[農化 第 41 卷, 第 12 号, p. 667~670, 1967]

食酢香味成分に関する研究 (第2報)

塩基性区分

山口玄示*, 田村学造, 有馬 啓

(東京大学農学部, *株式会社中埜酢店中埜生化学研究所)

昭和 42 年 7 月 6 日 受 理

Studies on Flavor Components of Rice Vinegar Part II. Basic Fraction

By Genji YAMAGUCHI*, Gakuzo TAMURA and Kei ARIMA

Faculty of Agriculture, University of Tokyo,

**Nakano Biological and Chemical Institute of Nakano Vinegar Co., Ltd.*

A chromatographic procedure was established to fractionate systematically the constituents of rice vinegar, without any loss of its components, into six main fractions, i.e., volatile basic, acidic and neutral fractions and non-volatile basic, acidic and neutral fractions by flush evaporation and ion-exchange resins. 17% of the total nitrogen of rice vinegar was found in the amine fraction and this suggested a possible role of some organic acid-base complexes in the taste of rice vinegar. Using gas chromatography, the amine fraction could not be separated further to its components because of low ionization. But, using thin-layer chromatography, the fraction was separated into nine spots which comprised such components as putrescine, cadaverine, histamine, methylamine, ethylamine, tyramine, phenylethylamine and two unknown compounds. Putrescine and cadaverine were crystallized.

(Received July 6, 1967)

緒 言

前報において中性区分について実験を行ない、この区分より食酢香味に寄与する成分を明らかにした。食酢が塩基性になることはない。このため、酢酸塩となっており、香りをおさえるため塩基性区分を明らかにしても香气成分に関してはあまり役立たないものと思われる。しかし、呈味に関しては重要な意味があると思われる。

従来、食酢に限らず醸造物の塩基性区分に関する研究はほとんどない。

大高⁽¹⁾らは清酒成分をイオン交換樹脂で分画した。アミン区分中の成分をペーパーバッククロマトグラフィーにより分離し、エチルアミン、コリン、アグマチン、アルギニン、アセチルアグマチンを単離確認した。アセチルアグマチンは初めて報告された新物質である。

梅津⁽²⁻⁴⁾らは清酒の有機塩基を燐タングステン酸法およびイオン交換樹脂を用い、 β -フェニルエチルアミン、プトレスシン、カダペリン、エタノールアミン、ヒスタ

ミン、チラミン、アグマチン、コリンを分離同定している。

酒粕からつくった食酢でも同じようなアミン類が含まれることは当然予想される。斎藤⁽⁵⁾らは燐タングステン酸で粕酢の有機塩基を沈殿させ、トリプタミン、チラミン、エチルアミン、メチルアミン、ヒスタミン、プトレスシン、カダペリンを分離同定し、検出された化合物は味の成分としてたとえ主要なものでなくとも、粕酢の味を特徴づける要素の一つと考えてさしつかえないであろうと述べている。

実 験 方 法

粕酢の塩基性区分の分離法は次のとおりである。粕酢 50 l を 1 l に濃縮した。塩基性物質は酢酸塩となっているためほとんど揮散しない。このものを弱酸性樹脂アンバーライト IRC-50 500 ml, 強酸性樹脂アンバーライト IR-120 500 ml を通した。それぞれ 0.3 N HCl, 0.3 N NH_4OH で溶出した。濃縮試料 1 l 中の全窒素を 100%

とすると, アンバーライト IRC-50 に吸着したアミン類区分は 5%, アンバーライト IR-120 に吸着したアミノ酸類区分は 55% に相当した. この方法ではアミン区分に吸着した全窒素は 5% で吸着量が非常に低いため, 次の方法で行なった.

すなわち酸類を除去した後, アミン類を吸着させた. 粕酢 30 l を 600 ml に濃縮し, 強塩基性樹脂ダウエックス 1 3 l を通し酸類を除去した. 続いてアンバーライト IRC-50 300 ml を通し, 吸着したアミン類を 0.3 N HCl で溶出し, 1,500 ml のアミン塩酸塩類溶液を得た. このものは試料の全窒素に対し 17% に相当した. 前法にくらべ 12% 回収率を上げることができた.

このアミン区分を炭酸水素ナトリウムで pH 9.0 としエーテル 1,500 ml で溶出し, 続いて水酸化ナトリウムで pH 12.0 とし, エーテル 1,500 ml で溶出し, 溶剤を除去し 1.0 ml の黄色液体を得たが, この区分にはニンヒドリン反応は認められなかった. 水層にはかなりアミノ酸類が混入したため, 試料の 10 倍量水蒸気蒸留を行ない, アミノ酸類を除去した. 留液を塩酸溶液で捕集し, 濃縮を行ない 3 ml の黄色液体を得た. このものは最初の濃縮試料の全窒素の 12% に相当した (Table I).

ガスクロマトグラフは島津製作所の GC-1 B 型, 水素炎検出器を使用した. 安松⁽⁶⁾らの方法によりガスクロマトグラフ注入口にソーダライムを取りつけ, アミン塩酸塩を注入した.

充填剤はテトラヒドロキシエチルエチレンジアミン, テトラエチレンペンタミン, ポリエチレングライコール 0.2% NaOH, アビエゾン L 1% NaOH, シロコングリース 1% NaOH, ウンデカノール 5% NaOH, ユーコンオイル 5% NaOH, カーボワックス 5% NaOH を使用した⁽⁷⁻¹⁴⁾. 固定相に使用した担体そのものが, アミン類を吸着するため水酸化ナトリウムを 1~5% コーティングした.

結果および考察

アミン区分に混入したアミノ酸類は, ヒスチジン (0.253 mM), リジン (0.147 mM), アルギニン (0.533 mM) の塩基性アミノ酸類であった. アミン区分のエーテル可溶部

TABLE I. SEPARATION OF BASIC FRACTION OF VINEGAR

Sample 600 ml (Vinegar 30 l)
Dowex 1 3 l. Removal of acids
Amberlite IRC-50 300 ml. Elution with 0.3 N HCl 1,500 ml amines HCl 1,003 mgN (17%)
Extraction with ether 1,500 ml (pH 9, 12). Ninhydrin reaction- removal of solvent 1.0 ml yellow liquid
Steam distillation of water layer removal of amino acids
3 ml Yellow liquid 708 mgN (12%)

ニンヒドリン反応はなくピークがすべて対称的であるから塩基性物質ではなく, 中性物質であろうと推定される. アミン類であれば, ポリエチレングライコール 0.2% NaOH の条件ではテーリングが見られるはずである. 水蒸気蒸留後の濃縮試料 3 ml は強い味を有し, 塩基性にすれば強い不快臭を有する.

このアミン塩酸塩を注入口にリーダライムをつけ 8 種類の充填剤を用い分離同定を試みたが, アミン類はほとんどイオン化されないため, 水素炎イオン化検出器を使用しても感度が非常に悪かった. 100 γ 程度試料を加えないと検出することはできないため薄層クロマトグラフ

Fig. 1. Chromatograms of Ether Soluble Fraction.

(A) P.E.G. 6000 0.2% NaOH at 120°C, N₂ 30 ml

(B) P.E.G. 6000 0.2% NaOH at 200°C, N₂ 30 ml

Fig. 2. Thin-layer Chromatograms of Amine Fraction (Silica gel G) Developing Solvent.

- A. Phenol-water (75:25)
 B. *n*-Butyl alcohol-acetic acid-water (7:1:2)
 C. 96% Ethyl alcohol-25% ammonia water (4:1)
 1. Putrescine 2. Cadaverine 3. Histamine
 4. Methylamine 5. Ethylamine 6. Tyramine
 7. Phenyl ethylamine

ィーを用い分離同定した。

使用した展開剤はフェノール-水 (75:25), ノルマルブチルアルコール-酢酸-水 (7:1:2), 96% エチルアルコール-25% アンモニア水 (4:1) を使用しシリカゲル G で 9 成分を分離確認した (Fig. 2)。プトレスシン, カダベリン, ヒスタミン, メチルアミン, エチルアミン, チラミン, フェニルエチルアミンを同定したが, 残り 2 物質は未同定である。メチルアミン, フェニルエチルアミンは今までに粕酢中では報告されていない。これらのうち量的に多いプトレスシン, カダベリンについて結晶化を試みた。

アミン区分の濃縮試料 2 ml を東洋濾紙 No. 50 を用い分離した。展開剤はフェノール-水 (75:25) を用い, 多重展開法で行なった。zone 1, 2 の部分を切り取り, 60°C で温水抽出を行ない, クロロホルムで振盪し, フェノールを除去後, 濃縮を行ない各々の塩酸塩の結晶をそれぞれ 200 mg 得た。zone 1 の結晶はメチルアルコールで洗浄し, zone 2 の結晶はアセトンで洗浄した。このものはさらに水で再結をくり返した。

Zone 1 から得た結晶の赤外吸収スペクトラムは, プトレスシン塩酸塩と全く一致した。融点も 290° で全く一致した (Fig. 3)。zone 2 から得た結晶の赤外吸収スペクトラムはカダベリン塩酸塩と全く一致し, 融点も 225~230° で全く一致した (Fig. 4)。

アミン区分中には多量のアンモニアが含まれ, プトレスシン, カダベリンが 20 p. p. m. 程度含まれる。これらの遊離アミン類は 10 p. p. m. 程度でにが味を有し, 呈味の点では大きな役割をはたしているものと思われる。遊離アミン類は毒性を有しているようであるが, 醸造物中で有機酸と塩を形成したり, アミノ酸類が共存すると毒性は少ないようである。

静置醱酵と通気醱酵の香味のちがいは, 一方に特定の物質があるのではなく, 数十種類の中性物質, 塩基性物質, 酸性物質の微妙な差異により生ずるものと思われる。

清酒に関してはアミン類は玄米中にはあるが, 精白により除去される。麴中にはアミン類が存在するため製麴に際してアミノ酸類より生成するものと思われる。醱酵過程の進むにつれて増量するアミン類が多いようである⁽⁴⁾。

Fig. 3. Infrared Spectra Zone 1 and Putrescine-2 HCl.
 — Zone 1 Putrescine-2 HCl m. p. 290°C

Fig. 4. Infrared Spectra Zone 2 and Cadaverine-2 HCl.

— Zone 2 Cadaverine-2 HCl m. p. 225~230°C

要 約

粕酢成分をイオン交換樹脂で分画したアミン区分中の成分を薄層クロマトグラフィー, ガスクロマトグラフィーで分離同定を試みた。ガスクロマトグラフィーではアミン類はほとんどイオン化されないため, 分離同定はできなかった。薄層クロマトグラフィーで, プトレスシン, カダベリン, ヒスタミン, メチルアミン, エチルアミン, チラミン, フェニルエチルアミン, さらに2つの未同定物質, 計9物質を確認し, 量的に多いプトレスシン, カダベリンの塩酸塩結晶をそれぞれ 200mg 得た。低級遊離アミンはにがみを有し, 呈味成分には大きな役割を有していると思われる。粕酢からメチルアミン, フェニルエチルアミン以外はすでに報告されている。

本稿終了に当り, 御指導を賜った東京大学名誉教授坂口謹一郎博士ならびに本報告の発表を許可された株式会社中埜酢店社長中埜又左エ門氏に深甚なる謝意を表します。

本研究の要約は, 日本農芸化学会昭和 42 年度大会に

おいて講演した。

- (1) Y. Ohtaka : *J. Sci. Res. Inst.*, **52**, 171 (1958).
- (2) 梅津雅裕 : 醸工, **39**, 233 (1961).
- (3) 梅津雅裕 : 同上, **39**, 241 (1961).
- (4) 梅津雅裕 : 同上, **39**, 247 (1961).
- (5) 斎藤彦次郎 : 大阪学芸大学紀要, **5**, 164 (1957).
- (6) 安松範郎, 赤池重男 : 本誌, **39**, 347 (1965).
- (7) H. M. Fales, J. Pisano : *Anal. Biochem.*, **3**, 337 (1962).
- (8) B. Halmstedt, W. J. A. Vandenheuevel : *ibid.*, **8**, 151 (1964).
- (9) J. Cincotta, R. Feinland : *Anal. Chem.*, **34**, 774 (1962).
- (10) K. Porker, C. Fontan : *ibid.*, **34**, 1345 (1962).
- (11) W. J. A. Vandenheuevel, W. L. Gardiner : *ibid.*, **36**, 1550 (1964).
- (12) C. J. W. Brooks, E. C. Horning : *ibid.*, **36**, 1540 (1964).
- (13) E. C. Horning, M. G. Horning : *ibid.*, **36**, 1546 (1964).
- (14) P. Capella, E. C. Horning : *ibid.*, **38**, 316 (1966).