

(94)

(足立) 生醗中の麴の糊精分解力について

大差なく、却つて減少の傾向をとつた。揮発酸は僅かに増加し、不揮発酸は却つて減少した。ペルオキシダーゼは貯蔵中漸増し、初日0.50に対して35日後は3.42であつた。アミラーゼはわさび及び酒粕の加温処理にも拘らず活性を示したが、貯蔵期間中殆んど変化しなかつた。インベルターゼは9日迄漸増したが、35日後に於いて不活性化した。リパーゼ及びプロテアーゼは全く不活性であつた。食塩量は約2%であつた。尚試製品の水分は初日に於いて52.5%であつた。

要 約

- (1) わさび根茎を加温処理し、すり卸し、加水抽出すれば、抽出液は無処理わさびに比し貯蔵効果があつた。
- (2) わさびを加温処理する場合の処理液は5%食塩液が良好で、之を原料としたわさび漬は市販品の略々2倍の貯蔵効果があつた。
- (3) わさびを加温処理する場合0.05%硫酸銅を含有する5%食塩液を処理液に使用し、酒粕を70°Cに30分処理した後使用し、従来の添加剤以外にグリセリン、炭酸石灰を添加することにより、夏期に於いても略々1カ月の貯蔵可能のわさび漬を調製した。

終りに臨み、御指導並びに御校閲を賜つた大阪大学寺本教授、照井教授及び本学小沢教授、試料を御提供下さつた静岡市田丸屋商店に深謝する。

文 献

- 1) 清水: 特公 No. 2724 (昭3, 8), 伊藤: 特公 No. 4550 (昭25, 12).
- 2) 小島, 松下: 本誌投稿中.
(昭和31, 12, 20 受理)

生醗中の麴の糊精分解力について

足 立 有 (株式会社安福武之助商店)

緒 言

清酒生醗中の麴がもつ各種アミラーゼの総合結果が、その育成中に表す作用力については、糊精化力、及び糖化力の消長として北原、村田¹⁾の発表があり、性質、並びに組成についても岡田²⁾、北原、村田^{3), 4)}、松山⁵⁾、猿野⁶⁾、島田、杉田⁷⁾氏等の多くの報文を得ているが、著者は前報^{8), 9)}に於いて、A. UNDERKOFER & D.K. ROY¹⁰⁾及び T. MUNSEY BACK, W.H. STARK & ROBERT E. SCALE¹¹⁾が Limit dextrinase について発表していることに鑑み、清酒麴の糊精化力のみならず、糊精分解力について検討し両者の作用及び其の測定法を述べたので、生醗育成に当つて麴の糊精分解力を考慮する必要があるか否かを知るため、醗中の此等の酵素力と共に炭水化物、特に澱粉、デキストリンを主として定量した。勿論、醗中の炭水化物の変化については蔭山、杉田¹²⁾、豊沢、米崎¹³⁾諸氏等の発表もあるが、上記の見地から分析を試み、かつ感能による状態と一致する要素も見出したので醸造期中の実用から二国氏等の方法¹⁴⁾を参考として、なるべく簡略な方法を探つた。尚本実験に用いた酒母は掛米2割8分、麴米3割の生醗で摺入後、豊沢米崎氏の方法¹³⁾に倣つて均一に採つた試料を用いた。

実験方法及び結果

生醗酒母より均一¹³⁾に取つた試料について仕込から使用迄次の方法に従つて分析した。

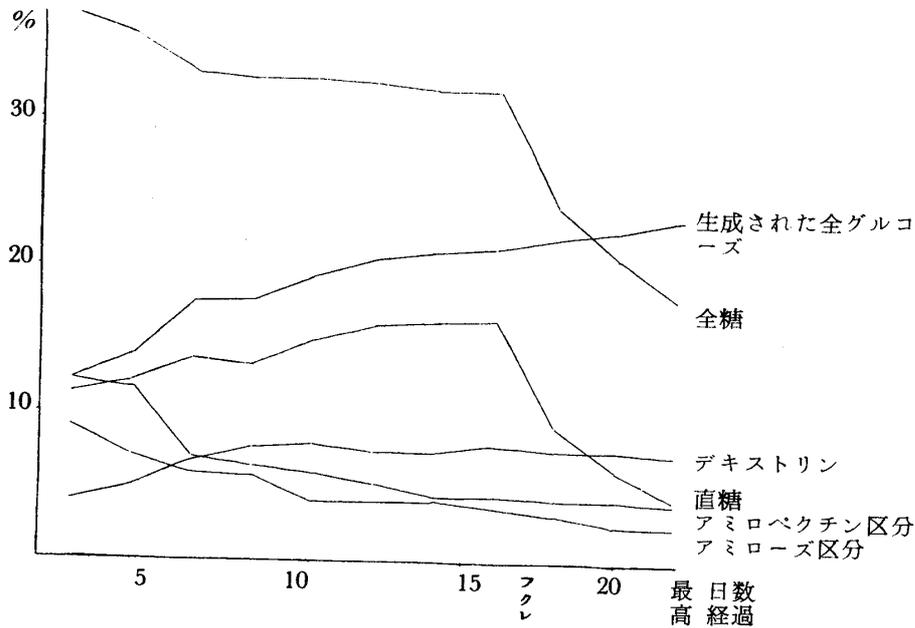
〔I〕 アルコール、熱湯による分別

澱粉試料のアミロース、アミロペクチンの分別法でアルコール沈澱と熱湯抽出を用いる方法は比較的操作はしやすいが試料中には酵母、麴の菌体其の他が相当含まれていることを考慮すると充分でないと思われるので次の如く酒母育成中の監視に用いた場合のため簡略にし、夫等の分別したものをアミロース区分、アミロペクチン区分、及び直糖として表現することにした。

1) 試料20gを熱湯100ccを加え80°C¹⁵⁾で1時間浸出し、300r.p.m.で10分遠心分離を2回、その上澄液にエチルアルコールを40%になる様に加えて遠心分離し沈澱をアミロース区分(Ⅰ)として乾燥重量を測つた (Fig.1)。

2) 上の上澄液のアルコールを除き糖分をヨード法¹⁶⁾で測り、次で2%になる様に塩酸を加えて加水分解3時間の後、中和して、その還元力からデキストリン区分(Ⅱ)を得て、それぞれグルコースに換算して試料に対する

Fig.1. 酒母のアルコール, 熱湯, 遠心分離による分別結果



百分率で現した (Fig.1).

3) 試料そのままを酸分解して全糖を求め上の (I)(II)及び直糖を差引いてアミロペクチン区分 (III)とした (Fig.1).

〔II〕 セロファン透析による分別

セロファン透析を利用してアミロースを重合度8以下のものと9以上のものを分ける方法は二国氏¹⁷⁾も述べて居られるが、市貯セロファンについて品質を確かめるため1.5%アミロース¹⁸⁾液200ccに唾液を薄めて濾過した

もの10ccを加えヨード呈色が紫から黄色に至る間に反応液を35ccづゝ5回採取し0.2ccの $1\text{NH}_2\text{SO}_4$ で pH2.0以下となして反応を止め、熱湯中で約20分加熱してアラミラーゼを破壊し、更に5°Cで24時間多量の水にセロファン透析した後、その中に残ったデキストリン重合度を塩酸水分解前後の還元力をデニトロサルチル酸法で測つて算出した。結果は Table 1 の如く反応液の還元力は増加しているか平均重合度は8以下とならないことを認めた

第1表 セロファン透析袋内糊精の重合度の変化

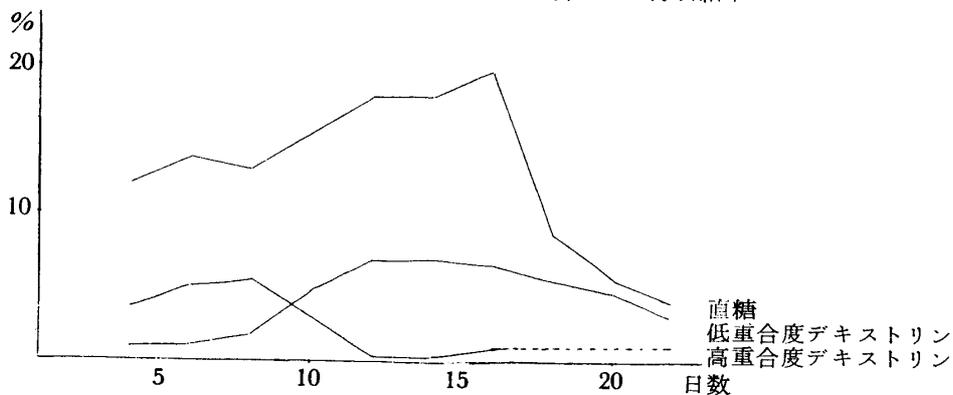
反応時間(分)	3	5	7	9	11	13
反応液還元力(mg/cc)	0.72	0.81	1.04	1.13	1.3	1.51
袋内糊精重合度	12.5	10.6	9.0	8.3	8.2	8.2

のでこれを利用して醗中のデキストリンの分別を試み次の如くした。

試料25gを NaOH で pH 8.5¹⁹⁾となしてアミラーゼ作用を止め Buffer を加えて100ccとなしセロファン袋に入れ40時間5°Cで150ccの水の上部に釣

して透析、直糖、糊精をヨード法¹⁶⁾で求めた (Fig. 2).

Fig 2. 酒母のセロファン透析による分析結果



〔III〕 糊精化力、糊精分解力及び糖化力の変化酒母中のアミラーゼ力は北原氏等の方法¹⁹⁾に従つて10gの酒母に1% NaCl を含む様に pH 6.0の buffer を加え2時間浸漬した濾液を酵素液とし WOHLGEMUTH 法^{20, 8)}で試料1g当りの糊精化力、糊精分解力を示した (Fig. 2).

* 使用したアミロースの一部は山邑酒造杉田氏の御好意により入手したものです。

〔V〕 固型分, 其の他

固型分は試料 20g を 80°C で乾燥したものを原試料重量に対する百分率で示した (Fig. 5). アルコール, 酸, 比重, 品温は一般清酒醗分析法¹⁰⁾に習った (Fig. 5).

考 察

本実験は操作上アルコール沈澱による結果とセロファン透析の結果は同一分界の併行した醗ではあるが同一試料ではなく, 其の他の結果とも相互に定量的関係をもたし難かつたが次の如き結果を得た.

- 1) アミロース区分, アミロペクチン区分全糖は減少し, デキストリン区分は一時増加する (Fig. 1).
- 2) セロファン透過性の糊精, 直糖は増加し又減少する (Fig. 2).
- 3) 酵素力は次第に減少するが消滅はしない (Fig. 3).
- 4) ヨード呈色せしめた酒母液の吸光度の頂点か日数を経ると共に低くなり, かつ短波長側へ移動する様である (Fig. 4).

この中で 2) のセロファン透過性の糊精が官能によるサバケ等と関連する様に思われるが確実でない. しかし Fig. 1 中の全糖の減少は一応グルコース迄分解してから消費されたものとし, 又直糖の値も蔭山氏等の報告¹²⁾で醗中のマルトース量は多くないことからそのまゝグルコース量に近いものを示すとすると両者を加算すれば醗中で澱粉よりグルコースへ分解した総量を示すものと思われ Fig. 1 中の生成された全グルコース曲線となり醗末期にもグルコースの生成が行われていることを知るが, なお糊精量が増加もせずむしろ後述する様に減少する傾向にさえるので, 醗中で働く麴の糊精分解力は充分あることを示すものと思える. 糊精の変化は蔭山, 杉田氏²¹⁾の結果と比べてフクレ以後に余り減少していないが実験中遠心分離をした時にアミロース区分, その他として沈澱しにくい細い部分が混入したためと思われ, フクレ以後, 品温の上昇から物理的によく溶解した場合, 特にその影響が大きく表れたものと思われる. 従つてデキストリン区分としては蔭山, 杉田氏の結果に従うものとして, Fig. 2 中の低重合度デキストリンの結果と仮に比較して, 其の差を取ると Fig. 2 中の高重合度デキストリン曲線 (Fig. 1 と Fig. 2 が同じ試料について得た結果と仮定して Fig. 1 中のデキストリンから Fig. 2 中の低重合度デキストリンを差引いたものを高重合度デキストリンとして実線で示した. 又フクレ以後は蔭山, 杉田氏²¹⁾の報告の如くデキストリンは減少するものとして画きこれを仮に点線で示した) となり, 又 Fig. 4 の酒母液をヨード染色したのものにも赤色部分の少いことと共に, 酒母中の炭水化物は比較的分解の進まないものか, 又は蔭山, 杉田氏²²⁾にある様に平均重合度 2~5 の如くよく分解された低重合度のデキストリン及び糖分が多く, 育生末期には糖分が消費されるので低重合度の糊精部分と分解を受けなかつた部分とが残り, この間高重合度のものは速に分解されている様に考えられる.

又 Fig. 3 では糊精分解力が糊精化力より早く減少する様子もなく併行しているし, これ等のことより清酒麴が酒母中で作用する場合糊精化力, 糖化力に比べて糊精分解力は充分にあるものと思われる.

麴アミラーゼの性質及び作用力については古くは森川²³⁾, 徳岡氏²⁴⁾等の発表もあるが, 北原氏等の麴アミラーゼ抽出最適条件¹⁾の pH 6.0 NaCl 1% に近いのは生醗育生初期であり醗末期には pH は酸性となり, かつ一般に力も弱くなると思われる²⁴⁾ので生醗育成には米澱粉が少しでも分解し易い状態にある初期に糊精化力を働かせる様に操作すればよく, その結果出来た糊精 (物理的に米を溶かした糊精を意味しない) はその後の経過で品温が上昇し糖化力も作用しやすくなり充分分解され得るものと思われるので清酒麴のアミラーゼ力としては糊精化力のみを考え糊精分解力迄考慮しなくても充分と考えられる.

要 約

生醗育成中の炭水化物及びアミラーゼ力の定量を行い, アミロース区分 (I), デキストリン区分 (II), アミロペクチン区分 (III), 全糖直糖を求め, 又セロファン透過性デキストリン, 直糖等を定量したところ (I) (III) の区分は減少し (II) の区分は一時増加して後に消費されるが生成された全グルコース量は次第に増加を続けている.

即ち澱粉はデキストリンへ, これは更に低重合度デキストリンとなつて, グルコースとなる変換は停止していないでかつ, 高重合度デキストリンは増加しないから, 酒母育成末期には未分解の (I) (III) の区分と, 低重合度の糊精が多く残ることが見られ, 生醗育成中に作用する麴アミラーゼの糊精分解力は糊精化力に比べて充分あるものと考えられた.

終りに臨み本発表の御校閲を頂いた照井教授, 又御助言を頂いた寺本教授に深謝致します. 又本発表を許され

Fig 3. 酒母中のアマラーゼ力の変化

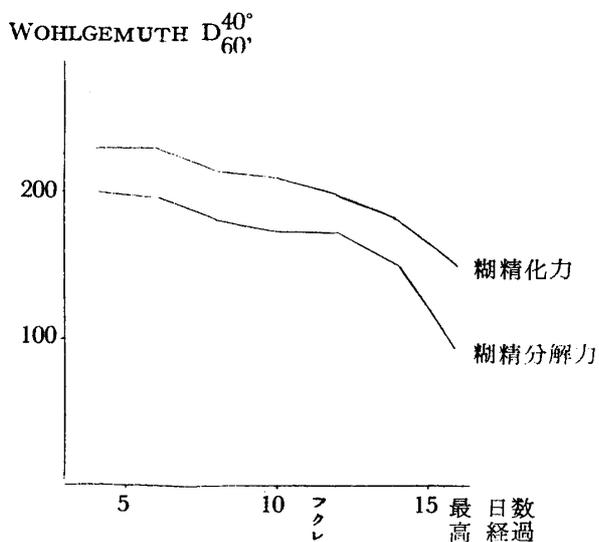
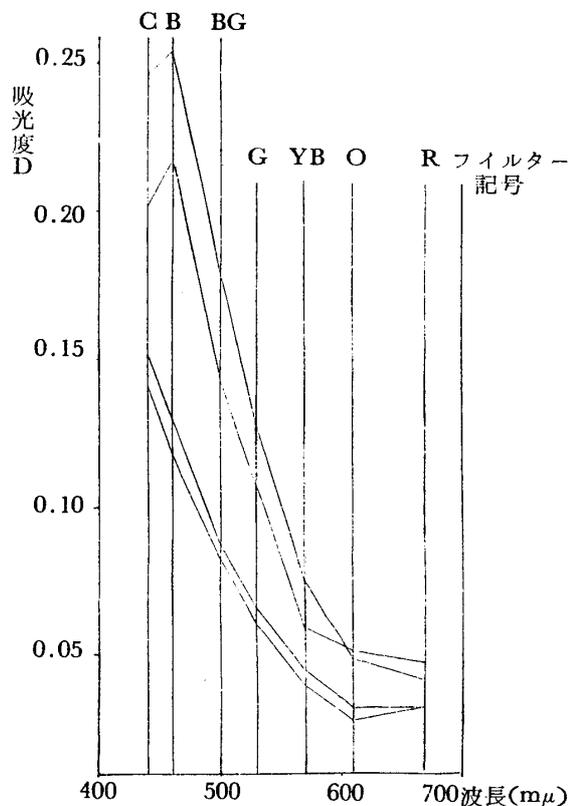


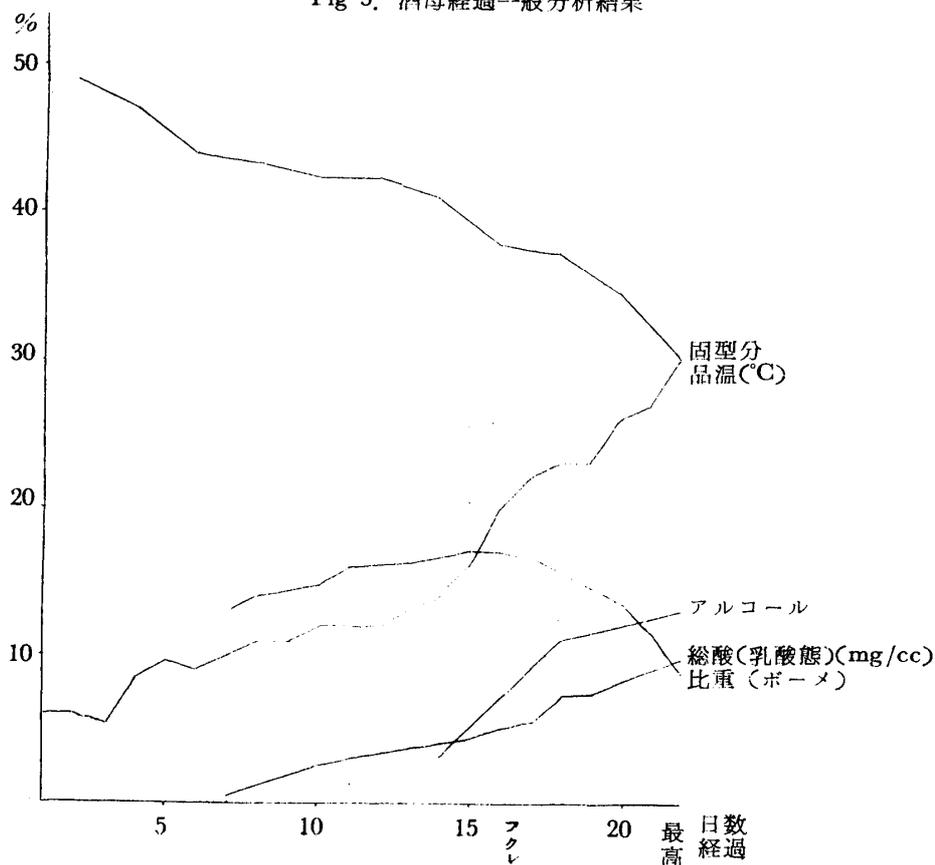
Fig 4. 酒母液ヨード呈色の変化



〔IV〕 酒母液のヨード呈色の変化

50g の試料に pH 2.9 のクエン酸 buffer 50cc を加え pH を酒母液の最低に揃え 3000r.p.m. で 20分遠心離し上澄液 10cc に 1% N ヨード液 0.1cc を加えて蒸溜水を対照とし、日立光電比色計で透過率を測定し、なお上澄液のみを蒸溜水対照として測つた値を得て上澄液の原色を補正し、これを Fig. 4 に示した。

Fig 5. 酒母経過一般分析結果



(98) (坂本, 守隨). 微生物の生産するプロテアーゼ並びに其の利用に関する研究 (第1報)

た当社々長安福武之助氏の御好意に感謝致します.

本報文の一部は昭和30年の大阪醸造学会研究発表に発表致しましたものです.

文 献

- 1) 北原, 村田: 本誌, **31**, 349 (1953). 2) 岡田: 本誌, **16**, 255 (1928). 3) 北原, 村田: 本誌, **31**, 90 (1953). 4) 北原, 村田: 本誌, **32**, 473 (1954). 5) 松山: 本誌, **31**, 247 (1953), 6) 猿野, 阿野: 本誌, **31**, 362 (1953). 7) 島田, 杉田, 水本: 本誌, **31**, 498 (1953). 8) 足立: 本誌, **32**, 448 (1954). 9) 足立: 本誌, **33**, 76 (1955). 10) UNDERKOFER, A. and ROY, D.K.: Cereal chem., **28**, 18, (1951). 11) MUNSEY, T. BACK STARK W.H. and ROBERT E. SCALE: Anal, chem., **20**, 56, (1948). 12) 蔭山, 杉田: 本誌, **31**, 189 (1953). 13) 豊沢, 米崎: 本誌, **32**, 318 (1954). 14) 二国: 澱粉化学, P 305. 15) 二国: 澱粉化学, P 313. 16) 山田正一: 醸造分析学, P 112. 17) 二国: 澱粉化学, P 253, P 274. 18) 高岡研一: ドメスティク, サイエンス, P 284. 19) 小穴富士夫: 酒造要訣, P 93. 20) 酵素実験学, 第12巻, 第二部, P 651, 微生物及酵素実験法 (河出書房). 21) 蔭山, 杉田: 本誌, **29**, 297 (1951). 22) 蔭山, 杉田: 本誌, **31**, 190 (1953). 23) 森川: 本誌, **21**, 23 (1943). 24) 徳岡: 農化, **12**, 1189 (1936).

(昭和31, 12, 6 受理)

微生物の生産する酵素並に 其の利用に関する研究 (第1報)

麴菌のプロテアーゼ及びアミラーゼ生産に就いて

坂本 政 義・守 隨 稀 雪 (科学研究所)

緒 言

麴菌の固体, 液体培養を行い, 其の生産する Protease の比較を試みた. 即ち, Black Aspergilli, Greenish-yellow Aspergilli 各5種を採用し米, 麴を培地とした固体麴, 振盪, 静置培養に依る液体麴の夫々に生産された Protease, Amylase を比較し, 且つ Black Aspergilli, Greenish-yellow Aspergilli 各1株に付 Protease, Amylase 生産の経過を調べた.

(附記) 絲状菌, 細菌, 放線菌 Protease の生産, 性質, 精製, 応用に就いて3, 4年前から研究し其の都度各処で講演したが報文として発表して居ないので此の際取纏めて逐次報告する予定である.

実 験 の 部

I 実験方法

(1) 供試菌株

Aspergilli の Black type 即ち *A. awamori* (AF-1), *A. inuii* (AI-4), *A.saitoi* 2021 (BL1-1), *A.usamii*(R15-0635), *A.usamii* mutant *shirousamii* (AU1-1) の5種; Greenish-yellow type 即ち *A.oryzae* SH2-7, KB (01-9), S3-4, S4-18, SH1-1 の5種を採用した. Black Aspergilli は酒精醱酵の研究対照となる菌株として, 又 Greenish-yellow Aspergilli は固体麴, 液体麴として酵素, 香気面から好適な菌株として此等の麴菌を数多の菌株から選択したものである.

(2) 培養方法

米, 麴を培地とした固体培養と同一培地使用に依る振盪, 静置の液体培養を施行した.

1. 固体培養25%精白米を米麴とし市販麴を麴とした. 方法は米15hr浸漬, 水切2hr, 蒸餾50min後綿栓フラスコに50g採取し10min再蒸餾, 麴の場合は麴:水=1:0.5で50min蒸餾後可及的に均一になる如くよく攪き交ぜて300cc綿栓フラスコに50g取り再蒸餾100°C, 10minの操作を行つた後, 約40°Cにて各菌種の2白金耳を移植し, 30°C恒温室にて50hr培養した. 製麴経過分析用としては其の規模を大きくして試験した.