みの場合や、遊離のニコチンを水で希釈した場合、或いは硫酸による pH 2.1 の場合は直線的に減少している。展着剤加用の場合、水酸化ナトリウムによる pH 9.5 の場合には、4 時間までは直線的に減少するが、それ以後はゆるやかになっている。今これらの場合をすべて総合して、紫外線照射時のニコチン半減期を各図の上から見て一覧すると第 5 表の通りである。半減期は水のみで希釈した液の 3~4 時間に対し、展着剤を加用したものが約 2.5 時間となる。これは水酸化ナトリウムによる pH 9.5 の場合に匹敵する。また遊離ニコチンは pH も高いが硫酸塩でないことが大きい原因で、格段に短い。実際使用時のニコチンの安定性はこの製剤が硫酸塩である点に大きく関与していると考えられる。

本研究を行なうにあたって種々御指導をいただき、発報を許可された工場長梶村博士に厚く感謝の意を表します。

(1) Official Methods of Analysis, Assoc. of Offic. Agr. Chemists, 8th. ed., 1955, p. 66.	(7) C. O. Willits, M. L. Swain, J. A. Connelly, B. A. Brice : <i>Anal. Chem.</i> , 22 , 430 (1950).
(2) 山本 亮 : 新農薬研究法, 南江堂, p. 785 (1958).	(8) M. L. Swain, A. Eisner, C. F. Woodward, B. A. Brice : <i>J. Am. Chem. Soc.</i> , 71 , 1341 (1949).
(3) W. W. Garner, C. W. Bacon, J. D. Bowling, D. E. Brown : <i>U. S. Dept. Agr. Tech. Bull.</i> , 44 , 35 (1934).	(9) B. Ramamoorthy, B. G. Chatterjee, C. Dakshinamuri, K. C. Gultani : <i>Nature</i> , 169 , 112 (1952).
(4) R. H. Cundiff, P. C. Markunas : <i>Anal. Chem.</i> , 27 , 1650 (1955).	(10) 岡田清治, 野村 要, 山本 茂 : 本誌, 35 , 739 (1961).
(5) W. R. Kinkada, L. D. Anderson : <i>J. Agr. Food Chem.</i> , 7 , 330 (1959).	
(6) P. S. Larson, H. B. Haag : <i>Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.</i> , 16 , 86 (1944).	

[農化 第36巻, 第2号, p.120~123, 1962]

蛋白質の加水分解による調味料の製造 (第6報)*

脱脂大豆塩酸加水分解液中の炭素数5の中性カルボニル化合物について

日野哲雄, 君塚明光, 伊東克己, 小笠原 武 (味の素株式会社川崎工場)

竹 西 忠 男 (味の素株式会社中央研究所)

昭和36年6月22日受理

緒 言

古く池田・川口・小玉⁽¹⁾らは醤油中にイソバレアルデヒドが存在することを報告し、その後赤堀⁽²⁾ら多くの研究者が醤油香気成分の一つとして、上記アルデヒドを単離している。

一方、山田正一⁽³⁾はこのアルデヒドの成因を考察し、醤油火入時、ロイシンから Strecker 分解して生ずることを明らかにした。

そこで小玉、赤堀らが醤油などのように、ロイシンと共にイソロイシンを含む物質を加熱したものから単離したというイソバレアルデヒドには、当然、物理的、化学的に性質の酷似した、 α -メチルブチルアルデヒドを含んでいたと思われる。

われわれは、この点を追究する目的もあって、脱脂大豆塩酸加水分解液中の炭素数5のカルボニル化合物について赤外線吸収スペクトル、ガスクロマトグラフィー、マススペクトルの測定を行い、その結果から総合して、イソバレアルデヒドの他に α -メチルブチルアルデヒドが存在することを確認し、さらに両者を定量すること

* Preparation of Seasonings by the Hydrolysis of Proteins. Part VI. Neutral C₅ Carbonyl Compounds in the Hydrochloric Acid Hydrolysate of Soybean Meal.
By Tetsuo HINO, Akimitsu KIMIZUKA, Katsumi ITO, Tadao TAKENISHI and Takeshi OGASAWARA (Ajinomoto Co., Inc.)

ができた。その結果について報告する。

実 験 の 部

1. 分解液からカルボニル化合物の捕集 脱脂大豆 500 kg を塩酸加水分解したのち、ヒューマスを除いて調製した中和分解液約 1,300 l を 10 回に分けて 250 l 容の真空濃縮缶に仕込み、68° で約 1 時間減圧濃縮した。このとき、真空缶とジェットコンデンサーの間に 2,4-ジニトロフェニルヒドラジンの塩酸溶液トラップを置いて、溜出ガス中のカルボニル化合物を反応させ、粗ヒドラゾン約 12.5 g を得た。

2. 赤外線吸収スペクトルによる C₆ カルボニル化合物の分析 粗ヒドラゾン 4 g から、アルコール、石油エーテル、エーテル、アルコールを順次用いて再結晶を行い、ペーパークロマトグラフィー⁽⁶⁾では 1 スポットを与える結晶 0.4 g を単離した。元素分析の結果は次の通りである。

分析値: C 49.73, H 5.23, N 21.26%. C₁₁H₁₄N₄O₄ としての計算値: C 49.62, H 5.30, N 21.41%.

赤外線吸収スペクトル (第 1 図-1) から、イソバレルアルデヒドと α-メチルブチルアルデヒドの 2,4-ジニトロフェニルヒドラゾンの混合物であることがよくわかる。なお、第 1 図-2 に両アルデヒドの 2,4-ジニトロフェ

ニルヒドラゾンの赤外線吸収スペクトルを比較して図示した。

3. 2,4-ジニトロフェニルヒドラゾンからカルボニル化合物の再生

次に、分解液から得た粗ヒドラゾン 7 g にレブリン酸 15 g を加えて、100° 以下で 30 分、130° で 2 時間加熱した。溜出するカルボニル化合物は、液体窒素で冷却したトラップに捕集し、0.2~0.3 ml を得たが、0.03~0.05 ml の水を含んでいた。エーテル 20 ml を加えたのち脱水芒硝で乾燥し、湯せん上で 45° 以下で濃縮して、カルボニル化合物のエーテル溶液 2 ml を得た。

4. ガスクロマトグラフィーによる α-メチルブチルアルデヒドとイソバレルアルデヒドの確認 ガスクロマトグラフィーで、α-メチルブチルアルデヒドとイソバレルアルデヒドの分離を試み、二、三充てん物をかえて検討したが、両者を分離することができなかった。し

第 1 図

(1) — C₆ 区試料 径 13 mm KBr disc

— $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{NNH}-\text{C}_6\text{H}_3(\text{NO}_2)_2$ を 2
 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{NNH}-\text{C}_6\text{H}_3(\text{NO}_2)_2$ を 1

(2) — $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{NNH}-\text{C}_6\text{H}_3(\text{NO}_2)_2$, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{NNH}-\text{C}_6\text{H}_3(\text{NO}_2)_2$

かし、アルデヒドを還元してアルコールにかえるならば、活性アミルアルコールとイソアミルアルコールは分離できるので、カルボニル化合物のエーテル溶液に LiAlH_4 を作用させてカルボニル化合物を対応するアルコールに還元したのち、ガスクロマトグラフィーによって分離を行った。

すなわち、カルボニル化合物のエーテル溶液 1.2 ml (0.8 ml は後述のマススペクトル測定のために残した)

第2図 還元試料のガスクロマトグラム (部分)
数字はイソブチルアルコールの保持時間を1としたときの相対保持時間

第3図 試料のガスクロマトグラム

第4図 試料のマススペクトル
M/e 55~61

に、エーテル 8 ml に懸濁させた 0.1 g の LiAlH_4 を徐々に加え、1.5 時間室温に放置した。そのうち、水 1 ml を滴々加え、さらに 10% H_2SO_4 を 7 ml 加えて、生成したアルコールはエーテル 20 ml で抽出した。水層に残っているアルコールもエーテル 10 ml ずつで三回にわたって抽出した。次にエーテル溶液をあつめ、脱水芒硝で乾燥したのち、湯せん上で 45° 以下で濃縮して、アルコールのエーテル溶液 3 ml を得た。ガスクロマトグラフィーの条件は次の通りである。

試料：上記アルコールのエーテル溶液。

充てん物：ジフェニルアミン。長さ 3 m, 径 1/4 inch.

カラム温度： 60° 。

流速：ヘリウム, 60 ml/min.

その結果、イソブチルアルコールの相対保持時間を 1 にしたとき、2.6 に活性アミルアルコール、2.9 にイソアミルアルコールに相当するピークを得た (第2図)。このことから、もとのカルボニル化合物のエーテル溶液は、 α -メチルブチルアルデヒドとイソバレルアルデヒドを含んでいることが明らかである。

5. マススペクトルによる C_6 カルボニル化合物の分析 質量分析を行なうにあたって数種のアルデヒドの混合物をそのまま分析するとマスのパターンは大変複雑になって解析に困難をきわめる。したがって或る程度ガスクロマトグラフィーによって分離し C_6 フラクションのみをあつめて分取し、これをマスの分析試料にした。ガスクロマトグラフィーの操作条件は次のとおりである。

試料：カルボニル化合物のエーテル溶液。

充てん物：シリコングリース、長さ 6 ft, 径 1/4 inch.

カラム温度： 45° 。

流速：ヘリウム, 55 ml/min.

C_6 カルボニル化合物の保持時間は 6 分であった。クロマトグラムを第3図に示す。

分取したカルボニル化合物は、CEC 21-103 C 型質量分析計で分析した (第4図)。標準物質に用いたイソバレルアルデヒドは市販品をガスクロマトグラフィーで精製したもの、 α -メチルブチルアルデヒドは Dow

第1表 パターン係数と感度

M/e	試料	α -メチルブチル アルデヒド	イソバレル アルデヒド	エーテル
57	54.5	100	74.6	0.83
58	47.8	63.6	100	0.77
59	100	2.4	4.5	100
基準ピーク	59	57	58	59
感度 (div/ μ Hg)	44.4	25.2	45.1	88.6

社の“L-Isoleucine with D-alloisoleucine”をニヒドリ分解したのち、同様に精製したものである。試料及び標準物質の $M/e=55\sim 61$ のスペクトルを第4図に、 $M/e=57, 58, 59$ のパターン係数と感度を第1表に示す。

マスペクトルによる分析の結果得られ

た試料の組成は次のとおりであった。

α -メチルブチルアルデヒド 17.9 モル% イソバレルアルデヒド 26.5 モル%
エーテル 49.1 モル% その他の成分 (ヘリウム) 6.5 モル%

考 察

イソロイシン、ロイシンから Strecker 分解で生じたと考えられる脱脂大豆塩酸加水分解液中の α -メチルブチルアルデヒド (α -MBA) とイソバレルアルデヒド (IVA) の含有比は、

$$\frac{\text{IVA}}{\alpha\text{-MBA}} \approx 1.5$$

であり、これは分解液中の上記アミノ酸の含有比⁽⁴⁾にほぼ等しい。

分解液中のイソロイシン (Ileu) 0.31 g/TN (g), ロイシン (Leu) 0.50.

$$\frac{\text{Leu}}{\text{Ileu}} \approx 1.6$$

しかし、われわれは実験の部4のガスクロマトグラフィーで、メチルエチルカルビノール (メチルエチルケトンの還元物質) と思われるピークを得ているので、 α -メチルブチルアルデヒドの一部は、塩酸加水分解時、さらに酸化してメチルエチルケトンを生ずるとと思われる。この点については後に確める予定である。

なお、第5報で報告したペーパークロマトグラフィー、それと組合せた赤外線吸収スペクトル⁽⁶⁾、本実験のガスクロマトグラフィーおよびマスペクトロメトリーのいずれの方法でも、 n -バレルアルデヒド、メチル- n -プロピルケトン、メチルイソプロピルケトン、ジエチルケトンを検出することはなかった。しかし、酸性カルボニル化合物としてレブリン酸 $\text{CH}_3\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$ の存在が知られている⁽⁵⁾。

総 括

脱脂大豆塩酸加水分解液中の炭素数5の中性カルボニル化合物について、赤外線吸収スペクトル、ガスクロマトグラフィー、およびマスペクトルを測定して検討し、次の結果を得た。

- (1) α -メチルブチルアルデヒドとイソバレルアルデヒドを確認した。
- (2) α -メチルブチルアルデヒドは大豆蛋白中のイソロイシンに、イソバレルアルデヒドは同じくロイシンに由来するが、これらアルデヒドの含有比は、加水分解液中のイソロイシンとロイシンの組成比にほぼ等しかった。
- (3) n -バレルアルデヒド、メチル- n -プロピルケトン、メチルイソプロピルケトン、それにジエチルケトンは検出されなかった。

終りに臨み御指導を賜った東大教授桜井芳人先生に深謝すると共に、ガスクロマトグラフィーを行っていた村田洋子嬢、佐藤勝利君、赤外線吸収スペクトルを測定していただいた山崎千枝嬢、マスペクトルを測定していただいた立川氏に感謝する。またマスペクトルの結果を検討していただいた都立大荒木教授、東大小原助教に対し厚く謝意を表する。

なお本研究の一部は昭和35年11月、関東支部大会にて報告した。

(1) 池田菊苗, 川口正名, 小玉新太郎: 日化, 42, 1030 (1921).	(5) 土屋真希生, 臼居敦子: 本誌, 36, 82 (1962).
(2) 赤堀四郎: 同上, 57, 823, 832 (1936).	(6) 堀 信一, 加藤二郎, 若松八郎, 林 弘一: 本誌, 31, 22 (1957).
(3) 山田正一: 醸試, 100, 58, 95 (1928); 103, 140 (1929).	(6) 日野哲雄, 君塚明光, 伊東克己, 竹西忠男, 小笠原武: 本誌, 36, 85 (1962).
(4) 日野哲雄, 角田俊直, 土屋卓児, 成井喜久子,	