

お茶に含まれるアミノ酸の測定(生体液分析法)

日本では、緑茶や麦茶、ジャスミン茶など様々な飲み物が「お茶」という名前で親しまれています。「お茶」の中でも緑茶、ほうじ茶、ウーロン茶、紅茶はいずれも、同種の葉から製造されていますが、茶葉の製造工程や抽出方法によって違いが生じます。お茶の味や風味の違いは苦み、渋み、旨味、甘味などで決まると言われていますが、中でも旨味や甘味はアミノ酸によってもたらされると考えられています。テアニンは、お茶に特有のアミノ酸であり、旨味を示します。他にも、旨味に関与するアミノ酸として、グルタミン酸、アスパラギン酸などがあげられます。甘味に関与するアミノ酸には、グリシン、アラニン、スレオニン、プロリン、セリン、グルタミンなどがあります。

今回は、ペットボトル入りのお茶について高速アミノ酸分析計LA8080 AminoSAAYA^{*1}を用いて分析した例をご紹介します。サンプルには緑茶3種類、ほうじ茶1種類、ウーロン茶2種類、紅茶1種類の計7種類を用いました。固相抽出カラム(MonoSpin C18)でタンニンなどの夾雑成分を取り除き、トリクロロ酢酸で除タンパク後、生体液分析法で測定を行いました。測定の結果、サンプル間でアミノ酸含量の差異を確認することができました。このことから、アミノ酸分析はお茶の味・風味の評価や品質管理などに有用だと考えられます。



高速アミノ酸分析計 LA8080
AminoSAAYA

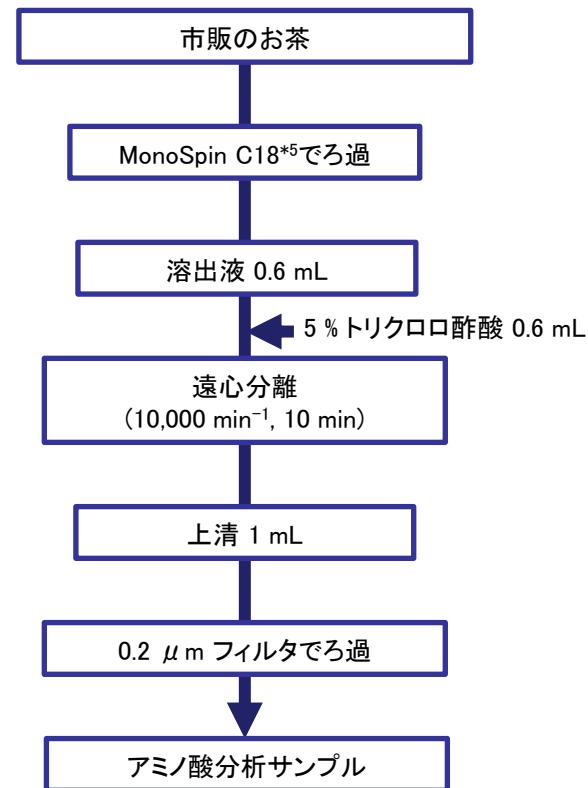
参考文献: K. Helen Ekborg-Ott, Andre Taylor, and Daniel W. Armstrong, *Varietal Differences in the Total and Enantiomeric Composition of Theanine in Tea*, *J. Agric. Food Chem.*, 1997; 45: 353–363

*1 “AminoSAAYA”は株式会社日立ハイテクサイエンスの日本およびその他の国における登録商標です。

測定条件および前処理方法

表1. 測定条件

カラム	#2622PF 4.6 mm I.D. × 60 mm
アンモニア フィルタカラム	#2650L 4.6 mm I.D. × 40 mm
ガードカラム	#2619F 4.0 mm I.D. × 5 mm
溶離液	MCI緩衝液 PF キット ^{*2}
溶離液流量	0.35 mL/min
カラム温度	32～70 °C
反応試薬	日立用ニンヒドリン発色溶液キット ^{*2}
反応試薬流量	0.30 mL/min
反応温度	135 °C
検出波長	VIS 440 nm, 570 nm
注入量	20 µL
標準試料	アミノ酸混合標準液 AN型 ^{*3,3} とB型 ^{*4,4} を0.02 mol/L塩酸で25倍希釀して使用



*2 販売元：富士フイルム和光純薬株式会社

*3 アミノ酸混合標準液, AN型(高濃度タイプ), P/N: 010-28164

*4 アミノ酸混合標準液, B型(高濃度タイプ), P/N: 016-28144

*5 販売元：ジーエルサイエンス株式会社製

図1. 前処理方法

アミノ酸混合標準溶液の測定

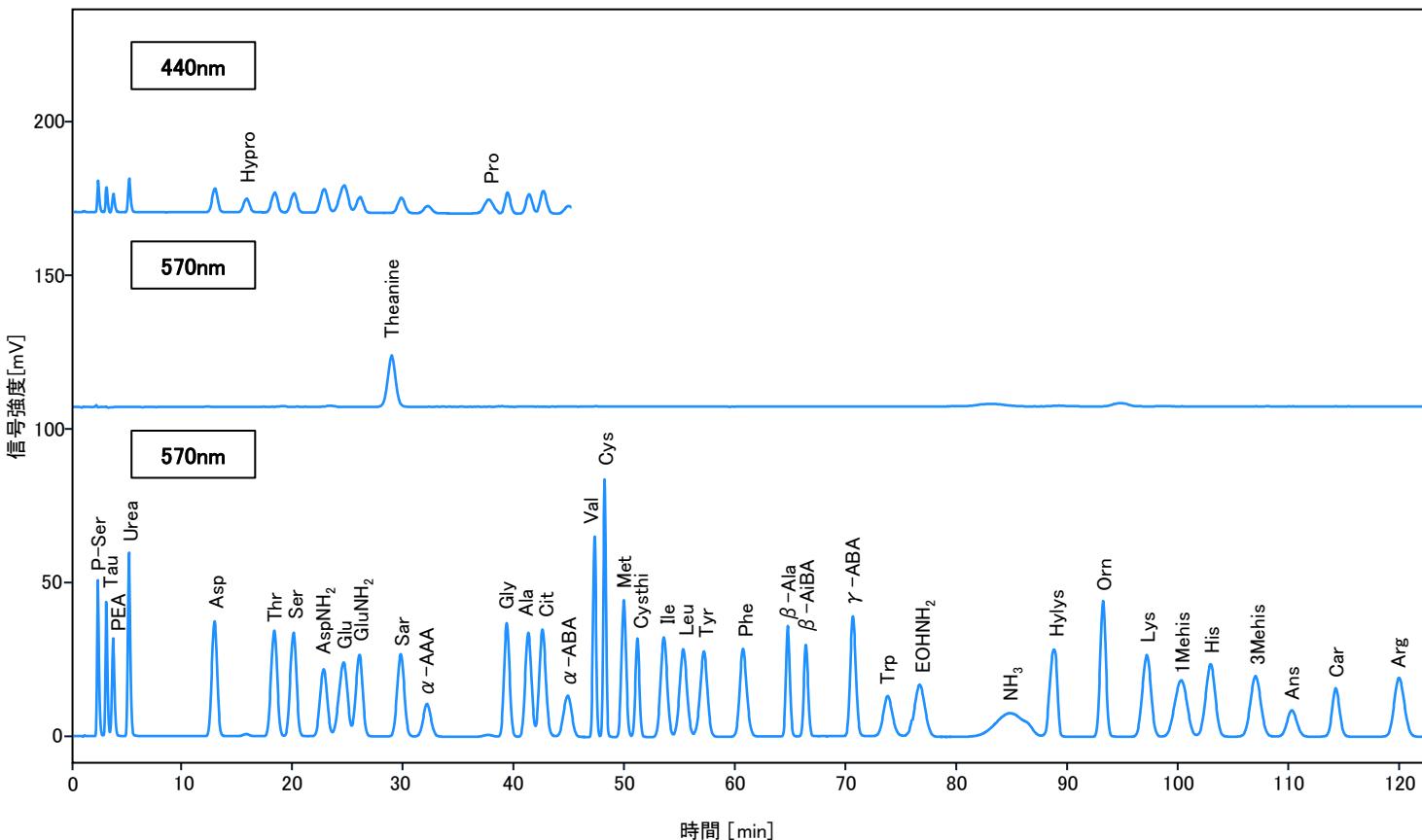


図2. アミノ酸混合標準溶液の測定例(生体液分析法)

お茶に含まれるアミノ酸の測定

測定したサンプルのクロマトを示します。なお、旨味に関するアミノ酸を緑色で、甘味に関するアミノ酸を黄色でマークしました。

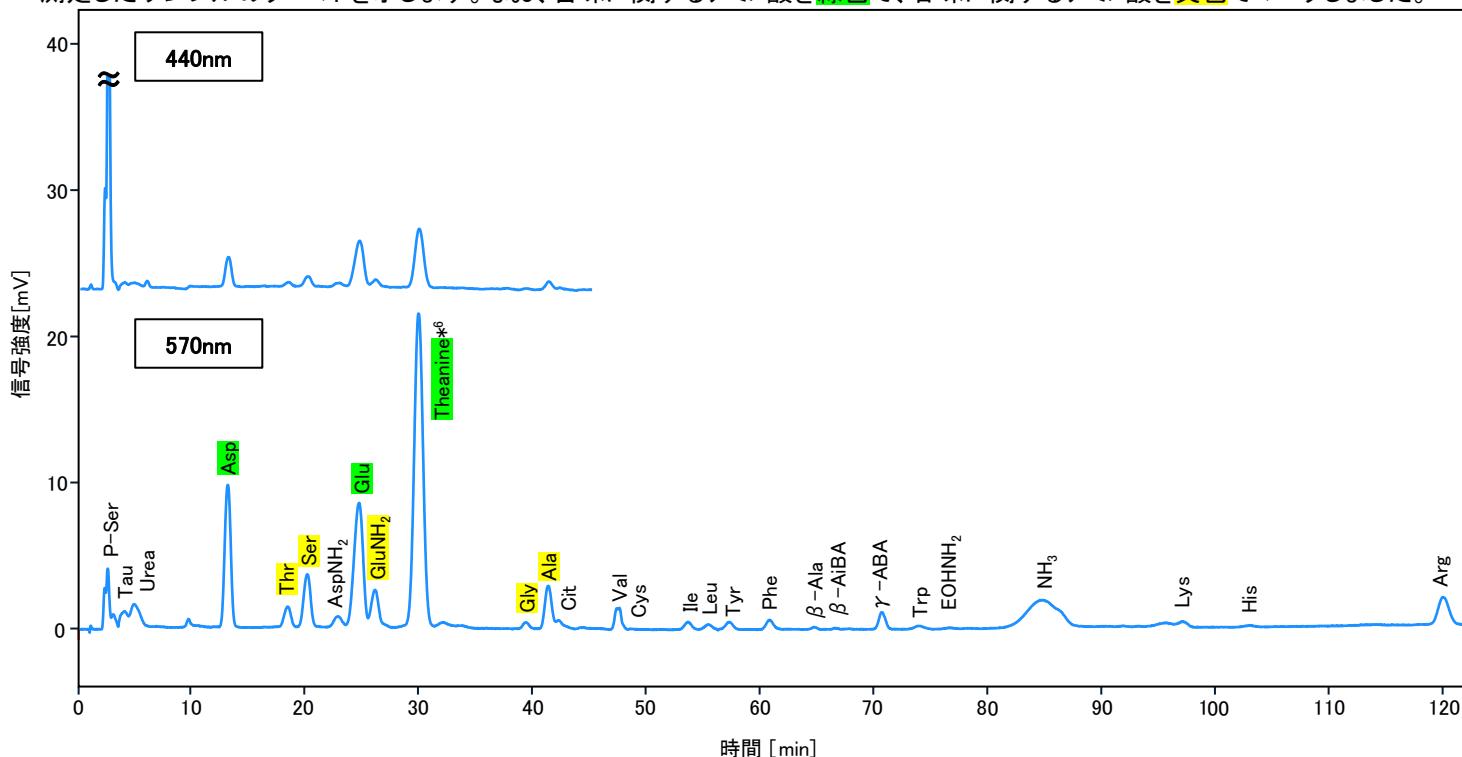


図3. 緑茶①のクロマトグラム

*6既報によりお茶サンプルでは、テアニン量が多いことが報告されており、今回測定したサンプルもテアニンと考えます。
参考文献: 石垣幸三, お茶の化学成分・味・香りと茶樹の栽培, 化学と生物, 1981; Vol19, No. 5: 278-285

お茶に含まれるアミノ酸の測定

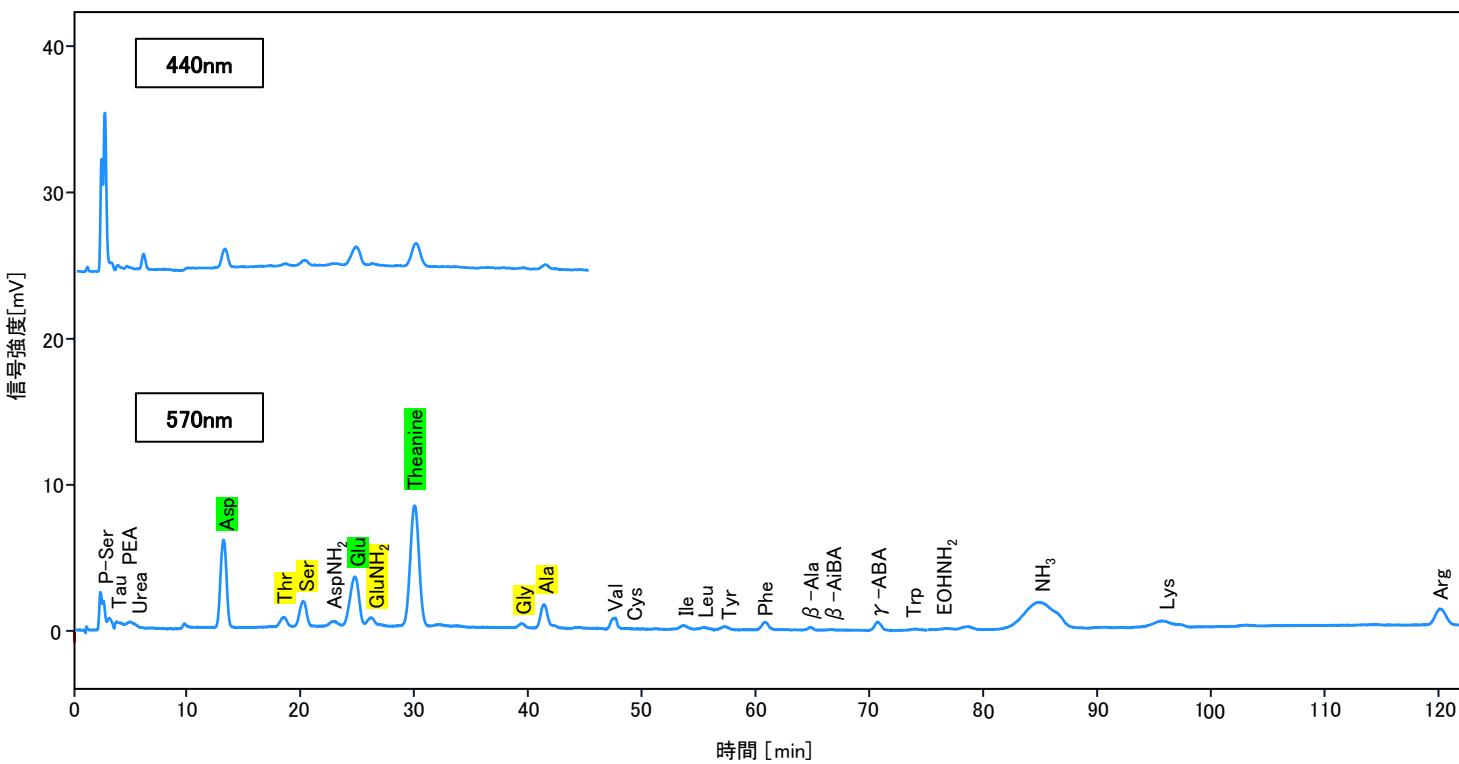


図4. 緑茶②のクロマトグラム

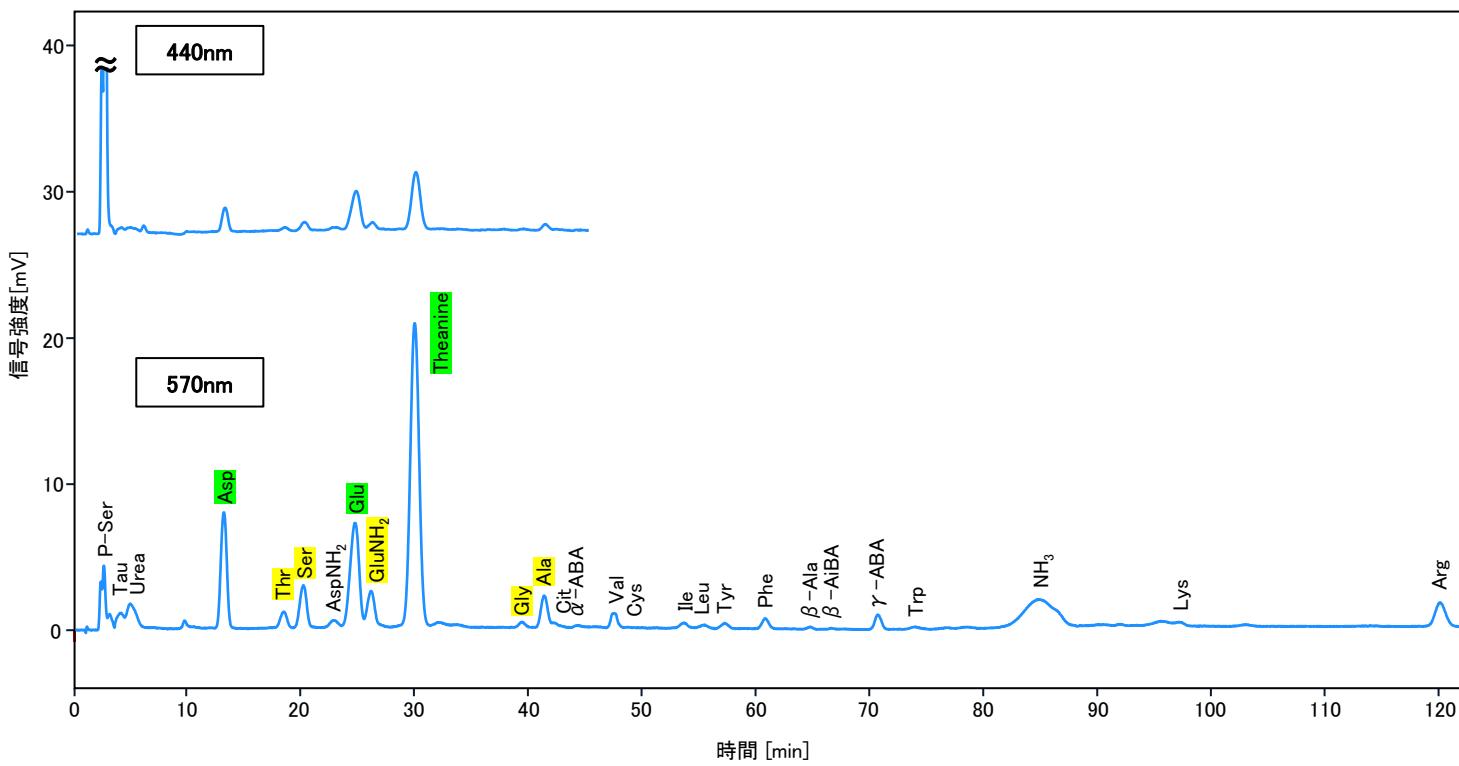


図5. 緑茶③のクロマトグラム

お茶に含まれるアミノ酸の測定

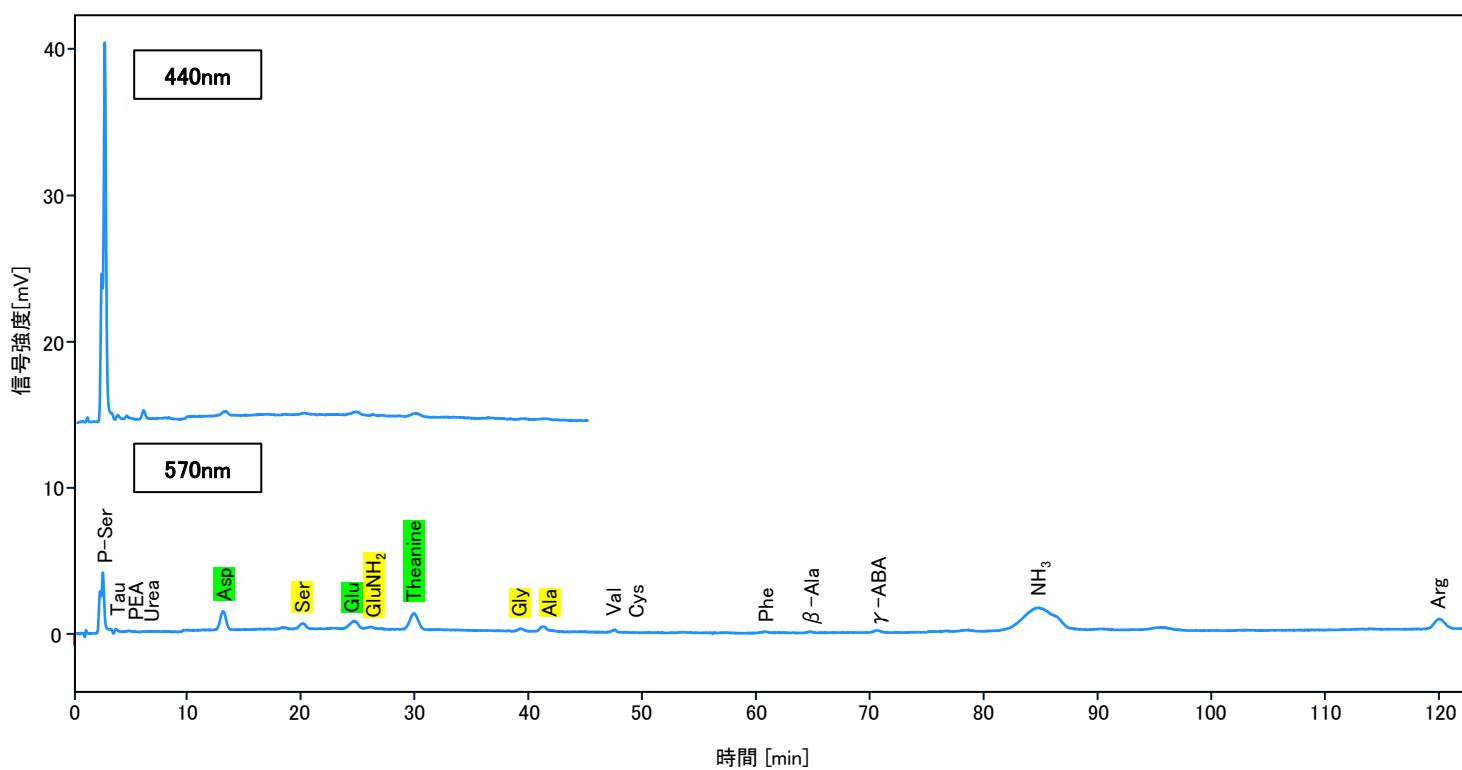


図6. ほうじ茶のクロマトグラム

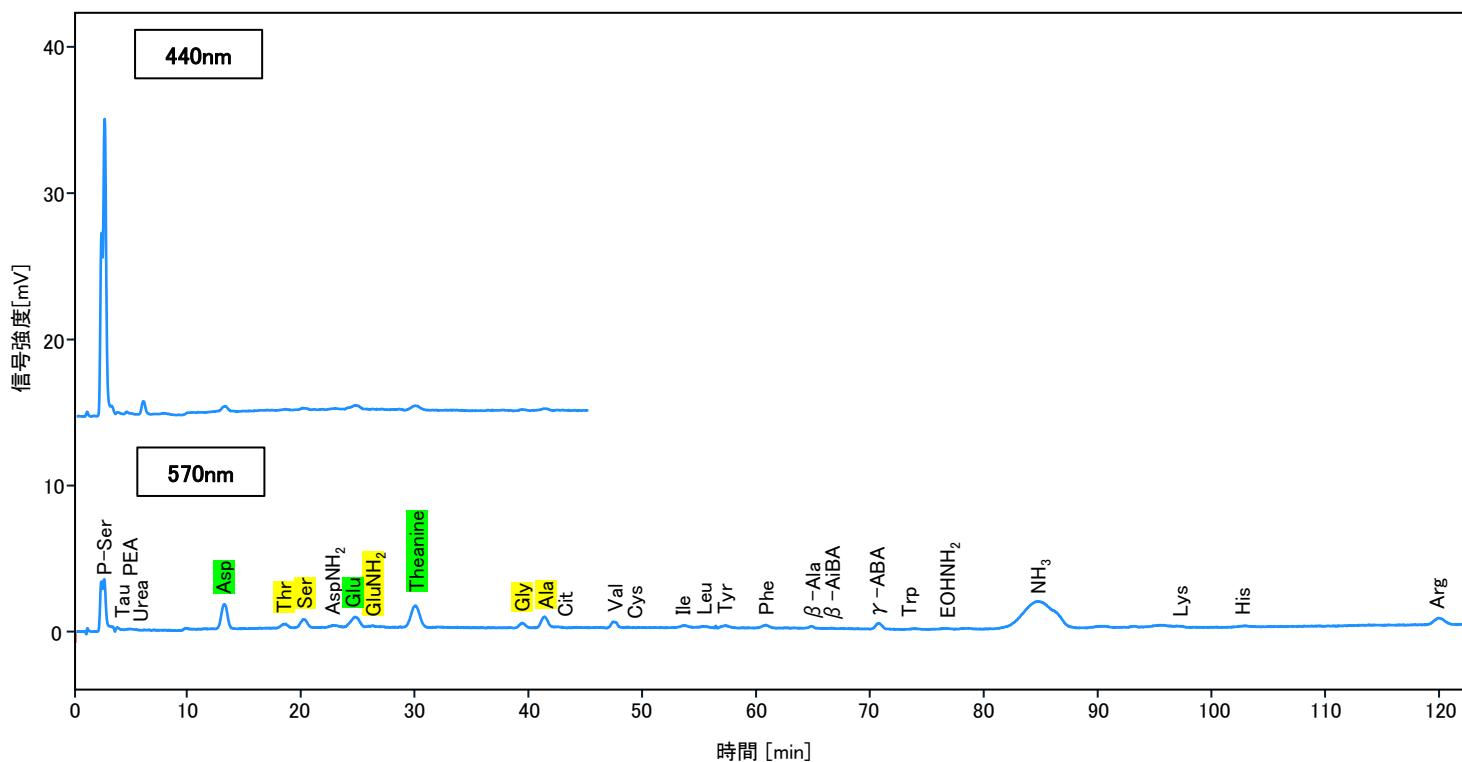


図7. ウーロン茶①のクロマトグラム

お茶に含まれるアミノ酸の測定

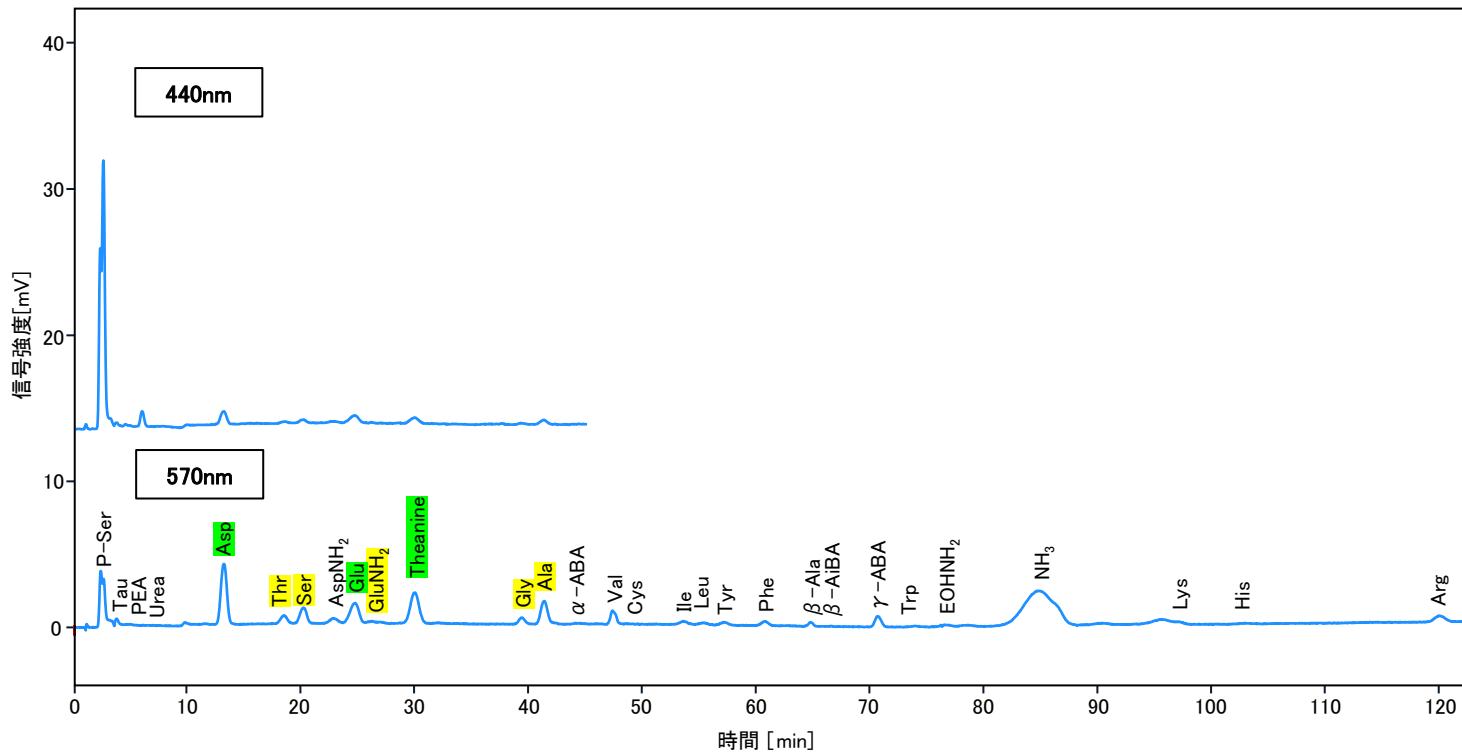


図8. ウーロン茶②のクロマトグラム

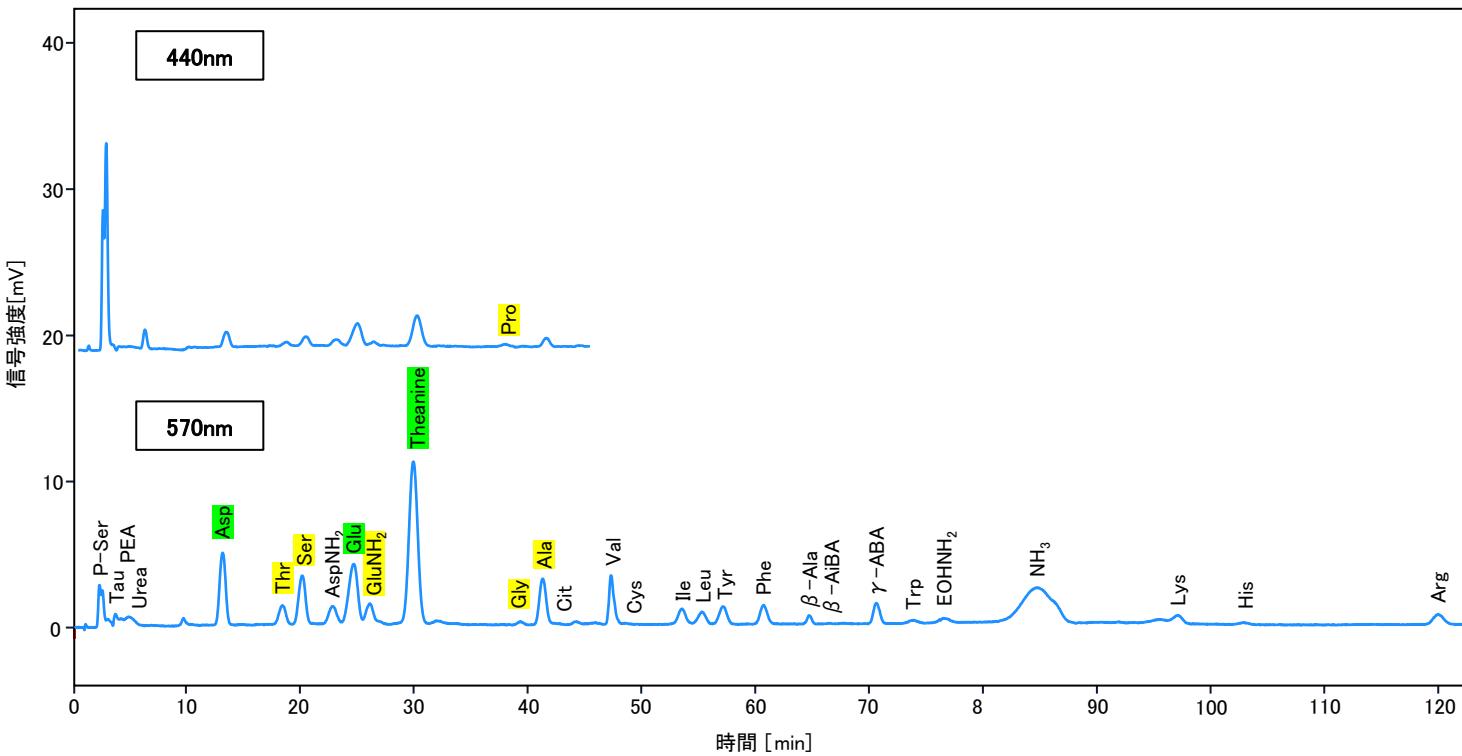


図9. 紅茶のクロマトグラム

- ✓ お茶の種類によってアミノ酸の含量に差異があることが分かりました。
- ✓ 今回測定した緑茶と紅茶にはほうじ茶やウーロン茶と比較してテアニンが多く含まれることが分かりました。
- ✓ 旨味や甘味に関するアミノ酸を検出することができました。このことから、遊離アミノ酸を測定することでお茶の味・風味の評価や品質管理などに有用だと考えられます。

アミノ酸の分子量テーブル

アミノ酸の略号、成分名、および分子量を示します。

略号	成分名	分子量	注入試料中 Std.濃度 (nmol/ 20 μL)
P-Ser	Phosphoserine[ホスホセリン]	185.1	1
Tau	Taurine[タウリン]	125.2	1
PEA	Phospho ethanol amine[ホスホエタノールアミン]	141.1	1
Urea	Urea[尿素]	60.1	40
Asp	Aspartic acid[アスパラギン酸]	133.1	2
Hypro	Hydroxy proline[ヒドロキシプロリン]	131.1	2
Thr	Threonine[スレオニン]	119.1	2
Ser	Serine[セリン]	105.1	2
AspNH2	Asparagine[アスパラギン]	132.1	2
Glu	Glutamic acid[グルタミン酸]	147.1	2
GluNH2	Glutamine[グルタミン]	146.2	2
Sar	Sarcosine[サルコシン]	89.1	5
α-AAA	α-Amino adipic acid[α-アミノアジピン酸]	161.2	1
Theanine	Theanine[テアニン]	174.2	2
Pro	Proline[プロリン]	115.1	2
Gly	Glycine[グリシン]	75.1	2
Ala	Alanine[アラニン]	89.1	2
Cit	Citrulline[シトルリン]	175.2	2
α-ABA	α-Amino-n-butyric acid[α-アミノ-n酪酸]	103.1	1
Val	Valine[バリン]	117.1	2
Cys	Cystine[シスチン]	240.3	2
Met	Methionine[メチオニン]	149.2	2
Cysthi	Cystathione[シスタチオニン]	222.3	1
Ile	Isoleucine[イソロイシン]	131.2	2
Leu	Leucine[ロイシン]	131.2	2
Tyr	Tyrosine[チロシン]	181.2	2
Phe	Phenylalanine[フェニルアラニン]	165.2	2
β-Ala	β-Alanine[β-アラニン]	89.1	2
β-AiBA	β-Amino iso butyric acid[β-アミノイソ酪酸]	103.1	2
γ-ABA	γ-Amino-n-butyric acid[γ-アミノ酪酸]	103.1	2
Trp	Tryptophan[トリプトファン]	204.1	2
EOHNH2	Ethanole amine[エタノールアミン]	61.1	2
NH3	Ammonia[アンモニア]	17.0	2
Hylys	Hydroxylysine[ヒドロキシリジン]	162.2	2
Orn	Ornithine[オルニチン]	132.2	2
Lys	Lysine[リジン]	146.2	2
1Mehis	1-Methylhistidine[1-メチルヒスジン]	169.2	2
His	Histidine[ヒスチジン]	155.2	2
3Mehis	3-Methylhistidine[3-メチルヒスチジン]	169.2	2
Ans	Anserine[アンセリン]	240.3	2
Car	Carnosine[カルノシン]	226.2	2
Arg	Arginine[アルギニン]	174.2	2