

缶詰清酒の貯蔵中における着色について (第2報)*

酸化還元電位と酒色との関係

志賀 岩雄 木村 圭一 鈴木佳代子

On the Coloring of Canned *Saké* (Japanese Intoxicating Liquors Made by Fermenting Rice) During Storage (II)

Relations between the Oxidation Reduction Potentials and the Colors in Canned *Saké*.

Iwao Shiga, Keiichi Kimura and Kayoko Suzuki.

In this experiment, the oxidation reduction potentials (rH), the colors and the iron contents in canned *saké* were measured after about 6 to 9 month storage at room temperature.

The rH was determined on a Beckman G Type pH Meter at 25°C., by using a Beckman 40495 Type E-2 Glass Electrode, a Beckman 39273 Inlay Type Platinum Electrode and a Cell depicted in Figure 1. While bubbling oxygen-free nitrogen gas passed through the sample in the cell, the scale of the meter was read at 15 minute intervals and readings were carried on until they showed constant value. The color was determined on a Shimadzu Automatic Color Recording Instrument and the results obtained were presented in accordance with the CIE system. Iron was determined by the direct colorimetric method in which o-phenanthroline was used as a reagent.

The results obtained are shown in Table 1. The values of rH were generally more or less higher in the canned *saké* than in the bottled *saké*. The degrees of purity in color and the amounts of iron were consistently higher in the canned *saké* than in the bottled *saké*. The values of rH, purity in color and the amounts of iron were practically constant among the bottles packed with the same brand of *saké*, though they dispersed, in some degrees, among the cans.

In the case of canned *saké*, the changes in rH value have a clear-cut relationship with the changes in the purity in color, and the changes of the amount of iron as shown in Figures 3 and 4.

Miyachi and Kayahara (1957) ascribed the coloring of *saké*, which had not been pasteurized, to the action of yellow enzymes. We felt that the oxidation reduction substances such as flavin compounds play some important parts even in the coloring of pasteurized canned *saké* during the short term storage as in this experiment, being affected by the rise of the oxidation reduction potential of *saké* which seems to proceed from the presence of some limited amount of molecular oxygen enclosed in the can and to be accelerated by the iron ions dissolved from the can over a limited amount.

* 醸酵工学雑誌41(11), 558—565, 1963に発表のもの。

Printed from the Journal of Fermentation Technol. 41(11), 558, 1963.

緒 言

缶詰清酒の貯蔵中における色の濃厚化は、清酒の充填に際し、熱間満注法の採用によって缶内残留酸素量を極度に制限するか、或いは少量の glucose oxidase “DeeO” の添加によって缶内残留酸素の消去を図るか、或いはまた Sequestrene NA2 のごとき chelate compound を添加して、缶材より溶出する鉄イオンの作用を封ずるか等によって、ある程度抑制できることを見、清酒に溶存の分子状酸素の酸化作用が、缶詰清酒の貯蔵中における着色度増加傾向の一要因であり、缶材より溶出の鉄イオンは、その作用を加速するものであるとの見解をさきに報告した¹⁾ が、今回は缶詰清酒が一定期間貯蔵後に示す酸化還元電位の測定を行ない、清酒の呈する色との関連について観察し、興味ある結果をえたので、報告する。

実 験 方 法

1. 実 験 資 料

酒造会社に依頼して、一級酒を清酒用ブリキ缶* 及びガラスびんにそれぞれ定量宛詰め、密封して滅菌し、測定の日にいたるまで当短大研究室内の暗所に室温のまま貯蔵した。

2. 測 定 方 法

a. 酸化還元電位の測定

平衡状態にある酸化還元系において、電極電位と pH ならびに rH との間には次式のような関係が成立する²⁾：

$$Eh = 2.303 \frac{RT}{2F} (rH - 2pH) \dots\dots\dots 1$$

但し、R = ガス恒数、T = 絶対温度、F = ファラデー恒数、1 式を変形して

$$rH = \frac{Eh}{2.303 \frac{RT}{2F}} + 2pH \dots\dots\dots 2$$

ある標準系の rH、pH および Eh を、それぞれ rH(s)、pH(s) および Eh(s) で示すと、2 式は：

$$rH(s) = \frac{Eh(s)}{2.303 \frac{RT}{2F}} + 2pH(s) \dots\dots\dots 3$$

未知のサンプルの rH、pH および Eh を、それぞれ rH(x)、pH(x) および Eh(x) であらわすと：

$$rH(x) = \frac{Eh(x)}{2.303 \frac{RT}{2F}} + 2pH(x) \dots\dots\dots 4$$

3 式と 4 式とから

$$\frac{1}{2} (rH(x) - 2pH(s)) = \left\{ \frac{[Eh(x) - Eh(s)] + Eh(s)}{2.303 \frac{RT}{2F}} + [pH(x) - pH(s)] \right\} \dots\dots\dots 5$$

比較電極の代りに白金電極を装着した pH メーターを使用して 5 式の右辺の測定ができる。この場合、一定の pH 値および温度において rH の既知な系を利用してメーターの標準化を行ない、次いで被検液の rH を測定するのであるが、メーターの標準化に pH 4.00 (或いは pH 7.00) の緩衝液にキンヒドロンを飽和させたものを使用する。

* Oreoresinous enamel 塗装ブリキ板で製缶後、さらに vinylite の再塗装されたもの。

上述のようにして測定して得られた被検液の値を a とすると、5式から以下のようにして $rH(x)$ が求められる。

$$\frac{1}{2} [rH(x) - 2pH(s)] = a$$

$$rH(x) = 2a + 2pH(s) \dots\dots\dots 6$$

pH 4.00 の緩衝液キノヒドロソ飽和液をもってメーターの標準化を行なえば

$$rH(x) = 2a + 2pH(s) = 2a + 2 \times 4 \dots\dots\dots 7$$

この実験には、Beckman G-type pH meter を使用し、電極には、Beckman 40495 type E-2 glass electrode および Beckman 39273 inlay type platinum electrode を使用した。

白金電極の清浄化には電解洗滌法を採用した。測定に使用のセルは著者の一人、志賀の考案した Fig. 1 のごときのもので、手際よく操作することによって、外気に触れることなく被検液をセルに採取できる。

図のように電極を装着したセル-A を、側管 g にて、窒素ガス清浄装置に接続して、酸素を含有しない窒素ガスをセル-A に流して、セル内の空気を窒素ガスで置換する。次に左側のコック -b を閉じ、右側のコック -a を廻転して、窒素ガスを試料採取用毛細管 d に流し、d 内の空気を追出す。減圧びん B を j にてアスピレーターに連結し、B 内を減圧にする。次に被検液の入った容器（ガラスびんまたはブリキ缶）内の底部に近く d 端を挿入し、それと同時にコック -a を廻転してセル-A と被検液とを連通させ、減圧びん-B のコック -c を閉じ、コック -b を開き、セルの内部に検体を吸い入れ、急速に規定線にまで達せさせて、コック -b を閉じ、コック -a を廻転して、セルを窒素ガス清浄装置とのみ連通させ窒素ガスをセル内の毛細管 k の先端を経て、被検液中を通じて

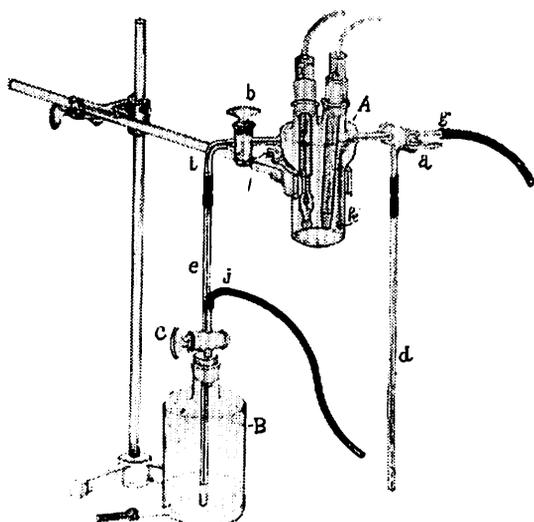


Fig. 1 A special cell devised for sampling *saké* from the container and for measuring rH .

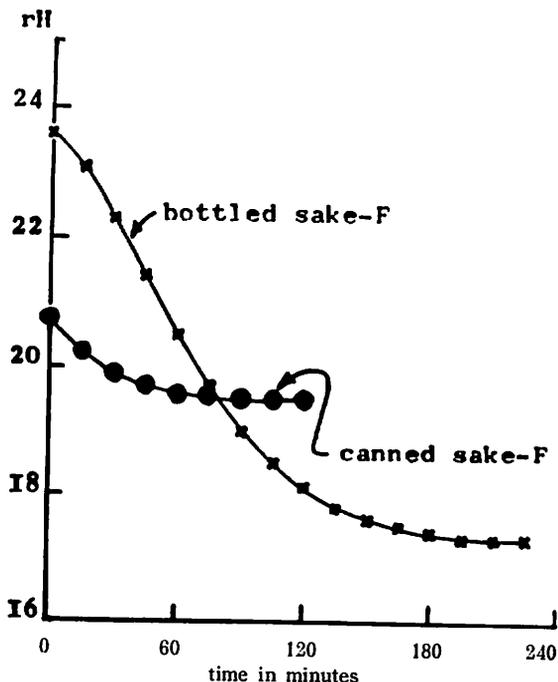


Fig. 2 Time- rH curves for a canned and a bottled *saké*

セル内に流す。減圧びん-Bを毛細管eと共にセル-Aから取除き水を満たした小試験管を、セルのi部がその中の水につかるよう装着し、b-コックを開いて、セルより流れ出る窒素ガスは、この小試験管内の水を通じて流れ出るようにし、外気からセルを封ずる。次に毛細管-dをセル-Aから取りはずし、セル-Aを25°Cの恒温槽中に浸漬し、両電極のターミナルをpH meterの所定の接続点につなぎ、rHの測定に着手する。

b. 色の測定

島津自記色彩測定器RC-III型を使用し、20mmのキューベットに被検体を入れ、スリットを3m μ にして測定し、測定結果をC.I.E.表色法によって表わした。

c. 鉄の定量

O-Phenanthrolineを使用する直接定量法を利用した¹⁾。

実験結果並びに考察

実験方法2のaの記載に従って測定の結果えられたrHの値と時間との関係曲線を例示するとFig. 2の通りである。測定温度は25°Cで、測定の時間間隔は15分である。以上のようにして平衡に達したrHの値と、測色結果および鉄の含有量とをまとめてTable 1に記載した。

以上は、8~9月の頃に詰め室温で約6~9カ月間貯蔵のものについて測定し、得られた結果である。25°CにおけるrHはびん詰清酒で12.6~18.3、かん詰清酒で15.1~19.7の範囲内にある。宮地、栢原等(1956)が20°Cにおいて測定の結果得られたrHは、古酒で16.1~18.7、新酒で11.3~13.4、市販品で15.6~17.2で

Table 1

Oxidation reduction potentials, colors and iron contents in canned and bottled sake, which were determined after storage for about 6 to 9 months in a dark room at room temperature.

rH	color			Fe (ppm)	size of cans	storage period in months
	Pe (%)	Y (%)	λ_d (m μ)			
canned sake-H						
19.3	10.9	93.4	574	2.52	211×400	6.2/3
18.6	10.6	94.9	574	1.10	211×400	6.2/3
18.0	10.6	94.8	574	1.04	211×400	6.2/3
15.3	7.9	95.4	573	0.18	211×400	6.2/3
15.1	7.3	96.4	573	0.16	211×400	6.2/3
bottled sake-H						
16.6	4.7	96.7	573	0.05		6.2/3
16.3	4.7	96.7	573	0.05		6.2/3
16.0	4.8	96.6	573	0.04		6.2/3
16.0	4.6	96.2	573	0.04		6.2/3
15.9	4.8	97.1	572	0.03		6.2/3
canned sake-S						
18.5	13.3	93.8	574	4.30	202×400	6.
17.6	12.6	94.5	574	2.62	202×400	6.
17.8	12.0	94.5	574	1.02	202×400	6.
bottled sake-S						
12.6	8.2	94.3	574	0.08		6.
16.3	7.6	95.6	573	0.06		6.
17.4	6.6	96.6	573	0.07		6.
canned sake-F						
19.7	13.5	92.9	574	3.38	211×412	9.
19.5	13.3	93.0	574	3.91	211×412	9.
18.8	12.4	94.4	574	0.74	211×412	9.
18.5	12.2	94.0	574	0.56	211×412	9.
18.5	12.5	93.5	574	0.61	211×412	9.
bottled sake-F						
17.5	7.0	95.7	574	0.05		9.
17.4	7.3	95.9	573	0.06		9.
17.3	7.0	95.9	573	0.07		9.
canned sake-O						
17.3	13.9	92.2	574	2.74	202×400	6.2/3
16.2	12.6	92.1	574	2.27	202×400	6.2/3
15.9	12.2	92.9	574	4.96	202×400	6.2/3
bottled sake-O						
18.4	7.5	96.2	573	0.17		6.2/3
18.3	7.1	95.9	573	0.15		6.2/3
18.3	7.3	96.2	573	0.16		6.2/3

Pe=purity in color; Y=brightness; d=dominant wavelength; figures in can sizes = the first digit represents inches, the next two the extra fraction expressed as 1/16 inch.

ある⁴⁾、また吉川、田口等(1960)が25°Cにおいて測定して得られたrHは17.3~17.8である⁶⁾。今回の実験で得られたrHの値は、試料が同一の清酒であれば、びん詰ではサンプルSの例を除けば、ほとんど一定しているが、缶詰では、鉄の含有量ともかなりのばらつきを示している。このことは、試験缶の品質の個別的なばらつきの存在を示すものとうけとられる。またrHはサンプルOの結果を除外すれば缶詰においては、びん詰におけるよりも、おおむね高い数値を示している。

測色結果をCIE表色法によってまとめると、主波長は573~574m μ の範囲内であって、透過光線によって、清酒は黄緑色を呈するものといえる。このことは、さきに著者等の行った試験結果¹⁾とも一致する。缶詰とびん詰とを比較すると、缶詰清酒の主波長の方が長波長側に傾いている。純度は缶詰とびん詰とにおいて顕著な差異を示し、缶詰ではいずれも、より高い数値を与え、なかには、びん詰の2倍以上に達する数値を示すものもある。明度は、両者間にほとんど差異がないが、缶詰の方はびん詰よりも多少とも低い。以上のような両者間の主波長、純度ならびに明度の差異が示唆するように、同一試料間であっては缶詰清酒は、びん詰清酒よりも肉眼的観察において、色が濃厚に、且つ僅かに暗色をおびて見られた。含有鉄分についてみると、缶詰における容器の露出金属面の腐蝕に基因して、缶詰とびん詰との間には顕著な差異を生じ、缶詰ではいずれのものにあっても、びん詰よりは高い数値を示している。

缶詰清酒のみについて、その呈するrHの値と、色の純度との間における関係について検討し、Fig. 3のごときものが得られた。

これによると、両者間に、かなり、判然とした相関関係が認められ、rHの上昇に伴って、色の純度も、また上昇している。さきに宮地、栢原等(1957)も醗および醗の滷液の酸化還元電位ならびに可視部における吸光率曲線の測定を行ない、その結果、両者の変化が併行的によく一致することを見ている⁵⁾。清酒中のフラビン存在が確認されている事実³⁾⁷⁾⁸⁾⁹⁾ならびに上記の実験結果等にもとづいて、宮地等は火入前の清酒の呈色物質の主体をなすものは、黄色酵素系の色素であるとした。缶、びん詰清酒のごときパストリゼーションによる熱処理を経て製品化さ

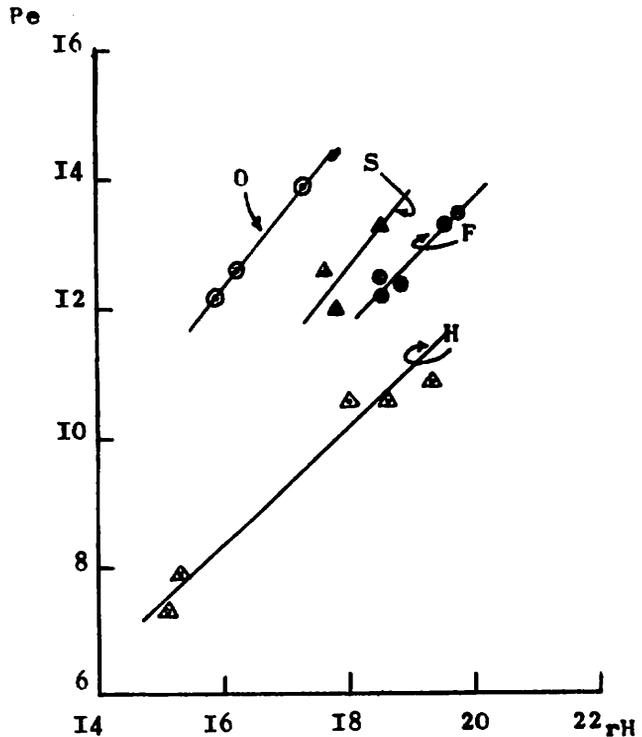


Fig. 3 Correlations of rH with Pe in canned saké

れたものにあっても、フラビンの耐熱性を考え、宮地等の以上の見解に従うとすれば、Fig. 3にみられるような色の純度と、rH との関係に立脚して、缶詰清酒の場合においても、酸化還元電位の変動と相伴って呈色濃度を变化するフラビン系化合物が清酒の着色度の変化に主要な役割を演じているものと推測できる。

缶詰清酒の rH は、ブリキ缶構成金属の腐蝕効果の影響をうけないわけにはゆかないとすれば、缶詰清酒の缶毎にみられる rH の個体差と、かなりばらつきのある含有鉄量との間に、何等かの相関関係の存在が示されなければならない。両者の関係は、Fig. 4に見られるごとく、サンプル O の結果は問題であるとしても、他は、い

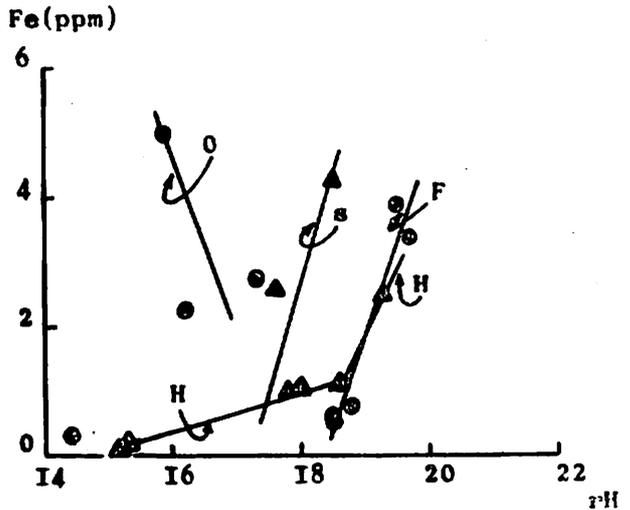


Fig. 4 Relations of iron content to rH in canned saké

ずれも鉄含有量の増加と、rH の値の上昇とは相互に相伴う一致した関係を見せている。問題の清酒 O では、鉄含有量の増加にともなって、逆に rH 低下の傾向をみせている。これは、この組の試験缶詰中の唯一缶のみに、rH が最低で、しかも含有鉄量の最大値を示すものが現われたことに原因して想定された傾向であるから、開缶試料採取、或いは分析の際における何等かの原因にもとづく鉄分汚染による誤差とすれば、かような傾向を想定することはできないが、かような大きな誤差の入ることは考えられないから、一応この傾向を認めるとすると、これもまた極度に制限された残留酸素の腐蝕環境下における缶材金属の腐蝕効果の現われであって、清酒と露呈缶材金属との酸化に酸素が消費し尽された後、それまで酸化傾向をたどってきた缶内清酒が、缶の腐蝕の進行にともなう必然的な結果として、還元傾向に逆転したことを物語るものとして示すことができる。

次に含有鉄量と酒色の純度との関係を求めると、Fig. 5のごときものがえられる。これによると、清酒 O を除けば、両者の間には一致した傾向がみられ、鉄の含有量の増加とともに純度が高くなっている。清酒 O では、以上とは逆の傾向をみせ、鉄分の増加が純度の低下を招いている。この傾向について鉄の含有量と rH との関係について述べた前項の最後のところの解釈をうけ入れられるとすれば、缶の腐蝕の進行によって、それまで酸化傾向をたどっていた清酒は、逆に還元傾向に転じ、rH が低下し酸化還元電位によって可逆的に色の濃淡を变化する酸化還元系呈色物質が rH の低下に伴って呈色濃度を減じたものと理解できる。

明度と rH との関係については、明度の差が僅少で、両者の関係をそのままでは判然と把握しにくいので、明度の反対概念として、暗度を導入し、この概念に [100-Y] なる定義を与え、試みに暗度と rH との関係を図示すると、Fig. 6のごときものが得られる。これによると、rH の上昇

に伴って酒色の暗色化傾向のあることが容易に看取できる。このような傾向に対し所謂褐変現象のごとき反応の関与もあるであろうことが推測できる。

パストリゼーションを経た清酒市販品の色は、フラビン系色素、メラニン系色素およびアミノ酸その他の成分の酸化生成物に由来する色素³⁾⁵⁾⁶⁾⁸⁾等から構成されているものと考えられるが、びん詰Sにおける例外的な結果に拘らず、缶詰清酒における Fig. 3 に見られる酸化還元電位と色の純度との関係は印象的で、缶詰清酒の貯蔵中における酒色増大の問題に関連して、酸化還元系呈色物質としてのフラビン系化合物の存在に関し強い興味と関心とがもたれる。

併し、びん詰と缶詰とを対比し、両者の rH と色の純度とを検討するとき、rH がびんよりも低い缶詰詰、或いは略等しいような缶詰にあっても、なお色の純度においては高い数値を与えていることが疑問のもたれる点である。この現象は、溶存分子状酸素による酸化作用において、着色性酸化生産物の生成が、ある限界値以上の鉄イオンの存在下において、強く進行することを意味するものと、両者間における含有鉄量の比較からいえるものと考えられる。

びん詰は別として、缶詰では、さきに記載したように貯蔵期間の十分な経過につれて、初期には、酸化傾向をたどった清酒も、後には逆に還元傾向をたどるものとみなければならないが、その際、酒色の変化に主役を演ずるものが、仮りに酸化還元系色素であったとしても、他の不可逆性着色物の生成による変色の併起も当然ありうることであるから、以上の酸化還元電位の変動に対応する着色と褪色との完全なサイクルを期待することができないと思う。

以上を要約すると、比較的短期間の貯蔵中における缶詰清酒の色の濃度増大は、酸化還元電位の上昇に伴うものであって、その酸化還元電位の上昇は、また、缶より酒中に溶出する鉄イオンの

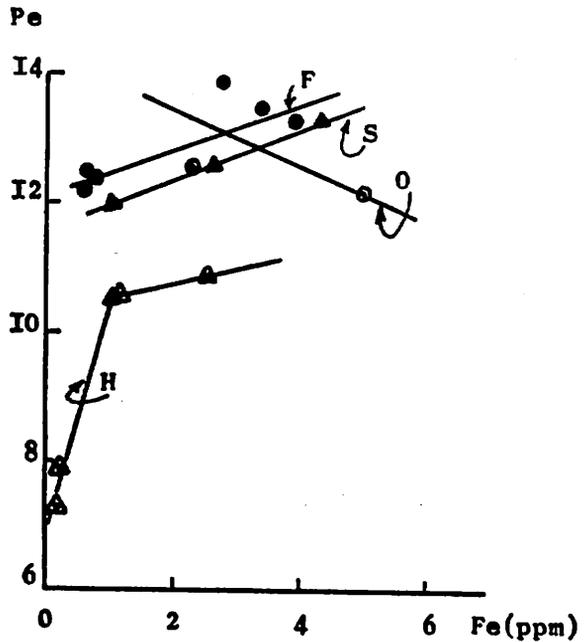


Fig. 5 Relations of iron content to Pe in canned saké

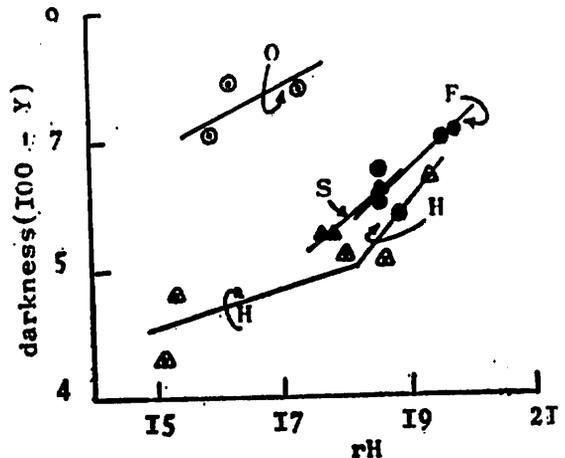


Fig. 6 Relations of rH to darkness (100-Y) in canned saké

ある濃度以上の増大に伴うものであることが指摘できる。従って缶詰のびん詰に比較して現在欠点とみられている貯蔵中のより大きな濃色化の傾向の窮局的一原因は、やはりある限度以上に鉄イオンの溶出することに帰せられねばならない。

要 約

1. 8, 9月の頃に販売容器に詰め、室温に約6~9カ月貯蔵後 pHメータを利用して酸化還元電位 (rH) を測定し、測色の結果および含有鉄分の分析結果と対比し、相互の関連性について検討した。
2. 缶詰清酒における rH, CIE表色法による酒色の純度, および鉄の含有量等の個別的な数値のばらつきが, かなり判然としているのに反し, びん詰清酒では, 略一定し, しかもそれらの数値は一般的にびん詰において低い。
3. 缶詰清酒における rH と色の純度との間には相関がみられる。また, それと同時に rH と鉄の含有量との間にも相関が認められる。
4. 短期貯蔵の缶詰において, 塗料によって被覆されない微小露出金属面より溶出の鉄イオンがある濃度以上に達すると, 缶内に封入されたある制限量の空気中の酸素による清酒成分の酸化が, それによって加速され, 酸化還元電位の上昇, ならびに酒色の濃厚化を促すものと考えられる。
5. 缶詰清酒の rH の上昇に伴う酒色純度の増大に関連して, さきに宮地等によって指摘された火入前の清酒の色に対するフラビン系色素または黄色酵素系色素の関与について考えることは興味のあることである。

感 謝

試験缶詰の調整に当って, 富久娘の株式会社花木商店, 白鶴酒造株式会社, 白雪の小西酒造株式会社および大関の株式会社長部文治郎商店の方々から御懇切な御配慮をうけました。ここに厚く感謝の意を表します。また, 本報告書は, 大阪大学教授寺本四郎博士の御校閲を賜りました。ここにそのことを記して深謝の意を表します。

文 献

- (1) 志賀岩雄, 小田久三, 木村圭一, 岩本喜伴, 東洋缶詰専修学校研究報告書. 5. 25. 1960.
- (2) Hewitt, L. F. Oxidation-Reduction Potentials in Bacteriology and Biochemistry. 4th Ed. P-15. London County Council. 1936.
- (3) 山田正一, 酒類工業. P-210. 朝倉書店.
- (4) 宮地 昇, 柏原健二, 農化. 30. 485. 1956.
- (5) 宮地 昇, 柏原健二, 農化. 31. 438. 1957.
- (6) 吉川光一, 田口久治, 醸酵工学. 38. 606. & 612. 1960.
- (7) 川崎 恒, 醸造協. 48. 105. 1953.
- (8) 寺本四郎, 醸造学. 14. 671. 1936.
- (9) Inukai, F. T. Higashi, W. Nakahara. Sci. Pap. Inst. Phys. Chem. Res., 24. 113. 1934.