茶葉炭水化物に関する研究 (第1報)

ペーパークロマトグラフによる糖類の検索*

鳥井秀一, 金沢 純 (農林省東海近畿農業試験場茶葉部)

昭和 28 年 8 月 24 日 受 理

Studies on the Carbohydrates in the Tea Leaves. Part 1.

Detection of Sugars by Paper Chromatography.

By Hideichi TORII and Jun KANAZAWA (National Tokai-Kinki Agr. Expt. Station, Tea Division)

ま え が き

茶葉のアミノ酸, 色素, カテキン類については, 最近ペーパークロマトグラフによるかなり詳細な研究が相次いで発表せられているが, これら成分と関連して生化学的に重要な意義をもつ炭水化物についての研究は少く, 古く 1908 年に MAURENBRECHER 及び TOLLENS⁽¹⁾により, 茶生葉中に sucrose, glucose, fructose が遊離に, galactose, arabinose が加水分解物中に存在すると報告され, また沢村博士⁽²⁾(1909年)により, 茶葉は 0.3~0.5%の還元糖, 0.9~1.0%の甘蔗糖を含有することが報告されている等である. 著者等はペーパークロマトグラフによつて, 茶生葉中の糖類の検索を試み, 上掲 5 種の糖類の存在を再認すると共に, 更に数種の糖と他に二, 三の未詳のスポットを検出したので報告する.

実 験 の 部

I. クロマトグラフ操作

濾紙: 東洋濾紙 No. 50, 20×20 cm.

展開溶剤: n-ブタノール: 醋酸: 水 (4:1:1), (4:1:2)(A)

n-ブタノール: ピリジン: 水 (3:2:1.5)(B)⁽³⁾

フェノール (25% 含水)(C)

一次元展開には (A) を, 二次元反覆展開には (B) (C) を採用した.

呈色試薬:

アニリン試薬⁽⁴⁾: アニリン 0.93 g, フタル酸 1.66 g, ブタノール (水飽和) 100 cc, 噴霧後 105° に 5 分間保つ.オルシン試薬⁽⁵⁾: オルシン 0.5 g, トリクロル醋酸 15 g, ブタノール (水飽和) 100 cc, 噴霧後 95° に 10分間保つ.

ナフトレゾルシン試薬: ナフトレゾルシン 0.2 g, エタノール 100 cc, 磷酸 (sp. gr. 1.85) 10 cc, 噴霧後 75° に 10 分間保つ.

展開条件: 展開容器は内径 15 cm, 高さ 23 cm のガラス鐘を用い, 濾紙の下端より 3 cm ずつの隅を原点とし, 試料 0.02~0.03 cc を滴下, 約 16 cm 展開した. 展開はすべて室温 (15~20°) で, 上昇法によつた.

Fig. 1. Paper Chromatogram of Pure Sugars. (Double Dev.)

II. 標準クロマトグラムの作製 各種純糖 2% 水溶液の混液 0.03 cc について得られた二次元クロマトグラムは, 各スポットの R_F は各溶剤の一次元展開の R_F によく一致するが, hexose, pentose 中の異性体相互の分離が悪いので, JEANS, WISE, DIMLER⁽³⁾等の一次元反覆展開を応用し, 一次展開液 (フェノール), 二次展開液 (ブタノール: ピリジン: 水) 共に 2 回反覆展開を行つたところ, 各異性体のスポットが Fig. 1 の如くよく分離したクロマトグラムを得た.

* この報文の要旨は昭和 28 年 4 月 7 日の日本農芸化学会大会において発表した.

この糖類の二次元反復展開は、60×60 cm の大型濾紙を用いた反復しない二次元展開よりも異性体間の分離が一段と良好となり、20×20 cm 程度の小型濾紙で充分目的を達することができた。しかも展開時間は大型濾紙による二次元展開（反復なし）と大差なく、展開中のフェノールの酸化による濾紙の汚染も少い利点がある。

III. 試料の調製 農林省東海近畿農試茶業部園場より摘採した茶葉（品種べにほまれ、1952年7月中旬、1953年3月上旬）を、直ちに蒸熱して乾燥したものを用いた。茶葉の炭水化物は Table 1 に示す分別法により、8 フラクシオンに分けて、各構成糖類のクロマトグラムを求めた。

Table 1. Fractionation of Tea Carbohydrates.

Tea leaf (steamed, dried, powdered) 200 g.

Ppt.
| wash H₂O, add 3% H₂SO₄, hydr. on boiling water 1 hr.

Filt.
| neutral. Ba(OH)₂ conc. dim. press. 40~50°

Syrup
Fraction II

Filt.
| add basic Pb(OAc)₂

Ppt.
| wash H₂O, add 3% H₂SO₄, hydr. on boiling water 1 hr.

Filt.
| neutral. Ba(OH)₂ conc. dim. press. 40~50°

Syrup
Fraction III

Filt.
| treat H₂S

Filt.
| neutral. NH₄OH ext. CHCl₃

Water layer
| conc. dim. press. 40~50°

Syrup
Fraction I

結果及び考察

各フラクションについて得られたクロマトグラムは Fig. 2~8 の通りである。

Fig. 2. Paper Chromatogram of Fraction I. (Quadruple Dev.)

Fig. 3. Paper Chromatogram of Fraction II. (Double Dev.)

Fig. 4. Paper Chromatogram of Fraction III. (Double Dev.)

Fig. 5. Paper Chromatogram of Fraction V. (Double Dev.)

Fig. 6. Paper Chromatogram of Fraction VII. (Double Dev.)

Fig. 7. Paper Chromatogram of Fraction VII. (Single Dev.)

Fig. 8. Paper Chromatogram of Fraction VIII. (Double Dev.)

Notes. Spot 1: glucose, spot 2: galactose, spot 3: arabinose, spot 4: xylose, spot 5: mannose, spot 6: ribose, spot 7: rhamnose, spot 8: desoxyribose, spot 9: fructose, spot D: galacturonic acid, spot F: glucuronic acid.

Fraction I 試料 0.03 cc を原点に着け、溶剤 (A) を用いて 2~4 回反覆展開を行つたところ、Fig. 2 に示す如く、オルシン試薬により sucrose, fructose に相当するスポットの外、sucrose より R_F の小さい 2 つのスポット a, b が出現し、またアニリン試薬により、glucose に相当するスポット d が検出された。スポット b の糖の R_F 値は raffinose のそれに一致するのみならず、5% 硫酸で 30 分間沸騰水浴上で熱すると、galactose, glucose, fructose となるが、raffinose の分解産物のクロマトグラムに比して、galactose のスポットが glucose, fructose のそれよりも呈色の強いことが注目される。この糖及びこれよりも R_F の小さいスポット a の糖については更に検討中である。以上の遊離糖のうち glucose, fructose は夏葉に多く、sucrose 及びスポット a, b の糖は冬葉に多く検出された。

Fraction II 二次元反覆展開を行い、アニリン試薬で呈色せしめたところ、Fig. 3 に示す如く、6 個のスポットが出現した。スポット 1, 2, 3, 4, 7 はそれぞれ glucose, galactose, arabinose, xylose, rhamnose に相当することを R_F 値及び添加試験より確認し、スポット 6 は ribose に該当することをアニリン試薬に対する赤色反応及び PARTRIDGE⁽⁴⁾ 等の報告と対照して推定した。これらのうち量的には glucose が主体で、arabinose, rhamnose がこれにつぎ、xylose, ribose は微量であつた。glucose, rhamnose は flavonoid 類の構成糖、glucose, galactose, arabinose は saponin 類の構成糖と考えられる。

Fraction III : 二次元反覆展開を行い、アニリン試薬で呈色せしめたところ、Fig. 4 に示す如く、glucose, arabinose が検出された。

Fraction IV : glucose のみ検出された。

Fraction V : 二次元反覆展開を行い、アニリン試薬で呈色せしめたところ、Fig. 5 の如く、7 個のスポットが出現し、スポット 1, 2, 3, 4, 5, 7 はそれぞれ glucose, galactose, arabinose, xylose, mannose, rhamnose に相当することを、 R_F 値及び添加試験により確認し、スポット 6 は ribose に該当することを、呈色反応及び

PARTRIDGE 等の報告と対照して推定した。これらの糖のうち量的には glucose, galactose, arabinose が主体で ribose これに次ぎ, xylose, mannose, rhamnose は少量であつた。glucose, galactose, arabinose, mannose, xylose 等は水溶性多糖類を構成してペクチンに随伴しているものと考えられている。また ribose の存在は茶葉の核酸が水に易溶性であることを示している。

Fraction VI : glucose のみ検出された。

Fraction VII : Fig. 6 に示す如く, 11 個のスポットが出現し, スポット 1, 2, 3, 4, 5, 7 はそれぞれ glucose, galactose, arabinose, xylose, monnose, rhamnose に相当することを, R_F 値及び添加試験により確認し, またスポット 6, 8 はそれぞれ ribose, desoxyribose に該当することを, アニリン試薬に対する赤色反応及び PARTRIDGE 等の報告と対照して推定した。glucose よりも R_F の小さい 3 個のスポットは, フェノールとブタノール: 醋酸: 水を用いて二次元展開を行うと, Fig. 7 に示す如く 5 個のスポットに分れ, スポット D は galacturonic acid に相当することを, ナフトレゾルシン反応及び PARTRIDGE, KAWERAU⁽⁷⁾ 等の報告を参照して推定した。スポット A, B, C, E はウロン酸またはポリウロン酸と考えられるが未詳である。これらウロン酸はペクチン性物質を構成し, galactose, xylose, arabinose, mannose 等は多糖類となつてこれに随伴しているものと考えられる。また ribose, desoxyribose は核酸の糖成分として知られているが, 茶葉中から CALVERY⁽⁸⁾ によつて adenine, guanine, cytosine 等の塩基性物質が分離せられているので, これらと結合して核酸を構成しているものと考えられる。

Fraction VIII : 二次元反復展開クロマトグラムは Fig. 8 に示す如く, 9 個のスポットが出現し, スポット 1, 2, 3, 4, 7, 9 はそれぞれ glucose, galactose, arabinose, xylose, rhamnose, fructose に相当することを, R_F 値及び添加試験により確認し, スポット F は glucuronic acid に該当することを, ナフトレゾルシン反応及び PARTRIDGE 等の報告と対照して推定した。呈色強度は xylose, galactose, arabinose, glucose, glucuronic acid, スポット G の順で, fructose, ribose, rhamnose は微量に検出された。これらの糖類は互に結合してヘミセルロースを構成し, セルロースとともに細胞膜成分の主体をなすものとみなされる。

要 約

茶葉炭水化物を 8 フラクションに分別し, 各フラクションの構成糖類を二次元反復展開クロマトグラムにより検索し, 遊離糖として glucose, fructose, sucrose, 未詳の oligosaccharide 2, 配糖体構成糖として, glucose, rhamnose, galactose, arabinose, 水溶性多糖類構成糖として glucose, galactose, arabinose, xylose, mannose, rhamnose, galacturonic acid, 未詳のウロン酸 4, 核酸構成糖として ribose, desoxyribose, ヘミセルロース構成糖として glucose, galactose, arabinose, xylose, rhamnose, fructose, glucuronic acid, 及びその他未詳のウロン酸を検出した。

- (1) A. D. MAURENBRECHER und B. TOLLENS : *Zeit. Rubenzucker Indus.*, Berlin, 1044 (1908).
- (2) 沢村 真 : 農事試験場報告, No. 35, 43 (1909).
- (3) A. JEANES, C. S. WISE and R. J. DIMLER . *Anal. Chem.*, 23, 415 (1951).
- (4) S. M. PARTRIDGE : *Nature*, 164, 443 (1949); *Biochem. J.*, 42, 238 (1948).
- (5) R. KLEVSTRAND and A. NORDAL :

Acta. Chem. Scand., 4, 1320 (1950); *C. A.*, 45, 3282 (1951).

- (6) J. L. BRYSON and T. J. MITCHELL : *Nature*, 167, 864 (1951).
- (7) E. KAWERAU : *Biochem. J.*, 48, 281 (1951).
- (8) H. O. CALVERY : *J. Biol. Chem.*, 68, 593 (1926); 72, 549 (1927).
- (9) G. C. WHITING : *Nature*, 168, 833 (1951).

Summary

The carbohydrates in the tea leaves were divided into eight fractions. The component sugars of each fraction have been investigated by two-dimensional multiple development paper chromatography. The following sugars were detected as the components : glucose, fructose, sucrose and two unknown oligosaccharides as free sugars ; glucose, rhamnose, galactose, and arabinose as the component of glycosides ; glucose, galactose, arabinose, xylose, mannose, rhamnose, galacturonic acid and four unknown uronic acids as the component of water-soluble polysaccharides ; ribose and desoxyribose as the component of nucleic acids ; and glucose,

galactose, arabinose, xylose, fructose, rhamnose, glucuronic acid and another unknown uronic acid as the component of hemicelluloses.

所謂内地米及び外地米の澱粉について (第 1 報)

内地米及び外地米澱粉の諸性質比較

福 場 博 保 (お茶の水女子大学栄養化学教室)

昭和 28 年 8 月 27 日 受 理

Starches of *Oryza sativa* L. *japonica* and *Oryza sativa* L. *indica*. Part 1.

Comparison of Some Characters of these two Kinds of Starch.

By Hiroyasu FUKUBA (Laboratory of Nutritional Chemistry, Ochanomizu University)

所謂外地米即ち印度亜種米 (*Oryza sativa* L. *indica*) を飯米として利用する時には、所謂内地米即ち日本亜種米 (*Oryza sativa* L. *japonica*) に比較して幾多の欠点が指摘されて来た。両者の吸水速度の相異等、化学的な分析にはとらえる事の出来ない物理的な米粒構造の相異等も大きな影響をこの問題に及ぼしていることは考えられる所であるが、要するに、単一な要素の比較等によつては十分差異を見出すことは出来ず、各要因、成分差異の総和が飯米としての価値に大きな影響を与えているものであると考えられている。

著者はこの問題について白米の主成分である澱粉の構造が両者で著しく相違し、この差異が飯米としての性質を大きく支配しているものであらうと推定し、特に澱粉について再検討を試みた。

実 験 の 部

1. 成分分析 一般食品分析法に従つて精白内地米及び外地米の成分分析を行つた。なお内地米については

Table 1. Analytical Data of Some Rice.

	Rikuu No. 132	Asahi	Hikotaro glutinous rice	Aikoku glutinous rice	Californian rice	Burmese rice	Siamese rice
Moisture (%)	15.20	15.14	15.23	15.30	14.76	14.91	14.80
Ash (%)	0.95	0.87	1.29	1.43	0.96	0.63	0.69
Crude fat (%)	0.68	0.82	0.72	0.42	0.31	0.20	0.14
Crude protein (%)	8.01	7.07	7.89	9.18	9.56	7.01	8.80
Crude carbo- hydrate (%)	74.13	75.10	73.92	73.61	74.21	76.11	74.52

食糧庁食糧研究所より、外地米については食糧庁検査課より分与して頂いたものを使用した。分析結果は Table 1 に示す。この分析値は食糧研究所⁽¹⁾で多くの内外地米について発表した分析値とほぼ同一値を示し、内

外地米について成分差を認める事は出来なかつた。

2. 澱粉の精製 佐藤氏⁽²⁾の方法に従つて、40 メッシュの篩にて篩別した精白米粉末に 0.2% NaOH 液を加えて蛋白質を溶解除去する方法によつて精製した。なお精製中に数度傾瀉法によつて十分に糠を除去した。精製完了後澱粉を無水メタノールを用いて脱水し、使用時に更にアブデルハルデン乾燥器を用いて乾燥使用した。

3. 澱粉糊の比粘度測定 Ostwald の粘度計を用いて、35° に於ける糊液の粘度を測定した。加熱による蒸発を防ぎながら各澱粉を十分に糊化させた後、冷却し、35° の恒温水槽中にて恒温に保ち Ostwald 粘度計にて落下時間を測定した。使用した糊の濃度は 1%、2%、3% 及び 5% である。尚各 Ostwald 粘度計の蒸溜水を用いた時の標線間の落下時間は 9.5~13.0 秒であつた。又 η_{sp} としては 0.00727 を用いた。測定結果は Table 2 に示す。農林 35 号及び朝日とカリフォルニア、シャム及びビルマの 3 外地米を比較すると外地米の方が若干大きな粘性を示している。陸羽 132 号は粳米であるが、彦太郎、愛国の両糯米よりも著しく大きな粘度を示し、5% の場合には粘性が著しく大で、遂に測定する事が出来なかつた。

Table 2. Specific Viscosity of Some Aqueous Starch Paste.

Conc. of starch paste	Species							
	Norin No. 35	Asahi	Rikuu, No. 132	Californian rice	Siamese rice	Burmese rice	Aikoku glutinous rice	Hikotaro glutinous rice
1 %	0.00864	0.01058	0.02492	0.01052	0.01085	0.01226	0.01602	0.01401
2 %	0.01008	0.01204	0.06995	0.01308	0.01409	0.01868	0.02383	0.02342
3 %	0.01409	0.01563	0.29983	0.01741	0.02451	0.03078	0.05011	0.11097
4 %	0.02051	0.02882	—	0.03271	0.05903	0.12089	0.21573	0.98307