

今回は、ワイン醸造や酵母、ブドウのアントシアニン、ブドウ品種の DNA 解析などの研究で活躍されている後藤奈美さんに執筆をお願いしました。

デリケートなワインを酸化や微生物汚染から守るため、亜硫酸はワイン醸造に欠かせない添加物です。亜硫酸の利用は、エジプト時代、ローマ時代に遡ると言われ、樽の中で硫黄を燃やして亜硫酸ガスを発生させていたとか。樽の中に吊すために、先を曲げた針金に引っかけられるリング状の硫黄は今でも売られています。今回は亜硫酸について、時々質問されることなどをご紹介したいと思います。ちょっと細かい話もありますが、何か参考になることがあれば幸いです。ではまず、教科書の復習から・・・

### ●▲■ ワイン中の亜硫酸の状態 (図1)

果汁やワインに添加された亜硫酸は、その一部が糖やアルデヒド、アントシアニンなどと結合して、亜硫酸としてはほとんど効果のない結合型になります。残りの遊離型亜硫酸は、果汁やワインのような酸性の溶液では、そのほとんどが一価のマイナスイオン  $\text{HSO}_3^-$  (重亜硫酸イオン) に、一部が解離しない  $\text{SO}_2$  (分子状  $\text{SO}_2$ 、二酸化硫黄) になります。なお、昔は  $\text{H}_2\text{SO}_3$  (亜硫酸) と習いましたが、 $\text{SO}_2$  が正しいそうです。 $\text{HSO}_3^-$  と  $\text{SO}_2$  の割合は、pH によって異なり、pH 4.0 では遊離型亜硫酸の 0.6% が  $\text{SO}_2$  ですが、pH 3.0 では 6% と、酸性が強い方が  $\text{SO}_2$  の割合が多くなります。

「それがワインと何の関係があるの?」と思った方は、ぜひ次をお読みください。

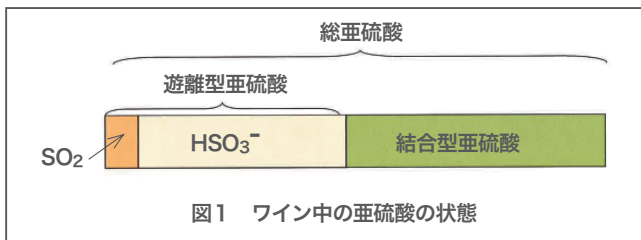


図1 ワイン中の亜硫酸の状態

よく知られているように、亜硫酸の作用は、

1. 細菌や野生酵母の殺菌及び増殖の阻止
2. 酸化防止
3. アセトアルデヒドなどとの結合

ですが、このうち、1. の抗菌性を示すのは、分子状  $\text{SO}_2$  が主体です。ですから、同じ遊離型亜硫酸濃度なら、pH の高いワインほど抗菌活性が弱くなってしまいます。しかも、微生物は pH が高めの方が増殖しやすいので、pH が高いワインは二重に微生物汚染されやすい、ということになります。

### ●▲■ 亜硫酸の分析は pH 測定とセットで

しかし、むやみに亜硫酸濃度を高くすると、ツンとくる亜硫酸臭が強くなってしまい、食品添加物は必要最低限を使うという原則にも反します。亜硫酸臭の原因は、分子状  $\text{SO}_2$  です ( $\text{HSO}_3^-$  は揮発しないので、臭いもない)。ワインを微生物汚染から守るためには、大体 0.5 ~ 0.8 mg/L 以上の分子状  $\text{SO}_2$  が必要で、亜硫酸臭が気にならないよう、2 mg/L 以下に調整する必要があると言われています。また、赤ワインには 0.6 mg/L、白ワインには 0.8 mg/L が良いという意見もあるようです。分子状  $\text{SO}_2$  の濃度を直接測定するのは難しいのですが、前述のように、遊離型亜硫酸の  $\text{HSO}_3^-$  と  $\text{SO}_2$  の割合は pH によって決まりますから、遊離型亜硫酸濃度と pH から求めることになります。

具体的には、表1のように、ワインの pH に合わせて必要な遊離型亜硫酸濃度の範囲を求め、その範囲内に収めるようにします。この表を見ると、ワインの pH が 4 近くになると、0.8 mg/L の分子状  $\text{SO}_2$  を確保することは、かなり難しいことがわかります。

さて、亜硫酸を追加する場合、どの程度の割合が遊離型で残るかが問題となります。経験的に、発酵終了後のワインに添加する場合、遊離型の

PH	必要な遊離型亜硫酸濃度 (mg/L)		
	0.6 mg/L	0.8 mg/L	2 mg/L
2.8	6	9	22
2.9	8	11	27
3.0	10	13	33
3.1	12	16	41
3.2	15	20	51
3.3	19	26	64
3.4	24	32	80
3.5	30	40	100
3.6	38	50	125
3.7	47	63	157
3.8	59	79	197
3.9	74	99	248
4.0	94	125	312

表1 ワインの pH と各分子状  $\text{SO}_2$  濃度になるために必要な遊離型亜硫酸濃度

亜硫酸はほとんど残っておらず、ワイン中には亜硫酸と結合するピルピン酸やアセトアルデヒドが含まれるため、添加亜硫酸の約半分が結合型になると言われています。一方、遊離型亜硫酸を含む貯蔵中のワインに亜硫酸を追加する場合は、ほとんどが残るといふ意見と、30% ぐらいは結合型になるといふ意見があるようです。もちろん、この割合はワインの状態によって大きく異なります。

ワイナリーごと、製品ごとに色々条件やノウハウはあると思いますが、大体これが原則です。もし、あなたのワイナリーに pH メーターがなければ、簡単なもので良いのでぜひ購入しましょう。標準液で校正することもお忘れなく。

### ●▲■ ランキン法による亜硫酸測定のポイント

ワインにとって重要な亜硫酸の作用があるのは遊離型亜硫酸ですが、食品衛生法では総亜硫酸濃度で規制されており、遊離型亜硫酸と総亜硫酸の両方を測定する必要があります。亜硫酸にはいくつか測定法があり、大手では HPLC などの分析機器も使われていると思いますが、今回は国税庁所定分析法 (所定法) に採用されている通気蒸留・滴定法 (ランキン法) について説明します。なお、所定法はワイナリーで工程管理のために行われる亜硫酸の分析方法を縛るものではありませんので、ヨード滴定のリッバー法 (白ワインには有効ですが、赤ワインにはちょっと難しい) など、他の方法で測定されても問題はありません。

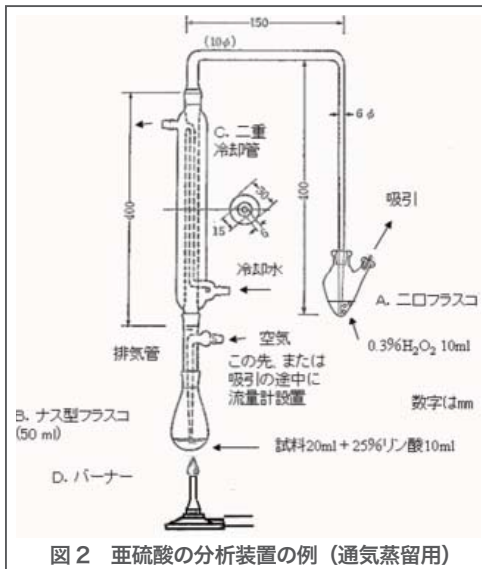
ランキン法 (図2) では、ワインなどのサンプルにリン酸を加えて強酸性にし、遊離型亜硫酸の大部分を揮発性の分子  $\text{SO}_2$  にします (ナス型フラスコB)。そこに 15 分間、空気を吸引・通気して  $\text{SO}_2$  をパージし、出てきた  $\text{SO}_2$  を、あらかじめメチルレッド・メチレンブルー混合液を指示薬に用いて中和しておいた 0.3% 過酸化水素 ( $\text{H}_2\text{O}_2$ 、二口フラスコA) でトラップして硫酸 ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) に酸化します。通気蒸留が終わった後、過酸化水素水中の硫酸を 0.01N NaOH で滴定し、 $\text{SO}_2$  濃度に換算します。

以上が遊離型亜硫酸の場合で、総亜硫酸はBのナス型フラスコを加熱して結合型亜硫酸を遊離型に分解しながら同様の操作をします。また、遊離型を測定した後、同じサンプルを加熱して結合型を測定し、合計しても結構です。(詳しくは、国税庁所定分析法をご覧ください。Google で「国税庁所定分析法」を検索すると、<http://www.nta.go.jp/shiraberu/zeiho-kaishaku/tsutatsu/kobetsu/sonota/070622/pdf/09.pdf> 出てきます。)

ご注意いただきたいのは次の2点です。

#### 1. 通気は十分に

あまり勢いよく通気すると、過酸化水素でトラップしきれないのではないかという心配から、以前の所定法では「できる限り弱く吸引」とされていましたが、通気・吸引が弱すぎると  $\text{SO}_2$  が完全にサンプルからパージ



されないことがあります。通気量が1L/分ぐらいになるよう吸引してください。流量計がない場合、言葉で伝えるのは難しいですが、一秒間にポコポコとなる感じで、結構強い通気です。完全にSO<sub>2</sub>がパージされているかどうかは、15分間通気蒸留した後、もう一度新しい過酸化水素水のフラスコをつけて5分ぐらい通気蒸留し、滴定値がほとんどゼロかどうかで確認でき

ます。過酸化水素中に吹き込む口は、細くなくても良いので、容器の底近くまで差し込んでください。液面近くでポコポコしているとSO<sub>2</sub>が完全にトラップされずに逃げてしまいます。

古い文献を見ると、SO<sub>2</sub>を完全にトラップできるように深いシリンダーに過酸化水素水を入れているものもありますが、梨型フラスコ程度の深さがあれば大丈夫、ということで、現在のような方法になったようです。

## 2. 混合指示薬のメチルレッドが溶けてますか？

滴定の混合指示薬の色の変化がわかりにくい、という話を聞くことがあります。

混合指示薬のうち、pHで色が変わるのはメチルレッドで、酸性では赤、アルカリ性では黄色になります。これにメチレンブルーを加えることで、紫(酸性)→オリーブグリーン～灰青色(pH5.4)→緑(アルカリ性)(図3)になって色の変化が見やすくなります。ちなみにメチレンブルーは酸化還元指示薬で、pHでは色が変わりません。

混合指示薬を作るとき、50%エタノールにメチルレッドとメチレンブルーを入れると、メチレンブルーがすぐに溶けて濃い青色になりますが、

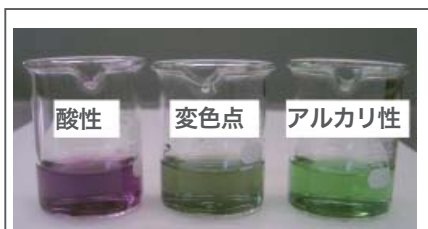


図3 通気蒸留・滴定法による亜硫酸の測定 滴定時の色の変化の例

実はメチルレッドが溶け残って沈殿していることがあります。色の変化がわかりにくいのは、このような指示薬を使った場合だと思われます。そこで、平成19年改訂の所定分析法では、まずメチルレッドを95%や99%のエタノールに溶解し、次にメチレン

ブルーを溶解するよう、記載が変更されました。また、この混合指示薬は試薬メーカーから市販されていますので、既製品を使うことも可能です。いずれの場合もエタノール溶液ですから、総亜硫酸を測定するときのバーナーなど、火気の近くに置かないよう、ご注意ください。

色がちょっと違うのだが、と質問されることもあります。メチルレッドとメチレンブルーの割合で色調が変わりますが、問題はpHですから、滴定で色の変化がわかれば大丈夫です。

### ●▲■ 次の点にもご注意ください

#### 1. 衛生試験法の方法とはちょっと違います。

衛生試験法の亜硫酸の分析方法は、通気を吸引ではなく、窒素ガスの吹き込みで行う方法になっています。吸引の方が若干減圧になってSO<sub>2</sub>がパージされやすいのですが、吹き込み法では通気蒸留時間に30分必要です。国税庁所定分析法の方法は、海外で広く使用されている方法と同じで、工程管理には問題ありませんが、厳密に食品衛生法上問題がないかを検討する際には、衛生試験法に従った分析が必要です。

なお、所定法の15分の通気蒸留時間でも長いと感じる人がいるかと思えます。所定法では正確に測定するために15分としています。亜硫酸濃度がそれほど高くない場合には、10分でも工程管理にはほとんど問題がないようです。

#### 2. 若い赤ワインの遊離型亜硫酸濃度は多めに測定されます。

結合型亜硫酸のうち、アセトアルデヒドやグルコースと結合型としたものはほとんど解離しませんが、ピルビン酸との結合型は若干解離します。また、アントシアニンとの結合型は不安定で解離しやすく、高分子化していないアントシアニンを多く含む若い赤ワインの遊離型亜硫酸濃度は、実際よりも高く測定されると指摘されています。この問題には、今のところ解決策がありませんので、若い赤ワインの遊離型亜硫酸濃度を調整するには、ある程度余裕をみておく必要があります。

### ●▲■ そのほか、ときどき質問されること

#### 1. 総亜硫酸は、添加した亜硫酸の合計ですか？

総亜硫酸量は、添加量より減少します。亜硫酸が酸化防止剤として働くのは、亜硫酸が酸化されやすいからです。亜硫酸は酸化されると硫酸になります。また、加熱しても分解されないような結合型亜硫酸を生じる場合も、総亜硫酸が減少する原因となります。

#### 2. どうして亜硫酸を添加しているのにフェノール化合物が酸化するの？

亜硫酸は酸化されやすい物質ですが、フェノール化合物も同様に酸化されやすい物質なので、フェノール化合物の酸化的熟成を完全には防げないのです。熟成中の赤ワインに亜硫酸を添加する意義は、亜硫酸で香りを酸化から守ってやりながら、フェノール化合物の酸化的熟成を進めることにある、とされています。

ちなみに、果汁の酸化はポリフェノールオキシダーゼの酵素反応で起こるため、ワインの酸化よりずっと速く進みます。亜硫酸はポリフェノールオキシダーゼ活性を阻害する作用があるので果汁の酸化を防ぐことができます。

#### 3. 亜硫酸無添加ワインから亜硫酸が検出されました。

酵母は菌株によって多少がありますが、亜硫酸を分泌します。ですから、亜硫酸無添加から若干亜硫酸が検出されても不思議ではありません。ビール醸造では、ビール酵母が作る亜硫酸が酸化防止の作用をしているそうです。ついですが、マロラクティック乳酸菌は、亜硫酸にとっても敏感で、結合型亜硫酸でも阻害されると報告されています。マロラクティック発酵を起こしたい場合は、亜硫酸分泌の多い酵母は避けた方がよいでしょう。市販ワイン酵母の各菌株の特徴は、酵母メーカーのホームページに詳しく出ていますが、日本語のページも欲しいところですね。

(Text: N.Goto)

(主な参考文献)・Improved Winemaking, Sulphur dioxide, B. Rotter (<http://www.brsquared.org/wine>)・Principal and Practice of Winemaking, R.B. Boulton et al, Chapman & Hall (1996)

後藤 奈美 (ごとうなみ 旧姓 山本)  
(プロフィール)

1983年 京都大学大学院農学研究所修士課程(食品工学)  
修了 同年国税庁醸造試験所入所(東京 滝野川)  
1985年 大阪国税局鑑定官室  
1988年 国税庁醸造試験所第3研究室研究員  
1991年 東京大学農学博士 同年ワイン醸造学の研究のため、  
ポルドー大学にフランス政府給費留学生として1年間留学  
1997年 国税庁醸造研究所が東広島市に移転  
1998年 酒類理化学研究室主任研究員  
2001年 独立行政法人酒類総合研究所に改組  
2007年から、醸造技術基盤研究部門副部門長

QA? 本稿に関するご質問・ご意見等は、きた産業 ([info@kitasangyo.com](mailto:info@kitasangyo.com)) にご連絡ください。筆者に転送いたします。