

清酒醸造工程中の核酸系成分および関連酵素系について*

(第1報) 清酒麴の核酸系成分および関連酵素系について

毛利威徳・足立有** 柏原純**

Nucleic Acid Related Substances and Nucleic Acid Degrading Enzymes in Sake-brewing

(I) Distributions and Changes of Nucleic Acid Related Substances and Their Degrading Enzymes in Sake-Koji making

Takenori Mouri and Tamotsu Adachi,** Jun Kashihara**

The authors studied on the distributions and changes of nucleic acid related substances and their degrading enzymes in the process of Koji making and also the influence of the environmental gas component on their production.

The phosphate components of Koji were divided into several fractions by the method of Schmidt-Thannhouser, and then determined by Fiske-Subborow's method at designated intervals. Distribution of total phosphorus remained almost the same as its initial distribution, but the amount of acid soluble phosphorus reached a maximum 40 hours after the beginning of Koji making.

After the fractionation of nucleic acids containing acid soluble phosphor by ion exchange chromatography, the nucleic components were determined by absorption of 260 m μ . Nucleic bases and nucleosides as the major components were increased. On the other hand, both ATP and ADP were decreased gradually in the course of the process.

The nuclease activities of Koji extracts obtained by the regular process increased with the lapse of time but when these extracts were prepared under the condition rich with CO₂ less nuclease activities and smaller amounts of the basic components were observed.

緒 言

農水産物中の核酸系成分はすでに多くの研究^{1~6)}があり、それらが食品中の呈味に及ぼす影響については国中ら⁷⁾、分布については橋田ら⁸⁾、また、それらの消長に關与する核酸合成分解酵素系についても国中ら⁹⁾の研究がある。

清酒においても、その風味に關与すると思われる核酸成分を、その関連酵素系とともに醸造工程中に追求し、その挙動と役割を檢討することは清酒の品質管理の観点からも極めて興味深いことであると考える。清酒醸造工程中の核酸成分の分布は猿野^{10,11)}毛利ら¹²⁾の報告があり、核酸成分と

* 醸酵工学46巻1号6 (1968) 所載

** 福寿酒造株式会社

関係する清酒中のリン成分については森¹³⁾の報告もあるが、核酸分解酵素系との関連についての検討はほとんど行なわれていない。本報では製麴中の核酸系成分と核酸分解酵素との経時的变化を調べ、また製麴中の気体成分の影響を受けるかについても検討した。

実 験 方 法

A) リン成分および核酸系成分の定量

1) 試料の調製 製麴工程中の試料は豊沢ら¹⁴⁾の方法を参考として均一になるように注意しながら経時的に現場の配麴、掛麴および恒温器中の麴について採取した。

a) 全リン区分 試料 10g に蒸留水を加えて磨砕して全リン区分とした。

b) 酸可溶性リン区分 試料を Schmidt-Thannhauser の方法で分画した。すなわち試料 20g に 10% 冷過塩素酸を加えて磨砕し、冷却遠沈して上澄液を取り、沈澱部を 5% 過塩素酸で 2 回抽出し、それらの上澄液を集めて酸可溶性リン区分とした。

c) 核酸系成分区分 酸可溶性リン区分を $UV_{260}=450$ (UV_{260} は $260m\mu$ の吸収量と液量の ml 数の積) となるように採って活性炭処理後濃縮して中島ら¹⁵⁾の方法により分画定量のための試料とした。

d) RNA リン区分 b) の沈澱部を 95% エタノールで 2 回遠沈、さらにその沈澱をエタノール・クロロホルム (3:1 v/v) に懸濁して温浴中で数分間煮沸し、冷却後遠沈、これを 2 回くり返してから、エタノール・クロロホルムに溶解するリン脂質部分を除き、残った沈澱部に 1N-KOH を加え、37°C で 15~20 時間放置して RNA を溶解させ、6N-HCl で中和、それらの上澄液を集めて RNA リン区分とした。

2) 供試薬品 定性、定量のための標準物質として、ヌクレオチド類は武田薬品 K. K. より恵与されたもので、ヌクレオシド類、核酸塩基類は市販品を使用した。RNA は酵母 RNA (第一化学薬品 K. K.) を使用した。PNPP (p-nitrophenyl phosphoric acid), BPNPP (Bis-P-nitrophenyl phosphoric acid) は市販品を用いた。

3) リンの定量¹⁶⁾ Fiske-Subbarow 法で定量した。すなわち試料をマイクロケールダール瓶で静かに 0.5ml 以下まで蒸発させ、60% 過塩素酸 2.2ml (試料中に過塩素酸を含む場合はこれを差引く) になるように加えて加熱を続け、内容が黒変してきたら火からはづして、十分に冷えてから過酸化水素を 1 滴加えて加熱、これをくり返して無色透明となれば蒸留水で定量的に目盛付スピットロールに移して 5% モリブデン酸アン

Table 1. Composition of eluting solution.

①	Distilled water including sample solution.	
②	0.005N	HCOOH
③	0.02 N	HCOOH
④	0.1 N	HCOOH
⑤	0.1 N	HCOOH
	0.1 N	HCOONa
⑥	0.1 N	HCOOH
	0.1 N	HCOONa
⑦	0.1 N	HCOOH
	0.3 N	HCOONa
⑧	0.1 N	HCOOH
	0.6 N	HCOONa
⑨	0.2 N	HCOOH
	0.8 N	HCOONa
⑩	0.2 N	HCOOH
	1.0 N	HCOONa

モン液 0.4ml と還元試薬 0.4ml を加えて蒸溜水で 10ml とし、正確に20分後に吸光度を 660m μ で測定して標準リン酸曲線から定量値を得る。標準リン酸曲線はリン酸標準液に蒸溜水 5ml, 60%過塩素酸 2.0ml を加えて用いる。

4) 蛋白質の定量 Folin-Ciocalteu¹⁷⁾ 呈色法で定量した。

5) 核酸系成分の分画定量 中島ら¹⁵⁾の方法によりイオン交換樹脂クロマトグラフィによった。すなわち、イオン交換樹脂として Dowex 1 \times 8, 200~400mesh を用いギ酸型に調整したものを内径 1cm のカラムに 6cm の高さにつめ、85%ギ酸を約 40m ℓ 通した後よく水洗して用いる。試料はアンモニアで pH 9.4 にしてカラムに吸着させ、溶出には Table 1 に示した展開液を用い、1分間に約 1ml の速度で溶出し、フラクションコレクターで 10ml の画分に分けた。各画分を展開液を対照として日立分光光度計 (EPU-2 型) で 260m μ の紫外部吸収を測定し、また 260m μ の吸収の大きい画分では中島ら¹⁵⁾の方法に従って 250m μ , 280m μ の吸収も測定した。また、ヌクレオチドの同定は毛利ら⁹⁾の方法を用いた。

B) 核酸分解酵素系の活性

1) 試料の調製 A) 1) に示した方法によって均一に得た試料を 2 倍量の冷蒸溜水とともに磨砕して 5 $^{\circ}$ C に 1 時間放置後、セライトを用いてろ過し、ろ液を粗酵素液とした。(抽出方法の吟味は続報に報告する)

2) 供試薬品 A) 2) に同じ。

3) 酵素活性の測定 酵素活性の測定は須原, 大村ら¹⁸⁾の方法に準じた。

a) RNase (Ribonuclease) 4% RNA 0.1ml, 1M acetate buffer (pH 5.0) 0.1ml, 蒸溜水 0.5m ℓ よりなる反応液を 37 $^{\circ}$ C に保ち、粗酵素液 0.1m ℓ を加えて 30 分間反応させた後、ウラニウム試薬 (70% 過塩素酸 21.4ml, Uranyl acetate 2.5g を蒸溜水で 1 ℓ にしたもの) 0.8ml を加えて反応を停止し、10分後に生じた沈澱を 2,000rpm で 5 分間遠沈して上澄液 0.1ml に蒸溜水 3.9ml を加えて ΔE_{260} を測定した。 ΔE_{260} の値が 0.1 増加したときの酵素単位を 1.0 Unit とした。

b) PDase (Phosphodiesterase) 1mM の BPNPP 1.0l, 1M acetate buffer (pH 4.0) 0.2ml, 蒸溜水 0.4ml よりなる反応液を 37 $^{\circ}$ C に保ち、粗酵素液 0.5ml を加えて 30分間反応させた後、0.1N-NaOH 2.9ml を加えて反応を停止して ΔE_{400} を測定した。 ΔE_{400} の値が 0.1 増加したときの酵素単位を 1.0 Unit とした。

c) PMase (Phosphomonoesterase) 1mM の PNPP 1.0ml, 1M acetate buffer (pH 5.0) 0.2ml 蒸溜水 0.4ml よりなる反応液 37 $^{\circ}$ C に保ち、粗酵素液 0.5ml を加えて 30分間反応させた後、0.1N-NaOH 2.9ml を加えて反応を停止して ΔE_{400} を測定する。 ΔE_{400} の値が 0.1 増加したときの酵素単位を 1.0 Unit とした。

C) 製麴中の気体成分の調整

現場における製麴開始後24時間目 (盛時期) 以後の麴物料付近の気体成分の影響を経時的に比較するため、自動製麴機内における24時間目の試料 500g を採って通気し易いようにガーゼに包み、

10ℓ 広口瓶中に釣って二酸化炭素の多い状態（濃 NaOH 溶液に吸収せしめてガスピュレットで測定¹⁹⁾した値は約 10%）となる試料とし、他に同様にしたもので瓶の中に触媒として少量の二酸化マンガン混じった 30% 過酸化水素の容器と、濃い NaOH 溶液とを入れて二酸化炭素が少なく（約 3%）酸素の多い状態、すなわち製麴中に空気の多い状態と似た状態となる試料として、ともに自動製麴機中に置いて、製麴機中の対照と品温経過を同じにししながら、30 時間目（仕舞仕事時期）、40 時間目（出麴時間）にそれぞれから一部を採取して酵素活性について比較した。

実 験 結 果

A) 製麴工程中のリン成分の変化

清酒醸造工程中のリン成分が核酸系成分と関係あることは森²⁰⁾毛利ら¹²⁾の報告もあり、核酸成分の分布の概要を知るため製麴中のリン成分を全リン、酸可溶性リン、RNA リン区分して経時的に測定した結果を Table 2 に示した。

すなわち全リンが変化していないと認められるのは当然であるが、毛利ら¹²⁾の結果より多いのは米の精白歩合が低いためと考えられる。また RNA リンおよび松本^{21,22)}の報告を参考として RNA リンに 10.64 を掛けて算出した RNA 量も変化は少ないが、核酸系成分の変動を示す酸可溶性リンは 24 時間目以後 40 時間目まで増加していることが認められ照井ら²³⁾の傾向とも一致している。

Table 2. Changes of phosphorus component in the course of koji making.

Time (hours)	Total phosphorus μ mol/g	Acid-soluble phosphorus μ mol/g	RNA phosphorus μ mol/g	RNA (mg) / dry materil (g)
0	—	3.7	2.4	1.2
24	19.9	4.1	3.1	1.6
30	19.6	4.1	3.2	1.7
40	21.2	5.8	2.8	1.4
48	21.0	5.9	3.2	1.5

B) 製麴工程中の核酸系成分の変化

現場で使用されている飴麴、掛麴および恒温器中の麴から、それぞれの製麴工程中に経時的に試料を採取して酸可溶性リン区分からカラムクロマトグラフィによって核酸系成分を分画し定性定量した。クロトグラフィの一例を Fig. 1, Fig. 2 に、またその結果を Table 3, Table 4, Table 5 に示した。各時間共に核酸塩基、ヌクレオシドが主体であるが 40 時間目にこれらの成分がかなり増加している。UMP [Uridine monophosphate (Uridylic acid)] IMP [Inosine monophosphosphate (Inosinic acid)] は 40 時間目頃に最高となるようであり、ATP, ADP は次第に減少している。

C) 製麴工程中の核酸分解酵素活性の変化

飴麴、掛麴および恒温器中で製造した麴から、その製麴工程中に経時的に試料を採って抽出した粗酵素液の酵素活性の変化を測定した結果は Fig. 3 Table 6 に示したように酵素活性はいずれも

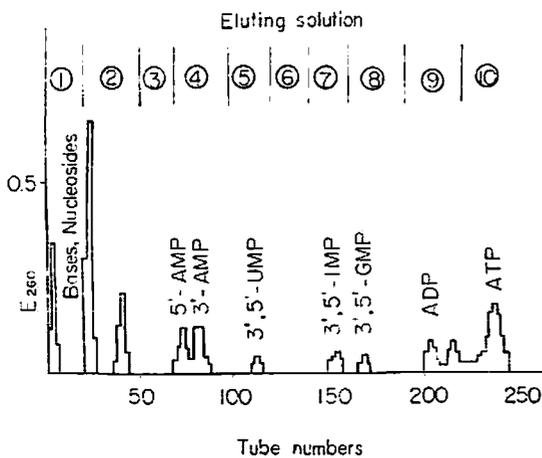


Fig. 1. Chromatogram of perchloric acid extract of Koji (24hr).

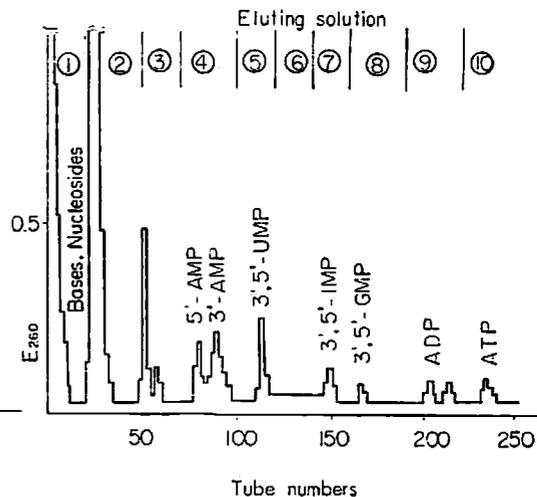


Fig. 2. Chromatogram of perchloric acid extract of Koji (40hr).

Table 3. Distributions of nucleotides and related substances in the course of kojf making in the incubator.

		Frac. A	Frac. B**	Frac. C	5'-AMP	2'-and 3'-AMP	5'-or 3'-UMP	5'-or 3'-IMP	5'-or 3'-GMP	ADP	Frac. J	ATP
0 hr	Distribution of UV 260*	8.50	4.50	13.45	12.95	12.10	7.70	1.35	trace	21.40	13.10	26.70
	μ mol/100g				6.50	6.08	5.55	1.39		10.76		13.42
24hr	Distribution of UV 260	10.30	21.35	7.50	4.50	8.10	1.20	2.30	3.85	6.30	7.90	15.05
	μ mol/100g				1.58	2.85	0.61	1.66	1.63	2.21		5.29
30hr	Distribution of UV 260	10.15	18.55	8.85	2.15	13.15	5.35	trace	trace	11.85	8.20	8.90
	μ mol/100g				0.75	4.63	2.70			4.17		3.13
40hr	Distribution of UV 260	101.40	101.35	30.55	7.80	17.95	6.95	5.45	1.95	4.75	9.50	6.85
	μ mol/100g				4.77	10.09	6.10	6.80	1.43	2.90		4.19
48hr	Distribution of UV 260	112.85	96.80	—	9.20	13.90	8.40	3.55	trace	2.70	7.85	5.45
	μ mol/100g				6.47	9.78	8.48	5.14		1.90		3.83

* % of absorbancy at 260 m μ of each fraction to a total absorbancy of the sample which was applied on column.

** mixture of bases and nucleosides.

時間とともに増加するのを認めた。

D) 製麹工程中の気体成分の影響

製麹工程中、とくに24時間目以後、麹物料付近の気体成分組成を変えた場合に生じる酵素活性の差異を知るため、24時間目より二酸化炭素の多い状態、二酸化炭素が少なく酸素

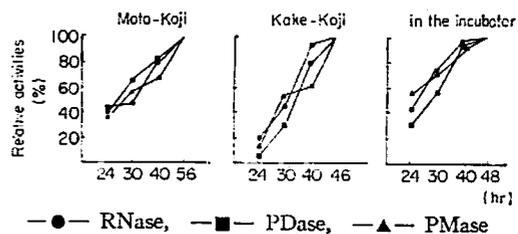


Fig. 3. Changes of nucleic acid degrading enzymes in the course of Kojf making as crude extract.

の多い状態を与へて、30時間目、40時間目に各試料を採取して比較した。

一般に分析される α -アミラーゼ、S-アミラーゼ、酸性プロテアーゼ、アルカリ性プロテアーゼの活性については常法²⁴⁾により測定し Table 7 に示した。また当社で本年（昭和41酒造年度）使用した掛麴 55 種の平均値を Table 8 に示してこれと比較した。すなわち二酸化炭素の多い状態では経過が遅れる傾向にあるが使用出来る範囲になると判断されたが、核酸分解酵素活性を測定したと

Table 4. Distributions of nucleotides and related substances in the course of Moto Koji making.

		Frac. A	Frac. B**	Frac. C	5'-AMP	2'-and 3'-AMP	5'-or 3'-UMP	5'-or 3'-IMP	5'-or 3'-GMP	ADP	Frac. J	ATP
0 hr	Distribution of UV 260*	8.30	8.10	3.45	4.90	4.40	4.20	2.65	1.60	8.15	3.60	3.90
	μ mol/100g				1.72	1.54	2.12	1.92	0.67	2.80		1.37
24hr	Distribution of UV 260	9.75	27.25	6.50	4.65	6.65	3.80	5.10	2.90	9.25	3.95	3.30
	μ mol/100g				1.63	2.34	1.91	3.69	1.22	3.25		1.11
30hr	Distribution of UV 260	17.90	37.55	9.90	4.40	9.80	5.60	4.60	1.65	6.30	4.25	4.10
	μ mol/100g				1.54	3.45	2.82	3.33	0.69	2.21		1.44
40hr	Distribution of UV 260	25.25	47.80	5.55	4.05	7.20	10.50	8.15	trace	5.15	16.25	4.40
	μ mol/100g				3.21	5.71	11.19	13.42		4.11		3.48
56hr	Distribution of UV 260	36.35	68.85	8.30	5.15	3.85	6.30	6.15	3.50	1.05	—	trace
	μ mol/100g				3.62	2.71	6.36	8.91	2.96	0.73		

* % of absorbancy at 260 $m\mu$ of each fraction to a total absorbancy of the sample which was applied on column.

** Mixture of bases and nucleosides.

*** Used for yeast incubation.

Table 5. Distributions of nucleotides and related substances in the course of Kake-Koji making.

		Frac. A	Frac. B**	Frac. C	5'-AMP	2'-and 3'-AMP	5'-or 3'-UMP	5'-or 3'-IMP	5'-or 3'-GMP	ADP	Frac. J	ATP
0 hr	Distribution of UV 260*	8.65	6.30	6.75	5.81	7.15	3.45	3.70	trace	12.40	9.45	9.70
	μ mol/100g				2.05	2.51	1.74	2.68		4.36		3.41
24hr	Distribution of UV 260	11.74	13.10	7.90	5.60	11.75	5.20	4.35	3.80	8.35	3.20	6.80
	μ mol/100g				1.97	4.13	2.60	3.15	1.61	2.90		2.39
30hr	Distribution of UV 260	4.60	9.05	4.15	3.65	5.20	4.85	3.25	1.95	8.95	5.00	7.00
	μ mol/100g				1.28	1.83	2.44	2.35	0.82	3.15		2.46
40hr	Distribution of UV 260	6.25	23.60	10.45	8.55	14.25	12.10	10.35	2.25	9.60	5.75	11.20
	μ mol/100g				4.09	6.82	8.60	10.20	1.29	4.59		5.36
46hr	Distribution of UV 260	83.30	58.55	15.20	5.60	4.10	3.30	4.95	5.80	trace	—	trace
	μ mol/100g				3.19	2.29	2.64	5.69	3.90			

* % of absorbancy at 260 $m\mu$ of each fraction to a total absorbancy of the sample which was applied on column.

** Mixture of bases and nucleosides.

*** Used for main fermentation.

Table 6. Changes of nucleic acid degrading enzymes for dry materials in the course of Koji making.

Moto-Koji		Kake-Koji	
Incubation time (hr)	Units / dry material (g)	Incubation time (hr)	Units / dry material (g)
RNase		RNase	
24	19.4	24	8.9
30	19.6	30	18.1
40	32.1	40	35.9
56	38.4	46	37.3
PDase		PDase	
24	51.4	24	7.9
30	80.8	30	36.9
40	95.6	40	90.9
56	111.0	46	111.9
PMase		PMase	
24	297.4	24	100.0
30	416.0	30	353.1
40	504.6	40	375.0
56	674.9	46	611.9

ころ、Table 9 に示したように RNase、PDase、PMase ともに活性が少なく、とくに PDase 活性は対照の 1/3 しかないことを認めた。

また核酸系成分の定量結果は Table 10 の通りで酸素の多い状態では、橋田ら⁸⁾ がカラムクロマトグラフィにおいて塩基とヌクレオシドの混合物と認めている B 区分が増加する傾向にあると思われた。

考 察

製麹工程中のリン成分の変化を Schmidt-Thannhauser の方法で分画し、Fiske-Subbarow 法で定量した結果、全リン区分の変化が少ないのは当然であるが森¹³⁾ 毛利ら¹²⁾ の測定値より

Table 7. Comparisons of enzymatic activities of Koji incubated between CO₂ rich and O₂ rich conditions.

	α-Amylase activity (min)	S-Amylase activity (mg)	Protease activity		
			pH 3.0 (r)	pH 6.0 (r)	
24hr	141	1.3	45	35	
30hr	control	117	1.1	43	50
	CO ₂ rich	121	0.7	54	52
	O ₂ rich	121	1.7	52	60
40hr	control	24	9.2	110	83
	CO ₂ rich	42	7.5	61	52
	O ₂ rich	29	6.4	100	76

Table 8. Mean values of enzymatic activities of Koji used for 55 Sake Brewing Processes.

	α-Amylase activity (min)	S-Amylase activity (mg)	Protease activity	
			pH 3.0 (r)	pH 6.0 (r)
Maximum	23	13.9	160	113
Minimum	37	5.1	64	51
Mean	29.9	7.8	88.8	75.2
Standard error $\sqrt{\frac{\sum (X_n - \bar{X})^2}{n}}$	3.69	1.93	20.1	16.5

Table 9. Influences of Koji making conditions rich in CO₂ or O₂ gas for RNase PDase and PMase activities.

		RNase			PDase			PMase		
		Units	Units enzyme (ml) solution	Units dry (g) weight	Units	Units enzyme (ml) solution	Units dry (g) weight	Units	Units enzyme (ml) solution	Units dry (g) weight
24hr		35.5	0.6	2.7	110	2.0	8.6	700	12.7	55.1
30hr	control	77.0	1.4	6.1	330	6.0	26.5	3025	55.0	243.3
	CO ₂ rich	38.5	0.7	3.1	123	2.2	10.0	770	14.0	62.2
	O ₂ rich	121.0	2.2	9.7	495	9.0	39.8	3410	61.0	274.5
40hr	control	335.5	6.1	24.9	2227	40.5	165.7	13062.5	237.5	971.9
	CO ₂ rich	181.5	3.3	13.5	715	13.0	52.2	4950.0	90.0	368.8
	O ₂ rich	384.0	6.4	28.6	3000	50.0	224.2	14700.0	245.0	1098.6

Table 10. Influence of Koji making conditions rich in CO₂ or O₂ gas for distributions of nucleotides and related substances.

		Frac. A	Frac. B**	Frac. C	5'-AMP	2'-and 3'-AMP	5'-or 3'-UMP	5'-or 3'-IMP	5'-or 3'-GMP	ADP	Frac. J	ATP
24hr	Distribution of UV 260*	3.45	9.40	6.65	5.05	10.28	3.73	5.05	2.85	11.13	2.48	1.80
	μ mol/100g				4.16	8.47	4.40	8.56	2.82	9.17		1.48
Standard												
30hr	Distribution of UV 260	9.28	11.90	10.05	5.30	9.10	6.83	5.25	6.13	8.83	2.23	1.45
	μ mol/100g				3.73	6.41	6.89	7.61	5.19	6.21		1.02
40hr	Distribution of UV 260	13.48	12.68	8.90	10.73	14.57	5.78	7.55	1.88	16.03	4.30	4.35
	μ mol/100g				7.55	10.26	5.83	10.94	1.59	11.29		3.06
CO ₂ rich												
30hr	Distribution of UV 260	8.73	15.80	11.95	6.48	12.43	6.60	7.63	2.80	8.08	3.05	3.20
	μ mol/100g				4.56	8.75	6.67	11.05	2.37	5.69		2.25
40hr	Distribution of UV 260	8.55	13.00	6.30	8.55	6.08	4.50	6.03	1.33	7.93	1.95	1.95
	μ mol/100g				6.04	4.28	4.55	8.80	1.12	5.58		1.37
O ₂ rich												
30hr	Distribution of UV 260	36.70	51.63	10.35	12.18	9.28	4.43	7.80	6.13	8.50	6.25	3.43
	μ mol/100g				8.57	6.53	4.67	11.30	5.19	5.99		2.41
40hr	Distribution of UV 260	62.80	44.88	3.15	5.93	4.60	3.50	3.73	1.78	6.50	4.08	trace
	μ mol/100g				4.17	3.24	3.54	5.40	1.50	4.58		

* % of absorbancy at 260 m μ of each fraction to a total absorbancy of the sample which was applied on column.

** Mixture of bases

多いのは使用した米の精白度が低かったためと思われる。また核酸成分と関連すると思われる酸可溶性リンは $3.7\mu\text{mol/g}$ から $5.9\mu\text{mol/g}$ まで増加した。RNA リンの変化はあまりなかった。

製麴工程中の核酸関連物質の経時的变化をカラムクロマトグラフィを用いて分画定量した結果、いずれの麴も時間の経過とともに核酸塩基、ヌクレオシドが主体をなして次第に増加し、製麴工程中の核酸分解酵素活性が経時的に増加する傾向にあることと一致すると思われた。ATP、ADP は共に40時間目頃に若干増加の傾向をもつが以後減少している。5', 3'-UMP, 5', 3'-IMP は40時間目に最高となった。

また醗麴、掛麴および恒温器中で造った麴につき各成分ごとに比較したが、製麴時間による違いはあっても、およそ同じ傾向を示すものと判断され森¹⁸⁾が醗麴、掛麴を比較して時間的要素が大きいと述べていることと一致する。

製麴工程中の核酸分解酵素活性 (RNase, PDase, PMase) の変化を経時的に追求した結果、いずれも増加する傾向にあった。しかし掛麴は各酵素活性ともに24時間目には醗麴より少ないが、その後急激に増加して46時間目 (出麴時期) には醗麴に近い活性を示すような傾向を示した。

製麴工程中に気体成分が麴に及ぼす影響を調べた。製麴工程中の成分および酵素活性の変化の報告は多いが、製麴条件によって著しい差違のあるものは見当らない。しかしこれを見出すことは微妙な酒造操作の機微に立入る朋を得るものと考えてその検索を試みた。気体成分が微生物の発育に及ぼす影響は Prescott ら²⁵⁾の報告もあり、果実への影響は樽谷²⁶⁾緒方²⁷⁾の報告もあり、著者¹⁹⁾はさきに製麴工程中の気体成分を測定し、これが麴菌の生理に影響するものと推察した。しかし麴は照井ら²⁸⁾の報告によっても Qco_2 が 700ml/g/h 程度もあり、果物の Qo_2 が $1\sim 165$ (平均 10 程度) ml/g/h であるのに比べて大きいため、麴物料付近の気体成分を規制しながら製麴することが難しい。また本実験の目的が清酒醸造に使用し得る程度の麴について、製麴条件の違いにより大きな差の生ずる要素を見出すことであり、また現場の製麴工程でも気体成分の厳格な調節は為されず、製麴操作とともに自然に成立している程度であるので、前述の方法によって二酸化炭素の多い状態と、二酸化炭素が少なく酸素が多い状態とを与えて対照と比較した。その結果、二酸化炭素が少なく酸素が多い状態で製麴したものは比較的、対照との差異が少ないが、二酸化炭素が多い状態で製麴したものは α -アミラーゼ活性は弱く、S-アミラーゼ活性は普通で、プロテアーゼ活性は実用される程度であって経過が遅れる傾向にあると思われるが、使用できる程度の力価を示すものと思われるにもかかわらず、核酸関連酵素活性、とくに PDase 活性が対照の $\frac{1}{3}$ 、活性が多い場合の $\frac{1}{4}$ 以下と少なく、とくにこれを酵素活性のバランス²⁸⁾という立場から、S-アミラーゼ活性に対する PDase 活性の数字的割合として表現して比較すると (α -アミラーゼ活性を対照とすると活性と数値が逆のため比較しにくい)。

対照では

$$\frac{\text{PDase 活性}}{\text{S-アミラーゼ活性}} = \frac{165.7}{19.2} \doteq 8.6$$

二酸化炭素の多い状態では

$$\frac{\text{PDase 活性}}{\text{S-アミラーゼ活性}} = \frac{52.2}{7.5} \doteq 6.9$$

酸素の多い状態では

$$\frac{\text{PDase 活性}}{\text{S-アミラーゼ活性}} = \frac{224.2}{6.4} \doteq 35.0$$

となって大きく異っており、またプロテアーゼ活性にも影響があるようにも思われることは興味あることである。なお S-アミラーゼ活性に比較して α -アミラーゼ活性、酸性プロテアーゼ活性、酸性プロテアーゼ活性が弱いことは吟醸麴に似た状態を示すものとも考えられる。

つぎに核酸系成分を比較すると、対照に比べて酸素の多い状態のものはヌクレオチドが少ないが塩基成分は多かった。これは RNA の分解量も多く、低分子化も進んでいると考えられ、RNase, PMase 活性とともにとくに PDase 活性が強いことと一致する。また二酸化炭素の多い状態のものはヌクレオチドも少ないが、とくに塩基成分が少なかった。これは RNA の分解とともに、とりわけヌクレオチドの分解が遅れていると思われ、その、RNase, PMase 活性とともに PDase 活性がとくに弱いことと一致した結果を得られた。

要 約

- 1) 製麴工程中のリン成分、核酸分解酵素活性の経時変化を検討し、かつ麴物料を囲む気体成分の影響を調べつぎの結果を得た。
- 2) 全リンは変化なく、RNA リンも余り変化しないが、酸可溶性リンは次第に増加した。
- 3) 核酸成分は核酸塩基、ヌクレオチドが主体で次第に増加し、ATP, ADP は減少し、UMP, IMP は 40 時間目頃に最高となった。
- 4) 核酸分解酵素の活性は時間とともに次第に増加した。
- 5) 麴物料付近の気体成分に二酸化炭素が多い状態では核酸分解酵素活性が弱くなる傾向を示し、また核酸系成分、とくに塩基成分の生成が少ない傾向を示した。

終りに臨み本研究の御校閲を賜った阪大寺本教授、照井教授に、御援助を載きました東洋食品研究所々長稲本常務理事、東洋食品短期大学志賀学長に深謝致します。また灘五郷酒造組合の研究設備を使用させて頂きました。尚本研究の発表をお許し頂いた社長安福武之助氏に深謝致します。

文 献

- 1) Di Carlo, F. J.: *Arch. of Biochem and Biophys.*, 55, 253 (1955).
- 2) Bergkvist, R.: *Acta Chemica Scandinavica.*, 12, 1549 (1958).
- 3) Bergkvist, R.: *Acta Chemica Scandinavica.*, 12, 1554 (1958).
- 4) 斉藤: *Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries.*, 27, 461 (1961).
- 5) 猿野: 醸酵工誌, 35, 178 (1957).
- 6) 吉井: 農化, 34, 95 (1960).
- 7) 国中: 農化, 34, 489 (1960).
- 8) 橋田・毛利: 醸酵工誌, 41, 420 (1963).
- 9) 国中: 農化, 29, 52 (1955).
- 10) 猿野: 合酒技, 26, 359 (1961).

- 11) 猿野：醸酵工誌, 32, 253 (1954).
- 12) 毛利：醸酵工誌, 43, 922 (1965).
- 13) 森・渡辺・長谷川：醸酵工誌, 31, 419 (1953).
- 14) 豊沢・米崎：醸酵工誌, 32, 319 (1954).
- 15) 中島：農化, 35, 797 (1961).
- 16) 三吉：醸酵工誌, 45, 92 (1967).
- 17) Folin, O., Ciocalteu, V. : *J. Biol. Chem.*, LXXIII, 627 (1927).
- 18) 須原・大村：酵素化学シンポジウム, 16, 115 (1964).
- 19) 足立：醸酵工誌, 34, 463 (1956).
- 20) 森・渡辺：醸酵工誌, 32, 421 (1954).
- 21) Matsumoto : *Memoirs of the Research Institute of food Science, Kyoto University*, 14, 14 (1958).
- 22) Matsumoto : *Memoirs of the Research Institute of food Science, Kyoto University*, 14, 24 (1958).
- 23) 照井：醸酵工誌, 34, 575 (1956).
- 24) 国税庁所定分析法注解 (1963).
- 25) Prescott, I. M. : *J. Bacteriol.*, 70, 285 (1955).
- 26) 樽谷：日本食品工業会誌, 10, 186 (1963).
- 27) 緒方：日本食品工業会誌, 10, 470 (1963).
- 28) 三吉・照井：醸酵工誌, 43, 311 (1965).