

# 合成基質によるアミラーゼ活性測定法について

醸造微生物研究部門 織田 健

## 1. はじめに

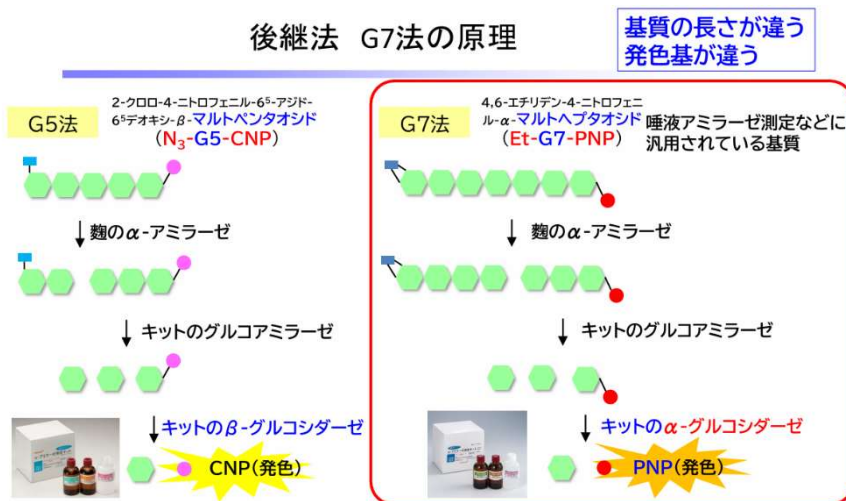
清酒醸造においては、1麴、2酏、3造りと言われるほど米麴の品質は非常に重要性が高い。米麴の品質は、主として酵素の $\alpha$ -アミラーゼ(AMY)、グルコアミラーゼ(GLA)、酸性プロテアーゼ(AP)、酸性カルボキシペプチダーゼ(ACP)の活性測定を通して評価を行うことが多い。なかでも、麴中の $\alpha$ -アミラーゼは、蒸米の溶解に本質的に関与しており、その後の発酵に特に大きな影響を与えることから、清酒醸造管理の重要な一指標として測定されています。蔵元でも日々の製麴管理や吟醸麴については、各都道府県公設試等に酵素活性測定の実験依頼を行い、その分析値を利用することが多い。

$\alpha$ -アミラーゼの活性測定法について、酒類総合研究所標準分析法には、可溶性デンプン法と合成基質法(G5法)の2種類が掲載されています。このうち、合成基質法は、測定キットが販売されており、広く汎用されていますが、この度基質として使用されている $N_3$ -G5-CNPの入手が困難となり、代替法として、キッコーマンバイオケミファ株式会社がG7法を開発しました。本講演では、キッコーマンバイオケミファ株式会社及び広島県食品工業技術センターと当所が実施した、幅広い麴を対象とした代替法の評価について報告します。

## 2. 新しいG7法の幅広い米麴41サンプルでの評価

代替法のG7法は、測定手順はG5法のキットと同様ですが、基質のオリゴ糖部位の長さが5から7になり、修飾基や発色基が変更されている他、基質濃度、反応緩衝液のpHの最適化が行われています。

G7法のキットを評価するために、はじめに当所で製麴した米麴3種と市販の米麴4種をサンプルと

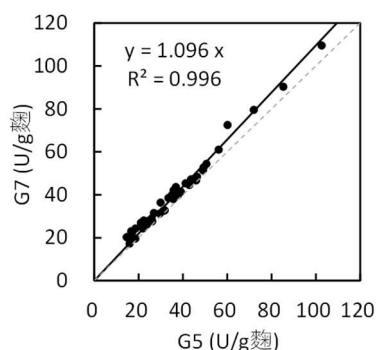


して2機関でG5法、G7法にて $\alpha$ -アミラーゼの活性測定を実施したところ、両方法で得られた値の線形近似式の相関係数 $R^2$ は0.993と非常に高い相関を示しており、G7法が代替法となりうることを示されました。また、G7法で得られる活性値は、G5法よりも約10%高い値となることが示されました。

次に、G5法が開発された1996年時点よりも清酒醸造に使用されている麴の種類が増えており、より幅広い麴について検討を行う必要があるため、米麴サンプルを追加して評価することとしました。サンプルは、広島県の蔵元から提供いただいた多様な麴とし、原料米の品種、栽培年度、精米歩合にも幅を持たせました。酒類総合研究所標準分析法に基づき酵素液を調製し、3機関にて同じサンプルを3反復測定したところ、機関ごとの相対標準偏差は5%程度に収まり精度よく分析することができました。3機関のデータをまとめると、G5法(x)とG7法(y)の近似式は $y = 1.096x$  ( $R^2 = 0.996$ )となり、7サンプルでの評価と同様に高い相関を示しました。G7/G5比は1.02~1.38であり、G7法

が約 10%高値を示す傾向が見られ、また一部の麴で比が 1.3 を越えるものもありました。この近似式により、これまでの G5 法のキットの値を経由して、可溶性デンプン法での値に換算することが可能となりました。

G7/G5 比が 1.2 を超える要因を探るために、比が高いサンプルに着目すると、低い精米歩合及び種麴の種類が吟醸麴用の菌、特に高グルコアミラーゼ生産菌（以下、「高グルコ菌」という）であるという傾向がありました。一方、原料米の品種については特に傾向は見出されませんでした。そこで、吟



		3者平均
平均活性 (U/g麴)	G5	35.7
	G7	39.8
G7/G5	平均	1.14
	最大	1.38
	最小	1.02
相对標準偏差 (%)	G5	< 6.8
	G7	< 8.4

### 3 機関での米麴 41 サンプル測定による G7 法と G5 法の関係

醸用麴についてグルアミラーゼ活性を測定し、GLA/AMY 活性比 (G/A) を算出し、G7/G5 比と検討したところ、低いながらも相関があり、G/A 比が高いことが一要因と推察されました。吟醸用麴のうち高グルコ菌をそれぞれ分別して解析すると、同じ種麴菌でも製麴によって G7/G5 比が異なるものや異なる麴菌でも G7/G5 比が変わらないものも存在する等、一定の傾向は見られませんでした。よって、 $\alpha$ -アミラーゼ測定で G5 法から G7 法に切り替える際には、同時に分析を行い、G5 法と G7 法の分析値を比較し、固有の換算係数を算出することが望ましいと考えられます。

### 3. G5 法から G7 法へのキットの切り替わりの対応として

- ・ G5 法よりも分析値に 10%程度の差があることを承知して G7 法の値をそのまま使用
- ・ G7 法の分析値を G5 法の分析値に換算して、以前からの尺度で管理に使用
- ・ 製麴ごとに精緻に品質管理を行うほか、高グルコ菌での大吟醸麴を使用して数値管理をしている場合には、G5 の測定キットの在庫があるうちに G5 法と G7 法の直接の分析値の比較を行い、独自の換算値を求めておくことを推奨

### 4. 今後の展開

現在、G7 法での分析値を可溶性デンプン法での分析値に換算する際、G5 法への換算を経由しなければなりません。より幅広い麴に対応した高精度な換算式とするために G7 法と可溶性デンプン法の直接の比較を進めており、今後、学会報告などで周知する予定です。

### 5. 参考文献

- 1) Oda *et al.*, *J. Food Sci.*, 90(8), 1750-3840 (2025): <https://doi.org/10.1111/1750-3841.70344>
- 2) 下地ら、米麴の  $\alpha$  アミラーゼ活性測定法の代替法の開発および評価、日本醸造協会誌 (解説記事) (印刷中)