HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	新規評価方法OASIS を活用した緑茶香気分析に関する研究
Author(s)	服部, 祥治; HATTORI, Shoji
Citation	北海道大学大学院農学研究科邦文紀要, 28(1), 85-120
Issue Date	2006-02-27
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/8282
Type	departmental bulletin paper
File Information	28(1)_2.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

北大農研邦文紀要 28(1)：85～120，2006

新規評価方法 OASIS を活用した緑茶香気分析に関する研究*

服　部　祥　治
（曽田香料株式会社）

Study of New Approach for Evaluation of Japanese Green Tea Using OASIS Method.

Shoji HATTORI
(Soda Aromatic Co., Ltd.)

第 I 章　序　　論

A．研究の背景

お茶は，コーヒーと並んで世界中の人々に親しまれている嗜好性飲料である。現在では，ペットボトルや缶飲料の形で私達の生活にも定着しており，その中でも緑茶市場は，ここ数年で急成長している。この緑茶が好まれている理由に，最近の健康ブームだけでなくその特有の香気があげられる。特に市販緑茶飲料においては，フレーバーによる香り付けをおこなうことで製品の差別化がおこなわれるようになり，特徴的なフレーバーの開発が望まれている。そこで，特色ある緑茶フレーバーの開発を念頭に置き研究することとした。以下，これまで茶に関しておこなわれてきたさまざまな研究について述べる。

B．既往の研究

a．茶の種類について

チャ*[1]（*Camellia sinensis* L.）はツバキ科の植物で，中国原産の常緑低木である。現在では，その葉形状，樹木高から，大葉系（var. *assamica*）と小葉系（var. *sinensis*）に大別される。その原種は一つという説が有力で，中国の雲南地方からインドのアッサム山岳丘陵地帯が起源地と推定されている[1]。インドや中国南部などの熱帯地方では大葉系が，中国東部や日本などの温帯地方では小葉形が主に分布している。現在，日本で栽培されているチャは 63 品種[2] あり，それぞれ気候，風土に対する適応性および病害に対する抵抗性が異なっている。茶は，チャの葉を主原料にしている飲料で，発酵度の違いにより不発酵茶（緑茶），半発酵茶（ウーロン茶等），発酵茶（紅茶），後発酵茶（プアール茶等）の種類がある。これらの香気は非常に異なっているが，その主な原因は，原料となるチャ樹の品種のみに起因するものではなく，茶葉の発酵程度による違いもある。発酵という言葉は一般的にはアルコール発酵，乳酸発酵のように食品製造のうち微生物が関与する工程に用いられるが，茶の製造工程で用いられる「発酵」という用語は，後発酵茶を除きそれとは異なり，チャ葉自身が持つ酵素による酸化，分解等の成分変化を示している。スキーム 1 に各茶の加工概略を示した[3]。発酵茶である紅茶は，摘採したチャの葉を一晩程度放置して萎凋させた後，揉捻という操作により組織を破壊し，チャ葉自らの持つ酵素の働きによる特有の色と香りを発現させたものである。ウーロン茶等の半発酵茶は，摘採したチャの葉を適度に萎凋させて花のような香りを生成させた後に乾燥したものである。不発酵茶である緑茶は摘採したチャの葉をただちに蒸すかあるいは炒って酵素を失活させ（この工程を殺青と呼ぶ），その後に乾燥させたものである。日本で最も多く飲用されている緑茶は蒸し製の不発酵茶である。一方茶葉を炒ること

*本論文は，北海道大学博士論文（2005 年）である。
*[1]本論文では以下のように述語を区別した。
茶：乾燥処理後の茶　チャ：チャ植物

紅茶

萎凋	→	揉捻	→	ふるい分け	→	発酵	→	(荒)乾燥	→	(本)乾燥
40°C		2回				20〜26°C		60°C		75°C
数時間		40分				3時間		15分		20分

烏龍茶

日光萎凋	→	室内萎凋	→	釜炒り	→	揉捻	→	乾燥
30〜50分		4〜7時間		3分		5〜12分		80〜90°C
3〜5回撹拌		1時間毎撹拌						60〜80分

緑茶（煎茶）

蒸熱	→	粗揉	→	揉捻	→	中揉	→	精揉	→	乾燥
98°C		75°C		10分		30分		30〜40分		70〜90°C
1分		40分								30〜40分

スキーム1　茶の製造加工概略

による殺青し，製造される緑茶は釜炒り茶と呼ばれ，中国で飲用される緑茶はほとんど釜炒り茶である。以上のような製造工程の違いから明らかなように，新鮮なチャの葉の香りを保持することを重視して製造されるのが緑茶であり，逆にチャが持つ酵素によりチャの葉の香りを積極的に変化させて製造するものが紅茶，半発酵茶である。

b．茶の香気成分に関する研究について

茶の香りの成分に関しては，古くから多くの研究者達の研究対象とされてきた。山西[4]の総説によると，初期の研究では，Mulder，高山，古在によってチャ生葉の水蒸気蒸留で精油を得たのみであった。Deussは紅茶精油から初めてmethyl salicylateを分離同定した。1933年から1940年にかけては，武居により緑茶，山本により紅茶について本格的かつ大規模な香気研究がおこなわれた。彼らの研究は，水蒸気蒸留によって得られた精油を化学処理によって分画し，酸化，還元，誘導体化など多くの手段を重ねたもので，精油成分の60〜70％を占める32成分の香気成分が解明された。しかし，これらの物質のほとんどが緑茶，紅茶に共通のものであり，それぞれの香気の本質については，まだ不明であった。その後，山西[5]は緑茶に特徴的な青のり様の香気成分としてdimethyl sulfideを同定した。1960年代に入り，ガスクロマトグラフ(GC)が導入され，茶の香りの研究も長足の進歩を遂げ，新しい成分が次々と発見されるようになった。欧米でも紅茶の香り成分について多くの新しい香気成分が発見され，報告された新同定化合物の数は137成分に及んだ。更に質量分析計（MS），赤外分光高度計（IR）も著しく性能が高まり，GC直結のMS，IR，(GC/MS，GC/FTIR)が使われるようになった。また，GCカラムもキャピラリーカラムの登場により著しく進歩し，微量の成分も単離同定できるようになった。このような微量分析機器の進歩発達に伴い茶の香りの研究も非常に容易になり，わずかの茶試料でも香気成分の分析がおこなえるようになった。このため，種々の製茶の香気特性を調べたり[6~24]，製茶方法の違いによる香気発生機構を研究することも容易になった。山口ら[25]は，茶生葉では摘採後に*(Z)*-3-hexenol，linalool，geraniol，benzyl alcohol，2-phenylethyl alcohol，benzyl cyanide，*(E)*-nerolidol，indole等の増加が見られたことから，萎凋香とこれらの香気成分が何らかの関係があるとした。また，煎茶は最終的に火入れ操作をおこなって乾燥させるが，原ら[26,27]と川上と山西[28]はその時に，2-methylpyrazine，2,5-dimethylpyrazine等のピラジン類，2-acetylpyrrole等のピロール類，furfural等が増加することを確認した。YamaguchiとShibamoto[29]は玉露等の被覆栽培された茶に特有な「青海苔様」の香りについて研究をおこ

ない，dimethyl sulfide の他に α-ionone，β-ionone などのヨノン系化合物が多量に含まれていることを明らかにした。製茶工程中の経時変化としては，山口ら[30] が煎茶について調査しており，チャ生葉の摘採直後の蒸熱工程により酵素が速やかに失活され，また加熱されることで多くの香気成分の量が減少するが，特に *(Z)*-3-hexenol，1-penten-3-ol の減少が著しく，これらの成分がいわゆる青臭みに関連していると思われることから，蒸熱の工程には過度な青臭みを和らげる働きがあることを明らかにした。その後の工程は 40°C以下の品温でもみながらチャ葉を乾燥させる工程で，蒸熱ほど大きな成分変動は見られなかった。製品保存中における香気成分の研究においては，原[31] は新茶では *(Z)*-3-hexenyl hexanoate が多く，長期貯蔵により 1-penten-3-ol，*(Z)*-2-penten-1-ol，*(E,E)*-2,4-heptadienal 等のアルコール，アルデヒド類が増加すると報告している。Horita ら[32~34] は，茶に光を照射した場合，多量の bovolide が生成し著しい香気の劣化が生じると報告している。この他，Nose ら[35] は高沸点成分について研究をおこない，α-cubebene，α-copaene などのセスキテルペン炭化水素を主に同定した。

近年は立体異性体についての研究と香気発生機構とくに前駆体として配糖体などに研究の方向が向けられている。Kobayashi and Kawakami[36]，Wong and Kubota[37] は，立体異性体間で香りの閾値が著しく異なる methyl jasmonate と methyl epijasmonate を各種製茶から見出した。配糖体に関する研究は，紅茶，半発酵茶について研究されており，現在までのところ，チャの香気成分配糖体として主に β-primeveroside（6-*O*-β-D-xylopyranosyl β-D-glucopyranoside），6-*O*-β-D-apiofuranosyl β-D-glucopyranoside，β-D-glucopyranoside および β-vicianoside（6-*O*-α-arabinopyranosyl β-D-glucopyranoside）が存在することがわかっており，糖類に結合している香気成分としては，methyl salicylate，*(Z)*-3-hexenol，linalool，geraniol，benzyl alcohol，2-phenylethyl alcohol，*(E)*-linalool oxide（pyranoid），*(Z)*-linalool oxide（pyranoid），*(E)*-linalool oxide（furanoid），*(Z)*-linalool oxide（furanoid）等が確認されている[38~48]。従来これらの配糖体の確認は酸，酵素等による加水分解の後，生成する揮発性成分を GC，GC/MS で同定していたが，最近王ら[49] は香気成分配糖体をトリフルオロアセチル（TFA）誘導体化して直接 GC/MS 分析する方法により，紅茶製造工程中におけるそれらの量的変化を報告している。この報告によればチャ生葉中の香気成分配糖体の総量は乾物 100 g 中で 100 mg を超えており，これはチャに含まれる成分として決して微量ではないとしている。また，最も香気成分配糖体が減少するのは揉捻工程であり，特に β-primeveroside を中心とする二糖類の配糖体が香気生成に大きく寄与していると報告した。緑茶においては，その初期工程で酵素を失活させるため，香気生成は紅茶やウーロン茶に見られるような酵素反応ではなく，その後の揉捻，乾燥工程によるものと考えられる。Kawakami[50] は，β-カロテンの加熱分解物からヨノン系化合物を確認している。しかしながら，チャ内に多く含まれる配糖体を加熱した場合の生成物についての報告例はない。配糖体の熱分解については，Tazaki ら[51] がナス科の植物の葉，特にタバコに含まれるイオノール配糖体を単離・構造解析するとともに，その熱分解反応生成物の分析を報告している。

こうして 1970 年代から 1990 年代に新しく茶の香気成分として報告された化合物の数は，500 を超えるほどとなり，茶の香気成分は，ほとんど同定しつくされたように思われた（2005 年 3 月において緑茶については 605 成分）。この頃は茶に限らず，香気分析において分析技術の向上とともに GC 上に表れる成分を微量成分に至るまで分離同定することで，タバコやコーヒーをはじめとしていろいろな嗜好品，加工食品，その素材などから，次々と何百種類に及ぶ揮発性成分を確認された。これは各化合物の閾値に大きな差があるため，いかなる超微量成分といえども見逃せないという考えに基づいていた。しかし，これら成分のうちどの成分が香気全体のニュアンスに大きく寄与しているのか，あるいは各成分の寄与度については不明であった。近年の香りの研究において，Grosch[52] によって提

唱されたAroma Extract Dilution Analysis（AEDA）は，個々の食品中に含まれる特徴香気成分の検索をおこなうときに広く利用されている[53~57]。その原理は，香気抽出物を段階的に希釈し順次一定容量をGCに導入し，分離流出した成分をGCの出口で嗅ぐことにより，Flavor Diluted (FD) ファクターと呼ばれる各成分の匂い強度を決定し縦軸にFDファクター，横軸にGCの保持時間をとったアロマグラムを作っていく方法である(図1)。緑茶においてもこの方法を使い，Guth and Grosch[58]が粉末緑茶から，Kumazawa and Masuda[59]は煎茶から得た香気濃縮物により調査をおこない，その結果香気への寄与成分としてindole，methyl epi-jasmonate，hexanoic acid，eugenol等を同定している。しかし，リンゴ[60]，ブルーベリー[61]，ゆでた中国栗[62]の香気分析の特徴成分検索にこの方法が用いられたが，その結果は違う植物を分析したはずなのに，それぞれの特徴成分としてβ-damascenoneや(2-methylthio) propanalなどの閾値の低い同じ成分が検出された。この原因は，特徴香気成分を分析するのに，各成分の閾値を指標としたAEDAでは，マスキングやエンハンスに代表される香気成分の相互作用を無視しているためと考えられる。つまり，AEDAは，GCにより分離された閾値の低い成分の検索という点に優れている一方，分離された香気成分が元の原材料の香調にどう影響しているかは明らかにできないためである。

c．緑茶の官能評価方法について

食品の官能評価により食品の香気特性をつかむことは，フレーバー作りにおいて重要である[63~67]。緑茶における官能評価は，その市場でおこなわれている官能検査（審査）が重視されている。その中において香気は重要な審査項目のひとつである。審査の必要上茶の香気を表す

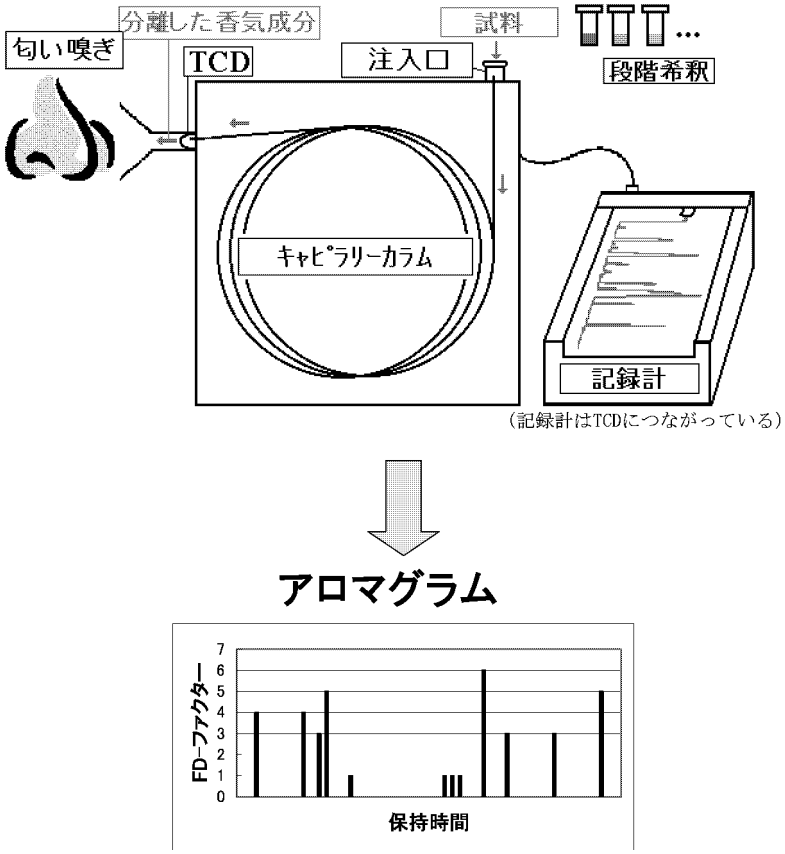


図1　AEDAの概略図

用語は古くから定められており，次のような多くの表現が用いられている[68]。新鮮香，みる芽香（若い葉の香り），温和，火香（香ばしい香り，荒茶では過度の場合欠点），葉傷み臭，むれ臭，茎臭，焦げ臭，こわ葉臭（硬い葉の香り），青臭，萎凋香（発酵した葉の香り），かぶせ風（玉露風の香り，普通の煎茶では欠点），油臭，煙臭，異臭，変質臭，古茶臭，湿り臭，夏茶臭，移り香。これらの用語のうち「新鮮香，みる芽香，温和」はチャ葉の良好な香りを示すものであり，その他は原料となるチャ葉の品質や製造工程でのミス，不適切な保存等に由来する欠点に対する用語である。このような多種類の香りを判別するにはかなりの熟練が必要である。また，これらの香り用語に関して，審査員間でどの程度の一致が見られるかについて詳細なデータは無いが，重松ら[69]の報告によれば専門の審査員であればある程度イメージが一致するとされている。しかし，これらの官能評価用語は多種類にわたり，また品質管理を目的としているため，フレーバー作りを目的としたときに緑茶の香気特性を把握するには向いていないと考えられる。

C．本論文の目的

以上の既往の研究報告を踏まえて著者は，特色ある緑茶フレーバーの開発のために必要な分析技術開発と分析データを得ることを目的として本研究に着手した。具体的には，以下の三点に焦点を絞り研究をおこなった。

①緑茶香気は産地ごとで大きく異なるため産地ごとの香気成分の比較。

②特徴香気を検索するための新たな香気評価法の開発。

③緑茶に特有な製造工程に着目し，それに由来する成分としてテルペン配糖体由来の化合物が生成するメカニズムの解明。

D．本論文の構成

本論文は，序論（第Ⅰ章），本論（第Ⅱ章～第Ⅴ章）および総括（第Ⅵ章）にて構成されている。以下に本論文の構成と各章の概要および得られた研究の成果を列挙する。

第Ⅰ章では，はじめに関連研究領域の既往研究について述べ，そこから抽出される課題から本論文を位置づける。

第Ⅱ章では，各産地の茶葉の分析と官能評価に関する研究を述べる。その概要は，緑茶葉は日本各地で生産されており，産地ごとにその風味は大きく違うため，産地の異なる茶葉の香気比較分析と定量性のある官能評価の検討をおこなった。その結果，各産地に多く含まれていた成分の香調と官能評価で見られた特徴が一致した。

第Ⅲ章では，特徴香気成分を発見するための GC-sniffing 新手法（OASIS）の開発に関する研究について述べる。その概要は，緑茶に含まれる特徴香気成分を評価するにあたり，GC により分離した緑茶揮発性成分と緑茶中より発生する香気を連続的に混合し，その混合香気を嗅ぐことで各成分を評価する方法 Original Aroma Simultaneously Input to the Sniffing port method（OASIS）を開発し，この手法を用いて緑茶香気の代表的な成分について，AEDA との比較をおこなった。その結果，FD ファクターの低い decanal，*(Z)*-3-hexenol，*β*-ionone はそれぞれ，緑茶の爽快感，青み，甘みをエンハンスするような効果があり，FD ファクターの高い geraniol，indole はそれぞれ，緑茶の青み，華やかさをエンハンスするような効果があった。いずれもこれらの効果は AEDA では見られず，また実際に賦香したところ OASIS と同様の結果が得られた。

第Ⅳ章では，新規有効成分の検索に関する研究について述べる。その概要は，OASIS により注目したクロマトグラム上の 11ヶ所の成分について GC/MS 分析したところ，ピークが小さくてマススペクトルが得られなかったものがあったため，大量処理と酸，アルカリ処理による目的成分の濃縮をおこない，以下の 11 成分を同定した。*(Z)*-1,5-octadien-3-one，4-mercapto-4-methyl-2-pentanone，3-methylnonane-2,4-dione，geraniol，decanal，*(Z)*-3-hexenol は，緑茶中のグリーンノートを強調した。2-acetylpyrrole と 2-ethyl-3,5-dimethylpyrazine，2-acetyl-3,5-dimethylpyrazine は，緑茶中のローストノートを強調した。indole は，緑茶全体を強調した。*β*-ionone は，緑茶中

のスイートノートを強調した。これらの成分のうち，2-acetyl-3,5-dimethylpyrazine は，茶において初めて確認された成分である。

第Ⅴ章では，テルペン配糖体の熱分解生成物に関する研究について述べる。その概要は，緑茶の香気生成は β-カロテンの加熱分解やメイラード反応などによっても生成することが知られているが，不明な点も多いため，茶葉の不揮発性画分を加熱することで香気が生成することを発見し，さらに緑茶の重要な香気物質である linalool の配糖体をモデル化合物にして，熱分解をしたところ (6*Z*)-2,6-dimethyl-2,6-octadiene と (6*E*)-2,6-dimethyl-2,6-octadiene が生成した。これらの化合物は，本研究において緑茶の揮発性成分中にも含まれていることが初めて確認された。

第II章　各産地の茶葉の分析と官能評価について

A．本章の目的

緑茶は日本各地で生産加工されており，産地ごとにその風味は大きく異なる。緑茶は，その製法によって大きく蒸し製と釜炒り製に分けられる（図２）。このうち，蒸し製緑茶が緑茶全体の約 85％を占めている[70]。近年，ペットボトルの普及や緑茶のもつ機能性成分などにより，緑茶に対する消費者の関心は高まり，自分の嗜好に合った緑茶を探している[71]。そのため，消費者の嗜好に合った緑茶作りは重要で，市販緑茶飲料には香料を入れることで製品の特徴づけをしているものも多い。一方，緑茶の香気に関する比較分析は，違う品種間や品質間においての報告例はある[72~73]。しかしながら，日本で生産されている緑茶のうち 76％はヤブキタ種で[74]，製品の香気差は品種の差より産地ごとの天候や栽培法，加工法によるものと考えられる。また，Shimoda and Shigematsu[75] は，緑茶の等級別による香気とその官能評価との関連性を報告しているが，その評価用語は「みる芽香」や「萎凋香」など，一般的にはなじみの薄いものもある。また，品質管理を目的としているため欠点用語も多く，これらの用語ではフレーバー作り

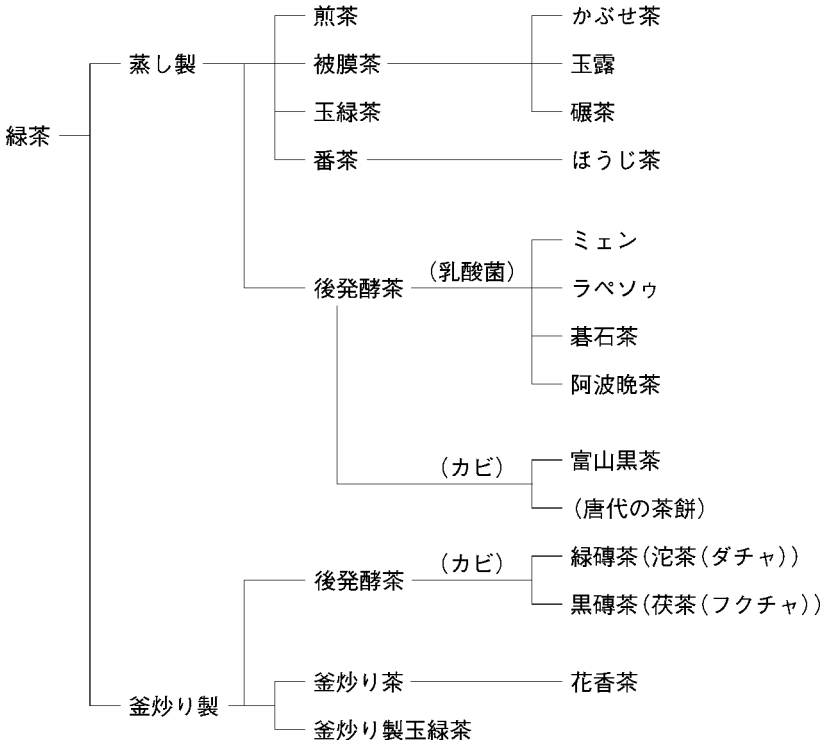


図２　緑茶の加工法による分類と種類

を目的とした場合，その香気特性を把握するのには向いていない。そこで，ヤブキタ種の主要７産地で作られた蒸し製の緑茶について，それらの特徴をつかむことを目的として定量的官能評価と香気成分の比較をおこなった。

B．材料と方法

ａ．緑　茶　葉

実験に使用した緑茶は，都内の茶葉販売専門店で購入したヤブキタ種で，産地と製造工程がわかっている 2002 年産のものを使用した。一般的に茶葉の名前は産地名が使われており，今回使用した茶葉名とその特徴を以下に示す。「狭山茶」は，埼玉県狭山市で生産されたもので，「狭山火入れ」といわれる強い火入れをおこなったものである。「牧ノ原茶」は，静岡県でも一番の生産量を誇る牧の原台地で生産されたものでしっかり精柔することで葉の形を細くよったものである。「鈴鹿茶」は，三重県鈴鹿山脈のふもとで，収穫の一週間前に葉を黒い布で覆い生産されたもので，浅蒸しの茶である。「和束茶」は，宇治煎茶の産地で有名な京都府和束町で生産されたもので葉肉が厚いためしっかり柔捻し葉を太くよったものである。「月ヶ瀬茶」は，奈良県月ヶ瀬村で生産されたもので，山間冷涼地で日照時間も短く茶樹の生育がゆっくり進むため和束茶に比べて葉肉が薄い。「嬉野茶」は，佐賀県嬉野市で生産され，精揉工程を省くことで茶葉の形が丸くなり，その香味が出るように強く火入れをおこなったものである。「都城茶」は，霧で有名な宮崎県都城盆地で生産されたもので，産毛に包まれた柔らかい芯が特徴である。

ｂ．官能評価方法

緑茶のそれぞれの特徴を明らかにするためにスコアリング法をおこなった[76~78]。沸騰させたイオン交換水（東レ社　TORAYPURE　LV-10T）300 mL を 70℃まで冷まし，あらかじめ 4.5 g の緑茶葉を入れた 500 mL 容ビーカーに加えラップでふたをし，3 分後，濾紙（ADVANTEC 社　No.2）により茶葉を取り除いた。得られた抽出液（約 200 mL）を，保温の目的で 60℃のお湯を張ったバット内にビーカーごと置いた。評価者は，日常的に茶の研究開発を業務としている専門家のうち，30～40 歳代の男性 4 人と女性 1 人の 5 人でおこなった。評価者には，サンプル名がわからないようにサンプル名を任意の 3 桁の数字であらわした。また，ファーストサンプルバイアス（初めに評価したサンプルの特徴が次のサンプルを評価する時に影響を及ぼすこと）を避けるために，飲む順番は香味のバランスが取れていた和束を（評価者には和束ということを伏せたまま）最初に飲むよう指示し，次に無作為な順序で 7 サンプル全てを評価した。途中の口すすぎ用には水を用いた。評価用語の選定は，7 サンプルの緑茶を飲み比べてそれぞれの特徴を話し合い，類似した評価用語はまとめ今回の評価に適切と思われる 8 項目に絞り込んだ（「若葉」「重たいグリーン」「海苔様」「甘み」「花香」「焙煎臭」「清涼感」「深蒸し」）。つぎに，評価用語のすり合わせをよりスムーズにするために，これらの評価項目を連想する化合物や精油をあげお互いに評価用語を十分に認識し合った。評価強度は，上記の 8 項目を 5 段階尺度法にて実施した（1 は「ほとんどない」，5 は「かなりある」）。評価後，話し合いによりサンプルそれぞれの強度を決め，評価強度に個人差が無くなるまでを訓練期間とした。その後，官能評価をおこなった。

ｃ．緑茶揮発成分の単離

沸騰させたイオン交換水（東レ社　TORAYPURE LV-10T）1 L を 60℃まで冷まし，あらかじめ 60 g の緑茶葉を入れた 2 L 容ビーカーに加えラップでふたをし 5 分後，濾紙（ADVANTEC 社　No.2）により茶葉を取り除いた。得られた抽出液（約 700 mL）を，流水中で 30℃まで冷やしエバポレーター（東京理科研　EYELA）による減圧水蒸気蒸留をおこなった（加熱温度 40℃，減圧度 20 mmHg）。得られた留出液（約 500 mL）は，10 g の Porapak Q（Waters 社　mesh：50/80）を詰めたオープン系のガラスカラム（直径 30 mm×長さ 400 mm）を通過させ香気成分を保持させた。カラムに保持された香気成分は，50 mL のジエチルエーテルで溶出し，エーテル溶出液に無水硫酸マグネシウムを 5 g 加え脱水し，濾紙（ADVANTEC 社　No.2）で濾過後，エバポレーターによりジエチルエーテルを留去し窒素

気流下で約10 μLになるまで濃縮した。以上の操作を3回繰り返し，計180 gの茶葉を処理した。

d．GCおよびGC/MS分析条件

GC分析には，ガスクロマトグラフ（Agilent社　6890）に検出器としてFIDをつけたものを使用した。カラムはTC-Wax（GLサイエンス社）長さ30 m，内径0.25 mm，膜厚0.25 μmのものを使用した。オーブン条件は，60℃から250℃まで5 ℃/分昇温でおこない，注入口は250℃，FIDは280℃で，スプリット比は100：1で注入量は0.2 μLとした。GC/MS分析には，ガスクロマトグラフ（Agilent社　6890）とマススペクトロメーター（Agilent社　5973）を連結したものを使用した。カラムとオーブン条件，スプリット比，注入量はGC条件と同じにした。

e．化合物の同定

化合物の同定は，標準品のKovats Indexとマススペクトルを用いておこなった。

f．統計解析

統計解析には，SPSS　version　11.5ソフト（SPSS Japan Inc.）を使った。サンプル間の差をみるため項目ごとに一元配置の分散分析をおこない，帰無仮説H_0（サンプル間に差がない）については，有意確率（有意水準5％）で検定した。さらにDuncanの多重比較法を用いてどのサンプル間に差が認められたかの検定をおこなった。また，全体の香気成分の特徴を把握するためにGCにより得られた香気成分の含有量を使って，主成分分析をおこない各主成分の寄与率とともにマッピングした。

C．結果と考察

a．各産地の官能評価結果について

評価結果について，標準偏差を求めて評価の一致度を検定した。3回目の標準偏差がすべての項目で1未満となり，評価が一致したと考え訓練期間を終了した。次に官能評価をおこなった。その結果を一元配置の分散分析することで，各評価項目においてサンプル間で差が見られたかどうかを検定した。その結果，すべての項目において，有意水準$\alpha=0.05$より小さくなったため，帰無仮説H_0は棄却（すなわち，グループ間に差がある）された。次にDuncanの多重比較法を用いてどのサンプル間に差が認められたかの検定をおこなった。表1に官能評価結果の平均値とDuncanの多重比較法の検定結果を示した。表中のアルファベットはどのサンプル間に差が認められたかを示したものであり，同じ文字のついたサンプル間には差は認められないことを表している。狭山は焙煎臭を持ち，牧ノ原は重いグリーン臭と深蒸し臭を持ち，鈴鹿は海苔様であった。和束は花香を持ち，月ヶ瀬は若葉臭を持ち，嬉野は甘みを持ち，都城は若葉臭と清涼感を持っていた。

b．各産地の香気成分について

減圧水蒸気蒸留により調製された香気濃縮物は，それぞれの緑茶の特徴香気を有していた。GCとGC/MS分析により，標準品のKovats Indexとマススペクトルから75成分を同定した（表2）。アルコール類20成分，アルデヒド類11成分，エステル類4成分，ケトン類13成分，含窒素化合物11成分，酸類10成分，ラクトン6成分が含まれていた。同定した成分中に

表1　官能評価結果の平均とDuncanの多重比較法の検定結果

サンプル名	若葉	重たいグリーン	海苔様	清涼感	花香	焙煎臭	深蒸し	甘み
狭山	1.2^{c}	1.2^{e}	1.2^{d}	1.0^{d}	1.2^{d}	5.0^{a}	1.2^{c}	1.6^{e}
牧ノ原	3.6^{ab}	4.6^{a}	3.0^{c}	2.2^{c}	2.8^{bc}	3.2^{b}	4.6^{a}	1.8^{de}
鈴鹿	3.4^{ab}	2.2^{d}	4.2^{ab}	3.6^{b}	2.8^{bc}	3.2^{b}	2.6^{b}	2.6^{cde}
和束	3.4^{ab}	3.0^{bcd}	3.2^{bc}	3.0^{bc}	4.2^{a}	2.8^{b}	3.2^{b}	3.8^{ab}
月ヶ瀬	4.2^{a}	3.2^{bc}	3.2^{bc}	3.6^{b}	3.8^{ab}	3.0^{b}	3.2^{b}	3.4^{bc}
嬉野	2.6^{b}	2.4^{cd}	4.6^{a}	3.8^{ab}	3.4^{ab}	1.4^{c}	3.6^{ab}	4.6^{a}
都城	4.0^{a}	3.4^{b}	2.2^{c}	4.6^{a}	2.2^{cd}	2.8^{b}	2.6^{b}	2.8^{bcd}

$^{a-e}$：検定の結果，各評価項目で差が見られないものに同じアルファベットを記している

表 2　各サンプルに含まれる成分の比較（GC%）

No.	Compound	狭山	牧ノ原	鈴鹿	和束	月ヶ瀬	嬉野	都城
	Alcohols	26.29	29.31	25.03	23.56	29.97	18.80	36.32
A01	1-penten-3-ol	3.69	1.18	3.49	0.70	7.18	1.29	1.32
A02	amyl alcohol	1.10	2.01	1.09	0.58	1.45	0.75	0.94
A03	(*Z*)-2-penten-1-ol	4.46	0.78	6.17	0.99	9.47	1.38	2.25
A04	hexanol	0.29	0.76	0.78	0.55	0.23	0.36	0.65
A05	(*Z*)-3-hexenol	2.64	2.25	1.54	1.75	0.90	2.65	3.78
A06	(*E*)-linalool oxide (furanoid)	n. d.	1.24	0.57	0.29	0.33	2.07	0.42
A07	1-octen-3-ol	0.14	tr.	0.24	0.13	0.29	0.08	0.12
A08	(*Z*)-linalool oxide (furanoid)	0.33	0.83	0.28	0.45	0.25	0.78	0.56
A09	2-ethylhexanol	n. d.	0.36	n. d.	tr.	tr.	tr.	tr.
A10	linalool	0.79	0.33	0.92	0.61	0.88	0.63	0.90
A11	octanol	0.42	0.72	0.74	0.51	n. d.	0.17	0.60
A12	3,7-dimethyl-1,5,7-octatrien-3-ol	0.26	0.33	n. d.	tr.	n. d.	0.15	tr.
A13	(*E*)-linalool oxide (pyranoid)	0.49	0.41	0.85	0.60	n. d.	0.20	0.84
A14	(*Z*)-linalool oxide (pyranoid)	1.14	3.33	1.13	2.54	0.67	1.77	3.22
A15	geraniol	0.66	1.01	0.92	1.09	1.02	0.88	1.48
A16	benzyl alcohol	6.43	7.53	3.51	8.96	4.26	4.52	15.09
A17	phenylethyl alcohol	0.92	1.01	1.84	1.21	1.49	0.56	1.81
A18	phenol	0.14	3.16	0.48	0.50	0.21	0.25	0.59
A19	(*E*)-nerolidol	1.25	0.64	tr.	1.14	1.34	0.30	0.65
A20	4-vinylphenol	1.15	1.42	0.49	0.96	n. d.	tr.	1.08
	Aldehydes	10.94	4.97	7.82	2.24	8.94	3.26	2.25
B01	hexanal	0.33	tr.	tr.	tr.	tr.	n. d.	tr.
B02	heptanal	tr.	tr.	tr.	0.14	tr.	n. d.	tr.
B03	nonanal	tr.	tr.	0.25	0.14	tr.	n. d.	tr.
B04	furfural	3.33	0.65	n. d.	tr.	1.44	0.93	n. d.
B05	(*E,E*)-2,4-heptadienal	2.96	0.38	2.32	0.55	2.21	0.71	0.38
B06	benzaldehyde	1.29	2.20	0.50	0.52	1.55	0.87	tr.
B07	β-cyclocitral	0.96	0.36	0.96	0.25	1.20	0.25	0.71
B08	phenylacetaldehyde	1.67	0.36	1.46	0.64	1.92	0.51	0.24
B09	safranal	tr.	0.34	n. d.	tr.	tr.	tr.	tr.
B10	2,5-dimethylbenzaldehyde	n. d.	tr.	tr.	tr.	0.28	n. d.	tr.
B11	cinnamaldehyde	0.40	0.69	2.34	tr.	0.35	tr.	0.92
	Esters	0.96	1.80	0.66	1.36	0.94	1.45	0.92
C01	methyl salicylate	0.21	tr.	tr.	0.19	0.43	0.37	tr.
C02	methyl anthranilate	0.41	0.52	0.35	0.38	0.42	0.12	0.17
C03	methyl jasmonate	0.35	0.89	0.30	0.80	0.09	0.95	0.75
C04	benzyl salicylate	tr.	0.39	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.
	Ketones	11.91	7.75	11.38	11.77	14.03	14.52	14.17
D01	2-methyl-2-penten-4-one	0.47	0.40	n. d.	0.43	n. d.	1.81	0.68
D02	6-methyl-5-hepten-2-one	0.44	tr.	0.25	0.14	0.82	0.26	0.25
D03	(*E,E*)-3,5-octadien-2-one	0.43	0.37	0.25	0.26	0.81	0.18	0.74
D04	6-methyl-3,5-heptadien-2-one	0.28	tr.	n. d.	tr.	0.44	0.18	n. d.
D05	acetophenone	0.27	0.36	0.24	0.25	0.57	0.25	0.12
D06	2,6,6-trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione	0.70	tr.	0.31	0.48	0.91	n. d.	0.31
D07	*p*-ethylacetophenone	tr.	tr.	tr.	0.73	tr.	tr.	0.35
D08	α-ionone	tr.	tr.	0.69	tr.	tr.	tr.	tr.
D09	(*Z*)-jasmone	1.48	tr.	2.34	tr.	0.35	tr.	tr.
D10	β-ionone	1.44	4.00	1.36	3.47	2.15	4.09	4.49
D11	maltol	1.16	2.23	tr.	2.66	1.04	3.84	2.49
D12	5,6-epoxy-β-ionone	4.64	0.39	5.94	1.98	6.20	0.37	3.73
D13	furaneol	0.59	n. d.	n. d.	1.35	0.75	3.55	1.02

tr.：Less than 0.01%
n. d.：Not detected

表2　各サンプルに含まれる成分の比較（GC%）（続き）

No.	Compound	狭山	牧ノ原	鈴鹿	和束	月ヶ瀬	嬉野	都城
	Nitrogenous compounds	33.89	28.91	29.17	35.27	17.04	50.96	20.55
E01	2-methylpyrazine	0.94	tr.	n. d.	tr.	n. d.	1.48	tr.
E02	2,5-dimethylpyrazine	4.89	1.34	tr.	0.31	0.54	9.87	0.75
E03	2-ethylpyrazine	0.70	0.45	tr.	tr.	tr.	0.42	tr.
E04	2-ethyl-5-methylpyrazine	0.99	0.41	n. d.	tr.	tr.	1.38	tr.
E05	2,3,5-trimethylpyrazine	0.66	tr.	n. d.	tr.	tr.	0.80	tr.
E06	2-ethyl-3,5-dimethylpyrazine	1.64	tr.	n. d.	tr.	0.16	0.19	tr.
E07	1-ethyl-2-formylpyrrole	tr.	2.95	0.20	0.52	0.42	tr.	0.99
E08	benzyl cyanide	tr.	0.31	1.04	tr.	1.17	0.35	0.41
E09	2-acetylpyrrole	2.15	3.49	0.69	2.51	1.50	9.29	4.53
E10	2-formylpyrrole	0.65	tr.	tr.	0.40	n. d.	0.39	n. d.
E11	indole	21.27	19.95	27.25	31.52	13.25	26.78	13.86
	Acids	10.15	14.38	15.18	19.21	17.78	4.68	16.27
F01	acetic acid	1.20	1.53	tr.	tr.	tr.	0.72	2.06
F02	hexanoic acid	1.67	1.07	2.54	2.67	2.99	0.88	0.89
F03	heptanoic acid	1.14	3.41	3.66	3.84	1.07	1.26	4.27
F04	(*Z*)-3-hexenoic acid	n. d.	tr.	0.71	tr.	tr.	tr.	n. d.
F05	octanoic acid	0.53	1.37	0.94	1.14	1.19	0.22	0.31
F06	nonanoic acid	1.20	3.93	4.78	3.92	1.32	1.24	5.89
F07	decanoic acid	0.33	0.43	n. d.	1.21	1.62	tr.	0.71
F08	lauric acid	0.31	0.79	0.54	0.57	0.63	0.09	0.67
F09	myristic acid	0.74	n. d.	n. d.	1.50	2.22	0.09	n. d.
F10	palmitic acid	3.03	1.85	2.02	4.37	6.74	0.18	1.49
	Lactones	5.86	4.26	9.78	6.59	11.31	5.83	8.59
G01	γ-hexalactone	1.02	0.52	1.06	1.68	0.83	1.34	2.28
G02	bovolide	0.50	0.43	0.58	0.46	0.60	0.21	0.57
G03	jasmine lactone	tr.	0.41	0.56	0.73	0.50	1.93	0.41
G04	dihydroactinidiolide	3.87	0.39	7.02	2.70	8.66	1.21	4.65
G05	coumarin	0.47	1.62	0.55	1.02	0.73	1.15	0.68
G06	5-hydroxyhydrobovolide	n. d.	0.89	tr.	tr.	tr.	n. d.	tr.

tr.：Less than 0.01%
n. d.：Not detected

は，一つのサンプルにのみ含まれるような特異的な成分が，官能基別にみると同じヤブキタ種でも大きく異なっていた(図3)。さらに，サンプル間の特徴を把握することを目的に解析ソフト（SPSS version 11.5）を使って主成分分析をおこなった。その結果，第六主成分まで抽出され，第三主成分までの累積寄与率は71.30%となった。サンプル間の特徴を平面上で比較するために，図4に第一主成分と第二主成分の主成分スコアーと因子負荷量，寄与率をマッピングした。原点付近に和束が位置していることから和束は全ての成分が平均的に含まれている傾向があった。その他の試料について主成分スコアーと因子負荷量を見比べると牧ノ原や都城に相当するところに，リーフィーの香調を持つ *(E)*-linalool oxide (pyranoid) (A13)，*(Z)*-linalool oxide (pyranoid) (A14)，2-ethylhexanol (A09)，*benzyl salicylate (C04)*，*safranal (B09)*，*hexanol (A04)* という成分がプロットされた。同様に，鈴鹿に相当するところにはフローラルノートの香調を持つ *bovolide (G02)* や *α-ionone (D08)* などがプロットされた。月ヶ瀬に相当するところにはフレッシュノートの香調を持つ *(E,E)*-3,5-octadien-2-one (D03)，dihydro actinidiolide (G04)，*(Z)*-2-penten-1-ol (A03)，linalool (A10)，*(E,E)*-2,4-heptadienal (B05)，6-methyl-5-hepten-2-one (D02)，hexanal (B01) などがプロットされた。狭山や嬉野に相当するところにはローストノートの香調を持つ 2-ethyl-3,5-dimethylpyrazine (E06)，furfural (B04)，2-ethylpyrazine (E03)，2,3,5-trimethylpyrazine (E05)，2-

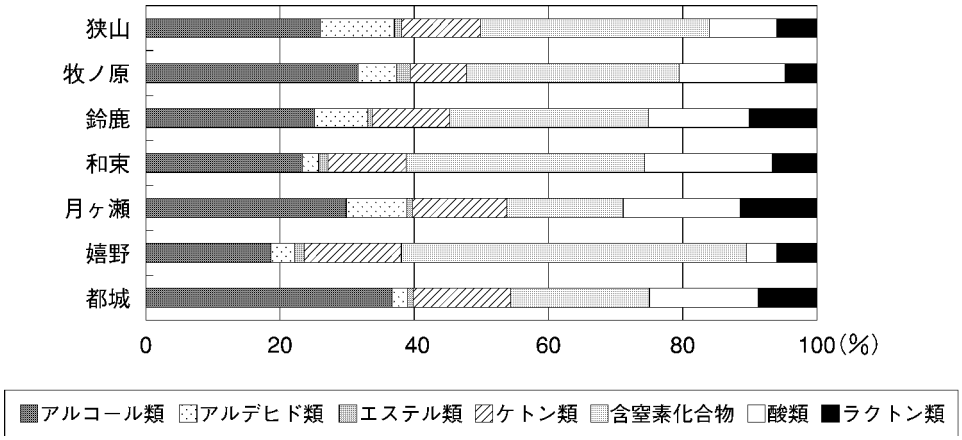


図 3　サンプル名と官能基別の含有率

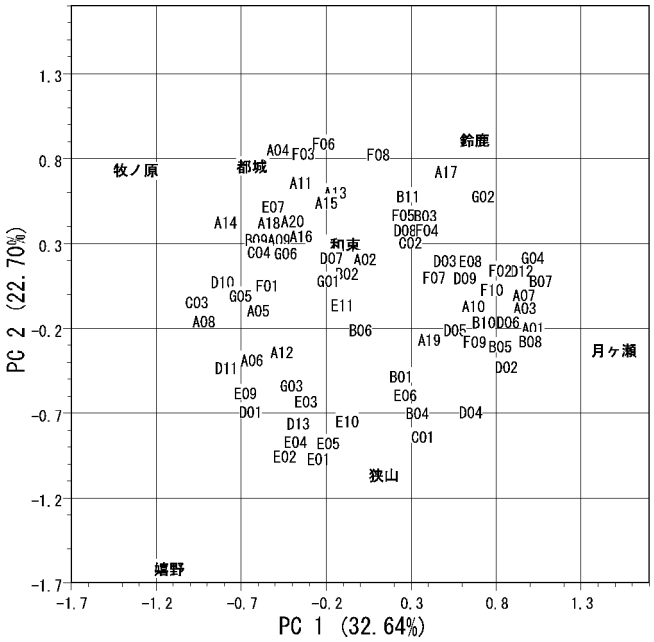


図 4　GC%をもとに計算した主成分スコアーと因子付加量のマップ
PC1：第 1 主成分，PC2：第 2 主成分

methylpyrazine（E01），2,5-dimethylpyrazine（E02）などがプロットされ，さらに嬉野に相当するところにはスイートノートの香調を持つ furaneol（D13）や maltol（D11）などがプロットされた。

以上の官能評価結果と GC 分析結果から，和束については，主成分分析で中心付近にプロットされ各成分が平均的に含まれており，このことは 7 サンプルの中で最もバランスがとれていると言う官能評価結果と一致していると考えられる。狭山については，官能評価結果と主成分分析から得られた 2-ethyl-3,5-dimethylpyraziene（E06）や furfural（B04）の香調が似ており，これらの成分が効いて焙じた感じを出しているものと考えられた。さらに嬉野については，これらのピラジン類の他に主成分分析結果から得られた maltol（D11），furaneol（D13）など成分が混ざった香調と官能評価結

果が似ており，これらの成分が効いて果物を加熱したような甘みを出していると考えられた。都城については，官能評価結果と主成分分析から得られたsafranal（B09），*(Z)*-3-hexenol（A05）などの香調が似ており，これらの成分が効いて都城のトップのグリーンと清涼感を出しているものと考えられた。さらに，牧ノ原については，*(E)*-linalool oxide（pyranoid）（A13），*(Z)*-linalool oxide（pyranoid）（A14）が混ざった香調がより清涼感が強くなることで官能評価結果と香調が似ており，これらの成分が効いて清涼感を出しているものと考えられた。鈴鹿については，主成分分析から得られたα-ionone（D08）はβ-カロテン分解物で緑茶の中で覆い香成分の一つとして知られており，bovolide（G02）もラクトン様の甘い香気を持つことから，これらの成分が効いて鈴鹿の持つ覆い香と甘みに影響していると考えられた。月ヶ瀬については，官能評価結果と主成分分析から得られた*(E,E)*-2,4-heptadienal（B05），hexanal（B01），linalool（A10）の香調が似ており，これらの成分が効いてフレッシュなグリーン感に影響をしていると考えられた。

第III章　特徴香気成分を発見するための GC-sniffing 新手法（OASIS）の開発

A．本章の目的

現在の香気成分の研究分野で，特徴成分の検索にはAEDA法が一般的に使われている[81]。このAEDA法は，何百成分とある食品中の香気成分から，閾値の低い成分を検索するには向いている。しかし，AEDA法はキャピラリーカラムによって分離された個々の成分を嗅ぐに過ぎず，香気成分の相互作用を無視しているため，違う実験材料を処理しても，同じ閾値の低い成分が検出されがちであった。つまり，それぞれの香気成分が実験材料中でどのような香調に寄与しているかを知るためには，実際にその香気成分を元の材料中に賦香し確認するしかなかった。そこで，今回，香気成分の相互作用を見るために，AEDA法と元の材料に賦香する方法を合わせたOASIS法を開発した（特許公開2003-107067）。このOASIS法とは，キャピラリーカラムの出口で分離された成分と元の材料から発生する香気を混合し，元の材料に分離された成分が加えられたときにどのような香りに変化するかを評価する方法である（図5）。このOASIS法を使って，AEDA法で注目された6成分（indole，*(Z)*-3-hexenol，geraniol，linalool，decanal，β-ionone）についてAEDA法と比較した。

B．材料と方法

a．緑　茶　葉

緑茶葉は，静岡県金谷茶業試験場で作られた2002年5月産のヤブキタ種新茶を用いた。

b．緑茶揮発成分の単離

沸騰させたイオン交換水（東レ社　TORAYPURE LV-10T）1Lを60℃まで冷まし，あらかじめ60gの緑茶葉を入れた1L容ビーカーに加えラップでふたをし5分後，茶漉しにより茶葉を取り除いた。得られた抽出液（約700 mL）を，水を張ったバット中で30℃まで冷やしエバポレーター（東京理科研　EYELA）による減圧水蒸気蒸留で蒸留をおこなった（加熱温度40℃，減圧度20 mmHg，冷却部：循環冷却水2℃，循環冷却水と減圧ポンプの間にドライアイスを詰めたトラップを連結）。得られた留出液（約500 mL）を10gのPorapak Qを詰めたオープン系のガラスカラム（直径30 mm×長さ400 mm）を通過させ香気成分を吸着させた。50 mLのジエチルエーテルをカラムに流して保持されている香気成分を脱着し，溶出液に無水硫酸マグネシウムを5g加え，ろ紙（ADVANTEC社　No.2）でろ過後，エバポレーターでジエチルエーテルを留去し窒素気流下で約10 μLになるまで濃縮した。以上の操作を25回繰り返し，計1.5 kgの茶葉を処理した。

c．GC/Olfactometry（GC/O）

TCD検出器をつけたGC（Agilent社　5890 series II）を使用した。カラムは，INNOWax（Agilent社）長さ30 m，内径0.53 mm，膜厚1 μmのものを使用した。オーブン条件は，40℃から230℃まで5℃/分昇温でおこない，注入口は250℃，TCDは230℃で，スプリットレスモードで0.5 μL注入した。TCDの出口にはリボンヒーターを巻き230℃に設定し，そこから出て

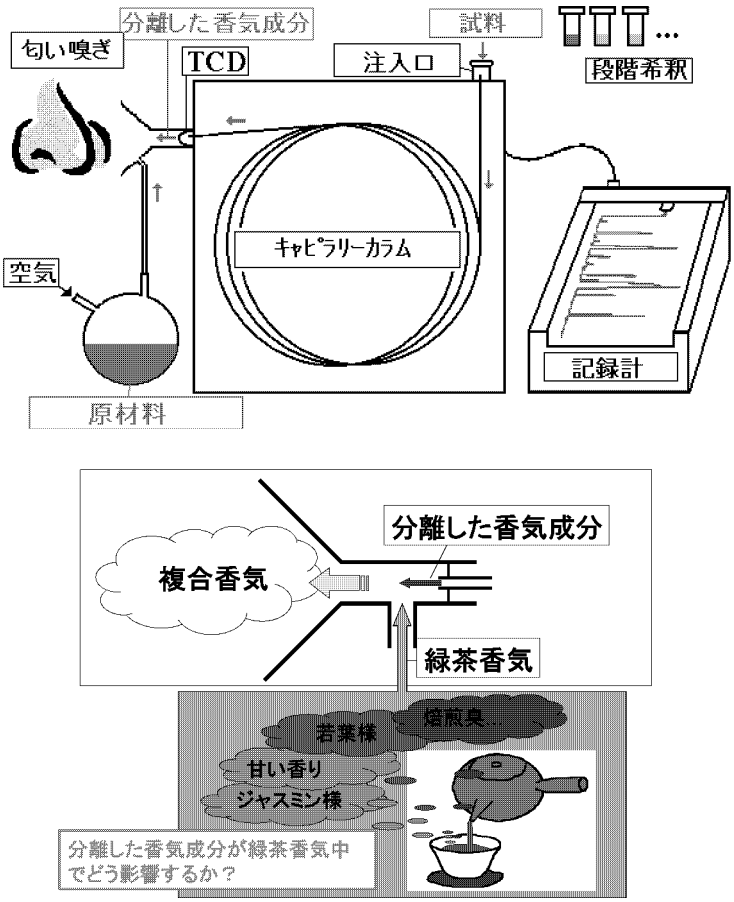


図 5　OASIS の装置図（上）および匂いかぎ口の概略図（下）
注：今回の場合，上図の原材料のところは緑茶抽出液を使用

くる香気成分を嗅ぎ，その評価を記録計（横河電気社）に書いた。

d．AEDA

緑茶香気濃縮液をジエチルエーテルで 3 倍（$=3^1$），9 倍（$=3^2$），27 倍（$=3^3$），81 倍（$=3^4$），243 倍（$=3^5$），729 倍（$=3^6$），2187 倍（$=3^7$）に段階希釈した溶液を 0.5 μL シリンジで吸い GC に注入し GC/O をおこなった。匂いが感じられたところを各成分の FD ファクターとし，縦軸に FD ファクター，横軸に保持時間をとったアロマグラムを作成した。

e．OASIS

沸騰させたイオン交換水 200 mL を 60℃まで冷まし，あらかじめ 12 g の緑茶葉を入れた 300 mL 容ビーカーに加えラップでふたをし 5 分後，茶漉しにより茶葉を取り除いた。得られた抽出液（140 mL）を 500 mL 容三口丸底フラスコに加え，60℃で保温しながら一方から空気を 150 mL/分の流速で送りこみ，一方を匂い嗅ぎ口で緑茶の香りがするように嗅ぎ口につないだ。AEDA で注目された緑茶の一般的な香気成分である indole，*(Z)*-3-hexenol，geraniol，linalool，decanal，*β*-ionone の 6 点のリテンションタイムで，これらの香気成分が緑茶の香りと混ざることでどのように香調が変化したかを嗅ぎ，その評価を記録計に書いた。AEDA と同様に緑茶香気濃縮物を段階希釈し，香調の変化が感じられた最も大きい希釈倍率を各 6 成分の FD ファクターとした。

f．GC/MS 分析条件

ガスクロマトグラフ（Agilent 社　6890）とマススペクトロメーター（Agilent 社　5973）をつ

ないだGC/MSを使用した。カラムはTC-Wax（GLサイエンス社）長さ30 m，内径0.25 mm，膜厚0.25 μmのものを使用した。オーブン条件は，60℃から250℃まで5 ℃/分昇温でおこない，注入口は250℃で，スプリット比は100：1で注入量は0.2 μLとした。

g．化合物の同定

化合物の同定は，標品のKovats Indexとマススペクトルを用いておこなった。

h．化合物の緑茶への賦香試験

沸騰させたイオン交換水300 mLを60℃まで冷まし，あらかじめ9 gの緑茶葉を入れた500 mL容ビーカーに加えラップでふたをし8分後，茶漉しにより茶葉を取り除いた。抽出液200 mLにイオン交換水800 mLを加え，これに各化合物の濃度が0.25 ppb，1 ppb，10 ppb，100 ppbとなるように賦香しそれぞれを試飲評価した。

C．結果と考察

緑茶抽出液には，特徴的で複雑な香りがあり（例えば，ジャスミンノート，スイートノート，グリーンノート，ローストノートなど），これらの特徴的な香りは，減圧水蒸気蒸留とPorapak Qによる吸脱着を組み合わせた抽出法で抽出された。AEDAによって，それぞれの化合物の閾値が求められた。GC/Oによって，94ヶ所香りが確認されたが，そのうちFDファクターが3以上のものは42ヶ所あった（図6）。そこでFDファクターの高いグループ（729～2187）とFDファクターの低いグループ（3～27）の一般的な化合物についてOASIS法の適用をおこなうことにした。FDファクターの高いグループつまり閾値の低いグループには，geraniol，indole，linalooolなどが含まれていた。一方，FDファクターの低いグループつまり閾値の高いグループには，*(Z)*-3-hexenol，decanal，*β*-iononeなどが含まれていた。緑茶の香気成分中で一般的なこれら6化合物について注目し，OASISをおこないAEDAと比較した（図7）。Geraniol原液は，フローラルでローズ様の香りを持つ。

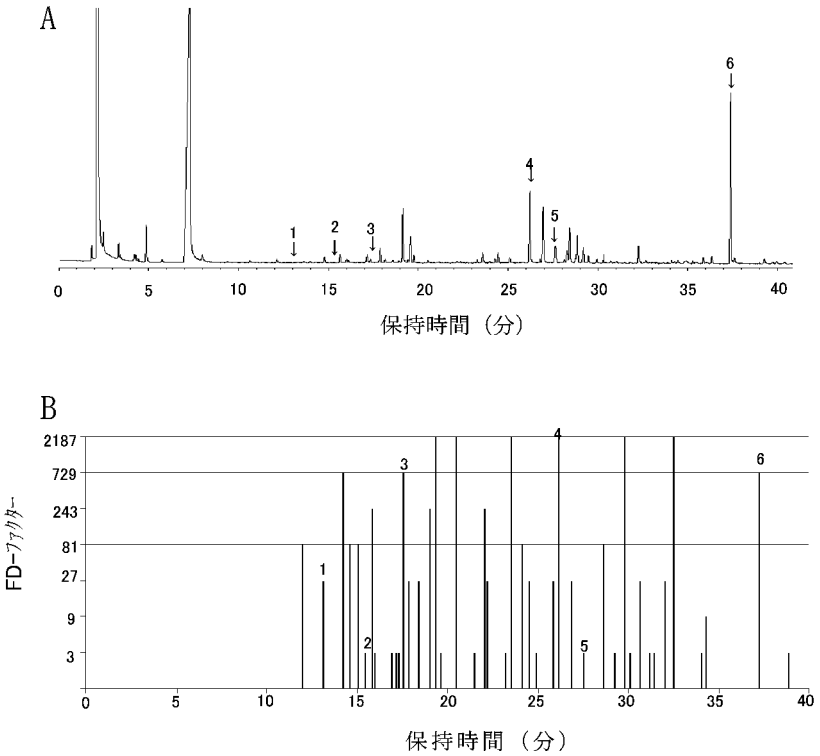


図6　緑茶のガスクロマトグラム（A）とAEDAにより得られたアロマグラム（B）
1＝*(Z)*-3-hexenol，2＝decanal，3＝linalool，4＝geraniol，5＝*β*-ionone，6＝indole

AEDA								OASIS						
2187	729	243	81	27	9	3	FD factor	3	9	27	81	243	729	2187
レモン				フローラル			geraniol	フローラル	グリーン					
	フローラル	アニマル					indole	アニマル		パワフル				
	フローラル						linalool	フローラル						
				グラッシー			*cis*-3-hexenol	グラッシー	グリーン					
						オレンジ	decanal	オレンジ	グリーン					
						ウッディー	β-ionone	スイート						

図 7　注目した 6 成分の AEDA と OASIS の比較（カラム中の文字はコメントを表す）

AEDA では，FD ファクター 3 ～27 の間で，フローラル様の香りを持ち，FD ファクター 81～2187 では，レモン様の香りに変わった。OASIS では，FD ファクター 3 では，AEDA と同様に，フローラル香が持っていたが，FD ファクター 9 ～81 では，緑茶のグリーンノートを強める効果がみられ，FD ファクター 243 を超えると緑茶の香りしかせず，geraniol はその香り中で何の効果も示さなかった。Indole 原液は，アニマル様香気を持つ。AEDA では，FD ファクター 3 ～243 において，アニマル様香気を持ち，FD ファクター 729 では，フローラル様に変わった。一方，OASIS では，FD ファクター 3 ～ 9 で AEDA と同様にアニマル様香気を持っていたが，FD ファクター 27～729 では，緑茶全体の香気を強めるような効果が見られた。Linalool 原液はフローラルでウッディー香を持つ。AEDA では，FD ファクター 3 ～729 でフローラル様香気であった。OASIS でも AEDA と同様の結果で，フローラル様香気がした。*(Z)*-3-Hexenol 原液は，グラッシー香を持つ。AEDA では，FD ファクター 3 ～27 でグラッシー香であった。OASIS では，FD ファクター 3 では，グラッシー香であったが，FD ファクター 9 で，緑茶のグリーンノートを強める効果が見られた。Decanal 原液は，スイートワクシーで，オレンジのピール様香気を持つ。AEDA によると FD ファクター 3 でオレンジ様香気が見られた。OASIS では，FD ファクター 3 で同様にオレンジ様香気だったが，FD ファクター 9 では，緑茶のグリーンノートを強める効果が見られた。β-Ionone 原液は，ウッディーでバイオレット様香気を持つ。AEDA では，FD ファクター 3 でウッディーであった。OASIS では，FD ファクター 3 ～ 9 で，緑茶のスイートノートを強める効果が見られた。

さらに，これら 6 化合物の濃度を変えて緑茶に加えてその効果を調べた。Geraniol は，1 ppb と 10 ppb で緑茶のグリーンノートを強めるような効果を持ち，100 ppb を越えると原液のようなフローラル香が見られた。同様に，indole は 0.25 ppb と 1 ppb で緑茶全体を強めるような効果が見られた。Linalool は原液と同様にフローラルでウッディーであった。*(Z)*-3-Hexenol は 1 ppb～10 ppb で緑茶のグリーンノートを強めるような効果があり，decanal は 1 ppb～10 ppb で緑茶のグリーンノートを強めるような効果があり，β-ionone は 1 ppb～10 ppb で緑茶のスイートノートを強めるような効果があった。これら添加効果は，OASIS の結果と非常によく似ていた。

この研究において，原材料と揮発成分の相互関係を知る為に OASIS を開発した。OASIS は閾値だけによる評価ではなく，特徴成分を探す効果的な手段であった。これによって，閾値の高い成分であっても，原材料に効果を及ぼすものがあることがわかった。OASIS によって得られた結果は，添加効果を見た試験と同様の結果が得られた。

第IV章　新規有効成分の検索

A．本章の目的

緑茶の香気成分についての報文は数多くあり，2005 年 3 月では 605 成分が知られている（表 3）。しかし，同定された化合物が実際の緑茶抽出液中でどのようにその香調に影響を及ぼしているかを調べた報文は少ない。前章で閾値だけに依らない特徴成分の検索法として

表 3　緑茶の既知成分一覧

直鎖化合物		
炭化水素類		
octane	3-methyltridecane	docosane
nonane	pentadecane	tricosane
4-methyloctane	4,8-dimethyltridecane	tetracosane
decane	hexadecane	pentacosane
undecane	heptadecane	hexacosane
5-ethyl-2-methyloctane	octadecane	heptacosane
(*E*)-2-dodecene	nonadecane	octacosane
dodecane	neophytadiene	nonacosane
tridecane	eicosane	heneicosane
tetradecane		
アルコール類		
methanol	amyl alcohol	4-hepten-2-ol
ethanol	isoamyl alcohol	heptanol
1,2-ethanediol	2-methylbutanol	2-heptanol
1-propanol	3-pentanol	2,5-octadien-1-ol
2-propanol	(*E*)-2-hexen-1-ol	1,5-octadien-3-ol
glycerol	(*Z*)-2-hexen-1-ol	(*E*)-2-octenol
butanol	(*E*)-3-hexen-1-ol	1-octen-3-ol
isobutanol	(*Z*)-3-hexen-1-ol	octanol
2-butanol	2-methyl-2-penten-3-ol	2-octanol
diethylene glycol	3-hexene-2,5-diol	2-ethyl-1-hexanol
(*E*)-2-penten-1-ol	hexanol	2-(2-butoxyethoxy)ethanol
(*Z*)-2-penten-1-ol	2-hexanol	3,6-nonadien-1-ol
(*E*)-3-penten-2-ol	3-hexanol	(*Z*)-3-nonenol
1-penten-3-ol	3-methylpentanol	nonanol
2-methyl-3-buten-2-ol	2-(2-ethoxyethoxy)etanol	dodecanol
アルデヒド類		
acetaldehyde	(*Z*)-3-hexenal	(*E*)-2-nonenal
2-propenal	hexanal	(*Z*)-2-nonenal
propanal	(*E,E*)-2,4-heptadienal	2,6-dimethyl-5-heptenal
butanal	(*E,Z*)-2,4-heptadienal	nonanal
2-methylpropanal	(*E*)-2-heptenal	2,4,6-decatrienal
(*E*)-2-pentenal	(*Z*)-4-heptenal	(*E,E*)-2,4-decadienal
(*Z*)-2-pentenal	heptanal	(*E,Z*)-2,4-decadienal
(*Z*)-3-pentenal	(*E,E*)-2,4-octadienal	(*E*)-2-decenal
pentanal	(*E,Z*)-2,4-octadienal	(*Z*)-4-decenal
2-methylbutanal	(*E*)-2-octenal	decanal
3-methylbutanal	octanal	(*E*)-2-undecenal
(*E,E*)-2,4-hexadienal	(*E,E*)-2,4-nonadienal	4-ethyl-7,11-dimethyl-(*E*)-2, (*E*)-6,10-dodecatrienal
(*E,Z*)-2,4-hexadienal	(*E,Z*)-2,4-nonadienal	4-ethyl-7,11-dimethyl-(*E*)-2, (*Z*)-6,10-dodecatrienal
(*E*)-2-hexenal	(*E,Z*)-2,6-nonadienal	
エステル類		
ethyl formate	dimethyl adipate	(*Z*)-3-hexenyl 2-methylbutyrate
1-propen-2-yl formate	heptyl formate	(*E,Z*)-3,3-hexenyl hexenoate
ethyl acetate	(*E*)-2-hexenyl propionate	(*Z,E*)-3,3-hexenyl hexenoate
acetol acetate	(*E*)-3-hexenyl propionate	(*Z,Z*)-3,3-hexenyl hexenoate
1-methylethyl acetate	(*Z*)-3-hexenyl propionate	(*Z*)-3-hexenyl (*E*)-2-hexenoate
methyl butyrate	methyl octanoate	(*E*)-2-hexenyl hexanoate
amyl formate	*N,N*-dibutyl formamide	(*Z*)-3-hexenyl hexanoate
butyl acetate	(*E*)-2-hexenyl butyrate	(*Z*)-3-hexenyl octanoate
(*E*)-2-hexenyl formate	(*E*)-3-hexenyl butyrate	methyl hexadecanoate
(*Z*)-3-hexenyl formate	(*Z*)-3-hexenyl butyrate	ethyl hexadecanoate
hexyl formate	methyl 4-oxononanoate	methyl linolenoate
isoamyl acetate	hexyl butyrate	methyl linolenate
(*E*)-2-hexenyl acetate	ethyl octanoate	methyl octadecanoate
(*Z*)-3-hexenyl acetate	octyl acrylate	ethyl linolenoate
2,2-dimethyl-1-(2-hydroxy-1-methylethyl)propyl 2-methylpropanoate		ethyl linoleate
3-hydroxy-2,4,4-trimethylpentyl 2-methylpropanoate		ethyl octadecanoate
ケトン類		
1-hydroxy-2-propanone	4-hydroxy-4-methyl-2-pentanone	6-methyl-5-hepten-3-one
2,3-butanedione	(*E,E*)-3,5-heptadien-2-one	2-octanone
2-butanone	5-methyl-3-hexen-2-one	4-methylheptanone
3-hydroxy-2-butanone	2-heptanone	3-octanone
(*E*)-3-penten-2-one	5-methyl-2-hexanone	2,6-dimethyl-2,5-heptadien-4-one
1-penten-3-one	(*E,E*)-3,5-octadien-2-one	2-nonanone
2,3-pentanedione	(*E,Z*)-3,5-octadien-2-one	2-methyl-6-methylene-1,7-octadien-3-one
3-hexen-2-one	(*Z,E*)-3,5-octadien-2-one	3-methyl-2,4-nonanedione
5-hexen-2-one	(*Z*)-1,5-octadien-3-one	3,3-dimethyl-2,7-octanedione
3-methylene-2-pentanone	6-methyl-3,5-heptadien-2-one	2-decanone
4-methyl-3-penten-2-one	6-methyl-(*E*)-3,5-heptadien-2-one	5-isopropyl-2-heptanone
4-methyl-4-penten-2-one	(*E*)-3-octen-2-one	geranyl acetone
2-hexanone	1-octen-3-one	6,10-dimethyl-2-undecanone
3,3-dimethyl-2-butanone	6-methyl-5-hepten-2-one	6,10,14-trimethyl-2-pentadecanone
4-hydroxy-3-hexanone		
酸類		
formic acid	(*E*)-2-hexenoic acid	2-ethylhexanoic acid
acetic acid	(*Z*)-3-hexenoic acid	nonanoic acid
propanoic acid	dimethyl succinate	7-methyloctanoic acid
butyric acid	hexanoic acid	decenoic acid
isobutyric acid	4-methylpentanoic acid	decanoic acid
valeric acid	heptanoic acid	8-methylnonanoic acid
methylbutanoic acid	4-methylhexanoic acid	lauric acid
2-methylbutyric acid	(*E*)-2-octenoic acid	myristic acid
isovaleric acid	octanoic acid	palmitic acid
2,2-dimethylpropionic acid	6-methylheptanoic acid	linolenic acid
アセタール類		
acetaldehyde dimethyl acetal		

表 3　緑茶の既知成分一覧（続き）

含窒素化合物類		
methylamine	*N*-ethylacetamide	isoamyl amine
methylhydrazine	*N,N*-dimethylacetamide	2-azido-2,3,3-trimethylbutane
ethylamine	isobutyl amine	*N*-butyl-*N*-nitroso-1-butanamine
dimethylamine	isovaleronitrile	dibutyl amine
propylamine	α-methylbutyronitrile	*N,N*-diisopropyl-1,2-ethanediamine
trimethylamine	*N,N*-dimethylpropanamide	*N,N*-dibutylacetamide
2,3-butanedione monooxime		
含硫化合物類		
methanethiol	dimethyl sulfide	4-mercapto-4-methyl-2-pentanone
dimethyl sulfoxide	3-methylthiopropanal	4-methoxy-2-methyl-2-butanethiol
dimethyl sulfone		
芳香族		
炭化水素類		
toluene	1-ethyl-3-methylbenzene	1-methyl-2-propylbenzene
ethylbenzene	1-ethyl-4-methylbenzene	1,3-diethylbenzene
1,2-dimethylbenzene	1,2,4-trimethylbenzene	4-ethyl-1,2-dimethylbenzene
1,3-dimethylbenzene	1,3,5-trimethylbenzene	1-methylnaphthalene
1,4-dimethylbenzene	naphthalene	2-methylnaphthalene
propylbenzene	1,3-butadienylbenene	bis(1-methylethyl)benzene
isopropylbenzene	tetrahydronaphthalene	3,4-diethyl-1,1'-biphenyl
1-methyl-2-ethylbenzene	butylbenzene	
アルコール類		
phenol	4-vinylphenol	2-phenoxyethanol
benzyl alcohol	2-phenylethanol	4-vinylguaiacol
o-cresol	styrallyla alcohol	4-ethylguaiacol
m-cresol	*o*-ethylphenol	2,5-diethylphenol
p-cresol	*p*-ethylphenol	2-ethyl-4,5-dimethylphenol
3-hydroxy benzenemethanol	2,3-dimethylphenol	α-methyl-3-(1-methylethyl)benzeneethanol
4-hydroxy benzenemethanol	3-hydroxybenzeneethanol	3,5-di-tert-butylphenol
guaiacol		
アルデヒド類		
benzaldehyde	4-methoxybenzaldehyde	2,5-dimethylbenzaldehyde
2-hydroxybenzaldehyde	2-hydroxy-6-methylbenzaldehyde	2-phenyl-2-butenal
4-hydroxybenzaldehyde	vanillin	4-methyl-2-phenyl-2-pentenal
phenylacetaldehyde	cinnamaldehyde	5-methyl-2-phenyl-2-hexenal
2-methylbenzaldehyde	4-ethylbenzaldehyde	
エステル類		
benzyl formate	benzyl acetate	4-phenyl-2-butyl acetate
methyl benzoate	methyl anisate	(*E*)-3-hexenyl benzoate
methyl salicylate	ethyl phenyl acetate	(*Z*)-3-hexenyl benzoate
methyl anthranilate	benzyl butyrate	benzyl benzoate
2-phenylethyl formate	diethyl phthalate	hexyl phenylacetate
ケトン類		
acetophenone	coumarin	*p*-ethylacetophenone
2-hydroxyacetophenone	1-phenyl-1-propanone	3,4-dimethyl acetophenone
2-aminoacetophenone	1-phenyl-2-butanone	2,3,4-trimethoxy acetophenone
酸類		
benzoic acid	phenylacetic acid	4-methylcinnamic acid
2-hydroxybenzoic acid		
エーテル類		
4-methoxybenzaldehyde oxime	anethole	2-methoxynaphthalene
1,4-dimethoxybenzene	isoeugenol	diphenyl ether
2,6-dimethoxyphenol	eugenol	elemicin
4-ethylanisole	2-methoxy-1,3,5-trimethylbenzene	1,3-di-*tert*-butyl-2-methoxy-5-methylbenzene
含窒素化合物類		
quinoxaline	4-methylbenzonitrile	3-methylindole
benzyl cyanide	indole	2-methyl-1,2-dihydrocinnoline
2-methylbenzonitrile	oxindole	diphenylamine
含窒素，硫化合物類		
benzothiazole		
複素環，環状脂肪族		
フラン類		
2,5-furandione	furaneol	perillene
furfural	3-hydroxy-4,5-dimethyl-2(5*H*)-furanone	dihydroactinidiolide
dihydro-3-methylene-2,5-furandione	furfuryl acetate	2,2,6-trimethyl-7-oxabicyclo[4.3.0]non-1(9)-en-4-one
furfuryl alcohol	3,5,5-trimethyl-2(5*H*)-furanone	3,4-dimethyl-5-pentyl-2(5*H*)-furanone
tetrahydro-2-methylfuran	dihydro-5-isopropyl-3(2*H*)-furanone	(*E*)-6-methyl-6-(5-methyl-2-furyl)hep-3-en-2-one
5-methyl-2-furfural	coumaran	theaspirane
2-acetylfuran	1-(2-furanyl)-2-butanone	6,7-epoxy-dihydrotheaspirane
maltol	2-pentylfuran	6-hydroxy dihydrotheaspirane
3-hydroxy-5-methyl-4*H*-pyran-4-one	isopentylfuran	β-bourbonene
2-ethylfuran	2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4*H*-pyran-4-one	
アルコール類		
2,3-epoxyhexanol	(*Z*)-linalool oxide (furanoid)	(*Z*)-linalool oxide (pyranoid)
lilac alcohol	(*E*)-linalool oxide (pyranoid)	cedrol
(*E*)-linalool oxide (furanoid)		
アルデヒド類		
safranal	β-cyclocitral	2,6,6-trimethyl-2-cyclohexene-1-carboxaldehyde
(*E*)-4,5-epoxy-2-decenal		
ラクトン類		
γ-butyrolactone	2-hydroxy-3,3-dimethyl-γ-butyrolactone	γ-nonalactone
2-penten-4-olide	4-methyl-5-hexen-4-olide	7-decen-5-olide
α-angelicalactone	γ-heptalactone	jasmine lactone
γ-pentalactone	δ-heptalactone	γ-decalactone
2-hexen-4-olide	tetrahydro-3,6-dimethyl-2*H*-pyran-2-one	δ-decalactone
γ-hexanolide	γ-octalactone	bovolide
2,4-dimethyl-γ-butyrolactone	δ-octalactone	δ-hexalactone
5,6,7,7a-tetrahydro-4,4,7a-trimethyl-2(4*H*)-benzofuranone		γ-tetradecalactone

表 3　緑茶の既知成分一覧（続き）

ケトン類		
2-methyl-3(2*H*)-furanone	4-ethyl-3,4-dimethyl-2,5-cyclohexadien-1-one	dihydro-*α*-ionone
2-methyl-2-cyclopenten-1-one	(*Z*)-jasmone	dihydro-*β*-ionone
cyclotene	1,6-methano[10]annulen-11-one	methyl dihydrojasmonate
cyclohexanone	5,6-epoxy-*β*-ionone	6-methyl-*α*-ionone
2,6,6-trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione	2,3-epoxy-*α*-ionone	*β*-damascone
2,6,6-trimethyl-2-cyclohexen-1-one	theaspirone	*α*-damascone
3,5,5-trimethyl-2-cyclohexenone	methyl jasmonate	*γ*-ionone
2,2,6-trimethyl-1,4-cyclohexanedione	methyl epijasmonate	*β*-ionone
3,4,4a,5,8,8a-hexahydro-4a-methyl-2(1*H*)-naphthalenone		*α*-ionone
3,5,5-trimethyl-4-(3-oxo-1-butenyl)-2-cyclohexen-1-one		*β*-damascenone
4-hydroxy-3,5,6-trimethyl-4-(3-oxo-1-butenyl)-2-cyclohexen-1-one		7,8-dehydro-*β*-ionone
1,5,5,9-tetramethylbicyclo[4.3.0]non-8-en-7-one		3-oxo-*β*-ionone
4-(5-hydroxy-2,6,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)-3-buten-2-one		2,2,6-trimethyl-6-vinyltetrahydropyran-3-one
1,5-di-tert-butyl-3,3-dimethyl bicyclo[3.1.0]hexan-2-one		2,2,6-trimethylcyclohexanone
2-hydroxy-2,6,6-trimethylcyclohexanone		
含窒素化合物類		
pyrazine	6,7-dihydro-5*H*-cyclopentapyrazine	3-acetyl-2,4-dimethylpyrrole
1*H*-pyrrole	2-acetyl-3-methylpyrazine	ethyl 1-pyrroleacetate
pyrrolidone	2-acetyl-5-methylpyrazine	2,5-diethylpyrazine
pyridine	1-ethyl-2-formylpyrrole	2,6-diethylpyrazine
2-formylpyrrole	2-propionyl pyrrole	2-ethyl-3,5-dimethylpyrazine
methylpyrazine	1-methyl-2-acetylpyrrole	3-ethyl-2,5-dimethylpyrazine
1,3-dimethyl-2,4,5-trioximidazolidine	1-methyl-2-carboxymethylpyrrole	tetramethylpyrazine
3,5-dimethylisoxazole	*N*-ethyl citraconimide	3-ethyl-*N*-ethylsuccinimide
2-vinylpyrazine	3-ethyl-4-methyl-1*H*-pyrrole-2,5-dione	quinoline
5-methyl-2-formyl-pyrrole	2-ethyl-3-methylpyrazine	2-methylquinoxaline
2-acetylpyrrole	2-ethyl-5-methylpyrazine	2-(2-furyl)-5-methylpyrazine
methyl 1*H*-pyrrole-2-carboxylate	2,3,5-trimethylpyrazine	3-(2-pyrrolidinyl)pyridine
1-ethyl-1*H*-pyrrole-2,5-dione	3-ethyl-4-methyl-2,5-pyrrolidinedione	2,5-dimethyl-3-(*Z*)-propenylpyrazine
ethylpyrazine	2-ethyl-6-methylpyrazine	2,6-dimethyl-3-(*Z*)-propenylpyrazine
2,3-dimethylpyrazine	2-isopropyl pyrrolidine	2-ethyl-6,7-dihydro-5*H*-cyclopentapyrazine
2,5-dimethylpyrazine	(2-furyl)pyrazine	2,3-dimethyl-6,7-dihydro-5*H*-cyclopenta[b]pyrazine
2,6-dimethylpyrazine	3-methylpyrrole[1,2-a]pyrazine	2,3-diethyl-5-methylpyrazine
2,5-dimethylpyrimidine	4-methylpyrrole[1,2-a]pyrazine	2,5-diethyl-3-methlypyrazine
1-ethylpyrrole	2-methyl-5-(*Z*)-propenylpyrazine	3,5-diethyl-2-methylpyrazine
1-ethyl-3,4-dehydropyrrolidone	2-methyl-6-((*E*)-1-propenyl)pyrazine	(*S*)-3-(1-methyl-2-pyrrolidinyl)pyridine
trimethyloxazole	2-methyl-6-((*Z*)-1-propenyl)pyrazine	allyl trimethylpyrazine
n-ethyl succimide	6,7-dihydro-2-methyl-5*H*-cyclopentapyrazine	3-butyl-2,5-dimethylpyrazine
2-azacyclotridecanone	6,7-dihydro-5-methyl-5*H*-cyclopentapyrazine	2,3-dimethyl-5-isobutylpyrazine
1-acetylpyrrolidine	caffeine	2-acetyl-3-furfurylpyrrole
1*H*-pyrro[2.3-b]pyridine	1-ethyl-5-methyl-2-formylpyrrole	3-furfuryl-2,5-dimethylpyrazine
methyl picolinate	1-ethyl-2-acetylpyrrole	1,3,5-trimethyl-1,3,5-triazin-2,4,6-(1*H*,3*H*,5*H*)-trion
2-ethenyl-6-methylpyrazine	1-methyl-2-propionylpyrrole	
含硫化合物類		
thiophene	isothiocyanatocyclohexane	bis(2-methyl-3-furyl)disulfide
その他		
safrole	longifolene	
モノテルペン類		
炭化水素類		
o-cymene	(*E*)-*β*-ocimene	limonene
p-cymene	(*Z*)-*β*-ocimene	terpinolene
β-myrcene		
アルコール類		
cuminyl alcohol	geraniol	2,6-dimethyl-2,7-octadiene-1,6-diol
carvacrol	nerol	2,6-dimethyl-3,7-octadiene-2,6-diol
thymol	linalool	linalool epoxide
3,7-dimethyl-1,5,7-octatrien-3-ol	terpinene-4-ol	citronellol
7-methyl-3-methylene-6-octen-1-ol	*α*-terpineol	l-menthol
アルデヒド類		
geranial	neral	
エステル類		
geranyl formate	neryl acetate	l-menthyl acetate
geranyl acetate	*α*-terpinyl acetate	
ケトン類		
carvone		
酸類		
geranic acid		
セスキテルペン類		
炭化水素類		
calamenene	*δ*-cadinene	*α*-cubebene
α-farnesene	*α*-cadinene	*α*-copaene
β-sesquiphellandrene	*α*-muurolene	*β*-cubebene
α-humulene	*γ*-muurolene	*β*-caryophyllene
アルコール類		
(*E*,*E*)-farnesol	cadinol-T	*α*-cadinol
nerolidol	*δ*-cadinol	*β*-eudesmol
cubenol	9-cadinen-1-ol	

OASIS 法を開発した。そこで，この OASIS 法を用いて緑茶の香調を強める（エンハンス）成分について検索した。本章で実験材料に用いたユタカミドリ種は，主に鹿児島で生産されており（全国の生産量の 90%以上），ヤブキタ種に比べて，特にそのグリーンノートとローストノートに特徴があるとされている。

B．材料と方法

a．緑　　茶

2003 年産の鹿児島で作られたユタカミドリ種新茶を使用した。

b．緑茶揮発成分の単離

沸騰させたイオン交換水 3 L を 60°Cまで冷まし，あらかじめ 180 g の緑茶葉を入れた 3 L 容ビーカーに加えラップでふたをし 5 分後，茶漉しにより茶葉を取り除いた。得られた抽出液（約 2.1 L）を，水を張ったバット中で 30°Cまで冷やし，エバポレーターによる減圧水蒸気蒸留で蒸留をおこなった（加熱温度 40°C，減圧度 20 mmHg）。得られた留出液（約 1.5 L）を 20 g の Porapak Q を詰めたオープン系のガラスカラム（30 mm×400 mm）を通過させ香気成分を保持させた。100 mL のジエチルエーテルで脱着し，溶出液に無水硫酸マグネシウムを 5 g 加え，ろ紙（ADVANTEC 社　No.2）でろ過後，エバポレーターでジエチルエーテルを留去し約 2 mL になったら，窒素気流下で約 10 μL になるまで濃縮した。以上の操作を 5 回繰り返し，計 0.9 kg の茶葉を処理した。得られた香気濃縮物は OASIS に使用した。

c．特徴成分同定のための大量処理および酸，アルカリ処理

上記方法を 5 回繰り返しトータルで 4.5 kg の緑茶を処理した。得られた香気濃縮物を酸，アルカリ処理およびシリカゲルによるカラムクロマトグラフィーをおこなった。

d．OASIS

TCD 検出器をつけた GC（Agilent 社　5890 series II）を使用した。カラムは，INNOWax（Agilent 社）長さ 30 m，内径 0.53 mm，膜厚 1 μm のものを使用した。オーブン条件は，40°C から 230°Cまで 5 °C/分昇温でおこない，注入口は 250°C，TCD は 230°Cで，スプリットレスモードで注入した。TCD の出口にはリボンヒーターを巻き 230°Cに設定し，そこから出てくる香気成分を嗅ぎ，その評価をレコーダー（横河電気社）に書いた。緑茶香気濃縮液をジエチルエーテルで 3 倍（$=3^1$），9 倍（$=3^2$），27 倍（$=3^3$），81 倍（$=3^4$），243 倍（$=3^5$），729 倍（$=3^6$），2187 倍（$=3^7$）に段階希釈した溶液を 0.5 μL シリンジで吸い GC に注入し GC/O をおこなった。匂いが感じられたところを各成分の FD ファクターとし，縦軸に FD ファクター，横軸にリテンションタイムをとったアロマグラムを作成した。沸騰させたイオン交換水 200 mL を 60°Cまで冷まし，あらかじめ 12 g の緑茶葉を入れた 300 mL 容ビーカーに加えラップでふたをし 5 分後，茶漉しにより茶葉を取り除いた。得られた抽出液（140 mL）を 500 mL 容三口丸底フラスコに加え，60°Cで保温しながら一方から空気を 150 mL/分の流速で送りこみ，一方を匂い嗅ぎ口で緑茶の香りがするように嗅ぎ口につないだ。

e．GC/MS 分析条件

ガスクロマトグラフ（Agilent 社　6890）とマススペクトロメーター（Agilent 社　5973）をつないだ GC/MS を使用した。カラムは TC-Wax（GL サイエンス社）長さ 30 m，内径 0.25 mm，膜厚 0.25 μm のものを使用した。オーブン条件は，60°Cから 250°Cまで 5 °C/分昇温でおこない，注入口は 250°Cで，スプリット比は 100：1 で注入量は 0.2 μL とした。

f．化合物の同定

化合物の同定は，標品の Kovats Index とマススペクトルを用いておこなった。

g．2-Acetyl-3,5-dimethylpyrazine の緑茶への賦香試験

沸騰させたイオン交換水 300 mL を 60°Cまで冷まし，あらかじめ 9 g の緑茶葉を入れた 500 mL 容ビーカーに加えラップでふたをし 8 分後，茶漉しにより茶葉を取り除いた。抽出液 200 mL にイオン交換水 800 mL を加え，これに 2-acetyl-3,5-dimethylpyrazine の濃度が 2 ppm，20 ppm となるように賦香しそれぞれを試飲評価した。

C．結果と考察

緑茶抽出液には，特徴的で複雑な香りがあり（例えば，ジャスミンノート，スイートノート，グリーンノート，ローストノートなど），これらの特徴的な香りは，前章と同様に減圧水蒸気蒸留とPorapak Qを組み合わせた抽出法で抽出された。このうち，OASISによって，34ヶ所で香りの変化が確認され，そのうち11ヶ所で緑茶の香調を強める効果が感知された（図8）。その他の23ヶ所はそれぞれ単一のピークであり，該当する化合物の香気を確認することができた。前章でも確認された5成分は，緑茶の香調を強める11ヶ所に含まれており違った品種（ヤブキタ，ユタカミドリ）でも同様の効果が確認された。すなわち，geraniol，*(Z)*-3-hexenol，decanalは緑茶のグリーンノートを強め，*β*-iononeは緑茶のスイートノートを強め，indoleは，緑茶全体を強めた。

(Z)-1,5-octadien-3-oneは，原液でメタリックとして知られているが，OASIS法ではFDファクター9～81の間で，緑茶のグリーンノートを強める効果を持っていた。4-Mercapto-4-methyl-2-pentanoneは原液では肉様の香気として知られているが，OASIS法では，FDファクター243～729の間で緑茶のグリーンノートを強める効果を持っていた。3-Methylnonane-2,4-dioneは原液でグリーンノートといて知られているが，OAISIS法では，FDファクター243～729の間で緑茶のグリーンノートを強める効果を持っていた。2-Acetylpyrroleは，その原液がナッツ様香気を持つことで知られているが，OASIS法では，FDファクター3～9の間で緑茶のローストノートを強める効果を持っていた。2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazineは，その原液がナッツ様香気を持つことで知られているが，OAISIS法では，FDファクター9～81の間

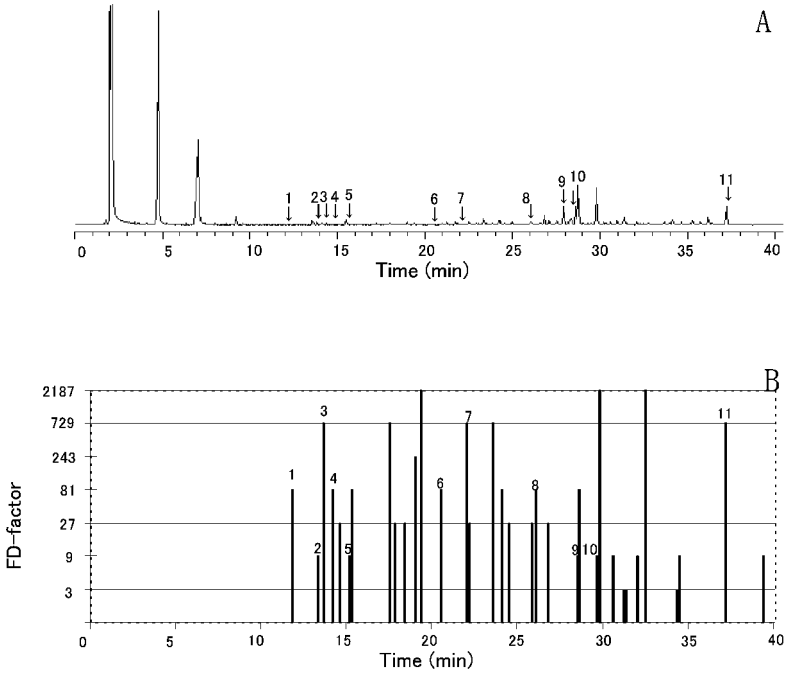


図8　緑茶のガスクロマトグラム（A）とOASISにより得られたアロマグラム（B）
1＝*(Z)*-1,5-octadien-3-one，2＝*(Z)*-3-hexenol，
3＝4-mercapto-4-methyl-2-pentanone，
4＝2-ethyl-3,5-dimethylpyrazine，5＝decanal，
6＝2-acethyl-3,5-dimethylpyrazine，
7＝3-methylnonane-2,4-dione，8＝geraniol，
9＝*β*-ionone，10＝2-acetylpyrrole，11＝indole

で緑茶のローストノートを強める効果を持っていた。

ピーク No.6 は，ナッツ様香気を持ち，OASIS 法では FD ファクター 9～81 の間で緑茶のローストノートを強める効果を持っていたが，通常の GC/MS ではピークが小さくてそのマススペクトルを得ることができなかった。そこで，緑茶を大量に減圧水蒸気蒸留し得られた香気濃縮物を酸，アルカリ処理およびシリカゲルによるカラムクロマトをおこない全部で 8 画分に分画した。ピーク No.6 は，塩基性画分中に含まれることを確認することができ，そのマススペクトルと Kovats Index から 2-acetyl-3,5-dimethylpyrazine と確認された。この化合物は天然では，コーヒーからしか確認されておらず[80]，今回緑茶ではじめて確認された。

最近，熊沢らも煎茶と釜入り茶から AEDA 法を用いた分析により，3-methylnonane-2,4-dione，*(Z)*-4-decenal，4-mercapto-4-methyl-2-pentanone および *(Z)*-1,5-octadien-3-one を確認している[81]。さらに，これらの緑茶への賦香試験もおこなっており，3-methylnonane-2,4-dione[82]，*(Z)*-4-decenal[83] および *(Z)*-1,5-octadien-3-one[84] を加えると，リーフィーでしっかりとしたグリーン香を持った緑茶になり，4-mercapto-4-methyl-2-pentanone を加えると入れたての茶がもつふくよかなグリーン香を持った緑茶になると報告している[85]。OASIS で得られた結果は，熊沢らの試験と同様の結果が得られた。しかし，2-acetyl-3,5-dimethylpyrazine は，今回緑茶ではじめて確認されたため，緑茶への賦香試験をおこなった。その結果，2 ppm で，OASIS 法で感じられたような緑茶のローストノートを強める効果が発現することがわかった。以上より，OASIS 法の結果は図 9 のようにまとめられる。

第Ⅴ章　茶香気の生成メカニズム（テルペン配糖体の熱分解生成物）

A．本章の目的

緑茶葉内には，蒸熱過程で内生酵素を失活させるため，烏龍茶や紅茶に比べて配糖体が多く残っている。緑茶の香気は，収穫後の加熱加工工程を経て生成してくると考えられ，この中には茶に配糖体として存在する香気前駆物質の分解や，アミノ酸と還元糖の加熱によって生じる焙焼香が考えられる。β-カロテンの加熱分解やメイラード反応などの報告例は知られているが，配糖体の加熱分解については調べられていない。そこで，緑茶の重要な香気物質である linalool の配糖体をモデル化合物にして，同様に熱分解をおこなった。反応条件は，通常の食品加工工程で加えられる温度条件とは異なるものではあるが，加熱生成物の収率を向上させる最適条件の発見を第一に本研究を進めた。

no	Compound	FD factor（3^n）					
		1	2	3	4	5	6
1	(*Z*)-1,5-octadien-3-one	メタリック	グリーン				
2	(*Z*)-3-hexenol	グラッシー	グリーン				
3	4-mercapto-4-methyl-2-pentanone	肉様				グリーン	
4	2-ethyl-3,5-dimethylpyrazine	ナッツ	ロースト				
5	decanal	オレンジ	グリーン				
6	不明成分	ナッツ	ロースト				
7	3-methylnonane-2,4-dione	グリーン				グリーン	
8	geraniol	フローラル	グリーン				
9	β-ionone	スイート					
10	2-acetylpyrrole	ロースト					
11	indole	アニマル		パワフル			

図 9　OASIS により判明した緑茶エンハンス成分

B．材料と方法

a．加熱分解装置

実験装置は図 10 の装置を用いた。使用法は次の手順でおこなった。

①ヒートブロックの温度を設定する。
②－10℃で冷却水を循環させる。
③真空ポンプを起動させ，フラスコ内を減圧状態にする。
④ヒートブロックにフラスコをセットし，加熱する。
⑤加熱後，フラスコを装置からはずして弁を開けて大気圧に戻す。
⑥コールドトラップ先端部をエーテルで洗浄し熱分解物を回収する。

b．GC 分析条件

FID 検出器をつけた GC（島津製作所　GC-17A）を使用した。カラムは，INNOWax（Agilent 社）長さ 30 m，内径 0.25 mm，膜厚 0.25 μm のものと DB-1（J &M社）30 m，内径 0.25 mm，膜厚 0.25 μm を必要に応じて使い分けた。オーブン条件は，60℃から 210℃まで 3 ℃/分昇温，210℃から 255℃まで 5 ℃/分昇温で 20 分保持でおこなった。注入口は 250℃，FID は 280℃で，スプリット比 20：1 で注入した。

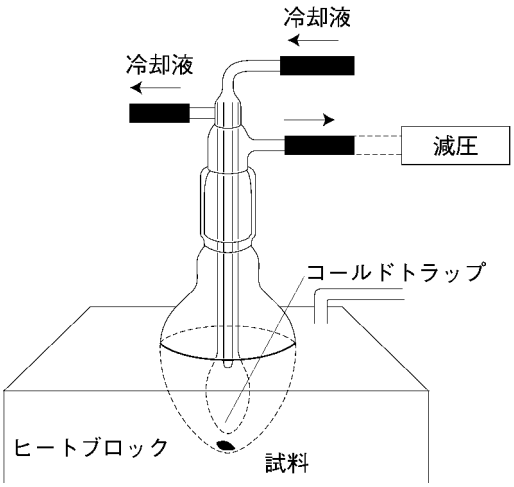


図 10　熱分解装置

c．リナロール配糖体（(6RS)-linalyl β-D-glucopyranoside）の合成

1）(6RS)-linalyl tetraacetyl-β-D-glucopyranoside の合成

松村らの方法に従った[87]。500 mL 容のナスフラスコ内で，(*RS*)-linalool 13.86 g（0.9 mol）に，CH_3CN 100 mL を加えた。これに acetobromo-α-D-glucose（2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-α-D-glucopranosyl bromide）12.3 g（0.3 mol）と，$Hg(CN)_2$ 125 g（0.9 mol）を加え，3 時間攪拌した。ここで，新たに acetobromo-α-D-glucose 12.3 g を加えさらに 5 時間後，再び acetobromo-α-D-glucose 12.3 g を加え，一晩攪拌した。その後，反応液をブフナー漏斗上で吸引ろ過した。ろ液をエバポレーターで濃縮後，蒸留水と酢酸エチルで分液した。分液後，酢酸エチル層に無水 $MgSO_4$ を加え，一晩放置した。ろ過した酢酸エチル層に，シリカゲル 60 g を加え，エバポレーターで濃縮乾固し，吸着させた。それをシリカゲルカラム（Wakogel C-200 300 g 溶出溶媒ヘキサン：酢酸エチル＝4：1）で分画して，(6*RS*)-linalyl tetraacetyl-β-D-glucopyranoside 7.4 g を得た。また，未反応の (6*RS*)linalool 2.2 g を回収した。

2）(6RS)-Linalyl tetraacetyl-β-D-glucopyranoside のジアステレオマーの分離

合成した (6*RS*)-linalyl tetraacetyl-β-D-glucopyranoside を HPLC（溶媒；ヘキサン：イソプロパノール＝95：5 流速 1.0 mL/分）に導入し，6*S*- 体（31.6 mg）と 6*R*- 体（62.9 mg）を分離した。その後，それぞれの分別物について NMR 分析，EI-MS 分析，比旋光度，IR（KBr ペレット）の測定をおこなった。6*S*- 体は，$[\alpha]^{25}_{D}$＝－21.20°（*c*＝0.03 g/100 mL，MeOH），IR ν^{KBr} cm^{-1}：3863，3852，3743，3734，2967，1749，1374，1231，1042，912，692，454 であった。6*R*- 体は，$[\alpha]^{25}_{D}$＝－1.82°（c＝0.06 g/100 mL，MeOH），IR ν^{KBr} cm^{-1}：3477，2968，1745，1442，1369，1232，1162，1044，914，840，692，656，617，601，580，516，454 であった。

3）(6RS)-，(6S)- 及び (6R)-linalyl tetraacetyl-β-D-glucopyranoside の脱アセチル化

6*RS*- 体 30 mg と 6*S*- 体 31.6 mg 及び 6*R*- 体 62.9 mg をそれぞれ 25%アンモニア水 2 mL と MeOH 8 mL を加え，12 時間放置した。エバポレーターで約 1 時間濃縮後，さらに真空ポンプで 1 時間減圧乾燥した。(6*S*)- 体と (6*R*)- 体の加水分解物をそれぞれ HPLC で精製した（溶媒 70%CH3CN　流速 10 mL/分）。精製後の純粋な化合物 (6*S*)- 体（18.08 mg），(6*R*)- 体（31.86 mg）を得た。その後，それぞれ NMR 分析，EI-MS 分析，IR（KBr ペレット），比旋光度の測定をおこなった。(6*S*)- 体は，$[\alpha]^{25}$ D＝－6.44°（c＝0.01 g/100 mL，MeOH），IRν^{KBr}cm^{-1}：3401，2926，1047 であった。また，(6*R*)- 体は$[\alpha]^{25}$ D＝－24.15°（c＝0.03 g/100 mL，MeOH），IRν^{KBr}cm^{-1}：3399，1082 であった。

d．(6RS)-Linalyl β-D-glucopyranoside の熱分解物の分析

合成した (6*RS*)-linalyl β-D-glucopyranoside 10 mg を反応温度 200°C，反応容器の吸引圧－0.095 MPa，反応時間 5 分間で熱分解し，捕集した分解物を GC/MS 分析した。

e．GC/MS 分析条件

ガスクロマトグラフ（Agilent 社　6890）とマススペクトロメーター（Agilent 社　5973）をつないだ GC/MS を使用した。カラムは TC-Wax（GL サイエンス社）長さ 30 m，内径 0.25 mm，膜厚 0.25 μm のものを使用した。オーブン条件は，60°Cから 250°Cまで 5 °C/分昇温でおこない，注入口は 250°Cで，スプリット比は 100：1 で注入量は 0.2 μL とした。

f．賦香試験

(6*RS*)-linalyl β-D-glucopyranoside を反応温度 200°C，反応容器の吸引圧－0.095 MPa，反応時間 5 分間で熱分解したものを回収した香気成分（約 10 回分 37.75 mg）を緑茶（ヤブキタ茶葉 10 g/60°C熱水 300 mL/ 8 分抽出後，その抽出液 200 g に蒸留水 800 mL を加えたもの）に 10 ppm と 1000 ppm 賦香し評価した。

g．ジアステレオマー［(6R)-linalyl β-D-glucopyranoside, (6S)-linalyl β-D-glucopyranoside］の熱分解物の分析

(6*R*)-linalyl β-D-glucopyranoside および (6*S*)-linalyl β-D-glucopyranoside をそれぞれ 2 mg ずつ，反応温度 230°C，反応容器の吸引圧－0.095 MPa，反応時間 5 分間で熱分解した。反応後，回収した香気成分を窒素濃縮後，内部標準物質としてトリデカン／ジエチルエーテル（1 ppm）を 5 μL 加え，そのうちの 1 μl をマイクロシリンジで測り取り GC に注入し分析した。

h．2,6-Dimethyl-2,6-octadiene の合成および異性体の単離

Wittig 反応[88] によりおこなった。100 mL 容のナスフラスコ内で，potassium-*t*-butoxide 4.26 g（37.96 mmol）とジエチルエーテル 10 mL を加え攪拌した。氷で冷やしながら，あらかじめ ethyltriphenylphosphonium bromide 10.00 g（26.94 mmol）をジエチルエーテル 20 mL に溶かした溶液を 10 分間かけて滴下し，その後 2 時間攪拌した。6-Methyl-5-hepten-2-one 2.65 g（21.00 mmol）を 10 分間かけて滴下し，蒸留水 50 mL を加えて反応を終了した。有機層に飽和 NaCl 水溶液を加え，分液した。有機層に無水 $MgSO_4$ を加え一晩放置した。その後，吸引ろ過しエバポレーターで濃縮した。濃縮液を 15%硝酸銀シリカゲルカラムクロマトグラフィー（100 g，展開溶媒　ヘキサン：ジエチルエーテル＝95：5）で分画して，(6*Z*)-2,6-dimethyl-2,6-octadiene 0.235 g（17.00 mmol）と (6*E*)-2,6-dimethyl-2,6-octadiene 0.138 g（10.00 mmol）を単離した。これらの化合物は NMR 測定により 6 位の幾何異性を推定した。

i．メンソール配糖体（ℓ-menthyl β-D-glucopyranoside）の合成

1）ℓ-Menthyl tetraacetyl-β-D-glucopyranoside の合成

50 mL 容ナスフラスコ内で CH_3CN 10 mL に ℓ-menthol 1.141 g（7.3 mmol）と acetobromo-α-D-glucose 2.009 g（4.9 mmol）を加え，撹拌した。ここに，$Hg(CN)_2$ 1.848 g（7.3 mmol）を加え室温で 3 時間撹拌し，TLC で acetobromo-α-D-glucose の消失を確認し

た。これに，CH_2Cl_2 20 mL を加え，吸引ろ過した。ろ液に飽和 $NaHCO_3$ 水溶液を加え洗浄した（計2回）。分液後，有機層に無水 $MgSO_4$ を加え一晩放置した。その後，吸引ろ過し，エバポレーターで濃縮した。これをシリカゲルカラム（Wakogel C-200，展開溶媒　*n*-ヘキサン（以下ヘキサン）：酢酸エチル＝19：1　200 mL，9：1　100 mL，4：1　100 mL，1：1　100 mL）で分画し，NMR 測定，ℓ-menthyl tetraacetyl-β-D-glucopyranoside 1.002 g（2.1 mmol，収率28.8%）を得た。

2）ℓ-Menthyl tetraacetyl-β-D-glucopyranoside の脱アセチル化

ℓ-Menthyl tetraacetyl-β-D-glucopyranoside 100.2 mg（0.2 mmol）を MeOH 100 mL に溶解した。さらに，CH_3ONa 65.1 mg（1.2 mmol）を MeOH 12 mL に溶解し，加えた。これを室温で15分間撹拌し，TLC で原料の消失を確認した。この溶液を［H^+ 型］イオン交換樹脂（アンバーライト CG 120　7.385 L）に通し，通過液を濃縮して，ℓ-menthyl β-D-glucopyranoside 68.2 mg（0.2 mmol，収率100%）を得た。

j．Menthol 配糖体（ℓ-menthyl β-D-glucopyranoside）の熱分解

サンプル 10 mg を反応温度 200°C，反応容器の吸引圧－0.095 MPa，反応時間5分間で熱分解し，熱分解物3 mg を回収した。さらに，シリカゲルカラム（Wakogel C-200　0.8 g，展開溶媒　ヘキサン：酢酸エチル＝9：1）により分画し，ℓ-menthol の割合を少なくした。そして，GC 分析，GC-MS 分析し，熱分解物を同定した。

k．重水素標識リナロール配糖体（[1'-^{2}H] (6RS)-linalyl β-D-glucopyranoside）の合成

1）[1-^{2}H] pentaacetyl-β-D-glucopyranose の合成

50 mL 容ナスフラスコ内で［1-^{2}H］glucose 1 g（5.52 mmol，標識率100%）に pyridine 13 mL を加え，氷上で撹拌した。それに無水酢酸 4.7 mL を加え，[1-^{2}H] glucose を溶解させ，室温で一晩放置した。その後，1 L 分液漏斗に反応液と氷水 200 mL を加え，酢酸エチル（120 mL×3回）で抽出し，酢酸エチル層を飽和 $NaHCO_3$ 水溶液 360 mL と蒸留水 360 mL で1回ずつ洗浄した。減圧濃縮（トルエンを加え，ピリジンを共沸除去）後，真空デシケータ内で乾固させ，［1-^{2}H］pentaacetyl-β-D-glucopyranose 2.1012 g（5.37 mmol，収率97.28%）を得た。

2）［1-^{2}H］acetobromo-α-D-glucose の合成

50 mL 容ナスフラスコ内で［1-^{2}H］pentaacetyl-β-D-glucopyranose 2.1012 g（5.37 mmol）と25%HBr 酢酸溶液 3.5 mL を撹拌し，TLC で[1-^{2}H] acetobromo-α-D-glucose の生成と［1-^{2}H］pentaacetyl-β-D-glucopyranose の消失を確認した。ここに，CH_2Cl_2 21 mL を加え，200 mL 分液漏斗に移し，CH_2Cl_2 で抽出（21 mL×2回）した後，飽和 $NaHCO_3$ 水溶液 63 mL で洗浄した。CH_2Cl_2 層が中性である事を確認し，さらに蒸留水 63 mL で洗浄した。分液後，CH_2Cl_2 層に無水 $MgSO_4$ を加え，一晩放置した。吸引ろ過したものを濃縮した後，真空デシケータに入れて乾燥し，[1-^{2}H] acetobromo-α-D-glucose 2.1260 g（5.16 mmol，収率96.09%）を得た。

3）［1'-^{2}H］(6RS)-Linalyl tetraacetyl-β-D-glucopyranoside の合成

50 mL 容ナスフラスコ内で CH_3CN 17 mL に (6*RS*)-linalool 2.3846 g（15.46 mmol）と［1-^{2}H］acetobromo-α-D-glucose 2.1260 g（5.16 mmol）を加え，撹拌した。ここに，$Hg(CN)_2$ 3.9097 g（15.48 mmol）を加え室温で一晩撹拌し，TLC で[1-^{2}H] acetobromo-α-D-glucose の消失を確認した。その後，反応液を吸引ろ過し，ろ液をエバポレーターで濃縮後，酢酸エチルと水で分液した。分液後，酢酸エチル層にシリカゲル 10 g を加え，エバポレーターで濃縮乾固し吸着させた。これをシリカゲルカラム（Wakogel C-200　135 g，展開溶媒　ヘキサン：酢酸エチル＝4：1）で分画し，NMR 測定，[1'-^{2}H] (6*RS*)-linalyl tetraacetyl-β-D- glucopyranoside 0.7896 g（1.63 mmol，収率31.58%）を得た。

4）［1'-^{2}H］(6RS)-Linalyl tetraacetyl-β-D-glucopyranoside の脱アセチル化

30 mL 容ナスフラスコ内で，［1'-^{2}H］(6*RS*)-linalyl tetraacetyl-β-D-glucopyranoside 0.7600 g（1.57 mmol）に MeOH 8 mL を加えて溶解し，さらに 25%アンモニア水 2 mL を加えて，室温で一晩放置した。TLC により［1'-^{2}H］(6*RS*)-linalyl tetraacetyl-β-D-glucopyranoside の消失と［1'-^{2}H］(6*RS*)-linalyl β-D- glucopyranoside の生成を確認した後，エバポレーターで濃縮し，さらに真空デシケーター内で 2 時間濃縮し，［1'-^{2}H］(6*RS*)-linalyl β-D-glucopyranoside と酢酸アンモニウムの混合物を得た。合成した［1'-^{2}H］(6*RS*)-linalyl β-D-glucopyranoside の重水素化率は ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR, FD-MS の測定により計算した。

l．［1'-^{2}H］(6RS)-Linalyl tetraacetyl-β-D-glucopyranoside の熱分解

［1'-^{2}H］(6*RS*)-Linalyl β-D-glucopyranoside と酢酸アンモニウムの混合物を反応温度 236°C，反応容器の吸引圧－0.095 MPa，反応時間 5 分で熱分解し，エーテル回収物と反応容器中に残った残渣を得た。エーテル回収物はそのまま，残渣は TMS 化した後に GC 分析，GC/MS 分析に供した。

m．ほうじ茶揮発成分の分離および GC/MS 分析

沸騰させたイオン交換水（東レ社　TORAYPURE LV-10T）1 L を 80°Cまで冷まし，あらかじめ 60 g のほうじ茶葉（2002 年静岡産）を入れた 2 L 容ビーカーに加えラップでふたをし 5 分後，濾紙（ADVANTEC 社　No.2）により茶葉を取り除いた。得られた抽出液（約 700 mL）を，流水中で 30°Cまで冷やしエバポレーター（東京理化器械社　N1000S）による減圧水蒸気蒸留で蒸留をおこなった（加熱温度 40°C，減圧度 20 mmHg）。得られた留出液（約 500 mL）を 10 g の Porapak Q を詰めたオープン系のガラスカラム（直径 30 mm×長さ 400 mm）を通過させ香気成分を保持した。50 mL のジエチルエーテルで流出しジエチルエーテル溶出液に無水 $MgSO_4$ を 5 g 加え，濾紙（ADVANTEC 社　No.2）で濾過後，エバポレーターによりジエチルエーテルの大部分を留去し，最後は窒素気流下で約 10 μL になるまで濃縮した。以上の操作を 3 回繰り返し，計 180 g の茶葉を処理した。得られた香気濃縮物を GC/MS 分析した。

C．結果と考察

合成して得られた (6*S*)-linalyl tetraacetyl-β-D-glucopyranoside および (6*R*)-linalyl tetraacetyl-β-D-glucopyranoside は，^{1}H-NMR と ^{13}C-NMR のシグナルの帰属を ^{1}H-^{1}H COSY，^{13}C-^{1}H COSY，NOESY スペクトルの解析によりおこない，表 4，5 に ^{1}H 及び ^{13}C-NMR データと帰属の結果を示した。

(6*S*)-linalyl tetraacetyl-β-D-glucopyranoside および (6*R*)-linalyl tetraacetyl-β-D-glucopyranoside の絶対配置の帰属は，CAChe による最安定配座検索で得られたコンフォメーション（図 11）と，化合物の混合物で測定した NOESY スペクトルで観察された化合物の Me-10 と H'-1 間の NOE ピー

表 4　*(6S)*-Linalyl tetraacetyl-β-D-glucopyranoside と *(6R)*-linalyl tetraacetyl-β-D-glucopyranoside の ^{1}H-NMR スペクトル（270 MHz，$CDCl_3$）

H	61a	61b
1	5.18*m*	5.19*m*
2	5.90*dd*. *J*=10.9 17.8Hz	5.69*dd*. *J*=10.9 17.5Hz
3	—	—
4	1.93*m*	1.90*m*
5	1.23*m*	1.49*m*
6	5.00*m*	4.98*m*
7	—	—
8	1.56*s*	1.53*s*
9	1.64*s*	1.61*s*
10	1.23*s*	1.29*s*
1'	4.52*d* *J*=7.9Hz	4.54*d* *J*=8.3Hz
2'	5.00*m*	4.98*m*
3'	5.18*m*	5.19*m*
4'	5.00*m*	4.98*m*
5'	3.59*m*	3.60*m*
6'	4.16，4.06*m*	4.16，4.04*m*
CH_3CO	2.06*s*	2.03*s*
	2.02*s*	2.00*s*
	2.00*s*	1.97*s*
	1.98*s*	1.96*s*

表 5　*(6S)*-Linalyl tetraacetyl-*β*-D-glucopyranoside と *(6R)*-linalyl tetraacetyl-*β*-D-glucopyranoside の ^{13}C NMR スペクトル（67.5 MHz，$CDCl_3$）

C	61a	61b
1	115.0	116.5
2	142.2	142.0
3	80.7	81.1
4	22.3	22.6
5	40.1	42.0
6	124.0	124.4
7	131.6	132.1
8	17.6	17.9
9	25.6	26.0
10	22.6	23.5
1’	95.7	96.5
2’	71.3	71.7
3’	73.1	73.4
4’	68.7	69.2
5’	71.5	71.9
6’	62.3	62.8
$\underline{C}H_3CO$	20.7×2	20.7×2
	20.6×2	20.6×2
$CH_3\underline{C}O$	170.6	171.0
	170.3	170.7
	169.4	169.8
	169.1	169.5

ク（図 12）からそれぞれ化合物を (6*R*)-linalyl tetraacety-*β*-D-glucopyranoside，化合物を (6*S*)-linalyl tetraacetyl-*β*-D-glucopyranoside と推定した。

GC/MS 分析により，(6*RS*)-linalyl *β*-D-glucopyranoside を 200℃，−0.095 MPa，5 分間で反応させて捕集した分解物のガスクロマトグラム（図 13）の保持時間 10.883 分から 15.073 分の複数のピークは (*Z*)-ocimene およびその異性体であると考えられ，11 分のピークは limonene，27.013 分のピークはアグリコンの linalool であった。8.932，8.992 分のピークは，合成した 6*Z* 異性体と 6*E* 異性体の ^{13}C-NMR 比較によりそれぞれ 2,6-dimethyl-2,6-octadiene の 6*Z* と 6*E* の幾何異性体と同定した（図 14）。また，(6*RS*)-linalool のみの熱分解物のガスクロマトグラムには 2,6-dimethyl-2,6-octadiene のピークが出現しなかったことから直接生成される経路が推測された。

加熱分解物の賦香試験の結果は，1000 ppm では高温で抽出したような渋さがあり，あわせてメルカプタン様の生臭さがあった。10 ppm ではグリーンノート様の甘みと火入れ感があった。

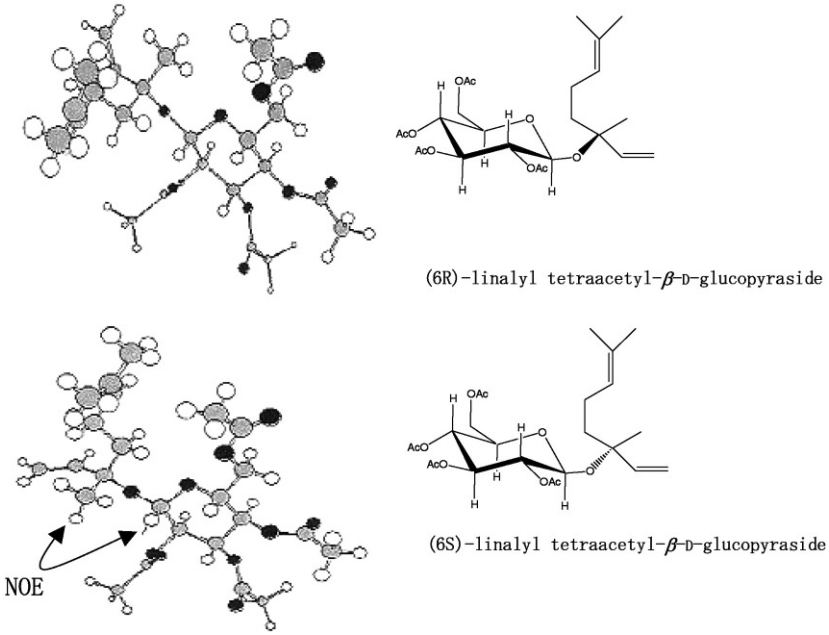
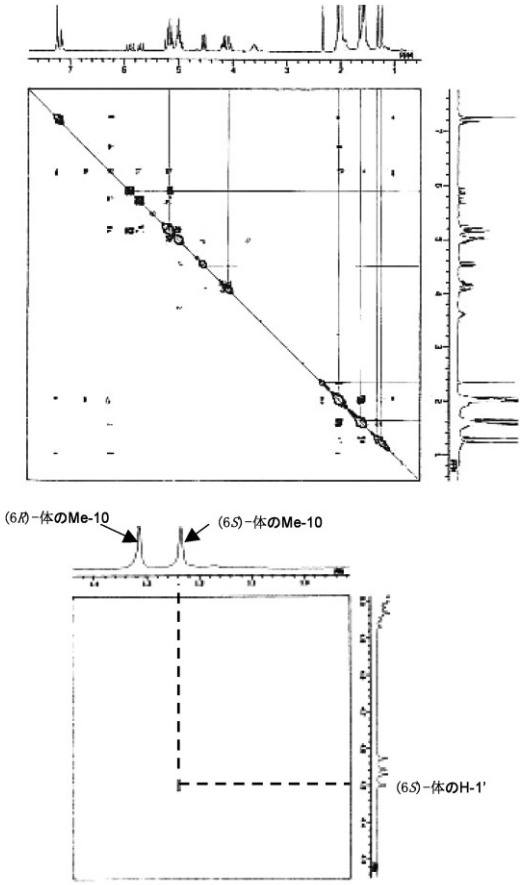


図 11　(6*S*)-linalyl tetraacetyl-*β*-D-glucopyranoside および(6*R*)-linalyl tetraacetyl-*β*-D-glucopyranoside の最安定配座と NOESY 相関



（拡大図）

図 12　(6*S*)-linalyl tetraacetyl-*β*-D-glucopyranoside および(6*R*)-linalyl tetraacetyl-*β*-D-glucopyranoside 混合物の NOESY スペクトルデータ

このジエンの生成機構について考えてみると，Herron[89] は，2 種の配糖体が熱分解した時，levoglucosan と同時にアグリコンのアルコールが生じることを示している。今回おこなったリナロールの配糖体も，リナロールが生じる系は，同様に levoglucosan の生成に伴って起こると考えられる（スキーム 2）。一方，2,6-dimethyl- 2,6-octadiene の生成は，スキーム 3 に示すグルコースの 1 位の水素の引き抜きを伴う反応であると考えられた。すなわち，glucono 1,5-lactone の生成を伴って生じることが考えられた。この反応は，イオノール配糖体やメンソール配糖体のような 2 級アルコールでは起こらず，linalool のような 3 級アルコール構造を持った化合物特有と考えられる。そこで，メンソール配糖体の加熱分解と，グルコースの 1 位の水素を重水素標識した［1'-^{2}H］(6*RS*)linalyl *β*-D-glucopyranoside の加熱分解をおこないこの仮説について検証した。

ℓ-menthyl *β*-D-glucopyranoside を 200°C，−0.095 MPa，5 分間反応させて捕集した分解物を GC/MS 分析すると，4-methyl-1-(1-methylethyl)-cyclohexene と *ℓ*-menthol が同定され，その他のピークは同定出来なかった。同定された生成物をスキーム 4 に示す。つまり，この条件では，*ℓ*-menthyl *β*-D-glucopyranoside の熱分解によって *ℓ*-menthol とその脱水物である 4-methyl-1- (1-methylethyl)- cyclohexene が生成した。

GC/MS 分析により，［1'-^{2}H］(6*RS*)-linalyl *β*-D- glucopyranoside を 236°C，−0.095 MPa，5 分間反応させて捕集した分解物のクロマトグラム（図 15）の RT＝19.608 分（A）と 20.817 分（B）がそれぞれ，［8-^{2}H］2,6-dimethyl-2,6-octadiene の 6*Z*, 6*E* の幾何異性体であると推定された。非標識の (6*RS*)-linalyl *β*-D-glucopyranoside の熱分解反応生成物から同定された 2,6-dimethyl-2,6-octadiene の MS データとの比較によって，重水素が 1 個取り込まれていることが確認された。反応機構論的に末端メチルに導入されたと考えられる。標識率は，重水素標識，非標識それぞれの分子イオンピーク *m/z* 138,139 と特徴的な *m/z* 123,124 の RT にズレがなかったため，分子イオンピークの積算により以下のように求めた[90,91]。まず，ピーク A について重水素標識，非標識，それぞれの分子イオンピークを 100 とした，*m/z* 138 と *m/z* 139 の相対強度を算出した。重水素標識…*m/z* 138：35.71，*m/z* 139：100.00，非標識…*m/z* 138：100.00，*m/z* 139：4.35。この値を用いて，次式で求めた。

35.71（*m/z* 138 のピーク強度）×4.35（非標識化合物の M＋1 のピーク強度）/100≒1.6（%）

100−1.6＝98.4（%）（実際の重水素標識化合物のピーク強度）

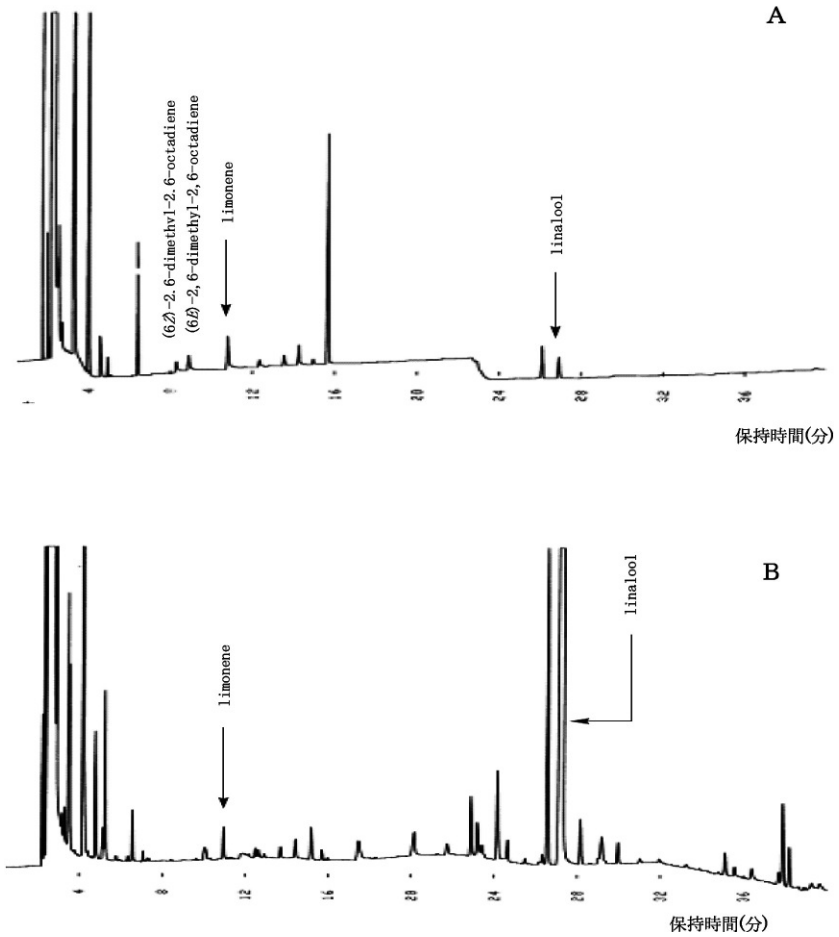


図13　A：(6*RS*)-linalyl β-D-glucopyranoside 熱分解生成物のガスクロマトグラム（200°C, −0.095 MPa, 5分間），B：(6*RS*)-linalool 熱分解生成物のガスクロマトグラム（200°C, −0.095 MPa, 5分間）

100×98.4/(35.71＋98.4)≒73.4(%)

以上より，ピークAの標識率を73.4%とした。

同様に，ピークBについても求めた。重水素標識…m/z 138：24.19，m/z 139：100.00，非標識…m/z 138：100.00，m/z 139：0.97。この値を用いて，

24.19(m/z 138のピーク強度)×0.97(非標識化合物のM＋1のピーク強度)/100≒0.2(%)

100−0.2＝99.8(%)(実際の重水素標識化合物のピーク強度)

100×99.8/(24.19＋99.8)≒80.5(%)

以上で，ピークBの標識率を80.5%とした。

さらに，この結果得られた分子イオンピーク領域と脱メチルピーク領域のパターンの違いは，脱メチルする際に約1/4の確率で重水素メチルが抜けることが原因と考えられた。

また，GC/MS分析により，[1'-^{2}H] (6*RS*)-linalyl β-D-glucopyranosideを236°C, −0.095 MPa，5分間で反応させた残渣のTMS化物の中にglucono-1,5-lactoneのTMSエーテルが含まれていることを，標品との比較によって同定した。

2,6-dimethyl-2,6-octadieneの報告例としては，天然では烏龍茶[92]やホップに由来するものが知られている。緑茶の中でも製茶工程で焙煎をおこなうほうじ茶の香気分析をしたところ，*(Z)*-体が0.007%，*(E)*-体が0.009%含まれていた。このことから，烏龍茶やほうじ茶の製茶工

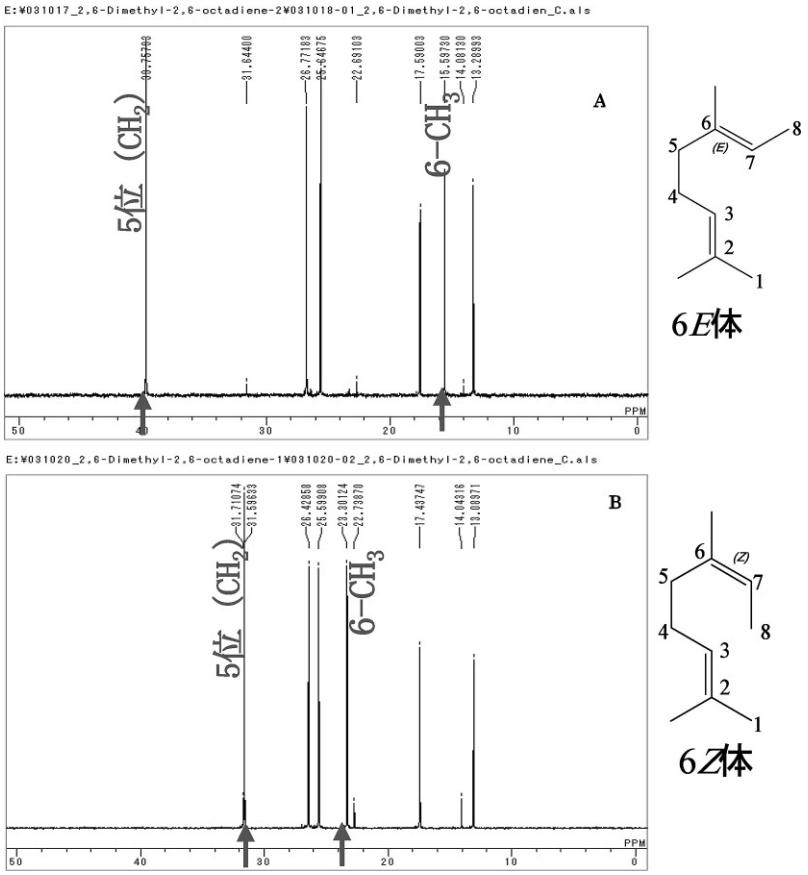


図 14　^{13}C-NMR スペクトルの比較（100 MHz，$CDCl_3$）
A：(6*E*)-2,6-dimethyl-2,6-octadiene
B：(6*Z*)-2,6-dimethyl-2,6-octadiene
6*Z* 体と比べて 6*E* 体は，5 位の CH_2 が低磁場で 6-CH_3 が高磁場。

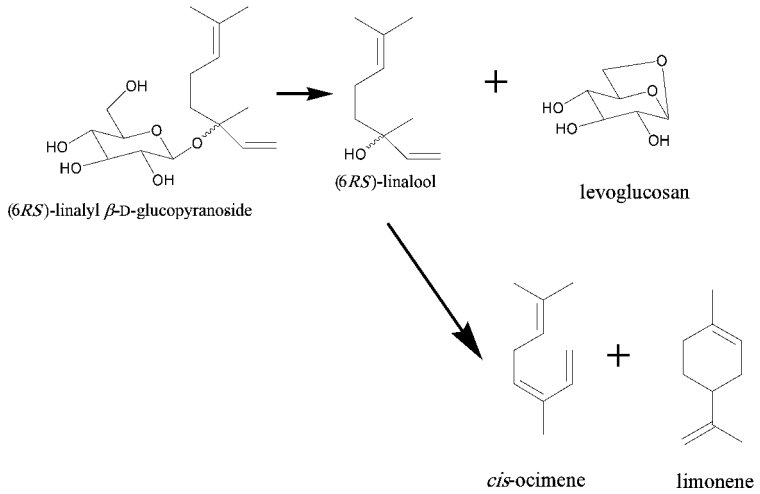
程でも (6*RS*)-linalyl *β*-D-glucopyranoside の熱分解反応が起きて 2,6-dimethyl-2,6-octadiene を生成していると考えられた。

これらの結果から，[1-^{2}H] (6*RS*)-linalyl *β*-D-glucopyranoside の熱分解反応生成物として，[8-^{2}H] 2,6-dimethyl-2,6-octadiene と glucono-1,5-lactone が存在することが示された。よって，2,6-dimethyl-2,6-octadiene の生成機構はスキーム 3 に示したように，glucose の 1 位の水素の引き抜きを伴う反応，すなわち，glucono-1,5-lactone の生成を伴って生じる反応であることが証明された。

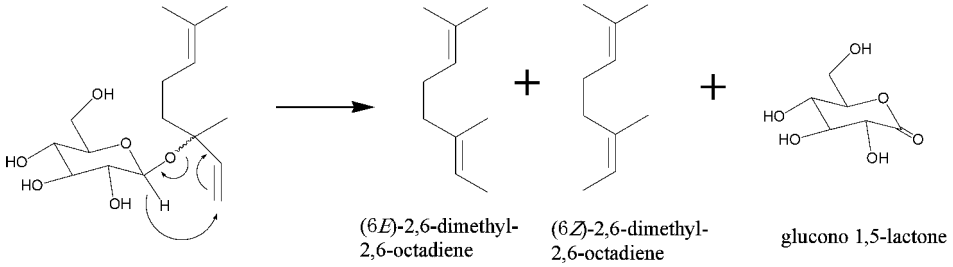
第VI章　総　　括

これまでの茶香気の研究が，専門的な用語を使った官能評価や AEDA 法を用いた香気成分の探索，配糖体の加水分解による茶香気生成メカニズムなどの解析を中心に展開されてきたのに対して，筆者の研究は，スコアリング法を用いた官能評価による産地別の緑茶香気特性の把握，茶の複合的な香り（香気成分同士の相互作用）を評価できるような検索法の確立，加熱分解による茶香気生成メカニズムを明らかにする目的でおこなった。

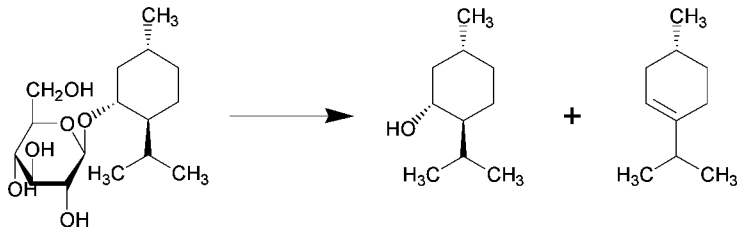
まず，蒸し製法で産地の異なる（埼玉，静岡，三重，奈良，京都，佐賀，宮崎）ヤブキタ種をスコアリング法による官能評価をおこない，それぞれの香気特性を掴んだ。さらに，それぞれの香気成分を分析した結果，75 成分を同定した。得られた GC 含有率から，産地の香気特性を



スキーム 2　(6*RS*)-Linalyl *β*-D-glucopyranoside の熱分解反応



スキーム 3　(6*RS*)-Linalyl *β*-D-glucopyranoside から 2,6-dimethyl-2,6-octadiene の考えられる生成経路



スキーム 4　ℓ-Menthyl *β*-D-glucopyranoside の熱分解反応生成物

見るために主成分分析をおこなった。その結果，官能評価結果と香気成分分析結果により得られた香気特性が一致した。

茶の複合的な香りを明らかにするために AEDA 法を改良した OASIS 法を開発した。そこで，AEDA 法で注目された 6 成分について OASIS 法と比較した。その結果，閾値の高く AEDA では注目されなかった成分でも OASIS 法ではエンハンス効果を発現することがわかった。さらに，それぞれの成分を緑茶に賦香した結果は，OASIS 法で得られた結果と一致した。この開発した OASIS 法を用いて，ユタカミドリ種における緑茶のエンハンス成分を探索した。その結果，緑茶の香調を強める 11 成分を明らかにし，茶において初めて 2-acetyl-3,5-dimethylpyrazine を確認した。

香気生成メカニズムについて，緑茶製造工程では熱を加えることから，linalool の配糖体をモデル化合物に熱分解をおこなった。その結果，熱分解生成物中に linalool，limonene，(*Z*)-ocimene とともに (6*Z*)-2,6-dimethyl-2,6-octadiene および (6*E*)-2,6-dimethyl-2,6-

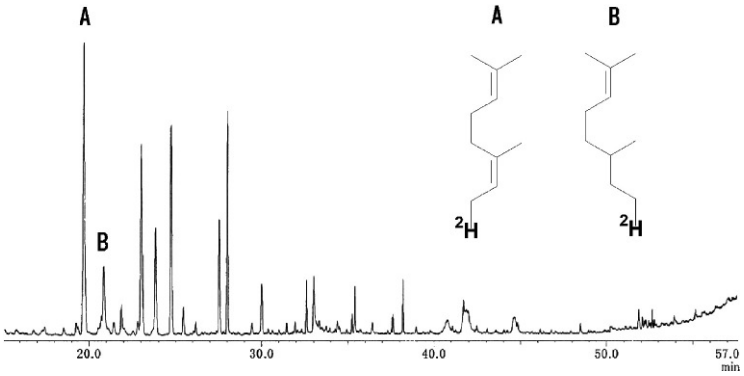


図 15　[1'-^{2}H] (6*RS*)-linalyl β-D-glucopyranoside の熱分解反応物のガスクロマトグラム

octadiene を同定した。この 2,6-dimethyl-2,6-octadiene の生成機構を明らかにするために，グルコースの 1 位を重水素標識した配糖体を熱分解した結果，重水素標識された 2,6-dimethyl-2,6-octadiene と glucono-1,5-lactone を同定した。このことから，この加熱分解反応はグルコースの 1 位水素の転移反応によって進むという新しい知見を得た。

参 考 文 献

1）相賀徹夫，園芸植物大辞典，東京，小学館（1989）.

2）高野實，谷本陽蔵，富田勲，中川致之，岩浅潔，寺本益英，山田新市，緑茶の辞典，東京，柴田書店（2000）.

3）川上美智子，茶の香り研究ノート―製造にみる多様性の視点から，東京，光生館（2000）.

4）山西貞，茶の香り，*Foods & Food Ingredients Journal of Japan*, **52**, 23-34 (1996).

5）Yamanishi, T. and Kiribuchi, T., Studies on the flavor of green tea 5. Examination of the essential oil of the tea-leaves by gas liquid chromatograh. *Agric. Biol. Chem.*, **27**, 193-198 (1963).

6）Yamanishi, T. and Sato, H., Linalool-epoxides in the essential oils from freshly plucked tea-leaves and black tea. *Agric. Biol. Chem.*, **28**, 653-655 (1964).

7）Yamanishi, T. and Kiribuchi, T., Studies on the flavor of green tea 6. Neutral fraction of the essential oil of tea-leaves. *Agric. Biol. Chem.*, **29**, 300-306 (1965).

8）Kobayashi, A. and Sato, H., *cis*-2-Penten-1-ol in the essential oil from freshly plucked tea-leaves and black tea. *Agric. Biol. Chem.*, **29**, 488-489 (1965).

9）Yamanishi, T. and Kobayashi, A., Studies on the flavor of green tea 7. Flavor components of manufactured green tea. *Agric. Biol. Chem.*, **30**, 1102-1105 (1966).

10）Saijo, R. and Kuwabara, Y., Volatile flavor of black tea 1. Formation of volatile components during black tea manufacture. *Agric. Biol. Chem.*, **31**, 389-396 (1967).

11）Yamanishi, T. and Nose, M., Studies on the flavor of green tea 8. Further investigation of flavor constituents in manufactured green tea. *Agric. Biol. Chem.*, **34**, 599-608 (1970).

12）Nose, M. and Nakatani, Y., Studies on the flavor of green tea 9. Identification and composition of intermediate and high boiling constituents in green tea flavor. *Agric. Biol. Chem.*, **35**, 261-271 (1971).

13）Saijo, R. and Takeo, T., Volatile and non-volatile forms of aroma compounds in tea leaves and their changes due to injury. *Agric. Biol. Chem.*, **37**, 1367-1373

(1973).
14) Yamanishi, T. and Shimojo S., Aroma of roasted green tea (hoji-cha). *Agric. Biol. Chem.*, **37**, 2147-2153 (1973).
15) Kajiwara, T. and Harada, T., Isolation of *Z*-3-hexenal in tea leaves, and *Thea synthesis*. *Agric. Biol. Chem.*, **39**, 243-247 (1975).
16) Nguyen, T. and Yamanishi, T., Flavor components in Vietnamese green tea and lotus tea. *Agric. Biol. Chem.*, **39**, 1263-1267 (1975).
17) Takei, Y. and Ishiwata, K., Aroma components characteristic of spring green tea. *Agric. Biol. Chem.*, **40**, 2151-2157 (1976).
18) 川上美智子，山西貞，かぶせ茶の香りの特徴．日本農芸化学会誌，**55**，117-123(1981)．
19) 津志田藤二郎，村井敏信，大森正司，岡本順子，γ-アミノ酪酸を蓄積させた茶の製造とその特徴．日本農芸化学会誌，**61**，817-822 (1987)．
20) Kawakami, M. and Yamanishi, T., Flavor constituents of longjing tea. *Agric. Biol. Chem.*, **47**, 2077-2083 (1983).
21) 原利男，深津修一，伊奈和夫，茎茶と煎茶の香味成分の比較．茶業研究報告，**78**，61-65 (1993)．
22) Kato, M. and Shibamoto, M., Variation of major volatile constituents in various green teas from Southeast Asia. *J. Agric. Food Chem.*, **49**, 1394-1396 (2001).
23) Musalam, Y., Kobayashi, A. and Yamanishi, T., Aroma of Indonesian jasmine tea. *Proceedings of the 10th International Congress of Essential Oils*, Washington, 659-668 (1986).
24) Yamanishi, T. and Guo S., Aroma of Chinese scented green tea. *Front. Flavor, Proc. Int. Flavor Conf., 5th.*, Greece, 181-190 (1987).
25) 山口優一，澤井祐典，深山大介，吉冨均，茶生葉摘採後の香気成分の変化について．日本食品科学工学会第46回大会講演集，195，福岡 (1999)．
26) 原利男，久保田悦郎，緑茶火入れ中における香気の形成と変化．日本農芸化学会誌，**58**，25-30 (1984)．
27) 原利男，堀田博，緑茶火入れ中に生成する3,7-dimethyl- 1,5,7-octatrien-3-olとその前駆物質．日本農芸化学会誌，**61**，353-356 (1987)．
28) 川上美智子，山西貞，焙焼，釜炒り操作による茶香気の形成．日本農芸化学会誌，**73**，893-906 (1999)．
29) Yamaguchi, K. and Shibamoto, T., Volatile constituents of green tea, gyokuro (*Camellia sinensis* L. var *Yabukita*). *J. Agric. Food Chem.*, **29**, 366-370 (1981).
30) 山口優一，角川修，煎茶製造工程中の香気成分の形成に関する検討．第41回TEAC，39-41，岩手 (1997)．
31) 原利男，緑茶の加熱香気成分とオフ・フレーバー成分に関する研究．野菜・茶業試験場研究報告，B 3，9-54 (1989)．
32) Horita, H., Hara, T., Sannai, A. and Fujimori, T., The light-produced volatile components of green tea. *Agric. Biol. Chem.*, **49**, 3601-3603 (1985).
33) 堀田博，原利男，光照射によって生成する緑茶の香気成分について．茶業技術研究，**69**，58-67 (1986)．
34) Horita, H., Off-flavor components of green tea during preservation. *Jpn. Agric. Res. Quart.*, **21**, 192-197 (1987).
35) Nose, M., Nakatani, Y. and Yamanishi, T., Studies on the flavor of green tea part IX. *Agric. Biol. Chem.*, **34**, 261-271 (1971).
36) Kobayashi, A. and Kawamura, M., Methyl epijasmonate in the essential oil of tea. *Agric. Biol. Chem.*, **52**, 2299-2303 (1988).
37) Wang, D. and Kubota, K., Optical isomers of methyl jasmonate in tea aroma. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **60**, 508-510 (1996).

38) Kobayashi, A. and Kubota, K., (*Z*)-3-Hexenyl-*β*-D- glucopyranoside in fresh tea leaves as a precursor of green odor. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **58**, 592–593 (1994).

39) 小林彰夫，紅茶の香りは何から生まれる—緑茶，ウーロン茶，紅茶の香気前駆体—．現代科学，**297**，16–22 (1995)．

40) Guo, W. and Yamauchi, K., A primeverosidase as a main glycosidase concerned with the alcoholic aroma formation in tea leaves. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **59**, 962–964 (1995).

41) Nishikitani, M. and Kubota, K., Geranyl 6-*O*-*α*-l- arabinopyranosyl *β*-D-glucopyranoside isolated as an aroma precursor from leaves of a green tea cultivar. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **60**, 929–931 (1996).

42) Guo, W. and Ogawa, K., Isolation and characterization of a *β*-primeverosidase concerned with alcoholic aroma formation in tea leaves. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **60**, 1810–1814 (1996).

43) Moon, J. and Sakata, K., *cis*- and *trans*-linalool 3,7-oxides and methyl salicylate glycosides and (*Z*)-3-hexenyl *β*-D-glucopyranoside as aroma precursors from tea leaves for oolong tea. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **60**, 1815–1819 (1996).

44) Ijima, Y. and Sakata, K., Characterization of *β*-promeverosidase, being concerned with alcoholic aroma formation in tea leaves to be processed into black tea, and preliminary observation on its substrate specificity. *J. Agric. Food Chem.*, **46**, 1712–1718 (1998).

45) Guo, W. and Sasaki, N., Isolation of an aroma precursor of benzaldehyde from tea leaves (*Camellia sinensis* var. *sinensis* cv. *Yabukita*). *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **62**, 2052–2054 (1998).

46) Nishitani, M. and Wang, (*Z*)-3-Hexenyl and *trans*-linalool 3,7-oxide *β*-primeverosides isolated as aroma precursors from leaves of a green tea cultivar. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **63**, 1631–1633 (1999).

47) Wang, D. and Yoshimura, T., Analysis of glycosidically bound aroma precursors in tea leaves. 1. Qualitative and quantitative analyses of glycosides with aglycons as aroma compounds. *J. Agric. Food Chem.*, **48**, 5411–5418 (2000).

48) Ma, S. and Watanabe, N., The (3*R*,9*R*)-3-hydroxy-7,8-dihydro- *β*-ionol disaccharide glycoside is an aroma precursor in tea leaves. *Phytochemistry*, **56**, 819–825 (2001).

49) 王冬梅，倉沢恵理子，吉村貴子，山口優一，久保田紀久恵，小林彰夫，紅茶の製造工程における香気成分配糖体の量的変化，第 42 回 TEAC 要旨集，233–235，岐阜 (1998)．

50) 川上美智子，*β*–カロテンの水中加熱により生ずるヨノン系化合物．日本農芸化学会誌，**56**，917–921 (1982)．

51) Tazaki, H., Ohta, N., Hori, R., Okuyama, H., Okumura, M., Fujimori, T. and Nabeta, K. The glycosides of oxygenated lower terpenes in plant leaves. In G. Charalambous (Eds.), "Food Flavors, Ingredients and Composition", Elsevier Science Publishers pp. 557–576 (1993).

52) Grosch, W., Detection of potent odorants in foods by aroma extract dilution analysis. *Trends Food Sci. Technol.*, **4**, 68–73 (1993).

53) Leland, J., Schieberle, P., Buettner, A. and Acree, T., Gas Chromatography-Olfactometry the state of the art, Washington, ACS (2001).

54) Yonca, K., Keith, C. and Maryanne, D., Volatile flavor components of stored nonfat dry milk. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 305–312 (2002).

55) Magnus, J., Bienvenido, J. and Peter, S., Comparison of key aroma compounds in cooked brown rice varieties based on aromaextract dilution analyses. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 1101-1105 (2002).
56) Ana, C., Angela, J., Maria, T. and Carmen, G., Odor-active compounds of Iberian hams with different aroma characteristics. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 6453-6458 (2002).
57) Michael, C. and Peter, S., Importand aromacompounds in freshly ground wholemeal and white wheat flour-identification and quantitative changes during sourdough fermentation. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 6835-6840 (2002).
58) Guth, H. and Grosch, W., Identification of potent odorants in static headspace samples of green and black tea powders on the basis of aroma extract dilution analysis (AEDA). *Flavour Fragr. J.*, **8**, 173-178 (1993).
59) Kumazawa, K. and Masuda, H., Identification of potent odorants in Japanese green tea (Sen-cha). *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 5169-5172 (1999).
60) 川上幸宏，清水達，内海健一，野崎倫生，アップルの香気成分(1)，第44回TEAC要旨集，7-9，札幌（2000）．
61) 石本久仁生，藤森嶺，市村信友，福島正幸，ブルーベリーの香気成分，第44回TEAC要旨集，22-24，札幌（2000）．
62) 堀内政宏，馬野克己，ゆでた中国グリの香気成分，第44回TEAC要旨集，16-18，札幌（2000）．
63) Guinard, J., Zoumas-morse, C., Mori, L., Uatoni, B., Panyam, D. and Kilara, A., Sugar and fat effects on sensory properties of ice cream. *J. Food Sci.*, **62**, 1087-1094 (1997).
64) Golaszewski, R., Sims, C., O'keefe, S., Braddock, R. and Littell, R., Sensory attributes and volatile components of stored strawberry juice. *J. Food Sci.*, **63**, 734-738 (1998).
65) Li, R., Carpenter, J. and Cheney, R., Sensory and instrumental properties of smoked sausage made with mechanically separated poultry (MSP) meat ad wheat protein. *J. Food Sci.*, **63**, 923-929 (1998).
66) Drake, M., Mcingvale, P., Cadwallader, K. and Civille, G., Development of a descriptive language for cheddar cheese. *J. Food Sci.*, **66**, 1422-1427 (2001).
67) Morita, K., Kubota, K. and Aishima, A., Comparing sensory and gas chromatographic profiles in aromas of boiled squid, prawn, and scallop using full factorial design. *J. Food Sci.*, **67**, 3456-3462 (2002).
68) 高橋宇正，茶の品質鑑別方法（茶の品質評価法）．香料，**204**，41-47（1999）．
69) 重松洋子，下田満哉，吉武清晴，筬島豊，緑茶香気の官能検査データの多変量解析．日本食品工業学会誌，**38**，309-315(1991)．
70) 食品と開発，拡がる“茶”の利用．食品と開発，**31**，25-29（1996）．
71) Beverage Japan，成長する緑茶飲料とその可能性．*Beverage Japan*，267，46-63(2004)．
72) 阿南豊正，高柳博次，池ヶ谷賢次郎，中川致之，緑茶香気の品種間差異．茶業技術研究，**65**，46-55（1983）．
73) 衣笠仁，竹尾忠一，矢野信禮，茶種による緑茶飲料の香味成分の変化．日本食品化学会誌，**44**，112-118（1997）．
74) 日本茶業中央会，平成15年版茶関係資料，25，日本茶業中央会（2002）．
75) Shimoda, M. and Shigematshu, H., Comparison of volatile compounds among different grades of green tea and their relations to odor attributes. *J. Agric. Food Chem.*, **43**, 1621-1625 (1995).
76) ASTM Committee, Guidelines for the selection and training of sensory panel members, American Society for Testing and Materials Special Technical Publica-

tion 758 (1981).

77) Morten, C., M., Gail, V. C. and Thomas, C., Sensory Evaluation Techniques 3rd Edition, Cleveland, CRC Press (1991).

78) Harry, T., L. and Hildegarde H., Sensory Evaluation of food Principles and Practices, New York, Kluwer Academic/ Plenum publishers (1999).

79) Jane, V., L., Peter, S., Andrea, B. and Terry, E., A., Gas chromatography-olfactometry: The state of the art, Washington, ACS (2001).

80) Vitzthum, G. O. and Werkhoff, P., Newly discovered nitrogen-containing heterocycles in coffee-aroma. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, **156**, 300-307 (1974).

81) Kumazawa, K. and Masuda, H., Identification of potent odorants in different green tea varieties using flavor dilution technique. *J. Agric. Food Chem.,* **50**, 5660-5663 (2002).

82) 熊沢賢二，原田靖裕，田中國雄，前川浩一郎，増田秀樹，3-メチルノナン-2,4-ジオンからなる茶飲料用添加剤，特許公開 2002-171906

83) 熊沢賢二，原田靖裕，中村いずみ，増田秀樹，(*Z*)-4-デセナールからなる茶飲料用添加剤，特許公開 2002-171907

84) 熊沢賢二，原田靖裕，増田秀樹，加藤龍夫，オクタジエン-3-オンからなる茶飲料用添加剤，特許公開 2000-342181

85) 熊沢賢二，原田靖裕，増田秀樹，加藤龍夫，4-メルカプト-2-ペンタノン化合物からなる茶飲料用添加剤，特許公開 2000-3421794

86) Guo, W., Sakata, K., Watanabe, N., Nakajima, R., Yagi, A., Ina, K. and Luo, S., Geranyl 6-*O*-*β*-D- glucopyranoside isolated as an aroma precursor from tea leaves for oolong tea. *Phytochemistry*, **33**, 1373-1375 (1993).

87) Matsumura, S., Takahashi, S., Nishikitani, M., Kubota, K. and Kobayashi, A., The role of diglycosides as tea aroma precursors: synthesis of tea diglycosides and specificity of glycosidases in tea leaves. *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 2674-2678 (1997).

88) Adalbert M., The Wittig reaction. Organic Reactions, **14**, 270-305 (1965).

89) Herron, J. N., Glucosides of aromatic agents as tobacco flavorants, U.S. PAT. APPL. **55**, 599 (1987).

90) Nabeta, K., Kawakita, K., Yada, Y. and Okuyama, H., Biosynthesis of sesquiterpenes from deuterated mevalonates in *Perilla* callus. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **57**, 792-798 (1993).

91) Nabeta, K., Mototani, Y., Tazaki, H. and Okuyama, H., Biosynthesis of sesquiterpenes of cadinane type in cultured cells of *Heteroscyphus planus*. *Phytochemistry*, **35**, 915-920 (1994).

92) Yu, T. H., Yang, M. S., Lin, L. Y. and Chang, C. Y., Effect of thermal treatment on the flavor formation of oolong tea. *Food Sci.Agri. Chem.*, **1**, 140-147 (1999).

（受付：2005.10.24　受理：2006.1.11）

Summary

The purpose of this study is to elucidate the characteristic flavor in Japanese green tea. The study consists of five chapters. In chapter 1, previous studies are reviewed, and clarify the subject to be researched in this study. In chapter 2, the volatile compounds in several green teas were compared. In chapter 3, the Japanese green tea extract was evaluated using GC/O with original aroma simultaneously input to the sniffing port method (OASIS). In chapter 4, the volatile compounds that enhance odor notes in Japanese green tea were identified using OASIS. In chapter 5, the formation mechanism of 2,6-dimethyl-2,6-octadienes from thermal decomposition of (6*RS*)-linalyl β-D-glucopyranoside was shown. The main results of the study are as follows. (1) The differences in quantity of the volatile compounds correlated with the results of the sensory evaluation of the green teas. (2) We developed OASIS method in order to know the relationships between the volatile compounds and the green tea aroma. (3) Application of the OASIS method using the volatile fraction of Japanese green tea infusions revealed 11 odor-active peaks. (4) 2,6-Dimethyl-2,6- octadienes were produced during thermal decomposition of the glucopyranoside via proton transfer from the anomeric position to C-6 in the aglycon moiety.