醤油の化学醸造に関する研究 (X)

化学醸造諸味と酵素作用 (III) アミラーゼ

村上英也, 奥山宏造, 杉田誠一

(昭和 25 年 7 月 21 日 受理)

Studies on chemical soy brewing (X)

The enzymatic action in mash (III) Amylase

By

H. Murakami, K. Okuyama, S. Sugita,

天然醸造醤油諸味中の酵素作用については既に大島博士⁽¹⁾, 木下氏⁽²⁾, 石丸氏⁽³⁾, 松本博士⁽⁴⁾等の詳細な研究がある。而して之等は諸味経過に伴う酵素作用の消長についてであるが, 就中松本博士が新舊諸味の酵素作用を比較された結果は興味あるもので, 天然醸造に於ては諸味経過中種々の微生物の作用が加わりその酵素作用も單に麹菌酵素のみの作用ではなく, アミラーゼについては古諸味は馬鈴薯菌のアミラーゼに似ており, プロテアーゼについては餘り區別はないが古諸味の方はペプシナーゼの外にトリプシナーゼの作用が顯著であるとされている。然し微生物の關與する事が少いとされる化学醸造諸味に於ては, 多少趣が異なるものと思われるので我々は天然醸造諸味の場合と比較してその點を明らかにし度い。

諸味は第 V 報實地醸造試験に於ける No. 1 (天然醸造 6 ヶ月), No. 3 (減麴含糖化学醸造 6 ヶ月) 及び著者の一人 (杉田) の自家醸造 (含糖化しない野田式新式二號 7 日) のものを使用した。

A. アミラーゼ作用の最適水素イオン濃度

第一磷酸カリ苛性ソーダ及び醋酸—醋酸ソーダを以て pH 4.0—8.0 の緩衝液を造り, その 4cc を諸味中アミラーゼの強弱に應じて 0.5~2% 可溶性澱粉液 5cc に加え, 諸味壓搾汁の濾過したものを 5~10 倍に稀釋したものを 1cc を加え 55°C に 2 時間作用させた後ペルトラン氏法によつて生成糖分を定量すると共に, 沃度反應によつて色調の消失時間を測定した。

(a) ペルトラン氏法による生成糖の定量

酵素液は諸味濾液 10 倍稀釋液 1cc, 對照には 1% デアスターゼ (中村瀧製藥株式會社製品) 溶液 1cc, 澱粉液は何れの場合も 2% のもの (Schering Kahlbaum 製) を使用する。酵素作用後 10 分間放冷して直ちにフューリング氏液を加える。數字は糖 mg 數を示す。

PH	天然醸造 (6 ヶ月)	化学醸造 (6 ヶ月)	化学醸造 (6 日)	1%デアスターゼ
4.0	7.470	9.015	—	5.285
4.2	7.858	9.515	—	7.470
4.4	17.880	9.770	—	6.350
4.6	20.530	10.025	—	7.470
4.8	23.236	12.232	5.530	10.666
5.0	25.784	13.792	6.095	30.162
5.2	27.550	14.062	6.350	33.485
5.4	28.282	15.925	5.910	35.620
5.6	25.346	16.725	5.530	38.336
5.8	25.000	16.270	—	35.924
6.0	21.156	17.336	—	33.312
6.2	21.638	15.720	—	32.280
6.4	18.082	14.062	—	32.202
6.6	18.490	13.405	—	29.656
6.8	16.590	13.995	—	28.282
7.0	14.395	12.768	—	24.576
7.2	13.656	12.304	—	24.155
7.4	12.356	7.604	—	18.418
7.6	12.750	11.708	—	18.082
7.8	8.485	10.666	—	17.196
8.0	9.415	10.321	—	18.525

之により最適水素イオン濃度は天然醸造 5.4, 化學醸造 6ヶ月 5.6, 同 7日 5.2, デアスターゼ 5.6 にあり, 酵素力は 1% デアスターゼ最も強く之を 100 とすれば、各々の最適水素イオン濃度に於て天然醸造 73.76, 化學醸造 6ヶ月 43.62, 同 7日 6.56 となり, 同一時期に於ては化學醸造の酵素力は天然醸造のその 59.15% にしか當らない。又アミラーゼの作用はアルカリ側に於ては比較的安定であるが酸性側に於ては急激に減少する。

化學醸造に於ける酵素力の弱い理由は色々あると思われるが、麴菌體のアミラーゼの強弱については既に醬麥麴が大豆麴やコブラミール麴に比してはるかに強力である事が明らかにされているので問題とならないので、一つの原因としては仕込原料の製麴料の多少に由ると考えられる。例えば天然醸造では脱脂大豆, 醬麥の 70 疋等量混合物を全部製麴したのに對し, 化學醸造では同一同量原料でも醬麥 21 疋だけを製麴したに過ぎないので、この點からすれば化學醸造諸味の酵素量は天然醸造諸味のその約 $\frac{1}{4}$ に過ぎないわけで、従つて化學醸造諸味の酵素力は、麴量に比較して甚しく強力といわなくてはならない。それにも拘らず屢々報告したように、鹽酸分解を行つたために仕込 3ヶ月後に至つて殆ど糖分の生成を見なかの野田鹽酸濃度 6% 以上になると却つて減少する等の現象は如何にして説明されようか。尤も仕込 7日目つたり式新式二號では、醬麥麴を脱脂大豆の半量、即ち麴量は天然醸造の $\frac{1}{4}$ を使用したのであるが、その酵素力は天然醸造の 22.45% にしか當らないわけで弱いものと云うべきである。要するに上記ベルトラン氏法による定量に於ては、酵素液中の糖分を控除しないので減麴含糖化學醸造諸味中に既に相當の糖分が保存されているから、本法によつて酵素力を比較する事は妥當でないわけで次に作用液にヨード反應を試みた。

(b) 作用時間経過と沃度反應

酵素力は何れも諸味濾液 5 倍稀釋液 1cc, 可溶性澱粉液は天然醸造では 1%, 化學醸造では 0.5% のもの各 5cc を使用する。試験管に緩衝液 4cc, 可溶性澱粉溶液 5cc, を加え 55°C の湯煎中に 10 分間保ち酵素液 1cc を加え 5分間毎に pH 5.0—12.0 までは 2分間毎に反應液の 1 滴をとり、豫め試験管に冷蒸溜水 2cc を入れておいたものの中に滴下直ちに 0.1N 沃度液 1 滴を滴下し沃度反應陰性の點を見出し更に沃度液 4 滴を滴下し、全く反應陰性の點を以て終點とする（反應陰性の終點の色調は酵素液の種類によつて異なるから豫め對照試験をしておく必要がある）。數字は終點までの所要時間を示す。

pH	4.0	4.2	4.4	4.6	4.8	5.0	5.2	5.4	5.6	5.8	6.0	6.2	6.4	6.6	6.8	7.0	7.2	7.4	7.6	7.8	8.0
天然醸造 (6ヶ月)	+	+	170	150	70	39	37	35	37	39	55	60	65	70	80	80	100	105	110	190	210
化學醸造 (6ヶ月)	+	+	+	+	180	55	47	41	39	40	43	47	55	60	60	65	70	80	120	160	180
化學醸造 (7日)	+	+	+	210	160	44	42	43	46	50	53	55	60	65	70	70	80	85	100	110	160

(+印は作用 4 時間後も反應消失しない事を示す)

本試験は 2 回の試験を行つたもので最初は天然醸造も化學醸造も共に酵素液として諸味濾液 10 倍稀釋液可溶性澱粉液は 1% のものを使用したのが、終點までの所要時間は天然醸造で pH 5.4 に於て最短 65 分を要し、化學醸造ではどんな pH に於ても 3 時間を經過しても終點となるものが無いので中止し、上の結果は第二回のものであり、前後共最適 pH には變りがない。

即ち酵素液中の既存糖分の關係しない本反應の結果より見ると、最適水素イオン濃度はベルトラン氏法による場合と同一であるが、反應速度は天然醸造が最も速い、而して水素イオン濃度の變化による反應速度の變化を見ると、酸性側に於けるそれは兩者に於て甚しく異り化學醸造が遅い。例えば天然醸造で 70 分で反應終了するが化學醸造では 180 分でやつと終了し、而も pH 4.6 以上の酸性に於ては遂に反應を完了する事が無い。諸味經過に伴う pH の變化に就て大島博士によれば、天然醸造 6ヶ月に於て 4.43, 石丸氏によれば 5.09 である。化學醸造についてはまだ報告に接しないが假りに天然醸造に近い経過をとるものとすれば、酸性に於てかくも反應速度が減退する所に化學醸造諸味の酵素作用不活潑の一因があるものと考えられる。これに對しアルカリ性側に於ける速度は僅少の違いではあるがむしろ化學醸造の方が速い。

この試験では、可溶性澱粉液の濃度が違つて化學醸造では天然醸造の $\frac{1}{2}$ になっているのであつて、濃度 1% 液の場合は前記の様に化學醸造のアミラーゼ作用速度は、天然醸造に對し比較にならない程緩慢であり、酵素液として 10 倍稀釋液を用いた場合の結果によると、各最適 pH に於て反應消失時間は天然醸造 70 分, 化學醸造 210 分を要し、假りに時間を以て反應のし方を表わすとすれば天然醸造は 3 倍も

速いことになる。

B. アミラーゼ作用の最適温度

(b) 沃度反応試験と全く同様に試料をとり所定温度に保温して酵素液を添加してから天然醸造は 35 分後に、化学醸造は 40 分後に沃度反応を試みた。

pH	天然醸造 (6ヶ月)										化学醸造 (6ヶ月)									
	40℃	45℃	50℃	55℃	60℃	65℃	70℃	75℃	80℃	40℃	45℃	50℃	55℃	60℃	65℃	70℃	75℃	80℃		
4.8	卅	卅	卅	卅	卅	+	±	+	+	卅	卅	卅	卅	卅	卅	-	+	+		
5.0	卅	+	+	+	±	-	-	-	-	卅	卅	-	+	+	卅	-	-	-		
5.2	卅	±	±	±	-	-	-	-	-	卅	卅	-	+	+	卅	+	-	-		
5.4	±	±	±	-	-	-	-	±	±	+	+	-	-	±	-	+	±	+		
5.6	±	-	-	±	±	±	+	+	+	+	±	-	-	-	±	+	+	+		
5.8	卅	±	±	±	+	+	+	+	+	卅	+	-	-	+	+	+	±	+		
6.0	卅	+	±	±	+	+	+	+	+	卅	卅	-	+	+	卅	卅	+	+		
6.2	卅	+	+	+	+	+	+	卅	+	卅	卅	+	±	+	卅	卅	卅	+		
6.4	卅	卅	+	+	+	卅	卅	卅	+	卅	卅	+	+	卅	卅	卅	卅	+		

符號は反應の有無及程度を示したもので、-は黄色、+はやゝ赤色を帯びた黄色、卅は褐色を帯びた赤色、卅は紫色を帯びた褐色を示す。以下同様。

之を見ると兩醸造共明確な相違はなく共に酸性側に於て耐熱性があり、アルカリ側に於てないが、天然醸造は特に 60~70°C の酸性側高温に依つて活潑であり、化学醸造は 50°C~55°C のアルカリ側低温に於ても活潑である。

最高温度の限界は pH 5.0~5.2 の比較的酸性側で 80°C にてもよく作用する。この點松本博士は天然醸造の古諸味では 85°C 以上でも作用するが、新(若)諸味ではこの温度で作用力を失うとして居られる。

C. アミラーゼ作用の食鹽による影響

酵素液として 諸味濾液 5 倍稀釋液 (共に 6 ヶ月経過諸味) 1cc, 市販デアスターゼ 1% 水溶液 1cc を用い、可溶性澱粉液は天然醸造、化学醸造及びデアスターゼすべて 0.5% のもので、食鹽を各種濃度に溶かしたもの 9cc を使用、55°C に作用させ (緩衝液なし) 6 分間隔毎にその一滴をとり沃度反應を試みた。

経過時間(分)		6	12	18	24	30	36	42	48	54	60	70	80	90	100	110	120	130	140	160	180
食鹽濃度(%)																					
天然醸造	0	卅	卅	+	+	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	5	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10	+	+	+	+	+	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	15	卅	卅	+	+	+	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	20	卅	+	+	+	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	25	卅	卅	+	+	+	+	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
化学醸造	0	卅	卅	+	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	5	卅	+	+	+	+	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	15	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	20	卅	卅	卅	卅	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	+	±	-	±	-
	25	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	+
デアスターゼ	0	+	+	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	5	+	+	±	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	15	卅	卅	卅	卅	卅	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	20	卅	卅	卅	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	25	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	+

この結果を見ると食鹽濃度が高まるに従つて作用が弱まることは何れの場合も同様であるが、作用時間のある一定以上では食鹽濃度 5% 及び 20% のところで、その前後の濃度のところよりむしろ作用が進

み逆轉していることは多くの研究報告と一致する。特に天然醸造に於て之が顯著である事は特に馬鈴薯菌の様な強力アミラーゼを分泌する微生物が存在した結果ではないかと考えられる。

酵素の耐鹽性は天然醸造が最も強く、いかなる食鹽濃度に於ても 50 分間にして反應完了するに對し、化學醸造及デアスターゼでは 10% 以上では完了する事がない。唯後者の場合でも 20% のところでは作用時間の長い場合は完了する。この實驗は食鹽濃度を極めて不連續的にとつたので明確に斷言する事は出来ないが、化學醸造に於て使用鹽酸濃度は 5% 前後の野田式新式號よりも稀薄なものを使用するべきであると唱える理由の一つである。

要 旨

天然醸造と化學醸造の諸味中のアミラーゼについて市販デアスターゼと比較し、作用の最適水素イオン濃度、最適温度、及び食鹽による影響を調査した。

(1) 最適水素イオン濃度は天然醸造（経過 6 ヶ月）pH 5.4, 化學醸造（経過 6 ヶ月）5.6, 同（経過 7 日）5.2, デアスターゼ 5.6 である。

(2) 何れの場合もアミラーゼの作用速度は、反應液が酵素の最適水素イオン濃度より酸性に傾くに従つて急激に小くなるが、その度は化學醸造に於て特に著しい。之に對しアルカリ性に傾くに従つてゆるやかに小となるが、その度は天然醸造に於て著しく従つてむしろ速度は化學醸造の方が少し速い。

(3) アミラーゼの最適温度は天然醸造では 60~70°C の高温酸性側に伸びているが、化學醸造では 50~55°C の低温アルカリ側に伸びている。

(4) アミラーゼの食鹽による影響は天然醸造では非常に少いが、化學醸造及びデアスターゼでは大きく、食鹽濃度 10% 以上になると本試験に於ては遂に作用を完了しない。

(5) 一般的に見て天然醸造に於けるアミラーゼでは極めて特異的な性質を持つているのに對し、同一醸造期間を経過したものでも化學醸造に於けるアミラーゼはデアスターゼ製品と同様な性質を有しており之等の諸現象は諸味中に存在する保護膠質の作用によるものと考えられるが、何れにしても醤油醸造をアミラーゼの利用的見地から見れば化學醸造のやり方は甚しく不利であると云い得る。

(6) 之を要するに化學醸造に於けるアミラーゼの作用力は天然醸造に於けるよりも遙かに弱く、その原因として麴料の少い事も考えられるが、むしろ膠質體としてのアミラーゼ自體の性質によると考えるのが正しい。

本試験には松本先生の御指導を仰ぐ所が多かつた。厚く感謝申上げる。

(1) 大島：醸造學雜誌 4, 3, 大正 15.

(2) 木下、伊澤、三澤：日本醸造協會雜誌 24, 8, 14—19, 昭和 4.

(3) 石丸：日本醸造協會雜誌 34, 553, 昭和 14.

(4) 松本：日本醸造協會雜誌 34, 239—242, 373—377 昭和 14.

Summary

We studied about the amylase action in mash both ordinary and chemical.

(1) The optimum hydrogen ion concentration of amylase in mash :

{	ordinary (six months)	5.4
	chemical (six months)	5.6
	" (7 days)	5.2
	diastase	5.6

(2) The decreasing velocity of the amylase action caused by the deviation of hydrogen ion concentration from optimum to acidic side is greater in the chemical mash than in the ordinary mash, but in alkaline side is contrary.

(3) The optimum temperature of amylase action is 60~70°C in the ordinary and 50~55°C in the chemical, and its optimum hydrogen ion concentration extends to the acidic in the former and to the alkaline in the latter.

(4) The diastatic action in mash is interfered variously by the presence of NaCl, for example strongly in the ordinary and weakly in the chemical.

(5) The amylase in the chemical mash resembles the diastase closely in its property, but in the ordinary mash it has a special property.

The reason why the action of amylase in the ordinary mash lies in not only the amount of kōji but its original property as a colloidal catalyser by the presence of protecting colloid.

輸入洋酒の分析値

武藤浩, 井原辰男, 奥村榮一郎, 北森滋, 花井四郎, 大澤美弘, 近藤進
(昭和 25 年 10 月 10 日受理)

國稅廳の依頼により輸入洋酒 85 點の分析を行う機会を得たのでその結果を報告する。比重は比重計によりアルコールは常法により又エキスは實測に依つた。フーゼル油以下の諸成分はアルコール定量の蒸溜液について常法(フーゼル油はダニリン硫酸比色法, メチルアルコールは公定法, アルデヒドはリッパ一變法, フルフロールはアニリン醋酸比色法)により分析換算したものである。(100cc 中の g 數を示す) 總酸及揮發酸は試料 10cc に對する N/10 NaOH 滴定數(cc)で示した。又殘液 Bg は蒸溜殘液に加水し原容に復したもののボーリング示度である。又若干の國産品の分析値をも參考迄に載せた。

	試料番號	供 試 品
ウイスキー	1	Old Angus Scotch Whisky 86 proof (Glasgow)
	2	Macgregor " " 86.8 pf. (London)
	3	Canadian Club Whisky (Canada, Walkerville)
	4	Old Taylor Kentucky Straight Bourborn Whisky 86 pf. (U. S. A. Louisville)
	5	I. W. Harper " " " " " (")
	6	Four Roses Whisky 90 pf. (U. S. A.)
	7	Fleischmann's " " (N. Y.)
コニヤック	8	Cognac Monnet Three Stars (Fr.)
	9	" Hennessy extra (")
	10	" Courvoisier Napoleon (")
	11	" Richelieu V. O. (Hong Kong)
	12	" Marnier-Lapostolle Cordon Rouge (Fr.)
カルヴァドス ラ ム	13	Armagnac Royal Nectar (")
	14	Calvados Jacques Doucet (")
	15	Cusenier, Tiger Head Rum 44' (")
	16	Ron Merito Rum White Label 86 pf. (U. S. A.)
	17	Bardinet, Rhum Negrita 44' (Bordeaux)
	18	Ron Bacardi Luperior Rum 44.5° (Cuba)
ウオッカ キ ル シ ュ	19	Du Bouchett, Vodka 100 pf. (U. S. A.)
	20	Dolfi, Kirsch d' Alsace (Fr., Strasbourg)
	21	Bols, Kirschwasser 45% (Amsterdam)
ジ ン	22	" , Z. O. Genever (")
アクヴァヴァイト ブドウ酒	23	Aaloborg, Taffel Akvavit (Denmark)
	24	J. J. Mortier, Vin Rouges, Bordeaux (Bordeaux)
	25	" 1938 Ch. Gruaud-Larose, St. Julien, Haut-Medoc (")
	26	" 1944 Ch. Margaux, Margaux, " (")
	27	Le Vallon Hanappier, 1943 (")
	28	O. P. B. Barbera Wine (It., Barolo)
	29	Italian Swiss Colony, California Haut-Sauterne Gold Medal 13% (U. S. A.)
	30	J. J. Mortier, Vin Blanco, Bordeaux Superieur (Bordeaux)
	31	" , 1939 Ch. d'Yquem Sauternes (")
	32	Jerez Palido (Spain)
甘味ブドウ酒	33	Marques del Merits, No. 120 Dry Sherry 18—20% (N. Y.)
	34	Gilbey, Spanish Sherry