

# 清酒醸造における細胞壁分解酵素の機能

醸造技術基盤研究部門長 三上 重明

## 1. はじめに

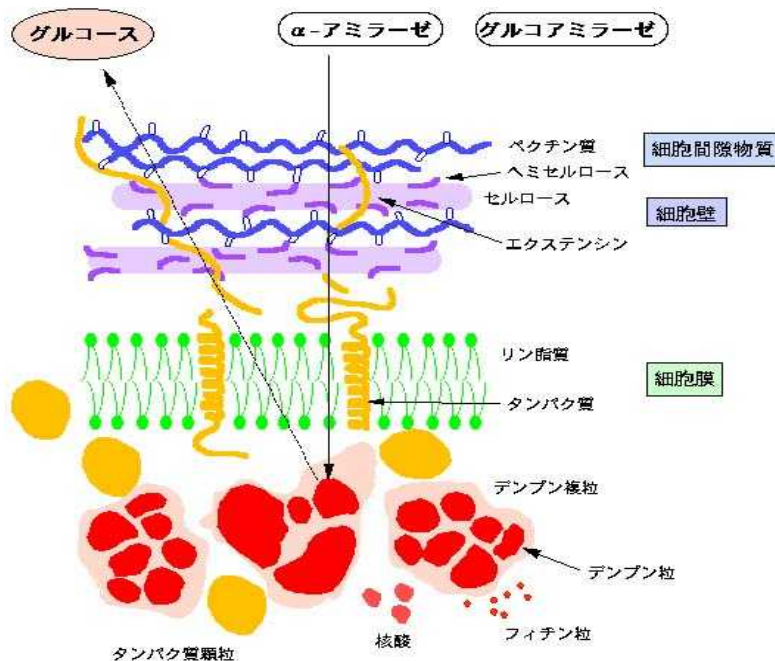
当研究所では麹菌が生産する糖化系酵素をはじめとした数多くの醸造関連酵素の酵素化学的諸性質や酒類醸造における機能を明らかにしてきたが、いわゆるマイナーな酵素はまだ多数存在しており、酒類の品質特性や醸造効率等に関与していると考えられる。そこで、第1期特別研究「醸造関連微生物の生産する酵素の新規機能解明及び利用」において醸造上の機能がほとんど不明な新規酵素を探索してその機能を解明するとともに、醸造技術の高度化に資することを目指した。

清酒もろみの並行複発酵において蒸米の溶解、糖化に關する主な酵素は、 $\alpha$ -アミラーゼ、グルコアミラーゼ等のデンプン分解酵素であるが、原料米中のデンプンは胚乳細胞壁に被われており、アミラーゼ系酵素の作用を受けにくい形態で存在していると考えられる。そこで、セルロース、ヘミセルロース及びペクチン質分解酵素等の細胞壁分解酵素を用いて蒸米の細胞壁を分解すると、 $\alpha$ -アミラーゼによる蒸米溶解が促進され、原料利用率の向上等が期待される。

各種植物細胞壁崩壊酵素剤を清酒もろみに添加したところ、酵素剤無添加の対照と比較して製成酒の純アルコール収得量が増加し、粕歩合が減少するという傾向が認められた。

清酒もろみの並行複発酵を解析したところ、蒸米の溶解を促進していると考えられた。また、清酒麹菌 *Aspergillus oryzae* の小麦ふすま培養粗酵素液を調製して小仕込試験を行った結果、市販酵素剤と同様に原料利用率の向上に寄与することが示唆された。

そこで、*A. oryzae* が生産するセルラーゼ、キシラナーゼ、ポリガラクトナーゼ等のさまざまな細胞壁分解酵素の清酒醸造における機能を解明するため、当該酵素を単離・精製してその酵素化学的諸性質を調べるとともに、精製酵素を添加した清酒もろみの並行複発酵を解析した結果を以下に詳述する。



セルラーゼ(EC3.2.1.4)      グルコシダーゼ(EC3.2.1.21)  
キシラナーゼ(EC3.2.1.8)      ポリガラクトナーゼ( EC3.2.1.15)

図1 清酒麹菌の生産する細胞壁分解酵素

## 2. セルロース分解酵素の機能

*A. oryzae* の各種穀類細胞壁分解酵素の生産条件等を検討するとともに、小麦ふすま培地を用いた固体培養物から3種のセルロース分解酵素(Cel 1~3)を単離、精製し、その酵素化学的諸性質を明らかにした。最適反応温度は50~60、最適反応pHはpH3.5~4.5、であり、熱及びpH安定性については50~60以下、pH3.0~7.0で安定であった。各種セルロース基質及び米胚乳細胞壁に対す

る基質特異性を比較した。また、カルボキシメチルセルロースを基質として3種の酵素の相乗効果を検討したところ、Cel 1又はCel 3とCel 2を組み合わせた場合に相乗効果が認められた。

次に、各精製酵素を添加した小仕込試験により、清酒もろみの並行複発酵を解析したところ、Cel 2を添加した場合に最も純アルコール収得量が増加し、粕歩合が減少することが明らかになった。すなわち、セルロース分解酵素による原料利用率向上の可能性が示唆された。なお、Cel 2は分子量及び基質特異性のデータからβ-グルコシダーゼと推察される。

### 3. 細胞壁分解酵素の組み合わせ試験

同様に、4種のキシラナーゼ XynF 1、F 3、G 1及びG 2を単離、精製し、酵素化学的諸性質を明らかにした。精製酵素による小仕込試験の結果、XynG 2を添加した場合に最も純アルコール収得量が増加することが分かった。次に、ポリガラクトソナーゼ PgaB についても調べたが、単独では原料利用率の向上に寄与しないことが明らかになった。

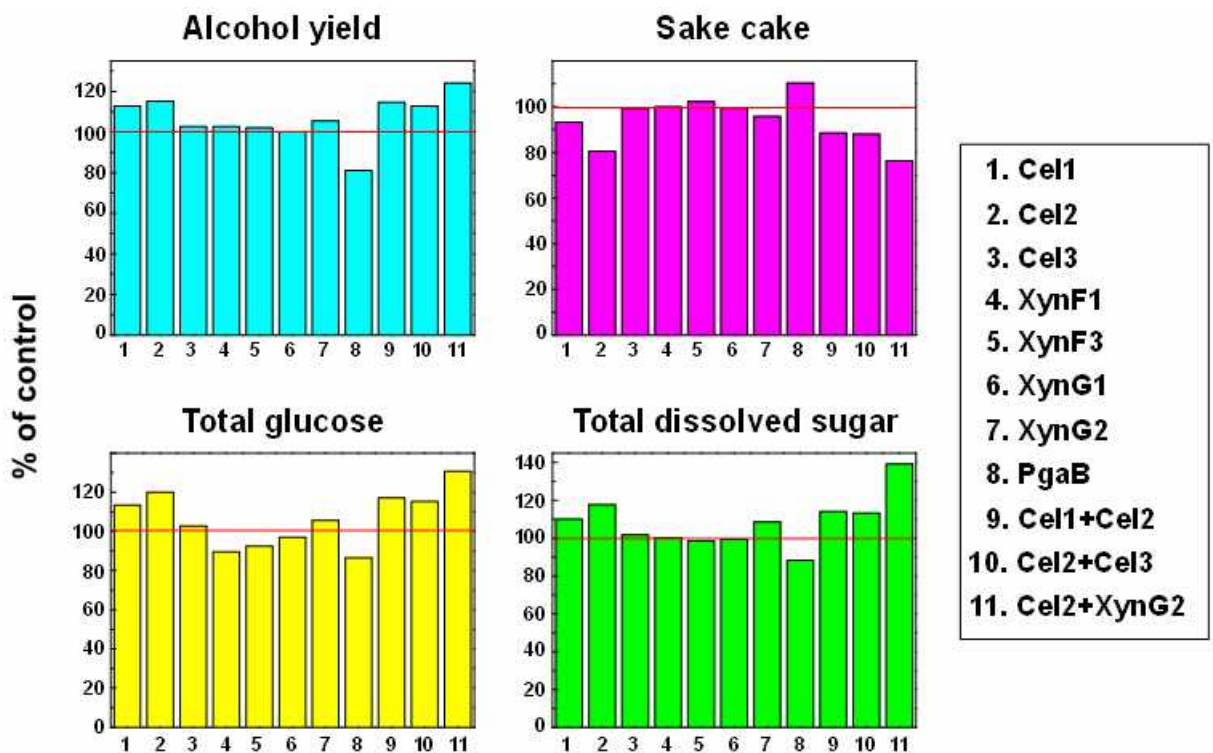


図2 各種精製酵素による小仕込試験結果

*A. oryzae* の産生する主な細胞壁分解酵素のうち、原料利用率の向上に寄与することが判明した精製酵素を組み合わせ添加小仕込試験を行った。基質レベルで相乗効果の認められたセルロース分解酵素については、Cel 1又はCel 3とCel 2を組み合わせた場合に、単独添加に比べて純アルコール収得量が10%程度上乗せされることが分かった。すなわち、エキソ型酵素(β-グルコシダーゼ)と思われるCel 2の原料米の効率的な分解における重要性が示唆された。さらに、各種精製酵素の組み合わせのうち、Cel 2とXynG 2を同時に添加した場合に、対照と比較して純アルコール収得量が24%、全溶解糖量が39%増加し、原料利用率が最も向上することが明らかになった。

以上の成果を踏まえて、新規な清酒醸造用酵素剤の開発に有用な知見を得るため、第2期基盤研究「低温酵素を利用する酒類醸造技術の開発」において、低温生物に由来する酵素の研究を進める計画である。