ビール日光臭に関する研究(第2報)*

小幡 彌太郎, 山 西 貞

(北海道大学農学部水産化学教室)

昭和24年6月15日受理

Studies on the Essential Substance of the Sunflavor, of Beer. Part II.

by

Y. OBATA and T. YAMANISHI

(Department of Fisheries Faculty of Agriculture, Hokkaido University)

第1報⁽¹⁾に於てビール日光臭の本體は Thioglycolic acid ethylester なることを確め、之はビール原料である麥汁中の Cystine に由來する Dithioglycolic acid diethylester が、ビール中の或物質により、曝光下に還元されて生成される事を化學的及び生物化學的に證明した。

今回はこの日光臭發生の際働く或物質の究明を行つた。

ビール原料である大麥々芽には Dehydrase 系酵素⁽²⁾、Flavin 酵素⁽³⁾を含むこと、又ビール酵母の自己消化液中には同じく Dehydrase 系酵素⁽⁴⁾、Flavin 酵素⁽⁵⁾が多量含まれていることは既に認められていることで、ビール醸造操作中に少くとも酵母中の之等酵素がビール中に浸出されることは想像に難くない。實際にビール中には Flavin が 1L 當り約 0.25 mg 存在すると云われている。⁽⁶⁾ 生ビール中の Dehydrase の存在はメチレンブルーを脱色することによつてたしかめることが出来た。

著者等はこの Flavin 及び Dehydrase 系酵素が日光臭發生に關與するものと推定し、Flavin 及びビール酵母から調製した Dehydrase 系酵素を用い、日光臭の發生機構を究明した結果、我々の推定通りこの二つの因子(フラビン及び Dehydrase)の共同作用により Dithioglycolic acid diethylester (-S-S-) が還元されて日光臭を發生することを認めることが出来た。この機構を圖示すれば次の通りである。

Fig. 1.

日光は Dehydrase 系酵素の作用を賦活促進するものである。

實 験 の 部

I. Dehydrase 溶液の調製

Dehydrase acetone 試料の調製：蒸留水で2度洗滌したビール酵母の濃厚な懸濁液を作り、氷で冷却しつゝ氷冷せるアセトンを7倍量、激しく攪拌しつゝ加えると、酵母の細胞膜は破れ顆粒となる。之を手早く吸引濾過し、2回アセトンで洗滌、最後にエーテルで洗滌、真空デシケーター中で1日乾燥すると白色粉末となる。

Dehydrase 溶液の調製：上記 Dehydrase acetone 試料 5g を磷酸カリ液 (pH 7.2) 100 cc に懸垂し 28°C の恒温器に2時間收容後、濾過すると淡黄色透明の溶液を得る。

II. 發 臭 試 験

(1) 3% アルコール溶液に K_2PO_4 を溶かし、pH 7.2 (Alcohol-Dehydrase の最適 pH) とす。此の溶液 8cc, Dehydrase 溶液 2cc 及び Flavin (三共注射薬) 1mg から成る反應液を Fig. 2. の如きスリ合せガラス栓付の容器 (内容 10cc) に充す。之を2個作り、一つは遮光し、一つは直射日光にあてる。90 分後之等を檢するに、前者は未變化、後者は完全に褪色して、Flavin が Leuco-Flavin に變つたことを示す。之に

* 北大農学部水産学教室報告 第106號

Fig. 2.

- A: 同様に照し、変色と
無味・黄色となる
B: -S-S-により酸化さ
れ黄色となる
C: 無色

Dithioglycolic acid diethylester (-S-S-) を1滴加えると Fig. 2 の如く-S-S- の周囲が黄色をとりもどし、酸化型 Flavin になったことを示す。検臭すると明かに日光臭の発生が認められた。

この実験に於て、3%アルコールを加えないもの、及び pH 5.4 のものにつき同様の試験を行つたが、90 分後の褪色は両者とも非常に遅かであつた。故に基質としてアルコールが必要であり、pH は微アルカリに於て最適であることを認めた。此等の條件は第1報に於て行つた酵母による発臭条件と一致している。

(2) この発臭が Dehydrase 或は Flavin 單獨でも行われるものかどうかをしらべるため、前記の反応瓶3個に、それぞれ (i) Dehydrase 溶液 1 cc. (ii) Flavin 10 mg% 溶液 1 cc. (iii) Dehydrase 溶液 1 cc. + Flavin 溶液 1 cc. を入れ、之等を -S-S- の 3% アルコール飽和溶液 (K_2PO_4 で pH 7.2 とす) で全く充たし、曝光 90 分後検臭すると、(i) (ii) の発臭は殆ど認められないのに對し、(iii) は之等と區別し得る程度の発臭が認められた。

Ⅲ. ビール中の Dehydrase の検出及び加温による Dehydrase の破壊

生ビール 8 cc にメチレンブルー $1/25000$ 溶液 2 cc を前記ガラス容器に入れ室温に放置す。3日後にも殆ど褪色は認められなかつた。生ビールの pH は 4.2 であるから、反應を速める爲 pH を Dehydrase の最適 pH 7.2 にし、22°C の恒温器に收容して見た所、2日で完全に褪色した。又、メチレンブルーで淡青色となし、pH 7.2 とした生ビールを、真空 Thumberg 管に入れ 30°C に保つと、2時間後には全く脱色した。之で Dehydrase の存在が明らかとなつた。生ビールは極めて迅速に日光臭を当すが加熱殺菌したパストリビールは發臭し難い。之は Dehydrase が熱の爲失効する爲と考えられるから、生ビールを 60°C に 30 分間加温し、pH 7.2、温度 22°C で同様にメチレンブルーで檢したが3日後も尚不變であつた。故にパストリビールでは Dehydrase は殆ど完全に失効していることが分る。

一方(Ⅰ)(2)の實驗に於て、iii を 60°C に 30 分加温したものはメチレンブルーを還元せず、曝光による發臭も認められなかつた。

本研究費の一部は文部省科學研究費(食品の香気に關する研究)によるものである。

- (1) 小橋, 山西; 農學, 9, 537 (1947).
- (2) A. FODER u. FRANKENTHAL *Biochem. Z.*, 225, 417 (1930).
- (3) P. KARRER u. K. SCHÖPP: *Helv.*, 17, 1013 (1934).
- (4) H. v. EULER u. H. ADLER: *Z. p. C.*, 235, 132 (1935).
- (5) O. WARBURG u. W. CHRISTIAN *Bioch. Z.*, 266, 377 (1933).
- (6) 小松茂, 大塚, 田中, 鈴木; 工化, 41, 158 (1938).

Summary

It has been reported that the essential substance of sunflavor of beer is thioglycolic acid ethylester, and it is produced from dithioglycolic acid diethylester (-S-S-) by the reducing function of certain unknown components in beer under the exposure to the sunlight.

As we could presume that the flavin and hehydrase, which are contained in malt and beer-yeast, would take part in the development of sunflavor of beer, we carried out an experimental study on the mechanism of the sunflavor production with dehydrase prepared from beer-yeast as well as with flavin. The result was just we had presumed. Namely, we could prove that by the joint function of these two factors -S-S- was reduced and consequently sunflavor was produced. This mechanism can be shown with chemical formulae as Fig. 1.

The change of flavin to leucoflavin by dehydrase is accelerated by sunbeams.

Unpasteurized beer becomes very quickly to give off sunflavor while pasteurized beer becomes so very slowly. We could explain this reason. Namely the blue color of the solution was faded by unpasteurized beer, but the color was not changed when beer had previously heated at 60°C for 30 min. This proves the loss of the dehydrase function from pasteurized beer.