

(448) (足立) 清酒麴アミラーゼ力價の測定法について

す。

(夏蜜柑の化学的研究第18報) (山口大學農化業績 No. 17)

文 献

- 1) 野村: 本誌, **31**, 429 (1953). 2) MAILLARD, L. C.,: *Compt. rend.*, **154**, 66 (1912). 3) GOTTSCHALK, A., and PARTRIDGE, S. M.,: *Nature*, **165**, 684 (1950). 4) CHICHESTER, C. O., STADTMAN, F. H., and MACKINNEY, G. J.,: *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 3194 3418, (1952). 5) PATTON, A. R., and CHISM, P.,: *Nature*, **167**, 496 (1951). 6) TÄUFEL, K., and IWAINSKY, H.,: *Biochem. Z.*, **323**, 299 (1952). 7) 足立: 農化東京大會口演 (1954). 8) HANNAN, R. S., and LEA, C. H.,: *Nature*, **167**, 744 (1951). 9) HAUGAARD, G., TUMERMAN, L., and SILVESTRI, H.,: *J. Am. Chem. Soc.*, **73**, 4594 (1951). 10) HODGE, J. E., and RIST, C. E.,: *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 1494 (1952), **75**, 316 (1953). 11) 赤堀: 日化, **52**, 839 (1931), *Ber.*, **66**, 143 (1933). 12) WOLFROM, M. L., SCHLICHT, R. C., LANGER, JR., A. W., and ROONEY, C. S.,: *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 1013 (1953). 13) LEWIS, V. M., ESSELEN, W. B. JR., and FELLERS, C. R.,: *Ind. Eng. Chem.*, **41**, 2591 2587 (1949). 14) 野村: 農化 (投稿中) (昭和 29, 9, 6 受理)

清酒麴アミラーゼ力價の測定法について

足 立 有 (株式會社安福武之助商店)

序 論

アミラーゼ力價の測定法については多くの報告があるが Wohlgemuth, 照井氏變法に於ては紫色の消失する終點を比色計(本報告では日立の光電比色計を用いた)によつて決定し, R (波長670m μ) のフィルター, 10mm の cubet で透過率 (T) が66%の點としてある。

本報告では其の透過率と澱粉分解に要する時間との間に一定の規則的な關係があることを見出し, これにより清酒醸造に當り多數の試料を測定するに便利な方法を述べた, 更にこの方法は糊精分解力の測定にも適用出來た。

實 驗 之 部

(A) 原 理

透過率と澱粉分解に要する時間との間の規則的な關係については後述するが(第1圖, 本文〔標準曲線〕を参照), この關係にもとづき Wohlgemuth 法にて反應開始後一定時間經過した時に反應液をヨードで呈色して透過率を測定するのみで紫色の消失する反應終點に至る迄の時間を算出し, 酵素力 (Wohlgemuth 力價) を知る方法を述べる。

(B) 糊精化力測定法

a) 試 薬

1) 反應基質; 1g のリントナー可溶性澱粉を約80ccの蒸溜水にて充分煮沸し, 濾過後, 20cc のクエン酸, 磷酸ソーダ緩衝液¹⁾を加えその0.2ccを下記の N/4000ヨード液10ccに加えて N/2000ヨード液を比色對照として15°C, 10mm の cubet 670m μ のフィルターで透過率を測定し12%となるものを用いる。

2) 酵素液; 50 g の清酒麴を pH 6.0, 2%食鹽水²⁾に弗化ソーダ³⁾の0.3%を加えて室温で2時間浸出, 濾過し, 適當に加水(必要なら緩衝液を加える)し, 冷蔵庫に貯える。

3) ヨード, ヨードカリ液; 10% HCl を0.5%含む N/2000, 及び N/4000ヨード, ヨードカリ液 (pH 1.8~2.0) を用いる。

b) 反 應

Wohlgemuth 法に従い澱粉液10ccを試験管に取り, 40°Cに保ち, 0.5ccの酵素液を加えて3分後に10% HCl 0.2 ccを加えて pH 1.8~2.0となして酵素作用を止め, 其の0.2ccを10ccの N/4000ヨード液に加えて N/2000ヨード液を對照として R (670m μ) のフィルター, 10mm の cubet, 15°Cで透過率 (T) を測定する。

c) 計 算 方 法

1ccの酵素液にて30分間に分解される1%可溶性澱粉液のcc数、即ち Wohlgemuth 價は $D_{30'}^{40} = 10\text{cc (澱粉液量)} \times 1/0.5(\text{酵素量}) \times 30/3(\text{時間}) \times t/t_0 \times 100 = 200X$

但し t: 透過率Tを測定せる反應液の反應時間(3分), t_0 : 透過率66%となる迄に要すべき時間。

又第1圖より $X = t/t_0 \times 100 = f(T/T_0)$

即ち第1圖よりTに相當するXを知れば Wohlgemuth 價は $D_{30'}^{40} = 200X(\text{cc})$ として求め得る。

(C) 糊精分解力測定法

a) 試 薬

1) 反應基質; 市販の澱粉分解の白色糊精粉末を水に溶解煮沸して濾過し、65~55%⁴⁾のメチルアルコールで精製沈澱した白色粉末を澱粉液と同様に處理して1%糊精液となし、B(460 mμ)のフィルターで透過率11.5%のものをを用いる。

2) 酵素液; 糊精化力測定に用いたものと同じものをを用いる。

3) ヨード、ヨードカリ液; 糊精化力測定に用いた N/2000ヨード、ヨードカリ液を用いる。

b) 實驗方法及び計算

糊精化力測定の場合と同様な操作で行うが、糊精分解反應液0.4ccをN/2000ヨード液10ccに加え、其の赤色消失點をB(460 mμ)のフィルターで透過率45%と假定する。然る時は液化力と全く同様にして相對的糊精分解力を Wohlgemuth 價の如く表し得る。

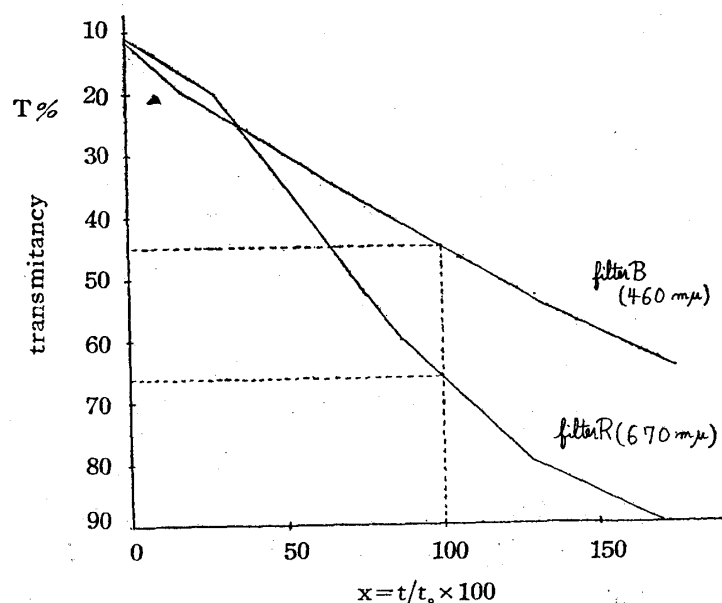
本法の檢討並びに標準曲線

1) 本法を使用するに當り如何なる條件の範圍内で透過率と澱粉分解時間との間の規則的な關係が成立するかを知るため、溫度(40, 30, 20, 10°C), pH(7.0, 6.0, 5.0, 4.0)の夫々につき一定時間毎にTを測定して

Table I. Relation between T and X, using the filter R or B at various pH-values and temperatures.

filter		filter R (670 mμ)								filter B (470 mμ)					
T %		20	30	40	50	60	66	70	80	25	30	35	45	55	65
Condition	Temperature (pH 5.0)	40	29.2	44.6	58.4	73.8	87.8	100	109	138	36	56	65	100	176
		30	30.9	45.3	58.7	77.3	89.7	100	109	136	34	55	66	100	174
		20	26.2	43.6	59.2	71.8	87.4	100	107	139	35	54	70	100	175
		10	28.5	41.3	56.4	72.7	87.2	100	106	130	37	55	69	100	178
pH (25°C)	7.0	26.5	40.0	55.4	71.7	88.4	100	107	—	32	51	63	100	130	177
	6.0	27.6	40.9	58.1	64.3	83.6	100	107	139	35	52	64	100	133	173
	9.0	25.4	40.0	54.7	70.7	86.7	100	106	136	33	49	66	100	137	177
	4.0	—	—	—	—	—	—	—	—	34	49	65	100	129	165
Mean value		28.0	42.6	57.6	71.8	87.0	100	107	138	34.5	52.6	66	100	133	174.4
Standard error $\sqrt{\frac{\sum(x_m - \bar{x})^2}{n}}$		1.87	2.38	1.28	3.09	2.77	0	1.09	8.52	1.5	2.54	2.24	0	1.16	3.87

Fig. 1. Relation between intensity of color and equivalent ratio of time.



(450)

(足立) 清酒麴アミラーゼ力價の測定法について

ラフを作り、これよりTが20, 30, 40, 50, 60, 66, 70, 80%なる時の $X=t/t_0 \times 100$ を算出して比較した結果第1表の如く、上記条件内では各Tに對するXが夫々近似した數値となり、TとXの間に常に一定の規則的關係が成立することを見出し得た。従つて、此等のXの平均値を用いて、T-Xの標準曲線を製作し、又其の誤差も使用範圍では3%を越えない(第1表)。

2) 使用する酵素液の種類による、標準曲線の變動を考慮するため、清酒用麴と、同掛麴について、T-Xの關係を求めても(第2表)、標準曲線の形狀には變化なきことを知つたから、清酒醸造に當り充分利用出来ると思われる。

Table II. Comparison of T-X relation between Moto-koji and Kake-koji.

filter	filter R						filter B					
T%	20	30	40	50	60	66	25	30	35	45	55	65
kinds												
Moto-koji	27.3	48.4	58.8	71.5	89.7	100	37	54	68.1	100	129.8	170.4
Kake-koji	27.0	45.0	59.8	70.5	87.3	100	36	55	65.7	100	130.2	171.2

3) 實驗操作より來る誤差については、比色對照標準液となるN/2000ヨード液の濃度の變動をR、Bのフィルターにつき検討し、又ヨード液を、澱粉、糊精で呈色した液についても、ヨード液、又は澱粉、糊精液の濃度を夫々變化させて其の透過率(T)の變動を測定した、(第3表)が實用上差つかえないと思われる。

Table III. Changes of electrophotometric values caused by the variation of concentration.

Standard solution (for comparison)	Test solution	Filter	T value			
			variation of relative concentration (%) of starch, dextrin or jodine			
			105	100	95	90
Water	N/2000 jod solution	R	>96	96	96>	96>
		B	82.8	82.5	82.2	81.5
N/2000 jod solution	1% starch solution + N/2000 jod* solution	R	11	11	12	12
	1% Dextrin solution + N/2000 jod* solution	B	11	11.5	13	14
N/2000 jod solution	1% starch* solution + N/2000 jod solution	R	10	11	11	11.5
	1% dextrin* solution + N/2000 jod solution	B	11	11.5	12.5	13.0

* Relative concentration is changed from 90 to 105%.

4) ヨード呈色した液は20°C, 1時間放置しても透過率の變動は測定出來なかつた。

考 察

1) 本法に用いる酵素液は北原氏⁵⁾等の報告にもある如く多種類のアミラーゼの混合物で、其の作用も様々であらうが、清酒麴につき單に其の糊精化力、糊精分解力を測定する場合T-X標準曲線は實用上一定と見做し得る。

2) Wohlgemuth 法の條件で糊精化力を測定した後に残る赤色の變化から糊精分解力を求めることは出來ない、なぜなら糊精分解力は糊精化力に先行出來ないかも知れず如何に強い糊精分解力も糊精化力が弱いとその制限を受けて測定値は無意味となるからである。

3) 本法に用いる基質は常に一定のヨード呈色の透過率を與える様な濃度のものを作つて用いねばならない。

4) 糊精分解力を Wohlgemuth 價で表現することは糊精化力と比較するに便である。

5) 反應終點を示すT₀(66又は45%)の値は反應基質のヨード呈色液の色調を目測し、其の變色點の透過率を測つて便宜的に規定したもので理論的根據はない。

要 約

本法は清酒麴のアミラーゼ力價を測定する方法として、從來の Wohlgemuth, 照井氏變法を基礎とし、更に簡單に多數の試料を測定し得る様にしたものであり、前者に於ては基質のヨード染色の變色する反應終點を追つて

時間を測定したのに對し、本法では時間を一定となし、ヨード染色液の透過率から反應終點に至る時間をグラフによつて算出する方法である。

更に本法に於ける計算の基準となるグラフについて検討を加え、この標準曲線は反應する pH 7.0~4.0, 温度 40~10°C では不變であることを認めた。又酵素液の種類については清酒醸造用麴に関する限り大差ないことを認めた。

終りに臨み、御指導、御便達を賜りました、照井、寺本兩教授、小田助教授並びに研究室の佐瀬、橋田氏に深く感謝致します。又本嘉納商店研究室の方々、豊澤酒造米崎氏の御援助を謝し、この發表を公にすることをお許し頂いた當社社長安福武之助氏に謝意を表します。

文 献

- 1) T. MUNSEY BACK, W. H. STARK and ROBERT E. SCALE: Anal. Chem. 20, 56 (1948).
 - 2) 北原, 村田: 本誌, 31, 349 (1953).
 - 3) 松島欽一: 本誌, 28, 91 (1950).
 - 4) 二國二郎: 澱粉化學, 331.
 - 5) 北原: 本誌, 27, 1 (1949).
- (昭和 29, 9, 7 受理)

麴菌の胞子形成に関する研究 (第2報) CZAPEK 改變培地について(1)

根 平 武 雄 (廣島大學工學部)

ま え が き

私は前報¹⁾で、麴菌の胞子形成に關しての基本條件として、種植條件、培養温度、養基量を検討した。本報では、更にCZAPEK-agar を基礎とした改變培地について、胞子形成の試験を行つた結果について報告する。

I. pH の 影 響

CZAPEK-agar は前報の處方では pH 6 附近となるが、pH 2~9 に調製して、sporulation に對する影響を見た。(Tab. I) pH は殺菌後ペトリ皿に分け固める直前に HCl 及び K₂CO₃ で調節した。其他の試験方法は前報に準ずる。

Table I. Sporulation at pH 2~9.

pH	dates of incubation	2	3	4	5	6
2.0	color, conidia	SfG 2.4	MG 15.3	KG 20.1	KG(DC)22.8	DC(KG)16.1
	mycelia	118.3	79.4	74.5	59.7	59.9
	total	127.4	137.2	150.5	145.9	120.8
3.0	color, conidia	PGG 12.1	MG 29.8	KG 32.5	DC(KG)30.9	YO,OC 31.3
	mycelia	124.2	85.5	72.3	65.2	60.6
	total	169.9	198.1	195.2	182.0	178.9
4.0	color, conidia	DSfG 5.2	KG 30.1	KG 32.4	DC(KG)30.9	YO(SO)29.1
	mycelia	130.5	86.8	74.5	69.3	64.8
	total	150.2	200.6	197.0	186.1	178.8
5.0	color, conidia	PGG 8.3	MG 38.2	KG 31.8	DC(KG)27.8	YO,SO 25.3
	mycelia	126.8	86.4	81.4	74.7	63.5
	total	158.2	230.8	201.6	179.8	159.1
6.0	color, conidia	SfG 4.3	MG 26.7	KG 27.9	DC 24.7	SO 24.2
	mycelia	141.9	118.2	99.4	89.6	81.6
	total	158.2	219.1	204.9	183.0	173.1
7.0	color, conidia	SfY 1.0	MG 25.0	KG 26.2	DC(YO)25.4	SO(YO)24.3
	mycelia	141.2	120.3	98.2	90.8	85.0
	total	145.0	214.8	197.2	186.8	176.8