

最終試験結果の要旨	
学位申請者 氏 名	白 石 洋 平
審査委員	主査 鹿児島 大学 教 授 高峯 和則
	副査 鹿児島 大学 准教授 二神 泰基
	副査 琉 球 大学 教 授 外山 博英
	副査 鹿児島 大学 教 授 玉置 尚徳
	副査 佐 賀 大学 教 授 北垣 浩志
審査協力者	印
実施年月日	平成 2 9 年 1 月 3 0 日
試験方法（該当のものを○で囲むこと。） <input checked="" type="checkbox"/> 口 答 <input type="checkbox"/> 筆 答	
<p>主査及び副査は、平成 2 9 年 1 月 3 0 日の公開審査会において学位申請者に対して、学位申請論文の内容について説明を求め、関連事項について試問を行った。具体的には別紙のような質疑応答がなされ、いずれも満足できる回答を得ることができた。</p> <p>以上の結果から、審査委員会は申請者が博士（農学）の学位を受けるに必要な十分の学力ならびに識見を有すると認めた。</p>	

学位申請者  
氏 名

白 石 洋 平

【質問 1】麴に含まれる酸化酵素が蒸留中に高級アルコールからアルデヒドを生成する知見は得られているか。

【回答 1】麴には多くの酸化酵素が含まれており、活性も高いため蒸留中に影響を及ぼすと考えられるが、本研究では実験を行っていない。

【質問 2】アミノ酸の代謝において、アルギニンがもろみ中に多量に存在するとアルギニンを選択的に取り込むために、最終的にはアルギニン濃度が低下するとのことだが、確認実験を行ったか。

【回答 2】実験は行っていない。先行研究によると、液体培地にアミノ酸を単独または複数添加した実験において、高級アルコール生成に関与するアミノ酸と比べてアルギニンが選択的に取り込まれるとの結果があり、それを引用し考察した。

【質問 3】アミノ酸の濃度をコントロールすると揮発成分も変わることがあるか。

【回答 3】糖とアミノ酸の反応であるため、糖の種類を変えることや、アミノ酸濃度を変えることで生成する成分や量を変化できると考えられる。

【質問 4】フルフラールに注目していることから、モデル醪にキシロースを使用したのか。

【回答 4】蛋白分解酵素を添加すると UV275nm の値が高くなった。この値は、フルフラールに起因することが知られている。フルフラールはキシロースと酸による熱反応で生成することが報告されていたため、キシロースを使用した。

【質問 5】米とサツマイモのどちらの蛋白質が分解されているのか。

【回答 5】一次もろみは米麴であり、米由来の蛋白質といえる。二次もろみでは流動性からみるとサツマイモの蛋白質にアタックしていると考えられる。流動性の改善は、セルラーゼの効果が一般的に考えられるが、プロテアーゼ添加で明らかに流動性が改善される。黄麴はプロテアーゼ活性が低く、カルボキシペプチダーゼ活性が高く、一方、白麴・黒麴はこの逆である。黄麴の二次もろみは明らかに流動性が低いく、これにプロテアーゼを添加すると流動性が改善されたことから、プロテアーゼはサツマイモの蛋白質に作用しているといえる。

【質問 6】カゼインを用いたプロテアーゼ活性と、米やサツマイモ蛋白質を分解する分解活性とは異なると考えられるが。

【回答 6】カゼインを用いた活性測定は所定分析法によるものである。米から抽出した蛋白質を基質に用いてニンヒドリン反応で活性を測定した結果、所定分析法と相関性があった。

【質問 7】選抜した株では酵素添加醪と比べて流動性が低いのはなぜか。

【回答 7】選抜株は、対照と比べて酵素活性は高くなったが、酵素添加醪と比べるとプロテアーゼ活性が低いことが要因と考えられる。

【質問 8】自社保有株から選抜した株の中で、*Aspergillus niger* が含まれているが、スクリーニングの段階で形状では区別できないのか。

【回答 8】*A. niger* は麴を製造すると土のような臭いがすることと、見た目が若干異なる。

しかし、自社保有株は、形状と臭いからは *A. niger* ではないと判断できたため保有している。本研究でスクリーニングした株は、簡易的な遺伝子検査によりフモニシンの合成遺伝子の有無で判断した。*A. niger* はフモニシン合成遺伝子を 75% の確率で保有している。焼酎麹菌は有していない。

【質問 9】 対照株は泡盛製造用の株と思うが、複菌か。

【回答 9】 そうである。

【質問 10】 泡盛の麴は製麴前半に温度を高くして酵素を生産させ、後半を低くしてクエン酸を生産させる温度経過をとっているが、本研究では中盤が最も高くなっているのはなぜか。

【回答 10】 図に示しているのは麴の品温経過であり、前半は麴菌の出芽と成長により品温が上昇し、「盛り」の段階で品温が 40℃ になるように製麴を行っている。芋焼酎の現場では、もう少し低い温度で経過させるメーカーもある。一般的な温度経過である。黄麴は清酒の製麴温度に合わせて実施した。

【質問 11】 スクリーニングした株の胞子の色が黒く見えないのはなぜか。

【回答 11】 若干灰色に近い菌である。酵素活性と酸度から、黒麴菌の場合、サイトタイプとアワモリタイプを混合しているためである。米の水分を調整すると胞子の色は黒くできる可能性がある。

【質問 12】 選抜された株は  $\beta$ -グルコシダーゼ活性が低い、焼酎に含まれるモノテルペンアルコール濃度も低いのか。

【回答 12】 わずかながら減少している。モノテルペンアルコールは酵素活性の他に蒸留中に酸の影響を受けるため、出麴酸度が低いことも要因としてあげられる。対照の株が  $\beta$ -グルコシダーゼ活性が高いのは、複菌であることも要因である。

【質問 13】 サイトタイプとアワモリタイプでは酵素活性の傾向があるのか。

【回答 13】 サイトタイプは生酸性が高く酵素活性が低く、アワモリタイプは生酸性が低く酵素活性が高いといわれている。しかし、酸性プロテアーゼには大差がない。糖化酵素はアワモリタイプが高い。

【質問 14】 酵素焼酎は漬け物臭があると指摘している一方で、漬け物臭は麴由来とのことであるが、米麴焼酎で漬け物臭が弱いのはなぜか。

【回答 14】 漬け物臭に寄与する DMTS は臭い強度は酵素焼酎と米麴焼酎は同じである。このように、漬け物臭成分は含まれていても、その他の成分によってマスキングされたためと考えられる。

【質問 15】 米麴焼酎と酵素焼酎では、1-オクテン-3-オールは検出されていないのか。

【回答 15】 この実験では検出されていない。その理由は、白麴を使用しており、白麴では 1-オクテン-3-オールはほとんど生成しない。また、この成分は製麴後半に生成されるため出麴のタイミングでも異なってくるためと考えられる。

【質問 16】 フルフラールが黄麴と比べて白麴・黒麴では多い理由として、もろみ pH が低いということだが、Xylanase 活性が高いためであるということは考えられないか。

【回答 16】 Xylanase 活性には大差はないことから、もろみ pH に起因するものと考えられる。