

R6 特別生徒研究助成報告書

下伊那農業高校と下栗の里での茶園の生育環境分析及び緑茶の成分分析

下伊那農業高等学校 食品化学科 新井百華 野牧咲桜

I はじめに

私の祖父は下栗の里でお茶を栽培している。下栗の里は南アルプスと伊那山地の2つの谷あいにある「遠山郷」と呼ばれる地域に位置している。飯田市上村下栗地域では、標高は1,000メートル前後で、山腹の急傾地に家々が散在している。私は祖父の家で作っているお茶を飲んだとき、下伊那農業高校で栽培している稲丘茶よりも甘みがあり飲みやすいと感じた。そこから、同じ地域でもなぜ味に違いが出るのか気になり、栽培している環境と茶に含まれる成分を分析して比較し違いが出る理由を知りたいと思った。

II 研究の目的

- 1 成分分析や茶畑の比較から茶の味にどう影響しているのか探る。
- 2 下農茶（稲丘茶）と下栗茶の味の違いの原因を見つける。

III 方法

1 土壌の成分分析

土壌分析にあたり、各茶園内3か所より土を採取し、通風乾燥後、2mm径のふるいにてふるったものを風乾土として試料に用いた。

(1) pH、硬さ、水分量の測定

pH、水分量 → 簡易土壌 pH 計(図1)

硬さ → 山中式土壌硬度計、1地点につき5回測定し平均をとる。(図2)

(2) EC の測定

風乾土 10g を蒸留水 50mL に懸濁し1時間振とう後 EC 計にて EC を測定した。(図3)



図1 pH計



図2 山中式土壌硬度計



図3 ECの測定

(3) 硝酸態窒素の測定

EC測定懸濁液の上澄みを3,000回転5分間遠心分離を行う(図4)。その後、この上澄みを硝酸イオンメーターの電極に滴下し、硝酸イオン濃度を測定した(図5)。

(4) 陰イオンの測定

風乾土 10 g を蒸留水 50mL に懸濁し、1 時間振とうする。これを No. 6 定量ろ紙でろ過し、ろ液を純水で 100 倍希釈する。遠心分離をし、上澄みを 0.2 μm メンブレンフィルターでろ過する。試料液を長野県総合教育センター保有のイオンクロマトグラフで測定する。



図4 遠心分離の様子



図5 硝酸イオンの測定の様子

2 お茶の成分分析

お茶の抽出条件を、茶葉 3 g、沸騰蒸留水 180mL、むらし時間 3 分で市販のお茶パックを用いた方法に定めた。以後、茶抽出液とする。

(1) pH の測定

各茶抽出液の中に pH 計をさして読み取る。

(2) EC の測定

粉碎試料 1g を三角フラスコに秤量し、70℃蒸留水 50mL 添加後、70℃・30 分加熱抽出する。常温にした試料を遠心分離後ろ過し、EC 計を用いて測定する。

(3) 硝酸態窒素の測定

EC 測定のろ液を用い、硝酸イオンメーターを用いて硝酸イオン濃度を計測する。

(4) アミノ酸態窒素の測定

・使用試薬

0. 1M 水酸化ナトリウム (NaOH) 溶液

中性ホルマリン液 (ホルマリンを 0. 2M NaOH 溶液で pH8. 0 に中和したもの)

・方法

①25mL を 50mL ビーカーに採取し、マグネチックスターラーで攪拌し、pH8. 5 になるまでビュレットで 0. 1M NaOH 溶液を滴下する。

②中性ホルマリン液を 20mL 加え、再び 0. 1M NaOH 溶液で pH8. 5 になるまで滴下する。

・計算

アミノ態窒素 (mg/100mL) = $0. 0014 \times f \times (A-B) \times 100 / 25 \times 1000$

f: 0. 1M NaOH 溶液の力価 A: 本試験滴定値 (mL) B: ブランク滴定値 (mL)

(5) テアニンの測定

飯田短期大学友竹教授、橋爪助手の協力のもと HPLC にて茶抽出液中のテアニンの測定を実施した。

(6) カフェインの測定

飯田短期大学友竹教授、橋爪助手の協力のもと HPLC (日本分光 880-PU 型 HPLC) にて分析を実施した。

・使用試薬

カフェイン標品 0.5 μ g

溶離液(メタノール/25mM-pH5.0 リン酸緩衝液=18/82, v/v)

・方法

- ①茶抽出液 1 mL と溶離液 1 mL 採取し、マイクロチューブで混合する。
- ②これを 2 μ L シリンジで採取し、HPLC に注入する。
- ③飯田短期大学友竹教授、橋爪助手の協力のもと HPLC (日本分光 880-PU 型 HPLC) にて分析を実施した。溶離液はメタノールとリン酸緩衝液の混合液を流速 1.0 mL/min で流し、ODC カラムを使用して分離を実施した。
- ④クロマトグラフに記されたピークの高さを測定し、標準品のピークの高さと比較して定量を行う。

・試料溶液から分離されたカフェイン量 (μ g)

各試料のピーク面積 / 標準品のピーク面積 \times 0.5 μ g

・試料中のカフェイン濃度

カフェイン濃度 (μ g/ μ L) = 分離されたカフェイン量 (μ g) / 試料採取量 \times 2倍

試料中のカフェイン濃度 (mg/100mL) = カフェイン濃度 (μ g/ μ L) \times 1,000 / 1,000 \times 100mL

(7) 味度値の測定

南信州・飯田産業センター保有味覚センサー味認識装置 TS-5000Z にて茶抽出液の味度値を測定した。下栗茶を基準値 (0 の値) として稲丘茶の味度値を算出した。

実施項目：苦味、渋味、塩味、うま味、酸味の各先味、後味

※味度値は 1 の差で味の違いがはっきり分かる程度の味の違いがあるとされる。

3 官能検査

日時場所 11月3日稲丘祭 下伊那農業高校の体育館にて実施

調査対象 一般来場者 26名

検査項目 1.うま味 2.苦味 3.甘味

悪いを 1、よいを 5 としたの 5 段階で各項目の評価を実施した。

IV 結果

1 土壌の成分分析

- ・土の pH では、下農は 4~5 の間にあり下栗は 3.5 程度と、下農の方が pH が高いといえる。
- ・水分量は 2 つの茶畑でほとんど変化はなかった。
- ・土壌の硬さでは、下農よりも下栗のほうが柔らかいことが分かった。
- ・下農の硝酸態窒素量が試験区ごとの差が大きかった。
- ・陰イオンの測定より、亜硝酸イオンの濃度が下農よりも下栗の値が大きい結果となった。

表1 各地茶園の土壌の性質表

	下農			下栗		
	1区	2区	3区	1区	2区	3区
pH	5.54	4.29	5.15	3.69	3.47	3.59
水分量	23%	28%	24%	22%	23%	23%
硬度	4.4mm	3.4mm	5.4mm	7.8mm	8.2mm	7.4mm
EC	92 μ s	303 μ s	182 μ s	563 μ s	1,363 μ s	1,746 μ s
硝酸イオン	27ppm	135ppm	48ppm	28ppm	20ppm	23ppm
硫酸イオン	3.03mg/L	0mg/L	0mg/L	2.42mg/L	0mg/L	0mg/L
亜硝酸イオン	11.99mg/L	25.32mg/L	32.63mg/L	244.91mg/L	589.88mg/L	890.23mg/L

2 お茶の成分分析

(1) お茶の pH、EC、硝酸イオン濃度、アミノ態窒素量、テアニン量

- ・お茶の pH では、稲丘茶は 5.93 で下栗茶は 5.77 でそれほど差はなかった。
- ・EC は下栗茶が高く硝酸態窒素も下栗茶の方が高い結果となった。
- ・アミノ酸態窒素では、1 回目の結果を除いて下栗茶の方が高いという結果となった。

表2 お茶の pH・EC・硝酸イオン濃度・テアニン量

	下農	下栗
pH	5.93	5.77
EC	978 μ s	1,020 μ s
硝酸イオン	200ppm	230ppm
テアニン	25.4mg/100mL	29.1mg/100mL

表3 実験ごとのアミノ態窒素量

	下農	下栗
1回目	2.06 mg/L	1.39 mg/L
2回目	1.79 mg/L	3.86 mg/L
3回目	1.12 mg/L	2.73 mg/L
平均	1.66 mg/L	2.66 mg/L

(2) カフェイン量

図6左のピーク面積：424,785 が、カフェイン 0.5 μ g に相当する面積

図6中央のピーク面積：374,321 が、稲丘茶のカフェイン量に相当する面積

図6右のピーク面積：506,925 が、下栗茶のカフェイン量に相当する面積

- ・稲丘茶のカフェイン量

$$374,321/424,785 \times 0.5 = 0.441 \mu\text{g}$$

$$0.441 \mu\text{g} / 5 \mu\text{L} \times 2 = 0.176 \mu\text{g}/\mu\text{L} \rightarrow 17.6 \text{mg}/100 \text{mL}$$

- ・下栗茶のカフェイン量

$$506,925/424,785 \times 0.5 \mu\text{g} = 0.597 \mu\text{g}$$

$$0.597 \mu\text{g} / 5 \mu\text{L} \times 2 = 0.239 \mu\text{g}/\mu\text{L} \rightarrow 23.9 \text{mg}/100 \text{mL}$$

- ・カフェインの測定では、下栗茶のピーク値、カフェイン濃度が大きい結果となった。



図6 クロマトグラム (左: 標準品 中央: 稲丘 右: 下栗 ○印: カフェインのピーク)



図7 実験の様子



図8 クロマトグラムの読み方を学ぶ様子

(3) 味度値

南信州・飯田産業センターに依頼して測定を実施した。

- ・図9より、苦味・渋味が下農の方が強い結果となった。
- ・うま味については差がほとんどない結果となった。

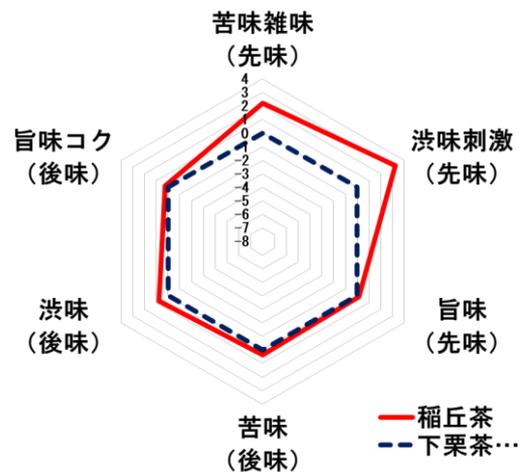


図9 茶の味度値の比較

3 官能検査

- ・うま味、苦味、甘味の観点で調査したところ、3つとも稲丘茶と下栗茶で大きな差はみられなかった。

表4 官能検査の結果

	うま味		苦味		甘味	
	下農	下栗	下農	下栗	下農	下栗
平均値	3.62	3.54	2.96	2.85	2.85	3.08
中央値	4	4	3	2.5	3	3

IV 考察

1 土壌の成分分析

- ・お茶は pH4.5 程度を好むため茶に適した pH は下農と分かった。
- ・硬い土では根の生育が妨げられる。このことから、土の柔らかい下栗のほうがより茶に適した土の柔らかさだと分かった。
- ・下農より下栗のほうが、EC が高かったため、下栗の土のほうが栄養を多く含むと考えられる。区ごとの硝酸イオンのばらつきから、下農では肥料がまんべんなく均等に散布できていないとわかる。
- ・亜硝酸イオンは下栗が高いとわかった。下栗では硫安が多く散布されるためだと考えられる。硫安は土壌中で亜硝酸菌によって亜硝酸態窒素になり、そこに硝酸菌の作用によって硝酸態窒素になる。硝酸態窒素量が多いと茶のうま味が増すため、下栗茶のうま味には土壌が関係していると考えられる。

2 お茶の成分分析

- ・EC、硝酸態窒素の結果より、下栗茶の方が栄養を多く含むと考えられ、お茶のうま味が高いことがいえる。
- ・アミノ態窒素、テアニンの結果より、下栗茶にうま味成分が多く含まれているとわかる。実験の1回目と2・3回目で結果が異なったのは、1回目の実験の手順や試料調製が原因ではないかと考えた。
- ・稲丘茶は下栗茶より苦み成分カフェインが少ないが、味度値の結果より、苦味渋みにはカフェイン以外の成分も大きく関わると考えられる。

3 官能検査

- ・今回のパネル・条件では稲丘茶と下栗茶の味について、ウィルコクソンの符号順位検定において5%水準での有意差が認められなかった。

V 反省・今後の課題

- ・下栗で取り入れられている「硫安」を下農でもさらに多く取り入れることで下栗茶のようなうま味の強いお茶ができるのか検証したい。
- ・うま味だけでなく、甘味、苦味の違いを更に追求して甘味、苦味にもどんな違いがあるか調べていきたい。

VI 参考文献

高野克己他 10 名著 食品化学 実教出版

飯田短期大学 カフェイン量測定の資料

土壌・作物栄養診断マニュアル(2015) ver. 3 茨城県農業総合センターp5. 6