

紅茶飲料のクリームダウンの生成要因について

中荻秀夫・伊藤正人*

紅茶飲料は、抽出液を冷却したときにクリームダウンと呼ばれる混濁現象を起こし易いという特性を持っている。クリームダウンの原因は紅茶の主要成分であるテアフラビン (theaflavine)、テアルビジン (thearubigin)、カフェイン (caffeine) などの相互作用による¹⁾と報告されており、これらの成分の濃度が高いほど起こり易い。一般に高級と言われる紅茶葉ほどこれらの成分を多く含んでいるため、高級な原料茶葉の使用により紅茶飲料の高級化を図る場合には、必然的に製品の混濁が起こり易くなる。

商品として流通した場合には、クリームダウンは微生物変敗等の品質劣化としての評価を受け易いため、乳製品を添加してクリームダウンを感じさせない製品とする他、酵素処理によって混濁を軽減するなどの研究²⁾がなされているが、中小清涼飲料メーカーにおいて実施可能な対応についてはいまだに有効な手段が見いだせない状況である。

そこで、クリームダウンの軽減を図る上でクリームダウンが生ずる要因についての知見を得ることを目的として、紅茶の抽出条件及び主要成分の濃度並びにこれらの要因と混濁生成との関連について検討を行った。

実験方法

1. 試料

紅茶の茶葉は、合資会社森川飲料より入手したスリランカ産 (BOP クラス) を使用した。茶葉の成分分析の結果は表1のとおりである。

表1 使用した紅茶葉の成分分析

成 分	含有量 (%)
水 分	7.6
灰 分	5.1
脂 質	1.2
たん ぱ く 質	21.8
カ フ ェ イ ン	3.1 (0.06)
タ ン ニ ン	— (0.15)

(注) カッコ内の数値は紅茶抽出液の濃度
抽出液の調製条件は、茶葉2.0g/100mℓ、80℃、10分抽出

2. 紅茶抽出液の調製

予め恒温水槽中で所定温度に加温しておいた蒸留水に100mℓ当たり茶葉2.00gを投入し、直ちに30秒間攪拌した後、恒温水槽中に保持した。抽出終了前に30秒間再度攪拌した後、直ちに市販の茶こし器で抽出液と茶葉を分離し、引き続きろ紙 (No. 2) でろ過を行い紅茶抽出液を得た。抽出時間は、茶葉の投入から抽出液と茶葉を分離するまでの時間とした。

抽出温度は、40℃ から80℃ までの10℃ 毎の5段階、抽出時間は2, 5, 10, 20, 30分間の5段階とした。

3. 濁度の測定

抽出温度及び時間を変えて調製した紅茶抽出液を試験管 (18mm 径) 3本に約15mℓずつ分注し、これを所定の温度に設定した恒温水槽内に保持した後、濁度の測定に供した。濁度はハック社製 Ratio XR 43900型濁度計を用いて測定し、NTU で表した。

4. カフェインの定量

紅茶抽出液を蒸留水で5倍に希釈後、孔径0.45μmのメンブランフィルター (アドバンテック東洋(株)製 DISMIC 13HP045AN) を用いてろ過し、その5μℓを高速液体クロマトグラフ (HPLC) に注入し測定を行った。HPLC 装置は日本分光(株)製 TRI ROTAR 型または東洋曹達工業(株)製 CCPM 型ポンプに日本分光(株)製 UV-970型紫外可視検出器、及び(株)島津製作所製 C-R6A 型記録計を組み合わせたものを使用した。分析条件は、次のとおりである。

カラム: 東ソー(株)製 TSKgel ODS-120A (10μm)

移動相: メタノール-水-酢酸 (74:25:1 (v/v/v))

流速: 1 mℓ / 1 min

検出波長: 272nm

チャートスピード: 2 mm / min

5. テアフラビン及びテアルビジンの定量

テアフラビン及びテアルビジンは、紅茶の主要な構成成分であるが、それらは単独の化合物ではない。そのため、Roberts ら^{1) 3-4)}の方法により、メチルイソブチルケトンを用いた分別抽出を行い、得られた抽出画分の波長380nmでの吸光度の値からそれぞれの濃度を算出

した。吸光度は(株)島津製作所製 UV-150-02型分光光度計を用いて測定した。

6. テアフラビンの個別定量

紅茶中のテアフラビンは、分子内に没食子酸を持たないテアフラビン (TF-0)、没食子酸1分子を持つテアフラビン-3-モノガレート (TF-1)、テアフラビン-3'-モノガレート (TF-1') 及び没食子酸2分子を持つテアフラビン-3, 3'-ジガレート (TF-2) の4種類が含まれている。これらの定量を、池ヶ谷ら⁵⁾の方法に準拠して行った。

紅茶抽出液20mℓを25mℓメスフラスコに採り、内部標準として0.15mgのプルプロガリンを含むアセトン5mℓを添加後、蒸留水で定容した。この溶液をメンブランフィルターでろ過し、その60μℓをHPLCに注入し測定を行った。それぞれのテアフラビン量は、内部標準に対する面積比から算出した。HPLCはカフェインの定量と同じ装置を使用した。分析条件は次のとおりである。

カラム：東ソー(株)製 TSKgel ODS-120A (10μm)

移動相：

水-アセトン-リン酸 (345:155:1.5 (v/v/v))

流速：1mℓ/1min

カラム温度：40℃

検出波長：375nm

チャートスピード：4mm/min

7. カテキン類の定量

堀江⁶⁾らの方法によりHPLCを用いて行った。標準試料にはフナコシ製のカテキンキットを使用した。

実験結果及び考察

1. 時間経過に伴う濁度の変化

抽出条件(1)60℃、5分、(2)60℃、10分で調製した紅茶抽出液を用いて、時間経過に伴う濁度の変化を測定した(図1)。

紅茶抽出液を、抽出後直ちに5℃の恒温水槽に保持し経時的に濁度を測定した結果、初期の約30分間で濁度は急速に上昇したが、それ以上の時間では濁度の上昇速度は減少した。放置6～7時間後には濁度はほぼ定常状態になり、その値は30分における値の約2倍であった。このことから所定温度に30分間保持後の濁度を混濁生成の指標とした。

2. 抽出条件の違い及び品温と濁度の変化

1.の結果をもとに、分注した紅茶抽出液を所定の温度に設定した恒温水槽内で約30分間保持した後、濁度の

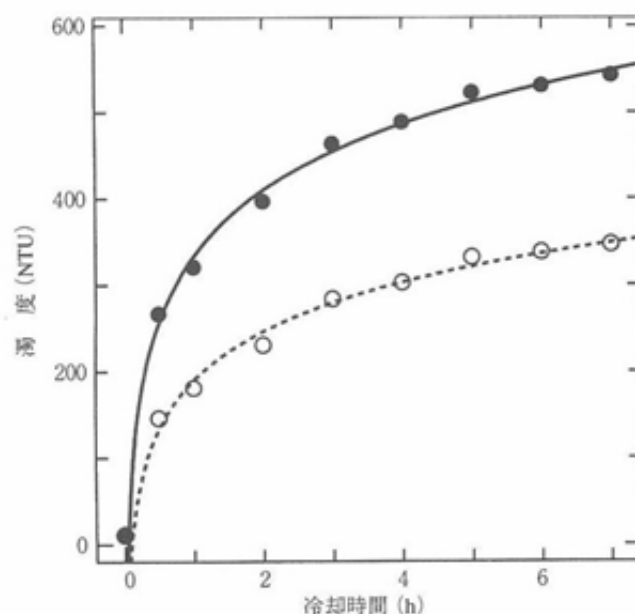


図1 抽出液の冷却時間と濁度

冷却温度：5℃
●：60℃、10分抽出液
○：60℃、5分抽出液

測定を行った。測定後、直ちに恒温水槽の水温を次の設定温度まで下げ、同様に約30分間保持し、再び濁度の測定を行うという操作を繰り返した。設定温度を、60℃から5℃まで順次下げ、濁度が測定限界(2000NTU)を超えた試料はその時点で測定を終了した。

図2(1)～(5)に40℃～80℃の5段階の抽出温度で抽出時間を変えて得られた紅茶抽出液を上記の方法で冷却したときの品温と濁度との関係を示した。濁度が100NTUを超えると肉眼的に混濁が認められた。(1)40℃抽出液では、30分の最長時間抽出区でも最低品温である5℃での濁度は50NTU程度であり、肉眼的には混濁は認められなかった。(2)50℃抽出液では、2分及び5分間抽出区の品温を5℃まで冷却した場合でも肉眼的には混濁はほとんど認められなかったが、それ以上の抽出時間では混濁の生成が認められた。(3)60℃抽出液では、2分間抽出区は品温5℃でわずかに混濁を感じさせる程度であった。これら以上の抽出温度または抽出時間の区分では肉眼的に明らかな混濁が認められ抽出温度が高くなるほど、あるいは抽出時間が長くなるほど混濁が著しくなるように観察され、濁度変化の傾向と一致した。

また、混濁が認められたどの抽出区分においても、冷却に伴い濁度が100NTUを超えるとそれ以下の温度では急速に濁度が上昇し、混濁生成が品温に大きく依存していた。

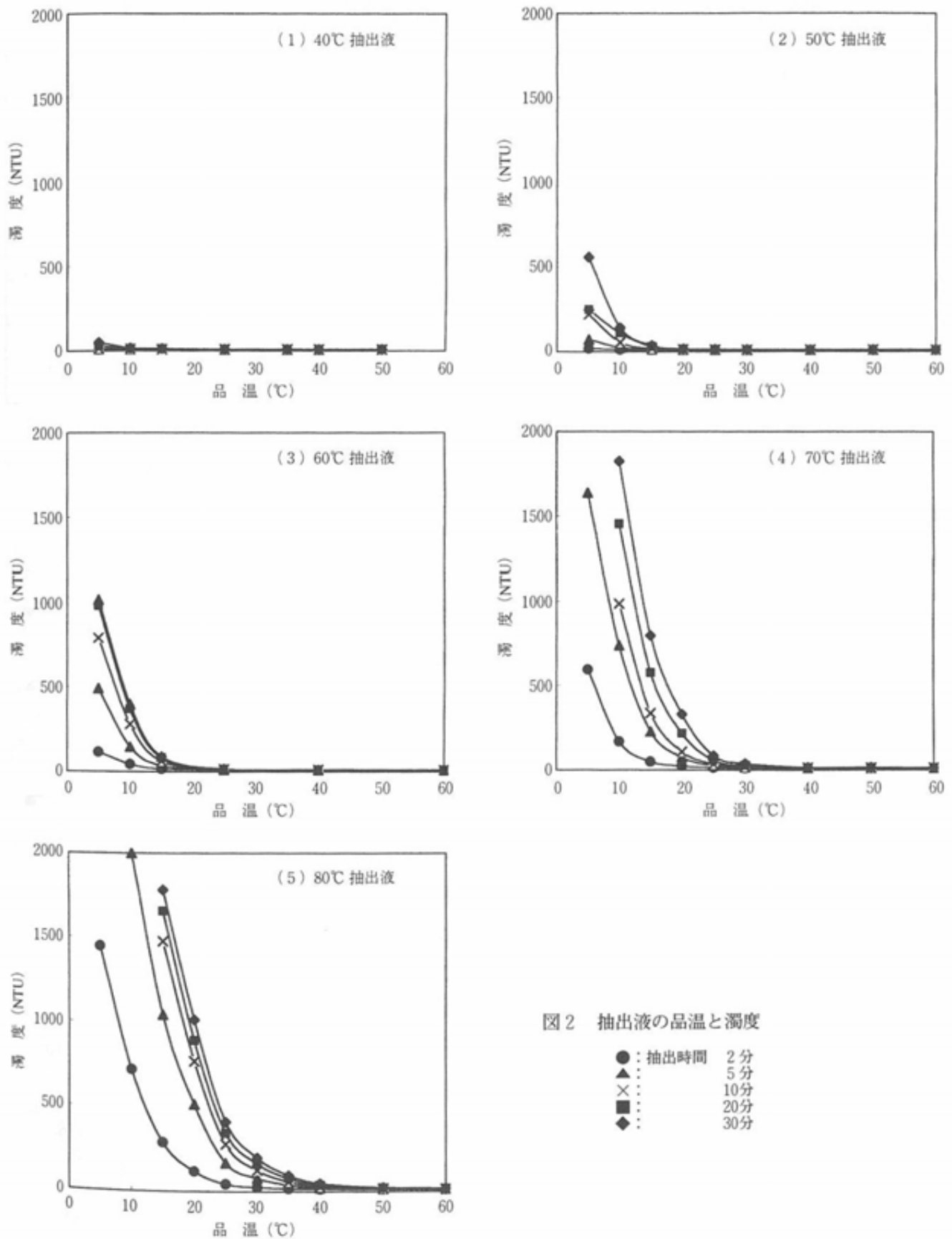


図2 抽出液の品温と濁度

●: 抽出時間 2分
 ▲: 5分
 ×: 10分
 ■: 20分
 ◆: 30分

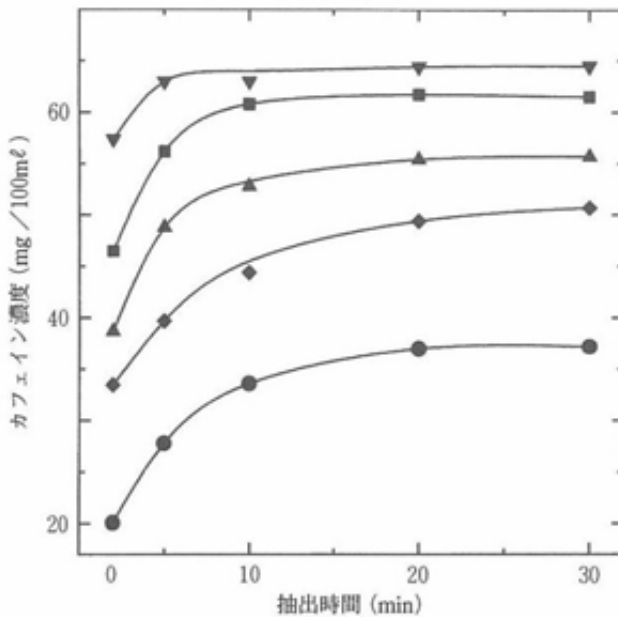


図3 抽出条件とカフェイン溶出濃度

抽出温度 ▼: 80°C ■: 70°C ▲: 60°C
◆: 50°C ●: 40°C

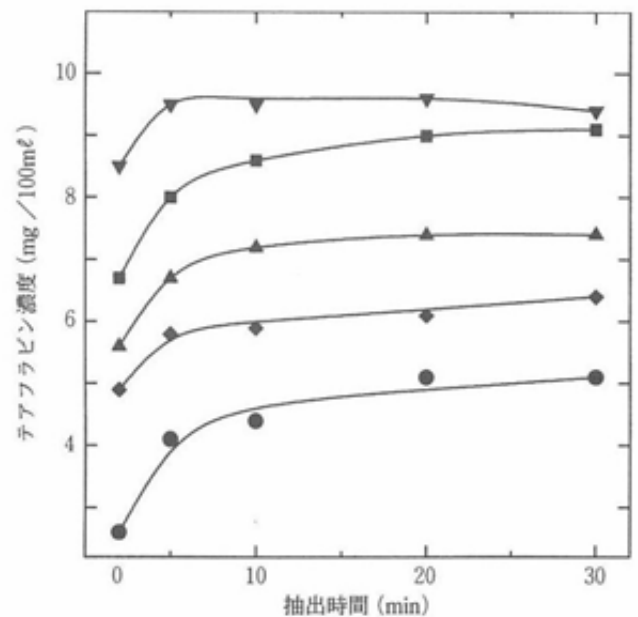


図4 抽出条件とテアフラビン溶出濃度

抽出温度 ▼: 80°C ■: 70°C ▲: 60°C
◆: 50°C ●: 40°C

3. 抽出条件と主要成分濃度

3.1 カフェイン

図3に抽出条件の違いによるカフェイン溶出濃度の変化を示す。80°C 抽出では初期の5分で溶出濃度は一定になっており、64mg/100mlであった。使用した紅茶葉のカフェイン含有量が3.1%であったことから、カフェインが完全に抽出されたことが確認された。

一方、40°C から70°C での抽出では2分から10分にかけて急速に抽出されているが、その後では溶出濃度の増加はわずかであり、いずれの抽出温度においても20分から30分では溶出濃度は一定になった。また、抽出温度が低い区分ほどカフェイン濃度が低く、40°C、30分間抽出では37mg/100mlで、抽出率は57%であった。

3.2 テアフラビン及びテアルビジン

抽出条件の違いによるこれらの成分の溶出濃度を見ると、テアフラビン（図4）では40°C から80°C での抽出ではいずれもが抽出初期の5分で溶出濃度は一定となった。また、カフェインと同様に、抽出されるテアフラビン濃度は抽出温度に大きく依存し、40°C、30分間抽出と80°C、30分間抽出とを比較すると、前者は後者の50%程度しか抽出されなかった。

一方、テアルビジン（図5）でもカフェインやテアフラビンに似た抽出経過をたどり、溶出濃度はカフェイン、テアフラビンと同様に、抽出温度が高い方が高かった

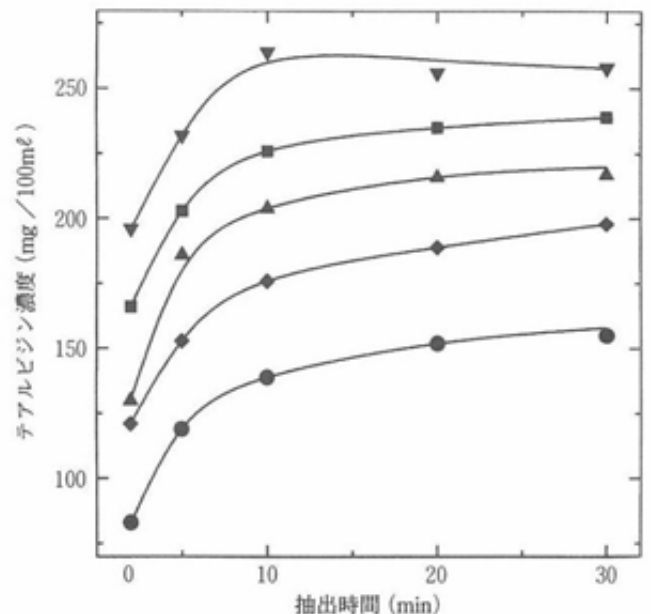


図5 抽出条件とテアルビジン溶出濃度

抽出温度 ▼: 80°C ■: 70°C ▲: 60°C
◆: 50°C ●: 40°C

が、10分以上の抽出時間においても溶出濃度が上昇する傾向にあった。これは茶葉におけるテアルビジンの含有量が多いことや、テアルビジンが単一の化合物ではなく種々のポリフェノール重合体により構成されている化合

物群であるため、個々の化合物の溶解度に差があることなどが影響しているものと考えられる。

また、高温での抽出区において抽出時間が長い場合（本実験では80℃、30分間抽出区）にはテアフラビン及びテアルビジンの溶出濃度がむしろ低下する傾向が認められた。調製した紅茶抽出液を高温で長時間保持すると抽出液の鮮やかな橙赤色が暗色化することなどから、これらの成分の分解、あるいは重合などのため、見かけ上の溶出濃度が減少したものと考えられる。

これらの結果から、これらの主要成分の溶出濃度は5分ないし10分間の抽出でほぼ横ばいになりそれ以上では溶出濃度が高くないことが認められた。それに対して濁度はそれ以上の抽出時間であっても抽出時間が長いほど混濁が著しくなっていく傾向があった。このことは、カフェイン、テアフラビン及びテアルビジン等の主要成分以外にも混濁生成に関与する要因が存在することを示唆していると考えられる。

4. 混濁への主要成分の関与

クリームダウンに関与する成分について検討するため、抽出条件80℃、10分間抽出で調製した紅茶抽出液を5℃の恒温槽に48時間保持し十分に沈殿を生成させた後、遠心分離（5℃、3,000rpm、1,600×g、20分）により上清と沈殿を分離し、それぞれの乾燥重量、カフェイン、テアフラビン、テアルビジン、及び主要カテキン類を定量した（図6）。その結果、沈殿の乾燥重量は抽出液総乾燥重量の14%であった。各成分の比率を見ると、カフェインの25%、テアルビジンの20%が沈殿に移行しており、抽出液総乾燥重量に対する沈殿の乾燥重量の割合

に比べてやや大きかった。カテキン類は生茶葉や緑茶に主要成分として多く含まれるが、紅茶中では製造工程中で減少し、紅茶葉中での含有量はテアフラビンと同程度である。その中でエピカテキンガレート（ECg）及びエピガロカテキンガレート（EGCg）の二つの没食子酸エステル型カテキンの沈殿への移行が認められたが、その割合は生成した沈殿重量に比べて小さかった。エピカテキン（EC）については沈殿への移行は確認できなかった。また、エピガロカテキン（EGC）は、今回使用した紅茶抽出液中に検出されなかった。

一方、テアフラビンは抽出液中の50%が沈殿に移行しており、沈殿中での含有濃度は紅茶抽出液中の濃度に比べて約3.6倍に濃縮されていた。紅茶葉におけるテアフラビン含有量はカフェインやテアルビジンに比べて著しく低いことから沈殿生成における制限要因になっている可能性もあり、混濁形成にはテアフラビンが大きく関与していることが示唆された。

個別のテアフラビン類をHPLCで定量した結果（図7）、分子内に没食子酸を持たない分子構造のTF-0が沈殿に移行する割合が30%程度であるのに対し、分子内に没食子酸を1分子を持つTF-1、TF-1'及び2分子を持つTF-2では60%から70%が沈殿に移行した。滝野ら²⁾はタンナーゼ処理が紅茶抽出液の混濁の軽減に効果があることを報告している。そこで紅茶抽出液にタンナーゼ処理を行い、その試料について個別テアフラビンをHPLC分析したところ、TF-1、TF-1'及びTF-2が消失し、混濁も著しく抑制されることを確認した。これらのことから混濁形成にはテアフラビンの没食子酸エス

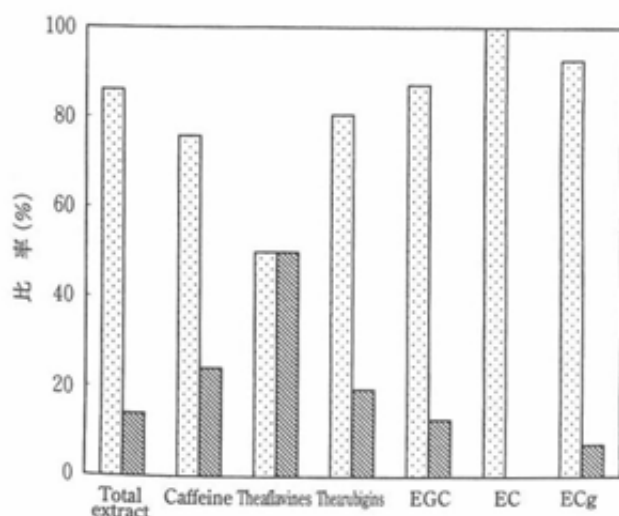


図6 上清及び沈殿に含まれる成分の割合

■ 上清 □ 沈殿

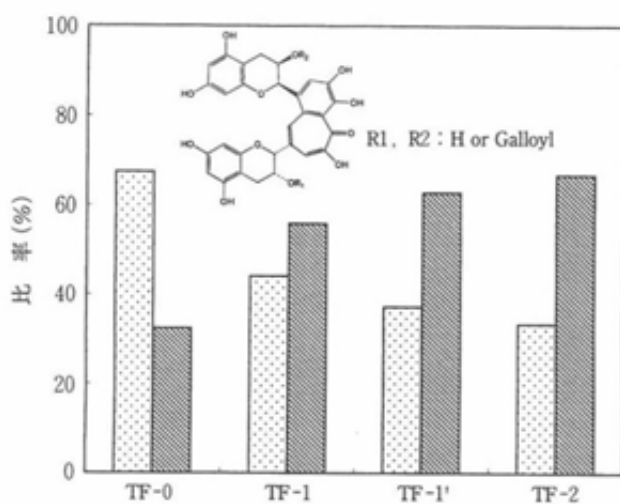


図7 上清及び沈殿に含まれるテアフラビン類の割合

■ 上清 □ 沈殿

テルが大きく関与していると考えられる。

藤井ら⁷⁾は、市販紅茶缶飲料12点の成分を分析した結果、それらのカフェイン量は100ml当たり最小で13mg、最大でも21mgであったと報告している。今回の抽出条件と比較した場合、茶葉の使用量を同じと仮定すると40℃、2分抽出と同程度かそれ以下の濃度である。

また同者らは、市販品のタンニン量についても100ml当たり50mgから81mg程度と報告している⁷⁾。茶葉2gを100mlの水で80℃、10分抽出した時のタンニン濃度は表1のとおりであるが、この値に比べて市販品では1/2から1/3程度と少ない値である。市販品の茶葉使用量を同じと仮定してテアフラビンやテアルビジンの濃度をタンニン量及び図4、5から推察すると、40℃で抽出した場合と同程度かそれ以下の濃度であると考えられる。40℃抽出区において混濁がほとんど認められなかったことを併せて考えると、市販缶飲料では、混濁発生を防止するために抽出成分の濃度を低く抑えるような処理が行われていることが推察された。

要 約

- 1) 抽出温度及び抽出時間を変えて調製した紅茶抽出液を用いて混濁を生成させ、その濁度を測定したところ、抽出温度が高いほど、また抽出時間が長いほど混濁は著しかった。
- 2) 紅茶の主要成分であるカフェイン、テアフラビン、テアルビジンについて抽出条件とその抽出量を検討したところ、抽出時間が5分ないし10分以上で溶出濃度はほぼ一定になる傾向を示した。溶出濃度は抽出温度40℃から80℃の間では、高温抽出の方が高かった。
- 3) カフェイン、テアフラビン、テアルビジンの抽出濃度が定常状態になっても、抽出時間が長くなるのに伴い混濁が著しくなったことから、これらの成分以外に混濁生成を促進する要因が考えられた。
- 4) 混濁の生成には、テアフラビンが大きく関与していることが推察された。特に、分子内に没食子酸を持つガレートタイプのTF-1、TF-1'及びTF-2の関与が大きいと考えられた。

本研究を進めるにあたり、紅茶葉試料を提供してくださった合資会社森川飲料に感謝いたします。

文 献

- 1) E. A. H. Roberts and R. F. Smith: J. Sci. Fd. Agric., 14, 700 (1963)
- 2) 滝野慶則, 今川弘: 日食工誌, 22, 286 (1974)
- 3) E. A. H. Roberts and R. F. Smith: J. Sci. Fd. Agric., 14, 689 (1963)
- 4) R. F. Smith: ibid., 19, 530 (1968)
- 5) 池ヶ谷賢次郎, 高柳博次, 阿南豊正: 茶業研究報告, 71, 43 (1990)
- 6) 堀江秀樹, 双木良和, 小幡勝則, 向井俊博: 茶業研究報告, 85, 9 (1997)
- 7) 藤井正人, 川辺元: 愛知食品工技年報, 38, 7 (1997)