

酸性ウレアーゼによるワイン中の尿素の分解除去とその酒質への影響

渡辺 正平・飯野 修一・荻野 敏・富士縄昭平*

Application of an Acid Urease to Degradation of Urea in Wines and Its Effect on Wine Quality

Masahira WATANABE, Shuuichi IINO, Satoshi OGINO and Shohei FUJINAWA*

要 約

ワイン中に尿素が多量残存した場合、ウレアーゼ利用によるワイン中の尿素除去の可能性とその酒質に及ぼす影響について検討した。

白及び赤ワインに添加した尿素30ppm は、ウレアーゼ30ppm 添加した貯蔵温度(10°C、8週間又は20°C、3週間)条件下で殆ど1ppm(検出限界値)まで減少した。

ウレアーゼ処理ワインの品質は、対照区に比べ差異は認められず、尿素分解により生成した20ppm程度のアンモニア含量の酒質に及ぼす影響は認められなかった。また、ウレアーゼ処理ワインを20~25°Cで長期間作用させると品質が酸化により劣化するので、ウレアーゼ処理は低温の方が望ましいことが分かった。

In order to degrade excess urea in the white(Koshu) and red(Muscat Bailey A) wines, the urease having activity at acidic side was studied. The experimental results obtained were summarized as follows;

1) A white table wine containing less than 1 ppm urea and a red table wine containing 10 ppm urea were spiked with 30 ppm urea prior to urease treatments. The urea of the both wines was decreased to 1 ppm (detection limit) after 8 weeks at 10°C and 3 weeks at 20°C with addition of 30 ppm urease.

2) There was no significant difference on the quality between the urease treated wines and the control wines. It was also found that the amounts of ammonia formed from urea degradation did not influence the quality of the urease treated wines.

3) It was recognized that urease treatment at a low temperature was desirable to avoid the effect of temperature on the quality of the wines.

1. 緒 言

前報¹⁾でワイン中のエチルカルバメイト(EC)生成の前駆物質の主体が尿素であることを確かめると共に、本邦産ワインの尿素及びアンモニア含有量の実態を把握するため、多試料のワインについて、その含量を測定して分布を調べたところ、

総的にEC、尿素及びアンモニアの3成分とも低含量で、アメリカにおける自主基準²⁾に近いものも少なく問題のないことを報告した。

最近、酒質保全剤として酒類中に残存する尿素を分解除去するウレアーゼ製剤が開発され、清酒中の尿素除去への利用の可能性について明確な報告^{3~5)}がなされ、清酒業界では既に実用化されている。

* 武田薬品工業(株) 食品研究所

ワインについて、Oughら⁹⁾は酸性ウレアーゼ死細胞製剤でワインを処理し尿素を除去できると報告している。

ここでは本邦産ワイン中に尿素が多量残存した場合を想定し、酸性ウレアーゼによるワイン中の尿素除去への利用の可能性とその酒質に及ぼす影響について検討した。

2. 実験方法

2-1 供試ウレアーゼ

酒質保全剤として国税庁長官指定告示物品の武田薬品工業(株)製酸性ウレアーゼ酵素製剤(商品名: タケメイト-AU、但し、力価調製用のセルロース粉末を加えていない原末で、力価は製品の1.9倍)を用いた。

2-2 供試ワイン

当部試験の1988年産白ワイン(甲州種)及び赤ワイン(マスカット・ベリーA種)を供試した(Table 1)。

Table 1. Analysis of the wines used in the experiment.

Grape variety	Koshu	Muscat Bailey A
Year of vintage	1988	1988
Ethanol % (v/v)	12.2	11.8
Specific gravity	0.997	0.998
Total acid (g/l) ¹⁾	4.89	7.12
Free-SO ₂ (ppm)	66	15
Total-SO ₂ (ppm)	118	155
NH ₃	1*	6
Urea	1*	9
pH	3.24	3.61

1) Total acid as tartaric acid.
*: The lower limit of detection.

2-3 ワイン中の尿素除去試験

供試ワインを用い、尿素無添加(対照区)と尿素添加30ppm 両区を設定し、その各区にウレアーゼをそれぞれ、0、30及び150ppm の3段階に添加した各試験区を設け、貯蔵温度10°Cで8週間、同20°Cで3週間及び6週間作用させた後、対照区と比較して尿素及びアンモニア含量を定量した。

なお、尿素は和光純薬工業(株)製生化学用を用いた。

2-4 分析方法

- 1) ワインの一般分析: 国税庁所定分析法¹¹⁾によった。
- 2) 亜硫酸: Rankine の方法⁹⁾によった。
- 3) pH: 日立堀場社製7-DE型pHメーターによった。
- 4) 尿素及びアンモニア: 試料の前処理及び分析法ともに前報¹⁾と同じ方法によった。

2-5 官能審査

食品醸造部3名の研究員により、5点法で採点した各パネラーの平均点を比較して、酵素処理による酒質への影響の有無を調べた。

3. 実験結果及び考察

3-1 ウレアーゼによるワインから尿素の除去

ワイン醸造期の貯蔵温度を想定し、実験方法2-3により、ウレアーゼ処理したワインを10°C及び20°Cで貯蔵し、一定期間酵素を作用させ、添加尿素の残存量と同時にアンモニア含量の増加量並びにpHを測定し、さらに処理ワインの品質を比較した。

ワインに添加した尿素30ppm は、ウレアーゼを添加しない場合、全然除去されないが、ウレアーゼ処理により殆ど完全に1ppm(検出限界値)まで除去された(Table 2)。

この結果から、白及び赤ワイン中の尿素含量が30~40ppm と仮定すれば、ウレアーゼを30ppm 添加して、10°Cで8週間又は20°Cで3週間作用させれば、尿素含量を1ppm まで低減できることが分かった。

なお、富士縄ら⁹⁾は酸性ウレアーゼによるワイン中の尿素分解速度について、1~3ppm の自然含有尿素と30ppm の添加尿素の両者で差がないことを報告している。

他方、尿素が分解除去されたワイン中のアンモニア生成量は、白及び赤ワインとも20ppm 以下であった(Table 2)。

このアンモニア増加量は供試ウレアーゼの尿素に対する高基質特異性(NH₂CONH₂+H₂O→ウレアーゼ→2NH₃+CO₂)によるものである⁴⁾。

Oughら¹⁰⁾はブドウ果汁及びワイン中のアンモニア含量を測定し、それぞれ24~309ppm(平均

Table 2. Effect of the treatment on the decrease in urea content and increase in ammonia (NH₃) content as well as on the flavour of wine.

Treatment			Koshu wine ¹⁾				Muscat Bailey A wine ¹⁾			
Temp. (°C)	Time (weeks)	Urease (ppm)	Urea (ppm)	NH ₃	pH	flavour score ²⁾	Urea (ppm)	NH ₃	pH	flavour score ²⁾
10	8	0	31	0	3.24	3	29	0	3.61	3
		30	1	17	3.26	3	0	18	3.62	3
		150	0	18	3.27	3	0	18	3.63	3
20	3	0	31	0	3.24	3	28	0	3.60	3
		30	0	18	3.27	3	0	19	3.63	3
		150	0	18	3.26	3	0	17	3.63	3
20	6	0	31	0	3.23	4	28	0	3.60	4
		30	0	19	3.26	4	0	18	3.63	4
		150	0	18	3.26	4	0	17	3.63	4

1) See Table 1. 30 ppm of urea was added prior to the treatment.

2) Figures shows the average rank order of the wines for 3 laboratory panel. 3: Normal. 4: Inferior (slight oxidized).

123) 及び0～50ppm (平均12) の値を、戸塚ら¹¹⁾ も本邦産ブドウ搾汁及びワイン中のアンモニア含量を測定し、それぞれ7～30ppm 及び0～3ppm の定量値を示し、アンモニアは発酵中、酵母の窒素源として容易に資化されると報告している。

Mcwilliam¹²⁾ はワイン中のアンモニアを定量して、白ワイン5.5～52.0ppm (平均16.0, 23点)、赤ワイン5.5～49.0ppm (平均15.8, 34点) 及びロゼワイン7.0～44.0ppm (平均18.5, 21点) と報告している。また、Ionescu¹³⁾ は酒精含有飲料の成分及び添加物の許容量として、ワインのアンモニア含量は20ppm を上限としている。

これらの報告値と比較すると前述のウレアーゼ処理によるアンモニア含量の増加 (20ppm 以下) はやや高いが問題は無いといえる。

3-2 ウレアーゼ処理がワインの品質に及ぼす影響

3-2-1 貯蔵温度及び貯蔵期間

まず、標準量を使用したウレアーゼ処理ワインの酒質に及ぼす貯蔵温度とその期間の影響を検討するため、白及び赤ワインに0ppm、20ppm 及

び25ppm のウレアーゼを添加した3区分を、15℃、20℃及び25℃の各温度で貯蔵した試験区を設定して調べた。

その結果、全試験設定区でウレアーゼの品質への影響は全く認められず、貯蔵期間10日及び20日の結果は省略し Table 3 に示したが、今回設定した条件下では問題のないことが分かった。

しかし、白及び赤ワインに25℃で30日間処理後、弱い酸化が認められ香味とも劣化した。これは高温で長期間の貯蔵条件に起因したものと考えられ、ウレアーゼ処理によるものでない。

3-2-2 ウレアーゼにより尿素除去したワインの品質

次に実験結果3-1 に記述した供試ワインについて、即ち、所定量のウレアーゼを添加して、一定期間所定の温度で作用させ、ワイン中の尿素を実際に除去したワインの酒質に及ぼす影響を調べた。

結果はTable 2 に示したとおり、ウレアーゼ (添加量30ppm 及び150ppm) 処理ワインを10℃で8週間又は20℃で3週間及び6週間貯蔵後、対照区のワインと比べた結果、ウレアーゼの酒質に

Table 3. Sensory differentiation of the treated wines.

Storage		Score (rank order) ¹⁾						
Temp (°C)	days	Urease (ppm) :	Koshu wines ²⁾			Muscat Bailey A wines ²⁾		
			0	20	25	0	20	25 *
15	10-30		3	3	3	3	3	3
20	10-30		3	3	3	3	3	3
25	10-30		4	4	4	4	4	4

1) See footnote of table 2.

2) See Table 1.

及ぼす影響は認められず、品質に差異はみられなかった。この結果からウレアーゼ処理ワインにアンモニア20ppm 位まで生成されても、その品質に及ぼす影響は認められないことが分かった。

他方、20°Cで6週間の処理ワインには、ウレアーゼの酒質に及ぼす影響は認められないが、酒質は香味とも若干酸化が進み、前項でも指摘したようにワインのウレアーゼ処理は低温の方が好ましい。

文 献

- 1) 渡辺正平、飯野修一、荻野敏、富士縄昭平：醸協，85，(6) 428 (1990)
- 2) Food Chemical News, Jan. 11 ; Feb. 1 (1988)
- 3) 吉沢 淑、高橋康次郎：醸協、83，(2) 142 (1988)
- 4) 戸田 準、富士縄昭平：酒研会報，No.28，P.23 (1989)
- 5) 小林健文：酒研会報、No.28，P.37 (1989)
- 6) C. S. Ough and G. Trioli : Am. J. Enol. Vitic., 39, (4) 303 (1988)
- 7) 注解編集委員会編：第3回改正国税庁所定分析法注解、日本醸造協会 (1974)
- 8) B. C. Rankine : Aust. Wine Brew. & Spirit Rev., 80, 14 (1962)
- 9) S. Fujinawa et al. : J. Food Sci., 投稿中
- 10) C. S. Ough : Am. J. Enol. Vitic., 20, 213 (1969)
- 11) 戸塚 昭、高橋利郎、北野一好：醸協，83，(6) 420 (1988)
- 12) D. J. Mcwilliam and C. S. Ough : Am. J. Enol. Vitic., 25, (2) 67 (1974)
- 13) A. I. Ionescu : Ind Aliment. 23, (10) 557 (1972)