

# ペットボトル緑茶のカテキン、カフェイン、テアニン含量

著者	吉川 秀樹, 橋口 美智留
雑誌名	京都光華女子大学京都光華女子大学短期大学部研究紀要
号	55
ページ	67-72
発行年	2017-12-01
URL	<a href="http://id.nii.ac.jp/1108/00000849/">http://id.nii.ac.jp/1108/00000849/</a>

# ペットボトル緑茶のカテキン、カフェイン、テアニン含量

吉川 秀樹  
橋口 美智留

## I. 緒言

茶は、その製法の違いから不発酵茶、半発酵茶、発酵茶、後発酵茶などに分けられるが、日本で生産される茶（緑茶）のほとんどは不発酵茶である。緑茶では、茶葉の加工工程の初期に蒸し作業が行われ、これによって酸化酵素を失活させ、葉緑素とアスコルビン酸の分解を防いでいるため茶葉あるいは浸出した茶液の水色は緑色を呈する<sup>1)</sup>。茶の生産量としては、煎茶が最も多く、全体の約75%が「やぶきた」で占められている<sup>2)</sup>。

一方、最近では、消費者の簡便さを求める傾向から急須でお茶を入れるという手間を省いたペットボトル入り緑茶飲料（以後、ペットボトル緑茶）も販売されている。1980年代に誕生したペットボトル緑茶は、今では日本人の生活に定着し、国民1人あたり年間約18リットルが消費されているとされる。原料としては煎茶が多く、かぶせ茶、てん茶（抹茶）、玉露、釜入り茶なども使われているが、加工品であるがゆえに通常の急須で入れた茶とは味が違うという指摘もみられる<sup>3)</sup>。

茶に含まれる成分をみると、茶葉には炭水化物、タンパク質、脂質、ミネラル、ビタミンなどの栄養素が含まれるが、特有な成分として渋味を呈するタンニン（カテキン類など）、苦味を呈するカフェイン、旨味や甘味を呈するテアニンや、その他のアミノ酸といった嗜好成分も含まれている<sup>4)</sup>。また、緑茶の呈味パターンを調べると、比較的渋味や苦味に対する点数が高いことから、緑茶の味は渋味や苦味を中心にして、旨味と若干の甘味が加わったものとみなすことができる<sup>5,6)</sup>。緑茶浸出液の可溶性成分の大半を占めるカテキン類は、没食子酸エステルを含む構造の異なる数種類が存在している。主要なものは、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、カテキンであり、これらの含量が渋味にも影響を及ぼしている<sup>7)</sup>。

そこで本研究では、市販の茶葉（煎茶）とペットボトル緑茶に含まれるタンニン、カフェイン、テアニン含量について調べるとともに、構造の異なるカテキン類の含量を調べ、その違いを明らかにするとともに、味への影響について比較検討した。

## II. 実験方法

### 1. 試料

試料は、市販の茶葉（煎茶4種）およびペットボトル緑茶11種を使用した。煎茶については、販売価格の異なる4種を試料とした。ペットボトル緑茶については、比較的多く販売されている各種メーカーのもの11種を購入して用いた。購入時期は、2009～2012年であった。

茶葉抽出液は、食品成分表2012に準じ<sup>8)</sup>、茶葉10gに対して90℃の湯430mlを加え、1分間抽出した後、速やかにNo.2のろ紙を用いてろ過し、ろ液を試料とした。ペットボトル緑茶は必要に応じてNo.2のろ紙を用いてろ過し、ろ液を使用した。

### 2. タンニンの定量

没食子酸エチルを標準物質として各試料中のタンニン量を酒石酸鉄試薬法<sup>9)</sup>により測定した。すなわち、0.2Mリン酸緩衝液（pH7.5）中において試料液と酒石酸鉄を反応させ、540nmにおける吸光度を測定した後、得られた吸光度から没食子酸エチル濃度を求め、タンニン量に換算した。

### 3. カフェイン、カテキン類の定量

各試料中のカフェイン、カテキン類を高速液体クロマトグラフィーによって分離し、定量した<sup>10)</sup>。分析には高速液体クロマトグラフィー（日本分光、PU980）を用い、逆相カラム（Imtakt Corporation、Cadenza CD-C18、4.6mm×75mm）を1%酢酸溶液／メタノール／アセトニトリル混合液（85：10：5）で平衡化し

た後、ミリポアフィルター (0.45  $\mu\text{m}$ ) を通した試料液をかけ、同溶液により溶出した (流速 1ml / 1min、カラム温度 37 $^{\circ}\text{C}$ )。溶出液中のカフェイン、カテキン類は 280nm での吸光度を測定することにより検出し、試料の吸光度を標準品と比較することによってカフェインまたはカテキン類((-)-エピカテキン(EC)、(-)-エピカテキンガラート (ECG)、(-)-エピガロカテキン (EGC)、(-)-エピガロカテキンガラート (EGCG)、(+)-カテキン (C)) を定量した。また、溶離液を 0.05% リン酸 / メタノール混合液 (80 : 20) とし、同様の方法で (+)-ガロカテキン (GC) および (-)-ガロカテキンガラート (GCG) を分析した<sup>11)</sup>。データ解析には、BORWIN Chromatography Software (システム・JASCO-HPLC) を使用した。

#### 4. テアニンの定量

試料中の遊離アミノ酸の  $\alpha$ -アミノ基にフェニルイソチオシアネート (PITC) を微アルカリ性でカップリングさせ、生成するフェニルチオカルバモイルアミノ酸 (PTC-アミノ酸) を高速液体クロマトグラフィーで分離することによりテアニンを含む各種アミノ酸を定量した<sup>12)</sup>。すなわち、試料、テアニン標準液またはアミノ酸混合標準液 (Waco、Amino Acids Mixture Standard Solution、Type H) をエッペンドルフチューブに取り、減圧下で乾燥させた。これにエタノール / 蒸留水 / トリエチルアミン混合液 (2 : 2 : 1) を加えてかく拌した後、再び減圧下で乾燥させた。これにエタノール / 蒸留水 / トリエチルアミン / PITC 混合液 (7 : 1 : 1 : 1) を加えて室温で 20 分間反応させた後、減圧下で乾燥させ、分析に供した。分析には高速液体クロマトグラフィー (日本分光、PU980) を用い、逆相カラム (Waco、Wakosil-PTC、4.0mm $\times$ 20cm) を専用溶離液 (Waco、PTC-Amino Acids Mobile Phase A) で平衡化した後、ミリポアフィルター (0.45  $\mu\text{m}$ ) を通した試料液をかけ、専用溶離液 (Waco、PTC-Amino Acids Mobile Phase B) を用いる直線グラジエント法により溶出した (流速 1ml / 1min、カラム温度 40 $^{\circ}\text{C}$ )。溶出液中のアミノ酸は 254nm での吸光度を測定することにより検出し、試料の吸光度を標準品と比較することによってテアニン量を求めた。データ解析には、BORWIN Chromatography Software (システム・JASCO-HPLC) を使用した。

### Ⅲ. 実験結果および考察

#### 1. タンニン量

茶葉抽出液およびペットボトル緑茶に含まれるタンニン (ポリフェノール) 量を測定した結果を、図 1 に示した。煎茶抽出液に含まれるタンニン量が約 111mg% (4 種類の平均値) であったのに対して、ペットボトル緑茶のタンニン量は 29~61 mg% と試料間で約 2 倍の差が見られ、その平均値は、煎茶抽出液に含まれる量の 45% 程度であった。食品成分表 2012 では、同じ条件で調製した煎茶抽出液中のタンニン量は 70mg% であり<sup>8)</sup>、今回使用した煎茶抽出液の方が高い値を示した。また、安藤らは、数種の市販の緑茶飲料に含まれるタンニン量が 34.2~62.4mg% であったと報告しており<sup>13)</sup>、今回の結果もほぼ同じ値、かつ試料間の含量差を示した。お茶に含まれるタンニン量は渋味の違いに繋がることから、その量の違いは渋味を抑える、あるいは渋味を強調するといった各メーカーの考え方の違いが反映された結果と思われる。

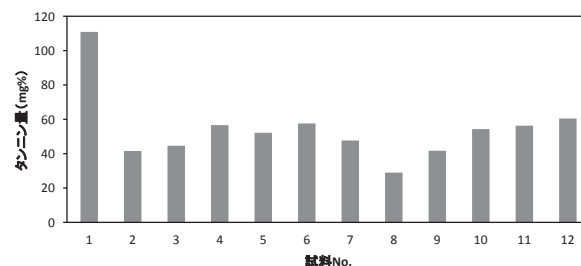


図 1 試料中のタンニン量

#### 2. カフェイン量

茶葉抽出液およびペットボトル緑茶に含まれるカフェイン量を測定した結果を、図 2 に示した。煎茶抽出液に含まれるカフェイン量は、約 30mg% (4 種類の平均値) であった。食品成分表 2012 では、同じ条件で調製した煎茶抽出液中のカフェイン量は 20mg% であり<sup>8)</sup>、今回使用した煎茶抽出液の方が高い値を示した。一方、ペットボトル緑茶のカフェイン量は平均値で煎茶抽出液の 41% 程度であり、その含量は 8~17mg% と試料間で約 2 倍の差が見られた。安藤らは、数種の市販の緑茶飲料に含まれるカフェイン量が 0~13.6mg% であったと報告している<sup>13)</sup>。今回の結果においては、全試料にカフェインが含まれており、類似した値を示す試料が多かった。お茶に含まれるカフェ

イン量は苦味の違いに繋がることから、タンニンと同様に苦味を抑えて飲みやすくする、あるいは逆に苦味を強調するといった各メーカーの考え方の違いが反映されていると思われる。

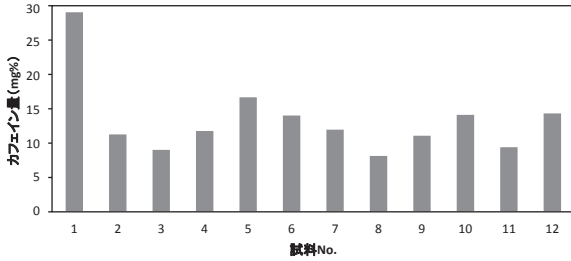


図2 試料中のカフェイン量

### 3. テアニン量

茶葉抽出液およびペットボトル緑茶に含まれるテアニン量を測定した結果を、図3に示した。煎茶抽出液に含まれるテアニン量は、約9mg%（4種類の平均値）であった。お茶に含まれるアミノ酸類には、テアニン、グルタミン酸、アルギニン、グルタミン、アスパラギン酸、セリンなどが上げられ、このうち最も多いのがテアニンである。その含量は下級茶葉で約0.6%、上級茶葉では約1.9%であることが報告されている<sup>14)</sup>。今回の試料中には、テアニン以外のアミノ酸はほとんど検出されなかった。また、今回用いた煎茶のテアニン量を下級茶葉に含まれる量と仮定すると、今回の抽出条件では茶葉の約65%のテアニンが抽出されたと考えられる。一方、ペットボトル緑茶のテアニン量は2~4mg%と試料間で約2倍の差が見られ、その平均値は煎茶抽出液に含まれる量の34%程度であった。テアニンは玉露や抹茶に多く含まれる旨味や甘味の原因物質であるが、今回の結果から煎茶抽出液と比較して、ペットボトル緑茶ではタンニンやカフェインの含量よりもテアニンの含量が低い傾向が見られた。したがって、一般的なペットボトル緑茶では旨味や甘味を抑えつつ渋味や苦味を強調するような味づくりを目指している傾向がうかがえる。また、テアニンには、抑圧性神経伝達物質のグリシンの放出を増大させる作用が知られていることから<sup>4)</sup>、ペットボトル緑茶に比べて煎茶抽出液の方が精神的リラックス効果が強いのではないかと推測される。

ペットボトル緑茶全体を通して見た場合、試料No.8はタンニン、カフェイン、テアニンともに比較

的量が少なく、試飲した結果もすっきりとした飲みやすい味であった。逆に、「深い味わい」や「香気と深い渋味」を強調した製品である試料No.10や12は、タンニン、カフェイン、テアニンともに比較的量が多く、煎茶のもつ渋味に旨味を加えた味づくりを目指している印象を受けた。

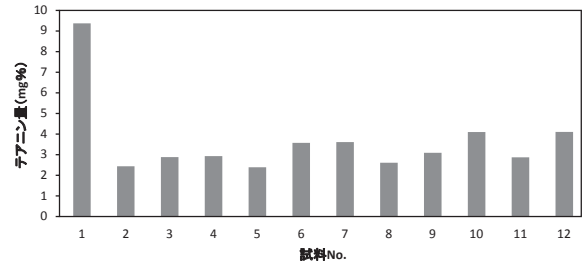


図3 試料中のテアニン量

### 4. 各種カテキン含量

茶に含まれる構造の異なるカテキンの閾値を最低弁別濃度として示すと、遊離型の(+) -カテキン(C)、(-) -エピカテキン(EC)、(-) -エピガロカテキン(EGC)は $12\sim 17 \times 10^{-4}M$ 、没食子酸(ガレート基)が付いた没食子酸エステル型の(-) -エピカテキンガレート(ECG)、(-) -エピガロカテキンガレート(EGCG)は $4 \times 10^{-4}M$ であり、遊離型カテキンはエステル型カテキンより数倍高い値を示すことから、エステル型の方がより強い渋味を呈することが報告されている<sup>15)</sup>。表1に茶葉抽出液およびペットボトル緑茶に含まれる主要なカテキン類を測定した結果を示した。また、測定した5種のカテキンの合計量に占める各カテキンの割合を、図4に示した。すべての試料において5種のカテキンが検出され、EGCやEGCGが比較的多く、両者の合計はカテキン全量の70~80%を占めていた。煎茶抽出液では、EGCが最も多く含まれ、次いで、没食子酸が付いたEGCGが多く含まれていた。また、CやECGの含量は低かった。一方、ペットボトル緑茶の多くは、EGCとEGCGの含量が高く、両者の含量は同程度のものから2倍程度EGCが多いものまで差が見られた。その他のカテキンは、C、EC、ECGの順に低くなる傾向が見られた。

一般に、エステル型のEGCGは茶の渋味と苦味の原因になるのに対して、遊離型のEGCは苦味と後味に少しの甘味を残すことが知られている<sup>5,15)</sup>。今回の結果から、煎茶抽出液ではEGCGよりもEGCが多

表 1. 試料中の各種カテキン量

試料 No.	EGC	C	EC	EGCG	ECG
	(μg/ml)				
1	427.8	72.5	88.8	314.3	52.8
2	57.5	36.0	9.0	43.0	7.0
3	92.0	28.5	13.0	41.0	7.5
4	67.5	42.5	10.5	51.5	7.5
5	59.0	41.5	11.0	65.5	9.5
6	100.0	45.0	15.0	56.5	10.0
7	50.0	45.0	11.0	62.5	11.5
8	50.0	31.0	10.5	43.5	7.0
9	78.5	40.5	20.0	79.0	13.0
10	75.0	56.5	15.0	76.0	13.5
11	76.0	36.0	16.0	67.0	12.5
12	104.0	78.5	24.0	84.5	15.0

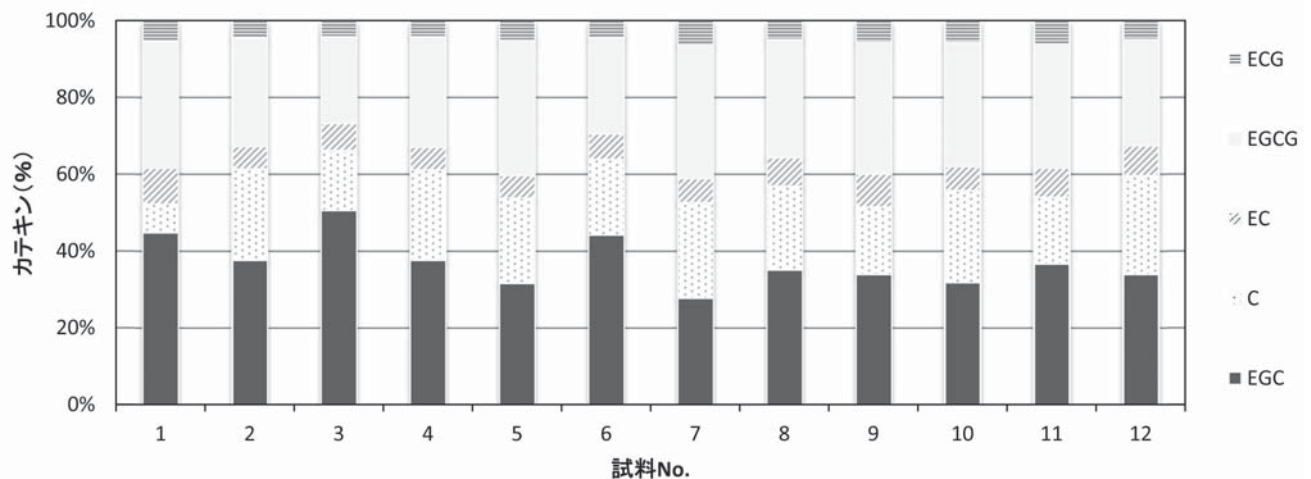


図 4 試料中の各種カテキンの割合

く含まれていたが、ペットボトル緑茶の多くは EGCG と EGC の含量が同程度であり、両者では渋味や苦味の原因物質が異なっていることが示唆される。一方、「にごり」を強調した製品である試料 No.6 では EGCG よりも EGC が約 2 倍多く含まれており、より煎茶に近い味を再現しようとしているものと思われる。また、ペットボトル緑茶では、カテキン全体に占める C の割合が煎茶抽出液と比較して多い傾向が見られた。一般に、カテキン類は加熱処理により構造が変化することが知られており<sup>16)</sup>、ペットボトル緑茶を製造する過程において、高温での殺菌処理により C の含量が増加したのではないかと考えられる。

### 5. カテキンの熱変化

茶葉抽出液およびペットボトル緑茶（代表的なものとして試料 No.4）に含まれる (+)-ガロカテキン (GC) および (-)-ガロカテキンガレート (GCG) を高速液体クロマトグラフィーで分析した結果を、図 5 に示した。いずれの試料にも EGCG や EC が検出されたが、ペットボトル緑茶では、煎茶抽出液ではほとんど検出されない GC や GCG が検出された。焙じ茶は焙じ機で約 200℃ で処理されるため、主要なカテキンが酸化および、それに伴う他物質との相互反応で量が減少するとともに、不斉炭素原子がエピメル化し、GC、C、GCG などの熱変化生成カテキン類を生じることが知られている<sup>15,16)</sup>。また、同様に茶類飲料の製造過程に

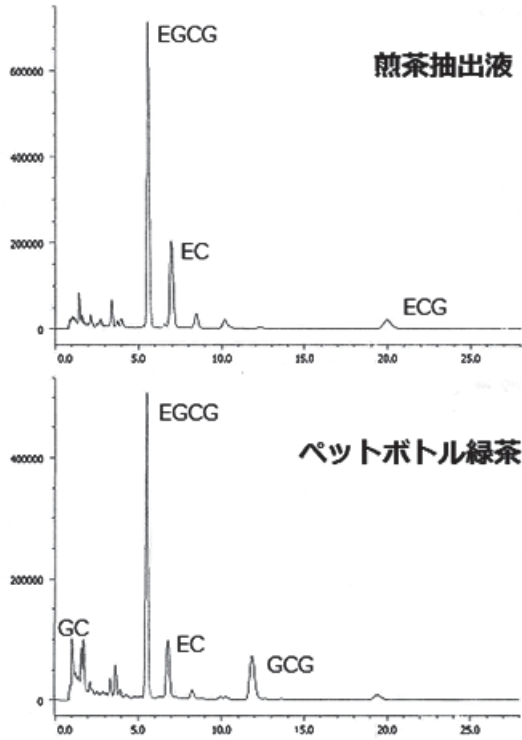


図5 煎茶抽出液とペットボトル入り緑茶飲料中のカテキン類のHPLC溶出パターン  
縦軸：Intensity(μV)、横軸：Retention Time(min)

においても120℃以上の高温で処理されるため、熱変化生成カテキン類が生成することが報告されている<sup>17-19)</sup>。

図4と図5の結果から、市販されているペットボトル緑茶にも殺菌工程で高温処理されたために生じたと考えられるGC、C、GCGが含まれており、渋味や苦味を呈する原因物質は原料茶と同じではないことが明らかとなった。しかし、これらのペットボトル緑茶が利便性から広く消費者に受け入れられ、好まれるならば、急須で入れる緑茶離れと相まって飲料茶の新しい嗜好が形成されつつあると見なせるであろう。

#### IV. 要約

茶葉抽出液および数種類のペットボトル入り緑茶飲料に含まれるタンニン、カフェイン、テアニン量を測定した。煎茶抽出液に比べて、ペットボトル入り緑茶飲料では平均でタンニンが約45%、カフェインが約41%、テアニンが約34%しか含まれていなかったが、タンニン、カフェイン、テアニン量には試料間で差が見られ、各メーカーの味づくりが異なることを反映していた。

カテキン類を調べた結果、すべての試料において、EGCやEGCGが比較的多く含まれており、両者の合計は主要なカテキン全量の70~80%を占めていた。煎茶抽出液ではEGCGよりもEGCが多く含まれていたが、ペットボトル入り緑茶飲料の多くはEGCGとEGCの含量が同程度であり、渋味や苦味の原因物質が異なっていることが示唆された。また、ペットボトル入り緑茶飲料には製造過程において生じたと考えられるGC、C、GCGといった熱変化生成カテキン類が検出された。

終わりに、本研究を行うにあたり、実験にご協力頂きました本学卒業生の西村 彩さん、藤原奈緒子さん、山内佑香さん、吉澤世莉香さんに深謝致します。

#### 参考文献

- 1) 岩浅 潔：茶の加工科学、茶の科学（村松敬一郎編）、52-84、朝倉書店、東京（1991）
- 2) 中村順行、谷口郁也：チャの起源と育種、茶の機能と科学（森田明雄、増田修一、中村順行、角川修、鈴木莊幸編）、14-25、朝倉書店、東京（2013）
- 3) (株)伊藤園：お茶の歴史、[http://www.ocha.tv/history/japanese\\_tea\\_history/drink/](http://www.ocha.tv/history/japanese_tea_history/drink/)
- 4) 海野けい子、奥 直人：学会の動き 第3回国際O-CHA学術会議（ICOS2007）、化学と生物、46、505-508（2008）
- 5) 西條了康：茶のフレーバー 1) カテキンの生合成と化学変化、化学と生物、32、181-185（1994）
- 6) 中川致之、阿南豊正、石間紀男：緑茶の味と化学成分との関係、茶研報、17、69-123（1981）
- 7) 阪中専二：カテキン類、新版茶の機能（衛藤英男、富田 勲、榛村純一、伊勢村 護、原 征彦、横越英彦、山本万里編）、農文協、東京、396-404（2013）
- 8) 香川芳子：食品成分表2012、女子栄養大学出版部、東京（2012）
- 9) 池ヶ谷賢次郎、高柳博次、阿南豊正：茶の分析法、茶研報、71、43-74（1990）
- 10) Imtakt Technical Information : Catechins in Green Tea, Imtakt Corporation, [http://www.imtaktusa.com/wp-content/themes/JointsWP-master/library/files/technical\\_information/](http://www.imtaktusa.com/wp-content/themes/JointsWP-master/library/files/technical_information/)

TI144E.pdf

- 11) Imtakt Technical Information : Catechins in Green Tea, Imtakt Corporation、[http://www.imtaktusa.com/wp-content/themes/JointsWP-master/library/files/technical\\_information/TI061E.pdf](http://www.imtaktusa.com/wp-content/themes/JointsWP-master/library/files/technical_information/TI061E.pdf)
- 12) 日本生化学学会編：続生化学実験講座2 タンパク質の化学（上）、東京化学同人、東京、209-215（1987）
- 13) 安藤久子、矢尾謙三郎、松下 至、松田ひとみ：緑茶飲料の呈味成分について、岡山学院大学・岡山短期大学紀要、**25**、67-72（2002）
- 14) 中川致之：緑茶の味と成分との関係、日食工誌、**17**、154-163（1970）
- 15) 中川致之：茶の品質とカテキンに関する研究、茶研報、**6**、65-116（1970）
- 16) 西條了康、武田善行：HPLCによる各種緑茶に含まれるカテキンの分析、日食工誌、**46**、138-147（1999）
- 17) 末松伸一、久延義弘、西郷英昭、松田良子、原京子、小松美博：茶類飲料缶詰成分変化に及ぼすpHの影響、日食工誌、**39**、178-182（1992）
- 18) 末松伸一、久延義弘、西郷英昭、松田良子、小松美博：緑茶中のカフェイン、カテキン類の測定のための新しい抽出法、日食工誌、**42**、419-424（1995）
- 19) 衣笠 仁、竹尾忠一、矢野信禮：茶種による緑茶飲料の香味成分の変化、日食工誌、**44**、112-118（1997）