

# 1 高速液体クロマトグラフィ法による紅茶色素分析と考察

計測技術室 塚 三洋

## 1. はじめに

筆者は簡易的な茶葉成分分析方法を検討している。高速液体クロマトグラフィ法と色素増感型太陽電池をセンサーとして利用し、紅茶色素分析の基礎検討を行ったので報告する。

## 2. 高速液体クロマトグラフィ法について

液体クロマトグラフィ法 (High Performance Liquid Chromatography : HPLC と記す) は液体を移動相としてカラム内のシリカゲルやポリマーゲルと呼ばれる固定相の相互作用によって試料を分離しそれらの成分を計測する方法である。HPLC の装置構成を図 1 に示す。被測定物 (試料) を含んだ溶液をポンプでインジェクタからカラムに送り電気信号または光スペクトル等の信号として成分を計測する。試料をカラムに通すことによって成分分離できる理由は、試料成分が固定相と移動相の分配係数によってカラム内を移動する速度に置き換えられるためである [1]。分配係数という少し難しく思えるが、これを親和性 (なじみやすい) という言葉に言い換えれば少し理解しやすくなる。例えば、固定相と移動相 (2 種類の液体) 同体積の油と水があるとす。これに砂糖を溶かすと油には砂糖は溶け込みにくい水に砂糖は容易に溶ける。これとは反対に油に植物油脂を溶かせば容易に油に溶け込むが水には溶けにくい。ここで油を固定相として水を移動相とし、植物油脂と砂糖の混合溶液をカラム内にポンプで加圧して流し込んだとすれば、最初にカラムから出てくるのは砂糖の成分、その後植物油脂成分となり成分分離が行われたことになる。

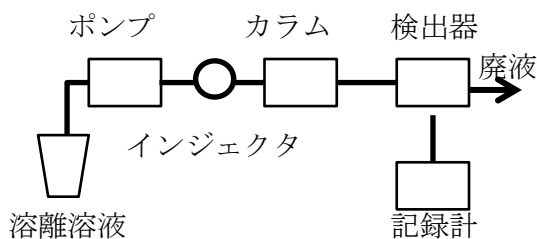


図 1 HPLC の基本構成

## 3. 実験方法

### 3-1. HPLC 法による分析

HPLC 法による紅茶成分分析は日本食品分析センターに依頼した。分析費用は 1 検体 3 万円で以下の 4 検体とした。

- 試料： 1. ダージリンセカンドフラッシュ  
2. 静岡産紅茶 (相藤園)  
3. 京都産紅茶 (椿堂)  
4. 沖縄産紅茶 (山城紅茶)

HPLC の操作条件は以下の通りである。

カラム：Unison UK-C18,  $\phi$  4.6mm  $\times$  25cm, 3  $\mu$ m [インタクト (株)]

移動相：0.1%リン酸水溶液及びアセトニトリル水溶液 (75:25)

測定波長： 455nm

流量： 1.0ml/min, 温度： 40°C

紅茶成分のテアフラビン標準品として、和光純薬株式会社製を使用した。もうひとつの紅茶成分であるテアルビジンは標準品がないため HPLC 法で分析をすることはできなかった。

### 3-2. 色素増感型太陽電池 (DSC) による分析

国内産茶葉およびインド産合計 4 種類 (ダージリン、静岡、京都、沖縄) の紅茶茶葉それぞれ 10g に 400cc の熱湯で 30 分自然冷却しながら抽出したものを原液 (以下、濃度 100% と記す) とした。ここで相対的に抽出液の色素濃度を比較するため加水し 50%, 25%, 10%, 1% 液を作成した。DSC は西野田電工製のキットを使用し、透明電極上に焼き付けられた  $\text{TiO}_2$  への染色時間は 1hr とした。測定は自作の X-Y レコーダー法を用い I-V 特性を測定した。測定用の光源として秋月電子から購入した照明用 3 色 LED と白色ハロゲンランプを用いた。

#### 4. 実験結果および考察

HPLC 法による紅茶テアフラビン分析は日本食品分析センターでも分析経験がないため定量することはできなかった。そこで得られた各ピーク積分強度から相対的で成分比較を行い分析結果から以下の成分が検出された。

例、ダーズリン紅茶の HPLC ピーク

1. テアフラビン (18.8min のピーク)
2. テアフラビンモノガレート A(24.6min)
3. テアフラビンモノガレート B(28.7min)
4. テアフラビンジガレート(30.6min)

その他 (3,4,6min のピークは成分不明)

他 3 検体についてもピークの大小はあるが同成分 (1~4) のピークが観測された。4 検体のピークを比較すると、テアフラビン単体での強度はダーズリン産、静岡産、沖縄産が同等で京都産が最も少ない。1~4 のピーク強度合計値では、ダーズリン産を 1.00 (標準値) とすると、静岡 2.05、京都 0.575、沖縄 0.644 で静岡産のテアフラビン濃度が最も高いことが判明した。

一方、DSC を利用した色素分析結果から以下の内容が明らかになった。光源波長 620nm (赤色 LED) を用い色素濃度 1%~100%における短絡電流  $I_s$  の関係を図 3 に示す。濃度 100%で静岡産が  $I_s$  最大値を示し、沖縄産が最少、ダーズリン産と京都産が静岡産より若干小さい値を示した。HPLC 法で得られたテアフラビンピーク合計値と色素濃度 100%における DSC- $I_s$  の関係を図 4 に示す。図 4 よりテアフラビン類濃度と  $I_s$  には相関がなく、特に京都産の値はテアフラビン類の濃度が低い割に  $I_s$  が大きい。一般的に紅茶の水色は、テアフラビンとテアルビジンから構成されており、おおまかな成分比ではテアルビジンがテアフラビンよりも 10 倍以上多い。また、それぞれの色合いはテアフラビンが橙赤色、テアルビジンが濃い赤色となる。分子構造としては、テアフラビンはカテキンが 2 個重合したものに対して、テアルビジンは複数のカテキン類が重合したものである。以上より京都産は他産地の茶葉よりもテアルビジンの割合が多いと推測する[2]。

#### 5. まとめ

HPLC 法にて紅茶テアフラビン類の分析を行った。その結果静岡産紅茶のテアフラビン濃度が高いことが判明した。更に HPLC 法と DSC 分析法から紅茶テアルビジンを計測している可能性があることが示唆された。

#### 6. 謝辞

本報告は新技術開発財団・植物研究助成を受けて行われました。謹んで感謝申し上げます。

#### 7. 参考文献

- [1]実験化学講座 20-1 分析化学、日本化学会
- [2]堺, 神戸大学実験実習技術研究会(2012)

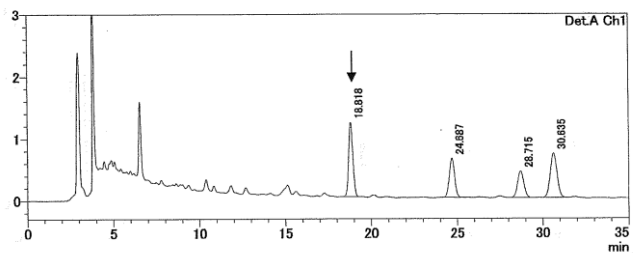


図 2 ダージリン紅茶の HPLC 分析結果

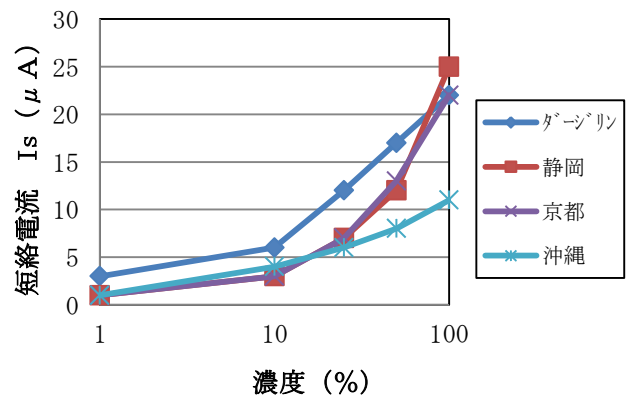


図 3 DSC 分析結果 (光源波長 620nm)

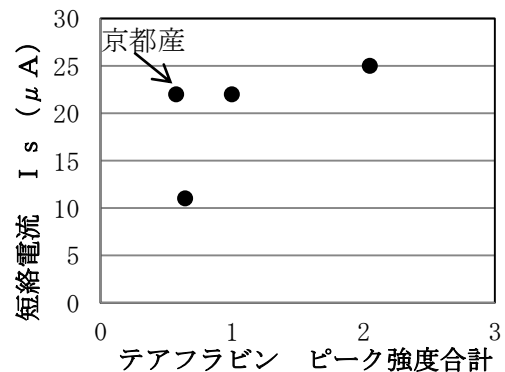


図 4 HPLC 法によるテアフラビン類濃度と  $I_s$