

夏蜜柑果汁製造に關する基礎的研究 (第18報)

果汁の褐變機構について (其の6) フルフラール系物質の褐變反應

野 村 男 次 (山口大學農學部)

1. 緒 言

著者は先に度々報告した如く、果汁の褐變反應の一中間生成物として、フルフラール系物質の生成を指摘した¹⁾。このフルフラール系物質とは hexose より生成される hydroxymethylfurfural と pentose, ペクチン, ビタミンCより生成される furfural が主で、この外 2,5-dimethylfuran²⁾, 2-hydroxyacetylfuran³⁾ 等が最近糖の中間分解生成物として、この種の褐變反應液より分離されているが、これらが入る。

さて、この種フルフラール系物質が褐變に關係を有することは古く SCHIFF⁴⁾ 氏も認めて居り、以來多くの研究が見られる。特に最近では DANLOP⁵⁾, RICE⁶⁾, WOLFROM⁷⁾, SINGH⁸⁾ 氏等が中心になつて、その機構究明に向つての追究が行われている。著者もフルフラールを中心に褐變との關係を二、三吟味したので以下其の結果を報告する。

2. ペクチン質と褐變

果汁中に存在する成分中 furfural 形成の原因になるものにビタミンCとペクチン質がある。ビタミンCについては既に吟味を終つたので⁹⁾、ここではペクチン質についての結果をあげる。

夏蜜柑のペクチンは galacturonic acid 70%, furfural 収量23%を示し、共存糖として D-arabinose, と D-galactose を與えるペクチンで、galacturonic acid の含量の多いことが特徴である。

この主成分である galacturonic acid は酸性溶液中では容易に分解して CO₂ を放出すると共に、arabinose を形成し、これは更に分解して furfural を作る。そこで著者は galacturonic acid を中心としたペクチン系物質を夏蜜柑ペクチンより作り、これらと褐變との關係をしらべた。その結果は table 1 に見る如くで、galacturonic

Table 1. Color Formation in Solution of Several Pectic Substances
All at pH 3.7, 0.1M. solutions held at 98°C for 4 hours.

Materials	Transmission (T%) at 500m μ (diluted with acetone 1:2.5)	
	Alone	With 0.1M. glycine
D-Glucose	100	100
L-Arabinose	100	96
D-Galacturonic acid	50	12
Pectinic acid degraded with H ₂ O ₂	25	7
Pectinic acid heated for 8hrs. to 98°C	85	77
D-Ascorbic acid	70	42

Standard was 1mg% K₂Cr₂O₇ (T%=100)

えて25mlとし、濾過して日立光電比色計で測定した。

3. Arabinose の褐變と Furfural の褐變との關係

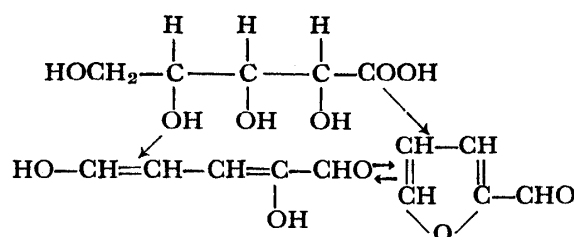
上記の結果より galacturonic acid が褐變に大きい影響を與えることが明らかになつたが、著者は次いで、その機構を調べる目的で、galacturonic acid が furfural に變化する際の間接物と考えられている arabinose の褐變を吟味した。

arabinose は酸性溶液中で容易に次に示すような酸化反應によつて furfural を形成する。

acidの褐變度は非常に大きいことを認めた。特にその褐變は glycine の存在において著るしかつた。測定には SEAVER, KERTESZ¹⁰⁾の方法を用いた。即ち各試料 0.1mol の液を作り、試験管に入れて pHを夏蜜柑果汁に近く(3.5)に調節、封じて98°Cで加熱した。色の測定は、液を冷却して2.8mlのメタ磷酸と7mlのアセトンを加え、更に水を加

(248)

(野村) 夏蜜柑果汁製造に関する基礎的研究(第18報)



依つて arabinose の褐變と furfural の褐變とを比較した。先づ arabinose が furfural を中間物として、褐變反應を進めて行くものであるか否か、arabinose の一部を furfural と交換して褐變化傾向を時間的にしらべた。その結果は Fig. 1 に見る通りで、arabinose と furfural の褐變は必ずしも同じ傾向を示さない。特に反應の初期には arabinose より furfural が出来て、これが褐變と密接な關係を示していることが見られるが、反應が進むにつれてその褐變はより複雑になり、必ずしも furfural の量に比例しなくなる。この關係は table 2 によつてもみられる。table 2 の結果は furfural のみより arabinose が存在する方がはるかに褐變が著るしいことを示している。それ

(+glycine)

でこの褐變化反應は arabinose $\rightarrow$ furfural $\rightarrow$ browning pigment と言うような單式的ものでなく、arabinose

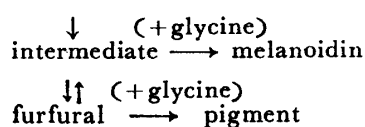
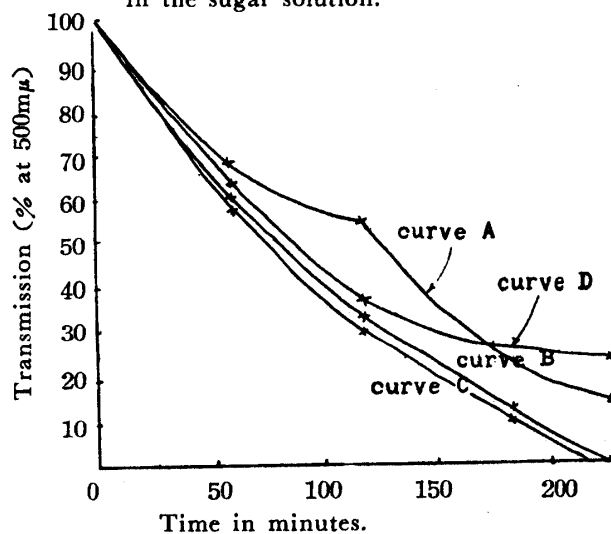


Fig. 1. Effect of gradual substitution of furfural for L-arabinose on the rate of coloration in the sugar solution.



Curve A, equimolar (0.25M) solution of L-arabinose and glycine at reflux temperature.

Curve B, 10% of arabinose in A substituted by furfural.

Curve C, 50% substituted, and curve D, 100% substituted by furfural.

Table 2. Effect of Glycine and L-Arabinose on the Relative Rate of Color Formation in 1% Furfural.

All solutions held at 98°C for 15 or 30 minutes.

pH	Heating time minutes.	Transmission (T%) at 500mμ			
		Alone	with 0.1M. glycine	with 0.1M. L-arabinose	with 0.1M. glycine & 0.1M. L-arabinose
3.00	15	100	98	97	83
3.00	30	100	96	96	74
3.92	15	100	97	96	83
3.92	30	100	95	95	65
5.16	15	100	93	94	69
5.16	30	100	86	93	44
6.02	15	97	65	91	19
6.02	30	95	49	89	0
6.96	15	96	19	86	—
6.96	30	92	7	78	—
7.90	15	74	1	46	—
7.90	30	58	—	20	—

というような複式反応を考える方が妥當のようである。

4. Furfural の褐變に於ける Glycine の作用

Table 2 で見られる如く, furfural の褐變化反應に於いても, glycine の添加はその褐變を著しく助長する。ここに於いて glycine が furfural の褐變化に如何なる機構に於いて参加するかを吟味した。

furfural は糖と同じく α -アミノ酸の Strecker degradation を助長することは赤堀氏¹¹⁾も指摘している。そこで glycine Strecker degradation の結果出来る formaldehyde とアンモニヤを用い褐變との關係をしらべた。その結果は table 3 に見る如くで, glycine の褐變に對する効果はこの種の關係によるものでないことが明らかになった。これは glucose, glycine 反應の結果に全く一致している。この場合に於いても formaldehyde はむしろ着色防止の効果を示し, furfural と glycine の褐變化反應では glycine の Strecker degradation の結果生成されるアンモニヤがむしろ褐變に關係をみせている。

Table 3. Effect of Formaldehyde and Acetaldehyde on the Relative Rate of Color Formation in 1% Furfural Solution.

All solutions held at 98°C for 2 or 4 hrs.

Transmission (T%) at 500m μ

Substance	Heating time	Start	2 h	4 h
Furfural (1%)		100	6	—
Glycine (0.75%)		100	100	100
Furfural (1%)		100	100	100
Formaldehyde (3%)		100	100	100
Furfural (1%)		100	99	94
Acetaldehyde (3%)		100	90	—
Furfural (1%)		100	100	—
Ammonia (0.01%)		100	(15 min) 77	(30 min) 12
Formaldehyde (3%)		100	(15 min) 67	(30 min) 58
Furfural (1%)		100	(15 min) 67	(30 min) 58
Ammonia (0.01%)		100	(15 min) 67	(30 min) 58

Transmission of solution was measured by the Hitachi colorimeter. Standard was 1mg% K₂Cr₂O₇ solution. (T=100) Highest values correspond to least browning.

著者は furfural 10g に28%アンモニヤ水110 ml を加え、密栓すると共に55°Cで2日間反應させ、生成する褐灰色の反應生成物を濾別して取り(3.5g), benzol を用いて反應再結精製して mp. 116~117°Cの淡灰白色結晶を得た。

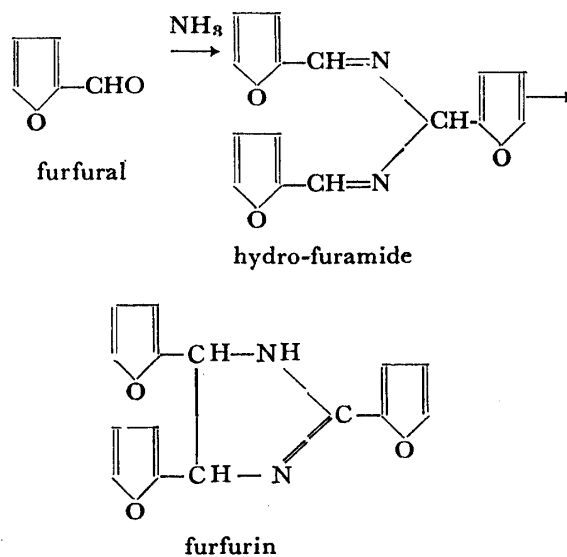
本物質はN含量 10.23% (C₁₅H₁₂O₃N₂ として理論値: 10.44%) で、杉澤氏より戴いた furfuran (mp. 116~117°C) と混融して融點の降下をみせず、紫外線吸収スペクトル、ポーラログラム測定の結果, furfuran であることを確認した。紫外線吸収スペクトルを fig. 2 に、ポーラログラムを fig. 3 に示す。

5. Furfural とアンモニヤの反應

Table 3 に見る如く, furfural の褐變化にはアンモニヤが大きい影響を與える。furfural glycine 反應に於いて, glycine が Strecker degradation によつて formaldehyde とアンモニヤに分解すると, ここに furfural, アンモニヤ反應が起る可能性が生れる。

furfural, アンモニヤ反應については SCHIFF¹⁵⁾, FOWNES¹²⁾, STRAIN¹³⁾, 杉澤¹⁴⁾ 氏等の研究があり、反應條件は異なるが、共に furfuran の生成を認めている。

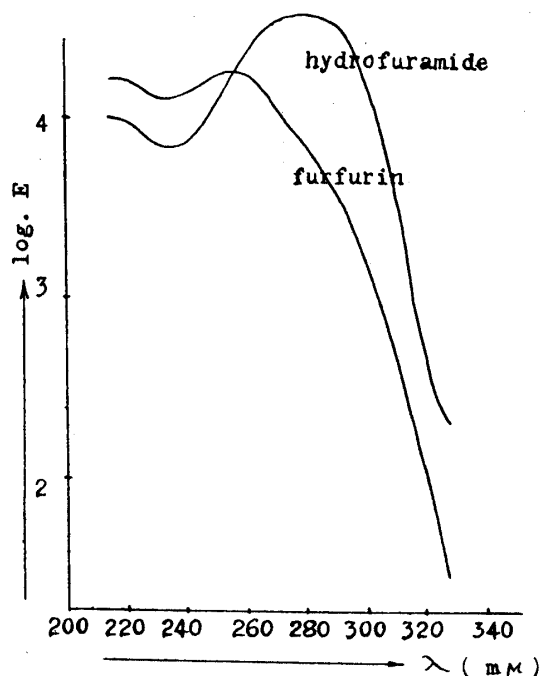
杉澤氏¹⁴⁾の報告によると furfural とアンモニヤの反應は次の如く進行し, hydro-furamide を經由して furfuran を生ずるという。



(250)

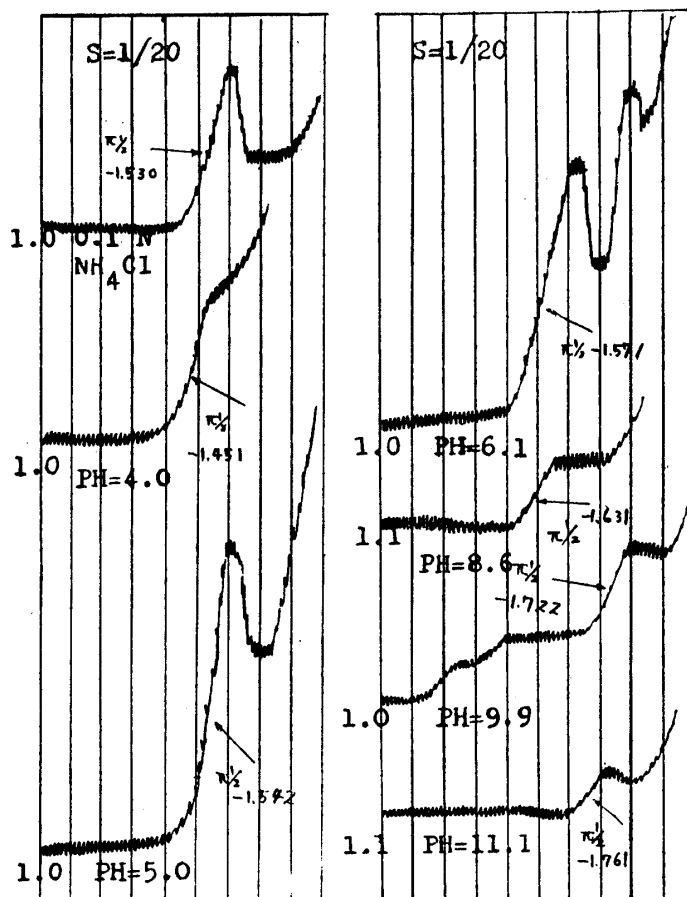
(野村) 夏蜜柑果汁製造に關する基礎的研究(第18報)

Fig. 2. Ultraviolet absorption spectra of hydrofufuramide and furfural

Furfural: 6.78×10^{-5} mol. (ethanol solution)Hydrofufuramide: 3.09×10^{-5} mol. (ethanol solution)

	Furfural (E)	Hydrofufuramide (E)
250	1.169	
255	1.169	
275		1.043
280		1.070
285		1.030

Fig. 3. Polarograms of furfural at several pH values



pH=4.0 to 6.1: McIlvaine system

pH=9.9 to 11.1: Kolthoff system

著者は先に glucose glycine 反応液より imidazol 核をもつ 4 (or 5)-methylglyoxaline を分離して, glycine の Strecker degradation 生成物であるアンモニアの役割を明らかにした。若し furfural, glycine 反応がこれと同じような機構で進んでいるとすると furfural がこの反応液より分離出来る筈である。著者は未だ現在これに成功していないが續いて研究を進めている。若し分離出来たら Strecker degradation と褐変との関係はより明確化されることは確である。この furfural は水に非常に溶解し難いが, benzol にはよく溶解して, 放置することにより, 赤褐色に着色する。

6. 結 言

本研究で得た結果を要約すると次の如くである。

- (1) galacturonic acid 及び過酸化水素で崩壊させた pectinic acid (galacturonic acid?) は非常に着色を起し易い。
- (2) furfural と arabinose の褐変を比較するに, その反応は arabinose → furfural → browning pigment と言うような単一な反応でなく, arabinose より furfural を生ずる場合の中間物質が可成りの影響を示している。
- (3) glycine は furfural の褐変反応をも促進する効果をもっているが, この glycine の効果を Strecker degradation と直接結びつけることをもって完全に説明を下すことは出来ない。即ち formaldehyde はむしろ反応を抑制する。一方アンモニアは可成りの促進効果はあるが, これを直接 glycine の褐変促進効果であるとするには尙問題がある。然しこのアンモニアは褐変機構を解決する一つの鍵をなしていることは確かである。
- (4) furfural, アンモニア褐変反応液より furfural を分離した。この furfural は空気中で酸化されると色がつき易く, 褐変の一機構をなすと考えられる。

終りに臨み、本研究を行うに當り、紫外線吸収スペクトル測定、及び元素分析實施に特別の御援助を戴いた武田薬品工業株式会社研究部の方々に謝意を表すと共に、研究費の一部は文部省科学研究助成補助金を使用したことを附記して謝意を表す。(夏蜜柑の化學的研究23報)

文 献

- 1) 野村: 本誌, **31**, 398 (1953), **32**, 442 (1954), 農化, **28**, 923 (1954). 2) G. O. SCHENCK: *Ber.*, **77**, 661 (1945). 3) R. E. MILLER and S. M. CANTOR: *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 5236 (1952). 4) H. SCHIFF: *Ann.*, **239**, 382 (1887). 5) A. P. DUNLOP et al.: *Ind. Eng. Chem.*, **38**, 705 (1946). 6) R. G. RICE et al.: *J. Am. Chem. Soc.*, **69**, 1798 (1947). 7) M. L. WOLFROM et al.: *J. Am. Chem. Soc.*, **69**, 2411 (1947), **70**, 514 (1948), **71**, 3518 (1949), **75**, 1013 (1953). 8) B. SINGH, G. R. DEAN and S. M. CANTOR: *J. Am. Chem. Soc.*, **70**, 517 (1948). 9) 野村: 本誌, **31**, 398 (1953). 10) J. L. SEAVER and Z. I. KERTESZ: *J. Am. Chem. Soc.*, **68**, 2178 (1946). 11) 赤堀: 日化, **52**, 893 (1931). 12) FOWNES: *Ber.*, **10**, 1188 (1877). 13) STRAIN: *J. Am. Chem. Soc.*, **52**, 1216 (1930). 14) 杉澤, 麻生: 農化, **28**, 682 (1954). 15) SCHIFF: *Ann.*, **54**, 52 (1845). (昭和30, 2, 3受理)

合成清酒に関する研究 (第3報) 脱脂大豆蛋白の酵素消化に就いて

坂 本 政 義 (株式会社 科學研究所)

緒 言

前報では脱脂大豆蛋白の細菌 protease に依る消化に就いて述べたが、本報では脱脂大豆蛋白の抽出區分即ちアルブミン、グロブリン、グルテリンの三者に就いて酵素作用を比較した。蛋白の抽出區分に就いてはCOMMITTEE on NOMENCLATURE¹⁾, JORDAN LLOYD²⁾, 又、アルブミンに就いては HOFFMEISTER, HOPKINS³⁾, グロブリンは COHN, PETERMANN⁴⁾, グルテリンは MCCALLA, OLCOTT⁵⁾ 等の報告がある。又、米の蛋白に就いては田所氏⁶⁾, 米のグロブリン、グルテリンに就いては BREESE JONES⁷⁾ 等の報告がある。之等の文献を参照して大豆蛋白の三區分に就いて細菌 protease に依る各蛋白の酵素作用、生成アミノ酸の相違等を検討した結果を報告する。

實 験 の 部

(1) 蛋白區分の性状

脱脂大豆蛋白を對照として抽出區分別の比較を行つた。抽出區分は次の如く分離されたもので、即ち水、アルカリ、食鹽の三者に依て抽出分別されたアルブミン、グルテリン、グロブリンの三區分である。

Table 1. Separation of Proteins in the Soy Case in material

Soy Casein Material	$\xrightarrow{\text{H}_2\text{O}}$	{albumin fraction (a)		
		{residue	$\xrightarrow{\text{NaCl}}$ {globulin fraction (b)	
			{residue	$\xrightarrow{\text{Na OH}}$ {glutelin fraction (c)
				{residue

Note:—

(a) albumin fraction: —

1st:— extracted twice with ten times water from the soy casein material at 20°C for one half hr.

2nd:— precipitated under the isoelectric point by adding acid to the filtrates separated by centrifuge.

3rd:— air-dried after washing and cleaning with alcohol and ether.

(b) globulin fraction: —

1st:— extracted by the same method as the previous with 5% sodium chloride from the residues after the extraction of the albumin part.

2nd:— air-dried after treatment by the previous method.

(c) glutelin fraction: —

1st:— extracted with N/20 sodium hydroxide solution from the residues after the extraction of the globulin part.

2nd:— air-dried after treatment by the previous method.