Solvent-assisted Flavor Evaporation 装置を用いた 茶に含まれる香気成分の分析法

(独) 農業・食品産業技術総合研究機構 野菜茶業研究所*

水上 裕 造・山口 優 一

(平成22年 8 月18日受理)

Method for the Analysis of Tea Aroma by using Solvent-assisted Flavor Evaporation Apparatus

Yuzo Mizukami and Yuichi Yamaguchi

National Institute of Vegetable and Tea Science, National Agriculture and Food
Research Organization

Summary

We established the method for analysis of tea aroma by using solvent-assisted flavor evaporation apparatus. The solvent dichloromethane (300 mL) is spiked with ethyl decanoate as an internal standard before extraction. The mixture of tea powder (20g) and saturated water with sodium chloride (400 mL) are refluxed at 45 °C for 30 min in triplicate with the dichloromethane (100mL each time). The solvent extract is dried over anhydrous sodium sulfate, and then the solvent is removed by Snyder column to obtain approximately 20 mL. The glass wool (2 g) is inserted to SAFE apparatus for removing interferences, before distillation by using SAFE apparatus (30 °C, 10^{-3} Pa). The distillate is further concentrated to approximately 0.2 mL by Snyder column and nitrogen stream before the injection to the gas chromatography.

Key Words : Solvent assisted flavor evaporation, fractionation, odorant, aroma extract.

キーワード : SAFE, 分留, 香気成分, 香気エキス

* 〒428-8501 静岡県島田市金谷猪土居2769

1 緒 言

茶の香気成分についての研究報告は数多くある。これまで、目的に応じて減圧蒸留法¹⁾²⁾、浸出液溶媒抽出法³⁾、連続蒸留抽出法⁴⁻⁶⁾、カラム濃縮法⁴⁾⁻⁶⁾、固相マイクロ抽出法⁷⁾、ヘッドスペース法⁸⁾ およびこれらを組み合わせた方法が採られ、香気成分の抽出と濃縮が行われてきた。1999年、香気成分を有機溶媒で抽出し、蒸留する方法としてSolvent-assisted flavor evaporation (SAFE) 法が開発された⁹⁾。その後、オルファクトメトリー(嗅覚検査)との併用により紅茶に含まれる香気成分として (*E, E, Z*)-2, 4, 6-ノナトリエナール¹⁰⁾ と 4,5- エポキシ-(*E*)-デセナール¹¹⁾ が同定された。SAFE法は溶媒に含まれる香気成分を 10^{-3} Pa下で蒸留する方法であり、成分を収率よく回収できる⁹⁾。茶葉から香気成分を抽出する場合、その粉末にジクロロメタン、次いでジエチルエーテルを加えて数日間攪拌し、SAFE装置で蒸留する方法が採られているが、一連の操作に3日程度かかる¹⁰⁾。

今回、茶葉からジクロロメタンを用いた還流により香気エキスを抽出し、SAFE装置で蒸留する分析方法を検討した。本手法は1日以内に分析可能であり、従来の減圧蒸留法と比較したところ、茶の香気分析法として利用できると判断したので、報告する。

2 実験方法

2. 1 材料

実験に用いた煎茶と紅茶は静岡県島田市内の量販店で購入した。抽出方法の違いによる回収率の差を見るための香気成分として、Kumazawa¹²⁾らの報告を参考に表1に示した成分を用いた。各成分を0.1mgの精度で秤量後、メタノールを加えて香気成分標準液を得た。ただし、内標準として用いるエチルデカノエートとそれ以外の成分の標準液を分けて調整した。

2. 2 SAFE装置の構造および使用方法

実験には桐山製作所製SAFE装置を用いた。図1にSAFE装置の概略を示した。SAFE装置を所定の温度に制御するため、aより水を流す(流量 $5\text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$)。この水は2つのレッグbを通り、cより排出される。それと同時にdの恒温水槽を所定の温度に制御する。これらの温度が分留温度となり、その温度の高低が各成分の回収率を左右する。所定の温度となったら、eのスクリーコックを閉じ、fに真空ホースをつなぎ、高真空ポンプ(VPC-050, アルバック)で減圧しながら、gのデュワー瓶に液体窒素を投入する。hに香気成分抽出液を入れ、圧力 10^{-3} Paとなったらeのスクリーコックを回し蒸留を開始する。この際、 10^{-3} Paより高い圧力とならないよう抽出液を導入する。eのスクリーコックより投入された抽出液は直ちにiで揮発し、jのフラスコ内に入る。そして、kの分留羽に

図1 SAFE装置の概略図(符号の説明は本文2. 2に示した)

表1 還流抽出, 減圧蒸留法および改良したSAFE法による香気成分の回収率

成分	標準液 ^a mg・L ⁻¹	還流抽出による 成分の回収率 %	減圧蒸留による 成分の回収率 %	改良したSAFE法による成分の回収率 (分留温度の違い) %						
				35℃ ^b	30℃	25℃	20℃	15℃	10℃	5℃
nonanal	87	99 ^c ±7 ^d	23±5	101±4	100±9	101±5	104±9	102±6	102±8	100±6
trimethylpyrazine	156	99±6	98±3	98±8	93±4	99±8	94±4	93±3	97±5	100±5
1-octen-3-ol	103	100±4	85±5	96±2	101±4	96±2	96±8	99±6	101±4	95±4
2-ethyl-3,5-dimethylpyrazine	165	104±5	88±12	96±2	99±5	97±2	101±7	95±3	100±4	92±3
2-ethyl-3,6-dimethylpyrazine	165	101±5	99±3	101±6	102±5	100±4	102±5	102±3	94±2	91±2
2,4-heptadien-6-one	141	99±5	94±2	100±4	97±7	99±1	96±1	98±4	100±4	100±8
2,3-diethyl-5-methylpyrazine	141	104±3	88±7	98±3	97±7	97±4	98±5	93±2	88±4	87±4
2-methyl-3-n-propylpyrazine	148	100±6	96±7	98±6	100±4	99±7	97±7	94±1	88±5	88±4
benzaldehyde	155	112±9	39±7	101±6	98±4	99±4	99±4	95±5	92±7	99±2
linalool	173	104±9	92±4	100±6	106±2	100±5	103±3	102±4	105±4	100±6
ethyldecanoate	224	90±3	n.d ^e	99±2	102±4	99±3	97±3	91±4	90±6	84±10
(E, E)-2,4-nonadienal	125	98±5	86±4	101±4	103±6	103±3	102±4	98±3	103±1	94±3
γ-hexalactone	150	99±4	91±8	101±4	100±4	101±6	97±5	98±5	102±8	100±2
acetylthiazoline	112	106±2	96±6	101±6	101±7	99±6	100±5	101±7	97±4	96±6
methylsalicylate	149	103±2	78±8	100±9	98±6	103±6	97±5	101±4	99±6	102±4
(E, E)-2,4-decadienal	102	93±6	93±9	103±6	97±7	106±3	89±8	70±6	62±6	55±5
geraniol	254	99±2	97±3	102±6	102±7	101±3	101±10	89±4	88±5	53±6
geranylacetone	108	100±1	78±5	98±4	101±3	99±4	100±7	95±5	88±6	55±5
ethylacetophenone	288	104±6	89±11	98±5	99±4	99±5	96±2	99±6	98±4	81±4
heptanoic acid	108	104±7	80±10	99±6	100±5	98±7	102±5	76±4	65±5	58±4
β-ionone	137	99±6	68±7	99±6	101±4	103±5	101±5	101±4	96±2	54±6
(Z)-jasmone	110	98±5	97±7	93±4	85±2	91±2	84±3	89±3	82±5	44±6
sotolon	103	104±2	n.d	102±7	100±6	101±7	92±5	89±3	83±5	46±4
nonanolide	110	101±3	90±6	100±6	101±3	101±6	95±1	85±5	63±4	63±4
p-cresol	141	101±5	95±5	99±6	100±5	102±6	99±6	102±2	98±4	79±6
eugenol	143	99±2	95±7	98±7	96±3	100±3	96±1	96±4	86±3	48±8
2-methoxy-4-vinylphenol	272	99±4	99±2	101±10	104±10	103±10	99±5	91±5	93±1	49±6
aminoacetophenone	193	100±2	31±5	63±4	62±2	63±4	41±3	35±1	35±4	21±2
jasmine lactone	204	94±1	21±7	98±4	99±5	99±5	99±1	98±7	100±3	34±6
methyljasmonate	176	96±2	37±7	101±3	99±4	102±2	73±4	66±3	55±4	14±4
indole	110	96±12	101±5	100±4	94±2	97±6	59±4	26±3	57±3	32±3
coumarine	348	102±5	70±4	103±2	101±6	102±1	90±2	86±3	75±4	46±4
vanilline	182	98±3	8±2	101±4	100±3	101±4	96±2	50±4	55±5	32±3

a, 標準液は内標準エチルデカノエートと香気成分標準液の2種類を用意した; b, 図1中a~dの温度;
c, 3回繰り返し分析から得られた平均値; d, cの標準偏差; e, 不検出.

到達し分留され, lを通過しmのフラスコ内に成分が捕集される。以上がSAFE装置を用いた蒸留である。その後, mのフラスコを外して解凍し, シュナイダーやヴィグリュ管等で濃縮してGC分析に用いる。

2. 3 GC/MSおよびGC/FID分析

GC/MS分析で用いたGC部はHP5890 series II (Hewlett Packard), 分離カラムはDB-Wax (60m×0.25mm i.d; film thickness, 0.25 μm, Agilent) であり, キャリアガスとしてヘリウムを用いた(カラム流速1.0mL/min)。試料導入方法はスプリットレスであり, 注入口温度230℃に制御して香気エキスを1 μLを導入した。カラムオーブンは40℃で1分保持し, 4℃/minで220℃まで昇温させ30分保持した。MS部はSX102A(二重収束

型, 日本電子)を用い, イオン化電圧70eV, イオン源温度170℃から200℃, スキャンレンジm/z 33-400 (2.05 scans s⁻¹)に制御して, トータルイオンクロマトグラム(TIC)得て, マススペクトルから成分を同定した。

GC分析では検出器に水素炎イオン検出器(FID)を用いた。GC部はGC-4000(ジーエルサイエンス)を用い, 分離カラム, キャリアガス, 昇温条件, 導入方法はGC/MS分析と同様であり, FIDの検出温度は230℃とした。データ解析はEmpower^{TM2}(waters)を用いて, ピーク面積を求めた。

2. 4 SAFE装置を用いた茶の香気成分分析方法の検討

(1) 還流抽出による香気成分の回収

茶葉に有機溶媒を加えて香気成分を抽出す

る方法は数日かかる¹⁰⁾。そこで、ジクロロメタンを用いた還流で香気成分を抽出することにした。回収率を確認するため、以下の実験を行った。標準液1mLに飽和塩化ナトリウム溶液400mLとジクロロメタン100mLを加え、温度45℃で30分還流した。この操作を3回繰り返すことで合計300mLのジクロロメタンを用いた。ジクロロメタンを分液し内標準としてエチルデカノエートを加え、無水硫酸ナトリウムで脱水した。次いで、シュナイダー管と窒素流気で約2mLになるまで濃縮し、GC/FID分析した。エチルデカノエートの回収率は内標準としてアセチルピロールを用いて上記と同様に求めた。3回繰り返して実験し、その平均値と標準偏差を求めた。

(2) SAFE装置の改良

ジクロロメタンと飽和塩化ナトリウム溶液を用いて茶葉から香気成分を還流抽出し、シュナイダー管などで濃縮すると、黒色に近い色を持つ抽出液（ジクロロメタン層）が得られた。これをSAFE装置で蒸留すると、カフェインや色素成分の一部も蒸留された。この香気エキスにはGC分析上の妨害となる成分が含まれているので、SAFE装置の分留効果が高める必要がある。そこで、図1中nの部分に分留羽kの下段までガラスウール2gを詰めた。

(3) SAFE装置を用いた香気成分の回収試験および減圧蒸留法との比較

SAFE装置を改良したため、分留温度と成分の回収率について確認する実験を行った。標準液1mLにジクロロメタン20mLを加え、SAFE装置で蒸留した。なお、分留温度5℃、10℃、15℃、20℃、25℃、30℃、35℃に制御して、それぞれ3回繰り返した。蒸留後、内標準としてエチルデカノエートを加え、シュナイダー管と窒素流気で約2mLまで濃縮してGC/FID分析し、標品の回収率を求めた。エチルデカノエートも同様にアセチルピロールを内標準として回収率を求めた。さらに、

減圧蒸留法による成分の回収率と比較するため、標準液1mLに水500mLを加え、温度45℃で90分減圧蒸留（0.8kPa、捕集温度-80℃）した。エチルデカノエートを加え塩析し、ジクロロメタン100mLで3回抽出した。これをシュナイダー管と窒素流気で約2mLまで濃縮してGC/FID分析し、標品の回収率を求めた。

(4) SAFE装置を用いた香気成分分析の併行精度および減圧蒸留法との比較

用いた茶種は緑茶と紅茶である。茶葉を粉碎し、その20gに飽和塩化ナトリウム溶液400mLを加え、20分静置した。内標準エチルデカノエート56ngを加えたジクロロメタン300mLを用意し、その内の100mLを加えた。温度45℃で30分還流抽出し、ジクロロメタンを回収した。この操作を3回行うことで抽出液約300mLを得た。無水硫酸ナトリウムで脱水後、抽出液をシュナイダー管で約20mLまで濃縮し、改良したSAFE装置（分留温度30℃）で蒸留した。蒸留液をシュナイダー管で約2mLまで、次いで窒素流気で約0.2mLまで濃縮し、GC/FIDおよびGC/MS分析した。各茶種で3回繰り返して分析して、ピーク面積の内標準比の平均値とそのRSDを求め併行精度を検討した。改良したSAFE法と減圧蒸留法を比較するため、各茶葉の粉末20gに水500mLを加え、温度45℃で90分減圧蒸留（0.8kPa、捕集温度-80℃）した。内標準エチルデカノエート56ngを加え、塩析後脱水し、ジクロロメタン100mLで3回抽出した。これをシュナイダー管、次いで窒素流気で約0.2mLまで濃縮し、GC/FIDおよびGC/MS分析した。

3 実験結果

3.1 還流抽出による香気成分の回収

表1に還流抽出による香気成分の回収率を示した。内標準であるエチルデカノエートは90%、デカジエナールは93%、ジャスミンラ

クトンは94%の回収率であったが、それ以外は96%以上の回収率であった。通常、分析操作の誤差を抑えるため、抽出前試料に内標準を加える。還流抽出による内標準エチルデカノエートの回収率は他成分に比べて低く、挙動が異なる。従って、溶媒であるジクロロメタンに内標準を加えて香気を抽出することにした。還流を適用することで、抽出からGC分析を1日で行えるようになる。

3. 2 SAFE装置の改良

図2中aには、紅茶20gに飽和塩化ナトリウム溶液400mLを加え、ジクロロメタン100mLで3回還流抽出後(45℃, 30分)、SAFE装置(分留温度30℃)で蒸留してGC/FID分析した際のクロマトグラムを示した。分析した香気エキ스는透明でなく赤色であった。溶出時間55分のピークはGC/MS分析からカフェインであることがわかった。この香気エキスを内標準としてエチルデカノエートを加え、3回繰り返しGC-FID分析したところ、主な緑茶と紅茶の香気成分であるヘキセナール、リナロール、ゲラニオール、ジャスミンラクトンの内標準比のRSDは50%以上と非常に大きかった。このような現象は、マトリックス効果と呼ばれている¹³⁾。これは、揮発しない成分がガラスライナーの内壁に残り、ライナー内で各成分と吸脱着を起こすため、導入ごとにピーク面積が変動する現象である¹³⁾。マトリックス効果を抑えるためには様々な方法が考えられるが¹³⁾、香気分析ではオルファクトメトリーを併用することがあるため、香気成分の組成を変えずに妨害するマトリックスを除去する必要がある。そこで、SAFE装置の分留効果を高めるため、図1中nの部分に分留羽kの下段までガラスウール2gを詰めた。再度、紅茶から香気を還流抽出し、ガラスウールを詰めたSAFE装置で蒸留したところ、透明の香気エキスが得られた。GC/FID分析したところ、図2中bに示したクロマトグラムが得られ、カフェインの

ピークは認められなかった。この透明な香気エキスを内標準としてエチルデカノエートを加え、3回繰り返しGC/FID分析したところ、ヘキセナール、リナロール、ゲラニオール、ジャスミンラクトンの内標準比の相対標準誤差は2.5%以内と良好であった。このように、SAFEの分留効果を高めるため、ガラスウールを詰めることは有効であった。

3. 3 SAFE装置を用いた香気成分の回収試験および減圧蒸留法との比較

SAFE装置を改良したため、香気成分の回収率を確認した結果、減圧蒸留法による成分の回収率とSAFE装置の分留温度の違いにより各成分の回収率に差が認められた(表1)。

SAFE装置の分留温度(図1中のa, b, cおよびd)の違いによる各成分の回収率は、アミノアセトフェノンを除き分留温度25℃から

図2 紅茶の香気成分抽出物を改良前(a)および改良後(b)のSAFE装置で蒸留・分析して得られたクロマトグラム(GC/FID)

35℃において96%以上であった。沸点250℃程度であるアミノアセトフェノンは分留温度35℃でも63%の回収率であった。分留温度を高くすれば成分の回収率も高くなることが予想される。一方で、分留温度を高くすると、GC分析の妨害となる高沸点化合物も同時に蒸留される恐れがある。分留温度25℃から35℃において、各成分の回収率は変化しないことを踏まえ、分析に支障がでないよう分留温度は30℃とした。

減圧蒸留法では、回収率90%を下回る香气成分が多い。中でもノナナール、エチルデカノエート（内標準）、ソトロノ、アミノアセトフェノン、ジャスミンラクトン、メチルジャスモネート、バニリンの回収率は40%以下であり、SAFE法に比べ香气成分の回収率は低かった。

3. 4 SAFE装置を用いた香气成分分析の併行精度および減圧蒸留法との比較

図3には煎茶を、図4には紅茶を用いて、減圧蒸留法および改良したSAFE装置で香气エキスを取得し、それぞれ分析したクロマトグラム（GC/FID）を示した。縦軸は内標準のピーク高さの検出強度を100とした場合の相対

強度である。図3と4からGC分析上の溶出時間43分から47分において、SAFE法より減圧蒸留法の方が大きいピークを示す成分が認められた（未同定）。それ以外の溶出時間ではSAFE法の方がより多くのピークを検出し、それぞれのピークも大きかった。表2には、著者らが所有しているマススペクトルと保持指標のデータベースから同定された成分の内標準比とRSDを示した。表2から、今回同定した各成分においてSAFE法の方が高い内標準比を示した。中でもヘキサジエナール、ノナジエナール、デカジエナール、マルトール、ソトロノについては減圧蒸留法よりSAFE法の方が19倍以上大きい内標準比であった。これらの成分は香气エキス希釈分析法で解析すると、茶の香りに強く貢献する成分である^{1), 2), 10) -12)}。従って、香气成分の蒸留にSAFE法を適用すると、これら成分の香りへの貢献度は高くなることが予想される。

表2から内標準比が0.03より小さいほとんどの成分のRSDは減圧蒸留法、SAFE法ともに20%から30%であった。それ以外の成分のRSDは減圧蒸留法、SAFE法ともに20%より小さいRSDであった。減圧蒸留法とSAFE法

図3 減圧蒸留法 (a) と改良したSAFE法 (b) で得られた煎茶香气エキスのクロマトグラム (GC/FID)

図4 減圧蒸留法 (a) と改良したSAFE法 (b) で得られた紅茶香气エキスのクロマトグラム (GC/FID)

表2 煎茶と紅茶を減圧蒸留法と改良したSAFE装置で蒸留して得られた香気エキに含まれる各成分の内標準比と相対標準偏差 (RSD, %)

成分	紅茶				煎茶			
	減圧蒸留法		SAFE法		減圧蒸留法		SAFE法	
	ピーク 面積比	RSD %	ピーク 面積比	RSD %	ピーク 面積比	RSD %	ピーク 面積比	RSD %
2-hexenal	0.258	13	1.192	14	n.d		n.d	
1-pentanol	0.129	18	0.332	7	n.d		n.d	
2-penten-1-ol	0.176	9	0.446	11	n.d		n.d	
2,6-dimethylpyrazine	n.d ^a		n.d		0.204	7	0.374	7
ethylpyrazine	n.d		n.d		0.021	20	0.043	13
2,3-dimethylpyrazine	n.d		n.d		0.004	38	0.015	26
(Z)-3-hexenol	0.287	9	0.667	3	n.d		n.d	
(E, E)-2,4-hexadienal	0.005	36	0.121	12	n.d		n.d	
2-ethyl-6-methylpyrazine	n.d		n.d		0.037	11	0.060	8
trimethylpyrazine	n.d		n.d		0.028	16	0.046	14
octenal	0.027	33	0.189	4	n.d		n.d	
linalool oxide	0.265	11	0.476	17	n.d		n.d	
2-ethyl-3,6-dimethylpyrazine	n.d		n.d		0.090	13	0.158	17
linalool oxide	0.492	17	1.003	10	n.d		n.d	
furfural	0.142	11	0.475	12	0.065	10	0.103	3
2-ethyl-3,5-dimethylpyrazine	n.d		n.d		0.015	16	0.030	13
(E, E)-2,4-heptadienal	0.308	16	0.958	11	n.d		n.d	
benzaldehyde	0.589	4	1.283	12	n.d		n.d	
linalool	0.25	12	0.591	5	0.066	12	0.093	11
gamma-hexanolactone	0.109	9	0.4	19	n.d		n.d	
(E, E)-2,4-nonadienal	0.008	36	0.152	11	n.d		n.d	
methylsalicylate	0.177	6	0.554	15	n.d		n.d	
(E, E)-2,4-decadienal	n.d		0.132	9	n.d		n.d	
hexanoic acid	1.388	9	3.079	5	0.019	23	0.119	16
geraniol	0.554	5	0.937	3	n.d		n.d	
β -ionone	0.183	11	0.758	9	0.010	31	0.028	21
(Z)-jasnone	n.d		n.d		0.090	8	0.429	14
maltol	0.009	29	0.204	11	n.d		0.137	13
nerolidol	0.259	14	1.238	14	0.052	2	0.501	10
sotolon	n.d		n.d		n.d		0.385	18
octanoic acid	0.239	24	0.46	8	n.d		n.d	
jasmine lactone	0.017	9	0.063	9	n.d		n.d	
vinylphenol	n.d		n.d		0.042	7	0.121	13
indole	0.017	3	0.045	9	0.514	12	0.672	12
coumarine	0.005	26	0.032	8	0.014	28	0.044	6
vanilline	0.006	35	0.052	13	n.d		0.018	29

a, 不検出.

のRSDを比べると、特に大きな差は認められなかった。

以上の結果から、還流により香気成分を抽出し、分留効果を高めるためガラスウールを詰めたSAFE装置で抽出液を蒸留する方法は有効であった。

4. SAFE装置を用いた

茶に含まれる香気成分の分析方法

SAFE装置を用いた茶に含まれる香気成分

の分析方法を以下に示す。粉末にした茶葉20gに飽和塩化ナトリウム溶液400mLを加えて塩析する。内標準エチルデカノエートを加えたジクロロメタン300mLを用意し、その100mLを加える。温度45℃で30分還流抽出し、ジクロロメタンを回収する。この操作を3回行うことで抽出物約300mLを得る。得られた抽出物を無水硫酸ナトリウムで脱水し、シュナイダー管などの分留管で約20mLまで濃縮する。SAFE装置内にガラスウール2gを詰

め、分留温度を30℃に制御し抽出物を蒸留する。得られた蒸留液はさらに分留管、次いで窒素などの不活性ガスで約0.2mLまで濃縮し、GC分析に用いる。

5. 引用文献

- 1) 服部祥治(2006)：新規評価方法OASISを活用した緑茶香気分析に関する研究。北大農研邦文紀要, 28, 85-120.
- 2) Mizukami, Y., Sawai Y. and Yamaguchi, Y. (2008) : Changes in the concentrations of acrylamide, selected odorants, and catechins caused by roasting of green tea. *J. Agric. Food Chem.*, 56, 2154-2159.
- 3) Kawakami, M., Shigematsu, H., Banerjee, J. and Kobayashi, A. (1995) : Aroma composition of oolong tea and black tea by brewed extraction method and characterizing compound of darjeeling tea aroma. *J. Agric. Food Chem.*, 43, 200-207.
- 4) Shimoda, M., Shigematsu, H., Shiratuchi, H. and Osajima, Y. (1995) : Comparison of volatile compounds among different grades of green tea and their relations to odor attributes. *J. Agric. Food Chem.*, 43, 1621-1625.
- 5) 吉井健一郎・大城光高・入来浩幸・伊地知仁(1997)：茶香気成分捕集における連続蒸留法とカラム濃縮法との比較。茶研報, No84 : 27-31.
- 6) 重松洋子・下田満哉・箴島豊(1994)：紅茶香気成分の比較分析。日食工誌, 41(11), 768-777.
- 7) 樋口雅彦・佐藤昭一・浜崎正樹・眞正清司・堀田博(2004)：固相マイクロ抽出 (SPME) 法による茶の加熱香気成分の分析法。茶研報, No98, 33-42.
- 8) 堀田博・原利夫(1985)：Tenax TAにより茶ヘッドスペース香気成分の分析。茶技研, No.68, 17-24.
- 9) Engel, W., Bahr, W., Schieberle, P., Solvent assisted flavour evaporation - a new and versatile technique for the careful and direct isolation of aroma compounds from complex matrices, *Eur. Food Res. Technol.*, 1999, 209, 237-241.
- 10) Schuh, C. and Schieberle, P. (2006) : Characterization of the key aroma compounds in the beverage prepared from darjeeling black tea; Quantitative differences between tea leaves and infusion. *J. Agric. Food Chem.*, 54, 916-924.
- 11) Kumazawa, K., Wada, Y. and Masuda, H. (2006) : Characterization of epoxydecenal isomers as potent odorants in black tea (dimbula) infusion. *J. Agric. Food Chem.*, 54, 4795-4801.
- 12) Kumazawa, K. and Masuda, H. (2002) : Identification of potent odorants in different green tea varieties using flavor dilution technique. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 5660-5663.
- 13) Ferreir, V., Escudero, A., Salafranca, J., Fernandex, P. and Cacho, J. (1993) : Matrix effects and solute discrimination when injecting dirty sample in capillary columns. *J. Chromatography A.*, 655, 257-266.