焼酎白麹の各種酵素の活性調査について

岩野君夫・三上重明・福田清治・椎木 敏・島田豊明**
小幡孝之*・木崎康造*・新里修一*・荒巻 功*・佐伯 宏*
(国税庁醸造試験所・*熊本国税局鑑定官室・**現大阪国税局鑑定官室)

昭和 61 年 1 月 10 日受理

Distribution of Enzyme Activities of Shochu Koji.

Kimio IWANO, Shigeaki MIKAMI, Kiyoharu FUKUDA, Satoshi SHINOKI, Toyoaki SHIMADA,
Takaji OBATA, Yasuzo KIZAKI, Shuichi SHINZATO, Isao ARAMAKI and Hiroshi SAIKI
(National Research Institute of Brewing, 2-6-30, Takinogawa, Kita-ku, Tokyo 114)

Many shochu koji were collected from shochu makers in the south kyushu district and their various enzyme activities were investigated. The results shows that shochi koji has low α -amylase activity (13% of sake koji) and high activities of acid protease (13 times of sake koji) and transglucosidase (8 times of sake koji) and high activities of raw starch digestion.

The enzyme activities of shochu koji made of barley were lower than those made of rice, and especially the activities of transglucosidase, acid carboxypeptidase and acid protease were low.

Key words : 焼酎白麹, 酵素活性

緒 言

南九州における本格焼酎醸造は一般に白麹菌を種麹として製麹し、白麹菌に酵素とともにクエン酸を生産させ、これによって醪を酸性とし、雑菌汚染による腐造を防いでいる。白麹のみを原料とする一次醪はこの麹からのクエン酸により pH 3.2~3.5 の強い酸性を示す¹⁾。又、焼酎の発酵は 24~34°C の高温で行なわれる。低い pH と高い温度という焼酎醪の環境は酵素反応にとって厳しい条件であるが、前報²⁾において白麹の α -amylase (EC 3, 2, 1, 1), glucoamylase (EC 3, 2, 1, 3) 等はこのような環境において極めて安定性が高いことを明らかにした。

最近、焼酎の掛原料として米、麦、さつまいも以外に多種多様のものが使用されるようになった。これらの各種原料の原料利用率の向上をはかるためには、焼酎醪において焼酎白麹に由来する各種加水分解酵素が担っている役割を明らかにする必要がある。今回、筆者らはまず実際の焼酎製造に使われている白麹はどの程度の酵素活性を持っているか調査することとした。

実際の焼酎醸造で使用されている白麹の酵素活性の調査については、志垣ら³⁾が昭和 42 年に南九州の 24 酒造場について製麹条件ならびに麹の成分および酵素力を調

査し、機械こうじ法と蓋こうじ法の違いと総合糖化力、 α -amylase 力との関係などについて検討している。

筆者らは、すでに α -amylase と glucoamylase を正確に分別して活性を測定する方法を確立し⁴⁾、清酒麹および泡盛黒麹の活性調査を行った^{5,6)}。今回も全く同一の方法で南九州の焼酎製造場より白麹を集め、各種酵素活性の調査を行ったのでその結果を報告する。

実 験 方 法

1. 焼酎白麹の採取

熊本国税局管内の焼酎製造場より破碎精米を原料とした白麹（以下米麹と略す）については 20 場 27 点、大麦を原料とした白麹（以下麦麹と略す）については 11 場 12 点、合計 39 点の白麹を採取した。破碎精米はすべて政府米であったが、大麦は外国産精麦丸麦が 8、日本産精麦丸麦が 3、半押麦が 1 の内訳であった。採取月日は米麹については昭和 59 年 10 月~11 月、麦麹については昭和 59 年 12 月~昭和 60 年 3 月の間に行った。使用種麹はすべて白麹菌であった。

2. 水分、酸度、でん粉価の分析

水分はアルミ製のふた付ひょう量器に白麹を約 10 g とり、105°C で 5 時間乾燥し、デシケーター中で放冷後減量を測定し、水分 (%) とした。

酸度，でん粉価は国税庁所定分析法に準じた。

3. 酵素活性の測定

白麹の各種酵素活性として， α -amylase (AAase)，glucoamylase (GAase)，transglucosidase (TGase，3,2,1,20)，acid protease (APase，EC 3,4,23,6)，acid carboxypeptidase (ACPase，EC 3,4,16,1) および生でん粉分解力 (RSD) の 6 種類の酵素活性を測定することとし，測定法は前報²⁾のとおりとした。

実験結果

1. 焼酎白麹の水分，酸度およびでん粉価

集めた焼酎白麹の水分，酸度およびでん粉価を調べた結果を Table 1 にまとめて示した。

水分は米麹と麦麹でかなり異なり，麦麹が約 6% も多く，変動率も高い。この事は大麦（精度丸麦）は吸水しやすいことを示し，製造場によって洗麦，浸漬の方法がかなり異なるものと推論される。

酸度は腐造防止の観点から経験的に 4.5 以上が必要とされているが，Table 1 で明らかなように米麹の酸度

分布は平均 7.2，最大 10.2，最小 3.8 ではほぼ必要量を満足しているが，麦麹の酸度分布は平均 4.9，最大 7.8，最小 2.4 でやや酸度不足の麹がみられた。製麹方法と酸度との関係については，島田⁷⁾によって検討され，製麹後半に低温経過をとる必要があると報告している。酸度の変動率は米麹 20.5%，麦麹 32.3% と両者とも大きな値を示し，製造場の違いによって製麹経過に大きな違いがあることが推論される。

焼酎白麹のでん粉価は米麹と麦麹の間に大きな差がなく平均 63% であった。原料である破碎米や大麦のでん粉価は不明であるが，約 74% とすれば製麹中のでん粉消費量は平均 11~12% となり，島田⁷⁾の示した 12.9% とほぼ一致した。

Table 2 Distribution of enzyme activities of shochu koji.

		Ave.	Max.	Min.	SD	CV (%)
AAase	Rice	159	223	95	27.6	17.3
	Barley	88	131	51	20.8	23.7
GAase	Rice	282	442	170	70.5	25.0
	Barley	189	251	95	43.6	23.1
APase	Rice	29,101	43,168	20,093	5,317.6	18.3
	Barley	13,933	25,168	8,551	5,604.5	40.2
ACPase	Rice	9,224	13,241	6,366	1,537.5	16.7
	Barley	3,574	4,546	1,596	324.1	23.1
TGase	Rice	1,524	2,196	830	338.5	22.5
	Barley	501	753	180	177.1	35.4
RSD	Rice	17.7	24.8	11.2	2.9	16.6
	Barley	12.1	17.1	4.6	4.0	33.0

(Sample ; rice koji 27, barley koji 12, Activity ; units/g-dry koji)

Table 1 Contents of water, acidity and starch value of shochu koji.

		Ave.	Max.	Min.	SD	CV (%)
Water (%)	Rice	18.6	23.1	15.5	1.90	10.2
	Barley	25.3	30.6	16.3	3.92	15.5
Acidity (ml)	Rice	7.2	10.2	3.8	1.48	20.5
	Barley	4.9	7.8	2.4	1.60	32.3
Starch (%)	Rice	63.2	67.1	57.6	1.95	3.1
	Barley	62.4	66.6	57.2	2.86	4.6

Fig. 1 Distribution chart of various enzyme activities of shochu koji

2. 焼酎白麹の各種酵素活性の分布

焼酎白麹について 6 種類の酵素活性を測定し、平均値、最大値、最小値等を Table 2 に、度数分布を Fig. 1 に示した。酵素活性は乾燥麹 1g 当りの活性として表示した。

Table 2 から明らかであるが、6 種類の酵素とも変動率が大きく、最大値と最小値を較べると平均で約 2.7 倍ほどの大きな差があった。この事は製造場ごとの製麹方法の違いが酵素生産に大きく影響していることを示すものと考えられる。

最近、米麹のかわりに麦麹がかなり使用されるようになったが、麦麹と米麹を酵素活性の面から比較すると Table 2, Fig. 1 から明らかなように麦麹はすべての酵素活性が低い。特に大きな違いが認められたのは AAase, TGase, APase, ACPase であった。米麹の GAase は Fig. 1 より明らかなように 2 つの山を持つ分布を示し、活性の低い米麹群と麦麹がほぼ同一の酵素活性分布を示した。

精麦大麦は吸水しやすく、製麹中は発熱しやすいなど製麹操作の難しいことが知られているが、何故麦麹の酵素活性が低いのか今後検討する予定である。

Table 3 Correlation of various enzyme activities of shochu koji.

	AAase	GAase	APase	ACPase	TGase	RSD
AAase	1.0					
GAase	0.647*** 0.824***	1.0				
APase	0.624*** 0.504*	0.518** 0.246	1.0			
ACPase	0.678*** 0.945***	0.602*** 0.845***	0.449** 0.380	1.0		
TGase	0.859*** 0.870***	0.717*** 0.871***	0.582*** 0.292	0.733*** 0.900***	1.0	
RSD	0.761*** 0.518*	0.699*** 0.864***	0.786*** -0.005	0.606*** 0.634*	0.749*** 0.792***	1.0

Upper ; rice koji $r(27, 0.05)=0.323$, $r(27, 0.01)=0.445$, $r(27, 0.001)=0.568$

Down ; barley koji $r(12, 0.05)=0.497$, $r(12, 0.01)=0.658$, $r(12, 0.001)=0.795$

3. 各種酵素活性間の相関関係

Table 3 は焼酎白麹の各種酵素活性間の相関関係をまとめたものである。米麹は各種酵素活性間のすべてに高い相関関係が認められたが、麦麹は幾分異なり APase と他の酵素との間の相関係数が小さく、AAase とのみ危険率 5% で有意の相関関係が認められた。麦麹の APase の生産のみが、このように他の酵素と無関係である理由については不明であるが、今後検討する予定である。

米麹についてみれば、すべての酵素活性間に正の高い相関関係が認められたが、この事は酵素活性の強い麹はすべての酵素活性が強く、弱い麹はすべての酵素活性が弱いことを示すもので、製造場ごとの製麹方法の違いが大きく酵素生産に影響しているものと推論される。

4. 焼酎白麹の水分、酸度、でん粉価と各種酵素活性との相関関係

焼酎白麹の水分、酸度、でん粉価と各種酵素活性との相関関係を調べた結果を Table 4 にまとめた。

白麹の水分と各種酵素活性との間には全く相関関係は認められなかった。酸度と各種酵素活性との相関をみると、米麹および麦麹とも酸度と GAase 活性との間にかかなり高い正の相関関係が認められ、酸度の高い麹は GAase 活性も高い。この外、酸度と生でん粉分解力との間にも相関が認められた。

白麹のでん粉価と各種酵素活性との相関は麦麹については全く相関関係がなく、米麹については GAase, ACPase, TGase との間に負の相関関係が認められたが、その意味については不明である。

考 察

筆者らは、今回用いた酵素活性の測定法と全く同一の方法ですでに清酒麹および泡盛麹の酵素活性について調査し報告している^{5,6)}。そこで、今回の焼酎白麹の調査結果と、すでに報告した清酒麹及び泡盛麹の調査結果を比較してみたのが Table 5 である。

焼酎白麹の AAase は清酒麹に較べて極めて活性が低く、米麹で 8 分の 1、麦麹で 14 分の 1 であった。この

Table 4 Correlation between the enzyme activities and the components of koji.

		AAase	GAase	APase	ACPase	TGase	RSD
Water (%)	Rice Barley	-0.092 -0.087	-0.021 0.253	-0.125 -0.357	0.271 0.151	0.111 0.033	-0.088 0.409
Acidity (ml)	Rice Barley	0.311 0.164	0.534** 0.626*	0.163 -0.216	0.601*** 0.250	0.374* 0.484	0.355* 0.838***
Starch value (%)	Rice Barley	-0.248 0.214	-0.475** 0.210	-0.045 0.440	-0.566** 0.027	-0.326* 0.274	-0.304 0.243

Rice koji ; $r(27, 0.05)=0.323$, $r(27, 0.01)=0.445$, $r(27, 0.001)=0.568$

Barley koji ; $r(12, 0.05)=0.497$, $r(12, 0.01)=0.658$, $r(12, 0.0001)=0.795$

Table 5 Comparison of enzyme activities among shochu koji, awamori koji and sake koji.

Enzymes	Shochu (rice) (n=27)	Shochu (barley) (n=12)	Awamori (n=25)	Sake (n=113)
AAase	159	88	102	1,270
GAase	282	189	145	223
APase	29,101	13,933	17,529	2,285
ACPase	9,224	3,574	4,447	7,750
TGase	1,524	501	1,004	182
RSD	17.7	12.1	4.6	—

(Activity ; units/g-dry koji)

ような低い活性でありながらも低い pH での醗において、焼酎原料が十分に溶解されている事実は驚異的であり、この理由は前報で述べたように白麴菌の生産する AAase が酸性において極めて高い安定性と相対活性を持っているためと考えられる。

焼酎白麴の GAase は清酒麴に較べるとほぼ同程度であり、米麴はやや高く、麦麴はやや弱い程度である。

焼酎白麴の APase は清酒麴に較べると極めて高く、米麴は約 13 倍、麦麴でも約 6 倍であった。白麴菌がこのように多くの APase を生産するのは、原料の蛋白質が多いことによるのか、分生子が付くまで老なすためか、あるいは菌自体の特性によるものか極めて興味のあるところである。又、清酒醗において、APase は AAase と蒸米との無効吸着を解消し間接的に蒸米の溶解に対して大きな作用をしていることを筆者ら⁸⁾が明らかにしているが焼酎醗においてこのような多量の APase がどのような役割を担っているか興味深く、現在検討中である。

焼酎白麴の ACPase は清酒麴に較べてみると米麴がやや多く、麦麴は約半分の活性である。

焼酎白麴の TGase は清酒醗に較べてみるとかなり高く米麴が約 8 倍、麦麴が約 3 倍である。TGase は清酒醗においてイソマルトース、パノース等の非発酵性オリゴ糖や α -エチル-D-グルコシドを造る働きをしている⁹⁾。これらの知見から TGase は焼酎醗において無用な酵素のように考えられるが、このように多くの TGase が焼酎醗においてどのような役割を担っているか今後検討する予定である。

生でん粉分解力 (RSD) は清酒醗にはほとんど活性がないが、白麴にはかなりの活性が認められた。焼酎醗においてこの RSD が働いているのかどうか興味深い。

焼酎白麴と泡盛麴の酵素活性を較べてみると、活性のバランスはほぼ同様であるが、全体的にやや活性が弱く、ほぼ麦麴と同程度の活性である。泡盛醗造は全麴仕込みで、やや若目の麴を使用するため、各種酵素活性が低いものと考えられる。

要 約

南九州の焼酎製造場で実際に使用されている白麴を集め、各種酵素活性の調査を行ったところ以下の知見を得た。

1. 焼酎白麴の各種酵素バランスを清酒麴と較べてみると、 α -amylase が極端に低く、glucoamylase と acid carboxypeptidase はほぼ同程度、acid protease, transglucosidase が極めて高くかつ生でん粉分解力を有するのが特徴である。焼酎白麴と泡盛麴の酵素活性を較べてみると、活性のバランスはほぼ同様であるが、泡盛麴は全体的にやや活性が低い。

2. 焼酎白麴は調べた 6 種類の酵素活性とも変動率が 17~40% と大きく、最大値と最小値を較べると約 2.7 倍の大きな差があった。

3. 米麴と麦麴を較べると、麦麴は 6 種類の酵素活性のすべてが低く、特に α -amylase, transglucosidase, acid protease に大きな違いが認められた。

終りに臨み、本実験に御協力をいただいた当研究室、甲斐文男君、末広康夫君に、御指導を賜りました当試験所中村欽一所長に深謝致します。

文 献

- 1) しょうちゅう醸造技術 (財)日本醸造協会 (1983)
- 2) 岩野君夫, 三上重明, 福田清治, 椎木 敏, 島田豊明: 醸協 81, (7) 490 (1986)
- 3) 志垣邦雄, 西谷尚道, 椎木 敏, 山川造一郎, 鈴木昭紀: 醸協 63, (11) 1098 (1968)
- 4) 岩野君夫, 風間敬夫, 布川弥太郎: 醸協 71, (5) 383 (1976)
- 5) 布川弥太郎, 椎木 敏, 岩野君夫, 齊藤和夫: 醸協 76, (5) 350 (1981)
- 6) 布川弥太郎, 岩野君夫, 椎木 敏: 醸協 76, (5) 354 (1981)
- 7) 島田豊明, 志垣邦雄, 塚田定清, 戸塚 昭: 醸協 59, (1) 74 (1964)
- 8) 岩野君夫, 布川弥太郎: 醸協 71, (12) 943 (1976)
- 9) 岩野君夫, 柴田和宏, 布川弥太郎: 醸協 72, (7) 521 (1977)