

- (59) Harold, F.V. et al : *J. Inst. Brew.* **63**, 161 (1961).
 (60) Strating, J. Veneme, A. : *ibid.* **67**, 515 (1961).
 (61) Jenard, H. : *C.A.* **55**, 897 (1961).
 (62) Clarke, B.J. et al : *J. Inst. Brew.* **68**, 179 (1962).
 (63) 吉沢 : 醸協, **56**, 104 (1961).
 (64) 吉沢等 : 日農化関東支部215回講演会 (1962).
 (65) 森等 : 日農化関東支部215回講演会.
 (66) 山田, 福井 : 日農化大会 (1962).
 (67) 宮地等 : 日農化関東支部215回講演会.
 (68) 佐藤等 : 醸協, **57**, 744 (1962).
 (69) Mecke, R. et al : *Wein. Wissen. schaft.* **15**, 230 (1960).
 (70) Monison, R.L. : *C.A.* **56**, 2769 (1962).
 (71) Gayon, P.R. : *Chime Analytique.* 161 (1961).
 (72) 平 : 農化, **35**, 298 (1961).
 (73) 平 : 日農化大会 (1961).
 (74) Castille, A. : *C.A.* **55**, 8749 (1961).
 (75) 山本 : 合技報, **20**, 1 (1960).
 (76) 大高 : 合技報, **21**, 50 (1960).
 (77) 石津 : 武庫川女大紀要 **8**, 217 (1960).
 (78) 上林 : 化学の領域, **44**, 183 (1961).
 (79) Kung, J.T. et al : *Anal. Chem.* **33**, 1505 (1961).
 (80) Ralls, J.W. : *J. Ag. Food Chem.* **8**, 141 (1960).
 (81) Singleton, V.L. : *Am. J. Enoko. Virti cult.* **12**, 1 (1961).
 (82) Gaddis, A.M. et al : *Anal. Chem.* **30**, 475 (1958).
 (83) 山本等 : 農化, **27**, 114 (1953).
 (昭和38. 4. 19受付)

[醸工 第41巻, 第7号, p. 363~368, 1963]

清酒醸造工程における微量化学成分の変化

(Ⅱ) 酒造米の精白度の差異 (見掛) による清酒醸造における揮発性含窒素化合物, 含硫黄化合物, および被酸化性物質の変化

吉川光一, 近藤隼人, 山田吉昭, 寺本四郎 (大阪大学工学部醸酵工学教室)

Changes of Trace Components During 'Sake' Brewing

(II) On the changes of the volatile nitrogenous, sulfurous compounds and the oxidizable substances during model scale 'sake' brewing using rice subjected to different degrees of polishings

Koichi Yoshikawa, Hayato Kondo, Yoshiaki Yamada and Shiro Teramoto
(Ferment. Technol., Osaka Univ.)

The present paper deals with the changes of the content of the trace components concerned with the flavor and taste during model scale 'sake' brewing using rice which has undergone different degree of polishing. Ammonia, some volatile amines, mercaptanes and the oxidizable substances in the three mashes (one containing red bran, one containing white bran and one without bran.) at each periods were determined. The oxidizable substances were determined by α, α -diphenyl- β -picrylhydrazil reagent.

At the beginning of the fermentation period, the content of the nitrogenous components in the mash containing red bran was larger than other two mashes. At the end of the fermentation period their nitrogenous components content become largest in the mash without bran. While the oxidizable substances generally increased with time the amount found in red bran mash was greater than in others. Differences in the kinds of the amines and the mercaptanes among three mashes were not found under gas chromatography inspection.

緒 言

清酒の品質が酒造原料米の精白度によつて左右せられることは古くより云われており吟醸酒醸造の目的で精白

度を高める事は一般に採用せられる所である。

精白度を高めるという事は酒造米の外部の糠区分を順次除去していくことである。

精白度を高めることにより清酒の品質を向上せしめるということは、酒造米の糠成分中に清酒品質に好ましからざる成分があり、その清酒への移行か、あるいは清酒醸造工程中に糠中に含有せられる成分が何等かの化学的、生物化学的な変化を受けて清酒品質を劣化せしめるものと考えることが常識のようである。

現在まで経験的に精白度を高くすれば清酒品質を向上せしめると云われそれが証明は官能的な検査によつて是とせられるかも知れないが^{1)~3)}科学的に立証されたものはなかつた。

筆者等は糠中の成分組成と清酒の品質特に香氣成分との科学的関連を究明する目的で以下の実験を行なつた。

75%の精白米を基本として、これに白糠または赤糠を添加して見掛けの精白度を変更せしめた雛型醸造試験を行ない、その経過中の各成分の一般分析を行なうと共に微量化学分析法および器機分析により香味に關係ある微量化学成分の消長を追究した。

本報では一般分析と共に揮発性含窒素化合物、含硫黄化合物および被酸化性物質の変化について検討を行なつた結果について報告する。

実験方法

i) 明確な結果を得るため75%精白米に赤糠、白糠を添加して雛型醸造を行なつた。

使用した75%精白米、糠、酒母、米麴、宮水および清酒醪ならびに対照試料としての清酒は本嘉納商店より提供されたものである。

ii) 雛型醸造試験における仕込配合を Table 1 に示す。

Table 1. The mash bill of sake brewing in model scale (g)

Sample	75% Polished rice	Koji	Seed mash	White rice bran	Red rice bran	Apparent polished ratio (%)	Water
1	1500	500	250	—	—	75	3000
2	1500	500	250	450	—	82	3000
3	1500	500	250	—	450	102	3000

上記組成のものを内容10lの容器に仕込み10°Cの恒温室で24日間雛型醸造を行なつた。

iii) 醸造期間中常法により主要成分の一般分析を行なつた。

iv) 揮発性含窒素成分中アンモニアは Conway 氏の微量拡散法とインドフェノール比色法との組合せ法⁴⁾でアミンは McIntire 氏⁵⁾の 1-fluoro-2,4-dinitrobenzene による比色法で行なつた。上槽後の試料におけるメルカプタンの分析は Sliwinski 氏等の方法⁶⁾ジスルフィドは還元後⁷⁾メルカプタンと同様な方法で測定した。

v) 被酸化性物質の定量は Owades 氏等⁸⁾の α , α -diphenyl- β -picrylhydrazil による比色法で行なつた。

vi) アミンおよびメルカプタン類のガスクロマトグラフによる予備的な定性試験は島津製 GC-2B 型を用いた。固定相液体としてアミンには Triethanol amins の 2 m のカラムを用い、キャリアーガスは He, 操作温度は 90°Cで行なつた。尚アミンの捕集について数種の方法を吟味した。

メルカプタンは Ryces 氏等⁹⁾の T.C.P. (Tri cresyl-phosphate) を固定相液体とし操作温度40°Cで行なつた。カラムはステンレス製 3 m のものである。

実験結果並びに考察

i) 醸造期間中の主要成分の一般分析値の変化を Fig. 1, 2 および 3 に示す。図に見る如く醸酵経過は添加した糠の種類により若干異なることが判明した。

ii) 次に醸造期間中のアンモニア、揮発性アミンの変化を Fig. 4 に示す。

図に見る如く醸酵初期においてはアンモニア、アミン共に赤糠添加試料が多く次いで白糠添加試料、無添加試料となるが後期では無添加試料中のアンモニア、アミン量が白糠、赤糠添加試料に比較して最も多く赤糠添加試料が逆に少なくなつた。

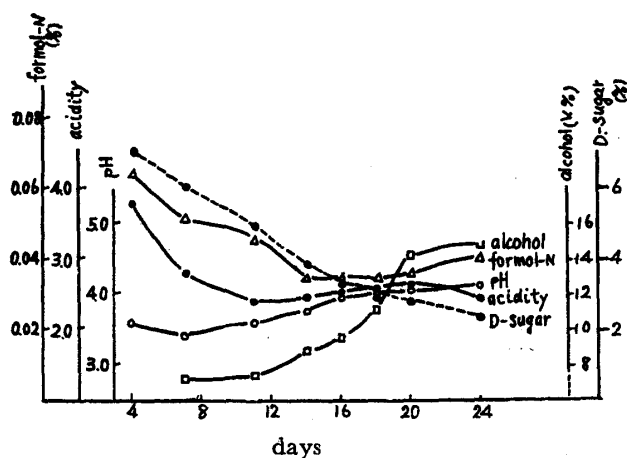


Fig. 1. The changes of components in the control moromi mash.

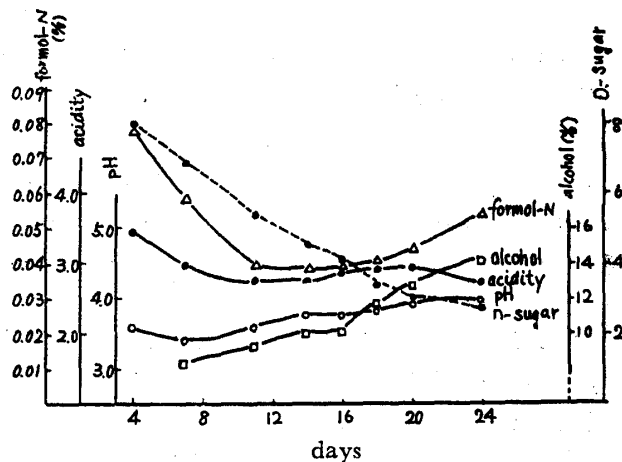


Fig. 2. The changes of components in the moromi mash added white rice bran.

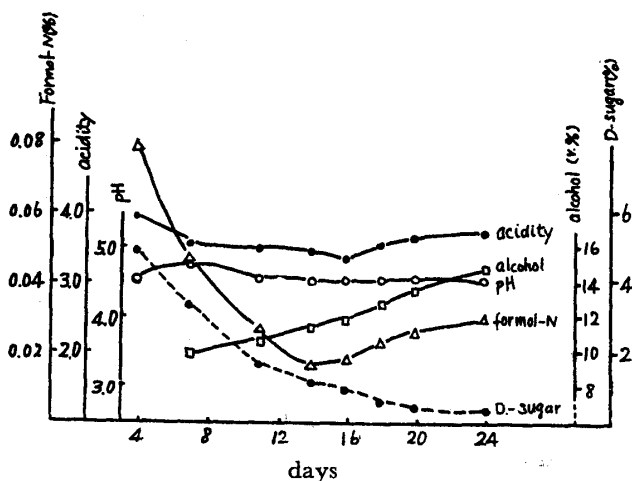


Fig. 3. The changes of components in the moromi mash added red rice bran.

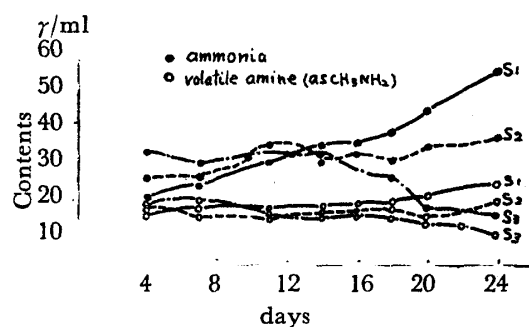
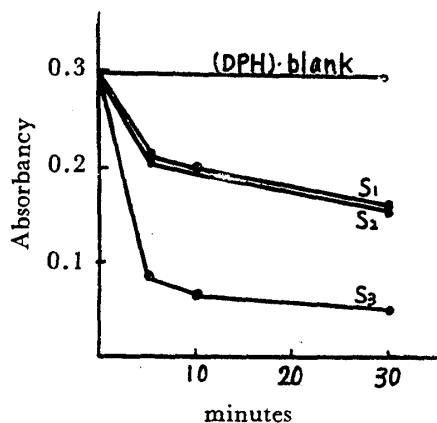
Fig. 4 The changes of volatile nitrogen compounds in the model scale sake brewing
S₁: Bran no added. S₂: White rice bran added. S₃: red Rice bran added.

Fig. 5. Absorbancy changes during reaction of (DPH) with sake samples.

先に梅津氏¹⁰⁾は醪経過中の窒素成分の分析をなされているがその際アンモニア態窒素は醪経過中増加する傾向を有し、アミン類についてはカダベリン、コリン、アグマチンおよびヒスタミンが多く集積されることを報告されているが、アンモニアは著者等の糠無添加試料の結果と類似性が見られた。

iii) 被酸化性物質の変化を Fig. 5 および Table 2 に示す。

Fig. 5 は上槽後の各試料の吸収度変化を示したものである。

Table 2 は醪酵期間中の消長を示したものである。

尚表は 5 分および 30 分で反応する被酸化性物質の測定値を示している。

表で見る如くこれらの試料は全般的に日数の経過に従い増加していくが火入後 10 日から減少する傾向を示した。

また糠無添加の試料と白糠添加試料では仕入後 1 週間以内と 32 日以後では後者の方が 5 分間以内で反応する物質は若干少ないがそれ以外全般に白糠添加試料の方が被酸化性物質質量がわずかに多か

つた。

これら二者に比較して赤糠添加試料での被酸化性物質量は非常に多くほぼ 2 倍以上を示している。

火入後 30 分で反応する被酸化性物質は無添加および白糠添加試料では若干減少したが赤糠添加試料では逆に相当増加するのが判明した。このことは赤糠中に (DPH) と反応する還元物質が相当多く含有されているものと推察されるが詳細なことは今後検討する予定である。

宮地氏等^{11), 12)} は数種の醗および醗の酸化還元電位および I.T.T. 値を経時的に測定されているが醗における I.T.T. 値の変化の傾向と吾々が得た結果との間に類似性が認められた。

iv) 市販一級試薬による各種アミン類のガスクロマトグラムを Fig. 6 に示す。

Fig. 6 の a は pH 9 にしたアミン溶液を水蒸気蒸溜し塩酸または硫酸で酸性にした受器へ捕集し溜液を減圧濃縮後 pH 9 とし少量のエーテルで抽出、脱水後クロマトグラフィーに注入したものである。

b はアミン溶液を硫酸酸性で 40°C 減圧濃縮後アルコールに移行させ Fig. 7 に示す注入器で注入したクロマトグラムである。

尚この方法は James 等¹³⁾ の考案を簡易化したものである。

両者の方法でアンモニア以外の peak は完全に一致した。

清酒試料よりのアミン類の分離を種々の方法について吟味したが、アルカリ性でエーテルによる抽出法及び水蒸気蒸溜法ではアミンの peak を検出することが出来なかつた。

減圧濃縮法では清酒から Fig. 8 の a に示すクロマトグラムが得られた。

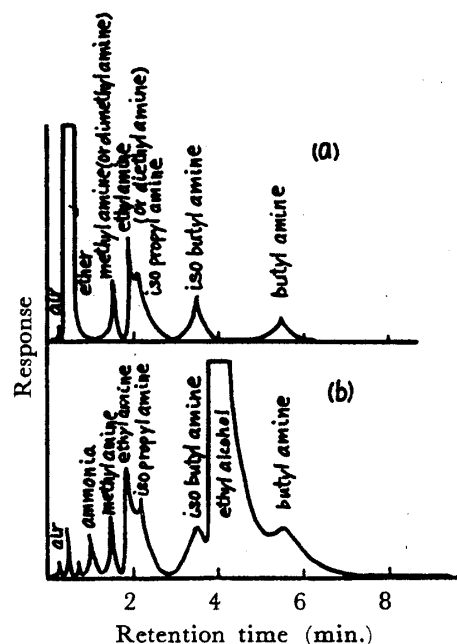


Fig. 6. Gaschromatograms of known amine samples. (a) Steam distillation method. (b) Vacuum concentration method (90°C, He 120ml/min.)

Table 2. Oxidizable substances reacted in various sake mashes

Sample	S 1		S 2		S 3	
	Minutes		Minutes		Minutes	
	5	30	5	30	5	30
Days						
4	0.140	0.220	0.120	0.200	0.300	0.420
7	0.115	0.230	0.125	0.305	0.275	0.400
14	0.130	0.300	0.137	0.310	0.311	0.475
16	0.135	0.351	0.135	0.340	0.330	0.488
18	0.144	0.410	0.160	0.370	0.355	0.500
20	0.150	0.408	0.175	0.411	0.370	0.590
24	0.155	0.461	0.190	0.450	0.400	0.720
(Pasteurization)						
26	0.178	0.385	0.182	0.420	0.441	0.831
32	0.236	0.347	0.250	0.380	0.482	0.551
34	0.264	0.340	0.216	0.347	0.451	0.513
35	0.237	0.332	0.228	0.348	0.453	0.510

S 1 : Bran no added

S 2 : White rice bran added

S 3 : Red rice bran added

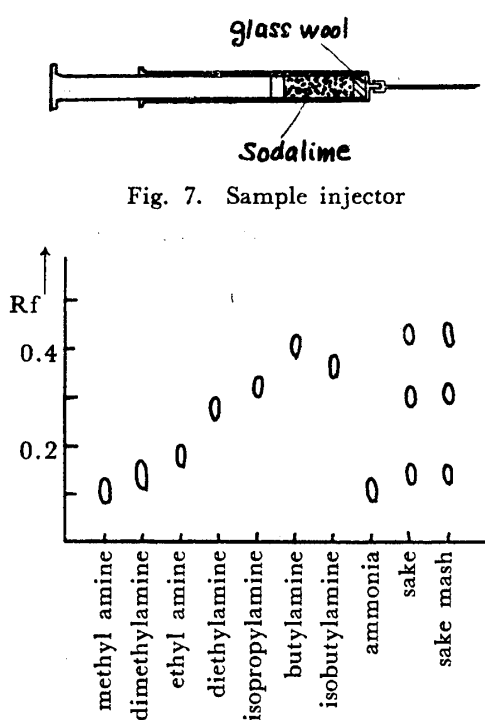


Fig. 9. Paper chromatogram of amines and sake sample.

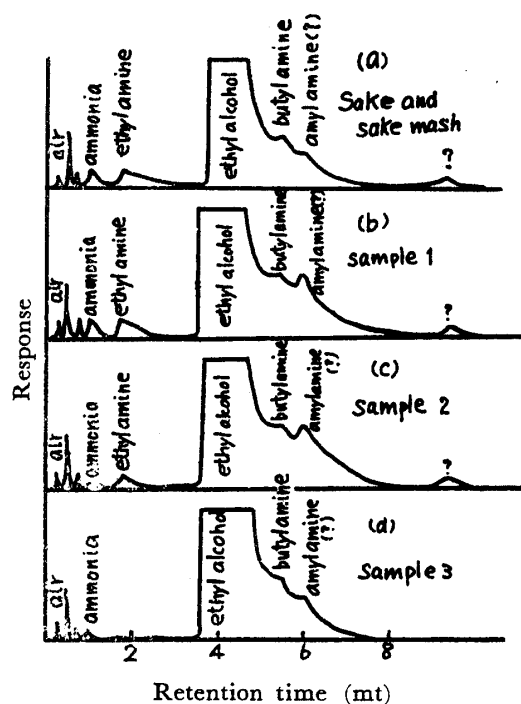


Fig. 8. Gaschromatograms of sake and various sake mashes. (90°C, He 120ml/min.)

以上の結果から減圧濃縮法を各試料中のアミンの分析に用いることにした。

上記の方法で各試料から分離した揮発性含窒素化合物のクロマトグラムを Fig. 8 の b, c, d, に示す。

bは糠無添加, cは白糠添加, dは赤糠添加の各試料からの結果である。尚清酒酒醪は清酒と同じクロマトグラムを示した。

上記の各図から見られる如く上記の抽出条件および分析操作条件では清酒, 清酒醪, 糠無添加試料, 白糠添加試料は殆んど類似したクロマトグラムを示したが, 赤糠添加試料のみ二つの peak が見られなかった。

尚比較実験としてブタノール-醋酸-水 (50 : 1 : 49) の溶媒系によるペーパークロマトグラフィーによる結果を Fig. 9 に示す。

発色剤はニンヒドリンを使用した。

本法では清酒及び清酒醪から三種のアミン類が検出された。

v) 上槽後の醪濾液中のメルカプタンおよびジスルフィドの分析値を Table 3 に示す。

表に見る如く無添加, 白糠, 赤糠添加の順にメルカプタン, ジスルフィドが多くなることが判明した。

この結果は先の被酸化性物質の変化共大きな関係があると考えられる。

清酒試料よりガス通気法で醋酸鉛塩として捕集後硫酸で再分解してエーテルに吸収した後ガスクロマトグラフィーを行なった結果を Fig. 10 に示す。

既知試料によるクロマトグラム (Fig. 11) よりこれらはメチルメルカプタンとブチルメルカプタンと考えられる。

尚無添加, 白糠添加および赤糠添加の各試料のクロマトグラムは清酒のそれと

Table 3. Contents of mercaptan and disulfide in various sake sample. (γ/ml)

Sample	Mercaptan			Disulfide		
	1	2	3	1	2	3
S 1	0.31	0.25	0.28	0.05	0.04	0.02
S 2	0.33	0.31	0.38	0.05	0.06	0.05
S 3	0.40	0.41	0.40	0.06	0.06	0.06

S1 : Bran no added

S2 : White rice bran added

S3 : Red bran added

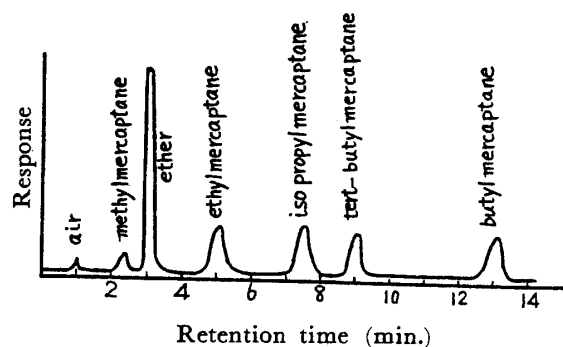


Fig. 10. The gaschromatograms of known mercaptans. (40°C. He, 120ml/min.)

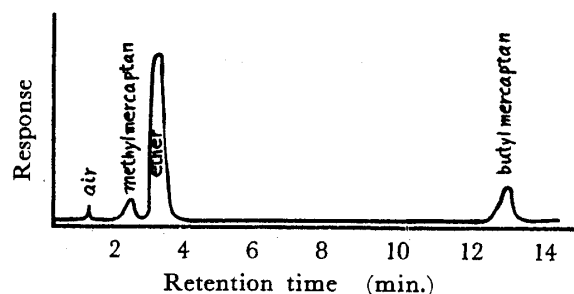


Fig. 11. The gaschromatogram of sake sample. (40°C He, 120ml/min.)

同じであつた。

以上精白度を異にする酒造米を用いて清酒醸造を行なつた際の微量化学成分の変化について被酸化性物質、揮発性含窒素化合物および揮発性含硫黄化合物を対象として追求した。

その結果これら化合物は精白度が異なるに従い種々変化することが判明した。

但しこれらの結果は本実験条件での雛型醸造において得られたものであり、これが通常の醸造工程で同様な結果が得られるか否かについては明言出来ない。

総 括

精白度（見掛）の異なる酒造米を用いて清酒醸造を行なつた際の微量化学成分の変化について明確な結果をうるため75%精白米に白糠および赤糠を添加し雛型醸造中の揮発性含窒素化合物、揮発性含硫黄化合物および被酸化性物質の消長について検討を行なつた。

その結果含窒素化合物は醸酵初期においては赤糠添加試料が多く次いで白糠、無添加試料の順であるが後期では無添加試料が最も多く白糠、赤糠添加試料の順と逆に少なくなつた。

被酸化性物質は全試料共日数の経過に従い全般的に増加の傾向を示したがそれらの絶対量は赤糠添加試料が最も多かつた。

ガスクロマトグラフによる分析からアミン、メルカプタン共に上記三種の試料中大きな差異は認められなかつた。

終りに実験に協力された渡辺史郎氏に感謝します。

また試料を提供されましたK. K. 本嘉納商店に深謝します。

(昭和37年日本醸酵工学会大学で発表)

文 献

- (1) 江田等：醸試，**93**，12 (1925).
- (2) 江田等：醸試，**93**，24 (1925).
- (3) 江田等：醸試，**94**，6 (1926).
- (4) 波多野，桐田：化学の領域，**34**，46 (1958).
- (5) McIntire, F. : Anal. Chem. **25**, 1757 (1953).
- (6) Sliwinski, R.A., Doty, D.O. : J. Agr. Food Chem. **6**, 41 (1958).
- (7) 船久保：有機化合物確認法，下巻555 (1954).
- (8) Owades, J.L., Zieutera, F. : Am. Brew. **94**, 33 (1961).
- (9) Ryces, A., Bryce, W.A. : Bnal. Chew. **29**, 925 (1957).
- (10) 梅津：本誌，**39**，241 (1961).
- (11) 宮地，柏原：農化，**30**，770 (1956).
- (12) 宮地，柏原：農化，**31**，61 (1957).
- (13) James, A.T., et al : Bischem. J. **52**, 238 (1952).

(昭和38, 4, 19受付)