このものを寧ろ異常に蓄積する性質があることも試験されている⁹⁾。従つて腐造とこの酸とは直接関係はないわけであるが、それが特に腐造酒に検出された（ロテラ反応青色、沃度滴定数 3cc 内外）理由は上記の結果より第一に変調でボーメの切れの悪いもろみに於てはその生成蓄積が多いと考えられる。第二にそのようなもろみでは早期に（余り減少しない時期に）アルコール添加等が施されてそのまま製成酒に移行するといふように解せられるのである。併し明かな腐造臭を示すものでロテラ反応陰性のものもその後認められ、又他方酒母には常に多少ともこの酸があるので酒母四段を行つた場合とか或はメーターを残す為に早期にアルコールを加えた等の場合には腐造と関係なく製成酒に於て反応が或は陽性に出る場合も考えられるので、前報でケトン酸の検出が腐造の一つの指標になると考えたのは誤りであつた。

文 献

- 1) 化学実験学微生物及酵素実験法（河出書房）308 頁
- 2) 京大編：農芸化学実験書（下巻）835 頁
- 3) 山田正一：醸造分析法（昭 11. 10）143 頁
- 4) 昭和 28 酒造年度鈴木実試験：昭 29.7 所内研究発表会
- 5) 佐藤久光・榎 徹・同上：（醸試報 No. 134 投稿中）
- 6) 川端修一・川野義男：合成清酒組合技術部会報 No. 4, 32（昭 29. 11）
- 7) 猿野琳次郎：醸工 32, 370（昭 29）
- 8) 安藤智雄・栗山一秀・赤見坂聰：醸工 33, 21（昭 30）
- 9) 佐々木西二・妙田俊夫：農化大会（昭 29, 30）

合成清酒の濁について

猿野琳次郎・松浦松雄・佐々木喜代

（昭和 30 年 5 月 10 日受理）

On the turbidity of synthetic saké

By Rinjiro SARUNO, Matsuo MATSUURA and kiyo SASAKI

（Received May 10, 1955）

The turbidity of synthetic saké is generally caused by the growth of yeasts therein the vitamins of the B group such as pantothenic acid, biotin, and inositol stimulated the growth of yeasts in syntheticsaké. The addition of ethyl bromacetate (2p.p.m.) inhibited the yeast turbidity of synthetic saké.

合成清酒の濁濁は年々梅雨期の前後に於て起ることが多く、主として酵母再醗酵による濁濁であるか、如何なる原因によるものか未解明の点が多い。

最近合成清酒の香味を増強することが行われているが、何れの方法によつても添加物は含窒素物と考えられるので、これらの物質を添加した場合、合成清酒の火持即ち特に酵母による再醗酵に就ては充分考慮すべきであろう。

合成清酒の酵母濁濁は清酒の火落の問題と趣を異にして居り、これに関連する諸要素を明かにすることは工業的立場よりも肝要であり、製品がどの程度濁濁を受け易いかを更に予知することが出来たら品質管理上有利である。

研究者は先にパン酵母の生育素に就て研究しパントテン酸が特に必要であり、 β アラニンで代用出来ることを報告¹⁾したが、合成清酒の酵母濁濁の場合も同様 2~3 種のビタミンの含量に左右され濁濁が生じ易いことを知つた。

実 験

（其の一）

濁濁の定量法としては製品中に繁殖した酵母濃度を吸光度により測定した。酵母量と吸光度との関係は次図の通りである。

この標準曲線は既知量の酵母を一定量の溶液に懸濁して A. K. A. 比色計により filter No. 12 (650 mμ) を使用して求めた。

水 10 ml 中に圧搾酵母 (水分 69.30%) を 1mg より 20mg の濃度に懸濁し, A. K. A. 比色計 cell 厚さ 1 cm, フィルター No. 12 (650 mμ) を用いて吸光度を測定する。

酵母濃度 mg/10cc	1	2	3	4	5	6	10	15	20
吸光度 E	0.122	0.221	0.322	0.409	0.506	0.556	0.821	1.051	1.230

接種酵母の調製。

麹汁 10 cc に合成清酒の濁濁したものより分離した酵母 (*Sacch. cerevisiae*) を接種し, 30°C で 48 時間培養し遠心分離して菌体を採取し, 無菌生理食塩水に懸濁して氷室中に 4 時間置き遠心分離して採取した酵母を 800cc の水で溶かし, その一滴を 5cc の medium に接種する。

medium :

John WHITE の medium を参考とし Alc. 14%, 10% の純合成清酒を調製して下記の growth factors を入れる。

Vt B ₁	20γ	ビオチン	0.6γ
Vt B ₂	10γ	イノシット	5000γ
ニコチン酸	500γ	パントテン酸石灰	50γ
純合成麦酒	100cc		

実験 (1) 酒精濃度 10% の場合

10% Alc. の合成清酒を基本培地とし各 growth factor (発育素) の効果を見るために上記 growth factor を全部添加したものより夫々の growth factor を除いた培地を作り, その場合の濁濁酵母の繁殖状況を調査した。

発育素	1 全部添加	2 Vt B ₁ 欠	3 Vt B ₂ 欠	4 ニコチン酸欠	5 ビオチン欠	6 イノシット欠
発育素	7 パントテン酸石灰欠	8 発育素無添加	9 ペプトン 0.017% 添加			
	11 日目(E)	17 日目(E)	23 日目(E)	摘 要		
1	0.357	0.783	0.896	全部添加		
2	0.407	0.674	0.721	Vt B ₁ 欠		
3	0.332	0.721	0.796	Vt B ₂ 欠		
4	0.398	0.721	0.791	ニコチン酸欠		
5	0.503	0.726	0.678	ビオチン欠		
6	0.319	0.674	0.620	イノシット欠		
7	—	0.004	0.032	パントテン酸石灰欠		
8	0.004	0.009	0.009	無添加		
9	0.036	0.036	0.092	ペプトン 0.01% 添加		

growth factors を全部添加したものが最も酵母の繁殖が良好であるのは合成清酒の酵母濁濁に於ても此等ビタミン類が酵母生長に重要な役割を有していることを示す。最も注目をひくのはパントテン酸石灰無添加のものが酵母の発育が極めて悪いことであつて, パントテン酸石灰が酵母の繁殖に必須成分であることが知られる。次にビオチンと Inositol が効果がある。

この結果より見ればパントテン酸石灰を定量すれば合成清酒の濁濁の難易の傾向を察知することが出来るであろう。

実験 (2) 酒精濃度 14% の場合

次に合成清酒の酒精濃度が 14% になっている場合, 酵母濁濁の難易に就て前実験と同様な条件で吟味した。

酒精濃度が高く 14% のときは 11 日目迄は酵母の繁殖は起らなかったが, 17 日目には増殖した。前実験と同様 growth factor を全部添加したものが最も増殖し, この場合は天然培地であるペプトンを添加し

	11 日目(E)	17 日目(E)	23 日目(E)	摘 要
1	—	0.208	0.903	全部添加
2	—	0.282	0.791	Vt B ₁ 欠
3	—	0.212	0.745	Vt B ₂ 欠
4	—	0.175	0.629	ニコチン酸欠
5	—	0.357	0.839	ピオチン欠
6	—	0.201	0.783	イノシット欠
7	—	0.018	0.102	パントテン酸石灰欠
8	—	0.009	0.009	無添加
9	—	0.053	0.288	ペプトン 0.01% 添加

たものよりも酵母数が多い。

前実験と同様パントテン酸石灰が欠けていると酵母繁殖は著しく抑えられる。Vt B₁, Vt B₂, ニコチン酸, イノシット欠の合成清酒では対照完全培地より繁殖が少い。此等ビタミン類の相乗的な効果が見受けられる。

R. J. WILLIAMS⁽²⁾ により発見されたパントテン酸は LYNEN⁽³⁾ が酵母から acetyl CoA の抽出に成功して以来, CoA の構成要素として酵母の炭水化物, 脂肪及び蛋白の代謝に極めて重要であることが明かにされた様に, 酵母増殖の際の生活代謝に欠くべからざるものであるから合成清酒の酵母濁濁の場合の上述の結果も容易に首肯し得る所である。

尚酒精濃度 16% 以上のものも前実験同様に試験したが, 繁殖しなかつた。

(其の二)

嗜好飲料類の防腐剤として最近ブロム酢酸エステルが発見されて欧州に於て用いられて居る⁽⁴⁾とのことで之を 1~10 p. p. m. (100 万分の 1 乃至 10) 程度の濃度で合成清酒に添加して酵母濁濁の防止が出来はしないかと考え, 次の如く実験を行つた。

Monobromessigsäureäthylester の調製

氷醋酸 150cc, 無水醋酸 30cc, ピリジン 0.15cc, 臭素

三頸フラスコに攪拌器, 寒暖計, 滴下ロート, 還流冷却器を設備する(一つの口を二又にすればよい)。フラスコに氷醋酸, 無水醋酸, ピリジンを入れ沸騰する迄熱す。液温を 110~120°C に保ち攪拌下にブロムを滴下する。滴下した時, 液の色は褪色であるが, 暫く攪拌していると消える。その後次の滴下を行い, 滴下終了後 20 分間還流すればブロムの色は消え, 反応は終了する。

後未反応の醋酸を溜去し(約 50cc), 残留液に無水アルコールを 300°C 加え 2 時間還流する。エステルを飽和食塩水で洗滌し Na₂SO₄ で乾燥, 一夜放置後蒸溜する。KP₃₆₋₃₈: 71~73° 95g を得た。

市販酒(2 級酒)をアルコール 10% に稀釈し, ペプトンを 0.05% 添加して次表の如くブロム酢酸エステルを添加して合成清酒濁濁酵母, *Hansenula*, sp., Sake Hefe No. 6 (協 6) を接種して 25°C テルモ中でその発育を観察した。

以上の如く 0.5 p. p. m. でやや発育するが, 2 p. p. m. では完全に発育が阻止される。純合成清酒に 0.5, 2, 5 p. p. m.

添加して馴酒したが, 0.5, 2 p. p. m. は良く, 5 p. p. m. は薬品臭が少し感じられる。

接種酵母	ブロム酢酸 エステル	4 日後	9 日後	15 日後
* 合成濁 清酒 濁濁 酵母	0 p. p. m.	+	++	+++
	0.1	+	++	+++
	0.5	—	—	—
	2	—	—	—
	5	—	—	—
ハン ゼ ス ラ 種	0	±	±	++
	0.1	±	±	±
	0.5	—	—	±'
	2	—	—	—
	5	—	—	—
清 酒 酵 母 六 号	0	±	±	+
	0.1	—	±	+
	0.5	—	—	±'
	2	—	—	—
	5	—	—	—

* 濁濁合成清酒より分離した清酒酵母

攪筆するに当り本研究の発表を許可された森社長, 平山副社長に深謝する。

文 献

- 1) 室田・猿野・阿野: 醸工 30, 146 (1952)
- 2) R. J. WILLIAMS: J. Am. Chem. Soc. 55, 2912 (1933)
- 3) LYNEN, F., and Reichert, E.: Angew. Chem. 63, 47 (1951)
- 4) A. D. A. Mossel

and A. S. D. E. Bruin : 農産加工技術研究会誌 1, 46 (1953)

(日本酒類株式会社)

スクラーゼを使用した白ブドウ酒の試醸成績

小 原 巖・楠田 忠 衛・野々村英夫

(昭和 30 年 5 月 10 日 受理)

Experiments with a pectic enzyme "Sclase" in white winemaking.

By Yuwao OHARA, Tadae KUSHIDA and Hideo NONOMURA

(Received, May 10, 1955)

It has been possible to state, that the clarification of white wine was hastened and improved on flavor in addition of small doses of "Sclase" (0.01%), but in large doses (over 0.05%) the acidity and roughness were increased.

ブドウ果の不溶性ペクチン質は熟期の進むに従い減少するが¹⁵⁾、果肉中の可溶性ペクチンは完熟したものでは返つて増加するので、破碎果を直ちに圧搾して白ブドウ酒の果醪をつくる際、圧搾が困難であり、搾汁量が少なく多量の粕が出来るため古くからペクチン分解酵素剤を使用し搾汁を容易ならしめる⁷⁾²⁰⁾²³⁾と共に果醪の収量を増し、なお製品の清澄度を高めようとする試みが多くの人々によつて行われている¹⁰⁾¹⁶⁾¹⁷⁾²²⁾市販ペクチン分解酵素剤は主として Pectin-Polygalacturonase であり、Pectin-Methylesterase は比較的小さいのが普通である。

それらは大概糸状菌その他の微生物の生産するペクチン分解酵素を商品化したものであるから、いわゆるペクチン分解酵素の他に種々の酵素を含有し、ものによつては製品に褐変等悪い影響をもたらすものもあり、特に白ブドウ酒の仕込には蛋白分解酵素を含まないものがよいとされている⁹⁾。

酵素剤をブドウ酒醸造に応用する場合、破碎果に直接添加し一夜放置した後、圧搾する方法⁵⁾と除梗破碎後圧搾して得られた汁液に亜硫酸を加えた上、次に酵素剤を添加し醗酵前の滓下をよくする方法とがある。

CRUESS⁴⁾によれば醗酵前又は直後に添加して、いずれも清澄度を高めることが出来るが醗酵直前に加えるのが最もよいとされている。

また、ペクチン分解酵素剤の使用により酒石の沈澱が促進され²⁾また製品の香味がよくなり¹³⁾²⁶⁾²⁴⁾酒精及びグリセリンは僅か乍ら酵素剤を使用しない対照のものより多くなる¹⁴⁾が、メチルアルコールの含量が多くなる⁸⁾¹³⁾といわれている。

なお従来酵母はペクチンを分解しないとされていたが²¹⁾最近小沢¹⁸⁾は *Saccharomyces cerevisiae* 等に Pectin-Polygalacturonase を検出し、また岡本¹⁹⁾によれば果実酒の醸造に、これらの酵母を利用し醗酵と同時に清澄の目的が達せられるという。

著者は今回ペクチン分解酵素剤スクラーゼを白ブドウ酒の醸造に応用する場合の予備試験として小仕込試験を行つたので、その概要を報告する。

実 験 の 部

I. 供試料 原料ブドウ果は勝沼産甲州種を使用した、昭和 29 年 10 月 21 日採取し、一夜室温に放置したものを供試した。晚腐病等の病害及び虫害による不良果は殆んど皆無といつてもよいが、天候が不良であつた為、糖分は少なかつた。常法による成分分析結果は次の通りである。

比 重	1.064	揮発酸 (醋酸として)	0.034 g/100ml
" (Bllg)	14.65	全窒素	0.045
総 酸 (酒石酸として)	0.745 g/100ml	Bllg/総酸	19.7

なおペクチン分解酵素剤として使用したスクラーゼは三共株式会社田無工場より分譲されたものである。