

乳酸の定量—漬物—

中 尾 幾 子
西 水 初 子

緒 言

漬物は、西欧にみられるピクルス、ザウエルクラウトその他中国、朝鮮にみられる数種のものを除いては、我国独特に進歩、発達したもので、その歴史は古く万葉の時代から、日常我々の食膳に欠く事の出来ない嗜好品であり又重要な備蓄食品である。

漬物は材料の入手が容易であり、又漬込が簡単であるという理由から、一般に自家製が多い。従ってその種類も甚だ多く、一律に分類しがたく色々な方法が考えられているが、漬床から分類すると次の如くに分類される。

糠 漬	}	沢庵漬
		糠味噌漬
塩 漬		
酒粕漬		
麴 漬		
味噌漬		
醤油漬		
酢 漬		
辛子漬		
その他		

以上の様に一応分類されるが、これらは全て生食品、殊に蔬菜類及び生魚を消化しやすい状態にするともに特有の芳香をつけ、且貯蔵性をもたせるという同一目的のもとに工夫された加工法である。

そこでその貯蔵性について考える時、第一には食塩の濃度について、第二には乳酸醗酵である。しかしこの両者は単独ではなく、お互に関連をもちながら貯蔵に関係する。これについて増田千里氏は¹⁾次の如くに発表している。

温度 30°C 内外に於て、食塩の濃度 5% 以下では、はじめ乳酸菌が繁殖し酸味を生じ、ついで腐敗菌が繁殖して悪臭を発生し、肉くずれし完全に腐敗し 8% 以下では、はじめ乳酸菌が繁殖、短期間では差支えないが長期にわたると腐敗。8~10% では腐敗菌は相当に抑えられる。乳酸菌はなお活発で、乳酸が出来るに従いますます腐敗菌がおさえられる。従って短期保存は可

能。しかし長期にわたる場合は産膜酵母の関係もあり保存困難となる。12% 以上になると、腐敗菌、乳酸菌共繁殖は相当困難となり 15% になると漬物臭を発生する細菌が繁殖するだけで腐敗菌は殆んど発生しない。20% 内外では細菌の繁殖は完全に防がれる。

この様に乳酸醗酵は食塩の濃度に大きく支配されると同時に、又温度や漬期間に大いに関係することが想像される。

この報告によると乳酸醗酵は 30°C 8~10% NaCl 溶液で最も盛であり、漬物の腐敗は 20% 以上の濃度で最小となる。しかし漬物は、貯蔵性のみを重視したものではなく、その特殊の風味も重要な意味を持つものである。それには種々の微生物の醗酵作用が影響し、その中でも特に乳酸醗酵が大きく関係する。

この他漬物の乳酸量に大きく関係するものに漬床が考えられる。

製造中、微生物の作用による乳酸醗酵を伴うものは主に糠、塩漬であって、その他のものは殆んど作用を受けないが、あるいは受けても著しくない。従って後者に於る乳酸は、前処理の塩漬に於て起こるわずかな醗酵によるものと、本漬以後漬床から移行したものとと思われる。

以上述べた様に、漬物に於て乳酸醗酵は貯蔵、風味に大きく関係を持っていると同時に又考えられることは、乳酸菌は澱粉の消化を助け、あるいは整腸の一助ともなる。

この様に乳酸は漬物に於て重要な意味をもつものである。

そこで私達は、一般市販の多種の漬物の乳酸を定量する事も又大きな意味があると考へ本実験を開始した。

最近、滋賀県立草津高等学校、西村久子氏等による「近江の名産ふなずしの改善について」の発表に於て、ふなずしに乳酸の検出をみなかったという記事に接し、今一度検討を試みた。製造上から乳酸醗酵がなされているのではないかと考へ、併せて実験を試みることにした。乳酸の定量法には、Ba 塩法、比色定量

法、微量定量法、Clausen 氏定量法等があるが、本実験では Clausen 氏定量法を用いて定量を行なう。Clausen 氏定量法とは、乳酸を酸化して、acetaldehyde にして定量する方法であるが、酸化によって acetaldehyde になるものに乳酸の他アルコールがある。漬物中には、アルコールを含まれると思われるものが多種あるため、これを十分考慮して本実験を進めた。

実験の部

1 予備実験

(1) 試料の調製

ある濃度の乳酸 4 g を秤量し、これをメスフラスコにて 200cc とし検液とした。

(2) 乳酸の濃度決定

検液 10cc をピペットでとり、フェノールフタレンを指示薬とし、N/10-NaOH にて滴定し濃度決定³⁾

$$N/10-NaOH \text{ 1cc} = CH_3CHOH \cdot COOH \text{ 0,009 g 滴定数 16,1cc}$$

$$\therefore \text{検液 10cc 中 } CH_3CHOH \cdot COOH$$

$$= 16.1 \times 0,009$$

$$= 0,1449 (g)$$

$$\therefore \text{100cc 中 } CH_3CHOH \cdot COOH$$

$$= 0,1449 \times \frac{100}{10}$$

$$= 1,449 (g)$$

$$\therefore \text{乳酸の濃度 } x = \frac{1,449(g)}{2(g)} \times 100 = 72,45(\%)$$

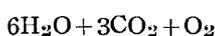
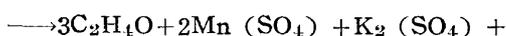
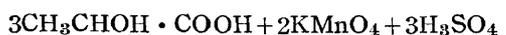
(3) Clausen 氏定量法による実験誤差の算定

Clausen 氏定量法

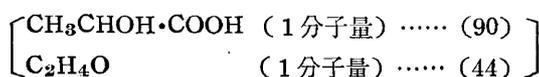
除糖、除蛋白操作を行なった醱酵液又は、一定量の醱酵液を硫酸酸性として、30~40時間エーテル抽出せる部分について本法を行なう。

検液 10cc に 10% -H₂SO₄ 溶液 10cc を加え、徐々に加熱し、煮沸後 2% -KMnO₄ 滴下すれば乳酸は定量的に acetaldehyde に変化する。

故にこれを蒸溜して定量する。



従って乳酸 1 分子より acetaldehyde 1 分子を生ずることとなる。



蒸溜 (硫酸ビドロキシルアミン法)

硫酸ビドロキシルアミン溶液に acetaldehyde を作用せしむる時は、次式の如く相当する H₂SO₄ を分離する。



この H₂SO₄ を methylorange を指示薬として規定アルカリをもって滴定し N/10-NaOH 1cc = 0,0044C₂H₄O として計算する。

従って N/10-NaOH 1cc は乳酸 × g に相当すると次式の如くなる。



$$= \frac{90 \times N/10NaOH (cc) \times 0,0044}{44}$$

$$= N/10-NaOH (cc) \times 0,009$$

この方法を利用し丸底フラスコに、3個の孔をあけたゴム栓をし、1個の孔から分液漏斗で 2% KMnO₄ を滴下し。1個の孔から空気を送り、他の一個の孔に逆流冷却管をふしその先を 2% -硫酸ビドロキシルアミン溶液 50cc につけて蒸溜を行なう。

以上の方法により乳酸の標準液 10cc につき乳酸定量を行ない Clausen 氏定量法による実験誤差の算定を行なった。

実験結果

回数	N/10 NaOH 滴定数(cc)	乳酸量 (g)	%
1	15.9	0,1431	98.7
2	15.8	0,1422	98.1
3	16.0	0,1440	99.5
4	15.7	0,1413	97.5
5	15.5	0,1395	96.1
6	15.4	0,1386	95.7
7	15.7	0,1413	97.5
8	15.8	0,1422	98.1
9	15.4	0,1386	95.7
10	15.7	0,1413	97.5
平均		0,1412	97.7

$$\text{平均} \quad 0,1412 (g) \quad 97.7\%$$

$$\text{標準偏差} \quad 0,001728 (g) \left[S = \sqrt{\frac{1}{n} \sum (x - \bar{x})^2} \right]$$

$$\text{誤差} \quad \frac{0,001728 (g)}{0,1449 (g)} \times 100 = 1.19 (\%)$$

(4) 各種有機酸及びアルコールが、Clausen 氏法による乳酸の定量に及ぼす影響の有無。漬物の中

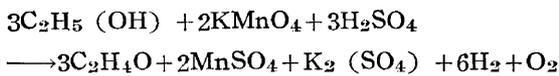
には、乳酸以外の有機酸及びアルコール醱酵によるアルコールが含まれていると考えられるので、その影響を調べるため乳酸標準液10ccに各有機酸及びアルコールの2%溶液10ccを加えClausen氏定量法により乳酸を定量し影響の有無を調べた。

実験結果

有機酸

有機酸名	N/10-NaOH 滴定数 (cc)	乳酸 (%)	影響
リンゴ酸	15.7	97.5	無
クエン酸	16.0	99.5	無
酒石酸	15.9	97.5	無
リン酸	15.7	95.5	無
コハク酸	15.8	98.1	無

アルコール



上式よりアルコールは、酸化により acetaldehyde に変化する故、理論的に乳酸定量に影響を及ぼすと考えられるので次の試験を行なった。

99.5% エチルアルコール 2 cc に蒸留水を加えて 100cc とし、この 10cc をとって乳酸標準液 10cc に加え、蒸発皿にて約半量に達するまで蒸発したものにつき Clausen 氏定量法により乳酸定量を行なった。一方蒸発前のものについても同様に定量を試みた。

実験結果

alcohol	N/10NaOH 滴定数 (cc)	乳酸 (%)	影響
蒸発後	15.7	97.5	無
蒸発前	20.0	124.3	有

以上の結果から6種の有機酸及びアルコールを蒸発させたものについては、影響を考えなくてもよいことになる。

II 本実験

- (1) 試料……市販の漬物多種
- (2) 試料の調製

試料を水洗後50g秤量、ミキサーにて摩砕、蒸留水でメスフラスコにて500ccとする。これを一昼夜冷所に放置浸出させた後自然滲過し検液とした。

- (3) Clausen氏定量法により乳酸の定量

検液100ccをピペットで蒸発皿にとり、water bathにて約半量となるまで濃縮（アルコールの蒸発をも含めた意味で）濃縮液に固形物を生じた場合は、自然滲過し滲液を検液とした。

濃縮液を congo-red を指示薬として硫酸酸性とした後、ソックスレーの液体エーテル抽出器にて約40時間抽出を行なった、抽出液をメスフラスコにて蒸留水で100ccとしその液について定量を行なった。

但しここでアルコールについてみると酒粕、醤油、味噌、酢、麴、辛子漬の中には、漬床中に蒸発によっては除去不可能なエステル化されたアルコールが含まれている。これが漬物に移行していると考えられる。

これはエーテルに可溶で抽出液に出るのでこれを除去する。

操作

抽出液20ccをとり、フェノールタレンを指示薬として N/10NaOH にて中和し、乳酸をエーテル不溶物にする。これを分液漏斗にてエーテル抽出し、アルコールと乳酸を分離し、下層をとって検液とした。

同時に各々の抽出液について、一次元 Paper Chromatography を行なった。

展開液 n-ブタノール・水・蟻酸 = 4 : 2 : 1 上記の割合で混合したものを、30°C 恒温器に一昼夜放置し上層を展開液として用いた。

発色剤 Bromphenol blue 0.2% n-ブタノール溶液
濾紙 東洋濾紙 No50 (2 × 4)

展開 30°C 恒温器中にて12時間展開

実験結果

Paper Chromatography

漬床	品名	乳酸試料 Rf値	料 Rf値	他の有機酸
糠	沢庵漬	0.72	0.72	リン酸, リンゴ酸
	柿の葉漬	0.73	0.74	リン酸, リンゴ酸
	錦城漬	0.73	0.74	リン酸, リンゴ酸
	山川壺漬	0.72	0.72	リン酸, リンゴ酸
漬	糠味噌漬	0.75	0.74	
	なすとぶ漬	0.75	0.74	
	緋野菜漬	0.76	0.76	
塩	赤かぶ漬	0.73	0.73	
	高菜漬	0.75	0.75	
	菜花漬	0.72	0.72	
	白菜漬	0.73	0.73	
	朝鮮漬	0.71	0.71	
	すくき漬	0.73	0.72	
	しば漬	0.72	0.73	
漬	水菜ひね漬	0.74	0.74	
	桜の花漬	0.69	0.68	

	広島菜干	0.79	0.79	リン酸, クエン酸
	梅干	0.73	0.73	
酢漬	千枚漬	0.72	0.72	
	ラッキョウ	0.73	0.73	
	ピクルス	0.68	0.67	
酒粕漬	奈良漬	0.75	0.74	
	ふぐ粕漬	0.68	0.69	
麴漬	ますずし	0.78	0.78	リン酸, リンゴ酸
	鮭麴漬	0.74	0.74	
	べったら漬	0.72	0.71	
味噌漬	べっこう漬	0.74	0.74	
	鯛味噌漬	0.73	0.73	
醤油漬	福神漬	0.68	0.69	
辛子漬	なす辛子漬	0.73	0.73	
その他	ふなずし	0.71	0.72	
	へさや	0.75	0.75	

乳酸の定量

		品名	N/10/NaOH 滴定数 (cc)	乳酸 (%)
糖	沢庵漬	沢庵漬	2.7	1.22
		柿葉漬	2.5	1.09
		錦城漬	2.8	1.26
		山川壺漬	3.0	1.35
漬	糠味噌漬	茄子どぶ漬	0.8	0.36
		緋野菜	1.7	0.77
		赤かぶ	2.4	1.08
塩	漬	高し菜	1.3	0.58
		ばば漬	1.1	0.49
		菜花漬	2.4	1.08
		白菜	2.1	0.94
		朝鮮漬	1.5	0.67
		すぐき	3.0	1.35
		水菜ひね	1.7	0.76
		桜の花	1.3	0.58
		広島菜	1.1	0.49
		梅干	1.5	0.67
酢	漬	千枚漬	2.0	0.90
		らっきょう	1.5	0.67
		ピクルス	2.7	1.21
酒粕	漬	奈良漬	2.0	0.90
		ふぐ粕漬	1.4	0.63

麴漬	ます寿司	5.4	2.43
	鮭麴漬	3.6	1.62
	べったら漬	3.5	1.57
味噌漬	鯛味噌漬	1.9	0.85
	べっこう漬	3.5	1.57
醤油漬	福神漬	2.2	0.99
辛子漬	茄子辛子漬	3.3	1.48
その他	ふなずし	13.8	6.21
	くさや	4.5	2.02

総括

- 漬物は、総て乳酸醗酵をしており、乳酸量は一般に漬物と呼ばれているものに於ては、約0.3~1.6%の範囲内にある。
- 乳酸醗酵の度合は、漬床よりも食塩の量、漬期間に関係し、漬期間の長いもの程その度合は大である。
- なすどぶ漬、広島菜等の浅漬の保存性の少ないものより、麴漬、味噌漬、奈良漬等保存性の大的ものの方が乳酸量は多い。従って、乳酸醗酵は保存性に関係する重要な一要因である。
- 沢庵漬に於て、乳酸量がほぼ一定しているのは、漬方法に余り差のないためと思われる。
- 辛子漬に乳酸の多いのは、辛子より出来るブドウ糖が乳酸醗酵を旺盛ならしめるためと思われる。
- 西村久子氏等の報告によると、ふなずしに乳酸の検出が認められていないが実験はその検出を多量に認めた。
- 味覚により酸味を感じないものでもかなり多量の乳酸が定量された。これは漬床から移行する臭や他の味のため酸味が減ぜられるものと思われる。
- 東京名産の“くさや”も乳酸醗酵をしている事を本実験により認めた。

この報告を終るにあたりまして、研究に終始親切に御指導下さいました平友恒教授並びに高橋、山名両先輩に深く感謝いたします。

参考文献

- 増田千里：農産加工綜典
- 東京大学農学部農芸化学教室：実験農芸化学上・下巻 p.245, 473
- 山田正一：醸造分析法 p.266.
- Neuberg, U, Gottschalk : Biochem zts, p.146, 164, 582.
- Julius, B. Cohen: Practical Organic Chemistry p.73
- 佐竹一夫：クロマトグラフィー