糠味噌漬乳酸菌の生育促進因子に就て

Studies on Growth Factor of Lactic Acid Bacteria
Isolated from "Nukamiso-zuke"

第2報 麹成分が生育に及ぼす影響

Part 2. Effect of Several Kinds of Koji on the Growth

(昭和31年8月11日受理)

西原 さ つ き
(Satsuki Nishihara)

緒 言

糠味噌漬床から分離した乳酸菌を麹汁に培養する場合、常法、即ち55°で糖化後30分以上煮沸する操作を経てつくる麹汁では、接種後僅かに15時間前後のLag periodを経て増殖を始めるが、糖化後の煮沸操作を行わず只Seitz濾過器により無菌化した麹汁を使えば、接種後2日~3日間の永いLag periodが見られる事を前報で報告した。本報では更に種々の麹をつくり、その成分が生育に及ぼす影響、特に増殖誘導期への影響を追究してその原因について探求の糸口を得んとしたので之を報告する。

実験の部

I 実験方法

1) 増殖度の測定

増殖度は濁度度によるべきであるが、前報で述べた如く、本実験に於ては培養初期、即ち2~4日培養までの濁度度と成酸度とは、ほぼ平行関係にあることを認めたので、成酸度を以て増殖度をはかることとした。なお濁度度はPulfrich photometerにより、FilterはS47, Cuvetteは0.5 cmのものをを用いた。

2) 酸度の測定

$\frac{N}{10}$ NaOHにて滴定し、乳酸として算出した。

3) 培養方法

乳酸菌はBllg. 10° 麹汁10ccにKoji agarのstab culture 30° 3日後のものより1白金耳量を接種し、30°で3日間培養し、その1滴(0.016 cc~0.019 cc)を、供試培養液100cc(容器200cc 容三角フラスコ)に接種し、30°で培養した。

4) 供試培養液

A液—低温処理米糠汁(生糠汁): 米糠100gを50°の温水1.5 lで3 hr. 抽出後濾過し、その糖分がglucoseとして0.5%にすぎないのでこれに3~5%のglucoseを添加してSeitz濾過器で無菌化したもの。

B液—高温処理米糠汁(糠汁): 上記の55°で3 hr. 抽出後の濾液を更に100°で30 min. 加熱し蒸留水を加えて原容に復し、生じた沈澱を濾過しこれに必要な量のglucoseを添加し、常法により3回蒸気殺菌したもの。

C液—低温処理麹汁(生麹汁): 麹を常法通り55°で糖化後濾過し、Bllg. 8.5°に調製し、Seitz濾過器で無菌化したもの。

D液—麹汁(麹汁): 上記55°で糖化した麹汁を100°で30 min. 加熱後濾過し、常法により3回蒸気殺菌したもの。

E液—低温処理米糠麹汁(生糠麹汁): 米糠に麹菌を接種してつくつた米糠麹115gを55°の温水1.5 lで米麹の場合に準じて約6時間消化後濾過し、約5%のglucoseを添加してSeitz濾過器で無菌化したもの。

F液—高温処理米糠麹汁(糠麹汁): 上記の55°で糖化した液を100°で30 min. 加熱後蒸留水を加えて原容に復し、濾過し之に約5%のglucoseを添加して常法により3回蒸気殺菌したもの。

G液—麹汁低温蒸溜母液: 米麹を常法通り55°で糖化後濾過し、Bllg. 10°に調製し、50°以下で約半量になるまで減圧蒸溜し、この蒸溜残液をBllg. 8.5°に調製してSeitz濾過器で無菌化したもの。

H液—G液+低温溜出液: 上記の蒸溜残液に蒸溜の際の溜出液を原液の割合に加え合せて元に復し、Bllg. 8.5°に調製してSeitz濾過器で無菌化したもの。

g液—麹汁高温蒸溜母液: 米麹を常法通り55°で糖化後濾過し、100°で約半量になる迄蒸溜して、蒸溜残液をBllg. 8.5°に調製してSeitz濾過器で無菌化したもの。

h液—g液+高温溜出液: 上記の100°に於ての蒸溜残液に更に蒸溜の際の溜出液を原液の割合に加えて元に復し、Bllg. 8.5°に調製してSeitz濾過器で無菌化したもの。

A液, B液, C液, D液は前報での略唱に同じ。

II 培養及びその結果

1) 揮発性物質の検討

前報の低温処理麹汁に於ける糠味増濃乳酸菌の Growth Lag は加熱によつて消え去るが、この原因は揮発性物質によるものか否かの考察のもとに次の実験を行つた。即ち 55° で糖化した麹汁を 5.0° 以下で減圧蒸溜して得た溜出液——実験 1) —A、及び 100° で 3 hr 蒸溜して得た溜出液——実験 1) —B に於ける乳酸菌の生育初期の Growth Lag の状態についてしらべた。

実験 1) —A G 液と H 液とに於ける増殖試験

目的としては、米麹糖化液中の増殖 Lag を与える物質が低温で蒸溜した場合に、溜出部に移行するか否かを知る為である。この際、対照として同じ麹を使用して常法によつた麹汁並に生麹汁での増殖を並行に行つた。この際の培地組成は、Table 1 に示し、培養結果は Fig. 1 に示す。供試麹菌株は味噌用麹菌株 No. 1 である。

Table 1 麹汁培地組成

培 地	pH	酸度(乳酸として)	全窒素	全 糖
C 液 (生 麹 汁)	5.8	mg% 36.2	mg% 50	% 7.8
D 液 (麹 汁)	5.4	72.5	50	7.9
G 液 (麹汁低温蒸溜母液)	5.8	36.2	52	8.2
H 液 (G 液 + 溜出液)	5.8	36.2	55	8.6

Fig. 1. 生麹汁の蒸溜による影響 ①

以上に明らかな様に、G 液も H 液も生麹汁と同様に生育初期に於ける永い Growth Lag を認めた。よつて生麹汁中の Growth Lag の原因になると思える物質が、50° 以下では母液中にそのまま残り溜出されない事が証明出来た。

なお、同様の実験を味噌用麹菌株 No. 3 を用いて行

つたが以上と同じ結果を示した。

実験 1) —B g 液と h 液とに於ける増殖試験

目的としては米麹糖化液中の増殖 Lag を与える物質が 100° で蒸溜した場合に、溜出部に移行するか否かを知るためである。この際対照として同じ麹を使用して常法によつた麹汁並に生麹汁での増殖を並行に行つた。この際の培地組成は Table 2 に示し、培養結果は Fig 2 に示す。同じ様な実験は、蒸溜の方法を砂皿上、飽和食塩水浴及び普通水浴等種々に変えて行つたが、何れもここに示した例と全く同じ傾向を示した。供試乳酸菌株は No. 40 である。供試麹菌株は味噌用麹菌株 No. 3 である。

Table 2 麹汁培地組成

培 地	pH	酸度(乳酸として)	全窒素	全 糖
C 液 (生 麹 汁)	5.8	mg% 26	mg% 51	% 7.5
D 液 (麹 汁)	5.4	60	53	8.3
g 液 (麹汁高温蒸溜母液)	5.6	37	52	7.6
h 液 (g 液 + 溜出液)	5.6	37	53	8.4

Fig. 2. 生麹汁の蒸溜による影響 ②

以上に明らかな様に、約 100° で蒸溜する事によつて母液にも溜出部分にも Lag period の原因と思える物質は認められなかつた。即ち、生麹汁中の (Growth Lag の原因になると思える物質が揮発性でない事が証明出来たとともにそれは 50° ~ 100° の間で分解するものと考えられる。

2) 麹の種類及び麹菌株の検討

生麹汁には Lag 物質が存在するが、それは米糠を麹とした場合でも等しく生成するものか否かを知ること、この Lag 物質生成の原因を察知するに有力な手が

かりとなると考えられるので次の実験 2)—A を行つ

Table 3 培地組成

培地	pH	酸度(乳酸とし)	全窒素	全糖
A液(生糖汁)	6.0	mg% 257	mg% 51	% 5.6
B液(糖汁)	5.4	284	56	6.0
C液(生麹汁)	5.8	18	45	9.0
D液(麹汁)	5.4	38	42	8.5
E液(生糖麹汁)	5.6	374	42	5.3
F液(糖麹汁)	5.0	411	56	5.3

Fig 3 米糖麹汁に於ける増殖試験

た。又、従来の実験で用いた麹汁は味噌用麹菌株によつたのであるが、酒用麹菌株を用いた場合も等しく Lag period が認められるか否かを知るため、実験 2)—B を行つた。

実験 2)—A 米糖麹汁に於ける増殖試験

味噌用麹菌株 No. 3 を用いて米糖麹をつくり更に之を 55° 温水で消化して、前記の低温処理米糖麹汁(生糖麹汁)及び高温処理米糖麹汁(糖麹汁)をつくつて、乳酸菌の増殖についてしらべた。対照として同じく味噌用麹菌株 No. 3 による米麹を使用して常法によつた麹汁並に生麹汁及び、米糖抽出液での増殖を並行に行つた。この際の培地組成は、Table 3 に示し、培地結果は、Fig 3 に示す。供試乳酸菌株は、No. 40 である。

以上に明らかな様に米糖を麹化した場合、生糖麹汁では、生麹汁に於て常に認められる様な永い Lag period は全く認められなかつた。

又その増殖は非常に良好であつた。同じ実験を更に味噌用麹菌株 B₁ についても繰返し行つたが、その結果は上述と同じ結果を示し、共に生糖麹汁に於ける増殖が最も良好であつた。

実験 2)—B 酒用麹菌株 S₂ による麹汁に於ける増殖試験

生麹汁に於ける Lag 物質生成の原因が麹菌の種類によるものか否かを知る為の手段として酒用麹菌株 S₂ を用いて、従来と同様の普通の白米を原料とする米麹を純粋培養によつて作り、この麹汁に於ける乳酸菌の増殖についてしらべた。この際の培地組成は、Table 4 に示し、培養結果は Fig. 4 に示す。供試乳酸菌株は、No. 40 である。

Table 4 酒用麹汁培地組成

培地	pH	酸度(乳酸とし)	全窒素	全糖	吸光系数
C液(生麹汁)	5.6	mg% 32.4	mg% 52	% 6.7	0
D液(麹汁)	5.4	48.6	52	6.6	0

Fig 4. 酒用麹菌株(S₂)による麹汁に於ける増殖試験

以上に明らかな様に、生麹汁に於て Lag 物質の存在を認めた。即ち、酒用麹菌株 S_2 による生麹汁にも Lag 物質の存在する事を確めた。

3) 生麹汁に生糖汁を添加した場合の増殖試験

糖味増濃乳酸菌の培養に於て生麹汁では2日～3日の Lag period があるが、これに反して、生糖汁にはこの現象は見られないのみならず特に生育を促進する物質の

Table 5 培 地 組 成

培 地	pH	酸度(乳酸として) mg%	全窒素 mg%	全 糖 %
A 液 (生 糖 汁)	6.0	75	41	4.5
A : C = 50:50	5.8	47	43	6.8
A : C = 10:90	5.8	27	45	8.6
C 液 (生 麹 汁)	5.8	18	45	9.0

Fig 5 生麹汁に生糖汁添加の影響

ある事を前報に報じたが、この生糖汁を生麹汁に添加した場合、生麹汁に於ける Lag period がなくなるか、否か、その消長をしらべる為に次の実験を行った。即ち生糖汁 : 生麹汁が 50cc : 50cc 及び 10cc : 90cc の割合につくった培地に於ける乳酸菌株 No. 40 の増殖をしらべた。この際の培地組成は Table 5 に示し、結果は Fig 5 に示す。供試麹菌株は糖味増濃麹菌株 No. 3 である。

以上に明らかな如く、生麹汁に生糖汁を添加した場合は、添加した生糖汁に比例的に Lag period が消えてゆく傾向が明らかに認められ、かつ菌の生育も又はほぼ比例的に著しい促進を受ける。

考 察

糖味増濃麹菌株 No. 1 を用いて製した米麹からの生麹汁では、糖味増濃乳酸菌の培養に於て特有の永い Lag period が認められるが、これを煮沸すればこの Lag period は消失することを前報で報じたが、本報ではこの原因を追究せんとして、2, 3 の実験を行ったのであるが、この際用いた糖味増濃麹菌株 No. 3, B_1 、酒用麹菌株 S_2 に於ても等しく上記の事実を認めたのである。即ち麹菌に共通する性質と認められる。生麹汁を 30 分煮沸すればこの特有の Lag period は消失するという事実から、或は加熱によつて溶出される物質にその原因があるのでないかという事が考えられたので、高温及び低温で蒸溜した溜出物についてしらべたがその物質は蒸溜性ではなく 50°~100° にて分解性であろうということが知られた。糖麹汁を糖味増濃麹菌株 No. 3 を用いてつくり、増殖試験を行ったがその生糖汁に於ては問題としている程度の永い Lag period は全く認められず、むしろ麹汁の場合よりも速やかに培養 12 時間で既に増殖を明らかに認められ、かつその後の増殖も著しく促進された。又更にこの際使用の麹菌株を B_1 に取替えて用いて上記の実験をくり返したが前に等しい結果を得た。以上で一般に酒、味噌用の麹菌を蒸米飯に培養した場合にこの様な Lag 性物質が生産せられるという事が証明出来た。生糖麹汁、糖麹汁に於ける増殖が麹汁よりも更に良好である点から見て糖を麹化する事によつて或種の生育促進物質が生成せられることが考えられる。

生麹汁に生糖汁を添加した場合、生麹汁固有の永い Lag period は次第に消失するという事実はこれら相反する方向に作用する 2 種類の物質の間の量的関係に従うものであることが知られる。

要 約

供試の糖味増濃及び酒用麹菌株の 4 株について次の事を実験証明した。

① 供試麹菌株を使つて米麹をつくつた場合、その低温

処理麹汁には糖味噌漬乳酸菌の増殖の開始を抑制する作用のある物質が存在する事を更に確認した。

⑨ この増殖への Lag をあたえる物質は、50° 以下並に 100° に於て蒸溜した場合、溜出性でないことを知った。同時に 50° と 100° との間で分解性のものであることも認めた。

⑩ 低温処理米糠麹汁に於ては、低温処理麹汁にみる様な培養初期の永い Lag period はなく、むしろ麹化する事により糠そのものよりも増殖を一層促進する物質の生成を認めた。

④ 上記、低温処理麹汁の増殖への永い Lag period の存在は、之に低温処理米糠汁を加える事によつて消失することがわかつた。

終りに臨み終始御懇篤な御指導を賜つた九州大学農学部山崎教授に深謝致します。

(本報告の要旨は昭和 29 年 10 月、日本家政学会総会に於て講演した。)

文 献

1) 西原：栄養と食糧，8，2，51 (1955)

(福岡女子大学 家政学部)

ア ン ス ロ ン 試 薬

アンスロン試薬 (anthrone reagent) は炭水化物に対する特異性が高い為に、これら炭水化物、特に六炭糖の比色定量に多く用いられて来たが、この試薬の安定性の低いことが欠点とされている。この不安定性が試薬の酸化変質に基くものであることを認め、試薬調製の際 0.05 % になるように 66 % H_2SO_4 でアンスロンを溶解し、更に抗酸化剤としてチオ尿素を 1.0 % になるよう添加すると、この欠点が除かれる。(普通用いられているものよりアンスロン (0.27 %) 及び H_2SO_4 (95 %) 濃度も低くし安定性を高めてある。) 又 H_2SO_4 中の硝

酸根の存在は最も注意しなければならない所で、アンスロンの酸化によつて生じたジマンズロン (dianthrone) がこの硝酸根の存在で発色し定量を阻害する。尙著者は改良アンスロン法を用いてマンノヘプチュロース (mannoheptulose) 及びセドヘプチュロース (sedoheptulose) のような七炭糖の定量を行つている。

Anthrone Reagent. (Application to determination of the Heptuloses) by L. P. Zill

Anal. Chem., 28, 1577~80 (1956)

バクテリアのリボフラビン加水分解酵素

Pseudomonas riboflavina を超音波で処理すると、この抽出液中にリボフラビンをリビトールとルミクロームに分解する加水分解酵素が認められる。著者は本酵素を 'リボフラビン加水分解酵素' (riboflavin hydrolase) と名付け、分解生産物がルミクロームであることをペーバクロマトグラムの Rf 及びその蛍光、紫外外部吸収等より確め、更にリビトールについてはペーバクロマトグラム及び dibenzylidene 誘導体として確めている。

本酵素はリボフラビンに特に特異的で、riboflavin-5'-phosphate に対してはその作用が弱い、又その他のイソアロキザジン誘導体に対しては殆んど作用しない。この酵素の作用にはオルソ磷酸又は ATP は必要でない。

A Bacterial Riboflavin Hydrolase

by T. Yanagita (柳田 友道), G. W. Foster

G. Biol. Chem. 221, 593~607 (1956)

臭素酸カリと沃素酸カリの小麦粉品質改良剤としての作用力比較

4 種の全く性質の異つた小麦粉より作つたドゥーに KB_7O_3 及び KIO_3 を添加し、製パン試験、Extensograph、及びこれら薬品のドゥー中の残存量の定量等の方法によつてその改良剤としての効果について比較した。

パン生地としての最適条件は KIO_3 を使用した時の方が KB_7O_3 を使用した時より当量比で少量で求められ、又その改良機構も異なるようで、各改良剤は各異つた反応

を持ち、これらの各性質の変化が流動学的なドゥーの性格を決めるものと考えられる。

Comparative Study of the Improving Action of Bromate and Iodate by Baking Data, Rheological Measurements, and Chemical Analysis.

C. J. Dempster, D. K. Cunningham, M. H. Fisher, I. H. Lynka, and J. A. Anderson.

Cereal Chem. 33, 221~39 (1956)