グルコースメーターによる清酒および清酒 もろみのグルコースの微量定量法

梅原 康夫・来間 健次・高森 章作・大沢 久男*

(大関酒造(株)・*(株)富士電機総合研究所)

(昭和 57 年 9 月 2 日受理)

Determination of Glucose in Sake and Sake-Mash by Glucosemeter

Yasuo UMEHARA, Kenji KURUMA, Shôsaku TAKAMORI, and Hisao ÔSAWA

(Ozeki Sake Brewing Co., Ltd.)

緒 言

清酒の製造において、発酵、貯蔵、調合、製品等の各段階での成分分析は品質管理上重要な要因である。これら成分分析の中で糖類の分析はレーン法¹⁾による直接還元糖の測定が一般的に行われている。また、グルコースの測定は glucostat 法²⁾により、永谷ら³⁾、岩野ら⁴⁾、布川ら⁵⁾、が行なっているが、試薬の調製、反応、吸光度の測定等操作が煩雑であり、熟練を必要とする。そこで、より簡便で迅速な測定方法として、近年、著しい発展を遂げている固定化酵素膜電極によるグルコースの測定方法⁶⁾がある。我々は、血液中のグルコースの測定のために開発されたグルコースメーターを用いて、清酒および清酒もろみ中のグルコースを測定したので報告する。

実 験 方 法

1. グルコース測定機器

富士電機製グルコースメーターを使用した。

2. グルコース量の測定原理

本実験に用いたグルコースメーターの測定原理は固定化グルコースオキシダーゼ膜を用い、生成した過酸化水素を白金-銀電極で酸化還元し、得られた反応電流値を測定する。

膜上での反応は次のごとくである。

ここで生成した過酸化水素は膜を通過し、白金極上で酸化され、銀極上では酸素が還元される。

H_2O_2 の酸化反応により生じる電流を実測し、 H_2O_2 を定量することにより、グルコース濃度を測定する。

なお、測定範囲は 20~500 mg/100 ml、サンプル量 20 μ l、処理能力 80~90 サンプル/hr. である。

3. 市販清酒の分析

市販されている 1.8 l 瓶詰清酒 25 点(特級酒 9 点、一級酒 9 点、一級辛口酒 4 点、二級酒 3 点)について、一般成分分析を国税庁所定分析法にて、グルコース量をグルコースメーターにて測定した。

4. 清酒もろみの分析

清酒もろみの分析は総米 3 t、精米歩合 70%、麴歩合 20%、汲水歩合 130.5% で協会 7 号酵母を使用した酵母仕込の現場のもろみについて実施した。また、泡なし酵母は総米 1.5 kg で同様の仕込配合の小仕込みもろみにて行なった。

実験結果および考察

1. グルコースメーターによるグルコースの定量

市販特級試薬を用いて検量線を作成した結果、グルコースメーターの表示はグルコース濃度が 0.6% までは直線性があり、それ以上の濃度では若干表示濃度が下回る傾向にあった。

次に清酒やもろみ等の酸性の溶液を測定した場合について検討するため、乳酸にて酸度を調製したグルコース溶液で測定したところ、酸度の高い場合はグルコースメーターの表示量が若干少な目に出る傾向があり、酸度が 9 ml のもので約 2% 低い値を示した。これはグルコースメーターの緩衝液の pH が 7 に調整してあり、試料はセル内で 20 倍に希釈されるが、酸度の高い場合にはこの緩衝液の pH が下がるためと考えられる。より正確な分析値を必要とする場合は試料を中和するか、その pH での標準グルコース液で調製する必要がある。また、エタノールの影響、希釈による影響についても検討を行なったが、影響は認められなかった。

2. 市販清酒の分析

市販清酒 25 点の一般成分分析結果およびグルコース量の測定結果を第 1 表に示した。この結果より直糖分と

第1図 清酒もろみ汙液中のグルコースの経時変化

グルコース量との相関は次のごとくであった。

$$D.S. = 0.9820 \times \text{Glucose} + 0.7276$$

$$r = 0.9735, n = 25$$

3. 清酒もろみ中のグルコース量の測定

清酒醸造はもろみの発酵中は糖化と発酵が同時に行なわれており、もろみを酵母より切り離した場合には糖化のみが進行し、もろみ汙液を放置しておくでグルコース量は増加すると考えられる。そこで、もろみ汙液を20で放置した場合の経時的なグルコース量の増加量を測定した結果を第1図に示した。この結果、もろみ初期の汙液を放置した場合のグルコース量の増加は大きくもろみ中のグルコース量の測定は迅速に行なわれなければ、発酵中のグルコース量を把握することはできない。

第1表 市販清酒の分析結果

日本酒度	アルコール分 (%)	総酸 (ml)	アミノ酸 (ml)	直糖 % (w/v)	グルコース % (w/v)
-3.4	16.5	1.50	1.50	3.05	2.34
+2.5	16.6	1.55	1.85	2.16	1.60
-2.3	16.6	1.50	2.20	3.28	2.61
-4.6	16.4	1.50	1.85	3.15	2.35
-3.7	16.7	1.60	2.00	2.70	1.94
-2.5	16.4	1.35	1.80	3.54	2.79
-5.2	16.5	1.60	1.80	3.00	2.02
-3.3	16.5	1.60	2.20	2.80	2.02
-3.2	16.4	1.75	2.20	3.41	2.70
-3.5	16.3	1.40	1.45	3.56	2.91
-1.3	16.0	1.50	1.50	2.44	1.79
-3.4	16.3	1.40	1.85	3.80	3.08
-3.4	16.3	1.30	1.70	3.51	2.86
-3.5	16.2	1.40	1.50	3.40	2.73
-2.5	16.2	1.45	1.70	3.45	2.86
-4.9	16.3	1.40	1.55	3.56	2.96
-3.3	16.3	1.55	1.65	3.50	2.90
-1.0	16.0	1.65	2.50	3.19	2.65
+1.4	16.3	1.45	1.70	2.54	1.96
-0.1	16.4	1.50	1.50	2.71	2.03
+0.1	16.3	1.65	2.20	2.30	1.72
+2.3	16.3	1.50	2.25	2.40	1.79
-3.5	15.8	1.45	1.60	3.33	2.39
-4.4	15.4	1.35	1.60	3.66	3.03
-3.6	15.1	1.35	1.75	3.25	2.56

第2図 もろみ汙液中のグルコース量の変化

その点本実験に用いたグルコースメーターは微量のサンプル量で迅速に測定可能である。もろみ中のグルコース量の測定は現場からもろみごと採取し、分析する直前に汙紙にて汙過し、汙液が数滴垂れた時点ですぐに分析することとした。

現場でのもろみ中のグルコース量を経日的に測定した結果を第2図に示した。イ号もろみはロ号もろみに比べ若干切れの遅れたもろみであった。また小仕込みにて、泡なし酵母と比較をした結果を示した。もろみ汙液中のグルコース量は留後6日目から10日目ぐらいまでが高い値を示しており、地泡になれば非常に低い値を示しており、泡なし酵母で仕込んだもろみは泡のあるもろみのようなグルコースの増加は認められなかった。この現象は本馬ら⁷⁾の泡なし酵母もろみの酵母密度の報告や、布川ら⁸⁾の泡に酵母が移行し発酵速度が低下し、グルコースが蓄積されることと一致する。

今後、各種の固定化酵素膜の利用によりグルコースだけでなく、エタノール、ピルビン酸、各種アミノ酸類等の測定が可能と考えられ、清酒もろみの並行複発酵の解明あるいは発酵管理の自動化、成分分析の自動化、酵素力価の測定等に應用できるものと考えられる。

終りに、本分析機器を御配慮いただいた永田醸造機械(株)、発表を許可された長部社長ならびに、終始御指導賜った布川取締役、井上取締役に深謝します。

文 献

- 1) 村上英也監修：国税庁所定分析法注解，日本醸造協会（1974）
- 2) Papadopoulos, N.M. Hess, W.C.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **88** 167 (1960)
- 3) 福井作蔵：化学と生物，**3**, 658 (1965)
- 4) 永谷正治，木曾邦明，布川弥太郎：醸工 **53** 471 (1975)
- 5) 岩野君夫，風間敬夫，布川弥太郎：醸協 **71** (5) 383 (1976)
- 6) 布川弥太郎，合瀬健一：醸協 **71** (8) 645 (1976)
- 7) S. J. Updike, G. P. Hicks: *Nature*, **214** 986 (1967)
- 8) 本馬健光，押川和夫，長井利行，松田利庸：醸協 **66** (10) 1002 (1971)
- 9) 布川弥太郎，合瀬健一，佐藤 勝，大根田徹：醸協 **72** (3) 217 (1977)