

# ココアパウダーの歯面着色除去効果と 歯磨剤への応用

大島 朋子

(鶴見大学歯学部 口腔細菌学教室 准教授)

## はじめに

口腔の健康を保つためには、デンタルプラーク（歯垢）をコントロールすることが必須である。デンタルプラークとは口腔常在細菌とその産生物からなるバイオフィームそのものであり、常在菌叢として口腔を外来の病原体から守ってくれる役目をしてくれる半面、う蝕（虫歯）や歯周病の原因となる細菌が含まれ、状況に応じて、これらの感染症の発症の引き金を引くことにもなる。このプラーク中の悪玉菌とでも言うべきう蝕原因菌の代表は *Streptococcus mutans* で、歯周病原菌の代表は *Porphyromonas gingivalis* である。*S. mutans* は GTF (Glucosyltransferase) という酵素を産生し、これにより砂糖 (sucrose) から水不溶性の多糖体であるグルカンを合成し、歯の滑沢なエナメル質表面にへばり付き酸を産生し続ける結果、歯が脱灰され、う蝕となる。ココアはプラークのマトリックスである不溶性グルカンを合成する GTF 活性を抑制することが報告されている<sup>1)~4)</sup>。一方、*P. gingivalis* は歯周ポケットの中に生息し炎症による出血血液や浸出液中のタンパク成分を栄養源とする偏性嫌気性菌で、最も歯周病原性が高いとされている菌種である。われわれはココアが *P. gingivalis* に対し非常に短時間で抗菌的に働き、その有効成分はポリフェノールであることを見出し、第10回の本シンポジウムで報告している。さらに、口臭と *P. gingivalis* 菌を有するボランティアを対象にココアを2週間飲み続ける介入試験を行い、口臭と唾液中に検出される *P. gingivalis* 菌数が有意に減少することを確認している。

プラークを出来る限り少量に抑え、う蝕や歯周病を予防する手段として最も一般的に行われているのは歯磨きである。通常、歯ブラシと歯磨剤を併用して行い、近年ではさらに着色除去と歯の美白効果のある歯磨剤が注目を集めている。その多くは含まれている研磨剤が着色除去に働くが、一方で研磨剤による歯のエナメル質表面の傷や摩耗という問題が指摘されている。しかし歯磨剤を使用しないブラッシングや、研磨剤を含まない歯磨剤の使用では、経時的に歯面着色が生じる問題がある。したがって、歯面の着色汚れのみを除去し、摩耗させることのない歯磨剤の開発が望まれている。また、汚れやプラークを除去するだけでなく、積極的にう蝕原因菌の多糖体合成活性や歯周病原菌活性を抑制する成分が含まれるとより効果的であると考えられる。そこでわれわれは、ココアパウダーの歯磨剤への応用の可能性を探るため、ウシ菌を用いた *in vitro* 試験系にてココアパウダーおよび試作歯磨剤の効果を検証した。さらに、鶴見大学歯学部付属病院において歯ブラシ指導を受けた30名を対象に、ココアパウダー含有歯磨剤と、プラセボとしてココアパウダー不含歯磨剤を試作し、1ヶ月間使用した後の効果についてランダム化二重盲検法により比較検討した。

## 着色除去効果

*in vitro* 試験では、紅茶液に浸漬し歯面を着色させたウシ天然菌 (図1-A) を、3グループに分け、

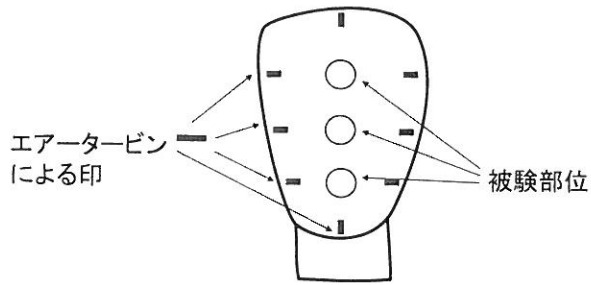
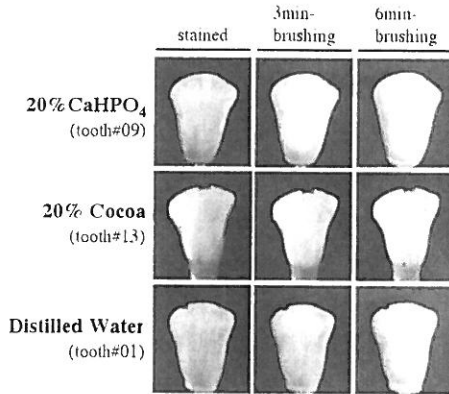
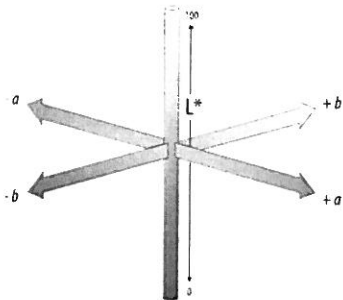


図1-A 研磨（着色除去）効果検証用のウシ前歯サンプル



歯は着色後に明るさが減少し、赤みと黄みが増加し、紅茶色に着色された。その後、各条件で研磨することで明るさが増加し、赤みと黄みが減少し、色調は着色前に近づく傾向にあった。これは、紅茶による着色が研磨によって取り除かれたものと推測できる。

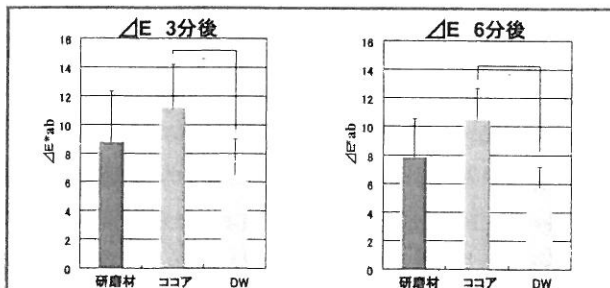
図1-B 研磨試験での着色除去効果



CIE（国際照明委員会）のL\*, a\*, b\*の値

研磨前後の歯の表面の測色は分光式色彩計オプティカルファイバー仕様（SpectroColorMeter SE2000, 日本電色）で行った。10nm毎の分光反射率をモニターし、CIE（Commission Internationale de l'Éclairage 国際照明委員会）のL\*, a\*, b\*値を算出した。L\*は明度を、a\*, b\*値は色相と彩度の双方を表し、a\*は赤方向、-a\*は緑方向、b\*は黄方向、-b\*は青方向を表す。色差は以下の式により求めた。 $\Delta E^*ab = \{[(L^*1 - L^*0)^2 + (a^*1 - a^*0)^2 + (b^*1 - b^*0)^2]^{1/2}$   
[L\*0, a\*0, b\*0 : 研磨前の値, L\*1, a\*1, b\*1 : 研磨後の値]

図2-A 研磨歯の色の判定



着色除去効果はポジティブコントロールとして用いたリン酸水素カルシウム水溶液との間に有意差はないものの、ココア溶液が最も高かった。またココア溶液はネガティブコントロールとして用いた蒸留水に対し有意に高い着色除去効果を示した。

Tukeyの多重比較:(n=6, \*p < 0.05)

図2-B ココアパウダーの歯の着色除去効果

蒸留水に懸濁させたココア溶液（0.2g/ml）、研磨剤の代表であるリン酸水素カルシウム水溶液（0.2g/ml）、蒸留水、それぞれの存在下で歯表面を歯科用研磨ブラシにて約100gfの圧をかけ、5,000rpmで研磨した。その結果、リン酸水素カルシウムおよびココアで3分間および6分間研磨した後は、蒸留水と比較し明らかに白くなっていた（図1-B）。そこで研磨前後の歯面を分光式色彩計にて測色し、CIEのL\*、a\*、b\*および色差（ $\Delta E^*ab$ ）（図2-A）を算出し、Tukeyの多重比較を行った（有意水準 $p < 0.05$ ）。ココア溶液による研磨前後の色差は、蒸留水による色差に対し有意に大きい値を示し、リン酸水素カルシウム水溶液による色差とは有意差はないものより大きくなる傾向を示した（図2-B）。したがって、ココアパウダーには一般的な研磨剤であるリン酸水素カルシウムとほぼ同等かそれ以上の研磨効果があることが示された。そこで、ココアパウダー10%配合の歯磨剤を試作し、その研磨力を銅板試験により検証したところ、リン酸水素カルシウム単体よりも優れた

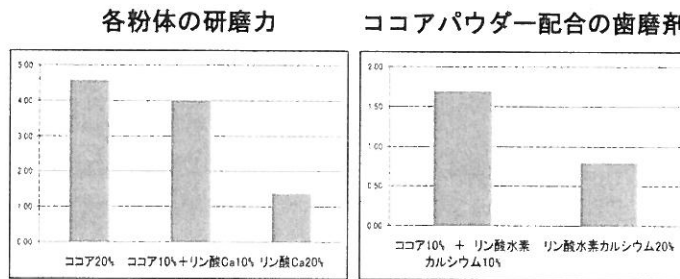
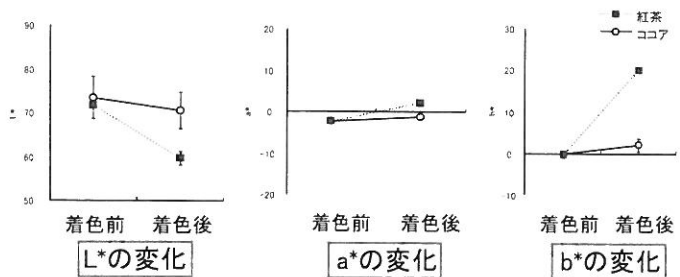


図3 試作歯磨剤の研磨力試験（銅板法）

研磨前後の銅板の重量を測定し、研磨力に換算した値をY軸に示す。



(ココアn=4, 紅茶n=18)

図4 ココアパウダーの着色

ココア溶液が逆に歯面着色を生じないか確認するため、ココア溶液（4g/100ml）にウシ歯を2日間浸漬した。紅茶とは異なり、着色は生じなかった。

研磨効果が見られた（図3）。歯磨剤に配合した場合は1日2～3回、毎日使用するものなので、ココアにより逆に歯面着色が生じてしまうことがないか確認するため、ココア溶液（4g/100ml）にウシ歯を浸漬して2日間置いた。その結果、紅茶とは異なり、着色は生じなかった（図4）。

#### ココア配合歯磨剤の有効性

ココア配合試作歯磨剤を用いて2007年6月より2008年3月まで、鶴見大学歯学部付属病院保存科に来院し、歯ブラシ指導を受けた患者30名（男11名、女19名、19～73歳）を被験者とした臨床介入試験を行った。本試験は鶴見大学倫理審査委員会の承認（No.419）のもと、全被験者よりインフォームドコンセントを得て、二重盲検法により行った。試験歯磨剤（10%脱脂ココアパウダーと20%リ

ン酸水素カルシウム含有) またはプラセボ歯磨剤 (ココアパウダー不含、20%リン酸水素カルシウムと被験歯磨剤と同等の硬さとなるよう調整する目的で無水ケイ酸を加えた) を1ヶ月間使用してもらい、その前後の前歯の色調の測定と、歯垢 (プラーク) 除去効果を評価するプラーク指数 (PLI、Silness & Loe法) の判定を同一評価者により行い、2群間の差をMann-Whitney U testにて解析した (有意水準 $p < 0.05$ )。その結果、歯の明るさは、プラセボ群において試験期間前後で差が見られなかったのに対し、試験歯磨剤群では明るくなる傾向を示した (図5)。プラーク除去効果はプラセボ群より被験歯磨剤群の方が高い傾向にあった (図6)。しかしこれらの傾向に有意差は認め

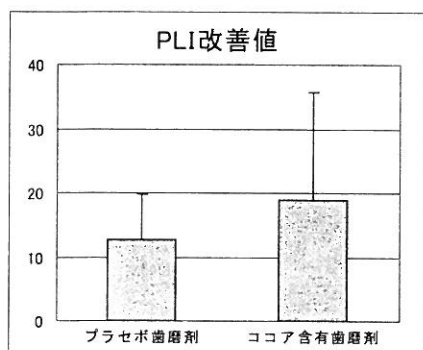


図5 ココア含有歯磨剤のプラーク除去効果

使用前と使用 (1ヶ月間) 後の全歯プラーク付着量をPLI (プラークインデックスSilness & Loe法) として測定し、差を改善値として評価した。Y軸に平均改善値を示した。ココア含有歯磨剤のプラーク除去効果 (プラークインデックスの改善率) がプラセボに比べ高い傾向が見られた。

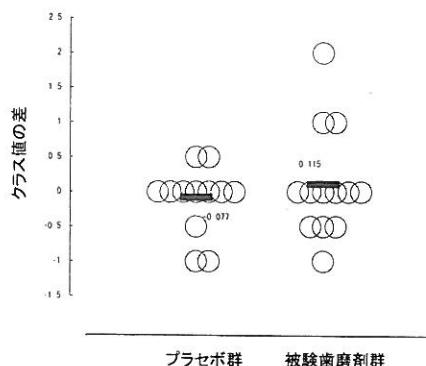


図6 ココア含有歯磨剤の歯の明るさ改善効果

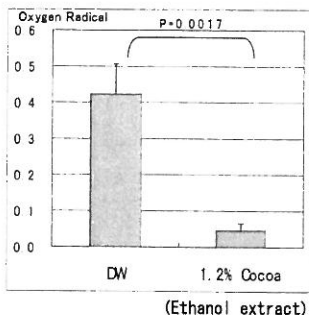
1ヶ月間の使用前後における歯の明るさの評価を行った。明るさの測定は歯科用色彩計 (シェードアイ、松風) で測定し、松風社セラミック用処方5段階ガイドでクラス分けし、2群で比較した結果、プラセボ群に比較し美白効果 (歯の明るさの改善率) が高い傾向が見られた。

られなかった。したがってココアパウダー配合歯磨剤では、歯面着色除去効果やプラーク除去効果の傾向は認められたものの、1ヶ月という短期間では有意差を認めるまでには至らなかったため、より長期観察が必要と考えられた。

### ココアの抗酸化効果

口腔は外界から飲食物だけでなく様々な物が体内へ入るゲートであるので、外来の異物からのストレスや攻撃を非常に受けやすい場所である。このような状況で感染を予防したり病原体を排除したりするために抗菌活性を発揮するのは、口腔粘膜上皮および粘膜下の免疫関連細胞から産生される活性化酸素種 (ROS: reactive oxygen species) や抗菌タンパク質などである。しかし、ROSは両刃の刃と言われ、過剰にあるいは不適当に産生されると、自身の細胞をも傷害し酸化ストレスの原因となり、細胞の老化につながる。近年、アンチエイジング対策として抗酸化力がある物質に注目が集まり、ココアポリフェノールにもその活性があることが報告されている<sup>5) 6)</sup>。そこで、ココアのポリフェノールが含まれるエタノール抽出画分を用いて、ROSによるメチレンブルー退色阻害試験を行ったところ、退色阻害活性が認められ (図7-A)、活性酸素の発生を抑制することが確認された。さらにココア歯磨剤中での活性をORAC (oxygen radical absorbance capacity) 法<sup>5) 6)</sup>で検出したところ、歯磨剤に含まれるココア相当のROS抑制活性を保持していた (図7-B)。

### A. Methylene blue 法



### B. ORAC<sub>FL</sub> 法

μmol of TE/g  
(Trolox equivalents per gram)

Cocoa powder (100% Cocoa)	Tooth paste (10% Cocoa)
241.4 ± 39.4	27.5 ± 5.2

図7 ココアの抗酸化効果

### まとめ

ココアは口腔の健康と衛生を維持する機能を多く持つことが明らかとなった。ココア含有歯磨剤に期待できることとして表1に示す項目が挙げられ、現在、研究成果を社会に還元すべく、実用化に向けて努力している。

表1 ココア歯磨剤に期待できること

- ❖ プラーク抑制・除去
- ❖ う蝕予防
- ❖ 歯周病予防
- ❖ 口臭予防
- ❖ 美白効果（着色除去）
- ❖ 口腔粘膜保護



### 参考文献

- 1) Osawa K, Miyazaki K, Shimura S, Okuda J, Matsumoto M, Ooshima T: Identification of cariostatic substances in the cacao bean husk: their anti-glucosyltransferase and antibacterial activities; J Dent Res 80, 2000-2004, 2001.
- 2) Ooshima T, Osaka Y, Sasaki H, Osawa K, Yasuda H, Matsumoto M: Cariostatic activity of cacao mass extract; Arch Oral Biol 45, 805-808, 2000.
- 3) Percival R, Devine D, Duggal M, Chartron S, Marsh P: The effect of cocoa polyphenols on the growth, metabolism, and biofilm formation by Streptococcus mutans and Streptococcus sanguinis; Eur J Oral Sci 114, 343-348, 2006.
- 4) Ito K, Nakamura Y, Tokunaga T, Iijima D, Fukushima K: Anti-cariogenic properties of a water-soluble extract from cacao; Biosci Biotechnol Biochem 67, 2567-2573, 2003.
- 5) Gu L., House SE., Wu X., Ou B. & Prior RL.: Procyanidin and catechin contents and antioxidant capacity of cocoa and chocolate products. J. Agric. Food Chem 2006, 54, 4057-4061
- 6) Miller KB., Stuart DA., Smith NL., Lee CY., McHale NL., Flanagan JA., Ou B. & Hurst WJ.: Antioxidant activity and polyphenol and procyanidin contents of selected commercially available cocoa-containing and chocolate products in the United States. J. Agric. Food Chem 2006, 54, 4062-4068