Summary

If the qualities of tea made by a miniature process could be estimated as equally as ordinary product, this method would be very useful for tea breeding and manufacturing experiments.

Miniature process machines were designed, matched 200~300 g. of tea leaves for Sencha

and Guri tea, which consisted of a steamer, primary roller, and final roller. The operation of these machines was very easy and the process was time-saving.

The tea produced by this method had the qualities as nearly same as the ordinary products and very small variance within the qualities.

(July 28, 1955)

茶 の 遊 離 オ リ ゴ 糖 *

農林省東海近畿農業試験場茶業部

鳥 井 秀 一 ・ 金 沢 純 **

Free Oligosaccharides in the Tea Plant

By Hideichi TORII and Jun KANAZAWA

1. ま え が き

さきにペーパークロマトグラフによつて茶葉糖類の検索を試み、その遊離糖としてシュクロース、グルコース、フラクトースの他にブタノール系溶剤で展開すると、シュクロースより R_f 値の低い、オルシン反応陽性のケトースを含むオリゴ糖と考えられる二つのスポットを検出した。

その後、これらの糖を加水分解してその構成糖を調べた結果、従来植物界に見出されているラフィノース、スタキオースのいずれにも一致しない新しいオリゴ糖であることを知つた。

なお、最近 CARTWRIGHT 及び ROBERTS²⁾ は製茶の熱水浸出液より、フェノール・酢酸・水 (80:2:18) とブタノール・酢酸・水 (4:1:2.2) の二次元クロマトグラムによつて、グルコース、フラクトース、シュクロースの他にアラビノース、リボース、ラムノース、ラフィノース、マルトースを検出したと報じているが、この試料はおそらく紅茶と思われるので、製造工程中殊に醗酵操作などでアラビノース、リボース、ラムノースなどが遊離となる可能性も考えられる。またラフィノース、マルトースについては、彼等の使用した展開剤では他の二糖類、三糖類が、ラフィノース、マルトースとして同じ位置を占める懸念も多いと述べている。

2. 実 験

1. 試料抽出液の調製

これらのオリゴ糖は、茶葉だけでなく茶種子中にも同様に存在している¹⁾ので、この実験では茶種子 100 g を用い、あらかじめエーテルで十分脱脂した後、既報と同様の調製方法で遊離糖フラクションのシラップ 10 cc を得た。

2. クロマトグラフ

東洋濾紙 No. 52 を用い、展開は n -ブタノール・酢酸・水 (4:1:1) の場合は 4 反覆、 n -ブタノール・ピリジン・水 (3:2:1.5) の場合は 3 反覆した。1 回の展開距離は 17~20 cm、室温 (10~15°C) で上昇法によつた。

ペーパークロマトグラム上のスポットの呈色は、ケトースにはオルシン試薬を、アルドースにはアニリン試薬を使用した。検出せられた各スポットの R_f 値を純糖のそれと並べて第 1 表に示す。

スポット a 及び b の糖は、いずれもオルシン試薬を噴霧して 95~100°C に 10 分間加熱すると黄緑色に呈色する。c, d, e はそれぞれシュクロース、グルコース、フラクトースに相当する。

3. スポット b の糖

この糖は n -ブタノール・酢酸・水 (4:1:1) の展開では、純糖 (ラフィノース) を添加しても、4 回反覆展

* 茶業技術研究 No.13 38~40 (1955) より転載

** 現在農林省農薬検査所勤務

第1表 茶種子中の遊離糖の R_f 値

ブタノール・酢酸・水 (4:1:1) 4 回 反 覆 展 開				ブタノール・ピリジン・水 (3:2:1.5) 3 回 反 覆 展 開			
スポット	R_f	純 糖	R_f	スポット	R_f	純 糖	R_f
a	0.06	スタキオース	0.10	a	0.16	スタキオース	0.17
b	0.20	ラフィノース	0.24	b	0.27	ラフィノース	0.40
c	0.52	シュクロース	0.52	c	0.61	シュクロース	0.62
d	0.65	グルコース	0.64	d	0.67	グルコース	0.67
e	0.72	フラクトース	0.70	e	0.76	フラクトース	0.75

開しても、ラフィノースと R_f 値がほとんど一致するが、 n -ブタノール・ピリジン・水 (3:2:1.5) で3回反覆展開すると、第1表のように明らかにラフィノースとは異なる糖である。

そこで構成糖を検討するために、東洋濾紙 No. 52 (20×20 cm) の一辺から2 cm の距離に、遊離糖フラクションのシラップを帯状に付けたもの10枚を、 n -ブタノール・酢酸・水 (4:1:1) で4回反覆展開し、各濾紙の両端から2 cm と中央部を巾1 cm 切り取つてオルシン試薬で呈色させ、これを対照として残りの濾紙のスポット b

に相当する部分を切り取り、細かくきざんで50%含水メタノールで室温抽出を行つた。これよりメタノールを溜去後5%硫酸で30分間沸騰水浴上で加水分解し、バリタで中和して濃縮した。これを n -ブタノール・ピリジン・水 (3:2:1.5) で2回反覆展開し、アニリン試薬で呈色せしめると三つのスポットを得た。

この加水分解によつて得られた糖の R_f 値と呈色強度を、別にラフィノースを加水分解したもの、及びフラクトース、グルコース、ガラクトースを等分子混合したものと比較すると第2表の通りである。

第2表 b 糖構成成分の R_f 値と呈色度

b 糖 水 解 物			ラフィノース水解物		純 糖 混 合 物		
スポット	R_f	呈 色 度	R_f	呈 色 度	純 糖	R_f	呈 色 度
1	0.53	+++	0.54	++	ガラクトース	0.53	++
2	0.59	++	0.59	++	グルコース	0.59	++
3	0.64	+	0.64	+	フラクトース	0.64	+

すなわち、b 糖構成成分のスポット1, 2, 3はそれぞれガラクトース、グルコース、フラクトースに相当するが、ラフィノースの加水分解物のクロマトグラムに比して、ガラクトースの呈色が強いことは第1報にも述べた通りである。したがって、このオリゴ糖はグルコース、フラクトース各1分子に対して、少くともガラクトース2分子以上存在するものと思われるが、スタキオース (グルコース1分子、フラクトース1分子、ガラクトース2分子よりなる) と異なることは第1表に示す R_f 値より明らかである。

4. スポット a の糖

スポット a の糖は、ブタノール系溶剤で3~4回反覆展開したクロマトグラム上の R_f 値が、スタキオースのそれにほとんど一致するが、純糖 (スタキオース) の添加試験によつても R_f 値が小さくて、それだけでは同定しがたいので、構成糖の検索を行つた。しかし、この糖はb糖よりも更に微量であるので、まず遊離糖フラクションをクロマトパイルにかけた。

すなわち、東洋濾紙 No. 2 (径7 cm) を800枚重ね、

上部から41~50枚目の濾紙10枚に試料を浸み込ませ、 n -ブタノール・酢酸・水 (4:1:2) の展開剤1 Lを用いて、下降法によつて展開を行つた。展開終了後溶剤を室温で揮散し、上部より50枚ずつ分けて、50%含水メタノールで室温抽出し、メタノールを溜去後濃縮してクロマトグラフで検したところ、この糖が150~200枚目の濾紙に存在することが判つた。これを5%硫酸で30分間沸騰水浴上で加水分解し、バリタで中和後濃縮し、 n -ブタノール・ピリジン・水 (3:2:1.5) で2回反覆展開を行つて4個のスポットを認めた。得られたクロマトグラムの

第3表 a 糖構成成分の R_f 値

a 糖水解脱物		純 糖 混 合 物	
スポット	R_f	純 糖	R_f
1'	0.48	ガラクトース	0.50
2'	0.55	グルコース	0.56
3'	0.60	フラクトース	0.61
4'	0.66	キシロース	0.68

糖類の R_f 値と、同時に行つた純糖のそれを第3表に示す。

すなわち、a糖構成成分のスポット1', 2', 3', 4' はそれぞれガラクトース、グルコース、フラクトース、キシロースに相当すると認められるが、このように異なる4種の単糖類からなるオリゴ糖はまだ知られていない。

3. 要 約

1. 茶葉並びに茶種子中に含まれる遊離糖のうち、さきに未詳のものとして報告した2種のオリゴ糖について、その構成糖を調べた。

2. その一(スポットb糖)はオルシン反応陽性で、 n -ブタノール・酢酸・水(4:1:1)の展開ではラフィノースとほぼ似た R_f を示すが、 n -ブタノール・ピリジン・水(3:2:1.5)の展開では明らかに R_f 値は低い。構成糖はラフィノースと同様にガラクトース、グルコース、フラクトースの3種であるが、ラフィノースよりもガラクトースの含有比が大きい。

3. いま一つの糖(スポットa糖)もオルシン反応陽性で、上記両種の展開剤によつていずれもスタキオースに近い R_f 値を与えるが、構成糖はスタキオースの3種に対し、ガラクトース、グルコース、フラクトース、キシロースの4種から成り立っている。

4. したがつて、これら両種の糖は明らかにラフィノース、スタキオースとは異なつた新しいオリゴ糖と考えられる。

この実験に用いたスタキオースは、東京大学応用微生物研究所、丸尾文治助教授より恵与せられたもので厚く謝意を表する。なお、この報文の概要は昭和29年10月、日本茶業技術協会研究発表会において講演し、また日本農芸化学会誌 29, 620-2 (1955) に掲載された。

4. 参 考 文 献

- 1) 鳥井秀一、金沢純：農化，28, 34~38 (1954)；茶技研，No. 10, 44~48 (1954)。
- 2) CARTWRIGHT, R. A. and E. A. H. ROBERTS：
J. Sci. Food Agric., 5, 600~601 (1954)。

Summary

The two oligosaccharides previously reported as unknown in the free-sugar fraction of tea leaf and seed were investigated.

One (b-sugar) was orcin reaction positive, and gave similar R_f value to that of raffinose when developed with n -butanol-acetic acid-water (4:1:1), but with n -butanol-pyridine-water (3:2:1.5), the R_f value was definitely smaller. Its hydrolysate developed three spots of galactose, glucose and fructose on the chromatogram, but galactose content was larger than raffinose.

The other sugar (a-sugar) was also orcin reaction positive, and gave similar R_f value to that of stachyose with both developing solvents but its hydrolysate showed four spots of galactose, glucose, fructose and xylose unlike stachyose.

So, above-mentioned fact showed that these two oligosaccharides might be new tetrasaccharides.

(July 29, 1955)