

(52)

(麻生, 中山) 酒精飲料の苦味成分に関する研究 (I)

文 献

- 1) 麻生, 柴崎, 山内: 本誌, **30**, 311 (1952). 2) 麻生, 松田: 本誌, **31**, 211 (1953). 3) 穂積, 佐藤: 醸協, **45**, 24 (1950). 4) 富金原, 村松: 農化, **26**, 583 (1952). 5) 蔭山, 杉田: 本誌, **31**, 189 (1953). 6) FLOOD, A.E., HIRST, E.L., & JONES, J.K.N.: Nature, **160**, 86 (1947). 7) 同上: J. Chem. Soc., 1679 (1948). 8) HAWTHORNE J.: Nature **160**, 714 (1947). 9) HIRST, E.L., HUGH, L. & JONES, J. K. N.: J. Chem. Soc., 923 (1949). 10) HIRST, E. L. & JONES, J. K. N.: J. Chem. Soc., 1659 (1949). 11) DIMLER, R. J., SCHAEFER, W. C., WISE, C. S. & RIST, C. E.: Anal. Chem., **24**, 1411 (1952). 12) DENT, C. E.: Biochem. J., **41**, 240 (1947). 13) 黒野, 勝目, 川島: 醸試報, **110**, 18 (1930). 14) 倉澤, 齊藤, 本間: 新潟大学術報告, **No. 3**, 47 (1952). 15) 名古屋国税局鑑定官室: 醸協, **48**, 22 (1953). (昭和23, 10, 30受理)

酒精飲料の苦味成分に関する研究 (II) 清酒中の Tyrosol に就て (2)

麻 生 清・中山 悌 三 (東北大学農学部・農産物利用研究室)

第1報¹⁾に於て清酒醪, 市販清酒中の tyrosol 含量を測定し, 各工場間に著しい含量の差異があり, 同一工場の場合は吟醸の方が普通酒よりも多く且糖の喰切の良い醪の方が幾分 tyrosol 含量が多い事を報告した. 然しながら同一工場の醪でも内容成分的に幾分の差異があり一率に論じられないので内容成分を一定にして醱酵温度を変えた場合と, 醱酵温度を一定にして内容成分特に窒素源の種類及び量を變えて醱酵させた場合について実験した結果に就て報告する.

實 験

(1) 醱酵温度差による tyrosol 生成試験 (A)

前報¹⁾でA, B兩工場の醪ではA工場は tyrosol 含量著しく高く, B工場に比較して低温醱酵させているので同一成分の麹エキスを使用し, 醱酵温度を30, 21, 18°Cに變えた結果は Table I, I, IIの通りである.

本実験では醱酵温度差により tyrosol の生成量が特別に差が見られないが清酒醪の如く低温醱酵させていないので明かでない. 又後述する様に培養基の組成自体が tyrosol の生成が困難な状態になっているので適当な培地組成で再実験を行つた.

(2) 醱酵温度差による tyrosol 生成試験 (B)

培養基: 後述する様に tyrosol を生成し易くする爲に濃厚麹エキスに加水し蔗糖

Table I. Component changes at 30°C.

days	Reducing sugar %	Total acid %	pH	Amino-N mg %	Tyrosine mg %	Tyrosol mg %
0	26.53	0.106	4.8	76.90	25.35	0
3	10.30	0.279	4.2	40.28	23.92	trace
4	8.70	0.279	4.2	45.28	23.56	0.78
5	/	0.277	4.2	/	7.88	0.74
6	7.68	0.277	4.2	42.34	4.37	0.74
7	7.33	0.285	4.1	42.63	3.28	0.84
9	6.91	0.289	4.1	42.63	19.45	0.88
12	7.04	0.283	4.1	44.10	17.58	/
19	7.07	0.283	4.1	47.78	/	0.87

Table II. Component changes at 21°C.

days	Reducing sugar %	Total acid %	pH	Amino-N mg %	Tyrosine mg %	Tyrosol mg %
0	26.53	0.106	4.8	76.90	25.35	0
3	12.51	0.241	4.2	43.51	23.01	trace
4	10.01	0.280	4.2	43.66	25.25	0.78
5	/	/	/	/	4.37	0.74
6	6.63	0.281	4.2	39.69	4.58	0.80
7	5.44	0.286	4.1	41.45	5.04	0.80
9	4.28	0.286	4.1	41.45	21.58	0.80
12	3.12	0.281	4.1	42.34	/	/
19	2.31	0.289	4.1	46.16	19.97	0.84

Table III. Component changes at 18°C.

days	Reducing sugar %	Total acid %	pH	Amino-N mg %	Tyrosine mg %	Tyrosol mg %
0	26.53	0.106	4.8	76.90	25.35	0
3	14.92	0.272	4.2	48.66	23.20	trace
4	11.69	0.276	4.2	46.60	21.48	0.53
5	/	/	/	/	5.77	0.56
6	6.44	0.277	4.2	43.07	4.45	0.63
7	6.19	0.285	4.2	42.05	4.19	0.88
9	4.35	0.285	4.2	46.31	23.63	/
12	3.28	0.283	4.2	45.13	19.63	/
19	2.59	0.285	4.2	50.13	/	0.89

(HClで轉化す)及びtyrosineを加えて培養基を調製した。其の組成は次の通りである。

直接還元糖 (glucoseとして)24.36%, 蔗糖0.18%, 總酸(N/10 NaOH 滴定値)1.58 cc, pH 4.2, Amimo 熊 N 25.83mg%, tyrosine 18.50 mg%.

酒母: 上記培養基に30°C, 72時間培養した協會7號酵母の沈澱部のみを10%相當量加

えた。

醱酵温度: 28°C, 22°C, 16°C, 12°C, 室温 (夜間0~10°C, 晝間5~15°C) で醱酵させた。

以上の様に醱酵させた結果は経時的の糖消費率を Fig Iに, 糖消費率と tyrosolの生成率を Fig IIに示した。

以上の結果から見ると28°C及び室温放置の場合以外は低温醱酵させた程 tyrosolの生成率は高くなっている。28°Cの場合は途中で醱酵停止しているのは七字²⁾の報告の如く高温度により酵母が死化したものと考えられる。

(3) Tyrosine 以外の窒素源を使用して醱酵させた場合の tyrosol 生成試験

酵母はNH₄ 鹽のみを窒素源とした場合に自己の體構やアミノ酸を合成して行き自己基質の分解により tyrosine を生成し更に之が tyrosol になる事も考えられるので NH₄H₂PO₄, (NH₄)₂SO₄, 尿素を使用して醱酵試験を行った。總て同様な結果を示したので NH₄H₂PO₄ の場合のみを Table IV に掲げた。培地は HENNEBERG 氏液を使用し, (NH₄)₂SO₄, 尿素の場合は液中の N-濃度 (約24mg%) が NH₄H₂PO₄ に一致する如く計算して加えた。對照として tyrosine を N-源として醱酵させた場合を Table V に掲げた。培地は Sucrose 150g, l-tyrosine 1g, K₂HPO₄ 0.15g, MgSO₄·5H₂O 0.1g, NaCl 0.01g, FeCl₃ 痕跡, 蒸溜水 1000cc.

Tyrosine を N-源とした場合は tyrosol は極めて良く生成されるが NH₄H₂PO₄ を

Fig I. Sugar consumption changes at each fermentation temperature.

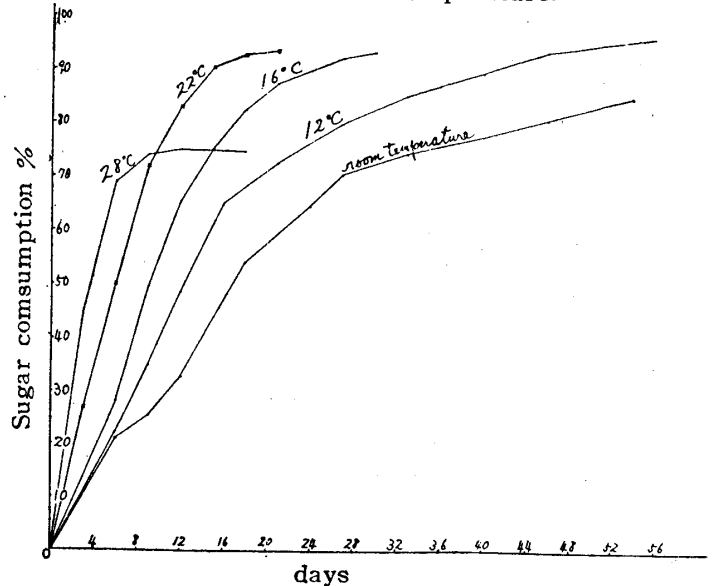
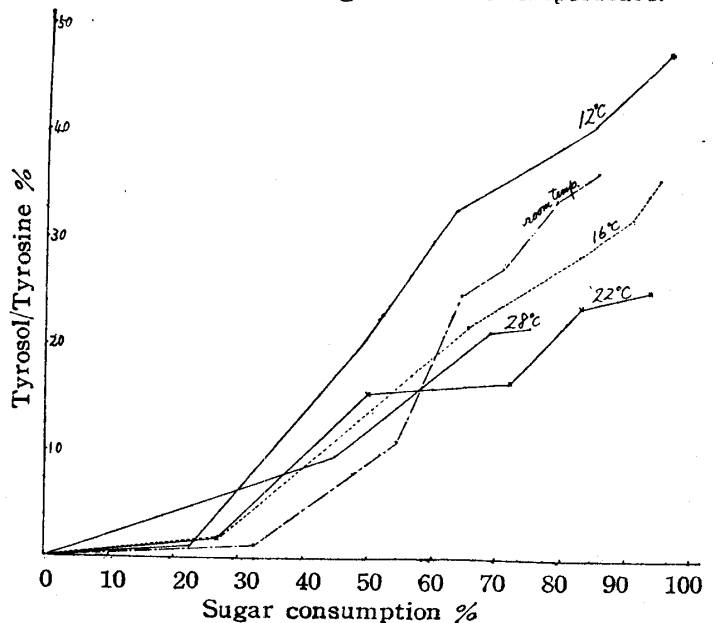


Fig II. Relation between produced tyrosol and consumed sugar at each temperature.



(54)

(麻生, 中山) 酒精飲料の苦味成分に関する研究 (I)

Table IV. Component changes in synthetic medium in which $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ is given as N-source.

days	Reducing sugar %	Sucrose %	Total acid %	pH	Tyrosine mg %	Tyrosol mg %
0	3.23	12.86	0.184	4.8	/	/
3	10.19	4.08	0.253	3.6	/	/
5	9.20	/	0.291	3.2	/	/
8	6.40	/	0.307	3.0	/	/
11	4.02	/	0.322	3.0	/	/
18	1.28	/	0.336	3.0	trace	/
25	0.16	/	0.347	3.0	0.35	/

N-源とした場合は25日後に tyrosine が0.35 mg%生成されたのみで tyrosol の生成は見られない。以上から tyrosol の生成は tyrosine が絶対に必要であり、 $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ の場合は tyrosol が生成されたとしても問題にならない程の少量であると考えられる。

(4) 麹エキスのN-源量を漸減して醸酵させた場合の

Table V. Component changes in synthetic medium in which tyrosine is given as N-source.

days	Reducing sugar %	Sucrose %	Total acid %	pH	Amino-N mg %	Tyrosine mg %	Tyrosol mg %
0	0.72	13.35	0.031	5.4	8.09	75.14	0
3	10.49	1.57	0.084	4.5	3.13	49.40	18.40
5	8.97	/	0.107	4.2	1.47	23.92	/
8	6.29	/	0.126	4.2	1.32	22.37	34.10
11	4.76	/	0.138	4.2	1.10	23.66	40.80
18	1.47	/	0.163	4.2	2.35	24.31	41.10

tyrosol の生成試験

実験 (1) で麹エキスを醸酵させた場合は tyrosol が生成されるが清酒醸の場合に比較して著しく少く、又 tyrosine のみをN-源とした場合は著しく多く生成している。清酒中の tyrosol は兩者の間にあり、内容成分を見た場合 Table I の場合は Amino-N 著しく多く、Table V (tyrosine のみ) は Amino-N 少く、清酒醸の場合は兩者の中間に位しているので濃厚麹エキスを加水し、糖の減少した分だけ Sucrose で補糖した場合と糖及び tyrosine (粗製) を加えた培養基を調製して協會7号酵母を加え25~27°Cで醸酵させた。その結果は Table VI ~XV 迄に示した。

Table VI. Component changes at various N-contents-1.

days	Reducing sugar %	Total acid %	pH	Amino-N mg %	Tyrosine mg %	Tyrosol mg %
0	21.86	0.065	5.2	58.96	17.42	0
3	8.85	0.171	4.2	24.76	12.86	0.64
5	3.37	0.173	4.2	22.76	11.47	1.18
7	1.53	0.171	4.2	22.85	/	/
10	1.50	0.172	4.2	21.17	13.12	1.31

Table VII. Component changes at various N-contents-2.

days	Reducing sugar %	Total acid %	pH	Amino-N mg %	Tyrosine mg %	Tyrosol mg %
0	22.26	0.081	5.2	65.59	63.05	0
3	11.14	0.186	4.2	34.20	31.29	1.83
5	4.51	0.189	4.2	30.13	44.27	3.85
7	2.38	0.192	4.2	30.51	49.09	4.34
10	1.67	0.197	4.2	24.76	47.56	5.62

[考察] 以上の分析値から Table VI~XV 迄を検討すると次の様である。

(1) 各表共に tyrosol の生成は糖の消費率の増大に従って増加しているが各表共に異つてをり、麹エキスを稀釋して tyrosine を添加したものが多くなつている。

(2) tyrosine を添加しない場合で加水のみの場合は加水した方が幾分原液中の tyrosine に対する tyrosol の生成量が多くなるが蔗糖添加を行ったものは更に多くなつている。

Table VIII. Component changes at various N-contents-3.

days	Reducing sugar %	Total acid %	pH	Amino-N mg %	Tyrosine mg %	Tyrosol mg %
0	14.86	0.045	5.4	39.50	9.43	0
3	5.75	0.112	4.3	11.79	3.25	0.60
5	2.12	0.115	4.3	9.32	3.81	1.47
7	1.25	0.113	4.3	8.96	6.14	1.98
10	0.93	0.110	4.3	8.47	6.02	1.96

Table IX. Component changes at various N-contents-4.

days	Reducing sugar %	Total acid %	pH	Amino-N mg %	Tyrosine mg %	Tyrosol mg %
0	22.02	0.043	5.4	39.95	9.75	0
3	12.60	0.122	4.3	13.26	/	0.88
5	7.04	0.121	4.3	11.55	3.15	/
7	4.36	0.121	4.3	11.32	4.29	1.44
10	1.71	0.138	4.3	10.47	5.15	1.60

Table X. Component changes at various N-contents-5.

days	Reducing sugar %	Total acid %	pH	Amino-N mg %	Tyrosine mg %	Tyrosol mg %
0	22.25	0.049	5.4	44.81	46.15	0
3	12.83	0.145	4.2	18.43	21.91	4.65
5	6.48	0.143	4.2	17.04	37.28	7.12
7	3.55	0.144	4.2	17.10	39.39	8.80
10	1.69	0.149	4.2	14.58	38.44	9.15

Table XI. Component changes at various N-contents-6.

days	Reducing sugar %	Total acid %	pH	Amino-N mg %	Tyrosine mg %	Tyrosol mg %
0	7.07	0.030	5.2	19.24	7.35	0
2	1.91	0.079	4.2	3.13	4.13	0.05
4	0.44	0.078	4.2	2.96	4.90	/
6	0.39	0.077	4.2	2.96	4.80	/
8	0.35	0.080	4.2	2.60	4.73	0.72
25	0.13	0.079	4.2	4.97	6.22	0.69

Table XII. Components changes at various N-contents-7.

days	Reducing sugar %	Total acid %	pH	Amino-N mg %	Tyrosine mg %	Tyrosol mg %
0	21.37	0.030	5.2	19.83	7.66	0
2	17.98	0.100	4.4	5.92	0.83	race
4	14.80	/	/	3.20	0.63	0.04
6	12.52	0.107	4.3	3.14	0.66	0.87
8	12.09	0.108	4.3	2.72	0.77	0.85
25	7.78	0.138	4.2	3.49	1.33	1.16

(3) Table XII~XV は他に比較して tyrosol 生成割合が多くなっているが、醸酵速度著しく遅くなっている。

上記考察は分析表の値のみを見た場合であるが表の儘では醸酵状態に著しい差異を生じているので糖消費率を横軸とし tyrosol/tyrosine% を縦軸とした Fig III と、経過日数を横軸とし糖消費率を縦軸とした Fig IV によつて検討してみると。

(1) tyrosol の生成率は Amino-N の少い程、N-源/炭素源が低い程高くなっている。麴エキスを加水した儘のものは tyrosol の生成率に大差なく、又 N-源が充分ある場合は tyrosine を添加しても tyrosol 生成率は特別に高くない。

(2) tyrosol の生成速度は Amino-N 含量の少いものは醸酵前期に多く生成するが、Amino-N の増加に従い直線的になりむしろ醸酵の後期に多く生成する傾向を示している。

(3) 以上の結果から tyrosol は醗中に N-源の少い程多く生成され、蛋白分解酵素力の弱い吟醸醗では普通醗に比較して tyrosol は當然多く生成されるものと考えられる。

(4) Fig III, IV から見て糖含量が一定の場合或量の N-源は當然必要であり、それ以下の場合は醸酵が極めて微弱になり、糖の量に對して一定の比率以上の N-源を必要とする。

(5) tyrosine, tyrosol の問題から離れるが上記の實驗

Table XIII. Component changes at various N-contents-8.

days	Reducing sugar %	Total acid %	pH	Amino-N mg %	Tyrosine mg %	Tyrosol mg %
0	19.47	0.030	5.2	23.24	45.05	0
2	15.61	0.099	4.4	9.12	29.05	0.17
4	12.33	0.104	4.4	5.51	20.70	8.43
6	9.86	0.105	4.3	4.91	22.70	13.32
8	9.69	0.117	4.2	4.50	21.60	14.88
25	3.23	0.130	4.2	3.43	29.10	15.29

Table XIV. Component changes at various N-contents-9.

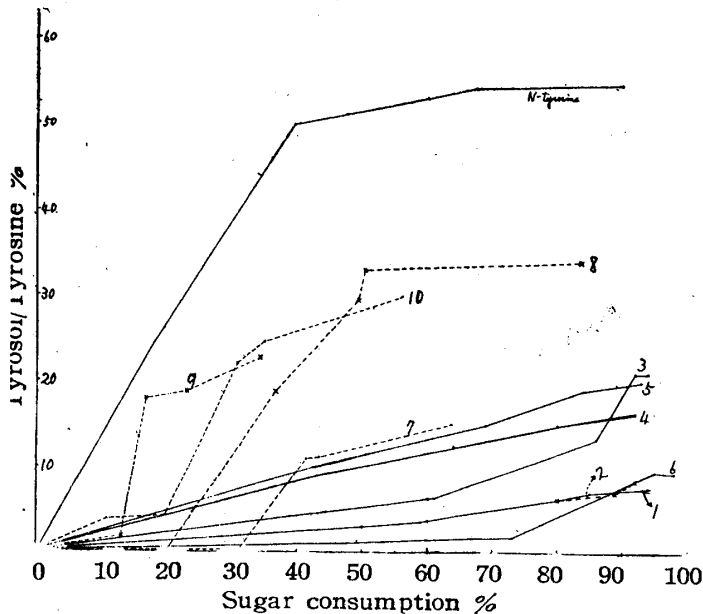
days	Reducing sugar %	Total acid %	pH	Amino-N mg %	Tyrosine mg %	Tyrosol mg %
0	21.16	0.014	5.4	10.38	3.95	0
2	20.20	0.077	4.4	1.85	0.54	0.05
4	18.43	0.082	4.3	1.54	0.31	0.15
6	17.29	0.083	4.3	1.48	0.08	0.72
8	16.31	0.089	4.3	1.48	0.18	0.71
27	13.89	0.112	4.2	1.78	0.43	0.90

結果から清酒醪の甘酸敗式の腐造の原因の一つとして麹の蛋白分解酵素力の弱さによつて醪の内容成分の失調が起り、酵母の酒精醱酵が遅滞しそこへ生酸菌の繁殖が起り腐造が出来る事も考えられる。吟醸醪の如く特別に筋破勢の強く、蛋白分解酵素力の弱い若麹を使用した場合に甘酸敗式の腐造が多く生じる原因がそこにあるのではないかと考えられる。

(5) ペプトン添加による醱酵の回復試験

上記の様に N-源が著しく少くなると醱酵が停止し清酒腐造の 1 原因としてかかる内

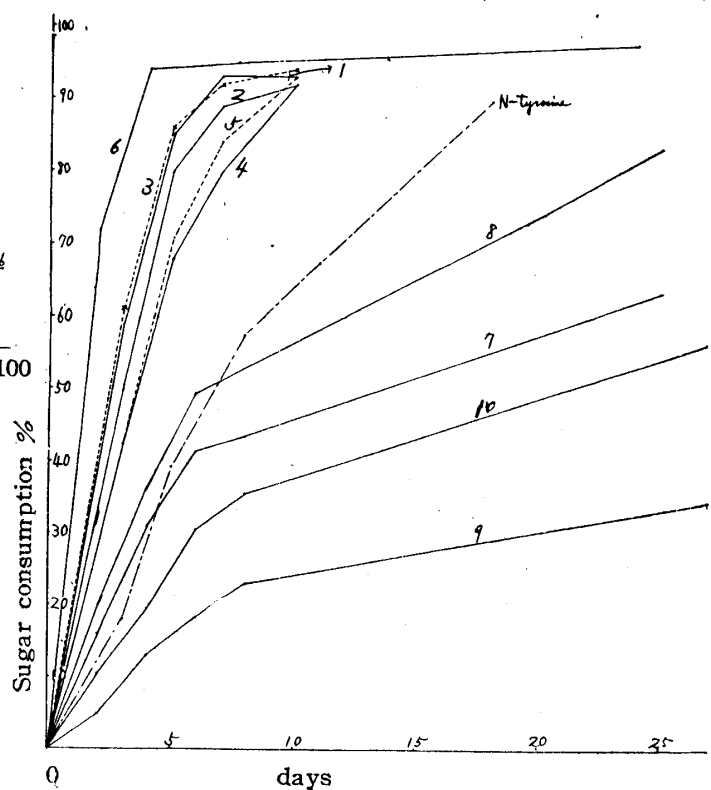
Fig III. Relation between produced tyrosol and consumed sugar at each N-content.



容失調があるのでないかと想像したが醱酵が微弱になる様な培地組成で醱酵させ途中でペプトン添加により醱酵状態が回復するかどうかを試験した。

培養基: 濃厚麹エキスに加水したものに蔗糖

Fig IV. Sugar consumption changes at each N-content.



を添加して下記の組成の培地を調製した。

水溶性全糖 (轉化糖として) 25.07%, 總酸 (N/10 NaOHcc 數) 2.34cc, pH 4.5, Amino 態N 17.10mg%.

酒母: 直糖10.50%の麹エキスに30°C, 48時間培養した協會7號酵母の沈澱酵母を10%相當量加えた。

ペプトン添加: 酒母添加後12日, 18日目に醱酵液の1部を取りペプトン0.15%添加した。

Table XV. Component changes at various N-contents.-10.

days	Reducing sugar %	Total acid %	pH	Amino-N mg %	Tyrosine mg %	Tyrosol mg %
0	21.72	0.018	5.4	14.73	48.00	0
2	19.37	0.082	4.3	6.59	24.65	1.85
4	17.44	0.086	4.2	4.03	28.00	2.05
6	15.04	0.090	4.2	4.08	26.80	10.48
8	14.06	0.098	4.2	3.62	27.00	11.84
27	9.50	0.122	4.0	2.96	24.90	14.36

註: (a) table VII は table VI に tyrosine を加えて醸酵させたものであり, table VIII, XI は table VI に適宜加水したもので, table IX, XII, は table VIII, IX に蔗糖を加えた. table X, XIII は table IX, XII に tyrosine を加えた. table XIV は table XI に更に加水したものに蔗糖添加を行い, XV は XIV に tyrosine 添加を行った.

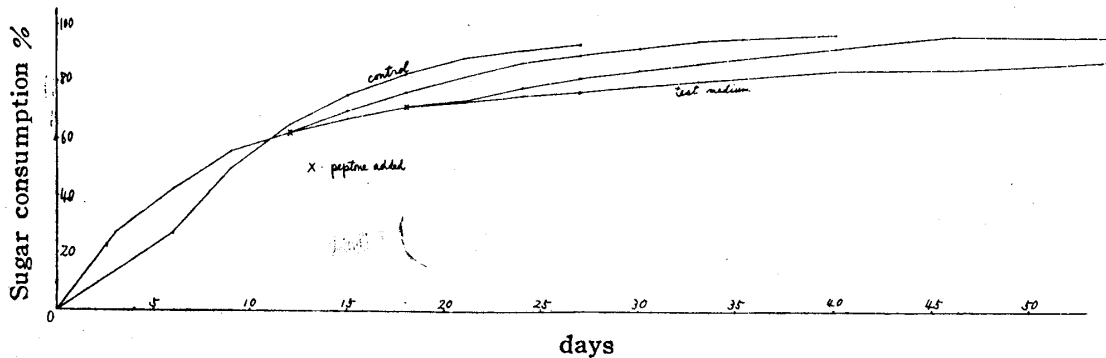
(b) 表中蔗糖添加を行ったものの直接還元糖は總轉化糖で現わした.

(c) Amino N はフォルモール法で測定した.

以上の様にして16°Cで醸酵させた結果を前実験で16°Cで醸酵させた結果と共にFig V に示した.

以上の結果から見ると対照は正常な組成の培地より醸酵速度がおそいのであるが大體正常な醸酵をしているのに反し, 本実験の場合は9日以後急速に醸酵速度低下し54日で漸く90%の糖消費率を示したに過ぎない. 途中でペプトン添加した場合は醸酵が回復し順調な醸酵を示した. 本実験では上記の様に更に低い Amino-N 含量(10mg%)にす

Fig V. Fermentation revival by the addition of peptone.



れば更に明かに差が生ずると考えらる.

結 論

- 1) 醸酵温度の低い場合程 tyrosol の生成率は多い.
- 2) Tyrosine を N-源として醸酵させた場合は tyrosol が極めて良く生成されるが $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 尿素を N-源とした場合は tyrosol が殆んど生成しない.
- 3) 培養基中に tyrosine が存在する場合は全窒素の少ないもの程 tyrosol が多く生成される.
- 4) 糖含量に對し N-源が或量以下の含量だと醸酵が極めて緩慢になる. その内容の失調により醸酵の低下した醗は N-源を添加する事で回復出来る.

本実験に當り光度計を使用させて頂いた有山教授及び金属材料研究所後藤教授に感謝致します.

文 献

- 1) 麻生等: 本誌, 31, 43 (1953).
- 2) 七字等: 醸酵協會, 9~3, 11 (1951). (昭和28, 10, 30受理)