能を有するカフェインですが、最近話題の素材であるカルニチンやコリンと併用することで、血中レプチンレベルや体脂肪の減少が、顕著にみられることもラットレベルで報告されています¹⁰⁾。

従来カフェインは、インスリンの感受性を下げることから、糖尿病に対しては好ましくない成分であると考えられていました。しかし近年の臨床レポートには、肯定的な報告もあり、例えばコーヒーの摂取によりⅡ型糖尿病のリスクが軽減することが報告されています¹¹⁾。

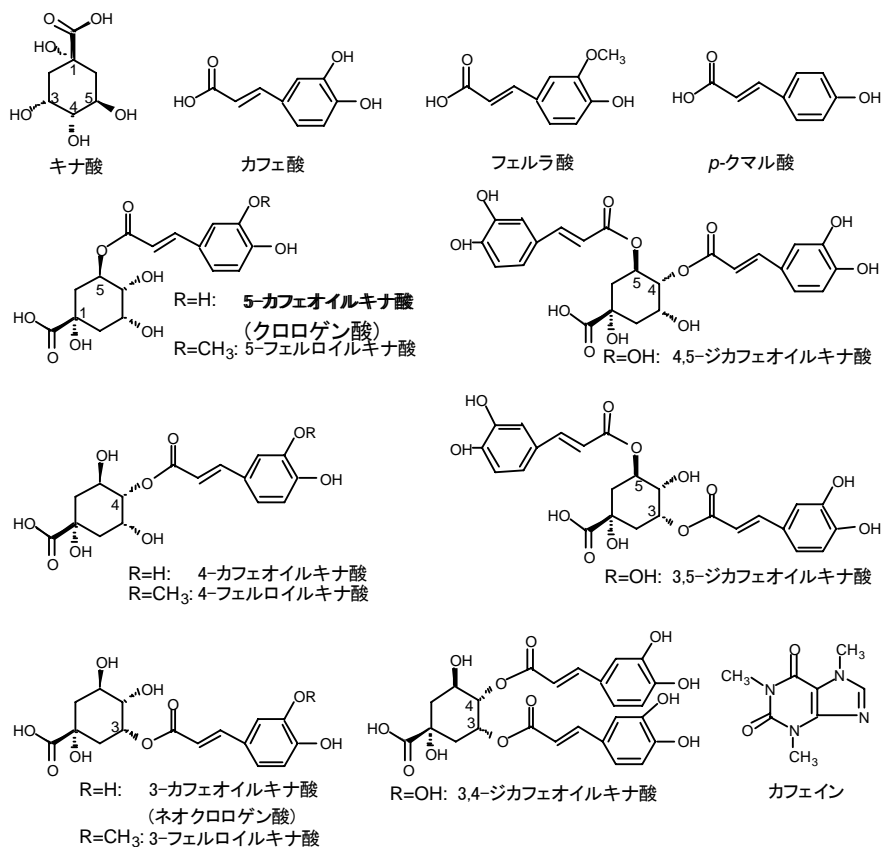


図 1. コーヒー生豆中に含まれる機能性成分

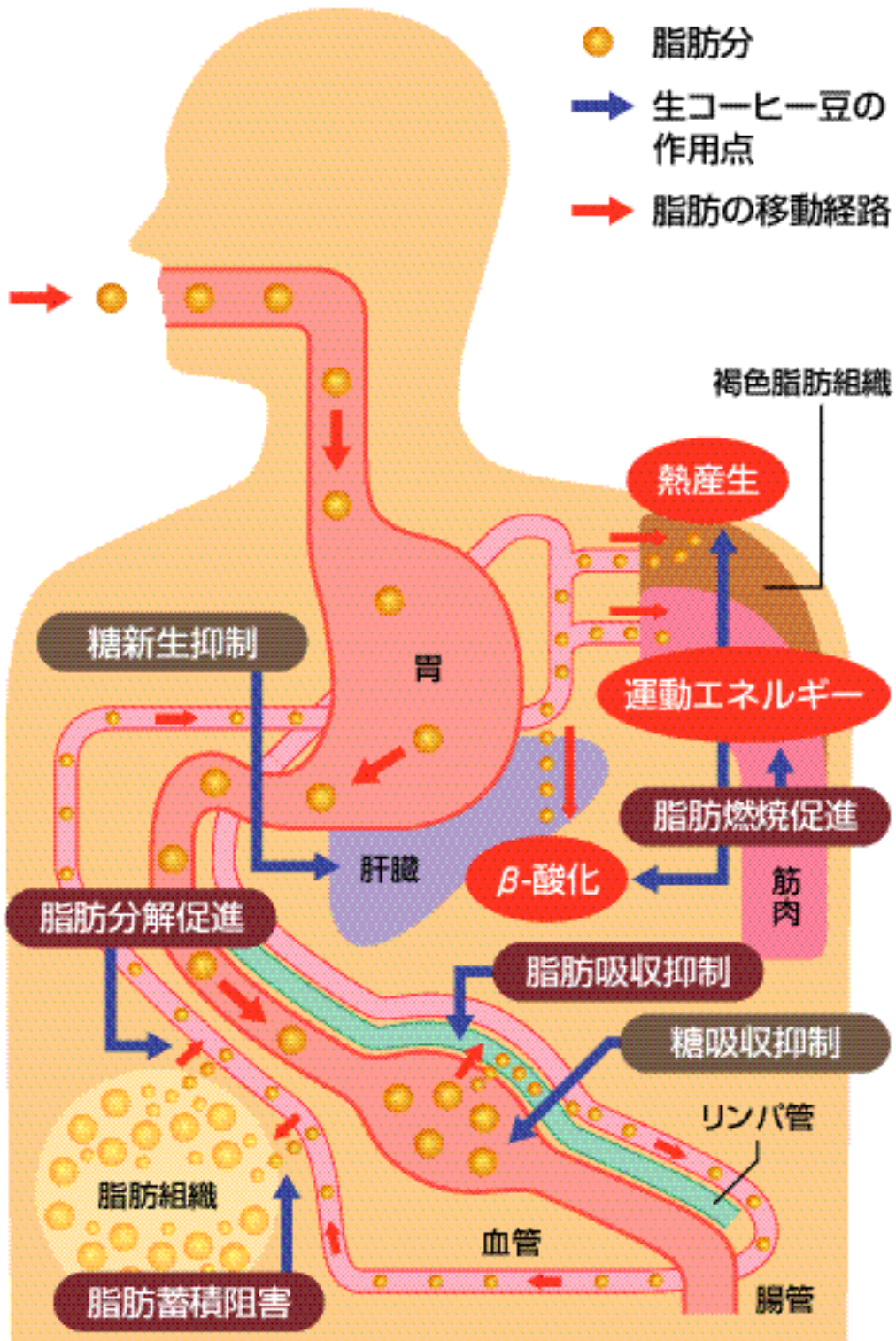
参考文献

- 1) コーヒー摂取後のクロロゲン酸の吸収〔ヒト, (1)〕
Naldini M., *et al.* Absorption of phenolic acids in humans after coffee consumption. *J. Agric. Food Chem.* **50**, 5735-41 (2002).
- 2) コーヒー摂取後のクロロゲン酸の吸収〔ヒト, (2)〕
Olthof M.R., *et al.* Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans. *J. Nutr.* **131**, 66-71 (2001).
- 3) コーヒー摂取後のクロロゲン酸の吸収〔ヒト, (3)〕
Farah A., *et al.* Chlorogenic acids from green coffee extract are highly bioavailable in humans. *J. Nutr.* **138**, 2309-15 (2008).
- 4) クロロゲン酸のグルコース-6-フォスファターゼ阻害 (*in vitro*)
Arion W.J., *et al.* Chlorogenic acid and hydroxynitrobenzaldehyde: new inhibitors of hepatic glucose 6-phosphatase. *Arch. Biochem. Biophys.* **339**, 315-22 (1997).
- 5) クロロゲン酸のインスリン分泌促進作用 (*in vitro*)
野村英作ら. フェルラ酸及び関連化合物のインスリン分泌促進作用. 平成13年度和歌山県工業技術センター「研究報告」 17-9 (2001).
- 6) クロロゲン酸の食後過血糖抑制 (ヒト)
Adidoff M.T., *et al.* Special clinical report for Russian Ministry of health. *Moscou, clinical report* 12 (1999).
- 7) 安静時のカフェイン摂取におけるグルコース消費の上昇 (ヒト)
Greer F., *et al.* Caffeine ingestion decrease glucose disposal during a hyperinsulinemic-euglycemic clamp in sedentary humans. *Diabetes* **50**, 2349-54 (2001).
- 8) カフェイン摂取による運動持続性向上効果 (ラット及びヒト)
Ryu S., *et al.* Caffeine as a lipolytic food component increases endurance performance in rats and athletes. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **47**, 139-46 (2001).
- 9) コーヒー及びカフェイン摂取による代謝及び運動持続性の向上効果 (ヒト)
Graham T.E., *et al.* Metabolic and exercise endurance effects of coffee and caffeine ingestion. *J. Appl. Physiol.* **85**, 883-9 (1998).
- 10) カフェイン, カルニチン及びコリンの体脂肪及び血清レプチン減少作用 (ラット)
Hungu N., *et al.* Caffeine, carnitine and choline supplementation of rats decreases body fat and serum leptin concentration as dose exercise. *J. Nutr. Physiol.* **130**, 152-7 (2001).
- 11) コーヒーの摂取とII型糖尿病のリスクとの関係 (ヒト)
a) Van Dam R.M., *et al.* Coffee consumption and risk of type 2 diabetes mellitus. *Lancet* **360**, 1477-8 (2002)., b) Tuomilehto J., *et al.*, Coffee consumption and risk of type 2 diabetes mellitus among middle aged Finnish men and woman. *J. Am. Med. Assoc.* **291**, 1213-9 (2004). c) Oba S., *et al.*, Consumption of coffee, green tea, oolong tea, black tea, chocolate snacks and the caffeine content in relation to risk of diabetes in Japanese men and women. *Br. J. Nutr.* **103**, 453-9 (2010).

生コーヒー豆エキスの生理活性一覧

- (1) 脂肪吸収抑制作用
- ① 脂肪吸収遅延作用 (*in vivo*) p. 8
 - ② リパーゼ阻害活性 (*in vitro*) p. 9
- (2) 脂肪蓄積阻害作用
- ① 3T3-L1 脂肪細胞分化抑制作用 (*in vitro*) p. 9
 - ② 通常食飼育マウスにおける体重増加および
体脂肪蓄積抑制作用 (*in vivo*) p. 11
 - ③ 脂肪肝抑制作用 (*in vivo*) p. 14
 - ④ 高脂肪食飼育マウスにおける体重増加および
脂肪蓄積抑制作用 (*in vivo*) p. 14
 - ⑤ 高脂肪食ラットの脂質パラメーターに及ぼす作用 (*in vivo*) p. 18
- (3) 脂肪分解促進作用
- ① 脂肪分解作用 (*in vitro*) p. 19
 - ② 血中トリグリセリド低下作用 (*in vivo*) p. 20
- (4) 脂肪燃焼作用
- ① カフェインのマウス褐色脂肪細胞内脱共役蛋白 (UCP)
発現促進作用 (*in vivo*, 引用) p. 21
 - ② ラット培養褐色脂肪細胞に及ぼす形態変化 (*in vivo*) p. 22
 - ③ 肝ミトコンドリア分画カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ
(CPT) 活性促進作用 (*in vitro*) p. 22
- (5) 糖尿病予防作用
- ① 糖吸収遅延作用 (*in vivo*) p. 24
 - ② α -グルコシダーゼ阻害活性 (*in vitro*) p. 25
 - ③ クロロゲン酸の糖新生抑制作用 (*in vitro*, 引用) p. 26
- (6) 抗酸化作用
- SOD 様活性および DPPH ラジカル消去能 p. 27

脂肪の吸収、蓄積および代謝経路（模式図）と
生コーヒー豆エキスの評価対象



4. 生コーヒー豆エキスのダイエット, 糖尿病予防および抗酸化作用

(1) 脂肪吸収抑制作用

① 脂肪吸収遅延作用 (*in vivo*)

飲料のコーヒーが、消化管運動（胃内容物排出および腸管運動）を抑制することがよく知られており、生コーヒー豆エキスにも摂取脂肪の吸収を遅延させる可能性が示唆されました。そこで、マウスにオリーブ油を単回投与し、脂肪吸収に及ぼす作用を調べました。その結果、生コーヒー豆エキスの前投与により、対照群と比較して有意な血中トリグリセリドの上昇抑制が認められました。

(図2) またカフェインとクロロゲン酸を、エキス中の含有量に応じて経口投与し、同様の評価を行ったところ、カフェインに強い血中トリグリセリド上昇抑制作用が認められました。この結果より、生コーヒー豆エキスに含有されるカフェインには、強い脂肪吸収抑制作用があることが判明しました。

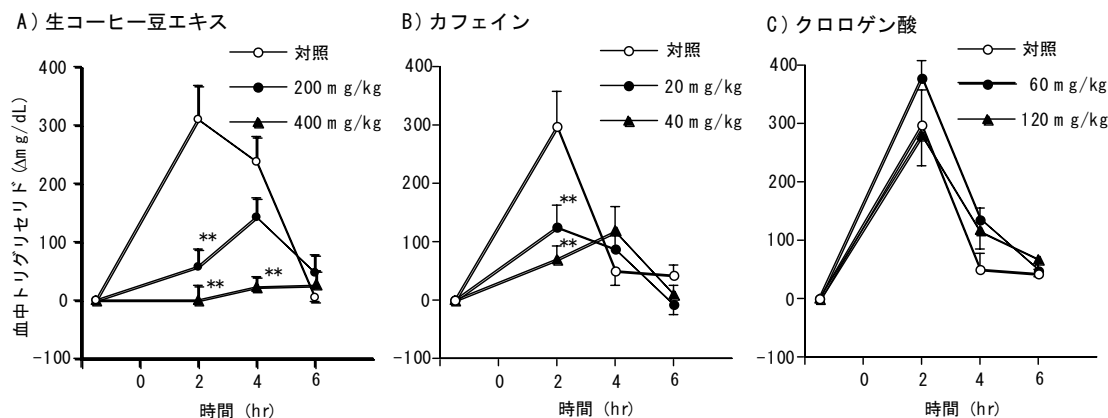


図2. 生コーヒー豆エキスおよび含有成分のオリーブ油負荷マウスにおける血中トリグリセリド上昇に及ぼす作用

[n=6, 平均値±標準誤差, 有意差** : $p < 0.01$ (Dunnettの多重比較検定)]

【実験方法】

絶食(20時間)したマウス(ddY, 雄, 6週齢)から採血を行い, 30分後に, 生コーヒー豆エキスまたは含有成分の5w/v%アラビアガム懸濁液(10 mL/kg)を経口投与した。1時間後にオリーブ油(5 mL/kg)を経口投与し, その後2, 4および6時間目において採血を行った。得られた血液から血清を分離し, トリグリセリド濃度を酵素法(トリグリセリドE-テストワコー, 和光純薬工業社製)を用いて測定した。

② リパーゼ阻害活性 (*in vitro*)

生コーヒー豆エキスおよび含有成分について、脂肪の分解に関与する膵リパーゼに対する阻害活性を、*in vitro* において評価しました。実験の結果、生コーヒー豆エキス、クロロゲン酸およびカフェインに、緩和なリパーゼ阻害活性が認められました (図3)。

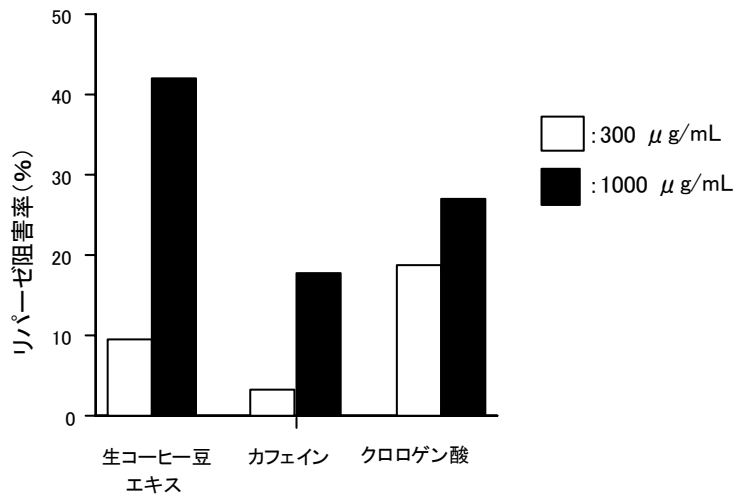


図3. 生コーヒー豆エキス及び含有成分のリパーゼ阻害活性 (n=2)

【実験方法】

ブタ膵由来のリパーゼ (SIGMA 社製, 終濃度 105.8 units/mL) 及びリパーゼキット-S (大日本製薬) を用いて測定した。

(2) 脂肪蓄積阻害作用

① 3T3-L1 脂肪細胞分化抑制作用 (*in vitro*)

生コーヒー豆エキスおよび含有成分を、マウス脂肪細胞株 (3T3-L1) 培養系 (図4) に添加し、分化誘導惹起後の脂肪蓄積へ及ぼす影響を検討しました。その結果、カフェインおよびクロロゲン酸に緩和な脂肪蓄積阻害 (蓄積トリグリセリドの低下) および脂肪細胞分化の指標となるグリセロール3-リン酸デヒドロゲナーゼ活性 (GPDH 活性) の低下が認められました (図5)。なお、同濃度において細胞毒性は認められませんでした。

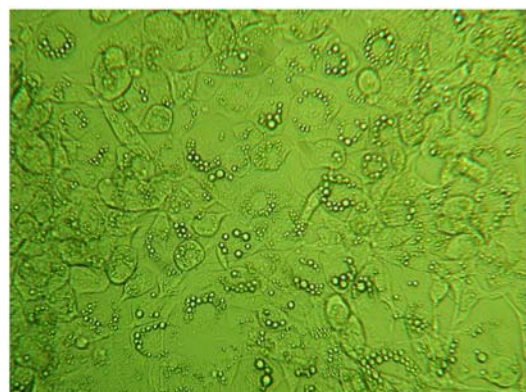
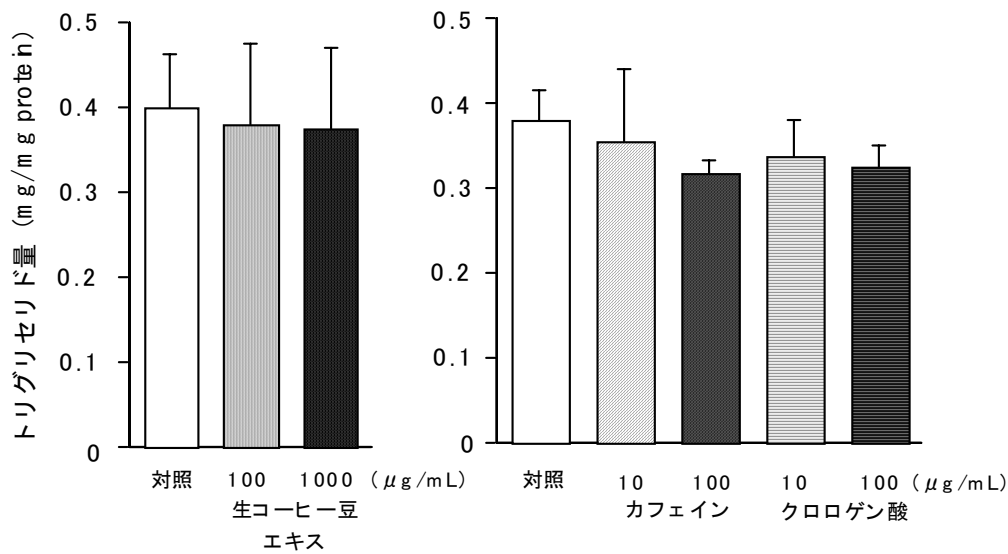


図4. 分化誘導後の 3T3-L1 細胞

A) トリグリセリド蓄積量



B) GPDH活性

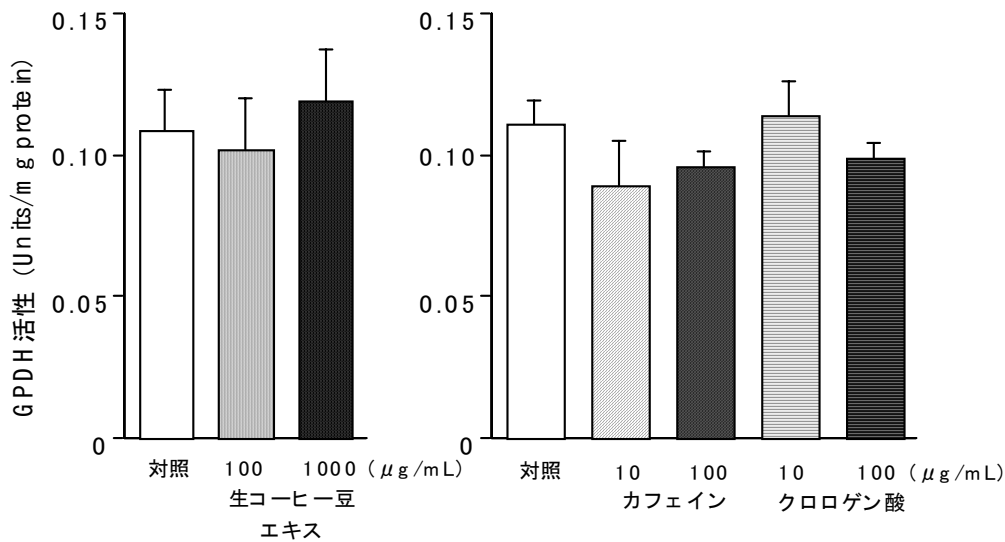


図 5. 生コーヒー豆エキスおよび含有成分の 3T3-L1 脂肪細胞分化に及ぼす作用 (n=6-7, 平均値±標準誤差)

【実験方法】

3T3-L1 脂肪細胞 (5×10^4 cells/mL) を、10%牛胎児血清を含む DMEM 培地 (高グルコース) で 2 日間培養後、インスリン ($1 \mu\text{g/mL}$)、デキサメタゾン ($0.25 \mu\text{M}$) およびイソブチルメチルキサンチン (0.5mM) を含む培地に交換して分化を誘導した。2 日後に、サンプルおよびインスリン ($1 \mu\text{g/mL}$) を含む培地に交換し、1 日おきに培地交換をしながら、計 6 日間培養した。培養終了後、細胞中のトリグリセリド濃度および脂肪細胞分化の指標となるグリセロール 3-リン酸デヒドロゲナーゼ (GPDH) 活性を測定した。

② 通常食飼育マウスにおける体重増加および体脂肪蓄積抑制作用 (in vivo)

マウスに対し、生コーヒー豆エキス(カフェイン:10.0%, クロロゲン酸:27.0%) および含有成分(カフェイン, クロロゲン酸を含有量に応じて配合)をそれぞれ混餌した飼料を, 2週間自由摂取させ, 体重や体脂肪に及ぼす影響を調べました。その結果, 生コーヒー豆エキスに明らかな体重増加抑制作用が認められました (図6)。

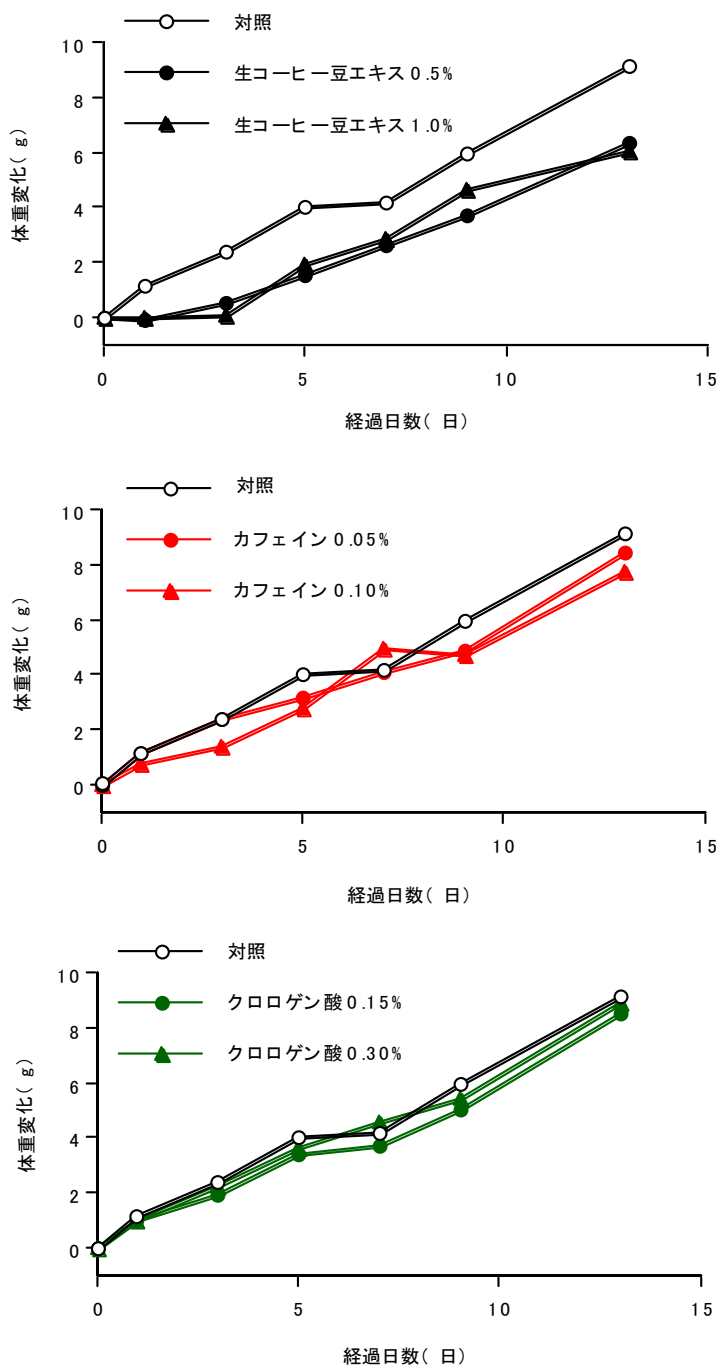


図6. 生コーヒー豆エキスおよび含有成分の継続摂取時におけるマウス体重増加に及ぼす作用 (n=6-7)

また、カフェインやクロロゲン酸についても、弱いながら体重増加の抑制が認められました。一方、内臓脂肪の一つである副睾丸脂肪重量や腎周囲脂肪重量に対して、生コーヒー豆エキスは蓄積抑制作用を示しました (図 7)。なお、飼育中の対照群と各サンプル投与群の摂餌量には、ほとんど差はみられませんでした。

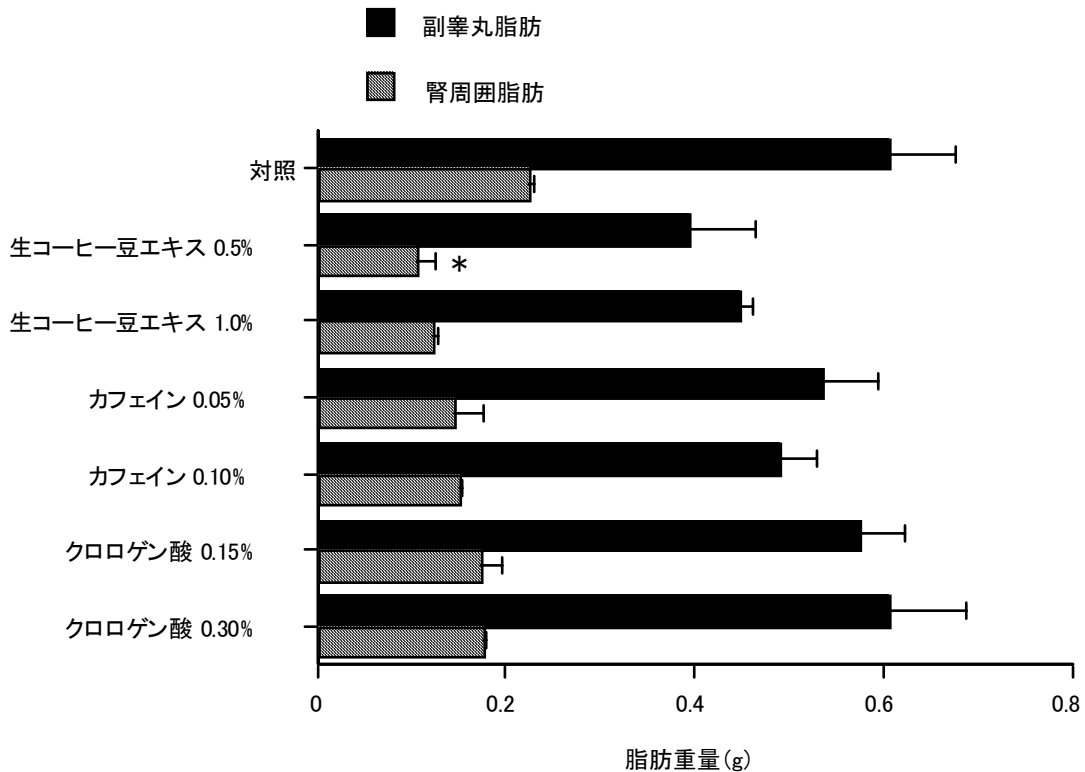


図 7. 生コーヒー豆エキスおよび含有成分の継続摂取時におけるマウス内臓脂肪に及ぼす作用
[n=7, 平均値±標準誤差, 有意差* : $p < 0.05$ (Dunnett の多重比較検定)]

【実験方法】

マウス (ddY, 雄, 6 週齢) に、生コーヒー豆エキス (0.5 および 1%), カフェイン (0.05 および 0.1%) およびクロロゲン酸 (0.15 および 0.3%) を混餌した飼料 (CE-2, 日本クレア) を 13 日間自由摂取させた。この間、体重を 2 日ごとに測定した後、最終日に副睾丸脂肪および腎周囲脂肪重量を測定した。

既に述べた実験とは別に、同ロットのコーヒー生豆を焙煎（230℃，5分）して作製した焙煎コーヒー豆エキス（カフェイン：8.5%，クロロゲン酸：11.6%）について、前述の方法に従って体重の変化を調べました。その結果、図8に示すように、体重増加の抑制傾向はみられたものの、その作用は生コーヒー豆エキスと比較すると明らかに弱いものでした。

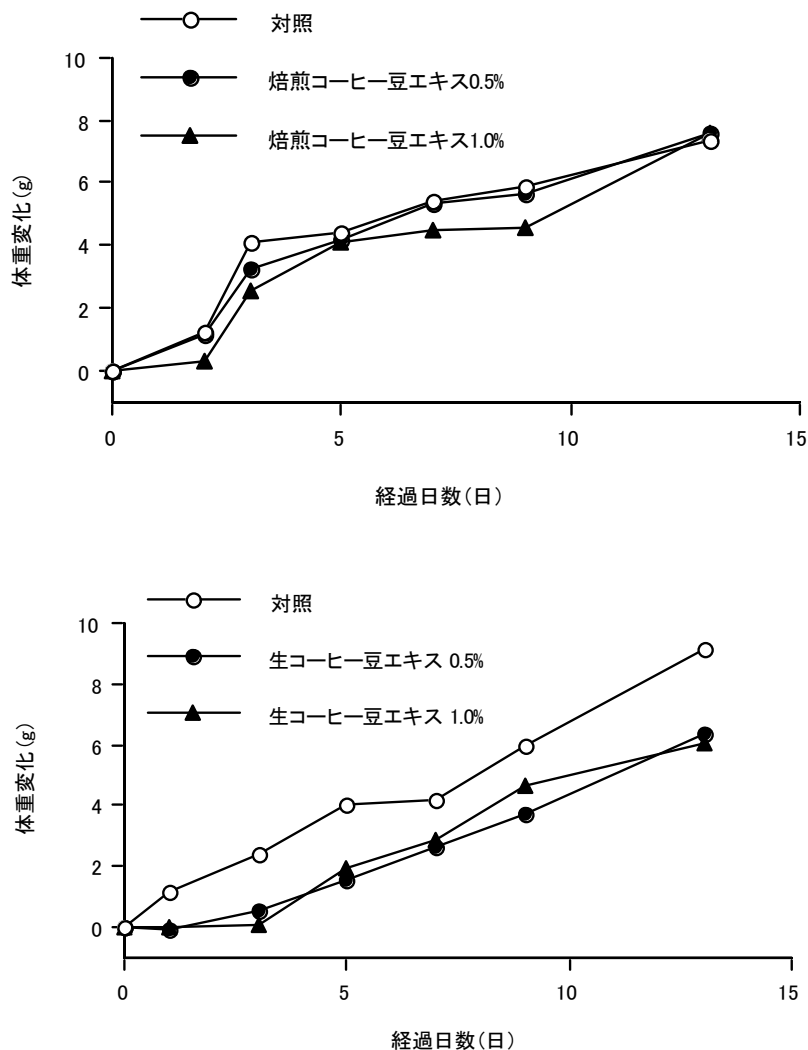


図8. 生コーヒー豆エキスおよび焙煎コーヒー豆エキスの継続摂取時におけるマウス体重増加に及ぼす作用 (n=6-7)

③ 脂肪肝抑制作用 (*in vivo*)

生コーヒー豆エキス、クロロゲン酸およびカフェインを、マウスに継続（2週間）投与した時の肝脂質（トリグリセリド及び総コレステロール）に及ぼす影響を評価しました。その結果、生コーヒー豆エキスおよびクロロゲン酸は、肝トリグリセリドを低下させました（図9）。一方、総コレステロール値は対照群とほぼ同等でした。したがって、生コーヒー豆エキスには、中性脂肪蓄積による脂肪肝を抑制する作用があり、その作用にはクロロゲン酸の関与が示唆されました。

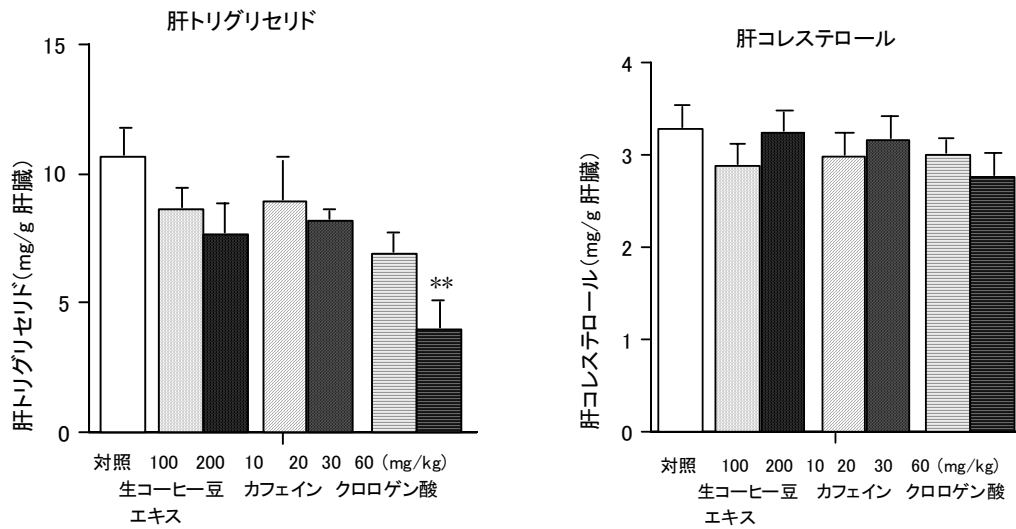


図9. 生コーヒー豆エキス及び含有成分を継続投与した際のマウス肝脂質に及ぼす作用
[n=6, 平均値±標準誤差, 有意差** : $p < 0.01$ (Dunnnettの多重比較検定)]

【実験方法】

マウス (ddY, 雄, 5週齢) を1週間予備飼育後、4群に分け、1日1回5 w/v% アラビアガムに懸濁したサンプルを2週間経口投与した。実験最終日に、非絶食下において肝臓の摘出を行い、肝臓トリグリセリド及び総コレステロール含量を和光純薬工業社製のキットを用いて測定した。

④ 高脂肪食飼育マウスにおける体重増加および脂肪蓄積抑制作用 (*in vivo*)

生コーヒー豆エキスを高脂肪食に配合し、マウス (C57BL/6J) に継続摂取させ、体重や脂肪の変化を調べました。図10に示すように、生コーヒー豆エキス (0.5 および 1%) を混餌した高脂肪食を摂取したマウスの体重は、高脂肪食あるいは低脂肪食 (高脂肪食と比較して) を摂取したマウスと比較して、明らかな増加抑制を示しました。この時、1%生コーヒー豆エキス混餌高脂肪食を摂取した群では、高脂肪食摂取群と比較して摂餌量の減少がみられましたが、0.5%生コーヒー豆エキス摂取群では、摂餌量の低下はみられませんでした (表1)。

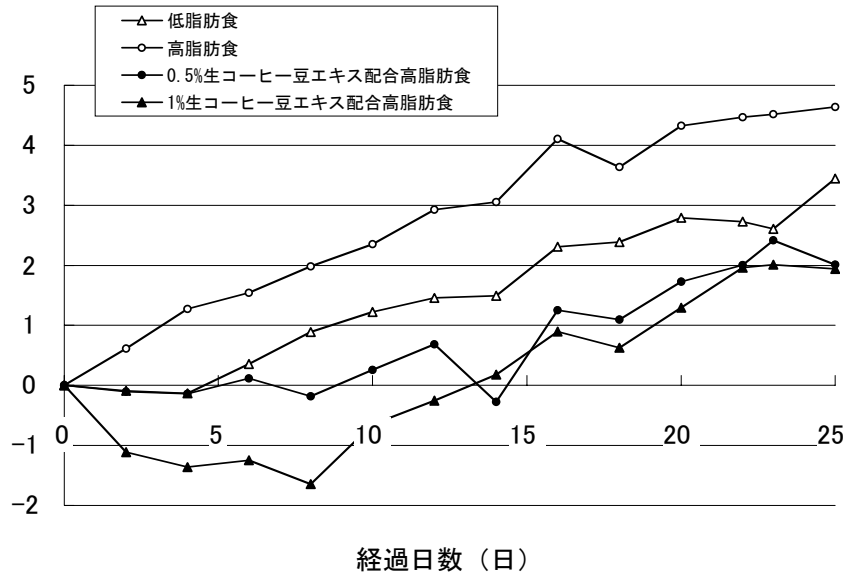


図 10. 生コーヒー豆エキスの高脂肪食継続摂取時のマウス体重増加に及ぼす作用 (n=6)

表 1. 高脂肪食摂取マウスの体重変化および総摂餌量

	初期体重 (g)	最終体重 (g)	体重増加量 (g)	総摂餌量 (g)
低脂肪食	20.6±0.2	24.1±0.7	3.5±0.6	95.3
高脂肪食 (HF)	21.0±0.8	25.7±0.6	4.6±0.4	65.5
HF+エキス 0.5%	23.6±0.5	25.6±0.3	2.0±0.7**	67.4
HF+エキス 1.0%	21.3±0.2	23.3±0.2*	1.9±0.2**	57.9

[n=6, 平均値±標準誤差, HF 群との有意差* : $p<0.05$, ** : $p<0.01$ (Dunnett の多重比較検定)]

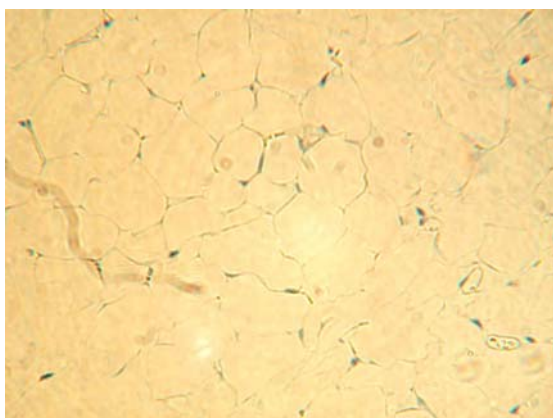
さらに、脂肪蓄積に関しては、生コーヒー豆エキス摂取群 (0.5 および 1%) の副睾丸脂肪重量が、濃度依存的な低下を示しました。また、0.5%摂取群の体重換算した肝臓重量が有意な低下を示しました (表 2)。

表 2. 高脂肪食摂取マウスの副睾丸脂肪重量および肝臓重量

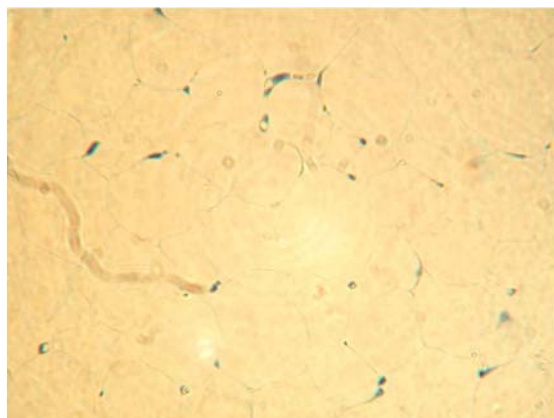
	副睾丸脂肪		肝臓	
	(g)	(mg/g 体重)	(g)	(mg/g 体重)
低脂肪食	0.30±0.04	12.6±1.5	1.22±0.04	50.7±1.0
高脂肪食 (HF)	0.52±0.05	20.1±1.7	1.13±0.04	44.0±0.8
HF+エキス 0.5%	0.36±0.07	14.1±2.6	0.95±0.07*	37.1±2.3**
HF+エキス 1.0%	0.26±0.02**	11.3±0.8**	1.00±0.02	43.0±0.9

[n=6, 平均値±標準誤差, HF 群との有意差* : $p<0.05$, ** : $p<0.01$ (Dunnett の多重比較検定)]

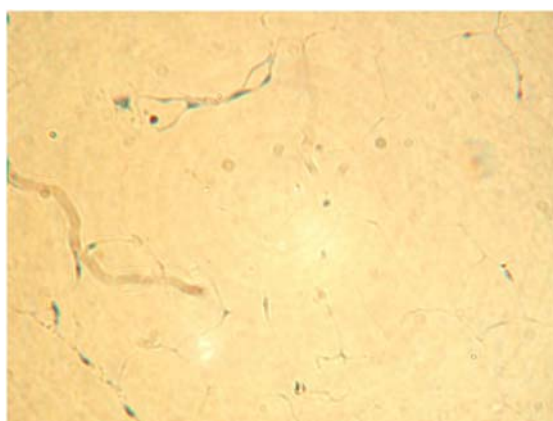
これら副睾丸脂肪や肝臓切片の顕微鏡写真を図 11 および 12 に示しました。図 11 において、脂肪細胞の細胞膜が青く染色されており、細胞の大きさが比較できます。低脂肪食摂取マウスの鏡検像に対して、高脂肪食摂取マウスの細胞では、そのサイズが明らかに大きくなっていることが分かります。一方、生コーヒー豆エキス（0.5 および 1%）を配合した高脂肪食摂取マウスの脂肪細胞のサイズは、低脂肪食摂取マウスの大きさにまで、縮小していることが確認されました。



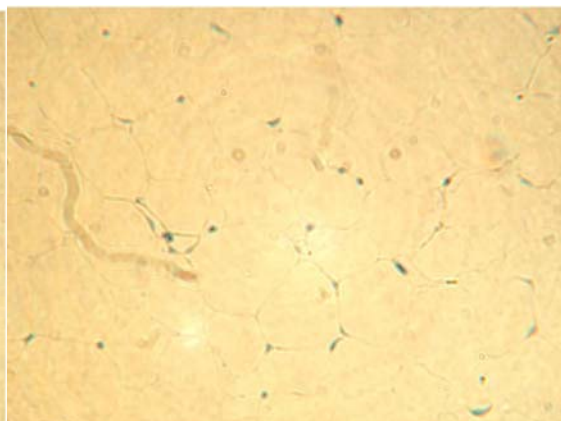
低脂肪食摂取



エキス 0.5%含有高脂肪食摂取



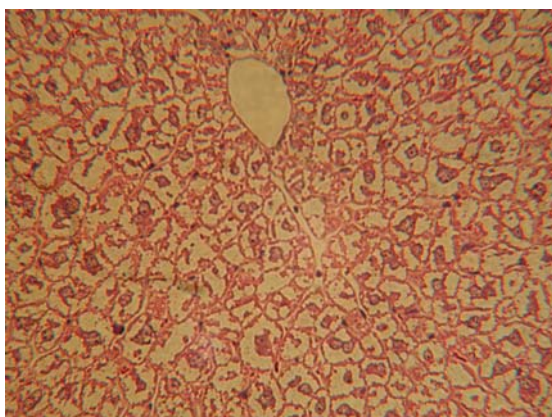
高脂肪食摂取



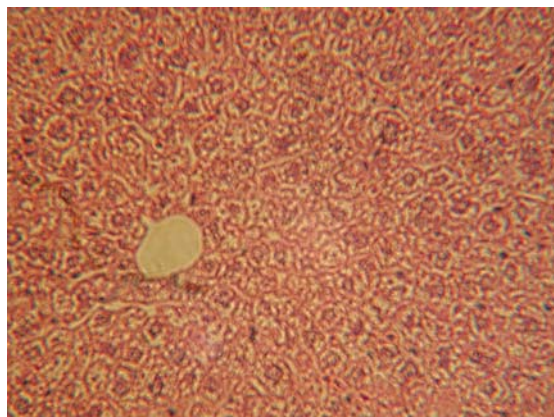
エキス 1%含有高脂肪食摂取

図 11. 高脂肪食摂取マウスの副睾丸脂肪顕微鏡写真（トルイジンブルー染色，倍率：100 倍）

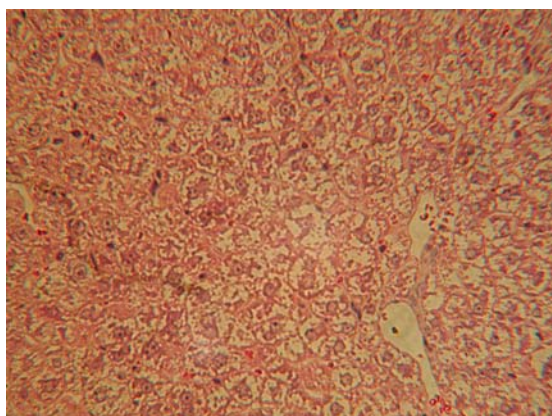
図 12 の肝臓鏡検像では、低脂肪食摂取マウスと比較して、高脂肪食摂取マウスの肝細胞の細胞膜が不明瞭になっていることが分かります。これに対し、生コーヒー豆エキス（0.5 および 1%）摂取マウスの肝細胞では、細胞膜が明瞭になっており、細胞内に多量のグリコーゲン顆粒の蓄積が認められます。



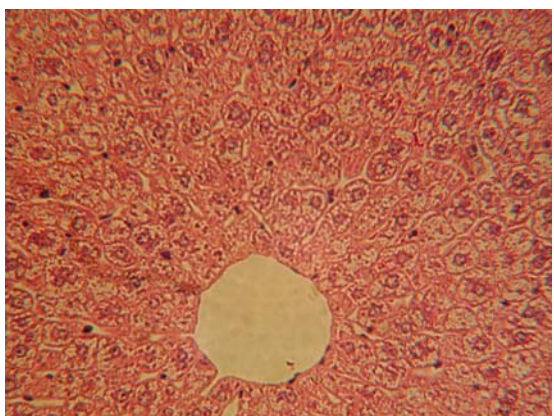
低脂肪食摂取



エキス 0.5%含有高脂肪食摂取



高脂肪食摂取



エキス 1%含有高脂肪食摂取

図 12. 高脂肪食摂取マウスの肝臓顕微鏡写真（ヘマトキシリン・エオジン染色，倍率：100 倍）

【実験方法】

マウス（C57BL/6J，雄，7 週齢）を 4 群に分け（各群 6 匹），2 週間固形飼料（CE-2，日本クレア）を与えて予備飼育した後，実験に使用した（実験開始時 9 週齢）。第 1 群には低脂肪食（コーン油：5%，カゼイン：20%，セルロース：4%，ハーバーミネラルミックス：3.5%，ハーバービタミンミックス：1%，コーンスターチ：66.5%）を，第 2～4 群には生コーヒー豆エキスをそれぞれ 0，0.05 および 1% 配合した高脂肪食（コーン油：20%，ラード：10%，ショ糖：13%，カゼイン：20%，セルロース：4%，ハーバーミネラルミックス：3.5%，ハーバービタミンミックス：1%，コーンスターチ：28.5%）を 25 日間摂取させ，体重および摂餌量を経日的に測定した。試験最終日に採血を行うとともに，肝臓および副睾丸脂肪重量を測定した。

⑤ 高脂肪食ラットの脂質パラメーターに及ぼす作用 (*in vivo*)

長崎大学県立大学シーボルト校（看護栄養学部）の田中一成教授との共同研究により、生コーヒー豆エキスのラットの脂質パラメーターに及ぼす影響が明らかになりました。SD ラット（雄性、4 週齢）に、1%量の生コーヒー豆エキス、0.5% コレステロールおよび0.125% コール酸ナトリウムを含有する AIN-93G 組成飼料を 4 週間自由摂取させ、各種パラメーターを測定しました。その結果、表 3 に示すように、体重や内臓脂肪の増加抑制がみられるとともに、肝臓や血中のトリグリセリドの低下が認められました。また同時に、脂肪酸合成酵素の活性低下がみられました。

表 3. 高脂肪食飼育ラットにおける生コーヒー豆エキス摂取前後の各種パラメーターの変化

	Control	エキス摂取群
<組織重量>		
初期体重 (g)	143±2	142±3
最終体重 (g)	386±10	303±14*
体重増加量 (g)	244±9	161±12*
摂餌量 (g)	22.7±0.5	21.5±1.0
食餌効率 (g 増加体重/g 摂餌量)	0.40±0.01	0.28±0.02*
肝重量 (g)	24.5±1.0	18.2±1.5*
(Liver/100 g 体重)	6.33±0.13	5.94±0.28
総脂肪量 (g)		
腎周囲	6.78±0.87	2.00±0.34*
副睾丸周囲	5.01±0.54	2.53±0.28*
相対総脂肪量 (g/100g 体重)		
腎周囲	1.74±0.20	0.65±0.09*
副睾丸周囲	1.28±0.11	0.82±0.06*
<肝脂質>		
トリグリセリド (mg/dL)	75.6±6.7	44.0±3.2*
リン脂質 (mg/dL)	27.7±0.5	31.3±1.0*
<血液指標>		
中性脂肪 (mg/dL)	180.3±31.6	66.1±11.7*
リン脂質 (mg/dL)	184±13	193±9
LPO (nmol/mL)	15.6±1.0	11.8±0.5*
SOD (%)	16.5±0.9	15.4±0.6
<脂質代謝酵素活性 (nmol/min/mg protein)>		
Fatty acid synthase	4.88±0.84	2.94±1.17*
Carnitine palmitoyltransferase	4.12±0.37	4.82±0.34
Malic enzyme	19.3±0.84	13.8±1.49*
Glucose-6-phosphate dehydrogenase	15.9±2.20	12.0±1.33
Phosphatidic acid phosphohydrolase (mic)		
Mg+	4.34±0.20	5.56±0.42*
Mg-	2.94±0.23	3.06±0.13

平均値±標準偏差, n=6, *: p<0.05

Tanaka K., Nishizono S., Tamaru S., Kondo M., Shimoda H. Tanaka J., Okada T. Anti-obesity and hypotriglyceridemic properties of coffee bean extract in SD rats. *Food Sci. Technol. Res.* **15**, 147-152 (2009).

(3) 脂肪分解促進作用

① 脂肪分解作用 (in vitro)

カフェインには、脂肪細胞中のリパーゼを活性化し、中性脂肪の分解を促進する作用があることが知られています。そこで、生コーヒー豆エキスやその含有成分の脂肪分解作用を既存のダイエット素材と比較検討しました。その結果、生コーヒー豆エキス (1000 $\mu\text{g/mL}$) の脂肪分解作用は、単一化合物であるカプサイシンやシネフリンと同等であり、シネフリンを 30%含有するシトラスエキスよりも強いことが判明しました (図 13)。含有成分では、カフェインに脂肪分解作用がみられましたが、クロロゲン酸や焙煎コーヒーには脂肪分解作用は認められませんでした。その他の素材では、コレウスフォルスコリエキスに脂肪分解作用が確認されました。

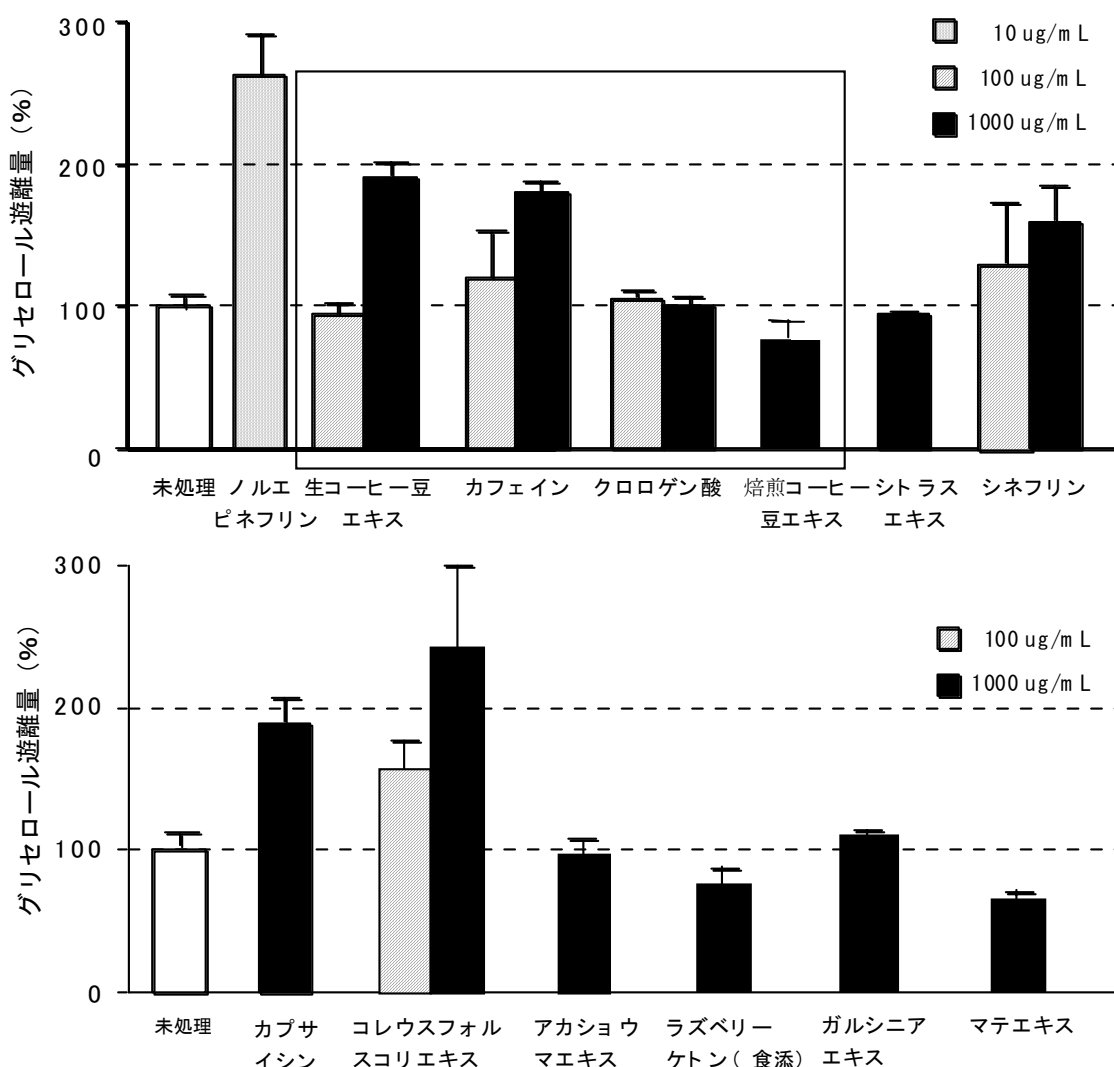


図 13. 生コーヒー豆エキスとその含有成分ならびに脂肪分解素材のラット副睾丸脂肪からのグリセロール遊離に及ぼす作用 (n=4, 平均値±標準誤差)

実験結果より、生コーヒー豆エキスの脂肪分解成分はカフェインと考えられますが、カフェインと数種の成分からなる複合製剤が、外用で痩身作用を示し

たという報告*)があります。この結果より、生コーヒー豆エキスは、部分痩せやセルライト解消を訴求した化粧品にも配合していただけるものと考えております。

*) Tholon L, *et al.*, An in vitro, ex vivo, and in vivo demonstration of the lipolytic effect of slimming liposomes: An unexpected α_2 -adrenergic antagonism. *J. Cosmet. Sci.* **53**, 209-18 (2002).

【実験方法】

Wistar 系雄性ラットから副睾丸脂肪を摘出し、Medium199 に溶解した各種サンプル中で、インキュベート (37°C, 3 時間) した。インキュベート終了後に脂肪を除去し、培地中のグリセロール量を F-キットグリセロール (日本ロシュ社製) を用いて測定した。

② 血中トリグリセリド低下作用 (in vivo)

生コーヒー豆エキス、クロロゲン酸及びカフェインについて、絶食下のマウスに経口投与した際の、血中トリグリセリドに及ぼす影響を評価しました。その結果、生コーヒー豆エキス及びカフェインに、カプサイシンと類似した強い血中トリグリセリドの降下作用がみられました。また、クロロゲン酸についても、シネフリンと同等の血中トリグリセリド降下作用がみられました (図 14)。

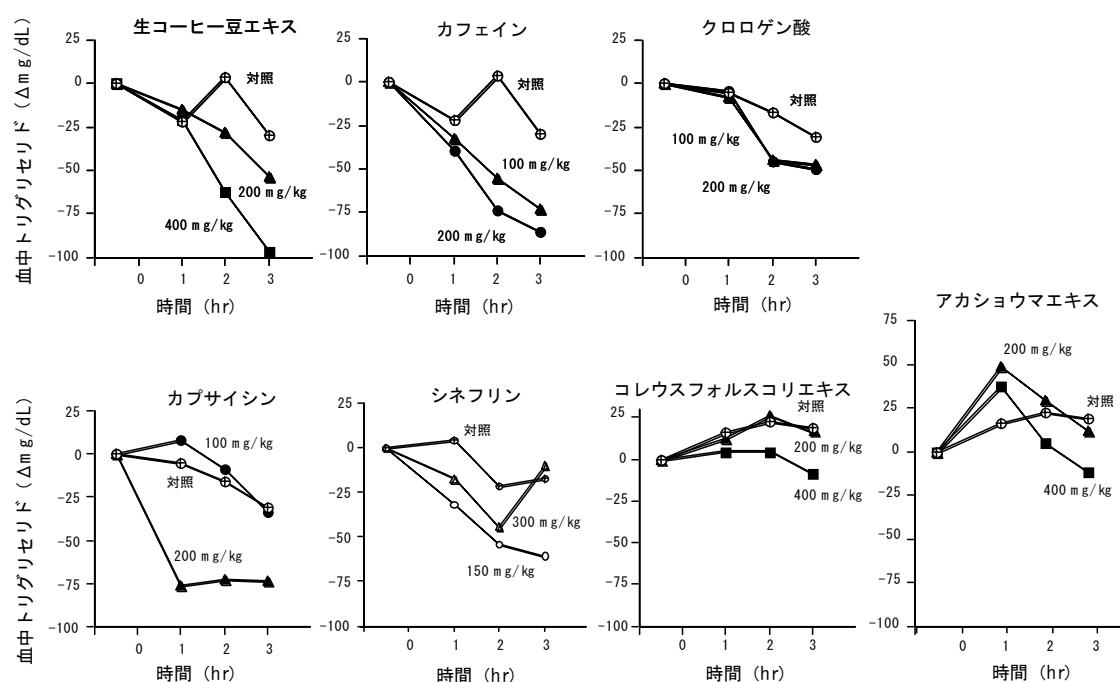


図 14. 生コーヒー豆エキスとその含有成分ならびに既存ダイエツト素材のマウス血中トリグリセリドに及ぼす作用

【実験方法】

絶食 (24 時間) したマウス (ddy, 雄, 6 週齢) の静脈から採血を行い、30 分後に 5 w/v% アラビアガムに懸濁した各種サンプル (10 mL/kg) を経口投与した。以後、1 時間毎に経時的に採血を行って、血中トリグリセリドを測定した。

(4) 脂肪燃焼作用

① カフェインのマウス褐色脂肪細胞内脱共役タンパク (UCP) 発現促進作用 (*in vivo*, 引用)

褐色脂肪組織は、エネルギーを熱へと変換して発散することができる脂肪燃焼組織の一つです。熱産生は、褐色脂肪細胞ミトコンドリアの膜上で行われますが、熱変換の際に特殊な脱共役タンパク (UCP-1) が機能します。

生コーヒー豆エキスに含有されるカフェインに、糖尿病マウス褐色脂肪組織における UCP-1 の発現促進作用が報告されています (図 15)。この結果より、カフェインには、熱産生のかたちで脂肪を燃焼消費する働きがあると考えられます。

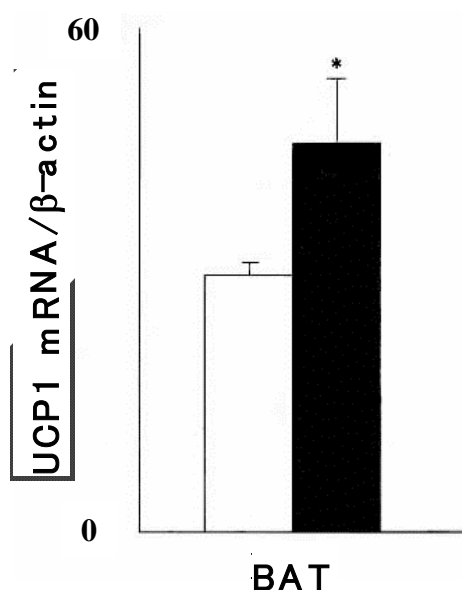


図 15. カフェインの KK マウス褐色脂肪組織 (BAT) における UCP-1 発現促進作用

マウスに生理食塩水 (□) またはカフェイン (60 mg/kg, ■) を皮下投与し、4 時間後に肩甲骨間褐色脂肪組織を採取した。UCP-1 mRNA 発現レベルは、RT-PCR を用いて評価し、マーカーである β-アクチンとの比率で示した (n=15, 平均値±標準誤差, *: $p<0.05$)。

Ref.) Kogure A., *et al.*, Effects of caffeine on the uncoupling protein family in obese yellow KK mice. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* **29**, 391-4 (2002) より

② ラット培養褐色脂肪細胞に及ぼす形態変化 (*in vitro*)

市販のラット培養褐色脂肪細胞に、生コーヒー豆エキス (1000 $\mu\text{g/mL}$) を添加し、18 時間培養後の形態変化を鏡検しました (図 16)。細胞内油滴の明らかな矮小化が観察されました。

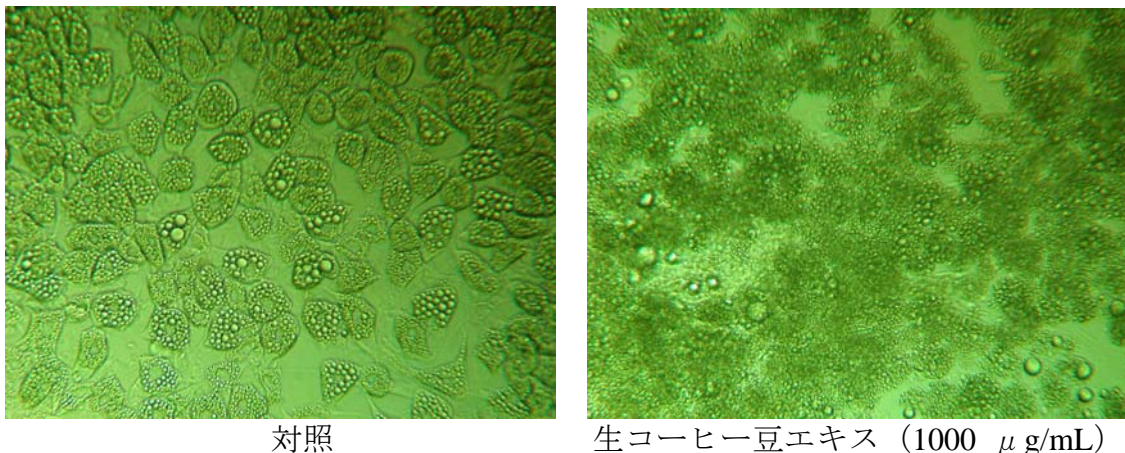


図 16. 生コーヒー豆エキス共存下におけるラット褐色脂肪細胞の形態変化

【実験方法】

ラット褐色脂肪細胞培養キット (ホクドー社) を用いて評価を行った。すなわち、ラット副睾丸脂肪組織より得た褐色脂肪細胞前駆細胞に対して分化誘導を行った後、6 日間培養した。細胞内に油滴が生成したのを確認した後、生コーヒー豆エキスを添加して 18 時間培養を行った。

③ 肝ミトコンドリア分画カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ (CPT) 活性促進作用 (*in vivo*)

脂肪組織から分解・遊離した脂肪酸の一部は、肝臓へと運ばれ、肝細胞のミトコンドリアにおいて、 β -酸化を受けて代謝されます。ミトコンドリアに脂肪酸が運ばれる際、カルニチンや移送酵素であるカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ (CPT) が機能しますが、これらは β -酸化における律速段階になっています (図 17)。生コーヒー豆エキスを配合した飼料をマウスに 6 日間摂取させた後、肝臓を摘出し、ミトコンドリア分画の CPT 活性を測定したところ図 18 に示すように、用量依存的な CPT 活性の促進 が認められました。この結果より、生コーヒー豆エキスには脂肪燃焼を補助する作用があると考えられます。一方、含有成分のカフェインとクロロゲン酸には活性が認められませんでした。フェルロイルキナ酸に有意な CPT 活性の促進がみられました。また、3-カフェオイルキナ酸にも活性化促進傾向がみられました。

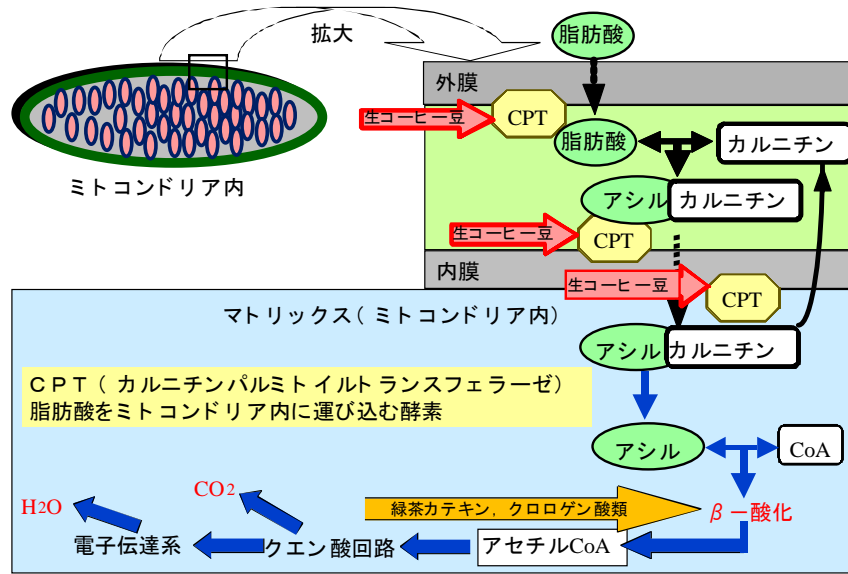


図 17. 肝ミトコンドリアにおける脂肪代謝と脂肪燃焼素材の作用点

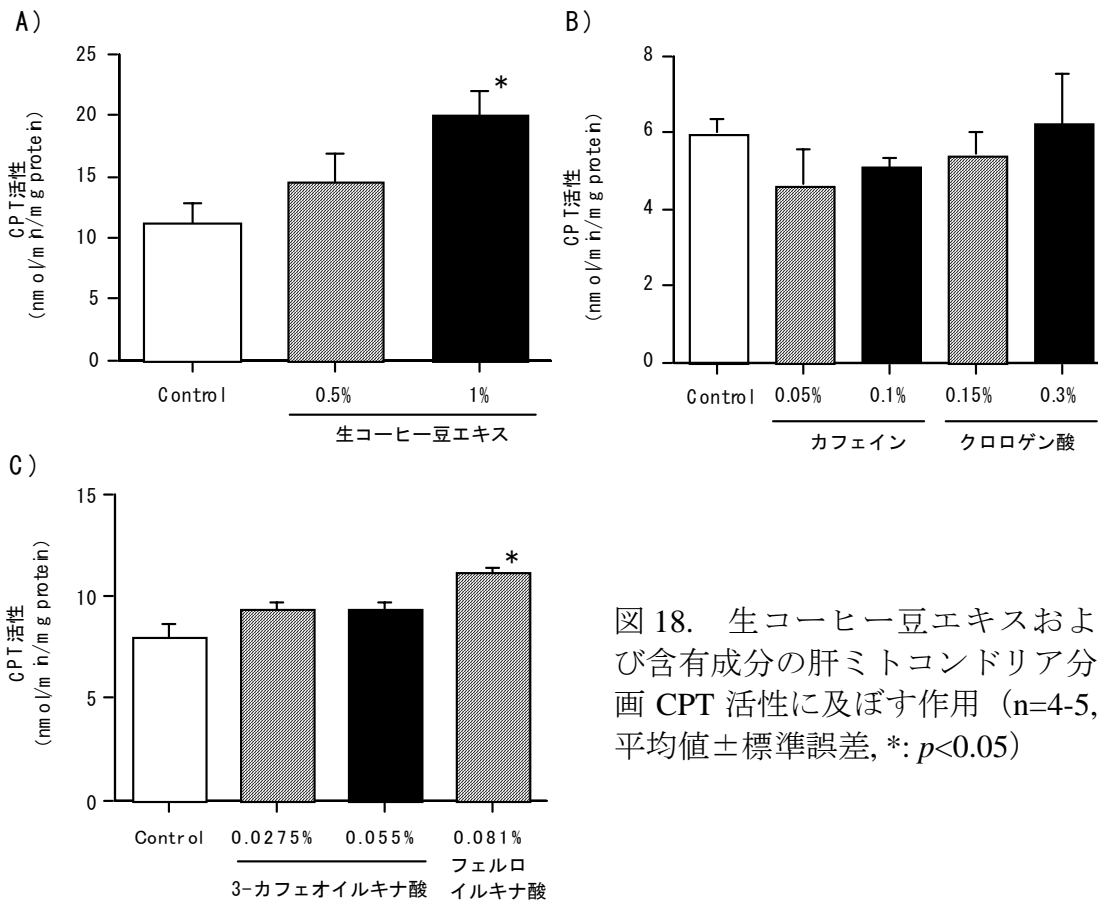


図 18. 生コーヒー豆エキスおよび含有成分の肝ミトコンドリア分画 CPT 活性に及ぼす作用 (n=4-5, 平均値±標準誤差, *: $p < 0.05$)

【実験方法】

マウス (ddY, 雄, 7 週齢) に, 生コーヒー豆エキスまたはその含有成分を混餌した飼料 (CE-2, 日本クレア) を 6 日間自由摂取させた。頸椎脱臼後に, 肝臓を摘出し, 肝重量に対して 6 倍量の 0.25M スクロースおよび 1 mM EDTA 含有トリス緩衝液 (pH7.4) を加えてホモジネートし, 遠心分離 (3000 回転, 10 分) をおこなった。上清を再び遠心分離 (11,000 回転, 10 分) し, 得られた沈澱 (ミトコンドリア分画) に緩衝液 (2.5 mL) を加えて懸濁した。蛋白定量後, CPT 活性を DTNB 法^{*}) により測定した。

^{*}) Markwell M. A. K., *et al.*, The subcellular distribution of carnitine acyltransferases in mammalian liver and kidney. *J. Biol. Chem.*, **248**, 3426-32 (1973).

(5) 糖尿病予防作用

① 糖吸収遅延作用 (*in vivo*)

生コーヒー豆エキスの糖質投与時の血糖値上昇に対する作用を, マウス糖質負荷モデルを用いて検討しました。その結果, 図 19 に示すようにグルコース負荷時には 400 mg/kg の投与で, スクロース負荷時には 200 mg/kg の投与で生コーヒー豆エキスは, 血糖値の上昇を抑制しました。

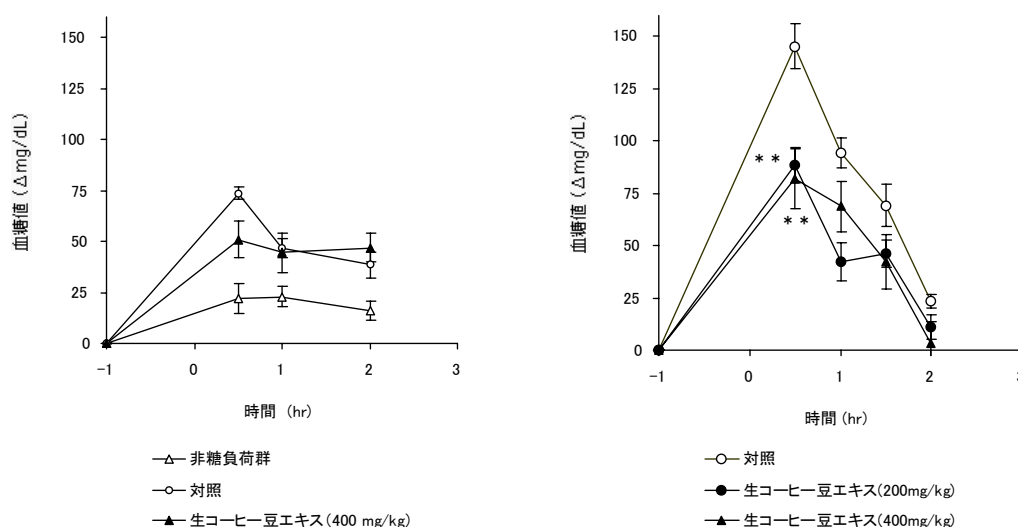


図 19. 生コーヒー豆エキスのグルコース (左) 及びスクロース (右) 負荷時における血糖値に及ぼす作用
[n=6, 平均値±標準誤差, 有意差** : p<0.01 (Dunnnett の多重比較検定)]

【実験方法】

絶食 (18 時間) したマウス (ddY, 雄, 6 週齢) から採血後, 直ちに生コーヒー豆エキスの水溶液 (10 mL/kg) を経口投与した。1 時間後にグルコース (0.5 g/kg) 又は, スクロース (2 g/kg) を経口投与 (5 mL/kg) し, その後 0.5, 1 および 2 時間目において採血を行った。得られた血液から血清を分離し, グルコース濃度を酵素法 (デタミナーGL-E, 協和メデックス社製) により測定した。

② α -グルコシダーゼ阻害活性 (*in vivo*)

生コーヒー豆エキスの糖質分解酵素に対する阻害活性を調べました。 α -アミラーゼに対する阻害活性はみられませんでした(データ未掲載)、 α -グルコシダーゼに対する比較的強い阻害活性が認められました(図 20, 表 4)。また含有成分では、クロロゲン酸とカフェ酸に阻害活性が認められました。

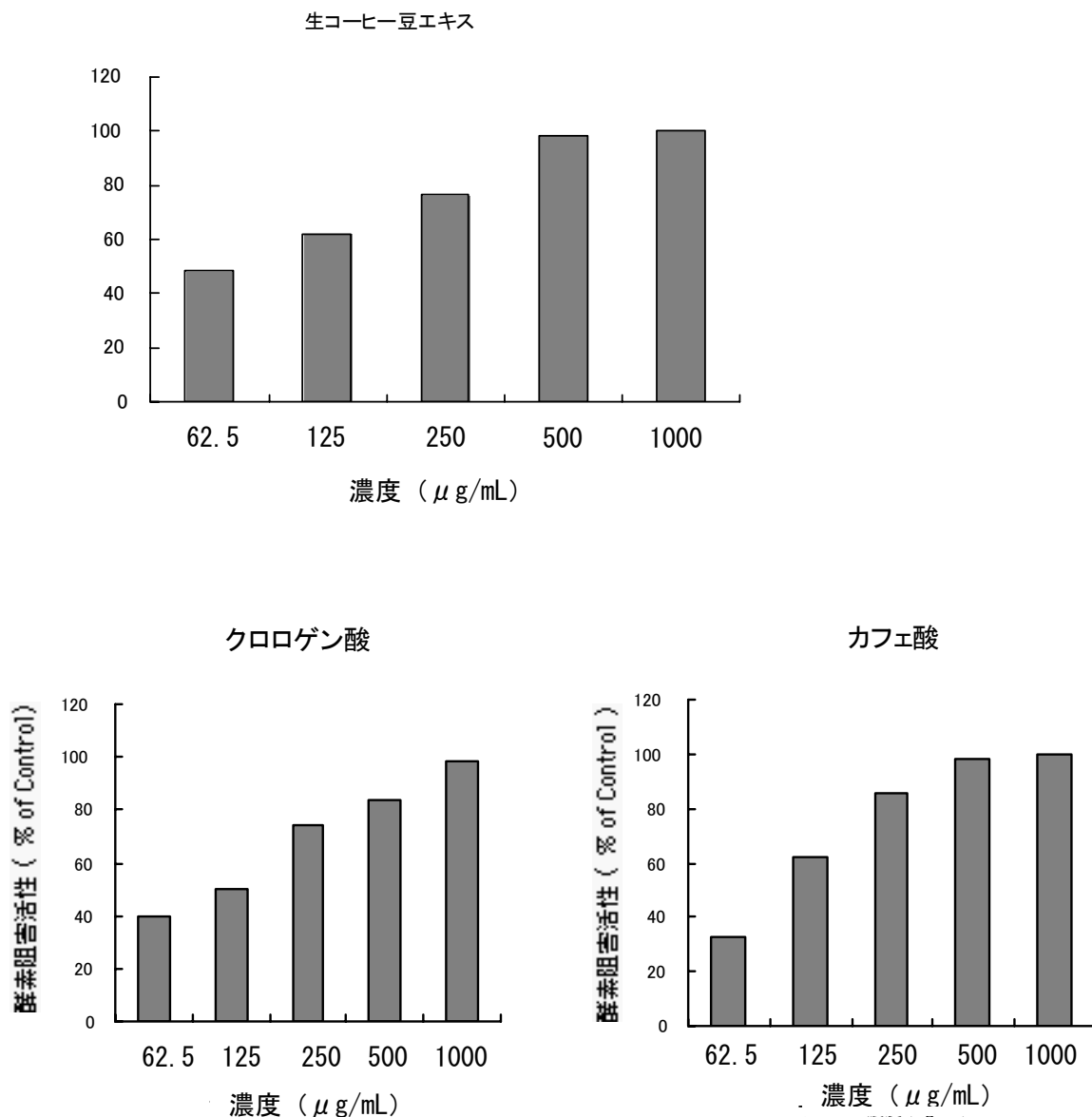


図 20. 生コーヒー豆エキスおよび含有成分の α -グルコシダーゼ阻害活性

表 4. 生コーヒー豆エキスおよび含有成分の α -グルコシダーゼ阻害活性 (IC50)

	IC50 ($\mu\text{g/mL}$)
生コーヒー豆エキス	70
カフェイン	>1000
クロロゲン酸	100
カフェ酸	100
キナ酸	>1000

【実験方法】

ラット小腸アセトン粉末(Sigma社)に約10倍量の0.1Mリン酸緩衝液(pH7.0)を加え、遠心分離した上清を酵素液とした。基質には0.2 mM 4-メチルウンベルフェリル- α -D-グルコピラノシド(Sigma社)を用いた。各サンプルはDMSOに溶解後、4%DMSO含有リン酸緩衝液で2倍希釈系列を調製した。マイクロプレートにサンプル希釈液(50 μ L/well)および基質緩衝液(25 μ L/well)を添加して、予備加温(37°C, 10分間)後、酵素液(25 μ l/well)を添加し、37°Cで30分間反応させた(酵素終濃度: 1 mg protein/mL, 基質終濃度: 0.05 mM)。0.2 M Na₂CO₃(100 μ l/well)を添加して反応を停止させ、マイクロプレートリーダーを用いて蛍光強度(励起波長 366 nm, 測定波長 450 nm)を測定した。

③ 糖新生抑制作用 (in vitro, 引用)

生コーヒー豆エキスに含有されるクロロゲン酸には、肝臓に存在するグルコース合成酵素グルコース 6-フォスファターゼに対する競合阻害作用が報告されています(図 21)。糖尿病においては、本酵素の活性が高く肝臓における糖新生が亢進しており、高血糖の原因になっています。また糖新生は、ダイエット時における糖質の摂取制限によっても亢進し、脂肪燃焼の場の一つである筋肉を減少させることから、太りやすい体質になるだけでなく、ダイエット後のリバウンが懸念される生理現象です。クロロゲン酸には、糖尿病や糖質摂取制限によって惹起される過度の糖新生を抑制する作用が期待できます。

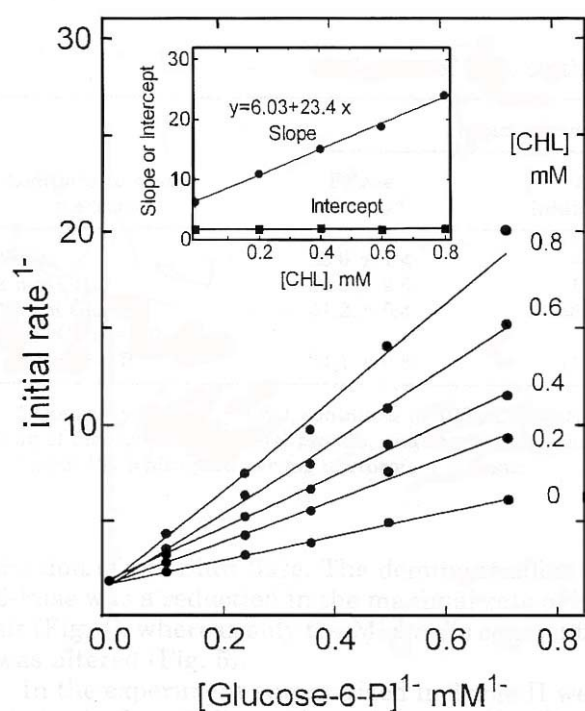


図 21. クロロゲン酸 (CHL) のグルコース 6-フォスファターゼに対する阻害プロット (Lineweaver-Burk プロット)

外側グラフ縦軸は酵素活性を、横軸は基質 (Glucose-6-P) 濃度 (1-10 mM) を示す。それぞれのプロット (CHL 濃度を 0-0.8 mM まで変化させて測定) が Y 軸上に収束する事から、クロロゲン酸がグルコース 6-フォスファターゼに対して競合阻害を示す事が分かる。また、内側グラフ縦軸は、プロットの傾き (Slope) または Y 切片 (Intercept) を、横軸はクロロ

ゲン酸濃度を示す。Y切片が一定で、傾きが直線的に変化していることが、競合阻害であることを示している。

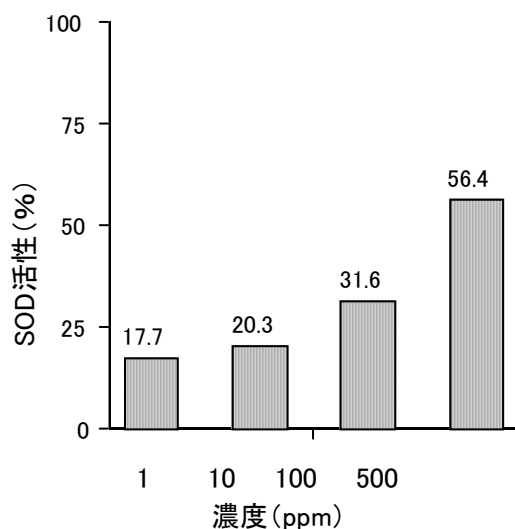
Ref.) Arion W.J., *et al.* Chlorogenic acid and hydroxynitrobenzaldehyde: new inhibitors of hepatic glucose 6-phosphatase. *Arch. Biochem. Biophys.* **339**, 315-22 (1997). より

(6) 抗酸化作用

SOD 様活性および DPPH ラジカル消去能

ストレスなどの刺激で生体内に発生する活性酸素は、種々の生活習慣病と密接に関連しています。また、酸化型 LDL-コレステロールの動脈内壁への集積は、動脈硬化の原因になります。そこで、クロロゲン酸など強い抗酸化活性を有する生コーヒー豆エキスについて、スーパーオキシドジスムターゼ (SOD) 様活性及び 1,1-ジフェニル 2-ピクリルヒドラジル (DPPH) ラジカル消去能を評価しました。その結果、生コーヒー豆エキスは図 22 に示す濃度において、SOD 様活性及び DPPH ラジカル消去活性を示しました。

①SOD 様活性



②DPPH ラジカル消去能

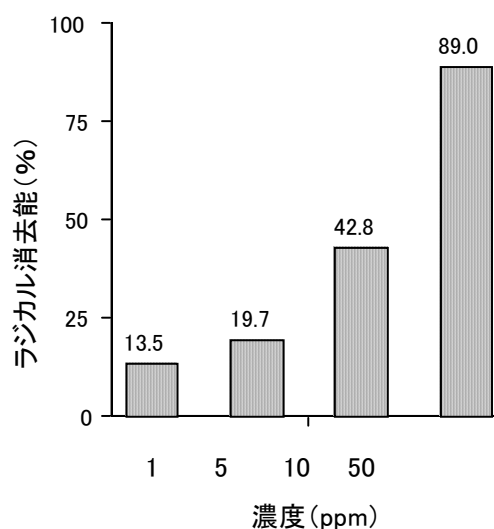


図 22. 生コーヒー豆エキスの抗酸化活性

【実験方法】

SOD 様活性は、SOD テストキットワコー (和光純薬工業社) を用いて測定を行った。DPPH ラジカル消去能は、エキスを DPPH 溶液に溶解し、DPPH の退色を吸光度の変化で測定した。

5. ヒトにおける作用

生コーヒー豆エキスのヒトにおけるダイエット機能を評価するため、弊社男性健常人を対象として、体重、体脂肪および血中成分を指標とした 4 週間の継続摂取試験を行いました。

【試験材料】

試験にはクロロゲン酸、総クロロゲン酸およびカフェインを、それぞれ 28.4, 48.7 および 12.5%含有する生コーヒー豆エキス (Lot. K320, 100 mg) をハードカプセルに充填したもの (エキスカプセル) を被験者に摂取させた。

【被験者】

社内男性ボランティア [6 名, 23~59 才 (平均年齢: 39.5 才)] を対象とした。

【試験方法】

試験初日に、朝食非摂取時の被験者から採血を行うと同時に、体重、体脂肪率、身長、インピーダンス、脂肪量、ウエストおよびヒップ周囲長、腹部皮下脂肪厚みの測定を行った。BMI (肥満: 25%以上, 標準体型: 18 以上 25%未満, やせ形体型: 18%未満) および肥満度 (肥満: 20%以上) は、それぞれ下式を用いて算出した。

$$\text{BMI (kg/m}^2\text{)} = \text{体重 (kg)} / \text{身長 (m)} / \text{身長 (m)}$$

$$\text{肥満度 (\%)} = [(\text{体重} - \text{標準体重}) / \text{標準体重}] \times 100$$

被験者にはエキスカプセル 2 個 (生コーヒー豆エキス 200 mg に相当) を、毎日 4 週間にわたって自由摂取させた。試験終了日において、試験初日と同様の測定を行い。エキスカプセル摂取前後の測定値を比較した。有意差検定には、対応のある 2 群間の t-検定を用い、 $p < 0.15$ をもって有意とした。

【結果および考察】

表 5 に示すように生コーヒー豆エキス (200 mg/日) の 4 週間摂取により、体重、体脂肪率、インピーダンス、脂肪量、肥満度、ウエストおよび腹部皮下脂肪厚みが、摂取前と比較して低値傾向を示しました。また、ヒップ長については有意 ($p=0.12$) な減少がみられました。各被験者の測定値を、図 23 に示しますが、体重、肥満度、ヒップおよび腹部皮下脂肪厚みについて、6 名中 4 名に減少が確認され、体脂肪率、BMI、インピーダンス、脂肪量およびウエストについては、6 名中 3 名に減少がみられました。

一方、血液成分の平均値 (表 5) において、摂取後のトリグリセリドおよび遊離脂肪酸が、摂取前と比較して低値を示しました。特に、トリグリセリドについては、摂取前に高値 (292 mg/dL) を示していた被験者 1 名の測定値が、摂取後に顕著に低下 (205 mg/dL) しました (図 24)。さらに血糖値については、6 名中 4 名に、正常値範囲内での低下がみられ、摂取前後で有意差 ($p=0.13$) が認められました。これに対し、コレステロール値およびクレアチニン値は、それぞれ 6 名中 3 名および 5 名に軽微な上昇が認められ、摂取前後の比較では有意差 (それぞれ $p=0.13$, 0.05) が認められました。

以上の結果より、生コーヒー豆エキスの 4 週間摂取により、軽微ではありま

すが、体重や体脂肪、血中トリグリセリドが低下することが明らかになりました。血糖値、トリグリセリドおよび遊離脂肪酸の低下は、それぞれ生コーヒー豆エキスの機能である糖新生の抑制（クロロゲン酸）や脂肪分解（カフェイン）・代謝（カフェインおよび未知成分）亢進に基づく作用であることを示唆するものです。一方クレアチニンは、筋肉量の増加によっても上昇しますが、筋肉量変化の指標となるインピーダンス値が、生コーヒー豆エキス（200 mg/日）摂取により減少（482→475Ω）していることから、生コーヒー豆エキスは筋肉量を増加させる作用を有する可能性も示唆されます。

表 5. 生コーヒー豆エキス（200 mg/日）4 週間摂取前後の検査値比較

	摂取前	摂取後
体重 (kg)	64.2±5.6	64.1±4.8
体脂肪率 (%)	19.7±3.0	19.4±4.2
BMI (kg/m ²)	22.4±2.4	22.5±2.3
インピーダンス (Ω)	482±64	475±46
脂肪量 (%)	12.7±2.6	12.5±3.2
肥満度 (%)	2.4±11.2	2.2±10.2
ウエスト (cm)	77.8±6.7	77.0±7.3
ヒップ (cm)	93.4±5.7	91.2±4.2 ^{p=0.12}
ウエスト/ヒップ比	0.83±0.04	0.84±0.05
腹部皮下脂肪厚み (mm)	15.9±5.1	12.4±5.7
血糖値 (mg/dL)	89.7±9.0	85.0±10.6 ^{p=0.13}
コレステロール (mg/dL)	190.5±15.8	198.0±20.7 ^{p=0.15}
トリグリセリド (mg/dL)	108.7±94.5	98.7±63.9
遊離脂肪酸 (mEq/L)	0.34±0.11	0.26±0.11
クレアチニン (mg/dL)	0.95±0.15	1.07±0.10 ^{p=0.05}
総蛋白 (g/dL)	7.13±0.16	7.18±0.34

各値は 6 名の平均値と標準偏差で示した。

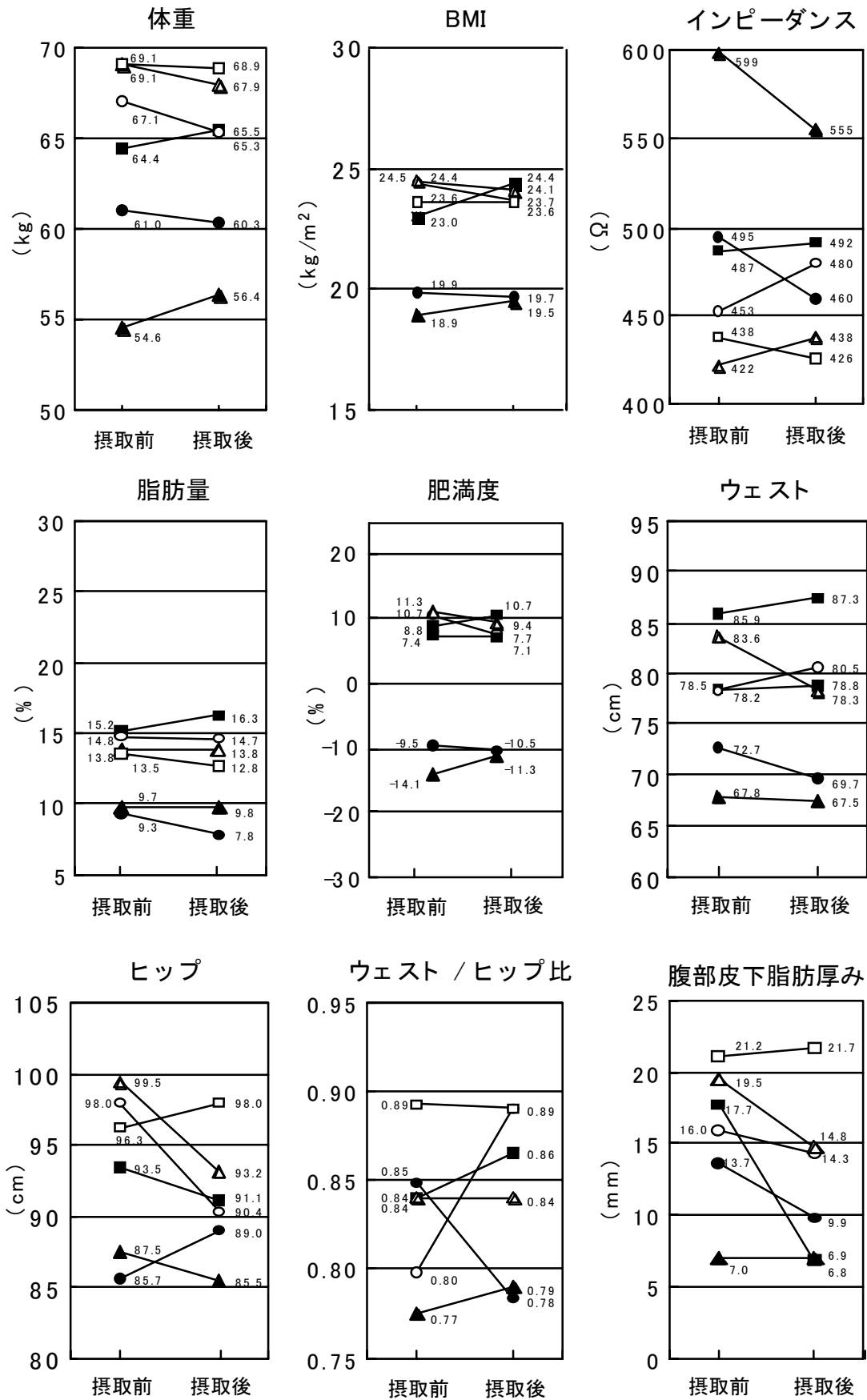


図 23. 生コーヒー豆エキス (200 mg/日) 4 週間摂取前後の被験者の検査値比較

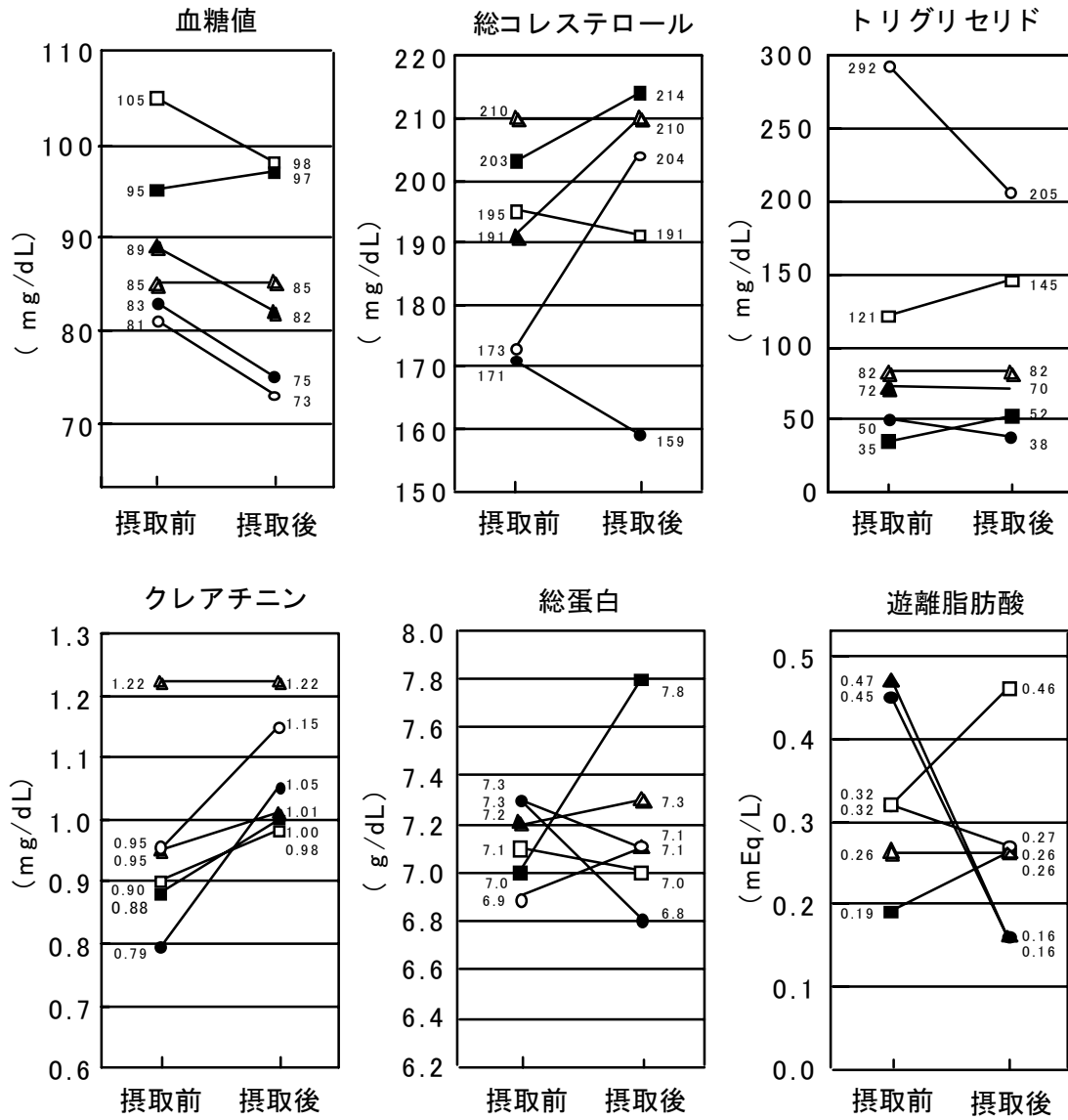


図 24. 生コーヒー豆エキス (200 mg/日) 4 週間摂取前後の血液検査値比較

6. 生コーヒー豆エキスの安定性

(1) 熱安定性

生コーヒー豆エキスの熱安定性を検討した結果、クロロゲン酸及びクロロゲン酸類含量は、120℃、1時間の加熱によっても変化がみられず、通常の商品加工温度に対して安定であることが分かりました。

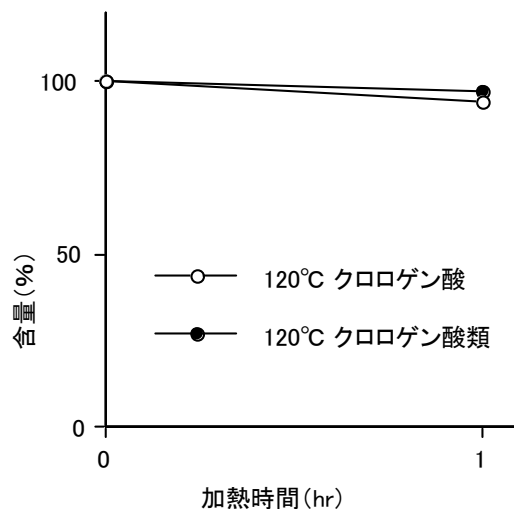


図 25. 生コーヒー豆エキスの熱安定性 (初期値を 100%とした)

(2) pH 安定性

生コーヒー豆エキスを、pH を調整した水溶液とし、非遮光下、室温で1週間保存後、クロロゲン酸及びクロロゲン酸類含量を測定しました。生コーヒー豆エキスのクロロゲン酸及びクロロゲン酸類は、中性から酸性域で安定であることが分かりました。

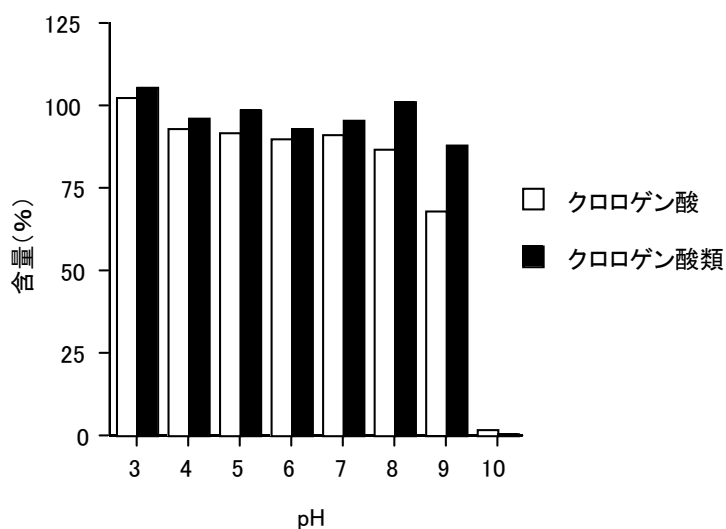


図 26. 生コーヒー豆エキスの pH 安定性 (初期値を 100%とした)

(3) 水溶性

生コーヒー豆エキスを水に溶解し、室温及び4℃で16時間保存後、沈澱や濁りの有無を目視で確認しました。生コーヒー豆エキスの水溶性は中性域及び酸性域において極めて高いことがわかりました。

pH	水溶性	
	室温	4℃
中性 (pH5~6)	濃度 50%まで沈澱, 濁り無し	濃度 50%まで沈澱, 濁り無し
酸性 (pH3)	濃度 5%まで沈澱, 濁り無し	濃度 2%まで沈澱, 濁り無し

(4) 水溶液の安定性

推奨摂取量の生コーヒー豆エキス (200 mg) を 500 mL の水または分岐鎖アミノ酸系飲料 (A, B および C 社) に配合し、ペットボトルに充填・殺菌後、各種条件下で 6 ヶ月間にわたってクロロゲン酸とクロロゲン酸類の変化を調べました。試験の結果、クロロゲン酸、クロロゲン酸類ともに、水溶液やアミノ酸系飲料の種類を問わず 6 ヶ月間安定であることがわかりました (図 27)。この結果より、水溶液やアミノ酸系飲料への配合において、生コーヒー豆エキス中のクロロゲン酸およびクロロゲン酸類は安定であると考えられます。

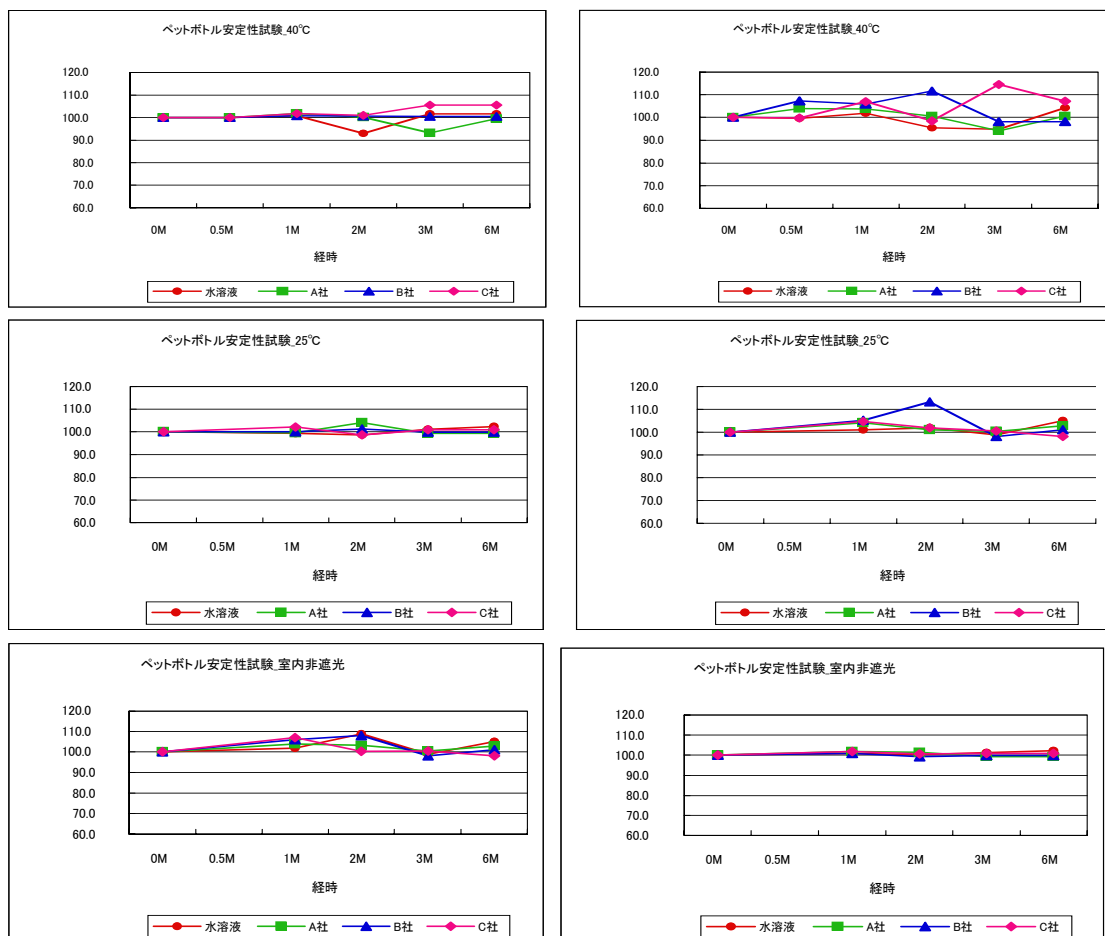


図 27. 生コーヒー豆エキス中のクロロゲン酸 (左) およびクロロゲン酸類(右)の溶液中での安定性

7. 生コーヒー豆エキスの栄養成分

分析項目	結果	注	分析方法
水分	2.2g/100g		常圧加熱乾燥法
タンパク質	29.2g/100g	1	ケルダール法
脂質	0.3g/100g		酸分解法
灰分	10.2g/100g		直接灰化法
糖質	58.1g/100g	2	
エネルギー	352kcal/100g	3	
食物繊維	0.5g/100 未満		酵素-重量法
ナトリウム	19.8 mg/100g		原子吸光光度法

注 1) 窒素・タンパク質換算係数：6.25

注 2) 栄養表示基準（平成 15 年厚生省告示第 176 号）による計算式：100 - (水分 + タンパク質 + 脂質 + 灰分 + 食物繊維)

注 3) 栄養表示基準（平成 15 年厚生省告示第 176 号）によるエネルギー換算係数：タンパク質 4; 脂質 9; 糖質 4; 食物繊維 2

試験依頼先：財団法人日本食品分析センター、試験成績書発行年月日：平成 15 年 8 月 19 日、試験成績書発行番号：第 303080129-001 号

8. 生コーヒー豆エキスの安全性

(1) 残留農薬

食品衛生法（平成 18 年 5 月 29 日に施行された第 11 条第 3 項の規定「いわゆる残留農薬ポジティブリスト制度」を含む）に設けられた残留農薬の規格基準に対する対応としましては、弊社製品「生コーヒー豆エキス-P」の残留農薬が不検出であるという分析証明書を入手しております。また、本製品について 447 品目の残留農薬一斉分析を自主的に行い、いずれも「検出せず」の結果を得てその安全性を確認してきました。

さらに、弊社のコーヒー豆は全日本コーヒー協会に加盟団体から購入したものであり、本協会では以前から検疫所が行うモニタリング検査とは別に、自主検査を実施しております。今後は新しいポジティブリスト制度の主旨に沿って、使用が確認されている農薬およびモニタリング検査に準じた幅広い農薬などの分析検査を行おうとしています。従いまして、トレーサビリティについては万全の体制が整っております。

(2) 急性毒性 (LD50)

生コーヒー豆エキス (1500 mg/kg) を絶食下の ICR 系雌雄マウス (5 週齢) に経口投与後、14 日間飼育・観察を行いました。その結果、死亡例や体重推移の異常（対照群との比較）は認められず、試験終了後に行った剖検においても、臓器の肉眼的異常は認められませんでした。したがって、生コーヒー豆エキスのマウスにおける LD50 値（経口投与）は、雌雄ともに 1500 mg/kg 以上です。

(3) 亜急性毒性 (ラット)

生コーヒー豆エキス (1 および 2%) を配合した飼料を、雌雄ラットに 4 週間継続摂取させ、体重や死亡例を観察しました。その結果、いずれの群において

も、死亡例や一般症状の異常は認められませんでした。体重については、2%摂取群に生コーヒー豆エキスの有効性に基づく増加抑制傾向が認められました。

(4) 変異原性 (Ames test)

生コーヒー豆エキスの変異原性を、ネズミチフス菌 (TA100, TA1535, TA98, TA1537) および大腸菌 (WP2uvrA) を用いて調べました。その結果、1.2~5000 $\mu\text{g/mL}$ の濃度において、代謝活性化の有無に関わらずいずれの菌株においても対照と比較して2倍以上の復帰変異コロニーの増加は認められませんでした。したがって、生コーヒー豆エキスは本条件下で突然変異誘発能を有しないことが判明しました。

(5) ヒト継続 (4週間) 摂取試験 (健常人男性)

推奨摂取量の3倍量に相当する600 mgの生コーヒーエキスを、継続摂取した際の安全性を調べました。社内男性ボランティア5名 (平均年齢38.5歳) に対し、「5. ヒトにおける作用 (p. 27)」で用いたカプセルを4週間自由摂取させ、摂取前後の血圧、心電図、血液成分および尿成分 (p. 28 参照) に及ぼす影響を調べました。試験の結果、摂取前後において、血圧、心電図および尿成分に異常は認められませんでした。また血液成分についても、低血糖や貧血の兆候を示す検査値は無く、摂取前後で有意差は認められませんでした。

(6) 食品添加物

生コーヒー豆抽出物は、化学的合成品以外の食品添加物の酸化防止剤として登録されています。このことから、生コーヒー豆の抽出物は、食品原料としての使用歴が長い安全な素材と言えます。

(7) カフェインの安全性

カフェインはメチルキサンチン系のアルカロイドの一種ですが、その構造がある種の医薬品に似ている為、摂取することで中枢興奮、血管拡張、気管支拡張などの薬理作用を示します。しかしながら、カフェインのこれらの作用はアルカロイドの中でも緩和で、毒性も非常に低いものです。カフェインのマウスにおけるLD50値* (経口投与) は、体重1 kgあたり220~250 mgとされています。コーヒー1杯分に含まれるカフェイン量は多くても100 mgであり、これは体重60 kgの成人で、コーヒーカップ130~150杯を飲んだ量に相当します。従って、通常のコーヒー飲用量程度ではカフェインは人体に悪影響を及ぼしません。また、カフェインは国際疾病分類**の中毒物に該当しませんし、依存性や習慣性も認められていません。

*投与動物の半数が死亡する用量, **世界保健機関 (WHO) が決めている疾病等の分類

9. 生コーヒー豆エキスの推奨摂取量

1日あたり生コーヒー豆エキス-Pとして、100~200mgの使用をお勧めします。

10. 生コーヒー豆エキスの応用例

	利用分野	訴求	剤形
食品	ダイエット・スポーツアシスト食品	1) 脂肪吸収遅延・抑制	飲料(コーヒー及びコーヒー飲料, 清涼飲料水, ドリンク等), ハードおよびソフトカプセル, タブレット, キャンディー, チューインガム, グミ, クッキー, チョコレート, ウエハース, ゼリー等
		2) 脂肪蓄積抑制	
		3) 脂肪分解促進	
		4) 脂肪燃焼促進	
食品	糖尿病予防食品	1) 糖質吸収遅延	
		2) 糖質合成阻害	
化粧品	痩身用化粧品	1) セルライト及び水太りの解消 2) 体脂肪減少	化粧水, ローション, パック, ボディジェル等

生コーヒー豆エキスは水溶性が高い為、食品では飲料、また化粧品では化粧水をはじめとした幅広い用途に応用可能です。

11. 荷姿

生コーヒー豆エキス-P (粉末, 食品用途)

生コーヒー豆エキス-PC (粉末, 化粧品用途)

5kg 内装: アルミ袋

外装: ダンボール包装

12. 保管方法

高温多湿を避け、暗所に保管して下さい。

13. 表示例

<食品>

生コーヒー豆エキス-P

表示例: コーヒー, コーヒーエキス, 生コーヒー豆エキス, コーヒー生豆エキス, 生コーヒー豆抽出物, コーヒー生豆抽出物, コーヒー抽出物

<化粧品>

生コーヒー豆エキス-PC

表示名称: コーヒーエキス, デキストリン

INCI名: Coffea Arabica (Coffee) Seed Extract (and) Dextrin

14. エコサート認証

生コーヒー豆エキス-PC (コーヒーエキス, デキストリン) はエコサート (フランスに拠点を置くオーガニック製品認証団体です。認定を継続するには一年に一度の年次検査を受ける必要があります。オーガニック認証団体の世界基準と言われています) に認証されています。

製品規格書

製品名

生コーヒー豆エキス-P

食品

本品は、コーヒー豆すなわちアカネ科コーヒーノキ (*Coffea canephora*) の種子より含水エタノールで抽出して得られた粉末である。本品は定量するとき、クロロゲン酸を 24.0 % 以上、クロロゲン酸類を 45.0 % 以上含む。本品は水溶性である。

<u>性状</u>	淡黄色の粉末で、わずかに特有のにおいがある。	
<u>クロロゲン酸含量</u>	24.0 % 以上	(HPLC)
<u>クロロゲン酸類含量</u>	45.0 % 以上	(HPLC)
<u>乾燥減量</u>	10.0 % 以下	(衛生試験法, 1g, 105°C, 2 時間)
<u>純度試験</u>		
(1) 重金属 属試験法)	10 ppm 以下	(食品添加物公定書, 一般試験法, 重金)
(2) ヒ素	1 ppm 以下	(食品衛生検査指針, ヒ素試験法)
<u>一般生菌数</u>	1 × 10 ³ 個 /g 以下 (衛生試験法, 標準寒天培地)	
<u>真菌数</u>	1 × 10 ² 個 /g 以下 (衛生試験法, ポテトデキストロース 寒天培地 クロラムフェニコール添加)	
<u>大腸菌群</u>	陰 性 (衛生試験法, BGLB 培地)	
<u>組 成</u>	<u>成 分</u>	<u>含有量</u>
	生コーヒー豆抽出物	100 %

製品規格書

製品名

生コーヒー豆エキス-PC

化粧品

本品は、コーヒー豆すなわちアカネ科コーヒーノキ (*Coffea canephora*) の種子より含水エタノールで抽出して得られた粉末である。本品は定量するとき、クロロゲン酸を 10.0 % 以上、カフェインを 4.0 % 以下含む。本品は水溶性である。

性状 淡黄色の粉末で、わずかに特有のにおいがある。

クロロゲン酸含量 10.0 % 以上 (HPLC)

カフェイン含量 4.0 % 以下 (HPLC)

乾燥減量 10.0 % 以下 (1g, 105°C, 2 時間)

純度試験

(1) 重金属 10 ppm 以下 (第 2 法)

(2) ヒ素 1 ppm 以下 (第 3 法, 装置 B)

一般生菌数 1×10^3 個 /g 以下 (衛生試験法, 標準寒天培地)

真菌数 1×10^2 個 /g 以下 (衛生試験法, ポテトデキストロース寒天培地 クロラムフェニコール添加)

大腸菌群 陰 性 (衛生試験法, BGLB 培地)

<u>組 成</u>	<u>成 分</u>	<u>含有量</u>
	コーヒーエキス	80%
	デキストリン	20%
	合 計	100%

この規格及び試験方法において、別に規定するものの他は、外原規通則及び一般試験法を準用するものとする。

商品企画からOEM生産まで
お気軽に、ご相談ください。

オリザ油化は、健康に役立つ機能性をもつ
食品素材の開発をめざしています。
多品種の機能性食品素材を生産し、多くの
食品情報を有しております。
お気軽にお問い合わせください。

製造発売元：オリザ油化株式会社

〒493-8001 愛知県一宮市北方町沼田1番地

TEL(0586)86-5141(代表) FAX(0586)86-6191

URL/<http://www.oryza.co.jp/>

E-mail: info@oryza.co.jp

東京営業所

〒101-0041 東京都千代田区神田須田町1-24-10 大東京ビル 5F

TEL (03)5209-9150 FAX (03)5209-9151

E-mail: tokyo@oryza.co.jp



*本資料は、学術的なデータ等に基づき作成しておりますが、当該製品を配合した消費者向け製品への表現については、健康増進法や薬事法等の関連法規に従うようご注意ください。

*本書の無断複写、及び流用は、著作権法上の例外を除き禁じられています。

*本カタログに記載された内容は、都合により変更させていただくことがあります。

*今回の改訂箇所

- ・ 「糖尿病予防およびダイエット成分」最近の知見を追加 (P3)
- ・ 掲載論文追加 (P18)
- ・ 残留農薬改定 (P34)
- ・ エコサート認証追加 (P36)
- ・ PS1 規格書削除

制定日 2003年10月7日

改訂日 2010年2月24日