茶葉水溶性窒素化合物に関する研究

水浸液中の塩基性物質について

京都府茶業研究所 酒戸彌二郎・伊賀 隆

Studies on the Water-soluble Nitrogen Compounds of Tea Leaves

Basic Constituents of Water Extracts of Dried Tea Leaves

By Yajiro SAKATO and Takashi IGA

1. 結 言

茶は多量に窒素肥料を施し、これによつて生じた窒素化合物は、茶の品質および茶樹の生理に密接な関係があると考えられる。

著者らはこれら水溶性窒素化合物について研究を行つた結果、従来までにアルギニン¹⁾を分離したのをはじめ、一新アמיד²⁾を発見してテアニンと命名し、引き続きペーパークロマトグラフ法により、茶葉水浸液中より28個の³⁾アミノ酸を検出し、このうちグルタミン酸・アスパラギン酸・グリシン・アラニン・セリン・バリン・ロイシン・アスパラギン³⁾を単離し、さらにこれら水溶性窒素の収支を明らかにした。この結果、水溶性窒素中には多量の不明窒素部が存在し、玉露で24.2%、煎茶で43.6%に達することがわかつた。

島林⁴⁾らはこのうち塩基性部分について研究を行い、ペー

パークロマトグラフ法により、茶葉中のグアニジン誘導体を検索し、アルギニン以外にクレアチン・グアニジン・メチルグアニジンが遊離状態で存在することを明らかにした。

そこで著者らはこれの追試を行うとともに、これらグアニジン誘導体の単離を試み、不明塩基性窒素部について検討したので報告する。

2. ペーパークロマトグラフ法による グアニジン誘導体の検出

試料として32年度産玉露および煎茶の粉末を用い、常法により60℃温湯で浸出し、鉛塩およびカフェインを除いた部分よりイオン交換樹脂IRC-50で塩基性部分をとり、これに常法によりフラビアン酸を加え、アルギニンをフラビアネートとして除き、フラビアネート

第1表 茶葉水浸液中グアニジン誘導体のクロマトグラフ

スポット番号	R _f 値				呈色反応	
	IRC-50吸着部		フラビアネート除去部		坂口	ニトロプルシッド
	玉露	煎茶	玉露	煎茶		
1	0.21 (大)	0.20 (大)	0.20 (大)	0.20 (大)	+	+(紅)
2	0.35 (極小)	0.34 (極小)	—	—	—	+(紅)
3	0.46 (極小)	0.45 (極小)	—	—	—	+(紅)
4	0.52 (小)	0.54 (小)	0.56 (大)	0.54 (大)	—	+(橙)
5	0.78 (小)	0.77 (小)	0.77 (大)	0.78 (大)	+	+(紅)
6	0.92 (極小)	0.91 (極小)	0.90 (小)	0.91 (小)	—	+(紅)
アルギニン・HCl	0.20				+	+(紅)
グアニジン・HCl	0.58				—	+(橙)
メチルグアニジン・HCl	0.76				+	+(紅)

除去部と、除去しない部分についてペーパークロマトグラフ法によりグアニジン誘導体を検索した。

使用濾紙は東洋濾紙 No. 3 で、ブタノール・酢酸・水 (4:1:1) で3回反覆展開を行つた。呈色反応は坂口反応およびニトロプルシッドフェリシアンカリ反応を用い、対照として市販アルギニンと合成グアニジン および合成メチルグアニジンを使用した。

その結果は第1表のとおりで、茶葉中にグアニジン誘導体として6種存在し、スポット1はアルギニン、スポット4はグアニジン、スポット5はメチルグアニジンであることが明らかとなつた。

なおスポット2, 3および6については不明であるが、島林らの報告によるクレアチンおよびガレギンがこれらに相当し、スポット2はクレアチン、スポット6はガレギンと思われる。

3. グアニジンおよびメチル グアニジンの単離

上記クロマトグラフにより、茶葉中にアルギニン以外に5種のグアニジン誘導体の存在を認め、アルギニンとスポット2および3はフラビアネートとしてほとんど除去され、フラビアネート残部は一次元クロマトグラフにおいて、よくそれぞれのスポットが分離しているので、これらの点を利用して、グアニジンおよびメチルグアニジンの単離を行つた。

試料は32年度産玉露1kgを使用し、常法により60°C温湯で浸出し、鉛塩およびカフェインを除いた部分を、イオン交換樹脂 IRC-50 と IRA-45 を交互に用い、塩基性部・酸性部・中性部に分ける。

この塩基性部を IRC-50 に再吸着させ、機械的に混入する不純物を除く。IRC-50 吸着部は3%塩酸で離脱し、過剰の塩酸を IRA-45 を通過させて除き、通過部は塩酸を加えて正確に中和して濃縮乾固し、酒精を用いて無機物除去を数回行い、完全に無機物を除去する。

この部分 (N=900 mg) に常法によりフラビアン酸を加え、アルギニンをフラビアネートとして分離する。アルギニンフラビアネートの収量は6.95g (アルギニン=2.48g, アルギニン窒素=798mg, 水溶性塩基性窒素中88.68%) である。

フラビアネート除去部は、バリタを加えて過剰のフラビアン酸を除去し、過剰のバリウムは炭酸ガスを通じて除去、さらに残存するバリウムを小過剰の硫酸を加えて除去し、少量に残存するフラビアン酸および硫酸は IRC-45 を通過させて除去する。

この部分 (N=95 mg) を強アニオン交換樹脂 IRA-401 を通過させ、アルギニンとリジンの一部および不純物を除去する。IRA-401 通過部は塩酸を加えて正確に中和して濃縮乾固し、90% 酒精を加えて可溶部を取り、グアニ

第2表 グアニジンおよびメチルグアニジン
単離試料調製

玉 露 (1 kg)

60°C 温湯抽出

抽 出 液

+ 酢酸鉛

濾 液

+ 水酸化ナトリウム, pH 9

濾 液

+ 硫化水素

濾 液

クロロホルム抽出

抽出残部

イオン交換樹脂処理

塩基性部

IRC-50 再吸着

塩酸離脱

IRA-45 通過

+ 塩酸, 中和

N=900 mg

濃 縮

+ 酒精, 無機物除去

濃縮乾固

+ 少量の水

+ フラビアン酸, 3日放置

フラビアネート

濾 液

+ バリタ

濾 液

+ 炭酸ガス

濾 液

+ 硫酸

濾 液

IRA-45 通過

N=95 mg

IRA-401

通 過

N=60 mg

+ 塩酸中和

濃縮乾固

+ 90% 酒精

可 溶 部

ジンおよびメチルグアニジンの単離に用いた。試料調製の大要は第2表に示す。

90%酒精可溶部はクロマトグラフにより、グアニジン誘導体としてグアニジン・メチルグアニジンおよびアルギニンの一部を含んでいることが確認されたので、ペーパークロマトグラフを応用した方法でグアニジンおよびメチルグアニジンの単離を行った。

すなわち濾紙は東洋濾紙 No. 3 の 40×40 cm を使用し、試料を下辺より 10 cm の平行線上に均一につけ、ブタノール・酢酸・水 (4:1:1) で上昇法により3回反覆展開を行った。

展開後濾紙をよく乾燥し、濾紙の両辺と中央を 1 cm の巾で切り取り、ニトロプルシッドフェリシアンカリ反

応によりそれぞれの R_f 値を確めた。すなわちアルギニン 0.16~0.38, グアニジン 0.46~0.64, メチルグアニジン 0.72~0.84 であつた。

グアニジンおよびメチルグアニジンの相当区を切り取り、細断して 90%酒精で十分抽出する。抽出液より酒精を留去し、水に溶かした後、骨炭脱色精製する。これを減圧乾固して少量の水に溶かし、デシゲーター中に放置しグアニジンおよびメチルグアニジンの塩酸塩と思われる非常に吸湿性の結晶を得た。

収量はいずれも 20 mg であり、これら結晶のクロマトグラフおよびピクラーの融点は第3表および第4表のとおりで、それぞれグアニジン・メチルグアニジンであることを確認した。

第3表 得られた結晶のクロマトグラフ

BuOH・AcOH・H₂O (4:1:1) 3回反覆展開

	R_f	N. F. 反応	坂口反応	ニンヒドリン反応
0.46~0.64	0.66	+(橙色)	—	—
0.72~0.84	0.74	+(紅色)	+	—
グアニジン・HCl	0.64	+(橙色)	—	—
メチルグアニジン・HCl	0.76	+(紅色)	+	—

Phenol・H₂O (8:2)

	R_f	N. F. 反応	坂口反応	ニンヒドリン反応
0.46~0.64	0.41	+(橙色)	—	—
0.72~0.84	0.76	+(紅色)	+	—
グアニジン・HCl	0.43	+(橙色)	—	—
メチルグアニジン・HCl	0.74	+(紅色)	+	—

第4表 得られた結晶のピクラー

	収量	融点
	mg	°C
0.46~0.64	30	302~310
0.72~0.84	30	198~200
グアニジン・ピクラー		311~315
メチルグアニジン・ピクラー		200

4. 水溶性塩基性窒素の収支

先に水溶性窒素の収支を明らかにしたが、その結果、塩基性部分については、玉露・煎茶とも約40%の不明窒素が存在していた。

そこでこれら不明部分を明らかにする目的で32年度産玉露および煎茶のおの500gを使用して、イオン交換樹脂およびフラビアン酸を用いた試験を行った結果は第5表のとおりで、玉露・煎茶とも塩基性窒素中約90%がアルギニン窒素で、残り約10%がリジンおよびグアニジン化合物等の窒素であることが明らかとなつた。

第5表 塩基性窒素の収支

	塩基性 N	フラビ ア ネ	アルギニン	ア ニ ル ン ギ N	濾液 N	ア ニ ル ン ギ N	そ の 他 塩 基 性 N
玉 露	mg 450	g 3.48	mg 1240	mg 399	mg 45	% 89.0	% 11.0
煎 茶	180	1.40	500	161	20	90.0	10.0

5. 参 考 文 献

- 1) 酒戸弥二郎：農化，**16**，739 (1940)。
- 2) 酒戸弥二郎：農化，**23**，262 (1950)。
- 3) 酒戸弥二郎，松村 隆，伊賀 隆：農化，**30**，
287 (1956)。
- 4) 島林幸英，三井哲夫：農化，**30**，507 (1956)。
- 5) 牧角 啓：日化，**73**，737 (1952)。

(Jan. 29, 1958)