

窒素源として脱脂大豆蛋白を添加した 白ブドウ酒の試醸成績

小原 巖、齊藤義見、榊田忠衛

Experiments with a Soy-bean Meal in White Wine making.
Yuwac Ohara, Yoshimi Saito and Tadae Kushida

ブドウ酒醸造に於て蛋白質などの窒素化合物は、製品の混濁や風味に大きな関係がある。

従来本邦産ブドウ酒の窒素含有量などについては調査があまりないので、比較することが困難であるが、例えばフランスのボルドー酒が全窒素として白酒で77~247^{mg}/l (36点平均185^{mg}/l)、赤酒で143~666^{mg}/l (35点平均330^{mg}/l)含有されている¹⁾のと比較すると可成り少ないように思はれ、本邦産ブドウ酒がボルドー酒などと比較して風味に乏しい原因の一つがここにあるのではないとも考えられる。しかし原料ブドウ果については、当研究所で甲州産の各品種を含む約40点を分析した結果²⁾、全窒素は141~1759^{mg}/lで、川上氏ら³⁻⁶⁾による報告(190~1330^{mg}/l)とも大体一致している。これをフランスでGENEVOIS⁷⁾らが有機窒素として300~660^{mg}/lを、ドイツでHENNIG^{8,9)}が全窒素として305~1600^{mg}/lの数字をあげているのと比較して、特に甲州産ブドウ果の窒素化合物含有量は、全窒素量としては、それ程低いようである。たゞ一般に本邦産のブドウ果は糖分含有量が少ないのと同様に窒素化合物も少なく全体に単味であるといえるだろう。

ドイツではブドウ果に糖分の少ない、酸の多い年は窒素含有量が多く、ブドウ酒になつてから細菌による、いわゆる減酸作用が盛んで、酒質の向上するものであることが知られているが、本邦産ブドウ酒については、この種の細菌による減酸作用が殆んど見られないのは、原料ブドウ果およびブドウ酒に窒素化合物の少ないことが一つの原因になつているのかも知れない。しかし反面窒素物の多いことは有害菌

の繁殖を促す原因にもなり、また白ブドウ酒に余計蛋白質が残つた場合は、燻詰後酒濁の原因となり^{10, 11)} RIBERAU-GAYON¹²⁾ はボルドー酒(白)に heat-coagulable-N が $26 \frac{\text{mg}}{\text{l}}$ もあつたことを報告し、また HENNIG は普通のもので蛋白質窒素は $7-25 \frac{\text{mg}}{\text{l}}$ (蛋白質として $44 \sim 156 \frac{\text{mg}}{\text{l}}$) 程度であるとされているので、欧州ではベントナイトや蛋白分解酵素などを使用し、あるいは plate-heater で加熱後急冷するなど¹³⁾ の方法で、これらの窒素化合物をできるだけ除去しブドウ酒の安定性を保つべきであるとされ、酵母の醸酵助成剤として磷酸アンモを添加することがあるが、有機体の窒素源を果醪に添加した成績などは見当らない。

果汁の窒素化合物は醸酵中酵母により消費され、醸酵開始後 6-8 日目には果醪中の全窒素が最低になるが、それ以後再び徐々に全窒素が増加する。アンモニア態の窒素は醸酵開始後 12-48 時間で半分以下となり¹⁴⁾、アミノ酸ではロイシン、フェニールアラニン、ヴァリンが消費され、あとでアルギニン、ヒスチジン、チロシンが増加するがその他のフミン態窒素、アミド態窒素などは醸酵中殆んど変化しないといわれている。⁷⁾ これらの窒素化合物はブドウ酒の減酸作用や酸化過程に、特有の香味を形成するものであることが当然考えられる。

最近合成清酒の香味を増強する目的で、脱脂大豆蛋白 (HOC または KCP) が使用され面白い成績が報告されている。著者らは科学研究所守随氏らの援助を得て、これをブドウ酒に応用する研究を進めたいと思つているが、今回はその予備試験として HOC 添加の白ブドウ酒を試醸し、主としてその香味を対照のものと比較したので、その概要を報告する。

供 試 料

1) 原料ブドウ

昭和 29 年度産甲州種を使用した。一般成分は既報¹⁵⁾ の通りで、全窒素含有量は $450 \frac{\text{mg}}{\text{l}}$ である。

2) 大豆蛋白 (HOC)

科学研究所守随瑞雪氏より分譲され同氏の報告¹⁶⁾ によれば、水分 - 39.2% ; 全窒素 - 25.3% ; 油分 - 0.59% である。

3) 大豆蛋白 (HOC) の分解

山梨大学醸酵研究所研究報告第 2 号

(a) 麹菌による分解 : 麹菌は蛋白分解力を比較し、特長のある次の2株を選定し、予め三角瓶中で2日に前培養したものを種菌とし別々に接種した。

Asp. oryzae group B Ohara strain KK1-1(5028)

Asp. tamarii Kita strain 6-C(5187)

あらかじめ PFEFFER 氏培地の窒素源を除いた液 100ml と HOC 6g 宛を 500ml 容坂研型培養フラスコに分注し、加圧、殺菌を行い、上記の種菌を約 1g 宛 15 本づつに接種し、30°C で 5 日間 (60rpm, 120 回転) 振盪培養を行った。培養後菌体を濾別し、濾過は自然濾過を繰り返して全液を合して、その 1 l を供試した。濾液は不透明で麹特有の香があり、濾液中の全窒素は $3090^{mg} / l$ 、アミノ態窒素 (フォルモール法) は $150^{mg} / l$ であつた。

(b) 酒石酸による分解 : 酒石酸 60g を水 1200ml に溶し (約 0.5%) HOC 120g と共に加圧釜にて $1Kg/cm^2$ 30 分間加圧分解後濾過し濾液 1 l を中和せずそのまま供試した△その全窒素は $2330^{mg} / l$ であつた。

(c) 塩酸による分解 : HOC 30g を水 1000ml に懸濁せしめ濃塩酸 50 ml を加え約 2 時間加熱分解した後、苛性カリで pH 4.5 まで中和し、1 l とし濾過せず、そのまま全部を供試した。分解液は明らかに分解臭を有しその濾液中の全窒素は $1270^{mg} / l$ であつた。

試 験 方 法

原料ブドウ果は採取後室温に 1 夜放置した後、125 貫を除梗破砕機にかけ (果汁を圧搾分離せず) / 石桶に入れ直ちに亜硫酸水を加え (SO_2 100 ppm) 攪拌し 26 時間放置した後、予め果汁に培養したブドウ酒酵母 (OC-2) 液 6 l を添加し室温 (20°C) で 3 日間カモした。亜硫酸水を使用したため著るしく醱酵が抑制され、湧付はおくれ、品温もようやく 24°C 程度にしか昇らず、従つて圧搾も困難であつたが果汁のみを醱酵せしめたものと比較すると製成酒はかなり赤味を帯びたものになつた。圧搾機にかけて軽く圧搾し、汁液 23 l 宛を 40 l 容珪瑯引バット 6 本に分注し、第 1 表のように砂糖および HOC 分解液などを添加した。

(第1表) 仕込方法 (Vinification Records)

カモン(Oct.21)	区分	補糖	添加物(全-Nとして)	果醪中全-N
Prefermen- tation	WN Must	Sugar	HOC(as Total-N)	Total-N in the Must
ブドウ果 Grape..469 <i>kg</i>	1	23 <i>l</i>	2.0 <i>kg</i> 1 <i>l</i> ^{a)}	(3.09 <i>g</i>) 579 <i>mg/l</i>
SO ₂ ...100 <i>ppm</i>	2	23	2.6 1 ⁾	(2.33) 546
酒母 Starter.6	3	23	2.6 1 ^{c)}	(1.27 1.59*) 567
压榨 (Oct.24) Pressing	4	23	2.6 1 ^{d)}	(2.86*) 569
汁液 Juice.289 <i>l</i>	cont	23	2.3 0	450
粕 Pomace121 <i>kg</i>	cont	23	2.3 0	450

- a) Filtrate of the hydrolysate by Aspergillus.
- b) Filtrate of the hydralysate by tartaric acid.
- c) Hydrolysate by hydrochloric acid.
- d) Water suspeusian of 30 *g*. * almost in insoluble state.

主醸酵：品温は始め24°Cであつたが、地下室(15~20°C)で時々攪拌しながら且つ表面に浮ぶ凝固物を取り除いて醸酵せしめ約10日間で品温最低17°Cとなつた。各区分とも外観的醸経過には殆んど差異が認められなかつた。

(第2表) 主醸酵の経過 (Fermentation Records)

		Oct.										
月	日date	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
品	温(°C)	20	21	22	24	20	19	19.5	18.5	18	18	17.5

摘要 酒母(Starter) 補糖(Amelioration)

		Nov.				
月	日date	1	2	3	4	5

品	温(°C)	17	18	18	17	17
---	-------	----	----	----	----	----

摘要

滓引、貯蔵： - 仕込後約1ヶ月(11月2日)たつて滓引を行い各区分別に1斗樽に貯蔵した。

製成酒の分析試験

樽詰して三ヶ月貯蔵したのについて一般成分を常法により分析した。(第3表)

(第3表) 製成酒の分析結果(Analysis of the wines*)

区分	比重	酒精	エキス	還元糖	総酸
WN	Sp.gr	Alc. voc. %	Ex g	R.S. a) per l	T.A b)
1	0.9921	13.1	23.3	3.50	7.54
2	0.9913	13.8	23.0	2.82	7.72
3	0.9918	13.4	23.1	2.82	7.31
4	0.9926	13.5	25.6	4.96	8.03
cont.	0.9930	13.7	27.0	5.50	7.82

区分	揮発酸 c)	不揮発酸 d)	エステル e)	フーゼル油
WN	V.A l g	F.A per l	V.E	Fuseloil
1	0.88	6.44	0.084	0.41
2	0.62	6.95	0.102	0.39
3	0.71	6.43	0.158	0.38
4	0.95	6.85	0.117	0.44
cont	0.64	7.02	0.193	0.42

- a) Reducing sugar as glucose;
- b) Total acids as tartaric acid;
- c) Volatiale acids as acetic acid;
- d) Fixed acids as tartaric acid;
- e) Volatile esters as ethyl acetate.

* 3 months old in a kegs.

なお別に窒素化合物をPEYNAUD¹⁷⁾に従い次の如く分析した結果は第4表の通りである。

1. 全窒素 試料50mlに濃硫酸3mlを加え出来るだけ濃縮した後、分解剤(硫酸カリ1と硫酸銅9を混合したもの)3gと濃硫酸7mlを加えて常法により分解しsemi-micro-kjeldahl法によつた。

2. アンモニア態窒素 試料200mlに酸化マグネシア4~6gを加え蒸溜水200mlを追加し、N/10硫酸10mlを入れた受器中に蒸溜し溜液約200mlを採取し、これを約 $\frac{2}{3}$ 容まで濃縮すると同時に酒精及び炭酸ガスを除去した後N、苛性ソーダ5~10mlを加え $\frac{N}{20}$ 硫酸20ml中に蒸気蒸溜した。

3. アミノ態窒素 試料50mlをN苛性ソーダで正確に中和(pH 8.0)した後、N塩化バリウム5mlを加え、蒸溜水で100mlに満し、濾液50mlをN/10塩酸でpH 2.4とし、これに中性のフォルモール20mlを加え $\frac{N}{20}$ 苛性ソーダで滴定した。

なお試料を試験管にとり沸騰水中に2分間保つた后、直ちに冷却し、熱により凝固する窒素化合物を定量しようとしたが各試料共殆んど凝固物が認められなかつた。

(第4表) 製成酒の窒素含有量および鑑評

(Nitrogen Contents and Evaluation of the wines)

		第1回淨引直後		樽詰7月後樽詰したもの		
		After 1st racking		Bottled after		
		(Nov.25)		7 months		
		clarity ^{a)}		Total-N	NH ₃ -N	NH ₂ -N
				per l	3	2
1	+	140	6 ^{mg}	131.3	4.4	54.3
2	+	120	5	100.1	2.2	34.0
3	+	120	5	107.8	1.0	32.0
4	+	110	2	93.1	0.4	31.1
cont	-	90	2	84.7	3.4	48.2

		樽詰3月後		喇酒成績	
		(Feb.15)		Taste Testing	
		color ^{b)}		clarity ^{a)}	Rating Remarks
1	Y R	1.1	1.2	-	1 round
2	1.5	1.9	+	3	stringent
3	1.1	1.0	-	2	faint odor
4	1.2	1.3	-	3	
cont	1.5	1.5	-	4	odor

a) -: clear; : almost clear; : turbid.

b) in a Lovibond tintometer, with 3/8 inch cell.

窒素源を添加しない対照のものは醸酵前、前窒素として450^{mg}/l あつたものが第1回の淨引直后90^{mg}/lとなり窒素源を加えたものも添加された窒素源は余り製成酒に残存せず、最も多いもの(WN-1)でも全窒素として140^{mg}/lしかなく、なお、その後の貯蔵でいずれも減少している。

これを HENNIG の成績、例えば、(初め1075^{mg}/l あつたものが、製成酒で

713^{mg}/l になつている)などと比較し醱酵中に消失する窒素源の量がやゝ多すぎるといふように思はれる。なお全窒素からアンモニア態窒素および、アミノ態窒素を差引いたものが全窒素の約70%あり、窒素化合物は大部分がペプチッドまたはペプトンなどの分子の大きいものであることが推定される。

製成ブドウ酒の喇酒鑑評

滓引直后及び樽詰後約3ヶ月経過したものについて色調を Lovibond Tintometer (3/8吋) により測定し、混濁の程度は肉眼により比較し、香味は当研究所員8名により喇酒した成績を総合して判定した結果は第4表の通りである。

色調は赤味が強くなつたが窒素源を添加したものは概して対照と比較すれば淡色となる傾向があつた。たゞHOC 酒石酸分解物の濾液を添加したもの(WN-2)は対照のものより濃色となり、塩酸分解物を添加したもの(WN-3)は初めやゝ黒青色を呈した。清澄度は対照と比較すれば幾分遅れたが予想以上に速かに清澄し、WN-2以外は樽詰後約2ヶ月で完全に清澄し対照に優るとも劣らぬ透明度を示した。HOC 分解液添加の酒はいずれも初め多少分解臭がありWN-1は麴臭を感じたが樽詰して約4ヶ月経過したものについて喇酒した結果、WN-3に極く微かに異臭を感じる程度で、他のものはいずれも分解臭はなくなつた。WN-2に極く微かに渋味を感じるようになつたが対照のものと比較すれば総て品質が向上したものと認められた。

考 察

窒素源を添加すれば醱酵が旺盛になることが予想されたが、醱酵経過等外観的には全て対照のものとの間に殆んど差異が認められなかつた。大豆蛋白(HOC)を麴菌酵素により分解して添加したもの(WN-1)は、他のものと比較して製成酒中に残存する全窒素が最も多かつたが、今回の試験結果では製成酒の窒素含有量は100^{mg}/l内外で欧州のブドウ酒と比較すれば、なおかなり少いものであることを知つた。HENNIGによれば細菌による減酸作用は細菌の栄養源としての有機態窒素化合物が多いもの程顕著でありその場合脱アミノ作用と脱炭酸作用が同時に行われアンモニア態窒素が増加すると共に高級アルコールができて、更にそれがエステル化されることなどにより、いわゆるaromaを生ずるものと考えられているが、試験品は樽詰後約3ヶ月までの成績では殆んどそれらの傾向は見られなかつた。

一般成分の分析結果を見ると概してHOC 添加のものは対照のものと比較して糖分が少なく、白ブドウ酒としてはやゝ辛口になりすぎたことゝ揮発酸が幾分多くなる傾向があつたが、フーゼル油は予想に反し対照のものと殆んど差が認められなかつた。麹菌による分解液には種々の酵素が含有されているから、WN-1ではそれらの酵素作用を無視することができないが、啤酒の成績は最も優秀であつた。しかしHOC をそのまま添加したもの(WN-4)も製成酒の香味は対照のものと明らかに相違し、丸味が出て飲み易くなつた。

要 旨

脱脂大豆蛋白(HOC) またはその分解物を果汁に添加して白ブドウ酒を試醸した。製成酒の全窒素は最高 $140 \frac{\text{mg}}{\text{l}}$ で香味を増強するためには製成酒にもつと多くの窒素化合物が残るように工夫する必要があるように思ふ。HOC 添加酒の香味は対照のものと比較すると明らかに丸味を帯び、HOC 分解液を添加したものは初め多少分解臭があつたが貯蔵中殆んど異臭を感じないようになり、麹菌を応用したものが最も良い成績であつた。

終りに脱脂大豆蛋白の試料を分譲された、科学研究所守随稀雪氏に深謝する。なお実験は初め主として斎藤義見君が担当したが、あとで野々村英夫、丸山智章両君の協力を得たことを附記し謝意を表す。

文 献

- 1) PEYNAUD, E. : L'azote amine et l'azote amide dans les vins de Bordeaux. *Ann. falsif. et fraudes.* 32, 228-243 (1939)
- 2) 小原巖、斎藤義見：醸造用ブドウの品種別調査、山梨大醸酵研、1, 83 (1954)
- 3) 川上英夫、松宮節郎：ブドウ品種別ブドウ醸造試験(第1報)農化、14, 1437-48 (1938)
- 4) 川上善兵衛、長谷川武治：同上(第2報)農化、15, 1149 (1939)
- 5) 富金原 孝：同上(第3報)農化、16, 949 (1940)
- 6) 古林 信男：同上(第4報)農化、19, 531 (1943)

- 7) GENEVOIS, L. & J. RIBEREAU-GAYON: Sur les substances azotes des mouts et des vins.
Ann. des Fermentations, 1, 54106(1936)
- 8) HENNIG, K.: Bilans de l' azote dans les moust et les vins nouveaux en fermentation. *Off. Intern. du vin Bul.*, 16(159) 82-6(1943)
- 9) Der Einfluss der eiweiss-und stickstoffbestandteile auf den Wein.
Wein u. Refe. 91, 380 (1955)
- 10) KIELHOEFER, E.: Die Eiweisstruebung des Weines. IV. Ueber die Beschaffenheit des Trubes und die Verminderung des N-gehaltes des Weines durch die Trubabscheidung. *Z. Lebnesm.-Untersuch. u. Forsch* 92, 1-9 (1951)
- 11) ROLEFF, H.: Ursache der Waermetruebung bei 1947er. Weinen. *Deut. Wein-Ztg.*, 85, 12-3 (1949); 86, 197-8(1950)
- 12) RIBEREAU-GAYON, J.: Sur les materieres albuminoi-des des vins blanche. *Ibid.*, 25, 518-524; 602-9(1932)
- 13) KRAMER, O.: Nachtruebunsen der Weine. *weinblatt*, 49, 484; 498 (1955)
- 14) VALIZE, H.: Nouveaux essais sur l'utilite du phosphate d' ammoniaque en vinification. *Inds. agr. et aliment*, 66, 349-352 (1949)
- 15) 小原 巖、野々村英夫、柳田忠衛: スクラ-ゼを利用した白ブドウ酒の試醸成績、*醸協*, 50, No. 8 (1955)
- 16) 守随稀雪、坂本政義: 合成清酒の香味増強法の研究(第6法) 脱脂大豆蛋白の稀酸、稀アルカリ加水分解物の醸酵比較試験について、*合成酒技報*, No. 3, 44 (1954)
- 17) RIBEREAU-GAYON, J. & E. PEYNAUD: Analyse et cotrole des vins. Polytechnique ch. Beranger, Paris (1949)