

## 石鎚黒茶製造工程における風味成分の変化とその特徴

加藤みゆき, 田村朝子\*<sup>1</sup>, 斎藤ひろみ\*<sup>1</sup>, 大森正司\*<sup>1</sup>,  
難波敦子\*<sup>2</sup>, 宮川金二郎\*<sup>3</sup>

(香川大学教育学部, \*<sup>1</sup>大妻女子大学家政学部, \*<sup>2</sup>常磐会短期大学,  
\*<sup>3</sup>鈴鹿医療科学技術大学)

平成6年12月7日受理

### Changes of Flavor during Manufacturing Process of Japanese Fermented Tea (Ishizuchi-kurocha) and Its Characteristic

Miyuki KATO, Asako TAMURA, \*<sup>1</sup> Hiromi SAITOU, \*<sup>1</sup>  
Masashi OMORI, \*<sup>1</sup> Atsuko NANBA \*<sup>2</sup> and Kinjiro MIYAGAWA \*<sup>3</sup>

*Faculty of Education, Kagawa University, Takamatsu 760*

\*<sup>1</sup>*Faculty of Home Economics, Otsuma Women's University, Chiyoda-ku, Tokyo 102*

\*<sup>2</sup>*Tokiwakai College, Hirano-ku, Osaka 547*

\*<sup>3</sup>*Suzuka University of Medical Science and Technology, Suzuka 510-02*

Ishizuchi-kurocha, a king of post-heating fermented tea, is produced locally at remote and secluded place in the mountains of Ehime Prefecture in Japan. The present study was undertaken to investigate about the changes of the components in Ishizuchi-kurocha during the manufacturing process.

Optical density of the tea infusion at 380 nm increased, but amounts of ester type catechins in the infusion decreased on process of becoming moldy. The presence of organic acids such as lactic and succinic acids were newly found after fermentation, which were assumed to be products of microbiological fermentation. The amounts of aroma constituents, especially, acetic acid increased on process of taking out from bucket.

The amounts of amino acid, especially, leucine, tyrosine, histidine, lysine increased on process of becoming moldy.

(Received December 7, 1994)

**Keywords** : Ishizuchi-kurocha 石鎚黒茶, flavor 風味, organic acid 有機酸, catechin カテキン.

### 1. 序 論

茶の分類上, 後発酵茶といわれる一群の茶がある。これらの茶は茶葉を蒸すか, ゆでるかして殺青した後微生物によって発酵させた茶である。後発酵茶はさらに好気的なカビ発酵茶と嫌気的なバクテリア発酵茶およびその両発酵過程をもつ3種に分類される<sup>1)</sup>。好気的なカビ発酵茶は中国のプアール茶がよく知られ, 日本では富山の黒茶がそれである。嫌気的な発酵茶は中国の竹筒酸茶I型, タイのミヤン, ミャンマーのラベ・

ソーなどであり, 日本の阿波番茶はこのタイプである。また, 好気的なカビ発酵と嫌気的なバクテリア発酵の両過程をもつ後発酵茶は文献上<sup>2)</sup>の竹筒酸茶IIがそれであるが, まだ現存の確認ができていない。日本では高知県大豊町の碁石茶および愛媛県石鎚の黒茶がこの両発酵過程をもつ。嫌気発酵過程をもつ竹筒酸茶I, II, ミヤン, ラベ・ソーなどは食べる茶として存在し, 日本の嫌気的な発酵茶はいずれも飲む茶であり, その相違は民俗学的にも興味もたれている。

後発酵茶は極めて特殊な茶であり、中国の好気のカビ付け茶であるプアール茶系の茶を除いては日本では一般的な茶ではない。とはいえ、茶にはカテキンをはじめ、他の植物には類をみない成分を多く含み、薬効作用をもつことなどから、これらの後発酵茶についても十分に科学的な考察がなされるべきであると考え。筆者らは、先に阿波番茶<sup>3)</sup>および碁石茶<sup>4)</sup>について、その風味の特徴および発酵に関する微生物叢について検討してきた<sup>5)</sup>。本報告はその継続であり、愛媛県石鎚山中に現存する碁石茶系の黒茶について、製茶工程における成分変化を検討し、その成分について報告するものである。

## 2. 実験方法

### (1) 試料

1992年7月に愛媛県周桑郡小松町石鎚中村において栽培されている在来種 var. *sinensis* を用いて、実際に行われている製茶過程からサンプリングしたものを試料とした。まず、茶樹より茶葉をすべてしごきとり、桶の蒸し器で約1時間蒸しを行った。これを冷却し、桶にいれて約7日間放置しカビ付けの操作を行った後、むしろの上で手で揉捻を行った。ついで、この茶葉を桶に入れてビニールで密閉し蓋をしたのち上から重石をのせて、10日間桶づけの操作を行った。漬け込み後茶葉をとりだし、バラバラにほぐしてむしろの上で天日乾燥し製品とした。以上の操作を Fig. 1 に示した。この操作中の①～⑤については凍結乾燥

① Tea leaves

|

Plucked

|

② Steamed (1 h)

|

③ Prefermented (in wooden bucket, 7 days)

|

④ Rolled (going forth and back on a straw mat)

|

⑤ Fermented (in wooden bucket, 10 days)

|

Dried (solar, 2 days)

|

Ishizuchi-kurocha

Fig. 1. Manufacturing process of Ishizuchi-kurocha

試料とし、以下の実験に供した。

### (2) 浸出液の色の測定とポリフェノールの分析

先に報告した阿波番茶、碁石茶と同様の方法で、茶葉 3 g を沸騰水 1 l で 1 分間抽出してその浸出液の色を 380 nm で測定した。ポリフェノール含量は、岩浅らの方法<sup>6)</sup>で分析した。カテキンの定量は、池ヶ谷らの方法<sup>7)</sup>により行った。

### (3) アミノ酸、カフェイン、有機酸の分析

アミノ酸の定量は津志田らの方法<sup>8)</sup>に準じて、また、カフェイン、有機酸の定量は、前報<sup>3) 4)</sup>に準じて HPLC により行った。

### (4) 香気成分の分析

前報と同様に茶葉 50 g を用い、1 l の沸騰蒸留水を加えデカン酸エチルを内部標準とし、Likens-Nickerson 改良型による連続蒸留抽出法 (SDE 法)<sup>9)</sup>により溶媒抽出を行った。得られた香気濃縮物は島津 GC-14A を用いて分析し、各成分の同定は過去の文献との照合、標準物質との照合、および GC-MS で行った。GC-MS は、島津 QP1000A を用いて行った。

## 3. 実験結果および考察

### (1) 浸出液の色およびカテキンの変化

浸出液の 380 nm による吸光度は、生葉 0.03、蒸し葉 0.07、カビ付け後 0.44、揉捻後 0.62、桶づけ後 0.62、製品 0.31 であった。また、試料中のポリフェノール含量の変化は、生葉 7.15、蒸し葉 6.30、カビ付け後 6.62、揉捻後 6.44、桶づけ後 7.04、製品 6.55 % (乾物) であった。ポリフェノール含量は、他の後発酵茶<sup>3) 4)</sup>とほぼ同様の値であった。カテキン含量については、生葉では (-)-エピガロカテキンガレート ((-)-EGCg) が最も多く、ついで (-)-エピガロカテキン ((-)-EGC) の順であった (Table 1)。総カテキン含量は、製造工程中の蒸し葉工程において大きく減少し、さらに天日乾燥後の製品でも減少していた。これは、カビ付けの工程や桶づけの工程で好気性、嫌気性などの各種微生物による作用によりカテキン類の分解、異性化が起こったためと考えられた。各カテキンについての变化では、(-)-EGCg の減少が著しく特にカビ付けの操作以後消失していた。(-)-EGCg もカビ付けの工程で生葉に対して約 36% までに減少しているのが認められた。碁石茶では、カビ付けの工程で約 20% にカテキン含量の減少が認められたが、この違いについてはカビ付け操作方法の違いにあると考えられた。これらに対し (-)-EGC、(-)-EC は桶

## 石籠黒茶製造工程における風味成分の変化とその特徴

Table 1. Contents of catechins in Ishizuchi-kurocha

	(g/100 g dry matter)					
	Fresh tea leaves	After steaming	Becoming moldy	After rolling	Taking out from bucket	Ishizuchi-kurocha
(-)-EGC	2.569	1.058	2.084	1.693	3.042	1.617
(-)-EC	1.789	0.755	1.334	1.123	1.531	1.188
(-)-EGCg	2.635	1.311	0.940	0.295	0.204	0.234
(-)-ECg	2.055	1.129	trace	trace	trace	trace
Total	9.048	4.253	4.394	3.111	4.777	3.039

(-)-EGC, (-)-epigallocatechin; (-)-EC, (-)-epicatechin; (-)-EGCg, (-)-epicallocatechin galate; (-)-ECg, (-)-epicatechin gallate. Contents of catechin were calculated as ratio of peak area to that of the internal standard (4-methylpyrocatechol). One hundred milligrams of leaves of Ishizuchi-kurocha were extracted with about 30 ml of 20% acetone for 60 min and then filtered. Filtrate were extracted with about 100 ml ethyl acetate. Ethyl acetate layer was condensed and then filled up to 10 ml with 25% acetonitrile. Extract was filtered by 0.45  $\mu$ m millipore filter, and injected to Hitachi HPLC L-6200: Column, Hibar Lichrosorb RP-18 5  $\mu$ m  $\phi$ 4.0  $\times$  250 mm; Mobile phase, acetonitrile:acetic acid:methanol:H<sub>2</sub>O(113:5:20:862); Column temp., 30°C; Detector, 280 nm; Flow rate, 1.0 ml/min.

づけ操作で揉捻工程に比較して、それぞれ約 1.8 および約 1.4 倍になっているのが認められた。これは、桶づけすることにより、微生物の作用によってカテキンが利用され、または変化したものと考えられた。

現在、後発酵茶より数種の微生物を分離同定しているが、これら個々の微生物と茶成分との反応性を明らかにする事を目下精査中であり、次報で報告したい。さらにこれら微生物は、カテキン分解や異性化酵素を

Table 2. Contents of amino acids in Ishizuchi-kurocha

	(mg/100 g dry matter)					
	Fresh tea leaves	After steaming	Becoming moldy	After rolling	Taking out from bucket	Ishizuchi-kurocha
Aspartic acid	66.6	73.9	95.8	28.6	35.3	44.6
Threonine	19.1	22.6	66.7	38.1	25.0	34.6
Serine	33.1	39.9	70.7	55.7	40.5	53.1
Theanine	311.0	298.8	239.5	213.4	137.6	219.5
Glutamic acid	104.5	115.5	113.8	69.2	76.5	71.4
Proline	—	—	17.9	trace	trace	trace
Glycine	—	—	22.9	trace	trace	trace
Alanine	36.5	41.9	98.0	37.9	30.3	39.2
Valine	8.2	7.1	42.8	11.1	14.1	15.8
Isoleucine	2.6	3.9	16.4	3.3	2.6	5.3
Leucine	2.6	3.9	48.5	9.2	16.4	24.9
Tyrosine	—	—	85.2	11.8	—	6.4
Phenylalanine	6.6	5.0	62.0	9.9	10.7	16.5
$\gamma$ -aminobutylic acid	29.4	42.8	33.5	12.9	24.2	16.5
Histidine	trace	3.2	64.4	14.0	10.1	14.7
Lysine	trace	trace	197.4	36.6	32.2	26.3
Arginine	trace	10.5	82.8	20.0	trace	10.5
Total	620.2	668.2	1358.3	571.7	455.5	599.3

Ishizuchi-kurocha (1 g) was extracted with about 50 ml of boiling water for 60 min and then filled up to 100 ml with distilled water. Extract was filtered by 0.45  $\mu$ m millipore filter, and injected to Shimadzu HPLC LC-6A: *o*-phthalaldehyde method.

Table 3. Contents of organic acids in Ishizuchi-kurocha

	(mg/100 g dry matter)					
	Fresh tea leaves	After steaming	Becoming moldy	After rolling	Taking out from bucket	Ishizuchi-kurocha
Oxalic acid	1148	753	1774	1170	739	1094
Citric acid	1857	653	725	809	534	—
Tartaric acid	—	—	354	326	207	373
Succinic acid	—	—	—	—	217	102
Lactic acid	—	—	—	—	3122	2135

Ishizuchi-kurocha 500 mg was extracted with about 50 ml of water (60°C) for 30 min and then filled up to 50 ml with distilled water. The extract was filtered by 0.45 μm millipore filter, and treated by SEP-C<sub>18</sub>, then, injected to Hitachi L-6200. Column: HITACHI GELUKO #C610H φ0.7×300 mm; Column temp. 60°C; Mobile phase, 0.1% phosphoric acid; Detector, 210 nm; Flow rate, 1.0 ml/min.

生成していることが示唆され、茶カテキンの有効利用という面からも酵素化学的に検討する必要があると考えている。

#### (2) アミノ酸、カフェイン、有機酸の変化

総アミノ酸量としては、カビ付けの工程で大きく増加し、その後桶づけ工程で減少した (Table 2)。製法をほとんど同じくする碁石茶に比較して<sup>4)</sup>、碁石茶はカビ付けすることによりアミノ酸が減少していたものが、石銚黒茶では増加していた。これは、碁石茶の場合、カビ付け工程でむしろをかけ、時おり足で踏み固められるが、石銚黒茶は放置したままの状態のカビをつけるためここに優先的に増殖する微生物叢が異なるためであると考えられる。石銚黒茶は桶づけ工程において、碁石茶に比べアミノ酸含量が減少していた。これは、碁石茶では、桶づけ時に蒸しの時の茶汁を加えているが、石銚黒茶では茶汁を加えることを行わないために、桶づけ中の茶葉の嫌気度が異なり、この操作上の違いがこの結果の違いを導いたものと考えられる。各アミノ酸については、カビ付け操作によりチロシン、フェニールアラニン、ヒスチジン、リジン、アルギニンの増加が顕著に認められたが、これを揉捻するとカビ付け前とほぼ同じ含量になっていた。これらアミノ酸の増加については、石銚黒茶製造工程中のカビ付けで *Mucor* 類の存在が認められ、これらカビ類によるフェニールアラニンの生産が行われたものと考えられる<sup>10)</sup>。

有機酸含量の結果を Table 3 に示した。石銚黒茶に含まれる有機酸は、主にシュウ酸、クエン酸、酒石酸、コハク酸、乳酸であった。そのうち酒石酸は碁石茶と同じくカビ付け工程で生成していた。他の後発酵

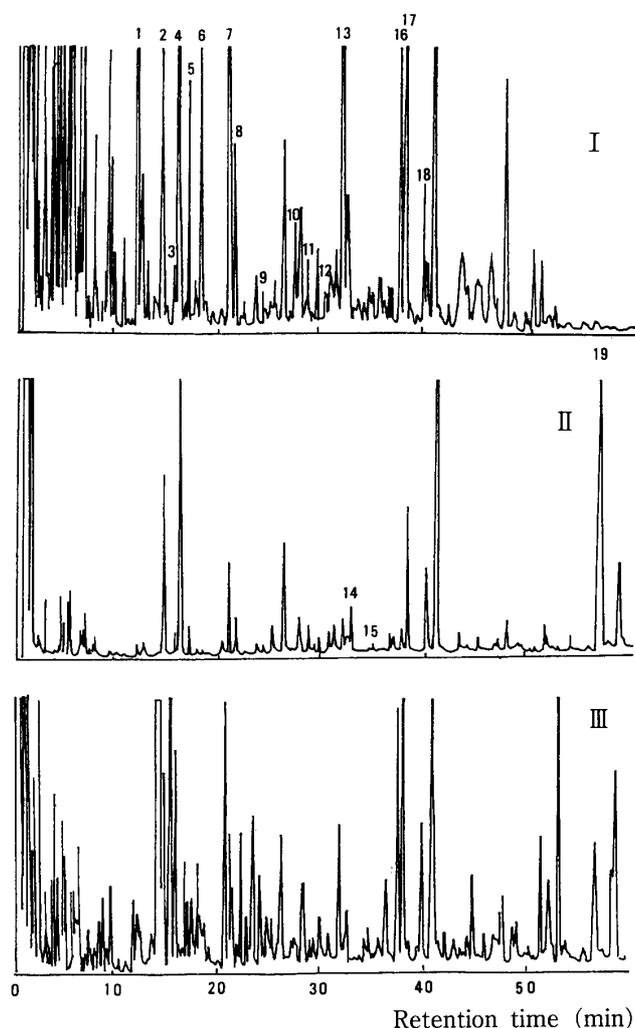


Fig. 2. Gas chromatograms of aroma concentration from Ishizuchi-kurocha

I, fresh tea leaves; II, becoming moldy; III, Ishizuchi-kurocha. GC condition; Column, PEG 20 M; Oven temperature, 50-180°C (2°C/min); Carrier gas, He 1 ml/min; Split ratio, 30:1; Detector, FID.

## 石銚黒茶製造工程における風味成分の変化とその特徴

Table 4. Composition of volatile flavor compounds

Peak No.	$t_r$ (min)	Compound	Fresh tea leaves	After steaming	Becoming moldy	After rolling	Taking out from bucket	Ishizuchi-kurocha
1	12.1	( <i>Z</i> )-3-hexenol	2.480	0.232	trace	trace	—	—
2	14.5	Acetic acid	—	—	1.190	0.843	13.028	4.043
3	15.8	Linalool oxide ( <i>cis</i> -furanoid)	0.227	—	0.084	—	0.584	2.505
4	16.2	Unknown	2.266	1.570	2.809	1.564	3.390	0.957
5	17.1	Unknown	0.660	0.192	0.164	0.211	0.067	0.330
6	18.3	Linalool oxide ( <i>trans</i> -furanoid)	1.133	0.173	trace	0.260	0.557	0.288
7	21.0	Linalool	2.874	0.464	0.633	0.928	2.586	1.223
8	21.4	3-methyl-2-furfural	0.618	0.093	0.242	0.149	0.485	0.442
9	24.3	3-7-dimethyl-1, 5, 7-octatrien-3-ol	0.110	—	0.078	0.127	0.406	0.359
10	27.4	$\alpha$ -terpineol	0.405	—	trace	0.072	0.028	0.079
11	28.6	1, 2-dimethoxybenzene	0.374	0.092	0.175	0.166	0.417	0.716
12	30.3	Benzyl acetate	0.109	0.135	0.094	0.356	0.534	0.192
13	32.3	Methyl salicylate	0.348	0.155	0.108	0.068	0.178	0.112
14	32.8	1-phenyl ethanol	—	trace	0.268	0.206	0.484	0.189
15	35.0	2-phenylethylacetate	—	—	0.063	0.093	0.358	0.170
16	37.8	Geraniol	1.431	0.141	0.219	0.240	0.958	1.251
17	38.6	Benzyl alcohol	3.800	0.705	0.988	1.620	4.849	2.294
18	39.7	2-phenylethyl alcohol	0.471	—	0.491	0.539	1.280	0.509
19	57.1	Methylparmitate	—	—	4.497	2.276	5.724	1.031

As the ratio of peak area to that of an internal standard (ethyl decanoate), Shimadzu GC-14A column, 50 m  $\times$   $\phi$  0.28 mm glass capillary coated with PEG-20M 50-180°C : 2°C/min.

茶<sup>3) 4)</sup>と同様に桶づけ葉において乳酸の生成が認められた。先に、桶づけすることにより乳酸菌の存在を確認している事<sup>5)</sup>から、この乳酸菌により桶づけ中に乳酸を生成したものと考えられた。また、石銚黒茶ではコハク酸が新たに認められた。コハク酸は、3,4-ヒドロキシ安息香酸から微生物の作用によって生成することがすでに認められている<sup>11)</sup>ところから本細菌の同定およびその性質を検討したい。カフェインについては、他の後発酵茶<sup>3) 4)</sup>とほぼ同程度含有されていたが、製造工程中での変化はあまり認められなかった。

### (3) 香氣成分の変化

香氣成分のクロマトグラムを Fig. 2 に、成分の同定結果と内部標準物質のデカン酸エチルを 1 としたときの値を Table 4 に示した。他の後発酵茶<sup>3) 4)</sup>同様に桶づけすることによって、酢酸の生成が顕著であり、碁石茶の香氣成分の分析をおこなった川上らの報告<sup>12)</sup>にもあるようにリナロール、ゲラニオール、ベンジルアルコール、2-フェニールエタノールが石銚黒茶の香氣

のおもなものであった。石銚黒茶をはじめ後発酵茶は、煎茶と異なる独特の風味を有しているが、それは前述の酢酸に由来するところが第一に大きいものと考えられる。しかし単なる酢酸臭とだけでは表現できないさわやかな香りを後発酵茶は有しており、これはテルペン類をはじめとした茶独自の香氣成分に微生物の産生した香氣成分がうまくバランスした結果であると考えられる。微量成分も含め、合わせて今後の課題として検討したい。

### 4. 要 約

後発酵茶の一つである石銚黒茶について、その製造工程中の成分変化について検討した。ポリフェノール含量は、他の後発酵茶と同様に製造過程で減少していた。カテキン含量については、製造工程中で減少し、特にエステル型カテキンの減少が大きかった。有機酸含量としては、桶づけ後の茶葉に乳酸が顕著に生成した。

本研究を進めるにあたって試料採取にご協力いただきました曾我部正喜氏に深謝いたします。

### 引用文献

- 1) 大森正司, 加藤みゆき, 難波敦子, 宮川金二郎: 日本の後発酵茶—中国・東南アジアとの関連, さんえい出版, 京都, 8 (1994)
- 2) 雲南省歴史研究所(編): 雲南少数民族, 雲南人民出版社, 昆明, 204 (1980)
- 3) 加藤みゆき, 田村朝子, 水落由美子, 大森正司, 難波敦子, 宮川金二郎: 家政誌, 44, 561~565 (1993)
- 4) 加藤みゆき, 田村朝子, 大森正司, 難波敦子, 宮川金二郎, 西村 修, 亀田 弥: 家政誌, 45, 527~532 (1994)
- 5) 田村朝子, 加藤みゆき, 大森正司, 難波敦子, 宮川金二郎: 家政誌, 45, 1095~1011 (1994)
- 6) 岩浅 潔, 鳥井秀一: 茶技研究, No.26, 87~91 (1962)
- 7) 池ヶ谷賢次郎, 高柳博次: 茶研報, No.70 (別冊), 121~122 (1989)
- 8) 津志田藤二郎, 村井敏信, 大森正司, 岡本順子: 農化, 61, 817~822 (1987)
- 9) 堀田 博, 原 利男: 茶技研究, No.66, 41~46 (1984)
- 10) 宇田川俊一, 椿 啓介, 堀江義一, 三浦宏一郎, 箕浦久兵衛, 山崎幹夫, 横山竜夫, 渡辺昌平: 菌類図鑑, 上, 講談社, 東京, 176 (1991)
- 11) 長谷川武治: 改訂版 微生物の分離と同定, 下, 学会出版センター, 東京, 140 (1990)
- 12) 川上美智子, 小林彰夫, 山西 貞: 農化, 61, 345~352 (1987)