米麴の酵素力価と清酒もろみの発酵特性

布川弥太郎・椎木 敏・岩野君夫*・斉藤和夫（国税庁醸造試験所）

昭和 56 年 2 月 3 日受理

Correlation of Enzyme Activities of Rice-Koji with Fermentation
Characteristics of Moromi-MashYataro NUNOKAWA, Satoshi SHINOKI, Kimio IWANO, and Kazuo SAITO
(National Research Institute of Brewing)

緒 言

さきに筆者らは、清酒もろみの並行複発酵について速度論的解析を行い、またそれにあづかる諸酵素の役割を明らかにした¹⁾。その結果、酸性プロテアーゼが蒸米の溶解に極めて重要な役割を演じていることを知った^{2,3)}。そして α -アミラーゼ、グルコアミラーゼ、酸性プロテアーゼの適正力価は、それぞれ仕込白米 g 当り 200, 50, 1000 単位であろうと指摘した。

これらの結論はすべて実験室的なものであり、実地醸造においてどれだけそれが反映するかを知ることは興味を持たれる。そこで全国の醸造場から留麴サンプルを蒐集し、それらの酵素分布をしらべると共に、その麴を用いた清酒もろみの発酵特性と酵素力との関係をしらべた。発酵特性はもろみ経過表により把握したのであるが、残念ながら必要データの記載のない場合が多かった。したがって情報量に不足をきたしたのであるが、それでも実験室で得た結論が、実地醸造にも良く反映していることを見出した。

実 験 方 法

1. 清酒麴の酵素活性測定

清酒麴は各鑑定官室に依頼して、53BY に製麴されたもの 114 試料を、全国的規模で蒐集した。酵素の抽出は清酒麴 20g に 0.5% 食塩溶液 (pH 5.0) 50 ml を加えて低温室で 1 夜抽出し、ろ過後ろ液 25 ml をセルロースチューブに入れ、蒸留水に対して低温室で 1 夜透析したものを蒸留水で 50 ml に定容し抽出酵素液とした。 α -アミラーゼ (AAase)、酸性プロテアーゼ (APase) は国

税庁所定分析法⁴⁾にしたがって測定し、活性単位はそれぞれ $U=D_{30}^{40}$, $U=\mu\text{g}$ チロシン/60 分とした。グルコアミラーゼ (GAase) およびトランスグルコシダーゼ (TGase) は筆者らの設定した方法^{5,6)}にしたがって測定し、活性単位はそれぞれ $U=\text{mg}$ グルコース/60 分, $U=\mu\text{g}$ グルコース/60 分とした。酸性カルボキシペプチダーゼ (ACPase) は Z-Glu-Tyr を基質とした中台ら⁷⁾の方法に準じて測定し、活性単位は $U=\mu\text{g}$ チロシン/60 分とした。

なお、各酵素力価の表示は、麴水分を測定し麴乾物量 g 当りに換算したものとした。

2. 発 酵 特 性

蒐集した留麴に対応する仕込経過等から、最高ボーメ、原エキス、粕歩合、もろみ日数、白米トン当りアルコール収得量、10 日目のアルコール分、15 日目のアルコール分、10 日目の品温、15 日目の品温、四段またはアル添時のアルコール分および四段またはアル添時の日本酒度の 11 項目を抽出し、発酵特性とした。このほか、これらの発酵特性から 10 日間および 15 日間の平均醱酵速度を計算し、データとして付加した。また一部に 10 日間と 15 日間の平均醱酵速度比を求めて引用した。なお平均醱酵速度については、もろみの品温からアレニウス式⁸⁾を用いて 15°C における値に変換したものとした。

3. 要 因 分 析

酵素活性間および酵素活性と対応するもろみの発酵特性間の 2 組のそれぞれについて相関係数を計算した。

計算には HITAC-10 を用いた。

実験結果および考察

1. 清酒麴の各酵素活性分布と相関

* 東京国税局鑑定官室

AAase, GAase, APase, ACPase, および TGase のそれぞれにつき、各国税局ごとに平均値、最高値、最低値を求めて、その分布を第 1～5 図に示した。これによると酵素力価は各醸造場間でかなり変動があり、麴作りはバラエティに豊んでいることがうかがわれた。全般的にみて、東京、金沢、高松、名古屋局管内に力価の高いものが多く、大阪局管内に力価の低いものが多かった。

各酵素間の相関マトリックスを求めたのが第 1 表である。これによると、AAase とでん粉分解系である TGase や GAase とは極めて高い相関があるが、たん白質分解系である APase や ACPase とは全然相関がなかった。

第 1 図 留麴中の α -アミラーゼ活性分布

第 2 図 留麴中のグルコアミラーゼ活性分布

第 3 図 留麴中のトランスグルコシダーゼ活性分布

これは筆者らが古く報告し⁹⁾、また岡崎ら¹⁰⁾が追認しているように、AAase と APase や ACPase とはそれぞれ生産最適温度が異なるためと思われる。でん粉分解系の GAase と TGase, たん白質分解系の APase と ACPase 間に極めて高い相関がみられるのは良いとしても、APase と GAase や TGase, ACPase と TGase との間にも高い相関がみられ、必ずしも生産最適温度の相異のみから説明しきれないものがあつた。結局、製麴操作の違いによる差異は AAase と APase や ACPase の

第 4 図 留麴中の酸性プロテアーゼ活性分布

第 5 図 留麴中の酸性カルボキシペプチダーゼ活性分布

第 1 表 米麴酵素力価の相関

AAase					
GAase	0.5255***				
APase	-0.0135	0.3866***			
ACPase	0.0377***	0.2344*	0.5241***		
TGase	0.3471***	0.4941***	0.2785**	0.3924***	
	AAase	GAase	APase	ACPase	TGase
最 大	1.892	0.318	3.921	15.709	0.368
最 小	0.666	0.120	1.325	3.758	0.049
平 均	1.270	0.223	2.285	7.750	0.182
標準偏差	0.259	0.040	0.441	1.868	0.058

単位: ku/g-乾物量 $n=13$

* $r(100, 0.05) = 0.1946$

** $r(100, 0.01) = 0.2540$

*** $r(100, 0.001) = 0.3202$

AAase: α -アミラーゼ, GAase: グルコアミラーゼ, APase: 酸性プロテアーゼ, ACPase: 酸性カルボキシペプチダーゼ, TGase: トランスグルコシダーゼ

第2表 酵素力価と発酵特性との相関

	AAase	GAase	APase	ACPase	最 大	最 小	平 均	標準偏差
最 高 Be'	-0.0219	0.1394	0.3346**	0.1152	9.9	6.2	7.7	0.67
原 エ キ ス	0.1982	0.1205	0.0783	0.0609	38.7	34.3	36.1	1.1
粕 歩 合	-0.2291	-0.1671	-0.2809*	-0.1462	38.0	12.2	24.7	4.2
ア ル コ ー ル 収 得 量	0.1118	0.2632*	0.2125	0.1597	38.5	31.4	35.4	1.5
15 日 目 ア ル コ ー ル	0.1824	0.2698*	0.1488	0.0427	20.7	15.0	17.6	1.21
四段, アル添時アルコール	0.2553*	0.2253	0.0958	-0.0176	20.7	17.7	18.6	0.73
15 日 間 平 均 発 酵 速 度	0.1204	0.2778*	0.2038	0.0798	1.67	0.87	1.27	0.18
10日間と15日間との平均発酵速度比	0.1476	0.2379	0.2243	0.2830*	1.1	0.6	0.9	0.1

n=63

* $r(60, 0.05)=0.2500$ ** $r(60, 0.01)=0.3248$

AAase, GAase, APase, ACPase は第1表と同じ。

間にはっきり表われたものの、現在使用されている麴菌株では、一つの酵素の強いものは他も強いという風に、ほぼまんべんなく酵素を生産するものであることがうかがわれる。これらの結果は、筆者らが51BYにおいて小規模に蒐集した麴について行った実験結果¹¹⁾と殆んど同じであった。

2. 酵素力価と発酵特性間の相関

各酵素力価と製成歩合やもろみ発酵の諸特性間における相関マトリックスを求めたのが第2表である。ここでは、TGase はすべてに相関がなかったので省略した。第2表によれば、AAase はほとんどのものと相関がなく、むしろ APase が最高ボーメと粕歩合に正および負の相関を示した。また GAase はアルコール発酵関係の要因と相関を示すなど、筆者らの報告した¹⁾、APase の蒸米溶解への役割や、GAase によるアルコール発酵の律速を裏付ける結果が得られた。APase と粕歩合との相関については、佐無田ら¹²⁾が大阪国税局管内について調査した結果でも、極めて高い相関を得ている。

10日間の平均発酵速度と15日間の平均発酵速度との比、すなわち、もろみ前半と後半の発酵速度比と ACPase が相関を示した。これは ACPase の生成するアミノ酸が酵母の前半の発酵を促進する働きをなしたものと考えられる¹³⁾。

3. 製成歩合ともろみ発酵の諸特性との相関

製成歩合ともろみ発酵の諸特性間の相関マトリックス

を求めたのが第3表である。第3表によれば、原エキスは10日目品温と相関を示すが、15日目品温とは関係がなく、筆者らのいう前高後低型¹⁴⁾の蒸米溶解に対する有効性を裏付けていた。原エキスは10日目、15日目、四段またはアル添時におけるアルコール等と高い相関を示したのは当然であろう。

アルコール収得量もまた10日目品温と高い相関を示すが、15日目品温とは関係がなかった。また10日間平均発酵速度とは相関するが、15日間平均発酵速度とは相関せず、アルコール生成も前半の速度で支配されることを意味するものと考ええる。アルコール収得量が、10日目、15日目、四段またはアル添時のアルコールや四段、アル添時の日本酒度と相関するのは当然であろう。

粕歩合が、10日目の品温と逆相関していたことも前高後低型品温経過の蒸米溶解効果を裏づけているものと考えられる。当然のことながら、粕歩合は、15日目や四段、アル添時のアルコールおよび四段、アル添時の日本酒度と逆相関を示した。

4. もろみ発酵の諸特性間の相関

もろみ発酵の諸特性間の相関マトリックスを求めたのが第4表である。平均発酵速度は当然10、15日目、四段、アル添時のアルコールと高い相関を示したが、15日目の品温とは逆の相関を示した。また10、15日目アルコールやもろみ日数が10日目品温と相関あるいは逆相関する等、今迄述べてきたように、前急後緩（前高後

第3表 製成歩合ともろみ諸特性との相関

	原エキス	白米トン当りアルコール収得量	粕歩合	最 大	最 小	平 均	標準偏差
10 日 目 品 温	0.2539*	0.3322**	-0.3075*	18.5	12.0	15.7	1.33
15 日 目 〃	-0.0188	0.0652	-0.3053*	19.0	12.0	15.0	1.42
10 日 目 ア ル コ ー ル	0.3493**	0.2774*	-0.0959	19.3	10.4	13.7	1.67
15 日 目 〃	0.5434***	0.3394*	-0.2929*	20.7	15.0	17.6	1.21
四段, アル添時アルコール	0.6672***	0.2627*	-0.3409	20.7	17.0	18.6	0.73
〃 日本酒度	-0.0962	0.3937**	-0.2604*	10.5	-14.0	-2.4	5.73
10 日 間 平 均 発 酵 速 度	0.2647*	0.2627*	0.1514	1.98	0.99	1.43	0.17
15 日 間 〃	0.2788*	0.1291	0.0749	1.67	0.87	1.27	0.18

n=63

* $r(60, 0.05)=0.2500$ ** $r(60, 0.01)=0.3248$ *** $r(60, 0.001)=0.4078$

第4表 各もろみ特性間の相関

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1. もろみ日数									
2. 10日目品温	-△								
3. 15日目品温	×	◎							
4. 10日目アルコール	-△	△	×						
5. 15日目アルコール	-○	◎	×	◎					
6. 四段、アル添時アルコール	×	×	×	◎	◎				
7. “日本酒度	×	×	×	○	○	◎			
8. 10日間平均発酵速度	×	-△	-◎	◎	◎	◎	×		
9. 15日間 “	×	×	-◎	◎	◎	◎	×	◎	
最大	29	18.5	19.0	19.3	20.7	20.7	10.5	1.98	1.67
最小	15	12.0	12.0	10.4	15.0	17.0	-14.0	0.99	0.87
平均	18.9	15.7	15.0	13.7	17.6	18.6	-2.4	1.43	1.27
標準偏差	2.8	1.33	1.42	1.67	1.21	0.73	5.73	0.17	0.18
△ $r(60, 0.05) = 0.2500$	◎ $r(60, 0.001) = 0.4078$								
○ $r(60, 0.01) = 0.3248$	記号の前に-があるのは負の相関を示す。								

低)や前緩後急という発酵型式の存在することを示すデータが得られた。

もろみ日数が10, 15日目アルコールと逆相関し, 10, 15日目アルコールが10日間の平均発酵速度, さらに四段, アル添時のアルコールと高い相関を示したのは当然のことであろう。

要 約

全国的規模で蒐集した113点の留麴につき, α -アミラーゼ(AAase), グルコアミラーゼ(GAase), トランスグルコニダーゼ(TGase), 酸性プロテアーゼ(APase), および酸性カルボキシペプチダーゼ(ACPase)活性を測定し, これら酵素活性間の相関を求めた。更にこの留麴に対応するもろみの発酵特性および酵素活性間の相関を求めた(データの完備していた63のもろみ)。

1. AAaseとAPaseやACPaseとの間には相関は認められなかった。しかしAAaseとTGaseおよびGAase, GAaseとTGase, APaseとACPase, GAaseおよびTGase, ACPaseとTGaseとの間に高い相関がみられることから, 製麴操作による差異はAAaseとAPaseやACPase間に表われるものの, 殆んどの酵素がほぼまんべんなく生産されているものと考えられる。

2. APaseが最高ボーメと正の, 粕歩合と負の相関を示し, 蒸米溶解に寄与していることが暗示された。またGAaseはアルコール発酵関係の諸要因と相関していた。

3. 10日間の平均発酵速度と15日間の平均発酵速度との比がACPaseと相関した。

4. 原エキ스는10日目の品温と相関するが, 15日目の品温とは相関せず, アルコール収得量も10日目の品温と高い相関を示すが15日目の品温とは相関しなかった。またアルコール収得量は10日間の平均発酵速度とは相関するが, 15日間の平均発酵速度とは相関しなかつ

た。更に粕歩合は10日目の品温と逆相関した。これらのことは前急後緩あるいは前高後低型の存在を暗示するものであった。

5. 10, 15日目のアルコールは10日目の品温と相関し, もろみ日数は10日目の品温と逆相関を示した。これらも前急後緩あるいは前高後低型の反映と考えられる。

6. その他もろみ発酵上当然と思われる高い相関が, 多くのもろみ発酵特性間にみられた。

終りに試料蒐集に御尽力頂いた各国税局鑑定官室ならびに貴重な麴とデータを提供頂いた酒造場の方々に感謝の意を表します。また酵素力価の測定に協力下さった研修員山本豊一, 霜鳥健三, 恩田紀男, 細野長悦の諸兄に深甚の謝意を表します。本研究の御指導, 御鞭撻を頂きました前所長, 大塚謙一博士(三楽オーシャン)に深く感謝致します。

文 献

- 1) 布川弥太郎：醸工, 58, 391 (1976)
- 2) 岩野君夫, 布川弥太郎：醸協, 71, 943 (1976)
- 3) 岩野君夫, 布川弥太郎：醸協, 72, 78 (1977)
- 4) 国税庁所定分析法注解：日本醸造協会 (1974)
- 5) 岩野君夫, 風間敬夫, 布川弥太郎, 醸協, 71, 383 (1976)
- 6) 岩野君夫, 佐藤藤, 柴田和宏, 光永邦晴, 布川弥太郎：72, 459 (1977)
- 7) 中台忠信, 那須野精一, 井口信義：調味科学, 18, 435 (1971)
- 8) 布川弥太郎, 合源健一：醸協, 71, 863 (1976)
- 9) 鈴木明治, 小林信夫, 布川弥太郎, 伊藤満, 田中嵩一, 世木沢茂：醸協, 51, 914 (1956)
- 10) 岡崎直人, 竹内啓修, 菅間誠之助：醸協, 74, 683 (1979)
- 11) 岩野君夫, 布川弥太郎：醸協, 73, 555 (1978)
- 12) 佐無田隆, 鈴木英弥, 徳田耕二, 橋爪克己, 黒須猛行, 志水伸一, 上田護国, 桑原健治, 津川光昭, 伊藤 康, 泉谷武信, 田中 康, 品川 浩, 菅間誠之助：醸協, 76, 54 (1981)
- 13) NUNOKAWA, Y., SUMIYA, S., IWANO, K.: J. Ferment. Technol., 56, 380 (1978)
- 14) 布川弥太郎, 永谷正治, 岩野君夫：醸協, 73, 291 (1978)