〔農化 第 35 卷, 第 9 号, p.824~826, 1961〕

清酒香気成分に関する研究 (第6報)*

p-オキシ桂皮酸の分離, 同定

山 本 淳 (協和醸酵工業株式会社熊本工場研究室)

昭和 35 年 11 月 24 日 受 理

緒 論

前に活性炭脱着揮発性オキシ酸区分よりフェルラ酸, バニリン酸の存在を証明⁽¹⁾し, これら遊離酸, もしくはエチルエステルが共に清酒香味の一因となっていることを指摘したが, 今回は Hq-F 脱着揮発性区分減圧割温蒸溜溜出区分より単離した不明フェノール酸の一つが, その融点, 元素分析, 赤外吸収スペクトル (IR), ペーパークロマトグラフィー (PC) 等の結果より, *p*-オキシ桂皮酸であることが証明できた。

なお *p*-オキシ桂皮酸およびそのエチルエステルは共に香りは殆んど感じられず, 合成酒等に添加しても香, 味共に効果は認められないが, チロシンの代謝により生成したと考えられる同酸を清酒中より結晶分離, 確実に証明したのは新しい知見である。

実 験 の 部

1. 不明フェノール酸の検出および単離 Hq-F 脱着揮発性区分割温蒸溜 No. 5 [100~115°/2 mm (Bath)] を冷蔵庫中 0~2° で放置すると, 美麗な針状結晶を析出する。これを濾別, その IR を検した結果, フェノール酸を主とする混合物と推定されたが, 得られた試料が極く少量にすぎず, さらに試料を得て同区分の組成を明らかにする目的で, 減圧割温蒸溜で得た No. 3

以上の高沸点溜分 (67.5~150° (Bath)/2 mm) を再び合し, 予め 25% NaHSO₃ でカルボニル化合物を除いたのち, 1% KOH 水溶液で繰返し抽出, 抽出液はこれを合し, 約 1/10 量まで減圧濃縮, 残渣に 30% H₂SO₄ を注意深く滴加して微酸性となし, エーテルで反覆抽出, 抽出エーテル液はこれを合し, 芒硝で脱水後, エーテルを溜去して揮発性の酸性区分 0.1 g を得た。

このような操作の過程では遊離カルボン酸類と共にフェノール性化合物, フェノール酸エステル類等も抽出試料中に混入する恐れがあるので, 抽出酸性区分 0.1 g に 3% KOH-メタノール 10 ml を加え 4 時間還流, 加水分解を行ったのち, 常法に従い NaHCO₃ 飽和水で処理して水解生成酸のみを完全に分離した。このようにして得た遊離酸区分を PC で検した結果は第 1 図 (a) に示す如くで, *R_F* 0.45, 0.36, 0.22, 0.03 にそれぞれオキシ酸発色が認められ, これら各々を分別する必要が明らかである。

第 1 図 Hq-F 減圧分溜 67.5~150° (Bath)/2 mm 抽出酸性区分の PC

東洋濾紙 No. 50, 1.5 N-NH₃ 飽和 *n*-ブタノール, 1 夜上昇展開

発色: 2537 Å Chemilight 照射, 1% フェノール-5% FeCl₃

a: Hq-F 溜出合併試料抽出酸性区分水解生成酸

a の水解生成酸をエステル化し,

b: エステル化未反応酸 c: 中性エステル水解生成酸

d: KOH 抽出フェノールカルボン酸エステル水解生成酸

* The Flavors of Saké. Part VI. Separation and Identification of *p*-Oxycinnamic Acid.
By Atsushi YAMAMOTO (Kumamoto Research Laboratory, Kyowa Hakkō Kōgyō Co., Ltd.)

このうち R_F 0.45 の最も多量に存在する部分は、その R_F 、紫外燈照射により顕著な螢光を發し、1% フェノール-5% FeCl_3 のオキシ酸発色紫色等よりサリチル酸と断定できるので、これを除くため得られた生成酸を常法に従いエステル化したのち未反応酸を除き、生成エステルはエーテルに溶解、少量の 1% KOH と数回振盪してフェノール酸エステルと中性エステル区分に分ったのち、各々 3% KOH -メタノール 1 ml と 2 時間還流して加水分解、水解生成酸を PC にて検した結果は第 1 図 (b), (c), (d) に示す如くで、目的とする未知酸成分と混在サリチル酸をかなり分別すると共に (c) の中性カルボン酸と (d) のフェノール酸区分を完全に分つことができた。

このようにして得た (d) 区分、すなわち少量のサリチル酸と不明フェノール酸試料 B, C の 2 種類を含む約 0.05 g を東洋濾紙 No. 50 上帯状に附し、1.5 N- NH_3 飽和 n -ブタノールで 1 夜展開、分別したのち所定の R_F に従い各々相当するバンドを切抜き、細切後 2% Na_2CO_3 水溶液で繰返し抽出、抽出液はこれを合し減圧濃縮、内容物が殆んど乾固したのち注意深く 30% H_2SO_4 を滴加して微酸性となし、エーテルで反覆抽出してフェノール酸区分試料 B 約 0.02 g を得た。

第 1 表 試料 B および p -オキシ桂皮酸の PC

		試料 B
		CH=CHCOOH	
紫外燈写真焼付	0.25	0.25	
B. P. B.	0.24	0.25	
	冊	冊	
5% $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ -	0.25	0.25	
0.1% 赤血塩	藍色	藍色	
	冊	冊	
1% フェノール-	0.25	0.25	
5% FeCl_3	橙褐色	橙褐色	
	冊	冊	
東洋濾紙 No. 50, 1.5 N- NH_3 飽和 n -ブタノール, 1 夜上昇展開			

第 2 表 試料 B の融点および元素分析の結果

融 点	211.5° (分解)	
	計 算 値	実 測 値
元素分析 {	65.85%	65.52%
	4.91	5.001

2. 試料 B の同定 このようにして得た試料 B の粗結晶は、濾紙抽出によりリグニン物質等の不純物を含むおそれがある故に、常法に従い再びエステル化、生成エステルを多量のエーテルに溶解、重曹飽和水で振ると大部分の着色物質およびごく微量混入したサリチル酸が水層に移行する。ついでエステルを再び加水分解、生成フェノール酸結晶を熱水より 1 回再結晶して精製結晶約 0.01 g を得た。

まず試料 B 精製結晶を島津製 IR 型自記赤外分光光度計で KRS 5 セル板に流動パラフィンと共に薄膜状に挟んで検した IR の結果、3289 cm^{-1} に鋭い会合型 $-\text{OH}$; 1678 cm^{-1} の $-\text{C}=\text{O}$; 1639, 980, 832 cm^{-1} の $\text{C}=\text{C}$; 1613, 1517 cm^{-1} のベンゼン核; 1335, 1318, 1217 cm^{-1} のフェノール性 $-\text{OH}$; 1427, 1247 cm^{-1} のカルボン酸 2 量体の面内 $-\text{OH}$ 振動; 937, 917 cm^{-1} の同面外振動; 1176, 1106, 1013 cm^{-1} の p -置換; 836, 799 cm^{-1} のベンゼン核隣接 2 H の吸収等より p -オキシ不飽和カルボン酸が推定できた。この推定に基づいて行った PC の結果は第 1 表に示す如くで、 R_F 、紫外燈吸収、オキシ酸発色、フェノール発色等すべての点で同時

第 2 図 試料 B の IR による同定
— 試料 B p -オキシ桂皮酸

に行った *p*-オキシ桂皮酸と完全に一致した。

この結果に基づいて Vorsatz ら⁽²⁾の方法に従い *p*-オキシベンツアルデヒドとマロン酸より合成した *p*-オキシ桂皮酸の IR と前の試料 B 精製結晶の IR を比較した結果は第 2 図に示す如くで、両者細部にいたるまで完全に一致し前の PC の結果を確認できた。

さらに試料 B の精製結晶の m. p. および元素分析の結果は第 2 表に示す如くで、理論値との一致は満足すべきもので、合成品と混融して m. p. 213° (分解), 融点降下を示さず、試料 B 精製結晶が *p*-オキシ桂皮酸であることが完全に証明できた。

結 果 お よ び 考 察

上述の如く Hq-F 脱着揮発性減圧分溜 No. 3~No. 7 までは再び合し、25% NaHSO₃ で処理してカルボニル化合物を除いたのち 1% KOH で抽出した酸性区分より新たに *p*-オキシ桂皮酸を分離、証明したが、同酸はバクテリアによるチロシン代謝生産物として平井⁽³⁾が報告している。しかし醸造物中より分離、同定したのは全く新規の事実である。

p-オキシ桂皮酸および同酸エチルエステルを合成酒に添加しても香味共効果は全く認められなかったが、同酸の確認によりフェニアラニンの代謝生産物として桂皮酸の存在が推定できる。桂皮酸エチルは松茸香氣成分の一つとして顕著な芳香、特に微量で微香を感じるもので、目下その検索を行っている。

本報告は昭和 35 年 11 月、本会西日本支部例会で発表した。元素分析を依頼した熊大薬学部野々村教授に感謝致します。以上一連の研究の発表を快く許可下された協和醸酵工業株式会社加藤社長および役員室の諸氏に感謝すると共に、これらの研究は多量の清酒を快く供与下さった旧日本酒類株式会社平山副社長はじめ役員室の諸氏、小林研究部長の御厚意に負うもので、研究に際し種々助言戴いた猿野研究課長、また研究を行うに際し終始実験に協力戴いた佐々木喜代、別府政久両氏等、皆様に厚く感謝致します。

(1) 山本 淳：本誌，35，715 (1961)。

(1936)。

(2) Vorsatz：J. Prakt. Chem., (2), 145, 265

(3) K. Hirai：Biochem. Z., 114, 71 (1921)。

〔農化 第 35 卷，第 9 号，p. 826~831，1961〕

甘藷デンプンの汚染機構に関する研究 (第 4 報)*

ポリフェノール，オキシダーゼ，アスコルビン酸及び
アミノ酸の添加によるデンプン白度の変化

山村 頌，河野 利治 (鹿児島県農業試験場)

昭和 35 年 12 月 16 日 受 理

緒 論

われわれは前報^(1,2,8)までに甘藷の各フラクション或いは品種について試験を行い、糖、樹脂、チッ素化合物及び灰分等はデンプン白度に影響をもたらさないことを確めた。しかしポリフェノールが著しく偏在している皮部^(1,2)及びその含量の著しく高い品種⁽⁸⁾からは極めて劣悪のデンプンしかできないことを認めた。従って甘藷デンプンの白度の低位性は、甘藷の末端酸化酵素系の基質と推定^(4,5)されるポリフェノールのオキシダーゼによる酸化重合⁽⁶⁾並びにアミノ酸等との化合⁽⁷⁾によって生成されるメラニン様色素による汚染と推定される。それ故本報では上の機構にあずかる物質であるポリフェノール、オキシダーゼ、アスコルビン酸及びアミノ酸等を甘藷或いは甘藷デンプン乳に添加してデンプンを調製し、それらの各々がデンプン白度に及ぼす影響を追求したので報

* The Origin of Impurities in Sweet Potato Starch. Part IV. Effect of the Addition of Polyphenol, Oxidase, Ascorbic Acid and Amino Acid to Sweet Potato or its Starch on the Whiteness of Sweet Potato Starch.

By Ei YAMAMURA and Toshiharu KONO (Agricultural Experiment Station of Kagoshima Prefecture)