

## 8 酵素利用による麦焼酎の試醸

(セルラーゼ、ヘミセルラーゼ系酵素が糖化に及ぼす影響)

化学部 樋田 宣英  
田中 美保  
工藤 智子

### 1 はじめに

麦焼酎の製造においてアルコール取得率の向上や安定化を図る目的でセルラーゼ、ヘミセルラーゼ系酵素の応用は、原料麦の構成成分や組織から判断すると有効な手段と考えられる。

今回 *Asp. nigrum* 起源の CX-ase 活性の強い複合酵素剤及び酸性プロテアーゼを併用し糖化に及ぼす添加効果を把握し、蒸煮、無蒸煮麦を掛麦とした試醸を実施したので報告する。

### 2 実験方法

#### (1) 糖化試験

無蒸煮25g、蒸煮麦(大麦25g、2hr吸水、105°C 1hr蒸煮)にエチルアルコール10ml、20%クエン酸4ml、グルコアミラーゼ(2U/g)を基本配合に表1の酵素活性を有する複合酵素剤(上田化学 AFLQS)を0.05~2.5ml添加後、蒸留水で100gとし30°C恒温器で15日間反応させ経時的にサンプリングを行い酵素失活、スルホサリチル酸による除蛋白後、生成糖を既報<sup>(1)</sup>にしたがい HPLC にて測定した。

同時に0.1mlの複合酵素添加区を BLとして酸性プロテアーゼ(200~1600U/g)を添加し同様にプロテアーゼの併用効果を把握した。表2に配合を示す。

組織の観察は、無蒸煮麦は切断後、蒸煮麦はアルコールにより段階的に水分を置換後常法に従い SEM 観察した。

表1 セルラーゼ系複合酵素の主要酵素活性

CX-ase	Cl-ase	Xylanase
900	520	210 U/g

表2 糖化試験配合

基本配合				
	大麦	25g+EthyL-OH	10ml+20% Citlate	4 ml
	水	グルコアミラーゼ	複合酵素	酸性プロテアーゼ (ml)
1	84.45	0.5	0.05	
2	85.4	0.5	0.1	
3	85.3	0.5	0.2	
4	84.9	0.5	0.6	
5	84.5	0.5	1.0	
6	83.0	0.5	2.5	
7	85.0	0.5	0	
8	85.3	0.5	0.2	
-----				
9	82.9	0.5	0.1	2.5
10	80.4	0.5	0.1	5.0
11	75.4	0.5	0.1	10.0
12	65.4	0.5	0.1	20.0
13	85.5	0.5		
-----				
21	85.45	0.5	0.05	
22	85.4	0.5	0.1	
23	85.3	0.5	0.2	
24	85.0	0.5	0.5	
25	84.5	0.5	1.0	
26	83.0	0.5	2.5	
27	85.5	0.5		
-----				
28	82.9	0.5	0.1	2.5
29	80.4	0.5	0.1	5.0
30	75.4	0.5	0.1	10.0
31	65.4	0.5	0.1	20.0

酸性プロテアーゼ 2000U/ml

グルコアミラーゼ 100U/ml

蒸煮区(1-13)は、2hr浸漬 1hr水切り 105°C 1hr蒸煮

#### (2) 試醸

試醸は総麦300g、麴歩合36%、汲水歩合150%で表3の配合で蒸煮、無蒸煮の仕込試験を実施した。固液分離の評価は、100ml比色管に試料を取り攪反放置24時間後の上澄部の容積率を測定した。

なお酵素力価の表示はグルコアミラーゼ (PH4.5 40°C 30min 10mg Glu=1U)、酸性プロテアーゼ

(PH3.0 30°C 1min 1 $\mu$ g Tyr=1U), Cxase (PH4.2 40°C 1min 1 $\mu$ mole Glu=1U) とする。

表一3 試醸仕込配合

	蒸 BL	煮 蒸	煮 酵	無 蒸 BL	煮 無蒸	無蒸 酵素
1次汲水	96	96	96	96	96	(ml)
2次汲水	354	354	375	372	372	(ml)
麴	96	96	96	96	96	(g)
	(80)	(80)	(80)	(80)	(80)	
掛 麦	301	301	220	220	220	(g)
	(220)	(220)				
複合酵素		3			3	(ml)

( ) は原麦換算

### 3 結果と考察

(1) 糖化におけるセルラーゼ系酵素及び酸性プロテアーゼ添加

#### 試験

蒸煮試験区におけるセルラーゼ系複合酵素剤の添加は、添加初期においてグルコースの生成量に顕著な差となり15日経過後 BL に比べ1.12~1.3倍のグルコースが生成した(試験区1-7 BL 7)。また、原料の加水分解後のブドウ糖含量68%に対して糖化率54~62%を示し酵素の添加量に応じて生成糖が漸増した。

酸性プロテアーゼの併用試験(試験区8-12 BL 2)では BL に対して1.02~1.2倍のグルコース生成量で糖化率55.2~66.8%となりプロテアーゼの添加効果が認められた。

無蒸煮麦においても複合酵素の添加は、BL に対してグルコース生成量が1.5~2.1倍、糖化率9.7~20.5%を示した(試験区21~27 BL27)。

酸性プロテアーゼの併用試験(試験区28~31 BL22)では BL に対し1.20~3.5倍、糖化率19.4~33.7%で蒸煮区と同様の傾向となった。蒸煮区にくらべて生成糖が低いのは、グルコアミラーゼ(Rizopus 起源)の生デンプン分解酵素活性の力価不足のためと考えられる。15日経過後の糖組成を表4-5、にグルコースの経時変化を図1-4に示す。

SEM 観察の結果(写真1)より大麦中のデンプンは、デンプン粒としてアラビノキシラン、アラビノ

表一4 糖化試験最終糖組成(蒸煮区)

	T-S	D-S	Glucose	Xylose	Arabinose
1	0.1	0.1	9.2	+	0.1
2	+	0.4	9.3	+	0.1
3	+	0.4	10.1	+	0.1
4	+	0.5	10.2	+	0.2
5	+	0.7	10.6	+	0.3
6	+	0.8	10.7	+	0.4
7	0.4	0.3	8.2	0.3	-
8	-	0.4	9.4	-	0.1
9	-	0.4	10.0	+	0.1
10	-	0.4	10.1	+	0.1
11	-	0.5	11.3	+	0.2
12	-	0.6	11.4	+	0.2
13	0.5	0.2	8.1	-	-

T-S 3 糖類 D-S 2 種類

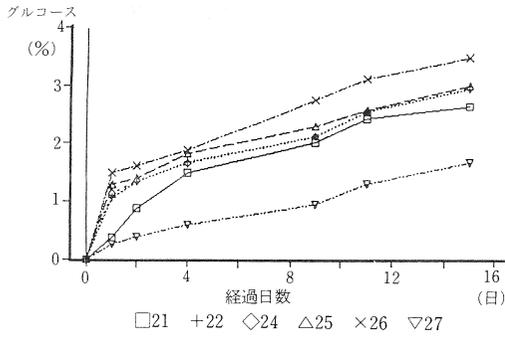
(単位%)

表一5 糖化試験最終糖組成(無蒸煮区)

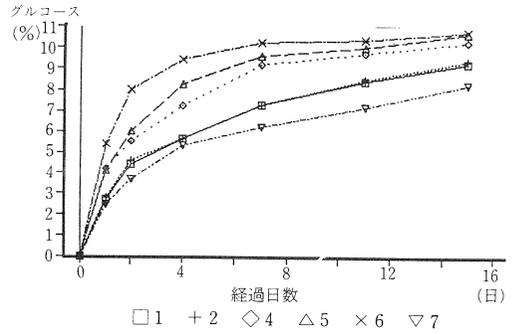
	T-S	D-S	Glucose	Xylose	Arabinose
21	0.9	-	2.7	0.1	0.1
22	1.2	-	2.8	0.1	0.1
23	1.0	-	2.9	0.1	0.2
24	1.0	-	3.0	0.2	0.2
25	0.8	0.3	3.0	0.2	0.4
26	0.8	0.4	3.5	0.2	0.8
27	1.3	0.3	1.7	0.1	0.1
28	0.3	-	3.3	0.2	0.1
29	0.3	+	4.0	0.2	0.2
30	0.7	0.3	4.6	0.2	0.1
31	0.8	0.3	5.7	0.2	0.2

(単位%)

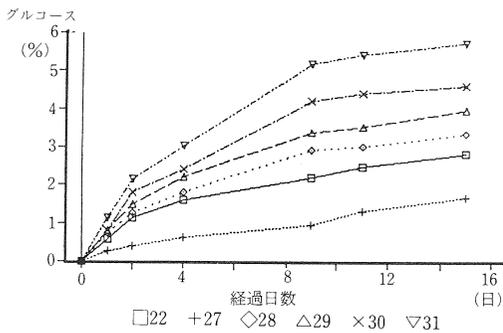
ガラクトタンを構成成分とする袋状の細胞膜により保護されているのが観察できる。セルラーゼ系酵素は、大麦組織の構成多糖を分解してデンプンの溶出を容易にし、グルコアミラーゼによる糖化作用を促進するものと考えられる。一方、酸性プロテアーゼの併用は、セルラーゼ系酵素の反応基質以外(プロテインボディー等)への吸着や酵素の活性部位以外が基質に吸着する無効吸着の解除に有効に作用し、糖化が促進したものと考えられる。



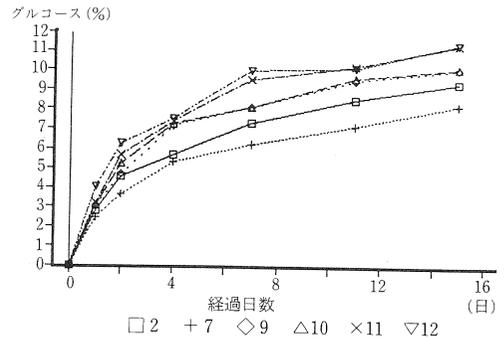
図一 セルラーゼ、ヘミセルラーゼ応用による無蒸煮麦糖化



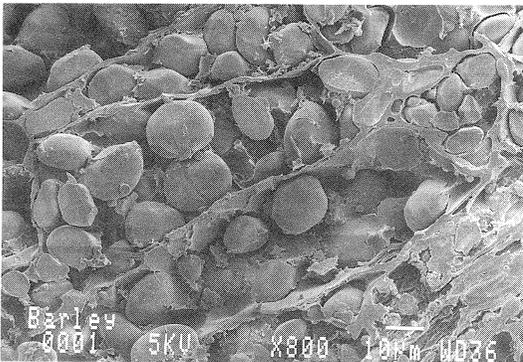
図三 セルラーゼ、ヘミセルラーゼ応用による蒸煮麦糖化



図二 無蒸煮麦糖化における酸性プロテアーゼの影響



図四 蒸煮麦糖化における酸性プロテアーゼの影響



大麦SEM観察像

(2) 試醸試験

既報<sup>(1)(2)</sup>では、生デンプン分解力のある Rizopus 起源のグルコアミラーゼによる試醸試験を実施し麴歩合の低減化や平均粒子径20メッシュの無蒸煮麦による麦焼酎の製造法への応用法を確立してきたが、今回の試醸ではセルラーゼ系酵素による発酵の安定

化や蒸留廃液の軽減化のための固液分離の改善、麦焼酎用麹菌 (Asp, kawachi) の生デンプン分解酵素との相乗効果による大麦全粒による無蒸煮仕込の予備試験として実施した。

両試験区とも、酵素添加区は BL に対し発酵曲線から判るとおり順調に発酵が進行している。無蒸煮試験区は、立ち上がりが遅延するものの14日経過後には蒸煮試験区とほぼ同じアルコール濃度となった。以上の結果より掛原料が無蒸煮全粒でも仕込可能なことが確認された。BL も今回の試醸結果からアルコール濃度18.0%となったがこのことは麦麴のセルラーゼ系の酵素活性、生デンプン分解酵素活性が強いためと考えられる。

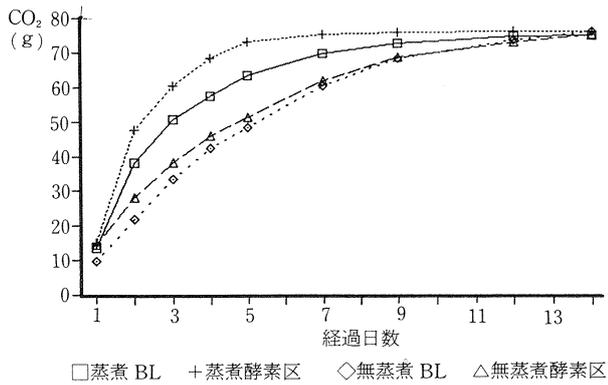
固液分離率は、蒸煮区において BL 5%、酵素添加区35%、無蒸煮区 BL43%、酵素添加区48%となりセルラーゼ系酵素の添加により構成多糖が分解し固液分離率が向上することが把握できた。このことは、終もろみのアラビノース、キシロース含量からも確

認できる。

無蒸煮区と蒸煮区の差は蒸煮により多糖類が膨潤し保水力が増加したためと考えられる。今回の酵素濃度は、対基質1%としたが酵素濃度の上昇により更に固液分離率が上昇することが確認されている。

表一 最終もろみ成分組成

	蒸煮区		無蒸煮区	
	BL	酵素区	BL	酵素区
D-S(mg/100ml)	200	<50	230	200
Glucose(//)	220	<50	690	1060
Xylose(//)	150	190	310	250
Arabinose(//)	280	780	310	450
Ethyl-OH(%)	17.7	17.9	18.0	18.2
固液分離率(%)	5	35	43	46



図一 5 発酵曲線

発酵曲線を図一5に最終もろみの分析結果を表一6に示す。

現在、本試験の結果を応用しアルコール取得率の向上と蒸留廃液の軽減化を目的とした試醸を実施している。

#### 4 まとめ

セルラーゼ・ヘミセルラーゼ系酵素が大麥の糖化や麦焼酎の試醸に及ぼす影響を検討し下記の結果を得た。

- (1) 酵素の添加により大麥の構成多糖が分解しデンプンの溶出を促しグルコアミラーゼによる糖化を促進した。
- (2) 酸性プロテアーゼの併用は糖化に際してセルラーゼ系酵素の無効吸着を解除することが確認された。
- (3) 酵素添加は、発酵の安定化、固液分離の向上に有効であった。
- (4) 無蒸煮全粒の掛原料においても発酵可能なことが確認できた。

#### 参考文献

- (1) 樋田他 大分県工業試験場研究報告 P147 (昭和60年度)
- (2) 樋田他 大分県工業試験場研究報告 P97 (昭和61年度)