

北 陸 作 物 学 会 報

第 40 号 (2 0 0 5)

日 本 作 物 学 会 北 陸 支 部
北 陸 育 種 談 話 会

北陸作報

Hokuriku

Crop Sci

ソバ湯における一重項酸素寿命の 近赤外時間分解フォトンカウンティングによる評価

井上直人^{*1)}・藤田かおり¹⁾・加藤昌和¹⁾・楊 重法¹⁾

(^{*1)} 信州大学農学部, 南箕輪村 〒399-4598)

Singlet Oxygen Lifetime in the Boiling Water of the Common Buckwheat Noodle as Evaluated by Time-resolved NIR Photon Counting

Naoto INOUE^{*1)}, Kaori FUJITA¹⁾, Masakazu KATO¹⁾ and Zhongfa YANG¹⁾

(^{*1)} Faculty of Agriculture, Shinshu University, Minamiminowa, 399-4598, Japan)

ソバ湯の一重項酸素消去活性を水と比較した。一重項酸素の寿命はレーザー励起近赤外時間分解フォトンカウンティング法によって評価した。検出された光量子の波長は1270~1280nmにピークを持っていることが確認された。ソバ湯における一重項酸素の寿命は水道水や超純水の約20%と短かった。ソバ湯に過酸化水素水とアセトアルデヒドを添加した試料からの可視光フォトンカウンティング法による活性酸素消去能の評価でも、水道水や超純水より活性酸素消去能が高かった。超純水を加熱しても一重項酸素消去能に有意な差は無かった。これらのことから、ソバ湯は高い一重項酸素の消去能をもつこと、そして普通ソバ粉が光酸化抵抗性に寄与する水溶性物質を含んでいることが示唆された。

The quenching activity of the singlet oxygen in the boiling water of common buckwheat noodle (BWC) was evaluated in comparison with running and distilled water. Singlet oxygen lifetime was measured by time-resolved photon counting of near infrared induced by laser. The peak of emitted photon wavelength was observed from 1270 to 1280 nm by photomultiplier. The lifetime of BWC was about 20% of running and distilled water. BWC has also higher antioxidant activity, which was evaluated by photon emission from BWC with a mixed solution of H₂O₂ and acetaldehyde, than running and distilled water. Boiling treatment has no effect on the singlet oxygen lifetime of distilled water. It was suggested that BWC had high quenching activity of singlet oxygen and common buckwheat flour contained the water soluble compounds that contribute the resistance to oxidation induced by solar radiation.

キーワード：一重項酸素, 活性酸素, 普通ソバ, フォトンカウンティング, 水

Key words: Active oxygen, Common buckwheat, Photon counting, Singlet oxygen, Water

一重項酸素は紫外線などによる光増感反応によって生体内でも生じ、光加齢や皮膚がんを引き起こすことが知られている重要な活性酸素種の一つである (荒金 1999)。白血球の活性酸素生成系においても生成され (Kiryu *et al.* 1999)、バクテリアなどを効率的に殺菌する重要な働きをしているとみられている。しかしながら、自己防衛時における自らの損傷を小さくする防御機構は動物では必ずしも十分でなく、食品などによって外部からの摂取にたよる必要がある。

植物は光酸化を防御する機構を発達させており、β-カ

ロチンなどのクエンチャー (一重項酸素と相互に作用して失活させる物質、消光剤) によって、生成された一重項酸素はすみやかに消去される (齋藤ら 1990)。とりわけ光酸化を起こしやすい山岳環境に起源し、進化してきた植物は一重項酸素生成量が少ないか、またはクエンチング能が高い可能性があり、それを素材にした食品もまた同様の性質を持っていると推察される。このように考えると、山岳地帯に起源した作物であるソバも高い「光酸化抵抗性」を保有している可能性がある。しかしながらこの観点からソバの植物体や食品を評価した研究は見当たらない。

この報告では、ソバ食品の中でも伝統薬（市川 2000）として扱われてきたソバ湯の一重項酸素消去能は高いのではないかと考え、水と比較検討することにした。ソバ湯に着目した理由は、伝統薬として用いられるからには食品と区別されるそれ相応の理由があるであろうということと、もし水溶性のクエンチャーが存在するならば食品加工において扱いやすいために食品素材として発展性があると考えたためである。また水などの溶媒にその成分が分散していれば、時間分解フォトンカウンティングを用いた一重項酸素寿命の精密な計測が可能であるためである。

材料と方法

供試材料

- 1) ソバ湯の上澄み：長野県富士見町乙事のソバ処「おっこと亭」で客に出されるものであり、なお、ここでソバを茹でるのに使用されている水は富士見町乙事の八ヶ岳山麓の地下水（約60m）である。品種は乙事在来種である。このソバ湯は手打ちそばのゆで汁で、2004年6月24日13時に採取し、熱いものを直ちにペットボトルに入れて5℃で24時間静置し、透明になった上澄みを使用した。適宜水を添加しながら茹でているために、ソバの麺と水の正確な比率は不明である。
- 2) 地下深層水（「常和の命水」、長野県伊那市富県、地下100mから揚水、2004年6月24日採取）
- 3) 超純水（長野県上伊那郡南箕輪村の信州大学農学部で作成されたもので、2004年6月24日採取）
- 4) 水道水（千葉県野田市と東京都練馬区の家庭の蛇口からのもので、2004年6月23日採取）をそれぞれ用いた。

分析方法

1) 近赤外時間分解フォトンカウンティングによる一重項酸素寿命の計測

この研究では、一重項酸素のうちの $^1\Delta_g$ を検出定量する方法のうちで最も信頼できる（齋藤・松浦 1990）、化学発光法を用いた。

分析機器

フォトンカウンティングは、近赤外分光測光装置（C8232、浜松ホトニクス社）を用いて行なった。

検出波長

1270nmとした。この波長以外では、他の二次的励起物の発光とも重複するために不正確となるためである（齋藤・松浦 1990）。

光増感剤

試料の水やソバ湯上澄み液にローズベンガルを $5\text{mM} \cdot \ell^{-1}$ の割合で加えた。

測定条件

ゲート（サンプリング）時間は $0.5\mu\text{s}$ 、寿命の測定時間はレーザー照射後 $0\sim 30\mu\text{s}$ 、送り幅 $0.5\mu\text{s}$ 、励起レーザー：YAG（532nm）、パルス幅10ns、繰り返し20Hz、強度2mJである。このレーザー照射による光増感作用によって、溶液中に一重項酸素が生成され、基底状態に戻るときに微弱発光する。発光の計測は100ショットの積算カウント数によって求めた。反復は2回である。

2) 可視光フォトンカウンティングによる活性酸素消去能の計測

分析方法

Yoshiki *et al.*（1995a, 1995b）による活性酸素種とアセトアルデヒドの混合溶液を用いた微弱発光分析（通称、XYZ系微弱発光分析：吉城ら1998）による活性酸素消去能の評価を行なった。この方法はTrautz und Schorigin（1905）が見出した極微弱光反応系を応用して、触媒物質と活性酸素消去物質の協奏的な交互作用による新しい活性酸素消去系を検出しようとしたものであり、異なる多くの化学物質の混合体である食品において有望な簡易スクリーニング法の一つである。

分析機器

フォトンカウンティングは、可視光微弱発光分析装置（C8801、浜松ホトニクス社）を用いて行なった。計測トレイは直径26mmのステンレス製のものである。

検出波長

400から700nmを中心にカウントした。なおフォトマルチプライヤーの最大感度を示す波長は400nm付近である。

触媒種

供試材料の水やソバ湯上澄み液にアセトアルデヒドを $360\text{mmol} \cdot \ell^{-1}$ の割合で含む蒸留水 $600\mu\ell$ を加えた。

活性酸素種

過酸化水素を $196\text{mmol} \cdot \ell^{-1}$ の割合で含む蒸留水 $600\mu\ell$ を加えた。これはフォトンカウンティング直前に計測トレイに注入した。

測定条件

サンプリング時間は過酸化水素を注入した直後から10分間であり、10秒に一回一秒当たりの光量子数をカウントし、60回の時系列データを取得して積算カウント数を求めた。反復は2回である。

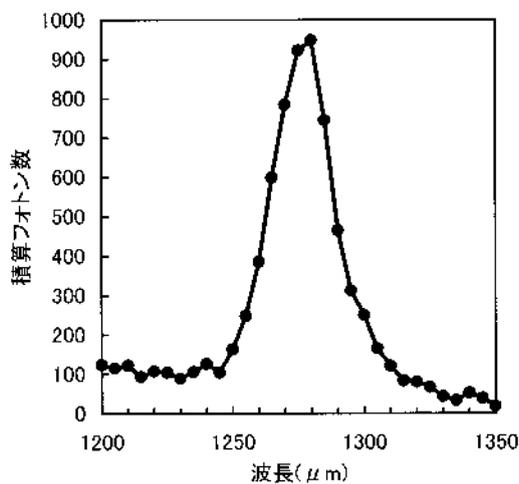
結果

検出された光量子の波長は1270～1280nmにピークを持っていることが確認された（第1図）。

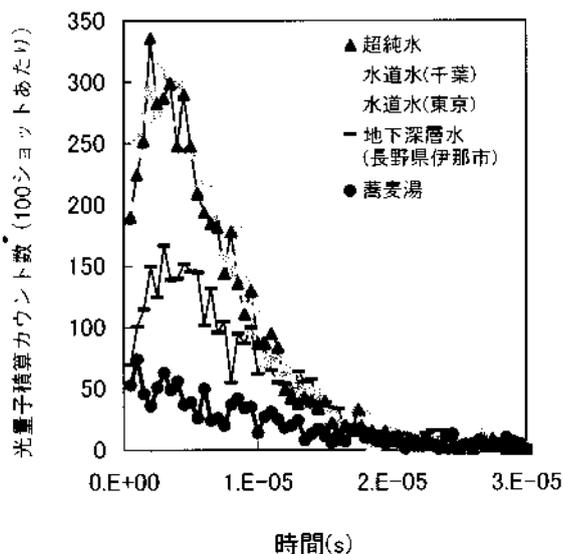
一重項酸素の寿命を調べるために光量子数の経時的な変

化を30 μ sまで0.5 μ sおきに測定した結果を第2図に示した。一重項酸素のうちの $^1\Delta_g$ の発光波長である1270nmにおける光子数は水道水と超純水では差がなかったが、伊那市の地下深層水とソバ湯は低く推移し、特にソバ湯は他とは異なり極めて低い値となった。

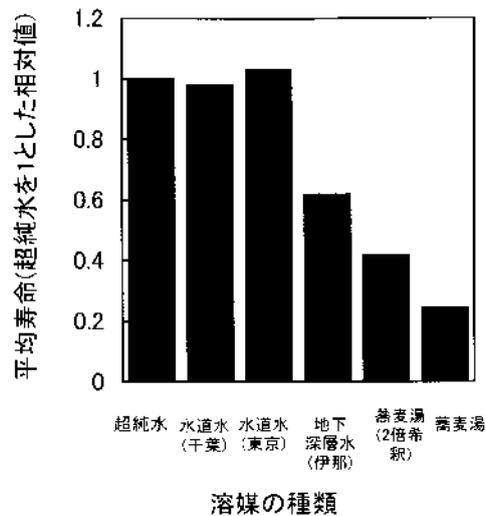
一重項酸素の平均寿命を比較するために、30 μ sまでの積算値を求めて超純水を1とした場合の相対値を図に示した(第3図)。その結果、ソバ湯における一重項酸素の寿命は水道水や超純水の約20%と短かった(P<0.001)。また地下深層水の寿命は水道水や超純水より有意に短く(P<0.01)、ソバ湯のそれよりも長かった(P<0.01)。供試し



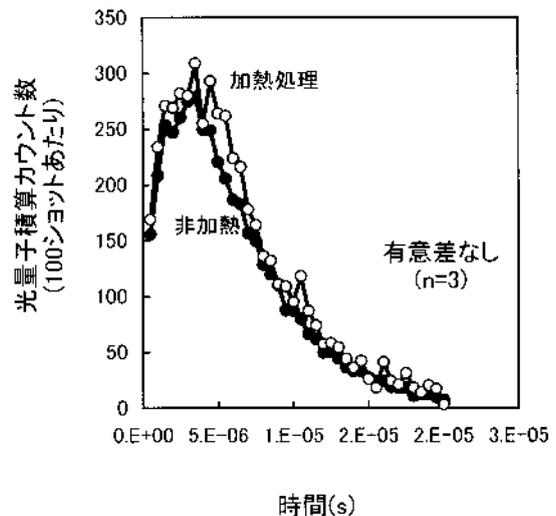
第1図 水のレーザー励起蛍光スペクトル。
材料: 水道水(千葉県野田市)
光増感剤: ローズベンガル。



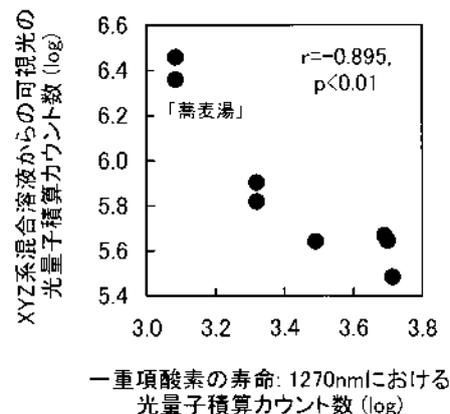
第2図 「蕎麦湯」および水の一重項酸素寿命。



第3図 一重項酸素の平均寿命の比較。
(平均寿命は0~30 μ sにおける1270nmの光子数の積算値)



第4図 加熱処理が「超純水」の一重項酸素の寿命に及ぼす影響。



第5図 一重項酸素の寿命と可視微弱発光分析値との関係。

たソバ湯を超純水で2倍に希釈するとソバ湯そのものの寿命の約2倍になった。

ソバ湯のクエンチング能が水よりも高いことがわかったが、それが、水を加熱したことによる差である可能性もある。そこで、超純水を加熱した場合のクエンチング能の差をみた。その結果、一重項酸素消去能に有意な差は無かった(第4図)。

ソバ湯に過酸化水素水とアセトアルデヒドを添加した試料からの可視光フォトカウンティング法による活性酸素消去速度の評価でも、水や超純水より活性酸素消去能が高かった(第5図)。

考 察

この実験から、ソバ湯は水よりも高い一重項酸素の消去能をもつことがわかった。溶媒中の $^1\Delta_g$ 酸素の寿命は溶媒の種類に大きく依存し、アルコールなどと比較すると水中における寿命は短いことが知られているが、ソバ湯はそれよりもさらに短く、光酸化に対する抵抗性が高い食材であることが明らかとなった。韓国でソバ湯が薬として認識されており(市川健夫 2000)、他方ではソバ蜂蜜の活性酸素消去能が他の蜜よりも極めて高く(井上ら 2003)、九州の山間地ではソバ蜂蜜が薬とされている。これらの2つの事例に共通するのは両者ともに高い活性酸素消去能を持っていることである。山岳地帯の生活において、光酸化抵抗性の高い食品が薬としても利用されてきたことは合理的と考えられるが、こうした観点からの調査はほとんどなされていないため、今後進めるべき課題と考えられた。

ソバ湯における一重項酸素寿命が短いことから、普通ソバ粉が光酸化抵抗性に寄与する水溶性物質を含んでおり、それが溶媒に溶け出したと推察された。一重項酸素消去活性についての数少ない研究によると、山葡萄ジュースにおける一重項酸素の寿命が短く、それにアントシアニンがかかわっていることが示唆されている(Makiuchi *et al.* 1997)。ソバ粉はカロチノイドやアントシアニンの含有率が少ないものの、 H_2O_2 由来の活性酸素の消去能は高い(Fujita *et al.* 2004)ことから、これらの物質以外のクエンチャーが存在すると推察された。さらに、そのうちの水溶性物質が重要な機能を持っていると考えられた。

1270nmの30 μ sの間の発光積算量と可視微弱発光分析による10分間の発光積算量の間に有意な負の相関が認められたが(第5図)、これはこれまで知られていなかった知見である。一重項酸素の発光波長は1270nm以外に400~800nmの間にも存在するが(齋藤ら 1990)、1270nm付近の発光が少ない(一重項酸素消去活性が高い)ソバ湯は、

H_2O_2 由来のエネルギーや電子移動による発光量が多い(H_2O_2 由来活性酸素の消去活性が高い)ことを意味している。吉城ら(1998)による可視微弱発光分析(通称 XYZ系微弱発光分析)は簡便であるが化学的な裏づけがさらに必要とされているため、こうした現象を把握することは重要である。今後はこれらの2つの方法によるデータの蓄積による解析が必要と考えられた。

最後に供試した地下深層水の一重項酸素寿命が水道水よりも有意に低かったことについて若干触れたいと思う。この地下水はCaが1 ℓ あたり20mg含まれる硬度約70~80の軟水で、南アルプス三峰川水系のミネラルウォーターである。この試験結果から、水のミネラル成分の違いで一重項酸素消去能が異なる場合があることが示唆された。これまで水自体の特性について、ミネラル成分や製麺時における食品物性に及ぼす影響などが調査されてきたが、食品の機能性の観点からの再評価も必要であることが示された。

また、この試験で用いたソバ湯は八ヶ岳山麓の地下水を用いたものであり、これが実験で用いた水道水や超純水よりも高い消去能を持っていた可能性も考えられた。したがって、ソバ湯の一重項酸素の消去活性が高かった原因の解明、すなわちソバ粉と水の両者の関与のありかたについても今後の検討課題と考えられた。

引用文献

- 荒金久美, 1999. 美容と活性酸素. 日本化学会監修“活性酸素”, 丸善株式会社. 東京. p. 97-133.
- Fujita, K. *et al.* 2004. The 9th International Symposium on Buckwheat (Prague, Czech Republic), Poster 33.
- 市川健夫 2000. “信州ソバ学のすすめ”, オフィス・エム. 長野. p. 34.
- 井上直人ら 2003. 日作紀 72 (別1): 282-283.
- Kiryu, C. *et al.* 1999. FEBS Letters 443: 154-158.
- Makiuchi, M. *et al.* 1997. The proceedings of the 2nd International Conference on Bioradicals, Yamagata Technopolis Foundation, pp. 69-71.
- 齋藤 烈・松浦輝男 1990. 日本化学会編“活性酸素種の化学”季刊化学総説 No. 7, 学会出版センター p. 3-28.
- Trautz und Schorigin 1905. *Über Chemilumineszenz*. Wiss. Photogr. Photochem. 3: 121-130.
- Yoshiki, Y. *et al.* 1995a. *Chemilumin.* 10: 335-338.
- Yoshiki, Y. *et al.* 1995b. *Phytochemistry* 39: 225-229.
- 吉城由美子ら, 1998. *Food Style* 21: 36-40.

(2004年11月26日受付, 2005年1月24日受理)