γ -アミノ酪酸を蓄積させた新香味茶（ギャバ金太郎）の 内容成分について

神奈川県農業技術センター北相地区事務所

白木与志也

(平成21年11月21日受理)

Contents of Neo-flavored Tea (GABA Kintaro) Containing γ -Aminobutyric Acid

Yoshiya Shiraki

Kanagawa Agricultural Technology Center Hokuso Region Office

Summary

The contents of γ -aminobutyric acid (GABA), catechins, theaflavins, caffeine and pheophorbide-*a* in neo-flavored tea (GABA Kintaro tea) were analyzed.

- 1) The amounts of GABA were increased over 1.5mg/g by means of infrared ray irradiation with agitation treatment.
- 2) There was a tendency for the amount of catechins to be decreased by this treatment, whereas the amount of theaflavins tended to increase with the same treatment. The composition of these contents in this GABA Kintaro tea was almost the same as that of black tea.
- 3) There was a tendency for the amount of caffeine to be decreased by this treatment.
- 4) There was a tendency for the amount of pheophorbide-*a* to be increased by this treatment.
- 5) The result of this study showed that the amounts of GABA and theaflavins in this GABA Kintaro tea were higher than ordinary green tea but contained few catechins. It became clear that the amount of pheophorbide-*a* in this GABA Kintaro tea was less than the standard value established in processed chlorella.

Key words : Tea, γ -Aminobutyric acid, Catechins, Theaflavins, Pheophorbide-*a*, Neo-flavored tea (GABA Kintaro tea)

キーワード：茶， γ -アミノ酪酸，カテキン類，テアフラビン類，フェオフォルバイド*a*，
新香味茶（ギャバ金太郎）

1 緒 言

γ-アミノ酪酸（GABA）は、哺乳動物の小脳等に多く存在する抑制性神経伝達物質と考えられるアミノ酸であり、血圧上昇抑制作用を持つことが知られている。

このGABAは、茶では津志田らが開発した嫌気処理緑茶であるギャバロン茶^{1,2)}に多く含まれており、高血圧自然発症ラット³⁾やヒト⁴⁾に対する血圧上昇抑制作用が明らかとなっている。

筆者は、これまでに、摘採後の一番茶新芽を粗揉機中で撹拌しながら赤外線を30～50分間照射することで、好気的な条件下においてもGABAを1.5mg/g以上蓄積させることが可能であることを発見した⁵⁾。この方法は特許として登録されているとともに、この方法で製造された製品は、ギャバ金太郎として販売されている。また、2008年にはこの茶を使った洋菓子が、農林水産省と経済産業省から農商工連携88選に選定された。

ところで、ギャバ金太郎は、一番茶新芽に赤外線を照射し、半発酵と同様な処理を行ったいわゆる新香味茶である。このため、ポリフェノール類では、カテキン類は減少し、テアフラビン類が増加していることが考えられる。さらに、この赤外線照射は蒸熱前に行うため、クロロフィルがクロロフィラーゼにより分解され、ヒトに対して光過敏毒性を示すフェオフォルバイド⁶⁾が生成している可能性がある。

しかし、ギャバ金太郎では、これまでカテキン類やテアフラビン類、フェオフォルバイド等についての分析は行われていなかった。

そこで、今回、これらの生体機能調節作用を持つ成分や茶の安全性に関する成分について分析を行ったところ、若干の知見を得たので報告する。

2 実験方法

2.1 供試材料と処理方法

(1) 供試材料

神奈川県農業技術センター北相地区事務所内の‘やぶきた’を用い、2009年5月11日に摘採を行った新芽を試験に供した。

(2) 処理方法

赤外線ランプ(岩崎電気製IR100V 375WRH)3個を設置した粗揉機(2kg型)中に、摘採後の新芽2kgを投入し、粗揉機の揉み手で撹拌しながら赤外線照射を50分間行った。処理の反復は、1回とした。

2.2 分析試料と分析方法

(1) 分析試料

分析試料は、無処理の新芽及び撹拌・赤外線照射を行った新芽について10分ごとにサンプリングを行い、直ちに蒸し器に投入し、酵素を失活させ乾燥を行ったものを用いた。試料の反復は、3回とした。

(2) 分析方法

(ア) 遊離アミノ酸

GABA等の遊離アミノ酸の定量は、高速液体クロマトグラフにより行い、条件は以下のとおりとした。

装 置：島津製作所LC-10ADアミノ酸分析システム

検出器：RF-10A（励起波長350nm，蛍光波長450nm）

カラム：Shim-pack Amino-Li（島津製作所：長さ100mm×内径6mm）

アンモニアトラップカラム：ISC-30Li（島津製作所：長さ50mm×内径4mm）

カラム温度：39℃

反応液：OPA溶液，次亜塩素酸ナトリウム溶液

移動相：基本液(0.15Nクエン酸リチウム)
溶出液(0.30Nクエン酸リチウム，
0.20Mほう酸)

流 量：0.6ml/min

同定及び定量は、アミノ酸標準物質（和光純薬：アミノ酸混合標準液AN-II型及びB型）により行った。

また、試料溶液の調整は次のとおり行った。

試料粉末400mgを100mlメスフラスコに採取し、熱水約70mlを加え80℃の恒温水槽中で30分間加熱抽出し、室温に冷却後メスアップした。この抽出液をろ紙でろ過後、0.30Nクエン酸リチウム溶液で2倍希釈し、0.45 μ mのメンブランフィルターに通し、これを高速液体クロマトグラフ用試料とした。

(イ) カテキン類、カフェイン

堀江らの方法⁷⁾に従い、高速液体クロマトグラフ（島津製作所LC-10AD）で行った。カラムはMightysil RP-18GP 250-4.6（関東化学：長さ250mm×内径4.6mm，粒子径5 μ m）を用い、専用ガードカラムを装着した。

同定及び定量は、カテキン類標準物質（長良サイエンス：(-)-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）），カフェイン標準物質（ナカライテスク）により行った。

試料溶液の調整についても堀江らの方法⁷⁾により行った。

(ウ) テアフラビン類

阿南らの方法⁸⁾に従い、高速液体クロマトグラフ（島津製作所LC-10AD）で行った。

カラムは(イ)と同じものを用いた。

同定及び定量は、テアフラビン標準物質（長良サイエンス：テアフラビン（TF），テアフラビン-3-モノガレート（TF3-G），テアフラビン-3'-モノガレート（TF3'-G），テアフラビン-3,3'-ジガレート（TF3,3'-G））により行った。

試料溶液の調整についても阿南らの方法⁸⁾により行った。

(エ) フェオフォルバイドa

Kohataらの方法⁹⁾に従い、高速液体クロマトグラフ（島津製作所LC-10AD）で行った。カラムは(イ)と同じものを用いた。

同定及び定量は、フェオフォルバイド標準物質（Frontier Scientific：Pheophorbide a）により行った。

試料溶液の調整についてもKohataらの方法⁹⁾により行った。

(オ) 統計処理

無処理における成分含有量と処理後における成分含有量について、t検定による有意差検定を行った。なお、値は平均値±標準誤差で示した。

3 実験結果

3. 1 遊離アミノ酸含有量

遊離アミノ酸含有量を表1に示した。

GABA含有量は、攪拌・赤外線照射10分後までに大幅に増加し、それ以降は1.5mg/g以上

表1 遊離アミノ酸含有量

赤外線 照射時間	遊離アミノ酸 (mg/g)			
	アスパラギン酸	グルタミン酸	アラニン	GABA
無処理	1.17±0.05	2.70±0.11	0.54±0.03	0.20±0.01
10分	0.65±0.00**	1.32±0.01**	0.97±0.01**	1.56±0.01**
20分	0.47±0.00**	1.03±0.01**	0.98±0.01**	1.79±0.03**
30分	0.44±0.01**	1.01±0.01**	1.02±0.01**	1.92±0.01**
40分	0.43±0.00**	0.96±0.01**	0.99±0.01**	1.88±0.01**
50分	0.41±0.02**	0.93±0.03**	0.97±0.02**	1.75±0.04**

平均値±標準誤差（n=3）

無処理に対して、*は5%水準で有意差あり，**は1%水準で有意差あり。

で推移した。また、50分後の数値は1.75mg/gであり、無処理と比較すると8.8倍の増加であった。

その他のアミノ酸については、アスパラギン酸及びグルタミン酸は減少した。50分後の数値を無処理と比較すると、これら2つのアミノ酸は、約1/3に減少した。一方、アラニンは増加し、無処理と比較した50分後の数値は、1.8倍となった。

3. 2 その他の成分含有量

カテキン類、テアフラビン類、カフェイン、フェオフォルバイドa含有量を表2に示した。

(1) カテキン類

カテキン類含有量は、搅拌・赤外線照射時間の経過に伴い減少し、50分後の合計値では27.6mg/gとなった。これは、無処理と比較すると約1/5の減少であった。

また、個別のカテキンでは、EGCgの減少が顕著であった。

(2) テアフラビン類

テアフラビン類含有量は、搅拌・赤外線照射時間の経過とともに増加し、50分後の合計値は、8.49mg/gとなった。個別のテアフラビンでは、TF3,3'-Gの含有量が最も多く、TF3'-Gの含有量が最も少ない傾向にあった。

(3) カフェイン

カフェイン含有量は、搅拌・赤外線照射時間の経過とともに減少し、50分後の数値は、無処理の約81%であった。

(4) フェオフォルバイドa

フェオフォルバイドaは、搅拌・赤外線照射時間の経過に伴い増加し、50分後の数値は、40.3mg/100gとなった。これは、無処理と比較すると8.1倍の増加であった。

4 考 察

ギャバ金太郎のGABA含有量は、ギャバロン茶の基準¹⁰⁾である1.5mg/g以上であったものの、ギャバロン茶^{1,11,12)}より低い傾向にあ

った。これは、GABAの前駆物質となるグルタミン酸が、新芽に少なかったためであると考えられた。しかし、GABA及びアラニンが増加し、アスパラギン酸及びグルタミン酸が減少するといった傾向は、ギャバロン茶と同様であった^{1,2,11,12)}。ギャバ金太郎におけるGABAの生成については、前報⁵⁾で考察したとおり、搅拌処理における細胞の破碎に伴う細胞内pHの低下と赤外線の加温により、グルタミン酸脱炭酸酵素の活性が増大したことが主要因と考えられた。

ところで、GABAは、グルタミン酸がグルタミン酸脱炭酸酵素により脱炭酸されて生じる²⁾が、その際、増加したGABAのモル数とグルタミン酸が減少したモル数が一致せず、GABA増加モル数の方が多いことが報告されている^{12,13)}。ギャバ金太郎で、搅拌・赤外線照射50分後において、増加したGABAのモル数と減少したグルタミン酸のモル数を比較したところ、 $0.0151 \pm 0.0004 \text{ mmol/g}$ 及び $0.0121 \pm 0.0008 \text{ mmol/g}$ であり、僅かではあるが、GABA増加モル数の方がグルタミン酸減少モル数より多かった(図1)。

図1 処理50分後のグルタミン酸減少モル数とGABA増加モル数
モル数は平均値±標準誤差で示した。
*はグルタミン酸に対して、5%水準で有意差あり。

嫌気処理におけるGABAの生成経路には、グルタミン酸が脱炭酸される以外に、グルタミンからグルタミン酸を経る生成も起こりうる¹²⁾とされている。GABA含有量が飛躍的に増加する嫌気-好気交互処理では、タンパク質分解が起こりグルタミン酸が再蓄積し、GABAに変化する¹²⁾とされている。このように、GABAの生成には複数の経路が存在するため、ギャバ金太郎においても複数のGABA生成経路の存在が考えられた。

また、嫌気処理の場合では、3時間や6時間の処理でもGABA含有量の増加が認められる^{1,12)}が、ギャバ金太郎では、攪拌・赤外線照射時間30分以降は、グルタミン酸が残存しているにもかかわらず、GABA含有量の増加が認められなかった。この原因については、攪拌・赤外線照射中の茶葉温は、最高で45℃に達したため、グルタミン酸脱炭酸酵素が途中で失活したのではないかと考えられた。しかし、味噌用麹菌グルタミン酸脱炭酸酵素の至適温度は、55℃であるという報告¹⁴⁾もあるため、今後の検討課題である。

カテキン類含有量については、攪拌・赤外線照射時間の経過とともに減少した。50分後における含有量は約28mg/gであり、高柳らが

分析を行った烏龍茶より少なく¹⁵⁾、桑原らが製造し分析を行った普通紅茶とほぼ同程度¹⁶⁾であった。

紅茶製造時におけるカテキン類の減少については、カテコール系よりピロガロール系のカテキンが速やかに減少する¹⁷⁾とされている。ギャバ金太郎でも同様に、EGC及びEGCgが早く減少し、攪拌・赤外線照射30分でその残存率が50%以下になったのに対し、EC及びECgの減少は緩やかであった(表2)。

テアフラビン類含有量については、攪拌・赤外線照射40分以上で7.62~8.49mg/gとなり、中川が分析を行ったマレーシア産やセイロン産、ケニヤ産等の紅茶と同程度の含有量となった¹⁸⁾。

テアフラビン類は、カテキン類がポリフェノールオキシダーゼにより酸化されることにより生成する¹⁹⁾が、その活性は、揉捻により茶葉細胞に機械的損傷を与えると増加する²⁰⁾ことが明らかとなっている。ギャバ金太郎では、粗揉機中での攪拌による茶葉の損傷が主な要因となり、ポリフェノールオキシダーゼの活性が増大し、テアフラビン類が生成されたのではないかと考えられた。

ところで、TF3,3'-Gの前駆体は、EGCgと

表2 各成分の含有量

赤外線 照射時間	カテキン類 (mg/g)					テアフラビン類 (mg/g)					カフェイン フェオフラビン (mg/g) (mg/100g)	
	E C	EGC	ECg	EGCg	計	T F	TF3-G	TF3'-G	TF3,3'-G	計		
無処理	8.9±0.1 (100.0)	44.1±0.4 (100.0)	13.5±0.2 (100.0)	65.8±0.1 (100.0)	132.2±0.8	0.01±0.00	—	0.01±0.01	0.04±0.04	0.06±0.05	33.5±0.2	5.0±0.5
10分	8.1±0.1* (91.3)	34.7±0.1** (78.8)	10.8±0.1** (80.2)	50.3±0.3** (76.4)	103.9±0.5**	0.55±0.00**	0.29±0.00**	0.27±0.00**	0.46±0.00*	1.57±0.00**	32.5±0.0	7.1±0.6
20分	6.8±0.2** (76.5)	24.8±0.6** (56.3)	8.9±0.0** (66.2)	35.2±0.8** (53.5)	75.7±1.6**	0.99±0.00**	0.72±0.00**	0.68±0.00**	1.31±0.01**	3.69±0.02**	28.7±1.3*	24.2±0.6**
30分	6.0±0.0** (67.5)	19.9±0.2** (45.1)	7.6±0.1** (56.6)	23.6±0.1** (35.9)	57.1±0.2**	1.33±0.00**	1.19±0.00**	1.05±0.00**	2.32±0.01**	5.89±0.02**	27.8±0.1**	22.2±1.0**
40分	4.5±0.1** (49.9)	14.2±0.1** (32.2)	5.9±0.2** (44.2)	14.1±0.2** (21.5)	38.7±0.7**	1.46±0.01**	1.59±0.01**	1.28±0.01**	3.29±0.02**	7.62±0.04**	26.9±0.3**	32.0±0.9**
50分	3.5±0.0** (39.4)	11.7±0.0** (26.5)	4.1±0.0** (30.6)	8.3±0.1** (12.6)	27.6±0.1**	1.43±0.00**	1.77±0.00**	1.31±0.00**	3.98±0.01**	8.49±0.01**	27.3±0.2**	40.3±1.0**

平均値±標準誤差 (n = 3)

無処理に対して、*は5%水準で有意差あり、**は1%水準で有意差あり。

カテキン類の()は、無処理を100としたときの残存率(%)

ECgである¹⁷⁾。攪拌・赤外線照射50分後では、TF3,3'-Gの増加モル数が $4.54 \pm 0.06 \mu\text{mol/g}$ と最も多く、減少モル数では、EGCgが $125.39 \pm 0.33 \mu\text{mol/g}$ （図2）と最大であった。また、50分後における個別のカテキン類の減少率を見ると、EC、EGC、ECgがそれぞれ60.6%、73.5%、69.4%であったのに対し、EGCgは87.4%と顕著に高かった。従って、ギャバ金太郎でTF3,3'-Gが生成した主要因は、EGCgの酸化であると推察された。同様に、TF及びTF3-Gに共通する前駆体はEGCである¹⁷⁾ため、TF及びTF3-Gが生成した主要因は、EGCの酸化によるものと推察された。

カフェインについては、ギャバ金太郎では、攪拌・赤外線照射時間の経過に伴い減少した。しかし、紅茶製造では、24時間の萎凋で19%増加する¹⁶⁾という報告、摘採後の茶芽を25℃で静置すると20~50%増加する²¹⁾という報告があるため、今後の検討課題であると考えられた。

フェオフォルバイドaは、攪拌・赤外線照射時間の経過とともに増加し、50分経過後の含

有量は、 $40.3\text{mg}/100\text{g}$ であった。これは、クロレラで設定されている基準値である $100\text{mg}/100\text{g}$ ⁶⁾を下回っていたものの、Kohataらが分析を行った煎茶やウーロン茶より高く、ケニヤ産紅茶より低い含有量⁹⁾であった。

この原因は、ギャバ金太郎では、摘採後に赤外線により加温するため、クロロフィラーゼが活性化したことによるものと考えられた。

以上のことから、ギャバ金太郎には、通常の緑茶と比較し、GABA及びテアフラビン類が多く含まれているが、カテキン類の含有量は僅かであることが明らかとなった。また、ヒトへの光過敏毒性を示すフェオフォルバイドaの含有量は、クロレラで設定されている基準値以下であることが判明した。

5 摘 要

γ-アミノ酪酸（GABA）を多く含んだ新香味茶であるギャバ金太郎について、その機能性成分や安全性に関する成分の分析を行った。

その結果、GABA含有量は、攪拌・赤外線照射10分以降では、ギャバロン茶の基準であ

図2 処理50分後のカテキン類減少モル数（左）とテアフラビン類増加モル数（右）モル数は平均値±標準誤差で示した。

る1.5mg/g以上で推移した。

攪拌・赤外線照射により、カテキン類は減少する傾向を示し、テアフラビン類は増加する傾向にあった。50分後の含有量は、カテキン類及びテアフラビン類ともに紅茶とほぼ同程度であった。

カフェイン含有量は、攪拌・赤外線照射により減少する傾向にあった。

フェオフォルバイドaは、攪拌・赤外線照射により増加する傾向にあった。

以上のことから、ギャバ金太郎には、GABA及びテアフラビン類が多く含まれているが、カテキン類の含有量は僅かであることが明らかとなった。また、フェオフォルバイドaの含有量は、クロレラで設定されている基準値以下であることが判明した。

6 引用文献

- 1) 津志田藤二郎・村井敏信・大森正司・岡本順子(1987): γ -アミノ酪酸を蓄積させた茶の製造とその特徴. 農化, Vol.61, No.7, 817-822.
- 2) Tsushida, T. and Murai, T. (1987): Conversion of Glutamic Acid to γ -Aminobutyric Acid in Tea Leaves under Anaerobic Conditions. Agric. Biol. Chem, Vol.51, No.11, 2865-2871.
- 3) 大森正司・矢野とし子・岡本順子・津志田藤二郎・村井敏信・樋口満(1987): 嫌気処理茶(ギャバロン茶)による高血圧自然発症ラットの血圧上昇抑制作用. 農化, Vol.61, No.11, 1449-1451.
- 4) 村松敬一郎・小國伊太郎・伊勢村護・杉山公男・山本(前田)万里(2002): 茶の機能. 学会出版センター, 162-163.
- 5) 白木与志也(1997): チャの攪拌・赤外線照射による γ -アミノ酪酸の蓄積. 神奈川農総研報, No.138, 41-47.
- 6) 木幡勝則(2002): 緑茶研究と分析化学. 分析化学, Vol.51, No.7, 479-485.
- 7) 堀江秀樹・山本(前田)万里・氏原ともみ・木幡勝則(2002): 茶葉中カテキン類分析のための抽出方法の検討. 茶研報, No.94, 60-64.
- 8) 阿南豊正・高柳博次・池ヶ谷賢次郎(1988): 高速液体クロマトグラフィーによる紅茶のテアフラビン類の定量法. 日食工誌, Vol.35, No.7, 487-489.
- 9) Kohata, K., Hanada, K. and Horie, H. (1998): High performance liquid chromatographic determination of pheophorbide-a and its related chlorophyll derivatives in tea leaves. Food Sci Technol. Int. Tokyo, Vol.1.4, No.1, 80-84.
- 10) 野菜・茶業試験場茶業成果発表会利用加工部会(1998): 茶業関係試験研究用語集(利用加工分野編). 茶研報, No.86, 57-93.
- 11) 澤井祐典・許斐健一・小高保喜・吉富均・山口優一・深山大介(1999): 嫌気処理した茶葉の茎における γ -アミノ酪酸含量. 食科工, Vol.46, No.4, 274-277.
- 12) 澤井祐典・許斐健一・小高保喜・吉富均・山口優一・深山大介・竹内敦子(1999): 嫌気-好気交互処理による茶葉の γ -アミノ酪酸量の増加. 食科工, Vol.46, No.7, 462-466.
- 13) 池田奈実子・大河原公一郎・澤井祐典・水野直美(2003): チャ生葉を嫌気処理した時の γ -アミノ酪酸増加量の品種間差異. 茶研報, No.96 (別), 102-103.
- 14) 土谷紀美・西村賢了(2002): 醸造用糸状菌のグルタミン酸脱炭酸酵素活性とその特性. 熊本県工業技術センター研究報告, No.40, 12-16.
- 15) 高柳博次・阿南豊正・池ヶ谷賢次郎・中川致之(1984): 烏龍茶・包種茶の化学成分含量. 茶研報, No.60, 54-58.
- 16) 桑原穆夫・西条了康(1967): レッグカット紅茶の製造と特徴. 日食工誌, Vol.14,

- No.8, 327-332.
- 17) 中林敏郎・伊奈和夫・坂田完三(1991): 緑茶・紅茶・烏龍茶の化学と機能. 弘学出版, 52-74.
- 18) 中川致之(1970): 紅茶の品質とくに水色とテアフラビン, テアルビジンの含量. 茶研報, No.32, 72-77.
- 19) 村田容常(2007): 酵素的褐変とその制御. 化学と生物, Vol.45, No.6, 403-410.
- 20) 竹尾忠一(1969): 紅茶製造に中心を置いた茶葉ポリフェノールオキシダーゼの研究. 茶業試験場研究報告, No.5, 1-73.
- 21) 津志田藤二郎・竹尾忠一(1984): 茶芽の摘採後におけるカフェインの増加. 農化, Vol.58, No.3, 277-279.