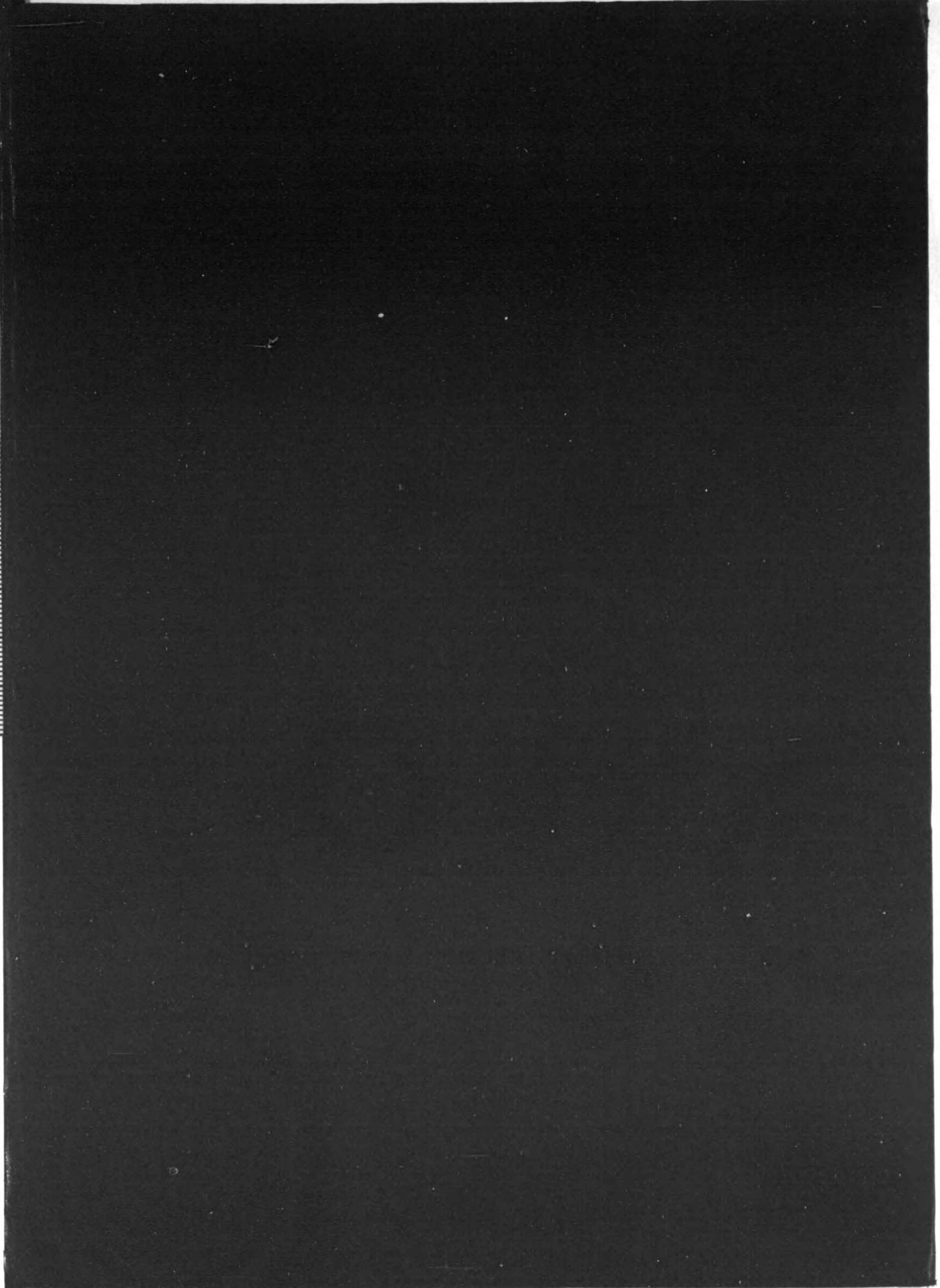




始



14.2
126

14

釀造試驗所報告

第百十五號

昭和七年十月

REPORT

OF THE

GOVERNMENTAL INSTITUTE

OF

BREWING

No. 115 (1932)

釀造試驗所

東京市瀧野川區瀧野川町

Published by
Governmental Institute of Brewing
Takinogawa, Tokyo, Japan.

October 1932

發行所寄贈本

香糟
81.11
帝國圖書館



REPORT OF THE GOVERNMENTAL INSTITUTE OF BREWING

No. 115 (October 1932)

— : o : —

CONTENTS

The part of scientific resurches

1. **Kanroku Kurono, Hidé Katsumé und Hidé Fujita:** Über die Bedeutung eines Aktivator auf das Wachstum des *Bacillus saprogenes Saké*. (I. Mitteilung) 1
2. **Kanroku Kurono, Masakazu Kambayashi und Yoshiharu Morii:** Einige gärungs-physiologische Untersuchung über den Reis als Material der *Saké*brauerei. (I. Mitteilung)..... 18
3. **Kanroku Kurono und Sumié Takizawa:** Über die proteolytische Enzyme des *Aspergillus oryzae*. (I. Mitteilung)—Vorkommen und Isolierung dreier Sorten von Proteasen..... 43
4. **Masakazu Yamada:** On the decomposition of amino-acids of normal type by yeast. Part III.—Decomposition of glycocoll..... 76
5. **Masakazu Yamada:** On the alcoholic fermentation of amino-acids. Part I.—The decomposition of racemic leucine by *saké* yeast. 82
6. **Masakazu Yamada:** On the decomposition of amino-acids of normal type by yeast. Part V.—Decomposition of α -amino-n-valeric-acid (norvaline)..... 85
7. **Masakazu Yamada:** Several studies on fusel oil. 90
8. **Masakazu Yamada and Goichi Kurono:** On the detection of cane sugar added as adulterant in *saké*..... 96
9. **Shinsaku Sugiyama and Kiyoshi Nagahashi:** Studies on nitrogenous substances in *moto*-mash, *moromi*-mash, *saké* and artificial *saké*. 99
10. **Shinsaku Sugiyama:** Studies on *mirin*. Part VII.—The steeping of the material, glutinous rice, in the diluted solutions of several salts or alkalies. 120

11. **Shinsaku Sugiyama:** Studies on *mirin*. Part VIII.—On the relation between the turbidity and the hydrogen ion concentration. 129
12. **Tōshi Fukai and Shinichi Komatsu:** The relation between the *shōyu* brewing and the fatty oils. Part III.—Influence of several higher fatty alcohols on the propagation and the fermentation of yeast. 142
13. **Tōshi Fukai, Kiyoshi Nagahashi and Shinichi Komatsu:** The relation between the *shōyu* brewing and the fatty oils. Part IV.—The physiological action of the capric acid on the living yeast cell and its enzyme action. 155

The part of brewing trials

1. **Kenji Matsumoto and Shimpei Idei:** Brewing trials of *shōyu* with *moto-mash*, the special culture of lactic acid bacillus and *shōyu* yeast. 175
2. **Kenji Matsumoto, Shimpei Idei and Nenokichi Sasaki:** Brewing trials of *shōyu* with raw materials treated by a modified process. 182
3. **Kenji Matsumoto and Shimpei Idei:** The application of the pure culture of several kinds of bacteria in *shōyu* brewing. 189
4. **Kenji Matsumoto and Shimpei Idei:** The comparison of several kinds of *Aspergillus oryzae* in *shōyu* brewing. 193
5. **Jūichiro Suzuki, Masakazu Yamada, Hidé Katsumé and Masao Tatsui:** Brewing trials of spirits with molasses produced in Saipan Islands. 208

醸造試験所報告第百十五號目次

昭和七年十月

學術的研究

清酒火落菌の繁殖促進物質に於て (第一報).....	黒野勘六 勝目英 藤田英	1
醸造用米の酸酵生理學的研究(第一報).....	黒野勘六 神林正一 森井義治	18
麹菌の蛋白質分解酵素に關する研究(第一報) (三種のプロテアーゼの存在及分離).....	黒野勘六 瀧澤澄江	43
酵母に依るノルマル型アミノ酸の分解に就て (第四報)グリコロールの分解.....	山田正一	76
アミノ酸のアルコール酸酵に就て(第一報) 清酒酵母に依るラセミ性ロイシンの分解.....	山田正一	82
酵母に依るノルマル型アミノ酸の分解に就て (第五報)アルファアミノノルマルバレリア ン酸(ノルヴァリン)の分解.....	山田正一	85
フーゼル油に關する斷片的研究.....	山田正一	90
清酒中偽和せられたる蔗糖の檢出に就て.....	山田正一 黒野吾市	96
酒母、醪、清酒及び合成酒中の窒素物に就て.....	杉山晋朔 長橋清	99
味淋の研究(第七報) 鹽類及びアルカリに依る糯米浸漬試験.....	杉山晋朔	120
味淋の研究(第八報) 濁濁性と水素イオン濃度との關係.....	杉山晋朔	129
醬油酸酵と脂油の關係(第三報) 酵母の増殖並に酸酵に及ぼす二三脂肪族 高級アルコール類の影響.....	深井冬史 小松眞一	142
醬油酸酵と脂油の關係(第四報) 酵母の生活細胞並に其の酵素作用に及ぼす カブリン酸の生理的作用に就て.....	深井冬史 長橋清 小松眞一	155

實地醸造試験

醬母應用醬油醸造試験	松本憲次 出井眞平	175
原料處理變更醬油醸造試験	松本憲次 出井眞平 佐々木子之吉	182
細菌添加醬油醸造試験	松本憲次 出井眞平	189
麹菌種比較醬油醸造試験	松本憲次 出井眞平	193
サイパン産糖蜜使用酒精製造試験	鈴木重一郎 山田正一 勝目英 辰井正夫	208

—(目次終)—

醸造試験所報告第百十五號



清酒火落菌の繁殖促進物質に就て (第一報)

Über die Bedeutung eines Aktivators auf das
Wachstum des *Bacillus saprogenes* Saké. (I. Mitteilung)

技師 黒野勘六
技手 勝目英
元技手 藤田英

第一章 緒言

著者は既に昭和二年四月日本醸造協會雜誌上に於て清酒の貯藏問題に就てと題し清酒の防腐方法に就て詳論せり。而して清酒安全貯藏の研究體系は次の五法なりとせり。

1. 防腐劑添加法
2. 殺菌貯藏法
3. 冷蔵法
4. 防腐物質自製法
5. 害菌榮養物除去法

此内第五の方法は著者が清酒中に火落菌の繁殖を促進するビタミン様物質即ちロビンソンのオブジン様物質の存在尙此種の物質を除去する一方法を豫報提案せるものなり。即ち新酒を壺引貯藏後0.1—0.5%の活性炭を加へ此ビタミン様物質を吸着せしめ之を濾過せる透明清酒を貯藏する時は然らざるものより遙に貯藏性に富むことを豫報せるものなり。

尙又昭和二年七月同誌上に於て著者は清酒の防腐性に就てと題し清酒中の高級酒精類が火落菌の繁殖に對して防腐力有る事を豫報せり。此點は前記研究體系の第四方法に屬するものなり。

本報告は第五體系たる火落菌の繁殖促進物質の根本研究に屬するものにして昭和三年以來該物質の分離精製及び化學的研究を行ひたる結果を報告せんとするものなり。

元來バクテリア類の繁殖にも所謂ビタミン様物質たる特種のビオアクチバトール (Bioaktivator) を要求する事は古くより認められ居る事實にして例へばバチルス・キシリナ

△(Bac. xylinum)の培養に酵母浸出液を應用する事は既に1904年ベルトラン氏によりて始められたる處にして何人も此培養基の特別な性質が如何なる理由に依るかを理解し能はざりしなり。又多くのバクテリアは市販の普通培養基には其繁殖比較的困難なるを常とす。此故に野口英世氏⁽⁴⁾(1911年)の有名なる方法たる⁽⁵⁾梅毒菌の培養に殺菌せる牛の睪丸組織を使用する方法等が発見せられ細菌培養上大いに重要視せられたり。是等特種の組織の作用は果して如何なる物質の存在に依るか歐洲大戰前迄全く不明に屬せしなり。然るに其後ビタミン問題の研究進歩に伴ひ是等の理由がビタミン様物質即ち特種のバイオアクチバトールの存在による事明瞭となれり。然れども此明瞭なる事實も當初に於ては一般研究者に依り容易に信用されざりしものにして其理由は種々の研究者が純粹の人工培養基にてもバクテリアは可成りに繁殖したりとの實驗を發表したるに依るものなり。蓋し此種の研究者は其使用せる材料の不純又は多量の細菌を移植せるがために来るバイオアクチバトールの供給に氣付かざりしに依るものなり。然しながら1918年ロビンソン及びレットガー⁽⁶⁾兩氏の實驗は此の問題に關し有力なる注意を喚起したるなり。即ち蛋白質の酵素的分解物中には酸による分解物の外特別な不明の有色物質を含有すると言ひ之をオブシン(Op.in)と命名し、此オブシンを骨炭にて脱色せば最早バクテリアの培養基としての價値を失ひ細菌は能く之に繁殖し能はずと報ぜり。次に1918年バシニ及びルッセル⁽⁶⁾兩氏も亦空扶斯菌に就て以上の諸事實を證明し、等しく菌類の培養にビタミン様物質の必要なる事を説けり。尙又1920年ミューラー氏は連鎖球菌の繁殖に際し或不明の一新アミノ酸の存在を必要とすと言ひ此種のバクテリアは牛の心臓浸出液に良く繁殖すれども之を活性炭ノーリット(Norit)にて處理せば最早全くバクテリアの繁殖行はれざるに至り更に之にペプトン又は或種の蛋白質分解物を添加せば再び培養に適すと報ぜり。尙此活性物質は昇汞區分に來るものにしてトリプトファン、チロシン、シスチン、ヒスチジンの如き物質と異ると言ひ、又此物質は酵母に對して作用なしと報ぜらるゝを以て所謂ウイルダー氏のビオス(Bios)とは別種の活性物質と考へざるべからず。昭和四年山崎何恵氏⁽⁸⁾も亦其後余の發表引例せるロビンソン氏等の報告を引用し牛の肝臓を用ひ製せる清酒肝臓培養基は火落菌の繁殖迅速なりと報ぜり。其後高橋偵造氏等は此不便なる牛の内臓に代ふるに人蔘密柑の皮等の如き野菜類を清酒に添加するも同様に火落菌の培養を促進する事を認めたり。又余輩は火落菌の培養に米糠浸出液を清酒に添加しても火落菌の繁殖を促進する事を認めたり。

要するに清酒中には火落菌の繁殖を特に促進する物質即ち一種のバイオアクチバトールの存在する事は疑の餘地なく此種の物質を除去されたる清酒が火落菌の繁殖を容易に許さざるに至る事も又明瞭なり。従つて著者は先づ清酒中より此バイオアクチバトールを分離精製し其化學的性質を研究する事が最も根本的重要なる問題なりと信じ久しく該方面の研究に従事せしもビタミンの研究と同様に此種の微量物質而も結晶困難なる物質を化學的に精製

する事は頗る困難なる事項にして數年を経たる今日僅に其第一報を提出するに至れるなり。本報告に於ては數十石の清酒を用ひ特種なる方法によつて此バイオアクチバトールを抽出し之を純化する方法の研究にして最後に殆ど純粹に得られたる少量の該物質に就て其元素組成及び分子量等を測定し分子式を定め之にサブロゲニン(Saprogenin)なる名稱を與へたり。而して今後著者等は該サブロゲニンに關する化學的性質及び其成因に就て研究を進めつゝあるを以て是等は後日之を詳報せんことを期するものなり。

文 獻

- (1) 著者：日本醸造協會雜誌第22年第4號第2頁昭和2年4月
- (2) 著者：日本醸造協會雜誌第22年第7號第2頁昭和2年7月
- (3) G. Bertrand : Ann. de chim. et de phys. (8), 3, 121, 1904.
- (4) 野口英世 : Journ. Exp. Med. 14, 99, 1911.
- (5) H. C. Robinson u. Les F. Rettger : Journ. Bact. 3, 209, 1918.
- (6) J. P. Pacini u. D.W. Russell : Journ. Biol. Chem. 34, 43, 1918.
- (7) J. H. Müller : Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 18, 14, 1920.
- (8) 山崎何恵 : 日本農藝化學會誌第5卷第4冊377頁昭和4年4月.

第二章 豫備試験

下記各種の市販脱色用活性炭を各0.5瓦宛秤量し本所大正十四年度醸造清酒(防腐劑不混入)を各100瓦宛有栓圓筒に採り之に一定量の各種活性炭を添加し良く混交し一晝夜放置せるものを濾紙を以て濾過す。此際活性炭微粒子なる爲濾紙を通過する處あるに由り再三反覆濾過を繰返し全く活性炭と清酒を分離せり。斯の如くして活性炭處理せる各清酒に内三割加水(井水)せるものを豫め乾熱殺菌せる5勺容機械口壺に50瓦宛採り之を30分間一回蒸氣殺菌したり。之に火落菌培養液を5滴宛移植し28度に保持し毎日其火落状態を観察せり。本實驗に用ひたる火落菌は第十回酒類品評會出品中の某火落酒より分離せるものを本所清酒内三割加水酒に一週間培養せるものなり。

培養日数	活性炭種類	A	B	C	骨炭(メルク)	酸性白土	比較對照
1 日	後	-	-	-	-	-	-
2 〃	〃	-	-	-	-	-	±
5 〃	〃	-	-	-	±	-	++
8 〃	〃	-	-	-	++	±	++
10 〃	〃	-	-	-	++ ++	+	++ ++ ++

15	°	°	-	-	-	++	++	++
20	°	°	-	-	-	++	++	++
呈色度			+	++	++	++	++	++++

備考 表中(-)は不繁殖、(±)は繁殖兆候の出現、(+)は繁殖を示し其多寡は繁殖状態の強弱を表はすものなり(以下同前)

以上の実験結果より見る時は活性炭を以て処理せる清酒は明に火落の兆を呈せず、骨炭、酸性白土の如きものは数日後火落の兆を顯はせり。而して比較對照即ち何等處理せざる清酒は最も速に火落し、数日後に於ても其火落程度は他に比して遙に大なるを認めたり。而して脱色程度と火落との関係を見るに大體脱色程度大なる程火落困難なるもの如し。

以上の諸點より清酒の活性炭處理と火落との関係を考察するに清酒の成分中に火落菌の繁殖に密接なる関係を有する微量營養物の存在する事が容易に想像せらるべし。而して清酒を活性炭にて吸着處理する時は等微量營養物は色素其他の物質と共に活性炭に吸着せられ之等吸着處理せる清酒を以て火落菌を培養するも營養物缺乏の爲繁殖不能となるものと信ず。

第三章 活性炭の使用量と清酒の香味との關係

前記豫備試験に於て活性炭使用量 0.5% なるときは完全に清酒の腐敗を防止し得る事を認めたり。然るに該處理清酒を啗酒するに酒質著しく稀薄となり飲用に供し得ざる程度になりたるを以て本實驗に於ては活性炭に依る酒質の影響を考慮して火落を完全に防止し得る活性炭使用量の限界を決定せんとするものなり。

本實驗に使用せし活性炭は前章の實驗に使用せし活性炭 B にして試験方法は豫備試験の場合と同様なり。

活性炭の使用量 0.3%, 0.2%, 0.1%, 0.05%, 0.03%, 及び 0.01% の場合に於ける火落程度及び香味の變化を観察せり。

増産日	活性炭使用量	0.3%	0.2%	0.1%	0.05%	0.03%	0.01%	比較
1 日	後	-	-	-	-	-	-	-
2	°	-	-	-	-	-	-	-
3	°	-	-	-	-	-	-	-
4	°	-	-	-	-	-	-	±
5	°	-	-	-	-	-	-	+

6	°	°	-	-	-	-	-	-	+
7	°	°	-	-	-	-	-	-	++
8	°	°	-	-	-	-	-	-	++
9	°	°	-	-	-	-	-	-	++
10	°	°	-	-	-	-	-	-	++
15	°	°	-	-	-	-	-	-	++
18	°	°	-	-	-	-	-	-	++
20	°	°	-	-	-	-	-	-	++
23	°	°	-	-	-	-	-	±	++
25	°	°	-	-	-	-	-	±	++

次に活性炭の使用による清酒香味の變化を調査せしに本實驗に使用せる活性炭の場合に於ては 0.1% 以上の活性炭を以て處理せる清酒は酒質稀薄となるを認めたり。故に實際清酒の貯藏上本法を應用する場合を考ふるに上記火落試験の結果並に香味色澤等の諸點より綜合する時は活性炭の使用量は 0.03%—0.05% の間が最も良好なりと認めらるゝなり。

第四章 清酒の活性炭處理に依る大量貯藏試験

前試驗結果に於て活性炭處理に依りて清酒の腐敗を防止し得る事は確實なるを認めたるを以て愈々普通貯藏桶の大量火落防止貯藏試験を施行せんと欲し本所昭和元年度呑先合併酒に就きて施行せり。而して活性炭は豫備試験に於て相當有效と認めたる活性炭 B を使用したり。

活性炭添加處理法は單引清澄したる 呑先合併酒 9.60 石に對し活性炭 0.03% 即ち 518.4 瓦を攪拌しつゝ添加し放置せり。翌日試料を採取し檢するに原酒に比し相當脱色せられ淡麗となり酒質も幾分向上せるを認めたり。五日後濾過するに一回にては尙充分濾過し得ざりしが故に二回濾過して全く透明なる清酒を得翌日常法により火入し貯藏せり。

尙本所以外下記二醸造場に委嘱し活性炭 C (前章参照) を 0.03% 添加し、前と同様の方法にて清酒 30 石の貯藏試験を施行せり。

東京府北豊島郡岩淵町 小山酒造場
茨城縣新治郡關川村 藤田酒造場

以上本所及び地方に於て活性炭處理を行ひたる清酒に就き火落試験を爲したる結果下記

の如し。

試験方法は豫備試験の場合と同様なり。

日次	醸造試験所昭和元年度 呑先合併酒		小山酒造場昭和元年度		藤田酒造場昭和元年度	
	活性炭 0.03% 處理	比較	活性炭 0.03% 處理	比較	活性炭 0.03% 處理	比較
1	—	—	—	—	—	—
2	—	—	—	—	—	—
3	—	±	—	—	—	±
4	—	+	—	±	—	±
5	—	+	—	±	—	+
6	—	++	—	+	—	++
7	—	++	—	++	—	++
8	—	+	—	++	—	+
9	—	++	—	+	—	++
10	—	++	—	++	—	++
15	—	++	—	++	—	++
18	—	++	—	++	—	++
20	—	++	—	++	—	++
22	—	++	—	++	—	++
25	—	++	—	++	—	++
28	—	++	—	++	—	++
30	—	++	—	++	—	++
35	—	++	—	++	—	++
38	—	++	—	++	—	++
40	—	++	—	++	—	++

上記大量貯蔵試験の結果より見るに本所に於ける試験に於ても又民間二酒造場に於ける試験に於ても共に活性炭による清酒の火落防止に成功し而も酒質に就きて見るも原酒に優

るとも劣らざるを認めたり。

第五章 清酒腐敗促進物質の分離方法

使用清酒は本所昭和元年度清酒第一回廻引のものにして次の三種を使用し、活性炭ラフ、
ンを 0.03% 即ち次に示す量を添加したり。

	石數	活性炭
仕込第三號(フキチン及び人工灰應用種麴試験比較)	11,224	557瓦
” 第四號(フキチン應用試験)	10,561	524瓦
” 第五號(人工灰應用試験)	10,649	537瓦
合 計	32,434	1618瓦

上記の分量の活性炭添加後五日目に綿濾過機及び濾紙にて濾過し次に列記する各反應を
呈せざるに至る迄蒸留水にて洗滌す。

- (1) フェーリング反應
- (2) α ナフトール及び硫酸による炭水化物反應
- (3) ウッフェルマン氏乳酸反應
- (4) ブリックス氏磷酸反應

水洗後風乾し 1213瓦を得たり。

吸着物質の溶剤に依る抽出試験は上記の方法により得たる吸着物質を含める活性炭を試
験管に採り下記各種の溶剤を加へ密栓し十二日間放置し其着色程度により吸着物質の溶出
程度を観察せり。

溶 劑	冷	煮 沸	溶 劑	冷	煮 沸
エーテール	—	—	リグロイン	—	—
エチルアルコール 96%	—	—	石油ベンジン	—	—
水	—	—	ビリヂン	++	++
アセトン	—	—	二硫化炭素	—	—
キシロール	—	—	氷 醋 酸	+	+
クロロフォルム	—	—	アセチクエター	—	—
ベンツオール	—	—	メチルアルコール	—	—
ベンゾイツクエター	—	—	ブチルアルコール	—	—
			アミールアルコール	—	—

即ち此結果を通覽するに清酒中の活性炭吸着物質はビリヂン、氷醋酸にのみ溶解し就中
ビリヂンに最も溶解し易きを認む。

吸着物質の水素イオン濃度調節に依る抽出試験は上記の活性炭吸着物質が水素イオン濃
度調節に依り活性炭より分離され得るや否やを檢せんとし次の實驗を施行せり。

6	-	-	-	-	-	-	+	-
7	-	-	-	-	-	-	+	-
8	-	-	-	-	-	-	++	-
9	-	-	-	-	-	-	++	-
10	-	-	-	±	±	±	++	-
11	-	-	-	±	+	+	++	-
12	-	-	-	±	+	+	+	-
13	-	-	-	±	+	+	++	-
14	-	-	-	±	++	++	++	-
15	-	-	-	+	++	++	++	-
16	-	-	-	+	++	++	++	-
17	-	-	-	+	++	++	++	-
18	-	-	-	+	++	++	++	-
19	-	-	-	+	++	++	++	-
20	-	-	-	+	++	++	++	-

即ち上記の結果を観るに第一区分物質添加のものは比較第二號即ち活性炭處理清酒と同様に全く火落の現象を顯はさざるが故に此区分は清酒の火落に關係なきものなりと認め得るなり。之に反して第一区分を除去したる液を添加せるものは比較第一號即ち活性炭處理を行はざる清酒より幾分遅れて火落の現象を呈せしも殆ど同様に清酒の火落を促進するものにして清酒の腐敗促進物質は此区分に存在する事を確認せり。故に以下該区分を更に分別精製せんとす。

第二区分

第一区分を分離除去したる濃縮舍利別に微温メチールアルコール250 銚を加へて完全に溶解せしめ一夜間冷蔵庫中に静置せしむる時は底部に舍利別狀の沈澱を得、メツツにて之を濾過し真空乾燥器中にて乾燥す。收量 8.8 瓦(第二区分)

斯くして得たる第二区分の各種溶剤に對する性質並に化學的性質を調査せしに次の如し。

各種溶剤に對する溶解性

溶 劑	冷	温	溶 劑	冷	温
エチールアルコール(無水)	-	-	キシロール	-	-

☆ (50%)	+	+	アセトン	-	-
☆ (95%)	-	±	クロロホルム	-	-
メチールアルコール	-	±	エターベンゾイツク	-	-
エターアセチツク	-	-	リグロイン	-	-
エターハトロイツク	-	-	四酸化炭素	-	-
ベンゼン	-	-	二硫化炭素	-	-
エーテル	-	-			

化學的性質 50%酒精に溶解せる液は微酸性を呈し昇汞並に鹽化カドミウムにて沈澱せず、醋酸鉛にて沈澱を生ず。

次に第二区分並に第二区分を除去したるメチールアルコール可溶部分に就き元素の定性及び蛋白質の反應等を調査せるに左記の如し。

	第二区分	第二区分除去メチールアルコール可溶部分
灰分	痕跡	痕跡
窒素	+	+
硫黄	痕跡	痕跡
燐	痕跡(無機燐なし)	痕跡(無機燐なし)
フェーリング液による還元性	酸化銅の沈澱なし、綠色に變ず	同左
ミロン反應	チロシン様なれども明瞭ならず	同左
ビュレット反應	-	-

第三区分(A)

第二区分を分別したる殘餘のメチールアルコール溶液約 240 銚に昇汞のメチールアルコール飽和溶液 85 銚を添加して沈澱を完結せしめ、密栓して氷室中に約五晝夜間静置したる後メツツにて濾過す。沈澱は始め昇汞のメチールアルコール飽和溶液にて洗滌し洗滌濾液無色となるに及びメチールアルコールにて洗滌し濾液に水銀の反應を認めざるに至り、エーテルにて洗滌し真空乾燥す。茲に得たる水銀鹽の收量 6.55 瓦なり。

斯くして得たる水銀化合物は 95% エチールアルコール、硫酸(1:5)及びブチールアルコールに溶解せず。故にメチールアルコール150 銚に懸浮して、硫化水素を通じ飽和せしめ一晝夜間密栓して静置せしめ濾過す。濾液は美麗なる紅橙色を呈す。加温しつつ扇風機を以て硫化水素を驅逐し約半量となりたる後濾過す濾液全量約 60 銚に水 420 銚を加へ沈澱せしむ。沈澱は極めて微小なれども顯微鏡にて檢するに均一なる結晶狀をなすを認めたり。沈澱は二晝夜間氷室中に静置し完全に沈下せる後濾過し真空乾燥し帶褐色粉末 0.3 瓦を得たり。

第三区分(B)

第三区分(A)を分離したる濾液は淡黄色にして先づ真空下に於て濃縮し同時に混在せる鹽酸を驅逐し後蒸發皿上にて舍利別狀となす。此舍利別に約 5 銚のメチールアルコールを加へ溶解せしめ濾過して不純物を除き蒸發して真空乾燥す。

第四区分

メチールアルコール溶液に昇汞を加へて第三区分を水銀化合物として沈澱せしめたる残の濾液に硫化水素を通じ残留せる昇汞を除去す。硫化水銀を除去したる濾液 270 匁を 30 度に於て扇風機にて約 105 匁に濃縮し濾過したり。此濾液に約 7 倍量即ち 700 匁の水を加へ沈澱せしめメツツにて濾過し真空乾燥す。収量 2.9 瓦を得たり。

斯くして得たるものを更に純化せんが爲にメチールアルコールに溶解し濾過し鹽基性醋酸鉛メチールアルコール飽和溶液を沈澱の完結する迄注加しメツツにて濾過し沈澱はメチールアルコール約 40 匁にて洗滌し最後にエーテルにて洗滌したり。斯くして得たる鉛化合物を真空乾燥して 1.3 瓦を得たり。此鉛化合物を約 60 匁のメチールアルコールに懸浮せしめ硫化水素を飽和し濾過して完全に鉛を除去し洗滌液と共に 90 匁を得たり。之を約三分の一容に煮詰め 8 倍量の水 240 匁を加へて完全に沈澱せしむ。沈澱はメツツにて濾過し真空乾燥し 0.2455 瓦を得たり。(第四区分A)

鉛化合物を分離したる残の濾液は硫化水素にて鉛を除き湯煎鍋上にて約三分の一容に濃縮し水にて沈澱せしむ。沈澱は舍利別状となり濾過極て困難なり。故に舍利別状の儘保存す。収量 2.8 瓦なり。(第四区分B)

第五区分

昇汞にて水銀化合物を沈澱せしめたる濾液に水を加へて沈澱せしめ濾過して第四区分を分離したる残の濾液を真空蒸餾して煮詰め混在する鹽酸を除去し約 70 匁の水を加へて溶解せしめ濾過し不純物を除く、不溶解物は極めて少量なり、此濾液約 70 匁に硫酸 10% になる如く 15.7% の硫酸を注加し燐ウオルフラム酸を加へて沈澱せしむ。一夜放置後濾過し、10% 硫酸 400 匁にて洗滌し沈澱は水酸化バリウムの飽和溶液を加へ分解濾別し、溶液を濃縮し真空に於て乾燥す。

第七章 精製各区分と清酒腐敗との関係

前記方法により清酒中の活性炭吸着物質を抽出し分別精製せる各区分の中清酒の腐敗を促進するもの即ち火落の原因物質となるべき区分を選択せんが爲下記の方法により清酒の腐敗試験を行ひたり。

使用清酒 本所昭和二年度醸造清酒を活性炭 0.03% にて処理し之に外二割加水せるものを五勺機械口壺に50匁宛配布し常法の如く 30 分間蒸氣殺菌せるものなり。

供試料 第一区分 50%エチールアルコール溶液
第二区分 50%メチールアルコール溶液
第三区分A 50%メチールアルコール溶液

第三区分B 同上
第四区分A 同上
第四区分B 同上
第五区分 同上

何れも濃度 1% 液を 50 匁清酒に 0.1 匁添加

比較 比較一號 原酒を單に外二割加水、殺菌せるものにして活性炭處理を行はざるもの。

比較二號 活性炭處理加水清酒を殺菌せるものにして前記各供試料を添加せざるもの。

火落菌 第十一回全國酒類品評會出品某火落酒より分離し上記使用清酒の原酒中に培養せるもの。

試験の結果は下記の如し、各號實驗とも二本宛試験せしも夫々相一致したる結果を得たり。

經過日數	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
比較一號(原酒)	—	—	—	—	—	+	+	++	++	++
比較二號(活性炭處理)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
第一区分添加	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
第二区分、	—	—	—	+	+	+	++	++	++	++
第三区分A、	—	—	—	—	—	—	—	+	++	++
第三区分B、	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
第四区分A、	—	—	—	—	—	+	+	++	++	++
第四区分B、	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
第五区分、	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

上記試験の結果を通覽するに第二区分、第三区分A並に第四区分Aを添加せるものが原酒と同様に腐敗を起し、殘餘の各区分を添加せるものにおいては活性炭處理比較清酒と同様に火落菌を移植するも清酒の腐敗を起さざるを知る。即ち前記方法により活性炭吸着物質を抽出し分離精製したるものの中第二区分、第三区分A並に第四区分Aのみが清酒の腐敗を促進する物質なる事を認め得るなり。

第八章 清酒火落菌の繁殖促進物質の化學的組成

清酒腐敗促進力の最も強烈なる第二区分物質に就き元素分析並に分子量の測定を爲し分子式を算出したり。

定性の結果炭素水素窒素を含有し、極めて微量の燐を含有す。

定量

(イ)炭素及び水素

	第一回	第二回	平均
採取量 (瓦)	0.2331	0.2600	
炭酸瓦斯 (瓦)	0.4095	0.4534	
水 (瓦)	0.1347	0.1529	
炭素 (%)	47.91	47.50	47.735
水素 (%)	6.4643	6.579	6.5217

(ロ)窒素

	第一回	第二回	第三回	平均
採取量 (瓦)	0.0114	0.0080	0.0160	
窒素 (瓦)	1.09	0.78	1.64	
温度 (°C)	10.0	8.7	10.5	
氣壓 (m. m.)	764.1	768.0	757.2	
窒素 (%)	11.25	11.605	11.96	11.604

(ハ) 燐

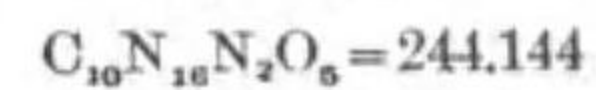
無機燐 プロア-氏法により測定せるに無機燐の存在を認めず

有機燐 プロア-氏法により測定したる結果 P として 0.1742% を含有し殆ど不純物と看做し得べき程度なり

(ニ)實驗式 以上の分析結果を總括すれば次の如し

炭素	47.735
水素	6.5217
窒素	11.604
酸素	34.1393
燐	不純物と看做す

上表より實驗式を算出すれば次の如し



分子量測定 分子量はベツクマン氏寒暖計を用ひ沸點上昇により測定す。溶媒は純醋酸 (沸點 118.0°C.) を用ひ其の測定結果次の如し。

試料	沸點上昇度	分子量
0.0546瓦	0.015	240.9
0.2448瓦	0.069	253.2
		平均 247.05

故に分子式は次の如し



第九章 清酒火落菌の繁殖促進物質の物理的性質

1. 紫外線による光學的性質

清酒腐敗促進素を精製せる 50% エチールアルコール又はメチールアルコールに溶解し紫外線に曝露する時は強き螢光を發生するを認めたり。活性炭にて處理したる清酒の紫外線による螢光發生程度が其の原清酒に比し著しく弱くなることは既に報告したる處なり。即ち茲に論ずる處の清酒腐敗促進素なるものは清酒中の紫外線による螢光發生の原因物質中主要なるものならんと信す。

2. 旋光力

清酒腐敗促進素第二區分の 50% エチールアルコール溶液に就き其旋光力を測定せり。溶液の濃度は 100 錠 50% エチールアルコール中に試料 0.3333 瓦を溶解せるものなり。測定管の長さ 10 釐, 測定温度 20度,

測定旋光度 0.15(+)

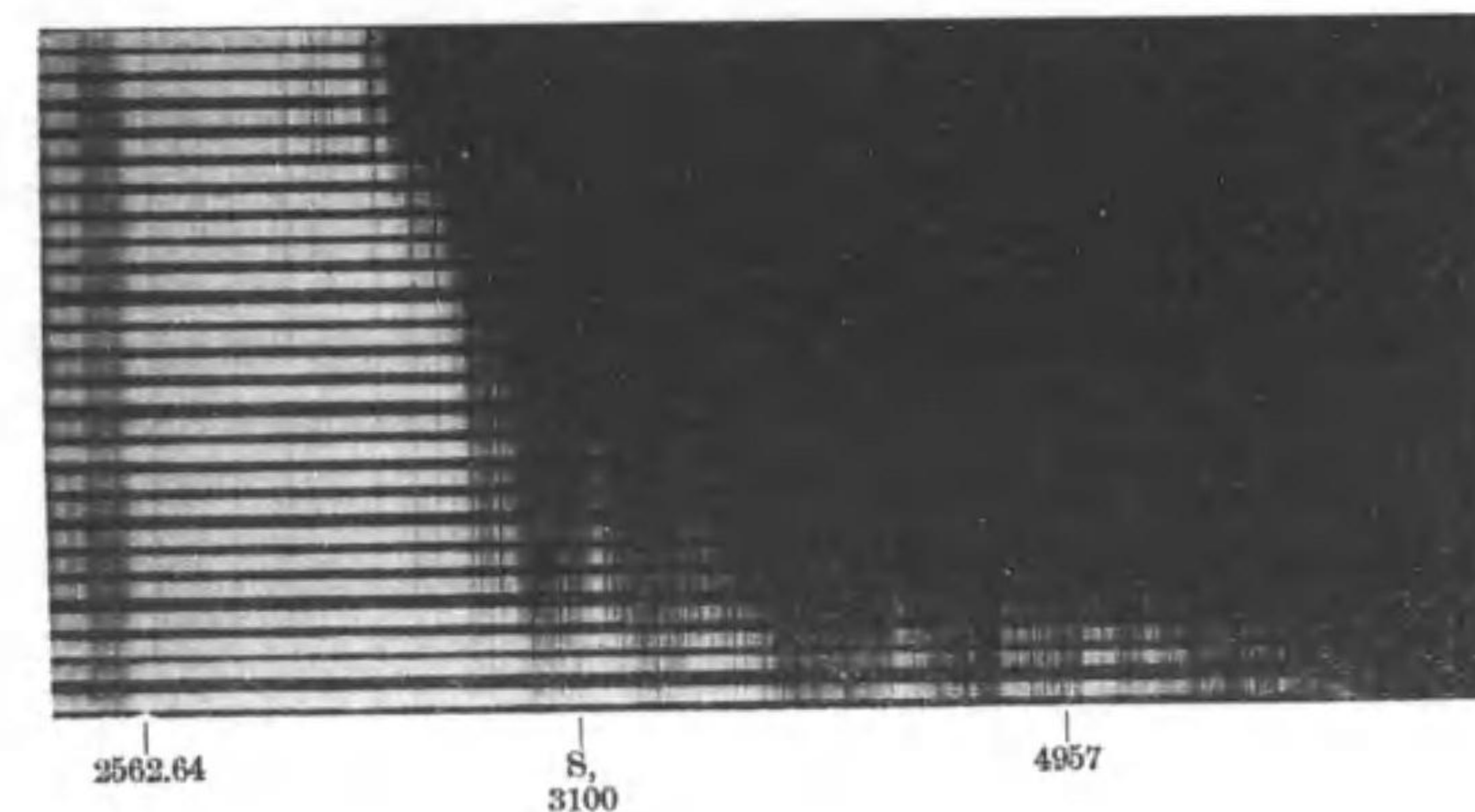
$$[\alpha]_D^{20} = +45.$$

3. 分光學的性質

清酒腐敗促進素は黄褐色を呈するが故にヘミン等に類する色素體に非ざるやと思惟し分光學的に吸收スペクトルを検せしも次の寫眞によりて明なる如く 3000 の附近に極めて不

サプロゲニンの吸收スペクトル寫眞

(Spektralreaktion des Saprogenins)



明瞭なる吸収帯らしきものを認め得るに過ぎざるが故にヘミン等の如き有色素體とは其趣を異にするものなり。

本實驗に用ひたる檢液は清酒腐敗促進素第二區分 0.0333 瓦を 50% エチールアルコール 100 錠に溶解せるものなり。

(上圖のスペクトル寫眞は東京帝大理學部の大型分光器にて撮影したるものなり)

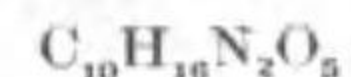
第十章 結 論

以上の研究結果を要記せば次の如し。

1. 防腐剤を混入せざる普通清酒を活性炭 0.5% を以て吸着處理後之に内三割加水し火落菌を移植し適温中に保持する時は、活性炭にて處理せざる比較清酒の速かに火落するに反し活性炭處理清酒は殆ど火落菌の繁殖を観察し得ざるなり。
2. 脱色程度と火落との關係を見るに大體に於て比例し即ち脱色程度の大なるもの程火落困難なるものの如し。然るに此點に關しては活性炭の種類により多少異例あるものの如し。
3. 活性炭の使用量と清酒香味との關係に就て見るに酒質及び活性炭の種類に依り使用量を一定するを得ざるも活性炭の使用量清酒に對し 0.1% 以上に於ては酒質稀薄となるに依り不適當と認む。而して實際清酒貯藏上に活性炭を應用し火落變敗を完全に豫防せんとするには香味色澤其他の點を考慮し其使用量は 0.03% - 0.05% の範圍が最も良好安全なりと認む。
4. 清酒の活性炭處理による實地大量貯藏試験を本所並に地方醸造家に於て施行せるに何れも所期の良成績を得たり。
5. 清酒中の活性炭吸着物を各種溶劑並に水素イオン濃度調節に依り抽出試験を施行せるに各種溶劑中ピリヂンが最も良く吸着物を溶出し氷醋酸之に次ぐ事を認めたり。而して吸着物質の溶出は水素イオン濃度には關係なきものなり。
6. 活性炭吸着物質をピリヂンを以て抽出し七區分に分別精製し各區分物質を夫々活性炭處理清酒に添加し火落菌を移植試験せしに清酒腐敗促進素と認め得るものは次の三區分なり。

第二區分, 第三區分A, 第四區分A.

7. 清酒腐敗促進素(第二區分)の化學的組成は次の如し。



8. 清酒腐敗促進素は紫外線により著しく強き螢光を發生す。
比旋光度は +45 度なり。
9. 10% エチールアルコール溶液に於ては分光學的に吸収帯を認め得ず故にヘミン等の如

き有色素體に非らざるものと認む。

10. 清酒腐敗促進素はミロン反應, ビューレット反應を呈せざるが故に蛋白質並に其分解物を含まざるを知る。

又フェーリング液に依る還元性を有せざるが故に還元性糖及びヒドロキノン類似の物質を含有せざる事明なり。

ペントース反應陰性にして而もアルコール類に可溶なる點よりニュークレイン酸に非らざる事明瞭なり。

11. 此の清酒腐敗促進素 $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_5$ に對し今後研究の便宜上サブプロゲニン(Saprogenin) の名稱を附す。

12. サブプロゲニンの化學的研究及其生理的成因等に就ては研究中なるを以て次報に之れを詳報すべし。

醸造用米の醱酵生理學的研究(第一報)

Einige garungsphysiologische Untersuchung uber den
Reis als Material der Sakebrauerei. (I. Mitteilung)

技 師 黒 野 勘 六
助 手 神 林 正 一
研 修 員 森 井 義 治

第一章 緒 論

米の一般化學的成分に就てはケルネル氏以來公表と不公表とを問はず無數の研究者によりて行はれ敢て珍とするに足らず。特種成分に就ても研究者頗る多く就中白米の蛋白質の種類と其の微生物營養價値に就ては嘗て本所に於て高橋偵造佐藤壽衛兩氏によりて行はれたり。其結果アルブミン、グロブリン、プロラミン、及びオリゼニンの四種の蛋白質を得、此内プロラミンの外三種の蛋白質は何れも酵母又は微菌によりて攝取せらるゝと報ぜり。尙同氏等は白米中のチロシンを定量し酒造米の良否を鑑別せんとせしも積極的結果を得居らず。又佐藤壽衛、松浦信次及び佐田樂造氏等は酒造米の理化學的調査を行ひ主として物理的性質に就て判定標準を試験せるも其結果は從來行はるゝ白米の標準と大差なし。而して又其化學的成分に就ては糖分含量は良否の判定標準とならず寧ろ炭水化物量の多きを良しとし、白米の粗蛋白質量は從來の説に反し醱造適良米に於て却て多しと云ひ粗脂肪は絶対に少きを可とし又灰分は少きを可とし纖維アミロペクチン玄米に於ける磷酸フィチンは共に少きを可とすと報ぜり。次に田所哲太郎氏は酒造米判定の生化學的標準として十五個條を記せり。之を要記せば次の如し。

(1) 中粒若くは大粒種を可とす。(2) 腹白米よりも心白米を可とす。(3) 蛋白質に乏しく灰分に富み脂肪含量少きを要す。(4) 純蛋白質も少き傾向あり。(5) アルブミン、グロブリンに富みオリゼニン、プロラミンは少きを要す。(6) オリゼニンは灰分少きを要し特に磷及硫黄の含量低きを要す。(7) オリゼニンの旋光度低きを要し $[\alpha]_D^{20} = -70^\circ$ 以下にあるを可とす。(8) オリゼニンのアルカリ溶液に鹽酸を滴下し沈澱を生じ表面張力を最高に達せしむるに要する鹽酸量は少きを可とす。(9) オリゼニンのアルカリ液に硝酸を滴加しフェノールフタレインにて中性を示す時過剰の硝酸銀液を加へ銀鹽を沈澱せしめ洗滌乾燥したるものは銀含量高きを要す。(10) オリゼニンの鹽酸加水分解物はアンモニア態、メラニン態、リヂン態窒素に乏しくヒスチジン態、システイン態窒素に富むを可とす。(11) オリゼニンはフェルモール法により定量するにアミノ態窒素少きを要す。(12)

オリゼニナルカリ溶液を紫外線にて分解しフェルモール法にてアミノ酸を定量するに其分解變化容易なるものたるを要す。(13) 澱粉は灰分含量少きを可とす。即アミロペクチンの含量少きを可とす。(14) 澱粉糊液の粘度は高きを可とす。(15) 澱粉のアセチル價は少く且其比旋光度も低きを可とす。

即ち田所氏の報告は米の蛋白質特にオリゼニンの化學的性質により酒造適良米を判定せんとし該方向に研究の歩を進めたるものなり。

以上の如く酒造米の科學的判定は久しく研究せられ居り近時漸く進境に向はんとしつゝあるも未だ不完全を免れず。何となれば以上の研究の多くは單に肉眼に於ても既に判別し得る程度の飯米と酒造用優良米とを比較せるもの多く従て一般酒造用米相互の微妙なる程度の差異を判定する場合必ずしも一定の標準を示さず。従て實際的結果と毫も一致せざる場合多きなり。此故に著者は更に進んで醱造用米の醱酵生理的研究を開始するの必要を認め一昨年より之を開始し今や漸く其第一報を纏め得たるを以て茲に之を報告せんとす。

本試験は先づ米の精白度と PH との關係を調査し以て精白程度の増加と共に PH の増加する事を認め尙精白程度高きものは PH 7-8 を呈し微アルカリ性を呈するに到るを認めたり。次に廣く各縣の醱造用白米を集め米の品種と PH との關係を調査し以て産地及品種により其米の呈する PH に差異ある事を指摘せり。而して尙次に此精白米中のアルカリ性を呈する物質は如何なるものなるやを少しく研究せり。又次に全國醱造家より集めたる多數の醱造用白米に就て麴菌酵素に依る分解試験を行ひ其分解物の生産量を比較定量し優良米の醱酵生理的基準を見出さん事を計りたり。尙最後に本試験の結論を下すに必要な菌學的參考資料として米麴の水素イオン濃度を測定し又清酒酵母と酒母用良性乳酸菌との繁殖最適水素イオン濃度を比較試験したり。是等の諸結果は次章以下に於て之を詳記す。

文 獻

- (1) 東京農科大學學術報告第五號
- (2) 明治 44 年醸造試験書報告書 38 號
- (3) 大正 5 年醸造試験書報告書 64 號
- (4) 醸造試験所報告書大正 8 年 74 號, 同年 79 號, 11 年 88 號, 14 年 93 號
- (5) 米の研究 第二輯: 131 頁昭和 6 年出版

第二章 米の精白度と PH との關係

米の精白度と水素イオン濃度との關係を試験せんとし本試験を行ひたり。其供試米は秋田縣工業試験場送附にかゝる下記二種にして昭和五年度の米を昭和六年八月に實驗せり。

供試米品種及精白

1. 第一種
品 種 龜の尾

産地 秋田郡平鹿郡里見村
 精米機 中野式醸造田精米機
 馬力 2 馬力
 玄米 3 斗 11 貫 630 匁

試料米符號	精白時間	溫度 C°	糠量(匁)	搗減歩合
a	0	19.0		0.15
	1	28.5	1010	
	2	35.0	740	
b	3	38.0	520	0.24
	4	40.0	490	
c	5	40.0	470	0.31
	6	42.0	390	
d	7	45.0	310	0.38
	8	49.0	480	
			4410	

精米出來上り

容量 1 斗 5 升 5 合
 重量 6 貫 20 匁
 糠量 4 貫 410 匁
 雜 200 匁

2. 第二種

品種 陸羽 132 號
 産地 秋田縣山本郡柳村
 精米機 中野式醸造用精米機
 馬力 2 馬力
 玄米 3 斗 11 貫 390 匁

試料米符號	精白時間	溫度 C°	糠量(匁)	搗減歩合
a	0	18.5		0.16
	1	30.0	1020	
	2	34.0	780	
b	3	41.0	590	0.24
	4	42.5	360	
c	5	44.0	310	0.30
	6	45.0	320	
d	7	45.5	320	0.36
	8	46.0	380	

精米出來上り

容量 1 斗 5 升 2 合
 重量 6 貫 50 匁

糠量 4 貫 080 匁
 雜 200 匁

以上の二種の米より製せる各種搗減の試料に就て P_H を測定せり。其方法は供試米約 10 瓦をビーカーに採り P_H 6.21 の蒸留水にて五回宛硝子棒にて洗滌し濾紙上にて乾燥す。乾燥後粉碎し硬質試験管に正確に 2 瓦を採取、P_H 6.21 の蒸留水を 5 宛宛注入し硝子棒を付けたる綿栓をなし 1 時間蒸氣殺菌器内に保ち後 P_H 6.21 の蒸留水を 15 宛宛注入しよく攪拌しつゝ室温迄冷却す。尙よく攪拌し均等混液を採り板野式 P_H 測定器に依り測定せり。

其結果次表の如し。

品 種	試験回数 (搗減歩合)	測定 P _H				
		第一回	第二回	第三回	平均	
龜の尾	a	0.15	5.78	5.76	5.85	5.80
	b	0.24	5.85	5.88	5.85	5.86
	c	0.31	6.08	6.10	6.08	6.09
	d	0.38	6.54	6.57	6.55	6.55
陸羽	a	0.16	—	—	—	—
	b	0.24	5.78	5.78	5.88	5.83
	c	0.30	5.92	5.93	5.92	5.92
	d	0.36	5.83	6.01	6.01	5.97

此表を見るに「龜の尾」種も「陸羽」種も同様に精白程度の増加と共に P_H を増加し次第に「アルカリ」性に近づく事明瞭なり。然れども之を精査する時は「陸羽」種は搗減の増加に依る P_H 度の増加歩合甚だしく、之に反して「龜の尾」種は搗減の増加による P_H の増加歩合多きを認む。

要するに米の品種の如何によりて其精白程度増加に依る P_H の増加程度は大に異なるものなるを認む。

本所在庫品たる備前青三等の玄米を實驗室に設備せる清水式家庭用小精米機にて精白し種々なる時間に於ける其試料に就きて水素イオン濃度を測定せり。其結果下の如し。

精白時間	P _H	精白時間	P _H
0 (玄米)	5.59	20	6.37
1	5.61	22	6.43
2	5.61	24	6.40
3	5.92	26	6.47
5	5.97	28	6.54
14	6.06		

此結果に依るも玄米は其精白程度を増加するに従ひ殆んど比例的に水素イオン濃度を増加する事確實なり。

本試験中精米機の不良なりし爲碎米のみを多く生じたる場合ありて搗滅は相當に大なりしも PH の増加は甚だ僅少なりし事屢々なりき。之より考ふる時は白米の水素イオン濃度は單に米の品種及其搗滅の度合のみに依らず使用せる精米機の良否により米のアルカリ度の増加程度を異にするものなるを知り得たり。即ち優良なる精米機は米の外皮を均等に磨滅せしむるを以て碎米も少く且つ PH も増加する程度大なるものなりとす。

第三章 米の品種と PH との関係

前章の試験結果に鑑み今回は廣く全國の酒造用米を集め其水素イオン濃度を調査せんと欲し各稅務監督局鑑定部に地方の諸試験所に委嘱し後記する如き多數の試料を得之に就きて試験を施行せり。其方法は各種の精白米を蒸餾水にて五回宛洗滌し濾紙にて水分を切り後製粉し 2 瓦宛試験管に採り PH 6.16 の蒸餾水 5 鈍を加へ硝子棒にてよく水と粉を混和し 1 時間殺菌釜にて蒸し後直ちに PH=6.16 の蒸餾水にて 20 鈍となし板野式水素イオン濃度測定器にて測定せり。其結果は次表の如し。

記號番號	醸造米産地	米品種	醸造所	搗滅歩合	水素イオン濃度
1	備前	雄町	長野縣ツ、ツ山高津商店	1.9	6.61
3	岩手縣紫波郡	龜ノ尾	岩手縣盛岡市村井本家	2.0	6.60
4	備前	青三等	愛知縣名古屋市菊ノ世(呼糠倉)	3.5	6.57
5	秋田縣	龜ノ尾	福島縣古市酒店	3.0	6.67
6	同上	〃	〃	2.5	6.78
7	宮城縣栗原郡	〃	宮城縣合名會社三浦酒造店	2.5	6.71
8	秋田縣	〃	岩手縣鈴木酒造店	2.8	6.75
9	宮城縣栗原郡	酒ノ華	宮城縣合名會社三浦酒造店	3.5	6.55
10	岡山縣和氣郡	雄町三等	岡山縣戸塚重一郎	5.0	7.49
11	山口縣阿武郡	雄町	山口縣岩崎小一	4.0	6.86
12	廣島縣賀茂郡	雄町	廣島縣西條町加茂鶴酒造店	3.0	6.92
13	岡山縣吉備郡	日ノ出	岡山縣赤澤彌平治	1.0	6.46
14	秋田縣	龜ノ尾	岩手縣鈴木章助	3.5	6.76
15	岡山縣赤盤郡	雄町	廣島縣勝場酒店	4.0	6.91
16	廣島縣比婆郡	雄町	〃安原和平	4.0	6.50
18	廣島縣世羅郡	雄町	廣島縣田邊長三	4.0	6.62
19	廣島縣甲奴郡	八反	〃重森健	2.0	6.48
20	岡山縣赤盤郡	雄町三等	岡山縣神露酒造合名會社	4.0	6.57
21	秋田縣	四等米	岩手縣鈴木章助	1.0	6.85
22	廣島縣蘆品郡	小天狗	廣島縣櫻山酒造株式會社	3.0	6.90
23	宮城縣栗原郡	陸羽132號	宮城縣合名會社三浦酒造店	1.0	6.61
24	廣島縣蘆品郡	雄町	廣島縣橋本得三郎	3.0	6.72
25	廣島縣豐田郡	雄町	〃桑田虎吉	3.8	6.25
26	青森縣	龜ノ尾	弘前市富名醸造株式會社	2.0	6.15

27	青森縣南津輕郡	〃	青森縣中村龜吉	4.0	6.55
28	朝鮮(穀頁都)	穀頁都	青森縣村井コト	1.5	6.88
29	山形縣酒田	龜ノ尾	〃西田酒造店	3.0	6.79
30	備前	青三等	〃佐藤清十郎	3.0	6.38
31	青森縣南津輕郡	龜ノ尾	〃	1.7	6.79
32	〃	〃	〃西田酒造店	1.5	6.82
33	〃	〃	弘前市佐藤才八	3.5	6.44
34	〃	〃	青森縣鳴海文四郎	4.5	6.33
35	〃	〃	弘前市玉田秀造	1.5	6.31
36	〃中津輕郡	〃	青森縣佐藤元吉	2.5	6.28
37	秋田縣湯澤	〃	青森縣村井コト	4.0	6.36
38	青森縣	〃	弘前市藤田久次郎	4.5	6.37
39	青森縣	〃	〃富名醸造株式會社	1.5	6.31
40	〃中津輕郡	豐國	〃川村榮一郎	3.0	6.39
41	青森縣中津輕郡	龜ノ尾	〃川村榮一郎	4.0	6.50
42	〃	〃	〃	3.3	6.26
43	秋田縣	〃	〃藤田久次郎	4.5	6.00
44	備前	雄町	〃陸奥酒造合資會社	4.0	6.71
45	青森	龜ノ尾	〃野村産次郎	2.3	6.47
46	〃	〃	〃	2.0	6.12
47	〃西津輕郡	〃	青森縣加藤故藏	1.5	6.14
48	〃中津輕郡	豐國三號	弘前市富名醸造株式會社	1.0	6.38
49	〃	陸羽六號	〃三橋八之助	2.5	6.29
50	〃南津輕郡	龜ノ尾	〃佐藤才八	.7	6.38
51	岩手縣	陸羽132號	陸奥酒造合資會社	2.0	6.36
52	青森縣	龜ノ尾	弘前市玉田秀造	2.5	6.12
53	秋田縣湯澤	〃	青森縣佐藤清十郎	3.0	6.31
54	青森縣	龜ノ尾	弘前市川村榮一郎	4.1	6.63
55	〃	〃	青森縣佐藤清十郎	2.8	6.64
56	秋田縣	〃	陸奥酒造合資會社	4.0	7.08
57	青森縣南津輕郡	〃	弘前市富名醸造株式會社	4.0	6.54
58	〃	陸羽六號	青森縣三橋八之助	2.0	6.50
59	〃南津輕郡	龜ノ尾	弘前市佐藤才八	1.5	6.05
60	廣島縣豐田郡	純系雄町	廣島縣醸造試驗場	3.0	6.30
61	廣島縣加茂郡	雄町	西條町(白牡丹)島博三	5.0	6.45
62	岡山縣上房郡	明徳	岡山縣上田輝太郎	3.5	6.36
63	廣島縣賀茂郡	雄町	西條町加茂鶴酒造株式會社(4號倉)	4.0	6.43
64	新潟縣北魚沼郡	龜ノ尾	新潟縣綠川正宗)大平國治	3.0	6.44
65	新潟縣北蒲原郡	龜ノ尾	〃	4.0	6.56
66	備前和氣郡	青三等	〃	5.0	6.48
67	島根縣美濃郡	雄町イ號	島根縣宇津本店	2.7	6.71
68	島根縣東仙道	三等米	〃(扶桑鶴)大畑鶴三郎	3.5	6.90
69	岡山縣赤磐郡	雄町八號	〃宇津本店	3.3	6.81
70	宮城縣黒川郡	龜ノ尾	宮城縣内ヶ崎酒造店	4.0	7.00
71	〃	〃	〃	2.0	6.67
72	山形縣西村山郡	酒ノ華	山形市斯波快助	3.0	6.60

73	朝鮮米	雄町	・	3.0	7.15
74	岩手縣種貫郡	龜ノ尾	・	4.0	6.42
75	山形縣西村山郡	豐國四號	・	3.0	6.78
76	・東村山郡	玉ノ井	・	1.5	6.45
78	・	豐國	・	2.0	6.65
79	備前	雄町	山形市新波快助	4.0	6.79
80	山形縣東村山郡	酒ノ華	・	3.0	6.52
81	長野縣上水内郡	米光	長野縣高津商店	2.4	6.37
82	備前	辨慶	・	3.7	6.25
83	・	・	・	3.3	6.20
84	山形縣西村山郡	龜ノ尾	山形市新波快助	3.0	6.84
85	島根縣八束郡	龜次	松江市布野酒造店	1.0	6.28
86	廣島縣豐田郡	伊勢穗	福山市橋高昌次郎	3.0	6.62
87	・	船木雄町	・	5.0	6.0
88	島根縣	雄町	松江市(旭李白)田中酒店	3.0	6.90
89	・仁多郡	八反	・原田岩三郎	3.0	7.32
90	廣島縣豐田郡	伊勢穗	福山市橋高昌次郎	5.0	6.96
91	・賀茂郡	雄町	西條町加茂鶴四號倉	3.0	6.53
92	廣島縣豐田郡	伊勢穗	福山市橋高昌次郎	2.0	6.71
93	島根縣美濃郡	二條雄町	島根縣工業試驗場	2.5	6.38
94	島根縣仁多郡	雄町	島根縣工業試驗場	2.0	6.83
95	・	早刈雄町	・	2.0	6.90
96	・邑智郡	・	・	2.5	6.65
97	・美濃郡	二條雄町早刈米	・	2.5	6.77
98	・邑智郡	市山雄町	・	2.5	6.25
99	備前	雄町	靜岡縣内田酒造店	5.0	7.15
100	・	・	・中村酒造店	5.0	6.54
102	備前赤盤郡	青三	岐阜縣小坂酒店	2.6	6.63
103	幡州神崎郡	三	・	2.0	6.56
104	廣島縣	雄町	名古屋市菊ノ世呼續倉	2.0	6.66
105	備前赤盤郡	青三	靜岡縣太田謙太郎	5.5	6.60
106	島根縣簸川郡	曲玉	島根縣中林清作	4.0	6.74
107	福島縣耶麻郡	龜ノ尾	福島縣	2.0	6.66
108	福島縣耶麻郡	龜ノ尾	福島縣	3.0	6.64
109	朝鮮木浦産	雄町	・	4.5	6.64
110	・	・	・	4.0	6.57
111	秋田縣雄勝郡	四等	秋田縣菊地鶴松	4.0	6.50
113	岩手縣紫波郡	龜ノ尾	盛岡市(岩手川)濱藤第一酒場	3.8	6.85
114	岡山縣川上郡	龜次	岡山縣渡邊酒店	1.3	6.76
115	備前	青三	名古屋市菊ノ世呼續倉	5.0	6.67
116	三重縣一志郡	錦米三	三重縣笹野長吉	3.1	6.56
117	新潟縣	龜ノ尾	新潟縣白井本店	4.0	6.32
118	・	・	・	2.0	6.51
119	岡山縣下東城郡	青三	三重縣東關酒造株式會社	3.0	6.23
120	秋田縣南秋田郡	陸羽132號	秋田縣菊地鶴松	2.0	6.20
121	岩手縣紫波郡	龜ノ尾	盛岡市(岩手川)濱藤第一酒場	2.5	6.79

122	秋田縣南秋田郡	龜ノ尾	秋田縣菅原久次郎	4.0	6.30
123	備前米	・	名古屋市菊ノ世呼續倉	2.0	6.47
124	幡州上東城郡	青三等	三重縣東關酒造株式會社	5.0	6.50
125	・下東城郡	・	・	2.2	6.90
126	秋田縣	龜ノ尾	盛岡市村井本家	3.0	6.94
127	岡山縣赤磐郡	青三等	盛岡市(岩手川)濱藤第一酒場	4.5	7.02
128	・和氣郡	雄町	北海道名寄酒造株式會社	3.0	7.08
129	秋田縣雄勝郡	龜ノ尾	・大北酒造株式會社	2.5	7.26
130	北海道上川町	尾上	・清水酒造株式會社	0.7	6.32
131	兵庫縣加西郡	但馬	・栗林探吉	2.5	7.21
132	新潟縣佐渡郡	龜ノ尾	・小林米三郎	1.7	7.16
133	北海道北見國	・	・三共株式會社	不明	6.83
134	新潟縣北蒲原郡	加治川	・碓氷勝三郎	0.5?	7.20
135	三重縣伊賀郡	錦	・小川助次郎	2.0	6.75
136	兵庫縣	・	・渡邊德次郎	2.5	6.50
137	岡山縣赤磐郡	雄町	・野口吉次郎	4.5	6.67
138	北海道帶廣町	尾上	・清水酒造株式會社	1.0	6.13
139	秋田縣雄勝郡	龜ノ尾	・丸一本問合名會社	1.1	6.57
140	岡山縣赤磐郡	雄町	・白方與二郎	4.0	7.63
141	・	・	・丸善菅谷合名會社	4.0	7.31
142	青森縣黑石町	・	・下村京松	1.5	7.73
143	新潟縣佐渡郡	・	・田村政吉	0.7	7.10
144	島根縣飯石郡	・	・日本清酒株式會社	1.3	6.88
145	兵庫縣佐用郡	大和日出	・青木順五郎	1.4	6.75
146	・加東郡	・	・木間保次郎	3.5	6.82
147	・多賀郡	・	・日本清酒株式會社	5.0	7.00
148	岡山縣赤磐郡	雄町	・小林米二郎	4.1	7.02
149	三重縣伊賀郡	錦	・小川助次郎	1.5	6.62
150	北海道名寄町	坊主六號	・栗林探吉	1.5	6.77
151	秋田縣	龜ノ尾	・田邊村次	2.0	7.36
152	・南秋田郡	・	・廣部伊織	1.8	6.37
153	北海道浦臼村	坊主	・花輪千春	1.0	6.49
154	兵庫縣加東郡	・	・小繪山鐵三郎	4.5	6.93
155	北海道上川郡	上川六號	・世木澤藤三郎	2.2	6.58
156	兵庫縣加東郡	山田一號	・小林レイ	3.0	6.90
157	・	雄町	・村岸德次郎	3.0	6.65
158	兵庫縣加西郡	・	・白方與二郎	2.0	6.82
159	・多紀郡	山田穗	・小川助次郎	3.0	6.74
160	北海道上川郡	坊主	・松岡政次郎	1.0	7.34
161	・北見國	・	・二木醸造店	—	6.86
162	兵庫縣	龜ノ尾	・中川手藏	4.0	6.95
163	北海道夕張郡	・	・小林米三郎	1.5	6.84
164	兵庫縣加東郡	・	・田村政吉	1.8	7.23
165	秋田縣大曲郡	龜ノ尾	・津田喜平治	2.0	7.31
166	兵庫縣加東郡	・	・日本清酒株式會社	5.0	6.92
167	・	・	・	3.7	6.90

(早傾 湧向)

168	島根縣飯石郡		白方與二郎	2.0	6.76
169	兵庫縣加西郡	山田穂	野口吉次郎	5.0	6.97
170	〃	天穂	〃	2.5	7.00
171	兵庫縣水上市郡		丸善菅谷合名會社	4.0	5.98
172	新潟縣佐渡郡	龜の尾	小森商店	2.0	6.68
173	北海道石狩國		山本外次郎	0.8	6.43
174	青森縣南津輕郡	尾の上	小川ツタ	0.8	7.24
175	兵庫縣加西郡	山田穂	小川助次郎	3.6	7.21
176	〃		馬場酒造店	3.0	6.85
177	北海道上川郡	坊主	松岡政二郎	1.0	6.97
178	〃	坊主六號	名寄醸造株式會社	2.0	6.92
179	〃		名取元三	1.3	6.23
180	〃	坊主	小檜山鐵三郎	1.5	6.58
181	〃 美深町		大北酒造株式會社	1.5	7.06
182	兵庫縣加東郡		小檜山鐵三郎	2.5	6.82
183	北海道上川郡	坊主六號	青木順五郎	1.0	6.77
184	米 國 カリフォルニア		白方與二郎	—	6.48
185	岡山縣赤磐郡	雄町	松岡政次郎	3.0	6.43
186	秋田縣土崎	龜の尾	敷島商店	1.0	6.76
187	北海道河東郡		日本清酒株式會社	2.0	6.80
188	〃 上川郡		波多野與三郎	0.9	7.04
189	兵庫縣多賀郡		田中市太郎	3.0	6.76
190	〃		下村京松	4.0	6.97
191	〃	雄町	西尾長次郎	3.2	7.77
192	〃 加東郡		波多野與三郎	1.4	6.79
193	〃 飾磨郡	辨慶	野口吉次郎	2.0	6.62
194	〃 加東郡		本間保次郎	2.0	7.18
195	〃 加西郡	山田穂	野口吉次郎	3.5	7.09
196	岡山縣赤磐郡		下村京松	4.0	7.25
197	兵庫縣	雄町	西尾長次郎	2.2	6.96
198	岡山縣瀬戸		小森合名會社	4.0	6.90
199	兵庫縣明石郡		碓氷勝三郎	2.5	6.90
200	〃 加東郡	辨慶	小林ルイ	1.5	7.07
201	北海道		白方與三郎	1.0	7.11
202	〃	坊主	留前醸造株式會社	1.2	7.10
203	兵庫縣	雄町	小林酒造店	2.5	6.79
204	北海道	江部乙	津田喜平治	1.0	6.96
205	岡山縣瀬戸	雄町	小森商店	2.0	6.61
206	兵庫縣		本間長助	2.0	7.05
207	〃 加東郡	辨慶	小森商店	4.0	6.96
208	北海道上川郡	坊主	山崎與吉	1.3	7.02
209	兵庫縣美濃郡	實東	大谷酒造店	3.0	6.81
210	兵庫縣加東郡	雄町	五十嵐太郎吉	4.0	7.15
211	〃 美濃郡		世木澤藤三郎	3.8	7.66
212	〃 加東郡		小檜山鐵三郎	3.0	7.12

213	北海道上川郡	坊主六號	日本清酒株式會社	1.2	7.27
214	〃	坊主	〃	1.2	6.84
215	〃		大谷酒造店	1.5	6.86
216	兵庫縣加東郡	尾野	砂川醸造株式會社	3.0	6.80
217	北海道上川郡		野崎商店	1.8	6.62
218	兵庫縣加東郡	辨慶	廣部伊織	3.5	6.53
219	朝鮮慶南道		野口合資會社	0.9	6.91
220	北海道上川郡		大北酒造株式會社	1.5	7.24
221	新潟縣佐渡郡	龜の尾	砂川醸造株式會社	1.1	6.50
222	岡山縣和氣郡	雄町	野口合資會社	3.6	6.89
223	北海道瀧川郡	坊主	廣部伊織	1.2	6.56
224	新潟縣西蒲原郡	龜の尾	新潟縣笹口信作	1.6	6.13
225	〃 大谷		岸五郎	1.5	6.34
226	〃 北蒲原郡		朝日酒造株式會社	1.7	6.39
227	〃	白玉	松本伊平	1.5	6.37
228	〃 古志郡	白石	中越酒造株式會社	1.8	6.12
229	〃 長岡	銀坊子	山崎酒造場	1.1	6.28
230	〃 北蒲原郡	龜の尾	中越酒造株式會社	1.5	6.35
231	〃		松本伊平	1.5	6.42
232	福島縣石城郡	愛國	福島縣木間佐源次	1.0	7.33
233	〃 石川郡		綠川玄之吉	—	6.61
234	〃 石城郡		古川傳一	0.8	6.65
235	〃 岩瀬郡		大寺平之郎	0.7	6.45
236	〃 岩瀬郡	愛國	石川篤次郎	0.5	6.38
237	〃		岡部勘藏	0.5	6.38
238	〃		須賀川酒造合資會社	1.0	6.35
239	〃 石川郡	龜の尾	大錦酒造店	2.0	6.22
240	〃		〃	2.7	6.32
241	〃 岩瀬郡		須賀川酒造合資會社	3.8	7.10
242	〃 會津高野米	旭龜の尾	松本善大	3.0	6.35
243	〃	龜の尾	清水屋酒造店	2.0	6.25
244	〃		和泉屋酒造店	1.0	6.84
245	〃 安達郡	福坊主	伊藤栄三	1.5	6.51
246	〃	龜の尾	油屋酒造店	1.6	7.79
247	〃	福坊主	太田七右衛門	2.0	6.74
248	〃 岩瀬郡	愛國	岡部勘藏	1.0	6.46
249	〃 岩瀬郡	龜の尾	鏡石酒造株式會社	3.0	6.45
250	〃	愛國	須賀川酒造合資會社	0.5	6.07
251	〃 石川郡		大錦酒造店	0.6	6.07
252	〃 安達郡		菅野靜	0.8	6.33
253	〃 石川郡		綠川玄之吉	0.3	6.33
254	鳥取縣八頭郡	強力	鳥取市中川時太郎	3.0	— 在竹式 昭和
255	〃	雄町	鳥取縣八上酒造株式會社	3.5	— 奥村式
256	〃	強力	鳥取市鳥取酒造株式會社	5.0	— 八千代式
257	兵庫縣美濃郡		西宮市長馬悅藏	3.0	6.69
258	大阪府三島郡	改長穂	兵庫縣西蒲原嘉納商店	2.8	6.41

259		大阪府三島郡富田酒造株式会社	1.7	6.58
260	京都府船井郡	大津市藤井七郎兵衛	2.5	6.54
261	大阪府三島郡	三島郡石井健次郎	2.1	6.54
262	京都府船井郡	伏見市堀野久造	2.0	6.38

以上二百五十六種の白米に就て其水素イオン濃度を試験せし結果は $P_{H}6-8$ の間に在り。又同品種の米に於ても早刈の米は晩刈の米よりも P_{H} 大にしてアルカリ度を増す。次に古米は新米より P_{H} 低く即ち酸性に傾くを常とす。前論文の結果より考慮せば飯米としては早刈の方好適なりとす又古米は醸造用米特に飯米としては不適當なる事を知るなり。之を要するに清酒醸造用特に飯米としては $P_{H}7$ 内外以上のものを使用するを可とす。

第四章 精白米中のアルカリ性物質に就て

前章の試験に依り優良米を高度に精白せるものは $P_{H}7-8$ を示し微弱なるアルカリ性を呈する事を認めたり。此物質が如何なるものなるやを試験せんとし、先づ精白米の蒸留水に依る浸出液よりアルカリ性を蒸留水に呈せしむる物質の分離を行ひたり。使用精白米は朝鮮雄町六割減精白米にして使用蒸留水の P_{H} は4.96なり。精白米1匁を二回蒸留水にて洗滌し後約3.51立の蒸留水を加へ24時間冷所にて浸漬す。次いで米粒を濾別し透明濾液($P_{H}6.26$)を低温低壓にて濃縮し生ずる沈澱を濾別し液量400匁に至りたる時 P_{H} を測定し5.74を得、尙濃縮を続け液量約245匁に至りたる時95%エチルアルコールを等量加へ生ずる沈澱を吸引濾別し顯微鏡下に檢するに結晶體を認めず。よつて沈澱を尙三回50%アルコールにて洗滌し乾燥せしめ帯褐色の粉末を得たり。之を第一區分沈澱とす。此第一區分の粉末少量を $P_{H}4.96$ の蒸留水に溶解せしめ混濁せる溶液にロゾル酸を加ふるに帯黄色を呈し微酸性なり。次いで P_{H} を測定するに6.02を得たり。依て此粉末を溶解せしむる事により蒸留水の酸度を減少せしむるを知る。

第二區分の試験

第一區分を除ける濾液に六倍量の95%アルコールを加ふるにコロイド様沈澱を生ず。二日間静置せる後上澄液を傾瀉し次いで沈澱を濾別し之を二回95%アルコールにて洗滌し濾紙上の沈澱を95%アルコールにて硝子皿上に洗ひ落し湯煎上にて扇風器を用ひてアルコールを去り尙真空乾燥器中にて乾燥し灰白色の粉末を得たり。之を第二區分とす。此第二區分の粉末を少量の水に加へ後顯微鏡下に見るに結晶體を認めず。粉末少量を $P_{H}4.83$ の蒸留水に少し混濁を生ずる程度に溶解せしめ P_{H} を測定するに6.8を得たり。依て蒸留水の酸性を減少せしむる作用あるを知る。尙粉末を坩堝中にて燃焼せしむるに最初は少しく煙を擧げ黒變し次いで灰白色を呈し明らかに灰分を残す。依つて此粉末は有機物と無機物との混合物たるを知る。

第三區分の試験

第二區分を除けるアルコール透明液をビーカーに採り湯煎上にて扇風器を用ひアルコールを蒸發せしむるに帯褐色のシラップを得たり之を第三區分とす此物質を $P_{H}4.96$ の蒸留水に少量溶解せしめ P_{H} を測定せしに4.62を得たり。依つて蒸留水の酸性をより増大せしむる物質たるを知る。而して其水溶液は明らかに強くフェーリング氏液を還元す、よつて糖物質たるを知る。

次に精白米の蒸留水による浸出液中の蒸留水の酸度を減少せしむる物質はパーチメント紙を滲透するやを試験せり。

朝鮮雄町六割減1匁、朝鮮雄町四割減1.6匁の兩精白米を合し三回水洗後 $P_{H}4.86$ なる3立の蒸留水を加へ24時間浸漬す。浸漬中は時々振盪し後濾過し此透明液の P_{H} を測定せしに6.19なり。低温低壓にて約500匁に濃縮し生ずる沈澱を濾別す。濾液の P_{H} は6.54なり。次に濾液500匁を二分し二個の隔膜分別器に入れ18時間目、42時間目に上下の液の P_{H} の變化を測定し次の結果を得たり。

		注入當時の P_{H}	18時間目の P_{H}	42時間目の P_{H}
分別器 No. I	上	6.54	6.33	6.09
	下	4.86	5.78	6.07
No. II	上	6.54	6.37	6.08
	下	4.86	5.99	6.06

但し隔膜分別器の膜には氷囊を用ひたり。

故にパーチメント紙を滲透する物質が蒸留水の酸度を減少せしむるを知る。されど種々なる點より精白米浸出用蒸留水が $P_{H}4.86$ の如き酸性なるは不適當と思はる。尙分別器の下部の溶液を濃縮する時は褐色のシラップを得其れはフェーリング氏液を還元す。

以上の試験結果より見る時は白米中のアルカリ性を呈する物質は蛋白質の如き膠狀物質に非ず。隔膜を通過する結晶性物質にして無機の化合物、即ち磷酸のアルカリ土類鹽らしく推定さる。然れども其水溶液には白米中の糖類と共に溶出混在するを以て之れが分離は容易に非ず。後日多量の試料を得たる際之れを確定すべし。

第五章 精白米の麴菌酵素による分解試験

従來醸造用白米の試験としては直接化學的分析を行ひしが今回は其實際的結果を明瞭ならしむる爲に生理的試験を兼用せり。即ち自製せる麴菌酵素を以て粉末白米の蒸留液を一定の水素イオン濃度、一定温度、一定時間の下に作用せしめ其生成物を分析せり。

先づ第一回は本所使用米の數種に就き之を比較し更に備前米、朝鮮米の二種に就きて實驗室用の清水式小精米機を用ひ正確に各種搗減の白米を製したり。其分解物を分析し以て

精白程度に依る影響を調査したり。次に第二回試験に於ては全国の各種醸造用米中成る可く品種の異なるもの四十九種に就きて同様に麴菌酵素による分解試験を行ひたり。今其結果を下に記載す可し。

第一節 本所使用米並びに搗減程度比較

前章 P_H 試験に使用したると同様な粉末白米各1瓦宛を採り P_H6.58 の井水 20 兎を加へ振盪したる後1時間蒸氣釜にて蒸して放冷後1% タカヂアスターゼ 10兎を加へ 37°C の定温器に入れ 24 時間後取り出してアミノ酸及ペプチド並びに糖分、有機酸を定量す。其結果下の如し。

品 種 別	供試精白粉 3.3 瓦中			糖量%	100c.c. 中の有機酸
	分解液 100c.c. に要する N/10 NaOH c.c. アミノ酸	分解液 100c.c. に要する N/10 NaOH c.c. ペプチド	合 計		
備前米	9.0490cc	6.2810	15.330	3.4275	8.40
秋田龜の尾	10.5370	4.8930	15.430	3.2350	10.35
朝鮮雄町	9.9386	6.3614	16.300	3.6350	8.40
朝鮮穀良都	6.7138	8.1962	14.910	4.1600	8.82
備前青三等米 1 割	8.1632	5.0568	13.220	4.1600	7.98
2 *	8.4650	5.3950	13.860	4.1600	6.93
3 *	8.4730	5.4970	14.270	4.0600	6.30
4 *	9.0490	5.4410	14.490	3.8480	7.14
5 *	9.6328	5.0672	14.700	3.8480	8.40
朝鮮雄町米 1 割	8.4730	6.0170	14.490	3.9275	6.49
2 *	8.1732	6.3168	14.490	3.9000	6.49
3 *	9.0628	6.0672	15.130	3.9000	6.53
4 *	10.5084	5.8916	16.400	3.8475	6.60
5 *	9.3408	5.9792	15.320	3.9440	10.08

前表の如く各種搗減歩合の醸造用米に就きて麴菌酵素に依る分解試験の結果下の條項を結論し得べし。

一割乃至五割減の白米に於てアミノ酸量及アミノ酸とペプチドの合計量は其搗減の増加と共に増加す。但しペプチドのみの量は搗減の増加と共に殆んど増減なし。然るに元來劣等酒は優良酒に比してアミノ酸量多き傾向ある事は一般に承認せられ且つ粗白米は精白米に比して蛋白質含量多く故に粗白米による清酒はアミノ酸量多きを常としたれども此處に行ひたる一割減以上の上等精白米に於ては全く反對の結果を示せるものにして頗る興味ある點なり。即ち備前青三等、朝鮮雄町何れも一割以上の上精白に於ては麴菌の生理的分解により搗減の増加と共に米實質の溶解及び分解容易となる爲アミノ酸量の増加を來たすものゝ如く従つて其清酒は搗減の増加と共に濃醇となる理由を推知し得るに足る可し。

麴菌酵素により白米の分解生成物中全酸の生成量は米の品種により大なる差異あり。全

般的に共通せる規則を見出し難きも夫々各品種に於て其搗減歩合の如何により一定の規律あるものゝ如し。例へば備前青三等に於ては一割より三割減に至る間全酸量を次第に減じ其れより五割減となる迄次第に全酸量を増加し五割減に於ては却つて一割減よりも多き全酸量を示せり。然るに朝鮮雄町に於ては一割減より五割減に至る間概略規則的に全酸量を増加し特に五割減に於ては急激なる酸の増加を來たし殆んど一割減の場合の倍量に達す。

前表に示せる如く本醸造試験所に於て使用せる米の品種別即ち備前青、秋田龜の尾、朝鮮雄町、朝鮮穀良都の四種各三割減の精白米に就きて麴菌酵素による分解生成物を見るに備前米と朝鮮雄町とは非常に類似點多くアミノ酸量、ペプチド量、糖量、有機酸量共に何れも殆んど同様な數字を示せり。之に反して秋田龜の尾はアミノ酸量多くペプチド量少く糖量及全酸も又少し。朝鮮穀良都はアミノ酸量非常に少く之に反してペプチド量は非常に多く其含量は却て少く糖量と全酸は却て前三者に比し何れも大なり。此結果より見る時は秋田龜の尾は備前米に比し一般に清酒の品質を淡口ならしむる傾向あるを認む。之に反して備前米と朝鮮雄町とは極めて類似し共に濃醇なる清酒を生ずるの傾向あるものと認む又朝鮮穀良都は此兩者よりも一層ペプチド、砂糖、全酸の生成量多く故に一層濃口の清酒を生ずる傾向を示す。

第二節 産地及品種別による差異

前記本所使用米に就いて行ひたると全く同様な試験を全国各地より採集せる醸造用白米に就きて施行せり。試料は甚だ多數なるを以て特に品種の異なるもの及び産地の異なるものを選抜し合計四十九種に就きて麴菌酵素による分解生成物特にアミノ酸、ペプチド、砂糖及び全有機酸の定量を行ひたり其試験條件は前節に記載せるものと全く同様なを以て其記載を省略す。分析結果は下表の如し。

番 號	米ノ産地	品 種	醸 造 所 氏 名	搗減歩合	P _H	分解液 100c.c. に要する N/10 NaOH (アミノ酸)	同左 ペプチド	合計	葡萄糖 %	有機酸 (100 兎中)	分解液ノ色相
3	岩手	龜ノ尾	盛岡市村井本家	0.20	6.60	6.38	4.96	11.34	3.90	14.28	
9	宮城	酒ノ華宮城	三浦酒造店	0.35	6.55	6.66	6.57	13.23	3.76	13.02	
10	岡山	雄町	岡山戸塚酒造店	0.50	7.49	7.22	6.43	13.65	4.19	6.72	赤味
11	山口	〃	山口山崎酒造店	0.40	6.86	5.82	7.62	13.44	4.15	10.50	
22	廣島	小天狗	廣島櫻山酒店	0.30	6.90	7.50	5.10	12.60	3.60	12.60	
37	秋田	龜ノ尾	青森村井	0.40	6.30	10.54	4.38	14.91	3.70	11.97	
40	青森	豐國	川村	0.30	6.39	8.88	6.24	15.12	3.20	12.60	
56	秋田	龜ノ尾	秋田陸奥酒造會社	0.40	7.08	6.10	6.92	13.02	4.10	10.92	赤味
65	新潟	鴻	新潟大平酒店	0.40	6.56	—	—	—	—	—	
70	宮城	〃	宮城内ヶ崎酒店	0.40	7.00	8.88	5.20	14.06	3.28	6.93	赤味
72	山形	酒ノ華	山形新波	0.30	6.60	9.16	5.33	14.49	3.28	6.72	赤味

115	3.77	6.67	-	備	前青三等	103	5.84	6.56	+-	播	州三等米
116	3.79	6.56	+-	三	重錦米三等	89	5.88	7.32	+	島	根八反
260	3.82	6.54	-	京	都	227	6.22	6.37	+-	新	潟白玉
232	3.88	7.33	++	福	島愛國	40	6.24	6.39	-	青	森豐國
258	3.91	6.41	-	大	阪改頁穗	174	6.31	7.24	-		尾ノ上
81	4.22	6.37	-	長	野米光	10	6.43	7.49	++	岡	山雄町三等
142	4.35	7.73	-	青	森雄町	261	6.43	6.54	+	大	阪
37	4.38	6.30	-	秋	田龜ノ尾	9	6.57	6.55	-	宮	城酒ノ華
245	4.42	6.51	-	福	島福坊主	130	6.64	6.32	-	北	海道尾ノ上
150	4.56	6.77	-	北	海道坊主六號	257	6.64	6.69	+++	兵	庫
97	4.77	6.77	++	島	根早刈二條雄町	63	6.72	6.43	+	廣	島雄町
61	4.76	6.45	+-	廣	島雄町	125	6.80	6.90	++	播	州青三等
229	4.80	6.28	+	新	潟銀坊主	259	6.85	6.58	+-	大	阪
3	4.96	6.60	-	岩	手龜ノ尾	56	6.92	7.08	+	秋	田龜ノ尾
160	5.06	7.34	-	北	海道坊主	153	7.10	6.49	-	北	海道坊主六號
22	5.10	6.90	-	廣	島小天狗	155	7.22	6.58	-		上河六號
70	5.20	7.00	+++	宮	城龜ノ尾	11	7.62	6.86	-	山	口雄町三等
72	5.33	7.00	+++	山	形酒ノ華					米國カルフ	
94	5.76	6.83	-	島	根雄町	184	7.69	6.48	-	オ	ルニア

ペプチド量は前記アミノ酸量と反對の結果を示すを常とし、例へばアミノ酸量の最も多かりし133號北海道産不良米はペプチド最も少く 0.75 を示し之に反してアミノ酸量甚だ少かりし加州米即ちカリフォルニア米百八十四號は7.69 の如き多量のペプチド量を示せり。要するにペプチド量は其兩極端を避け中位の含量 4.0-6.0 のものを標準とするを可とす可く、尙前表に記せる如くペプチド量と白米糊液の呈する P_H 價との間には何等の規律的關係なし。

3 全有機酸量順序表

番號	有機酸	P _H	色相	産地	品 種	番號	有機酸	P _H	色相	産地	品 種
88	6.09	7.32	+	島	根八反	261	9.45	6.54	+	大	阪
259	6.30	6.58	+-	大	阪	258	9.44	6.41	-		改頁穗
257	6.72	6.69	+++	兵	庫	244	10.08	6.84	+-	福	島龜ノ尾
10	6.72	7.49	++	岡	山雄町三等	11	10.50	6.86	-	山	口雄町三等
70	6.93	7.00	+++	宮	城龜ノ尾	135	10.50	6.75	++	三	重錦
72	6.93	7.00	+++	山	形酒ノ華	174	10.50	7.24	-	青	森尾ノ上
95	6.93	6.90	+-	島	根雄町早刈	132	10.71	7.16	--	新	潟龜ノ尾
150	7.14	6.77	-	北	海道坊主六號	103	10.71	6.56	+-	播	州三等
113	7.35	6.85	++	岩	手龜ノ尾	227	10.92	6.37	+-	新	潟白玉
97	7.35	6.77	++	島	根二條雄町早刈	56	10.92	7.08	+	秋	田龜ノ尾
116	7.77	6.56	+-	三	重錦三等	93	10.92	6.38	++	島	根二條雄町
61	8.40	6.45	+-	廣	島雄町	229	11.55	6.28	+	新	潟銀坊主
81	8.40	6.37	-	長	野米光	133	11.55	6.83	+++	北	海道尾ノ尾
245	8.40	6.51	-	福	島福坊主	37	11.97	6.30	-	秋	田龜ノ尾
262	8.40	6.33	-	都	都	160	12.18	7.34	-	北	海道坊主
115	9.45	6.67	-	備	前青三等	184	12.18	6.48	-	米國カルフ	オ

40	12.60	6.39	-	青	森豐國	63	13.65	6.43	+	廣	島雄町
22	12.60	6.90	-	廣	島小天狗	3	14.28	6.60	-	岩	手龜ノ尾
232	12.60	7.33	++	福	島愛國	94	15.12	6.83	-	島	根雄町
9	13.02	6.55	-	宮	城酒ノ華	153	15.12	6.49	-	北	海道坊主六號
142	13.02	7.73	-	青	森雄町	260	15.12	6.54	-	京	都
130	13.02	6.32	-	北	海道尾ノ上	155	15.75	6.58	-	北	海道上川六號

醸造用米の麴菌酵素に依る分解生成物中全有機酸量は分解液 100 耗中の $\frac{1}{10}$ 規定苛性曹達液の耗數を以て示せば 6.09-15.75 の範圍にありて即ち乳酸量として 0.055-0.152% なり而して概して生酸量の餘りに多大なるものは醸造上優良の米質に非ざる如く、其程度は 7.0-10.0 なるを可とするが如し。然れども此有機酸の生成量は搗滅の増加に連れて増加する傾向ある事既に前節に於て述べたるが如し。故に單に生酸量の少きものを以て優良なりとは断定し難し。即同程度の搗滅に於ける生酸度を比較するに非ざれば其意義をなさざるものなり。搗滅の低き場合に生酸量の多なるものは概して不良なるが如し。尙前表に示せる如く全有機酸量と白米糊液の P_H 價との間には何等の規律的關係なし。

4 糖分量の順序表

番號	グルコース%	P _H	色相	産地	品 種	番號	グルコース%	P _H	色相	産地	品 種
258	2.95	6.41	-	大	阪改頁穗	245	3.36	6.51	-	福	島福坊主
257	2.97	6.69	+++	兵	庫	93	3.39	6.38	++	島	根二條雄町
81	2.99	6.37	-	長	野米光	133	3.40	6.83	+++	北	海道龜ノ尾
89	3.08	7.32	+	島	根八反	253	3.39	6.58	+-	大	阪
232	3.05	7.33	++	福	島愛國	132	3.44	7.16	--	新	潟龜ノ尾
174	3.15	7.24	-	青	森尾ノ上	95	3.46	6.90	+-	島	根(早刈)雄町
61	3.20	6.45	+-	廣	島雄町	135	3.50	6.75	++	三	重錦
40	3.20	6.39	-	青	森豐國	130	3.52	6.32	-	北	海道尾ノ上
153	3.20	7.34	-	北	海道坊主六號	94	3.54	6.83	-	島	根雄町
262	3.20	6.38	-	京	都	22	3.60	6.90	-	廣	島小天狗
160	3.20	6.49	-	北	海道坊主	103	3.59	6.56	+-	播	州三等米
155	3.24	6.58	-		上川六號	116	3.60	6.56	+-	三	重錦三等
70	3.28	7.00	+++	宮	城龜ノ尾	261	3.64	6.54	+	大	阪
72	3.28	7.00	+++	山	形酒ノ華	37	3.70	6.30	-	秋	田龜ノ尾
184	3.28	6.48	-	米國カルフ	オ	97	3.68	6.77	++	島	根二條雄町早刈
244	3.28	6.84	+-	福	島龜ノ尾	229	3.76	6.28	+	新	潟銀坊主
260	3.28	6.54	-	京	都	9	3.76	6.55	-	宮	城酒ノ華
63	3.29	6.43	+	廣	島雄町	227	3.84	6.37	+-	新	潟白玉
115	3.31	6.67	-	備	前青三等	3	3.90	6.60	-	岩	手龜ノ尾
150	3.33	6.77	-	北	海道坊主六號	10	4.19	7.49	++	岡	山雄町三等
142	3.36	7.73	-	青	森雄町	11	4.15	6.86	-	山	口雄町三等
125	3.36	6.90	++	播	州青三等	156	4.10	7.08	+	秋	田龜ノ尾

白米の麴菌酵素による分解液中グルコースの生成量は種類の如何により 2.95-4.15% の

範囲内にあり。勿論本試験と亦同程度の撹減に於て比較するに非ざれば正確なる結論を得難きものなれども大體右試験の結果より見る時は早湧傾向を有する百三十三號の如きも尙 3,40の數字を示し中位にありて必ずしも最低を示さず、要するにグルコース量は本試験方法に於て4% 内外を生産するものは優良なる醸造用米と認め得べし。尙前表に示す如く其白米糊液の呈する P_H 價は生産せるグルコースの量と何等規律的關係なき事を認む。

第六章 米麴の水素イオン濃度

吾等は前各章に於て白米の呈する水素イオン濃度に就て試験せり。然るに此白米が麴となる場合の水素イオン濃度の變化を知り置く事綜合的結論を下すに必要なを以て前記諸實驗に使用せる本所試験用米の製麴に就て試験せるに其結果下の如し。

P_H の測定法は麴2瓦を試験管に採り P_H 4.89 の蒸留水 10 銖を加へ 20 回振盪し 1 時間浸漬し 1 時間後再び 20 回振盪し板野式電氣 P_H 測定器にて P_H を測定す。試料は各々2 本宛採り其平均値を取る。

麴の種類	原料米の種類	引込の P _H	仕舞仕事の P _H	出麴の P _H
27 號, 26 號 酒母 麴	朝鮮雄町三割	6.07	4.08	4.72
11 號 仲 添 麴	〃	—	4.41	4.71
12 號 初 添 麴	〃	—	4.55	4.95
13 號 初 添 麴	〃	5.93	4.27	4.58
28 號 酒母 麴	備前雄町三割	5.99	4.02	4.83
12 號 仲 添 麴	朝鮮雄町三割	5.93	4.24	4.55
16 號 添 麴	朝鮮穀良都三割	—	—	5.03
15 號 留 添 麴	〃	—	4.51	5.19
16 號 仲 添 麴	秋田龜の尾三割	5.95	4.13	4.38
16 號 留 添 麴	〃	6.03	3.82	4.10

尙製麴の各操作中に於ける水素イオン濃度の變化を知らんが爲に同様なる方法によりて P_H を測定せり。其結果下の如し。

麴の種類	原料米の種類	製麴中各時期に於ける P _H					
		引 込	切 返	盛	仲 仕 事	仕 舞 仕 事	出 麴
26 號, 27 號, 酒母 麴	朝鮮雄町三割	6.07	5.80	5.08	4.34	4.08	4.71
16 號 仲 添 麴	秋田龜の尾三割	5.95	5.38	4.90	4.31	4.13	4.38
16 號 留 添 麴	〃	6.03	5.52	5.26	4.26	3.82	4.10

以上の試験結果に見る如く麴は引込時に於ては米の種類により中性又は微酸性を呈すれども仕事の進むに従つて酸性を増加し仕舞仕事の時期を以て最高酸度を示すものにして

3.8—4.5 の範囲にあり。然れども之れより出麴に至るまで酸度は次第に減少し 4.7—5.1 位に達す。而して出麴の P_H は仕舞仕事後出麴迄の時間によりて大に差異あり。即ち麴の老若によりて差異あるものにして酒母麴最も酸性度弱く、留麴仲麴初添麴は順次酸性度を増加するを當然とす。而して茲に注意すべきは米の品種によりて其麴の呈する P_H に差異あることなり。即ち秋田龜の尾種は其製麴 P_H 概して高く従つて酸性度強く之に反して備前雄町及び朝鮮雄町朝鮮穀良都は同撹減に於て其製麴の P_H 低く酸性度少き傾向あり。特に鮮米は備前米よりも一層酸性度弱き傾向を示す。此意義に於て酒母米として早湧を防ぐ目的の爲には秋田龜の尾より朝鮮米又は備前雄町を麴米に採用するを可と認む。而して釀用としては反對に秋田龜の尾を使用する方可なるべし。

尙序に醬油用麴の P_H に就て試験したる結果は下の如し。

	原料小麦	原料大豆	盛 込 (第一日)	一番手入 (第二日)	午後三時 (第三日)	出 麴 (第四日)
P _H	5.42	6.42	6.06	5.90	7.01	7.89

即ち醬油麴の如き出麴の遅きものは其の出麴は著しく P_H を増加しアルカリ性を呈するに至るを知るべし。

要之するに麴は出麴を遅らす程 P_H を増加し酸性度を減少すること明瞭なりとす。

第七章 清酒酵母と乳酸菌との繁殖最適水素イオン濃度

原料米及麴の P_H を知りたる後之れに繁殖する清酒酵母と酒母中の良性乳酸菌との繁殖最適水素イオンを比較理解することは本報告の結論を下すに重要な事項なるを以て本試験を施行せり。

培養基の調製は P_H 4.86 の麴汁 10 銖宛を正確に試験管に採り 30 分間殺菌し之に $\frac{1}{5}$ 規定苛性曹達及 $\frac{1}{10}$ 規定苛性曹達を次表の如く種々なる量に添加し種々なる P_H を呈する培養基を作れり。

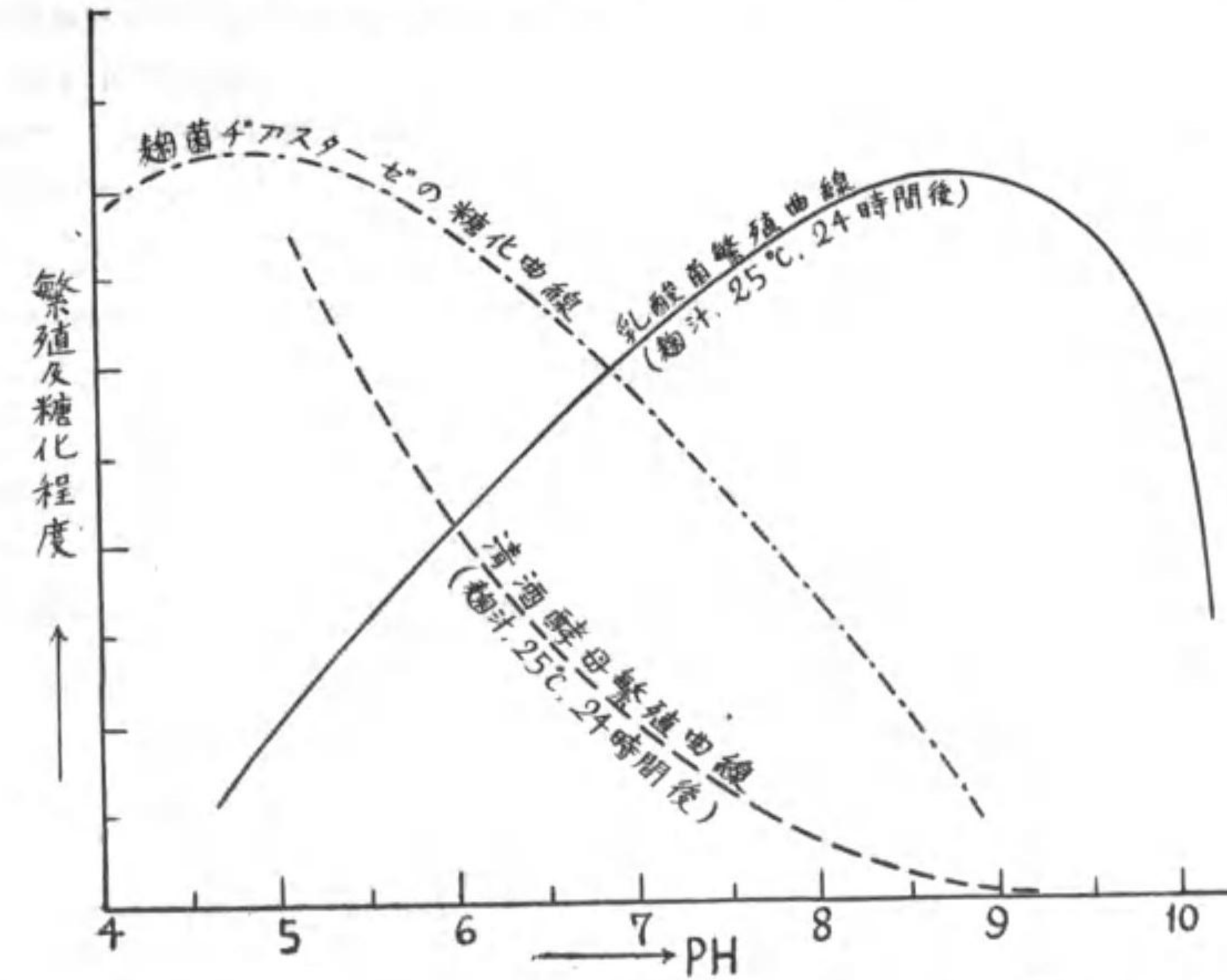
$\frac{N}{10}$ NaOHc.c.	NaOH%	P _H	$\frac{N}{10}$ NaOHc.c.	NaOH%	P _H
0.00	0.0000	4.86	1.00	0.0360	8.56
0.08	0.0031	5.17	1.16	0.0450	8.70
0.16	0.0064	5.50	以下 $\frac{N}{5}$ 0.66	0.0470	8.90
0.24	0.0093	5.90	0.74	0.0550	9.10
0.32	0.0124	6.39	0.82	0.0650	9.30
0.40	0.0150	6.78	0.90	0.0660	9.40
0.56	0.0210	7.49	0.98	0.0710	9.50
0.72	0.0260	8.00	1.06	0.0760	9.60
0.88	0.0320	8.33			

以上の各管に良性乳酸菌培養液二滴宛及び第五號清酒酵母を殺菌水に稀釋せるものを0.5 鈍宛を接種し 26°C 定溫器中に靜置し接種後 24 時間目、48 時間目の繁殖程度を混濁によりて比較せり。其結果次表の如し。

NaOH%	培養基Pn	清酒酵母			良性乳酸菌			48時間目の測定酸度(乳酸%)
		接種直後	24時間目	48時間目	接種直後	24時間目	48時間目	
0	4.86	-	++	+	-	+	++	0.1036
0.0031	5.17	-	+	+	-	+	++	0.1036
0.0064	5.50	-	+	+	-	++	+	0.1209
0.0093	5.90	-	+	+	-	++	+	0.1209
0.0124	6.39	-	+	+	-	++	+	0.1209
0.0150	6.78	-	++	+	-	++	++	0.1209
0.0210	7.49	-	++	+	-	++	+	0.1209
0.0260	8.00	-	++	+	-	++	+	0.1209
0.0320	8.33	-	+	+	-	++	+	0.1209
0.0360	8.56	-	+	+	-	++	++	0.1382
0.0450	8.70	-	±	+	-	++	++	0.1382
0.0470	8.90	-	-	-	-	++	++	0.1382
0.0550	9.10	-	-	-	-	+	++	0.1382
0.0650	9.30	-	-	-	-	+	++	0.1382
0.0660	9.40	-	-	-	-	++	++	0.1382
0.0710	9.50	-	-	-	-	+	++	0.1036
0.0760	9.60	-	-	-	-	+	++	0.1036

以上の結果を明瞭に示す爲め之を曲線にて表はす時は次圖の如し。即ち試験の範囲内に於て乳酸菌は微酸性よりアルカリ性の増加するに従ひ其繁殖早く Pn 8.5 の附近最高點に

達し Pn 9 以上に及べば再び繁殖力著しく激減す反之して清酒酵母は酸性度強き方繁殖速かなり此故に酒母製造に際し其早湧を防ぎ先づ乳酸菌の繁殖を促進する爲には成る可く酸



性度少き又はアルカリ性の強き白米及水を選ぶこと必要なるを知る即ち Pn7.0-8.0の範囲内にあるを最適とするを知るべし。

斯くの如く醸造用米も醸造用水も共に酒母製造に於ては Pn7.0 以上即ち中性若くは微アルカリ性を呈するものを選択するを可とし斯くせば酒母育成の當初に於て清酒酵母の繁殖を大に抑制し乳酸菌の繁殖を大に促進せしめ得ること明瞭なりとす。然れども斯の如き中性若くは微アルカリ性は麴ヂアスターゼの糖化を甚しく阻害せずやの疑あれども参考の爲曲線表に示す如く糖化力は中性に於ても尙相當に行はれるものにして且つ乳酸菌の繁殖により液は間もなく酸性となるを以て然かく懸念する程の事はなかるべし。

第八章 結論 總括

前記各章に於ける實驗結果を總括し結論を下せば次の如し。

1. 玄米は酸性を呈すれども其精白程度を増加するに従ひ殆んど比例的に Pn 價を増加し即ち酸性度を減少し中性若くはアルカリ性に近づくものなり。
2. 精白増加による酸性度の減少は米の品種により異なる。例へば秋田龜の尾種に比し陸

羽百三十二號種は精白による酸性度の減少程度少なきが如し。概して醸造用適米は精白増加による P_H の増加即ち酸性度の減少程度大なるものなり。

3. 精米機の不良なるものを以て精白するときは搗減歩合の増加する割合に P_H 價増加せず、即ち酸性度の減少程度少し、之れ碎米を多く生じ穀粒の周皮良く磨滅せざるに因る。
4. 精米機の良否を鑑別するには同一米を種々なる程度に精白して其 P_H を比較するを便とすべし、即ち同一米を同一程度に精白したる時 P_H の大なる白米を生ずる程其精米機は優良なるものなり。
5. 全國の醸造家より清酒醸造用白米二百五十六種を集め其 P_H 價を測定せる結果 P_H 6.0—8.0 の範囲内にあることを認めたり。即ち微酸性よりアルカリ性に至るなり。此内 P_H 7.0 以上のもの即ち中性よりアルカリ性を呈するもの約五十種位あり。
6. 従來醸造用優良米とされたるものは概して P_H 價高くアルカリ性に近きを常とす。然れども同一品種の米にても産地を異にせば又其 P_H 價も異なる。
7. 必ずしも従來本場とされたる産地の米ならずとも地方に於ても相當に P_H 價高き醸造用白米の在ることを示す。故に今後毎年各地にて醸造用白米の P_H 價を測定し成る可く P_H 價高きものを選ぶ如くなすを要す。
8. 精白程度を必ずしも極端に高くなさずとも一乃至二割減程度にて既に P_H 7.0 以上を呈するものあり。これ米質の良質と精米機の優良なるに因るが如し。
9. 古米は新米よりも P_H 價低し即ち酸性強きを常とす。之れ醸造用に不適當なる所なり。
10. 早刈の米は晩刈の米より P_H 高し。即ちアルカリ度強し故に醸造米としては早刈の方が好適なりとす。
11. 白米中アルカリ性を呈する物質は蛋白質等の膠狀物質にあらず隔膜を透過する結晶性物質なり。恐らく磷酸アルカリ土鹽類の作用らしく推定さる。此點は試験尙完結せず依りて後報に譲る。
12. 白米の麴菌酵素による分解試験を行ひたる結果は次の如し。
 - (1) 優良米の一乃至五割減の白米に就て試験するにアミノ酸生成量は搗減の増加するに従つて増加す。而してペプチド生成量は殆ど増減なし。
 - (2) 全酸の生成量は米の品種の差により大なる差異あり。
 - (3) 搗減程度と全酸生成量との關係も米の品種により差異あり必ずしも規則的ならず。
 備前青三等は一割減より三割減に至るまで次第に全酸生成量を減じ、三割減より五割減に至るまで次第に酸生成量を増加せり、而して五割減は一割減より却つて酸生成量多し。

- 朝鮮雄町は一割減より五割減に至るまで殆ど規則的に酸生成量を増加せり。而して五割減にては酸生成量一割減の倍量に達す。
- (4) 備前青三等、秋田龜の尾、朝鮮雄町、朝鮮穀良都の四種各三割減の白米に就て其酵素的分解結果は備前米と朝鮮雄町とは非常に類似しアミノ酸、ペプチド、糖分、全酸の生成量殆ど近似數を示す。反之して秋田龜の尾は酸生成量多く糖分、アミノ酸、ペプチドの生成量は少し。朝鮮穀良都はアミノ酸生成量は甚だ少なく全酸及糖分生成量は前三者より大なり。但しペプチド生成量は比較的多きもアミノ酸との含量は却つて少し。以上の結果より見るときは秋田龜の尾は淡麗なる酒を造るに適し備前米、朝鮮雄町、朝鮮穀良都は濃厚酒を造るに適することを知る。
 - (5) 全國各醸造家より集めたる各品種の酒造用白米四十九種に就て品種別及産地別の差異を試験せる結果は下の如し。アミノ酸生成量概して優良米に於て少なく例へば下等米たる北海道 133 號の如きは備前米秋田米等に比し五割以上アミノ酸生成量多し。但し例外は加州米の如き比較的劣等米がアミノ酸生成量比較的少きこととなり、故に兩極端は不良なりと認む。(本試験優良標準 9.0—11.0) ペプチド生成量はアミノ酸と反對の結果を示す。但し之も兩極端は之を避るを可とす。(本試験優良標準 4.0—6.0) 全酸生成量は米の品種によりて大に差異あれども必ずしも少きが優良種に非ず。元來全酸生成量は搗減を大にすれば却つて増加する傾向あること前述の如し、搗減少くして生酸量大なるは却つて不良種なるが如し。本試験標準にては 7.0—10.0 の範囲が最適なるが如し。
 - (6) 糖分の生産量は品種の如何により差異あり然れども本試験の方法により 4% 内外以上の糖分を生産するものは適良なるものの如し。
 13. 米麴の水素イオン濃度は引込後より酸性を増加し仕舞仕事時期を以て酸性度最高に達し、之れより出麴に至るまで次第に酸性度を減ず、従つて出麴の遅れる程麴は P_H 大となる。
 14. 故に酒母の早湧を抑制するには出来る丈出麴を遅らし所謂麴を老なす事必要にして其意義は従來の麴の含有糖分を標準とすることなく P_H の最大なる點即ち酸性度の最少なる點を選ぶを可とす。
 15. 醱用の麴は醱酵の増進酵母繁殖の増進を目的とするが故に出麴を早くし P_H の少きを可とす。即ち酸性度強くて可なり。従つて酸性度の最高點たる仕舞仕事後長く置くは得策にあらず。

16. 酒母中の乳性良酸菌は $P_n 5-9$ の範圍に於て中性又はアルカリ一度高き程著しく其繁殖を増進す反之して清酒酵母は酸性強き程繁殖速かにして P_n の増加するに従ひ著しく繁殖を抑制する。
17. 此理由により酒母の早湧を抑制する意味に於て原料白米は出来る丈 P_n の高きもの即 $P_n 7.0$ 以上のものを選ぶを可とす、又同意義に於て酒母米は出来る丈高度に精白するを要す。
18. 醸造用水の選定も亦前頁の意義により $P_n 7.0$ 以上のものを最良とす。
19. 酒母仕込に $P_n 7.0$ 位の白米及水を使用するとも酵母繁殖の著しく抑制さるゝ割合に糖化力は然かく抑制されざるを以て糖化の點に就て懸念するの必要なし。(本文中の曲線圖参照)

附記 本試験中の一部分の結果は昭和六年六月五日秋田市に於ける日本醸友會大會に於て講演したり、本報告の公表甚しく遅れたるは材料過多の爲め試験事項多かりしが故なり。

麴菌の蛋白分解酵素に関する研究 (第一報)

三種のプロテアーゼの存在及分離

Über die proteolytische Enzyme des *Aspergillus oryzae*. (I. Mitteilung)—Vorkommen und Isolierung dreier Sorten von Proteasen.

技 師 黒 野 勘 六
助 手 瀧 澤 澄 江

目 次

第一章 總 論	44
第二章 混合酵素に関する諸般の研究	47
第一節 混合酵素の製造及實驗方法	47
第二節 混合酵素のゲラチン液化試験	48
第三節 各種水素イオン濃度に於ける混合酵素のゲラチン分解	48
第四節 各種水素イオン濃度に於ける混合酵素の米蛋白質分解	51
第五節 混合酵素に依る大豆蛋白質の分解	52
第一項 各種水素イオン濃度に於ける混合酵素の大豆蛋白質分解	52
第二項 食鹽の存在に於ける大豆蛋白質の分解と水素イオン濃度との關係	54
第三項 大豆蛋白質の分解に對する食鹽濃度の影響	54
(I) 第一回試験	
(II) 第二回試験	
第六節 混合酵素に依るペプチドの分解	57
第三章 混合酵素の分離研究	58
第一節 カオリンを以てする蛋白質分解酵素の分離試験	58
第二節 蒲原粘土を以てする蛋白質分解酵素の分離試験	59
第一項 豫備試験	60
第二項 蒲原粘土吸着濾液の試験	60
(I) ウォルステッター法に依るタカベシナーゼ及びタカエレブターゼの混在證明	

(II)	ロイシールグリシンの分解に依りタカエレプターゼの存在証明	
第三項	浦原粘土吸着物中にタカトリプターゼの存在証明	63
第四項	吸着物よりタカトリプターゼの分離及其最適水素イオン濃度	64
第三節	アルミニウムコロイドを以てするタカペプシナーゼとタカエレプターゼの分離	65
第一項	アルミニウムコロイド吸着濾液の試験 (タカペプシナーゼの存在証明)	66
第二項	タカペプシナーゼの最適水素イオン濃度	66
第三項	アルミニウムコロイド吸着物の試験 (タカエレプターゼの存在証明)	67
(I)	タカエレプターゼのアルミニウムコロイド吸着最適 P_H 試験	
(II)	タカエレプターゼのアルミニウムコロイド脱離 P_H 並に存在証明	
第四項	アルミニウムコロイドに吸着せる酵素は単一なるエレプターゼなりや	70
第五項	タカエレプターゼの最適水素イオン濃度	71
第四節	各種蛋白分解酵素の多量分離試験	72
第四章	結論	73

第一章 總 論

麹菌 (*Aspergillus oryzae*) の酵素に関する研究は古來頗る多くコルシュルト (Korschelt), アトキンソン (Atkinson), ケルネル (Kellner), ロエブ (Loew), 古在, 森, 長岡等の諸氏に依りて研究せられたるを初めとし次いで齋藤賢道, 安藤福三郎, 安藤一雄, 森三也, 高橋偵造, 喜多源逸, 奥村順四郎, 下田忠次郎, 大島幸吉, 坂口謹一郎の諸氏によりて研究せられたるもの多く其詳細は自著醸酵生理學に詳記せるを以て茲には其記載を省略す。要するに麹菌中に其存在を證明せられたる酵素の種類はジアスターゼ, インブールターゼ, マルターゼ, ラフィナーゼ, エムルシン, イスラーゼ, チターゼ, プロテアーゼ, ラブエンチーム, パーオキシダーゼ, カタラーゼ, ヤクママーゼ, ウレアーゼ, タンナーゼ, フィターゼ, チマーゼ等なり。尙麹菌よりの市販酵素製劑たるタカヂアスターゼに就いても研究者頗る多數にして高峰讓吉氏, リントナー (Lintner) 及ソリード (Sollied), 小川氏, 西村氏, ウェルステッター (Willstätter), 波多野氏, ノイベルヒ (Neuberg), 高橋氏, 野口氏, ホッペルト (Hoppert), 赤松氏, 松本氏, 杉山氏, 著者等の研究せるもの頗る多し。而して其存在を證明せられたる酵素名を列記すればアミラーゼ, サッカラーゼ, マルターゼ, プロテアー

ゼ, カタラーゼ, リバーゼ, ラブエンチーム, ラクターゼ, イスラーゼ, スルファターゼ, アミノアシダーゼ, グリコシダーゼ, フォスファターゼ, レシターゼ, チターゼ, タンナーゼ, アミロフォスファターゼ等なり。

然るに麹菌のプロテアーゼに関する過去の研究を詳記すれば麹菌が蛋白質の消化力を有する事は夙にウェーマー (Wehmer) 及シエッフアー (Schäffer) によつて認められ齋藤賢道⁽³⁾氏は麹菌中の蛋白分解酵素はトリプシン性の酵素にして蛋白の分解によりトリプトファンを生ずると報じヴァインズ (Vines) は⁽⁴⁾ファイブリンの液化及ペプトンの消化は酸性に於て強力なる事を報じウェルゲムート (Wohlgenuth) は⁽⁵⁾タカヂアスターゼに依るカゼイン消化は微酸性に於けるより中性或はアルカリ性に於て強力なりと云ひ又ペプトンを消化するを以てトリプシンの外エレプシンの存在を認め血清によつて前者は抑制され後者は促進せらるゝ事により兩酵素は全く別個のものなりとせり。尙又同氏はタカヂアスターゼはグリチールトリプトファンを分解するもグリチールチロシン及びザイデペプトンは分解せずと報ぜり。ザント (Szanto) は⁽⁶⁾タカヂアスターゼの蛋白分解作用に及ぼす酸, 鹽基, 鹽類等の影響に就て研究しカゼイン消化の最適は中性なりとせり。但し同氏の研究はフェノールフタレーンを指示薬とせるを以て P_H 8.0 の附近なるべし。反之して岡田氏は⁽⁷⁾ペプトン消化の最適 P_H は 5.07 なりとせり。而して波多野氏は⁽⁸⁾タカヂアスターゼがザイデファイブリンペプトンを良く分解し容易にチロシンの結晶を析出する事を認めたり。又同年大島幸吉氏は⁽⁹⁾多數の麹菌に就きて蛋白分解酵素の生成能に對する培養基の影響を研究せり。又同氏は麹菌等のヂアスターゼ及プロテアーゼの定量法に就いて報じ自己の方法により約二百種の麹菌類に就いて此兩酵素の含量を比較せり。次に西村資治氏は⁽¹⁰⁾タカヂアスターゼのゲラチン消化の最適 P_H は 6.5 なることを報じ大島幸吉氏は⁽¹¹⁾ウイッテペプトンの分解は P_H 6.2, アルブミンの分解は P_H 4.3 を最適とすると報ぜり。最近グラスマン (Graßmann) は⁽¹²⁾著書中に簡単に記載する所によれば同氏等は麹菌のペプチダーゼに就きて研究中なりとしロイシールグリシンの分解は P_H 7.0 なりとし酵母のペプチダーゼと良く一致すると云ひ本酵素はヂペプチダーゼとアミノポリペプチダーゼとの混合物ならんとし鐵コロイドを用ふればアミノポリペプチダーゼを吸着しヂペプチダーゼのみを得らると云ひ本酵素中のプロテアーゼはババイン形の酵素に屬すと豫報せり。然れども此のグラスマンの記載は何等實驗的記載なく今尙實驗報告の發表せられたるもの無きを以て俄に信用することを得ず。尙又最近本多吉氏⁽¹³⁾は麹菌の自家消化特に蛋白質分解酵素に就いて研究し麹菌の蛋白分解酵素中には少なくともプロタイナーゼとヂペプチダーゼの二種あるべき事を間接的に證しプロタイナーゼの最適 P_H は 5.0 (ゲラチンの分解) にしてヂペプチダーゼの最適 P_H は 7.8 (ロイシールグリシンの分解) なりとし尙麹菌自己消化の最適點は P_H 6.0—6.4 なりと報ぜり。

要するに以上の諸研究の結果は必ずしも一致せざる點多きも其綜合的結果より想像せば

麴菌の蛋白質分解酵素はペプシナーゼ、エレプターゼ、ペプチダーゼの三種を混有するが如し。然しながら是等の研究は皆混合酵素による間接的證明にして未だ各酵素の分離に成功せるものなし従つて其最適 P_H 等各人甚しき相違あるは當然なりとす。

元來動植物體組織中に存するプロテアーゼは種類多く少くとも現在の程度に於て三種のプロテアーゼの存在を認めらる。然れども是等を分離する事は比較的困難にして従て是等を合稱し混合蛋白質分解酵素(Mischprotease)と稱せり。即ちデルンビー⁽¹⁴⁾(Dernby)は動物組織の自己消化に就いて精密なる研究を行ひ少くとも三種のプロテアーゼの混在を證し得たり。又之より久しき以前植物組織中のプロテアーゼに就いても同様な結果を有する事ヴェインズ⁽¹⁵⁾(Vines)によりて認められ居れり。ヘヂン⁽¹⁶⁾(Hedin)も亦肝臓、脳髓、胃粘膜、脾臓、白血球中のプロテアーゼに就いて試験しペプチダーゼ、トリプターゼ($P_H7.8$)、ペプシナーゼ($P_H3.5$)の三種の混在を證せり。

又麥芽中の蛋白質分解酵素に就ては古來研究者頗る多きも最近リュール等⁽¹⁷⁾(Lüers etc.)はウールステッター粘土Aを以て吸着($P_H5.0$)し一種のプロテアーゼ($P_H4.9-5.0$)とペプチダーゼ($P_H7.5$)との二種あるを證し、次にホプキンス⁽¹⁸⁾(Hopkins)はアルミニウムコロイド及カオリンを以て此二種の酵素を分別吸着分離するに成功せり。然してデルンビー⁽¹⁹⁾(Dernby)は數年前酵母の壓搾汁のプロテアーゼに就いて研究しペプチダーゼ($P_H7.8$)、ペプシナーゼ($P_H5.0$)、トリプターゼ($P_H7.0$)の三種の存在を證明せり。此故に著者等は麴菌中のプロテアーゼも亦恐らく混合酵素なるべしと想像し之が分離精製を企て遂に蒲原粘土、カオリン及びウールステッター氏アルミニウムコロイドを使用して其目的を達したり。即ち麴菌の有するプロテアーゼはトリプターゼ($P_H7.7$)、ペプシナーゼ($P_H5.5$)、エレプターゼ($P_H5.0$)の三種の混合酵素(Mischprotease)なる事を證し、且其各プロテアーゼに就いて其性質を精査せる結果結論に於て詳記せる如く前記動物組織中のプロテアーゼ類又は酵母體中のプロテアーゼ類とは大に趣を異にせる點あるを以て著者等は之が名稱を區別する爲に今後タカトリプターゼ(Taka-tryptase)、タカペプシナーゼ(Taka-pepsinase)、タカエレプターゼ(Taka-ereptase)の名稱を附する事を提唱するものなり。尙之れが酵素學的性質及工業上應用の諸問題に就いては第二報以下順次之を報告すべし。

附記 著者の麴菌酵素より三種の蛋白質分解酵素を分離し得たる事は昭和六年六月五日秋田縣醸造試験場に於ける日本醸友會大會席上にて講演の際之を豫報し其記録は同會報告書上に記載されたり。

文 献

- (1) 黒野勘六著 最新醱酵生理學 日本醸造協會發行第985-1019頁
- (2) C. Wehmer: Chemiker-Zeitung; 19, Nr. 91, 1895.
- (3) 齋藤賢道: 植物學雜誌 17, 267, 明治36年(1903)
- (4) S. H. Vines: Ann. of Bot. 23, 10, 1909; 24, 130, 1909.

- (5) I. Wohlgenuth: Biochem. Zeitschr. 39, 324, 1912.
- (6) O. Szanto: Biochem. Zeitschr. 43, 31, 1912.
- (7) S. Okada: Biol. J. 10, 130, 1916.
- (8) J. Hatano: Biochem. Zeitschr. 151, 335, 1924.
- (9) 大島幸吉: 札幌農林學會報16號大正十三年(1924)
- (10) 西村實治: 醸造學雜誌第4卷865頁昭和二年(1927)
- (11) K. Oshima: J. Coll. Agric. Hokkaido Imp. Univ. 19, 174, 1928.
- (12) W. Grassmann: Ergebnisse der Enzymforschung, I. Band Aufl. 1932, Leipzig, Seite 149.
- (13) 本多久吉: 醸造學雜誌第10卷第6號439頁昭和七年(1932)
- (14) K. G. Dernby: Journ. of Biol. Chem. 35, 179, 1918.
- (15) Vines: Ann. of Bot. 18, 289; 19, 149, 171; 20, 113; 22, 103; 23, 1; 24, 213, [1904-10]
- (16) Hedin: J. of Physiol. 30, 155; J. of Biol. Chem. 54, 177, 1922; Zeitschr. f. Physiol. Chem. 122, 307; 125, 189.
- (17) Lüers u. Malsch: Woch. f. Brau. 46, 265, 275, 1929.
- (18) Hopkins: Woch. f. Brau. 47, 39, 1930.
- (19) K. G. Dernby: Biochem. Zeitschr. 81, 107, 1917.

第二章 混合酵素に関する諸般の研究

本章に於ては先づ麴菌培養より製せる粗製酵素即ち所謂タカチアスターゼなる酵素標本を多量に自製し此の各種混合酵素に就て各種蛋白質に對する分解作用を観察し其最適水素イオン濃度の結果より該標本中のプロテアーゼは決して單純なるものに非ず、必ずや數種のプロテアーゼの混在するものなるべきを推論證明せるものなり。

第一節 混合酵素の製造及實驗方法

試験に用ひたる混合酵素即ちタカチアスターゼ標本は市販の物を使用せず自ら多量に自製せるものにして、専ら清酒醸造に使用せらるゝ代表的麴菌(Aspergillus oryzae)を浸水蒸餾せる小麥麩上に製麴したるものを粉碎し之を少量の水にて浸出濾過し多量の94%酒精を加へ沈澱を濾別し更らに之を再び少量の水に溶解し又數倍量の94%酒精を加へ白色沈澱を濾別し之れを40°C以下の低温に於て乾燥したるものを粉碎せる白色粉末なり。之れを念の爲市販のタカチアスターゼと比較せるに其の糖化力は市販品に勝るとも劣らざることを認めたり。該タカチアスターゼ標本は本所に於て殆んど工業的大規模に製せるもの數十斤を保有し之れに就て諸般の研究を行ひたり。

實驗方法に於て特筆すべき點は蛋白質分解物の定量法なり本試験に於ては主としてウールステッター氏の方法を採用せり、(Richard Willstätter: Alkalimetrische Bestimmung von Aminosäuren und Peptiden; Abderhalden: Handbuch der Biologischen Arbeitsmethoden, Abt. I, Teil 7, 289.)本方法はアミノ酸量とペプチド量とを別々に定量し得るの

利益あるが故に此種の試験に最も適合す、然れども可検液中の添加蛋白質の残量多きときは酒精の添加により多量の蛋白質を沈澱し此の爲にアルカリの滴定に際し混合中和に時間を要し甚しく不便を來し又其結果も正確を缺くを以て、此方法を用ふる際には蛋白質量を極度に減少し尙添加酵素量を比較的多くするを要す、卵アルブミンの場合等其一例とす。

尙本試験に於ては従來のアミノ酸定量法たるフォルモール法をも採用せしが本法の示す滴定アルカリ度はアミノ酸及ペプチドの含量を示すものなるが故に此等を各別に定量するを要する場合には採用し難し。尙又本法は可検液に使用するブッファー溶液中に磷酸鹽又は硼酸鹽を含むときは其結果過大となり全然定量し難きものなり。唯斯の如き場合は同一試料に就て試験前後の差数のみを採用せば誤差相殺の爲略其目的を達し得べし。

本試験に於けるペプシン様酵素の試験には添加せる蛋白質の残量をスツツァー法たる水酸化銅により沈澱して其窒素量をケルダール法により定量するを正確なりとす。

ペプシン消化により生ずる第二アルブモース (Sekundäre Albumosen) を旋光鏡的に定量するヒュッペルト及シュツツ法 (Huppert u. Schütz: Pflügers Arch. 80, 470, 1900; Oppenheimer: Die Fermente, 5 Aufl. 2 Bd. 856) を試みしも其結果は正確ならず。何となれば本法は試料が最も純粹なるを必要條件とするものなるが故に本研究の如き残存蛋白質及アミノ酸等を混有する試料にては旋光性を呈するも雜多にして容易に第二アルブモースの定量を行ひ難きに因るなり。

第二節 混合酵素のゲラチン液化試験

混合酵素標本中のプロテアーゼがゲラチンを液化する最適水素イオン濃度を試験せり。即ち 15% のゲラチン溶液を同一直徑を有する多數の試験管に 10 兎宛配布し固化せしめたものを造り、其外側にゲラチンの高さを標記し、各管にゼーレンゼン氏ブッファー溶液 P_H 2.0—9.0 を夫々 5 兎宛配布し、之れに 10% 酵素液 1 兎宛を添加し更にトルエン一滴宛を添加し密栓して 25°C 定温器中に保持し 24 時間後液化せしゲラチンの高さを測定せしに其結果下の如し。

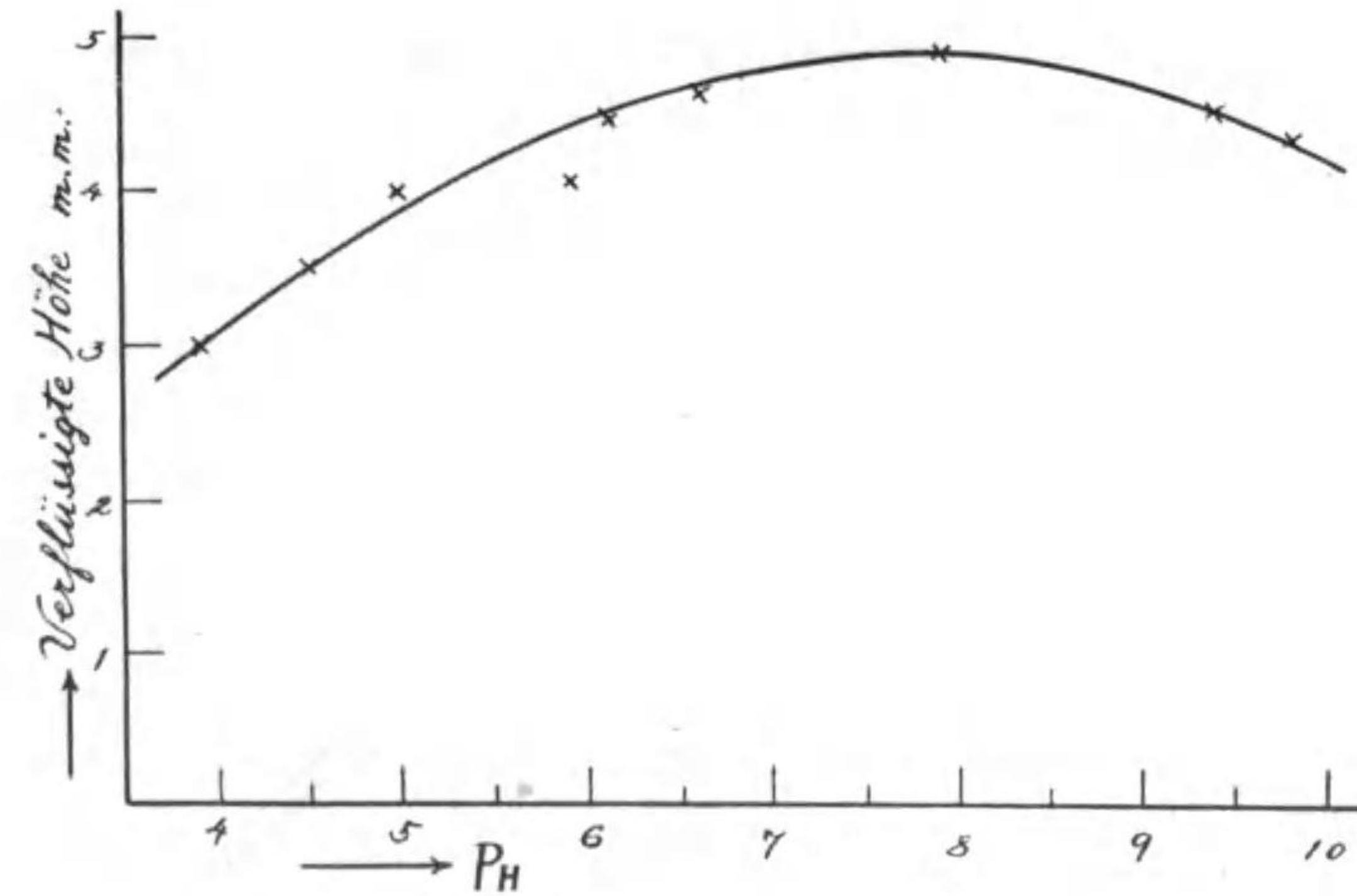
P_H	3.9	4.5	5.0	5.9	6.1	6.6	7.9	9.4	9.8
ゲラチン液化の高さ mm	3	3.5	4.0	4.1	4.5	4.7	5.0	4.7	4.5

此の結果を曲線に表はす時は第一圖の如し。

即ち此の曲線は比較的緩なれども其の最適水素イオン濃度は 7.9 にして大體 P_H 8.0 の附近にあること明瞭なり。然れども P_H 5.0—6.0 附近の微酸性に於ても尙且相當の液化力あるを認む。

第三節 各種水素イオン濃度に於ける混合酵素のゲラチン分解

第一圖 混合酵素のゲラチン液化曲線
(Aktivität-kurven bei der Gelatin-verflüssigung durch Gemischproteasen)



各種水素イオン濃度のブッファー溶液中にて混合酵素がゲラチンを分解する程度を試験せんとし本実験を行ひたり。

即ちゼーレンゼン氏ブッファー溶液 (P_H 4.4—8.9) 10 兎宛を小三角瓶に配布し、之に中和せる 6% ゲラチン溶液 10 兎宛、2% 酵素液 20 兎宛を添加して夫々全量を 40 兎となし、比色法により各混合液の P_H を測定せしに原ブッファー溶液の P_H と殆んど變化なきも尙分解の前後に於て苛性曹達及鹽酸にて其 P_H を調節す。更に 3 兎宛のトルエンを添加し密栓して 31°C 定温器中に保持し、分解の前後に於て試料 4 兎宛を採りウォルステッター法によりアミノ酸及ペプチドを定量せり。其結果次表の如し。

番號	P_H	滴定數 ($\frac{N}{10}$ NaOH ca.)								計算數		
		開始		24時間後		其差		b	a	b-a	アミノ酸	ペプチド
		90%	40%	90%	40%	b	a					
1	4.4	2.83	2.15	3.74	2.78	0.91	0.63	0.28	0.39	0.52		
2	5.0	2.47	1.72	3.64	2.42	1.17	0.70	0.47	0.66	0.51		
3	6.0	2.00	1.32	3.02	1.92	1.02	0.60	0.42	0.59	0.43		
4	6.6	1.79	1.05	2.69	1.62	0.90	0.57	0.33	0.46	0.44		
5	7.4	1.63	1.02	2.34	1.36	0.71	0.34	0.37	0.52	0.19		
6	7.9	1.41	0.81	1.92	0.98	0.51	0.17	0.34	0.48	0.03		
7	8.9	0.46	0.00	0.62	0.04	0.16	0.04	0.12	0.16	0.00		

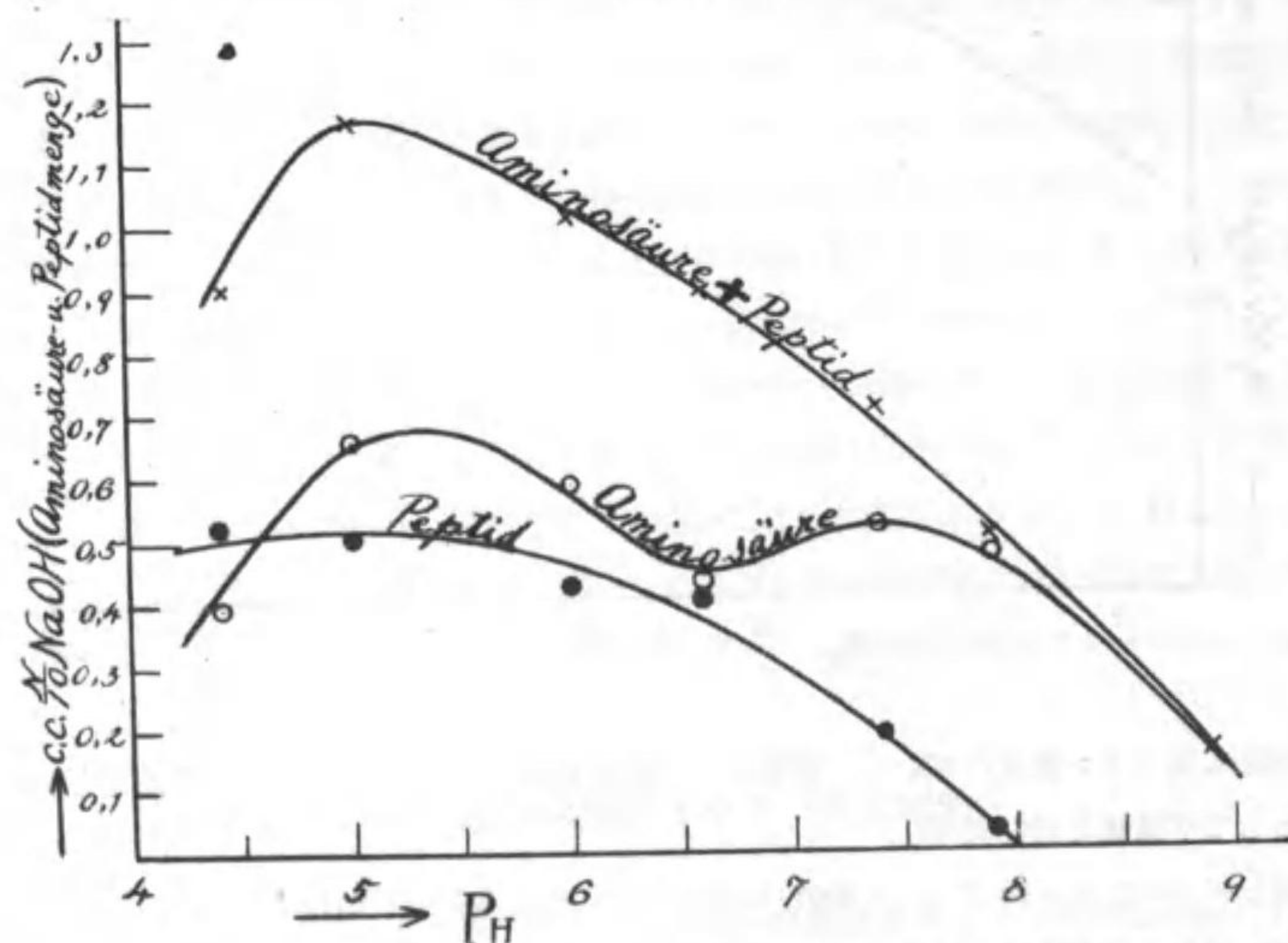
但、アミノ酸計算数 = $\frac{100}{72} \times (b-a)$

ペプチド量 = $b - (\text{アミノ酸計算数})$

以上の数字を曲線に表はす時は第二圖の如し。

第二圖 混合酵素のゲラチン分解曲線

(Aktivität-kurven bei der Gelatin-spaltung durch Gemischproteasen)



此曲線を見る時は混合酵素に依るゲラチン蛋白質の分解に際しアミノ酸及ペプチドの含量は P_H 5.0 の附近に最高點を有する單一なる曲線なれども、アミノ酸單獨の生成量は P_H 5.3 附近に最高點を有し更に曲線は低下して P_H 7.5 の附近に於て又其生成量を増加せる小なる頂點を示せり。此曲線より見る時は混合酵素は酸性に於て最高點を有するプロテアーゼと微アルカリ性に於て最高點を有するプロテアーゼとの二種以上の酵素の共存せる事を想像せしむるに足る。もし然らずとせば P_H 5.0 より P_H 7.5 に及ぶ極めて長き範圍に於ける最高點を示すものとなるべく是の如きは到底單一酵素の示す結果として首肯する能はざるものなり。ペプチド單獨の生成量は極めて鈍き曲線を示せども大體に於て其最高點は P_H 5.0 の附近にあるべく思惟せらる。然れども此ペプチド量は各種の酵素に依りて生産せられ尙一旦生成せるペプチドも亦更にアミノ酸に分解さるゝものがあるが故に分離されたる單純酵素に依るに有らずんば明瞭なる結論を下し難きは當然なりとす。

只最後に注意す可きは此ゲラチンの分解は寧ろ酸性の部分に於て最高點を有すれども次に記載せる米蛋白質の分解は寧ろ之と反對にアルカリ性の部分に於て最高の頂點を示せる

事にして、要するに蛋白質の種類を異にするに從て混合酵素の作用に多少の差異ある事なり。

第四節 各種水素イオン濃度に於ける混合酵素の米蛋白質分解

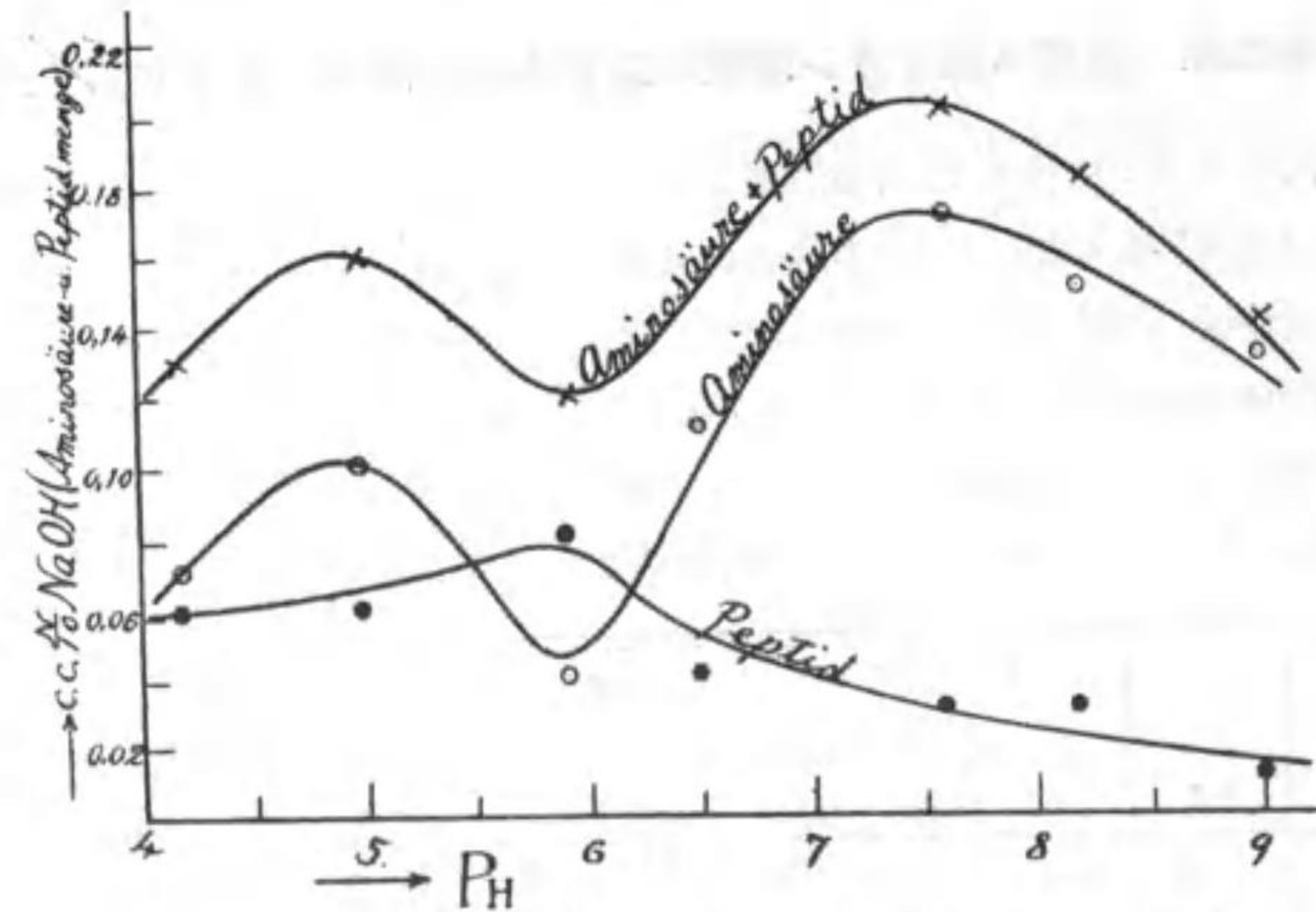
前試験のゲラチンに代ふるに米蛋白質を以て試験を行ひたり。即ち米 2 瓦を乳鉢にて粉末となし之に水 120 瓦を加へてよく摺り更に食鹽 6 瓦を添加して再び摺りて約 1 時間静置後濾過し、此濾液 15 瓦宛を小三角瓶に配布し之に 7.5% 酵素液 5 瓦及ゼーレンゼン氏ブッファー溶液 5 瓦宛を添加して夫々全量を 25 瓦となし、各混合液の P_H を調節しトルエン 2 瓦宛を添加して 25°C 定温器中に保持し、分解の前後に於て試料 2 瓦宛に就きてウールステッター法に依りアミノ酸及ペプチドを定量せり。其結果次表の如し。

番號	P_H	滴定數 ($\frac{N}{10}$ NaOH cc.)							計算數	
		開始		23時間後		其 差			アミノ酸	ペプチド
		90%	50%	90%	50%	b	a	b-a		
1	4.2	1.30	1.05	1.43	1.13	0.13	0.08	0.05	0.07	0.06
2	5.0	1.10	0.82	1.26	0.91	0.16	0.09	0.07	0.10	0.06
3	5.9	0.80	0.51	0.92	0.60	0.12	0.09	0.03	0.04	0.08
4	6.5	0.63	0.38	0.78	0.45	0.15	0.07	0.08	0.11	0.04
5	7.6	0.55	0.43	0.75	0.51	0.20	0.08	0.12	0.17	0.03
6	8.2	0.45	0.35	0.63	0.42	0.18	0.07	0.11	0.15	0.03
7	9.0	0.23	0.20	0.37	0.25	0.14	0.05	0.09	0.13	0.01

以上の数字を曲線にて示す時は第三圖の如し。

即ち此曲線の示す如く米の蛋白質即オリゼニン及アルブミン、グロブリンの混合溶液を混合酵素を以て分解する時はアミノ酸の生成量は P_H 5.0 の附近に於て一應最高曲線を表し更に P_H 6.0 の附近に於ては其生成量を減じ又アルカリ性の部分 P_H 7.5 の附近に於て最大の分解力を示せり。其傾向は前ゲラチンの分解の場合に於けると殆んど同様なる曲線を示し酸性の部分とアルカリ性の部分との二つの最高點を有する事明瞭にして、換言せば此細菌混合酵素は少くとも二種以上のプロテアーゼを混合せる事明瞭にして一は酸性に最適 P_H を有する酵素と一はアルカリ性に最適 P_H を有する酵素なるべく、要するにペプシン様酵素とトリプシン様酵素との混在を想定せしむるに足るものなり。次にアミノ酸とペプチドとの混合量は其最適 P_H がアミノ酸量の曲線と殆んど一致するを見る。只ペプチド單獨の生成量は P_H 5.8 の附近に頂點を有する單一なる曲線を示すのみ、此點は混合酵素の何れもがペプチドを作る能力を有し且一旦生じたるペプチドも亦更にアミノ酸に分解さるゝを以て各種の原因錯綜せる結果にして從て各種プロテアーゼを分離したる場合にあらざれば此曲線を以て直に何等の結論を下す事を得ず。

第三圖 混合酵素の米蛋白質分解曲線
(Aktivität-kurven bei der Reis-protein-spaltung durch Gemischproteasen)



此米蛋白質の分解は前記ゲラチンの分解曲線と多少趣きを異にしゲラチンの場合は pH 5.3 の附近即酸性の場合に於ける曲線の頂點最も高かりしが、此米蛋白質の分解曲線は之と反對にアルカリ性の場合即 pH 7.5 の附近の曲線頂點最も高く酸性の場合より遙かに優る事を示せり。是の如きは要するに蛋白質の種類如何によりてペプシン様酵素とトリプシン様酵素との作用する程度が多少異なるを示せるものにして工業的應用上眞に注意すべき點なりと認む。

第五節 混合酵素による大豆蛋白質の分解

第一項 各種水素イオン濃度に於ける混合酵素の大豆蛋白質分解

前實驗たるゲラチン及米の蛋白質に代ふるに大豆カゼインを使用して混合酵素による分解状態を観察せんとし本實驗を行ひたり。

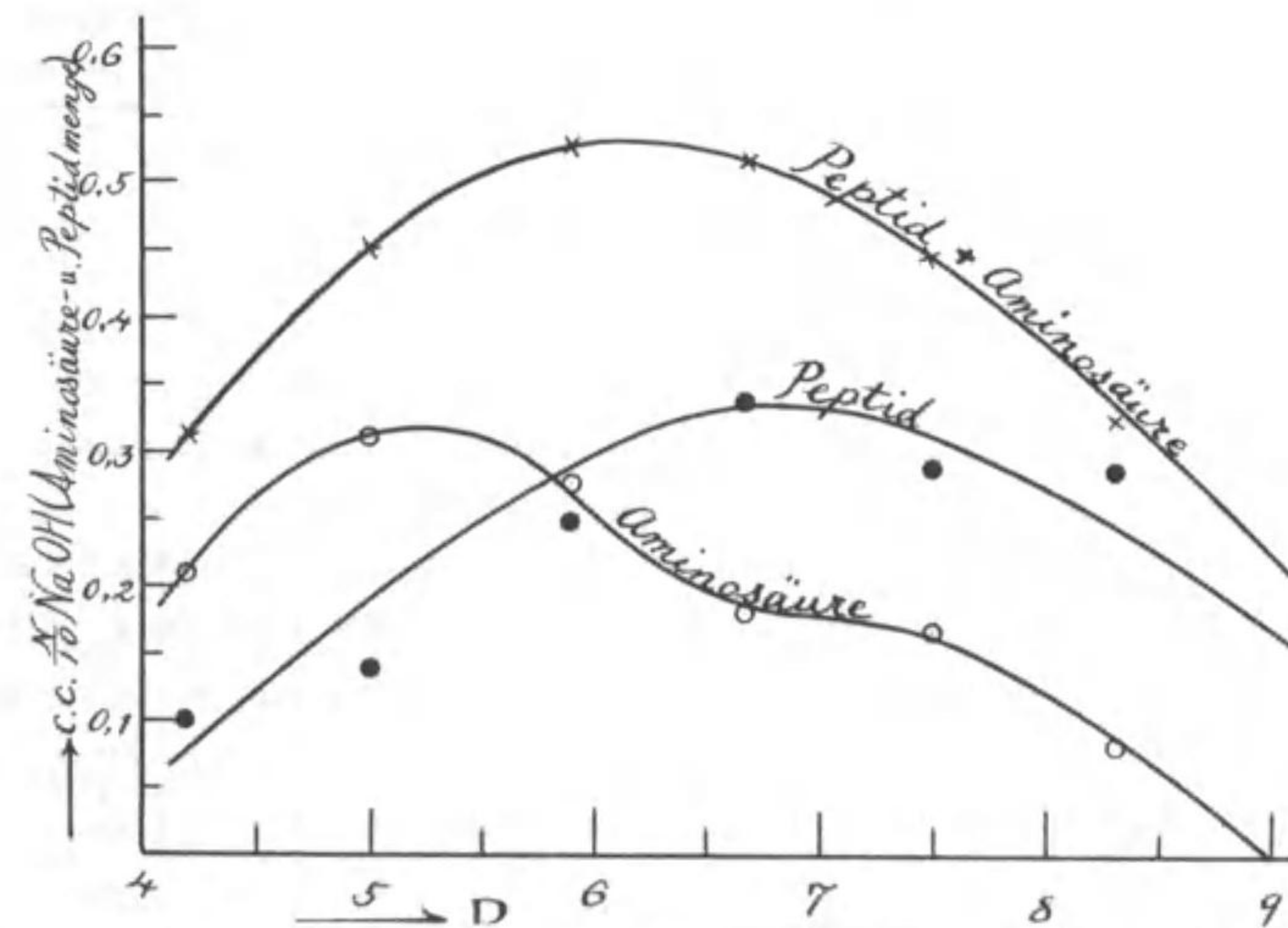
之に使用せる大豆カゼイン溶液の製法は、先市販の粗製大豆カゼイン2瓦を乳鉢にてよく磨碎し、0.2%苛性曹達溶液 30瓦を徐々に添加しつゝよく混磨し更に水 90瓦を加へて全量を 120瓦となし濾過せずして其まゝ鹽酸にて中和せり。

前記の白濁せるカゼイン溶液 15瓦宛に、5% 酵素液 7.5瓦、ゼーレンゼン氏ブッファー溶液 2.5瓦宛を添加夫々小三角瓶に配布 pH を調節し、トルエン 2瓦宛を加へ密栓して $25^{\circ}C$ 定温器中に保ち、分解の前後に於て試料 2瓦宛を採りウォルステッター法によりアミノ酸及ペプチドを定量す。其結果次表の如し。

番號	pH	滴定數 ($\frac{N}{10} NaOH$ cc)								
		開始		23時間後		其差		計算數		
		90%	50%	90%	50%	b	a	b-a	アミノ酸	ペプチド
1	4.2	1.66	1.32	1.97	1.48	0.31	0.16	0.15	0.21	0.10
2	5.0	1.42	1.10	1.87	1.33	0.45	0.23	0.22	0.31	0.14
3	5.9	1.10	0.79	1.63	1.12	0.53	0.33	0.20	0.28	0.25
4	6.7	0.86	0.53	1.38	0.92	0.52	0.39	0.13	0.18	0.34
5	7.5	0.80	0.60	1.26	0.94	0.46	0.34	0.12	0.17	0.29
6	8.3	0.61	0.40	0.98	0.71	0.37	0.31	0.06	0.08	0.29
7	9.0	0.30	0.10	0.52	0.32	0.22	0.22	0.00	0.00	0.22

此結果を曲線に表す時は第四圖の如し。

第四圖 混合酵素の大豆カゼイン分解曲線
(Aktivität-kurven bei der Soyabonen-casein-spaltung durch Gemischproteasen)



此結果を見る時は前記の諸實驗たるゲラチン及米の蛋白質の場合とは少しく趣を異にしアミノ酸の増加量は pH 5.3 内外を最高點とし僅かに pH 7.5 の附近に於て少しの凹凸あれども全體としては先づ鋭敏なる曲線を描けり。殊にアミノ酸とペプチドの含量は明に pH 6.0 の附近に一箇の頂點を有する完全なる曲線を描けり。此結果よりしては前記の如き二種以上のプロテアーゼの存在を明に推定するを得ず。然れども醬油醸造上實際問題上の参考となるべきを思ひ茲に之を記載せり。

第二項 食鹽の存在に於ける大豆蛋白質の分解と水素イオン濃度との關係

前實驗に於て混合酵素による大豆蛋白質の分解を試験したれども醬油醸造の實際問題としては常に多量の食鹽の存在に於て蛋白質の分解はるゝが故に是の如き特別なる場合に於ける分解状態を試験せんとし本實驗を行ひたり。從て其實驗方法も比較的實際に近く次の如き方法によれり。

市販の粗製大豆カゼイン5瓦と食鹽18瓦とを90ccの水に加へて綿栓を有する三角瓶に入れ蒸氣釜中にて2時間加熱し冷却後、之に酵素2瓦及ゼーレンゼン氏ブッファー溶液10cc宛を添加し夫々全量を100ccたらしむ。從て此各試験液中には大豆蛋白質5%, 食鹽18%, 混合酵素の2%配合となる。此試料を30°C. 定温器中に保ち時々濾液2cc宛に付きてフ、ルモール法によりアミノ酸及ペプチドの含量を定量せり。其結果次の如し。

番號	P _H	滴定數 ($\frac{N}{10}$ NaOH cc)				其 差			95時間後の溶液のP _H
		開始 (I)	22時間後 (II)	42時間後 (III)	95時間後 (IV)	(II-I)	(III-I)	(IV-I)	
1	4.4	0.58	0.66	1.10	1.61	0.38	0.72	1.03	4.3
2	5.0	0.63	1.15	1.35	1.85	0.52	0.72	1.22	5.0
3	5.8	0.62	1.13	1.37	1.88	0.51	0.75	1.26	5.4
4	6.5	0.61	1.13	1.40	1.90	0.52	0.79	1.29	6.3
5	7.4	0.53	1.10	1.40	1.90	0.57	0.87	1.37	6.5
6	8.2	0.52	1.03	1.22	1.83	0.51	0.70	1.31	7.5
7	9.0	0.49	0.82	1.01	1.45	0.33	0.52	0.96	8.1

以上の數字を曲線に表はす時は第五圖の如し。

此二曲線を見るに何れも殆んど同様に其アミノ酸及ペプチドの含量の増加率は其最高點の中廣く P_H5.0 乃至 P_H7.5 附近迄の廣範圍にあり。而して前記食鹽を含まざる場合は其最高點は酸性なる P_H6.0 の附近にありしが、食鹽の存在せる本試験に於ては全く反對に微アルカリ性たる P_H7.5 の附近に最高點を有す。此點は少しく了解に苦しむ點なれども惟ふに混合酵素中に存在せる各種プロテアーゼが各々食鹽に対する抵抗力を異にすると假定せば敢て不合理の結果に非ざるべし。要するに該點は各純粋なるプロテアーゼを分離し得たる後に確定試験を行はざる可からず。

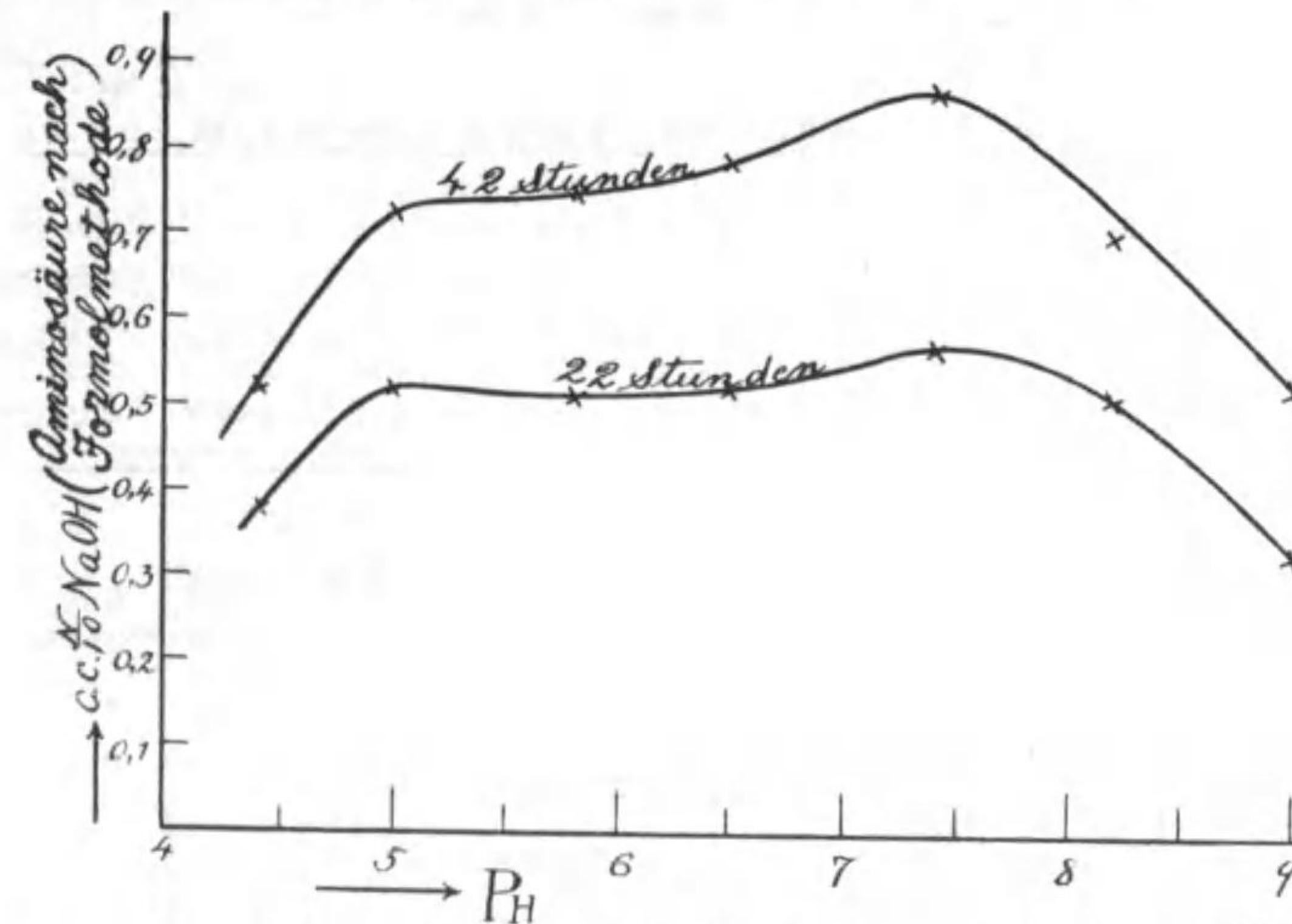
第三項 大豆蛋白質の分解に對する食鹽濃度の影響

實驗 I

本試験に於ては前實驗と反對に試験液の P_H を一定にし食鹽濃度を種々に變じ以て混合酵素の大豆カゼインを分解する程度を比較せんとす。

大豆カゼイン溶液(製法は第五節第一項に示せると同様)15cc, 5% 酵素液 7.5cc, ゼーレン

第五圖 食鹽の存在に於ける混合酵素の大豆カゼイン分解曲線 (Aktivität-kurven bei der Soyabonen-casein-spaltung durch Gemischproteasen unter den Vorhandensein von Kochsalz)



ンゼン氏ブッファー溶液 (P_H5.0) 2.5cc, 食鹽 (0-20)%, トルエン 1cc宛とを加へて 25°C 定温器中に保ち、分解の前後に於て試料 2cc に就きてウォルステッター法によりアミノ酸ペプチドを定量す。其結果次表の如し。

番號	食鹽%	滴定數 ($\frac{N}{10}$ NaOH cc)				其 差			計 算 數	
		開始 90%	開始 50%	23時間後 90%	23時間後 50%	b	a	b-a	アミノ酸	ペプチド
1	0	1.03	0.70	1.70	1.12	0.67	0.42	0.25	0.35	0.32
2	1	1.05	0.75	1.66	1.15	0.61	0.40	0.21	0.29	0.32
3	5	1.05	0.76	1.58	1.10	0.53	0.34	0.19	0.27	0.26
4	10	1.04	0.74	1.43	1.02	0.39	0.28	0.11	0.15	0.24
5	15	1.03	0.73	1.32	0.98	0.29	0.25	0.04	0.06	0.23
6	20	1.03	0.70	1.23	0.93	0.25	0.23	0.02	0.03	0.22

實驗 II

前實驗に於ては食鹽の濃度 20% 迄なりしが今回は更に 35% 迄の高濃度に於ける食鹽の影響をも觀察せんとし本試験を反復せり。

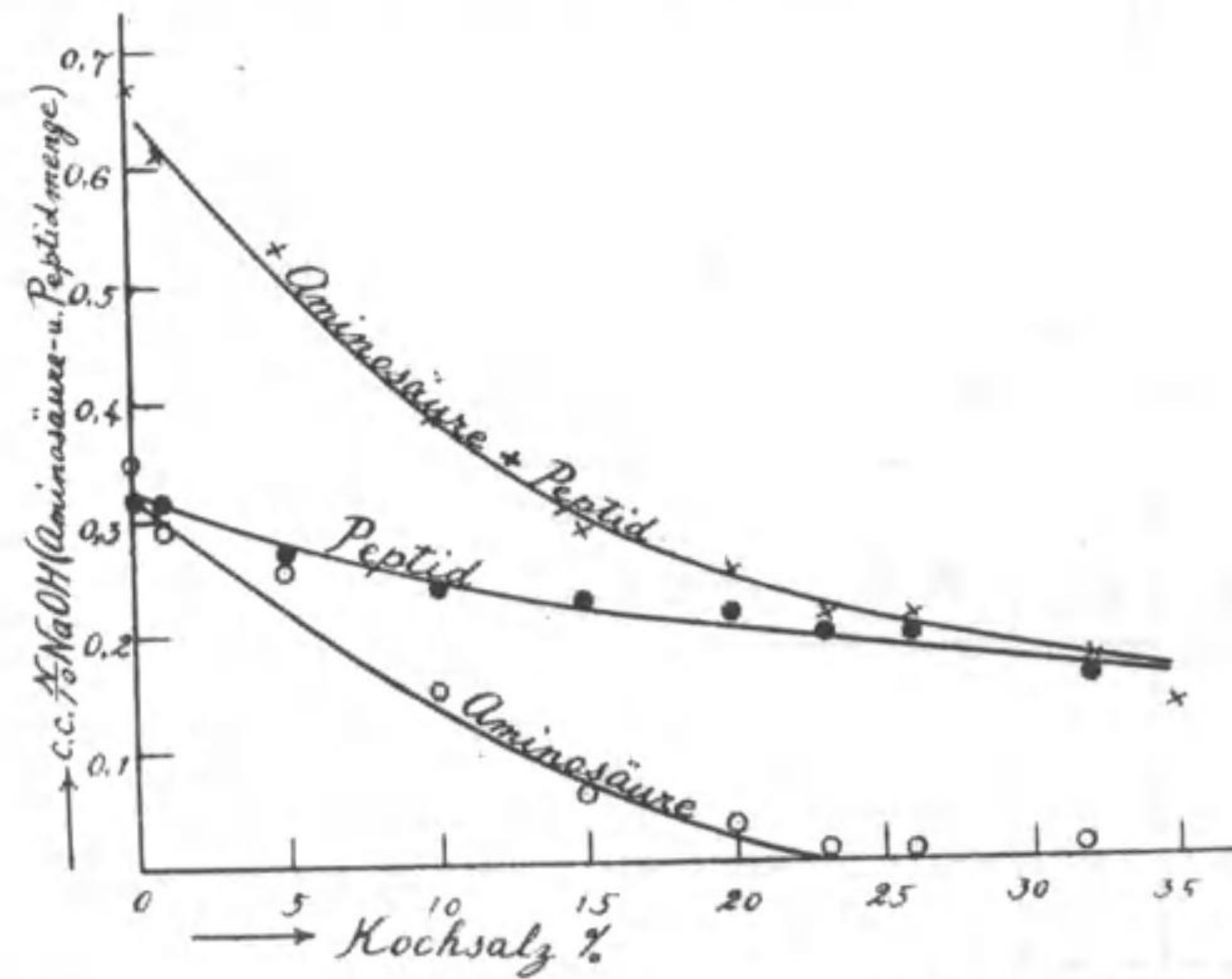
大豆カゼイン溶液(製法は第五節第一項に示せるものと同様)15cc, 5% 酵素液 7.5cc, ゼーレン氏ブッファー溶液 (P_H5.0) 2.5cc, 食鹽 (0-35)%, トルエン 1cc宛とを加へて 25°C

定温器中に保ち、分解の前後に於て試料 2 宛に就きてウールステッター法によりアミノ酸及ペプチドを定量す。其結果次表の如し。

番 号	食 鹽 %	滴 定 数 ($\frac{N}{10}$ -NaOHcc)							計 算 数	
		開 始		23 時間 後		其 差			アミノ酸	ペプチド
		90%	50%	90%	50%	b	a	b-a		
1	0	1.02	0.70	1.74	1.14	0.72	0.44	0.28	0.39	0.33
2	20	1.02	0.70	1.34	0.94	0.32	0.24	0.08	0.11	0.21
3	23	1.00	0.70	1.21	0.90	0.21	0.20	0.01	0.01	0.20
4	26	0.99	0.70	1.20	0.90	0.21	0.20	0.01	0.01	0.20
5	32	0.92	0.69	1.09	0.85	0.17	0.16	0.01	0.01	0.16
6	35	0.92	0.69	1.05	0.82	0.13	0.13	0.00	0.00	0.13

前実験第 I 及第 II の結果を集めて一つの曲線にて表せば第六圖の如し。

第六圖 混合酵素の大豆カゼイン分解に於ける食鹽濃度の影響
(Einfluss von Kochsalz auf Soyabonen-casein-spaltung durch Gemischproteasen)



此曲線の示す如く混合酵素による大豆蛋白質の分解は一般的に食鹽の含量増加に従て殆んど比例的にアミノ酸量の増加率を減ず、而して食鹽含量 20% に到ればアミノ酸の増加率は殆んど $\frac{1}{10}$ に減じ 23% に到れば全くアミノ酸の生産を停止す、然るにペプチドの生産量は食鹽含量の増加に従ひ其影響を受くる事甚だしく僅少なり、即食鹽含量 35% に及ぶも尙相當量のペプチドを生産し僅に $\frac{1}{3}$ の増加量を減ずるのみなり。

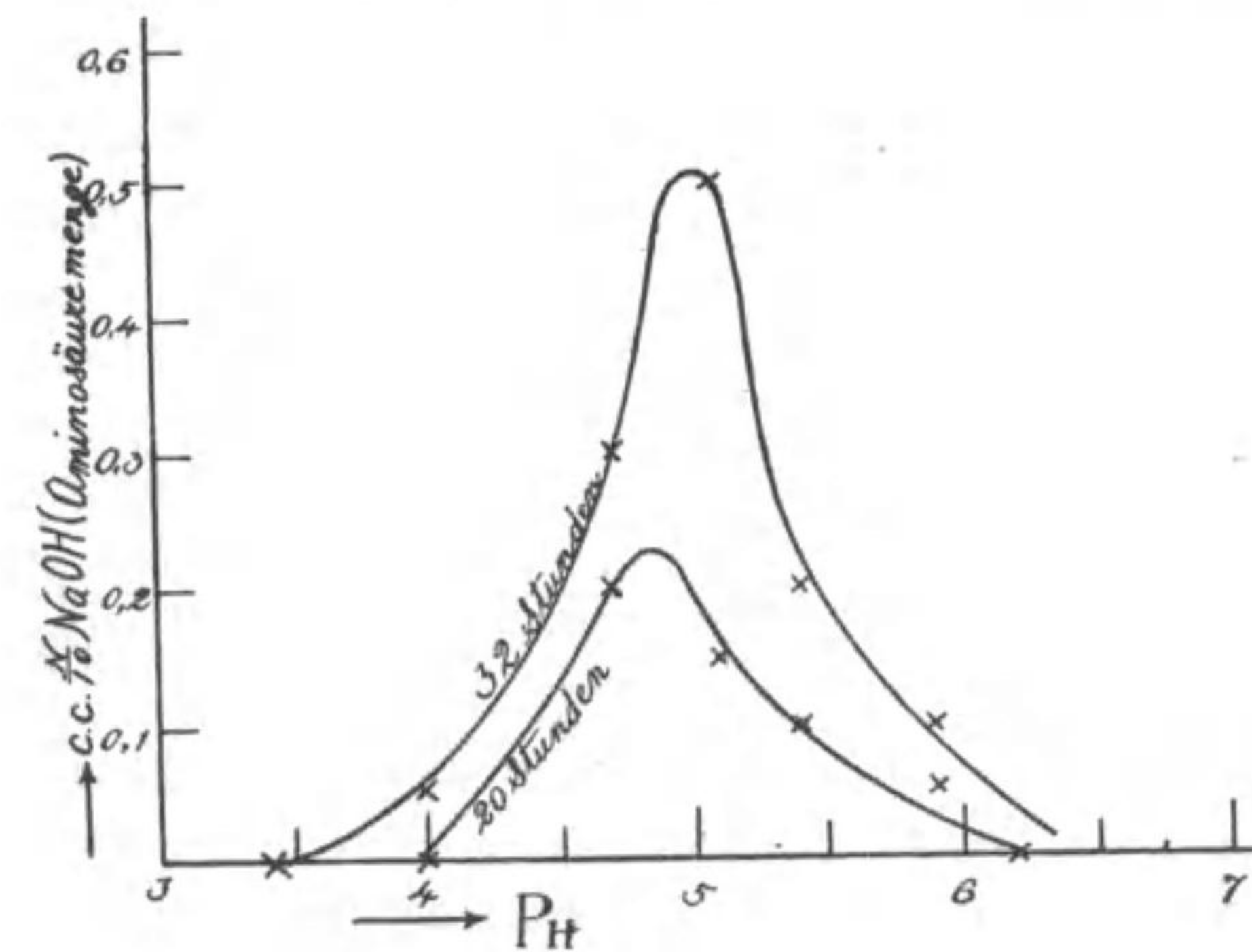
此結果は後章に於て各分離せるプロテアーゼに就いて夫々實驗證明せる如く酸性に於てよく作用するペプシン様酵素は食鹽の影響を受くる事極めて微弱なるに反しアルカリ性に於て最もよく作用するトリプシン様酵素は食鹽により影響さるゝ事甚大なるを示すものなり。

第六節 混合酵素に依るペプチドの分解

混合酵素によるペプチドの分解を試験すべく、0.4% ロイシールグリシン溶液 5 宛、0.2% 酵素溶液 5 宛、ゼーレンゼン氏ブッファー溶液 10 宛、トルエン 1 宛宛とを加へて三角瓶に入れ密栓して 25°C 定温器中に放置し、分解の前後に於て試料 5 宛に就きてウールステッター法により 90% 酒精となしアミノ酸の定量を行ふ。其結果次表の如し。

番 号	PH	アミノ酸量 ($\frac{N}{10}$ -NaOH 滴定数cc)					
		開 始 (I)	20 時間 後 (II)	32 時間 後 (III)	其 差		
					(II-I)	(III-II)	(III-I)
1	3.4	3.15	3.15	3.15	0.00	0.00	0.00
2	4.0	3.40	3.40	3.45	0.00	0.05	0.05
3	4.7	3.35	3.55	3.65	0.20	0.10	0.30
4	5.1	3.25	3.40	3.75	0.15	0.35	0.50
5	5.4	3.05	3.15	3.25	0.10	0.10	0.20
6	5.9	3.00	3.05	3.10	0.05	0.05	0.10
7	6.2	2.90	2.90	2.90	0.00	0.00	0.00

第七圖 混合酵素のロイシールグリシン分解曲線
(Aktivität-kurven bei der Dipeptid-spaltung durch Gemischproteasen)



此の数字を曲線にて現せば第七圖の如し。

此曲線を見るにペプチドの分解は溶液の水素イオン濃度に對して甚だ鋭敏にして P_n 5.0 の附近を最高とする完全なる曲線を示す、此ペプチドの分解は主としてエレブシン様酵素の存在を想像するに足る。然れども尙ペブシン様酵素のみの作用によるやも計り難きを以て各酵素の分離を行はずば未だ確定し難し。

第三章 混合酵素の分離研究

前章の實驗に於て混合酵素の蛋白質分解に關する水素イオン濃度の影響を見るにアルカリ性の部分に於て曲線の頂點を有するものと酸性の部分に於て曲線の頂點を有するものと二様のプロテアーゼを含有する事を想像したり、尙其の外ペプチドを分解するエレブシン様酵素の存在も充分なる可能性を有する事を認めたり、然れども之等三種の酵素を各々別々に分離する事を得ずば其證明は正確なるものに非ず、此故に著者等は本章に於て此等三種の酵素の分離及證明を行はんとするものなり。

第一節 カオリンを以てする蛋白質分解酵素の分離試験

既往に於て各種コロイド物質の分離にカオリンを吸着剤として使用する事は屢々施行されたる事なり、著者も先づカオリンを使用してプロテアーゼの一部を吸着せしめんとし本試験を行ひたり。

混合酵素 100 瓦を 1 立の水に溶解し不溶解の部分を濾別して其透明濾液にカオリン 100 瓦を添加しよく攪拌したる後吸引濾別し、其濾液に更にカオリン 100 瓦を添加しよく攪拌したる後吸引濾別す、是の如くする事前後三回の後最後の透明濾液に倍量の濃酒精を添加しよく攪拌したる後一夜静置す、次に上澄液を傾瀉し白色沈澱は吸引濾別したる後無水酒精及少量のエーテルにて洗滌し真空乾燥器中にて常温に於て乾燥し粉末となす、收量約 30 瓦なり。

此酵素標本 5 瓦を 80 瓦の水に溶解し酵素溶液を作る、次に 5 瓦のゲラチンを 60 瓦の水に溶解し蛋白質溶液を作る。

先づ豫備試験として P_n 5.5 の蒸留水 40 瓦に前記蛋白質溶液 5 瓦と酵素溶液 5 瓦を添加しトルエン 1 瓦を加へて 25°C 定温器中に保つ。尙此精製酵素溶液に代ふるに原酵素たる混合酵素を全く同条件のもとに試験液を作り此兩者を比較せり。試料は 5 瓦宛を採りウールステッター法によりアミノ酸及ペプチドを定量せり。其結果次表の如し。

此結果を見る時はペプチドの含量を示す 50% 酒精液の滴定数は相當に減じ居れどもペプチド及アミノ酸の含量を示す 90% 酒精液の滴定数は純化による減少歩合甚だ微少なり、此故にカオリンはペプチドを生産する酵素を少くし吸着したれどもアミノ酸を

	滴定數 ($\frac{N}{10}$ NaOHc.c.)								計算數	
	開始		20時間後		其 差			アミノ酸 ペプチド		
	90%	50%	90%	50%	b	a	b-a			
混合酵素(比較)	4.25	3.55	4.50	3.75	0.25	0.20	0.05	0.07	0.18	
純化酵素	4.20	3.40	4.40	3.48	0.20	0.08	0.12	0.17	0.03	

生産する酵素は其吸着力極めて微弱なる事を證するに足る。換言せばペブシン様酵素を少くし吸着すれどもトリブシン様酵素は殆んど吸着し能はざりし事を證せり。要するにカオリンはプロテアーゼ類に對し選擇的吸着力を有すれども其程度は比較的弱きものなるを認む。尙此純化せる酵素に就きて各種水素イオン濃度の影響を試験せんとしウールステッター氏ブッファー溶液 40 瓦、前記蛋白質溶液 5 瓦、酵素液 5 瓦、トルエン 1 瓦宛とを夫々三角瓶に入れ密栓して 25°C 定温器中に保ち試料 5 瓦を採りウールステッター法に依りアミノ酸及ペプチドを定量せり。其結果次表の如し。

番號	P_n	滴定數 ($\frac{N}{10}$ NaOHc.c.)								計算數	
		開始		68時間後		其 差			アミノ酸 ペプチド		
		90%	50%	90%	50%	b	a	b-a			
1	4.0	4.90	4.70	5.33	4.93	0.43	0.23	0.20	0.28	0.15	
2	4.7	4.75	4.60	5.25	4.85	0.50	0.25	0.25	0.35	0.15	
3	5.4	4.65	4.20	4.95	4.40	0.30	0.20	0.10	0.14	0.16	
4	6.0	4.55	4.10	4.70	4.20	0.15	0.10	0.05	0.07	0.08	
5	6.4	4.45	3.80	4.65	3.90	0.20	0.10	0.10	0.14	0.06	
6	6.9	4.35	3.65	4.55	3.70	0.20	0.05	0.15	0.21	0.00	
7	8.3	4.10	3.40	4.24	3.44	0.14	0.04	0.10	0.14	0.00	

此表より見るときはカオリンにて吸着せし酵素の濾液はペプチドの生産量甚だ僅少なれどもアミノ酸の生産量は可成多し、従つてペプチドを生産する酵素即ちペブシン様酵素はカオリンによりて可成に吸着せるを認む。反之してペプチドを分解してアミノ酸を造る酵素即ちエレブシン様酵素(最適 P_n 5.0 内外)は殆どカオリンにより吸着されず従つて前記の濾液中にエレブシン様酵素の多量を残せることは試験番號 2 の数字によりて明瞭なり。尙最適水素イオン濃度 P_n 7.0 の附近なるトリブシン様酵素はカオリンによりて一部分吸着さるるに止まるが如し。該點は試験番號 6 の数字により尙少量のアミノ酸の生ずるによりて想像し得べし。

要するにカオリンは混合酵素液に對しペブシン様酵素に對してのみ強き選擇的吸着力を有すれどもエレブシン様酵素に對しては殆ど吸着力なくトリブシン様酵素に對しては部分的に吸着するが如き結果を示せり。

第二節 蒲原粘土を以てする蛋白質分解酵素の分離試験

前実験に於て混合酵素に對しカオリンがペブシン様酵素の選擇吸着力を有する事を認められたれども尙全體的にカオリンの吸着力は比較的弱性なるを認めたるを以て、更に進んで強力なる吸着剤を見出さんとし酸性粘土たる蒲原粘土を使用しプロテアーゼの吸着に關する研究を行ひたり。

第一項 豫備試験

混合酵素1瓦を $P_H 5.5$ の蒸留水15匁に溶解し此濾液に蒲原粘土1瓦を加へ30分間振盪器上にて振盪し其濾液に就きて下の試験を行へり。

ゼーレンゼン氏ブッファー溶液 ($P_H 5.0, 8.0$) 30匁に1%アルブミン溶液2匁、前記酵素吸着濾液5匁、トルエン1匁宛を加へたる後密栓して $25^\circ C$ 定温器中に保持し、試料2匁宛を採りウールステッター法によりアミノ酸及ペプチドを定量す。

番 號	P_H	滴定數 ($\frac{N}{10} NaOHcc$)								計 算 數	
		開 始		20時間後		其 差		アミノ酸	ペプチド		
		90%	50%	90%	50%	b	a			b-a	
1	5.0	4.20	3.50	4.70	3.55	0.50	0.35	0.15	0.21	0.29	
2	8.0	3.75	2.40	3.80	2.40	0.05	0.00	0.05	0.05	0.00	

本試験の結果より見る時は酸性溶液即 $P_H 5.0$ の場合に於けるアミノ酸の増加量は0.21を示すを以て相當のアミノ酸を生ぜり。従てエレブシン様酵素は此濾液中に存在する事を推定し得べし。是に反してアルカリ性溶液即 $P_H 8.0$ に於けるアミノ酸の増加量は0.05を示し甚だ微弱なるが故にトリブシン様酵素は殆んど吸着され居るものと認むるを得べし。次にペプチドの増加量は其ペブシン様酵素のよく作用する酸性溶液に於て0.29の數字を示すを以てペブシン様酵素も亦此濾液中に多量に存在するが如し。即此結果によれば蒲原粘土はトリブシン様酵素を選擇的に吸着しエレブシン様酵素並にペブシン様酵素は殆んど吸着せず。然れども尙本豫備試験を一層正確ならしむる爲に吸着剤の量を増加し又吸着時間を倍加して次項の如く確定試験を行ひたり。

第二項 蒲原粘土吸着濾液の試験

(I) ウールステッター法によるタカペブシナーゼ及タカエレブターゼの混在證明

混合酵素4瓦に水20匁を加へ不溶解部を濾別したる後其透明濾液に蒲原粘土6瓦を加へ P_H を測定せしに3.5なり。振盪器上にて約1時間振盪し其濾液に就きて下の如き試験を行ひたり。

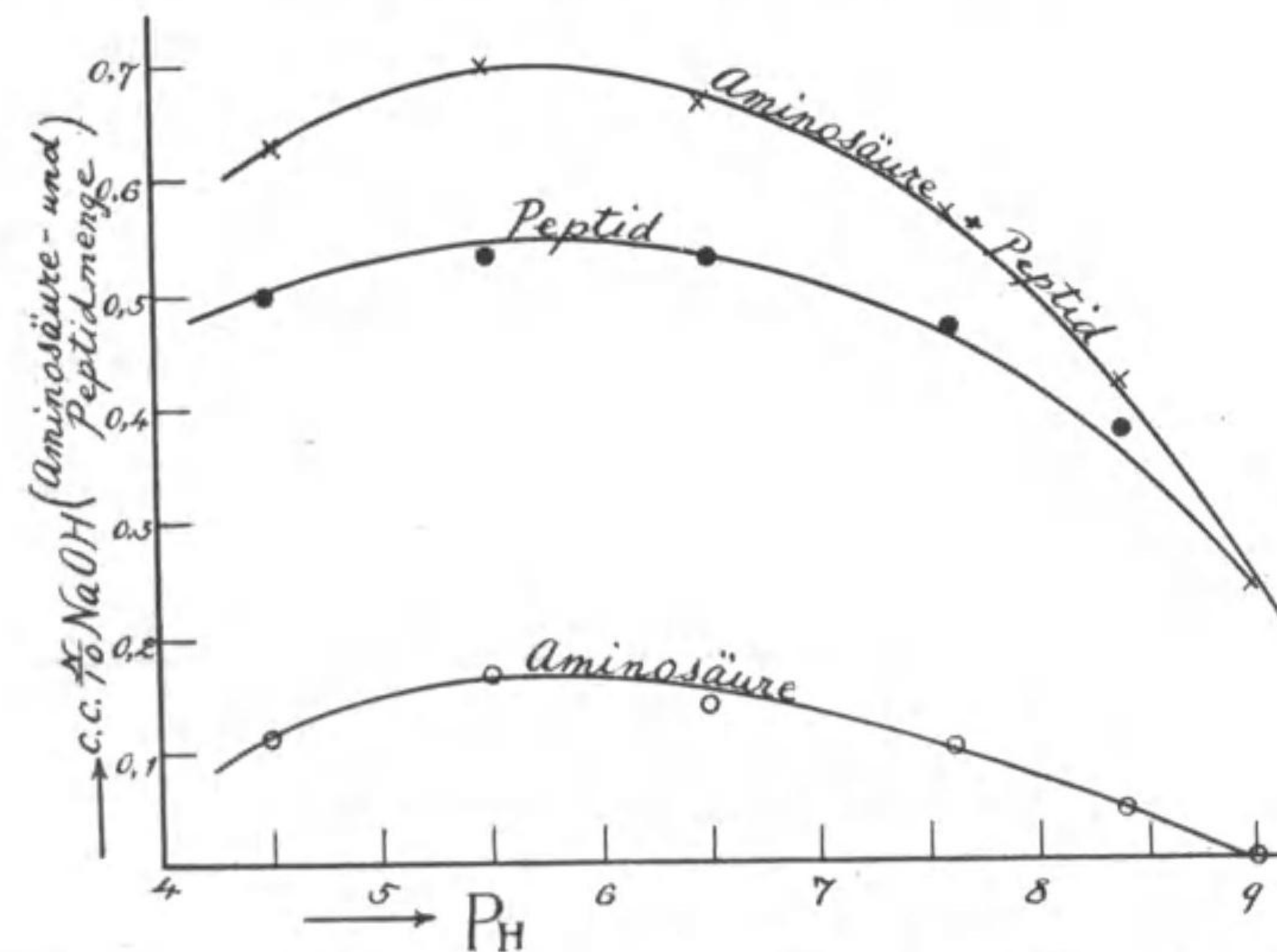
此濾液たる酵素溶液2匁宛に對し4%ゲラチン溶液10匁、ゼーレンゼン氏ブッファー溶液8匁の割合に混合し之にトルエン1匁宛を添加し密栓して $25^\circ C$ 定温器中に保ち試料2匁

宛に就きてウールステッター法によりアミノ酸及ペプチドを定量せり。其結果下の如し。

番 號	P_H	滴定數 ($\frac{N}{10} NaOHcc$)								計 算 數	
		開 始		43時間後		其 差		アミノ酸	ペプチド		
		90%	50%	90%	50%	b	a			b-a	
1	4.5	1.04	0.79	1.65	1.32	0.61	0.53	0.08	0.11	0.50	
2	5.5	0.76	0.51	1.46	1.09	0.70	0.58	0.12	0.17	0.53	
3	6.5	0.61	0.39	1.28	0.96	0.67	0.57	0.10	0.14	0.53	
4	7.6	0.64	0.50	1.21	1.00	0.57	0.50	0.07	0.10	0.47	
5	8.4	0.50	0.36	0.92	0.75	0.42	0.39	0.03	0.40	0.38	
6	9.0	0.00	0.00	0.24	0.24	0.24	0.24	0.00	0.00	0.24	

此數字を曲線にて表す時は第八圖の如し。

第八圖 蒲原粘土吸着濾液に依るゲラチン分解曲線
(Aktivität-kurven bei der Gelatin-spaltung durch dem Filtrat der Kambara
Tonerde-absorbierung von Gemischproteasen)



此結果より見る時はアミノ酸の増加量はペプチドの量に比し甚だ少なく且 $P_H 8.0$ の附近の溶液に於ては殆んど痕跡に近きものなるを以てトリブシン様酵素は此酵素濾液中に殆んど残存せずと認むるを得べく尙又此アミノ酸量は全體を通じて酸性溶液たる $P_H 5.5$ の附近に於て最高を示せるを以てエレブシン様酵素は此濾液中に残存せるものと認むるを得べく、之に反してペプチド量は全體を通じて其増加量甚だ多く然も其最適水素イオン濃度

は $P_{H5.5}$ の附近を示せるを以てペプシン様酵素は殆んど残存せりと認むるを得べし。即ち蒲原粘土吸着濾液中にはタカペプシナーゼ及タカエレプターゼの存在を證す。

之を要するにカオリンはペプシン様酵素を選択吸着したるに反し蒲原粘土はトリプシン様酵素を撰擇吸着しペプシン様酵素及エレプシン様酵素は其濾液中に残存する事を認め得べし。而してカオリンは三回の反復吸着を行はしめたるに對し蒲原粘土は一回の吸着にて殆んど其目的を達するを以て蒲原粘土の吸着力はカオリンよりも遙かに強力なりと認むるを得べし。

(II) ロイシールグリシンの分解によりタカエレプターゼの存在證明

前實驗に於て混合酵素の蒲原粘土吸着濾液中にはタカペプシナーゼ及タカエレプターゼの存在を想定し得たるも尙タカエレプターゼの存在を確證する爲に此同一濾液に就いてペプチドの分解試験をなす。

混合酵素 50 瓦を水 50 兎に溶解し不溶生物質を濾別し其透明液に蒲原粘土 200 瓦を添加し振盪器上にて 1 時間振盪したる後静置し上液より順次に之を通過し其濾液に更に蒲原粘土 200 瓦を添加し更に 1 時間振盪したる後濾別し其透明濾液に五倍量の濃酒精を添加し酵素を沈澱せしむ。一夜の後沈澱を濾紙上に集め無水酒精及エーテルにて洗滌したる後真空デシケーター中にて乾燥す收量約 5 瓦なり。

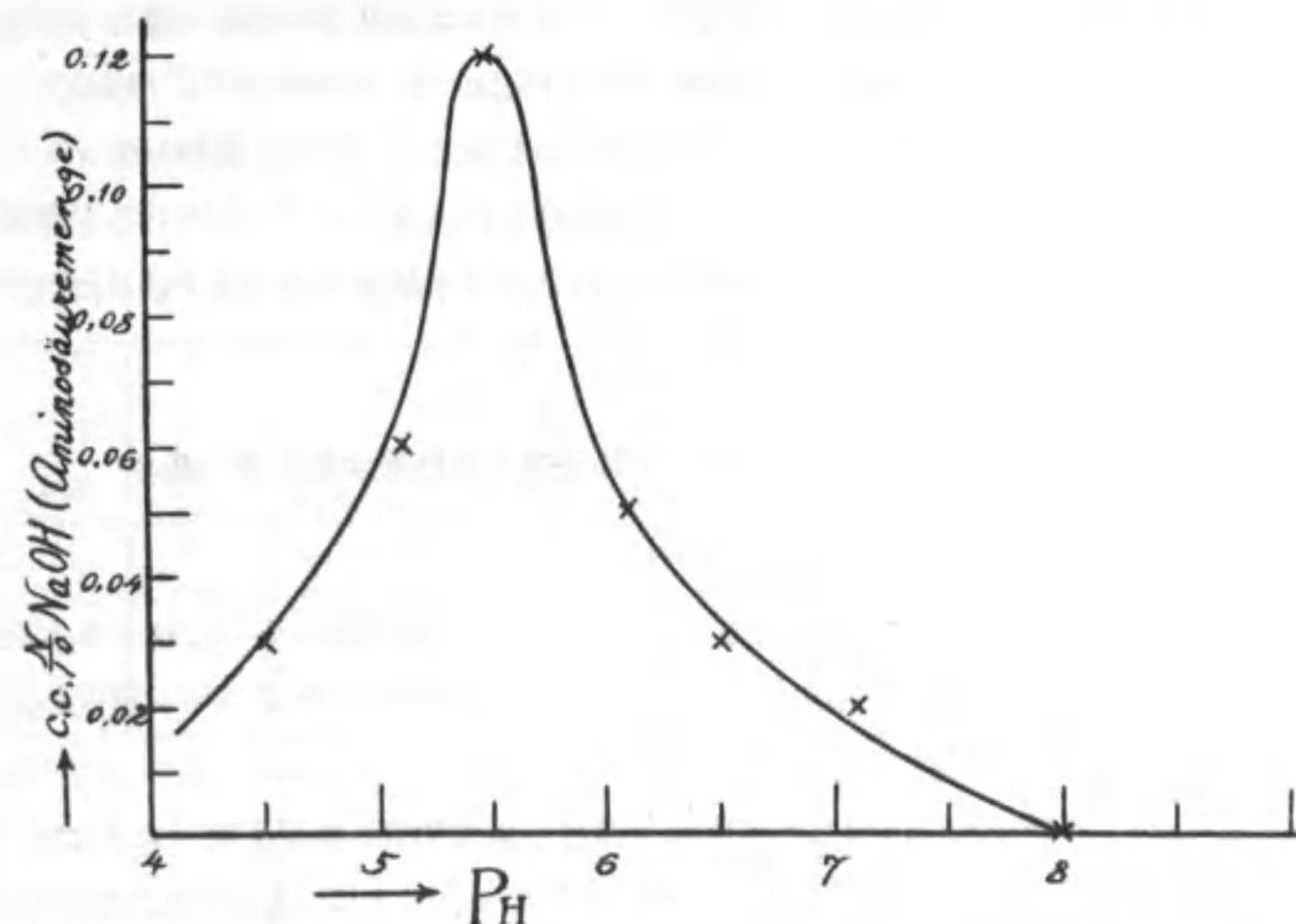
上記の酵素 5 瓦を水 20 兎に溶解し之を酵素液とす次にロイシールグリシン 0.1 瓦を水 10 兎に溶解す而してゼーレンゼン氏ブッファー溶液 30 兎宛にロイシールグリシン液 1 兎、酵素液 2 兎の割合に混合しトルエン 1 兎宛を加へ密栓して 25°C 定温器中に保ち試料 2 兎宛に就きてウールステッター法により酒精濃度 90% の場合のみを滴定せり。

番號	P_H	滴定數 ($\frac{N}{10}$ NaOHcc)		
		開始	24時間後	其差
1	4.5	5.50	5.53	0.03
2	5.1	5.19	5.25	0.06
3	5.5	4.70	4.82	0.12
4	6.1	4.90	4.95	0.05
5	6.5	3.82	3.85	0.03
6	7.1	3.68	3.70	0.02
7	8.0	3.64	3.64	0.00

此數字を曲線に現はせば第九圖の如し。

此結果に依れば蒲原粘土吸着濾液より製せる純化酵素中にはタカペプシナーゼと共にタカエレプターゼの存在明瞭にして其最適水素イオン濃度は $P_{H5.5}$ の附近にあり。即第二章第六節に於て行ひたる混合酵素の場合にはペプチドを分解する最適水素イオン濃度は P_H

第九圖 蒲原粘土吸着濾液に依るロイシールグリシン分解曲線
(Aktivität-kurven bei der Leucyl-glycin-spaltung durch dem Filtrat der Kambara Tonerde-absorbierung von Gemischproteasen)



5.1 なりしを以て純化したる此酵素とは其差異僅少にして大體一致せる結果を示す。

第三項 蒲原粘土吸着物中にタカトリプターゼの存在證明

前項に於て蒲原粘土は混合酵素中のタカトリプターゼを選択吸着する事を想定したるを以て之を積極的に證明せんとし本試験を行へり。混合酵素 4 瓦を 25 兎の水に溶解し不溶解部を濾別し其透明液に蒲原粘土 4 瓦を加へ 30 分間器械上にて振盪したる後之を濾別し沈澱はモツツエ上に集め數回水洗したる後吸引して可成的水分を除き此酵素を吸着せる蒲原粘土をそのまま蛋白液に添加し下の如く實驗を行へり。

ウールステッターブッファー溶液 30 兎, 1% 卵アルブミン溶液 1 兎と前記酵素吸着蒲

番號	P_H	滴定數 ($\frac{N}{10}$ NaOHcc)								
		開始		24時間後		其差			計算數	
		90%	50%	90%	50%	b	a	b-a	アミノ酸	ペプチド
1	6	5.20	3.02	5.20	3.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2	7	4.60	2.55	4.80	2.70	0.20	0.15	0.05	0.07	0.13
3	8	4.30	2.40	4.65	2.60	0.35	0.20	0.15	0.21	0.14
4	9	4.24	2.20	4.42	2.28	0.18	0.08	0.10	0.14	0.04

原粘土1瓦宛を添加しトルエン1 兎宛を加へ密栓して25°C 定温器中に保ち上澄液2 兎宛を採りウ・ルステッター法によりアミノ酸及ペプチドを定量せり。其結果前表の如し。

上の数字の示す如くアミノ酸量及アミノ酸とペプチドとの含量は何れも $P_{H8.0}$ の附近に於て最大量を示すを以て此蒲原粘土吸着物中にトリブシン様酵素の存在明瞭なり。而して此結果を第二章に於ける混合酵素の諸実験と對比するに $P_{H8.0}$ に於てアミノ酸量、ペプチド量、アミノ酸とペプチド含量は何れも零なるを以て、ペブシン様酵素及エレブシン様酵素の混在は認め難し。即本試験によりて蒲原粘土はタカトリブターゼのみを吸着し居り其最適水素イオン濃度は吸着剤不分離のまま行ひたる本試験の場合は $P_{H8.0}$ 附近にある事明瞭なりとす。

第四項 吸着物よりタカトリブターゼの分離及其最適水素イオン濃度

実験 1

前項の試験に於ては蒲原粘土に吸着せるプロテアーゼを其儘試験に供したれども本試験に於ては更に進んで其吸着せる酵素を粘土より分離するに最適なる水素イオン濃度を決定し尙其溶液に就きて確定試験を行ひたり。

混合酵素5瓦を20 兎の水に溶解し不溶解部を濾別し其透明液に蒲原粘土5瓦を加へ30分間器械上にて振盪したる後之を濾別し其沈澱粘土をヌツツエ上にて数回水にて洗滌したる後之を乳鉢に採り蒸留水20 兎を加へよく混磨し苛性曹達を以て中和し其泥状液5 兎宛をゼーレンゼン氏ブッファー溶液 ($P_{H7.6}$, 8.3, 9.0) の10 兎宛に夫々添加し各々器械上にて30分間振盪したる後濾別し各々の濾液に就きて其蛋白分解力を試験せり。

上記酵素溶液10 兎宛に $P_{H8.3}$ のゼーレンゼン氏ブッファー溶液5 兎宛を添加し之に5% グラチン溶液10 兎、トルエン1 兎宛を混じ密栓して30°C 定温器中に保ち試料2 兎宛に就きてウ・ルステッター法によりアミノ酸及ペプチドを定量せり。其結果次表の如し。

番 號	脱離液 P_{H}	滴定數 $\left(\frac{N}{10} \text{NaOHcc}\right)$								
		開 始		24時間後		其 差			計 算 數	
		90%	50%	90%	50%	b	a	b-a	アミノ酸	ペプチド
1	7.6	0.20	0.18	0.50	0.33	0.30	0.15	0.15	0.21	0.09
2	8.3	0.30	0.21	0.60	0.36	0.30	0.15	0.15	0.21	0.09
3	9.0	0.23	0.20	0.60	0.40	0.37	0.20	0.17	0.24	0.13

此結果より見る時は蒲原粘土に吸着したるタカトリブターゼを再び脱離せしむるには其溶液のアルカリ性強きを可とし、此場合は $P_{H9.0}$ のブッファー溶液を以て脱離せしめたるもの最も強力なり。

実験 II

前實驗に於て蒲原粘土に吸着せるタカトリブターゼを脱離せしむるに好適なるブッファー溶液の P_{H} を確定したるを以て本試験に於ては斯の如くして製せる純粹のタカトリブターゼ溶液に就きて其最適水素イオン濃度を確定せんとし下の試験を行へり。

前實驗と同様に製せる酵素吸着蒲原粘土(原酵素5瓦、蒲原粘土5瓦使用)を20 兎蒸留水と共に混磨し苛性曹達にて中和したる後泥状液5 兎を $P_{H9.0}$ ゼーレンゼン氏ブッファー溶液10 兎に加へ30分間器械上にて振盪し之を濾過し其濾液に就きて下の試験を行ふ。

酵素液2 兎、4% グラチン溶液10 兎、ゼーレンゼン氏ブッファー溶液8 兎、トルエン1 兎宛を混合しウ・ルステッター法によりアミノ酸及ペプチドを定量す。其結果次表の如し。

番 號	P_{H}	滴定數 $\left(\frac{N}{10} \text{NaOHcc}\right)$								
		開 始		23時間後		其 差			計 算 數	
		90%	50%	90%	50%	b	a	b-a	アミノ酸	ペプチド
1	6.7	0.41	0.25	0.64	0.39	0.23	0.14	0.09	0.13	0.10
2	7.7	0.58	0.50	0.93	0.70	0.35	0.20	0.15	0.21	0.14
3	8.3	0.55	0.46	0.83	0.60	0.28	0.14	0.14	0.20	0.08
4	9.1	0.00	0.00	0.20	0.08	0.20	0.08	0.12	0.17	0.03

此結果より見るに純化せるタカトリブターゼの最適水素イオン濃度は $P_{H7.7}$ の附近にあり。前項に於て試験せる $P_{H8.0}$ と殆んど近似す。今混合酵素の場合と純化せるものとの最適 P_{H} の比較を示せば下の如し。

混合酵素	蒲原粘土吸着固体	脱離せる純酵素液
最適水素イオン濃度 $P_{H} 7.5$ (グラチン)	$P_{H} 8.0$ (卵アルブミン)	$P_{H} 7.7$ (グラチン)
" 7.5(米蛋白質)		
" 7.5(大豆蛋白質)		

第三節 アルミニウムコロイドを以てする

タカベブシナーゼとタカエレブターゼの分離

混合酵素を蒲原粘土にて吸着せしめたる濾液中にはタカベブシナーゼとタカエレブターゼとの二種のプロテアーゼを混在する事既に第三章第二節第二項に於て之を試験せり。故に本試験に於ては此二種のプロテアーゼを更に分離する方法を研究せんとし其吸着剤としてアルミニウムコロイドを使用するを最良なりと確定せり。

本試験に使用せるアルミニウムコロイドは Aluminumhydroxyd—Suspension Sorte C にしてウ・ルステッター等の方法により製造せり (R. Willstätter, H. Krant: Berichte, deutsch. ch. Ges. 56, 1117, 1923.) 其方法は500瓦の硫酸アルミニウム $Al_2(SO_4)_3 \cdot 18H_2O$ を1立の熱水に溶解し之れに6.5立の硫酸アンモニウムアンモニア水(300瓦硫酸アンモニ

ア+430g 20% アンモニア水)の 60°C に加温せるものを添加す、沈澱の間及更に15分間活澱に攪拌し此間 60°C を下らざる如くす。沈澱は始め膨大なれども次第に雲状となる 40立に稀釋して傾瀉す、其際沈澱は速かに沈下し残れる鹽基性硫酸アルミニウムを完全に分解する爲に第四回目の傾瀉に際し 20% アンモニア水 80 g を添加す、其後 12—20 回洗滌傾瀉を行へば洗滌水が最早不透明とならぬ様になる此點から尙二回傾瀉を行ふ。少くとも 2.3 日を要して終る、それを室温に永く放置せば不安定なる C α は中間體たる C β を經て安定のゲル C γ に變ず。ウールステッター等は動物性の蛋白質分解酵素よりエレプターゼを含まざるトリプターゼを作るに此アルミニウム C γ を用ひたるを以て著者等は之を應用したカペプシナーゼとタカエレプターゼとを分離せんと試みたり。

第一項 アルミニウムコロイド吸着濾液の試験(タカペプシナーゼの存在證明)

混合酵素 5 瓦を 20 g の水に溶解し不溶物を濾別したる後透明液に蒲原粘土 5 瓦を添加し器械上にて 30 分間振盪したるものを濾過し其透明濾液にアルミニウムコロイド C γ 30 g を添加し器械上にて 30 分間振盪し其濾液に就きて下の試験を行ひたり。

P_H 5.0 のウールステッターブッファー溶液 20 g ロイシールグリシン 0.01 瓦と酵素溶液 5 g を加へトルエン 1 g を添加し密栓して 25°C 定温器中に保ち試料 2 g に就きてウールステッター法により 90% 酒精溶液の場合のみの滴定数を計りしに試験開始の時の滴定数 2.36 g にして 24 時間後の滴定数も亦等しく 2.36 g を示せるを以てロイシールグリシンの分解作用は全く行はれざるを認めたり従てタカエレプターゼの存在は殆んど皆無なりとす。

次に P_H 5.1 のブッファー溶液 30 g にアルブミン 0.01 瓦と酵素溶液 5 g とトルエン 1 g とを混合し密栓して 25°C に保ち試料 2 g に就きてウールステッター法によりアミノ酸及ペプチドを定量せり。其結果下の如し。

	開始		24時間後		其 差	
	90%	50%	90%	50%	b	a
滴定数 $\left(\frac{N}{10} \text{NaOHcc}\right)$	2.76	1.98	2.85	2.07	0.09	0.09

此結果より見る時はアミノ酸の増加は殆んど無くペプチドの増加は明に認めらるゝを以て本酵素液中には最早エレプターゼを含有せずペプシナーゼのみを含有する事を認め得べし。尙此タカペプシナーゼは蛋白質をペプチド迄分解すれども進んで之をアミノ酸に分解する機能なき事普通のペプシンと同様なる事を認め得べし。

第二項 タカペプシナーゼの最適水素イオン濃度

前項に於て蒲原粘土吸着濾液に存在するタカペプシナーゼとタカエレプターゼとの混合物より更にアルミニウムコロイドの吸着によりエレプターゼを除去せば最後の濾液にタカ

ペプシナーゼのみ存在する事を證明せり。茲に於て本試験に於ては此濾液に五倍量の強酒精を加へ酵素を沈澱し之を濾別し酒精及エーテルにて洗滌し真空乾燥器中にて常温に於て乾燥し白色純粹のタカペプシナーゼ標本を造りたり(其收量等は次節に記載せり)而して此の標本酵素に就て最適水素イオン濃度を測定せり。

3% ゲラチン溶液 5 g, 1.5% 酵素液 5 g, ゼーレンゼン氏ブッファー溶液 5 g, トルエン 1 g を混合し密栓して 35°C 定温器中に保ち試料 5 g, 宛を採りスツツツ、氏水酸化銅により殘存せる蛋白質を定量し其差によりて分解せる蛋白質量を産出せり其結果下の如し。

番 號	P _H	蛋白質量 (%)		
		開始	21 時間後	其 差
1	4.0	0.805	0.367	0.438
2	5.0	〃	0.138	0.667
3	6.2	〃	0.209	0.596
4	6.6	〃	0.286	0.519
5	7.6	〃	0.802	0.003

尙最適 P_H を正確に決定する爲 P_H 5.0 の前後に就て細別に之を試験せり其結果下の如し。

番 號	P _H	蛋白質量 (%)		
		開始	23 時間後	其 差
1	4.5	0.627	0.304	0.323
2	5.0	〃	0.274	0.353
3	5.3	〃	0.274	0.353
4	5.5	〃	0.230	0.397
5	6.0	〃	0.334	0.293

即ち最適 P_H は 5.5 の附近なること明なり。本試験結果を綜合して之を曲線に表はすときは第十圖の如し。

尙前諸實驗に於ける混合酵素の場合には其ペプチド最大生成量は P_H 5.0 (ゲラチンの場合) P_H 5.8 (米蛋白質の場合) P_H 6.5 (大豆カゼインの場合)等に在りたり、蒲原粘土にて純化したる濾液即タカペプシナーゼとタカエレプターゼとの混合酵素液の場合には其最適水素イオン濃度は P_H 5.5 の附近に在りたり、然れども此等の數字は混在せる他の酵素の作用をも含む綜合的結果にして従て多少の差異を示す事當然なりとす。

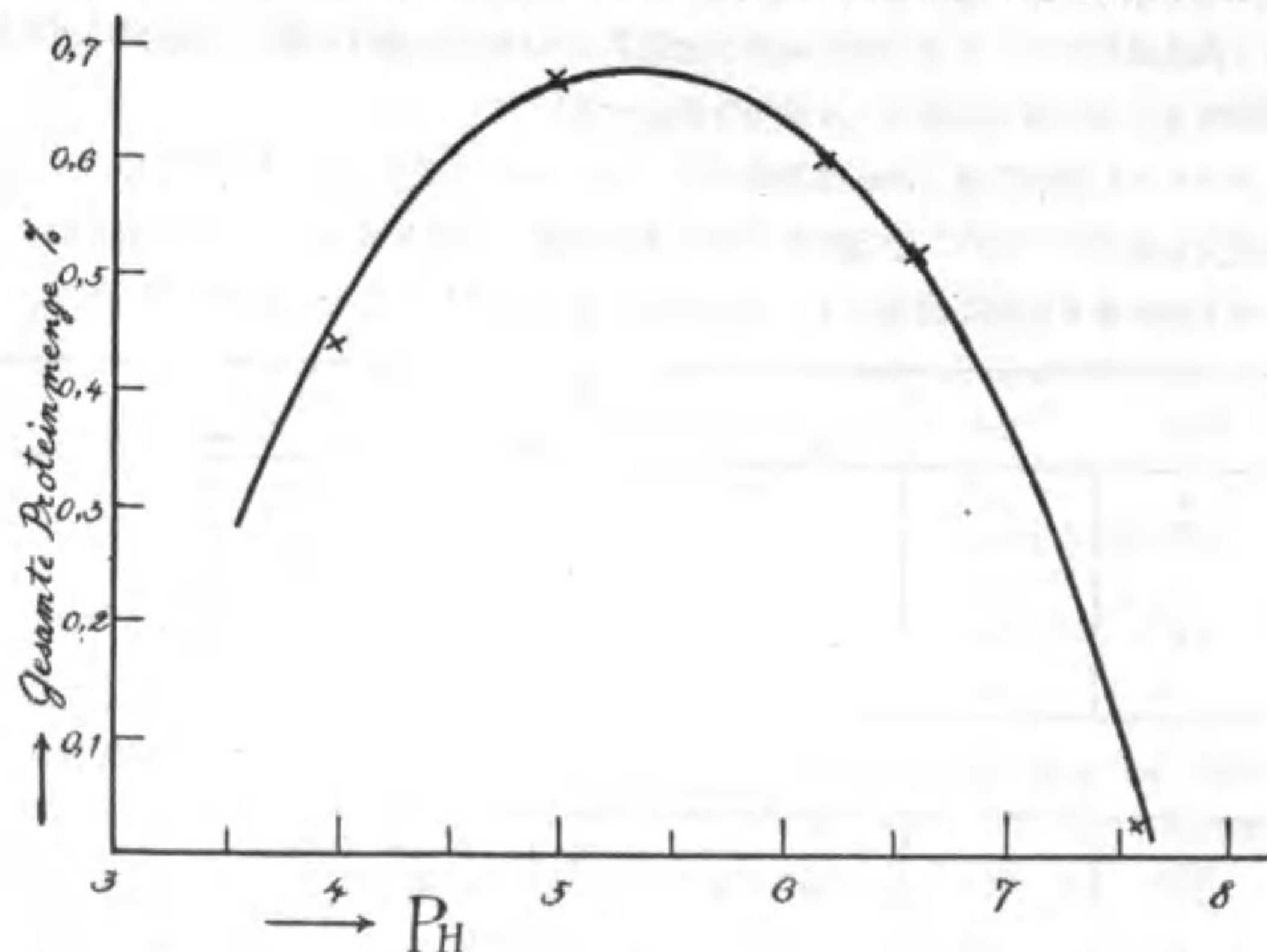
第三項 アルミニウムコロイド吸着物の試験(タカエレプターゼの存在證明)

(I) タカエレプターゼのアルミニウムコロイドの吸着最適 P_H 試験

混合酵素液中のタカエレプターゼをアルミニウムコロイドにて吸着せしむる場合如何なる P_H 溶液となすが最も適當なるやを試験せんとし本試験を行へり。

混合酵素 5 瓦を 30 g の水に溶解し濾液 5 g 宛を小三角瓶に配布し之に濃厚なるアルミ

第十圖 タカエブターゼのゲラチン分解曲線
(Aktivität-kurven bei der Gelatin-spaltung durch einzelne Takapepsinase)



ニウムコロイド Cr に水 80 兎を添加してよく摺りたるもの 10 兎, ゼーレンゼン氏ブッファー溶液 (pH 5.0, 6.0, 7.0, 8.0) 10 兎宛を添加し全量を 25 兎となし pH を調節して器械上にて 1 時間振盪す此濾液に就きて下の分解試験を行ひたり。

上記酵素濾液 15 兎 0.5% ロイシルグリシン溶液 10 兎宛とを混合し全量を 25 兎となし何れも pH を 5.0 に調節しトルエン 2 兎を添加して 33°C 定温中に保持し試料 4 兎宛を採りてウールステッター法(84%酒精)に依りアミノ酸のみを定量せり。其結果下の如し。

番 號	吸着 pH	滴定數 ($\frac{N}{10}$ Na OHc.c.)		
		開 始	48 時 間 後	其 差
1	5.0	2.05	2.22	0.17
2	6.1	1.80	1.95	0.15
3	7.0	1.88	2.00	0.12
4	8.2	1.69	1.82	0.13

以上の結果よりすれば吸着 pH 7.0 及 8.2 のものは他に比較して其分解力弱き故吸着良好なり、然して pH 7.0 のものは幾分吸着強し故にアルミニウムコロイドを以てタカエブターゼの吸着を行ふ場合には其液の pH を中性乃至微アルカリ性となせば可なり。

(II) タカエブターゼのアルミニウムコロイド脱離 pH 並に存在証明

前實驗によりアルミニウムコロイド Cr を以て吸着せしめたるタカエブターゼを此膠質物より脱離せんむるに最適なる水素イオン濃度を決定し又該酵素がエレブシン様酵素なる事を證明せんが爲に本試験を行へり。

混合酵素 10 瓦を水 50 兎に溶解し濾液に濃厚なるアルミニウムコロイド Cr 100 兎を加へて 1 時間機械上にて振盪後濾過し沈澱を充分洗濯し之に 200 兎の水を加へて乳鉢にてよく摺り小三角瓶に 20 兎宛配布し夫々ゼーレンゼン氏ブッファー溶液 (pH 3.0, 4.0, 5.0, 6.1, 7.0) 10 兎宛を添加して pH を調節し機械上にて 1 時間振盪し此各濾液を用ひて下の蛋白分解試験を行ひたり。

上記各濾液 10 兎, 0.6% ロイシルグリシン液 10 兎 ゼーレンゼン氏ブッファー溶液 (pH 5.0) 10 兎宛を混和し全量を 30 兎となし何れも pH を 5.0 に調節しトルエン 3 兎を添加して 32°C 定温器中に保持し分解の前後に於て試料 4 兎宛に就きてウールステッター法 (84% 酒精) に依りアミノ酸を定量せり。其結果下の如し。

番 號	脱離 pH	滴定數 ($\frac{N}{10}$ Na OHc.c.)		
		開 始	48 時 間 後	其 差
1	3.0	1.33	1.53	0.20
2	4.0	1.15	1.33	0.18
3	5.0	1.13	1.23	0.10
4	6.1	0.97	0.97	0.00
5	7.0	0.98	0.98	0.00

此結果より見れば pH 3.0—5.0 の脱離液を用ひたる酵素液中には明にペプチドを分解する酵素即ちタカエブターゼの存在確實にして又アルミニウムコロイドよりエレブターゼの脱離を行はんに其液の pH を 3.0 乃至 4.0 の附近にて行ふを可とす。

前試験の各種水素イオン濃度に於けるアルミニウムコロイド脱離酵素液 10 兎 1.5% ゲラチン溶液 10 兎, ゼーレンゼン氏ブッファー溶液 (pH 5.0) 10 兎宛を混和し夫々 pH を 5.0 に調節し之にトルエン 3 兎宛を添加して 32°C 定温器中に保持し分解前後に於て試料 4 兎宛に就きてウールステッター法に依りアミノ酸ペプチドを定量せり。其結果下の如し。

番 號	脱離 pH	滴定數 ($\frac{N}{10}$ Na OHc.c.)					
		開 始		48 時 間 後		其 差	
		84%	40%	84%	40%	b	a
1	3.0	1.33	1.27	1.33	1.27	0.00	0.00
2	4.0	1.30	1.20	1.30	1.20	〃	〃
3	5.0	1.26	1.15	1.26	1.15	〃	〃
4	6.1	1.20	1.07	1.20	1.07	〃	〃
5	7.0	1.15	0.98	1.15	0.98	〃	〃

尙本酵素がペプトンを分解するや否やを試験せんとし 60% 酒精を以て精製したるウイ

ッテ氏ペプトンを用ひ其 1.5% 溶液 15 錠, 本酵素液 15 錠 とゼーレンゼン氏ブッファー溶液 (P_H5.0) 10 錠 とを混じ常法に依り其分解を試験したり。其結果下の如し。

P _H	滴定数 $\left(\frac{N}{10} \text{NaOHc.c.}\right)$								
	開始		48時間後		其 差			計 算 数	
	90%	40%	90%	40%	b	a	b-a	アミノ酸	ペプチド
5.0	1.63	1.02	1.83	1.02	0.25	0.06	0.19	0.25	0.00

即此結果により本酵素はペプトンを分解する事明瞭なり。

以上の結果に依り本酵素は真正蛋白質を全く分解せざれどもペプトン及チペプチドを分解せり。故に本酵素中にはペプチダーゼの存在明なれども尚エレブターゼを混在する事を想像し得。

第四項 アルミニウムコロイドに吸着せる酵素は単一なるエレブターゼなりや

前項に於てアルミニウムコロイドに吸着せる酵素はペプチド並にペプトンを分解する事を知るが更に該酵素はペプチダーゼ或はエレブターゼの何れに屬するか或は兩者の混合物なるかを確定せんが爲に本試験を行ふ。

原酵素 20 瓦, アルミニウムコロイド 200 錠 を使用し前実験の如くして得たるアルミニウムコロイド脱離液の 40 錠 宛にゼーレンゼン氏ブッファー溶液 (P_H4.5, 6.8, 8.6) の 20 錠 及び蒲原粘土 10 瓦 宛を添加して夫々 P_H を調節し振盪器上にて 1 時間振盪せり, 此各吸着濾液の 20 錠 宛に P_H 5.0 のゼーレンゼン氏ブッファー液に溶解せる 1% ペプトン溶液 20 錠 宛を加へ次に上記酵素液 15 錠 宛に P_H 5.0 のブッファー液に溶解せる 0.4% ロイシルグリシン溶液 15 錠 宛を加へ何れも P_H を 5.0 に調節しトルエンを添加したる後 33°C の定温器に保持し分解前後に於て試料 4 錠 宛を採りてウールステッター法に依りアミノ酸及ペプチドを定量す。其結果下の如し。

1. ロイシルグリシン分解試験 (90% 酒精中にて行ふ)

番 號	吸着 P _H	滴定数 $\left(\frac{N}{10} \text{NaOHc.c.}\right)$				
		開始		45時間後		其 差
		90%	40%	90%	40%	
1	4.5	2.45		2.57	0.12	
2	6.8	2.43		2.49	0.06	
3	8.6	2.38		2.41	0.03	

2. ペプトン分解試験

番 號	吸着 P _H	滴定数 $\left(\frac{N}{10} \text{NaOHc.c.}\right)$					
		開始		45時間後		其 差	
		90%	40%	90%	40%	b	a

1	4.5	1.30	1.05	1.36	1.08	0.06	0.03
2	6.8	1.34	1.15	1.37	1.17	0.03	0.02
3	8.5	1.30	1.20	1.32	1.21	0.02	0.01

以上の 1, 2 の試験結果を見るに何れも酸性液に於ける蒲原粘土吸着濾液の分解は相當強く中性にて吸着を行ひし濾液は分解弱くアルカリ性にてのものは殆んど同様にペプトン及ペプチドを分解せず即本試験に於ては兩酵素の不分離たるを示せり。此故に本酵素は二種類に非ずして一酵素にてペプトン及ペプチドを分解し得るエレブターゼ様の酵素なる事を認む。尙次項に於て記載する如く本酵素のペプチドを分解する最適水素イオン濃度とペプトンを分解する最適水素イオン濃度とは全くよく一致し何れも P_H5.0 なるを以て益々此兩作用の単一性を證するに足るものと信ず。要之するに本酵素はペプチダーゼ類には屬すれどもオッペンハイマーの分類に従ひペプチダーゼ類中のエレブターゼなりと認むるを合理とす。

尙又本酵素を蒲原粘土に吸着せしむるにはアルカリ性 (P_H8.6) にて行へば可なり。反之してトリブターゼの吸着は酸性 (P_H3.5) にて行はるること別記するが如し。

第五項 タカエレブターゼの最適水素イオン濃度

前実験の如くアルミニウムコロイドに吸着せしめたるエレブターゼを P_H4.0 の, ブッファー溶液中にて脱離せしめ其透明濾液に酒精を加へて沈澱し之を乾燥せしめたるタカエレブターゼの粉末標本 (製法及收量等は本章第四節に記載せり) に就きて其最適水素イオン濃度を決定せんとし本試験を行ひたり。

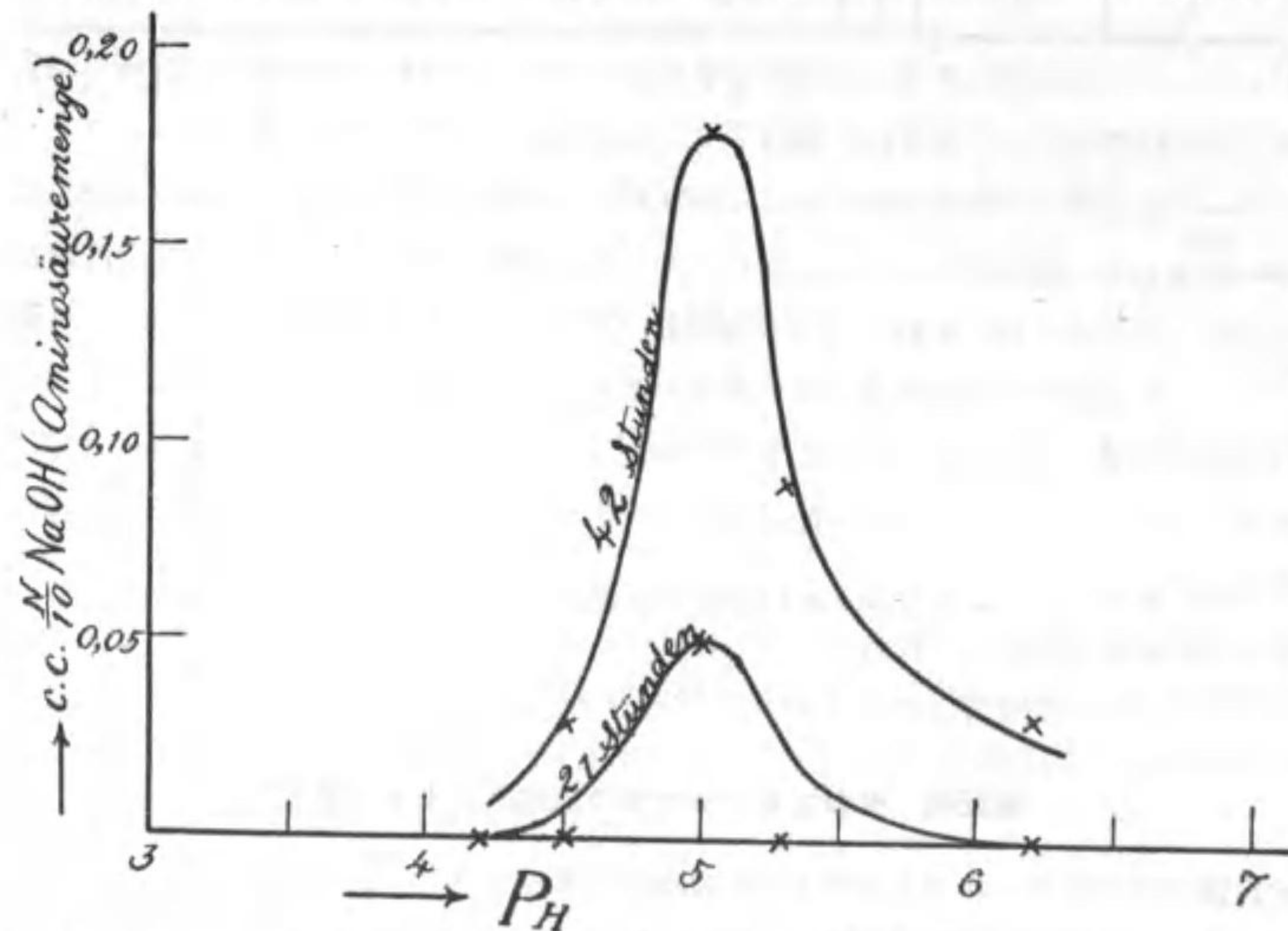
0.4% ロイシルグリシン溶液 5 錠, 0.2% 酵素液 5 錠, ゼーレンゼン氏ブッファー溶液 10 錠 宛にトルエン 1 錠 宛を加へ密栓して 32°C に保ち試料 5 錠 宛に就きてウールステッター法の 90% 酒精の場合のみを測定せり。其結果次表の如し。

番 號	P _H		滴定数 $\left(\frac{N}{10} \text{NaOHc.c.}\right)$				
	分解前	分解後	開始 (I)	21時間後 (II)	42時間後 (III)	其 差	
						(II) - (I)	(III) - (I)
1	4.2	4.2	2.71	2.71	2.71	0.00	0.00
2	4.5	4.5	2.73	2.73	2.76	0.00	0.03
3	5.0	4.7	2.48	2.53	2.66	0.05	0.18
4	5.3	5.1	1.04	1.04	1.13	0.00	0.09
5	6.2	5.5	0.86	0.86	0.89	0.00	0.03

之れを曲線に表はす時は第十一圖の如し。

即ち純粹のタカエレブターゼの分解曲線は頗る鋭敏なるものにして其最適水素イオン濃度は P_H5.0 の附近にあり。序に前諸實驗中混合酵素によるロイシルグリシンの分解の場合 P_H4.8-5.5 を最適とせしが純酵素に就ては P_H5.0 を採用するを要す。

第十一圖 タカエレプターゼのロイシルグリシン分解曲線
(Aktivität-kurven bei der Leucyl-glycin-spaltung durch einzelne Takaereptase)



同様に本酵素のペプトンを分解する最適水素イオン濃度を試験せり。其方法は前實驗に於けるアルミニウムコロイド脱離酵素液 15 錠宛に 2% ペプトン溶液 10 錠 ゼーレンゼン氏ブッファー溶液 (PH 4.6, 5.0, 5.3 6.1) の 20 錠宛を添加して全量を 45 錠となし PH を調節しトルエン 3 錠を添加して 33°C の定温器中に保ち試料 4 錠宛に就きてウェルステッター法によりアミノ酸及びペプチドを定量せり。其結果次表の如し。

番號	PH	滴定數 (N/10 NaOH.c.c.)					
		開始		45 時間後		其 差	
		90%	40%	90%	40%	b	a
1	4.6	2.07	1.90	2.10	1.91	0.03	0.01
2	5.0	1.08	1.63	1.18	1.63	0.10	0.04
3	5.3	1.15	0.93	1.22	0.93	0.07	0.03
4	6.1	0.00	0.40	0.65	0.40	0.05	0.01

以上の結果によれば其最適水素イオン濃度は PH 5.0 内外にして本酵素のロイシルグリシン分解に於ける場合の最適水素イオン濃度と合致す。

第四節 各種蛋白分解酵素の多量分離試験

前諸實驗に於て著者等は麹菌培養より製せる粗製タカチアスターゼ即ち混合酵素中には

三種のプロテアーゼを含有し、之等に対してタカトリプターゼ、タカペプシナーゼ及タカエレプターゼの名稱を附し、之等を相互的に分離し得る方法を設定せり。今其方法を一般的に記載すると同時に比較的少量の酵素に就きて行ひたる場合の量的關係を記載すべし。

500 瓦の混合酵素を 2 立の水に溶解し不溶性沈澱を濾別し、透明濾液に 1000 瓦の蒲原粘土を添加し PH 3.5 にて 1 時間振盪器械に懸け、其濾液に約等量のアルミニウムコロイド $Al(OH)_3 \cdot C_2$ を加へ PH 7.0 にて 1 時間振盪器械に懸け、濾過して沈澱をよく水洗し此沈澱を採り蒸留水中に浮遊せしめ PH 3.5 のゼーレンゼン氏ブッファー液中に於て 1 時間振盪し、其濾液に 90% 酒精を添加しエレプターゼを沈澱せしむ。之を集め酒精及エーテルにて洗滌し乾燥せる粉末の収量は 4.5 瓦なり。

アルミニウムコロイド吸着濾液には同様に五倍量の酒精を加へペプシナーゼを沈澱せしめ無水酒精及エーテルにて洗滌乾燥せるもの約 60 瓦を得たり。

次に蒲原粘土の沈澱をよく水洗したる後、水に浮遊せしめ PH 9.0 のゼーレンゼン氏ブッファー液中に於て 1 時間振盪器械に懸け、其濾液に五倍量の酒精を加へトリプターゼを沈澱せしめ、之を濾別し無水酒精及エーテルを以て洗滌乾燥せるものは其収量 3.5 瓦なり。

即ち以上の製法によりて得られたる諸酵素の収量を原料混合酵素に對し%にて示せば下の如し。

タカエレプターゼ 0.9%, タカペプシナーゼ 12.0%, タカトリプターゼ 0.8%

第四章 結 論

本研究の結果を綜合し結論せば次の如し。

1. 麹菌の含有する蛋白質分解酵素は所謂混合蛋白分解酵素 (Mischprotease) にして従來行はれたる多數研究者の間接的不完全なる證明と異り著者は遂に各種のプロテアーゼを明に分離し得たり而して其各純粋なるプロテアーゼ類に就きて正確なる試験を行ひたる結果トリプターゼ、ペプシナーゼ、エレプターゼの三種のプロテアーゼを含有する事を證明したり。
2. 此中トリプターゼの存在は既に多數の研究者に依りて認められ居るもペプシナーゼの存在は未だ何人も之を報せるものなし。

エレプターゼはウ。ルゲムートにより其存在を提唱せられたるも其論據は單に混合酵素がペプトンを分解する事を認めたるによるのみにして該酵素がペプチドをも分解する事は證明され居らず。混合酵素のペプチドを分解する事を認めたるは最近グラッスマン及び本多久吉氏にして此兩氏共ペプチダーゼの存在する事を提唱せり。然れども著者の研究結果によればペプチドを分解する酵素とペプトンを分解する酵素とは

不分離性にして然も此兩反應の最適 P_n の全く一致する點より全く同一酵素の作用なりと認む從てウ、ルグムート氏の提唱たるエレプターゼの存在を承認シグラスマン及び本多氏の提唱たる特種のペプターゼの存在を否定せざるを得ず尙グラスマンの想像たるトリペプチドを分解する所謂ポリペプチダーゼの存在を認むるを得ず恐らく此エレプターゼの呈する同一反應によりトリペプチドも亦分解せらるゝものなるべし。之を要するに麹菌のペプチド分解酵素はオープンハイマーの分類に従へばペプチダーゼ類中のエレプターゼなりとす。尙該點は下に記する如く動物體、酵母體及麥芽のペプチダーゼが何れも微アルカリ性に於て最適 P_n を示すに本麹菌酵素のペプチダーゼは酸性に於て最適 P_n を有するに依り其特種のものたるを推知し得べし。

3. 著者等の純粹に分離し得たる麹菌の前記三プロテアーゼは下表の如き最適 P_n を有する事を確定せり。然も之を動物體のプロテアーゼ及び酵母體並びに麥芽中のプロテアーゼの夫々に比較するに明瞭なる差異ある事を下表によりて知り得べし。

	麹菌中の酵素(著者)	動物體中の酵素(ゲインス)	酵母體中の酵素(デルンビー)	麥芽中の酵素(ビュール)
トリプターゼ	7.7	7.8	7.0	—
ペプシナーゼ	5.5	3.5	5.0	4.9-5.0
ペプチダーゼ	5.0(エレプターゼ)	7.8	7.8	7.5

4. 以上の理由により麹菌の蛋白質分解酵素に對しては特別なる名稱を與へタカトリプターゼ(Takatriptase), タカペプシナーゼ(Takapepsinase), タカエレプターゼ(Takaereptase) と稱する事を提唱す。
5. 前記純化せる標本の各プロテアーゼの其最適 P_n の外混合酵素による各種蛋白質の分解最適 P_n を其生産物の種類別に記して實際應用上の参考に資す。

被分解物	混合酵素の最適 P_n		
	アミノ酸生成	ペプチド生成	アミノ酸ペプチド含量生成
ゲラチン	5.3(7.5)	5.0	5.0
米蛋白質	7.5(4.8)	5.8	7.5(4.8)
大豆カゼイン	5.1	6.5	6.2
ロイシール グリシン	5.1	—	—

此表中括弧内の數字は一旦最高點より下降せる分解曲線が更に再び上昇して第二の頂點を作れる場合の P_n を記せるものにして是の如きは本混合酵素中にトリプターゼとペプシナーゼが混在せるによる結果にして敢て怪むに足らず。尙蛋白質の種類を異にするに従て其最適 P_n も大いに異なるは當然にして米蛋白質は中性若くは微アルカリ性に於て最もよく分解せられ大豆カゼインは微酸性乃至中性に於てゲラチンは比較的酸性に於てよく分解せられアルブミンは一層強き酸性に於て分解最高點を示すが如し。

6. 著者等の考案せる前記各種プロテアーゼの分離精製方法は次の如し。

混合酵素の透明溶液に蒲原粘土の倍量を添加し $P_n 3.5$ に於て振盪器上にて強く振盪する事約1時間の後之を濾別す。然る時は蒲原粘土はタカトリプターゼを吸着す。其濾液中にはタカペプシナーゼとタカエレプターゼを含有す之に同容のアルミニウムコロイドCyを加へ $P_n 7.0$ に於て約1時間振盪し濾別す。此アルミニウムコロイドはタカエレプターゼを吸着す。

最後の濾液にはタカペプシナーゼのみを含有するを以て酒精を加へて常法により之を沈澱精製す。

前記蒲原粘土に吸着したるタカトリプターゼを脱離するには $P_n 9.0$ のゼーレンゼン氏ブッファー溶液中にて行ふを最良とす。

アルミニウムコロイドに吸着したるタカエレプターゼを脱離するには $P_n 3.5$ のゼーレンゼン氏ブッファー溶液中にて行ふを最良とす。

各々脱離したる酵素液は酒精を加へ常法により酵素を沈澱す。

7. 蒲原粘土及カオリンは酸性(約 $P_n 3.5$) に於てはタカトリプターゼを吸着すれどもアルカリ性(約 $P_n 8.6$) に於てはタカエレプターゼを吸着することを認めたり。

附言 本研究中杉山晋朝、勝目英兩氏の助力を得たること多大なり茲に謹んで感謝の意を表す。

酵母に依るノルマル型アミノ酸の分解に就て(第四報)

(グリコールの分解)

On the decomposition of amino acids of normal type
by yeast. Part IV — Decomposition of glycooll.

技 師 山 田 正 一

曾て黒野勘六博士は清酒酵母を用ひ糖分の共存に於けるグリコールの分解を試みアニスアルデヒド硫酸試薬によるフーゼル油反応顯著なる物質の生成せらるゝ事及びレーゼ法によりて明にフーゼル油として定量せらるゝものゝ存する事等の事實を認められ生成し來るものは醋酸及び醋酸エチルエステルなりとせられたり。(K. Kurono: Journ. Agricult. Tokyo 1,283-94,1912)

著者の實驗に依れば(第一報参照)アニスアルデヒド硫酸と略々同種の試薬たるヴァニリン硫酸を以てする場合も明にフーゼル油様の物質の生成あるを證明し得らるゝものなれども本試薬は醋酸及び醋酸エチルエステルには格別の呈色を示さず従ひてグリコールより來るものが此の二者に非ざる事が想像せらるゝなり。一方に於てエーリヒ氏のアミノ酸のアルコール醱酵形式を本アミノ酸に當て嵌むれば當に木精の生成を見るべきものなれども本アルコール亦ヴァニリン硫酸に對し特異の呈色を示さず即ちヴァニリン硫酸反應紅色を示すフーゼル油様物質を少しく多量に集積するを得ば本問題も解明せらるる見込みあり、且つ本區分は他のフーゼル油構成成分同様蒸溜を繰り返す時次第に濃縮し得らるゝことを知れり。

初めにアスパラギンに代ふるにグリコール0.3%を以てせる變形ハイダック氏液28立(グリコール84瓦)に日本醸造協會清酒酵母第一號を接種し10日目全く醱酵終了せる時蒸溜し後數十回の再溜により得たる油分は4.8瓦にして主要部は121-129.5度にて溜出す。之より製したる3.5デニトロ安息香酸エステルは融點62度にしてイソアミルアルコールのものと混融を試みるも融點降下せず。

豫備試験の結果に依れば酵母接種量を僅少にし徐々に繁殖醱酵せしむる時はフーゼル油分の收量を増大せしめ得る見込み充分なるを以て再度試験し吟味を重ねたり。即ち前と同様の組成を有する培養液100瓦に日本醸造協會清酒酵母第五號を白金耳接種繁殖せしめたるものを一立の培養液に移植し更に之を各2.5立宛を容れたるものに分割注入せしめたり。全量32.2立,27度約十六日間にて醱酵全く終了す。蒸溜並びに分溜を重ねて得たる油分は

6.2瓦其の殆んど大部分は118度以上にて溜出す121度以上の溜分を121-125.5度,125.5-128.5度,128.5-131度の三區分に分ち之より夫々3.5デニトロ安息香酸エステルを製したるに融點各58度,61.5度,63度にして窒素含量亦何れも良くアミルアルコールのものに一致す。但し此の部は

$$[\alpha]_D^{20} = -1.09^{\circ} \quad \text{の旋光度を示したり。}$$

斯の如くして二回の試験共にフーゼル油區分として主としてアミルアルコール(イソアミルアルコールに相當)を見出したるに過ぎず、其の生成機作に關してはなほ了解する事困難なり。今は只酵母に依りて、グリコールを糖分と共に醱酵せしめて得らるるヴァニリン硫酸反應にて紅色を與ふる物質は恐らくイソアミルアルコールを主成分とするアミルアルコールなる事を確認し得たるの報告に止めんとす。

實 驗

I 日本醸造協會清酒酵母第一號に依る場合。

1. グリコールの資料

グリコールエチルエステル鹽酸鹽より製したり。

2. 培 養 液

甘蔗糖(白ザラメ)100瓦,グリコール3瓦,ハイダック氏滅菌液20瓦,井水を加へ1立となす。此物2立宛を變形瓶に採り常法の如く一時間宛三日間殺菌す。

3. 酵 母

日本醸造協會清酒酵母第一號にして母氏10度の麴エキス2立に培養したるものを濾過洗濯し泥狀物として使用に供したり(無菌状態にて處理す)2立より得らるゝ酵母は乾燥物として約5瓦なり。

4. 醱 酵

麴エキス2立より得たる酵母を1-2立入の變形瓶十三本に分割接種せり,24-28.5度にて培養醱酵せしむ、醱酵はアラニンの場合の如く激しからず、三日目より徐々に氣泡を發生す。香氣はアラニンの場合同様良好なり。但し醋酸エチルエステル臭は全然感知せられず、朝夕二回振盪す。八日目醱酵略々終了に近づきたり。生産物は次の如し。

酒 精 4.1% フーゼル油 0.045% 總 酸 0.1652%

5. 蒸 溜

初め約15立容宛釜を用ひて約8立位宛蒸溜す。溜液に於ても醋酸エチルエステル臭は毫も認められず、香氣は大體アラニン、アミノ酸の場合と略々同様なり。溜液は數回蒸溜を繰り返して酒精を濃縮し後には五球を有する分溜管を附しヴァニリン硫酸反應を目標として數十回に分溜を繰り返す終りにフーゼル油濃厚區分(沸點80度以上)は三球の小分

溜管を附し分溜し此の時分離し来る油分は分ち水分は除き斯くして最後にフーゼル油臭強き黄色油分 4.8 瓦を得たり。アルコール類の収得量は次の如し。

初溜分	144 瓦	酒精%94.5	ヴェニリン硫酸反應	濃青
第二溜分	1070 *	94.1	フーゼル油として約 0.01 %	反應極微紅
第三溜分	26 *	92.0	フーゼル油 0.156 瓦を含む	
第四溜分	24 *	90.0	2.4 瓦	
油分(沸點 83 度以上)	4.8 瓦			

6. 油分の分溜

油分は約 30 瓦容枝付小蒸溜瓶に移しパラフィン浴上に熱し緩徐に分溜す再溜一回にして得たる各分溜區分の収量は下の如し。

區分	沸點	浴温	收量	
G ₁	82-105	145-147	0.4 瓦	酒精を含有す
G ₂	105-116	147-150	0.6	
G ₃	116-121	150-155	1.0	
G ₄	121-124	155-157	0.8	
G ₅	124-128	157-164	0.2	
G ₆	128-129.5	164-168	1.5	
G ₇	殘		0.2	

7. アルコールの吟味

G₅ G₆ に就き 3.5-ヂニトロ安息香酸エステルを製したるに各融點 79 度並びに 62 度なり、前者はイソブチルアルコールのもの 87 度より稍低く後者は清酒よりせるアミルアルコールのもの(融點 59 度)と混融せるに 61 度にて熔融せり。分析結果は次の如し。

G₅ のもの

物質	0.0772 瓦	窒素	6.5 瓦(13 度 764.5 瓦)	窒素 實驗數	10.40%
				計算數	10.45%(C ₁₁ H ₁₇ O ₂ N ₂)

G₆ のもの

物質	0.0514 瓦	窒素	4.2 瓦(13 度 764.2 瓦)	窒素 實驗數	9.74%
				計算數	9.93%(C ₁₂ H ₁₇ O ₂ N ₂)

即ち前者は一見ブチルアルコールに相當するが如きもイソブチルアルコールとしては沸點稍高きに失す。若しイソブチルアルコールの如きの存するものならば之とアミルアルコールとの混合物と考ふるを至當とせん。尙次の例を参照せば一層明瞭ならん。後者は大體イソアミルアルコールのものならんか、沸點より見て 116 度以下をブチルアルコールと考ふる時は油分の區劃は

ブチルアルコール	1.0 瓦	
アミルアルコール	3.7 瓦	となるなり。

8. 蒸溜残渣

蒸溜残渣は旋風器を用ひ湯煎上にて濃縮し銅は硫化水素にて去り煮詰めて一立許となし

濃厚アムモニア水を加へて生ずる沈澱(磷酸鹽)は濾別し更に濃縮し之に 90% 酒精を注加放冷せるも遂に酒精層の下は黒褐色舍利別狀を爲し、グリコロールを回収するに至らざりき。

II 日本醸造協會清酒酵母第五號(協.)に依る場合

1. グリコロールの資料

一部はエチルエステル鹽酸鹽より一部はモノクロル醋酸より製したり。

2. 培養液 前掲同様

3. 酸酵 培養液 100 瓦に協.酵母一白金耳を接種繁殖せしめたるものを一立のものに移し更に之を 2.5 立のものに分割培養繁殖酸酵を営ましめたり。15-16 日にして酸酵終了し加へたる蔗糖の目方の半強の減量あり、酸酵液はフェーリング氏液を全く還元せず。一種の芳香を呈したり、全液量 32.2 立(蔗糖 3.22 瓦 グリコロール 96.6 瓦)

生産物は下の如し。

フーゼル油	0.07 %	總酸	0.1652 %
-------	--------	----	----------

4. 蒸溜

酵母は傾斜並に濾過によりて分ち酸酵液は約 10 立宛宛釜を用ひて蒸溜す、溜液に於ては前同様全く醋酸エステル臭を認められず、十數回の蒸溜を繰り返し(前例同様)遂に次の結果に到達せり。

初溜分	178 瓦	酒精	95.2%	ヴェニリン硫酸反應青
第 2 溜分	1100 *	95.0%	フーゼル油を含まず	
第 3 溜分	53 *	91.3%	フーゼル油 1.7 瓦を含む	
油分(沸點 100 度以上)	6.2 瓦			

酵母を乾燥物として 88.5 瓦を得たり。

5. 油分の分溜

油分は約 30 瓦容枝付小蒸溜瓶に移しパラフィン浴上に熱し緩徐に分溜す。再溜一回にして得たる各分溜區分の収量は次の如し。

區分	沸點	收量	區分	沸點	收量
GA ₁	100-118 度	0.3 瓦	GA ₅	128.5-131	2.0
GA ₂	118-121	0.2	GA ₆	殘渣	0.4
GA ₃	121-125.5	1.2	全		5.8
GA ₄	125.5-128.5	1.7			

6. アルコールの吟味

(イ) 3.5-ヂニトロ安息香酸エステル

GA₅, GA₄, GA₆ に就き 3.5-ヂニトロ安息香酸エステルを製したるに融點、夫々 58 度、61.5 度、63 度なり。即ちイソアミルアルコールのもの、62 度に極めて近似す。分析結果

亦アミルアルコールのものなる事を示したり。

GA ₂	物質	0.0568瓦	窒素	5.00鈍	22度	756耗	窒素	実験數	9.94%
GA ₄	＊	0.0764	＊	6.65	22度	759＊	＊	＊	9.87%
GA ₆	＊	0.0491	＊	4.30	22度	759＊	＊	＊	9.93%
									計算數 9.93% (C ₁₂ H ₁₄ O ₆ N ₂)

(ロ) フェニルウレタン

GA₄, GA₆ より製したるフェニルウレタンは融點夫々 46° 並びに 50° にして之をイソアミルアルコールのもの、55° に比するに稍、低値なり。

分析結果は下の如し。

GA ₄	物質	0.0766瓦	窒素	4.55鈍	17度	764.5耗	窒素	実験數	6.96%
GA ₆	＊	0.0826＊	＊	4.85＊	17度	767 耗	＊	＊	6.80%
									＊ 計算數 6.76% (C ₁₂ H ₁₇ O ₂ N)

即ちアミルアルコールのものに一致す。

(ハ) アルファナフチルウレタン

GA₆より製したるものは融點 59 度、イソアミルアルコールの 68 度よりかなり低値なり。

旋光度

GA₂乃至 GA₆ を混じ測定せるに

$$[\alpha]_D^{25} = -1.09^\circ \quad \gamma = -0.57^\circ \quad l = 2.2 \text{ 粉} \quad C = 23.787 \quad (\text{酒精溶液にて})$$

ヴァニリン硫酸反應濃青色を呈する初溜区分 10 鈍をクロム酸混液と熱し酸化せるも溜出液はフォルマリンの存在を示さず、即ち木精の生成は考へられざるなり。

7. 蒸溜残渣

蒸溜残渣は濾過後湯煎上にて蒸發濃縮し冷却後銅(青綠色を呈す)は硫化水素にて去り更に煮詰めて濃厚舍利別状となし之に 93% 酒精を加へたるに多量の結晶を析出す、沈澱は温湯に溶解し濃厚アモニア水を加へて生ずる糊状の沈澱は濾別し(磷酸鹽)濾液を濃縮して遂にグリコロール 36.5 瓦を回收せり。

アミノ酸を濾別せる残りの舍利別は 265 鈍なり其の $\frac{1}{5}$ を採り硫酸 (1:3) 30 鈍と水とを加へて適當に稀釋し須藤隈川氏装置を用ひて十數時間エーテル浸出を行ふ。浸出部はエーテルを驅出後バリタを加へて中和蒸發乾涸し 80% 酒精にて浸出す。

(イ) 80% 酒精に溶解するもの

酒精を驅出後硫酸亞鉛溶液を加へ硫酸バリウムの沈澱は濾別し濾液は濃縮放置せるも遂に結晶を得るに至らざりき。

(ロ) 80% 酒精不溶部

硫酸にて重土を去り更にエーテルにて浸出し固形の酸 2.2 瓦を得たり。全量にて 11 瓦の割合なり、温湯より再結せるに融點 186 度琥珀酸に一致す。

銀鹽の分析：—

物質 0.2331瓦 銀 0.1501瓦 銀實驗數 64.39% 銀計算數 65.03% (C₄H₄O₄Ag₂)

摘 要

1. 2種の酒精酵母(協、協₂)を用ひて糖分の共存に於けるグリコロールの分解を試みたり。
2. 揮發性生産物として醋酸エチルエステルを認められず。
3. 生産物中ヴァニリン硫酸反應紅色を與ふるものはアミルアルコールにしてイソアミルアルコールに稍々近似する事を認めたり。但し其の生成機作に就ては全く不明なり。
4. 木精の生成は認められず。
5. 従來グリコロールは酵母の増殖に對し好適なる窒素化合物なるが如く記載せられたれども實際の結果はアラニン、ロイシン、アスパラギン、硫安等に比し遙に劣れるを知れり。

アミノ酸のアルコール醱酵に就て(第一報)

(清酒酵母に依るラセミ性ロイシンの分解)

On the alcoholic fermentation of amino-acids Part I — The decomposition of racemic leucine by *saké* yeast.

技 師 山 田 正 一

酵母に依り糖分の共存の下にアラニンを分解してイソブチルアルコールを又アルファアミノ正酪酸を分解して活性アミルアルコールを得更にグリコロールを分解(?)してアミルアルコールを得らるるが如きは従來の學說に照合し頗る奇異なる事實と云はざるを得ず。

即ちエーリッヒ氏以來フーゼル油成因の典型的例として擧げらるるロイシンの分解を清酒酵母を用ゐて再吟味し何等かの消息を得んと企てたり。然れども實驗結果は此のアミノ酸に限りては悉く同氏の説を肯定するに止まりラセミ性ロイシンは左右兩體に分割せられ左旋體のみ利用せられてイソアミルアルコールを生成し右旋體の殘存するを認めたり。フーゼル油收量を増進せしめんが爲め酵母は一白金耳よりの培養法に従ひたるを以てイソアミルアルコール收量はロイシンが完全に分解せられたりとして約90%に當れり、又回收せる右旋性ロイシンの旋光度は20%鹽酸溶液にて $[\alpha]_D^{20} = -15.55^\circ$ を示しフィッシャー氏等の $[\alpha]_D^{20} = -15.6^\circ$ (E. Fischer u. Warburg: B. 38, 4003) 及びエーリッヒ氏の $[\alpha]_D^{20} = -15.40^\circ$ (F. Ehrlich: Biochem. Zs. 1, 26, 1906) と略々一致したり。尙酵母に對する窒素榮養物としてロイシンは頗る優秀なる事を伺ひ得たり。

實 験

1. ラセミ性ロイシンの資料

高粱諸味より得たるフーゼル油 17.25 立を蒸溜し其の沸點 131—133 度の主としてイソアミルアルコールより成ると考へらるゝ區分より出立して製したり。本アミルアルコール區分は其の旋光度を測定せるに

$$[\alpha]_D^{24} = -1.00^\circ \quad r = -2.20^\circ \quad l = 2.2 \text{ 分}$$

にして之より計算して尙約 16.95%の活性アミルアルコールを含有するを知れり。得たるロイシンは光澤ある鱗片狀の結晶にして水に極めて溶解し難く甘味を有す。分析結果下の如し。

物質 0.0625 瓦 窒素 5.45 瓦 10° 765 瓦 窒素實驗數 10.54%
計算數 10.68% (C₆H₁₃NO₂)

2. 培養液

蔗糖(白ザラメ) 100 瓦, ラセミ性ロイシン 4 瓦, ハイダック氏鹽物液 20 瓦, 井水 980 瓦 此物 1—2.5 立を變形瓶に採り型の如く 40 分—1 時間宛三日間殺菌す。

3. 醱 酵

上の培養液 100 瓦に日本醸造協會清酒酵母第五號一白金耳を接種繁殖せしめ之を 1 立のものに移し更に 2.5 立のものに分割注入す。培養溫度, 25—28 度, 繁殖醱酵極めて良好にして振盪するに明にフーゼル油臭を感知し得らる。十五日にして醱酵全く終了し醱酵液はフーリング氏液を還元せず, 蔗糖の目方の約半の減量あり, 全醱酵液は 23.1 立なり。

生産物は次の如し。

酒 精 5.3% フーゼル油 0.13% 總 酸 0.0826%

4. 蒸 溜

酵母は傾斜及び濾過によりて分ち(酵母の收量乾燥後 38 瓦)醱酵液は兜蓋を用ゐ約 10 立位宛蒸溜す。溜液は他の場合よりフーゼル油臭顯著なり。更に數回蒸溜を繰り返して酒精を濃縮し後には五球を有する分溜管を附しヴェニリン硫酸反應を目標として分溜を重ね蒸溜殘液中に浮び來る油分は分ち水分は別に集めて蒸溜し沸點 99—100 度に至りて殘れる水を棄却す。アラニン等の場合と異なる現象は油分が既に蒸溜の比較的初期に分離し來る事及び其の量大なる事なり。

アルコール類の收得量は下の如し。

初 溜 分	50 瓦	酒 精	95.2%	ヴェニリン硫酸反應青
第 2 溜 分	960 *	酒 精	94.2 *	フーゼル油を含まず
第 3 溜 分	210 *	酒 精	94.2 *	フーゼル油 0.63 瓦を含む
第 4 溜 分	73 *	酒 精	89.0 *	フーゼル油 2.3 瓦を含む
油 分	(100 度以上)	25.8 瓦		

5. 油分の方溜

油分は約 30 容枝付蒸溜瓶に移しパラフィン浴上に熱し徐々に分溜す。各區分の收量は次の如し。

區 分	沸 點	收 量	區 分	沸 點	收 量
L ₁	90—105 度	0.2 瓦	L ₆	134—135	0.2
L ₂	105—120	0.5	L ₇	殘	0.6
L ₃	120—127	1.0	計		25.6
L ₄	127—129.5	3.4	蒸溜損失		0.2
L ₅	129.5—134	19.7			

分溜の結果に見るも其の殆んどアミルアルコールより成る事を知る。

6. アルコールの吟味

(イ) 3,5-チトロ安息香酸エステル

I_a より製したるものは融點 63 度, 分析結果下の如し。

物質 0.0648 瓦 窒素 5.6 瓦 19° 769.6 耗 窒素 實驗數 10.09%
計算數 9.93% ($C_{12}H_{14}O_4N_2$)

ロ フェニルウレタン

I_a より製したるものは融點 57.5 度, 分析成績次の如し。

物質 0.1011 瓦 窒素 5.8 瓦 17 度 773.6 耗 窒素 實驗數 6.80%
計算數 6.76% ($C_{13}H_{17}O_2N$)

兩者よりして I_a はイソアミルアルコールなる事明なり。

尙 I_a につき其の旋光度を測定せるに

$$[\alpha]_D^{21} = -0.05 \text{ 度} \quad r = -0.11 \text{ 度} \quad l = 2.2 \text{ 粉} \quad C = 100\%$$

殆んど廻轉を見ず。

7. 蒸溜残渣

蒸溜残渣は扇風器を用ひ湯煎上にて濃縮し銅は硫化水素にて去り更に煮詰めて小容となし濃厚アモニア水を加へて生ずる沈澱(燐酸鹽)は濾別し一層濃縮し之に 90% 酒精を加ふる時は冷後多量の結晶を生ず。

回收量 42.5 瓦, 純品は光澤ある鱗片状結晶にして甘味強し, 0.9352 瓦を採り 20% 鹽酸 16 瓦に溶解し旋光度を測定せるに

$$[\alpha]_D^{23} = -15.55^\circ \quad r = -2.00^\circ \quad l = 2.2 \text{ 粉} \quad C = 5.845\%$$

即ち右旋性ロイシンを得たるなり。

8. アミルアルコールの收量

今蒸溜中多少の損失はありたりとし, 又ラセミ性ロイシンは完全に分解せられたりとし油分の全收量よりアミルアルコールの收量を算出すれば全ロイシン 92.4 瓦の半量 46.2 瓦よりアミルアルコール 28.7 瓦を得たるが故に理論數の 92.6% なり。

摘 要

1. 清酒酵母に依り糖液の共存に於てラセミ性ロイシンを分解するに理論の 90% 以上の好收量にてイソアミルアルコールを得, 蒸溜残渣中より右旋性ロイシンを回收せり。此の結果は全くエーリッヒのものに一致す。
2. ロイシンは酵母に對し良好なる窒素營養物なる事を認めたり。
3. 醗酵液が芳香を有する事はアラニン, アミノ酪酸, グリココール等の場合と同様なれどもロイシンの場合に限り一種果實様フェーゼル油臭顯著なり。

酵母に依るノルマル型アミノ酸の分解に就て(第五報)

アルファアミノ・ノルマル・バレリアン酸(ノルヴァリン)

On the decomposition of amino acids of normal type by yeasts.

Part V — Decomposition of α -amino-n-valeric acid.

技 師 山 田 正 一

ノルマル型アミノ酸たるグリココール, アラニン及アルファアミノ正酪酸を夫々糖分と共に酵母に依りて分解せしめて得らるる生産物に就ては其の間に規則的順位を認むるを得ず, 又他のアミノ酸に於けるエーリッヒ氏の分解形式を直ちに當嵌むる事も不可能なり。即ち更に上位なるノルヴァリンに就て再度吟味を試みたり。本アミノ酸が蛋白質を構成する一分子として発見せられたるは比較的近年の事に屬し未だ一般多數の蛋白質に於て其の存在は認知せらるるに至らず。

若し此物が前のアラニン, アルファアミノ正酪酸の例に従ひ分解せらるるならば生成せらるるものは炭素六價のアルコールなるべく, 又エーリッヒ氏アミノ酸醗酵形式に従はば正にノルマルブチルアルコールを得らるべきなり。而して實際にラセミ性ノルヴァリンを清酒酵母に依り分解せしめて得たるアルコールはノルマルブタノールに他ならず, 此のアミノ酸は全くエーリッヒ氏説に従ひ分解せらるる事を知りたり。

即ち結局グリココール, アラニン, アミノ正酪酸の二者のみがエーリッヒ氏説に反する生産物を與へし事となるなり。更に既にアラニンよりイソブチルアルコールの來る事が明かなれば當然母體と考へられしヴァリンよりは果して何物が生成すべきやば残されたる問題なり。

實 験

I 第一回試験

1. ノルヴァリンの資料

正ブチルアルコールより出發して合成す。無色の光澤を有する鱗片状結晶にして融點 291.5° 分析結果次の如し。

物質 0.0945 瓦 窒素 9.65 瓦 18 度 758 耗 窒素 實驗數 11.80%
計算數 11.96% ($C_8H_{11}NO_2$)

2. 培養液

甘蔗糖(白ザラメ) 100 瓦, ノルヴァリン 3.4 瓦, 井水 1 立

3. 酸 酵

上の物 2.5 立宛を變形瓶に採り常法に従ひ一時間宛三日間殺菌し、全液 32 立 (ノルヴァイン 108 瓦) に母氏 10 度の麴エキス 35 立に培養せる時醸造協會清酒酵母第五號泥狀物を分割接種す。酸酵液は 24-30 度、十一日目には最早フェーリング氏液に依る糖分の反應を認めず、酸酵はアラニン並にロイシンの場合の如く旺盛ならざりしもグリココールの如く困難にも非ず、酸酵中に於て發する香氣はアラニン等の場合と同様良好なり。

十一日目に於ける酸酵生産物下の如し。

酒 精 5.7% フーセル油 0.005% 總 酸 0.1416%

即ち一見フーセル油の生成極めて少し、然れども後の結果により推定するに此の場合はヴェニリン硫酸反應に依る定量は不適當なる事が知らるゝなり。

4. 蒸 溜

15 立宛兎釜にて 10 立宛蒸溜す。溜液は五球を有する分溜管を附し數回蒸溜を繰り返してアルコールの濃液とフーセル油分の分離に力めたり。斯くて得たる酒精は

初 溜	455 宛	94.75% (酒精)	ヴェニリン硫酸反應青色
第二溜分	1200 宛	94.6 %	(フーセル油を含まず)
第三溜分	83 宛	94.3 %	ヴェニリン硫酸反應紅色
第四溜分	60 宛	91.05%	

第三-四溜分は次の試験の溜分に合併したり。

5. 蒸溜残渣は硫化水素にて銅を去り、濃縮し粘稠なる舍利別となし之に多量の 90% 酒精を注加するに結晶を析出す。ノルヴァインの回收量 76 瓦、又酵母の收量は乾燥物として 63 瓦なり。

II 再 試 験

1. 培養及酸酵

上記の試験の結果回收せるアミノ酸を以て再度同様の試験を繰り返したり。今回の培養液は 1 立に就てアミノ酸 3.5 瓦を加へたり。

全培養液 20 立に對し日本醸造協會清酒酵母第五號を母氏 10 度の麴エキス 11 立に培養せる泥狀物を添加す。酸酵は 22-29 度十日間にして全く終熄せり、生産物 (九日目) は下の如し。

酒 精 5.825% フーセル油 0.005%

前回と同様にして回收せるアミノ酸は 50 瓦、酵母收量 36 瓦なり。

2. 酒精の收量

蒸溜並びに分溜は全く前回と同様にして行ひ結局得たるアルコール類は次の如し。

初 溜 分	260 宛	95.1% (酒精)	
第二溜分	825 宛	95 %	
第三溜分	43 宛	90.8%	フーセル油 0.43 瓦を含有す

外に油分 (沸點 100 度以上) 5.9 瓦

(第三溜分以下は前回のものを合併す)

3. 油分に分溜

油分は 30 宛容小枝付フラスコに採りパラフィン浴上にて注意して蒸溜す。各分溜區分の收量下の如し。

	沸 點 (°C)	收 量 (宛)		沸 點 (°C)	收 量 (宛)
NV ₁	100-115	0.4	NV ₄	124.0-127.5	0.7
NV ₂	115-120	1.1	NV ₅	127.5-128.0	1.0
NV ₃	120-124	2.5	NV ₆	殘渣	0.2

4. アルコール區分の吟味

(イ) 3-5-チニトロ安息香酸エステル

NV₂ より製したるものは融點 68 度、ノルマルブチルアルコールのエステルとしては文献のもの (62 度) より稍々高値なり、實際にノルマルブチルアルコールより製したるもの (融點 65 度) との混合融點は 65.5 度を示したり。又 NV₃ より製したるものは融點 57 度にしてノルマルブチルアルコール又はイソアミルアルコール融點 61-2 度に比するに稍々低値なり。

分析結果次の如し。

NV ₂ : 物質	0.0821 瓦	窒素	7.4 宛	19 度	752.2 宛	窒素實驗數	10.29%
NV ₃ : *	0.0543 瓦	*	4.55 宛	17 *	755.7 宛	*	9.70%
						計算數	10.45% (C ₁₁ H ₁₄ O ₂ N ₂)
						*	9.93% (C ₁₂ H ₁₄ O ₂ N ₂)

即ち前者はブチルアルコールのものにして NV₃ はアミルアルコールなる事を示したり。

(ロ) フェニルウレタン

NV₂ よりのも融點 51 度、NV₃ よりのも 48 度、前者は正ブチルアルコールのものに近きも後者は混合物なるか融點甚だ低し。

NV₂ よりのも、分析結果は下の如し。

物質	0.0968 瓦	窒素	6.2 宛	15 度	754 宛	窒素實驗數	7.36%
						計算數	7.25% (C ₁₁ H ₁₆ O ₂ N)

即ちブチルアルコールのものに一致す。

結局 NV₂ は略々正ブチルアルコールなること知らる。NV₃ に至りては或はブチルアルコールとアミルアルコールとの混合物に相當するものならんか。

(ハ) 旋 光 度

NV₁-NV₄ を酒精溶液に於て旋光度を測定せるに

$[\alpha]_D^{25} = -0.54$ 度 $r = -0.19^\circ$ $l = 22$ 釐 $C = 15.89\%$

III 第三回試験

1. 酸 酵

以上の成績にては尙生産物を確認するには不充分なるが如きを以て一層の注意を加へ再試験せり。今回の特徴は酵母(前回同物)は初め一白金耳より増殖せしめ可及的油分の收量を大ならしむる事に力めたり。

培養液の組成はハイダック氏液のアスパラギンに代ふるにラセミ性ノルヴァリン3.2瓦を以てしたり。酵母は初め100 鈺に培養せるものを一立のものに移殖し更に之を多数の瓶に分割注加したり。全液30立ノルヴァリン総量96瓦なり。27-30度、十四日目にて醗酵全く終了し醗酵液はフーリング氏液を還元せず。醗酵生産物は下の如し。

酒精 5.0% フーセル油 0.03% 總酸 0.1416%

收得せる酵母乾燥物として49瓦回収せるアミノ酸(蒸溜残渣を前回同様に処理す)は61瓦なり、即ち分解は必ずしも良好ならず。

2. アルコールの收量

初 溜	92鈺	95.0%	ヴァニリン硫酸反応青
第2溜分	146鈺	94.8%	
第3溜分	75鈺	89.5%	(フーセル油 2.25瓦を含有す)
外に油分	10.7瓦		

3. 油分の分溜

前回の如くして油分を分溜せる結果は下の如し。

區 分	沸 點	油 浴 温	收 量	區 分	沸 點	油 浴 温	收 量
N ₁	100-105度	-125度	0.7瓦	N ₆	120-124	142-153	0.9
N ₂	105-115	125-131	0.6	N ₇	124-128	〃	0.7
N ₃	115-118	130-131	5.1	N ₇	残	〃	0.2
N ₄	118-120	130-142	2.6	全			10.8

N₂-N₄は8.3瓦、N₆-N₇は1.6瓦 而して前者の沸點は略々正ブチルアルコールの117度に近似し後者は寧ろアミルアルコールのものと考へらる。香氣も N₂-N₄は正ブチルアルコール特異のものなる事明に感知せらる。

4. 溜分の吟味

(イ) 3.5-チニトロ安息香酸エステル

N ₂ のもの	融 點	70.0度
N ₄ " "	" "	70.5度

之を文獻の正ブチルアルコールのものの融點62度に比するに遙に高値なり。然るに二種の正ブチルアルコールより製したるものは

ノル製正ブチルアルコールより 融點 71度

正ブチルアルコールより " 70度(沸點117度之よりノルヴァリンを製

す)之等の點より見るに正ブチルアルコール、3.5-チニトロ安息香酸エステルの融點は71

度と改むべきなり、前回の試験に於ても65-68°の高値を得たる理由も明かとなりたり。

分析結果下の如し。

N ₂ 物質	0.0673瓦	窒素5.90鈺	13度	765.0鈺	窒素實驗數	10.46%
N ₄ " "	0.0246 " "	2.15 " "	10度	763.5 " "	" "	10.55%
					計算數	10.45% (C ₁₁ H ₁₂ O ₂ N ₂)

(ロ) フェニルウレタン

N ₂ よりのもの	融 點	57度
N ₄ " "	" "	56度

分析結果次の如し。

N ₂ 物質	0.0607瓦	窒素 3.75鈺	18度	762.0鈺	窒素實驗數	7.18%
N ₄ " "	0.0940 " "	5.85 " "	16度	758.4鈺	" "	7.26%
					窒素計算數	7.35% (C ₁₁ H ₁₅ O ₂ N)

(ハ) アルファナフチルウレタン

N₂よりのもの 融點 70° 文獻の正ブチルアルコールのもの(72度)より僅か2度の低値なり。

之等の結果よりして N₂, N₄共に正ブチルアルコールなる事明かなり。

5. 殘物處理

蒸溜残渣よりアミノ酸を回収せる後の含利別は五分し其の一分に硫酸を加へてエーテルにて浸出す(須藤隈川氏装置)

エーテル浸出物はエーテル驅出後稀釋しバリタ水にて中和蒸發乾涸せしむ。次に此物を80%酒精にて處理し可溶部と不溶部とに分ちたり。

(イ) 80%酒精可溶バリウム鹽

硫酸亞鉛水溶液を加へて温め硫酸バリウムの沈澱を濾別せる殘液を濃縮せるも結晶を得るに至らざりき。

(ロ) 80%酒精不溶バリウム鹽

硫酸にて酸性となし再びエーテルにて浸出す。エーテルを驅出すれば無色の結晶を得らる。收量0.7瓦之を温湯より再結するに融點183.5度、銀鹽の分析結果は下の如し。

物質 0.0978瓦、銀 0.0633瓦、銀實驗數 64.72% 計算數 65.03% (C₆H₄O₂Ag₂として)

即ち琥珀酸なり。

斯の如くして全液より琥珀酸3.5瓦を得たる理なり。

結 論

1. ラセミ性ノルヴァリンを糖類の存在に於て清酒酵母にて醗酵せしめ正ブチルアルコールを得たり。即ち本アミノ酸は正にエーリヒ氏説に従ひ分解す。

2. 正ブチルアルコールの3.5チニトロ安息香酸エステルの融點として70-71の新値を得たり。

引 用 文 獻

- (1) E. Abderhalden u. A. Bahn, Ber. Chem. Ges. 63, 914-21, 1930

フーゼル油に関する断片的研究

Several studies on fusel oil.

技 師 山 田 正 一

I. フーゼル油生成防遏法批判

酒精醱酵に於て副成するフーゼル油(高級アルコール類を指示す)はアミノ酸の分解の結果に由来する事明かなるを以て醱酵液に無機アモニウム鹽を加へ置かば酵母はアミノ酸の窒素に先んじて同化し易き無機アモニウム鹽中の窒素を利用する事となり従ひてフーゼル油生成を防遏し得べしとはエーリヒ氏の發案なり⁽¹⁾。本法は既に古き頃高橋偵造博士等に依り清酒の醸造に應用せられたる事あり⁽²⁾。黒野勘六博士亦清酒酵母に依るアミノ酸類の分解を試みられし時同様の考案をせられしが只ロイシンと磷酸アモニウムとを併用せし場合兩者の比率に適量ありて磷酸が或る程度以上に過剰となれば再びフーゼル油生成多量となるの結果を得られたり⁽³⁾。今之を再録すれば下表の如し

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
ロイシン%	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
磷酸	0	0.05	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7
フーゼル油の生成	+++	++	+	±	±	+	++	+++	+++

近頃武富昇氏は本考案を再び試み無機アモニウム鹽添加併用する事は無効なるの結論に到達せられたり⁽⁴⁾。今之を再録すれば下表の如し。

之等の矛盾に對しヴェーニリン硫酸反應に依る比色定量法を用ひて吟味せるに磷酸アモニウム 硫酸アモニウムの添加は明にフーゼル油の生成を防遏し得る事、フーゼル油生成量は全體添加無機アモニウム鹽量に反比例する事、ロイシン添加に於けるフーゼル油生成の好適量は 0.4%程度なる事等を認めたり。

實 験

1. フーゼル油生成最適ロイシン濃度

培養液 ハイダック氏液のアスパラギンにロイシンを代用す。各 50 匁に日本醸造協會清酒酵母一白金耳を[接種 30 度にて培養す。六日目に於けるフーゼル油生成量下の如し。

ロイシン%	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25	0.30	0.35	0.40	0.45	0.50
フーゼル油%	0	0.02	0.03	0.035	0.05	0.05	0.07	0.10	0.08	0.10
酒 精 %	3.6	4.6	5.5	5.5	5.5	5.0	5.5	5.4	4.9	5.4

フーゼル油生成の好適ロイシン濃度は 0.1%附近にあり。

2. ロイシンと磷酸又は硫酸併用の場合に於けるフーゼル油生成量

ハイダック氏液のアスパラギンに代ふるロイシンは黒野博士の場合同様 0.1% を用ひたり、磷酸アモニウムは磷酸二アモニウムを使用す。酵母は前掲同様に一白金耳より培養し七日目に蒸溜す。フーゼル油生成量は次の如し。

ロイシン%	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
磷酸%	0	0.05	0.1	0.2	0.4	0.3	0.5	0.6
フーゼル油%	0.025	0.0225	0.020	0.015	0.0075	0.0075	0.0075	0.0075
ロイシン%	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
硫酸%	0.05	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.6
フーゼル油%	0.0225	0.0125	0.0125	0.0125	0.0100	0.0100	0.0100	0.100

ロイシン量餘り僅少なる時は其の成績も餘り顯著ならず。

3. ロイシン 0.2% の場合

全液 50 匁に酵母(前掲同様)一白金耳を接種す。六日目(28 度)の酒精並にフーゼル油生成量次の如し。

ロイシン%	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
磷酸%	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	1.2
フーゼル油%	0.05	0.025(?)	0.035	0.030	0.025	0.025	0.020
酒 精 %	5.4	4.9	4.9	4.9	4.9	4.9	4.9

引 用 文 獻

- (1) F. Ehrlich: Woch. f. Brau. 24, 343, 357, 369, 1907
- (2) 高橋偵造 日本醸造協會雜誌 第3年 第6號 明治41年
嘉儀金一郎, 山本敬三: 醸, 試, 報 70 號 57-73頁 大正六年
- (3) 黒野勘六: 東京化學會誌 31, 129-164 明治43年
- (4) 武富 昇: 早稻田應用化學會報 12, 21 1930

II. 酵母の種類とフーゼル油生成量

培養液 ハイダック氏液アスパラギンの代りにロイシン 0.4 瓦を用ふ。全量 100 匁

酵 母 一白金耳宛を接種 24-5 度にて培養す

何れも二瓶宛を用る充分醱酵を終了せしめて後蒸溜す。フーゼル油はヴェーニリン硫酸反應を用ひて比色定量す。

協. 協. 夫々日本醸造協會清酒酵母第一號及び第五號

寶 寶酒造株式会社酒精酵母

	培養日數	酒 精 (%)	フーゼル油 (%)		培養日數	酒 精 (%)	フーゼル油 (%)
協 ₁	18	4.8	0.20	協 ₅	18	5.1	0.20
	18	5.3	0.20		18	4.7	0.20

Rasse XII	18	4.7	0.13	酒精酵母	18	5.05	0.08
	18	4.8	0.15		18	4.6	0.08
麥酒酵母 (ユニオン)	18	5.1	0.10	葡萄酒酵母	18	4.4	0.17
	18	4.8	0.10		18	4.4	0.15
ウィリアアノマラ A	18	3.5	0.12	ウィリア, アノマ ラ B	18	3.6	0.18
	18	3.5	0.12		18	3.6	0.10
サッカロミセス	20	2.1	0.06	チゴサッカロミセ ス マヨール	20	3.55	0.10
パストリアノス	20	1.1	0.06				
チゴサッカロミセ ス ソーヤ	20	3.0	0.10	シゴサッカロミ セス	20	1.6	0.07

III. 最近に於ける清酒のフーゼル油含量

清酒のフーゼル油含量に就ては古く高橋偵造博士は四十一點に就て0.02—0.13%の間にあるを指摘せられ、佐田樂造氏は大正元年清酒六十二點に就て0.015—0.08%平均0.043%の數を得られたり。

之等は古き年代のもの屬す而して近年の清酒が當時とは其の一般成分に於てすら甚だしく相違するものあるを見るも果して如何なる數値を與へるものか檢するは徒勞には非ざるものと信ず。

又搗減の大なる白米を用ひて製したる清酒は小なる物を用ひて製したるものに比しフーゼル油含量に大なる逕庭あらんとは一般に考へらるゝ所の如し。近時の如く五割、六割の高度精白をも行はるゝ場合に之等の比較をも試みて其の間の眞の事情をも明にせんと欲したり。

實 験

フーゼル油定量法はヴァニリン硫酸比色法(佐田氏變法 醸・試・報第44號13—14頁大正元年)に依れり。茲に注意すべきは木村より清酒に移行し來る成分も本試薬に幾分の影響を及ぼすと云ふ事なり(東恒人氏理研彙報7,769—70 昭和3年)、即ち後の搗減少き清酒は何れも初呑切時に採取せるものなるを以て、此の考慮を加ふべきものならんも便宜上其儘蒸溜して原容に復したるものに就て定量したり。

1. 高度精白の清酒

昭和六年春期全國より蒐集せる新酒百六十三點中、鑑評の結果上位のもの十八點

番 號	比 重	酒 精%	總 酸%	エキス%	糖 分%	フーゼル 油 %
28	1.006	16.05	0.1322	6.380	3.480	0.02
35	1.002	16.20	0.1265	5.900	3.438	0.02
53	1.001	17.85	0.1552	5.246	2.680	0.03
68	1.007	16.30	0.1610	7.107	3.310	0.03
70	1.002	16.46	0.1380	5.768	3.565	0.02

90	1.005	15.85	0.1495	6.026	3.523	0.03
93	1.002	16.60	0.1380	5.944	2.725	0.05
94	1.000	17.10	0.1437	5.590	2.513	0.04
114	1.000	17.15	0.1552	5.660	3.140	0.03
122	1.002	16.70	0.1550	5.856	3.820	0.06
137	1.002	17.35	0.1552	6.086	3.778	0.03
142	1.004	15.45	0.1437	6.168	3.650	0.04
143	1.002	17.00	0.1380	5.716	3.778	0.03
144	1.008	16.05	0.1552	6.532	4.203	0.02
149	0.998	16.95	0.1495	5.034	2.811	0.04
150	1.000	16.20	0.1322	5.074	2.640	0.03
155	1.002	16.35	0.1495	5.832	3.523	0.03
158	1.002	17.35	0.1495	5.234	3.523	0.02
最大						0.06
最小						0.02
平均						0.032

2. 醸造試験所に於ける新酒初呑切時(昭和6年6月)

搗減は頗に於ては全部3割醗麹亦3割なり。次表は醗用掛米の搗減を示したり。

番 號	比 重	酒 精%	總 酸%	エキス%	糖 分%	フーゼル 油 %	搗 減
1	1.003	17.05	0.1495	5.476	3.140	0.04	—
2	0.998	16.40	0.1495	4.710	2.342	0.05	0.13
3	1.000	16.30	0.1667	4.911	2.428	0.03	0.13
4	1.001	16.35	0.1552	5.564	2.300	0.07	0.20
5	1.002	16.35	0.1437	5.588	2.385	0.05	0.20
6	1.000	17.40	0.1437	5.110	2.300	0.04	0.20
7	0.999	16.50	0.1608	4.674	2.385	0.03	0.20
8	0.998	17.40	0.1667	4.897	2.342	0.03	0.20
9	1.000	16.55	0.1495	4.990	2.770	0.04	0.20
10	1.003	16.50	0.1437	5.644	2.712	0.04	0.30
11	1.004	15.54	0.1437	6.164	2.755	0.06	0.30
12	0.999	16.65	0.1437	5.374	2.670	0.04	0.30
13	1.003	15.50	0.1475	5.800	2.300	0.04	0.20
14	1.004	17.50	0.1608	6.168	2.970	0.03	0.20
15	0.997	16.95	0.1495	4.128	1.630	0.05	0.20
16	0.999	15.90	0.1380	4.554	1.865	0.05	0.20
17	1.005	15.90	0.1782	5.680	1.800	0.06	0.20
18	1.000	15.50	0.1437	4.808	2.172	0.04	—
最大						0.07	
最小						0.03	
平均						0.044	

3. 東京稅務監督局管内に於ける比較的精白米度小なる白米を用ひて製したる清酒(初呑切時)

番 號	比 重	酒 精%	總 酸%	糖 分%	フーゼル油 %	摘 減
1	0.991	19.05	0.1830	—	0.08	酢醪共麴米 0.15 掛米 0.10
2	0.988	18.60	0.1905	0.6222	0.02	麴, 掛米共酢 0.10 醪 0.08
3	0.990	16.70	0.1830	—	0.03	全 部 0.10
4	0.999	16.70	0.1905	—	0.06	全 部 0.10
5	0.989	17.70	0.2185	—	0.04	全 部 0.05
6	0.090	18.60	0.1905	—	0.07	麴, 掛米共酢 0.14 醪 0.10
7	0.995	17.70	0.1830	—	0.08	麴 0.12 掛米 0.10
8	0.992	17.55	0.1705	—	0.04	麴 0.15 掛米 0.07
9	0.998	17.15	0.2071	—	0.08	全 部 0.15
10	0.988	18.75	0.1830	0.7544	0.06	酢 0.10 醪 0.08
11	0.998	16.70	0.1830	—	0.09	全 部 0.10
12	1.010	15.90	0.2309	3.685	0.10	酢0.20 醪麴0.15 掛米0.10
13	0.990	16.70	0.1905	—	0.06	全 部 0.10
14	0.998	17.55	0.2071	—	0.09	全 部 0.15
15	0.990	17.55	0.1830	—	0.08	全 部 0.08
16	0.993	17.70	0.1905	—	0.05	酢醪共麴 0.10 掛米 0.07
17	0.999	17.40	0.1705	—	0.06	酢 0.15 醪 0.12
最大					0.10	
最小					0.02	
平均					0.061	

摘 要

1. 清酒 53 點中のフーゼル油含有量は 0.02—0.10 % の間にありたり。
2. 二三の例外はあるも概して精白度高き白米にて製したるもの程フーゼル油含量少き傾向あり。
終りに貴重なる資料を惠與せられし東京稅務監督局管内酒造家並びに蒐集に多大の御盡力下されし鑑定部各位の御好意に深厚の謝意を表す。

IV. 吸着劑に依るフーゼル油の脱除

一般に各種の活性炭素其他の吸着劑は酒精溶液中よりフーゼル油其他の不純物を吸着脱除すと謂はる。今はフーゼル油に關してのみ其の效力を検したり。

實 験

1. 活性炭素の量

0.1 % アミルアルコールを含む 30 % 酒精溶液に活性炭素を加へ良く振盪し 20.5 時間常溫に放置し上澄液に就きフーゼル油を定量す。

番 號	活 性 炭(瓦)	フーゼル油 (%)	番 號	活 性 炭(瓦)	フーゼル油 (%)
1	0	0.10	6	0.050	0.08
2	0.004 (石當20匁)	0.10	7	0.100	0.06
3	0.008	0.10	8	0.200	0.03
4	0.012	0.10	9	0.500	0.02
5	0.025	0.10			

相當多量に添加せざれば效力少し勿論振盪時間等も影響を及ぼす要項ならん。

2. 各種吸着劑の比較

上と同様の酒精溶液に各種吸着劑夫々 0.2 瓦を加へ 25 時間中 2 回振盪す。

	吸 着 劑	フーゼル油 (%)		吸 着 劑	フーゼル油 (%)
1	骨炭(メルク製)	0.08%	7	〃	0.06
2	活性炭素(植物性)	0.09	8	〃	0.10
3	〃	0.08	9	〃	0.03
4	〃	0.07	10	酸性白土	0.09
5	〃	0.04 (1の試験と同物)	11	木 炭	0.10
6	〃	0.05			

清酒中に偽和せられたる蔗糖の検出に就て

On the detection of cane sugar added as adulterant in Sake.

技 師 山 田 正 一
研 修 員 黒 野 吾 市

近年清酒の味に對する一般の嗜好漸時旨口濃醇の傾向を帯び自然従前のものに比し甘味も甚だしく加はりたるを感知せらるるなり。爲めに醸造法に於ても其の是非は別問題とするも四段仕込法の如きが行はるるに至り製品の比重 1.015 と云ふが如きは背て珍稀とするに足らざるの状況に到達せり。此の時に當り簡単に甘蔗糖の如きの添加により甘口濃醇を摸せんとするの手段の行はれずとは保し難し。而も此は税法上からは許されざる所なり。

今清酒に添加せられたる蔗糖の検出に就て従來行はれたる方法を見るにレゾルシン鹽酸法は甚だ簡單にして好都合なるも味淋の如き又甚だしく糖分の多量なる清酒に於て等しく紅色を呈する傾向ありて其處に幾分の確實味を缺くの嫌あり。一方硝酸コバルトとアルカリに依るものは色調稍々不鮮明にして單獨の検出法としては適合せりとは考へられず。此處に於て余輩は一般食料品に於て行はるるローテンフッサー法 (Rothenfusser: Zeitschrift. Unters. d. Nahr. u. Genussm. 24.558, 1912) を清酒に於て試みたるに其の方法たるや幾分煩雜なるを免れずと雖も正確度は充分使用に堪ふる程度なるを認めたり。

即ち嚴密なる試験を要する場合には本法をレゾルシン鹽酸法と平行して行ひ確實を期すべきものなり。其の感度清酒に於ては蔗糖含量 0.05% 迄を判然と検出し得らる。味淋の糖分の如きも本法施行上支障を來す事無し。

實 験

資料 清酒を溶媒とせる蔗糖の 1% 溶液 0.5% 溶液 0.1% 溶液 0.05% 溶液 0.01% 溶液 及無添加の溶液等。

I レゾルシン鹽酸法

清酒 5 匁を 100 匁容小ビーカーに取りレゾルシン耳かき一杯鹽酸(1:3) 5 匁を加へ金鍋上直火にて徐々に加熱僅かに煮沸するに至らしむ。

其時の呈色は下の如し。

	蔗 糖	着 色		蔗 糖	着 色
1 標準	0	橙 色	4	0.5%	濃橙紅色
2	0.05%	橙 色	5	1.0%	濃橙紅色
3	0.10%	橙 色	6	味淋	濃橙紅色

此の場合 2,3 は 1 に比し僅かに紅色味を帯びるが如きも判然たらず或は一層糖分多き清酒にては果して判別し得るか否か疑はし。

4,5 は劃然たる相違あり、而して若し故意に蔗糖を添加する事ありとすれば恐らく 0.5% 以上なるべきを以て本法は簡単に蔗糖を検出する手段としては誠に好都合なるべし。味淋は上の如く 0.5-1% の蔗糖を添加せる清酒と略々同程度の紅色を與ふる事従來諸家の觀察したる處と一致す。要之するに本法は清酒中自然に存在する糖分が多ければ多き程其の蔗糖検出の確實味を失するものと云ふべし。

II 硝酸コバルト及び苛性曹達に依る法

檢體 15 匁に硝酸コバルトの 5% 溶液 5 匁を加へ良く振盪し之に 50% 苛性曹達液を加へて現はるゝ呈色を見るなり此時蔗糖は帶赤紫色葡萄糖は藍青色を示すべきなり。

今實際に蔗糖 1.0% 含有のものを標準(無添加)に比較するに前者は藍色中僅かに赤紫色味を認め得らるゝ程度にして標準の藍色との差著しからず、少くとも清酒に於ては前法より遙に劣れる検出法と云はざるを得ず。

III ローテンフッサー氏法

試薬 1 チフェニラミン液。チフェニラミン 2 瓦を酒精 20 匁に溶解し之に氷醋酸 60 匁、濃鹽酸 120 匁を加ふ。

本試薬は常に試験の都度新に調製する事絶対に必要なるが如し。

1. 水酸化バリウム
2. 3% 過酸化水素水

施行法。

水酸化バリウム 6 瓦を 25 匁の温湯に溶解し之に 3% 過酸化水素水 25 匁を攪拌しつゝ添加す直ちに黄白色の過酸化バリウムの沈澱を生ずべし。

本混合液を約徑 10 匁のニツケル皿に採り檢體 5 匁を加へ攪拌し之を前以て煮沸せる湯煎上に致すべし。初めは屢々攪拌し約 5 分後淡黄色一層濃厚となるに及び更に過酸化水素水の少量を加へ全く靨色するに至らしむ(過剰を避く) 尙屢々攪拌しつゝ 20 分間放置せる後小漏斗にて濾過し濾液 5 匁を試験管に取り之に 5 匁のチフェニラミン溶液を混じ煮沸せる湯煎中に投じ、約 7-8 分間後呈色を比較す、蔗糖の存在に於ては青藍色を與へ無添加のものは淡綠色なり。

本法に依れば清酒中蔗糖の約 0.05% 迄は劃然と検出し得らる又 0.01% の場合も注意し

て観察すれば無添加のものとの差を認むる事至難に非ず。但し0.01%—0.05%間の呈色の差を見出す事は困難なり。

注意 チフェニラミン溶液の調製古きものに於ては0.01%—0.05%程度のもの及び標準(無添加)のもの共に淡青藍色を呈し其の區別困難なり。

摘 要

1. 清酒に添加せられたる蔗糖の検出法としてレゾルシン鹽酸法以外にローテンフッサー氏法を推奨す。
2. 後者に依れば清酒中蔗糖の0.05%迄は明に検出し得らる。

酒母、醪、清酒及び合成酒中の窒素物に就て

Studies on nitrogenous substances in *moto-mash*,
moromi-mash, *saké* and artificial *saké*.

技 手 杉 山 晋 朔
助 手 長 橋 清

緒 言

酒母醪及び清酒中に種々の蛋白分解物が生ずる事は想像せらるゝところなれども其の詳細なる研究報告は比較的少し。古く高橋博士⁽¹⁾は清酒中のアミノ酸類に就て試験しアラニン、ロイシン、プロリン、アスパラギン酸、チロシン、シスチン、トリプトファン、ヒスチジン、チロゾール等の存在を證明せり。而してトリプトファンは新酒中には存すれども古酒中には漸次減少して痕跡又は消失する事を報告せり。最近黒野博士等⁽²⁾は麴菌酵素中にトリプトファンを分解する酵素を發見しトリプトファンナーゼと命名し且つ清酒醸造工程中に於けるトリプトファンの消長に就て試験せる報告あり。清酒中の窒素物特に有機鹽基に就て詳細なる研究を行へるは黒野博士⁽³⁾にして健全酒と火落酒とに就て種々の鹽基を分離定量せり。コリン、ヒスタミンは健全酒火落酒等に含有しリヂンは健全酒にのみ存在しカダベリンは火落酒のみに存在する事を報告せり。

而して同博士に依れば清酒中の蛋白質は麥酒中の蛋白質とは大いに異り非常に退化せるものにして大部分はペプトン級に屬し僅かに第二次アルブモースを含有す。ポリペプチドは比較的多く且つ該物質は火入後殆んど分解されてアミノ酸に變ずるものの如し。

清酒中の蛋白質は一般にスツツァーの水酸化銅法に依り定量せられるも該方法にては蛋白質以外にアルブモース、ペプトン等の如き物質の一部分は必然的に沈澱するを以て其の結果は決して精密なるものに非ざるなり。實際清酒中の蛋白質は既に黒野博士の記載する如く極めて退化せるものにして純蛋白質としては全く存在せざる状態なれどもスツツァーの水酸化銅法に於ては清酒中の純蛋白質は約0.1—0.15%の間にあり。従つて清酒中の窒素物特にペプチド以上の物質に就ては他の方法に依らざれば精密に分類し能はざるなり。

清酒中の窒素物が清酒の香味に重大なる影響あり且つ火持の如き問題にも關係ある事は論議の餘地を存せざれども未だ明瞭なる研究結果なし。又酒母醪の如きものに於て其の製造工程中に於ける窒素物の變化を研究する事は實地製造上に於ても將又學術的にも重要な問題なり。

最近ミルベック等⁽⁴⁾はシュルニグ⁽⁵⁾の蛋白分類法を修正し之を麥芽汁中の窒素物の分類に

應用し之を四區分に分類せり。著者等の一人は此の方法を應用して各種味淋中の窒素物を同じく四區分に分類せり。著者等は更に同方法を用ひて酒母及醪の製造工程中に於ける窒素物並に清酒の窒素物に就て分類を行ひ尙各種の合成酒に就ても窒素物の分類を行へり。其の結果は甚だ興味ある事實を得たるものにして特に山廢醪と速釀醪との間には窒素物の出現に重大なる差異を認め又合成酒と普通清酒との間には窒素物の著しき相違ある事を認めたり。此の結果は實地酒母製造上にも大いに考慮すべき問題なるのみならず學術的にも甚だ興味ある事柄なりとす。又合成酒と清酒との間に於ける窒素物の相違は將來合成酒製造上にも大いに考慮すべき點なりと信ずるものなり。

今次に其の實驗の結果を報告せんとす。

實 驗

分析は山廢醪四本速釀醪三本元添醪一本醪一本清酒(新酒)十本合成酒一本別に比較して古酒一本を行へり。酒母及び醪に於ては製造工程中毎日供試品を採取し一般分析及び窒素物の分類を行へり。窒素物の分類方法は前記の如くミルベツク等の修正方法にして著者が味淋の窒素物分類に應用したるものにして其の方法を簡単に記載すれば次の如し。

1. 供試品 20g を採り硫酸を以て $\text{PH}=1-2$ に調節し硫酸苦土を飽和して生ずる沈澱を第一區分とす。此の區分に屬するものは主としてアルブミン及びグロブリンにしてプロペトンを含有す。
2. 第一區分を分離したるものを中和し 0.5 瓦の昇汞を加へて數日放置し生じたる沈澱をケルゲー法にて測定し第二區分の窒素とす。此の區分に屬するものは相當退化せるものにしてシェールニグ及びミルベツクは之をデニュークレインと記載せり。
3. 第二區分を分離したるものに 0.5 瓦の醋酸ウラニウムを添加し數日放置し生ずる沈澱を第三區分とす。此の區分に屬するものは殆んど純ペプトンなり。
4. 第四區分の窒素は全窒素より第一、第二及び第三區分の窒素を減じたるものにして此の區分に屬するものは大部分ペプチド及びアミノ酸級の窒素なり。
5. 著者等は別にフォルモル法に依るアミノ態窒素を定量し之等の窒素區分と比較せり。次に一般成分及び窒素の分類表を示す。

1 酒母の一般成分及び窒素物の分析

酒母は山卸廢止醪四本速釀醪三本元添醪一本合計八本の酒母に就て其の經過中一般成分の分析を行へり。

山卸廢止醪と速釀醪とは醪立に於て既に根本的に異り前者は單に普通醪の山卸操作を廢

止したるのみなるも後者は乳酸及び純粹酵母を應用して短時日に酒母製造を行ふ方法にして兩者の製造工程は速釀醪は山卸廢止醪のフクレ前の操作を省略したるものと見る事を得。而して其の出來上りたる酒母に就ては一般成分の分析よりしては甚だ重大なる差を認め難きも五官上に於ては速釀醪は山廢醪或ひは生醪に對して其の香味の濃醇を缺ぐところあり延いて之が醪に到り酒質に影響すると謂はる。之は酒造技術の著しく進歩したる今日濃醇なる清酒は是非共濃醇なる醪を必要とし濃醇なる醪は必然的に濃醇なる酒母より得らるゝ事は一般に認められて居る事實なるが故に山廢及び速釀兩醪間に何物か相違あるものとの見解は首肯し得るところなり。

然るに山廢醪及び速釀醪の全窒素物を各種に分類したるに兩者間に甚だ異るところあるを知れり。清酒の「ゴク」と稱し又は濃醇味と稱するものが清酒中のエキス分に關係あるは勿論なるも單に炭水化物のみにては其の味を構成するものでなく窒素物の必要なる事は當然なる事柄なり。

山廢及び速釀兩醪間に窒素物の差ある事は上記の意味に於てやがて五官上に於ける酒母の濃醇味に影響を及ぼすものならずやと思考し得るものなり。

次に兩酒母に就て行へる一般成分分析及び窒素物の分析結果を示す。

第 一 表
第一號酒母一般成分分析表

月 日	日 順	酒 母 温 度	操 作 状 態	比 重	酒 精	總 酸 (琥珀酸)	PH 價	「アミノ」酸糖 分 (アミノ糖) (葡萄糖)
12 7	3	9.0	打 瀾	—	—	—	5.80	—
	9	10.5 15.0	初 暖 氣 入	1.0955	—	0.0585	5.99	0.1425
	10	13.0 16.0	暖 氣 入	1.0975	—	0.1035	5.78	0.1950
	11	13.5	暖 氣 休	1.1010	—	0.2115	4.64	0.3075
	12	12.0 16.0	暖 氣 入	1.1060	—	0.2970	4.60	0.4200
	13	12.5 16.0	同 上	1.1100	—	0.4410	4.67	0.5588
	14	13.0 16.0	同 上	1.1105	—	0.4950	—	0.6300
	15	12.5 16.0	「フクレ」初期	1.1120	—	0.5220	4.08	0.6825
	16	17.0 21.0	湧 付	1.1115	2.00	0.5985	3.84	0.6825
	17	20.0 24.0	澄 酵	1.0950	4.30	0.7920	3.47	0.6225
	18	24.5	同 上	1.0965	8.70	0.9000	3.23	0.5888
	19	23.5	醪 分	1.0355	10.40	0.9810	3.25	0.5250
	20	13.0	醪 分 中	1.0295	11.50	1.0170	3.25	0.5475
	21	11.5	醪 分 戻	1.0265	12.50	1.0170	3.27	0.5175

第二表
第一號酒母窒素物分析表

月日	日順	Pn値	操作状態	全窒素	第一區分	第二區分	第三區分	第四區分	「アミノ」 態窒素
12 7	3	5.80	打 瀧	0.0467	0.0049	0.0053	0.0070	0.0295	—
9	5	5.99	初 暖 氣 入	0.0532	0.0056	0.0070	0.0091	0.0315	0.0266
10	6	5.78	暖 氣 入	0.0784	0.0133	0.0088	0.0105	0.0458	0.0364
11	7	4.64	暖 氣 休	0.1484	0.0326	0.0091	0.0119	0.0948	0.0574
12	8	4.60	暖 氣 入	0.2044	0.0158	0.0116	0.0154	0.1616	0.0784
13	9	4.67	同 上	0.2086	0.0070	0.0123	0.0175	0.1718	0.1043
14	10	—	同 上	0.2128	0.0056	0.0127	0.0189	0.1756	0.1176
15	11	4.08	「フクレ」初期	0.2226	痕 跡	0.0133	0.0217	0.1870	0.1274
16	12	3.84	湧 付	0.2268	非 濁 濁	0.0140	0.0231	0.1897	0.1274
17	13	3.47	醱 酵	0.2100	同 上	0.0161	0.0245	0.1694	0.1162
18	14	3.23	同	0.1960	同 上	0.0182	0.0259	0.1519	0.1099
19	15	3.25	醱 分	0.2016	同 上	0.0189	0.0287	0.1540	0.0980
20	16	3.25	醱 分 中	0.2044	同 上	0.0193	0.0301	0.1550	0.1022
21	17	3.27	醱 分 戻	0.2100	同 上	0.0210	0.0315	0.1575	0.0966

第三表

第二號酒母一般成分分析表

月日	日順	酒 母 温 度	操作状態	比 重	酒 精	總 酸 (琥珀酸)	Pn値	「アミノ」 (グリコロール)	醱 糖 分 (葡萄糖)
12 7	3	9.0	打 瀧	1.0925	—	0.0540	6.00	0.1163	—
9	5	10.5 14.5	初 暖 氣 入	1.0950	—	0.0630	5.85	0.1313	—
10	6	13.0 15.5	暖 氣 入	1.0985	—	0.0990	4.98	0.2213	—
11	7	13.5	暖 氣 休	1.1020	—	0.2160	4.55	0.3075	21.098
12	8	12.0 15.5	暖 氣 入	1.1065	—	0.3060	4.43	0.4200	24.578
13	9	13.0 15.5	同 上	1.1095	—	0.4500	4.29	0.5063	—
14	10	13.0 16.2	同 上	1.1120	—	0.4950	4.08	0.5588	—
15	11	13.0 16.0	「フクレ」	1.1120	—	0.5130	4.08	0.6038	24.600
16	12	18.0 20.0	湧 付	1.1030	3.50	0.6120	3.63	0.6000	—
17	13	19.0 21.0	醱 酵	1.0835	6.80	0.7875	3.23	0.5438	19.065
18	14	21.0 24.0	同 上	1.0425	10.10	0.8550	3.22	0.5213	—
19	15	22.0	醱 分	1.0255	11.70	0.8910	3.20	0.5213	8.200
20	16	13.0	醱 分 中	1.0195	12.80	0.9270	3.20	0.5250	—
21	17	11.2	醱 分 戻	1.0175	13.50	0.9270	3.21	0.4575	6.560

第四表
第二號酒母窒素物分析表

月日	日順	Pn値	操作状態	全窒素	第一區分	第二區分	第三區分	第四區分	「アミノ」 態窒素
12 7	3	6.00	打 瀧	0.0504	0.0049	0.0056	0.0063	0.0336	0.0217
9	5	5.85	初 暖 氣 入	0.0574	0.0056	0.0070	0.0088	0.0360	0.0245
10	6	4.98	暖 氣 入	0.0840	0.0116	0.0084	0.0105	0.05 5	0.0418
11	7	4.5	暖 氣 休	0.1540	0.0319	0.0091	0.0123	0.1007	0.0574
12	8	4.43	暖 氣 入	0.2016	0.0130	0.0109	0.0161	0.1616	0.0784
13	9	4.29	同 上	0.2100	0.0063	0.0119	0.0 65	0.1753	0.0945
14	10	4.08	同 上	0.2128	0.0056	0.0119	0.0189	0.1764	0.1043
15	11	4.08	「フクレ」	0.2170	痕 跡	0.01 3	0.0210	0.1827	0.1127
16	12	3.63	湧 付	0.2100	非 濁 濁	0.0137	0.0210	0.1753	0.1120
17	13	3.23	醱 酵	0.1890	同 上	0.0161	0.0259	0.1470	0.1015
18	14	3.22	同	0.1904	同 上	0.0182	0.0280	0.1442	0.0973
19	15	3.20	醱 分	0.1974	同 上	0.0196	0.0280	0.1498	0.0973
20	16	3.20	醱 分 中	0.2030	同 上	0.0203	0.0305	0.1522	0.0980
21	17	3.21	醱 分 戻	0.2128	同 上	0.0224	0.0308	0.1596	0.0854

第五表

第三號酒母一般成分分析表

月日	日順	酒 母 温 度	操作状態	比 重	酒 精	總 酸 (乳 酸)	Pn値	「アミノ」 (グリコロール)	醱 糖 分 (葡萄糖)
12 7	3	10.5	打 瀧	1.1030	—	0.0855	5.87	0.1350	—
9	5	13.0 16.2	初 暖 氣 入	1.1050	—	0.1260	5.09	0.2100	—
10	6	14.2	暖 氣 入	1.1105	—	0.2025	4.59	0.3450	—
11	7	12.5 16.0	暖 氣 休	1.1150	—	0.2475	4.50	0.42 8	23.925
12	8	13.5 17.0	暖 氣 入	1.1175	—	0.3285	4.45	0.5175	25.448
13	9	13.5 17.0	同 上	1.1205	—	0.3420	4.30	0.5963	—
14	10	13.8 17.5	同 上	1.1230	—	0.3420	—	0.6750	—
15	11	13.6 16.2	同 上	1.1230	—	0.3420	3.91	0.7313	27.265
16	12	13.5 16.2	同 上	1.1245	—	0.3600	3.86	0.7725	—
17	13	13.0 14.8	同 上	1.1250	—	0.3780	3.75	0.8025	27.470
18	14	13.0 16.0	同 上	1.1265	—	0.4230	3.68	0.8212	—
19	15	12.5 18.0	「フクレ」初期	1.1270	—	0.4410	3.65	0.8138	27.675
20	16	12.8 16.0	湧 付	1.1275	—	0.4680	3.63	0.7725	28.085
21	17	20.0 23.0	醱 酵	1.1170	1.80	0.6300	3.47	0.7725	26.650

22	18	23.0 24.0	同	上	1.0915	5.50	0.8730	3.38	0.7200	22.375
23	19	26.0	醎	冷	1.0695	8.70	0.9495	3.34	0.6750	16.810
24	20	21.0	同	上	1.0550	10.20	0.9630	3.32	0.5925	13.500
25	21	17.0	同	上	1.0495	11.10	0.9810	3.30	0.6150	11.500
26	22	14.8	同	上	1.0450	12.30	0.9360	3.30	0.6975	10.250
27	23	11.3	同	上	1.0430	12.80	0.9450	3.32	0.6900	9.750

第六表
第三號酒母窒素物分析表

月日	日順	PH價	操作状態	全窒素	第一區分	第二區分	第三區分	第四區分	「アミノ」 態窒素
12 7	3	5.87	打 瀧	0.0560	0.0070	0.0049	0.0077	0.0374	0.0232
9	5	5.09	初 暖 氣 入	0.1022	0.0196	0.0070	0.0098	0.0358	0.0392
10	6	4.59	暖 氣 入	0.1624	0.0455	0.0105	0.0126	0.0938	0.0644
11	7	4.50	暖 氣 休	0.1848	0.0406	0.0105	0.0133	0.1204	0.0791
12	8	4.45	暖 氣 入	0.2100	0.0329	0.0109	0.0161	0.1501	0.0966
13	9	4.30	同 上	0.2142	0.0175	0.0116	0.0168	0.1683	0.1113
14	10	—	同 上	0.2212	0.0081	0.0116	0.0168	0.1849	0.1260
15	11	3.91	同 上	0.2296	0.0060	0.0126	0.0189	0.1921	0.1365
16	12	3.86	同 上	0.2296	痕 跡	0.0133	0.0195	0.1937	0.1442
17	13	3.75	同 上	0.2380	非 潤 濁	0.0154	0.0310	0.2016	0.1498
18	14	3.68	同 上	0.2450	同 上	0.0175	0.0224	0.2051	0.1533
19	15	3.65	「フクレン」初期	0.2380	同 上	0.0182	0.0231	0.1967	0.1519
20	16	3.63	湧 離 付	0.2352	同 上	0.0186	0.0238	0.1928	0.1442
21	17	3.47	醎 酵	0.2296	同 上	0.019	0.024	0.1862	0.1442
22	18	3.38	同 上	0.2156	同 上	—	—	—	0.1344
23	19	3.34	醎 冷	0.2072	同 上	0.0189	0.0280	0.1603	0.1260
24	20	3.32	同 上	0.2072	同 上	0.0203	0.0308	0.1561	0.006
25	21	3.30	同 上	0.2044	同 上	0.0210	0.0322	0.1512	0.1148
26	22	3.30	同 上	0.2128	同 上	0.0224	0.0322	0.1582	0.1288
27	23	3.32	同 上	0.2184	同 上	0.0224	0.0329	0.1631	0.1302

第七表
第四號酒母一般成分分析表

月日	日順	酒 母 温 度	操作状態	比 重	酒 精	總 酸 (乳 酸)	PH價	「アミノ」 (グリコロール)	酸 糖 分 (葡萄糖)
12 7	3	—	打 瀧	1.1020	—	0.1080	5.85	0.1500	—
9	5	—	初 暖 氣 入	1.1025	—	0.1350	4.74	0.2138	—
10	6	—	暖 氣 入	1.1075	—	0.1755	4.66	0.3300	—
11	7	—	同 上	1.1110	—	0.1890	4.57	0.3788	23.708
12	8	—	同 上	1.1125	—	0.2385	4.49	0.4425	24.360
13	9	—	同 上	1.1165	—	0.2835	4.41	0.5213	—
14	10	—	同 上	1.1195	—	0.3060	4.32	0.6225	—
15	11	—	同 上	1.1215	—	0.3240	4.13	0.6900	26.650

16	12	—	同	上	1.1220	—	0.3330	3.98	0.7350	—
17	13	—	同	上	1.1250	—	0.3510	3.88	0.7688	27.265
18	14	—	同	上	1.1265	—	0.3690	3.75	0.8063	—
19	15	—	同	上	1.1265	—	0.3780	3.65	0.8250	27.265
20	16	—	同	上	1.1295	—	0.4130	3.61	0.8550	28.290
21	17	—	同	上	1.1300	—	0.4230	3.59	0.8625	27.880
22	18	—	「フクレン」	付	1.1315	—	0.4590	3.51	0.8925	28.495
23	19	—	湧 離	醎	1.1290	—	0.5760	3.34	0.8663	27.265
24	20	—	同	上	1.1055	3.00	—	3.32	0.7350	24.125
25	21	—	同	上	1.0820	6.90	0.8820	3.30	0.6450	19.250
26	22	—	醎	冷	1.0610	10.30	0.9540	3.30	0.7238	13.500
27	23	—	同	上	1.0490	11.80	0.9720	3.30	0.7125	10.500
28	24	—	同	上	1.0395	12.50	0.9900	3.29	0.7500	9.450
29	25	—	同	上	1.0370	13.00	0.9810	3.30	0.7650	8.500

第八表
第四號酒母窒素物分析表

月日	日順	PH價	操作状態	全窒素	第一區分	第二區分	第三區分	第四區分	「アミノ」 態窒素
12 7	3	5.85	打 瀧	0.0602	0.0070	0.0049	0.0079	0.0401	0.0280
9	5	4.74	初 暖 氣 入	0.0980	0.0186	0.0084	0.0098	0.0612	0.0399
10	6	4.66	暖 氣 入	0.1498	0.0448	0.0098	0.0119	0.0833	0.0616
11	7	4.57	同 上	0.1778	0.0523	0.0101	0.0133	0.1025	0.0707
12	8	4.49	同 上	0.1932	0.0553	0.0105	0.0133	0.1141	0.0826
13	9	4.41	同 上	0.2072	0.0364	0.0112	0.0154	0.1442	0.0973
14	10	4.32	同 上	0.2184	0.0161	0.0123	0.0175	0.1725	0.1162
15	11	4.13	同 上	0.2268	0.0038	0.0126	0.0182	0.1872	0.1288
16	12	3.98	同 上	0.2324	0.0060	0.0133	0.0196	0.1935	0.1352
17	13	3.88	同 上	0.2366	非 潤 濁	0.0161	0.0210	0.1995	0.1435
18	14	3.75	同 上	0.2436	同 上	0.0182	0.0224	0.2030	0.1505
19	15	3.65	同 上	0.2436	同 上	0.0189	0.0224	0.2023	0.1540
20	16	3.61	同 上	0.2478	同 上	0.0189	0.0210	0.2079	0.1596
21	17	3.59	同 上	0.2492	同 上	0.0182	0.0245	0.2065	0.1610
22	18	3.51	「フクレン」	0.2492	同 上	—	—	—	0.1666
23	19	3.34	湧 離 付	0.2520	同 上	0.0189	0.0259	0.2072	0.1617
24	20	3.32	醎 酵	0.2352	同 上	0.0196	0.0315	0.1841	0.1372
25	21	3.30	同 上	0.2128	同 上	0.0196	0.0329	0.1603	0.1204
26	22	3.30	醎 冷	0.2100	同 上	0.0189	0.0315	0.1596	0.1330
27	23	3.30	同 上	0.2184	同 上	0.0189	0.0322	0.1673	0.1330
28	24	3.29	同 上	0.2212	同 上	0.0210	0.0315	0.1737	0.1400
29	25	3.30	同 上	0.2268	同 上	0.0217	0.0322	0.1729	0.1428

第九表

第十二號酒母(速醸醪)一般成分分析表

Table with 11 columns: 月日, 時, 日順, 酒母温度, 操作状態, 比重, 酒精, 總酸(琥珀酸), Pn價, 「アミノ」酸糖分(グリコロール)(葡萄糖). Rows 12-27.

第十表

第十二號酒母(速醸醪)窒素物分析表

Table with 11 columns: 月日, 時, 日順, Pn價, 操作状態, 全窒素, 第一區分, 第二區分, 第三區分, 第四區分, 「アミノ」酸糖分(グリコロール)(葡萄糖). Rows 12-27.

第十一表

第十三號酒母一般成分分析表

Table with 11 columns: 月日, 時, 日順, 酒母温度, 操作状態, 比重, 酒精, 總酸(琥珀酸), Pn價, 「アミノ」酸糖分(グリコロール)(葡萄糖). Rows 12-22.

Table with 11 columns: 月日, 時, 日順, 酒母温度, 操作状態, 比重, 酒精, 總酸(琥珀酸), Pn價, 「アミノ」酸糖分(グリコロール)(葡萄糖). Rows 23-29.

第十二表

第十三號酒母窒素物分析表

Table with 11 columns: 月日, 時, 日順, Pn價, 操作状態, 全窒素, 第一區分, 第二區分, 第三區分, 第四區分, 「アミノ」酸糖分(グリコロール)(葡萄糖). Rows 12-29.

第十三表

第二十一號酒母(速醸醪)一般成分分析表

Table with 11 columns: 月日, 時, 日順, 酒母温度, 操作状態, 比重, 酒精, 總酸(琥珀酸), Pn價, 「アミノ」酸糖分(グリコロール)(葡萄糖). Rows 1-21.

第十四表
第二十一號酒母(速醸醱)窒素物分析表

月日	時	日順	Pn價	操作状態	全窒素	第一區分	第二區分	第三區分	第四區分	「アミノ」 態窒素
1 8	後 4,00	1	3.67	仕 込	0.1765	0.0116	0.0089	0.0198	0.1362	0.0232
9	正 午	2	3.54		0.1915	非菌濁	0.0095	0.0211	0.1609	0.0301
10	正 午	3	3.44	暖氣入「フクレ」	0.2024	同上	0.0119	0.0239	0.1666	0.0307
11	前 9,00	4	3.42	湧 付	0.1983	同上	0.0218	0.0249	0.1514	0.0211
	後 8,30		3.34	暖氣入醱酵	0.1860	同上	0.0252	0.0300	0.1318	0.0177
12	前 9,00	5	—	同 上	0.1697	同上	0.0184	0.0375	0.1138	0.0150
	後 8,40		3.30	同 上	0.1711	同上	0.0235	0.0436	0.1040	0.0150
13	前 8,30	6	3.22	同 上	0.1779	同上	0.0259	0.0286	0.1234	0.0170
	後 8,50		3.22	「メクミトリ」醱分	0.1833	同上	0.0225	0.0313	0.1295	0.0204
14	前 8,20	7	3.18	醱 分 中	0.1792	同上	0.0245	0.0433	0.1113	0.0286
15	〃 8,20	8	3.20	醱 戻	0.1963	同上	0.0256	0.0245	0.1462	0.0293
16	〃 8,10	9	3.16		0.1915	同上	0.0273	0.0308	0.1339	0.0299
17	後 4,00	14	3.11		0.2064	同上	0.0279	0.0279	0.1506	0.0333

第十五表
第二十三號酒母(元添醱)一般成分分析表

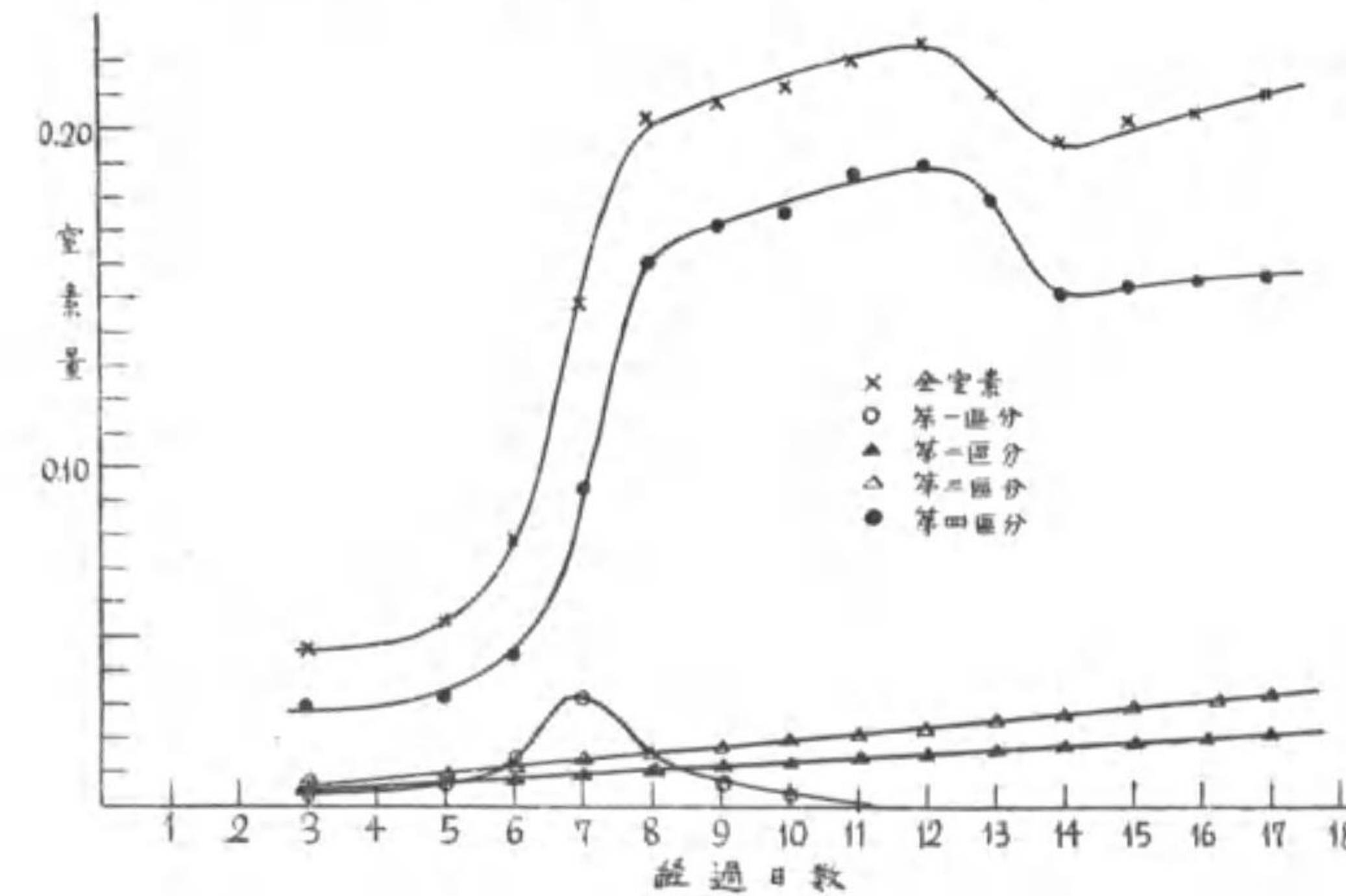
月日	時	日順	酒母 温度	操作状態	比重	酒精	總 酸 (琥珀酸)	「アミノ」 (グリコロール)	酸糖 分 (葡萄糖)	
1 8	後 4,00	1	16.5	二 番 權	1.1030	—	0.1783	3.52	0.0804	21.087
9	正 午	2	16.0	「フ ク レ」	1.1120	—	0.2070	3.39	0.1243	21.833
10	正 午	3	22.0	醱 酵	1.0890	4.90	0.2818	3.30	0.0877	16.801
11	前 9,00	4	25.0	同 上	1.0560	8.90	0.3220	3.18	0.0585	11.289
	後 8,30		25.0	同 上	1.0440	11.60	0.3335	3.13	0.0658	8.946
12	前 9,00	5	25.0	元 添 分	1.0290	13.05	0.3508	3.10	0.1170	6.390
	後 8,40		—		1.0240	13.95	0.3565	3.07	0.1279	5.645
13	前 8,30	6	18.0		1.0160	14.60	0.3565	3.05	0.1279	4.899
14	〃 8,30	7	17.0		1.0100	15.10	0.3565	3.04	0.1330	3.834

第十六表
第二十三號酒母(元添醱)窒素物分析表

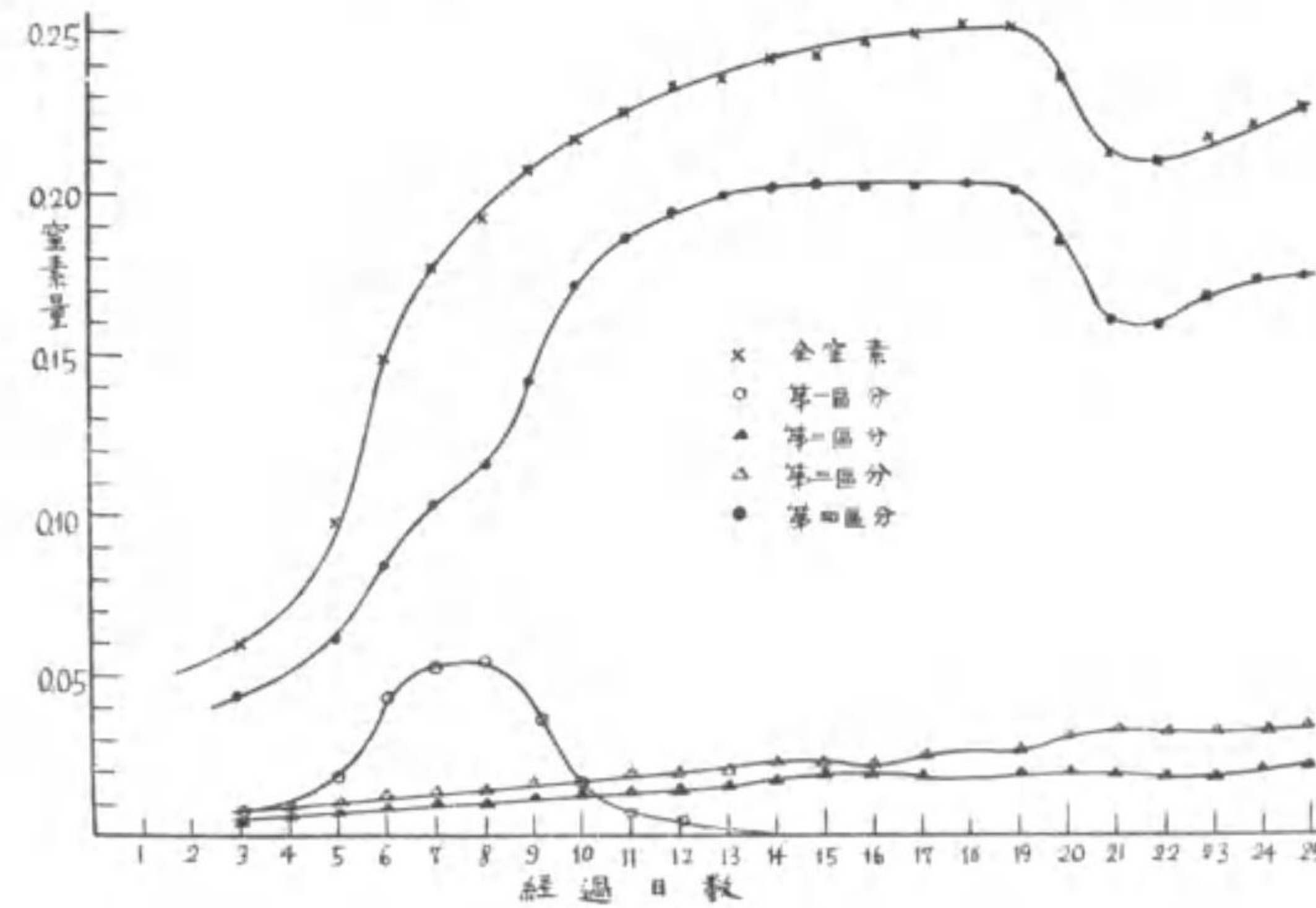
月日	時	日順	Pn價	操作状態	全窒素	第一區分	第二區分	第三區分	第四區分	「アミノ」 態窒素
1 8	後 4,00	1	3.52	二 番 權	0.1683	非菌濁	0.0075	0.0194	0.1414	0.0150
9	正 午	2	3.39	「フ ク レ」	0.1738	同上	0.0160	0.0232	0.1246	0.0232
10	正 午	3	3.30	醱 酵	0.1429	同上	0.0136	0.0218	0.1075	0.0164
11	前 9,00	4	3.18	同 上	0.1479	同上	0.0198	0.0276	0.0955	0.0109
	後 8,30		3.15	同 上	0.1520	同上	0.0208	0.0283	0.1029	0.0123
12	前 9,00	5	3.10	元 添 分	0.1574	同上	0.0184	0.0266	0.1124	0.0218
	後 8,40		3.07		0.1588	同上	0.0177	0.0307	0.1104	0.0239
13	前 8,30	6	3.05		0.1602	同上	0.0194	0.0273	0.1135	0.0239
14	〃 8,30	7	3.04		0.1683	同上	0.0198	0.0276	0.1209	0.0248

以上表に示したる數値を曲線に示せば一層其の仕込経過中に於ける窒素物の變化を知る事を得。窒素物變化の曲線は山廢醱と速醸醱とに於て稍異なる結果を示すも同じ山廢又は

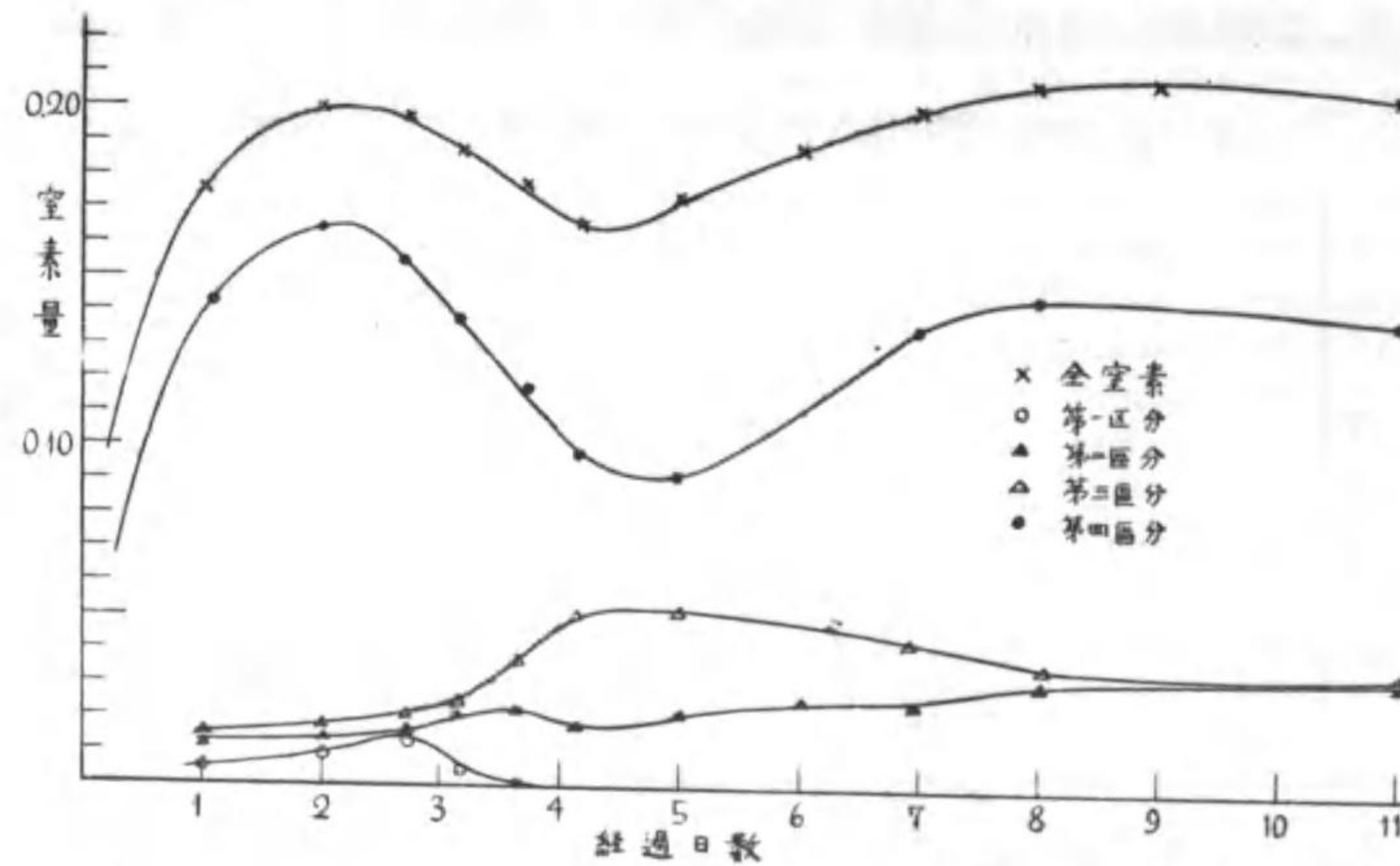
第一圖 酒母仕込中に於ける窒素の變化 (第二表参照)



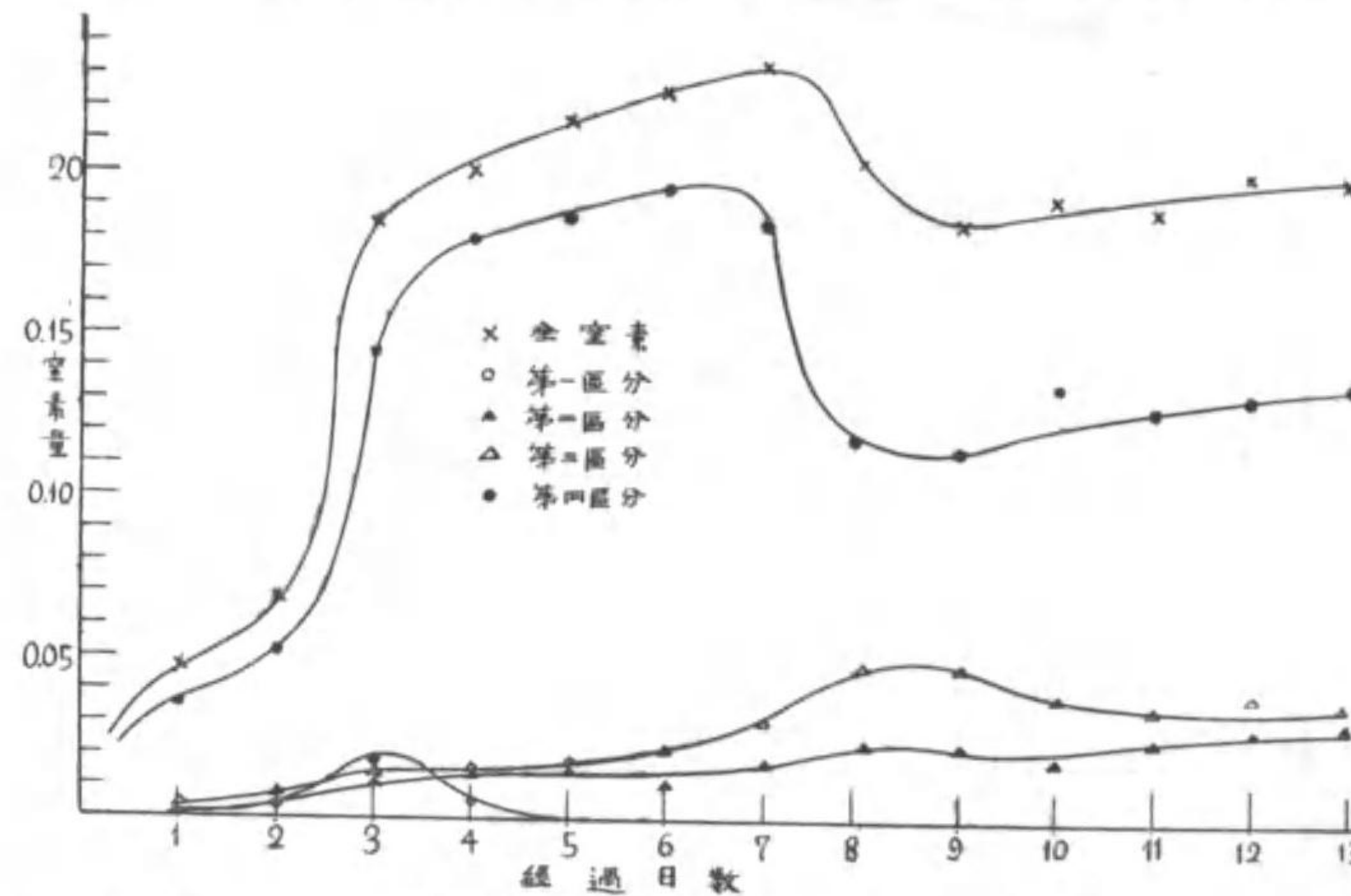
第二圖 酒母仕込経過中に於ける窒素物の變化 (第八表参照)



第三圖 酒母(速釀)仕込経過中に於ける窒素物の變化 (第十表参照)



第四圖 酒母(速釀)仕込経過中に於ける窒素物の變化 (第十二表参照)



速釀系統に於て殆んど同一變化を示すを以て此處には第一號酒母(山廢)(第二表)第四號酒母(山廢)(第八表)第十二號酒母(速釀)(第十表)及び第十三號酒母(速釀)(第十二表)に就て曲線に示せば第一圖、第二圖、第三圖及び第四圖の如し。

以上の分析結果よりして山廢醪と速釀醪とに於ては一般成分に就て酸量に僅かの差を認める以外重大なる差なきも各種區分の窒素量に大なる相違を認む。而して全窒素に於ては

重大なる差を認め難きも概して速釀醪は山廢醪に比し全窒素は僅少なり。即ち山廢醪四種の分析に於て全窒素は 0.2100—0.2268 なるに反し速釀醪は 0.1683—0.2079 にして常に小なる結果を示せり。

次に第一區分の窒素を見るに山廢醪に於ては仕込後十乃至十四日間に亙りて相當の窒素量を生産し漸次消失するも速釀醪に於ては一乃至五日間該區分窒素を生ずるのみにて然も其の量は山廢醪に比し甚だ少なり。

今酒母製造の工程を見るに山廢醪に於ては自然の生酸を待つものにして仕込當初に於ては P_H 價 6.0 附近なり。之が打瀾より暖氣操作に入り自然に乳酸菌に依り生酸作用が行はれるに従ひ P_H 價は漸次降下する理なり。故に著者が既に味淋の研究に於て認めたる如く第一區分窒素生成の最適 P_H 價 4.5—4.8 を必ず通過す。従つて山廢醪に於ては暖氣數二乃至四本にて該 P_H 價に達し第一區分の窒素を多量に生成するものなり。而して漸次 P_H 價が 4.0 以下になりフクレ湧付の状態に至れば該窒素は醪中より完全に消失す。

以後醪及び清酒中に於ては絶體に該窒素は生成されず。是即ち醪及び清酒の P_H 價は常に 3.0—4.0 附近にあるが爲めなり。

他方速釀醪を見るに仕込に於て乳酸を添加し仕込むが故に山廢醪のフクレ以前の操作を廢止したると同一結果にして P_H 價は常に其の仕込當初に於て 4.0 附近なり。従つて第一區分の生成は甚だ僅少にして仕込の初期に僅かに生成され忽ち消失す。

第二區分の窒素を見るに山廢醪の醪戻しに於ては 0.0210—0.0224 速釀醪に於ては 0.0198—0.0327 にして前者に比し後々大なる結果を示せるも之が原則的に大なるものあるか又等しく大なりとせば其の理由等に就ては未だ確定的に結論し得ず。

第三區分の窒素を見るに山廢醪に於ては 0.0308—0.0329 速釀醪に於ては 0.0274—0.0327 にして兩者間に重大なる差を認めず。

第四區分の窒素を見るに山廢醪に於ては 0.1575—0.1729 速釀醪に於ては 0.1209—0.1506 にして常に速釀醪に於て少なり、之は全窒素が少にして第二區分稍々大なる結果として當然なりとす。第四區分窒素は蛋白分解物としては最も低級なるものにしてペプチドアミノ酸アミド其の他の窒素物より成る。

次にフルモル法に依り定量し得るアミノ態窒素を見るに山廢及び速釀兩醪間に重大なる差を認む。即ち山廢醪に於ては 0.0854—0.1428 なるも速釀醪に於ては 0.0248—0.0423 にして前者は後者の約 3.5 倍なり。斯く兩醪間のアミノ酸量に差ある理由に就きては更に酵素的研究を進める必要あり。山廢醪に於て其の仕込初期第一區分の窒素を多量に生成し之が漸次消失するが之が分解の結果アミノ酸に變化する爲ならずやと考へらる。換言すれば蛋白質をアミノ酸に分解する酵素の最適 P_H 價は比較的高く 7.0—8.0 にある事は既に多くの研究者に依り認められたるところにして之が山廢醪の初期に於て實際的に起るものなら

すやと思考される即ち山廢醪製造中のアミノ酸の生成量を見るに仕込初期に於ける増加は極めて著しきも速醪醗に於ては其の増加は著しからず。然して全窒素は仕込初期より既に相當の量を示して居る故之は恐らく酸性に於ての酵素的蛋白分解はアミノ酸に變化せずペプチド形に變化し更に分解が進行せざるものにあらずやと考へらる。蛋白のペプチド分解は比較的 P_n 價低く 4.0 附近にある事は之又既に多くの研究者に依り認められたる處なり。

2 醪の一般成分分析及び窒素物分析

供試醪は本所試醪第一號にして新酒第一號となりしものなり。

昭和七年一月八日初添を行ひ翌九日踊りより毎日定期供試を行ひ其の一般成分分析及び窒素物の分析を行へり。結果は次表の如し。

第十七表
醪一般成分分析表

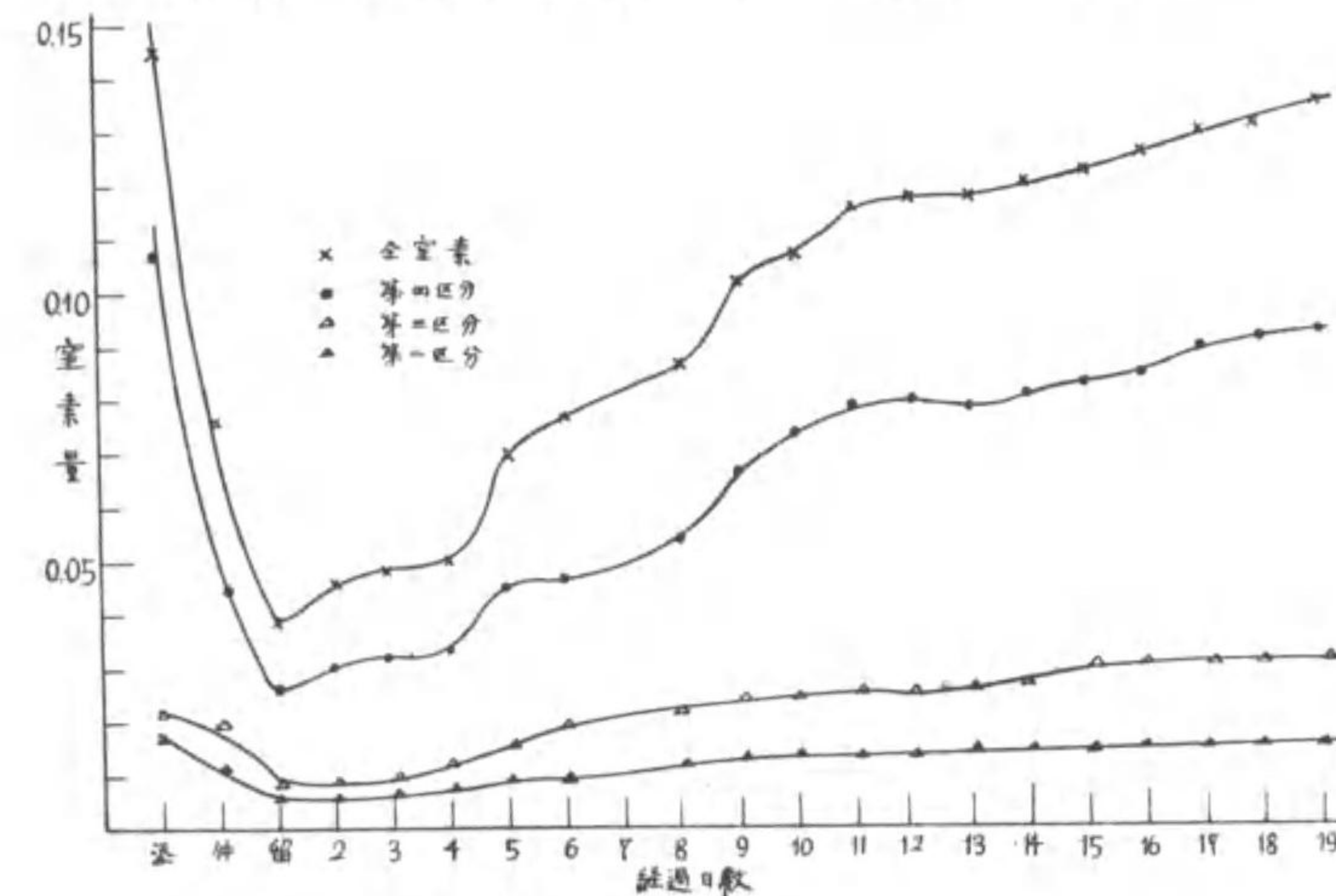
月日	日順	醪温度	比重	酒精	總酸 (琥珀酸)	P _n 價	「アミノ」酸 (グリココール)	糖分 (葡萄糖)	越歲斯
9	踊	—	1.0565	—	0.1888	3.75	0.2275	14.165	16.698
10	仲	—	1.0375	—	0.0726	—	0.1538	8.307	—
11	留	—	1.0295	—	0.0590	—	0.0750	7.802	—
12	2	—	1.0320	—	0.0531	3.89	0.0788	7.775	—
13	3	—	1.0305	3.30	0.0531	3.89	0.0863	7.668	9.712
14	4	—	1.0290	4.90	0.0649	3.82	0.0900	7.136	9.596
15	5	—	1.0255	6.50	0.0726	3.79	0.1013	6.710	9.322
16	6	—	1.0250	7.60	0.0944	3.75	0.1125	6.390	9.696
17	7	—	1.0200	—	—	—	—	—	—
18	8	—	1.0200	10.10	0.1121	3.82	0.1313	5.164	9.326
19	9	—	1.0185	11.20	0.1239	3.79	0.1463	5.538	9.156
20	10	—	1.0145	12.80	0.1357	3.74	0.1538	5.112	8.584
21	11	—	1.0135	13.70	0.1416	3.82	0.1650	4.890	8.095
22	12	—	1.0115	14.50	0.1475	3.82	0.1650	4.793	7.680
23	13	—	1.0070	14.90	0.1505	3.92	0.1725	4.656	7.516
24	14	—	1.0070	15.90	0.1505	3.99	0.1763	4.430	7.044
25	15	—	1.0023	16.20	0.1593	3.95	0.1800	4.090	6.652
26	16	—	1.0012	16.60	0.1652	3.86	0.1875	3.834	6.286
27	17	—	1.0000	16.90	0.1711	3.81	0.1950	3.493	5.824
28	18	—	0.9990	17.40	0.1780	3.81	0.2100	3.195	5.387
29	搾揚	—	0.9990	17.40	0.1770	3.94	0.2213	3.052	5.116

第十八表 醪窒素物分析表

月日	日順	P _n 價	全窒素	第一區分	第二區分	第三區分	第四區分	「アミノ」 態窒素
9	踊	3.75	0.1456	非酒濁	0.0175	0.0203	0.1078	0.0574
10	仲	—	0.0756	同上	0.0126	0.0200	0.0430	0.0280
11	留	—	0.0392	同上	0.0063	0.0084	0.0245	0.0140
12	2	3.89	0.0462	同上	0.0063	0.0091	0.0308	0.0140
13	3	3.89	0.0476	同上	0.0067	0.0098	0.0311	0.0161
14	4	3.82	0.0504	同上	0.0070	0.0119	0.0315	0.0168
15	5	3.79	0.0700	同上	0.0091	0.0154	0.0455	0.0189
16	6	3.75	0.0756	同上	0.0095	0.0196	0.0465	0.0210
17	7	—	—	—	—	—	—	—
18	8	3.82	0.0868	非酒濁	0.0112	0.0217	0.0539	0.0245
19	9	3.79	0.1036	同上	0.0123	0.0245	0.0668	0.0273
20	10	3.74	0.1078	同上	0.0126	0.0245	0.0707	0.0287
21	11	3.82	0.1162	同上	0.0126	0.0252	0.0784	0.0308
22	12	3.82	0.1176	同上	0.0126	0.0252	0.0798	0.0308
23	13	3.92	0.1176	同上	0.0130	0.0259	0.0787	0.0322
24	14	3.99	0.1204	同上	0.0133	0.0266	0.0805	0.0329
25	15	3.95	0.1232	同上	0.0133	0.0266	0.0833	0.0336
26	16	3.86	0.1260	同上	0.0144	0.0270	0.0846	0.0350
27	17	3.81	0.1316	同上	0.0147	0.0270	0.0899	0.0364
28	18	3.81	0.1323	同上	0.0147	0.0270	0.0906	0.0392
29	搾揚	3.94	0.1344	同上	0.0154	0.0277	0.0913	0.0413

以上の結果を圖示すれば第五圖の如し。

第五圖 醪仕込経過中に於ける窒素物の變化 (第十八表参照)



以上の分析結果を見るに留添までは一般成分は減少す。之は醪が稀釋せられるためで當然なり。留後比重糖分及び越幾斯は漸次僅少づゝ減少し酒精總酸及びアミノ酸は漸次僅少づゝ増加す。之はジアスターゼの作用に依る糖化の進行より醱酵に依る糖の消費が僅かに大なる事を證明するものにして此の比が常に適當に保持せらるゝ事は優良酒を得る條件として必要なり。即ち糖化が進み糖の蓄積著しければ甘敗に陥り又之に反し醱酵が進捗し糖化が之に伴はざる時は苛湧きに陥り易し。

總酸は醱酵の副産物として生ずる琥珀酸が其の大部分なるも留時代に存する酸は酒母より來るものにして大部分乳酸と僅少の琥珀酸なり。アミノ酸は麴プロテアーゼの作用に依り麴及び蒸米の蛋白質より來るものにして酵母は多少之を消費するも酵素作用が僅かに強く従つて僅少づゝの蓄積が行はるゝ理なり。

次に窒素物の分析結果を見るに全窒素, 第二區分, 第三區分及び第四區分何れも留時代が最小にして以後醪の経過と共に漸次増加を示せり。之はアミノ酸同様結局蛋白分解酵素の作用が漸進的に働く事を意味するものなり。

醪に於ては既に PH 價は 3.75-3.99 を示し従つて第一區分の窒素は存在せず。

第二區分, 第三區分, 第四區分及びアミノ態窒素の全窒素に對する百分率も殆んど大差なき結果を示す。

3 新酒の一般成分分析及び窒素物の分類

昭和六酒造年度本所に於て試釀したる新酒十種に就き其の一般成分分析及び窒素物の分類を行ひたる結果は次表の如し。

第十九表
新酒一般成分分析表

試料	比重	酒精	總酸 (琥珀酸)	PH價	「アミノ」酸 (グリココール)	糖分 (葡萄糖)	越幾斯
第1號	0.9980	16.95	0.1341	3.92	0.2186	3.5145	4.595
2	1.0010	16.60	0.1428	3.87	0.2668	4.4198	5.593
3	1.0010	16.55	0.1836	3.63	0.2631	4.2600	5.543
4	1.0000	16.80	0.1732	3.71	0.2371	4.0470	5.480
5	0.9972	17.05	0.1603	3.78	0.2223	3.4080	4.570
6	0.9965	16.80	0.1545	3.80	0.2445	3.1950	4.327
7	0.9990	16.83	0.1428	3.82	0.2260	3.7275	5.009
8	1.0002	16.30	0.1458	3.79	0.2312	4.0470	5.487
9	0.9998	17.05	0.1603	3.76	0.2297	3.8340	5.290
10	1.0025	15.90	0.1807	4.03	0.2775	4.1216	5.734

第二十表
新酒窒素物分類表

試料	全窒素	第一區分	第二區分	第三區分	第四區分	「アミノ」 態窒素
第1號	0.1337	非潤濁	0.0165	0.0245	0.0927	0.0407
2	0.1546	同上	0.0192	0.0256	0.1098	0.0497
3	0.1447	同上	0.0194	0.0231	0.1052	0.0480
4	0.1408	同上	0.0195	0.0209	0.1004	0.0442
5	0.1325	同上	0.0170	0.0214	0.0941	0.0414
6	0.1187	同上	0.0149	0.0170	0.0828	0.0455
7	0.1380	同上	0.0189	0.0248	0.0943	0.0421
8	0.1270	同上	0.0163	0.0270	0.0837	0.0431
9	0.1408	同上	0.0182	0.0238	0.0988	0.0428
10	0.1532	同上	0.0163	0.0249	0.1120	0.0518

第二十一表

新酒窒素物分類百分率表

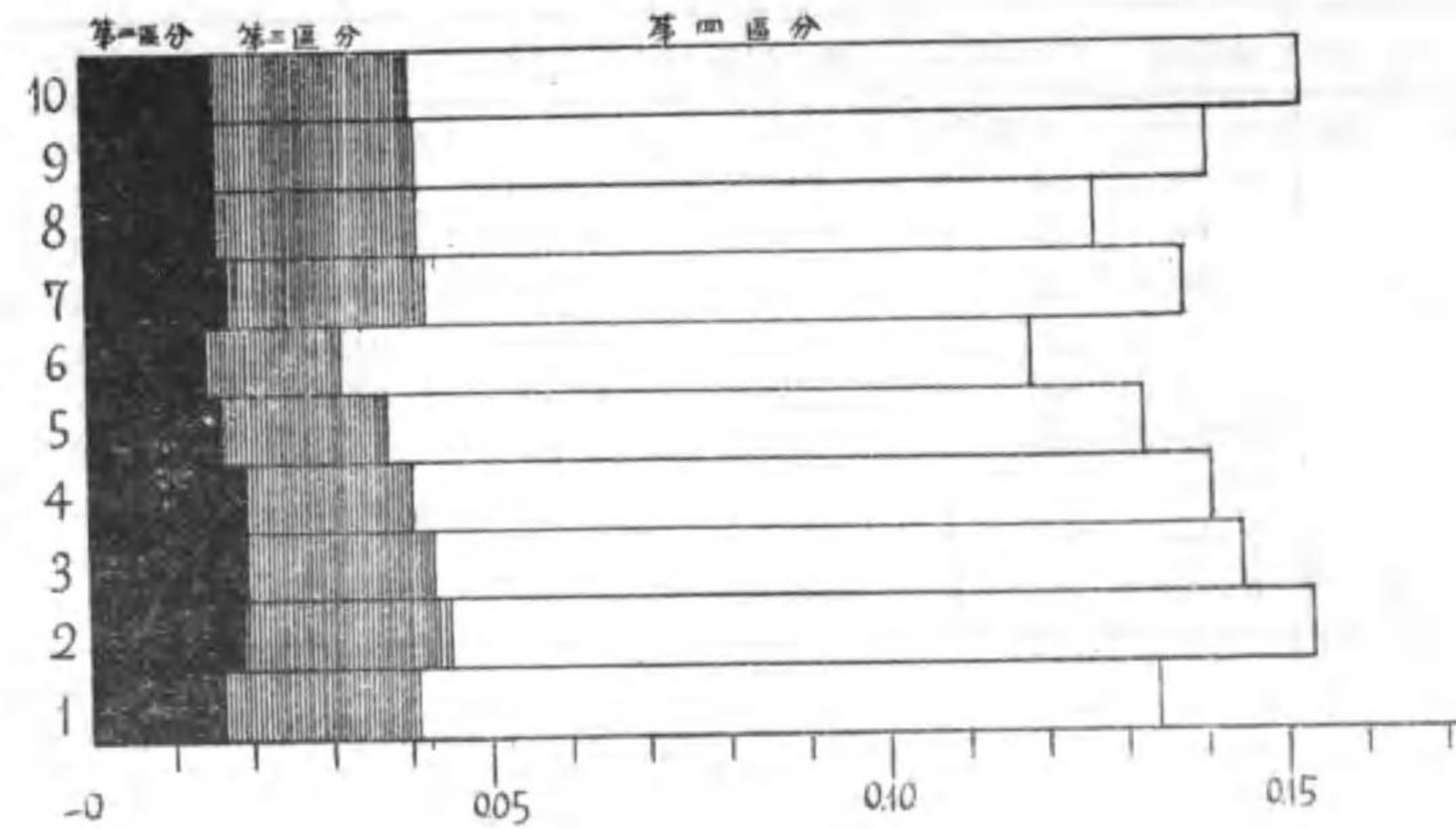
試料	全窒素	第一區分	第二區分	第三區分	第四區分	「アミノ」 態窒素
第1號	100.00	—	12.34	18.31	69.35	32.77
2	100.00	—	12.42	16.56	71.02	32.15
3	100.00	—	13.41	15.97	70.62	33.17
4	100.00	—	13.85	14.84	71.31	32.10
5	100.00	—	12.83	16.15	71.02	31.25
6	100.00	—	12.55	14.32	73.13	38.33
7	100.00	—	13.69	18.00	68.31	30.51
8	100.00	—	12.84	21.26	65.90	33.94
9	100.00	—	12.93	16.90	70.15	30.39
10	100.00	—	10.64	16.25	67.61	33.81

以上の結果を圖示すれば第六圖の如し。

以上の分析結果を見るに全窒素, 第二區分, 第三區分, 第四區分及びアミノ態窒素の量の間には重大なる差を認め難く大體全窒素は 0.1187-0.1546, 第二區分は 0.0149-0.0195, 第三區分は 0.0182-0.0270, 第四區分は 0.0837-0.1120, アミノ態窒素は 0.0407-0.0518 なり。而して第一區分の窒素は何れの場合も存在せず。

之等の窒素の全窒素に對する百分率を見るに之又表の如く大なる差を認め難し。第二區分は 10.64-13.85%, 第三區分は 14.32-21.26%, 第四區分は 65.90-73.13% にしてアミノ態窒素は 30.39-38.33% なり。而して第四區分とアミノ態窒素の差を見るに約 35-40% の窒素あり。此の種に屬すものはペプチド類, アマイド類及び其の他の窒素と見做すべきものなり。

第六圖 新酒中の窒素物 (第二十一表参照)



4 合成酒の一般成分分析及び窒素物の分類

合成酒即ち模擬清酒の一般成分分析及び窒素物の分類を行へるに次表の如き結果を得たり。

第二十二表
合成酒一般成分分析表

試料	比重	酒精	總酸 (或酒酸)	Pn價	「アミノ」糖 (ゲリコロール)	糖分 (葡萄糖)	越幾斯
興國(ロ)	1.0021	18.50	0.3615	3.34	0.0900	4.5268	6.464
興國(イ)	1.0005	21.50	0.2832	—	0.0975	4.4042	7.406
興北	1.0000	14.80	0.1213	3.68	0.0741	3.6210	4.424
妙齡	—	—	0.1778	3.75	0.0704	0.8520	0.936
利久	0.9985	—	0.2006	—	0.0825	2.9538	4.442
力正宗	0.9905	15.63	0.1593	—	0.0975	1.9938	3.142
小穴氏合成酒	0.9975	—	0.1180	—	0.0.05	1.7774	4.046
試験所古酒	1.0005	14.90	0.2242	—	0.1763	1.9384	5.172

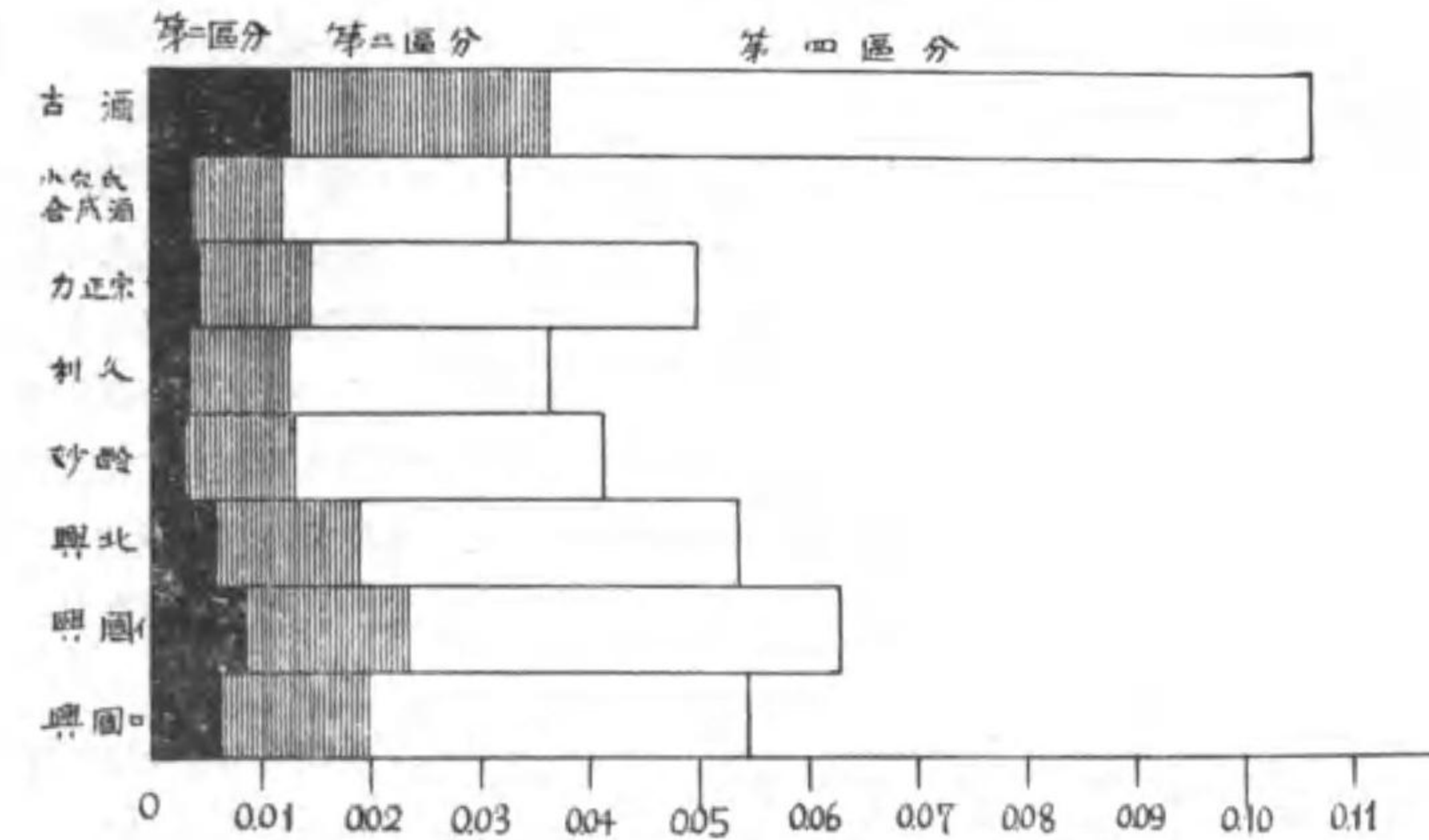
第二十三表
合成酒窒素物分類表

試料	全窒素	第一區分	第二區分	第三區分	第四區分	「アミノ」 態窒素
興國(ロ)	0.0542	非潤濁	0.0063	0.0126	0.0354	0.0168
興國(イ)	0.0630	同上	0.0084	0.0151	0.0395	0.0182

興北	0.0538	同上	0.0056	0.0131	0.0351	0.0138
妙齡	0.0414	同上	0.0032	0.0098	0.0284	0.0131
利久	0.0364	同上	0.0035	0.0091	0.0238	0.0154
力正宗	0.0497	同上	0.0049	0.0095	0.0353	0.0182
小穴氏合成酒	0.0329	同上	0.0042	0.0077	0.0210	0.0112
試験所古酒	0.1064	同上	0.0126	0.0238	0.0700	0.0329

以上の結果を圖示すれば第七圖の如し。

第七圖 合成酒中の窒素物



以上分析結果より見るに比重、酒精、總酸、糖分、越幾斯等の一般成分に於ては殆んど醸造酒と大なる差を認めず。之合成酒製造に當りて之等の成分を清酒に類似せしめて製造するを以つて大なる差を認めざるは寧ろ當然の事なりとす。只「フォルモール」法に依るアミノ酸の量に幾分小なる結果を示すのみなり。

然るに其の窒素物を分類するに大いに異なる所あり。即ち全窒素は醸造酒に比較して其の 25-50% にして第二、第三、及び第四區分の何れも亦夫々その 25-50% なり。合成酒がこの窒素分類に於て第二區分を有することは其の原料に幾分の米麴又は酒母清酒等を使用せる事を證明するものにして其の數値を清酒に比較せば大體使用したる米、麴、酒母又は醪の百分率を知る事を得。従つて此處に供試したる各種の合成酒は何れも上記の如く米麴酒母及び醪の如きものを使用し其の量は清酒の 25-50% なり。換言すれば合成酒は普通清酒を上記の如き割合に酒精又は水にて稀釋し之に他の成分を補足したるものと見做す事を得。

従つて合成酒としても其の味に於て清酒に近づかしむるためには之等の窒素物を更に清

酒の量に近づかしむる事は甚だ必要にして米を多量に使用せる合成酒が品質良好なるは當然なり。米を使用せざるものとすれば他の何物かを使用して第二區分の窒素及び第三第四區分の窒素を補足する必要があるに非ずやと思考す。

結 論

以上の實驗結果を總括し大體次の如き結論をなすを得べし。

1. 山廢醪及び速醪醪の兩者は其の製造工程中窒素物特に本實驗に於ける第一區分に屬する窒素物の出現を異にす。山廢醪にありては仕込後數日初暖氣入時期より第一區分に屬する窒素の出現を見次第に増加し醪液が Pn 4.5—4.8 附近に至りて其の量は最大に達す而して醪の Pn が漸次降下するに従ひ該窒素量は漸次消失してフクレ頃 Pn が 4.0 附近に至れば全く消失して以後該窒素區分は再び出現せず。出現期間は醪の経過により異なるも十乃至十四日に亘る事あり。速醪醪に於ては仕込後直に該第一區分窒素の出現を見るも一乃至五日間にてフクレ湧付に至れば全く消失して以後再び出現せず。是の如く山廢醪及び速醪醪との間に窒素物の出現に差あるは既に述べし如く醪中に於ける Pn の變化に起因するものにして山廢醪に於ては其の経過中 Pn 價が必然的に第一區分窒素の溶出最適なる 4.5—4.8 附近を通過する爲にして速醪醪に於ては酸添加の爲直に Pn は 4.0 附近に到達するに依るものゝ如し。
2. 第二區分, 第三區分及び第四區分の窒素に就ては山廢醪及び速醪醪兩者の間に特に異なることを認めず。只山廢醪は速醪醪に比して常に之等の窒素物幾分多し。仕込の経過中之等の窒素物は漸次増大す。
3. 山廢醪及び速醪醪に於けるアミノ酸の量は稍著しき差を示す。山廢醪に於て暖氣中アミノ酸増加の甚だ著しきに反し速醪醪に於ては然らず。即ちアミノ酸量の相違は醪育成中に於ける水素イオン濃度が麴菌蛋白質分解酵素の作用を支配するに起因するものゝ如し。之より考察して山廢醪に於ける多量の第一區分窒素の消失は如何なるものに變化するや本實驗のみに於ては斷定を下し得ざるも結果に於てはアミノ酸に變化したるものゝ如く考へらる。
4. 醪に於ては第一區分の窒素は全く出現せず。第二區分以下の窒素は留添までは減少し以後仕込の経過と共に漸次増大す。アミノ酸の量も亦同様なり。
5. 清酒中にも第一區分の窒素は全く出現せず。第二區分の窒素は全窒素に對して大體 12.5—13.8% なり。第三區分の窒素は全窒素に對して 14.5—21.0% なり, 第四區分の窒素は 65—73% 而してアミノ酸量は全窒素に對して 30—34% を含有す。
6. 合成酒中の窒素物を見るに全窒素が既に古酒に比して甚だ少なく 30—60% なり。而して何れの合成酒も第二第三及び第四區分の窒素物の多少を含有す。即ち第二區分の窒

素は古酒のそれに對して 25—70% なり。第三區分の窒素は即ち古酒に對して 35—65% なり。第四區分の窒素は古酒に比して 30—56% なり。而してアミノ酸量は同じく古酒に對して 30—50% なり。

7. 合成酒が本實驗に於ける第二區分の窒素の多少を含有する事は少なくとも米又は麴の類を使用したる事を證明するに足るものゝ如く且つ古酒に對する該窒素の百分率より大體に於て米又は麴の如きものゝ使用量を知り得るものゝ如し。

文 獻

1. T. Takahashi and G. Abe: J. College of Agric. Univ., Tokyo, V. Z, 95 1913
2. 黒野, 勝目, 大木: 醸造試驗所報告, 第百十二號, 1—26 頁(昭和六年)
3. 黒野勲六: 農學會報 231 號, 747 頁, 大正十年
4. K. Myrbäck u. S. Myrbäck: Wech. Brau., 48, 43—47, 1931; 49, 20—23, 1932
5. Schjerning: Zeitschr. Analy. Chem. 33, 263; 34, 135; 35, 285; 36, 643; 37, 413; 39, 545.
6. 杉山晋朝: 醸造試驗所報告, 第百十三號, 99—114 頁(昭和六年)

味淋の研究 (第七報)

(鹽類及びアルカリに依る糯米浸漬試験)

Studies on *mirin*. Part VII.—The steeping of the material, glutinous rice, in the diluted solutions of several salts or alkalies.

技手 杉山 晋 朔

緒 言

味淋の潤濁性物質が糯米蛋白質の酵素的分解に依り生ずる事は著者の屢々報告せるところなり。而して糯米蛋白質に就ては未だ詳細な研究結果を報告せるものなきも、田所博士は硬米蛋白質との比較研究をなし糯米蛋白質の大部分はアルブミン、グロブリン、プロラミン及びオリゼニンの四種にしてその内オリゼニン最も多き事を記載せり。

アルブミンは水溶性、グロブリンは食鹽に溶解しプロラミンは酒精に浸出されオリゼニンはアルカリに溶解する蛋白質なるが故に之等の溶媒を以て糯米を處理すれば上記の蛋白質の幾分を除去し得る事明かなり。味淋の潤濁が糯米の蛋白質に起因するものなるが故に之を除去して仕込む事に依り其の潤濁を防止し得る事は想像せらるゝところにして著者はかゝる想像のもとに食鹽水、アルカリ及び普通の水浸漬を行ひたるものを以て味淋仕込を行ひたり。

其の結果はアルカリ浸漬を行ひたるものに於ては潤濁防止の效果を得たるも普通の水浸漬(比較)及び食鹽、鹽化石灰を以て浸漬したるものに於ては遂に潤濁防止の效果を得られざりき。水又は食鹽、鹽化石灰に依る浸漬に於て糯米中の蛋白質を悉く除去する事は殆んど不可能なる操作にして實際に除去せらるゝ蛋白質は其の一部分に過ぎざるものなり。従つて味淋醗中には未だ多量の蛋白質存在し之が食鹽又は鹽化石灰の浸漬の爲之等の鹽類が糯米中に浸入味淋醗となりて後作用しかへつて潤濁を増加するが如き傾向を示したり。

アルカリ浸漬に於て潤濁防止の效果を納めたるも其の理由に就てはアルカリ浸漬に依りオリゼニンを抽出し去りたる爲なりと考察するよりも寧ろアルカリ浸漬の爲味淋醗の P_n の上昇を來し麴菌蛋白分解酵素の作用を抑壓したる爲なりと考察する方至當なり。

次に實驗の概要を記載す。

實 験

仕込は小仕込にして其の配合は次の如き割合なり。

糯米……………3000瓦(蒸米として4000瓦)

麴 米…………… 600瓦(麴として 700瓦)

焼 酎……………2500匁(42°C)

糯米は市販のものを約一割精白したるものなり。而して糯米は洗滌したる後各3000瓦宛十立内容の硝子圓筒に採り次の如き各鹽類の溶液に 15 時間浸漬す。

1. 井 水 3立
2. 3.0%食鹽水 3立
3. 1.0%鹽化石灰 3立
4. 0.1%炭酸曹達 3立
5. 0.05%苛性曹達 3立

15 時間浸漬したる後浸漬水を出來るだけ採取するに 2300—2500 匁を得。水切後數分間井水を掛流し充分洗滌したる後蒸餾す。

麴は常法の如き経過をとりたるものにして品温 40 度仕舞仕事後 9 時間にして出麴したるものなるも稍硬く甘味充分ならず。

焼酎は過滿俺酸加里及び炭素にて處理再留したる無臭優良なるものなり。

1. 浸漬水の分析

上記の如く糯米を浸漬したる井水、食鹽水、鹽化石灰液、炭酸曹達液及び苛性曹達液に就きて其の溶出したる窒素量を定量す。

1. 井水浸漬は微白濁なり。
2. 食鹽水は帶黄色にして殆んど透明なり。
3. 鹽化石灰液は稍黄色にして幾分濁す。
4. 炭酸曹達液は黄色を呈し濁す。
5. 苛性曹達液は黄色稍強く濁も亦幾分強し。

浸漬水中の窒素量は次の如し。

	100瓦中の窒素(瓦)	100瓦中の粗蛋白質(瓦)	3000瓦中の粗蛋白質(瓦)
1	0.0125	0.07875	2.3625
2	0.0490	0.30625	9.1875
3	0.0329	0.20563	6.1689
4	0.0182	0.11375	3.4125
5	0.0392	0.24500	7.6500

此の結果に於ては食鹽水最も多く蛋白質を溶出し次に苛性曹達鹽化石灰の順にして炭酸曹達は比較的少なく水は更に少し。グロブリンを浸出する食鹽水は普通 5.0% のものが使用されるが實際 3.0% の食鹽水を用ひて味淋醗は幾分鹽辛き味を有するを以て之以上に用

ふる事は實際問題として不可能の如し。

又オリゼイン抽出に於ても苛性曹達は0.5%以上なるもかゝる程度のアルカリ浸漬を行ふ時は糯米は著しく黄色粘質となり處理に甚だ困難であり且つ實際問題として製品の品質を阻害する事は明かなり。

2. 仕込中の P_H

仕込経過中は大體25°Cの恒温槽に放置したるものにして攪入は普通の仕込より多く始めの三十日は隔日に次の三十日は四-五日毎に行ひたり。其の間 P_H を測定するに次の如し。

月	日	日順	温度	1	2	3	4	5
2	22	1	23.0	仕込	仕込	仕込	仕込	仕込
	26	5	25.0	5.80	5.35	5.40	6.16	6.18
	28	7	25.0	6.23	5.78	5.31	6.09	6.18
3	1	9	25.0	6.25	5.97	5.33	6.11	6.25
	3	11	25.0	6.28	5.92	5.35	6.19	6.37
	5	13	29.0	6.21	5.93	5.52	6.11	6.25
	7	15	20.0	6.19	5.85	5.45	6.07	6.19
	9	17	20.0	6.19	5.83	5.33	6.04	6.19
	11	19	24.0	6.19	5.85	5.33	6.02	6.18
	13	21	21.0	6.13	5.83	5.26	6.04	6.19
	15	23	27.0	6.07	5.81	5.28	5.97	6.19
	17	25	20.0	5.92	5.50	5.15	5.98	6.09
	19	27	18.0	5.92	5.83	5.24	6.04	6.13
	21	29	25.0	5.92	5.69	5.17	6.11	6.32
4	23	31	26.0	5.55	5.38	5.12	5.87	6.06
	26	34	25.0	5.52	5.35	4.86	5.83	5.99
	29	37	24.0	5.74	5.55	5.17	5.93	6.11
	1	40	25.0	5.69	5.36	5.22	5.92	6.02
	4	43	23.0	5.52	5.31	5.12	5.92	6.04
	7	46	25.0	5.71	5.59	5.21	5.85	5.95
	11	50	25.0	5.81	5.62	5.14	5.74	5.93
	16	55	22.0	5.69	5.71	5.31	5.87	6.02
	21	60	21.0	5.75	5.54	5.17	5.85	6.04

P_H の最も低きは鹽化石灰を用ひたる三號にして炭酸曹達(四號)及び苛性曹達(五號)を用ひたるものは比較的高し。之は浸漬水の影響に依る事當然なり。

仕込経過中の水素イオン濃度は上記の表の如く仕込の初期に於て僅かに上昇し以後経過と共に漸次減少する傾向あり。 P_H の降下は即ち醗中に幾分の増酸を意味するものにしてその経過は以下示す一般成分分析に於て明瞭なり。

3. 一般成分調査

比重——仕込経過中四回に互り味淋醗を採取濾過して供試品とす。

比重の大小は溶解度に比例す。此の結果に於て三號最も大なる比重を示し五號最も小な

	1	2	3	4	5
仕込後 15 日目	1.1510	1.1490	1.1495	1.1475	1.1460
◦ 31 日目	1.1535	1.1520	1.1540	1.1480	1.1470
◦ 46 日目	1.1535	1.1525	1.1565	1.1485	1.1470
◦ 60 日目	1.1550	1.1530	1.1585	1.1495	1.1485

る比重を示す。實際攪入に於て三號は極めて良く溶解し居り五號は溶解稍良好ならず。之は恐らく糯米の浸漬水の影響に依るものなるべし。即ち浸漬液中の鹽化石灰、食鹽、炭酸曹達及び苛性曹達は幾分糯米中に吸収され、仕込後味淋醗に溶出し延いて水素イオン濃度に影響し従つて酵素作用を支配し溶解度に差異を生ずるものゝ如し。又鹽化石灰が後の濁濁試験に示す如く蛋白質の溶出に特異の性質あるは興味ある事實なり。

酒精

	1	2	3	4	5
仕込後 15 日目	16.55	16.60	—	16.40	16.90
◦ 31 日目	15.90	16.04	—	16.12	16.00
◦ 46 日目	15.20	15.25	15.05	15.00	15.30
◦ 60 日目	14.50	14.50	15.00	14.50	15.00

酒精は實驗誤差以外に大なる差を示さず。仕込の経過と共に漸次減少する事は當然なり。總酸——供試品100 錠を採りフェノールフタレーン指示薬として0.1規定苛性曹達を以て中和し供試品100 錠に對する該苛性曹達の該當錠を以て示す。

	1	2	3	4	5
仕込後 15 日目	8.08	7.07	13.95	6.57	6.26
◦ 31 日目	10.61	8.08	16.97	8.08	7.58
◦ 46 日目	10.61	8.59	16.67	7.01	7.07
◦ 60 日目	11.21	9.19	18.38	8.18	7.68

此の結果を見るに鹽化石灰を以て浸漬したるもの最も多く炭酸曹達及び苛性曹達を以て浸漬したるもの最も少し。食鹽水を以て浸漬したるものは比較より少し。炭酸曹達及び苛性曹達を以て浸漬したるものが酸量少なきは残存する之等のアルカリが醗中の酸を中和するが爲なりと考へらるゝも食鹽浸漬が比較的少なく鹽化石灰浸漬が比較的多き事實は本實驗のみにては充分證明し得ざるところなり。實際に於て味淋中の酸が何物なりやに就ては未だ全く不明なり。ウォルステッターの理論に依り味淋醗中のアミノ酸がアルカリに感ずるに非ずやと考へらるゝ點もあり。實際三號は以下に示す如くアミノ酸著しく多く二號は比較的少し。

總酸量が味淋醗の P_H に影響を及ぼす事は當然なり。

P_H —味淋醗に就ては前表の如く仕込中 P_H を測定したり。濾過したる供試品に就て同様に測定し見るに大なる差を示さず。

	1	2	3	4	5
仕込後 15 日目	6.15	5.85	5.40	6.07	6.21
◦ 31 日目	6.04	5.71	5.26	5.95	6.13
◦ 46 日目	5.76	5.57	5.15	5.80	5.90
◦ 60 日目	5.75	5.55	5.12	5.85	5.92

四號及び五號は炭酸曹達及び苛性曹達の影響に依り酸量少なく且つ P_H 又幾分高し。然し一號は比較的酸量稍多きも P_H は割合に高く四號及び五號に次ぐ。二號は前表の如く酸量は比較的少なきも P_H は比較的より低き結果を示す。三號は酸量多く且つ P_H も又著しく低し。 P_H は大體味淋醗中の酸量に支配せらるゝも必ずしも酸量に比例するものでなく其の醗中の緩衝作用の大小に依るものなり。

粗蛋白質—供試品中の全窒素をケルダール法にて定量し之に 6.25 を乗じて供試品 100 珎に對する數値を以て示す。

	1	2	3	4	5
仕込後 15 日目	0.3150	0.3850	1.0575	0.2450	0.2310
◦ 31 日目	0.3038	0.4813	1.4700	0.2975	0.2625
◦ 46 日目	0.5600	0.5775	1.7325	0.3588	0.3325
◦ 60 日目	0.6213	0.6125	1.9600	0.3675	0.3500

此の結果を見るに窒素量は著しく異なる。炭酸曹達及び苛性曹達を以て浸漬したるものは粗蛋白質の量著しく少し。比較及び食鹽浸漬のものは殆んど差を認めず四號及び五號の約倍量を示す。然るに鹽化石灰を以て浸漬したるものは著しく多く苛性曹達浸漬の約 5.5 倍に達す。之は恐らく鹽化石灰そのものが蛋白質溶解に特異の効果を有するものゝ如く考察せらる。著者は既に第四報に於て鹽化石灰を加へたるものに於て著しく窒素物の溶出する事及びアルカリ鹽類添加に於て窒素物の溶出せざる事を認めたり。酵素に依る蛋白質の溶出又は分解作用と各種鹽類の影響とに就ては別に酵素學的試験を行ふ豫定なるを以て何れ報告の機會を有す。

アミノ酸—フォルモル法に依り定量したるものにして供試品の 100 珎に對しグリコロールとして示す。

	1	2	3	4	5
仕込後 15 日目	0.1125	0.1050	0.1725	0.0825	0.0750
◦ 31 日目	0.1365	0.1163	0.2400	0.0990	0.0975
◦ 46 日目	0.1688	0.1425	0.2888	0.1088	0.1013
◦ 60 日目	0.2123	0.1740	0.3503	0.1515	0.1440

此の結果を見るに炭酸曹達及び苛性曹達を以て浸漬したる四號及び五號はアミノ酸量少く食鹽浸漬の二號も比較的少し。鹽化石灰を以て浸漬したる三號は著しく多し。

糖分—供試品 100 珎に對する瓦數を以て示す。

	1	2	3	4	5
仕込後 15 日目	37.80	37.38	37.80	36.75	36.12
◦ 31 日目	40.85	40.43	40.64	39.59	38.96
◦ 46 日目	42.60	42.14	43.24	41.32	40.53
◦ 60 日目	43.32	42.60	44.30	42.14	41.32

糖分に就ては著しき差を認めず。然し炭酸曹達及び苛性曹達浸漬のものは僅かに少なく食鹽浸漬之に次ぐ。鹽化石灰浸漬のもの最も多く比較之に次ぐ。

越幾斯—供試品 100 珎に對する瓦數を以て示す。

	1	2	3	4	5
仕込後 15 日目	45.572	44.492	45.591	44.632	44.008
◦ 31 日目	46.688	45.628	46.552	44.928	44.428
◦ 46 日目	47.408	46.140	47.660	45.964	45.620
◦ 60 日目	47.787	47.072	48.625	46.610	45.830

越幾斯も亦糖分と同様なる結果にして炭酸曹達及び苛性曹達浸漬のもの最も少く鹽化石灰浸漬のもの最も多し。

4. 潤濁試験

加温—供試品 10 珎を試験管にとり沸騰水中にて十數分處理し大部分の酒精を除去した後放置冷却してその潤濁状態を試験す。

	1	2	3	4	5
仕込後 15 日目	—	+	++	—	—
◦ 31 日目	—	+	+++	±	—
◦ 46 日目	+	++	++++	—	—
◦ 60 日目	+	++	+++++	—	—

四號及び五號は全く非潤濁性なり。一號は三十一日目迄非潤濁性なるも四十六日目以後に於て僅かに潤濁性を示す。食鹽浸漬は潤濁性を示し鹽化石灰浸漬は著しき潤濁性を有す。

稀釋—供試品 1 珎を採り等量の蒸餾水を加へ數日放置したる場合の潤濁を試験す。

	1	2	3	4	5
仕込後 15 日目	±	+	+	±	±
◦ 31 日目	—	+	±	—	—
◦ 46 日目	+	++	+	±	—
◦ 60 日目	±	+	±	—	—

四號及び五號は非潤濁性なり。一號も著しからず。二號は明瞭に潤濁す。然るに三號は著しからず。三號は即ち鹽化石灰を以て浸漬したるものにして窒素物最も多く後に記載するが如く潤濁性窒素物も亦最も多量なるにかゝはらず稀釋に依りては著しく潤濁せず。かへつて二號の方著し。之より考察しても潤濁性物質には少くとも二種類あるを知り得。而して二號に於ては食鹽の影響に依り主としてグロブリン系のものに屬し三號に於ては主としてアルブミン系のものに屬するものと想像し得。

酒精添加——供試品 10 兎をとり 60% 酒精を等量添加し數日放置の後其の潤濁状態を試験す。

	1	2	3	4	5
仕込後 15 日目	±	+	++	±	±
◦ 31 日目	±	++	++	±	±
◦ 46 日目	++	+++	++	±	-
◦ 60 日目	++	++	++	-	-

四號及び五號は非潤濁性にして一、二及び三號は何れも潤濁性を示すも三號稍著し。酒精添加も稀釋と同様アルブミン系よりグロブリン系の方潤濁著し。

酸添加——供試品 10 兎をとり 20% 鹽酸 1 兎を添加したる場合に於ける潤濁状態を試験す

	1	2	3	4	5
仕込後 15 日目	-	+	++++	-	-
◦ 31 日目	-	+	++++	-	-
◦ 46 日目	+	++	++++	-	-
◦ 60 日目	++	+++	++++	-	-

四號及び五號は全く非潤濁性なり。一號は四十六日目以後潤濁性を誘發す。二號は潤濁性にして三號は著しく白濁す。

アルカリ添加——供試品 10 兎を採り 20% 苛性曹達 1 兎を添加したる場合に起る潤濁状態を試験す。

	1	2	3	4	5
仕込後 15 日目	-	±	+++	-	-
◦ 31 日目	-	±	+++	-	-
◦ 46 日目	-	+	+++	-	-
◦ 60 日目	-	++	+++	-	-

一號 四號及び五號は全く非潤濁性にして二號は四十六日目以後潤濁性となり三號は稍著しく潤濁す。

燐ウ、ルフラム酸添加——供試品 10 兎に飽和燐ウ、ルフラム酸液 0.2 兎を添加したる場合の潤濁状態を試験す。

	1	2	3	4	5
仕込後 15 日目	-	+	++++	±	-
◦ 31 日目	-	+	++++	±	-
◦ 46 日目	+	++	++++	-	-
◦ 60 日目	++	+++	++++	-	-

四號及び五號は全く非潤濁性なり。一號は四十六日目以後潤濁性となり二號は經過と共に潤濁性を増加す。三號は潤濁性甚だ大なり。

タンニン酸添加——供試品 10 兎に飽和タンニン酸液 0.5 兎を添加したる場合に起る潤濁状態を試験す。

	1	2	3	4	5
仕込後 15 日目	±	+	+++	-	-
◦ 31 日目	-	+	++++	-	-
◦ 46 日目	+	++	++++	-	-
◦ 60 日目	++	+++	++++	-	-

此の結果は燐ウ、ルフラム酸添加と全く同様の結果にして、四號及び五號は全く非潤濁一號は四十六日目以後潤濁性となり二號三號は潤濁性にして特に三號は著し。

中和——供試品中の酸を苛性曹達を以て中和したる場合に起る潤濁状態を試験す。

	1	2	3	4	5
仕込後 15 日目	-	±	+	-	-
◦ 31 日目	-	±	+	-	-
◦ 46 日目	+	++	+++	-	-
◦ 60 日目	++	+++	+++	-	-

四號及び五號は全く非潤濁にして一號、二號及び三號は潤濁する三號最も著し。

5. 潤濁性窒素の定量

供試品 20 兎を採り硫酸を以て 1:n を 1-2 に調節し後硫酸苦土を飽和す。24 時間放置したる後沈澱を濾紙上に集め硫酸苦土液を以て洗滌し乾燥の後ケルゲー法に依り窒素を測定す。

	全窒素	潤濁性窒素	全窒素に對する百分率		全窒素	潤濁性窒素	全窒素に對する百分率
1	0.0994	0.0175	17.61	4	0.0588	非潤濁性	—
2	0.0980	0.0294	30.00	5	0.0533	同上	—
3	0.3136	0.2072	65.78				

一號は 17.61% 二號は 30.00% 而して三號は實に 65.78% の潤濁性窒素を含有してゐる。四號及び五號は硫酸苦土に依り沈澱する窒素物を含有せず。前記の各種の潤濁試験は全く

此の結果に一致するものあり。従つて炭酸曹達及び苛性曹達を以て浸漬したるものは非濁濁性味淋を得るに成功したれども食鹽及び鹽化石灰を以て浸漬したるものはかへつて反對の結果を得たり。

論 究 及 び 結 論

以上の實驗結果を總括して大體次の如き結論を與へ得。

1. 炭酸曹達の0.1%液苛性曹達の0.05%液を以て浸漬したる糯米を以て仕込みたる味淋は大體に於て非濁濁性なり。炭酸アルカリを以て糯米を浸漬すればアルカリ溶解の蛋白質は相當量浸出し去る事は本試験の始めに記載せるが如し。然しながら既に記載せるが如く蛋白質を溶出し去るが爲に非濁濁性となるものとは考へられず。第四報に於てアルカリ添加に依り非濁濁性味淋を製造し得たると同様に浸漬に依り味淋醗中の P_n を高めその結果酵素作用に影響し非濁濁性味淋を得るものと考察する方至當なり。
2. 食鹽浸漬に依る糯米を以て味淋を醗造するも濁濁性を防止し得ざるのみならずかへつて濁濁性を助長する傾向あり。食鹽浸漬に依り濁濁性蛋白質の一と考へらるゝグロブリンを部分的に除去し得るも食鹽が糯米中に吸収されその結果味淋醗に入りグロブリンの溶出作用に影響し味淋をして濁濁性たらしむる傾向あり。
3. 鹽化石灰に依る糯米浸漬は著しく濁濁を助長す。即ち鹽化石灰は酵素に依る蛋白の溶出作用に特異的作用を有するものゝ如し。而して溶出する蛋白質は主としてアルブミン系の蛋白質の如し。
4. 比較即ち普通の如く水を以て浸漬したるものは $20^{\circ}C$ 以上の氣温にては非濁濁性に對して保證し得ず。浸漬中には相當の蛋白質溶出するを以て掛流浸漬を行ふは蛋白溶出に效果ある事は當然なり。清酒醗造に於て掛流浸漬に依る米を以て製麴を行ふ時は著しく品温の上昇を見ざるは主として鹽類及び蛋白質の除去に起因するものなるべし。之より考察して掛流し浸漬に依る糯米及び粳米を以て味淋醗造を行ふ事は濁濁防止に效果あるものと信ず。

文 獻

1. 田所哲太郎：蛋白質化學；米の生化學的研究 第一卷第一號 31—46頁
2. 杉山晋朔：醗造試験所報告，第百十三號 10—64頁（昭和六年）

味 淋 の 研 究 (第 八 報)

(濁濁性と水素イオン濃度との關係)

Studies on *mirin*. Part VIII. The relation between the turbidity and the hydrogen ion concentration.

技 手 杉 山 晋 朔

緒 言

著者は本研究⁽¹⁾に於て各種の酸類を以て糯米を浸漬したる味淋の醗造試験又は各種酸類を其の儘添加したる味淋の醗造試験及び各種の鹽類を添加し又は其の溶液を以て糯米浸漬に依る味淋の醗造試験を行ひ其の濁濁性に及ぼす影響に就ての試験結果を報告したり。其の結果を考察するに酸類の浸漬又は添加の度合に依り又は各種鹽類の浸漬又は添加の度合に依り濁濁性となり非濁濁性となる所以のものは畢竟之等の酸類又は鹽類が味淋醗に於ける水素イオン濃度を調節し延いて味淋醗中に於ける麴菌の蛋白分解酵素の作用を支配する結果に起因するものなる事は想像するに難からず。従つて味淋醗造に於て其の醗中の水素イオン濃度を順次に調節すれば必ずや濁濁誘發の限界水素イオン濃度及び濁濁誘發の最適水素イオン濃度を決定する事を得るものと想像せり。

著者は上述の考察に基き味淋醗の水素イオン濃度を順次に調節して味淋醗造を行ひ其の成分の調査、濁濁性の有無及び窒素物の分類を行ひ味淋の濁濁性誘發の限界水素イオン濃度及び濁濁誘發の最適水素イオン濃度を決定せり。

今次に其の實驗結果を報告せんとす。

實 験

實驗は二回行ひA組は十本の醗を立て鹽酸及び炭酸曹達を以て水素イオン濃度を調節しB組は十五本の醗を立て鹽酸及び苛性曹達を以て水素イオン濃度を調節し仕込の經過中は隔日乃至三日目毎に水素イオン濃度を調節し重大なる變化を起したるものに於ては更に鹽酸又はアルカリを添加して P_n 價を調節したり。然し仕込の經過と共に P_n 價は幾分變化を生ずるものにして P_n 價4.0以下に於ては幾分上昇する傾向あり。4.5以上に於ては幾分低下する傾向あり。之は單に味淋醗を酸又はアルカリにて調節したるのみにして緩衝作用の弱き結果なりと考察す。

A組及びB組の仕込配合を示せば次の如し。

A組 糯米...0.80升(蒸米として1600瓦)
 麴米...0.16升(麴として 280瓦)
 焼酎...0.55升(40度焼酎1000銭)
 麴歩合 0.20
 焼酎歩合 0.58

B組 糯米...0.20升(蒸米として400瓦)
 麴米...0.04升(麴として 70瓦)
 焼酎...0.14升(40度焼酎 250銭)
 麴歩合 0.20
 焼酎歩合 0.58弱

以上の如き仕込配合に於て水素イオン濃度を調節し仕込経過中 P_H 値を測定したる結果を示せば次の如し。

第一表 A組に於ける仕込経過中の水素イオン濃度(P_H値)

月日	日順	温度	番號 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
2	23	1	23	10%鹽酸 20銭添加	15銭	10.0銭	5.0銭	—	5%炭酸 曹達5.0銭	10.0銭	20.0銭	30.0銭	40.0銭
2	27	5	23	3.96	3.99	4.31	4.62	5.10	5.43	5.74	6.13	6.56	6.78
2	29	7	25	4.13	4.13	4.34	4.69	5.17	5.50	5.80	6.21	6.59	6.75
3	1	8	25	10%鹽酸 5.0銭添加	2.5銭	—	—	—	—	—	—	—	—
3	2	9	25	3.99	4.04	4.24	4.63	5.24	5.66	5.90	6.19	6.56	6.78
3	4	11	27	3.92	4.03	4.27	4.76	5.29	5.61	5.90	6.19	6.54	6.77
3	6	13	28	3.97	4.03	4.30	4.65	5.12	5.66	5.95	6.21	6.56	6.77
3	8	15	26	3.72	3.92	4.22	4.57	5.24	5.52	5.83	6.18	6.56	6.77
3	10	17	20	3.79	4.03	4.24	4.63	5.15	5.66	5.85	6.18	6.49	6.75
3	12	19	26	3.75	4.06	4.34	4.83	5.22	5.69	6.00	6.19	6.61	6.80
3	14	21	26	3.75	4.11	4.59	5.22	5.67	5.88	6.19	6.45	6.59	6.70
3	16	23	25	3.61	4.18	4.48	5.22	5.68	5.84	6.19	6.45	6.61	6.68
3	18	25	21	3.79	4.03	4.42	4.88	5.50	5.78	5.92	6.32	6.75	6.78
3	20	27	25	3.79	4.10	4.44	4.90	5.36	5.76	5.99	6.26	6.61	6.77
3	22	29	26	3.58	4.10	4.55	5.10	5.62	5.90	6.19	6.45	6.80	7.15
3	24	31	25	3.79	4.06	4.51	4.93	5.40	5.83	6.06	6.32	6.63	6.87
3	27	34	24	3.60	4.10	4.65	5.24	5.66	5.93	6.18	6.52	6.78	7.18
3	30	37	25	3.61	4.11	4.58	4.98	5.42	5.85	6.06	6.37	6.68	6.91
4	2	40	25	3.71	4.21	4.58	4.97	5.37	5.81	6.01	6.29	6.61	6.81
4	5	43	25	3.79	4.31	4.60	4.96	5.38	5.73	5.92	6.11	6.45	6.87
4	8	46	25	3.91	4.19	4.55	4.95	5.40	5.76	5.93	6.14	6.42	6.85
4	12	50	25	4.08	4.24	4.46	4.86	5.26	5.52	5.66	5.99	6.33	6.68
4	17	55	25	4.01	4.21	4.51	4.81	5.25	5.55	5.70	5.99	6.35	6.70
4	22	60	24	3.92	4.13	4.50	4.80	5.25	5.56	5.70	6.04	6.33	6.68

第二表 B組に於ける仕込経過中の水素イオン濃度(P_H値)(其の一)

月日	日順	温度	番號 1	2	3	4	5	6	7	8	
2	24	1	25	10%鹽酸 5.0銭添加	3.75銭	2.5銭	2.0銭	1.5銭	1.0銭	0.5銭	0.25銭
2	28	5	25	3.40	3.44	3.86	3.96	4.06	4.31	4.55	4.69
2	29	6	25	—	—	—	—	—	—	—	—
3	1	7	25	3.65	3.69	3.91	4.03	4.20	4.31	4.55	4.69
3	3	9	25	3.37	3.51	3.82	3.98	4.24	4.42	4.63	4.74
3	5	11	27	3.47	3.54	3.86	4.01	4.27	4.42	4.62	4.71
3	7	13	24	3.35	3.44	3.80	3.98	4.24	4.44	4.64	4.74
3	9	15	20	3.27	3.54	3.82	4.10	4.29	4.44	4.60	4.79
3	11	17	24	3.38	3.52	3.99	4.10	4.31	4.48	4.72	4.86
3	13	19	25	3.45	3.65	3.96	4.18	4.34	4.48	4.69	4.83
3	15	21	25	3.27	3.51	3.91	4.08	4.23	4.46	4.79	5.07
3	18	24	26	3.34	3.58	3.96	4.17	4.31	4.62	4.86	5.24
3	21	27	25	3.47	3.65	3.94	4.18	4.33	4.51	4.72	4.90
3	26	32	25	3.34	3.63	3.96	4.20	4.34	4.46	4.69	4.88

第二表 (續) B組に於ける仕込経過中の水素イオン濃度(其の二)

月日	日順	温度	番號 9	10	11	12	13	14	15	
2	24	1	25	—	10%苛性曹達 0.25銭添加	0.5銭	1.0銭	1.5銭	2.0銭	2.5銭
2	28	5	25	4.79	4.90	5.00	5.31	5.45	5.73	5.93
2	29	6	25	10%苛性曹達 0.1銭添加	0.25銭	0.5銭	1.0銭	1.5銭	2.0銭	2.5銭
3	1	7	25	5.42	5.15	5.24	5.55	5.88	6.21	6.80
3	3	9	25	5.14	5.33	5.66	5.99	6.39	6.78	6.90
3	5	11	27	4.91	5.07	5.24	5.66	6.07	6.68	6.98
3	7	13	24	4.98	5.21	5.47	5.85	6.26	6.65	6.96
3	9	15	20	4.98	5.28	5.55	6.02	6.33	6.70	6.89
3	11	17	24	5.12	5.33	5.59	6.02	6.35	6.70	6.89
3	13	19	25	5.03	5.28	5.52	6.00	6.35	6.73	7.03
3	15	21	25	5.00	5.33	5.55	5.88	6.19	6.51	6.77
3	18	24	26	5.00	5.22	5.35	5.67	6.09	6.39	6.71
3	21	27	26	4.93	5.19	5.33	5.92	6.07	6.39	6.78
3	26	32	25	5.10	5.26	5.52	5.87	6.18	6.56	6.87

味淋の仕込経過中に於ける P_H 値は上記の表の如くにして P_H の低き部分に於ては幾分上昇の傾向あり P_H の高き部分に於ては幾分降下する傾向を示せり。

是の如くしてA組に於ては仕込後三十一日目及び六十日目の二回に供試品を採取しB組に於ては仕込後三十二日目に供試品を採取して一般成分の調査(濁濁試験及び窒素物の分類)を行へり次に其の結果を示す。

1. 成分調査

各種 P_H を調節仕込みたる味淋を一定期間の後一様に濾過し透明味淋に就て一般の成分

を調査す。分析摘要は次の如し。

1. P_n は板野式 P_n 測定器にて測定す。
2. 色層は最も淡麗なるものを100とし比色計にて比色し濃度を定む。
3. 比重は攝氏15度に於て比重計を以て測定したる數値なり。
4. 酒精は常法の如く蒸餾法に依り定量す。
5. 總酸はフェノールフタレーンを指示薬として0.1規定苛性曹達を以て滴定し、供試品100gに對する該苛性曹達のgを以て示す。
6. 糖分は天度法にて測定し供試品100gに對する瓦數を示す。
7. 越幾斯は重量法にて測定し供試品100gに對する瓦數を示す。
8. 粗蛋白質はケルゲー法にて全窒素を測定し之に6.25を乗じ供試品100gに對する瓦數を示す。
9. アミノ酸はフォルモル法にて定量し供試品100gに對する0.1規定苛性曹達のgを以て示す。

次に成分表を示す。

第三表 A組三十一日目に於ける味淋の成分

番 號	P_n	色 層	比 重	酒 精	總 酸	糖 分	越幾斯	粗蛋白質	アミノ酸
1	3.80	156.25	1.1520	16.1	37.0	38.640	45.308	0.98875	31.31
2	4.10	151.52	1.1530	15.7	35.0	39.770	45.892	1.39135	50.50
3	4.55	144.56	1.1520	16.1	29.0	39.900	46.732	1.53250	55.55
4	4.77	135.14	1.1505	15.8	23.0	39.480	45.620	1.32125	41.55
5	5.38	125.00	1.1485	16.2	11.8	38.850	45.476	0.56000	29.29
6	5.71	119.00	1.1480	15.8	9.6	38.690	45.400	0.45000	20.20
7	6.06	100.00	1.1478	16.3	9.0	38.200	45.336	0.38500	14.55
8	6.33	104.78	1.1470	16.0	5.2	37.170	45.244	0.29750	10.15
9	6.63	121.95	1.1452	16.1	4.7	35.700	43.792	0.22750	7.07
10	6.91	146.93	1.1435	16.2	2.8	34.230	43.618	0.18375	5.05

第四表 A組仕込後六十日目に於ける味淋の成分

番 號	P_n	色 層	比 重	酒 精	總 酸	糖 分	越幾斯	粗蛋白質	アミノ酸
1	3.92	135.14	1.1570	14.65	40.40	41.95	47.430	1.2425	41.41
2	4.13	130.69	1.1600	14.60	39.40	43.45	48.594	1.7500	64.64
3	4.50	128.28	1.1580	14.65	36.87	43.88	49.470	1.9057	68.68
4	4.80	123.46	1.1560	14.70	27.70	43.88	49.228	1.8725	53.53
5	5.25	113.64	1.1550	14.90	15.65	43.24	48.748	1.0150	40.40
6	5.55	—	—	—	12.63	42.79	48.238	0.9275	31.31
7	5.70	106.38	1.1542	14.85	10.10	42.60	47.974	0.5950	20.20
8	6.04	100.00	1.1540	14.70	7.07	42.17	47.538	0.3850	13.13
9	6.33	107.53	1.1505	14.80	5.55	40.47	46.156	0.2975	10.10
10	6.68	117.65	1.1480	14.50	3.03	38.68	45.468	0.2625	8.08

第五表 B組仕込後三十二日目に於ける味淋の成分

番 號	P_n	色 層	比 重	酒 精	總 酸	糖 分	越幾斯	粗蛋白質	アミノ酸
1	3.44	128.21	1.1520	—	29.3	39.19	46.996	0.5688	16.8
2	3.68	122.22	1.1535	16.10	30.3	39.90	47.564	0.8225	27.3
3	3.96	120.48	1.1575	15.80	30.3	41.58	48.460	0.9625	35.8
4	4.17	119.05	1.1540	16.52	29.3	42.16	48.312	1.0938	41.4
5	4.38	117.65	1.1550	16.20	28.3	42.42	48.380	1.1988	41.9
6	4.46	117.15	1.1550	16.20	26.8	42.95	48.556	1.2425	40.4
7	4.69	116.28	1.1540	16.40	23.2	42.24	48.552	1.3125	36.7
8	4.80	112.65	1.1545	16.16	21.2	42.16	48.228	1.1900	34.8
9	4.96	111.63	1.1545	16.25	19.2	42.21	48.236	1.0500	31.5
10	5.29	109.89	1.1505	15.80	16.7	—	47.948	0.8575	29.8
11	5.57	103.09	1.1525	16.40	14.1	41.16	47.876	0.6825	26.0
12	5.88	100.00	1.1515	16.25	11.1	40.47	46.768	0.5425	22.5
13	6.19	100.00	1.1510	16.52	8.6	40.11	46.440	0.3763	17.2
14	6.59	105.26	1.1510	15.80	6.1	38.22	45.440	0.2995	13.1
15	6.89	129.87	1.1505	16.25	3.7	37.38	45.212	0.2625	10.4

以上の表に示す如く味淋の P_n 値と色層との関係を見るに P_n 6.0附近が最も淡麗なり。而してそれより酸性又はアルカリ性に傾くに從ひ色層を増加す。

比重、糖分及び越幾斯は P_n 4.5—5.0 附近が最も大なり。之麴菌ジアスターゼの最適水素イオン濃度が該 P_n 値附近に存するが爲なり。從つて P_n 4.5—5.0 の上下に於ては比重、糖分及び越幾斯は幾分小なる結果を示す。然し其の差は酸性に於ては極めて僅少にしてアルカリ性に於て幾分大なり。

酒精は分析的誤差以外に重大なる差は認め難きは同一量を以て仕込みたる結果にして當然なり。

味淋中の總酸量は P_n 値の順位に依り大いに異なる。 P_n の低きものに於ては酸を添加したるを以て著しく多く P_n の高きものに於てはアルカリを添加したる爲酸量は著しく減少す。

P_n の調節に依り重大なる差を生ずるものは全窒素及びアミノ酸なり。窒素物の分類に就ては後に記載するも全窒素及びアミノ酸を見るに全窒素は P_n 4.5—4.7 附近が最大にしてアミノ酸も又 P_n 4.5 附近が最大なり。之より P_n が上下するに從ひ全窒素及びアミノ酸の量は減少す。而して酸性に於けるよりもアルカリ性に於ては極端に減す。之即ち P_n 値の順位に依り麴菌中の蛋白分解酵素の作用を阻害するが爲なるべし。

2. 濁 濁 試 験

味淋が加温、稀釋及び燒酎、酸アルカリ燐ウ、ルフラム酸等の添加に依り濁濁を生ずるや否やに就て試験せり。此の試験は本研究に於て屢々報告したる方法と同様にして試験の方法は次の如し。

1. 加温 供試味淋10 ㊦を採り、重湯煎中にて百度に熱し充分に酒精分を追出し静かに放置冷却して潤濁状態を試験す。
2. 稀釋 供試味淋 10 ㊦を採り等量の蒸餾水を加へ 24 時間放置したる場合に起る潤濁状態を試験す。
3. 酒精添加 供試味淋 10 ㊦に 60 % 酒精を等量添加し 24 時間放置したる場合に起る潤濁状態を試験す。
4. 酸添加 供試味淋 10 ㊦に 20 % 鹽酸 1 ㊦を添加したる場合に起る潤濁状態を試験す。
5. アルカリ添加 供試味淋 10 ㊦に 20 % 苛性曹達 1 ㊦を添加したる場合の潤濁状態を試験す。
6. 燐ウオルフラム酸添加 供試味淋 10 ㊦に飽和燐ウオルフラム酸液 0.2 ㊦を添加したる場合に起る潤濁状態を試験す。
7. タンニン酸添加 供試味淋 10 ㊦に飽和タンニン酸液 0.5 ㊦を添加したる場合に起る潤濁状態を試験す。

第六表 A組仕込三十一日目に於ける潤濁状態

番號	P _H	加 温	稀釋	酒精添加	酸 添 加	アルカリ添 加	燐ウオルフラム酸添加	タンニン酸添加	中和
1	3.80	-	-	-	-	±	+	-	-
2	4.10	-	-	-	+	+	++	+	+
3	4.55	+	+	++	++++	++	++++	++++	++
4	4.77	++++	++	++++	++++	+++	++++	++++	+++
5	5.38	++	++	++	++	+	++	++	++
6	5.71	±	+	+	±	-	+	+	+
7	6.06	-	-	±	-	-	-	-	-
8	6.33	-	-	-	-	-	-	-	-
9	6.63	-	-	-	-	-	-	-	-
10	6.91	-	-	-	-	-	-	-	-

第七表 A組仕込六十日目に於ける味淋の潤濁状態

番號	P _H	加 温	稀釋	酒精添加	酸 添 加	アルカリ添 加	燐ウオルフラム酸添加	タンニン酸添加	中和
1	3.92	-	-	-	-	+	+	+	+
2	4.13	-	-	-	++	+	+++	++	+
3	4.50	++	±	+	++++	++	++++	++++	+
4	4.80	+++	+	++	++++	+++	++++	++++	++
5	5.25	++++	++	++++	++++	++	++++	++++	++
6	5.55	++	+	++++	+++	+	+++	++	++
7	5.70	+	+	++	+	-	+	+	+
8	6.04	-	-	-	-	-	-	-	-
9	6.33	-	-	-	-	-	-	-	-
10	6.68	-	-	-	-	-	-	-	-

8. 中和 供試味淋を苛性曹達を以て中和したる場合に起る潤濁状態を試験す。

第八表 B組仕込三十二日目に於ける潤濁状態

番號	P _H	加 温	稀釋	酒精添加	酸 添 加	アルカリ添 加	燐ウオルフラム酸添加	タンニン酸添加	中和
1	3.44	-	-	-	-	-	-	-	-
3	3.68	-	-	-	-	-	±	-	-
3	3.96	-	-	±	+	-	+	+	±
4	4.17	±	-	+	++	±	++	++	+
5	4.33	+	-	++	+++	+	+++	+++	++
6	4.46	++	-	+++	++++	++	++++	++++	+++
7	4.69	+++	-	++++	++++	++	++++	++++	+++
8	4.80	++++	+	++++	++++	++	++++	++++	+++
9	4.96	++++	+	++++	++++	++	++++	++++	++
10	5.29	++++	+	++++	+++	+	+++	+++	+
11	5.57	++	++	+++	++	±	++	++	+
12	5.88	+	++	++	+	-	+	+	+
13	6.19	±	±	±	-	-	-	-	±
14	6.59	-	-	-	-	-	-	-	-
15	6.89	-	-	-	-	-	-	-	-

上記の表に示す如く各種の潤濁試験に於て潤濁を呈する部分は P_H 4.0—6.0 の間にあり。而して最も著しく潤濁を呈する部分は P_H 4.5—5.0 附近なり。此の P_H に於て最も著しく潤濁を呈する事實は後に潤濁性窒素を定量せる表と一致す。

酒精添加に依りて潤濁する點は幾分 P_H の高き部分にあり酸類に依りて潤濁する點は幾分 P_H の低き部分にあるが如く其の重合する部分即ち P_H 4.6—4.8 附近は潤濁最も著し。此の事實より考察して潤濁性窒素物は少くとも二種類存在するものゝ如し。而して該潤濁性窒素物に就ては多くの研究者あり種々論議せられ居るも著者は P_H 1—2 に於て硫酸苦土に依り完全に沈澱し又鹽化第一錫に依り沈澱する部分あるところより該物質は主としてアルブミン及びグロブリンの二種なりと推定し居れり。然し之等の物質が糯米中に存在する其のまゝのアルブミン及びグロブリンなるやは其の物理的及び化學的性質を決定するに非ざれば證明し得ざるところなり。此の研究に就ては後報に譲る事とす。

P_H 4.0 以下及び 6.0 以上に於ては味淋は非潤濁性なり。此の事實は次の窒素物を定量せる表と一致す。

3. 味淋中の窒素物の分類

著者は最近ミルベック等が春芽汁の窒素物定量に用ひたる方法を應用して味淋中の窒素物を定量せり。本試験に於ても該方法を用ひて味淋中の窒素物を四區分に分類し且つフォルモル法に依りてアミノ態窒素を定量せり。

定量方法は次の如し。

1. 全窒素 供試味淋5銖を採りケルダール法にて窒素を定量し供試100銖として計算す
2. 第一區分 供試味淋20銖をとり硫酸を以てPH—2に調節し硫酸苦土を飽和して24時間放置し後沈澱を集めて硫酸苦土の飽和液にて洗滌乾燥の後ケルダール法にて窒素を測定し供試品100銖として計算す。此の部分は主としてアルブミングロブリン及びプロペプトンに屬す。
3. 第二區分 第一區分を分離したる後之を中和し0.5瓦の昇汞を加へて數日間放置し後沈澱を濾紙上に集め昇汞水を以て洗滌し乾燥の後ケルダール法にて窒素を測定す。此の部分は退化蛋白質區分なり。
4. 第三區分 第二區分を分離したる後0.5瓦の醋酸ウラニウムを添加し數日放置したる後沈澱を濾紙上に集めて洗滌し乾燥の後ケルダール法にて窒素を測定す、此の部分はペプトン級なり。
5. 第四區分 第一、第二、第三區分を全窒素より減じたるものを以て第四區分とす。此の部分はアミノ酸及びペプチド級窒素なり。

第九表 A組三十一日目に於ける味淋の窒素物

番號	PH	全 窒 素	第一區分	第二區分	第三區分	第四區分	アミノ窒素
1	3.80	0.1582	0.0014	0.0049	0.0193	0.1323	0.0439
2	4.10	0.2194	0.0070	0.0126	0.0267	0.1771	0.0707
3	4.55	0.2452	0.0330	0.0147	0.0203	0.1472	0.0773
4	4.77	0.2240	0.0340	0.0119	0.0161	0.1120	0.0582
5	5.38	0.0894	0.0119	0.0098	0.0102	0.0577	0.0410
6	5.71	0.0728	0.0018	0.0084	0.0098	0.0529	0.0283
7	6.06	0.0616	非潤濁性	0.0077	0.0091	0.0448	0.0204
8	6.33	0.0476	同 上	0.0030	0.0084	0.0333	0.0142
9	6.33	0.0364	同 上	0.0049	0.0070	0.0245	0.0099
10	6.91	0.0294	同 上	0.0042	0.0037	0.0186	0.0071

第十表 A組仕込六十日目に於ける味淋の窒素物

番號	PH	全 窒 素	第一區分	第二區分	第三區分	第四區分	アミノ窒素
1	3.92	0.1988	0.0021	0.0033	0.0252	0.1625	0.0580
2	4.13	0.2800	0.0105	0.0140	0.0256	0.2300	0.0905
3	4.50	0.3052	0.0735	0.0168	0.0287	0.1862	0.0962
4	4.80	0.2996	0.1152	0.0154	0.0266	0.1425	0.0750
5	5.25	0.1624	0.0567	0.0126	0.0182	0.0849	0.5566
6	5.55	0.1484	0.0410	0.0105	0.0175	0.0795	0.0433
7	5.70	0.0952	0.0030	0.0084	0.0140	0.0398	0.0283
8	6.04	0.0616	0.0014	0.0070	0.0123	0.0406	0.0184
9	6.33	0.0476	非潤濁性	0.0033	0.0105	0.0308	0.0141
10	6.68	0.0420	同 上	0.0030	0.0095	0.0266	0.0113

6. アミノ態窒素 フォルモル法にて定量す。

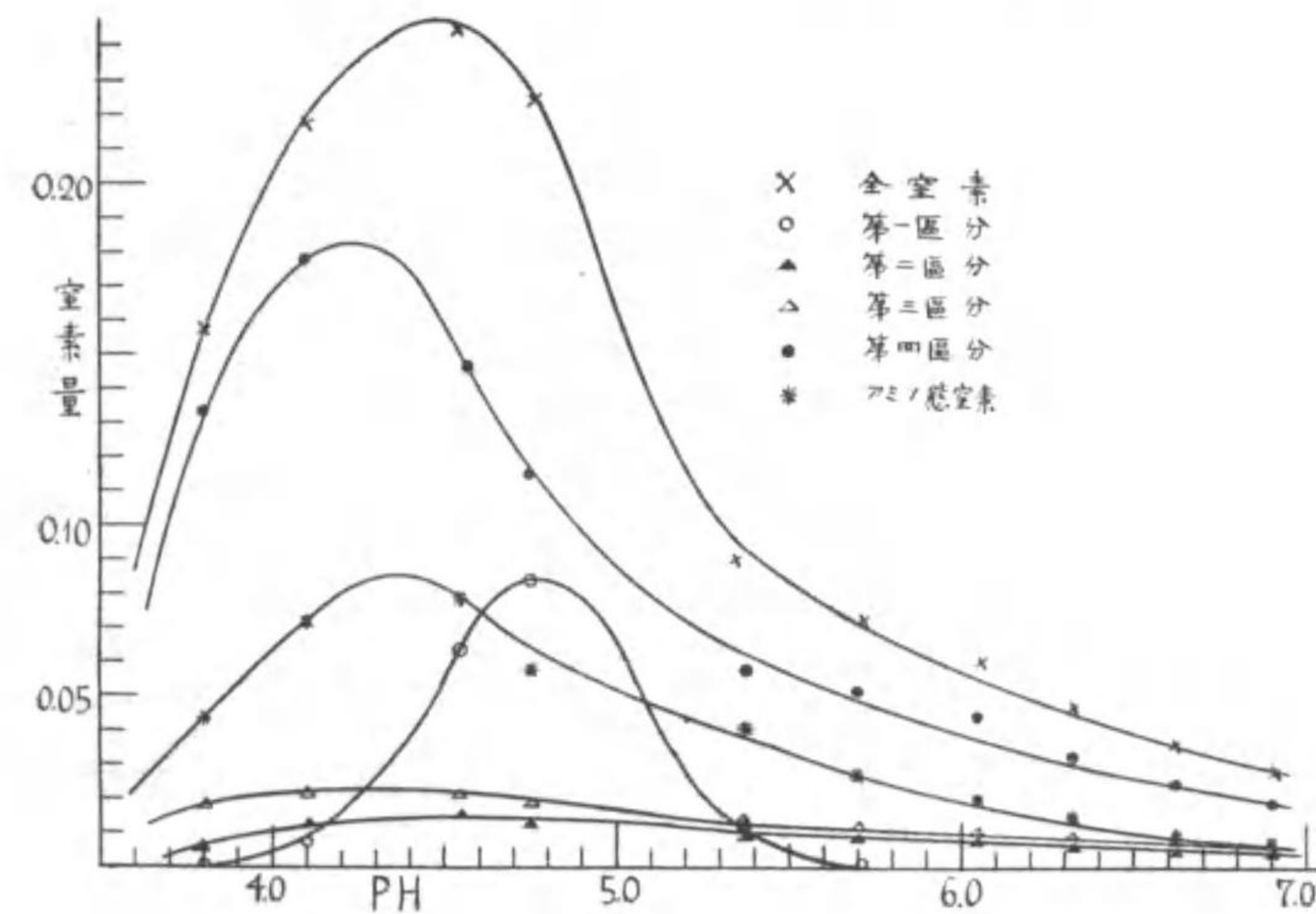
第十一表 B組仕込三十二日目に於ける味淋の窒素物

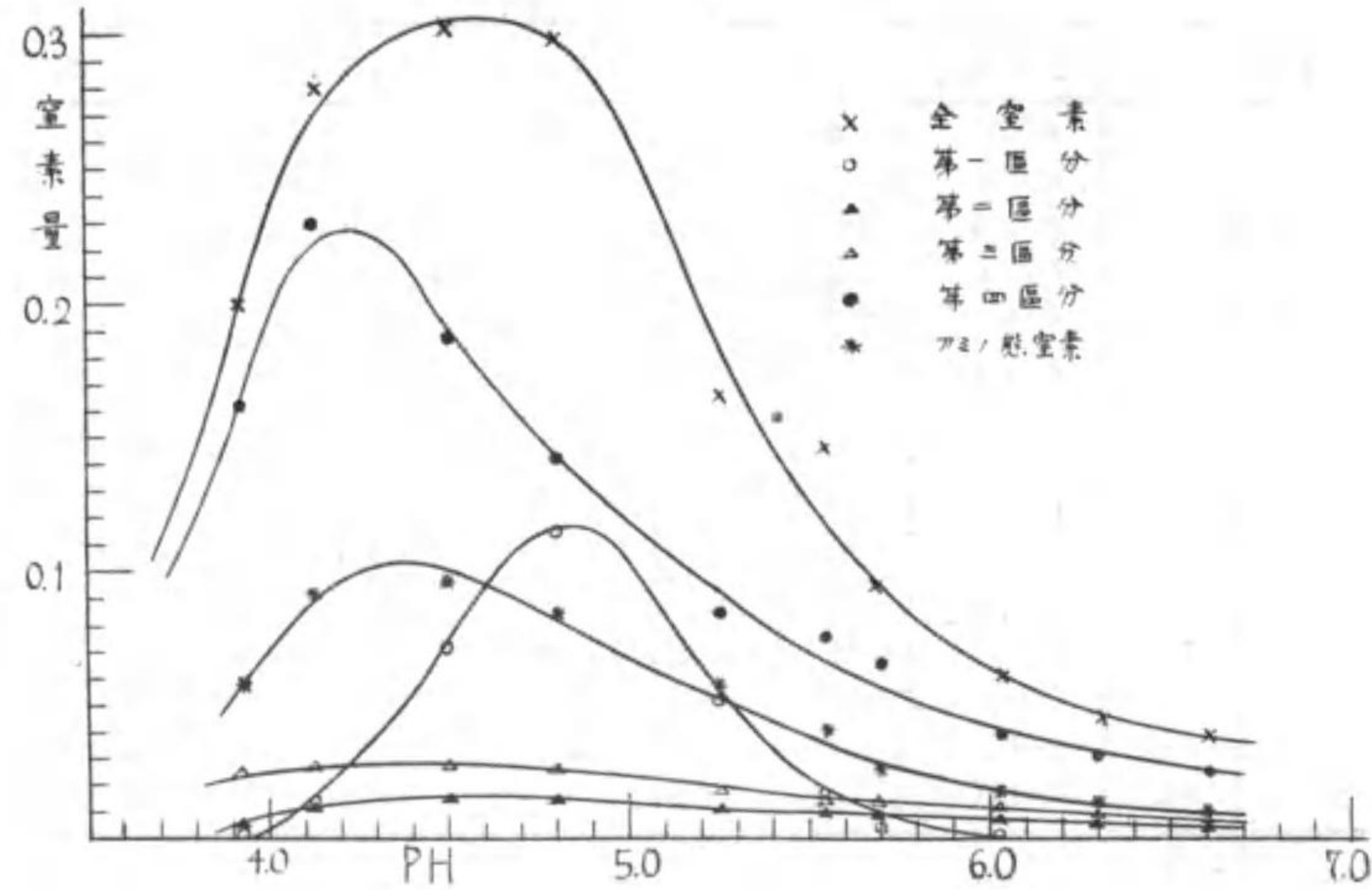
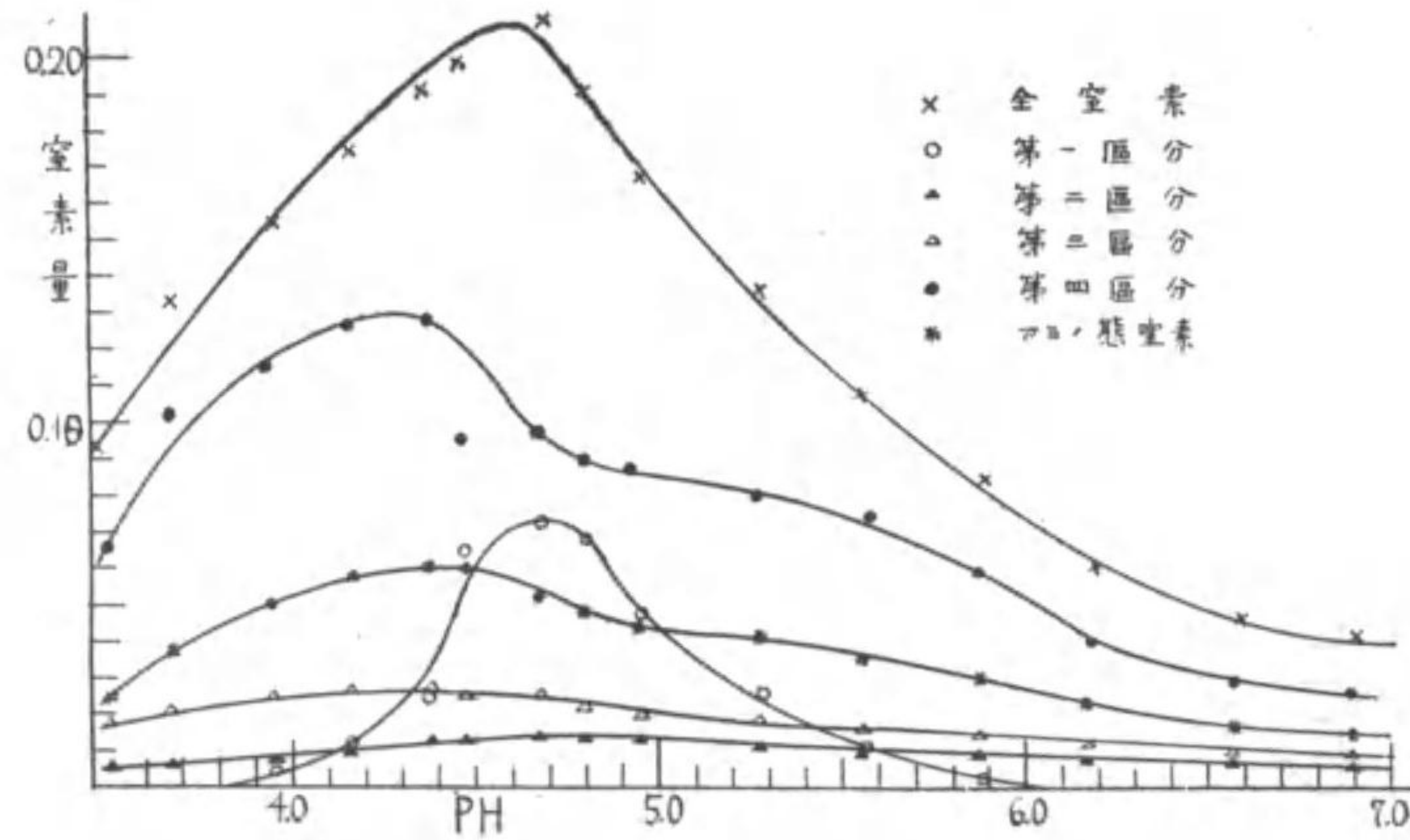
番號	PH	全 窒 素	第一區分	第二區分	第三區分	第四區分	アミノ態窒素
1	3.44	0.0920	非潤濁性	0.0053	0.0175	0.0679	0.0235
2	3.68	0.1316	同 上	0.0070	0.0210	0.1036	0.0382
3	3.96	0.1540	0.0042	0.0084	0.0245	0.1169	0.0501
4	4.17	0.1750	0.0109	0.0105	0.0256	0.1281	0.0580
5	4.38	0.1918	0.0245	0.0123	0.0252	0.1299	0.0587
6	4.46	0.1988	0.0658	0.0133	0.0245	0.0952	0.0580
7	4.69	0.2100	0.0714	0.0147	0.0245	0.0994	0.0514
8	4.80	0.1904	0.0665	0.0137	0.0203	0.0900	0.0497
9	4.96	0.1680	0.0490	0.0123	0.0182	0.0856	0.0441
10	5.29	0.1372	0.0284	0.0112	0.0175	0.0802	0.0417
11	5.57	0.1092	0.0119	0.0105	0.0161	0.0767	0.0364
12	5.88	0.0868	0.0042	0.0091	0.0140	0.0595	0.0315
13	6.19	0.0602	非潤濁性	0.0077	0.0119	0.0406	0.0239
14	6.59	0.0476	同 上	0.0063	0.0105	0.0308	0.0184
15	6.89	0.0420	同 上	0.0060	0.0084	0.0277	0.0146

以上の表を圖示すれば第一圖、第二圖及び第三圖の如く一層明瞭に知り得べし。

上記の表及び圖を見るに全窒素は PH 4.5—4.8 に於て最高を示し此の部分を遠ざかる

第一圖 味淋のPHと窒素物との關係(第九表参照)



第二圖 味淋の P_n と窒素物との關係(第十表参照)第三圖 味淋の P_n と窒素物との關係(第十一表参照)

に従ひ減少す。此の結果より $P_n 4.5—4.8$ 附近は麴菌蛋白分解酵素の糯米蛋白質の凝固せるものを溶出する最適水素イオン濃度なりと考ふる事を得。

第一區分の窒素は即ち硫酸酸性に於て硫酸苦土に依り沈澱する部分にして前記の如く著者は少なくともアルブミンI及びアルブミンIIに屬するものと推定せり。而して此の部分の最も多量に存在する點は $P_n 4.5—4.8$ にして全窒素の最も多量なる P_n と殆んど全く一致す。然しながら全窒素の最高 P_n は 4.5 の附近であり第一區分の最適 P_n は 4.8 附近であるが如く兩者の間に僅かに差あるものゝ如し。

第二區分の窒素は即ち昇汞に依り沈澱する部分にして味淋中には比較的僅少なり。其の最高 P_n は全窒素及び第一區分と同様 4.5—4.8 附近にあり。

第三區分の窒素は純ペプトン級にして第二區分よりは稍多く約二倍量あり。而して其の最高 P_n は第一及び第二區分と稍異り幾分低く 4.0—4.8 にあり。

第四區分は第一第二及び第三區分を全窒素より減じたる殘餘にして此の内にはペプチド、アミノ酸、アמיד其の他の窒素を含有す。此の部分の窒素は非常に多く全窒素の 60—80% を占む。而して其の最高 P_n は 3.7—4.8 にして稍低き部分にあり。

フルモル法に依り定量せらるべきアミノ態窒素は大體全窒素に對して 25—40% を占む。而して其の最高 P_n は幾分廣範圍に亙り 3.7—5.0 の間にあり。然しながら溶解性蛋白質を用ひたる場合アミノ酸生成の最適 P_n 價が 7.0—8.0 附近にある事は既に多くの研究者に依り證明せられたる所なるも之とは大いに意味を異にする。味淋の場合に於ては該 P_n の範圍は最適 P_n にあらずして單にアミノ酸量の最高 P_n たるに過ぎず。即ち味淋に於ては仕込の條件に於て蛋白質は殆んど同一なるも P_n の調節に依り之を溶出する酵素の作用大いに異り、前述の如く $P_n 4.5—4.8$ 附近に其の最適 P_n を有するが故に溶解性蛋白質は常に此の附近に於て著しく多く、従つて之が分解生成物たるアミノ酸が自然に多くなる事は當然なり。

實際に各 P_n 價の調節に於て全窒素に對するアミノ態窒素を比較するに P_n が高くなるに従ひ其の百分率は大きなり。之即ちアミノ酸生成酵素の最適 P_n に接近するが爲なり。

麴菌中の蛋白分解酵素が數種存在する事は既に多くの研究者に依り推定せられたる所にして、恰も澱粉が砂糖に分解する場合各種のデキストリンを經過する如く蛋白質に於ても各種の段階的分解物を生ずる事は當然にして蛋白質がアルブミン、ペプトンの状態に分解し更にペプチドに達し遂にアミノ酸及びアמידに分解するものなるべし。

味淋醸造に於ては蒸餾したる糯米を用ふるが故に蛋白質は凝固し居れり。酵素は一度之を溶出したる後分解作用を行ふものゝ如し。従つて溶出作用の最適 P_n たる 4.5—4.8 附近に於ては蛋白質の溶出急激にして其の分解力之に伴はざるが爲に味淋中に之を殘存して溷濁性物質となるものゝ如く考へらる。

醤油醱酵と脂油の關係 (第三報)

(酵母の増殖並に醱酵に及ぼす二三脂肪族高級アルコール類の影響)

The relation between *Shōyu*-brewing and the fatty oils.
Part III.— Influence of several higher fatty alcohols on
the propagation and the fermentation of yeast.

技 手 深 井 冬 史
研 修 員 小 松 真 一

緒 言

著者は曩の報告に於て一鹽基性高級飽和脂肪酸類に就きて醤油及清酒酵母に於る増殖並に醱酵作用に對する阻害作用に就きて報告したり。即ち是等脂肪酸類の毒力は最初炭素數を増大するに従ひ即ち分子量の大なるに従ひて順次強力なる作用を表はし遂に炭素數十個のカブリン酸に至りて其極大なるを示し以下分子量の増大と共に低下しオレイン酸に至れば全く其作用を表はさず。是等脂肪酸類の酵母類に對する生理的現象は其物理的又は化學的性質に於いて或一定の關係を成立するものに非ずやとの觀念を深からしむるものあり。醱酵生理學上實に興味ある事實たるを指摘し置きたり。

今回は是等高級脂肪酸に對應すべき脂肪族高級アルコールの二三に就きて前報告と同様なる方法によりて酵母の増殖並に醱酵作用に對する阻害作用に就きて試験を行ひたる結果を發表せんとす。

酵母類の増殖又は醱酵作用に對する低級アルコールの影響に關して古くより研究報告數多あり。即ちミュラー、トウルゴ、ハイダック、ツアベック等は主としてエチールアルコールに對する麥酒酵母又は酒精酵母の酒精許容性を研究發表しレグナルトはメチールアルコール又はカブリーールアルコールに至る數種のアルコールに就きて不明の或種酵母の抵抗性に就きて試験したり。本邦に於ては古く矢部博士は二三の高級アルコールに就きて清酒酵母に於る其毒性を試験し黒野博士は數種の清酒酵母に對するメチールよりカブリーールに至る八種のアルコールの毒性に關して詳細なる研究報告を發表せられたり。

是等諸學者の研究結果より見れば酵母類に對するアルコール類の毒作用は其分子量を増大するに従ひ即ち高級となるに従ひて増加するものにして酵母の種類によりても多少の相違あるものの如し。而して從來の研究はアルコールとして炭素八個のカブリーールを以て最高となし其以上の高級アルコールに關しては未だ研究報告あるを聞かず。著者は高級脂肪

酸の毒性に關して一の極點ある事實を認めたるより聯想し其等高級脂肪酸に對應すべき高級アルコール類に於ても同一の關係の存在若し在りとすれば是等化合物の毒性に關して化學構造上より新たなる説明を與へ得べきを想像し本試験を計畫したり。即ち本試験に於ては炭素七個のヘプチールアルコールより出立しカブリーール、第二級オクチール、デシール、ドデシールアルコール等の五種のアルコールに就きて清酒酵母並びに醤油醱酵酵母に對する毒性を精査したり。

實 驗

1. 清酒酵母に對するアルコール類の毒性

酵母のアルコール類に對する抵抗力に就いては酵母の種類によりても相違あること勿論にして黒野博士によれば日本醸造協會清酒酵母に於ては酵母増殖試験並びに醱酵試験に於て第二號酵母最もアルコールに對して抵抗力強大なるが如く著者が高級脂肪酸の毒性に關して試験したる場合に於ても第二號酵母は醤油醱酵酵母に比して抵抗力大なるを認めたり。本試験に於いては前試験と可成的條件を一致せしめる必要上特に抵抗力大なる第二號酵母を使用することとせり。

供試酵母液

ボーリング 10.5 度, Pn 5.1 の麴汁 100 匁 に二號酵母純粹種一白金耳を移植し七日間 28°—30° の定温器中に培養せる沈澱酵母 5 匁 よりピペットにて正確に 1 匁 の乳濁酵母を採りて試験に供せり。

培養基の調製

前記と同様なるボーリング 10.5 度 Pn 5.1 の麴汁 100 匁 に種々の割合に各種アルコール類を添加し常法により殺菌したる後試験に供したり。

酵母増殖試験

殺菌培養基 100 匁 に無菌箱中にて乳濁酵母液 1 匁 を添加移植し 28°—30° の定温器中に靜置し一定時後毎日各液 2.5 匁 宛を採取し 100 匁 内容有栓シリンダー中に入れ 2.5% 稀硫酸液にて稀釋して 50 匁 となし常法に則りヘマチメーターを使用して毎日の増殖酵母數を計算せり。

醱酵試験

ブフネル氏減量法に依れり。即ち 250 匁 内容マイルス氏變形醱酵瓶を使用し 100 匁 の殺菌培養基に無菌箱中に於て乳濁酵母液 1 匁 を添加移植し 28°—30° の定温器中に靜置し一定時後毎日約 50 回振盪し炭酸瓦斯を排除し醱酵瓶全量を秤量し其差を以て醱酵によりて生ぜる發生炭酸瓦斯量となす。

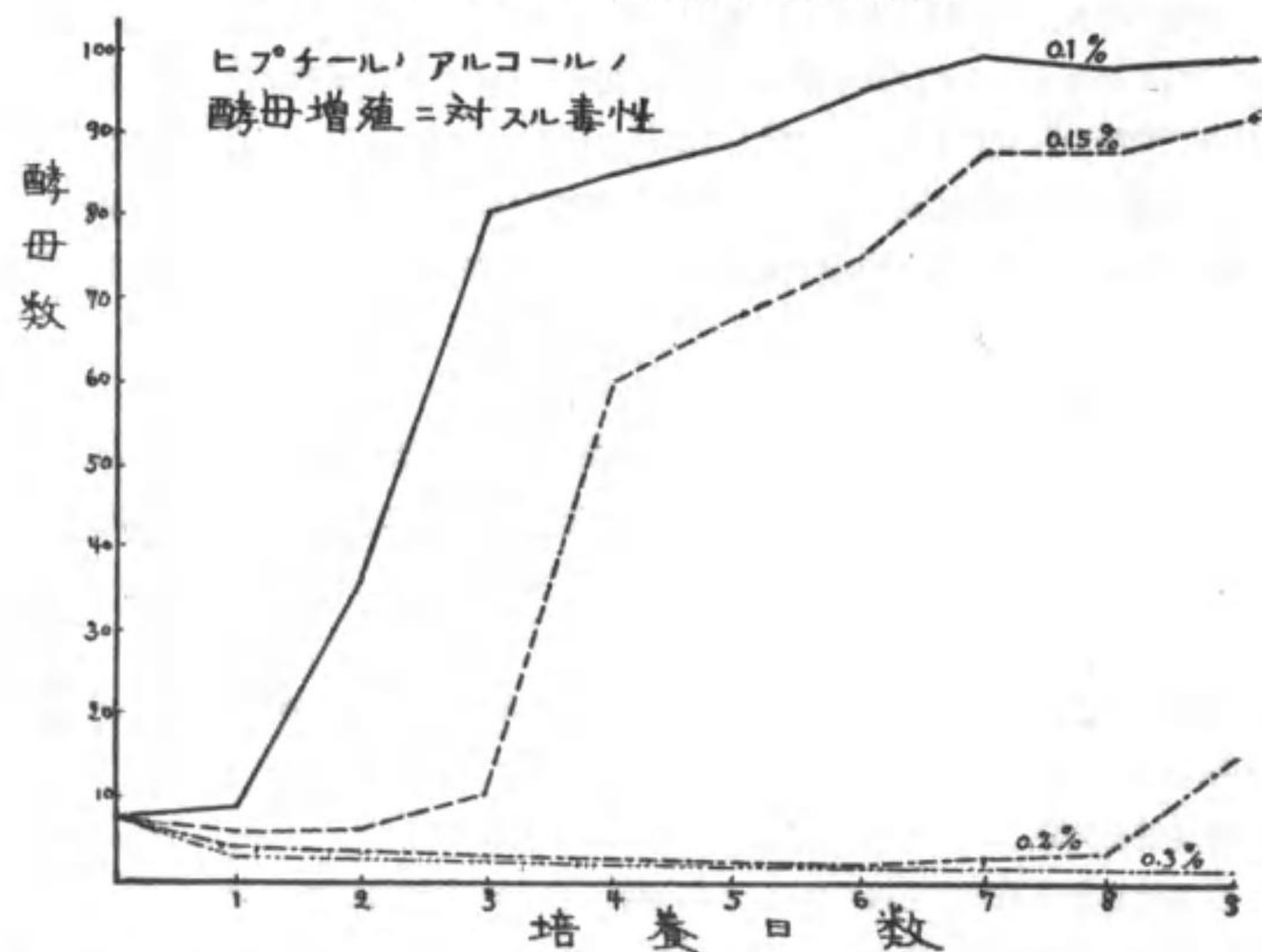
1. ヘプチールアルコールの場合 $\text{CH}_7(\text{CH}_2)_6\text{CH}_2\text{OH}$

A. 酵母増殖試験

ヘブチールアルコール 0.1%, 0.15%, 0.2%, 0.3% 等添加四種の培養基に於る觀察拾日間に於ける増殖酵母數次の如し。

試 驗 號	アルコ-ル %	移植直後平均數	單位一萬									
			1日	2日	3日	4日	5日	6日	7日	8日	10日	
1	0.10	760	880	3600	8100	8600	8960	9680	10000	9760	10240	
2	0.15	760	600	648	1000	6030	6800	7600	8960	8800	9840	
3	0.20	760	416	384	380	350	248	248	336	344	4080	
4	0.30	760	384	344	344	300	240	224	240	240	224	

ヘブチールアルコールの酵母増殖に對する毒性



即ち 0.1% には第一日目に於て稍や抑制作用を現せども二日目より漸次擡頭し來る。0.15% には一日目に於て毒作用明瞭、二日目に稍や再生の兆あり、三日目より漸次増殖の傾向となる。0.2% には八日目まで毒作用全く顯著なるも十日目に俄然反撥して増殖旺盛となる。0.3% には十日を通じて全く繁殖の跡なく漸次死滅に至るを認む。即ちヘブチールアルコールの供試酵母に對する死滅極量は 0.3% なり。

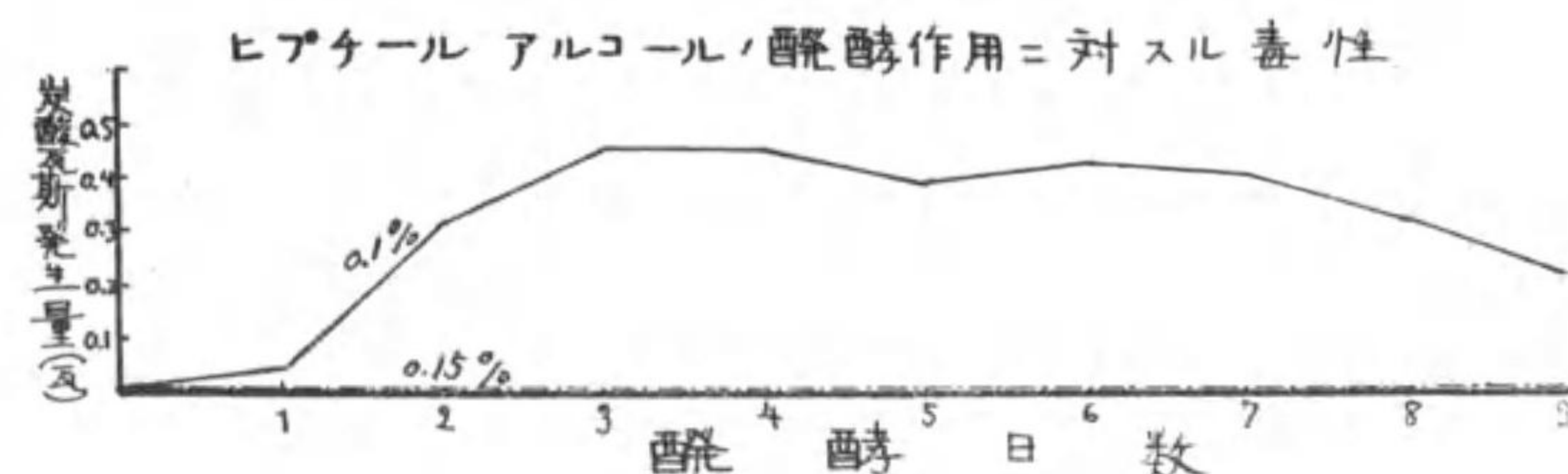
B. 醱酵試験

ヘブチールアルコール 0.10%, 0.15%, 0.20%, 0.30%, 等添加四種の培養基に於る觀察九日間に於ける炭酸瓦斯發生量は次の如し。

試 驗 號	アルコ-ル %	1日後減量	2日後減量及通計	3日後減量及通計	4日後減量及通計	5日後減量及通計	6日後減量及通計	7日後減量及通計	8日後減量及通計	9日後減量及通計
1	0.30	0.0462	0.3005	0.4405	0.4280	0.3670	0.414	0.6255	0.2365	0.1760
2	0.40	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	0.50	—	—	—	—	—	—	—	—	—

即ち 0.1% にて極微弱なる醱酵作用を持続するのみにて 0.15% 以上に於ては殆ど測定し得べき減量を表はさず。全く醱酵作用の停止せらるゝを認む。

第二圖



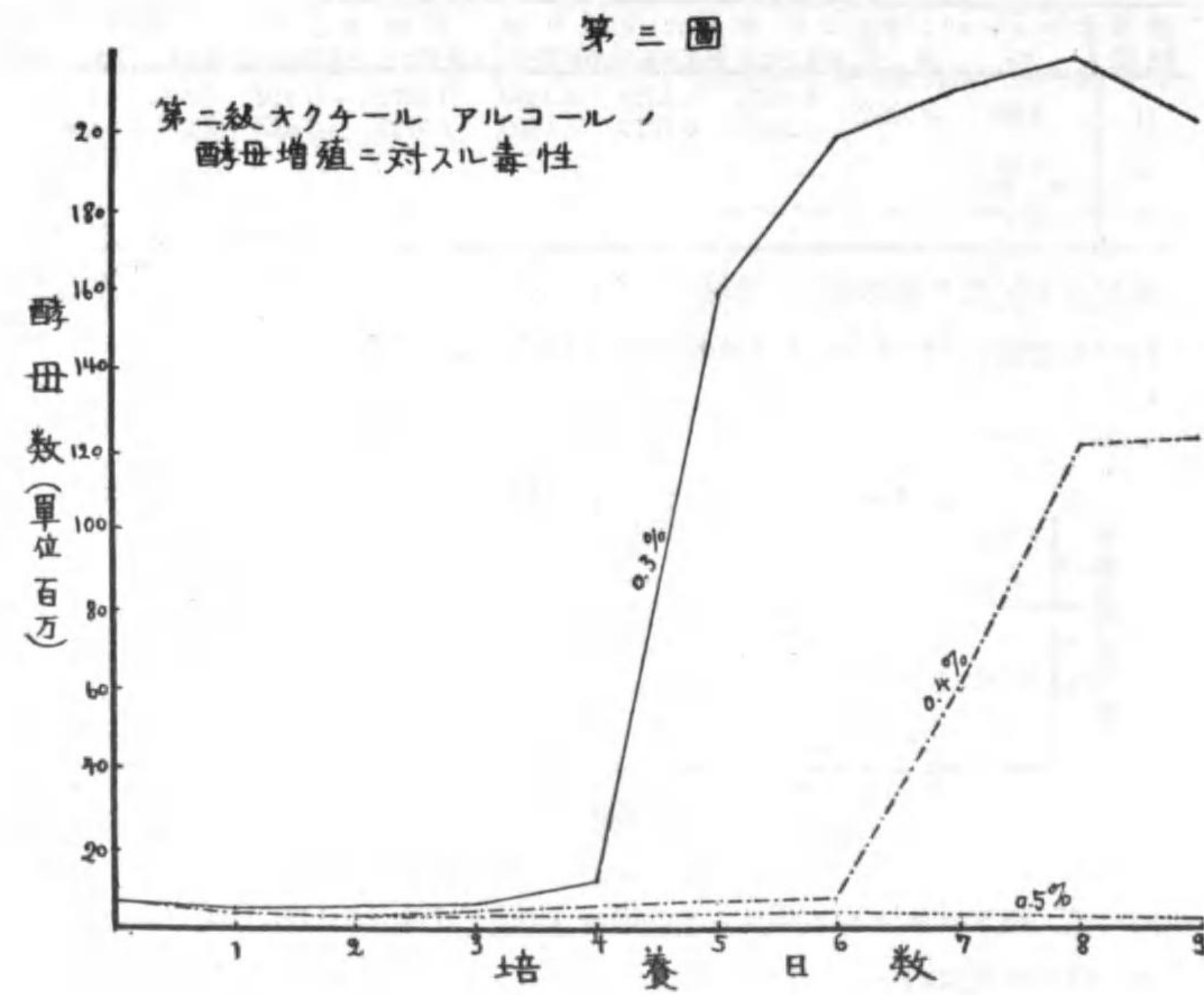
2. 第二級オクチールアルコールの場合 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{CHOH}\cdot\text{CH}_3$

A. 酵母増殖試験

第二級オクチールアルコール 0.3%, 0.4%, 0.5% 等添加三種の培養基にて觀察十日間に於ける酵母増殖數は次の如し。

試 驗 號	アルコ-ル %	移植直後平均數	(單位一萬)									
			1日	2日	3日	4日	5日	6日	7日	8日	10日	
1	0.30	760	450	480	600	1380	16000	20640	21760	22480	19120	
2	0.40	760	448	432	433	440	456	464	6000	12100	12400	
3	0.50	760	448	416	420	410	456	384	384	375	350	

即ち 0.3% に於ては最初三日間毒作用を呈し四日目より擡頭す、0.4% に於ては六日間まで減少を示せるも七日目より再生す、0.5% には全く死滅に至らしむ。オクチールアルコールの極量は 0.5% なり。

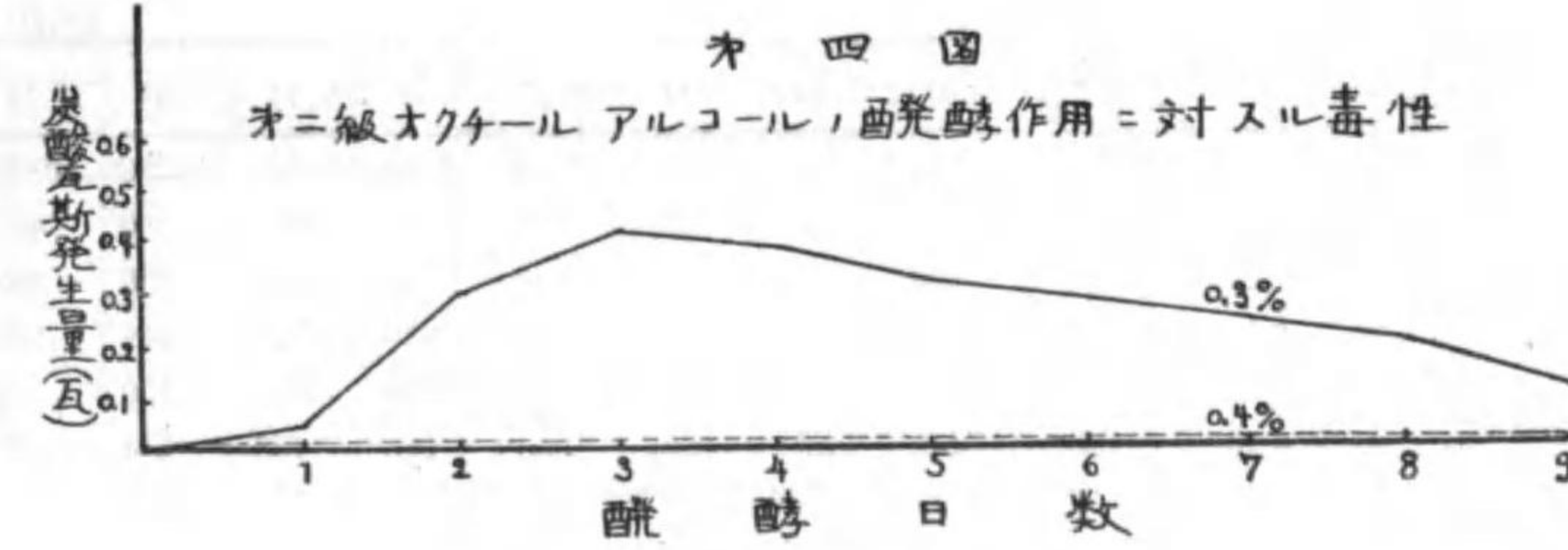


B. 醱酵試験

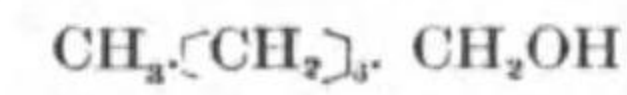
第二級オクテールアルコール 0.3%, 0.4%, 0.5% 等添加三種の培養基に於ける觀察九日間に於る炭酸瓦斯發生量は次の如し。

試験號	アルコール %	1日後減量	2日後減量及通計	3日後減量及通計	4日後減量及通計	5日後減量及通計	7日後減量及通計	8日後減量及通計	9日後減量及通計
1	0.30	0.0462	0.3005 0.3467	0.4405 0.7872	0.4230 1.2152	0.3670 1.5822	0.6255 2.2077	0.2365 2.4442	0.1760 2.6202
2	0.40	—	—	—	—	—	—	—	—
3	0.50	—	—	—	—	—	—	—	—

即ち 0.3% にて極微弱なる醱酵作用を持続するも漸次減少を示し, 0.4% 以上に於ては全く醱酵作用の停止せらるゝを認む。

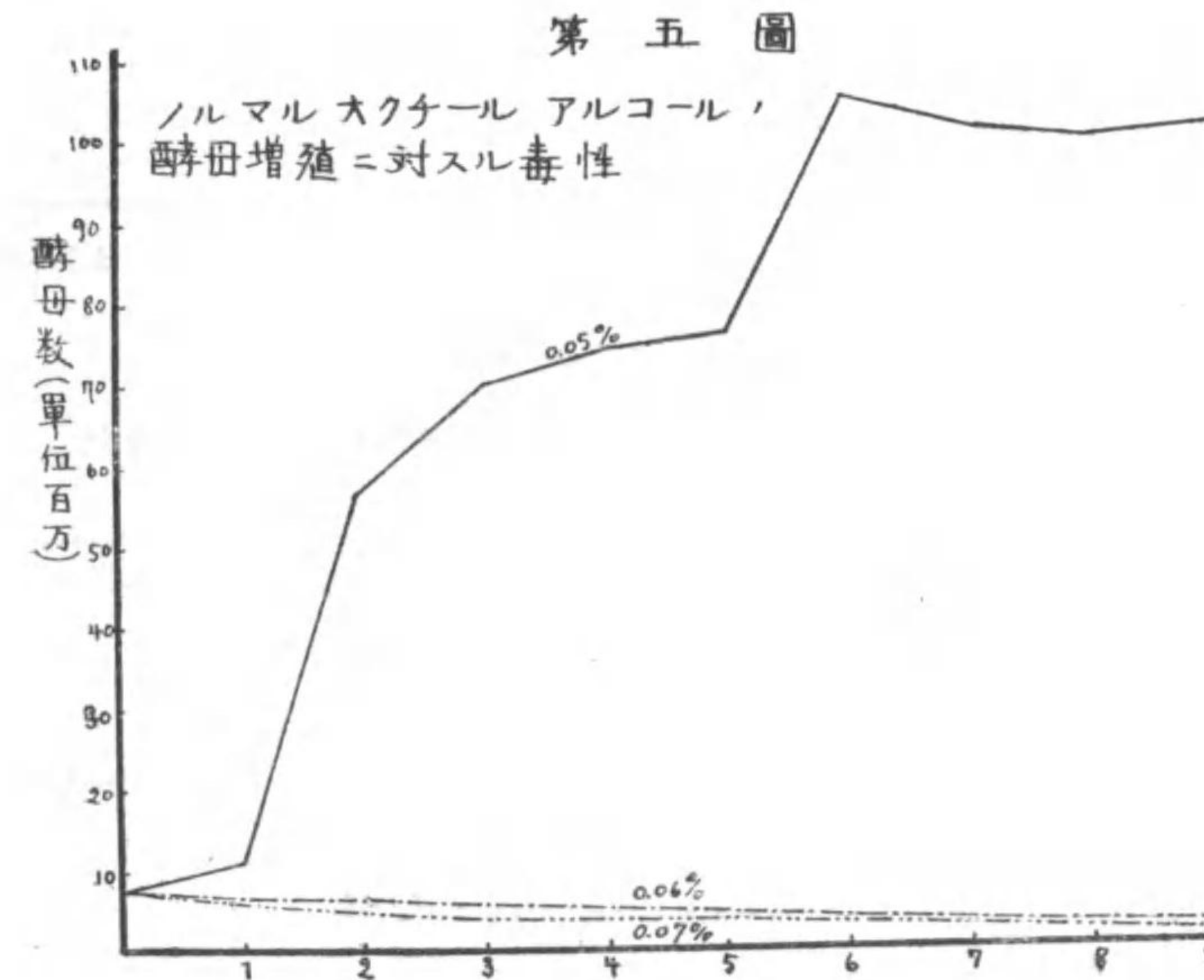


3. ノルマルオクテールアルコール(カプリールアルコール)の場合



A. 酵母増殖試験

ノルマルオクテールアルコール 0.05%, 0.06%, 0.07%, 0.08%, 0.09%, 0.1% 等添加六種の培養基に於いて觀察九日間に於ける増殖酵母数は次の如し。



(單位一萬)

試 驗 號	アルコール %	移植直後平均數	1 日	2 日	3 日	4 日	5 日	6 日	7 日	8 日	9 日
1	0.05	720	1200	5760	7200	7600	7840	10560	10320	10160	10400
2	0.06	720	560	550	488	450	448	450	450	400	312
3	0.07	720	496	376	360	348	340	336	280	248	248
4	0.08	720	400	356	312	304	300	272	243	224	216
5	0.09	720	488	448	450	400	304	248	200	184	184
6	0.10	720	448	323	224	300	176	158	184	120	120

即ち 0.05% のみに於て極微弱なる増殖作用を呈するも 0.06% 以上に於ては毒作用を現はし酵母體の漸減を認むるを得べし。即ちカブリーアルコールの毒力極量は 0.06% なり。

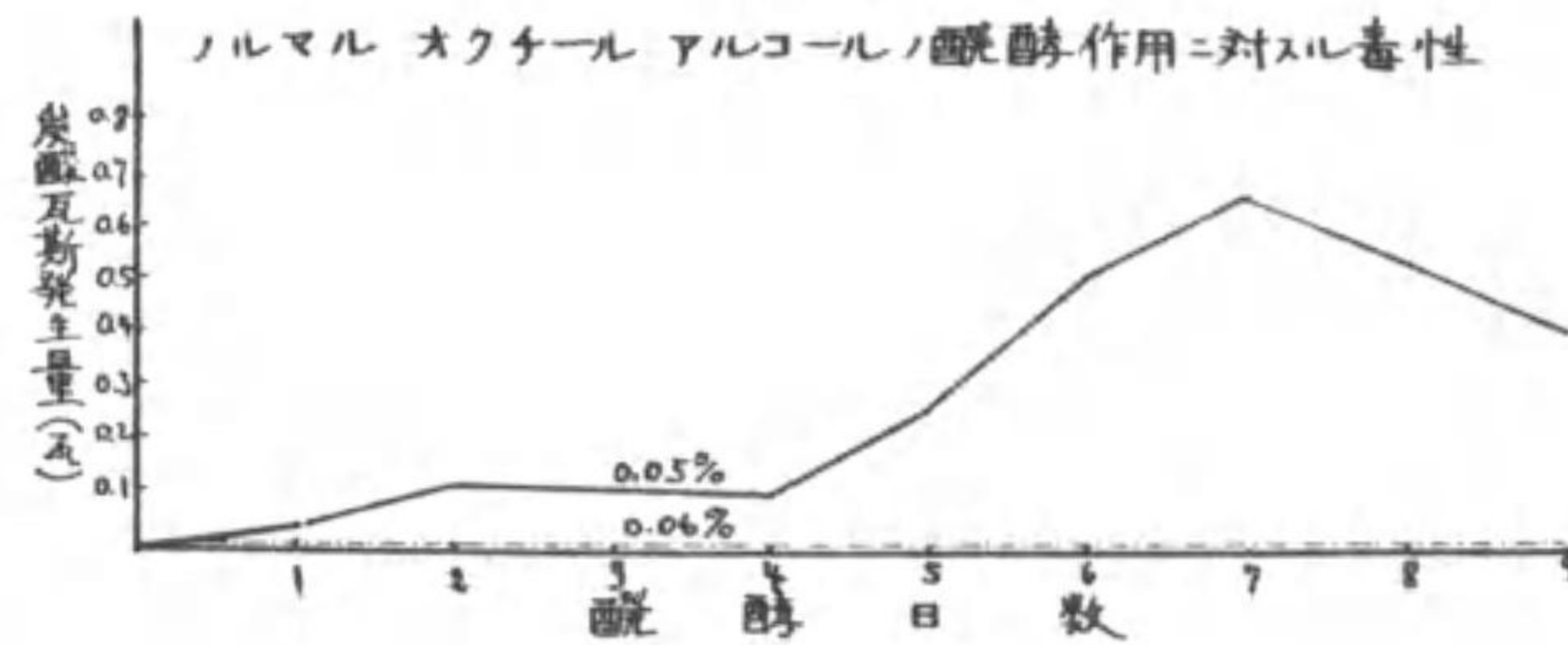
B. 醱酵試験

ノルマルオクチールアルコール 0.05%, 0.06%, 0.07%, 0.08% 等四種の培養基に於る觀察九日間に於ける炭酸瓦斯發生量は次の如し。

試 驗 號	アルコール %	1 日後 減量	2 日後 減量及通計	3 日後 減量及通計	4 日後 減量及通計	5 日後 減量及通計	6 日後 減量及通計	7 日後 減量及通計	8 日後 減量及通計	9 日後 減量及通計
1	0.05	0.037	0.1040 0.1077	0.0770 0.1847	0.0795 0.2642	0.2595 0.5237	—	1.2125 1.7362	0.5770 2.3132	0.4830 2.7962
2	0.06	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	0.07	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	0.08	—	—	—	—	—	—	—	—	—

即ち 0.05% に於て微弱なる醱酵作用を認めたるのみにして 0.06% には全く醱酵作用を營まず。

第六圖



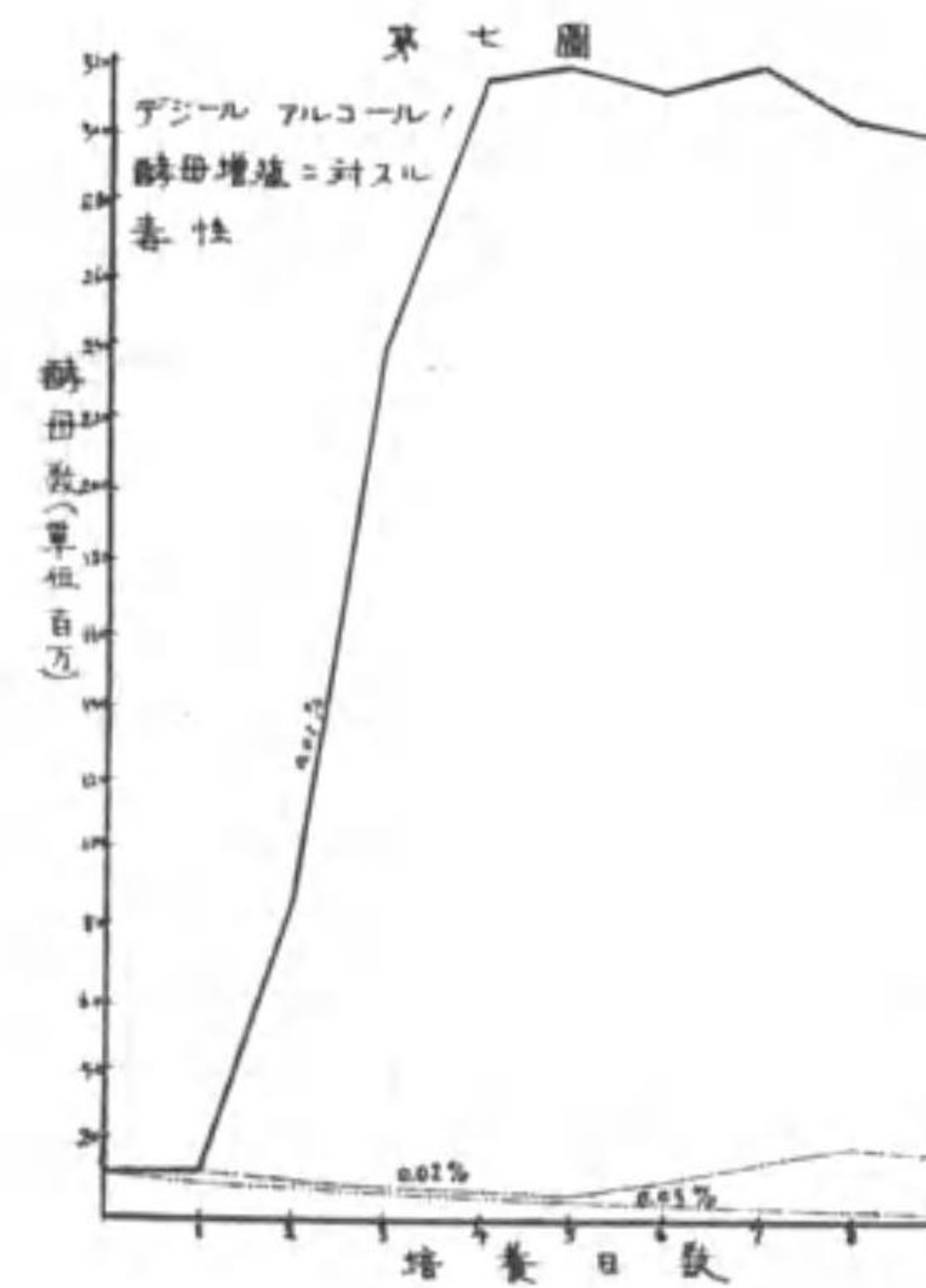
4. デシールアルコールの場合 $CH_3(CH_2)_nCH_2OH$

A. 酵母増殖試験

デシールアルコール 0.01%, 0.02%, 0.03%, 0.04%, 0.05% 等添加五種の培養基に於いて觀察九日間に於ける増殖酵母數は次の如し。

(單位一萬)

試 驗 號	アルコール %	移植直後平均數	1 日	2 日	3 日	4 日	5 日	6 日	7 日	8 日	9 日
1	0.01	1040	1120	8800	24000	31840	32000	31000	32040	31600	30540
2	0.02	1040	1120	720	640	560	400	960	1440	1920	1600
3	0.03	1040	1030	720	640	620	560	480	400	400	320
4	0.04	1040	980	560	560	480	400	380	344	248	240
5	0.05	1040	800	560	416	400	350	320	344	240	224



即ち 0.01% に於ては微弱なる増殖率を以て進行し、0.02% には一日目に僅少なる酵母數の増加を示したるも二日目より漸次毒作用を現はし七日目に至れば始めて再生状態となり、九日目に及べば再び酵母數を減少せしむ。

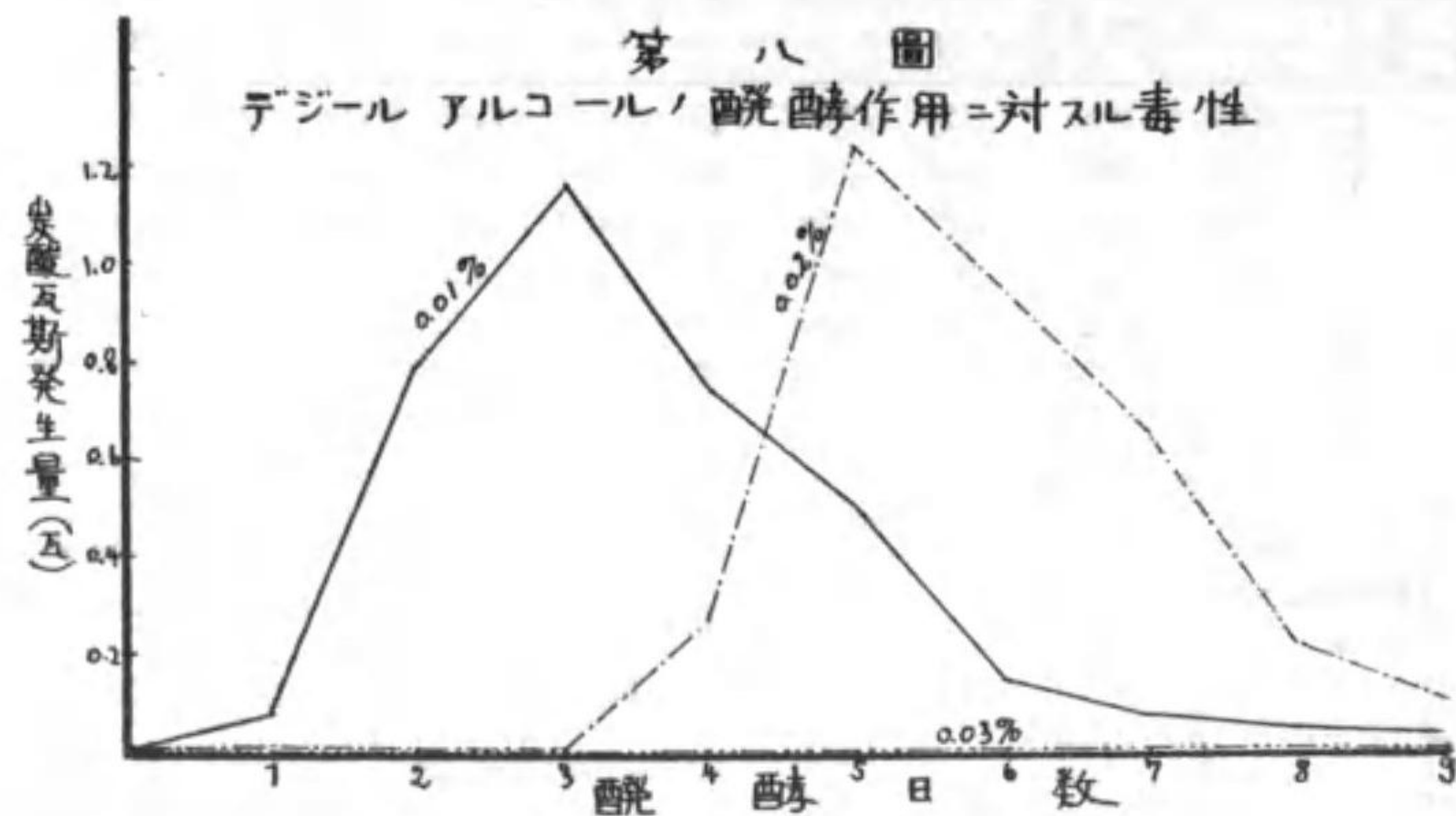
0.03% 以上において毒作用顯著なり。即ち デシールアルコールの極量は 0.02% 或は 0.03% 以下なるべし。

B. 醱酵試験

デシールアルコール 0.01%, 0.02%, 0.03%, 0.04% 等添加四種の培養基に於て觀察九日間に於ける炭酸瓦斯發生は次の如し。

試 驗 號	アルコール %	1 日後 減量	2 日後 減量及通計	3 日後 減量及通計	4 日後 減量及通計	5 日後 減量及通計	6 日後 減量及通計	7 日後 減量及通計	8 日後 減量及通計	9 日後 減量及通計
1	0.01	0.0970	0.7980 0.8950	1.1480 2.0430	0.7730 2.8160	0.5010 3.3170	0.1590 3.4760	0.0815 3.5575	0.0575 3.6150	0.0450 3.6600
2	0.02	0.0110	—	—	0.2505 0.2615	1.2350 0.4965	0.9650 1.4615	0.6400 2.1015	0.2460 2.3435	0.1060 2.4535
3	0.03	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	0.04	—	—	—	—	—	—	—	—	—

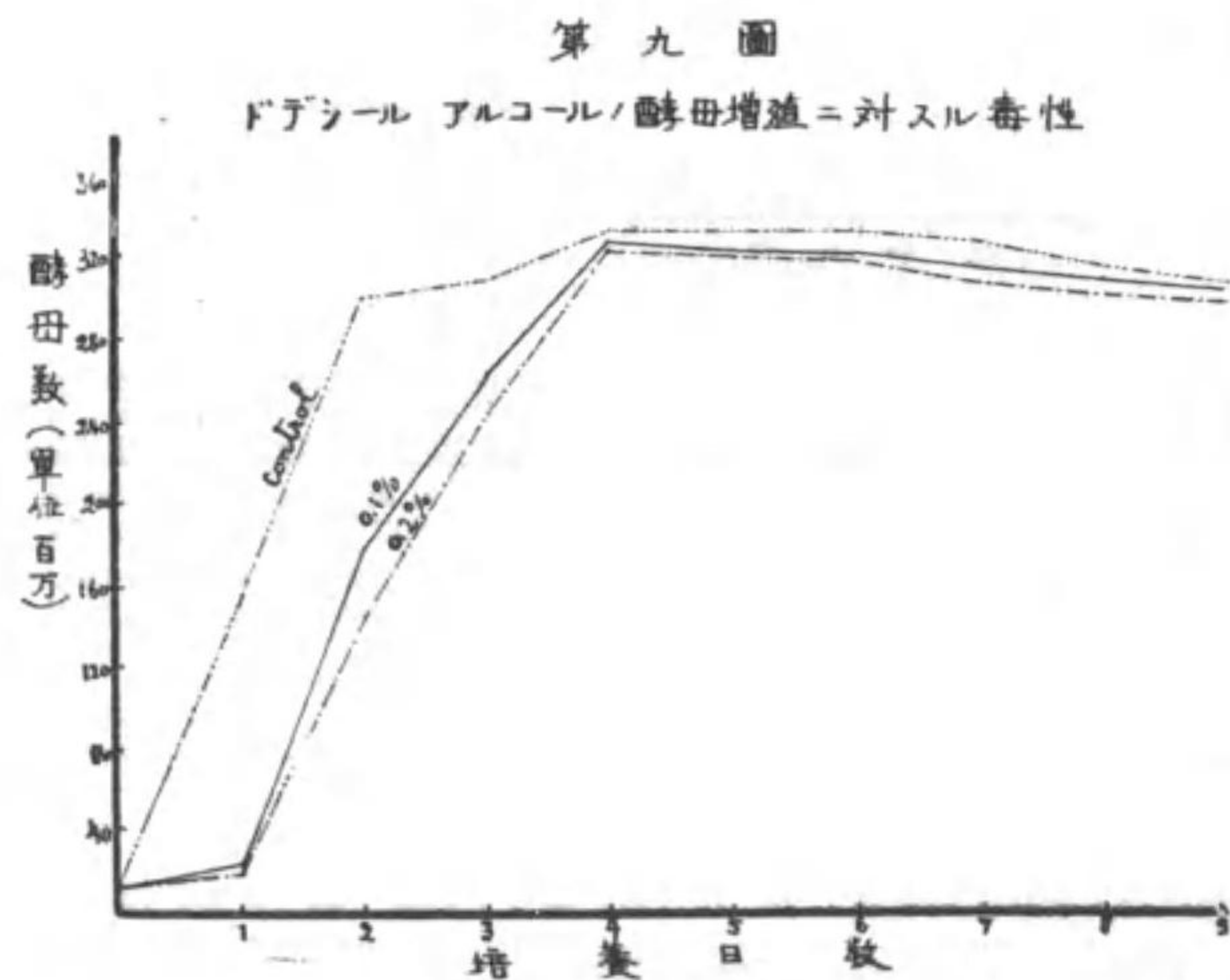
即ち 0.01% には最初より多少醱酵作用の生起するを認むるも 0.02% には最初の三日間は殆ど醱酵作用を認めず、四日後に至りて始めて順次醱酵作用の起るを認むるを得べし、0.03% 以上に於ては全く醱酵を阻害せらるゝもの如し。



5. ドデシルアルコールの場合 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2\text{OH}$

A. 酵母増殖試験

ドデシルアルコール 0.1% 及 0.2% 添加及びアルコールを添加せざるもの一種等三種の培養基に於ける観察九日間の増殖酵母数は次の如し。



(單位一萬)

試験 番号	アルコール %	移植直後平均数	1日	2日	3日	4日	5日	6日	7日	8日	9日
1	0.1	1040	2560	18000	26580	32800	32280	32240	31840	31360	31040
2	0.2	1040	2240	14800	24720	32400	31240	32240	31760	30880	30880
3	0	1040	16072	30400	30800	33200	33600	33680	32640	31760	31040

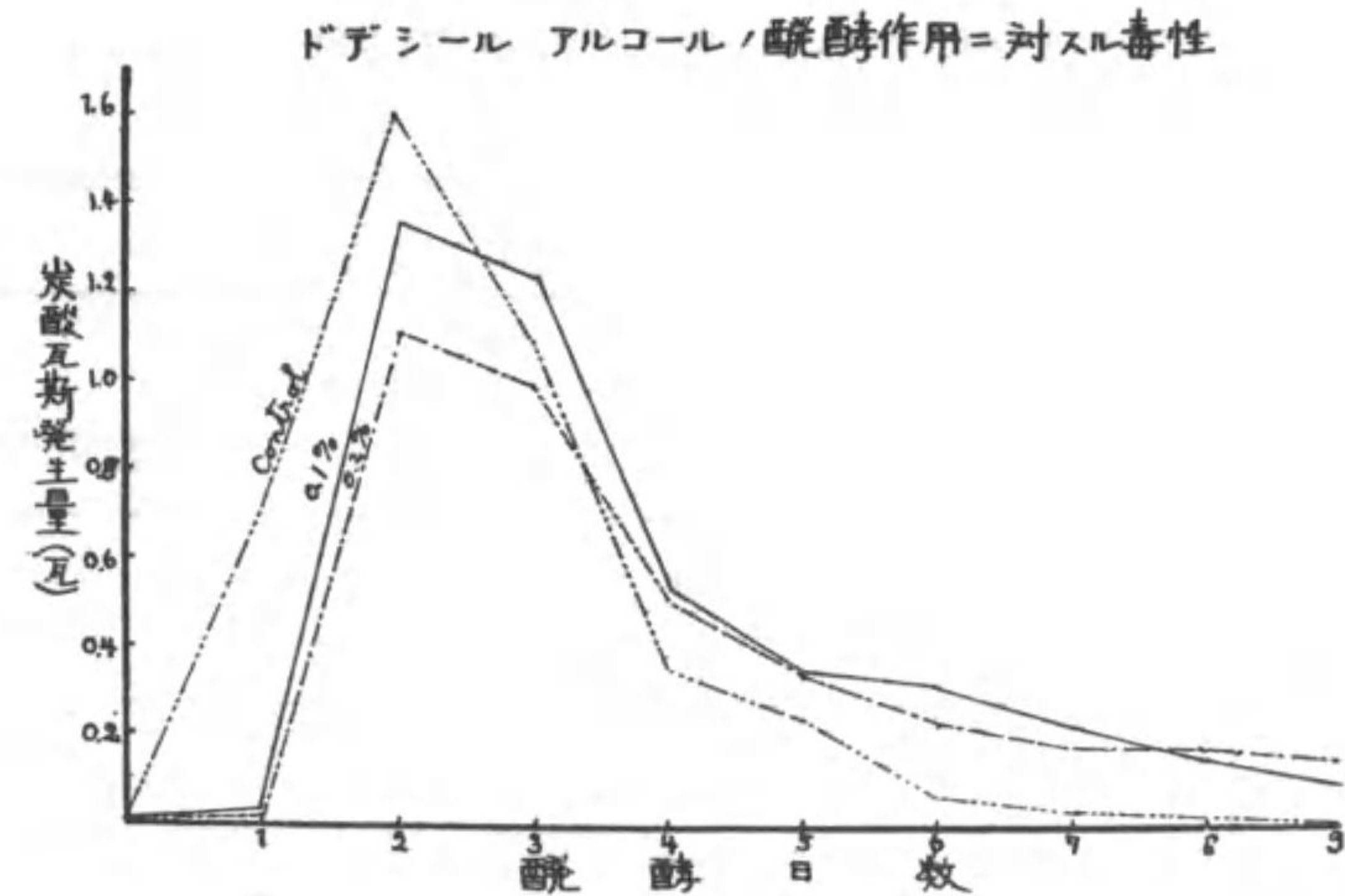
即ち此結果より観察すればドデシルアルコール 0.2% 添加液に於いてはアルコールを添加せざる場合に比較し移植後三日間に於いて稍や酵母増殖に對して抑制作用を呈するが如きも四日後に至れば殆んど無添加液に等しく酵母の増殖盛んとなり全く影響を表はさざるが如し。

B. 醱酵試験

ドデシルアルコール 0.1% 及 0.2% 添加及びアルコールを添加せざるもの等三種の培養基に於ける観察九日間の炭酸瓦斯發生量は次の如し。

試験 番号	アルコール %	1日後減量	2日後減量及通計	3日後減量及通計	4日後減量及通計	5日後減量及通計	6日後減量及通計	7日後減量及通計	8日後減量及通計	9日後減量及通計
1	0.1	0.01	1.3655 1.3755	1.2430 2.6185	0.5460 3.1645	0.3550 3.5195	0.3080 3.8275	0.2140 4.0415	0.1800 4.2215	0.0980 4.3195
2	0.2	0.007	1.1191 1.1261	1.0080 2.2341	0.5280 2.7621	0.3460 3.1081	0.2580 3.3661	0.1990 3.5651	0.1920 3.7571	0.1500 3.9071
3	0	0.702	1.6000 2.3020	1.1060 3.4080	0.3865 3.7945	0.2470 4.0415	0.0680 4.1095	0.0360 4.1455	0.0245 4.1700	0.0115 4.1815

第十圖



以上の結果を見るにドデシールアルコール0.1%及び0.2%添加に於いては二日後に至つて無添加に於けると全く同程度の醱酵作用を營爲するを認むるを得べく九日間の觀察に於いては何等異なる所もなく炭酸瓦斯發生量の通計値に至りては無添加に於けるより0.1%添加のもの寧ろ増大を示したり。即ちドデシールアルコールは0.2%以下に於ては酵母の増殖竝に醱酵作用に對して見るべき阻害作用なし。

2. 各種アルコール類の醬油防微作用

前記諸試験によりてへブチールよりドデシールに至る諸種のアルコール類は勿論其種類によりて多少の遲延ありとするも一般に酵母の増殖竝に醱酵作用を抑制すること明瞭なり。而して其毒力の強弱に就ての關係はあたかも一鹽基性脂肪酸に於けると等しくカブリン酸に對應すべきデシールアルコールに於いて毒力は頂點となり之れより分子量を増大又は減少するに従つて低下するが如き關係を有するは注目しべきことなり。今回は特に醬油産膜性酵母に於いても之等アルコール類が清酒酵母に於けると同様な毒力關係を有するや否やに就きて試験を行ひたり。

醬油微は三種の異なる醬油に發生したる不純野生酵母を使用し培養液は本所製醬油(ボーメ24度, P_n 5.1)を井水にて二倍に稀釋し各50ccを内容200ccの硝子壺に採り各種アルコールを種々の割合に添加して綿栓を施し70°に約十分間加熱殺菌し冷却したる後5%食鹽水に乳濁均一とせるものを一白耳移植して28°-30°恒温器中に靜置し日々白微の發生狀態を觀察したる結果次の如し。尙ほ此際アルコールを添加せざる醬油液を同様に處理して比較に供せり。

表中(+)記號は微の發生を示し(+)記號の増加は微の増殖狀態を表はすものとす。(—)記號は不繁殖を示す。

アルコール類	日數	各種アルコールノ微抑制試験																				備	考
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
標準 ヘキシール	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
	0.05	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
	0.08	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
	0.1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
	0.12	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
0.15	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	40日ヲ經過スルモ微發 生せず 同	上
へブチール	0.01	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
	0.02	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
	0.03	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
	0.04	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
	0.05	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	同	上
オクチール 2nd	0.01	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
	0.02	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
	0.03	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
	0.04	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
	0.05	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	同	上
	0.06	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	同

オクチール 1st	0.005	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+		
	0.01	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+
	0.015	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	同	上		
	0.05	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	同	上		
デシール	0.0005	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	
	0.0008	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	
	0.001	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	
	0.0015	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+
	0.002	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	同	上		
	0.003	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	同	上		
ドデシール	0.002	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	
	0.004	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	
	0.005	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	
	0.01	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	同	上		

摘 要

1. へブチール、第二級オクチール、ノルマルオクチール、デシール、ドデシール等の高級アルコールに就きて麴汁を培養基となし日本醸造協會清酒酵母第二號の増殖竝に醱酵作用に對する毒性を試験したり。
2. ボーリング10.5度, P_n 5.1の麴汁を培養基とし温度28°-30°に於る日本醸造協會清酒酵母第二號に對する二三高級アルコールの九-十日間に於ける酵母の増殖防止竝に醱酵停止極量は下の如し。

アルコール種類	増殖防止	醱酵停止	アルコール種類	増殖防止	醱酵停止
へブチール	0.30	0.15	オクチールノルマル	0.06	0.06
オクチール二級	0.50	0.40	デシール	0.03	0.03

ドデシール 0.2% に於て認むべき毒性を呈せず。

3. 高級アルコール、酵母の増殖竝に醱酵作用に對する毒性は分子量の大となるに従ひて増大するも炭素十個のデシールに至りて極大となる。恰も高級脂肪酸に於て分子量の増大に従ひて毒性を増しデシールアルコールに相當すべきカブリン酸が最も強き毒性を呈する事實の如き關係を有するは化學構造と毒性に關して或種一定の法則を暗示するものと云ふべし。
4. 醬油の微酵母に對する高級アルコール類の毒性の關係は大體に於て清酒酵母に於ると同様の關係を有するもドデシールアルコールに於ては微酵母に對して特に強き毒性を表はしたり。此事實は微酵母の産膜性に關係するものにして該アルコールは水に不溶解にして醬油面上に浮遊し外氣との接觸を斷ち局部的に多量に集成することにより微酵母が産膜的繁殖を阻止せられしものと推察せらる。即ちボーメ13° P_n 5.0の醬油を培養基として混合不純微酵母を移植したる際の各種アルコールの四十日間微を發生せざる添加%は次の如し。

ヘキシルアルコール	0.12 %
ヘプチルアルコール	0.05 "
第二級オクチルアルコール	0.05 "
ノルマルオクチル(カプリル)アルコール	0.015 "
デシルアルコール	0.002 "
ドデシルアルコール	0.01 "

醬油醱酵と脂油の關係(第四報)

(酵母の生活細胞並に其の酵素作用に及ぼすカプリン酸
の生理的作用に就いて)

The relation between the *shōyu*-brewing and the fatty oils. Part IV.
—The physiological action of the capric acid on the living yeast
cell and its enzyme action.

技 手 深 井 冬 史
助 手 長 橋 清
研 修 員 小 松 真 一

緒 言

一鹽基性飽和脂肪酸及び之に相當するアルコール類は其高級となるに従ひて一般に酵母の増殖並に醱酵作用を阻害する作用を増大し特に炭素數十個のカプリン酸及び之に相應すべきデシルアルコールは其作用最大なる事實に關しては曩に報告したところなり。本回は生活酵母體がカプリン酸の如き藥物の添加によりて形態學上如何なる變化を及ぼすものなりや又之れを生理的毒作用と見て生活細胞の致死的現象と藥物の濃度及其接觸時間の經過との關係は如何なる條件を成立すべきものや更に斯くの如き藥物は酵母の生活細胞に對して影響を及ぼすと同時に酵母によりて分泌せらるべき酵素にも一種の害作用を呈して其作用に變化を與ふるものなるやの諸點に關し説明を與へんとして本試験を行ひたり。

生活酵母が其發育及繁殖等の生活作用に必要な栄養素を吸収し細胞體の構成エネルギーの生産に之を使用せんとするに際して其細胞體と之れに接すべき媒體との間に於て行はるべき現象は主として純物理學的理論に立脚して之を理解すべし。従つて細胞體に中毒現象を惹起し若くは一種の刺戟作用を與ふるが如き毒物の接觸作用に關しても同様なり。元來微生物の生活作用に對する毒物の作用に關しては種々の學說あり。オイラー⁽¹⁾は生活酵母の吸着作用を論じ生活酵母は膠質のみならず各種の物質に對して一種の吸着現象を行ふものにして特に色素を吸着する性強く又鹽酸の如き物質の吸着は酵母の生理上著しき影響あるを説けり。ポコルニー⁽²⁾は酸及鹽類が生活酵母によりて吸収せらると述べたり。又酵母細胞膜の滲透性と害毒作用とは重大なる關係を有することはオーベルトン⁽³⁾及バイン等の説くところにしてリポイド可溶性物質のみ細胞膜を通過して細胞原形質に特殊の作用を呈す

べしとせり。反之してハムブルガー⁽⁴⁾及びワールブルヒ⁽⁵⁾等はリポイド不溶性物質にありてもよく細胞中に透過し得べく酵母細胞膜は固有の小孔を有するのみならず表面層の構造が既に水溶性物質を通過せしめ得るとし又表面張力が滲透性と密接なる關係を有するを報じたり。

要之に生活酵母體と其媒體特に毒性との間に起る作用は滲透壓、表面張力、毛管現象或は吸着作用等の物理學的現象に重大なる關係を有することは諸學者の一致するところなり。而して生活細胞が毒物の作用によりて其生活作用に或種の變化を惹起するに至る作用は其細胞膜を通過して原形質に作用を呈するか或は細胞膜を通過せず膜のみに一種の毒作用を呈するかの一に歸すべしとするも後者に於ては早晚膜の化學的變化に伴ひて原形質にも其作用を及ぼすこと明瞭なり。従つて毒物の化學作用は其細胞膜を通過するとせざるとに拘らず一に原形質と毒物との化學的變化に起因すると考ふべし。酵母の細胞原形質に及ぼす毒物の化學的作用形式に數種あり。黒野博士⁽⁶⁾の分類に従へば 1. リポイドに溶解する有機物質の作用, 2. 沈澱せざる直接間接のイオン作用, 3. 蛋白質沈澱性の重金属鹽の作用, 4. 還元及酸化作用等に分てるが如し。然らばカブリン酸が酵母の吸着作用或は滲透作用等の如き物理的現象に於て酵母の生活細胞原形質に接觸して如何なる化學變化を呈するものなるや其作用形式が上記せる四種類の何れに屬すべきやを考察するにカブリン酸は其化學的性質頗る安定なる一鹽基性飽和脂肪酸にして水に難溶性(一萬倍の水に不溶)なるが爲めにイオン化傾向薄弱なりと認め得べく従つて其毒作用をイオン關係より説明し難く又同時に弱酸なるを以て還元並に酸化作用の機能ありと認むべからず、蛋白質を沈澱せしむべき重金属鹽類に非ざること勿論なり。即ちカブリン酸はリポイド可溶性の脂肪酸なるを以て第一類に屬すべきこと明瞭なり。オーバルトンが原形質膜の主要成分はリポイドを主としレシチン、コレステリン等より構成せらるゝものにしてリポイド可溶性物質は滲透性大なりと述べたるに徴してもカブリン酸の毒作用は原形質膜を通過して其原形質に對して一種の化學的作用を惹起するものと理解するを得べし。

カブリン酸が酵母細胞原形質と如何なる化學反應を生起すべきやに就ては事頗る微妙にして化學的試験並に顯微鏡的試験に依りて之を詳かにするを得ず。本試験に於ては可成的共間の消息の一端をうかがふに止め主としてカブリン酸添加によりて酵母細胞及其原形質の形狀に果して異常形態を表はすや否や又生活細胞の致死的條件はカブリン酸濃度の何れにありや接觸時間の關係は如何等の二三の問題に就きて解決を與へんとしたり。尙本試験に於ては毒物による酵母細胞の致死的條件を一定せしめ逆に顯微鏡を使用して酵母細胞の衰弱程度及致死的限界を探求することに依りて一般毒物の毒力の強弱を判定する一方法を案出せんとするものにして従來防腐劑又は防黴劑の試験に長日月を要したるを一層簡易化せしめ得ざるかをも併せて試験したり。

實 驗

A. カブリン酸添加による酵母細胞の異狀形態

三個の内容 250 兎 エルレンマイヤーフラスコにボーリング 10.5' P_H4.5 の麴汁 100 兎宛を採りカブリン酸乳狀液(カブリン酸に半量のアラビヤゴム末を加へ適量の熱水を使用して乳化せるもの)を加へカブリン酸濃度各々 0, 0.005%, 0.01% の如くならしめ常法に依り殺菌したる後前記と同様の麴汁 50 兎に五日間培養したる日本醸造協會酵母第二號純粹種の培養液の沈澱酵母を採り振盪均一ならしめたるもの各 1 兎を添加し振盪均一に分布せしめ 10 時間放置したる後顯微鏡下に於て酵母細胞の形態に就きて觀察したり。其結果次の如し。

試験 番號	カブリン酸 添加量 %	細胞の内容状態
1.	0.01	外形は完全なる球態を保持するもの全く絶無にして不整なる袋狀を呈し周邊鈍角を呈するもの多し、一般に細胞收縮せる如く原形質は細胞膜と全く離脱し稀には小顆粒狀となりて中央部に孤居し周圍は空洞となる、離脱したる原形質の周邊は褶曲あり、原形質の收縮甚しからざるものに於ては虚胞又は粒狀體とも認むべきものあり、細胞崩潰して内容物を壓出する程度に至らざるもプラスモリーゼの現象明瞭たり。
2.	0.005	一般に外形稍や縮少せる感あれ共明瞭ならず未だ球形を保持せるものあれども多からず、不整なる鈍角袋狀のもの多し原形質の離脱は前者より著しからず、細胞内虚胞多し、芽胞の如きものを認むることを得ず、稀に接合せるものあれども胞子を作らず、一般に生氣無くプラスモリーゼの現象認めらる。
3.	0.	細胞體完全なる球體にして普通の發育状態を呈す。 以上の實驗によりカブリン酸の添加により生活酵母は明かに營養障害を起し生活作用を停止し引いては原形質の收縮を來してプラスモリーゼの現象を惹起し毒物の濃度大なる程其影響の甚大なるを思はしむるものあり、0.005% 添

加に於て接合細胞を認めたるは酵母が毒物の作用によりて榮養不適當となり其死滅に近づきて芽胞を生産せんとする一の前驅操作とも認め得べく 0.01% に於ては明かにプラスモリーゼの現象を表はすものと云ふべし。

B. 清酒酵母のメチレン青染色とカブリン酸濃度及時間の關係

従來本邦清酒醸造に於て酒母或は醗中の酵母細胞の生活力を判定すべき一方法として古くエアリッヒ氏によりて稱へられたるメチレン青染色法を採用するが如し。即ち該方法は一定濃度のメチレン青水溶液を以て酵母細胞體を染色し細胞の生死状態を判別すべきものにして一定濃度のメチレン青溶液は酵母細胞體には無害にして活潑なる生活作用を掌る細胞體は染色せざるに拘らず虚弱なるものは容易に染色し一般に酵母細胞が生理的變化を受け一種の衰頹形態を現したる場合に於て着色すること多しとせり。即ちメチレン青と酵母染色に關する研究報告は頗る多く古くボコルニ、バイエリンク其他數氏あり最近に到りてはフイック、ヘルマン兩氏及松本博士等の詳細なる研究あり。是等の諸説を綜合するにメチレン青を一定の適當なる條件に於て使用する時は酵母細胞の生死判別を確定するを得べきものにしてヘーン及フックスはメチレン青の一萬分の一溶液を推賞しヘーンは色素を作用せしむる時間の可成的短時間ならしむべきを説きフックスは細胞の薄く染色する程度のもは尙芽胞を生産する場合あり、鹽類は染色に密接なる關係を有し蒸溜水中に於ては生細胞も染色すべき可能性あり、食鹽を添加すれば染色率は著しく減退し砂糖を添加すれば之れと反對の作用あるを述べ、松本博士等は染色率と水素イオン濃度とは密接なる關係を有するものにして Pn 3 前後の液中に於ては死細胞と雖も染色し難く之れよりアルカリ性に接近するに従ひて其色調を増加すと報告せり。

著者は前試験に於て生活酵母がカブリン酸によりて特殊の生理作用を蒙り其濃度の異なるに至りてはプラスモリーゼを起し死滅に至るべきを認めたるを以て今回はメチレン青染色法を採用して各種濃度のカブリン酸溶液に於ける時間の経過に伴ふ酵母の生死状態を觀察したり。

第一試験清酒酵母に對する試験

カブリン酸は其培養基の性質によりて屢々石灰又は苦土鹽類を構成して不溶性沈澱物を構成しカブリン酸の濃度に變化を及ぼす場合あるを以て今回は特に左の如く培養基を配合して使用したり。

甘 蔗 糖	10.00 瓦.
アスパラギン	0.25 瓦.
KH ₂ PO ₄	0.10 瓦.
井 水	100.00 瓦,

カブリン酸乳劑

前試験に於ける如くカブリン酸に其半量のアラビヤゴム末を混合し熱水と共に乳化せしめて製造し各 0.001%, 0.002%, 0.003%, 0.004%, 0.005%, 0.01% 等になる如く乳劑を添加したり、尙此際カブリン酸を添加せざるもの一個を標準として加へたり。以上は三回殺菌釜にて蒸氣殺菌を施したる後試験に供す。供試溶液の水素イオン濃度は下の如し。

カブリン酸%	Pn	溫度 26°	カブリン酸%	Pn	溫度 26°
標 準	4.9		0.004	4.65	
0.001	4.8		0.005	4.65	
0.002	4.8		0.01	4.60	
0.003	4.7				

メチレン青溶液

使用せる色素はメルク製純結晶にして之を 0.5% に蒸溜水に溶解したるものを毎時ビュレットにて正確に 0.02 瓦 を採取し酵母水 1 瓦 中に注し軽く振盪し五分間後檢鏡するものとす。(メチレン青液約 1/10000 溶液に當る)

酵 母

酵母は協會酵母第二號にして 250 瓦 麴液に五日間 28° に培養したるものの清澄液を去り少許の井水を加へ遠心分離器にて約三分間振盪洗滌したる沈澱酵母を 10 瓦 の井水に均一に分布せしめ其の 1 瓦 を各カブリン酸溶液に配布して直ちに試験に供す。(遠心分離器にて五分以上振盪する時は往々細胞の衰退を惹起し著しく染色率を増大することあるべし) 即ち無添加のものより順次無菌箱中に於て 1 瓦 酵母液を取りビュレットより 0.02 瓦 のメチレン青液を滴下し振盪後五分にしてトーマ氏血球計により檢鏡し酵母總數並に染色細胞數を計算せり。

酵母總數及染色數はカブリン酸の濃度によりて相違あるは勿論なるも尙接觸すべき時間の経過によりて著しき相違を表はすべきこと容易に想像せらるゝが故に酵母添加直後より二時間経過後檢鏡することとし六時間後は二十四時間、四十八時間七十二時間後等に於て夫々染色檢鏡せり。

酵母計算はハマチメーター中各五劃中の酵母全數を計算し同時に染色したる酵母數をも算出し斯くすることを數回反復し一劃中に存在する酵母平均數を得之れより染色細胞數の總細胞數による百分率を以て染色率となしたり。

第 一 表 酵母總數 (溶液 1 瓦中) 單位一萬

カブリン酸 %	添加直後	2 時間後	4 時間後	6 時間後	24 時間後	48 時間後	72 時間後
0	16500	23500	24500	39000	248000	2112000	3000000

0.001	16500	18500	2,2225	24000	93500	392000	1216000
0.002	21750	18000	17750	17000	71000	216000	288000
0.003	17000	19500	18500	15500	21000	28000	92000
0.004	20500	18000	17000	15000	20000	19500	19250
0.005	20000	18750	18000	17500	14500	13000	12750
0.01	18750	18000	17500	14750	8750	7250	6750

第二表 酵母染色數 (溶液1 匁中) (單位一萬)

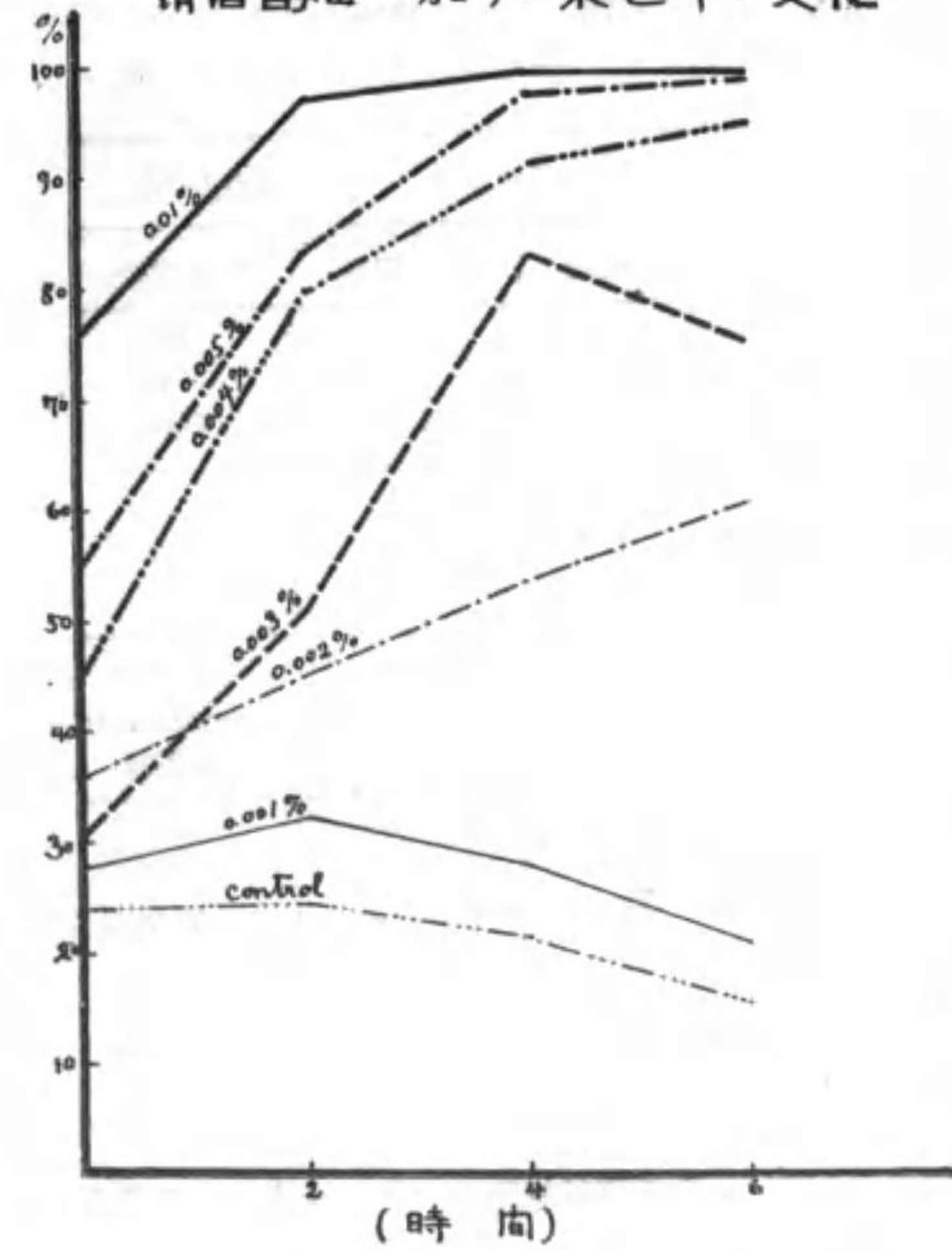
カブリン酸 %	添加直後	2 時間後	4 時間後	6 時間後	24時間後	48時間後	72時間後
0	4000	5750	5760	6000	12000	300000	25600
0.001	4750	6250	6500	5000	11000	140000	128000
0.002	7750	8250	9500	10250	18000	63000	132000
0.003	5250	10000	15500	11750	14000	22000	68000
0.004	9000	14500	15750	14250	14750	15500	17500
0.005	11000	15750	17500	17250	14000	12500	12500
0.01	14250	17500	17500	14750	8750	7250	6750

第三表 酵母染色率 (%)

カブリン酸 %	添加直後	2 時間後	4 時間後	6 時間後	24時間後	48時間後	72時間後
0	24.0	24.4	23.1	15.4	4.8	14.2	8.5
0.001	28.7	33.7	29.1	20.8	11.8	35.7	10.5
0.002	35.6	45.8	53.5	60.3	25.3	29.1	45.8
0.003	30.8	51.3	83.8	75.9	66.6	78.5	73.9
0.004	43.9	80.5	92.6	95.0	73.7	79.4	90.9
0.005	55.0	84.0	97.2	98.6	96.5	96.1	98.1
0.01	76.0	97.2	100.0	100.0	100	100	100

以上の結果より考ふればカブリン酸各濃度の溶液に於て各同時刻にては染色率は明かにカブリン酸の濃度に正比例するものにして濃度を増すに従つて死細胞の数の増加を認め得るものにして即ち 0.01% 添加の如きは添加直後既に 76% の死細胞を算し四時間後には溶液中の酵母細胞は盡く其生活作用を停止して死滅に近づけるを知るなり。又時間の経過に伴ふ染色率の増減に就きて考ふればカブリン酸の濃度稀薄にして其毒作用も微弱なる場合即ち無添加及 0.001% 等の溶液に於て酵母は急激なる培養基の變化と又最初はカブリン酸並に色素等に対して抵抗性弱き理由の爲め添加直後より二時間目、四時間目に亘り比較的大なる染色率を表はすも六時間後に至りては藥物に対する抵抗性を増大して幾分染色率の低下を表はしたり。尙ほ四十八時間に於て染色率の増大せる事實に就きては専ら酵母の同化作用の旺盛なる理に歸すべく即ち酵母は毒物に対して自體を防衛しつゝ漸次其抵抗性を増大し來り其生活作用を常態に復するに及べば其同化作用も漸く正規となり老廢物を排泄して榮養物の攝取盛んとなり従つて毒物又は色素等の細胞内に侵入する事も容易なる爲め染色率の増大を來すものと想像せらるゝなり。又カブリン酸の濃度大となるに従ひて其

第一圖 清酒酵母ニ於ケル染色率ノ変化



毒力も強く六時間の如き短時間に於ては各時間毎に死細胞を増加し一晝夜後に於て僅かに染色率を低下する傾向を呈するも再び染色率の増加を認む。0.01% の如き濃厚溶液に於ては殆ど再生の機を得ずして四時間後には全部死滅の結果となる。二十四時間後検鏡の結果によれば 0.003% よりプラスモリーゼを起したる細胞多数にして 0.01% に於ては細胞の内容崩壊せるものまゝ存在するを認めたり。

C. 醬油酵母に対する試験
培養基、今回は培養基の成分を一定せしむる意味に於て特に前試験の井水に代るに蒸留水を以てし食鹽を添加し左の如く配合したり。

甘蔗糖	10.00 瓦	食鹽	5.00 瓦
アスパラギン	0.25 瓦	蒸留水	100.00 匁
KH ₂ PO ₄	0.10 瓦		

カブリン酸乳劑はカブリン酸 % を 0.001%, 0.003%, 0.004%, 0.005%, 0.01% なる如く添加し、常法の如くエルレンマイヤーフラスコ中に入れ綿栓殺菌の後試験に供す。

供試酵母、醬油の微酵母、チゴサツカロミセスヤポニクス(Z. Japonicus)純粹種を 250匁麴液に五十時間 28° に培養したるものの清澄液を去り少許の蒸留水を加へ遠心分離器にて約三分間振盪洗滌したるものの沈澱酵母 10匁 の蒸留水に均一に分布せしめ其 1匁 を各カブリン酸溶液に配布して試験に供す。染色法並に酵母數計算法は前試験と全く同一に行ひたり。其結果次表の如し。

第四表 酵母總數 (溶液1 匁中) (單位一萬)

カブリン酸 %	時間	添加直後	2 時間後	4 時間後	6 時間後	8 時間後
標準 0		1456	1472	1600	1648	1744
0.001		1568	1696	1680	1776	2080

0.002	1000	1632	1600	1720	1536
0.003	1536	1680	1568	1600	—
0.004	1472	1664	1728	1660	—
0.005	1648	1584	—	—	—
0.01	1664	1620	—	—	—

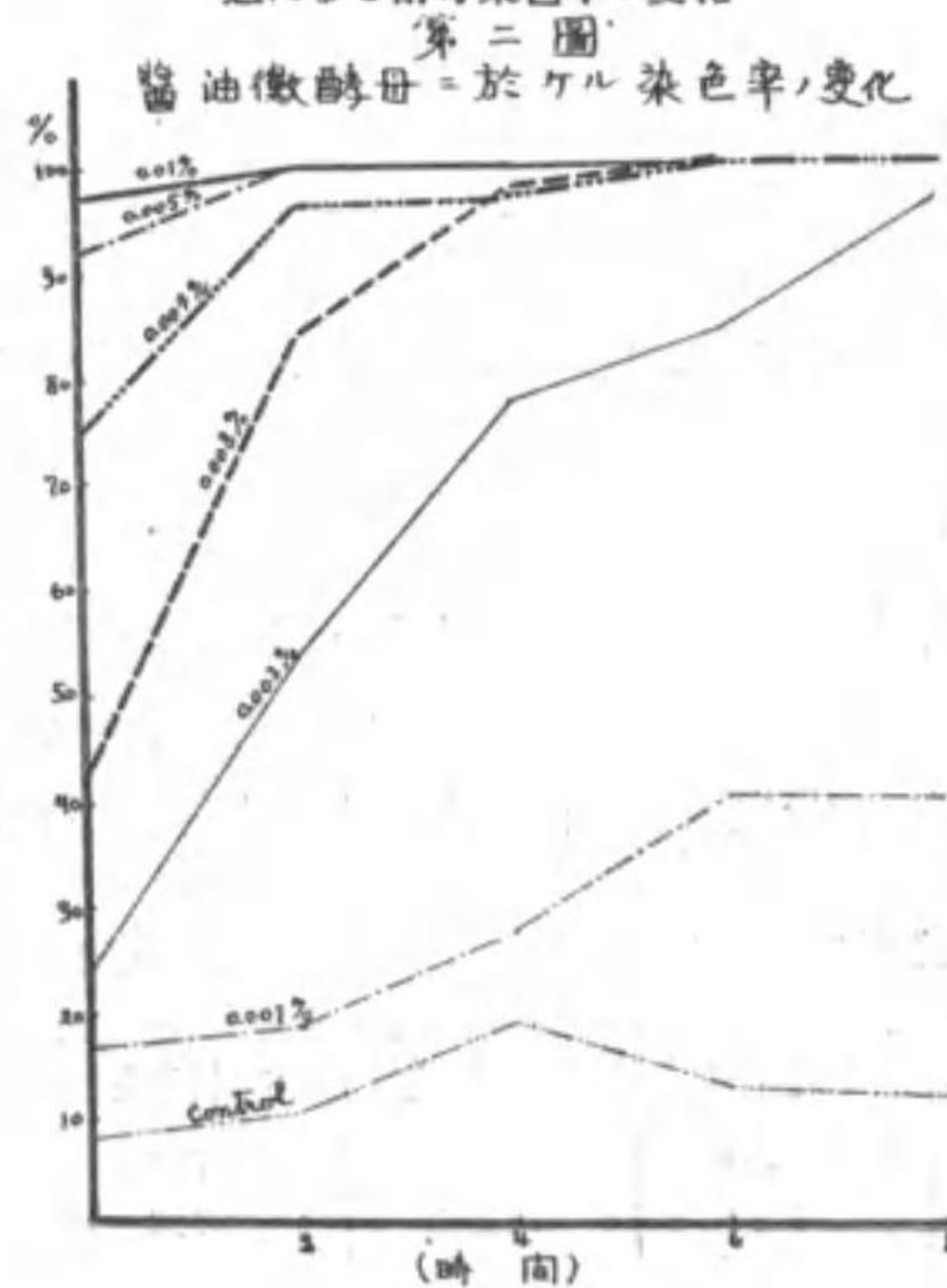
第五表 染色酵母數 (溶液1cc中) 單位(一萬)

カブリン酸% 時間	添加直後	2時間後	4時間後	6時間後	8時間後
標準 0	128	160	3040	240	240
0.001	256	320	4560	720	840
0.002	384	896	1260	1490	1504
0.003	656	1424	1530	1630(標準比)	—
0.004	1088	1616	1680	1660	—
0.005	1536	1584(標準比)	—	—	—
0.01	1600	1620	—	—	—

第六表 酵母染色率

カブリン酸% 時間	添加直後	2時間後	4時間後	6時間後	8時間後
標準 0	8	10.9	19.0	14.5	13.2
0.001	16.3	18.9	27.5	40.5	40.4
0.002	24.0	54.9	78.8	84.9	97.9
0.003	42.7	84.8	98.0	100	—
0.004	74.0	97.1	97.2	100	—
0.005	93.2	10.0	—	—	—
0.01	97.4	10.0	—	—	—

第二圖 カブリン酸の濃度と時間の経過による酵母染色率の變化



尚ほ酵母細胞のメチレン青による染色は種々なる条件によりて影響せらるゝものなることは諸學者によりて稱へらるゝ事實にして例へば細胞のメタボリズムの旺盛なる時は色素は細胞中に滲透し易く幼弱細胞は一般に染色し易く又 Pn3 前後の酸性液にありては死細胞と雖も染色せざる場合多く染色液の濃度によりても染色による生細胞及死細胞の判別に誤認を來すことあるが如し。著者は前試験に於てカブリン酸濃度及時間の経過による染色率に就て大體の試験を了せるを以て次に最終觀察を終へたる各種溶液に就き正確に其細胞の生死状態を検せんが爲めボーリング 10.5 度, Pn5.1 の麴汁の液體培養基及固體培養基を使用して酵母の培養試験を行ひたり。供試酵

母は各種溶液に於て移植直後より約八時間を經過せるものを一白金耳添加し 28° にて培養したり、移植後七日間の酵母の繁殖状態を示せば下の如し。

液體培養基に於る状態

カブリン酸% 培養日數	1	2	3	4	5	6	7
0	液潤濁醱酵の形跡あり	炭酸瓦斯放出醱酵盛んなり	表面に皮膜生産醱酵盛んなり	同	表面に皮膜醱酵停止, 沈澱あり	同 左	同 左
0.001	—	液潤濁	液潤濁	醱酵の形跡あり	同 左	表面に産膜す醱酵稍や旺盛	同 左
0.002	—	—	—	—	—	—	—
0.003	—	—	—	—	—	—	—
0.004	—	—	—	—	—	—	—
0.005	—	—	—	—	—	—	—
0.01	—	—	—	—	—	—	—

固體培養基に於る状態

偏平培養に於るペトリ皿中に繁殖せる聚落數は次の如し。

カブリン酸% 培養日數	1	2	3	4	5	6	7
0	3	2170	無數	同左	同左	同左	同左
0.001	—	8	25	772	無數	同左	同左
0.002	—	—	—	—	—	—	—
0.003	—	—	—	—	—	—	—
0.004	—	—	—	—	—	—	—
0.005	—	—	—	—	—	—	—
0.01	—	—	—	—	—	—	—

今回の試験に於ては井水に代るに蒸溜水を以てせり。其理由としては培養基の成分を一定ならしめ今後各試験に於る結果の比較に便ならしむることと尚ほフックス及松本博士等の述べし如く鹽類の混在が染色率を低下せしむる事實に基き今回は特にカブリン酸の毒力を一層效果的ならしめんと意圖せしに依るなり。勿論今回は供試酵母として醬油産膜性酵母を使用し食鹽を培養基に使用したるが故に井水中の鹽類を補充せる如く考へらるゝも食鹽 5% の添加は反つて酵母の増殖に對して好影響を與へざるべく従つて尚ほ染色率の増大を促進せしむるものと見て可なり。

本試験結果を見るにカブリン酸の濃度の増加及時間の経過に伴ひて殆ど例外無く酵母細胞の衰退の跡歴然たるものあり僅か二時間後に於て 0.005% 及 0.01% 溶液に於ては 100% の染色率を表はし全酵母細胞は全く死滅せるを認め、六時間後に於ては 0.003% 及び 0.004% に於て同様の結果を表はせり。即ち本試験に於ては培養基の榮養素と毒物との均

衡破れて酵母は全く同生の機を得ずして止みたり。

即ち本試験結果より考察すればカブリン酸の濃度と染色率は全く正比例をなすこと前試験と同様なるも尙ほ注目に値すべきは時間の経過と染色率の増加等に關しても比例的の關係の存在することなり。即ちカブリン酸を添加せる溶液中に於ける酵母細胞は早晚染色率100%に達する事明かにして酵母細胞が全く死滅に瀕すべき毒物の濃度と其接觸時間との關係は自ら明瞭となるべし、即ち茲に酵母の増殖並に其醱酵作用を阻害するが如き未知の物質ありと假定し其毒力を鑑定せんとするに際し本試験を利用し各種條件を一定として試験を行ひ染色率100%に至るべき毒物の濃度及接觸時間等を決定するを得ば直ちに該毒物の毒力の程度を判定するを得べし。

各種防腐劑及防霉劑に關して果してカブリン酸と同様なる毒作用を呈するものなるや否や其等の毒力に關する試験は後日報告することあるべし。

2. カブリン酸の酵素作用に及ぼす生理作用

前試験に於てカブリン酸は酵母細胞原形質に對して毒作用を呈すること明瞭となれり。本實驗に於ては該酸が酵素並に酵素作用に對しても同一なる有害作用を興ふるや否に關しタカヂアスターゼを試料とし其糖化酵素及蛋白分解酵素に對する影響を精査したり。

糖化酵素に對するカブリン酸の影響を試験するには可溶性澱粉液に種々の濃度にカブリン酸乳劑を添加し之れに一定量の酵素液を加へ外にカブリン酸を添加せざるもの及酵素を加熱によりて破壊したるもの等二個を標準となし恒溫槽中に於て攝氏 50°に保持し時間の経過と共に生成せらるる糖分を測定せり。糖分測定法としては沃度適定法に依れり。該法はベルトラン法其他に比し比較的簡便にして本實驗の如く各種の供試品に就き數多のフラクションを採取する場合に於て利便あり。

試薬の調製

カブリン酸乳狀液、カブリン酸と其半量のアラビヤゴム末を適量の熱水にて乳化せしむ。

澱粉液、メルク製可溶性澱粉の2%液を使用せり。

酵素液、三共製タカヂアスターゼを使用し第一試験に於ては0.5%溶液、第二試験に於ては0.5%溶液を使用す。

沃度液、6.35瓦の精製純沃度を1立の蒸溜水に溶解し此際沃度加里10瓦を添加す、沃度液は0.05規定液となす。

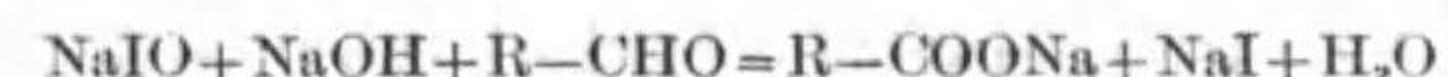
次亜硫酸曹達液、純次亜硫酸曹達12.4135瓦を1立の蒸溜水に溶解して0.05規定液となす。

苛性曹達液、純苛性曹達20瓦を蒸溜水1立に溶解して0.5規定液となす。

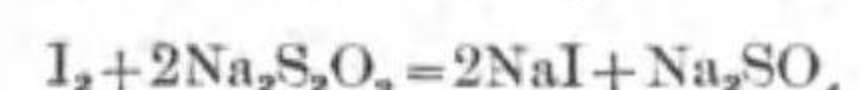
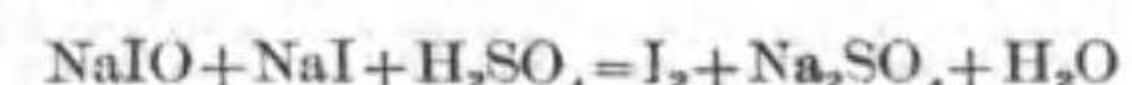
一規定硫酸液、1立蒸溜水に49瓦の硫酸を溶解す。

定量方法

糖分の沃度適定法の原理は葡萄糖に沃度液及苛性曹達液を加ふれば沃度はハイポヨードソイオンを解離し之が葡萄糖に作用してグルコン酸曹達及沃化曹達を生成す、方程式を以て表せば次の如し。



之に硫酸を添加すれば使用せられざるハイポヨードソイオンより沃度を游離するが故に之を次亜硫酸曹達液にて滴定し以て消費せられたる沃度量を計算す。



本方法を施行するには即ち0.05瓦以下の糖分を含有する供試糖化液5匁を採取し $\frac{1}{10}$ 規定苛性曹達液2匁及蒸溜水3匁を加へて酵素力を破壊し之に0.05規定沃度液20匁を添加し更に0.5規定苛性曹達3匁を添加し密栓振盪したる後十分間放置し一規定硫酸液3匁を加へ消費せられざる沃度を0.05規定次亜硫酸曹達液にて滴定するなり。

本試験に使用したる0.05規定沃度液20匁は0.05規定次亜硫酸曹達液19.9匁に相當す、尙該沃度液1匁は純葡萄糖幾何瓦に相當するやを決定せんが爲めメルク製純葡萄糖0.25%の溶液10匁を採り沃度液20匁苛性曹達液3匁を加へ振盪後密栓十分間経過の後硫酸3匁を添加し直ちに次亜硫酸曹達液にて滴定せるに次亜硫酸曹達液14.2匁を要したり、依りて

$$\text{沃度液 } 20\text{匁} = \text{次亜硫酸曹達液 } 19.9\text{匁}$$

$$\text{消費せられたる沃度液} = \text{次亜硫酸曹達液 } (19.9 - 14.2) = 5.7\text{匁}$$

$$= \frac{20 \times 5.7}{19.9} = 5.73\text{匁}$$

故に葡萄糖0.025瓦は沃度液5.73匁に相當するが故に本試験に使用したる沃度液1匁は葡萄糖0.00436瓦に相當す。

1. 豫備試験

カブリン酸は飽和一鹽基性酸にして安定なる物質なるが故に沃度を吸収する事無く其乳劑に於ても沃度法による糖分測定上誤差を生ずる憂無之と想像せらるるも本試験に入るに先ち一應豫備試験として澱粉液にカブリン酸乳劑を添加したる場合及澱粉液中に葡萄糖を混溶する際に於けるカブリン酸乳劑の影響に就きて一二の試験を施行したり。

A. カブリン酸乳劑と沃度法

澱粉溶液に種々の割合にカブリン酸乳劑を添加し及び添加せざるものに20匁の沃度液を添加し常法の如く次亜硫酸曹達液にて滴定したるに次の結果を得たり。

試験番號	1% カブリン酸乳 (銖)	蒸溜水 (銖)	2% 澱粉液 (銖)	使用せられたる0.05% 規定次亜硫酸曹達液 (銖)
1	0	50.0	50	19.90
2	0.05	49.95	50	19.90
3	0.50	49.50	50	19.90
4	1.00	49.00	50	19.85

此等の結果より考ふればカブリン酸乳剤を添加するとせざるに拘らず又其添加量の多少によりても沃度 20銖 は一様に次亜硫酸曹達液 19.90銖 に相當するを知るを以てカブリン酸乳剤による沃度の吸収又は化學變化は認められず。

B. 葡萄糖共存に於けるカブリン酸乳剤の影響

次にカブリン酸乳剤の存在により葡萄糖の沃度吸収に對して影響あるや否やに關して各種の溶液に就きて沃度法を施行したり。

試験番號	1% カブリン酸乳 (銖)	カブリン酸 %	蒸溜水 (銖)	0.2% 葡萄糖液 (銖)	使用せられたる0.05% 規定次亜硫酸曹達液 (銖)
1	0	0	50	50	17.65
2	0.05	0.0005	49.95	50	17.65
3	0.5	0.005	49.50	50	17.65
4	1.0	0.01	49.00	50	17.63

即ちカブリン酸乳剤を添加するも又其濃度の多少によりても葡萄糖の共存に於て特殊の化學變化を起す事なく認むべき誤差無し。而して念の爲め此際消費せられたる次亜硫酸曹達液より換算したる沃度液の吸収せられたる量が理論數と一致するか否かを見るに消費せられたる沃度液に相當する次亜硫酸曹達液 (19.9-17.65) 2.25銖=沃度液 2.26銖, 消費せられたる沃度に相當する葡萄糖 $2.260 \times 0.00436 = 0.9854$ 瓦

故に原液は 0.2% 葡萄糖液 50銖を取り 100銖となし其中 10銖 を採りて試験に供したるものなるが故に理論數は葡萄糖一瓦なり。

即ち本試験に於て實驗數と理論數の差は僅かに $1.0000 - 0.9854 = 0.0146$ 瓦 なるを知る。尙ほ本試験に供したる酵素液の沃度吸収量を試験せるに 2% 可溶性澱粉液 50銖 に 0.05% 酵素液 10銖 蒸溜水 40銖 の溶液を作り内 10銖 を採りて沃度測定法を施行するに 0.05% 規定次亜硫酸曹達液 0.075銖 を要したり。

試験第一

試験すべきカブリン酸乳剤添加液の配合量は次の如し。

カブリン酸 %	1% カブリン酸乳剤 添加量 銖	蒸溜水 銖	2% 澱粉液 銖	0.05% 酵素液 銖
標準 1	0	40.00	50.00	10.00
0.002	0.20	39.80	50.00	10.00
0.004	0.40	39.60	50.00	10.00

0.006	0.60	39.40	50.00	10.00
0.008	0.80	39.20	51.00	10.00
0.010	1.00	39.00	50.00	10.00
標準 2	0	40.00	50.00	10.00(但し十分 間 蒸溜)

上記配合液 100銖を 250銖 内容フラスコに入れトルオール 1銖を添加して防衛し逆流冷却器を附して 50°-51° の恒温槽中にて糖化作用を行はしむ。糖化時間六十分毎に糖化液 5銖 を採取し沃度測定法によりて生成糖分量を測定したり。

糖化時間の経過と消費せられたる次亜硫酸曹達液は次表の如し。

糖化時間	カブリン酸 %	標準(1)	0.002	0.004	0.006	0.008	0.01	標準(2)
1 時間後	滴 定 銖	16.80	16.70	16.74	16.70	16.80	17.10	19.80
	消費沃度に對する 銖	3.10	3.20	3.16	3.20	3.10	2.80	0.1
2 時間後	滴 定 銖	16.25	16.10	16.10	16.05	16.20	16.50	—
	消費されたる沃度 に對する 銖	3.65	3.80	3.80	3.85	3.70	3.40	—
3 時間後	滴 定 銖	15.95	15.70	16.10	15.70	15.90	16.24	19.80
	消費されたる沃度 に對する 銖	3.95	4.20	4.20	4.20	4.00	3.66	0.1
4 時間後	滴 定 銖	15.70	15.50	15.50	15.55	15.80	15.90	19.90
	消費されたる沃度 に對する 銖	4.20	4.40	4.40	4.35	4.10	4.00	0
5 時間後	滴 定 銖	15.05	15.40	15.40	15.40	15.60	15.65	19.8
	消費されたる沃度 に對する 銖	4.40	4.50	4.50	4.50	4.30	4.25	0.1

然るに上記の表に表れたる數字は使用したる酵素液に吸収せられたる沃度に相當すべき次亜硫酸曹達液の量も包含せらるものなり。

即ち實際に葡萄糖によりて吸収せられたる沃度量は次表の如し。

糖化時間	カブリン酸 %	標準(1)	0.002	0.004	0.006	0.008	0.01
1 時間後	$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	3.025	3.125	3.085	3.125	3.025	2.725
	沃 度	3.176	3.281	3.239	3.281	3.176	2.861
2 時間後	$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	3.575	3.725	3.725	3.775	3.625	3.325
	沃 度	3.754	3.911	3.911	3.964	3.806	3.419
3 時間後	$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	3.875	4.125	4.125	4.125	3.925	3.585
	沃 度	4.069	4.331	4.331	4.331	4.121	3.764
4 時間後	$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	4.125	4.325	4.325	4.275	4.025	3.924
	沃 度	4.331	4.541	4.541	4.489	4.223	4.121
5 時間後	$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	4.325	4.425	4.425	4.425	4.225	4.175
	沃 度	4.541	4.625	4.625	4.625	4.436	4.384

消費せられたる沃度液 銖 よりカブリン酸各溶液に於る時間経過に伴ふ生成葡萄糖量を

算出すれば下の如し。

カブリン酸%	1 時間後 %	2 時間後 %	3 時間後 %	4 時間後 %	5 時間後 %
標準	0.1385	0.1637	0.1774	0.1888	0.1980
0.002	0.1431	0.1705	0.1888	0.1980	0.2017
0.004	0.1412	0.1785	0.1888	0.1980	0.2017
0.006	0.1431	0.1728	0.1888	0.1957	0.2017
0.008	0.1385	0.1659	0.1797	0.1842	0.1934
0.010	0.1247	0.1491	0.1641	0.1797	0.1911

以上の結果よりすればタチアスターゼの糖化酵素の作用に關してカブリン酸の影響は殆ど無きものと見て可なり。尤も仔細に之を検すれば 0.002—0.006% 添加によりて酵素作用は多少促進せられし如く 0.006% 以上に於ては微弱なる害作用を呈せる如きも其影響は微量なり、第二試験に於て尙該事實を確めんとす。

第二試験

前試験と全く同様にして 0.05 規定次亜硫酸曹達液及 0.05 規定沃度液を調製し其の値を決定したり。其結果によれば

0.05 規定沃度液 20 兊 = 0.05 規定次亜硫酸曹達液 20 兊

而して 0.25% 葡萄糖 10 兊 + 0.05 規定沃度液 20 兊は

- 0.05 規定次亜硫酸曹達液 14.30 兊
 - " " 14.27 兊
- 平均 14.275 兊に相當す

故に 0.025 瓦 葡萄糖は (20 - 14.275) = 5.725 兊 の 0.05 規定沃度液に相當するを以て該沃度液 1 兊は 0.00437 瓦 の葡萄糖に相當することを知る。

試験すべきカブリン酸乳劑添加液の配合量は次の如し。

カブリン酸 %	1 カブリン酸乳劑添加量(兊)	蒸溜水(兊)	2% 澱粉液(兊)	0.05% 酵素液(兊)
標準(1)	0	40.00	50.00	10.00
0.0005	0.05	39.95	50.00	16.00
0.001	0.10	39.90	50.00	10.00
0.003	0.30	39.70	50.00	10.00
0.005	0.50	39.50	50.00	10.00
0.008	0.80	39.20	50.00	10.00
0.010	1.00	39.00	50.00	10.00
標準(2)	0	40.00	50.00	10.00 (但し十分間蒸餾)

上記混合液 100 兊を内容 250 兊 フラスコに入れトルオール 1 兊を添加し逆流冷却器を附し 50°—51° の恒温槽中にて糖化を行ひ今回は酵素量を多量とせる爲め三十分毎に糖化液 5 兊を取り 1/10 規定苛性曹達液 2 兊及び蒸溜水 3 兊を加へ之に 0.05 規定沃度液 20 兊

を添加し更に 0.5 規定苛性曹達液 3 兊を添加し密栓振盪し十分間放置したる後一規定硫酸液 3 兊を加へ直ちに 0.05 規定次亜硫酸曹達液にて滴定せり。

糖化時間	カブリン酸%	標準(1)	0.0005	0.001	0.003	0.005	0.008	0.01	標準(2)
30分後	滴 定 兊	15.00	15.10	15.10	15.10	15.10	15.00	15.10	19.75
	消費沃度ニ對スル兊	5.00	4.90	4.90	4.90	4.90	5.00	4.90	0.25
60分後	滴 定 兊	14.60	14.75	14.70	14.50	14.40	14.30	14.30	19.75
	消費沃度ニ對スル兊	5.40	5.25	5.30	5.50	5.60	5.70	5.70	0.25
90分後	滴 定 兊	14.25	14.25	14.18	14.02	13.98	13.82	13.85	19.75
	消費沃度ニ對スル兊	5.75	5.75	5.82	5.98	6.07	6.18	6.15	0.25
120分後	滴 定 兊	14.02	14.00	13.95	13.80	13.70	13.52	13.55	19.80
	消費沃度ニ對スル兊	5.98	6.00	6.05	6.20	6.30	6.48	6.45	0.25
150分後	滴 定 兊	13.82	13.80	13.72	13.56	13.50	13.38	13.4	19.77
	消費沃度ニ對スル兊	6.18	6.20	6.28	6.44	6.50	6.62	6.54	0.23

上表は酵素液によりて吸収せられたる沃度に相當すべき次亜硫酸曹達液の量も包含す。即ち實際に葡萄糖によりて吸収せられたる沃度量は表に現はれたる量より酵素に吸収せられたる次亜硫酸曹達液量を減ずる必要あり。今回使用したる酵素液 10 兊は 0.05 規定次亜硫酸曹達液 0.27 兊に相當する沃度を吸収す。即ち生成葡萄糖によりて消費せられたる沃度量は下の如し。

糖化時間	カブリン酸%	標準(1)	0.0005	0.001	0.003	0.005	0.008	0.01
30 分 後		4.73	4.63	4.63	4.63	4.63	4.73	4.63
60 分 後		5.13	4.98	5.03	5.23	5.33	5.43	5.43
90 分 後		5.48	5.48	5.55	5.71	5.80	5.91	5.88
120 分 後		5.74	5.73	5.78	5.93	6.03	6.21	6.18
150 分 後		5.94	5.93	6.01	6.17	6.23	6.35	6.27

以上の結果は供試糖化液 5 兊中の生成葡萄糖によりて吸収せられたる沃度量なり、即ち供試糖化液 100 兊中の生成葡萄糖量は下の如し。

糖化時間	カブリン酸%	標準(1)	0.0005	0.001	0.003	0.005	0.008	0.01
30 分 後		0.4134	0.4046	0.4046	0.4046	0.4046	0.4134	0.4046
60 分 後		0.4484	0.4352	0.4396	0.4572	0.4658	0.4746	0.4746
90 分 後		0.4790	0.4790	0.4850	0.4990	0.4070	0.5166	0.4940
120 分 後		0.5016	0.5008	0.5052	0.5182	0.5270	0.5428	0.5402
150 分 後		0.5192	0.5182	0.5252	0.5392	0.5446	0.5550	0.5480

本試験結果に於ても生成葡萄糖量の差最高 0.0358% を出でずしてカブリン酸の影響とは認め難し。カブリン酸無添加及 0.0005% 添加に於て生成葡萄糖最低にして其以上カブリン酸の含量を増加するに従ひて多少増加するの傾向あり。以上は或は溶液の水素イオン

濃度の影響ならんと考へ糖化前及糖化後に於る各溶液の水素イオン濃度を比色法にて測定し次の結果を得たり。

本試験に於て糖化の開始前及百五十分後に於て比色法により其溶液の水素イオン濃度を測定したるものとす。

カブリン酸%	糖化前P _H	糖化後P _H	カブリン酸%	糖化前P _H	糖化後P _H
0	5.5	—	0.005	4.8	5.2
0.0005	5.5	5.6	0.008	4.8	5.0
0.001	5.5	5.6	0.01	4.8	5.0
0.003	4.8	5.3			

即ち比較的糖化作用良好と認むべき 0.003% 以上の溶液に於ては偶然にして P_H 4.8 に一致したり。即ちチアスターゼ P_H4-5 を最適とする事實より考ふれば上記試験の糖化作用に於る微量の差は水素イオン濃度の影響と見るべきなり。

蛋白分解酵素に対するカブリン酸の影響

前試験に於てはタカチアスターゼに於ける糖化酵素に対するカブリン酸添加の際の影響を観察したり。本試験に於ては同様にタカチアスターゼ中に含有せらるゝ蛋白分解酵素作用に対するカブリン酸の濃度及接觸時間による影響を試験したり。即ちタカチアスターゼの蛋白分解酵素作用に關してはペプトン水を使用し各種濃度のカブリン酸溶液となし之れに該酵素液を添加し時間の経過に伴ふアミノ酸生成量をフルモール滴定法によりて測定せり。

試薬

ペプトン水 ウイツテペプトン 20瓦を蒸溜水一立に溶解し不溶物は濾過す。

酵素液 三共製タカチアスターゼを蒸溜水にて溶解し 1% 溶液となす。

フォルマリン液 市販フォルマリン液 50 兎にフェノールフタレーン液一滴を加へ微赤色となす。

フェノールフタレーン液 0.5 瓦 メルク製フェノールフタレーンを 50% アルコール 100 兎に溶解す。

苛性曹達 1/10 規定液

バリタ水 飽和液

硫酸液 稀釋液

フルモール滴定法はモノアミノ酸のアミノ基をフォルマリンにて封じ炭酸基の酸性を游離せしめ之れを苛性曹達液にて滴定する方法にして供試液 10 兎を採り 1/10 規定苛性曹達液 2 兎を加へて酵素作用を停止せしめたる後フェノールフタレーン二滴を加へて赤色を呈せしめ、飽和バリタを稍過剰に加へたる後稀硫酸にて微紅色とならしめ、之に 5 兎のフ。

ルマリン溶液を加へ無色となし 1/10 規定苛性曹達液にて微紅色となるまで滴定するものとす。

第一試験

試験液の配合割合下の如し。

カブリン酸%	カブリン酸乳劑添加量(兎)	蒸溜水(兎)	2% ペプトン水(兎)	1% 酵素液(兎)
標準(1)	0	40.00	50.00	10.00
0.0005	0.05	39.95	50.00	10.00
0.001	0.10	39.90	50.00	10.00
0.003	0.30	39.70	50.00	10.00
0.005	0.50	39.50	50.00	10.00
0.008	0.80	39.20	50.00	10.00
0.010	1.0	39.00	50.00	10.00
標準(2)	0	40.00	50.00	10.00(十等分)

上記配合液 100 兎を内容 250 兎フラスコ中に入れトルオール 1 兎を添加防腐シゴム栓をなし 34°-35° の恒温槽中に保持し二十四時間毎に試料 10 兎を採りフルモール滴定法によりて生成せるアミノ酸量を測定す。其結果次表の如し。

0.1 規定苛性曹達液使用滴定數

カブリン酸%	24 時間後(兎)	48 時間後(兎)	72 時間後(兎)	96 時間後(兎)	120 時間後(兎)
標準(1)	2.00	2.65	3.10	3.42	3.52
0.0005	2.02	2.60	3.05	3.42	3.50
0.001	2.00	2.50	3.00	3.40	3.47
0.003	2.05	2.45	2.95	3.35	3.45
0.005	2.10	2.53	2.95	3.35	3.48
0.008	2.05	2.50	2.95	3.35	3.45
0.010	2.00	2.50	2.93	3.35	3.45
標準(2)	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75

然るに使用したるタカチアスターゼ酵素溶液は微酸性を呈するを以て酵素液 10 兎 其儘を配合したるもの及酵素液を十分間煮沸し破壊して配合したるもの等に就きて他の試験と全く同様にフルモール法によりて滴定したるに次の結果を得たり。

ペプトン水	50 兎	} 0.1 規定苛性曹達液 0.7 兎を要す
蒸溜水	40 兎	
1% 酵素液	10 兎	
トルオール	1 兎	
ペプトン水	50 兎	} 0.1 規定苛性曹達液 0.75 兎を要す
蒸溜水	40 兎	
1% 酵素液(煮沸)	10 兎	
トルオール	1 兎	

即ち實際のアミノ酸量として表はすべき 0.1 規定苛性曹達液滴定数は下の如し。

カブリン酸%	24 時間後	48 時間後	72 時間後	96 時間後	120 時間後
標準(1)	1.30	1.95	2.40	2.72	2.82
0.0005	1.32	1.90	2.35	2.72	2.80
0.001	1.30	1.80	2.30	2.70	2.77
0.003	1.35	1.85	2.25	3.65	2.75
0.005	2.03	1.87	2.25	3.65	2.78
0.008	1.35	1.80	2.25	3.65	2.75
0.010	1.30	1.80	2.23	3.65	2.75
標準(2)	0	0	0	0	0

生成アミノ酸をグリコールとして表せば次の如し。

供試液 100 兪 中アミノ酸生成量

カブリン酸%	24 時間後 %	48 時間後 %	72 時間後 %	96 時間後 %	120 時間後 %
標準(1)	0.1015	0.1523	0.1874	0.2148	0.2204
0.0005	0.1031	0.1484	0.1835	0.2124	0.2187
0.001	0.1015	0.1403	0.1796	0.2109	0.2163
0.003	0.1054	0.1367	0.1757	0.2070	0.2148
0.005	0.1093	0.1445	0.1757	0.2070	0.2171
0.008	0.1054	0.1429	0.1757	0.2070	0.2148
0.010	0.1015	0.1406	0.1742	0.2070	0.2148

以上の結果より見れば各種溶液に於ける生成アミノ酸量の差最高 0.0056% を出でず、蛋白分解酵素に対するカブリン酸の影響は無きものと見て可なり。

要 旨

1. 日本醸造協會清酒酵母第二號及醬油醱酵母 (Zygos. Japonicus) の生活作用及びタカチアスターゼの糖化酵素並に蛋白分解酵素作用に対するカブリン酸の藥物學的生理作用を試験したり。
2. 0.05%, 並に 0.01% にカブリン酸を添加したる麴汁(ポーリング 10.5度 Pn4.5—4.8) に協會清酒酵母第二號種を移植し十時間経過したる後其細胞内容状態を観察したるに兩者に於て酵母細胞は異常形態を呈し原形質は膜と離脱して収縮し稀には細胞崩壊して内容を露出するもの等あり、プラスモリーゼの現象歴然たり。特に 0.01% に於て其状甚しきものあり。
3. 0.001% より 0.01% に至る數種のカブリン酸添加人工培養液に協會清酒酵母第二號及醬油醱酵母を移植しカブリン酸の濃度に依る又は時間の経過に伴ふ其毒性によりて起る酵母の生死状態に就きてメチレン青染色法を採用し顯微鏡によりて観察したり。

4. 供試酵母はカブリン酸人工培養基に於て其移植直後に既にカブリン酸を添加せざるものに比し染色細胞数を増し總酵母数の染色酵母数に對する百分率を染色率とすれば酵母細胞の染色率は同時刻に於てはカブリン酸の濃度を増す毎に増大し時間の経過に比例して上昇する傾向あり。即ちカブリン酸は細胞に滲透する事速かにして従つて其原形質に毒性を呈して細胞の生活作用を阻止し致死せしむる事頗る迅速なるを知るなり。但しカブリン酸を添加せざるものにおいて時間の経過に伴ひ總酵母数を増大するに従ひ幾分染色細胞数を増加するものなるも其染色率漸次低下するを常態となす。カブリン酸の濃度稀薄にして移植酵母數比較的少量なる時はカブリン酸の毒性の影響も少なく酵母の染色率は培養基の水素イオン濃度、鹽類の存在、酵母の同化作用の盛衰、酵母のカブリン酸に對する馴致性、色素の濃度等によりて多少の増減あり。

5. 醬油醱酵母に於て培養基を

甘蔗糖	10.00 瓦
アスパラギン	0.25 瓦
KH ₂ PO ₄	0.10 瓦
食鹽	5.00 瓦
蒸溜水	100.00 兪

の如く製造し移植酵母を 15000000 個前後としカブリン酸の毒力を一層効果的ならしむる時は酵母の染色率はカブリン酸の濃度及経過時間と正比例して増進し大體移植後八時間以内に於て酵母の全細胞が死滅すべき藥物學的極量を決定するを得べく又各種濃度に於る毒性の強弱は各時刻に於る染色率によりて數字的に表記するを得べし。即ち茲にカブリン酸に類せるが如き毒性を有する未知の防腐劑若くは防黴劑ありとすれば其各種濃度及時間の経過に伴ふ酵母の染色率を試験したる結果より該物質の酵母に對する毒性質の強弱を判定するを得べし。此際カブリン酸の毒力による染色率を標準とすれば一層正確なるべし。

6. 細胞の幼弱、同化作用其他の因子により屢々染色法による生死の判別を誤認する場合あるとするも本試験に於て各種カブリン酸溶液に於て八時間培養したる酵母に就きて麴汁の液體並に固體培養基に就きて培養試験を行ひたるに 0.002% 以上添加せるもの即ち移植後八時間を経過して後 98% 以上の染色率を與へたるものは一週間を経過するも再生繁殖の形跡を認めず。即ち此程度に於ては全酵母細胞は盡く其生活作用を停止して死滅したるものと認むるが穩當なり。
7. カブリン酸を各濃度に於て添加せる澱粉液にタカチアスターゼ液を添加し 50° に保持して毎時生成せる葡萄糖を沃度滴定法にて測定し糖化酵素作用に對するカブリン酸の影響を試験したるに百五十分及三分間に於てはカブリン酸の影響殆ど認められず 0.002% より 0.01% 添加溶液に於て多少の増減を生じたるも微量にして恐らく溶液

の水素イオン濃度其他の因子の影響と見るべきなり。

8. カブリン酸を各濃度に於て添加せるペプトーン溶液にタカヂアスターゼ液を添加し34—35°に保持し24時間毎に生成アミノ酸量をフォルモール法によりて測定し蛋白分解酵素に對するカブリン酸の影響を試験したるに120時間に於ける生成アミノ酸は各溶液に於て殆ど大差無くカブリン酸は蛋白分解酵素に對して影響を有せざるを認めたり。
9. カブリン酸が醱酵酵素チマーゼ作用に對して如何なる影響を有するかに關しては追て報告する機会あるべし。

文 獻

- (1) Euler: Z. f. ph. chem. 87, 142, 1914
 (2) Bokorny: Ally. Braur. u. Hoppenzty. 54, 54, 1914
 (3) Paine: Proc. Roy. Soc. 84, 239, 1908
 (4) Hamburger: Biochem. Z. 11, 443, 1912
 (5) O. Warburg: Z. f. ph. chem. 66, 305, 1910
 (6) 黒野博士: 醱酵生理學
 (7) Z. fur. phys. chem. B. 195. 215—240 1931
 (8) 松本博士: (醸造試験所第 112 號, 1931.)

實地醸造試験

醬母應用醬油醸造試験

Brewing trials of *shōyu* with *moto-mash*, the special culture of lactic acid bacillus and *shōyu*-yeast.

技 師 松 本 憲 次
 助 手 出 井 眞 平

本試験は醬母應用醬油醸造試験の繼續試験にして、從來までは普通仕込のものに醬母を製造し添加して其影響を試験したるも、此を能く考ふるに、原料に附着せる細菌類が可なりに諸味に移行して繁殖する結果、添加したる醬母の影響が顯著に表はれざる場合多し、仍つて今回は其の影響を除去せんが爲め、仕込原料に附着せる細菌類を洗滌し、以て醬母の影響を一層に明確ならしめんが爲め施行したり。勿論本試験は一回なるを以て、其の成績も完全なるを豫期し得ざるも、大體の傾向を窺知し得るものと思考せらる。

1 仕込要綱

仕込號	仕込原料の配合				摘 要	仕込年月日
	大豆	小 麥	食 鹽	水		
第 20 號	90.2立 (0.5石)	90.2立 (0.5石)	49.95斤 (83.25斤)	180.4立 (1.0石)	醬母應用試験純粹培養諸母	昭和3年7月6日
第 21 號	90.2立 (0.5石)	90.2立 (0.5石)	49.95斤 (83.25斤)	〃	醬母應用試験天然製造醬母	
第 22 號	90.2立 (0.5立)	90.2立 (0.5石)	49.95斤 (83.25斤)	〃	醬母應用試験原料洗滌	
第 23 號	90.2立 (0.5石)	90.2立 (0.5石)	49.95斤 (83.25斤)	〃	醬母應用試験標準	

2 仕込原料及其處理法

大豆は滿洲産を使用し、小麥は相州産のものを使用したり。大豆は研磨機により精選したり、後ち冷水に12時間浸漬し10封度にて1時間半蒸熟したり。

仕込第 20 號, 第 21 號, 第 23 號のものは下記の處理試験成績を得たり。

	使 用 量	蒸 熟 後
全 重 量	191.25立(51.000貫)	372.375立(99.300貫)
1 斗 重 量	12.75立(3.4000貫)	13.13立(3.500貫)
全 容 重	270.6立(1.5石)	375.95立(2.084石)

仕込第 22 號

	使用量	蒸熟後
全重量	63.75 疋 (17.00 貫)	36.13 疋 (36.300 貫)
1 斗重量	12.75 疋 (3.400 貫)	13.13 疋 (3.500 貫)
全容量	90.2 立 (0.5 石)	187.075 疋 (1.037 石)

小麦は舊式平釜をにて炒熟し、「ローラ、ミル」にて割碎し製麴に供したり。

仕込第 20 號, 第 21 號, 第 23 號			仕込第 22 號
使用量	全重量	18.857 疋 (52.500 貫)	65.63 疋 (17.500 貫)
	1 斗重量	13.13 疋 (3.500 貫)	13.13 疋 (3.500 貫)
	全容量	270.6 立 (1.500 石)	90.2 立 (0.5 石)
炒熟後	全重量	170.94 疋 (45.850 貫)	54.0 疋 (14.400 貫)
	1 斗重量	8.25 疋 (2.200 貫)	8.25 疋 (2.200 貫)
	全容量	375.95 立 (2.084 石)	118.07 立 (0.654 石)
割碎後	全重量	170.63 疋 (45.500 貫)	
	1 斗重量	7.125 疋 (1.900 貫)	
	全容量	431.88 立 (2.394 石)	

仕込第 22 號は本報告緒言に記載したる如く、出来得る丈け醬母中に培養せる乳酸菌及酵母等の影響を顯著ならしむる爲め、原料に附着せる細菌類の除去に大豆及小麦の洗滌工程を施したり。即ち

大豆は普通より丁寧に洗滌操作を施行したり。

小麦は 3 回洗滌を行ひ、直ちに遠心分離器により脱水工程を行ひたり。炒熟には洗滌せざるものより時間を要したるも、「ハゼ」具合頗る良好なり。

備考、仕込第 20 號, 第二十一號は原石として各 (35.4 立升分) を醬母として添加するにより、仕込に際し、此量丈けの麴を控除したり。然し醬母は食鹽濃度低き爲め不足量の食鹽を各桶に 262 瓦 (70 匁) 宛を追加したり。

食鹽の濃度は 18.5 度(母氏)にして 10 水の仕込としたり。

3 醬母製造試驗

1. 麴液(ボーリング 12 度)を 1.35 立に生揚醬油 150 疋を混和し、之に 5% 食鹽を添加して、「フラスコ」に入れ常法の如く蒸氣殺菌を行ひ、後ち試験管培養酵母チゴサツカロミセス、マヨール(新)を投加して、25°C の恒温器に於て一週間培養したり。

2. 麴液(ボーリング 12 度)を 1.50 疋と生揚醬油 150 疋を混合し、沈降性炭酸石灰 15 瓦を添加して常法の如く殺菌を行ひ、後ち乳酸菌 A28 の試験管培養一本を添加して、30°C の恒温器に於て一週間培養したり。

醬母製造原料の處理

	大豆	小麦	備考
總重量	63.75 疋 (17.000 貫)	65.625 疋 (17.500 貫)	本原料の處理は仕込第 20 號及第 21 號に添加する醬母製造のものなり。
使用量	90.2 立 (5.0 斗)	90.2 立 (5.0 斗)	
18.04 立 1 斗重量	12.75 疋 (3.400 貫) (大豆 滿洲産)	13.125 疋 (3.500 貫) 小麦 相州産	
	總重量	18.04 立 (1 斗重量)	備考
蒸熟大豆	13.613 疋 (36.300 貫)	13.125 疋 (3.500 貫)	仕込第 22 號は大豆 90.2 立 (5.00 斗) と小麦 90.2 立 (5.00 斗) の割合のものなり。
炒熟小麦	54.00 疋 (14.400 貫)	8.25 疋 (2.200 貫)	
出 麴	131.63 疋 (35.100 貫)	7.5 疋 (2.000 貫)	
水	180.4 立 (1 石)	鹽 48.75 疋 (13.000 貫)	母氏 18.5 度

出麴は普通より乾燥度少しく劣る。

醬母製造用として大豆小麦各 5.4 立 (3 升) を採り、普通の如く製麴を行ひ、之れを使用したり。其の重量は、7.88 疋 (2.1 貫) なり。之れを錫引銅釜に入れて 11 水となし、午前 10 時より午後 4 時に至るまで、6 時間、45°C にて湯煎にて糖化作用を営ましめ、最後に 70°C に達せしめ、然る後一夜放置す。翌日之を二分して 33 立 (2 斗) 容量の桶に容れ、一方に前記の如く培養せる乳酸菌を混和し、繁殖を計りたり。此時の諸味温度は 23°C なり。之れを室内に放置して毎日一回攪拌し、四日目より酸の生成を認めたるを以て、更に前記培養酵母の沈澱の部分 270 疋を加へ、酵母の繁殖を計りたり。

醬母製造諸味經過表

月 日	室 温	培養菌添加 (仕込桶第 34 號に使用)			無添加 (仕込桶第 30 號に使用)		
		品 温	攪拌前の深さ	攪拌後の深さ	品 温	攪拌前の深さ	攪拌後の深さ
7.11	30°	27°	3.2	3.2	27°	2.8	2.8
12	31°	28°	3.2	3.2	28°	2.8	2.8
13	30°	28°	3.2	3.2	28°	2.8	2.8
14	29°	28°	3.2	3.2	28°	2.8	2.8
16	30°	29°	3.4	3.2	29°	2.8	2.8
17	29°	28°	3.5	3.2	28°	2.8	2.8
18	29°	29°	3.4	3.2	29°	2.9	2.8
19	29°	28°	3.4	3.2	28°	3.1	2.9
24	27°	24°	3.4	3.2	24°	3.1	2.9
84	28°	24°	3.4	3.2	24°	3.10	2.8

備考、攪拌時刻は午後一時

4 製 麴

117	14.5	14.5	1.77	1.77	14.5	1.88	1.88	14.5	1.91	1.90	14.5	1.84	1.83
23	11.0	—	1.72	1.72	—	1.88	1.86	—	1.89	1.89	—	1.85	1.85
124	8.5	9.0	1.71	1.70	9.0	1.84	1.84	9.0	1.88	1.87	9.0	1.82	1.82
20	5.5	6.8	1.70	1.70	6.8	1.84	1.84	6.8	1.87	1.87	6.8	1.80	1.80
417	3.0	3.5	1.70	1.68	3.5	1.85	1.84	3.5	1.86	1.86	3.5	1.80	1.80
127	3.5	3.5	1.68	1.68	3.5	1.82	1.81	3.5	1.87	1.86	3.5	1.78	1.78
217	5.0	4.0	1.68	1.68	4.0	1.82	1.81	4.0	1.87	1.86	4.0	1.78	1.78
34	4.0	5.0	1.68	1.67	5.0	1.80	1.80	5.0	1.87	1.85	5.0	1.80	1.80
19	6.0	6.0	1.67	1.65	6.0	1.82	1.80	6.0	1.84	1.84	6.0	1.77	1.77
43	10.0	10.0	1.68	1.65	10.0	1.78	1.78	10.0	1.85	1.84	10.0	1.78	1.76
18	14.0	—	1.65	1.64	—	1.78	1.78	—	1.86	1.85	—	1.79	1.79
53	12.0	15.5	1.60	1.60	15.5	1.76	1.75	15.5	1.92	1.90	15.5	1.75	1.73
18	18.0	17.0	1.67	1.63	17.0	1.80	1.80	17.0	1.82	1.82	17.0	1.75	1.75
62	21.0	19.0	1.65	1.64	19.0	1.79	1.78	19.0	1.86	1.86	19.0	1.75	1.75
18	19.0	21.0	1.65	1.63	21.0	1.77	1.77	21.0	1.79	1.79	21.0	1.73	1.73
30	24.5	25.0	1.65	1.64	23.0	1.75	1.79	23.0	1.85	1.78	23.0	1.75	1.72
73	24.0	23.0	1.62	1.62	23.0	1.76	1.76	23.0	1.83	1.83	23.0	1.73	1.73
15	30.0	27.0	1.62	1.62	27.0	1.77	1.77	27.0	1.82	1.78	27.0	1.72	1.72

6 諸味の熟成及搾汁

諸味仕込は夏季に入り翌年夏季まで満一ヶ年経過したるを以て、容量を査定し、壓搾したり。山崎式八吋水壓搾機にて二晝夜壓搾し、最高壓力は毎平方吋1750封度なり。

仕込號	壓搾諸味量	總垂量	垂歩合	粕量	諸味一石當粕歩合	生醬油母氏比重
20	254.70立 (1.412石)	200.42立 (1.111石)	0.786	52.87庇 (14.10貫)	9.986(貫)	23.8度
21	248.84立 (1.399石)	206.02立 (1.142石)	0.816	52.88庇 (14.10貫)	10.100(貫)	23.7度
22	263.38立 (1.460石)	202.05立 (1.120石)	0.767	63.19庇 (16.85貫)	11.541(貫)	24.7度
23	248.41立 (1.377石)	201.85立 (1.119石)	0.813	58.31庇 (15.550貫)	11.293(貫)	24.2度

7 製成

生醬油は一旦生垂を引きたる後湯煎釜を使用し、達温 60°C にて火入を行ひ、約五日間清澄し、後垂引を爲したる成績は下記の如し。

仕込號	製成醬油量	製成歩合	火入重量	製成醬油母氏比重
20	161.99立 (0.898石)	0.636	10.84立 (0.05石)	24.5度
21	171.74立 (0.952石)	0.682	9.02立 (0.05石)	24.0度
22	168.13立 (0.932石)	0.638	12.62立 (0.07石)	24.7度
23	153.52立 (0.851石)	0.618	14.43立 (0.08石)	24.7度

8 鑑評成績

製成醬油は喼味法に依り昭和五年六月十七日に暗號を附して、本所技師及本所囑託鑑定人の鑑評に附したる結果は下記の如し。

仕込號	試驗事項	甲	乙	丙	丁	合計	合計點數に依る順位	順位に依る順位
第23號	醬母應用試驗標準	31	80	85	75	319	4	3
第20號	純粹培養醬母	80	83	87	77	327	2	2
第21號	天然培養醬母	77	80	89	80	326	3	2
第22號	原料洗滌	79	85	90	78	332	1	1

本試験の結果より觀る時は、醬母中の細菌類に多少支配を受くる事は想像せらるゝものにして、殊に原料を洗滌したる仕込にして、醬母を應用したるもの第一位を占めたるは、明らかに、醬母中の細菌が影響したるか、若しくは、原料に附着せる不必要なる雜菌が、洗滌により除去せられたる結果に基因するかの何れかなり。此の實驗よりすれば、原料の洗滌は品質に影響し、又必要なる優良細菌の添加は意味ある事と思はせらる。

實驗の結果

醬母(培養したる種諸味)を應用する場合に、出來得る限り原料より來る雜菌を除去したる仕込のものは、品質良好なるが如し。尙天然の仕込を培養して醬母となしたるものよりも、人工的に酵母及細菌類を純粹培養して添加し、製造したる醬母を應用したる方、品質良好なるが如し。

原料處理變更醬油釀造試驗

Brewing trials of *shōyu* with raw materials treated by a modified process.

技 師 松 本 憲 次
 助 手 出 井 眞 平
 研 修 員 佐 々 木 子 之 吉

緒 言

醬油釀造に際しては普通製品の釀出を目標とし、且廉價なる賣品を製造せんが爲め代用原料を使用する場合あり。殊に地方的には安價製品の釀出は最も必要を感ずる事あり。其れ故に現在可なりに代用原料の釀造普及したるを以て、本試験も代用原料を使用して、然も一歩進め代用原料の處理に改變を施行して幾分従来の代用品使用による缺點を補正せんを企圖したるものなり。尙本實驗中には特に原料の洗滌工程を追捕して一層品質の向上を計らんとしたるものなり。

1 仕 込 原 料 の 配 合

仕込號	豆 粕	大 麥	穀	食 鹽	水	仕込年月日
第 24 號	67.5 疋 (18. 貫)	37.5 疋 洗滌炒熟 (10 貫) 割 碎	18.75 疋 (5 貫)	48.75 疋 (13 貫)	180.4 立 (1 石)	昭和3年7月8日
第 25 號	67.5 疋 (18. 貫)	37.5 疋 (10 貫) 炒熟割碎	18.75 疋 (5 貫)	48.75 疋 (13 貫)	180.4 立 (1 石)	。
第 26 號	67.5 疋 (18. 貫)	18.75 疋 洗滌炒熟 (5 貫) 割 碎 18.75 疋 (5 貫) 割碎蒸熟	18.75 疋 (5 貫)	48.75 疋 (13 貫)	180.4 立 (1 石)	。
第 27 號	67.5 疋 (18. 貫)	18.75 疋 炒熟割碎 (5 貫) 18.75 疋 (5 貫) 割碎蒸熟	18.75 疋 (5 貫)	48.75 疋 (13 貫)	180.4 立 (1 石)	。

(豆粕は櫻豆と本所製脱脂大豆を使用したり)

2 仕 込 原 料 の 處 理

大麥洗滌 大麥は醸造試験所構内の用水にて、充分に洗滌後直ちに遠心分離器により脱水し平釜にて炒熟す。

大麥蒸熟 後述の櫻豆(浸水せるもの)と割碎せる大麥とを加壓蒸熟罐に入れ 10 封度 2 時間加壓蒸熟せり。

原料櫻豆 (イ)150疋(40貫)(昭和二年,及大正十五年に購入せし物)に熱湯を櫻豆112.5疋(30貫)に對し117立(6.5斗)の割合に撒布吸收せしむ(七月四日午後十時)吸水後の重量293.75疋(78.600貫)

(ロ)尙仕込原料不足の爲め滿洲大豆を以て、試験所内据付脱脂大豆製造装置により製したり、其の脱脂大豆 135疋(36貫) を使用したり。

(イ)及(ロ)を混合して仕込に使用したり。

櫻豆(イ)281.25疋(75貫)を加壓蒸熟罐の下部に投入し、其上部に脱脂大豆(ロ)135疋(36貫)に割碎大麥37.5疋(10貫)を混加せるもの318.75疋(85貫)を滿たし半時間以上無蓋のまま蒸氣を噴出せしめ後蓋のみを爲し、1時間以上蒸氣を噴出せしめたる後10封度加壓2時間に至る。

仕込第 24 號

總 重 量	大 麥 (生)	豆 粕 (生)	穀 (生)
總 重 量	37.5 疋 (10 貫)	67.5 疋 (18. 貫)	18.75 疋 (5 貫)
使 用 量		10.8 立 (6. 斗)	
18.04 立 (1 斗) 重 量	10.13 疋 (2.7 貫)	11.25 疋 (3. 貫)	5.625 疋 (1.5 貫)

	洗滌炒熟大麥	蒸熟豆粕	炒熟穀	出 物
總 重 量	33 疋 (8.8 貫)	137.63 疋 (36.7 貫)	15.656 疋 (4.175 貫)	123.75 疋 (33. 貫)
18.04 立 (1 斗) 重 量	5.478 疋 (1.46 貫)	12.75 疋 (3.4 貫)		6.00 疋 (1.6 貫)

備考 10 水母氏 18.5 度, 仕込後 3 日目に於て諸味濃度高過ぎたる爲め母氏 (18 度) の鹽水 19.844 立 (1 斗 1 升) を追加したり。

仕込第 25 號

	大 麥 (生)	豆 粕 (生)	穀 (生)
總 重 量	37.5 疋 (10. 貫)	67.5 疋 (18. 貫)	18.75 疋 (5. 貫)
使 用 量		108.24 立 (6 斗)	
18.04 立 (1 斗) 重 量	10.175 疋 (2.7 貫)	11.25 疋 (3. 貫)	5.625 疋 (1.5 貫)

	炒熟大麥	蒸熟豆粕	炒熟穀	出 物
總 重 量	32.75 疋 (8.733 貫)	137.63 疋 (36.7 貫)	15.656 疋 (4.175 貫)	125.625 疋 (33.5 貫)
18.04 立 (1 斗) 重 量		12.75 疋 (3.4 貫)		6.188 疋 (1.65 貫)

備考 10 水仕込母氏 18.5 度 鹽水, 諸味濃度高過ぎたる爲め仕込後 3 日目母氏 18 度の鹽水 19.85 立 (1 斗 1 升) を追加したり。

仕込第 26 號

	大 麥 (生)	豆 粕 (生)	穀 (生)
總 重 量	37.5 疋 (10. 貫)	67.5 疋 (18. 貫)	18.75 疋 (5. 貫)
	(5. 貫) 洗滌炒熟 (5. 貫) 蒸熟割碎 (5. 貫) 割碎蒸熟		

使用量 18.04立(1斗)重量	10.175庇(2.7貫)	108.24立(6.斗) 11.25庇(3.貫)	5.625庇(1.5貫)
	大 麥		豆 粕
	洗滌—炒熟 割	割碎—蒸熟	蒸 熟
	炒 熟	炒 熟	出 麴
總重量	16.125庇 (4.3貫)	35.812庇 (9.55貫)	138.75庇 (37.貫)
18.04立(1斗)重量		12.938庇 (3.45貫)	15.656庇 (4.175貫)

備考 大麥 18.75庇(5貫) を生のまゝ割碎し豆粕と共に蒸す。他の 18.75庇(5貫) は非水洗滌：
炒熟割碎す。

仕込第 27 號

	大 麥 (生)	豆 粕 (生)	穀 (生)
總重量	18.75庇(5.貫)炒熟—割碎 (5.貫)割碎—蒸熟	67.5庇(18.貫)	18.75庇(5.貫)
使用量		108.24立(6.斗)	
18.04立(1斗)重量	10.175庇(2.7貫)	54.12立(3.斗)	5.625庇(1.5貫)

	大 麥		豆 粕	穀	出 麴
	炒熟—割碎	割碎—蒸熟	蒸 熟	炒 熟	
總重量	16.376庇 (4.367貫)	35.812庇 (9.55貫)	138.75庇 (37.貫)	15.656庇 (4.175貫)	132.75庇 (35.4貫)
18.04立(1斗)重量			12.938庇 (3.45貫)		4.812庇 (1.55貫)

備考 大麥 18.75庇(5貫) を生の儘割碎して、浸漬せる豆粕と共に蒸したり。

3 製 麴

布蓋を使用し4日目の出麴とし、種菌は新に本所に於て分離したるものより二種類を選出し、種麴を製造したり。種麴の配合割合は下記の如し。

仕 込 號	種 麴 使 用 量		麴 蓋 使 用 數
	J _A	J _B	
仕 込 第 24 號	112.5瓦(30匁)	150瓦(40匁)	28枚
〃 第 25 號	〃 〃	〃 〃	29
〃 第 26 號	〃 〃	〃 〃	34
〃 第 27 號	〃 〃	〃 〃	34

製麴の経過は下表の如し。

年月日	時刻	品 温	品 温	品 温	品 温	室温	湿度	摘 要
		仕込24號	仕込25號	仕込26號	仕込27號			
昭和375	前 10.00	33.0	30.0	32.0	34.0	24.0	22.0	室入れ
〃	後 1.00	24.0	26.0	25.0	25.8	25.0	24.2	
〃	〃 3.00	25.5	25.0	25.0	24.9	25.0	24.0	
〃	〃 5.00	27.0	25.0	26.2	25.4	25.0	24.0	
〃	〃 8.00	26.0	—	—	—	25.5	24.0	七時三十分室を閉す
〃	〃 10.00	—	25.5	24.5	24.5	25.0	24.0	
〃	〃 12.00	28.0	26.5	27.5	26.3	26.3	26.0	
6	前 2.00	29.0	28.1	28.0	27.0	27.0	27.0	
〃	〃 4.30	30.0	30.0	30.0	29.5	28.5	27.7	
〃	〃 7.30	34.0	36.0	35.0	36.0	32.0	31.0	
〃	〃 9.30	38.0	39.0	36.0	35.0	29.0	28.5	
〃	〃 11.40	38.0	36.5	35.8	26.7	29.0	28.0	
〃	後 0.30	35.0	34.5	—	34.4	—	—	十二時一番手入
〃	〃 1.30	—	—	37.0	27.0	27.8	26.0	
〃	〃 3.30	37.0	37.0	38.0	—	28.0	27.0	22號二番手入後品温 35.5
〃	〃 3.40	—	35.6	35.0	35.7	—	—	度三時積替撒水
〃	〃 6.30	38.0	35.8	35.0	34.5	28.0	26.5	23號二番手入後品温 35.6
〃	〃 10.00	31.3	34.0	31.0	33.8	25.0	23.0	度
〃	〃 12.00	32.2	33.6	31.5	32.0	26.5	24.5	
7	前 3.00	34.0	33.0	32.8	30.4	29.0	27.0	
〃	〃 6.00	33.5	34.4	33.0	32.0	26.7	24.4	
〃	〃 10.00	33.0	36.0	32.7	33.0	23.5	22.2	
〃	〃 12.00	29.0	29.0	31.5	31.0	28.0	26.0	
〃	後 3.00	29.0	28.0	28.0	28.0	26.0	25.0	
〃	〃 5.00	29.0	28.0	29.0	27.2	26.0	24.7	
〃	〃 11.00	24.0	26.0	24.8	25.0	25.0	25.0	
8	前 6.00	24.0	25.8	24.9	25.0	24.8	24.2	出麴

仕 込 號	出 麴 全 重 量	18 立 (1斗) 重 量	出 麴 全 容 量	備 考
第 24 號	123.75庇 (33貫)	6.00庇 (1.6貫)	474.45立 (2.63石)	豆 粕 67.5庇(18貫) 大麥洗滌 27.5庇(10貫) 穀 18.75庇(5貫)
第 25 號	125.625庇 (33.5貫)	6.188庇 (1.65貫)	366.21立 (2.03石)	豆 粕 67.5庇(18貫) 大麥 27.5庇(10貫) 穀 18.75庇(5貫)
第 26 號	131.25庇 (35.貫)	5.488庇 (1.65貫)	371.546立 (2.115石)	豆 粕 67.5庇(18貫) 大麥(半分洗滌)17.5庇(10貫) 穀 18.75庇(5貫)
第 27 號	132.75庇 (35.4貫)	4.812庇 (1.55貫)	374.954立 (2.84石)	豆 粕 67.5庇(18貫) 大麥 27.5庇(10貫) 穀 18.75庇(5貫)

以上の経過を観るに仕込號の第 25 號の最高製麴温度 39°C を示したる外何れも 28°C 程度に止まり一般に低温麴となりたり。

4 仕込及諸味の攪拌

仕込容器は約 360 立容(2石容)の木桶を使用し、鹽水 18.5(母氏)10水にて仕込を爲し、之に前記出麴を仕込んだり。攪拌は櫂を使用し、次の通り施行したり。

攪拌時間	回数及時刻	攪拌時間	回数及時刻
自昭和3年7月14日	毎日一回 午後二時	自昭和3年10月1日	3日毎一回 午後二時
至〃年7月20日		至〃〃30日	
自〃〃21日	毎日一回 午前九時	自〃11月1日	4日毎一回 午後二時
至〃〃31日		至昭和4年1月31日	
自〃8月1日	隔日一回 午前十時	自〃2月28日	5日毎一回 午後二時
至〃9月15日		至〃6月30日	
自〃9月16日	隔日一回 午後二時	自〃7月1日	3日毎一回 午後二時
至〃〃30日		至〃7月15日	

以上の通り攪拌を行ひ、同時に諸味の温度及其の諸味の深さを丈量したる結果は下記表に示したる如し。攪拌毎に記録したるも時期に應じ取捨して記載したり。

年月日	室温	仕込第24號		仕込第25號		仕込第26號		仕込第27號		
		品温	諸味の深さ 攪拌前攪拌後	品温	諸味の深さ 攪拌前攪拌後	品温	諸味の深さ 攪拌前攪拌後	品温	諸味の深さ 攪拌前攪拌後	
3 7 14	26.5	26.0	2.18	2.10	26.0	2.20	2.14	26.0	2.15	2.10
〃 〃 18	25.0	26.0	2.20	—	26.0	2.23	—	26.0	2.22	—
〃 〃 24	24.0	23.0	2.34	2.15	23.0	2.35	2.18	23.0	2.31	2.12
〃 〃 28	27.0	25.0	2.46	2.20	25.0	2.47	2.12	25.0	2.33	2.09
〃 8 5	22.5	24.5	2.30	2.11	24.5	2.32	2.20	24.5	2.37	2.08
〃 〃 13	23.5	24.5	2.32	2.14	24.5	2.40	2.15	24.5	2.23	2.05
〃 〃 20	23.0	24.5	2.28	2.13	24.5	2.29	2.18	24.5	2.25	2.12
〃 〃 28	22.5	24.0	2.33	2.14	24.0	2.39	2.17	24.0	2.23	2.07
〃 9 5	27.0	27.0	2.32	2.16	27.0	2.35	2.10	27.0	2.24	2.10
〃 〃 13	27.0	27.0	2.30	2.13	27.0	2.34	2.16	27.0	2.17	2.10
〃 〃 21	24.5	24.0	2.28	2.11	24.0	2.28	2.12	24.0	2.10	2.05
〃 〃 30	18.3	21.0	2.15	2.07	21.0	2.16	2.10	21.0	2.02	2.02
〃 10 12	19.0	19.0	2.08	2.03	19.0	2.10	2.08	19.0	2.03	1.96
〃 〃 26	17.5	—	2.03	1.99	—	2.09	2.07	—	1.98	1.98
〃 11 11	11.0	—	2.01	2.01	—	2.07	2.04	—	1.94	1.93
〃 〃 27	14.0	13.0	1.96	1.96	13.0	2.05	2.04	13.0	1.91	1.91
〃 12 12	8.0	9.5	1.96	1.95	9.5	2.00	2.00	9.5	1.91	1.91
〃 〃 28	6.0	6.0	1.96	1.96	6.0	2.01	2.00	6.0	1.90	1.89
4 1 7	3.0	3.5	1.96	1.96	3.5	2.00	1.98	3.5	1.90	1.90
〃 〃 22	4.0	4.5	1.93	1.90	4.5	1.95	1.95	4.5	1.91	1.90
〃 2 7	4.5	4.0	1.89	1.88	4.0	1.94	1.93	4.0	1.90	1.90
〃 〃 22	5.0	4.0	1.94	1.91	4.0	1.99	1.96	4.0	1.91	1.90
〃 3 4	4.0	5.0	1.94	1.90	5.0	1.95	1.95	5.0	1.89	1.87

4 3 14	8.0	5.0	1.93	1.92	5.0	1.93	1.95	5.0	1.88	1.87	5.0	1.88	1.87
〃 〃 29	12.0	10.0	1.90	1.90	10.0	1.93	1.92	10.0	1.89	1.88	10.0	1.86	1.85
〃 4 8	14.0	10.5	1.92	1.92	10.5	1.96	1.96	10.5	1.89	1.88	10.5	1.86	1.86
〃 〃 18	14.0	—	1.93	1.93	—	1.97	1.95	—	1.92	1.88	—	1.88	1.87
〃 5 3	12.0	15.5	1.90	1.89	15.5	1.93	1.93	15.5	1.95	1.95	15.5	1.87	1.86
〃 〃 13	17.0	16.0	1.91	1.89	16.0	2.00	1.96	16.0	1.90	1.90	16.0	1.90	1.87
〃 〃 23	19.0	18.0	1.91	1.91	18.0	1.96	1.96	18.0	1.87	1.87	18.0	1.88	1.85
〃 6 2	21.0	19.0	1.90	1.89	19.0	1.94	1.93	19.0	1.89	1.87	19.0	1.85	1.84
〃 〃 13	18.5	—	1.87	1.87	—	1.95	1.95	—	1.90	1.85	—	1.85	1.83
〃 〃 21	19.5	21.0	1.92	1.92	21.0	1.95	1.95	21.0	1.87	1.85	21.0	1.84	1.84
〃 〃 27	26.5	22.0	1.91	1.91	22.0	1.93	1.92	22.0	1.87	1.87	22.0	1.85	1.82
〃 7 3	24.0	23.0	1.86	1.85	23.0	1.94	1.92	23.0	1.88	1.85	23.0	1.84	1.83
〃 〃 11	28.0	25.0	1.83	1.83	25.0	1.90	1.86	25.0	1.82	1.79	25.0	1.80	1.78
〃 〃 15	30.0	27.0	1.83	1.83	27.0	1.92	1.89	27.0	1.84	1.84	27.0	1.82	1.82

5 諸味熟成及搾汁

諸味は上記の如く醱酵経過したるを以て約滿一ヶ年昭和四年七月十七日より搾汁を始め、桶一本宛水壓機に掛け搾したり。諸味の査定は下記の如し。

仕入號	熟成諸味量	仕入號	熟成諸味量
第24號	270.160立(1.502石)	第26號	295.676立(1.639石)
第25號	277.094立(1.536石)	第27號	285.753立(1.584石)

以上の熟成諸味は山崎式水壓機(八吋)にて2晝夜間壓搾したり。壓搾時に於ける最高壓力は毎平方吋 1750 封度なり。搾汁成績は下記の如し。

仕込號	壓搾諸味量	總垂量	垂歩合	粕量	粕歩合	生醬油母氏比重
20	254.70立 (1.412石)	200.42立 (1.111石)	0.786	52.87斤 (14.100貫)	9.983	23.8度
21	248.84立 (1.393石)	205.02立 (1.422石)	0.816	52.88斤 (14.100貫)	10.100	23.7〃
22	263.38立 (1.460石)	202.05立 (1.120石)	0.767	63.19斤 (16.550貫)	11.541	24.7〃
23	248.41立 (1.377石)	201.87立 (1.119石)	0.813	53.31斤 (15.550貫)	11.293	24.2〃

6 製 成

生醬油は一旦重引を爲し後湯煎釜にて達温 60°C にて火入を行ひ、清澄5日間後重引を行ひたる成績は下記の如し。

仕込號	製成醬油量	製成歩合	火入重量	製成醬油 母氏比重
20	161.29立(0.898石)	0.636	10.84立(0.000石)	24.5度
21	171.74立(0.952石)	0.682	9.02立(0.050石)	24.0°
22	168.13立(0.932石)	0.638	12.62立(0.070石)	24.7°
23	153.52立(0.851石)	0.618	14.43立(0.080石)	24.7°

7 鑑評成績

製成醬油は味法により昭和四年七月十七日暗號を附し、本所技師及本所囑託鑑定人の鑑定結果は下記の如し。

仕込號	試験事項	採點數					合計點數に よる順位	順位によ る順位
		甲	乙	丙	丁	合計		
第24號	豆粕 大麥 洗滌, 炒熟, 割碎	78	84	82	75	319	1	1
第25號	豆粕 大麥 炒熟, 割碎	74	82	80	72	308	3	3
第26號	豆粕 大麥 半分, 洗滌, 炒熟, 割碎 半分, 割碎, 蒸熟	75	78	70	75	298	4	3
第27號	豆粕 大麥 半分, 炒熟, 割碎 半分, 割碎, 蒸熟	76	80	83	74	313	2	2

試験の結果

本試験は唯一回なるを以て的確なる斷定を下すことを得ざるも、表はれたる試験成績よりすれば、大麥を醬油釀造に使用する場合、洗滌工程を行ふ時は品質を向上するが如し。但し半分洗滌し他半分を炒熟して使用する時は効果を認むること能はず。

細菌類添加醬油釀造試験

The application of the pure culture of several kind
of bacteria in *shōyu* brewing.

技師 松本 憲次
助手 出井 眞平

緒言

本試験は細菌添加試験繼續のものにして、従来までは主として諸味より分離したる細菌類に就き實驗を施行したるも、今回は原料に附着せる細菌類を分離し研究したるを以て、該細菌類中特に強堅なる種類を選定し、これを純粹培養して諸味に添加し、其の影響を試験したるものなり。勿論多數分離したる細菌類中三種を選出して試験に附し、然も第一回の試験なるが故元より正確を望むこと能はざるも、唯添加したる細菌が繁殖して影響を與ふるや否を試験せんとしたるものなり。参考として従来使用し來りし細菌一種をも比較の爲め加へ試験したり。其の結果は下記の如し。

1 仕込要綱

仕込原料の配合

仕込號	櫻豆	小麥	食鹽	水	摘要	仕込年月日
4	90.2立 (0.5石)	90.2立 (0.5石)	46.875斤 (12.5貫)	180.4立 (1石)	標準	昭和4年5月18日
5	90.2立	90.2立	46.875斤	180.4立	細菌添加G 22	昭和4年5月18日
6	90.2立	90.2立	46.875斤	180.4立	細菌添加G 6	昭和4年5月18日
7	90.2立	90.2立	46.875斤	180.4立	細菌添加G 1	昭和4年5月18日
8	90.2立	90.2立	46.875斤	180.4立	細菌添加11 b	昭和4年5月18日

2 仕込原料

櫻豆 豐年製油會社製品櫻豆にして18.04立(1斗)重量7.875斤(2.1貫)なり。

小麥 相州産にして18.04立の重量13.125斤(3.5貫)也。

食鹽 内地三等鹽を使用せり。

水 本所構内掘貫井水を使用せり。

3 原料處理

櫻豆180.4立に對し117.26立(6斗5升)の割合を以て熱湯を撒布し加壓法に依り蒸熟せり。