り、かつ全体的に水の熱伝導率と同程度であることがわかった。

文 献

1) 藤井 哲: 機械の研究, 21, (1), 96 (1969).

- 2) 山本 明・秋山純一: 工化誌, 69, 9), 97 (1966).
3) 斉藤 武・岡垣 理: 北大工研報, 14, 83 (1956).
4) 日本機械学会: 伝熱工学資料, 第2版, p. 261 (1966).

(昭和51年2月23日受理)

みそ用酵素剤の酵素組成と 赤辛酵素みその成分

今井誠一*・松本伊左尾*

Enzyme Constituents in Commercial Enzyme
Preparations and the Components of Miso
Manufactured with only Enzyme Preparations

SEIICHI IMAI* ISAO MATSUMOTO*

The investigations on the enzyme constituents in the commercial enzyme preparations originated from *Asp. oryzae* and the components in salty-red-miso prepared using only the enzyme preparations were carried out to obtain the following results.

(1) Compared with the rice-koji, enzyme preparations were low in activities of peptidases except leucine-aminopeptidase type I, and remarkable differences in the activities of peptidases were observed among the enzyme preparations.

(2) From the results of brewing trials, the degree of protein hydrolysis in enzyme-miso was recognized to be affected remarkably by the activities of peptidases in the enzyme preparations.

(Received May 25, 1975)

麴を全く用いず、代わりに酵素剤を利用して製造するみそ(以下酵素みそと略す)の研究は、古く茂木ら¹⁾によって行われて以来、近年にいたり各種みそについて数多く報告されている²⁻¹⁸⁾。それらの報告ではほぼ一致をみている結論として、使用し得る酵素剤は *Asp. oryzae* 系起源のものに限られ、麴を使った従来のみそ(以下麴みそと略す)に比べ蛋白分解率が低くやや旨味不足、同様に香気が単純、などの点が掲げられる。

本報では、みそ用酵素剤の酵素組成を調べるとともに、これまであまり検討されていない赤辛みその酵素仕込を行って、その成分を分析し、若干の知見を得たので報告する。

1. 実験方法

(1) 供試酵素剤

みそ用として市販もしくは現在酵素メーカーにおいて検討中の酵素剤5点、およびアミラーゼ製剤1点の計6点を供試した。いずれも *Asp. oryzae* 系起源の製剤で、酵素メーカーから直接提供を受けたものである。

(2) 酵素力価の測定

酵素剤および米麴について下記のとおり測定した。

プロテアーゼ: 測定の条件は国税庁所定分析法¹⁹⁾による。基質 pH は 3.0, 5.7, 7.5 とし、各 pH の基質で測定したものをそれぞれ酸性、微酸性、中性プロテアーゼ(以下 AcP, SAP, NP と略す)とした。力価の表示は別報²⁰⁾の方法に従った。

ペプチダーゼ: 中台ら²¹⁾の方法により酸性カルボキシンペプチダーゼ(AcCP) I, II ~ IV, ロイシンアミノペプチダーゼ(LAP) I, II, III を測定した。

アミラーゼ: 国税庁所定分析法¹⁹⁾により糖化力(以下 T-Amy と略す)と α -アミラーゼ(以下 α -Amy と略す)を測定した。ただし、T-Amy 測定における生成還元糖の定量はソモギー比色法による。

(3) みその仕込および熟成

表1の原料配合でみそを仕込んだ。酵素みその場合、麴みそと米/大豆および水分が可及的に同じになるよう配慮した。みそはガラス製ポットにおさめて、30~35°C で60日間熟成させた。

(4) みその分析

一般成分は基準味噌分析法²²⁾に準拠して分析した。色は色差計(東洋理化工業 AU-CH-1 型)で測定して Y (%)を出し、CIE 色度図より刺激純度(Pe)を求めた。アミノ酸は大内ら²³⁾の方法で前処理したのち全自動液体クロマトグラフ(日本電子 6AS 型)を用いて分析した。有機酸は、みその温水浸出液を硫酸酸性(pH 2.0)で90時間エーテル抽出後、抽出物を BULEN ら²⁴⁾の方法によるシリカゲルカラムクロマトグラフィーで分別定量した。

* 新潟県食品研究所(新潟県加茂市)

Food Research Institute, Niigata Prefecture. Kamo-shi, Niigata-ken.

2. 実験結果および考察

(1) 酵素剤の酵素組成

みそ用酵素剤および米麴の各種酵素力価を表2に示した。米麴は当研究室およびみそメーカーでつくられた計12点の平均値を示した。

まず、プロテアーゼについてみると、米麴は既往の報告どおり AcP と SAP が強く NP がかなり弱いのにに対し、酵素剤は SAP と NP が強く AcP の比較的弱いことが特徴的である。このように、酵素剤と米麴とのプロテアーゼ組成が異なるのは、酵素剤製造の際、麹菌培養基に C/N 比が米より低い原料(例えばふすまなど)を用いるためと思われる。

ペプチダーゼについては、その絶対値で米麴と酵素剤、あるいは酵素剤間の比較をしてもほとんど意味がない。みそへ酵素剤を利用するときには、米麴の SAP 力価に合わせて添加量を定めるケースが多いので、ここで

は SAP 力価との対比によってペプチダーゼ力価の強弱を判定した。その結果、酵素剤は LAP I 以外の各ペプチダーゼとも米麴に比べてかなり弱いことが明白に示され、これまでの推定^{10,12,25,26)}が実証された。また、酵素剤のなかでは E 剤がペプチダーゼ活性の最も高い製剤と認められた。

F 剤を除いた酵素剤のアミラーゼ力価は、SAP 力価比でみると、T-Amy および α -Amy とも米麴より弱く、従ってそれらはプロテアーゼ主体の製剤と判断された。

(2) SAF 力価を麴みそと略同一に仕込んだ酵素みその成分(試醸 1)

SAP 力価が対照の麴みそとほとんど同じになるようにした酵素みそを仕込み、熟成させた。酵素剤は B~E 剤をそれぞれ供試し、C~E 剤は米麴に比してアミラーゼが不足しているので F 剤(アミラーゼ製剤)を補添した。各仕込区におけるみそ 1g 当りの各種酵素力価を表3に、製品みその分析結果を表4に示した。

蛋白の溶解率(SN/TN×100)および分解率(AN/TN×100)とも酵素みそは麴みそより低く、とくに分解率ではその差が大きいとみるべきであり、これまでの諸報告の結果とよく一致した。酵素みそのなかでは No. 4 区(E 剤使用)がともに高い値を示し、E 剤は供試中大豆蛋白質に対する溶解、分解力の最も強い製剤であることが確認された。直糖生成率(RS/TS×100)は全区ともほぼ同じであり、pH は麴みそがわずかに低い傾向を示した。色についてみると、明度を表わす Y 値は全区とも 12.1~12.9% で差異が認められないものの、色の冴え

表 1. 原料配合割合

	酵素みそ	麴みそ
蒸 大 豆 (g)	2400	2400
蒸 米 (g)	1040	
麴 (g)		880
食 塩 (g)	540	540
水 (ml)		160
酵 母 培 養 液 (ml)*	40	40
乳酸菌培養液 (ml)**	40	40

* *Sacch. rouxii* 4.3×10^7 /ml

** *Ped. halophilus* 7.0×10^8 /ml

表 2. 供試酵素剤と米麴の各種酵素力価 (U/g)

酵 素 剤	プロテアーゼ			ペプチダーゼ				アミラーゼ	
	AcP	SAP	NP	AcCPI	AcCPIⅡ~Ⅳ	LAPI	LAPIⅡ, Ⅲ	T-Amy	α -Amy
A	8400 (41.2)	20400	21000 (102.9)	5.2 (0.025)	50.6 (0.248)	23.6 (0.116)	4.2 (0.021)	1248 (6.1)	10890 (52.9)
B	9000 (44.8)	20100	20700 (103.0)	4.2 (0.022)	55.1 (0.274)	29.2 (0.145)	3.9 (0.019)	2745 (13.7)	32200 (160.2)
C	26900 (36.1)	72000	69000 (95.8)	33.0 (0.046)	170.6 (0.244)	97.2 (0.135)	12.2 (0.017)	2248 (3.1)	24480 (34.0)
D	21000 (41.2)	51000	32000 (62.7)	22.3 (0.044)	91.7 (0.180)	61.1 (0.130)	9.3 (0.018)	1020 (2.0)	11040 (21.6)
E	10600 (54.1)	19600	10400 (53.1)	45.3 (0.231)	118.0 (0.607)	62.5 (0.319)	13.3 (0.068)	883 (4.5)	6320 (32.2)
F*	3960 (38.8)	10200	3880 (38.0)	2.1 (0.021)	14.9 (0.146)	19.4 (0.190)	2.2 (0.022)	10130 (99.3)	134000 (1313.7)
米麴**	8.16 (89.9)	90.8	11.3 (12.4)	0.34 (0.374)	1.20 (1.322)	0.170 (0.187)	0.098 (0.108)	35.1 (38.7)	175.5 (193.3)

*F: アミラーゼ製剤, ** , 米麴の力価: 12 点の平均値, () 内の数値: 各酵素力価/SAP 力価×100

表3. 試醸1のみその仕込時における酵素力価 (U/みそ1g)

区	酵素剤*	みそに対する 添加率 (%)	プロテアーゼ			ペプチダーゼ				アミラーゼ	
			AcP	SAP	NP	AcCPI	AcCPII~IV	LAPI	LAPII, III	T-Amy	α -Amy
1	B	0.11	9.9	22.1	22.8	0.005	0.061	0.032	0.004	3.0	35.4
2	C	(C 0.03 F 0.02)	8.6	23.6	21.5	0.010	0.056	0.033	0.004	2.7	34.1
3	D	(D 0.04 F 0.03)	9.6	23.5	14.0	0.009	0.041	0.030	0.004	3.5	44.4
4	E	(E 0.11 F 0.02)	12.5	23.6	12.2	0.051	0.134	0.072	0.015	3.0	33.8
5	米麹	21.7	19.6	21.7	2.3	0.069	0.258	0.035	0.023	5.2	40.9

* 表2参照

表4. 試醸1のみその一般成分

仕込区 No.*	酵 素 み そ				麹みそ
	1	2	3	4	
水分 (%)	47.8	47.5	48.0	48.1	47.7
pH	5.04	5.05	5.05	4.99	4.98
食塩 (%)	13.31	13.40	13.29	13.20	13.20
蛋白溶解率 (%)	53.9	53.3	54.4	58.8	60.6
蛋白分解率 (%)	14.5	14.1	14.4	18.1	22.0
直糖生成率 (%)	81.3	82.0	81.6	80.5	83.2
色 Y (%)	12.8	12.7	12.9	12.1	12.3
刺激純度 (Pe)	69	69	70	68	65

* 表2参照

熟成条件: 30~35°C, 60日間

を表わす刺激純度は酵素みそが高い結果であった。

(3) ペプチダーゼ力価を麹みそと略同一に仕込んだ酵素みその成分 (試醸2)

SAP 力価を麹みそと近似させて仕込んだ酵素みそは、供試酵素剤中、蛋白分解力の最も強い E 剤を使用しても、なおかつ麹みそに比べ遊離アミノ酸生成の劣ることがうかがわれた。しょう油熟成過程でのアミノ酸遊離に関する中台らの推論²⁷⁾、ならびに米麹の各種酵素力価とみそ成分との相関性を検討した著者らの報告²⁰⁾によれば、これらはペプチダーゼの不足に基づくものと類推される。そこで、E 剤を用いペプチダーゼ力価が麹みそとごく近似するように添加量を調整した酵素みそを試醸し (表5)、製品について一般成分、アミノ酸および有機酸組成を調べた。それぞれの結果を表6, 7, および8に示した。

酵素みそは対照の麹みそに比べ、Y 値がやや低かつ

表5. 試醸2のみその仕込時における酵素力価 (U/みそ1g)

		酵 素 み そ	
みそに対する 添加率 (%)		(E* 0.17 F* 0.02)	21.7
プロ テ ゼ	AcP	18.8	22.8
	SAP	35.3	24.1
	NP	18.5	2.0
ペ プ チ ダ ー ゼ	AcCPI	0.077	0.072
	AcCPII~IV	0.205	0.248
	LAPI	0.110	0.030
	LAPII, III	0.023	0.022
ア ミ ゼ	T-Amy	3.5	6.1
	α -Amy	37.5	42.0

* 表2参照

表6. 試醸2のみその一般成分

	酵 素 み そ*	麹みそ
水分 (%)	47.4	46.9
pH	4.99	5.02
食塩 (%)	13.32	13.20
蛋白溶解率 (%)	62.4	61.9
蛋白分解率 (%)	22.8	22.3
直糖生成率 (%)	81.5	83.6
アルコール (%)	1.13	0.62
乳酸 (%)**	0.096	0.088
色 Y (%)	10.9	12.7
刺激純度 (Pe)	68	64

* E 剤使用 (F 剤補添)

** BARKER-SUMMERSON 比色法による

熟成条件: 30~35°C, 60日間

表 7. 試醸 2 のみその遊離アミノ酸 (mg/みそ 100 g)

	酵素みそ*	麴みそ
アスパラギン酸	136 (14.9%)	214 (23.9%)
スレオニン	197 (56.0)	139 (41.7)
セリン	142 (43.1)	134 (36.3)
グルタミン酸	322 (22.4)	315 (22.8)
プロリン	263 (53.8)	251 (51.9)
グリシン	46 (13.7)	56 (19.0)
アラニン	126 (34.0)	130 (37.6)
バリン	160 (41.2)	146 (36.9)
メチオニン	34	42
イソロイシン	137 (35.6)	119 (27.4)
ロイシン	245 (39.9)	255 (44.1)
チロシン	149 (36.2)	145 (33.5)
フェニルアラニン	248 (33.3)	264 (38.1)
ヒスチジン	48 (16.0)	40 (12.6)
リジン	225 (53.1)	181 (45.2)
アルギニン	244 (50.5)	247 (47.1)
計	2722	2678

* E剤使用 (F 剤補添)

() 内の数値: 遊離アミノ酸/全アミノ酸×100

表 8. 試醸 2 のみその有機酸 (mg/みそ 100 g)

	酵素みそ*	麴みそ
酪プロピオン酸	8	11
酢酸	21	28
ピルビン酸	6	6
フマル酸	4	8
乳酸	2	5
コハク酸	36	29
乳酸	87	80
ピログルタミン酸	98	63
酢酸	4	5
グリコール酸	1	2
リンゴ酸	20	28
クエン酸	88	79
未知酸	8	4
計	383	348

* E剤使用 (F 剤補添)

アルコールが多いほかは、蛋白溶解および分解率をはじめ一般成分にはほとんど差が認められなかった。酵素みそのアルコール発酵が旺盛な現象は、追試においても同

様に観察されたが、その原因について現在検討中である。アミノ酸組成では、酵素みそのアスパラギン酸の遊離率が麴みその約 60% と低い以外に大差なく、酵素みその特徴のひとつといわれる遊離グルタミン酸量の不足^{8-9,12,13,17,25)}は、この場合認められなかった。有機酸の量比をみると、原料に直接由来する有機酸あるいは発酵で生成される酢酸、乳酸などに差はないが、豆みそで細川ら^{8,7)}が認めたと同様、本試験の酵素みそでもピログルタミン酸の多い結果が得られた。このように、比較的小差とはいえ、酵素みそにおいて遊離アスパラギン酸が少なくかつピログルタミン酸の多かった事実は、E剤が米麴に比してなおアスパラギナーゼおよびグルタミナーゼの若干不足していることを示唆するものであろう。

酵素みその遊離グルタミン酸の不足に関連して、大高ら²⁶⁾はふすま麴を 0.9% 食塩水で抽出してもグルタミン酸生成活性の大部分が麴菌体内に残存すると報告し、また望月ら¹⁷⁾は、ある種の微生物が産生した耐塩性グルタミナーゼを酵素みそへ添加することにより遊離グルタミン酸は増加するものの、蛋白分解率はなおも麴みそに比べ低いと述べている。

いずれにせよ、本実験での結果を総合して考えると、これまで指摘されつづけてきた酵素みその蛋白分解不足は、酵素剤のペプチダーゼ活性が弱いことに大きな原因があると結論される。

3. 要約

みそ用酵素剤 (*Asp. oryzae* 系起源) の酵素組成を調べるとともに、赤辛系の酵素みそを試醸した結果、つぎの知見を得た。

(1) 酵素剤のペプチダーゼ活性は、ロイシンアミノペプチダーゼ I を除いて、米麴に比べ弱いことを明らかにした。また、酵素剤間においてもペプチダーゼ活性の差異が認められた。

(2) 試醸の結果、酵素みその蛋白分解率は、用いる酵素剤のペプチダーゼ活性によって支配されることを知った。

終りにのぞみ、ご鞭撻を賜った農林省食品総合研究所海老根英雄部長、ならびに分析に協力された大関太美男、鈴木隆雄、米山節子の各氏に厚く感謝いたします。また、酵素剤を提供頂いた天野製薬(株)、近畿ヤクルト製造(株)、盛進製薬(株)、長瀬産業(株)にお礼を申し上げます。

文 献

- 1) 茂木正利・中島茂次・井口信義: 醸工, 21, 548 (1943).

- 2) 望月 務・本藤 智・松木和子・樋口孝雄: 信州味噌研報, **6**, 15 (1965).
- 3) 六川功一・望月 務・松木和子: 信州味噌研報, **6**, 17 (1965).
- 4) 伊藤 寛・海老根英雄・中野政弘: 食糧研報, **19**, 127 (1965).
- 5) 細川信男・南場 毅・竹内 徳男・吉田 丈夫・吉田政次・天野武雄・好井久雄: 愛知食品工試年報, **9**, 83 (1968).
- 6) 山本一郎・大池 昶威・根岸 幹雄・小林 徹・今井 謹也: 醸協, **64**, 469 (1969).
- 7) 細川信男・吉田 政次・竹内 徳男・南場 毅・好井久雄・天野武雄・吉田 丈夫: 醸造食品の酵素利用に関する研究 (昭和44年度技術開発補助事業成果普及講習会テキスト, 中小企業庁), p. 81 (1970).
- 8) 竹内 徳男・細川 信男・吉田 政次: 醸工, **50**, 21 (1972).
- 9) 望月 務・六川 功一・大内 一朗・原山文徳・岡村清隆・糸賀啓治: 昭和47年度日本醗酵工学会大会講演要旨集, p. 38 (1972).
- 10) 細川信男・好井久雄: 醸協, **68**, 195 (1973).
- 11) 細川信男・好井久雄: 醸協, **68**, 297, 302 (1973).
- 12) 竹内徳男・横尾良夫: 醸工, **52**, 58 (1974).
- 13) 小倉元成: 味噌の科学と技術, No. **224**, 28 (1972).
- 14) 小倉元成: 味噌の科学と技術, No. **235**, 25 (1973).
- 15) 北岡潔己: 味噌の科学と技術, No. **218**, (1972).
- 16) 高橋 慧・菅家通夫・島川 武・相原 宏: 味噌の科学と技術, No. **252**, 20 (1975).
- 17) 望月 務・糸賀啓治・六川功一・原山文徳: 信州味噌研報, **16**, 6 (1975).
- 18) 斉藤孔男・伊藤金之亮・河野圭介・遠藤浩志: 味噌の科学と技術, No. **236**, 20 (1973).
- 19) 国税庁所定分析法注解編集委員会編: 国税庁所定分析法注解, p. 183 (1967).
- 20) 松本伊左尾・今井誠一: 食品工誌, **23**, 362 (1976).
- 21) 中台忠信・那須野精一・井口信義: 調味科学, **18**, 435 (1971).
- 22) 全国味噌技術会編: 基準味噌分析法 (1968).
- 23) 大内一朗・松木和子・望月 務: 味噌技術, No. **163**, 4 (1968).
- 24) BULEN, W.A., VARNER, J.E. and BARREL, R.C.: *Anal. Chem.*, **24**, 187 (1952).
- 25) 好井久雄: 味噌の科学と技術, No. **203**, 4 (1971).
- 26) 大高治堂・中井 正: 昭和47年度日本醗酵工学会大会講演要旨集, p. 38 (1972).
- 27) NAKADAI, T., NASUNO, S. and IGUCHI, N.: *Agr. Biol. Chem.*, **36**, 261, 1239 (1972).

(昭和51年5月25日受理)