

博士論文

飲料の選択的カフェイン吸着技術

に関する研究

—吸着剤による飲料中のカフェイン除去と飲料品質の両立—

塩野 貴史

目次

第1章 序論	1
1. はじめに.....	2
2. カフェインについて	4
3. 従来のカフェイン除去技術について	5
4. 吸着剤（モンモリロナイト）について	8
5. 本研究の目的と構成	10
第2章 カフェインの生理作用	11
1. はじめに.....	12
2. カフェインの吸収・代謝	13
3. カフェインの作用機序と生理作用	14
4. 飲料中のカフェイン除去による期待効果	16
第3章 モンモリロナイトの飲料中におけるカフェイン吸着特性解析.....	17
1. 要約	18
2. はじめに	19
3. 飲料中におけるカフェイン吸着速度解析	20
4. 飲料中におけるカフェイン吸着の選択性に関する解析	29
5. 考察	43
第4章 接触条件がモンモリロナイトへのカフェイン吸着と飲料品質に及ぼす影響 ...	47
1. 要約	48
2. はじめに	49
3. モンモリロナイトと飲料の接触条件がカフェイン吸着特性に及ぼす影響	50
4. モンモリロナイトと飲料の接触条件が茶飲料の品質に及ぼす影響	54
5. 考察	61

第5章 モンモリロナイトによるカフェイン除去技術の汎用性評価	63
1. 要約	64
2. はじめに	65
3. モンモリロナイトへのカフェイン吸着における茶種の違いが及ぼす影響	66
4. モンモリロナイトへのカフェイン吸着におけるコーヒー豆の違いが及ぼす影響...	70
5. 考察	78
第6章 モンモリロナイトの改質がカフェイン吸着と飲料品質に及ぼす影響	81
1. 要約	82
2. はじめに	83
3. モンモリロナイトのイオン置換処理がカフェイン吸着と飲料品質に及ぼす影響...	84
4. 考察	95
第7章 結論	99
1. 本研究の総括	100
2. 本研究成果の活用	103
3. 今後の展望	104
参考文献.....	105
謝辞	121
発表論文・業績	122

第 1 章

序論

第1章 序論

1. はじめに

茶やコーヒーなどの嗜好飲料は日常の食生活に密着した飲みものとして世界中で広く飲用されている。茶は *Camellia sinensis* の葉を原料として製造された茶葉を湯で抽出した飲料である。茶葉は萎凋や発酵などの製造工程の違いによって緑茶や烏龍茶、紅茶などに分類され、主に茶葉や容器詰め飲料、インスタントティーなどの形態で流通しており、その製造量は 2013 年に 500 万トンに達している[1]。コーヒーは *Coffea arabica* や *Coffea canephora*、*Coffea liberica* の種子を原料として製造されたコーヒー豆を挽いて、湯で抽出した飲料である。コーヒー豆は主に中南米（ブラジル、コロンビア、グアテマラなど）、アフリカ（エチオピア、タンザニア、ケニアなど）およびアジア（インドネシア、ベトナムなど）で製造され、生豆および焙煎豆が世界中に流通しており、その消費量は 2015 年に 600 万トンに達している[2]。

茶やコーヒーは嗜好飲料として、食品としての一次機能である栄養機能よりも二次機能である香味や食感、外観などの感覚的機能が重視されてきた。近年、茶やコーヒーに含まれるポリフェノールなどの成分に対して、三次機能である生理機能に注目が寄せられている。茶にはカテキン類やテアフラビン類、テアルビジンなどのポリフェノールが含まれることが知られており[3,4]、茶ポリフェノールによる抗酸化作用[5]や抗菌作用[6]、抗アレルギー作用[7,8]、血糖低下作用[9,10]、肥満抑制作用[11-13]など多様な健康機能が報告されている。コーヒーには主要なポリフェノール類としてクロロゲン酸類が含まれており、クロロゲン酸類としてはカフェオイルキナ酸類(CQAs)、フェルロイルキナ酸類(FQAs)、ジクロロゲン酸類(diCQAs)などが知られている[14]。その中でも、CQAs では抗酸化作用[15]や血糖低下作用[16]、末梢内皮機能改善[17]、肥満抑制作用[18]、HIV-1 インテグラーゼ阻害作用[19]などの生理機能が報告されている。

しかし、茶やコーヒーにはポリフェノール類以外にも生理作用を示すカフェインが含まれており、その機能にはポジティブな面とネガティブな面があることが指摘されている。近年、カフェイン製剤やエナジードリンクなどの普及に伴い、妊婦や子供のカフェイン摂取量について欧州食品安全機関(EFSA)やカナダ保健省などの海外公的機関がカフェイン摂取量の目安を示しており、日本国内でも厚生労働省が「健康づくりのための睡眠指針2014」の中で就寝前のカフェイン摂取を控えることを推奨している。さらに、2017年に農林水産省、厚生労働省、消費者庁および全国清涼飲料工業会から相次いで「カフェイン

の過剰摂取に対する注意」が発信されるなど、飲用シーンや体質・体調に応じてカフェイン摂取量を調節したいという社会的ニーズが高まっている。

このような社会的ニーズに対して「デカフェ (DECAF=decaffeinated の略)」と呼ばれるカフェインを除去した飲料が選択肢として提供されてきたが、カフェイン除去とおいしさや外観といった飲料品質の両立は困難と考えられてきた。そこで、本研究では飲料の選択的カフェイン吸着技術に着目し、吸着剤による飲料中のカフェイン除去と飲料品質の両立に向けて、飲料中のカフェイン吸着における選択性と汎用性評価および吸着剤の改質について、それぞれ詳細な検討を行った。本章では、カフェインおよび従来のカフェイン除去技術、吸着剤に関する先行知見と本研究の目的と本論文の構成について述べる。

2. カフェインについて

カフェインはメチルキサンチン類に分類されるプリンアルカロイドであり、茶葉やコーヒー豆、カカオ豆などの天然植物に含まれる食品成分である。カフェインは1819年にドイツの化学者 F.F.ルンゲによってコーヒー豆から単離された[20]。カフェインの構造はキサンチン骨格にメチル基が3つ結合したものであり、茶葉やコーヒー豆では主なメチルキサンチン類がカフェインであるのに対し、カカオ豆ではメチル基が2つ結合したテオブロミンが主なメチルキサンチン類である (Fig. 1-1)。植物中では *de novo* 経路で生成したイノシン 5'-リン酸 (IMP) からキサントシン 5'-リン酸 (XMP) を経てキサントシンが生成する。その後、キサントシン→7-メチルキサントシン→7-メチルキサンチン→テオブロミン→カフェインという生合成経路で生成することが報告されている[21]。

カフェインは茶葉中に 2~5%[22]、コーヒー豆中には 1.1~2.5%[23]含まれており、香りはない (無臭) が苦味を有している。飲料におけるカフェイン含有量は、原料に含まれるカフェイン量と飲料における原料の使用量や抽出条件によって変動するが、文科省の発行する日本食品標準成分表では、緑茶および烏龍茶浸出液のカフェイン含有量が 200 mg/L、紅茶浸出液が 300 mg/L、コーヒー浸出液が 600 mg/L と示されている[24]。日本人のカフェイン摂取量は、1日あたり成人女性が 256 mg、男性が 268 mg であり、摂取源としては性別に依らず茶 (日本茶・中国茶、紅茶) が約半分、コーヒーが約半分と報告されている[25]。一方、米国人学生を対象にした調査では、1日あたりのカフェイン摂取量は女子学生が 425 mg (3日間で 1,274 mg)、男子学生が 383 mg (3日間で 1,150 mg) であり、摂取源としてはコーヒーが最も多く 76~79%で、次いで茶が 9.7~9.9%と報告されており[26]、カフェイン摂取量と摂取源は国や飲料文化によって異なると考えられる。

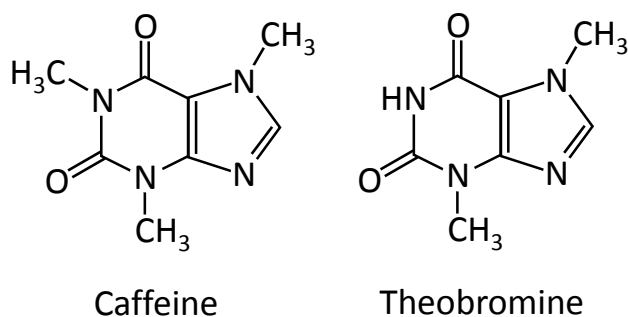


Fig. 1-1 Major methylxanthines in beverages and foods.

3. 従来のカフェイン除去技術について

「デカフェ (DECAF=decaffeinated の略)」と呼ばれるカフェインを除去した飲料を製造するにあたり、炭酸飲料やエナジードリンクなどのカフェイン含有飲料は調合原料にカフェインを添加しないという方法で解決できるが、茶やコーヒーのようなカフェインを含む植物原料を使用する飲料では何らかのカフェイン除去工程が必要となる。飲料中のカフェインを除去する方法としては、大きく以下の3種類に分類される (Fig. 1-2)。

- ①原料からのカフェイン溶出
- ②抽出液からのカフェイン除去
- ③カフェインレス品種の育種

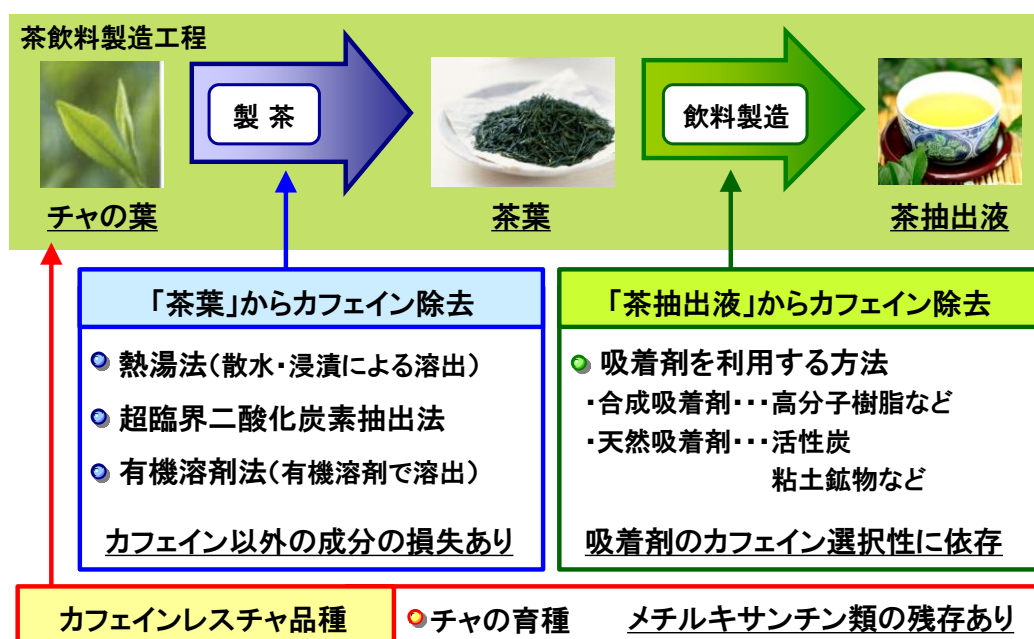


Fig. 1-2 Classification of decaffeination technologies for decaffeinated tea beverages.

従来のカフェイン除去技術として一般的な方法が原料からのカフェイン溶出であり、低カフェイン茶やカフェインレスコーヒーでは、原料である茶葉やコーヒー生豆からカフェインを溶出させる方法が用いられてきた[27,28]。溶出溶媒としては、湯や超臨界二酸化炭素、有機溶剤などを用いる方法が知られているが、緑茶などの不発酵茶では湯を用いる方法[29]が主に用いられ、酵素失活(殺青と呼ぶ)と兼ねて熱湯散水もしくは熱湯浸漬によって茶葉からカフェインを溶出させることでカフェイン除去が行われる (Fig. 1-3)。しかし、熱湯によるカフェイン除去技術ではカフェイン除去率は50~70%程度に留まる。

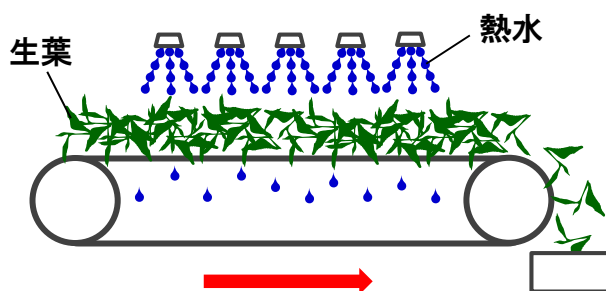


Fig. 1-3 Decaffeination process of tea leaves using hot water.

紅茶などの発酵茶では、製茶工程中に茶葉中の酸化酵素を活用した萎凋・発酵工程があるため、製茶後に超臨界二酸化炭素を用いる方法[30-32]が主に用いられ、有機溶媒を用いる方法[33]も報告されている。コーヒーでは、生豆からのカフェイン溶出方法として、ベンゼンやクロロホルム、ジクロロメタンなどの有機溶媒を用いる方法[34,35]が報告されているが、有機溶媒が残存することによる安全性の課題などがあり、水処理法（ウォータープロセス）および超臨界二酸化炭素抽出法が主に用いられている[28,36-37]。

抽出液からのカフェイン除去には吸着剤が用いられ、抽出液中のカフェインが吸着剤へ吸着されることによってカフェイン除去が行われる（Fig. 1-4）。抽出液における吸着剤のカフェイン吸着特性は、吸着剤の選択性によって異なり、茶抽出液におけるカフェイン吸着では活性炭やリグノセルロース、高分子樹脂を用いた方法[38-42]が、コーヒー抽出液におけるカフェイン吸着では活性炭などを用いた方法[43]が報告されている。

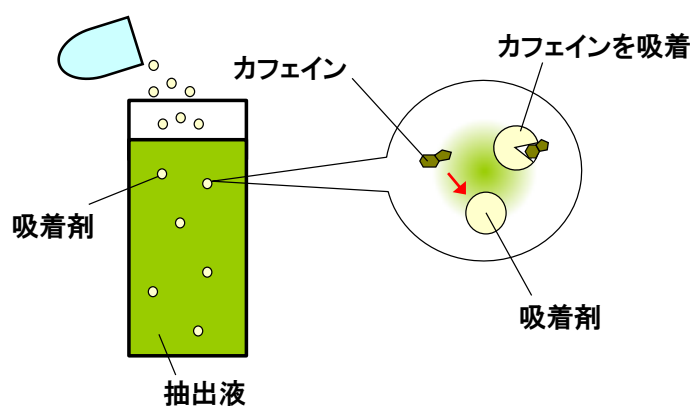


Fig. 1-4 Decaffeination of tea extracts using adsorbent.

しかしながら、従来の技術であるカフェイン溶出法ではカフェインのみならず香気成分やポリフェノール類などの呈味や機能性に関わる成分も溶出してしまう[44-47]という課題や、原料処理時の加熱によって褐変が進行し抽出液の液色が悪化するという外観品質上の課題、高額な設備を要するという加工費用の課題も有しており、カフェイン除去と飲料としての品質（香味、外観）を両立でき、かつ汎用性の高い技術が求められている。

将来的に活用が期待される技術としてはカフェインを含まないチャやコーヒー品種の育種が挙げられる。先行研究によって、チャのカフェイン合成酵素遺伝子配列が決定しており、メチル化酵素に関連する遺伝子の発現制御によってカフェインフリーの植物ができると考えられている[48,49]。これまでにチャ (*C. sinensis*) の近縁種 (*C. taliensis*) などカフェインのない品種は確認されているが、メチル基の1つ少ないテオブロミン高含有であることが報告されており[50]、テオブロミンやテオフィリンといったジメチルキサンチン類はカフェインと類似した生理作用を示す[51]ことから、メチルキサンチン類を含まないチャやコーヒーの育種が望まれている。

4. 吸着剤（モンモリロナイト）について

モンモリロナイトおよび活性炭は、食品添加物として食品添加物公定書に記載されている厚労省に認可された食品製造用加工助剤である。モンモリロナイトは天然に採掘される粘土鉱物を乾燥・粉砕したものであり、活性炭は石炭や木質、果実殻の炭化物を水蒸気などで賦活したものである。どちらも天然物を原料に製造される吸着剤であり、高い安全性と広い食品適性から食品産業での使用実績も多い加工助剤として知られている。本研究では、食品製造に適用可能な実用性という観点で、食品添加物として認可されている素材を広くスクリーニングし、カフェイン吸着能を有していたモンモリロナイトと活性炭を選抜し、詳細に比較評価するとともに、モンモリロナイトについて詳細に検討することとした。

モンモリロナイトは、スメクタイト系の層状粘土鉱物であり、天然から採掘される酸性白土およびベントナイトの主成分である[52]。酸性白土は、スメクタイト系粘土鉱物が風化作用を受けて交換性陽イオンがプロトン化（H型）したもので、ベントナイトは交換性陽イオンがカルシウム（Ca型）またはナトリウム（Na型）のものである。モンモリロナイトは2：1型鉱物に分類され、その化学構造は2枚のケイ酸四面体シートと1枚のアルミナ八面体シートで形成される層状構造であり、3層を単位層とした厚さ約1 nmの板状結晶となる[53]。ケイ酸四面体の化学構造は $\text{Si}_4\text{O}_6(\text{OH})_4$ であり、アルミナ八面体の化学構造は $\text{Al}(\text{OH})_6$ である。モンモリロナイトは、両端のシリカ層に存在するケイ素が部分的にアルミニウムなどの3価の金属元素に、中央のアルミナ層に存在するアルミニウムの一部がマグネシウムや鉄などの2価の金属元素に置換される同形置換が生じており、それによって負電荷を帯びるという特徴を有している[54]。この電荷は永久電荷であり、静電的に安定な構造を取るために層間に交換性の陽イオンを保持している（Fig. 1-5）。

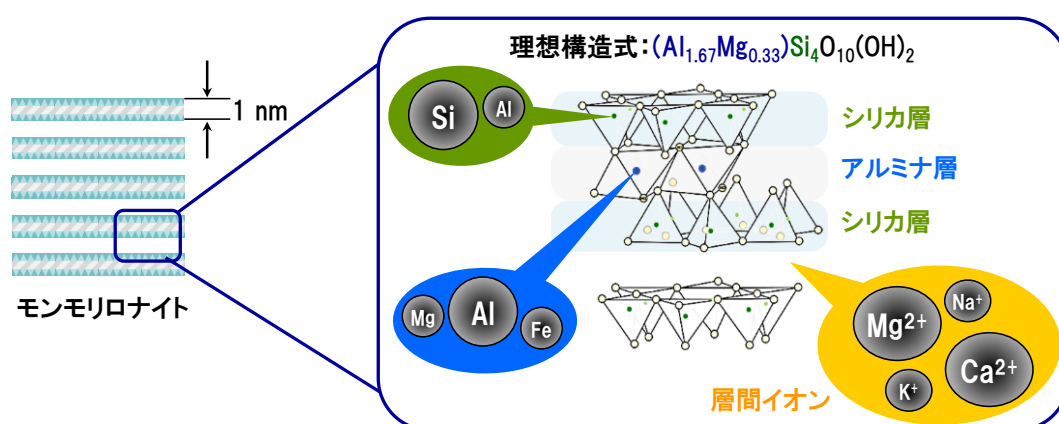


Fig. 1-5 Chemical structure of montmorillonite.

モンモリロナイトは、膨潤性や増粘性、吸着性、可塑性など多くの性質を持つことから、土木工業分野での活用を中心に、化粧品分野では賦形剤や増粘剤として[55]、石油・油脂工業分野では酸性白土を酸処理した活性白土が脱色用吸着剤として[56]、化学分野では触媒用粘土として[57]、農業分野では農薬用のキャリアーとして[58]、医療分野では外用薬の基剤や制酸剤および薬剤のキャリアーとして[59-61]、様々な分野でモンモリロナイトが活用されている。食品産業においても、油脂の脱色剤[62]や果汁およびワインの清澄化[63,64]などの用途で広く利用されている。

吸着剤としての利用については、モンモリロナイトは前述のとおり陽イオン交換性を有していることから、メチレンブルーやアルキルアンモニウムイオンのような陽イオン性有機化合物[65-67]やカドミウムやセシウムのような無機陽イオン[68-70]をイオン交換反応によって層間に吸着することが報告されている。また、3-アミノトリアゾールやベンゾイミダゾール殺菌剤のような非イオン性の有機化合物[71,72]を吸着することも報告されている。モンモリロナイトへの非イオン性の有機化合物の吸着は、層表面のシロキサン酸素との水素結合や層間イオンとのイオン-双極子相互作用が主な駆動力であると考えられている[73,74]。近年、モンモリロナイトと同じスメクタイト属に属するサポナイトがカフェインを吸着すること[75]が報告されており、筆者らの研究グループもカフェイン溶液中からのモンモリロナイトによるカフェイン除去について報告している[76]が、飲料中でのモンモリロナイトのカフェイン吸着特性やモンモリロナイト処理が飲料に及ぼす影響について詳細に調べた研究はまだない。

モンモリロナイトの改質については、層間イオンの交換による物性や吸着特性の改変が試みられてきた。先行研究では、モンモリロナイトの膨潤性は層間イオンに依存すること[77,78]や、無機陽イオンまたは陽イオン性有機化合物とのイオン交換による構造や吸着特性の変化[79,67]などが報告されているが、モンモリロナイトの層間イオンが飲料中のカフェイン吸着や飲料品質に及ぼす影響について詳細に調べた研究はまだない。以上より、モンモリロナイトを飲料中のカフェイン除去処理に活用することの実用性を高めるためにも、モンモリロナイトの改質によるカフェイン吸着量の向上や飲料品質に及ぼす影響に関する知見の蓄積が求められている。

5. 本研究の目的と構成

本研究では、飲料中のカフェイン除去と飲料品質の両立に向けた知見の獲得を目的として、吸着剤による飲料中のカフェイン吸着について、その選択性と汎用性を評価した。具体的には、天然の粘土鉱物であるモンモリロナイトのカフェイン吸着特性と飲料品質に及ぼす影響の評価、飲料の違いが及ぼす影響の評価を実施した。さらに、吸着剤の改質が飲料品質や吸着特性に及ぼす影響についても評価を実施した。

飲料の選択的カフェイン吸着技術に関する本研究の構成を Fig. 1-6 に示した。第1章では従来のカフェイン除去技術における課題と吸着剤の特徴を、第2章ではカフェインの生理作用を、先行研究を基に紹介した。第3章では、茶およびコーヒーにおけるカフェイン吸着の選択性について、モンモリロナイトと活性炭の吸着特性を比較した。第4章では、吸着剤との接触条件がカフェイン吸着特性と飲料の品質に及ぼす影響を評価した。第5章では、モンモリロナイトによるカフェイン吸着に対して、茶種およびコーヒー豆の違いが及ぼす影響を評価した。第6章では、モンモリロナイトの改質が飲料品質およびカフェイン吸着特性に及ぼす影響について、イオン置換処理の影響を評価した。最後に、第7章に本研究の結論を示した。

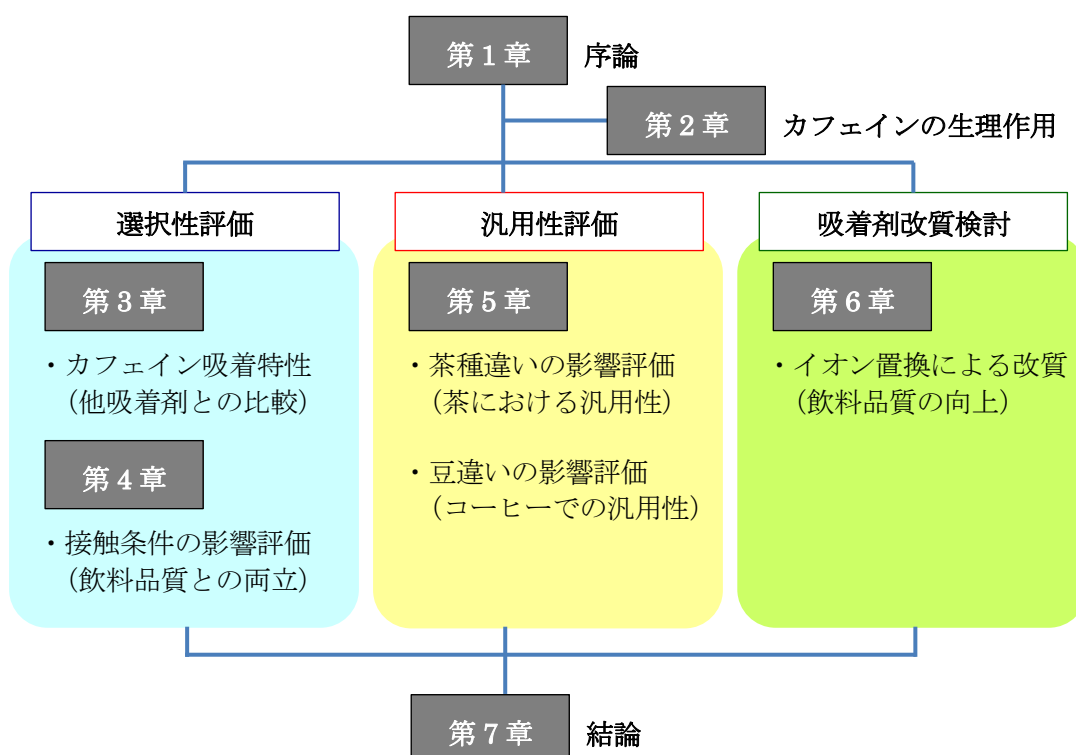


Fig. 1-6 Chapter of the study on decaffeination in beverages using natural adsorbent.

第2章

カフェインの生理作用

第2章 カフェインの生理作用

1. はじめに

カフェインは茶葉やコーヒー豆、カカオ豆などの天然植物に含まれる食品成分であり、茶やコーヒーなどの飲料、チョコレートなどの菓子類から日常的に摂取されている。これまでの長年の食経験から、茶やコーヒーの飲用およびチョコレートの喫食によるカフェインの摂取について、常識的な範疇で摂取している限り、生活上に大きなデメリットはないと考えられてきた。

しかし、近年、茶やコーヒー、チョコレートに含まれるポリフェノール類などの成分に対して、三次機能である生理機能に注目が寄せられており、肥満抑制作用や抗酸化作用などを期待してこれらの飲食物を大量に摂取することによる有効成分以外の成分による心身への影響が懸念されている。特にカフェインについては、中枢刺激作用による不眠や循環器系機能に対する作用による血圧上昇、利尿作用などが考えられ[80]、昨今のカフェイン製剤やエナジードリンクなどの普及に伴い、摂取源が茶やコーヒー、チョコレートなどに留まらないことから、カフェインの過剰摂取についてその影響が広く議論されている。日本でも厚生労働省が発表した「健康づくりのための睡眠指針 2014」の中で就寝前のカフェイン摂取を控えることを推奨しているだけでなく、2017年には「カフェインの過剰摂取に対する注意」が農林水産省、厚生労働省、消費者庁から相次いで発表されるなど、カフェイン摂取とその影響に対する関心が高まっている。

本研究は、このような社会的ニーズに対して嗜好性の高いデカフェ飲料を提供することを目指しており、飲料の選択的カフェイン吸着技術に着目し、吸着剤による飲料中のカフェイン除去と飲料品質の両立を目的としたものである。本章では、カフェインの吸収と代謝、および作用機序と生理作用に関する先行知見を紹介し、嗜好飲料中のカフェイン除去による期待効果について述べる。

2. カフェインの吸収・代謝

カフェインは水溶性であり、摂取後に速やかに胃腸から吸収される。経口摂取されたカフェインは、一部が胃粘膜から吸収されるが、大部分は小腸粘膜から吸収される[81]。吸収されたカフェインは血液に移行するが、最高血中濃度到達時間は30～120分と個人差がある[82]。カフェインは透過性が高く、吸収されたカフェインは血液-脳関門および血液-胎盤関門、血液-睾丸関門、血液-乳腺関門を容易に通過する[83,84]ことから、母親が摂取したカフェインは胎盤や母乳を介して胎児や乳児へ容易に移行すると考えられる。

カフェインの主要な代謝経路はN-脱メチル化および酸化反応であり、N-脱メチル化によりパラキサンチンやテオブロミン、テオフィリンなどのジメチルキサンチンへ、酸化によって1,3,7-トリメチル尿酸に代謝される[85] (Fig. 2-1)。N-脱メチル化は、7割以上が肝臓の代謝酵素チトクローム (CYP) 1A2の働きによるN-3脱メチル化であり、主要な代謝産物はパラキサンチンである。血中カフェインの半減期は個人差があり、成人で2～8時間であるが、妊娠中の女性ではエストロゲンなどの女性ホルモンがCYP1A2活性を抑制するため、半減期が6～16時間に延長する[86-90]。胎児や新生児はCYP1A2活性がほとんどなく、カフェインの半減期は50～103時間とされるが、出生後3～14か月で14時間となり、思春期から成人にかけて4～8時間になる[91-93]。したがって、カフェイン代謝機能の低い妊産婦や乳幼児は、摂取量に注意が必要であると考えられる。また、喫煙習慣がある者は非喫煙者よりもCYP1A2活性が高く、カフェイン代謝速度が速いことも報告されている[94,95]。

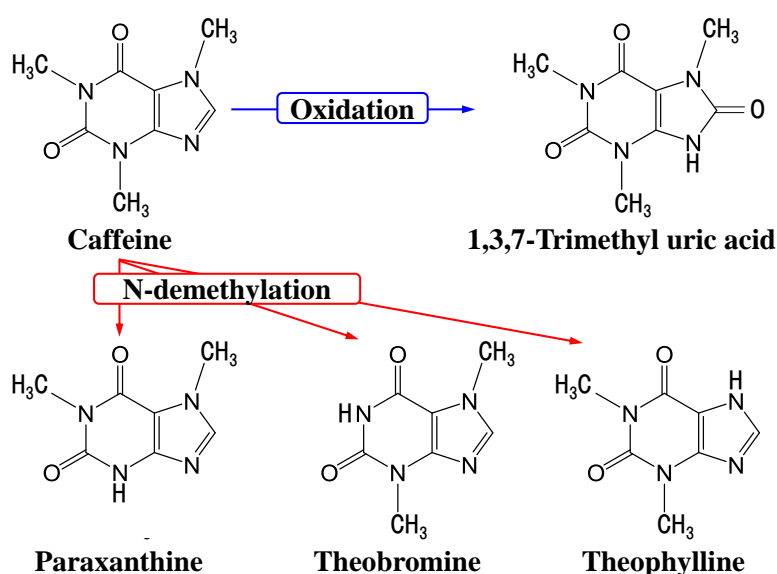


Fig. 2-1 Metabolism of caffeine.

3. カフェインの作用機序と生理作用

カフェインの作用機序として考えられているのは、アデノシン受容体の遮断とホスホジエステラーゼ活性の抑制であり、その中でも最も確実と言われているのがアデノシン受容体の遮断である。その他では、細胞内カルシウムの流入が挙げられるが、飲料から通常摂取する量の10~100倍程度を摂取しなければ効果を説明できないことから、現在は一般的なカフェインの効果には寄与していないと考えられている[96,97]。

アデノシンは抑制系神経伝達物質であり、アデノシンがアデノシン受容体に結合することで興奮性伝達物質のグルタミン酸やドーパミンなどの放出が抑制され、神経活動が安定化する。カフェインはその化学構造がアデノシンと類似しており、アデノシン受容体に対するアンタゴニストとして作用し、アデノシンの結合をブロックする (Fig. 2-2)。アデノシン受容体には4タイプ (A₁、A_{2A}、A_{2B}、A₃) あり、カフェインは中枢神経系のアデノシン A₁ および A_{2A} 受容体に作用する。カフェインの利尿作用は腎臓におけるアデノシン A₁ 受容体の遮断による尿細管再吸収の抑制、精神運動刺激作用はアデノシン A_{2A} 受容体の遮断によるグルタミン酸やドーパミン放出の促進によるものと考えられている[98,99]。

カフェインやテオフィリンなどのメチルキサンチン類は、神経細胞内でホスホジエステラーゼ (PDE) 活性を阻害することで、細胞内神経伝達物質の cAMP や cGMP の分解を抑制し、ATP や GTP の産生を減少させる。しかし、カフェインによる効果が出現するのは450 mg以上の大量摂取時であるため、日常生活のカフェイン摂取による効果を説明するには不十分であると考えられている。[100]。

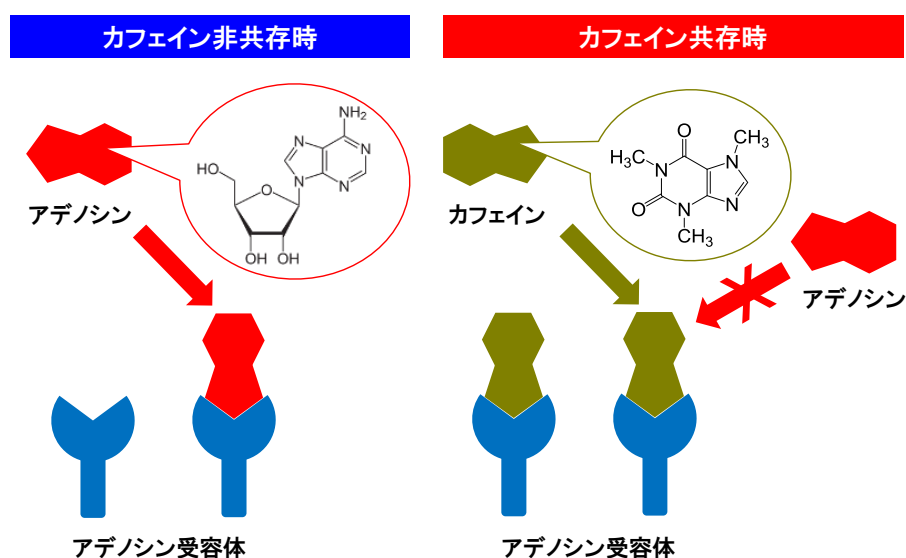


Fig. 2-2 Inhibition of adenosine receptor by caffeine.

カフェインは様々な生理作用を示すことが知られており、有益なものとして、中枢神経系への刺激作用による眠気や倦怠感の解消[101]や認知機能低下の抑制[102,103]、疲労軽減作用[104,105]、うつ病抑制[106]、平滑筋の弛緩作用および循環器系への刺激作用による気管支拡張作用や強心作用、血管拡張性および高血圧性頭痛の緩和[107]などが報告されており、カフェインおよび類似化合物のテオフィリンは医薬品としても用いられている。

一方、ネガティブな影響としては、中枢神経系への刺激作用による睡眠障害作用[108-110]や不安誘発[111,112]、循環器系への刺激作用による血圧上昇作用[113]や虚血性心疾患発症リスク[114]などが報告されており、その他に胎児の発達障害リスク[115]や骨密度の低下リスク[116]なども懸念されている。また、カフェイン摂取による血管拡張作用に起因する腎臓での血流量の増加に伴って糸球体濾過量が増し、尿量が増加するが、24時間尿量や血清ナトリウム・カリウムレベルに変化はなく[117]、水収支や電解質バランスに大きな影響はないと考えられている。

カフェインの一般的な急性作用としては、中枢神経系の刺激によるめまいや動悸、震え、消化管系の興奮状態による下痢や吐き気などがあるが、これらの生理作用の程度については年齢や性別、生活習慣による個人差が大きく、食品中のカフェインについて一日摂取許容量 (ADI) のような健康への悪影響がないと推定される摂取量は設定されていない[118]。海外では、特に妊婦や子供のカフェイン摂取量について、世界保健機関 (WHO) が「妊婦はコーヒーの摂取量を 3~4 杯/日にすべき」と 2001 年に公表しており、欧州食品安全機関 (EFSA) は 2015 年に公表した「カフェインの安全性に関する科学的意見書」の中で、習慣的カフェイン摂取量が成人は 400 mg/日以下、妊婦は 200 mg/日以下であれば、安全性の懸念は生じないとしている。また、英国食品基準庁 (FSA) は妊婦のカフェイン摂取量について上限を 200 mg/日とすることが望ましいと 2008 年に公表しており、カナダ保健省は 2006 年に悪影響のない最大摂取量として成人は 400 mg/日、妊婦は 300 mg/日、12 歳以下の子供は 2.5 mg/kg/日と公表している[118]。日本国内では、公的機関によるカフェイン摂取量に関する摂取基準は公表されていないが、成人は 300 mg/日以下、妊婦は 200 mg/日以下 (5mg/kg/日以下) が望ましいという報告があり[80,119]、厚生労働省が 2014 年に公表した「健康づくりのための睡眠指針 2014」の中で就寝前のカフェイン摂取を控えることを推奨している。

4. 飲料中のカフェイン除去による期待効果

飲料中のカフェイン除去による期待効果としては、カフェインのネガティブな影響の緩和および飲料中成分の生理機能の効果的な活用が挙げられる。

カフェインのネガティブな影響の緩和については、中枢神経系への刺激作用の緩和による睡眠阻害の抑制および循環器系への刺激作用緩和による血圧上昇の抑制、胎児の発達障害リスクの低減などが考えられる。先行研究では、カフェインレスコーヒーを用いたヒト試験での覚醒作用抑制[120]やカフェインレス緑茶を用いた高血圧自然発症ラット（SHR）での試験による血圧上昇抑制[121]などが報告されており、飲料中のカフェイン除去によりこれらに代表されるカフェインのネガティブな影響を緩和できることが期待される。

飲料中成分の生理機能の効果的な活用については、茶に含まれるカテキン類やテアフラビン類、テアルビジンおよびコーヒーに含まれるクロロゲン酸類に代表されるポリフェノール類、またはテアニンなどのポリフェノール以外の成分に期待される抗酸化作用や抗肥満作用、抗アレルギー作用、抗ストレス作用などの生理機能をカフェインによる生理作用の影響を受けずに活用できることが考えられる。先行研究では、カフェインレス緑茶を用いた *in vitro* での抗アレルギー作用[122]やヒト試験での抗ストレス作用[123]などが報告されており、飲料中のカフェイン除去により、カフェインの生理作用や過剰摂取による急性作用の影響を懸念することなく、飲料中成分の生理機能を活用できることが期待される。最後に、カフェインの示す生理作用には有益なものも知られており、カフェインは必ずしも悪者ではなく、本研究は嗜好飲料としての茶やコーヒーの飲用やその効能を否定するものではないことは強調しておく。大切なことは、カフェインの生理作用を正しく理解して、飲用シーンや自身の体質に合わせてカフェイン摂取量を調節することである。本研究で得られた知見を活用し、高品質なデカフェ飲料が実現できることで、妊産婦や高齢者などを中心に、カフェインを理由に茶やコーヒーの飲用を避けていた人々に対し、「カフェインを気にせずに茶やコーヒーの飲用を楽しむ」という新たな選択肢が提供され、多くの人々が安心して茶やコーヒーを楽しめる日常が広がっていくことで、カフェイン摂取量の調節という社会的ニーズへの貢献が期待される。

第 3 章

モンモリロナイトの飲料中における
カフェイン吸着特性解析

第3章 モンモリロナイトの飲料中におけるカフェイン吸着特性解析

1. 要約

本章では、飲料中のカフェイン除去と嗜好飲料としての良好な香味の両立に向けた吸着剤評価を目的に、モンモリロナイトと活性炭の飲料中における吸着特性について、茶およびコーヒー中のカフェイン吸着における吸着速度と選択性を比較した。

モンモリロナイトと活性炭のカフェイン吸着速度について、カフェイン溶液および緑茶抽出液、コーヒー抽出液におけるカフェイン吸着速度データを用いて解析したところ、いずれの吸着剤でも溶液の種類に依らず、擬二次反応速度式 (Pseudo second order model) と良好なフィッティングを示した。また、カフェイン溶液、緑茶およびコーヒー抽出液のいずれにおいても、モンモリロナイトへのカフェイン吸着は速やかに進行したのに対し、活性炭では緑茶およびコーヒー抽出液ではカフェイン吸着速度は顕著に低下した。したがって、モンモリロナイトおよび活性炭へのカフェイン吸着は擬二次反応モデルで議論することが可能であり、活性炭と比較してモンモリロナイトは飲料中においても迅速にカフェインを吸着できると考えられた。

モンモリロナイトと活性炭のカフェイン吸着における選択性について、緑茶抽出液およびコーヒー抽出液における吸着特性を比較したところ、モンモリロナイトではカフェイン除去率の上昇に伴うカテキン類およびクロロゲン酸類の吸着はほとんど確認されなかったのに対し、活性炭ではカフェイン除去率の上昇に伴ってカテキン類およびクロロゲン酸類の吸着が確認された。また、カフェイン溶液におけるカフェイン吸着量と比較して、モンモリロナイトでは緑茶およびコーヒー抽出液での減少が限定的であったのに対し、活性炭ではいずれの抽出液においても顕著に減少していたことから、モンモリロナイトは活性炭と比較して、飲料中のカフェイン吸着における選択性が高いと考えられた。

以上より、モンモリロナイトによるカフェイン吸着は茶やコーヒーにおいても迅速に進行し、飲料中のカフェイン吸着における高い選択性を有していることが示唆された。

2. はじめに

飲料中のカフェイン除去と嗜好飲料としての良好な香味を両立するには、カフェインを吸着しながら他の成分を吸着しないという吸着剤の選択性が重要と考えられる。本章では、高い安全性と広い食品適性が求められる食品製造の領域における実用性という観点で、食品添加物として認可されており、食品産業での使用実績も多い加工助剤を広くスクリーニングし、その中でカフェイン除去能を有していたモンモリロナイトと活性炭を選抜し、飲料中におけるカフェイン吸着特性について比較評価した。

モンモリロナイトは天然に採掘される粘土鉱物を乾燥・粉碎したものであり、モンモリロナイトを主成分とした酸性白土や活性白土、ベントナイトなどが食用油の精製や濾過助剤、澱下げなどの用途で用いられている。活性炭は石炭や木質、果実殻の炭化物を水蒸気などで賦活したもので、浄水器や食品の脱色・脱臭などの用途で用いられている。

飲料中における吸着特性については、モンモリロナイトと活性炭の茶およびコーヒーにおけるカフェイン吸着速度を比較するとともに、擬一次反応速度式 (Pseudo first order model) および擬二次反応速度式 (Pseudo second order model) へのフィッティングを行い、吸着速度についての解析および考察を行った。また、モンモリロナイトと活性炭の茶およびコーヒーにおけるカフェイン吸着の選択性を評価するために、飲料中でのカフェイン吸着等温線を比較するとともに、Freundlich および Langmuir の吸着等温式へのフィッティングを行った。さらに、茶およびコーヒーの重要な呈味成分であるポリフェノール類 (茶：カテキン類、コーヒー：クロロゲン酸類) を指標に飲料中のカフェイン吸着特性を比較し、飲料中のカフェイン吸着における選択性を評価した。

3. 飲料中におけるカフェイン吸着速度解析

3.1. 実験方法

1) 材料

吸着剤として、食品添加物として市販されているモンモリロナイト（ミズライト：水澤化学工業）および水蒸気賦活したヤシ殻活性炭（FP-3：大阪ガスケミカル）を、飲料原料として、市販の緑茶葉（煎茶：静岡産）およびコーヒー豆（アラビカ種：ブラジル産、L19）を用いた。また、カフェイン溶液の調製およびカフェイン分析の標品にはカフェイン試薬（和光純薬工業）を用いた。

2) 抽出液の調製

茶抽出液は、緑茶葉 100 g に 80°C の湯 1,000 mL を添加し、8 分抽出して緑茶抽出液を調製した（カフェイン濃度 8.8 mmol/L）。吸着試験用に緑茶抽出液を希釈し（カフェイン濃度 5.2 mmol/L）、茶抽出液との比較用に、カフェイン濃度 5.2 mmol/L となるようにカフェイン試薬を溶解し、カフェイン溶液を調製した。

コーヒー抽出液は、挽いたコーヒー豆 100 g に 98°C の湯を注ぎ、800 g のコーヒー抽出液を調製した（カフェイン濃度 6.2 mmol/L）。コーヒー抽出液との比較用に、カフェイン濃度 6.2 mmol/L となるようにカフェイン試薬を溶解し、カフェイン溶液を調製した。

3) 吸着試験

緑茶抽出液 40 mL に対し、モンモリロナイト 800 mg (2 wt%) もしくは活性炭 120 mg (0.3 wt%) を添加し、25°C で接触（振とう速度：60 rpm）させた。2～240 分接触後に抽出液を回収してカフェイン濃度を測定した。カフェイン溶液についても、同様の操作を行った。

コーヒー抽出液 40 mL に対し、モンモリロナイト 1,600 mg (4 wt%) もしくは活性炭 240 mg (0.6 wt%) を添加し、25°C で接触（振とう速度：60 rpm）させた。5～240 分接触後に抽出液を回収してカフェイン濃度を測定した。カフェイン溶液についても、同様の操作を行った。

4) カフェイン測定

緑茶抽出液におけるカフェイン濃度の測定は、以下の方法で行った。前処理として、メンブレンフィルターで濾過し (0.2 μm 、PTFE)、HPLC (LC-2000Plus、日本分光) で分析した。カラムにはカプセルパック C18 UG120 (4.6 mm \times 150 mm、3 μm 、資生堂) を用い、カラム温度 40 $^{\circ}\text{C}$ 、流量 0.9 mL/min とした。移動相には移動相 A (水/アセトニトリル/リン酸 : 1,000/25/1.0、v/v)、移動相 B (水/メタノール/アセトニトリル/リン酸 : 600/300/15/0.6、v/v) および移動相 C (メタノール/アセトニトリル/リン酸 : 800/200/1.0、v/v) を用い、以下のグラジエント条件で分離し、UV 検出器 (カフェイン検出 : 275 nm) でカフェインを検出した。

0-3 min	: 移動相 A	94%、	移動相 B	6%
3-8 min	: 移動相 A	94% \rightarrow 50%、	移動相 B	6% \rightarrow 50%
8-22 min	: 移動相 A	50% \rightarrow 0%、	移動相 B	50% \rightarrow 100%
22-24 min	: 移動相 B	100% \rightarrow 0%、	移動相 C	0% \rightarrow 100%
24-29 min	: 移動相 C	100%		

コーヒー抽出液におけるカフェイン濃度の測定は、以下の方法で行った。前処理として、メンブレンフィルターで濾過し (0.2 μm 、PTFE)、HPLC (LC-2000Plus、日本分光) で分析した。カラムには Develosil C30 UG5 (4.6 mm \times 150 mm、5 μm 、野村化学) を用い、カラム温度 40 $^{\circ}\text{C}$ 、流量 1.0 mL/min とした。移動相には移動相 A (水/ギ酸 : 1,000/1.0、v/v) および移動相 B (メタノール/ギ酸 : 1,000/1.0、v/v) を用い、以下のグラジエント条件で分離し、UV 検出器 (カフェイン検出 : 275 nm) でカフェインを検出した。

0-12 min	: 移動相 A	90% \rightarrow 84%、	移動相 B	10% \rightarrow 16%
12-22 min	: 移動相 A	84%、	移動相 B	16%
22-40 min	: 移動相 A	84% \rightarrow 75%、	移動相 B	16% \rightarrow 25%
40-75 min	: 移動相 A	75% \rightarrow 50%、	移動相 B	25% \rightarrow 50%
24-29 min	: 移動相 C	100%		

5) 吸着速度解析

測定したカフェイン濃度より、以下の式 (Eq. 1) でカフェイン吸着量 (Q_t) を算出した。

$$Q_t = V \times (C_0 - C_t) / M \quad (\text{Eq. 1})$$

V : 容積

C_0 : 初期カフェイン濃度

C_t : t 分接触後のカフェイン濃度

M : 吸着剤重量

上記で算出した各接触時間におけるカフェイン吸着量を用いて、擬一次反応速度式 (Pseudo first order model) および擬二次反応速度式 (Pseudo second order model) へのフィッティングを行った。

擬一次反応速度式として、以下の式 (Eq. 2) を用いた[124]。

$$\ln(Q_e - Q_t) = \ln(Q_e) - K_1 \times t \quad (\text{Eq. 2})$$

Q_e : 平衡カフェイン吸着量

Q_t : t 分接触後のカフェイン吸着量

K_1 : 吸着速度定数

擬二次反応速度式として、以下の式 (Eq. 3) を用いた[125]。

$$t/Q_t = 1/(K_2 \times Q_e^2) + t/Q_e \quad (\text{Eq. 3})$$

Q_e : 平衡カフェイン吸着量

Q_t : t 分接触後のカフェイン吸着量

K_2 : 吸着速度定数

3.2. 実験結果

1) 茶におけるカフェイン吸着速度

カフェイン溶液および緑茶抽出液におけるモンモリロナイトと活性炭のカフェイン吸着速度を評価した。モンモリロナイトへのカフェイン吸着は速やかに進行し、カフェイン溶液では5分以内に、緑茶抽出液では20分以内に平衡吸着量の99%が吸着した (Fig. 3-1a)。一方、活性炭へのカフェイン吸着はカフェイン溶液では20分以内に平衡に達したのに対し、緑茶抽出液ではカフェイン吸着速度が低下し、平衡までに240分以上を要した (Fig. 3-1b)。また、緑茶抽出液における平衡吸着量について、モンモリロナイトではカフェイン溶液における吸着量の85.4%であったが、活性炭では67.3%であった (Table 3-1)。この結果から、モンモリロナイトは活性炭に比べて茶抽出液におけるカフェイン吸着速度が速く、茶抽出液においても迅速にカフェインを吸着できることが示唆された。活性炭におけるカフェイン吸着速度の低下は、茶抽出液中のカフェイン以外の成分も吸着するために吸着部位における拮抗が起きていると考えられた。

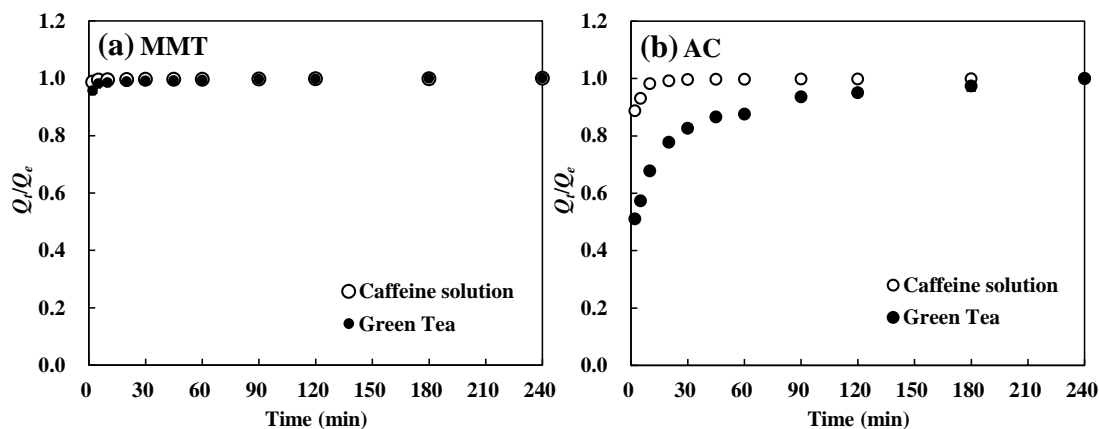


Fig. 3-1 Caffeine adsorption kinetics curves of montmorillonite and activated carbon in caffeine solution and green tea extract. (a) Montmorillonite (MMT); (b) activated carbon (AC). Open circle, caffeine solution; closed circle, green tea. The bars indicate standard deviation (n=3).

Table 3-1 Adsorbed caffeine after decaffeination by montmorillonite and activated carbon in caffeine solution and green tea extract.

	Montmorillonite		Activated carbon	
	Caf. solution	Green tea ext.	Caf. solution	Green tea ext.
(min)	(mmol/g)	(mmol/g)	(mmol/g)	(mmol/g)
2	0.222±0.0004	0.185±0.0017	1.550±0.0079	0.600±0.0048
5	0.224±0.0028	0.189±0.0002	1.626±0.0036	0.674±0.0027
10	0.224±0.0005	0.190±0.0001	1.715±0.0038	0.797±0.0097
20	0.224±0.0008	0.191±0.0002	1.733±0.0034	0.915±0.0128
30	0.225±0.0002	0.191±0.0007	1.740±0.0009	0.972±0.0105
45	0.225±0.0002	0.191±0.0007	1.741±0.0000	1.018±0.0126
60	0.225±0.0002	0.192±0.0001	1.742±0.0004	1.030±0.0089
90	0.225±0.0002	0.192±0.0006	1.743±0.0003	1.101±0.0085
120	0.225±0.0003	0.192±0.0010	1.744±0.0003	1.118±0.0060
180	0.225±0.0006	0.193±0.0002	1.745±0.0005	1.145±0.0155
240	0.226±0.0025	0.193±0.0002	1.747±0.0012	1.176±0.0114

Values are presented as the mean ± standard deviation of triplicate measurements.

2) コーヒーにおけるカフェイン吸着速度

カフェイン溶液およびコーヒー抽出液におけるモンモリロナイトと活性炭のカフェイン吸着速度を評価した。モンモリロナイトへのカフェイン吸着は速やかに進行し、カフェイン溶液およびコーヒー抽出液のいずれにおいても5分以内に平衡に達した (Fig. 3-2a)。一方、活性炭へのカフェイン吸着はカフェイン溶液では5分以内に平衡に達したのに対し、コーヒー抽出液ではカフェイン吸着速度が低下し、平衡までに240分以上を要した (Fig. 3-2b)。この結果から、コーヒー抽出液におけるカフェイン吸着速度は活性炭に比べてモンモリロナイトの方が顕著に速いことが示唆された。茶抽出液での挙動と同様に、活性炭におけるカフェイン吸着速度の低下は、コーヒー抽出液中のカフェイン以外の成分の吸着による吸着部位における拮抗が起きていると考えられた。

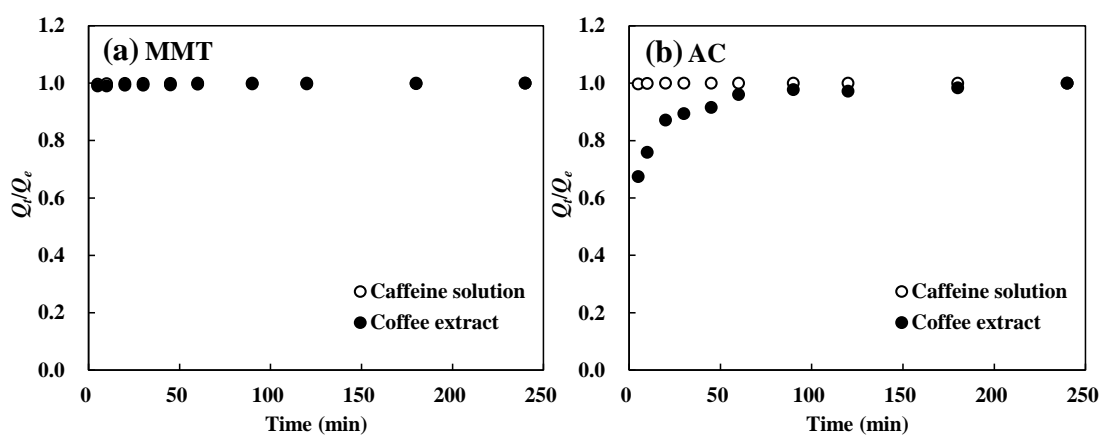


Fig. 3-2 Caffeine adsorption kinetic curves of montmorillonite and activated carbon in caffeine solution and coffee extract. (a) Montmorillonite (MMT); (b) activated carbon (AC). Open circle, caffeine solution; closed circle, coffee extract.

3) カフェイン吸着速度解析

カフェイン溶液および緑茶抽出液におけるモンモリロナイトと活性炭のカフェイン吸着速度データを用いて、擬一次反応速度式 (Pseudo first order model) および擬二次反応速度式 (Pseudo second order model) へのフィッティングを行った。いずれの溶液、吸着剤においても、カフェイン吸着量 (Q_e) の実験値と各モデルにおける算出値を比較したところ、擬一次反応速度式とはほとんどフィッティングしなかったが、擬二次反応速度式とは良好なフィッティングを示し、相関係数は $r^2 > 0.999$ であった (Table 3-2)。

また、カフェイン溶液およびコーヒー抽出液におけるモンモリロナイトと活性炭のカフェイン吸着速度データについても擬二次反応速度式へのフィッティングを行った。その結果、いずれの溶液、吸着剤においても、カフェイン吸着量の実験値と擬二次反応速度式で算出した値が良好なフィッティングを示し、相関係数は $r^2 > 0.999$ であった (Table 3-3)。

この結果より、モンモリロナイトおよび活性炭へのカフェイン吸着は茶抽出液においてもコーヒー抽出液においても擬二次反応速度式に従うことが示唆された。また、カフェイン溶液と飲料における擬二次反応速度定数 (K_2) が茶ではモンモリロナイトが半減程度である ($40.7 \rightarrow 20.1 \text{ g/mmol/min}$) のに対し、活性炭では約 17 分の 1 ($2.48 \rightarrow 0.14 \text{ g/mmol/min}$) となり、コーヒーではモンモリロナイトが約 6 分の 1 程度である ($220.4 \rightarrow 37.7 \text{ g/mmol/min}$) のに対し、活性炭では約 238 分の 1 ($76.2 \rightarrow 0.32 \text{ g/mmol/min}$) となることから、茶およびコーヒー抽出液中のカフェイン吸着において、モンモリロナイトは活性炭に比べて高い選択性を有していると考えられた。

Table 3-2 Kinetic parameters of caffeine adsorption by montmorillonite and activated carbon in caffeine solution and green tea extract.

	Montmorillonite		Activated carbon	
	Caf. solution	Green tea ext.	Caf. solution	Green tea ext.
Exp. Q_e (mmol/g)	0.226 ± 0.0003	0.193 ± 0.0002	1.747 ± 0.0012	1.176 ± 0.0114
<u>Pseudo-first order</u>				
Cal. Q_e (mmol/g)	0.0015 ± 0.0001	0.0047 ± 0.0012	0.0392 ± 0.0021	0.429 ± 0.0548
K_1 (1/min)	0.0086 ± 0.0031	0.0188 ± 0.0100	0.0222 ± 0.0029	0.0170 ± 0.0040
r^2	0.683-0.779	0.714-0.847	0.581-0.692	0.878-0.973
<u>Pseudo-second order</u>				
Cal. Q_e (mmol/g)	0.225 ± 0.0002	0.193 ± 0.0002	1.748 ± 0.0008	1.189 ± 0.0075
K_2 (g/mmol/min)	40.72 ± 10.43	20.09 ± 1.971	2.482 ± 0.0126	0.144 ± 0.0064
r^2	1.000	1.000	1.000	0.999

Values are presented as the mean \pm standard deviation of triplicate measurements.

Table 3-3 Kinetic parameters of caffeine adsorption by montmorillonite and activated carbon in caffeine solution and coffee extract.

	Montmorillonite		Activated carbon	
	Caf. solution	Coffee ext.	Caf. solution	Coffee ext.
Exp. Q_e (mmol/g)	0.148	0.133	1.021	0.900
Cal. Q_e (mmol/g)	0.148	0.133	1.021	0.909
K_2 (g/mmol/min)	220.43	37.68	76.17	0.316
r^2	1.000	1.000	1.000	0.999

4. 飲料中におけるカフェイン吸着の選択性に関する解析

4.1. 実験方法

1) 材料

吸着剤として、食品添加物として市販されているモンモリロナイト（ミズライト：水澤化学工業）および水蒸気賦活したヤシ殻活性炭（FP-3：大阪ガスケミカル）を、飲料原料として、市販の緑茶葉（煎茶：静岡産）およびコーヒー豆（アラビカ種：ブラジル産、L19）を用いた。また、カフェイン溶液の調製およびカフェイン分析の標品にはカフェイン試薬（和光純薬工業）を用いた。ポリフェノール類分析の標品として、カテキン類試薬（エピガロカテキン：EGC、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、フナコシ）およびクロロゲン酸試薬（5-カフェオイルキナ酸：5-CQA、和光純薬工業）を用いた。

2) 抽出液の調製

茶抽出液は、緑茶葉 100 g に 80°C の湯 1,000 mL を添加し、8 分抽出して緑茶抽出液を調製した（カフェイン濃度 8.8 mmol/L）。吸着試験用に緑茶抽出液を希釈し（カフェイン濃度 3.6 mmol/L）、茶抽出液との比較用に、カフェイン濃度 3.6 mmol/L となるようにカフェイン試薬を溶解し、カフェイン溶液を調製した。

コーヒー抽出液は、挽いたコーヒー豆 100 g に 98°C の湯を注ぎ、800 g のコーヒー抽出液を調製した（カフェイン濃度 6.2 mmol/L）。コーヒー抽出液との比較用に、カフェイン濃度 6.2 mmol/L となるようにカフェイン試薬を溶解し、カフェイン溶液を調製した。

3) 吸着試験

緑茶抽出液 40 mL に対し、モンモリロナイト 160～2,000 mg（0.4～5 wt%）もしくは活性炭 16～200 mg（0.04～0.5 wt%）を添加し、25°C で 120 分接触（振とう速度：60 rpm）させた。接触後に遠心分離（1,920 ×g、10 分）をして上清を回収し、カフェインおよびカテキン類濃度を測定した。カフェイン溶液についても、同様の操作を行った。

コーヒー抽出液 40 mL に対し、モンモリロナイト 240～3,200 mg（0.6～8 wt%）もしくは活性炭 40～400 mg（0.1～1.0 wt%）を添加し、25°C で 120 分接触（振とう速度：60 rpm）させた。接触後に遠心分離（1,920 ×g、10 分）をして上清を回収し、カフェインおよびクロロゲン酸類濃度を測定した。カフェイン溶液についても、同様の操作を行った。

4) カフェイン・ポリフェノール類測定

緑茶抽出液におけるカフェインおよびカテキン類濃度の測定は、3.1. 4)と同様の方法で行った。各種カテキン類 (Fig. 3-3) のピーク検出は 230 nm で行い、カテキン類試薬により検量線を作成し、定量した。

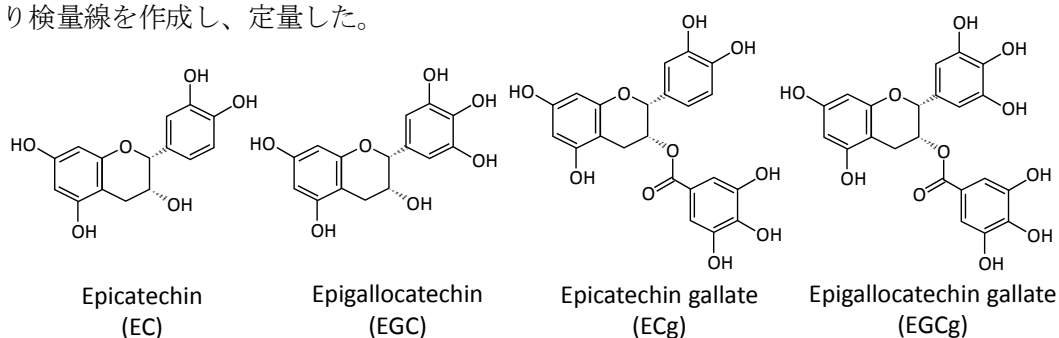


Fig. 3-3 Structure of catechins.

コーヒー抽出液におけるカフェインおよびクロロゲン酸類濃度の測定は、3.1. 4)と同様の方法で行った。各種クロロゲン酸類 (Fig. 3-4) のピーク検出は 330 nm で行った。

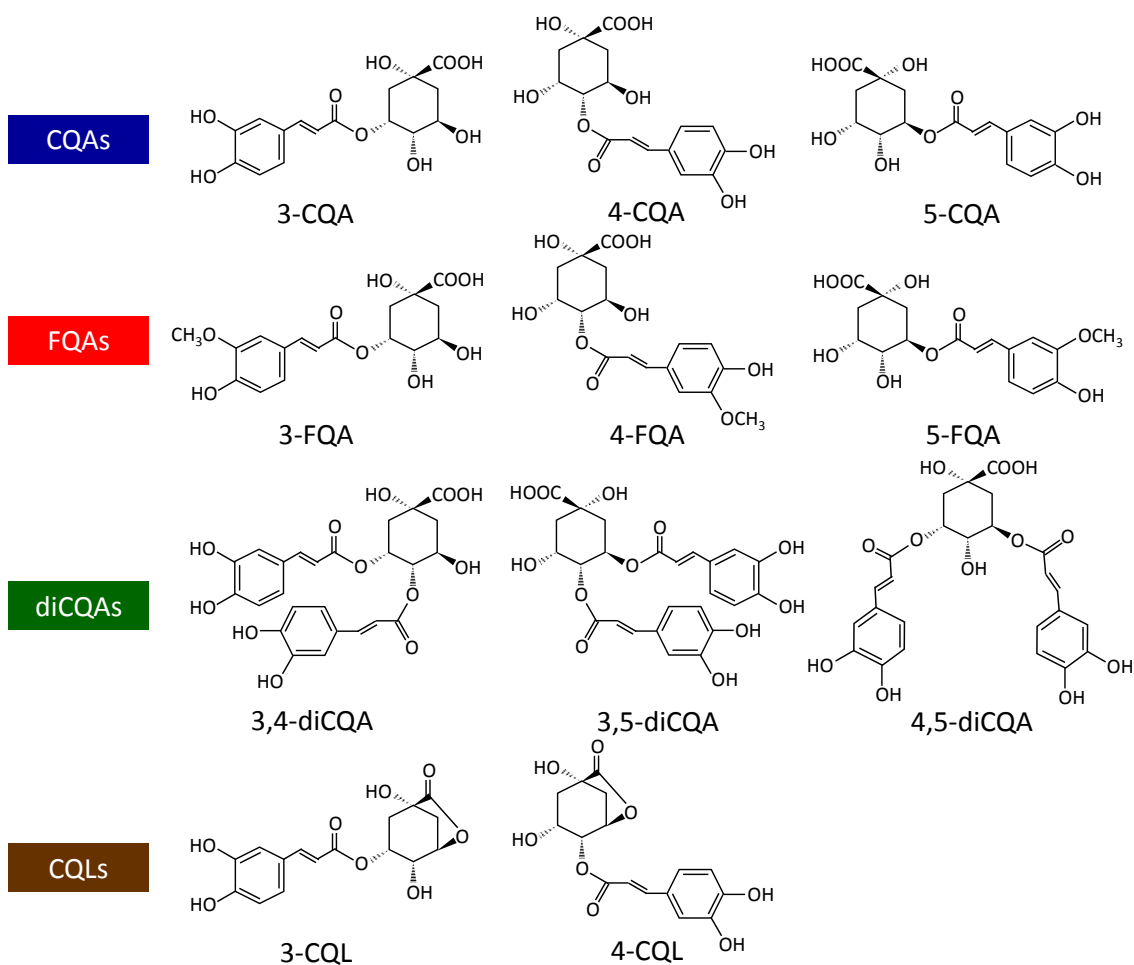


Fig. 3-4 Structure of chlorogenic acids.

各化合物の同定および定量は先行研究[126,127]に準じ、LC-MS (LCMS-2020、島津製作所) を用いて同定するとともに、5-CQA 試薬によって作成した検量線および以下のモル吸光係数を用いて定量した。

330 nm におけるモル吸光係数 (5-CQA を 1 とする) [127]

カフェオイルキナ酸類	: 3-CQA=1.84、 4-CQA=1.80、 5-CQA=1.95
フェルロイルキナ酸類	: 3-FQA=1.90、 4-FQA=1.95、 5-FQA=1.93
ジクロロゲン酸類	: 3,4-diCQA=3.18、 3,5-diCQA=3.16、 4,5-diCQA=3.32
クロロゲン酸ラクトン類	: 3-CQL=1.84、 4-CQL=1.80

5) 吸着特性解析

測定したカフェイン濃度 (C_e) および以下の式 (Eq. 4) で算出したカフェイン吸着量 (Q_e) を用いて、吸着等温線を作成した。

$$Q_e = V \times (C_0 - C_e) / M \quad (\text{Eq. 4})$$

V : 容積

C_0 : 初期カフェイン濃度

C_e : 平衡カフェイン濃度

M : 吸着剤重量

上記で作成した吸着等温線のデータを用いて、Freundlich および Langmuir の吸着等温式へのフィッティングを行った。

Freundlich の吸着等温式として、以下の式 (Eq. 5) を用いた[128]。

$$\ln(Q_e) = (1/n) \times \ln(C_e) + \ln(K_F) \quad (\text{Eq. 5})$$

Q_e : 平衡カフェイン吸着量

C_e : 平衡カフェイン濃度

n, K_F : Freundlich 定数

Langmuir の吸着等温式として、以下の式 (Eq. 6) を用いた[129]。

$$Q_e = (K_L \times Q_m \times C_e) / (1 + K_L \times C_e) \quad (\text{Eq. 6})$$

Q_e : 平衡カフェイン吸着量

Q_m : 最大カフェイン吸着容量

C_e : 平衡カフェイン濃度

K_L : Langmuir 定数

4.2. 実験結果

1) 茶におけるカフェイン吸着等温線

カフェイン溶液および緑茶抽出液におけるモンモリロナイトと活性炭のカフェイン吸着等温線を作成した。カフェイン溶液と緑茶抽出液におけるカフェイン吸着量を比較したところ、モンモリロナイトでは緑茶抽出液で若干減少していたのに対し、活性炭では緑茶抽出液で顕著に減少していた (Fig. 3-5)。同添加率でのカフェイン吸着量を比較すると、モンモリロナイトでは緑茶抽出液でもカフェイン溶液における吸着量の 83%以上であったが、活性炭では緑茶抽出液ではカフェイン溶液における吸着量の 50~60%程度であった (Table 3-4)。この結果から、モンモリロナイトは活性炭に比べてカフェイン吸着における選択性が高く、茶抽出液においても吸着能を効果的に活用できていることが示唆された。活性炭におけるカフェイン吸着量の低下は、茶抽出液中のカフェイン以外の成分も非選択的に吸着するためと考えられた。

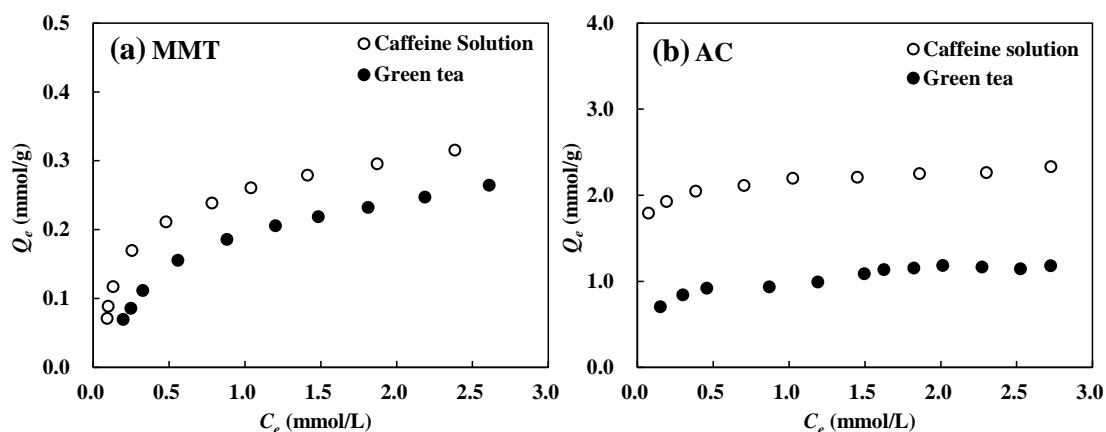


Fig. 3-5 Caffeine adsorption isotherms of montmorillonite and activated carbon in caffeine solution and green tea extract. (a) Montmorillonite (MMT); (b) activated carbon (AC). Open circle, caffeine solution; closed circle, green tea.

Table 3-4 Adsorbed caffeine after addition of montmorillonite and activated carbon.

Montmorillonite			Activated carbon		
	Caf. solution	Green tea		Caf. solution	Green tea
(mg/mL)	(mmol/g)	(mmol/g)	(mg/mL)	(mmol/g)	(mmol/g)
4.0	0.315±0.0024	0.265±0.0018	0.40	2.330±0.0114	N.D.
6.0	0.295±0.0007	0.247±0.0020	0.60	2.263±0.0278	N.D.
8.0	0.279±0.0007	0.232±0.0012	0.80	2.249±0.0119	1.180±0.0896
10.0	0.261±0.0003	0.219±0.0003	1.0	2.209±0.0053	1.143±0.0467
12.0	0.239±0.0003	0.206±0.0005	1.2	2.196±0.0102	1.164±0.0344
15.0	0.211±0.0002	0.186±0.0004	1.4	2.111±0.0068	1.183±0.0131
20.0	0.170±0.0000	0.156±0.0003	1.6	2.046±0.0126	1.154±0.0190
30.0	0.117±0.0000	0.111±0.0001	1.8	1.926±0.0057	1.135±0.0033
40.0	0.089±0.0000	0.086±0.0001	2.0	1.793±0.0025	1.087±0.0618
50.0	0.071±0.0000	0.069±0.0001	2.5	N.D.	0.992±0.0382
			3.0	N.D.	0.933±0.0327
			3.5	N.D.	0.918±0.0019
			4.0	N.D.	0.843±0.0033
			5.0	N.D.	0.704±0.0003

Values are presented as the mean \pm standard deviation of triplicate measurements,

N.D. indicates not determined.

2) 茶におけるカフェイン吸着特性解析

カフェイン溶液および緑茶抽出液におけるモンモリロナイトと活性炭のカフェイン吸着等温線データを用いて、Freundlich および Langmuir の吸着等温式へのフィッティングを行った。カフェイン溶液におけるモンモリロナイトのカフェイン吸着等温線は先行研究で報告されているとおり、Freundlich および Langmuir の吸着等温式と良好なフィッティングを示し、相関係数はそれぞれ $r^2 = 0.951$ 、 0.992 であった。緑茶抽出液におけるモンモリロナイトのカフェイン吸着等温線も、Freundlich および Langmuir の吸着等温式と良好なフィッティングを示し、相関係数はそれぞれ $r^2 = 0.960$ 、 0.995 であり、カフェイン溶液でのデータと同様に、Langmuir モデルの方がわずかながら高い相関を示した (Table 3-5)。

一方、活性炭ではカフェイン溶液でも緑茶抽出液でも Freundlich および Langmuir の吸着等温式と良好なフィッティングを示したものの、モンモリロナイトとは異なり Freundlich モデルの方が高い相関を示し、カフェイン溶液では $r^2 = 0.974$ 、緑茶抽出液では $r^2 = 0.880$ であった (Table 3-5)。

カフェイン最大吸着量 (Q_m) については、モンモリロナイトはカフェイン溶液で 0.35 mmol/g 、緑茶抽出液で 0.33 mmol/g とほぼ同程度であったのに対し、活性炭はカフェイン溶液で 2.33 mmol/g 、緑茶抽出液で 1.24 mmol/g と大きく減少していた。また、Langmuir 係数 (K_L) もモンモリロナイトはカフェイン溶液で 3.33 L/mmol 、緑茶抽出液で 1.46 L/mmol と約 2.3 分の 1 程度であったのに対し、活性炭はカフェイン溶液で 18.6 L/mmol 、緑茶抽出液で 5.65 L/mmol/g と約 3.3 分の 1 程度であった。この結果より、茶抽出液中のカフェイン吸着において、モンモリロナイトは活性炭に比べて高い選択性を有していることが示唆された。

Table 3-5 Isotherm parameters of caffeine adsorption by montmorillonite and activated carbon in caffeine solution and green tea extract.

	Montmorillonite		Activated carbon	
	Caf. solution	Green tea	Caf. solution	Green tea
<u>Freundlich model</u>				
$1/n$	0.373 ± 0.0007	0.491 ± 0.0048	0.0693 ± 0.0007	0.176 ± 0.0019
K_F	0.248 ± 0.0001	0.179 ± 0.0004	2.163 ± 0.0030	1.011 ± 0.0073
r^2	0.951-0.955	0.960-0.963	0.974-0.993	0.889-0.927
<u>Langmuir model</u>				
Q_m (mmol/g)	0.346 ± 0.0015	0.327 ± 0.0035	2.334 ± 0.0089	1.240 ± 0.0301
K_L (L/mmol)	3.326 ± 0.0470	1.463 ± 0.0347	18.59 ± 1.252	5.647 ± 0.4509
r^2	0.992-0.993	0.995	0.880-0.899	0.825-0.898

Values are presented as the mean \pm standard deviation of triplicate measurements.

3) 茶成分の吸着特性

緑茶抽出液にモンモリロナイトおよび活性炭を添加した際のカフェイン除去率とカテキン類残存率の関係を調べた結果、モンモリロナイトはカフェイン除去率 96.5%までカテキン類の残存率にほとんど影響を与えず、カテキン類の吸着は最大でも 6.7%であった。一方、活性炭はカフェイン除去率の増大に伴い、カテキン類の残存率も減少し、カフェイン除去率 96.5%のとき、カテキン類の 54.0%を吸着した (Fig. 3-6)。

カフェイン濃度 3.3 mmol/L の緑茶抽出液のカフェインを 96.5%除去するために、モンモリロナイトを 5 wt%、活性炭を 0.5 wt%それぞれ添加した (Fig. 3-8a)。モンモリロナイト処理緑茶では HPLC チャートにおけるカテキン類のピーク減少はほとんど確認されず (Fig. 3-7a,b)、EGC および EC、EGCg、ECg の残存率はそれぞれ 96.8%、97.1%、86.6%、81.1%であった (Fig. 3-8b)。一方、活性炭処理緑茶ではカテキン類のピークが減少し (Fig. 3-7c)、EGC および EC、EGCg、ECg の残存率はそれぞれ 41.6%、35.4%、58.3%、57.8%であった (Fig. 3-6b)。

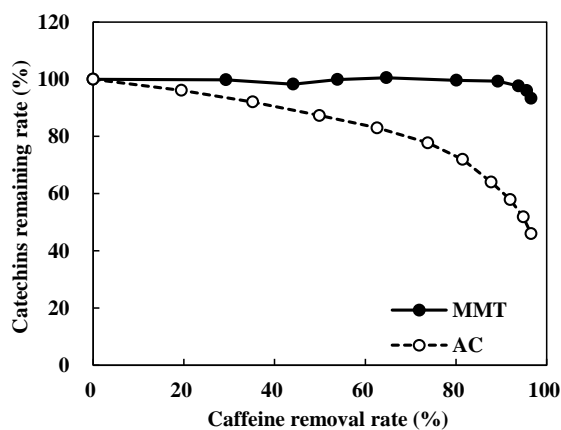


Fig. 3-6 Effect of decaffeination treatment on the percentage of caffeine removed and the percentage of catechins remaining in green tea extract. Closed circle, montmorillonite (MMT); open circle, activated carbon (AC).

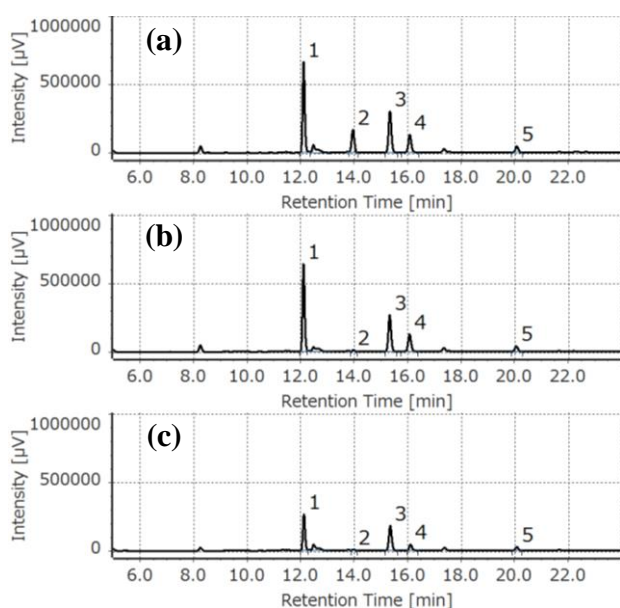


Fig. 3-7 HPLC chromatograms of green tea extract before and after decaffeination by montmorillonite or activated carbon. (a,b) Before and after decaffeination by montmorillonite, respectively; (c) after decaffeination by activated carbon. 1, EGC; 2, caffeine; 3, EGCg; 4, EC; 5, ECg.

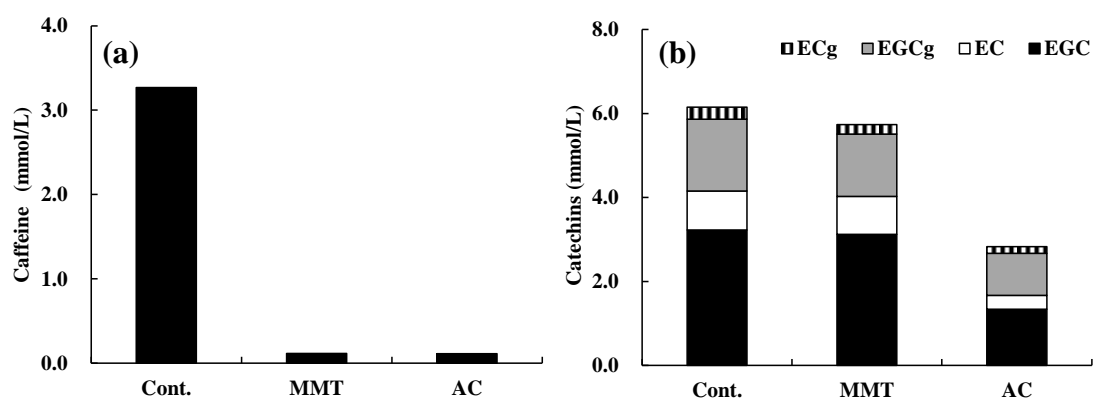


Fig. 3-8 Concentration of caffeine and catechins in green tea extract before and after decaffeination by montmorillonite (MMT) or activated carbon (AC). (a) Caffeine; (b) catechins.

4) コーヒーにおけるカフェイン吸着特性解析

カフェイン溶液およびコーヒー抽出液におけるモンモリロナイトと活性炭のカフェイン吸着等温線を作成した。カフェイン溶液とコーヒー抽出液におけるカフェイン吸着量を比較したところ、どちらの吸着剤もコーヒー抽出液においてカフェイン吸着量の低下が確認されたが、特に活性炭で顕著であった (Fig. 3-9)。

これらのカフェイン吸着等温線データを用いて、Langmuir の吸着等温式へのフィッティングを行った。カフェイン溶液およびコーヒー抽出液におけるモンモリロナイトのカフェイン吸着等温線は Langmuir の吸着等温式と良好なフィッティングを示し、相関係数はそれぞれ $r^2 = 0.991$ 、 0.984 であった。Langmuir 係数 (K_L) はカフェイン溶液とコーヒー抽出液で同等 (2.92 L/mmol) であったが、最大吸着量 (Q_m) はコーヒー抽出液で 32.4% 減少していた (Table 3-6)。モンモリロナイト表面のカフェイン吸着サイトの一部がコーヒー中の他の成分によって埋められていると考えられた。

活性炭においても、カフェイン溶液およびコーヒー抽出液におけるカフェイン吸着等温線は Langmuir の吸着等温式と良好なフィッティングを示し、相関係数はそれぞれ $r^2 = 0.934$ 、 0.957 であった。しかし、カフェイン溶液とコーヒー抽出液の比較では、コーヒー抽出液で Langmuir 係数 (K_L) および最大吸着量 (Q_m) がそれぞれ 69.4% 、 49.7% 減少していた (Table 3-6)。この結果より、活性炭においてもカフェイン吸着サイトの約半分がコーヒー中の他の成分によって埋められていると考えられた。

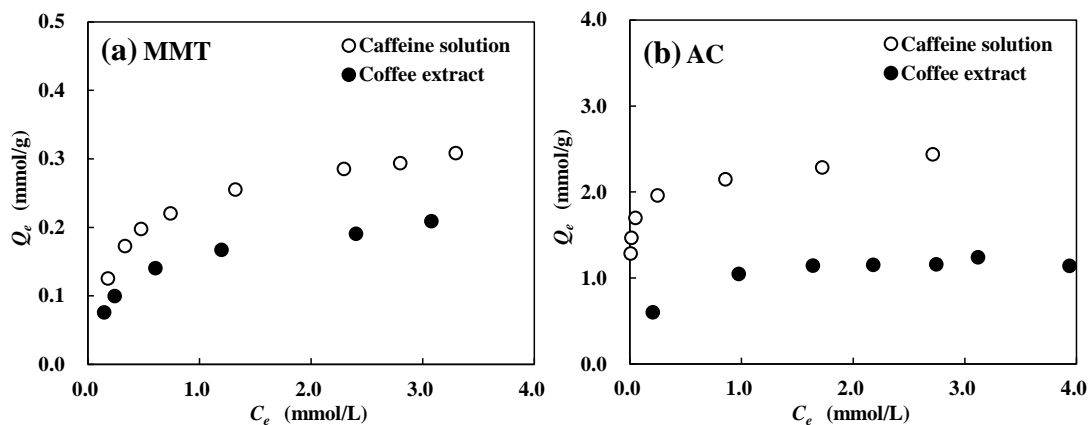


Fig. 3-9 Caffeine adsorption isotherms of montmorillonite and activated carbon in caffeine solution and coffee extract. (a) Montmorillonite (MMT); (b) activated carbon (AC). Open circle, caffeine solution; closed circle, coffee extract.

Table 3-6 Isotherm parameters of caffeine adsorption by montmorillonite and activated carbon in caffeine solution and coffee extract.

	Montmorillonite		Activated carbon	
	Caf. solution	Coffee ext.	Caf. solution	Coffee ext.
Q_m (mmol/g)	0.333	0.225	2.418	1.216
K_L (L/mmol)	2.922	2.919	25.23	7.722
r^2	0.991	0.987	0.934	0.957

5) コーヒー成分の吸着特性

未処理のコーヒー抽出液には、クロロゲン酸類としてカフェオイルキナ酸類 (CQAs : 3-CQA、4-CQA および 5-CQA)、フェルロイルキナ酸類 (FQAs : 3-FQA、4-FQA および 5-FQA)、ジクロロゲン酸類 (di-CQAs : 3,4-diCQA、3,5-diCQA および 4,5-diCQA) およびクロロゲン酸ラクトン類 (CQLs : 3-CQL および 4-CQL) が含まれていた (Fig. 3-10)。コーヒー抽出液にモンモリロナイトおよび活性炭を添加した際のカフェイン除去率と CQAs の残存率を調べた結果、モンモリロナイトではカフェイン除去率が增大しても CQAs の残存率にほとんど影響を与えなかったが、活性炭ではカフェイン除去率の増大に伴って CQAs の残存率が減少することが確認された。モンモリロナイトではカフェイン除去率が 97.6% のとき、CQAs の吸着は 8.1% 程度であったのに対し、活性炭ではカフェイン除去率が 96.7% のとき、CQAs の 39.2% を吸着した (Fig. 3-11)。

カフェイン濃度 6.8 mmol/L のコーヒー抽出液のカフェインを 97% 以上除去するために、モンモリロナイトを 8 wt%、活性炭を 1 wt% それぞれ添加したところ、カフェイン濃度はそれぞれ 0.14 mmol/L (除去率 97.9%)、0.18 mmol/L (除去率 97.3%) となった (Table 3-7)。モンモリロナイト処理後のコーヒーにおけるクロロゲン酸類の減少は CQAs および FQAs ではほとんど確認されず、di-CQAs および CQLs ではわずかに減少が確認でき、残存率はそれぞれ 92.6%、95.3%、82.6%、80.1% であった (Table 3-7)。一方、活性炭処理コーヒーではクロロゲン酸類の顕著な減少が確認され、CQAs および FQAs、di-CQAs、CQLs の残存率はそれぞれ 65.0%、73.0%、79.9%、10.1% であった (Table 3-7)。

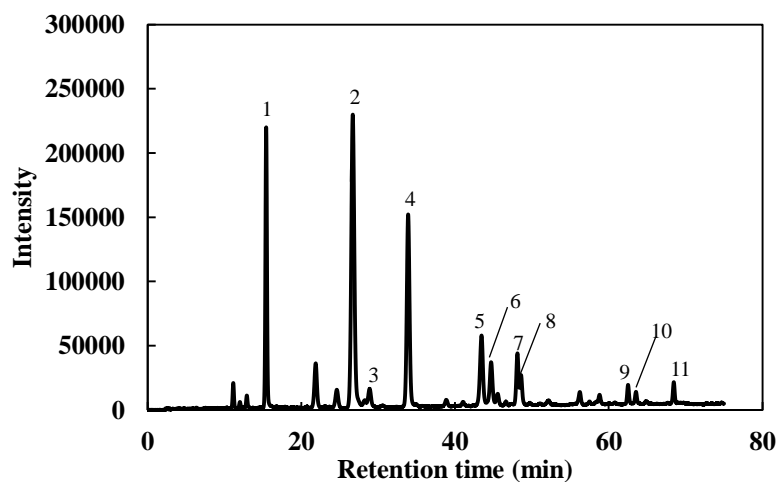


Fig. 3-10 HPLC chromatograms of coffee extract before decaffeination. 1, 3-CQA; 2, 5-CQA; 3, 3-FQA; 4, 4-CQA; 5, 3-CQL; 6, 5-FQA; 7, 4-CQL; 8, 4-FQA; 9, 3,4-diCQA; 10, 3,5-diCQA; 11, 4,5-diCQA.

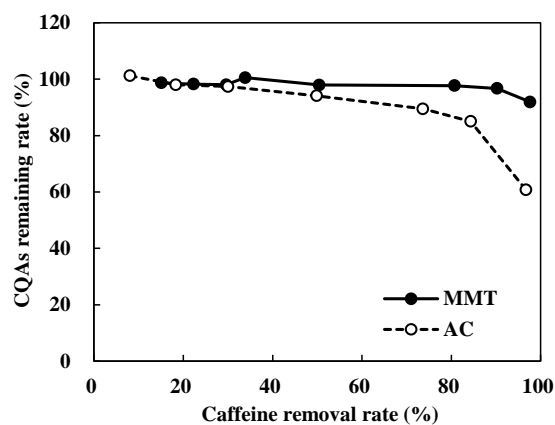


Fig. 3-11 Effect of decaffeination treatment on the percentage of caffeine removed and the percentage of CQAs remaining. Closed circle, montmorillonite (MMT); open circle, activated carbon (AC).

Table 3-7 Concentration of caffeine and chlorogenic acids in coffee extract before and after decaffeination by montmorillonite and activated carbon.

	Control	Montmorillonite	Activated carbon
<u>Concentration (mmol/L)</u>			
CAF	6.775 ± 0.026	0.144 ± 0.004	0.182 ± 0.008
3-CQA	0.737 ± 0.005	0.730 ± 0.002	0.538 ± 0.009
4-CQA	0.878 ± 0.010	0.794 ± 0.007	0.527 ± 0.007
5-CQA	1.381 ± 0.007	1.250 ± 0.004	0.882 ± 0.014
3-FQA	0.128 ± 0.001	0.129 ± 0.005	0.103 ± 0.005
4-FQA	0.140 ± 0.001	0.133 ± 0.003	0.106 ± 0.001
5-FQA	0.226 ± 0.002	0.209 ± 0.002	0.152 ± 0.003
3,4-diCQA	0.058 ± 0.001	0.049 ± 0.001	0.046 ± 0.000
3,5-diCQA	0.047 ± 0.002	0.043 ± 0.001	0.040 ± 0.000
4,5-diCQA	0.059 ± 0.001	0.043 ± 0.000	0.044 ± 0.001
3-CQL	0.375 ± 0.003	0.295 ± 0.011	0.061 ± 0.005
4-CQL	0.228 ± 0.003	0.189 ± 0.004	N.D.

Values are presented as the mean ± standard deviation (n=5). N.D. indicates not detected.

5. 考察

モンモリロナイトと活性炭の飲料中における吸着特性について、茶およびコーヒー中のカフェイン吸着における吸着速度と選択性を比較した。

カフェイン溶液と茶抽出液におけるモンモリロナイトと活性炭のカフェイン吸着速度データを用いて、擬一次反応速度式 (Pseudo first order model) および擬二次反応速度式 (Pseudo second order model) へのフィッティングを行ったところ、いずれの溶液、吸着剤においても擬一次反応速度式とはほとんどフィッティングしなかったが、擬二次反応速度式とは良好なフィッティングを示し、相関係数は $r^2 > 0.999$ であった (Table 3-2)。また、コーヒー抽出液においても、擬二次反応速度式と良好なフィッティングを示し、相関係数は $r^2 > 0.999$ であった (Table 3-3)。したがって、モンモリロナイトおよび活性炭のカフェイン吸着は溶液の種類に依らず、擬二次反応モデルで議論することが可能であることが示唆された。

モンモリロナイトへのカフェイン吸着は速やかに進行し、カフェイン溶液では5分以内に平衡に達し、茶抽出液で20分以内、コーヒー抽出液では5分以内に平衡吸着量の99%が吸着した (Fig. 3-1a、3-2a)。一方、活性炭へのカフェイン吸着はカフェイン溶液では5分以内に平衡に達したのに対し、茶抽出液およびコーヒー抽出液ではカフェイン吸着速度が顕著に低下し、平衡までに240分以上を要した (Fig. 3-1b、3-2b)。これらの結果より、モンモリロナイトの飲料中のカフェイン吸着速度は活性炭に比べて顕著に速く、茶抽出液およびコーヒー抽出液においても迅速にカフェインを吸着できることが示唆された。

次に、カフェイン溶液および茶抽出液におけるモンモリロナイトと活性炭のカフェイン吸着等温線を作成し、Freundlich および Langmuir の吸着等温式へのフィッティングを行ったところ、モンモリロナイトはいずれの溶液においても両者の吸着等温式と良好なフィッティングを示し、相関係数は Freundlich モデルで $r^2 = 0.951 \sim 0.960$ 、Langmuir モデルで $r^2 = 0.992 \sim 0.995$ と後者の方がわずかながら高い相関を示した (Table 3-5)。また、コーヒー抽出液においてもモンモリロナイトのカフェイン吸着等温線は Langmuir の吸着等温式と良好なフィッティングを示し、相関係数は $r^2 = 0.984$ であった (Table 3-6)。活性炭でも、カフェイン溶液と緑茶抽出液におけるカフェイン吸着等温線は両者の吸着等温式と良好なフィッティングを示したが、相関係数は Freundlich モデルで $r^2 = 0.889 \sim 0.977$ 、Langmuir モデルで $r^2 = 0.825 \sim 0.899$ とモンモリロナイトとは異なり、前者の方がわずかながら高い相関を示した (Table 3-5)。したがって、モンモリロナイトによるカフェイン

吸着は吸着サイトによる単層吸着モデルである Langmuir モデルで、活性炭によるカフェイン吸着は経験的な吸着モデルである Freundlich モデルで議論することが可能であることが示唆された。

吸着サイトによるカフェイン吸着の選択性について吸着容量の効率利用という観点で解析したところ、モンモリロナイトはカフェイン溶液と比較してカフェイン最大吸着量 (Q_m) が緑茶抽出液で 6.3%、コーヒー抽出液で 32.4%減少していたのに対し、活性炭では緑茶抽出液で 46.8%、コーヒー抽出液で 49.7%減少していた (Table 3-5、3-6)。したがって、モンモリロナイトは活性炭と比較して、茶およびコーヒー中のカフェイン吸着における選択性が高く、モンモリロナイトはカフェイン吸着サイトの一部が、活性炭はカフェイン吸着サイトの約半分程度が茶およびコーヒー抽出液中の他の成分によって埋められていると考えられた。

そこで、カフェイン以外の成分として、茶およびコーヒー中の重要な呈味成分であるポリフェノール類のモンモリロナイトおよび活性炭への吸着特性について調べたところ、モンモリロナイトではカフェイン除去率の上昇に伴うカテキン類および CQAs の吸着はほとんど確認されなかったのに対し、活性炭ではカフェイン除去率の上昇に伴ってカテキン類および CQAs の吸着も確認された (Fig. 3-6、3-11)。また、カフェイン除去率 96.5% の条件でモンモリロナイト処理および活性炭処理後の緑茶抽出液におけるカテキン類残存率を比較したところ、モンモリロナイトでは EGC および EC、EGCg、ECg の残存率がそれぞれ 96.8%、97.1%、86.6%、81.1%であったのに対し、活性炭では 41.6%、35.4%、58.3%、57.8%であった (Fig 3-8b)。同様に、カフェイン除去率 97%以上の条件でコーヒー抽出液におけるクロロゲン酸類残存率を比較したところ、モンモリロナイトでは CQAs および FQAs、di-CQAs、CQLs の残存率がそれぞれ 92.6%、95.3%、82.6%、80.1%であったのに対し、活性炭では 65.0%、73.0%、79.9%、10.1%であった (Table 3-7)。これらの結果より、活性炭の吸着サイトはモンモリロナイトと比較してカフェインだけでなくポリフェノールへの親和性も高く、茶およびコーヒー中のカフェイン吸着における選択性はモンモリロナイトの方が高いことが示唆された (Fig 3-12)。

活性炭は先行研究においても、カテキン類や CQAs を吸着することが報告されており [130,131]、カフェイン吸着サイトがポリフェノール類などを吸着したことで減少したことで茶抽出液およびコーヒー抽出液中でのカフェイン吸着量が減少したと考えられる。また、香味評価においても顕著な香気の減少が確認できたことから、カフェイン、ポリフェノール

ル類以外にも茶およびコーヒー中の多くの化合物を非選択的に吸着すると考えられる。モンモリロナイトと活性炭の緑茶抽出液中のカフェイン吸着における選択性について比較したところ、モンモリロナイト処理後はカテキン類／カフェイン比が処理前の1.88から50.4に増大したのに対し、活性炭処理後は25.0までの増大に留まった (Fig 3-8)。活性炭による緑茶中のカフェイン吸着における先行研究[38]では、カフェイン除去率90%のとき、カテキン類／カフェイン比が23.6であったことから、本実験のデータは妥当と考えられる。さらに、モンモリロナイトへ吸着するカフェイン／EGCg比は13.8であり、活性炭の4.4および超臨界二酸化炭素抽出処理による緑茶のカフェイン除去に関する先行研究[132]の2.57と比較して顕著に選択性が高いといえる。

以上より、モンモリロナイトによるカフェイン吸着は茶やコーヒーにおいても迅速に進行することから飲料製造における製造適性を有していることが示唆された。また、活性炭および従来の超臨界二酸化炭素抽出と比較して飲料中のカフェイン吸着における高い選択性を有しており、カフェイン除去と嗜好飲料としての良好な香味を両立できる可能性があることが示唆された。

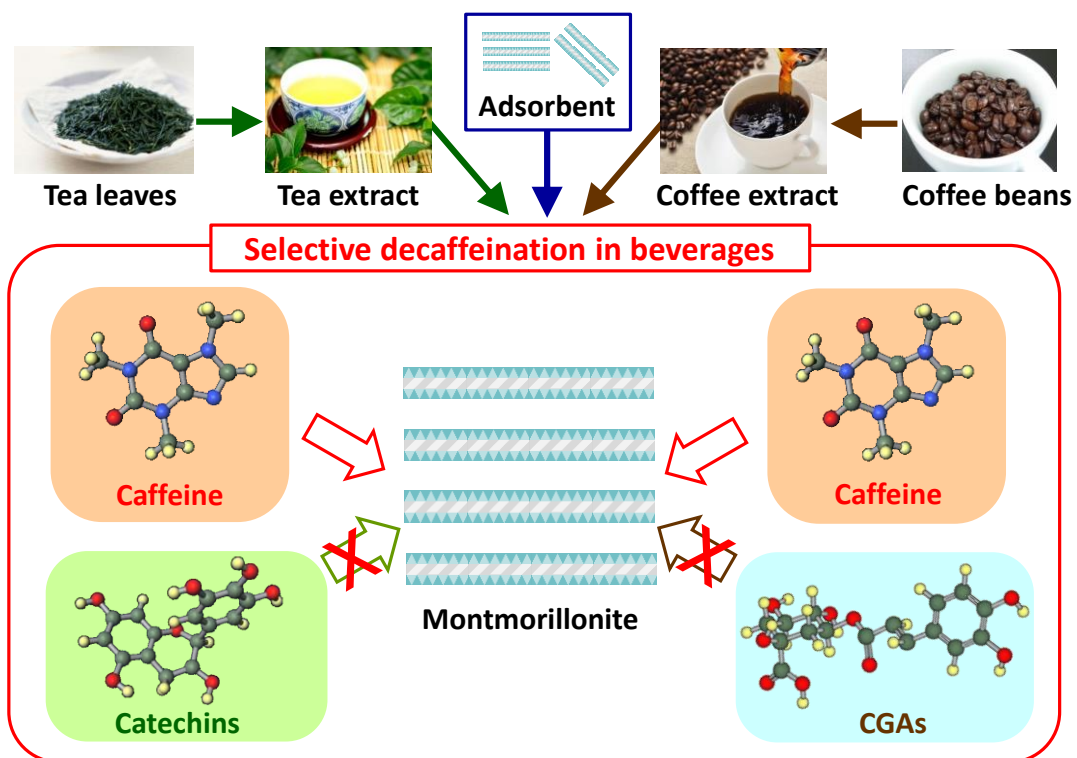


Fig. 3-12 Montmorillonite selectively adsorbs caffeine in tea extract and coffee extract with no significant binding of catechins and chlorogenic acids (CGAs).

第4章

接触条件がモンモリロナイトへの
カフェイン吸着と飲料品質に及ぼす影響

第4章 接触条件がモンモリロナイトへのカフェイン吸着と飲料品質に及ぼす影響

1. 要約

本章では、接触条件調整による飲料中のカフェイン除去と飲料としての良好な外観品質の両立に向けて、モンモリロナイトと飲料の接触条件がカフェイン吸着能と飲料の品質に及ぼす影響を評価した。

緑茶抽出液を用いて、接触 pH および接触温度、接触時間がモンモリロナイトのカフェイン吸着能に及ぼす影響について評価したところ、接触 pH4~8 および接触温度 5~35°C、接触時間 0.5~60 分の範囲では、接触条件に依らずモンモリロナイトのカフェイン吸着量は同等であった。したがって、緑茶抽出液でのモンモリロナイトへのカフェイン吸着は、接触条件の影響を受けず、迅速かつ安定に進行すると考えられた。

緑茶抽出液とモンモリロナイトの接触 pH および接触温度、接触時間が鉄イオン溶出量および茶飲料の液色に及ぼす影響を評価したところ、低 pH および高温、長時間での接触により、茶飲料中の鉄イオン濃度が増加し、それに伴って明度 (L 値) は低下した。また、茶飲料への鉄イオン添加によっても L 値の低下に伴う茶飲料の液色悪化が確認できたことから、低 pH および高温、長時間での接触によりモンモリロナイトからの鉄イオン溶出量が増加し、茶飲料の外観品質が低下したと考えられた。

以上より、モンモリロナイトによるカフェイン吸着とミネラル溶出の特性の違いを利用し、接触条件を調整することで、飲料中のカフェイン吸着と飲料としての良好な外観品質が両立できることが示唆された。

2. はじめに

飲料市場では、香味とともに外観についても高度な品質が要求されることから、カフェイン除去を目的として飲料製造工程において吸着剤を利用するにあたり、吸着剤との接触条件が飲料の外観品質に及ぼす影響について把握しておく必要がある。本章では、モンモリロナイトと飲料の接触条件がカフェイン吸着能と飲料の品質に及ぼす影響を評価した。

茶飲料は、PET ボトルの様な透明容器に充填した状態で販売されることが多いため、液色や劣化に伴う褐変、継時的な沈殿の発生などの外観品質リスクには注意が必要である。茶飲料にはカテキン類などのポリフェノール類が含まれるため、茶飲料中の鉄イオン濃度が高くなるとポリフェノール類のフェノール性水酸基と鉄イオンが反応して液色が悪化することが知られている[133,134]。

モンモリロナイトは天然の粘土鉱物であり、珪素やアルミニウムを主な構成元素とし、シリカ層とアルミナ層の三層構造を形成している。また、シリカ層においてアルミニウムなどの3価の金属元素と、アルミナ層においてマグネシウムや鉄などの2価の金属元素との同形置換が生じ負電荷を帯びることから、層間には交換性の陽イオンを有するという特徴がある。したがって、飲料との接触時にこれらの金属元素が溶出することが懸念される。

接触条件の影響については、モンモリロナイトと茶抽出液の接触 pH および接触温度、接触時間がカフェイン吸着量および鉄イオン溶出量、茶飲料の外観に及ぼす影響を評価し、接触条件の調整によりカフェイン吸着と良好な外観品質の両立が可能かを考察した。

3. モンモリロナイトと飲料の接触条件がカフェイン吸着特性に及ぼす影響

3.1. 実験方法

1) 材料

吸着剤として、食品添加物として市販されているモンモリロナイト（ミズライト：水澤化学工業）を、飲料原料として、市販の緑茶葉（煎茶：静岡産）を用いた。また、緩衝液の調製には Na_2HPO_4 （和光純薬工業）およびクエン酸（和光純薬工業）を、カフェイン分析の標品にはカフェイン試薬（和光純薬工業）を用いた。

2) 抽出液の調製

茶抽出液は、緑茶葉 100 g に 80°C の湯 1,000 mL を添加し、8 分抽出して緑茶抽出液を調製した（カフェイン濃度 8.8 mmol/L）。吸着試験用に緑茶抽出液を希釈し（カフェイン濃度 1.8~2.5 mmol/L）、吸着試験に供した。

3) 吸着試験

接触 pH 検討として、緑茶抽出液（カフェイン濃度 2.4 mmol/L）400 mL に対し、モンモリロナイト 8,000 mg（2 wt%）を添加し、25°C で 60 分接触（振とう速度：60 rpm）させた。接触 pH は 4~8 の範囲で設定し、pH 調整には 0.2 M の Na_2HPO_4 溶液と 0.1 mol/L のクエン酸溶液で調製した McIlvaine 緩衝液[135]を用いた。接触後に遠心分離（1,920 × g、10 分）をして上清を回収し、カフェイン濃度を測定した。

接触温度検討として、緑茶抽出液（カフェイン濃度 2.5 mmol/L）400 mL に対し、モンモリロナイト 8,000 mg（2 wt%）を添加し、接触 pH 5.8 で 60 分接触（振とう速度：60 rpm）させた。接触温度は 5~35°C の範囲で設定し、接触後に遠心分離（1,920 × g、10 分）をして上清を回収し、カフェイン濃度を測定した。

接触時間検討として、緑茶抽出液（カフェイン濃度 1.8 mmol/L）400 mL に対し、モンモリロナイト 8,000 mg（2 wt%）を添加し、接触 pH 5.8、25°C で接触させた。接触時間は 0.5~60 分の範囲で設定し、接触後に遠心分離（1,920 × g、10 分）をして上清を回収し、カフェイン濃度を測定した。

4) カフェイン測定

緑茶抽出液におけるカフェイン濃度の測定は、第 3 章、3.1. 4) と同様の方法で行った。

3.2. 実験結果

1) 接触 pH の影響

緑茶抽出液において、接触 pH がモンモリロナイトへのカフェイン吸着に及ぼす影響を評価した。接触 pH4~8 の範囲では、pH5 以下でわずかに増加したが、pH に依らずカフェイン吸着量は同等であった (Fig. 4-1)。この結果から、緑茶抽出液におけるモンモリロナイトへのカフェイン吸着において、接触 pH は大きな影響を及ぼさないと考えられた。カフェイン溶液におけるモンモリロナイトの吸着特性を調べた先行研究[136]でも、pH4~10 の範囲ではカフェイン吸着容量は一定であったことから、本実験のデータは妥当であると考えられる。

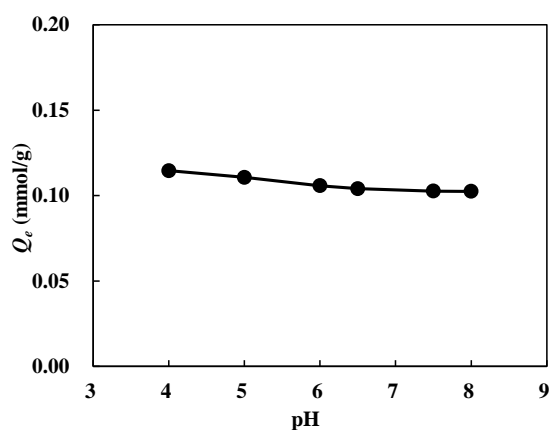


Fig. 4-1 Effect of contact pH in decaffeination of green tea with montmorillonite on amount of adsorbed caffeine (Q_e).

2) 接触温度の影響

緑茶抽出液において、接触温度がモンモリロナイトへのカフェイン吸着に及ぼす影響を評価した。接触温度 5~35°Cの範囲では、温度に依らずカフェイン吸着量は同等であった (Fig. 4-2)。この結果から、緑茶抽出液におけるモンモリロナイトへのカフェイン吸着において、接触温度は大きな影響を及ぼさないと考えられた。

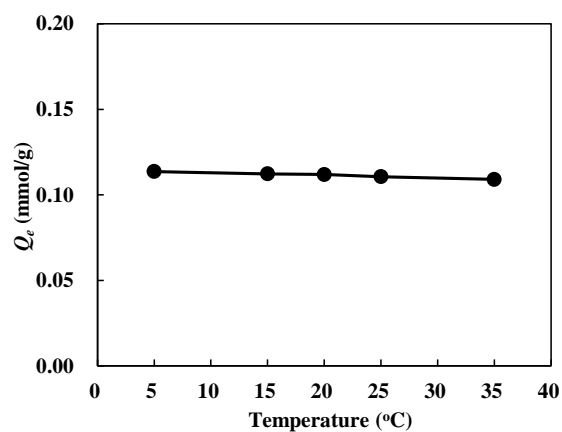


Fig. 4-2 Effect of contact temperature in decaffeination of green tea with montmorillonite on amount of adsorbed caffeine (Q_e).

3) 接触時間の影響

緑茶抽出液において、接触時間とモンモリロナイトへのカフェイン吸着量の関係を調べたところ、第3章 Fig. 3-1と同様にカフェイン吸着は速やかに進行し、接触時間0.5~60分の範囲では接触時間に依らずカフェイン吸着量は同等であった (Fig. 4-3)。この結果から、緑茶抽出液におけるモンモリロナイトへのカフェイン吸着において、接触時間の違いは大きな影響を及ぼさないと考えられた。

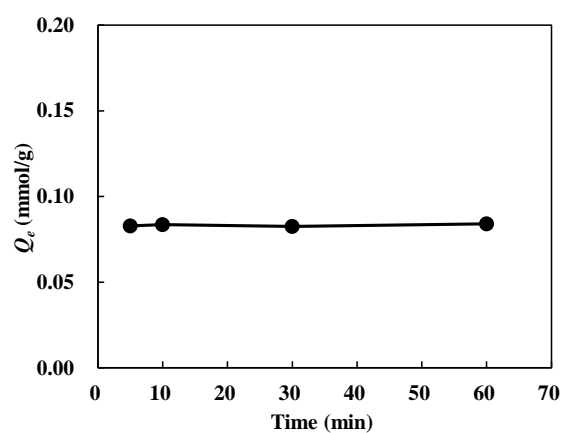


Fig. 4-3 Effect of contact time in decaffeination of green tea with montmorillonite on amount of adsorbed caffeine (Q_e).

4. モンモリロナイトと飲料の接触条件が茶飲料の品質に及ぼす影響

4.1. 実験方法

1) 材料

吸着剤として、食品添加物として市販されているモンモリロナイト（ミズライト：水澤化学工業）を、飲料原料として、市販の緑茶葉（煎茶：静岡産）を用いた。また、緩衝液の調製には Na_2HPO_4 （和光純薬工業）およびクエン酸（和光純薬工業）を、緑茶飲料の調製にはアスコルビン酸（和光純薬工業）および NaHCO_3 （和光純薬工業）を用いた。さらに、金属イオン添加試験用に各種金属イオン試薬（鉄イオン： $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、Al イオン： $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、Mg イオン： $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、Ca イオン： $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、Na イオン： NaCl 、K イオン： KCl 、和光純薬工業）を用いた。

2) 抽出液の調製

緑茶抽出液の調製は、3.1. 2)と同様の方法で行った（緑茶抽出液のカフェイン濃度 1.8 ~2.5 mmol/L）。

3) 吸着試験

接触 pH、温度、時間の検討は、3.1. 3)と同様の方法で行った。また、緑茶飲料の外観評価用に、緑茶抽出液（カフェイン濃度 2.3 mmol/L）400 mL に対し、モンモリロナイト 8,000 mg（2 wt%）を添加し、接触 pH5.8 または 7.3 で、接触温度 5、20、35°C の条件で 60 分接触（振とう速度：60 rpm）させた。接触 pH は NaHCO_3 を用いて調整した。接触後に遠心分離（1,920 ×g、10 分）をして上清を回収し、緑茶飲料の調製に用いた。

4) 緑茶飲料の調製

接触後に遠心分離（1,920 ×g、10 分）をして上清を回収し、メンブレンフィルター（0.2 μm、PTFE）で濾過した。得られた濾液 400 g に対し、アスコルビン酸 400 mg を添加し、 NaHCO_3 で pH を 6.6 に調整後、加水して 1,000 g として緑茶飲料を得た。得られた緑茶飲料について、鉄イオン濃度および明度を測定した。

4) 金属イオン添加試験

未処理の緑茶抽出液 100 g (カフェイン濃度 8.8 mmol/L) にアスコルビン酸 400 mg および NaHCO_3 350 mg を添加し、さらに各種金属イオン溶液 (Fe、Al、Mg、Ca、Na、K) を 1~100 $\mu\text{mol/L}$ となるように添加後、加水して 1,000 g として緑茶飲料を得た。得られた緑茶飲料について、明度測定および液色について観察した。

5) 鉄イオン・明度測定

緑茶飲料中の鉄イオン濃度は ICP-AES (iCAP6500Duo、サーモフィッシャーサイエンティフィック) で分析した。また、緑茶飲料の液色については、先行研究[137]に準じ、分光測色計 (CM3500-d、コニカミノルタ) を用いてハンターLab 表色系に基づき明度 (L 値) を測定した。

4.2. 実験結果

1) 接触 pH の影響

緑茶抽出液において、モンモリロナイトとの接触 pH が緑茶飲料の鉄イオン濃度および液色に及ぼす影響を評価した。接触 pH4~8 の範囲では、接触 pH が低いほど緑茶飲料中の鉄イオン濃度が増加し、それに伴って L 値は低下した (Fig. 4-4)。緑茶飲料の pH はいずれのサンプルも 6.5~6.7 の範囲であることから、モンモリロナイトと緑茶抽出液の接触 pH は緑茶飲料の外観に大きな影響を及ぼすと考えられた。

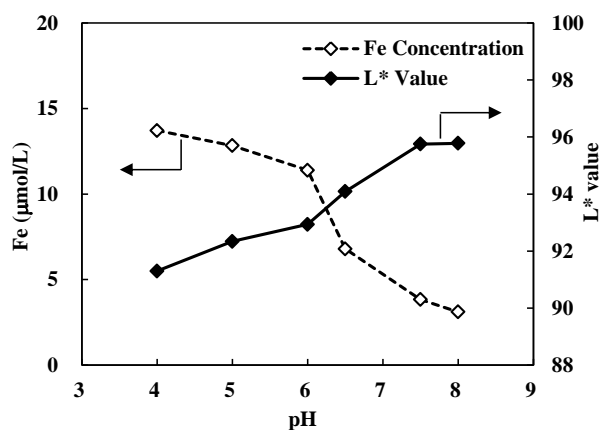


Fig. 4-4 Effect of contact pH in decaffeination of green tea with montmorillonite on Fe elution and L* value of decaffeinated green tea beverages. Open square, Fe concentration; closed square, L* value.

2) 接触温度の影響

緑茶抽出液において、モンモリロナイトとの接触温度が緑茶飲料の鉄イオン濃度および液色に及ぼす影響を評価した。接触温度 5~35°C の範囲では、接触温度が高いほど緑茶飲料中の鉄イオン濃度が増加し、それに伴って L 値は低下した (Fig. 4-5)。この結果から、モンモリロナイトと緑茶抽出液の接触温度は緑茶飲料の外観に影響を及ぼすと考えられた。

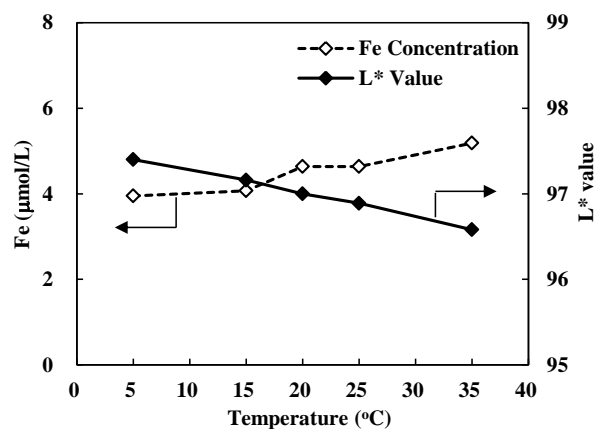


Fig. 4-5 Effect of contact temperature in decaffeination of green tea with montmorillonite on Fe elution and L* value of decaffeinated green tea beverages. Open square, Fe concentration; closed square, L* value.

3) 接触時間の影響

緑茶抽出液において、モンモリロナイトとの接触時間が緑茶飲料の鉄イオン濃度および液色に及ぼす影響を評価した。接触時間 0.5~60 分の範囲では、接触時間が長いほど緑茶飲料中の鉄イオン濃度が増加し、それに伴って L 値は低下した (Fig. 4-6)。この結果から、モンモリロナイトと緑茶抽出液の接触時間は緑茶飲料の外観に影響を及ぼすと考えられた。

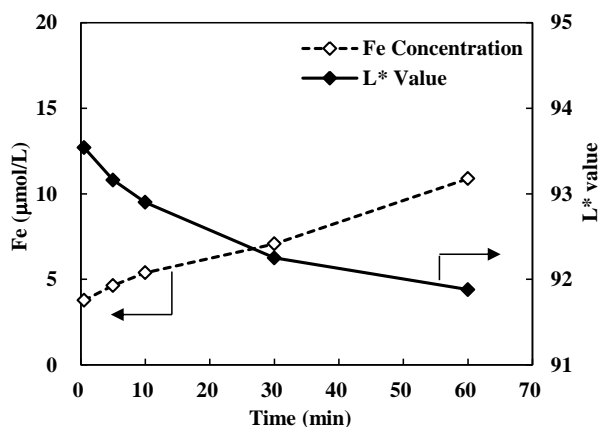


Fig. 4-6 Effect of contact time in decaffeination of green tea with montmorillonite on Fe elution and L* value of decaffeinated green tea beverages. Open square, Fe concentration; closed square, L* value.

4) 接触条件違いの影響

緑茶抽出液において、モンモリロナイトとの接触条件（pH および温度）が緑茶飲料の外観に及ぼす影響を評価した。接触 pH5.8 および 7.3 のいずれの条件においても、接触温度が高いと緑茶飲料の明度は低下した。同様に、接触温度 5°C および 20°C のいずれの条件においても、接触 pH が低いと緑茶飲料の明度は低下した (Fig. 4-7)。また、接触 pH7.3、接触温度 35°C では、液色が赤褐色になった。先行研究では、pH6 以上になると緑茶中のカテキン類が赤茶色を呈すること [138] や、鉄イオンがカテキン類の酸化を促進して茶褐色化すること [139] が報告されており、本実験でも同様の反応が進行したと考えられる。

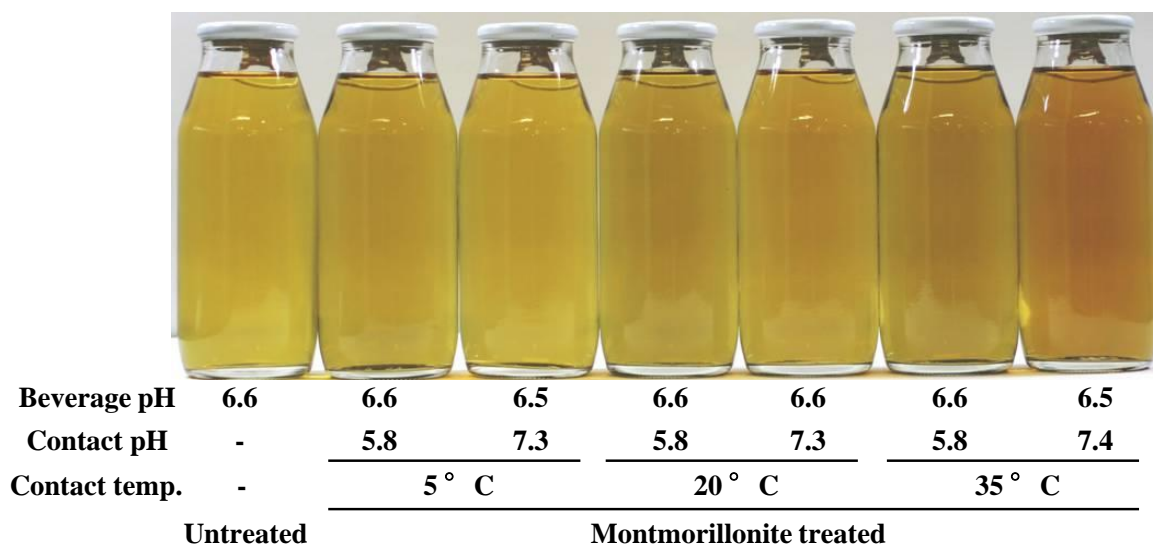


Fig. 4-7 Effect of montmorillonite treated condition on appearance of decaffeinated green tea beverages.

5) 金属イオン添加の影響

金属イオンの添加が緑茶飲料の外観に及ぼす影響を評価した。添加濃度 0~100 $\mu\text{mol/L}$ の範囲では、鉄イオンの添加で顕著な L 値の低下が確認され、Al、Mg、Ca、Na、K イオンの添加では液色の変化は観察されなかった (Fig. 4-8)。いずれのイオンも金属塩化物であることから、上記の変化はカチオンの違いによるものであり、鉄イオンの添加は緑茶飲料の外観に大きな影響を及ぼすと考えられた。また、硫酸塩である FeSO_4 の添加によっても、緑茶飲料の明度が顕著に低下する様子が確認できた (Fig. 4-9)。

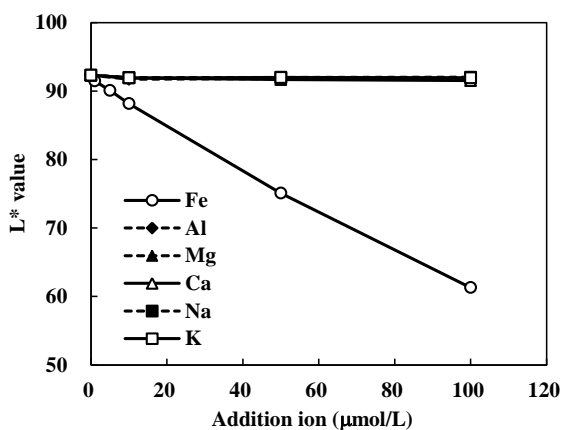


Fig. 4-8 Effect of metal ions addition on L* value of green tea beverages. Open circle, Fe ion; closed circle, Al ion; closed triangle, Mg ion; open triangle, Ca ion; closed square, Na ion; open square, K ion.

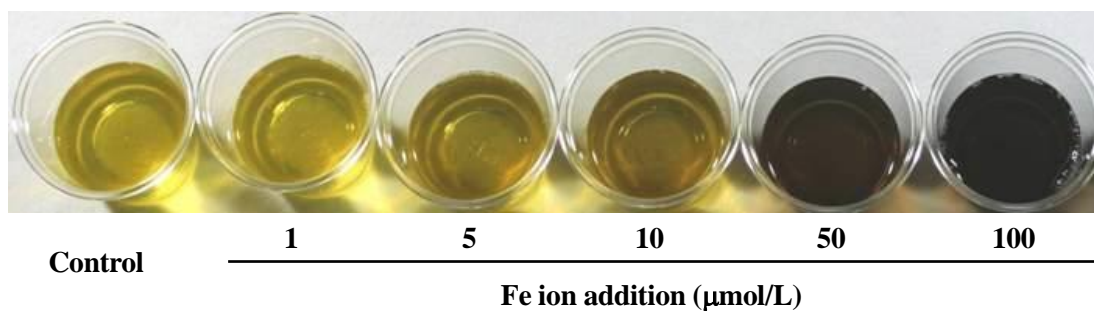


Fig. 4-9 Effect of Fe ion addition on appearance of green tea beverages.

5. 考察

モンモリロナイトと飲料との接触条件について、接触 pH および接触温度、接触時間がカフェイン吸着能と飲料の品質に及ぼす影響について評価した。

モンモリロナイトと茶抽出液の接触条件が異なる際のモンモリロナイトへのカフェイン吸着量を評価したところ、接触 pH4~8 の範囲（接触温度 25°C、接触時間 60 分）では、pH5 以下でわずかに増加したが、pH に依らずカフェイン吸着量は同等であった (Fig. 4-1)。また、接触温度 5~35°C（接触 pH5.8、接触時間 60 分）および接触時間 0.5~60 分（接触 pH5.8、接触温度 25°C）の範囲では接触条件に依らずカフェイン吸着量は同等であった (Fig. 4-2、4-3)。これらの結果は、先行研究[134]においてカフェイン溶液におけるモンモリロナイトのカフェイン吸着容量が pH4~10 の範囲では一定であったことや、第3章において茶抽出液およびコーヒー抽出液においてもモンモリロナイトへのカフェイン吸着は迅速に進行することが確認できたことからその妥当性が支持される。したがって、茶抽出液中でのモンモリロナイトへのカフェイン吸着は、接触条件に依らず迅速かつ安定に進行することが示唆された。

次に、モンモリロナイトと茶抽出液の接触条件が異なる際の茶飲料の鉄イオン濃度および液色を評価したところ、接触 pH4~8 の範囲では、接触 pH が低いほど緑茶飲料中の鉄イオン濃度が増加し、それに伴って L 値は低下した (Fig. 4-4)。また、接触温度 5~35°C の範囲では接触時間が長いほど、接触時間 0.5~60 分の範囲では接触時間が長いほど緑茶飲料中の鉄イオン濃度が増加し、それに伴って L 値は低下した (Fig. 4-5、4-6)。先行研究では、モンモリロナイトなどの粘土鉱物から鉄イオンが溶出することや、サポナイトなどの粘土鉱物において酸処理や高温処理によって鉄イオンの溶出が促進されることが報告されており[140,141]、低 pH および高温での接触によりモンモリロナイトからの鉄イオン溶出が促進されたと考えられる。さらに、茶飲料中の鉄イオン濃度が高くなるとポリフェノール類のフェノール性水酸基と鉄イオンが反応して液色が悪化することが知られており[133,134]、本実験においても茶飲料において鉄イオンが増加すると L 値の低下に伴う液色悪化が起きることが確認できた (Fig. 4-8、4-9) ことから、低 pH および高温、長時間での接触によりモンモリロナイトから溶出した鉄イオン量が増加すると、明度の低下など茶飲料の外観へ大きな影響を及ぼすことが示唆された。

以上より、モンモリロナイトによるカフェイン吸着は pH や温度の影響を受けることなく迅速に進行するのに対し、鉄イオンの溶出はゆっくりと進行し、低 pH および高温では

溶出が促進され、溶出した鉄イオンとカテキン類の反応によって茶飲料の明度の低下が起きることが示唆された (Fig. 4-10)。これらの特性の違いから、中性付近かつ低温で茶抽出液と接触させることにより、カフェインを吸着させつつ、モンモリロナイトからの鉄イオン溶出を抑制し、茶飲料の外観品質が維持できると考えられる。これは、接触 pH5.8 および 7.3、接触温度 5~35°C でモンモリロナイトと接触させた茶飲料において、茶飲料の pH が同等 (pH6.5~6.6) であっても、接触 pH が中性付近かつ低温で接触させた場合は茶飲料の明度が高かったことから確認できた (Fig. 4-7)。したがって、モンモリロナイトのカフェイン吸着とミネラル溶出の特性の違いを利用し、接触条件を調整することで、飲料中のカフェイン吸着と飲料の外観品質維持の両立が可能であることが示唆された。

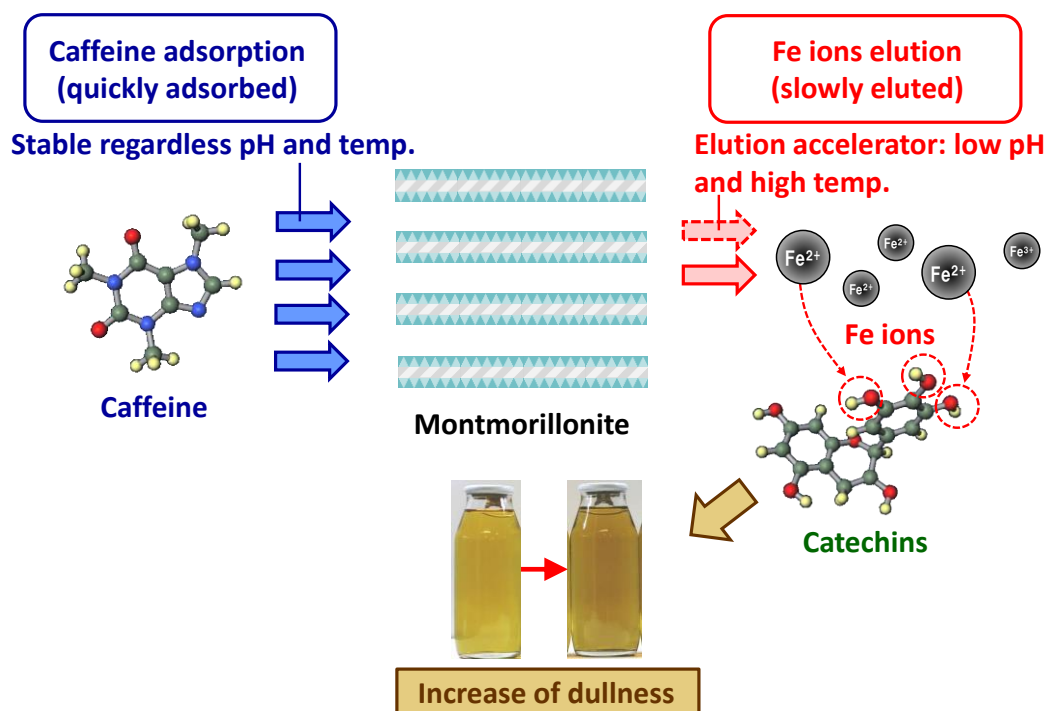


Fig. 4-10 Effect of montmorillonite decaffeination condition on caffeine adsorption, Fe ions elution, and appearance of decaffeinated green tea beverages.

第5章

モンモリロナイトによるカフェイン

除去技術の汎用性

第5章 モンモリロナイトによるカフェイン除去技術の汎用性

1. 要約

本章では、飲料製造技術としての実用性という観点で、モンモリロナイトによる飲料中のカフェイン除去技術の汎用性評価を目的に、茶種の違いおよびコーヒー豆の違いがモンモリロナイトのカフェイン吸着特性に及ぼす影響を評価した。

茶種の違い（発酵度、産地）が茶抽出液におけるモンモリロナイトのカフェイン吸着特性に及ぼす影響を評価したところ、茶葉の発酵度や産地の違いに依らずカフェイン吸着量は概ね同等であった。したがって、モンモリロナイトによるカフェイン吸着は、茶種の違いによる影響を受けず、幅広い茶飲料に適用可能であると考えられた。

コーヒー豆の違い（焙煎度、品種、産地）がコーヒー抽出液におけるモンモリロナイトのカフェイン吸着特性に及ぼす影響を評価したところ、アラビカ種の豆を用いたコーヒー抽出液におけるカフェイン吸着量よりも、ロブスタ種におけるカフェイン吸着量の方がわずかに高かったが、同一品種間では焙煎度や産地の違いに依らずカフェイン吸着量は概ね同等であった。したがって、モンモリロナイトによるカフェイン吸着は、品種の影響をわずかに受けるものの、焙煎度や産地の違いによる影響を受けないと考えられた。

以上より、モンモリロナイトによるカフェイン吸着は茶およびコーヒーを始めとする飲料に幅広く適用可能な汎用性を有していることが示唆された。

2. はじめに

飲料製造技術としての実用性という観点で、カフェイン除去技術の汎用性は非常に重要である。本章では、モンモリロナイトによる飲料中のカフェイン除去技術の汎用性について、飲料の違いがモンモリロナイトのカフェイン吸着特性に及ぼす影響を評価した。

茶は品種や部位（新芽、葉、茎など）、栽培法や加工法によってカフェイン含有量だけでなく、ポリフェノール類の重合度や含有量、香気成分やアミノ酸などの呈味成分の組成が大きく異なる。緑茶を原料にしたものでも、煎茶以外に被覆栽培したかぶせ茶や玉露、茶葉を焙煎した焙じ茶などがあり、さらに烏龍茶や紅茶のような茶葉中の酸化酵素により発酵させたものやプーアル茶のような微生物によって発酵させたものなど、産地の違いも含めるとその種類は多岐に渡る。そのため、茶種の違いがカフェイン吸着特性に影響を及ぼす場合、技術の実用性という観点で普及面での大きな障害となりうる。

コーヒーにおいても茶と同様に品種や産地、加工法によってカフェイン含有量だけでなく、クロロゲン酸類の含有量や焙煎によって生じた香気やメイラード反応の進行など、コーヒー豆の種類によって成分比率は多種多様になっている。そのため、コーヒー豆の違いがカフェイン吸着特性に影響を及ぼす可能性が考えられる。

モンモリロナイトによるカフェイン除去技術の汎用性を評価するために、茶種の違い（発酵度、産地）がモンモリロナイトのカフェイン吸着特性に及ぼす影響を評価した。また、コーヒーにおいてもコーヒー豆の違い（焙煎度、産地）がモンモリロナイトのカフェイン吸着特性に及ぼす影響を評価し、モンモリロナイトによる飲料中のカフェイン吸着についての汎用性について考察した。

3. モンモリロナイトへのカフェイン吸着における茶種の違いが及ぼす影響

3.1. 実験方法

1) 材料

吸着剤として、食品添加物として市販されているモンモリロナイト（ミズライト：水澤化学工業）を、飲料原料として、市販の緑茶葉（煎茶：静岡産）および烏龍茶葉（鉄観音：中国産および台湾産、凍頂烏龍：中国産）、紅茶葉（ディンブラ：スリランカ産、ダージリン：インド産）を用いた。また、カフェイン分析の標品にはカフェイン試薬（和光純薬工業）を用いた。

2) 抽出液の調製

茶抽出液は、緑茶葉 100 g に 80°C の湯 1,000 mL を添加し、8 分抽出して緑茶抽出液（カフェイン濃度 8.8 mmol/L）を調製した。烏龍茶葉および紅茶葉は、湯の温度を 95°C にする以外は上記と同様の条件で抽出し、烏龍茶抽出液（カフェイン濃度 8.9 mmol/L）および紅茶抽出液（カフェイン濃度 7.3~10.0 mmol/L）を調製した。

3) 吸着試験

各茶抽出液を希釈して調製した茶抽出液（カフェイン濃度 0.7~6.2 mmol/L）40 mL に対し、モンモリロナイト 400 mg（1 wt%）を添加し、25°C で 120 分接触（振とう速度：60 rpm）させた。接触後に遠心分離（1,920 ×g、10 分）をして上清を回収し、カフェイン濃度を測定した。

4) カフェイン測定

茶抽出液におけるカフェイン濃度の測定は、第3章、3.1. 4)と同様の方法で行った。

5) 吸着特性解析

第3章、4.1. 5)と同様の方法で各茶抽出液におけるカフェイン吸着等温線を作成し、作成した吸着等温線のデータを用いて、Langmuir の吸着等温式へのフィッティングを行った。また、平衡カフェイン濃度 (C_e) と平衡カフェイン吸着量 (Q_e) 平衡カフェイン吸着量より算出できる Langmuir プロット (C_e と C_e/Q_e の関係) について、統計解析ソフト (SPSS Statistics、IBM) を用いて Pearson の相関係数を算出した。

3.2. 実験結果

1) 各種茶でのカフェイン吸着等温線

緑茶抽出液および烏龍茶抽出液（3種類）、紅茶抽出液（2種類）におけるモンモリロナイトのカフェイン吸着等温線を作成した。茶葉の発酵度や産地に依らず、いずれの茶種においても、カフェイン吸着量は概ね同等であった（Fig. 5-1）。この結果から、茶抽出液におけるモンモリロナイトへのカフェイン吸着において、茶種の違いは大きな影響を及ぼさないと考えられた。

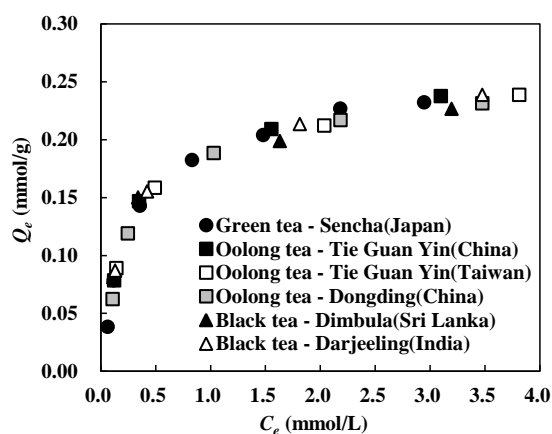


Fig. 5-1 Caffeine adsorption isotherms of montmorillonite in various tea extracts. Closed circle, green tea (Sencha from Japan); closed square, oolong tea (Tie Guan Yin from China); open square, oolong tea (Tie Guan Yin from Taiwan); gray square, oolong tea (Dongding from China); closed triangle, black tea (Dimbula from Sri Lanka); open triangle, black tea (Darjeeling from India).

2) 各種茶でのカフェイン吸着特性解析

緑茶抽出液および烏龍茶抽出液、紅茶抽出液におけるモンモリロナイトのカフェイン吸着等温線データを用いて、Langmuir の吸着等温式へのフィッティングを行った。いずれの茶種においても、モンモリロナイトのカフェイン吸着等温線は Langmuir の吸着等温式と良好なフィッティングを示し、相関係数はそれぞれ $r^2 = 0.994$ (緑茶)、 0.991 (烏龍茶)、 0.987 (紅茶) であった (Table 5-1)。

カフェイン最大吸着量 (Q_m) は、緑茶抽出液で 0.26 mmol/g 、烏龍茶抽出液および紅茶抽出液で 0.25 mmol/g と同程度であり、Langmuir 係数 (K_L) も緑茶抽出液で 3.16 L/mmol 、烏龍茶抽出液で 3.28 L/mmol 、紅茶抽出液で 3.77 L/mmol とほぼ同程度であった。

また、茶種違いの吸着等温線データの Langmuir プロット (Fig. 5-2) について、Pearson の相関係数を算出したところ、高い相関を示した ($r = 0.999$ 、 $P < 0.001$)。これらの結果から、茶種の違いに依らず茶抽出液におけるモンモリロナイトのカフェイン吸着特性は一定であることが示唆された。

Table 5-1 Effect of tea type on Langmuir parameters of caffeine adsorption by montmorillonite.

	Green tea	Oolong tea	Black tea
Q_m (mmol/g)	0.256	0.254	0.249
K_L (L/mmol)	3.157	3.281	3.773
r^2	0.994	0.991	0.987

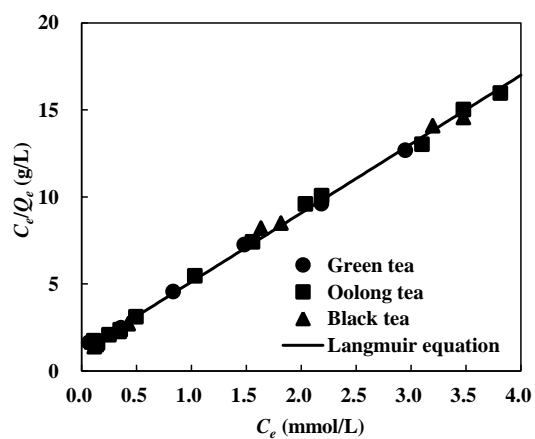


Fig. 5-2 Langmuir plots of various tea extracts on the caffeine adsorption of montmorillonite. Closed circle, green tea; closed square, oolong tea; closed triangle, black tea.

4. モンモリロナイトへのカフェイン吸着におけるコーヒー豆の違いが及ぼす影響

4.1. 実験方法

1) 材料

吸着剤として、食品添加物として市販されているモンモリロナイト（ミズライト：水澤化学工業）を、飲料原料として、市販のコーヒー豆としてアラビカ種（*Coffea arabica* cv. Bourbon：ブラジル産およびコロンビア産、キリマンジャロ産）およびロブスタ種（*Coffea canephora* cv. Robusta：インドネシア産およびベトナム産）を用いた。焙煎度は豆の明度（L値）を指標にL値=15~27となるように調整した。コーヒー豆のL値については、先行研究[142,143]に準じ、焙煎豆を挽いて粉状にしたものをハンターLab分光測色計（ColorFlex EZ Coffee、Hunter Associates Laboratory）を用いて反射モードで明度（白：L値=100、黒：L値=0）を測定した。また、カフェイン分析およびクロロゲン酸類分析の標品にはカフェイン試薬（和光純薬工業）およびクロロゲン酸試薬（5-カフェオイルキナ酸：5-CQA、和光純薬工業）を用いた。

2) 抽出液の調製

コーヒー抽出液は、挽いたコーヒー豆 100 g に 98°C の湯を注ぎ、800 g のコーヒー抽出液を調製した。焙煎度違いの検討には、L値=15~27 のブラジル産およびコロンビア産のアラビカ種を用いてコーヒー抽出液を調製した（カフェイン濃度 6.7~8.3 mmol/L）。産地違いの検討には、L値=19 のブラジル産およびコロンビア産、キリマンジャロ産のアラビカ種（カフェイン濃度 6.2~7.1 mmol/L）、L値=19~20 のインドネシア産およびベトナム産のロブスタ種（カフェイン濃度 9.5~11.1 mmol/L）を用いてコーヒー抽出液を調製した。

3) 吸着試験

各コーヒー抽出液 40 mL に対し、モンモリロナイト 240~3,200 mg（0.6~8 wt%）を添加し、25°C で 120 分接触（振とう速度：60 rpm）させた。接触後に遠心分離（1,920 × g、10 分）をして上清を回収し、カフェインおよびクロロゲン酸類濃度を測定した。

4) カフェイン・ポリフェノール量測定

コーヒー抽出液におけるカフェインおよびクロロゲン酸類の測定は第3章、3.1. 4)と同様の方法で行い、CQAsの定量は第3章、4.1. 4)と同様の方法で行った。

5) 吸着特性解析

第3章、4.1. 5)と同様の方法で各コーヒー抽出液におけるカフェイン吸着等温線を作成し、作成した吸着等温線のデータを用いて、Langmuirの吸着等温式へのフィッティングを行った。また、平衡カフェイン濃度 (C_e) と平衡カフェイン吸着量 (Q_e) 平衡カフェイン吸着量より、Langmuirプロット (C_e と C_e/Q_e の関係) を算出した。

4.2. 実験結果

1) 各種コーヒー豆のカフェイン、ポリフェノール量

焙煎度違いの豆では、すでに報告されているとおり[142]、焙煎度が強いほどコーヒー豆およびコーヒー抽出液の色が濃くなった (Fig. 5-3、写真はコロンビア産アラビカ種)。コーヒー抽出液のカフェイン濃度は、焙煎度に依らず同程度であるのに対し、CQAs は焙煎度が強くなる (L 値が低くなる) ほど、顕著に減少した (Fig. 5-4)。先行研究において、カフェインは焙煎度に依らず安定であるのに対し、CQAs は焙煎度に応じて減少することが知られており[144,145]、本実験データでもブラジル産およびコロンビア産のどちらにおいても同様の傾向が確認できた。焙煎工程によって、カフェイン/CQAs 比はブラジル産のコーヒー豆で 0.9 から 11.3 に、コロンビア産のコーヒー豆で 0.6 から 4.8 へ増加した。

品種、産地違いの豆では、すでに報告されているとおり[146]、ロブスタ種 (*C. canephora* cv. Robusta) のコーヒー豆を用いたコーヒー抽出液の方がアラビカ種 (*C. arabica* cv. Bourbon) のコーヒー豆を用いたものよりカフェイン濃度が高くなった (Fig. 5-5)。アラビカ種ではカフェイン/CQAs 比が 1.7~2.7 であったのに対し、ロブスタ種では 4.4~4.5 と顕著に高かった。



Fig. 5-3 Effect of roasting level on appearance of coffee beans and coffee extract. (a) Coffee beans; (b) coffee extracts.

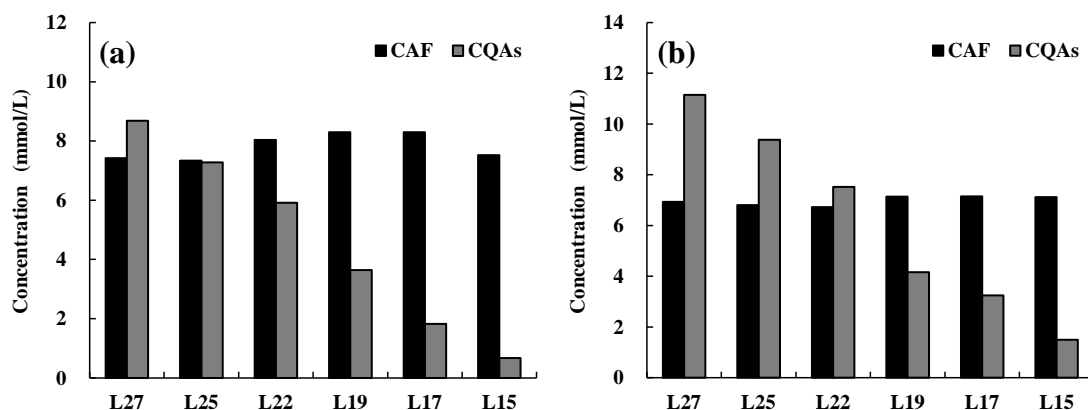


Fig. 5-4 Effect of roasting level on the concentration of caffeine and CQAs in coffee extract before decaffeination, extracted from *C. arabica* cv. Bourbon (a, Brazil; b, Colombia).

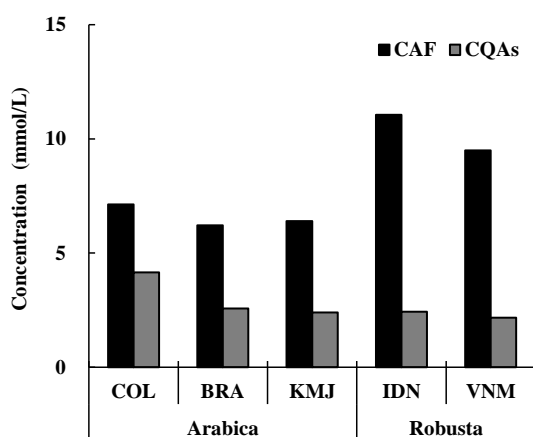


Fig. 5-5 Effects of species and locality of growth on the concentration of caffeine and CQAs in coffee extract before decaffeination, extracted from various species and locality: *C. arabica* cv. Bourbon (COL, Colombia; BRA, Brazil; KMJ, Kilimanjaro); *C. canephora* cv. Robusta (IDN, Indonesia; VNM, Vietnam). The roasting degree of the coffee beans were $L^* = 19-20$.

2) 各種コーヒー豆でのカフェイン吸着等温線

焙煎度違いの豆を用いたコーヒー抽出液におけるモンモリロナイトのカフェイン吸着等温線を作成した。焙煎度によってカフェイン/CQAs比は大きく異なるものの、焙煎度の影響はわずかであり、ブラジル産とコロンビア産のどちらの産地においても、カフェイン吸着量は概ね同等であった (Fig. 5-6)。これらの結果から、コーヒー抽出液におけるモンモリロナイトへのカフェイン吸着において、コーヒー豆の焙煎度の違いは大きな影響を及ぼさないと考えられた。

品種、産地違いの豆を用いたコーヒー抽出液におけるモンモリロナイトのカフェイン吸着等温線を作成した。ロブスタ種の豆を用いたコーヒー抽出液におけるカフェイン吸着量は、アラビカ種におけるカフェイン吸着量よりもわずかに高かったが、同一品種間では産地に依らずカフェイン吸着量は概ね同等であった (Fig. 5-7)。これらの結果から、コーヒー抽出液におけるモンモリロナイトへのカフェイン吸着において、コーヒー豆の品種の違いはわずかに影響するものの、産地の違いは大きな影響を及ぼさないと考えられた。

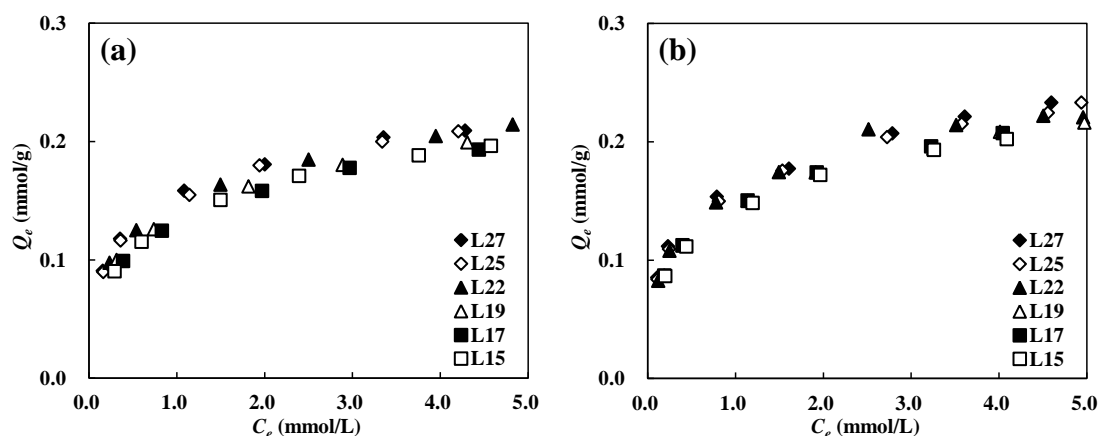


Fig. 5-6 Effect of roasting level on the caffeine adsorption properties of montmorillonite. Caffeine adsorption isotherms of montmorillonite in coffee extract, extracted from *C. arabica* cv. Bourbon (a, Brazil; b, Colombia). Closed diamond, $L^* = 27$; open diamond, $L^* = 25$; closed triangle, $L^* = 22$; open triangle, $L^* = 19$; closed square, $L^* = 17$; open square, $L^* = 15$.

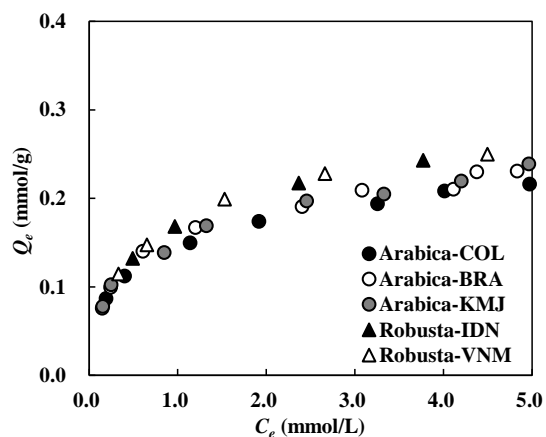


Fig. 5-7 Effects of species and locality of growth on the caffeine adsorption properties of montmorillonite. Caffeine adsorption isotherms of montmorillonite in coffee extract, extracted from various species and locality. Closed circle, Colombia (COL); open circle, Brazil (BRA); gray circle, Kilimanjaro (KMJ); closed triangle, Indonesia (IDN); open triangle, Vietnam (VNM).

3) 各種コーヒー豆でのカフェイン吸着特性解析

コーヒー抽出液におけるモンモリロナイトのカフェイン吸着等温線データを用いて、Langmuir の吸着等温式へのフィッティングを行った。アラビカ種およびロブスタ種のいずれの品種においても、モンモリロナイトのカフェイン吸着等温線は Langmuir の吸着等温式と良好なフィッティングを示し、相関係数はそれぞれ $r^2 = 0.956$ (アラビカ種)、 0.989 (ロブスタ種) であった (Table 5-2)。

カフェイン最大吸着量 (Q_m) は、アラビカ種で 0.24 mmol/g 、ロブスタ種で 0.28 mmol/g とわずかにロブスタ種が高かったが、Langmuir 係数 (K_L) はアラビカ種で 2.04 L/mmol 、ロブスタ種で 1.73 L/mmol とわずかにアラビカ種が高かった。

また、コーヒー豆違いの吸着等温線データの Langmuir プロット (Fig. 5-8) は、同一品種間では産地に依らず、高い相関を示した ($r^2 = 0.989$: アラビカ種、 0.998 : ロブスタ種)。これらの結果から、コーヒー抽出液におけるモンモリロナイトのカフェイン吸着特性はコーヒー豆の品種の影響をわずかに受けるものの、産地の違いによる影響はほとんど受けないと考えられた。

Table 5-2 Effect of coffee type on Langmuir parameters of caffeine adsorption by montmorillonite.

	<i>C. Arabica</i> cv. Bourbon	<i>C. canephora</i> cv. Robusta
Q_m (mmol/g)	0.242	0.279
K_L (L/mmol)	2.040	1.730
r^2	0.956	0.989

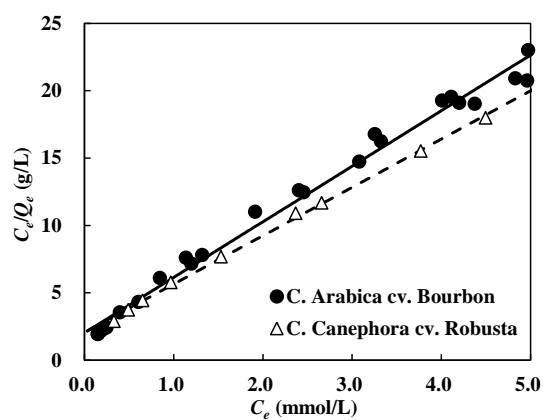


Fig. 5-8 Langmuir plots of various coffee extracts on the caffeine adsorption of montmorillonite. Closed circle, *C. arabica* cv. Bourbon; open triangle, *C. canephora* cv. Robusta.

5. 考察

モンモリロナイトによる飲料中のカフェイン吸着の汎用性について、茶種およびコーヒー豆の違いがカフェイン吸着特性に及ぼす影響について評価した。

茶種の違い（発酵度、産地）が茶抽出液におけるモンモリロナイトのカフェイン吸着特性に及ぼす影響を評価したところ、茶葉の発酵度や産地の違いに依らずカフェイン吸着量は概ね同等であった（Fig. 5-1）。緑茶、烏龍茶、紅茶のいずれの茶種においても、カフェイン吸着等温線は Langmuir の吸着等温式と良好なフィッティングを示し、相関係数はそれぞれ $r^2 = 0.994$ （緑茶）、 0.991 （烏龍茶）、 0.987 （紅茶）であった（Table 5-1）。また、カフェイン最大吸着量（ Q_m ）は、緑茶抽出液で 0.26 mmol/g 、烏龍茶抽出液および紅茶抽出液で 0.25 mmol/g と同程度であり、茶種違いの Langmuir プロットについて Pearson の相関係数を算出したところ、 $r = 0.999$ （ $P < 0.001$ ）と高い相関を示した（Fig. 5-2）。先行研究[147]において、緑茶および紅茶では発酵度や産地によってカフェインおよびポリフェノール組成や含量が幅広いことが知られているが、本実験結果から、それらの茶成分の組成の違いはモンモリロナイトのカフェイン吸着特性に大きな影響を及ぼさないことが示唆された。したがって、モンモリロナイトによるカフェイン吸着は茶種の違いに依らず、幅広い茶飲料に適用可能であると考えられた。

コーヒー豆の違いについて、焙煎度の違いがコーヒー抽出液におけるモンモリロナイトのカフェイン吸着特性に及ぼす影響を評価したところ、コーヒー豆の焙煎度の影響はわずかであり、カフェイン吸着量は概ね同等であった（Fig. 5-6）。焙煎度の高いコーヒー豆で観察されたカフェイン吸着量のわずかな減少は CQLs などの焙煎によって生じる化合物による影響と考えられ、モンモリロナイトへのクロロゲン酸類の挙動（第3章、Table 3-7）からも CQAs より CQLs の方がわずかに吸着される比率が高いことから推察される。しかしながら、先行研究[144,145]および本実験結果（Fig. 5-4）で確認されている焙煎によるカフェイン/CQAs 比の大きな変化と比較すると、その影響は軽微であり、コーヒー豆の焙煎度の違いはモンモリロナイトのカフェイン吸着特性には大きな影響は及ぼさないと考えられる。

次に、コーヒー豆の品種および産地の違いがコーヒー抽出液におけるモンモリロナイトのカフェイン吸着特性に及ぼす影響を評価したところ、アラビカ種の豆を用いたコーヒー抽出液におけるカフェイン吸着量よりも、ロブスタ種におけるカフェイン吸着量の方がわずかに高かったが、同一品種間では産地に依らずカフェイン吸着量は概ね同等であった

(Fig. 5-7)。アラビカ種およびロブスタ種のどちらの品種においても、カフェイン吸着等温線は Langmuir の吸着等温式と良好なフィッティングを示し、相関係数はそれぞれ $r^2 = 0.956$ (アラビカ種)、 0.989 (ロブスタ種) であった (Table 5-2)。カフェイン最大吸着量 (Q_m) は、アラビカ種で 0.24 mmol/g 、ロブスタ種で 0.28 mmol/g とわずかにロブスタ種が高かった。先行研究[146]および本実験結果 (Fig. 5-5) で確認されているように、ロブスタ種ではアラビカ種よりもコーヒー抽出液中のカフェイン濃度が高いことから、モンモリロナイトの吸着サイトへのコーヒー中のカフェイン以外の成分の吸着が起こりにくいと推察される。また、コーヒー豆違いの吸着等温線データの Langmuir プロット (Fig. 5-8) は、同一品種間では産地に依らず、高い相関を示した ($r^2 = 0.989$: アラビカ種、 0.998 : ロブスタ種) ことから、コーヒー抽出液におけるモンモリロナイトのカフェイン吸着特性はコーヒー豆の品種の影響をわずかに受けるものの、産地の違いによる影響はほとんど受けないことが示唆された。

コーヒー豆の品種違いの影響について、茶種違いの Langmuir プロット (Fig. 5-2) およびカフェイン溶液におけるデータ (第3章、Fig. 3-7) と比較したところ、低濃度域においてはアラビカ種とロブスタ種、茶抽出液とカフェイン溶液が近い傾向があり、高濃度域においてはロブスタ種と茶抽出液が同等であった (Fig. 5-9)。したがって、モンモリロナイトのカフェイン吸着サイトの効果的な活用という観点では、カフェイン溶液 > 茶抽出液 \geq コーヒー抽出液 (ロブスタ種) \geq コーヒー抽出液 (アラビカ種) であると考えられた。

以上より、モンモリロナイトによるカフェイン吸着は茶種の違いによる影響をほとんど受けないことが示唆された。また、コーヒーにおいても、コーヒー豆の品種の影響をわずかに受けるものの、焙煎度や産地の違いによる影響はほとんど受けないことが示唆された。したがって、モンモリロナイトによるカフェイン除去技術は幅広い飲料に適用可能な汎用性を有していることが示唆された。

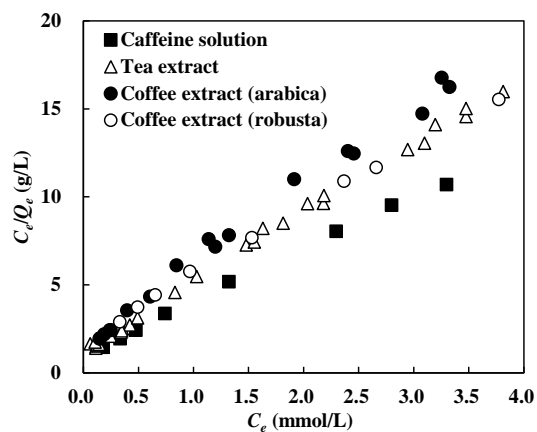


Fig. 5-9 Langmuir plots of caffeine solution, various tea extracts and coffee extracts on the caffeine adsorption of montmorillonite. Closed square, caffeine solution; open triangle, tea extracts; closed circle, coffee extracts (*C. arabica* cv. Bourbon); open circle, coffee extracts (*C. canephora* cv. Robusta).

第6章

モンモリロナイトの改質が
カフェイン吸着と飲料品質に及ぼす影響

第6章 モンモリロナイトの改質がカフェイン吸着と飲料品質に及ぼす影響

1. 要約

本章では、モンモリロナイトの改質処理による飲料中のカフェイン除去と飲料としての外観品質における保存安定性維持の両立に向けて、イオン置換処理がカフェイン吸着能と飲料の外観品質に及ぼす影響を評価した。

モンモリロナイト処理したデカフェ緑茶飲料について析出試験を実施したところ、モンモリロナイト処理直後から濁りの発生が観察され、濁りの経時的な増加に伴って、カルシウムイオン濃度およびシュウ酸イオン濃度が減少した。また、デカフェ緑茶飲料で発生した析出物を FT-IR で解析したところ、カルシウムイオン添加緑茶飲料で発生した析出物およびシュウ酸カルシウム試薬と概ね一致する特徴的なピークが確認されたことから、茶抽出液との接触によって茶中の陽イオンと交換することでモンモリロナイトの層間イオンであるカルシウムイオンが溶出し、茶由来のシュウ酸イオンと反応してシュウ酸カルシウムが生成・析出することで濁りが生じていると考えられた。

そこで、モンモリロナイトの層間イオンを各種陽イオン（ナトリウム、カリウム、マグネシウムおよびアンモニウム）に置換したイオン置換モンモリロナイトを調製し、層間イオンがデカフェ緑茶飲料の外観品質に及ぼす影響を評価したところ、イオン置換モンモリロナイトで処理したデカフェ緑茶飲料では、未処理の緑茶飲料と比較してカルシウムイオン濃度の増加やシュウ酸イオン濃度の低下は確認されず、濁りも発生しなかった。したがって、モンモリロナイトの層間イオンをカルシウムイオンから別の陽イオンに置換することで、デカフェ緑茶飲料におけるシュウ酸カルシウム析出が抑制されたと考えられた。

さらに、イオン置換モンモリロナイトでは、緑茶中におけるカフェイン吸着量は未処理のモンモリロナイトと比較して 90%以上が維持されたことから、モンモリロナイトのカフェイン吸着能はイオン置換処理による影響を受けないと考えられた。

以上より、層間イオンの置換によるモンモリロナイトの改質処理によって、飲料中のカフェイン吸着と茶飲料の外観品質における保存安定性維持が両立できることが示唆された。

2. はじめに

吸着剤を利用したカフェイン除去技術については、吸着剤が必ずしもモンモリロナイトである必要はなく、より選択的で汎用性が高く飲料製造における適性を有していればよいと考えられる。本章では、モンモリロナイトによるカフェイン除去技術の更なる洗練に向けて、モンモリロナイトの改質処理がカフェイン吸着能と飲料の外観品質に及ぼす影響を評価した。

モンモリロナイトは層間にナトリウムやカルシウムなどの交換性陽イオンを保持しており、各種陽イオンとのイオン交換反応によって層間イオンを放出し、種々のイオンに置換することができる。飲料との接触においても、抽出液に含まれるカリウムイオンなどとの交換反応により、層間のイオンが放出されることが想定される。また、茶葉にはジカルボン酸であるシュウ酸が約0.7~1.3%含まれていることが知られており[148]、特にカルシウム型モンモリロナイトと茶の反応では、接触時に層間から放出されたカルシウムイオンと茶由来のシュウ酸イオンが反応してシュウ酸カルシウムの析出を生じることが懸念される。シュウ酸カルシウムは、食品産業において砂糖やビールの製造における代表的なスケールとして知られており[149,150]、茶においても硬水抽出時の白色沈殿[151]や茶渋の生成[152]に関与することが報告されている。したがって、モンモリロナイト処理したデカフェ茶飲料においても、保存時に濁りや沈殿物が発生するリスクがあることから、飲料における外観品質の保存安定性という観点で注意が必要である。

モンモリロナイトの改質処理の影響については、層間イオンをナトリウム、カリウム、マグネシウム、カルシウム、アンモニウムイオンで置換したモンモリロナイトを用いて、カフェイン吸着量および茶飲料の保存安定性に及ぼす影響を評価し、イオン置換処理によりカフェイン吸着と外観品質における保存安定性維持の両立が可能かを考察した。

3. モンモリロナイトのイオン置換処理がカフェイン吸着と飲料品質に及ぼす影響

3.1. 実験方法

1) 材料

吸着剤として、食品添加物として市販されているモンモリロナイト（ミズライト：水澤化学工業）を、飲料原料として、市販の緑茶葉（煎茶：静岡産）を用いた。また、カルシウムイオン添加試験およびイオン置換モンモリロナイトの調製には各種陽イオンの塩化物試薬（カルシウムイオン： $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、ナトリウムイオン： NaCl 、カリウムイオン： KCl 、マグネシウムイオン： $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、アンモニウムイオン： NH_4Cl 、和光純薬工業）を用いた。カフェイン分析の標品にはカフェイン試薬（和光純薬工業）を、沈殿物分析の対照にはシュウ酸カルシウム試薬（一水和物、和光純薬工業）を用いた。

2) 抽出液の調製

茶抽出液は、緑茶葉 100 g に 70°C の湯 3,000 mL を添加し、6 分抽出して緑茶抽出液を調製した（カフェイン濃度 3.3 mmol/L）。得られた緑茶抽出液を用いて、吸着試験およびカルシウムイオン添加試験を行った。

3) 吸着試験・カルシウムイオン添加試験

緑茶抽出液 40 mL に対し、モンモリロナイト 800 mg (2 wt%) を添加し、25°C で 1 分接触させた。接触後に遠心分離 (1,920 ×g、5 分) をして上清を回収し、回収した上清 36 mL に対してイオン交換水 24 mL を添加し、デカフェ緑茶飲料を得た。緑茶抽出液およびデカフェ緑茶飲料のカフェイン濃度の測定は、第 3 章、3.1. 4) と同様の方法で行った。

また、緑茶抽出液を遠心分離 (1,920 ×g、5 分) した後に回収した上清 36 mL に対し、カルシウムイオン添加濃度が 0.1~10 mmol/L となるようにカルシウムイオン溶液 24 mL を添加し、カルシウムイオン添加緑茶飲料を得た。

4) 析出試験

デカフェ緑茶飲料およびカルシウムイオン添加緑茶飲料の析出試験を実施した。デカフェ緑茶飲料は 4°C で振とう（振とう速度：60 rpm）し、経時的（0.5~5 時間）に濁度を測定した。カルシウムイオン添加緑茶飲料は 4°C で 2 時間振とう（振とう速度：60 rpm）し、

濁度を測定した。濁度については、先行研究[153]に準じ、分光光度計 (U-3900H、日立) および光路長 10 mm の石英セルを用い、660 nm における光学密度を指標として用いた。

5) カルシウムイオン、シュウ酸イオン濃度測定・沈殿物解析

保存後のデカフェ緑茶飲料およびカルシウムイオン添加緑茶飲料をメンブレンフィルター (0.2 μm 、PTFE) で濾過し、希釈後にイオンクロマトグラフィー (ポンプ: LC-20AD、オートサンプラー: SIL-10Ai、カラムオープン: CTO-20AC、システムコントローラ: CBM-20A、島津製作所) を用いてカルシウムイオンおよびシュウ酸イオン濃度を測定した。イオンクロマトグラフィー分析条件は、陽イオン分析がカラム: Shim-pack IC-C4 (島津製作所)、カラム温度: 30°C、流速: 1.2 mL/min、移動相: シュウ酸溶液 (3.0 mmol/L)、陰イオン分析がカラム: Shim-pack IC-SA2 (島津製作所) カラム温度: 30°C、流速: 1.0 mL/min、移動相: NaHCO_3 (12 mmol/L) / Na_2CO_3 (0.6 mmol/L)、検出器: 電気伝導度 (CDD-10AVP、島津製作所) とした。

また、保存後のデカフェ緑茶飲料およびカルシウムイオン添加緑茶飲料に発生した析出物を解析した。4°Cで2時間振とう (振とう速度: 60 rpm) したデカフェ緑茶飲料およびカルシウムイオン添加緑茶飲料 (カルシウムイオン添加濃度 1.0 mmol/L) を遠心分離 (1,920 \times g、5分) して沈殿物を回収し、80°Cで一晩乾燥させた。回収した沈殿物の乾燥後、Ge プリズムの ATR (MIRacle10、島津製作所) を用いて FT-IR (IRTracer-100、島津製作所) で分析した。FT-IR 分析条件は、温度: 20°C、測定モード: 吸光度、積算回数: 20回、分解能: 4 cm^{-1} 、測定波長: 750~4,000 cm^{-1} とし、対照区として緑茶飲料から遠心回収した沈殿物およびシュウ酸カルシウム試薬の FT-IR 分析も実施した。

6) イオン置換モンモリロナイトの調製

イオン置換モンモリロナイトを調製するために、ナトリウム、カリウム、マグネシウム、カルシウム、アンモニウム (Na 、 K 、 Mg 、 Ca 、 NH_4) イオンによるモンモリロナイトの陽イオン交換処理を行った。各陽イオン溶液 (1 mol/L) 40 mL に対し、モンモリロナイト 4,000 mg を添加し、20°Cで30分間振とう (振とう速度: 60 rpm) 後に遠心分離 (3,420 \times g、10分) をして固形物 (モンモリロナイトペレット) を回収した。同様の操作を3回繰り返して、得られた固形物に超純水 40 mL を添加して懸濁して洗浄し、遠心分離をして固形物を回収した。洗浄操作は、同様の操作を超純水で2回、エタノール (和光純薬工業)

で1回、アセトン（和光純薬工業）で1回行った。洗浄後に回収した固形物は40°Cで12時間乾燥し、セラミック製のミルで粉碎し、各種イオン置換モンモリロナイト（Na-MMT、K-MMT、Mg-MMT、Ca-MMT、NH₄-MMT）を得た。

7) 元素組成・層間距離測定

イオン置換モンモリロナイトについて、元素組成および構造解析を行った。元素組成は走査型蛍光X線分析装置（ZSX Primus II、リガク）を用いて、Na₂O、MgO、Al₂O₃、SiO₂、K₂O、CaO、Fe₂O₃量を定量した。元素組成分析サンプルは加圧成型法で調製し、先行研究[154]に準じ、未処理モンモリロナイトの湿式分析データから得られた検量線を用いて定量した。構造解析はCuKαをX線源としたX線回折装置（RINT-Ultima PC、リガク）を用いて分析した。測定は連続スキャン法で行い、スキャン範囲は5~90°で分析した。層間距離はd001面の回折ピーク角度からBraggの法則[155]を用いて算出した。

3.2. 実験結果

1) モンモリロナイト処理茶飲料の外観変化

未処理の緑茶飲料のカフェイン濃度が 2.0 mmol/L であったのに対し、モンモリロナイト処理後の緑茶飲料のカフェイン濃度は 0.3 mmol/L であった(カフェイン除去率 84.8%)。カフェイン除去処理後に、デカフェ緑茶飲料について析出試験を実施したところ、濁りの発生を観察した (Fig. 6-1a)。濁りはカフェイン除去処理直後から顕著に発生し、経時的に増加した (Fig. 6-1b)。先行研究では、緑茶の低温保管時にシュウ酸カルシウムの析出が起こること[156]やモンモリロナイトからイオン交換反応によってカルシウムイオンやマグネシウムイオンが溶出すること[157]が報告されており、本実験でもデカフェ茶飲料において、濁りの経時的な増加に伴い、カルシウムイオンおよびシュウ酸イオンの経時的な減少が確認できた (Fig. 6-2)。また、モンモリロナイト処理によってカルシウムイオン濃度が 0.12 mmol/L から 0.73 mmol/L へ増加していること、およびシュウ酸イオン濃度が 1.43 mmol/L から 0.68 mmol/L へ減少していることから、モンモリロナイト処理後だけでなく茶との接触時にもシュウ酸カルシウムの析出が起きており、接触時に析出したシュウ酸カルシウムはモンモリロナイトを除去するための遠心分離によって大半が除去されていると考えられた。

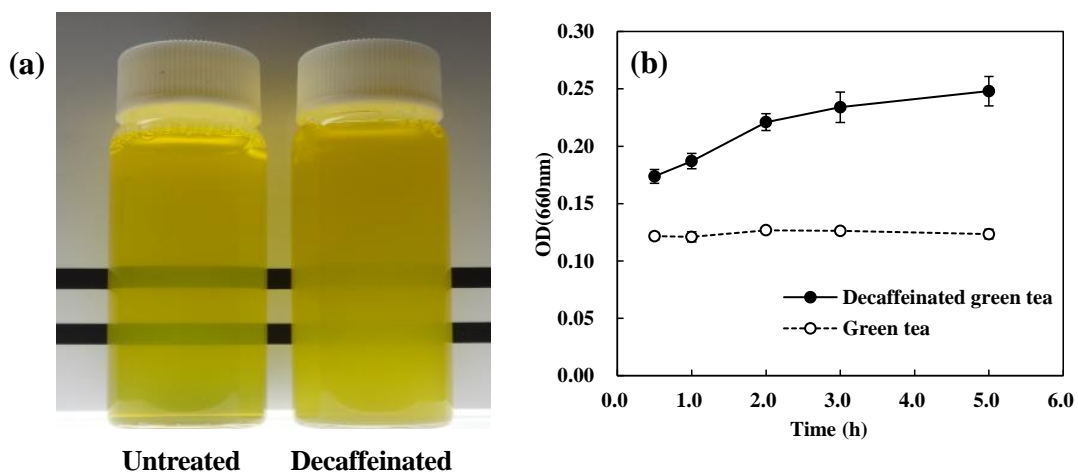


Fig. 6-1 Change in the appearance of green tea decaffeinated by montmorillonite. (a) Appearance of untreated green tea and decaffeinated green tea after agitation for 5 h at 4 °C; (b) time course of turbidity after decaffeination treatment. Closed circle, decaffeinated green tea; open circle, untreated green tea. The bars indicate standard deviation (n=5).

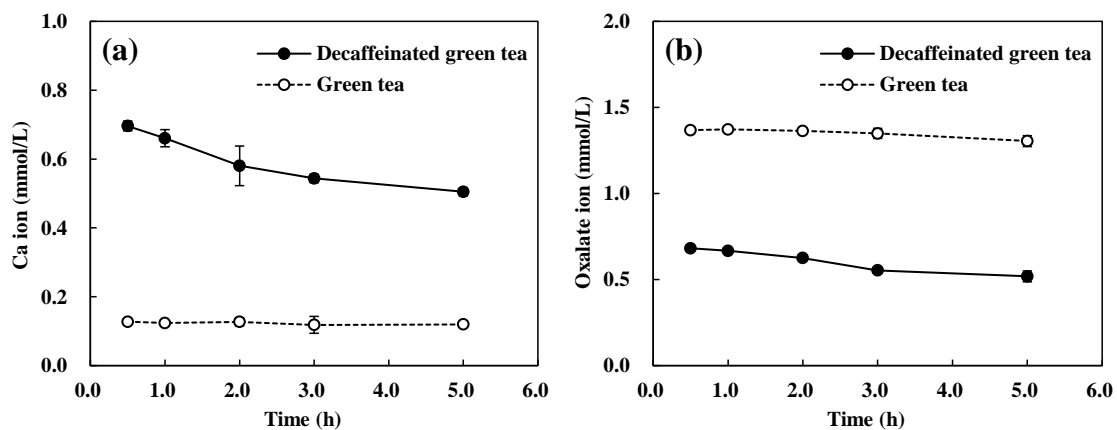


Fig. 6-2 Time courses of concentration of Ca and oxalate ion in decaffeinated green tea after montmorillonite treatment. (a) Ca ion; (b) oxalate ion. Closed circle, decaffeinated green tea; open circle, untreated green tea. The bars indicate standard deviation (n=5).

2) Ca イオン添加茶飲料の外観変化

カルシウムイオンを添加した緑茶飲料について析出試験を実施したところ、0.3 mmol/L以上のカルシウムイオン添加で濁りの発生を観察した (Fig. 6-3)。先行研究では、緑茶の硬水による抽出やカルシウムイオンの添加によってシュウ酸カルシウムの析出や濁りの発生が起こること[151,158]が報告されており、本実験においてもカルシウムイオン添加量の増加に伴う濁度上昇とシュウ酸イオン濃度の低下が確認できた (Fig. 6-3)。この結果から、緑茶飲料へのカルシウムイオン添加によって、シュウ酸カルシウムが析出し、濁りが発生したと考えられた。

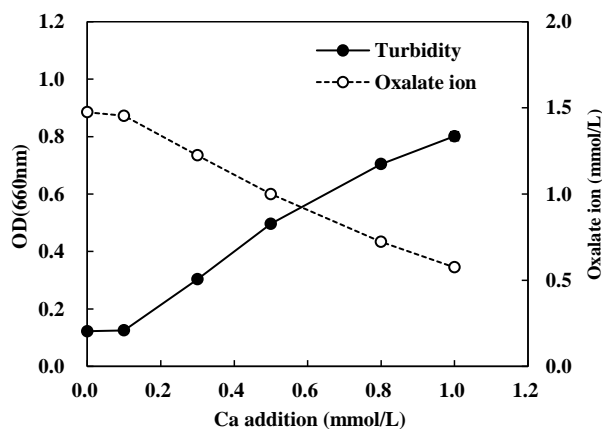


Fig. 6-3 Effect of Ca ion addition on turbidity and concentration of oxalate ion in green tea. Closed circle, turbidity (OD 660nm); open circle, oxalate ion. The bars indicate standard deviation (n=5).

3) 茶飲料に生じた析出物の解析結果

モンモリロナイト処理によってカフェインを除去したデカフェ緑茶飲料およびカルシウムイオン添加緑茶飲料について、析出試験で発生した析出物を遠心分離により回収し、FT-IR で解析した。未処理の緑茶と比較して、デカフェ緑茶飲料およびカルシウムイオン添加緑茶飲料では、 1635 cm^{-1} および 1320 cm^{-1} 付近に特徴的なピークが確認された (Fig. 6-4b, c および d)。また、シュウ酸カルシウムでも 1608 cm^{-1} および 1315 cm^{-1} 付近に特徴的なピークが確認された (Fig. 6-4e)。一方、モンモリロナイトのスペクトルにはこれらの特徴的なピークは確認されなかった (Fig. 6-4a)。先行研究では、シュウ酸カルシウムの FT-IR スペクトルが 1619 cm^{-1} および 1313 cm^{-1} 付近にカルボン酸の伸縮振動に起因する特徴的なピークを有すること [159] が報告されており、モンモリロナイトで処理したデカフェ緑茶飲料およびカルシウムイオン添加緑茶飲料に生じた析出物はシュウ酸カルシウムであると考えられた。

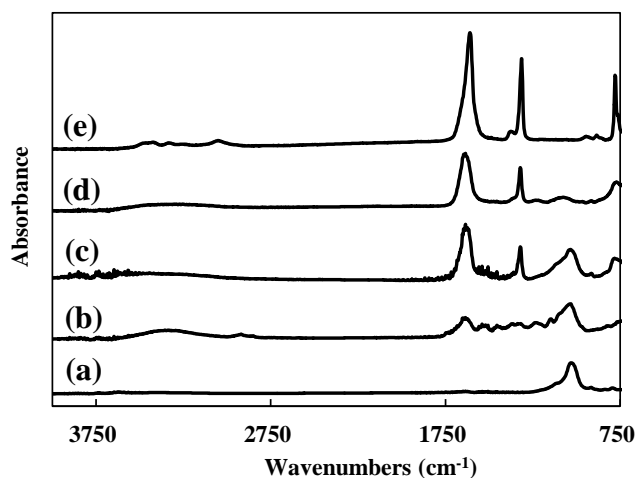


Fig. 6-4 Infrared spectra of precipitates in green tea beverages, montmorillonite and calcium oxalate. (a) Montmorillonite; (b) untreated green tea; (c) green tea decaffeinated by montmorillonite; (d) Ca added green tea; (e) calcium oxalate.

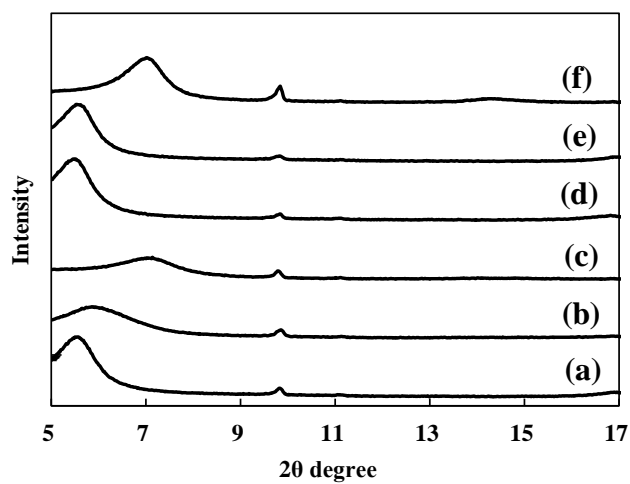
4) イオン置換モンモリロナイトの分析結果

各種イオン置換モンモリロナイト (Na-MMT、K-MMT、Mg-MMT、Ca-MMT、NH₄-MMT) について、層間のイオン交換が進行していることを確認するために、元素組成および構造解析を行った。イオン置換モンモリロナイトの元素組成について、蛍光 X 線分析を実施したところ、カルシウム以外のイオンで置換したモンモリロナイト (Na-MMT、K-MMT、Mg-MMT、NH₄-MMT) では、モンモリロナイト中の CaO の比率が減少していた。また、Na-MMT、K-MMT、Mg-MMT では、それぞれ Na₂O、K₂O、MgO の比率が増加していた (Table 6-1)。これらの結果から、イオン置換モンモリロナイトではモンモリロナイト層間のカルシウムイオンが各種陽イオンに置換されたと考えられた。一方、Ca-MMT では、CaO の比率が増加していた (Table 6-1)。この結果から、Ca-MMT ではモンモリロナイト層間のカルシウムイオン占有率が上昇したと考えられた。

各種イオン置換モンモリロナイトの XRD 回折パターンを Fig. 6-5 に示した。また、d001 面の回折ピーク角度から算出した層間距離を Table 6-1 に示した。XRD 回折パターンおよび層間距離は層間のイオンによって異なり、Na-MMT、K-MMT および NH₄-MMT の層間距離はそれぞれ 1.51 nm、1.24 nm および 1.26 nm であったのに対し、Mg-MMT および Ca-MMT では層間距離はどちらも 1.60 nm であり、未処理モンモリロナイト (raw MMT) の 1.59 nm と同等であった (Table 6-1、Fig. 6-5)。先行研究では、層間のイオン種や水和状態によって層間距離が変化すること [74,160]、および層間イオンがナトリウムのような 1 価イオンの場合は無水、1 層および 2 層の水分子を保持した状態の層間距離はそれぞれ 1.00 nm、1.24 nm および 1.56 nm であり [78]、層間イオンがカルシウムのような 2 価イオンの場合はそれぞれ 1.03 nm、1.17 nm および 1.50 nm であること [161] が報告されている。したがって、K-MMT および NH₄-MMT では 1 層の水分子、Na-MMT、Mg-MMT および Ca-MMT では 2 層の水分子を含む層状態であると考えられた。

Table 6-1. Elemental composition and interlayer distance of ion-exchanged montmorillonite.

	raw MMT	Na- MMT	K- MMT	Mg- MMT	Ca- MMT	NH ₄ - MMT
SiO ₂ (%)	75.4	74.9	75.1	73.8	74.6	75.7
Al ₂ O ₃ (%)	12.0	11.4	11.8	11.3	11.6	12.1
Fe ₂ O ₃ (%)	2.5	2.3	2.4	2.4	2.2	2.8
Na ₂ O (%)	0.2	2.5	0.1	0.1	0.1	0.1
K ₂ O (%)	0.3	0.2	2.9	0.2	0.2	0.2
MgO (%)	3.0	2.3	2.4	4.6	2.3	2.4
CaO (%)	1.1	0.3	0.3	0.3	2.9	0.3
Interlayer distance (nm)	1.59	1.51	1.24	1.60	1.60	1.26

**Fig. 6-5** XRD patterns of ion-exchanged montmorillonite (MMT). (a) raw MMT; (b) Na-MMT; (c) K-MMT; (d) Mg-MMT; (e) Ca-MMT; (f) NH₄-MMT.

5) イオン置換モンモリロナイトのカフェイン吸着能

緑茶抽出液において、層間イオンがモンモリロナイトへのカフェイン吸着に及ぼす影響を評価した。緑茶中での K-MMT、Mg-MMT、Ca-MMT および NH₄-MMT のカフェイン吸着量は 0.10~0.14 mmol/g と同程度であった (Fig. 6-6)。raw MMT のカフェイン吸着量は 0.13 mmol/g であったことから、K-MMT、Mg-MMT、Ca-MMT および NH₄-MMT のカフェイン吸着能はイオン置換処理前と比較して 90%以上維持されていると考えられた。一方、Na-MMT のカフェイン吸着量は raw MMT の 75.4%に留まった (Fig. 6-6)。

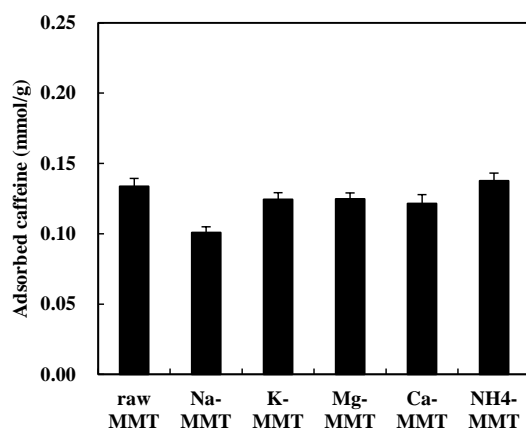


Fig. 6-6 Effects of interlayer ion in ion-exchanged montmorillonite on caffeine adsorption in green tea. The bars indicate standard deviation (n=5).

6) イオン置換モンモリロナイト処理茶飲料の外観変化

イオン置換モンモリロナイトを用いて処理したデカフェ緑茶飲料について、析出試験(4°C、2時間)を実施したところ、未処理のモンモリロナイト(raw MMT)およびCa-MMTでは顕著に濁りが発生した (Fig. 6-7a)。また、raw MMT および Ca-MMT で処理したデカフェ緑茶飲料は未処理の緑茶飲料に対して、シュウ酸イオン濃度がそれぞれ 53.9%、82.4%減少し、カルシウムイオン濃度がそれぞれ7倍、28倍に増加した (Fig. 6-7b)。一方、Na-MMT、K-MMT、Mg-MMT および NH₄-MMT では濁りの発生およびシュウ酸イオン濃度の減少は確認されなかった (Fig. 6-7)。これらの結果から、Na-MMT、K-MMT、Mg-MMT および NH₄-MMT で処理したデカフェ緑茶飲料では、モンモリロナイト処理中および析出試験中のシュウ酸カルシウム析出が抑制されたと考えられた。

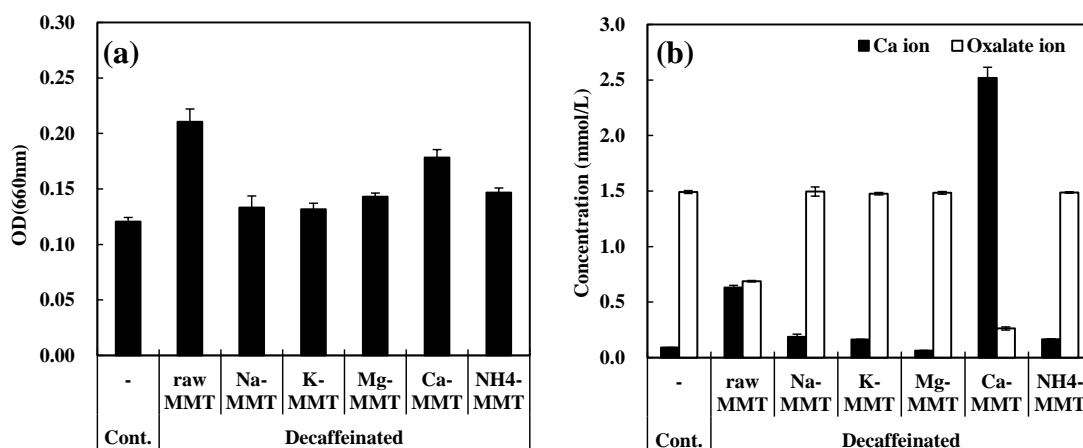


Fig. 6-7 Effects of interlayer ion in ion-exchanged montmorillonite on appearance and concentrations of Ca ion and oxalate ion in decaffeinated green tea after agitation for 2 h at 4 °C. (a) Turbidity (OD 660 nm); (b) concentrations of Ca ion and oxalate ion. The bars indicate standard deviation (n=5).

4. 考察

モンモリロナイトの改質処理の影響について、層間イオンの置換処理が飲料の品質およびカフェイン吸着特性に及ぼす影響を評価した。

モンモリロナイト処理したデカフェ緑茶飲料について析出試験を実施したところ、モンモリロナイト処理直後から濁りの発生が観察され、濁りは経時的に増加した (Fig. 6-1)。また、モンモリロナイト処理によるカルシウムイオン濃度の増加 (0.12→0.73 mmol/L) およびシュウ酸イオン濃度の減少 (1.43→0.68 mmol/L) が確認され、処理後の濁りの経時的な増加に伴って、カルシウムイオン濃度およびシュウ酸イオン濃度の減少が確認できた (Fig. 6-2)。先行研究では、モンモリロナイトからイオン交換反応によってカルシウムイオンが溶出すること [157] や緑茶における低温保管時のシュウ酸カルシウム析出 [156] が報告されていることから、モンモリロナイト処理時にカリウムイオンなどの茶抽出液中の陽イオンとのイオン交換反応によりモンモリロナイトからカルシウムイオンが溶出し、茶由来のシュウ酸イオンと反応してシュウ酸カルシウムが生成・析出したことが処理後に発生した濁りの原因と考えられた。モンモリロナイト処理時にもシュウ酸イオン濃度の減少が確認されたことから、モンモリロナイトへのシュウ酸イオンの吸着もしくはモンモリロナイト処理時にもシュウ酸カルシウムの析出が起きていることが示唆された。いずれの場合においても、モンモリロナイトを除去するための遠心分離によって、シュウ酸イオンを吸着したモンモリロナイトもしくは析出したシュウ酸カルシウムが除去されたため、シュウ酸イオン濃度の低減が確認されたと考えられる。

次に、モンモリロナイト処理後のデカフェ緑茶飲料で発生した析出物がシュウ酸カルシウムであることを確認するために、緑茶へのカルシウムイオン添加および析出物の解析を行った。緑茶へのカルシウムイオン添加では、カルシウムイオン添加量の増加に伴って濁度上昇とシュウ酸イオン濃度の低下が確認できた (Fig. 6-3)。先行研究においても、緑茶の硬水による抽出やカルシウムイオンの添加によってシュウ酸カルシウムの析出や濁りの発生が起ること [151,158] が報告されており、緑茶飲料へのカルシウムイオン添加によって、シュウ酸カルシウムが析出し、濁りが発生したと考えられた。また、発生した析出物を遠心分離により回収し、FT-IR で解析したところ、未処理の緑茶と比較して、デカフェ緑茶飲料およびカルシウムイオン添加緑茶飲料では、 1635 cm^{-1} および 1320 cm^{-1} 付近に、シュウ酸カルシウム試薬でも 1608 cm^{-1} および 1315 cm^{-1} 付近に特徴的なピークが確認された (Fig. 6-4)。一方、モンモリロナイトの FT-IR スペクトルにはこれらの特徴的なピーク

クは確認されなかったことから、デカフェ緑茶飲料およびカルシウムイオン添加緑茶飲料に生じた析出物はシュウ酸カルシウムであることが示唆された。

上述したように、モンモリロナイト処理後のデカフェ緑茶飲料で発生した析出物はシュウ酸カルシウムであり、モンモリロナイト層間のカルシウムイオンが原因であると考えられる。そこで、層間イオンの影響を評価するために、イオン置換モンモリロナイトを調製した。イオン置換モンモリロナイトの元素組成について、蛍光 X 線分析を行ったところ、カルシウム以外のイオンで置換したモンモリロナイト (Na-MMT、K-MMT、Mg-MMT、NH₄-MMT) では、モンモリロナイト中の CaO の比率が減少しており、Na-MMT、K-MMT、Mg-MMT では、それぞれ Na₂O、K₂O、MgO の比率が増加していた (Table 6-1)。また、Ca-MMT では CaO の比率が増加していたことから、モンモリロナイト層間のカルシウムイオンが各種陽イオンに置換されたことが示唆された。さらに、XRD による構造解析を行ったところ、XRD 回折パターンおよび層間距離は層間のイオンによって異なり、Na-MMT、K-MMT および NH₄-MMT の層間距離はそれぞれ 1.51 nm、1.24 nm および 1.26 nm であったのに対し、Mg-MMT および Ca-MMT では層間距離はどちらも 1.60 nm であり、未処理モンモリロナイト (raw MMT) の 1.59 nm と同等であった (Table 1、Fig. 6-5)。先行研究では、層間のイオン種や水和状態によって層間距離が変化すること [74,78,160-161]が報告されており、1 価のカリウムおよびアンモニウム、2 価のマグネシウムおよびカルシウムで層間距離が同等であったことから層間イオンが各イオンに置換されたことが示唆された。ナトリウムイオンは 1 価であるが、膨潤能が高いこと [162]が報告されており、カリウムおよびアンモニウムイオンが 1 層の水分子を含む層状態であるのに対し、2 層の水分子を含む層状態であると考えられた。

調製したイオン置換モンモリロナイトを用いて、層間イオンがカフェイン吸着量に及ぼす影響を評価したところ、緑茶中における K-MMT、Mg-MMT、Ca-MMT および NH₄-MMT のカフェイン吸着量は未処理のモンモリロナイト (raw MMT) のカフェイン吸着量 (0.13 mmol/g) と同等の 0.10~0.14 mmol/g であった (Fig. 6-6)。これらの結果より、カリウム、マグネシウム、カルシウムおよびアンモニウムイオンによる置換ではモンモリロナイトのカフェイン吸着能は影響を受けず、90%以上が維持されることが示唆された。一方、Na-MMT のカフェイン吸着量は raw MMT の 75.4%に留まった。著者らは、これまでに水分子がカフェインと交換してモンモリロナイト層間にインターカレートされること [163]を報告しており、Na-MMT では膨潤によって水分子が層間に固定されている

ためにカフェイン吸着を一部阻害していると考えられた。

次に、層間イオンがデカフェ緑茶飲料の外観品質に及ぼす影響を評価したところ、**raw MMT** および **Ca-MMT** では顕著に濁りが発生したのに対し、**Na-MMT**、**K-MMT**、**Mg-MMT** および **NH₄-MMT** では濁りの発生は確認されなかった (Fig. 6-7a)。同様に、**raw MMT** および **Ca-MMT** で処理したデカフェ緑茶飲料は未処理の緑茶飲料に対して、シュウ酸イオン濃度がそれぞれ 53.9%、82.4%減少し、カルシウムイオン濃度がそれぞれ 7 倍、28 倍に増加したのに対し、**Na-MMT**、**K-MMT**、**Mg-MMT** および **NH₄-MMT** ではシュウ酸イオン濃度の減少およびカルシウムイオン濃度の顕著な増加は確認されなかった (Fig. 6-7b)。これらの結果より、モンモリロナイトの層間イオンをカルシウムイオンからナトリウム、カリウム、マグネシウムおよびアンモニウムイオンのいずれかに置換することで、モンモリロナイト処理時および処理後のデカフェ緑茶飲料におけるシュウ酸カルシウム析出が抑制されることが示唆された。

以上より、モンモリロナイト処理によって発生する緑茶飲料中のシュウ酸カルシウム析出による濁りは、モンモリロナイト層間のカルシウムイオンを他のイオンに置換することで抑制されることが考えられる (Fig. 6-8)。また、カリウム、マグネシウムおよびアンモニウムイオンで置換したモンモリロナイトはカフェイン吸着能も維持されていることから、イオン置換モンモリロナイトを用いることで、カフェイン吸着と茶飲料の外観品質における保存安定性維持が両立できることが示唆された。

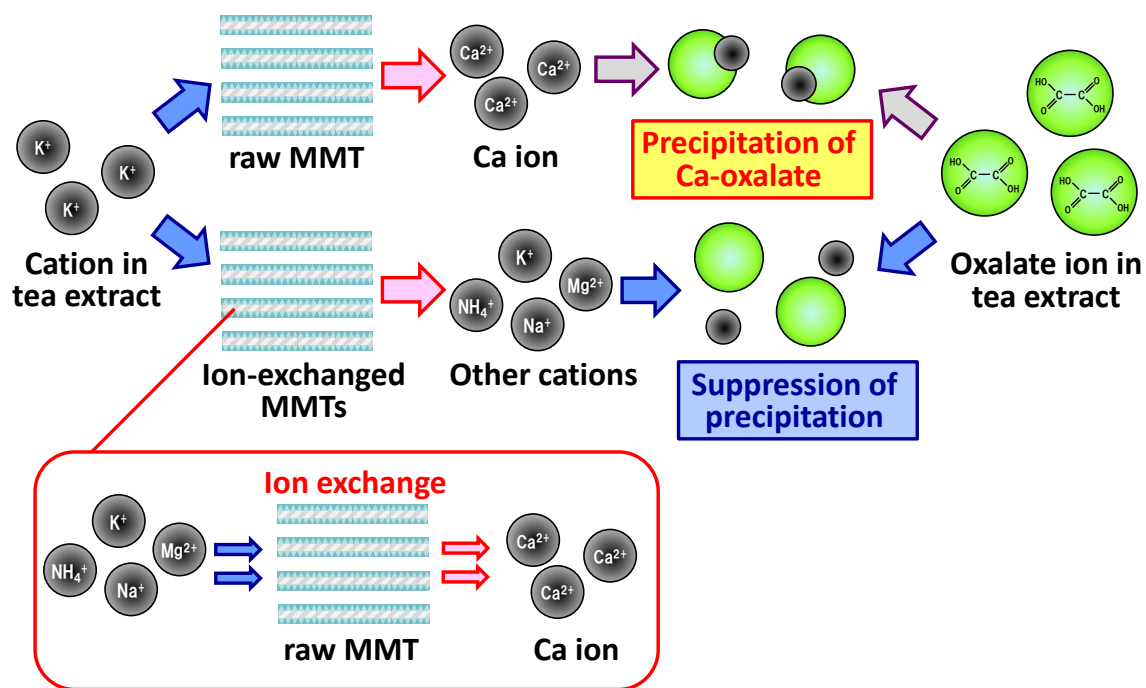


Fig. 6-8 Effect of interlayer ion in montmorillonite on precipitation of calcium oxalate in decaffeinated tea beverages.

第 7 章

結論

第7章 結論

1. 本研究の総括

茶やコーヒーなどの嗜好飲料は日常の食生活や食文化に密着した飲みものとして世界中で広く飲用されている。しかし、近年のカフェイン製剤やエナジードリンクなどの普及に伴って、カフェインの過剰摂取に対する懸念が示されており、特に妊婦や子供のカフェイン摂取量について世界保健機関（WHO）や欧州食品安全機関（EFSA）などの海外公的機関からカフェイン摂取量の目安が示されている。日本においても、厚生労働省や農林水産省、消費者庁などの機関から健康づくりのための睡眠指針やカフェインの過剰摂取に対する注意喚起などが発信されており、飲用シーンや体質・体調に応じてカフェイン摂取量を調節したいという社会的ニーズが高まっている。

本研究では、このようなカフェイン摂取量の調節に対する社会的な関心の高まりを受けて、飲料におけるカフェイン除去技術に着目した。茶やコーヒーにおける従来のカフェイン除去技術である原料からの溶出処理では、カフェインだけでなく香味に寄与する成分も損失や抽出液の液色が悪化などの品質上の課題を有していたことから、本研究では吸着剤による飲料中の選択的なカフェイン除去技術に着目し、カフェイン除去と飲料品質の両立に向けた知見の獲得を目的とした。具体的には、飲料製造における実用性を鑑みて、天然の粘土鉱物であり、食品添加物の酸性白土やベントナイトの主成分でもあるモンモリロナイトを用いて、飲料中のカフェイン吸着における選択性と汎用性評価および吸着剤の改質について、それぞれ詳細な検討を行った。

飲料中のカフェイン吸着における選択性評価は、緑茶およびコーヒー抽出液中のカフェイン吸着における吸着速度および吸着等温線について、モンモリロナイトと活性炭の比較を行った。カフェイン溶液、緑茶およびコーヒー抽出液のいずれにおいても、モンモリロナイトへのカフェイン吸着は速やかに進行したのに対し、活性炭では緑茶およびコーヒー抽出液ではカフェイン吸着速度は顕著に低下した。また、モンモリロナイトはカフェイン溶液におけるカフェイン最大吸着量と比較して、緑茶およびコーヒー抽出液での減少が限定的であったのに対し、活性炭ではいずれの抽出液においても顕著に減少していたことから、モンモリロナイトは一般的な吸着剤である活性炭と比較して、飲料中のカフェイン吸着における選択性が高いことが初めて示された。緑茶およびコーヒー抽出液におけるモンモリロナイトのカフェイン吸着特性は Langmuir の吸着等温式で近似でき、活性炭と比較してカフェイン除去率の上昇に伴う緑茶およびコーヒー中の主要なポリフェノール類であ

るカテキン類やクロロゲン酸類の減少がほとんど確認されなかったことから、モンモリロナイトによる飲料中のカフェイン吸着は表面の吸着サイトによる選択的な吸着であると考えられた。これらの結果より、モンモリロナイトによるカフェイン吸着は飲料においても迅速に進行することから、飲料製造における高い製造適性を有していることが示され、かつ飲料中のカフェイン吸着における高い選択性も有していることから、カフェイン除去と嗜好飲料としての良好な香味を両立できる可能性があることが明らかになった。

飲料市場では、香味とともに外観についても高度な品質が要求されることから、カフェイン除去を目的として飲料製造工程においてモンモリロナイトを利用するにあたり、接触条件が飲料の外観品質に及ぼす影響について把握しておく必要がある。接触条件の影響は、モンモリロナイトと茶抽出液の接触 pH および接触温度、接触時間がカフェイン吸着量および鉄イオン溶出量、茶飲料の外観に及ぼす影響を評価した。モンモリロナイトによるカフェイン吸着は、食品製造の範疇である pH (4~8)、温度 (5~35°C) では、pH や温度の影響を受けることなく迅速に進行するのに対し、鉄イオンの溶出はゆっくりと進行し、低 pH および高温では溶出が促進された。これらの結果より、モンモリロナイトのカフェイン吸着と鉄イオン溶出の特性の違いを利用して、中性付近かつ低温で茶抽出液と接触させることにより、カフェインを吸着させつつ茶飲料の外観品質が維持できることが初めて示された。これらの知見は、飲料製造におけるモンモリロナイトの産業利用の観点において重要な知見であると考えられる。

飲料製造技術としての実用性という観点で、モンモリロナイトによる飲料中のカフェイン除去技術の汎用性について、飲料の違いがモンモリロナイトのカフェイン吸着特性に及ぼす影響を評価した。茶種の違い（発酵度、産地）が茶抽出液におけるモンモリロナイトのカフェイン吸着特性に及ぼす影響を評価したところ、茶葉の発酵度や産地の違いに依らずカフェイン吸着量は概ね同等であり、茶種の違いによる影響をほとんど受けないことが初めて示された。同様に、コーヒー豆の違い（焙煎度、品種、産地）がコーヒー抽出液におけるモンモリロナイトのカフェイン吸着特性に及ぼす影響を評価したところ、コーヒー豆の品種の影響をわずかに受けるものの、焙煎度や産地の違いによる影響はほとんど受けないことが示された。これらの結果より、モンモリロナイトによるカフェイン除去技術は幅広い飲料に適用可能な汎用性を有していることが明らかになった。

モンモリロナイトによるカフェイン除去技術の更なる洗練に向けて、モンモリロナイトの改質処理がカフェイン吸着能と飲料の外観品質に及ぼす影響を評価した。モンモリロナ

イト処理後のデカフェ茶飲料を低温保管したところ、経時的に濁りが発生し、茶飲料としての外観品質が低下することが確認できた。未処理のモンモリロナイトは層間に交換性のカルシウムイオンを有しており、緑茶へのカルシウムイオン添加による濁り発生の確認と析出物の FT-IR 分析結果から、茶抽出液との接触によって茶中の陽イオンと交換することでカルシウムイオンが溶出し、茶由来のシュウ酸イオンと反応してシュウ酸カルシウムが生成・析出することで濁りが生じていると考えられた。そこで、モンモリロナイトの層間イオンをナトリウムイオン、カリウムイオン、マグネシウムイオンおよびアンモニウムイオンに置換したイオン置換モンモリロナイトを調製したところ、イオン置換モンモリロナイトで処理したデカフェ緑茶飲料では、未処理の緑茶飲料と比較してカルシウムイオン濃度の増加やシュウ酸イオン濃度の低下は確認されず、濁りも発生しなかった。これらの結果より、モンモリロナイトの層間イオンをカルシウムイオンからナトリウム、カリウム、マグネシウムおよびアンモニウムイオンのいずれかに置換することで、モンモリロナイト処理時および処理後のデカフェ緑茶飲料におけるシュウ酸カルシウム析出が抑制されることが初めて示された。さらに、カリウム、マグネシウム、カルシウムおよびアンモニウムイオンによる置換ではモンモリロナイトのカフェイン吸着能は影響を受けず、90%以上が維持されたことから、イオン置換モンモリロナイトを用いることでカフェイン吸着と茶飲料の外観品質における保存安定性維持が両立できることが明らかとなった。

以上の検討より、飲料における選択的なカフェイン除去技術として、モンモリロナイトが飲料中のカフェイン吸着における高い選択性と汎用性を有していることを示すことができた。また、モンモリロナイトと飲料の接触条件の調節およびモンモリロナイトの改質処理によってカフェイン除去と飲料品質の両立が可能であることを示すことができたことは、モンモリロナイトの産業利用上の観点においても価値があると考えられる。これらの知見が、飲料中成分の選択的除去と飲料品質の両立という課題に対する科学的知見として活用され、今後、多くの人々が安心して飲みものを楽しめる日常が広がることを期待したい。

2. 本研究成果の活用

本研究は、長年困難と考えられてきた飲料中の選択的なカフェイン除去と飲料品質の両立という課題に対し、食品製造における加工助剤として利用可能な天然吸着剤の中から、飲料中のカフェイン吸着における高い選択性と汎用性を示したモンモリロナイトの活用について検討したものである。本研究で得られた知見を活用することで、飲料製造工程におけるカフェイン除去技術の工業化および高品質なデカフェ飲料の実現につながることを期待される。筆者らは、本研究で得られた知見も活用し、すでにモンモリロナイトを用いたカフェイン除去技術の工業化に成功しており、世界初^{*}となるカフェインゼロの緑茶飲料を2014年に上市するとともに、2015年にはカフェインゼロの紅茶飲料を上市した。

※100 ml 当たりカフェイン含有量 0.001 g 未満の PET 容器詰め緑茶飲料(2014年2月 SVP ジャパン調べ)

これらのカフェインゼロ茶飲料に対し、消費者から「夜眠れなくなることがありました、この商品と出会い、夜の寝つきも良い感じですよ」といった個人の体感や「授乳中だが、カフェインを気にせずに緑茶が飲めてありがたい」といった感想など、2014年に年間500件以上、2015～2016年には年間700件以上の反響が寄せられているだけでなく、味覚の専門家 (iTQi 優秀味覚賞 3 つ星、2014年) および茶の専門家 (世界緑茶コンテスト 2015 フロンティア賞、2015年) からも、従来技術 (原料からの溶出処理) との香味の違いやその先進性が高く評価されている。また、子育て世代に「カフェインを気にせず茶飲用を楽しめる」という価値を提供したことが「子どもたちを産み育てやすいデザイン」として評価されている (第10回キッズデザイン賞、2016年) だけでなく、妊産婦や高齢者などカフェインを理由に緑茶飲用を避けていた層に「体質や体調によらずいつでも緑茶飲用が可能になる」という価値を提供したことも「緑茶飲用層拡大に貢献した」として評価されており (O-CHA パイオニア賞、2017年)、カフェイン摂取量の調節という社会的なニーズの充足に貢献しているといえる。

今後、モンモリロナイトに限らず、より選択的で汎用性の高いカフェイン除去技術が普及することで、世界中で飲用されている茶やコーヒーに「カフェインを気にせずに茶やコーヒーの飲用を楽しむ」という新たな選択肢が提供され、飲用シーンや体質・体調を問わず多くの人々が安心して茶やコーヒーを楽しめる日常が広がっていくことを願っている。

3. 今後の展望

本研究では、飲料中のカフェイン吸着における選択性について、モンモリロナイトと活性炭の比較評価を中心に議論したが、モンモリロナイトのみに焦点を当てると、カフェイン溶液におけるカフェイン最大吸着量と比較して茶およびコーヒー抽出液でのカフェイン最大吸着量には若干の減少が認められる。本研究では、茶およびコーヒー由来の香味へ寄与する重要な成分としてポリフェノール類の吸着特性について検討したが、カフェインと比較するとポリフェノール類の吸着は限定的であり、カフェイン吸着阻害因子の特定には至らなかった。今後、網羅分析やオMISSIONテストなどによって飲料中のカフェイン吸着阻害因子が明らかになれば、モンモリロナイトのカフェイン吸着能を飲料中においても最大化するための重要な知見となることが期待できる。

また、本研究では、モンモリロナイトのカフェイン吸着機構について、表面の吸着サイトによるものである、という考察に留めたが、吸着機構および吸着サイトが明らかになれば、吸着能向上や新規吸着剤の創出に向けた重要な基礎知見となると考えられる。筆者らの研究グループにおいても、カフェイン溶液中でのモンモリロナイトの挙動を元に解析し、モンモリロナイト表面上のシラノール基やシロキサンの寄与[164]や親水性の寄与[165]などを報告しているが、定量的な説明には至っていない。今後、定量的なデータによる吸着サイトの特定とその寄与度が明らかになれば、モンモリロナイトのカフェイン吸着量を推定するモデルの構築やモンモリロナイトの改良およびカフェイン吸着後のモンモリロナイトの再生による繰り返し利用に向けた重要な基礎知見となることが期待できる。

モンモリロナイトの改質については、本研究では無機イオン (Na、K、Mg、Ca) およびアンモニウムイオンによる置換処理を検討したが、飲料中でのカフェイン吸着量を向上させることはできなかった。これまでに、筆者らはベンジルアンモニウムによる有機修飾処理により、モンモリロナイトのカフェイン吸着能が向上すること[163]を報告しており、その後も吸着能向上の機構解明に向けて水分子との交換や層間距離からのアプローチは試みられている[166]ものの、詳細な機構解明には至っていない。今後、有機修飾によるモンモリロナイトのカフェイン吸着能向上の機構が解明され、食品で応用可能な方法でのモンモリロナイト改質法の開発もしくは新規吸着剤の創出につながることを期待している。

参考文献

- [1] Chang K. World tea production and trade: current and future development. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2015.
- [2] World coffee consumption [Internet]. International Coffee Organization; 2016 Oct. Available from: <http://www.ico.org/prices/new-consumption-table.pdf>
- [3] Khokhar S, Magnusdottir SGM. Total phenol, catechin, and caffeine content of teas commonly consumed in the United Kingdom. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002; 50: 565-570.
- [4] Perva-Uzunalić A, Škerget M, Knez Ž, Weinreich B, Otto F, Grüner S. Extraction of active ingredients from green tea (*Camellia sinensis*): Extraction efficiency of major catechins and caffeine. *Food Chemistry*. 2006; 96: 597-605.
- [5] Yanagimoto K, Ochi H, Lee KG, Shibamoto T. Antioxidative activities of volatile extracts from green tea, oolong tea, and black tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003; 51: 7396-7401.
- [6] Hamilton-Miller JMT. Antimicrobial properties of tea (*Camellia sinensis* L.). *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1995; 39: 2375-2377.
- [7] Suzuki M, Yoshino K, Maeda-Yamamoto M, Miyase T, Sano M. Inhibitory effects of tea catechins and O-methylated derivatives of (-)-epigallocatechin-3-O-gallate on mouse type IV allergy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2000; 48: 5649-5653.
- [8] Yoshino K, Yamazaki K, Sano M. Preventive effects of black tea theaflavins against mouse type IV allergy. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2010; 90: 1983-1987.
- [9] Matsumoto N, Ishigaki F, Ishigaki A, Iwashina H, Hara Y. Reduction of blood glucose levels by tea catechin. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. 1993; 57: 525-527.
- [10] Toyoda-Ono Y, Yoshimura M, Nakai M, Fukui Y, Asami S, Shibata H, Kiso Y, Ikeda I. Suppression of postprandial hypertriglyceridemia in rats and mice by oolong tea polymerized polyphenols. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. 2007; 71: 971-976.

- [11] Rains TM, Agarwal S, Maki KC. Antiobesity effects of green tea catechins: a mechanistic review. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2011; 22: 1-7.
- [12] Ueda M, Ashida H. Green tea prevents obesity by increasing expression of insulin-like growth factor binding protein-1 in adipose tissue of high-fat diet-fed mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2012; 60: 8917-8923.
- [13] Uchiyama S, Taniguchi Y, Saka A, Yoshida A, Yajima H. Prevention of diet-induced obesity by dietary black tea polyphenols extract in vitro and in vivo. *Nutrition*. 2011; 27: 287-292.
- [14] Ky CL, Louarn J, Dussert S, Guyot B, Hamon S, Noirot M. Caffeine, trigonelline, chlorogenic acids and sucrose diversity in wild *Coffea arabica* L. and *C. canephora* P. accessions. *Food Chemistry*. 2001; 75: 223-230.
- [15] Del Castillo MD, Ames JM, Gordon MH. Effect of roasting on the antioxidant activity of coffee brews. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002; 50: 3698-3703.
- [16] Murase T, Yokoi Y, Misawa K, Ominami H, Suzuki Y, Shibuya Y, Hase T. Coffee polyphenols modulate whole-body substrate oxidation and suppress postprandial hyperglycaemia, hyperinsulinaemia and hyperlipidaemia. *British Journal of Nutrition*. 2012; 107: 1757-1765.
- [17] Ochiai R, Sugiura Y, Shioya Y, Otsuka K, Katsuragi Y, Hashiguchi T. Coffee polyphenols improve peripheral endothelial function after glucose loading in healthy male adults. *Nutrition Research*. 2014; 34: 155-159.
- [18] Tanaka K, Nishizono S, Tamaru S, Kondo M, Shimoda H, Tanaka J, Okada T. Anti-obesity and hypotriglyceridemic properties of coffee bean extract in SD rats. *Food Science and Technology Research*. 2009; 15: 147-152.
- [19] McDougall B, King PJ, Wu BW, Hostomsky Z, Reinecke MG, Robinson WEJ. Dicafeoylquinic and dicafeoyltartaric acids are selective inhibitors of human immunodeficiency virus type 1 integrase. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1998; 42: 140-146.
- [20] BA ワインバーグ, BK ビーラー: カフェイン大全. 八坂書房. 2006. p. 22.

- [21] Ashihara H, Sano H, Crozier A. Caffeine and related purine alkaloids: Biosynthesis, catabolism, function and genetic engineering. *Phytochemistry*. 2008; 69: 841-856.
- [22] Naik JP, Nagalakshmi S. Determination of caffeine in tea products by an improved high-performance liquid chromatography method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1997; 45: 3973-3975.
- [23] Farah A. Coffee constituents. In: Chu YF, editor. *Coffee: emerging health effects and disease prevention*. Wiley-Blackwell; 2012. Chapter 2: p. 21-57.
- [24] 文部科学省: 日本食品標準成分表 2015 年版 (七訂) . 全国官報販売協同組合. 2015.
- [25] Yamada M, Sasaki S, Murakami K, Takahashi Y, Okubo H, Hirota N, Notsu A, Todoriki H, Miura A, Fukui M, Date C. Estimation of caffeine intake in Japanese adults using 16 d weighed diet records based on a food composition database newly developed for Japanese populations. *Public Health Nutrition*. 2009; 13: 663-672.
- [26] Weidner G, Istvan J. Dietary source of caffeine. *The New England Journal of Medicine*. 1985; 313: 1421.
- [27] 渚之上康元, 渚之上弘子: 日本茶全書. 農文協. 1999. p. 164.
- [28] Ramalakshmi K, Raghavan B. Caffeine in coffee: its removal. Why and how? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 1999; 39: 441-456.
- [29] Vuong QV, Golding JB, Nguyen MH, Roach PD. Preparation of decaffeinated and high caffeine powders from green tea. *Powder Technology*. 2013; 233: 169-175.
- [30] Huang KJ, Wu JJ, Chiu YH, Lai CY, Chang CMJ. Designed polar cosolvent-modified supercritical CO₂ removing caffeine from and retaining catechins in green tea powder using response surface methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2007; 55: 9014-9020.
- [31] Park HS, Choi HK, Lee SJ, Park KW, Choi SG, Kim KH. Effect of mass transfer on the removal of caffeine from green tea by supercritical carbon dioxide. *Journal of Supercritical Fluids*. 2007; 42: 205-211.

- [32] Tang WQ, Li DC, Lv YX, Jiang JG. Extraction and removal of caffeine from green tea by ultrasonic-enhanced supercritical fluid. *Journal of Food Science*. 2010; 75: 363-368.
- [33] Kanda H, Li P, Makino H. Production of decaffeinated green tea leaves using liquefied dimethyl ether. *Food and Bioproducts Processing*. 2013; 91: 376-380.
- [34] Kats SN. *Coffee: Volume 2: Technology: Decaffeination of Coffee*. London: Elsevier Applied Science publishers. 1987. p. 59-71.
- [35] Bichsel B. Diffusion phenomena during the decaffeination of coffee beans. *Food Chemistry*. 1979; 4: 53-62.
- [36] Zosel K. Separation with supercritical gases: practical applications. *Angewandte Chemie International Edition in English*. 1978; 17: 702-709.
- [37] Udayasankar K, Manohar B, Chokkalingam A. A note on supercritical carbon dioxide decaffeination of coffee. *Journal of Food Science and Technology*. 1986; 23: 326-328.
- [38] Ye JH, Liang YR, Jin J, Liang HL, Du YY, Lu JL, Ye Q, Lin C. Preparation of partially decaffeinated instant green tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2007; 55: 3498-3502.
- [39] Sakanaka S. A novel convenient process to obtain a raw decaffeinated tea polyphenol fraction using a lignocellulose column. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003; 51: 3140-3143.
- [40] Ye JH, Jin J, Liang HL, Lu JL, Du YY, Zheng WQ, Liang YR. Using tea stalk lignocellulose as an adsorbent for separating decaffeinated tea catechins. *Bioresource Technology*. 2009; 100: 622-628.
- [41] Lu JL, Wu MY, Yang XL, Dong ZB, Ye JH, Borthakur D, Sun QL, Liang YR. Decaffeination of tea extracts by using poly(acrylamide-co-ethylene glycol dimethylacrylate) as adsorbent. *Journal of Food Engineering*. 2010; 97: 555-562.
- [42] Sevillano DM, Van Der Wielen LAM, Hooshyar N, Ottens M. Resin selection for the separation of caffeine from green tea catechins. *Food and Bioproducts*

- Processing. 2014; 92: 192-198.
- [43] Birtigh A, Liu K, Johannsen M, Brunner G. Regeneration methods for caffeine-loaded CO₂. *Separation Science and Technology*. 1995; 30: 3265-3286.
- [44] Lee S, Park MK, Kim KH, Kim YS. Effect of supercritical carbon dioxide decaffeination on volatile components of green teas. *Journal of Food Science*. 2007; 72: 497-502.
- [45] Lee SM, Lee HS, Kim KH, Kim KO. Sensory characteristics and consumer acceptability of decaffeinated green teas. *Journal of Food Science*. 2009; 74: 135-141.
- [46] Farah A, De Paulis T, Moreira DP, Trugo LC, Martin PR. Chlorogenic acids and lactones in regular and water-decaffeinated arabica coffees. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2006; 54: 374-381.
- [47] Machmudah S, Kitada K, Sasaki M, Goto M, Munemasa J, Yamagata M. Simultaneous extraction and separation process for coffee beans with supercritical CO₂ and water. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 2011; 50: 2227-2235.
- [48] Kato M, Mizuno K, Crozier A, Fujimura T, Ashihara H. Caffeine synthase gene from tea leaves. *Nature*. 2000; 406: 956-957.
- [49] 芦原坦. カフェインフリーのチャやコーヒーの木をつくる!? *化学と生物*. 2001; 39: 74-76.
- [50] Ogino A, Tanaka J, Taniguchi F, Yamamoto MP, Yamada K. Detection and characterization of caffeine-less tea plants originated from interspecific hybridization. *Breeding Science*. 2009; 59: 277-283.
- [51] 栗原久: カフェインの科学. 学会出版センター. 2004. p. 146-147.
- [52] 日本粘土学会: 粘土ハンドブック (第三版) . 技報堂出版. 2009. p. 3.
- [53] Brigatti MF, Galan E, Theng BKG. Handbook of clay science, edited by Bergaya F, Theng BKG, Lagaly G: *Development in Clay Science, Volume 1: Structure and mineralogy of clay minerals*. Amsterdam: Elsevier. 2006. p. 42-45.

- [54] 白水晴雄: 粘土鉱物学. 朝倉書店. 1988. p. 11-35.
- [55] 佐藤孝俊, 石田達也: 化粧品科学. 朝倉書店. 1997. p. 116-122.
- [56] 上原茂胤, 広川昭夫. 活性白土の性能と原土との関係. 工業化学雑誌. 1955; 58: 174-177.
- [57] 田中虔一, 田丸謙二: 触媒の科学. 産業図書. 1988. p. 192.
- [58] 日本粉体工業技術協会: 造粒ハンドブック. オーム社. 1991. p. 629-656.
- [59] 須藤談話会: 粘土科学への招待ー粘土の素顔と魅力ー. 三共出版. 2000. p. 292.
- [60] Lee WF, Fu YT. Effect of montmorillonite on the swelling behavior and drug-release behavior of nanocomposite hydrogels. *Journal of Applied Polymer Science*. 2003; 89: 3652-3660.
- [61] Joshi GV, Patel HA, Kevadiya BD, Bajaj HC. Montmorillonite intercalated with vitamin B1 as drug carrier. *Applied Clay Science*. 2009; 45: 248-253.
- [62] González-Pradas E, Villafranca-Sánchez M, Gallego-Campo A. Influence of the physical-chemistry properties of an acid-activated bentonite in the bleaching of olive oil. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 1993; 57: 213-216.
- [63] Tajchakavit S, Boye JI, Couture R. Effect of processing on post-bottling haze formation in apple juice. *Food Research International*. 2001; 34: 415-424.
- [64] Yildirim HK. Effects of fining agents on antioxidant capacity of red wines. *Journal of Institute of Brewing*. 2011; 117: 55-60.
- [65] Sarma GK, Sengupta S, Bhattacharyya KG. Methylene blue adsorption on natural and modified clays. *Separation and Science Technology*. 2011; 46: 1602-1614.
- [66] Ogawa M, Ishii T, Miyamoto N, Kuroda K. Intercalation of a cationic azobenzene into montmorillonite. *Applied Clay Science*. 2003; 22: 179-185.
- [67] Okada T, Seki Y, Ogawa M. Designed nanostructures of clay for controlled adsorption of organic compounds. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. 2014; 14: 2121-2134.
- [68] Barbier F, Duc G, Petit-Ramel M. Adsorption of lead and cadmium ions from aqueous solution to the montmorillonite/water interface. *Colloids and*

- Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. 2000; 166: 153-159.
- [69] Hurel C, Marmier N, Bourg ACM, Fromage F. Sorption of Cs and Rb on purified and crude MX-80 bentonite in various electrolytes. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. 2009; 279: 113-119.
- [70] Gupta SS, Bhattacharyya KG. Adsorption of metal ions by clays and inorganic solids. *RSC Advances*. 2014; 4: 28537-28586.
- [71] Russell JD, Cruz MI, White JL. Adsorption of 3-aminotriazole by montmorillonite. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1968; 16: 21-24.
- [72] Aharonson N, Kafkafi U. Adsorption of benzimidazole fungicides on montmorillonite and kaolinite clay surfaces. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1975; 23: 434-437.
- [73] Bradley WF. Molecular Associations between Montmorillonite and Some Polyfunctional Organic Liquids. *Journal of the American Chemical Society*. 1945; 67: 975-981.
- [74] Yamanaka S, Kanamaru F, Koizumi M. Orientation of acrylonitrile adsorbed on interlamellar surfaces of montmorillonites. *The Journal of Physical Chemistry*. 1975; 79: 1285-1288.
- [75] Marçal L, De Faria EH, Nassar EJ, Trujillano R, Martin N, Vicente MA, Rives V, Gil A, Korili SA, Ciuffi KJ. Organically modified saponites: SAXS study of swelling and application in caffeine removal. *ACS Applied and Material Interfaces*. 2015; 7: 10853-10862.
- [76] Yamamoto K, Shiono T, Matsui Y, Yoneda M. Changes the structure and caffeine adsorption property of calcined montmorillonite. *International Journal of GEOMATE*. 2016; 11: 2301-2306.
- [77] Norrish K. The swelling of montmorillonite. *Discussions of the Faraday Society*. 1954; 18: 120-134.
- [78] Sato T, Watanabe T, Otsuka R. Effects of layer charge, charge location, and energy change on expansion properties of dioctahedral smectites. *Clays and Clay Minerals*. 1992; 40: 103-113.

- [79] Volzone C, Ortiga J. Influence of the exchangeable cations of montmorillonite on gas adsorptions. *Process Safety and Environmental Protection*. 2004; 82: 170-174.
- [80] 栗原久. 日常生活の中におけるカフェイン摂取. *東京福祉大学・大学院紀要*. 2016; 6: 109-125.
- [81] 栗原久: *カフェインの科学*. 学会出版センター. 2004. p. 47-49.
- [82] Blanchard J, Sawers SJ. The absolute bioavailability of caffeine in man. *European Journal of Clinical Pharmacology*. 1983; 24: 93-98.
- [83] Weathersbee PS, Lodge JR. Caffeine: Its direct and indirect influence on reproduction. *The Journal of Reproductive Medicine*. 1977; 19: 55-63.
- [84] Arnaud M. Caffeine, Coffee and Health, edited by Garattini S: Metabolism of caffeine and other components of coffee. New York: Raven Press. 1993. p. 43-95.
- [85] Tang-Liu DD, Williams RL, Riegelman S. Disposition of caffeine and its metabolites in man. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1983; 224: 180-185.
- [86] Aldridge A, Bailey J, Neims AH. The disposition of caffeine during and after pregnancy. *Seminars in Perinatology*. 1981; 5: 310-314.
- [87] Knutti R, Rothweiler H, Schlatter C. The effect of pregnancy on the pharmacokinetics of caffeine. *Archives of Toxicology. Supplement*. 1982; 5: 187-192.
- [88] Balogh A, Henschel L, Klinger G, Vollandt R, Börner A, Kuhnz W. Influence of ethinylestradiol-containing combination oral contraceptives with gestodene or levonorgestrel on caffeine elimination. *European Journal of Clinical Pharmacology*. 1995; 48: 161-166.
- [89] Tsutsumi K, Kotegawa T, Matsuki S, Nakano S. T The effect of pregnancy on cytochrome P4501A2, xanthine oxidase, and N-acetyltransferase activities in humans. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2001; 70: 121-125.
- [90] Tracy TS, Venkataramanan R, Glover DD, Caritis SN. Temporal changes in drug metabolism (CYP1A2, CYP2D6 and CYP3A activity) during pregnancy.

- American Journal of Obstetrics and Gynecology. 2005; 192: 633-639.
- [91] Ginsberg G, Hattis D, Russ A, Sonawane B. Physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modeling of caffeine and theophylline in neonates and adults: implications for assessing children's risks from environmental agents. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*. 2004; 67: 297-329.
- [92] Grosso LM, Triche EW, Belanger K, Benowitz NL, Holford TR, Bracken MB. Caffeine metabolites in umbilical cord blood, cytochrome P-450 1A2 activity, and intrauterine growth restriction. *American Journal of Epidemiology*. 2006; 163: 1035-1041.
- [93] Aranda JV, Collinge JM, Zinman R, Watters G. Maturation of caffeine elimination in infancy. *Archives of Disease in Childhood*. 1979; 54: 946-949.
- [94] Von Borstel RW. Biological effects of caffeine: Metabolism. *Food Technology*. 1983; 37: 40-43.
- [95] Tantcheva-Poor I, Zaigler M, Rietbrock S, Fuhr U. Estimation of cytochrome P-450 CYP1A2 activity in 863 healthy Caucasians using a saliva-based caffeine test. *Pharmacogenetics*. 1999; 9: 131-144.
- [96] 栗原久: カフェインの科学. 学会出版センター. 2004. p. 53-55.
- [97] BA ワインバーグ, BK ビーラー: カフェイン大全. 八坂書房. 2006. p. 354-362.
- [98] Rieg T, Steigele H, Schnermann J, Richter K, Osswald H, Vallon V. Requirement of intact adenosine A1 receptors for the diuretic and natriuretic action of the methylxanthines theophylline and caffeine. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2005; 313: 403-409.
- [99] Ferré S. An update on the mechanisms of the psychostimulant effects of caffeine. *Journal of Neurochemistry*. 2008; 105: 1067-1079.
- [100] Aronsen L, Orvoll E, Lysaa R, Ravna AW, Sager G. Modulation of high affinity ATP-dependent cyclic nucleotide transporters by specific and non-specific cyclic nucleotide phosphodiesterase inhibitors. *European Journal of Pharmacology*. 2014; 745: 249-253.

- [101] 若島恵介, 辛島光彦. うつ伏せ姿勢による昼休みの短時間仮眠の効果に関する研究. 産業保健人間工学研究. 2011; 13: 47-50.
- [102] Palacios N, Gao X, McCullough ML, Schwarzschild MA, Shah R, Gapstur S, Ascherio A. Caffeine and risk of Parkinson disease in a large cohort of men and women. *Movement Disorders*. 2012; 27: 1276-1282.
- [103] Arab L, Khan F, Lam H. Epidemiologic evidence of a relationship between tea, coffee, or caffeine consumption and cognitive decline. *American Society of Nutrition Advances in Nutrition*. 2013; 4: 115-122.
- [104] Lorist MM, Tops M. Caffeine, fatigue, and cognition. *Brain and Cognition*. 2003; 53: 82-94.
- [105] Doherty M, Smith PM. Effects of caffeine ingestion on rating of perceived exertion during and after exercise: a meta-analysis. *Scandinavian Journal of Medicine*. 2005; 15: 69-78.
- [106] Ruusunen A, Lehto SM, Tolmunen T, Mursu J, Kaplan GA, Voutilainen S. Coffee, tea and caffeine intake and the risk of severe depression in middle-aged Finnish men: the Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study. *Public Health Nutrition*. 2010; 13: 1215-1220.
- [107] 栗原久: カフェインの科学. 学会出版センター. 2004. p. 59-69.
- [108] Landolt HP, Dijk DJ, Gaus SE, Borbely AA. Caffeine reduces low-frequency delta activity in the human sleep EEG. *Neuropsychopharmacology*. 1995; 12: 229-238.
- [109] Hindmarch I, Rigney U, Stanley N, Quinlan P, Rycroft J, Lane J. A naturalistic investigation of the effects of day-long consumption of tea, coffee and water on alertness, sleep onset and sleep quality. *Psychopharmacology*. 2000; 149: 203-216.
- [110] Robinson D, Gelaye B, Tadesse MG, Williams MA, Lemma S, Berhane Y. Daytime sleepiness, circadian preference, caffeine consumption and khat use among college students in Ethiopia. *Journal of Sleep Disorders: Treatment & Care*. 2013; 3(1).
- [111] Nawrot P, Jordan S, Eastwood J, Rotstein J, Hugenholtz A, Feeley M. Effects

- of caffeine on human health. *Food Additives & Contaminants*. 2003; 20: 1-30.
- [112] Childs E, de Wit H. Subjective, behavioral, and physiological effects of acute caffeine in light, nondependent caffeine users. *Psychopharmacology*. 2006; 185: 514-523.
- [113] Nurminen ML, Niittynen L, Korpela R, Vapaatalo H. Coffee, caffeine and blood pressure: a critical review. *European Journal of Clinical Nutrition*. 1999; 53: 831-839.
- [114] Mostofsky E, Schlaug G, Mukamal KJ, Rosamond WD, Mittleman MA. Coffee and acute ischemic stroke onset: the Stroke Onset Study. *Neurology*. 2010; 75: 1583-1588.
- [115] Fernandes O, Sabharwal M, Smiley T, Pastuszak A, Koren G, Einarson T. Moderate to heavy caffeine consumption during pregnancy and relationship to spontaneous abortion and abnormal fetal growth: a meta-analysis. *Reproductive Toxicology*. 1998; 12: 435-444.
- [116] 藤原佐枝子. 骨粗鬆症の予防 II. 栄養 2. 危険因子 (1) 栄養的因子 (カフェイン, アルコール, 喫煙) . *Bone*. 2006; 20: 465-468.
- [117] Armstrong LE, Pumerantz AC, Roti MW, Judelson DA, Watson G, Dias JC, Sokmen B, Casa DJ, Maresh CM, Lieberman H, Kellogg M. Fluid, electrolyte, and renal indices of hydration during 11 days of controlled caffeine consumption. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*. 2005; 15: 252-265.
- [118] 食品安全委員会: ファクトシート (食品中のカフェイン) . 2011.
- [119] 栗原久. コーヒー/カフェイン摂取と日常生活—妊婦、胎児、乳幼児、小児への影響—. 東京福祉大学・大学院紀要. 2017; 7: 77-83.
- [120] 川杉知史, 小針清孝, 井上隆康, 斎藤むら子. 深夜勤におけるカフェイン摂取の効果. *人間工学*. 2002; 38: 510-511.
- [121] 大垣寿美子, 伊村祈年子. 高血圧自然発症ラット (SHR) に及ぼすカフェインを除去した緑茶抽出液経口投与の影響. *生活衛生*. 1989; 33: 171-175.
- [122] 山本 (前田) 万里, 長屋行昭, 三森孝, 山口優一, 堀江秀樹, 江間かおり, 鈴木昌文, 山内英樹, 藁科文雄, 水上裕造, 廣野久子, 物部真奈美. 低カフェイン処理

機を用いて製造した「べにふうき」緑茶の化学成分変動と抗アレルギー活性への影響. 日本食品工学会誌. 2007; 8: 109-116.

- [123] Unno K, Yamada H, Iguchi K, Ishida H, Iwao Y, Morita A, Nakamura Y. Anti-stress effect of green tea with lowered caffeine on humans: a pilot study. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2017; 40: 902-909.
- [124] Dang VBH, Doan HD, Dang-Vu T, Lohi A. Equilibrium and kinetics of biosorption of cadmium (II) and copper (II) ions by wheat straw. *Bioresource Technology*. 2009; 100: 211-219.
- [125] Ho YS, McKay G. Pseudo-second order model for sorption processes. *Process Biochemistry*. 1999; 34: 451-465.
- [126] Clifford MN, Johnston KL, Knight S, Kuhnert N. Hierarchical scheme for LC-MSn identification of chlorogenic acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003; 51: 2900-2911.
- [127] Farah A, De Paulis T, Trugo LC, Martin PR. Effect of roasting on the formation of chlorogenic acids lactones in coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005; 53: 1505-1513.
- [128] Kano F, Abe I, Kamaya H, Ueda I. Fractal model for adsorption on activated carbon surfaces: Langmuir and Freundlich adsorption. *Surface Science*. 2000; 467: 131-138.
- [129] Langmuir I. The adsorption of gases on plane surface of glass, mica and platinum. *Journal of the American Chemical Society*. 1918; 40: 1361-1402.
- [130] Gogoi P, Dutta NN, Rao PG. Adsorption of catechin from aqueous solutions on polymeric resins and activated carbon. *Indian Journal of Chemical Technology*. 2010; 17: 337-345.
- [131] Suárez-Quiroz ML, Campos AA, Alfaro GV, González-Ríos O, Villeneuve P, Figueroa-Espinoza MC. Isolation of green coffee chlorogenic acids using activated carbon. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2014; 33: 55-58.
- [132] Kim WJ, Kim JD, Kim J, Oh SG, Lee YW. Selective caffeine removal from green tea using supercritical carbon dioxide extraction. *Journal of Food Engineering*. 2008; 89: 303-309.

- [133] Tsujimura M. Isolation of new catechin, tea catechin II or gallo-catechin from green tea. *Bulletin of the Agricultural Chemical Society of Japan*. 1934; 10: 140-147.
- [134] Oshima Y. Chemical studies on the tannin substance of formosan tea-leaves. *Bulletin of the Agricultural Chemical Society of Japan*. 1936; 12: 103-114.
- [135] McIlvaine TC. A buffer solution for colorimetric comparison. *The Journal of Biological Chemistry*. 1921; 49: 183-186.
- [136] Lailach GE, Thompson TD, Brindley GW. Absorption of pyrimidines, purines, and nucleosides by Co-, Ni-, Cu-, and Fe(III)-montmorillonite (clay-organic studies XII). *Clays and Clay Minerals*. 1968; 16: 285-293.
- [137] Chugh A, Khanal D, Walkling-Ribeiro M, Corredig M, Duizer L, Griffiths W. Change in color and volatile composition of skim milk processed with pulsed electric field and microfiltration treatments or heat pasteurization. *Foods*. 2014; 3: 250-268.
- [138] Komatsu Y, Suematsu S, Hisanobu Y, Saigo H, Matsuda R, Hara K. Effects of pH and temperature on reaction kinetics of catechins in green tea infusion. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. 1993; 57: 907-910.
- [139] Oszmianski J, Cheynier V, Moutounet M. Iron-catalyzed oxidation of (+)-catechin in model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1996; 44: 1712-1715.
- [140] Catarino S, Madeira M, Monteiro F, Rocha F, Curvelo-Garcia AS, De Sousa RB. Effect of bentonite characteristics on the elemental composition of wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008; 56: 158-165.
- [141] Vicente Rodriguez MA, Suarez Barrios M, Lopez Gonzalez JD, Banares Munoz MA. Acid activation of ferrous saponite (griffithite): physico-chemical characterization and surface area of the products obtained. *Clays and Clay Minerals*. 1994; 42: 724-730.
- [142] Clarke RJ. *Coffee: Volume 2: Technology: Roasting and Grinding*. London: Elsevier Applied Science publishers. 1987. p. 86-87.
- [143] Wang X, Lim LT. A kinetics and modeling study of coffee roasting under

- isothermal conditions. *Food and Bioprocess Technology*. 2014; 7: 621-632.
- [144] Moon JK, Yoo HS, Shibamoto T. Role of roasting conditions in the level of chlorogenic acid content in coffee beans: correlation with coffee acidity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2009; 57: 5365-5369.
- [145] Ludwig IA, Mena P, Calani L, Cid C, Del Rio D, Lean MEJ, Crozier A. Variations in caffeine and chlorogenic acid contents of coffees: what drinking? *Food & Function*. 2014; 5: 1718-1726.
- [146] Mazzafera P, Crozier A, Magalhães AC. Caffeine metabolism in *Coffea arabica* and other species of coffee. *Phytochemistry*. 1991; 30: 3913-3916.
- [147] Astill C, Birch MR, Cacombe C, Humphrey PG, Martin PT. Factors affecting the caffeine and polyphenol contents of black and green tea infusions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2001; 49: 5340-5347.
- [148] 堀江秀樹, 木幡勝則. 各種緑茶中のシュウ酸含量とその味への寄与. 茶業研究報告. 2000; 89: 23-27.
- [149] Doherty WOS, Crees OL, Senogles E. Polymeric additives' effect on crystallization of calcium oxalate scales. *Crystal Research and Technology*. 1995; 30: 791-800.
- [150] Demadis KD, Leonard I. Green polymeric additives for calcium oxalate control in industrial water and process applications. *Materials Performance*. 2011; 50: 40-44.
- [151] 堀江秀樹, 山内雄二, 木幡勝則. 緑茶の硬水浸出液に生じる白色沈殿. 日本食品科学工学会誌. 1998; 45: 364-367.
- [152] 稲垣順一, 西川孝. 茶渋の生成とその成分について. 三重県工業研究所研究報告. 2010; 34: 169-173.
- [153] Kovacevic L, Lu H, Lakshmanan Y. Urinary turbidity as a marker of crystallization: Is spectrophotometric assessment useful? *International Urology and Nephrology*. 2013; 45: 1009-1015.
- [154] 塩川二郎: 第2版 機器分析のてびき. 化学同人. 1996. p. 55-72.
- [155] Bragg WL. The diffraction of short electromagnetic waves by crystal. *Proceedings of the Cambridge Philosophical Society*. 1913; 17: 43-57.

- [156] Xu YQ, Chen GS, Du QZ, Que F, Yuan HB, Yin JF. Sediments in concentrated green tea firing low-temperature storage. *Food Chemistry*. 2014; 149: 137-143.
- [157] 小川政英. 酸性白土の化学と工業. *Journal of the Society of Inorganic Materials, Japan*. 2002; 9: 310-316.
- [158] Xu YQ, Zhong XY, Yin JF Yuan HB, Tang P, Du QZ. The impact of Ca²⁺ combination with organic acids on green tea infusions. *Food Chemistry*. 2013; 139: 944-948.
- [159] 北出かおる, 片山詔久, 桑江彰夫. 黒ゴマの FT-IR/ATR スペクトル法を用いた成分分析. *日本食品科学工学会誌*. 2010; 57: 215-219.
- [160] 吉田募. 層間陽イオンの共存状態に関する統計熱力学的検討. *粘土科学*. 1979; 19: 1-9.
- [161] Bray HJ, Redfern SAT, Clark SM. The kinetics of dehydration in Ca-montmorillonite: an *in situ* X-ray diffraction study. *Mineralogical Magazine*. 1998; 62: 647-656.
- [162] 趙小夫, 浦野紘平, 小笠原貞夫. 湿潤状態におけるモンモリロナイト系粘土鉱物の性状. *日本化学会誌*. 1989; 2: 209-215.
- [163] Okada T, Oguchi J, Yamamoto K, Shiono T, Fujita M, Iiyama T. Organoclays in water cause expansion that facilitates caffeine adsorption. *Langmuir*. 2015; 31: 180-187.
- [164] Yamamoto K, Shiono T, Matsui Y, Yoneda M. Interaction of caffeine with montmorillonite. *Particulate Science and Technology*. 2018; in press.
(<http://doi.org/10.1080/02726351.2017.1372825>)
- [165] Yamamoto K, Shiono T, Matsui Y, Yoneda M. Influence of hydrophilicity on adsorption of caffeine onto montmorillonite. *Adsorption Science & Technology*. 2018; 36: 967-981.
- [166] Okada T, Yoshida T, Iiyama T. Kinetics of interlayer expansion of a layered silicate driven by caffeine intercalation in the water phase using transmission X-ray diffraction. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2017; 121: 6919-6925.

<謝辞>

本論文は筆者がキリン株式会社 R&D 本部飲料技術研究所に在籍中の研究成果をまとめたものです。本論文をまとめるにあたり、論文の構成や内容について数多くのご助言をいただき、さらに論文審査委員主査をお引き受けいただいた東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命化学専攻教授 佐藤隆一郎先生に対し、深謝の意を表します。

モンモリロナイトによるカフェイン吸着に関する研究の実行にあたり、多くのご指導と有益なご助言をいただきました信州大学工学部物質化学科准教授 岡田友彦先生、京都大学大学院工学研究科都市環境工学専攻教授 米田稔先生、同専攻准教授 松井康人先生に対し、心より御礼申し上げます。

本研究の実行および本論文の執筆にあたり、研究の機会を与えていただき、多大なるご理解とご支援をいただいたキリン株式会社 飲料技術研究所(当時) 出内桂二氏、栗原信氏、飲料技術研究所 吉田有人氏、江口敬宏氏、若林英行氏、酒類技術研究所 井戸田裕二氏、太田雄人氏、森木博之氏、知的財産部 矢島宏昭氏に感謝いたします。特に、吉田有人氏には、研究内容全般に対して多くのご助言とご指導を賜り、研究者として多くのことを学ばせていただき、貴重な財産となりました。

また、本研究を遂行する上で、多くのご協力をいただいたキリンビバレッジ株式会社 コア技術研究所(当時) およびキリン株式会社 飲料技術研究所のメンバーであった山本研一朗氏、四元祐子氏、河合淳一郎氏、今田七洋氏、日置淳平氏、長沼広幸氏、辻亮平氏、西田武央氏、熊田紀子氏、山本城輔氏、戸倉藍氏、木下亜希子氏、辻さや香氏、中嶋桂子氏、大島未貴子氏、斎藤初芽氏およびキリンビバレッジ株式会社をはじめキリングループ各社の関係者の皆様に厚く御礼申し上げます。特に、本研究の推進において、実験計画の策定、実行、考察などへの多大なるご協力をいただき、研究者として共に成長させていただいた山本研一朗氏と四元祐子氏に深く感謝申し上げます。

最後に、本論文をまとめるにあたり、常に寄り添い、支え続けてくれた最愛の家族である妻 実幸と長女 可奈、産まれたばかりの長男 稜人に心から感謝します。

< 発表論文・業績 >

1. 発表論文

【原著論文】

- Shiono T, Yamamoto K, Yotsumoto Y, Kawai J, Imada N, Hioki J, Naganuma H, Eguchi T, Kurihara M, Yoshida A, Deuchi K. Selective decaffeination of tea extracts by montmorillonite. *Journal of Food Engineering*. 2017; 200: 13-21.
(第3章、第4章、第5章)
- Shiono T, Yamamoto K, Yotsumoto Y, Yoshida A. Caffeine adsorption of montmorillonite in coffee extracts. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2017; 81: 1591-1597.
(第3章、第5章)
- Shiono T, Yamamoto K, Yotsumoto Y, Yoshida A. Effects of interlayer ion in montmorillonite on appearance of decaffeinated tea beverage. *Food Science and Technology Research*. 2018; 24: 215-221.
(第6章)

【総説】

- 塩野貴史, 河合淳一郎, 山本研一朗. 天然吸着剤による飲料からのカフェイン除去技術. *日本食品科学工学会誌*. 2018; 65: 99-103.
- 塩野貴史. 食品製造における選択的なカフェイン除去技術の開発. *化学と生物*. 2018; 56: 395-401.
- 塩野貴史. 天然吸着剤による飲料中のカフェイン除去と飲料品質の両立. *ソフト・ドリンク技術資料*. 2018; in press.

【その他関連論文】

- Okada T, Oguchi J, Yamamoto K, Shiono T, Fujita M, Iiyama T. Organoclays in water cause expansion that facilitates caffeine adsorption. *Langmuir*. 2015; 31: 180-187.
- Yamamoto K, Shiono T, Matsui Y, Yoneda M. Changes the structure and caffeine adsorption property of calcined Montmorillonite. *International Journal of GEOMATE*. 2016; 11: 2301-2306.

- Yamamoto K, Shiono T, Matsui Y, Yoneda M. Interaction of caffeine with montmorillonite. Particulate Science and Technology. 2018; in press.
- Yamamoto K, Shiono T, Yoshimura R, Matsui Y, Yoneda M. Influence of hydrophilicity on adsorption of caffeine onto montmorillonite. Adsorption Science & Technology. 2018; 36: 967-981.

2. 業績

【受賞関連】

- 塩野貴史. 世界初カフェインゼロ緑茶飲料の開発. 安藤百福賞優秀賞（主催：安藤スポーツ・食文化振興財団）. 2015年3月.
- 塩野貴史. 天然吸着剤を用いた茶飲料からのカフェイン除去技術の開発. 全国清涼飲料工業会賞（主催：全国清涼飲料工業会）. 2016年10月.
- 塩野貴史, 河合淳一郎, 山本研一朗, 四元祐子. 天然吸着剤による茶飲料からのカフェイン除去技術の開発. 農芸化学技術賞（主催：日本農芸化学会）. 2017年3月.
- 塩野貴史, 河合淳一郎, 山本研一朗. 天然吸着剤による茶飲料からのカフェイン除去技術の開発. 日本食品科学工学会技術賞（主催：日本食品科学工学会）. 2017年8月.
- 塩野貴史. 天然吸着剤による飲料中のカフェイン除去技術の開発. 飯島藤十郎食品技術賞（主催：飯島藤十郎記念食品科学振興財団）. 2018年4月.
- 塩野貴史, 河合淳一郎, 山本研一朗, 四元祐子. 天然吸着剤による茶飲料からのカフェイン除去技術の開発. 科学技術賞（主催：文部科学省）. 2018年4月.