

# 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3報) 酒母と醪の核酸系成分と核酸分解酵素系について

毛利 威徳・\*\*足立 有・\*\*柏原 純

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

### (Ⅲ) Distributions and Changes of Nucleic Acid Related Substances and the Related Degrading Enzymes in Moto (Yeast Mash) and Moromi (Main Mash).

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

The previous reports described the nucleic acid related substances and their degrading enzymes in the process of the Koji making.

The present report deals with distributions and changes of nucleic acid related substances and the related degrading enzymes, and behaviors of these enzymes in the process of the moto and moromi making.

Both 'moto' and 'moromi' samples were obtained at intervals during their processing. Their phosphorus components were determined by Fiske-Subborow's method after fractionating them into several fractions by the method of Schmidt-Thannhouser. No remarkable changes were observed in the distribution of nucleotides in the course of the moto making, but bases and nucleosides, including guanic and adenic substances, were increased gradually. The changes in nucleic acid content in the process of the moromi making were similar to those of moto, but cytosinic substances were found only in the former.

Characteristics of crude enzymes in moto and moromi filtrates were as follows.

- 1) The RNase activity increased in an earlier phase. and then decreased. The PDase and PMase activities decreased.
- 2) The optimal pH's were 7.0~8.0 and about 4.0 for RNase; 3.0~4.0 for PDase and 4.0~5.0 for PMase.
- 3) The optimal temperatures of RNase and PDase were in the vicinity of 60°C, and the optimum temperature for PMase was in the range of 50~55°C.
- 4) RNase was so-heat stable that it could stand at 100°C for 10min. PDase and PMase were almost completely inactivated by heating it at 70°C for 10min.

---

本報においてはつぎの略号を使用する。

5'-AMP: Adenosin-5'-monophosphate. 5'-CMP: Cytidine-5'-monophosphate. 5'-UMP: uridine-5'-monophosphate. 5'-IMP: Inosine-5'-monophosphate. 5'-GMP: Guanosine-5'-monophosphate. RNA: Ribonucleic acid. ADP: Adenosine diphosphate. ATP: Adenosine triphosphate. RNase: Ribonuclease PDase: Phosphodiesterase. PMase: Phosphomonoesterase.

\* 醸酵工学46巻11号898 (1968) 所載

\*\* 福寿酒造株式会社

- 5)  $\text{Cu}^{++}$  and  $\text{Zn}^{++}$  inhibited RNase, and  $\text{NaF}$  and  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  inhibited PDase and PMase.  
 6) The main products of crude enzymes in moto and moromi filtrates through the reaction of RNA as a substrate were the 3'-forms of GMP, CMP, AMP and UMP. ATP was decomposed into bases, nucleoside and the 5'-IMP.

## 緒 言

前報<sup>1,2)</sup>では、清酒麴製造工程中の核酸系成分と関連酵素系の消長、ならびに粗酵素液の酵素的諸性質を検討したが、麴を使って仕込む酒母、および清酒の風味にも直接影響すると考えられる醗についても、醸造工程中の核酸系成分の変化と関連酵素系の消長を追究することが必要と考えられる。

酒母、醗の核酸系成分については著者の1人である毛利ら<sup>3)</sup>の報告もあるが本報ではそれらの核酸系成分と関連酵素系の経時的変化、ならびに粗酵素液の諸性質を検討すると共に、麴、酒母、醗相互の関連およびその他の影響について若干の考察を加えたので報告する。

## 実 験 方 法

1. 試料とした酒母および醗酒母および醗は Table 1 の仕込配合による山廃酒母と、これを使った普通仕込醗で品温経過などはそれぞれ Fig. 1, Fig. 2 に示す。

Table 1. The mash bill of Saké brewing.

	Moto	Hatsuzoe	Nakazoe	Tomezoe	Total
Total rice, (kg)	174	380	650	1196	2400
Steamed rice, (kg)	120	275	500	953	1848
Koji-making rice, (kg)	54	105	150	243	552
Water, (ℓ)	174	320	550	1846	3000

Note: On the first day, Koji, steamed rice and water are added to moto (seed mash). This process is called "Hatsuzoe". Then materials are added again. This operation is called "Nakazoe", and next day another materials adding operation follows. This is "Tomezoe".

2. リン成分および核酸系成分の定量

A. 試料 醸造工程中の試料は豊沢ら<sup>4)</sup>の方法を参考としながら均一になるように注意して採取した。全リン区分は、試料に蒸留水を加えて磨砕して供した。酸可溶性区分および RNA\* 区分は Schmidt-Thannhauser 法によって分画した。

B. 供試薬品 前報<sup>1)</sup>に準じた。

C. リンの定量 Fiske-Subbarow 法で定量した。

D. 蛋白質の定量 Folin-Ciocalteu<sup>5)</sup> 呈色法で定量した。

E. 核酸系成分の定量 酒母および醗 30g を 10% 過塩素酸で 2 回抽出し、5N KOH で中和後 300ml とし、前報<sup>1)</sup>に述べたように、260m $\mu$  の吸収量と液量ml 数の積が 450 になるように抽出液

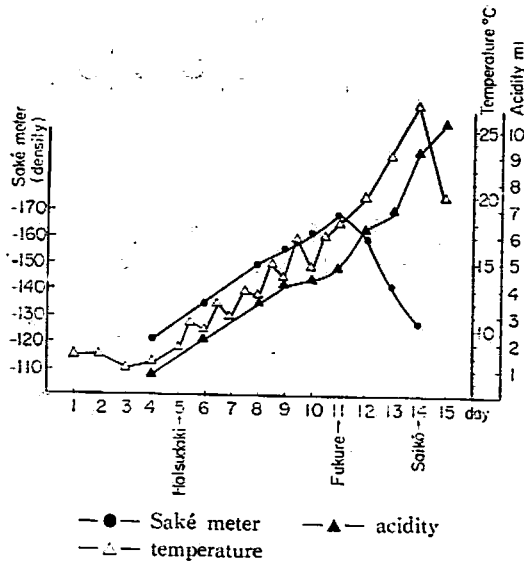


Fig. 1. Changes of Saké meter, acidity and temperature during moto making.

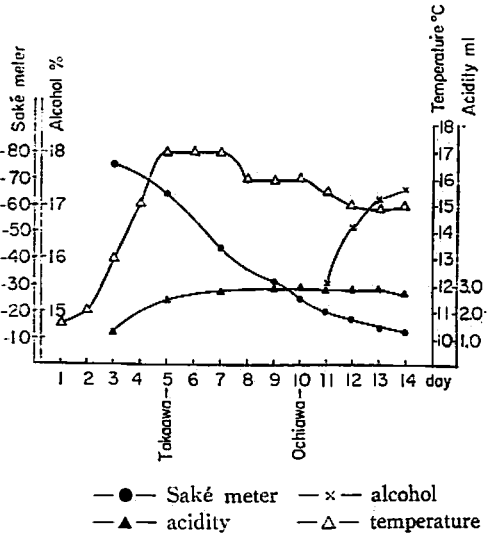


Fig. 2. Changes of Saké meter, alcohol, acidity and temperature during moromi making.

を採って、活性炭処理後濃縮してカラムに吸着させ、ギ酸・ギ酸ソーダの展開液<sup>1)</sup>を用いて溶出した。核酸系成分は抽出液の 260m $\mu$  の吸収を測定して比較し、ヌクレオチドの定量は中島<sup>9)</sup>の方法によって 260m $\mu$  における吸光係数から算出した。またヌクレオチドの同定は前報<sup>1)</sup>と同様に橋田ら<sup>7)</sup>の方法によった。

### 3. 核酸分解酵素活性の測定

A. 試料の調製 酒母，醪のろ液を粗酵素液とした。

B. 供試薬品 前報<sup>1)</sup>に準じた。

C. 酵素活性の測定 RNase, PDase, PMase 活性は須原，大村ら<sup>8)</sup>の方法に準じて測定した。

## 実験結果

### 1. 酒母

A. リン成分の変化 山廃酒母の醸造工程中に経時的に採った試料について、全リン，RNA リン，酸可溶性リンを測定した結果，Table 2 に示すように酸可溶性リンは増加し，RNA リンは減少する傾向を示した。

B. 核酸系成分および関連酵素活性の変化

Table 2. Change of phosphorus components in the course of moto-making.

Age in days	Total phosphorus ( $\mu$ mole/g)	Acid-soluble phosphorus ( $\mu$ mole/g)	RNA-phosphorus ( $\mu$ mole/g)
1	6.28	1.40	2.00
5	6.30	1.52	1.30
9	6.25	2.73	0.95
13	6.40	4.15	0.68
15	6.30	4.09	0.83
19	6.70	4.61	0.44

a 核酸系成分 山廃酒母の試料から得た酸可溶性リン区分をカラムクロマトグラフィーによって分画して定量した。クロマトグラフィーの1例は仕込後19日目の結果を Fig. 3 に示す。またそれらの経時的変化は Table 3 に示す。個々のヌクレオチドは経時的に余り大きな変化を示していないが、量的に多い核酸塩基とヌクレオシドは、酒母の経過日数と共に増加した。これらの物質はペーパークロマトグラフィーによりグアニン系、アデニン系化合物が主体であることを認めた。

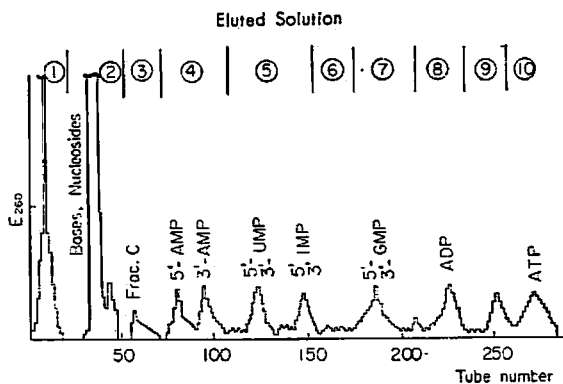


Fig. 3. Chromatogram of perchloric acid extract of 19 day moto.

b 核酸分解酵素活性 山廃酒母育生中の核酸分解酵素活性の経時的変化は Fig. 4 に示す。RNase 活性はフクレ頃にやや増加し以後減少し、PDase 活性は経過日数と共に減少した。

c 粗酵素液の酵素的諸性質 山廃酒母15日目の粗酵素液について RNase, PDase, PMase 活性の酵素的諸性質を検討した。

酸素活性測定のための粗酵素液の最適量を検討したところ、Fig. 5 に示すように、RNase, PDase, PMase 活性共に 0.1~0.5ml の範囲で酵素液量と活性が正比例することを認めた。

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

Age in days	Fraction	Frac. A*	Frac. B*	Frac. C	5'-AMP	2'-3'-AMP	5'-3'-UMP	5'-3'-IMP	5'-3'-GMP	ADP	ATP
1	UV <sub>260</sub> μmol/100g	17.95	20.05	3.85	7.10	5.90	8.35	7.60	13.05	10.30	12.10
					1.69	1.40	2.85	3.72	3.73	2.45	2.88
5	UV <sub>260</sub> μmol/100g	9.40	49.40	6.55	4.00	4.10	4.35	7.85	3.30	3.55	5.65
					1.63	1.67	2.52	6.60	1.63	1.45	2.31
7	UV <sub>260</sub> μmol/100g	14.55	87.30	8.75	4.85	9.60	5.05	5.75	3.00	5.75	4.55
					2.32	4.60	3.47	5.66	1.73	2.75	2.18
9	UV <sub>260</sub> μmol/100g	30.85	36.20	8.40	7.10	7.40	6.65	9.15	9.35	10.60	5.95
					2.00	2.08	2.69	5.30	2.83	2.99	1.68
11	UV <sub>260</sub> μmol/100g	40.20	69.60	12.50	8.45	6.65	3.20	5.95	2.45	7.95	5.30
					3.17	2.50	1.72	4.60	1.11	2.99	1.99
13	UV <sub>260</sub> μmol/100g	45.30	69.50	11.85	6.10	5.50	4.50	6.15	4.50	5.75	4.60
					2.32	2.09	2.46	4.82	2.11	2.19	1.75
15	UV <sub>260</sub> μmol/100g	50.35	70.45	12.15	9.80	10.30	14.90	8.65	6.60	8.75	7.70
					2.75	2.90	6.02	5.01	2.24	2.46	2.16
19	UV <sub>260</sub> μmol/100g	28.45	82.05	8.30	10.05	9.40	5.90	4.25	3.59	4.75	5.05
					2.83	2.65	2.38	2.46	1.34	1.34	1.42

\* Fractions A and B contain nucleosides and bases.

最適 pH を知るため、pH 3.0 には 1 M 酢酸緩衝液 pH 7.0~10.0 にはトリス-アミノメタン緩衝液を用いて pH を調整して検討した。酵素活性の変化は Fig. 6 に示した。RNase 活性のピークは pH 4.0 付近と、これよりやや低い pH 7.0~8.0 付近とに認められた。PDase 活性の最適 pH は 3.0~4.0、PMase 活性では pH 4.0~5.0 に認められた。また 5'-AMP を基質としたときには

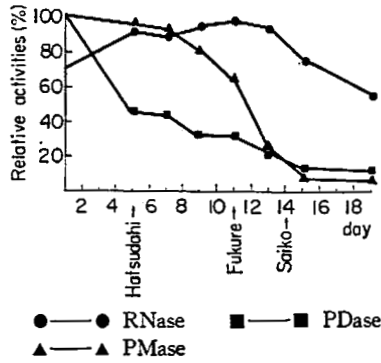


Fig. 4. Changes of nucleic acid degrading enzymes in moto filtrate in the course of moto making.

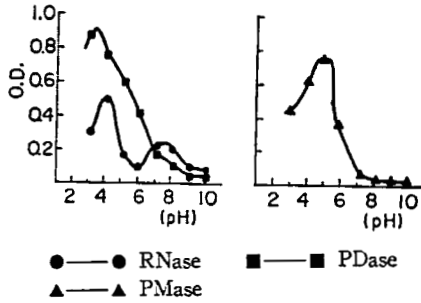


Fig. 6. Effect of pH on enzymatic activities of moto filtrate. Mixtures were incubated at 37°C for 30 minutes.

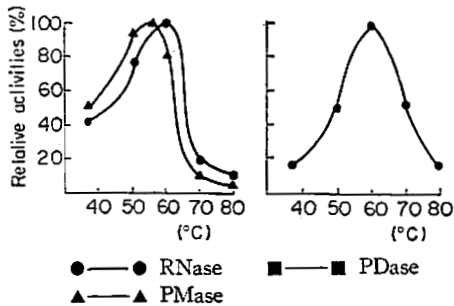


Fig. 8. Effect of temperature on enzymatic activities of moto filtrate. Mixtures were incubated at the most suitable pH (RNase 4.0, PDase 3.0, PMase 5.0) for 30 minutes.

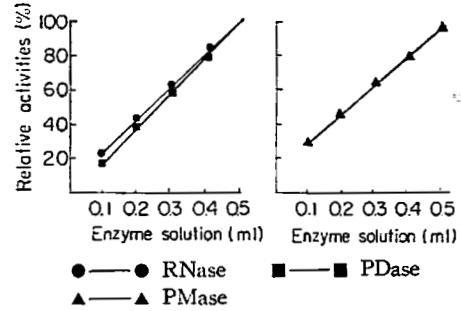


Fig. 5. Relationship between activity and the quantity of moto filtrate in reaction mixture.

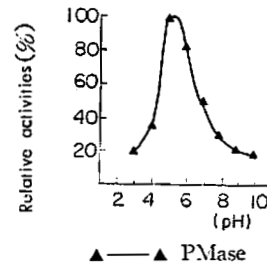


Fig. 7. Hydrolyzing activities of moto filtrate with 5'-AMP as substrate at various pH. Mixtures of 1.0ml of 0.01M 5'-AMP, 0.2 ml of 1M acetate buffer or 1M Tris buffer of the pH as indicated and moto filtrate were incubated at 37°C for 1hour.

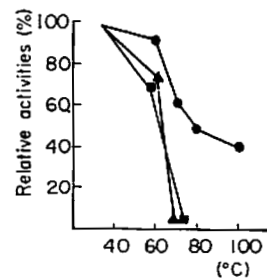


Fig. 9. Heat stability of enzymes in moto filtrate at the most suitable pH (RNase 4.0, PDase 3.0, PMase 5.0) for 10 minutes at various temperature as indicated.

反応後に遊離するリン酸を測定することにより種々の pH におけるフォスファターゼ活性を求め、Fig. 7 に示すように pH 5.0~6.0 に最適 pH が認められた。最適 pH における反応最適温度を求めた結果は Fig. 8 のようである。RNase, PDase は 60°C 付近、PMase は 50~55°C に最適温度が認められた。なお PMase 活性は前報と同様 PNPP (P-nitrophenyl phosphoric acid) が 60°C 以上で分解する恐れがあるので 0.01M の 5'-GMP を基質として、遊離するリン酸を定量して測定した。

最適 pH における熱安定性を知るため、10分間加温処理した後急冷した粗酵素液について残存酵素活性を測定した結果、Fig. 9 に示すように RNase は 100°C でもかなり活性が残っていた。PDase PMase は 70°C でほとんど活性が失われた。

Table 4. Influence of metal ions on enzyme activities of moto filtrate. Mixture were incubated at the most suitable pH (RNase 4.0, PDase 3.0, PMase 5.0) at 37°C (Relative activities)

Enzymes	RNase		PDase		PMase	
	1.25×10 <sup>-2</sup> M	2.5×10 <sup>-2</sup> M	4.5×10 <sup>-3</sup> M	9.0×10 <sup>-3</sup> M	4.5×10 <sup>-3</sup> M	9.0×10 <sup>-3</sup> M
Control	100	100	100	100	100	100
MgCl <sub>2</sub>	94	88	118	121	101	108
CaCl <sub>2</sub>	106	88	110	122	101	102
CoSO <sub>4</sub>	94	69	—	—	—	—
CuSO <sub>4</sub>	31	56	—	—	—	—
ZnSO <sub>4</sub>	69	50	89	97	99	109
MnSO <sub>4</sub>	100	88	—	—	—	—
NaF	94	112	11	8	58	33
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	88	69	15	11	27	15
EDTA	119	94	94	94	100	99
Na-citrate	75	100	94	87	106	100

最適 pH における金属イオンおよび阻害剤の影響は Table 4 に示した。RNase は Cu<sup>++</sup>, Zn<sup>++</sup> に、PDase, PMase は Na<sub>2</sub>F, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> に阻害された。

各種基質に対する作用を次のべる通り検討した。すなわち前報<sup>2)</sup>における麴の場合と同様にして、粗酵素液による酵母 RNA, ATP, 5'-AMP 分解生成物を分画定量した。

酵母 RNA を基質とした時の結果は Fig. 10 に示す。CMP, AMP, UMP, IMP が生成されることを示している。これらはペーパークロマトグラフィー、カルバゾール反応により 3'-型が主体であると思われた。ATP を基質とし

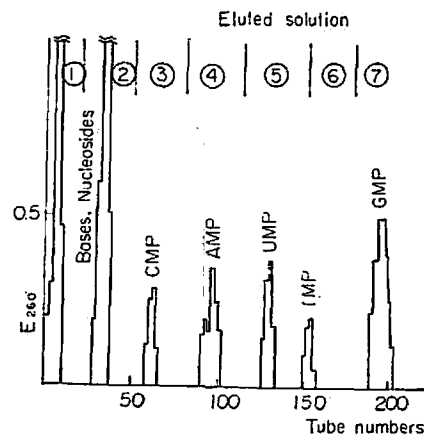


Fig. 10. Digestion products by enzymes in moto filtrate with yeast RNA as substrate. Mixtures of 1.0ml of 4% RNA, 1.0ml of acetate buffer (pH4.0) and 3.0 ml of moto filtrate were incubated at 37°C for 18 hours.

た時の結果は Fig. 11 に示す, ADP, 5'-AMP, 5'-IMP が生成されることを示している。

5'-AMP を基質とした時の結果は Fig. 12 に示す, 主として塩基, ヌクレオシドを生成したが, 5'-IMP も生成した。この 5'-IMP の存在は毛利らが指摘しているように 5'-AMP が deaminate されたものと考えられる。

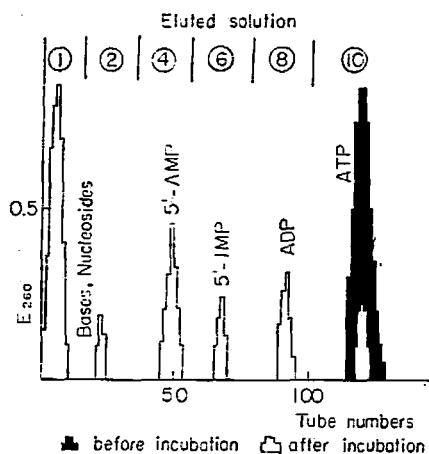


Fig. 11. Digestion products by enzymes in moto filtrate with ATP as substrate. Mixtures of 5.0 ml of ATP (40 mg/5 ml), 1.0 ml of acetate buffer (pH 4.0) and 2.5 ml of moto filtrate were incubated at 37°C for 1 hour.

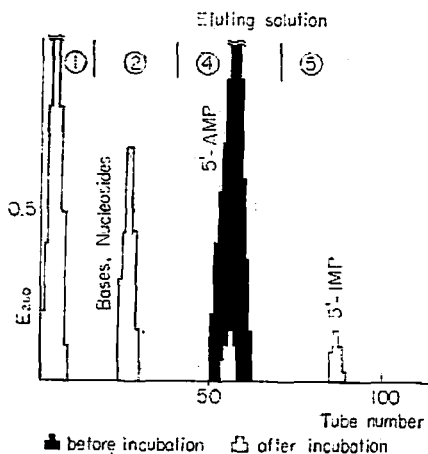


Fig. 12. Digestion products by enzymes in moto filtrate with 5'-AMP as substrate. Mixtures of 5.0 ml of 5'-AMP (5mg/10ml), 1.0 ml of acetate buffer (pH 5.0) and 2.5 ml of moto filtrate were incubated at 37°C for 1 hour.

## 2. 醱

A. リン成分の変化 醱工程中の全リン, RNA リン, 酸可溶性リンの経時的変化は Table 5 に示した。酸可溶性リンは増加し, RNA リンは減少する傾向を示した。

Table 5. Change of phosphorus components in the course of moromi making.

age in days	Total phosphorus $\mu\text{mole/g}$	Acid-soluble phosphorus $\mu\text{mole/g}$	RNA phosphorus $\mu\text{mole/g}$
3	6.06	1.60	2.51
5	6.01	2.13	1.78
8	6.00	3.29	1.44
12	6.40	3.93	1.19
14	6.47	3.76	0.89

B. 核酸系成分および関連酵素活性の変化

a 核酸系成分 醱工程中の試料から得た酸可溶性リン区分をカラムクロマトグラフィーで分画定量した。クロマトグラフィーの 1 例として, 仕込後 12 日目の結果を Fig. 13 に示す。またそれらの経時的変化は Table 6 に示した。各試料共, 個々の

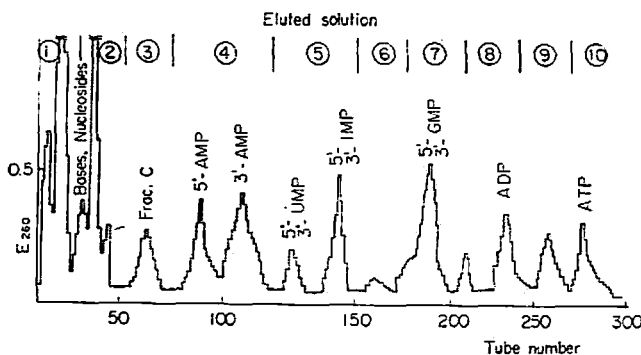


Fig. 13. Chromatogram of perchloric acid extract of 12-day moromi.

Table 6. Distributions of nucleotides and related substances in the course of moromi making.

Age in days	Fraction	Frac. A*	Frac. B*	Frac. C	5'-AMP	3'-AMP	5'-3'-UMP	5'-3'-IMP	5'-3'-GMP	ADP	ATP
3	UV <sub>260</sub> μmole/100g	17.00	33.75	4.60	21.00	55.45	12.40	18.35	19.25	40.75	27.05
					4.44	11.73	3.76	7.99	5.78	8.61	5.72
5	UV <sub>260</sub> μmole/100g	39.65	34.9	13.90	24.90	30.80	4.10	17.10	21.25	83.75	12.55
					8.01	9.90	1.89	11.32	8.22	26.93	4.04
8	UV <sub>260</sub> μmole/100g	36.65	74.35	15.50	16.85	24.50	3.90	13.55	11.70	18.05	12.65
					4.86	7.07	1.61	8.05	4.06	5.21	3.65
10	UV <sub>260</sub> μmole/100g	55.35	98.75	13.10	21.45	32.05	4.20	13.45	33.30	12.50	20.00
					6.80	10.71	1.91	8.78	12.71	3.96	6.34
12	UV <sub>260</sub> μmole/100g	64.05	97.40	15.55	20.30	38.25	5.65	21.40	23.70	15.65	10.55
					5.86	11.04	2.34	12.72	8.23	4.52	3.05

\* Fraction A and B contain bases and nucleosides.

ヌクレオチドは経時的に余りに大きな変化を示していないが、量的に多い核酸塩基とヌクレオシドは、醗経過と共に増加した。これらの物質はペーパークロマトグラフィーにより主としてアデニン系、シトシン系、グアニン系化合物とヒポキサンチンであることを認めた。

b. 核酸分解酵素活性 醗工程中における核酸分解酵素活性の経時変化を Fig. 14 に示す。RNase 活性は10日目（本泡末期までやや増加して以後減少し、PDase, PMase 活性は日数経過とともに減少している。

c. 粗酵素液の酵素的諸性質 醗12日目の粗酵素液について RNase, PDase, PMase 活

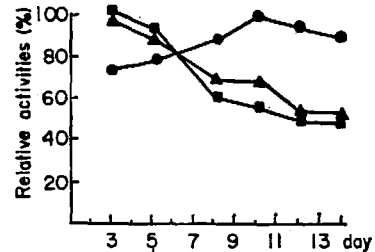


Fig. 14. Changes of nucleic acid degrading enzymes in moromi filtrate in the course of moromi making.

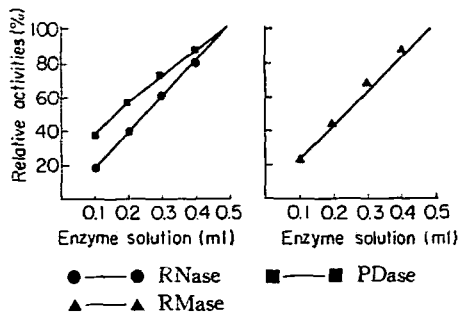


Fig. 15. Relationship between activity and the quantity of moromi filtrate in reaction mixture.

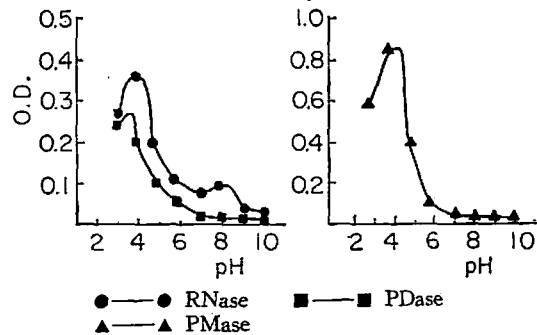


Fig. 16. Effect of pH on enzymatic activities of moromi filtrate. Mixtures were incubated at 37°C for 30 minutes.



性の酵素的諸性質を酒母の場合と同様にして検討した。

a 酵素活性測定のための粗酵素液の最適量を求めたところ Fig. 15 に示すように RNase, PDase, PMase 共に 0.1~0.5ml の範囲で酵素液量と活性が正比例することを認めた。

pHによる酵素活性の変化を測定した結果は Fig. 16 に示した。RNase の最適 pH は 4.0 付近とやや弱いのが 8.0 付近にピークを認めた。PDase 活性は pH 3.0~4.0, PMase 活性は pH 4.0~5.0 に最適 pH を認めた, また 5'-AMP を基質として種々の pH におけるフォスファターゼ活性を測定した結果は Fig. 17 に示す。pH 5.0~6.0 に最適 pH が認められた。

最適 pH における反応最適温度を測定した結果は Fig. 18 に示す。RNase は 55~60°C, PDase は 60°C 付近, PMase は 50~55°C に最適温度が認められた。

最適 pH における熱安定性は Fig. 19 に示した。RNase は 100°C でもかなり活性が残っていたが, PDase, PMase は 70°C でほとんど活性が失われた。

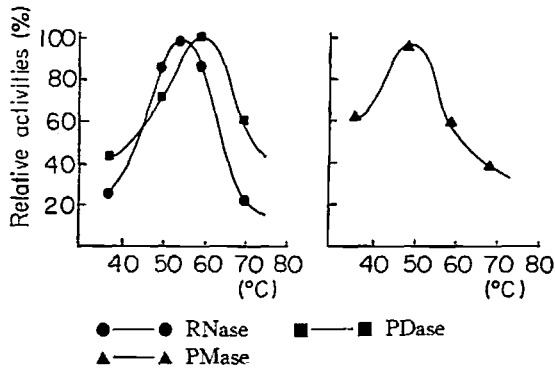


Fig. 18. Effect of temperature on enzymatic activities of moromi filtrate. Mixtures were incubated at the most suitable pH (RNase 4.0, PDase 3.0, PMase 4.0) for 30 minutes.

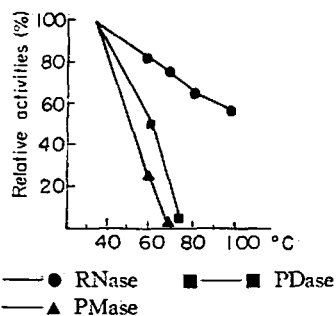


Fig. 19. Heat stability of enzymes in moromi filtrate, reacted at the most suitable pH (RNase 4.0, PDase 3.0, PMase 4.0) for 10 minutes at various temperature as indicated.

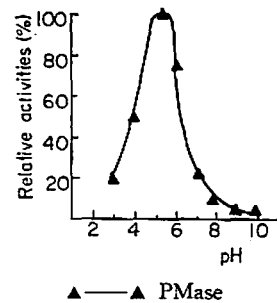


Fig. 17. Hydrolyzing activities of moromi filtrate with 5'-AMP as substrate. Mixtures of 1.0 ml of 0.01M 5'-AMP, 0.2 ml of 1M acetate buffer or 1M Tris buffer of the pH as indicated and moromi filtrate were incubated at 37°C for 1 hour.

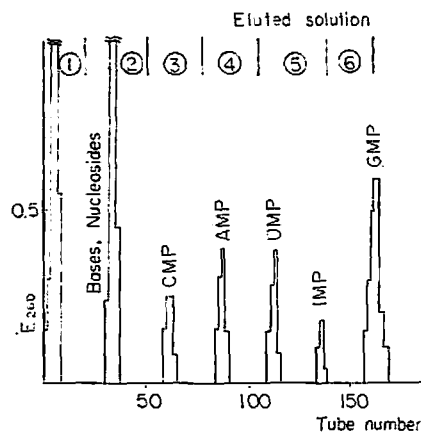


Fig. 20. Digestion products by enzymes in moromi filtrate with yeast RNA as substrate. Mixtures of 1.0 ml of 4% RNA, 1.0 ml of acetate buffer (pH 4.0) and 3.0 ml of moromi filtrate were incubated at 37°C for 18 hours.

最適 pH における金属イオンおよび阻害剤の影響は Table 7 に示した。RNase は  $\text{Cu}^{++}$ ,  $\text{Zn}^{++}$  に阻害され、PDase, PMase は  $\text{NaF}$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{Zn}^{++}$  に阻害された。各種基質に対する作用の検討は酵母における場合と同様にして酵母 RNA, ATP, 5'-AMP を基質とした時の反応生成物を分画定量を行なった。

酵母 RNA を基質としたときの結果は Fig. 20 に示した。GMP, CMP, AMP, UMP, IMP を生成することが認められ、これはペーパークロマトグラフィー、カルバゾール反応により 3'-型が主体であると思われた。ATP を基質とした時の結果は Fig. 21 に示す。ADP, 5'-IMP を生成した。

Table 7. Influence of metal ions on enzyme activities of moromi filtrate. Mixtures were incubated at the most suitable pH (RNase 4.0, PDase 3.0, PMase 4.0) at 37°C. (Relative activities)

Enzymes	RNase		PDase		PMase		
	Agents	$1.25 \times 10^{-2} \text{M}$	$2.5 \times 10^{-2} \text{M}$	$4.5 \times 10^{-3} \text{M}$	$9.0 \times 10^{-3} \text{M}$	$4.5 \times 10^{-3} \text{M}$	$9.0 \times 10^{-3} \text{M}$
Control		100	100	100	100	100	100
$\text{MgCl}_2$		103	100	125	122	111	122
$\text{CaCl}_2$		103	103	103	103	110	111
$\text{CoSO}_4$		101	73	—	—	—	—
$\text{CuSO}_4$		9	5	—	—	—	—
$\text{ZnSO}_4$		37	23	73	72	59	52
$\text{MnSO}_4$		101	85	—	—	—	—
$\text{NaF}$		94	116	20	15	9	6
$\text{Na}_2\text{HPO}_4$		107	103	21	17	28	18
EDTA		114	101	96	86	97	83
Na-citrate		100	94	81	65	107	105

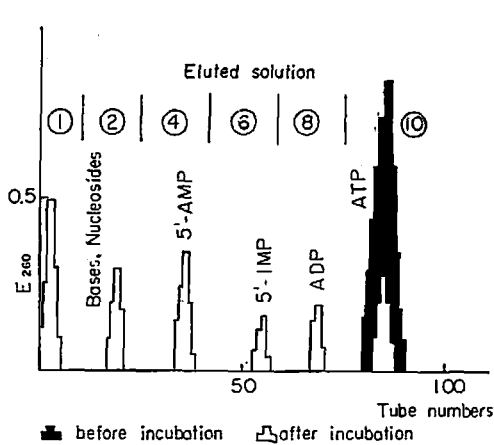


Fig. 21. Digestion products by enzymes in moromi filtrate with ATP as substrate. Mixtures of 5.0 ml of ATP (40mg/5ml), 1.0 ml of acetate buffer (pH 4.0) and 2.5 ml of moromi filtrate were incubated at 37°C for 1 hour.

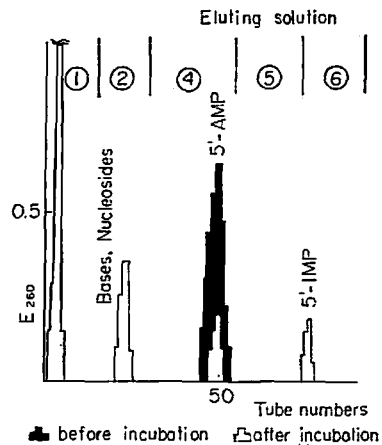


Fig. 22. Digestion products by enzymes in moromi filtrate with 5'-AMP as substrate. Mixtures of 5.0 ml of 5'-AMP (5 mg/10ml), 1.0 ml of acetate buffer (pH 5.0) and 2.5 ml of moromi filtrate were incubated 37°C for 1 hour.

5'-AMP を基質としたときの結果は Fig. 22 に示す。主として塩基，ヌクレオシドを生成したが，酒母の場合と同様に 5'-IMP も認められた。

## 考 察

清母，醪の核酸系成分ならびに関連酵素系は，主として米，麴および酵母の影響を受けるものと推察されるが，酵母については続報において，その菌体からの分泌，自己消化などを培養条件とともに検討するので，本考察では麴との関係の範囲に止める。

全リンの経時的变化は酒母，醪ともに認められないが，酸可溶性リンは増加し RNA リンは減少する傾向を示している。

酸可溶性リン区分から得た種々の核酸系成分中，塩基，ヌクレオシド区分は増加の傾向を示したが，ヌクレオチドは酒母，醪ともに経時的に大きな変化は示していない。

前報<sup>1)</sup>において，ヌクレオチドの中の 3'-型のもは，麴成分中に見出ししており，また麴粗酵素液による酵母 RNA の酸性側における分解生成物中のヌクレオチドも 5'-型よりも 3'-型を主体としていたので，酒母，醪経過中の 3'-ヌクレオチドの生成には麴も影響しているものと考えられる。

麴，酒母，醪の核酸分解酵素系およびそれら相互の関連について見ると酒母，醪の粗酵素液による酵母 RNA 分解生成物中に，毛利ら<sup>2)</sup>，国中<sup>3)</sup>，猿野<sup>4)</sup>の報告など<sup>1)</sup>に示されているような，麴の deaminase によって AMP から生成されたと思われる IMP が見出され，麴の核酸分解酵素系が影響していることが考えられる。

一方酒母，醪の粗酵素液による ATP および酵母 RNA 分解生成物中には，麴粗酵素液を用いて分解したときには見出されなかった ADP，CMP，および UMP がそれぞれ見出されており，また RNase 活性のアルカリ側最適 pH のピークも麴の RNase には明らかでなかったが，酒母，醪には見出されているので，これらは麴以外のもの影響によることが考えられる。

酵素活性の経時的变化を見ると RNase 活性が酒母，醪ともに工程の途中でわづかに増加している。これについては Nakao ら<sup>12)</sup>の *Rhodotorula* の RNase に関する報告もあるので，清酒酵母に由来する RNase が影響したものと推察される。これらについては PDase，PMase 活性の減少に対するリン成分の影響などともに後報でのべる。

以上の結果から酒母と，醪中の核酸分解酵素系はともに麴と麴以外のもの，影響とを受けているものと考えられた。これらについては後報でさらに検討を加える。

## 要 約

1) 酒母，醪の核酸系成分および核酸関連酵素系の経時的变化，ならびに粗酵素液の諸性質を調べつぎの結果を得た。

2) 酒母のり成分の中で酸可溶性リンは経過日数と共に増加し，RNA リンは減少した。またヌクレオチドの変化は少なかったが，グアニン系，アデニン系，アデニン系物質を主体とする塩基，

ヌクレオシドは増加した。

3) 醗のリン成分、核酸系成分の変化は酒母と大差がなかった。塩基、ヌクレオシドにはグアニン系、アデニン系物質の外にシトシン系物質を検出した。

4) 酒母の RNase 活性はフクレ後までやや増加し、以後減少した。PDase, PMase 活性は次第に減少した。醗の RNase 活性は本泡末期頃までやや増加し、以後減少した PDase, PMase は次第に減少した。

5) 酒母および醗の粗酵素液の RNase 活性の最適 pH は 4.0 付近と 7.0~8.0 付近とに見出され、PDase 活性は 3.0~4.0, PMase 活性は 4.0~5.0 にあり、最適温度は RNase, PDase 活性は 60°C, PMase 性は 50~55°C であった。RNase 活性は 100°C, 10分間加熱してもかなり活性が残っていたが、PDase, PMase 活性は 70°C でほとんど失活した。また RNase は  $\text{Cu}^{++}$ ,  $\text{Zn}^{++}$ , PDase および PMase は NaF,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  により阻害された。

6) 酒母および醗の粗酵素液を酵母 RNA に作用させると GMP, CMP, AMP, UMP を生成し 3'-型が多かった。また ATP に作用させると ADP, 5'-AMP, 5'-IMP を生成し、5'-AMP に作用させると塩基、ヌクレオシドと 5'-IMP を生成した。

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、御援助を戴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。なお本研究の発表をお許し頂いた社長安福武之助氏に深謝します。

#### 文 献

- 1) 足立・柏原・毛利：醗酵工誌, 46, 6 (1968).
- 2) 足立・柏原・毛利：醗酵工誌, 46, 15 (1968).
- 3) 毛利・橋田・高田・黒谷・寺本：本誌, 43, 922 (1965).
- 4) 豊沢・米崎：本誌, 32, 319 (1954).
- 5) Folin, Q., Ciocalteu, V., : *J. Biol. Chem.*, LXXIII, 627 (1927).
- 6) 中島：農化, 35, 797 (1961).
- 7) 橋田・毛利：醗酵工誌, 41, 420 (1963).
- 8) 須原・大村：酵素化学シンポジウム, 16, 115 (1964).
- 9) 国中：農化, 29, 801 (1955).
- 10) 猿野：醗酵工誌, 33, 74 (1955).
- 11) 生物化学講座, 10, 269 (1960) 共立出版株式会社.
- 12) Nakao, Ogata : *Agr. Biol. Chem.*, 27, 499 (1963).

#### 訂 正

本誌第46巻第1号第19頁の報文において次のように訂正します。

1. 第19頁8行目より14行目迄「しかし国中らの報告では……測定している為と考えられる。」を削除し代りに次の文章を入れる。「国中<sup>8)</sup>は第2報において“弗化ソーダは RN-depolymerase には軽微な阻害しか示さないが、RN-phosphatase に対し完全阻害する”ことを述べている。筆者らの清酒麴の場合もよく類似した結果が得られた。」
2. 文献の項8) 国中の項に文献「農化, 29, 52 (1955)」を追加する。