

ブドウおよびブドウ酒中の有機酸に関する研究

(第1報) コラム・パーティション・クロマトグラフィ
による有機酸(不揮発酸)の定量

櫛 田 忠 衛*

(TADAE KUSHIDA)

緒 言

ブドウ酒においては酸分は風味、色調および保存に係る重要な成分である。従つて酸の種類、量、生因や消長に関する研究が先進国には数多い¹⁾。著者は本邦産ブドウ果およびブドウ酒の有機酸組成を知るため、まず、シリカゲルの液体クロマトグラフを用いた比較的簡単、精密な分析法を案出し、数種のブドウ果の有機酸を分析した。なお分析法の検討およびブドウ酒の有機酸組成については別に²⁾取まとめ報告する。

* 山梨大学工学部醸酵研究所
1956 年 7 月 4 日受理

供試ブドウ

1955 年甲州産ブドウ品種(第1表)を選びブドウ酒醸造用として破砕した直後の果汁を分析に供した。なお果実成熟中の変化を調べるため、デラウェア種につき7月21日より9月1日までに5回少量の果実を採集し、乳鉢にてつぶし布にて圧搾して得た果汁について分析した。

実 験 方 法

有機酸の分析は諸文献^{3)~5)}を参考して次のごとく行つた。

1. シリカゲル・コラムの調製

4gのシリカゲルに水 2ml を加えてよくすりつぶし、

第1表 供試ブドウ果汁

符号	ブドウ品種名	収穫 月 日	Brix	総酸 ^{a)} (g/l)	pH
D-O	デラウエア	8. 22	21.6	6.34	3.18
RM-O	レッドミレニウム	9. 28	16.2	5.96	3.21
GQ-O	ゴールデンクイーン	9. 28	17.0	6.39	3.20
K-O	甲州	10. 20	16.8	7.11	3.20
BQ-O	ブラッククイーン	9. 13	15.0	11.1	3.10
BA-O	マカッパベリー	9. 14	16.6	7.75	3.22
MI-O	ミルズ	9. 14	18.4	4.84	3.40

a) 酒石酸として

約 20 ml のクロロホルムで懸濁し、内径 10mm のガラス管につめ余分のクロロホルムは流出させる。

2. 試料の調製

試料 5~10 ml を 40°C 以下で約 2 ml まで濃縮し、遊離酸を求める時はそのまま、全酸の時は 10N の硫酸 2~3 滴を加え、4g のシリカゲルとよくすりつぶし、クロロホルムと共にクロマトグラフ用ガラス管につめ、50% *n*-ブタノール・クロロホルム混液 (約 200 ml) を通して有機酸を十分抽出する。抽出液に少量の水を加え苛性ソーダで滴定し、放置後上層液をとり、下層液は 2 回 10 ml の水で洗い、混酸のソーダ塩液を集める。これを蒸発皿に入れ 40°C 以下でほとんど乾固するまで濃縮し、10N 硫酸を滴下して有機酸を遊離せしめ、これに少量のシリカゲルを加えてよくすりつぶし、前記のごとく予め準備したシリカゲルカラムの上層に注入する。

3. 展開剤

次のように果進的にブタノールを多くしたクロロホルム混液を調製使用した。

使用 (回)	1	2	3	4	5	6
<i>n</i> -ブタノール・クロロホルム (%)	1	5	10	25	35	50
使用量 (ml)	60	80	120	70	80	100

クロロホルムを 2 回水洗し、所要量の *n*-ブタノールを加え、水を飽和した後乾燥濾紙で濾過して用いた。

4. 操作

展開剤の流速が毎分 1 ml となるように足踏フイゴを用いて加圧する (水銀柱 50~200 mm)。流出液は 6r 宛フラクション・コレクターで集め、これに水 10 ml 加え、フェノール・レッドを指示薬として、マグネチックスターラーでよく攪拌しながら 0.01N 苛性ソーダで定する。

実験結果

1. ブドウ果汁の有機酸含量について

果汁の酸を展開した場合リンゴ酸以前のフラクションに流出する酸は僅少で、主としてリンゴ酸と酒石酸であるが他に少量のクエン酸の存在を示す。

酸の組成は品種によつて差異が著しく (第2表)、一に滴定酸度が多い程リンゴ酸が多い。リンゴ酸は総酸 25~58% であった。酒石酸が大部分酸性塩として存在していることは、その 1/2 酸度と他の遊離酸の合計が定酸度にほぼ等しいことから明らかであるが、供試品甲州種 (K-O) とブラック・クイーン (BQ-O) は比較遊離の酒石酸が多かった。これは品種の特徴であるか収穫時期によるものであるかは更に研究を要する。ま一般に遊離酒石酸が多い場合にはリンゴ酸、クエン酸はすべて遊離酸として存在する。クエン酸はブラックインに最も多く、ミルズは最も少なかった。遊離のクエン酸は品種による差が大きい。

2. ブドウ果実の成熟中の変化

第3表は 1955 年甲州産デラウエアの各時期における成分分析結果で、第1図はそれを図示したものである。果実が成熟するに従つて糖分 (屈折計示度であらわす) が増加し、総酸が著しく減少することがわかる。こ

第2表 果汁中の有機酸含量

mg equivalents per l								
果 汁	滴定酸度	リ ン ギ 酸		ク エ ン 酸		酒 石 酸		$\frac{\text{F.M.}^a)}{\text{T.A.}} \times 10$
		Free	Total	Free	Total	Free	Total	
D-O	84.5	38.7	38.7	0.0	3.7	0.0	95.5	45.9
RM-O	80.0	23.8	33.1	1.4	3.6	2.4	87.6	29.8
GQ-O	85.0	49.0	51.8	0.0	5.0	0.0	66.6	57.6
K-O	94.5	31.5	31.5	3.4	3.4	11.0	95.6	33.4
BQ-O	148.5	72.7	72.7	8.6	8.6	27.6	94.8	48.9
BA-O	103.2	54.3	60.0	0.0	2.5	3.6	84.1	52.6
MI-O	64.7	16.4	16.4	0.2	1.4	2.5	80.0	25.4

a) $\frac{\text{遊離リンゴ酸}}{\text{滴定酸度}} \times 100$

第3表 ブドウ成熟中の有機酸の変化

		g equivalents per l							
月	日	屈折計	pH	総酸	リンゴ酸	クエン酸	遊離酒石酸	全酒石酸	酸性酒石酸
7.	21	4.5	2.75	45.0	28.0	1.60	8.70	19.80	5.55
7.	30	5.4	2.75	40.8	25.3	1.47	7.00	18.20	5.60
8.	12	15.4	2.90	17.2	7.7	1.02	2.08	12.20	5.06
8.	22	21.6	3.18	8.0	2.6	0.34	0.80	8.52	3.86
9.	1	21.7	3.20	6.5	1.5	0.22	0.66	8.00	3.67

第4表 ブドウ酒 (新酒) の有機酸

		mg equivalents per l							
ブドウ酒	総酸	A+X ^{a)}	乳酸+コハク酸	Y ^{b)}	リンゴ酸	クエン酸	遊離酒石酸	全酒石酸	
RM-1	75.6	—	15.5	6.1	23.6	3.7	1.4	34.6	
K-1	91.4	11.1	16.1	4.6	21.7	4.9	13.8	46.8	
BA-1	113.8	11.8	24.0	7.3	29.0	3.9	2.0	43.1	
MI-1	83.4	13.9	24.0	8.7	19.5	2.5	3.8	24.9	

a) 乳酸以前に流出する酸で酢酸が主成分である。

b) コハク酸とクエン酸の間に流出する未知酸。

リンゴ酸と遊離酒石酸が急激に減少するためである。酸性酒石酸とクエン酸の減少は徐々である。

3. 果汁と新ブドウ酒の有機酸の比較

供試果汁のうち4種 (RM, K, BA, MI) を醸酵させた新酒について、その有機酸を分析した結果は第4表の通りで、果汁分析結果 (第2表) と比較すれば次のことが知られる。(この際 BA-1, MI-1 は赤酒で、果汁の酸分の他に果皮等に含まれていた酸分を含む)。ブドウ酒醸酵によつて揮発酸、乳酸、コハク酸等が増加し、リンゴ酸、酒石酸が減少する。特に赤ブドウ酒にこの傾向が著しい。またクエン酸が少量増加することも認められ、すべて既往の報告と一致する。リンゴ酸の減少は甲州種で30%, レッドミルレニウム種で29% あつた。酒石酸はいずれも50% 以上減少した。

要 旨

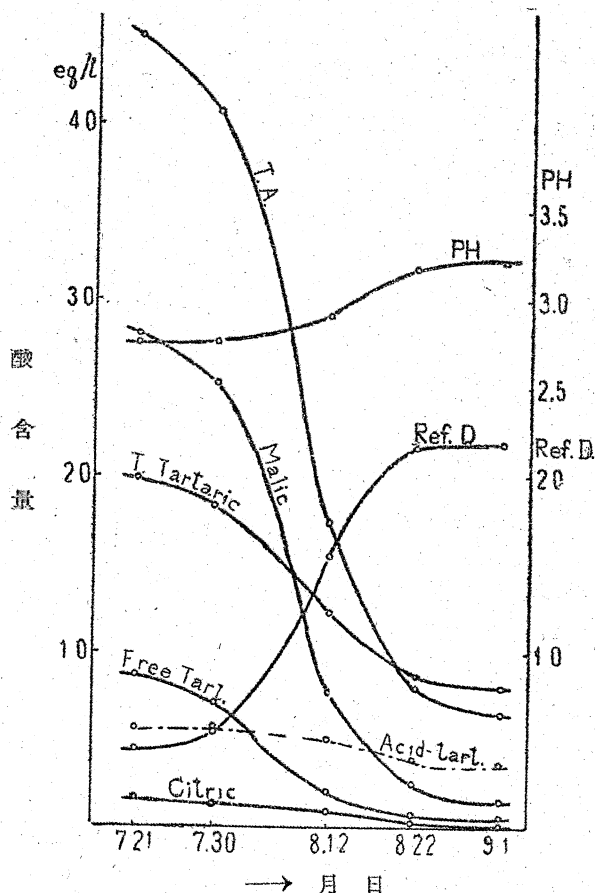
シリカゲルの液体クロマトグラフ法によつてブドウ果汁中の有機酸を定量し、主なる酸について若干考察した。

1) 果汁中主要な有機酸はリンゴ酸と酒石酸で他に少量のクエン酸を含有する。リンゴ酸は総酸の25~58% に達しブラッククインが最大で、酒石酸は大部分、酸性酒石酸塩として存在するが、品種によつて遊離酒石酸の多いものと少ないものとに大差がある。クエン酸はブラッククインに最も多く、ミルズに最も少なかった。遊離クエン酸は品種によつて差が大きい。

2) 果実が成熟するに従つてリンゴ酸と遊離酒石酸が急激に減少する。酸性酒石酸塩の減少は徐々である。

3) ブドウ酒醸酵によつてリンゴ酸は約30%, 酸性

酒石酸塩は50% 位減少する。遊離酒石酸はそのまま残る。なお、新しく揮発酸、乳酸、コハク酸等が生成される。



第1図 ブドウ成熟中の酸含量の変化

T.A.-総酸; acid-tart.-酸性酒石酸;
Ref. D.-屈折計示度

終りに本研究を行うにあたり種々御指導御鞭撻を賜つた六所文三所長と小原 巖教授に感謝する。

なお研究の1部は昭和31年4月1日、日本農芸化学大会において口演した。

文 献

1) AMERINE, M. A.: *Adv. in Food Res.*, 5, 354

(1954).

2) 楠田忠衛: 山梨大醸酵研報, No. 3 (印刷中).

3) ISHERWOOD, F. A.: *Biochem. J.*, 40, 688(1946)

4) MARVEL, C. S. & RANDS, R. D.: *J. Am. Chem. Soc.*, 72, 2642 (1950).

6) ZBINOVSKY, V. & BURRIS, R. H.: *Anal. Chem.*, 26, 208 (1954).