

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。

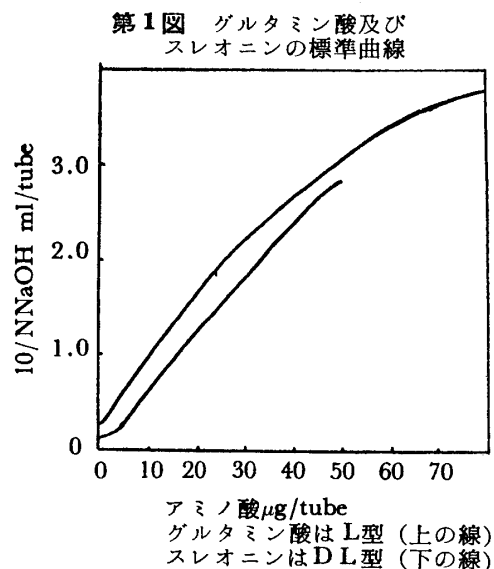
(b) 水溶性区分の調製

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。

(444) (吉野, 橋田, 津田, 森, 渡辺) 清酒醸造過程に於けるアミノ酸の消長に関する研究

(2) 分析方法

- (a) 酸は採取試料 10ml を中和するに要する N/10 NaOH の滴定数 (ml).
 (b) 糖は常法により BERTRAND 法で測定 Glucose として表はした.
 (c) 総窒素は MICRO-KJELDAHL 法に依った.
 (d) アミノ態窒素は VAN SLYKE 法に依った.
 (e) グルタミン酸は寺本氏その他⁹⁾が蛋白質原料の分析に使用した Bioassay に依った. 使用菌は *Lact. arabinosus* である. グルタミン酸の標準曲線を第 1 図に, 回収率を第 1 表に示す.



第 1 表 グルタミン酸の回収率

試料	アミノ酸添加量 ($\mu\text{g}/\text{tube}$)	アミノ酸分析値 ($\mu\text{g}/\text{tube}$)	増加せるアミノ酸量 ($\mu\text{g}/\text{tube}$)	回収率 (%)
K-17 (生醗湧付)	0	5		
	10	16	11	110
	15	20	15	100
	20	25	20	100
	25	29	24	96

スレオニンの回収率

試料	0	10		
蒸米の 分解物	10	20	10	100
	20	31	21	105
	25	36	26	104

第 2 表 生 醗 及 び 速 醗 醗

工 程 *	仕込配合よりの計算値					分 析 結 果								
						全試料酸 (分解物)				水 溶 性 区 分				
	総窒素 mg g 試料 * *	総グルタ ミン酸 μg g 試料	総スレ オニン μg g 試料	ボーメ	酸	総窒素 mg g 試料	アミノ 態窒素 mg g 試料	総グルタ ミン酸 μg g 試料	総スレ オニン μg g 試料	直 糖 (グルコー スとして) mg g 試料	総窒素 mg g 試料	アミノ 態窒素 mg g 試料	グルタ ミン酸 μg g 試料	スレオ ニン μg g 試料
(a)	(b)	(c)										(d)	(e)	(f)
K-2 打 明	3.717	3379	642			1.620	0.951	1750	313	49.9	0.164	0.048	45	
K-5 初暖気	3.637	3308	628			2.650	1.724	3125	450	95.3	0.245	0.108	96	36
K-8	〃	〃	〃	13.7	2.10	3.136	1.813	3650	500	118.8	0.537	0.396	320	66
K-11	3.561	3239	611	15.7	4.00	2.700	2.150	4000	400	160.1	1.132	0.589	680	118
K-14	3.489	3176	602	16.9	5.10	3.136	1.843	4375	500	156.1	1.118	0.648	780	133
K-16	〃	〃	〃	17.1	5.80	3.136	1.784	3750	325	134.7	1.111	0.606	640	135
K-17 湧 付	〃	〃	〃	16.9	6.50	3.136	1.725	3500	325	250.0	1.854	1.036	1350	200
K-18	〃	〃	〃	16.6	7.05	3.136	1.892	3250	413	164.3	1.345	0.626	820	145
K-20	〃	〃	〃	11.5	10.50	3.352	1.862	3750	588	130.7	1.254	0.704	740	128
K-21 分 け	〃	〃	〃	9.8	11.75	3.352	1.952	3875	513	91.3	1.390	0.840	780	130
K-22 戻 し	〃	〃	〃	7.8	12.00	3.460	2.013	4625	650	69.5	1.390	0.851	920	141
K-25 枯 し 中	〃	〃	〃	7.0	12.30	3.243	1.952	3625	500	72.5	1.390	0.698	980	153
K-30 使用前	〃	〃	〃	7.3	12.10		1.840	3500	525	72.5	1.382	0.698	1120	165
速 醗 醗														
S-3	3.525	3205	609	18.0	2.50	2.592	1.697	3100	513	121.5	0.876	0.229	190	75
S-5 湧 付	3.489	3176	602	17.2	3.40	2.865	1.484	2060	543	137.3	0.978	0.207	205	78
S-7	〃	〃	〃	14.6	6.30	2.484	1.862	3300	550	126.6	0.840	0.200	450	120
S-9	〃	〃	〃	11.2	7.85	3.300	2.012	3500	563	114.9	1.206	0.303	590	147
S-10 分 け	〃	〃	〃	9.7	8.30		1.927	3600	688	85.0	1.233	0.349	550	150
S-11 戻 し	〃	〃	〃	8.8	9.00	2.916	1.786	3252	538	72.3	1.038	0.339	520	150
S-13 枯 し 中	〃	〃	〃	8.2	8.90	2.919	1.697	3125	543	67.1	1.281	0.347	500	150
S-15 使用前	〃	〃	〃	7.7	8.90	3.406	2.042	3625	525	74.9	1.210	0.358	540	165

* K-14, S-10等の数字は仕込後の日数を示す.

** g 試料は調製試料ではなく採取試料 (物量) 1 瓦当りの事である.

(f) スレオニンは田村氏等¹⁰⁾の培地で *Leuc. mesenteroides* P-60 を用いる Bioassay に依り測定した。第1図に標準曲線を第1表に回収率を夫々示す。

分析結果及び考察

(1) 蒸米及び麴に就ての分析結果

蒸米及び麴の総窒素, グルタミン酸, スレオニンの分析結果は次の如くである。

蒸米: 総窒素: 6.048mg/g, L-グルタミン酸: 5.750mg/g, L-スレオニン0.950mg/g.

麴: 総窒素: 6.271mg/g, L-グルタミン酸, 5.125mg/g, L-スレオニン1.300mg/g.

(2) 生醗及び速醸醗仕込経過に就て

蒸米及び麴の分析値を基準として仕込配合から各工程に於ける物量(採取試料)瓦当りの総窒素量, グルタミン酸量及びスレオニン量を算出し分析結果と併せて第2表に示した。表中のアミノ酸はすべてL型で表はしてある。尚スレオニンに関してはDL型の $\frac{1}{2}$ 量を取りL-スレオニンとして表はした¹¹⁾。

(a) 窒素成分の遊離

水溶性区分の総窒素は, 生醗系酒等に於ては仕込後徐々に増加して行くのに対し, 速醸醗では仕込後3日目で最大遊離量の $\frac{3}{4}$ に達している。然し乍ら量的には両者の間には大きな相異は認められない。全試料中の総窒素に対する水溶性区分の窒素の比(d/a)をみるに, 生醗では仕込後徐々に窒素成分が溶出され18日以後は略一定の割合となり40%程度となる。速醸醗では全経過を通じ25~35%の割合で窒素成分が遊離している。即ち両者の窒素成分の遊離割合は量的にみて大きな違いはないが, その遊離の仕方に於て生醗は漸増的に行はれるのに対し速醸醗は前急後緩である点が異つている。この事を蔭山氏等⁹⁾は米麴の酸性プロテアーゼ系の作用により説明している。水溶性区分のアミノ態窒素は生醗では仕込後11日目頃迄可成り急激に増加するがそれ以後あまり大きな増減は見られない。速醸醗では仕込後7日目迄は変化は少ないが7日から9日目にかけ可成りの増加が認められる。又量的には速醸醗のアミノ態窒素は生醗の $\frac{1}{2}$ ~ $\frac{1}{3}$ で推移している。蔭山氏等⁹⁾もフオルモール窒素が醗造り全段階を通じ速醸醗は生醗の $\frac{1}{2}$ ~ $\frac{1}{3}$ の値を示す事を報じている。水溶性区分の総窒素に対するアミノ態窒素の比(e/d)

仕 込 経 過 に 就 て

分 析 結 果 よ り の 計 算 値

水溶性区分 アミノ-N 総 窒 素 (%)	水溶性-N 総 窒 素 (%)	グルタミン酸 水 溶 性 区 分 全 試 料 (%)	スレオニン 水 溶 性 区 分 全 試 料 (%)	水溶性区分の グルタミン酸 窒 素 μg g 試 料	水溶性区分の スレオニン 窒 素 μg g 試 料	水 溶 性 区 分 グルタミン酸-N 総 窒 素 (%)	水 溶 性 区 分 スレオニン-N 総 窒 素 (%)
(e/d)	(d/a)	(f/b)	(g/c)	(h)=(f) $\times$ $\frac{14}{147}$	(i)=(g) $\times$ $\frac{14}{119}$	(h/d)	(i/d)
29	4.4	1.3		4.3		2.6	
44	6.7	2.9	5.7	9.1	4.2	3.7	1.7
69	15.8	9.7	10.5	30.4	7.8	5.3	1.4
52	31.8	21.0	19.3	64.6	13.9	5.7	1.2
58	32.1	24.6	22.1	74.1	15.6	6.6	1.4
55	31.8	20.2	22.4	60.8	16.0	5.5	1.4
56	53.1	42.5	33.2	128.3	23.5	6.9	1.3
47	38.6	25.9	24.1	77.9	17.1	5.8	1.3
56	35.9	23.3	21.3	70.3	15.1	5.6	1.2
60	39.8	24.6	21.6	74.1	15.3	5.3	1.1
61	39.8	29.0	23.4	87.4	16.6	6.3	1.2
50	39.8	30.9	25.4	93.1	18.0	6.7	1.3
51	39.6	35.3	27.4	106.4	19.4	7.7	1.4
26	24.9	5.9	12.3	18.1	8.8	2.1	1.0
21	28.0	6.5	13.0	19.5	9.2	2.0	0.9
24	24.1	14.2	19.9	42.8	14.1	5.1	1.7
25	34.6	18.6	24.4	56.1	17.3	4.7	1.4
28	35.3	17.3	24.9	52.3	17.6	4.2	1.4
33	29.8	16.4	24.9	49.4	17.6	4.8	1.7
27	25.1	15.7	24.9	47.5	17.6	3.7	1.4
30	34.7	17.0	27.4	51.3	19.4	4.3	1.6

(446) (吉野, 橋田, 津田, 森, 渡辺) 清酒醸造過程に於けるアミノ酸の消長に関する研究

は水溶性窒素成分の分解率を示すがこの分解率は生醗, 速醗の違いを明瞭に表はしている。即ち生醗では仕込後 8 日目から使用前迄大体 60~50% で推移しているのに対し速醗では全経過を通じ 30% 内外で終始している。この様に清酒々母仕込経過に於て, 米蛋白の溶出に関しては生醗, 速醗共に大きな相違が認められないが溶出蛋白の分解力に於て速醗は生醗に劣る様である。

(b) グルタミン酸の遊離

水溶性区分のグルタミン酸量は生醗, 速醗共に仕込後漸次加しているが後者は前者の約半量である。総グルタミン酸に対する水溶性区分のグルタミン酸の比 (f/b) はグルタミン酸の遊離割合を示すが生醗では仕込後その割合が次第に増加し 11 日目で約 20%, “使用前” で 35% となるのに対し速醗では仕込後 3 日目で約 6%, 使用前で 17% である。生醗では水溶性区分の総窒素, アミノ酸窒素及びグルタミン酸の分析値がいづれも “湧付” で最大となつている。梅津氏も山麴醗仕込経過に於いてグルタミン酸が “湧付” で最大となる事を報じている⁶⁾。水溶性区分の総窒素に対するグルタミン酸窒素の比 (h/d) をみると生醗では “打明” で 2.6%, 8 日目以後大体 5~7% で “使用前” の状態で 7.7% に至つている。醗仕込経過に於てもこの値は 4~6% であつたが生醗系酒母仕込も略々同様の経過を辿る事が想像される。一方速醗では 7 日目で 5.1% となり以後 3.7~4.8% の間で変化して居り水溶性蛋白からのグルタミン酸の遊離は生醗の場合の約 1/2 である。

(c) スレオニンの遊離

水溶性区分のスレオニン量は仕込後漸次増加し “湧付” で最大となりその後減少するが再び増加が認められる。速醗では仕込後 3 日目で採取試料瓦当り 75 μ g, “使用前” で生醗と同じく 165 μ g となる。全試料中のスレオニン量に対する水溶性区分のスレオニン量の比 (g/c) をとると生醗では仕込後日数の経過と共に増加を示し “湧付” で最高となりその後 21~27% で増減している。速醗に於ても全く同様に推移し “使用前” で 27% になつている。この様にオレオニンの遊離に関しては生醗と速醗には差異が認められない。

要 約

生醗及び速醗仕込経過に於ける窒素成分特にグルタミン酸, スレオニンの消長を調べた。アミノ酸量の測定は Bioassay に依つた。米蛋白より窒素成分の遊離は生醗, 速醗の間に差が認められないが水溶性蛋白の分解率に於て両者に明瞭な差が認められる。即ち速醗は生醗の 1/2 乃至 1/3 にすぎない。又グルタミン酸の遊離割合に付いても速醗は生醗の半分以下である。醗工程に於て認められたグルタミン酸は水溶性区分中で約半分は遊離型他は結合型で残るという現象は生醗仕込経過に於ても認められた。スレオニンの遊離に関しては生醗と速醗の間には差異がない。

終りに臨み本研究に終始御指導を載しました。阪大寺本教授及び御鞭撻を賜はりました K K 本嘉納商店嘉納副社長, 木暮生産部長に深謝致します。本報は昭和 32 年 4 月日農化大会に於て発表した。

文 献

- 1) 高橋: 日農化, **28**, 399 (1954).
- 2) 福井 et. al.: 本誌, **34**, 369 (1956).
- 3) 豊沢, 米崎: 本誌, **32**, 318 (1954).
- 4) 蔭山, 杉田 et. al.: 本誌, **33**, 433 (1955).
- 5) 山村: 日農化大会(1952, 4, 4).
- 6) 梅津: 本誌, **32**, 267 (1954).
- 7) 橋田 et. al.: 本誌, **34**, 178 (1956), 寺本 et. al.: **35** 350(1957), 寺本 et al.: **35** 373(1957).
- 8) HORN, et al.: Cereal. Chem. **33**, 64 (1955).
- 9) 寺本 et. al.: 日農化大会 (1955, 4).
- 10) 田村 et. al.: 日農化, **26**, 477 (1952).
- 11) STOKES, et. al.: J. Biol. Chem. **160**, 35 (1945).

(昭和 32. 9. 17 受理)