

(214)

(大谷, 高橋) 酒精醪の改良に関する研究 (第10報)

酒精醪の改良に関する研究 (第10報)

細菌アミラーゼ及び糸状菌アミラーゼの単独又は
混合による澱粉糖化について (其の2)

大谷 義夫・高橋 慧 (鳥取大学農学部農芸化学教室)

緒 言

前報告¹⁾は主として細菌アミラーゼの作用について行つたが、本報告は細菌アミラーゼと糸状菌アミラーゼとの混合による酵素作用について検討したもので、主として細菌アミラーゼを先に作用せしめ、糸状菌アミラーゼを後に添加した場合について取扱つた。

- 細菌アミラーゼは *Bac. mesentericus*, 糸状菌アミラーゼは *Asp. oryzae* 0-10-1 と *Asp. usamii* R-1-2 の培養より調製した。調製方法は前報告に記載した通りである。

実 験 の 部

1. 細菌 α -アミラーゼ及び糸状菌 α -アミラーゼの混合酵素による糖化作用

本実験は *Bac. mesentericus* の α -amylase と *Asp. oryzae* 0-10-1 の α -amylase を調製して一応之等両酵素の混合による澱粉糖化作用を試験した (第1表)。

Table 1. Saccharification by the mixture of bacterial α -amylase and fungous α -amylase.

a) At pH 6.2 and 62°C.

<i>Bac. mesentericus</i> α -amylase (cc)	<i>Asp. oryzae</i> α -amylase (cc)	pH 6.2 Buffer solution (cc)	2 % Sweet potato starch (cc)	Dist. water (cc)	Saccharification rate (%)			
					1 hr	3 hr	5 hr	20 hr
2.0	0	10	20	2	31.45	34.12	40.50	47.14
1.9	0.1	"	"	"	30.17	33.82	38.96	45.76
1.5	0.5	"	"	"	29.96	31.97	36.92	43.54
1.0	1.0	"	"	"	28.71	30.06	34.16	37.24
0.5	1.5	"	"	"	28.18	29.76	33.47	35.23
0.1	1.9	"	"	"	27.77	28.42	31.57	32.68

b) At pH 5.4 and 50°C.

<i>Bac. mesentericus</i> α -amylase (cc)	<i>Asp. oryzae</i> α -amylase (cc)	pH 5.4 Buffer solution (cc)	2 % Sweet potato starch (cc)	Dist. water (cc)	Saccharification rate (%)			
					1 hr	3 hr	5 hr	20 hr
2.0	0	10	20	2	25.46	25.96	26.17	29.16
1.8	0.2	"	"	"	25.76	28.38	29.88	31.94
1.4	0.6	"	"	"	25.85	31.50	32.92	36.14
1.0	1.0	"	"	"	26.03	34.14	36.98	42.67
0.6	1.4	"	"	"	26.32	34.34	37.91	44.45
0.2	1.8	"	"	"	27.02	38.46	39.47	46.59
0	2.0	"	"	"	28.45	39.45	41.25	48.21

本実験の示す如く第1表aのpH6.2で62°Cでは *Bac. mesentericus* α -amylase の作用が強いために該酵素量の多い方が糖化率が強く、之に反して同表bのpH5.4で50°Cでは *Asp. oryzae* α -amylase の酵素作用が強力なため、此の酵素量の多いものが高い糖化率を示している。

2. 細菌 α -アミラーゼ及び糸状菌 β -アミラーゼの混合酵素による糖化作用

Bac. mesentericus の α -amylase と *Asp. usamii* R-1-2 の β -amylase を調製して、之等の混合による澱粉の糖

化作用を試験した (第2表).

Table 2. Saccharification by the mixture of bacterial α -amylase and fungous β -amylase.
a) At pH 6.2 and 62°C.

<i>Bac. mesentericus</i> α -amylase (cc)	<i>Asp. usarii</i> β -amylase (cc)	pH 6.2 Buffer solution (cc)	2 % Sweet potato starch (cc)	Dist. water (cc)	Saccharification rate (%)			
					1 hr	3 hr	5 hr	20 hr
2.0	0	10	20	2	13.68	23.29	29.58	35.07
1.9	0.1	"	"	"	15.89	34.03	34.75	31.54
1.5	0.5	"	"	"	16.63	25.88	38.08	74.17
1.0	1.0	"	"	"	17.37	29.58	48.43	77.07
0.5	1.5	"	"	"	19.22	38.66	64.66	82.61
0.1	1.9	"	"	"	19.05	39.08	60.27	80.76
0	2.0	"	"	"	19.52	37.08	51.27	76.46

b) At pH 5.4 and 50°C.

<i>Bac. mesentericus</i> α -amylase (cc)	<i>Asp. usarii</i> β -amylase (cc)	pH 6.2 Buffer solution (cc)	2 % Sweet potato starch (cc)	Dist. water (cc)	Saccharification rate (%)			
					1 hr	3 hr	5 hr	20 hr
2.0	0	10	20	2	15.89	18.12	21.81	32.16
1.9	0.1	"	"	"	16.44	18.86	23.29	36.24
1.5	0.5	"	"	"	16.56	19.22	27.36	43.81
1.0	1.0	"	"	"	16.64	23.66	32.53	51.76
0.5	1.5	"	"	"	16.86	27.73	36.97	48.42
0.1	1.9	"	"	"	17.01	30.69	41.78	63.61
0	2.0	"	"	"	19.63	32.45	45.32	65.74

上記実験から考察すると本実験の第2表a及びbは共に *Asp. usarii* の β -amylase を多く添加した方が糖化率が高いのは、此の糸状菌の有する β -amylase の糖化酵素力の強力なことを示すものと思うが、然し上記の両結果を比較するとpH6.2で62°Cの場合が強力な結果を示しているのはやはり該酵素が適するためであろう。

3. 細菌 α -アミラーゼの作用中へ糸状菌 β -アミラーゼの添加時と糖化作用との関係

Bac. mesentericus の α -amylase を用いて酵素作用を行い、一定時間において *Asp. usarii* R-1 2 の β -amylase を添加して、両酵素の混合による澱粉糖化率を測定した。

Table 3. The relation between the saccharification and the time of the addition of bacterial α -amylase

a) At pH 6.2 and 62°C.

<i>Bac. mesentericus</i> α -amylase (cc)	pH 6.2 Buffer solution (cc)	2 % Sweet potato starch (cc)	Dist. water (cc)	Time to the addition of β -amylase		<i>Asp. usarii</i> β -amylase (cc)	Saccharification rate (%)		
				Iodine reaction	Time (min)		1 hr	3 hr	5 hr
1	10	20	2	V	15	1	34.91	44.90	48.07
"	"	"	"	P	30	"	33.13	44.61	46.83
"	"	"	"	R	45	"	30.86	44.05	46.48
"	"	"	"	Br	60	"	30.82	44.00	45.94
"	"	"	"	Or	82.5	"	30.13	43.34	45.47

Remarks : V=Violet, P=Purple, R=Red, Br=Brown, Or=Orange

(216)

(大谷, 高橋) 酒精醪の改良に関する研究 (第10報)

b) At pH 5.4 and 50°C.

<i>Bac. mesentericus</i> α -amylase (cc)	pH 6.2 Buffer solution (cc)	2 % Sweet potato starch (cc)	Dist. water (cc)	Time to the addition of β -amylase		<i>Asp. usamii</i> β -amylase (cc)	Saccharification rate (%)		
				Iodine reaction	Time (min)		1 hr	3 hr	5 hr
1	10	20	2	V	15	1	38.20	41.19	48.54
"	"	"	"	P	28	"	40.97	41.13	48.15
"	"	"	"	R	45	"	37.98	40.23	47.28
"	"	"	"	Br	60	"	36.82	40.03	47.08
"	"	"	"	Or	82.5	"	35.29	40.00	46.16

第3表に見る如く細菌 α -amylase 作用を始めてから出来るだけ速に糸状菌 β -amylase を加えた方が糖化率が高い。尚表 a よりも表 b の糖化率が高いのは糸状菌 β -amylase の作用には pH 及び温度が適当であることを示すものと思う。

4. 細菌 α -アミラーゼ作用中へ添加する糸状菌 β -アミラーゼの配合割合と糖化作用との関係

Bac. mesentericus の α -amylase を用いて酵素作用を行い30分後 *Asp. usamii* R-1-2 の β -amylase との配合割合を種々にかえて試験した。酵素作用温度は50°Cで行った。

Table 4. The relation between the saccharification and the proportion of fungous β -amylase added to bacterial α -amylase

a) Constant amounts of *Bac. mesentericus* α -amylase and various amounts of *Asp. usamii* β -amylase.

<i>Bac. mesentericus</i> α -amylase (cc)	pH 5.4 Buffer solution (cc)	2 % Sweet potato starch (cc)	Dist. water (cc)	After 30 min. <i>Asp. usamii</i> β -amylase added (cc)	Saccharification rate (%)			
					1 hr	3 hr	5 hr	20 hr
2	10	20	7.0	0	39.09	54.37	55.67	69.66
"	"	"	6.5	0.5	39.82	54.73	55.89	78.19
"	"	"	6.0	1.0	40.25	55.45	57.97	78.88
"	"	"	5.0	2.0	41.94	56.51	61.13	79.62
"	"	"	4.0	3.0	45.06	57.93	61.84	79.74
"	"	"	2.0	5.0	46.06	59.53	61.92	81.04

b) Various amounts of *Bac. mesentericus* α -amylase and constant amounts of *Asp. usamii* β -amylase.

<i>Bac. merentericus</i> α -amylase (cc)	pH 5.4 Buffer solution (cc)	2 % Sweet potato starch (cc)	Dist. water (cc)	After 30 min. <i>Asp. usamii</i> β -amylase added (cc)	Saccharification rate (%)			
					1 hr	3 hr	5 hr	20 hr
0	10	20	7.0	2	33.41	34.81	46.92	55.09
0.5	"	"	6.5	"	35.55	36.25	47.63	54.65
1.0	"	"	6.0	"	36.25	36.61	47.35	48.63
2.0	"	"	5.0	"	36.25	36.61	46.05	47.24
3.0	"	"	4.0	"	36.61	36.98	45.49	46.56
5.0	"	"	2.0	"	37.32	38.61	44.78	45.49

上記の第4表 a は一定量の細菌 α -amylase で作用させて30分後、量を異にした糸状菌 β -アミラーゼを加えて試験した。その成績は β -amylase を多く加えたものが糖化率が高い。然し表 b の場合の如く細菌 α -アミラーゼを種々の量を加えて作用させて後で糸状菌 β -アミラーゼの定量を加えても糖化率はどれも殆ど変りがない。

5. 細菌 α -アミラーゼ作用後pHを変更して糸状菌 β -アミラーゼを作用させた場合の糖化率

本実験は最初 *Bac. mesentericus* α -amylase で pH 6.2 で作用させて、30分後 pH を変えて *Asp. usamii* β -amylase を作用し、糖化率を測った。この際の酵素作用温度は62°Cとした。

Table 5. Saccharification was measured by the following process : after the action of bacterial α -amylase pH was changed and the fungous β -amylase added

<i>Bac. mesentericus</i> α -amylase (cc)	Initial pH6.5 Buffer solution (cc)	After 30 min pH	2 % Sweet potato starch (cc)	Dist. water (cc)	<i>Asp. usarii</i> β -amylase (cc)	Saccharification rate (%)			
						1 hr	3 hr	5 hr	20 hr
1	10	6.2	20	2	1	20.18	30.03	46.25	60.92
"	"	5.8	"	"	"	22.76	35.24	55.42	70.47
"	"	5.4	"	"	"	33.39	34.36	56.25	70.92
"	"	5.0	"	"	"	24.55	39.81	59.09	72.27
"	"	4.6	"	"	"	23.49	30.83	49.18	60.19

本実験によれば, 細菌 α -amylase を pH 6.2 で作用せしめ, その30分後に pH を変えて糸状菌 β -amylase を働かす場合の最適 pH は 5.0 である.

6. 細菌 α -アミラーゼ作用後, 酵素作用を停止して糸状菌 β -アミラーゼを作用させた場合の糖化率

細菌 α -amylase を作用せしめ, 一定時間後煮沸により此の酵素の働を停止せしめて糸状菌 β -amylase を作用した場合と無処理の場合との糖化率を比較した. 作用温度は 62°C である.

Table 6. Saccharification was measured by the following process : after the action of bacterial α -amylase the enzyme was destroyed by boiling, and then the fungous β -amylase added

<i>Bac. mesentericus</i> α -amylase (cc)	pH 6.2 Buffer solution (cc)	2 % Sweet potato starch (cc)	Dist. water (cc)	* α -amylase treatment	Time to the addition of β -amylase		<i>Asp. usarii</i> β -amylase (cc)	Saccharification rate (%)			
					Iodine reaction	Time (min)		1 hr	3 hr	5 hr	20 hr
1	10	20	2	+	V	5	1	6.17	8.49	13.10	33.90
"	"	"	"	-	V	5	"	6.27	8.49	12.51	28.10
"	"	"	"	+	P	8	"	7.02	8.44	14.73	25.41
"	"	"	"	-	P	8	"	7.44	8.07	13.81	23.80
"	"	"	"	+	R	12	"	10.73	12.07	13.55	23.05
"	"	"	"	-	R	12	"	10.70	11.99	12.69	22.81

* Remarks : + destroyed, - not destroyed.

第6表に示す如く細菌 α -amylase の作用後一度加温して此の酵素作用を停止せしめて後糸状菌 β -amylase を添加した方が糖化率が良い.

7. 澱粉の濃度と細菌 α -アミラーゼ及び糸状菌 β -アミラーゼによる糖化率との関係

a) 従来の実験に従い 2 % 甘藷澱粉液を用い, その使用量により 各種濃度の基質をつくり, *Bac. mesentericus* α -amylase を先づ作用せしめ 2 時間後 *Asp. usarii* β -amylase を配合して糖化率を測定した. 酵素作用温度は 62°C である (第7表).

Table 7. The relation between the dilute starch solution and the saccharification by bacterial α -amylase and fungous β -amylase.

<i>Bac. mesentericus</i> α -amylase (cc)	pH 6.2 Buffer solution (cc)	2 % Sweet potato starch (cc)	Dist. water (cc)	After 2 hrs <i>Asp. utamii</i> β -amylase added (cc)	Saccharification rate (%)			
					1 hr	3 hr	5 hr	20 hr
1	10	25	2	1	25.26	26.23	29.33	39.73
0.7	"	20	7.3	"	24.18	25.69	26.74	37.06
0.4	"	15	12.6	"	23.97	25.50	26.01	36.52
0.2	"	10	17.8	"	20.06	25.23	25.54	35.81
0	"	5	23.0	"	19.93	24.97	25.43	34.14

(218)

(大谷, 高橋) 酒糖醪の改良に関する研究 (第10報)

上表の如く澱粉量が稀薄な場合には糖化生成量は少い。

b) 濃厚澱粉液を用いて上記と同様にして両酵素の作用を行はしめ糖化率を測定した。酵素作用は50°Cで行った (第8表a, b)。

Table 8. The relation between the concentrated starch solution and the saccharification by bacterial α -amylase and fungous β -amylase.

a) Various amounts of *Bac. mesentericus* α -amylase and constant amount of *Asp. usamii* β -amylase.

<i>Bac. mesentericus</i> α -amylase (cc)	pH 5.4 Buffer solution (cc)	Sweet potato starch sol.		Dist. water (cc)	After 2hrs <i>Asp. usamii</i> β -amylase added (cc)	Saccharification rate (%)			
		(%)	(cc)			1 hr	3 hr	5 hr	20 hr
0.5	20	1	50	7.0	2.5	46.79	52.56	77.18	87.73
1.5	"	3	"	6.0	"	29.90	38.72	54.04	58.72
2.5	"	5	"	5.0	"	28.47	30.15	38.98	47.92
4.0	"	8	"	3.5	"	24.14	30.06	37.63	45.61
5.5	"	11	"	2.0	"	20.14	27.22	34.38	44.33
7.5	"	15	"	0	"	18.61	24.96	34.13	43.01

b) Constant amount of *Bac. mesentericus* α -amylase and various amounts of *Asp. usamii* β -amylase.

<i>Bac. mesentericus</i> α -amylase (cc)	pH 5.4 Buffer solution (cc)	Sweet potato starch sol.		Dist. water (cc)	After 2hrs <i>Asp. usamii</i> β -amylase added (cc)	Saccharification rate (%)			
		(%)	(cc)			1 hr	3 hr	5 hr	20 hr
2	20	1	50	7.0	0.5	46.00	69.00	74.94	81.76
"	"	3	"	6.0	1.5	41.81	52.12	66.00	79.40
"	"	5	"	5.0	2.5	26.83	37.82	50.84	73.60
"	"	8	"	3.5	4.0	24.59	31.51	44.53	61.32
"	"	11	"	2.0	5.5	22.58	30.14	41.50	57.48
"	"	15	"	0	7.5	20.44	27.94	39.90	57.69

本実験では澱粉の濃厚溶液で両酵素作用を試験したのであるが、その成績を見ると濃度が高い場合の糖化率は不良である。

即ち第7表及び第8表のa及びbの成績を総合すると之等の酵素作用は澱粉の一定濃度に限度があり濃淡いづれに偏してもその糖化率は悪くなる。

摘 要

1. 細菌 (*Bac. mesentericus*) α -amylase と糸状菌 (*Asp. oryzae*) α -amylase の混合酵素による糖化作用は pH 6.2で62°Cでは細菌 α -アミラーゼ酵素量が多い方が糖化率が高く、pH5.4で50°Cでは糸状菌 α -アミラーゼ酵素量の多い方が糖化率が良い。

2. 細菌 (*Bac. mesentericus*) α -amylase と糸状菌 (*Asp. usamii*) β -amylase の混合酵素による糖化作用は糸状菌 β -amylase を多く加えた方が糖化率が増加する。これは糸状菌 β -アミラーゼの糖化作用が強いことを示すものである。

3. 細菌 (*Bac. mesentericus*) α -amylase で澱粉糖化を行うときに糸状菌 (*Asp. usamii*) β -amylase を加えて糖化を強める場合その時期はなるべく早い方が良い。

4. 細菌 (*Bac. mesentericus*) α -amylase で澱粉糖化を行う場合にその中へ添加する糸状菌 (*Asp. usamii*) β -amylase の量が多い程糖化率がよくなる。

5. 細菌 (*Bac. mesentericus*) α -amylase で先づその適するpH6.2で30分作用させ、その後で基質のpHを変えて糸状菌 (*Asp. usamii*) β -amylase を作用させたときpH5.0が最も良い糖化率を示した。

6. 細菌 (*Bac. mesentericus*) α -amylase を作用させた後に煮沸して酵素作用を止め、次に糸状菌 (*Asp. usamii*) β -amylase を作用させると煮沸しないものに比して糖化率は良好であつた。

7. 澱粉の濃度と之を糖化する細菌 (*Bac. mesentericus*) α -amylase 及び糸状菌 (*Asp. usamii*) β -amylase の混合酵素作用の間には一定の関係があり、即ち基質の澱粉溶液濃度が濃厚或は稀薄のいずれに偏しても糖化率は悪い。

(昭和31年10月13日、第8回大阪醸造学会講演会にて発表した)

文 献

1) 大谷, 高橋: 本誌, **35**, 188 (昭32).

(昭和 32, 4, 16 受理)

苺の利用に関する研究 (第7報)

酸類の添加が Callistephin の色調に及ぼす影響

芥 田 三 郎 (兵庫県立農業試験場)

I 緒 言

前報¹⁾と同じく Callistephin の色調に及ぼす無機酸並びに脂肪酸の影響を調査した。酸類の添加は pH の低下を来し赤色度を増すが、既報²⁾のように陰イオンの影響もあつて色調は複雑な断面を示す。本報告は Callistephin の安定条件を求めるため、一定濃度における添加された酸類のその溶液に及ぼす影響を光電比色計により吸光度により調査したものである。

II 実験材料及び方法

実験材料は前報¹⁾同様1954年産苺から精製した Callistephin 塩化物の 5 千分の 1 溶液に等容の N/50 の各種酸類を加えて各種フィルターを通しその波長における吸光度と透過率とを測定し、pH は電気電位差計により測つた。

III 実験 成 績

1. 脂肪酸の影響

1) 一塩基性飽和脂肪酸: Fig.1 は塩酸を対照としてその結果を示したもので、大体において pH の低いことも関係するが分子量の小さい程、赤色部における吸光度が大であつた。唯々 n-Butyric acid は Acetic acid を凌ぎ、青色部における吸光度也大であつた。

2) 二塩基性飽和脂肪酸: Fig.2 に示す如く、Oxalic acid は塩酸の曲線に近い理想的な吸光度を記録した。Succinic acid は紫青色を呈する異常を示した他は、分子量の小なる酸程、赤色強く青色弱く、一塩基酸に比し全て好結果であつた。

3) オキシ酸とアスコルビン酸の影響: 次ぎに OH 基を 1~2 ケ有する酸を比較し、Ascorbic acid も便宜上 Fig.3 に入れた。これ等の酸中には苺のみならず果実の酸として重要なものが多い。

Fig.3 と Fig.1, 2 とを比較対照すると C 原子が同数であれば OH 基が 1 ケある酸が最も赤色を強めると言える。即ち n-Propionic acid と Lactic との関係、Succinic, Malic, Tartaric 間の比較で結論される。また、同様 C 原子が同数であれば Carboxyl 基の多い程、pH が低くなるので赤色度を大にすることは論外である。

4) 構造による差異: 以上の現象から更に C 原子 4 ケ、Carboxyl 基 2 ケを有する酸と 2 ケの C 原子を有する Acetic acid とを比較した。

Fumaric, Malic, Tartaric は共に pH が相似ているが、不飽和結合があれば分子量は小であつても負の効果が有り、Succinic と Acetic とでは同じ N/50 でも前者の方が濃度小さく pH を僅か低いにも拘らず後者に劣つた。Succinic のみは特別に Callistephin の色調に悪影響があるとすべきだが、幸にもこの酸は苺中には発見されぬ。

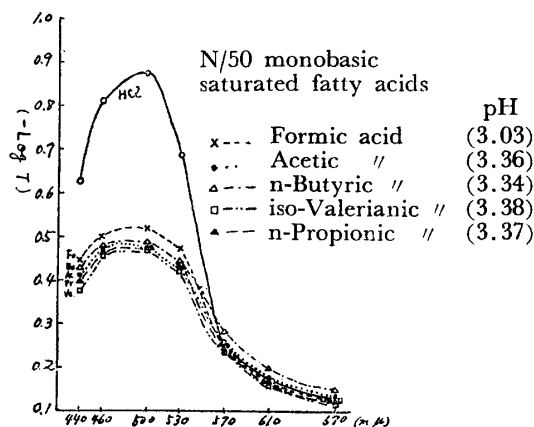


Fig.1. Effects of monobasic saturated fatty acids on the extinction coefficient of callistephin solution at a concentration of 1/10,000.