

氏 名 (本籍)	と 戸	つか 塚	あきら 昭 (埼玉県)
学位の種類	農	学	博 士
学位記番号	農	第 6 2	号
学位授与年月日	昭和 4 7 年 6 月 8 日		
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当		
最終学歴	昭和 3 4 年 3 月 東京農工大学農学部卒業		
学位論文題目	清酒醸造工程における金属の動向 に関する研究		

(主 査)

論文審査委員	教授 辻 村 克 良	教授 金 田 尚 志
		教授 柴 崎 一 雄

論文内容要旨

緒言

清酒中に含有する金属は原料用水、原料米、加工薬品、容器、醸造機器、活性炭素、ろ過助剤等に由来する。清酒醸造工程における金属の影響については、微生物の無機栄養源および酵素活性との関連性から理解されるが、酒質に対しても大きな影響を与える。したがって清酒醸造において金属管理はきわめて重要であり、より合理的な管理を実施するためには、原料および製成酒中の金属の形態を把握するとともに、原料中の金属が製成酒へ移行する割合を適確にとらえる必要がある。

近年、清酒製造方法の合理化とともに末端消費の段階における品質の保証等、種々の問題が提起されているが、その多くは金属と関連を有している。そこで新しい分析手法を導入して醸造工程における金属の動向および形態を解明し、金属管理を容易なものとするを目的として本研究を行った。

1 用水中の金属とその管理

醸造用水中の全鉄の分析方法として原子吸光法を採用した。基準分析法としては **Ammonium pyrolydine dithiocarbamate (APDC) - Methyl isobutyl keton (MIBK)** による溶媒抽出法を、簡便法として塩酸処理法を設定した。簡便法は濃縮乾固した時点で沈澱の多い用水、結晶をつくる用水を除いて 10% の実験誤差を許容すれば、用水中の全鉄の定量に適用可能であった。原子吸光法と比色法の比較を行なったところ、 α, α' -dipyridyl 法は腐植およびシリカの妨害が存在するうえに、正リン酸を添加後 PH の調整を行ない陰イオンの妨害を封鎖しても得られた値は原子吸光法の 86.6% にとどまった。また 0-phenanthroline 法は塩酸可溶性鉄を対象としたときに原子吸光法にきわめて近い値を示した。

醸造用水適性基準として、Fe, Mn, Zn, Cu は 0.02 ppm、有機物は過マンガン酸カリウム消費量で 5 ppm を許容限度とし、稼動中の浄水装置について検討したところ、浄水効果を認めたものは、44 試料中 2 試料にすぎなかった。このように除鉄効果がわるい原因の一つとして、用水中の鉄の形態と浄水方法の不適合が推定された。そこで用水中の全鉄を **Diablo Ultrafiltration Membrane (DUM)** によって分子量分画し、両者の適合をはかった。すなわち、形態の小さな鉄を主体として含む用水には酸化法を、形態の大きな鉄を 20~30% 含むものには酸化法-吸着法を、形態の大きな鉄を主体とするものには凝集法を適用し、いずれの場合にも最終工程には精密ろ過機を接続する一連の除鉄法を確立した。なお、ポリ塩化アルミニウム (PAC) を用いて凝集処理を実施する際には、前塩素処理、アルカリ度の調整等を組合せることによって、除鉄・除マンガンは十分に目的を達した。他の微量金属の動向についても検討した結果、PAC 処理が清酒製造に対して悪影響のないことを明らかにした。

また、醸造用水の水質管理法としてOctadiagramを採用した。Octadiagram Iは meq/L 表示で水質を成分上の均衡面からとらえ、Octadiagram IIはppm表示で用水中の成分の許容限度の保持および醸造用水としての成分の必要濃度の保有の有無を視覚から適確にとらえることを可能とした。(図1)

醸造用水中の有害成分のうち、鉄の挙動については ^{59}Fe を用いて検討した。鉄濃度0.08 ppmの仕込用水を使用した場合、用水中の鉄が清酒へ移行する現象の約20%がディフェリフェリクリン(DFCY)^{注)}で、約46~65%がDFCYを含む麴由来物質で説明された。用水中の鉄が製成酒へ移行する割合は、粕歩合50%前後のとき麴仕込みの場合で用水中の全鉄の18~24%、酵素製剤仕込みの場合では9%、粕歩合を約10%まで極端に減少させたとき、麴仕込区分で28~35%であった。

注)環状ペプチド。鉄とキレート結合し、着色物質フェリクリンを生成する。

2 原料米と金属の動向

埼玉県産米日本晴中の金属を精米工程にしたがい解析したところ、精米歩合50%の白米では玄米に対する減少率は $\text{Mg} > \text{Fe} > \text{K} > \text{Mn} > \text{Ca} > \text{Na} > \text{Cu} > \text{Zn}$ の順序で大きかった。

醸造用水として金属組成の面から不適当なもの4点を用いて洗米・浸漬を行ない、用水中の金属が原料米に吸着されることを検討した。Fe, Mn, Znはいずれの用水からも原料米に吸着され、Cuは用水によって挙動に差のあることが認められた。また、原料米の貯蔵に伴う金属の水溶出率の変化をFe, Mn, Zn, Cu, Ca, Mgについてみると、精米後25℃、100日間の密封貯蔵でCuのみは米中残留率が増加したが、他の5種の金属については通常の枯し期間の米と相違が認められなかった。

3 麴および酵素製剤中の金属の形態

脱イオン水、M/50-乳酸溶液、M/50-クエン酸溶液、M/50-塩酸を用いて麴中の金属を抽出すると、Fe, Zn, CuはCa, Mg, Mnに比して抽出率が低かった。脱イオン水で抽出される金属量を蒸米の場合と比較するとCa, Mg, Fe, Mn, Znの抽出率が増加した。また、麴を糖化すると蒸米を糖化した場合よりもCa, Fe, Mn, Znの溶出量が増加し、酸類による抽出では、Znが増加する他は差を認めなかった。これらの現象は米中における金属の存在形態に差があると考えれば理解される。すなわち、Caはでん粉と、Fe, Zn, Cuは含窒素化合物と結合した形態で米中に存在し、製麴したときに形態が変化するものと推定された。

蒸米糖化用または麴の代替として使用される清酒用酵素製剤中に含有される金属のうち、Kは

8~9,800 mg %、Mg は1,300~5,600 mg %と多く、増量剤としてK塩、Mg塩が添加されているものと推定された。Feは麴等の原料由来のものと工程由来のものがあるが、昭和45酒造年度市販の酵素製剤はいずれのロットも全鉄の含量が150 ppm以下であった。麴抽出液及び酵素溶液のDUMおよびSephadexによる分画の結果、糖化力、液化力、プロテアーゼ力(PH3.0)は分画分子量2万以上の区分に存在し蛋白区分と一致した。Feの存在形態は麴抽出液の場合、分画分子量5,000以下の区分が約80%を占め、抽出液に塩化第二鉄を100 ppm添加すると分画分子量1,000~5,000の区分の占める率が増加し、フェリクローム類へのFeのとりこみを示唆した。一方、酵素製剤についてはFeが分画分子量20,000以下の区分に主に存在する試料と、分画分子量20,000以上の蛋白区分に主に存在する試料があった。(図2)

4 もろみにおける金属の動向

蒸米を麴の場合と同様に処理し、液状部に移行する金属量について検討した。蒸米中の金属を脱イオン水により抽出するとKが70%以上の抽出率を示したが、Fe, Mn, Zn, Cuはいずれも20%以下の抽出率であった。酸類による抽出ではK, Ca, Mg, Mnが80%以上抽出されたが、Fe, Zn, Cu(塩酸抽出を除く)については50%以下であった。一方、糖化後液状部に移行する金属はK, Ca, Mgが蒸米中の含量のほぼ全量、Na, Mnが50%前後、Fe, Znが20~30%、Cuが10%以下であった。

さらにもろみ上澄液中の金属量をもろみの日順に従い分析し、その結果にもとづいて工程中の金属の動向を三群に大別した。(図3) なお、粕歩合の増減、もろみ品温の高低等によって金属の動向に変化を生ずることも推定されるが、Ca, Mnについては「もろみI型」から他の型への移行は認められなかった。

5 原料から製品への金属移行割合

醸造用水として脱イオン水と井水を用い、製成酒中の金属が井水に由来する割合をみると、(表4) 麴仕込で

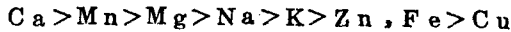
$Na > Ca > Fe > Zn, Cu > Mg, K > Mn$

酵素製剤仕込で

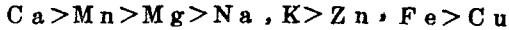
$Na, Ca > Cu > Zn, Mg > K > Fe > Mn$

となり、清酒中のNa, Caは井水に由来する割合が高く、Mnは米に由来する割合の高いことを明らかにした。全原料の金属のうち清酒へ移行する割合は、(表5)

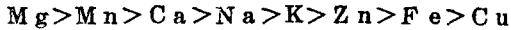
麴仕込で井水を用いると



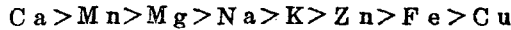
脱イオン水を用いると



酵素製剤仕込で井水を用いると



脱イオン水を用いると



の移行傾向を示し、金属によって一定の傾向のあることを把握した。なお、K、Mgは蒸米および麴から溶出しやすいのにもかかわらず、清酒への移行率が低いことは、もろみ工程において酵母へとりこまれ、清酒粕へ移行することを示した。

6 製成酒の金属による汚染

製成酒の仕上げ工程に使用されるオリ下げ剤、活性炭素、ろ過助剤中の金属について検討すると、オリ下げ剤では使用量が少ないため、金属含有量の多いものでもMnを除いては清酒へ移行する量は少なかった。活性炭素についてJISにしたがい塩酸抽出を行なうと、試料10点中7点が溶出Feの含量100ppm以上であった。また、清酒のPHおよびアルコール含量に相当するPH4.2~4.5の範囲でM/50クエン酸緩衝液-20%エタノール溶液(C-A溶液)及びM/50乳酸緩衝液-20%エタノール溶液(L-A溶液)を用いて抽出を行なうと、C-A溶液の場合はクエン酸のキレート作用によってL-A溶液による場合よりも溶出Fe量が多かった。麴仕込製成酒では、生酒、火入れ酒のいずれの場合にも10点中9点の活性炭素からFeの汚染を認めた。酵素製剤仕込製成酒では炭素処理後全てFeが減少したが、活性炭の除鉄力はC-A溶液で溶出するFe量の少ないもの程つよかった。清酒間の活性炭素中のFeに対するこのような挙動の差は、フェリクローム類および他の麴由来物質の含有量の差と推定された。活性炭素量を増加させるとCuは吸着除去量を増すが、Fe、Mn、Znは活性炭素によって除去率が高くなる場合と逆に汚染する場合があった。清酒用石綿の品質判定には熱水およびC-A溶液によるFeとMnの溶出を検討する必要がある。また木綿についてはろ過助剤として使用しても酒質を劣化させる金属汚染の危険が少ないことを明らかにした。

7 製品中の金属とその形態

清酒中の金属の分析方法として蛍光分析法、原子吸光法を採用するうえでの基礎的条件について

て検討した。いずれの金属についても糖およびエタノールの干渉があるため、これらの干渉を排除しかつ回収率の良好な方法を基準前処理方法として採用し、他の方法と相関関係、回帰式の検定、平均値の差の検定等の比較検討を行ない、10%の実験誤差を許容して簡便法を設定した。

(表2) なお、鉄の基準前処理方法である湿式灰化法については、通常の回収率の検討の他に ^{59}Fe 含有清酒からの ^{59}Fe の回収を行ない良好な結果を得た。

清酒中のFe, Mn, Zn, Cu含有量を原子吸光法によって測定し、吟醸酒上位と下位、級別と製造場間について分散分析を行なった。(表3)

清酒中の金属の形態を把握するために、清酒にDUM処理を施し、得られた各分画分子量毎の金属濃度を求め、積分型表示の図形から金属の形態を清酒A型～D型に四大別した。(図4)

また、清酒に日光照射、活性炭素処理を施したときの金属の形態変化をとらえ、麴仕込製成酒と酵素製剤仕込製成酒との間で鉄の形態の差を認めた。

なお、しょうゆ、みそ(抽出液)、ビール、みりんに対してもDUM分画法を適用し、含有金属の形態別分類を行ない、清酒と同様にA～D型に四大別するとともに、醸造物中の金属の形態的特徴を主原料の面から把握した。

以上、本論文では清酒醸造工程における金属の動向を解析し、原料から製品への金属の移行割合を明らかにするとともに、醸造用水、原料米および麴について金属面から重要性を再認識した。また、醸造物中の金属の形態の把握をなし、さらに清酒醸造に機器分析の手法を導入し、金属管理を容易なものとした。

表 1 洗米・浸漬工程中の金属の動向

製造場	金属	Fe	Mn	Zn	Cu
純水		100.0	100.0	100.0	100.0
M		112.5	116.6	127.1	99.0
K		100.9	116.4	121.5	99.0
O		118.5	137.4	135.9	119.2
I		144.3	162.1	126.9	76.1

75%精白米を、純水で洗米浸漬したとき、米に含まれる金属量を100.0ととし、各製造場の用水を用いたときの金属量の比率をもって表わす。

表 2 清酒中の金属定量法

金属	分析法	基準前処理方法	簡便法
Fe		湿式灰化法	脱アルコール法 ^{3-S)}
Mn	原子	脱アルコール-2倍希釈法 ^{3-S)}	直接法
Zn	吸	湿式灰化法	直接法
Cu	光	湿式灰化法 ^{La)}	直接法
Ca	法	希釈法	—
Mg		希釈法	—
Ni		湿式灰化法	—
Na	炎光分析	—	希釈法
K		—	希釈法

3-S): 3 スロットバーナー使用

La): 塩酸濃度 0.5 N、La として 1% となるよう塩化ランタン溶液を添加した試料を原子吸光法に供する。

表 - 3 - a 吟醸酒中の金属含量

項目 金属	上位 (n=29)		下位 (n=20)	
	平均値 (ppm)	標準偏差	平均値 (ppm)	標準偏差
Fe	0.055	0.0283	0.064	0.0322
Mn	1.551	0.7786	1.727	0.6573
Zn	0.573	0.5237	0.570	0.3690
Cu	0.039	0.0100	0.049*	0.0325*

* 異状値と認められる1点を除外した19点による算出値

分散の検定、平均値の差の検定を行なったところ、いずれも5%水準で上位と下位
の間に差を認めなかった。

表 3 - b 級別を異にする市販清酒中の金属含量 (10製造場)

項目 金属	平均値 (ppm) と 95%信頼限界			分散分析	
	特 級	1 級	2 級	製造場間	級別間
Fe	0.084 ⁺ ₋ 0.044	0.117 ⁺ ₋ 0.044	0.132 ⁺ ₋ 0.044		*
Mn	1.752 ⁺ ₋ 0.139	1.635 ⁺ ₋ 0.139	1.469 ⁺ ₋ 0.139	**	**
Zn	1.375 ⁺ ₋ 0.184	1.458 ⁺ ₋ 0.184	1.718 ⁺ ₋ 0.184	**	**
Cu	0.134 ⁺ ₋ 0.058	0.139 ⁺ ₋ 0.058	0.153 ⁺ ₋ 0.058	*	

* : 5%水準で有意差あり

** : 1%水準で有意差あり

表 4 製成酒中の金属と水の影響

仕込方法		麴仕込			酵素製剤仕込		
金属	用水	井水(A)	脱イオン水(B)	$\frac{A-B}{A} \times 100$	井水(A)	脱イオン水(B)	$\frac{A-B}{A} \times 100$
Na		13.70 ppm	5.70 ppm	58.4 %	14.20 ppm	7.80 ppm	45.1 %
K		45.90	43.38	5.5	54.41	50.00	8.1
Ca		41.30	21.77	47.3	43.50	23.71	45.5
Mg		12.80	12.05	5.9	24.35	22.05	9.4
Fe		0.102	0.068	33.3	0.060	0.061	-1.4
Mn		2.330	2.390	-2.5	2.320	2.350	-2.8
Zn		1.092	0.890	18.5	2.030	1.832	9.8
Cu		0.049	0.040	18.4	0.074	0.064	13.5

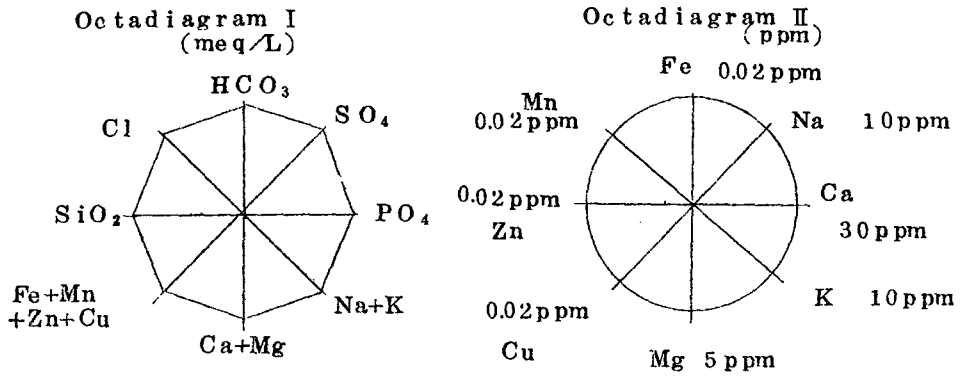
仕込方法の欄のうち、「酵素製剤仕込」とは通常の仕込方法(麴仕込)における麴の全量を酵素製剤に置換したものをいう。

用水の欄のうち、「脱イオン水」とは清酒製造に用いた全ての用水が脱イオン水であることを示す。

表 5 原料から清酒への金属移行割合

仕込方法	麴仕込		酵素製剤仕込	
	井水	脱イオン水	井水	脱イオン水
Na	46.8 %	35.8 %	54.2 %	41.2 %
K	36.0	35.1	45.4	38.0
Ca	68.3	81.2	68.5	73.5
Mg	49.8	44.1	72.6	69.3
Fe	17.8	16.3	7.9	8.3
Mn	66.4	76.0	71.5	71.8
Zn	18.2	16.8	27.7	23.7
Cu	4.1	3.9	5.6	5.3

図 1



注) PO_4 の系については分析値を 10 倍、 $Fe+Mn+Zn+Cu$ の系では 200 倍した値を各々プロットした。

図 2

DUMによる麴抽出液および酵素製剤溶液中の鉄の分画

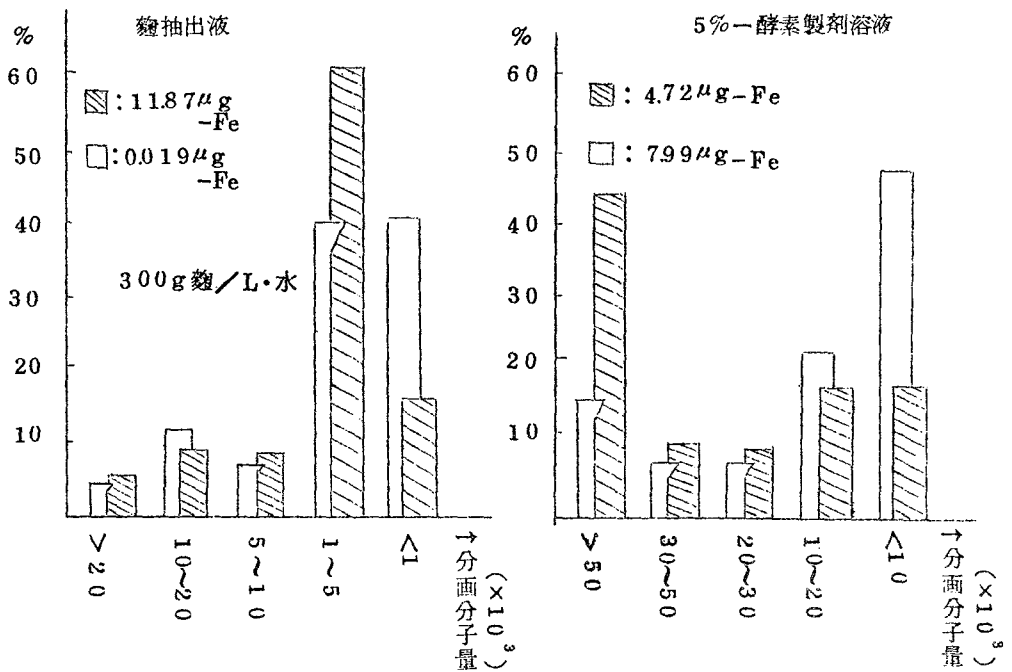


図 3 もろみ工程中の金属の動向

型		もろみ I 型		もろみ II 型		もろみ III 型	
用水		井水	脱イオン水	井水	脱イオン水	井水	脱イオン水
仕 込 方 法	酵素製剤	Ca, Mn		Na, Mg Fe, Cu	Mg Cu	K Zn	Na, K Fe, Zn
	麹	Ca, Mg, Mn		Na, Fe, Zn, Ca		K	



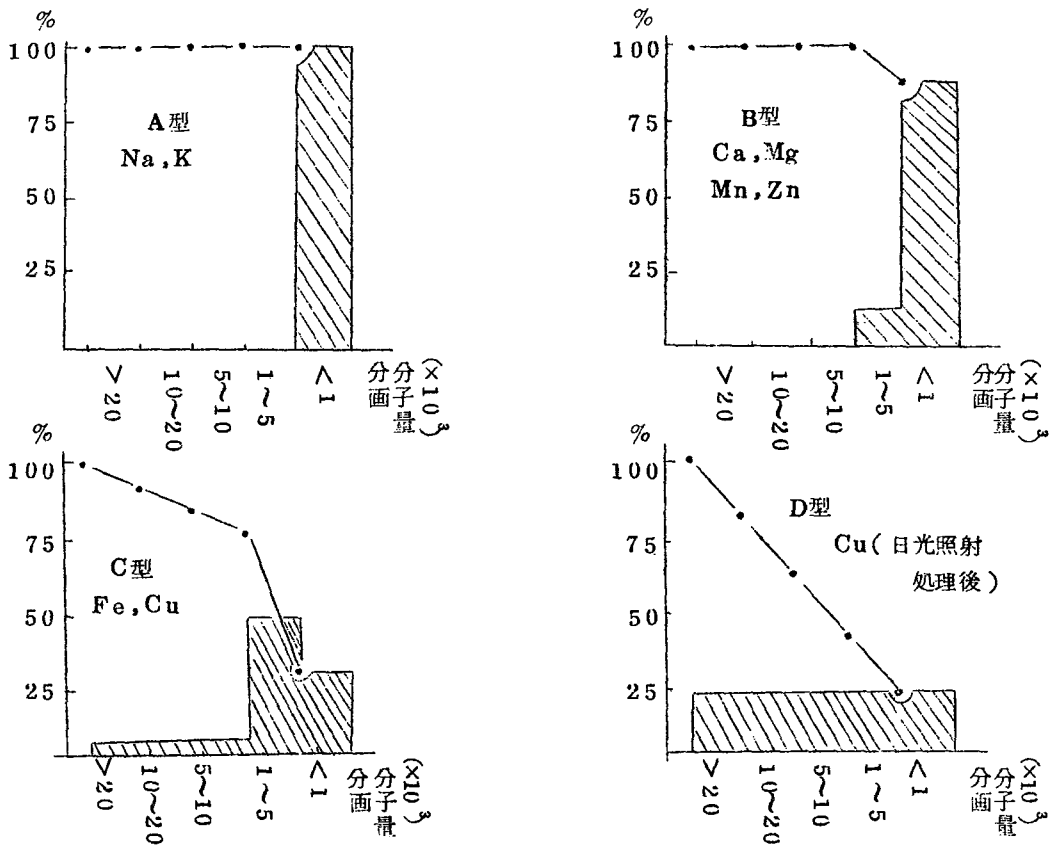
もろみ上澄液中の金属濃度をもろみ経過にしたがって解析し、得られた金属の動向を次の基準にもとづいて分類した。

もろみ I 型：もろみ上澄液中の金属濃度がもろみ前半は減少または一定の値を示し、後半はほぼ一定の値を保持するもの。

もろみ II 型：もろみ日数 8～13 日目にかけて上澄液中の金属濃度が最少となり、その後日数の経過とともに金属濃度を増すもの。ただし、もろみ末期で最少値の 1.5 倍以上、5 倍以内の増加にとどまるもの。

もろみ III 型：もろみ II 型と同様の経過を示すが、もろみ末期で最少値の 5 倍以上の増加を示すもの。

図 4 清酒中の金属の形態



清酒中の金属をDUMを用いて分子量分画し、その結果を次の基準にしたがって分類した。

清酒A型：分画分子量1,000以下の区分に清酒中の金属の全量が存在するもの。

清酒B型：分画分子量1,000以下の区分に清酒中の金属の80~90%が存在し、1,000~5,000の区分に10~20%が存在するもの。

清酒C型：分画分子量1,000以下の区分に清酒中の金属の20~30%が、1,000~5,000の区分に約50%存在し、20~30%が5,000以上の区分に分散して存在するもの。

清酒D型：分画分子量1,000以下の区分から20,000以上の区分にわたってほぼ平均して存在するもの。

審査結果の要旨

清酒醸造に関与する無機元素は主として原料水および原料米に由来し、清酒の品質に大きな影響を及ぼすものである。活性炭、濾過助材、容器、醸造機器などから品質に有害な金属元素が汚染することもありうる。本論文は主として金属元素すなわち鉄、マンガン、亜鉛、銅について原料中および醸造工程における動向を研究し、その管理方法について指針を与えたことに関するものである。

醸造所においては、用水から微量の Fe, Mn, Zn, Cu 等をも取除く浄化処理が行われているが、著者が調べたところでは必ずしも目的を達していないものが数多く認められた。もっとも問題になったのは鉄であった。著者は用水中の鉄をメンブランフィルターを用いて“分子量”の大きい状態の鉄（有機質あるいは珪酸と結合したもの、水酸化鉄ゾルなど）が少くないことを明らかにし、その形態に応じて浄化処理の方法を変えるならば、よく除鉄の目的を達しうることを明らかにした。“分子量”の小さい場合、すなわち2価の鉄イオンを主体とする用水に対しては酸化法を適用することが効果があり、形態の大きい鉄を20～30%含む場合には酸化法と吸着法の併用を、また形態の大きい鉄を主体とする場合には凝集法を用いることが必要であった。用水の水質を図形に表わしてその特質をわかりやすくする方法として、octadiagramと称する図形を提案し、用水管理に資することが考えられた。用水中の鉄が酒粕などに伴われず、清酒の方に移行する場合の大部分は麴由来物質と結合することによることが明らかにされた。フェリクリン（環状ペプチドの鉄キレート、清酒の着色の原因となる）もその一つである。原料米の洗米、浸漬工程で用水中の重金属が原料米に吸着される現象、麴および酵素製剤中の重金属の形態、もろみにおける重金属の動向、オリ下げ剤、活性炭、濾過助材からの汚染などについて研究が行われた。

製品である清酒中の Fe, Mn, Zn, Cu について、メンブランフィルターによる分割を行ってみると三つの型に分類された。Mn, Zn は Ca, Mg と同様に大部分が低分子の分割に表われ、自由なイオンとして存在することを示すが、一部は“分子量”1,000～5,000の分割に存在する。Fe と Cu は“分子量”1,000～5,000の分割にもっとも多く存在し、次いで低分子量の分割に多く、“分子量”のもっと大きい分割（5,000～10,000；10,000～20,000；20,000以上）にも分布する。清酒を日光照射すると Cu の分布が変り、大小の分割に一樣に分布するようになる。なお K, Ka は当然ながら低分子分割に全量表われる。

以上のように本論文は重金属の動向を明らかにして、その管理の要点を示したものであって、清酒の品質の改善に資するところ大きく、審査員一同は農学博士の学位を授与するに値するものと認定した。