

健康茶中の茶の検出

中村 文雄*, 三坂 純子*, 新井 健司*, 朝長 洋祐*

Detection of Tea in 'Health Teas'

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

It was confirmed that theanine was detected in teas but not detected in 23 'health teas' by using high-performance liquid chromatography coupled with precolumn derivatization by o-phthalaldehyde. We can thus detect the addition of tea to 'blended health teas' by detecting theanine.

1. 緒 言

近年の健康食品ブームに伴い、杜仲茶、びわ茶、甜茶等、いわゆる「健康茶」の需要が伸びている。これらの「健康茶」は、茶と名づけられているが、関税分類上、第09.02項の茶には分類されず、その原料植物の種類によって、第7類又は第12類等に分類される。しかし、その「健康茶」に第09.02項の茶を混合したものは、第21類に分類され、関税率も異なるため、「健康茶」中の茶の検出は重要である。しかし、市場に出回っている「健康茶」は、細かく粉碎されてティーバッグに入っていることが多く、形態的に茶を検出することは困難である。

そこで、オルトフタルアルdehyド (OPA) によるプレカラム誘導体化高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により、茶樹特有のアミノ酸とされているテアニンを検出することで「健康茶」中の茶の検出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

試料として用いたものを、Table 1 に示す。

ヤブツバキは、健康茶としては知られていないが、茶と同属の植物であるため、参考として用いた。

それ以外は、市販品を用いた。混合健康茶以外の健康茶は、すべて100%表示のあるものを用いた。

Table1 Analyzed samples

試料名	植物学上の分類
緑茶 A	ツバキ科
緑茶 B	ツバキ科
ほうじ茶	ツバキ科
ウーロン茶 A	ツバキ科
ウーロン茶 B	ツバキ科
ブーアル茶	ツバキ科
紅茶	ツバキ科
マテ茶	モチノキ科
明日葉茶	セリ科
いちょう茶	イチョウ科
ウコン茶	ショウガ科
柿の葉茶	カキノキ科
ギムネマ茶	ガガイモ科
グアバ茶	フトモモ科
くまざさ茶	イネ科
桑の葉茶	クワ科
ゴーヤ茶	ウリ科
すぎな茶	トクサ科
麿榧そば茶	タデ科
甜茶	バラ科
どくだみ茶	ドクダミ科
杜仲茶	トチュウ科
はと麦茶	イネ科
バナバ茶	ミソハギ科
びわ茶	バラ科
麦茶	イネ科
羅布麻茶	キヨウチクトウ科
ルイボス茶	マメ科
ヤーコン茶	キク科
ヤブツバキ	ツバキ科
混合健康茶 A	
混合健康茶 B	
混合健康茶 C	
混合健康茶 D	

2. 1. 2 試薬

OPA試薬 : オルトフタルアルデヒド100mgをアセトニトリル15mlに溶解し、これに0.1Mほう酸ナトリウム緩衝液(pH=9.0)を加えて50mlに定容し、この溶液を1晩冷蔵庫中に置き、析出した結晶を0.45μmメンブランフィルターでろ過したもの。

メルカプト試薬 : メルカプトエタノール250μlに0.45μmメンブランフィルターでろ過した0.1Mほう酸ナトリウム緩衝液(pH=9.0)を加えて50mlに定容したもの。

2. 2 HPLC条件

HPLC条件は、後藤ら¹⁾の方法に準拠した。

HPLC : HP1100 System

カラム : L-column ODS 4.6mmID×150mm

移動相：以下の条件の2液多段リニアグラジエントを行った。

A液 : 5 mM くえん酸緩衝液 (pH6.0) /アセトニトリル = 19/1 (v/v)

B液 : 5 mM くえん酸緩衝液 (pH=6.0) /アセトニトリル = 3/7 (v/v)

A液 : B液

開始時	95	:	5
5分後	88	:	12
20分後	78	:	22
25分後	5	:	95

この状態で5分間保持した後、直ちに開始時の状態に戻し、5分間待ってから次の試料を導入する。いずれの時間帯も、移動相の混合割合は次の混合割合まで直線的に変化させた。

流速 : 1 ml/min

カラム温度 : 40°C

検出：蛍光検出 Ex:340nm, Em:450nm

2. 3 OPA誘導体化

HPLC用バイアルに、OPA試薬500μl及びメルカプト試薬500μlを入れ、混合した後、検液50μlを加えよく混合し、その20μlを直ちにHPLCに導入した。

2. 4 実験

2. 4. 1 OPA誘導体化物の安定性

試薬テアニンをOPA誘導体化し、一定時間ごとにHPLCに導入し、その面積の変動を測定した。

2. 4. 2 試料中のテアニンの検出

粉碎した試料約100mgに80°Cの水を加え、30分間、80°Cで加熱し、放冷後、内標準物質としてグリシルグリシンを加え、100mlに定容し、0.45μmメンブランフィルターでろ過したものを検液とし、2.3によりOPA誘導体化し、HPLCにより、テアニンを定量した。

3. 結果及び考察

3. 1 OPA誘導体化物の安定性

試薬テアニンをOPA誘導体化し、一定時間ごとにHPLCに導入し、その面積の変動を測定した結果をFig.1に示す。経過時間と面積とは負の相関を示し、2時間後には、約30%減少した。

したがって、OPA誘導体化後、直ちにHPLCに導入する必要があることが判明した。

この方法による繰返し精度は、テアニンの面積について、変動係数0.61% (n=5)、テアニンとグリシルグリシンとの面積比について、変動係数0.27% (n=5)であり、良好であった。

また、テアニンとグリシルグリシンの面積比に対する濃度比の関係は、相関式 : $y = 1.33198x - 0.00689$ (相関係数 $R^2 = 0.99996$) の原点付近を通る良好な直線性を示し、検出限界は、検液濃度として46ng/mlであった。

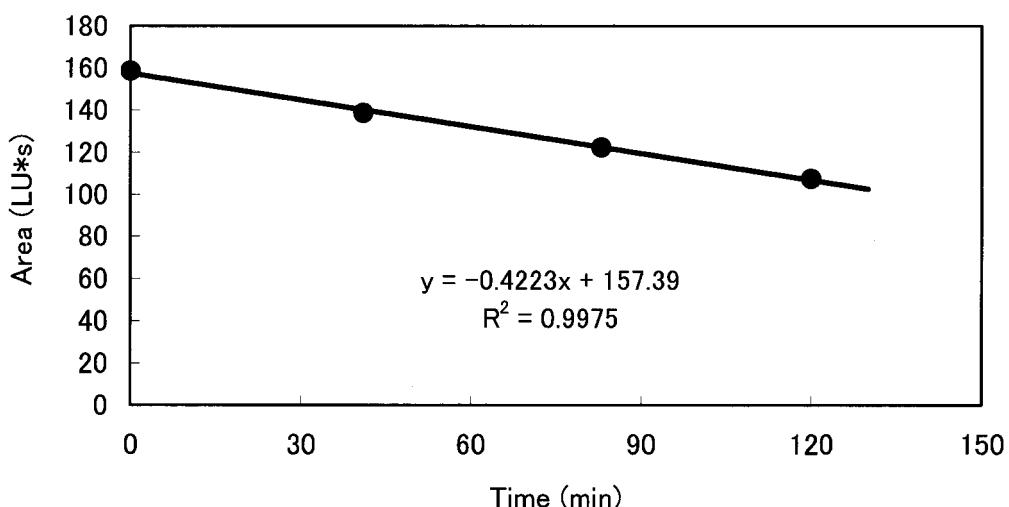


Fig.1 Stability of theanine derivatized by o-phthalaldehyde

3. 2 試料中のテアニンの検出

各試料のテアニンの定量結果をTable 2に示す。また、緑茶及び杜仲茶について、クロマトグラムの一例をFig.2に示す。

チャ属の緑茶、紅茶、烏龍茶、プーアル茶及びほうじ茶からテアニンを検出したが、マテ茶、ヤブツバキ及び健康茶からはテアニンを検出しなかった。

混合健康茶からはテアニンを検出したことから、茶の含有が認められた。

4. 要 約

OPAプレカラム誘導体化HPLCを用いて、緑茶、紅茶等チャ属の植物を原料とするものについては、テアニンを検出することができた。また、チャ属以外の植物を原料とする健康茶からは、テアニンを検出しなかった。

一方、茶を含有する混合健康茶からテアニンを検出することができた。この方法により、健康茶中に混合された茶の検出が可能であった。しかし、茶の種類や品質によりテアニンの含有率は異なるので、茶の含有率の定量は不可能である。

Table2 Determination of Theanine

試料名	テアニン含有率(%)
緑茶 A	1.80
緑茶 B	0.41
ほうじ茶	0.02
ウーロン茶 A	0.36
ウーロン茶 B	0.10
プーアル茶	0.03
紅茶	0.94
マテ茶	ND
明日葉茶	ND
いちょう茶	ND
ウコン茶	ND
柿の葉茶	ND
ギムネマ茶	ND
グアバ茶	ND
くまざさ茶	ND
桑の葉茶	ND
ゴーヤ茶	ND
すぎな茶	ND
難糸そば茶	ND
甜茶	ND
どくだみ茶	ND
杜仲茶	ND
はと麦茶	ND
バナバ茶	ND
びわ茶	ND
麦茶	ND
羅布麻茶	ND
ルイボス茶	ND
ヤーコン茶	ND
ヤブツバキ	ND
混合健康茶 A	0.02
混合健康茶 B	0.001
混合健康茶 C	0.01
混合健康茶 D	0.11

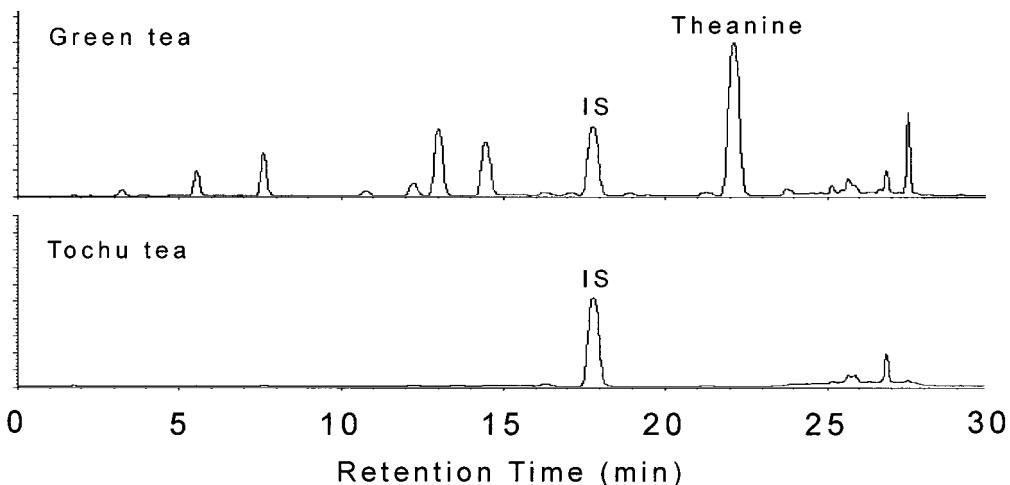


Fig.2 Chromatograms of Green tea and Tochu tea.

文 献

- 1) 後藤哲久, 堀江秀樹, 向井俊博: 茶葉研究報告, 77,29 (1993)