

ノート

[*Nippon Nōgeikagaku Kaishi*
Vol. 63, No. 1, pp. 49~50, 1989]

食酢中のフェニル酢酸

久保田昭正, 沖 裕 治
上原 廣子, 腹巻ゆかり
(タマノ井酢株式会社)

昭和 63 年 7 月 27 日 受 理

Phenylacetic Acid in Vinegar

Terumasa KUBOTA, Yuji OKI, Hiroko UEHARA
and Yukari HARAMAKI
Tamanoi Vinegar Co., Ltd.,
Kurumano-cho, Sakai 590

An off-flavor compound isolated from vinegar was identified as phenylacetic acid by gas chromatographic retention time and mass spectra of the isolated and authentic reference materials. The sensory odor threshold level of phenylacetic acid was 0.5 ppm by direct test and 0.1 ppm by remaining test in 4.5% acetic acid solution. The concentration of phenylacetic acid measured by HPLC was 2.5~8.2 ppm in commercial vinegars. The phenylacetic acid at this level of concentration probably influenced the off-flavor of the vinegar.

(Received July 27, 1988)

食酢中の香気成分に関しては、これまでに多数の報告があり⁽¹⁻⁶⁾、不快臭成分としてはアセトイン、ジアセチル^(7,8)および揮発性有機酸⁽⁹⁾が知られていた。前報⁽¹⁰⁾で著者らはアルコール発酵中に乳酸生成量および窒素溶出量を抑制することで、前記不快臭成分の生成を抑えることができることを示したが、食酢中にはまだ同定されていない不快臭成分があると考えられる。本報ではとくに残香不快臭成分に注目し、食酢中での存在についてはこれまで報告されていないフェニル酢酸を新たに見出した。

原料はアメリカ産トウモロコシを 32 メッシュパスまで粉碎し実験に供した。酵母は市販パン酵母を、酢酸菌はタマノ井酢の保存菌株である *Acetobacter pasteurianus* TH 80 を使用した。酵素剤はグルコアミラーゼ剤としてグルクザイム AF 6 (6000 単位/g, 天野製薬製) を

使用した。

食酢は以下のように調製した。原料 1 kg を水 2.7 l に懸濁し酢酸にて pH 4.5 に調整し、グルコアミラーゼ剤を 3 g, 酵母を 2 g 加え、30°C にて 4 日間アルコール発酵を行った。変性濾過後、固液分離してアルコール濾液を得た。酢酸発酵はあらかじめ通気発酵を行って活性化された種酢にアルコール濾液を添加し 30°C, 通気量 300 ml/min, 攪拌速度 750 rpm で発酵を行った。酢酸酸度 10% で発酵を終了し、濾過除菌後食酢とした。

残香不快臭の評価法として、試料 5 ml を直径 5.5 cm のろ紙 (アドバンテック東洋社製, No. 2) にしみこませシャーレン内に置き、50°C で 3 時間乾燥し、酢酸臭の揮発逸散した後のにおいを残香として官能評価した。

残香不快臭成分は、以下のようにして官能評価によって有香成分を分別した。まず食酢を減圧濃縮した後、あらかじめ蒸留水で平衡化したセファデックス G-10 カラムでゲル濾過を行い、その有香成分をあらかじめ蒸留で水平衡化した DEAE-セファセルカラムに吸着させ、同溶媒で洗浄後 pH 2.5 の希塩酸溶液で有香成分の溶出を行った。さらにこの画分を、あらかじめ 0.03% 過塩素酸 (pH 2.1) で平衡化した IR-120 B カラムにかけて同溶媒で溶出し、分離精製を行った。次いで、最終精製品を GC にかけた。キャピラリーカラム DBWAX (J & W 社製) 0.5 mm × 30 m を用い、カラム温度は 60°C から 200°C まで 3°C/min で昇温し FID で検出したところ、保持時間 28.8 分のところに単一のピークを示したので、HP 5970 GC-MS システムにて同定を行った。質量分析の結果を Fig. 1 に示した。ガスクロの保持時間および質量分析の結果から本物質はフェニル酢酸であることがわかった。これは、味噌⁽¹¹⁾、醤油⁽¹²⁾、納豆⁽¹³⁾、味噌^(14,15)、ビール⁽¹⁶⁾中での存在は報告されているが不快臭としての報告はなく、ましてや食酢中での報告例はない。また、フェニル酢酸は、はちみつ等の香りを補足する目的で使用されるが、このもの単独では非常に不快な臭いである。

次いでフェニル酢酸の定量法を検討したところ、島津有機酸分析システムで、分離カラム SCR-101 H を用い、溶媒は 0.03% 過塩素酸 (pH 2.1), カラム温度 60°C, 流速 1.1 ml/min で行い、210 nm で検出することで保持時間により分離、定量できることが明らかとなった。次いで市販食酢中のフェニル酢酸の含有量の測定を行った。結果を Table I に示した。市販純米酢すべてにフェニル酢酸は検出された。

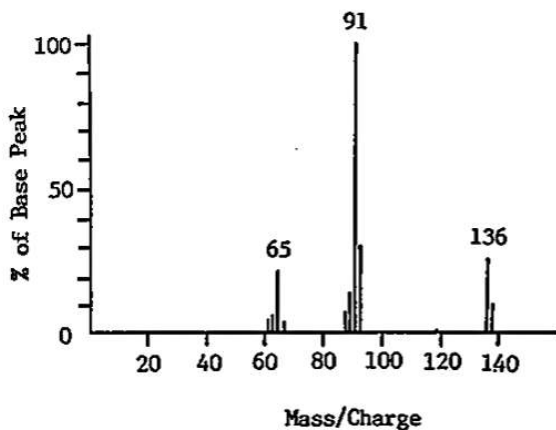


Fig. 1. Mass Spectra of Isolated Off-Flavor Compound.

Table I. Content of Phenylacetic Acid in Vinegars

Vinegar	Acetic acid (%)	Phenylacetic acid (ppm)
Pure rice vinegar	A	4.5
	B	4.5
	C	4.5
	D	4.5
	E	4.5
	F	4.5
Made from ethanol	4.5	0.7
Made from corn grain	4.5	7.3

ニル酢酸は含有されており、2.5~8.2 ppm 存在し、トウモロコシを原料とした食酢にも 7.3 ppm あったが、工業用アルコールを原料とする食酢中には 0.7 ppm しかなかった。また、ビール中には 0.9 ppm あるという報告⁽¹⁶⁾があるが、これと比較すると食酢中には多量に入っており、食酢の不快臭への大きな関与が考えられたので、本物質の閾値を測定した。

訓練されたパネル8名で、4.5% 酢酸溶液に 0.01~10 ppm に及ぶ各量のフェニル酢酸を添加し官能試験により直接および残香での閾値を求めたところ、直接官能、残香官能の閾値はそれぞれ、0.5 ppm, 0.1 ppm ときわめて低い値を示した。

これらの結果より、今まで食酢中の不快臭成分としてはアセトイン、ジアセチルさらにプロピオン酸、酪酸、イソ酪酸、吉草酸およびイソ吉草酸等の揮発性有機酸であると考えられてきたが、フェニル酢酸の閾値が上記のように非常に低く、しかも市販食酢中に 2.5~8.2 ppm も存在していることから、フェニル酢酸は食酢の不快臭

に大きな影響を及ぼしているものと考えられた。さらに、不快臭の少ないアルコール酢にフェニル酢酸を 5 ppm 添加し官能試験を行ったところ、同含量の穀物酢と同程度の不快臭を感じた。

また、本物質は今まで報告されてきた発酵食品中の存在量よりも多量に食酢中に存在するが、これは YUASA らの報告のようにカビ⁽¹⁷⁾や酵母⁽¹⁸⁾の代謝によって生成するのではなく、酢酸菌の関与によってできるものと考えられた。このことは、アルコール発酵終了時ではフェニル酢酸は、1 ppm 以下しか存在しないことから推測された。また、この場合も *Asp. sojae*⁽¹⁷⁾ *Sacch. rouxii*⁽¹⁸⁾ と同様に穀物由来のフェニルアラニンを前駆体とすると考えられるが、詳しい生成経路に関しては、現在検討中である。

終わりに、質量分析によるフェニル酢酸の同定について御助力いただいた、大洋香料株式会社食品研究室の皆様に深謝いたします。

- (1) 伊藤 寛：香料, No.112, 103 (1975).
- (2) 伊藤 寛：醸協, 73, 453 (1978).
- (3) J. H. Kahn, G. B. Nickol, H. A. Conner: *J. Agric. Food Chem.*, 20, 214 (1972).
- (4) L. W. Aurand, J. A. Singleton, T. A. Bell and J. L. Etchells: *J. Food Sci.*, 31, 172 (1966).
- (5) 円谷悦造, 正井博之: 発酵工学, 63, 211 (1985).
- (6) G. Yamaguchi and H. Masai: *Agric. Biol. Chem.*, 39, 1903 (1975).
- (7) 柳田藤治: 醸協, 73, 436 (1978).
- (8) 柳田藤治, 小泉幸道: 醸協, 75, 854 (1980).
- (9) 円谷悦造, 正井博之: 醸協, 81, 47 (1986).
- (10) 久保田昭正, 沖 裕治, 野木典子, 谷尻真治, 山本武彦: 農化, 62, 975 (1988).
- (11) 石原和夫, 本間伸夫, 小笠原長宏: 発酵工学, 63, 279 (1985).
- (12) 今原廣次, 中浜敏雄: 発酵工学, 46, 876 (1968).
- (13) 種子島千鶴子, 石崎由美子: 武庫川女子大学紀要食物編, No. 27, 37 (1979).
- (14) 森田日出男, 大林 晃, 田辺 脩: 醸協, 70, 33 (1975).
- (15) 内田正裕, 森田日出男: 醸協, 70, 174 (1975).
- (16) R. Tressl, T. Kossa, R. Renner and H. Koppeler: *Monatsschr. Brau.*, 28, 109 (1975).
- (17) K. Yuasa, K. Ishizuka, S. Kaburaki and T. Sakasai: *Agric. Biol. Chem.*, 39, 2199 (1975).
- (18) K. Yuasa, K. Ishizuka, S. Kaburaki and T. Sakasai: *Agric. Biol. Chem.*, 40, 1679 (1976).