

茶葉および茶浸出液に含有されるマンガンの濃度と化学形態

林 希未子, 大 西 美 加, 堀 越 亮 介, 佐 古 和 也, 吉 田 宗 弘

(関西大学工学部生物工学科食品工学研究室*)

Concentration and Chemical Species of Manganese in Tea Leaves and Tea Infusion

Kimiko HAYASHI, Mika ÔNISHI, Ryôsuke HORIKOSHI, Kazuya SAKO, Munehiro YOSHIDA

Laboratory of Food and Nutritional Sciences,

Department of Biotechnology, Faculty of Engineering, Kansai University

Abstract

To evaluate a contribution of tea to manganese intake of Japanese, manganese contents in several types of tea leaves and tea infusions were determined and chemical species of this element in the tea infusions were examined. Thirty-five samples of green tea, 15 samples of black tea and 13 samples of oolong tea were collected. Their manganese contents were ranged in 200 to 1000 $\mu\text{g/g}$ and were similar values to those listed in Standard Tables of Food Composition in Japan. Infusions prepared from these tea samples also showed similar manganese concentrations (2 to 5 $\mu\text{g/ml}$) to those listed in the Tables. However, manganese concentrations in tea infusions and commercial tea drinks consumed by healthy 108 university students were 0.5 to 2 $\mu\text{g/ml}$ and were significantly less than those of tea infusions prepared in the laboratory or those listed in the Tables. Based on the present analytical results, manganese intake from tea is estimated to be less than half of total dietary manganese intake in Japanese. Most of manganese in the tea infusions prepared in the laboratory was filterable to an ultrafilter with molecular mass cut-off of 5kDa. In analysis of high-performance liquid chromatography using a column of molecular exclusive resin, manganese in the tea infusion was eluted at the same retention time of bivalent manganese ion.

茶はコーヒーとともに世界中で嗜好されている飲料である。また、茶は1日あたりの飲用量が多くなるため、嗜好品であるとともに、種々の栄養素や機能性成分の供給源でもある。チャ (*Camellia sinensis*)[#]をはじめとするツバキ科の樹木は、葉に高濃度のマンガンが蓄積することが知られている¹⁾。たとえば、わが国の五訂食品成分表には、緑茶(煎茶)の茶葉と浸出液に、それぞれ550 $\mu\text{g/g}$ と3.1 $\mu\text{g/g}$ のマンガンが含有されていると記載されている²⁾。この数値をもとにすると、1日に1ℓの緑茶浸出液を飲用すれば3.1 mgのマンガンが摂取できることになる。わが国の第六次改定栄養所要量ではマンガンの栄養所要量を1日4 mg (30歳代男性)^{##}と設定していることから³⁾、茶を大量に飲用すれば所要量(目安量)に近いマンガン摂取できると計算される。この計算が正しければ、茶は日本人のマンガン供給源として大きな地位を占めていることになる。しかし、茶葉中のマンガン濃度は、産地や種類によって変動することが予測され⁴⁻⁶⁾、すべての茶葉に成分表記載通りのマンガン濃度を期待できるかは不明である。一方、第六次改定以降の栄養所要量におけるマンガンの所要量(目安量)は、日本人のマンガン摂取量の推定値をもとに策定されているが³⁾、この推定値のもとなる国民栄養調査では、食事とともに摂取する茶のみを調査しており⁷⁾、1日の茶の飲用量を完全に把握す

*所在地: 吹田市山手町3-3-35 (〒564-8680)

#本論文では、植物としてのチャを示す場合はカタカナ表記を用いた。

##第七次改定では1日4 mg (12歳以上男性)を目安量 (adequate intake) としている。

ることはできていない。また、食品中ミネラルの化学分析値と栄養有効量は一致しないが⁸⁾、茶のマンガンの栄養有効性を検討した研究も少ない⁹⁾。本研究では、茶の摂取がマンガン栄養に及ぼす影響を検討する目的で、茶葉に含有されるマンガンの濃度、浸出液への移行、および化学形態を検討した。

実験方法

1. 試料

各地の茶葉試験場、および小売店から、産地が明確な緑茶31試料、紅茶15試料、ウーロン茶13試料を収集した。また、2003年5月に宇治市において摘み取られた未加工の新鮮なチャの葉を(社)京都府茶業会議所より得た。未加工のチャの葉は凍結乾燥し、ミルで細粉化した。

一方、大阪近郊に在住する健康な大学生108名(男性69名、女性39名)に調査用紙を配布し、2002年の6月または7月の任意の連続した3日間に摂取した飲料の種類をすべて記入させた。飲用していた茶系飲料(緑茶、紅茶、ウーロン茶、および各種のハーブ茶)の中で、家庭で浸出しているものは、同時に配布した50 mlのポリ容器に入れ、研究室まで持参させた。また飲用していた市販の缶またはペットボトル入りの茶系飲料は、同銘柄のものを購入した。

2. マンガン濃度測定用浸出液の調製

収集した茶葉は乳鉢を用いて20メッシュ以下に細粉化した。細粉化した茶葉2 gを100 mlビーカーに入れ、十分に沸騰させた脱イオン水90 mlを加え、2分後にろ過し、浸出液を得た。

3. 各種溶媒へのマンガンの抽出

ミルで十分に細粉化した緑茶葉と紅茶葉300 mgを50 mlの共栓試験管に入れ、種々の溶媒30 mlを加え10分間振盪した。振盪後、遠心し、抽出液を得た。

4. 茶浸出液中のマンガンの化学形態の検討

紅茶、緑茶、および未加工茶葉の粉末300 mgに脱イオン水または沸騰させた脱イオン水を30 mlを加え、十分に振盪後、遠心して抽出液を得た。抽出液を分子量5000の限外ろ過膜(Ultrafree®-MC, Millipore, Bedford)に通し、ろ液を得た。抽出液とろ液中のマンガン濃度を比較し、限外ろ過率を算定した。

紅茶と緑茶の熱水抽出液、および未加工のチャの葉の水抽出液のそれぞれ100 μ lを高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で分析した。HPLCの条件は以下のとおりである。カラム, TSK-Gel G2000W_{XL}, 4.6 mm ϕ $\times$ 250 mm (Tosoh, 東京); 移動相, トリス-硝酸緩衝液(50 mM, pH7.4); 流速, 1.0 ml/min; 検出, 分光光度計(検出波長280 nm)と誘導結合プラズマ質量分析器(島津 ICPM-8500, モニター質量数55)。

5. マンガン濃度の測定

細粉化した茶葉100 mgを30 mlのケルダールフラスコに入れ、濃硝酸5 mlを加えて加熱した。すべての試料が溶解したら加熱をとめ、脱イオン水を用いて50 mlにメスアップし、ろ過した。調製した試料溶液、茶の浸出液、茶葉からの抽出液、および抽出液の限外ろ過液をフレイム式原子吸光光度計に噴霧し、マンガン濃度を測定した。

結果と考察

1. 茶葉のマンガン濃度とマンガンの浸出率

Table 1に、収集した緑茶、紅茶、ウーロン茶の茶葉と浸出液のマンガン濃度をまとめた。緑茶と紅茶の茶葉中マンガン濃度はおおむね200~1000 μ g/gの範囲であり、平均値はいずれも約500 μ g/gであった。この平均値は食品成分表に記載された数値(煎茶550 μ g/g, 紅茶210 μ g/g)にほぼ一致するものである。これに対して、ウーロン茶の茶葉中マンガン濃度の平均値は約1100 μ g/gであり、緑茶と紅茶に比較してやや高かった。今回、緑茶と紅茶に関しては、茶葉中マンガン濃度と産地の関係は明確ではなかったが、収集したウーロン茶がすべて中国産であったことから、茶葉のマンガン濃度が産地によって変動している可能性は高いと考えられる。

一方、浸出液のマンガン濃度の平均値は、緑茶が2.7 μ g/ml, 紅茶が3.3 μ g/ml, ウーロン茶が4.4 μ g/mlであり、

紅茶においてマンガンの浸出率がやや高かった。これらの浸出液のマンガン濃度も、食品成分表に記載された数値（煎茶 $3.1 \mu\text{g/g}$ 、ウーロン茶 $2.4 \mu\text{g/g}$ 、紅茶 $2.2 \mu\text{g/g}$ ）にほぼ一致するものである。以上より、茶葉には産地や種類によって若干の差は認められるものの、平均的に見れば、食品成分表記載どおりの高濃度のマンガンが含有されており、成分表に記載された方法に準じて調製した浸出液にも成分表記載の数値に近い濃度のマンガンが含有されることが確認できた。

Table 1 Manganese content in tea leaves and tea infusion

Type of tea	Manganese content		Extraction (%)
	Dry leaves ($\mu\text{g/g}$)	Infusion ($\mu\text{g/ml}$)	
Green tea (n=31)	523 $\pm$ 173 ^a	2.70 $\pm$ 0.79 ^a	24.5 $\pm$ 8.1 ^a
Black tea (n=15)	475 $\pm$ 181 ^a	3.25 $\pm$ 0.87 ^a	33.2 $\pm$ 9.3 ^b
Oolong tea (n=13)	1102 $\pm$ 440 ^b	4.48 $\pm$ 1.33 ^b	19.8 $\pm$ 6.9 ^a

Values are means $\pm$ SD.

^{a, b} Means in the same column not sharing a common superscript differ significantly ($p < 0.05$).

2. 飲用されている茶浸出液と市販茶系飲料のマンガン濃度

Table 2に、108名の大学生が夏期に摂取していた茶系飲料のマンガン濃度をまとめた。茶系飲料は、家庭で茶葉から調製された浸出液と市販の缶およびペットボトル入り飲料に分け、それぞれを緑茶、紅茶、ウーロン茶、およびチャ以外の植物の浸出液が混入しているハーブ茶に分類した。緑茶、紅茶、ウーロン茶の浸出液および市販飲料中のマンガン濃度はいずれもおおむね $0.5 \sim 2.5 \mu\text{g/ml}$ の範囲にあり、食品成分表記載のもの、あるいはTable 1に示した数値よりも明らかに低値であった。Table 1において用いた方法、すなわち茶を細粉化し、2分間浸出するという方法では、一般に飲用しているものよりも茶葉中のマンガンが濃く抽出されていると考えられる。したがって、食品成分表において茶浸出液のマンガン濃度として記載されている数値は、成分表記載の方法に準じて実験的に調製された浸出液に適用できるものであり、一般に飲用されている茶浸出液や市販茶飲料のマンガン濃度に適用するには少し高過ぎるといえる。チャ以外の植物の浸出液が混入しているハーブ茶のマンガン濃度は、チャと他の植物の量比のばらつきを反映して様々な値となった。もっとも多く多くのヒトが飲用していた麦茶は、チャをまったく使用していないハーブ茶であるため、マンガン濃度はきわめて低かった。

以上のことから、マンガン摂取に及ぼす茶の飲用の寄与は、当初予想したものよりも小さく、1日に1ℓ飲用したとしても摂取量は最大で2 mg程度であり、所要量（目安量）の50%はこえないと思われる。

Table 2 Manganese content in tea infusion and commercial tea drink consumed by university students

Type of tea	Manganese content ($\mu\text{g/ml}$)	
	Tea infusion	Commercial tea drink
Green tea	1.52 $\pm$ 0.98 (n=33) ^{bc}	2.26 $\pm$ 0.73 (n=17) ^{d*}
Black tea	1.44 $\pm$ 0.98 (n=12) ^{bc}	1.16 $\pm$ 0.69 (n=9) ^{bc}
Oolong tea	1.98 $\pm$ 0.54 (n=17) ^c	1.74 $\pm$ 0.53 (n=7) ^{cd}
Herbal tea		
<i>Mugi-cha</i> (roasted barley tea)	0.12 $\pm$ 0.15 (n=42) ^a	0.14 $\pm$ 0.23 (n=4) ^a
Other type of herbal tea	0.90 $\pm$ 0.76 (n=5) ^{ab}	0.89 $\pm$ 0.84 (n=15) ^{ab}

Values are means $\pm$ SD.

^{a, b, c, d} Means in the same column not sharing the same superscript differ significantly ($p < 0.05$).

*Significant difference was observed between "tea infusion" and "commercial tea drink" at $p < 0.01$.

3. 茶葉、および浸出液中のマンガンの化学形態

Table 3に、茶葉中マンガンの種々の溶媒への抽出率をまとめた。水や熱水による茶葉からのマンガンの抽出率は10～30%であった。一方、0.1 N以上の濃度の酸では、90%以上の高い抽出率が認められた。多くの金属イオンと錯体を形成するEDTAとクエン酸では80%以上の高抽出率となったが、亜鉛など特定の金属イオンと錯体を形成するヒスチジンなどのアミノ酸溶液への抽出率は10～40%であり、水や熱水とほとんど変わらなかった。また、ヘキサンなど有機溶媒への抽出率は、ほとんどゼロであった。紅茶と緑茶を比較すると、熱水を除く溶媒において、緑茶のマンガン抽出率が紅茶のそれを上回る傾向にあった。醗酵茶である紅茶では、加工の過程において、マンガンが極性溶媒に抽出されにくい形態に変化している可能性が考えられる。いずれにしても、茶葉に含有されるマンガンの約70%は、水や熱水に対して不溶性であり、日常に飲用される浸出液には移行しない形態と判断できる。

茶葉の水または熱水抽出液中のマンガンをも分子量5000のろ過膜に通したときのろ過率をTable 4にまとめた。水、熱水、いずれの場合も、未加工茶葉と緑茶に比較して、紅茶とウーロン茶からの抽出液中マンガンのろ過率がやや低い値となった。製造過程に醗酵段階を含むウーロン茶と紅茶には、ポリフェノールの酸化重合体が存在している。そこで、緑茶と紅茶の熱水抽出液に関して、含有されるフェノール化合物の限外ろ過率を測定したところ、緑茶が $79.0 \pm 0.7\%$ 、紅茶が $72.1 \pm 1.2\%$ (いずれも $n = 4$) であり、差が認められた。醗酵または半醗酵茶抽出液のマンガンのろ過率が低かったのは、抽出液中で一部のマンガンがろ過されにくい高分子の酸化重合体に吸着していることを意味するのかもしれない。

Table 3 Extraction of manganese with several solvents from tea leaves

Solvents	Extraction (%)		
	Green tea		Black tea
Water (25°C)	25.9	± 1.2	16.1 ± 0.7 ***
Hot water (90°C)	25.7	± 0.6	32.2 ± 1.1 **
Tris-HCl buffer (pH 7.4), 50 mM	33.7	± 1.7	24.2 ± 0.4 ***
HNO ₃ , 0.1 N	101.1	± 1.4	97.5 ± 2.4
HNO ₃ , 0.01 N	77.6	± 3.0	66.1 ± 2.6 ***
HNO ₃ , 0.001 N	35.8	± 1.1	24.4 ± 0.7 ***
HCl, 0.1 N	99.5	± 2.4	97.4 ± 3.0
Citrate, 0.1 M	95.2	± 2.6	84.5 ± 3.3 **
EDTA, 5 mM	92.5	± 3.7	80.2 ± 0.8 **
Methionine, 20 mM	28.4	± 1.2	18.3 ± 0.5 ***
Histidine, 20 mM	20.0	± 1.1	10.3 ± 0.5 ***
Cysteine, 20 mM	57.0	± 0.7	51.6 ± 1.7 **
n-Hexane	0.2	± 0.2	< 0.1
Methanol/chloroform/water (2/2/1)	1.5	± 0.3	1.8 ± 0.3

Values are means $\pm$ SD for 4 trials.

Significant difference was observed between green and black tea at $p < 0.05$ (*), $p < 0.01$ (**) or $p < 0.001$ (***).

Table 4 Percentage of ultrafilterable manganese (< 5kDa) in extracts from tea leaves

Type of tea	Ultrafilterable manganese (%)	
	Water extract	Hot water extract
Fresh leaves	95.9 ± 0.7 ^c	90.2 ± 1.6 ^b
Green tea	86.2 ± 0.9 ^b	96.4 ± 1.9 ^{bc}
Black tea	74.6 ± 9.9 ^a	84.2 ± 5.6 ^{ab}
Oolong tea	83.7 ± 0.4 ^{ab}	81.0 ± 4.6 ^a

Values are means $\pm$ SD for 4 trials.

^{a,b,c} Values in the same column not sharing a common superscript differ significantly ($p < 0.05$).

Fig. 1は、緑茶と紅茶の熱水抽出液、未加工のチャの葉の水抽出液、および標準のマンガン(II)溶液をHPLCで分画した結果を示すものである。抽出液のマンガンの溶出時間は、280 nmの吸光度で示されるフェノール化合物とはまったく異なり、標準のマンガン(II)にほぼ一致していた。また、チャと同様に高濃度のマンガンを含むツバキの新鮮葉の水抽出液を分析した場合も、マンガンの溶出位置は同じであった。これらのことは、茶の水または熱水抽出液に含有されるマンガンは遊離の無機のマンガン(II)であることを意味している。紅茶抽出液においても緑茶や未加工のチャの葉の抽出液と同じ溶出パターンが得られたことから、溶媒抽出や限外ろ過において推定された醗酵茶成分とマンガンの親和性は、HPLCにおいて用いたカラム中の樹脂との親和性よりも小さいものと考えられ、生理的な意味はほとんどないと推定される。

茶抽出液中マンガンの化学形態の検討の結果より、茶浸出液からマンガンを摂取することは無機のマンガン(II)を摂取することとほぼ同じ意味をもつと考えられる。ゆえに、茶浸出液中マンガンの栄養有効性は無機のマンガン(II)と同等と判断するのが妥当であろう。

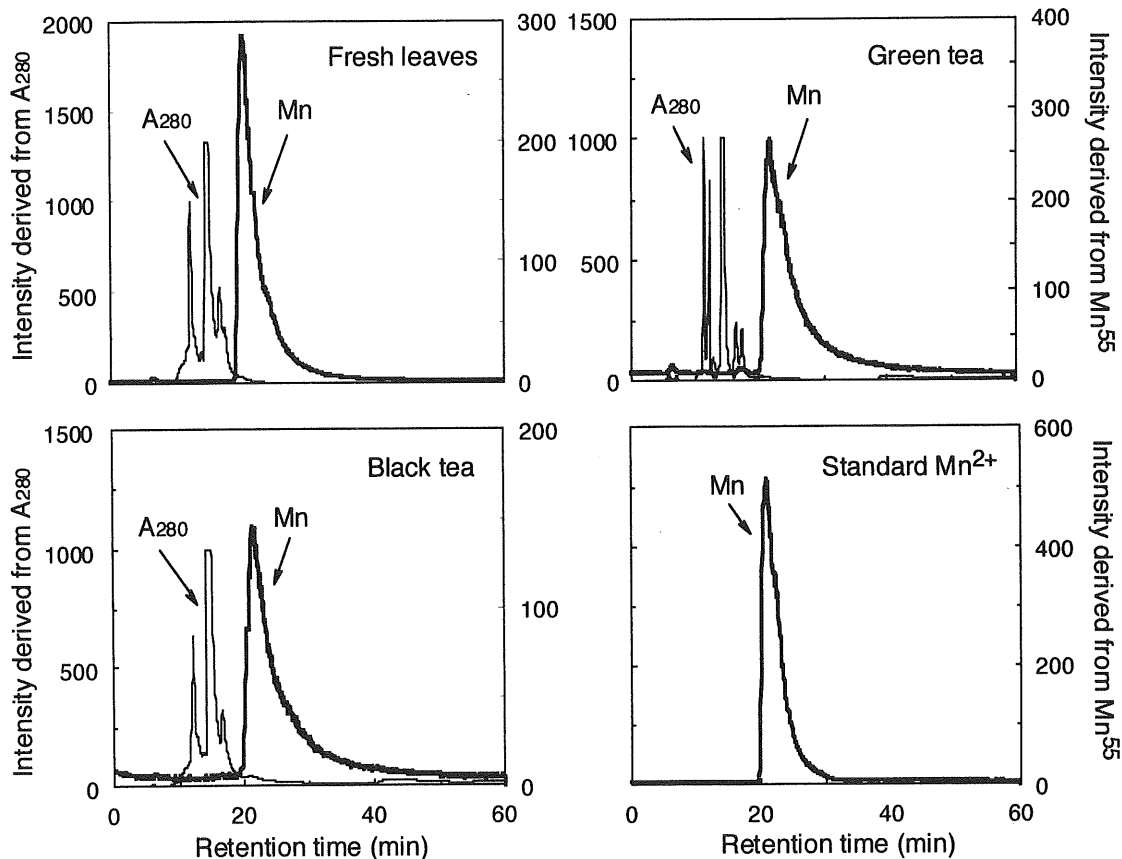


Fig. 1 Elution patterns of hot water extracts from green and black tea, water extract from fresh tea leaves and standard bivalent manganese(II) solution in HPLC using TSK Gel G2000W_{XL}

本研究は、社団法人京都府茶業会議所による平成15年度茶学術研究助成事業の援助を受けたものである。

参考文献

- 1) Loneragan JF (1988) Distribution and movement of manganese in plants. In Manganese in Soils and Plants, ed by Graham RD, Hannam RJ, Uren NC, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht: pp.113-124.
- 2) 科学技術庁資源調査会 (2000) 五訂日本食品標準成分表, 大蔵省印刷局, 東京: pp.305-353.

- 3) 健康・栄養情報研究会 (1999) 第六次改定日本人の栄養所要量. 食事摂取基準, 第一出版, 東京: pp.158-160.
- 4) Fernandez-Caceres PL, Martin MJ, Pablos F, Gonzalez AG (2001) Differentiation of tea (*Camellia sinensis*) varieties and their geographical origin according to their metal content. J Agric Food Chem 49: 4775-4779.
- 5) 安藤達彦, 舘 博, 吉田宗弘 (1998) 紅茶浸出液中の微量元素濃度の変動, 微量栄養素研究 15: 95-99.
- 6) 大日向由紀, 安藤達彦, 舘 博, 小鹿真理, 吉田宗弘 (2001) 日本産緑茶の無機質含量, 微量栄養素研究 18: 97-99.
- 7) 健康・栄養情報研究会 (2003) 国民栄養の現状. 平成13年厚生労働省国民栄養調査結果, 第一出版, 東京: pp.5-26.
- 8) 吉田宗弘 (2003) ミネラルの事典 (糸川嘉則編), 朝倉書店, 東京: pp.117-135.
- 9) Powell JJ, Burden TJ, Thompson RP (1998) *In vitro* mineral availability from digested tea: a rich dietary source of managanese. Analyst 123: 1721-1724.