

ベトナム北部山岳地域から採集した茶葉中のカフェイン， カテキン類および遊離アミノ酸含有量の遺伝的多様性[†]

吉田 克志・荻野 暁子・松永 明子・Le Van Duc*・
Nguyen Le Thang*・根角 厚司

(平成17年12月5日受理)

Genetic Diversity of the Contents of Caffeine, Catechins, and Free Amino acids in Tea Leaves Collected from Northern Mountain Areas of Vietnam

Katsuyuki YOSHIDA, Akiko OGINO, Akiko MATSUNAGA, Le Van DUC,
Nguyen Le THAN and Atsushi NESUMI

Synopsis

We collected tea shoot samples from the northern mountain areas of Vietnam. All of the collected tea plants were classified into *Camellia sinensis* var. *assamica*. The differences in leaf morphology and quality of green tea, Vietnamese tea plants are classified into two groups, Shan tea (large leaf and high quality) and Trungdu tea (small leaf and low quality). In the present study, the contents of caffeine, individual catechins, and free amino acids in collected tea shoot samples were analyzed by high-performance liquid chromatogram (HPLC). Shan tea and Trungdu tea have high amounts of caffeine and catechins. On the other hand, Vietnamese tea has a low amount of free amino acids. The HPLC analysis results also suggested that Vietnamese tea genetic resources have high variations for the composition ratio of these three chemical components. The genetic resources of Trungdu tea are equal to Shan tea as important breeding materials of the functional tea components for human health benefit.

Key Words: Vietnam, *Camellia sinensis* var. *assamica*, tea genetic resources, caffeine, catechins, free amino acids

I 緒 言

チャは世界的に重要な嗜好飲料の一つであり，その生産はアジア諸国およびアフリカで行われている．チャの原産地については一元説と二元説が唱えられているが，現在ではベトナム，ラオス，タイ，ミャンマーおよび中国の国境地域が原産地であると推定されている (HASHIMOTO, 1985)．一般に作物の原産地の中心に近い

ほど，遺伝的多様性が認められることが知られており，これらの地域のチャは遺伝的変異が非常に大きいことが予想される．したがって，ベトナム北部のチャ遺伝資源の現地調査ならびに茶葉の化学成分分析を行うことは，チャの進化を解析する上でも非常に重要である．

ベトナムにおけるチャの生産の始まりについては正確な記録が残されていないが，19世紀以前には少数山岳民族により自家用の茶園が営まれていたと考えられ，フランスによる植民地経営開始後から集約的な茶園の経営

〒898-0087 鹿児島県枕崎市瀬戸町87
茶業研究部

* Tea Research Institute of Vietnam,
Phu Ho, Phu Ninh, Phu Tho, Vietnam

† 本報告の一部は茶業技術研究発表会(2005年)において発表した．

が始まった(山口, 2001). ベトナムで栽培されているチャは紅茶用と緑茶用ともにほとんどが *C. sinensis* var. *assamica* に分類されるが, ベトナム国内では葉形態と製茶品質の違いから, 緑茶用茶樹の中で喬木・大葉の Shan tea と灌木・小葉の Trungdu tea と大きく2種類に大別している (Fig.1). 特に, 北部山岳地域において Moung 族や Dao 族などの少数民族により栽培され, 釜炒り茶の製法で製造される Shan tea は高品質で生産量が少ないことから, 希少価値があるとされ, Shan tea は種子および苗木をベトナム国外に持ち出すことが禁止されるほど, チャ遺伝資源として重要視されている. しかしながら, 近年ベトナム茶業研究所が育成した TR777 や LDP1 などの栄養繁殖品種に植え替えが進んでおり, 従来の実生由来の茶樹・茶園の管理があまり顧みられることなく, シロアリなどの虫害による枯死や炊飯用の薪としての使用により, 急速にその姿を消しつつある. 実生由来の茶樹の調査や評価は現地調査や官能審査を中心に行われているものの, 詳細な化学成分の分析は開始されたばかりであり, 化学成分の特徴に着目したチャ遺伝資源の収集および保存は行われていない(山口, 2001; 根角ら, 2004).

野菜茶業研究所茶業研究部の育種素材開発チームと育種研究室は2002年と2003年にベトナム茶業研究所と共同で, ベトナム北部山岳地域におけるチャ遺伝資源探索を実施した. 2002年の探索では, Trungdu tea の種子の収集を行ったが(根角ら, 2003), 2003年の探索では, Trungdu tea の種子の他に Shan tea と Trungdu tea から茶葉の採集を行った(根角ら, 2004). 本報では, 2003年の探索でベトナムから乾燥試料として持ち帰った茶葉乾燥試料からカフェイン, カテキン類および遊離アミノ酸類を抽出し, 高速液体クロマトグラフィー分析を行って, これらの成分含有量とその多様性を調査した. また, 茶が持つ抗酸化作用, 抗腫瘍作用, 血圧上昇抑制作用, 抗菌作用, 抗ウイルス作用, 抗アレルギー性, 消臭作用, 脂質代謝改善作用などの生理機能性が近年数多く解明され, 注目を集めており(村松ら, 2002), これらの機能性に着目した成分育種素材としてのベトナム・チャ遺伝資源の重要性について考察した. なお, 本研究は農林水産ゾーンバンク海外遺伝資源探索事業を受けて行われた. ここに記して深甚の謝意を表したい.

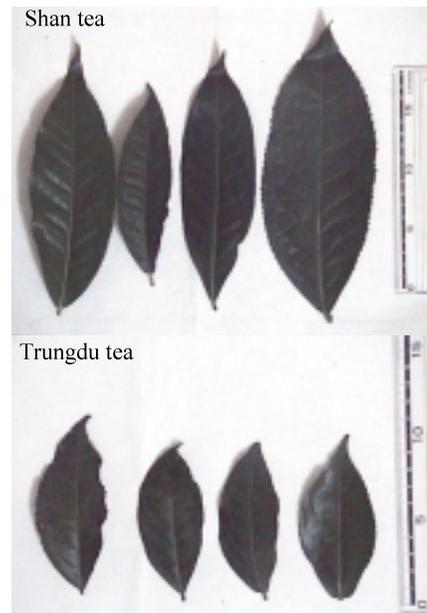


Fig.1 Differences in mature leaf morphology of Shan tea and Trungdu tea.

Shan tea leaves were collected from Suoi Giang village (Point 7) and Trungdu tea leaves were collected from the Lien Son tea factory (Point 8).

II 材料と方法

1 供試植物

Camellia sinensis (L.) O. Kuntze var. *assamica* に属する Shan tea および Trungdu tea の緑茶用に栽培されている以下の実生茶園8か所135個体より茶葉を一心二葉で採集した. 採集地点の地図および正確な位置について Fig.2 に, 採集地点の写真を Fig.3 にそれぞれ記した. ポイント1の Moc Chau 茶園は Moc Chau 郊外の高原状に広がる茶園であり (Fig.2, Fig.3), 9点の Shan tea の新芽を採集した. ポイント2の To Mua 村の茶園は Thai 族の自家用茶園であり (Fig.2, Fig.3), 19点の Shan tea の新芽を採集した. ポイント3の Sin Chai 村の茶園は実生茶樹の大木(5-8m)が高原や森林に散在する茶園であり (Fig.2, Fig.3), Moung 族がはしごを利用して新芽の摘採を行う茶園である. ここでは7点の Shan tea の新芽を採集した. ポイント4の Tam Dong 市郊外の茶園は穏やかな山腹に広がる茶園で (Fig.2, Fig.3), Moung 族により茶が栽培されており, 17点の Shan tea の新芽を採集した. ポイント5とポイント6はともに Thang Binh 農園により経営される茶園であり, 傾斜地に広がる Shan tea の実生茶園である (Fig.2, Fig.3). ポイント5は Ha Giang 省から導入した実生由来,

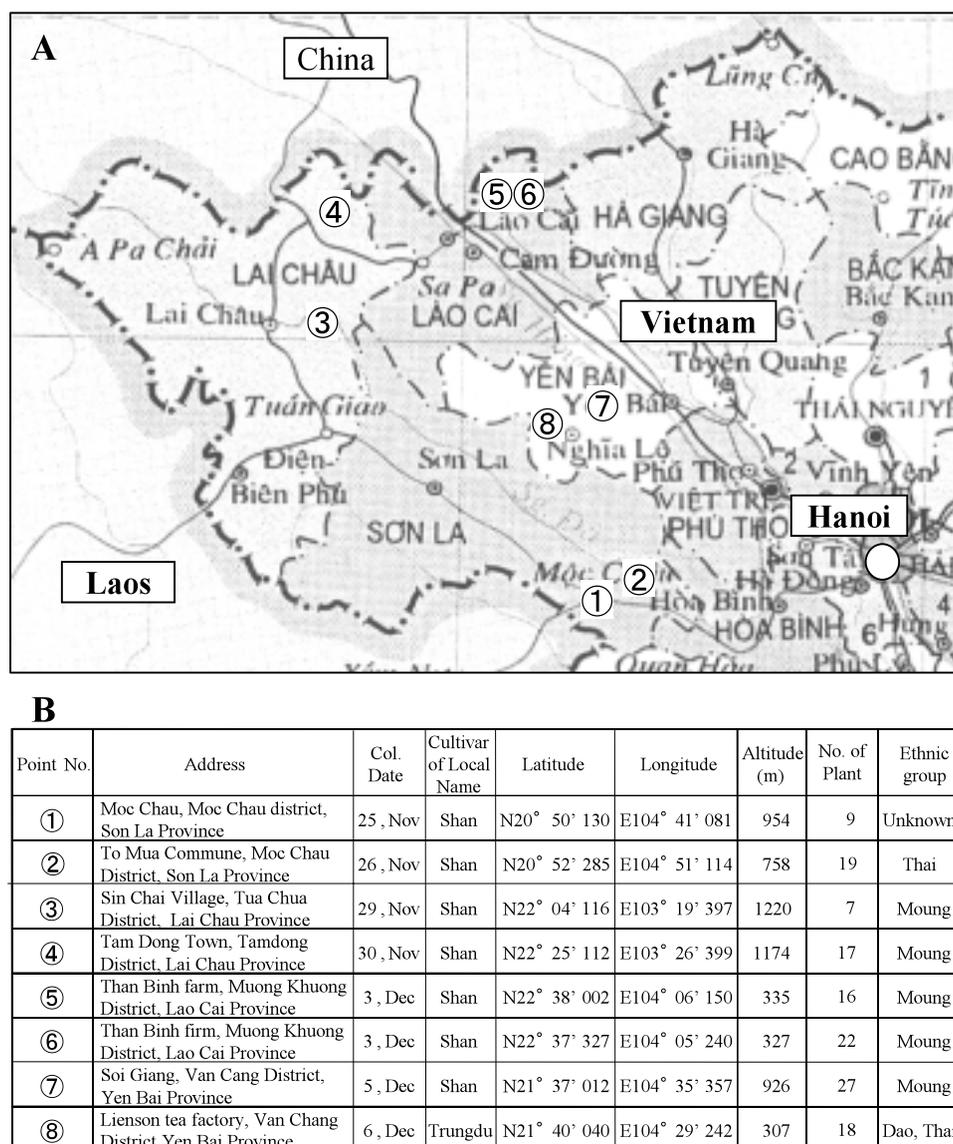


Fig.2 Collection points of tea genetic resources in northern mountain areas of Vietnam

A: synoptic map of collection points of tea genetic resources;

B: location of collection points of tea genetic resources.

ポイント6は北部山岳地域の1,000m級の高山地帯から導入した実生由来と伝えられている。ポイント5では16点、ポイント6では22点のShan teaを採集した。ポイント7はSuoi Giang村の山中に広がるShan teaの実生茶園であり、Moung族により茶栽培が営まれている(Fig.2, Fig.3)。この大茶樹は世界的に有名で、この地域のShan teaはベトナム国内で非常に高く評価されている。ここではShan teaを27点採集した。ポイント8はLien Son茶工場の平坦部に広がるTrungdu teaの茶園であり(Fig.2, Fig.3)、18点採集した。茶葉は一心二葉で採集し、採集直後に現地で電子レンジ(500W)を用いて殺青・乾燥させ、日本に持ち帰った。

カフェインおよびカテキン類の含有量の比較対照とし

て、2004年11月に野菜茶業研究所枕崎茶業研究拠点品種見本園の‘やぶきた’および‘べにふうき’から秋芽を一心二葉で採集し、蒸熱・乾燥後に粉末試料とし、カフェインおよびカテキン類についてHPLC分析を行った。

2 試料調整法

ベトナムから持ち帰った茶葉は70℃で2時間処理して完全に乾燥させた後で、乳鉢と乳棒で粉砕して茶葉粉末試料とし、カテキン類、カフェインおよびアミノ酸抽出まで4℃で保存した。



Fig.3 Photographs of each collection point of tea genetic resources in Vietnam.

Point 1: Moc Chau Tea Field; Point 2: To Mua Commune; Point3: Shin Chai Village;
Point 4: Tam dong city; Point 5 :Thang Binh farm; Point 6: Thang Binh Farm;
Point 7: Suoi Giang Village; Point 8: Lien Son tea factory.

3 カフェインおよびカテキン類分析法

カフェインおよびカテキン類の抽出は堀江ら(2002)の方法に準じて行った。茶葉粉末試料50mgに2%りん酸10mlを加えた後,さらに10mlのエタノールを加えてよく分散させた後,1時間静置して抽出を行った。その後,ろ紙(アドバンテック, N0.2)でろ過後,親水性メンブランフィルター(0.45 μm)でろ過し,分析用試料とした。その後,武田ら(2002)の方法に準じて日本分光の低圧グラジエント高速液体クロマトグラフィー(HPLC)システムで分析を行い,分析用カラムにはFinepak C18T(4.6×250mm,日本分光)を用いた。標準品として,カテキン類およびカフェインはナカライテスクより購入し,エピガロカテキン 3-O-(3-O-メチル)ガレート(EGCG³Me)は長良サイエンスより購入した。

4 遊離アミノ酸分析法

茶葉中のアミノ酸の抽出は高柳ら(1989)の方法に準じて行った。茶葉粉末試料100mgを100mlのメスフラスコに入れ,80mlの熱水を加え30分間熱水浴中で抽出を行った。その後,内部標準としてL-ホモセリン1ml(1mg/1ml)を加えて100mlにメスアップし,ろ紙(アドバンテック, N0.2)でろ過後,親水性メンブランフィルター(0.45 μm)でろ過して分析用試料とした。

アミノ酸類の分析は高柳ら(1989)および後藤ら(1993)のオルトフタルアルデヒド(OPA)によるアミノ酸のプレカラム誘導体化 HPLC に準じて行った。OPAで誘導体化したアミノ酸の分析には島津製作所の HPLC システムを用い,分析用カラムには ODS-HG-5(4.6×150mm, 野村化学)を用いた。標準品として使用したアミノ酸類は和光純薬より購入した。

III 実験結果

1 収集ポイントごとの茶葉カフェイン含有量の変異

茶葉中のカフェイン含有量(%)の収集ポイントごとの平均値,最大値,最小値および変動係数をまとめた結果を Table 1 に,収集ポイントごとにカフェイン含有量を5段階に分類した結果を Fig.4 に示した。ポイント1は平均値2.97%で最大値と最小値の値の差異も少なかった。ポイント2では平均値2.61%と収集ポイントの平均値の中で最も低く,2%以下の個体が26%認められた。ポイント3では平均値2.99%,最小値2.03%,最大値4.17%であった。ポイント4では平均値2.75%であったが,最小値1.33%,最大値4.57%,変動係数36.80と変異幅が最も大きかった。ポイント5は平均値3.73%であり,94%の個体が3%以上のカフェイン含有

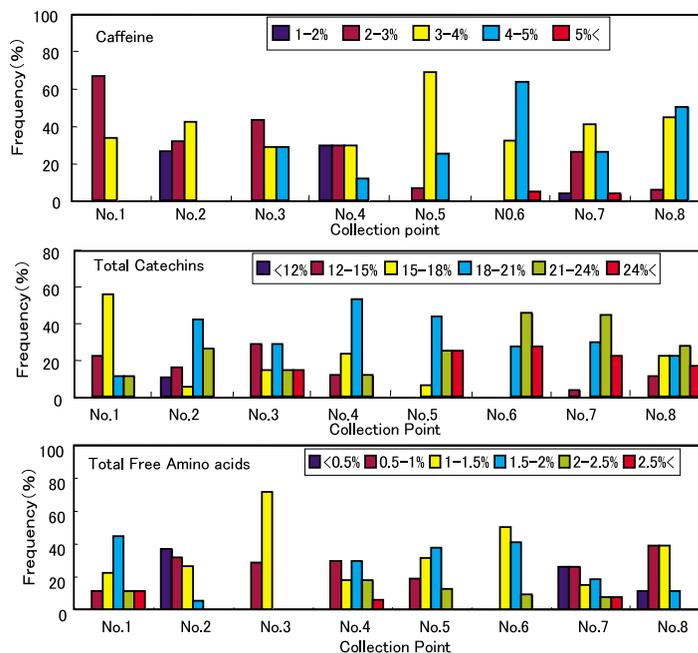


Fig.4 Classifications of caffeine, total catechins and free amino acids in dried tea shoot samples of each collection point in Vietnam.

The columns in each of the three sections of the figure indicate the frequencies of classified caffeine, total catechins and total free amino acids contents for each collection point. The numerical data in the rectangles in the three sections indicate the amount of each chemical component.

Table1. Percentages of caffeine in Vietnamese dried tea shoot samples

Collection point	Number of collected sample	Percentage of dried leaf sample (w/w)			CV
		Average	Maximum	Minimum	
1	9	2.97	3.33	2.60	8.28
2	19	2.61	3.73	1.15	30.51
3	7	2.99	4.17	2.03	28.90
4	17	2.75	4.57	1.33	36.80
5	16	3.73	4.39	2.17	13.98
6	22	4.19	5.28	3.80	8.46
7	27	3.54	5.10	1.39	24.49
8	18	3.98	4.94	2.78	14.21

CV : Coefficient of variation

量を示した。ポイント6では、5.28%と最もカフェイン含有量の高い個体が認められ、平均値も4.19%と全探索ポイントの中で最も高い数値を示し、変動係数も8.46と最も変異幅が少なかった。ポイント7は平均値3.54%、最小値1.39%、最大値5.10%を示した。ポイント8は平均値3.98%と高く、94%の個体が3%以上のカフェイン含有量を示し、変動係数は14.21であった。

2 収集ポイントごとの茶葉カテキン類含有量の変異

HPLC分析により、収集した茶葉中に含まれる(+)-カテキン(+C)、(-)エピカテキン(EC)、(-)エピガロカテキン(EGC)、(-)エピカテキンガレート(EGCG)、

Table2. Percentages of individual catechins in Vietnamese dried tea shoot samples

Point1	Percentage (w/w)*			CV	Point5	Percentage (w/w)			CV
	Average	Maximum	Minimum			Average	Maximum	Minimum	
+ C	0.29	0.66	0.00	87.05	+C	0.20	0.74	0.00	109.62
EC	1.87	3.20	0.90	43.16	EC	1.60	3.75	0.58	51.16
ECG	3.97	6.98	2.59	32.31	ECG	4.29	5.72	2.82	19.99
EGC	2.70	4.18	1.79	35.36	EGC	3.11	6.20	1.68	37.97
EGCG	8.00	11.35	3.65	32.90	EGCG	12.36	16.86	5.28	24.09
EGCG3"ME	0.77	1.49	0.40	43.90	EGCG3"ME	0.77	1.81	0.22	49.15
Total	17.58	22.73	13.82	14.68	Total	22.34	27.91	17.49	13.59
Point2	Percentage (w/w)			CV	Point6	Percentage (w/w)			CV
	Average	Maximum	Minimum			Average	Maximum	Minimum	
+ C	0.40	0.66	0.00	50.38	+C	0.17	0.85	0.00	131.99
EC	1.55	4.20	0.67	48.13	EC	1.34	2.39	0.66	35.62
ECG	2.95	5.37	1.62	29.34	ECG	4.58	6.78	2.80	23.71
EGC	3.68	6.37	0.52	37.50	EGC	2.90	4.95	1.46	35.33
EGCG	9.38	14.66	3.52	38.68	EGCG	13.16	16.08	9.80	13.99
EGCG3"ME	0.44	0.87	0.16	53.86	EGCG3"ME	0.64	1.20	0.20	45.95
Total	18.39	23.47	10.78	22.69	Total	22.78	28.53	18.28	10.22
Point3	Percentage (w/w)			CV	Point7	Percentage (w/w)			CV
	Average	Maximum	Minimum			Average	Maximum	Minimum	
+ C	0.39	0.74	0.06	67.91	+C	0.38	0.90	0.00	63.40
EC	2.31	3.59	1.30	39.02	EC	2.88	7.56	1.33	44.09
ECG	3.85	6.43	1.75	39.82	ECG	5.37	8.68	2.95	26.76
EGC	3.22	5.18	2.00	37.42	EGC	3.16	5.10	1.39	24.49
EGCG	7.77	13.96	5.31	39.86	EGCG	9.54	13.26	2.32	27.77
EGCG3"ME	0.47	1.14	0.18	78.09	EGCG3"ME"	0.59	1.99	0.17	60.95
Total	18.01	24.08	12.61	23.13	Total	21.91	25.87	13.15	12.19
Point4	Percentage (w/w)			CV	Point8	Percentage (w/w)			CV
	Average	Maximum	Minimum			Average	Maximum	Minimum	
+ C	0.31	0.84	0.00	80.73	+C	0.80	2.02	0.08	79.06
EC	1.82	3.23	0.47	33.56	EC	1.19	2.64	0.41	46.45
ECG	4.27	5.65	3.09	18.02	ECG	3.08	4.68	1.56	29.04
EGC	2.71	4.39	0.85	28.04	EGC	3.65	10.10	1.18	56.10
EGCG	8.83	11.11	3.48	25.50	EGCG	10.56	14.78	5.01	25.81
EGCG3"ME	0.36	0.96	0.16	64.28	EGCG3"ME	0.94	1.90	0.34	48.83
Total	18.30	21.58	13.20	13.08	Total	20.22	27.61	13.06	20.81

* Percentage (w/w) indicates the percentage of weight of individual catechins to the total weight of dried tea shoots.

"Abbreviations in this table are as follow: CV:Coefficient of variation, +C:(+)-catechin, EC:(-)-epicatechin, EGC(-)-epigallocatechin, ECG(-)-epicatechin gallate, EGCG(-)-epigallocatechin gallate, EGCG3"Me: epigallocatechin 3-O-(3-O-methyl) gallate, Total:Total contents of catechins.

(-)-エピガロカテキンガレート(EGCG)およびEGCG3”Meの個別含有量ならびにこれら6種のカテキン類の総和(以下,総カテキン含有量)の平均値,最大値,最小値および変動係数をTable2に示した.また,総カテキン含有量を収集ポイントごとに6段階に分類した結果をFig.4に,個別カテキン含有量を収集ポイントごとに5ないし6段階に分類した結果をFig.5に示した.

ポイント1では,総カテキン含有量の平均値は17.58%であり,78%の個体が総含有量18%未満であった(Table2).個別カテキン含有量では,+Cの変異幅が最も大きく,最小値0%,最大値0.66%であり,変動係数も87.05と非常に大きかった(Table2).また,EGCG含有量が12%以上の個体は認められなかった(Fig.5).EGCG3”Meの平均値は0.77%であり,最大値1.49%を示す個体が認められた(Table2).

ポイント2では,総カテキン含有量の平均値は18.39%であった(Table2).個別カテキンでは,+C0.4%以上の個体が58%認められた(Fig.5).また,EGC含有量の平均値は調査ポイントの中で最も高い3.68%を示し,EGC含有量が6.37%を示す個体が認め

られた(Table4).さらに,カフェイン含有量2%以下の個体は総カテキン含有量も少なかった(Table4).

ポイント3では,総カテキン含有量の平均値は18.01%であった(Table2).+Cは最小値0.06%,最大値0.74%と変異幅が大きかった.また,EGCG含有量が6%未満の個体が調査ポイントの中で最も多い42%認められた(Fig.5).特徴的なカテキン構成を示した個体として,EGC含有量(6.43%)がEGCG含有量(6.49%)と同等の濃度を示した個体が認められた(Table4).

ポイント4では総カテキン含有量の平均値は18.30%であった(Table2).個別カテキンでは+Cが最も変異幅が大きく,最小値0%,最大値0.84%であり,変動係数も80.73と非常に大きかった.EGCG含有量が12%を超える個体は認められず(Fig.5),EGCG3”Meの平均値は最も低い0.36%であった.

ポイント5では総カテキン含有量の平均値は22.34%であり,総カテキン含有量21%以上の個体が50%認められた(Fig.4).個別カテキンでは,(+)-カテキンの含有量は最小値0%,最大値0.74%であり,変動係数も109.62と非常に大きかったが,含有量0.2%以下の個

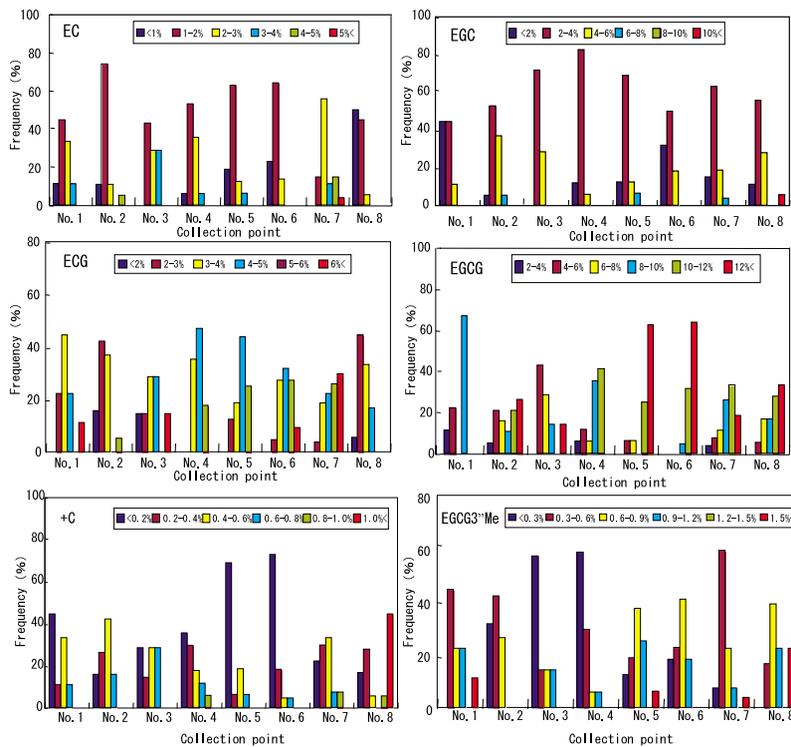


Fig.5 Classifications of contents of individual catechins in dried tea shoot samples of each collection point in Vietnam. Abbreviations in this figure are as follow, +C:(+)-catechin, EC:(-)-epicatechin, EGC:(-)-epigallocatechin, ECG:(-)-epicatechin gallate, EGCG:(-)-epigallocatechin gallate, EGCG3”Me: epigallocatechin 3-O-(3-O- methyl) gallate. The columns in each of the six sections of the figure indicate the frequencies of classified individual catechin contents for each collection point. The numerical data in the rectangles in the six sections indicate the amount of individual catechins.

体が60%と多かった。EGCG含有量12%以上の個体は63%と多く(Fig.5), 調査個体中で最も含有量の高い16.86%を示す個体が認められた(Table2)。またEGCG3⁺Me含有量の平均値は0.77%であり, 最大値1.81%を示す個体が認められた(Table2)。

ポイント6では, 総カテキン含有量の平均値は22.78%と最も大きく, 総カテキン含有量21%以上の個体が72%認められ, カテキン含有量の高い個体群であった(Table2, Fig.4)。個別カテキンでは, +C含有量が最小値0%, 最大値0.85%であり, 変動係数も131.99と調査個体群の中で最も大きい, +C含有量0.2%以下の個体が73%認められた(Table2, Fig.5)。EGCG含有量の平均値は調査ポイント中で最も高い13.16%を示し, 含有量12%を超える個体が64%, 最大値16.08%を示す個体が認められた(Table2, Fig.5)。また, ECG含有量5%以上の個体が調査ポイント中で2番目に高い36%を示した(Fig.5)。

ポイント7では, 総カテキン含有量の平均値は21.91%であり, 総カテキン含有量21%以上の個体が66%認められた(Table2, Fig.4)。個別カテキンでは, +C含有量の平均値は0.38%であったが, 含有量0.4%以上の個体が47%認められた(Table2, Fig.5)。EC含有量の平均値は調査ポイント中で最も高い2.88%であり, EC含有量2%以上の個体が85%以上を示し, 全調査個体中の最大値7.56%を示す個体が認められた(Table2, Fig.5)。このEC高含有個体のEGCG含有量は調査全個体中で最も低い2.32%であった(Table4)。また, ECG含有量の平均値は5.37%と調査ポイント中で最も高く, 5%以上の個体が調査ポイント中で最も多い56%を示し(Table2, Fig.5), 調査全個体中の最高値8.68%を示す個体が認められた(Table4)。EGCG含有量の平均値は9.54%であり(Table2), EGCGの総カテキン含有量に占める割合は44.3%と低かった。EGCG3⁺Me含有量の平均値は0.59%であったが, 調査全個体中で最大の1.99%を示す個体が認められた(Table2, Table4)。

ポイント8では, 総カテキン含有量の平均値は20.22%であったが 総カテキン含有量21%以上の個体が45%認められた(Table2, Fig.4)。個別カテキンでは, +C含有量の平均値は調査ポイント中で最も高い0.80%を示し, 含有量1%以上の個体は44%, 調査個体中の最大値である2.02%を示す個体が認められた(Table2, Fig.5)。また, EC含有量は, 調査ポイントの中で最も低い平均値1.19%, EC含有量1%以下の個

体が50%認められた(Table2, Fig.5)。EGC含有量の平均値は3.65%(Table2)であったが, EGC含有量10.10%を示す個体が認められ, この個体のEGCG含有量は10.75%, 総カテキン含有量は27.60%であった(Table4)。また, EGCG3⁺Me含有量の平均値は0.94%と調査ポイントの中で最も大きく(Table2), 1.5%以上の含有量を示す個体が22%認められた(Fig.5)。

3 収集ポイントごとの茶葉遊離アミノ酸含有量の変異

HPLC分析によりチャ主要遊離アミノ酸であるアラニン, アルギニン, アスパラギン, アスパラギン酸, グルタミン, グルタミン酸, セリンおよびテアニンの乾燥葉あたり含有量を計測した。乾燥葉におけるこれら8種類の遊離アミノ酸含有量の総和(以下, 総遊離アミノ酸含有量(%))を算出し, 収集ポイントごとに6段階に類別した結果をFig.4に示した。また, 乾燥葉あたりの総遊離アミノ酸含有量(%), 個別アミノ酸含有量(%)の平均値, 最大値, 最小値および変動係数についてTable3に, 含有量が高かった6種類の個別アミノ酸含有量を濃度別に5-6段階に類別した結果をFig.6に示した。

ポイント1では, 総遊離アミノ酸含有量の平均値は1.69%であった(Table3)。個別遊離アミノ酸では, グルタミン酸の平均値が調査ポイントの中で最も高い0.25%であった(Table3)。

ポイント2では総遊離アミノ酸含有量の平均値は0.77%と調査ポイントで最も低く, 含有量1%未満の個体が68.4%認められた(Table3, Fig.4)。総アミノ酸含有量0.20%の個体におけるテアニン含有量は0.03%と低く, カフェイン含有量は全調査個体の最小値1.15%を示した(Table3, Table4)。個別の遊離アミノ酸の平均値を見ると, 含有量の多い順からテアニン0.46%, グルタミン酸0.16%, アスパラギン酸0.07%であり, いずれも調査ポイントの中で最低値を示した(Table3)。

ポイント3では総遊離アミノ酸含有量の平均値1.07%, 最大値1.41%, 最小値0.60%であった(Table3)。

ポイント4では, 総遊離アミノ酸含有量は平均値1.50%, 最大値2.68%, 最小値0.54%であった(Table3)。個別アミノ酸の平均値を見ると, セリンとグルタミンの含有量の平均値が各調査ポイントの中で最も高かった(Table3)。

ポイント5では, 総遊離アミノ酸含有量の平均値は1.44%であった(Table3)。ここでは, アルギニン含有量

Table3. Percentages of individual free Amino acids in Vietnamese dried tea shoot samples

		Percentage of free amino acids in dry tea shoots (w/w)								
		Ala	Arg	Asn	Asp	Gln	Glu	Ser	Thea	Total
Point1	Average	0.02	0.05	0.01	0.10	0.07	0.25	0.04	1.15	1.69
	Maximum	0.02	0.12	0.01	0.15	0.11	0.35	0.06	2.47	3.12
	Minimam	0.01	0.02	0.00	0.06	0.03	0.14	0.02	0.36	0.63
	CV	26.80	63.10	47.40	29.60	38.00	21.50	26.50	50.00	40.27
Point2	Average	0.01	0.01	0.01	0.07	0.02	0.16	0.03	0.46	0.77
	Maximum	0.02	0.03	0.07	0.11	0.04	0.22	0.06	1.54	1.88
	Minimam	0.01	0.01	0.00	0.03	0.01	0.09	0.01	0.03	0.20
	CV	44.00	42.50	223.30	34.90	46.20	24.30	31.80	85.80	58.10
Point3	Average	0.01	0.02	0.01	0.11	0.04	0.16	0.04	0.66	1.07
	Maximum	0.02	0.03	0.02	0.16	0.06	0.19	0.06	1.00	1.41
	Minimam	0.01	0.01	0.00	0.07	0.03	0.12	0.03	0.30	0.60
	CV	17.60	27.10	61.70	28.35	25.90	15.11	25.20	41.20	27.40
Point4	Average	0.01	0.04	0.02	0.09	0.07	0.17	0.05	1.03	1.50
	Maximum	0.03	0.13	0.05	0.14	0.15	0.24	0.08	1.92	2.68
	Minimam	0.01	0.01	0.00	0.03	0.02	0.12	0.02	0.31	0.54
	CV	43.40	74.40	69.60	33.80	47.30	20.60	37.30	45.70	40.10
Point5	Average	0.01	0.11	0.04	0.11	0.05	0.19	0.04	0.87	1.44
	Maximum	0.03	0.27	0.08	0.18	0.08	0.27	0.07	1.58	2.26
	Minimam	0.00	0.01	0.01	0.06	0.02	0.10	0.02	0.26	0.51
	CV	55.30	80.00	38.50	32.30	38.60	24.70	32.10	42.80	36.20
Point6	Average	0.02	0.08	0.06	0.17	0.05	0.21	0.04	0.89	1.53
	Maximum	0.03	0.17	0.11	0.25	0.17	0.28	0.08	1.38	2.13
	Minimam	0.01	0.02	0.02	0.11	0.02	0.14	0.03	0.52	1.04
	CV	30.90	53.10	45.20	23.50	53.50	16.30	21.60	30.00	21.40
Point7	Average	0.01	0.03	0.01	0.07	0.03	0.17	0.04	0.78	1.16
	Maximum	0.03	0.13	0.05	0.14	0.09	0.30	0.09	2.43	3.23
	Minimam	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.04	0.01	0.02	0.17
	CV	59.40	125.10	111.50	49.70	55.40	43.10	54.80	82.20	71.10
Point8	Average	0.02	0.05	0.03	0.12	0.02	0.18	0.04	0.56	1.04
	Maximum	0.02	0.20	0.06	0.17	0.05	0.23	0.05	1.12	1.71
	Minimam	0.01	0.01	0.00	0.05	0.01	0.11	0.02	0.13	0.39
	CV	30.80	101.10	50.70	28.70	41.30	17.30	23.30	49.30	36.50

Abbreviations in this table are as follows: CV:Coefficient of variation, Ala:Alanine, Arg:Arginine, Asn:Asparagine, Asp:Asparatic acid, Gln:Glutamine, Glu:Glutamic acid, Ser:Serine, Thea: Theanine, Total: Total free amino acid contents.

Table4. A typical ratio of components of caffeine, catechins and free amino acids for individual Vietnamese tea shoot samples

Point-No.	Percentages of contents of caffeine and catechins in dry tea shoots(w/w)								Percentages of contents of free amino acids in dry tea shoots(w/w)								
	Caffeine	+C	EC	ECG	EGC	EGCG	EGCG3*Me	TotalC	Ala	Arg	Asn	Asp	Gln	Glu	Ser	Thea	TotalA
2-2	1.15	0.64	1.31	1.87	2.69	5.22	0.57	12.30	0.01	0.01	0.00	0.04	0.01	0.09	0.01	0.03	0.20
2-4	1.55	0.56	1.37	1.62	0.52	6.41	0.30	10.78	0.01	0.01	0.00	0.07	0.01	0.15	0.02	0.26	0.54
2-9	1.75	0.15	2.09	2.44	6.37	6.89	0.62	18.56	0.01	0.01	0.00	0.03	0.01	0.13	0.03	0.14	0.37
3-6	2.22	0.62	3.36	6.43	2.18	6.49	0.70	19.78	0.01	0.02	0.00	0.07	0.03	0.14	0.03	0.30	0.59
6-18	5.28	0.28	2.00	6.34	4.15	15.07	0.69	28.53	0.02	0.05	0.10	0.20	0.04	0.22	0.05	0.52	1.20
7-2	2.99	0.48	2.17	3.44	1.38	5.46	0.22	13.15	0.00	0.00	0.00	0.02	0.01	0.05	0.01	0.07	0.17
7-6	3.14	0.42	4.13	8.68	2.35	8.36	0.30	24.24	0.01	0.01	0.01	0.06	0.04	0.14	0.03	0.48	0.79
7-7	3.46	0.53	2.34	8.12	1.45	10.00	0.75	23.19	0.02	0.01	0.01	0.08	0.03	0.19	0.04	0.72	1.11
7-16	4.79	0.10	1.33	4.85	2.37	13.26	1.99	23.90	0.02	0.02	0.01	0.09	0.04	0.26	0.05	1.74	2.29
7-17	1.39	0.87	7.53	5.50	1.44	2.32	0.35	18.01	0.01	0.02	0.00	0.05	0.02	0.13	0.03	0.02	0.28
7-20	4.89	0.07	2.31	4.44	2.99	10.04	0.52	20.37	0.02	0.13	0.05	0.14	0.09	0.28	0.07	2.43	3.23
8-5	3.71	0.32	2.64	3.45	10.10	10.75	0.34	27.60	0.01	0.04	0.03	0.11	0.02	0.20	0.04	0.75	1.22
8-9	4.28	2.02	0.52	2.01	3.93	9.02	0.80	18.30	0.02	0.03	0.02	0.10	0.02	0.17	0.05	0.27	0.70

Total C: Total contents of catechins, Total A: Total contents of free amino acids, Yellow highlights indicate characteristic chemical constructions.

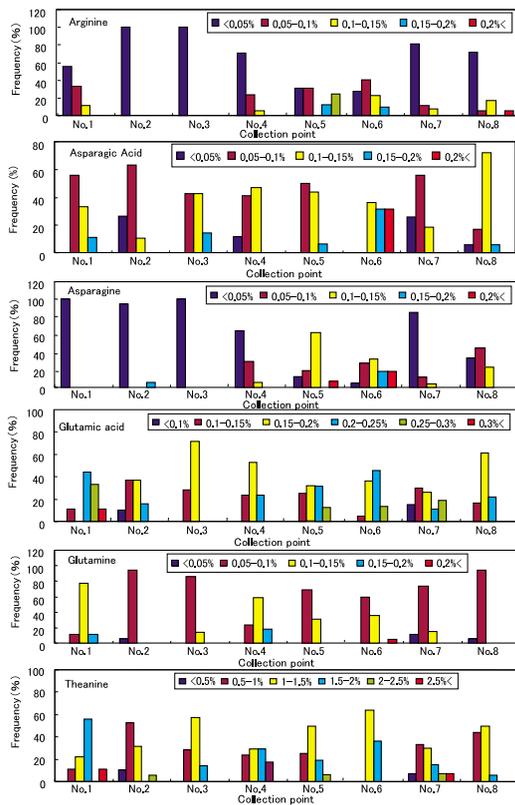


Fig.6 Classifications of contents of major free amino acids in dried tea shoot samples of each collection point in Vietnam.

The columns in each of the six sections of the figure indicate the frequencies of classified individual free amino acid contents for each collection point. The numerical data in the rectangles in the six sections indicate the concentration of the amount of individual free amino acid.

の平均値が各調査ポイントの中で最も高い0.11%を示し (Table3), 0.2%以上の個体が25%認められ (Fig.6), 最大値0.27%であったが, 変動係数も80.0と大きく, 個体差が大きかった。

ポイント6では, 総遊離アミノ酸含有量の平均値は1.53%, であった (Table3). このポイント6では, アスパラギン酸とアスパラギンの平均値が各調査ポイントの中で最も高く, アスパラギン含有量が0.1%以上を示す個体が68.2%含まれていた (Fig.6).

ポイント7では, 総遊離アミノ酸含有量は平均値1.16%, 最大値3.22%, 最小値0.17%であり, 調査ポイントの中で最も変異幅が大きかった (Table3, Fig.4). また, 全アミノ酸量が0.5%以下の個体が25.9%認められた (Fig.4). この中で, テアニン含有量が調査個体の中で最も低い0.02%を示した個体はEGCG含有量2.32%, カフェイン含有量1.39%と低い数値を示す一方, EC含有量7.53%と調査個体の中で最も高い数値を示し

Table5. Percentages of caffeine and individual catechins in dried samples of 'Yabukita' and 'Benifuuki' autumn shoots

	Caffeine	+C	EC	ECG	EGC	EGCG	EGCG3"Me	Total Catechin
Yabukita	2.68	0.00	0.41	2.16	1.40	7.69	trace	11.66
Benifuki	2.74	0.01	0.93	3.27	3.25	11.09	1.63	20.18

Abbreviations in this table are as follow: +C: (+)-catechin, EC: (-)-epicatechin, EGC:(-)-epigallocatechin, ECG:(-)-epicatechin gallate, EGCG3"Me: epigallocatechin 3-O-(3-O-methyl) gallate.

た極めて特徴的な個体であった (Table4).

ポイント8では, 計測した遊離アミノ酸の平均値は1.04%であり, テアニン含有量の平均値が収集ポイントの中で2番目に低かった (Table3). 個別遊離アミノ酸では, アスパラギン酸含有量が0.1%以上を示す個体が77.8%認められた (Fig.6).

4 'やぶきた' および 'べにふうき' 秋芽におけるカフェインおよびカテキン含有量

カフェイン含有量は 'やぶきた' と 'べにふうき' に大きな差異は認められなかったが, カテキン含有量は全ての成分で 'べにふうき' のほうが多く含まれており, EGCG3"Me 含有量は1.63%であった (Table5).

IV 考 察

2003年に実施したベトナム北部山岳地域におけるチャ遺伝資源の共同探索収集では, ベトナム茶業研究所の協力により Shan tea の実生茶園を中心に, Trungdu tea の実生茶園から実生と茶葉の採集を行った. 本研究では採取した茶葉乾燥試料のHPLC分析を行い, カフェイン, カテキン類およびアミノ酸類の含有量および構成比率について調査した. HPLC分析の結果, 採集ポイントごとおよび茶樹ごとにカフェイン, カテキン類およびアミノ酸含有量に差異が認められ (Table1, Table2, Table3), ベトナム実生茶園の遺伝的多様性が認められた.

カフェイン含有量と総カテキン含有量について見ると, 茶葉を採集した個体が *C.sinensis* var. *assamica* に分類されることもあり, *C.sinensis* var. *sinensis* に分類される 'やぶきた' より, カフェインおよびカテキン類含有量が高い個体がほとんどであり, 中国変種とアッサム変種の交雑品種である半発酵茶・紅茶用品種の 'べにふうき' と同等かそれ以上であった (Table1, Table2, Table5). 高カテキン茶は渋味が強く, 煎茶に適さないことが多いが, 近年, 高カテキン茶の長期の摂取に体脂肪低減の効果があることが報告され (土田2002), 厚生

労働省認可の特定保険食品として市販されている(長谷ら, 2005). したがって, ベトナム産の高カテキン含有茶も体脂肪低減効果を目指した機能性食品, カテキン・カフェイン抽出用の工業原料もしくは高カテキン茶育種素材として利用可能であると考えられる.

根角らは野菜・茶業試験場枕崎支場(当時)で保存されていたアッサム変種の遺伝資源を利用して, 高カテキン・高カフェイン含有チャ品種育成用の茶中間母本農3号を育成しているが(根角ら, 1998), 今回の調査で見出されたベトナムの高カテキン Shan tea の中には, カテキン組成が茶中間母本農3号と明らかに異なる個体も確認され, 遺伝資源としての重要性と育種素材としての可能性が示された.

一方, ベトナム政府は緑茶の栽培と輸出に力をいれているが, 高カテキン含有であることや製茶技術の未熟さから, 生産される緑茶品質が低く, 低価格で取引されている(根角ら, 2003; 根角ら, 2004). そのため, 海外でも受け入れられる良質な緑茶生産が求められ, 日本の緑茶品種も導入されたが, 土壌条件の違いや病害虫の多発により良質な緑茶生産は困難であった(根角ら, 2003; 根角ら, 2004). このことから, ベトナムの遺伝資源を利用した, 良質かつベトナム国内で栽培可能な緑茶品種の育成が必要とされている. 山口(2001)はベトナム産の荒茶の化学成分について近赤外分析を行い, カフェイン含有量は3.8~5.4%, タンニン類は14.0~25%であることを示したが, その中で Ha Giang 省の Shan tea がタンニン含量14~18%であり, 渋味が少なく, 緑茶としての品質が高く評価されていることを報告している. 今回の分析では, 山口の報告よりもカフェインやカテキン含有量が少ない個体が見出されており(Table4), またアミノ酸含有量が高い個体も認められたことから(Table4), この様な個体を選抜して交雑を行うことにより, 製茶品質に優れた緑茶品種の開発が可能になると考えられる.

個別カテキンについて見ると, 'やぶきた' や 'べにふうき' のカテキン構成とは特徴を異にする個体が認められた(Table4, Table5). 日本の緑茶品種ではほとんど検出されない+Cの含有量は個体変異が大きく, Trungdu tea の茶園であるポイント8で含有量の高い個体が多く認められた. さらに, 特定のカテキンの含有量が平均値より著しく高い特徴的な個体が多く観察され, 遺伝的な多様性が認められた(Table4). 機能性を持つカテキン類として, EGCG はがん転移抑制効果や抗アレルギー性が認められている(山本ら, 2003). さらに, EGCG³Me は EGCG よりさらに強い抗アレルギー成分

が認められ, 本成分の含有量の高い 'べにふうき' が抗アレルギー緑茶飲料として注目を集めている(山本ら, 2003). 今回の調査したベトナム茶葉中にも EGCG 含有量の多い個体および 'べにふうき' と同等の EGCG³Me を含む個体が見出された. 特に, Shan tea に比較して品質・収量が劣る Trungdu tea においても EGCG³Me 高含有個体が見出されており, 成分育種の観点から, Shan tea 以外にも Trungdu tea の保存や育種素材化が重要であることが示された. 形態的に見ても, Shan tea は純粋なアッサム変種と考えられるが, Trungdu は純粋なアッサム変種ではなく, 中国変種等との交雑種やアッサム変種と中国変種の間の変種である可能性が考えられ, 興味深い研究対象であるといえる(根角ら, 2004).

今回の探索は11月から12月にかけて実施したが, ベトナムではこの時期でも新芽の収穫および緑茶製造が行われており, 日本における秋芽生育時期に相当すると考えられる. 池田ら(1993a)は, 施肥管理を均一に行った茶園で一番茶新芽と秋芽の化学成分の比較を行ったが, 秋芽では遊離アミノ酸量が一番茶に比較すると劣ることを報告している. さらに池田ら(1993b)は一番茶新芽と秋芽の個別遊離アミノ酸含有量を HPLC で分析し, 緑茶用品種がアッサム変種から育成された紅茶用品種よりアミノ酸含有量が多いことを明らかにした. 今回の HPLC 分析の結果, 遊離アミノ酸総量は池田ら(1993a; 1993b)の煎茶品種の秋芽と同等の1.5%前後の数値を示したポイントも認められたが, ポイント2やポイント3のようにアミノ酸含有量が日本品種よりも著しく劣る収集ポイントが認められた(Table3). 茶葉成分は施肥や茶期により変動があることが知られている(石垣1978). 今回の収集地点の中で, ポイント1, 4, 5, 6 および8は茶園として整備され, 人力で鎌や鉈などを用いて樹形が均一に刈りそろえられており, 茶園として管理されている. これに対し, ポイント2は自家用製茶に使われる茶樹であり, ポイント3は樹形の整形などの細かい栽培管理は行われておらず, 新芽の収穫は樹上によって行われていた. また, ポイント7は台切りが行われている茶樹が認められるものの, 積極的な栽培管理は行われていない. これらの栽培管理の違いがアミノ酸含有量に影響を与えている可能性が高いことから, 今回のアミノ酸分析で得られた総遊離アミノ酸含有量の収集ポイント間の差異は, 遺伝的な背景よりも茶園栽培管理の差異が大きな影響を与えた可能性が高いと考えられる.

一方, 収集ポイントごとの個別アミノ酸の構成比を見

ると、収集ポイントごとで特徴が認められ、遺伝的な多様性が示された (Table3, Fig.4). 個別アミノ酸についてみると、ほとんどの個体が遊離アミノ酸の中でテアニンの含有量が最も高いが、テアニン含有量が著しく少ない特徴的な個体が認められた (Table4). これらの個体はカフェイン含有量やカテキン含有量も少なく、カテキン類の組成に特徴が認められた。ベトナムには茶の近縁種の存在も確認されており (山口, 2001), これらの個体が近縁種との種間交雑である可能性も考えられた。また、池田ら (1993b) や中川 (1970) はアッサム変種より育成された紅茶品種やアッサム変種ではアルギニン含有量が日本の煎茶品種に比較して著しく低いことを報告し、向井ら (1992) は煎茶の遊離アミノ酸量および全窒素量と価格の関係を調査し、テアニンやアルギニン等の特定のアミノ酸含有量と茶の取引価格に高い相関があることを報告している。今回のベトナムのサンプルではアルギニン含有量が少ない個体が多く、アッサム変種の特徴を示しているが、このアルギニン含有量の少なさが緑茶品質に影響を与えている可能性がある。一方、今回の分析ではテアニン含有量やアルギニン含有量が比較的多い個体も見出されており、このような個体を選抜することにより製茶品質の優れた緑茶品種の開発も可能と考えられる。

本研究は、ベトナムのチャ遺伝資源の詳細な化学分析の初の報告であり、化学成分から見たチャ遺伝資源の多様性と重要性が確認された。さらに、ベトナム国内の緑茶栽培で重要視されている Shan tea のみならず、抜根・改植が進んでいる Trungdu tea も成分育種素材として重要であることが明らかになった。現在、ベトナムではベトナム茶業研究所を中心として、緑茶用の新品種を開発を行っているが、チャ化学成分の分析機器は十分であるといえず、チャ遺伝資源を利用した成分育種は発展途上にある。今後、日本とベトナムの共同でベトナムのチャ遺伝資源の成分育種に関する研究を進めることにより、ベトナムで栽培可能な良質の緑茶品種の開発や、生理機能性を持つ付加価値の高い新品種が開発が可能であることが示唆された。

V 摘 要

2003年に実施したベトナム北部山岳地域のチャ遺伝資源探索時に採集した135個体の茶葉中のカフェイン、カテキン類および遊離アミノ酸含有量について高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で分析した。採集した個体

は全て *C. sinensis* var. *assamica* に分類されたが、ベトナムでは、喬木・大葉の Shan tea と灌木・小葉の Trungdu tea と二種類に大別されていた。HPLC分析により、収集個体の多くが‘やぶきた’に比較してカフェインおよびカテキン含有量が高いことが確認され、アッサム変種の特徴を示した。また、遊離アミノ酸含有量では採集ポイントによっては、日本の緑茶品種のアミノ酸含有量より低いポイントも認められたが、これには施肥量の少なさが影響していると考えられた。カフェイン、カテキン類および遊離アミノ酸の成分構成比には採集ポイント間に、多様性が認められた。また、抗アレルギー活性を有する EGCG3"Me の含有量が1.5%以上を示す個体が Shan tea のみならず、Trungdu tea の中にも複数認められた。以上の結果から、ベトナムのチャ遺伝資源は非常に多様に富んでおり、成分育種の観点から見ると、ベトナムで重要視されている Shan tea 以外に Trungdu tea も育種素材として貴重であり、これら遺伝資源の収集・保存ならびに有用成分分析に着目した育種素材化とこれらを利用した品種育成が重要であることが示唆された。

引用文献

- 1) 後藤哲久・堀江秀樹・向井俊博 (1993) : 緑茶中の主要アミノ酸のOPAによるプレカラム誘導体化高速液体クロマトグラフィーによる分析。茶研報, 77, 29-33.
- 2) 長谷正・時光一郎 (2005) : ヘルシア緑茶。化学と生物, 43, 67-69.
- 3) HASHIMOTO M. (1985) : The Origin of the Tea Plants. JARQ, 19, 40-43.
- 4) 堀江秀樹・山本 (前田) 万里・氏原ともみ (2002) : 茶葉中カテキン類分析のための抽出方法の検討。茶研報, 94, 60-64.
- 5) 池田奈実子・向井俊博・堀江秀樹・後藤哲久 (1993a) : 一番茶芽及び秋芽の化学成分含有量の品種間差異。茶研報, 77, 13-21.
- 6) 池田奈実子・堀江秀樹・向井俊博・後藤哲久 (1993b) : 各茶種用チャ品種の一番茶芽及び秋芽の個別アミノ酸含有量の特徴。茶研報, 78, 67-75.
- 7) 石垣幸三 (1978) : 茶樹の栄養特性に関する研究。茶試研報, 14, 1-152.
- 8) 向井俊博・堀江秀樹・後藤哲久 (1992) : 煎茶の遊離アミノ酸と全窒素の含有量と価格との関係について。茶研報, 76, 45-50.
- 9) 村松敬一郎・小國伊太郎・伊勢村護・杉山公男・山本 (前田) 万里 編著 (2002) : 茶の機能—生体機能の新たな可能性。pp1-426. 学会出版センター, 東京.
- 10) 中川致之 (1970) : 緑茶の味と成分との関係。日食工誌, 17, 154-163.

- 11) 中川致之・古谷弘三(1975):茶葉中のアミノ酸,タンニン,全窒素含量の品種間差異.茶技研,48,84-95.
- 12) 根角厚司・武田善行(1998):機能性成分高含有の茶中間母本候補「MAKURA 1号」の育成.平成9年度 野菜・茶業研究成果情報,59-60.
- 13) 根角厚司・大前英・Nguyen Van THUP・Dinh The VU(2003):ベトナム北部におけるチャ遺伝資源の共同探索収集.植探報,19,93-109.
- 14) 根角厚司・吉田克志・Le Van DUC・Nguyen Le THANG(2004):ベトナム北部山岳地域におけるチャ遺伝資源の共同探索収集.植探報,20,145-161.
- 15) 高柳博次・阿南豊正・池ヶ谷賢次郎(1989):高速液体クロマトグラフィーによる茶のアミノ酸類の定量.茶研報,69,29-34.
- 16) 武田善行・梁月栄(2002):茶遺伝資源のカテキン組成について(1)エピガロカテキン3-O-(3-O-メチル)ガレート高含有系統の検索.茶研報,94(別),154-155.
- 17) 土田隆(2002):カテキン類の長期摂取によるヒトの体脂肪低減作用. *Progress in Medicine*, 22, 2189-2203.
- 18) 山口聡(2001):ベトナムの茶について.茶の起源研究6, pp10-18, 社団法人豊茗会,名古屋.
- 19) 山本(前田)万里・佐野満昭・立花宏文(2003):緑茶の抗アレルギー・がん転移抑制作用.化学と生物,41,442-447.

Genetic Diversity of the Contents of Caffeine, Catechins, and Free Amino acids in Tea Leaves Collected from Northern Mountain Areas of Vietnam

Katsuyuki YOSHIDA, Akiko OGINO, Akiko MATSUNAGA, Le Van DUC,
Nguyen Le THAN and Atsushi NESUMI

Summary

It is believed that the location of the origin of tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) is the border area of Vietnam, Laos, Thailand, Myanmar, and China. Therefore, research of the diversity of tea genetic resources in Vietnam is important for tea science. A collaborated mission to explore and collect tea genetic resources in Vietnam was conducted from 23 November to 14 December 2003. During this mission, we collected 135 tea shoot samples from the northern mountain areas of Vietnam. All of the collected tea plants were classified into *Camellia sinensis* var. *assamica*. Based on the differences of leaf morphology and quality of green tea, Vietnamese green tea plants are classified into two groups, Shan tea (large leaf and high quality) and Trungdu tea (small leaf and low quality). The green tea quality of Shan tea is superior to Trungdu tea, so, Vietnamese tea scientists are very interested in Shan tea. In the present study, the contents of caffeine, individual catechins, and free amino acids in collected Vietnamese tea shoot samples were analyzed by high-performance liquid chromatogram (HPLC). Most Shan tea and Trungdu tea have high amounts of caffeine and catechins. However, some plants contained low amounts, such as green tea cultivars 'Yabukita' bred from *C. sinensis* var. *sinensis*. A few plants of Shan tea and Trungdu tea contained a high concentration (above 1.5% of dry leaf weight) of epigallocatechin 3-*O*-(3-*O*-methyl) gallate, which has an anti-allergic function. The composition ratio of catechins of Vietnamese tea shoot differed according to the point where it was collected. HPLC analysis results also suggested that Vietnamese tea has low contents of free amino acids and the composition ratio of free amino acids differed according to the point where it was collected. These results suggested Vietnamese tea genetic resources have high variations for the composition ratio of these three chemical components. Our results also suggested that the genetic resources of Trungdu tea are equal to Shan tea as important breeding materials of the functional tea components for human health benefit.

Received: December 5, 2005

Department of Tea

87 Seto, Makurazaki, Kagoshima, 898-0087 Japan