

複数の植物を混合したブレンド健康茶の分析法について

宗像 健人*, 坂本 隆宏*, 森尾 広志*, 五十嵐 智大**, 松本 啓嗣**

Analytical method of blended health tea mixed with multiple plants

MUNAKATA Kento*, SAKAMOTO Takahiro*, MORIO Hiroshi*,
IGARASHI Tomohiro**, MATSUMOTO Yoshitsugu**

*Moji Customs Laboratory 1-3-10, Nishikaigan, Moji-ku, Kitakyushu, Fukuoka 801-8511 Japan

**Central Customs Laboratory, Ministry of Finance 6-3-5, Kashiwanoha, Kashiwa, Chiba, 277-0882 Japan

In the Customs Tariff Schedule, tea classified under Heading 09.02 is only product made from genus tea plants. On the other hand, healthy teas from plants other than genus tea are mainly classified under Heading 12.11 and under Heading 12.12. Such mixtures of multiple teas and healthy teas (blended health tea) are classified in Chapter 21 as a preparation, resulting in a large tax rate gap. Therefore, it is important to establish an analytical method for blended health tea. In this study, we determined what kind of components are detected in tea and healthy tea by using gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS) and High Performance Liquid Chromatography (HPLC). As a result, we identified multiple components unique to tea and health tea. In conclusion, it is possible to detect tea and health tea in the tea blend, and suggests that this method is effective as an analytical method for blended health tea.

1. 緒 言

近年、ノンカフェインであることや健康効果が期待されるポリフェノールを多く含むものとして、「健康茶」の人気の高まっており、様々な植物を原料とした商品が流通している。これらはまとめて「茶」と称されているが、実行関税率表第 09.02 項に分類される茶は植物学上の茶属 (genus *Thea* (*Camellia*)) の植物から得られるもののみが分類される。茶属以外の植物から得られた健康茶はその原料植物に応じて分類され、その多くは主に第 12.11 項あるいは第 12.12 項に分類されるが、このような健康茶や第 09.02 項の茶などが複数種混合されたもの (以下、ブレンド健康茶) は、主として第 21 類に分類され、大きな税率格差を生じる場合がある。したがって、適正かつ公平な関税の徴収のためには、「健康茶」として申告された物品が複数の植物を混合して調製された物品であるか否かを分析する必要がある。ブレンド健康茶の分析法として、中村らは第 09.02 項の茶に着目し、その特有成分であるテアニンの検出方法を報告している¹⁾が、検出対象がテアニンのみであったため、ほうじ茶やプーアル茶、紅茶など、製造過程においてテアニンが分解・変化²⁾した茶を含有するブレンド健康茶を分析した場合、テアニンを検出せず、正確な分類が困難になるなどの問題があった。以上のことから、本研究では健康茶や第 09.02 項の茶など多くの植物に含まれるポリフェノールや有機酸などに着目し、ガスクロマトグラフ質量分析装置 (以下、GC-MS) 及び高速液体クロマトグラフ (以下、HPLC) を用いてブレンド健康茶の分析法の確立を試みたので報告する。

2. 実 験

2.1 試料及び試薬

2.1.1 試料

試料は市販品のものを使用した。試料のうち、単一の植物からなる健康茶及び第 09.02 項の茶を Table 1 に、複数の植物種が混合されたブレンド健康茶を Table 2 に示す。

2.1.2 試薬

テアニン標準品、BSTFA-TMCS(99:1) (以下、TMS 化試薬)、p-tert-ブチルフェノール

2.2 ガスクロマトグラフィー質量分析法 (以下、GC/MS 法)

2.2.1 装置及び測定条件

2.2.1.1 GC 条件

装置 : Agilent7890B(GC)/5977A(MS)(Agilent 製)

注入温度 : 250°C

カラム : DB-5MS(30m×250µm×0.25µm)

カラム温度 : 100°C (1 min) - (10 °C/min) -320°C (5 min)

スプリット比 : 20 : 1

線速度 : 32 cm/sec

注入量 : 3 µL

2.2.1.2 MS 条件

イオン源温度 : 230 °C

測定範囲 m/z: 40—400 (4—15 min)

40—660 (15 min—)

* 門司税関業務部 〒801-8511 福岡県北九州市門司区西海岸 1-3-10

** 財務省関税中央分析所 〒277-0882 千葉県柏市柏の葉 6-3-5

Table 1 Sample list of healthy tea and tea classified under heading 09.02

試料	植物学上の分類
明日葉	セリ科
アマチャヅル	ウリ科
イチョウ葉	イチョウ科
ウコン	ショウガ科
柿の葉	カキノキ科
ギムネマ	キョウチクトウ科
グアバ葉	フトモモ科
クコ葉	ナス科
クマザサ	イネ科
桑の葉	クワ科
ゴーヤ	ウリ科
すぎな	トクサ科
タヒボ	ノウゼンカズラ科
甜茶	バラ科
どくだみ	ドクダミ科
杜仲	トチュウ科
バナバ	ミソハギ科
びわの葉	バラ科
マテ	モチノキ科
ヤーコン	キク科
羅布麻	キョウチクトウ科
ルイボス	マメ亜科
緑茶	ツバキ科
ほうじ茶	ツバキ科
紅茶	ツバキ科
ウーロン茶	ツバキ科
プーアル茶	ツバキ科

Table 2 Sample list of blended health tea

試料名	原材料
ブレンド健康茶 1	ルイボス,甜茶,甘草,テアニン,他
ブレンド健康茶 2	ウーロン茶,緑茶,甜茶,他
ブレンド健康茶 3	ルイボス,ウーロン茶,プーアル茶,他
ブレンド健康茶 4	ウーロン茶,どくだみ,柿の葉,他
ブレンド健康茶 5	どくだみ,プーアル茶,他
ブレンド健康茶 6	紅茶,クコ葉,他
ブレンド健康茶 7	ウーロン茶,緑茶,どくだみ,クマザサ,杜仲,プーアル茶,クコの実
ブレンド健康茶 8	柿の葉,ウーロン茶,甘草
ブレンド健康茶 9	すぎな,茶,甘草,他
ブレンド健康茶 10	クコ葉,ウーロン茶,甘草
ブレンド健康茶 11	どくだみ,ウーロン茶,杜仲,柿の葉,クマザサ,他
ブレンド健康茶 12	ウーロン茶,アマチャヅル,緑茶,柿の葉,明日葉,甘草,他
ブレンド健康茶 13	茶,イチョウ,クマザサ,どくだみ,他
ブレンド健康茶 14	杜仲,ウーロン茶
ブレンド健康茶 15	ウーロン茶,甘草,緑茶,ギムネマ,イチョウ葉,他
ブレンド健康茶 16	黒茶,ウーロン茶,甘草,杜仲,プーアル茶,ギムネマ,マテ,桑の葉,他
ブレンド健康茶 17	ラフマ,どくだみ,ギムネマ,杜仲,ウーロン茶,プーアル茶,柿,アマチャヅル,甘草,他
ブレンド健康茶 18	ウコン,ウーロン茶,甘草,杜仲,どくだみ,すぎな,他
ブレンド健康茶 19	ほうじ茶,クマザサ,クコの実,びわ,甘草,桑,アマチャヅル,柿,どくだみ,ギムネマ,すぎな,イチョウ,クコ,他
ブレンド健康茶 20	どくだみ,柿,クコ,クマザサ,すぎな,茶,びわ,他

スキャンスピード : 781 u/sec(4-15 min)

1562 u/sec(15 min-)

2.2.2 実験方法

試料 0.1 g を三角フラスコに採取し 75 %エタノール溶液を 10 mL 加え, 冷却管を取り付け 80°C の湯浴上で 20 分間還流抽出を行った. 抽出液を濾紙で濾過し, 濾液をナス型フラスコに回収した. さらに抽出残渣に 75 %エタノール溶液を加え同様の操作を 2 回行った. 3 回の還流抽出で得た濾液にクロロホルムを加え攪拌した後水層部分を回収し, 減圧乾燥機により水を完全に除去した. 残留物にアセトニトリル 600 μ L と TMS 化試薬 300 μ L を加え, ヒートブロックにて 50°C で 30 分間反応させたものを検体として使用した.

2.3 高速液体クロマトグラフ (HPLC)

2.3.1 装置及び測定条件

装置 : LC-20AD (島津製作所)

カラム : Sunniest RP-AQUA 250mm \times 4.6mmI.D.,

粒子径 5 μ m

検出器 : ダイオードアレイ検出器

カラム温度 : 40 °C

溶離液 A: アセトニトリル/水/りん酸 (85 %) = 75/24.9/0.1

溶離液 B: 水/りん酸 (85 %) = 99.9/0.1

2.3.2 実験方法

試料 0.1 g をスクリーバイアルに採取し, 3 mL のメタノール溶液を加え 30 分間超音波抽出を行った. その後, 水 1 mL を加えさらに 30 分間超音波抽出を行い, 抽出液を孔径 0.45 μ m のメンブレンフィルターで濾過した. 濾液 990 μ L と内標準物質溶液 (10000ppm p-tert-ブチルフェノール-メタノール溶液) 10 μ L を混合したものを検体として使用した. 測定はグラジエント溶出法

(プログラムを Table 3 に示す.) を 2 時間かけて行い, 成分同定は保持時間及び UV スペクトルにより行った.

Table 3 Analysis conditions for gradient elution method

Time (min)	0.00	70.00	85.00	100.00	100.01	120.00
A (%)	4	70	100	100	4	4
B (%)	96	30	0	0	96	96

3. 結果及び考察

3.1 GC/MS 法における測定結果

GC/MS 法の結果を Table 4 に示す. 検出された成分のうち, 健康茶において検出され, かつ第 09.02 項の茶において検出されなかった成分としてマロン酸, カフェイン酸, グルクロン酸, サッカリン酸, アコニット酸 (すぎなにおいてのみ多量に検出), アウクビン (杜仲においてのみ検出), クロロゲン酸 (以下, CGA) があった. これらの物質が検出されれば原材料に健康茶を 1 種類以上使用していることが示唆される. 一方で, 健康茶においては検出されなかったものの第 09.02 項の茶において検出された成分としてテアニン, カテキン (以下, C), エピガロカテキン (以下, EGC) があった. ブレンド健康茶 1~20 においてはグルクロン酸をほとんどの検体で検出したこと, また, ブレンド健康茶 14 については原材料の杜仲において検出されたアウクビンが確認されたことから, 原材料に健康茶を使用していることが推測できる. しかしながら, テアニン, C, EGC といった成分を検出できなかった検体が多く, テアニンについては検出されても極微量のピークでしか確認できなかったことから (Fig 1), GC/MS 法においては第 09.02 項の茶の含有を判別するのは困難であった.

3.2 HPLC 法における測定結果

HPLC 法の結果を Table 5 に示す. 同法においては第 09.02 項の茶に含まれるカテキン類としてエピカテキン (以下, EC), C, EGC, ガロカテキン (以下, GC) 及びその没食子酸エステル (エピカテキンガラート (以下, ECg), エピガロカテキンガラート (以下, EGCg) ガロカテキンガラート (以下, GCg)) を検出した. また, プーアル茶においてはテオフィリン (以下, TP) を, ほうじ茶とプーアル茶においてはケンフェロール (以下, KF) を検出した. 第 09.02 項の茶のうち, 紅茶においてはカテキン類の没食子酸エステルをほとんどの検体において多量に検出し, テアフラビン類 (以下, TF) も検出した. プーアル茶においては ECg, EGCg を検出しない検体が多く見られた. これらの理由として茶そのものの発酵の程度が関与していると考えられる³⁾. また, 健康茶においてはほとんど検出されなかったが, 第 09.02 項の茶を含む検体は, そのほとんどにおいて上記のカテキン類及びその没食子酸エステルを複数種とカフェイン (以下, CF) 及びテオブロミン (以下, TB) を検出した. 健康茶のうち, 第 09.02 項の茶において確認された成分を検出した健康茶がいくつかあり, 柿の葉においては C, GC を, グァバ葉

とバナバにおいては没食子酸 (以下, GA) を, びわの葉においては EC を, ラフマにおいては EGC, EC を, マテにおいては TB, CF を検出した. また, 健康茶において主に検出され, かつ第 09.02 項の茶において検出されなかった, あるいはほとんど検出されなかった成分としてルチン (以下, R), イソクエルシトリン (以下, IQC), CGA, ネオクロロゲン酸 (以下, NCGA) があった.

3.3 GC/MS 法及び HPLC 法による総合判断

ブレンド健康茶 1 において, HPLC 法で第 09.02 項の茶の主な成分を検出していないのは, その原材料に第 09.02 項の茶が含まれないためであるが, テアニンが添加された製品であったため GC/MS 法においてはテアニンを検出した. また, GC/MS 法において, 健康茶からのみ検出された成分を 3 成分検出していることから, 健康茶の含有は推測できた.

ブレンド健康茶 8 においては, GC/MS 法において健康茶に含まれるような成分を検出しなかったものの, HPLC 法において IQC, CGA を検出していること, カテキン類及びその没食子酸エステルを複数種検出していることから, 健康茶及び第 09.02 項の茶の含有を推測できた.

ブレンド健康茶 20 においては, 茶特有の成分として C, GA, GCg の 3 種類のみを検出した. しかし, 他のブレンド健康茶 (ブレンド健康茶 1 を除く) は TB, CF の少なくとも一つ以上を検出しているのに対し, ブレンド健康茶 20 においてはいずれも検出されなかった. また, カテキン類及びその没食子酸エステルの検出数も少なかったことから, ブレンド健康茶 20 においては健康茶複数種が含まれていることは推測できたが, 第 09.02 項の茶が含まれているかの判別は困難であった.

このように, GC/MS 法と HPLC 法の測定結果から健康茶及び第 09.02 項の茶の含有を判別できることが示唆された. GC/MS 法及び HPLC 法の二つの手法を総合して健康茶及び第 09.02 項の茶の含有が判別できたか否かの評価を Table 6 に示す. 健康茶含有の評価に関しては健康茶からのみ検出された成分 (例えばグルクロン酸など) を検出していれば「○」を, 茶含有の評価に関してはカテキン類及びその没食子酸エステルに加えて, CF 又は TB を検出していれば「○」と評価した. なお, ブレンド健康茶 20 については原材料に第 09.02 項の茶を含むが, 測定結果からは茶の含有は判別できなかったため, ブレンド健康茶 20 検体中 19 検体が本法での判別が可能であったと言える.

Table 4 Measurement result of gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS).

	成 分									
試料名	マロン酸	テアニン	カフェイン酸	グルクロン酸	サッカリン酸	アコニット酸	アウクビン	C	EGC	CGA
明日葉	－	－	－	－	－	－	－	－	－	○
アマチャヅル	○	－	－	○	○	－	－	－	－	－
イチョウ葉	－	－	－	○	－	－	－	－	－	－
ウコン	○	－	－	○	－	－	－	－	－	－
柿の葉	○	－	－	○	－	－	－	－	－	－
ギムネマ	－	－	－	○	○	－	－	－	－	－
グアバ葉	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－
クコ葉	○	－	－	○	－	－	－	－	－	○
クマザサ	○	－	－	○	－	－	－	－	－	－
桑の葉	－	－	－	○	－	－	－	－	－	○
ゴーヤ	－	－	－	○	－	－	－	－	－	－
すぎな	○	－	○	○	－	○	－	－	－	－
タヒボ(紫イペ)	－	－	－	○	－	－	－	－	－	－
甜茶	－	－	－	○	－	－	－	－	－	－
どくだみ	－	－	－	○	－	－	－	－	－	○
杜仲	－	－	－	－	－	－	○	－	－	○
バナバ	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－
びわの葉	－	－	－	○	－	－	－	－	－	○
マテ	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－
ヤーコン	○	－	○	○	○	－	－	－	－	－
羅布麻	○	－	－	－	○	－	－	－	－	○
ルイボス	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－
緑茶	－	○	－	－	－	－	－	○	○	－
ほうじ茶	－	－	－	－	－	－	－	○	○	－
紅茶	－	○	－	－	－	－	－	○	○	－
ウーロン茶	－	○	－	－	－	－	－	○	○	－
プーアル茶	－	○	－	－	－	－	－	○	○	－
ブレンド健康茶1	○	○	－	○	○	－	－	－	－	－
ブレンド健康茶2	－	○	○	○	－	－	－	○	－	－
ブレンド健康茶3	○	－	－	○	○	－	－	－	－	－
ブレンド健康茶4	－	－	－	○	○	－	－	－	－	－
ブレンド健康茶5	－	－	－	○	－	－	－	－	－	－
ブレンド健康茶6	－	－	－	○	－	－	－	－	－	－
ブレンド健康茶7	－	－	－	○	－	－	－	○	－	－
ブレンド健康茶8	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－
ブレンド健康茶9	○	－	○	○	－	○	－	－	－	－
ブレンド健康茶10	○	－	－	○	－	－	－	○	－	○
ブレンド健康茶11	－	－	－	○	○	－	－	－	－	－
ブレンド健康茶12	－	－	－	○	－	－	－	○	－	－
ブレンド健康茶13	－	－	－	○	－	－	－	－	－	－
ブレンド健康茶14	－	－	－	－	－	－	○	○	－	○
ブレンド健康茶15	－	－	－	○	－	－	－	○	－	－
ブレンド健康茶16	－	－	－	○	○	－	－	○	－	－
ブレンド健康茶17	－	－	－	○	○	－	－	○	－	－
ブレンド健康茶18	－	－	－	○	－	－	－	○	－	－
ブレンド健康茶19	－	－	－	○	－	－	－	－	－	－
ブレンド健康茶20	○	－	－	○	－	－	－	－	－	－

Table 5 Measurement result of High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

試料名	成 分																
	C	EC	EGC	GC	ECg	EGCg	GCg	CF	TB	GA	TF	TP	KF	R	IQC	CGA	NCGA
明日葉	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	○	○	—
アマチャヅル	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	○	—	—	—
イチョウ葉	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	○	—	—	—
ウコン	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
柿の葉	○	—	—	○	—	—	—	—	—	—	—	—	—	○	○	—	—
ギムネマ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
グアバ葉	—	—	—	—	—	—	—	—	—	○	—	—	—	—	—	—	—
クコ葉	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	○	—
クマザサ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
桑の葉	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	○	○	○	○
ゴーヤ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
すぎな	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	○	○	—
タヒボ(紫イペ)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
甜茶	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
どくだみ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	○	—	○	○
杜仲	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	○	○	—
バナバ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	○	—	—	—	—	—	—	○
びわの葉	—	○	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	○	○	○
マテ	—	—	—	—	—	—	—	○	○	—	—	—	—	○	—	○	—
ヤーコン	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
羅布麻	—	○	○	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	○	○	○
ルイボス	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	○	—	—	—
緑茶	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	—	—	—	—	—	○	—
ほうじ茶	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	—	—	○	—	—	—	—
紅茶	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	—	—	—	—	—	—
ウーロン茶	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	—	—	—	—	—	—
プーアル茶	○	○	○	—	—	—	—	○	○	○	—	○	○	—	—	—	—
ブレンド健康茶1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	○	—	—
ブレンド健康茶2	○	○	○	○	○	○	○	○	—	—	—	—	—	—	—	—	—
ブレンド健康茶3	○	—	○	—	—	○	○	○	—	○	—	—	—	—	—	—	—
ブレンド健康茶4	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	—	—	—	—	—	○	○
ブレンド健康茶5	○	○	—	—	—	○	—	○	○	○	—	○	—	—	—	○	○
ブレンド健康茶6	—	—	—	—	○	○	—	○	○	○	○	—	—	○	○	—	—
ブレンド健康茶7	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	—	—	—	—	—	○	○
ブレンド健康茶8	○	○	○	○	—	○	○	○	○	○	—	—	—	—	○	○	—
ブレンド健康茶9	○	—	○	○	○	○	○	○	○	○	—	—	—	—	○	○	—
ブレンド健康茶10	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	—	—	—	—	—	○	○
ブレンド健康茶11	○	○	○	○	○	○	—	○	—	○	—	—	—	—	—	○	—
ブレンド健康茶12	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	—	—	—	—	—	—	—
ブレンド健康茶13	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	—	—	—	—	—	—	—
ブレンド健康茶14	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	—	—	—	—	—	○	—
ブレンド健康茶15	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	—	—	—	—	—	○	—
ブレンド健康茶16	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	—	—	○	—	—	—	—
ブレンド健康茶17	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	—	—	—	—	—	—	—
ブレンド健康茶18	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	—	—	—	—	—	—	—
ブレンド健康茶19	○	○	○	○	○	○	○	○	—	○	—	—	—	—	—	○	—
ブレンド健康茶20	○	—	—	—	—	—	○	—	—	○	—	—	—	—	○	○	—

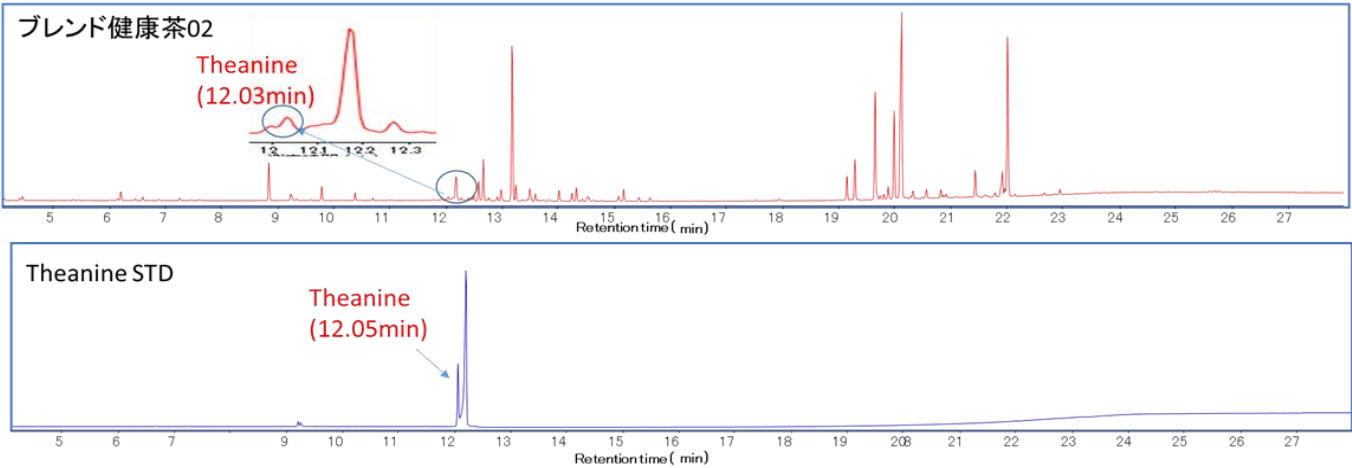


Fig 1 Chromatograms of blended health tea 2 and Theanine standard

Table 6 Comprehensive evaluation by GC/MS and HPLC

	健康茶の含有	茶の含有
ブレンド健康茶1	○	—
ブレンド健康茶2	○	○
ブレンド健康茶3	○	○
ブレンド健康茶4	○	○
ブレンド健康茶5	○	○
ブレンド健康茶6	○	○
ブレンド健康茶7	○	○
ブレンド健康茶8	○	○
ブレンド健康茶9	○	○
ブレンド健康茶10	○	○
ブレンド健康茶11	○	○
ブレンド健康茶12	○	○
ブレンド健康茶13	○	○
ブレンド健康茶14	○	○
ブレンド健康茶15	○	○
ブレンド健康茶16	○	○
ブレンド健康茶17	○	○
ブレンド健康茶18	○	○
ブレンド健康茶19	○	○
ブレンド健康茶20	○	—

4. 要 約

GC/MS 法と HPLC 法という二つの手法を用いた本研究では、健康茶で主に検出される成分と第 09.02 項の茶で主に検出される成分に着目することでブレンド健康茶 20 検体中 19 検体について、健康茶の含有及び茶の含有が識別可能であるという良好な分析結果が得られた。また、ブレンド健康茶中に第 09.02 項の茶が含有されているか否かを判別するには、HPLC 法においてカテキン類及びその没食子酸エステルを複数種、さらにテオブロミン (TB)、カフェイン (CF) の検出を確認することが有効であるということが分かった。

文 献

1) 中村文雄,三坂純子,新井健司,朝長洋祐：関税中央分析所報,44,33,(2004)
2) 黄素梅,井上和美,李 岩,田中隆,石丸幹二：オートクレーブ処理した茶葉および茶ドリンクのカテキン成分,日本食品化学学会誌,11,99-102, (1997)
3) 樋野千寿,三浦徹,梅田寛,竹元賢治,辻恵美,笹川邦雄：関税中央分析所報,45,23, (2005)