2. 血糖降下作用性成分は菌體を酸性にて自己消化させる場合にも、酒精で抽出する場合と同様に浸出せられるが、其場合には靜微作用性成分は浸出せられない。酒精には其の 90% 濃度に於ても可溶であるがアセトンには不溶であり、其外二、三の性質よりインシュリン様の活性蛋白であろうと考えられた。

3. 靜微作用性成分はエーテル可溶の油狀物質として得られ、多くの産膜性の黴、酵母及び細菌には有効であるが、酸酵性能を有し液内繁殖性のものには無効であり、パラオキシ安息香酸エステルよりその作用はやゝ強いのではないかと考えられた。又其本態は *Rhodotorula* の抗菌性物質と良く類似するものであらうと考えられた。

本研究の費用は一部を文部省科學研究費に仰ぎ、一部は三共高峰研究所に仰いだ記して謝意を表する。

追記：最近奥貫氏等は紅色酵母 *Rhodotorula Suganii* の抗生物質についての研究に於て、オレイン酸が抗黴乃至抗結核菌物質の主體であることを證明した。[資料科學研究所彙報，第 17~18 號，第 1 部，118 (1950)]

- (1) 山崎・里村・山本：農化，(8 報，9 報) (1950)
- (2) WINTER, SMITH : *Biochem. J.*, 17, 764 (1923)
- (3) KAUFMANN : *Zts. für deutsche Ges.exp. Med.*, 62, 739 (1928)
- (4) 鎮目淑夫：農化，13, 262 (1937)
- (5) DUNCAN : *Disease of Metabolism* (1947)
- (6) 山崎・里村・山本：昭 25.4 月，農化會講演發表
- (7) 奥貫一男：*Jap. Jour. Bot.*, 5, 402 (1931)

Summary

1) It is shown that antidiabetic and fungistatic fractions are to be separated from each other from the the alcoholic extract of fresh or dry yeast, or of old culture solution of *Sporobolomyces* red yeast (*Sporobolomyces ruberrimus*).

2) Antidiabetic concentrate can be also obtained from the autolyzate in acidic zone (pH 2.6~2.8) of the red yeast. According to several properties, the antidiabetic principle seems to be an insulin-like, labile protein substance.

3) Fungistatic concentrate is obtained in the form of ether soluble oily substance. It is effective to most kinds of strictly aerobic, membraneous fungi, yeasts and bacteria but indifferent to such fermentative microorganisms as *Bact. coli* and *Staphylococcus aureus*.

醬油香氣成分に関する研究 (第 4 報) 醬油の火香 (その 3)

アセタールの呈色反應

横 塚 保 (野田産業科學研究所)

昭和 25 年 7 月 11 日 受理

Studies on Flavorous Substances in Soy. Part 4. Flavors resulting from Heating.

3. Color Reactions of Acetals

By Tamotsu YOKOTSUKA (Noda Industrial Science Laboratory)

緒論 第 2 報，第 3 報に述べた如く，醬油粕の水蒸氣蒸溜により得られた $C_{10}H_{22}O_8$ 及び $C_9H_{20}O_2$ なる 2 つの香氣物質が夫々 α -hydroxy-isocapro aldehyde diethyl acetal 及び isovaleraldehyde diethyl acetal である事は，種々の化學反應より推定せられた處であるが，此の外に之等の示す各種の呈色反應（沈澱反應）が大いに興つて力があつた。即ち之等が acetal 結合 $-\text{CH}-\text{O}-$ を有する事は，此の基が各種 phenol 類及び α -, β -naphthol と特殊の呈色及沈澱反應を示す事を，合成した各種 acetal 類に就て認めた後，檢體に就ても殆ど同様の反應がある事を認めた事から，推定したのであつた。因に ether 中の acetal 類の識別に關して，ほと同様の呈色反應による方法が TSEOU, CHOW 兩氏により報告せられているが，⁽¹⁾ 筆者は兩氏よりも多種類の phenol により多種類の acetal を對稱とし，acetal の種類により，此の定性反應に差異の存する事及び此の反應を利用して或る程度 acetal と之に相應する aldehyde との識別が出来る事を明にした。

實 驗

1. TSEOU, CHOW 兩氏による ether 中の acetal の直接識別法の概要

試料に resorcin の alcohol 溶液を加える時、若しも acetal が存在すれば之に更に H_2SO_4 を加えて着色沈澱を生ぜしめ得る。本沈澱は之をアルカリ性となす時變色する。而して沈澱の色は溶液の resorcin 含率により異なるが、100% 溶液を使用し、 H_2SO_4 は約 20% のものを使用した。之と同様の結果は resorcin の代りに α -及び β -naphthol, phenol 等を使用しても得られ、 H_2SO_4 は $ZnCl_2$, conc. HCl 等で代用出来る。

2. 試料：本反應の試料としては、醬油粕より得られたる α -hydroxy-isocapro aldehyde diethyl acetal $C_4H_9CH(OH)CH(OC_2H_5)_2$ に對し、合成して得たる methylal $HCH(OC_2H_5)_2$, ethylal $HCH(OC_2H_5)_2$, acetoaldehyde diethyl acetal (acetal) $CH_3CH(OC_2H_5)_2$, propionaldehyde diethyl acetal $C_2H_5CH(OC_2H_5)_2$, *n*-butylaldehyde diethyl acetal $CH_3CH_2CH_2CH(OC_2H_5)_2$, isobutylaldehyde diethyl acetal $(CH_3)_2CHCH(OC_2H_5)_2$, isovaleraldehyde diethyl acetal $(CH_3)_2CHCH_2CH(OC_2H_5)_2$, benzaldehyde diethyl acetal $C_6H_5CH(OC_2H_5)_2$ 等を使用した。初の醬油粕から得られたものは、第 2 報に於ける Sign D と同一物即ち $bp_{155mm} 43^\circ$ を示し元素分析結果 ($C_{10}H_{22}O_3 + 2H_2O$) なるものを着色アンプルに保存せるものを使用した。その他の acetal 類の合成は常法による。

3. 試薬：Phenol 性物質としては、phenol C_6H_5OH , pyrocatechin $C_6H_4(OH)_2(1,2)$, resorcin $C_6H_4(OH)_2(1,3)$, hydrochinon $C_6H_4(OH)_2(1,4)$, pyrogallol $C_6H_3(OH)_3(1,3,5)$, α -naphthol $C_{10}H_7(OH)(1)$, β -naphthol $C_{10}H_7(OH)(2)$, 等の alcohol 及び H_2O 溶液と、conc. 1:1, 1:2, 1:3 (volume) 等の H_2SO_4 を使用した。

4. 方法：試料と phenol 類の溶液 (可及的飽和水溶液を使用し水に不溶のものは alcohol 濃厚溶液) との約等量混合物に H_2SO_4 (試料及び phenol 類を着色せしめざる範圍に於て濃厚なるものの方がよい) を徐々に壁に沿うて流入せしめ、境界面に現れる呈色或は沈澱 (境界面の現れぬ場合もある) を見、次で全體を振つた時生ずる呈色並びに沈澱を見る。

5. $C_{10}H_{22}O_3$ の呈色反應

(i) Phenol を用いた場合：Phenol 10% alcohol 溶液を加え、之に 1:3 H_2SO_4 を注加する時は、境界面に濃厚な赤色層を現し、之を振れば全體透明の赤色となる。之を $NaOH$ にてアルカリ性にすれば激しく發泡して多量の無色結晶を析出す。Alcohol 溶液に於て conc. H_2SO_4 を用い明瞭に檢出し得る最少量は 0.1% にて橙色を呈す

(ii) Pyrocatechin を用いた場合：飽和水溶液及び 1:1 H_2SO_4 を用い多量の美麗なる赤紫色沈澱を生じ之はアルカリ性にすれば白色沈澱となる。

(iii) Resorcin を用いた場合：Resorcin の 10% alcohol 溶液と 1:3 H_2SO_4 とを用いた場合下層は黄色上層は赤色となり境界面に白濁を生ず。之を振れば多量の卵橙色沈澱を生じ、 $NaOH$ アルカリ性とすれば多量の白色沈澱を生ず。conc. H_2SO_4 を用い明瞭に檢出し得る限界は 0.2~0.1% で黄色となる。

(iv) Hydrochinon を用いた場合：全く反應を示さない。

(v) Pyrogallol を用いた場合：Pyrogallol の 10% alcohol 溶液と 1:3 H_2SO_4 を用いた時は境界面が白濁する程度であるが 1:1 H_2SO_4 を用いれば境界面に強い赤色出で、之を振れば多量の乳赤橙色沈澱を生ず。

(vi) Phloroglucin を用いた場合：Phloroglucin の 10% alcohol 溶液と 1:3 H_2SO_4 では上層が橙赤色となり、之を振れば多量の淡紅色の沈澱を生ず。conc. H_2SO_4 では 0.2~0.1% に於て黄色に着色する。

(vii) α -Naphthol を用いた場合： α -Naphthol の 10% alcohol 溶液と 1:3 H_2SO_4 では境界面が黄色となる程度であるが、1:1 H_2SO_4 を用いれば赤色出ず。之を振れば極めて多量の卵黄色沈澱を生ず。

(viii) β -Naphthol を用いた場合：(vii) と同様に實施するも全く呈色しない。

以上の對稱として H_2SO_4 を用いざる場合、或は各 phenol 類に 1:3 或は 1:3 H_2SO_4 を作用させた場合、何れも全く反應を示さない。以上述べた α -hydroxy-isocaproaldehyde diethyl acetal に對する各種 phenol 類と H_2SO_4 とによる反應の結果を要約すれば Table 1 の如くなる。

Table 1.

Reagent	Phenol	Pyro-catechin	Resorcin	Hydro-chinon	Pyroga-llo	Phloro-glucin	α -naph-thol	β -naph-thol
Reaction	clear red	rose or orange ppt.	pale yellow ppt.	—	orange ppt.	pale red ppt.	pale yellow ppt.	—
H ₂ SO ₄	1:3	1:1	1:3	1:1	1:1	1:3	1:3	1:1

6. Benzaldehyde 及び benzaldehyde diethyl acetal: H₂SO₄ は 1:1 を使用し, phenol 類は, phenol, α , β -naphthol 等は alcohol 飽和溶液を, 其の他は飽和水溶液を用いた. 之等に對する 1:1 H₂SO₄ の作用は見られない. 而して境界面の呈色が不明のものが多いので混合物を振つて生ずる呈色及び有色沈澱の有無を検した結果は Table 2 の通りである.

Table 2.

	Phenol	Pyro-catechin	Resorcin	Hydro-chinon	Pyrogallol	Phloro-glucin	α -naphthol	β -naphthol
Benzaldehyde	—	—	a little of pale yellow ppt.	—	—	—	yellow cloudy	—
Benzacetal	—	—	much of reddish orange ppt.	—	much of pale red ppt.	much of orange ppt.	pale red cloudy	—
Discrimination of the two	—	—	+	—	++	++	—	—

7. Isovaleraldehyde 及び isovaleraldehyde diethyl acetal: 方法は 6 に準じ, 異なる點は conc. H₂SO₄ を使用する 但し β -naphthol の場合のみ 1:1 H₂SO₄ を用う. 此の結果は Table 3 の通りである.

Table 3.

	Phenol	Pyro-catechin	Resorcin	Hydro-chinon	Pyrogallol	Phloroglucin	α -naphthol	β -naphthol
Isovaleraldehyde	—	reddish purple, cloudy	a little of orange ppt.	clear orange	clear pale yellow	clear orange	reddish orange	—
Isovaleralacetal	—	dark red ppt.	much of reddish orange ppt.	clear dark red	clear red & scarlet ppt.	clear red & scarlet ppt.	dark red	—
Discrimination of the two	—	+	+	+	++	++	+	—

8. Isobutylaldehyde 及び isobutylaldehyde diethyl acetal: H₂SO₄ は 1:1 を使用する. conc. H₂SO₄ により兩者は黄色に呈色するが 1:1 H₂SO₄ では全く變化しない. その他は前法に準じて行つた結果は Table 4 の通りである.

Table 4.

	Phenol	Pyro-catechin	Resorcin	Hydro-chinon	Pyrogallol	Phloro-glucin	α -naphthol	β -naphthol
Isobutylaldehyde	—	pale red ppt.	pale yellow, resinize	—	pale red, clear	—	pale red on the boundary surface	—
Isobutylacetal	—	pale red ppt.	pale yellow, clear	—	pale red ppt.	pale red ppt.	dark red on the boundary surface	—
Discrimination of the two	—	—	+	—	+	++	+	—

9. *n*-Butylaldehyde 及び *n*-butylaldehyde diethyl acetal: 8. と同様に行い Table 5 の結果を示す.

Table 5.

	Phenol	Pyro-catechin	Resorcin	Hydro-chinon	Pyrogallol	Phloro-glucin	α -naphthol	β -naphthol
<i>n</i> -butylaldehyde	—	pale red, cloudy	pale yellow ppt.	—	much of brown ppt.	much of yellow ppt.	red	—
<i>n</i> -butylacetal	—	pale red, cloudy	pale yellow ppt.	—	a little of brown ppt.	a little of yellow ppt.	red	—
Discrimination of the two	—	—	—	—	+	+	—	—
					(difficult)	(difficult)		

10. Propionaldehyde 及び propionaldehyde diethyl acetal : 同様にして Table 6 の結果を示す

Table 6.

	Phenol	Pyro-catechin	Resorcin	Hydro-chinon	Pyrogallol	Phloro-glucin	α -naphthol	β -naphthol
Propio-aldehyde	—	reddish purple, cloudy	pale yellow ppt.	—	pale red ppt.	pale orange ppt.	orange, cloudy	orange, cloudy
Propio-acetal	—	reddish purple, cloudy	pale yellow ppt.	—	pale red ppt.	pale orange ppt.	orange, cloudy	orange, cloudy

11. Acetaldehyde 及び acetaldehyde diethyl acetal : 同様にして Table 7 の結果を示す.

Table 7.

	Phenol	Pyro-catechin	Resorcin	Hydro-chinon	Pyrogallol	Phloro-glucin	α -naphthol	β -naphthol
Aceto-aldehyde	pale red ppt.	reddish purple, cloudy	pale red ppt.	—	—	orange ppt.	pale red ppt.	—
Acetoacetal	pale red ppt.	reddish purple, cloudy	pale red ppt.	—	—	—	orange ppt.	pale red ppt.
Discrimination of the two	—	—	—	—	—	—	—	—

12. Formaldehyde diethyl acetal (ethylal) と Formaldehyde dimethyl acetal (methylal) : Formalin に對して以上の phenol 類は呈色反應を示さないが, ethylal 及び methylal に對しては極めて鋭敏に有色沈澱乃至呈色反應を示し, 0.01%位迄の存在を識別し得る. 色調は試料が濃厚な時は暗赤色, 黒緑色, 黒褐色等を呈し, 試料が稀薄なるに従つて漸次橙色を経て黄色となる. H_2SO_4 は conc. を使用したが, 濃厚溶液に於ては 1:3 を用いて充分發色する.

13. H_2SO_4 の代用 : TSEU, CHOW 兩氏は H_2SO_4 の代用として, ZnCl_2 或は conc. HCl を擧げているが, 筆者が行つた處では, 之等は H_2SO_4 に比し發色が少く且つ時間を必要とし殊に acetal の濃度が低い時は遙に H_2SO_4 に及ばない.

14. 反應の機構 : Acetal と resorcin, phenol, α - 及び β -naphthol 等との有色沈澱の生成に關して TSEU, CHOW 兩氏等は alkyliden bis resorcin(resorcin の場合)の生成を假定しているが, 筆者も之が最も可能なる假定と思考するが證明には到らない. 例えば醤油香氣としての α -hydroxy-isocaproaldehyde diethyl acetal と phloroglucin とは 1:3 H_2SO_4 により極めて著量の淡赤褐色沈澱を與えるが, 此の乾燥せるものは無水アルコールに溶けて濃赤色を呈する. 然し之に水を注加する時は初の褐色に復するが結晶狀には得られず又此の際明に相當量が分解する.

要 約

1. 醤油香氣として分離した α -hydroxy-isocaproaldehyde diethyl acetal が 1 價, 2 價, 3 價の phenol 類 (oxyhydrochinon を除く) 及び α -, β -naphenol 等と硫酸々性に於て極めて多量の有色物質を生ずる事を認め, 之が TSEU, CHOW 兩氏等の言う acetal 類の呈色反應の更に廣範圍のものである事が解つたが, 此の場合には兩氏の言う如く β -naphthol とは作用せず又 hydrochinon とも作用しない. 以上は又逆に分離した醤油香氣物質に acetal の構造を與える一助ともなつた.

2. 此の反應の一般 acetal 類に對する普遍性を檢する爲, methylal, ethylal, 及び acetaldehyde, propionaldehyde, n - 及び isobutylaldehyde, isovaleraldehyde, benzaldehyde 等の diethyl acetal 等を合成して試みた結果, acetal の種類により, 試薬の選擇性があり, 色調も異なるので, acetal 類相互の識別にも若干役立つ事が解つた. その結果を纏めれば Table 8 の通りである.

Table 8. Colorreaction of Acetals Against Phenolic Reagents.

	Phenol	Pyro-catechin	Resorcin	Hydro-chinon	Pyrogallol	Phloro-glucin	α -naphthol	β -naphthol
Methylal	+	+	+	+	+	+	+	+

Ethylal	+	+	+	+	+	+	+	+
Acetoacetal	+	+	+	—	+	+	+	—
Propioacetal	—	+	+	—	+	+	+	+
<i>n</i> -Butylacetal	—	+	+	—	+	+	+	—
Isobutylacetal	—	+	+	—	+	+	+	—
Isovaleracetal	—	+	+	+	+	+	+	—
Benzacetal	—	—	+	—	+	+	+	—
α -Hydroxy-iso-caproacetal	+	+	+	—	+	+	+	—

3. Acetal 類は通常一部分分解して aldehyde を含有する爲、兩者の區別は試料が少量の時は極めて困難であるが、一般に acetal 類は該當する aldehyde より phenol 類との結合性が大なる爲、此の呈色反應を利用して兩者の識別が或る程度可能となる。但し acetoacetal と acetoaldehyde 及び propioacetal と propioaldehyde とは夫々識別出来ない。又 phenol 類の種類により相當の差異がある。此の結果を 1 表に示せば Table 9 の通りである。

Table 9. Discrimination between an Acetal and an Aldehyde by Phenolic Substances.

	Phenol	Pyro-catechin	Resorcin	Hydro-chinon	Pyroga-llo	Phloro-glucin	α -naph-thol	β -naph-thol
Methylal & Formaldehyde	++	++	++	++	++	++	++	+
Ethylal & Formaldehyde	++	++	++	++	++	++	++	+
Acetoacetal & Acetoaldehyde	—	—	—	—	—	—	—	—
Propioacetal & propioaldehyde	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>n</i> -butylacetal & <i>n</i> -butylaldehyde	—	—	—	—	+	+	—	—
Isobutylacetal & Isobutylaldehyde	—	—	+	—	+	++	+	—
Isovaleracetal & Isovaleraldehyde	—	+	+	+	++	++	+	—
Benzacetal & Benzaldehyde	—	—	+	—	++	++	—	—

Note, ++ : easily discriminable

+ : discriminable

— : hardly discriminable

本研究に對し終始御懇篤なる御指導御鞭撻を賜りつゝある東大住木諭介教授、坂口謹一郎教授、朝井勇宜教授に對し深甚の謝意を表する。又野田産研所長茂木正利氏、東大農化及び野田醤油株式會社内諸先輩より種々御指導御便宜を與えられ感謝に堪えない。又實驗に當り同室の瀧本清君の熱誠なる御協力を戴いた事に對し改めて御禮申し上げる。

(1) 日香年報, 5, 113 (1938)

H. F. TSEOU, T. S. CHOW: *J. Chin. Chem. Soc.* 5, 179(1937) C., II, 3352(1937)

Summary

A soy-flavor, $C_{10}H_{22}O_8$, reacts with phenolic substances, (phenol, pyrocatechol, resorcinol, pyrogallol, phloroglucinol, α, β -naphthol) and yields much of colored precipitates.

According to this reaction, the author estimated the sample as an acetal.

In order to examine the universality of this reaction, several acetals were tested. In consequence of this examination it has been known that:

(1) Some acetals can be mutually discriminated by phenolic substances.

(2) Some acetals can be distinguished from the corresponding aldehydes by means of this reaction.