thiazol による影響の受け方より考え、一応異つた酵素と考えるのが妥当と思われる。

本実験に際し終始御懇篤なる御指導御鞭撻を賜つた恩師東大教授坂口謹一郎博士並びに東大助教授有馬啓博士に厚く感謝致します。尙本実験に助力願つた農学士井上 浩君、太田英雄君に対しても併せて感謝致します

(1) 坂口, 村尾 : 農化, 23, 411 (1951).	(7) GRASSMANN and BASN : <i>Z. physiol. Chem.</i> , 198, 247 (1931).
(2) 村尾 農化, 29, 400 (1955).	(8) T. SO : <i>J. Biochem.</i> , 12, 107 (1930).
(3) H. RIFFART <i>Biochem. Z.</i> , 131, 171 (1922).	(9) DOX. A. W.
(4) 赤堀四郎 : アミノ酸及び蛋白質.	(10) SINDERSTRÖM-LANG : <i>Z. physiol. Chem.</i> , 173, 32 (1928).
(5) CLEMENTS : <i>Att. Acc. Linc.</i> , 32, II (1932) 172 : 実験農化, 第2部 2, 713.	(11) 梅沢浜夫, 緒方保夫 : <i>J. Pc.</i> , 1, 193 (1947).
(6) AMORDINZEW <i>Z. physiol. Chem.</i> , 124, 123 (1922).	

Summary

The following results were obtained by this experiment.

1. One of the inactivated products of Na-Pc-G by Pc-amidase, which was named Penicin, showed a reddish color on the Ninhydrin reaction and its α -amino-N content was increased by penicillinase.

2. Phenylacetic acid was isolated as one of the inactivated products of Na-Pc-G which was produced by Pc-amidase, acting on the inactivated broth of Na-Pc-G. The yield was about 30~40% of theoretical amount which was calculated from inactivated potency of Pc-G.

3. White needle shaped crystalline, which was assumed to be penicin by its properties, was isolated from Pc-amidase broth.

4. Pc-amidase productional ability of *Pen. chry.* Q 176 was increased by sulfathiazol but the ability of hippurikase was not. This fact showed that Pc-amidase differed from hippurikase.

It was concluded from the fact listed above that Pc-amidase would inactivate Na-Pc-G according to the proposed process formulaed in Fig 1.

緑茶の単寧物質に就て Tea Tannin II の分離

辻村みちよ, 高 須 英 (お茶の水女子大学食品化学研究室)

昭和 30 年 12 月 9 日 受理

On the Tea Tannins in Green Tea. Isolation of Tea Tannin II in Crystalline State.

By Michiyo TSUJIMURA and Ei TAKASU (Food Chem.

Laboratory, Ochanomizu Univ.)

緒 論

従来茶の単寧物質に就ての研究報告は矛盾が多かつた。即ち MULDER (1836) は gallotannin (糖と gallic acid との結合物) と同一なりとし, STENHAUSE (1861) は酸を以て煮沸するも gallic acid を生ぜず, 水に不溶の暗褐色の物質を生ずといい, HLASIWETZ 等 (1867) は分解物として gallic acid を認め, NANNINGA (1904) は $[\alpha]_D^{25} = -177.0^\circ$, C 60.2, H 3.96% の針状結晶を得た⁽¹⁾。

A.G. PERKIN は tea tannin は quercitannic acid と同一物ならんといひ⁽²⁾, DEUSS は茶のタンニンに $C_{20}H_{20}O_9$ なる式を与え, フェノール性の OH を 8 個有し CO_2H を有せずと云つた⁽³⁾。

著者は 1929 年に tea catechin I (*l*-epicatechin) の結晶を得⁽⁴⁾, 1930 年 tea tannin を無定形に得た⁽⁵⁾。Tea tannin は其の性質上 tea catechin と gallic acid とのエステル状結合物と考え, 其の合成を行つた⁽⁶⁾。

1934 年 M. NIERENSTEIN は其の著書に於て著者の報告が従来への区々なる tea tannin 報告の原因に対し説

明を与えるものであるといっている⁽⁷⁾.

1934 年著者は tea catechin II (*l*-gallocatechin) を緑茶から結晶に分離した⁽⁸⁾. K. FREUDENBERG は 1933 年其の著書に於て Malett と Pistacia の catechin が右のような形をもつかもしれぬ, しかしそれはまだ仮想的なものであるといつた⁽⁹⁾. それが 1934 年日本緑茶から初めて分離されたのである. つづいて著者は 1935 年 tea tannin を結晶状に分離し, 其の構造を *l*-epicatechin gallate と確認した⁽¹⁰⁾. 其の際結晶になりにくい単寧を多量に得た.

大島は台湾の茶の生葉から *l*-epicatechin と *l*-gallocatechin とを分離した⁽¹¹⁾. 1939 年 DEJIS は著者の方法により追試の結果, *l*-epicatechin, *l*-gallocatechin, *l*-epicatechin gallate の 3 種の結晶を得て著者の得た 3 物質を確認した⁽¹²⁾.

1941 年著者は緑茶中より ellagic acid を得た⁽¹³⁾. BRADFIELD 等は分配クロマトグラフ法, ペーパークロマトグラフ法を応用して茶の単寧の研究を行つた⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾.

著者は以前に分離した材料にペーパークロマトグラフ法を適用してその結果を発表した⁽¹⁶⁾. 即ち茶のタンニンのペーパークロマトグラムには 4 つの spot を示し, 著者の分離した 3 つの物質は 1 つの spot を残してそれぞれ各 spot に一致した. 著者はこの残された spot に相当する物質の分離をくわだて今回それを結晶として分離したのでその事につき報告する.

実 験

1. 単離を必要とする物質の R_F 値.

茶の粗タンニンと従来分離した 3 物質との R_F 値を掲げる.

0.72 の部の物質が未だ単離されていない. (Plate I 参照).

2. 必要なる物質を多く含む緑茶の選定.

0.72 の R_F 値を有する物質と多量に含む緑茶を選んだ結果, 静岡茶の静岡周辺産の茶を用いた製茶 30 g を含水醋酸エーテル 100 cc にて抽出し, 抽出液を減圧濃縮し蒸留水に溶出し, ペーパークロマトグラフ法を適用した結果は Plate II の I, II に示すごとくで上から 2 番目にあたる spot R_F 値 0.73~0.74 辺が著しい.

3. 必要なる物質の分離

はじめに醋酸エーテルによる抽出法を用いた, この方法は R_F 値 0.84 と 0.72 を示す物質との分離が困難なため水に対する溶解度の相違を利用して次の方法を用いた.

浸出液 + 過剰の醋酸鉛溶液

↓ 沈 澱 10%の硫酸にて分解

↓ 分解液 少許の醋酸エーテルにて抽出, 除去
醋酸エーテルで抽出

↓ 抽出液 減圧濃縮

↓ 濃縮物

↓ 水溶液 クロロフォルムと振り抽出物を去る
エーテルと振る

↓ エーテル抽出物 エーテルを去る

↓ 濃縮物

Table 1. R_F Values on Paper Chromatogram of Tea Tannin.

Crude tea tannin		<i>l</i> -Epicatechin gallate		<i>l</i> -Epi-catechin		<i>l</i> -Gallic-catechin	
A	B	A	B	A	B	A	B
0.81	0.82	0.81	0.81				
0.72	0.72						
0.69	0.67			0.66	0.67		
0.52	0.52					0.55	0.54

Filter paper : chromatogram No. 50 2 cm × 40 cm

Solvent : *n*-Butanol : acetic acid : chloroform : water
4.9 : 2 : 0.1 : 5.3

Original spot : 8 mm in diameter

Concentration : 2.5%

Reagent : 1% Iron alum

Room temp. : 25°

熱湯浸出法 : 250 g 緑の茶に 1.5 l の熱湯を加え 5 分間浸出, 浸出液を去り, 更に 1.5 l の熱湯を加え 10 分浸出, この液を使用.

この濃縮物を水溶液とし醋酸鉛溶液による沈澱をつくり, 上の操作を繰り返えし, 最後に得たる濃縮物を水にとかけて濾過し, 放置すれば結晶を生ず. 再結晶製する. m. p. 248~9° (Plate III 参照). この濃縮物及び結晶の R_F 値は Plate II の III 及び IV に示す.

4. 諸 性 質

ここに得た結晶は収斂性強く, 水溶液は塩化第二鉄により藍色を呈し直ちに褐色に変ずる. ゼラチンで白色沈澱を生ずる, 稀酸と煮れば gallic acid を分離し赤褐色の沈澱を生ず. フロログルシンの反応を有す. 非常に変化しやすく褐色となる. 旋光度は catechin よりはるかに大で $[\alpha]_D^{18} = -173^\circ$ である.

Plate I

	I	II	III	IV
	Tea catechin I	Tea tannin I	Crude Tea tannin	Tea catechin II
R_F	0.67	0.81	0.81 0.72 0.67 0.52	0.54

Plate II

I. II. V.	Crude Tea tannin
III.	Tea tannin II Conc sol.
VI.	Tea tannin II Cryst.

Plate III

1.

1 : 100

2.

1 : 100

3.

1 : 100

4.

1 : 300

1. Tea catechin I (*l*-Epicatechin)
2. Tea catechin II (*l*-Gallocatechin)
3. Tea tannin I (*l*-Epicatechin gallate)
4. Tea tannin II (*l*-Gallocatechin gallate)

5. ペーパークロマトグラムに於ける観察

上部より tea tannin I, 本物質, tea catechin I, tea catechin II で R_F 値はそれぞれ 0.81, 0.72, 0.67 及 0.52 である. Tannin, catechin 共に OH の数と R_F 値とが関係して OH の二つの方が位置が上にある

	Tea catechin I	Tea catechin II	Tea tannin I	本物質
m μ	282.1	279.0	279.7	272.4
	長	短	長	短

(Plate I 参照).

6. 吸収スペクトルに於ける観察

吸収スペクトルの写真は Plate III に示すごとくで catechin と tannin との吸収には各特色があり, absorption max. はそれぞれ次の如くである.

	BRADFIELD	The present author
R_F	0.72	0.72
m. p.	215~6°	248~9°
Specific rotation	$[\alpha]_D^{25} = -179^\circ$	$[\alpha]_D^{18} = -173^\circ$
absorption max.	275°, 279°(m μ)	272.4°(m μ)

ここに得たる物質は以上の実験観察の諸点から tea tannin II と称する. これを BRADFIELD 等が gallo-catechin gallate $C_{22}H_{18}O_{11}$ として分離した物質⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾と比較して見る.

BRADFIELD 等の物質も著者の tea tannin II も gallo-catechin gallate であることが認められる. なお著者が従来緑茶より得たる 4 物質の比較表を添えて茶の単寧物質全般を一括する.

Table 2. Chief Properties of Tea Catechins.

	Tea catechin I (<i>l</i> -Epi catechin)	Tea catechin II (<i>l</i> -Gallocatechin)	Tea tannin I (<i>l</i> -Epicatechin gallate)	Tea tannin II (<i>l</i> -Gallocatechin gallate)
Astringency	weak	weak	strong	strong
FeCl ₃	sweetish after taste	sweetish after taste	blue	blue
Gelatine	green	violet	white ppt.	white ppt
heated with dil. acid	no ppt.	no ppt.	gallic acid and	gallic acid and
Phloroglucinol reaction	reddish brown ppt.	reddish brown ppt.	reddish brown ppt.	reddish brown ppt.
m. p.	positive	positive	positive	positive
Specific rotation	237~8°	218°	253°	248~9°
R_F value	$[\alpha]_D^{15} = -69^\circ$	$[\alpha]_D^{18} = -67.5^\circ$	$[\alpha]_D^{25} = -177.5^\circ$	$[\alpha]_D^{18} = -173^\circ$
Absorption max. (m μ)	0.67	0.52	0.81	0.72
	282.1	279.0	279.7	272.4
Constitutional formula				

- (1) DEKKER : Die Gerbstoff, 410, Berlin (1913).
- (2) PERKIN : The Natural Organic Colouring Matters, 17 (1918).
- (3) DEUSS : Rec. Trav. Chim., 42, 496 (1923).
- (4) M. TSUJIMURA : Sci. Pap. I. P. C. R., 10, 253 (1929).
- (5) *ibid.*, 14, 63 (1930).
- (6) *ibid.*, 15, 155 (1931).
- (7) M. NIERENSTEIN : The Natural Organic Tannins, 102, London, (1934).
- (8) M. TSUJIMURA : Sci. Pap. I. P. C. R., 24, 149 (1934).
- (9) K. FREUDENBERG : Tannin, Cellulose, Lignin, 66, Berlin, (1933).
- (10) M. TSUJIMURA : Sci. Pap. I. P. C. R., 26, 186 (1935).
- (11) Y. ŌSHIMA : Bull. Agr. Chem. Soc. Japan, 12, 103 (1936).
- (12) W. B. DEIJS : Rec. Trav. Chim., 58, 895 (1939).
- (13) M. TSUJIMURA : Sci. Pap. I. P. C. R., 38, 487 (1941).
- (14) BRADFIELD and PENNEY : J. Chem. Soc., 2249 (1948).
- (15) BRADFIELD and SMITH : Biochim. & Biophys. Acta, 4, 441 (1950).
- (16) M. TSUJIMURA : J. Sci. Res. Inst. (Sci. Pap. I. P. C. R.), 46, 31 (1952).

Summary

On the paper chromatogram of crude tea tannin, four spots are to be seen, R_F values of which being 0.81, 0.72, 0.67 and 0.52, these excepting 0.72, correspond to tea tannin I tea catechin I

tea catechin II, which have been formerly separated by the present author (see Plate I).

The author has recently isolated tea tannin II, the R_F value of which is corresponding to 0.72 (see Plate II). The crystalline form of this tea tannin II is shown in Plate III, m.p. 248~9°, $[\alpha]_D^{18} = -173^\circ$. Its aqueous solution has a hard astringent taste, when heated with dilute acid, it separates gallic acid and is converted into a reddish brown substance.

The absorption spectra of these four substances are shown in Plate III.

From above the newly isolated substance is recognizable as *l*-gallo catechin gallate.

夏蜜柑果汁製造に関する基礎的研究 (第15報)

果汁製造残渣の利用について (2) ペクチン

銅塩の電気泳動による脱銅*

野村男次, 内藤信隆 (山口大学農学部; 福岡農試豊前分場)

昭和29年12月21日受理

Fundamental Studies on the Manufacture of Natsudaikai Juice. Part 15.

On the Utilization of the Residues (By-products) in Process of
Manufacturing Orange Juice (2). Decopperation of
Pectin Copper Salt by the Cataphoresis.

By Danji NOMURA, and Nobutaka NAITO (Facult. Agric.,
Yamaguchi Univ and Agric. Expt. Sta. of Fukuoka)

緒 言

著者等⁽¹⁾は先に銅塩法によりペクチンゲルを作り, その中に含有される銅を除去する方法として, イオン交換樹脂を用いペクチンを製造する方法について述べた. この方法はゲル形成にアルコールを必要とせず, 且つ硫酸アルミ法に比較するとゲル中の不純物の含量が少く, 興味ある方法と考えられるが, ゲルの儘ではイオン交換樹脂と作用させることが出来ず, ゲルを稀塩酸に溶解してゾルとした後, 陽, 陰交換樹脂を通過, 脱銅せしめなければならない. 即ち, 比較的稀薄なペクチンゾル (ペクチン含量2%内外) しか得られないので, 工業的に実施する場合, これより水分を蒸発して乾燥ペクチンを製造する工程で大きな熱エネルギーを要し, 製造上の障害となる可能性がある. 故に上記の欠点を是正するため, ゲルより直接電気泳動によつて脱銅と脱水とを同時に行う試験を海宝寒天株式会社の好意により同社と協同で実施した.

電気泳動は水溶液の状態で行うのが普通であるが, 水分の多い泥状物及びゲル物質に適用しても効果がある. 即ち SCHWERIN⁽²⁾ は泥炭よりの脱水にこの方法を応用しており, 海宝寒天株式会社は寒天ゲルの脱水ならびに不純物の除去にこれを応用, かなりの成果をあげている. 本試験はなお目下継続中のもので, 特に大規模な中間試験を行わないと, 正確な経営上の数値は得られないが然し, 著者等の結果では電解槽内のペクチンゲル中, 陰極に近い部分に多少の銅を残存する欠点はあるが, その他の部分は泳動条件を適当にするとほぼ完全に脱銅し, 且つ脱水効果も認められるので, 若干の改良を加えれば工業的応用も考えられる. この研究は昭和29年度通産省発明実施化試験費の交付を受けその完成に努力しているもので, これらの点については改めて報告を送り得ると思うがここにその概要を報告する.

実 験 の 部

供試原料: 夏蜜柑果皮 27 kg を薄く切り, 0.25% の塩酸水に1時間浸漬, 更に1時間流水で水洗した後, 分離水切して水 108 l, 工業用塩酸 250 cc を加え, 40 分間徐々に加温煮沸させ布袋で懸垂濾過した. この濾液 (pH 2 前後) 90 l を取り, 炭酸ソーダで pH 3.4 に調節, 樋を用いてその中でペクチンゲルを 1/5000 CuCl_2 液を用いて作り, 1時間放置後これを分離して, 母液が滴下しない程度に脱水して得られたペクチンゲル 13 kg を4号のラッカー罐に罐詰して 0~-3° で貯蔵, 所要に応じて取り出して使用した. この場合, 樋による銅塩ゲル形成の方法は著者等の考案によるもので著者等は樋式ゲル形成法と呼んでいる.

* 夏蜜柑の化学的研究 第20報