

ブドウ酒防腐剤に関する研究

(第3報) ビタミンK₃による再発酵防止試験

榑田忠衛, 丸山智章

(昭和33年10月25日受理)

Studies on the Preservatives of the Wine

Part 3. Controlling Re-fermentation with Vitamine K₃

By Tadae KUSHIDA and Chiaki MARUYAMA

山梨県ブドウ酒品評会出品酒の調査^{1,2)}によると、白ブドウ酒で優秀な成績をおさめるには、適度の残糖があることが有利な条件の一つである。しかし残糖のある酒は貯蔵中気温が上昇すると微生物が繁殖し再発酵を起す危険があるから、それらを防止する対策が必要である。

ブドウ酒の再発酵を防止する薬剤として、普通、亜硫酸が使用されているが、亜硫酸は特有の臭気があって、沈澱や混濁の原因となり、糖分など還元物質と結合し、または貯蔵中気散して順次効力を失なうことなどが欠点とされている^{3,4)}。

近年種々の抗生物質が発見されて、ブドウ酒酵母に対しても、Actidion, Mycosubtilin, Antimycin A, Botryticin 等きわめて少量で有効のようである⁵⁾。しかし、スイスの専門家⁶⁾のように抗生物質は特定の菌にしか作用せず、また菌の中には強い耐性を示すものもあるなどの理由で亜硫酸の代わりに、ブドウ酒に応用することには反対する意向の人もあって、まだ研究も不十分であり、実際的に余り使用されていないようである。

天然物中に存在するビタミンK (以下 V. K とする) と生理作用が同じで化学構造の類似した合成物質に V. K₁ と V. K₂ がある。これらは酵母をはじめ多くの菌の繁殖を阻害する力が大で、毒性も少ないから近年食品の防腐剤として考えられるようになった。その効力は VERONA ら ('52)⁷⁾ の人工培地による実験ではブドウ酒酵母に対して 5~500 ppm で有効であった。また、CASPAR ら ('57)^{8,9)} の加糖ブドウ酒を室温に放置した実験では、V. K₂ を 8 ppm 添加して 30 日間再発酵を防止することが出来た。同氏は別の条件で、リンゴ酒を用いて V. K₂ の産膜と揮発酸生成防止力を亜硫酸の効力と比較検討している。わが国でも各種食品に対する V. K₁ や V. K₂ の防腐力についての研究がかなり報告されている。最近加賀美ら ('58)¹⁰⁾ はブドウ果汁の防黴試験を行ない、果汁を 80°C まで加熱して直ちに冷却しただけでは殺菌効果は不十分であるが 5~15 ppm の V. K₂ 添加によって防黴効果をあらわす場合のあること、しかし安全のためには 20~50 ppm 以上の添加が必要であることを報告している。

著者ら^{11,12)}は以前にブドウ酒の防腐剤として数種の薬剤の効力試験を行なつて、V. K₃が他のものに比較して防腐力が高く、50~100 ppm で完全にブドウ酒から分離されたいろいろの菌の繁殖を防止することを報告した。その後これらの防腐剤がブドウ酒の品質に及ぼす影響を試験して、V. K₃は特有の刺戟臭味を有するから、50~100 ppm の如く多量は使用できないこと、香味を害さないためには20 ppm 以下の使用に止めることが必要であることなどを報告した¹²⁾。

これまでの防腐力の試験では純粹培養の菌を比較的多く添加して行なつたため高濃度のV. K₃を加えることが必要であったが、製品ブドウ酒中には菌は比較的少ないものであるから、実際的には薬剤の使用量を減してもかなり、長期間防腐の効果をあげることができるものと想像される。この点を確かめるため、CASPER ら ('56, '57)^{8,9)}のV. K₃の試験を参考にして、V. K₃の場合の再発酵防止力を試験したのでここに報告する。

実験の部

1. 供試ブドウ酒及び防腐剤

原料ブドウ酒は当研究室で昭和32年度に、市販グルコースを補糖して仕込んだ甲州種の生ブドウ酒である。このブドウ酒は仕込後3ヶ月経過し自然によく清澄したものであるが残糖分が少ないので下記のように蔗糖を添加して使用した。原料ブドウ酒の一般分析結果は次に示す通りである。

比 重 (Specific gravity)	15°/15°	0.9976
酒 精 (Alcohol)	vol. %	11.74
糖 分 (Total sugars as glucose)	g/l	6.94
総 酸 (Total acids as tartaric)	"	7.82
揮 発 酸 (Volatile acids as acetic)	"	0.33

V. K₃は武田薬品K. K. の《カビノン》を極少量の局方アルコールに溶解して使用した。

2. 試験方法

1) 蔗糖を10%添加したブドウ酒をあらかじめ綿栓、殺菌した300 mlの三角フラスコに分注し、V. K₃を0; 4; 8; 16; ……; 128 ppm (記号No. 0~6)と量を変えて2個ずつ添加し、綿栓をして恒温室に放置し、10日おきに全糖分を測定した。

2) 蔗糖を3%添加したブドウ酒を蓋なし300 mlの三角フラスコに分注し、前記の如くV. K₃を添加して恒温器に入れ、時々外へ持ち出して振盪し、外気に接触させた。本試料は揮発酸、色調、pHの測定を行なつた。

上記の1), 2)共に恒温器の温度は、気温の上昇に従つて、初めの1カ月は20°C、続いて50日間は25°C、以後は30°Cに調節した。またV. K₃の試験と平行してメタカリ(K₂S₂O₅)をSO₂として100及び200 ppm (記号No. 7~8)加えたもので亜硫酸の効力を比較した。

3. 分析方法

1) **全糖** 試料をN/5HClで処理した後、NaOH溶液で中和後、Bertrand 逸見変法¹³⁾により転化糖としてあらわした。分析は10日おきに、各々2個の試料について行ない、

その平均値を出した。

2) 揮発酸 2カ月おきに試料 25 ml づゝをとり常法の如く、水蒸気蒸溜によつた。

3) pH ガラス電極 pH 計により、1カ月後と5カ月後に測定した。

4) 色調 島津分光光度計 (OB-50型) により液層 1 cm のセルを用い 400~600 $m\mu$ 間の吸光係数を 50 $m\mu$ おきに、1カ月後と5カ月後に測定した。

実験結果及び考察

1. ブドウ酒の糖分の変化から見た V. K₃ の再発酵防止力

蔗糖を 10% 添加したブドウ酒の糖分変化は Fig. 1 に示す通りである。20°C の状態で 1カ月間、どの区分の酒も自然濃縮による糖分の増加は見られたが、酵母などの繁殖は認められなかった。25°C に温度を上げると試料中の酵母の動きが活発となり、最初から数えて 40 日目に防腐剤無添加のもの (No. 0) は糖分が減少し始めた。同様に SO₂ を 100; 200 ppm 添加したもの (No. 7; 8) もわずかに減少したが、V. K₃ 添加のものは変化しなかった。50 日目には No. 0; No. 7; No. 1; No. 8 の順に前者ほど糖分減少が著しく、また No. 2 もわずかに糖分が減少し始めた。しかし V. K₃ を 16 ppm 以上添加した区分 (No. 3~6) は 25°C の状態ばかりでなく 30°C に温度を上げてからも糖分の減少は認められなかった。

亜硫酸と V. K₃ を比較すると、V. K₃ 4 ppm (No. 1) は SO₂ 100 ppm (No. 7) に、V. K₃ 8 ppm (No. 2) は SO₂ 200 ppm (No. 8) に相当するが、V. K₃ の方が幾分優れていることが解った。

2. 開栓したブドウ酒の変化から見た V. K₃ の防腐効力

1) 揮発酸及び pH の変化と産膜形成の有無 蔗糖を 3% 添加し、開栓のまま放置した試料の揮発酸、pH の変化及び産膜状況は TABLE I に示す通りである。2カ月後揮発酸は対照区 (No. 0) がやや増加し、4カ月後は対照区 (No. 0) の他、No. 1; No. 2 も増加した。6カ月後では No. 3 も少し増加し始めた。pH は1カ月後にどの区分も差がなかったが、5カ月後には揮発酸の増加したものは pH が低下した。揮発酸の増加と pH の

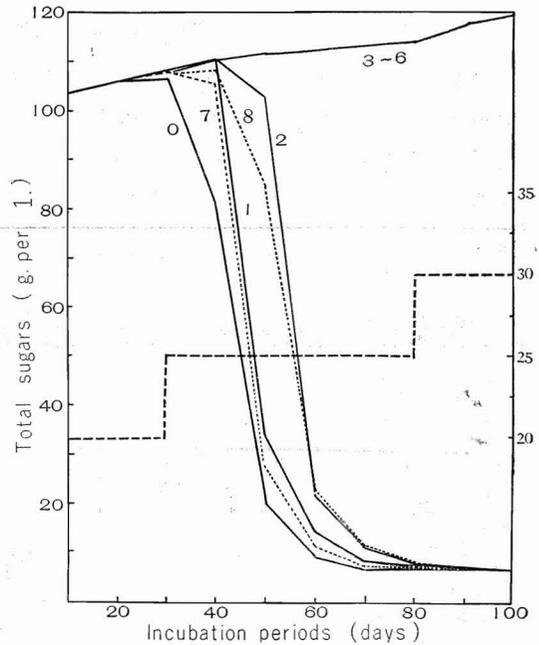


Fig. 1. Changes of Total Sugars in the Sugared (10%) Wines. For Wine No. see TABLE I. -----: Room temperature (°C).

TABLE I The Volatile acid (V. A.), pH value and a Macroscopic Observation of the Microbial Growth in the Sugared (3%) Wines

Wine No.	Preservative	V. A. as acetic acid			pH value		Pellicle after days	
		days of storage			days of storage			
		60	120	180	30	150	150	
		<i>fpm</i>		<i>g/l</i>				
0	Control	0.38	0.53	0.78	3.09	2.99	+	
1	V. K ₂	4	0.33	0.53	0.75	3.12	2.92	+
2		8	0.34	0.52	0.70	3.10	3.00	+
3		16	0.33	0.33	0.39	3.10	3.09	±*
4		32	0.33	0.34	0.33	3.11	3.10	-
5		64	0.33	0.33	0.33	3.11	3.09	-
6		128	0.32	0.33	0.32	3.09	3.09	-
7	SO ₂	100	-	-	-	3.10	3.02	+
8		200	-	-	-	-	3.10	3.00

* One sample formed the film and the others did not.

2) 色調の変化 色調は1ヵ月後と5ヵ月後の2回測定した。(Fig. 2)

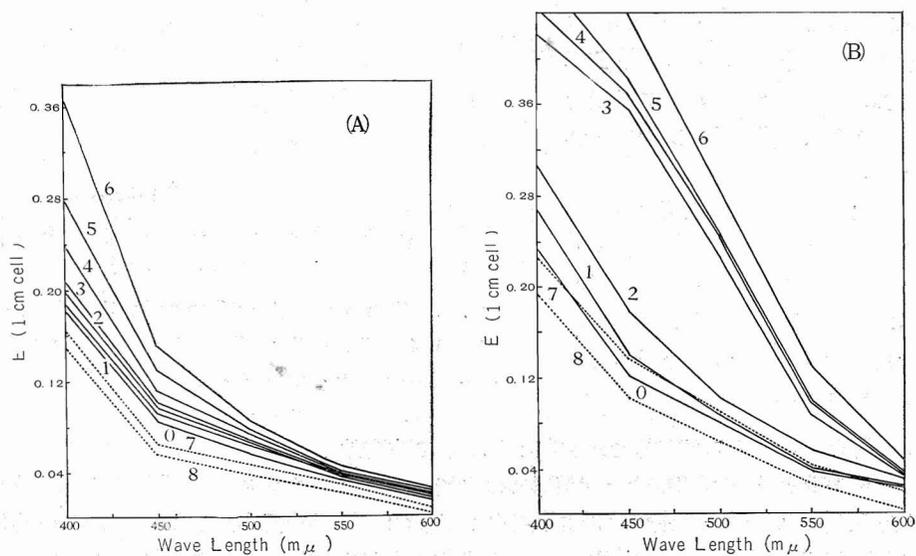


Fig. 2. Extinction Coefficient of the Sugared (3%) Wines after Storage for One Month (A) and five Months (B). For Wine No. see TABLE I.

低下は産膜酵母類が発生した為である。

本実験の如く、開栓状態では、産膜防止のためには V. K₃ 16 ppm では不足のようである。なお SO₂ は 100 ppm 及び 200 ppm とともに産膜し、pH が低下した。

1 カ月後は対照区に比較して V. K₃ を添加したものは暗色化の状態になり、その度合は V. K₃ 量が増すに従って著しくなり、亜硫酸は V. K₃ とは全く逆に褪色の状態となった。特にこれらの変化は短波長において顕著である。また No. 1 と No. 7 または No. 2 と No. 8 とを比較すると V. K₃ の暗色化する量は SO₂ 漂白する量より少ないことが認められる。

5 カ月後のものは 1 カ月後に比較して全般的に暗色化を示している。色調増加の割合は 450~500m μ の波長で最大で、黄色及び橙色系統の色を特に増加する。No. 0~2 及び No. 7~8 は産膜し、その為に比較的増色しなかったが、V. K₃ が多くて産膜しなかったもの (No. 3~6) は、本実験のように高温貯蔵した上に開栓のまま放置すると著しく色調を増加することが認められた。

TABLE I 色調の増加 Rate of Color Increase of the Wines

Wave length <i>m</i> μ	Wine No.								
	0	1	2	3	4	5	6	7	8
	<i>E.</i> after 5 months/ <i>E.</i> after 1 month								
400	1.28	1.42	1.49	1.99	1.85	1.71	1.63	1.36	1.27
450	1.48	1.54	1.87	3.54	3.29	2.98	2.89	2.18	1.86
500	1.48	1.40	1.67	3.31	3.32	3.17	3.34	1.95	1.72
550	1.19	1.15	1.65	2.36	2.59	2.58	2.93	1.46	1.30
600	1.77	1.41	1.82	1.78	1.95	1.68	1.95	1.19	1.30

E., Extinction coefficient of the wines.

CASPAR らは含糖ブドウ酒の V. K₃ による再発酵防止試験で、酒精分の増加を測定して V. K₃ の効力を判定したが、著者らは糖分の減少を測定して V. K₃ の効力を判定した。CASPAR らは試料を室温に置いて試験して、V. K₃ 8 ppm が 30 日間再発酵を防止し、その効力は SO₂ の 150 ppm に相当する結果を得た。著者らは初め 20°C で 30 日実験したが、薬剤無添加のものをはじめ、すべての区分に糖分の減少を認めなかった。従ってその後 25°C で 50 日、さらに引続いて 30°C で実験した。その結果は上述のように、V. K₃ 16ppm 以上は有効に働き、SO₂ 200ppm では大体 V. K₃ 8ppm に相当して無効であった。

また CASPAR らはリンゴ酒 (酒精 11.7°) を瓶に入れスクリュー栓をゆるめて室温に放置した結果、V. K₃ は 80 ppm で 30 日、100 ppm で 90 日、200 ppm では 120 日、SO₂ は 100 ppm で 2 日、200 ppm で 4 日、300 ppm で 120 日間揮発酸の生成を防止すること、産膜は V. K₃ 添加のものには生えず、無添加と SO₂ 100 ppm のものには 135 日で発生し

たことを認めた。しかし著者らは開栓したブドウ酒の実験で (TABLE II) V. K₃ は No. 1 ~ 2 で 60 日, No. 3 で 120 日, No. 4 で 180 日間産膜及び酢酸生成を防止することを認めた。CASPER らの場合は初めから酢酸菌が繁殖し、あとになって産膜酵母が発生したようであるが、著者らの場合は酢酸菌が生えず、産膜酵母だけが繁殖してきた。このように種々の条件の相違によって繁殖しやすい菌の種類が異り、両者間に著しい結果の相違をきたしたものと思われる。

著者らはさきに¹⁾, V. K₃ はブドウ酒の酵母類に対して 100 ppm, 細菌類には 50 ppm で完全に繁殖を阻止すると判定したが、今回の実験によって、自然に清澄されたブドウ酒の如く微生物の混入の少ない場合には、V. K₃ 8~16 ppm の添加によってかなり長期間防腐の効果をあらわすことを確認した。

結 論

前報で V. K₃ が他の防腐剤に比較して効力が大きく、50~100 ppm で菌の繁殖を完全に防止するが、V. K₃ は特異の刺戟味があるためブドウ酒にはこの量を使用できないこと、香味を害さない量は 20 ppm 以下であることなどを報告した。

今回は V. K₃ を実際的に利用することを考え、自然に清澄された白ブドウ酒 (新酒) に蔗糖を添加し、V. K₃ を種々の濃度に加えて、20~30°C に置き、微生物によっておこるブドウ酒の成分変化を調べて、V. K₃ の効力を亜硫酸と比較して判定した。

蔗糖を 10% 加えて綿栓して放置したブドウ酒の糖分の変化を測定し、No. 1 (V. K₃ 4 ppm) は No. 7 (SO₂ 100 ppm) より効力が強く、30~40 日間は再発酵が認められなかった。No. 2 (V. K₃ 8 ppm) は No. 8 (SO₂ 200 ppm) より効力が強く、40~50 日間、また No. 3 (V. K₃ 16 ppm) では実験期間 (100 日) を通じて再発酵を防止した。

蔗糖を 3% 添加して開栓のまま放置したブドウ酒の場合、No. 1~2 (V. K₃ 4~8 ppm) では 60 日, No. 3 (V. K₃ 16 ppm) では 120 日, No. 4 (V. K₃ 32 ppm) では全期間 (180 日) 産膜酵母の生成を防止し、また揮発酸を増加しなかった。

ブドウ酒の色調は V. K₃ を添加すると、亜硫酸とは全く逆に、添加量が増すに従って波長 400 m μ 附近で吸収が増し、ブドウ酒を貯蔵すると、さらに色調が増加し、その増加の割合は波長 450~500 m μ 附近で著しいようである。

終りに臨み御高教を賜った小原巖教授に感謝する。

文 献

- 1) 葡萄酒技術研究会：第 2 回山梨県ブドウ酒品評会出品酒の酒質調査，醸協，51, 780 (1956)
- 2) 葡萄酒技術研究会：第 3 回山梨県ブドウ酒品評会出品酒の酒質調査，醸協，52, 799 (1957)
- 3) AMERINE, M. A. and M. A. JOSLYN: *Table wines*. Univ. of California, Berk. (1951)

- 4) CRUESS, W. V. : *The principles and practices of wine-making*. 2nd. Ed. Avi Publ. Co., New York (1947)
- 5) KIELHÖFER, E. : The Effect of antibiotic substances upon fermentation of the wine (transl.). *Am J. Enology*, **5**, 13 (1954) ; *Wein u. Rebe*, **89**, 35 (1953)
- 6) LUTHI, H. : Antibiotische Stoffe für die Weinbehandlung ? *Schw. Z. Obst u. Weinbau*, **66**, 138 ; 157 (1957)
- 7) VERONA, O. : Action of vitamin K₃ and K₅ on yeasts, particularly on wine yeast (transl.). *Acad. Italiana Vino*, Siene, Atti, **4**, 345 (1952)
- 8) ATHANASSIADIS, C. M., J. N. CASPER and H. Y. YANG : Controlling secondary fermentation in wine with vitamin K₅. *Wines & Vines*, **37**, 11 (1956)
- 9) CASPAR, J. N. and H. Y. YANG : Vitamin K₅ as a preservative for wine. *Food Technol.*, **11**, 536 (1957)
- 10) 加賀美久, 酒井和三郎 : 葡萄果汁の防黴試験について, 山梨県醸造研究所, 試験研究報告, p. 38 (1958)
- 11) 榊田忠衛, 滝千代子 : ブドウ酒防腐剤に関する研究, 醸協, **50**, 530 (1955)
- 12) 榊田忠衛, 丸山智章 : ブドウ酒防腐剤に関する研究 (第2報) 農産技研誌, **6**, 1 (1959)
- 13) 逸見文雄, 友枝幹夫 : 還元糖定量に用いる計算表について, 農化, **19**, 381 (1943)