限外滷過による生酒の処理

近藤 恭一・大場 俊輝・中村 欽一

(国税庁醸造試験所)

昭和58年7月27日受理

Ultra Filtration of Non-Pasteurized Saké

Kyoichi KONDO, Toshiteru OBA, and Kinichi NAKAMURA

(National Research Institute of Brewing, 2-6-30 Takinogawa, Kita-ku, Tokyo, 114)

The effects of ethanol concentration, extract concentration and concentration ratio on Flux during Ultra Filtration (UF) were investigated.

When ethanol or extract concentration were kept constantly, little change was caused on Flux. UF of saké in higher ethanol concentration seemed to be more economic than in lower ethanol concentration.

Various kind of enzymatic activities were reduced sufficiently in non-pasteurized saké by UF. Thus, UF made non-pasteurized saké much stable in the composition of sugars, amino acids and organic acids, and also in its sensory quality. Even after the storage for 20 days at 30°C, the off-flavor called "Mureka" could not be perceived.

緒 言

生酒を常温に保存した際に生じる「ムレ香」「甘だれ」等の香味の劣化は残存する酵素によるものと考えられる¹⁾。そこで限外滷過(以後 UF) 処理によって生酒中から諸酵素を含む蛋白区分を除去し品質を安定化させることを検討し、効果的な UF 処理を行えば劣化しにくい生酒を得ることが可能であることを報告した²⁾。

本報では生酒の UF 処理と処理酒の酒質の安定性についてさらに詳細な検討を加えた。

実 験 方 法

1. 供試生酒 上槽後3日目の生酒を活性炭500 ppm 使用して滷過後、 -25°C 以下に急冷凍結して保存した。

2. UF 装置 アルバックサービス社製 RO-3 を使用して第1図に示した定容連続滷過装置を組んだ。滷過条件を第1表に示した。

3. UF 膜 前報²⁾ により東洋科学産業社の UP-20 を使用した。膜材質は芳香族ポリアミド系、分画分子量は20,000 である。

4. エキス分一定の清酒の調製 試料酒を減圧濃縮し、エタノール濃度0~25% になるよう試薬特級エタノールと蒸留水を加え pH 4.2 に調整後元のエキス濃度になるよう定容した。

ールと蒸留水を加え pH 4.2 に調整後元のエキス濃度になるよう定容した。

5. 分析用試料酒 100 ml バイアル中で酒 50 ml にサリチル酸を 200 ppm 添加し、そのまま -25°C 以下に

第1図 定容連続滷過装置

第1表 UF 条件

使用モジュール	RO-3
有効膜面積	27.3 cm ²
容 量	200 ml
窒 素 加 圧	4 kg/cm ²
滷 過 温 度	20°C (室温)
濃 縮 率	5 (80% 滷過)
洗 淨	20% エタノール (pH 3)

第2図 エタノール濃度と Flux の変化

急凍結したものを保存前試料酒、30℃ 20 日間保存したものを保存後試料酒として分析に供した。

6. 酵素活性の測定 α -アミラーゼ (α -Aase), 酸性プロテアーゼ (APase) は国税庁所定分析法³⁾, グルコアミラーゼ (GAase) は岩野ら⁴⁾の方法, 酸性カルボキシペプチダーゼ (ACPease) は中台ら⁵⁾の方法に準じた。

7. 蛋白質の定量 クーマシーブリリアントブルー G-250 を用いて比色する Bradford 法⁶⁾により牛血清アルブミン (BSA) 当量として定量した。

8. 糖分析 グルコースはグルコスタット法, 直糖は 3,5-ジニトロサリチル酸法, 全糖は塩酸加水分解後中和してグルコスタット法により測定した。

9. アミノ酸分析 日立 835 型アミノ酸分析計を使用した。

10. 有機酸分析 盛進製薬社製カルボン酸分析計を使用した。

結果と考察

1. 生酒の UF 処理

第2図にエキスを一定にした時のエタノール濃度と透過速度 (以後 Flux) の関係を示した。エタノール濃度の増加に伴い直線的に Flux が低下し、20% エタノール水溶液では蒸留水の約 1/4 になった。エタノールによって膜表面が膨潤するのか収縮するのか、あるいは物理化学的な変化が生じているのかは不明であるが可逆的な変化が起きていると思われる。エキスを一定の清酒の場合は水溶液に比較しエタノール濃度による Flux の変化が小さかった。また、一度 UF 処理した酒に比べて未処理酒は約 20% 低い Flux を示した。この差は蛋白質量の差と考えられるが、それは膜が目詰りするというより膜表面の狭膜形成による濃度分極化あるいは粘度など酒の物性に变化が生じるためである。生酒に比べ火入酒の方

第3図 エタノール濃度およびエキ的分と Flux の変化

○: エタノール変化, エキス変化 (割水)
●: エタノール変化, エキス一定 (エキス7.0%)
△: エタノール一定, エキス変化 (エタノール20%)

が Flux が小さくなるという報告⁷⁾もあり、試料酒の減圧濃縮時に蛋白の変性が起り差を大きくしたことも挙げられる。酒の物性のちがいについては起泡性の差から最も簡単に知ることができる。すなわち UF 処理酒では激しく振盪しても泡立ちが少ないのに対し未処理酒では泡立ったうえなかなか消えなかったように両者の間には差が認められた。

第3図からわかるように割水してエタノール濃度を下げても Flux は第2図のエタノール水溶液の場合のように増加しなかった。つまり純アルコール換算で等量の酒を処理するなら原酒を通した方が経済的であると言える。原酒を通すことには雑菌の汚染を少なくできるメリットもある。一方、エキスを一定にエタノール濃度のどちらかを一定にした場合には他方が変化しても Flux に大差ないことがわかった。特にエタノール濃度 10~25%, エキス分 4~8% の間ではこの関係が明瞭である。したがってエタノール濃度あるいは日本酒度をほぼ一定に管理することにより安定した Flux が得られるものと推定できる。最近では有機溶媒系にも使える膜が開発されている⁸⁾が、そのような膜を使えばエタノール濃度の影響は無視できる可能性もある。

第4図に濃縮倍率と Flux の関係を示した。濃縮が進むにつれて Flux は低下していたが、前述の結果から容易に推察されるようにその変化は大きなものではなかった。果汁などの UF 処理では一般に Flux が直線的に低下することを考えると、清酒は非常に UF に適した対象といえる。また Flux の対数が処理時間に対して直線的

第4図 濃縮倍率と Flux

第5図 処理時間と Flux

第2表 酵素活性測定結果

	単位 (Unit/ml-Saké)				
	α -Ase MW	GAase MW	APase MW	ACPase MW	Protein (BSA mg %)
未処理酒	53,000	69,000	38,000	54,000	1.10
UF 酒	6.0	10.4	36.0	229.8	0.14
濃縮酒	1.1	0.4	0.0	9.0	0.14
濃縮酒	18.2	43.1	182.4	1288.2	4.65
除去率(%)	81.7	97.2	100.0	96.1	87.3

に減少する場合 $\ln \frac{Ft_2}{Ft_1} = -\alpha(t_2 - t_1)$ が成り立つ。

Ft_1 , Ft_2 はそれぞれ t_1 , t_2 時間目の Flux で橋本⁹⁾は Flux の変化の度合, すなわち膜の汚れ易さを α の値で知ることができるとしている。 $\alpha=0$ ならば全く汚れないことを意味する。第5図より本実験における6~16時間での値は 0.004 程度であり汚れにくいと評価できるだろう。

2. UF 処理生酒の品質安定性

UF 処理酒, 濃縮酒および未処理酒について, 酵素活

第3表 30°C 20 日保存前後の分析結果

	Glucose (mg/ml)	R. S. (mg/ml)	T. S. (mg/ml)	Glu./T. S. (%)	pH	Acid	A. acid
保存前	21.2	38.0	52.2	40.2	4.15	1.65	1.70
	20.3	35.7	49.7	40.8	4.13	1.61	1.63
	26.9	46.9	62.5	43.0	4.18	1.69	1.77
保存後	32.1	46.8	—	61.5	4.26	1.61	1.88
	21.4	36.3	—	43.1	4.15	1.61	1.63
	49.5	59.4	—	79.2	4.22	1.61	2.13

第4表 アミノ酸分析結果

	UF 酒	UF 酒*	未処理 酒	未処理 酒*	濃縮酒	濃縮酒*
	(* 30°C 20 日保存 単位 mMole/l-Saké)					
Asp	0.51	0.56	0.55	0.81	0.61	1.43
Thr	1.47	0.95	1.54	1.28	1.66	1.72
Ser	0.83	0.84	0.86	1.06	0.92	1.33
Glu	1.35	1.36	1.40	1.58	1.46	1.92
Gly	1.61	1.65	1.67	1.93	1.71	2.20
Ala	3.08	3.17	3.17	3.42	3.20	3.86
Cys	0.29	0.32	0.34	0.49	0.43	0.60
Val	1.11	1.13	1.16	1.41	1.23	1.82
Met	0.19	0.20	0.20	0.28	0.21	0.39
Ile	0.49	0.50	0.51	0.66	0.54	0.87
Leu	1.18	1.20	1.22	1.45	1.29	1.74
Tyr	0.64	0.65	0.67	0.80	0.70	0.98
Phe	0.51	0.50	0.53	0.62	0.57	0.73
G-ABA	0.37	0.38	0.40	0.36	0.43	0.29
Orn	0.13	0.13	0.13	0.11	0.14	0.10
Lys	0.75	0.77	0.79	0.88	0.88	1.08
EtOHNH ₂	0.90	0.88	0.91	0.92	0.88	0.90
NH ₃	0.86	1.63	0.85	2.02	0.88	2.70
His	0.22	0.23	0.22	0.38	0.26	0.54
Trp	0.01	0.01	0.01	0.04	0.02	0.07
Arg	2.04	2.12	2.18	2.39	2.36	2.67
Pro	1.38	1.43	1.43	1.70	1.57	2.07
Total	19.92	20.61	20.74	24.59	21.95	30.01

第5表 有機酸分析結果

	UF 酒	UF 酒*	未処理 酒	未処理 酒*	濃縮酒	濃縮酒*
	(* 30°C 20 日保存 単位 mg %)					
未 同 定*	1.0	1.2	1.1	1.8	1.9	2.5
ピログルタミン酸	7.8	12.2	8.7	13.9	11.3	18.3
乳酸	47.0	48.4	47.0	49.8	49.0	53.2
酢酸	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
ピルビン酸	2.2	2.2	2.8	3.4	4.0	4.0
リンゴ酸	11.8	11.2	12.7	10.3	12.7	10.9
コハク酸	32.4	33.5	33.8	32.9	33.8	33.5
クエン酸	3.3	3.3	3.3	3.3	3.3	3.3

* Rt 0.68(hr) 単位: ピーク高さ (cm)

性, 蛋白質を測定した結果を第2表に示した。いずれも UF 処理酒では高い除去率を示したが, 分子量⁹⁾の大きい (69,000) グルコamilラーゼよりも分子量の小さい (38,000) 酸性プロテアーゼの方が高い除去率であったことは興味深い現象である。

第3表に 30°C 20 日保存前後の分析値を示した。未処理酒, 濃縮酒ではグルコース, 直糖の全糖に占める割合が保存により大きく増加した。すなわちグルコース/全糖比 (Glu./T.S) で濃縮酒は約 80%, 未処理酒では約

60% を示した。一方、UF 処理酒では変化は小さく前報²⁾の結果と一致した。濃縮酒では保存前でもグルコースが未処理酒、UF 処理酒に比べて高い値を示したが、濃縮されたグルコアミラーゼにより急速にオリゴ糖の分解が進んだ結果と考えられる。しかし全糖の増加については、蛋白と結合状態で濃縮された可能性はあるものの原因は不明である。酸度、アミノ酸度も未処理酒、濃縮酒では保存により変化していたが UF 処理酒では安定であった。

第4表にアミノ酸組成の変化を示した。未処理酒、濃縮酒の保存による変化は、ほとんど増加方向へのものであった。すなわち、Asp は UF 酒ではほとんど変化しなかったのに対し、未処理酒では 60%、濃縮酒では 100% 以上の増加が認められた。非酵素的に分解し易く¹⁰⁾老香発生とも関係の深いアミノ酸である Thr は UF 処理酒では減少し、未処理酒では見掛け上減少し、濃縮酒では増加したが、非酵素的な分解が同時に起っていることから未処理酒、濃縮酒では Asp その他と同程度に増加し並行して分解されたと考えられる。アンモニアはいずれも増加したが UF 処理酒より未処理酒、さらに濃縮酒と増加比率が大きかった。このことから酵素的な脱アミノ反応の進行が示唆された。G-ABA あるいは Orn は蛋白の構成成分ではないがアミノ酸代謝経路中の重要物質である。これらが UF 処理酒では安定であったのに対し未処理酒、濃縮酒では減少していた。以上からアミノ酸総量で UF 酒は 3% 程度の増加であったが未処理酒では約 20%、濃縮酒では約 40% もの増加を示した。

第5表に有機酸組成の変化を示した。ピログルタミン酸はグルタミン酸のラクタム化によって生成されるもので UF 処理酒、未処理酒、濃縮酒のいずれも 30°C 20 日間の保存で増加した。乳酸が増加しリンゴ酸が減少する傾向がみられた。この傾向は UF 処理酒に比べ未処理酒、濃縮酒ではより顕著であったことから生酒中にワインにおけるマロラクチック発酵に類する酵素系の存在が示唆された。上田ら¹¹⁾も生酒中での有機酸組成の変化に関して同様の考察をしている。

生酒の劣化臭は従来より酵母臭、漬物臭などさまざまに表現されていた¹²⁾が本研究を通して「ムレ香」と称している。UF 処理生酒は 30°C 20 日間の保存後も「ムレ

香」の発生が認められなかったが、未処理酒、濃縮酒では顕著な発生が認められた。

以上のように UF 処理生酒は酵素的な劣化が生じにくいことから単に生酒製品にとどまらず、清酒を火入れによらずに長期貯蔵に耐える酒類とし多様化の一つに利用することも可能と考える。

要 約

1. UF 処理においてエタノール、エキスのどちらかが一定であれば他方が変化しても Flux に大きな変動を起さないことがわかった。
2. 割水による Flux の増加率から判断して原酒で処理する方が経済的であった。
3. UF 処理酒では各種酵素活性が高率で除去された。
4. 糖、アミノ酸、有機酸組成が 30°C 20 日間の保存後も UF 処理酒では変化が小さく未処理酒、濃縮酒では大きく変化していた。
5. UF 処理酒では「ムレ香」の発生も抑えられた。

文 献

- 1) 近藤恭一，草間 透，中沢英五郎，竹村成三：醸協 78 (4) 303 (1983)
- 2) 近藤恭一，草間 透，中沢英五郎，竹村成三：醸協 79 (2) 142 (1984)
- 3) 国税庁所定分析法注解：p.210 日本醸造協会 (1974)
- 4) 岩野君夫，風間敬夫，布川弥太郎：醸協 71 (5) 383 (1976)
- 5) 中台忠信，那須野精一，井口信吉：調味科学 18 435 (1971)
- 6) Bradford, M.: *Anal. Biochem* 72 248 (1976)
- 7) 大場俊輝，高橋康次郎，早川俊介，難波康之祐，佐藤 信：醸協 73 (7) 951 (1978)
- 8) 橋本光一：食品工業 2 (下) 36 (1983)
- 9) 岩野君夫：第 65 回酒類講習技術科テキスト p. 72 日本醸造協会 (1979)
- 10) 佐藤 信，大場俊輝，高橋康次郎，杉谷 守：醸協 73 (6) 473 (1978)
- 11) 上田隆蔵，林田正典，北川栄三：発工 38 357 (1960)
- 12) 新酒造読本 p.189 日本醸造協会 (1979)