

16~5	- 1.1	79	104	131	20	191	157
~6	- 1.1	100	99	114	//	224	166
~4	- 0.5	47	114	166	//	179	144
~3	- 0.2	47	109	157	//	224	163
~2	- 0.2	47	115	167	//	197	154

その結果は Table 8 の如くであり、通風乾燥に於ては乾燥直前に葡萄糖を添加し前半を緩慢な通風に依り ethanol vapour を與え乍ら乾燥する方法が最も有効で、その醱酵能の貯藏性は control の2~4倍であつた。

前半の乾燥に於ては ethanol vapour の供給、並びに葡萄糖添加と之との併用が真空乾燥より有効である事を認めた。乾燥直後は葡萄糖添加の効果が大きであつたが、貯藏後は ethanol vapour 供給の効果が大きであつた。

要 約

前報に續いてパン酵母の乾燥方法を検討し次の如き結果を得た。

1) 諸乾燥方法が乾燥酵母の醱酵能に及ぼす影響は夫々異なる。即ち葡萄糖添加乾燥、真空乾燥は乾燥直後の初期醱酵力に顕著な効果を示し、乾燥時間の延長は $Q_{CO_2}(\max)$ に達する時間の延長を招來した。

2) 葡萄糖添加は乾燥直後の醱酵能を約25%増加した。

3) ethanol vapour の供給は乾燥直後、貯藏後共に有効であつて、貯藏後は control の約1.5~3倍高い醱酵能を保持させる事が出来た。

4) 種々の乾燥方法の長所を併用した場合の総合効果を比較検討した結果、通風乾燥に於ては、生酵母に對し約3%の葡萄糖を添加し前半を緩慢な通風に依り ethanol を與え乍ら乾燥した場合最も顕著な効果を挙げ、貯藏後は control に比して2~4倍高い醱酵能を保持させる事が出来た。

尚後半の乾燥を真空中で行う事に依り、上述の如き前半の乾燥方法の効果を更に高め得る事が推定された。

以上の實驗に依り、同一の市販パン酵母を使用しても乾燥方法の適否に依り醱酵能の維持が種々相異なる事は明かであるが、乾燥に供する生酵母の性質も亦重要である事は前報の control 相互の比較検討からも認められる。乾燥酵母の醱酵力は時間と共に變化し、此の變化は乾燥方法に依つて異なる事から考へて、醱酵期間中一定時間後丈でなく經時的に之を測定しその變化を検討する事が必要であり、此の様に如何なる乾燥方法が如何様な生酵母に適するかを見出し得るものと思われる。

終りに本研究遂行に當り終始御懇篤なる御指導を賜つた九州大學山崎何恵先生に厚く感謝申上げる。尙本研究に使用した費用の一部は文部省科學研究助成補助金によるものであり、附記して謝意を表す。

文 献

- 1) 高桑: 本誌, 33, 104 (1955). 2) 高桑: 松山農大, 12, 39 (1954). 3) HYDUCK, F. and BULLE, B.: Woch. Brau. 29, 489 (1912). 4) KLEIN, E.: U. S. 1, 420, 557, June 20 (1922). 5) RILEY, H.: U. S. 1909, 011, May 16 (1933). 6) BERTEL, R.: U. S. 1, 859, 250, May 17 (1932). 7) N. V. INTERNATIONALE SUIKER etc.: Brit. 476, 545, Dec. 10 (1937). (昭和 29, 11, 15 受理)

合 成 清 酒 に 關 す る 研 究

(第2報) 細菌 protease に依る脱脂大豆蛋白の消化に就いて

坂 本 政 義 (株式會社 科學研究所)

緒 言

HUROWITZ¹⁾ は蛋白の酵素分解に就いて總括し、FRANKEL²⁾ はカゼインの protease に依る加水分解に就いて、DAMODARAN³⁾ は edestin, gliadine に就いて、PLENTL⁴⁾ は trypsin に依る peptid の分解に就いて、又 BERSIN⁵⁾ は papain に就いて報告して居る。著者は之等の文献を参照し、主として脱脂大豆蛋白を基質とし納豆菌、枯草菌から得られた細菌 protease に依て各種條件の下に酵素分解を行つた。而して、protease に

(146) (坂本) 合成清酒に関する研究 (第2報)

依る蛋白窒素の利用率, 又米麴菌と併用した場合の利用率, 生成アミノ酸を調べ, 最後に生成アミノ酸を paper-chromatography に依て protease 消化の時と米麴消化の時の構成に就いて比較した.

結果として好適な条件下では蛋白中の全窒素利用率は約75%に及び遊離アミノ酸のアミノ態窒素は其の約10%~15%程度であつた. 遊離アミノ酸は16種以上の数を示しそれは麴菌で消化生成されたアミノ酸と殆んど同じである事を認めた.

実験の部

◎protease 使用条件の検討

細菌 protease に依り脱脂大豆を消化するに際しての条件を検討する爲に以下の実験を行つた. 尚, 基質として使用した脱脂大豆は其の組成が次の如くである.

Table 1. Properties of soy-casein material

moisture	9.65%	fat	0.36%
total nitrogen	10.03	ash	4.26

(a) protease 使用量の相違

使用 protease 量を變えて一定条件の下に作用させてを行い比較した.

Table 2. Preparation of substrate solutions

Soy-casein material	20.0g	* Salt-solution	
salt-solution*	150cc.	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.02%
lactic acid	0.15cc.	NaCl	0.02%

脱脂大豆は5倍量の水と共に100°C, 10min 熱処理を行い, 冷却後上記の配合となる様に調製した. 300cc容逆流管付フラスコを用い温度は恒温槽にて調節した. 尚, 酵素作用中は時々振盪した.

Table 3. Correlation between the quantities of protease used and amino acid produced, conditions of the enzymatic action

temperature 45°C time 6 hr. pH 5.4 bacterial protease power (FG) 3000units

No.	Protease/ substrate × 100 %	amino acid g	amino type nitrogen/ total nitrogen of substrate × 100 %
No. 1	0.00	0.043	0.40
2	0.10	0.091	0.62
3	0.25	0.103	0.97
4	0.50	0.121	1.14
5	1.00	0.145	1.37
6	2.50	0.187	1.73
7	5.00	0.421	3.90
8	15.00	0.545	5.90
9	25.00	0.751	7.40
10	50.00	0.916	8.60

(note) amino acid as glycine

protease 量増加に従いアミノ酸は増加し, 従てアミノ態窒素も増加した. No. 1の protease 使用しない場合も加水分解に依り0.40%を示した. No.10の protease 50%に於てはアミノ酸0.916g, アミノ態窒素8.60%であつた.

(b) pH 相違の条件

作用 pH を變えて pH の影響を検べた. 試験を行つた範囲は pH = 6.8~3.5 である. 此の範囲内では

pH=6.8に於てアミノ酸, アミノ態窒素最も多く pH=3.5に於て最も少い. 細菌 protease はアルカリ側で強く酸性側で弱い事を示す. 即ち pH 高位で安定である.

Table 4. Effect of pH preparation conditions
soy-casein material 20.0g temperature 45°C
salt solution 150cc. time 8hr
protease 0.20g

	pH	amino acid g	amino type nitrogen %
No. 1	6.8	0.224	2.09
2	5.6	0.202	1.88
3	4.8	0.156	1.50
4	4.4	0.125	1.17
5	3.5	0.076	1.71

(note) amino type nitrogen %.....

$$\frac{\text{amino type nitrogen}}{\text{total nitrogen}} \times 100$$

 pH.....control with lactic acid

(c) alcohol 添加の影響

酵素作用に際し alcohol の添加に依る影響を調べた。alcohol 濃度を次の如く變えて其の是非を試験した。

alcohol 濃度を増すに従い、酵素作用は阻害され alcohol 19.15%で66.1%阻害された。

(d) 脱脂大豆熱処理の影響

前処理として殺菌を兼ね5倍量加水下に加熱するが其の加熱程度の是非を検討した。蛋白の熱變性は當然起る譯であるが其の變性程度は酵素作用に關係あるものとして其れを検討した。

熱処理しない時と40min熱処理の時とでアミノ酸生成量殆んど同じく10minで最も多くのアミノ酸を生成した。此の程度の變性が protease 作用に適當

Table 5. Effect of alcohol adding.

Preparation			Conditions	
soy-casein material	20.0g		temperature	38°C
salt solution+alcohol	150cc.		time	5hr.
protease activity (FG)	3000units			
	Concentration of alcohol %	amino acid g	amino type N %	percentage of inhibit %
No. 1	—	0.195	1.82	—
2	6.5	0.091	0.84	53.4
3	13.5	0.076	0.78	56.9
4	19.5	0.066	0.62	66.1

Table 6. Effect of heat treatment on the soy-casein material

Preparation		Conditions	
soy-casein material	20.0g	temperature	52°C
salt solution	150cc.	time	5hr
protease	0.50g	pH	6.8
	heating hour min.	amino acid g	amino type nitrogen %
No. 1	—	0.180	1.70
2	5	0.188	1.75
3	10	0.246	2.28
4	20	0.226	2.10
5	40	0.182	1.68

(note) heating temperature at 100°C

しているものと想像される。

(e) 作用温度の影響

protease 作用温度の影響を調べた。

No. 3 38°Cの場合を頂點として兩極端の5°C, 60°Cでは protease の効果は著しく減少する。更に長時間に亘れば其の差は益々大きくなる。高温では protease の破壊が起りアミノ酸の生成はなくなる。

(f) protease 力價の相違

protease の力價が F. G.=3000, 10000單位の兩者に就いて比較した。

Table 7. Effect of temperature

Preparation		Conditions	
soy-casein material	20.0g	pH	6.8
salt solution	150cc.	time	5hr.
protease	0.50g		
(note) protease power...F. G.=3000units			
	temperature °C	amino acid g	amino type nitrogen %
No. 1	5	0.056	0.33
2	15	0.063	0.91
3	38	0.205	1.92
4	45	0.199	1.83
5	52	0.186	1.76
6	60	0.145	1.35

(note) control of temperature...by thermostat

(148)

(坂本) 合成清酒に関する研究 (第2報)

Table 8. Comparison of two proteases having different activities

	Preparation		Conditions		amino acid contents	
	soy-casein material g	20.0g	temperature	45°C	amino acid g	amino type N %
	salt solution	150cc.	time	6hr.		
(note) control...	{in case of non-protease {in case of non-substrate					
No. 1	20	—	—	0.111	0.97	
2	—	1.0	—	trace	—	
3	—	—	1.0	trace	—	
4	20	1.0	—	0.426	4.40	
5	20	—	1.0	0.712	6.80	
6	20	2.0	—	0.516	4.85	
7	20	—	2.0	0.750	6.90	
8	20	5.0	—	0.752	7.10	
9	20	—	5.0	2.130	18.45	

(note) P₁...FG=3000 units protease, P₂...FG=10000 units protease

あつた。此の事實から推察しても大豆蛋白と牛乳蛋白とは本質的に相違がある。これは第1報のアミノ酸組成の節で指摘した通りである。

(h) 金属イオンと pH の影響

無機鹽の添加、無添加の場合並びに pH 相違の場合に於いて夫々作用温度を加味し高温、低温の条件下で酵素作用を行い比較検討した。無機鹽としては酒造に關聯ある鹽類を使用し、pH の調製は乳酸を使用した。温度は高温52°C、低温5~4°Cの場合につき行つた。

酵素作用45hr後濾過し濾液と残渣とに分け兩者に就いて分析を行つた。

(i) 残渣は無機鹽添加しない場合多く添加の場合少い。無機鹽存在すれば酵素は安定し酵素作用が圓滑なる事を示す。pH =7.0, 4.5の比較では pH=7.0の時少い。pH 高位に於て酵素力が強く酸性側に於て不安定である。一方温度は5°Cの如き低温では酵素作用緩慢で52°Cの方が格段と促進

No. 1の脱脂大豆でも加水分解に依りアミノ酸を生成した。protease 丈では trace であつた。protease 1.0gではP₁, P₂の差2.40%, 2.0gでは2.05%, 5.0gでは11.35%の差であつた。

(g) 基質異なる場合

脱脂大豆とミルクカゼインを基質として比較した。

ミルクカゼインは消化し難く生成アミノ酸は極めて少い。従てアミノ態窒素の全窒素に対する百分率も小である。其の比は脱脂大豆:ミルクカゼイン=3.6:1で

Table 9. Comparison of different substrates

(i) conditions of the enzymatic action

temperature 50°C time 3hr.

(ii) Preparation of substrate solutions

	soy-casein material g	milk casein g	protease g	salt solution cc
No. 1	—	—	0.50	150
2	20	—	—	150
3	—	20	—	150
4	20	—	0.50	150
5	—	20	0.50	150

(note) protease FG=3000 units

(iii) amino acid contents

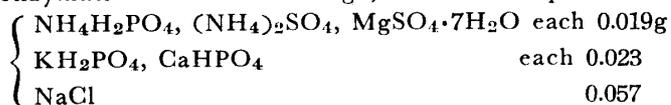
	amino acid		amino-N g	amino-N ratio %
	contents %	weight g		
No. 1	trace	—	—	—
2	0.021	0.031	0.0061	0.31
3	0.009	0.013	0.0025	0.10
4	0.105	0.156	0.0294	1.47
5	0.031	0.041	0.0102	0.41

(note) T-nitrogen in milk casein.....12.5%

Table 10. Preparation of substrate solutions

	soy-casein material g	protease g	water cc	salt solution cc	lactic acid cc	pH
No. 1	3.0	1.0	90	—	—	6.8
2	3.0	1.0	—	90	—	7.0
3	3.0	1.0	—	90	0.12	4.5

(note) enzymatic action at high, and low temperatures Salt solution

H₂O fill up 90cc

protease F. G. = 3000 units time for the enzymatic action 45hr.

Table 11. Properties of the filtrates and residues after enzymatic action

(i) The residues.

	acting temperature	hydrous state		nonhydrous state		
		residual weight g	moisture %	weight g	N %	T-N %
No. 1	high temp. (h)	1.95	8.18	1.80	5.95	0.107
	low temp. (l)	2.28	8.33	2.09	6.73	0.141
No. 2	high temp. (h)	1.02	8.74	0.93	7.94	0.074
	low temp. (l)	1.43	8.97	1.50	8.75	0.114
No. 3	high temp. (h)	1.21	9.15	1.10	8.95	0.098
	low temp. (l)	1.56	9.47	1.41	9.86	0.149

(ii) The filtrates.

		amino acid g	amino-nitrogen g	difference g
No. 1	high temp. (h)	0.083	0.015	0.007
	low temp. (l)	0.042	0.008	
No. 2	high temp. (h)	0.111	0.020	0.009
	low temp. (l)	0.066	0.011	
No. 3	high temp. (h)	0.098	0.017	0.008
	low temp. (l)	0.054	0.009	

(note) amino acid calculated as glycine

(iii) The change of nitrogen by the enzymatic action

		total nitrogen g	consumed nitrogen g	$\frac{\text{cons. N}}{\text{T-N}} \times 100$ %	$\frac{\text{amino-N}}{\text{T-N}} \times 100$ %
No. 1	high temp. (h)	0.257	0.150	58.4	5.83
	low temp. (l)	0.257	0.116	45.1	3.11
No. 2	high temp. (h)	0.257	0.183	71.2	7.78
	low temp. (l)	0.257	0.143	55.6	4.31
No. 3	high temp. (h)	0.257	0.159	61.8	6.67
	low temp. (l)	0.257	0.108	42.0	3.50

(note) total nitrogen (T-N) in soy-casein material 3.0g used in this experiment

する。従て残渣中の窒素消化も同様な結果を得た。

(ii) 濾液に於ては生成アミノ酸は少く高温で0.111g, 低温で0.042g程度であつた。何れにしても遊離のアミノ酸は極めて少い。

(iii) 全窒素の推移はNo. 2の消化率71.2%が最高でNo. 3の42.0%が最低である。一方アミノ態窒素の全窒素に對する比はNo. 2の高温で7.78%, No. 3の低温で3.50%を示し消化窒素に比すると極めて少い。此の數字からしても使用の protease は主として proteinase で peptidase は極めて少い。概略10:1の比である。従て

(150)

(坂本) 合成清酒に関する研究 (第2報)

濾液中には中間體の窒素が多い事が判断出来る。尤も, protease を麴菌消化一次的な前處理として使用するにはこれで充分役割を果し得ると結論出来る。

(i) bacterial protease と 麴菌 protease との併用

(h) 實驗と同様にして bacterial protease を麴菌と併用した場合に就いて行つた結果を示す。

酵素作用 45hr 後濾過し濾液と残渣に分け兩者に就いて分析を行つた。

残渣の量と窒素, 水分に就いて, 濾液のアミノ酸とアミノ態

窒素に就いて, 並びに全窒素の消化率とアミノ態窒素の全窒素に對する比等について記載する。

Table 12. Preparation of substrate solutions.

	soy-casein material g	protease g	koji-ex. g	lactic acid cc	pH
No. 1	3.0	—	90	—	6.9
2	—	1.0	90	—	6.9
3	3.0	1.0	90	—	6.9
4	3.0	1.0	90	0.12	4.6

(note) protease ... FG=3000 units

koji-extract ... $\left\{ \begin{array}{l} \text{rice koji } 30\text{g } 4\sim 5^{\circ}\text{C} \\ \text{water } 90\text{cc } 24\text{ hr extract} \end{array} \right. \rightarrow \text{the filtrates. } 90\text{c.c. fil up}$

filtrate... 7.5Bg at 16.5°C

inorganic salts added ... $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ each 0.019g KH_2PO_4 , $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ each 0.023 NaCl 0.057

soy-casein material ... nitrogen content 8.57%

conditions of the enzymatic action ... high temperature 52°C low temperature 4~5°C time 45 hr

Table 13. properties of the filtrates and residues after enzymatic action

(i) The residues

		hydrous state		non hydrous state		
		residual weight g	moisture %	weight g	N g	T-N g
No. 1	high temp. (h)	1.95	8.22	1.79	11.21	0.200
	low temp. (l)	2.26	9.13	2.05	11.28	0.230
No. 2	high temp. (h)	0.15	10.80	0.14	0.91	0.000
	low temp. (l)	0.15	11.03	0.14	1.02	0.000
No. 3	high temp. (h)	1.21	5.79	1.14	5.44	0.062
	low temp. (l)	1.54	7.11	1.43	7.25	0.104
No. 4	high temp. (h)	1.42	8.80	1.48	7.33	0.095
	low temp. (l)	1.76	9.21	1.60	8.99	0.144

(ii) The filtrates

		amino acid g	amino nitrogen g	difference g
No. 1	high temp. (h)	0.104	0.019	0.009
	low temp. (l)	0.054	0.010	
No. 2	high temp. (h)	0.109	0.020	0.005
	low temp. (l)	0.081	0.015	
No. 3	high temp. (h)	0.249	0.039	0.011
	low temp. (l)	0.165	0.028	
No. 4	high temp. (h)	0.237	0.036	0.010
	low temp. (l)	0.149	0.026	

(note) amino acid calculated as glycine

(iii) The change of nitrogen by the enzymatic action

		total N g	N consumed g	$\frac{\text{N cons.}}{\text{total N}} \times 100$	$\frac{\text{amino-N}}{\text{total-N}} \times 100$
				%	%
No. 1	high temp. (h)	0.257	0.057	22.1	7.39
	low temp. (l)	0.257	0.027	10.5	4.66
No. 2	high temp. (h)	—	—	—	—
	low temp. (l)	—	—	—	—
No. 3	high temp. (h)	0.257	0.195	75.6	15.16
	low temp. (l)	0.257	0.153	59.6	10.89
No. 4	high temp. (h)	0.257	0.162	63.1	14.01
	low temp. (l)	0.257	0.113	43.9	10.12

此の實驗の結果は (h) と同じ傾向であつた。因に兩者の窒素利用率とアミノ態窒素生成率とを比較對照すると次の如くなる。

Table 14. The Comparison of results obtained by the enzymatic action with protease only and protease plus koji extract.

pH		% utilization of N		% production of amino N	
		(a) %	(b) %	(a) %	(b) %
6.6	high temp. (h)	71.2	53.5	7.78	7.76
	low temp. (l)	55.6	49.1	4.31	6.23
4.6	high temp. (h)	61.8	41.0	6.67	6.62
	low temp. (l)	42.0	33.4	3.50	5.46

(note) (a) protease only

(b) calculated as protease only in koji extract

此の表に於いて (b) の場合は control の數字を差引いているのに對し (a) は無機鹽水で蛋白が加水分解される數字を差引いていないので (b) より利用率が高く出ている。(a) に於いても control の實驗をして居たら (a), (b) の絶對的な比較が出来たであろう。此の事を附記して置く。

(考 察)

protease に依る蛋白の窒素消化には條件の選擇は勿論であるが、好適な條件下で酵素作用を行えば、窒素利用率を高め、カルボキシル基、アミノ基の遊離を齎らし分解度も増進し、蛋白分子を次々と subunit に分解し、よりよき効果を収めるものと想像する。實驗 (h), (i) の結果で云える事は pH が中性附近に於いて、溫度は冷温より高温に於いて、尙、金屬イオンの存在下で酸素作用が圓滑にして、蛋白中の窒素は可成り利用されると云う事である。更に、消化窒素はアミノ態窒素への移行は少く、大部分 peptid 型で溶液中に存在する事實を認め、使用の bact. protease は proteinase であると結論出来る。尙、納豆菌 protease と枯草菌 protease とに就いて比較したが傾向が同じであつた。

(g) protease 消化に依る生成アミノ酸の檢出

protease に依る遊離されるアミノ酸は前實驗に於いて僅かではあるが、此の生成アミノ酸を檢出する爲に實驗 (h) No. 2 の濾液に就いて paper chromatography を行つた。尙、此の生成アミノ酸を麹菌消化に依る生成アミノ酸 (實驗 (i) No. 1 濾液使用) と比較した。尤も、後者の場合は米から來ているアミノ酸と重複している譯で絶對的な比較ではない。

The figures illustrating the amino acids produced from the soy casein material with bacterial protease and rice koji protease

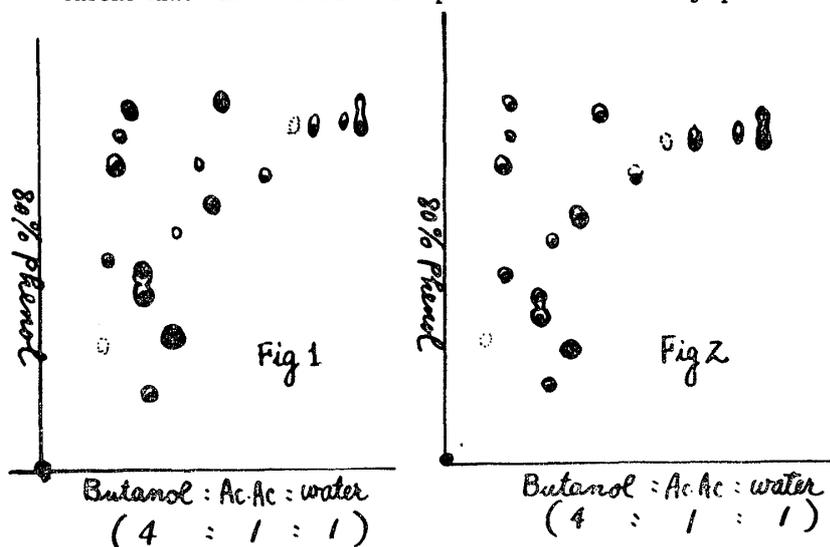


Fig. 1. amino acids obtained from soy-casein material by Bac. protease digestion

Fig. 2. amino acids obtained from soy-casein material by koji protease digestion

の阻害は66%であつた。

- ④ 好適温度は38~40°Cを可とし60°Cでは破壊が起る。低温では酵素作用は極めて緩慢であつた。
- ⑤ 脱脂大豆に比しミルクカゼインは消化が著く困難であつた。
- ⑥ 金属イオンの添加は酵素を安定せしめ其の作用を圓滑にした。
- ⑦ 脱脂大豆の無機鹽水中での protease 消化と麴汁中での protease 消化とを對照すると蛋白窒素の利用率並びに遊離アミノ酸の量的關係は共に同じ傾向を示し即ち蛋白中の窒素は相當に消化されるが生成アミノ酸の占める割合は比較的になかなかつた。即ち使用の bacterial protease は proteinase に富み peptidase は僅少であつた。
- ⑧ protease 消化に依る遊離アミノ酸を paper chromatography で檢出した處、約20種のアミノ酸を認め、之等のアミノ酸は米麴で消化生成したものと大差がなかつた。
- ⑨ 枯草菌 protease に就いても行つたが納豆菌 protease の場合と同じ結果を得た。
- ⑩ protease に依る蛋白の peptide, amino acid への分解を利用して蛋白を前處理する事に依り窒素利用率を高めれば合成清酒の製造は更に飛躍出来るものと思惟する。(此の實驗に就いては次回に報告する。)

終りに臨み御指導を賜つた東大坂口謹一郎博士、阪大照井壽造博士、科研飯田茂次氏、守隨希雪氏に深謝する。本研究費は國稅廳、合成清酒組合の補助金に依る。

文 獻

- 1) FELIX, HAUROWITZ: Chemistry and biology of protein 307~313, 1950.
- 2) FRANKEL, G.: J. Biol. Chem. 26, 31, 1916.
- 3) DAMODARAN, M.: Biochem. J. 26, 235, 1932. DAMODARAN, M.: G. Jaaback, Ac. chibnall. Biochem. J. 26, 1747, 1932.
- 4) PLENTL, A. A., PAGE, I. H.: J. Biol. chem. 163, 49, 1946.
- 5) BERSIN, J. LAGEMANN W.: Z. Physiol. chem. 268, 129, 1941.

(昭和 29, 11, 30 受理)

總 括

主として脱脂大豆蛋白を基質として細菌 protease に依る酵素作用を各種条件下で行つた結果並びに生成アミノ酸の檢出等に就いて要約すると

① pH = 7 附近で遊離アミノ酸多く窒素利用率も高い。pH=4.5では其の效果減少した。

② 基質を加水下に熟處理するに或程度の變性は酵素作用點を増すものと察知される。即ち100°C, 10 min に於て其の效果があつた。

③ アルコール添加試験ではアルコール濃度を増すに従い酵素作用を阻害する。例えば20%アルコール濃度では其