は従来遺伝的のものと考えられて来たが、個々の細胞に就ての観察の結果そこには尙 Adaptation 乃至 Acclimatization の過程の存することを推定した。

終りに臨み終始御懇篤なる御指導を賜つた恩師坂口謹一郎先生、朝井勇宣先生、住木諭介先生に深甚なる謝意を表するものである。又当所長茂木正利博士よりは種々御助言、御鞭撻を頂き、東大松山晃氏よりは御討議を頂き同室の坂口健二氏には色々とお世話になり茲に厚く感謝する次第である。

(本報の要旨は昭和29年1月30日、日本農芸化学会関東支部講演会において発表した)

(1) GRAY, W. D. : <i>J. Bact.</i> , 49, 445 (1945).	<i>J. Pub. Health</i> , 36, 1112 (1946).
(2) 大西 博 : 農化, 28, 134 (1954).	(7) ETCHELLES, J. L. and OBMER H. B. : <i>Fruit Product J.</i> 20, 334 (1941).
(3) 坂口健二 : 日農化会関東支部講演会講演, (1953年10月24日).	(8) DOUDOROFF, M. : <i>J. Gen. Physiol.</i> , 23, 585 (1940).
(4) SHERMAN, J. M. and CAMERON, G. M. : <i>J. Bact.</i> , 27, 371 (1934).	(9) 深井冬史, 入江新六, 石黒和夫 : 日醸協誌, 47, 214 (1952).
(5) ZIEGLER, N. R. and HALVORSON, H. O. : <i>J. Bact.</i> , 29, 609 (1935).	(10) 山田一彌, 古坂澄石, 植村定治郎 : 醤油と技術, 48号 (1953).
(6) ETCHELLES, J. L. and JONES I. D. <i>Am.</i>	

Summary

(1) The author studied on the methods for determining viable counts of yeasts in soy sauce mash, which differed significantly from other brewage mashes in its high contents of sodium chloride (about 18%) and high nitrogen concentration (total N 1.0~1.5%).

(2) It was found that in the viable count of yeast cells grown in the soy sauce mash a remarkable fall was observed when ordinary media without sodium chloride were used for the plating, while any significant fall could not be observed when the media added with sodium chloride for the same concentrations as the mash were used. The use of the media with the high content of sodium chloride for the counting prevents the development of molds contained in the mash and thus made the counting of the yeast colonies easier. It was also found that the media with over concentrations of nitrogenous matters, when used as the plating media, did not cause any all of the viable count of the yeast cells present in the mash. Since the osmophilic property of the soy yeasts against sodium chloride could be increased by the repeated cultures upon sodium chloride containing media, the author regarded it as an adaptive nature, to a certain extent, although the property had been hitherto believed to be genetically constant and transmissible.

液麴による醤油醸造に関する研究 (第1報)

I. 糸状菌の液内培養による Protease 生産に就て (i)

入 江 利 夫 (九州大学農学部資源微生物学研究室;
日本調味料醸造株式会社古賀工場)

昭和29年3月28日受理

Studies on the Soy Brewing by Enzymes obtained by Submerged Culture of Molds.

Part 1. (I) On the Protease Production under Shaking Culture of Molds. (i)

By Toshio IRIE (Lab. of Zymology and Industrial Fermentation, Fac. of Agriculture, Kyushu Univ.; Nihon Chōmiryo Brewing Co., Ltd., Koga Factory)

緒 言

かび工業の機械化は近年急速な発展を見せてをり、之に関する朝井の説⁽¹⁾⁽²⁾にもある如く旧来の醤油醸造に於ても一応検討されるべき課題となつて来た。筆者も醤油醸造に於て、製麴人件費の節減、原料利用率の向上、醸造期間の短縮、諸味調熟の科学的管理の達成等を図るべく、強力な麴菌酵素を機械化された製麴法に依り無菌的に得ることを目的とした液体麴の研究並びに之の醤油速醸への応用に関する実験を行つた。

従来の液麹に関する研究はアミラーゼ生産を主体としたものであつて、味噌醤油醸造用のプロテアーゼ生産を主体としたものは未だ 2, 3 の報告に接したのみで勿論本格的に工業化されるにも至っていない。

塩田, 坂口等⁽³⁾は先ず約 80 株の麹菌を用いて液内培養により蛋白分解酵素の生産の良好な菌株の選択を行い、得られた 1 菌株を用いて培地の窒素源, 炭素源及び pH の影響を検討し、更に培養経過の追求、麴麹と液麹との原料当り酵素生産量の比較、大豆粕 10% 醗で振盪培養したものの直接仕込及び peptone 3%, glucose 5%, PFEFFER's salts 培地で得られた液麹による酵素液仕込の大豆蛋白質の分解状態、同じく酵素液の味噌仕込への応用、納豆菌の振盪培養による酵素生産等につき試験をなしてその実用の可能性を検討した。

又横塚等⁽⁴⁾も大豆粉 1.5% 培地を用いて振盪培養により菌株の選択を行い、引続き原料大豆の蒸煮時に於ける塩酸添加の影響、initial pH の影響等を試験し、大豆粉 20% の醗に通気攪拌培養を行う直接仕込法にて醤油速醸を試み、原料利用率、製品品質等につき検討を加えた。

次いで村上等⁽⁵⁾は塩田, 坂口等によつて報告された好適培養条件に従い脱脂大豆煮汁, glucose 培地を用いて菌株の選択をなし、甘酒麹菌 No. 40 が最も優れ、ついで鬼木菌が良好であり、一般に麴麹で極めて弱い菌株は液麹でも不良であるが、中位以上のものからは良い菌株が得られること、及び甘酒にも味噌にも適するが醤油用としても充分使用出来る様な菌株が強力であり、反面何れの醸造にも使用価値のない様な菌株にも比較的強力なものがあることを確め、之は坂口等の結果と一致すると報告した。同氏⁽⁶⁾は又プロテアーゼ生産という点では液体培養の方法が今日迄の状態である限り従来の固型培養の方が有利であろうと認定し、液麹の醤油醸造への利用に於ける最大の問題は液内培養のこれまでの方法を改良してプロテアーゼ生産に向くような新しい培養法の発見にあると述べている。

R. G. DWORSCHACK 等⁽⁷⁾は *Asp. flavus-oryzae* 群の糸状菌の液内培養によつて生産されたプロテアーゼ, アミラーゼについて、又 W. B. MCCONNELL 等⁽⁸⁾は深部培養によつて各種の糸状菌が液中に分泌したペプチダーゼについて、それぞれ研究しているが原報を入手出来ず詳細は不明である。

実用化の方面に関しては、茂木⁽⁹⁾はグルコン酸醗酵で用いられたような横型通気回転ドラム⁽¹⁰⁾を応用し、蒸煮原料に麹菌、酵母を接種後通気回転培養により酵母菌を含んだ泥状の液麹を得て醤油の醸造をなす方法を、別に飛田等⁽¹¹⁾は横型回転ドラムに改良を加え、特殊の嫌気性麹菌を利用して培養中通気を行うことなく回転操作のみで泥状の液麹を得て醤油の醸造をなす方法を提出した。

筆者もこれら諸氏の研究と同様に先ず好適菌株の選択と培養条件の検討から着手した。なお本実験を始めた当初は単に麹菌の液内培養によるプロテアーゼ生産性のみについて研究する積りであつたのであるが、後日醤油醸造への応用を目的とするようになったので実験方法も漸次変更して行つた。

実 験 及 び 結 果

A. 菌株選択の為の予備実験

常法の如き振盪培養によつて好適菌株の選択を行うことにしたが、その培養基を決定する為に 2, 3 の予備実験を行つた。

実験 1. 使用菌株並に培養基の種類に関する検討

i) 培養方法 : 300 cc 容平底フラスコ中に培養液 50 cc を容れ間断殺菌, 接種後, 170 Rt/min, 振幅 4 cm, 25° で 4 日間振盪培養。対照として 500 cc 容醗酵瓶に綿栓を施し静置培養 (表面率 0.7 cm²/cc) を行つた。

ii) 菌株及び接種方法 : 醤油用麹麹より分離せるもの及び当教室に保存せる *Asp. melleus* type, *Mucor* sp. のものそれぞれ 1 株宛を使用。何れの菌株も比較的一様に多量の新鮮な seed を接種せんとし、更新した麹汁寒天斜面培養から内径 1.5 cm の試験管中 Bltg. 8° の麹汁 5 cc に孢子を 1 白金耳量接種し、25°, 4 日間静置培養後に、この内容全部を振盪フラスコに移した。

iii) 菌体重量その他 : 培養後は直ちに培養液を濾別し、菌体は数回水道水で洗滌後濾紙の間に挟み常法により乾燥菌体重量を求めた。pH 測定には東洋濾紙製の試験紙使用。残糖は Micro BERTRAND 法により直接還元糖を定量。

iv) プロテアーゼ力価 : 先ず培養液中に分泌された酵素のみを対象にし、原則として大島氏変法⁽¹²⁾を用いて測定した。酵素力価の表示法も之に対応し、更に KERTESZ, Z. I. ⁽¹³⁾ の測定方法を参考にして次のように定めた。

$$E = \frac{0.05 \times x}{S_x} \times 100 \quad E_r = E \times \frac{b}{a} \quad E_m = E \times \frac{b}{M}$$

但し上式に於て、

E；酵素液（液麴濾液）のプロテアーゼ力価。

S_x；x% の基質（casein）溶液 5 cc を 40°，1 時間にて消化せしむるに要する酵素液の最少量（cc）。

0.05×x；上記 casein soln. 5 cc 中に含まれる基質重量（g）。

E_r；単位原料当りの酵素生産力。

E_m；単位菌体当りの酵素生産力。

a；培養液中に含まれる原料物質の重量（g）。

b；a を使用して得られた液麴濾液の容量（cc）。

M；b 中に含まれている菌体の乾燥重量（g）。

作用 pH は 7.8~7.9 (N/10 HCl 及び N/10 NaOH で、後には MCILVAINE buffer soln. で調節。基質には Merck 製 Hammarsten Casein を使用)

v) 実験結果：Table 1 に示す如くなつた。即ち、(1) 使用した *Asp. flavus-oryzae* 及び *Asp. melleus* type の菌株はかなりプロテアーゼ生産能を有していたが、一般に静置培養の方が振盪培養よりも酵素力価が大

Table 1. Protease Production of Molds on Various Media

Mold	Cult. condition	Medium *	Final pH	Dry wt. of mycelium (g)	Protease activity		Mycelial growth
					S _{0.5}	E _m	
<i>Asp. flavus-oryzae</i> : C ₁₄	shaking	A	3.8	0.49	6.30	4.05	pellet
		B	4.0	0.10	8.80	14.20	"
		C	4.9	1.83	0.09	76.00	fibrous
		D	4.2	1.00	7.50	1.67	"
	Surface	A	4.0	1.00	1.30	9.60	thick mat
		B	4.0	0.39	6.30	5.10	thin "
<i>Asp. melleus</i> type	Shaking	C	4.5	2.03	0.06	102.80	thick "
		A	4.3	1.26	0.08	99.20	pellet
		B	4.6	0.42	1.80	16.55	"
		C	4.5	1.88	0.05	133.00	large pellet
	Surface	D	4.0	0.79	0.80	19.80	fibrous
		A	4.3	1.43	0.03	291.0	thick mat
		B	5.0	0.49	0.80	31.90	thin "
		C	4.8	1.97	0.03	212.0	thick "
<i>Mucor</i> sp.	Shaking	A	4.8	0.86	7.50	1.94	pellet
		B	4.6	0.35	25.00	1.43	"
		C	4.5	1.11	2.00	5.63	large pellet and fibrous
		D	4.5	1.15	3.80	2.86	fibrous
	Surface	A	4.3	0.34	3.80	9.68	ring
		B	4.2	0.13	7.50	12.30	thin mat
		C	4.6	0.29	1.50	28.80	ring

* A: Koji extract (Bllg. 7°) 50 cc + Shoyu-moromi-juice 5 cc

B: Koji extract (Bllg. 7°) only

C: " + Shoyu-moromi-juice 5 cc + Defatted soja flour 1g

D: " + " + Corn mill 1g

Asp. flavus-oryzae: C₁₄ を 4% 培地で培養したものが最も良好で、接種後 48 時間の後に pH 8.0、プロテアーゼ力価 S_{0.5}=0.75 cc を示し、麴汁又は醤油を添加した前回の場合よりも酵素生産性を高め得ることが判つた。*Asp. melleus* type 及び *Mucor* sp. のものは発育不良でプロテアーゼ力価も極めて弱かつた。

しかし使用脱脂大豆粉、麴菌菌糸の両成分を比較して見ると Table 3 のような結果を示すことから、大豆粉

Table 2. Results of Shaking Culture for 4 Days at 25° in Soybean Flour Mash.

Mold	Wt. of soy-bean flour (g)/100cc med.	Final pH	Protease act. S _{0.5}	Mold	Wt. of soy-bean flour (g)/100cc med.	Final pH	Protease act. S _{0.5}	Mold	Wt. of soy-bean flour (g)/100cc med.	Final pH	Protease act. S _{0.5}
<i>Asp. flavus-oryzae</i> : C ₁₄	1	8.4	2.0	<i>Asp. melleus</i> type	1	6.5	2.0	<i>Mucor</i> sp.	1	6.5	4.0<
	2	8.2	1.0		2	6.5	4.0<		2	6.5	4.0<
	4	8.0	0.75		4	7.0	4.0<		4	6.5	4.0<
	10	6.8	4.0<		10, 15, 20	—	—		10, 15, 20	—	—
	15 or 20	—	—								

であつた。(2) 培養基としては、麴汁 (Bllg. 10°) の基本培地に対し、生揚げ油 10% 添加は良好な結果を示した。又大豆粉 2% 添加は更にプロテアーゼ生産を促進し pH の降下を抑えることが認められた。

実験 2. 培養液の濃度の検討

前の実験で大豆粉を含む麴汁培地が静置、振盪何れの培養に於てもプロテアーゼ生産に好結果を来すことを認めたので、今回は脱脂大豆粉単用でその濃度を変えて振盪培養を行つて見た。使用菌株及び培養法などは前回と同様。この結果は Table 2 に示す如く (1) 何れかの菌株も 10% 以上では 4 日後に至るも発育しなかつた。(2) *Asp. fla-*

用では当然炭水化物に不足することが予想されるので、炭素源として一定量の glucose を加え、脱脂大豆粉の濃度を変えて培養を行つた。使用菌株は *Asp. flavus-oryzae* に属する C₁₄。今回からは斜面培養より胞子を 1 白金耳量採り振盪フラスコに直接接種することにした。其の他の培養法などは前回と同じ。培養基は水道水 50 cc 及び 10.7% の glucose (参松製注射用) 水溶液 5 cc を脱脂大豆粉のそれぞれの量と共に振盪フラスコに容れ 3 日間の間断殺菌をなした。従つてフラスコ 1 個当りの glucose 添加量は 0.535 g. Initial pH は 6.5 であつた。

Table 3. Analytical Data of Mycelial Mat of *Asp. oryzae* and Soybean Flour.

Cont. %	Moisture	Crude ash	Crude protein	Crude fat	Crude fibre	Nitrogen free extract	Starch value	C/N Ratio*	Analyst	Note
<i>Asp. oryzae</i>	6.69	9.12	37.73	1.57	10.62	33.14		7.5	R. TAKATA (14)	30~35°, 42~48 h. Surface cult.
	7.43	8.10	34.61	1.81	7.51	40.54		9.0	"	dextrin, salts media, room temp. 5~7 days/ aerat. cult.
	15.54	7.25	34.89	6.88	16.54	18.90		7.6	T. NISHINA (15)	"
	13.94	7.38	43.10	6.47	14.67	14.44		5.2	"	"
	0	4.6	29.1	5.6	15.2	45.5		14.2	I. TAMAOKI (16)	surface cult. 33°, 3 days/ cult. on xylose Henneberg
	0	4.2	31.4	5.1	16.0	43.3		12.8	"	"
	7.83	6.33	35.20	3.96	21.72	24.96		9.0	Author	on Glucose-Henneberg 30°, 3 days/ shaking cult. on soybean cake de coct.
Soybean Flour	11.85	5.16	49.10	1.28	2.98	29.63	19.53	2.5	"	**

* C of *Asp. oryzae* = Crude fat + Crude fibre + Nitrogen free extract

C of Soybean Flour = Starch

N = Total nitrogen

** "Kel-Sov Soy" Soy Flour Manufactured by Spencer Kellogg & Sons Inc. Decatur, Illinois, U. S. A.

実験結果は Table 4 に示す如くなつた。即ち (1) 3 日間, 25° に於ける培養試験では 105 cc 中 3 g の脱脂大豆粉を含む培養液が最も良好な結果を示した。之に対し glucose の量は 1.08 g. (2) プロテアーゼの生産

Table 4. Shaking Culture of Mold for 3 Days at 25° in about 1% Glucose Basal Medium containing Various Amounts of Soybean Flour.

Test No.	Soybean flour (g)/55cc of cult. med.	Final pH	Dry wt. of mycelium (g)	Remaining sugar as glucose (%)	Protease activity of cult. fluid		
					So. s	Em	A. N. / T. N. (%)*
1	0.25	4.2	0.250	0.30	13.0	38.5	1.12
2	0.50	4.4	0.361	0.22	6.5	53.5	2.22
3	1.00	6.4	0.730	0	3.3	51.9	4.14
4	1.50	7.8	0.999	0	1.3	96.3	10.90
5	2.00	8.0	1.290	0	4.5	21.6	3.24

* This ratio is % of substrate casein hydrolysed by the proteolytic enzyme contained in filtered culture media 1 cc.

量は培養液の pH がややアルカリ側に変つたものが大であつた。(3) 大島氏変法と同一条件で酵素を作用させた後 SOE-RENSSEN Formol 滴定法でアミノ態窒素を定量し、酵素作用に依り生成されたアミノ態 N 量の基質 casein の全 N 量に対する比率を求めたが、この数値は大島氏変法の力価とほぼ正比例を

なした。

実験 3. 培養基の C/N 比率の検討.

前回の実験では濃度に重点を置いて培養基の検討をなしたのであるが、今回は濃度はほぼ一定 (脱脂大豆粉 3%) にし炭素源として添加する glucose の量を種々変更して振盪培養を行つた。菌株及び培養法等の実験条件は前回と同様。

結果は Fig. 1 に示す如く (1) C/N 比率が大になるに従つて final pH が低くなつたが 8.2 位の場合が最もプロテアーゼ力価が高かつた。(2) 菌体収量は C/N 比率の小なるものは少いが、これは pH や残糖などから見て既に自己消化を起したものと考えられた。(3) 培養濾液のフォルモール窒素量は C/N 比が 3.5 附近の時に最大を示したが、之は液のプロテアーゼ力価と比例した。(4) 酵素力測定法としての大島氏変法の値と前回と同じく酵素によつて基質 casein から生成されるアミノ態 N の定量による方法の値とは、この場合に於てもほぼ正比例することが認められた。

B. 菌株の選択

以上の予備実験により、72 時間程度の振盪培養でプロテアーゼを比較的良く生産せしめ得る培養液の組成、濃度等が判つたので、これらの条件に基づいて菌株の選択を行うことにした。

今回からは 500 cc 容坂研型振盪フラスコ中に 100 cc の培養液を容れ、約 140 Rt/min, 振幅 7 cm, 30° に

Fig. 1. Results of Shaking Culture of *Asp. flavus-oryzae* at 25° for 3 Days.

- Curve 1: Protease activity by means of OSHIMA method(E)
 2: Amino-N increased in 60 min. incubation at 40° of the mixture of 0.5% casein soln. 5cc and culture liquid 1ccmg
 3: Dry matter of myceliumg
 4: Amino-N contained in culture liquid.....% $\times 10^{-3}$
 5: Weight of glucose added to 100 cc of 3% soybean flour containing medium.....g
 6: Final pH

養上より孢子を2〜3白金耳量接種。30° の定温器中にて、1日1回振盪攪拌による手入れをなしつつ培養し、菌の発育状況に応じ3〜5日後に出麹した。

仕込： 製麹に使用した三角フラスコから麹を取出すことなく、殺菌せる10%食塩水を無菌的にこの中に100cc宛（ほぼ15水仕込に相当）添加し、50°にて10日間消化せしめた。

分析 生揚を濾別した粕は更に温湯で数回洗滌し番液300cc宛を得た。アミノ態NはVAN SLYKE法で糖はMicro BERTRAND法で直糖を、色調⁽¹⁸⁾はPulfrich photometerで測定した。番液は食塩のみを定量し他成分は生揚の食塩濃度と対比して算出し生揚に合計した。而して番液による回収率は生揚のその約1/3であつた。以上の結果はTable 5に示す如くなつた。即ち（1）液麹用菌株として特異的にプロテアーゼ生産能大なる糸状菌を選択することは出来なかつたが、使用した菌の3株は坂口氏等が大豆粕煮汁培地で選出した菌株と同等以上の力価を示した（但し同氏等とは培養条件が異なるのでこの点については再試の予定）。（2）プロテアーゼ測定に於ける基質溶液のpHは5.5のものに比し7.9の場合の方が一般に高い力価を示した（*Asp. ochraceus* WILHELM及び*Asp. usarii*の2株は例外）。（3）上述の如き実験法では固形麹に用いられる醤油用麹菌の優劣と液麹用のそれとの関連性を見出すことは出来なかつた。（4）固形麹用としては蛋白質分解力中位の麹菌の中に香気色調の点で醤油醸造用として優良なものがあつた。

要 約

醤油醸造を目的とする液体麹の研究をなすに当り、使用菌株選択の予備実験を行い、液麹中の酵素含量の表示法を提案すると共に脱脂大豆粉3%、glucose 0.2%培養液が比較的短時間（約72 hrs）の麹菌の振盪培養でかなり良くプロテアーゼを生産することを確かめ、これに基づいて実用麹菌22株の比較試験の結果優良株としてC₃, D₂, C₁₄の3株を選出した。そのプロテアーゼ力価は培養濾液で大島氏変法に準じた測定値としてS_{0.5}=0.2〜0.3 ccであつた。

他方これらの菌を用いて固形麹を作り、醤油醸造用としての優劣を判定し、それぞれの液麹に於けるプロテアーゼ生産との対比をなした。

本研究を為すに当り終始御懇篤な御指導を賜りました九大農学部山崎何恵教授並びに発表を許可された日本調味料醸造株式会社末松清一社長に深甚の謝意を表す。

て培養を行つた。培養基は脱脂大豆粉3%、精製甘藷澱粉0.2%（glucoseに代用して差がないことを確認したので之を使用することにした）を懸濁せしめた井水。培養日数については、菌株毎に多少発育速度を異にする為、液面の泡がほぼ消失し大豆粉による渾濁を認めなくなつてから24時間後位で収穫して分析に供した。但し培養は3〜7日の間に限定。

又別にこれらの菌の中より選定したものでフラスコ培養による固形麹を作り、醤油醸造用麹菌としての優劣を決定し、液麹による場合とその対比を行つてみた。

実験方法としては、既に種種提案されている⁽¹⁷⁾が、実際になるべく近いもので雑菌汚染の機会を避ける為に次のようにした。

製麹： 脱脂大豆と蕎麦を重量比で5：4に混和し、重量にて100%撒水後、充分攪拌混合し、その50gを500cc容三角フラスコに秤取し、綿栓、20 lbs/inch²にて2時間加圧蒸煮、実験室に3日間放置後それぞれ更新せる麹汁寒天斜面培

Table 5. Profitable Molds to Conventional Soy Brewing and their Submerged Protease Productibilities.

Molds	Shaking cultur				Solid culture on Soybean Cake and Wheat Bran									
	Final pH	Dry wt. of mold (g)	Protease activity, $S_{0.5}$ at pH		Recovery% on raw materials		A. N. / T. N. in Soy (%)	(a) Colour Value of Soy	Colour distribution % of Soy (b)			(c) Odor of Soy	Growing velocity	Availability for Soy "koji"
			7.9	5.5	Total N.	Carbo-hydrate			blue	red	yellow			
C ₃	8.2	1.46	0.20	0.30	69	2.9	59	32	7.0	18.7	31.6	2	+	+
D ₂	8.3	1.39	0.25	0.40	72	0	58	31	7.5	17.7	37.0	odorless	++	
C ₁₄	8.3	1.37	0.28	0.75	74	2.6	56	32	6.0	17.7	37.6	1	++	
C ₁₂	8.4	1.57	0.30	1.00	85	2.9	56	29	7.0	17.6	37.8	3	+	
C ₄	//	1.47	0.40	//	72	2.7	57	30	6.4	17.4	37.8	2	++	
C ₇	8.0	1.55	//	//	65	3.6	56	39	7.7	17.5	35.8	4	++	
C ₉	8.4	1.53	//	1.50	70	2.4	55	29	6.3	18.3	37.4	3		
C ₁₀	//	1.38	//	//	69	3.0	55	32	7.2	17.7	36.9	2	+	
C ₁₁	8.1	1.49	0.50	1.00	72	2.4	51	29	7.5	17.9	36.4	1		
E ₁	8.4	1.31	//	1.50	—	—	—	—	—	—	—	—		
C ₁	8.2	1.47	1.00	2.00	73	3.4	55	29	5.2	18.5	38.3	1	++	+
Bt	8.0	1.29	//	//	80	0.2	52	23	5.8	18.0	38.6	4		
C ₆	7.9	1.41	1.10	2.70	75	1.4	58	28	7.2	18.5	35.6	2	+	
D ₃	8.2	1.18	1.20	1.50	91	2.7	59	20	5.9	17.6	38.6	4	+	
E ₂	//	1.30	//	2.50	—	—	—	—	—	—	—	—		
C ₅	8.0	1.36	1.50	3.00	70	4.7	55	30	7.3	17.6	38.1	3		
C ₈	8.4	1.32	//	//	63	2.8	54	36	7.3	18.1	36.5	4	+++	
<i>Asp. mell.</i> type	8.2	1.35	//	2.00	83	1.6	57	29	6.4	17.4	38.4	4		
<i>Asp. ochr.</i> WILHELM	8.4	1.24	3.00	//	87	2.5	53	21	4.5	18.4	38.8	4		
C ₁₃	8.6	0.99	4.0 <	4.0 <	77	2.6	58	30	6.9	18.9	36.4	3		
<i>Asp. usamii</i> *	7.8	2.10	20 <	20 <										
// **	6.4	1.04	10 <	7.5										
NP 39*	8.0	2.09	20 <	20 <										
// **	7.8	1.41	10 <	10 <										
Control of solid culture (without cult.)					7.7	6.0	19	26	7.5	17.8	36.7	4	—	

* The media containing soybean flour 3%, starch 0.1% and CaCO₃ 0.5% were used.

** The media containing soybean flour 3% and starch 0.5% were used.

(a) This value is converted to T.N. 1.0%.

(b) Gothic numbers are desirable values for excellent Soy.

(c) 1=excellent, 2=good, 3=goodish, 4=bad.

本報告の中、固形麴に関する以外の部分は昭和 27 年 7 月 10 日、日本農芸化学会日本支部第 47 回例会に於て講演した。

- (1) 朝井勇宣：醸協，46，(8) 1 (1951).
- (2) 同上：農学，2，291，357 (1948) (朝倉書店発行).
- (3) 塩田日出夫，坂口謹一郎：農化，23，426 (1950).
- (4) 横塚勇等：昭和 26 年 5 月，日本農芸化学大会講演.
- (5) 村上英也，奥山宏造，渡会俊正：醸協，47，132 (1952).
- (6) 村上英也：醸協，47，62 (1952).
- (7) R. G. DWORSCHACK, H. J. KOEPESELL, A. A. LAGODA: Arch. Biochem. Biophys., 41, 48 (1952). ; C. A., 47, 2830d (1953).
- (8) W. B. MCCONNELL, E. Y. SPENCER, J. A. TREW: Can. J. Chem., 31, 697 (1953); C. A. 48, 797 d (1954).
- (9) 茂木和三郎 特公，昭 27-2946 (昭 27.8.5)
- (10) E. A. GASTROCK, N. PORGES, P. A. WELLS, A. J. MOYER: Ind. Eng. Chem., 30, 782 (1938).
- (11) 飛田鰐男外：特公，昭 28-2296 (昭 28.5.22).
- (12) 大島幸吉：醸学，1，204 (大 12).
- (13) KERTESZ, Z. I.: J. Biol. Chem., 90, 15 (1931).
- (14) 高田亮平：工化，32，497，544 (昭 4).
- (15) 西名敏郎：醸学，12，742 (昭 9).
- (16) 玉置彌栄：工化，53，368 (1950).
- (17) 松島欽一：醸工，31，367 (1953).
- (18) 山崎何恵，入江利夫：醸協，46，223 (1951); 49, 30 (1954).

Summary

- (1) In the preliminary experiments, it was found that a medium containing 3% of soybean

flour and 0.2% of glucose was favorable to the protease production under the shaking culture of some molds for about 3 days at 25° or 30°.

(2) 22 industrial strains of the *Aspergillus* group were cultured in the condition above mentioned and their abilities to produce protease were determined. The highest protease activity of culture liquid obtained, was found to be 0.2 to 0.3 cc titer value by ŌSHIMA method.

(3) Of these 22 strains, it was tested also that which was suitable for soy brewing by conventional "koji" method.

黄蜀葵根粘質物に関する研究 (第1報) 構成糖類の検索

鷲淵 武雄, 大和田 寛 (高知大学農学部農産製造研究室)

昭和 29 年 3 月 31 日 受理

Studies on the Mucilage of the Root of Tororo-aoi (*Abelmoschus manihot*, MEDIC). Part 1. The Detection of Sugar Components.

By Takeo OSHIBUCHI and Yutaka ŌWADA (Lab. of Technical Chemistry of Agricultural Products, Faculty of Agr., Kochi University)

緒言 黄蜀葵 (*Abelmoschus manihot*, MEDIC) は錦葵科に属する一年生草本にして、地方によつてトロロ、ネジウメ、ケウフノリ、ワウレン或はビナンソウ等と呼ばれている。その根の分泌する粘液は和紙製造上不可欠の原料として昭和 27 年度日本全国に於て約 270 万貫の根が生産せられ、内約 200 万貫の消費をみている。然るにこの粘液は細菌類の腐敗に基づく粘度の低下以外に、温度の上昇或は急激な攪拌等に依つても著しい粘度の低下を齎してそれが使用上甚しき不便を感じしめている。かくの如き性質を有する粘液の本態を明にし、引いては粘液の合理的使用法を確立するために本研究に着手した。

黄蜀葵根粘質物に就ては従来次の報告が見られる。即ち小沢⁽¹⁾は粘液よりアルコール、エーテルにより澱粉を含んだ儘の粘質物を分離してその一般分析を実施し、アラバン、ガラクトタン及びラムノザンの存在を認めたがその本態に就ては深く触れていない。又小栗等⁽²⁾は澱粉を完全に除去した粘質物を分離抽出しその化学分析を実施した結果、アラビノース、ラムノース、ガラクトース及びガラクトウロン酸の存在を認め、更にこれらが [6 : 4 : 3 : 3] の分子比を以て結合し又この結合は 2% 硫酸で 10~12 時間加水分解すれば遂にはラムノース、ガラクトース及びガラクトウロン酸が分子比 [1 : 2 : 2] の結合物として残留すると報じている。尙氏等は根より新しく抽出した粘液はほぼ均一な六角形の網状構造を有し、これにより和紙製造に際して繊維を均等に分布せしめ又粘度の低下はこの網状構造の弛緩或は喪失によるものと結論している。次で町田等⁽³⁾はその本態はラムノースとガラクトウロン酸とよりなる polyuronide であり、その分子は繊維状高分子の特性を有していると報告している。

著者等は先ず根より抽出した粘液より澱粉を完全に除去した後アルコール、エーテルによつて粘質物を分離し、これに就てその構成糖類の検索を試みた。その結果粘質物はラムノース及びウロン酸を主体とし、ガラクトース及びキシロースを少量随伴すること、又ウロン酸はガラクトウロン酸であることを確認した。尙粘質物には約 36% の灰分を含有し、その殆んど大部はカルシウムにして而もこれは粘質物に結合しているものと推察せられる結果を得た。これらの結果に就て報告する。尙本報告は昭和 28 年 6 月関西支部第 100 回大会に於て報告したものであるが、その後の研究に於て訂正すべき点を見出したので訂正報告する。

実 験

I. 粘質物試料の調製 本研究に使用した黄蜀葵根は日本紙業伊野工場より分与された昭和 27 年度産のものにして一部は 1% 石炭酸液に浸漬して試料に供した。黄蜀葵根は乾物として約 12% の澱粉を含有し、従つて抽出粘液にもかなり多量の澱粉が含まれる。粘液抽出に際して澱粉の混入を可及的に少なくするために、先ず根を厚さ 3~5 mm の薄片となし約 10 倍量の水を加えて時々手にて攪拌して 1 夜放置し、1 回換水して後同様に水を加えて処理し 2 日間放置して粘液を抽出した。5 回換水して粘液を採り、その都度次の如くして粘質物を分離した。即ち粘液に活性炭を加えて 3~4 時間振盪した後濾紙パルプを濾層として吸引濾過を行つて、澱粉及び色素類を完全に除去した無色透明の液とした。次で 40° 以下に於て真空下に濃縮して 1/4~1/5 容となし、再び活性炭処理を行つた後濾液に対してほぼ等容の 94% アルコールを加えれば粘質物は白色の繊維状沈降物として分離