清酒保存料としてのラウリル系化合物の 利用効果について

(昭和 46 年 6 月 14 日受理)

原 昌 道* 村 上 英 也*
大 場 俊 輝* 志 水 伸 一*

On the Useful Effect of Lauryl-compounds as the Sake Preservatives

Shodo HARA, Hideya MURAKAMI, Toshiteru OBA and Shin-ichi SHIMIZU

(Research Institute of Brewing, Tax Administration Agency: 2-6
Takinogawa, Kita-ku, Tokyo)

Antimicrobial effects of nine kinds of lauryl-compounds on the growth of Hiochi bacteria in sake were investigated as following: sodium lauryl sulfate, thiamine dilauryl sulfate, laurylamine, sodium lauryl benzenesulfonate, methyl laurate, ethyl laurate, lauryl chloride, sodium laurate, *p*-hydroxybenzoic acid lauryl ester.

1. Both laurylamine and ethyl laurate, which had the strongest antihiochi activity among the nine drugs, inhibited the growth of Hiochi bacteria at the concentration 4 to 6 ppm in diluted sake (alc. 14%) and had 40 to 50 times as strong antimicrobial activity as salicylic acid.

2. Laurylamine had the highest solubility in sake among the nine drugs, and no increase in turbidity of the sake by addition of laurylamine (10 ppm) could be detected.

3. From the result of sensory test, laurylamine did not show any bad influence on the qualities of sake at the concentration 3 to 4 ppm. On the other hand, ethyl laurate showed a different flavor in sake at the same concentration. It was concluded, thus, that the laurylamine seemed to be one of the most favorable preservatives for sake among the nine drugs.

(Received June 14, 1971)

緒 言

従来より清酒防腐剤に関する研究は多く、パラオキシ安息香酸のエステル類^{1~4)}、抗生物質^{5~7)}、ビタミン K₃、K₅⁸⁾、ラウリル酸誘導体^{9~11)}、ハイドロオキシアスペルギリン酸¹²⁾、コウジ酸¹³⁾、フマル酸¹⁴⁾、塩化アルミニウム¹⁵⁾、各種拮抗物質^{16~18)}、リゾチーム¹⁹⁾などが検討されたが清酒の香味に与える影響、抗菌力、毒性などに問題があり、いずれも実用化になっていない。著者らも前報で diethyl pyrocarbonate²⁰⁾、過酸化水素、リゾチーム²⁰⁾、ethyl-(2-hydroxy ethylamino)-benzoylpropionate hydrochloride (EBPE)^{20) 21)}、*p*-heptoxycarbonyl phenyl phosphate (pp-7)^{20) 22)}、dihydroxybenzoic acid

誘導体²³⁾、thiamine dilauryl sulfate, sodium lauryl sulfate²⁴⁾の抗火落作用について報告してきたが、今回は谷ら^{9~11)}によって以前に報告されたラウリル酸ならびにその関連物質の抗火落作用に着目し、前に報告した thiamine dilauryl sulfate, sodium lauryl sulfate も含めて各種ラウリル系化合物についてその抗火落力、薬剤の混濁性、品質に与える影響について検討したので報告する。

実験方法

1. 供試薬剤

sodium lauryl sulfate (LS), thiamine dilauryl sulfate (TL), laurylamine (LA), sodium lauryl benzenesulfonate (LBS), methyl laurate (LMe), ethyl laurate

* 国税庁醸造試験所：東京都北区滝野川 2-6

(LEt), lauryl chloride (LCl), sodium laurate (LNa), *p*-hydroxybenzoic acid lauryl ester (pHBAL) の9種の薬剤を使用した。このうち TL は現在食品添加物に指定されている。なお, LS, LBS, TL は25%エタノール, その他は95%エタノールに溶かして使用した。

2. 火落菌株

使用した火落菌は醸造試験所保存菌株 (RIB) で、つぎのとおりである。

L. homohiochii: H-42 (RIB 9001), S-24, S-34

L. heterohiochii: H-1 (RIB 9002), RIB 9007, S-11

L. acidophilus: RIB 9003

3. 清酒培地

44酒造年度醸造試験所の製成酒をアルコール13.5%に加水し、65° 10分間火入殺菌した酒を火落試験用清酒培地とした。

4. 火落試験

上記火落菌を1%ポリペプトン含有清酒培地 (アルコール13.5%) に接種し、30°, 7~14日間培養する。つぎに火落菌数を 10⁷/ml になるように滅菌水で希釈後、この0.1 ml を薬剤添加の清酒培地 (180 ml ビン中 100 ml) に接種する。これを30°で30~60日間培養し、火落菌の増殖を肉眼で調べ、各薬剤の最少発育阻止濃度 (M. I. C.) を求めた。なお薬剤添加後の清酒培地のアルコール濃度はいずれも14%とした。

5. 薬剤の清酒中での溶解性

薬剤を添加した清酒 (15.5%アルコール) を 3 dl の青色ビンに入れ、25°で10日間放置後、酒の混濁の度合の表示として使用されているタービデーター値を求めた。つぎにこの酒を5°で48時間放置した後、同様にタービデーター値を求め、これらの値を薬剤無添加酒のタービデーター値から差し引いて、薬剤の清酒中での溶解性をみた。なお、タービデーターの測定は森ら²⁸⁾の方法によって行ない、1%シリカゾル液 (スノーテックス) の散乱光度を100、蒸留水のそれを0としたときに対比する清酒の散乱光度を求めてタービデーター値とした。

実験結果ならびに考察

1. 各種薬剤の清酒中での溶解性

清酒中での各種薬剤の溶解性を Table 1 にしめす。表の数値は薬剤添加清酒の25°, 10日放置後のタービデーター値を薬剤無添加酒のそれから差し引いた値 (ΔT) であり、カッコ内の数値はこの酒をさらに5°で2日間放置した後の ΔT 値である。 ΔT が15以上でわずかに酒に濁り (曇り) が認められるので、 ΔT 15 を規準にとれば、 ΔT 15 以下の各薬剤の最高濃度は LEt, LMe で 8 ppm, LCl は 6 ppm, LNa は 4 ppm である。また LS, LBS はよく酒に溶けるが ΔT は大きく、前者で 10 ppm, 後者で 5 ppm のときに濁りの生じない限界濃度である。また pHBAL は 1 ppm ですでに沈殿が生じる。これ

Table 1. Influence of Various Drugs on Turbidity Value of the Sake

$$\Delta T = T - T_0$$

Conc. of drug	4 ppm	6 ppm	8 ppm	10 ppm
Ethyl laurate	0 (0)	5 (7)	11 (13)	15 (17)
Methyl laurate	0 (0)	2 (4)	9 (9)	15 (15)
Lauryl chloride	6 (6)	8 (11)	15 (19)	30 (30)
Sodium laurate	0 (3)	*8 (36)	16 (97)	24 (142)
Conc. of drug	5 ppm	10 ppm	15 ppm	20 ppm
Sodium lauryl sulfate	1 (1)	2 (9)	12 (18)	15 (28)
Laurylamine	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Sodium lauryl benzenesulfonate	8 (8)	18 (22)	29 (37)	33 (42)
Conc. of drug	0.5 ppm	1 ppm	2 ppm	4 ppm
<i>p</i> -Hydroxybenzoic acid lauryl ester	3 (3)	11 (27)	18 (32)	75 (107)

T_0 : Turbidity value of sake (alc. 16%)

T : Turbidity value of sake containing the drug

ΔT : $T - T_0$

*—: Precipitate

Figures show ΔT values of the sake which was kept at 25°C for 10 days.

Figures in parentheses show the increased ΔT by keeping the sake desired above at 5°C for 2 days.

に対して LA は 10 ppm 添加でもまったくタービデーターの増加がなく、溶解性の点ではもっともすぐれた薬剤であることが知られた。

2. 各種薬剤の抗火落性

Table 2, 3 は火落菌9001, 9002, 9003の混合菌、または9007, S-11, S-24の混合菌を各薬剤添加酒に10⁴/ml 接種した際の10, 15, 30, 50日目の最少発育阻止濃度 (M. I. C.) をしめす。LS, TL, LBS の M. I. C. は大約 16 ppm, LA は 1~5 ppm, LMe, LEt は 2~6 ppm, LCl は 6 ppm 以上, LNa は 5~10 ppm, pHBAL は 2 ppm 以上であった。したがって、これら9種類の薬剤のうち、抗菌力の強い薬剤は LA, LMe, LEt であることが知られた。なお、前項の溶解性の実験結果から M. I. C. 近辺で沈殿または濁る薬剤として LCl, LNa, LBS, LS, pHBAL があり、TL は前報²⁴⁾ 同様 B₁ 臭が強く使用できない。また前報²⁴⁾ で述べたようにラウリル系化合物はすべて界面作用があり、15 ppm 以上の添加では酒に対し長期間にわたり泡を保持させるから適当でない。したがってこれら9種の薬剤のうち清酒防腐剤として適当であると認められた薬剤は以上の実験結果からは LEt, LMe, LA の3種類であった。ただし、LEt

Table 2. Antimicrobial Activities of Various Lauryl-compounds against Hiochi Bacteria in Sake-(1)

Drugs	Incubation days	M. I. C. (ppm)			
	10	15	30	50	
Sodium lauryl sulfate	10	16	16	>16	
Thiamine dilauryl sulfate	10	16	16	>16	
Laurylamine	<1	<1	5	5	
Sodium lauryl benzene-sulfonate	10	16	16	16	
Methyl laurate	2	2	4	>6	
Ethyl laurate	1	1	2	>6	
Lauryl chloride	1	2	6	6	
Sodium laurate	5	5	5	10	
p-Hydroxybenzoic acid lauryl ester	1	1	>2	>2	

Medium: Sake (alc. 14.0%)

Hiochi bacteria: Mixture of *RIB 9001, 9002 and 9003

Incubation temp.: 30°C

Inoculum size: 10⁴/ml

* Research Institute of Brewing

Table 3. Antimicrobial Activities of Various Lauryl-compounds against Hiochi Bacteria in Sake-(2)

Drugs	Incubation days	M. I. C. (ppm)			
	10	15	30	50	
Sodium lauryl sulfate	5	10	16	>16	
Thiamine dilauryl sulfate	10	10	16	>16	
Laurylamine	2	5	5	10	
Sodium lauryl benzene-sulfonate	5	10	10	16	
Methyl laurate	1	4	4	6	
Ethyl laurate	1	2	4	4	
Lauryl chloride	1	>6	>6	>6	
Sodium laurate	1	2	2	5	
p-Hydroxybenzoic acid lauryl ester	1	>2	>2	>2	

Medium: Sake (alc. 14.0%)

Hiochi bacteria: Mixture of RIB 9007, S-11 and S-24

Incubation temp.: 30°C

Inoculum size: 10⁴/ml

と LMe は同程度の作用力であり、かつ LEt は清酒中に 0~2 ppm 自然に含まれているから²⁵⁻²⁷⁾、LMe よりは LEt の方が適当であると考えられる。

3. LA と LEt の抗火落性

前項の試験結果より、溶解性、抗菌性の点から LA、

LEt がすぐれていることが知られたので、この 2 薬剤について各種火落菌に対する抗火落性を調べた。結果を Table 4, 5 にしめす。LEt の抗菌力は 9001, 9002, 9003 菌に対して強く、M. I. C. は 2~4 ppm, 9007, S-11, S-24 菌では 4~6 ppm であったが S-34 では 15 日目まで 4 ppm, 30 日目の判定では 6 ppm 以上であった。なお、同じ条件で salicylic acid (SA) の M. I. C. は 15 日目の判定では 250 ppm, 30 日目では 9001, 9002, 9003 菌を除く 4 株が 250 ppm 以上であった。また LA の抗菌力も LEt と同じく 9001, 9002, 9003 菌に対して強く、M. I. C. は 2~4 ppm であった。一方 S-11, S-34 菌については判定 15 日目まで 6 ppm, 30 日目まで 6 ppm 以上であった。以上の結果から LA, LEt とともに火落菌の種類、判定日数により M. I. C. 値は異なるが大約 4~6 ppm

Table 4. Antimicrobial Activities of Ethyl Laurate and Salicylic Acid Against Hiochi Bacteria in Sake

Hiochi bacteria	Incubation days	M. I. C. (ppm)					
		Ethyl laurate				Salicylic acid	
		10	15	30	50	15	30
RIB 9007		2	4	4	6	250	>250
S-11		2	4	6	6	250	>250
S-34		1	4	>6	>6	250	>250
9001		1	1	2	2	250	250
9002		1	2	2	2	250	250
9003		1	2	4	4	250	250
S-24		2	2	4	6	250	>250

Medium: Sake (alc. 14.0%)

Inoculum size: 10⁴/ml

Incubation temp.: 30°C

Table 5. Antimicrobial Activities of Laurylamine against Various Hiochi Bacteria in Sake

Hiochi bacteria	Incubation days	M. I. C. (ppm)			
		10	15	30	50
RIB 9007		2	4	6	6
S-11		4	6	>6	>6
S-34		1	6	>6	>6
9001		<0.2	0.5	1	2
9002		0.5	0.5	2	2
9003		<0.2	1	2	2

Medium: Sake (alc. 14.0%)

Inoculum size: 10⁴/ml

Incubation temp.: 30°C

で有効であり, SA の40~50倍の効力があることが知られた。なお, LEt は谷ら⁹⁾により 10 ppm で有効であるとされているが LA については今まで報告をみないの
で, 溶解性をもつ新しい抗火落性薬剤であることをみとめた。

4. LA, LEt 添加酒の官能検査

市販一級酒に LA, LEt を 4~8 ppm 添加し, 薬剤無添加酒と比較する duo-trio 法を用いて清酒の風味に対する影響を調べた結果を Table 6 にしめす。LA は 4~8 ppm の濃度において 5 % の危険率で有意ではなかったが, LEt は 4 ppm の濃度で有意であり, 清酒の香味に影響を与えることがわかった。Table 7 は 8 点の酒のうち 3 点に 4, 6, 8 ppm の薬剤を添加し, 4, 6, 8 ppm の順に 1~8 番目の任意の場所に配置した酒 (LA は 4, 5, 6 番目, LEt は 3, 4, 5 番目) を 1 番目より順に
啗酒して, 別にしめた無添加酒と比較して異味, 異臭を感じた酒をチェックする方法を行なった場合の解答数

Table 6. Sensory Test of Sake Containing Laurylamine or Ethyl Laurate-(1)

Sample		Number of panel (n)	Number of panel of correct answer (a)	X^2
Lauryl-amine	4 ppm	14	8	0.29
	6 ppm	14	7	0
	8 ppm	14	9	1.40
Ethyl-laurate	4 ppm	14	11	4.57
	6 ppm	14	10	2.57
	8 ppm	14	11	4.57

Statistic level of significance: 95% $X^2=3.84$

99% $X^2=6.64$

Sake: Commercial (1st. grade)

Method: Duo-trio test

Table 7. Sensory Test of Sake Containing Laurylamine or Ethyl Laurate-(2)

Number of sake	1	2	3	4	5	6	7	8
Conc. of laurylamine (ppm)	0	0	0	4	6	8	0	0
N				4	6	7	3	1
Conc. of ethyl laurate (ppm)	0	0	4	6	8	0	0	0
N			6	7	7	1		

N: Total numbers of panel, who could detect different flavor or taste in each sake from that of sake without drugs.

Number of panel: 7

Sake: Commercial (1st. grade)

をしめす (パネル 7 名)。これより LA は 6 ppm 以上, LEt は 4 ppm 以上で半数以上のパネルが正解であり, 前記 duo-trio 法と合わせ考えて, LEt は官能上問題があり, LA も 6 ppm 以上ではわずかに異味, 異臭を与え, 3~4 ppm が官能上からの使用限界濃度であることが知られた。LA は前記抗菌力試験では 3~4 ppm で大部分の火落菌に対して salicylic acid と同程度に有効であり, 清酒防腐剤として十分使用できると考えられる。今後は LA の毒性について検討するとともに, LA のように抗菌力が強く, 酒によく溶ける性質を有し, しかも香味の点ではまったく影響がないラウリル系化合物 (例えば前報²⁴⁾で報告し, 谷ら⁹⁾も認めているように LS は 15 ppm 程度の濃度で酒の香味に影響を与えない) の検索をさらに
行なう予定である。

要 約

sodium laurate (SL), thiamine dilauryl sulfate (TL), laurylamine (LA), sodium lauryl benzenesulfonate (LBS), methyl laurate (LMe), ethyl laurate (LEt), lauryl chloride (LCI), sodium laurate (LNa), *p*-hydroxybenzoic acid lauryl ester (PHBAL) の計 9 種類のラウリル系化合物の清酒に対する防腐作用を検討した。

1. 清酒中での薬剤の火落菌に対する抗菌性, 溶解性の点で LA と LEt がもっともすぐれていた。とくに LA 添加清酒のタービデター (清酒の濁度の度合をあらわす数値) の増加はまったく認められなかった。

2. LA, LEt の各火落菌に対する最少発育阻止濃度 (M. I. C.) は 4~6 ppm であり, 3~4 ppm の濃度で大部分の火落菌に対してサリチル酸 (250 ppm) と同程度に有効であった。

3. 官能検査の結果から LA は 3~4 ppm の添加で酒にまったく異味異臭を与えなかったが, LEt は同濃度で異臭を与えた。

以上の諸点から, 試験した 9 種類の薬剤のうちでは LA が清酒防腐剤としてすぐれていることを認めた。

なお, 本報は昭和 46 年度日本農芸化学大会で発表した。

文 献

- 1) 橋田, 寺本, 向井: 醸酵工誌, **36**, 499 (1958).
- 2) 黒野, 岩下, 鳥山: 醸試報, **117**, 1 (1933).
- 3) 黒野, 岩下: 同上, **119**, 37 (1934).
- 4) 芝崎: 醸酵工誌, **47**, 167 (1969).
- 5) 寺本, 橋田, 大塚: 同上, **31**, 376 (1953).
- 6) 伊野本, 橋田, 大塚: 同上, **29**, 204 (1951).
- 7) 下田: 日農化誌, **25**, 254 (1951).
- 8) 田中, 川北: 醸酵工誌, **29**, 393 (1951).
- 9) 谷, 巽: 同上, **36**, 365 (1958).
- 10) 谷: 同上, **38**, 383 (1960).
- 11) 谷, 柳, 石田, 福井: 同上, **39**, 92 (1961).
- 12) 中村, 城: Bull. Agr. Chem. Soc. Japan **23** 65, 418 (1959).
- 13) 寺本, 大塚, 橋田: 醸協, **48**, 200 (1953).

-
- 14) 黒野, 滝沢: 醸試報. **127**, 1 (1938); **128**, 209 (1939).
 - 15) 中村: 醸協. **51**, 80 (1956).
 - 16) 寺本, 橋田, 向井: 醸酵工誌. **33**, 9, 403, 476 (1955); **36**, 34, 120, 443 (1958).
 - 17) 福井, 谷: 同上. **29**, 257 (1951); **31**, 4 (1951).
 - 18) 谷: 同上. **36**, 360 (1958).
 - 19) 矢嶋, 日高, 松岡: 同上. **46**, 782 (1968).
 - 20) 原, 村上, 片桐, 大場: 醸協. **65**, 1007 (1970).
 - 21) 野坂, 村上: 醸酵工誌. **45**, 756 (1967).
 - 22) 片桐, 村上, 原: 食衛誌. **10**, 420 (1969).
 - 23) 田子, 村上, 原: 醸酵工誌. **49**, 632 (1971).
 - 24) 原, 村上, 大場: 醸協. **66**, 420 (1971).
 - 25) 菰田, 山田: 日農化誌. **40**, 173 (1966).
 - 26) 吉沢: 醸協. **61**, 481, 629 (1966).
 - 27) 原, 小松, 大塚: 同上. **63**, 461 (1968).
 - 28) 森, 嘉納: 醸酵工誌. **35**, 43 (1957).