

無菌充填茶類飲料の品質向上 - I

久延 義弘, 中野 和子, 末松 伸一

Quality Improvement of Aceptically Filled Green Tea Drink I

Yoshihiro Hisanobu, Kazuko Nakano and Shinichi Suematsu

We have already developed a new method called the separately sterilizing and aseptically mixing method (the SSA method). In this method, after green tea infusion in acidic pH is sterilized at the ultra high temperature of 135°C and cooled, its pH is adjusted as before using sterilized alkaline solution, and then it is aseptically filled into cans or PET bottles. In this paper, the change of natural catechins in the green tea drink produced by the SSA method was examined.

1. By making pH of green tea infusion acidic with an addition of vitamin C, it was possible to prevent the decrease of natural catechins in green tea during heat sterilization.
2. Natural catechins in the green tea drink were seldom affected by changing the heat sterilizing conditions in the SSA method.
3. Canned or PET bottled green tea drinks in which there are more natural catechins than any commercial green tea drinks were developed by the SSA method.

Key words : green tea drink, aseptical, PET bottle, catechin, isomerization, pH, vitamin C.

茶類飲料中の天然型カテキン類の性質として、pHを低くすることで熱安定性が高くなり、異性化や重合反応が抑制される¹⁾。従来の無菌充填法では、茶抽出液に中性塩であるL-アスコルビン酸ナトリウムをビタミンCとして添加しており、加熱殺菌中のpHが中性付近にあることから、天然型カテキン類の熱安定性はほとんど期待できないと考えられる。そこで、Fig.1のように中性塩であるL-アスコルビン酸ナトリウムを、酸性のL-アスコルビン酸に置き換え、酸性下で加熱殺菌したのちpHを中性付近に調整することで、天然型カテキン類の減少を防ぎ、茶本来の渋み・苦みのバランスの優れた、いれたてのお茶に近い容器詰茶類飲料が製造できると考えた。すなわち、L-アスコルビン酸で酸性とした煎茶抽出液は、従来の無菌充填ラインで加熱殺菌し、充填工程の前に設置した無菌調合タンク内で殺菌・除菌したアルカリ溶液と混合してpHを調整したのち、容器に無菌充填する、分離殺菌法(SSA法)での容器詰煎茶飲料の製造方法を検討した。

実験方法

1. 原料

茶葉は市販の煎茶(やぶきた種, 中級品)を、抽出液は活性炭→紫外線殺菌装置→活性炭→イオン交換樹脂→中空子膜で処理した水(処理水)を一旦沸騰させてから、60°Cに調整して用いた。添加するL-アスコルビン酸(VC)は太陽エフ・ディ製を、L-アスコルビン酸ナトリウム

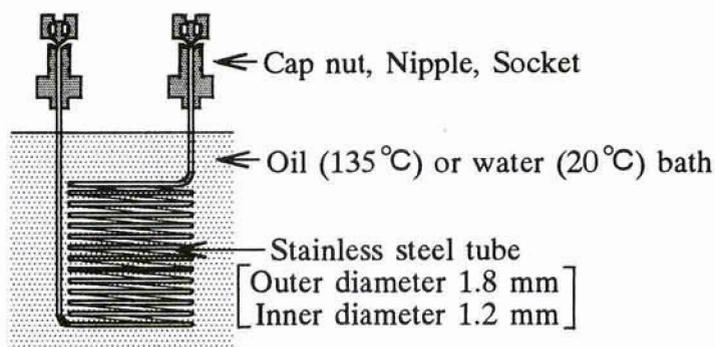


Fig. 2. Apparatus for heating and cooling

5. カフェイン・カテキン類の定量に用いた試薬

無水カフェインおよびりん酸は和光純薬工業製・試薬特級を，アセトニトリル，N，N-ジメチルホルムアミド，蒸留水は和光純薬工業製・高速液体クロマトグラフ（HPLC）用試薬を，カテキン類の（-）-ガロカテキン（-GC），（-）-エピガロカテキン（-EGC），（+）-カテキン（+C），（-）-エピカテキン（-EC），（-）-エピガロカテキンガレート（-EGCg），（-）-エピカテキンガレート（-ECg）は栗田工業製・分析用標準試薬を用いた。定量に際しては，カフェインと各カテキン類を一定量精秤し，アセトニトリルに等量の水を加えたもので溶解し，細孔径サイズ0.45 μ mの親水性 PTFE メンブランフィルタ（メンブランフィルタ）で加圧ろ過した。

6. VC の定量に用いた試薬

VC，メタりん酸は和光純薬工業製・試薬特級を，蒸留水は和光純薬工業製・HPLC 用を用いた。

メタりん酸は蒸留水に溶解して，2%（W/V）と4%（W/V）メタりん酸溶液とした。定量に際しては，VC を一定量精秤し，2%メタりん酸溶液に溶解したものを，メンブランフィルタで加圧ろ過した。

7. カフェイン・カテキン類の定量試料の調製

寺田らの方法²⁾に準じ，各試料に等量のアセトニトリルを加え，攪拌後メンブランフィルタで加圧ろ過した。

8. VC の定量試料の調整

各試料に等量の4%メタりん酸溶液を加え，攪拌後メンブランフィルタで加圧ろ過した。

9. カフェイン・カテキン類定量における HPLC の測定条件

装置は，島津製作所製 LC-10A システムのシステムコントローラ SCL-10A を，オートインジェクタは SIL-10A を，カラムオープンは CTO-10A（カラム温度：43 $^{\circ}$ C）を，送液ポンプは LC-10AS 2台を，紫外可視検出器は SPD-10AV（検出波長：280nm）を用い，クロマトバック C-R 4A でデータを処理した。カラムは，信和化工製 STR-ODS II の内径4.6mm，長さ150mmを，ガードカラムは同じく内径4.6mm，長さ10mmを用いた。移動相は，0.1%（V/V）のアセトニ

トリルと5% (V/V) の N, N-ジメチルホルムアミドを含む0.1% (W/V) リン酸溶液をA液とし、アセトニトリルをB液とした。移動相流量は定流量法で1 ml/分、試料注入量は10 μ lとした。グラジエント条件は、測定開始時にB液1% (V/V)、測定開始と同時にグラジエントし、35分後にB液19% (V/V)、35分以降B液90% (V/V)、45分後にB液1% (V/V)、以降B液1% (V/V)とした。

10. VC 定量における HPLC の測定条件

装置は、島津製作所製 LC-3A システムを、カラムオープンは CTO-2A (カラム温度: 40°C) を、紫外可視検出器は SPD-2A (検出波長: 242nm) を使い、クロマトパック C-R1A でデータを処理した。カラムは、ケムコ製 CHEMCOSORB 5-ODS-H の内径4.6mm、長さ250mmを、ガードカラムは同じく4.6mm、長さ30mmを用いた。移動相は0.2% (W/V) メタりん酸溶液、移動相流量は定流量法で1 ml/分、試料注入量は5 μ lとした。

11. pHの測定方法

堀場製作所製カスター LAB pHメーター M-13型を用いた。測定に際しては、スターラーで緩やかに攪拌しながら測定した。

12. 色調の測定条件

装置は、日本電色工業製 測色色差計 Z-1001DP 型を用いた。測定に際しては、各試料をNo 5 C のろ紙でろ過し、透過長10mmのガラス製セルを用いて透過色調を求めた。

結果と考察

茶の天然型カテキン類としては、現在までに十数種類が分離・同定³⁾されているが、煎茶の天然型カテキン類は、-EGC, +C, -EC, -EGCg, -ECg の5種類が主成分であり、いずれも HPLC 法で分離・定量できる。しかし、天然型カテキン類は Fig. 3 に示したように、加熱などによって簡単に異性化して、相対する異性体を生じる。生じた異性体の内、-C は天然型の+C と、+EC は天然型の-EC と、結果的に施光度+と-が混ざったラセミ体と同じ状態となるために、HPLC のクロマトグラム上で重なり、現在分離・定量する技術がないことから、本試験では-EGC, -EGCg, -ECg の3種類の成分のみを天然型カテキン類として、その変化を調べた。

1. 市販品の実態調査

現在市販されている容器詰煎茶飲料について、含まれている天然型カテキン類の異性化の状態を把握するために実態調査を実施し、比較として抽出試料の結果も併記した (Table 1)。また、異性体の測定値は相対するエピマーの分子吸光係数と同じと考え、HPLC 法で検出した異性体のピークの面積値から算出した。

製品間の値に差はあるが、平均すると、pHおよび天然型カテキン類に異性体を加えたカテキン類の合計値は、抽出直後の試料と大差がなく、総カテキン量としては変化していないことになる。そこで、天然型と異性体を分けて考えると、抽出直後の試料にはほとんど異性体が存在しないのに対し、市販品ではほぼ等量分の異性体が存在した。

この差は、加熱殺菌や保存の経過による天然型カテキン類の酸化・重合による差と考えるのが一般的であるが、測定値からも容易にうかがえるように、市販品には酸化・重合を防ぐために

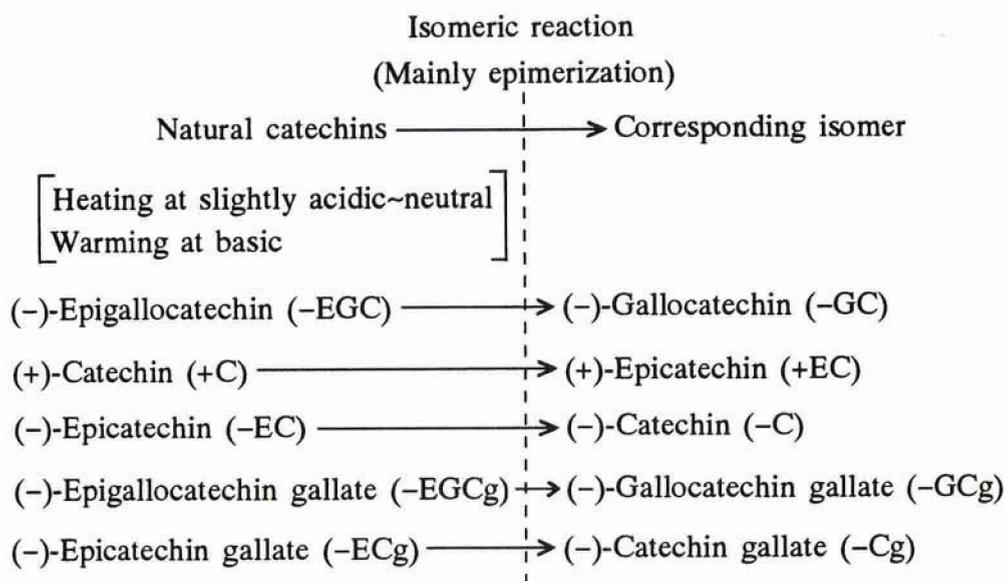


Fig. 3. Change of natural catechins in green tea drink

Table 1. Analytical result of catechins in commercial green tea drinks

Sample No.	Container	Content	Storage (month)	Catechins (mg/100ml)			Vitamin C (mg/100ml)	pH
				Natural	Isomer	Total		
1	PET	500 ml	4	25.1	19.7	44.8	32.7	5.68
2	PET	500 ml	6	16.8	18.1	34.9	28.8	6.25
3	Steel	340 g	4	20.0	22.7	42.7	27.6	5.63
4	Steel	340 g	4	18.8	20.4	39.2	63.3	5.87
5	Steel	190 g	4	35.3	35.3	70.6	14.9	5.65
Average of commercial products 4.4				23.2	23.2	46.4	33.5	5.79
Green tea infusion				43.8	1.4	45.2	2.7	5.65

VC が添加されている。市販品では VC の添加量が多い割に、異性体の生成量も多いことから、天然型カテキン類の異性化反応に対して、VC 添加の効果はほとんど認められないことになる。

原因としては、市販品に表示されている VC が、L-アスコルビン酸（酸）ではなく、同じ効果を持つ、そのナトリウム塩である L-アスコルビン酸ナトリウム（中性塩）にあるか、あるいは L-アスコルビン酸と pH 調整剤（重曹）の同時添加にあると考えた。

2. VC 添加の効果

加熱殺菌中の異性化反応に対して、VC 添加による抑制効果を調べるために、抽出試料に VC または VCNa を10, 20, 40mg/100mlを添加し、熱交換器法で121℃、4分間加熱 (F値≒4) したのち、直ちに冷却して、加熱前を基準に天然型カテキン類の残存率を求めた (Fig. 4)。

添加量が多くなると、VC を添加した試料の残存率は高くなるのに対して、VCNa を添加した試料の残存率は、わずかず低くなる傾向を認めた。

また、市販品の平均値である VC 量35mg/100ml、天然型カテキン類残存率約50%と、VC 量として35mg/100mlの VCNa を添加した試料の残存率が、ほぼ一致していることから、市販品の天然型カテキン類の変化は、保存中の変化よりも、加熱殺菌中の変化が主な原因と考えられる。すなわち、この現象は VC と VCNa の違いというよりも、図中の数値で表したように、添加によって変化した pH の影響が大きいと考えた。カテキン類の異性化反応は前報で報告した¹⁾ とおり、pH に支配されており、Fig. 1 で示したように、弱酸性～中性域で加熱すると異性化反応が進むのに対して、酸性域ではほとんど反応は進まず、本試験の結果とも一致していた。

3. 加熱殺菌時の pH の影響

前報¹⁾ でも実施したが、再確認のために、VC のような還元作用を持たないクエン酸・クエン酸ナトリウムを用いて抽出試料の pH を調整し、PET 詰を想定した135℃、12秒 (F値≒4) の UHT 殺菌と、缶詰を想定した121℃、4分 (F値≒4) の加熱殺菌を、熱交換器で実施した (Fig. 5)。

前報同様、本試験においても天然型カテキン類の残存率は、pH に支配されており、pH が低くなるほど残存率は高くなり、pH 4 以下になると残存率が高い状態で、変化は緩慢となること

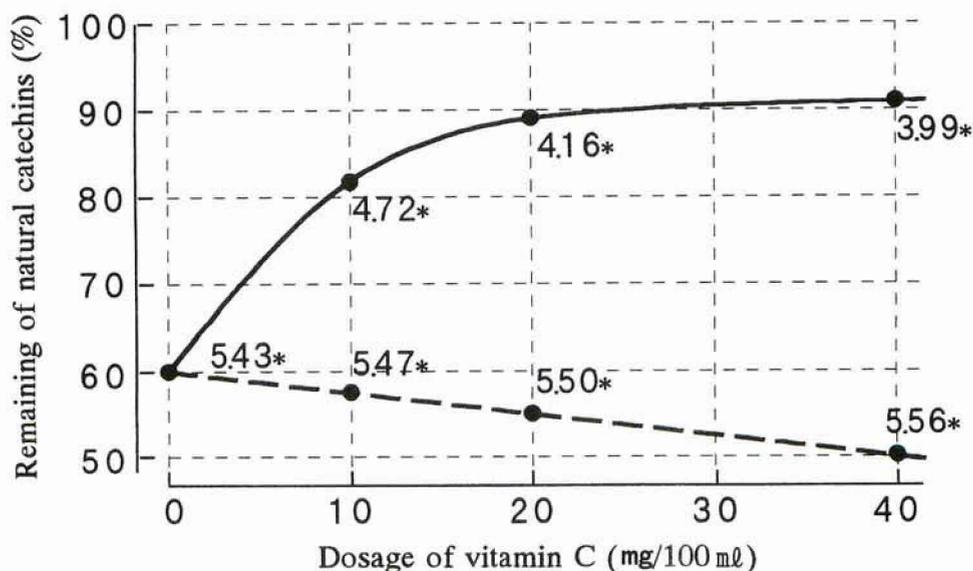


Fig. 4. Effect of vitamin C on remaining of natural catechins in green tea drink

- , Addition of L-ascorbic acid.
- - -, Addition of sodium ascorbate.
- * pH of sample after sterilization.

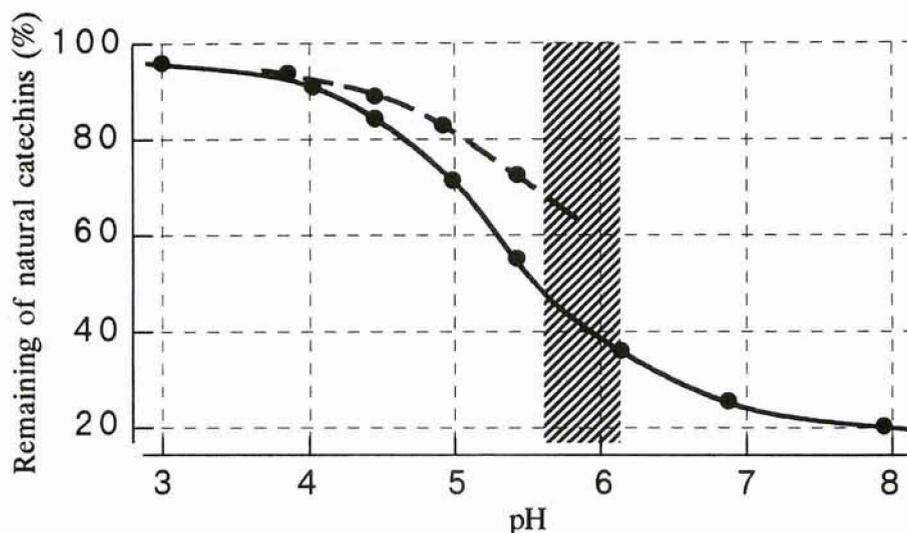


Fig. 5. Effect of pH at heat processing on remaining of natural catechins in green tea drink

- , Heating at 121°C for 4 minutes.
- - -, Heating at 135°C for 12 seconds.
- ▨, pH range of commercial green tea drinks.

を認めた。この結果から、天然型カテキン類の異性化反応は、VC や VCNa の持つ酸化抑制作用とは無関係の反応であり、pHと加熱温度・時間によってのみ支配される反応であることが再確認できた。すなわち、温度や時間を調整しても、pHを酸性側にしない限り、加熱殺菌中の天然型カテキン類の減少、特に異性化は防ぐことができないと考えられる。

そこで、天然型カテキン類の残存率を高める方法として、Fig. 1に示したように、SSA 法による容器詰煎茶飲料の製造方法を考えた。

4. レトルト殺菌装置による熱交換器法の再現

SSA 法による容器詰煎茶飲料の製造方法を検討するにあたって、ステンレス管を用いた熱交換器法では、試料量が約 2 mlと少ないので、試料量を150 gとするために、レトルト殺菌装置を用いて UHT 殺菌を再現してみた。方法としては、試料の厚みを約 4 mmとしたものについて、HTST 殺菌によるレトルト法で加熱することで、熱交換器法と同じ天然型カテキン類の異性化反応（反応速度）を再現できると考えた。また、試料の加熱・冷却曲線（Fig. 6）をみると、熱履歴は熱交換器法とレトルト法で大きく異なり、再現性がない可能性があったので、VC を添加して pHが異なる同一の抽出試料について、熱交換器法とレトルト法で加熱殺菌して、天然型カテキン類の変化の差を調べた（Fig. 7）。

pHの低い領域での天然型カテキン類の残存率にはほとんど差がなく、VC の添加量の少ない、または無添加区でわずかに差を生じる傾向にあった。

しかし、お互いの誤差の範囲内であることから、レトルト法で加熱殺菌しても、熱交換器法での天然型カテキン類の異性化反応の状態の再現は可能と考え、以降の試験はレトルト法で加熱殺菌した。

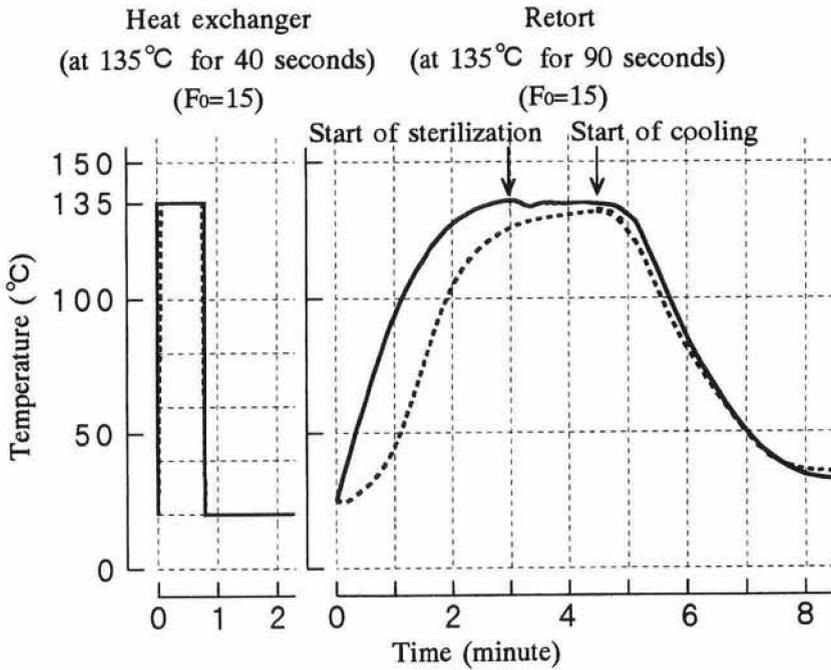


Fig. 6. Trace of sample temperature from heating to cooling

— , Atmosphere.
 - - - , Sample.

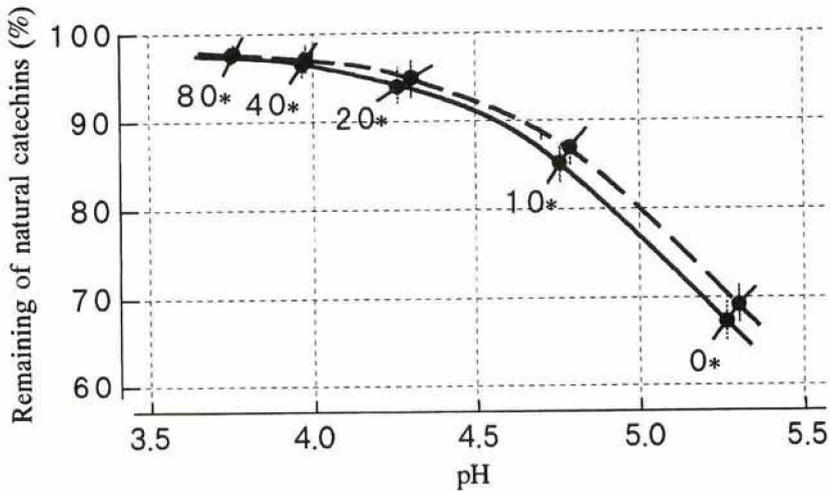


Fig. 7. Comparison of heat exchanger method and retort method in remaining of natural catechins in green tea drink

— , Retort method.
 - - - , Heat exchanger method.

* Dosage of L-ascorbic acid (mg/100ml).

5. 加熱殺菌時間による天然型カテキン類の挙動

上記までの結果から判断すると、従来法、すなわち pH が弱酸性～中性領域で加熱殺菌して容器詰煎茶飲料を製造すると、pH や加熱殺菌温度・時間がわずかに変動しても、天然型カテキン類の異性化に影響することは明確であり、加熱殺菌温度や時間を調整しても防ぐことはできない。そこで、pH を酸性とした状態で加熱殺菌し冷却後、無菌的にアルカリ溶液で pH を戻す SSA 法で容器詰煎茶飲料を製造したと想定し、VC を添加した抽出試料を 135℃ のレトルト法で加熱殺菌して、pH や加熱殺菌時間の影響を調べた (Fig. 8)。

SSA 法の場合、VC 添加量の増加によって pH が低くなると共に、天然型カテキン類の残存率も高くなり、VC を 40mg/100ml 以上添加することにより、pH は 4 以下となり、残存率は 90% 以上を示した。また、SSA 法では加熱殺菌時間を 135℃・5 分間 ($F_0 = 60$) と、かなり長くとっても、残存率に与える影響は少なく、加熱殺菌条件が大きく異なったとしても、天然型カテキン類の渋み・苦みのバランスは、ほとんど変化しないと考えられる。すなわち、本試験では煎茶について検討したが、紅茶のようにブラックティーとミルクティーでは殺菌条件が異なり、異性体を含めてカテキン類の組成に変化を生じるが、SSA 法で製造すると、加熱殺菌条件に影響されることがなく、カテキン類の組成にほとんど変化がないので、製品間に差が生じにくいと考えられる (この場合は、3 系統の殺菌・除菌および無菌調合システムとなる)。

6. 従来法と SSA 法の比較

結果と考察 5. までは加熱殺菌工程をシミュレーションして、天然型カテキン類の変化を調べた結果であり、SSA 法の基本的なデータは得られたと考えられる。しかし、SSA 法では、加熱

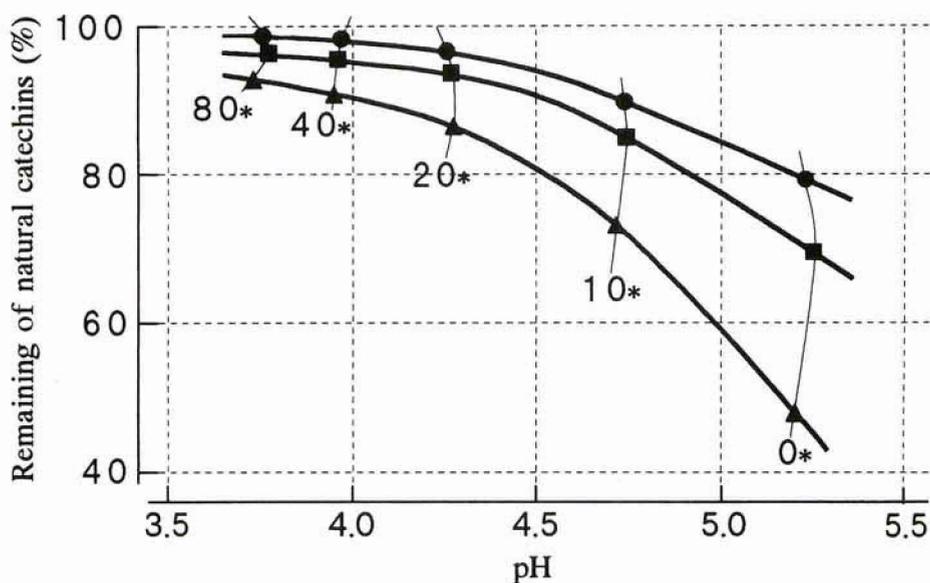


Fig. 8. Effect of heating time at 135°C on remaining of natural catechins in green tea drink

●, 1.0 minutes ($F_0 = 4$). ■, 1.5 minutes ($F_0 = 15$).

▲, 5.0 minutes ($F_0 = 60$).

* Dosage of L-ascorbic acid (mg/100ml).

殺菌後にアルカリ溶液を添加してpHを調整する必要があり、アルカリまたはpHの影響によって天然型カテキン類が変化する可能性もある。そこで、製造直後の天然型カテキン類の変化を調べるために、Fig.9に示した方法で、従来法とSSA法の試料を調製し、得られた試料を製造直後の製品として、加熱前を基準に天然型カテキン類の残存率を求めた(Fig.10)。

従来法の残存率は約49~53%と低いものに対して、SSA法では約92~93%とかなり高く、Fig.11に示したHPLCのクロマトグラムからも判るように、異性体の生成量はわずかであった。また、Fig.10左の結果から判るように、VCおよびVCNaの添加量間の差は小さかった。ただし、従来法ではVC・VCNa無添加区よりも、VCNaの添加量が増えるほど残存率がわずかに低くなる傾向を認めた。原因としては、加熱殺菌直後のpHがVCNa添加量の増加により、わずかに高くなるのが原因と考えられるので、従来法の加熱殺菌直後の残存率の数値を拡大して、pHとの関係を調べた(Fig.10右)。

pHが5.35~5.64とわずかな差であっても、従来法では残存率が大きく変化することを認めた。

それに対してSSA法では、加熱殺菌後にアルカリ溶液を用いて、pHを従来法の試料に合わせても、残存率は変化することはなく、加熱殺菌直後の残存率を維持することを認めた。

7. アルカリ溶液の殺菌・除菌方法

煎茶飲料に添加するアルカリとしては重曹が一般的であることから、10%重曹水溶液(重曹溶液)を用いた。処理方法としては、UHT殺菌やろ過除菌など考えられるが、実験室的には抽出試料と同じレトルト法で得られたものとし、ろ過除菌を想定して除菌フィルタでろ過したもの(Fig.12)を用いた。

また、重曹溶液は密封系で加熱殺菌することにより、加熱分解することなく殺菌できるが、図

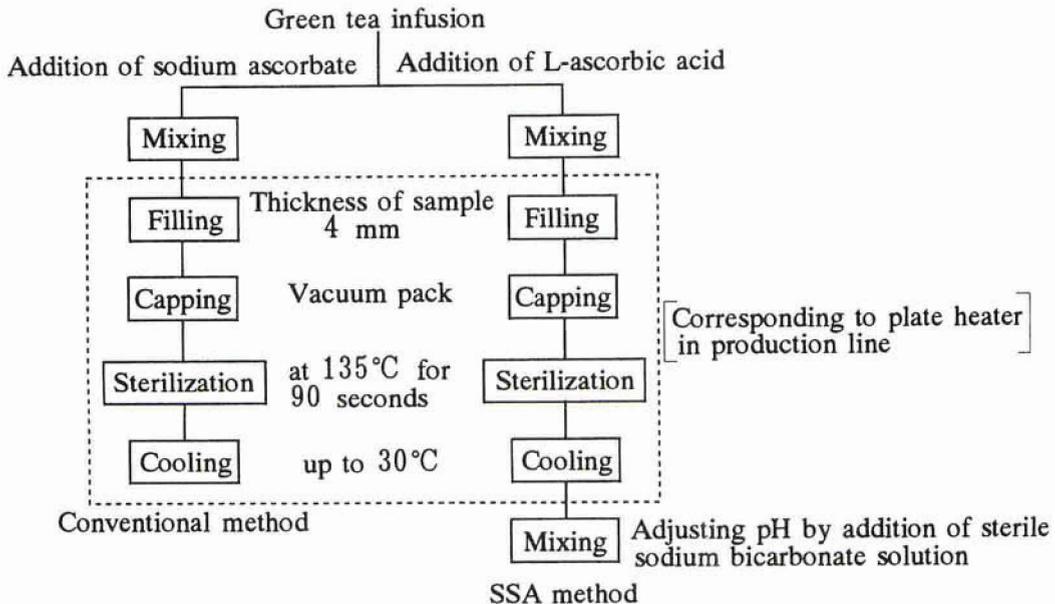


Fig. 9. Procedure of sample preparation

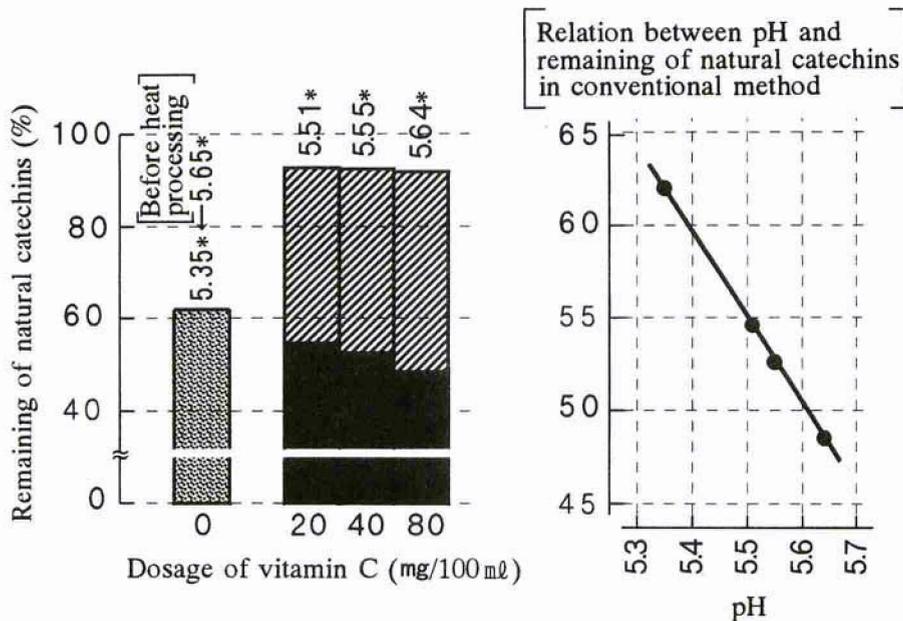


Fig.10. Remaining of natural catechins in green tea drink immediately after heat processing

▨, SSA method. ■, Conventional method.
 * pH of sample.

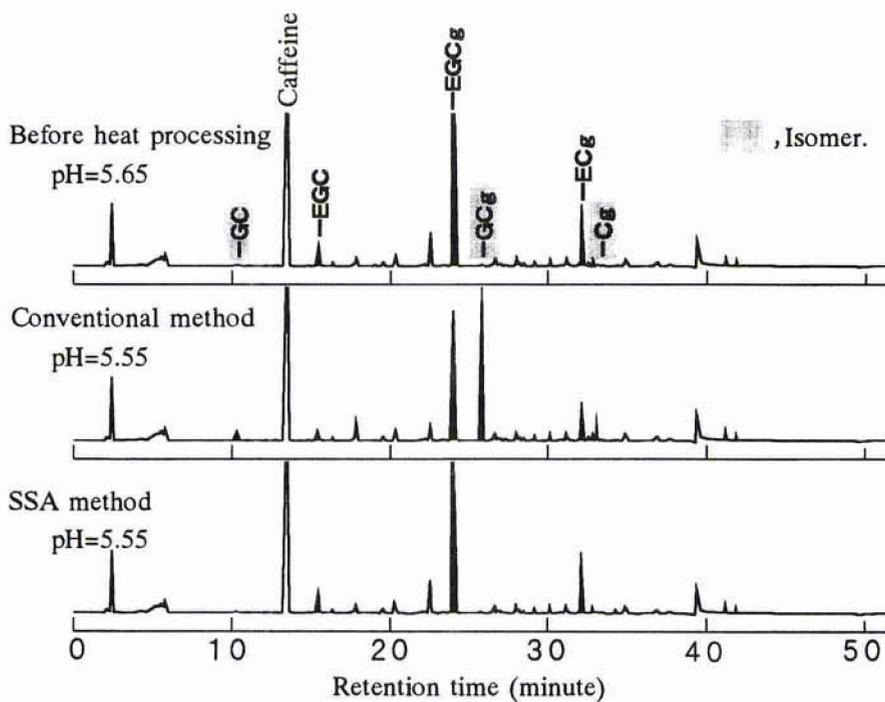


Fig.11. HPLC chromatogram of green tea drink before and after heat processing

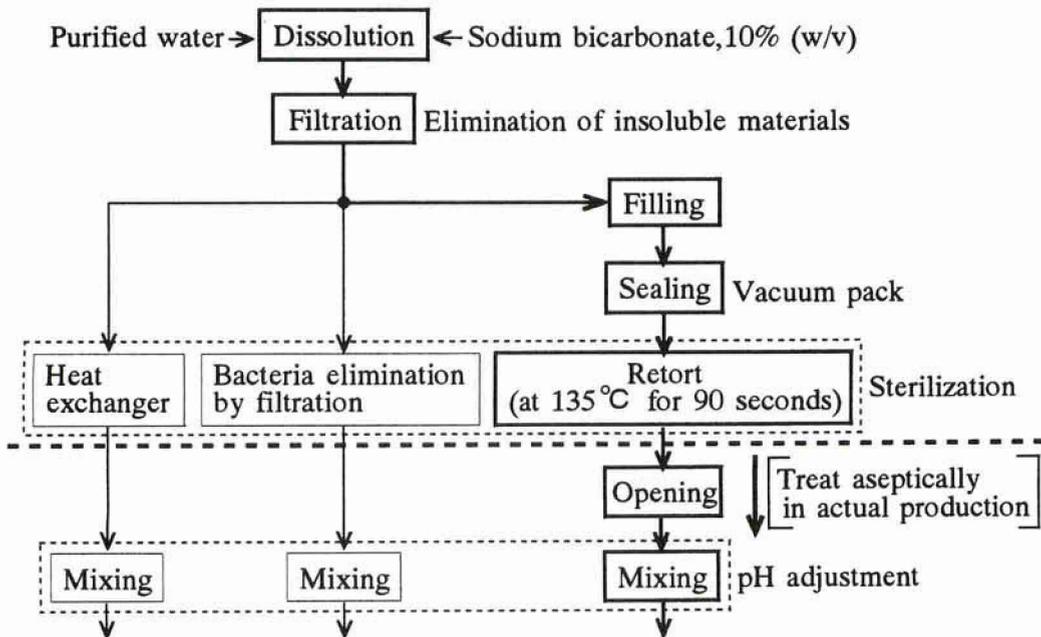


Fig.12. Sterilization of alkaline solution

からも判るように、設備として①重曹の溶解タンク・②ろ過器・③熱交換器・④pH調整用無菌調合タンクが必要となる。また、ろ過除菌でも①重曹の溶解タンク・②ろ過器・③除菌ろ過器・④pH調整用無菌調合タンクが必要となり、設備的には大差がなく、両方式ともインラインに適していると考えられる。本試験で実施したレトルト法のように、加熱殺菌した容器詰重曹溶液を、別途アウトライン方式で製造し、無菌的に調合する方法を用いると、充填工程の前に①pH調整用無菌調合タンクを設置するだけで、SSA法での製造が可能となる。そこで、重曹溶液のレトルト法とろ過除菌法の差を検討するために、VCを40mg/100ml添加した抽出試料をレトルト法で加熱殺菌し、処理した重曹溶液で試料のpHを調整して、重曹の添加量を求めた (Table 2)。

重曹溶液をレトルト法またはろ過除菌法で処理しても、重曹の添加量に差が認められなかったことから、重曹溶液の殺菌・除菌方法としては、いずれの方法を用いても製造できると考えられる。

8. VC 添加量と重曹添加量の関係

レトルト法で得た重曹溶液を用いて、SSA法を想定し製造した試料のpHを調整して、VC添加量と重曹添加量の関係を求めた (Fig.13)。

VC添加量に対する重曹添加量の回帰曲線を求めると、相関係数0.9993と高く、VCの添加量によって添加する重曹量は算出できることを認めた。ただし、Fig.13の結果は本試験での結果であり、抽出濃度・茶葉の種類などが異なれば回帰式の値も変化するので、製造する製品によって値を求め直す必要がある。

Table 2. Comparison of heat sterilization and bacteria elimination by filtration of sodium bicarbonate solution

Additive (Method of sterilization)	Immediately after heat processing pH	After pH adjustment pH	Dosage of sodium bicarbonate (mg/100ml)	After heat processing content of vitamin C (mg/100ml)
Sodium ascorbate (Heat sterilization)	5.37	-	-	36.5
L-ascorbic acid (Bacteria elimination by filtration)	4.00	5.37	19.2	36.2
L-ascorbic acid (Heat sterilization)	4.00	5.37	19.1	36.4

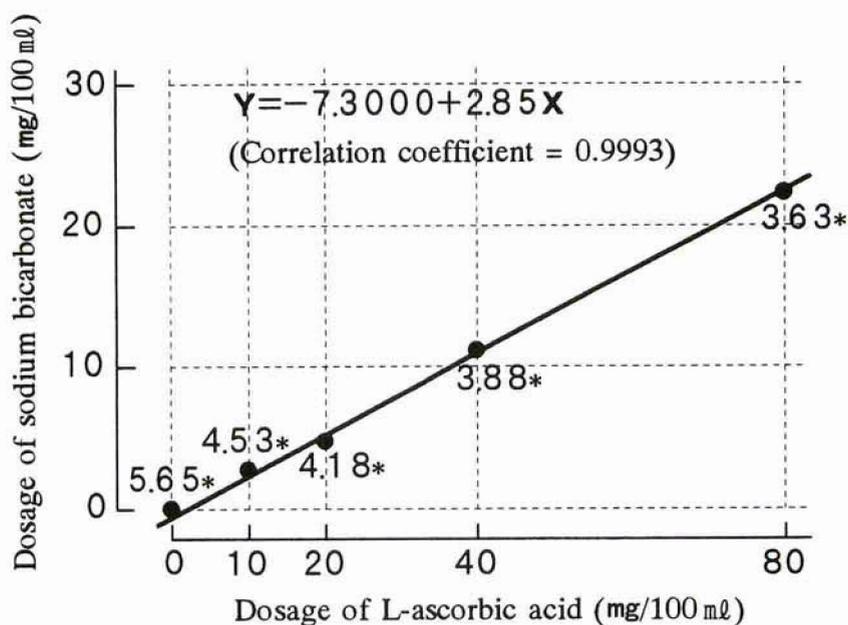


Fig.13. Dosage of sodium bicarbonate required for pH adjustment of the green tea drinks added L-ascorbic acid at some level

* pH of sample before addition of sodium bicarbonate.

要 約

pHを酸性とした状態で加熱殺菌し冷却後、無菌的にアルカリ溶液でpHを元の値に戻し無菌充填する、分離殺菌法（SSA法）で容器詰煎茶飲料を製造する場合を想定し、殺菌および調合工程をシミュレーションして、煎茶飲料中の天然型カテキン類の変化を調べた。

1. pHをL-アスコルビン酸で酸性とすることで、加熱殺菌中の天然型カテキン類の減少を防

ぐことができた。

2. SSA 法では、加熱殺菌条件を変更しても、天然型カテキン類に影響を与えることはなく、渋み・苦みのバランスも崩れることはなかった。
3. 現在市販されている如何なる容器詰煎茶飲料よりも、天然型カテキン類の残存率が高く、天然型カテキン類（天然型ポリフェノール類）の残存性を強調した製品の開発が可能となった。

文 献

- 1) 小松美博, 末松伸一, 久延義弘, 西郷英昭, 松田良子, 原 京子: 東洋食品工業短期大学・東洋食品研究所研究報告書, **20**, 89-96 (1994).
- 2) 寺田志保子, 前田有美恵, 増井俊夫, 鈴木裕介, 伊奈和夫: 日本食品工業学会誌, **34**, 20-27 (1987).
- 3) 西條了康, 武田善行: 日本食品科学工学会誌, **46**, 138-147 (1999).