

551 酵素法によるワイン中のマスト臭除去に関する研究(第1報) α -アセト
ラクテート デカルボキシラーゼの生産と酵素的性質について(協和発酵・
東京研, サントネージュ・研究室*) 大城隆, 相阪和夫, 清水健一*, 上島孝之

1. 目的 輸入濃縮果汁(マスト)を用いて製造されるマストワイン中にはマスト特異臭と呼ばれる不快臭と有する物質が存在し、いわゆる生果汁を発酵して得られる通常のワインに比べて酒質が劣ることが知られている。このマスト特異臭の生成にダイアセチル及び蛋白質またはチアミンの SO_2 分解によつて生じる物質が関与していることを先に報告した。¹⁾ ダイアセチルは α -アセト乳酸が酸化されて生成することが知られており、従つて α -アセト乳酸を酵素的にアセトインに変換してしまえばダイアセチルが生成せず、結果としてマスト特異臭の発生が防げることを期待される。そこで酵素法によるマスト臭の除去と目的に、微生物による α -アセトラクテート デカルボキシラーゼの生産とその酵素的性質について検討した。

2. 方法及び結果 α -アセトラクテート デカルボキシラーゼを保存菌株 143 株について検索した結果、*Brevibacterium acetyllicum* ATCC 954 に強い活性と見い出した。本酵素の生産はブイヨン培地に亜鉛イオンを添加することにより、無添加に比べて約 5 倍上昇した。*B. acetyllicum* の無細胞抽出液より硫酸分画、DEAE-Cellulose クロマトグラフィー、Sephadex G-100 ゲルろ過、焦点電気泳動等により本酵素を精製した。精製酵素は分子量 61,000、等電点 4.4 であった。 α -アセト乳酸に特異的に作用し、アセト酢酸、オキサロ酢酸にはほとんど作用しなかった。 α -アセト乳酸に対して、最適 pH は 6 付近に存在し、 K_m 値は 1.8 mM であった。また、熱に対しては比較的安定であった。

1) 原武, 足立哲夫, 広瀬泉, 清水健一, 秋山裕一, S60 発酵工学会大会要旨集, P38.

Studies on Removal of Off-odor in Wine made from Concentrated Grape Must by Enzymatic Method. Part I. Production of α -Acetolactate Decarboxylase and Properties of the Enzyme.

Takashi Ohshiro, Kazuo Aisaka, Ken-ichi Shimizu and Takayuki Uwajima (Tokyo Research Lab., Kyowa Hakko and Research Lab., Sainte Neige Wine*)

552 酵素法によるワイン中のマスト臭除去に関する研究(第2報) α -アセトラクテ
ートデカルボキシラーゼのワイン製造への利用(サントネージュ研究室, 協和発酵東
京研*, 協和発酵**) 原武, 大城隆*, 相阪和夫*, 上島孝之*, 秋山裕一**, 清水健一

1. 目的 輸入濃縮果汁(マスト)を用いて製造されるマストワイン中に存在するマスト特異臭を除去する方法として、 α -アセトラクテートデカルボキシラーゼをマストを原料としたワイン製造に用い、マスト特異臭を有さない、高品質のマストワインの製造法を検討した。

2. 方法 (i) バッチ発酵系における α -アセトラクテートデカルボキシラーゼの添加試験: 19°Brix まで希釈した白マストに α -アセトラクテートデカルボキシラーゼを 10% になる様に添加し、*S. cerevisiae* OC-2 を用いて発酵を行った。(ii) 連続発酵系における α -アセトラクテートデカルボキシラーゼと酵母の共固定試験: アルギン酸ナトリウム溶液(pH 7.0 0.1M リン酸バッファー)に酵素液と酵母懸濁液(OC-2)を加え、十分混合した後 5% $CaCl_2$ 溶液中に滴下して、酵母と酵素の共固定ゲル(全酵素活性 1392 U)を調製し、19°Brix まで希釈した白マストを用いて連続発酵を行った。(iii) 固定化酵母, 固定化酵素 2 培養による試験: 固定化酵母(OC-2)カラムの後に固定化酵素(全酵素活性 1392 U)カラムを接続し、19°Brix の白マストを用いて連続発酵を行った。ただし、固定化は(ii)と同様の方法で行った。

3. 結果 3 種類の方法で検討した結果、酵母と酵素を共固定して連続発酵を行った場合にのみ、マスト特異臭の生成が全く認められなかった。また、製成ワインの酒質も非常に優れていた。また、固定化酵母を用いて発酵を行うと、マストワイン以外でも、製成ワイン中のダイアセチル含量が高く、かつ、特有な、品質にとって好ましくない香りが生成するが、酵母と酵素を共固定した場合には、ダイアセチル含量が低下するばかりか、理由は不明であるが、この特有な香りの生成も抑制され、酒質が向上することが判明した。

Studies on Removal of Off-odor in Wine made from Concentrated Grape Must by Enzymatic Method. Part II. Use of α -Acetolactate Decarboxylase in Wine Making

Takashi Hara, Takashi Ohshiro, Kazuo Aisaka*, Takayuki Uwajima*, Hiroichi Akiyama**, Ken-ichi Shimizu (Res. Lab., Sainte Neige Wine, Tokyo Res. Lab., Kyowa Hakko*, Kyowa Hakko**.)