酵母自己消化液成分の検索

Studies on the autolysate of bakers yeast.

(昭和 27 年 5 月 27 日受理)

小 幡 彌 太 郎

(Yataro Obata)

福 士 俊 一

(Shun-ichi Fukushi)

緒 言

酵母を食用に供する場合には所含蛋白質を加水分解して置く事が食味、消化の點より必要でありその方法としては酸分解又は自己消化による方法があるが酵母の他の有効成分の保存の點より後者の方が優れて居る。然るに自己消化せしめた酵母液は特殊の苦味を有し食用に適しない。従來の酵母の自己消化並びに消化液成分に関する化學的研究は極めて短時間内に於るものが大部分で、長時間に渉る自己消化の研究は H. Haehn, H. Leopold,⁽²⁾ 及び J. Meisenheimer 等の研究に見られる如く雑菌の繁殖侵入に對する適切な方策に缺けて居る。我々は壓搾パン酵母を高濃度のエタノール、アセトン、醋酸エチル等で處理して酵母及び之に附着して居る雑菌を死滅せしめた後、殺菌水で種々の濃度に稀釋したものを 21~23°C で自己消化せしめ、同時に消化中の試料の一部を取つて微生物の有無を檢査しつつ、二次元の paper chromatography に依り自己消化中に生成して來るアミノ酸を分別し、酵母蛋白質がアミノ酸に加水分解される状態を檢討し、併せて此等消化液中には從來酵母自己消化液の食用としての利用價值を低減せしめて居た苦味成分は全く生成して來ない事を明かにした。ついで酵母自己消化中に於るアミン及び苦味物質の生成について檢索し、tyramine, histamine は 10~45 日位の長期間の保存に依り雑菌の繁殖したもののみ檢出され苦味物質もアミンの生成と同様正常な消化液中には無く、雑菌の汚染の液中に存在する事を知つた。本研究は文部省科學試驗研究費による酵母の食飼料化に関する研究の一部をなすもので此の機會を與えられた東大尾崎準一教授及び當局に厚く謝意を表する。

實 驗 之 部

(試料の調製) 市販の壓搾パン酵母は下記の要領で、殺菌、又は無處理の儘、アルコール、アセトン、醋酸エチルを混入、21~23°C の恒温器中で自己消化せしめて

試料とした。

(殺菌處理) 壓搾パン酵母に 90% アルコール同量を加え數分攪拌、上澄液を遠心分離 (A)、直に冷殺菌水、3 倍量を加え攪拌、遠心分離して上澄液を除去し再び 3 倍量の冷殺菌水を加え攪拌、遠心分離して上澄液 (B) を除く。

自己消化

(1) 殺菌處理した酵母 (含水量 65.6%) は豫め殺菌した器に入れ、各々 2 倍量の 12%, 24%, 36%, 60% のアルコールを加え綿栓をして 21~23°C で自己消化せしめる。

(2) 殺菌處理した酵母に 2 倍量の殺菌水、及び 24%, 12% のアルコールを加え、更に少量の toluol を加えて表面を被わしめ綿栓をして恒温器に入れる。

(3) 無處理の酵母 (含水量 74.6%) に 50%, 並びに 90% アルコールを加え攪拌、暫時放置ついで殺菌水を加えアルコール濃度をほぼ 10%, 20%, 30%, 50% となし 21~23°C で自己消化せしめる。

酵母	5 g + 3.5 cc	50% アルコール + 6.5 cc	殺菌水
	5 g + 6.0 cc	50% アルコール + 4.0 cc	"
	5 g + 5.0 cc	90% アルコール + 5.0 cc	"
	20 g + 31.0 cc	90% アルコール + 9.0 cc	"

(4) 無處理の酵母に 2 倍量の醋酸エチルを加え 21~23°C で自己消化。

(5) 無處理の酵母に同量の醋酸エチル及び同量の 20% アルコールを加え恒温器に入れる。

(6) 無處理の酵母に無水アセトン同量を加え攪拌ついで同量の殺菌水を加え自己消化。

(7) 無處理の酵母に 36% アセトンの同量を加え暫時攪拌の後 20% アルコール同量を加う。

(8) 乾燥屑酵母 (含水量 10.3%) に 90% アセトン同量を加え攪拌、放置ついで 20% アルコール同量を加えコルク栓をして自己消化。

(9) 乾燥屑酵母に 90% アルコール 1.2 倍量を加え攪拌更に 0.8 倍量の殺菌水を加えコルク栓をして自己消

化せしめる。

微生物試験

一定時間毎に恒温器から取り出した試料は麹エキスの寒天培養基に接種して3日間 21~23°Cで平面培養を行い酵母並びに雑菌の有無を検査した。

アミノ酸窒素の定量

自己消化中の試料の一部は Van Slyke 法でアミノ酸窒素を定量した。

消化液アミノ酸の検索

一定時間毎に取出した試料は、アセトン、醋酸エチルを加えたものは倍量の 50% アルコールを加えて振盪の後、アルコールを加えたものはその儘、東洋濾紙定性 No. 2, 20×20cm を用いて上昇法に依る二次元の paper chromatography を行いアミノ酸成分を検索した。

展開劑 一次元 n-ブタノール；醋酸：水 4:1:1

二次元 n-ブタノール：

エタノール：水 4:1:1

発色劑 ニンヒドリン 0.2% ブタノール液

(1) アミノ酸の paper chromatography

實驗に先立ち各種アミノ酸の R. f. 値を測定した。3

回の平均値は次の如くである。

アミノ酸	R. F. (一次)	R. F. (二次)
glycine	0.13	0.08
alanine	0.25	0.11
valine	0.51	0.28
leucine	0.68	0.40
cystine	0.01	0.003
methionine	0.60	0.34
aspartic acid	0.10	0.02
glutamic acid	0.19	0.03
arginine	0.13	0.06
lysine	0.12	0.03
histidine	0.11	0.04
phenylalanine	0.54	0.36
tyrosine	0.36	0.20
tryptophan	0.42	0.25
proline	0.21	0.10
threonine	0.19	0.09

(2) 低濃度溶劑添加酵母の自己消化液中のアミノ酸。

表 1 12 時間後の消化液中のアミノ酸

溶 劑	ア ル コ ー ル (1)			ア ル コ ー ル (2)	ア セ ト ン		醋 酸 エ チ ル ア ル コ ー ル	ア ル コ ー ル ト ル オ ー ル			アセトン + ア ル コ ー ル
	9%	18%	27%		37%	27%		9%	18%	0%	
濃 度	9%	18%	27%	33%	37%	27%	36% 7.2%	9%	18%	0%	13% 7.4%
alanine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
glycine	+	+	+	+	+	±	+	+	+	+	+
valine	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+
leucine	+	+	-	-	-	+	-	±	-	±	±
cystine	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	±
methionine	+	+	-	-	-	+	-	±	-	±	±
aspartic acid	+	+	+	+	±	+	-	+	+	+	+
glutamic acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
arginine	+	+	±	±	±	+	+	+	+	+	+
lysine	+	+	+	-	-	+	±	+	+	+	+
histidine	+	+	±	-	-	+	±	+	±	+	+
phenylalanine	+	+	-	-	-	+	-	±	-	±	±
tyrosine	+	+	-	-	-	+	-	±	±	±	±
tryptophan	+	+	-	-	-	+	±	±	±	±	±
proline	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+
threonine	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+

アルコール (1) 殺菌處理を行つたもの。

アルコール (2) 無處理のもの。

± spot のはつきりしないもの。

表 2 24 時間後の消化液中のアミノ酸

溶 剤	ア ル コ ル (1)	ア ル コ ル (2)	ア セ ト ン	ア ル コ ル 14% 7.8%	サ ル コ ル 96% 7.2%	ア ル コ ル 9% 18%	ト ル オ ル
濃 度	33%	27%	37%	14% 7.8%	96% 7.2%	9% 18%	
alanine	+	+	+	+	+	+	+
glycine	+	+	+	+	+	+	+
valine	±	-	±	+	+	+	±
leucine	-	-	-	+	-	±	-
cystine	-	-	±	+	-	+	+
methionine	-	-	-	+	-	+	+
aspartic acid	+	+	+	+	+	+	+
glutamic acid	+	+	+	+	+	+	+
arginine	+	+	+	+	+	+	+
lysine	+	+	+	+	+	+	+
histidine	+	+	+	+	+	+	+
phenylalanine	±	-	-	+	-	±	-
tyrosine	-	-	-	+	-	-	-
tryptophan	±	-	±	±	±	±	-
proline	+	+	+	+	+	+	+
threonine	+	+	+	+	+	+	+

表 3 48 時間後の消化液中のアミノ酸

溶 剤	ア ル コ ル (1)	ア ル コ ル (2)	ア セ ト ン	サ エ ア ル コ ル	ク チ ア ル コ ル	ア ル コ ル トリ オ ル
濃 度	27%45%	33%51%	37%27%	70% 0	36% 7.2%	9% 18%
alanine	+	+	+	+	+	+
glycine	+	+	+	+	+	+
valine	±	+	+	+	+	+
leucine	±	-	±	+	+	±
cystine	±	-	±	+	+	+
methionine	±	-	±	+	+	+
aspartic acid	+	+	+	+	+	+
glutamic acid	+	+	+	+	+	+
arginine	+	+	+	+	+	+
lysine	+	+	+	+	+	+
histidine	+	+	+	+	+	+
phenylalanine	±	-	±	+	+	±
tyrosine	±	-	±	±	±	+
tryptophan	±	-	±	±	-	+
proline	+	±	+	+	+	+
threonine	+	+	+	+	+	+

(3) 高濃度アルコール添加酵母消化液中のアミノ酸。

表 4 高濃度アルコール添加酵母消化液中のアミノ酸

溶 剤, 濃 度	ア ル コ ー ル (1) 45%								ア ル コ ー ル (2) 51%									
消 化 日 数	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8	A	B
alanine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
glycine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
valine	-	-	-	-	±	+	+	+	-	-	-	-	±	±	+	+	-	-
leucine	-	-	-	-	-	±	+	+	-	-	-	-	-	-	±	+	-	-
cystine	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
methionine	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	±	+	+	+	+	-	-
aspartic acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
glutamic acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
arginine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	+
lysine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	+
histidine	+	+	+	+	+	+	+	+	-	±	+	+	+	+	+	+	-	±
phenylalanine	-	-	-	-	-	±	±	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
tyrosine	-	-	-	-	±	+	+	+	-	-	-	-	±	+	+	+	-	-
tryptophan	-	-	±	±	+	+	+	+	-	-	-	±	±	+	+	+	-	-
proline	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	±	-	+	+	+	-	-
threonine	-	±	+	+	+	+	+	+	-	±	+	+	+	+	+	+	-	-
1cc 中アミノ酸 N mg									0.5740	0.657		0.676		0.803	0.949	1.022	0.568	

(A) 殺菌処理の際のアルコール抽出物。

(B) 殺菌処理の際の洗滌水抽出物。

表 5 乾燥酵母自己消化液中のアミノ酸

溶 剤, 濃 度	ア ル コ ー ル 51.3 %								アセトン 43 %					アルコール 9.4 %				
消 化 日 数	0	1	2	3	4	5	6	7	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
alanine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
glycine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
valine	-	-	-	±	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	±	+	+	+
leucine	-	-	-	-	±	+	+	+	-	-	-	-	-	-	±	±	+	+
cystine	-	-	-	-	±	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
methionine	-	-	-	-	±	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
aspartic acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
glutamic acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
arginine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
lysine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
histidine	±	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
phenylalanine	-	-	-	-	-	±	+	+	-	-	-	-	-	-	-	±	±	+
tyrosine	-	-	-	-	-	-	±	+	-	-	-	-	-	-	-	±	±	+
tryptophan	-	-	-	±	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
proline	-	-	±	+	+	+	+	+	-	-	-	±	+	+	+	+	+	+
threonine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

tyramine, histamine の検索

自己消化せしめた各試料は一定時間毎に取り出し、東洋濾紙定性 No. 2. 2.5cm×30cm を用い、n-ブタノール、エタノール、水、4:1:1 の展開剤で上昇法に依る一次元の paper chromatography を行いデアゾ試薬に依り橙色、赤橙色に発色する、histamine, tyramine, tyrosine, 黄橙色の histidine を検索した。^{(4),(5)}

(1) デアゾ試薬

アルコールの存在で自己消化した試料

最初の濃度	消化日数	細菌	P.H.	tyro-sine	histi-dine	tyra-mine	hista-mine
9 % (綿栓)	4	-	5.2	+	+	-	-
	5	+	5.6	+	+	-	-
	8	+	/	+	+	-	-
	17	+		+	+	±	-
	21	+		±	+	+	-
	26	+		-	+	+	+
32.6 % (綿栓)	7	-	5.6	+	+	-	-
	17	+	/	+	+	-	-
	21	+		-	+	+	-
51.3 % (コルク栓)	10	-	5.4	+	+	-	-
	14	-	5.4	+	+	-	-
	15	-	5.4	+	+	-	-
	18	-	5.2	+	+	-	-
	20	-	/	+	+	-	-
	25	-	5.2	+	+	-	-
	30	-	/	±	+	-	-
	40	-	/	+	+	-	-
	45	-	5.2	+	+	-	-

tyrosine R.F. 0.19 0.20
histidine R.F. 0.03 0.04
tyramine R.F. 0.44 0.46
histamine R.F. 0.07 0.08

0.1 %スルファニル酸 N/10 HCl 溶液に 3 % NaNO₂ 溶液の同量を新に混合したものを spray した上に 10 % アルカリを spray する。

(2) tyramine, histamine, tyrosine, histidine の検出

長期間保存した試料につき、細菌試験、P. H. を検査したものを表に依つてしめす。

アセトンの存在で自己消化した試料

最初の濃度	日数	細菌	P.H.	tyro-sine	histi-dine	tyra-mine	hista-mine	unk-nown
27 % (綿栓)	2	-	5.6	+	+	-	-	-
	3	-	5.6	+	+	-	-	-
	4	-	5.2	+	+	-	-	-
	5	±	5.0	+	+	±	-	-
	6	+	5.4	±	+	+	-	-
	7	+	5.6	±	+	+	-	-
	8	+	5.8	±	+	+	-	-
	9	+	/	-	+	+	-	-
	10	+	/	-	+	+	-	-
	11	+	-	-	+	+	-	-
	12	+	-	-	+	+	-	-
	12	+	-	-	+	+	-	-
37 % (綿栓)	9	-	5.2	+	+	-	-	-
	10	±	4.8	+	+	±	-	-
	11	+	5.6	+	+	+	-	-
	13	+	/	±	+	+	-	-
	16	+	-	-	+	+	±	-
	18	+	-	-	+	+	+	-
	20	+	-	-	+	+	+	-
	28	+	-	-	-	+	+	+
	30	+	/	-	-	+	+	+
	30	+	/	-	-	+	+	+

unknown spot R.F. 0.30~0.33

アルコール及びアセトンの存在で
自己消化した試料

最初の濃度	日細数菌	P.H.	tyro-sine	histi-dine	tyra-mine	hista-mine	unk-nown
アセトン 13 %	2 -	5.6	+	+	-	-	-
	3 ±	5.6	+	+	-	-	-
アルコ 7.2 % (綿 栓)	4 ±	5.2	+	+	-	-	-
	5 +	4.8	+	+	-	-	-
	6 +	5.4	+	+	+	-	-
	7 +	5.6	±	+	+	-	-
	8 +	5.8	±	+	+	-	-
	14 +	/	-	+	+	±	-
	15 +		-	±	+	+	-
アセトン 43 %	15 -	5.4	+	+	-	-	-
	20 -	5.4	+	+	-	-	-
アルコ 9.4 %	30 -	5.4	+	+	-	-	-
	35 -		+	+	-	-	-
(コ ル 栓)	40 -		+	+	-	-	-
	45 -	5.2~ 5.4	+	+	-	-	-

結 論

雑菌の汚染を認め無い自己消化液中のアミノ酸として確認したものは glycine, alanine, valine, leucine, cystine, methionine, aspartic acid, glutamic acid, arginine, lysine, histidine, phenylalanine, tyrosine, tryptophan, proline, threonine である。且之等のア

ミノ酸の中先ず脂肪族中性アミノ酸, 酸性アミノ酸, 鹽基性アミノ酸の生成が認められ, ついて含硫アミノ酸, 複環式アミノ酸, 芳香族アミノ酸の順序で生成される。又脂肪族中性アミノ酸では leucine の生成が最も遅く含硫アミノ酸では methionine の生成が遅い。尚いづれの溶剤を使用しても生成アミノ酸の種類及び生成速度には大差が無い。然しその濃度が大きとなるに従つてアミノ酸の生成速度が遅延する。アミン並びに苦味物質は微生物の繁殖した汚染の液中にのみ検出され, この場合相當するアミノ酸からアミンが出来る。

終りに微生物試験を擔當していただいた須々田貞利氏に厚く謝意を表する。

文 献

- (1) Richard J. Block
Archives of Biochem. 7. 313. (1945)
 - (2) H. Haehn etc.
Wochenschr. für Brauerei 45. 353. (1934)
 - (3) J. Meisenheimer
Zeitschr. Physiol. Chem. 104. 229. (1919)
 - (4) R. L. Hossfeld etc.
J. Am. Chem. 73. 4977. (1951).
 - (5) C. E. Dent
Biochem. J. 41. 240. (1947).
- (北海道大學農學部農藝化學教室)

學童の口角炎に關する研究

Studies on the Perleche among Schoolchildren

(第5報) 口角炎兒童の榮養調査成績

Rep. V. Nutritional Survey on Children of Perleche

(昭和27年6月12日受理)

木 田 信 子
(Nobuko Kida)

1. はしがき

前報に於いて, 私はニコチン酸及びニコチン酸アミドの投與實驗等の結果を報告し, 學童の口角炎はナイアシンと密接な關係にあることを述べたが, 今回は前報に於ける實驗と並行し, 被檢者について榮養調査を行つた結果を報告しようと思う。

2. 調査對象及び方法

調査對象は前報の如く東京都世田谷區砧小學校 5, 6 學年の中, 數年來口角炎を持つていたもの 40 名と, その對照として常に正常であつた兒童 40 名とであつて, 彼等に調査用紙を渡して3日間の食事を克明に記入して貰つた。その中記入の正確を缺くと思われる一部を除い