

(318) (高橋, 能勢) Dowex-50分子ふるいに依る清酒ペプチッドの群分割について (第1報)

Dowex-50分子ふるいに依る清酒ペプチッドの群分割について

清酒のペプチッドに関する研究 (第1報)

高橋 暲・能勢 惟一 (東亜酒造株式会社研究室)

近年, 清酒, 合成清酒の「濃味」「味のふくらみ」等で表現される総合的な呈味の問題が取り上げられ, その根本的な解明が試みられているが, それ等は成分的には含窒素化合物であるアミノ酸, ペプチッド類等に最も密接な関係を有するものである事が確認^{1), 2)}されて来た. 清酒中のアミノ酸に就いては既に約19種に関し報告があり, それ等と呈味との関係³⁾も略々明らかにされている.

一方蛋白分解中間体であるペプチッド類に関する報告は従来あまりない. 著者等は合成清酒品位改善の一端として清酒中のペプチッドの型態並びに生因等に関し研究^{4), 5)}を続けている.

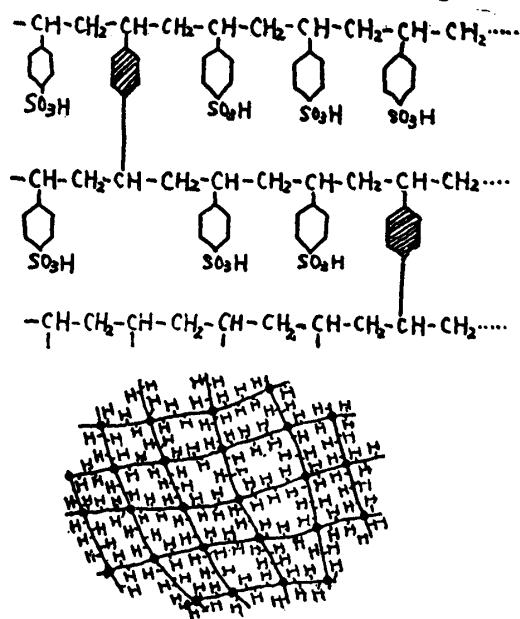
ペプチッドの分離法には種々あるが試料中に大小種々なものが含有される場合その分離同定は非常な困難を伴う. 最近イオン交換樹脂を用いる溶出展開法^{6), 7)}が盛んに行われる様になり各方面に目覚しい進展をみせているが, 此の場合でも 前述の様に種々雑多なものを含有する場合はやはり困難の様である. 斯る際予備処理として Dowex-50分子ふるいを用い試料中の分子の大きさに準じた群分割を行う事に依りその目的を容易ならしめる事が出来る. この方法は又試料中のペプチッドの大きさを推定すると共にそれ等の分布状態を察知せんとする場合適切な方法として成田氏等⁸⁾が提案したものであり, 著者等は此の方法を用い清酒中のペプチッドをその大きさに準じ群分割した結果その分布状態を知る事が出来た. 又その際生酒と火入酒に就いてその分布状態に若干の差異のある事等を説めたので之等に就いて報告する.

実験の部

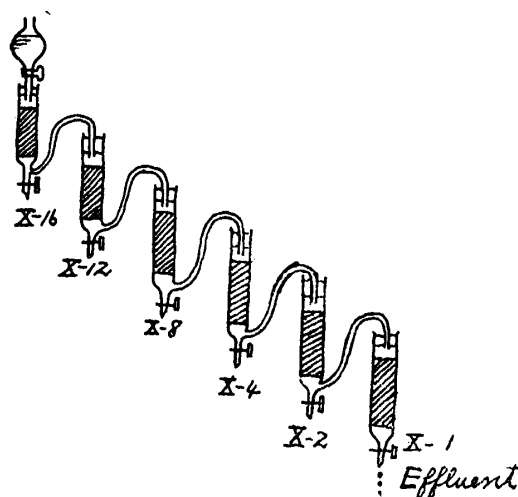
1) Dowex-50分子ふるいに就いて

Dowex-50交換樹脂はポリスチロール系のものでありスチレンとジビニールベンゼンを共重合せしめスルホン化して作るが強化剤であるジビニールベンゼンが三次元的な網状構造を作り所謂 Cross-linkage となる(第1図参照). Dowex-50にはX-16, X-12, X-8, X-4, X-2, X-1の様に異なる Cross-linkage のものがあり X-NOの 大となるに従つて Cross-linkage が多くなり網状構造が緻密となる. そのため Cross-linkage より大なる分子はたとへ交換性能を有していても吸着されずに流下する. この様な原理を応用して夫々の Column を直列に結合し試料を上方より流下すれば試料中の交換性能を持つた分子は少いものから逐次ふるい分けられて流下し最後に Effluent として最も高分子のものが流出する訳である (第2図参照).

第1図 Dowex-50の Cross-linkage



第2図 Dowex50-分子ふるい装置



(高橋, 能勢) Dowex-50分子ふるいに依る清酒ペプチッドの群分割について (第1報) (319)

この様にして成田氏等は絹フィブロイン H_2O_2 酸化物部分水解物中のペプチッドを分離しその状態を知る事に成功した。

2) 清酒ペプチッドの群分割

Dowex-50はH型で使用し若し新しい場合はNa型とH型と数回反覆した後使用しなければならない。清酒ペプチッドの群分割に用いた各Columnの大きさと樹脂の粒子は第1表の通りである。X-16 Columnが大きいのは実験上此のFractionateが大であるためであり樹脂粒子は分子ふるいの性質上成可く大である方が好都合のため20~50又は50~100meshを採用した。

試料清酒(第3表組成表) 500ml $\frac{1}{2}$ を0.4cc/min Flow-rateで流下した後水洗する。吸着を終了した各Columnは取り外して別々に10% NH_4OH soln. で elute し夫々 Evaporate-dry して NH_4OH を除去した後再び水に溶かして Total-N 並びに NH_2-N を測定する。

Total-N 値を NH_2-N 値で除した値を Average Peptide Length (A.P.L.) として表した。即ちペプチッド構成アミノ酸残基数を表しおおむね分子量に平行的である。

この様にして火入酒及び生酒(同一酒)に就いて群分割を行つた結果を示すと第2表の如くなつた。

第1表 Column dimension と Resin mesh

	Column dimension	Resin mesh
X~16	2.0×3.5cm	20~50
X~12	1.2×30	50~100
X~8	1.2×30	20~50
X~4	1.2×25	20~50
X~2	1.2×25	50~100
X~1	1.2×25	50~100

第3表 供試清酒組成表

	清酒 メータ	アルコール (%)	総酸(%)	直糖 (%)
生酒(+)	3.8	20.2	0.1416	2.474
火入酒(+)	3.2	20.1	0.1534	2.628

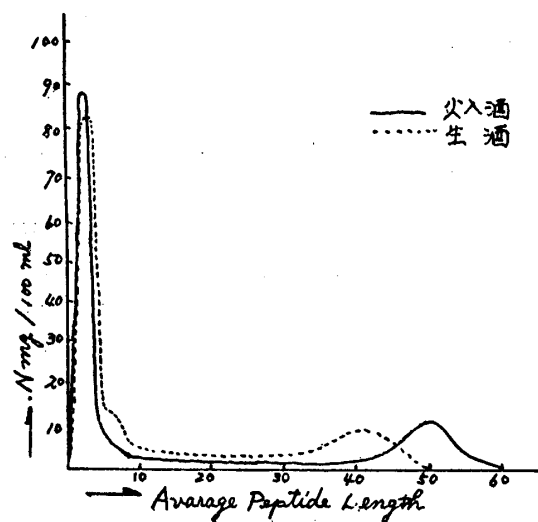
第2表 清酒ペプチッドの群分割

	火入酒			生酒		
Column	Total-N	NH_2-N	A.P.L.	Total-N	NH_2-N	A.P.L.
原酒	mg 122.50	mg 51.25	2.3	mg 126.00	mg 50.00	2.5
X~16	88.20	45.52	1.9	84.00	43.20	1.9
X~12	3.50	1.06	3.3	6.65	2.45	2.7
X~8	3.50	0.67	5.2	5.95	1.02	5.8
X~4	2.80	0.24	11.6	4.20	0.35	12.0
X~2	2.80	0.17	20.2	3.85	0.18	21.4
X~1	2.45	0.07	3.50	3.85	0.12	32.0
Effluent	10.50	0.20	52.5	7.70	0.18	42.7
Recovery	92.8%	93.4%	—	92.2%	95.0%	—

考 察

1) 清酒中のペプチッド類を群分割しその大きさに依る分布状態を解明する目的で、Dowex-50分子ふるいで検索した結果、X-16に吸着される Fractionate は Total-N の約70%であり又その A.P.L. が1.9である事より

第3図 火入酒と生酒の比較



清酒中にはアミノ酸の他に“di”又は“tri”の様な低級ペプチッドが可成り存在する事が察知出来た。一方 Effluent 中には A.P.L. が50の如き可成り高分子のものも或る程度認められる。これに反し中級ペプチッドは非常に少いことが判明した。

寺本氏⁹⁾は古く清酒中のN-化合物を検索し概ね蛋白態Nを1~5%, アルブミン及びペプトン態Nを1~2%, ペプチッド態Nを33~35%, アミノ態Nを60%内外と報告し杉山氏等¹⁰⁾は MYRBÄCK 氏法に依りN-区分を分割しているが今回の著者等の報告と対比する際甚だ興味深い。

2) 火入酒と生酒に於ける分布状態を比較し図示すると第3図の様になり根本的な差異は認められないが生酒の方が火入酒に比し中級ペプチッドが若干多く之が火

(320) (梅津) 清酒醸造中におけるアミノ酸及びアミン類の消長について (第2報)

入操作に依り更に分解が多少進み X-16 Fractionate が増加する可能性と同時に熱エネルギーに依る重合に依って高分子側に多少移行する可能性も考えられる。

3) 之等の事実から清酒醸造に於ける蛋白分解作用は可成り充分進んでいる事が察知出来ると共に非常に分解され難い低級ペプチッドが存在する訳でそれ等が如何なる型態であるかは今後の研究にまたねばならないが低級ペプチッド中には呈味を有するものもある事実と照合する際、之等が清酒の呈味に影響して来ることが考えられる。

4) Effluent 中の高分子N-化合物は量的にみても安藤、池田氏等¹¹⁾に依り検討されているものと同一か或いは密接な関連をもつものと思われるが一方酵素自体を含むとも考えられる。之等も今後の研究にまたねばならない。

要 約

1) 清酒のペプチッド類を大きさに準じた群分割を行う目的で Dowex-50分子ふるいを用いて逐次少いものからふるい分けた。

2) その結果清酒中には X-16 Fractionate の如きアミノ酸及びデペプチッドの如き低級のものが全-N の約70%存在する。一方アミノ酸残基が50の如き高分子のものも或程度認められた之に反し中級ペプチッドは非常に少いことが判明した。

3) 火入酒と生酒のペプチッド分布状態には根本的な相違はないが生酒の方が中級ペプチッドが若干多くそれ等は火入操作に依り低分子側と高分子側に多少移行することが考えられる。

4) 低級ペプチッド中には呈味を有するものもある事実と照合して清酒中で之等が呈味に影響している事を推定した。尚之等の型態等に就いては今後の研究にまたねばならない。

終りに臨み御指導を給つたお茶の水大の成田先生並びに御校閲を給つた阪大寺本教授に厚く御礼申し上げます。又本研究の発表を許可された当社肥土社長、肥土常務に深謝いたします。

文 献

- 1) 飯田等：合酒技，**3**，10 (昭29)。
 - 2) 安藤，池田：合酒技，**6**，5 (昭30)。
 - 3) 守隋：合酒技，**13**，34 (昭27)。
 - 4) 高橋，能勢：合酒技，**11**，302 (昭31)。
 - 5) 高橋，能勢：合酒技，**12**，377 (昭32)。
 - 6) Y.P. DOWMONT：J. Biol. Chem. **197**，271 (1952)。
 - 7) A.R. TOMPSON：Biochem. J. **61**，253 (1955)。
 - 8) 成田等：蛋白討論会 (昭31.10福岡)。
 - 9) 寺本：本誌，**11**，485 (1933)。
 - 10) 杉山等：醸試報，**115**，99 (1932)。
 - 11) 安藤，池田：日農化関東支部会，168回 (昭31.11)。
- (昭和 32. 5. 31 受理)

清酒醸造中におけるアミノ酸類及びアミン類の消長について

(第2報) 清酒醪経過中におけるアミノ酸類の消長について

梅 津 雅 裕 (鳥取大学学芸学部)

緒 言

清酒中に約18種類のアミノ酸の存在が確認されているが、それらのアミノ酸が清酒醸造中において如何なる消長を示すかについては未だ余り調べられていない。

此方面に関する研究では寺本氏等¹⁾、橋田氏等²⁾が清酒醸造過程における Glutamic acid, Serine, Threonine の消長について報告し、伊藤氏等³⁾は酒母の育成操作を異にした場合のアミノ酸の消長について調べている。

著者⁴⁾は先に山麴酐、速麴酐、高温糖化酐の仕込経過中におけるアミノ酸の消長について報告したが、更に今回は醪経過中におけるアミノ酸の消長を前報に報告した Maximum color density method を用いて追究したのでその結果について報告する。

実 験 の 部

1. 供試醪の経過及び一般成分の分析

供試醪として普通アル添醪と三増醪を用いた。普通アル添醪の大いさは糴米8石、汲水9石4斗、添加アルコ