

ハチミツを用いた酒類に関する研究

(第2報) ハチミツ酒製造のための基礎試験

中山大樹, 小池弘子, 櫛田忠衛

(昭和36年9月30日受理)

Studies on the Application of Honey to Alcoholic Beverages

Part 2. The Preliminary Experiments on the Mead Production

By Ooki NAKAYAMA, Hiroko KOIKE and Tadae KUSHIDA

Basal conditions for mead-fermentation of different honey (Lotus, rape, horse-chestnut, and refined) in comparison with a mash of cane sugar and glucose were studied in small scale.

The conclusions are summarized as follows.

(1) Wine yeasts especially OC-2 were favoured for the fermentation of honey mash containing less than 25 per cent of fermentable sugars. Osmophilic yeasts in a natural honey were desirable for the fermentation of more concentrated conditions. (2) Supplementary nitrogenous compounds and phosphates were recommended for the fermentation. (3) Subsidiary nutrients such as Koji extract or yeast extract were also recommended, in the case of small inoculation. (4) Heavy inoculation such as 700 million cells per ml. of mash was favourable for a rapid fermentation. (5) Sterilization by autoclaving was undesirable for the fermentation. (6) Different kinds of honey gave somewhat different results in the experiments, but all mashes of honey were more easily fermented than that of cane-sugar or glucose, and more slowly than a grape juice used.

ハチミツ (以下単にミツとする) 酒は, 極めて起源の古い酒であって, HøJRUP ('57)⁷⁾によれば青銅器時代に, 既に醸造されていた形跡があるという。また昔の北欧では, めでたい集まりには必ずハチミツ酒が使われ, デンマークのクリスチャン III 世 (1548) は, 66 トンのミツ酒を発注したと伝えられている。

その後, 農業および醸造技術の進歩に伴って, 果実酒や穀物酒が恒常的に多量生産されるようになり, ミツ酒は産業的に殆んど無視されたまま今日に至っている。しかるに, 最近になって, 未開人のいろいろな酒が注目を浴びるようになり, また, いわゆるローヤルゼリー等と共に, ミツに対する関心も大きくなって来た。このような訳で, ミツ酒も再検

討を受ける時期にきたものといふことができよう。

ミツは 70% 前後が転化糖であつて、特に激しい成分は含まれず pHは 3~4 程度なので、うすめて放置すれば、一応、間違いなく酒になる。例えば GÖTTLER ('58)⁹⁾、によれば、ミツを倍以上にうすめ、要すればリン酸アンモニウムや麦芽を加えて醸酵させればよいことになっている。それだけに、ミツ酒の場合は、他の酒のように製造方法が定式化されて居らず、本格的な研究は殆んど皆無である。

そのため、今回はミツ酒製造のための基礎試験として、本邦産の典型的なミツ 4 種を用い、主として試験管試験により、仕込濃度の検討、酵母の選択、添加物の検討等を行なつた。

実 験 の 部

1. 供 試 ミ ツ

本邦産のミツの中で最も産額の大きい 4 種、即ちレンゲ、ナタネ、トチおよび精製ミツを用いた。これらの特徴および分析結果は、前報⁹⁾のとおりである。なお必要に応じ、対照として白砂糖および結晶ブドウ糖を用いた。

2. 残糖分測定方法

ミツは糖分以外は、水溶液の屈折率に大きい影響を与える物質を殆んど含まず、また真正酵母は通常の条件の下では糖分からアルコールと炭酸ガス以外の物質を殆んど生産しないと思われ、しかも、醸酵が正常に行なわれた場合、消費糖の約半分が略々定量的にアルコールになると思われる。

従つて稀釈したミツ液を醸酵させる場合、屈折計を用いることによって、醸酵のおよその進行具合がわかる筈である。事柄を簡単にするため、糖の水溶液の屈折率は糖の%に、アルコールの水溶液の屈折率はアルコールの重量%に正比例し、糖およびアルコールの混合溶液の屈折率では、糖およびアルコールにもとづく屈折率が相加的にあらわれるものと仮定し、しかも炭酸ガスの発生による重量の変化を無視すれば、次の関係式が成立する事になる。

最初の糖濃度： $S_0\%$ 、測定時の糖濃度： $S\%$ 、測定時のアルコール濃度： $A\%$ 、携帯屈折計（糖度計）の読み： R 、アルコールと糖の屈折率の比： α
とすれば、

$$R = S + \alpha A \dots\dots(1) \quad A = \frac{S_0 - S}{2} \dots\dots(2)$$

(1)に(2)を代入すれば、
$$R = S + \frac{\alpha}{2}(S_0 - S)$$

S について整理すれば、
$$S = (2R - \alpha S_0) / (2 - \alpha) \dots\dots(3)$$

α は約 0.4 であるが、(3)式を導く迄に多くの大胆な仮定を用いているので、そのままでは、事実によく適合しない。無水ブドウ糖とアルコールと蒸留水を用いてモデル実験をして $\alpha=0.5$ とすると、かなり広い範囲にわたつて実験値に近い結果を得ることがわかつた。(3)式に $\alpha=0.5$ を代入すると、次の式を得る。

$$S = 1.3R + 0.3S_0 \dots\dots(4)$$

従つて以後、残糖分は(4)式にもとづいて算出することとした。

3. 仕込濃度と酵母の検討

ヨーロッパで作られているぶつうのミツ酒は、ミツを3~4倍にうすめて醗酵させたものであるが、ミツの場合は、果実酒や穀物酒と異なり、技術的にはいくらかでも高濃度で仕込むことができる。非常な高濃度で仕込んだ場合、長時日かかって高酒精度の酒になるのか、或程度のところで醗酵が停止するのか、また醗酵速度と仕込濃度の関係はどうか、ミツ酒の発酵にはブドウ酒酵母が適しているのか、或はミツ中の野生酵母の中に、よいものが存在しているか、このような点の見当をつけるために本実験を行なった。

a **醗酵容器** 直径18mmの試験管に、固く綿栓を施し、乾熱滅菌して用いた。

b **ミツ液** STITZ & KOMINOS ('60)¹⁵⁾ は、多くのミツをしらべた結果、時にインヒピンと呼ばれる抗生物質を含むことがあり、この成分は別可能であると報じている。また SCHULER & VOGEL ('56)¹⁶⁾ は或種のミツ中に、微生物に対する生育促進物質が存在することを報じている。このように純粋な天然ミツの中には、特殊な成分が高濃度に含まれている可能性がありミツ一般を代表するものとしては不適当であると思われる。従って本実験のためには精製ミツを用いることとした。

精製ミツに水を加えて、屈折計による糖濃度約 60, 50, 45, 35, 25, 20, 10% の液を作り、リン酸水素アンモニウムを0.1%の割合とこし、濃いクエン酸液とか性ソーダ液で、pHを5に合わせ、試験管に15mlずつ分注し、オートクレーブを用いて、108°C, 10分間加熱殺菌して用いた。醗酵は1960年12月6日に開始した。

c **種酵母** Blg. 14°の麴汁と、精製ミツの10%水溶液を等量ずつ混ぜ、リン酸水素アンモニウムを0.1%添加し、試験管に5mlずつ分注してオートクレーブを用いて殺菌し、次に示す12株の酵母を接種して30°Cに2日間培養したものを用いた。

接種には乾熱滅菌した駒込ビペットを用い、ミツ液15ml当り種培養をよく振り混ぜたもの0.5mlを加えた。即ち33%の接種量となる。

酵母としてはブドウ酒醸造用に広く使われているOC-2のほか当研究所でブドウ酒用として保存している7株(TABLE I)のほかレンゲ、ナタネ、トチおよび精製ミツの上層部を用いた。加熱殺菌しないミツを室温に放置すると、わずかながら表面に泡を生じ、この部分を鏡検すると多くの場合、野生酵母が見出されるものである。今回も種酵母用培地にミツを接種して30°Cに培養すると、2日後には盛んに発泡し、かなりの量の酵母の沈澱を生じた。

d **試験法** 酵母を接種した試験管は試験管立てに立てて20°Cの室で静置培養した。第2日と第4日目に肉眼で醗酵状況をしらべ、第17日、第60日および高濃度仕込のものは第250日目に屈折計を用いて残糖分をしらべた。計算法は前述のとおりである。

屈折計でしらべる為の試料は、先端をコイル状にした白金線を用いて無菌的に採取し、1回毎に白金線を流水で洗い、火炎殺菌した。

e **実験結果** TABLE I に示す通りで、それから次のことが結論される。

1) 60% 近い高濃度仕込みでも、或程度醗酵がおこなわれる。しかし250日後でも40% 或はそれ以上の糖が残る。ブドウ酒酵母は、このような高濃度仕込みには適さず、トチおよび精製ミツの中の野生酵母の混合接種の方がむしろ糖をよく消費した。

2) 50% 程度の高濃度仕込みの場合も、同様のことがいえる。ところがW-218, 精製ミツの中の野生酵母などは250日後には残糖分が10% 前後になるまで醗酵を行なうので、特殊なタイプのミツ酒には使える可能性がある。

3) 40% 前後の濃度の仕込みも可能で、この場合はブドウ酒酵母を使うことができる。

4) 25% 以下の場合は、通常の果実酒の場合と似た経過をたどる。但し恐らく栄養源の関係で、醗酵速度はおそい。

5) 特に高濃度の仕込みの場合をのぞき、種酵母としては OC-2 を用いて差支えないようである。

TABLE Ia

精製ミツ液の仕込濃度別、酵母別醗酵状態

*Features of the Fermentation with Different Strains of Yeast
in various Concentration of a Refined Honey Mash*

仕込濃度	状態	酵母 Starter												
Sugar Feature*	OC-2	W-3	W-46	W-198	W-207	W-210	W-218	W-219	X-1	X-2	X-3	X-4		
%	day													
57.4	B	2	-	±	-	-	±	±	-	-	-	-	-	
		4	±	+	+	±	±	±	±	+	±	+	+	
	P	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	K	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	T	2	-	±	-	±	±	±	±	±	±	+	+	
		4	-	±	-	±	+	±	-	±	±	-	±	
	51.0	B	2	±	±	-	-	±	±	±	±	±	-	±
			4	+	+	+	±	+	±	±	±	+	-	+
		P	2	-	-	+	-	±	±	-	-	+	-	-
			4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
K		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
T		2	±	±	-	±	±	±	-	±	+	±	±	
		4	±	±	-	+	±	-	±	+	-	±	±	
43.9		B	2	±	+	±	+	±	±	±	±	-	±	-
			4	+	+	±	±	+	+	-	±	±	+	±
		P	2	-	-	±	-	+	±	±	±	+	±	+
			4	-	-	-	-	-	±	-	-	-	+	+
	K	2	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	T	2	±	±	±	±	±	±	±	±	+	±	+	
		4	+	+	±	±	+	+	-	±	±	+	±	
	35.8	B	2	±	±	-	±	+	±	+	±	±	-	±
			4	±	±	+	±	±	±	±	±	±	+	±
		P	2	-	-	±	-	+	+	+	+	+	±	+
			4	-	-	-	-	±	-	+	+	+	+	+
K		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
T		2	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	+	
		4	-	±	±	-	±	-	±	±	+	+	±	

24.0	B	2	+	+	-	+	+	±	-	+	-	-	-		
		4	+	±	+	±	+	+	±	±	+	+	+	+	
	P	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
		4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	K	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	T	2	±	+	+	±	+	+	+	±	+	±	±	+	
		4	+	±	+	±	+	+	±	±	+	+	+	+	
	19.8	B	2	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	
			4	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	±	+
		P	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
			4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
K		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
T		2	±	±	±	+	+	+	±	+	+	±	±	+	
		4	+	±	±	+	±	±	+	+	+	+	+	+	
10.0		B	2	+	+	±	±	+	±	±	-	+	-	+	
			4	+	+	+	±	±	+	+	±	±	±	±	
		P	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
			4	+	+	+	±	±	+	+	±	±	±	±	±
	K	2	-	±	+	±	+	+	+	±	±	±	±	±	
		4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	T	2	±	±	+	±	+	+	+	±	+	±	±	±	
		4	±	±	±	-	+	+	+	+	±	±	±	±	

*B, Bubbling or foaming ; P, Precipitation of lees ; K, Pellicle ; T, Turbidity ;
 -, Signifies absent ; ±, signifies obscure ; +, signifies present ; +, ##, signifies
 abundant.

TABLE Ib
 精製ミツ液の仕込濃度別, 酵母別残糖量
*Residual Sugars with Different Strains of Yeast in Various
 Concentration of a Refined Honey Mash*

酵母	発酵日数	残糖分 Residual sugar conc. in the mash						
		仕込濃度別 Initial sugar conc. (%)						
Yeast*	Days after start	57.4	51.0	43.9	35.8	24.0	19.8	10.0
OC-2	17	52.0	46.2	37.2	31.1	16.4	10.0	7.0
	60	51.4	44.4	27.4	11.7	2.9	0.5	0.9
	250	46.0	37.0	5.2	1.0	0.6	-	-
W-3	17	50.7	44.6	36.0	31.6	20.6	14.8	8.0
	60	51.1	41.2	25.0	18.9	10.4	3.1	4.5
	250	35.2	35.2	4.3	2.2	0.2	-	-
W-46	17	51.8	46.8	37.2	33.2	20.0	12.4	5.0
	60	50.5	45.7	27.6	17.5	2.9	0.8	0.6
	250	42.0	40.7	5.0	3.2	1.8	-	-

W-198	17	51.6	46.0	36.0	32.8	19.0	11.0	4.6
	60	50.8	43.1	27.4	23.3	3.2	1.5	0.8
	250	44.5	36.2	4.9	1.6	0.9	—	—
W-207	17	51.4	45.6	37.1	33.8	19.1	12.7	6.7
	60	50.9	45.7	26.6	17.9	2.7	0.5	0.7
	250	38.0	39.0	4.8	3.4	1.9	—	—
W-210	17	50.8	46.0	37.3	32.6	20.3	14.2	5.9
	60	50.7	45.9	27.1	18.4	4.1	2.8	0.8
	250	44.8	39.7	6.5	5.6	1.6	—	—
W-218	17	51.0	46.3	36.2	31.0	18.2	15.0	7.1
	60	51.0	40.5	24.0	13.5	2.9	1.8	1.3
	250	41.0	13.0	4.0	1.9	0.1	—	—
W-219	17	51.0	46.4	37.0	32.1	20.0	16.4	8.3
	60	51.0	42.5	29.9	21.8	7.2	8.3	0.9
	250	40.4	22.6	5.8	3.3	0.4	—	—
X-1	17	51.4	44.6	38.3	33.6	23.4	17.6	10.4
	60	49.8	39.9	33.5	28.6	6.3	10.9	3.5
	250	39.7	18.5	11.0	6.0	1.1	—	—
X-2	17	50.1	46.5	37.4	33.5	20.8	15.0	7.9
	60	47.6	41.5	30.2	27.0	5.5	1.8	0.6
	250	36.9	15.3	5.0	3.0	0.6	—	—
X-3	17	50.5	64.0	37.0	32.9	22.0	17.0	7.2
	60	47.9	41.8	28.2	24.4	11.5	6.5	0.5
	250	30.7	20.7	7.0	5.0	3.6	—	—
X-4	17	51.3	46.7	35.8	32.1	19.7	13.3	6.8
	60	47.1	40.5	21.4	43.1	2.1	0.8	0.6
	250	32.8	7.3	1.0	1.2	0.0	—	—

* OC-2, A well known strain of wine yeast in Japan; W, Stock cultures of wine yeast in R. I. F. Y. ; X-1, X-2, X-3, X-4, Mixed culture of yeasts obtained from lotus, rape, horse-chestnut, and refined honey respectively.

4. アンモニウム塩添加の影響

ミツの中には、かなり多量の窒素を含むものがあるが、その大部分は、混在する花粉粒にもとづくものであることが多く、酵母によって直ちに利用される窒素分を化学分析によって推定することは困難である。従ってミツ酒醸酒に当って添加すべき窒素量は、各種のミツについて、実験的に直接測定せざるを得ない。

a 実験方法 4種類のミツおよび対照として白砂糖、ブドウ糖のそれぞれ糖濃度 0.1% の溶液を作り、リン酸水素カリウムを 0.1% の割に加え、砂糖、ブドウ糖および精製ミツを用いたものは、クエン酸で pH を 5.0 に調節した。また精製ミツのみは 25% のほか糖濃度 20% および 40% のものも作った。糖濃度の測定は屈折計によった。

この液 15ml ずつに、塩化アンモニウムを N/100, N/60, N/25 N/10 ずつの割に加え、それぞれ綿栓し、乾熱滅菌した試験管に分注しオートクレーブを用いて 108°C に 10 分間加熱殺菌し OC-2 の培養物を 0.5ml ずつ無菌的に加え 20°C で培養した。種酵母の培養条件、残糖分の測定方法等

は、濃度別試験に準じた。醗酵は 1960 年 12 月 25 日開始した。

b 実験結果 TABLE II に示す通りで、これから、次のことがわかる。

1) ミツは、砂糖やブドウ糖と異なり、稀釈してリン酸水素カリウムを加え、酵母を接種しただけで、かなりの程度、醗酵が進む。しかし、これでは醗酵速度は極めておそい。中ではナタネ (B) が早い。

2) 塩化アンモニウムを $N/10$ 加えたのでは多過ぎて醗酵が抑制される。一般に $N/100$ - $N/25$ 程度がよく、すべてを通じて安全な量は $N/50$ 程度のものである。

TABLE II
ハチミツの種類別窒素源添加試験
Effect of Supplementary Nitrogen
(NH_4Cl) on the Fermentation of the Honey Mash

区 分 Mash	仕込濃度 density ^{a)}	残糖分 $NH_4Cl : 0$	Residual sugar conc. (%)					
			$N/100$	$N/50$	$N/25$	$N/10$		
A. レンゲ Lotus	25	%	after 43 days	14.6	13.3	10.7	10.9	19.5
			after 250 days	6.0	0.8	0.4	0.3	0.0
B. ナタネ Rape	25	%	after 43 days	6.8	3.0	2.9	5.5	1.8
			after 250 days	1.8	0.1	0.1	0.2	0.0
C. トチ Horse chesnut	25	%	after 43 days	11.6	16.8	11.6	14.6	14.1
			after 250 days	0.1	6.9	1.1	3.0	4.0
D. 精製 Refiend	25	%	after 43 days	20.3	2.9	3.2	3.4	4.6
			after 250 days	2.0	0.6	0.5	0.9	1.3
E. ブドウ糖 Glucose ^り	25	%	after 43 days	23.7	22.4	22.4	22.9	25.3
			after 250 days	18.0	17.0	17.8	17.6	16.8
F. ショ糖 Cane sugar ^り	25	%	after 43 days	22.8	16.2	17.2	18.6	19.6
			after 250 days	13.6	11.0	8.0	4.8	16.4
G. 精製 Refined	40	%	after 43 days	27.7	27.0	25.7	25.7	28.6
			after 250 days	25.2	2.4	3.0	3.0	5.1
H. 精製 Refined	20	%	after 43 days	16.1	2.1	2.3	2.0	3.4
			after 250 days	1.0	0.1	0.2	0.1	1.0

a) Calculate the normality of the mashes which contained 0.1 per cent of KH_2PO_4 , b) Commercial grades were used for controls.

5. リン酸塩添加の影響

ミツに含まれるリン酸塩も、窒素化合物と同じく混在する花粉粒にもとづく部分があるので、醸造の際、添加すべきリン酸塩量は、実験によって決めねばならない。そのためアンモニウム塩添加の影響のところで用いた方法に準じ、リン酸水素カリウムと塩化アンモニウムの位置を入れかえた実験を行なった。

その結果 (TABLE III) から、次のことがわかる。

1) ミツは砂糖やブドウ糖と異なり、稀釈して塩化アンモニウムを加え、酵母を接種しただけでかなりの程度、醗酵が進む。しかし、これでは醗酵速度は極めておそい。中でもトチ (C) がおそい。

2) リン酸水素カリウムは $N/100$ では少なすぎ $N/10$ では多すぎ $N/50$ 乃至 $N/100$ ぐらいが適量のようなのである。

TABLE III

ハチミツの種類別窒素源添加試験

*Effects of Supplementary Phosphate (KH_2PO_4) on
the Fermentation of the Honey Mash*

区 分 Mash	仕込濃度 Density a)	残 糖 分 Residual sugar conc. (%)										
			after 43 days						after 250 days			
			KH_2PO_4 : 0	$N/100$	$N/50$	$N/25$	$N/10$	0	$N/100$	$N/50$	$N/25$	$N/10$
A. Lotus	25	%	17.2	7.2	0.3	2.4	5.5	6.0	0.0	0.0	0.0	0.9
B. Rape	25		15.9	19.5	1.9	2.9	3.9	4.6	3.9	0.1	0.2	1.0
C. Horse Chesnut	25		23.9	6.4	6.0	2.3	8.1	17.0	1.0	0.5	0.6	1.0
D. Refined	25		17.5	3.7	3.5	3.6	5.2	1.0	0.2	0.1	0.3	1.0
E. Glucose b)	25		23.4	21.6	21.4	21.2	18.6	17.6	9.0	7.8	5.6	3.0
F. Cane sugar b)	25		24.5	12.8	13.7	17.2	16.8	17.8	0.2	0.7	2.8	3.0
G. Refined	40		26.6	27.5	23.2	28.0	28.8	2.0	2.0	1.7	3.4	4.0
H. Refined	20		12.4	2.8	2.8	2.8	4.4	0.0	0.1	0.2	0.2	1.0

a), b) See TABLE II.

6. 醗酵促進物質の影響

TABLE II および TABLE III に明らかな通りハチミツはブドウ糖や砂糖にくらべれば、遙に醗酵しやすい。しかし果実酒や穀物酒にくらべると醗酵速度がかなり劣る。そのためヨーロッパでは麦芽汁などが発酵促進物質として利用されているようである。本来は個々のビタミンやアミノ酸などについて検討すべきであるが、今回は工業的な意味でブドウ汁、ブドウ酒醗、ブランデー蒸留残液、麴汁および麴汁醗のミツ酒に対する醗酵促進効果をしらべた。醗類としてはブドウ酒酵母 OC-2 を接種し $30^{\circ}C$ で2日間培養したものをを用いた。

方法としては、各種のミツにリン酸アンモニウムを最終量の 0.1% 、前記のものを最終量の $1/3$ 、または $1/15$ の割に加え、水を加えてミツにもとづく糖濃度を 25% としオートクレーブにより、 $108^{\circ}C$ 、10 分間加熱殺菌し OC-2 の培養液を 3% の割に接種して $20^{\circ}C$ で醗酵させ 10 日および $20^{\circ}C$ 日後、屈折計によって残糖濃度をしらべた。容器は試験管、溶液の量は試験管1本当り $15ml$ ずつとした。培養は 1961 年2月 21 日にはじめた。実験結果 (TABLE IV) から次のことがわかる。

1) これら醗酵促進物質は、いずれも或程度有効であるが、その効果は、ハチミツの種類により必ずしも一様でない。例えば、これらを $1/15$ の割に加えた場合レンゲ (A)、ナタネ (B)、トチ (C) では、ごく僅か有効であり、白砂糖 (E) やブドウ糖 (F) では殆んど無効であるが、精製ミツ (D) の場合は $1/3$ 量加えたときと大差ない程有効である。

2) 大まかな傾向として麴汁、ブドウ汁、ブランデー蒸留残液の順に有効であり、麴汁やブドウ汁は、そのものより醗にしてから殺菌したものの方が、効果が著しい。

TABLE IV

醱酵促進物質添加試験
Effects of Certain Materials on the Fermentation of the Honey
Mashes containing 25 per cent of Sugars

区分 Mash	Days after start	残糖分 Residual sugar conc. (%)										
		Cont- rols	GJ		GB		BR		KE		AB ^{a)}	
			1/3	1/15	1/3	1/15	1/3	1/15	1/3	1/15	1/3	1/15 ^{b)}
A. Lotus	10	20.4	13.2	17.8	14.0	19.8	12.2	19.6	13.8	16.4	10.0	13.6
	200	15.3	4.7	7.0	0.1	12.2	5.0	14.9	1.3	8.6	1.0	1.2
B. Rape	10	18.6	10.5	15.4	11.3	17.6	11.0	16.9	13.2	17.1	9.9	10.1
	200	5.4	0.3	3.8	0.2	1.1	1.0	1.2	1.0	4.5	0.3	0.9
C. Horse-chesnut	10	21.0	11.0	17.0	12.4	18.8	12.4	17.2	14.0	16.4	10.2	11.2
	200	9.6	0.9	9.6	0.8	9.0	6.0	12.8	2.8	0.9	1.2	1.2
D. Refined	10	19.1	8.2	10.8	10.4	10.8	8.6	9.3	8.4	10.2	10.0	10.6
	200	5.1	1.0	4.0	0.4	1.0	1.0	1.0	1.2	1.2	1.0	1.1
E. Glucose	10	24.4	21.8	23.8	17.1	23.5	18.2	22.3	16.9	23.1	10.1	15.9
	200	16.3	2.8	5.0	2.1	8.0	3.0	4.0	4.0	15.0	4.0	4.0
F. Cane sugar	10	24.3	18.6	20.6	16.4	22.0	15.3	20.2	17.2	23.2	10.8	16.7
	200	17.2	11.4	14.0	0.6	15.7	8.1	13.9	1.0	16.8	1.3	1.8

a) GJ, Grape juice of Koshu variety; GB, Grape broth, GJ was inoculated by a wine yeast OC-2, incubated for 2 days at 30° C, and autoclaved; BR, Brandy residue, GJ was fermented completely and evaporated it to 2/3 of original volume; KE, Koji extract of Bllg. 10°; KB, Koji broth of KE as mentioned in GB; b) 1/3 or 1/15 volume of the mash was substituted by each materials without reducing final concentration.

7. 酵母接種量およびミツ液加熱の影響

1~6の実験はいずれもオートクレーブで加熱滅菌したものに、少量の酵母を接種して行なった。しかし醱酵を早く安全に行なわせるには、促進物質を加えることのほかに、酵母の接種量を多くするという方法もある。また果実酒はじめ、多くの酒類は醱酵前に加熱の工程を経ないが、ミツ酒の場合は加熱するのもしないのも、工程上どちらでも可能である。従って加熱の有無が以後の醱酵にどの程度影響するかを検討しておく必要がある。

a. 実験方法 次の組成のミツ液を調製し、試験管に 15ml ずつ分注した。同じものを4本ずつ作り、2本は 120°C, 15分の条件でオートクレーブをかけ、2本はオートクレーブをかけず、直に菌を接種した。

ミツ (A, B, C, D) 屈折計による糖度として約 25%

NH₄H₂PO₄ 0.1%, 塩類液* 1%

酵母エキス 2% または 0%

*A : KH₂PO₄ 5%, K₂HPO₄ 5%

B : MgSO₄·7H₂O 3%, NaCl, FeSO₄·7H₂O, MnSO₄·5H₂O 各々 0.1%,

CuSO₄·5H₂O, ZnSO₄·5H₂O, CoCl₂·6H₂O 各々 0.01%

b. 実験結果

対照はミツの代りにブドウ糖または白砂糖を用いた。

酵母エキスは、多量の酵母接種の代りに使うことができるか否かを知るために用いた。

一方ミツの代りにブドウ糖を用い、酵母エキスを加えた培養液 1l を 500 ml 容振盪フラスコに 200 ml ずつ分注してオートクレーブで滅菌し、ブドウ酒酵母 OC-2 を接種して 30°C で 2 日間振盪培養し、冷蔵庫内で 3 時間静置したのち上澄液を流して、酵母泥を集めた。このものは 1 ml 当り 490 万の菌体密度であった。このものを同じ組成、同じ処理を施した培養液 2 本の内、1 本には 2.5 ml を 1 本には 1 白金耳を接種し 30°C で 7 日間静置培養し、3 日目および 7 日目に残糖をしらべた。

酵母泥を 2.5 ml 加えたものは培養液 1 ml 当り 7 億、1 白金耳加えたものは 150 万の酵母細胞を含んでいた。

実験結果 (TABLE V) から、次のことがわかる。

1) 酵母の接種量を 1 ml 当り 7 億程度にふやすとミツ液の醗酵、白砂糖、ブドウ糖液の醗酵、共に 1 週間以内に略々完結する。

2) オートクレーブによって加熱すると醗酵速度は低下する。この傾向は接種量の少いときの方が著しく、また白砂糖 (E) やブドウ糖液 (E) ではそれ程著しくない。

3) 2% 程度酵母エキスを加えても、接種量を増したと同じ効果は示さない。しかし、かなりの醗酵促進効果がある。この効果は接種量が少いときの方が著しいことは言う迄もないが、接種量が多いときでも、或程度の効果がある。ブドウ糖液の場合 (E)、この効果が特に著しくナタネ (B) の場合、最も目立たない。

TABLE V

接種量別ハチミツ液醗酵試験

Effects of the Size of Inocula on the Fermentation of the Honey Mash

区分	RR.*	pH	Inocula ×10 ⁶ /ml	残糖分				Residual sugar conc. (%)				
				yeast ex. 2%		yeast ex. 0%		yeast ex. 2%		yeast ex. 0%		
				heated	unheated	heated	unheated	heated	unheated	heated	unheated	
Mash			1.5	700	1.5	700	1.5	700	1.5	700	1.5	700
A. Lotus	26.0	3.6		after 3 days	20.8	9.3	19.2	10.0	24.2	14.7	22.7	13.3
				after 7 days	11.3	1.3	9.1	1.3	19.6	2.7	17.2	1.3
B. Rape	25.4	3.7		after 3 days	20.7	15.0	15.6	8.8	20.7	10.4	20.0	10.4
				after 7 days	8.2	4.2	4.3	1.9	10.3	2.5	9.3	2.0
C. Horse chesnut	25.0	3.5		after 3 days	21.0	14.0	19.6	9.0	23.0	11.0	23.0	11.0
				after 7 days	11.6	2.9	8.4	2.9	19.8	2.9	19.6	2.9
D. Refined	25.0	4.7		after 3 days	20.8	22.6	28.1	12.8	23.8	14.8	22.2	12.8
				after 7 days	24.6	3.0	18.8	4.2	14.3	2.1	3.0	1.6
E. Glucose	25.8	5.8		after 3 days	20.9	12.8	20.8	12.4	25.3	17.4	25.0	15.1
				after 7 days	13.6	0.0	13.1	0.0	24.5	5.0	21.9	3.2
F. Cane sugar	26.2	5.3		after 3 days	22.4	13.3	22.0	13.3	25.2	18.0	25.3	15.4
				after 7 days	18.1	1.2	6.3	1.0	23.3	9.8	23.2	7.7

*, Refractometer reading representing an approximate concentration of sugar.

考 察

ミツ酒についての最大の問題点はミツ酒なるものが、今後産業的に存在し得るか否かと

いうことであろう。現在殆んど顧みられていないという事実は、今後ともミツ酒が陽の目を見ないという根拠にはならない。

古代ないし中世のヨーロッパで盛んに醸造され、現在もヨーロッパの農家で小規模に作られているようなミツ酒が、そのままの形で見直されることは、今後共あるまいと思われるが、この酒の特長を生かした、新しい型の酒については、まだ、いずれとも断を下すべき材料が揃っていないといえよう。

この種の新しい可能性を掘り当てるための一連の研究の中で、今回の報告は試験管段階の実験を集めたものであるが、その中で、既にさまざまな問題が提起された。次にその一端について論じてみよう。

1. 生ブドウ酒型のミツ酒について

生ブドウ酒型のミツ酒を作るためには、20～30%の糖濃度のミツ液を醗酵させればよい。ところがミツ液の醗酵を完結させることは、果実酒の場合程は簡単でない。今回の実験によればミツをうすめて酵母を接種するだけでは、失敗する可能性が大きいことがわかる。少なくともリン酸および窒素源を $N/25$ の程度、補充してやらなければならない。更にミツの種類によっては、かなりの量の副栄養素を加える必要がある。

しかし最も確実な方法は、液中で改めて増殖させる必要がない程度の、多量の種酵母を接種してやることである。この場合は製品に酵母臭を与えるおそれがある。

一方ミツに不足している副栄養素を加えて醗酵させる研究は、香味に対する影響も考えねばならず、いずれも利き酒を伴う本格的な実験を必要とする。

ミツの欠点は、酸味その他一般に甘味以外の味が弱いことであるが、これは同時に味を自由にできることを意味し、ブドウ酒には望めない、おもしろい味の酒を作ることができるわけである。

2. 甘味ブドウ酒型のミツ酒について

ミツには本来含まれている醗酵に不可欠な副成分が少ないことを逆に利用して、醗酵を途中で止めることが、比較的たやすい。従って酒精分が少なく、しかも甘味が残り、再醗酵は、しにくい新しい型の甘味酒を作ることが原理的には可能である。

また今回の実験を通じて、可能性が考えられるようになったことは、極端な高濃度仕込みである。これには40%以上の高濃度のミツ液に通常の酵母を作用させて、殆んど糖を残し、わずかな酒精と特殊な香味を形成させる方法があり、また一方このたび精製ミツの中から発見されたような好濃性酵母を利用する方法もある。ふつうのポートワイン型のものも可能なことは言う迄もない。

3. 砂糖、ブドウ糖等の利用について

今回の実験では、対照として常に砂糖およびブドウ糖を用いて来た。ミツの醗酵によって近代的な感覚を満足させる、よい酒ができるということになれば、それは砂糖やブドウ糖を使って、このようなものを作ることができることにつながる。ミツに含まれる、砂糖やブドウ糖では代用できない成分は、わずかな量の非醗酵性糖類、有機酸、灰分、芳香成分などに過ぎないからである。

ヨーロッパでは Tee Bier その他、砂糖を主原料とした酒類が家庭で愛用されていることもあるという。歴史のあるミツ酒を突破口として、この種の人工酒類を検討してみるこ

とも必要であると思われる。酒精の原料として、砂糖やブドウ糖を使うことさえせずにアルコールを用い、香味用として少量のミツを添加することは勿論可能である。

4. 特殊添加物について

古代、中世のミツ酒は原始的な養蜂技術によるミツを用いていた筈なのでハチの子、ハチ毒、王乳、プロポリス、花粉などが多量に混入し、これらにもとづく濃厚な香味と栄養分が含まれ、そのために醗酵速度も大きかったと考えられる。今日のミツを用いて醸造した酒は淡白な酒の典型のようなものであるが、古代のミツ酒は逆に最も蛋白質に富む酒であった可能性がある。

ハチの子は直接、間接にミツと花粉だけで育てられている特殊な動物で、体は極めて柔らかく内容物は容易に外へ出る。ハチ毒は、以前は辛酸が主成分のようにいわれていたが、HABERMANN ('55),⁴⁾ NEUMANN ('56)¹²⁾ らの研究により、ポリペプチドと思われる melittin を主成分とし hyaluronidase, phospholipase A などを含む複雑な物質であることが判明し、最近では注射のみならず内服薬の成分としても試みられ、効果をあげている例がある¹⁴⁾。

王乳にビタミンやアミノ酸が多く含まれていることは古くから知られて居り、近くは HAYDAK ('61)³⁾ 小山 ('60)⁹⁾ らの研究により確められている。また BUTENANDT ('57)¹⁾ は、王乳中に、10-Hydroxy- Δ^2 -decensäure を発見し、この物質は CALLOW ら ('59)²⁾ によって更に確認され HOFFMAN ('60)⁶⁾ は、この物質がハタラキバチの体の成分としても存在するを見出している。MACK ら ('59)¹⁰⁾ の特許は、このものがミツ酒の中に容易に溶け出ることを暗示する。

プロポリスは巣枠のまわりに附着している樹脂起源の物質であるが、これまた古くから医療効果があるとされてきたもので、近くは SMIRNOV ('57)¹⁷⁾ の綜説がある。

花粉はいわゆる bee bread の形でミツと共に巣の中に存在するもので NIELSON ('55)¹³⁾ PONS ('58)¹⁵⁾ ち多くの研究者によって、水溶性ビタミンの存在が、また MIANOWSKA ('55)¹⁴⁾ その他によって、虫媒花の花粉に、特に多くのカロチノイドが含まれることが報告されている。

これら諸要素の添加ということを考えるとミツ酒をめぐる、いろいろな可能性の枠は更に広がる。

要 約

ミツを用いた酒類に関する研究の一環としてミツ酒製造のための、試験管規模の基礎実験を行なった。

試料としては、本邦で量産されるミツの代表としてトチ、レンゲ、ナタネおよび精製ミツを用い、対照には白砂糖およびブドウ糖を用いた。その結果、次のことが判明した。

1) 糖濃度 25% 以下の場合には、OC-2 などのブドウ酒酵母を用いることができるが、50% 程度の高濃度仕込み用にはミツ等の中に存在する好濃性酵母を用いる方が醗酵が順調に行なわれる。

2) ミツを醗酵させる場合、糖濃度 25% 程度であっても、窒素分およびリン酸分を、いずれも $N/50$ 前後添加した方がよい。

3) 接種量が少ない場合、窒素、リン酸分のほか例えば麩エキス、酵母エキスのような副栄養素を加えないと醗酵が極めておそいことが多い。

4) 糖濃度 25% 程度の液なら、溶液 1ml 当り 7 億個程度の、多量の酵母を接種すれば、1 週間ぐらいで略々醗酵が終る。

5) オートクレーブによる滅菌はミツ液の醗酵を、やや抑制する。

6) 以上のことはミツの種類によって、多少の差がある。いずれにしてもミツは、白砂糖やブドウ糖等に比べると、醗酵を受けやすく、ブドウ液よりは醗酵しにくい。

以上の事実にもとづいてミツ酒の開拓面につき、論じた。

終りに臨み、種々御便宜を賜った本研究所の皆様様に感謝します。

文 献

- 1) BUTENANDT, A. und H. REMBOLD : Über den Weiselzellenfuttersaft der Honigbiene. I. Isolierung, Konstitutionsermittlung und Vorkommen der 10-Hydroxy- Δ^2 -decensäure. *Hoppe-Seyl. Z.*, **308** 284 (1957)
- 2) CALLOW, R. K., N. C. JOHNSTON and J. SIMPSON : 10-hydroxy- Δ^2 -decenoic acid in the honeybee (*Apis mellifera*). *Experimentia*, **15** (11), 421 (1959)
- 3) GOETTLER, H. : Lexikon, 4 Aufl. C. Knoppke, Berlin (1958)
- 4) HABERMANN, E. : Über permeabilitätsänderungen durch tierische Gifte. *Arch. Exp. path. Pharmac.*, **225**, 158 (1955)
- 5) HAYDAK, M. H. : The changes in the vitamin contents of royal jelly produced by nurse bees of various ages in confinement. *Bee World*, **42**, (3), 57 (1961)
- 6) HOFFMAN, I. : Untersuchungen über die Herkunft der Komponenten des Königinnenfuttersafts der Honigbienen. *Naturwissenschaften*, (10), 239 (1960)
- 7) HØJRUP, O. : Mead : drink of the gods. *Nationalmuseets Arb.*, **53** (1957)
- 8) 小山洋之介, 飯塚広 : 王乳 (I) 王乳中のビタミン含有量. 栄養と食糧 **13**, 114 (1960)
- 9) 榊田忠衛, 中山大樹, 小池弘子 : ハチミツを用いた酒類に関する究 (第 1 報) 本誌 (1961)
- 10) MACK, H. Nachf : Verfahren zur Gewinnung von 10-hydroxy- Δ^2 -decensäure aus Bienfuttersäften. *Dtsch. Pat.* 105, 239, 812 (1959)
- 11) MIANOWSKA, K. L. : O barwnikach ziarn pylkowych. *Acta Soc. Bot. Polon.*, **24**, (3), 609 (1955)
- 12) NEUMANN, W., E. HABERMANN und H. HANSEN : Untersuchungen über die Bestandteile des Bienengiftes. *Bee World*, **37**, (6), 121 (1956)
- 13) NIELSEN, N., J. GRÖMMER and R. LUNDÉN : Investigations on the chemical composition of pollen from some plants. *Acta Chem. Scand.*, **9** (7), 1100 (1955)
- 14) OSCHMANN, H. : Die medizinische Bedeutung der Honigbiene. *Uranai*, **18**, (8), 306 (1954)
- 15) PONS, A. : Le pollen. Presses Universitaires de Frans. (1958)

- 16) SCHULER, R. und R. VOGEL : Wirkstoffe des Bienenhonige.
Arzneimitt. Forsch., **6**, 661 (1956)
- 17) SMIRNOV, A. and I. KAZAKOV : Medicinal properties of propolis.
Sel. Khoz. Tatarii, **12**, 35 (1957)
- 18) STITZ, J. S. und S. D. KOMINOS : Über Bakteriostatische Wirkung des Honigs.
Z. Lebensmitt. Untersuch., **113** (4), 304 (1960)