

1. 課題の背景と目的

国際標準化機構茶分科委員会(ISO TC34/SC8)等において成分分析法の標準化作業が進んでいる。海外において日本茶の認知度を高めるためには、標準化された方法に基づく分析値の提示が求められる。本事業においては、茶成分分析法の標準化推進に寄与するため分析法の改良や国産茶への適用性の検討を行う。

2. 研究等の内容

1. ISOのカテキン分析法、テアニン分析法等と従来法間のデータの整合性の確認。
2. 酒石酸鉄法等今後ISOへの提案を目指すべき分析法の妥当性確認。

3. 結果と考察

(1)カテキン分析法に関する検討

ISO14502-2において茶カテキンの高速液体クロマトグラフィー(HPLC)による分析法が規定されている。本法による分析について緑茶試料を用いて再検討した。本法においては、茶葉粉末を、70°Cの70%メタノールで10分間抽出することになっている。この場合、劇物であるメタノールを抽出溶媒として用いるため多量の劇物廃液が発生すると同時に、実験者の火傷の危険もある。また、設定温度を誤ると、メタノール溶液が沸騰し、メタノール蒸気で室内空気を汚染する懸念がある。

そこで、当研究室で採用している抽出法¹⁾(従来法とする)とISOに記された方法の間で、抽出効率を比較した(表1, 同一の方法でHPLC分析しピーク面積を比較した。3反復)。その結果、ISO法では分析結果がやや低めに出る傾向が認められた。

表 1 ISO 法での分析値(従来法との比較 %)

	EGC	EC	EGCG	ECG	caffeine
試料 1	98.1	96.9	94.8	94.0	95.5
試料 2	100.6	102.1	96.9	96.6	97.6

ISO 法に基づく分析データと比較する際には、研究室で得た分析値がやや高めであることに留意する必要がある。また今後見直しの機会があれば、より安全で効率のよい我々の方法を紹介していく必要がある。

参考：

①ISO14502-2における試料抽出法

1. 200 mg の茶葉粉末に、あらかじめ 70°C に加温した 70%メタノールを 5 ml 加え、70°C で 10 分間抽出。
2. 遠心上清を 10 ml のメスフラスコに移し、残渣に 5 ml のメタノールを加えて同様に抽出。遠心上清をメスフラスコに加え、70%メタノールでメスアップ。

②研究室従来法での試料抽出法

1. 250 mg の茶粉末を 25 ml のメスフラスコに秤量し、抽出液 20 ml 加えて、30°C で 60 分インキュベート。抽出液の組成は、2%リン酸とエタノールを体積比で 1:1 に混合したもの。
2. メスフラスコに水を加えてメスアップ。

(2)テアニン分析法に関する検討

ISO においてテアニン分析法に関する作業が進みつつある(ISO/TC34/SC8)。本法は逆相の HPLC を用い、210 nm の吸光度で定量するものである。分析時間として 40 分間要することから、日本側から下記のグラジエントプログラムを提案した(表 2)。本修正法では分析時間を半分に短縮できるメリットを有するため、事務局において検討された。その結果、修正法については緑茶では使えるが後発酵茶のように夾雑物が多い場合には適用できないことが、ISO 会議(静岡, 2015 年)において報告された。ISO 会議での討議を経て、現在テアニン分析法(ドラフト)への投票が始まっている(ISO/DIS19563)。

表 2 提案した HPLC のグラジエント

Time (min)	%A	%B
0	100	0
8	100	0
8.1	20	80
13	20	80
13.1	100	0
20	100	0

本法はリーフティー及びインスタントティーを対象にして分析法が設定されている。抹茶への適用性について検討した。その結果、本法の抽出法は抹茶のような細粒には濾紙が目詰まりするため、適用できないことが判明した。抹茶にも適用し得るよう分析法の改良が必要である。また、ISO で提案されている方法では、沸騰水を 100 ml 計量することになっており、火傷等のリスクをとまなう。実験者の負担の少ない抽出法を検討中である。

参考:

ISO に提案されている方法での抽出

1 g の茶葉粉末を 200 ml のビーカーに入れ、100 ml の沸騰水を加える。マグネチックスターラーで攪拌しながら 5 分間抽出し、濾液を 100 ml のメスフラスコに移す。液を冷却後、蒸留水でメスアップする。

(3)ポリフェノール(カテキン)分析法の検討

ISO14502-1 において、フォーリンチオカルト法による茶のポリフェノール分析法が規定されている。本法は試薬の酸化還元反応に基づくため、ポリフェノール以外の還元物質にも反応する可能性がある。一方国内では、酒石酸鉄法がカテキンの定量法として定着している²⁾。本法では鉄とカテキンの結合にとまなう呈色反応であるため、還元物質の影響は受けがたい。ペットボトルの茶等 RTD 茶飲料においては、品質保持のために還元物質であるアスコルビン酸が添加されており、ISO 法の適用が

懸念される。そこで、茶浸出液にアスコルビン酸を添加した場合の呈色への影響について、フォーリンチオカルト法と酒石酸鉄法の間で比較した(図 1)。

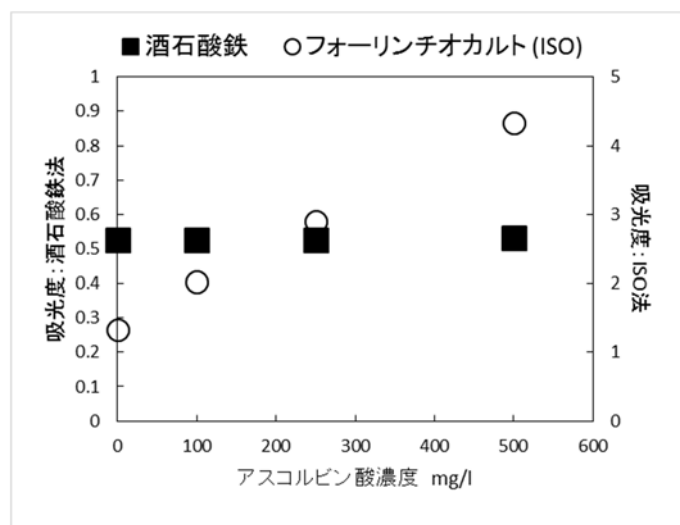


図 1 ポリフェノール分析におけるアスコルビン酸の影響

図に示したように、ISO で用いられるフォーリンチオカルト法は、アスコルビン酸の影響を受けるため、RTD 茶の品質管理に用いることができない。一方で、酒石酸鉄法については、アスコルビン酸の影響は全く受けなかった。酒石酸鉄法はフォーリンチオカルト法に比べて、試薬が安価で、発色が安定なため、非常に有用な方法である。本法は、主に日本国内でしか使われていないため、本法の有益性を世界に発信していく必要がある。

4. 残された課題

国際的には需要が拡大する緑茶市場の中で、国産茶の輸出を拡大するには品質の高さを世界に示すことが重要である。しかしながら、閉ざされた国内需要に対応してきたため、ISO 等国際規格への対応が遅れている。酒石酸鉄法など日本発の優れた分析法であるが、海外の認知度は高くない。日本茶のすぐれた品質の背景には、それを支える科学技術があることを示すためにも、評価法や分析結果の情報発信を継続する必要がある。今回、ISO の分析法についても改良の余地を残すことが明らかにされた。改良法を考案するとともに、その方法を世界標準とするべく研究の継続が求められる。

文献

- 1) Maeda-Yamamoto, M., H. Nagai, Y. Suzuki, K. Ema, E. Kanda and H. Mitsuda (2005): Changes in O-methylated catechin and chemical component contents of 'benifuuki' green tea (*Camellia sinensis* L.) beverage under various extraction conditions. *Food Sci. Technol. Res.*, 11, 248-253.
- 2) 池ヶ谷賢次郎・高柳博次・阿南豊正 (1990): 茶の分析法. *茶業研究報告*, 71, 43-74.