

(438) (安藤, 手塚, 加藤, 守随, 北原) 合成清酒に於ける`火落ち`の問題について

前記基質中最もアミラーゼ生産の多い第6表 No. 2の培養基につき, その標準液を1としこれを希釈して酵素力との関係を検討した(第7表).

Table 7. The relation between the dilution rate of culture media and the production of amylase.

Dilution rate Medium No.	1	1/2	1/3	1/5	1/10	1/20	1/40
2	84.70	78.65	72.47	55.09	28.15	14.80	8.00

本試験の結果も大体 $\frac{1}{40}$ 迄の希釈度なれば余り酵素力は減少しない.

摘 要

本報告は澱粉糖化菌である *Asp. usamii* R-1-2のアミラーゼ生成に適する培養基質について実験を行ったものである.

1. 本菌のアミラーゼ生成基質としての適性は玉蜀黍, 麴, 米糠, 甘藷の順となり其の濃度は4%或は3%がよい.
2. 麴と甘藷粉との混合基質は麴3%以上に甘藷2%以上を加へると強力なアミラーゼを生成する.
3. 麴と玉蜀黍の混合基質はアミラーゼ生成を一層増強する. 特に麴1~2%でも玉蜀黍2~3%を加えると良好である.
4. 麴又は玉蜀黍に無機塩類を加える場合は NaNO_3 は少量(0.1~0.3%)ならば幾分酵素力を強めるが, KH_2PO_4 又は MgSO_4 は殆んど影響がない. CaCO_3 は量が少い(0.05~0.1%)ときはよいが, 多量は阻害される.
5. 本菌のアミラーゼ生成に対する最もよい基質は麴2%+玉蜀黍4.0%+ NaNO_3 0.2%+ CaCO_3 0.05%であつた.

本研究につき桜醸造株式会社河村社長より寄せられた御厚情を謝す.

文 献

- 1) 大谷, 金子, 高橋: 本誌, 35, 397 (昭32).

(昭 32. 9. 13 受理)

合成清酒に於ける`火落ち`の問題について

各種合成清酒に対する火落菌の接種試験

安藤忠彦・手塚信也・加藤幹夫・守随稀雪(科学研究所) 北原覚雄(応用微生物研究所)

緒 言

火落菌類の侵害によつて生起する火落現象は従来清酒に限られ, 合成清酒に於いては稀れに酵母混濁を見るに過ぎなかつたが, これは両者の成分から見て当然のことと思われる. 然るに最近三倍醸造清酒, 米使用合成清酒, 大豆蛋白利用合成清酒の出現により清酒と合成清酒の区別が次第に薄らいで来るに伴い, 合成清酒にも火落類似現象が起る危険性を生ずるに至り, 現に我々も屢々この現象を見聞する. これは合成清酒業者にとつて由々しい問題と思はれるので首題の研究を開始した. 勿論清酒と合成清酒が全く同じ種類の細菌に侵されるか否かは改めて検討を要する問題であるが, 今回は合成清酒の香味液添加率と既知火落菌生育の関係並びに最近試験した各種合成清酒に対する火落菌生育の能否を検討した. 火落菌に就いては最近北原等¹⁾が清酒の特異成分たる火落酸要求の有無による新しい分類を行つていたので, それらの代表的菌株を選んで行つた接種試験の結果を報告する.

実 験 の 部

1) 供試酒

香味液添加合成清酒: - 香味液の混和率と火落菌類の生育の関係を調べるため, 第1表の如き配合で調製した

第1表 純合成酒配合組成

Alcohol	15.5%	Succinic acid	0.0884%
醸造用 glucose	3.05	Na-succinate	0.012
水 ア メ	0.55	Lactic acid	0.012
Na-glutamate	0.015	KH ₂ PO ₄	0.006
Alanine	0.01	Ca (H ₂ PO ₄) ₂	0.006
Glycine	0.005	NaCl	0.006

純合成清酒に清酒仕込香味液を3~15%添加したものを用いた。

KCP, SLD 使用香味液添加合成清酒:-KCP*及びSLD** を上記香味液仕込中に添加して, 調製した香味液をいろいろの割合に純合成清酒に添加したものを用いた。

KCP 利用合成清酒:-理研式醸酵法²⁾ (原法) によつて調製せる合成清酒

KCP, SLD 利用合成清酒:-SLD を糖質原料として上記理研式醸酵法による KCP 利用合成清酒³⁾。

プロテアーゼ利用合成清酒:-KCP を細菌プロテアーゼ製剤 (*Bacillus Natto* を用いて造つた高純度標品) によつて処理し, 更に醸酵法によつて調製した合成清酒⁴⁾。

プロテアーゼ及び米麴併用合成清酒:-KCP を細菌プロテアーゼ並びに米麴によつて処理し, 醸酵法によつて調製した合成清酒⁴⁾。

液麴使用香味液 米粉を基質とした液体麴を作り之を使用して醸造した香味液⁵⁾。

三倍醸造清酒:-常法による三倍醸造清酒 (某酒造所の三増酒)。

市販合成清酒:-市販合成清酒 (米5%使用)。

以上の各供試酒の一般分析値は第2表に示す如くである。

第2表 各供試酒一般分析

	アルコール (Vol %)	清酒メー ター(度)	直 糖 (%) (as Glucose)	総酸 (%) (as Succinic)	アミノ酸 (%) (as Leucine)	pH
香 味 液 (清酒仕込)	18.95	+2.0	3.38	0.191	0.122	4.3
KCP, SLD 使用 香 味 液	21.35	+3.5	2.83	0.212	0.192	4.2
KCP 試 醸 酒 (理研式原法)	20.50	-0.2	5.01	0.167	0.660	4.0
KCP, SLD 試醸酒 (理研式原法)	20.00	+3.0	3.44	0.131	0.053	4.3
プ ロ テ ア ー ゼ 試 醸 酒	18.50	-1.8	5.89	0.138	0.048	4.1
プロテアーゼ, 米麴併用試醸酒	18.82	-1.0	4.90	0.129	0.041	3.9
液 体 麴 香 味 液	12.90	Be' 2.25	1.99	0.108	0.098	4.1
三 倍 増 醸 酒	20.30	-0.1	4.21	0.201	0.098	4.2
合 成 酒 (市販)	15.30	-0.55	3.73	0.094	0.038	4.0

2) 供試菌類

東大応用微生物研究所 第一研究部にて分類保有中の 真性火落菌 *Lactobacillus homohiochi* (Homo 型 H-43) *Lactobacillus heterohiochi* (Hetero 型 H-I) 及び火落性乳酸菌 *Lactobacillus acidophilus* (Homo 型 H-7) *Lactobacillus fermentum* (Hetero 型 H-34) の各1株計4株を用いた。

3) 試験方法

内径24mmの大型試験管に, 実験を容易にするため常法により加水してアルコール12Vol% とした各供試酒を30cc宛分注し, 60°C, 15分間火入を行い, 予め肝片添加清酒培地に一週間培養した上記火落菌類をそれぞれ一滴宛接種し, コルク栓を施し, 38°Cで30日間放置し其毎日混濁の有無及び程度を対照区と比較観察した。

4) 実験結果

Lactobacillus homohiochi (H-43) 純合成清酒に清酒仕込香味液を15%以上混和すると5~6目位より原香味液同様に混濁する。10, 7, 及び5%は之に続くが混和率の低下と共に混濁度も減じ3%以下混和率では全く生育を見ない。KCP, SLD 香味液も同様の結果であつた。KCP 利用合成清酒及び三増酒は相当に混濁が見られ,

* KCPは Kaken Casein Powderの略称でヘキサソ低温抽出による脱脂大豆粉を70%メタノール処理したもの。

** SLD は Sanmatsu Liquid Dextrin の略称である。

(440) (安藤, 手塚, 加藤, 守随, 北原) 合成清酒に於ける「火落ち」の問題について

液麴使用香味液はやや疑わしい程度, プロテアーゼ利用合成清酒は全く混濁が認められない, 尚市販合成清酒では多少おくれで混濁が現われた (第3表).

第3表 *L. homohiochi* (H-43) による火落試験

供 試 酒	経 過 日 数						
	3 日	5 日	7 日	10 日	15 日	20 日	30 日
純 合 成 酒	—	—	—	—	—	—	—
香 味 液 (3%) 添 加 合 成 酒	—	—	—	—	—	—	—
〃 (5%) 〃	—	—	—	±	+	+	+
〃 (7%) 〃	—	—	±	+	++	++	++
〃 (10%) 〃	—	±	+	+	++	++	++
〃 (15%) 〃	±	+	++	++	++	++	++
香 味 液	±	+	+	++	++	++	++
KCP, SLD使用香味液 (5%) 添加合成酒	—	—	—	—	+	+	+
〃 (10%) 〃	—	±	+	+	++	++	++
〃 (15%) 〃	—	+	++	++	++	++	++
KCP, SLD使用香味液	—	+	++	++	++	++	++
KCP 利 用 試 釀 合 成 酒(原法)	—	—	+	++	+	+	+
KCP, SLD利 用 試 釀 合 成 酒(原法)	—	±	++	++	++	++	++
プ ロ テ ア ー ゼ 利 用 合 成 酒	—	—	—	—	—	—	—
米 麴, プ ロ テ ア ー ゼ 併 用 合 成 酒	—	—	±	+	+	+	+
液 麴 使 用 香 味 液	—	—	—	—	±	±	±
三 倍 増 釀 清 酒	—	+	++	++	++	++	++
市 販 合 成 酒	—	—	—	±	+	+	+

Lactobacillus heterohiochi (H-1) 清酒仕込香味液, SLD, KCP 香味液は共に15%以上混和の場合混濁が認められ, KCP 利用合成清酒, 液麴使用合成清酒についても菌の生育が認められた. 尚三増酒は完全に混濁した. プロテアーゼ利用合成清酒, プロテアーゼ米麴併用合成清酒では全く混濁が認められなかった (第4表),

第4表 *L. heterohiochi* (H-1) による火落試験

供 試 酒	経 過 日 数						
	3 日	5 日	7 日	10 日	15 日	20 日	30 日
純 合 成 酒	—	—	—	—	—	—	—
香 味 液 (3%) 添 加 合 成 酒	—	—	—	—	—	—	—
〃 (5%) 〃	—	—	—	—	—	—	—
〃 (7%) 〃	—	—	—	—	—	—	—
〃 (10%) 〃	—	—	—	—	—	—	—
〃 (15%) 〃	±	±	±	±	+	+	+
香 味 液	±	±	±	+	++	++	++
KCP, SLD使用香味液 (5%) 添加合成酒	—	—	—	—	—	—	—
〃 (10%) 〃	—	—	—	—	—	—	—
〃 (15%) 〃	±	±	±	±	+	+	+
KCP, SLD使用香味液	±	+	+	++	++	++	++

KCP 利 用 合 成 酒 (原法)	—	—	—	±	+	++	++
KCP, SLD併 用 合 成 酒	—	—	—	±	±	+	+
プ ロ テ ア ー ゼ 利 用 合 成 酒	—	—	—	—	—	—	—
プ ロ テ ア ー ゼ, 米 麴 併 用 合 成 酒	—	—	—	—	—	—	—
液 麴 使 用 合 成 酒	—	—	—	—	+	+	+
三 倍 増 醸 清 酒	±	±	+	++	++	+++	+++
市 販 合 成 酒	—	—	—	—	—	—	—

Lactobacillus acidophilus (H-7) 清酒仕込香味液15%以上では清酒及び三増酒同様の混濁が認められ, 10%は之れにつき, 7%では疑わしい程度, 5%以下では菌の生育が認められなかった。KCP, SLD 香味液でもほぼ同様な結果であつた。その他の試醸酒に於いては10日目以後その殆んど総べてに混濁が認められたが只市販合成清酒のみは疑わしい程度の混濁を見るに過ぎなかった (第5表)。

第5表 *L. acidophilus* (H-7) による火落試験

供 試 酒	経 過 日 数						
	3 日	5 日	7 日	10 日	15 日	20 日	30 日
純 合 成 酒	—	—	—	—	—	—	—
香 味 液 (3%) 添 加 合 成 酒	—	—	—	—	—	—	—
〃 (5%) 〃	—	—	—	—	—	+	+
〃 (7%) 〃	—	—	±	±	+	++	++
〃 (10%) 〃	—	±	±	+	+	++	++
〃 (15%) 〃	±	+	+	+	++	+++	+++
香 味 液	±	+	+	++	++	+++	+++
KCP, SLD使用香味液 (5%) 添加合成酒	—	±	±	±	±	±	±
〃 (10%) 〃	—	±	±	+	+	+	+
〃 (15%) 〃	—	±	±	±	+	+	+
KCP, SLD使用香味液	—	±	±	±	+	+	+
KCP 利 用 合 成 酒 (原法)	—	—	—	+	++	++	++
KCP, SLD併 用 合 成 酒	—	—	—	±	+	+	+
プ ロ テ ア ー ゼ 利 用 合 成 酒	—	—	+	++	+++	+++	+++
プ ロ テ ア ー ゼ, 米 麴 併 用 合 成 酒	—	—	±	+	++	++	++
液 麴 使 用 合 成 酒	—	—	—	—	+	++	++
三 倍 増 醸 清 酒	—	+	+	+	++	++	++
市 販 合 成 酒	—	—	—	—	—	±	±

第6表 *L. fermentum* (H-34) による火落試験

供 試 酒	経 過 日 数						
	3 日	5 日	7 日	10 日	15 日	20 日	30 日
純 合 成 酒	—	—	—	—	—	—	—
香 味 液 (3%) 添 加 合 成 酒	—	—	—	—	—	—	—
〃 (5%) 〃	—	—	—	—	—	±	±
〃 (7%) 〃	—	—	—	—	±	+	++
〃 (10%) 〃	—	±	±	+	+	++	++
〃 (15%) 〃	±	+	+	++	++	+++	+++
香 味 液	±	+	++	++	+++	+++	+++

(442) (安藤, 手塚, 加藤, 守随, 北原) 合成清酒に於ける火落ちの問題について

KCP, SLD使用香味液 (5%) 添加合成酒	—	—	—	—	±	±	±
〃 (10%) 〃	±	±	±	+	+	+	+
〃 (15%) 〃	±	+	++	++	++	++	++
KCP, SLD使用香味液	+	+	++	++	++	++	++
KCP 利用合成酒 (原法)	—	±	+	++	++	++	++
KCP, SLD併用合成酒	—	±	+	++	++	++	++
プロテアーゼ利用合成酒	—	±	±	+	++	++	++
プロテアーゼ, 米麴併用合成酒	—	±	±	+	++	++	++
液麴使用合成酒	—	+	+	+	++	++	++
三倍増醸清酒	±	+	++	++	++	++	++
市販合成酒	—	—	—	—	—	—	—

Lactobacillus fermentum (H-34) 清酒仕込香味液15%以上では清酒同様の混濁が起り, 10%, 7%は之に続き5%では疑わしい程度であつた. KCP, SLD 香味液も大体同程度の混濁が認められ. その他の各種試醸酒に於いても例外なく清酒同様の混濁が認められたが市販合成清酒では菌の生育が認められなかつた(第6表).

考 察

以上の実験結果から, 香味液混和率と火落菌生育の可能及び最近の試醸合成清酒類の火落性を総合的に検討してみると次の如き知見が得られる.

1) 香味液の混和率と火落性

純合成清酒に清酒仕込香味液を原料米に換算して5~7%添加混和すると火落菌類の内 *Lactobacillus homohiochi* (H-43), *Lactobacillus acidophilus* (H-7), 及び *Lactobacillus fermentum* (H-34) 等が生育可能となるが, それ以下の添加量では全く生育し得ない. 又 *Lactobacillus heterohiochi* (H-1) に於いてはその生育に15%の混和が必要である. 従つて第7表に表示した量以上の香味液が合成清酒中に添加される場合には火落菌類の生育による混濁の可能性が存在するわけで, 充分火落対策を要すると考えられる.

第7表 香味液混和率と火落性

	<i>L. homohiochi</i>	<i>L. heterohiochi</i>	<i>L. acidophilus</i>	<i>L. fermentum</i>
香味液 (清酒仕込)	5~7%	15%	5~7%	5~7%
KCP, SLD併用香味液	5%	15%	10%	5~7%

第8表 各種試醸合成酒の火落性

	<i>L. homohiochi</i>	<i>L. heterohiochi</i>	<i>L. acidophilus</i>	<i>L. fermentum</i>
KCP 試醸酒	+	+	++	++
KCP, SLD 試醸酒	++	+	+	++
プロテアーゼ試醸酒	—	—	++	++
米麴, プロテアーゼ試醸酒	±	—	++	++
液体麴試醸酒	±	+	++	++
三倍増醸酒	++	++	++	++
合成酒 (市販)	+	—	±	—
純合成酒	—	—	—	—

2) 各種試醸合成清酒の火落性

各種試醸酒に各種火落菌類を接種して, 28°C, 30日間放置した結果を混濁の有無及び程度をもつて第8表に総括表示した. プロテアーゼ利用合成清酒に於いては, 2種の真性火落菌 *Lactobacillus homohiochi* (H-43) 及び *Lactobacillus heterohiochi* (H-1) がいずれも生育しないが, これは全く米麴を使用しない仕込方法であるため,

田村等⁶⁾の報告している火落酸が欠除して居るためと考えられる。その他の試醸酒は程度の差はあるが、供試菌4株のいずれも生育が認められた。以上の供試酒はアルコール濃度 12 vol%迄加水し、しかも肝片添加清酒に前培養した試験菌を使用したので正規の状態にて調整貯蔵した場合と全く同一には論じられないが、火落菌類の酒精耐性から見て合成清酒と雖も火落菌生育の可能性即ち火落混濁の危険性が相当にあると結論し得るであろう。尚使用菌株が少ないので直ちに断定は出来ないが次の推定は可能であろう。即ち清酒火落の際最も出現率の大きいのは *Lactobacillus heterohiochi* であるが⁷⁾、合成清酒では香味液添加が少くとも 10%を越さない限り、この菌株の出現する可能性は少ないと見られる。従つてたとえ類似の細菌混濁が起つても現段階では清酒と合成清酒の Flora は自ら異なると解すべきであろう。

文 献

- 1) 北原寛雄, 金子太吉, 後藤治: 農化, **31**, 556, 560 (1957).
- 2) 守随稀雪, 田島脩, 広谷節蔵, 戸部貞二郎: 合投報, **3**, 27 (1954).
- 3) 加藤幹夫, 坂本政義, 守随稀雪: 合投報, **6**, 38 (1955).
- 4) 坂本政義, 小島与次, 市川元英, 守随稀雪: 合投報, **12**, 18 (1957).
- 5) 飯田茂次, 能勢繁三郎, 沢崎輝蔵, 服部行彦, 市川元英, 沼野和子, 川辺桂子: 醸協, 投稿中 (1957).
- 6) Gakuzo TAMURA: J. Gen. App. Microbiol. **2**, 431 (1956).

(昭和 32. 9. 16 受理)

清酒醸造過程に於けるアミノ酸の消長に関する研究

(第4報) 生酏及び速醸酏仕込経過に於けるアミノ酸の消長

吉野 大資・橋田 度・津田明四郎 (大阪大学工学部醸酵工学教室)

森 太郎・渡辺 和夫 (KK本嘉納商店研究室)

緒 言

清酒々母中のアミノ酸はビタミンと共に清酒酵母の栄養源として¹⁾²⁾、又清酒醪、更には清酒の味に就き重要な役割を為すと考えられる。酒母仕込経過に於ける窒素成分の消長に関しては豊沢・米崎氏³⁾及び蔭山・杉田氏⁴⁾等の報告があり、山村氏⁵⁾、梅津氏⁶⁾はいずれもペーパークロマトグラフィーに依りアミノ酸の消長を追及している。私達は先に清酒醸造過程の主として製麹及び醪仕込経過に於けるアミノ酸の消長に就き報じたが⁷⁾本報では生酏及び速醸酏の2種類の酒母仕込経過に於けるグルタミン酸量とスレオニン量を Bioassay に依り測定しこれら2つのアミノ酸の消長を比較した。

実 験 之 部

KK本嘉納商店に於て昭和30年12月から昭和31年1月にかけて仕込んだ同一系列の原料に依る生酏及び速醸酏から試料を採取した。仕込配合は生酏、速醸酏共に蒸米5斗2升、麴2斗6升、汲水6斗3升、である。

(1) 試料の調製

試料は打明、初暖気、湧付、分け、戻し、枯し期間中、使用前等、生酏では13の操作段階、速醸酏では8操作段階に於て採取した。採取せる試料は全試料と水溶性区分に2大別し、試料を酸分解せる全試料に就てはその総窒素、アミノ態窒素及び総グルタミン酸、総スレオニンを測定し水溶性区分については総窒素、アミノ態窒素、グルタミン酸、スレオニンを分析した。

(a) 全試料(酸加水分解液)の調製

採取試料20gに6N濃度となる様に塩酸を加え常法により封管中で30lbs 4時間分解した。減圧濃縮により分解液から可及的に塩酸を除きpH4.0で濾過⁸⁾後pH6.8に調節、定容に充たした。尚麹及び蒸米は各10g宛採取、同様に処理した。

(b) 水溶性区分の調製

採取試料50gを磨砕後80%エタノール100mlを加え100°Cで10分間加熱して酵素作用を停止させた。これに水を加え乳鉢で磨砕、遠心分離し、上澄液を集め残滓は水を加え再び磨砕抽出という操作を3回繰返した。尚抽出に用いた水の量は略一定とした。斯くて集めた上澄液を減圧濃縮してアルコール等の揮発成分を除いた後濾過しpH6.8に調節定容に充たした。