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クロニ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)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⁽³⁾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 KŌNO (Agricultural Experiment Station of Kagoshima Prefecture)

告する。

実 験 の 部

1. 試料の調製 甘藷はポリフェノール含量をできるだけ少く均一にするために、形成層に至るまで完全に剥離した内部を 3 mm 角の賽の目切りとして供試した。

供試デンプンは剥皮甘藷に 10 倍量のアセトンを加えて磨砕、篩別後、5 倍量の水を加えて篩別、沈殿精製乾燥したもので、その白度は 96.0 であった。

ポリフェノールは前報コーヒー豆より抽出結晶化したクロロゲン酸⁽¹⁾を蒸溜水にとかし、苛性ソーダで予め pH 6.5 に調整し、1 cc 中に 10 mg を含むようにした。

アスコルビン酸、アミノ酸はそれぞれ市販 1 級試薬を用い、蒸溜水 1 cc 中に 10 mg を含むようにした。

2. 実験方法

1) 甘藷にクロロゲン酸を添加した場合のデンプン調製： 賽の目切り甘藷をよく混合し、その 100 g をビーカーに採取した。0 より 800 mg のクロロゲン酸を甘藷の 2 倍量の水に溶かし、甘藷と混合し、直ちに佐久間製ミキサー中で正確に 2 分間磨砕した。この磨砕物に原料の 3 倍量の水を加えてよく混合した。これをそのまま 60, 100, 120 メッシュのタイラー標準篩を次々に通過させ、篩別液は 11 のビーカー中で 12 時間放置沈殿した。上水（以下洪水と呼ぶ）を排除し、粗デンプンは水に懸濁して塩酸で pH 4.0, 18° Bé として 10 分間攪拌した後、上層の土肉を除去、デンプンは風乾した。

2) デンプン乳に各種物質を添加した場合のデンプンの調製： 調製法は 300 ml のビーカーに 150 ml の水を注ぎ込み、これにデンプン 30 g を加えて攪拌、よく懸濁させた後クロロゲン酸、甘藷搾汁を硫酸沈殿透析して調製したオキシダーゼ、アスコルビン酸、アミノ酸の各溶液を上順序で滴加し、1 成分添加毎に約 1 分間攪拌した。各成分添加後加えた液量がちょうど 200 ml となるように蒸溜水を追加、2 分間攪拌後、12 時間沈殿して上水を排除した。

各添加物の添加量は実際のデンプン工場で、甘藷が水とともに磨砕篩別された際の濃度とほぼ等しくした。実際の工場では搾込液 200 ml 中に 40 g の甘藷が磨砕されていることになる⁽²⁾。

湿潤粗デンプンを 2 等分しその半分はそのまま風乾した。他の半分は水を加えて十分に懸濁し、塩酸で pH を 5.0 となし、乳液の量が 15 ml となるように水を追加した。そして 2 分間攪拌後 12 時間沈殿を行い、洪水を排除後デンプンを風乾した。前者はデンプン工場の搾込粗デンプンに、後者は寄込み仕上げデンプンに相当する。

3) オキシダーゼ活性の原料換算： オキシダーゼは Goadard⁽¹⁰⁾らの馬鈴薯チロジナーゼ測定法を参考とし、Warburg 検圧計を用い 30° での酸素吸収を測定した。予備実験により適当と認めた酵素力価測定液の組成は、0.5 M 磷酸緩衝液 (pH 6.7) 1 ml, クロロゲン酸 0.2 mg, 酵素液 0.2 ml, ヒドロキノン 6 mg, 10% 苛性カリ 0.2 ml であった。オキシダーゼ活性は抽出酵素液の力価 $QO_2/\mu\text{l/hr}$ で示した。この力価を 40 g 相当の甘藷に対して換算し、甘藷 1 mg についての力価として表わせば

$$QO_2/\text{mg/hr} = QO_2/\mu\text{l/hr} \times \frac{\text{添加オキシダーゼ ml}}{40(\text{甘藷換算重})}$$

である。

3. 定量法

1) テンプン白度： Kett 光電管白度計⁽¹¹⁾を用い 450m μ のフィルターで Kett 社製標準白度板 (87.0) に対する試料デンプンの分光反射示度を求めた。

2) 洪水の着色度： 沈殿デンプンを分離した洪水は褐色を呈し、わずかに不透明であるので、No. 6 濾紙で濾過した後、濾液をライツホトメーターを用い液槽 10 mm, 415m μ のフィルターで着色度を測定し、予め作製したよう素の濃度曲線からその着色度を沃度の mg/

第 1 図 クロロゲン酸を甘藷へ添加した際のデンプン白度

— 33. 2. 4 供試品 (貯蔵芋)
 33. 7. 10 " (")
 - - - 33. 10. 6 " (掘取芋)

第 1 表 洪水の着色度 (よう素 mg/100 ml)

添加したクロロゲン酸 (mg)	20	0	4	8	12	16	20	32	40	60	100
P. O. 区	1.45	1.70	2.75	3.92	5.30	6.40	7.40	10.7	17.6	22.7	30.3
P. O. A. 区	1.08	1.80	2.85	3.80	4.90	5.80	6.85	10.4	16.2	21.7	30.5

100 ml で表わした。

3) アルカリテスト: 頼富の方法⁽¹²⁾の一部を次のように変えた。デンプン 5g に 0.1N 苛性ソーダ 20ml を加えて 12 時間放置後, No. 6 濾紙で濾過した後, 洪水の着色度と同じ方法で測定した。

結 果 と 考 察

1. ポリフェノール (クロロゲン酸) の影響 甘藷及びデンプンにクロロゲン酸の量を変えて調製したデンプン白度及び洪水の着色度をそれぞれ第 1 図, 第 2 図及び第 1 表に示す。

第 2 図はデンプンとクロロゲン酸, オキシダーゼの他にアスコルビン酸 10mg 添加区を設けた。アスコルビン酸は甘藷中に還元型として 15~35mg%⁽³⁾ が含まれているので加えた 10mg を甘藷換算すると 25mg% に相当する。

クロロゲン酸の添加後 pH が蛋白の等電点 pH 4.0^(13,14) に接近するとデンプンの白度が低下するので, pH は 6.0 内外に調整した。第 2 図で加えたオキシダーゼ活性は 3.70/μl/hr であるから, この条件を生甘藷に換算すると 1.85/mg/hr となり, 普通に含まれる生甘藷中のオキシダーゼの活性の範囲内に入る。

添加したクロロゲン酸の量は, 甘藷には 0~800mg%, デンプンには甘藷に換算して 0~250mg% の範囲である。甘藷中のポリフェノール含量は著者が従来までの 31 品種で試験した結果はクロロゲン酸として 20~250mg%⁽³⁾ で, デンプン用原料として最も多く使用される農林 2 号では 40~120mg% の範囲に渉る。第 1 図及び第 2 図を見ればクロロゲン

酸 20~250mg% の範囲でも, 40~120mg% の範囲でもデンプン白度に著しい影響をもたらすことが認められる。洪水の着色度は第 1 表に示されるように, ポリフェノール添加量の増大に伴って淡褐黄色より濃褐色さらにコーヒー色になり, その着色度合を著しく増加する。

第 2 図 デンプン白度

I, I' 水洗前 II, II' 水洗後
..... アスコルビン酸添加区 (10mg)
—— 無添加区

第 2 表 クロロゲン酸添加量とデンプン白度との相関

相関の対象 (対クロロゲン酸)	一次相関係数	重相関係数
甘藷から調整したデンプン白度 (第 1 図, 10月 6 日)	-0.905	
デンプンより調整したデンプン白度 (第 2 図)	{ ① -0.784 ② -0.882	{ 0.9687 0.9699

第 1 及び第 2 図からクロロゲン酸とデンプン白度との相関関係を求めて第 2 表に示す。第 2 表でデンプン白度とクロロゲン酸との間に極めて高い一次の逆相関又は二次相関があり, クロロゲン酸がデンプン着色に極めて顕著な効果をもたらすといえる。

アメ, グルコース製造に当ってデンプンの汚染度を調査する一つの方法に, デンプンのアルカリ可溶性色素濃度を測定するアルカリテストが採用されている。今までの研究ではアルカリテスト値とデンプン中のチッ素含量との関係が強調されている⁽¹²⁾。

著者は第 1 図の実験で得られたデンプン (10月 6 日) について, アルカリテスト, チッ素含量を測定して第 3 図に示し, アルカリテストとクロロゲン酸添加量及びチッ素含量との相関を第 3 表に示した。

第 3 図からアルカリテストとチッ素含量との間には相関性が認められるが, 第 3 表をみればアルカリテストは

第 3 図 デンプンのアルカリテストとチッ素、クロロゲン酸との関係

— アルカリテスト チッ素% (無水物)

第 3 表

相 関 の 対 称	相 関 係 数
クロロゲン酸とアルカリテスト	0.985
クロロゲン酸とチッ素 %	0.752
アルカリテストとチッ素 %	0.752

には殆んど影響を与えていない。むしろ水洗区は対照より白度の低い場合もある。

アスコルビン酸は甘藷からデンプンが調製される場合も、デンプンに添加物を加えてデンプンが調製された場合でも、磨砕または混合によってその還元性機能を失うと考えられるので、これは甘藷中或は調製された粗オキシダーゼのアスコルビン酸酸化酵素による酸化と推定する。

3. オキシダーゼの影響 甘藷から得られた粗オキシダーゼは着色しているので、醋酸鉛精製⁽⁹⁾を行った。この液は殆んど無色に近く、極く淡い黄色を呈した。

クロロゲン酸を一定とし、オキシダーゼの量を変えて調製した場合の混合液の着色度及びデンプン白度を第 4 表、第 4 図に示す。オキシダーゼはその添加量の増加に伴って洪水の着色度は濃くなり、同時に水洗しないデンプンの白度も顕著な低下を示す。しかしながら水洗を行った場合は、

オキシダーゼ 2~50 ml (それぞれ甘藷換算力価 0.25~6.84) は殆んど差がなくなる。すなわち洪水着色度の高い白度の低いデンプンほど水洗によってデンプンの白度が向上している。甘藷のオキシダーゼ力価は健全な 21 品種について実施した結果では最低 1.1 より最高 6.3 であったから、これを第 4 図に当てはめるとちょうど水洗によって白度差がなくなる範囲に相当することになる。

著者はこの試験に併行して甘藷にオキシダーゼ量を変えて加えてみたが、やはりデンプン白度に差が認められなかった。これをデンプン製造の実際面に当てはめて考察すると、オキシダーゼは摺込沈殿粗デンプンにはその白度差を生ずるが、寄込仕上げデンプンでは白度差は認め難く、従ってオキシダーゼは甘藷に含有される範囲内の量では、デンプン白度に顕著な影響をもたらさないと考えてよい。

4. アミノ酸の影響 クロロゲン酸、オキシダーゼの量を変えて

カ価 (甘藷換算) (Q_{O_2} /mg/hr)

第 4 図 デンプン白度
デンプン 20 g, クロロゲン酸 20 mg,
液量 200 ml
..... 水洗区

第 4 表 洪水の着色度

オキシダーゼ 添加(cc)	0	1	2	5	10	20	30	50	100
反応液の着色度	0.8	3.8	4.4	5.2	6.0	7.1	7.7	8.5	10.3

第 5 表 アミノ酸添加による渋水着色度とデンプン白度

添加量 (mg)	グルタミン酸 アスパラギン酸 アスパラギン区	区 0 10 50 100 200 300						0 10 50 100 200 300					
		着 色 度						デンプン白度					
		8.9	9.1	9.4	9.7	10.3	10.9	8.7	9.4	10.2	10.4	10.9	11.3
		82.5	81.4	80.0	77.2	76.5	75.3	82.0	81.4	79.7	79.0	77.3	75.3
		83.4	83.3	82.2	80.2	79.0	78.1	83.0	83.0	82.3	81.5	80.2	78.2

(註) デンプン 30g, クロロゲン酸 20mg, オキシダーゼ 30ml, アスכולビン酸 10mg, 添加液量 200ml
オキシダーゼ力価 $QO_2/\mu\text{l/hr}$ (甘藷換算 1.18/mg/hr)

調製した際の渋水着色度とデンプン白度を第 5 表に示す。この実験に用いた 3 つのアミノ酸は山本⁽¹⁸⁾が甘藷中に認めた 15 種類にのぼるアミノ酸の代表的なものである。瓜谷⁽¹⁷⁾もポリフェノールのアルカリ側酸化緑変現象にあずかるアミノ酸の実験の一部に上のアミノ酸を採用しており、これらが他の中性アミノ酸と同程度の影響があることを認めている。

実験に当って酸性アミノ酸は苛性ソーダで中和して用いた。新鮮甘藷中のアミノ酸及びアマイドはそれぞれ 0.166, 0.028% との報告⁽¹⁶⁾があるので、これを第 5 表のアミノ酸添加量に換算すると、アミノ酸 50mg 区、アマイド 10mg 区に相当する。第 5 表から酸性アミノ酸でもアマイドでも渋水の着色は同程度に高められ、同時にデンプン白度も低下してくるのを知る。しかしながらこれらの結果は第 2 図のクロロゲン酸がデンプンの白度に及ぼす影響ほど顕著ではない。しかしオキシダーゼの影響と違って添加の多いほど水洗によってデンプン白度が向上するという事はない。この点でアミノ酸はポリフェノールに次ぐデンプン汚染成分であることを知る。

アミノ酸の添加によって、渋水の着色は他の成分のように褐色度の増加がなく、むしろ赤味の色調が強められる。これはポリフェノール重合体のアミノ酸との結合を示す特徴ある着色現象とみられる。Heineze⁽¹⁶⁾は甘藷貯蔵間に蛋白が減少し、アミノ酸、非蛋白態チッ素が増加することを指摘している。しかも甘藷デンプン製造も貯蔵原料が出回りはじめる 11 月以後では摺込液の着色が急に赤味の強調された褐色に変化する。故にその要因をアミノ酸に求めることもできよう。

要 約

甘藷或いはデンプンにポリフェノール(クロロゲン酸)、オキシダーゼその他の物質を種々の量に加えて反応させてデンプンを調製し、渋水着色度とデンプン白度を測定した。その結果

(1) ポリフェノールの増加によって渋水の色はコーヒー色を帯び濃厚となり、デンプンの白度は著しく低下した。

(2) オキシダーゼの増加は渋水の着色度を増し、デンプンの白度を低下する傾向があるが、この色素は水洗で除き易く、甘藷に含まれているオキシダーゼ活性の範囲内では殆んどデンプン白度は左右されない。

(3) グルタミン酸、アスパラギン酸及びアスパラギンはデンプンの着色を高めるが、ポリフェノールに比べればかなり小さい。この際は特に渋水は赤味を呈し、デンプンも赤系の白度に仕上る特徴がある。

(4) アスכולビン酸は実験条件下ではデンプンの白度向上に殆んど効果がなかった。

有益な御助言と御援助を戴いた大阪大学二国二郎教授に厚く感謝いたします。また本稿をまとめるに当り終始御懇切な指導を戴いた鹿児島大学蟹江松雄教授に御礼申し上げます。

(1) 山村 頌, 河野利治: 澱粉工誌, 6, 64(1959).	(8) 山村 頌, 河野利治: 澱粉工誌, 6, 60(1959).
(2) Ann S. Hunter, E. G. Heisler, J. Siciliano, R. H. Treadway, C. E. Woodward: <i>Food Research</i> , 22, 6, 648 (1957).	(9) 柴田雄二他編: 化学実験学, 第 2 部, 12, 486 (1947).
(3) 山村 頌, 河野利治: 澱粉工誌, 6, 106 (1959).	(10) D. R. Goddard, C. Holden: <i>Arch. Biochem.</i> , 27, 41 (1950).
(4) G. Johnson: <i>Science</i> , 115, 675 (1952).	(11) 鈴木繁男: 澱粉工誌, 4, 133 (1954).
(5) J. M. Nelson: <i>Copper Metabolism</i> , p. 76 (1950).	(12) 頼富憲三郎: 澱粉糖技術研究会誌, 11, 32 (1955).
(6) H. Wagreich, J. M. Nelson: <i>J. Am. Chem. Soc.</i> , 60, 1545 (1938).	(13) D. B. Jone, C. E. Gersdoff: <i>J. Biol. Chem.</i> , 43, 119 (1931).
(7) P. Györgi, H. Rother: <i>Biochem. Z.</i> , 173, 334 (1926).	(14) 山村 頌, 貴島元次郎: 澱粉工誌, 3, 1, 6 (1955); 山村 頌, 河野利治: 同上, 5, 52 (1957).

- (15) 山村 頌 : 澱粉糖技術研究会講演 (1959年
8 月).
(16) P. H. Heine, C. O. Appleman : *Plant*.

- Physiology*, 18 (1943).
(17) 瓜谷郁三 : 本誌, 27, 781 (1953).
(18) 山本喜男 : 栄養と食糧, 7, 112 (1954).

[農化 第 35 卷, 第 9 号, p. 831~837, 1961]

醤油香味成分に関する研究 (第 18 報)*

$C_7O_{12}H_5$ の単離とその構造 (その 1)

浅尾 保夫, 横塚 保 (野田醤油株式会社中央研究所)

昭和 36 年 1 月 5 日 受 理

緒 論

醤油の香味は従来の研究結果より, 数種の系列に属する香氣成分の総合的活性の現れと考えることができるが, 著者等の一人は今日までしばしばこれらのうちの酸性区分, なかんずく弱酸性成分の重要性を指摘してきた。

これらに属するものとしては, 4-エチルグァヤコール⁽¹⁾, チロソール⁽²⁾, バニリン⁽³⁾, マルトール⁽⁴⁾, 不明構造物質, $C_8H_6O_3$ ⁽⁵⁾, その他⁽⁶⁾が挙げられる。

これらの香味はこれをアルカリ性にするとき消失し, 酸性に戻すと再現するものであるが, 一方醤油そのものをアルカリ性にして再びこれを酸性に戻しても, 醤油芳香の重要な一部分はもはや再現してこないことは一般に経験されるところである。しかしまたその際或る種の酸性物質については, 分解前よりかえって増加することは, 醤油をそのまま加熱分解したり⁽⁶⁾, アルカリ性において分解するときに見られる現象である。すなわち醤油の芳香がアルカリのみならず, 加熱に対して不安定なのは単に酸性基がマスクされる場合のみでなく, 不安定なエステル⁽⁶⁾, その他の物質が分解して芳香物質が壊れたり, 新たな有香物質が生成したりすることによると考えられるのである。

著者等は今回新しく醸造生醤油のクロロホルム抽出物の弱酸性部をアルミナのカラムクロマトグラフィーにて分けた芳香の強い区分より, 加熱及びアルカリに対して極めて不安定な昇華性の結晶を分離した。この物質は分子式 $C_7H_{12}O_5$, 融点 $114\sim 115^\circ$ で, 結晶の収量は醤油 40 l より 20 mg 程度で, このような低収量は上述のようにこの物質が極めて昇華性, かつ不安定なことが原因と考えられる。

本報においてはこの成分の単離, 物理化学的性質並びに構造決定のための二, 三の反応より得られた反応生成物と目的成分の推定構造との関係につき報告し, さらにその香氣成分としての意義につき若干の考察をつけ加えた。

実験並びに結果

I. $C_7H_{12}O_5$ の単離

1. 生醤油よりクロロホルム可溶弱酸性部の分別 :
生醤油 2 l, クロロホルム 1 l の割合でホモゲナイザーにかけて乳化し, 生醤油合計 40 l をクロロホルム 20 l に処理してから乳化混合液を 1 昼夜静置し, 二層に分離してからその下層をとり, 未だ混在する褐色のもやもやした固形の物質をドラバール型遠心分離機にかけて清澄し, 生醤油のクロロホルム抽出液 18 l を得た。次にこれを精溜塔を附した蒸溜装置にて全量約 1 l になるまで濃縮してから第 1 表の如く常法により分別して, 2 つの弱酸性区分 I 及び II を得た。

第 1 表 生醤油 $CHCl_3$ 抽出部の分別

* Studies on Flavovous Substances in Soy Sauce. Part XVIII. Isolation of $C_7H_{12}O_5$ Compound in Soy Sauce, and its Structure. (1)
By Yasuo ASAO and Tamotsu YOKOTSUKA (Noda Soy Sauce Co., Ltd.)