

デキストリン量が極端に多い分析の場合は、基質量に対して必要十分な酵素量を考慮するかサンプルの希釈を行い反応を行う必要がある。今後、様々な食品形態で分析を行い、検討を行う予定である。

D. 結論

以上の結果から、今回我々が示した難消化性デキストリンの分析法は、pH 調製を必要としない酵素処理と市販カートリッジカラムの組み合わせによって、煩雑な操作を改善し、少ない酵素量や溶媒量でも再現性の高い分析が可能であることが示唆された。このように簡便で迅速な測定が可能な方法として有効であると考えられるが、さらに分析精度を向上させる必要があると考えられた。

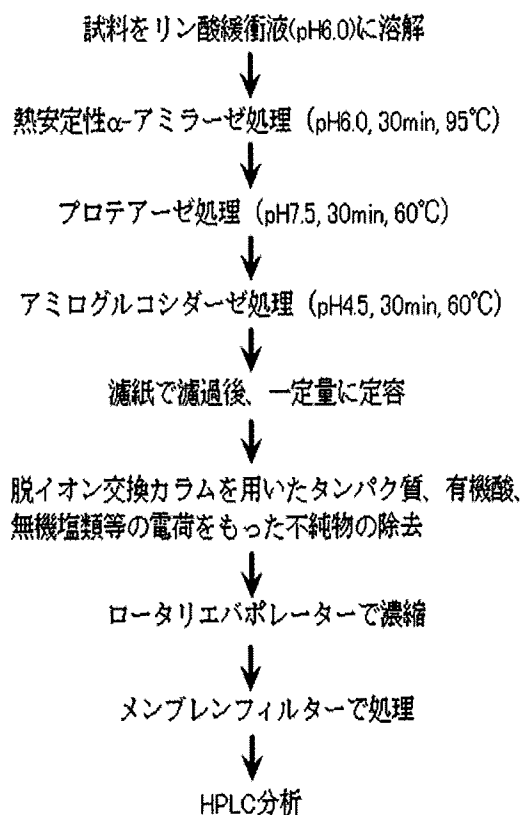
E. 健康危険情報

特になし。

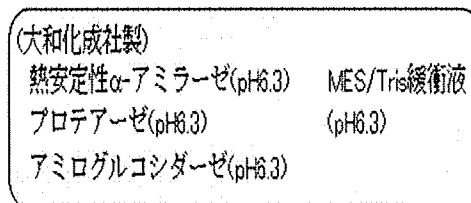
F. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。

図-1 難消化性デキストリン分析法と改良点



改良点①
酵素処理でのpHの再調整が必要な為、操作が煩雑



改良点②
充填カラムを用いた脱イオン交換は処理量が多く、作業に時間と手間が非常にかかり酵素処理に次いで律速となる。

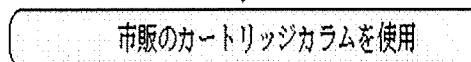
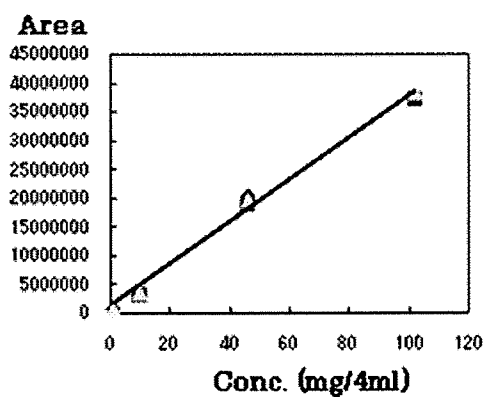


図-2 難消化性デキストリン標準物質の検出精度



相関係数=0.994

飲料中の茶カテキン類分析法の多施設間における検討

分担研究者 梅垣敬三 (独)国立健康・栄養研究所 情報センター

研究協力者 勝浦 彩 (独)国立健康・栄養研究所 情報センター

協力試験機関

(財)日本食品分析センター・(財)日本冷凍食品検査協会

(財)食品環境検査協会・大阪市立環境科学研究所

研究要旨

特定保健用食品の保健に関与する成分(関与成分)の分析には様々な方法が報告されているが、それらの分析方法の妥当性の確保や精度管理は、製品の有効性や安全性の評価に極めて重要である。茶カテキンを関与成分とする特定保健用食品はかなり多く、消費者の利用頻度も高い。茶カテキンには 8 種類の化合物があり、それぞれ生体に対する作用が少しずつ異なると考えられているが、構造が類似しているがゆえに各成分を分離することが難しい。現在、特定保健用食品中の茶カテキンの分析方法としては、条件の異なる2つの HPLC-UV 法が用いられており、また新しい方法として HPLC-ECD 法もある。そこで、茶カテキン飲料中のカテキン類の分析法の妥当性や実施における問題点について、5 機関(HPLC-UV 法 5 機関、HPLC-ECD 法 4 機関)で検討した。具体的には、各試験機関に緑茶飲料のモデルと 8 種の標準品混合物を配布し、定性試験、検出限界、検体中の茶カテキン量、規格化された緑茶抽出物を用いた添加回収率の算出、ピークの分離が問題となった場合の分離度・分離係数の比較を行った。それらの結果から、茶カテキンの分析には、検討した HPLC-UV 法の 1 つが優れていること、また、夾雑物が多く、含有量が微量である飲料の分析には、高感度で特異性の高い HPLC-ECD 法が適していることを示した。

A. 目的

ポリフェノールはベンゼン環にヒドロキシ基を2つ以上有しているフェノール類の総称であり、様々な生体調節機能を有することが知られている。植物ポリフェノールの代表的なものとして、茶カテキンやイソフラボンが挙げられる。茶カテキンについては、抗酸化作用、活性酸素の消去、抗癌作用、血糖降下作用など多岐にわたる生理作用が報告され、動脈硬化、心疾患などの様々な疾病のリスク低減が期待されている。このようなカテキン類の作用の一部は、特定保健用食品に応用されている。

カテキン類はフラバン-3-オール骨格を持ち、ヘテロ環の*C2,*C3 位に 2 個の不斉炭素を持

つ光学活性な化合物である。茶に存在するカテキン類としては、(-)-エピカテキン(EC)、(-)-エピガロカテキン(EGC)、(-)-エピカテキンガレート(ECg)、(-)-エピガロカテキンガレート(EGCg)があり、近年消費量が増加しているペットボトルや缶入り飲料の製茶の工程または殺菌工程で容易にエピマー化され、熱異性化により(+)-カテキン(C)、(-)-ガロカテキン(GC)、(-)-カテキンガレート(Cg)、(-)-ガロカテキンガレート(GCg)が生成されることが知られている。緑茶葉の熱湯抽出物の内 30~40%はカテキン類であり、その約半数を(-)-EGCg が占める。他に含有されるカテキンとしては、(-)-ECG、(-)-EGC、(-)-EC があ

る。カテキン類の構造は非常に類似しており、分離することが容易ではない。食品としての安全性や有効性を評価する上でも、個々のカテキンの含有量を正確に把握することが重要となる。

緑茶飲料中の茶カテキン類の分析には、一般的に HPLC-UV 法が用いられている。特定保健用食品中の茶カテキンの分析方法としては、HPLC-UV 法として 2 種の方法が利用されている。一方で、新しい方法として、カテキン類の電気化学的な性質を利用して、電気化学検出器(ECD)を装着した HPLC 法(HPLC-ECD 法)も報告されている。HPLC-UV 法は、汎用性が高い分析機器であるが、特異性が低く、夾雑物の影響を受けやすいという欠点がある。特に、緑茶飲料中にはカフェインなどのメチルキサンチン類が多く含まれ、カフェイン等はカテキン類と類似した保持時間を有するため、UV 検出法ではこれらのピークの分離が問題となる。一方、HPLC-ECD 法は高感度で選択性が高く、夾雑物の影響を受けにくく、カフェインのピークは検出されないという利点はあるが、グラジエント溶出はできず、検出器の安定性や汎用性などに難点がある。

本研究では、特定保健用食品の分析に利用されている茶カテキンの分析方法として、HPLC-UV 法の 2 種と HPLC-ECD 法を用い、緑茶飲料モデルの分析を複数機関で実施し、試験室間共同試験(以後、室間共同試験と略す)により、分析方法の妥当性、精度管理の問題点、適切な分析方法の設定について検討した。

B. 研究方法

1. 試薬と試料

茶カテキン標準品として、(-)-EC、(-)-

EGC、(-)-ECg、(-)-EGCg、(+)-C、(-)-GC、(-)-Cg、(-)-GCg は栗田工業社製、添加回収率に用いたポリフェノン 70S は三井農林社製のものを使用した。また、アセトニトリルとメタノールは和光純薬工業社製の HPLC グレード、リン酸と酢酸は和光純薬工業社製の試薬特級、5mol/L 水酸化ナトリウムは和光純薬工業社製の精密分析用を使用した。緑茶飲料のモデルとして市販の緑茶飲料 2 種を使用した。

2. 分析方法

分析方法は HPLC-UV 法の 2 種と HPLC-ECD 法(アンペロメトリック検出器またはクロマトリック検出器)で行った。分析カラムには、L-column ODS (5 μ m, 4.6 mm I.D. \times 250 mm) (財団法人化学物質評価研究機構製)を用いた。

1) UV 法 1: 移動相は A 液:0.1 M 酢酸溶液、B 液:0.1 M 酢酸-アセトニトリル溶液、流速は 1.0 mL/min、UV 検出器は 280 nm、カラム温度は 35 $^{\circ}$ C とし、タイムプログラムは、0 min から 5 min(B conc. 3%)、37 min から 43 min(B conc. 20%)、43.5 min から 48.5 min(B conc. 100%)、49 min から 62 min(B conc. 3%)とした。

2) UV 法 2: 移動相は A 液:CH₃CN:H₂O:H₃PO₄=5:95:0.1、B 液:CH₃CN:H₂O:H₃PO₄=50:50:0.1、流速は 1.0 mL/min、UV 検出器は 230 nm、カラム温度は 40 $^{\circ}$ C とし、タイムプログラムは 0 min から 5 min(B conc. 5%)、10 min から 15 min(B conc. 10%)、25 min から 40 min (B conc. 20%)、45 min から 55 min まで(B conc.80%)、60 min から 74 min(B conc. 5%)とした。

3) ECD 法: 移動相は 13.5% CH₃CN 含有 50 mM H₃PO₄, 0.05 mM EDTA \cdot 2Na(pH2.5)、流

速は 1.0 mL/min、カラム温度は 35°C とした。
検出器がアンペロメトリックの場合は +600 mV、
クーロメトリックの場合はガードセル +250 mV、
E1 -200 mV、E2 +150 mV とした。

3. 室間共同試験

カテキン標準品 8 種の混合物と 5 種の検体
(市販の緑茶飲料 2 種、市販の緑茶飲料 2 種
のそれぞれに規格化された緑茶抽出物として
ポリフェノン 70S を添加したもの、ポリフェノン
70S のみ)を 5 機関(A~E)に配布し、分析を
行った。A 機関では UV 法 1、UV 法 2、ECD
法(アンペロメトリック検出器およびクーロメトリ
ック検出器)、B・C機関では UV 法 1、UV 法 2、
ECD 法(アンペロメトリック検出器)、D 機関で
は UV 法 1、UV 法 2、ECD 法(クーロメトリック
検出器)、E 機関では UV 法 1、UV 法 2 での
分析を行った。

4. 測定機器

1) A 機関:UV 法 1 および 2 には HPLC システ
ム SHIMADZU LC-10AD(島津製)、UV 検出
器 SHIMADZU SPD-10A(島津製)を使用した。
ECD 法のアンペロメトリックには HPLC システム
SHISEIDO NANOSPACE SI-1(資生堂製)、
ECD 検出器 SHISEIDO NANOSPACE SI-2
(資生堂製)を使用した。ECD 法のクーロメトリ
ックには HPLC ポンプ SHIMADZU LC-10AD
(島津製)、オートサンプラー SHISEIDO
NANOSPACE SI-2(資生堂製)、カラムオーブ
ン HITACHI 655A-52(日立製)、ECD 検出器
esa Coulochem II (ESA 製)を使用した。
2) B 機関:UV 法 1 および 2 には HPLC システ
ム Agilent 1100 Series(Agilent 製)、UV 検出
器 Agilent G1315B(Agilent 製)を使用した。
ECD 法のアンペロメトリックには HPLC システム

Waters Alliance 2695(Waters 製)、ECD 検出
器 Waters 2465(Waters 製)を使用した。

3) C 機関:UV 法 1 および 2 には HPLC システ
ム SHIMADZU LC-10ADvp(島津製)、UV 検
出器 SHIMADZU SPD-10AVvp(島津製)を使
用した。ECD 法のアンペロメトリックには HPLC
システム SHIMADZU LC-10ATvp(島津製)、
ECD 検出器 医理化 Σ 985(医理化製)を使用
した。

4) D 機関:UV 法 1 および 2 には HPLC システ
ム SHIMADZU LC-20AD(島津製)、UV 検出
器 SHIMADZU SPD-20AV(島津製)を使用した。
ECD 法のクーロメトリックには HPLC ポンプ
SHIMADZU LC-10AD(島津製)、オートサン
プラー SHISEIDO NANOSPACE SI-2(資生堂
製)、カラムオープン HITACHI 655A-52(日立
製)、ECD 検出器 ESA Coulochem II (ESA
製)を使用した。

5) E 機関:UV 法 1 および 2 には HPLC システ
ム Waters Alliance 2690(Waters 製)、UV 検出
器 Waters 486 UV/Vis(Waters 製)を使用した。

5. データの解析

それぞれの分析結果から、各方法での定性
試験、検出限界、検体中の茶カテキン量、規
格化された緑茶抽出物での添加回収率を求
めた。また、標準品での分離度・分離係数を次
の式より求めた。

$$\text{分離度} = 1.18 \times \frac{(t_{R2} - t_{R1})}{(W_{0.5h1} + W_{0.5h2})}$$

$$\text{分離係数} = \frac{(t_{R2} - t_{R0})}{(t_{R1} - t_{R0})}$$

t_{R0} : 溶媒ピークの保持時間

t_{R1}, t_{R2} :測定に用いる2つの物質の保持時間
 $W_{0.5h1}, W_{0.5h2}$:それぞれのピークの半値幅

また、検体中の茶カテキン量から、併行相対標準偏差(RSD_f)、室間相対標準偏差(RSD_R)を求めた。また、5機関の室間共同試験で得られたRSD_Rから導き出した推定RSD_R(PRSD_R)を使用して、HORRAT値(RSD_R/PRSD_R)を求めた。

C. 結果

1. 定性試験

検量線に用いた標準品の分析結果の保持時間から定性試験を行った。ECD法では、アンペロメトリック方式をECD法1、クーロメトリック方式をECD法2として示した。それぞれの保持時間±SDおよびCV(%)値は、UV法1をTable 1、UV法2をTable 2、ECD法1をTable 3、ECD法2をTable 4に示した。また、A機関における標準品の代表的なクロマトグラムをFig. 1、各方法におけるCV(%)値をFig. 2に示した。これらの結果から、CV(%)値はすべての方法において各機関で1%以下となった。標準品での再現性が確認されたため、保持時間から各カテキン類のピークを同定した。

2. 検出限界

カテキン標準品を用いて各方法における検出限界を求めTable 5に結果を示した。検出限界はS/N=3で求めた。機関によりばらつきが見られるが、ECD法2、ECD法1、UV法2、UV法1の順に感度が高いことが確認された。

3. 分離度・分離係数

カテキン標準品での各方法における分離度・分離係数を求め、UV法1をTable 6、UV

法2をTable 7、ECD法をTable 8に示した。各方法において、すべてのピークの実験係数が1.0以上となり、全機関でカテキン類8種のピークが分離されていることが確認できた。しかし、UV法1において、(-)-ECと(-)-EGCgの分離度がA、D、E機関において完全分離の基準となる1.5以下となった。UV法2、ECD法、UV法1における(-)-ECと(-)-EGCg以外のピークに関しては、いずれの機関においても良好な分離が得られた(Fig. 1)。

4. 添加回収率

規格化された緑茶抽出物としてポリフェノン70Sを用いて、2種の検体(検体1、検体2)の添加回収率を求めた。A機関における典型的なクロマトグラムをFig. 3~Fig. 10に検体別に示した。UV法1はFig. 3とFig. 4、UV法2はFig. 5とFig. 6、ECD法1はFig. 7とFig. 8、ECD法2はFig. 9、Fig. 10である。また、検体1および検体2での添加回収率は、UV法1をTable 9、UV法2をTable 10、ECD法1をTable 11、ECD法2をTable 12およびFig. 11~Fig. 16に示した。

検体1および検体2におけるポリフェノン70Sによる添加回収率において、UV法1では(-)-GCgと(-)-Cgに5機関でばらつきが認められ、UV法2では(-)-Cgに5機関でのばらつきが認められ、回収率も低い値となった。ECD法1では、検体1では(-)-Cgのみに3機関で大きなばらつきが認められ、検体2では(-)-GCgと(-)-Cgが低い値となった(Fig.11, Fig. 12, Table 11)。ECD法2では、検体1では8種のカテキンが2機関において90~100%の回収率となり、検体2では(-)-GCgと(-)-Cgが低い値となった(Fig.11, Fig. 12, Table 12)。その他の茶カテキンにおいては、各方法にお

いて5機関での添加回収率に大きなばらつきは認められず、80~100%程度の回収率が得られた(Fig.11, Fig. 12, Table 9, Table 10)。機関内での比較では、検体1ではいずれの機関においても(-)-Cgの添加回収率にばらつきが認められ、検体2では(-)-GCgと(-)-Cgの添加回収率にばらつきが認められる傾向が見られた(Fig.13, Fig. 14)。全カテキン量の添加回収率で比較すると、A機関の検体2においてのみばらつきが認められたが、他では大きなばらつきは認められなかった(Fig.15, Fig. 16)。

5. 市販緑茶飲料中の茶カテキン量

A機関の市販の緑茶飲料中の茶カテキン量は、Fig. 3~Fig. 10の(B)のクロマトグラムで示した方法で測定して算出した。他の機関でも、同様に市販の緑茶飲料中の茶カテキン量を求めた。また、検体1および検体2での茶カテキン量は、UV法1をTable 13、UV法2をTable 14、ECD法1をTable 15、ECD法2をTable 16およびFig. 17~Fig. 22に示した。

市販の緑茶飲料における茶カテキンの表示量は、検体1が360mg、検体2が540mgであった。5機関間での個々のカテキン量の値に大きな差はなかった(Fig.17, Fig. 18, Table 13~Table 16)。しかし、両方の検体においてUV法1では、他の方法よりも(-)-EGCgの値が大きくなる傾向が見られた(Fig.19, Fig. 20)。UV法1では、5機関での検体1の表示量に対する全カテキン量の値が85~95.22%、検体2が101.18~110.03%となった(Table 13)。UV法2では、検体1が83.80~89.32%、検体2が99.86~109.26%となった(Table 14)。ECD法1では、検体1が79.91~86.29%、検体2が100.54~108.02%となった(Table 15)。ECD法

2では、検体1が84.34~85.55%、検体2が103.42~103.95%となった(Table 16)。検体1では表示量より低い値となり、検体2では表示量よりも高い値となる傾向が見られた(Fig.21, Fig. 22)。

6. 室間共同試験

今回用いた分析法の信頼性を確認するために、茶カテキン量の結果から、併行再現性の相対標準偏差(RSD_r, %)、室間再現性の相対標準偏差(RSD_R, %)を算出し、Table 17に示した。また、室間再現精度は濃度の変数になっていることが報告されているため、HORRAT値を算出し、Table 17に示した。ECD法は、ECD法2のアンペロメトリック検出器を所有している機関が少なく、2機関での分析となっており、検出器以外の条件は同じであるため、ECD法1とECD法2の結果を併せて算出した。ECD法では、両方の検体において併行再現性(RSD_r, %)、室間再現性(RSD_R, %)、HORRAT値のすべてでUV法2種と比較して大きな値となった。

D. 考察

1. 定性試験

A~E機関すべてにおいて、UV法2種およびECD法で標準品における定性試験結果のCV(%)値が1%以下となり、いずれの方法においても各機関で緑茶飲料中のカテキン類8種が同定され、再現性良く分析された。

2. 検出限界

各機関により異なる機器を用いているため、検出限界にばらつきが見られるが、各機関に共通してECD法2、ECD法1、UV法2、UV法1の順に検出感度が高いことが確認された。

ECD 法では、アンペロメトリック検出器は電極表面でカテキン類の一部のみが反応するのに対して、クーロメトリック検出器は電極がフィルター状であり、カテキン類の大部分が反応するため、クーロメトリック検出器の検出感度が高くなった。UV 法では、検出波長が UV 法 1 は 280nm、UV 法 2 は 230nm であり、茶カテキン類は 230nm に UV 吸収が大きいいため、UV 法 2 の検出感度が高くなったと考えられる。

3. 分離度・分離係数

各方法において全機関でカテキン類 8 種のピークの見分け係数が 1.0 以上となり、分離可能であることが確認された。しかし、Fig. 1(A)に示したように、(-)-EC と(-)-EGCg の保持時間が類似しており、(-)-EC と(-)-EGCg の分離度が 3 機関で 1.5 以下となり、完全分離が得られていない。UV 法 1 では、要因として、HPLC 装置の違い、移動相を作製する人が異なっていること、カラムの理論段数の違いの可能性などが考えられる。ピークが完全に分離されていないことは、試料中のカテキン量の値に影響する。これらのことから、カテキン 8 種のピークが完全に分離されている UV 法 2 と ECD 法では、試料中のカテキン量がより正確に求められると考えられる。

4. 添加回収率

ポリフェノン 70S を用いた 2 種の検体での添加回収率を求めた結果では、(-)-GCg と (-)-Cg にばらつきが大きい傾向が見られた。(-)-Cg においては、いずれの方法においてもばらつきが見られた。要因としては、ポリフェノン 70S 中の(-)-GCg と(-)-Cg の含有量が少なく、誤差の影響を受けやすかったと考えられる。(-)-Cg はどの方法においても最後に溶出

されるピークであり、ピークのブロードにより添加回収率に影響したことも考えられる。これらの可能性を明確にするには、ポリフェノン 70S に(-)-GCg と(-)-Cg の標準品等をさらに添加した試料で検討する必要があると考えられた。

5. 市販緑茶飲料中茶カテキン量

市販の緑茶飲料 2 種を検体として 5 機関に配布し、検体中の茶カテキン量を求めた結果、各機関での茶カテキン量に大きな差が見られなかったが、UV 法 1 では他の方法よりも(-)-EGCg の値が大きくなった。UV 法 1 は、(-)-EC と(-)-EGCg の完全分離が得られておらず、そのために(-)-EGCg の含有量が多くなった可能性や夾雑物の影響が考えられる。(-)-EGCg は緑茶中に最も多く含まれている茶カテキンであり、UV 法 1 では(-)-EGCg の値が他の方法よりも大きくなり、その結果として全カテキン量も多い傾向になったと考えられる。一方、(-)-Cg は添加回収率では大きなばらつきが見られたが、検体中の(-)-Cg 量が少ないため、総茶カテキン量として算出した値には、分析法の影響が小さかったと考えられる。

6. 室間共同試験

HORRAT 値は 0.5~2.0 を許容範囲、0.5~1.5 を室間再現性が良好としている。UV 法 2 種での検体 1 および ECD 法での検体 2 は 2.0 以下となり許容範囲に含まれていた。しかし、ECD 法の検体 1 のみ 2.31 という値となった。ECD 法は UV 法と比較すると、併行再現性(RSD_p, %)、室間再現性(RSD_R, %)、HORRAT 値が大きくなった。この要因として、検出器が不安定なことが考えられる。ECD 検出器は、感度・特異性が高いためカテキン類の分析には有用であるが、安定しにくいという難点があり、

良好な室間再現性が得られなかったと考えられる。一方で UV 法 2 では、両方の検体で HORRAT 値が 1.5 以下となり、良好な室間再現性が得られた。

E. 結論

茶カテキンの分析方法として従来使用されている 2 種の HPLC-UV 法と新しい方法として HPLC-ECD 法を多機関で分析し、分析法の統一の可能性について検討した。その結果、今回用いた UV 法 2 が最も適していると判断できた。ECD 法については検出感度が高いが、感度が良すぎるために希釈倍率が高くなり、誤差が生じやすくなるという問題点があった。また、ECD 法は機器の安定性や汎用性に問題があり、特定保健用食品の茶カテキンの含有量が微量である場合や夾雑物が多い場合にのみ有用で、一般的な分析法としては適さないと考えられた。一方、UV 法 2 は、UV 法 1 と比較して感度も高く、ピークの分離や室間再現性も良好であったことから、茶カテキンの分析法としては最も適しており、特定保健用食品の茶カテキンの一般的な分析方法として採用できる方法であると判断できた。

F. 研究発表

なし

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

Table 1 UV法1におけるカテキン類標準品の保持時間

	A 機関		B 機関		C 機関		D 機関		E 機関		
	平均値	SD	CV(%)	平均値	SD	CV(%)	平均値	SD	CV(%)	平均値	SD
(-)GC	15.8 ± 0.03	0.20	13.9 ± 0.05	0.34	18.4 ± 0.07	0.40	15.1 ± 0.01	0.08	14.3 ± 0.10	0.70	
(-)EGC	24.4 ± 0.01	0.06	21.4 ± 0.03	0.16	26.7 ± 0.07	0.25	23.6 ± 0.01	0.05	21.5 ± 0.10	0.48	
(+)C	26.2 ± 0.01	0.05	23.2 ± 0.04	0.18	28.5 ± 0.07	0.23	25.4 ± 0.01	0.03	23.3 ± 0.11	0.46	
(-)EC	32.2 ± 0.01	0.04	29.0 ± 0.04	0.13	34.4 ± 0.06	0.18	31.3 ± 0.01	0.04	29.0 ± 0.12	0.40	
(-)EGCg	32.7 ± 0.01	0.04	29.4 ± 0.04	0.14	34.8 ± 0.06	0.18	31.7 ± 0.01	0.04	29.3 ± 0.12	0.41	
(-)GCg	34.9 ± 0.01	0.04	31.5 ± 0.04	0.13	37.0 ± 0.06	0.16	33.8 ± 0.01	0.04	31.4 ± 0.12	0.38	
(-)ECg	41.4 ± 0.02	0.04	38.1 ± 0.04	0.11	43.6 ± 0.05	0.12	40.2 ± 0.01	0.03	37.9 ± 0.12	0.32	
(-)Cg	42.3 ± 0.02	0.04	38.8 ± 0.04	0.10	44.3 ± 0.05	0.11	41.0 ± 0.02	0.04	38.7 ± 0.12	0.31	

Table 2 UV法2におけるカテキン類標準品の保持時間

	A 機関		B 機関		C 機関		D 機関		E 機関		
	平均値	SD	CV(%)	平均値	SD	CV(%)	平均値	SD	CV(%)	平均値	SD
(-)GC	7.87 ± 0.01	0.10	7.24 ± 0.03	0.35	7.96 ± 0.03	0.34	7.59 ± 0.02	0.32	7.73 ± 0.01	0.17	
(-)EGC	15.1 ± 0.02	0.10	13.0 ± 0.04	0.28	15.1 ± 0.06	0.37	14.0 ± 0.05	0.35	13.6 ± 0.03	0.19	
(+)C	17.8 ± 0.02	0.06	15.4 ± 0.04	0.27	17.9 ± 0.06	0.31	16.7 ± 0.04	0.25	16.1 ± 0.03	0.21	
(-)EC	27.0 ± 0.02	0.06	23.6 ± 0.05	0.22	27.1 ± 0.07	0.25	25.4 ± 0.06	0.25	24.4 ± 0.06	0.25	
(-)EGCg	28.1 ± 0.02	0.06	24.5 ± 0.06	0.23	28.1 ± 0.07	0.26	26.3 ± 0.06	0.23	25.2 ± 0.06	0.23	
(-)GCg	31.5 ± 0.01	0.04	27.6 ± 0.05	0.18	31.5 ± 0.07	0.21	29.6 ± 0.06	0.21	28.3 ± 0.05	0.18	
(-)ECg	43.2 ± 0.03	0.06	38.5 ± 0.09	0.24	43.3 ± 0.13	0.30	40.4 ± 0.09	0.22	39.4 ± 0.07	0.18	
(-)Cg	46.2 ± 0.03	0.06	41.0 ± 0.10	0.25	46.3 ± 0.15	0.32	43.0 ± 0.11	0.26	42.2 ± 0.08	0.18	

Table 3 ECD 法 1 におけるカテキシン類標準品の保持時間

	A 機関			B 機関			C 機関		
	平均値	SD	CV(%)	平均値	SD	CV(%)	平均値	SD	CV(%)
(-)-GC	4.85 ± 0.01	0.22	4.35 ± 0.00	0.05	4.93 ± 0.00	0.04	0.04	0.00	0.08
(-)-EGC	6.24 ± 0.02	0.34	5.34 ± 0.00	0.07	6.25 ± 0.01	0.08	0.08	0.01	0.09
(+)-C	8.56 ± 0.04	0.42	7.08 ± 0.01	0.09	8.37 ± 0.01	0.09	0.09	0.01	0.12
(-)-EC	12.7 ± 0.07	0.55	10.0 ± 0.01	0.11	12.2 ± 0.01	0.12	0.12	0.01	0.15
(-)-EGCg	14.4 ± 0.10	0.68	10.8 ± 0.01	0.12	13.3 ± 0.02	0.15	0.15	0.02	0.17
(-)-GCg	17.7 ± 0.14	0.78	12.6 ± 0.02	0.13	16.1 ± 0.03	0.17	0.17	0.03	0.19
(-)-ECg	40.2 ± 0.00	0.89	27.5 ± 0.04	0.15	35.4 ± 0.07	0.19	0.19	0.07	0.20
(-)-Cg	45.6 ± 0.43	0.95	30.1 ± 0.05	0.17	39.8 ± 0.08	0.20	0.20	0.08	

Table 4 ECD 法 2 におけるカテキシン類標準品の保持時間

	A 機関			D 機関		
	平均値	SD	CV(%)	平均値	SD	CV(%)
(-)-GC	4.64 ± 0.01	0.17	4.76 ± 0.01	0.25	0.25	
(-)-EGC	5.87 ± 0.01	0.23	6.08 ± 0.02	0.35	0.35	
(+)-C	7.91 ± 0.02	0.29	8.21 ± 0.03	0.42	0.42	
(-)-EC	11.5 ± 0.04	0.38	12.1 ± 0.06	0.53	0.53	
(-)-EGCg	12.8 ± 0.06	0.45	13.4 ± 0.09	0.66	0.66	
(-)-GCg	15.6 ± 0.08	0.51	16.5 ± 0.13	0.77	0.77	
(-)-ECg	34.1 ± 0.21	0.61	36.4 ± 0.32	0.87	0.87	
(-)-Cg	38.6 ± 0.25	0.65	41.5 ± 0.39	0.93	0.93	

Table 5 各方法における検出限界

	A 機関				B 機関				C 機関				D 機関				E 機関							
	UV 法1	UV 法2	ECD 法1	ECD 法2	UV 法1	UV 法2	ECD 法1	ECD 法2	UV 法1	UV 法2	ECD 法1	ECD 法2	UV 法1	UV 法2	ECD 法1	ECD 法2	UV 法1	UV 法2	ECD 法1	ECD 法2	UV 法1	UV 法2	ECD 法1	ECD 法2
(-)-GC	500	20	1	0.2	400	50	5	5	200	200	1	1	500	10	0.5	0.5	800	100						
(-)-EGC	500	30	1	0.02	400	50	5	5	200	200	1	1	100	10	0.5	0.5	700	100						
(+)-C	250	20	2	0.5	100	50	5	5	100	100	1	1	50	10	0.5	0.5	200	50						
(-)-EC	250	20	2	0.01	100	50	5	5	100	100	1	1	50	50	0.5	0.5	200	50						
(-)-EGCg	100	25	0.1	0.01	100	50	5	5	100	100	1	1	50	50	0.5	0.5	300	50						
(-)-GCg	100	20	0.5	0.05	100	50	10	10	100	100	1	1	50	10	0.5	0.5	200	50						
(-)-ECg	100	50	0.5	0.5	100	50	25	25	100	100	1	1	50	50	1	1	200	100						
(-)-Cg	100	50	1	1	100	50	25	25	100	100	1	1	50	50	1	1	200	100						

ng/mL

ng/mL

ng/mL

ng/mL

ng/mL

Table 6 UV法1における分離度・分離係数

	A 機関		B 機関		C 機関		D 機関		E 機関	
	分離度	分離係数	分離度	分離係数	分離度	分離係数	分離度	分離係数	分離度	分離係数
(-)-GC	18.3	1.66	29.9	1.65	30.1	1.56	27.6	1.70	27.2	1.50
(-)-EGC	4.28	1.08	7.41	1.10	6.77	1.08	6.37	1.09	6.99	1.09
(+)-C	13.9	1.25	21.9	1.28	21.5	1.24	20.5	1.27	20.2	1.24
(-)-EC	1.08	1.02	1.51	1.02	1.67	1.02	1.28	1.01	1.33	1.01
(-)-EGCg	4.99	1.07	7.86	1.08	7.67	1.07	7.20	1.07	7.22	1.07
(-)-GCg	15.5	1.20	23.9	1.23	23.0	1.20	21.3	1.21	22.5	1.21
(-)-ECg	1.84	1.02	2.55	1.02	2.57	1.02	2.22	1.02	2.45	1.02
(-)-Cg										

Table 7 UV 法 2 における分離度・分離係数

	A 機関		B 機関		C 機関		D 機関		E 機関	
	分離度	分離係数	分離度	分離係数	分離度	分離係数	分離度	分離係数	分離度	分離係数
(-)-GC	15.2	2.39	23.4	2.87	23.8	2.51	21.2	2.44	21.4	1.76
(-)-EGC	5.51	1.22	8.70	1.28	8.22	1.23	8.11	1.25	8.01	1.18
(+)-C	18.6	1.61	25.3	1.73	26.3	1.63	24.4	1.64	22.0	1.52
(-)-EC	2.07	1.04	2.51	1.05	2.69	1.04	2.27	1.04	1.99	1.03
(-)-EGCg	6.38	1.13	9.11	1.15	9.52	1.14	9.16	1.14	8.19	1.12
(-)-GCg	17.1	1.41	23.8	1.47	24.3	1.42	23.4	1.41	23.3	1.39
(-)-ECg	3.65	1.08	3.91	1.07	4.43	1.07	4.13	1.07	4.20	1.07
(-)-Cg										

Table 8 ECD 法における分離度・分離係数

(アンペロメトリック)	(クーロメトリック)											
	A 機関			B 機関			C 機関			D 機関		
	分離度	分離係数	分離度	分離係数	分離度	分離係数	分離度	分離係数	分離度	分離係数	分離度	分離係数
(-)-GC	3.77	1.64	6.51	1.55	4.33	1.64	5.07	1.64	7.02	1.66		
(-)-EGC	5.81	1.65	9.18	1.62	6.14	1.63	6.10	1.64	9.22	1.64		
(+)-C	8.73	1.71	11.8	1.65	9.30	1.71	8.52	1.70	12.7	1.71		
(-)-EC	2.88	1.17	2.50	1.10	2.15	1.11	2.49	1.14	3.43	1.14		
(-)-EGCg	4.87	1.29	5.18	1.23	4.71	1.27	4.78	1.28	6.51	1.29		
(-)-GCg	20.5	2.49	25.5	2.47	21.8	2.47	20.8	2.44	25.1	2.44		
(-)-ECg	3.70	1.15	3.27	1.11	3.59	1.14	3.67	1.15	4.42	1.15		
(-)-Cg												

Table 9 UV法1における規格化された緑茶抽出物による添加回収率

Sample	A 機関			B 機関			C 機関			D 機関			E 機関		
	平均値	SD (%)	CV (%)	平均値	SD (%)	CV (%)	平均値	SD (%)	CV (%)	平均値	SD (%)	CV (%)	平均値	SD (%)	CV (%)
検体1 (-)-GC	92.0% ±	2.04%	2.22	89.3% ±	0.86%	0.97	95.3% ±	1.92%	2.01	96.5% ±	6.03%	6.25	95.5% ±	2.62%	2.75
(-)-EGC	92.8% ±	0.13%	0.14	88.9% ±	0.46%	0.52	96.9% ±	3.84%	3.97	97.2% ±	1.80%	1.86	94.4% ±	2.93%	3.10
(+)-C	80.8% ±	2.59%	3.20	81.0% ±	0.22%	0.28	83.5% ±	8.00%	9.57	93.6% ±	6.16%	6.58	68.2% ±	3.06%	4.48
(-)-EC	97.3% ±	1.62%	1.67	93.5% ±	1.99%	2.13	98.3% ±	2.24%	2.28	95.9% ±	1.58%	1.65	88.6% ±	2.32%	2.62
(-)-EGC _g	92.8% ±	1.07%	1.16	94.8% ±	1.37%	1.44	95.3% ±	1.83%	1.92	97.4% ±	1.61%	1.65	94.0% ±	0.49%	0.52
(-)-GC _g	78.4% ±	4.04%	5.16	75.7% ±	1.10%	1.46	63.4% ±	2.33%	3.68	90.4% ±	7.42%	8.21	54.1% ±	4.94%	9.12
(-)-EC _g	93.4% ±	0.56%	0.60	91.6% ±	0.46%	0.50	94.4% ±	1.53%	1.62	97.4% ±	0.90%	0.92	83.8% ±	0.11%	0.13
(-)-C _g	83.7% ±	1.97%	2.36	85.1% ±	0.50%	0.59	83.5% ±	1.48%	1.77	80.2% ±	13.2%	16.5	44.7% ±	3.37%	7.55
Total	92.2% ±	0.49%	0.53	91.2% ±	0.73%	0.80	94.1% ±	1.98%	2.10	96.6% ±	2.03%	2.11	89.2% ±	0.74%	0.83

接体 2	(-)-GC	109.2 %	±	5.55 %	5.09	65.9% ±	3.96 %	6.00	85.1% ±	7.63 %	8.97	88.8% ±	13.7 %	15.3 8	91.1% ±	3.08 %	3.38
	(-)-EGC	106.7 %	±	3.87 %	3.63	79.7% ±	0.75 %	0.95	89.3% ±	2.78 %	3.11	92.8% ±	4.85 %	5.23	95.6% ±	0.90 %	0.94
	(+)-C	110.9 %	±	5.36 %	4.83	78.2% ±	3.33 %	4.25	76.9% ±	6.33 %	8.24	94.6% ±	8.59 %	9.08	81.1% ±	12.9 %	15.8 9
	(-)-EC	107.8 %	±	0.98 %	0.91	86.7% ±	2.59 %	2.98	90.9% ±	1.17 %	1.28	93.2% ±	2.33 %	2.50	77.6% ±	2.54 %	3.27
	(-)-EGC _g	104.3 %	±	1.27 %	1.21	87.4% ±	0.67 %	0.77	88.2% ±	0.87 %	0.98	94.5% ±	4.00 %	4.24	90.5% ±	0.62 %	0.68
	(-)-GC _g	94.3% ±		13.0 %	13.7 7	48.2% ±	3.05 %	6.33	73.9% ±	31.0 %	42.0 0	69.1% ±	21.5 %	31.1 6	77.0% ±	18.0 %	23.3 1
	(-)-EC _g	106.5 %	±	1.77 %	1.66	85.0% ±	0.84 %	0.98	91.8% ±	1.12 %	1.22	93.4% ±	3.21 %	3.43	91.4% ±	0.87 %	0.95
	(-)-C _g	129.7 %	±	16.7 %	12.8 7	42.4% ±	3.89 %	9.18	72.2% ±	1.28 %	1.77	106.0 %	22.2 %	20.9 2	85.5% ±	5.34 %	6.25
	Total	105.8 %	±	5.74 %	5.42	81.0% ±	1.19 %	1.47	87.9% ±	1.29 %	1.46	92.5% ±	5.38 %	5.82	89.4% ±	1.11 %	1.24

Table 10 UV法2における規格化された緑茶抽出物による添加回収率

Sample	A 機関			B 機関			C 機関			D 機関			E 機関		
	平均値	SD	CV(%)	平均値	SD	CV(%)	平均値	SD	CV(%)	平均値	SD	CV(%)	平均値	SD	CV(%)
検体1 (-)-GC	91.7% ±	3.06%	3.34	91.3% ±	5.96%	6.52	99.0% ±	2.80%	2.83	96.4% ±	5.82%	6.04	92.9% ±	0.66%	0.71
(-)-EGC	92.3% ±	2.68%	2.90	92.0% ±	2.16%	2.34	96.4% ±	2.12%	2.20	97.1% ±	1.72%	1.78	94.4% ±	0.42%	0.45
(+)-C	88.1% ±	2.46%	2.79	90.2% ±	4.64%	5.15	98.5% ±	3.76%	3.82	95.4% ±	5.07%	5.32	86.6% ±	0.76%	0.88
(-)-EC	95.8% ±	0.63%	0.66	94.8% ±	1.77%	1.86	99.1% ±	2.08%	2.10	96.4% ±	1.34%	1.39	93.4% ±	0.36%	0.39
(-)-EGCg	92.4% ±	1.50%	1.63	95.0% ±	2.03%	2.14	95.0% ±	1.90%	2.00	97.2% ±	1.19%	1.23	88.8% ±	0.32%	0.36
(-)-GCg	88.5% ±	3.77%	4.26	81.1% ±	8.74%	10.77	85.4% ±	2.38%	2.79	92.6% ±	7.01%	7.57	70.8% ±	0.31%	0.44
(-)-EGCg	93.2% ±	1.61%	1.73	94.3% ±	1.93%	2.04	94.8% ±	2.25%	2.37	95.9% ±	1.36%	1.42	86.5% ±	1.86%	2.15
(-)-Cg	76.0% ±	6.82%	8.97	53.5% ±	3.30%	6.18	65.2% ±	1.96%	3.01	83.0% ±	8.70%	10.48	56.5% ±	5.71%	10.12
Total	92.4% ±	1.71%	1.85	92.8% ±	2.73%	2.94	95.5% ±	2.12%	2.21	96.5% ±	1.98%	2.06	89.3% ±	0.44%	0.49

楼体 2	(-)-GC	102.0 %	±	6.22 %	6.10	74.6% ±	7.09 %	9.50	80.8% ±	0.49 %	0.60	82.4% ±	13.3 %	16.1 8	89.3% ±	4.11 %	4.60
	(-)-EGC	100.6 %	±	3.78 %	3.76	84.7% ±	2.82 %	3.33	88.7% ±	1.46 %	1.65	90.5% ±	4.38 %	4.84	85.1% ±	4.70 %	5.52
	(+)-C	108.0 %	±	11.4 %	10.5 3	82.8% ±	5.71 %	6.89	92.7% ±	3.69 %	3.98	91.0% ±	10.9 %	11.9 8	88.3% ±	3.02 %	3.42
	(-)-EC	104.0 %	±	6.89 %	6.63	89.8% ±	2.36 %	2.63	93.8% ±	1.77 %	1.89	93.0% ±	4.04 %	4.34	88.6% ±	0.96 %	1.08
	(-)-EGC g	102.2 %	±	7.28 %	7.12	90.2% ±	2.35 %	2.61	89.1% ±	1.34 %	1.51	90.7% ±	4.39 %	4.84	87.1% ±	1.18 %	1.35
	(-)-GCg	96.2% %	±	15.1 %	15.7 0	57.8% ±	9.93 %	17.2 0	58.5% ±	2.30 %	3.94	67.9% ±	15.5 %	22.8 8	65.1% ±	3.35 %	5.14
	(-)-EGg	98.8% %	±	2.42 %	2.45	90.7% ±	2.48 %	2.73	91.1% ±	1.29 %	1.41	84.7% ±	10.6 %	12.5 7	90.3% ±	1.03 %	1.14
	(-)-Cg	131.0 %	±	37.3 %	28.4 5	34.0% ±	10.9 %	31.8 8	28.3% ±	3.60 %	12.7 4	97.2% ±	21.2 %	21.8 5	167.4 %	25.2 %	15.0 3
	Total	101.7 %	±	13.3 %	13.0 4	85.5% ±	3.36 %	3.92	87.5% ±	1.24 %	1.41	88.5% ±	5.01 %	5.66	86.9% ±	0.86 %	0.99

Table 11 ECD 法 1 における規格化された緑茶抽出物による添加回収率

Sample	A 機関			B 機関			C 機関		
	平均値	SD	CV(%)	平均値	SD	CV(%)	平均値	SD	CV(%)
検体 1									
(-)-GC	92.7% ±	10.7%	11.6	99.7% ±	15.0%	15.0	91.7% ±	16.8%	18.3
(-)-EGC	96.4% ±	1.18%	1.23	97.8% ±	7.90%	8.08	90.2% ±	7.37%	8.17
(+)-C	82.8% ±	6.48%	7.82	70.2% ±	10.2%	14.5	94.8% ±	16.0%	16.9
(-)-EC	88.1% ±	0.97%	1.10	97.0% ±	5.56%	5.73	90.3% ±	5.26%	5.82
(-)-EGCg	90.1% ±	1.73%	1.92	97.1% ±	5.54%	5.71	90.2% ±	5.90%	6.54
(-)-GCg	71.8% ±	22.5%	31.3	95.4% ±	22.8%	23.9	83.3% ±	22.0%	26.4
(-)-ECg	73.9% ±	2.97%	4.02	94.4% ±	9.54%	10.1	89.2% ±	6.70%	7.52
(-)-Cg	34.7% ±	7.47%	21.5	101.2% ±	49.3%	48.7	157.5% ±	66.6%	42.29
Total	86.8% ±	3.24%	3.73	96.1% ±	7.59%	7.89	90.3% ±	8.14%	9.01
検体 2									
(-)-GC	104.0% ±	22.2%	21.4	53.4% ±	13.3%	25.0	78.3% ±	21.8%	27.8
(-)-EGC	80.6% ±	7.35%	9.11	77.1% ±	4.82%	6.25	66.8% ±	3.28%	4.92
(+)-C	72.9% ±	13.9%	19.12	52.6% ±	20.1%	38.2	78.8% ±	19.1%	24.2
(-)-EC	82.8% ±	4.93%	5.96	86.5% ±	2.77%	3.20	92.6% ±	9.14%	9.87
(-)-EGCg	73.0% ±	10.1%	13.8	83.3% ±	4.50%	5.40	89.2% ±	9.95%	11.2
(-)-GCg	21.3% ±	47.1%	220.7	35.0% ±	15.2%	43.5	36.4% ±	26.6%	72.9
(-)-ECg	70.1% ±	7.23%	10.31	87.1% ±	10.7%	12.26	87.9% ±	10.5%	11.9
(-)-Cg	38.2% ±	16.2%	42.4	-24.4% ±	76.8%	-314.9	-20.0% ±	47.4%	-237.1
Total	73.9% ±	11.9%	16.1	76.3% ±	5.80%	7.60	81.1% ±	10.5%	13.0