

清酒製造工程における複合酵素作用

松澤一幸^{*1)}

Action of Multiple Enzyme Activities on Sake Brewing

MATSUZAWA Kazuyuki^{*1)}

The changes of alcohol, Be' and five kinds of enzymes in moromi mash in sake brewing were investigated. The five kinds of moromi mashes (Lot1,2,3,4,5) with koji of *Aspergillus oryzae* and/or *Aspergillus kawachi* were examined. The time courses of Be' were different in five moromi mashes, but the time courses of alcohol were almost the same tendency. The enzyme activity of α -amylase was strong in koji of *Aspergillus oryzae*, but other enzymes' activity of glucoamylase, acid protease, acid carboxypeptidase and acid phosphatase were strong in koji of *Aspergillus kawachi*. About the time courses of enzyme activities, α -amylase came down rapidly, but glucoamylase and acid phosphatase did not change significantly.

1. 緒言

麹には多様な酵素が蓄積されており、それらの酵素が複合系として巧みに働き、清酒、焼酎、醤油、味噌、食酢などの伝統的な発酵食品が製造されてきた。しかし、発酵を複合した酵素反応の場としてとらえ、複合する酵素の関係について研究した例は少ない。¹⁻⁶⁾そこで、清酒製造製造工程における複合する酵素活性の挙動に着目して、清酒用麹 *Aspergillus oryzae* と焼酎用麹 *Aspergillus kawachi* の複合麹系において、麹の配合割合を変化させ清酒の仕込みを行った。5種類の酵素活性 (α -アミラーゼ、グルコアミラーゼ、酸性プロテアーゼ、酸性カルボキシペプチダーゼ、酸性ホスファターゼ) について経時変化を測定し、酒質成分との関係について調査した。

2. 実験方法

2.1 仕込み方法

仕込み配合を Table 1 に示した。仕込みは総米 2kg、酒母省略 1 段仕込みで、モロミは温度 12℃ でスタートし、1 日 1℃ 上昇させ 15℃ に到達後 15℃ 一定で管理した。麹は、清酒麹 *Aspergillus oryzae*、と焼酎麹 *Aspergillus kawachi* (酸度 10) を混用し、焼酎用麹使用配合割合を 0%、10%、30%、50%、100% に変化させて仕込みを行った。また、酵母は協会 701 号を使用した。

2.2 分析試料の採取

試料は、モロミ仕込み時を 1 日目として、4、7、11、15 日目にモロミを採取し、遠心分離 (6000ppm, 30min) により、上清を回収し分析試料とした。また、酵素活性測定試

料は -20℃ で保存したものを後日解凍し使用した。

Table 1 Proportion of raw material for sake.

	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 4	Lot 5
Total rice (g)	2000	2000	2000	2000	2000
Raw rice (g)	1560	1560	1560	1560	1560
Seisyu-koji rice (g)	440	396	308	220	0
Shocyu-koji rice (g)	0	44	132	220	440
Water (g)	2500	2500	2500	2500	2500
Culture of yeast (ml)	30	30	30	30	30

2.3 一般成分の分析

モロミ上清のボーメ度は、京都電子工業(株)製あまからメイト DA-120 を、アルコールは理研計器(株)製アルコメイト AL-2 を使用し分析した。

2.4 酵素活性の測定

α -アミラーゼ、グルコアミラーゼ、酸性カルボキシペプチダーゼの活性測定は、キッコマン社製醸造分析キットを使用した。また、酸性プロテアーゼ活性は国税庁所定分析法⁷⁾により測定した。酸性ホスファターゼの活性は基質に p-ニトロフェニル燐酸二ナトリウム(PNPP)を使用し、0.1M 酢酸ナトリウムバッファー(pH 4.5)中で 30、20 分反応後、1M 水酸化ナトリウムで反応を停止させ、440nm で吸光度を測定した。酵素活性は 30℃ で 1 分間に 1mol のパラニトロフェノールを遊離するのを 1unit と定義した。

3. 結果及び考察

3.1 ボーメ度、アルコールの経時変化

*1)食品・毛皮革技術チーム

各麹配合の異なるモロミ中のポーメ度の経時変化を Fig.1 示した。焼酎麹の使用割合が多いほど、ポーメの値は低く、Lot1 > Lot2 > Lot3 > Lot4 > Lot5 の傾向で数値は減少した。

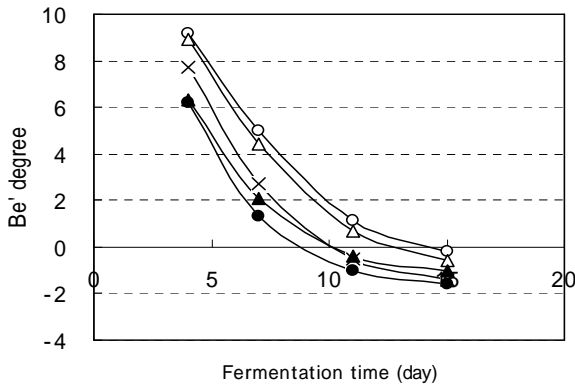


Fig.1 Time course of Be' in *moromi* mash in sake brewing
 Symbols show the changing Be' for following Lot.
 - ○ -, Lot1 ; - △ -, Lot2 ; - × -, Lot3
 - ● -, Lot4 ; - ◇ -, Lot5

つぎに、アルコールの経時変化を Fig.2 に示した。この場合には、各ロット間のアルコール生産量の差は認められず、いずれもほぼ同様にアルコールが増加蓄積していることを確認した。焼酎麹 100%使用区(Lot5)においても、発酵の停滞は認められなかった。

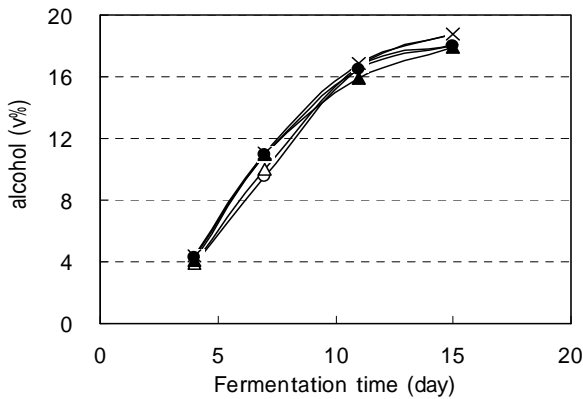


Fig.2 Time course of alcohol content in *moromi* mash in sake brewing
 Symbols are the same as those indicated in Fig.1.

3.2 各種酵素の経時変化

過去、モロミ中の酵素活性の経時変化を測定している例は少ない。⁸⁻¹⁰⁾そこで、 α -アミラーゼ、グルコアミラーゼ、酸性プロテアーゼ、酸性カルボキシペプチダーゼ、酸性ホスファターゼの5種類について、発酵過程におけるモロミ中の酵素活性の消長について測定を実施した。

α -アミラーゼの経時変化について Fig.3 に示した。モロミ初期における活性は Lot1 > Lot2 > Lot3 > Lot4 > Lot5 であり、ポーメのモロミ初期の数値との関係が示唆された。

さらに、酵素活性の経時変化はモロミ経過とともに減少することが確認された。モロミ初期の α -アミラーゼ活性は、清酒麹では、焼酎麹に比較し30倍以上強いことが推定された。しかし、経時的に速やかに減少することが認められ、武藤らの報告⁹⁾にあるモロミ中の糖化力の変化傾向と一致した。この酵素活性の減少については、 α -アミラーゼのデンプンへの無効吸着、液相量の変化、アルコールによる酵素活性の阻害などの要因が考えられ、今回の結果は、これらが複合して影響を受けたものと考察した。

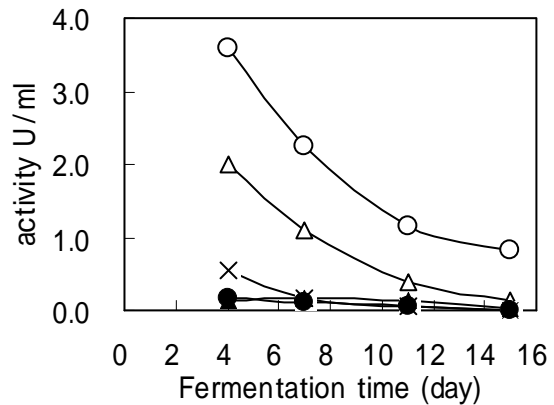


Fig.3 Time course of α -amylase activity in *moromi* mash in sake brewing
 Symbols are the same as those indicated in Fig.1.

つぎに、グルコアミラーゼ活性の経時変化を Fig.4 に示した。グルコアミラーゼ活性は、 α -アミラーゼ活性とは逆にモロミ初期における活性は Lot5 > Lot4 > Lot3 > Lot2 > Lot1 であり、焼酎麹の活性が清酒麹 10 倍以上強く、モロミ成分の経時変化により変化が少ない酵素であることが確認された。一方、グルコアミラーゼの活性については、焼酎麹では清酒麹の約2倍とする報告²⁾やほぼ同じであるとする報告⁵⁾があり、それらの報告とは一致しない結果であった。これは、使用した麹の酵素活性の違い、活性測定法の差異に起因するものと考えられた。

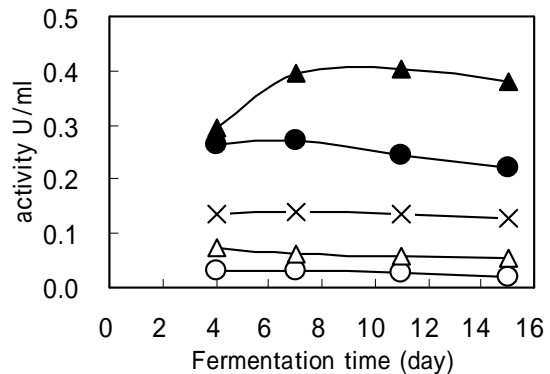


Fig.4 Time course of glucoamylase activity in *moromi* mash in sake brewing
 Symbols are the same as those indicated in Fig.1.

タンパク質分解に関する酵素である酸性プロテアーゼの経時変化を Fig.5 に、アミノ酸生成に関する酸性カルボキシペプチダーゼの経時変化を Fig.6 に示した。両酵素の活性は、発酵途中で増加後、減少する傾向が確認された。また、いずれの酵素も焼酎麹が強い傾向が認められ、岩野らの報告²⁾と一致していた。

また、アミノ酸度の値については、15日目の値は各ロットとも 1.8 と同じであった。酵素活性が異なるにもかかわらずアミノ酸度が同一であったことは、原料由来のタンパク質の影響、酵母による取り込みに起因するものと推察した。

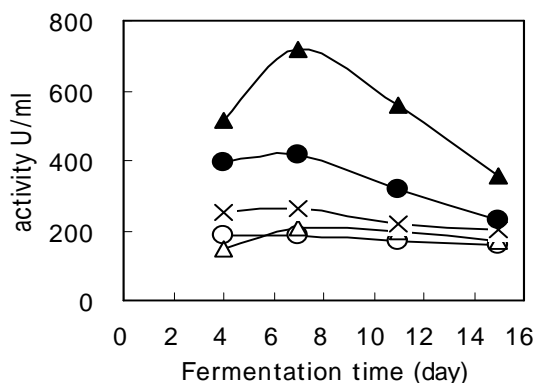


Fig.5 Time course of acid protease activity in *moromi* mash in sake brewing
Symbols are the same as those indicated in Fig.1.

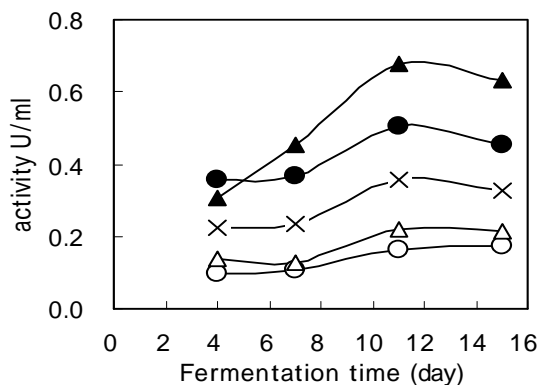


Fig.6 Time course of acid carboxypeptidase activity in *moromi* mash in sake brewing
Symbols are the same as those indicated in Fig.1.

酸性ホスファターゼの経時変化を Fig.7 に示した。清水からは、酸性ホスファターゼは、清酒モロミの平行複発酵に関与し、蒸米の溶解、糖化が促進され粕歩合が大きく低下すること、発酵速度が速まりモロミ日数が短縮されると報告している。⁶⁾ 今回の試験結果では、焼酎麹の酸性ホスファターゼ活性が強く、活性の経時変化が少ない結果が明らかとなった。このことは、焼酎麹における α -アミラーゼ活性の弱さを、酸性ホスファターゼが補足し、発酵速度が

Lot1 から 5 までほぼ同一であったことに関与している可能性が示唆された。

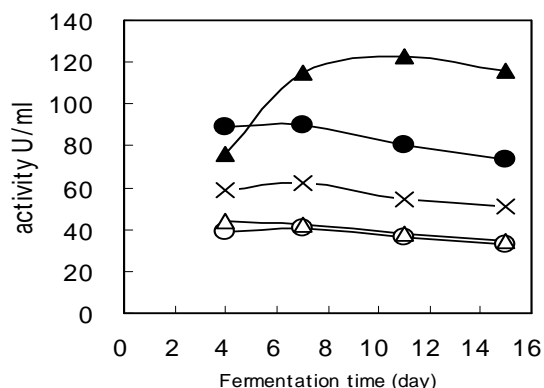


Fig.7 Time course of acid phosphatase activity in *moromi* mash in sake brewing
Symbols are the same as those indicated in Fig.1.

4. 結言

清酒麹と焼酎麹を混用し、焼酎用麹を 0% , 10% , 30% , 50% , 100% に変化させて仕込みを行い、成分および酵素活性の経時変化を調査した結果、次のことが明らかとなった。

(1) ボーメは麹の混用割合により各ロットの経時変化に差が認められたが、アルコールでは各ロットともほぼ同じ経過を示した。(2) α -アミラーゼは、清酒麹に多く存在し、速やかに減少した。(3) α -アミラーゼ以外の酵素活性は(グルコアミラーゼ、酸性プロテアーゼ、酸性カルボキシペプチダーゼ、酸性ホスファターゼ)焼酎麹が強かった。また、グルコアミラーゼ、酸性ホスファターゼの経時変化は少なかった。

参考文献

- 1) 岩野君夫, 布川弥太郎: 醸協, 71, 943-947 (1976)
- 2) 岩野君夫, 三上重明, 福田清治, 椎木敏, 島田豊明: 醸協, 81, 554-557 (1986)
- 3) 椎木 敏: 発酵工学, 69, 293-306 (1992)
- 4) 福田 央, 山根雄一, 若林三郎: 醸協, 97, 808-813 (2002)
- 5) 中村明弘, 飯森直樹, 須藤茂俊, 三上重明, 伊藤清, 石川雄章: 醸協, 85, 114-119 (1990)
- 6) 清水弘人, 中谷俊多美, 岡部正人, 三上重明, 岩野君夫: 醸協, 91, 362-366 (1996)
- 7) 注解編集委員会編: 第 4 回改正国税庁所定分析法注解 p.223-226, 日本醸造協会 (1993)
- 8) 布川弥太郎, 永谷正治, 岩野君夫: 醸協, 73, 291-294 (1978)
- 9) 池見元宏, 斉藤久一, 小泉武夫, 野白喜久雄: 醸協, 67, 355-357 (1985)
- 10) 武藤彰宣, 坂本裕子, 田島健一郎, 後藤邦康: 醸協, 92, 535-540 (1997)