

記念講演論文*

緑茶研究と分析化学

木幡 勝則**

Relationship between green tea research and analytical chemistry

Katsunori KOHATA**

**National Institute of Vegetable and Tea Science, 2769, Kanaya, Haibara, Shizuoka 428-8501

(Received 24 April 2002, Accepted 22 May 2002)

The relationship between green tea research and analytical chemistry is described based on an example of our studies. For a quantitative evaluation of green tea, a sensory test is still mainly being used. However, an instrumental evaluation using analytical equipments, for example HPLC and capillary electrophoresis, has been developing. Especially, a near-infrared analysis (NIR) method has been practically and widely used concerning the distribution routes of green tea. FT-IR micro spectrometry, an ion meter and improved HPLC methods were used for analyses of unfavorable substances in green tea, which were a white powdery substance found on stored Tencha (Matcha is made of Tencha by grinding with a stone mortar), Na^+ added as sodium glutamate to make tea tastier, NH_4^+ added as ammonium bicarbonate to keep tea leaves green, and pheophorbide a, respectively.

Keywords : green tea ; quality evaluation ; analysis of tea components ; unfavorable substances.

1 はじめに

緑茶研究に分析化学がどのようにかかわってきたかを、著者らの研究の一部である緑茶の主要成分と品質との関係及び不都合成分判別法の開発を中心に述べてみたい。分析化学がいかに実生活と密接に関係し、重要な役割を果たしているかを実感していただき、併せてこれを機に少しでも緑茶に関心を持っていただければ幸いである。

なおこれ以降、緑茶は特別に断らない限り茶と表すことにする。

2 茶主要成分測定法の変遷

国による組織的な茶の試験研究の始まりは1896年(明治29年)で、既に百年を経過したわけであるが、その間の茶主要成分測定法の変遷についてTable 1にまとめた。各成分について、測定法の変遷を簡単に見ていきたい。

全窒素測定は、長きにわたってケルダール法により行わ

れてきたが、現在は、精度はやや落ちるものの、簡便・迅速な近赤外分光光度法が主流となっている。同法は、全窒素以外に水分、全遊離アミノ酸、カフェイン、タンニン、NDF(中性デタージェント繊維)、テアニン、ビタミンCも同時に分析できることから、生産や流通現場での普及が進んでいる。精度を求めたいときは、全自動窒素分析計も使用されるようになってきているが、高額であることから今なおケルダール法は一部で使用されている。

アミノ酸測定には、全遊離アミノ酸含有量測定の場合は、ニンヒドリンによる比色法が現在も用いられている。一方、個々のアミノ酸分析には、主として高速液体クロマトグラフィー(HPLC)(*o*-フタルアルデヒド誘導体化蛍光分析)が用いられており^{1)~3)}、主要なアミノ酸類の合計量をもって全遊離アミノ酸量とする場合も多い。

カフェイン測定には、HPLC法が用いられているが¹⁾、近年、ポリビニルピロリドン(PVPP)プレカラムを用いる連続的にポリフェノール類を除去する方法が報告された⁴⁾。同法は、1試料5分以内と迅速で、2000回以上の連続分析が可能な方法にまで発展した⁵⁾。

タンニン測定には、1962年にLowenthal法を改良して

* 東北支部創立50周年記念

** 農業技術研究機構野菜茶業研究所: 428-8501 静岡県榛原郡金谷町金谷2769

Table 1 Changes of analytical methods for tea major constituents

Year		Analytical method
Meiji	10(1877)	Tannin (Lowenthal)
	16(1883)	Total nitrogen (Kjeldahl)
Taisho	4(1915)	Tannin (Folin-Denis)
	4(1929)	Total free reducing sugars (Hanes)
Showa	9(1934)	Vitamin C (Dinitrophenylhydrazine)
	27(1952)	Caffeine (Chloroform extraction → Kjeldahl)
	35(1960)	Soluble matter (AOAC)
	37(1962)	Tannin (Ferrous tartrate)
	39(1964)	Total free amino acids (Ninhydrin)
	41(1966)	Soluble matter (improved AOAC)
	45(1970)	Total nitrogen (Semimiro Kjeldahl)
		Caffeine, tannin, soluble matter (Official method)
	46(1971)	Converting percentage of chlorophyll to pheophytin (Colorimetric method)
	48(1973)	Individual free amino acids (Amino acid autoanalyzer)
		Total free reducing sugars (improved Hanes)
	55(1980)	Individual catechins (Paper chromatography)
		Vitamin C (HPLC, reduction with hydrogen sulfide)
	56(1981)	Caffeine (GC)
		Individual free sugars (HPLC)
	57(1982)	Vitamin C (HPLC, reduction with dithiothreitol)
	58(1983)	Converting percentage of chlorophyll to pheophytin (improved Colorimetric method)
	60(1985)	Caffeine (HPLC)
		Total nitrogen, caffeine, free amino acids, tannin (NIRS)
	61(1986)	Total free amino acids (improved Ninhydrin)
Heisei	1(1989)	Individual catechins (HPLC)
		Individual amino acids (HPLC)
	2(1990)	Main tea constituents (improved Official method)
	4(1992)	Total free amino acids, glutamic acid, tannin (Biosensor)
	5(1993)	Individual amino acids (improved HPLC)
	10(1998)	Chlorophyll pigments (HPLC)
		Theanine, caffeine, vitamin C, individual four major catechins (CE, simultaneous determination)
	13(2001)	Major organic acids (CE)
		Caffeine (HPLC, rapid determination in 2-5 min intervals)

AOAC: American Association of Official Analytical Chemists; NIRS: near infrared spectroscopy; CE: capillary electrophoresis

できた酒石酸鉄比色法が、今なお用いられている⁶⁾。ポリフェノール測定法としては、現在も Folin-Denis 法が用いられることが多い。カテキン類の個別分析には HPLC 法が主に用いられているが³⁾⁷⁾、測定者によって、あるいは測定目的によって分析条件の改良が行われている。最近では、キャピラリー電気泳動法も用いられてきている⁸⁾。

その他、糖類¹⁾、ビタミン類⁹⁾、色素類（クロロフィル類）¹⁰⁾等の測定も主に HPLC 法で行われている。

キャピラリー電気泳動法によるテアニン、カフェイン、ビタミン C 及び 4 種のカテキン類の同時分析法¹¹⁾¹²⁾、主要有機酸類の同時分析法も開発されてる¹³⁾。また、バイオセンサー法による全遊離アミノ酸¹⁴⁾、グルタミン酸¹⁵⁾、カテキン類¹⁶⁾の簡易・迅速分析法も開発されているが、現場での実用化には至っていない。

なお、1990 年代以降の茶の品質にかかわる成分の分析法に関しては、「ぶんせき」誌進歩総説を参照されたい¹⁷⁾。

3 緑茶研究への分析化学の応用

3・1 茶主要成分含有量と品質との相関

3・1・1 市販緑茶の主要化学成分含有量²⁾³⁾ Table 2 には市販緑茶の価格と格付けを、Table 3 には市販緑茶の主要化学成分含有量を示した。全窒素はセミマイクロケルダール法より、全遊離アミノ酸はニンヒドリン呈色法より、タンニンは酒石酸鉄比色法より、NDF は Van Soest 法より、またその他の成分含有量はすべて HPLC 法より、それぞれ求めた値である。

玉露、抹茶と煎茶の平均値間には、全窒素含有量が危険率 5% で、全遊離アミノ酸、タンニンの含有量ではいずれも危険率 1% で優位差が認められ、全窒素、全遊離アミノ酸の含有量は、覆い下茶（被覆栽培）である玉露、抹茶で多く、反対にタンニンの含有量は露地栽培である煎茶で多かった。

同一茶種のクラス間では、全窒素、全遊離アミノ酸は上級品で多かった。また、いずれの茶種においても全窒素含有量の差の割合より、全遊離アミノ酸含有量の差の割合の

Table 2 Samples and their price ranges

Type of tea	Grade ¹⁾	Number of sample	Price range ²⁾ (yen/100 g)
Gyokuro	High	4	1500~5500
	Medium	2	2000~3000
	Lower	4	1000~1800
Matcha	High	3	2000~7500 ³⁾
	Medium	3	500~5000 ³⁾
	Lower	3	400~2500 ³⁾
Sencha	High	9	1000~3000
	Medium	9	400~1200
	Lower	9	200~600
Fukamushi-sencha	High	5	1500~2000
	Medium	6	800~1000
	Lower	6	300~600
Bancha		8	100~375
Hojicha		6	200~500

1): as merchant grade; 2): suggested retail price; 3): yen/20 g

ほうが大きく、遊離アミノ酸のほうが品質の指標として優れていることが示唆された。タンニン、NDFについては、玉露、抹茶、煎茶を通して、上級品より下級品のほうが含有量は多かったが、その割合はアミノ酸より小さかった。還元型アスコルビン酸含有量は煎茶で多かった。番茶とほうじ茶は、全窒素含有量には大きな差がなく、下級煎茶よりやや少ない程度であった。遊離アミノ酸、アルコルビン酸、タンニンはほうじ茶で少なく、逆にNDFはほうじ茶で極端に多かった。

3・1・2 市販緑茶の主要個別遊離アミノ酸含有量²⁾³⁾

Table 4に示すように、アスパラギン、テアニン及びアルギニン含有量は、玉露、抹茶に多く、煎茶で少ないことから、被覆栽培との関連が示唆された。同一茶種のクラス間で比較すると、玉露、抹茶、煎茶を通して、アルギニン、テアニンの含有量にはクラス間に差があり、上級品が下級

Table 3 Contents of major chemical constituents (%)

Type of tea	Grade	TN	FAA	Tannin	Caffeine	NDF	VC
Gyokuro	H	6.33	4.77	10.74	4.03	19.63	0.17
	M	5.54	3.45	12.33	3.53	21.56	0.21
	Av	5.90	3.97	11.60	3.75	20.59	0.20
Matcha	H	6.39	5.50	7.83	3.87	20.35	0.09
	M	5.98	4.21	9.81	3.91	21.07	0.12
	L	5.63	3.50	10.57	3.53	22.29	0.15
Sencha	Av	6.00	4.40	9.40	3.77	21.24	0.12
	H	5.67	2.94	13.44	3.20	17.89	0.41
	M	5.17	2.25	13.62	3.03	20.16	0.38
Bancha	L	4.59	1.57	14.43	2.98	23.34	0.25
	Av	5.14	2.25	13.83	3.07	20.43	0.35
Hojicha		3.75	1.06	11.73	2.05	28.70	0.23
		3.81	0.20	8.79	1.95	49.02	0.03

H: high grade; M: medium grade; L: lower grade; Av: average of all grade.

TN: total nitrogen; FAA: free amino acids; NDF: neutral detergent fiber; VC: vitamin C

Table 4 Contents of individual free amino acids and major individual catechins (%) dry weight

Type of tea	Grade	Asp	Glu	Asn	Ser	Gln	Arg	Thea	EC	ECg	EGC	EGCg	Total ¹⁾
Gyokuro	H	0.52	0.35	0.24	0.13	0.45	0.65	2.35	0.63	1.86	1.59	7.78	12.02
	L	0.39	0.32	0.09	0.11	0.26	0.28	1.52	0.83	3.06	1.61	7.91	13.69
	Av	0.43	0.33	0.17	0.12	0.35	0.43	1.86	0.75	2.58	1.56	7.97	13.14
Matcha	H	0.65	0.61	0.24	0.16	0.24	1.19	2.43	0.45	1.64	1.11	5.93	9.37
	M	0.54	0.61	0.18	0.15	0.15	0.65	1.74	0.50	1.96	1.43	7.42	11.56
	L	0.43	0.58	0.13	0.14	0.16	0.42	1.37	0.67	2.69	1.54	7.51	12.63
Sencha	Av	0.54	0.60	0.18	0.15	0.18	0.75	1.85	0.54	2.10	1.36	6.96	11.19
	H	0.26	0.26	0.04	0.11	0.37	0.31	1.56	1.11	3.83	1.69	8.01	15.06
	M	0.22	0.22	0.03	0.10	0.22	0.21	1.11	1.10	4.23	1.61	8.07	15.25
Bancha	L	0.20	0.18	0.04	0.08	0.10	0.09	0.60	1.08	4.29	1.67	8.84	16.21
	Av	0.22	0.22	0.03	0.09	0.23	0.20	1.09	1.09	4.12	1.66	8.31	15.57
Hojicha		0.13	0.17	0.01	0.05	0.06	0.03	0.46	1.07	4.51	1.24	6.59	13.45
		0.03	0.02	0.004	0.02	0.005	0.01	0.03	0.21 ²⁾	0.54	0.39	1.32	3.89

H: high grade; M: medium grade; L: lower grade; Av: average of all grade; Asp: aspartic acid; Glu: glutamic acid; Asn: asparagine; Ser: serine; Gln: glutamine; Arg: arginine; Thea: theanine; EC: epicatechin; ECg: epicatechin gallate; EGC: epigallocatechin; EGCg: epigallocatechin gallate

1): Total of eight catechins (EC, ECg, EGC, EGCg, C, GC, Cg, GCg).

2): Only one sample contained detectable amounts of EC.

品より有意に高い含有量を示していたことから、全窒素、全遊離アミノ酸含有量とともに品質の指標となりうることが示された。アスパラギン酸及びグルタミン酸も上級品が高い含有量を示す傾向にあった。グルタミン含有量は煎茶で上・下のクラス間差が大きく、上級品ほど高かった。

3.1.3 市販緑茶の主要個別カテキン類含有量³⁾⁷⁾

Table 4 に示したように、個々のカテキン類の中ではエピガロカテキンガレート (EGCg) の含有量が最も多く、総カテキン量の 50~60% を占め、エピガロカテキン (EGC) と合わせた量は総量の約 80% であった。この 80% の値は、すべての茶種、クラスを通して一定であり、緑茶カテキンの一つの特徴と見られる。遊離型カテキン {エピカテキン (EC), エピガロカテキン (EGC)} の含有量は、エステル型カテキン (ECg, EGCg) の煎茶では半分以下、玉露と抹茶では 1/3 以下であった。エステル型カテキンは、茶の渋味と強く相関することが知られているが、玉露・抹茶ではその含有量が少なく、茶のうま味成分とされるアミノ酸類が多く含まれ、これが独特の味を形成しているものと考えられる。

3.2 不都合成分判別法の開発

3.2.1 てん茶保存中に生じる白色粉状物質の同定¹⁸⁾

てん茶（抹茶の原料で、てん茶を石うすでひいたものが抹茶である）を保存しておく間に表面に白色の粉状物質が生じることがある。これは、カビや農薬あるいはゴミ等に関連えられることがあり、品質管理上の問題が懸念され、時として流通上の障害となることが知られていた。この同定に顕微フーリエ変換赤外分光 (FT-IR) 装置を使用した。アルミ凝着ミラー（直径約 1.3×厚さ 0.2 cm の表面にアルミニウムを凝着した小ガラス円板）上に白色粉状物質を直接載せて測定するか (Fig. 1-1a', バックグラウンドはアルミ凝着ミラー)、アルミ凝着ミラー上に白色粉状物質が付着したてん茶葉をそのまま載せて測定した (1a, バックグラウンドはてん茶葉)。すなわち、初めにバックグラウンドだけのスペクトルを測定した後、バックグラウンド上の白色粉状物質のスペクトルを測定し、両者の差スペクトルをとることで、最終的な白色粉状物質の吸収スペクトルとした。その結果、Fig. 1 に示すように、市販のカフェイン (1b) とスペクトルが完全に一致することから、白色物質はカフェインであることが確かめられた。カフェインは大きな蒸気圧を有していることから、大変昇華しやすい物質として知られているが、今回同定に成功したカフェインも保存している間に昇華により生成したものと考えられる。

3.2.2 着色茶及び添加茶の判別法の開発 茶葉の色改善を目的に一部で行われているアンモニウム塩による処理（着色茶）、及び下級茶の味改善を目的に一部で行われ

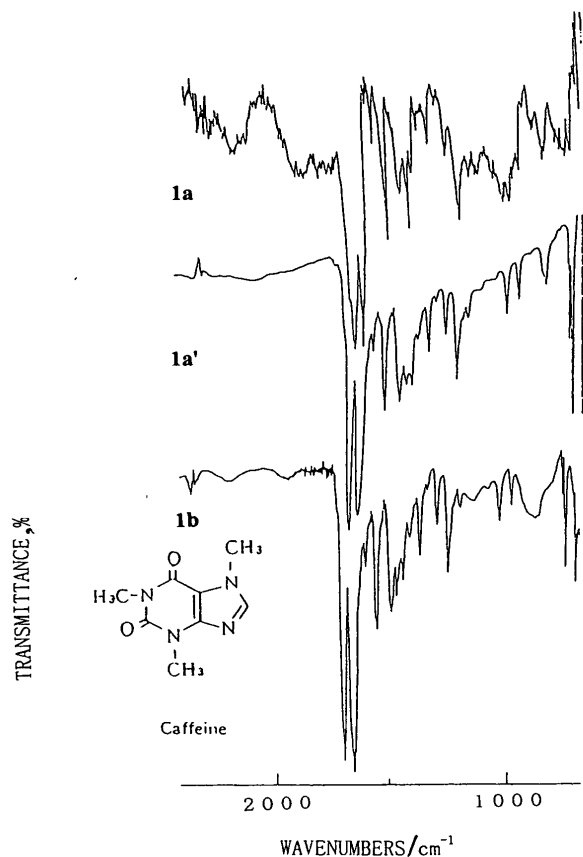


Fig. 1 Identification of a white powdery substance found on stored Tencha by FT-IR microspectrometry

Scan: 100 for 1a' and 1b, 1,000 for 1a; Resolution: 4 cm^{-1} ; 1a: white powdery substance (background: Tencha leaf); 1a': white powdery substance (background: aluminium mirror); 1b: standard caffeine (background: aluminium mirror)

ているアミノ酸（グルタミン酸ナトリウム）の添加（添加茶）に関しては、これまでその有無を判別する簡易な方法がなかった。このため、適切な表示がされないままに流通しているケースが見られ、茶の健全な流通の妨げになっていた。これらの不適切な商品の流通を防ぐため、無処理・無添加の茶とを簡易・迅速に判別するための方法が必要とされていた。

茶葉の色を改善する目的で、製茶工程（主に蒸熱工程）中に茶葉を炭酸水素アンモニウム等の薬品により処理する方法が知られている。茶葉を弱アルカリ性とすることで、クロフィルのフェオフィチンへの変化を少なくできることから、茶葉の緑色を確保できる利点がある。発色茶の判別法としては、茶葉中に残留するアンモニウムイオンをイオンクロマトグラフィーにより定量する方法が知られているが、装置が高価であり、一般への普及には問題があったため、より簡易な検出法の開発が望まれていた。そこで、隔離膜型アンモニウム電極 (7161 型隔離膜型アンモニウムイオン電極) とイオンメーター (IOL-30 型イオンメータ

Table 5 Analytical data for the discrimination of ammonium bicarbonate treated teas and sodium glutamate added teas

Sample	NH ₄ ⁺ / mg l ⁻¹	Na ⁺ / mg l ⁻¹	Glu mg g ⁻¹	Judgement	
				NH ₄ ⁺	Na ⁺
Sencha 1	2.42	8.12	2.62		
Sencha 2	3.73	5.17	2.01		
Sencha 3	1.57	5.99	2.31		
Sencha 4	2.01	5.19	2.64		
Sencha 5	8.84	15.10	4.25	○	○
Sencha 6	11.80	96.60	12.27	○	○
Sencha 7	5.77	43.90	7.91	○	○
Sencha 8	8.56	6.70	1.46	○	
Sencha 9	9.64	65.90	11.22	○	○
Sencha 10	8.30	25.50	4.23	○	○

Glu: glutamic acid. Sencha 1~4: manufactured without treatment of ammonium bicarbonate and addition of sodium glutamate; Sencha 5~10: purchased on the market.

○: Judged as ammonium bicarbonate treated teas or sodium glutamate added teas.

一、以上電気化学計器製)を用いて、茶抽出液中のアンモニウムイオン量を定量的に分析する方法を検討した。その結果、Table 5に示すように、この方法によりアンモニウム塩処理茶と無処理茶とを容易に判別することができ、アンモニウムイオン濃度 5 mg/l はその処理が疑われることを明らかにすると同時に、同法が簡易検出法として有用であることを明らかにした¹⁹⁾。

グルタミン酸は食品一般のうま味の中心成分の一つとされており、食品加工、調理に広く用いられている。緑茶においてもグルタミン酸ナトリウムを添加することで、比較的安価でうま味の強い茶を調整できることから、一定の市場を持っている。しかし、一部においてこの添加を適正に表示していないと見られる商品があり、茶の健全な流通の妨げになっていることから、その科学的な判別法の確立が望まれていた。そこで、アンモニウムイオンと同様に、ナトリウムイオン電極(ガラス膜型電極, Ross 84-11, オリオン製, 米国)、比較電極(DKK4083, ダブルジャンクション, スリープ型)及びイオンメーター(IOL-30, 以上電気化学計器製)を用いて、茶抽出液中のナトリウムイオン量を定量的に分析する方法を検討した。その結果、Table 5に示すように、この方法によりグルタミン酸ナトリウム添加茶と無添加茶とを容易に判別することができ、ナトリウムイオン濃度 10 mg/l 以上でその添加が疑われることを明らかにした²⁰⁾。

ところで、最近になり堀江らは、簡易型イオンメーター(コンパクトイオンメーター C-122 Na⁺, 堀場製作所製)を用い、より安価で簡便に茶浸出液中のナトリウムイオン濃度を測定できる方法を検討した上で、添加茶の判別法として十分実用に耐えうることを報告している²¹⁾²²⁾。結果的

に、アンモニウムイオン濃度 5 mg/l とナトリウムイオン濃度 10 mg/l という基準値を設けたが、海岸に近い産地の茶には通常の茶より高いナトリウムが含まれていることが明らかになるなど、無処理・無添加の茶でも生産地、茶種等によりこの基準値を超えることもあることから、本法の判別法としての利用に際しては十分留意していただきたい。

3・2・3 フェオホルビド *a* 含有量に基づく茶の健全性評価

価 フェオホルビド *a* (PB *a*) はクロロフィル (Chl) の分解物の 1 種で、Chl 又はフェオフィチン (Phy) にクロロフィラーゼが作用し、フィトール基が脱離して生成するが、ヒトに対して光過敏毒性を示すことが知られており、クロレラでは基準値が設けられ規制されている。しかし、従来の PB *a* 分析法では試料の調製法や精度に問題もあることから、簡便な試料調製法を確立した上で、PB *a* 含有量から見た緑茶の安全性を再評価することを試みた。更に、茶葉中の酵素類は蒸熱により不活性になるとされ、これまで詳細な検討がなされてこなかったが、蒸熱時間の短い茶では酵素活性が残存していることも十分に考えられることから、クロロフィラーゼを例にとり、製茶工程中のクロロフィラーゼ活性の変化について検討し、クロロフィラーゼ活性から見た緑茶の安全性を再評価することを試みた。

これまで行われてきたクロレラ中の PB *a* 測定用試料調製法は、分液漏斗を用いてジエチルエーテル及び塩酸での抽出を繰り返す方法であり、調製が面倒で時間を浪費するのが欠点であった²³⁾。また、著者らが追跡調査してみた結果、約 30% もの抽出損失のあることが明らかとなった。そこで、85% アセトン水溶液(アセトン:水=85:15, v/v)で抽出し、抽出液を直接 HPLC に注入するという極めて簡便な方法を開発した。PB *a* の測定は比色法より行われてきたが、この方法では PB *a* 以外の分解類似物の影響を受け、誤差が大きくなることが分かり、その後、HPLC 法に代わり精度が向上した²⁴⁾。最近になり、HPLC 法によるクロロフィル関連色素類の同時分析法も報告されたが²⁵⁾、実試料への応用例がなかった。著者らは、グラジエント溶出方式を採用することより、1 サイクル 35 分以内で C-13² 位エビマー(立体異性体)を含む主な色素類を一斉に分離定量できる方法を開発し、緑茶類分析への応用に成功した¹⁰⁾。確立した上記分析法を用いて、市販緑茶中の既存 PB *a* (元々茶葉中に含まれている PB *a*) 含有量を測定し、Fig. 2 に示した。その結果、既存 PB *a* 含有量は玉露で 100 g 中 8 mg 前後、煎茶で 3 mg 前後含まれていたが、抹茶、深蒸し煎茶ではほとんど含まれていなかった。クロレラでは 100 g 中 100 mg 以下という安全基準値が設けられているが、今回の結果から市販緑茶中の PB *a* 含有量は、安全性という観点からは全く問題にならない量

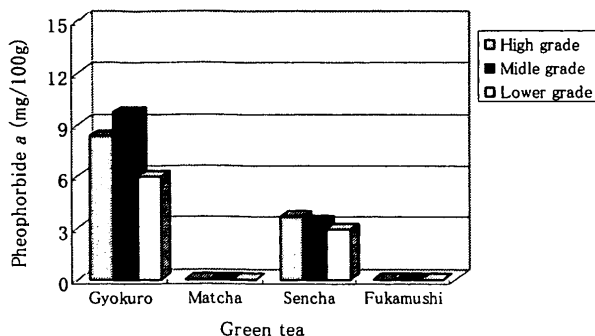


Fig. 2 Pheophorbide *a* contents in commercially available green teas

であることが明らかとなり、緑茶の安全性が再評価された²⁶⁾。なお、ここで示したPB量は、C-13²エピマー (PB *a*) を含まないPB *a*だけの量である。

ところで、まだ茶葉中にクロロフィラーゼ活性が残存していれば、好適条件下で茶葉をインキュベートすることにより、Chlを基質として新たにクロロフィリド (Phd) とPBが生成することが期待できる。ここで、総PB *a*生成量を、インキュベート中に新たに生成したPB *a*含有量 (既存PB *a*を含む) と新たに生成したChd *a*から換算したPB *a*含有量との和と定義すると、総PB *a*生成量から残存クロロフィラーゼ活性を知ることができる。すなわち、総PB *a*測定用試料を調製し、HPLC法で新たに生成したPB *a*とChd *a*とを定量することより、その和から総PB *a*生成量を、つまりはクロロフィラーゼ活性を求めることができる²³⁾²⁷⁾。上述の総PB *a*生成量測定法に従い、製茶工程中のクロロフィラーゼ活性の変化について検討した。茶試料として1998年野菜茶試産「やぶきた」適期を用い、蒸熱は送带式蒸し機で50秒行った。粗揉から精揉までの工程は2K機を用いた。その結果、クロロフィラーゼ活性は蒸熱後に生葉の約1/12に低下するものの、その後の工程ではほとんど変化せず、乾燥後も比較的高い酵素活性の残存することが明らかとなった。蒸熱と酵素活性について更に詳細に検討したところ、Fig. 3に示すように、40秒以下の短い蒸熱時間ではかなりの酵素活性が残存することが、また120秒以上の長い蒸熱時間ではほとんど活性が残存しないことが明らかとなった。上述のクロロフィラーゼ活性と蒸熱時間の関係から、蒸熱時間の短い浅蒸し茶である玉露や抹茶ではかなりの酵素活性が残存し、反対に蒸熱時間の長い深蒸し煎茶ではほとんど酵素活性が残存していないことが予想されたので、市販緑茶中のクロロフィラーゼ活性の残存の有無、その程度、品質との関係について検討を行った。その結果、以下の点が明らかとなった²⁸⁾ (Fig. 4参照)。(1) 市販緑茶中にはクロロフィラーゼ活性が残存していた。総PB *a*生成量は、玉露 (約260 mg) >

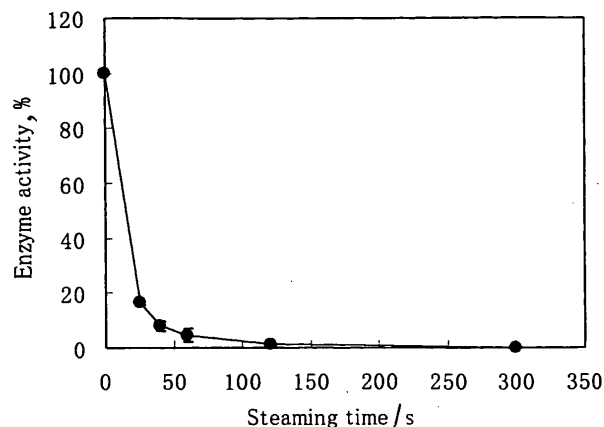


Fig. 3 Influence of steaming time on chlorophyllase activity

The activity of fresh tea leaves is regarded as 100%. Acetone powder prepared immediately after steaming was used.

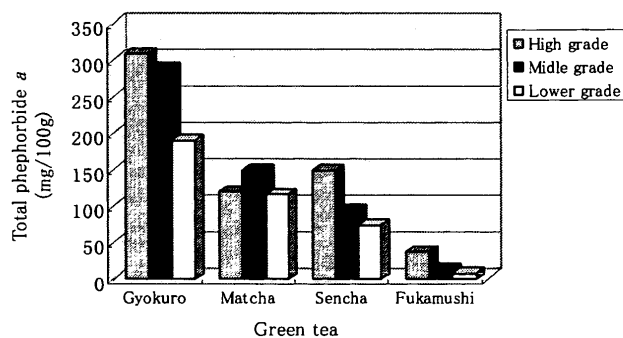


Fig. 4 Total PB *a* contents in commercially available green teas

PB *a*: pheophorbide *a*; Total PB *a* contents: newly produced PB *a* during incubation of tea leaves, including initially present PB *a*

抹茶 (約128 mg) > 煎茶 (約105 mg) > 深蒸し煎茶 (約20 mg) の順に少なくなっており、蒸熱時間をよく反映していた。抹茶で少ないのは高温での火入れ加熱によるクロロフィラーゼ活性の低下が原因と考えられる。(2) 総PB *a*生成量は、すべての玉露及び抹茶と煎茶の一部でクロレラでの基準値 (160 mg/100 g) を超えていたが、緑茶は水分含有量が5%前後と低い上、通常低温で保管されていることから、保管中に酵素が新たに作用するとは考えにくい。また、高湿度下にあるいは温水中に長時間放置しておくような利用例もほとんどないことから、安全性においては全く問題ないと言える。(3) 抹茶を除く茶種での総PB *a*生成量においては、弱いながらも上、中、下の級間差違が認められ、上級のもののほどクロロフィラーゼ活性が高い傾向にあった。特に、上級と下級との間には有意差が認められ、ある程度残存活性から品質評価のことができることが

示唆された。

終わりに、東北支部創立 50 周年記念講演会に講演の機会を与えていただいた、また「分析化学」への執筆の機会を与えていただいた前大類 洋支部長をはじめ、東北支部の会員の皆様に感謝申し上げます。

文 献

- 1) 池ヶ谷賢次郎, 高柳博次, 阿南豊正: 茶業研究所報告, **71**, 43 (1990).
- 2) 後藤哲久, 堀江秀樹, 大関由紀, 増田英昭, 藁科二郎: 茶業研究所報告, **80**, 23 (1994).
- 3) T. Goto, Y. Yoshida, I. Amano, H. Horie: *Food Foods Ingredients J. Jpn*, **170**, 46 (1996).
- 4) H. Nakakuki, H. Horie, Y. Yamauchi, K. Kohata: *J. Chromatogr. A*, **848**, 523 (1999).
- 5) H. Horie, K. Nesumi, T. Ujihara, K. Kohata: *J. Chromatogr. A*, **942**, 271 (2002).
- 6) 岩浅 潔, 鳥井秀一: 茶業研究所報告, **26**, 87 (1962).
- 7) 後藤哲久, 長島 等, 吉田優子, 木曾雅昭: 茶業研究所報告, **83**, 21 (1996).
- 8) H. Horie, K. Kohata: *J. Chromatogr. A*, **802**, 219 (1998).
- 9) 北田善三, 玉瀬喜久雄, 佐々木美智子, 山添 胖, 前田有美恵, 山本政利, 米谷 力: 日本食品工業学会誌, **36**, 927 (1989).
- 10) K. Kohata, K. Hanada, H. Horie: *Food Sci. Technol. Int. Tokyo*, **4**, 80 (1998).
- 11) H. Horie, T. Mukai, K. Kohata: *J. Chromatogr. A*, **758**, 332 (1997).
- 12) 堀江秀樹, 山崎祐作, 山内雄二, 木幡勝則: 茶業研究所報告, **87**, 59 (1999).
- 13) 堀江秀樹, 氏原ともみ, 木幡勝則: 茶業研究所報告, **91**, 29 (2001).
- 14) 堀江秀樹, 向井俊博, 後藤哲久, 川中道夫, 下原融: 茶業研究所報告, **75**, 33 (1992).
- 15) 堀江秀樹, 向井俊博, 後藤哲久, 川中道夫, 下原融: 茶業研究所報告, **76** (別), 86 (1992).
- 16) H. Horie, T. Mukai, T. Goto, M. Kawanaka, T. Shimohara: *Nippon Shokihin Kogyo Gakkaishi*, **41**, 433 (1994).
- 17) 堀江秀樹: ぶんせき (*Bunseki*), **2001**, 254.
- 18) 木幡勝則, 堀江秀樹, 向井俊博, 深津修一: 茶業研究所報告, **83**, 17 (1996).
- 19) 後藤哲久, 堀江秀樹, 向井俊博, 谷口正樹: 茶業研究所報告, **74**, 11 (1991).
- 20) 後藤哲久, 堀江秀樹, 向井俊博: 茶業研究所報告, **76**, 33 (1992).
- 21) 堀江秀樹, 山崎祐作, 山下陽市, 山内雄二, 木幡勝則: 茶業研究所報告, **88**, 79 (2000).
- 22) 堀江秀樹, 木幡勝則, 水流和信: 茶業研究所報告, **90**, 15 (2001).
- 23) K. Kan, Y. Tamura, T. Maki, M. Koseki, Y. Naoi: *Ann. Rep. Tokyo, Metr. Res. Lab. P. H.*, **33**, 208 (1982).
- 24) 橋本清澄: 薬学雑誌, **105**, 33 (1985).
- 25) N. Suzuki, K. Saitoh, K. Adachi: *J. Chromatogr.*, **408**, 181 (1987).
- 26) 木幡勝則, 山下陽市, 山内雄二, 堀江秀樹: 茶業研究所報告, **87**, 13 (1999).
- 27) K. Kohata, K. Hanada, H. Horie: *Biosci. Biotech. Biochem.*, **62**, 1660 (1998).
- 28) 木幡勝則, 山下陽市, 山内雄二, 堀江秀樹: 食料工, **46**, 725 (1999).

要 旨

緑茶研究に分析化学がどのようにかかわっているかを、著者らの研究の一部である緑茶の主要成分と品質との関係及び不都合成分判別法の開発を中心に記載した。緑茶の品質評価は、依然として官能審査が主体であるが、HPLC 法やキャピラリー電気泳動法といった機器を使用した品質評価法が一段と進展している。中でも近赤外分光法は実用化され、現場での普及が進んでいる。不都合成分のうち、白色粉状物質（カフェイン）の同定には顕微 FT-IR 法が、添加茶と発色茶の判別にはイオンメーター法が、またフェオホルビド含有量に基づく健全性の評価には独自に開発した HPLC 法がそれぞれ用いられるなど、目的に応じた分析法が開発されている。