

茶葉中のフラボノールの定量分析

国立研究開発法人農
業・食品産業技術総合研
究機構と島津製作所は、



「食」の機能性成分解析を目的とした共同研究により、農産物や食品に含まれる機能性成分の簡便で迅速かつ正確な分析手法の開発を行っています。

本報では、茶葉中のフラボノール類の分析方法を検討し、茶葉2種について含有量を確認した結果を報告します。フラボノールはポリフェノール的一种で、フラボノイド系化合物に分類されます。一般にフラボノール類を定量する際は、前処理で配糖体を加水分解し、アグリコン当量で含有量を示されます。本報では、表1に示すフラボノール類を分析対象とし、加水分解せずに配糖体とアグリコンを定量する手法を開発しました。

M. Kawashima

表1 対象化合物の一覧

化合物名
ケンフェロール
ケルセチン
イソクエルシトリン (ケルセチン-3-グルコシド)
ヒペロシド (ケルセチン-3-ガラクトシド)
ルチン (ケルセチン-3-ルチノシド)
ミリセチン
ミリセチン-3-グルコシド
ミリセチン-3-ガラクトシド

試料の前処理

抽出条件は、既存の手法¹⁾を参考に検討し、図1に示すワークフローで行いました。粉碎した茶葉を80%メタノール水溶液で抽出後、水で10倍希釈し分析試料としました。

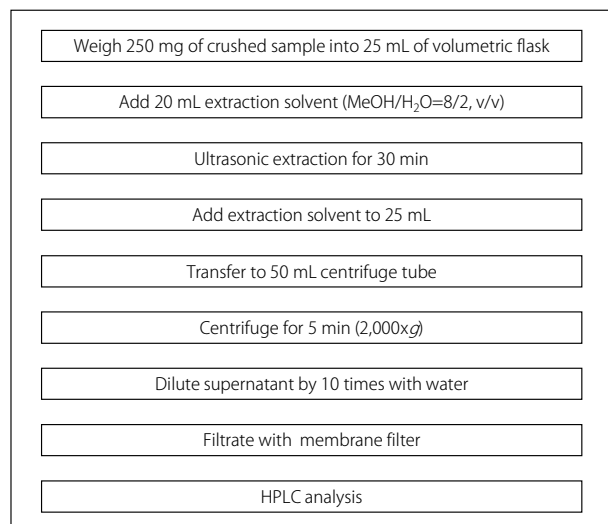


図1 前処理のワークフロー

分析条件

分析条件は、既存の手法¹⁾²⁾を参考に決定しました。決定した分析条件を表2に示しました。

表2 分析条件

System	: Nexera™ X3
Column	: Shim-pack™ GIST C18 (4.6 mm I.D.×150 mm, 3 μm) (150 mm×4.6 mm I.D., 3 μm P/N : 227-30011-07)
Mobile phases	: A) 0.1% Formic acid in H ₂ O B) Acetonitrile
Gradient Program	: B conc. 15% (0-14.00 min) - 95% (22.01-24.00 min) -15% (24.01-30.00 min)
Flow rate	: 1.0 mL/min
Column Temp.	: 40 °C
Injection volume	: 10 μL
Detection	: UV 370 nm

標準試料の分析結果

標準試料の分析結果から、各化合物の直線性を確認しました。代表的なクロマトグラムを図2に、各化合物の検量線範囲および寄与率を表3に示しました。いずれの成分も、寄与率 R²=0.997 以上の良好な直線性が確認されました。

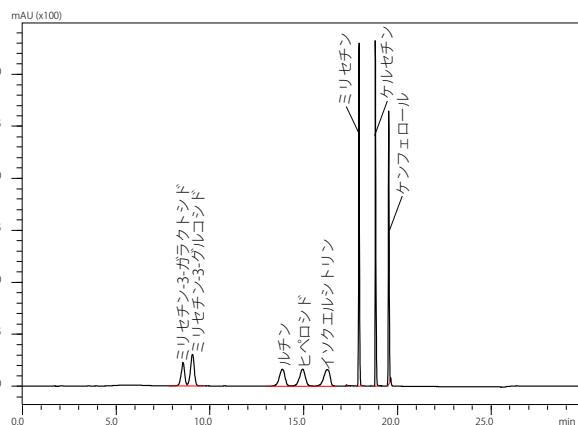


図2 標準試料のクロマトグラム

表3 各化合物の検量線範囲

化合物名	検量線範囲 (μg/mL)	寄与率 R ²
ケンフェロール	0.1 - 20	0.9979
ケルセチン	0.1 - 2	0.9992
イソクエルシトリン	0.1 - 2	0.9993
ヒペロシド	0.1 - 20	0.9996
ルチン	0.1 - 20	0.9998
ミリセチン	0.1 - 20	0.9978
ミリセチン-3-グルコシド	0.1 - 20	0.9998
ミリセチン-3-ガラクトシド	0.1 - 20	0.9999

茶葉抽出液の繰り返し分析結果

茶葉 1 点 (べにふうき) の抽出液を 7 点調製して繰り返し試験を行い、妥当性を確認しました。その結果を表 4 に示します。

表 4 繰り返し分析結果 (n=7)

化合物名	相対標準偏差 RSD (%)
ケンフェロール	- (検出下限以下)
ケルセチン	- (検出下限以下)
イソクエルシトリン	0.66
ヒペロシド	3.33
ルチン	- (検出下限以下)
ミリセチン	1.19
ミリセチン-3-グルコシド	2.74
ミリセチン-3-ガラクトシド	2.79

茶葉の定量結果

茶葉 2 点 (やぶきた、べにふうき) の抽出液を分析し、茶葉中のフラボノール類を定量しました。クロマトグラムを図 3 に、定量結果から茶葉中の含有量を算出した結果を表 5 に示しました。

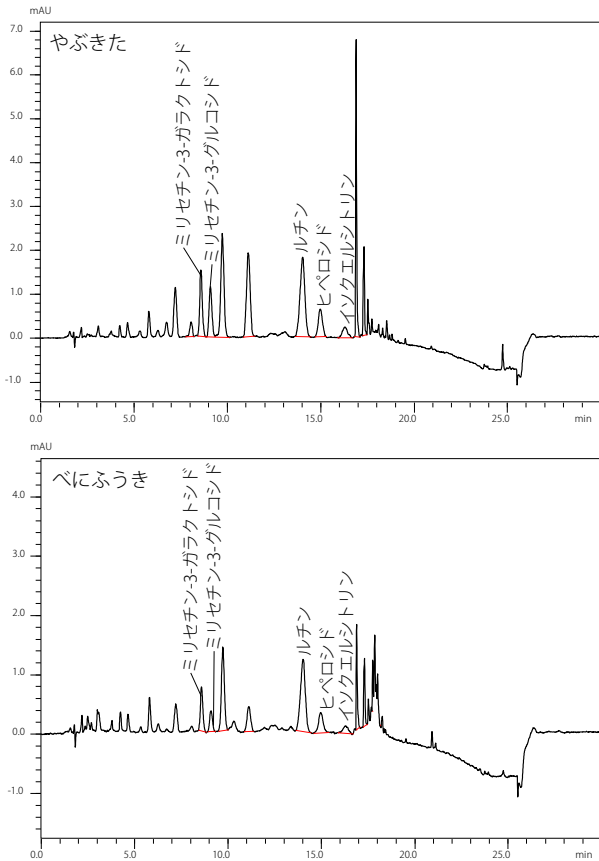


図 3 茶葉抽出液のクロマトグラム

表 5 茶葉に含まれるフラボノール類の含有量

化合物名	含有量 (mg/g)	
	やぶきた	べにふうき
ケンフェロール	<定量下限	<定量下限
ケルセチン	<定量下限	<定量下限
イソクエルシトリン	0.252	0.131
ヒペロシド	0.572	0.359
ルチン	1.975	1.348
ミリセチン	n.d.*1	<定量下限
ミリセチン-3-グルコシド	0.575	0.182
ミリセチン-3-ガラクトシド	1.006	0.501

*1 検出せず

結論

- Nexera シリーズを用いて、フラボノール成分の一斉分析を行いました。
- 開発した分析方法によって茶葉 2 品種の定量を行い、品種によるフラボノール類の含有量の違いを確認できました。

<参考文献>

- 1) Monobe et al. Quercetin Glycosides-rich Tea Cultivars (Camellia sinensis L.) in Japan. Food Science and Technology Research. 2015, 21 (3), p.333-340.
- 2) 白井展也. 茶葉および浸出液中のフラボノール含量測定法. 日本食品科学工学会誌. 2018, 65(7), p. 357-362.

本分析手法の開発は、島津製作所 ヘルスケア R&D センター内 食品機能性解析共同研究ラボにて国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構様との共同研究 (2019 年 4 月~2022 年 3 月予定) により行い、ご紹介した分析手法および測定データは、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構の十一 浩典様、市来 弥生様より提供いただきました。

Nexera および Shim-pack は、株式会社 島津製作所の日本およびその他の国における商標です。

株式会社 島津製作所 分析計測事業部
グローバルアプリケーション開発センター

初版発行：2020 年 9 月

島津コールセンター ☎0120-131691
(075) 813-1691

※本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。
改訂版は下記の会員制 Web Solutions Navigator で閲覧できます。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/>

会員制 Web の閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。