

(522) (安藤, 栗山, 赤見坂) 清酒と合成酒の判別法に就いて

## 文 献

- 1) 本間, 明田川: 本誌, **33**, 490 (1955). 2) JEANES, A. WISE, C. S. and DIMLER R. J.: *Anol. Chem.*, **23**, 415 (1951). 3) DENT C. E.: *Biochem. J.*, **41**, 240 (1947). 4) SOMGGYI M.: *J. Biol. Chem.*, **119**, 741 (1937). 5) FRENCH D. and WILD G. M.: *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 2612 (1953). 6) 麻生, 山内: 本誌, **33**, 194 (1955). 7) 松田, 麻生: 本誌, **31**, 211 (1953). 8) 富金原, 村松: 農化, **26**, 583 (1952). 9) 松田, 麻生: 本誌, **32**, 498 (1954). 10) 麻生: 化学の領域, **8**, 81 (1954). 11) 麻生, 柴崎, 山内: 本誌, **30**, 311 (1952). 12) 川村: 農化, **28**, 851 (1954). 13) 麻生, 柴崎, 山内: 本誌, **32**, 47 (1954). 14) 穂積, 佐藤: 醸協, **45**, 24 (1950). 15) DIMLER, R. J. SCHAEFER, W. C. WISE, C. S. RIST C. E.: *Anal. Ceem.*, **24**, 1411 (1952). 16) FLOOD, A. E. HIRST, E. L. and TONES J. K. N.: *J. Chem. Soc.*, 1679 (1948). 17) HAWTHORNE J.: *Nature* **160**, 714 (1947). 18) HIRST, E. L. HOUGH, L. and JONES, J. K. N.: *J. Chem. Soc.*, 923 (1949). 19) HIRST, E. L. and JONES J. K. N.: *ibid.*, 1659 (1949). (昭和 30, 8, 3 受理)

## 清酒と合成酒の判別法に就いて〔清酒中の成分に関する研究(第2報)]\*

安藤 智雄・栗山 一秀・赤見坂 聰 (大倉酒造研究室)

## 【緒 言】

清酒と合成酒の判別に関して、既に佐藤氏等<sup>1)</sup>は先づ緩衝能の相異よりアルカリ添加後加熱した場合、その着色度に於て大きな差異を生ずることから両者を判別して居り、更に又同氏等<sup>2)</sup>は両者のアミノ態窒素の相異から、MILLON 氏反応及び Xanthoprotein 反応による判別にも成功して居る。

著者等は先づアルカリ添加後の着色による佐藤氏の判別法を再検討すると共に、新しく螢光度による方法及び、FOLIN-CIICALTEU 試薬による Tyrosine 値から判別する法を試み、これらの方法でも清酒と合成酒を判別し得る事を確かめたので報告する。

## 【実験及び考察】

## (i) 試 料

実験には略全国的に集めた市販酒、清酒特級、清酒一級、清酒二級及び合成酒二級の計87点に就いて調査した。尚それら銘柄の一例を示すと次の如し。

清酒特級: 白鹿, 菊正宗, 白鶴, キンシ正宗, 月桂冠等。

清酒一級: 爛漫, 新政, 越の誉, 賀茂鶴, 花の露, 西海, 美少年, 沢の鶴, 日本盛, 忠勇等。

清酒二級: 玉竜, 男鶴, 雄星, 巴菊, 富士正宗等。

合成酒二級: 力正宗, 三楽, 千石, 利久, 英気, 千代田, 初日, 協和, 松竹梅等。

## (ii) アルカリ添加後の着色による方法

佐藤氏の方法に準じたが、著者等が使用した光電比色計は島津製万能螢光々度計であつて、その Cubet の容量が約20ccである事、又試料を中和するに要する NaOH の量は当然異なるので中和後一定量に満たす方が良くと考えられる事等の理由から原報の方法を多少変更した。

即ち、試験酒20ccを採り、N/10 NaOH にて中和する。この際、別に指示薬を用い、中和に要する NaOH の量を予め決定してをき、実際の測定液には指示薬は誤差の原因となる為、添加せぬ様にする。中和後更に N/10 NaOH 4ccを添加し、その後全量を30ccに満たす。次いで沸騰水中に懸垂加熱10分、直ちに冷却し蒸溜水20ccを加えて稀釈、この液を光電光度計にて、フィルター-K 7 (波長430m $\mu$ )を用い、蒸溜水の吸光度を0として測定、着色度を吸光度Eにて表示した。

以上の方法により、上記試料87点に就いて測定した結果を Fig. 1 に示す。

即ち、清酒と合成酒の間に明確な相異が認められた。

\* 前報の標題「清酒中の有機酸に関する研究」を「清酒中の成分に関する研究」と訂正する。  
昭和30年10月大阪醸造学会にて発表

Fig. 1. 清酒合成酒に於けるアルカリ添加法着色度の分布

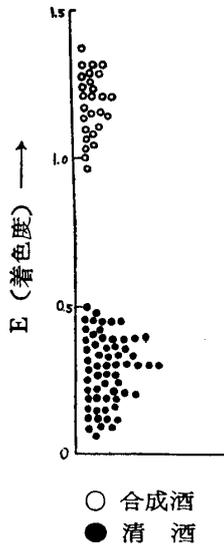
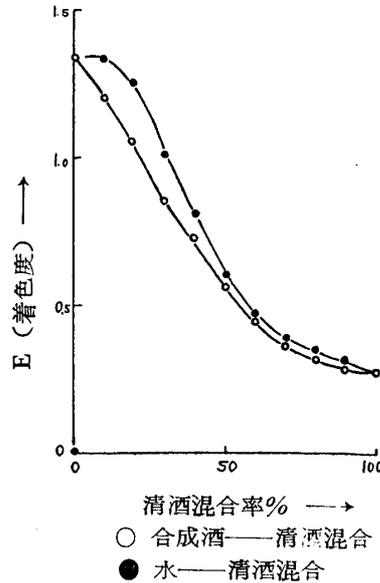


Fig. 2. 清酒混合率によるアルカリ添加法着色度の変化



又、合成酒又は水に清酒を種々の割合に混合した場合、その混合率による着色度 (E) の変化を測定した結果、Fig. 2 の如くになった。

即ち、水を標準として居る為、水の着色度 (E) は 0 であるが、水に 10% 清酒を混入すればその着色度 (E) は一躍略々合成酒と同程度の値となり、それより清酒の混合率が増加するに従つて、着色度 (E) は順次減少する。これは清酒による着色物質 (主として糖類) が順次増加するのに対し、その緩衝能の増加の方が大である為、着色度が減少するのであらうと考えられる。一方、合成酒に清酒を混合してゆく場合、その着色物質の方は大きな変化をせず、殆ど混合する清酒の緩衝能の増

加に従つて、着色度が減少してゆく為、水との混合の場合より更に直線に近い減少曲線を示すのであらう。

以上の結果から、清酒の緩衝能を利用する方法としては、この方法は優れた判別法であると思われる。

(iii) 螢光度による方法

清酒と合成酒には核酸による紫外部 (260m $\mu$ ) 吸収帯に於て、大小の相異があることは、猿野氏等<sup>3)</sup>により報告されて居るが、著者等は紫外線を照射した場合の螢光量に於て、清酒と合成酒の間に相違があることを知つたのでこれを判別法に応用することを考えた。

先づ、その螢光度測定の際の光電光度計の条件を種々検討した。その結果の一例を Table 1 に示す。

Table 1. フィルターの組合せによる螢光度測定の一例

フィルター組合せ	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6	No. 7	No. 8	No. 9	
一次フィルター	UV	K 7	YA 3	UV	UV	UV	UV	UV	K 7	
二次フィルター	—	—	—	FT 101	FT 101	—	YA 3	K 7	YA 3	
三次フィルター	—	—	—	—	CuSO <sub>4</sub>	CuSO <sub>4</sub>	—	—	—	
測 定 値	清 酒 合成酒 A 合成酒 B	200 スケール アウト 145	97 54 100	96 174 100	100 34 102	スケール アウト 80 157	100 45 146	100 25 29	87 36 160	20 7 9

この表から、その測定値が清酒と合成酒の間に明確な差異を示す様な条件は、フィルターの組合せ No. 7 であると思われる。従つて、清酒又は合成酒の試料をそのまま Cubet に採り、第一次励起光線用フィルターとして、UV フィルターを、又第二次撰択用フィルターとしてはビタミン B<sub>2</sub> 測定に用いる YA 3 フィルターを使用し、島津製万能螢光々度計にて螢光度を測定、1/5000,000 fluorescence-Na 溶液の示す値を 60 とした場合の光度計の目盛を、そのまま螢光度として表示した。

この方法によつて清酒と合成酒の螢光度を調査した結果、Fig. 3 に示される如く、明らかな差異が認められた。次に、合成酒又は水に清酒を順次混合してゆく場合、その螢光度は何れも略々直線的な変化を示した (Fig. 4)。従つて、この方法は何等反応を行う必要がなく、操作が極めて簡単である等から考えて清酒と合成酒の判別法として便利な方法と思われる。

次に、この螢光の本体に就いて考察を少し行つてみる。

Fig. 3. 清酒, 合成酒に於ける螢光度の分布

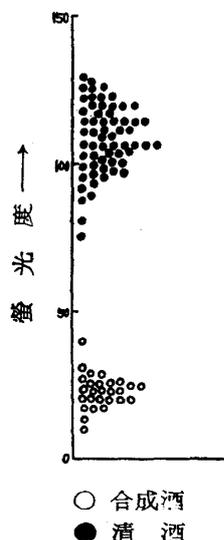


Fig. 4. 清酒混合率による螢光度の変化

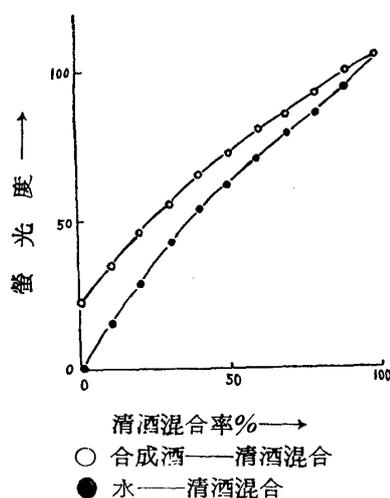


Table 2. 曝光による螢光度及び着色度の変化の1例

		螢光度		透過率%	
		遮光	曝光	遮光	曝光
清酒	A	102	125	66.5	35.5
	B	98	117	65.0	43.0
	C	120	90	58.0	27.5
	D	129	94	59.5	25.0
合成酒	A	23	23	73.0	75.5
	B	21	22	73.0	73.0
	C	20	27	67.5	71.5
	D	12	16	68.5	71.0

清酒, 合成酒を夫々200cc宛採り, その中100ccを青色瓶に入れて暗室に保存し, 他の100ccは普通の三角フラスコに入れ日光に曝しながら放置し, 約3ヶ月後に夫々の螢光度を測定した. 測定値の一例を Table 2 に示す.

即ち, 合成酒の方は曝光により殆んど変化は示して居ないが, 清酒の方は曝光により螢光度は相当増減して居る. 且つ又, フィルター-K 6 (460m $\mu$ ) を用い酒の色度を透過率にて測定した処, 合成酒の方は変化がなく, 清酒の方は光によつて明らかに色度が増加して居る. (透過率で示して居る為. 数値の小なるもの程色度は大である)

又, 三増酒に就いて検討した結果, Table 3 の如き数値を得た.

これらの結果を考え合せれば, この螢光の本体の大部分は米から由来して居るものと思われる.

然し, それがビタミンB<sub>2</sub>の分解物又はその類似物質<sup>4)</sup>であるか否か, 或いは又著者等が前報で報告したケト酸の Paper chromatography に於て発現する螢光物質と如何なる関係を持つか等<sup>5)</sup>に就いては今後の研究を待たねばならない.

一方, 古く小穴氏<sup>6)</sup>により活性炭処理をした清酒の紫外線による螢光度は原清酒に比し著しく弱くなることが報告されて居り, 又黒野氏等<sup>7)</sup>は活性炭処理を行つたものは, 原清酒に比し火落菌繁殖に対する抵抗性が大であり, その螢光の本体の主なもの<sup>8)</sup>が即ち火落菌繁殖を促進する因子であらうと結論して居る.

著者等も最近の実験に於て, 上記の方法により測定せる清酒の螢光度と活性炭処理並びに火落菌に対する抵抗性との間の関連性を認め, 目下研究中である.

従つて, この螢光度を測定する方法は単に清酒と合成酒の判別法として利用される以外に, 以上の様な研究にも又応用されるべき意義を持つて居る.

(iv) Tyrosine 価による方法

著者等は又, その優れた鋭敏性と再現性の為以前より Protease 測定に屢々用いられて居る, FOLIN-CIO-CALTEU 試薬<sup>9)</sup>によつて Tyrosine 含量を測定する方法の応用を考えた.

発色条件としては, 蔭山氏等<sup>10)</sup>の方法を参考として次の様に定めた.

即ち, 試料の酒1ccに4.0M NaCO<sub>3</sub> 5cc と FOLIN-CIO-CALTEU 試薬 (5倍稀釈液) 1ccを加え, 40°C20分間反応させて呈色, 後25ccに満たし, 光電光度計にて, フィルター-K 3 (580m $\mu$ ) を用い, CuSO<sub>4</sub> フィルターの示す値を200として, その呈色度を測定し, Tyrosine 価を吸光度Eにて表示した. 尚この呈色後の液をこの様に稀

Table 3. 三増酒等の螢光度測定例

試料種類	螢光度
普通アル添清酒の原酒(10点の平均)	145
三増清酒の原酒(10点の平均)	110
88%アルコール	13
3%葡萄糖溶液	9
(三増に使用する)調味液	7

釈して測定しても, Fig. 5 に見られる如く, 比較数値を扱う場合は, 何等差し支えないことを確めて居いた.

Fig. 5. FOLIN 試薬による発色液の  
稀釈に伴ふ Tyrosine 価の変化、

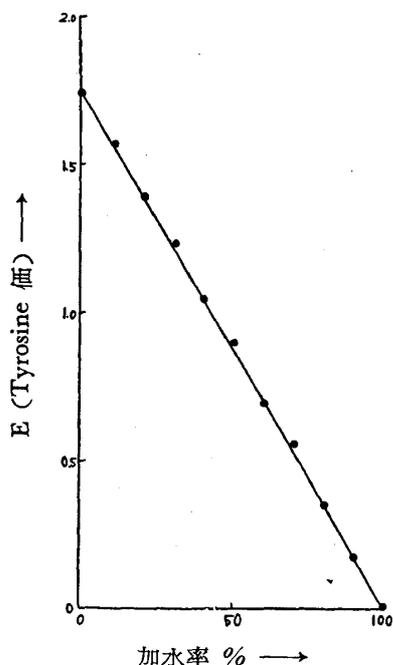


Fig. 6. 清酒, 合成酒に於ける  
Tyrosine 価の分布

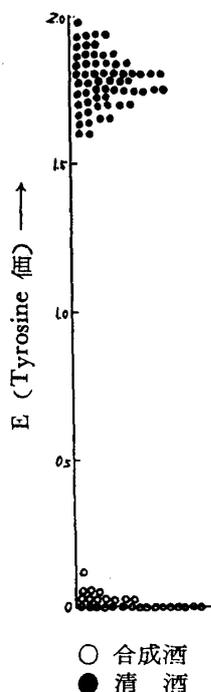
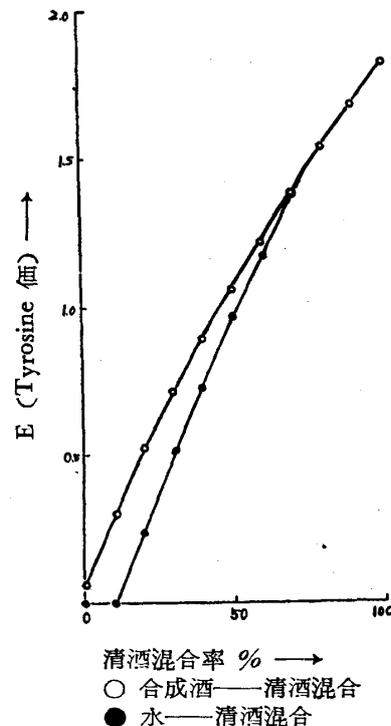


Fig. 7. 清酒混合率による Tyrosine  
価の変化



この方法による清酒及び合成酒の Tyrosine 価を測定した結果は Fig. 6

の如き分布図となつた。

即ち, 前記2方法による場合よりも, 更に確然たる区別が清酒と合成酒の間に認められ, 従つて光電光度計を用いなくても明確に判別し得た。

又, 合成酒又は水に清酒を混合する場合も, Fig. 7に示される如く, その Tyrosine 価は略々直線的に変化した。

而して, この Tyrosine なるものは, 合成酒に添加すると酒の味を劣化さすとの理由から, 現在尚合成酒では, 特に添加を選けて居るといわれて居り, 又その分布図及び混合による変化曲線等をも併せ考えると, この Tyrosine 価による方法は上述の方法の中で, 清酒, 合成酒判別法としては最も優れたものではないかと思われる。

一方, Fig2, Fig4, Fig 7の各図表から考察するに, 何れも清酒の混合率に従つて略々規則的に変化して居り, 就中, Tyrosine 価の場合は殆ど直線となつて居る。従つて, 元の清酒の示す数値がわかつて居れば, 何パーセント加水してあるか, どの程度合成酒が混合されて居るか等をも, 之等の図表から判定する事が出来ると思われる。

#### 【総 括】

清酒と合成酒の判別法に就いて, 87点の試料を用いて調査し, 次の様な結果を得た。

(1) アルカリ添加後の着色による方法(佐藤氏法)を再検討した結果, 緩衝能を利用する方法としては, 優れた判別法である事を確めた。

(2) 酒に紫外線を照射した場合の蛍光度の程度によつても, 清酒と合成酒を判別する事が出来ることを認め, その蛍光の本体に就いても若干の考察を行つた。

(3) 又, FOLIN-CIICALTEU 試薬を加えて Tyrosine 含有量を比較する方法によつても, 清酒と合成酒の判別が可能である事を認めた。

(4) これら何れの方法によつても, 清酒に合成酒又は水を混和した時の混和率を決定する事が出来る。

終りに臨み, 本稿の御校閲を賜つた, 恩師京大片桐教授に深謝致します。(尚本報は昭和30年6月伏見研究会に於て発表済み)

#### 文 献

- 1) 佐藤・原田: 醸協, 49, 540 (1954).
  - 2) 佐藤・原田: 醸協, 49, 606 (1954), 50, 113, 355 (1955).
  - 3) 猿野・河野: 本誌, 32, 253 (1954).
  - 4) 八木: ビタミン, 8, 61 (1955).
  - 5) 小穴: 醸試報, 102, 85 (1930).
  - 6) 黒野・勝目・藤田: 醸試報, 115, 1 (1932).
  - 7) 標準生化学実験法: p.207 (1953).
  - 8) 蔭山・国定: 本誌, 33, 28 (1955).
- (昭和30, 8, 25受理)