

活性酸素を消去する抗酸化物質であるお茶類の抗酸化能比較

杉田 収

新潟県立看護大学 (看護基盤科学)

Comparison of Antioxidant Activity of Green and Black Teas

Osamu Sugita

Basic Nursing Science, Niigata College of Nursing

キーワード：活性酸素 (active oxygen), 抗酸化物質 (antioxidants), お茶 (green tea), 紅茶 (black tea), クメンヒドロペルオキシド/ヘモグロビン・メチレンブルー法 (cumene hydroxide / hemoglobin · methylene blue method)

抄録

活性酸素を除去する代表的なポリフェノール類であるカテキンやエピカテキンを有するお茶類の抗酸化能がクメンヒドロペルオキシド/ヘモグロビン・メチレンブルー法 (cumene hydroxide / hemoglobin · methylene blue method) で測定可能であった。これらの抗酸化能は平均で焙じ茶 (2種類) 1 g あたり 207 $\mu\text{mol/L}$, 煎茶 (5種類) 280 $\mu\text{mol/L}$, 抹茶 (2種類) 481 $\mu\text{mol/L}$, 紅茶 (6種類) 215 $\mu\text{mol/L}$ であった。紅茶は焙じ茶より低い抗酸化能を有するものが半数で, 残り半数は, ほぼ煎茶程度の抗酸化能であった。またお茶については購入価格の高いものが, 比較的高い抗酸化能を有していた。

加熱, 或いは発酵で作成される焙じ茶や紅茶にはビタミン C (アスコルビン酸) がほとんど含まれないことから, これらの抗酸化能はほぼポリフェノール類に起因すると考えられた。

研究目的

健康を維持するには, 高コレステロール, 喫煙, 高血圧などの生活習慣病の危険因子を避ける必要があるが, これらの危険因子の背景には活性酸素が深く関与している¹⁾。また活性酸素は癌や老化などの根本的な原因であると言われている。なかでも活性酸素の 1 種に上げられる酸化 LDL (酸化低比重リポタンパク質) は脳血管障害との関連性で注目されている。脳血管障害の予防としては, 体内で酸化 LDL を産生させない生活や食習慣が重要と考えられている²⁾。

ここでは高分子で複雑な分子構造である酸化 LDL (LOOH) の代用に, その性質を持ちながら簡単な分子構造であるクメンヒドロペルオキシド (cumene hydroperoxide : CHP $\text{C}_6\text{H}_5(\text{CH}_3)_2\text{COOH}$) を利用した。CHP はクメン ($\text{C}_6\text{H}_5(\text{CH}_3)_2\text{CH}$) の過酸化物であり, お茶などの抗酸化物質で還元される。

CHP を還元する抗酸化物質には緑黄色野菜やワイン、さらに焙じ茶、煎茶、抹茶、紅茶などがあるが、本研究では焙じ茶、煎茶、抹茶、紅茶の持つ抗酸化能を測定した。測定は我々が開発した新しい抗酸化能の測定法である CHP/Hb・MB (クメンヒドロペルオキシド/ヘモグロビン・メチレンブルー) 法を用いた³⁾。

研究方法

1, 試料

ほうじ茶、煎茶、抹茶の合計 9 種類のお茶は小酒井園 (上越市) から供与を受けた。紅茶 (6 種類) は市販品を購入した。

2, 試薬

1) MBI/Hb 溶液: MOPS 緩衝液 (100 mmol/L, pH 6.0) に, MBI (2-メチルベンズイミダゾール) を 45.4 mmol/L, ザルコシネート LN を 0.75g/L, ポリオキシエチレン(10)オクチルフェニルエーテルを 1g/L, さらに Hb (ヘモグロビン) の 67.5 mg/L を全て混合溶解し使用時まで 4°C で保存した。5 ヶ月間は使用可能であった。

2) MCDP (10-*N*-methylcarbamoyl-3, 7-dimethyl - amino-10 β -phenothiazin) 溶液: 使用時濃度 0.04 mmol/L の MCDP 溶液を調整した。MCDP の 13.68 mg を DMF (*N,N'*-ジメチルホルムアミド) の 1 mL で溶解し, 遮光して 4°C で保存した。1 ヶ月間は使用可能であった。

3) MBI/Hb/MCDP 混合使用液: MCDP 溶液の 100 μ L を MBI/Hb 溶液 100 mL に溶解した。この混合使用液は用事調整で, 37°C で 15 分間インキュベーションしてから使用した。

4) CHP の調整: 市販の濃度検定された CHP を正確に秤量して 1,000 μ mol/L 濃度に調整した。調整法はメスフラスコを使用して, その容量の約 1/4 量のイソプロパノールで CHP を溶解し, 次に約 3/4 量の 0.1N HNO₃ を加えて液量を合わせた。CHP は 500 μ mol/L 濃度で使用するために, 使用時には前記 0.1 N HNO₃ で 2 倍希釈した。調整後の CHP 溶液は 1 週間が保存限界であった。

3, お茶類の測定法

焙じ茶、煎茶の測定は茶葉の 2.0 g に熱湯の 100 mL を加え, 1.0 分間静置して抽出後, 約 20 秒間で別容器に移し, それを試料にした。

抹茶も同様な手順で抽出した。抽出液に細かな茶葉が混入したため, 濾紙で濾過し, その濾液を試料にした。

紅茶は茶葉の 2.0 g に熱湯の 100 mL を加え, 2.5 分間の抽出時間後, 約 20 秒間で別容器に移した。

各試料の 30 μ L を試験管に採取し, 500 nmol/mL の CHP 溶液の 70 μ L を加えた。その後 MBI/Hb/MCDP 混合使用液を 3mL 添加して, 30°C, 16 分間インキュベートし, 675 nm の波長で吸光度を測定した。

標準液は 500 μ mol/L 濃度の CHP 溶液を用いた。

4, 抗酸化能の計算法

計算は以下のとおりである。

$$\text{抗酸化能} (\mu\text{mol/l}) = (1 - (E_s - E_b) / (E_{std} - E_b)) \times 35 \mu\text{mol/l} \times 1000/30$$

ここでの E_s は試料の吸光度, E_b は試薬ブランクの吸光度, E_{std} は標準物質の吸光度である。
 $35 \mu\text{mol/l}$ は $500 \mu\text{mol/l}$ の CHP を $70 \mu\text{L}$ 添加したことによる。また $1000/30$ は試料 1 mL 当りに換算したことによる。

結果

1, お茶の抗酸化能

焙じ茶, 煎茶, 抹茶のそれぞれの抗酸化能を表 1 に示した。100 g 当りの購入価格がもっとも低い焙じ茶の宇治錦が調べた 9 種類のお茶のなかで, もっとも低い $203 \mu\text{mol/L}$ の抗酸化能を示した。一方購入価格が高かった抹茶の松の翠は $447 \mu\text{mol/L}$ で 2 番目に高い抗酸化能を示した。

表 1 焙じ茶, 煎茶, 抹茶の抗酸化能 (CHP/Hb・MB 法)

	商品名	価格 (円)	抗酸化能
焙じ茶 N = 2 $\bar{X} = 207$	宇治錦	300	203
	峰錦	600	210
煎茶 N = 5 $\bar{X} = 280$	瑞雲	500	273
	天下一	600	283
	玉露芽	800	247
	利久	1000	294
	特選玉翠	2000	303
抹茶 N = 2 $\bar{X} = 481$	千代の栄	2300	515
	松の翠	3300	447

抗酸化能の単位は $\mu\text{mol/L}$

焙じ茶の抗酸化能は 1 g あたり, 平均で $207 \mu\text{mol/L}$, 煎茶 $280 \mu\text{mol/L}$, 抹茶 $481 \mu\text{mol/L}$ であった。購入価格の高いお茶が, 比較的高い抗酸化能を有していた。

2, 紅茶の抗酸化能

紅茶の抗酸化能は表 2 に示した。中国産のアールグレイの抗酸化能が $169 \mu\text{mol/L}$ でもっとも低く, 焙じ茶よりも低い抗酸化能であった。一方スリランカ産のヌワラエリヤは $311 \mu\text{mol/L}$ でもっとも高い抗酸化能を示し, 煎茶の平均値より高い抗酸化能であった。

表2 紅茶の抗酸化能 (CHP/Hb・MB法)

	商品名	生産国	抗酸化能 ($\mu\text{mol/L}$)
	メルローズ (トロイメライ)	インド	177
	メルローズ (プリムローズ)	スリランカ	231
N=6	トワイニング (ウヴァ セイロン)	スリランカ	173
$\bar{X}=215$	トワイニング (アール グレイ)	中国	169
	ル マルシェ (ヌワラ エリヤ)	スリランカ	311
	ル マルシェ (ジェームス タイロース)	スリランカ	228

また紅茶は焙じ茶より低い抗酸化能を有するものが半数で、残り半数は、ほぼ煎茶程度の抗酸化能であった。

平均は $215 \mu\text{mol/L}$ であった (表2)。

考察

本法による抗酸化能は過酸化物の CHP を還元する力である。その還元物質、すなわち抗酸化物質は主にビタミンC (アスコルビン酸)、ビタミンE (α トコフェロール)、ポリフェノール類であった⁴⁾。これらの抗酸化物質に共通しているものはヒドロキシル基 (-OH) である⁵⁾。

お茶や紅茶にはカテキンやエピカテキンなどのポリフェノール類が豊富に含まれていることは良く知られている⁶⁾。本法による抗酸化能は主にお茶や紅茶が含有するポリフェノールに由来するものと考えられる。さらにビタミンCが残存していれば、それも加えた抗酸化能である。

ビタミンCは加熱によって、その還元力を失う。焙じ茶、紅茶の抽出液にはほとんどビタミンCは存在しないので⁷⁾、これらの抗酸化能はほぼポリフェノール類と考えられる。他の煎茶や抹茶の抽出液にはビタミンCが存在するので⁷⁾、これらの抗酸化能はビタミンCとポリフェノール類の両者によるものと考えられる。

脂質の過酸化物 (LOOH) は活性酸素種に分類され、ヒトには毒物となる⁸⁾。お茶や紅茶は、この過酸化物を還元し無毒化するものと考えられる。生寿司を食べながらのお茶や、フランス料理の食後の紅茶は、きわめて理にかなった食事作法と思われる。

結論

カテキン、エピカテキンを有するお茶類の抗酸化能が本法で測定可能であった。これらの抗酸化能は平均で焙じ茶 1 g あたり $207 \mu\text{mol/L}$ 、煎茶 $280 \mu\text{mol/L}$ 、抹茶 $481 \mu\text{mol/L}$ 、紅茶 $215 \mu\text{mol/L}$ であった。

文献

- 1) 杉田 収. 人の健康と活性酸素. 新潟看護紀要 2001; 7: 9-19.
- 2) Yagi K. Assay for serum lipid peroxide level and its clinical significance in lipid peroxides in biology and medicine. New York: Academic Press; 1982. p. 223-42.
- 3) 杉田 収, 中野正春, 松戸隆之, 三井田 孝, 岡田正彦. クメンヒドロペルオキシドを用いたヒト血漿抗酸化能の測定. 臨床病理 1998; 46: 271-6.
- 4) Sugita O, Ishizawa N, Matsuto T, Okada M, Kayahara N. A new method of measuring the antioxidant activity of polyphenols using cumene hydroperoxide. Ann Clin Biochem 2004; 41: 72-7.
- 5) 杉田 収, 石澤信人, 中野正春, 松戸隆之, 岡田正彦. クメンヒドロペルオキシド/ヘモグロビン・メチレンブルー法による緑茶・紅茶の抗酸化能. 臨床病理 2003; 51: 859-63.
- 6) Umegaki K, Sugisawa A, Yamada K, Higuchi M. Analytical method of measuring tea catechins in human plasma by solid-phase extraction and HPLC with electrochemical detection. J Nutr Sci Vitaminol(Tokyo) 2001; 47:402-8.
- 7) 山口迪夫監修. 日本食品成分表. 東京: 医歯薬出版; 1996.
- 8) Sies H. Oxidative stress-Oxidants and Antioxidants-. Tokyo: Academic Press; 1991. p. 61-2.