NMRによる茶葉水分の状態分析

農林水産省野菜・茶業試験場

永田 忠博*・酒井 慎介**

(平成3年3月2日受理)

1 ま え が き

生体内では構成高分子に水和している水があり、我々が目にする通常の水とは物理性が異なる。例えば蛋白質表面の水は非常に凍りにくく、零下80℃前後で凍る。これは水分子の運動性が、通常の水と全く異なる状態にあるため起こる現象である。また、これとは逆に比較的自由に運動している水もある。

茶樹の生長と水の関係では、水分含量の変化より水の状態の変化が、生長過程に直接的な影響があると考えられるが、茶樹体内の水の状態分析の報告は見あたらない。特に、冬の休眠期から一番茶収穫期までの樹体内の水の動態は再生長過程を決定する要因であり、一番茶の収量・品質に大きな影響を与えるものと考えられる。

核磁気共鳴(NMR)法は、緩和時間が分子の運動性を鋭敏に反映するので、水の状態分析には有力な手段となる。しかも、生体試料でも非破壊的に測定できることから、1970年前後より、生体系の水の状態分析に用いられてきた。^{2,3)}

今回、一番茶収穫期の茶葉の水の日内変動、冬季から春にかけての越冬葉中の水について、緩和時間をNMRにより測定し、茶葉中の水の状態について若干の知見を得たので報告する。

2 材料および方法

まず一番茶収穫期における茶葉内の水の日内変動を調査するため、1988年5月2日と5月6日に28年生の「やぶきた」成木園より第1次伸育葉の心10個を採取後、直径10mmのNMRサンプルチューブに入れ、試料中の水の緩和時間を測定した。緩和時間測定後、試料の水分含量も測定した。心の下の第1葉、第2葉、第3葉、越冬葉についても同様に測定したが、その数は1回に各々3, 2, 1, 0.5枚

である。葉が大きくサンプルチューブに入らないものは、ハサミで切断して入れた。

次に冬から春にかけての季節的な変動を調査するため1989年12月から1990年3月にかけて、当該日の午前中に、上記の圃場の芽、成葉を採取し3反復で測定を行った。1回の測定に芽は50個、越冬葉は0.5枚を使用した。

緩和時間は日本電子GSX 270型NMR装置により、 T_2 を測定した。 T_2 は、共鳴プロトン(水素原子核)が核スピンエネルギーを相互交換により失う時間のことであるが、詳しくはNMR入門書等を参考にされたい。 T_2 測定のためのパルス系列は数種類あるが、生体水は自由水の比率が高く T_2 は長いので、長い T_2 に有利なパルス系列CPMG(Carr-Purcell-Meiboom-Gill)法を用いた。なお1989年、筆者らは製茶工程における茶葉中の水の T_2 測定を行ったが、これには短い T_2 に有利な改良Hahn法⁶⁾を用いた。また測定に使用したパルス系列は、90度-t-90度の飽和回復(Saturation Recovery)法である。

水分含量は、ビーカーに入れた試料を90℃、5時間以上乾燥させて減少した重量を水分として計算した。

3 結果および考察

図1に飽和回復法によるスペクトルの例を示す。図2は、図1で得られた水素- T_2 スペクトルの水の信号面積を縦軸に、時間を横軸にとったものである。通常の水や氷では、図2は直線のグラフとなる。

今回の測定結果も直線に近似すれば、 T_2 で表すことも可能である。この表示法では、 T_2 が短いということは運動性が低い状態であり、 T_2 が長ければ、運動性が高く、生理的に活性であるといえる。通常の水の T_2 は約3秒、氷はマイクロ秒のオー

* 野菜・茶業試験場(現九州農業試験場、〒861-11 熊本県菊池郡西合志町須屋2421)

** 同 上 (現在静岡県経済連土壌肥料分析センター、〒424 静岡県清水市日の出町31-11)
(平成3年3月2日受理)

図 1. 飽和回復法による茶葉内水の酸素- T_2 スペクトルの例

図 2. 茶葉内の水を 2 成分として計算した例

ダーである。

しかし、図 2 が直線でないことからわかるように、茶葉内の水は異なる T_2 を有する分子の集合である。生体内の水分子を対象に研究を進める場合、一

状態・二状態・三状態・四状態・多成分などのモデルが提案されている。本研究の測定結果は、 T_2 測定結果を自由水と結合水に分ける二状態モデルにより解析することとした。

すなわち図 2 に示すように、緩和時間の短い 6 ミリ秒以下を結合水に由来する傾き b 、30 ミリ秒以上を自由水に由来する傾き a とすると、 a/b は自由水の比率、 $(b-a)/b$ が結合水の比率となる。

図 3 に一番茶収穫期の葉内水の、自由水の比率と水分含量の日内変動を、各葉位ごとに示した。また測定日とそれ以前の気象条件を表 1 に示した。図 3 から明らかなように自由水の比率の日内変動は水分含量の変動よりも大きい。また自由水の比率は、心 > 新葉 > 越冬葉であり、活発な生理的活動を行っている部位に活性の水が多いことを示している。越冬葉の水分含量は新梢部分より小さく、その自由水は昼低下するが、夜には増加した。これに対して頂芽では朝自由水が多く、夜低かった。

RICHARDSON によれば、木部汁液の流速の日内変動を局部的に調査すると、朝、水は木の高い所の細

† 日本電子資料：緩和時間の測定法 T_2 を中心として

表1 1988年4月下旬から5月上旬の気象

月日	気 温				湿度 (%)	雲 量	天 気	雨 量 (mm)	備考
	9時	最高	最低	平均					
4月23日	22.6	24.0	17.1	20.7	75	10	○		
24	17.1	19.8	16.9	17.8	93	10	●	78.0	
25	18.8	21.2	17.4	19.4	95	10	●	40.5	
26	24.4	28.0	19.5	23.5	82	7	①	1.0	
27	23.6	25.4	20.1	22.0	88	10	◎	10.5	
28	20.4	22.1	18.5	19.6	97	10	◎	13.0	
29	20.3	21.4	18.7	19.9	97	10	◎	2.5	
30	18.9	21.3	17.9	19.8	98	10	●	61.0	
5月1日	22.0	24.1	13.1	18.9	80	8	◎		
2	20.5	28.0	12.0	19.6	53	0	○		測定日
3	18.8	20.4	9.2	15.7	65	10	◎		
4	18.9	22.1	12.8	16.8	79	3	①	6.5	
5	17.8	21.4	11.0	16.2	80	9	◎		
6	16.8	19.4	8.4	14.4	69	7	①		測定日

註) 湿度は1日の平均値, 雲量, 天気は9時観測値

枝や小枝で、幹に先立って早く動き始める。一方、午後遅く夕方になって蒸散速度は葉で遅くなり始めると、細枝から遅くなり始め、幹ではもっと後にならないと遅くならないといわれている。最大値に達するのは、小枝は正午ごろ、幹は午後2時ごろである。⁹⁾したがって図3で、朝、頂芽・新葉の自由水の比率が最も高いのは、枝や幹に先だって頂芽・新葉の水の運動性が高まっていると解釈できる。

また、上記の木部汁液流速の日内変動の考察として、「水の上下移動の駆動力あるいは「モーター」⁹⁾は木の頂上の葉にあるらしい」とある。これは、着葉部位だけでなく後述の生理的役割の違いも考慮すべきであるが、茶樹の高い位置にある頂芽・新葉と、位置が下である越冬葉の自由水の比率の変動パターンが異なる説明にもなる。

また越冬葉の自由水の比率が夜高く、朝・昼に低いのは、体内水分保持のため蒸散が抑制されたためと解釈できる。冬の越冬葉が、前述の「モーター」の役割を果たすとすれば、自由水の比率の日内変動は、これと異なる可能性もある。

自由水は細胞液と細胞間隙に存在し、茶葉中の可

溶物質のポリフェノール、アミノ酸、カフェイン等は、この中に溶解しているとの記述もある。したがって、水の運動性の日内変動が、茶葉成分の存在状態にも日内変動をもたらしていることも考えられるが、この点については今後の研究が必要であろう。

次に季節的変動を図4に示す。また表2に測定日とそれ以前の気象条件を示す。図4は、1989年12月から1990年3月までの3反復の測定結果と、先の図3の午前中の測定結果(反復なし)を合わせて作図したものである。経時的追跡とは言えないが、同一成木園より材料を採取しているので、葉内水の運動性の季節的変動と考えてさしつかえない。3月上旬から5月上旬にかけて、頂芽は水分含量、自由水の比率ともに上昇している。これに対して越冬葉は、自由水の比率は低下しているが、水分含量はほとんど変化していない。

12月25日と12月26日、3月5日と3月6日の比較からわかるように、自由水の比率は水分含量より日差変動が大きい。これは、天候や土壌水分が、葉内水の運動性に大きく影響することを示している。

図3. 一番茶収穫期の各葉位における自由水の比率(上)と水分含量(下)の日内変動。●: 心, ○: 第1葉, ▲: 第2葉, △: 第3葉, ■: 越冬葉。

越冬葉の水分含量は12月と5月では大きな変化はないが、自由水の比率は3月から5月に著しく減少した。自由水の比率の変化は、葉の老化に伴う機能変化の結果と考えられる。12月から3月までの水移動の駆動力の役割は越冬葉が果たしているが、5月にはほとんど新葉がこの機能を果たしていると推察してよい。

これに対して頂芽は、水分含量、自由水の比率ともに3月から5月にかけて大きく増大している。3月上旬は休眠打破されているが、芽内の水の運動性は収穫期に比べ低いことがわかる。一般に植物の水の季節的変動については、冬、細胞内の水分は減少し、また自由水の比率が低下し凍りにくくなって、低温下の細胞の損傷を免れる。春になれば、自由水の比率が増大して水分子の運動は活発化し再生長するといわれている。この観点で見れば、図4の頂芽の測定結果は、乾燥状態から水が増加し、水の運動が活発化していく過程といえることができる。

図4. 冬期から一番茶収穫期の自由水の比率(上)と水分含量(下)の季節的変動

今後、水ストレス条件下やガラス室・被覆などの環境下で、同様の調査を行えば、成長・収穫における水の役割もさらに明らかになるであろう。

4 摘 要

冬期から一番茶収穫期の茶樹体内の水の動態を明らかにするため、核磁気共鳴法により茶葉内の水の緩和時間を測定した。得られた結果は、下記の通りであった。

5月上旬の一番茶収穫期では、自由水の比率の日内変動が水分含量の日内変動よりも大きかった。また自由水の比率は、心>新葉>越冬葉であり、活発な生理的活動を行っている部位に活性の水が多いことを示した。越冬葉の自由水は昼低下し、夜には増加したが、心では朝、自由水が多く、夜低かった。

葉内水の運動性の季節的変動は、3月上旬から5月上旬にかけて芽は水分含量、自由水の比率ともに上昇している。これに対して越冬葉は、12月から

表2 1989年12月下旬と1990年2月下旬, 3月上旬の気象

月日	気 温				湿度 (%)	雲 量	天 気	雨 量 (mm)	備考
	9時	最高	最低	平均					
12月21日	5.0	13.1	-1.5	5.3	63	0	○		
22	5.8	11.0	0.9	5.8	77	0	○	2.5	
23	6.2	12.8	2.5	7.0	78	2	○	0.5	
24	7.8	8.3	5.3	7.3	89	9	☉	11.5	
25	6.6	12.4	3.5	7.5	86	2	○	0.5	
26	6.5	10.9	6.2	7.8	87	10	☉	0.5	測定日
2月22日	11.4	18.3	6.6	11.6	79	1	○		
23	12.2	13.1	10.3	11.8	95	10	●	25.0	
24	14.2	19.7	10.6	14.7	87	8	☉	69.0	
25	13.4	14.0	8.2	11.7	90	10	☉	3.0	測定日
26	10.8	11.9	6.2	9.4	96	10	☉	4.5	
27	9.1	9.6	5.9	8.3	98	10	●	6.0	
28	8.2	11.8	5.1	8.2	76	7	①		
3月1日	7.2	10.1	6.5	8.1	82	10	●	7.5	
2	8.9	11.5	6.9	8.8	89	10	●	14.0	
3	8.7	11.8	6.7	8.6	92	10	☉	11.5	
4	9.2	14.8	4.3	9.7	88	9	☉	7.5	
5	10.1	15.2	3.8	8.4	69	4	①		測定日
6	6.4	13.6	0.0	6.5	58	2	○		測定日

註) 表1に同じ

3月まで水分含量, 自由水の比率ともにほとんど変化しないが, 5月には自由水の比率は大きく低下した。

自由水の比率の変動は, 葉の生理的役割, 樹体内水分保持などと密接な関係があると考察された。

5 引用文献

- 1) 上平 恒 (1977) : 水とはなにか, 講談社. 東京, pp123~157.
- 2) HAZLEWOOD, B.L., B. L. NICHOLS and N. F. CHAMBERLAIN (1969) : Evidence for the Existence of a Minimum of Two Phases of Ordered Water in Skeletal Muscle. *Nature*, **222**, 747~750.
- 3) CHANG, D. C. et al (1972) : Spin Echo Studies on Cellular Water. *Nature*, **235**, 170~171
- 4) KEMP, W. (1986), 山崎 和訳 : やさしい最新のNMR入門, 培風館. pp30~34.
- 5) 通 和夫, 竹内敬人, 吉川研一 : 実用NMR (1984) 講談社. 東京, pp149~155.
- 6) 袴田勝弘, 永田忠博, 向井俊博, 池田 透, 永松 修 (1989) : 製茶工程におけるマイクロ波加熱の利用. 茶研報, No.70, 83~84 (講要).
- 7) 永嶋伸也 (1985) : パルスNMRによる水の状態分析, ぶんせき1985年1号, 64~70.
- 8) 片山誠二 (1982) : 不凍水の生物化学, 化学の領域, 36, 100~109.
- 9) RICHARDSON, M. (1975), 吉田邦久訳 : 植物の物質輸送, 朝倉書店. 東京, pp26~29.
- 10) 程启坤, 姚国坤, 沈培和, 白堃元 (1985) : 茶葉優質原理与技術, 上海科学技术出版社. 上海, pp12~15.

State Analysis on Water in Tea Leaves by Nuclear Magnetic Resonance

Tadahiro NAGATA* and Shinsuke SAKAI

(* *Kyushu National Agricultural Experiment Station.*
Nishigōshi, Kikuchi-gun, Kumamoto 861-11, JAPAN)

Summary

In order to clarify the physiological states of water in tea leaf from winter to the first crop season, we determined relaxation time T_2 of water in tea leaves by nuclear magnetic resonance spectroscopy. The spectra for T_2 measurement had been used to obtain information on water mobility and ratios of free and bound water.

In the case of circadian rhythms in the first crop season, an amplitude of the free water ratio was greater than that of water content. The relative order of free water ratio was bud > new leaf > overwintered leaf. The results show that the physiologically active part contain a large amount of free water. The free water ratio of overwintered leaf decreased in daytime and increased at night. The free water ratio of buds was the highest in the morning and decreased at night.

In the case of seasonal change, both the water content and the free water ratio of buds increased from early March to early May. There was little change in the both figure of overwintered leaf from December to March. However, the free water ratio lessened in May. It is suggested that the changes in the free water ratio derived from the physiological role of leaf and the retention of water in tea plants. (Received March 2, 1991)