Summary

For the micro-estimation of substances in the spots on paper chromatogram, I have extracted the solute by means of the improved apparatus (Fig. 1, 2.).

A cut spot of paper chromatogram (P) is inserted in the glass tube, in which there is a paper bridge (B) in order to regulate the rate of extraction, and is washed with the suitable solvent (S).

I have estimated the flavonoid pigments by this apparatus.

茶葉中のカテキン及び色素の研究^{(1)*} (其の4) ルチンの分離及び定量

中 林 敏 郎 (九州大学農学部生物化学研究室)

昭和 27 年 10 月 29 日 受 理

Separation and Estimation of Rutin in Tea Leaves.

By Toshio NAKABAYASHI. (Biochemical Laboratory,
Fac. of Agr., Kyushu University).

茶葉中に存在するフラボン系色素については既に大島⁽²⁾並に辻村⁽³⁾により kaempferol 及び quercetin の存在が報告され、更に近時 ROBERTS⁽⁴⁾は paper chromatography により rutin 等 10 数種の anthoxanthine の存在を予想し、又滝野⁽⁵⁾は column chromatography による茶葉フラボンの分離を試みている。

大島及び著者は紅茶用茶樹に関する化学的研究に於て茶葉中のカテキン及びフラボン類を paper chromatography を用いて研究を行う過程に於て⁽⁶⁾、rutin の存在を予想し得たので其の分離を試みた結果、茶葉特にアッサム種のそれより rutin の結晶を分離し、更に全フラボン及び rutin の含量を定量し、それらの関係について多少の結果を得た。

実 験 の 部

Rutin の分離：乾燥茶葉粉末 1 kg (昭和26年 6 月、鹿児島県農試枕崎紅茶試験地、アッサム種)を3回熱湯で浸出し、濾過して之に中性醋酸鉛を加え、濾過して鉛塩を除き、其の濾液にアンモニアを加えて生ずる黄色沈澱を集め、水洗後硫酸及び硫化水素で分解し、其の濾液を減圧濃縮後、エーテルで洗い、次で醋酸エチルで抽出する。醋酸エチル抽出液を脱水後減圧濃縮し、残渣を少量の温水にとかしトルオールを加えて冷所に放置する。約半歳の後生じた黄色の粗結晶を集め、メタノールに溶かしエーテルを加えて生ずる不純物を除き、更にエーテルを多量に加えて生ずる沈澱を集め、之を 50% アルコールより数回再結晶すれば淡黄色長針状結晶 1.2 g を得る。mp. 190~192°. 純ルチンと混融して融点の降下を認めず、各種定性反応及び分析値は純品に一致する。

Anal. Found: H 5.88, C 48.23. Calcd. for $C_{27}H_{30}O_{16} \cdot 3H_2O$: H 5.46, C 48.77.

之を 5% 硫酸で加水分解すれば鮮黄色微針状結晶の quercetin を得る。其のアセチル誘導体は無色針状結晶 mp. 190~195°. 純 pentaacetylquercetin と混融して融点の降下を認めない。各種定性反応は純品と一致する。

又加水分解濾液を炭酸バリウムで中和後シラップとなし paper chromatogram で検すれば glucose 及び rhamnose を検出する。

Table 1. Paper chromatogram of Rutin obtained from Tea Leaves.

Substance	R _F value	
	obtained.	pure.
rutin	0.61	0.61
quercetin	0.82	0.82
glucose	0.25	0.26
rhamnose	0.45	0.45
rutinose	0.19	0.20

Paper: Toyo, No. 2, 2×40 cm.

Developing solvent: *n*-BuOH: AcOH: H₂O=4:1:5

Rutin を 10% 醋酸 30 倍量で 6 時間煮沸加水分解後、濾液をシラップとし paper chromatography で検すれば rutinose を検出する⁽⁷⁾。

Rutin の paper chromatography: 東洋濾紙 No. 2, 2×40 cm を用い上昇法により *n*-BuOH: AcOH: H₂O=4:1:5 (vol%) で上記の各成分を展開した。其の結果は Table 1 の如し。

* 分配クロマトグラフ法によるタンニン及び色素の研究 第 14 報

Studies on Tannins and Pigments by the Method of Partition Chromatography. Part 14.

以上より著者が茶葉より分離したフラボン配糖体は rutin であり、之が茶の黄色色素の一部をなしているものと考えられる。

Rutin mg in 100 cc of original solution

Fig. 1. The calibration curve of rutin determined with PULFRICH photometer

Filter : S43

Thickness of tube : 1 cm.

cc とし、之にカオリンを加えて濾過透明な濾液 5 cc に 2% 塩化アルミニウム水溶液 5 cc を加え、他に濾液 5 cc に水 5 cc を加え、両者の吸光度の差 ϵ_{43} を測定すれば全フラボンが rutin として定量される。

Rutin の定量： 茶葉浸出液を paper chromatography にかけて rutin の spot が検出されるから之を既報⁽⁸⁾の抽出装置を用い 1% 塩化アルミニウム水溶液で抽出、全抽出液を 10 cc とし、0.01% クローム酸カリを標準として DUBOSCQ colorimeter で測定する (測定値 a)。同時に paper chromatography に使用したと同量の浸出液を 1% 塩化アルミニウム水溶液に加えて 10 cc とし、同様に比色定量する (測定値 b)。今

全フラボンの定量： 茶葉浸出液の paper chromatogram に塩化アルミニウム水溶液を噴霧すればフラボン類のみが黄色に現像され他の成分は呈色しない。故に塩化アルミニウムを茶葉浸出液に加えればフラボンのみが反応呈色するから之を比色定量すれば全フラボンが定量される。Paper chromatogram より茶のフラボンは rutin 及び之と類似の配糖体と推定されるので全フラボンは便宜上 rutin として計算した。今各種濃度の rutin 溶液 5 cc に 2% 塩化アルミニウム水溶液 5 cc を加え PULFRICH photometer (filter S. 43, 液の厚さ 1 cm) により比色量すれば Fig. 1 の如くなり、此の時の吸光度を ϵ_{43} とすれば供試液 100cc 中のルチン含量は次式より算出できる。
Rutin mg/100 cc = $8.3 \epsilon_{43}$

茶葉粉末 0.5 g を 4 回煮沸抽出して全抽出液を 100 cc とし、之にカオリンを加えて濾過透明な濾液 5 cc に 2% 塩化アルミニウム水溶液 5 cc を加え、他に濾液 5 cc に水 5 cc を加え、両者の吸光度の差 ϵ_{43} を測定すれば全フラボンが rutin として定量される。

Rutin mg = $C \times a/b$

実測例： 薮北 (昭和 27 年、京都府宇治) の覆下と露天茶葉及び紅茶用茶葉 (昭和 27 年、鹿児島県枕崎) 中の全フラボン、ルチン及びカテキンを定量した。其の結果は Table 2, 3 及び Fig. 2 の如くなる。

尙カテキンは既報の比濁法⁽⁶⁾により定量した。此の結果より、(1) フラボン類の生成には日光が必要で

Fig. 2. The relation between catechins, flavone and rutin in covered and uncovered tea leaves (Yabukita).

Table 2. The Variation of Catechins, Flavone, and Rutin in 1g of Dry Tea Leaves (Yabukita, Uzi, Kyoto, 1952.).

day/ month	uncovered.			covered.	
	flavone* (mg.)	rutin (mg.)	catechins** (mg.)	flavone* (mg.)	catechins** (mg.)
1/5	6.80	0.88	152.2	6.51	92.9
6/5	8.33	1.23	139.2	5.46	81.0
11/5	8.75	1.41	158.4	2.97	90.1
16/5	7.78	2.90	168.9	2.80	89.7
22/5	7.11	1.45	155.2	1.97	63.2
28/5	6.93	1.18	171.1	1.95	67.0
2/6	7.62	1.22	175.5	1.24	57.6

* Flavone was estimated as rutin.

** Catechins was estimated by means of nephelometric method.

Table 3. The Contents of Catechins, Flavone, and Rutin in 1 g of Dry Tea Leaves which are the Origin of Black Tea. (Assam sp., Makurazaki, Kagoshima, 1952.)

Species	day/month	flavone (mg.)	rutin (mg.)	catechins (mg.)
A.	1/5	6.78	2.12	187.3
	26/6	7.63	3.00	202.7
	22/7	7.13	3.14	201.4
I ₂ .	21/4	11.58	3.91	191.2
	6/6	12.62	4.71	204.9
	14/7	12.64	4.50	210.1
S. U.	30/4	10.64	3.52	166.9
	17/6	10.22	5.95	189.1
	24/7	9.40	5.22	188.4
F ₁ 132.	27/4	10.32	4.39	169.8
	16/6	12.74	5.13	170.5
	24/7	14.00	5.29	167.3
C ₈	1/5	8.49	2.25	215.1
	17/6	8.96	2.11	233.8
	21/7	9.39	2.40	227.4

ある事、(2) フラボン、カテキン及び rutin の量は相互に比例して増減する。(3) カテキンの多い品種に於ては概してフラボン量も多い事が推定される。

喫茶による rutin の摂取： 周知のように rutin には薬効が認められているが、日常吾人が喫茶を通じてどれほどの rutin を摂取するかを定量した。毎食湯のみに 2 杯のむとすれば約 1 合 (180 cc) となる。そこで 6 g の茶葉 (藪北) に熱湯 250 cc をそそいで 2 分間静置後、其の 180 cc をとり前記の方法に従つて全フラボンを測れば 19.8 mg/180 cc となる。よつて 3 食 1 日に約 60 mg のフラボンを摂取する事となり、通常 rutin はその 1/4~1/5 であるから 12~15 mg の rutin を摂取する事となる。

終りに当り終始御指導を頂いた大島康義教授及び実験の一部を援助して頂いた石橋幸枝嬢に深く感謝す

る。又試料を頂いた京都府宇治茶研究所の酒戸彌二郎、鹿児島県枕崎紅茶試験地の坂元裕の諸氏に感謝する。尚本研究に使用した費用の一部は農林省応用研究費によつた。附記して謝意を表する。

(1) 中林：昭和27年10月11日農化会西日本支部例会（鹿児島）にて発表。	(5) 滝野、今川：昭和27年4月4日、農化会（東京）で講演。
(2) 大島、何：農化、12, 975 (1936).	(6) 大島、中林：農化、26, 367 (1952).
(3) 辻村：Sci. Papers Inst. Phys. Chem. Res. (Tokyo), 38, 490 (1941).	(7) G. ZEMPLÉN u. A. GERSECS: B., 71, 2520 (1938).
(4) E. A. H. ROBERTS and D. J. WOOD: Biochem. J., 49, 414 (1951).	(8) 中林：農化、27, 58 (1953).

Summary

The existence of rutin in tea leaves was expected by the method of paper chromatography and crystalline flavonoid pigment which was rutin was obtained from the ethyl acetate extraction of tea leaves (Assam sp.).

By means of aluminium chloride and improved apparatus for the extraction of paper chromatographed substance, the total flavone and rutin in several kind of tea leaves have been estimated (Table 1, 2.).

醤油香気成分に関する研究 (第9報)

高沸点部の香気成分 (その4) Phenol 性香気成分の分離

横 塚 保 (野田産業科学研究所)

昭和 27 年 11 月 1 日 受理

Studies on Flavorous Substances in Soy. Part 9. On High Boiling Point's Fraction (4) Isolation of Phenolic Flavorous Substances.

By Tamotsu YOKOTSUKA (Noda Industrial Science Laboratory)

緒 論

先に報告した如く⁽¹⁾、醤油粕の水蒸気蒸留液の中、ethanol 以上の沸点を有するものを蒸溜によつて分けると、その初期の溜分は、所謂 fusel oil 成分に類似し、後期の溜分は、高級脂肪酸類の ethyl ester であるが、此の両者の中間には、広い沸点の幅を有し、収量は少いが、香気の強い溜分が存在する。

之等は前報迄に於て、溜分 O, P, Q と呼んだ部分であるが、之等は phenol 性物質、含硫化合物、難鹼化性中性物質、ester 等からなり、何れも醤油香気成分として重要である。その中で phenol 性物質は収量は少いが香気の強さと特異的な点に於て注目すべきものであるが、その主体は液体なので、之を phenylurethane の結