報 文

緑茶製造中の全脂肪酸含量の変化

阿南豊正*・高柳博次*・池ヶ谷賢次郎*・中川致之*

Changes of Total Fatty Acid Contents during Manufacture of Green Tea

Toyomasa ANAN*, Hirotsugu TAKAYANAGI*, Kenjiro Ikegaya*
and Muneyuki NAKAGAWA*National Research Institute of Tea, 2769, Kanaya-cho,
Haibara-gun, Shizuoka-ken, 428

The samples used in this experiment were fresh tea leaves (S-1), green tea (S-2), green tea prepared by heating at 130°C for 30 min (S-3), corresponding to refired green tea, and green tea prepared by heating at 170°C for 30 min (S-4), corresponding to roasted green tea, i. e. Hoji-cha. Crude lipids (CL) were extracted with CHCl_3 -MeOH (2:1), and then separated into three fractions, which were chloroform fraction (CH), acetone fraction (AC) and methanol fraction (ME), by a silicic acid column chromatography using three kinds of solvent systems. Total fatty acid contents of CL of S-1, S-2, S-3 and S-4 were 4.0, 3.3, 2.8 and 3.0%, respectively. Fatty acid contents of all fractions showed a tendency to decrease during manufacture of green tea, and the degree of decrease in ME was slightly large compared to other fractions. In AC, the ratio of main unsaturated fatty acid ($\text{C}_{18:2}$, $\text{C}_{18:3}$) to main saturated fatty acid ($\text{C}_{18:0}$) of S-4 was a little smaller than those of other samples, but there was little difference in the ratios among other fractions.

(Received Apr. 23, 1982)

食品加工中の加熱操作によって脂質が分解し、他成分との反応などをとおして品質などに様々な影響を与えることはよく知られている¹⁾²⁾が、その場合、構成成分である脂肪酸の果たす役割も大きいと考えられる。さらに、脂肪酸は加熱により分解し、揮発成分を生成することから、加熱香氣にも関与するといわれている^{3)~5)}。緑茶製造中にも加熱操作がほどこされるため、同様に脂肪酸の変化が起ることが予想される。

茶の脂肪酸については、茶葉の生育条件の違いによる含量の差異⁶⁾、紅茶製造中のリノール酸、リノレン酸からトランス-2-ヘキセナールなどの生成⁷⁾⁸⁾、紅茶貯蔵中の変化⁹⁾などが報告されているが、緑茶製造中の変化についてはまだ検討されていない。

著者らは、これまでに茶葉生育中の脂質および脂肪酸の変化⁹⁾、緑茶製造中の脂質の変化¹⁰⁾など茶の脂質につ

いて報告してきたが、今回は緑茶製造中の全脂肪酸含量の変化について検討したので報告する。

実験方法

1. 試料

前報¹⁰⁾と同様の試料を用いた。品種はかなやみどりを用い、1978年5月11日に摘採した原葉(S-1)より荒茶(S-2)を製造した。市販の緑茶は、この荒茶に若干加熱操作(火入れ)をほどこしてあるため、それに相当するものとして荒茶を130°Cで30分加熱したもの(S-3)を調製した。又、こうばしい香りを付与するために、荒茶を火入れ操作よりさらに高温で加熱して製造するものに、ほうじ茶というものがあるが、それに準ずるものとして、荒茶を170°Cで30分加熱したもの(S-4)を調製した。

* 農林水産省茶業試験場(〒428 静岡県榛原郡金谷町金谷 2769)

2. 脂質の抽出および分画

前報¹⁰⁾と同様に, Folch らの方法¹¹⁾に準じて粗脂質を抽出し, Mills らの方法¹²⁾に準じて3つに分画した。すなわち, クロロホルム:メタノール (2:1) で抽出したものを粗脂質画分 (CL 画分), さらにそれをシリカゲルカラムを用いて, クロロホルム, アセトン, メタノールで溶出し, それぞれクロロホルム画分 (CH 画分), アセトン画分 (AC 画分), メタノール画分 (ME 画分) とした。なお, CH 画分は上田らの方法¹³⁾により活性炭カラムを用いて色素を除去した。

3. 脂肪酸の定性および定量

脂肪酸メチルエステルの調製は, 塩酸メタノール法¹⁴⁾により行った。その際, 内部標準物質としてマーガリン酸を用いた。すなわち, 各画分の一定量にマーガリン酸を加え, 5% 塩酸メタノールを入れて 90°C の湯浴上で2時間還流冷却後, ヘキサンに転溶し, ガスクロマトグラフィーを行った。ガスクロマトグラフは島津製作所製 GC-4B 型を用い, 充填剤は 10% DEGS/Diasolid S (60~80 メッシュ, 日本クロマト工業製) を用いた。又, カラム温度は 190°C, キャリヤーガスは窒素を用い, 流量は 30 ml/min とした。

各ピークの同定は, 標準物質の保持時間との比較, 水素による不飽和脂肪酸の還元などにより行い, ピーク面積は半値巾法により計算した。なお, この方法による分析精度を調べるために, トリオlein (東京化成, 試薬一級) を用いて, 6 回くり返して分析した結果, 変動係数は 4.02% であった。

実験結果および考察

1. 脂肪酸の同定

CL 画分の分析結果から, 4 種類の試料の主要な脂肪酸はいずれも同様のものであった。すなわち, パルミチン酸 (C_{16:0}), パルミトオレイン酸 (C_{16:1}), ステアリン酸 (C_{18:0}), オレイン酸 (C_{18:1}), リノール酸 (C_{18:2}), リノレン酸 (C_{18:3}) であり, ラウリン酸 (C_{12:0}), ミリスチン酸 (C_{14:0}) もわずかに含まれていたが, 量的に少なかったため, 以下の分析では主要な6種類の脂肪酸について検討することにした。なお, この結果は先に報告⁶⁾した茶葉の脂肪酸組成と同様であった。

2. CL 画分の脂肪酸の変化

CL 画分の分析結果を Table 1 に, その中の合計値および主要な3種の脂肪酸について生葉に対する各試料の比率を Fig. 1 に示した。生葉には, 約 4% (以下すべて乾物中) の脂肪酸が含まれていたが, その約 50% が C_{18:3} で, 約 20% が C_{16:0}, 約 20% が C_{18:2} であった。これらの結果は, 前報⁶⁾の一番茶中期の茶葉の傾向とほぼ一致していた。

次に, 製造中の変化については, 荒茶製造中および荒茶をさらに加熱した場合に除々に減少し, S-2 では S-1 と比較して約 0.8 に, S-3 は約 0.7 となっていたが, S-4 は S-3 より若干多かった。しかし, 両者の差は標準偏差内であり, 荒茶を 130°C で 30 分加熱した場合と 170°C で 30 分加熱した場合では, 合計値としての脂肪酸の変化にははっきりした差は認められなかった。なお, 個々の脂肪酸別にみると, いずれも大体合計値

Table 1 Changes in the content of fatty acids in crude lipid fraction during manufacture of green tea

Sample*	Fatty acid						Total
	C _{16:0}	C _{16:1}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}	
S-1	856 ^{a)} ±10 ^{b)} (21.3) ^{c)}	37±2 (1.0)	59±5 (1.5)	315±4 (7.9)	869±13 (21.6)	1877±25 (46.7)	4013±48
S-2	685±93 (20.8)	32±7 (1.0)	50±6 (1.5)	257±29 (7.8)	706±82 (21.4)	1571±172 (47.5)	3301±388
S-3	571±38 (20.4)	28±2 (1.0)	42±7 (1.5)	224±23 (8.0)	589±15 (21.1)	1345±62 (48.0)	2799±147
S-4	616±6 (20.7)	31±1 (1.0)	40±1 (1.4)	245±2 (8.2)	634±13 (21.3)	1412±16 (47.4)	2978±33

* S-1: Fresh tea leaves, S-2: Green tea, S-3: Green tea prepared by heating at 130°C for 30 min, S-4: Green tea prepared by heating at 170°C for 30 min.

a): Content of fatty acid (mg/100 g of dry weight)

b): Standard deviation

c): % of total fatty acids

Fig. 1 Ratio of the content of fatty acids in crude lipid fraction in the each sample to that in the fresh tea leaves

S-2: Green tea, S-3: Green tea prepared by heating at 130°C for 30 min, S-4: Green tea prepared by heating at 170°C for 30 min

a): (Fatty acid content in the each sample)/(Fatty acid content in the fresh tea leaves)

の変化と似たような減少傾向を示しており、各脂肪酸の組成比ではあまり大きな変化は認められなかった。

3. CH 画分の脂肪酸の変化

CH 画分の分析結果を Table 2 に、その中の合計値および主要な 3 種の脂肪酸について生葉に対する各試料の比率を Fig. 2 に示した。この画分は、生葉の場合約 0.2% の脂肪酸が含まれており、S-3 までは CL 画分と同様に減少したが、S-4 では生葉よりも含量が多くなった。この点に関しては、脂質を高温で加熱した場合、遊離脂肪酸が生じることが報告されており⁹⁾、荒茶を 170°C

Table 2 Changes in the content of fatty acids in chloroform fraction during manufacture of green tea

Sample	Fatty acid					Total
	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	
S-1	44 ^{a)} ± 5 ^{b)} (22.3) ^{c)}	6 ± 1 (3.2)	24 ± 4 (12.4)	64 ± 6 (32.3)	59 ± 4 (29.8)	197 ± 20
S-2	40 ± 2 (22.5)	5 ± 1 (3.0)	23 ± 2 (13.0)	57 ± 1 (32.1)	52 ± 2 (29.5)	177 ± 5
S-3	34 ± 4 (22.9)	4 ± 1 (2.9)	20 ± 2 (13.3)	47 ± 1 (31.8)	43 ± 2 (29.1)	148 ± 3
S-4	59 ± 1 (23.6)	7 ± 1 (2.7)	30 ± 1 (12.0)	82 ± 1 (33.1)	71 ± 4 (28.6)	249 ± 5

S-1, S-2, S-3, S-4, a), b), c): The same as shown in Table 1

Fig. 2 Ratio of the content of fatty acids in chloroform fraction in the each sample to that in the fresh tea leaves

S-2, S-3, S-4, a): The same as shown in Fig. 1

で加熱した場合も、他の画分で分解したものの一部がこの画分に含まれるようになったとも考えられる。しかし、この画分に含まれる脂肪酸の含量は他の画分に比べてかなり少なく、そのため実験誤差も大きいと思われることから、今回の結果についてはさらに検討する必要があると考えられる。なお、個々の脂肪酸についてみた場合、いずれの脂肪酸でも合計値の減少傾向と似たような変化を示したため、組成比では大差なかった。

4. AC 画分の脂肪酸の変化

AC 画分の分析結果を Table 3 に、その中の合計値および主要な 3 種の脂肪酸について生葉に対する各試料の比率を Fig. 3 に示した。この画分には、生葉の場合、

Table 3 Changes in the content of fatty acids in acetone fraction during manufacture of green tea

Sample	Fatty acid					Total
	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	
S-1	164 ^{a)} ± 7 ^{b)} (11.5) ^{c)}	22 ± 3 (1.5)	48 ± 2 (3.4)	86 ± 5 (6.1)	1102 ± 22 (77.5)	1422 ± 12
S-2	138 ± 18 (11.4)	16 ± 1 (1.4)	36 ± 1 (3.0)	69 ± 11 (5.6)	954 ± 74 (78.6)	1213 ± 104
S-3	115 ± 2 (11.4)	13 ± 1 (1.3)	29 ± 4 (2.9)	53 ± 6 (5.2)	809 ± 24 (79.2)	1019 ± 25
S-4	148 ± 2 (13.5)	15 ± 1 (1.4)	37 ± 3 (3.4)	79 ± 6 (7.2)	821 ± 10 (74.5)	1100 ± 21

S-1, S-2, S-3, S-4, a), b), c): The same as shown in Table 1

Fig. 3 Ratio of the content of fatty acids in acetone fraction in the each sample to that in the fresh tea leaves

S-2, S-3, S-4, a): The same as shown in Fig. 1

約 1.4% の脂肪酸が含まれており、その約 80% が $C_{18:2}$ であった。AC 画分は前報¹⁰⁾で報告したとおり糖脂質画分であり、茶葉の糖脂質の構成脂肪酸のほとんどが $C_{18:2}$ であるという先の報告⁶⁾と一致していた。

脂肪酸含量の変化は、CL 画分の場合と似ており、荒茶製造中および荒茶をさらに加熱することにより徐々に減少した。なお、S-4 は S-3 よりやや多かったが、その差はほんのわずかで、又、この画分の大部分を占める $C_{18:2}$ は両者でほとんど差がなかったことから、この画分においても荒茶を 130°C で 30 分加熱した場合と、 170°C で 30 分加熱した場合とでは脂肪酸の変化にあまり差はないと考えるのが妥当と思われる。

5. ME 画分の脂肪酸の変化

ME 画分の分析結果を Table 4 に、その中の合計値および主要な 3 種の脂肪酸について、生葉に対する各試料の比率を Fig. 4 に示した。この画分には、生葉の場合、約 2.1% の脂肪酸が含まれており、その約 30% が $C_{18:2}$ で、 $C_{16:0}$ および $C_{18:3}$ が約 25% ずつ含まれていた。

製造中の変化については、脂肪酸の合計値でみた場合、S-1 に比べて S-2, S-3, S-4 と加熱程度が過度になるにつれて徐々に減少した。又、製造中の減少傾向は他の画分に比べてやや大きく、S-4 では生葉と比較した値は約 0.6 になっていた。この画分は、前報¹⁰⁾で報告したとおり、ホスファチジルコリンを中心とするリン脂質

Fig. 4 Ratio of the content of fatty acids in methanol fraction in the each sample to that in the fresh tea leaves

S-2, S-3, S-4, a): The same as shown in Fig. 1

Table 4 Changes in the content of fatty acids in methanol fraction during manufacture of green tea

Sample	Fatty acid						Total
	$C_{16:0}$	$C_{16:1}$	$C_{18:0}$	$C_{18:1}$	$C_{18:2}$	$C_{18:3}$	
S-1	548 ^{a)} ± 26 ^{b)} (25.8) ^{c)}	40 ± 5 (1.9)	26 ± 2 (1.2)	235 ± 1 (11.1)	693 ± 26 (32.6)	584 ± 18 (27.4)	2 126 ± 72
S-2	413 ± 39 (25.3)	27 ± 3 (1.7)	24 ± 1 (1.5)	193 ± 20 (11.9)	542 ± 51 (33.2)	431 ± 36 (26.4)	1 630 ± 150
S-3	342 ± 30 (25.6)	23 ± 2 (1.7)	19 ± 1 (1.5)	160 ± 11 (12.0)	438 ± 30 (32.8)	353 ± 27 (26.4)	1 335 ± 101
S-4	326 ± 10 (26.4)	22 ± 2 (1.8)	19 ± 1 (1.5)	154 ± 1 (12.5)	390 ± 8 (31.5)	325 ± 1 (26.3)	1 236 ± 24

S-1, S-2, S-3, S-4, a), b), c): The same as shown in Table 1

や、含硫脂質のスルホキノボシルジグリセリドからなっており、これらの脂質は緑茶製造中の減少傾向が大きいことから、脂肪酸の減少も大きかったと思われる。なお、個々の脂肪酸別でみた場合は、いずれも減少傾向が似ていたため組成比ではあまり差はなかった。

6. 全脂肪酸含量に占める各画分の割合の変化

各試料の主な脂肪酸について、CH画分、AC画分、ME画分の含量を合計し、それに対する各画分の割合を示したものが Fig. 5 である。それによると、いずれの脂肪酸も S-3 までは ME 画分が一部わずかに減少したが全体的にみて大差なかった。一方、S-3 と S-4 を比較した場合は、ME 画分は S-3 の方が大きく CH 画分は S-4 の方が大きかった。先に CL 画分の項で述べたように、全体的な含量変化をみた場合には S-3 と S-4 にあまり差異は認められなかったため、ME 画分の割合が S-4 で小さくなったことについては、130°C で加熱した場合より 170°C で加熱した場合は ME 画分の減少率が他画分の減少率より大きかったことによるとも考えられる。しかし、他の段階では明らかな差がなく、S-4 だけ ME 画分の割合が減少し CH 画分の割合が逆に若干大きくなっており、S-4 の今回の結果についてはまだ疑問が残る。このように、荒茶を 130°C で加熱する場合と 170°C で加熱する場合の脂肪酸の変化の程度については、今回の結果からは差があるかどうか明らかにできなかったため、今後さらに検討する必要があると思われる。

Fig. 5 Proportion of the each fraction to the sum of the three fractions

CH: Chloroform fraction, AC: Acetone fraction, ME: Methanol fraction

S-1, S-2, S-3, S-4: The same as shown in Table 1

a): Expressed as a percentage of the sum of the three fractions

7. $C_{18:2}$, $C_{18:3}$ と $C_{16:0}$ の比の変化

個々の脂肪酸の変化の差異をみるために、主要な脂肪酸のうちで一般に加熱により変化しやすいと考えられる $C_{18:2}$ と $C_{18:3}$ の合計値を、比較的安定と考えられる $C_{16:0}$ で割った結果が Fig. 6 である。それによると、いずれの画分でも S-1 から S-3 まではあまり差がなかった。一般に食品の加熱加工中には不飽和脂肪酸の変化の方が大きいことが知られているが、Fig. 6 の結果や前述の Fig. 1~4 の結果などから、S-1 から S-3 までの段階では主な不飽和脂肪酸と飽和脂肪酸の変化の程度にはっきりした差異は認められなかった。なお、S-3 と S-4 を比べた場合は、AC 画分のみ S-4 の方がやや小さくなったが、前述したとおり S-3 と S-4 の差についてはさらに検討する必要があると思われる。

以上の結果から、荒茶を製造する過程ならびに荒茶をさらに加熱加工する過程において、かなり脂肪酸が減少することが明らかになった。又、各画分別では、ME 画分の減少傾向が他の画分に比べて若干大きいことが認められた。

なお、低沸点カルボニル化合物が火入れによって増加し、加熱香気の一部と考えられるという報告¹³⁾があり、一方では、脂肪酸からアルデヒドなどカルボニル化合物が生成することが知られている⁴⁾ことから、これまでに述べてきたような緑茶製造中の脂肪酸の変化が、加熱香気など緑茶の香気にも何らかの影響を与えていることが考えられる。

Fig. 6 Ratio of the main unsaturated fatty acids to the main saturated fatty acid

S-1, S-2, S-3, S-4: The same as shown in Table 1

CH, AC, ME: The same as shown in Fig. 5

a): $(C_{18:2} + C_{18:3}) / (C_{16:0})$

要 約

(1) 緑茶製造中の脂肪酸の変化を明らかにするため、

生葉 (S-1), 荒茶 (S-2), 荒茶を 130°C で 30 分加熱したもの (S-3), 荒茶を 170°C で 30 分加熱したもの (S-4) の 4 種類の試料を調製し, 粗脂質画分 (CL 画分) とそれをシリカゲルカラムで分離したクロロホルム画分 (CH 画分), アセトン画分 (AC 画分), メタノール画分 (ME 画分) について, 脂肪酸を測定した。

(2) CL 画分では, 荒茶製造中および荒茶をさらに加熱した場合に徐々に減少し, S-2 では S-1 と比較して約 0.8 に, S-3 では約 0.7 になっていた。一方, 各脂肪酸別にみた場合は, いずれも減少傾向が似たような程度であったため, 組成比ではあまり差がなかった。

(3) CH 画分, AC 画分, ME 画分とも荒茶製造中および荒茶を加熱することにより減少した。又, ME 画分の減少傾向が他の画分に比べて若干大きいことが認められた。なお, S-3 と S-4 の差についてははっきりした傾向はつかめなかった。

(4) $C_{18:2}$ と $C_{18:3}$ の合計値を $C_{16:0}$ で割った場合, S-1, S-2, S-3 の間にあまり差がなかった。又, S-3 と S-4 を比較した場合も, AC 画分のみ若干 S-4 の方が小さかったが他はあまり差はなかった。

終わりに, 本実験を行うにあたり, 御指導を頂いた当試験場古谷弘三前場長, 坂本 裕製茶部長に深く感謝致します。

文 献

- 1) 松尾 登: 栄養と食糧, **25**, 579 (1972).
- 2) 金田尚志: 化学と生物, **10**, 250 (1972).
- 3) NAWAR, W.W.: *J. Agric. Food Chem.*, **17**, 18 (1969).
- 4) FORSS, D.A.: *J. Agric. Food Chem.*, **17**, 681 (1969).
- 5) 藤巻正生・倉田忠男: 化学と生物, **9**, 85 (1971).
- 6) 阿南豊正・中川致之: 日食工誌, **24**, 305 (1977).
- 7) SAIJYO, R. and TAKEO, T.: *Plant & Cell Physiol.*, **13**, 991 (1972).
- 8) GONZALEZ, J. G., COGGON, P. and SANDERSON, G. W.: *J. Food Sci.*, **37**, 797 (1972).
- 9) STAGG, G. V.: *J. Sci. Food Agric.*, **25**, 1015 (1974).
- 10) 阿南豊正・高柳 博次・池ヶ谷賢次郎・中川 致之: 日食工誌, **29**, 513 (1982).
- 11) FOLCH, J., LEES, M. and STANLAY, G. H. S.: *J. Biol. Chem.*, **226**, 497 (1957).
- 12) MILLS, G. L., MYERS, R. B. and CANTINO, E. C.: *Phytochemistry*, **13**, 2653 (1974).
- 13) 上田悦範・南出隆久・緒方邦安・釜田英雄: 日食工誌, **17**, 49 (1967).
- 14) 高橋善弥太・田中 圭・深沢俊男: 別冊 蛋白質・核酸・酵素, 生物化学実験法 VII (共立出版, 東京), p. 49 (1967).
- 15) 原 利男・久保田悦郎: 日食工誌, **16**, 145 (1969).

(昭和 57 年 4 月 23 日受理)

新 刊 紹 介

Nucleosides & Nucleotides

核酸に関する新しい雑誌で, Marcel Dekker 社より発行された。チーフエディターは J. A. SECRIST III で, 地域エディターとして我国の北大薬学部 T. UEDA が就任している。講読料は, 団体 75.00 ドル, 個人 37.50 ドルである。投稿は, 地域エディターに原稿を送付すれば良い。