菌類による蛋白質の分解に関する 研究 (第5報)

納豆菌による大豆粕蛋白及び蛹粕蛋白の分解に就て (1)

Study on Proteolysis by bacteria (V Report)

1. Proteolysis of Soybean residue and Chrysalis
residue by Natto-bacillus.

東洋醸造株式會社研究所

川野義男・間瀬泰男・櫻井秀雄

(Y. Kawano)

(Y. Mase)

(H. Skurai)

[註]……筆者等の一人(川野)は曩に“麹菌酵素による大豆蛋白質の分解,”と題して

第1~4報を報告したが今回茲に標記の如く改題して引續き第5報を報告する。

〔I〕緒言 既報に於て川野は大豆中の蛋白質を麹菌酵素により分解し次の如き結果を得た。即ち數種の麹菌の中 *Asp. flavus* が分解力最も強く *Asp. tamari* は之に次ぎ、 $\text{NH}_2\text{-N}$ の形成は Total N に對し59%を示してゐる。又從來比較的蛋白分解力が強いと信ぜられてゐた *Asp. niger*, *Asp. melleus* などあまり大ではなかつた。然し最小26%を示して居り、麹菌屬の大豆蛋白分解力はかなり強いものであると言はねばならぬ。而して麹菌屬酵素による蒸煮大豆蛋白質の分解力の強いものとして次の5株を選出した。即ち *Asp. niger*, *Asp. Oryzae tamari*, *Asp. Oryzae* No. 3, *Asp. melleus*, *Asp. candidus* などであつて、これらの分解率(生成した $\text{NH}_2\text{-N}$ の TN に對する%)は50~59%の間にあることを知つた。

次に13種の *Asp. Oryzae* の變株について、之を麴に培養して後、水で浸出し、この脱脂大豆蛋白質分解の強弱を比較した結果、60%以上の分解率を示す8株を選出した。その中最大のもは68%餘を示してゐる。又蛋白分解力は菌叢の色或は梗子の長短により區別することは出来ない。而してこれらの間には何等の規則的關係を見出すことが出来なかつた。又蛋白質分解力と澱粉糖化力との間には何ら規則的關係はなく區々であるが、梗子の長い所謂長毛菌は概して澱粉糖化力は強大である様であつた。

次に蒸煮大豆の分解に麹菌酵素及びパパイン、ペプシンを使用した結果、麹菌の蛋白質分解酵素は非常に強力で、他の蛋白質分解剤加用の必要なしと認めた。而してパパインの大豆蛋白質分解力は比較的微弱であるが、ペプシンの分解力は相當強力たるを知つたが、兩者共アミノ酸の生成は極めて少量であつて殆んど問題とするに足りなかつた。

次に麹菌酵素に依る脱脂大豆蛋白質の分解に對する溫度, NaCl, pH, 油脂などの影響について試験した結果, 最適溫度は 40~43°C 間にあり, 且つ 20°C の如き比較的低温においても相當の分解力を有する事を知つた。60°C の分解においては 40°C の時の約 $\frac{1}{2}$ の分解率を示すに過ぎなかつた。又 NaCl の添加によりその分解率は急激に減少するが水溶性窒素は約 10% の添加において却つて増大した。又分解の最適反應は水溶性並に $\text{NH}_2\text{-N}$ の生成共に pH 6.0 附近にある事を知つた。又油脂の含有は分解に對し大なる影響はないものの様である。

次にメタノール處理大豆, アルソ, 開花豆の麹菌酵素による比較分解を行ひ, 次の結果を得た。即ち開花豆 67.20%, メタノール處理大豆 65.07%, アルソ 64.73% の分解率を示し, 開花豆が最大であつた。之は櫻豆の分解率に殆んど同じであつた。

現今, 蛋白質分解産物を工業的に製造する場合には鹽酸による分解が若くは動植物體の蛋白質分解酵素を利用することは周知の事實である。因に増野氏⁽²⁾の脱脂大豆鹽酸分解の結果を摘録すれば, 38.5% HCl にて 100°C で 12 時間の分解に於て, Total N に對し $\text{NH}_3\text{-N}$ は最大 10.07%, $\text{NH}_2\text{-N}$ は最大 66.99% の分解率を示し, 19.98% HCl にて 100°C で 12 時間の分解に於て $\text{NH}_3\text{-N}$ は 10.25%, $\text{NH}_2\text{-N}$ は 62.4% の分解率を示してゐる。又, 六所, 吉原, 田中諸氏⁽³⁾の研究によれば 15% HCl にて 97°C, 20 時間の分解においては 66.43%, 17% HCl にて 108°C, 20 時間の分解においては 71.58% にして氏等の實驗中最大の分解率を示したのは 74% であつた。荒川氏⁽⁴⁾によれば 20% HCl を用ひ, 2 氣壓, 6 時間の分解にて 77% の分解率を示した。

これらは粉末試料を用ひたると高濃度の HCl を用ひたるとに依り, 漸る高度の分解率を示したのであるが, 實際工業的に行つては斯る高分解率を得ることは到底不可能である。即ち此等の數字より推論するときは實際工場に於ける分解は 60~70% の分解率を示すであらうと思はれる。然るに既報においては大豆蛋白質は麹菌酵素により大體 90% 餘は水溶性となり, 60% 餘はアミノ酸に迄分解されることを知つた。今之を鹽酸による加水分解の結果と比較すると大豆蛋白質の酵素的分解も實用化しうる可能性ありと思はれる。

酸・鹽基又は動植物體の酵素の外, 蛋白を細菌の應用によつて分解することについてもその研究は少くない。然し蛋白工業としてはペプトン製造以外は殆んどないと言つてよいと思う。著者等は納豆菌が主として大豆蛋白を而も大豆粒中に存するときによく分解する事實に鑑み, 脱脂大豆に之を作用せしめ, 果して如何程に迄分解されるものであるかを試みんとした。蛋白の鹽酸による分解と動植物體の酵素による分解と納豆菌の如き細菌による分解とは, その生成物は自ら異つてくるものと思はれる。故にその應用の道も亦相異なるが酸による分解はその操作が比較的容易ではあるが多量の鹽酸とソーダ灰を必要とする缺點があるに對して, 酵素による分解は pH が中性よりあまり遠くない點に於て作用することと甚しく加熱することの必要のない點は應用上有利である。そして動植物體の消化酵素はその供給に限度がある上に一定量の酵素

の分解力にも自ら限度があるに對して菌は極めて少量の菌體又は孢子より驚くべき多量の酵素を生成する點に應用上の有利性を認めるものである。然し前報に於て指摘しておいた如く分解中如何にして腐敗を防ぐか、問題である。之に關しては高田博士の高温處理、又岩崎氏の如く麴をクロールピクリンで殺菌したる後、使用する方法、その他酵素作用を餘り阻害しないで防腐効果ある藥品の使用、例へば芥子油、高級脂肪酸のナトリウム鹽などが發表されてゐる。

〔II〕 實驗方法 供試大豆粕の分析……水分灰分は常法に依り、全窒素は Kjeldahl 法、蛋白窒素は Stutzer 法、澱粉價は Bertrand 法を用ひ、粗脂肪は Soxhlet の抽出裝置を用ひ Ether⁽⁶⁾ で抽出した。又 Tyrosine 及び Tryptophane は Folin, O. and Marenzi, A. D. の方法に⁽⁷⁾ 據つた。又、各種結合状態に於ける窒素の定量は van Slyke による蛋白分析法を採用した。

(一般分析)		Nonamino-N	0.48	6.01
水 分	11.90%	合 計	7.91	98.93

全窒素 (T. N.) 7.99 供試大豆粕の分析……分析法は大豆粕の場合と同じ方法を用ひた。

蛋白窒素	7.70	(一般分析)	
澱粉價	14.34	水 分	9.91%
灰 分	5.24	全窒素 (T. N.)	11.73
脂 肪	1.37	蛋白窒素	11.11
Tyrosine	2.14	澱粉價	1.58
Tryptophane	0.19	灰 分	5.13

(N. の溶劑による抽出試験)

	試料に對し	T. N. に對し
水溶性N	0.99%	12.35%
10%NaCl 溶性N	0.66	8.30
80%alcohol 溶性N	0.66	7.79
0.2%NaOH 溶性N	3.75	46.96
不溶性N	2.01	25.03
合 計	8.03	100.43

(van Slyke 法による分析)

	試料に對し	T. N. に對し
HCl 不溶性N	0.35%	4.4%
アンモニア態N	0.68	8.5
フミン-N	0.30	3.8
Cystine-N	0.15	1.9
Arginine-N	1.12	14.0
Histidine-N	0.45	5.56
Lisine-N	0.64	8.01
Monoamino-N	3.74	46.81

(van Slyke 法による分析)

	試料に對し	T. N. に對し
HCl 不溶性N	0.39%	3.29%
アンモニア態N	1.15	9.83
フミン-N	0.27	2.34
Cystine-N	0.26	2.22
Arginine-N	1.39	11.41
Histidine-N	1.77	15.08
Lisine-N	0.24	2.01
Monoamino-N	0.20	52.88
Nonamino-N	0.94	8.02
Sum of N	12.60	107.07

使用菌……本社研究所保存の納豆菌である。

培養方法……500cc容三角フラスコを用ひ、之に水100cc及びそれぞれの濃度になる如く大豆粕又は蛹粕を加へ綿栓を施し、30封度にて60分間蒸煮する。之に納豆菌2白金耳を滅菌蒸溜水にとかしたものを1滴づつ接種し、各種温度の孵卵器中に入れて培養す。特記しない限り毎日1回づつフラスコを振盪する。

醗の分析……所定日数經過後孵卵器より取出しこれに重量の減少量だけの水を加へ、更に100ccの水を追加して充分振盪し、5分後自然濾過しその濾液について次の諸項の分析を行つた。

°PH……東洋濾紙のPH試験紙を用ふ。

°可溶性N……濾液50ccについて Kjeldahl 法にて測定した。

(以下S.Nと略記する。)

°アンモニヤ態N……濾液50ccをとり10%MgOを加へて鹽基性とし常法の如く減壓蒸溜を行つて定量した。(以下NH₃-Nと略記する。)

°アミノ態N……NH₃-N定量のときの蒸溜残渣を10%HClに溶解し100ccとし、この中1ccをとりて van Slyke の装置にて定量す。(以下 NH₂-Nと略記する)

°チロシン及びトリプトファン……前述の方法にて定量した。

°タングステン酸ソーダによりて沈澱するN……濾液5ccをとりて50ccの定量フラスコに入れ、水15cc、10%タングステン酸ソーダ溶液10ccを加へ充分混和した後、2/3N-硫酸10ccを加へ充分振盪混和した後、目盛まで水を加へ、10分間放置後濾過し、濾液についてKjeldahl 法によりて N. を測定し、之の値を S.N. より減ずる。

(以下 NaT-N と略記する。)

°三鹽化醋酸液によりて沈澱するN……濾液5ccをとりて50ccの定量フラスコに入れ、水30ccを加へ、これに10%三鹽化醋酸溶液10ccを加へ、振盪後目盛まで水を加へ、十分間放置後濾過し、濾液について Kjeldahl 法によりNを測定し、S.N. よりこの値を減ずる。

(以下 TCA-N と略記する。)

次に各種濃度の培養液中に含まれる TN, Tyrosine, 及び Tryptophane の含量を表に示すと次の如くなる。

——大豆粕の場合——				15	1.20	0.32	0.03
濃度%	TN%	Tyrosine%	Tryptophane%	20	1.60	0.43	0.04
100	7.99	2.14	0.19				
5	0.40	0.11	0.01	——蛹粕の場合——			
10	0.80	0.21	0.02	濃度%	TN%	Tyrosine%	Tryptophane%
5	0.59	0.23	0.01	100	11.73	4.66	0.25
10	1.17	0.70	0.03	15	1.76	0.70	0.04
				20	2.35	0.93	0.05

〔III〕 實驗の部 實驗 I. 培養フラスコ振盪の影響

納豆菌は好氣性である故に培養中フラスコを振盪した場合の方が振盪しない場合よりもその繁殖状況が良好であることは推量されるが、果してフラスコの振盪が菌の繁殖に如何程迄に影響するものであるかを知らうとして次の實驗を試みた。即ち大豆粕20%の醗（即ち大豆粕20gに對し水100ccを加へた）を用ひ培養温度45°Cにて24時間毎に、フラスコを充分振盪した場合と振盪しない場合とについて比較試験を行つた。その結果を第1表及び第2表に示す。但し三鹽化醋酸によつて沈殿する窒素は10日目丈しか測定しなかつた。

第1表、第2表の結果を比較考察するに、先づ SN/TNについて見ると振盪しないときは最初6日間に急激に増加して81%に達しその後は殆んど増加しない。又振盪した場合には之も最初6日間の内に急激に増加して90%となり、その後は變化しない。即ちフラスコの振盪によつて蛋白の液化率は9%内外増加してゐる。

次に $\text{NH}_3\text{-N}/\text{TN}$ について見ると兩者共6~8日目迄は急激に増加し、その後は若干増加の傾向がある。そしてその最高値は14.6%及び16.6%であつて2%の差がある。次に $\text{NH}_3\text{-N}/\text{TN}$ は振盪しない場合には

第一表

大豆粕20%, 45°C 振盪セズ

経過日数		0	2	4	6	8	10
pH		5.2	5.4	6.6	7.8	8.0	8.0
S-N	g/100cc	0.414	0.431	0.943	1.288	1.314	1.299
	對T-N%	25.923	26.999	59.05	30.65	82.28	81.30
$\text{NH}_3\text{-N}$	g/100cc	0.028	0.031	0.139	0.190	0.233	0.223
	對S-N%	6.76	7.19	14.74	14.76	17.73	17.17
	對T-N%	1.75	1.94	8.70	11.89	14.59	13.96
$\text{NH}_4\text{-N}$	g/100cc	0.070	0.078	0.180	0.317	0.437	0.318
	對S-N%	16.91	18.10	19.09	24.69	33.26	26.79
	對T-N%	4.38	4.88	11.27	19.86	27.36	21.79
NaT-N	g/100cc	0.000	0.037	0.341	0.560	0.474	0.515
	對S-N%	0.00	15.55	36.16	43.56	36.07	39.65
	對T-N%	0.00	4.20	21.35	35.07	29.63	32.25
TCA-N	g/100cc	--	--	--	--	--	0.179
	對S-N%	--	--	--	--	--	13.78
	對T-N%	--	--	--	--	--	11.21

第二表

大豆粕 20%, 45°C 振盪ス

經 過 日 數		0	2	4	6	8	10
pH		5.2	6.4	7.0	8.0	8.2	8.2
S-N	g/100cc	0.414	0.666	1.338	1.442	1.403	1.444
	對T-N%	25.92	41.70	83.78	89.04	87.66	90.40
NH ₃ -N	g/100cc	0.028	0.091	0.206	0.253	0.251	0.266
	對S-N%	6.76	13.66	15.32	17.79	17.93	18.42
	對T-N%	1.75	5.70	12.90	15.84	15.72	16.66
NH ₂ -N	g/100cc	0.070	0.240	0.771	0.776	0.759	0.789
	對S-N%	76.91	36.04	57.63	54.57	54.22	54.64
	對T-N%	4.38	15.65	48.23	48.59	47.53	69.41
NaT-N	g/100cc	0.003	0.134	0.385	0.442	0.442	0.450
	對S-N%	0.00	19.67	28.85	31.09	31.57	31.57
	對T, N%	0.00	8.39	24.17	27.68	27.68	28.18
TCA-N	g/100cc	--	--	--	--	--	0.022
	對S-N%	--	--	--	--	--	1.52
	對T-N%	--	--	--	--	--	1.33

最初8日間は漸次増加して27%に達し、10日目には22%に減じてゐるに對して振盪した場合には最初4日間に急激に増加して48%に達しその後は概ね變化なきものの如くである。又、NaT-N/TNは振盪しない場合と振盪した場合とではそれぞれ32%, 28%となつて居り、又TCA-N/TNはそれぞれ11%及び1%であつて、これらNaT-N及びTCA-Nは何れも振盪しない場合の方が遙かに多い。これとNH₃-N/TNの値とを比較考察するに、納豆菌による蛋白質のアミノ酸分解にはフラスコ振盪の影響が甚だ大でありNH₂-N/TNの値について見てもフラスコを振盪した場合には分解率は2倍強に増加してゐる。

依つて以後の試験においては24時間毎に培養フラスコを充分振盪することにした。

實驗 II. 大豆粕と蛹粕との比較

蛋白質源として大豆粉及び蛹粕を用ひ、醗濃度20%, 培養溫度33°Cにて、20日間培養し、4日目毎に分析を行ひ比較した。

因に供試大豆粕及び蛹粕の成分を比較すると次の如くである。(第3表)

第 三 表

	大 豆 粕	蛹 粕		大 豆 粕	蛹 粕
水 分	11.901%	9.905%	TN	7.987%	11.725%

蛋白質素	7.704	11.105	澱粉價	14.344	5.131
灰分	5.236	1.534	粗脂肪	1.370	4.700
チロシン	2.136	4.658	トリプトファン	0.192	0.248

次に van Slyke 法による分析結果 (TNに對する%) を比較すると第4表の如くなる。

第4表

	大豆粕	蛹粕		大豆粕	蛹粕
HCl不溶性N	4.39%	3.29%	NH ₃ -N	8.46%	9.83%
Humin-N	3.79	2.34	Cystine-N	1.83	2.22
Arginine-N	14.02	11.41	Histidine-N	5.56	15.08
Lisine-N	8.01	2.01	Monoamino-N	46.81	52.88
Nonamino-N	6.01	8.02			

即ち、TNは大豆粕8%に對し、蛹粕11.7%であつて、蛹粕の方が多く、澱粉價に關しては蛹粕は僅か1.5%であるのに反して、大豆粕では14.3%を示し、遙かに異つてゐる。又脂肪は大豆粕では1.4%に過ぎないが、蛹粕では4.7%の多きに上つてゐる。又TNの中にMonoamino-Nについては大豆粕では26.7%であるのに對し、蛹粕では52.9%である。その他 Diamino-Nに關しては第4表に示した如く、それだれの値を異にしてゐる。

培養結果を示すと第5表及び第6表の如くなつた。之を考察するに、大豆粕の場合のSN/TN値は初めの8日間は急激に増加し、8日目に於て93%に達し、その後は日數の経過と共に徐々に減少し、20日目には77%に下つた。NH₂-N、NaT-Nも8日目において最高値を示し、それぞれ35%、25%であつた。NH₃-N丈はその最高値に達するのが少々遅れ12日目であり、17%である。これは納豆菌の大豆蛋白分解は8日間に殆んど完了し、その後は更に之がNH₃に迄分解されて空氣中に逸散するものと思はれる。之はNH₃-N/SN値が12日目以後は減少することなく殆んど一定の値を保つてゐるに對し、NH₃-N/TNの値は12日目以後減少してゐることより見て首肯され得る。即ち納豆菌による大豆蛋白の分解は8日間が最適であると思はれる。

第五表

大豆粕 20% 38°C

経過日數		0	4	8	12	16	20
pH		5.2	6.6	8.2	8.2	8.2	8.2
S-N	g/100cc	0.375	1.216	1.480	1.310	1.314	1.232
	對T-N%	23.48	76.14	92.67	82.03	82.28	77.15
NH ₃ -N	g/100cc	0.013	0.151	0.244	0.374	0.274	0.266
	對S-N%	3.44	12.43	16.50	20.92	20.85	21.34
	對T-N%	0.81	9.46	15.28	17.16	17.06	15.66

NH ₂ -N	g/100cc	0.058	0.352	0.545	0.513	0.520	0.483
	對S-N%	15.47	28.95	36.82	39.16	39.57	39.20
	對T-N%	3.63	22.04	34.75	32.12	33.19	30.24
NaT-N	g/100cc	0.000	0.354	3.392	0.162	0.124	0.112
	對S-N%	0.00	29.85	26.49	12.37	9.43	9.09
	對T-N%	0.00	22.79	24.55	10.14	7.77	7.01

第六表

蛹 粕, 20% 38°C

經 過 日 數		0	4	8	12	16	20
pH		5.8	7.1	8.0	8.0	8.0	8.0
S-N	g/100cc	0.443	0.818	0.939	1.164	1.306	1.338
	對T-N%	18.89	34.85	41.30	49.65	55.72	57.01
NH ₃ -N	g/100cc	0.039	0.142	0.203	0.218	0.216	0.234
	對S-N%	8.80	17.36	21.26	18.72	16.54	17.47
	對T-N%	1.66	6.05	8.75	9.30	9.21	9.96
NH ₂ -N	g/100cc	0.035	0.256	0.338	0.446	0.477	0.552
	對S-N%	14.68	31.26	34.94	38.30	36.51	41.18
	對T-N%	2.77	10.91	14.41	19.01	20.34	23.53
NaT-N	g/100cc	0	0.145	0.212	0.282	0.314	0.316
	對S-N%	0	17.72	21.85	24.22	23.85	23.59
	對T-N%	0	6.18	9.03	12.03	13.30	13.47
TCA-N	g/100cc	---	---	---	---	---	0.098
	對S-N%	---	---	---	---	---	0.59
	對T-N%	---	---	---	---	---	0.34

反之、蛹粕の場合には培養20時間にて斯る最高値は認められず、凡ての値に於て増加の一途を辿つてゐる然し蛹粕蛋白の分解は8~12日目迄が急激であつて、その後は漸次緩慢となつてゐる。そしてその分解率は大豆粕の場合に比して非常に悪く20日間にてSN/TNは57%である。之は大豆粕の場合の最高92.7%に比較するとその61%にしか過ぎない。NH₃-N/TNは10%であつて、大豆粕の17%に比すればその59%、NH₂-N/TNは23.2%であつて、大豆粕の24.5%に比すればその62%、又NaT-N/TNは13.5%であつて、大豆粕の24.5%に比すればその55%である。

即ち、納豆菌による蛹蛋白の分解率は大豆蛋白のその60%前後である。

實驗 III. 大豆粕濃度の影響

醗の大豆粕濃度を水100ccに對して5g, 10g, 15g, 20gとして培養濃度38°Cにて實驗した。その結果を第7, 8, 9, 及び第10表に示す。

第七表 大豆粕 5%, 38°C

經過日數		0	2	4	6	8	10
pH		5.4	6.0	8.0	8.2	8.2	8.2
S-N	g/100cc	0.123	0.123	0.353	0.370	0.381	0.375
	對T-N%	30.87	30.87	88.42	92.83	95.85	93.99
對SN%	g/100cc	0.003	0.006	0.075	0.095	0.090	0.095
	對S-N%	2.44	4.88	21.24	25.68	23.62	25.00
	對T-N%	0.73	1.45	18.75	23.75	22.50	24.25
NH ₂ -N	g/100cc	0.012	0.028	0.096	0.113	0.129	0.124
	對S-N%	6.15	22.76	27.20	30.54	34.13	33.07
	對T-N%	3.01	7.02	24.06	28.32	32.33	31.07
Soluble Tyrosine	g/100cc	0.011	0.021	0.072	0.098	0.096	0.099
	對Total Tyr.%	10.28	19.63	67.29	91.59	89.72	92.25
Soluble Tryptophane	g/100cc	0.008	0.004	0.007	0.009	0.010	0.010
	對Total Try.%	8.33	41.67	72.96	93.75	101.17	104.17
NaT-N	g/100cc	0	0	0	0	0.05	0.03
	對S-N%	0	0	0	0	12.34	11.75
	對T-N%	0	0	0	0	11.75	13.76

第八表 大豆粕 10%, 33°C

經過日數		0	2	4	6	8	10
pH		5.4	6.0	8.0	8.2	8.2	8.2
S-N	g/100cc	0.168	0.241	0.622	0.689	0.694	0.689
	對T-N%	21.03	39.17	77.80	86.21	86.86	86.23
NH ₃ -N	g/100cc	0.037	0.015	0.124	0.140	0.142	0.145
	對S-N%	4.18	6.23	19.94	20.32	20.49	21.05
	對T-N%	0.88	1.88	15.52	17.52	17.77	18.39

NH ₂ -N	g/100cc	0.032	0.045	0.190	0.238	0.58	0.252
	對S-N%	19.60	18.70	30.55	34.54	37.18	36.53
	對T-N%	4.01	5.63	23.72	29.79	32.29	31.54
Soluble Tyrosine	g/100cc	0.029	0.041	0.018	0.162	0.170	0.172
	對Total Tyr. %	13.55	14.49	50.47	75.70	79.44	80.36
Soluble Tryptophane	g/100cc	0.0011	0.003	0.010	0.012	0.014	0.018
	對Total Try. %	5.73	31.24	52.08	62.29	72.86	93.18
NaT-N	g/100cc	0	0	0	0	0.082	0.105
	對S-N%	0	0	0	0	11.82	17.98
	對T-N%	0	0	0	0	10.51	13.14

第九表

大 豆 粕 75%, 38°C

經 過 日 數		0	2	4	6	8	10
pH		5.2	5.8	8.0	8.0	8.2	8.2
S-N	g/100cc	0.313	0.286	0.857	0.969	1.008	1.036
	對T-N%	26.13	23.92	71.38	80.87	84.14	86.43
NH ₃ -N	g/100cc	0.011	0.019	0.128	0.184	0.202	0.212
	對S-T%	3.51	6.64	14.94	18.99	20.04	20.46
	對T-N%	0.92	1.59	10.69	15.36	16.86	17.76
NH ₂ -N	g/100cc	0.044	0.054	0.249	0.329	0.343	0.369
	對S-N%	14.06	19.61	29.05	33.96	34.03	35.64
	對T-N%	3.75	4.51	20.80	27.37	28.63	30.80
Soluble Tyrosine	g/100cc	0.032	0.043	0.142	0.203	0.217	0.220
	對Total Tyr. %	10.00	15.00	44.37	60.34	67.81	71.87
Soluble Tryptophane	g/100cc	0.0011	0.007	0.011	0.014	0.017	0.020
	對Total Try. %	4.51	24.30	28.79	48.62	59.03	71.42
NaT-N	g/100cc	0	0	0.129	0.037	0.126	0.192
	對S-N%	0	0	15.05	9.02	12.50	18.53
	對T-N%	0	0	10.77	7.25	10.52	16.03

第十表

大豆粕 20%, 38°C

経過日数		0	2	4	6	8	10
pH		5.2	5.6	8.0	8.0	8.2	8.2
S-N	g/100cc	0.392	0.397	1.197	1.232	1.316	1.350
	對T-N%	24.55	24.38	74.42	77.15	82.41	84.53
NH ₃ -N	g/100cc	0.013	0.031	0.179	0.229	0.249	0.240
	對S-N%	3.32	7.81	14.60	19.12	18.92	17.78
	對T-N%	0.81	1.94	10.90	14.34	15.65	15.62
NH-N	g/100cc	0.056	0.057	0.300	0.434	0.469	0.524
	對S-N%	14.28	14.61	25.04	38.77	35.64	38.82
	對T-N%	3.50	3.56	18.72	27.18	29.36	32.81
Soluble Tyrosine	g/100cc	0.045	0.056	0.204	0.244	0.286	0.290
	對Total Tyr. %	10.54	13.12	48.01	57.14	66.90	67.92
Soluble Tryptophane	g/100cc	0.0016	0.011	0.012	0.016	0.022	0.021
	對Total Try. %	4.17	23.04	31.58	42.11	57.90	55.29
NaT-N	g/100cc	0	0	0.35	0.32	0.35	0.40
	對S-N%	0	0	20.70	26.13	26.72	29.48
	對T-N%	0	0	21.80	20.16	22.04	24.92

上の諸表よりS, N, NH₃-N及びNH₂-NのTNに對する%を再録してまとめると次の如くなる。

第十一表

経過日数		0	2	4	6	8	10
S-N T-N %	5 %	30.87	30.87	88.42	92.83	95.85	93.99
	10 %	21.03	38.17	77.80	86.21	86.81	86.23
	15 %	26.13	23.92	71.39	80.87	84.14	86.48
	20 %	24.55	24.88	74.42	77.15	82.41	84.53
NH ₃ -N T-N %	5 %	0.37	1.45	18.75	23.75	22.50	24.25
	10 %	0.88	1.88	15.52	17.52	17.77	18.39
	15 %	0.92	1.59	10.69	15.36	16.86	17.77
	20 %	0.81	1.94	10.90	14.34	15.65	15.62

$\frac{\text{NH}_2\text{-N}}{\text{T-N}}\%$	5	%	3.01	7.02	24.06	28.32	32.33	31.07
	10	%	4.01	5.63	23.72	29.79	32.29	31.36
	15	%	3.76	4.51	20.80	27.37	23.63	30.83
	20	%	3.50	3.56	18.72	27.18	29.36	32.81

以上の諸表より次の事が分る。

- 1) 凡ての場合を通じて納豆菌による大豆蛋白分解は第2~4日目に於て最も急激に行はれる様である。
- 2) 分解程度は大豆濃度に概ね逆比例してゐる。即ち濃度20%及び5%の場合の10日目に於ける値を比較すると、S-N/T-Nはそれぞれ84%及び94%、 $\text{NH}_2\text{-N}/\text{T-N}$ はそれぞれ10%及び24%であるが、 $\text{NH}_2\text{-N}/\text{T-N}$ はすべて30%~32%であつて濃度に無関係である。又NaT-N/T-Nは濃度に概ね正比例しており、それぞれ24%及び14%である。
- 3) チロシン、トリプトファンについて此らの分解率を再録して表にまとめると次の如くなる。(第12表) 即ちこれらの場合も概ね濃度の増大するにつれて分解率は減少してゐる。就中 5%濃度の場合 Soluble Tryptophane/Total Tryptophane が100%となつてゐるのは注目に値する。

以上を綜括するに膠濃度5%の場合が蛋白分解が最大であるけれども、各種窒素の絶対値としては勿論濃度20%の場合が最大であるので以下の實驗には専ら濃度20%の場合につきて検討することとした。

第十二表

經 過 日 數		0	2	4	6	8	10
$\frac{\text{Soluble Tyrosine}}{\text{Total Tyrosine}}(\%)$	5 %	10.28	19.63	67.29	91.59	89.72	92.52
	10 %	13.55	14.49	50.47	75.70	79.44	80.36
	15 %	10.00	15.00	44.38	60.34	67.81	71.88
	20 %	10.54	13.12	48.01	57.14	69.98	67.92
$\frac{\text{Soluble Tryptophane}}{\text{Total Tryptophane}}(\%)$	5 %	8.33	41.67	72.93	93.75	104.17	104.17
	10 %	5.73	31.24	52.08	62.29	72.86	93.18
	15 %	4.51	24.31	28.79	48.62	59.03	71.42
	20 %	4.17	28.01	31.58	42.11	57.90	551.29

實驗IV. 温度の影響——大豆粕の場合

膠の大豆粕濃を20%として、培養温度23°C, 30°C, 38°C, 45°C, 及び50°Cの場合について比較試験した。その結果を第 13 ~ 17 表に示す。但しT CA-Nの無記入の欄は測定しなかつた。

第十三表

大豆粕 20%, 23°C

経過日数		0	2	4	6	8	10
pH		5.2	5.6	6.4	6.8	7.0	7.6
S-N	g/100cc	0.375	0.381	0.734	1.137	1.249	1.254
	對T-N%	23.48	23.87	45.99	71.15	78.20	78.55
NH ₃ -N	g/100cc	0.012	0.013	0.041	0.128	0.206	0.209
	對S-N%	3.20	3.41	5.59	11.18	16.53	16.67
	對T-N%	0.75	0.82	2.60	7.95	12.91	13.08
NH ₂ -N	g/100cc	0.055	0.057	0.105	0.376	0.447	0.474
	對S-N%	14.66	14.95	14.30	33.10	35.83	37.75
	對T-N%	3.44	3.57	6.57	23.56	28.00	29.68
NaT-N	g/100cc	0	0.191	0.309	0.479	0.395	0.316
	對S-N%	0	50.10	40.85	42.10	31.94	25.13
	對T-N%	0	11.96	18.79	22.98	24.99	19.77
TCA-N	g/100cc	--	--	--	--	--	0.036
	對S-N%	--	--	--	--	--	2.55
	對T-N%	--	--	--	--	--	2.01

第十四表

大豆粕 20%, 30°C

経過日数		0	2	4	6	8	10
pH		5.2	5.6	7.0	7.9	8.2	8.2
S-N	g/100cc	0.369	0.476	1.043	1.249	1.253	1.249
	對T-N%	27.98	29.82	65.60	78.24	78.55	78.24
NH ₃ -N	g/100cc	0.024	0.029	0.148	0.280	0.278	0.279
	對S-N%	5.40	6.11	14.14	19.88	22.19	26.98
	對T-N%	1.51	1.82	9.28	15.55	17.41	21.12
NH ₂ -N	g/100cc	0.059	0.039	0.229	0.402	0.434	0.506
	對S-N%	11.70	16.82	21.90	32.20	30.60	36.96
	對T-N%	3.69	5.01	14.35	25.29	27.16	28.15
	g/100cc	0	0.154	0.515	0.689	0.328	0.186

NaT-N	對S-N%	0	28.75	49.15	55.15	26.21	16.38
	對T-N%	0	8.56	32.25	43.10	20.60	12.82

第十五表

大 豆 粕 20%, 38°C

經 過 日 數		0	2	4	6	8	10
pH		5.2	6.4	6.8	8.0	8.2	8.2
S-N	g/100cc	0.375	0.417	1.216	1.323	1.480	1.492
	對S-N%	23.48	23.12	76.14	82.88	92.67	93.51
NH ₃ -N	g/100cc	0.013	0.034	0.151	0.225	0.244	0.250
	對S-N%	3.44	8.16	12.43	16.94	16.50	16.74
	對T-N%	0.81	2.13	9.46	14.08	15.28	15.66
NH ₂ -N	g/100cc	0.058	0.067	0.352	0.451	0.545	0.543
	對S-N%	15.47	16.075	23.948	39.065	36.824	36.39
	對T-N%	3.63	4.26	22.04	28.22	34.75	34.00
NaT-N	g/100cc	0.000	0.128	0.364	0.370	0.392	0.398
	對S-N%	0.000	30.72	29.85	27.93	26.49	26.63
	對T-N%	0.00	8.02	22.79	23.19	24.55	24.94

第十六表

大 豆 粕 20%, 45°C

經 過 日 數		0	2	4	6	8	10
pH		5.2	6.4	7.0	8.0	8.2	8.2
S-N	g/100cc	0.414	0.666	1.338	1.422	1.400	1.444
	對T-N%	25.92	41.70	83.78	89.04	87.66	90.40
NH ₃ -N	g/100cc	0.023	0.091	0.206	0.253	0.251	0.266
	對S-N%	6.76	13.66	15.32	17.79	17.93	18.42
	對T-N%	1.75	5.70	12.90	15.84	15.72	16.66
NH ₂ -N	g/100cc	0.070	0.240	0.771	0.776	0.759	0.789
	對S-N%	16.91	36.04	57.63	54.57	54.22	54.64
	對T-N%	4.38	15.65	43.28	48.59	47.53	49.41
	g/100cc	0.000	0.134	0.386	0.442	0.442	0.450

NaT-N	對S-N%	0.00	19.67	23.85	31.09	31.57	31.57
	對T-N%	0.00	8.39	24.17	27.68	27.68	28.18
TCA-N	g/100cc	--	--	--	--	--	0.022
	對S-N%	--	--	--	--	--	1.52
	對T-N%	--	--	--	--	--	1.38

第十七表

大豆粕 20%, 50°C

経過日数		0	2	6	8	10
pH		5.2	5.8	6.6	7.4	6.9
S-N	g/100cc	0.364	0.728	1.059	1.233	1.263
	對T-N%	23.12	45.60	66.30	77.52	79.20
NH ₃ -N	g/100cc	0.026	0.051	0.185	0.205	0.222
	對S-N%	7.05	7.00	17.47	16.64	17.58
	對T-N%	1.63	3.19	11.58	12.90	13.91
NH ₂ -N	g/100cc	0.063	0.153	0.307	0.398	0.430
	對S-N%	17.09	21.01	25.72	32.12	34.16
	對T-N%	3.95	9.58	19.22	24.95	27.06
NaT-N	g/100cc	0	0.308	0.341	0.405	0.451
	對S-N%	0	42.20	32.22	32.80	35.68
	對T-N%	0	19.23	24.09	25.40	28.25
TCA-N	g/100cc	--	--	0.023	--	0.017
	對S-N%	--	--	2.46	--	1.35
	對T-N%	--	--	1.62	--	1.06

以上の諸表より各温度の場合に於ける10日目に於ける各種窒素のT-Nに對する%を再録すると第18表の如くなる。

第十八表

培養温度	23°C	30°C	38°C	45°C	50°C
S-N/TN	78.55%	78.24%	93.50%	90.40%	79.20%
NH ₃ -N/T-N	13.08	21.12	15.66	16.66	13.91
NH ₂ -N/T-N	29.63	28.15	23.99	49.40	27.06

NaT-N/T-N	19.77	12.82	24.94	23.18	28.25
TCA-N/T-N	2.01	—	—	1.38	1.03

即ち 38°C に於ける S-N/T-N% は 93.50 であつて最高値を示しており、45°C の場合の 90.40% は之に次ぎ、他の温度においてはずつと減少してゐる。NH₃-N, NH₂-N も 38~45°C が最大値を示してゐる。NaT-N は温度の上昇と共に増加の傾向を示してゐる。以上より考察するに、結局 38~45°C が最適であらうと思はれる。

實驗V. 温度の影響 蛹粕の場合——

醗の蛹粕濃度を 20% とし、培養温度 23°C, 30°C, 38°C, 及び 45°C の場合について比較試験した。その結果を第 19~22 表に示す。但し TCA-N の無記入の欄は測定しなかつた。

第十九表 蛹 粕 20%, 23°C

経過日数		0	2	4	6	8	10
pH		5.8	6.0	6.4	6.6	6.8	7.0
S-N	g/100cc	0.431	0.459	0.537	0.702	0.778	0.818
	對T-N%	18.36	19.56	22.89	29.91	33.18	34.88
NH ₃ -N	g/100cc	0.055	0.062	0.073	0.089	0.105	0.125
	對S-N%	12.77	13.50	13.59	12.68	13.53	15.27
	對T-N%	2.25	2.64	3.11	3.79	4.48	5.32
NH ₂ -N	g/100cc	0.062	0.065	0.082	0.158	0.221	0.235
	對S-N%	14.39	14.17	15.03	21.97	28.43	23.79
	對T-N%	2.64	2.77	3.49	6.56	9.42	10.02
NaT-N	g/100cc	0	0.067	0.089	0.184	0.218	0.188
	對S-N%	0	14.63	16.57	25.21	28.00	23.00
	對T-N%	0	2.86	3.79	7.84	9.28	8.02
TCA-N	g/100cc	—	—	—	—	—	0.006
	對S-N%	—	—	—	—	—	0.77
	對T-N%	—	—	—	—	—	0.26

第二十表 蛹 粕 20%, 30°C

経過日数		0	2	4	6	8	10
pH		5.8	6.2	6.6	7.3	7.8	8.0
S-N	g/100cc	0.510	0.526	0.801	1.097	1.130	1.175
	對T-N%	21.8	22.4	34.2	46.8	48.2	50.1

NH ₃ -N	g/10)cc	0.055	0.057	0.103	0.149	0.200	0.233
	對S-N%	10.78	10.85	12.80	13.56	17.71	19.82
	對T-N%	2.35	2.43	4.38	6.35	8.53	9.93
NH ₂ -N	g/100cc	0.070	0.092	0.168	0.274	0.334	0.449
	對S-N%	13.7	17.5	23.6	22.1	29.6	38.2
	對T-N%	2.99	3.92	8.08	10.34	14.25	19.15
NaT-N	g/10)cc	0	0.092	0.162	0.350	0.393	0.396
	對S-N%	0	17.50	20.20	31.9	34.8	33.7
	對T-N%	0	3.92	6.92	14.91	16.73	16.87

第二十一表

蛹 粕 20%, 38°C

經過日數		0	2	4	6	8	10
pH		5.8	6.6	7.4	8.0	8.2	8.2
S-N	g/100cc	0.504	0.784	0.986	1.154	1.226	1.227
	對T-N%	21.49	38.43	42.05	49.21	52.28	54.46
NH ₃ -N	g/100cc	0.057	0.102	0.163	0.214	0.228	0.217
	對S-N%	11.32	13.01	16.53	18.55	18.58	17.00
	對T-N%	2.43	4.35	6.96	9.13	9.72	9.25
NH ₂ -N	g/100cc	0.230	0.261	0.468	0.551	0.563	0.622
	對S-N%	45.65	32.28	47.75	67.40	45.95	48.75
	對S-N%	9.795	11.12	19.95	21.50	23.98	26.50
NaT-N	g/100cc	0.000	0.182	0.230	0.328	0.302	0.367
	對S-N%	0	23.20	23.32	28.42	24.60	28.75
	對T-N%	0	7.75	9.79	13.98	12.88	15.66
TCA-N	g/100cc	--	--	--	--	--	0.129
	對S-N%	--	--	--	--	--	10.10
	對T-N%	--	--	--	--	--	5.49

第二十二表

蛹 粕 20%, 45°C

經過日數		0	2	4	6	8	10
pH		5.8	6.4	7.0	8.0	8.0	8.2
S-N	g/10)cc	0.448	0.778	0.890	1.036	1.031	1.038

	對 T-N%	19.91	33.15	37.96	44.15	43.99	44.20
NH ₃ -N	g/100cc	0.057	0.090	0.140	0.173	0.162	0.174
	對 S-N%	12.74	11.58	15.75	16.71	15.60	16.78
	對 T-N%	2.43	3.84	5.96	7.30	6.91	7.42
NH ₂ -N	g/100cc	0.230	0.259	0.458	0.564	0.554	0.961
	對 S-N%	51.30	33.16	51.50	56.45	53.65	54.10
	對 T-N%	9.80	9.06	19.50	24.01	23.61	23.92
NaT-N	g/100cc	0	0.190	0.180	0.280	0.219	0.226
	對 S-N%	0	24.43	20.44	27.00	19.54	21.78
	對 T-N%	0	8.09	7.76	11.93	9.33	9.62
TCA-N	g/100cc	--	--	--	--	--	0.118
	對 S-N%	--	--	--	--	--	11.33
	對 T-N%	--	--	--	--	--	5.03

以上の諸表より各温度の場合に於ける10日目の各窒素のTNに對する%を再録すると第23表の如くなる。

第二十三表

	23°C	30°C	38°C	45°C
SN/TN%	34.88	52.10	54.46	44.20
NH ₃ -N/TN%	5.32	9.93	9.25	7.42
NH ₂ -N/TN%	10.02	19.15	26.50	23.92
NaT-N/TN%	8.02	16.87	15.66	9.62
TCA-N/TN%	0.26	--	5.49	5.03

即ち、38°Cに於けるSN/TNは54.46%であつて最高値を示して居り、又NH₂-Nも38°Cが最高となつてゐる。NH₃-N、NaT-Nは30~38°Cが最高値を示してゐる。

即ち、38°C前後が最適温度であると思はれる。

〔IV〕 綜括 大豆粕及び蛹粕を用ひ、納豆菌の蛋白分解力について試験し、次の如き結果を得た。

- 1) 納豆菌は好氣性であるので、培養フラスコの振盪の影響は甚大であり、10日間培養において振盪しない場合にはSN/TN=81%, NH₂-N/TN=22%であつたのに對し、同一條件にて24時間毎にフラスコを振盪した場合にはSN/TN=90%, NH₂-N/TN=49%, となり、就中

$\text{NH}_2\text{-N}$ の増加は2倍強に達してゐる。

- 2) $\text{TN}=8.0\%$ の大豆粕と $\text{TN}=11.7\%$ の蛹粕とで比較培養した結果、 38°C で 20% の醗を用いた場合には、大豆粕の場合に於ける蛋白分解の最高點は8日目であつてその時の SN/TN は 93% 、 $\text{NH}_2\text{-N}/\text{TN}$ は 35% であつた。之に對し蛹粕に於いては蛋白分解の最高點は認められず、20日目における SN/TN は 57% 、 $\text{NH}_2\text{-N}/\text{TN}$ は 23.5% であつて、蛹粕蛋白のアミノ酸生成率は大豆蛋白のその 67% に過ぎない。
- 3) 醗の大豆粕濃度を 5% 、 10% 、 15% 、及び 20% とした場合につき温度 38°C にて比較試験した結果、凡ての場合を通じて納豆菌の大豆蛋白分解は第2日目から第4日目の間において最も急激に行はれるものの様である。蛋白分解率は大豆粕濃度が大となるに従つて減少してゐる。即ち SN/TN は濃度 5% のとき 94% となるに對し濃度 20% のときは 84% となり、 $\text{NH}_2\text{-N}/\text{TN}$ はそれぞれ 24% 及び 16% であつた。然るに $\text{NH}_2\text{-N}/\text{TN}$ は濃度に依る著しい影響はなく大體 $30\sim 32\%$ であつた。Tyrosine, Tryptophane についてもそれらの分解率は醗濃度の大なるにつれて減少してゐる。

以上により判る如く醗濃度 5% の場合が蛋白分解率が最大である。けれども各種窒素の絶對値としては 20% の場合が最大である。故に工場生産の場合には如何なる濃度を用ふべきかは更に研究を重ねる必要がある。

- 4) 大豆粕及び蛹粕を用ひて培養温度 23°C 、 30°C 、 38°C 、 45°C 及び 50°C の場合について、醗濃度 20% にて比較試験した結果、納豆菌による蛋白分解の最適温度は大豆粕の場合には $38\sim 45^\circ\text{C}$ 、蛹粕の場合には 38°C 前後であると思ふ。

終にのぞみ、平素御懇篤なる御指導を賜はりつゝある京都大學教授高田亮平博士に心から感謝の意を表する。

文 献

- 1) 川野：釀學，17，223，231，303 (昭. 14).
- 2) 増野：東京工試報告，第21回，第2號。
- 3) 六所，吉原，田中：農化，13，917 (昭. 12).
- 4) 荒川：科學と工業，6，85 (昭. 6).
- 5) 高田：釀學，19，171 (昭. 16).
- 6) Folin, O, and Macenzi, A. D.: J. Biol. Chem., 83, 89~102 (1929).
- 7) 赤堀：アミノ酸及び蛋白質，p. 186.