

ピロ炭酸ジエチルエステルによる食品および 醸造物の殺菌に関する研究

(第2報) ピロ炭酸ジエチルエステル添加ブドウ酒からの炭酸ジエチルの生成およびそれが酒質に及ぼす影響

後藤 昭二, 山川 祥秀, 横塚 勇

(昭和45年3月31日受理)

Studies on the Sterilization of Food and Wine by Diethylpyrocarbonate

Part 2. On the Formation of Diethylcarbonate in DEPC-added Wine and the Brandy made from DEPC-added Wine and their Organoleptic Examination

By Shoji GOTO, Yoshihide YAMAKAWA and Isami YOKOTSUKA.

Detection and the formation rate of diethylcarbonate (DAC) in diethylpyrocarbonate (DEPC)-added-wine or -must were studied by gaschromatographic and IR-spectrophotometric analysis.

The rate of DAC formation is 6.4-6.6% in the table wines and 4.8% in the must. The amount of DAC moved to the brandy which was distilled from DEPC-added-wine was about 80% of DAC in the original wine.

By their organoleptic examination, it was confirmed that the flavor of wine was not deteriorated by the use of DEPC less than 100 ppm.

緒 言

ピロ炭酸ジエチルエステル (以下 DEPC) は水溶液中で炭酸ガスとエタノールに分解する。一方, amines, carboxylic acids, phenols, amino acids などと反応して相応の反応生成物を形成することが知られている。しかし, ブドウ酒や果汁中において上記化合物類と反応するかどうかは必ずしも明らかでなく, 現在ブドウ酒中の glycine との反応生成物 N-carbethoxyglycine が確認された¹⁾のみである。

DEPC は通常独特の果実様エステル臭を有する。しかし, このエステル臭は DEPC それ自身のものでなく, DEPC の分解副生物であるジエチル炭酸 (以下 DAC) によるものとされている。DEPC がブドウ酒や果汁に添加された場合, Koch²⁾によれば, 1) 微生物に対する殺菌作用, 2) ポリフェノールと反応して未知反応物を生成して色調の変化を

来たすこと, 3) 炭酸ガスとアルコールとに分解すること, 4) 有機酸と反応してエステルさらに未知物質を生成し, 3) のアルコールとから DAC を生成するなどの作用を有することなどを推定している。すなわち, 加水分解と同時に DAC が副成されるものと考えられており, この DAC に基づく独特のエステル臭がブドウ酒の香味をそこねるものとされている。DEPC の加水分解にともなう DAC の副成は Koch²⁾ や Kielhöfer³⁾ などにより確認されており, また, Kielhöfer⁴⁾ は種々の条件下での DAC 生成率について報告している。

著者らは DEPC を添加したブドウ酒中より DAC の存在を確認するとともに, 白, 赤ブドウ酒, 果汁, 蒸留水に添加した DEPC より副成される DAC の割合を定量的に検討し, さらに DEPC 添加ブドウ酒よりブランデーを製造した場合, ブドウ酒中で副成された DAC のブランデーへの移行を定量的に検討した。一方, DEPC および DAC を添加したブドウ酒およびブランデーの酒質に及ぼす影響を官能試験的に検討したので報告する。

実験方法

1. 供試 DEPC

純度 99.26% (武田薬品工業 KK 製) のものを使用した。官能試験用のブドウ酒には 10% エタノール溶液として使用した。

2. 供試ブドウ酒およびブドウ果汁

1963 年当研究所製の甲州種 白ブドウ酒 (アルコール 13.6%, 還元糖 0.3%, 総酸 0.48%, pH 3.2) と 1960 年当研究所製のマスカットベリー A 赤ブドウ酒 (アルコール 12.8%, 還元糖 0.15%, 総酸 0.56%, pH 3.4) を用いた。ブドウ果汁は甲州種ブドウ果を搾汁後, 連続遠心分離器 (6,000 rpm) で処理した 清澄果汁 (還元糖 14.2%, 総酸 0.44%, pH 3.3) を用いた。

3. DEPC 添加ブドウ酒および果汁から DAC の分析確認法

上記のブドウ酒および果汁さらに蒸留水の各 1,000 ml にそれぞれ DEPC 1,000 ppm を添加し, コルク栓を付して良く振とうしながら 30 °C に 2 週間放置後, 各試料の 250 ml を *n*-ペンタン : エーテル (3 : 1) 混液 50 ml で良く振とうしながら 3 回抽出し, この溶媒液を集めて無水炭酸ソーダで脱水, 40~50 °C で静かに濃縮した後, 濃縮液を溶媒で定容にし, ガスクロマト用試料とした。対照として DEPC 無添加のブドウ酒および果汁も同様な抽出と濃縮処理を行ない, 供試した。

抽出試料のガスクロマトグラフィーを島津製作所製 GC 1B (熱伝導度型) のガスクロマトグラフを用いて行なった。標準資料との *R_t* の比較から各ピーク物質の推定を行ない, また, DAC 相当のピーク物質は分取ガスクロマトを行なって分取トラップに採取し, 赤外線吸光分析法により標準 DAC との赤外線吸収スペクトルの比較から同定を行なった。

4. DEPC より DAC の生成率の測定法

ブドウ酒, 果汁および蒸留水に DEPC 250 ppm を添加し,良く振とうしながら 2 週間放置後, DAC の抽出, 濃縮操作を前項同様に行ない, 分析資料とした。DAC の分析は

前項と同様ガスクロマトによった。

正確に DAC の0.1% *n*-ペンタン : エーテル (3:1) 溶液を調製し、この 0.01~0.05 ml をマイクロシリンジを用いてガスクロに注入してガスクロマトグラムを記録した。それらの注入量を縦軸に、面積(半値幅法による)を横軸にとり、検量線を作成した。次に各試料の一定量をマイクロシリンジを用いてガスクロに注入してガスクロマトグラムを記録し、先に作成した検量線より DAC の定量分析を行なった。

5. DEPC 添加ブドウ酒からブランデーの製造方法とブランデー中の DAC の分析法

供試ブドウ酒 6 l に DEPC 250 ppm を加え、時々振とうしながら 2 週間放置した。このブドウ酒 5 l を蒸溜して粗溜液 2.4 l (アルコール 28.1 vol %) を得、さらにこれを再溜して中溜区分 0.6 l (アルコール 68.1 vol %) を得た。

中溜区分の一部をとり、アルコール 30% になるまで蒸溜水を加えた。これについて前項同様の抽出、濃縮操作を行ない、定容にした後分析用資料とした。分析法は前項同様にガスクロマトによった。

6. DEPC 添加ブドウ酒およびブランデーの官能試験法

次に示した 4 種のブドウ酒およびブランデーに DEPC をそれぞれ 0, 25, 50, 100, 150, 200, 250, 500, 750, 1,000 ppm 添加し、1 カ月後に研究室員 10 名によって官能試験を行ない、DEPC 添加の影響を検討した。

- A : 白ブドウ酒・醗研 1962年産甲州 (アルコール 13.6%, 還元糖 0.3%, 総酸 0.48%, pH 3.2)
- B : 赤ブドウ酒・醗研 1960年産マスカットベリー A (アルコール 12.4%, 還元糖 0.18%, 総酸 0.72%, pH 3.4)
- C : 白ブドウ酒 (M社製, アルコール 13.1%, 還元糖 2.6%, 総酸 0.36%, pH 3.3)
- D : 赤ブドウ酒 (M社製, アルコール 13.3%, 還元糖 0.6%, 総酸 0.44%, pH 3.4)
- E : ブランデー 1・実験 5 で製造したブランデー (アルコール 42%)
- F : ブランデー 2・白ブドウ酒 A に DEPC 1,000 ppm を添加後、蒸溜して製造したもの (アルコール 42%)
- G : ブランデー 3・当研究所で本格的に製造した樽詰め前のもの (アルコール 42%)
- H : ブランデー 4・G の樽詰め 1 年半経過したもの (アルコール 42%)

結果および考察

1. DEPC 添加ブドウ酒および果汁から DAC の確認

得られたガスクロマトグラムは Fig. 1 および Fig. 2 に、また、各試料についての各ピークの存否を TABLE I にそれぞれ示した。ピーク 1 および 2 は溶媒エーテルおよびペンタンであり、3 はエタノールである。ピーク 4 は DEPC 添加試料にのみ発現し、その *Rt* は標準 DAC のそれと一致しており、DAC と推定される。ピーク 5 はブドウ酒にのみ認められたことから、ブドウ酒中の発酵生成物と思われる。

次に、ピーク 4 物質を分取ガスクロマトによって分取用トラップに採取し、これの赤外

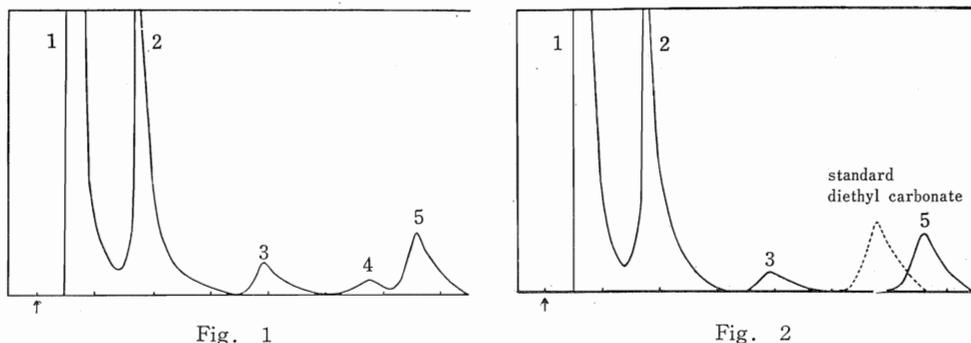


Fig. 1. Gaschromatograms of Extract (Ether-Pentane 1:3) from DEPC-added Wine (Koshu)

Diethyleneglycolsuccinate 3 m, H₂ 40 ml/min., Temp. 98 C.
1 Ether, 2 Pentane, 3 Ethanol, 4 DAC, 5 ?

Fig. 2. Gaschromatograms of Extract (Ether-Pentane 1:3) from DEPC-free Wine (Koshu) and Standard Diethyl Carbonate

Diethyleneglycolsuccinate 3 m, H₂ 40 ml/min., Temp. 98 C.
1 Ether, 2 Pentane, 3 Ethanol, 5 ?

TABLE I

Diethyl Carbonate in DEPC-added and DEPC-free Samples

Samples	Peak No.	1	2	3	4	5
	Compounds	Ether	n-Pentane	Ethanol	DAC	
DEPC-added (1000 ppm)	White wine (Koshu)	+	+	+	+	+
	Red wine (MBA)	+	+	+	+	+
	Grape juice (Koshu)	+	+	+	+	-
	Dist. water	+	+	+	+	-
DEPC-free samples	White wine (Koshu)	+	+	+	-	+
	Red wine (MBA)	+	+	+	-	+
	Grape juice (Koshu)	+	+	+	-	-

線吸収分析を行なった。結果は Fig. 3 に示したように標準 DAC とピーク 4 物質の赤外線吸収スペクトルとはほぼ完全に一致した。このことから DEPC の分解生成物の一つであるピーク 4 物質は DAC と同定できた。また、本物質は標準 DAC と臭も同一であり、DEPC におけるエステル臭とほぼ同一であった。

2. ブドウ酒および果汁に添加した DEPC より DAC の生成率

結果は TABLE II に示したように、白ブドウ酒 (甲州種) では添加した DEPC 250

ppm の分解副成により 16.1 ppm の DAC が生成した。すなわち、使用 DEPC の約 6.4% になる。赤ブドウ酒でも DAC の副成はほぼ同程度であった。しかし、果汁では生成 DAC は 12.1 ppm, すなわち、副成率は約 4.8% で、ブドウ酒に比較して副成率が低い。蒸留水中での副成率はさらに低く、約 4.2% であった。通常ブドウ酒中における DAC の副成率は KIELHÖFER ら⁴⁾によれば 6~8% とされているが、本実験における結果もほぼそれに近い値であった。

3. DEPC 添加ブドウ酒から製造したブランデー中への DAC の移行

結果は TABLE III に示した。添加した 250 ppm の DEPC より原料ブドウ酒中に DAC

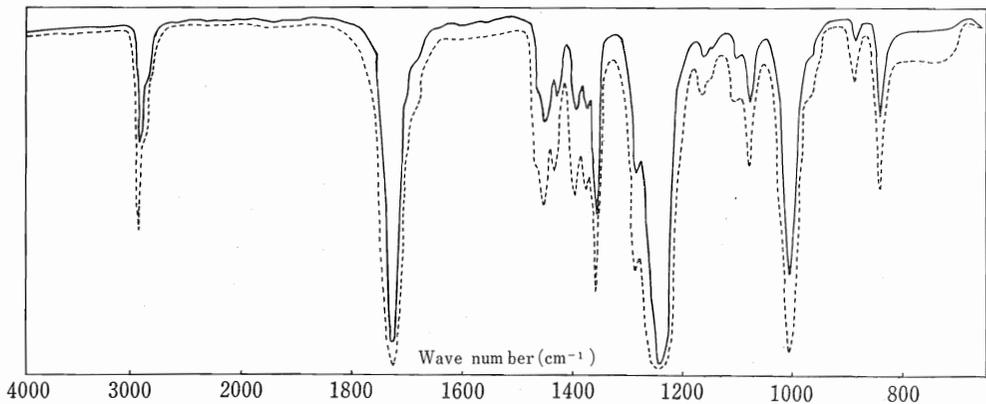


Fig. 3. Infrared Spectra of Diethyl Carbonate isolated from DEPC-added Wine (Koshu)

————— : DAC from DEPC-added wine, - - - - - : Standard DAC

TABLE II

The Formation Rate of DAC from DEPC-added in Must and Wine

Wine and Must	DEPC added (ppm)	DAC formed (ppm)	Formation rate of DAC (%)
White wine (Koshu)	250	16.1	6.4
Red wine (MBA)	250	16.5	6.6
Grape juice (Koshu)	250	12.1	4.8
Dist. water	250	10.6	4.2

TABLE III

DAC Content in Brandy made from DEPC-added Wine

DEPC added in wine (ppm)	DAC formed in wine (ppm)	DAC in Brandy (ppm)
250	16.6	13.4

が 16.6 ppm, すなわち, 6.48%が副成した。この副成した DAC は, 蒸溜で得られる中溜区分に 13.4 ppm が移行した。この値は原 DEPC に対し 5.36%, ブドウ酒中で副成した DAC の約80.7%に当り, 大半が蒸溜によってブランデー中に移行することを示した。従って, 原料ブドウ酒の酒質に影響を与える程の DEPC を添加するときには得られるブランデーの酒質にも当然影響するものと考えなければならない。

4. DEPC 添加ブドウ酒およびブランデーの官能試験

供試した A, B, C および D の 4 種のブドウ酒とも DEPC 100 ppm 以下の添加では, 殆んど影響が感じられなかった。200 ppm の添加では, A および B のブドウ酒では特に異臭を感じないようであったが, C および D のブドウ酒ではバランスのくずれたエステル臭, その他の異臭が付き, 酒質を害した。200 ppm 以上の添加では, 4 種のブドウ酒とも明らかに DAC に由来するエステル臭が感知され, 好ましくなった。このようなことから, DEPC の添加量の限度は一応 100 ppm 以下と考えられるが, この使用量もブドウ酒のタイプ, 原料品種などにより差があると思われるので, それぞれのブドウ酒について, さらに長期間保存された場合の影響などについても詳しく検討する必要があるだろう。

ブランデーについて: 原料ブドウ酒に DEPC 250 ppm, 1.000 ppm を添加して, 蒸溜, 製造したブランデー E および F はいづれも強い不快なエステル臭が感じられ, また, 異臭が感じられ, 酒質がそこなわれていた。ブランデー G および H に DEPC を添加した場合, 25~100 ppm では特に異臭を感知しなかったが, 150~250 ppm では明らかに異臭が感じられた。1.000 ppm では明らかにエステル臭が強く感じられ, 好ましくなかった。

以上のことから, ブランデー原料ブドウ酒に DEPC を使用する場合, その添加量は 100 ppm 以下とすることが望まれる。また, ブランデーを長期間樽詰め貯蔵した場合の DAC の動態と官能試験とをさらに詳しく検討する必要があるだろう。

要 旨

ピロ炭酸ジエチルエステル (DEPC) を添加したブドウ酒および果汁中の炭酸ジエチル (DAC) の存在の確認と添加 DEPC からの DAC の生成率とをガスクロマトグラフィーおよび赤外線吸光分析法により, また, DEPC 添加ブドウ酒の蒸溜によって製造したブランデー中への DAC の移行について研究した。一方, DEPC 添加ブドウ酒およびブランデーの官能試験を行ない, DEPC 添加量と酒質との関係について検討した。

DEPC 添加ブドウ酒および果汁中に DAC の存在が確認され, また, DAC の生成率はブドウ酒中で 6.4~6.6%, 果汁中では 4.8%であった。ブランデー中へはブドウ酒中の DAC の 80%が移行した。

ブドウ酒に DEPC を添加するとき 100 ppm 以下でのみ酒質に影響がなく, また, ブランデー用ブドウ酒への使用は 100 ppm 以下で製品ブランデーに影響を及ぼさなかった。

終りにピロ炭酸ジエチルエステルを提供下された武田薬品工業株式会社に感謝します。

文 献

- 1) THOUKIS, G., R. J., BOUTHLET, M. UEDA, and A. CAPUTI, : Fate of DEPC in wine. *Am. J. Enol. Vitic.*, **13**, 105 (1962)
- 2) KOCH, J. : PKE, ein Konservierungsmittel oder ein technischer Hilfsstoff? *Weinb. Keller*, **9**, 18 (1962)
- 3) KIELHÖFER, E. und G. WÜRDIG, : Nachweis u. Bestimmung von DAC und PKE im Wein und Schauwein. *Dtsch. Lebensm-Rdsch.*, **59**, 197 (1963)
- 4) KIELHÖFER, E. und G. WÜRDIG, : Einige bei der Anwendung von PKE zur biologischen Weinstabilisierung auftretende Probleme. *Weinb. Keller*, **11**, 495 (1964)