

白米の腐敗による成分変化の研究

鈴木佐和子*

緒言

米は日本人の主食糧であり殊に精製して白米としたものは、日常主食として用いている。近年米は豊作が続き多量に生産され貯蔵されているがその貯蔵中、取扱い中に腐敗すれば成分が如何に変化するかが問題となる。

米の貯蔵に関する研究は1941年河野氏に依り依貯蔵の研究がなされている。それに依ると貯蔵中の細菌による腐敗は、水分含量、温度に関係し水分含量16%以上の米(14~15%以下の米を硬質米、15~16%以上の米を軟質米と云う。)は、病菌の発生が多く、米自身の呼吸作用も旺に行われ品質が悪くなる。又15°C以下であれば、米の呼吸は遅鈍であり品質の劣変が殆どなく、且つ病菌の繁殖もほとんどない⁴⁾、と言われている。また1920年吉村、陳両氏により白米の腐敗生成物の研究が行われており、白米腐敗液より全窒素、アンモニア態窒素、燐ウォルフラム酸沈澱窒素が定量され、イミダゾリルエチルアミン、プトレシン、アミルアミン、アンモニア等が分離されている³⁾。

白米とは、糠層と胚部を取り去られた澱粉の部分であつて精白度の進まないものは糊粉層を残し、強度の搗精を行えば糊粉層も取り去られ全々澱粉層のみとなる。而して玄米に対して白米の占むる割合は重量に於て約92%に相当するものである。

私は精白度重量に於て91%の白米を用いて白米の腐敗分解生成物について、酸度、アンモニア態窒素を定量し、白米に蒸溜水を加え10日間30~32°Cで放置した腐敗液より乳酸を亜鉛塩として分離した。又19日、33日間各々30~32°Cに放置した白米と、腐敗以前の白米との一般成分の比較、腐敗米の中に存するアミノ酸、糖、腐敗液中のアミノ酸の定性分析を行つた。

その結果、酸量、アンモニア態窒素量は放置時間(30, 50, 75, 100, 125, 175時間)と共に増加し、一般成分では、粗蛋白質、粗脂肪、粗繊維、灰分及び可溶性無窒素物は腐敗時間が長い程減少している。澱粉、全窒素、蛋白質窒素も時間と共に減少し、冷水可溶性窒素に全々変化がなかつた。次に腐敗した米の中

に存するアミノ酸を Paper chromatography に依り定性した。19日間腐敗させた白米からは、leucine, phenylalanine, Valine, tyrosine, proline, alanine, threonine, glycine, serine, glutamic acid, histidine, arginine, lysine, aspartic acid, cystine の15種と不明の spot 1個を、3日間腐敗させた白米からも同じく15種即、leucine, phenylalanine, valine, tyrosine, proline, alanine, threonine, glycine, serine, glutamic acid, histidine, arginine, lysine, aspartic acid, cystine と不明の spot 2個を検出した。糖は同様 Paper chromatography に依り glucose のみを検出した。又19日、33日間腐敗させた液について窒素の定量を行い、全窒素及び燐ウォルフラム酸沈澱窒素は前者が多く、アンモニア態窒素と非蛋白質窒素は後者が多かつた。腐敗液中のアミノ酸としては、腐敗日数19日のものから lysine, arginine, histidine, cadaverine ではないかと思われるものと不明の spot 3個を、33日のものからは、lysine, arginine, histidine, cadaverine ではないかと思われるものと不明の spot 5個を検出した。これら不明のものは塩基性のものと思われるが確かめることが出来なかつた。

実 験

I 試料

本実験に使用した試料は、1959年5月~10月迄京都市内で市販された新潟産精白度重量に於て91%の白米である。

II 酸及び Ammonium 態窒素の定量

(1) 試料調製

白米 100g に蒸溜水 250cc を加え、綿栓をして一定時間室温(30~32°C)に放置しその腐敗液を用いた。一定時間は酸の場合は 30, 50, 75, 100, 125, 175, 240, 456, 792 時間、Ammonium 態窒素の場合は 30, 50, 75, 100, 125, 175 時間放置したものである。

(2) 方法

酸は N/10NaOH で滴定し乳酸として、Ammonium

* 昭和34年度卒業生 平教授指導

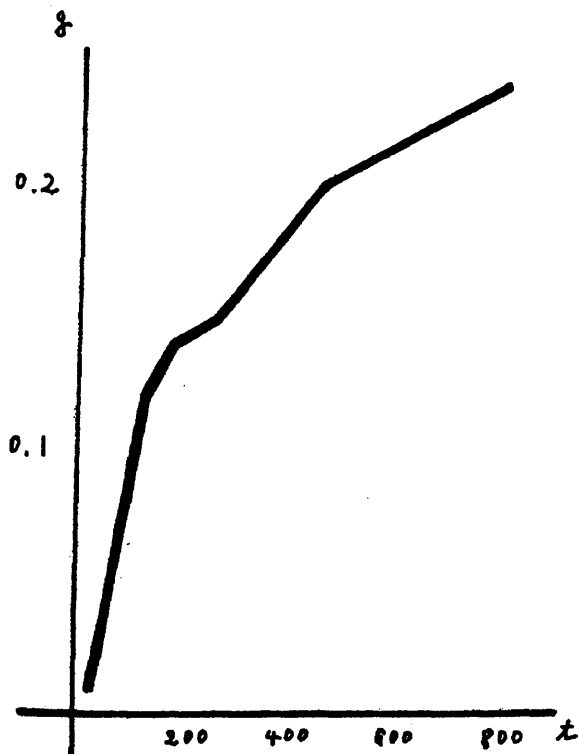
態窒素は腐敗の pH を KOH で 10.5 にし揮発性窒素として定量した。

(3) 結果
第一表の結果を得た。

酸及びアンモニア態窒素		
放置時間	酸 量 (g)	アンモニア態窒素 (g)
30 h.	0.0086	0.00081
50 h.	0.0297	0.00116
75 h.	0.0639	0.00253
100 h.	0.0972	0.00329
125 h.	0.1197	0.00411
175 h.	0.1395	0.00428
240 h.	0.1476	—
456 h.	0.2016	—
792 h.	0.2394	—

白米100gにつき

第一図 腐敗液の酸量



III 揮発酸及び不揮発酸の定量

(1) 試料調製

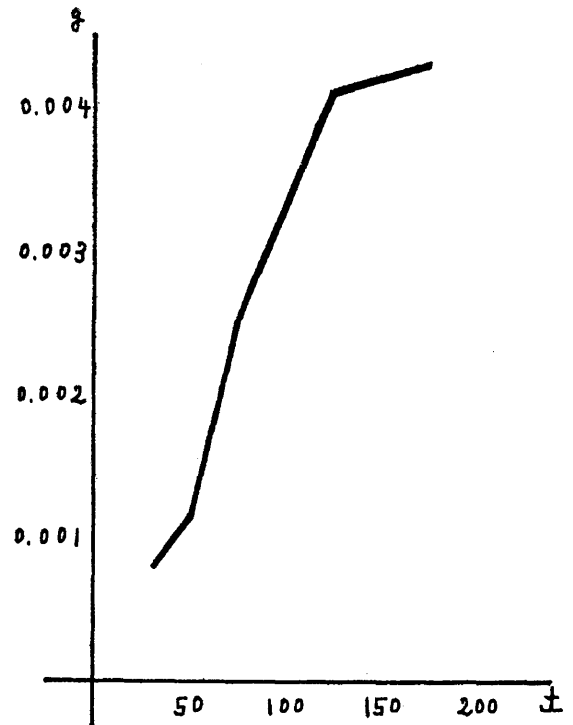
白米1kgに蒸溜水2lを混じ、綿栓をして30~32°Cにて10日間放置し、その腐敗液を用いた。

(2) 方法

腐敗液100ccを水蒸気蒸溜し、沝液につきて揮発酸を、残液につきては不揮発酸を N/10 NaOH で滴定

し定量した。

第二図 Ammonium 態窒素



(3) 結果

白米100gに対して

揮発酸(醋酸として).....0.37g

不揮発酸(乳酸として).....1.05g

IV 乳酸亜鉛の分離

(1) 試料調製

白米1kgに蒸溜水2lを加え、綿栓をして30~32°Cに10日間放置し、その沝液を用いた。

(2) 方法

腐敗液 300cc に炭酸亜鉛を加え湯煎上にて30分間加熱し温い内に沝過する。沝液を濃縮した後放冷して乳酸亜鉛の結晶を分離した。

(3) 証明

a 鏡検、乳酸亜鉛は透明柱状の結晶を示す。

b 灼熱法、析出した結晶をルツボで焼いて ZnO を定量する。

乳酸亜鉛の化学式は $(C_3H_5O_3)_2Zn + 3H_2O$ (不旋光性) で ZnO. 27.27% である。

(4) 結果

a 鏡検により第三図を得た。

b 灼熱法により ZnO. 27.27% を得た。

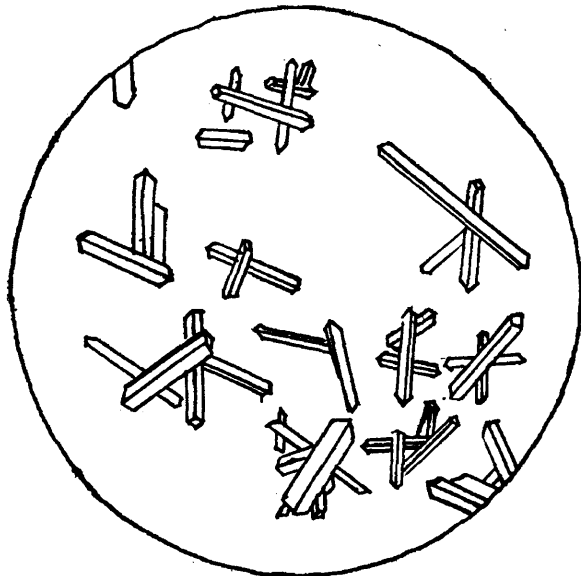
以上二つの検知より不旋光性の乳酸亜鉛の結晶を分離した。

V 白米の腐敗生成窒素の定量

(1) 試料調製

白米 1kg に蒸溜水 1l を加え、時々振盪しつつ室温(30~32°C)に放置すること 19日(A)と 33日(B)間、夫々の腐敗液を沝過して用いた。

第三図 乳酸亜鉛の結晶



1.0 x 10

(2) 方法

19日(A), 33日(B)間放置した腐敗液夫々に塩基性醋酸鉛を加えて飽和性液とし蛋白質を除く, その溶液につき, 全窒素は Kjeldahal 氏法に依り, アンモニア態窒素は KOH で pH10.5 にし揮発性窒素として定量した。又この濾液に10% 燐タングステン酸水溶液を加えて沈澱物を取り, デシケーター中にて乾燥し, 後 Kjeldahal 氏法に依り燐ウォルフラム酸沈澱窒素を定量した。

(3) 結果

第二表の結果を得た。

第二表 腐敗生成窒素

	全窒素 (g)	アンモニア態窒素 (g)	非蛋白質窒素 (g)	燐ウォルフラム酸沈澱窒素 (g)
A	25.368 (100)	0.019 (0.07)	24.233 (95.54)	1.116 (4.39)
B	21.350 (100)	0.023 (0.11)	21.185 (99.22)	0.142 (0.67)

白米1kgに対して括弧内の数値は全窒素100に対する%

VI 一般成分の比較

(1) 試料調製

試料の白米を粉碎したものと, 19日(A), 33日(B)間30~32°C で腐敗させた白米夫々を25% 天然乾燥し粉碎したものとを用いた。

(2) 方法

水分は105~110°C 常圧加熱乾燥法⁹⁾ 灰分は灰化法⁹⁾, 粗脂肪は ether 抽出法⁹⁾, 粗蛋白質は Kjeldahal 氏法⁹⁾ 粗繊維は AOAC 法⁸⁾ 可溶性無窒素物, 澱粉は HCl で加水分解の後 Bertrand 法全窒素, 蛋白質窒素⁹⁾, 冷水可溶性窒素(16°Cで20分抽出)は Kjeldahal 氏法⁹⁾ に依り各々定量を行つた。

(3) 結果

第三表の結果を得た。

第三表 一般成分の比較

	水分 (%)	粗蛋白質 (%)	粗脂肪 (%)	粗繊維 (%)	灰分 (%)	可溶性無窒素物 (%)
試料	14.78	6.33	0.88	0.41	0.54	81.36
A	17.59	3.83	0.48	0.25	0.30	77.36
B	18.99	3.65	0.37	0.18	0.27	74.28

澱粉 (%)	全窒素 (%)	蛋白質窒素 (%)	非蛋白質窒素 (%)	冷水可溶性窒素 (%)
73.22	1.06	0.92	0.14	0.01
69.22	0.64	0.35	0.29	0.01
66.85	0.61	0.17	0.44	0.01

VII 腐敗白米中に存するアミノ酸の定性分析

(1) 試料調製

VI で用いた所の粉碎した試料 A, B 各 15g を 2l 容丸底フラスコに入れ, 1500cc の 5% CCl₃COOH 溶液を加え湯浴中で5時間加熱後吸引濾過し, 残渣を熱水で3~4回洗滌し, 20% HCl 90cc を加えて24時間加水分解を行い濾過する。後濾液を Ion 交換樹脂 Amberlite IR-4B に通して HCl を除き, 約 1cc に濃縮して試料とした。

(2) 方法

Paper chromatography 二次元上昇法

展開剤 { 一次元; 75% Phenol 水溶液
二次元; n-Butanol + Acetic acid + Water (4 : 1 : 5)

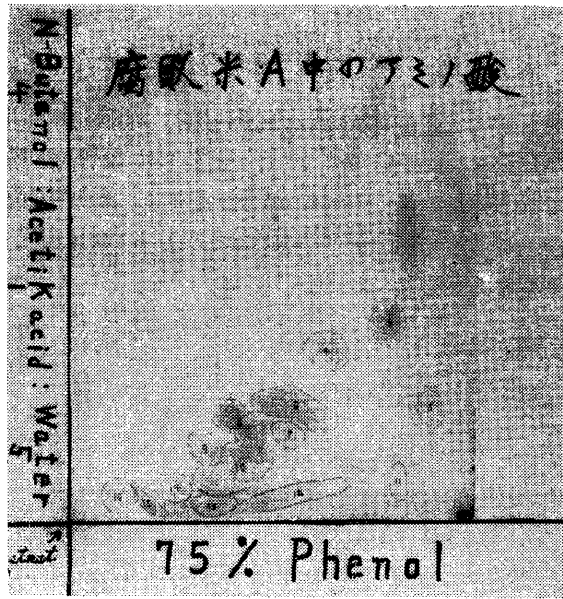
発色剤; 0.2% Ninhydrin n-Butanol 溶液

濾紙; 東洋濾紙 No. 50 40cm x 40cm

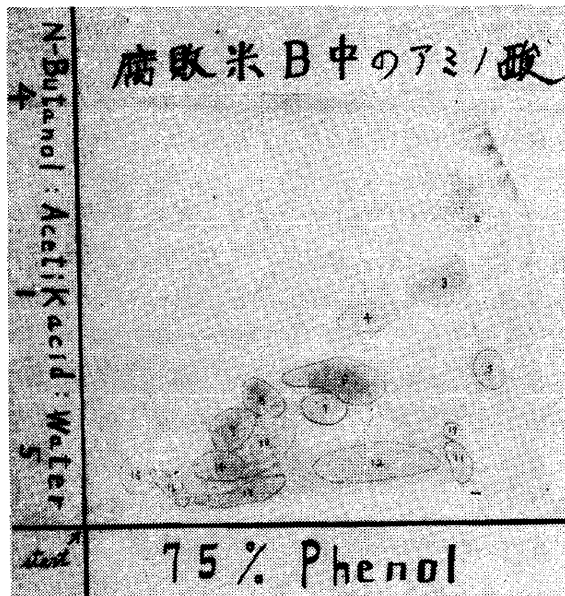
展開; 30°C 恒温器にて一昼夜展開

(3) 結果

写真第一及び第二の結果を得た。



- | | |
|-------------------|--------------------|
| 1. leucine. | 2. phenylalanine. |
| 3. valine. | 4. tyrosine. |
| 5. proline. | 6. alanine. |
| 7. threonine. | 8. glycine. |
| 9. glutamic acid. | 10. serine. |
| 11. histidine. | 12. arginine. |
| 13. lysine. | 14. aspartic acid. |
| 15. cystine. | 16. ? |



- | | |
|-------------------|--------------------|
| 1. leucine. | 2. phenylalanine. |
| 3. valine. | 4. tyrosine. |
| 5. proline. | 6. alanine. |
| 7. threonine. | 8. glycine. |
| 9. glutamic acid. | 10. serine. |
| 11. histidine. | 12. arginine. |
| 13. lysine. | 14. aspartic acid. |
| 15. cystine. | 16. ? |
| 17. ? | |

VIII 腐敗白米中の糖の定性分析

(1) 試料調製

VIで用いた試料A, B各50gに90% alcohol 300ccを加え24時間浸出, 濾別し残渣に80% alcohol 200ccを加えて同様24時間浸出濾過する。この濾液を半量位に濃縮後3倍量の Chloroform を加えよく振盪して下層 (Chloroform) を除く, 分離した上層にはまだ Chloroform が残っているため更に遠心分離し上層を濃縮して試料とした。

(2) 方法

Paper chromatography 一次元上昇法

展開剤; 75% phenol 水溶液

発色剤; Benzidine + Trichloroacetic acid

(Benzidine 0.5g Trichloroacetic acid 10cc 純 alcohol 80cc)

濾紙; 東洋濾紙 No. 50 40cm × 2cm

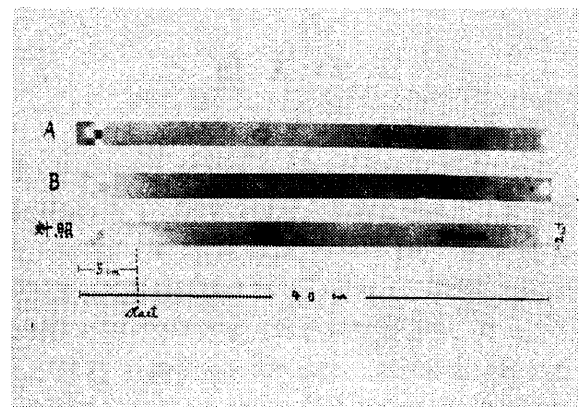
展開; 30°C 恒温器中にて一昼夜展開

(3) 結果

写真第三及第四表の結果を得た。

第四表 糖類の Rf

糖の一次元 Paper chromatogram.



糖 類	試 料 (Rf)		対 照 (Rf)
	A	B	
glucose	0.39	0.39	0.39

白米の腐敗液中のアミノ酸定性分析

試料調製

白米 1kg に蒸留水 1l を加え, 時々振盪しつつ室温 (30~32°C) に放置すること19日 (A), 33日 (B)間, 腐敗液夫々に塩基性醋酸鉛を加えて飽和溶液とし, その濾液に沈澱が生じなくなる迄10% 燐タングステン酸水溶液を加える。沈澱を濾別し, デシケーター中で乾燥する。この乾燥した沈澱物に水酸化バリウムと水を加えて乳鉢ですりつぶし, 遠心分離を行つて過剰の水酸化バリウムを除く, 濾液を5% H₂SO₄ と Ba (OH)₂ で中和し濁っているため再び遠心分離を行つた。これを濃縮し Ion 交換樹脂 Amberlite IR-120 に通してアミノ酸を分離し中和後約 1cc に濃縮して試料とした。

(2) 方法

Paper chromatography 二次元上昇法

展開剤, 発色剤, 濾紙, 展開全て VII と同じ方法である。

(3) 結果

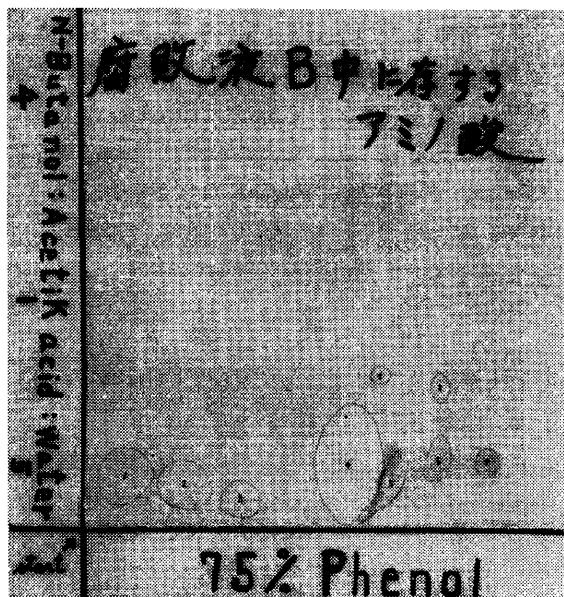
写真第四及び第五の結果を得た。

総括と考察

1. 白米の腐敗によりその液の酸量及びアンモニア態窒素量は放置時間と共に増加し最初はかなり急な、同じ様なカーブを示した。
2. 腐敗液の酸は揮発酸より不揮発酸の方が多い。
3. 腐敗液中の乳酸を亜鉛塩として分離した結晶は不旋光性の乳酸亜鉛の結晶であつた。
4. 白米の腐敗生成物として全窒素、アンモニア態窒素、非蛋白質窒素、燐ウォルフラム酸沈澱窒素を定量した。長時間腐敗させる程非蛋白質窒素が増し燐ウォルフラム酸沈澱窒素が減少した。これは腐敗してアンモニア態窒素になる為と思われる。



1. cadaverine.
2. ?
3. lysine.
4. ?
5. arginine.
6. histidine.
7. ?



1. cadaverine
 2. ?
 3. lysine.
 4. ?
 5. arginine.
 6. histidine.
 7. ?
 8. ?
 9. ?
5. 一般成分の比較は粗蛋白質、粗脂肪、粗繊維、灰分及び可溶性無窒素物は、腐敗時間のますに従って減少する。又澱粉、全窒素、蛋白質窒素も減つて行くが冷水可溶性窒素は変化が見られなかつた。
 6. 腐敗米中に存するアミノ酸は19日(A), 33日(B)間腐敗させたもの共に、leucine, phenylalanine, valine, tyrosine, proline, alanine, threonine, glycine, serine, glutamic acid, histidine, arginine, lysine, aspartic acid, cystine の15種とAは1個, Bは2個の不明の spot を検出した。
 7. 腐敗した白米の糖は19日(A), 33日(B)間腐敗させたもの共に glucose のみを検出したが Bの方は発色が薄く含量が少ない事がわかる。
 8. 白米の腐敗液中のアミノ酸は、lysine, arginine, histidine, cadaverine ではないかと思われるものと19日(A)間のものは3個, 33日(B)間のものは5個の不明な spot を検出した。これら不明のものは、putresine, guanidine, amylamin 等の塩基性のものと考えられるが確認することは出来なかつた。
 9. 以上の結果は長時間腐敗させた場合であります。貯蔵中の米が水について蒸れたり、又夏期等に米を長く水に浸けて於いたりすればこれ等のごく初期の現象が起つてゐるのではないかと考えられます。
最後に本実験に際し、終始御指導と激励を賜つた平教授はじめ、岡部講師、研究室諸姉に深く御礼を申し上げます。

参考文献

- 1) 尾山準一著; 食糧化学,
- 2) 佐竹一夫著; クロマトグラフィ,
- 3) 吉村・陳共同研究; 白米の腐敗分解生成物について, 日本化学総覧, 第一集, 第五卷 (42.22—37),
- 4) 河野常盛著; 米穀貯蔵の研究,
- 5) 宮道悦男著; 植物成分研究法,
- 6) 吉村清尚著; 生物有機塩基の研究,
- 7) Bertrand 著; 生理化学実験法,
- 8) 永原太郎著; 食糧分析,
- 9) 永原太郎・岩尾裕之共著; 食品分析法,
- 10) 日本薬学会編; 衛生試験法註解,
- 11) E. LEDERER & M. LEDERER;
CHROMATOGRAPHY
- 12) THE BIOCHEMICAL SOCIETY; THE BIOCHEMICAL JOURNAL, 1951. vol. 49, No. 5