

# フードミクス解析による県産品の品質評価技術の確立

## ーフードミクス解析による長崎県産緑茶の客観的品質評価についてー

辻村 和也, 谷口 香織, 松尾 広伸

本研究では、長崎県産の地域ブランド茶「彼杵茶」の品質を、フードミクス(食品メタボロミクス)解析により客観的かつ科学的に評価する手法の確立を試みた。令和4年度長崎県茶品評会の一般茶部門で順位付けされた17試料を対象とし、GC-MS/MSおよびLC-QTOF/MSによる成分プロファイリングを実施した。得られた成分データを説明変数、品評会順位を目的変数として、部分最小二乗(PLS)回帰分析により品質予測モデルを構築した。その結果、テアニンやグルタミンなどのアミノ酸類、スクロースなどの糖類、キナ酸などの有機酸類、さらに複数のカテキン類が、VIPスコアに基づき高い寄与成分として抽出された。これらは茶の風味や香り、旨味に關与する既知成分であり、品質評価に対する信頼性と再現性の向上に資することが示された。本手法は、彼杵茶の品質保証やブランド維持のみならず、気候変動や製造工程の影響評価、他食品への応用展開にも有用であると考えられる。

キーワード：フードミクス、フードメタボロミクス、GC-MS/MS、LC-TOF/MS、メタボリックプロファイリング、茶の品質、主成分分析、PLS回帰分析

### はじめに

緑茶は日本を代表する伝統的飲料であり、その健康増進効果と風味特性から国内外で高い評価を得ている<sup>1),2)</sup>。なかでも長崎県で生産される彼杵茶(そのぎちゃ)は、優れた香味と品質から地域ブランドとしての地位を確立している<sup>3)</sup>。緑茶の品質は、栽培環境(土壌、気候、標高等)、栽培管理(施肥、剪定、病虫害防除等)、収穫時期、製造工程(蒸し度、揉捻、乾燥条件等)、および保存条件といった複合的要因により決定される<sup>4),5)</sup>。これらの要因が最終製品の化学組成や官能特性に及ぼす影響を科学的に解明することは、信頼性の高い品質評価手法の確立に不可欠である。

従来、緑茶の品質評価は主に熟練審査員による官能評価に依存しており、色沢、香氣、滋味といった特性が主観的に評価されてきた。しかし、この方法は評価者の経験や感覚に大きく依存するため、客観性や再現性の確保に課題がある<sup>6),7)</sup>。この課題に対し、質量分析(MS)、核磁気共鳴分光(NMR)やフーリエ変換(近)赤外分光法(FT-(N)IR)等の高感度機器分析で得られるスペクトル等の莫大なデータに多変量解析を用いた化学的プロファイリングが注目されている<sup>8)-10)</sup>。

緑茶品質評価における技術的課題は主に以下の3点に集約される。第1に、官能評価の主観性に起因する評価の不確実性<sup>11)</sup>。第2に、従来の機器分析

が特定成分に限定されたターゲット分析に偏っており、成分プロファイル全体の網羅的把握が困難である点<sup>12),13)</sup>、第3に、栽培・製造条件と化学的組成、ならびに化学的組成と官能特性との相関に関する知見が不足している点である<sup>14)</sup>。

近年の質量分析技術の進展により、食品中の数百～数千の成分を一斉に検出・定量できるようになった<sup>15),16)</sup>。これに伴い、得られた大量の化学的データを多変量解析やデータマイニング技術と組み合わせるフードメタボロミクス(以下、フードミクス)アプローチが注目されている<sup>17),18)</sup>。この手法は、成分プロファイルと品質特性の相関を統計的に明らかにすることで、客観的かつ再現性の高い品質評価モデルの構築を可能にし、ワイン<sup>19)</sup>やコーヒー<sup>20)</sup>、蜂蜜<sup>21)</sup>等多様な食品分野で既に実用化されている。

しかしながら、日本茶において、特に地域ブランド茶を対象としたフードミクス解析の報告は限定的であり<sup>22),23)</sup>、科学的な評価手法の開発は依然として重要な課題である。

本研究では、長崎県産彼杵茶を対象とし、茶品評会での官能評価結果と連動した客観的品質評価モデルの構築することを目的とし、茶品評会の官能評価結果と連動した品質予測モデルの構築および関連成分群の探索を試みた。

### 材料および方法

## 1 試料

令和4年度長崎県茶品評会において、茶葉の品種を限定しない緑茶(荒茶)を対象とした一般茶部門で、内質(渋味、香気、水色など)を基に実施された一次審査、審査員による持ち点制の二次審査を実施した。本研究では二次審査通過した乾燥茶葉のうち総合得点が1点以上の1位～17位の順位がつけられた17試料(品種;さえみどり[SA]:9点、やぶきた[YB]:4点、あさつゆ[AT]、つゆひかり[TH]、おくゆたか[OY]、きらり31[K31]:各1点)を分析対象とした。

## 2 試薬・器具

すべての試薬は質量分析グレードを使用した。GC-MS/MS分析には、関東化学製脱水水ビリジン、メタノール、富士フイルム和光純薬製クロロホルム(残留農薬試験用)、リビートル(内標準)、GLサイエンス製メキシアン塩酸塩およびMSTFAを使用した。

LC-QTOF/MS分析には、アズワン社製ドライブロックバス、GVS Japan製0.20  $\mu\text{m}$ シリンジレスPVDFフィルターバイアルを使用した。

## 3 前処理方法

### (1) GC-MS/MSによる包括的ターゲット分析

茶葉に含有する成分をプロファイルする目的でGC-MS/MS分析を行った。前処理方法について、図1-1に示す。品評会で1位から17位まで順位づけされた緑茶葉を用い、既報<sup>24),25)</sup>に従って前処理を実施した。まず、緑茶葉試料をラボミルで粉碎し、その内30 mgを分取し、水/メタノール/クロロホルム(1/2.5/1)混合溶液1 mLと内部標準のリビートルを添加した。攪拌、遠心分離後液相900  $\mu\text{L}$ をはかり取り、はかり取った液相に超純水400  $\mu\text{L}$ を添加し、遠心分離し2層(水・メタノール層とクロロホルム層)させた。遠心分離後、水・メタノール相を分取し、減圧遠心分離(CVE-300, 東京理化機器製)し、メタノールを除去し、凍結乾燥(FDS-1000, EYELA)した。凍結乾燥した残渣をメシキム誘導体化後、トリメチルシリル(TMS)誘導体化を行いGC-MS/MS(MRM)試料(17試料、n=3/試料、全分析数:51分析)とした。TMS化処理した試料は24時間以内の分析を終了するスケジュールで実施した。また、全ての試料を等量加えたQC試料も調製した。

### (2) LC-QTOF/MSによるデータ非依存型ノンターゲット分析

LC-QTOF/MSによるノンターゲット分析では、茶葉の抽出液(飲用想定)を対象とした。

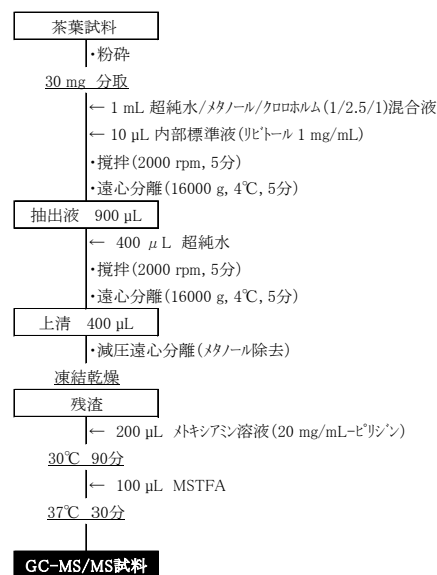


図1-1 GC-MS/MSによる包括的ターゲット分析前処理法

前処理方法について、図1-2に示す<sup>26)</sup>。粉碎茶葉試料20 mgを1.5 mLマイクロチューブに採取し、常温の超純水1 mLを添加し、ドライブロックバス(THB-2、アズワン社製)を用い、100  $^{\circ}\text{C}$ 、5分間抽出操作を行った。その後20,000gで1分、遠心分離し、上清200  $\mu\text{L}$ を0.20  $\mu\text{m}$ シリンジレスPVDFフィルターバイアル(GVS Japan)に供し、ろ液をLC-QTOF/MS試料(17試料、n=3/試料、全分析数:51分析)とした。また、GC-MS/MS分析同様に測定バッチごとの分析対象試料を等量混合QC試料も調製した。

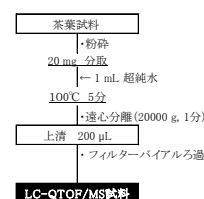


図1-2 LC-QTOF/MSによるデータ非依存型ノンターゲット分析前処理法

## 4 装置および分析条件

### (1) GC-MS/MS

GC-MS/MS には、島津製作所製 GCMS-TQ8040 (Smart Metabolites Database Ver.2)を使用した。カラムには BPX5 (30 m  $\times$  0.25

mm I.D., フィルム厚 0.25  $\mu$ m, SGE社製)を用い、分析時間は 23 分とした。AART (Automatic Adjustment of Retention Time)によるアルカン分析を用いて保持時間を補正し、331成分の同定を試みた。QC 試料は、各分析バッチの前後および繰り返し間に計4回挿入して分析の一貫性を確認した。詳細な分析条件は表1に示す。

表1 GC-MS/MS分析条件

|                                                                  |
|------------------------------------------------------------------|
| GC-MS/MS:GCMS-TQ8040(島津製作所製)                                     |
| カラム:BPX5 (30 m $\times$ 0.25 mm I.D., フィルム厚 0.25 $\mu$ m, SGE社製) |
| 注入方法:スプリット注入(スプリット比1:30)                                         |
| 昇温条件:60℃(2分)→15℃/分→330℃(3分)                                      |
| データベースソフトウェア:Smart Metabolites Database Ver.2(島津製作所製)            |
| 分析対象成分:331                                                       |
| データ取得:MRM                                                        |

(2) LC-QTOF/MS

LC-QTOF/MSには、エービー・サイエックス社製 ExionLC 2.0 / X500R QTOF を使用した。測定は陽イオンモード(POS)および陰イオンモード(NEG)の両極性で実施した。QC 試料は GC-MS/MS 分析と同様に、各分析バッチの前後および繰り返し間に計4回挿入した。詳細な測定条件は表2に示す。

表2 LC-QTOF/MS分析条件

|                                                             |                  |      |
|-------------------------------------------------------------|------------------|------|
| LC-QTOF/MS:Exion2.0/X500R(エービー・サイエックス社製)                    |                  |      |
| 【液体クロマトグラフィー条件】                                             |                  |      |
| カラム:Inert Sustain PFP (2.1 x 100 mm, 3.0 $\mu$ m, GLサイエンス製) |                  |      |
| 流速:0.2 mL/分                                                 |                  |      |
| 移動相A:0.1%酢酸, 移動相B:アセトニトリル                                   |                  |      |
| 注入量:1 $\mu$ L                                               |                  |      |
| グラジエント条件:                                                   |                  |      |
| 時間(分)                                                       | A(%)             | B(%) |
| 0.0                                                         | 99               | 1    |
| 3.0                                                         | 99               | 1    |
| 6.0                                                         | 70               | 30   |
| 11.0                                                        | 70               | 30   |
| 18.1                                                        | 0                | 100  |
| 23.0                                                        | 0                | 100  |
| 【質量分析(SWATH-MS)条件】                                          |                  |      |
| 測定モード:SWATH <sup>®</sup> Acquisition                        |                  |      |
| イオン化法:ESI(POS/NEG)                                          |                  |      |
| TOF MS range (Positive/Negative)                            | 50-1000 Da       |      |
| TOF MS/MS range(Positive/Negative)                          | 50-620 Da        |      |
| Accumulation time                                           | 0.1 S            |      |
| CUR                                                         | 30 psi           |      |
| GS1                                                         | 70 psi           |      |
| GS2                                                         | 50 psi           |      |
| Temperature                                                 | 450 $^{\circ}$ C |      |
| Declustering potential                                      | 60 V             |      |
| Collision Energy                                            | 5 V              |      |
| Spray voltage (Positive)                                    | 5500 V           |      |
| Spray voltage (Negative)                                    | 4500 V           |      |

5 データ処理及び多変量解析

(1) GC-MS/MS

GC-MS/MS によって得られた MRM クロマトグラムから、Smart Metabolites Database Ver.2に基づきピーク面積値を抽出し、すべてのサンプルについて成分ごとの面積値を一覧化したデータセットを作成した。欠損のないデータのみを抽出し、多変量解析に供した。

教師なし解析には主成分分析(PCA)を用い、Webベースの「MetaboAnalyst」<sup>27)</sup>を使用した。教師あり解析には部分最小二乗回帰(PLS-R: Partial Least Squares Regression)を適用し、理研・環境資源科学研究センター提供の「Statistical Analysis Tool on Microsoft Excel」<sup>28)</sup>を使用した。

いずれの解析においても内標準物質リビートルによって正規化(Normalization)された面積値を用いた。PLS-R 解析では、成分のモデル寄与度評価のために Variable Importance in Projection (VIP) スコアを算出した。

(2) LC-QTOF/MS

SWATHモードで取得した LC-QTOF/MS の生データは、MS-DIAL<sup>29)</sup>を用いて以下の前処理を行った:デコンボリューション、ピーク検出、MS/MSスペクトルによるアノテーション、マルチサンプル間でのピークアライメント、および QC 試料による LOWESS 平準化、これにより得られたピーク高さおよびアノテーション情報を用いて、成分ごとの定量データをCSV形式で出力し、欠損のないデータを抽出した。

結果

1 GC-MS/MSによる包括的ターゲット分析・解析

GC-MS/MS分析の結果、分析期間中の誘導体化未反応やリテンションタイムの顕著な変動等解析への影響が想定される不具合はみられなかったため、GC-MS/MSのMRMクロマトグラム上のピークについて面積値を取得し、全てのデータについてCSV形式の一覧表を作成し、その内、欠損が無いデータを多変量解析に供した。解析に有効なコンポーネントは172成分であった。

(1) 主成分分析(PCA)

品評会順位情報を加味せずGC-MS/MS分析で得られたデータ(17試料 $\times$ 3繰り返し分析、172成分コンポーネント:計8,772データ)を用いて、品評会出品茶試料分析で得られた多変数データの情報を要約し、その潜在的なパタ

ーンを捉えるためにPCA解析を行った。その第1-第2主成分得点2Dプロットを図2に示す。その結果、品評会順位を反映した傾向はみられなかったが、品種によるグルーピングが確認された。特に、国内生産量の7割を占める品種で甘み、旨味、苦みのバランスの良い「やぶきた(YB)」は、PC1-PC2の2Dプロット図において、それぞれでグルーピングの形成が確認された。また、主成分得点プロットと同じ座標の成分がその茶葉グルーピング形成に寄与が大きい成分を示す特徴のあるローディングプロットにおいては、YBグループに比べ、「さえみどり(SA)」の特徴と言われている、旨味、甘味の主要成分グルタミン、アラニン、テアニン等が同座標に位置し、特徴成分であることが確認された。このことは、茶葉中の多成分プロファイルは品種、ひいては味に大きく寄与して

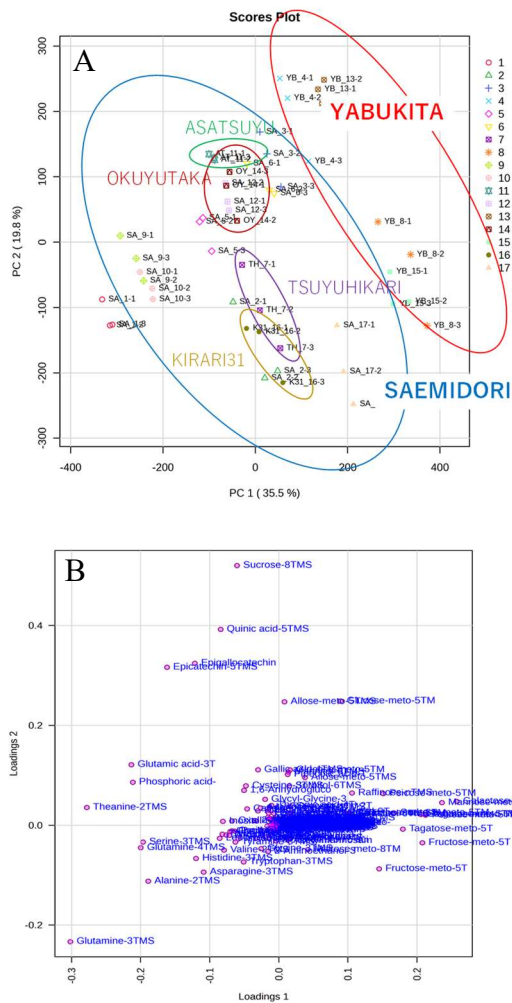


図2 GC-MS/MS分析結果に基づきPCA解析結果  
(A:主成分得点プロット, B:ローディングプロット)

いることが示唆された。加えて、食味の向上、収穫量の増加、病害虫抵抗性の強化、栽培のしやすさ等、様々な目的で行われてきた品種改良は、茶葉成分の変動に大きく寄与することが改めて本フードミクス解析で示唆された。

## (2) PLS回帰分析(PLS-R)

品評会二次審査ランキング情報を反映させ、品評会順位予測モデルをCSVデータから構築するとともに、その過程で算出された最適なPLS回帰順位予測モデル式への寄与の指標である Variable Importance in Projection (VIP)スコアを解析対象の各成分で比較検討した。PLS-R順位予測モデルによるPLS-R順位予測モデルの内部交差検証(7-fold cross validation)結果を図3に示す。予測モデルのズレの程度であるRMSEE (Root Mean Squared Error of Estimation)は1.640、モデルの精度指標で直線性指標 $R^2=0.899$ であった。また、VIPスコアは、値が大きいほど予測モデルの予測性能に対する寄与度が大いといわれ、特に1以上でモデルの構築に重要な成分とされている<sup>30)</sup>。本分析において、VIPスコア1以上の成分として、ライブラリーに一致した成分としては51成分、代表的な成分グループとして、アミノ酸類(アスパラギン、アルギニン、グルタミン、テアニン等)、糖類(スクロース、フルクトース-1-リン酸等)、有機酸類(キナ酸等)、核酸類(グアノシン等)、カテ

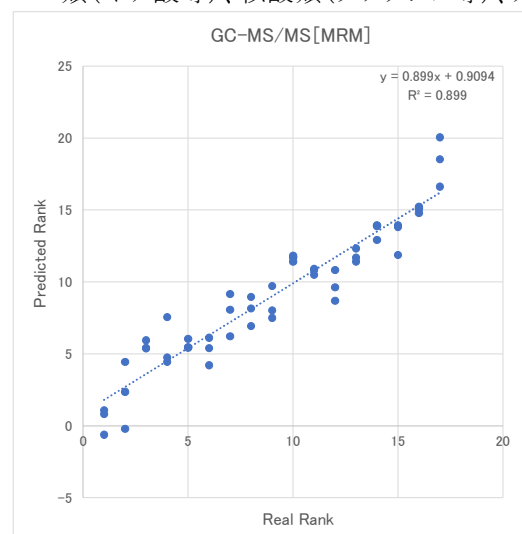


図3 GC-MS/MS結果に基づくPLS-R順位予測モデルの内部交差検証

キン類としてエピカテキンおよびカテキン類のエステル化合物の構成成分として重要であり、強い抗酸化作用を持つ没食子酸がリストアップされ、彼杵茶の風味、香り、甘味、苦味、うま味に寄与する可能性のあるものが多く含まれていた。これらの相互的なバランスが品評会順位に寄与したと推察された。

## 2 LC-QTOF/MSによるデータ非依存型ノンターゲット分析・解析

GC-MS/MS分析同様にリテンションタイムやイオン化抑制による感度の顕著な変動等解析への影響が想定される不具合はみられなかったため、LC-QTOF/MSにおいて、データ非依存型ノンターゲット分析「SWATH® Acquisition」で得られたクロマトグラム上の全てのピークについて解析前処理をMS-DIALを用い実施し、ピーク検出、ピークアライメント、QC試料によるLOWESS平準化後、ピーク高さ値及びピークアノテーションを取得し、全てのデータについてCSV形式の一覧表を作成し、その内、欠損が無いデータを多変量解析に供した。解析に有効なコンポーネントはPOSモード分析で205成分コンポーネント、NEGモード分析で681成分コンポーネント、解析対象として総計886成分コンポーネントであった。

### (1) 主成分分析(PCA)

LC-QTOF/MS分析で得られたデータ(17試料×3繰返し分析、886成分コンポーネント:計45,186データ)を用いて、品評会出品茶試料分析で得られた多変数データの情報を要約し、その潜在的なパターンを捉えるためにPCA解析を行った。その第1-第2主成分得点2Dプロットを図4に示す。その結果、緑茶葉を対象としてGC-MS/MSによる成分プロファイル同様に、茶葉抽出液を対象にしたLC-QTOF/MS-PCA解析結果でも品種差のグルーピングが確認された。特にGC-MS/MSでグルーピングされた「やぶきた(YB)」とその交配種である「さえみどり(SA)」のグループ差は顕著で、SAのもう一つの交配種「あさつゆ(AT)」もYBグループとSAとは異なるグルーピングを形成していた。加えて、YBとATの交配品種である「つゆひかり(TH)」は、ATと類似する位置にグルーピングされた。また、ローディングプロットでも、テアニンやグルタミンがSAグループの特徴的成分

としてピックアップされ、以上のことから、茶葉中の潜在的に含有する成分を対象にしたGC-MS/MS-PCA解析同様に茶葉抽出液中の多成分プロファイルは品種、ひいては茶葉抽出成分においても味に大きく寄与していることが示唆された。

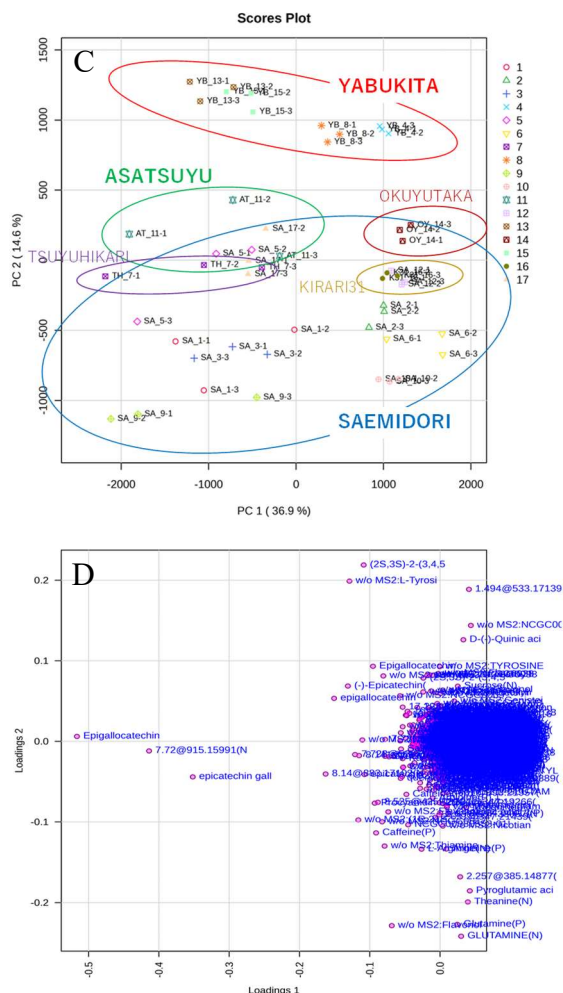


図4 LC-QTOF/MS分析結果に基づきPCA解析結果  
(C:主成分得点, D:ローディングプロット)

### (2) PLS回帰分析(PLS-R)

PCA解析に用いたデータに品評会順位データを反映させ、品評会順位予測モデルの構築を試みるとともに順位への寄与の大きい成分群の探索も検討した。PLS-R順位予測モデルによるPLS-R順位予測モデルの内部交差検証(7-fold cross validation)結果を図5に示す。予測モデルのズレの程度であるRMSEEは0.435、モデルの精度指標で直線性指標 $R^2=0.9938$ であった。本分析において、VIPス

コア1以上の成分として、ライブラリーに一致した成分としては38成分、代表的な成分グループとして、熱水により抽出された水溶性成分である、アミノ酸類(アスパラギン、アルギニン、グルタミン、テアニン等)、カテキン類(エピガロカテキンガレート、エピカテキンガレート、エピカテキン、エピガロカテキンおよびカテキン、没食子酸)、有機酸類(キナ酸、クエン酸等)、糖類(スクロース、グルコース-1-リン酸等)およびカフェイン等が精密質量数およびMS/MS解析でアノテーションされリストアップされた。本解析においても、彼杵茶の風味、香り、甘味、苦味、うま味に寄与する可能性のあるものが多く含まれていた。これらの相互的なバランスが品評会順位に寄与したと推察された。

### 考 察

R4年度品評会一般茶(荒茶)部門に出品し、二次審査通過茶葉17試料について、茶葉に潜在的に含まれている成分の包括的なターゲット分析にGC-MS/MS、また飲料として成分の網羅的な分析としてLC-QTOF/MSを適用して、その結果も基にフードミクス解析を実施し、品評会順位に寄与する成分群がVIPスコアを指標に探索した。図6にGC-MS/MSおよびLC-QTOF/MSによるPLS-R解析において、VIP $\geq$

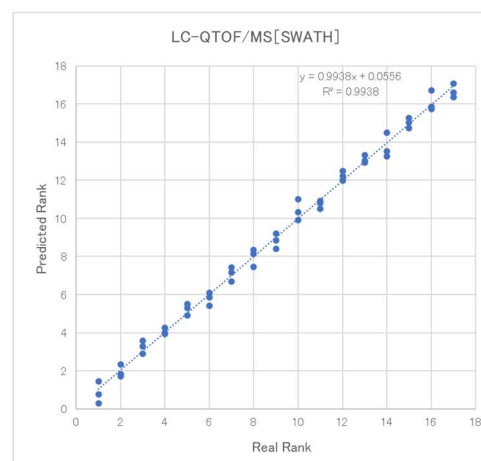


図5 LC-QTOF/MS結果に基づくPLS-R順位予測モデルの内部交差検証

1.0でピックアップされた成分(のべ78成分)カテゴリーを示す。

また、図7に茶葉(GC-MS/MS)及び茶葉抽出液(LC-QTOF/MS)で品評会順位への寄与が大きいとされる成分比較を示す。ここで示された成分のうち、共通に挙がっている7つの成分群は茶葉もしくは茶抽出液いずれの状態でも検出・解析が可能であり、令和4年度一般茶部門の品評会順位への寄与が高い成分群と推察される。これら成分のうち、アミノ酸の中でもテアニンやアルギニンは品質との相関が強いことが報告されている<sup>31)-34)</sup>。また、GC-MS/MS PLS-

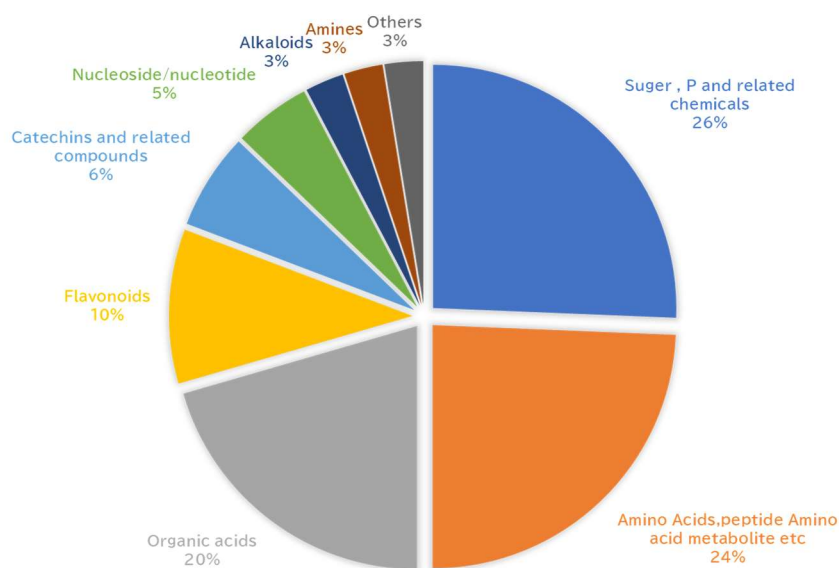


図6 GC-MS/MS及びLC-QTOF/MS結果に基づくVIP $\geq$ 1の成分カテゴリー

R解析のVIPスコアではピックアップされたのはエピカテキンだけであるが、エピカテキングループも品質に大きな影響を与えることがPongsuwanらが報告しており<sup>35),36)</sup>、や Tarachiwinら<sup>37)</sup>の報告でも、アミノ酸(特にテアニン)、糖類が品質評価に影響を与えていること、品評会順位の低い茶にはフェノール由来の成分が多く含まれていることが明らかとなっている。また、同報告では、本研究で茶葉及び茶抽出液共通の品質評価指標として挙げたキナ酸も品質評価に影響を与えていることが示されている。以上の既報の報告を踏まえると、品質評価指標探索目的実施した本研究で検討した緑茶品質評価手法に妥当性があると考ええる。また、本研究でVIPスコアの高い成分として共通に検出されたキナ酸についても、品質評価に関与するとの既報<sup>35), 37)</sup>があり、信頼性が補強される。これらの知見は、化学的成分プロファイルを通じて、茶の栽培条件や製造工程と品質との関係性を推定する上でも重要な基盤となる。一方、現在のところ、セドヘプツロース-7-リン酸が緑茶の味覚特性に直接影響を与えるという明確なエビデンスは存在しなかった。ただし、糖代謝ネットワーク全体の動態解析や、特定の加工工程における本化合物の挙動解明が進めば、味覚制御メカニズムの一端が明らかになる可能性は否定できないため今後さらなる検討は必要と考える。

今回の報告を基にした今後の研究課題(表3)とし

ては、①複数年度にわたるデータ蓄積による予測モデルの安定性検証、②より幅広い品質帯の試料を含めたモデルの一般化、③品種特性と品質関連成分の遺伝的背景の解明、④気候変動による成分変動パターンの把握と対応策の開発、が挙げられる。これらの継続的研究により、科学的根拠に基づいた持続可能な高品質茶生産システムの構築が可能になると考えられる。

表3 緑茶におけるフードミクス技術適応例

| 項目          | 適応内容                                             | 既報の事例                                |
|-------------|--------------------------------------------------|--------------------------------------|
| 成分の網羅的解析    | 茶の成分を網羅的に解析することで、品質に影響を与える成分を特定し、気候変動による影響を予測する。 | フードミクス技術を用いた食品の品質評価 <sup>38)</sup>   |
| 品評会ランキング予測  | 成分解析データに基づき、品評会での評価を予測し、品質維持のための対策を立てることができる。    | フードミクスによる食品の安全・安心への展開 <sup>39)</sup> |
| 気候変動の影響評価   | 気候変動による成分変化を解析し、品質への影響を評価する。                     | メタボロミクス技術を用いた代謝物解析 <sup>40)</sup>    |
| 栽培・製造工程の最適化 | 成分解析データに基づき、栽培や製造工程を最適化し、品質を維持する。                | フードミクスによる食品成分の網羅的分析 <sup>41)</sup>   |
| データの重複と共有   | データを蓄積し、共有することで、長期的な品質維持に役立てる。                   | フードミクスのデジタルデータ保存 <sup>42)</sup>      |

## まとめ

長崎県産彼杵茶の品質特性を科学的に解明し、客観的評価手法を確立することを目的とした。具体的には、茶品評会の官能評価結果と連動した品質予測モデルの構築を試みた。LC-QTOF/MSによるデータ非依存型ノンターゲット分析およびGC-MS/MS(MRM)による包括的ターゲット分析により得られた成分プロファイルを説明変数、品評会における総合評価順位を目的変数として、部分最小二乗(PLS)回帰モデルを構築した。さらに、Variable Importance in Projection(VIP)スコアに基づき、品質

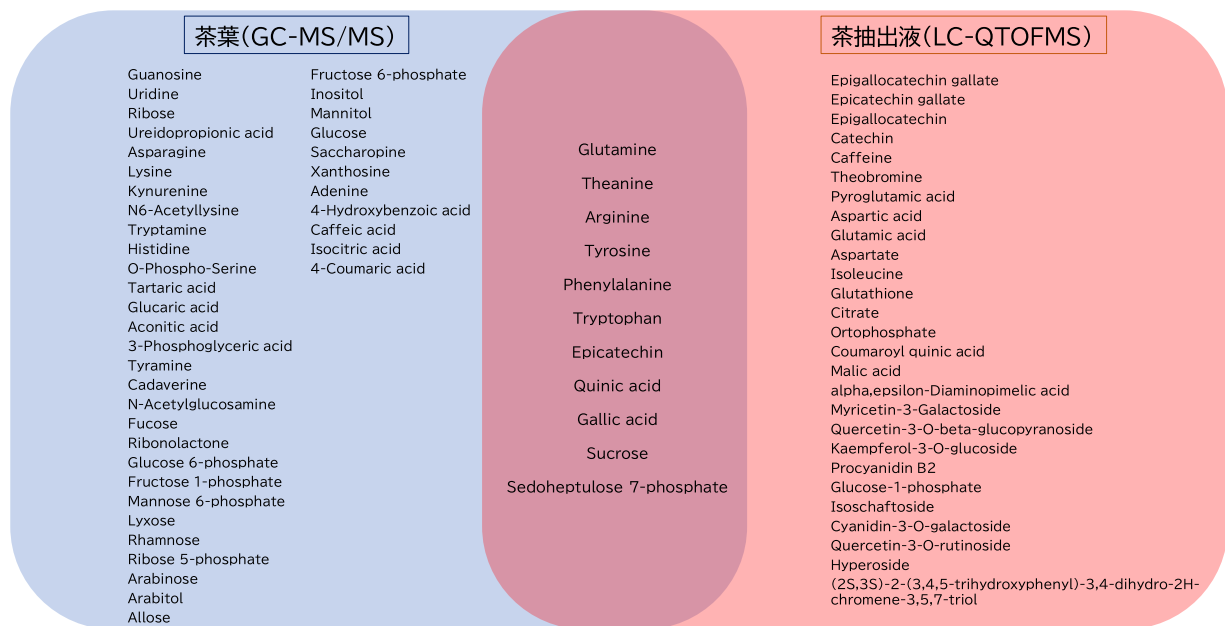


図7 茶葉及び茶葉抽出液のPLS-R解析におけるVIP≧1の成分比較

評価への寄与度が高い成分群を特定し、彼杵茶の品質特性を分子レベルで特徴づけられ、味や風味関与のアミノ酸、糖類、有機酸類、緑茶特有のカテキン類がピックアップされ長年蓄積された既報の成分が含まれていた。一方、単純な限られた成分だけの増減だけでないことも本研究フードミクス解析技術で確認され、網羅的に食品の品質を評価できるフードミクス(フードメタボロミクス)の有効性が確認された。

本研究成果は、地域ブランド茶の品質を客観的に評価する技術基盤の確立のみならず、消費者に対する品質保証の強化および生産者の品質管理技術の高度化にも貢献するものである。さらに、本研究で開発した評価手法は、彼杵茶の国内外におけるブランド力強化および高付加価値化を支援する科学的基盤として活用されることに加えて、他の食品への応用の可能性も期待される。

## 謝辞

本研究の実施に際し、長崎県農林技術開発センター果樹・茶研究部門茶葉研究室より、令和4年度長崎県茶品評会に出品された貴重な一般茶部門の緑茶(荒茶)試料を提供いただきましたことに心より感謝申し上げます。

## 参考文献

- 1) Suzuki Y, Miyoshi N, Isemura M. Health-promoting effects of green tea. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci.* **88(3)**:88-101 (2012).
- 2) Khan N, Mukhtar H. Tea polyphenols in promotion of human health. *Nutrients.* **11(1)**:39 (2019).
- 3) 長崎県農林技術開発センター. 彼杵茶の品質特性と栽培技術. *長崎県農林技術報告.* **24**:45-58 (2019).
- 4) Ahmed S, Stepp JR, Orians C, et al. Effects of extreme climate events on tea (*Camellia sinensis*) functional quality validate indigenous farmer knowledge and sensory preferences in tropical China. *PLoS One.* **9(10)**:e109126 (2014).
- 5) Lee JE, Lee BJ, Chung JO, et al. Geographical and climatic dependencies of green tea (*Camellia sinensis*) metabolites: a <sup>1</sup>H NMR-based metabolomics study. *J Agric Food Chem.* **58(19)**:10582-10589 (2010).
- 6) Ikeda G, Naga H, Ikeda T, et al. Development of a quantitative sensory method for Japanese green tea. *Food Sci Technol Res.* **16(3)**:241-248 (2010).
- 7) 堀江秀樹. 茶の官能審査と成分分析による品質評価. *日本食品科学工学会誌.* **65(5)**:203-212 (2018).
- 8) Le Gall G, Colquhoun IJ, Defernez M. Metabolite profiling using <sup>1</sup>H NMR spectroscopy for quality assessment of green tea, *Camellia sinensis* (L.). *J Agric Food Chem.* **52(4)**:692-700 (2004).
- 9) Lee JE, Lee BJ, Chung JO, et al. Metabolomic unveiling of a diverse range of green tea (*Camellia sinensis*) metabolites dependent on geography. *Food Chem.* **174**:452-459 (2015).
- 10) Pongsuwan W, Bamba T, Harada K, et al. High-throughput technique for comprehensive analysis of Japanese green tea quality assessment using ultra-performance liquid chromatography with time-of-flight mass spectrometry (UPLC/TOF MS). *J Agric Food Chem.* **56(22)**:10705-10708 (2008).
- 11) 中村順行, 山口優一. 茶の官能評価と化学成分の相関解析. *茶業研究報告.* **124**:1-12 (2017).
- 12) K foury N, Morimoto J, Kern A, et al. Quantitative structure-activity relationship modeling of tea catechins with radical scavenging activity by using near-infrared spectroscopy fingerprinting. *J Sci Food Agric.* **98(10)**:3784-3790 (2018).
- 13) Lee JE, Lee BJ, Hwang JA, et al. Metabolic dependence of green tea on plucking positions revisited: A metabolomic study. *J Agric Food Chem.* **59(19)**:10579-10585 (2011).
- 14) 阿南豊正, 池田奈実子, 深川聡. 製茶工程における香氣成分の変化とその官能特性への影響. *茶業研究報告.* **130**:45-56 (2020).
- 15) Sumner LW, Amberg A, Barrett D, et al. Proposed minimum reporting standards for chemical analysis. *Metabolomics.* **3(3)**:211-221 (2007).
- 16) Wolfender JL, Marti G, Thomas A, Bertrand S. Current approaches and challenges for the metabolite profiling of complex natural extracts. *J Chromatogr A.* **1382**:136-164 (2015).
- 17) Cevallos-Cevallos JM, Reyes-De-Corcuera JI, Etxeberria E, et al. Metabolomic analysis in food science: a review. *Trends Food Sci Technol.* **20(11-12)**:557-566 (2009).
- 18) Wishart DS. Metabolomics: applications to food

- science and nutrition research. *Trends Food Sci Technol.* **19(9)**:482-493 (2008).
- 19) Cuadros-Inostroza A, Giavalisco P, Hummel J, et al. Discrimination of wine attributes by metabolome analysis. *Anal Chem.* **82(9)**:3573-3580 (2010).
- 20) Ribeiro JS, Augusto F, Salva TJG, et al. Prediction of sensory properties of Brazilian Arabica roasted coffees by headspace solid phase microextraction-gas chromatography and partial least squares. *Anal Chim Acta.* **727**:22-30 (2012).
- 21) Spiteri M, Jamin E, Thomas F, et al. Fast and global authenticity screening of honey using 1H-NMR profiling. *Food Chem.* **189**:60-66 (2015).
- 22) Yamashita H, Uchida T, Tanaka Y, et al. Effectiveness of a green tea (*Camellia sinensis* L. Cv. Yabukita) waste silage-feed additive on degradation of mycoestrogen zearalenone in naturally contaminated feed assessed using in vitro evaluation systems. *J Sci Food Agric.* **99(10)**:4724-4731 (2019).
- 23) 津志田藤二郎, 松崎一, 向井俊博. メタボロミクス手法を用いた日本茶の品質評価. *日本食品科学工学会誌.* **67(3)**:107-115 (2020).
- 24) Pongsuwan W, Fukusaki E, Bamba T, Yonetani V, Yamahara T, Kobayashi A, Prediction of Japanese Green Tea Ranking by Gas Chromatography/Mass Spectrometry-Based Hydrophilic Metabolite Fingerprinting. *J Agric Food Chem.* **55**:231-236 (2007).
- 25) 小倉泰郎, 坂本雄紀., LC/MSおよびGC/MSを用いたメタボローム解析手法の応用緑茶葉のプロファイリング解析. *島津製作所アプリケーションノート No.10 (ライフサイエンス).* 1-12 (2010).
- 26) 池田達彦, 加藤彰, 二宮由佳, 米谷力, 野本亨資. 煎茶における品評会順位と抗酸化活性の関係性の解明. *近畿中国四国農業研究.* **18**: 89-95 (2011).
- 27) J Xia, N Psychogios, N Young, D S. Wishart. MetaboAnalyst: a web server for metabolomic data analysis and interpretation. *Nucleic Acids Research.* **37**: 652-660 (2009).
- 28) RIKEN Center for Sustainable Resource Science website.  
URL:<https://systemsomicslab.github.io/compms/others/main.html#Statistics> (2025.5.8)
- 29) T Sugawa H, Cajka T. Kind T. Ma Y. Higgins B. Ideda K. Kanazawa M. Vander Gheynst J. Fiehn O. Arita M. MS-DIAL: data-independent MS/MS deconvolution for comprehensive metabolome analysis. *Nature Methods.* **12(6)**: 523-531 (2015).
- 30) Eriksson L. Byrne T. Johansson E. Trygg J. Vikstrom, C. Multi- and megavariate data analysis, basic principles and applications. 3st ed. UMETRICS ACADEMY, 89-115 (2013).
- 31) 向井俊博, 堀江秀樹, 後藤哲久: 煎茶の遊離アミノ酸と全窒素の含量と価格との関係について. *茶業研究報告*, **76**: 45-50 (1992).
- 32) 後藤哲久, 堀江秀樹, 向井俊博. 全国茶品評会入賞茶の化学成分 (第 1 報) 玉露, てん茶, かぶせ茶の全窒素, 遊離アミノ酸, タンニン, カフェイン及びアスコルビン酸. *茶業研究報告*, **76**, 27-32 (1992).
- 33) 矢嶋雄二, 米山誠一, 桑原紀之. 茶成分による品質評価法. *岐阜県農業総合研究センター研究報告*, **12**: 5-11 (1999).
- 34) 辻正樹. てん茶の化学成分含有率と品質の関連性. *茶業研究報告*, **90**: 1-7 (2001).
- 35) Pongsuwan W., et al. Prediction of Japanese Green Tea Ranking by Gas Chromatography/Mass Spectrometry-Based Hydrophilic Metabolite Fingerprinting. *J. Agric. Food Chem.* **55(2)**: 231-236 (2007).
- 36) Pongsuwan W., et al. High-Throughput Technique for Comprehensive Analysis of Japanese Green Tea Quality Assessment Using Ultra-performance Liquid Chromatography with Time-of-Flight Mass Spectrometry (UPLC/TOF MS). *J. Agric. Food Chem.* **56**: 10705-10708 (2008).
- 37) Tarachiwin L., et al. 1H NMR Based Metabolic Profiling in the Evaluation of Japanese Green Tea Quality. *J. Agric. Food Chem.* **55(23)**: 9330-9336 (2007).
- 38) 飯島 陽子. フードミクスで食品の品質を評価する. Available from: <https://www.mac.or.jp/mail/200201/01.shtml> (2025.6.30)
- 39) 日本分析化学会. 緑茶の品質評価における成分分析事例. Available from: <https://bunseki.jsac.jp/wp-content/uploads/2021/07/p310.pdf> (2025.6.30)
- 40) 大阪大学. メタボローム解析による気候変動影響評価. Available from: <https://ir.library.osakau.ac.jp/repo/ouka/all/6178>

9/29070\_Dissertation.pdf (2025.6.30)

## Establishment of an Objective Quality Evaluation Method for Nagasaki-Grown Green Tea Using Foodomics Approach

Kazunari TSUJIMURA, Kaori TANIGUCHI and Hironobu MATSUO

This study aimed to establish an objective, scientific method for evaluating the quality of “Sonogi-cha,” a regional green tea brand produced in Nagasaki Prefecture, using a foodomics (food metabolomics) approach. Seventeen green tea samples ranked in the 2022 Nagasaki Prefectural Tea Competition were analyzed using GC-MS/MS and LC-QTOF/MS to comprehensively profile their chemical components. Partial least squares (PLS) regression analysis was performed using metabolite profiles as explanatory variables and competition rankings as the objective variable to construct quality prediction models. As a result, amino acids such as theanine and glutamine, sugars including sucrose and glucose-1-phosphate, organic acids such as quinic acid; and various catechins were identified as high-contribution variables based on their Variable Importance in Projection (VIP) scores. These compounds are well-known contributors to the taste, aroma, and umami of green tea, supporting the reliability and reproducibility of this evaluation method. This approach is expected to support not only quality assurance and brand value maintenance for Sonogi-cha, but also the evaluation of cultivation and processing conditions, adaptation to climate change, and broader applications in food quality assessment.

Key words: Foodomics, Metabolomics, GC-MS/MS, LC-QTOF/MS, Metabolic fingerprinting, Green tea quality, Principal Component Analysis, PLS regression.