

紅茶の亜臨界水抽出による品質の向上

横田 正 (愛知学泉短期大学 食物栄養学科, tyokota@gakusen.ac.jp)
 河合 智也 (静岡大学 農学部, q27c73784bz8x@softbank.ne.jp)
 木戸 康嗣 (静岡大学 農学部, suc10584@po4.across.or.jp)
 高橋 しほり (静岡大学 農学部, pickky_pokky_aniko13@yahoo.co.jp)
 宮下 知也 (静岡大学 創造科学技術大学院, p52102001@yahoo.co.jp)
 衛藤 英男 (静岡大学 農学部, srqe4yjl@qc.commufa.jp)

On the improvement of quality in the taste and flavor of black tea by sub-critical water extraction

Tadashi Yokota (Nutrition and Food Sciences, Aichi Gakusen College, Japan)
 Tomoya Kawai (Faculty of Agriculture, Shizuoka University, Japan)
 Koji Kido (Faculty of Agriculture, Shizuoka University, Japan)
 Shihori Takahashi (Faculty of Agriculture, Shizuoka University, Japan)
 Tomoya Miyashita (Graduate School of Science and Technology, Shizuoka University, Japan)
 Hideo Etoh (Faculty of Agriculture, Shizuoka University, Japan)

要約

紅茶は世界中で飲料される嗜好飲料の一つである。著者らは、緑茶の亜臨界水抽出物が、高濃度カテキン含有でありながら苦渋味を抑制し飲みやすい飲料となったことや、低品質烏龍茶の亜臨界水抽出物は、香気成分が増加し高品質化に適していることを報告した。そこで、紅茶を亜臨界水抽出することにより、香気成分などをはじめとした多くの成分を抽出することができ、新たな飲料の開発に繋がると考え、紅茶の熱水抽出物と亜臨界水抽出物との官能評価、各成分の比較を行った。官能評価では亜臨界水抽出物のほうが、熱水抽出物よりも優れており、3 MPa、140 °Cでの抽出が最も良好であった。凍結乾燥物重量、タンパク質、総アミノ酸、グルコース、ガラクトース、マンノース含有量は熱水抽出物よりも多く、温度上昇とともに抽出量も増大した。また、紅茶に重要な香気成分であるリナロール、ゲラニオール、リナロールオキシド、サリチル酸メチルの量も、熱水抽出物に比べ増大し、亜臨界水抽出の中では、最も低温である110°Cでの抽出量が最も多かった。このことは、抽出温度が上昇するにつれて香気成分の抽出量が増大した烏龍茶の亜臨界水抽出と異なる結果となり、発酵程度の違いによるものと考えられた。

キーワード

紅茶, 亜臨界水抽出, 香気成分, リナロール, 高品質化

1. はじめに

茶は製造方法の違い、いわゆる発酵過程の程度により、緑茶(不発酵茶)、烏龍茶(半発酵茶)、紅茶(発酵茶)などに分けられる。日本では古くから緑茶が主流となっているが、世界的には茶の生産量の約8割が紅茶であり、世界で飲料される最も代表的な嗜好飲料の一つである。

一方、以前より天然物からの抽出において亜臨界水を用いた研究が行われている。著者らは緑茶、烏龍茶の亜臨界水抽出物に関しての報告をしている。緑茶の亜臨界水抽出物は、高濃度カテキン含有でありながら苦渋味を抑制し、飲みやすい飲料となり (Miyashita et al., 2013; 2014; 宮下他, 2015)、低品質の烏龍茶の亜臨界水抽出物は香気成分が増加することで高品質化に適していることがわかった(吳他, 2015)。そこで、本研究では、紅茶の熱水抽出物と亜臨界水抽出物のタンパク質、総アミノ酸、全糖、単糖、官能評価、香気成分の測定を実施し、香気のすぐれた製品になることが分かった。また、亜臨界水抽出法の烏龍茶、緑茶の効果との相違も明らかにしたので報告する。

2. 実験方法

2.1 試料

2.1.1 紅茶葉

市販の紅茶のティーバックを使用した。

2.1.2 試料の調製

- (1) 官能評価、ポリフェノール、カテキン分析のための試料
 亜臨界水抽出は紅茶葉5 gに水250 mlを加え、亜臨界水抽出装置(静甲株式会社製)にかけ(Etoh et al., 2012; Miyashita et al., 2014)、圧力3 MPa、到達温度は、110 ~ 160 °Cに設定し、各温度に達した後その温度で5分間保持し抽出した。また、熱水抽出は紅茶葉5 gを100 °Cの熱水250 mlで5分間抽出した。これらを濾紙によって濾過し、それぞれ亜臨界水抽出サンプル、熱水抽出サンプルとした。
- (2) タンパク質、総アミノ酸、全糖、単糖、香気成分分析のための試料
 亜臨界水抽出は紅茶葉5 gに水250 mlを加え、亜臨界水抽出装置(静甲株式会社製)にかけ(Etoh et al., 2012; Miyashita et al., 2014)、圧力3 MPa、到達温度は、110、120、130、140 °Cに設定し、各温度に達した後その温度で5分間保持し抽出した。また、熱水抽出は紅茶葉5 gを100 °Cの熱水250 mlで5分間抽出した。これらを濾紙

によって濾過し、それぞれ亜臨界水抽出サンプル、熱水抽出サンプルとした。

2.2 官能評価法

紅茶販売企業の研究員により、熱水抽出サンプルおよび120℃、140℃、160℃の各亜臨界水抽出サンプルを熱水で2倍希釈し、味、色、香りについての官能評価を実施した。評価の高いほうから順に、++、+、-の3段階で評価した。

2.3 各成分の定量

2.3.1 タンパク質の定量

亜臨界水抽出サンプル、熱水抽出サンプルの凍結乾燥物を2.5 mg/mlに調製し、測定サンプルとした。この測定サンプルをProtein Quantification Kit（株式会社化学研究所製）で処理し600 nmの吸光度を測定しタンパク質量を算出した。

2.3.2 総アミノ酸の定量

亜臨界水抽出サンプル、熱水抽出サンプルの凍結乾燥物を5.0 mg/mlに調製し、測定サンプルとした。この測定サンプルを0.45 μmメンブレンフィルターで濾過し、アミノ酸分析機（株式会社日立ハイテクノロジーズ製L-8900型）に供し、16種類のアミノ酸について分析し、これらを合計して総アミノ酸量とした。

2.3.3 全糖の定量

亜臨界水抽出サンプル、熱水抽出サンプルの凍結乾燥物を3.0 mg/mlに調製し、測定サンプルとした。この測定サンプルをフェノール-硫酸法にて、標準試料にグルコースを使用し、グルコース相当量として算出した。

2.3.4 単糖の定量

ABEE（4-アミノ安息香酸エチルエステル）標識試薬によって標識化された単糖を、HPLCで分析し定量する方法を用いた。亜臨界水抽出サンプル、熱水抽出サンプルの凍結乾燥物2 mgに蒸留水10 μlを加え、測定サンプルとした。グルコース、マンノース、ガラクトースも同様に蒸留水で希釈し、検量線サンプルとした。各測定、検量線サンプルにABEE標識試薬を40 μl加えた後、混合し、80℃で60分保ったことで標識化した。そこに、蒸留水とクロロホルムを200 μlずつ加え混合し、上層を0.45 μmメンブレンフィルターで濾過しHPLCで分析した。検量線を作製し、亜臨界水サンプル、熱水抽出サンプルの各単糖量を算出した。HPLCの使用カラム、測定条件は以下の通りであった。

Column: Honenpak C18 (φ4.6×75 mm), Mobile phase A: 0.2 M K/B buffer, Mobile phase B: CH₃CN, Gradient: Mobile phase B 0→20 min (0→6%), 20→35 min (6→50%), 35→45 min (50→50%), Flow rate: 1 ml/min, Temp.: 45℃, Detector: 305 nm.

2.4 香気成分の測定

亜臨界水抽出サンプル、熱水抽出サンプルからTwisterを用いたSBSE（Stir Bar Sorptive Extraction）法によって香気成

分を抽出する方法を用いた。各抽出サンプル10 mlにTwister-Iを加えSBSEによって60分間抽出した。その後Twister-IIを取り出し、NaClを3 g加えて塩析しTwister-IIを加えてさらにSBSEによって60分間抽出した。その後Twister-IIを取り出し、Twister-Iと併せてGCインサートへ移し、GC-MS分析に供した。各香気成分量は、GC分析で得られたピーク面積を、同時に得られたカフェインの面積に対する比で示した。GCの分析条件は以下の通りである。

Column: J & W Scientific DB-WAX (60 m×0.25 mm ID×0.25 μm DF), Carrier gas: He, Carrier gas flow rate: 1.87(ml/min), injector: 250℃, Column oven temp.: 40℃, 2 min → 250℃ (5℃/min)、21 min.

3. 実験結果および考察

3.1 官能評価

各温度の亜臨界水抽出サンプルの官能評価の結果を表1に示した。味に関しては、苦味が軽減されマイルド感が増加したことで140℃の評価が最も高かった。色に関しては、いずれも熱水抽出物よりも好評であったが、香りに関しては、いずれも加熱臭、劣化臭が感じられた。全体的な評価では、140℃が最も高く、120℃のものも嗜好飲料としては熱水抽出物よりは良い評価であったが、160℃のものは飲用できるものではなかった。160℃では140℃までには感じられなかった酸味が感じられた。烏龍茶葉の亜臨界抽出においても同様に、温度上昇とともに酸味が増す傾向にあった（吳他, 2015）。過去の研究において単糖が亜臨界水処理によって有機酸になるという報告（藤村他, 2014）があることから、紅茶葉から抽出された単糖、もしくは多糖から加水分解して生成した単糖が有機酸になったと考えられる。

今回の官能評価から、飲用できる温度帯である110℃から140℃での亜臨界水抽出を行い、各成分、香気成分の分析を行い検証することとした。

表1：亜臨界水抽出サンプルの官能評価

サンプル	味	色	香り	
120℃	+	+	-	濃く抽出された紅茶感 加熱臭ややあり
140℃	++	+	-	苦味の軽減、味のマイルド 感増加劣化臭ややあり
160℃	-	+	-	劣化が激しく、紅茶感の減少 強い酸味、加熱劣化臭あり

3.2 凍結乾燥物重量の測定

凍結乾燥物重量は、亜臨界水抽出サンプルのほうですべての温度帯で熱水抽出サンプルより多かった（図1）。また、温度帯による変化は、110℃から140℃にかけて温度の上昇とともに抽出量も上昇した。緑茶、烏龍茶の研究においても温度上昇とともに抽出量は増大しており、紅茶葉の抽出においても、亜臨界水抽出のほうで熱水抽出よりも抽出能が高いことがわかった。

3.3 各成分の定量

3.3.1 タンパク質、総アミノ酸

タンパク質量は、110℃の亜臨界水抽出サンプルは熱水抽出サンプルよりも少なかったが、それより高い温度帯では、熱水抽出サンプルよりも多く、120℃、140℃と温度上昇と共にタンパク質量も増大した（表2）。高温になると、加水分解により減少することも考えられたが、この程度の温度であれば減少することはなくタンパク質をより抽出できることがわかった。また、総アミノ酸量は、亜臨界水抽出サンプルのほうがすべての温度帯で高い値を示した（表2）。最も多く抽出されたのは、140℃であり、温度が上昇するにつれて、抽出量が増大する傾向にあった。

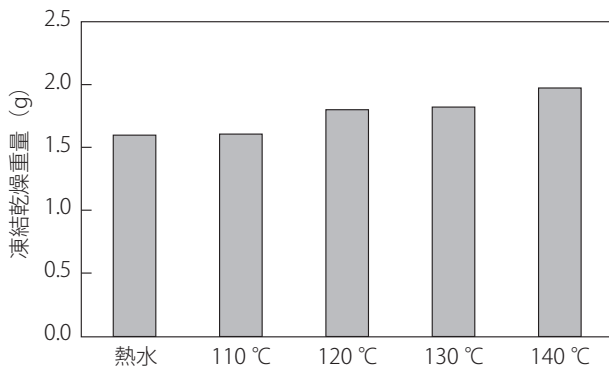


図1：熱水および亜臨界水抽出サンプルの凍結乾燥重量

3.3.2 全糖、単糖

全糖量は、110℃の亜臨界水抽出サンプルは熱水抽出サンプルよりも少なかったが、それより高い温度帯では、熱水抽出サンプルよりも多く、120℃、140℃と温度上昇とともに全糖量も増大した（表2）。また、グルコース、ガラクトース、

マンノースの単糖類はすべて、亜臨界水抽出サンプルのほうがすべての温度帯で熱水抽出サンプルより多かった。最も温度の高い140℃が最も多く、高温になるほど抽出量も増加する傾向にあった。茶葉には、でんぷんやペクチン、セルロースなど多くの種類の多糖類が含まれており（中林他, 1994）、これらが、温度上昇とともに加水分解して各単糖類が生成したと思われる。

タンパク質（総アミノ酸）と糖類の抽出量の変化を見ると、いずれも温度上昇とともに増加している。生コーヒー豆の亜臨界水抽出（横田他, 2014）では、総アミノ酸は180℃、グルコースは220℃以上で減少した。これらは、メイラード反応によるものと考えられた。また、烏龍茶の亜臨界水抽出（呉他, 2015）では、今回の紅茶と同様いずれも減少することはなかった。紅茶および烏龍茶において、140℃の温度ではメイラード反応が進行していないことが考えられ、紅茶と烏龍茶のような発酵程度の違いは影響がないことが考えられた。

3.4 香気成分

亜臨界水抽出サンプルと熱水抽出サンプルの香気成分の総量と主な香気成分量を表3に示した。香気成分の総量は、亜臨界水抽出サンプルのほうがすべての温度帯で熱水抽出サンプルより多かった。最も抽出量の多い温度帯は、亜臨界水抽出の中で最も温度の低い110℃であった。また、紅茶に特有な香気成分である、リナロール、ゲラニオール、リナロールオキシド、サリチル酸メチルは、亜臨界水抽出により増大、もしくは新たに生成した。最も抽出量の多い温度帯は、香気成分総量と同様に、亜臨界水抽出の中で最も温度の低い110℃であり、温度上昇とともに減少した。紅茶の製造過程である発酵過程において既に生成していた香気成分が、120℃以上の高温によって分解したことが考えられる。

今回の紅茶の亜臨界水抽出と烏龍茶の亜臨界抽出を比較してみると、凍結乾燥物、タンパク質、アミノ酸、全糖や単糖

表2：熱水および亜臨界水抽出サンプルの各成分量 (mg / 紅茶葉 5 g)

サンプル	タンパク質	総アミノ酸	全糖	グルコース	ガラクトース	マンノース
熱水抽出物	76.5	26.2	200.0	30.0	7.4	5.9
110℃	75.2	26.6	197.7	40.6	8.5	7.3
120℃	80.1	28.2	225.0	50.0	9.9	8.6
130℃	83.0	26.2	225.1	30.8	8.1	6.5
140℃	86.1	37.3	250.0	50.5	10.1	8.4

表3：熱水および亜臨界水抽出サンプルの香気成分量

サンプル	総量	リナロール	ゲラニオール	リナロールオキシド	サリチル酸メチル	ジヒドロアクトニジオリド
熱水抽出物	2.99	0.11	—	—	0.07	0.91
110℃	9.02	0.72	0.50	0.52	0.68	1.12
120℃	6.46	0.65	—	0.44	0.64	—
130℃	5.85	0.51	0.36	0.45	0.60	—
140℃	6.29	0.65	0.31	0.38	0.54	—

注：香気成分量 (香気成分ピーク面積値 / カフェインピーク面積値)

表4：各茶葉の亜臨界抽出効果

茶の種類	亜臨界水処理条件	有効成分	香気成分	特徴
緑茶	3 Mp、130 ℃	高濃度に抽出	増加	苦渋味抑制
烏龍茶	3 Mp、130 ℃	高濃度に抽出	最大	リラックス効果
紅茶	3 Mp、110 ℃	同等もしくは微増	最大	香り良好
	3 Mp、140 ℃	高濃度に抽出	増加	味良好

類などは紅茶、烏龍茶いずれも同じように110 ℃から140 ℃になるにつれて増加した。このことは、亜臨界水抽出の抽出能の高さ、加水分解能の高さを示している。しかし、香気成分に関しては紅茶と烏龍茶の結果とはやや異なった。烏龍茶では温度の上昇とともに香気成分が増加した。これは、烏龍茶葉に含まれる香気成分の前駆体である配糖体が、亜臨界の特徴である加水分解により香気成分を生成したことが考えられる。それに対して、紅茶では110 ℃が最も多くそれ以上の温度では減少した。紅茶は、烏龍茶よりも発酵が進行しているため既に香気成分の多くが生成している。熱水抽出ではこれらの香気成分を十分抽出できなかったが、亜臨界水抽出により多く抽出することができた。しかし、既に生成している香気成分は、120 ℃以上の高温になると揮発し減少したと考えられる。このことにより、紅茶は烏龍茶よりも低い温度で香気成分が最大となり、それ以上の温度では分解することが考えられる。香気成分は他の成分と異なり、紅茶、烏龍茶のように発酵程度の違いが、亜臨界水抽出量に影響することが考えられた。

また、緑茶、烏龍茶、紅茶の亜臨界水抽出物のそれぞれの特徴を表4に示した。緑茶はカテキンを高濃度で含有しつつ苦渋味を抑制し、飲みやすい飲料となった。烏龍茶は、130℃で香気成分が増大し、リラックス効果も期待でき高品質化に適していることが考えられた。そして、紅茶は110 ℃で香気成分が増大し、130 ℃では香気成分以外の成分の抽出量が増大し、味の良好な紅茶になることがわかった。このように、緑茶、烏龍茶、紅茶の発酵程度と亜臨界水抽出の温度の違いにより、それぞれ特徴ある茶飲料が生成することがわかった。

4. まとめ

市販の紅茶葉の亜臨界水抽出を行い、熱水抽出と比較した。その結果、官能評価では、熱水抽出に比べ良好であったが、3 MPa、140 ℃で抽出したものが最も良い結果が得られた。また、凍結乾燥物重量、タンパク質、総アミノ酸、全糖、グルコース、ガラクトース、マンノースの生成量においては温度上昇とともに高い値を示した。香気成分量においても、亜臨界水抽出物が熱水抽出物より多かったが、その抽出量は、亜臨界水抽出温度の中でも低温である110 ℃で最も高く、それ以上の温度では減少した。烏龍茶の亜臨界水抽出では、香気成分も凍結乾燥物重量やタンパク質、糖類などと同様、温度上昇とともに増大した。これは、紅茶と烏龍茶の発酵程度の違いによるものと考えられる。また、緑茶、烏龍茶、紅茶の各茶の亜臨界水抽出ではそれぞれ特徴ある茶飲料とすることができ、今後、その特徴を活かした新たな飲料の開発を

行っていきたい。

引用文献

- Etoh, H., Maejima, Y., Imaeda, Y., Sugiyama, S., Tokuyama, S., Kato, H., Kulkarni, A., and Maoka, T. (2012). Extraction of astaxanthin by sub-critical water from the green algae *Hae-matococcus pluvialis*. *Carotenoid Science*, Vol. 17, 15-17.
- 藤村庄・桑田実・原田修・宮本知左子・吉田和利 (2014). 植物性食品加工副産物の亜臨界水処理による生理活性物質の生産と利用. 中小企業技術開発産学官連携促進事業.
- Miyashita, T. and Etoh, H. (2013). Improvement of the bitterness and astringency of green tea by sub-critical water extraction. *Food Science and Technology Research*, Vol. 19, 471-478.
- Miyashita, T., Okamura, T., Ijima, Y., Suzuki, H., Shibata, D., Takaya, Y., Tanaka, H., and Etoh, H. (2014). (S)-3-Amino-1-ethylglutaramide from green tea (*Camellia sinensis*). *Studies in Science and Technology*, Vol. 3, No. 1, 45-48.
- 宮下知也・横田正・木戸康嗣・岡村拓哉・飯島陽子・鈴木英之・柴田大輔・衛藤英男 (2015). 亜臨界水抽出による緑茶の高品質化. 科学・技術研究, Vol. 4, No. 1, 95-100.
- 中林敏郎・伊奈和男・坂田完三 (1994). 緑茶・紅茶・烏龍茶の化学と機能 訂正1版. 弘学出版.
- 横田正・加藤久喜・宮下知也・衛藤英男 (2014). 生コーヒー豆の亜臨界水抽出による機能性飲料の製造. 科学・技術研究, Vol. 3, No. 2, 121-126.
- 吴媛媛・横田正・河合智也・木戸康嗣・高橋しほり・宮下知也・杉浦敏文・屠幼英・衛藤英男 (2015). 烏龍茶の亜臨界水抽出による効果. 科学・技術研究, Vol. 4, No. 2, 213-217.

(受稿：2016年11月29日 受理：2016年12月6日)