生葉の熟度による香気寄与成分の変化

国立研究開発法人
農業・食品産業技術総合研究機構
果樹茶業研究部門*
水上 裕 造†

(2019年3月12日受理)

Changes in Key Odorants in Fresh Tea Leaves with Maturity

Yuzo Mizukami
NARO Institute of Fruit Tree and Tea Science

Summary

Odorants in aroma extracts isolated from fresh tea leaves change as tea leaves grow. Elucidation of these changes with tea leaf maturity is essential for the cultivation, manufacturing, and quality control. Aroma volatiles were extracted from fresh tea leaf samples using the solvent-assisted flavor evaporation technique (10^{-3} Pa). An aroma extract dilution analysis applied to the volatile fractions revealed hexanal, (*Z*)-3-hexenal, (*Z*)-1,5-octadien-3-one, (*Z*)-3-hexenol, 2-isopropyl-3-methoxypyrazine and 2-isobutyl-3-methoxypyrazine were detected with high flavor dilution (FD) factors. These 6 compounds increased with tea leaf maturity, as confirmed by the gas chromatography – mass spectrometry. On the other hand, two other odorants, coumarin and vanillin, were detected with low FD factors and decreased with leaf maturity. This result would be a good contribution to the improvement of cultivation and manufacturing technology, as well as quality control of tea.

Key words : fresh tea leaves, odorant, maturity, aroma extract dilution analysis.

キーワード : 生葉, 香気寄与成分, 成熟, 香気エキス希釈分析

1 緒 言

現在, わが国で生産されている煎茶は, 生葉を蒸熱し, 乾燥と揉捻を経て製造される。煎茶の品質は生葉の熟度によって大きく異なる。一番茶初期に収穫して製造され

たものは若芽の甘い香りや新鮮な芽香があり, 高値で取引されるが, 摘採後期ではこわ葉臭や木茎臭が感じられ市場価格は低下する¹⁾。良質な茶を生産するためには摘採時期の判定が重要である。これまで茶芽の熟度と呈味成分を中心とした品質関連成分の解明が行われてきた^{2, 3)}。香気成分については, 小柳津ら¹⁾により詳細に

* 〒428-8501 静岡県島田市金谷猪土居2769

† Corresponding author : myuzo@affrc.go.jp

調べられ、ガスクロマトグラフィー (GC) 分析から生葉の熟度の進行により (*E,E* and *Z*)-2,4-heptadienals, (*Z*)-2-pentn-1-ol, hexanal, (*Z*)-2-heptenalが増加し、こわ葉臭への関与が示唆された。一方, linalool oxides, coumarin, 7,8-dihydro-beta-ionone, (*E*)-2-hydroxycinnamic acid, heptanoic acid は生葉の熟度の進行により含有量が低下することから若芽の持つ甘い香りや新鮮なみる芽香に寄与している可能性が示唆された。これらの知見は荒茶から香気成分を抽出して得られたものであるが¹⁾, 製茶工程において香気成分が増減し⁴⁾, 茶の香りに影響することが考えられる。そこで本研究では基礎的データを得ることを目的に、生葉から直接香気エキスを抽出し、熟度の進行による成分の変化を明らかにする。

今回、チャの生葉として若芽と熟度が進行したこわ葉から直接溶媒で香りを抽出し、Solvent-assisted flavor evaporation (SAFE) 装置を用いた高真空蒸留により香気エキスを得て、GC-オルファファクトメトリー (O) を用いて分析した。そして、GC-Oを用いた香気エキス希釈分析 (Aroma Extract Dilution Analysis, AEDA) により元の香りへの影響度合いを示すFlavor dilution factor (FDファクター) を求めた。GC-Oは人の鼻を検出器として利用することにより、GCでは検出されにくい低濃度の成分も検出できる。これまでGC-Oを用いて煎茶、ほうじ茶、烏龍茶および紅茶の香りに寄与する成分が解明されている⁵⁻⁷⁾。さらに、AEDAから熟度の進行によりFDファクターが増減する成分を抽出し、それらの成分の熟度による変化を分析した。本研究により得られた結果はこわ葉臭等の解明や今後の栽培および加工技術の発展に貢献することが予想される。

2 実験方法

2. 1 材料

材料に用いた生葉は2014年4月28日から5月14日にお

いて、農研機構野菜茶業研究所 (現果樹茶業研究部門) 金谷茶業研究拠点試験研究圃場で摘採した品種 ‘やぶきた’ を用いた。なお、実験に用いた生葉の摘採日と原葉形質をTable 1に示した。原葉形質は既報⁸⁾ に従い求めた。なお葉割合は葉と茎の含水率を2回繰り返して求め (電子レンジで乾燥, 600 w, 12分), 乾物重から葉の割合を算出した。

香気成分の抽出, シリカゲルを用いたカラムクロマトグラフィーおよび成分の合成に用いた溶媒は既報^{9,10)} と同様にシュナイダー管で精製した。Table 2に示した成分No.1, 5-7, 9-11, 13, 16-22, 25, 26, 28, 30, 31, 34-37は東京化成工業 (東京) から, No.23, 29はシグマアルドリッチジャパン (東京) から入手した。成分No.3, 8, 12は既報¹¹⁾ と同様に*N-tert*-butylphenylsulfenamide (東京化成工業) を触媒, *N*-chlorosuccinimide (東京化成工業) を共酸化剤として, それぞれ基質となるalcoholから合成した。No.15¹²⁾, 27¹³⁾ は既報の方法を参考に得たが, 一級アルコールの酸化はMukaiyamaら¹¹⁾ の方法を用いて行った。各成分の保持指標を求めるため, paraffine (C₆-C₂₇) は東京化成工業から入手した。

2. 2 香気エキス抽出方法

AEDAで生葉の香気寄与成分のFDファクターを求めるため, 2014年4月28日および熟度が進行した5月14日に摘採した生葉を用いた。生葉0.5 kgに昇温防止のためフレーク氷0.5 kgと酵素活性を抑えるため20% (w/v) 塩化カルシウム水溶液0.5 Lを加え, フードプロセッサー (DLC, Cuisinart) で5分攪拌した。5 L容丸底フラスコに移し, 塩化ナトリウムで塩析後, dichloromethane 1 Lを加え1時間還流した。常温で2時間以上静置後, 水相を除去し, dichloromethaneを回収した。エマルションは遠心分離 (5000 rpm, 2 min) に次いでceliteでろ過し, dichloromethaneを回収した。これを3回繰り返す, 生葉1.5 kgから香気エキスを抽出した。その後,

Table 1. Characteristic of Raw Material Leaves and Chemical Compositions

Plucking date	Characteristic of Raw Material Leaves					Chemical Compositions	
	Weight of 100 Shoots	Length of New Shoot	Rate of leaves	Bulk density	Rate of Banjhi Shoot	NDF ^a	Caffeine
	g	mm	%	kg. m ⁻³	%	% db.	% db.
28-Apr	47	84	74	113	0	12.7	3.65
2-May	64	105	71	85	3	15.2	3.27
6-May	78	123	78	89	20	18.5	3.04
10-May	101	130	71	70	36	20.5	2.78
14-May	133	151	74	59	49	23.6	2.52

^aneutral detergent fiber.

Table 2. Identification of Key Odorants in the Volatile Fractions Isolated from Fresh Tea Leaves

No.	Odorant	Odor quality	Fraction ^a	Identification		Retention index ^c		Flavor dilution factor	
				SIM ^b m/z				Plucking date	
				product ion	molecular ion	PureWAX	DB-5MS	28-Apr	14-May
1	3-methylbutanal ^d	sweet	N-2			906	651	10	10
2	unknown ^f	sweet				1003		10	10
3	1-penten-3-one ^e	floral	N-3			1012	679	100	100
4	unknown ^f	sulfy				1070		10	10
5	hexanal	green	N-2			1091	803	10	100
6	dimethyl disulfide ^{e,g}	sulfy	A	79	94	1100	785	10	10
7	(<i>E</i>)-2-pentenal	fruity	N-2			1125	751	100	100
8	(<i>Z</i>)-3-hexenal ^e	green	N-3			1134	800	1000	10000
9	(<i>E</i>)-2-hexenal	green	N-2			1192	856	10	10
10	(<i>Z</i>)-4-heptenal ^e	green	N-2	68	112	1225	901	10	10
11	octanal	fruity	N-2			1272	1006	10	10
12	1-octen-3-one ^e	green	N-3			1291	978	10	10
13	(<i>E</i>)-2-hexenyl acetate	fruity	N-3			1309	1010	100	100
14	unknown ^f	fruity				1339		100	10
15	(<i>Z</i>)-1,5-octadien-3-one ^e	metallic-like	N-3	55	124	1363	981	100	1000
16	(<i>Z</i>)-3-hexenol	green				1365	858	100	1000
17	(<i>E</i>)-2-octenal	green	N-2			1410	1060		10
18	2-isopropyl-3-methoxypyrazine ^e	earthy	B			1424	1097	10	100
19	(<i>E,E</i>)-2,4-heptadienal ^e	fatty	N-3			1495	1013	100	100
20	2-isobutyl-3-methoxypyrazine ^e	earthy	B,N-5			1517	1175	100	100000
21	(<i>E</i>)-2-nonenal	green	N-2			1522	1158	100	100
22	linalool	floral				1537	1101	100000	100000
23	(<i>E,Z</i>)-2,6-nonadienal ^e	green	N-3			1572	1150	10	10
24	unknown ^f	green				1599			100
25	phenylacetaldehyde	floral	N-3			1614	1049	10	10
26	iso valeric acid	unpleasant	A			1650	835		10
27	3-methylnonane-2,4-dione ^e	green	N-3			1706	1256	100	100
28	(<i>E,E</i>)-2,4-decadienal ^e	fruity	N-3			1794	1325	100	100
29	β -damascenone ^{e,g}	sweet	N-3	177	192	1802	1387	100	100
30	3-mercapto-1-hexanol ^e	fruity	A			1821	1125	100	100
31	geraniol	floral				1829	1250	10000	10000
32	unknown ^f	sweet	N-3			1975		100	10
33	unknown ^f	floral				2026		100	100
34	sotolon ^{e,g}	spicy	A		128	2163	1112	10	10
35	(<i>Z</i>)-methyljasmonate	floral	N-4			2370	1675	10	10
36	coumarin	sweet	N-3			2420	1438	100	10
37	vanillin	sweet	N-3			2533	1419	100	10

^aAcidic, basic and neutral fractions were isolated from aroma extract. The neutral fraction was applied to a column (60 $\times$ 16 mm i.d., 12 mL) containing silica gel (5 g, particle size 40 mm, Agilent). Samples were eluted in one of the following solvents: pentane (36 mL, fraction N-1), pentane/dichloromethane (24 mL/12 mL, fraction N-2), pentane/dichloromethane (12 mL/24 mL, fraction N-3), dichloromethane (36 mL, fraction N-4), and ethyl acetate (50 mL, fraction N-5). ^bSelected ion mode (SIM). ^cRetention index was calculated by using GC-FID. ^dThe odorant has been identified by using the solid phase microextraction. ^eSince mass spectra of an odorant could not be obtained, SIM was applied to the detection of the odorant. ^fUnidentified odorant. ^gThe odorant was not detected when the fraction was injected on the PureWAX capillary column. However, the peak was observed when the separated fraction was injected onto the DB-5MS capillary column.

dichloromethaneをシュナイダー管で20 mLまで濃縮し (温度45℃), 既報¹⁴⁾に従いSAFE装置で高真空蒸留した。蒸留液はシュナイダー管に次いで, 窒素気流で0.1 mLまで濃縮し, AEDAに用いた。

生葉の熟度の進行による香気寄与成分の変化を調べるため, 4月28日, 5月2日, 5月6日, 5月10日および5月14日に摘採した生葉を用いた。生葉0.1 kgにフレーク氷0.1 kg, 20% (w/v) 塩化カルシウム水溶

液0.1 L, さらに内標準としてethyl decanoate 590 μ gを加え, ミキサー (TMD, Tescom) で1分攪拌した。1 L容丸底フラスコに移し, 塩化ナトリウムで塩析後, dichloromethane 0.3 Lで還流した。常温で2時間以上静置後水相を除去し, dichloromethaneを回収した。エマルションは遠心分離 (5000 rpm, 2 min) に次いでceliteでろ過し, dichloromethaneを回収した。シュナイダー管で20 mLまで濃縮後, SAFE装置で高真空蒸留した¹⁴⁾。

蒸留液をシュナイダー管に次いで窒素気流で0.2 mLまで濃縮し、GC-マススペクトロメトリー (MS) 分析に用いた。

2. 3 成分分析

摘採した生葉0.5 kgを送带式蒸機 (SD-500, 寺田製作所) で40秒蒸熱後、熱風式乾燥機で乾燥した。これを茶成分分析計専用のサイクロンサンプルミル (Udy) で粉碎し、茶成分分析計 (GT-8, 静岡製機) で中性デタージェント繊維 (NDF) を分析した。既報^{15,16)} に従い、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) でアミノ酸含有量¹⁵⁾、カフェインおよびカテキン類の含有量¹⁶⁾ を分析した。GC-O/水素炎イオン化検出器 (FID) 分析およびGC-マススペクトロメトリー (MS) 分析は既報^{14,17)} に従った。

生葉の熟度の進行による香気寄与成分の変化を明らかにするため、GC-MSのSelected ion mode (SIM) で分析した。GC-MS分析条件は既報^{14,17)} に従い、Table 3に示したイオンを検出した。なお分離カラムはDB-5MS (30 m×0.25 mm i.d.; film thickness, 0.25 μ m, Agilent) を用いた。

2. 4 AEDA

既報¹⁸⁾ と同様に、香気エキス0.1 mLをdichloromethaneで10倍、100倍、1000倍、10000倍に希釈し、GC-O分析した。なお、分析は3回繰返し、その内2回以上匂いが検出される最大の希釈倍率をFDファクターとした。

2. 5 香気寄与成分の特定

香気寄与成分を特定するため、AEDAに用いた全ての香気エキスおよび分析に用いた香気エキスを混合し、既報⁹⁾ に従い分画した。各画分に含まれる成分を分離

カラムPureWAXとDB-5MSを用いてGC-O/FIDおよびGC-MS分析し、匂いの性質、マススペクトル、保持指標から成分を特定した。なお、マススペクトルが得られない場合、匂いの性質および保持指標とともに、Table 2に示した各成分のプロダクトイオンと分子イオンをSIMで検出することで特定した。

3 実験結果及び考察

3. 1 熟度の進行による生葉の形質と成分変化

実験に用いた生葉の形質を把握するため、生葉の百芽重、芽長、かさ密度、出開き度、葉割合を求めた。さらに茶成分分析計でNDFを、HPLCでカフェイン、アミノ酸、カテキンを分析した。用いた生葉の百芽重、芽長、出開き度は熟度の進行により増加した。その一方、かさ密度は減少したが、葉割合に大きな変化は認められなかった (Table 1)。NDFは熟度の進行にともない増加し、カフェインは減少した (Table 1)。いずれのアミノ酸も生葉の熟度の進行にともない減少したが、特にアルギニンの減少は顕著であった (Table 4)。カテキンの含有量は熟度の進行にともない僅かに減少しているが、個別に見ると、galocatechinとepigallocatechinは増加するが、catechin, epigallocatechin gallate, epicatechin gallateの3つのカテキンは減少した (Table 5)。これら成分の熟度の進行による変化は既報と一致した¹⁹⁾。

3. 2 香気寄与成分の特定

Table 2にGC-O分析で検出された香気寄与成分、匂いの性質、成分の特定に至った画分、保持指標およびFDファクターを示した。GC-O分析により37成分が検出され、その内31成分を特定した。No.16 (Z)-3-hexenol,

Table 3. Selected Ion Mode (SIM) for Mass Chromatography

No.	Odorant	Flavor dilution factor		SIM ^a m/z	
		Plucking date		monitor ion	ion for quantification
		28-Apr	14-May		
5	hexanal	10	100	56, 72	72
8	(Z)-3-hexenal	1000	10000	69, 83, 98	98
15	(Z)-1,5-octadien-3-one	100	1000	55, 124	124
16	(Z)-3-hexanol	100	1000	82, 100	100
18	2-isopropyl-3-methoxypyrazine	10	100	137, 152	152
20	2-isobutyl-3-methoxypyrazine	100	100000	124, 151	151
36	coumarin	100	10	118, 146	146
37	vanillin	100	10	151, 152	152

^aSelected ion for the semi-quantification of the odorant by using an internal standard of ethyl decanoate (m/z 200). The odorant listed in the table was semi-quantified by using a DB-5MS column.

Table 4. Concentrations of Amino Acids in Raw Material Leaves

Plucking date	Amino acids								Total
	Asp	Glu	Asn	Ser	Gln	Arg	Ala	Thea	
28-Apr	0.36	0.44	0.01	0.13	0.53	1.05	0.03	2.35	4.89
2-May	0.33	0.38	0.02	0.09	0.71	0.81	0.03	2.27	4.65
6-May	0.24	0.30	0.01	0.10	0.65	0.43	0.03	1.91	3.68
10-May	0.24	0.36	0.01	0.07	0.48	0.29	0.03	1.76	3.24
14-May	0.21	0.28	0.00	0.05	0.31	0.15	0.02	1.33	2.36

Asp; aspartic acid, Glu; glutamic acid, Asn; asparagine, Ser; serine, Gln; glutamine, Arg; arginine, Ala; alanine, Thea; theanine. Total includes Asp, Glu, Asn, Ser, Gln, Arg, Ala and Thea. (% db.)

Table 5. Concentrations of Catechins in Raw Material Leaves

Plucking date	Catechins						Total
	GC	EGC	C	EGCG	EC	ECG	
28-Apr	0.12	3.91	0.31	7.84	1.42	1.27	14.9
2-May	0.11	3.85	0.22	6.61	1.42	1.04	13.3
6-May	0.16	4.50	0.12	6.31	1.43	0.86	13.4
10-May	0.16	4.74	0.10	6.17	1.32	0.78	13.3
14-May	0.16	4.95	0.06	5.83	1.34	0.73	13.1

GC; galocatechin, EGC; epigallocatechin, C; catechin, EGCG; epigallocatechin gallate, EC; epicatechin, ECG; epicatechin gallate. Total includes GC, EGC, C, EGCG, EC and ECG. (% db.)

No.22 linalool, No.31 geraniolの3成分はGC-O分析においてFIDのピーク (Fig. 1) と人の鼻が検出する保持時間が一致し, GC-MS分析において分画しなくてもマススペクトルを取得できた。その他の香気寄与成分は香気エキスを分画し, 各画分をGC-OとGC-MS分析することで特定することができた。ただし, No.6 dimethyl disulfide, No. 10 (*Z*)-4-heptenal, No. 15 (*Z*)-

-1,5-octadien-3-one, No. 29 β -damascenone, No. 34 sotolonの5成分は分画してもマススペクトルは得られなかったため, SIMで検出することで確認した。No.6, 29, 34の3成分は分離カラムPureWAXを用いたGC-MS分析で検出されなかったが, 分離カラムDB-5MSを用いることで検出できた。

Fig. 1. GC-flame ionization detector chromatogram of the volatile concentrate of the younger shoots plucked on 28-Apr (A) and mature tea leaves plucked on 14-May (B) with showing the three peaks of odorant [(*Z*)-3-hexenol; linalool; geraniol].

3. 3 生葉に含まれる香気寄与成分

Dichloromethaneで抽出した生葉の香気エキ스는生葉の香りを忠実に再現していた。4月28日に摘採した生葉から最も高いFDファクター100000でNo.22 linaloolが検出された (Table 2)。次いで高いFDファクター10000でNo.31 geraniolが, FDファクター1000でNo.8 (Z)-3-hexenalが検出された。一方, 熟度が進行した5月14日に摘採した生葉から最も高いFDファクター100000でNo.20 2-isobutyl-3-methoxypyrazineとNo.22 linaloolが検出された。次いで高いFDファクター10000でNo.8 (Z)-3-hexenalとNo.31 geraniolが, FDファクター1000でNo.15 (Z)-1,5-octadien-3-one, No.16 (Z)-3-hexenolが検出された。

3. 4 熟度の進行による香気寄与成分の変化

高いFDファクター100以上で検出された成分において, 熟度が進行した生葉の方が高いFDファクターで検出された成分を見ると (Table 2),

No.5 hexanal, No.8 (Z)-3-hexenal, No.15 (Z)-1,5-octadien-3-one, No.16 (Z)-3-hexenol, No.18 2-isopropyl-3-methoxypyrazine, No.20 2-isobutyl-3-methoxypyrazine, No.24 unknownの7成分であった。一方で, FDファクター100以上で検出された成分において, 熟度が進行した生葉の方が低いFDファクターを示した成分はNo.32 unknown, No.36 coumarin, No.37 vanillinであった。これら香気寄与成分の熟度の進行による変化を調べるため, GC-MSのSIMを用いた (Table 3)。熟度の進行により高いFDファクターで検出されたNo.5 hexanal, No.8 (Z)-3-hexenal, No.15 (Z)-1,5-octadien-3-one, No.16 (Z)-3-hexenol, No.18 2-isopropyl-3-methoxypyrazine, No.20 2-isobutyl-3-methoxypyrazineの6成分は熟度の進行で増加した (Fig. 2)。これらの成分の増加によって茶の香りが変化し, こわ葉臭等の香りに関与することが考えられる。一方, 熟度の進行により低いFDファクターで検出されたNo.36 coumarin, No.37 vanillinは熟度の進行により減少

Fig. 2. Peak area ratio of the odorant and internal standard in aroma extract isolated from fresh tea leaves with maturity. The error bars in the Fig show standard deviations calculated from three iterative analyzes.

した(Fig. 2)。coumarinは桜葉のような甘い香りがあり、vanillinはバニラの甘い香りがある。従って、これらの香気寄与成分は若芽が持つ特有の甘い香りに貢献することが考えられる。

熟度の進行により増加したhexanal²⁰⁾, (Z)-3-hexenal²⁰⁾, (Z)-1,5-octadien-3-one²¹⁾, (Z)-3-hexenol²⁰⁾はlinolenic acidから酸化や分解を経て生成することが知られている。また(Z)-3-hexenolはアグリコンとして存在することも知られている²⁰⁾。No.18とNo.20のmethoxypyrazineは生野菜、ナッツ、大豆、ワイン、グレープ等に含まれ、No.18はvalineから、No.20はleucineから生育中の代謝で生成することが知られている²²⁾。またこれら2つのmethoxypyrazineは夏茶臭の主要因成分である⁹⁾。一方、熟度の進行により減少したcoumarinは小柳津ら¹⁾も同様に熟度の進行による減少を認めているが、vanillinと同様に消長機構は明らかにされていない。

熟度の進行による成分の消長機構は他の研究によらなければならないが、本研究で得られたデータは、こわ葉臭等の解明や、今後の栽培および加工技術の発展に貢献することが期待される。

4 摘 要

本研究は熟度の進行による香りの変化を明らかにすることを目的として行った。生葉に含まれる香気成分は製茶工程を経ると著しく変化することが予想されたため、生葉から直接香りを抽出し、分析に用いた。生葉から抽出した香気エキスを解析したところ、hexanal, (Z)-3-hexenal, (Z)-1,5-octadien-3-one, (Z)-3-hexenol, 2-isopropyl-3-methoxypyrazine, 2-isobutyl-3-methoxypyrazineの6成分は熟度の進行により増加し、高いFDファクターで検出された。従って、これらの成分はこわ葉臭等の香りに関与することが考えられた。一方、熟度の進行によりcoumarinとvanillinは減少し、これらは甘い香りがあることから、若芽の持つ甘い香りに関与していることが考えられた。

5 引用文献

1) 小柳津 勉・下田満哉・松本 浩・後藤 正(2002):茶芽の熟度による緑茶香気成分の変化.食科工誌,49,327-334.

- 2) 高柳博次・阿南豊正・池ヶ谷堅次郎・中川致之(1985):茶芽の熟度と成分変動.茶研報,No.61,20-25.
- 3) 吉田優子・木曾雅昭・長嶋 等・後藤哲久(1996):茶芽の生育に伴う化学成分含量の変化.茶研報,No.83,9-16.
- 4) 深津修一・岩浅 潔(1978):煎茶製造工程における香気成分の変化.茶研報,No.48,68-76.
- 5) 水上裕造(2015):緑茶の香りの特徴におい・かおり環境学会誌,46,110-120.
- 6) Kumazawa, K (2006):Flavor chemistry of tea and coffee drinks. Food. Sci. Technol. Res., 12, 71-84.
- 7) 水上裕造(2017):Solvent-assisted flavor evaporation装置を用いた高真空蒸留と香気エキス希釈分析法による台湾産半発酵茶の香気寄与成分の特定.茶研報,No.123,9-16.
- 8) 水上裕造・山口優一(2010):2006年から2010年における一番茶の原葉形質と荒茶品質.茶研報,No.110,91-94.
- 9) 水上裕造・崎原敏博・遠矢聡志・内村浩二(2014):夏茶に含まれる香気寄与成分.茶研報,No.117,27-33.
- 10) 水上裕造(2013):煎茶のヘッドスペースと浸出液に含まれる香気寄与成分.茶研報,No.116,15-21.
- 11) Mukaiyama, T., J. Matsuo and M. Yanagisawa (2001): A mild and efficient oxidation of alcohols with *N*-tert-Butylphenylsulfonimidoyl chloride in the coexistence of zinc oxide. Chem. Lett., 30, 150-151.
- 12) Swoboda, P. A. T. and K. E. Peers (1977):Metallic odour caused by vinyl ketones formed in the oxidation of butterfat. The identification of octa-1-*cis*-5-dien-3-one. J. Sci. Food Agric., 28, 1019-1024.
- 13) Yuasa, Y. and Y. Kato (2001):Practical synthesis of 3-methylnonane-2,4-dione, an intense strawlike and fruity flavored compound. J. Agric. Food Chem., 49, 3864-3866.
- 14) 水上裕造・山口優一(2010):Solvent-assisted flavor evaporation装置を用いた茶に含まれる香気成分の分析法.茶研報,No.110, 105-112.
- 15) 水上裕造・邑田修三・濱田倫哉(2012):メチルメチオニンスルホニウムを含むアミノ酸分析.茶研報,No.114(別),122-123.
- 16) 水上裕造(2013):浸出条件がほうじ茶の香気寄与成分とカテキン含量に及ぼす影響.茶研報,No.116(別),126-127.
- 17) 水上裕造(2012):Solvent-assisted flavor evaporation装置を用いた高真空蒸留と香気エキス希釈分析法によるほうじ茶葉香気寄与成分の特定.茶研報,No.113,55-62.
- 18) 水上裕造・崎原敏博・飛松 諒・内村浩二(2015):生葉の低温保管による夏茶臭改善効果の解明.茶研報,No.119,21-28.
- 19) 伊奈和夫・鈴木壯幸(2007):Ⅲチャ葉(生葉)の化学成分.伊奈和夫・坂田完三編「新版 緑茶・中国茶・紅茶の化学と機能」,株式会社アイ・ケイコーポレーション,pp.26-54.
- 20) Chi-Tang, H., Z. Xin and L. Shiming (2015):Tea aroma formation. Food Sci. Human Wellness, 4, 9-27.
- 21) Ullrich, F. and W. Grosch (1988):Identification of the most intense odor compounds formed during autoxidation of methyl linolenate at room temperature. J. Am. Oil Chem., 65, 1313-1317.
- 22) Murray, K. E. and F. B. Whitfield (1975):The occurrence of 3-alkyl-2-methoxypyrazine in raw vegetable. J. Sci. Food. Agric., 26, 973-986.