

醸 造

346

ウイスキー蒸留廃液中の酵母増殖促進物質について

(醸試,*大阪国税局)の藤川茂昭, 柿原克史, 奥村直司, 蓮尾徹夫
各藤和夫, 夢沼 誠, 吉沢 淑*

1. 目的

ウイスキー蒸留廃液(以下「DS」という。)は酵母の増殖を促進させる。
DS中の酵母増殖促進物質の同定を目的とする。

2. 方法

- (1) DSの製造; とうもろこし, 麦芽, 酵素を使用し糖化, 醗酵を行ない, ポットスティルで蒸留し, 残液を浮遊遠沈し, 上澄を採取した。
- (2) バイオアッセイ(酵母増殖測定方法); 培地に Wickerham の合成培地にグルコース4%及びカザミノ酸1%を添加したもの(PH5.5)を使用し, 24hr前培養を行なった *S. cerevisiae* 1FO-0203をL字管に 10^4 cells/mlになる様に希釈植苗し, 30°C で18hrもしくは24hr振とう培養後のOD₆₀₀を測定した。
- (3) アミコン分画; PM10を使用し浮液(MW 10^4 以下)を得た。
- (4) イオン交換樹脂分画; アミコン浮液をDOWEX 50(H), IR45(OH)を用いて分画し, 中性区分, 塩基性区分, 酸性区分を得た。
- (5) 中性区分の精製及び定性; シリカゲルクロマト, 活性炭クロマトを使用した。HPLCは, カラムに μ Bondapak carbohydrate, 溶媒にアセトニトリル:水=2:1, 検出器に示差屈折計を用いた。TLCは, プレートにシリカゲルを使用し, *n*-BuOH:AcOH:水=2:1:1系溶媒を使用し, アンモニア性硝酸銀による発色を行なった。
- (6) 酸性区分の精製及び定性; シリカゲルクロマト及びDOWEX 2x8(ギ酸型)を使用, ペーパークロマトは *i*-PrOH:アンモニア:水=7:2:1系溶媒で下降法で展開し, モリブデンによる発色を行なった。

3. 結果

- (1) 増殖促進物質は中性区分及び酸性区分中にあった。
- (2) 中性区分の増殖促進物質; シリカゲルクロマト水溶出区分に活性がありこの区分をTLCにより展開後かき取り抽出しバイオアッセイを行なった結果イノシトールと同じR_fに活性があった。DS中のHPLCによるイノシトールの定量値を基にして行なったバイオアッセイの結果, 増殖の程度はイノシトール純品とほぼ一致した。
- (3) 酸性区分の増殖促進物質; シリカゲルクロマト水溶出区分に活性があった。この区分に塩化バリウムを加え硫酸を沈澱除去し, 上澄をDOWEX 2x8(ギ酸型)を使用しほう酸で溶出し, 3つの大きなピークを得, その第一番目に活性があった。この区分にシクロヘキシルアミンを加え塩化物とし, 濃縮後アセトンを加え白色沈澱を得た。この白色沈澱の炭素含量は15.1%, 加水分解後のイノシトール含量は37.2%, 加水分解物のイノシトールとリン酸のモル比は0.92であった。ペーパークロマトの結果イノシトール-2-リン酸と同じR_fの単一スポットが得られ, バイオアッセイの結果同じ活性を示した。