る必要があるが、この点については未解明で今後に残された問題である。

要 約

黄色種タバコ (var. Bright Yellow) を供試し、熟度の異なる葉の乾燥経過について、葉組織の呼吸能、葉汁液の酸素吸収力、ポリフェノールオキシダーゼの活性、およびアスコルビン酸などの変化を調べた。いずれの場合にも、乾燥室の室温 55° 以上の高温時の葉組織は緩衝液中で酸素過剰吸収なる現象が現われる。ポリフェノールオキシダーゼの活性は室温 40~50° の時期に高く、室温 55° 以上では急速に減少する。老熟葉では乾燥後期のポリフェノールオキシダーゼの活性、および葉汁液の酸素吸収の減少が著しい。また、乾燥によって比較的鮮黄色になりやすいところの未熟葉は還元型アスコルビン酸の含量が高い。

終りに臨み、終始御指導御鞭撻を賜わった石戸谷賢慥前場長に対し、また御懇篤な御指導を仰いだ名古屋大学 瓜谷郁三先生に深く感謝の意を表します。また、クロロゲン酸を供与された日本専売公社中央研究所飯田正直氏に厚く謝意を表します。なお、本報告の一部は 1957 年 11 月 16 日、日本農芸化学会中部支部研究発表会において発表した。

(1) M. Shiroya, T. Shiroya, S. Hattori: <i>Physiol. Plantarum</i> , 8, 594 (1955).	151 (1958).
(2) 松山 晋, 石戸谷賢慥: 本誌, 34, 662 (1960).	(8) J. D. Ponting, M. A. Joslyn: <i>Arch. Biochem.</i> , 19, 47 (1948).
(3) 東大農芸化学教室編: 実験農芸化学, p. 134 (1952).	(9) A. Fujita, T. Ebihara: <i>Biochem. Z.</i> , 290, 201 (1937); <i>C. A.</i> , 31, 5394 (1937).
(4) A. Wenusch: <i>Z. Untersuch. Lebensm.</i> , 85, 346 (1943).	(10) 中村恵美子: ビタミン, 8, 424 (1955).
(5) E. A. H. Roberts: <i>Adv. in Enzymology</i> , 2, 113 (1942).	(11) 林 淳三, 沢 重孝, 藤野和昭, 岩本喜一: 同上, 8, 224 (1955).
(6) W. G. Frankenburg: <i>ibid.</i> , 6, 375 (1946).	(12) 瓜谷郁三, 家近恵子: 本誌, 27, 688 (1953).
(7) I. Zelitch, M. Zucker: <i>Plant Physiol.</i> , 33, 8, 358 (1955).	(13) M. Shiroya, S. Hattori: <i>Physiol. Plantarum</i> , 8, 358 (1955).

〔農化 第 35 卷, 第 5 号, p. 412~415, 1961〕

大豆製品の褐変機構に関する研究 (第 1 報)*

醬油, 味噌より 3-デオキシグルコソンの分離, 確認

加藤博通, 山田靖宙, 井坂健一, 桜井芳人 (東京大学農学部農芸化学科)

昭和 35 年 9 月 19 日 受理

緒 言

大豆を原料に用いる製品には醬油, 味噌のごとく褐変現象の著しいものがあり, その原因としてアミノ-カルボニル反応が関与していることは衆知の通りである。著者の一人加藤は先に還元糖とアミノ化合物を用いた単純系による反応の研究において, フルフラール類が全く生成しない条件下でも著しく褐変する場合があります, その際着色の中間生成物として新カルボニル化合物 3-deoxy-osone 類の存在することを証明した⁽¹⁾。そこで我々は上記と同様の反応が起っていると推測される醬油, 味噌について 3-deoxy-osone 類の検索を行ったところ, 3-デオキシグルコソンをその bis-2, 4-dinitrophenylhydrazones (I) として分離, 同定することができたのでその結果を報告する。

実 験 方 法

(1) 試料 市販醬油 (濃口, 淡口, 溜), 純天然醸造生醬油, アミノ酸醬油,

* Studies on Browning Mechanisms of Soybean Products. Part I. Separation and Identification of 3-Deoxyglucosone Occurring in Soy-sauce and Miso.

By Hiromichi KATO, Yasuhiro YAMADA, Kenich'i IZAKA and Yosito SAKURAI (Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, University of Tokyo)

醤油麴, 温醸による醤油諸味搾汁, 市販味噌 (仙台, 信州, 白) を試料として用いた。

(2) 試料の前処理 液体試料の場合には 250ml をとり, ソックスレーの液体抽出器で 48 時間以上エーテル抽出を行う。3-deoxyosone 類は殆どエーテルに抽出されずに残留する。レブリン酸を殆ど含有していない試料ではエーテル抽出を行う必要はない。味噌や醤油麴等固形試料の場合には 200g をとり, よくすりつぶしたのち, 700ml の水で混合してから直ちに同量の 99% エタノールを加えて遠沈し, 上澄液をとる。

(3) 3-デオキシグルコソン (3-D-G) の検出方法 上記の前処理試料液に 2, 4-ジニトロフェニルヒドラジン (2, 4-DPH) 試薬⁽²⁾ (2, 4-DPH 2.0g, 濃硫酸 10ml, 水 15ml, 95% エタノール 50ml) を加え, 室温に 2 時間放置したのち, 生成したヒドラゾンを酢酸エチルで抽出する。この酢酸エチル層を 2N 塩酸ついで水で充分洗滌し, 無水芒硝で乾燥後ろ過する。ろ液を減圧下に蒸発乾固しデシケーター中で乾燥する。ここに得られるヒドラゾン粉末を酢酸エチルに溶解して吸着クロマトグラフィーを行う。吸着剤としてはアルミナ (メルク) を 2N 硫酸中に一夜浸漬したのち, 吸引ろ過し水で洗液が中性になるまで洗滌し, 105° の空気浴中で一昼夜乾燥したもの (以下酸性アルミナと呼ぶ) を用いる。この酸性アルミナ 40g を酢酸エチル中に懸濁して充填したカラムに上記のヒドラゾン粉末の酢酸エチル溶液を流下せしめる。流下後カラムを酢酸エチルついで酢酸エチルと 99% エタノールの混液 (容量比 19:1) で順次洗滌する。つぎに吸着部分を酢酸エチルと 99% エタノールの混液 (容量比 7:3) で溶出する。流下液の着色が極めて薄くなるまで溶出を続けたのち, 溶出液を合せて減圧濃縮する。この時 3-D-G の bis-2, 4-dinitrophenylhydrazone (I) が橙色針状結晶として析出してくる。これをろ過し, 99% エタノールで洗滌, 乾燥する。分解点 252°。この結晶を赤外線吸収スペクトルにより同定する。

実験結果並びに考察

(1) 3-Deoxy-glucosone bis-2, 4-dinitrophenylhydrazone (3-D-G-2, 4-DPH) の赤外線吸収スペクトル 先に加藤⁽¹⁾がグルコースとアミノ化合物による褐変反応液から単離した 3-D-G-2, 4-DPH は酢酸エチルを 1 分子付加した結晶 ($C_{18}H_{18}N_8O_{11} \cdot CH_3COOC_2H_5$, 分解点 252°) として得られたが, これを 100° で真空乾燥して酢酸エチルを除去したものの赤外線吸収スペクトルは第 1 図 (A) ($C_{18}H_{18}N_8O_{11}$, 分解点 252°) である。しかるに本報告で醤油, 味噌から得られた結晶は分解点は 252° で上記の結晶 (A) と同一であるが, 赤外線吸収スペクトルは第 1 図 (C) であり, (A) とはかなり相違している。また結晶 (C) は 100° で真空乾燥しても殆んど全く減量を示さないで結晶溶媒を含んでいない。

第 1 図 3-D-G-2, 4-DPH の赤外線吸収スペクトル (Nujol 法)

- (A) グルコースとα-ブチルアミンによる褐変反応液から単離した結晶を 100° で真空乾燥したもの⁽¹⁾。
 (B) (A) を酢酸エチルとエタノールの混液から再結晶したもの。
 (C) 醤油から単離した結晶。

元素分析結果は, $C_{18}H_{18}N_8O_{11}$ としての計算値: C 41.38, H 3.47, N 21.45%; 分析値: C 40.51, H 3.53%, N 21.19%. そこで (A) と (C) の関係について検討を行った. 結晶 (A) をエタノールと酢酸エチルの混液 (容量比 3:7) に溶解したのち減圧濃縮すると第 1 図の結晶 (B) が得られ (C) と全く一致した. 一方結晶 (C) を酢酸エチルに溶解して氷室中で晶出せしめると, 結晶 (A) の酢酸エチル付加物の結晶が得られた. 以上の事実から (A) と (C) とは結晶構造は異なるが相互に転換し得る同一物質であることが判明した. すなわち醤油, 味噌から得られた (C) は 3-D-G-2,4-DPH であることを確認した.

(2) 各種の醤油, 味噌における 3-D-G の存在量 実験方法 (3) に述べた 3-D-G の検出方法は純粋な結晶を単離する方法であるため, 定量法としては勿論適用し得ないが, 相対的な存在量を比較するには充分であると考えられる. 結晶として単離された 3-D-G-2,4-DPH の mg 数から換算して 3-D-G の存在量を mg% で表

第 1 表 各種の試料より分離, 確認した 3-D-G の mg% と試料の着色度

試料	採取量	3-D-G-2,4-DPH mg	3-D-G mg%	着色度 ($-\log T \times$ 希釈倍率)		
				400m μ	490m μ	600m μ
味噌	市販 A (仙台)	200 g	265	41	7.0*	2.3*
	" B (信州)	"	73	11	0.47*	0.16*
	" C (白)	"	67	10	0.42*	0.13*
	" D (濃口)	"	29	3	33.4	11.9
醤油	市販 A (濃口)	250ml	74	8	34.8	12.1
	" B (濃口)	"	30	3	10.1	3.11
	" C (淡口)	"	176	17	206	55.8
	" D (溜)	"	127	13	38.3	12.9
油	天然醸造生醤油	"	0	0	14.4	4.0
	アミノ酸醤油	"	0	0	14.4	4.0

* 100g を水 350ml で浸出したる液.

第 2 表 醤油の各醸造工程における 3-D-G の消長と着色度

試料*	採取量	3-D-G-2,4-DPH mg	3-D-G mg%	着色度 ($-\log T \times$ 希釈倍率)		
				400m μ	490m μ	600m μ
1. 製麹 3 日の出麹	200g	0	0	3.99***	1.39***	0.56***
2. 仕込後 3 日の諸味搾汁	250ml	8	0.9	4.74	1.70	0.66
3. " 6 日 "	"	31	3.2	7.35	3.0	1.50
4. ** " 10 日 "	"	92	10	7.16	2.25	0.68
5. ** " 33 日 "	"	134	14	14.7	4.42	1.02
6. ** 熟成 4 か月で搾った生醤油	"	196	20	20.1	6.3	2.2

* 4 か月で搾る温醸醤油.

** 同一 batch のものではない.

*** 50g を 18% 食塩水 75 ml で浸出したる液.

であろう. 以上の 3-D-G の存在量を醤油褐変の一原因と考えられているフルフラール^(3,4) の存在量と比較すると, 大亦等の報告⁽³⁾によるとフルフラール量は 0.2~0.7mg% であるから, 3-D-G は相当多量に存在するわけである.

(3) 醤油の醸造工程における 3-D-G の消長 熟成期間 4 か月で搾る温醸醤油を試料として用い, 各工程および熟成期間における 3-D-G の消長を調べた結果は次の通りである. 製麹 3 月の出麹では全く検出されなかったが, 仕込後 3 日経過すると 3-D-G は 0.9mg% 現われ, 以後次第に増加の一途をたどり 4 か月で搾った生醤油では 20mg% に達した.

(4) 3-D-G の存在量と着色度との関係 上述の 3-D-G の存在量と着色度との関係を見ると, 味噌 3 種においては色の濃いもの程多量の 3-D-G が存在する結果が出ている. また醤油においてもアミノ酸醤油を除いては着色の強いものに 3-D-G が多い. ただし新式 2 号醤油を含有すると思われる市販濃口醤油 1 種は 3-D-G が 3mg% で他の市販濃口醤油 1 種の 8mg% に比して低い. つぎに醤油の熟成中の消長であるが, 3-D-G は増加の一途をたどっており, 単に蓄積しているのみであるか, それとも着色濃化のために消費されているのか, その点が判明しないが, 次報で検討したい. ただ出麹では 3-D-G は検出されないで製麹中の褐変⁽⁵⁾には関係していない.

(5) 3-デオキシキシロソン (3-D-X) の検索 以上が 3-D-G についてであるが, 著者等は大豆を原料と

わすと, 味噌の場合では, 濃色の仙台味噌が 41mg%, 色の極く薄い白味噌で 10mg% 存在している. 醤油の場合では, 市販濃口醤油で 8mg%, 淡口醤油で 3mg%, 市販の溜醤油は 17mg% 存在している. また約 10 か月経過した純天然醸造の生醤油には 13mg% 存在し, アミノ酸醤油ではその製造条件から予想される通り, 3-D-G は存在しない.

以上のような結果が得られたがこれらの存在量は純粋な結晶として単離した量であるから, 実際にはこれより多量存在していると考えらるべき

している醤油, 味噌にはペントースがかなり存在しているので⁽⁶⁻⁸⁾ 3-D-X も存在しているのではないかと予想し, 前述の各試料につき 3-D-X の検索を行った. 検出方法は加藤⁽¹⁾がキシロースとアミノ化合物による褐変反応液から 3-D-X を bis-2,4-dinitrophenylhydrazone (3-D-X-2,4-DPH) として単離した方法に基いて行った. しかしその結果はいずれも結晶を単離するには至らなかった. したがって 3-D-X は全く存在しないとは言えないが, 存在したとしても少量であると考えられる. 3-D-X-2,4-DPH の結晶が単離できないもう一つの理由として, 大豆には L-アラビノースと D-キシロースが共存しており⁽⁶⁾, この両者から生成する 3-deoxy-osone はそれぞれ 3-deoxy-L-xylosone(II) と 3-deoxy-D-xylosone(III) であり, そのためにラセミ体が混在してくるので結晶化が困難になると考えられる.

(1) 各種の味噌ならびにアミノ酸醤油を除く各種の醤油から 3-デオキシグルコソンを bis-2,4-dinitrophenylhydrazone として単離, 確認した.

(2) 3-デオキシグルコソンの存在量はかなり多く, 味噌では 10~41mg%, 醤油では 3~20mg% であることを示した.

(3) 3-デオキシグルコソンは醤油麹の製麹中には生成しないが, 仕込後間もなく現われ, 熟成経過とともに増加する.

終りに臨み, 本研究で用いた市販品以外の試料を提供して下さった日本醸造工業株式会社梅野豊明氏に御礼申し上げます. (本報告の要旨は昭和 35 年 4 月 7 日, 日本農芸化学会大会において講演した.)

(1) H. Kato : <i>Bull. Agr. Chem. Soc. Japan</i> , 24, 1 (1960).	(5) 大亦正次郎, 上野照雄, 中川 泰 : 本誌, 31, 822 (1957).
(2) R. L. Shriner, R. C. Fuson : <i>The Systematic Identification of Organic Compounds</i> , p. 171 (1948).	(6) S. Kawamura, T. Kobayashi, M. Osima, M. Mino : <i>Bull. Agr. Chem. Soc. Japan</i> , 19, 69 (1955).
(3) 大亦正次郎, 上野照雄, 中川 泰 : 本誌, 29, 215 (1955).	(7) 吉野 宏 : 醸協, 46, 105 (1951).
(4) 横塚 保, 滝本 清 : 本誌, 30, 66 (1956).	(8) 本間伸夫, 明田川太七郎 : 醸工, 33, 517 (1955).

[農化 第 35 卷, 第 5 号, p. 415~418, 1961]

γ 線照射栗果糖分の貯蔵中の変化*

奈良 省 三 (三重大学農学部農芸化学科)

昭和 35 年 10 月 8 日 受理

1. 緒 言

栗果加工においては, 他の加工原料と同じように栗果をできるだけ良好な状態で, 長く貯蔵することが重要である. 一般に収穫された栗果はシキゾウムシやクリミガなどの被害を防ぐために, 二硫化炭素などで殺虫を行なった後貯蔵する^(1,2). 栗果の貯蔵に関しては, 松本⁽¹⁾, 青木ら⁽³⁾および黒上ら⁽⁴⁻⁶⁾の研究があるが, 貯蔵中における成分の変化については明らかにされていない. 栗果は湿潤な鋸屑中などに貯蔵されるものであるが, 発芽 (まず根を出し, 根が充分に伸長すると発芽する. 以後単に発芽と記す) のために室温では 2 月以降の貯蔵は困

* Changes of Sugar Contents in Gamma Irradiated and Stored Chestnuts.

By Shozo NARA (Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, Mie University)