

茶葉および茶不定胚中のカフェインおよびその関連化合物の含有量

芳野恭士^{*1}・古川一実^{*1}・柳沼俊多^{*1}・鈴木静男^{*2}

Contents of Caffeine and Related Compounds in Tea Leaves and Somatic Embryos

YOSHINO Kyoji^{*1}, FURUKAWA Kazumi^{*1}, YAGINUMA Shunta^{*1}, SUZUKI Shizuo^{*2}

Abstract: In this study, caffeine and the biosynthetic precursor compounds in various tea samples were measured by high performance liquid chromatography method. As a result, the caffeine content was detected in the range of about 1.7-3.1% (w/w leaves) and theobromine was detected in the range of about 0.023-0.29% (w/w leaves) in the samples of raw leaves, Aracha, and Sencha tea leaves, respectively. In comparison based on the time of plucking of tea leaves, the caffeine and theobromine contents were both the highest in the second flush tea. In comparison based on the processing method of tea leaves, caffeine and theobromine contents of Guricha were higher than those of Sencha. In comparison based on cultivar, caffeine and theobromine contents were the highest in 'Shizukaori', followed by 'Saemidori', 'Yabukita', and 'Marishi'. In addition, in comparison of 'Yabukita' deep-steamed tea, caffeine and theobromine contents were higher in Honyama than in Numazu. A positive correlation was observed between caffeine and theobromine content in the tea leaf samples used. In the tea somatic embryo samples, only caffeine was clearly detected, and the amount was 0.39-0.66 mg% (w/w somatic embryo), which was extremely small compared to those of tea leaves. In the future, in order to elucidate the caffeine metabolism system in the tea plant and to control the amount of caffeine in them, it is necessary to continue to obtain information on the variation in the amount of caffeine and related compounds in various tea samples.

Key Words: Green tea, Shizuoka Prefecture, Numazu, Caffeine, Theobromine

1. はじめに

世界中で飲用されている茶 (*Camellia sinensis* L.) の葉には、プリン代謝物の一つとしてカフェイン (1,3,7-トリメチルキサンチン) が含まれている。カフェインは茶の苦味成分であり[1]、中枢神経系を刺激し、眠気や倦怠感、血管拡張性および脳圧亢進性頭痛に対する抑制作用がある[2]。茶におけるカフェインの生合成については、パラキサンチン (1,7-ジメチルキサンチン)、テオブロミン (3,7-ジメチルキサンチン)、テオフィリン (1,3-ジメチルキサンチン) が前駆体となる3つの経路があり、中でもテオブロミンを前駆体とするカフェインシンターゼによる経路が主要であると考えられている[3,4]。茶のカフェインは、主に葉に約1.5-3%と多く含まれ、茎に約1.3-1.4%、花にも約

0.8%含まれるが、根や発芽前の種子には含まれない[5-8]。そこで本研究では、静岡県沼津市あるいは本山地区で栽培された茶葉を用いて、カフェインとその生合成前駆体であるテオブロミン、テオフィリンおよびパラキサンチンの含量について、摘採時期や製造方法、栽培品種における違いを検討した。

また、茶葉に含まれるカフェインなどの成分の代謝研究や新たな品種育成の高速化のためには、今後ゲノム編集等の技術が有用であると考えられる。茶のゲノム編集と組織培養等については今後の研究に待つところが多いが、これまでに茶の茎と葯のカルス中のカフェイン含量を測定した報告がある[7]。一方で、茶の不定胚は、種子胚に似た培養物であり[9,10]、不定胚表皮細胞由来の二次胚を形成して増殖する。さらに条件によっては、緑色化や個体への分化誘導を起こすことができ、形質転換個体の作出にも繋がる。そこで、本研究では茶の不定胚におけるカフェイン関連化合物の含量を測定する方法についても検討した。

*1 物質工学科

Department of Chemistry & Biochemistry

*2 電子制御工学科

Department of Electronic Control System

Engineering

2. 材料および方法

2. 1 用いた茶試料

摘採時期での比較には、沼津市宮本地区（愛鷹山麓）で 2020 年に栽培された緑茶用栽培品種の‘やぶきた’（*Camellia sinensis* var. *sinensis* cv. Yabukita）の一番茶（4・5 月に摘採）および二番茶（6 月に摘採）の生葉（試料 A および試料 B）、さらには隣接する柳沢地区で 2021 年に栽培された秋冬茶（10 月に摘採）の荒茶（試料 C）を用いた。これらの茶葉は、JA ふじ伊豆より提供された。生葉は十分に乾燥後、荒茶、煎茶と同様に、食品用ミルサーを用いて粉末とした。

さらに、静岡県内で 2023 年に摘採された一番茶の市販の煎茶等として、以下の 7 種の試料についてそれぞれの茶葉を食品用ミルサーで粉末にして用いた。

試料 D：沼津産‘やぶきた’深蒸し茶（1100 円/100 g）

試料 E：沼津産‘やぶきた’中蒸し茶（900 円/100 g）

試料 F：沼津産‘やぶきた’ぐり茶（1100 円/100 g）

試料 G：沼津産‘さえみどり’中蒸し茶（1500 円/100 g）

試料 H：沼津産‘しずかおり’中蒸し茶（1300 円/100 g）

試料 I：本山産‘やぶきた’深蒸し茶（1100 円/100 g）

試料 J：本山産‘摩利支’深蒸し茶（1500 円/100 g）

これらのうちで、産地での比較には、市販の沼津と本山のそれぞれの産地の‘やぶきた’の深蒸し茶を用いた。製造方法での比較には、市販の沼津産の‘やぶきた’の深蒸し茶、中蒸し茶、ぐり茶を用いた。栽培品種での比較には、市販の沼津産の‘やぶきた’、‘さえみどり’、‘しずかおり’の中蒸し茶および本山産の‘やぶきた’、‘摩利支’の深蒸し茶を用いた。

なお、カフェインの標準品は和光純薬工業社製の特級品

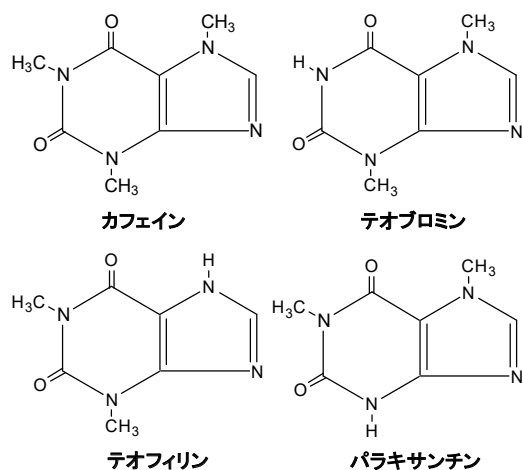


図 1 カフェイン、テオブロミン、テオフィリンおよびパラキサンチンの化学構造

（純度 98.5%）を、テオブロミン、テオフィリンおよびパラキサンチンの標準品は東京化成工業社製のもの（純度 >98%）を用い、0.1 mg/mL の水溶液を調製した後、それぞれの化合物の濃度が 0.02, 0.002, 0.0002 mg/mL となるよう希釈した混合水溶液を用いた。図 1 にカフェイン、テオブロミン、テオフィリンおよびパラキサンチンの化学構造を示す。

2. 2 茶エキスの調製

煎茶、荒茶および生葉の茶葉のエキスを、以下のように調製した[11]。各茶葉粉末 45 mg に熱水 30 mL を加えて 80℃で 30 分間抽出した後、4℃、3000 rpm で 15 分間遠心分離した。上清を 0.45 μm のメンブレンフィルターでろ過してカフェイン関連化合物の測定に用いた。

2. 3 茶不定胚エキスの調製

茶の不定胚として緑茶品種の‘さやまかおり’（*Camellia sinensis* var. *sinensis* cv. Sayamakaori）とインド紅茶系統‘Tingamira normal’（*Camellia sinensis* var. *assamica* cv. Tingamira normal）のものをを用い、既報[7]の方法を参考にして分析用エキスを調製した。不定胚を 1 分間蒸熱し、それを凍結乾燥して粉末にした。この粉末 50 mg に 2.5 mL の水を加え 100℃で 5 分間静置した後、室温で 1 時間振とう抽出し、4℃、3000 rpm で 10 分間遠心分離した。上清を 0.45 μm のメンブレンフィルターでろ過してカフェイン等の測定に用いた。

摘採した茶芽を 25℃で静置すると、テオブロミンが減少しカフェインが増加することが報告されている[12]。そのため、茶の生葉や不定胚などのカフェインを分析する際には、事前にカフェインシンターゼを不活性化するために蒸熱するなどの加熱処理が必要と考えられる。本研究では、前項の生葉は乾燥する前に電子レンジで短時間加熱処理を行い、本項の不定胚等は短時間蒸熱処理を行った。

2. 4 カフェイン、テオフィリン、テオブロミンおよびパラキサンチンの測定

茶エキス中のカフェイン、テオブロミン、テオフィリンおよびパラキサンチンの分析は、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）法を用いた既報[13]の方法を一部改変して行った。分析条件の詳細を以下に示す。

カラム：東ソー社製 TSKgel ODS-80Ts （250 mm
× φ 4.6 mm, 粒径 5 μm）

検出器：紫外可視分光光度計

検出波長：273 nm

溶出溶媒：13%アセトニトリル水溶液

流速：1.0 mL/分
 カラム温度：室温
 試料打ち込み量：10 μ L

2. 5 統計処理

それぞれの値は、3回の測定の平均値 $\pm$ 標準偏差で表した。各群間の有意差の検定は、一元配置分散分析法および Tukey の多重比較検定法で行い、 $p<0.05$ を差があるものと判定した。相関性の検定は F 検定で行い、 $p<0.05$ を有意な相関があるものと判定した。

3. 結果および考察

3. 1 HPLC 法によるカフェイン、テオブロミン、テオフィリンおよびパラキサンチンの標準品の分析

本研究で用いた HPLC の分析条件におけるそれぞれの化合物の標準品の保持時間は、カフェインが約 11.5 分、テオブロミンが約 5.2 分、テオフィリンが約 6.9 分、パラキサンチンも約 6.9 分であり、この条件ではテオフィリンとパラキサンチンの分別はできなかった (図 2A)。検量線は、いずれの化合物でも 0.0002~0.02 mg/mL の広い範囲で、高い直線性が見られた (図 3)。それぞれの検量線の式は、

カフェイン： $y(\text{Area})=1 \times 10^7 \times x(\text{mg/mL})+1126.6$

テオブロミン： $y(\text{Area})=1 \times 10^7 \times x(\text{mg/mL})+404.9$

テオフィリン： $y(\text{Area})=2 \times 10^7 \times x(\text{mg/mL})+385.3$

パラキサンチン： $y(\text{Area})=2 \times 10^7 \times x(\text{mg/mL})+502.9$

となり、いずれも $r=0.999$ 以上の相関係数が得られた。

3. 2 各種茶エキスのカフェイン関連化合物の含量

上記の分析条件における茶エキスの HPLC クロマトグラムのパターンは、生葉、荒茶、煎茶の間にほぼ違いが見られず、カフェインおよびテオブロミンは検出されたが、テオフィリンとパラキサンチンは含まれる量が少なく測定できなかった。茶エキスの代表的な HPLC クロマトグラムとして、沼津産‘やぶきた’一番茶生葉のものを図 2B、沼津産‘やぶきた’秋冬茶荒茶のものを図 2C、沼津産‘やぶきた’中蒸し茶のものを図 2D にそれぞれ示す。それぞれの茶エキスについて、乾燥葉に対するカフェインとテオブロミンの重量%を算出したものを表 1 に示す。

茶葉におけるカフェインの生合成は *S*-アデノシルメチオニン依存性 *N*-メチルトランスフェラーゼの 1 種であるカフェインシンターゼによって行われ、この酵素は 7-メチルキサンチンからテオブロミン、テオブロミンからカフェイン、それにパラキサンチンからカフェインの 3 つの反応を触媒する。パラキサンチンは、テオブロミンと同様に 7-

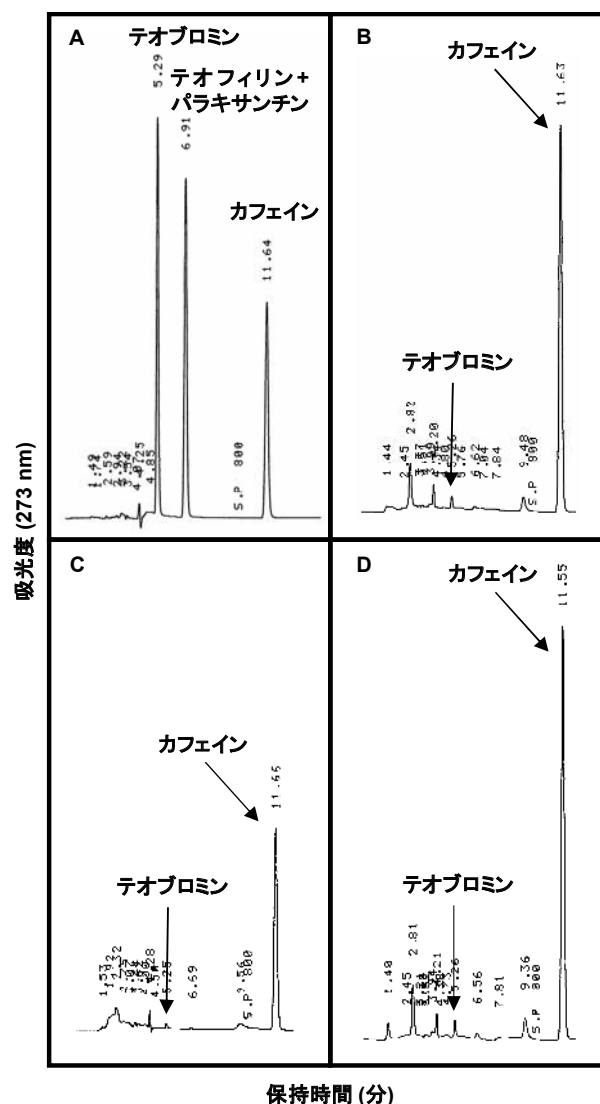


図2 カフェイン、テオブロミン、テオフィリン、パラキサンチンの標準品および茶エキスの HPLC クロマトグラム

A: 標準品, B: 沼津産やぶきた一番茶生葉, C: 沼津産やぶきた秋冬茶荒茶, D: 沼津産やぶきた中蒸し茶.

メチルキサンチンから生合成されるが、7-メチルキサンチンからの *N*-3 メチル化によるテオブロミンの合成は *N*-1 メチル化によるパラキサンチンの合成よりも 10 倍も速いため、パラキサンチンはカフェインシンターゼの主要な基質にはならないものと考えられている[3]。一方で、パラキサンチンからのカフェインの合成は、テオブロミンからの合成よりも速いため、パラキサンチンはほとんど蓄積されず従って検出されなかったものと考えられる。また、キサンチンからのテオフィリンを介したカフェインの合成は、経路としてはあると考えられるが、キサンチンがプリン代謝経路で素早く分解されることと、テオフィリンがプリン

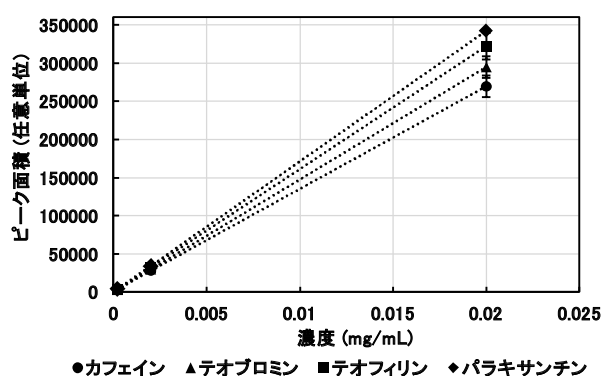


図 3 カフェイン、テオブロミン、テオフィリンおよびパラキサンチンの検量線

アルカロイド代謝経路の基質として使われることから[14]、テオフィリンの量が少ないことで検出されず、そのためカフェインシンターゼの主要な基質となりえないものと考えられる。

今回用いた茶葉の試料では、カフェインは約 1.7-3.1% (w/w 葉)、テオブロミンは約 0.023-0.29% (w/w 葉)の範囲となり、それぞれの量は試料によりかなりの違いが見られた。各茶エキスを間でのカフェイン含量の違いについては、カフェイン量では、沼津産‘やぶきた’一番茶生葉 vs 沼津産‘やぶきた’深蒸し茶、沼津産‘やぶきた’一番茶生葉 vs 沼津産‘やぶきた’中蒸し茶、沼津産‘やぶきた’一番茶生葉 vs 本山産‘摩利支’深蒸し茶、沼津産‘やぶきた’深蒸し茶 vs 沼津産‘やぶきた’中蒸し茶、沼津産‘やぶきた’深蒸し茶 vs 本山産‘摩利支’深蒸し茶、沼津産‘やぶきた’中蒸し茶 vs 本山産‘摩利支’深蒸し茶を除いて各試料に有意な差が認められた。テオブロミン量についても、沼津産‘やぶきた’一番茶生葉 vs 沼津産‘やぶきた’深蒸し茶を除くすべての試料間で有意な差が認められた。以下に、比較項目ごとに結果を整理した。

沼津産‘やぶきた’での摘採時期によるカフェイン含量の違いは大きく、沼津産‘やぶきた’二番茶生葉>沼津産‘やぶきた’一番茶生葉>沼津産‘やぶきた’秋冬茶荒茶の順であった。テオブロミン含量についても同様に大きな違いがあり、量の順も同じであった。これまでの報告では、緑茶において二番茶、一番茶、三番茶の順でカフェインの量が多い、あるいは一番茶に比較して秋冬茶はカフェイン量が少ないという報告があり[15,16]、本研究の結果はこれらと一致しているが、一方で‘やぶきた’や‘さえみどり’、‘しずかおり’において、二番茶よりも一番茶の方が量が多いという報告も見られる[17,18]。茶の部位では、生長点に近い葉ほどカフェインの量が多いことが報告されており[6]、これは茶葉の *N*-メチルトランスフェラーゼの活性

表 1 各種茶エキス中のカフェインおよびテオブロミンの含量

試料	カフェイン	テオブロミン
	(% , w/w 葉)	
沼津産やぶきた一番茶生葉	1.809±0.093	0.058±0.002
沼津産やぶきた二番茶生葉	2.506±0.120	0.290±0.005
沼津産やぶきた秋冬茶荒茶	0.912±0.014	0.023±0.002
沼津産やぶきた深蒸し茶	1.837±0.005	0.059±0.008
沼津産やぶきた中蒸し茶	1.807±0.018	0.070±0.004
沼津産やぶきたぐり茶	1.985±0.034	0.095±0.006
沼津産さえみどり中蒸し茶	2.323±0.023	0.112±0.002
沼津産しずかおり中蒸し茶	3.112±0.048	0.145±0.009
本山産やぶきた深蒸し茶	2.096±0.091	0.165±0.002
本山産摩利支深蒸し茶	1.743±0.030	0.085±0.002

3 回の測定での平均値±標準偏差。

やその遺伝子である *TCSI* の転写量と一致している[19]。そのため、一番茶、二番茶のいずれにしろ、より生長点に近い一芯二葉を多く摘採した場合には、カフェインの含量が高くなるものと考えられる。

沼津産‘やぶきた’での製造方法によるカフェイン量の違いについては、沼津産‘やぶきた’ぐり茶>沼津産‘やぶきた’深蒸し茶>沼津産‘やぶきた’中蒸し茶の順であった。テオブロミン含量は、カフェイン量とは異なり沼津産‘やぶきた’ぐり茶>沼津産‘やぶきた’中蒸し茶>沼津産‘やぶきた’深蒸し茶の順であった。これらの茶は、いずれも沼津産‘やぶきた’の一番茶の加工品であり、特にカフェイン量については他の試料間に比較してその違いは小さかった。また、これら煎茶およびぐり茶のカフェイン量とテオブロミン量は、沼津産‘やぶきた’一番茶生葉の値とも類似していた。深蒸し茶と中蒸し茶のカフェイン量を比較した報告では、静岡産‘おくみどり’緑茶において、葉および煎汁中の量に大きな差は見られないが、蒸し時間が長い方がわずかに低くなる場合もある[20,21]。静岡産の深むし茶、中蒸し茶およびむし製玉緑茶を比較した報告でも、そのカフェイン量に大きな差は見られないが、わずかにむし製玉緑茶>中蒸し茶>深蒸し茶の順となっており、本研究でぐり茶のカフェイン量が最も高かったのはこれと一致している[22]。

沼津産および本山産の栽培品種間でのカフェイン量の違いは大きく、沼津産‘しずかおり’中蒸し茶>沼津産‘さえみどり’中蒸し茶>沼津産‘やぶきた’中蒸し茶の順であった。また、本山産の茶同士でも差が認められ、本山産‘やぶきた’深蒸し茶>本山産‘摩利支’深蒸し茶の順であった。これらのテオブロミン含量の順も同じであった。‘やぶきた’と‘しずかおり’の比較では、一番茶も二番茶も品種間に大きな違いはないが、僅かに‘しずかおり’

の方がカフェイン量が多いという報告がある[18]。一方、‘やぶきた’と‘さえみどり’の比較では、カフェイン量に大きな違いは見られないが、僅かに‘やぶきた’の方が量が多いという報告があり[23]、本研究の結果はこれとは一致しなかった。‘摩利支’については、その成分等に関する論文報告は見当たらなかったが、概してカフェイン量が低いとされており[24]、今回の研究の結果はこれと一致していた。なお、‘さえみどり’は種親の‘やぶきた’と花粉親の‘あさつゆ’の交配種であり、‘しずかおり’は種親の‘おくひかり’と花粉親の‘くりたわせ’の交配種である。‘摩利支’は、‘やえほ’の自然交雑実生の中から選抜された品種である。

同じ‘やぶきた’の深蒸し茶での産地によるカフェイン量の違いについては、本山産‘やぶきた’深蒸し茶>沼津産‘やぶきた’深蒸し茶の順であった。テオブロミン含量も同じ順であった。茶の産地間での成分の違いを比較できる報告は多くはないが、摘採年が異なる菊川市と島田市の‘やぶきた’茶で、一番茶、二番茶ともにカフェイン量に大きな差は見られていない[17,18]。なお、本研究では産地の違う‘やぶきた’の深蒸し茶についての比較を行ったが、地域により使用する茶葉や深蒸しの製法がわずかに異なることで、それが成分の違いに関与した可能性はある。

ところで、茶葉 10 g を 90℃ の熱水 430 mL で 1 分間浸出した場合、中級の緑茶で抽出されるカフェイン量は約 2.1% (w/w 葉)、テオブロミン量は約 0.026% (w/w 葉) という報告がある[25]。テオフィリンは検出されていない。一方で、この抽出条件で葉に残存したカフェインとテオブロミンが、それぞれ約 0.5% (w/w 葉) と 0.094% (w/w 葉) あることも確認されている。本研究で得られたカフェインとテオブロミンの量はこの報告の値と類似しているものの、少し高めの数値もあり、抽出条件の違いによって多めに抽出された可能性がある。茶葉を 85℃ の熱水で 1 分間浸漬することで、含まれるカフェインの 71% が溶出されるという報告があるが[26]、本研究では 80℃ で 30 分間と長時間抽出を行っている。

3. 3 茶試料中のカフェイン量とテオブロミン量の相関性

本研究で用いた 10 種の茶試料中のカフェイン量とテオブロミン量の相関係数は $\gamma = 0.672$ であり、正の有意な相関が認められた (図 4)。茶エキスのうち沼津産‘やぶきた’二番茶生葉の値を除くと $\gamma = 0.793$ となり、この試料でのみ他の茶試料と比較してカフェインに対するテオブロミンの含量比が著しく高いことがわかる。

なお、我々は本研究に用いたのと同様の茶試料について、

そのカフェインの含量をより簡便な測定法であるクロロホルム抽出-吸光度法で測定しているが[11,27]、値そのものは HPLC 法の方が全体的に低い値となったものの、両測定法で得られた値の間には $\gamma = 0.650$ の有意な正の相関性が認められた。この場合にも、沼津産‘やぶきた’二番茶生葉の値を除くと $\gamma = 0.893$ となり、この試料の値は他の茶試料とは異なるカフェイン量の特徴を持つことが推測される。沼津産‘やぶきた’二番茶では、カフェインの主な前駆体であるテオブロミンの量が多い一方で、カフェインの量はそれほど多くないことがその特徴である。カフェインの生合成における律速段階は、基質の材料としてのプリン化合物の供給ではなく、その後のメチル化反応であるとされている[19]。テオブロミンに対するカフェインシクターゼの比活性は、パラキサンチンの 12.6% 程度であり、テオブロミンの K_m 値はパラキサンチンの 9.6 倍である[3,4]。カフェインの主要な前駆体と考えられるテオブロミンのメチル化が遅いことは、若い茶葉において一時的なテオブロミンの蓄積を起こすものと考えられ[28]、沼津産‘やぶきた’二番茶でも同様の現象が起きたものと推測される。

3. 4 茶不定胚中のカフェイン関連化合物の含量

津志田ら[7]は、茶の茎に約 1.3% のカフェインと痕跡のテオブロミンが検出された一方で、そのカルスには約 0.064% のカフェインが検出され、テオブロミンは検出されなかったことを報告している。一方、茶の葯には約 0.68% のカフェインと痕跡のテオブロミンが検出されたが、そのカルスには約 0.005% のカフェインが検出され、テオブロミンは検出されていない。

本研究では、‘さやまかおり’と‘Tingamira normal’の不定胚中のカフェイン関連化合物の含量を測定した。その結果、それぞれの不定胚で 0.561 ± 0.050 mg%(w/w 不定胚) および 0.316 ± 0.034 mg%(w/w 不定胚) のカフェイ

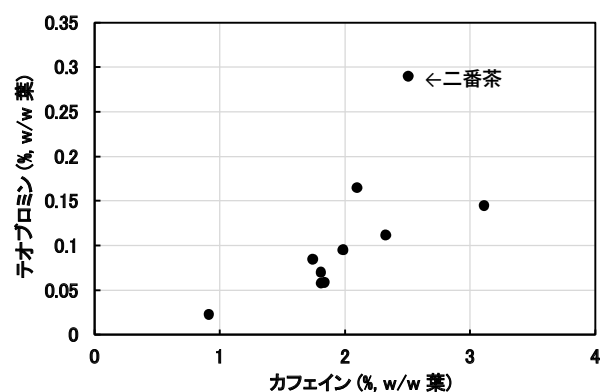


図 4 各種茶エキスのカフェイン量とテオブロミン量の相関性

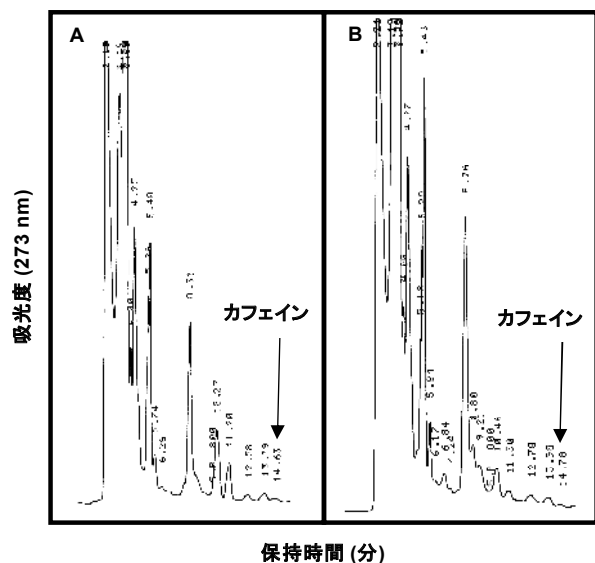


図5 茶不定胚エキスのHPLCクロマトグラム

A: さやまかおり, B: Tingamira normal.

茶不定胚では多数のピークが検出されたことから、ピーク
の分離を改善するため溶出速度を 0.8 mL/分に変更した。この
溶出条件でのカフェインの保持時間は、約 14.7 分であった。
また、カフェインの検量線は、0.0001-0.0002 mg/mL の微
量範囲で作成した $y(\text{Area}) = 2 \times 10^7 \times x(\text{mg/mL}) + 66.0$ を用い
た。

ンが検出され、テオブロミンおよびテオフィリンとパラキ
サンチンは明確には検出されなかった(図5)。今回用いた
茶の不定胚のカフェイン含量は、津志田らの報告した茎や
葯のカルスと比較して少なかった。本実験で用いた不定胚
は黄色であり、緑色化や植物体への分化に至る前の段階の
ものであったため、カフェインの量が少なかったものと思
えられる。種子においても発芽前のもにはカフェインが
検出されないが、緑色実の外皮には検出されている[5]。今
後、これら茶の培養物中のカフェインおよびその関連化合
物の代謝を理解するためには、その含量についての情報を
さらに収集する必要がある。なお、‘さやまかおり’は‘や
ぶきた’の自然交雑実生の中から選抜された品種であり、
一番茶、二番茶におけるカフェインやタンニンの含量は
‘やぶきた’よりも高い場合と低い場合が報告されている
[29-31]。そこで我々は、酒石酸鉄法[32]を用いて、両品種
の一番茶の乾燥生葉水エキス中の総タンニン量を測定し
た。その結果、‘さやまかおり’では $21.5 \pm 0.4\%$ (w/w 葉)、
‘やぶきた’では $18.8 \pm 1.2\%$ (w/w 葉)となった。同エキスの
2 mg 葉/mL での抗酸化力を 1,1-ジフェニル-2-ピクリル
ヒドラジルラジカルの捕捉率[33]と比較したところ、‘さや
まかおり’で $51.8 \pm 0.3\%$ 、‘やぶきた’で $51.8 \pm 1.2\%$ と
差は認められなかった。また、同エキスの 0.02 mg 葉/mL

えみどり’、‘やぶきた’、さらには‘摩利支’の順であった。また、同じ‘やぶきた’の深蒸し茶と比較した場合、カフェイン、テオブロミンの含量ともに本山産のものの方が沼津産のものよりも高かった。用いた茶葉試料中のカフェイン量とテオブロミン量の間には正の相関が認められた。茶の不定胚の試料では、カフェインのみが明確に検出され、その量は0.39-0.66mg%(w/w 不定胚)と茶葉に比較して極めて少なかった。今後、茶樹のカフェイン代謝系を解明するために、様々な茶試料について、カフェインおよびその関連化合物の量の変動の情報を引き続き収集する必要があるものと考えられる。

5. 謝辞

本研究を行うにあたり、沼津産の茶葉を快く提供していただいたJA ふじ伊豆の小山直樹氏と伊山克彦氏に心より感謝申し上げます。

参考文献

- [1] 中川致之 (1970): 日本食品工業学会誌, **17**, 154-163.
- [2] 原田 大, 北村正樹 (2014): ファルマシア, **50**, 679-683.
- [3] Kato, M., Kanehara, T., *et al.* (1996): *Physiol. Plant.*, **98**, 629-636.
- [4] Kato, M., Mizuno, K., *et al.* (1999): *Plant Physiol.*, **120**, 579-586.
- [5] Romburgh van P., Lohman, C.E.J. (1935): All About Tea, Vol.1, p.523.
- [6] 石垣幸三 (1981): 化学と生物, **19**, 278-285.
- [7] 津志田藤二郎, 土井芳憲 (1984): 日本農芸化学会誌, **58**, 1131-1133.
- [8] 中林敏郎, 伊奈和夫, 他 (1991): 緑茶・紅茶・烏龍茶の化学と機能, pp.29-30.
- [9] Kato, M. (1996): *Plant Cell Rep.*, **15**, 920-923.
- [10] 古川一実, 田中淳一 (2004): 育種学研究, **6**, 109-115.
- [11] 芳野恭士, 加藤榛華, 他 (2024): 沼津高専研究報告, **58**, 33-38.
- [12] 津志田藤二郎, 竹尾忠一 (1984): 日本農芸化学会誌, **58**, 277-279.
- [13] 佐藤晴紀, 岩崎智子, 他 (2020): 関税中央分析所報, **60**, 35-42.
- [14] Ashihara, H., Kato, M., *et al.* (1996): *Plant Cell Physiol.*, **37** (Suppl.), 109.
- [15] 池田奈実子, 向井俊博, 他 (1993): 茶業研究報告, **77**, 13-21.
- [16] 衣笠 仁, 竹尾忠一, 他 (1997): 日本食品科学工学会誌, **44**, 112-118.
- [17] 吉留 浩, 宮前 稔, 他 (2015): 茶業研究報告, **120**, 1-15.
- [18] 片井秀幸, 鈴木康孝, 他 (2020): 茶業研究報告, **130**, 17-32.
- [19] Fujimori, N., Suzuki, T., *et al.* (1991): *Phytochemistry*, **30**, 2245-2248.
- [20] 高柳博次, 阿南豊正, 他 (1987): 茶業研究報告, **65**, 81-85.
- [21] 高柳博次, 阿南豊正, 他 (1987): 茶業研究報告, **65**, 86-92.
- [22] 堀江秀樹, 向井俊博, 他 (1993): 茶業研究報告, **77**, 23-28.
- [23] 池田奈実子, 向井俊博, 他 (2009): 日本作物学会紀事, **78**, 196-202.
- [24] 平井文博 (1996): 茶, **49**, 28-30.
- [25] 守安貴子, 斉藤和夫, 他 (1996): 食品衛生学雑誌, **37**, 59-63.
- [26] 津志田藤二郎, 村井敏信 (1985): 日本農芸化学会誌, **59**, 917-919.
- [27] 芳野恭士, 加藤榛華, 他: 沼津高専研究報告, 投稿中.
- [28] Ashihara, H., Kubota, H. (1986): *Physiol. Plant.*, **68**, 275-281.
- [29] 有田俊幸, 塩野輝雄 (1980): 茶業研究報告, **52**, 46-54.
- [30] 吉田優子, 木曾雅昭, 他 (1996): 茶業研究報告, **83**, 9-16.
- [31] 池田奈実子, 向井俊博, 他 (2009): 日本作物学会記事, **78**, 196-202.
- [32] 岩浅 潔, 鳥井秀一 (1962): 茶業技術研究, **26**, 87-91.
- [33] 戸高大介, 竹中陽子, 他 (1999): 日本食品科学工学会誌, **46**, 34-36.
- [34] Nishikimi, M., Rao, N. A., *et al.* (1972): *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **46**, 849-854.
- [35] Furukawa, K., Koizumi, M., *et al.* (2020): *Plant Biotechnol.*, **37**, 195-203.
- [36] Bordoloi, R. K., Thakur, D., *et al.* (2011): Two and a Bud, **58**, 127-131.
- [37] Sabhapondit, S., Karak, T., *et al.* (2012): *Sci. World J.*, **2021**, 1-8.
- [38] Adams, R. F., Vandemark, F. L., *et al.* (1976): *Clin. Chem.*, **22**, 1903-1906.
- [39] Naish, P. J., Cooke, M. (1979): *J. Chromatogr.*, **163**,

363-372.

[40] 松田りえ子, 仁木喜治, 他 (1981): 薬学雑誌, **101**, 955-959.

[41] L. A. Broussard, L. A. (1981): *Clin. Chem.*, **27**, 1931-1933.

[42] 菊田孝弘, 若松章夫, 他 (1984): 病院薬学, **10**, 219-223.

[43] Yoshino, K. (2010): *J. Technol. Educ.*, **17**, 17-24.

[44] 加藤美砂子 (2001): RADIOISOTOPES, **50**, 377-379.

[45] Ashihara, H., Crozier, A. (2001): *Trends Plant Sci.*, **6**, 407-413.