

Table 4. Copper removal from wine by amberlite IR-410 resin in the tartrate cycle*

Sample (No)	Effluent		Adsorptive Capacity		Total Leakage (p. p. m.)	Adsorptive Efficiency	
	per run (ml)	Total (ml)	per run(mg)	Total (mg)		per run (%)	Total (%)
1	100	100	3.0	3.0	4.0	88.2	88.2
2	100	200	2.2	5.2	8.0	64.7	76.2
3	100	300	1.3	6.5	12.3	38.2	63.7
4	100	400	0.9	7.4	15.5	26.4	54.4
5	100	500	0.2	7.6	18.8	5.9	44.7
6	100	600	0	7.6	21.3	0	37.2
7	100	700	0	7.6	23.1	0	31.9

* Resin : 20ml

Flow rate : 5 v. v. h.

總 括

(1) 陽イオン交換樹脂 Amberlite IR-120の遊離酸型並びにカリ型及び陰イオン交換樹脂 Amberlite IRA-410の酒石酸型によつてブドウ酒より銅を除去する場合の吸着能力を試験した。

(2) 陽イオン交換樹脂の遊離酸型に於てはブドウ酒を樹脂容積の5倍量通過させた時、銅は約90%除去され95倍量に達して樹脂は飽和され、その1cc當りの銅の吸着量は1.5mgであつた。

(3) 陽イオン交換樹脂のカリ型及び陰イオン交換樹脂の酒石酸型に於ける銅の動行は類似しており、ブドウ酒を樹脂容積の30倍量処理した時、樹脂は飽和状態に達し、その1ml當りの吸着量は0.3~0.4mgであつたが、アニオン交換樹脂の錯鹽形成作用については、まだ疑問の點が多く今後更に追究する豫定である。

(4) 精製ブドウ酒の品質及び樹脂の銅吸着率の點より、陽イオン交換樹脂のH-サイクルを以つて処理した後、その10~20%量を陰イオン交換樹脂によつて呈味を調整する方法が、より良好であることが認められた。

終りに臨み、本報告に對し御校閲を賜つた當研究所副所長、小原教授に深く感謝します。

文 献

- 1) PROCOPIO, M. and SPANO, N.: Riv. viticolte enol., **3**, 3381; 412 (1950), Chem. Abst., **45**, 3389 (1952).
 - 2) PAPPACODA, E.: Riv. viticolte enol., **6**, 231 (1953), Chem. Abst., **47**, 1165 (1954).
 - 3) JOSLYN, M. A., LUKTON, A. and CANE, A.: Food Technol., **7**, 20 (1953).
 - 4) I. G. FARB, Ind. A. G.: N. P. **133**, 985 (Feb. 22, 1940).
 - 5) I. G. FARB, Ind. A. G.: N. P. **133**, 685 (Dec. 6, 1939): B. P. **439**, 173 (July 20, 1938): F. P. **820**, 969 (Nov. 24, 1937).
 - 6) Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists 7th ed., Washington(1950).
 - 7) MALVEZIN, P.: Bull. assoc. Chim., **59**, 721(1942), Chem. Abst., **40**, 1629 (1946).
- (昭和 30, 7, 7 受理)

清酒醸造中に於ける各成分の變化 (第3報)

醜及び膠中の窒素成分の變化に就て

蔭山 公雄, 杉田 脩, 國定 則行 (山邑酒造研究所)

緒 言

著者等は先に米麴アミラーゼの檢索と共に清酒醜, 及び膠中の糖成分の追求を行つたりが清酒の味成分として窒素成分が重要な役割を果している事は今更云う迄もない。清酒中のアミノ酸組成に就ては古くから高橋²⁾, 黒

野⁷⁾, 山田⁸⁾, 多田⁹⁾等の諸氏に依つて研究が行われ, 又最近はペーパークロマトグラフ⁶⁾, 乳酸菌に依るビオアッセイ⁷⁾等の應用に依つて更に綿密な檢査が行われている。併し現今の様に製成酒の大半が3倍増醸に依存し且つ添加アミノ酸を制限されている状態では個々のアミノ酸組成の究明よりもむしろ濃味のある醪を得ることが先決問題であり, この面からの醪, 醪の窒素成分の探査が重要となつて來た。合成清酒に於て旨味増強のため大豆蛋白を利用する方法が脚光を浴び出したのもこの一つの表われであらう。清酒の方面でも濃醇なる醪を得るには濃厚な味の醪を必要とすることに氣付き近來3倍増醸用醪に生醪系醪を四段掛として添加することが推奨されて來た。濃厚な味の醪とはいわば生醪系醪の順調な育成に依つて得られ, 速醸醪のそれは十分に目的を達し得ない。この兩者の差異に就て近年アミノ酸組成の追求⁸⁾等に依つて説明を與えようとしているが未だ充分でなくたゞ端的にこれを表わすものとしてフォルモール窒素の定量があり生醪系醪が速醸系のそれより2~3倍多い事が夙に認められている⁹⁾程度である。昨今糸狀菌プロテアーゼ組成¹⁰⁻¹²⁾が次第に明確になるにつれ速醸系醪の如く短時間で且つ安全な操作で生醪系醪の如き濃味の, 換言すればフォルモール窒素の多い醪を造る方式に關し注目が向けられ始めている。醪, 醪, 製成酒, 貯藏酒等の窒素成分の研究は既に杉山¹¹⁾, 寺本¹³⁾氏等の幾多の業績があり一應の概念は充分に與えられているが著者等はこれらの報告を基礎とし, 更に進んで米麴プロテアーゼ系に依る米蛋白消化の様式を探り現在の清酒醸造の翻點から取て再び考察を行わんとして本實驗に着手した。元來窒素成分の分別定量には種々方法例えば MYRBAECK 氏の方法¹⁷⁾, A. HILLER 及び D. VAN SLYKE 氏等の方法¹⁴⁾或は綾井氏の方法¹⁵⁾等があり, 夫々に異なつた測定結果を示して果してどの方法が最も妥當であるか判断に苦しむのであるが, 著者等はプロテアーゼ測定¹²⁾に FOLIN-CIUCALTEU 法を採用しているのでトリクロール醋酸の性質を利用する A. HILLER, D. VAN SLYKE の方法を取り該法に兼め檢討を加えてタングステン酸ソーダの代りに燐タングステン酸を用いる變法を採用¹⁶⁾しこれと SÖRENSEN 氏のフォルモール滴定法とを併用する事とした。而して先に酸性側醱酵に於ける酵素劑としての米麴が充分蛋白消化にあづかり得る事を推論¹²⁾したが本報にては主として生醪系及び速醸系の兩醪の蛋白消化様式の差異に就て考察を行いたい。

實驗及び考察

I) 分析要項

(A) 試驗採取: 實地に當社酒造場に於て醸造せる山側廢止醪, 速醸醪及び清酒醪につき各經過に従い特に考案せる試料採取器 (Fig. 1) に依り可及的一試料をとり, 乳鉢にて磨碎し分析に供した。

(B) 窒素化合物の定量

(1) 全窒素 (Total-nitrogen): 試料約 1g を正確に秤量後常法に依り硫酸分解しマイクロケルダール法に依りその窒素を測定し試料 100g 中の mg 數に換算した。以降窒素の定量は全てマイクロケルダール法に依る。

(2) 溶出窒素 (Water soluble nitrogen): 試料約 40g を正確に秤量し 200cc 容メスフラスコ中に蒸留水で移し 200cc に充し良く混和して 10~15°C に 1 時間放置し後濾過する。この濾液 (濾液 A) の一定量につきその窒素量を求め試料 100g に對する mg 量に換算した。

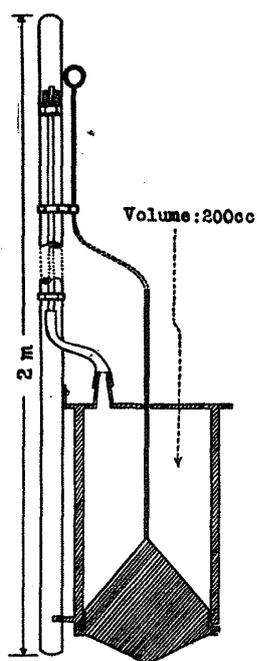
(3) フォルモール窒素 (Formol-nitrogen): 濾液 A 25cc につき SÖRENSEN 氏フォルモール滴定に依つてアミノ窒素量を求めこれを試料 100g に對する mg 量にて表わす。但し滴定は N/10NaOH を用い電氣滴定により終點は pH 8.5 にて行つた。

(4) トリクロール醋酸及び燐タングステン酸に依る窒素物分別定量 (A. HILLER 及び D. VAN SLYKE 氏變法)。

a) 第一區分窒素 (トリクロール醋酸 (以下 TCA と略記) 不溶窒素): 濾液 A 25cc をとり之に 50% TCA 2.5cc を加え蒸留水にて 50cc に充たし室温に約 10 分放置後濾過, (東洋濾紙 No. 2) 濾液 (濾液 B) の窒素量を試料 100g 中の mg 量に換算し溶出窒素から該窒素を差引いた値を以つて表わす。この區分には主として水にて溶出された蛋白態窒素が含まれる。

b) 第三區分窒素 (燐タングステン酸 (以下 PTA と略記) 可溶窒素): 濾液 B 25cc をとり, これに 10% PTA

Fig. 1. The Apparatus for sampling of mash



液 5 cc を加えて蒸留水にて 50cc に充す。良く混和後室温に約 10 分間放置後濾過 (東洋濾紙 No. 5B), 濾液を透明ならしめこの中の窒素量を測定して試料 100g 中の mg 数にて表わす。この区分の窒素は低級ペプチド及び鹽基性アミノ酸の大部分を除くモノアミノ酸の窒素を主體とし、この外非蛋白態窒素も含まれる。

c) 第二区分窒素 (TCA 可溶にして PTA 不溶窒素): 上記の測定結果より次の如く計算に依り求めた。

$$\text{Water soluble nitrogen} - (\text{1st Fraction N} + \text{3rd Fraction N}) = \text{2nd Fraction N}$$

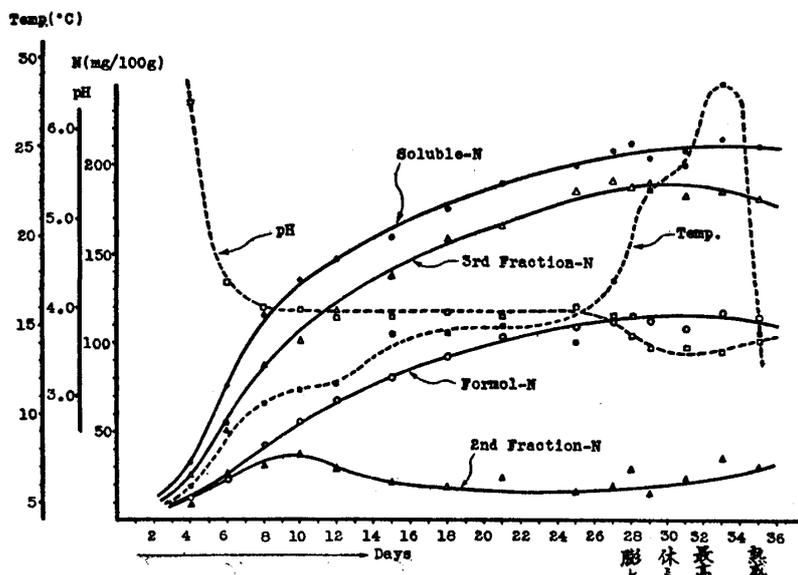
この区分に含まれる窒素はペプトン及び高級のペプチドを主體とし、この他に PTA により沈澱除去された鹽基性アミノ酸の窒素をも含んでいる。

(5) 不溶出性窒素 (Water insoluble nitrogen): 全窒素より溶出窒素を差引いた値にて示す。該窒素は溶出されざる蛋白態 (菌體をも含む) 窒素を主體とする。

Table 1. The Change of components in Yama-hai moto mash

Days	Temp. (°C)	pH	D. Sugar (as glucose) (g/100g)	Total-N (mg/100g)	Soluble-N (mg/100g)	1st Frac.-N (mg/100g)	2nd Frac.-N (mg/100g)	3rd Frac.-N (mg/100g)	Formol-N (mg/100g)	Insolu.-N (mg/100g)	Remarks
4	5.8	6.30	11.1	387.2	30.1	0	5.6	24.5	11.2	357.1	
6	9.5	4.30	14.0	383.0	76.0	0	24.8	51.2	22.1	307.0	初暖氣
8	10.8	4.05	15.4	390.0	119.0	0	30.8	88.2	42.0	271.0	
10	11.5	3.97	17.3	398.0	136.5	—	37.1	99.4	56.3	261.5	
12	11.5	3.90	18.7	384.0	146.3	—	29.4	116.9	68.3	237.7	
15	14.5	3.88	20.0	383.1	157.5	—	19.6	137.9	81.2	225.6	
18	14.5	3.85	19.2	392.8	175.0	—	17.5	157.5	92.1	217.8	
21	15.0	3.90	20.6	378.8	189.0	—	25.0	164.0	103.0	189.8	
25	14.0	4.06	21.0	383.2	199.0	—	15.0	184.0	107.8	199.2	
27	17.5	3.89	21.1	383.2	211.4	—	20.3	191.1	117.0	192.1	
28	20.2	3.68	22.0	390.0	217.0	—	31.5	185.5	116.2	204.5	膨れ
29	22.8	3.57	20.3	383.2	201.8	—	12.8	189.0	112.0	181.4	
31	24.0	3.57	16.5	383.2	206.5	—	24.5	182.0	105.0	176.7	休み
33	28.5	3.50	11.3	379.8	219.8	—	36.8	184.0	119.8	160.0	最高
35	14.5	3.63	10.6	389.0	208.9	—	29.9	179.0	115.6	180.1	熟成

Fig 2. The Change of components in Yama-hai moto



(C) 直糖: 濾液 A を用い、第 1 報¹⁾ に基いて行い、試料 100g 中の glucose としての g 数にて表わす。

(D) pH: 硝子電極 pH メーター (堀場製作所 H 型) を使用し M/20-重フタル酸カリ (Merck) を標準緩衝液とした。

I) 實驗結果及び考察

A) 醗中の窒素成分の變化

a) 山卸廢止醗: 次の仕込配合に依り 2ヶ配合併にて仕込んだ。仕込後 4 日目より試料採取を行つたがその結果を Table 1 及び Fig. 2 に示す。

仕込配合: 蒸米 1.060 石, 麴米 0.440 石, 汲水 1.280 石。

(436)

(蔭山, 杉田, 國定) 清酒醸造中に於ける各成分の變化 (第3報)

Table 2. The percentage of each N-fraction of Yama-hai moto mash to total-N

Days	Soluble-N	1st fraction-N	2nd fraction-N	3rd fraction-N	Formol-N	Insoluble-N
4	7.8	0	1.5	6.3	2.9	92.2
6	19.8	0	6.4	13.4	5.8	80.2
8	30.5	0	7.9	22.6	10.8	69.5
10	34.3	—	11.8	22.5	14.1	65.7
12	38.1	—	7.7	30.4	17.8	61.9
15	41.1	—	5.1	36.0	21.2	58.9
18	44.6	—	4.5	40.1	23.4	55.4
21	49.9	—	6.6	43.3	27.2	50.1
25	51.9	—	3.9	48.0	28.1	48.1
27	55.2	—	5.3	49.9	29.2	44.8
28	55.6	—	8.0	47.6	29.8	44.4
29	52.7	—	3.4	49.3	29.2	47.3
31	53.9	—	6.4	47.5	27.4	46.1
33	57.9	—	9.5	48.4	31.5	42.1
35	53.7	—	7.7	46.0	29.7	46.3

使用麴の酵素力^{12),16)}は α -アミラーゼ32', S-アミラーゼ8.8mg, 酸性プロテアーゼ系0.64, アルカリ性プロテアーゼ系0.02であつた。

Table 1 より全窒素に對する各窒素區分の比率を計算した結果を Table 2 に掲げた。考察に際しては生醗と呼稱する。

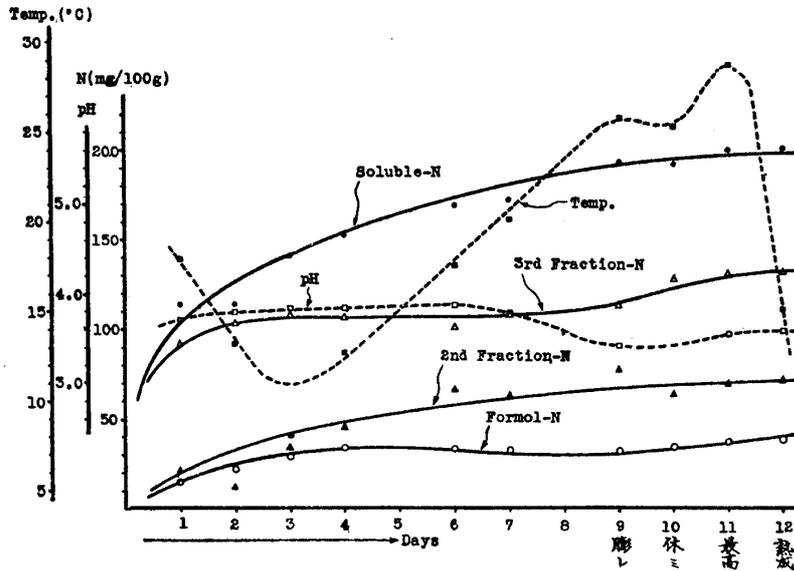
b) 速醸醗: 山麴醗と同一の仕込配合にて汲水1斗當り120ccの75%乳酸を添加した。使用麴の酵素力^{12),16)}は α -アミラーゼ35', S-アミラーゼ8.5mg, 酸性プロテアーゼ系0.60, アルカリ性プロテアーゼ系0.02であつた。仕込後一番搾(荒搾)から試料採取を開始し3日目に協會6號酵母150cc (Bllg. 10°の麴汁に30°C 5日間培養)を添加した。その分析結果を Table 3, Fig. 3 に示し, 更に Table 3 より全窒素に對する各窒素區分の比率を算出して Table 4 に掲げた。

c) a)b)の實驗結果に對する考察: これらの結果から見ると山麴, 速醸の兩者に相當明らかな差異が認められる。從來迄速醸醗が生醗に比して味が薄いのはこれらの窒素成分溶出力に差があるためと思われていた⁹⁾が溶出窒素に就ては速醸醗では仕込後2日目にして既にその最大溶出量の%が溶出され以後は日數の経過と共に徐々に

Table 3. The Change of components in Sokujō-moto mash

Days	Temp. (°C)	pH	D. Sugar (as glucose) (g/100g)	Total-N (mg/100g)	Soluble-N (mg/100g)	1st-Frac.-N (mg/100g)	2nd-Frac.-N (mg/100g)	3rd-Frac.-N (mg/100g)	Formol-N (mg/100g)	Insolu.-N (mg/100g)	Remarks
1	18.0	3.68	11.5	382.2	115.5	0	23.1	92.4	15.9	266.7	荒 搾
2	13.0	3.79	17.5	378.0	113.4	0	9.8	103.6	22.4	264.6	
3	9.5	3.85	18.0	376.2	140.8	0	32.9	107.9	28.6	235.4	
4	12.8	3.87	18.6	378.2	153.0		46.6	106.4	33.6	225.2	
6	17.5	3.89	19.6	368.9	168.2	—	67.7	100.5	32.2	200.7	
7	20.0	3.75	22.0	369.8	170.8	—	61.8	109.0	32.5	199.0	膨 れ
9	23.8	3.40	14.5	376.8	193.5	—	80.4	114.1	32.2	183.3	
10	25.2	3.42	12.6	380.8	190.6	—	61.7	128.9	34.3	193.4	休 み
11	28.8	3.56	9.7	390.1	198.2	—	66.7	131.5	36.2	191.9	最 高
12	15.0	3.68	8.9	378.8	200.9	—	70.7	130.2	37.0	177.9	熟 成

Fig.3. The Change of components in Sokujiō-moto



増加するのに対し生醗では最初から徐々に溶出が行われ、大體仕込10日目で%に達しその溶出速度に於ては非常な差異がある。これは還元力(糖)の増加を比較した場合と同様に仕込温度に依る影響が第一原因と考えられるが蛋白消化様式上これが特に重要な意義を持つと思われる。而して生醗に於て膨れ前に細菌に依つて消費される窒素があつたとしても極く少量で無視出来るものとして膨れ前の溶出窒素量を比較してみると量的には兩者共200mg内外を示し特に速醸が劣ると云う様な事實は見られず米蛋白の溶出力は兩者共同一

Table 4. The percentage of each N-fraction of Sokujiō-moto mash to total nitrogen

Days	Soluble-N	1st fraction-N	2nd fraction-N	3rd fraction-N	Formol-N	Insoluble-N
1	30.2	0	6.0	24.2	4.2	69.8
2	30.0	0	2.6	27.4	5.9	70.0
3	37.4	0	8.7	28.7	7.6	62.6
4	40.5	—	12.4	28.1	8.9	59.5
6	45.6	—	17.1	28.5	8.7	54.4
7	46.2	—	16.7	29.5	8.8	53.8
9	51.4	—	21.1	30.3	8.5	48.6
10	50.1	—	16.3	33.8	9.0	49.9
11	50.8	—	17.1	33.7	9.3	49.2
12	55.2	—	20.8	34.4	9.8	44.8

であると見做す事が出来よう。これは米麴がアルカリ性プロテアーゼ系を極く僅かしか持たぬため¹²⁾米の窒素成分溶出は殆んど酸性プロテアーゼ系に依存する所となり且つ生醗と雖も初暖氣後には急激にpHが低下し速醸醗のそれと殆んど差がなくなり以後略々同様のpH経過を辿るのであるから酸性プロテアーゼ系の働く條件は略々同一となり、只経過温度の差が第一の因子となつて斯かる結果を生ぜしむるのである。(但し生醗に於てこの様に急激にpHが下降しない場合もあるが、これは打瀬温度が低く十分に細菌が繁殖しないためと一應解釋する)。一方分別沈澱に依る結果を比較すれば第一區分として表わされる溶出蛋白態窒素は速醸醗、生醗の何れに於ても全期間を通じて全く表われなかつた。即ち醗中に溶出される窒素化合物中にはTCAに依る沈澱物は存在しないか或は存在するとしても極く微量である事を示す。この事から米の蛋白は或程度消化されて溶出されるか又は溶出後直ちに分解を受けるものと推論される。第二區分窒素は生醗では最初の中は徐々に増加し8~10日目に最高となり以後漸減するが速醸醗に於ては膨れ迄は増加し續けている。この事から速醸醗にては蛋白を或程度迄は消化するが、以後これを低分子化合物に分解する力が弱いものと考えられ生醗のそれに比し高分子の分解物がこの區分に多く存在する事を意味し、實驗の際にPTAに依る沈澱生成の状態が生醗のそれは極めて微細であつて濾別に手間を要するに反し速醸醗に於ては東洋濾紙No. 2を用いても容易に濾別出来る事と共に兩者の成分の異なる事を示すものと云えよう。この事は第三區分の窒素に就ても云う事が出来る。即ち生醗では溶出窒素に平行してその量を増加するが速醸醗にては打瀬期間でその殆んど大半が生成され以後の溶出窒素の増加分は第二區分に移行し

(438)

(蔭山, 杉田, 國定) 清酒醸造中に於ける各成分の變化 (第3報)

て第三區分へは移行されない。従つて膨れ時期には速醸醗は生醗の%程度しか第三區分窒素を保持していない。一方フォルモール窒素を見れば明らかに速醸醗は生醗に比して全段階に於て少く約 $\frac{1}{4}$ ~ $\frac{1}{2}$ の値しか示さない。而して兩醗間に於てフォルモール窒素に於ける如き大きな差が第三區分窒素に表われない事から速醸醗では該區分素の中には生醗のそれに比して比較的重合度の高いものが多く含まれている事が充分豫測出来る。(杉山氏⁹⁾も MYRBAECK 法に依る分別測定に於てこの事を推論されている)。今便宜上第三區分窒素をフォルモール窒素で除した値を以つて兩者を比較すれば Table 5 の様である。(尙 Table 5 には溶出窒素をフォルモール窒素にて除したる値をも参考のため併記した)。この値を假に清酒フォルモール窒素係數(Formol Nitrogen Coefficient of Sake)と名付ける。勿論 PTA に依る沈澱には鹽基性アミノ酸が含まれてアミノ態窒素の全てが濾別されるとは云えず、又非蛋白態窒素の補正も行つていないのでこれとフォルモール窒素との比を以て見掛けの重合度とする事には疑義はあるが一應同一基質(この場合米蛋白)を使用する場合の比較に際しての目安にする事は差支えないと考え更に又田村氏⁷⁾等の清酒中の鹽基性アミノ酸は遊離型が主であるとの結果もあるので敢えてこの係數をとつた譯である。これに依れば明らかに生醗のそれは速醸醗に比して低く半分以下になつて居り、速醸醗初期の様な4~5の値を示す事がない。而して該速醸醗は檢鏡及び培養試験に依り酵母以外の菌を殆んど認めなかつたものであり、

Table 5. The Change of formol-N coefficient of sake during the making of both these moto-mashes

Yamahai-moto-mash			Sakujō-moto-mash		
Days	Formol-N coeff.	Soluble-N/Formol-N	Days	Formol-N coeff.	Soluble-N/Formol-N
4	2.20	2.69	1	5.80	7.26
6	2.30	3.44	2	4.65	5.06
8	2.00	2.83	3	3.75	4.92
10	1.76	2.42	4	3.20	4.55
12	1.71	2.14	6	3.15	5.22
15	1.70	1.94	7	3.35	5.26
18	1.70	1.90	9	3.55	6.01
21	1.62	1.83	10	3.77	5.56
25	1.71	1.85	11	3.60	5.48
27	1.70	1.81	12	3.52	5.43
28	1.58	1.87	Average	3.83	5.48
29	1.69	1.80			
31	1.73	1.97			
33	1.54	1.83			
35	1.55	1.81			
Average	1.76	2.14			

一應この窒素消化様式は米麴プロテアーゼのみに依つたものと見做し得るわけである、そして亦溶出窒素量が兩醗共同一の所からこの様な速醸醗型様式が米麴プロテアーゼ系に依る醗製造の蛋白消化の極限を表わすものではないかと考えられる。又第三區分の窒素増加の様式が變つて来るあたりの兩者の窒素成分は清酒フォルモール係數の差以外は殆んど同一であり、且この時には生醗(8~10日目)のpHは既に4.0以下となつて速醸醗と同じである。従つてこの時期以後に兩者の間に判然とした差が現れて来る事は從來迄定説化されている生醗系醗は初期に中性から微酸性の時期を通る際に米麴プロテアーゼ系が速醸系のそれより幅の廣い作用をするためフォルモール窒素が増加すると云う説明では納得出来なくなつて来る譯である。従つて更にこの兩者の差の起る原因の究明を米麴の酵素系を離れた別の觀點から見直す必要に迫られて来たがこの點に就ては今後研究を進めて行く豫定である。一方兩系醗に於ける溶出窒素の全窒素に對する比を見るに Table 2 及び Table 4 より約6割が溶出されて液中に存在している。又経過中のpHは兩醗とも膨れ以後は急激に低下し分け時期邊りから上昇する傾向

を見せるが何れも膨れのpHよりは高くはならない。

醪仕込配合 (単位:石)

	蒸米	麴米	汲水	30%酒精	備考
酒母	0.795	0.330	0.960		容量1石5斗 留後19日
初添	1.650	0.660	1.850		
仲添	3.300	1.000	4.300		
留添	5.955	1.310	8.640		
第二次留				9.000	
計	11.700	3.300	15.750	9.000	

B) 醪中の窒素成分變化

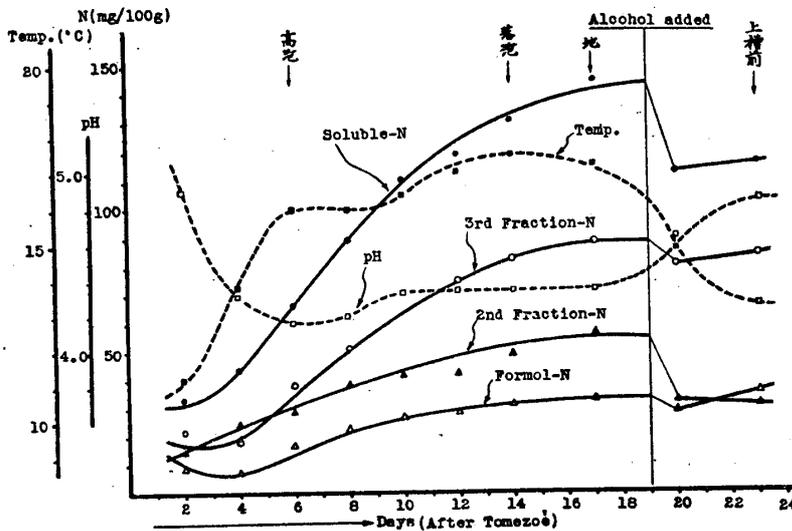
次の仕込配合 (10石1ヶ半仕込) で醪を仕込み試料を採取した。使用甑は山卸甑、枝桶は2本用いたが試料は全て親桶より採取した。5日目に枝打, 9日目の口打, 19日目に30%酒精9石を添加した。分析結果は Table 6, Fig. 4 に示し, 全窒素に対する窒素各区分の割合を Table 7 に掲げる。

この結果から考察すれば特に目立つた變化

Table 6. The Change of components in moromi-mash

Days	Temp. (°C)	pH	D. Sugar (as glucose)	Alcohol (vol%) (filtrate)	Acid (as succinic) (filtrate)	Total-N (mg/100g)	Soluble-N (mg/100g)	1st frac.-N (mg/100g)	2nd frac.-N (mg/100g)	3rd frac.-N (mg/100g)	Formol-N (mg/100g)	Insolu.-N (mg/100g)	Formol-N coefficient	Formol-N Soluble-N	Formol-N Formol-N	Remarks
踊り	-	4.17	-	-	-	364.0	64.4	0	18.9	45.5	39.2	299.6	1.16	1.64		
留前	-	4.15	6.9	-	-	367.9	28.0	0	3.5	24.5	11.2	339.9	2.20	2.50		
留後2	11.2	4.45	4.9	-	-	355.8	34.4	0	13.9	20.5	9.2	321.4	2.20	3.74		
4	13.8	4.16	4.8	6.9	0.053	364.0	43.4	-	25.4	18.0	7.2	320.6	2.50	6.03		
6	16.0	4.08	5.3	9.4	0.088	380.5	66.5	-	28.0	38.5	17.9	314.0	2.15	3.72		高泡
8	15.9	4.10	5.6	10.4	0.094	365.2	88.9	-	37.7	51.2	22.4	276.3	2.30	3.97		
10	16.5	4.17	5.5	12.4	0.100	360.2	112.0	-	42.0	70.0	26.9	248.2	2.60	4.16		
12	17.0	4.17	5.4	12.8	0.118	369.9	117.4	-	41.1	76.3	28.0	242.5	2.60	4.19		
14	17.5	4.17	5.0	14.8	0.118	366.8	129.5	-	47.6	81.9	30.2	237.3	2.70	4.29		落泡
17	17.2	4.17	4.2	16.2	0.153	364.0	144.9	-	56.7	88.2	32.5	219.1	2.60	4.46		地
20	14.8	4.30	2.8	20.8	0.126	314.6	112.9	-	32.4	80.5	29.7	201.7	2.70	3.80		酒精添加
23	13.2	4.42	2.3	20.8	0.123	316.9	114.8	-	31.0	83.8	35.0	202.1	2.35	3.28		

Fig. 4. The Change of components in moromi



は認められないが第三区分窒素は2~4日目に最低値をとる。試験醪は前急的な経過をとらせてあるので各醱酵形式に依つてこの谷の時期が幾分ずれる事は推測されるが一應高泡前にこの谷が表われるものと解釋して差支えないものと思う。溶出窒素, 第二区分窒素は日と共に増加するが特に高泡後(最高温度中)にその増加が著しい, 併し第三区分窒素の消長から考えて特別に意義あるものとは考えられない。本実験にては酵母の窒素代謝に就て何等の実験も行っていないので甑の膨れ前の如く充分考察を行う資料に乏しい。併し清酒

(440)

(蔭山, 杉田, 國定) 清酒醸造中に於ける各成分の變化 (第3報)

Table 7. The percentage of each N-fraction of moromi to total nitrogen

Days	Soluble-N	1st fraction-N	2nd fraction-N	3rd fraction-N	Insoluble-N	Formol-N
踊り	17.7	0	5.2	12.5	82.3	10.8
留前	7.6	0	0.9	6.7	92.4	3.0
留後2	9.7	0	3.9	5.8	90.3	2.6
4	11.9	—	7.0	4.9	88.1	2.0
6	17.5	—	7.4	10.1	82.5	4.7
8	24.3	—	10.3	14.0	75.7	6.1
10	31.1	—	11.7	19.4	68.9	7.5
12	32.6	—	11.4	21.2	67.4	7.8
14	35.3	—	13.0	22.3	64.7	8.2
17	39.8	—	15.6	24.2	60.2	8.9
20	35.9	—	10.3	25.6	64.1	9.4
23	36.2	—	9.8	26.4	63.8	11.0

フォルモール窒素係数の消長を見ると明らかな特徴ある動きを見せている。即ち醗酵が進むにつれて第三区分窒素の最小の時に最小値をとり以後順次その値が増大する。謂わば生醗型の第三区分窒素の生成様式を前期に行い後期には速醗型のそれと非常に相似して来る。この事は興味深い事でありその原因は更に追究を要するものと考えられる。但し醗の場合と同様清酒フォルモール窒素係数が小さい醗程製成酒の明味に旨味が多い事は何等かの意味を持つものと考えられる。Table 7 から見ると醗中では使用窒素の約4割が溶出され當然清酒に移つて来ているが酵母その他に依る再合成も醗の場合より活潑に行われているものと推測されるので利用率云々は断言出来ない。経過中のpHは高泡前に最低となり以後漸増しアル添に依り又上昇するがこの事については今回は考察を行わない。

又酒精添加後に於ける溶出窒素に対する各区分窒素及びフォルモール窒素の比が添加直前の比と幾分變つた値を示す。即ち第三区分窒素及びフォルモール窒素は添加前よりも添加後に於てその比率が大となり、これに反して第二区分窒素は小となる。この點に關する考察も次の機会に行いたい。

結 言

前報りに於る清酒醗及び醗中の糖成分の検査に引續き A. HILLER 及び D. VAN SLYKE 氏の窒素物分別定量法變法及び Formol 滴定法を使用して窒素成分の變化を追求し、その結果に基き生醗、速醗の窒素消化様式の差異等に就いて考察を行い大要次の結果を得た。

- 1) 生醗、速醗の間には米蛋白溶出量の差異は殆んどない。
- 2) フォルモール窒素は醗造り全段階を通じ速醗は生醗 $\frac{1}{2}$ ~ $\frac{1}{3}$ の値を示す。
- 3) 第三区分窒素/フォルモール窒素を清酒フォルモール窒素係数と名付けこれに依り考察すれば生醗は常に速醗に比して著しくその値が低く、従つて低分子の窒素化合物を多く含むものと思われる。この事は溶出窒素/フォルモール窒素の値からも推察出来る。
- 4) 兩種の醗のpH経過、使用麴のプロテアーゼ力などから勘案して生醗系の窒素消化形式には米麴プロテアーゼ系以外の蛋白分解酵素が關與しているものと推測されるが如何なる性質を持つものかは未だ判明しない。
- 5) 醗では高泡前に第三区分窒素が最小となる。
- 6) 醗の清酒フォルモール窒素係数から見ると前期には生醗型、後期には速醗型の窒素消化形式をとる傾向を示す。
- 7) 醗にては原料中の窒素物の約6割、醗にては約4割が溶出可能成分となる。

終りに臨み本実験に對して御懇切なる御指導御助言を賜つた阪大照井教授、寺本教授、東大北原教授及び灘酒研究会第1回シンポジウムに際し本実験に對し種々御討論を頂いた同研究会々員各位に對し深甚なる謝意を表

する。又本稿の發表を許可された山邑酒造株式会社社長山邑太左衛門氏及び校閲を頂いた下田所長並びに實驗に協力された中森勳氏始め關係御一同に感謝する。

文 獻

- 1) 蔭山, 杉田: 本誌, 29, 297 (1951), 31, 189, 243 (1953). 2) 高橋, 四戸: 釀試報, 18, 55 (1908).
 3) 黒野: 釀試報, 106, 20 (1930). 4) 山田: 釀試報, 106, 141 (1930). 5) 多田, 塚原: 農化, 17, 247 (1941). 6) 大高: 農化, 24, 366 (1951). 7) 田村, 角田 et al: 農化, 26, 480 (1953).
 8) 梅津: 本誌, 32, 267 (1954). 9) 杉山: 釀試報, 115, 99, 129 (1939), 酒母育成論, 192~221 (1943).
 10) 吉田: 農化, 23, 65 (1954), 29, 175 (1955). 11) 三浦: 農化大會昭和30年3月30日口演 (於東大).
 12) 蔭山 et al: 本誌, 33, 28, 53, 109 (1955). 13) 寺本: 釀學, 11, 485 (1933), 259 (1934). 14) A. HILLER & D. VAN SLYKE: J. Biol. Chem., 53, 254 (1922). 15) 高橋, 白濱: 農化, 4, 166, 288, 679, 683 (1928).
 16) 島田 et al: 本誌, 32, 68 (1954). 17) K. MYRBÄCK u. S. MYRBÄCK: Woch. Brau. 48, 43 (1931), 49, 20 (1932). 18) 綾井: 工化, 34, 173 (1931). 19) 國定, 蔭山: 本誌, 投稿中 (1955). (昭和30, 6, 30 受理)

酵母菌の變異に關する研究 (第5報) 單相株並びに雜種の分離に就いて*

小田 雅夫・若林 謙太郎 (大阪大學工學部釀酵工學教授)

緒 言

酵母菌の變異の問題は遺傳學, 酵素化學, 生理學等の知識の協力を必要とする。特に遺傳と變異とは互に對立する生命現象である故, 變異と云う最も本質的な生命現象の研究には遺傳學的な考慮が常に拂われるべきである。酵母菌の遺傳は微生物の中でも最もよく研究されているものゝ一つである。

WINGE 等^{1)~3)} は Micromanipulator を用いて *Saccharomyces* の Ascospore の接合を驗べ, Haplophase と Diplophase の Life cycle を證明した。又 *S. ellipsoideus* の4孢子分離を行い其の Segregation の結果から, 所謂單細胞分離法は必ずしも遺傳學的に純系を得る手段とはなり得ない事を明かにした。そして *S. ellipsoideus* と *S. validus* との Ascospore を取り出して夫々相接近せしめて雜種を形成し, 所謂雜種強勢の現象を認めた。其の後 LINDEGREN 等^{4)~5)} は *S. cerevisiae* の Ascospore を分離し, それらに由來する Haploid culture を混合接種する時互に對立の性關係にあれば Diploid zygote を生ずる事から, a と α と云う2つの Mating type の存在する事を發見し Heterothallic であるとした。WICKERHAM and BULTON⁶⁾ は *Hansenula* は *Saccharomyces* と異り其の Ascus が非常に脆弱である故 Micromanipulator を用いて Ascospore を取り出す事が出來ず, Ascospore は Vegetative cell よりも耐熱性である事を利用して熱處理し平板培養して Haploid colony を得る事に成功している。

本報に於ては此の WICKERHAM の方法を應用して種々の清酒酵母から容易に Haploid colony を得, 次に數種の雜種の形成を試み, 其の二, 三の性質に就いて驗べた結果を述べる。

實 驗 方 法

(1) 供試菌株: 當研究室保存の *Saccharomyces* の中, 主として著者等⁷⁾ によつて清酒膠から分離した清酒酵母を用いた。

(2) 單相株の分離: 最初に Vegetative cell の耐熱性を驗べる必要がある。其の死滅溫度は菌株により多少相異なるが大體55~60°C, 10分間の範圍にあつた。Fig. 1に示す如く供試菌株の新鮮培養を Modified GORODKOWA's agar (以下 G agar と略稱する) に接種し, 30°C, 5~7日間培養して Sporulation せしめ殺菌水5mlに懸濁する。そして死滅溫度に10分間保つて Vegetative cell のみを殺し, 適當に稀釋して平板培養を30°C, 3日間行う。出現集落の中比較的大型の凸レンズ形集落は Diploid cell であるかも知れないので之は避け, 比較的小型の

* 本報文の概要は昭和29年10月開催の大阪釀造學會講演會に於いて「酵母菌の交配に就いて」と題して講演したが, 都合により改題して「酵母菌の變異に關する研究」の第5報として發表する。