佐賀県農産資源の有用成分に関する研究
−抽出条件の異なる嬉野茶抽出物の含有成分の比較検討−

食品工業部
吉村臣史
株式会社東洋新薬
鍔田仁人　尾上貴俊

佐賀県には多くの農産資源があり，地域ブランドとして農産物自体が広く流通していることに加えて,それらを加工した製品も多く流通している.佐賀県発の農産資源の中から,地域ブランド，特産品としてよく知られている「嬉野茶」に関して，加工原料としての有効活用法を検討することを目的に本研究を行った．本研究では，抽出溶媒の違いによる抽出成分の差異を網羅的に解析するとともに,得られたデータから抽出挙動の把握を試みた.各溶媒において得られた抽出物に対する高速液体クロマトグラフ - 四重極飛行時間型質量分析装置の分析結果を主成分分析に供した結果，一般的に知られているように含水抽出溶媒と非含水抽出溶媒において抽出成分に違いを確認することができた．また，40%エタノール抽出における抽出挙動は，比較的水を溶媒として抽出した結果と類似した傾向である可能性が示唆された.

1. はじめに

本県には数多くの農産資源があり，青果物として首都圏や関西・中京圏に流通しているとともに，加工原料として多くの製品に使用されている．青果物としての流通においては，全国的な流れとして各地域の特色を前面に出した独自ブランドを農産物に付して食の安心・安全，消費者への PR に活かした取組が行われている．一方で，ブランド維持の観点から，一定基準に満たない農産物や原料化を目的として栽培された農産物等に対しては加工原料としての利活用等に取組まれているところである．

食品素材において取組まれている生理機能を探索する研究では，農産物に含まれる成分とその生理機能に着目することが一般的であり，様々な農産物に対して多くの研究者がこれまで取組まれてきている.そのような観点から考慮しても，対象とする農産物にどのような成分が含まれていて，それがどのような生理機能を有しているのかを明確化することができれば，製品化への取組がより容易なものになると考えられる．そこで課題となるのは，対象とする成分をいかに効率的に抽出し製品に活かしていくのか,ということになるが，その情報を把握するためにも抽出技術と有用成分との相関性を把握することは重要である．

そこで本研究では，本県における特産品の一つである嬉野茶に対して，抽出溶媒とその抽出溶媒にて溶出した成分に関する情報を網羅的に検証し，以後の製品化に係る検討材料としていくことを目的に分析・評価を試みた.

2. 方法

2.1 嬉野産玉緑茶からの成分抽出

佐賀県嬉野産一番茶を使用した玉緑茶（以下，茶葉）を用いて, 常温水抽出物（Room Temperature Water Extract; RTWExt），熱水抽出物（Hot Water Extract; HWExt），40%（v/v）エタノール水溶液抽出物（40% Ethanol Extract; 40EtOHExt），エタノール抽出物（Ethanol Extract; EtOHExt）を調製した. 調製方法は，以下のとおりである.

(1) RTWExt、40EtOHExt、EtOHExt の調製

茶葉 50 g に対し 500 mL の各種溶媒（精製水, 40%（v/v）EtOH 水溶液，EtOH）を加え，常温にて 24 時間静置し抽出を行った．上清を回収し，5B のろ紙を用いて減圧ろ過した後，減圧乾燥することで茶葉抽出物を得た.

(2) HWExt の調製

茶葉 50 g に対し 500 mL の精製水を加え，100ºC で 2 時間煮沸抽出を行った．上清を回収し，5B のろ紙を用いて減圧ろ過した後，減圧乾燥することで茶葉抽出物を得た.

表 1　LC-qTOF/MS 分析条件

Settings	Conditions
Column	CAPCELL CORE C18 (2.1 mm i.d. x 100 mm, Shiseido Co. Ltd.)
Eluent	Eluent A: Ultrapure water (upw)/Acetonitrile (ACN)/Formic acid (ForA) = 94.9/5.0/0.1 (v/v/v) Eluent B: upw/ACN/ForA = 4.9/95.0/0.1 (v/v/v)
Injection	0.5 µL
Flow rate	0.3 mL/min
Temperature	5ºC (autosampler), 50ºC (column oven)
Gradient curves of eluent	Gradient program was set: 1st, B of 0% (retention time (RT) of 0 min) to B of 15% (RT of 15 min) with linear gradient; 2nd, B of 15% (RT of 15 min) to B of 80% (RT of 25 min) with linear gradient; 3rd, B of 80% (RT of 25 min) to B of 100% (RT of 45 min) with linear gradient, and maintained the B percentage of 100% to RT of 70 min.
Polarity	Positive ion mode or negative ion mode
Ionization	Electrospray ionization
Mass range	50 *m/z* to 1000 *m/z*

2.2 高速液体クロマトグラフ - 四重極飛行時間型質量分析

2.1 において調製した各種抽出物（RTWExt, HWExt, 40EtOHExt，EtOHExt）を所定濃度（約 1 mg/mL）となるように 0.1%（v/v）ギ酸含有 50%（v/v）アセトニトリル水溶液（RTWExt，HWExt，40EtOHExt）または 0.1%（v/v）ギ酸含有アセトニトリル（EtOHExt）に溶解した．試料を溶解した溶液を，0.2 µm フィルターにてろ過後，高速液体クロマトグラフ－四重極飛行時間型質量分析（LC-qTOF/MS，Bruker Daltonics 社製）に供した．分析条件を表 1 に示した．

2.3 データ解析

2.2 において得られたデータについて, 定性解析及び統計解析（主成分分析）を行った．統計解析については，Bruker Daltonics 社製 ProfileAnalysis を用いて行い，その他定性解析については Bruker Daltonics 社製 DataAnalysis を用いて行った．

3. 結果及び考察

3.1 LC-qTOF/MS 分析を用いた抽出溶媒の違いによる抽出成分に及ぼす影響の評価

図 1 に抽出溶媒の違いが成分の抽出に及ぼす影響を示している．本データはポジティブイオンを測定したベースピーククロマトグラム（base peak chromatogram; BPC）である．この結果より，更なる検討は必要であるものの, 各抽出溶媒の BPC を比較した場合，RTWExt 及び HWExt，40EtOHExt の含水

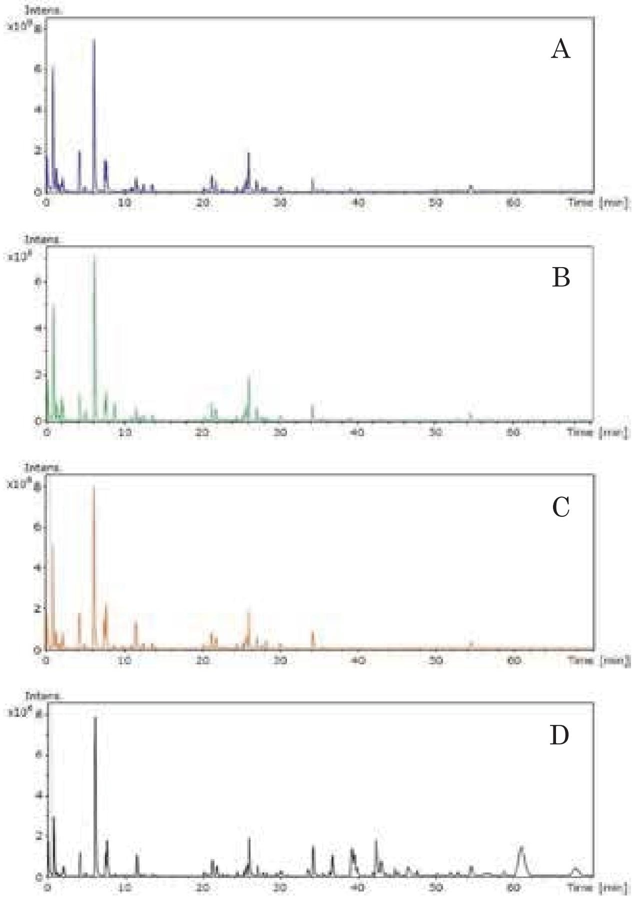

図 1　LC-qTOF/MS 分析を用いた抽出溶媒の違いによる抽出成分に及ぼす影響

Letters: A, RTWExt; B, HWExt; C, 40EtOHExt; D, EtOHExt
Polarity: positive ion mode

系抽出溶媒は類似した抽出挙動であることが示唆された．一方、非含水系抽出溶媒である EtOHExt においては，分析の中盤から後半にかけて含水系抽出溶媒では抽出されていない成分が抽出されていることが示された．40EtOH を抽出溶媒とした場合，比較的 EtOH 濃度が高いことから抽出される成分について，水溶媒による抽出挙動と EtOH 溶媒による抽出挙動との中間的な挙動になるものと予測していたものの，EtOH が含まれているにもかかわらず含水系抽出溶媒と非常に類似した抽出挙動となることが示された．

データとして示していないが、これらの結果はイオン極性をネガティブイオンとした場合においても同様の傾向，すなわち，含水系抽出溶媒と非含水系抽出溶媒とを比較した場合において抽出挙動に違いが出る傾向を示した．

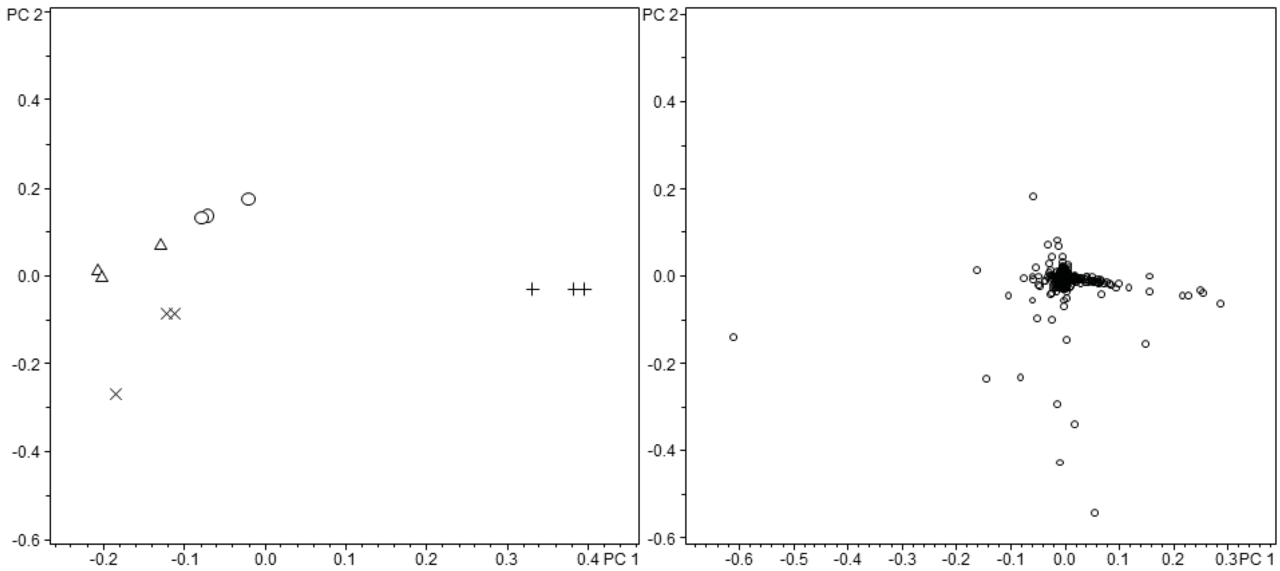

図 2　抽出溶媒の異なる茶葉抽出液の LC-qTOF/MS 分析に基づいた主成分分析
Left graph; score plot: right graph; loading plot
Symbols are indicated in score plot: △, RTWExt; ○, HWExt; ×, 40EtOHExt; ＋, EtOHExt
Polarity; positive ion mode

3.2 LC-qTOF/MS 分析に基づいた各種抽出溶媒抽出物に対する主成分分析

図 2 に，図 1 の結果に基づいて統計解析（主成分分析）を行った結果を示している．本データは，同一試料に対して 3 回ずつ LC-qTOF/MS 分析を行い，解析を行っている(イオン極性はポジティブイオン)．

Score plot の結果から，含水系抽出溶媒である RTWExt，HWExt 及び 40EtOHExt は第 1 主成分の負の方向に，また非含水系抽出溶媒である EtOHExt は第 1 主成分の正の方向に位置した. この結果は, 個々の抽出溶媒において抽出された成分の種類の傾向を総括的に解析した結果であり，EtOHExt において特徴的な成分が抽出されていることを確認するものであった. Loading plot における個々のポイントが溶出成分を示すものであることから, Loading plot の結果からどのような成分が関係しているのか，今後検討していくことも可能である.

結果として示してはいないが，ネガティブイオン測定に対して主成分分析を行ったところ，ポジティブイオンの場合と同様に，第 1 主成分軸において含水系抽出溶媒と非含水系抽出溶媒との間に違いがあることが示された.

4. おわりに

抽出操作等に係る再現性の確認が必要となってくるものの，得られた結果を総括すると，含水系抽出溶媒と非含水系抽出溶媒において抽出される成分に違いがあることが示された．一般的にも抽出溶媒の極性等の違いによって溶出される成分が異なることは知られており，それを裏付けるデータとされる．

また，茶葉中に含まれている成分としては，カテキンやテアニン等の成分が広く知られているが，このような成分のモノアイソトピックマスに基づいてデータ解析を行うと，成分ごとに溶出挙動に違いがあることが示されている.

LC-qTOF/MS での測定では，広い質量範囲において溶出成分のモノアイソトピックマスを測定していることから，茶葉中に含まれている有用成分を追うことが可能である．すなわち，ターゲットとする成分に対する効果的な抽出が可能な溶媒を選択する際に非常に有用であることから，今回取得したデータを基に製品化や開発等において，様々な検討に展開していきたい.