

表的のものであるが、この他 *Neisseria subflava*, 肺炎双球菌等も報告されている。

著者らがここに検討を加えた菌は、未だ、血清学的性状を明らかにしていないから直ちに結論する事は危険であるが、本菌はここに挙げた、ブドウ球菌、連鎖球菌、*Neisseria subflava*, 肺炎双球菌とは糖分解の点よりみて異なる事は明らかである。そこで本菌を Berggy's manual (1954年版)について見ると、gram 陰性、球菌、糖を分解しない事の点より *Neissera Catalis* に属するように考えられる。

然し既に *Neissera Catalis* として同定された杉浦株を比較するとき、Catalase 及び paroxidase, Litmas, milk, gelatin, の3点において一致しない。

この事は、菌の同定がこのような生物学的性状によって考えられる従来の考え方になお一考を要することを提起するものであろう。

また供試4株は、ストレプトマイシン、クロロマイセチンに対してはそれぞれほぼ一定の価を示したが、テトラサイクリンに対しては、3.12~6.25と若干の動揺が見られた。これはテクニクエラーによるものか或は菌自体によるものか不明であるが、抗生物質を治療に使用されていることから菌の変異であるとも考えられる。

終りに臨み本研究に多大の便宜と激励を賜った。恩師岐阜薬科大学学長宮道悦男先生、直接御指導賜った岐阜県衛生研究所井上博士、岐阜薬科大学広瀬先生に深謝の意を表します。

吉田三郎：醱酵副生物による酒質判定の衛生化学的研究

Saburo Yoshida: Hygienische Untersuchung von Sake (Japanische Wein) bezüglich ihre Urteilung mit der Menge von der Gährungsnebenprodukte.

Vor einigen Jahren hat H. Rebelein erstmal die Alkoholische Gährung von dem stechiometrischen Standpunkt beobachtet und die Beziehungen zwischen der Menge der Gährungsnebenprodukte (Glycerin u. Butylenglykol) und der des Gährungsalkohols begründet. Es wird diese Arbeit auf die Untersuchung von Sake (Japanischer Wein) übertragen und die dabei erhaltenen einigen vertieften Erkenntnissen werden mitgeteilt.

(Received August 1, 1961)

緒 論

清酒は複雑な醸造工程を経て製せられ、その個々の過程については不明な点が多い。市販されるものは夫々品質に応じて、特級、一級、二級酒として取扱われ、その試験項目としては Alkohol 含量、エキス分、鉍物質、酸類、糖質、総窒素、フーゼル油等があげられるが、規格は殆ど Alkohol 並びにエキス含量によって決められる。これらには決定的な判定の基礎に乏しく、特に戦後 Alkohol 添加が酒造の常法となった今日むしろ感覚的な試験に傾く実情である。

欧米ではブドー酒の判定にその副生物たる Glycerin 含量が従来論議の対称となり、又最近では Butylenglykol 含量が酒質判定の一助とする研究が採り上げられこれらの成分測定が単に酒質の衛生化学的な判断に留らず又課税の対称としての問題も包括している。

清酒について果してどの程度に価値づけられるものか、あるいは酒質判定に現今許されている Alkohol 添加量(白米 1500kg に対し 30% Alkohol 1.44L まで許可されている)に対し化学的な鑑定法を求めため本研究を計画した。

勿論清酒についても Glycerin 定量は試験項目の中に加えられているが、その量と酒質の関係は論ぜられたことなく、Butylenglykol については未だ全然触れられていない。

Alkohol 醱酵における Glycerin および Butylenglykol と Alkohol の生成量との関係については古くは Kniphorst u. Kruisheer¹⁾、或は Diemair u. J. Kleber²⁾等によって論ぜられているが、ブドー酒についてはことに甚だしくその含量を異にし、Diemair²⁾は三者の間に特別の関係は見出し得ぬとしている。1995年 Ribéreau-Gayon, J³⁾らは Alkohol 醱酵における副生物の生成に及ぼす酵母の種類、酵素、pH 等の影響を論じたなかで特に醱酵液の pH の上昇は Acetaldehyd 並びに之に因く副生物の生成量を増し、Butylenglykol 並びに Aceton の生成量は減少すると述べ、又醱酵の初期においては Acetaldehyd 並びに Glycerin 生成量が多いと述べている。

然し乍ら Glycerin, Butylenglykol の生成をアルコール醱酵機構に直接結びつけてその量的関係を詳細に論じたものは H. Rebelein⁴⁾であって、酒造中に変動する Glycerin, Butylenglykol の含量、ひいては Alkohol, Glycerin, Butylenglykol の相関関係に及ぼす諸影響につき理論上の根拠を提唱し、且つ多数の実験値から統計的に理論の裏付けを行うと同時に Alkohol 添加は勿論加糖醸造酒と天然醸造酒の判別を可成り高い正確度で行い得ると結論した。

然し乍ら其後 1960年 K. Hennig u. A. Lay⁵⁾は Rebelein の方法を踏襲して統計的に追試を加えた結果は Rebelein の報ずる程適確な判定は下し得ぬとしている。

さて今清酒に Rebelein の所論をあてはめたならば如何なる結果を得るであろうか。

現今も最も一般的に行われる古来の酒造法に従えば、その醸造工程は殆ど定型化され、従って Alkohol 醱酵に先行する糖化条件は殆ど格一であり糖液の成分並びに性状は常に一定に得たるものと見做されるのではなからうか。

之に反しブドー酒にあっては天然醱酵、加糖醱酵の別、亜硫酸処理等の工程による変化に加えてブドーの熟度によってその醱酵副生成物の量は著しく左右されるので、これにもとづく判定は一層複雑困難を加えるものと思われる。

清酒における副生物、Glycerin, Butylenglykol の含量をもって上述事項の判定基準としてどれ程の価値が附与されるかをみるには多数の市販酒について統計的な分析を行う以上に、先づその酒造工程における生成量、醱酵進度の関度を知ることが先決条件であろう。

第1章 醱中の Glycerin, Butylenglykol の定量

現今清酒は程度の差こそあれ、殆どすべて Alkohol 添加されているものと見做される。従って如何に多数の製品について統計をとっても無意味であって、Alkohol, Glycerin, Butylenglykol の生成比を知るには醱の分析によらねばならない。さて醱中の経時含量変化を測定するには多数の検体を速かに処理し得る点で Rebelein⁴⁾の方法を採用した。本法は α -Glykol 類に過ヨード酸を作用させるときは中間の $-\text{CH}\cdot\text{OH}-$ 基はギ酸に、末端の $-\text{CH}_2\text{OH}$ 基は Formaldehyd に酸化されるという L. Malaprade⁶⁾の発見に基く反応によるものであって、Glycerin からは2分子の Formaldehyd と1分子のギ酸を生じ、Butylenglykol よりは2分子の Acetaldehyd を生ずる。ここに生じた Formaldehyd、及び Acetaldehyd につき前者は苛性アルカリと Phloroglucin によって、後者は Nitroprussido-Na と Piperidin により呈色せしめてその吸光度を測定するのである。

§ 1 検量線の作製

標準液:

25cc 中 Glycerin 5~30mg 及び Butyleuglykol 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0mg(Glycerin の 1/10 量)を含む標準液を調製した.

Glycerin の検量線:

標準液 1 cc を 10 cc メスコルベンに採り蒸留水を加えて標線まで満したものを 30cc の 共栓三角コルベンに移し, 0.05n-過ヨード酸 5 cc を加えて正確に 5 分間放置して反応させる. ついで 5 cc の n-NaOH, 続いて直ちに 5 cc の 0.2% フロログルシン液を加える. 直ちに赤褐色の呈色が現われるが色調は約 60~80 秒で最高に達する. 直ちに光電比色計により波長 530m μ における吸光度を測定する. 呈色の最高に到着する時間は反応温度, 即ち気温により著しく影響されるが, 比色計の指針は呈色の最高において暫時静止し, その後再び逆に移動し始めるので吸光度の極大値は容易に読みとることが出来る.

Butylenglykol の検量線:

標準液 5 cc を正確に 30cc 共栓三角コルベンに採り 27% 酢酸ソーダ溶液 5 cc を加えた後, 0.05n-過ヨード酸 10cc を加えて 2 分間放置, 反応せしめる. 次に 2% ニトロプロシドナトリウム溶液, 続いて 10% ピペリジン溶液を 5 cc ずつ加える. 呈色の強さは Glycerin の場合と同様 40~50 秒後最高に達した. その後褪色し始めるので吸光の極大値を読みとる. Fig. I, II, に示したものはそれぞれ Glycerin, Butylenglykol について得た検量線であり比色計は Bausch Lomb の Spectronic 20 を使用した.

試薬:

1. 0.05n- 過ヨード酸

NaJO₄ 10, 696 g に n-H₂SO₄ 50cc を加え溶解させ, 蒸留水にて 1 l とする.

2. 0.5% フロログルシン溶液

フロログルシン 2 g を蒸留水に溶解し, 1 l とする.

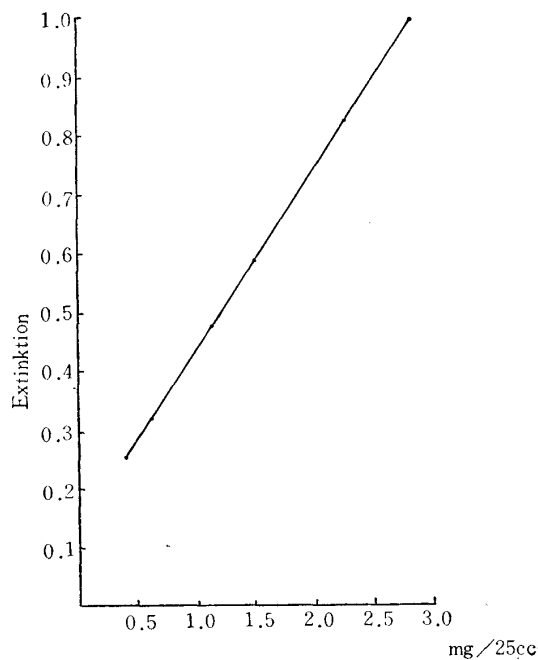


Fig I Glycerin の検量線

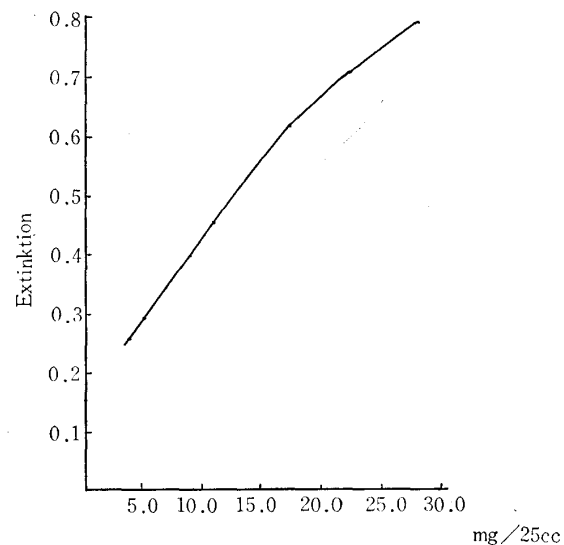


Fig II Butylenglykol の検量線

3. 27% 酢酸ナトリウム溶液

無水酢酸ナトリウム 270 g を蒸留水に溶解し、1 l とする。

4. 10% ピペリジン溶液

ピペリジン 100 g を蒸留水に溶解し、1 l とする。

5. 2% ニトロプルシドナトリウム溶液

ニトロプルシドナトリウム 20 g を蒸留水に溶解して 1 l とする。

尚フロログルシン溶液はなるべく新しいもの（調製後 2～3 週間以内）を使用する。

§ 2. 醪中の糖分

その反応機構に基きブドウ酒における測定誤差の原因物質としては糖類の他に酒石酸、Mannit 等が当然考えられるが、醪中においては殆ど糖類のみであり、且つその量は仕込後 3～4 日で最高を示す。

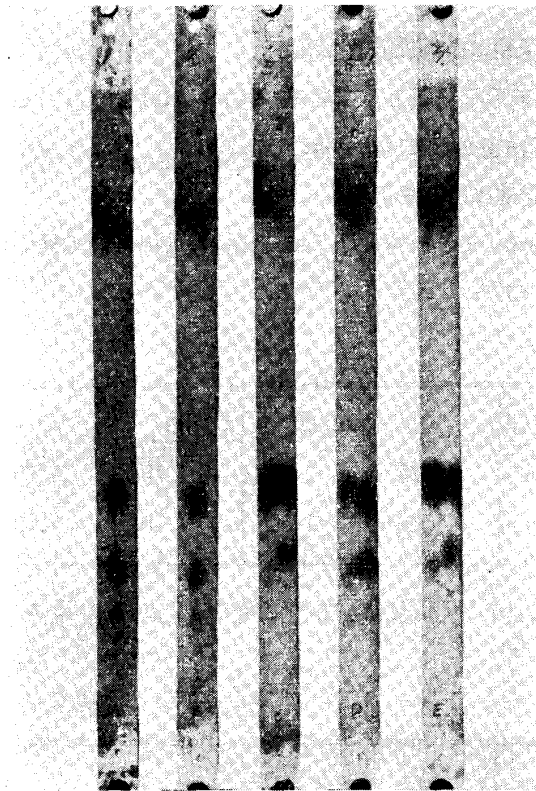


Fig. 3

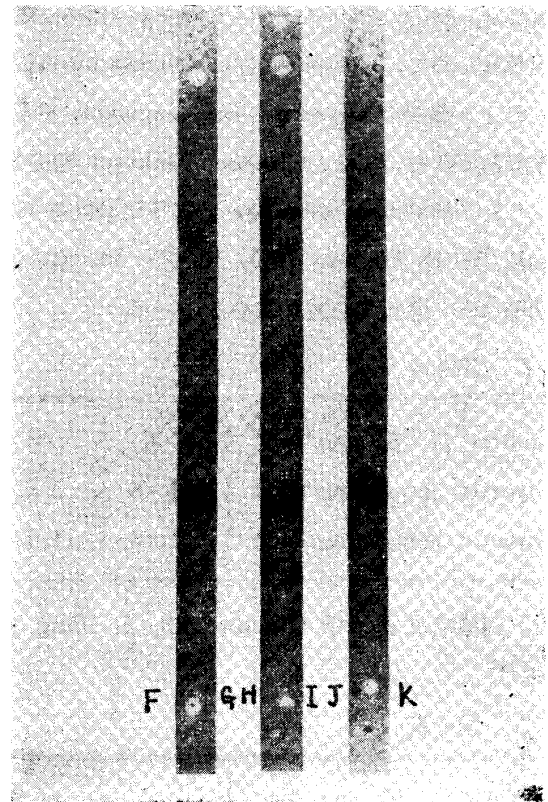


Fig. 4

Fig. 3は酒母 (A), 醪 (B), 原酒 (C), 吟醸原酒 (D), 市販酒 (E), について得たペーパークロマトグラムであって、何れも強い Glucose と、これより劣った Maltose (RG=0.65) のスポットが現れる。

然しながら Maltose のスポットは酒母においては顕著であるが醪中で可成弱く、清酒類中では極めて稀薄である。これに反し Glucose のスポットは醪よりも清酒において強く表れる。これは清酒の仕上げ工程で Glucose の添加調味が行われたことを示している。又、酒母、醪においては Oligosaccharid (RG=0.38) に相当する極めて淡いスポットが認められるが、清酒では最早認められない。恐らく醱酵後の稀釈によるもので、醪中においてもその含量は極めて僅かと思われる。

Fig. 4は仕込日数 6 日 (H), 吟醸の 10 日 (I), 10 日 (K), 15 日 (F), 17 日 (G), (I) は対照で, Glucose, Maltose のペーパークロマトグラムでその特徴は略々 Fig. 3 の醪と同様であるが Maltose のスポットは 6

～10日で濃く現れ、醱酵末期に随って淡くなる。

実 験 法

東洋濾紙 No. 50 を用い、展開液は J. L. Buchan⁷⁾ による n-Propanol : Äthylacetat : Wasser = 6 : 1 : 3 を用いて上昇法によった。糖類の Rf 値はその微細な条件変化によって著しく影響されるため、平行実験においてもその都度変動するので、H. Thaler⁸⁾ は Glucose を基準としてその Rf を 1.00 として現す方法を提唱している。ここで、ある糖類の RG は、その Rf を Glucose の Rf で除したものである。

$$RG(\text{Kohlenhydrat}) = \frac{Rf(\text{Kohlenhydrat})}{Rf(\text{Glucose})}$$

発色剤としては酸性 p-Anisidin phthalat (p-Anisidin 1.23 g と Phthalsäure 1.66 g を 96% Alkohol 100 cc に溶解) を用いた。ペーパークロマトグラムの両側よりこの溶液を吹付け、105°C の乾燥器中 10 分間放置して発色せしめた。Hexose 並びに Oligosaccharid による茶褐色は長期間安定である。

これより醱中の Glycerin, Butylenglykol, の測定に当り誤差原因物質として考慮されなければならないものは醱酵初期においては、Glucose, Maltose, 醱酵末期においては主として Glucose である。

§ 3. Maltose, Glucose 共存下に於ける Glycerin 測定値に及ぼす影響:

検液 25cc 中 Maltose 3, 5, 10, 20, 30, 50mg 及び Glycerin をそれぞれ 1.75mg 宛含むものに就て検出した Glycerin 量は次の通りである。

第 1 表

Maltose 含 量 mg/25cc	0	3	5	10	20	30	50
Glycerin 含 量 mg/25cc	1.75	1.75	1.75	1.75	1.75	1.75	1.75
Glycerin 検出量 mg/25cc	1.75	1.60	1.60	1.60	1.60	1.70	1.70

又、同様検液 25cc 中 Glucose の 3, 5, 10mg と夫々 Glycerin 1.75mg 含むものに就て第 2 表の結果を得た。

第 2 表

Glucose 含 量 mg/25cc	0	3	5	10
Glycerin 含 量 mg/25cc	1.75	1.75	1.75	1.75
Glycerin 検出量 mg/25cc	1.75	1.95	(これ以上検量線超過)	

第 1 表より Maltose の共存による Glycerin 検出の誤差は 3～8% に過ぎない。然も前に述べたように Maltose 含量は初期の醱に割合多いがそれとても Glucose に比べれば遙かに少ない。第 2 表より Glucose においては 3mg/25cc ですでに検出量は 11% 増加し 5mg/25cc を超えれば検量線を超過する。従って醱中の Glycerin 定量に当っては Glucose のみが問題である。Glucose の共存はこの様に当然ではあるがこのものから過ヨード酸によって生成する H·CHO が Glycerin に由来する H·CHO に重なるため著しく Glycerin の見かけの量が増加する。以上により醱中の Glycerin, Butylenglykol を測定するに当っては、醱中の全還元糖を Glucose に換算し、その濃度範囲内における影響に吟味の重点をおけば充分である。

醪をひだ濾紙をもって濾過しその濾液につき Bertrand 法により還元糖を測定し、銅量をすべて Glycerin, Butylenglykol の定量に影響大きい Glucose に換算した値は第3表の通りである。

第3表

醪 仕 込 日 数	4日	6日	10日	15日	17日
糖量 (Glucose として) g/100cc	8.6	7.8	5.7	4.4	3.5

したがって醪中の Glucose 含量は略々 3~8 g/100cc の間にある。

§4. 脱糖操作による Glycerin, Butylenglykol の測定値に及ぼす影響：

醪の脱糖：

このように Glycerin の定量を障碍する酒類中の糖類の除去については M. Fatome⁹⁾ が酢酸鉛と水酸化バリウム或は又後者のみによって除去する方法を述べ、更にその後 H. Thaler¹⁰⁾ が M. Fatome の方法を簡素化し、且つ溶媒の種類と脱糖効果の關係に詳細な吟味を加えた結果 Aceton が最も秀れていることを述べている。然しながらその後 O. Reichard,¹¹⁾ H. Grohmann¹²⁾ 等は Methanol 溶媒中の脱糖により Glycerin 値の測定に何ら支障なしとしている。他方脱糖操作により Glycerin の損失が起ることは古くから論ぜられているところである。¹³⁾

著者も Methanol 並びに Aceton を溶媒とする脱糖過程において略々同程度の Glycerin 検出量の低下をみたので、操作の簡単な Aceton について糖, Glycerin, Butylenglykol の濃度を種々変化させ、測定値の変動を観察した。

脱糖操作：

内容約 150cc の肉厚内筒管に水酸化バリウム 5 g, 海砂 10 g を加えこれに所定量の糖, Glycerin, Butylenglykol を含む検液 10cc を管壁に沿って流下し、ゴム栓を施して時々烈しく振盪する。5分後 50cc の Acetone を加えて 45°C の水浴中に時々振盪しながら 5分間加熱した後グラスフィルターで濾過する。受器には予め n-NaOH 5 cc, 水 40cc を入れておく、残渣は毎回 10cc の温 Aceton で 3回洗滌し洗液を濾液に合する。この Acton 溶液を金網上速かに蒸留し残液約 40cc まで濃縮する。残液には温時 n-H₂SO₄ 5 cc を加えて放冷する。この間に溶液中のバリウムが硫酸塩として析出沈澱するから冷後水を加えて正確に 50cc とした後沈澱を濾別する。ここに得た濾液 5 cc について Butylenglykol を又その 10 倍稀釈液 10cc について Glycerin を前に述べた方法で測定する。

糖濃度と Glycerin, Butylenglykol 検出率の關係を示す第4表は一定の高濃度 Glucose 液 25cc 中に夫々 250~100 mg の Glycerin および 25~10mg の Butylenglykol を含むものについて測定した値である。

又第5表は 8~1 g の Glucose を含む検液 25cc 中に夫々 75mg の Glycerin 及び 7.5mg の Butylenglykol を含むものについて測定した値である。

高濃度の糖を含む場合

- 1) Glycerin, Butylenglykol 共に著しく測定値は低く現われる。
- 2) Glycerin, Butylenglykol 共に低濃度になる程検出率は小となるが、この傾向は Glycerin よりも Butylenglykol の方が大きい。

第4表

				脱糖後測定液中					
検液				Glycerin mg/25			Butylenglykol mg/25cc		
No.	Glucose 含量 g/25cc	Glycerin 含量 mg/25cc	Butylenglykol 含量mg/25cc	計算値 (Gl)	実測値 (Gl')	$\frac{Gl'}{Gl}$	計算値 (Bu)	実測値 (Bu')	$\frac{Bu'}{Bu}$
1	9	200	20	4.0	1.28	0.32	4.0	2.20	0.55
2	9	160	16	3.2	0.96	0.3	3.2	1.76	0.55
3	9	120	12	2.4	0.67	0.28	2.4	0.96	0.4
4	9	80	8	1.6	0.43	0.27	1.6	0.53	0.33

第5表

				脱糖後測定液中					
検液				Glycerin mg/25cc			Butylenglykol mg/52cc		
No.	Glucose 含量 g/25cc	Glycerin 含量 mg/25cc	Butylenglykol 含量mg/25cc	計算値 (Gl)	実測値 (Gl')	$\frac{Gl'}{Gl} \times 100$	計算値 (Bu)	実測値 (Bu')	$\frac{Bu'}{Bu} \times 100$
5	8	75	7.5	1.5	0.45	30	1.5	0.55	36.6
6	7	75	7.5	1.5	0.50	33	1.5	0.65	43
7	5	75	7.5	1.5	0.70	47	1.5	0.8	53
8	3	75	7.5	1.5	0.90	60	1.5	0.9	60
9	1	75	7.5	1.5	1.3	87	1.5	1.35	90

即ち共存糖の除去操作において吸着による損失率は Glycerin より Butylenglykol の方が大であるが含有量が両者共に少くなるにしたがい略々 30% の検出率に接近する。

3) 何れにしても大量の Glucose の存在においてはその吸着損失量は余りにも大であって到底修正値などで補正し得べき可能性はない。

第5表では検量線上最も好適な検出量に相当し、然も醗中の含量に近い Glycerin, Butylenglykol 濃度において Glucose を $\sim 1\text{g}/25\text{cc}$ 含む調製検液について測定した結果を示したものである。したがって検液 No. 5 は第4表検液 No. 4 と略々同一条件のものである。この表から

4) 検出率は Glucose 濃度の減少するに伴って増加しその濃度 $3\text{g}/25\text{cc}$ で Glycerin, Butylenglykol 共に 60%, $1\text{g}/25\text{cc}$ で略々 90% である。

5) Glucose 含量 $3\text{g}/25\text{cc}$ 以下では両者の検出

率の比は略々相等しい、 $\left(\frac{Gl'}{Gl} \doteq \frac{Bu'}{Bu}\right)$ このことは醗中の Glucose, Butylenglykol, 含有比を考慮する場合に重要な事柄であり且つ、 $3 \sim 1\text{g}/25\text{cc}$ の Glucose 濃度はほぼ醗中の糖含有量に匹敵することからも一層重要である。

6) 第4表 No. 2 の検液を2倍に稀釈したものが大略第5表 No. 7 の検液に相当する。

即ち No. 2 を2倍に稀釈すれば Glycerin 検出率は 30% より 46% に上昇するが Butylenglykol の検出率に

は大差がない。

7) 又このことは 2) 4) とも照し合せ検出率に対しては糖濃度が被検物濃度よりも圧倒的に高次の影響を及ぼすことを示すものである。

以上は糖量を大幅に変化せしめて添加量と実測値の関係を求めたものであるが、第3表に示したように醱中では先づ糖化が先行し、次に糖量が一定量に達すれば次第にアルコール醱酵が活発となり、糖の消費が盛んとなるので含量の高い仕込初期を含めてもその糖量は大凡 2.5~1g/25cc の間にある (第3表)。

第6表、第7表はここに述べた 1) ~7) にわたる関係を念頭において実情に即した糖量、即ち Glucose 濃度 2.5~0.5g/25cc における動態を観察したものである。

第6表

検 液				脱 糖 後 測 定 検 中					
				Glycerin mg/25cc			Butylenglykol mg/25cc		
No.	Glucose 含量 g/25cc	Glycerin 含量 mg/25cc	Butylenglykol 含量mg/25cc	計算値 (Gl)	実測値 (Gl')	$\frac{Gl'}{Gl} \times 100$	計算値 (Bu)	実測値 (Bu')	$\frac{Bu'}{Bu} \times 100$
10	2.5	75	7.5	1.5	1.1	73.5	1.5	1.52	101
11	2.0	75	7.5	1.5	1.1	73.5	1.5	1.45	97
12	1.5	75	7.5	1.5	1.2	80	1.5	1.55	103
13	1.0	75	7.5	1.5	1.3	87	1.5	1.60	106
14	0.5	75	7.5	1.5	1.3	87	1.5	15.5	97

第6表に見られるように Glycerin, Butylenglykol 含量を一定 (75mg/25cc) にして糖量を 2.5~0.5g/25cc に変化させた場合 Glycerin の検出率は 73.5% より 87% に約 15% 上昇する。

第7表

検 液				脱 糖 後 測 定 液 中					
				Glycerin mg/25cc			Butylenglykol mg/25cc		
No.	Glucose 含量 g/25cc	Glycerin 含量 mg/25cc	Butylenglykol 含量	計算値 (Gl)	実測値 (Gl')	$\frac{Gl'}{Gl} \times 100$	計算値 (Bu)	実測値 (Bu')	$\frac{Bu'}{Bu} \times 100$
15	2.5	140	14	2.8	2.01	72	2.8	2.9	103
16	2.0	112	11.2	2.24	1.70	76	2.24	2.35	105
17	1.5	84	8.4	1.68	1.35	80	1.68	1.80	107
18	1.0	56	5.6	1.1	0.95	86	1.10	1.23	112
19	0.5	28	2.8	0.56	0.45	80	0.56	0.65	116

第7表は検液 No. 15 の濃度を $\frac{1}{2}$, $\frac{2}{3}$, $\frac{1}{3}$, $\frac{1}{4}$, 倍としたものを夫々検液 No. 16, 17, 18, 19, としたものである。この場合 No. 15~No. 19 に従い糖濃度, Glycerin, Butylenglykol 濃度共に減少する。この場合は糖量の減少に伴って No. 15~19 にわたる検出率の増加 1). と Glycerin 量の減少に伴う検出率の減少 2). が相殺されることが期待される。

然しながら今第6表と第7表とを比較するに殆ど検出率の増加度に相違は見られない。即ち検液 No. 19 を除いて両表共に大略72%~86%に増加している。即ち糖濃度2.5~1.0g/25cc, Glycerin 量50~150mg/25ccで測定値に影響するものは専ら糖濃度と考えてよい。

又 Butylenglykol は大略105%前後でやや計算値を上廻るか殆ど変動は認められない。

§ 5. 醪中の Glycerin 及び Butylenglykol の定量

第9表は仕込経過日数を異にする各種の醪を採取し、之を婁濾紙にて濾過した濾液につき蒸溜法により Alkohol を除き、次いで脱糖処理した後 Glycerin, Butylenglykol を測定したものである。

前に述べたように Glycerin についてはその検出率80%が予期されるが、為念数種の醪につきこれを2倍希釈した後脱糖処理して得た値とを比較するに第9表に示したように1例(*印)を除いて意外にその実測値はよく一致する。

第8表

醪仕込日数	アルコール v/v%	アルコール (A) g/L	グリセリン (Gl) g/L	グリセリン (Bu) g/L	$\frac{Gl}{A}$ $\times 10^2$	$\frac{Bu}{Gl}$	$\frac{\sqrt{Bu}}{A}$ $\times 10^3$	K*
1	1.6	12.5	1.6	0.08	12.5	0.0513	22.3	
4	5.9	46.0	2.6	0.15	5.6	0.0577	8.25	4.00
6	10.1	79.5	3.6	0.25	4.5	0.0694	6.3	1.8
7	10.4	81.6	3.8	0.25	4.6	0.0658	6.1	1.74
8	10.8	85.0	4.08	0.30	5.9	0.0735	6.4	2.00
9	11.0	86.4	4.44	0.31	4.2	0.0698	6.4	2.13
10吟	9.8	77.0	3.28	0.31	4.2	0.0945	7.25	2.23
10	11.6	91.0	4.4	0.48	4.8	0.1090	7.55	2.84
11	13.4	106	5.6	0.5	5.3	0.0893	6.64	2.35
13	15.6	124	4.2	0.31	3.4	0.074	4.49	0.68
15	16.3	129	5.0	0.66	3.9	0.132	6.27	1.53
17	16.7	132	5.2	0.70	3.9	0.134	6.31	1.58

$$*: K = \frac{[Gl] \cdot [Bu]}{A^3} \times 10^6$$

第9表

醪仕込日数	4	6	10	15	17
Glycerin 測定値 mg/0.5cc	1.04	1.55	2.25	2.65	2.65
Butylenglykol 測定値 mg/5cc	1.6	1.75	2.4	3.3	3.5
2倍希釈醪中 Glycerin 測定値 mg/0.5cc	0.505	0.9*	1.1	1.25	1.30
2倍希釈醪中 Butylenglykol 測定値 mg/5cc	0.8	0.9	1.25	1.7	1.75

即ちここでは前に述べたような糖濃度の減少に伴う Glycerin 検出率の上昇を認めない。このことは測定値が真実に近いことを示唆する。即ち成分の単純な調製検液に比べその成分の複雑な天然醪液液にあっては Gly-

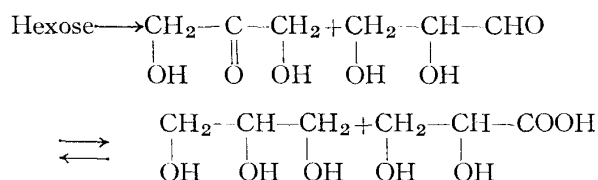
cerin, Butylenglykol の溶解性が高まりその結果吸着損失が防がれるものと思われる。またこれに加えて真に追求されるべきものは各種検体相互の比率関係であるから要に応じて考慮することとし、第9表では敢て実測値の修正を行わなかった。

第2章 醱における Rebelein の K- 値について

冒頭に述べたように H. Rebelein⁴⁾ は Meyerhof の醱酵理論を化学量論的に取扱って、Alkohol, Glycerin, Butylenglykol, それぞれの生成量につき質量作用の法則から相互の関係を導いた。之を要約すれば次の通りである。以下物質名の略号を次の通りとし、反応に関与する燐酸基は簡潔のため省略する。

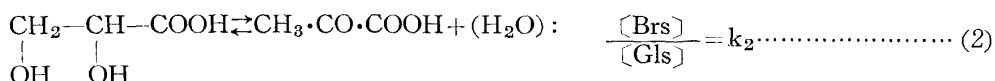
Di: Dioxyaceton Brs: Brenztraubensäure Gla: Glycerinaldehyd
A: Äthylalkohol Gls: Glycerinsäure Bu: Butylenglykol
Ac: Acetaldehyd

Hexose より先づ Dioxyaceton, と Glycerinaldehyd を生じ、両者は相互酸化、還元されて Glycerin と Glycerinsäure となる。

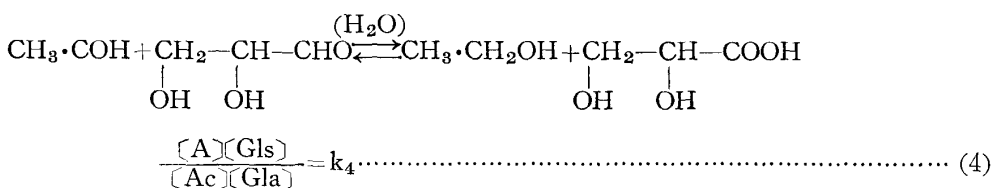
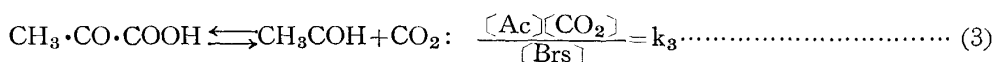


$$\text{即ち} \quad \frac{[\text{Gl}][\text{Gls}]}{[\text{Di}][\text{Gla}]} = k_1 \dots \dots \dots (1)$$

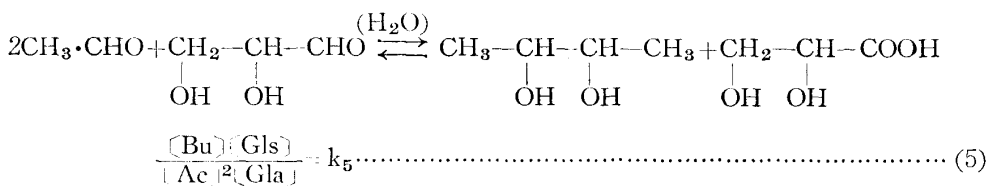
ここに生成した Glycerinsäure は水を放って、Brenztraubensäure となるが、この際 (H₂O) は恒数と見做し得るから (2)式が得られる。



次いで Brenztraubensäure から CO₂ を放出して生成した Acetaldehyd が Glycerinaldehyd と反応して Alkohol と Glycerinsäure を生ずる。



又2分子の Acetaldehyd と1分子の Glycerinaldehyd が反応すれば Butylenglykol と Glycerinsäure を生ずる。



$$(5) \text{より} \quad [\text{Bu}] = k_5 \cdot \frac{[\text{Ac}]^2[\text{Gla}]}{[\text{Gls}]} \dots \dots \dots (6)$$

又(4)より

$$[Ac] = \frac{[A][Gls]}{k_4[Gla]}, \quad [Ac]^2 = \frac{[A]^2[Gls]^2}{k_4^2[Gla]^2} \dots\dots\dots (7)$$

(7)を(6)に代入して

$$[Bu] = \frac{k_5[A]^2[Gla]}{k_4^2[Gls]} \dots\dots\dots (8)$$

又(1)より

$$[Gl] = k_1 \frac{[Di][Gla]}{[Gls]} \dots\dots\dots (9)$$

$$\text{又(2)より } [Brs] = k_2[Gls] \dots\dots\dots (10)$$

(1)を(3)に代入して

$$[Ac] = k_2k_3 \frac{[Gls]}{[CO_2]} \dots\dots\dots (11)$$

又過剰の CO₂ は逸出し、醗酵液は常に CO₂-飽和の状態にあるから、[Ac] は次のように示される。

$$[Ac] = k_2k_3/[Gls] \dots\dots\dots (12)$$

又(4)より

$$[Ac] = \frac{[A][Gls]}{k_4[Gla]} \dots\dots\dots (13)$$

∴ (12)(13)より

$$[Gla] = \frac{[A]}{k_2k_3/k_4} \dots\dots\dots (14)$$

(14)を(9)に代入して

$$[Gl] = \frac{K_1[Di][A]}{k_2k_3/k_4[Gls]}$$

$$\text{即ち } [Gl] \propto \frac{[A][Di]}{[Gls]} \dots\dots\dots (15)$$

同様(8)式より

$$[Bu] \propto \frac{[A]^2[Gls]}{[Gla]} \dots\dots\dots (16)$$

又(15), (16)より

$$[A]^3 \propto [Gl][Bu] \frac{[Gla]}{[Di]} \dots\dots\dots (17)$$

(17)より

$$\frac{[Gl][Bu]}{[A]^3} = K \frac{[Gla]}{[Di]}$$

又 $\frac{[Gla]}{[Di]}$ はアルコール醗酵の原料糖液の性情或は醗酵時のエネルギー状態によって決るものとし、随ってそれらの条件が定まれば

$$\frac{[Gl][Bu]}{[A]^3} = K \frac{[Gla]}{[Di]} = K'$$

なる関係にあり、実際には $K' \times 10^6 = K$ としてこの K-値より醗酵による天然アルコールの量を概測したり或は又加糖醗酵と純果汁醗酵の区別、又アルコール添加の度等を判定し得るといふ。

§ 1 Glycerin, Bulylenglykol の生成量について

さて上に述べられた反応論によれば Glycerin の生成量は Alkohol 濃度と Dioxyaceton 濃度の積に比例し、Glycerinsäure の濃度に反比例する。

$$[Gl] = K \frac{[A][Di]}{[Gls]} \dots \dots \dots (15)$$

ここに Glycerinsäure は

(1)式 $(Di+Gla \rightleftharpoons Gl+Gls)$ に示される様に Glycerinaldehyd から生成するものであるからその生成量は Glycerinaldehyd の濃度に比例すると考え、従って(15)式は又次の様に現す

$$[Gl] = K' \frac{[A][Di]}{[Gla]} \dots \dots \dots \text{Ja}$$

ここで Rebelein は醱酵糖汁中における Dioxyaceton と Glycerinaldehyd の比 $\left[\frac{[Di]}{[Gla]} \right]$ は一般にはさして変動はないから特別の事情を除いて Glycerin 生成量は Alkohol の生成量に比例すると述べている。

第8表に示した $\frac{[Gl]}{[A]} \times 10^2$ も大体このことを背かしめる。仕込一日の異状はアルコール濃度が極度に低い
ため正確度に乏しいがその他の値は経時日数と共に稍減少の傾向が見られ、醱酵末期において約4.0の値をとる。尚経日変化に規則的変化を認めないのは酒造場の都合により同一仕込醪について経日追跡し得なかったためによる。

然しながらブドー酒類の平均値8:100に比べて約その半である。この相異は Rebelein の所説に随えば $\frac{[Di]}{[Gla]}$ の比、即ち糖汁成分の相異に帰せられる。即ち果類を多量に含むブドー汁 (Fructose : Glucose=1 : 1) にあつは Ketose が Aldose より Dioxyaceton を生じ易いため $\frac{[Di]}{[Gla]}$ の比は増大し Glycerin 生成量が多くなるが、反え清酒においては Aldose なるブドー糖に専ら分解を蒙るため Dioxyaceton の生成に恵まれず、その結果 Glycerin 生成量の低下を来すこととなる。

Ribéreau-Gayon,³⁾ J もブドー汁、麦芽汁、その他種々果実汁について、それらが始め同量の糖分を含んでいても醱酵副生物の生成量を著しく異にすることを認めた。然ながら彼はその理由を種々糖汁中における Coenzym の活性度の相異、或は酵素賦活物質の多少によるものとしている。

以上の様に Rebelein⁴⁾ の平衡論により清酒とブドー酒における Glycerin 生成比の相異は一見明快に説明されるようではあるが、Glucose と雖も一応 Fuuctose-Diphosphat (Harden young Ester) の中間体即ち Ketose を経てアルコール醱酵に到達するものと信ぜられる点、且つ又 Dioxyaceton と Glycerin-aldehyd の間の平衡は周囲の条件によって当然影響されるものと考えられる故、化学構造論的なものより熱力学上の条件が主導的なものと思われる。なお Rebelein は専ら Alkohol の正常醱酵の観点のみに立って平衡論を展開したが、醱酵に当っては大なり小なり程度の差こそあれ常に異常醱酵の併行或はこれによる正常醱酵反応の攪乱が伴うものである。

例えば清酒においては早湧き防止のため、始め軽度の乳酸醱酵或は乳酸添加の処置がとられる。今 Meyer hof の醱酵理論を尚略に記した下記図表において

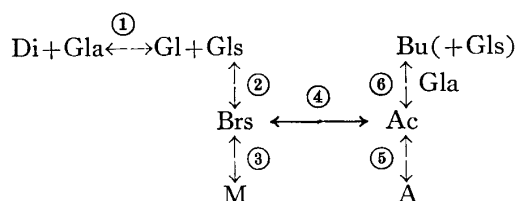
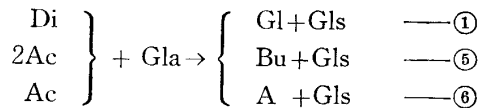


Fig. 5 M: Milchsäure, 他の略号は前記に同じ。

例えば正常なアルコール醱酵 (反応系⑤) が同じく DPN-H₂ を介して進む乳酸醱酵 (反応系③) によって競

合われるか、またはおき代えられるならば Glycerin の生成は行われるが、反応系④の渋滞に因く Butylenglykol の生成低下をみる筈である。事実第8表において Bu/Gl 値は醗仕込の初期において著しく低い。

また K. Hennig⁵⁾ の糖汁が強く酸素との接触に曝されるときは Glycerin, Butylenglykol の生成量を共に増すという知見もまたその原因を糖成分の変化に帰せしめるよりはむしろ Dehydrogenase 活性との関連において理解されるのではなからうか。即ち Fig. 5 において乳酸醗酵は今これを除外し、残余の反応系の中で Gla の関与する酸化還元系に属するものは系①, ⑤, ⑥である。即ちこれを式示すれば次の関係にある。



これ等の反応を矢印の方向に進める夫々の対応 Dehydrogenase の強弱が Gl, Bu, A の生成比を決定するものと考え、酸素と醗酵液の接触が反応系⑤の促進を来したものと解される。

他方にまた J. Ribéren-Gayon³⁾ は醗酵副生物の生成と pH との関係並びに Acetaldehyd の連続供給による影響を観察した際、いずれの場合も活潑なアルコール醗酵では Butylenglykol の生成量が多く、逆にアルコール醗酵の低調は Glycerin 生成量を増すと述べている。このことは Rebelein の Glycerin, Butylenglykol の生成が根本的には共にアルコール生成に伴って増加するという所説と撞着する。

このような矛盾もまた酵素活性の見地より解かれるものではなからうか。このようにアルコール醗酵副生物の生成については諸家の説くところ多様であり、にわかに決定的な結論を下し得ないが、醗については酒造の全過程において余り大きな生成量の変動を見ず、特に醗酵終了時においてその数値は安定の傾向がうかがわれる。このことは醗酵液の性状に著変なく（例えば Bertrand 還元銅値は仕込の初期を除いて著変なし）、且つ醗酵のエネルギー条件も極度の反応調節によって（厳冬期を選び、品温の変動も極度に制限）常時一定に保たれるためであろう。

兎に角結果的にこれ等の数値 $\frac{\text{Gl}}{\text{A}}$, $\frac{\sqrt{\text{Bu}}}{\text{A}}$ 等がブドー酒のそれらに比べて高い安定度を示すことはこれによって酒質の判定をなすに当り好条件を附与するものというべきである。

§ 3 市販清酒中の Glycerin, Butylenglykol 測定結果

市販酒中に含まれる糖類は Fig. 5 に示たしように大部分が Glucose であって、その他僅かながら醗の場合と全く RG を等しくする極めて淡い Maltose, Oligosaccharid のスポットを認める。又その Bertrand 氏法による定量値は何れも大略 30g/l 前後であった。従って脱糖は醗における場合と全く同様にその 10cc を水酸化バリウムをもって Aceton 溶媒中脱糖し、以下上記の方法で Glycerin 並びに Butylenglykol を測定した。第11表はその結果を示したものである。表中銘柄の記号を等しくするものは同一酒造所の製品である。表中 A は特級、一級酒を 16v/v% とし、二級酒を 15v/v% とした。Alkohol の

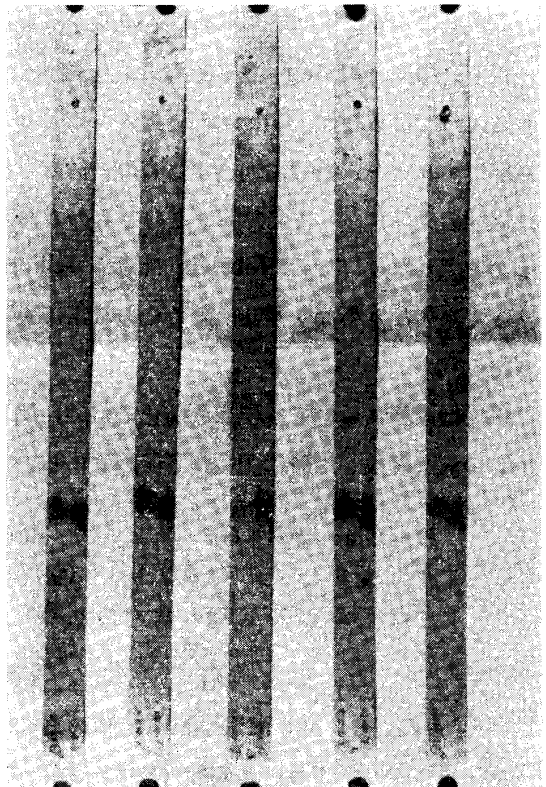


Fig. 5

g/l である。Alkohol 算出式としては前に述べた第9表の醱の終末期に示す数値を基礎とした。

$$\text{即ち } \frac{[Gl]}{A} \times 10^2 = 4 \text{ とし } \text{これより } A = 25 \times [Gl] \dots \dots \dots (1)$$

$$\frac{\sqrt{Bu}}{A} \times 10^3 = 6.3 \text{ とし } \text{これより } A = \frac{10^3 \sqrt{Bu}}{6.3} \dots \dots \dots (2)$$

$$\text{又 } \frac{[Gl][Bu]}{A^3} \times 10^6 = 1.55 \text{ とし } \text{これより } A = 86.4 \cdot \sqrt{[Gl][Bu]} \dots \dots \dots (3)$$

第11表

銘柄級別	グリセリン Gl g/L	グリコール Bu g/L	Gl A ×100	√Bu A ×10 ³	K	Alkohol の計算量		
						よ り Gl	よ り √Bu	よ り K
C新特	4.2	0.39	3.14	4.65	0.67	105	100	101.1
C 特	3.3	0.42	2.60	5.1	0.68	82.5	103	95.9
C 1	3.1	0.28	2.44	4.2	0.43	77.5	83.9	82.2
C準1	2.8	0.26	2.20	3.9	0.35	70.0	79.3	76.9
T 特	2.96	0.34	2.30	4.6	0.40	74.0	92.5	86.4
T 1	2.76	0.32	2.18	4.45	0.43	69.0	89.7	82.9
T 2	2.76	0.32	2.30	4.75	0.53	69.0	89.7	82.9
K 特	1.64	0.21	1.29	3.6	0.17	41.0	72.7	60.5
K 1	1.80	0.28	1.40	4.15	0.25	45.0	83.9	68.3
G 特	1.58	0.21	1.24	3.6	0.16	39.5	72.7	59.6
G 1	2.40	0.28	1.89	4.15	0.33	60.0	83.9	75.2
M 1	2.8	0.3	2.2	4.3	0.41	70.0	86.8	81.2
M 2	2.42	0.3	2.03	4.6	0.43	60.5	86.8	76.9
Ko 2	2.1	0.24	1.76	4.1	0.30	52.5	77.6	68.3
Kn 2	1.6	0.21	1.34	3.85	0.20	40.0	72.7	59.6
B 2	1.6	0.2	1.34	3.75	0.19	40.0	70.9	59.6
Mn 2	1.84	0.21	1.6	3.85	0.23	46.0	72.7	62.2

今第11表を通覧するに

1) K値は銘柄Cにおける様に上級より下級に従って逐次数値の減少をみるものもあるが他銘柄においては往々上級が反って下級より低値を示す。然し総体的には高級酒が高い数値を示す傾向にある。

2) (1), (2), (3) 式に基く Alkohol の算出値を比較した場合は銘柄G, Kを除いてはいずれも上級酒において数値が高い。またこの場合も同級酒の間にも銘柄による顕著な相異がある。なおこれら算出値と清酒中のAlkohol量との差が理論的には添加アルコール量となる筈であり、その価は余りにも大きく、なお検討されなければならぬところであるが、著明銘柄G, K等においてこのことは特に甚しい。

3) 今仮りに上級酒と呼称されるものでも吟醸清酒を生地とし大巾にアルコール添加で伸ばされた場合を想定するならば、 $\frac{Gl}{A}$, $\frac{\sqrt{Bu}}{A} \cdot 10^3$ の両値を比較した場合前者は後者より一層甚だしい減少を来す筈である。このような想定は正しくAlkohol計算値の低い銘柄G, Kに認められる。

結 語

Alkohol 醱酵に関する Meyerhof の Mechanism を始て Rebelein は化学量論的に論じ、ブドー酒の酒質判定に優れた結果を得たと報じた。然しながら Hennig は Rebelein の方法を追試した結果判定法として、左程有力な根拠たり得ないとした。

著者は清酒についてこの方法を適用し、検討を加えた結果幾多興味ある知見を得ることが出来た。これは清酒がブドー酒などに比べて遙にその酒質が格一性に富むためにもよるが、他方またそれらの知見は何れも化学量論的な取扱いにおいて始めて得られたものである。就中アルコール添加の問題に関しては甚だ示唆に富むものと信ずる。

終始御鞭撻を賜った本学宮道学長並びに研究に協力を頂いた本学衛生化学教室の各位に衷心謝意を表します。又研究試料の供与その他多大の便宜を賜った岐阜市加納町日本泉酒造株式会社に深謝致します。

文 献

- 1) Kniphorst. L. C. E., C. I. Kruisheer: Z. Lebensmittel-Unters. u.-Forsch. **73**, 1 (1937).
- 2) Diemair, W., u. J. Kleber: *ibid.*, **81**, 385 (1941).
- 3) Ribéreau-Gayon, J., E. Peynau u. M. Lafon: Bull. Soc. Chim. biologique. **37**, 457 (1955).
- 4) Rebelein, H.,: Z. Lebensmittel-Unters. u.-Forsch. **105**, 296 (1957), *ibid* **105**, 403 (1957).
- 5) Hennig, K., u. A. Lay: *ibid.* **111**, 505 (1960).
- 6) Malaprade. L.: Bull. Soc. chim. France(4)**43**, 683 (1928)
- 7) Buchan, J. L. u. R. I. Sarage: Analyst **77**, 401 (1952).
- 8) Thaler, H.: Z. Lebensmittel-Unters u.-Forsch. **100**, 362 (1955).
- 9) Fatome, M. Ann. Ferment, **1**, 291 (1935).
- 10) Thaler, H.: Z. analyt. chem. **131**, 29 (1950).
- 11) Reichard, O., u. H. Gspahn: Z. analyt. Cnem. **141**, 265 (1954).
- 12) Grohmann, H., u. F. H. Mühlberger: Z. Lebensmitt-Unters. u. Forsch. **103**, 185 (1956).
- 13) Hoepe, G.; Helv. Chim. Acta **26**, 1931 (1943).

沢登定教, 沢登俊雄: 刑事訴訟における「挙証責任」の転換について

Sadanori Sawanobori and Toshio Sawanobori: On Shifting the Burden of Proof in Criminal Procedure

目 次

1. 序 説
2. 刑法第 207 条 (同時犯と共犯例) に関する諸説
3. 法律上の推定の効果に関する諸説
4. 批 判
5. 私 見
6. その妥当性