茶の炭水化物に関する研究 (第 1 報)[†]

紅茶の炭水化物の種類

水野 卓, 金兵忠雄 (静岡大学農学部農芸化学科)

昭和 30 年 7 月 18 日 受理

Studies on the Carbohydrates of Tea. Part 1.

The Kinds of Carbohydrates in Black Tea.

By Takashi MIZUNO and Tadao KINPYŌ (Dept. of Agr. Chem., Fac.
of Agr., Shizuoka University)

茶(生茶葉, 製茶について)の成分の中, カテキン類, 有機塩基類, 遊離アミノ酸類, 香氣類, 色素類及び酵素類などについては, 数多くの詳しい研究成果が見られ, 品質との関係, 製茶過程に於ける変化, その他についても可成り究明されているが, ひとり茶の炭水化物類については, 量的にも多く, 主要成分の 1 つであるにもかかわらず, 二三の研究⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾を除いては殆んど見られない。特に製品としての“茶”の炭水化物についての詳しい研究は皆無に等しい。茶(浸出液)の滋味, 水色はタンニン, アミノ酸, 有機塩基, 色素類などに左右されるが, 又遊離糖類, 水溶性多糖類も関与因子の一側面をなしているように思われる。

著者等は植物としての茶(葉, 幹, 根, 花, 種子など各部位について)及び製品としての茶の炭水化物について総合的な研究の緒につき, 第 1 報として紅茶の炭水化物の種類を系統的に検索し, 既に生茶葉に見出されたものは, 二三の疑問を除いて殆ど紅茶中にも確めることが出来, 茶の炭水化物研究の基礎的事項を明らかにし得たのでこれらについて報告する。

発表に当り, 御指導を賜った岐阜大学農学部教授林金雄博士, 貴重なスタキオース試料を恵与下さいました埼玉大学教授村上進博士, 糖アルコール類を戴きました本学中林敏郎助教授並びに試料について御便宜とお骨折りを戴きました農林省東海近畿農業試験場茶葉部の上野健二, 森田昇の両氏及び茶葉部製茶第二研究室の方々に併せて深甚の謝意を表します。

実 験 の 部

I. 供 試 料

静岡県磐田郡山香地方の代表茶園から 1954 年 8 月 18 日摘葉した茶葉(在来種)から常法に従つて製造し, 乾燥した紅茶(審査総評点 95.1/120 で並品)を粉碎機で碎粉し, 1 mm 目の篩を全部通して供試料とした。

II. 紅茶の一般化学組成

常法に従つて分析し, 得た結果は Table 1 のようである。

Table 1. Chemical Components of Black Tea (% for water-free sample)

Crude ash	6.18	Total soluble-N	1.54	Total pectin****	12.36
Alkalinity of ash*	4.65	Caffeine-N	1.10	Hot water-soluble matter	38.49
Crude fat	2.55	Residual soluble-N***	0.44	N-free extracts*****	61.05
Crude protein**	18.06	Tannin****	8.89	Pentosan*****	6.38
Total nitrogen	3.99	Crude fibre	12.16	(Moisture	5.67%)

* N/10 HCl cc need to titrate ash in water-free sample 1 g.

** Crude protein = (Total-N - Caffeine-N) × 6.25.

*** Residual-N = Total soluble-N - Caffeine-N.

**** By micro-LOWENTHAL's method.

***** As Ca-Pectate.

***** N-free extracts = 100 - {Crude ash + Crude protein + Crude fat + Crude fibre}

***** By TOLLENS-SAGAKI-SCHMIDT's method.

紅茶の化学成分中, 無水物当り 73% が炭水化物類で量的には最も多い。この中可溶性炭水化物が 61%, 粗繊維が 12% で, ペクチン 12%, ペントーザンも 6% 含まれている。次いで粗蛋白質 18% であるが, この内にはアミノ酸態窒素などを含むので, 真正蛋白質はかなり少ないものと考えられる。タンニン 9%, 粗灰分 6%, 粗脂

[†] 本報並に第 2 報の要旨は昭和 30 年 10 月 12 日 茶業技術研究発表会(於鹿児島市)で講演した。

Fig. 1. Fractionation of Carbohydrates in Black Tea.

肪 3% で、この他可溶性窒素 1.5% を含み、この中 1.1% がカフェイン態で他がアミノ酸、アミド態窒素などと考えられる。尚エーテル抽出液が濃緑色で赤色の螢光を発することからして粗脂肪中にはかなりの量のクロロフィルを包含する。

III. 茶の炭水化物の分別検査法

80° 以下の電気乾燥器或いは減圧デシケーター中で充分乾燥した紅茶粉末を Fig. 1 に示すように順次段階的に処理して各フラクションに分け、それぞれに出現する各種形態の糖類の種類をペーパークロマトグラフィによつて検索した。各溶剤による抽出は同一溶剤で着色の止むまで 3~6 回繰返し、各フラクションの区別をはつきりさせた。

Filtrate II~IV は 1/3~1/5 容となるまで減圧濃縮してから、10% 中性醋酸鉛液を沈澱の生じなくなるまで良く攪拌しつつ滴加し、生ずる沈澱を濾別して、濾液 (Filtrate II'~IV') と沈澱部分に分け、沈澱は冷水で洗滌し、洗滌濾液は前の濾液と合する。濾液は二分し、一方はそのまま減圧濃縮してシラップ状としてからペーパークロマトグラフィに供し、他の一方は硫酸で 0.5~5% H_2SO_4 液とし、沸騰水浴中に 0.5~2 時間保つて加水分解し、 $CaCO_3$ 末で中和後濾過、減圧濃縮してペーパークロマトグラフィに供し、その構成糖を検索する。

醋酸鉛沈澱部分は濾取してから冷水で洗滌後乾燥して粉末とする。この粉末を少量の $CaCO_3$ と共に 10 倍容の水に懸濁して H_2S を充分 (1~2 時間) 通じて鉛複合物を分解する。得られる

濾液 (Filtrate II'~IV') を活性炭脱色し (余り脱色されない), 次いで醋酸エチル, クロロホルムと共に振つてカテキン類, カフェインなどを除去し, 減圧濃縮してシラップ状とする. このシラップも二分し, 一方はそのままペーパークロマトグラフィに供し, 他方は濃硫酸で 5% H_2SO_4 液として沸騰水浴中で 0.5~2 時間加水分解する. 分解液は過剰の CaCO_3 末で中和後濾過更に減圧濃縮してからペーパークロマトグラフィを実施して生ずる糖を検索する.

Filtrate V~XI 中に含まれる炭水化物はいずれも多糖類或は複合物の形態であるので, 各 Filtrate をアルカリ性液の場合は醋酸で中和してから 1/2~1/10 容となるまで減圧下で濃縮し, 冷後 2~5 倍容のアルコール中へ投入して, 各フラクションに溶出している炭水化物類 (他の高分子化合物も夾雑してくる) を沈澱させ, 更にアルコ

ール, エーテルで順次処理して, 粉末とし Ppt. 5~Ppt. 11 を得る. 得られる粉末は 10~20 倍容の 5% H_2SO_4 で 100° で 2~5 時間加水分解し, 熱い中に過剰の CaCO_3 末で中和, そのまま減圧濃縮乾固する. これを 80~90% エタノールで温時 2~3 回抽出濾過し, 無機物を殆ど含まぬ加水分解糖液を得る. 更に減圧濃縮してアルコールを追出しシラップ状としてから, 標準糖と並列或は添加するペーパークロマトグラフィを実施し, それぞれの試薬に対する呈色状況, R_F 値, 或ものは spot の切取法によつて, クロマトグラム上に顕れる各 spot の種類を確認同定し, それぞれのフラクションの構成糖類を検索した.

Filtrate XII, XIII は, その中に存在する H_2SO_4 を CaCO_3 末で中和して除き, 濃縮して得られるシラップをペーパークロマトグラフィに供した.

IV. 紅茶の炭水化物の種類

前記の炭水化物検索法に依つて, 紅茶の炭水化物の種類を分別検索した結果は Table 2 のようで, 各フラクションの収量についての結果は Table 3 に表示する.

これら得られた結果について少しく説明考察して見る.

Filtrate I; この区分には, 紅茶中に残存しているクロロフィルが殆ど全部溶出され濃緑色を呈する. この区分を加水分解すると極く微弱なグルコースとラムノースの spot を生ずるが, これは配糖体の一部溶出のためと解される.

Filtrate II; この区分の濃縮液は色素類その他有色物質の溶出のため黄褐色を呈するが, 中性醋酸鉛液で処理して, これらの不純物を除けば (一部糖類も吸着される), 淡黄色の澄明糖液を得るので, これを濃縮して遊離糖類を検索するにフラクトース, グルコース, 蔗糖, 麦芽糖及びラフィノースの少量が検出され, この他アンモニウム性硝酸銀液で呈色されるイノシトールも少量検出される. Filtrate II の中性醋酸鉛処理沈澱部分からは, ラ

Table 2. Paper Chromatograms of Sugars in Each Fraction of Black Tea.

Filter paper; Toyo No. 50, 40×6 cm or 40×3 cm.

Solvent; *n*-BuOH: AcOH: HOH (4:1:2).Reagents; Aniline hydrogen phthalate butanol solution (A),
1% Phloroglucinol 1% HCl ethanol solution (B) and
Ammoniacal silver nitrate ethanol solution (C).

Development methods; One dimensional ascending method or multiple ascending method.

Sugars	0.26	0.28	0.31	0.37	0.43	0.18	0.16	0.20	0.23	0.13	0.12	0.11	0.14	0.12	0.07	0.04	0.08	0.10	0.06
Value of R_F	Arabinose	Xylose	Ribose	Rhamnose	Desoxyribose	Glucose	Galactose	Mannose	Fructose	Galacturonic acid	Glucuronic acid	Mannuronic acid	Sucrose	Maltose	Raffinose	Stachyose	Inositol	Spot	Spot
Coloring	{ (A) (F) (C)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Filtrate I	{ (a)*1 (b)*2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Filtrate II'	{ (a) (b)	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-
Filtrate II''	{ (a) (b)	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-
Filtrate III'	{ (a) (b)	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Filtrate III''	{ (a) (b)	-	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Filtrate IV'	{ (a) (b)	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Filtrate IV''	{ (a) (b)	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+
Ppt. 5*3		+	-	+	?	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ppt. 6*3		+	-	+	?	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ppt. 7*3		+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ppt. 8*3		+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ppt. 9*4		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ppt. 10*4		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ppt. 11*5		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ppt. 11'*5		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Filtrate XII		+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Filtrate XIII		+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+ Very intense, ++ Intense, + Positive, ± Very weak, - Negative

*1 Original solution being used as it is.

*2 Original solution hydrolysed by 0.5~5% H₂SO₄, 0.5~3 hrs., at 100°.*3 Ppt. hydrolysed by 5% H₂SO₄, 2 hrs. at 100°.*4 Ppt. hydrolysed by 5% H₂SO₄, 3 hrs. at 100°.*5 Ppt. hydrolysed by 5% H₂SO₄, 4 hrs. at 100°.

Table 3. Yields of Each Fraction (% for dry matter).

Solvent	Residue (g*)	(%)	Filtrate (%)
Et ₂ O	I	39.01	97.5
cold EtOH	II	33.88	84.7
hot EtOH	III	27.52	68.8
hot 80% EtOH	IV	24.60	61.5
hot 50% EtOH	V	20.76	51.9
cold HOH	VI	20.08	50.2
hot HOH	VII	19.57	48.9
0.5% Amm. oxalate	VIII	15.73	39.3
cold 5% NaOH	IX	13.52	33.8
hot 5% NaOH	X	11.56	28.9
cold 20% NaOH	XI	3.99	9.9
5% H ₂ SO ₄ (140°, 3 atm.)	XII	0.73	1.8
70% H ₂ SO ₄	XIII	0.08	0.2

* Original dry sample used 40.00 g.

しく趣を異にする(黒紫褐色)3つの spots が得られ, その一つはイノシトールであることを添加試験により確認したが, イノシトールより高い R_F 値を示す spot (R_F 0.10) と, 低い R_F 値を示す spot (R_F 0.06) はその種類を同定し得なかつた. しかし硝酸銀による呈色状況からして糖アルコール又はその誘導体であろうことは推定されるが, ケルシトール, ソルビトール, ダルシトールなどではないようであるが, 詳しくは今後の研究に俟つこととする.

Filtrate IV: この区分はタンニン類の多量溶出のため, その濃縮液は黒褐色であるが, Filtrate III の場合

ムノース, グルコース, ガラクトース及びフラクトースが検出され, これらは配糖体様形態として存在するものと考えられる.

Filtrate III: 遊離単糖類としてフラクトース, グルコースの他にアラビノースの少量も検出される. アラビノースは生葉中には遊離の状態では見出されていないが, 緑茶中には検出されており⁽²⁾, 紅茶中にもその存在が明らかになり, これは製茶過程中に二次産物として生成したものと解される.

遊離オリゴ糖類としては二糖類の蔗糖, 麦芽糖の他に三糖類ラフィノース, 四糖類スタキオースを検出し, 鳥井等がその

存在を指摘した2つの新しいオリゴ糖類⁽¹⁾

(4). (グルコース, フラクトース, ガラクトースから成る四糖類? 及びグルコース, フラクトース, ガラクトース, キシロースから成る五糖類?) はラフィノースとスタキオースではなからうかと想像するに至つた. これら遊離糖類の詳細については次報に譲る.

アンモニア性硝酸銀で呈色して得られるペーパークロマトグラム上に, 麦芽糖より低い R_F を示し, 呈色も還元性糖類とは少

と同様醋酸鉛で処理分別して検糖するに、Filtrate III に引続き、遊離糖としてグルコース、フラクトース、アラビノース、蔗糖、麦芽糖、ラフィノース、スタキオース、イノシトール及び未知の糖アルコールと思しき 2 つの spots も出現する。この区分の加水分解液からラムノース、グルコース、ガラクトース、フラクトース、ガラクチュロン酸、マンノース、キシロースなどが検出され、キシロース、ラムノース、グルコース、ガラクトース及びガラクチュロン酸などは醋酸鉛沈澱部から検出されることからして、これらは配糖体様形態として存在するものと考えられる。

Ppt.5 ; Filtrate V には遊離糖類は全く存在せず、多糖類の形態をとることを予備試験により確めたので、この区分を濃縮してから 3 倍容のアルコール中へ投入して沈澱させ、遠心分離して集め、アルコール、エーテルで順次洗滌乾燥して多糖類粉末 (Ppt.5) を得る。このものを 10 倍容の 5% H_2SO_4 で 100° で 2 時間加水分解し、 $CaCO_3$ 末で中和濃縮後、生じた糖類をペーパークロマトグラフィで検索するに、ラムノース、グルコースの微弱な spot も検出されるが、主にアラビノース、ガラクトース、ガラクチュロン酸の著明な 3 つの spots が検出されることからして、Ppt.5 は主にペクチン物質と考えられる。

Ppt.6 ; 冷水可溶区分は量的には少いが、その構成糖としてガラクトース、ガラクチュロン酸、アラビノース、ラムノース、リボース (?), デソキシリボース (?) 及びグルキユロン酸が検出される。

Ppt.7 ; 熱水可溶物質は少く、炭水化物の溶出も少いが、加水分解によりアラビノース、ガラクトース、ガラクチュロン酸、デソキシリボース、リボース、グルキユロン酸、ラムノース及びマンニユロン酸などの出現を見る。

Ppt.8 ; プロトペクチンに相当する炭水化物の溶出する区分で、その加水分解液からアラビノース、ガラクトース、ガラクチュロン酸が検出され、この他グルキユロン酸、マンニユロン酸(?)の少量も検出される。

Ppt.9 ; 冷 5% NaOH 可溶性多糖類の構成糖としては、キシロース、グルコース、マンノース、リボース、ガラクトース、デソキシリボース(?)及びマンニユロン酸などが検出される。

Ppt.10 ; Ppt.9 に引続き、熱 5% NaOH 可溶性区分を加水分解すると、キシロース、グルコース、ガラクトース、マンノース、フラクトース及びデソキシリボース(?)などの出現を見る。

Ppt.11 ; Filtrate XI を氷醋酸で中和し、醋酸で微酸性 (pH 4) として冷却すると沈澱を生ずるので、これを遠心分離して集め、洗滌乾燥すれば、収量は少いが所謂 β -セルロースの粗粉末を得る。構成糖としてはラムノース、デソキシリボース、ガラクトース及び微量のリボースが検出される。

Ppt.11' ; β -セルロースの沈澱 (Ppt.11) を除いた濾液を 3 倍容のアルコール中へ投入攪拌すると沈澱を生ずる。これが γ -セルロースに相当する区分で、粉末にしてから加水分解 (5% H_2SO_4 で 4 時間、 100°) するとキシロース、ラムノース及びガラクトースを生成する。

Filtrate XII ; 所謂 α -セルロースに相当するもの (Residue XI) を 5% H_2SO_4 で加圧加水分解 (140° , 3 atm., 3 hrs.) すると、著明なグルコースと極く微かなアラビノースを出現する。

Filtrate XIII ; Residue XII の 70% H_2SO_4 処理濾液には、未分解のセルロースに由来するグルコースが検出される。

Residue XIII ; 原料に対し 0.2% 程の最終抽出残渣を残し、これは所謂 KLASON's lignin に相当するもので灰分 2.41% である。

〔附記〕 本報告投稿後に、茶葉及び種子中に存在する 2 種の遊離オリゴ糖類についての報告 [鳥井, 金沢: 農化, 29, 620 (1955)] 並びに茶葉水浸液より myo-inositol (meso-inositol) の単離についての報告 [酒戸, 松村: 農化, 29, 770 (1955)] を知った。

(1) 鳥井秀一, 金沢 純: 農化, 28, 34 (1954).

J. Sci. Food Agr., 5, 600 (1954).

(2) 岩本喜一, 林 淳三, 高尾計介: 滋賀県立農業短期大学学術報告, 6, 30 (1954).

(4) 鳥井秀一, 金沢 純: 農林省東海近畿農業試験場茶葉部化学研究室昭和 29 年成績 E-3 (1955).

(3) R. A. CARTWRIGHT, E. A. H. ROBERTS :

Summary

The carbohydrates in black tea were divided into fourteen fractions (see Figure 1). Free sugars and the component sugars of each fraction have been investigated mainly by the method of paper chromatography and the following results were obtained (see Table 2).

Fructose, glucose and arabinose were detected as free monosaccharides, and sucrose, maltose, raffinose and stachyose as free oligosaccharides.

Inositol and two kinds of unknown substances as free sugar-alcohols were also detected.

Rhamnose, glucose, galactose, fructose, xylose and galacturonic acid were detected as the components of glycosides.

Arabinose, galactose, galacturonic acid, rhamnose and glucose were detected as the components of hot 50% ethanol-soluble polysaccharides.

Galactose, galacturonic acid, arabinose, rhamnose, ribose(?), desoxyribose(?) and glucuronic acid were detected as the components of cold water-soluble polysaccharides, and besides this arabinose, galactose, galacturonic acid, desoxyribose, ribose, glucuronic acid, rhamnose and mannuronic acid as the components of hot water-soluble polysaccharides.

Arabinose, galactose, galacturonic acid and small amounts of glucuronic acid and mannuronic acid were detected as the components of 0.5% ammonium oxalate-soluble polysaccharides.

Xylose, glucose, mannose, ribose, galactose, desoxyribose, mannuronic acid and rhamnose were detected as the components of hemicellulose.

α -Cellulose and a small amount of lignin were also detected.

茶の炭水化物に関する研究 (第2報)

紅茶の遊離糖類について

水 野 卓, 金 兵 忠 雄 (静岡大学農学部農芸化学科)

昭和 30 年 7 月 28 日 受 理

Studies on the Carbohydrates of Tea. Part 2. Free Sugars in Black Tea.

By Takashi MIZUNO and Tadao KINPYO (Dept. of Agr. Chem., Fac.
of Agr., Shizuoka University)

前報⁽¹⁾に於いて紅茶の炭水化物の種類を一通り検索したので、その知見に基づいて遊離糖類を温80%アルコールで抽出し、不純物除去を行つた濃縮液について、ペーパークロマトグラムを作成し、その切取分割法を実施して各スポットの糖毎に分別し、それぞれを精査確認同定すると共に、更に進んでそれらを間接的ではあるが、分別定量することが出来、紅茶の遊離糖類の量的分布状況を明らかにしたので、それらの大略を以下に報告する。

実 験 の 部

I. 供 試 料 前報⁽¹⁾に於いて実験に供したものをそのまま使用した。

II. 紅茶の遊離糖類の検索及び確認

(1) 遊離糖類の抽出： 予めエーテルで充分脱脂（クロロフィルも除去）した乾燥紅茶粉末に 20 倍容の 80% エタノールを加え、水浴中で 80° で 3 時間ずつ 3 回温抽出し、濾液は合して 50° 以下で減圧濃縮し約 1/5 容にまでする。得られる暗褐色の濃稠液に、10% 中性醋酸鉛液を攪拌しつつ沈澱の生じなくなるまで滴加し、沈澱するものを濾別し、濾液に少量の CaCO_3 末を懸濁させ、 H_2S を充分通じて脱鉛する。この際少量の骨炭を加えて加温し脱色も行う。このようにして得た淡黄色澄明濾液は更に減圧濃縮乾涸する。次に固形物を 85% エタノールで 4~5 回温抽出し、濾液を合して再び減圧濃縮し、シラップ状として供試紅茶遊離糖液を得る。

(2) 遊離糖類のペーパークロマトグラム 前記操作によつて得た供試シラップ 0.05~0.10 cc を東洋濾紙 No. 50 (40×6 cm 或は 40×12 cm) に、下から 7 cm を置いて一直線上に spotting し、良く乾燥後展開溶媒 $n\text{-BuOH}:\text{AcOH}:\text{HOH}$ (4:1:2) で下から 35 cm の線まで 3 回多重展開 (20±2°, 1 回が 19~20 時間) し、溶媒を完全に去つてからそれぞれ別別に、アニリン・ヒドロジェンフタレート・ブタノール液、フロログルシン塩酸性エタノール液並びにアンモニア性硝酸銀エタノール液の各呈色剤を噴霧加熱して現像すると Fig. 1 に示すような遊離糖類のペーパークロマトグラムを得る。呈色剤相互による呈色状況、スポットの色及び R_F 値などから、また標準糖の添加試験或は並列展開試験によりそれぞれのスポットの種類を確め得た。更に、展開して得られる遊離糖類のペーパークロマトグラムを各スポット毎に切り取り、それぞれを温水で抽出後濃 HCl で 0.1~1% HCl 液としてから沸騰水浴中に 15~30 分間保つて加水分解し、2% NaOH で正確に中和後更に濃縮し、