

茶殻からのカテキン類抽出と活用法の検討

静岡雙葉高等学校

2 年 山田茉莉衣

1 背景および目的

茶はカテキン類をはじめとする様々な機能性成分が豊富に含まれていることから、「健康的な飲物」として知られており、その需要は国内外を問わず増加している。その一方で、茶の需要の増加に伴い、茶抽出後に残る茶殻の量も増加するため、茶殻の有用利用法の検討が必要とされている。この問題に対し、茶飲料を販売する大手メーカー数社に問い合わせたところ、多くのメーカーでは茶殻を堆肥としてリサイクルしているとの回答を得たが、一部では廃棄されているケースも伺うことができた。また、家庭などでは大部分が廃棄されているケースがほとんどである。昨年度の研究により、茶殻にはカテキン類等の機能成分が多く残存していることを明らかにした。この現状を踏まえて、堆肥化以上の有効な利活用法、例えば食用としての再利用を確立できれば、さらなる資源循環型社会の達成および人々の健康増進に貢献できると考えた。

そこで本研究では、先行研究例がない「茶殻」とそこに残存する「カテキン類」に着目し、茶葉からの溶出効率の向上と茶殻の有効利用法の確立を目的とした。

2 材料および方法

供試材料

2019 年に静岡県掛川市で生産・製造された 1 番茶の深蒸し煎茶を以下の溶出実験に用いた。

茶葉の溶出実験

溶出回数および溶出温度の違いによるカテキン類溶出量の変化を明らかにするため、深蒸し煎茶 1.5g に対して超純水 100 mL で溶出した。また、溶出温度 (4 °C, 70 °C, 100 °C)、または、溶出回数 (1 煎目 70 °C → 2 煎目 100 °C, 1 煎目 100 °C → 2 煎目 100 °C) の条件を設定し、各条件で抽出した。溶出液のカテキン類含量 [(+) - 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), エピガロカテキンガラート; (EGCG), エピガロカテキンガラート; (ECG), カテキンガラート; (CG)] を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により定量した。なお、HPLC の分析メソッド等の定量方法については Yamashita et al., (2020) の方法に従った。本研究では、7 種のカテキン類の合計値をカテキン含量として定義した。

煎茶を利用したアルコール飲料を想定し、抽出溶媒としてエタノール (Wako 社製) を用いて、0, 20, 40 %のエタノール濃度で 24 時間 (25 °C)、または 0, 10, 30 %のエタノール濃度で抽出時間 1, 5, 10 min (4 °C) の条件を設定し、上述と同様に溶出液のカテキン類を定量した。

また、水抽出後で得られた茶殻について、乾燥方法の違いがカテキン類含量に与える影響を調査するため、4 種類の乾燥方法 (凍結乾燥・天日干し・陰干し・乾煎り) で加工した。サンプルを微粉碎後、茶殻に 0.375g に対して蒸留水 100ml を用いて 100°C で 1 分間抽出を行い、カテキン類含量を定量するとともに、うま味・甘味・渋味・苦味・香ばしさの 5 項目を設定し、官能評価を行った。

統計解析

溶出温度とエタノール濃度 (0, 20, 40%) の実験について Turkey 検定を行った。一方、エタノール濃度と抽出時間、茶殻に関する実験については、Two-way ANOVA 法を用いて統計解析を行った。

3 結果および考察

溶出温度の違いによる茶葉からのカテキン類の溶出量を評価したところ、溶出温度の増加に伴い、カテキン類の溶出量が増加することが示された (図 1A, 表 1). 一方で、溶出回数では、1 煎目の溶出温度に関係無く、2 煎目までに溶出するカテキン類総量はほぼ等しいことが示された (図 1B). カテキン類は、溶出温度の上昇に伴い溶出効率が上がるという溶出特性はあるものの (池田ら, 1972 ; 下徳ら, 1982 ; 堀江ら, 2001), 溶出回数での実験より、水での多段抽出によるカテキン類含量の溶出には限界があると考えられた.

抽出溶媒をエタノールとした実験では、エタノールによるカテキン類の溶出量は増加した. 一方で、エタノール濃度によるカテキン類抽出量に差は見られなかった (図 2, 表 2, 3). 非電解質で極性分子であるカテキン類の化合物特性により、水よりもエタノールの方がカテキン類を溶出させやすいと考えた.

茶殻の乾燥方法の実験より、加熱によるカテキン類含量は減少したが、その他の乾燥方法 (天日干し・陰干し) ではカテキン類含量が保持されることが示された (図 3). 乾煎りでは、熱によりカテキン類は、酸化・分解反応が起き、テアフラビン酸が生成されることにより (佐野, 2009), 減少したと考えられた. そのため、人工的な熱をかけない乾燥法がカテキン類含量の保持に重要であることが考えられる. さらに、茶殻の乾燥後の溶出実験より、4℃で溶出後凍結乾燥したものが溶出するカテキン類総量が最も多かった (図 3). 一方、官能評価により、個人差は見られたものの、乾煎りした茶殻溶出液では、溶出温度に関わらず香ばしさが特徴的であった. 天日干しでは、苦味や渋味が特徴的であった. うま味や甘味では、凍結乾燥と乾煎りの乾燥法の評価が高くなった (図 4).

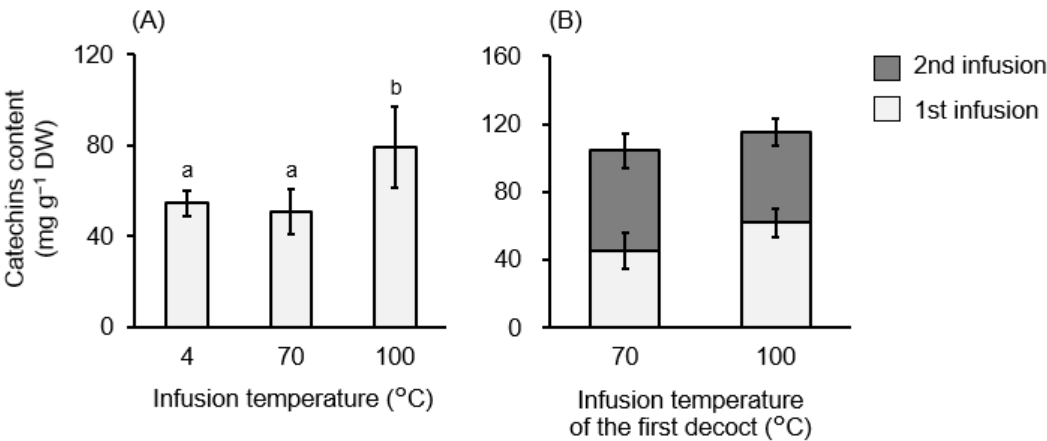


図 1 溶出温度および溶出回数の違いが溶出液中のカテキン類含量に及ぼす影響

(A) 溶出温度の違いがカテキン類含量に及ぼす影響

(B) 溶出回数の違いがカテキン類含量に及ぼす影響

異なるアルファベットは処理区間に有意差があることを示す (Tukey, $P < 0.05$)

表 1 溶出温度の違いが溶出液中のカテキン類含量に及ぼす影響

溶出温度 (°C)	濃度(mg/g)									Catechins
	(+)C	EC	GC	EGC	EGCG	ECG	CG			
4	0.7 ± 0.1	8.7 ± 1.6	2.6 ± 0.4	29.8 ± 3.5	8.0 ± 0.5	a	3.5 ± 0.4	a	1.3 ± 0.2	54.5 ± 5.8
70	0.6 ± 0.1	6.0 ± 1.0	2.2 ± 0.3	23.4 ± 4.2	13.5 ± 3.7	a	3.9 ± 0.9	a	1.0 ± 0.2	50.7 ± 10.1
100	1.0 ± 0.2	9.1 ± 2.0	3.5 ± 0.8	31.9 ± 6.7	24.9 ± 6.0	b	7.3 ± 1.7	b	1.4 ± 0.4	79.1 ± 17.8

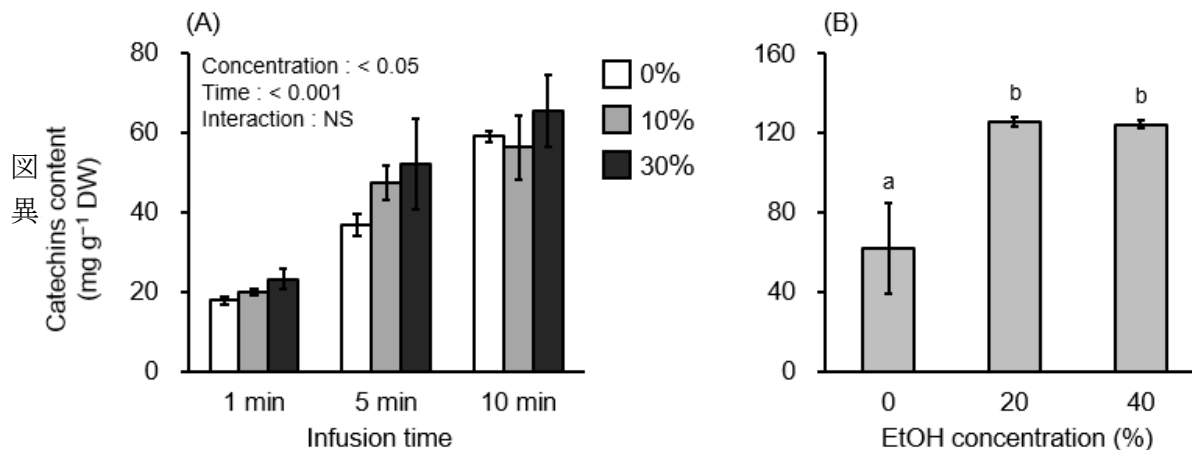


図2 エタノール濃度および抽出時間違いが抽出液中のカテキン類含量に及ぼす影響

(A) エタノール濃度および抽出時間の違いがカテキン類含量に及ぼす影響

Two-way ANOVA, NS: not significant ($P > 0.05$)

(B) エタノール濃度の違いがカテキン類含量に及ぼす影響

異なるアルファベットは処理区間に有意差があることを示す (Tukey, $P < 0.05$)

表2 抽出時間およびエタノール濃度の違いが抽出液のカテキン類含量に及ぼす影響

抽出時間 (min)	EtOH (%)	濃度(mg/g)							
		(+)C	EC	GC	EGC	EGCG	ECG	CG	Catechins
1 min	0	0.2 ± 0.1	2.2 ± 0.1	0.8 ± 0.0	10.0 ± 0.5	2.8 ± 0.2	1.4 ± 0.1	0.3 ± 0.0	17.7 ± 1.1
	10	0.2 ± 0.0	2.2 ± 0.1	1.0 ± 0.0	10.2 ± 0.4	4.1 ± 0.2	1.9 ± 0.1	0.3 ± 0.0	19.9 ± 0.8
	30	0.2 ± 0.0	2.0 ± 0.2	1.7 ± 0.1	10.2 ± 1.1	6.1 ± 0.8	2.6 ± 0.3	0.3 ± 0.1	23.1 ± 2.5
5 min	0	0.4 ± 0.0	4.6 ± 0.4	1.7 ± 0.1	20.7 ± 1.6	5.5 ± 0.5	3.1 ± 0.3	0.7 ± 0.0	36.7 ± 2.9
	10	0.5 ± 0.0	5.6 ± 0.5	2.0 ± 0.2	23.9 ± 2.1	9.8 ± 1.0	4.7 ± 0.5	0.8 ± 0.2	47.2 ± 4.4
	30	0.5 ± 0.1	5.0 ± 1.2	2.3 ± 0.3	20.9 ± 4.4	15.7 ± 3.7	7.0 ± 1.6	0.8 ± 0.1	52.1 ± 11.3
10 min	0	0.7 ± 0.1	7.6 ± 0.2	2.7 ± 0.1	33.0 ± 0.8	8.6 ± 0.2	5.1 ± 0.1	1.2 ± 0.0	58.9 ± 1.5
	10	0.6 ± 0.1	6.6 ± 0.9	2.4 ± 0.3	28.2 ± 4.0	11.7 ± 1.8	5.7 ± 0.9	1.0 ± 0.1	56.2 ± 8.0
	30	1.2 ± 0.1	6.2 ± 0.8	2.6 ± 0.2	25.5 ± 3.4	20.1 ± 3.0	8.9 ± 1.3	0.9 ± 0.1	65.4 ± 9.0

図中の値は平均値±標準偏差を示す (n=3)

表3 エタノール濃度の違いが抽出液のカテキン類含量に及ぼす影響

EtOH (%)	濃度(mg/g)							
	(+)C	EC	GC	EGC	EGCG	ECG	CG	Catechins
0	0.7 ± 0.3	8.2 ± 3.0	2.7 ± 1.1	30.7 ± 11.5	12.4 ± 4.6	a 6.0 ± 2.2	a 1.0 ± 0.3	a 61.7 ± 22.8
20	1.1 ± 0.1	12.3 ± 0.6	4.1 ± 0.2	46.8 ± 1.4	42.0 ± 0.6	b 18.0 ± 0.2	b 1.5 ± 0.0	b 125.8 ± 2.1
40	1.5 ± 0.5	11.0 ± 0.1	4.1 ± 0.2	42.6 ± 0.4	44.5 ± 1.1	b 19.2 ± 0.5	b 1.4 ± 0.0	b 124.3 ± 2.1

図中の値は平均値±標準偏差を示す (n=3)

異なるアルファベットは処理区間に有意差があることを示す (Tukey, $P < 0.05$)

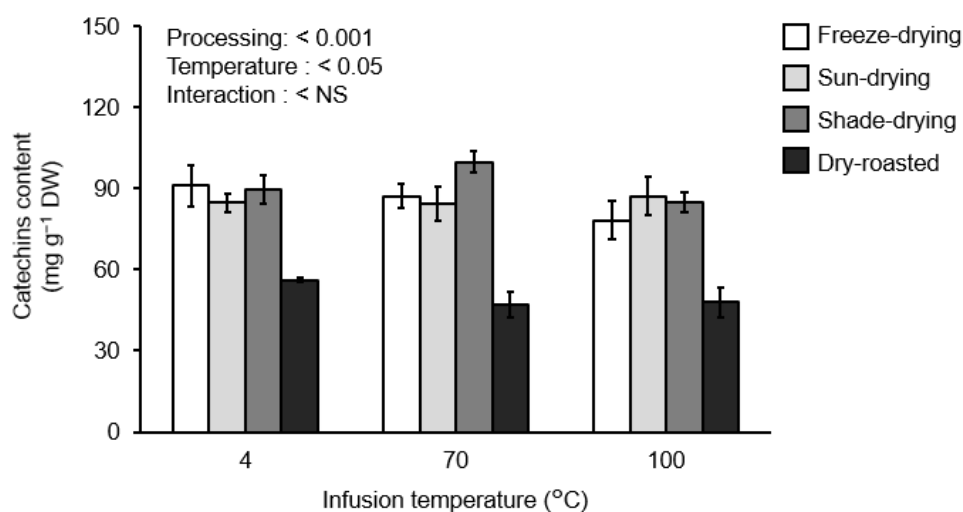


図3 茶殻加工方法の違いが溶出液のカテキン類含量に及ぼす影響
Two-way ANOVA, NS: not significant ($P > 0.05$)

表3 茶殻加工方法の違いが溶出液のカテキン類含量に及ぼす影響

乾燥方法	温度(°C)	濃度(mg/g)							
		(+)C	EC	GC	EGC	EGCG	ECG	CG	Catechins
凍結乾燥	4	1.5 ± 0.8	5.8 ± 0.5	4.3 ± 0.1	24.4 ± 2.1	42.5 ± 3.6	11.0 ± 0.9	1.6 ± 0.0	91.1 ± 7.8
	70	1.7 ± 0.7	7.0 ± 0.6	4.3 ± 0.2	28.4 ± 1.9	34.6 ± 2.3	9.6 ± 0.5	1.6 ± 0.1	87.3 ± 4.5
	100	1.5 ± 0.7	6.6 ± 1.4	3.7 ± 0.6	23.7 ± 0.7	32.6 ± 4.4	8.8 ± 1.2	1.3 ± 0.5	78.2 ± 7.1
天日干し	4	1.8 ± 1.0	4.7 ± 0.2	5.9 ± 0.6	16.8 ± 0.7	37.1 ± 2.3	17.0 ± 0.3	1.5 ± 0.3	84.8 ± 3.5
	70	2.9 ± 1.5	6.6 ± 0.2	4.5 ± 0.8	20.8 ± 2.4	33.0 ± 2.6	15.3 ± 0.4	1.3 ± 0.4	84.5 ± 6.2
	100	3.5 ± 0.5	5.8 ± 0.3	5.2 ± 1.4	20.2 ± 3.8	34.1 ± 1.7	16.6 ± 0.5	1.9 ± 0.5	87.2 ± 7.1
陰干し	4	3.3 ± 0.4	5.3 ± 0.2	5.8 ± 0.4	18.6 ± 2.4	38.2 ± 3.4	17.3 ± 0.2	1.1 ± 0.2	89.5 ± 5.2
	70	1.9 ± 1.6	7.6 ± 0.4	6.1 ± 0.3	32.6 ± 1.6	34.4 ± 0.6	15.9 ± 0.8	1.2 ± 0.8	99.8 ± 3.9
	100	3.9 ± 0.1	6.1 ± 0.2	6.1 ± 0.2	21.5 ± 0.7	31.7 ± 2.0	14.6 ± 0.9	1.1 ± 0.9	84.9 ± 3.7
乾煎り	4	3.2 ± 1.2	2.4 ± 0.6	8.9 ± 1.4	8.7 ± 0.2	20.6 ± 2.1	10.5 ± 0.3	1.9 ± 0.3	56.2 ± 0.9
	70	1.8 ± 0.1	2.2 ± 0.2	8.5 ± 1.2	7.4 ± 1.5	16.2 ± 3.2	9.0 ± 1.8	1.9 ± 1.8	46.9 ± 4.7
	100	3.1 ± 1.1	1.8 ± 0.1	9.1 ± 1.3	7.0 ± 1.3	16.5 ± 0.9	8.8 ± 0.8	1.7 ± 0.8	48.0 ± 5.4

図中の値は平均値±標準偏差を示す (n=3)

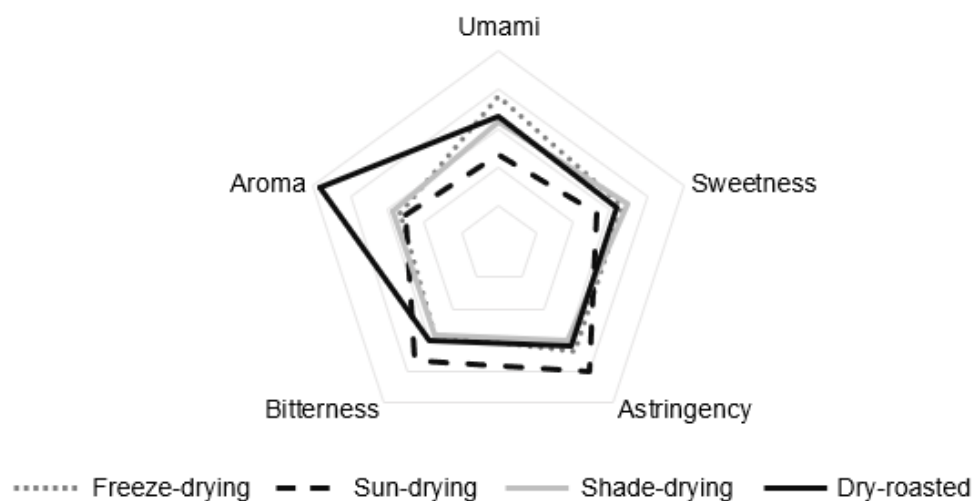


図4 加工後の茶殻を用いた溶出液の官能試験

4 結論

溶出効率を上げても茶殻中にカテキン類は残存していることから、茶を飲んだ後に残る茶殻は有用利用でき、乾燥方法としては、熱を加えない手法がカテキン類保持に好適である可能性が示された。

エタノールを用いた溶出実験により、煎茶を利用したアルコール飲料はカテキン類の摂取という観点では効果的であることが示唆された。

官能試験より茶殻乾燥後の溶出液を飲料として利活用出来ることが考えられた。茶殻乾燥後の溶出液をカテキン類の摂取および「うま味」を考慮した場合、溶出後、凍結乾燥するのが効果的であることが示された。また、加熱によるカテキン類含量の減少は見られるものの、ほうじ茶のような香ばしさを味わうには乾煎りが最も効果的であることが示唆された。

5 謝辞

本研究は、静岡大学主催 FSS (未来の科学者養成スクール) のプログラムのもと、全て静岡大学にて行わせていただきました。ご指導をいただいた静岡大学農学部的一家崇志准教授、植物機能生理学研究室の山下寛人博士、内田知希さん、三原春美さん、福田佑介さん、米澤詩織さん、FSS 事務局の皆様にご心より感謝申し上げます。

6 参考文献

- ・池田重美, 中川致之, 岩浅潔 (1972) 煎茶の浸出条件と可溶成分との関係. 茶業研究報告. 37, 69-78.
- ・佐野満昭 (2007) 茶カテキンの機能と調理時における構造的変化. 日本調理科学会誌, 40 (4), 223-230, 2007
- ・下徳敏雄, 市川浩美, 阿南豊正, 高柳博次, 池ヶ谷賢次郎 (1982) 茶の入れ方と化学成分の溶出量との関係. 茶業研究報告, 55, 43-50, 1982
- ・堀江秀樹, 氏原ともみ, 木幡勝則 (2001) 茶主要成分の茶浸出液への溶出特性. 茶業研究報告, 91, 29-33, 2001
- ・山下寛人, 一家崇志, 森田明雄 (2020) 茶葉成分を制御するための栽培生理および育種における現状と課題. 225 (3), 2020.
- ・Hattori, M., Kusumoto, I. T., Namba, T., Ishigami, T. & Hara, Y. Effect of Tea Polyphenols on Glucan Synthesis by Glucosyltransferase from *Streptococcus mutans*. *Chem. Pharm. Bull.* 38, 717-720 (1990).
- ・Ohmori, Y., Ito, M., Kishi, M., Mizutani, H., Katada, T., Konishi, H. Antiallergic Constituents from long Tea Stem. *Chem. Pharm. Bull.* 18, 683-686 (1995).
- ・Yamashita, H., Uchida, T., Tanaka, Y., Katai, H., Nagano, A. J., Morita, A., Ikka, T. Genomic predictions and genome-wide association studies based on RAD-seq of quality-related metabolites for the genomics-assisted breeding of tea plants. *Sci. Rep. in press* (2020)