糞灰 100 mg 当りの C. P. M./Cr₂O₃ は糞の採取時間によって異り、一定の傾向を示して変化したが、その原因は ³⁵S の β 線の吸収程度が、糞灰の組成によって異なることにあることを明らかにし、大腸内で Ba³⁵SO₄ と Cr₂O₃ が並行に移動することを確認した。

- (1) I. Yoshihara, M. Kandatsu : *Bull. Agr. Chem. Soc. Japan*, in press.
 (2) 神立 誠, 吉原一郎 : 生化学, 27, 541(1955).
 (3) 吉原一郎, 杉崎昭夫 : 本誌, 33, 27(1959).

- (4) 吉原一郎 : 本誌, 33, 138 (1959).
 (5) 神立 誠, 吉原一郎, 吉田 勉 : 日畜会報, 29, 365 (1959).

新 式 醬 油 に 関 す る 研 究 (第 4 報)*

揮 発 性 硫 黄 化 合 物 の 分 離, 確 認

上 野 喬 宏, 延 原 昭 男 (野田醬油株式会社試験所)

昭 和 35 年 2 月 24 日 受 理

前報⁽¹⁾に於て脱脂大豆の稀塩酸分解物中より数種のアルデヒドを分離確認したが同時に生成すると考えられる硫黄化合物に就ては未だ確認されていないので、脱脂大豆等の塩酸分解により生成する硫黄化合物の分離を行い、硫化水素、メチルメルカプタン、ジメチルサルファイド等の存在を確認したので報告する。

実 験

1. 揮 発 性 硫 黄 化 合 物 の 分 離 法 Dateo 等⁽²⁾がキャベツの加熱液汁より揮発性硫黄化合物の分離に用いた第 1 図の如き一連の吸収装置を用いた。

試料は第 1 報⁽³⁾記載の如く脱脂大豆を 6% 塩酸 3 倍量の割合で 90° 前後で約 46 時間分解しソーダ灰で中和、冷却後濾過した中和濾液を用いた。このものの一般液汁分析結果は第 1 報第 1 図以下の如くである。

第 1 図 揮 発 性 硫 黄 化 合 物 分 離 装 置

中和液 4 l を第 1 図の丸底フラスコに入れ窒素ガスを通し乍ら加熱し全体を吸引する。生成したガスは長さ 20 cm の冷却管を通り、塩化カルシウム及び酢酸鉛のトラップで硫化水素を捕捉する。メルカプタン、サルファイド類は捕捉されず⁽²⁾、次の 4% シアン化水銀水溶液のトラップ 2 本でメルカ

プタンを捕捉する。サルファイドは反応しない⁽⁴⁾。メルカプタンを除いたガスは次に 3% 塩化第二水銀水溶液のトラップ 3 本でサルファイドを捕捉する。試料の pH, 加熱温度、時間等の検討は次報に述べる事とし、以下の実験では pH 5 の試料を 100° に加熱し窒素ガスを 200 ml/分の割合で通気し、10 時間継続後各トラップの生成沈殿を取り物質の分離確認を行った。

2. 硫化水素の確認 試料を加熱通気を始めると直ちに酢酸鉛の上部が黒変する。この黒変部を取り出し稀硝酸を作用させると硫化水素の臭気が生じ、明かに硫化水素と反応して硫化鉛が生じた事を示す。

* Studies on Shinshiki Shoyu (Semi-Chemical Soy Sauce). Part IV. Isolation and Identification of the Volatile Sulfur Components.

By Takahiro UENO and Akio NOBUHARA (Noda Soy Sauce Co. Ltd.)

3. メチルメルカプタンの確認 通気約 30 分でシアン化水銀トラップに少量の白色沈澱が生成する。この沈澱を試験管にとり、3N 塩酸を加え加熱するとメルカプタン様臭気をする。この生成ガスを稀アルコース性苛性ソーダで捉え、ニトロプルシッドナトリウム溶液を滴下すると赤紫色を呈しメルカプタンの存在を示す。依て白色沈澱を酒精より再結し白色針状結晶を得た。このものの m. p. は $173\sim 174^\circ$ 。別に S-メチルイソチオ尿素の硫酸塩に苛性ソーダを作用させてメチルメルカプタンを合成し⁽⁵⁾、第 1 図の装置にかけシアン化水銀トラップに得られた白色沈澱を酒精より再結し m. p. $174\sim 175^\circ$ の白色針状結晶 $(\text{CH}_3\text{S})_2\text{Hg}$ を得、このものと混融すると $173\sim 174^\circ$ で m. p. の降下なく、又両者の赤外部吸収スペクトルも一致した。従ってシアン化水銀トラップに得られた沈澱はメチルメルカプタンの水銀塩である。

4. ジメチルサルファイドの確認 通気約 30 分で塩化第二水銀トラップに多量の白色沈澱が生成する。この沈澱に 6N-HCl を加えるとメルカプタン様臭気と共に強いアオノリ臭がする。メルカプタンは既に除いてあるからメルカプタン様臭気の生成によりジサルファイドの存在が推定される。又この沈澱を稀苛性ソーダ溶液で分解すると、黄色沈澱を生じアオノリ臭が生成する。即ち揮発性チオエーテルの存在を示す。

依ってこの白色沈澱に 3N-HCl を加え N_2 ガスを通し乍ら再び第 1 図の装置により加熱すると、酢酸鉛の上部が僅かに黒変し微量のトリサルファイドが存在していた事を示し、又シアン化水銀トラップに微量の白色沈澱が生成するが、これは微量のジサルファイドが存在し、之が HCl で分解されメルカプタンが生成した事を示している。沈澱生成量が微量の為如何なるメルカプタンであるか確認していない。然しメチルメルカプタンの存在が上記の如く確認され、このものは熱に不安定で酸化され易く容易にジサルファイドになる事を考えると、このジサルファイドはジメチルジサルファイドであろうと考えられる。次に塩化第二水銀トラップには多量の白色沈澱が生成しこれはモノサルファイドの昇汞複塩が 3N-HCl と加熱する事によりモノサルファイドを遊離し、再び塩化第二水銀トラップに沈澱したものと考えられる。この沈澱を稀苛性ソーダ溶液で分解し第 1 図の装置にかけると酢酸鉛、シアン化水銀トラップは変化なく塩化第二水銀トラップに再び沈澱を生成する。この沈澱をメタノールより再結し m. p. $154\sim 155^\circ$ の白色板状結晶が得られた。別に合成したメチルクロライド⁽⁶⁾と酒精性苛性カリ、硫化水素よりジメチルサルファイドを合成し⁽⁶⁾第 1 図の装置にかけ生成した昇汞複塩をメタノールより再結し m. p. $154\sim 155^\circ$ の白色板状結晶 $2(\text{CH}_3)_2\text{S}\cdot 3\text{HgCl}_2$ を得、このものと混融すると $154\sim 155^\circ$ で融点の降下なく、両者の赤外部吸収スペクトルも一致した (第 2 図)。

以上の如く塩化第二水銀トラップに生成した多量の沈澱は大部分がジメチルサルファイドでその他に微量のジ及びトリサルファイドが存在する。

5. アミノ酸醬油中の揮発性硫黄化合物 市販一号アミノ酸液 (直分解, NaCl 19.40%, TN 2.21%, pH 4.9) に就て上記新式中和液の場合と全く同様に第 1 図の装置にかけると酢酸鉛トラップが黒変し硫化水素の存在を示し、シアン化水銀トラップに少量の白色沈澱を生成しメルカプタンの存在を示す。塩化第二水銀トラップ

第 2 図 ジメチルサルファイド昇汞複塩の赤外部吸収スペクトル

— 試 料 ジメチルサルファイド昇汞複塩

には多量の白色沈澱を生ず。この白色沈澱を 3N-HCl で同様に処理すると酢酸鉛が僅かに黒変しシアン化水銀トラップに微量の白色沈澱を生じ及びトリサルファイドが微量存在する事を示している。塩化第二水銀トラップには多量の白色沈澱を生成する。この沈澱をメタノールより再結すると m. p. 152° の白色板状結晶が得られ、ジメチルサルファイドの昇汞複塩と混融すると 154° で m. p. の降下なく、サルファイドの主成分はジメチルサルファイドである。

市販二号アミノ酸液（グルタミン酸廃液, NaCl 18.05%, T.N. 2.43%, pH 5.2）に就て同様に処理すると酢酸鉛が多量に黒変し硫化水素の存在を示し、シアン化水銀トラップに微量の白色沈澱を生成しメルカプタンの存在を示し、塩化第二水銀トラップには多量の白色沈澱を生成する。この沈澱を 3N-HCl で同様に処理すると酢酸鉛、シアン化水銀トラップに変化なく塩化第二水銀トラップに多量の白色沈澱を生成する。之をメタノールより再結すると m. p. 153° の白色板状結晶が得られ、ジメチルサルファイドの昇汞複塩と混融すると 153° で m. p. の降下なくこのサルファイドはジメチルサルファイドである。

考 察

田口等⁽⁷⁾は醤油に γ 線を照射し、小幡等⁽⁸⁾はビール日光臭としてメルカプタンの存在を指摘し、山本等⁽⁹⁾は紅茶の水蒸気蒸溜によりメルカプタン、サルファイド類の存在を指摘している。又小幡等⁽¹⁰⁾、Challenger 等⁽¹¹⁾は海藻から、Patton 等⁽¹²⁾は milk よりジメチルサルファイドを分離し、Day 等⁽¹³⁾は skim milk に γ 線を照射しジメチルサルファイドを得ている。辻村等⁽¹⁴⁾は緑茶に熱湯を注ぎ硫化水素、ジメチルサルファイドが生成する事を述べている。一般に之等揮発性硫黄化合物の混合物を夫々単離する事は繁雑であるが Dateo 等⁽²⁾がキャベツの加熱液汁より硫化水素、ジメチルジサルファイドの分離に用いた吸収装置により之等の分離が簡単に出来る。本法により脱脂大豆の塩酸分解物より硫化水素、メチルメルカプタン、ジメチルサルファイドが分離確認された。アミノ酸醤油に往々にして海苔の佃煮臭の強いものがあるが、これはジメチルサルファイドが生成している為である。横塚⁽¹⁵⁾は醤油粕の水蒸気蒸溜に際し低沸点部にメルカプタンの生成を指摘し、これらがメルカプタールとして存在する事を述べている。

新式醤油に於てもアルデヒド類の存在は既報⁽¹⁾の如く確認されているので、メルカプタールの生成が考えられる。小幡等⁽¹⁶⁾はメチルメルカプタンとアルデヒドの反応生成物に就て半メルカプタールの場合、アセトアルデヒドでは漬物臭、イソバレルアルデヒドでは醤油臭に近い漬物臭、フルフラールでは甘味ある青くさい漬物臭であり、メルカプタールの場合も大体漬物臭であるが、フルフラールはソース類似香であると述べている。

第 1 図の各トラップの間に水のトラップを置きその香気を検すると硫化水素、メルカプタン、サルファイドと除去された硫黄化合物が多くなる程不快な分解臭が減少しすっきりした香気となる。同様に 2,4-ジニトロフェニルヒドラジン塩酸溶液、苛性ソーダ水溶液等のトラップを通してカルボニル化合物や酸を除くと夫々の場合の香気は異なるが何れも不快臭が減少する。従ってこれら各種成分の総合されたものがいわゆる分解臭と言われるもので、硫黄化合物としてはやはりジメチルサルファイドが特徴的成分をなすものである。

要 約

新式中和液、アミノ酸醤油等の脱脂大豆塩酸分解中和液を窒素ガス通気、加熱吸引して生成する揮発性硫黄化合物を塩化カルシウム、酢酸鉛、シアン化水銀水溶液、塩化第二水銀水溶液の各トラップを順次通過せしめ、硫化水素、メチルメルカプタン、ジメチルサルファイドを分離確認し、ジメチルジサルファイドの存在を推定した。これらはいわゆる分解臭の一特徴的成分をなすものである。

終りに臨み、終始御懇篤なる御指導、御鞭撻を賜った本社の仲谷一二取締役、技術部長茂木正利博士、試験所長横塚保博士に厚く御礼申上げると共に、赤外部吸収スペクトルの測定をお願いした東大農芸化学教室の方々へ感謝の意を表する次第である。又本研究の発表を許可された野田醤油株式会社に対し深謝する次第である。

（本報告の要は昭和 34 年 7 月 18 日、日本農芸化学会関東支部例会に於て発表した。）

(1) 上野 喬 宏, 延原 昭 男 : 本誌, 34, 223, 229 (1960).

(2) G. P. Dateo et al. : *Food Research*, 22, 440 (1957).

(3) 上野 喬 宏, 倉持 平 : 本誌, 34, 187 (1960).

(4) W. Segal, R. L. Starkey : *Anal. Chem.*, 25, 1645 (1953).

(5) 山田 桂 輔 : 有機合成化学ハンドブック (興学館), p. 364 (1958).

(6) 山田 桂 輔 : 有機合成化学ハンドブック (興

- 学館), p.161, 279 (1958).
- (7) 田口久治, 寺本四郎外: 醸工, 36, 519(1958).
- (8) 小幡弥太郎, 堀津浩章: 本誌, 32, 615(1958).
- (9) 山本 亮, 陳 亮 清, 伊藤 謙: 本誌, 16, 791 (1940).
- (10) 小幡弥太郎, 五十嵐久尙, 俣野景典: 日水誌, 17, 60 (1952).
- (11) F. Challenger et al.: Arch. Biochem. Biophys., 69, 514 (1957).
- (12) S. Patton, D. A. Forss, E. A. Day: J. Dairy Sci., 39, 1469 (1954).
- (13) E. A. Day, D. A. Forss, S. Patton: J. Dairy Sci., 40, 932 (1957).
- (14) 辻村みちよ, 山西 貞外: 本誌, 29, 145(1955).
- (15) 横塚 保: 本誌, 27, 359 (1953).
- (16) 小幡弥太郎, 山西 貞: 本誌, 24, 334(1951).

新式醬油に関する研究 (第5報)*

揮発性硫黄化合物の生成条件

上野 喬 宏, 延原 昭 男 (野田醬油株式会社試験所)

昭和 35 年 2 月 24 日 受 理

前報⁽¹⁾に於て脱脂大豆を塩酸で分解中和した中和液より生成する揮発性硫黄化合物 (以下 V. S. C. と略す) として硫化水素, メチルメルカプタン, ジメチルサルファイドを分離確認したが, 本報では V. S. C. 分離時に於ける加熱温度, 時間, 試料の種類, pH 等が V. S. C. 生成に対し如何なる影響を与えるかを検討したので報告する。

実 験

1. 揮発性硫黄化合物 (V. S. C.) 定量法 前報⁽¹⁾第 1 図に示した一連の吸接管により V. S. C. の分離を行い, 得られた各トラップの反応生成物を次の如く処理して生成量を測定した。

1) ジメチルサルファイド: 塩化第二水銀トラップの白色沈澱はモノサルファイドが大部分で他は微量であるので, 生成した白色沈澱の重量を測定し $2(\text{CH}_3)_2\text{S} \cdot 3\text{HgCl}_2$ としてジメチルモノサルファイド量を算出した。Segal 等⁽²⁾はベンゼンに吸収させモノ及びジサルファイドの分離定量を行っているが, 今の場合硫化水素, メルカプタンと同時に分離定量するにはサルファイドの生成量が非常に多く, 完全にベンゼンに吸収さす事は困難であるので重量法の便法を用いた。

2) メチルメルカプタン: シアン化水銀トラップに生成する白色沈澱の重量より $(\text{CH}_3\text{S}) \cdot \text{Hg}$ として算出してもよいが, 生成量が微量であるので, シアン化水銀とメルカプタンが反応して生成する HCN を滴定法により測定して算出する方法⁽²⁾を用いた。即ち沈澱の濾液, 洗液を合し一定量を取り 0.3 N $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ と 4 N HNO_3 を加え鉄明ばんを指示薬として 0.1 N $\text{NH}_4\text{S} \cdot \text{CN}$ で滴定する。

3) 硫化水素: 酢酸鉛と反応して生成した PbS 重量より算出した。

2. 加熱温度の影響 前報第 1 図の装置を用い一号アミノ酸醬油 3 l を試料とし, 試料の加熱温度 70°, 85°, 100° で N_2 ガスを 650 ml/分の割合で通気し 10 時間加熱吸引した。1 l 当りの硫化水素, メチルメルカプタン, ジメチルサルファイドの生成量を測定した結果は第 1 図の如くである。

即ち V. S. C. は温度の上昇と共に急激に生成する。85°, 10 時間に於ける生成量は第 1 図より硫化水素 1.1 p. p. m., メチルメルカプタン 1.4 p. p. m., ジメチルサルファイド 0.3 p. p. m. の如

第 1 図 加熱温度の影響

○—○ $(\text{CH}_3)_2\text{S}$ △—△ CH_3SH
▲—▲ H_2S

* Studies on Shinshiki Shoyu (Semi-Chemical Soy Sauce). Part V. Some Factors Affecting the Occurrence of Volatile Sulfur Compounds.

By Takahiro UENO and Akio NOBUHARA (Noda Soy Sauce Co. Ltd.)