低精米歩合の白米の溶解に及ぼす カルシウムイオンの役割

堀江修二・土佐典照・遠藤 齊*・角田潔和*・小泉武夫*
＜島根県立工業技術センター浜田工業技術指導所・*東京農業大学醸造学科＞

平成 5 年 12 月 8 日受理

The Influence of Calcium Ion on the Solution of
Low-Refined Rice in the Mash
The Role of Calcium in *Ginjo Moromi* (Mash for Specially Brewed Sake (Part 1))

Shuji HORIE, Noriteru TOSA, Hitoshi SHINDO*,
Kiyokazu KAKUTA* and Takeo KOIZUMI*
(**Institute of Industrial Science and Technology, Shimane prefecture, Hamada
Branch, 388-3, Shimokou-chou, Hamada-shi, Shimane 697 and *Tokyo
University of Agriculture, 1-1-1, Sakuraoka, Setagaya-ku, Tokyo 156*)

Effects of calcium ion, which is contained richly in well water used in brewing sake, was studied on the dissolution of rice grains. The adsorption of Ca^{2+} on low-refined rice (*Yamadanishiki*, 35%) in washing and steeping processes was examined by using model solutions containing Ca^{2+} alone (0~50 mg/l) or in combination with Mg^{2+} and Na^+ . Results indicated that Ca^{2+} was well adsorbed on rice during washing and steeping. Ca^{2+} -adsorbed steamed rice was solubilized by α -amylase more rapidly than the rice adsorbed other ions, and the solution of Ca^{2+} -adsorbed steamed rice was further accelerated by Ca^{2+} in brewing water.

Key words: 醸造用水・カルシウム・蒸米溶解性

緒 言

醸造用水については古くより研究され、発酵力から山田¹⁾はいわゆる強い水は一般に硬度が高くクロール含量の多い水とし、吉沢²⁾はクロール、磷酸、蒸発残渣等すべての成分の多いことをあげている。また、竹村³⁾は銘醸地の水は適当な硬度とカリウムが多いことを指摘している。

もろみの溶解と水質については無機イオンを多量に含む硬水が麹アミラーゼの溶出を増大し、デンプンへの吸着を防止することによって、もろみの糖化を促進することが知られている^{4~7)}。

特に硬度成分のカルシウムには α -アミラーゼの保護作用があることが古くから知られ、また、伊藤⁸⁾によればカルシウムイオンを麹に添加することによって、 α -アミラーゼ活性が高くなることを報告している。

洗米浸漬によって金属イオンが白米に吸着されること
吟醸もろみにおけるカルシウムの役割 (第1報)

も古くから知られており^{9~11)}、著者の一人の堀江¹²⁾は洗米浸漬による白米のカルシウムの吸着は精米歩合によって異なることを報告した。しかし、最近の吟醸酒造りのように精米歩合が35%以下の白米に対して、これらの研究がなされていない。

井水中に比較的多く含まれているカルシウム、マグネシウム、ナトリウムについて、モデル溶液を用いて洗米浸漬処理を行い、これらのイオンの動向と α -アミラーゼによる蒸米の溶解性について検討した。その結果、洗米浸漬水及び仕込水中のカルシウム含有量の多寡が蒸米の溶解性に影響する知見を得たので報告する。

実 験 方 法

1. 供試試料

原料白米は平成3年度、兵庫県産山田錦、精米歩合35%の白米を使用した。

カルシウム、マグネシウム、ナトリウムの各溶液はそれぞれの塩化物を蒸留水で調製した。

α -アミラーゼは *Aspergillus oryzae* 起源のナガセ生化学工業(株)製、デナチーム・SA-15 を使用した。

2. 浸漬による白米への金属イオンの吸着

白米 10 g をカルシウム、マグネシウム、ナトリウムの各イオンのそれぞれの含有量が 10, 25, 50 mg/l の単独溶液 30 ml に室温 (24°C) で 60 分浸漬した。浸漬液を 10,000 rpm で 15 分遠心分離し、この上澄み液について、さらに 0.45 μ m フィルター (Sartorius 社) でろ過し、ろ液の残存カルシウム、マグネシウム、ナトリウムを日立偏光ゼーマン Z-6000 原子吸光分析器を用いて測定し、白米に吸着された量を算出し等温吸着線求めた。

カルシウム、マグネシウム、ナトリウム、三者の混合溶液についても同様に等温吸着線求めた。

3. 洗米浸漬時間と白米中のカルシウムイオンの吸着

吟醸造りにおける洗米浸漬は 10 数分という短時間の操作で行う。短時間の洗米浸漬処理による白米へのカルシウム吸着量及び吸着平衡点について検討した。

白米 10 g を、水温 12°C、50 mg/l 濃度のカルシウム加工水 30 ml を用いて 3 回洗米し、さらに 30 ml の同温で同水にそれぞれ 5 分、10 分、15 分、30 分、60 分間浸漬した後、遠心分離機を用いて 1,500 rpm で 5 分間遠心脱水した後、105°C で 5 時間乾燥させた。この乾燥試料 1 g をケルダールフラスコに採り硝酸と過塩素酸を用いて湿性灰化し、日立偏光ゼーマン Z-6000 原子吸光分析機を用いて白米中のカルシウムの吸着量を求めた。

4. 蒸留水及びカルシウム溶液を用いた洗米浸漬による吸水率の比較

蒸留水とカルシウムを含む水で洗米浸漬をしたときの吸水率の差異について比較した。

白米 10 g を温度 12°C の蒸留水及び 50 mg/l 濃度のカルシウム加工水 30 ml でそれぞれ 3 回洗米し、さらに同温度、同水 30 ml で 60 分間浸漬し、水切り用に加工した遠心管を用いて 1,500 rpm で 5 分間遠心脱水を行い、浸漬吸水率を求めた。また蒸米の吸水率は試料を水切りした後、ただちに 60 分間蒸きょうし、蒸し取り直後の重量を測定して求めた。

5. カルシウム加工水を用いた蒸米の α -アミラーゼによる溶解性

洗米浸漬によってカルシウムが吸着された白米の α -アミラーゼによる溶解性の影響について検討した。

白米 10 g を 30 ml の温度 12°C の蒸留水、または 50 mg/l のカルシウム加工水でそれぞれ 3 回洗米し、さらに同温度、同水 30 ml を用いて 60 分浸漬した後、1,500 rpm で 5 分間遠心脱水を行い、ただちに 60 分間蒸きょうし、室温 12°C で 60 分間放冷した。放冷した

蒸米に対して、約 200 units の α -アミラーゼを含む pH 4.0, 25 mM 乳酸溶液、またはカルシウム 50 mg/l を含む同溶液 15 ml とトルオール 1 ml を加えて下記の 4 区分について 12°C の恒温水槽中で 10 日間消化を行った。

- 蒸留水洗米浸漬蒸米 + α -アミラーゼ緩衝溶液
- 蒸留水洗米浸漬蒸米 + カルシウム含 α -アミラーゼ緩衝溶液
- カルシウム加工水洗米浸漬蒸米 + α -アミラーゼ緩衝溶液
- カルシウム加工水洗米浸漬蒸米 + カルシウム含 α -アミラーゼ緩衝溶液

以後、a), b), c), d) の各試験区はそれぞれ (A+B), (A+B'), (A'+B), (A'+B') で表わした。

消化試料は 10,000 rpm で 30 分遠心分離し、上澄液量の重量と上澄液中の還元糖量¹³⁾及び α -アミラーゼ量¹⁴⁾を測定した。全液量中の還元糖量を溶解実績とし、 α -アミラーゼはもとの力価に対する吸着割合で表わした。

6. 消化蒸米の電子顕微鏡観察

実験 (5) の溶解試験と同様の方法でそれぞれ 72 時間消化したものを 200 ml の蒸留水で 5 回洗浄し 1 夜風乾した後、金蒸着し日立走査型電子顕微鏡 S-2100 を用いて 30 倍及び 40 倍で蒸米の溶解の状態を観察した。

実験結果

1. 浸漬による白米へのカルシウム、マグネシウム、ナトリウムの吸着

カルシウム、マグネシウム、ナトリウムの単独溶液及び混合溶液の白米に対する等温吸着線を Fig. 1 に示した。カルシウム、マグネシウムは単独溶液、混合溶液とも指数関数的な等温吸着線を示した。ナトリウムについて

Fig. 1 Adsorption isotherms of polished rice (yamadanisiki 35%).

Fig. 2 Relation between steeping time and increase of Calcium.
Ca 50 mg/l

では単独溶液は直線的に、また、混合溶液は指数関数的な等温吸着線を示した。

これらの各測定値から吸着量の収束値を推定するためカルシウム、マグネシウムの単独及び混合溶液は指数関数 $y = ae^{-bx} + c$ の式で求めた。浸漬温度 24°C のとき、白米 10 g に対する吸着量の収束値は Fig. 1 に示したようにカルシウムの単独溶液で 0.586 mg、混合溶液で約 47% 減の 0.275 mg であった。同様にマグネシウムの単独溶液で 0.26 mg、混合溶液で約 56% 減の 0.145 mg

であった。

ナトリウムの単独溶液は、この濃度範囲では吸着線がほぼ直線で収束値が得られなかったが、混合溶液では 0.086 mg であった。単独溶液での吸着量の多寡はカルシウムがマグネシウムより多く、混合溶液ではカルシウム > マグネシウム > ナトリウムの順であった。

2. 洗米浸漬時間と白米中のカルシウムの増加の関係

Fig. 2 に洗米及び各浸漬時間における白米中のカルシウムの量を示した。

吸着の収束値は指数関数の式から白米 100 g に対して 6.616 mg で、60 分間の洗米浸漬で収束値の 99.8% を示した。

この値を 100 としたとき、各時間の吸着の割合は 5 分で 63.6%、10 分で 77.6%、15 分で 86.3%、30 分で 96.8% であった。

実際の吟醸造りの洗米浸漬操作時間は約 15 分前後であることから、白米に対する水中のカルシウムの吸着量は吸着収束値の約 90% 前後になることが推定できる。

Table 1 Effects of Calcium on the rate of water adsorption.

	Rate of water adsorption	
	polished rice	steamed rice
steeping in distilled water	132.5	141.1
〃	132.5	140.4
steeping in water containing calcium	134.2	142.1
〃	132.5	140.4

Calcium (50mg/l), steeping time (1 hr) at 20°C

Fig. 3 Effects of Calcium on the digestion of rice by α -amylase (yamadanisiki 35%).

A : Rice treated with distilled water, A' : Rice treated with distilled water containing Calcium (Ca 50mg/l), B : 0.25mM Lactic acid buffer (pH 4.0)+Enzyme, B' : 0.25mM Lactic acid buffer (pH 4.0) containing Calcium (50mg/l)+Enzyme

3. カルシウム加工水を用いた洗米浸漬による吸水率の差異

Table 1 に蒸留水とカルシウム加工水による浸漬白米の吸水率と蒸米の吸水率を示した。

両者にはほとんど差異がなかった。

4. カルシウム加工水を用いた蒸米への α -アミラーゼによる溶解性

Fig. 3 に α -アミラーゼの消化による液量及び還元糖量、溶解実績を示した。

Fig. 3 から液量、還元糖量、溶解実績とも (A'+B') が最も高い値を示した。

(A'+B) と (A+B') との比較では、初期においては (A+B') が液量、還元糖量、溶解実績とも高い値を示したが、消化開始 8 日目では同程度となり、8 日目以後は (A'+B) の溶解実績が逆に若干高い値を示した。

(A+B) が液量、還元糖量、溶解実績とも最も低い値を示した。

これらのことから蒸米の溶解の促進は仕込水の中のカルシウムだけでなく、洗米浸漬により吸着されたカルシウムが蒸米の溶解を促進し、洗米浸漬水及び仕込水ともにカルシウムが存在すると、蒸米の溶解は相乗効果によってより促進されることがわかった。

α -アミラーゼの蒸米に対する吸着を Fig. 4 に示した。仕込初期 2～4 日目まで (A+B), (A+B'), (A'+B) 及び (A'+B') と遊離した α -アミラーゼが見られるものの、6 日目以降になるとほとんどが吸着されていた。

5. 消化蒸米の電子顕微鏡観察

電子顕微鏡の観察写真を Fig. 5 に示した。

30 倍の倍率で観察した蒸米の表面の消化の状態は溶解実績と同様に (A'+B') が最も強く、(A+B) が最も少なかった。また、(A+B'), (A'+B) 両者にはあまり大きな差が見られなかった。

Fig. 4 Adsorption of α -amylase on steamed rice.

A: Rice treated with distilled water, A': Rice treated with distilled water containing Calcium (Ca 50mg/L), B: 0.25mM Lactic acid buffer (pH4.0)+Enzyme, B': 0.25mM Lactic acid buffer (pH 4.0) containing Calcium (50 mg/L)+Enzyme.

また、4,000 倍の倍率で観察したデンプン粒子の状態は (A+B) に比較して (A+B') と (A'+B) とともに大きく膨潤し、(A'+B') はほとんど溶解した状態であって、溶解実績とよく一致していた。

考 察

LEACH ら¹⁵⁾はデンプンが多孔性微粒子の性質を示し、酸、アルカリを吸着することを、また TEGGE¹⁶⁾は馬鈴薯デンプンが天然ではカリウム塩で存在し、工業用水で処理されるとカルシウムと交換し「硬デンプン」となることを報告している。

白米も洗米浸漬操作によってカルシウムやマグネシウム、ナトリウムなどを吸着し、これら 3 種のイオンの混合溶液における各イオンの吸着量はカルシウム、マグネシウム、ナトリウムと電荷が高かつ水合半径の大きい順に吸着量が大きくなった。このことは BUZAGH¹⁷⁾ による多孔性微粒子の活性炭素や血炭に対するカルシウム、マグネシウム、ナトリウムの塩化物溶液における各陽イオンの吸着量の順位と一致し、白米が多孔性微粒子の性質を有していることが推論できる。

カルシウム濃度が 50 mg/l の単体溶液で、水温 12℃での洗米浸漬による白米へのカルシウムの吸着量は洗米浸漬時間 60 分を 100 としたとき、15 分間の洗米浸漬で、その数値の約 90% を示した。このことは、吟醸酒のように精米歩合が低い白米では、短時間の洗米浸漬処理でもカルシウムの吸着速度が早く、もろみの溶解などに対する影響が大きいと考えられる。

蒸留水とカルシウム加工水による白米の浸漬吸水率について比較した結果、両者に差異が認められなかった。

このことは、水の硬軟が白米の吸水率に影響を与えないことを示唆している。

α -アミラーゼの消化性に及ぼすカルシウムの影響について、カルシウムを含まない (A+B) に対して、カルシウムを含んだ (A'+B), (A+B') には、(A'+B') は、いずれも消化液量及び消化液中の還元糖量が多く、溶解実績も高い値を示した。このことは洗米浸漬水と仕込水中のカルシウムがもろみの溶解に強く影響を与えと考えられる。

実際に洗米浸漬や仕込みに使用する地下水の中にはカルシウムの他に各種のイオンが含まれており、それらの濃度バランスと吸着量の差異などが、もろみの溶解発酵に影響を与えと考えられ、今後の検討課題であると思われる。

米麴の α -アミラーゼが基質の蒸米に吸着されることは数多くの研究で知られている。本報の実験でも、 α -アミラーゼの蒸米へ吸着が確かめられ、蒸留水処理をした

Fig. 5 Photographs of rice grains observed with an electron microscope.

A : Rice treated with distilled water, A' : Rice treated with distilled water containing Calcium (Ca 50 mg/L), B : 0.25mM Lactic acid buffer (pH 4.0)+Enzyme, B' : 0.25 mM Lactic acid buffer (pH 4.0) containing Calcium (50mg/L)+Enzyme.

(A+B), カルシウムを含む (A'+B), (A+B'), (A'+B') のいずれの消化試験液中にも仕込み 6 日以降は α -アミラーゼの活性が見られなかった。

椎木ら¹⁸⁾は蒸米に対する α -アミラーゼの吸着は精米歩合が低くなるほど、また、三吉ら¹⁰⁾は pH が 4.0 前後が最も吸着されやすいと報告していることから、実験に用いた白米の精米歩合が低く、また、消化試験が pH 4.0 と最も吸着され易い条件であったためと考えられる。

一方、蒸米に対して α -アミラーゼが吸着されると蒸米の溶解が阻害されると言われるが^{20,21)}、本報の実験では蒸留水処理、カルシウム加工水処理のいずれの蒸米も α -アミラーゼが吸着されたものの、カルシウムの存在が蒸米の溶解を促進することから、この作用機構については今後の検討課題であると思われる。

電子顕微鏡を用いた 30 倍率による米粒子の観察では対照の蒸留水処理に比較して、カルシウムを含んだものはいずれも表面がより多孔性に富んでおり、また 4,000 倍率の観察では、デンプン粒子が蒸留水処理に比較していずれもより大きく膨潤しており、特に洗米浸漬水及び α -アミラーゼ緩衝液ともにカルシウムを含んだものはデンプン粒子がほぼ原形をとどめない状態になっており、溶解実績結果と一致し、洗米浸漬水中や仕込水中のカルシウムが白米の溶解に強く影響を与えていることがわかった。

要 約

1. 精米歩合 35% の白米について、洗米浸漬によって水の中のカルシウム、マグネシウム、ナトリウムの吸着について検討した。その結果、それぞれのイオンの単溶液では 2 価イオンのカルシウムとマグネシウムは指数関数的な吸着曲線を示したが、1 価のナトリウムイオンは直線的な吸着曲線を示した。これらのイオンの混合溶液ではナトリウムも同様な指数関数的な吸着を示し、吸着量は電荷が高く水とイオン半径の大きいものが高くカルシウム > マグネシウム > ナトリウムの順であった。

2. 洗米浸漬時間とカルシウムの吸着について検討した。その結果、水温 12°C、洗米浸漬時間 60 分で指数関数の式から求めた吸着収束値の 99.8% を示し、これを 100 としたとき、15 分の洗米浸漬時間で約 90% の吸着を示した。

3. 洗米浸漬水のカルシウム量と白米及び蒸米の吸水率について検討した結果、カルシウム量と吸水率の間に

関係は認められなかった。

4. α -アミラーゼによる蒸米の溶解試験の結果、洗米浸漬水のカルシウムの存在が蒸米の溶解を促進させ、また、仕込水についても同様の結果が得られた。そして、洗米浸漬水、仕込水の両者にカルシウムが存在すると蒸米の溶解は相乗効果によってより高い値を示した。

5. 蒸米に対する α -アミラーゼの吸着は仕込初期 2 日～4 日は若干遊離していたものの、6 日目以後はほとんど蒸米に吸着された。

6. α -アミラーゼの蒸米への吸着にも関わらずカルシウムの存在が蒸米の溶解を促進した。これについては、今後の研究課題である。

7. 電子顕微鏡による蒸米の溶解状態の観察結果、洗米浸漬水、仕込水にカルシウムを含んだものが、いずれも蒸米の表面がより多孔性になっており、デンプン粒の膨潤も促進されていた。

文 献

- 1) 山田正一、久野耕作：醸協，50，761 (1955)
- 2) 吉沢 淑：醸協，51，56 (1956)
- 3) 加納成三：農化，35，1304 (1961)
- 4) 徳岡有三：農化，12，1185 (1936)
- 5) 北原覚雄：醸工，31，394 (1953)
- 6) 外池良三，仲野醇一，竹内孝也：醸協，57 (13)，1208 (1962)
- 7) 伊藤恭五郎：醸協，54，598 (1959)
- 8) 伊藤恭五郎：清酒醸造における無機塩の影響，p. 50 (1959)
- 9) 野白喜久雄，青木光夫：醸協，52 (12)，1011 (1957)
- 10) 嘉納成三：農化，36，350 (1962)
- 11) 武藤 浩，高橋昭二：醸協，52 (6)，470 (1957)
- 12) 堀江修二，川上英男，永島民夫：醸協，60 (12)，1120 (1965)
- 13) 福井作蔵：還元糖の定量，p. 10，学会出版 (1978)
- 14) 国税庁所定分析法：p. 98，国税庁 (1991)
- 15) H. W. LEACH, T. J. SCHOCH, E. F. CHIESSMANN : *Die Stärke* 13, 200 (1961)
- 16) J. TEGGE, W. KEMP : *Die Stärke*, 13, 292 (1961)
- 17) B. ヤーゲンソンス, M. E. ストラウマウス共著，コロイド化学，p. 86，培風館
- 18) 椎木 敏，植木敏博，島田豊明：醸協，81 (6)，421 (1986)
- 19) 三吉和重，照井堯造，加賀谷謙治，小松信弥：醸工，45，962 (1967)
- 20) 椎木 敏，岩野君夫，布川弥太郎：醸酵工学，57，214 (1979)
- 21) 布川弥太郎，椎木 敏：醸酵工学，58，10 (1980)