

亜臨界水抽出による緑茶の高品質化

宮下 知也 (静岡大学 創造科学技術大学院, p52102001@yahoo.co.jp)
 横田 正 (愛知学泉 短期大学 食物栄養学科, tyokota@gakusen.ac.jp)
 木戸 康嗣 (静岡大学 農学部, suc10584@po4.across.or.jp)
 岡村 拓哉 (静岡大学 農学部, takuya-oka@ma.tnc.ne.jp)
 飯島 陽子 (神奈川工科大学 応用バイオ科学部, lijima@bio.kanagawa-it.ac.jp)
 鈴木 英之 (かずさ DNA 研究所, hsuzuki@kazusa.or.jp)
 柴田 大輔 (かずさ DNA 研究所, shibata@kazusa.pr.jp)
 衛藤 英男 (静岡大学 農学部, srqe4yjl@qc.commufa.jp)

Quality improvement of green tea by sub-critical water extraction

Tomoya Miyashita (Graduate School of Science and Technology, Shizuoka University, Japan)
 Tadashi Yokota (Nutrition and Food Sciences, Aichi Gakusen College, Japan)
 Koji Kido (Faculty of Agriculture, Shizuoka University, Japan)
 Takuya Okamoto (Faculty of Agriculture, Shizuoka University, Japan)
 Yoko Iijima (Department of Applied Bioscience, Kanagawa Institute of Technology, Japan)
 Hideyuki Suzuki (Kazusa DNA Research Institute, Japan)
 Daisuke Shibata (Kazusa DNA Research Institute, Japan)
 Hideo Etoh (Faculty of Agriculture, Shizuoka University, Japan)

要約

我々は緑茶を亜臨界水抽出130℃で処理することで高濃度カテキン含有でありながら苦渋味を抑制した緑茶飲料になることを報告した。本報ではこの緑茶抽出物の有用成分や香気成分および水色について検証を行った。その結果、従来の熱水抽出よりも有用成分（アスコルビン酸、クエン酸、リンゴ酸、コハク酸、ケルセチン、サポニン、水溶性食物繊維）が高濃度で抽出され、機能性を有する緑茶飲料であることが分かった。また、テアニンから生成される(S)-3-アミノ-1-エチルグルタルイミド（環状テアニン）はACE阻害活性があり、緑茶の中でも玉露や碾茶に多いことも明らかにした。さらに、緑茶特有の香気成分および水色に関連するクロロフィルの増加も確認した。従って、亜臨界水抽出は従来よりも優れた香気と水色を示し、苦渋味抑制だけでなく新たな機能性を有する緑茶飲料の製造方法としての可能性を示唆した。

キーワード

亜臨界水抽出, 緑茶, 有用成分, (S)-3-アミノ-1-エチルグルタルイミド, 香気成分

1. はじめに

緑茶は、日本で広く親しまれている嗜好飲料である。緑茶中には様々な健康機能性を有する成分が含まれおり、中でもカテキン類は抗酸化作用 (Xu et al., 2004)、生活習慣病予防作用 (Nagao et al., 2009)、免疫賦活作用 (Bub et al., 2003)、抗アレルギー作用 (Maeda-Yamamoto et al., 2007)、抗ガン作用 (Shimizu et al., 2008) などが報告されている。しかしながら、緑茶カテキンは苦渋味が強く、飲みにくいいため、日常的に飲み続けるにはその改善が必要である。著者らは、緑茶を亜臨界水抽出することによってカテキン特有の苦渋味を抑制することを見出した。その理由として、水溶性ペクチンおよびアミノ酸のアルギニンによるマスキング効果であることを明らかにした (Miyashita et al., 2013)。また、緑茶の主要なアミノ酸であるテアニンには α 波 (脳波) の出現頻度の増加作用 (Nobre et al., 2008)、脳の神経保護作用 (Kakuda., 2011) などが報告されている。

これらの健康機能性成分は抽出条件により、抽出される成分が異なることが考えられた。そこで、本報では、一般的な熱水抽出と亜臨界水抽出での抽出成分の違いを明らかにする

ことを目的として、緑茶抽出物の有用成分や香気成分および水色の変化について検証を行った。亜臨界水の特性は高温高圧下で液体状態を保った状態における特殊な抽出方法であり、優れた成分抽出作用と強い加水分解作用の性質を持った技術である。緑茶中の有用成分では、L-アスコルビン酸、クエン酸、リンゴ酸、コハク酸、シュウ酸、ケルセチン、サポニン、水溶性食物繊維を選択した。また、著者らは、前報において緑茶中に含まれ、機能性が示唆される(S)-3-アミノ-1-エチルグルタルイミド (環状テアニン) の存在を報告している (Miyashita et al., 2014)。そこで、ACE阻害活性の測定および有機緑茶、玉露、碾茶中の含有量を測定した。さらに、緑茶の主要な香気成分をGC-MSで定量し、水色に関連する成分のクロロフィルを測定した。その結果、亜臨界水抽出技術は新たな機能性緑茶飲料の製造を可能性にすることが示唆された。

2. 実験方法

2.1 試料

(1) 茶葉および試薬

緑茶は、2013年度産の有機緑茶、玉露、碾茶を静岡県のお茶専門店で購入し、使用した。L-アスコルビン酸、クエン酸、リンゴ酸、コハク酸、シュウ酸、ケルセチンおよびテアニンの標準試薬は和光純薬株式会社から購入し

た。すべての溶媒は特級試薬を用いた。また、蒸留水はミリポアを用いて脱イオン化した。

(2) 抽出方法

緑茶(茶葉) 10 gに水400 mLを加え、1分間の攪拌後に3.0 MPa、130 °C、10秒間の亜臨界水抽出を行った。有機緑茶の熱水抽出は80 °Cで3分間、玉露および碾茶の熱水抽出は50 °Cで3分間の抽出を行った。それぞれ得られた緑茶抽出液はNo.2濾紙を用いて吸引濾過を行った。その後、緑茶抽出液は凍結乾燥で粉末化させ、各分析に供した。

2.2 L-アスコルビン酸の定量法

L-アスコルビン酸含有量は、高速液体クロマトグラフ法で分析した。カラムはDevelosil® XG-C18M column (150×4.6 mm; 野村化学製)、流速は1.0 mL/min、カラム温度は30 °C、検出波長はUV 260 nmで分析した。移動相は98 % ギ酸アンモニウム溶液(50 mM) および2% アセトニトリルを使用した。成分値は検量線から算出した(Wanga et al., 2006)。

2.3 有機酸類の定量法

有機酸(クエン酸、リンゴ酸、コハク酸)含有量は、高速液体クロマトグラフ法で分析した。カラムはShim-pack SCR-102H (8 mm×300 mm; 島津製)、流速は0.8 mL/min、カラム温度は45 °C、検出波長はUV 210 nmで分析した。移動相はp-トルエンスルホン酸(5 mM)を使用した。シュウ酸含有量は高速液体クロマトグラフ法で分析した。カラムはShim-pack SCR-101H (7.9 mm×300 mm; 島津製)、流速0.6 mL/min、カラム温度45 °C、検出波長はUV 210 nmで分析した。移動相はリン酸(100 mM)を使用した(Maeda et al., 2009)。

2.4 ケルセチンの定量法

ケルセチン含有量は、高速液体クロマトグラフ法で分析した。カラムはMightysil RP-18GP (250×4.6 mm; 関東化学製)、流量は1.0 mL/min、カラム温度は30 °C、検出波長はUV 350 nmで分析した。移動相は2.5 % 酢酸:メタノール:アセトニトリル=70:10:20 (v/v)を使用した。

2.5 サポニンの定量法

サポニン含有量は、フェノール硫酸法で測定した(Li et al., 2012)。試料1 mgを試験管に入れ、蒸留水で1 mLにメスアップした。そこに、1 mLの5 % フェノール溶液と5 mLの濃硫酸を加えた。室温で20分間静置した後に490 nmの吸光度で測定した。

2.6 水溶性食物繊維の定量法

水溶性食物繊維含有量は、Prosky法を用いて測定した(Prosky et al.1992)。

2.7 環状テアニンの定量法

環状テアニン含有量は、LC-MSで測定した。試料10 mgを水50 µLおよび90 %メタノール150 µL(内部標準物質のゲ

ニステイン10 µg/mL含む)で抽出した。サンプルはミキサーで2分間ホモジナイズし、遠心分離を行った。その後、上澄み液を除き、90 %メタノール200 µLを加え、分離を繰り返した。処理後のサンプルは0.2 µm PVDFメンブレンフィルター(ワットマン社製)で濾過させ、濾液10 µLをLC-MSに供した(Agilent 1200 system)。カラムはTSK-gel column ODS-100V (5 µm, 4.6×250 mm, トーソー製)、流速0.5 mL/min、カラム温度40 °Cで測定した。移動相Aは0.1 %ギ酸溶液、移動相Bはアセトニトリルおよび0.1%ギ酸混合溶液を使用した。グラジエント条件は最初の20分はB液を3 %から50 %、20から40分はB液を50 %から90 %、40から45分はB液を90 %、45から50分はB液を95 %で分析した。成分値は各標品で準備される校正カーブから算出した。質量分析はポジティブおよびネガティブモードで行った(Iijima et al., 2008)。

2.8 香気成分の測定

香気成分含有量は、ヘッドスペースを用いたガスクロマトグラフ質量分析計7890 GC/5975 MSDシステム(Agilent社製)で測定した。緑茶抽出液を専用のバイアルに採り、内部標準物質のデカン酸エチルを加えて密栓し、混和した。このバイアルを一定温度で保持し、気相部分を分析した。

2.9 クロロフィルの定量法

クロロフィル含有量は、吸光度計U-3210で測定した(日立社製)。クロロフィルaおよびbは663 nmおよび645 nmで定量を行った。各測定を3回測定し、クロロフィル量を合算した(Robert, 2002)。

2.10 ACE(アンジオテンシン変換酵素)阻害活性の測定

ACE阻害活性の測定は、各サンプル濃度を5.0、2.5、1.25、1.0、0.5、0 mg/mLに調整して評価した。検体(テアニン標品および環状テアニン標品)を0.1 mol/1HEPES緩衝液(pH 8.3)にて適宜希釈して試験溶液を調整した。0.1 mol/1HEPES緩衝液または試験溶液を96穴マイクロプレートに25 µLを加え、20 mU/ml ACE溶液を25 µL加えて37 °Cで5分間インキュベートした。8 mmol/1Hip-His-Leu溶液を25 µL加え、37 °Cで30分間反応させた。その後、0.1 mol/L水酸化ナトリウム溶液を25 µL加えて反応を停止させ、1 % OPA溶液を25 µLを加え、室温で20分間静置させた。さらに、0.1 mol/Lの塩酸を25 µL入れて、室温で10分間静置し、マイクロプレートリーダー(励起波長355 nm、蛍光波長460 nm; SpectraMax M2e)で蛍光強度を測定した(Nakano et al., 2006)。

3. 結果および考察

3.1 各成分の定量

(1) L-アスコルビン酸

L-アスコルビン酸含有量を測定した。その結果、亜臨界水抽出130 °Cは熱水抽出に比べてL-アスコルビン酸の抽出量が約1.4倍であった(表1)。L-アスコルビン酸は水溶性の高い抗酸化物質として知られている成分であり、その他、鉄分の吸収促進作用やメラニン抑制による美容効

果など多岐にわたる生理作用がある。亜臨界水抽出は短時間で処理されるため、L-アスコルビン酸の分解が抑えられたことが考えられた。

(2) 有機酸類

有機酸類ではクエン酸、リンゴ酸、コハク酸、シュウ酸を分析した。その結果、亜臨界水抽出130℃は熱水抽出に比べてクエン酸、リンゴ酸、コハク酸の抽出量が約1.4倍であった(表1)。クエン酸やリンゴ酸は茶の甘味に寄与しており、コハク酸はうま味の寄与があるとされている。シュウ酸は亜臨界水抽出130℃と熱水抽出では有意な変化は認められなかった。シュウ酸はえぐ味を呈する成分である。しかし、クエン酸にはシュウ酸の味を緩和する効果があるため、亜臨界水抽出で得られる緑茶抽出物は強いえぐ味を感じることなく、飲みやすい緑茶であることが考えられた。

(3) ケルセチン

ケルセチン含有量を測定した。その結果、亜臨界水抽出130℃は熱水抽出に比べて、ケルセチンの抽出量が約1.3倍であった(表1)。亜臨界水抽出によって効率的にケルセチンが抽出されたことが考えられた。ケルセチンは野菜や果物に含まれるポリフェノールの一種である。また、ケルセチンには抗酸化作用や抗アレルギー作用等の効能が報告されており、生活習慣病の予防に役立つと期待されている成分である(Boots et al., 2008; Ishizawa et al., 2011)。

(4) サポニン

サポニン含有量を測定した。その結果、亜臨界水抽出130℃は熱水抽出に比べて、サポニンの抽出量が約1.4倍であった(表1)。亜臨界水抽出によって効率的にサポニンが抽出されたことが考えられた。茶葉サポニンには抗炎症作用や抗菌作用があることが知られており、近年では血圧降下作用や抗肥満作用および脂肪上昇抑制作用などの生理作用も明らかになってきている(Matsuda et al., 2012; Hamao et al., 2011)。作用はそれほど強くはないがカテキンの持っている作用を補うものと考えられ、茶の苦味や機能性とのか関係が明らかになることで、茶の品質評価の新たな項目として期待されている成分である。

(5) 水溶性食物繊維

水溶性食物繊維含有量を測定した。その結果、亜臨界水抽出130℃は熱水抽出に比べて、水溶性食物繊維の抽出量が約2.9倍と著しい増加を確認した(表1)。亜臨界水抽出の優れた抽出作用により水溶性食物繊維が溶出されたことが考えられた。水溶性食物繊維には血糖上昇抑制効果や血中コレステロールの低下作用が報告されている(Anderson et al., 1990)。

(6) 環状テアニン

環状テアニン含有量を測定した。その結果、環状テアニンはすでに報告している有機緑茶に3.6±0.6(mg/100g)が含まれているが、玉露11.0±4.4(mg/100g)および碾茶11.8±2.3(mg/100g)にも含まれていることを確認した。玉露や碾茶などのテアニンが多く含まれる緑茶には

環状テアニンが多く含まれていることが分かった。また、(S)-3-アミノ-1-エチルグルタルイミドは糖尿病に対する効果が特許によって報告されている(Thomas et al., 2004)。テアニンとは異なる機能性があることが考えられた。

(7) 香気成分

総香気成分および香気成分類含有量を測定した。その結果、総香気成分含有量は熱水抽出で1.4(μg/100mL)、亜臨界水抽出130℃で2.2(μg/100mL)であった。亜臨界水抽出130℃は熱水抽出に比べて、総香気成分の抽出量が約1.6倍あることが示された。また、香気成分類では緑茶特有の香気成分であるリナロール、ドデカノール、ジヒドロアクチニジオリドなどが増加したことを確認した(図1)。これらの香気成分は、茶葉内に配糖体として存在することが知られている香気成分である。茶の香気が生ずる理由の一つとして、加水分解酵素の関与が挙げられる。茶葉は、香気配糖体を液胞内に蓄積しつつ、加水分解酵素を細胞壁に局在させている。萎凋時に香気成分配糖体が加水分解酵素の働きによって加水分解されることにより香気成分を揮発する。このことから、香気成分の配糖体が亜臨界水抽出の加水分解作用によって各香気成分が生成され、増加したことが考えられた。また、ジヒドロアクチニジオリドはい草に含まれる香気成分であり、他の香気成分を相乗効果させる作用があるため、亜臨界水抽出130℃の緑茶抽出液は熱水抽出よりも香りが優れていることが示唆された。

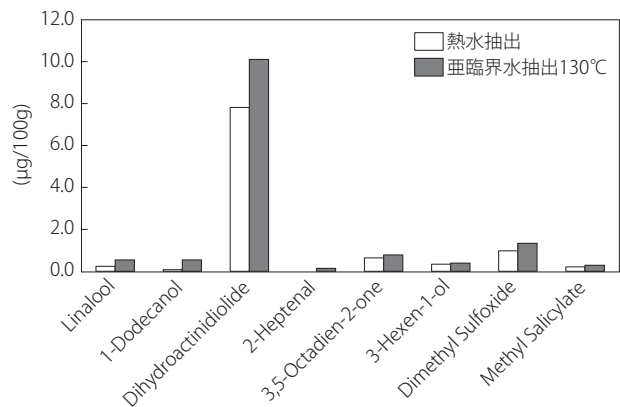


図1: 主要な香気成分類含有量

(8) クロロフィル

クロロフィルaおよびクロロフィルb含有量を測定した。その結果、亜臨界水抽出130℃は熱水抽出に比べてクロロフィルaは約2.7倍、クロロフィルbは約2.8倍と著しい増加を示した(図2)。熱水抽出ではクロロフィルaおよびbが減少した。この要因として加熱温度が高いことや抽出時間が長いことにより褐変化したことが考えられた。一方、亜臨界水抽出は反応時間が短くて済むため褐変が抑えられたことが考えられた。クロロフィルは植物の緑の色素成分であり、緑茶の濃さを示す成分でもあ

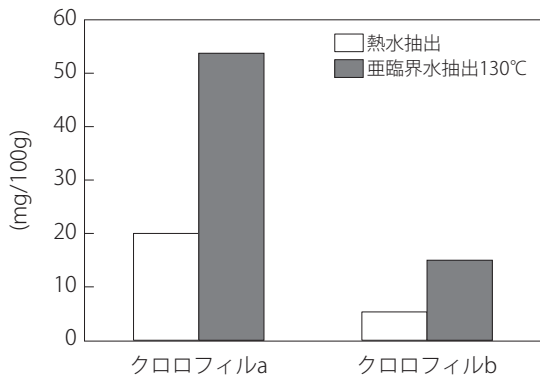


図2：クロロフィル含有量

る。よって、亜臨界水抽出 130 °C の緑茶抽出液は水色が良好であることが示された。また、クロロフィルには消臭効果があることも報告されているため、茶の品質評価においてクロロフィル含有量は重要な要素であると考えている。

3.2 ACE 阻害活性

環状テアニンの ACE 阻害活性効果を評価した。テアニンと環状テアニンを比較した。その結果を図3に示した。サンプ

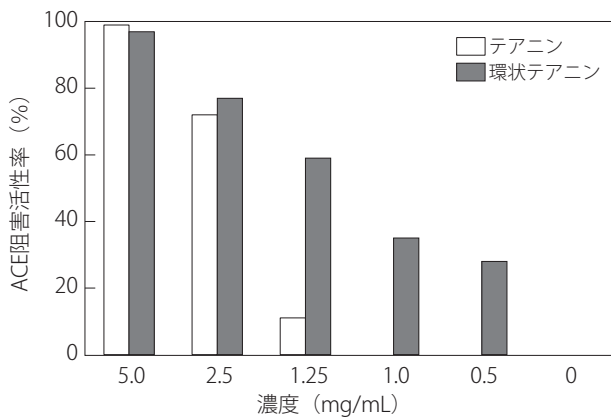


図3：ACE阻害活性

ル濃度 5.0、2.5 mg/mL ではテアニンおよび環状テアニンともに高い ACE 阻害活性を示した。しかし、サンプル濃度 1.25 mg/mL においてはテアニンの ACE 活性が著しく消失し、1.0 mg/mL 以下ではほぼ活性が認められなかった。一方、環状テアニンは 1.25 mg/mL 以下においても濃度依存的に ACE 阻害活性があることが分かった。環状テアニンはテアニンよりも安定した化合物であり、ACE 阻害活性効果が高いことが分かった。環状テアニンはテアニン以上の機能性があることや新たな機能性の存在が示唆された。

4. まとめ

亜臨界水抽出 130 °C は従来の熱水抽出に比べて、アスコルビン酸、クエン酸、リンゴ酸、コハク酸、ケルセチン、サポニン、水溶性食物繊維の有用成分を高濃度に抽出したことが分かった。過去の論文において緑茶を亜臨界水抽出 130 °C で処理すると苦渋味が抑制されることを報告したが、本研究によってさらに有用成分が多く含まれ、機能性が高い緑茶であることが示された。また、ACE 阻害活性が確認され、緑茶中の玉露および碾茶にも環状テアニンが多く含まれていることが分かり、新たな緑茶飲料としての可能性が示唆された。

香りの評価では熱水抽出に比べて、リナロール、ドデカノール、ジヒドロアクチニジオリドの香気成分が増加しており、緑茶本来の香りで良好なことが分かった。緑茶の水色では熱水抽出に比べて、加熱による褐変が抑えられ、緑茶特有の鮮やかな緑色が残っていることが分かった。また、緑茶の主要なアミノ酸であり、味覚成分のテアニン、グルタミン酸、アルギニン、セリンおよび総アミノ酸含有量について検証を行ったところ、亜臨界水抽出 130 °C ではこれらのアミノ酸が増加しており、うま味や甘味が熱水抽出よりも高い緑茶であることも分かった。この要因は亜臨界水抽出により緑茶中のタンパクが加水分解されアミノ酸に変化したことが考えられた。なお、アミノ酸含有量の結果は過去の文献を引用した (Miyashita et al., 2013)。

これらの結果により緑茶を亜臨界水抽出 130°C で処理することで従来の熱水抽出よりも有用成分を失わず、高品質化していることが考えられた。このことから、亜臨界水抽出を用いることで低級な緑茶に高付加価値を付け、機能性緑茶飲料

表1：熱水抽出と亜臨界水抽出の各成分比較

	有用成分 (mg/100 g)							水色 (mg/100 g)		
	L-アスコルビン酸	クエン酸	リンゴ酸	コハク酸	シュウ酸	ケルセチン	サポニン	水溶性食物繊維	クロロフィル a	クロロフィル b
熱水抽出	3.1	345.5	272.7	49.1	860.0	960.0	5090.9	1425.5	20.0	5.3
亜臨界水抽出 130 °C	4.2	475.0	375.0	67.5	970.0	1250.0	7000.0	4250.0	53.8	15.0
	味覚成分 (mg/100 g)					香気成分 (μg/100 g)				
	テアニン	グルタミン酸	アルギニン	セリン	総アミノ酸	リナロール	ドデカノール	ジヒドロアクチニジオリド	ヘプテナール	ジメチルスルホキシド
熱水抽出	142.4	50.6	4.0	2.6	214.4	0.23	0.07	7.82	—	0.97
亜臨界水抽出 130 °C	164.2	61.2	7.6	3.4	244.0	0.54	0.54	10.11	0.14	1.33

としての製造が可能であることが示唆された。今後はその他の機能性成分の定量および環状テアニンの効能を動物レベルで検証したいと考えている。

引用文献

- Anderson, J. W., Deakins, D. A. and Bridges, S. R. (1990). Soluble fiber: Hypocholesterolemic effects and proposed mechanisms. In: *Dietary Fiber: Chemistry, Physiology, and Health Effects*. Plenum Press.
- Boots, A. W., Haenen, G. R. and Bast, A. (2008). Health effects of quercetin: From antioxidant to nutraceutical. *The European Journal of Pharmacology*, Vol. 13, 325-337.
- Bub, A., Watzl, B., Blockhaus, M., Briviba, K., Liegibel, U., Muller, H., Pool-Zobel, B. L. and Rechkemmer, G. (2003). Fruit juice consumption modulates antioxidative status, immune status and DNA damage. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, Vol. 14, 90-98.
- Hamao, M., Matsuda, H., Nakamura, S., Nakashima, S., Semura, S., Maekudo, S., Wakasugi, S. and Yoshikawa, M. (2011). Anti-obesity effects of the methanolic extract and chakasaponins from the flower buds of *Camellia sinensis* in mice. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, Vol. 19, 6033-6041.
- Iijima, Y., Nakamura, Y., Ogata, Y., Tanaka, K., Sakurai, N., Suda, K., Suzuki, T., Suzuki, H., Okazaki, K., Kitayama, M., Kanaya, S., Aoki, K. and Shibata, D. (2008). Metabolite annotations based on the integration of mass spectral information. *The Plant Journal*, Vol. 54, 949-962.
- Ishizawa, K., Yoshizumi, M., Kawai, Y., Terao, J., Kihira, Y., Ikeda, Y., Tomita, S., Minakuchi, K., Tsuchiya, K. and Tamaki, T. (2011). Pharmacology in health food: metabolism of quercetin in vivo and its protective effect against arteriosclerosis. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 115, 466-470.
- Kakuda, T. (2011). Neuroprotective effects of theanine and its preventive effects on cognitive dysfunction. *Pharmacological Research*, Vol. 64, 162-168.
- Li, X., Chen, D., Mai, Y., Wen, B. and Wang, X. (2012). Concordance between antioxidant activities in vitro and chemical components of *Radix Astragali* (Huangqi). *Natural Product Research*, Vol. 26, 1050-1053.
- Maeda-Yamamoto, M. and Shibuichi, I. (2007). In vitro and in vivo anti-allergic effects of 'benifuuki' green tea containing *O*-methylated catechin and ginger extract enhancement. *Cytotechnology*, Vol. 55, 135-142.
- Maeda, T., Yoshimura, T., Shimazu, T., Shirai, Y. and Ogawa, H. (2009). Enhanced production of lactic acid with reducing excess sludge by lactate fermentation. *Journal of Hazardous Materials*, Vol. 168, 656-663.
- Matsuda, H., Hamao, M., Nakamura, S., Kon'i, H., Murata, M. and Yoshikawa, M. (2012). Medicinal Flowers. XXXIII. Anti-hyperlipidemic and Anti-hyperglycemic Effects of Chakasaponins I-III and Structure of Chakasaponin IV from Flower Buds of Chinese Tea Plant (*Camellia sinensis*). *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, Vol. 60, 674-680.
- Miyashita, T. and Etoh, H. (2013). Improvement of the bitterness and astringency of green tea by sub-critical water extraction. *Food Science and Technology Research*, Vol. 19, 471-478.
- Miyashita, T., Okamura, T., Iijima, Y., Suzuki, H., Shibata, D., Takaya, Y., Tanaka, H. and Etoh, H. (2014). (S)-3-Amino-1-ethylglutaramide from green tea (*Camellia sinensis*). *Studies in Science and Technology*, Vol. 3, No. 1, 45-48.
- Nakano, D., Ogura, K., Miyakoshi, M., Ishii, F., Kawanishi, H., Kurumazuka, D., Kwak, C. J., Ikemura, K., Takaoka, M., Moriguchi, S., Iino, T., Kusumoto, A., Asami, S., Shibata, H., Kiso, Y. and Matsumura, Y. (2006). Antihypertensive effect of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides from a sesame protein hydrolysate in spontaneously hypertensive rats. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, Vol. 70, 1118-1126.
- Nagao, T., Meguro, S., Hase, T., Otsuka, K., Komikado, M., Tokimitsu, I., Yamamoto, T. and Yamamoto, K. (2009). A catechin-rich beverage improves obesity and blood glucose control in patients with type 2 diabetes. *Obesity (Silver Spring)*, Vol. 17, 310-317.
- Nobre, A. C., Rao, A. and Owen, G. N. (2008). L-theanine, a natural constituent in tea and its effect at state. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, Vol. 17, 167-168.
- Porra, R. J. (2002). The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b. *Photosynthesis Research*, Vol. 73, 149-156.
- Prosky, L., Asp, N. G., Schweizer, T. F., DeVries, J. W. and Furda, I. (1992). Determination of insoluble and soluble dietary fiber in food and food products: collaborative study. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, Vol. 75, 360-366.
- Shimizu, M., Fukutomi, Y., Ninomiya, M., Nagura, K., Kato, T., Araki, H., Suganuma, M., Fujiki, H. and Moriwaki, H. (2008). Green tea extracts for the prevention of metachronous colorectal adenomas: A pilot study. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, Vol. 11, 3020-3025.
- Thomas, A., Bhavar, P. K., Lingam, V. S. P. R., Joshi, N. K. (2004). Preparation of heterocyclic amides, in particular azolanes and pyridines as phosphodiesterase IV (PDE4) inhibitors for the treatment of inflammatory and allergic disorders. Patent Corporation treaty, International Application, WO 2004022536.
- Wanga, H. F., Tsaib, Y. S., Linb, M. L. and Oub, A. S. (2006). Comparison of bioactive components in GABA tea and green tea produced in Taiwan. *Food Chemistry*, Vol. 96, 648-653.
- Xu, J. Z., Yeung, S. Y., Chang, Q., Huang, Y. and Chen, Z. Y. (2004).

Comparison of antioxidant activity and bioavailability of tea
epicatechins with their epimers. *British Journal of Nutrition*,
Vol. 91, 873-881.

(受稿：2015年6月5日 受理：2015年6月15日)