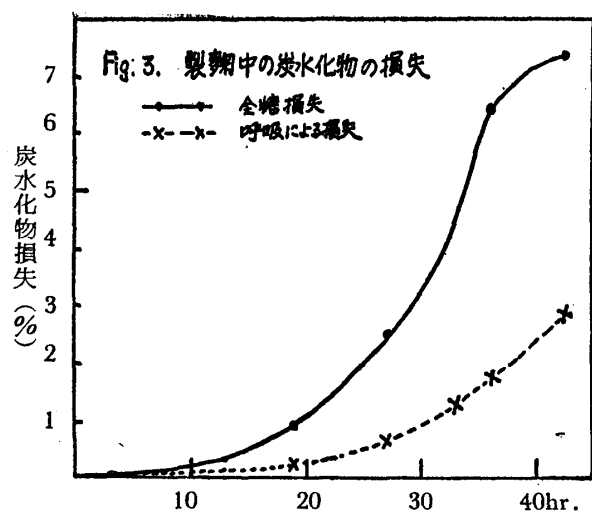




考 察

第1表, 第2表から, 仲留麴に於いて, 澱粉の損失が5.7%, 添麴で7.4%という結果を得たが, 之は前報¹⁾の結果とほぼ一致して居る。更に呼吸による損失は, その中, 前者に於いて2.4%, 後者に於いて2.9%で, Fig. 3に示す様に, 製麴中, 床揉後20時間後, 即ち仲仕事頃より菌の発育繁殖に伴つて, 前報¹⁾に報告した如く, 麴の成分も急激に変化し, 呼吸も盛に行われる様になり, 澱粉質の損失も増加して行くがそれに並行して呼吸による澱粉質の損失も増加して来る。

然し此処に示される如く, 全糖の損失の中呼吸によるものは, その中の約半分足らずであるが, 之は, 菌体の呼吸は, 澱粉質を完全燃焼すると考えて計算した結果であり, 更に複雑な反応によつて, 澱粉を消化し

菌体の構成, 有機酸の生成等を行うと同時に, CO_2 を発生するものとすれば, この CO_2 発生に伴う澱粉質の損失は更に大きくなる。この点更に検討を要するが, 一応, 澱粉質の損失の約半分近くが呼吸によるものであると云える。

本実験と並行して, ジャスターゼ消化によつて, 麴の菌体量測定を試みたが, 絹布による濾過では, 菌体の洩れも考えられ, 濾紙を用いて濾過すると, 床揉及び盛り頃までの完全消化は難かしく, 残渣量が多いが, 製麴経過の進行に伴つて, 麴菌自体の生成する酵素の作用により, 短時間に澱粉の消化が行われる様になると共に, 更に蛋白質をも消化する恐れあり, 又麴菌自体の自己消化も考えられ, 残渣量が極めて少くなる, 従つて, 本実験と並行して, 菌体構成のために使用される澱粉の損失をも求めようとしたが失敗に終つた。然し菌体の呼吸以外による残りの約半分の Loss は殆んどが菌体構成によるものと思われる。

結 論

製麴中の炭水化物の Loss は添麴で約7%, 仲留麴で5~6%という結果を得, その中の約半分足らず, 即ち添麴で2.9%, 仲留麴で2.4%が菌体の呼吸によつて消費された。尚, 水分の発散, 澱粉の消化及び損失, 菌体の呼吸による損失, 何れも皆仲仕事以後, 菌の発育繁殖にともなつて, 加速度的に増加して行くという前回の結果を更に裏付けるものである。

本実験に当り, 御懇篤な御指導を賜つた阪大寺本教授に深謝の意を表します。

文 献

- 1) 豊沢, 米崎: 本誌, **31**, 453 (1953).
- 2) 照井, 森本: 本誌, **34**, 575 (1956).
- 3) 豊沢, 米崎: 本誌, **31**, 412 (1953).

(昭和32.9.7受理)

清 酒 の「白 ぼ け」に 関 す る 研 究

(第2報) 白ぼけの構成糖成分に就いて

堀 一 郎・井 上 信 明 (大阪大学工学部醸酵工学教室)

緒 言

清酒白ぼけ物質は従来蛋白濁濁として一般に考えられているが, 既報¹⁾の様に構成成分として約30%の還元糖を含有している。そこで著者等はこの糖成分も白ぼけの成因に多少とも関係するものと信じ先づ糖類の研究から白ぼけ現象に対する何らかの手がかりを得ようと考えて実験を行つた次第である。

(420)

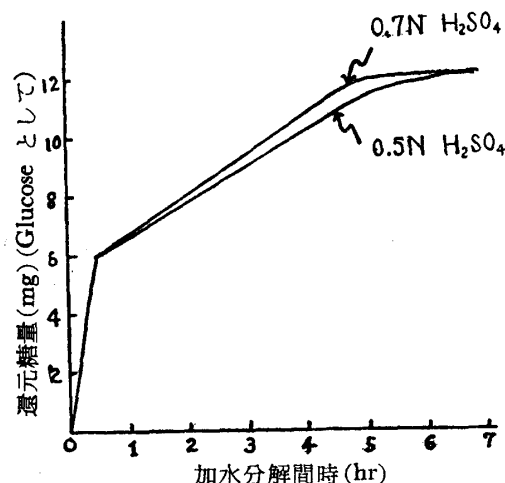
(堀, 井上) 清酒の「白ぼけ」に関する研究 (第2報)

実験及び結果

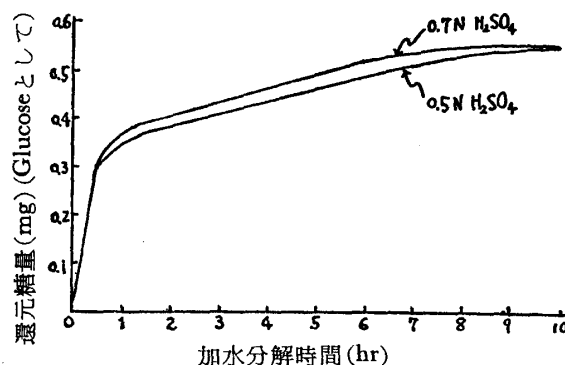
〔実験Ⅰ〕 白ぼけの酸による加水分解

① 白ぼけ Sample A-a ②¹⁾ 300mg宛を0.5N, 0.7Nの各濃度の硫酸20mlに Suspend し100°C Water bath 中で30分加水分解する. 大部分の Sample はこれで溶解して均一な溶液になるが一部は未反応のまま, 固形状態で残る. 之を濾過に依り除去した後, 全容をそれぞれ同一濃度の硫酸で100mlとする. しかして各々を6つの50ml容三角フラスコに15ml宛分注し, そのうち5つは再び加水分解する. 加水分解時間は最初より1時間, 2時間, 3時間, 5時間, 7時間とした. 加水分解したものを残りの1本のもものと共に常法にしたがい BERTRAND 法に依り還元力を測定した. 結果は第1図に示す.

② Sample C¹⁾ (液状) 80ml宛に 5N H₂SO₄を加えて, 0.5及び0.7N H₂SO₄濃度になる様にし, それぞれ同一濃度の硫酸で全容を100mlとする. しかして50ml容三角フラスコに10ml宛分注し, ①の場合と同様, 30分, 1時間, 2時間, 4時間, 6時間, 8時間, 10時間加水分解し, NaOH 溶液でpH7.0に調整した後, 全容を蒸留水で25mlとす. 還元力測定は SOMOGYI 法に従って行つた. 原液1ml当りの還元力の増加状態は第2図に示す.



第1図 Sample Cの酸加水分解



第2図 Sample B-b ②の酸加水分解

第1, 第2図の結果から見ていづれの試料でも30分まですみやかに加水分解が進み, その時の還元糖量は全糖の約半分を示す. それ以後は徐々に加水分解が進み, Sample B-b②は5~6時間で, Sample Cは8~10時間で加水分解が完了する.

〔実験Ⅱ〕 白ぼけ糖成分の BERTRAND 法及び Iodimetry に依る定量値の比較.

試料の調整: Sample B-b② 300mgを0.7N H₂SO₄で5時間加水分解し, N-NaOHで中和全容を蒸留水で50mlにする.

BERTRAND 法: 常法の如く Sample 10mlをもつて行う.

Iodimetry: Sample 1mlを50ml容三角フラスコにとり, 0.02N Iodine 3mlを加え, 更に蒸留水を加えて全容を6mlとす. 次に5% Na₂CO₃溶液0.4mlを徐々に加え, 直ちに栓をして20°Cの Bath 中で30分保つ. 之に0.5N H₂SO₄ 1mlを加え, チオ硫酸ソーダ溶液(0.005N)にて滴定する²⁾.

定量結果は両方法共 Sample 1ml当りの還元糖量は1.96mg (グルコースとして)であり, この結果は白ぼけ中の還元糖は全て Aldose である事を示す.

〔実験Ⅲ〕 白ぼけ糖成分の Paper electrophoresis に依る検索

試料の調整: 例の如く 0.7N H₂SO₄で加水分解し, NaOH 溶液で中和濃減を濃縮する.

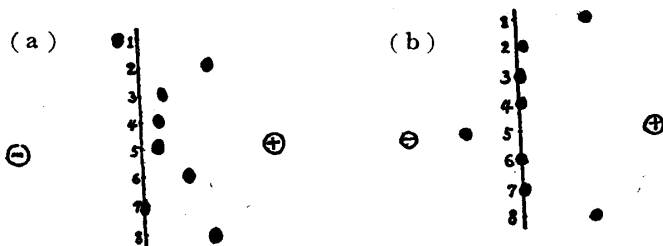
Buffer: 第1表に示す 濾紙: 東洋濾紙 No.2 電場の照射: 100V 20~30mA 5時間 呈色剤: Aniline hydrogen phthalate

結果は第3図 a, bに示す.

第3図からもわかる様に pH 7.85の Borate buffer では Aldohexose と Ketohexose は可成りはなれた位置に Spot が現れ, Paper chromatograph で分離出来にくいものでも容易に検索しえる. 一方 Pentose, Methylpentose も Aldohexose とはなれた所に Spot が現れ, 且つ Aniline hydrogen phthalate に依る呈色は Aldohexose よ

第1表 Buffer の組成

組 成	添加量(ml)
0.4M Boric acid	150
0.2M NaCl	75
0.1M Borax	50
Distilled water	125
pH	7.85



第3図 Sample B-b ②の Paper electrophoresis

(a) 註: Spot. 1はMaltose, 2はFructose, 3はGlucose, 4はGalactose 5は白ぼけ試料, 6はXylose 7はRhamnose, 8はSorbseを示す。

(b) 註: Spot. 1はFructose, 2はGlucose 3及び6は白ぼけ試料, 4はGalactose, 5はTetramethyl glucose, 7はMannose 8はSorbseを示す。

りも赤味を帯びている。かくして白ぼけ試料中には Ketose, Pentose はほとんどなく, すべて Aldohexose である事が明らかである。

〔実験Ⅳ〕 白ぼけ糖成分の Paper chromatograph に依る検索。

試料の調整: Paper electrophoresis の場合と同様処理する。

1) Solvent; Pyridine: Butanol: Water=3:2:1.5³⁾

濾紙: 東洋濾紙 No. 50 (2×40cm) 展開時間: 16時間 展開温度: 30°C 方法: 上昇法。

結果は Table 2 に示す。

第2表 白ぼけ試料及び糖類の Rf 値

Sample	0.52
	0.59
Glucose	0.58
Galactose	0.52
Mannose	0.60
Fructose	0.58
Arabinose	0.62

註: solvent: Pyridine-Butanol-Water

濾紙, 展開時間, 展開温度及び操作方法は 3) と同様である。

結果は第5図に示す。



第4図 白ぼけ試料のペーパークロマトグラフィ

註: Spot 1 及び 5 は Glucose. 2 及び 6 は Galactose, 3 及び 7 は白ぼけ試料, 4 及び 8 は Mannose を示す。
Solvent は Phenol-Water (4:1) である。

第3表 白ぼけ試料及び糖類の Rf 値

Sample	0.16
	0.23
Glucose	0.19
Mannose	0.23
Galactose	0.16
Fructose	0.23

註: solvent: Butanol-Ethanol-Water

第5図 白ぼけ試料のペーパークロマトグラフィ

註: Spot 1 及び 5 は Glucose. 2 及び 7 は Galactose, 3 及び 6 は白ぼけ試料, 4 及び 8 は Mannose を示す。
Solvent は Colidine 水飽和液である。

2) Solvent; Butanol: Ethanol: Water=4:1:1

濾紙, 展開時間, 温度及び操作方法是 1) と同様である。

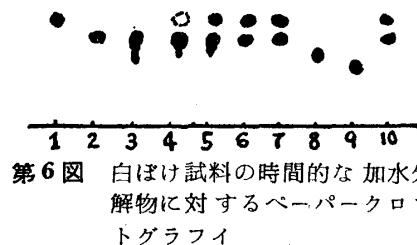
結果は第3表に示す。

3) Solvent; Phenol: Water=4:1⁴⁾

濾紙: 東洋濾紙 No. 50 (40×40cm) 展開時間: 20時間 展開温度: 30°C 操作方法: 上昇法, 三回 multiple を行なう。

結果は第4図に示す。

4) Solvent; Colidine 水飽和液⁴⁾



第6図 白ぼけ試料の時間的な加水分解物に対するペーパークロマトグラフィ

註: Spot 1 は Mannose, 2 は Galactose. 3 は 0.5hr 加水分解物, 4 は 1.5時間加水分解物, 5 は 2.5時間加水分解物, 6 は 4.0時間加水分解物, 7 は 5時間加水分解物, 8 は Maltose, 9 は Lactose, 10 は Mannose 及び Galactose を示す。
Solvent は Butanol: Acetic acid: Water 4:1:2 である。

(422)

(堀, 井上) 清酒の「白ぼけ」に関する研究 (第3報)

第2, 3表, 第4, 5図から明らかに白ぼけ構成糖成分は Galactose 及び Mannose の二つであり, Glucoseや Isomaltose などは検出されなかつた。

〔実験V〕Paper chromatograph による加水分解経過中の観察

次に実験1に於いて酸加水分解物を時間的にとつて Paper chromatography を行つた。即ち白ぼけ物質 B~b ②を 0.7N H_2SO_4 で加水分解, 30分, 1時間, 2時間, 4時間, 5時間経過毎に Sample を抜きとり, 中和濃縮して Paper chromatograph に依り検索を行つた。Solvent は BuOH : Acetic : Water = 4:1:2 で2度Multiple に行つた。

結果は第6図に示す。

Sample C に就いても同様の操作を行つたが, 結果は全く第5図と類似のものであつた。

第5図で明らかな様に酸加水分解に於いては先づ Galactose が先に加水分解されて free になり, 30分加水分解物では Mannose は検出されなかつた。以後加水分解が進むにつれて Galactose の spot の外に Munnose の spot が現れてくる。

考 察

以上の結果より白ぼけ中の糖成分が Galactose 及び Mannose でありことさら清酒中に含有されている Glucose や Isomaltose などが殆んど認められないという事は白ぼけの成因が単なる物理的現象に依るものであるとしてかたづけしてしまうわけにはいかない。それには何か清酒貯蔵中の複雑な酵素作用が重要な役割を演じているのではないかと考えられる。

一方, 白ぼけの酸加水分解における分解状態から糖成分が Mannan を Main chain とし, Galactose が之に結合している Galactomannan (Polysaccharide) の形で存在する事が一応推定される。

要 約

1. 清酒白ぼけの構成アミノ酸については既報¹⁾のごとくであるが, 一方糖成分は Galactose 及び Mannose である。
2. 酸加水分解においては還元力は30分までに急激に増加し, 全糖の約半分の還元力を示し, 以後は徐々に加水分解が進行する。
3. 酸加水分解において Galactose が先づ先に遊離される。
4. Sample B-b ②とSample C は本質的には同一物質である。

文 献

- 1) 堀, 井上, 松葉: 本誌, 35, 333 (1957).
 - 2) M. MACLEOD, R. ROBISON: Biochem. J. 23, 517 (1929).
 - 3) W.J. PAGNE, R.T. KIBER: Arch. Biochem. and Biophys. 52, 1 (1954).
 - 4) 佐伯一夫: クロマトグラフィー, 116, (昭30).
- (昭和 32. 9. 2 受理)

清 酒 の「白 ぼ け」に 関 す る 研 究

(第3報) 白ぼけ物質の各種イオンに依る沈降試験

堀 一 郎・井 上 信 明 (大阪大学工学部醸酵工学教室)

緒 言

第1報¹⁾に報告した如く, 清酒の白ぼけ物質は蛋白質部分と多糖類部分の両者より成っている。一般の蛋白質と金属イオンとの結合については多くの研究があり, 夫等の結果を総合すると, 水銀, 銀, 銅, 亜鉛は非常に固く蛋白質と結合し, アルカリ土族, 例えばカルシウム, マグネシウムは前述の各イオンよりずつと弱く結合し, アルカリ金属, 例えばカリウム, ナトリウムは普通の状態では蛋白質と安定な結合を作らないといわれている²⁾。又金属以外のイオンについては Phosphate イオンの如き2価イオンは, Chloride イオン等の1価イオンよりも蛋白質とより安定な結合を作る事もわかつている³⁾。白ぼけ物質の他の成分である多糖類と金属との結合については Glucomannan や Xylan と銅との結合は周知の事実であり, 最近寺本, 三崎等により別に研究されている Bacterial polysaccharide もアルカリ性に於いて銅, カルシウムと安定な結合物を作る⁴⁾。