

リンゴの発酵的利用に関する研究

(第9報) トマトピューレーを添加したリンゴ酒の試醸

増田 博, 四条徳崇, 村木弘行

(昭和39年9月20日受理)

Studies on Fermentative Processing of Apple Fruit

Part 9. Experiments with the Addition of Tomato Purée to the Apple Juice in Cider-Making

By Hiroshi MASUDA, Noritaka SHIJO and Hiroyuki MURAKI

A tomato purée (Bx. 11. 5) was added to apple juice before fermentation in the ratio of 10 and 25 per cent by volume, and the qualities of the resulting ciders (C-10, C-25) were compared with the normal cider (C-0).

The fermentation of the apple juice became rapid and vigorous. As the result, the ciders gave reduced sugar contents. While the amounts of total nitrogen, free amino-nitrogen and peptide-nitrogen in the ciders were increased considerably. By paper chromatography, fifteen amino acids (i. e. aspartic acid, asparagine, lysine, arginine, glutamic acid, serine, glycine, threonine, glutamine, α -alanine, tyrosine, proline, valine, methionine and leucines) and one unidentified spot were detected in the normal cider (C-0). Whereas it was observed that in the cider (C-25) two amino acids (i. e. phenylalanine and β -alanine) and one more unidentified spot further appeared, besides the amounts of glutamic acid, glycine, threonine, α -alanine, tyrosine and leucines were increased.

As for the organic acids in the ciders, citric, malic, lactic, succinic and glycolic (?) acid were identified. Among these acids, citric and glycolic (?) acid were found to be more abundant in the cider (C-25) than in the normal cider (C-0).

The results of the organoleptic taste-testing showed that the addition of 10 per cent tomato purée gave a superior dry cider with rich body and no off odors, while the addition of 25 per cent unfavorable.

緒 言

前報¹⁾に続くリンゴ酒の香味改良の試みとして、本報ではトマトピューレーを添加したリンゴ酒の試醸結果を報告する。

著者ら²⁾は先にトマト果汁が多量のアミノ酸と、ゆたかな旨味を持ち、また工業的に量産されていて入手も容易であることに着目して、これをブドウ酒の酒質改良に応用し、ある程度の成果をあげることができたが、これと同様の成果がリンゴ酒についても期待できるのではないかと考えたので、今回はリンゴ果汁に市販のトマトピューレーを混和発酵せ

しめてリンゴ酒を試醸し, その成分および酒質に対する影響を検討した。以下にその結果を報告する。

試醸方法

1. 供試原料

リンゴ: 昭和35 (1960) 年度の長野県産紅玉種リンゴ果を用いた。

トマト: 市販の5ガロン罐入トマトピューレーを用いた。トマト果汁を Bx. 11.5° まで, 原容の約 1/5 に濃縮したものであるが以下単にトマトと略記する。

これらの供試原料の常法による分析結果は TABLE I の通りであった。

TABLE I
Analyses of the Materials Used

Material	Reducing sugars ^{a)}	Total sugars ^{b)}	Total acids	Total nitrogen
	<i>g/dl</i>	<i>g/dl</i>	<i>meq/l</i>	<i>g/l</i>
Apple juice	7.74	10.90	80.1	0.22
Tomato purée	6.71	—	243.8	3.29

a) As glucose. b) Reducing sugars plus invert sugar formed by hydrolysis.

2. 試醸経過

原料リンゴ果 80 kg を水洗, 破砕し, ただちに圧搾して果汁 45 l を採取した。これに SO₂ (メタ重亜硫酸カリを使用) 100 ppm を添加したのち, TABLE II に示す3区分に分け, それぞれ 0, 10, 25 各容量% の比率でトマトを混和し, 結晶グルコースを用いて全糖分が26%となるように補糖して, 酒母を加えて発酵せしめた。酒母としてはブドウ酒酵母 OC-2 を用いた。またトマトは多量の固形分をふくんでいたが, 簡単なろ過清澄が望めなかったため, そのまま添加した。10-14日後に主発酵が終了したので, 清澄を待って滓引きを行ない, 上澄に SO₂ 50 ppm を加えてビンにつめ, 貯蔵に移した。

TABLE II
Practices of the Cider-Making

Cider	Apple ^{a)} juice	Material		Sugaring ^{b)}	Starter ^{c)}	Racking ^{d)}	
		Tomato purée added	Total volume			Lees	Cider ^{e)}
	<i>l</i>	<i>% by volume</i>	<i>l</i>	<i>kg</i>	<i>l</i>	<i>l</i>	<i>l</i>
C-0	15.00	—	15.00	3.12	0.2	0.8	15.8
C-10	15.00	10	16.50	3.55	0.2	2.2	15.6
C-25	15.00	25	18.75	4.12	0.2	5.4	14.0

a) K₂S₂O₅ was added to give 100 ppm of SO₂.

b) By adding crystal glucose to give 26 per cent of total sugars.

c) A pure culture of a wine yeast (*Sacch. cerevisiae* OC-2).

d) The first racking was made after settling.

e) 50 ppm of SO₂ was added and bottled.

3. 分析 方法

(1) 定 量 方 法

全窒素は KJELDAHL 法, 遊離アミノ態窒素はニンヒドリンによる比色法³⁾, アンモニア態窒素は微量拡散法を用いて測定した。またペプチド態窒素は, 試料を3倍量の20%塩酸と共に8時間加熱, 加水分解した後, 蒸発して塩酸をほとんど揮散せしめてからメスフラスコを用いて原容に復し, 遊離アミノ態窒素を測定して, 加水分解前に対する増加分をペプチド態窒素とした。その他の分析は, すべて前報¹⁾に準じて行なった。

(2) Paper chromatography (以下 P. C. と略記) の方法

試醸リンゴ酒の有機酸およびアミノ酸を検索することを目的として, 次の方法で P. C. を行なった。

供試料の調製: リンゴ酒 200 ml を, 最初に Amberlite IR-120(H型), 次いで Amberlite IRA-410, (OH型) IR-120, IRA-410 の順で4本のカラムに流して, それぞれの吸着成分を集め, IR-120 は水洗後, 5M アンモニア水で溶出し, 溶出液を減圧濃縮してアミノ酸試料とした。IRA-410 は水洗後, 1M 酸性ソーダで溶出し, 溶出液から IR-120 を用いて Na を除いたのち, 減圧濃縮して不揮発性の酸に対する試料とした。

ろ紙: 東洋ろ紙 No. 50

展開溶媒および展開方法: アミノ酸に対しては,

n-ブタノール: 酢酸: 水 (4:1:2),

フェノール: 水 (10:2),

の組み合わせによる二次元上昇法。

有機酸に対しては,

n-ブタノール: 酢酸: 水 (4:1:2),

エタノール: 28%アンモニア水: 水 (80:5:15),

エーテル: 酢酸: 水 (13:3:1),

フェノール: ギ酸: 水 (75:1:25),

の4種の溶媒を別々に用いた一次元上昇法によった。

発色: アミノ酸に対しては水飽和 n-ブタノールにとかした 0.1%ニンヒドリン溶液, およびアルギニンに対しては坂口反応試薬, 含硫アミノ酸に対しては 0.02 N ヨウ素ヨウ化カリウム溶液と 5% ナトリウムアジドの同量混合物を用いた。また有機酸に対しては 0.1%ブロムチモールブルーおよびブロムフェノールブルー溶液を用いた。

結果 および 考 察

1. 果汁の発酵状態その他について

リンゴ果汁の発酵は, トマトを加えることにより, 速くさかんになることが認められた。しかし清澄度はやゝ悪くなり, 発酵終了後, 清澄するまでに長時間を要した。また TABLE II に示したように滓の量も多かったが, これはトマトの固形分がそのまま移行したものとと思われる。

2. 新酒の一般分析結果

滓引き後の新酒の一般分析の結果は TABLE III に示した通りである。ブドウ酒の場合²⁾と同じく, トマトの添加によって発酵がさかんとなる結果, 残糖分が減少すること, また残

糖分を差引いて考えればトマト添加量が多いほどエキス分が多くなることが認められる。

ブドウ酒の場合はトマト添加により滴定酸度が増加すると同時に pH はかえって高くなることが認められたが、リンゴ酒の場合はこれと異なり、滴定酸度の変化は不規則であり、pH はほとんど変化しない。このことは、トマト添加によって生ずる有機酸組成の変動が、ブドウ酒の場合は顕著であるがリンゴ酒の場合はそれ程でないことを示すものと思われる。揮発酸はブドウ酒と同じく、トマトを加えたものは少なくなっている。タンニン、全窒素、アミノ態窒素、ペプチド態窒素はいずれも増加し、特に全窒素の増加は顕著である。その他、色調もトマト添加によって濃くなるが、10%添加では障害となる程ではない。

TABLE III
Analyses of the Ciders just Before the Bottle Storage

		Cider ^{a)} :		
		C-0	C-10	C-25
Alcohol	<i>vol. %</i>	13.0	14.7	14.3
Sugar-free extracts	<i>g/dl</i>	1.32	1.80	2.11
Reducing sugars (as glucose)	<i>//</i>	1.65	0.91	0.99
Fixed acids	<i>meq/l</i>	84.12	73.45	95.45
Volatile acids (as acetic acid)	<i>g/l</i>	0.48	0.37	0.39
Volatile esters (as ethylacetate)	<i>//</i>	0.20	0.23	0.19
Aldehydes (as acetaldehyde)	<i>mg/l</i>	6	4	2
Total tannins	<i>N·KMnO₄, ml/l</i>	2.92	3.36	4.92
Total nitrogen	<i>mg/l</i>	57	107	191
Free amino-N	<i>//</i>	8	15	24
Peptide-N	<i>//</i>	14	21	31
NH ₃ -N	<i>//</i>	3	3	6
pH		3.99	4.00	4.00
Color ^{b)}	Red	0.2	0.3	0.8
	Yellow	0.8	1.5	3.1

a) See TABLE II. b) In a Lovibond tintometer, with a 10 mm cell.

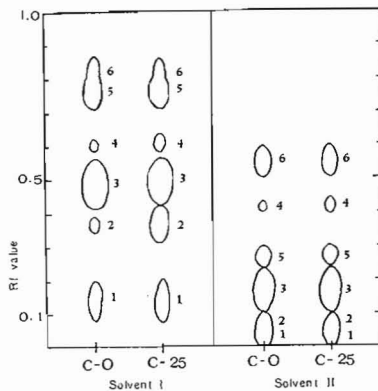
3. P. C. による有機酸の比較

試醸酒中の有機酸を P. C. によって検索した結果、Fig. 1 に例示したようなクロマトグラムが得られ、硫酸、クエン酸、リンゴ酸、コハク酸、乳酸が確認されたほかグリコール酸と大体同じ Rf 値を与えるスポット (Fig. 1, Spot No. 4) が見出された。ただしこれが確実にグリコール酸であるか否かは、なお確認の要がある。ちなみにグリコール酸は TANNER⁴⁾ によってスイス産のリンゴ果汁中に見出されているが、WHITING⁵⁾ によればイギリス産のリンゴ果汁からは検出されていない。またフマル酸、シユウ酸に相当するスポットが認められるクロマトグラムも得られたが、痕跡程度の量で、必ずしも明確とはいえなかった。

同量の試料を用いて展開したクロマトグラムについて、スポットの大きさ、呈色度から判定したところでは、対照区 (C-0) に比べてトマト添加区 (C-25) ではクエン酸が最も明らかな増加を示し、またグリコール酸に相当するスポットも僅かではあるが増大するようであった。その他の酸についてはほとんど変化が認められなかった。クエン酸はトマトジュース中の最も主要な酸であることが認められており⁶⁾、トマト添加によってクエン

酸が増加するのは当然のことといえる。

リンゴ酸はいうまでもなくリンゴ果汁中の最も主要な有機酸であり、リンゴ酒の製造時には主として細菌の作用によってリンゴ酸から乳酸が生成されることが認められている⁶⁾。また殺菌リンゴ果汁を純粋培養した酵母で発酵させると、リンゴ酸から乳酸の生成は行なわれないが、発酵液中に種々の量のコハク酸が生成することが知られている⁵⁾。クエン酸もトマト中ばかりでなく、HULME ら⁹⁾をはじめ多くの人々によってリンゴ果汁中にも見出されている。また硫酸は、試醸に使用した SO_2 から生成することが当然予期されるものである。したがって本報で見出されたこれらの酸は、すべてリンゴ酒の通常成分と考えてよく、トマト添加によって有機酸組成はそれ程大きく変化していないことが知られる。トマト加工品中にしばしば見出されるピロリドンカルボン酸⁸⁾ は本実験では検出することができなかった。



またリンゴ果汁中にはキナ酸が存在し、これがリンゴ酒製造時に細菌の作用によってジヒドロキシミ酸になることが認められている¹⁰⁾ほか、リンゴ酒中の酸としては、 α -ケトプロピオン酸、 α -ケトグルタル酸等のケト酸⁷⁾、2-メチル-2, 3-ジヒドロキシ酪酸、2-エチル-2, 3-ジヒドロキシ酪酸、3-エチル-2, 3-ジヒドロキシ酪酸、2, 3-ジヒドロキシイソバレリアン酸、 α -ヒドロキシグルタル酸等のオキシ酸¹¹⁾が報告されているが、本実験では検出することができず、これらの酸に対しては別の検出方法によることが必要と思われる。

Fig. 1. One-dimensional paper chromatograms of the organic acids in the ciders, sprayed with 0.1% BTB or BPB.
Solvent I, n-Butanol : Acetic acid : Water=4 : 1 : 2.
Solvent II, Ethanol : 28% NH_4OH : Water=80 : 5 : 15.
Identity of spots : 1, Sulfuric ; 2, Citric; 3, Malic; 4, Glycolic (?); 5, Succinic; 6, Lactic acid.

4. P. C. によるアミノ酸の比較

トマト添加はリンゴ酒中の窒素成分を著しく増加させることが分析によって確かめられ、これがコク味の増加の重要な一因ではないかと思われるので、P. C. によって試醸酒のアミノ酸組成を検討した。その結果は Fig.2 に示した通りで、対照区 (C-0) からは、アスパラギン酸 (Fig.2, Spot No.1), アスパラギン(2), リジン(3), アルギニン(4), グルタミン酸(5), セリン(6), グリシン(7), スレオニン(8), グルタミン(9), α -アラニン(10), チロシン(11), プロリン(12), バリン(13), メチオニン(14), ロイシンあるいはイソロイシン(15)の15種のアミノ酸に相当するスポットおよび1個の未確認スポット(18)が検出され、またトマト添加区 (C-25) からは、これと同じ16個のスポットの他にフェニルアラニン (Spot No. 16), β -アラニン(17)に相当するスポットおよび未確認のスポット1個(19)が新たに見出された。ロイシンとイソロイシンは分離できず、どちらのスポットであるか、あるいは両方とも存在するか、確認することができなかった。また

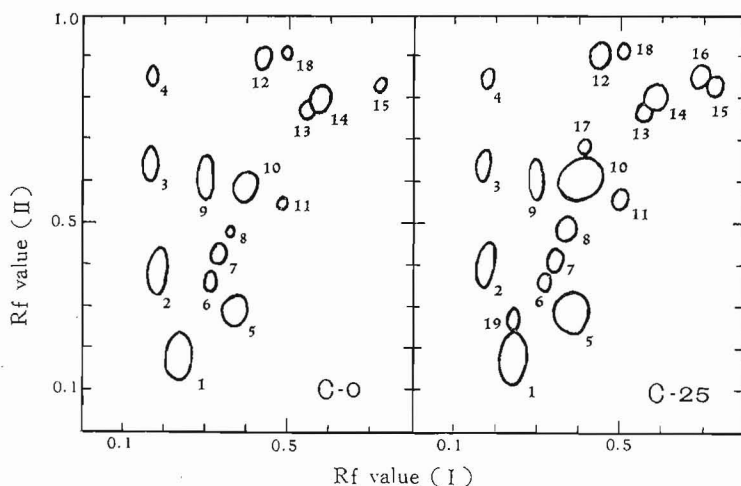


Fig. 2. Two-dimensional paper chromatograms of the amino acids in the ciders.
 Solvent I, n-Butanol : Acetic acid : Water=4 : 1 : 2; Solvent II, Phenol : Water
 =10 : 2,
 Identity of spots : 1, Aspartic acid; 2, Asparagine; 3, Lysine; 4, Arginine;
 5, Glutamic acid; 6, Serine; 7, Glycine; 8, Threonine; 9, Glutamine;
 10, α -Alanine; 11, Tyrosine; 12, Proline; 13, Valine; 14, Methionine;
 15, Leucines; 16, Phenylalanine; 17, β Alanine; 18 and 19, Unidentified.

BURROUGHS¹²⁾はクロマトグラム上でグルタミンと同じ位置を占めるペプチドらしい化合物をリンゴ酒中から検出しており、本報におけるグルタミン相当のスポットもこれと同じペプチドである可能性が考えられ、この点はなお検討を要する。

同量の試料についてスポットの大きさ、呈色度から判定したところでは、トマト添加による増加が特に明確なものとしては、C-25 のみに検出されたフェニルアラニン、 β -アラニンはいうまでもないが、その他にもグルタミン酸、グリシン、スレオニン、 α -アラニン、チロシン、ロイシン（イソロイシン）等をあげることができる。ただし、これらの増加アミノ酸が、添加したトマトからそのまま移行したものか、あるいは酵母や細菌の作用を経て生成放出されたものかは、なお検討の余地がある。

これまでにリンゴ酒中のアミノ酸に関する報告はきわめて少ないが、CAABEIRO¹³⁾はバリン、ロイシン、アラニン、スレオニン、グリシン、グルタミン酸、セリン、アスパラギン酸、ヒスチジン、リジン、アルギニンの11種のアミノ酸を検出しており、また BURROUGHS¹²⁾は、発酵初期に酵母を除去してしまったリンゴ酒からアスパラギン酸、セリン、メチルヒドロキシプロリン、および痕跡のグルタミン酸、グリシン、 α -アラニン、 β -アラニン、バリン、ロイシン（イソロイシン）を見出すと共に、発酵が完結してから3カ月間酵母菌体と接触せしめたリンゴ酒からは、それらのアミノ酸の他に、なおスレオニン、 γ -アミノ酪酸、プロリン、アルギニン、リジン、チロシン、フェニルアラニンを見出している。これらの中で特に顕著な存在を示したものは、アスパラギン酸、グルタミン酸、セリン、 α -アラニン、ロイシン（イソロイシン）、リジン等であった。本報においてリンゴ酒中に見出されたアミノ酸は、これらの結果と比べて大きな差は見受けられない。多少の相違点はあるけれども、BURROUGHS¹²⁾も指摘しているように、リンゴ酒中のアミノ酸は原料果、

酒母酵母, 製造方法, 特に酵母菌体との接触条件によって著しく変動するものであるから, 試料によってアミノ酸組成に多少の相違のあることは避けられないことであろう。リンゴ果中の新しいアミノ酸として URBACH¹³⁾ によって示されたメチルヒドロキシプロリン, および BURROUGHS¹⁴⁾ によって示された L-アミノシクロプロパン L-カルボン酸は本実験ではリンゴ酒中に検出されなかった。

5. 試醸酒の利き酒結果

本研究所員 6 名による新酒の利き酒結果は TABLE IV に示した通りで, トマト 10% 添加のもの (C-10) がとびぬけてすぐれていた。この区分は対照 (C-0) と比べると明確にコク味がゆたかであり, トマト添加による香味の異常は全く認められない。しかしトマト添加量が 25% になると (C-25), 色調も過度に濃く, 香も悪く, 酒質が良くなかった。したがってトマトの混和発酵は, 過度の添加を避けて適量を使用すれば, リンゴ酒の香味改良に明らかに有効であると思われる。

TABLE IV
Organoleptic Taste-Testing of the New Ciders Obtained

Cider ^{a)}	Panel ^{b)}						Total score	Ranking	Remarks
	A	B	C	D	E	F			
C-0	2	2	2	2	2	3	13	2	Thin
C-10	1	1	1	1	1	1	6	1	Rich body
C-25	3	3	3	3	3	2	17	3	Off odors, dark color, bitter taste

a) See TABLE II.

b) Figures show the ranking of the ciders for each panelist.

要 約

リンゴ酒の香味改良の試みとして, トマトの混和醸造を行なった。その結果, 混和量が適当であれば, 異香味を与えることもなく, コク味を増してリンゴ酒の酒質改良に有効であることを認めた。ただし過度に多く混和すると濃色と異香味を生じて結果がよくない。またトマト混和により, 多少清澄しにくくなり, 滓の量もふえるが, 10% 程度の添加量では障害となる程ではない。

トマトを添加すると, リンゴ果汁の発酵は促進され, 残糖分は減少する。エキス分, 全窒素, 遊離アミノ態窒素, ペプチド態窒素はいずれも増加する。P. C. によりアミノ酸組成を検討した結果, 通常のリンゴ酒からはアスパラギン酸, アスパラギン, リジン, アルギニン, グルタミン酸, セリン, グリシン, スレオニン, グルタミン, α -アラニン, チロシン, プロリン, バリン, メチオニン, ロイシン (イソロイシン) および未確認のスポット 1 個が見出され, トマトを添加すると, グルタミン酸, グリシン, スレオニン, α -アラニン, チロシン, ロイシン (イソロイシン) の量が増大する他, フェニルアラニン, β -アラニンおよび未確認のスポット 1 個が新たに生ずることが認められた。

また P. C. による有機酸の検索結果, クエン酸, リンゴ酸, コハク酸, 乳酸を確認した他, グリコール酸に近い Rf を与える酸が見出され, トマト添加によってクエン酸および

グリコール酸相当の酸が増加することを認めた。たゞし酒の pH はほとんど変化しない。

終りに終始御指導を戴いた故多田精次先生, 利き酒その他に御協力を戴いた小原敏先生はじめ本研究所の諸先生に感謝いたします。また本研究費の一部を三楽オーシャン株式会社から御援助戴くと共に, 同社中央研究所長, 尾崎浅一郎先生から絶えざる御鞭達と御教示を賜ったことを附記して深謝の意を表します。

文 献

- 1) 増田博, 四条徳崇, 村木弘行: リンゴの発酵的利用に関する研究(第1報)~(第5報) 醸工, **41**, 655 (1963); **42**, 7; 11; 379; 383 (1964)
- 2) 増田博, 村木弘行, 渡辺治子, 和田美恵子: トマトピュレを添加した白ブドウ酒の試験 本誌 **8**, 75 (1961)
- 3) YEMM, E. W. and E. C. COCKING: The determination of amino acids with ninhydrin. *Analyst*, **80**, 209 (1955)
- 4) TANNER, H. and H. RENTSCHLER: Composition of fruit acids from Swiss fruit juices. II. Fruit acids from Swiss cider apple juices. *Mitt. Lebensm. Hyg.*, **45**, 305 (1954)
- 5) PHILLIPS, J. D., A. POLLARD and G. C. WHITING: Organic acid metabolism in cider and perry fermentations. I. Preliminary study. *J. Sci. Food Agric.*, **7**, 31 (1956)
- 6) WHITING, G. C. and R. A. GOGGINS: Organic acid metabolism in cider and perry fermentations. II. Non-volatile organic acids of cider-apple juice and sulfited ciders. *Ibid.*, **11**, 337 (1960)
- 7) WHITING, G. C. and R. A. GOGGINS: Organic acid metabolism in cider and perry fermentations. III. Keto-acids in cider-apple juice and ciders. *Ibid.*, **11**, 705 (1960)
- 8) RICE, A. C. and C. S. PEDERSON: Chromatographic analysis of organic acids in canned tomato juice, including the identification of pyrrolidone-carboxylic acid. *Food Res.*, **19**, 107 (1954)
- 9) HULME, A. C. and L. S. C. WOOLTORTON: Organic acid metabolism of apple fruits: changes in individual acids during growth on the tree. *J. Sci. Food Agric.*, **8**, 117 (1957)
- 10) CARR, J. G., A. POLLARD, G. C. WHITING and A. H. WILLIAMS: The reduction of quinic acid to dihydroshikimic acid by certain lactic acid bacteria. *Biochem. J.*, **66**, 283 (1957)
- 11) WHITING, G. C.: Formation of dihydroxy acids in cider fermentations. *Chem. & Ind.*, **1959**, 225
- 12) BURROUGHS, L. F.: The amino acids of apple juices and ciders. *J. Sci. Food Agric.*, **8**, 122 (1957)
- 13) JOSE CARBALLO CAABEIRO: Qualitative chromatographic analysis of natural and commercial juices of botanical origine. I. Fermented and fresh beverages. *Anales inst. nacl. invest. agron.*, **5**, 195 (1956)
- 14) URBACH, G.: A new amino acid from apples. *Nature*, **175**, 170 (1955)
- 15) BURROUGHS, L. F.: 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid: a new amino acid in perry pears and cider apples. *Ibid.*, **179**, 360 (1957)