

茶葉に含まれるカテキン類の定量分析

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、茶葉中のカテキン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。カテキン類はポリフェノールの一種で、フラボノイド系化合物のフラバノール類に分類されます。緑茶中には、主にエピガロカテキンガレート、エピガロカテキン、エピカテキンガレート、エピカテキンが含まれており、本報ではこれらを含む表1に示すカテキン類を測定対象としました。

M. Kawashima

表1 対象化合物の一覧

化合物名	略号
カテキン	C
エピカテキン	EC
ガロカテキン	GC
エピガロカテキン	EGC
カテキンガレート	CG
エピカテキンガレート	ECG
ガロカテキンガレート	GCG
エピガロカテキンガレート	EGCG
エピカテキン 3-O-(3"-O-メチル)ガレート	ECG3"Me
エピガロカテキン 3-O-(3"-O-メチル)ガレート	EGCG3"Me
カフェイン	—

試料の前処理

抽出条件は、JAS 法等^{1), 2), 3)}を参考に決定しました。前処理のワークフローを図1に示しました。粉碎した茶葉を0.2%りん酸水溶液で抽出後、水で10倍希釈し分析試料としました。

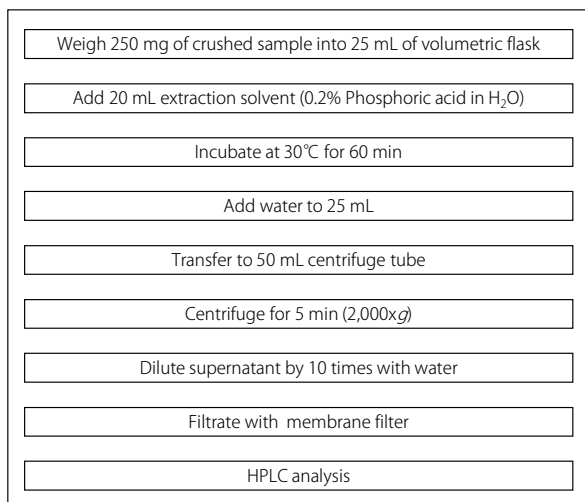


図1 前処理のワークフロー

分析条件

分析条件は、JAS 法等^{1), 2), 3)}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 (150 mm×4.6 mm I.D., 3 μm P/N : 227-30011-07)
Mobile phases	: A) 0.2% Phosphoric acid in H ₂ O B) MeOH/Acetonitrile=15 : 5 (v/v)
Gradient Program	: B conc. 20% (0-10 min) - 35% (12.5-20 min) - 70% (20.01-25 min) - 20% (25.01-30 min)
Flow rate	: 0.8 mL/min
Column Temp.	: 40 °C
Injection volume	: 10 μL
Detection	: PDA 242 nm (GC, EGC), 272 nm (others)

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。各成分の検量線を図2に、代表的なクロマトグラムを図3に示しました。また、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=0.999 以上の良好な直線性が確認されました。

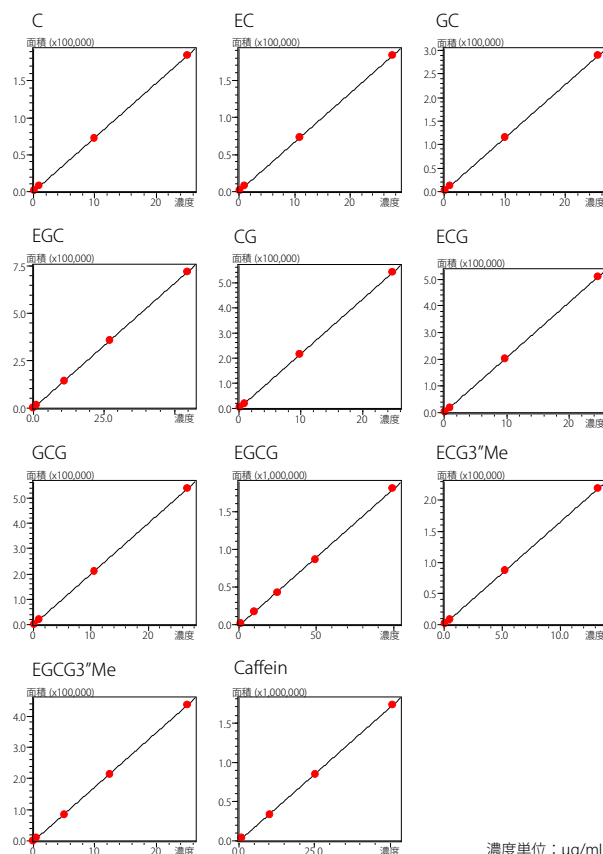


図2 各化合物の検量線

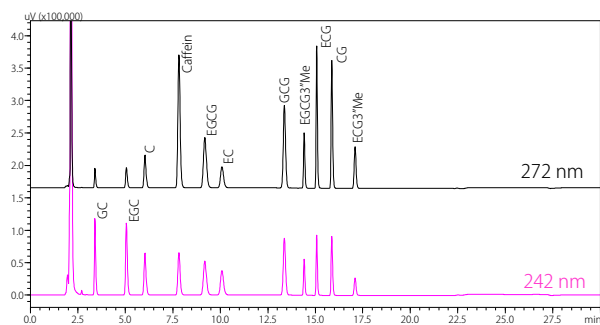


図3 標準試料のクロマトグラム

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
C	0.100 -	25.05 0.9999
EC	0.110 -	27.5 0.9999
GC	0.101 -	25.3 0.9999
EGC	0.109 -	54.5 0.9999
CG	0.0990 -	24.75 0.9999
ECG	0.0982 -	24.55 0.9999
GCG	0.107 -	26.75 0.9999
EGCG	0.992 -	99.2 0.9993
ECG3*Me	0.053 -	13.25 0.9999
EGCG3*Me	0.050 -	25 0.9998
Caffein	1.012 -	50.6 0.9999

茶葉抽出液の繰り返し分析結果

茶葉2点(やぶきた、べにふうき)の抽出液をそれぞれ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 (%)	
	やぶきた	べにふうき
C	1.30	1.15
EC	0.89	1.21
GC	1.19	1.21
EGC	0.82	0.87
CG	<検出下限以下>	<検出下限以下>
ECG	1.01	1.19
GCG	<検出下限以下>	<検出下限以下>
EGCG	0.98	1.15
ECG3*Me	<検出下限以下>	1.90
EGCG3*Me	<検出下限以下>	1.45
Caffein	0.83	1.12

茶葉の定量結果

2品種の茶葉(やぶきた、べにふうき)の抽出液を分析し、試料中のカテキン類を定量しました。それぞれの茶葉抽出液のクロマトグラムを図4に、カテキン類の定量値を茶葉中の含有量に換算した結果を表5に示しました。

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 弥生様よりご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。

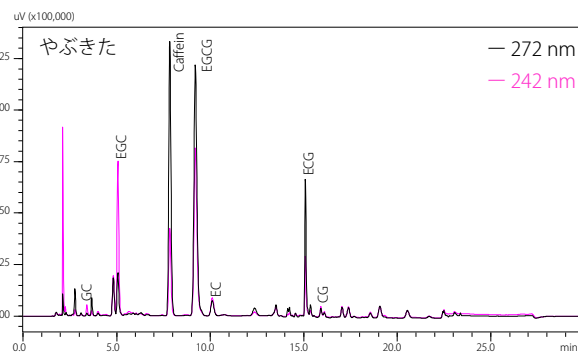


図4 茶葉抽出液のクロマトグラム

表5 茶葉に含まれるカテキン類の含有量

化合物名	含有量 (g/100g)	
	やぶきた	べにふうき
C	0.03	0.13
EC	1.26	1.12
GC	0.25	0.16
EGC	3.69	3.21
CG	<検出下限>	<検出下限>
ECG	1.62	2.15
GCG	<検出下限>	<検出下限>
EGCG	7.70	8.83
ECG3*Me	<検出下限>	0.44
EGCG3*Me	<検出下限>	1.39
Caffein	3.30	3.85

結論

- Nexera シリーズを用いて、カテキン類 11 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、品種によるカテキン類の含有量の違いを確認できました。

<参考文献>

- 1) 日本農林規格 ベにふうき緑茶中のメチル化カテキンの定量 一高速液体クロマトグラフ法 (JAS 0002)
- 2) 山本(前田)万里, 緑茶のカテキン類分析法(異性体カテキン類も含む)、食品機能性評価マニュアル (IV) (<http://fmric.or.jp/ffd/kinousei-hyoka4.html>)
- 3) 堀江秀樹、山本(前田)万里、氏原ともみ、木幡勝則、茶葉中カテキン類分析のための抽出方法の検討、茶業研究報告、94、60-64 (2002)