

(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ったお茶の水大の成田先生並びに御校閲を給っ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

Table 1. 普通アル添醪の成分変化

時 期	筋泡	高泡	地	アル添前	上槽後 4 日
留後経過日数	2	6	14	21	27
ボーメ度又は清酒メーター度	6.5	5.2	-21.0	-6.5	+4.0
アルコール (Vol%)	—	—	14.0	18.3	20.0
全窒素 (mg/100cc)	54.5	102.0	127.8	127.2	96.5
アミノ態窒素 (〃)	12.5	18.9	33.7	40.2	37.9
有機塩基態窒素 (〃)	2.3	27.9	25.4	31.3	18.1
総 酸 (g/100cc)	0.05	0.11	0.14	0.14	0.13

Table 2. 三増醪の成分変化

時 期	筋泡	高泡	地	アル添前	上槽後 2 日
留後経過日数	2	9	14	22	25
ボーメ度又は清酒メーター度	—	4.4	-20	-0.5	-8.6
アルコール (Vol%)	—	—	15.9	18.6	20.0
全窒素 (mg/100cc)	52.1	119.2	128.0	144.1	62.2
アミノ態窒素 (〃)	18.0	33.2	42.9	46.2	27.2
有機塩基態窒素 (〃)	6.7	25.0	19.1	26.0	5.6
総 酸 (g/100cc)	0.05	0.13	0.16	0.16	0.13

2. 試料の調製

試料の調製方法は前報に於いて報告した清酒の予備処理⁹⁾に準じて行つた。即ち醪濾液50mlを採り、之に無水アルコールを添加して醪濾液中のアルコール濃度を80%となし、醪濾液中の蛋白とが澱粉などの高分子化合物及びそれら的高级分解物を沈澱せしめる。此の沈澱物を濾過後、80%アルコールで洗滌し、この濾洗液を減圧濃縮して少量とする。此濃縮液は混濁しているが、これを分液漏斗に入れて3倍量のクロ、フォルムを添加し、充分振盪して1~2日静置して透明となつている上層の水層部をとり、之を再び減圧濃縮し、此濃縮液を10%イソプロパノール溶液で10mlとなし、之を試料とした。

3. 測定方法

前報に報告した要領に準じて測定した。即ち標準溶液及び試料を展開用濾紙(東洋濾紙 No. 50)に2.5 μ l宛塗布し、一次元 Paper chromatography を行い、Chromatogram 上に展開発色されたアミノ酸の Spot の Maximum color density を測定する。此際、試料の塗布は醪の各経過時期に応じた試料の2.5 μ l宛を各 Level の標準溶液と交互に所定の如く塗布して行く。但し Histidine の測定に於いては試料を2.5 μ l宛2回反覆塗布した。

次にグラフ用紙の縦軸に試料中のアミノ酸の Spot の Maximum color density をとり、横軸に醪の経過日数をとつて表せば醪の経過中におけるアミノ酸の消長状態を表すことが出来る。更に標準溶液のアミノ酸の Spot の Maximum color density をグラフ用紙の縦軸にとり、横軸にアミノ酸濃度を対数目盛で表して個々のアミノ酸の標準曲線を求めれば、これにより試料中のアミノ酸の概量を知ることが出来る。

一次元 Paper chromatography によるアミノ酸の分離要領は前報に準じて行つた。即ち Table 3 に示す通りである。

4. 測定結果及び考察

上述の測定方法によつて普通アル添醪及び三増醪経過中における個々のアミノ酸量の変化を測定した結果を示すと Fig.1~Fig.7 の通りである。

醪中の Tryptophane 及び Methionine の含有量は僅少であつたので試料を2.5 μ l宛2回塗布して展開したが、その Chromatogram 上の呈色濃度も薄く、且又それ以上に多数回試料を塗布すれば呈色 Spot の tailing を生ずること等のために Maximum color Density の測定が出来なかつた。そのため Tryptophane は RAGIN法^{7),8)}で測定したが Methionine の測定は出来なかつた。Histidine は試料を2.5 μ l宛2回塗布しているから Fig.5よ

ール(30%)6石、醪石数21石2斗2升7合であつて此醪は留後22日目に酒母、アルコール及び水の添加を行い留後24日目に上槽している。三増醪の大いさは総米7石4斗、汲水13石5斗7升、添加アルコール(30%)14石8斗、醪石数33石8斗3升4合であつて此醪は留後23日目に酒母、アルコール及び水の添加を行い留後24日目に上槽している。

次にそれらの醪の経過中における一般成分の変化を示すと Table 1. 及び Table 2. の通りであつて、一般成分の分析方法は次の通りである。

全窒素: KJELDAHL 法により定量
アミノ態窒素: VAN SLYKE 法により定量

総酸: n/10KOH溶液で滴定し、琥珀酸量として表した。

有機塩基態窒素⁹⁾: 燐 タングステン酸沈澱法により定量

(322)

(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)

り Histidine の概量を知るためには図より求めた概量を $\frac{1}{2}$ にしなければならない。

Fig.1~Fig.7 を見るに普通アル添醪に於いても、三増醪に於いても醪経過の進むに従つて殆んどすべての個々のアミノ酸量が増加し、本実験ではアル添前の時期に最高のアミノ酸量を示し、上槽後に於いて殆んど例外なく減少を示している。殊に三増醪に於いては著しい減少を示している。上槽後に於いて個々のアミノ酸量が減少を示しているのは主として上槽前のアルコール添加、水の添加による醪液の稀釈によるものであらうと推察される。

Table 3. Summary of quantitative paper chromatography procedure.

Group	Amno acids separated	Solvents	Color reagents	Running time and temperature	Length of run
I	Aspartic acid Glutamic acid Serine Glycine Threonine	Phenol : buffer (pH12.0 = 80 : 20)	0.4% Ninhydrine plus 4% acetic acid	24 hrs 27°C	
II _a	Cystine Alanine Tyrosine Valine Phenylalanine	n-Butanol : acetic acid : water = 4 : 1 : 5	//		23cm, dry and rerun 3 times.
II _b	Arginine Lysine	Ethanol : methylethylketone : water : dicyclohexylamine = 10 : 10 : 5 : 2	//	24 hrs 27°C	
II _c	Histidine	n-Butal : acetic acid : water = 4 : 1 : 5	Diazotized sulfanilamide		25cm
III _b	Methionine	//	Platinic iodide		//
IV	Proline	//	0.2% Isatin		//
V _a	Tryptophane	Isopropanol : NH ₄ OH : water = 80 : 5 : 15.	P-Dimethylamino-benzaldehyde		//
II _e	Leucine Isoleucine	tert.-Butanol : methylethylketone : formic acid : water = 160 : 160 : 1 : 39	0.4% Ninhydrine plus 4% acetic acid	48 hrs 27°C	

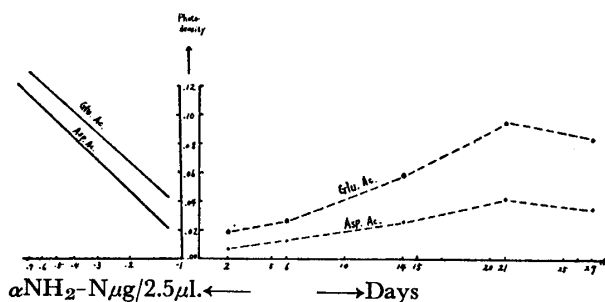


Fig. 1a. Futū aruten-moromi

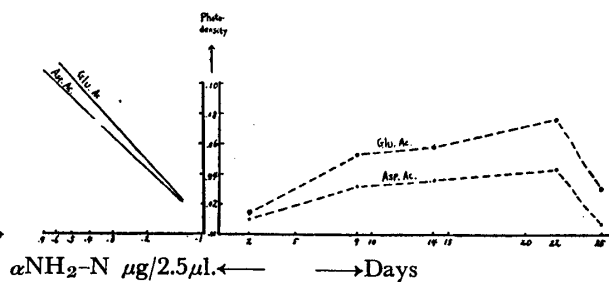


Fig. 1b. Sanbai zōjō-moromi

Fig. 1. On the quantitative changes of aspartic acid and glutamic acid, and their standard curves.

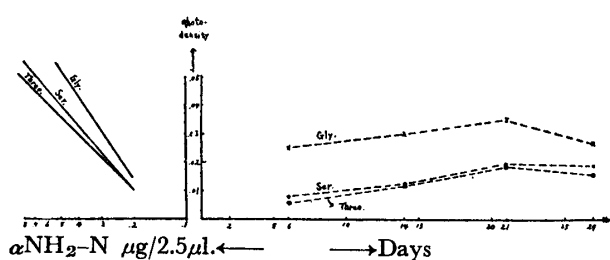


Fig. 2a*

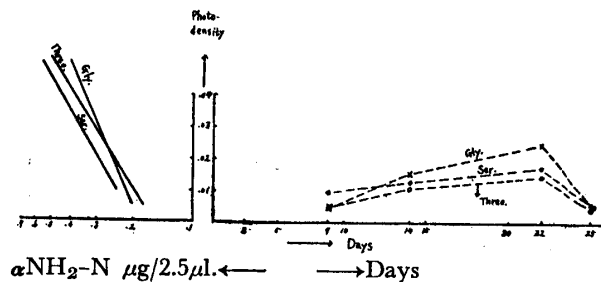


Fig. 2b*

* a : Futū aruten-moromi b : Sanbai zōjō-moromi

Fig. 2. On the quantitative changes of serine, glycine and threonine, and their standard curves.

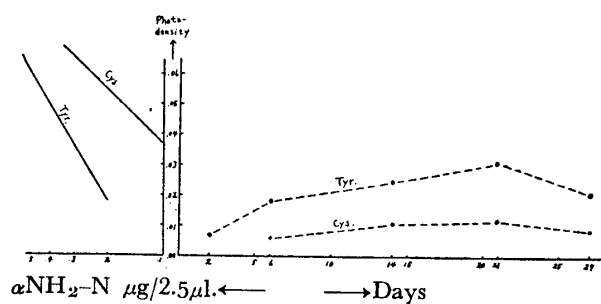


Fig. 3a.

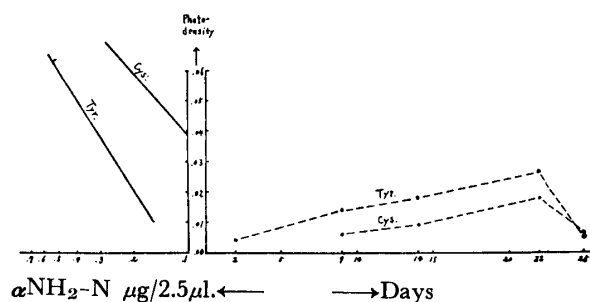


Fig. 3b.

Fig. 3. On the quantitative changes of cystine and tyrosine, and their standard curves.

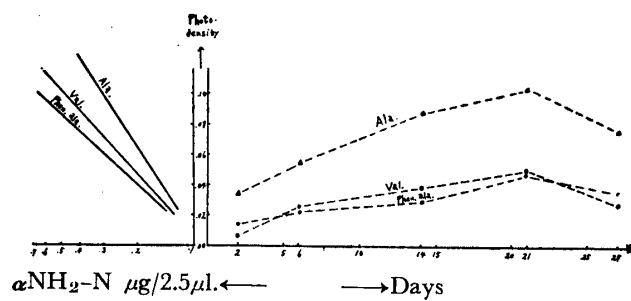


Fig. 4a.

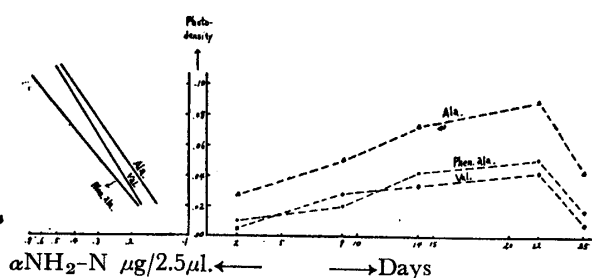


Fig. 4b.

Fig. 4. On the quantitative changes of alanine, phenylalanine and valine, and their standard curves.

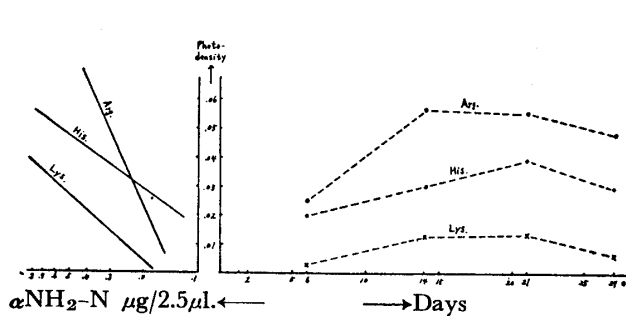


Fig. 5a.

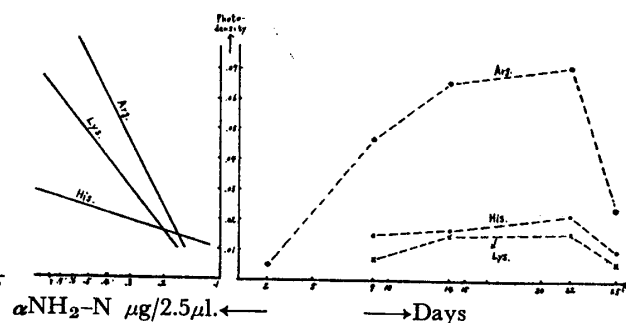


Fig. 5b.

Fig. 5. On the quantitative changes of arginine, histidine and lysine, and their standard curves.

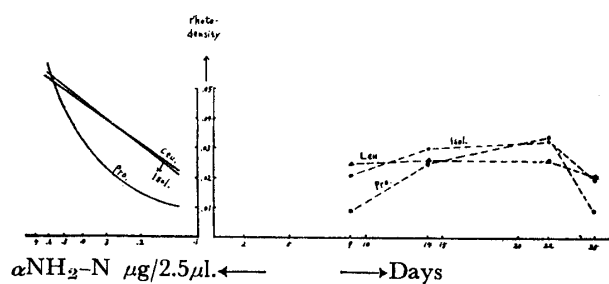


Fig. 6a.

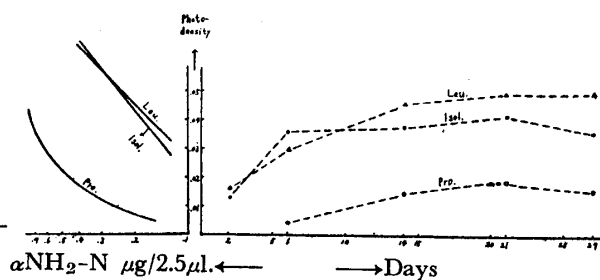


Fig. 6b.

Fig. 6. On the quantitative changes of leucine, isoleucine and proline, and their standard curves.

(324) (梅津) 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)

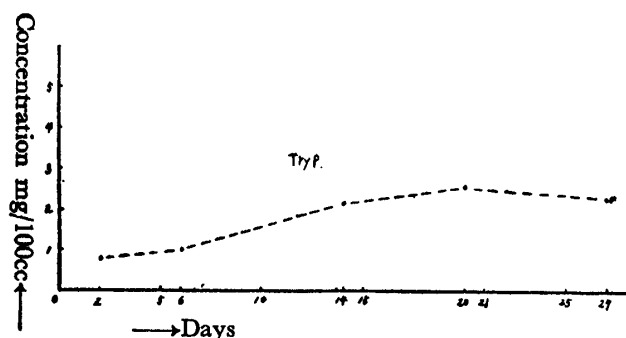


Fig. 7a.

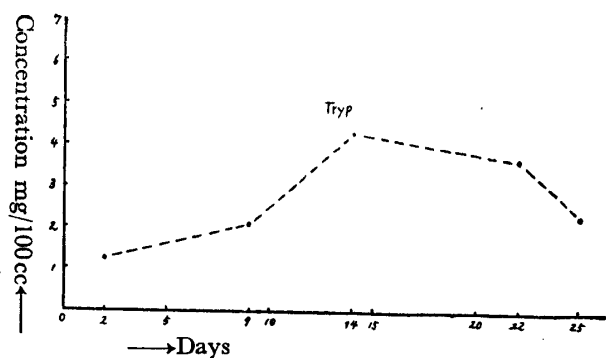


Fig. 7b.

Fig. 7. On the quantitative change of tryptophane.

一般的に云つて留添後2日後のアミノ酸量に比して高泡時期におけるアミノ酸量の著しく増加しているアミノ酸の種類が多いことが認められる。

Fig. 5a. の普通アル添醪における Arginine 量, Fig. 7b. の三増醪における Tryptophane 量は共に醪の地の時期に於いて最高を示し, アル添前の時期では若干の減少を示している。又, Fig. 6b の三増醪における Leucine 量は高泡, 地, アル添前の時期を通じてその含量に変化を示していないが, これらについては更に検討を要するものであると考えている。

次に醪経過中に集積量の著しいアミノ酸として標準曲線より Glutamic acid, Glycine, Tyrosine, Alanine, Arginine, Leucine, Isoleucine, Proline が考えられ, 又, 集積量の少ないアミノ酸としては Cystine, Tryptophane, Methionine が考えられる。

先に著者は酒母経過中のアミノ酸の消長について研究⁴⁾し, 酒母においては酵母の繁殖, 醱酵の旺盛な湧付及び湧付後に多数のアミノ酸の量(酒母の種類によつて異なり4種類乃至9種類)の減少することを認めたが, 然るに醪においては酵母の繁殖, 醱酵の旺盛な時期である地及びそれ以後の時期においても殆んどすべての種類のアミノ酸の量が増加を示している。このことは醪においては酵母によつて消費される個々のアミノ酸量よりも醪中の窒素源(主として蒸米及び麴)により生産される個々のアミノ酸の量の方が多いことを示すものであり, 酒母においてはその逆の場合であることを示すものである。この現象は注目すべき事からであり, 酒母と醪の本質的な相違を示すものであると考えられる。

要 約

普通アル添醪及び三増醪経過中におけるアミノ酸類の消長を Photodensity method により追究し, 次の結果を得た。

1. 醪中に存在している殆んどすべての種類のアミノ酸の量が醪の醱酵経過の進むに従つて増加し, アル添前の時期においてそれぞれ最高のアミノ酸量となり, 上槽後においては何れも減少している。
2. 醪経過中において集積量の著しいアミノ酸としては Glutamic acid, Glycine, Tyrosine, Alanine, Arginine, Leucine, Isoleucine, Proline があげられ, 集積量の少ないアミノ酸としては Cystine, Tryptophane 及び Methionine があげられる。
3. 酒母経過中においては酵母の繁殖, 醱酵の旺盛な湧付及び湧付後の時期に多くの種類のアミノ酸の量的減少が認められるに反し, 醪経過中においては酵母の繁殖, 醱酵の盛んな地及びそれ以後の時期においても殆んどすべての種類のアミノ酸が量的増加を示している。此現象は注目すべきことからであると考えられる。

終りに臨み御指導並びに御校閲を賜つた恩師, 阪大教授寺本四郎先生, 実験試料を御提供下された東伯酒造有会社並びに本実験に終始御協力を賜つた本学の田中洋美氏に対し謹んで深甚なる謝意を表します。

(本報告の要旨は第8回大阪醸造学会講演会において発表した)。

文 献

- 1) 寺本, 吉野, 森, 渡辺: 大阪醸造学会第8回講演会(昭31.10.13): 日本農芸化学会大会(昭32.4.9.).
- 2) 橋田, 吉野, 森, 渡辺: 本誌, 34, 178 (1956).
- 3) 伊藤, 古谷野: 醸造論文集, 第11輯, 11(1954).

- 4) 梅津: 本誌, **32**, 267 (1954); **33**, 349 (1955). 5) 山田: 醸造学研究法, **1**, 143 (1949). 6) BLOCK, R.J.: A Manual of Paper chromatography and Paper Electrophoresis, 84 (1955). 7) 山田: 醸造分析法, 128 (1936). 8) RAGIN: J. Biol. Chem., **80**, 543 (1928).

産膜酵母菌に関する研究 (第12報) *Hansenula* 属 (6)

小玉 健吉・京野 忠司・小玉正次郎 (小玉醸造株式会社醸酵研究室)

本報は分類の部 (B) *Hansenula* 属に関する第6報である。実験方法その他すべて前報¹⁾に準じた。

菌株の分類

f. *Hansenula anomala* var. *Ciferrii* LODDER et KREGER-VAN RIJ

Syn. *Hansenula ciferrii* LODDER

I 分離試料及び方法

分離試料を次の表に示す。

菌株番号	分離試料	菌株番号	分離試料
No. 287	生甘藷皮(和歌山県, 日高郡)	No. 289	山麴酛(秋田県, 北鹿酒類第2工場)
No. 288	山麴酛(青森県, 八戸酒類第3工場)	No. 290	〃 (秋田県, 渡辺彦兵衛商店)

II 実験及び結果

(A) 細胞の形状, 大きさ(麦芽汁25~26°C, 3~4日)

菌株番号	形状	大きさ(μ)
No. 287	主として楕円形, 稀に少々長楕円形	7.9~4.2×4.3~3.0
No. 288	主として楕円形, 卵円形, 稀に球形, 乃至少々長楕円形, 長卵円形	6.4~4.0×5.1~3.0, (5.7) ² ~(3.7) ²
No. 289	主として短楕円形, 短卵円形, 稀に球形を呈し延長形を全く欠く	7.3~3.2×4.8~2.7, (4.8) ² ~(3.2) ²
No. 290	主として短楕円形, 短卵円形, 次いで球形を呈し延長形を全く欠く	6.4~3.7×4.3~3.0, (4.3) ² ~(2.2) ²

即ち各菌株を通じ, 主として楕円形・卵円形次いで球形にして, 典型的な延長形を欠く(附図参照)。

(B) 液体培養: 麴汁及び麦芽汁上, 各菌株を通じ産膜性弱く, 25~26°C, 3~4日後微かに器壁に上昇し, 極めて菲薄な皮膜の痕跡を認められるのみ, 約1週間後漸く灰白色の極めて菲薄平滑な皮膜を形成するが, (No. 287, No. 290の2株は完全な皮膜を形成しない場合が多い。)日を経るも決して肥厚しない。醸酵に依る気泡の発生を認め, エステル様芳香を放ち, 液は始め濁独するが後沈澱酵母を生ずるに至り少々透明となる* (附図参照)。

(C) 劃線培養:

麦芽汁寒天(17°C, 1カ月)……各菌株を通じ黄白色乃至帯黄褐色, 湿潤光沢のある平滑扁平な菌苔をつくる。周縁は概ね単調, 僅かに細かい鋸歯状に出入し, 屢々毛状を呈する。

* 本菌株群の産膜性の微弱なる事は, 分類上注目すべき性質であるが, 本菌株群同様麴汁及び麦芽汁上皮膜形成極めて微弱乃至不完全な *Hansenula ciferrii* LODDER (NRRL-Y1322), *Hansenula subpelliculosa* BEDFORD (NRRL-Y1683) の2株を本菌株群と共に, 次の組成培地に培養した処, すべての菌株を通じ25~26°C, 3~4日後既に明らかに管壁に上昇し, 麴汁乃至麦芽汁に比して少々發育良好で, 菲薄乍ら平滑乃至微褶皺のある皮膜を形成する事を認めた。

エチル・アルコール…3%, (NH₄)₂SO₄…0.5%, カザミノ酸…0.5%, トリプトファン…0.005%, KH₂PO₄…0.1%, MgSO₄7aq…0.05%, ビタミン混液…LODDERの濃度。(以下 assimilation media と略称する)