

清酒の研究並びにこれが合成日本酒に 齎らす効果について (第2報)

清酒及びその製造行程中の窒素成分 (I)

工 學 士 寺 本 四 郎

清 酒 の 窒 素 成 分

I. 緒 論

従來の清酒に關する文獻を見るにその窒素成分に關する研究は少し、蛋白化學の研究の困難なると清酒成分としての窒素は麥酒麥芽汁等に比しその含量少き事はその主要なる原因ならんか。

然して清酒釀造の傾向としては優良酒を製出する目的を以て精白度の高き米を使用し可及的窒素成分を少くする消極的手段を撰ぶ結果となりたり然れども清酒の風味に關し重要な因子をなすべき窒素成分につき積極的に研究の歩を進むる事も又意義ある事と信するなり、清酒の窒素成分に關しては古く高橋偵造博士は清酒中の蛋白態窒素をスツツツアー氏法リウンプラー氏法、醋酸鉛酸化鉛沈澱法、及び鹽基性醋酸鉛沈澱法等により測定し全窒素中の4~8%たる事を認め更に蛋白分解物たる、アミノ酸につきては、アラニン、ロイシン、プロリン、アスパラギン、チロシン、シスチン、トリプトファン、リジン、ヒスチヂンを認めたり、然してペプトン、アルブモーズ、ペプチッドの存在すべき事を論及せり⁽¹⁾、又同氏は清酒貯藏中のアミノ酸の變化と火落との關係を論じ⁽²⁾、清酒後熟酵母とアミノ酸の變化につき實驗を行ひたり⁽³⁾。

又黒野勘六、勝目英兩氏は新酒、古酒につきてのトリプトファン、チロシン、シスチン量の變化を検し⁽⁴⁾、清酒釀造中のトリプトファンの増減及麴菌酵素、酵母浸漬汁中のトリプトファンナーゼの存在に論及せり⁽⁵⁾、又清酒螢光物質としての蛋白質を試験せり⁽⁶⁾。

有機鹽基に關しては黒野勘六氏はコーリン、ヒスタミン、リジンの存在を認め火落酒にのみカダベリンの存在する事を報告せり⁽⁷⁾、山田正一氏はナフトール黄を用ひて健全酒にも火落酒と同様にカダベリンの存在する事を立證せり⁽⁸⁾。

杉山晋作氏⁽⁹⁾は清酒醗及醗と共にその新酒及び數種の合成酒につき K. Myrbäck u. S. Myrbäck 氏の方法を用ひて蛋白中間分解物の定量を行ひたり。

著者が思考するところは清酒中の窒素成分がその風味に對し如何なる影響を與ふるものなりや勿論低級蛋白分解物たるアミノ酸は各種有機酸と共に味の重要な役割を演ずるものなり⁽¹⁾も更に之より高級なる窒素化合物も重要な働きをなすにあらずやと考ふるなり。清酒醸造上の操作即ち若麴の使用、低温經過の醗酵等は酵素化學的に觀て蛋白分解作用に對し抑制的效果を齎らすものと考へられ即ち清酒の風味が蛋白高級分子による因子とも考ふる事を得るなり。

著者は下に記せるが如き實驗より清酒中の窒素化合物中ペプトン以上的高级物としては5~10%を含有するものにして90%以上は相當分解程度の進みたるものなる事を見たり、然れどもその中35%内外はペプチッド態窒素にして之等のペプチッド化合物がモノアミノ酸と共に清酒風味の重要な役割をなすにあらずやと考ふるなり⁽¹¹⁾、此等の點に關しては更に研究の歩を進めんと欲す。

II. 實 驗

(1) 供 試 試 料

灘、伏見、廣島、城嶋、秋田の5地方より、下記10種の瓶詰清酒を蒐集し實驗に供したり。

菊正宗、白鶴、月桂冠、金鷄正宗、加茂鶴、榮松、萬代、富の壽、福録壽、黄金井

(2) 一 般 成 分

上記10種の清酒の一般成分は第1表の如し。

第 1 表

| 試 料 | エ キ ス 分 | 糖 分 | アルコール分 (容 量) | 酸 度 | pH |
|-----|---------|-------|-----------------|--------|---------|
| 1 | 4.676% | 1.57% | 14.5% | 0.234% | 3.8 |
| 2 | — | 0.66 | 14.2 | 0.261 | 3.8 |
| 3 | 5.612 | 3.13 | 15.8 | 0.189 | 3.8 |
| 4 | 6.418 | 3.47 | 15.5 | 0.270 | 3.7 |
| 5 | 5.561 | 2.92 | 17.4 | 0.228 | 3.8 |
| 6 | 5.426 | 3.39 | 14.5 | 0.161 | 3.7 |
| 7 | 6.399 | 2.73 | 15.2 | 0.221 | 3.8 |
| 8 | 5.798 | 3.05 | 15.0 | 0.194 | 3.7 |
| 9 | 5.635 | 3.30 | 15.0 | 0.234 | 3.7 |
| 10 | 5.762 | 3.12 | 13.5 | 0.158 | 3.7 |
| 平 均 | 5.699 | 2.75 | 15.1 | 0.215 | 3.7-3.8 |

(寺本) 清酒の研究並びにこれが合成日本酒に齎らす効果について (第2報) 487

摘要 糖分は還元性糖分を葡萄糖として算出す

酸度はロゾール酸を指示薬として $n/10\text{NaOH}$ にて中和乳酸として算出す

pH は Hellige 比色計に依る

(3) 全 窒 素

Stutzer 蛋白態窒素 Van Slyke アミノ態窒素及びアンモニア態窒素

操 作

全窒素は試料 1 cc を以て Mikrokjeldahl 法により測定す

Stutzer 蛋白態窒素は試料 5 cc を中和し温めて Stutzer 試薬を添加し後濾過して沈澱中の窒素を測定す

Van Slyke アミノ態窒素は Mikro-Van Slyke 装置により試料 2 cc にて測定す

アンモニア態窒素は多少不正確なれども Mikrokjeldahl 蒸溜装置に依り試料 5 cc を弱アルカリ性とし蒸溜して測定せり⁽¹²⁾

摘要 窒素の測定は總て Mikrokjeldahl 装置を用ひ $n/100\text{NaOH}$ 液 2cc~20cc の範圍に試料を採取せり、沈澱物の測定には濾紙と共に分解を行ひ濾紙中の窒素は別に測定し補正を行ひたり、

(濾紙 1 枚中の窒素 = $n/100\text{NaOH} \cdot 3\text{cc} = 0.04\text{mgN}_2$)

結果第 2 表の如し

第 2 表

| 試 料 | 試 料 100cc 中 の mg 数 | | | | 全窒素に對する百分率 | | |
|-----|--------------------|------------------|---------------------|----------------|------------|--------|----------------|
| | 全 窒 素 | Stutzer 蛋白態窒素 | Van Slyke アミノ態窒素 | アンモニア 態 窒 素 | 蛋白態窒素 | アミノ態窒素 | アンモニア 態 窒 素 |
| 1 | 180.6 | 11.2 | 57.8 | 15.8 | 6.20 | 32.01 | 8.19 |
| 2 | 170.8 | 7.5 | 59.6 | 13.0 | 4.39 | 34.87 | 7.61 |
| 3 | 197.1 | 10.9 | 60.1 | 9.8 | 5.53 | 30.49 | 4.97 |
| 4 | 173.6 | 10.8 | 53.6 | 13.7 | 6.22 | 30.88 | 7.89 |
| 5 | 187.6 | 11.8 | 57.6 | 12.6 | 6.26 | 30.55 | 6.71 |
| 6 | 147.0 | 13.6 | 56.6 | 12.7 | 9.67 | 38.51 | 8.71 |
| 7 | 154.0 | 14.4 | 58.9 | 9.8 | 9.35 | 38.22 | 6.36 |
| 8 | 138.6 | 16.0 | 24.4 | 8.8 | 11.54 | 17.57 | 6.35 |
| 9 | 137.2 | 12.0 | 45.8 | 9.2 | 8.75 | 26.52 | 6.71 |
| 10 | 98.0 | 9.0 | 32.9 | 5.2 | 9.18 | 33.53 | 5.36 |
| 平 均 | 158.5 | 11.7 | 50.7 | 11.1 | 7.71 | 31.32 | 6.89 |

(4) K. Myrbäck u. S. Myrbäck 氏法に依る窒素物の分類

Schjerning 氏が各種重金屬鹽を用ひて蛋白質の沈澱分離をなしたる方法を修正し K. Myr-⁽¹³⁾

488 (寺本) 清酒の研究並びにこれが合成日本酒に齎らす効果について (第2報)

bäck 及び S. Myrbäck⁽¹⁴⁾ 兩氏は 3 種の重金屬鹽を以て、麥芽汁の窒素物の分類を行ひたり。

杉山⁽⁹⁾ 晋作氏はこの方法を用ひて清酒醗酵新酒及合成酒の窒素成分を調べ又別に味淋⁽¹⁵⁾の分析をも行ひたり。

著者も同法を用ひて上記10種の試料の分析を行ひたり。

操 作

試料10ccを採り、之に稀釋硫酸液10ccを加へ弱酸性となし之に粉末狀 $MgSO_4$ を加へ飽和せしめ1晝夜放置後濾過す飽和 $MgSO_4$ 液を以て沈澱を洗滌し、その沈澱物の窒素を測定す $MgSO_4$ にて沈澱するものは K. Myrbäck 及 S. Myrbäck 氏に依れば Albumin Globulin 及び Propepton (Albumose) を含有す、之を第一區分 (純蛋白區分) とす。

第一區分分離の濾液を濃縮中和し約 0.5g の $HgCl_2$ を加へ2晝夜放置後濾過し、その沈澱を $HgCl_2$ 飽和溶液にて洗滌し、その窒素量を測定す、之を第二區分 (退化蛋白區分) とし、Dennuclein を含有すとなす。

第二區分分離後更に液を濃縮し之に醋酸ウラニウムを飽和せしめ2晝夜放置後濾過し沈澱は醋酸ウラニウム飽和溶液を以て洗滌しその窒素量を測定す之の部分は純 Pepton にして之を第三區分となす

全窒素より第一、第二、第三區分の窒素量を減じたるものは Peptide 及 Amino 態窒素にして之の部分を第四區分とす。

結果第3表の如し

この中第一區分にては殆んど溷濁を認めざりしが上記の操作を行ひて窒素量を測定せり。杉山氏の實驗にてはこの部分は非溷濁として分析を行はざりき。

第 3 表

| 試 料 | 試 料 10cc 中 の mg 數 | | | | 全窒素に對する百分率 | | | |
|-----|-------------------|------|------|-------|------------|------|------|-------|
| | 第一區分 | 第二區分 | 第三區分 | 第四區分 | 第一區分 | 第二區分 | 第三區分 | 第四區分 |
| 1 | 1.26 | 2.24 | 2.53 | 174.6 | 0.70 | 1.24 | 1.40 | 96.66 |
| 2 | 3.36 | 1.82 | 6.44 | 159.2 | 1.97 | 1.07 | 3.77 | 93.19 |
| 3 | 3.22 | 2.52 | 2.52 | 188.8 | 1.63 | 1.28 | 1.14 | 95.95 |
| 4 | 1.82 | 1.54 | 3.08 | 167.2 | 1.05 | 0.89 | 1.41 | 96.65 |
| 5 | 1.26 | 2.52 | 7.49 | 176.3 | 0.67 | 1.34 | 3.99 | 94.00 |
| 6 | 1.54 | 2.38 | 5.74 | 137.3 | 1.07 | 1.64 | 3.91 | 93.40 |
| 7 | 2.38 | 3.08 | 3.85 | 134.7 | 1.55 | 1.95 | 2.32 | 94.18 |
| 8 | 1.96 | 3.23 | 3.57 | 128.8 | 1.42 | 2.33 | 2.57 | 93.68 |
| 9 | 2.24 | 2.24 | 5.06 | 127.7 | 1.63 | 1.63 | 3.69 | 93.05 |
| 10 | 1.68 | 1.40 | 3.64 | 91.3 | 1.71 | 1.43 | 3.71 | 93.15 |
| 平 均 | 2.07 | 2.29 | 4.39 | 149.6 | 1.34 | 1.48 | 2.79 | 94.39 |

(寺本) 清酒の研究並びにこれが合成日本酒に腐らす効果について (第2報) 489

(5) 綾井貞夫氏法に依る窒素物の分類

(15)
綾井貞夫氏は熱、硫酸鉛、燐タングステン酸等を用ひて麥酒中の蛋白分解物の定量を行ひたり。同法を用ひて杉山晋作氏は味淋中の窒素物の検索を行へり。

操 作

試料40ccを採り之を $n/10$ NaOH 液にて中和後更に醋酸酸性となし2分間煮沸し生じたる沈澱を濾過し、その窒素量を測定し凝固性蛋白態窒素となす、然れども清酒の場合は何れの試料につきても沈澱又は凝固を見ず従つて窒素分の定量を行はす。

試料20ccに硫酸鉛を約1g添加し24時間放置後沈澱を濾別し飽和硫酸亞鉛液にて洗滌し、その窒素量を測定す、之をアルブモーズ態窒素となす。

アルブモーズ態窒素分離後の濾液を濃縮し、之に約1gの燐タングステン酸を加へ24時間放置し後沈澱を濾別し5%燐タングステン酸液にて洗滌し、その窒素量を測定しペプチッド態窒素となす。

別にアミノ態窒素をフォルモール滴定法にて測定す、即ち試料5ccを $n/10$ BaOH 液にて中和しフェノールフタレンを指示薬として薔薇色に至らしむ、之にフォルマリン液(40%液を BaOH 液にて中和せるもの)10ccを添加し無色となりたるものを又薔薇色にまで $n/10$ BaOH₂ にて滴定す。

全窒素より上記の凝固性蛋白態窒素、アルブモーズ態窒素、ペプチッド態窒素アミノ態窒素を減じたるものをアミド態窒素となす。

結果第4表の如し

第 4 表

| 試 料 | 試 料 100cc 中 の mg 数 | | | | | 全窒素に對する百分率 | | | | |
|-----|-----------------------|-------------------------|-----------------------|----------------|----------------|-----------------------|-------------------------|-----------------------|----------------|----------------|
| | 凝 固 性 蛋 白 態 窒 素 | ア ル ブ モ ー ズ 態 窒 素 | ペ プ チ ュ ド 態 窒 素 | ア ミ ノ 態 窒 素 | ア ミ ド 態 窒 素 | 凝 固 性 蛋 白 態 窒 素 | ア ル ブ モ ー ズ 態 窒 素 | ペ プ チ ュ ド 態 窒 素 | ア ミ ノ 態 窒 素 | ア ミ ド 態 窒 素 |
| 1 | — | 1.65 | 53.2 | 50.0 | 75.7 | — | 0.92 | 29.36 | 27.71 | 42.01 |
| 2 | — | 2.31 | 53.5 | 54.3 | 60.8 | — | 1.35 | 31.40 | 31.81 | 35.44 |
| 3 | — | 2.14 | 67.7 | 45.5 | 81.8 | — | 1.09 | 34.35 | 23.09 | 41.47 |
| 4 | — | 1.65 | 56.9 | 48.3 | 66.7 | — | 0.95 | 32.77 | 27.83 | 38.45 |
| 5 | — | 2.03 | 54.2 | 45.9 | 85.5 | — | 1.08 | 28.89 | 24.43 | 45.61 |
| 6 | — | 2.56 | 48.2 | 44.8 | 51.8 | — | 1.74 | 32.79 | 30.75 | 34.72 |
| 7 | — | 2.03 | 43.4 | 45.2 | 63.3 | — | 1.32 | 28.18 | 29.79 | 40.71 |
| 8 | — | 2.03 | 58.1 | 40.6 | 53.3 | — | 1.46 | 41.91 | 29.29 | 27.34 |
| 9 | — | 2.21 | 54.2 | 38.5 | 43.7 | — | 1.61 | 39.36 | 22.30 | 36.74 |
| 10 | — | 2.45 | 40.2 | 34.3 | 21.0 | — | 2.50 | 49.32 | 35.00 | 13.18 |
| 平 均 | — | 2.11 | 53.0 | 44.24 | 60.3 | — | 1.40 | 34.83 | 28.20 | 35.57 |

490 (寺本) 清酒の研究並びにこれが合成日本酒に齎らす効果について (第2報)

(6) A. Hiller 及び D. Van Slyke の窒素物分類法

A. Hiller 及 D. Van Slyke⁽¹⁷⁾兩氏は數種の沈澱剤を用ひて蛋白及びその分解物の分離試験を行ひトリクロール醋酸及び⁽¹⁸⁾隣タングステン酸曹達を用ふる事を推賞せり同法により高橋榮治白濱潔兩氏は麥芽操作中の水溶性蛋白質の變化を見たり。

著者も之の方法を用ひて清酒の分析を行ひたり。

操 作

試料40ccを採り之にトリクロール醋酸の50%溶液5ccを添加し水を加へて100ccとす。(トリクロール醋酸の含量は2.5%)48時間放置後濾過し、その濾液の窒素量を測定す。

全窒素より濾液に窒素量を減じたるものはトリクロール醋酸にて沈澱せらるるものにして之を蛋白態窒素とす。

清酒の場合は稍白濁を生じたれども明瞭なる沈澱を見ざりき。

次にこの濾液を50cc採り之に $\frac{2}{3}$ nH₂SO₄ 10cc 10% 隣タングステン酸曹達液10ccを添加し水を加へて100ccとす、暫時放置後之を濾過しその濾液の窒素量を測定す。濾液の窒素量をアミノ態窒素となし隣タングステン酸にて沈澱せらるる部分を算出して之をペプチッド〜ペプトン態窒素とす。

結果第5表の如し

第 5 表

| 試 料 | 試 料 100cc 中 の mg 数 | | | 全窒素に對する百分率 | | |
|-----|--------------------|-----------------------|----------------|--------------|-----------------------|----------------|
| | 蛋 白 態 窒 素 | ペプトンペ プチッド態 窒 素 | ア ミ ノ 態 窒 素 | 蛋 白 態 窒 素 | ペプトンペ プチッド態 窒 素 | ア ミ ノ 態 窒 素 |
| 1 | 5.6 | 62.0 | 113.0 | 3.10 | 34.33 | 62.57 |
| 2 | 5.3 | 63.3 | 102.2 | 3.10 | 37.06 | 59.84 |
| 3 | 20.1 | 79.0 | 98.0 | 10.20 | 40.06 | 49.78 |
| 4 | 17.6 | 34.2 | 121.8 | 10.14 | 19.70 | 70.16 |
| 5 | 16.1 | 55.3 | 116.2 | 8.58 | 29.48 | 61.94 |
| 6 | 7.1 | 43.6 | 96.6 | 4.76 | 29.67 | 65.57 |
| 7 | 5.3 | 57.1 | 102.2 | 3.44 | 37.08 | 59.48 |
| 8 | 2.1 | 48.3 | 88.2 | 1.51 | 34.84 | 63.65 |
| 9 | 0.7 | 48.3 | 88.2 | 0.51 | 35.20 | 64.29 |
| 10 | 0.00 | 39.2 | 58.8 | 0 | 40.00 | 60.00 |
| 平 均 | 7.98 | 33.0 | 98.5 | 4.53 | 33.74 | 61.73 |

III. 考 察

以上清酒試料10種の分析結果を考察すれば清酒中の全窒素は100cc 中平均158.5mg (最大197.1mg最小98mg)なり、全窒素に對する各種形態窒素の分布を見るに純蛋白態窒素はStutzer氏法に依るときは7.71% (最大11.54%、最小4.39%)にして、之の値は他の方法に依る數値よりも大なり、トリクロール醋酸に依る値は、平均4.57% (最大10.14%、最小0.00%) Myrbäck氏の方法による値は純蛋白態窒素として、平均1.34% (最大1.97%、最小0.70%) 退化蛋白態窒素は平均1.48% (最大2.33%、最小0.89%)、綾井氏法にては凝固性蛋白は測定し得ず。アルブモース態窒素として平均1.40 (最大1.74%、最小0.92%)の結果を示したり、Stutzer氏法に依るときは更に多少分解程度の進みたるペプトン、ペプチッド態の窒素も多少含有せらるゝものと推察さる、以上の結果より考察するとき清酒中の純蛋白として存在する窒素量は全窒素に對し1~5%程度のものと推察するを至當なるべし。

次にアルブモース及びペプトン態窒素に於ては Myrbäck氏法に依る第二區分(退化蛋白區分)は上記の如く第三區分は平均2.79% (最大3.99%、最小1.40%)を示し、綾井氏の方法によるアルブモース態窒素は上述の如し。

之等の方法は何れも重金属による沈澱法にして果して純蛋白及高級の蛋白分解物質の分別沈澱に明瞭なる差異を示すや否や疑問なり。之等の重金属に依る分別沈澱量の總和よりもトリクロール醋酸に依る沈澱量の數値が大なる結果を示したり、(勿論實驗方法にも差異あれば明確に區別し得ず) 何れにしてもアルブモース態及びペプトン態窒素として上記の實驗結果より考察するとき全窒素に對し1~2%程度のものと推察し得。

ペプチッド態窒素としては綾井氏法 Hiller氏法は同じ試薬に依るものなれば殆んど同様の結果を示し大約33~35%を含有するものと推察し得。

アミノ態窒素はフォルモール滴定法に依るときは平均28.2% (最大35.0%、最小22.3%)にして Van Slyke氏法にては31.32% (最大38.51%、最小17.57%)にて殆んど相等しく約30%内外と考ふるを得べし。

綾井氏法に依るアミド態窒素の數値は計算によるものにしてアンモニア態窒素も含有する數値なり。(平均35.57%、最大45.61%、最小13.18%)

Myrbäck氏法に依るアミノ態窒素はペプチッド態、アミノ態、アミド態窒素等低級蛋白分解物の窒素の總計と見るを得べし。

アンモニア態窒素としては平均6.89% (最大8.71%、最小4.97%)を含有す之の値は操作上

よりアミド態窒素の一部分を含有するものたるべし。

IV. 要 旨

- 1、清酒試料10種につき各形態の窒素物の分析を行ひたり。
- 2、分析方法は K. Myrbäck u. S. Myrbäck 氏法、綾井氏法、A. Hiller 及 Van Slyke 氏法の三方法を比較實驗せり。
- 3、清酒中の蛋白態窒素は全窒素に對し1~5%なり。
- 4、アルブモース態及ペプトン態窒素は全窒素に對し1~2%の少量なり。
- 5、ペプチッド態窒素は全窒素の33~35%を含有す。
- 6、アミノ態窒素は全窒素の30%内外を含有す。
- 7、計算に依るアミド態窒素は35%内於にしてその中約5%はアンモニア態窒素と見るべし。
- 8、清酒中の含窒素化合物は以上の實驗結果より見るときは、90%以上は相當分解程度の進みたる化合物よりなるものと思考へらる。

本稿を發表するに當り懇切なる御指導御校閲を賜りたる中村教授に深謝の意を表す

文 献

- 1) 高橋偵造: 醸試報告 第18號 (明41)
- 2) " " 第31號 第49號 (明44. 大正2)
- 3) " " 第53號
- 4) 黒野勘六、勝目英: 醸試報告、第106 號28. (昭和4)
- 5) " " 醸試報告、第112號 1. (昭和6)
- 6) " " 醸試報告、第106號 30. (昭和4)
- 7) 黒勝勘六: 農學會報、第231號 747. (大正10)
- 8) 山田正一: 日農化、第2卷
- 9) 杉山晋作: 醸試報告、第115號 99. (昭和7)
- 10) 有働繁三: 日農化、8 675 1932. 参照
- 11) G. Cohn. Die Organischen Geschmackstoffe (1914) 参照
- 12) S. B. Schryver. 及 E. M. Thomas. J. Inst. Brew. 35, 571, 1929.
- 13) K. Myrbäck u. S. Myrbäck. Woch. Brau. 48, 43, 1931, 49, 20, 1932.
- 14) Schjerning. Z. Analy. Chem. 33, 263, 34, 135, 35, 285, 36, 643, 37, 413, 39, 545, 1900.
- 15) 杉山晋作: 醸試報告、第113號 (昭和6)
- 16) 綾井貞夫: 工化、34. 173. 1931
- 17) A. Hiller & D. van Slyke. J. Biol. Chem. 53, 254, 1922.
- 18) 高橋榮治、白濱潔: 日農化、4. 166. 288. 683 (昭和4)

(於大阪帝國大學工學部醸造學教室)