定し、これを用いて培養の経時変化を追究した。

本報告の一部は昭和37年4月日本農芸化学学会大会において発表した。

文 献

- 1) TSUMURA, N. and SATO, T.: *Agr. Biol. Chem.*, **25**, 616 (1961).

- 2) TSUMURA, N. and SATO, T.: *Agr. Biol. Chem.*, **25**, 620 (1961).
 - 3) HOCHSTER, R.M. and WATSON, R.W.: *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 3284 (1953).
 - 4) SIMPSON, F.J., WOLIN, M.J. and WOOD, W.A.: *J. Biol. Chem.*, **230**, 457 (1958).
- (1964年11月16日受理)

酵素によるブドウ糖の果糖への転化（第4報）

Aerobacter cloacae の培養方法について

津 村 信 蔵*・小 松 克 巳*・佐 藤 友 太 郎*

著者は、ブドウ糖を果糖に転化させる異性化酵素をうる目的で、*Aerobacter cloacae* を培養する場合、培養液の組成が取得した菌体の果糖生成力に大きな影響を与えることを第3報¹⁾において報告し、適当と考えられる培養液組成を設定した。

これまでは菌体を取得するにはキシロースを含む培養液で20～24時間培養する方法をとってきた。キシロース以外の炭水化物を炭素源として培養すると、菌体の果糖生成力はきわめて弱くなることはすでに報告したとおりであるが、はたして最初から最後までキシロースに接触させる必要があるのかどうか。もし、ブドウ糖その他を糖源として菌体を増殖させたのち、その菌体をキシロースに短時間接触させることによって活性が付与されるならば、糖蜜のような安価でかつ処理の簡単な炭素源を利用することができ、有利であると考えられる。この報告では、このような培養方法と菌体の果糖生成力との関係について述べる。

実 験 方 法

第3報¹⁾において検討した結果設定した組成の培養液を用いた。キシロース培地とはキシロースを唯一の炭素源とするこの培養液を、またグルコース培地はキシロースの代わりにグルコースを用いた培養液を示す。接種

法、温度、菌体分離、菌体量測定など、前報と同様である。菌体活性の測定も同様であるが、使用菌体量は10 mg/ml 反応液とし、反応時間は20時間として行なった。果糖生成力も前報同様である。培養母液中の残糖については、ブドウ糖はSOMOGYI²⁾の比色法により、またキシロースはオルシン反応³⁾により測定した。

結 果 と 考 察

1. グルコース培地とキシロース培地による2段階培養の予備試験

(1) グルコース培地の増殖経過

第1次にグルコース培地で菌体を増殖させ、第2次培養としてキシロース培地を用いて活性を付与するという2段階培養を検討することとし、グルコース培地における菌体増殖を観察した。キシロース培地における経時変化はすでに前報¹⁾においてのべたが、両者を対比すると第1図のようである。

キシロース培地においては、菌体増殖は6時間では非常に低く8時間ごろから急に盛んになるのに対して、グルコース培地では4時間ですでにかかなりの増殖があり、16時間で最高に達する。このようにグルコース培地のほうがより早く増殖するのは、この菌のグルコースとキシロースに対する資化性の遅速によるものと考えられ、こ

* 農林省食糧研究所（東京都江東区深川浜園町2）

Enzymatic Conversion of D-Glucose to D-Fructose. Part IV. Two steps cultivation method for *Aerobacter cloacae*. By NOBUZO TSUMURA, KATSUMI KOMATSU and TOMOTARO SATO.

第1図 グルコース・キシロース培地の増殖経過

のことは両者の糖の消費曲線の相異によっても裏付けられる。したがってグルコース培地における培養は16時間で十分で、それ以上の必要はない。

(2) キシロースに接触させる方法

グルコース培地 100 ml に培養した菌体を遠心分離して洗浄し、これを 100 ml のキシロース培地に移して20時間培養すると、菌体量 598, 菌体活性 10.5 のものが得られた。つまりキシロース培地に移植することによって菌体増殖と活性付与が行なわれたわけである。そこで、グルコースによる第1次培養からキシロースの第2次培養に移す場合、つぎの3点について考慮した。

i) グルコース培地に増殖した菌体を母液と分離してキシロース培地に移すのがよいのか、またはその必要はなくグルコース培地で培養したものを母液ごとキシロース培地に添加してもよいかどうか。検討の結果、両者の果糖生成力に差はなく、したがって後者のほうが簡便でよいと考えられた。

ii) グルコース培地に16時間培養した液の pH は 4.5 前後となる。これは第2次培養にとって低すぎると考えられるので pH を 4.0, 5.0, 6.0, 7.0 に調整してキシロース培地に添加して比較した。結果は pH 6.0 のものが最良で以後これを採用した。

iii) 第2次培養液はキシロースを含む完全な培地組成であることが必要かどうかを、キシロースのみの溶液と比較して調べた。キシロースのみの溶液では菌体量、活性ともに劣り、完全組成の培地を以後使用することとした。

2. グルコース-キシロースによる2段階培養

上述の予備試験の結果を考慮し、つぎにグルコース培地とキシロース培地による2段階培養の諸条件を検討した。

(1) 接種菌体の Age について

第1図に示したように、グルコース培地において菌体増殖は16時間で最高に達する。グルコースによる1次培養は菌体増殖が目的であるから、最高収量の培養時間をとるのがもっとも望ましいのであるが、第1図に示したキシロース培地における比較的早い時期での活性の伸びなどを考慮し、16時間よりも短い培養菌体と比較検討した。第1表にその結果を示す。16時間で最高収量に達したものがもっともよく、それより Age の若いものでは果糖生成力が劣ることは明らかである。

(2) 第2次培養の経時変化

グルコース培地 100 ml に16時間培養した菌体を、培養母液ともども 100 ml のキシロース培地に添加し、以後2時間ごとの経時変化を調べた。結果を第2図に示す。第1図に示したように、静置培養の種から出発してキシロース培地のみで培養する場合には菌体増殖、活性ともに立上りに5, 6時間のラグがみられるが、この場合には菌体増殖はほぼ直線的に進行する。また図にみるとグルコース培地での培養終了時にはほとんどなかった活性も急激に上昇し、1時間ですでかなりの活性がみとめられ、6時間で最高に達し以後は徐々に減少する経過をしめした。菌体増殖も6時間が最高で、したがって当然果糖生成力は6時間がもっともすぐれ、2次培養の時間は6時間が最適ということになった。

(3) 第2次培養液中のキシロース濃度

前報において培養液のキシロース濃度を検討した結

第1表 菌体の Age の影響

第1次培養時間 (hr)	最終菌体量 (mg)	活性 (mg)	果糖生成力
12	331	7.8	52
14	344	13.1	91
16	355	14.0	100
18	348	12.3	86

注: 第1次グルコース培養 50 ml をキシロース培地 50 ml に移植

第2図 第2次培養の経時変化

果、2%が適当であることを認め、以後これを採用してきた。もちろんこれは、キシロース培地のみを用いてストレートに培養する場合について調べたものであり、本報における2段階培養では事情が異なるものと考えられる。すなわち、第1次のグルコース培養液によって2次に用いるキシロース培地は希釈されることになるので、キシロース濃度の影響を調べた。

グルコースの第1次培養液 50 ml を、キシロース 0.2 ~ 2g を含む7種の2次培地に移植して6時間培養した場合の結果を第2表に示す。2次培養の際のキシロース濃度は2%よりもむしろ1.2%または1.6%のほうがよい結果を示している。これはグルコースの第1次培養液により希釈されたのちの濃度であるから、第2次培地調製のときのキシロース濃度は3%前後がよいということになる。しかしまたいっぽう、単位量のキシロースの使用によって得られる果糖生成力、つまり対キシロース効率には表に見るようにキシロース濃度のうすいほうがすぐれている。したがっていずれの濃度を採用するかは、実施時の総合的な判断にまたねばならない。

なお、第2次培地のキシロース濃度を2%に調整し、1次のグルコース培養液に対して2次培地の添加量を変えて0.5, 1, 2, 3, 4, 5 倍量をそれぞれ添加して6時間培養を行なった。2次培地の添加量がますますつれて菌体量は顕著に増加してゆき、活性は逆に低下の傾向を示し、全体としての果糖生成力は増加した。しかし、使用した単位量のキシロース培地によりえられる果糖生成力は、第2次培地添加量が少ないほど高い値を示した。これは、2次培養の時間が短いことが、かなり作用していると思われる。

(4) キシロースの給与方法

第2次培養において、キシロース培地の給与方法を変

第2表 キシロース濃度の影響

培地 50ml 中 キシロース (A) (g)	菌体量 (mg)	活 性 (mg)	果糖生 成 力* (B)	対糖効率 (B/A)
0.2	230	11.0	49	245
0.4	308	12.8	76	190
0.8	360	13.0	91	114
1.0	382	13.3	100	100
1.2	420	13.8	110	91
1.6	427	14.9	122	76
2.0†	361	14.4	100	50

注：第1次培養液 50 ml (菌体量 198 mg) をキシロース培地 50 ml に移植

* 印は、† 印を 100 とした相対値

えると、果糖生成力に影響があるかどうかを調べた。グルコース培地で16時間培養した第1次培養液 50 ml に滅菌水 30 ml を加え、これに対してキシロースを10%、他の組成成分をそれぞれ通常の2.5倍量に調整したキシロース培地 20 ml を6時間の2次培養の最初に全量、3時間ごとに半量ずつ、2時間ごとに1/3ずつおよび1時間ごとに1/6ずつと給与法を変えて添加しその影響をみた。結果は第3表に示すように、第2次培地を分割して添加することは菌体の果糖生成力に対してあまり効果はなく、1~2時間ごとに分割して加えるとむしろ悪い結果を示した。

以上の結果を総合して、グルコース培地に16時間培養した培養終了液に、等量のキシロース培地を加えて6時間培養する2段階培養法は、異性化活性を有する菌体取得の目的に十分用いるものと考えられる。この方法をキシロース培地のみによる単一培養、また第1次、第2次ともにキシロースを用いる2段階培養と対比しても、第4表のように果糖生成力はむしろ高くなり、しかも半量のキシロースで済むという利点がある。

3. 蔗糖蜜と稲わら分解物の利用

上述の実験はすべてグルコース、キシロースとも純粋な試薬を使用して行なった。グルコースに代わるものとして蔗糖蜜を、キシロースの原料として稲わらの加水分解物を用いる可能性についてつぎに試験した。

(1) 蔗糖蜜を炭素源とする菌体の増殖

第3表 キシロースの給与方法の影響

給 与 方 法	果糖生成力	残糖 (mg/ml)
全 量 一 時	100	2.9
3 時 間 ご と	106	2.8
2 " "	90	2.8
1 " "	86	3.5

第4表 2段階培養の効果

培 養 方 法	菌 体 量 (mg)	活 性	果糖生成力
X 1 段*	360	12.0	100
X + X 2 段**	371	13.2	115
G + X 2 段**	370	14.0	122

注：X……キシロース培地

G……グルコース培地

*……キシロース 2g/100 ml 培地

**……糖量 1g/50 ml (第1次) + 1g/50 ml (第2次)

第3図 糖蜜培地組成の検討(1)

第4図 糖蜜培地組成の検討(2)

炭素源としてグルコースの代わりに廃糖蜜（フィリピン産）を使用し、前報において設定した培地組成成分について添加，無添加による菌体増殖を調べた。結果を第3，4図に示す。

廃糖蜜のみでは菌体増殖はきわめて悪いが，これに硫酸とリン酸塩を添加すると菌体はよく増殖し，グルコースを用いるよりも収量はよくなる。硫酸の必要なことは窒素源として当然であるがリン酸塩の効果が大きいことは興味深い。他の組成成分は収量に対してそれほど影響はなく，結局，硫酸，リン酸カリウムと糖蜜で十分であると認められた。

(2) 稲わら分解物の利用

稲わらを加水分解してキシロースを抽出するには，荒木ら⁴⁾の方法を用いた。硫酸による加水分解液を中和・脱色したのち濃縮し，この濃縮液を培地中の最終濃度がペントースとして2%となるように希釈して使用した。純粋なキシロースを使用した培地と対比して，稲わら分解液使用培地の組成を検討すると第5表のようである。硫酸とリン酸カリウムを添加すればほぼキシロース培地と同程度の果糖生成力がえられ，これに食塩，クエン酸ナトリウム，硫酸鉄，CSLなどを添加してゆけば活性はかなりよくなる。この結果，稲わら分解物はキシロース源として十分利用できる。

ここに調製使用した稲わら分解液中の糖を調べてみると，ペントースと他の還元糖の比は約8:2であった。

第5表 稲わら分解物の利用培地

	稲わら分解物							キシロース
(NH ₄) ₂ SO ₄	○	○	○	○	○	○	○	○
K ₂ H-KH ₂ PO ₄	○	○	○	○	○	○	○	○
NaCl	○	○	○	○	○			○
MgSO ₄	○	○	○	○				○
Na-Citrate	○	○	○					○
FeSO ₄	○	○						○
CSL	○							○
果糖生成力 (相対値)	130	127	117	112	112	104	97	100

注：○印添加

キシロース培地のキシロースをグルコースで置換した場合の菌体活性の変化はすでに第2報⁵⁾においてのべたが，培地組成が第2報とかなり変わってきている点もあり，稲わら分解物のような粗糖源を使用することを考慮して再度検討した。結果は第6表に示した。第2報の結果ではキシロースをグルコースで部分的に置換すると，かなり激しい活性の低下がみられたが，第6表の結果では，キシロースの半量をグルコースで置換しても活性の低下はほとんどみられない。この相異は，全体としての培地組成が異なることによるのか，または，植つぎ保存

第6表 グルコースによるキシロース置換の影響

キシロース (%)	グルコース (%)	菌体量 (mg)	活性	果糖生成力*
100	0	442	12.3	100
90	10	437	12.9	104
80	20	437	12.6	102
70	30	431	12.9	102
60	40	420	12.5	99
50	50	426	12.5	99
40	60	311	5.5	31
30	70	309	5.5	31
20	80	303	3.6	20
10	90	302	1.6	9
0	100	301	trace	trace

注：* 相対値

第7表 2段培養に糖蜜・稲わらの利用

培地	菌体量	活性	果糖生成力*
グルコース-キシロース	383	15.0	100
廃糖蜜-稲わら分解物	407	15.2	108

注：* 相対値

中に菌株の性質が変異してきたことによるのか、現在のところ明らかでない。

以上の結果をもとにして廃糖蜜培地と稲わら利用培地による2段階培養を試みた結果を第7表に示した。菌体量、活性ともにグルコース-キシロース培地の場合に劣らず十分利用できることは明らかである。

要 約

A. cloacae を培養してブドウ糖に対する異性化活性を有する菌体を収得するには、キシロースのみを炭素源として終始使用する必要はない。はじめにグルコース培地において菌体を増殖させ、つぎにキシロース培地で短時間培養する2段階培養法が可能である。第1次のグルコースによる培養は16時間、第2次のキシロース培養は6時間が適当とみとめられた。

この2段階培養はキシロース使用量を節減し、異性化活

性を増進する効果がある。また、精製したグルコース・キシロースの代わりに、廃糖蜜、稲わら加水分解物を有効に利用できることを明らかにした。

なお本報告の一部は昭和38年4月、日本農芸化学会大会において講演した。

文 献

- 1) 津村信蔵・小松克巳・佐藤友太郎：食品工誌，**12**，(4)，129 (1965)。
- 2) SOMOGYI, M.: *J. Biol. Chem.*, **160**, 61 (1945); **195**, 19 (1952)。
- 3) FERNELL, W.R. and KING, H.K.: *Analyst*, **78**, 80 (1953)。
- 4) 化学実験学：天然物取扱法Ⅲ，(河出書房)，p. 151 (1942)。
- 5) TSUMURA, N. and SATO, T.: *Agr. Biol. Chem.*, **25**, 620 (1961)。

(1964年11月16日受理)

食品の凍結および凍結乾燥に関する研究（第2報）

凍結乾燥ニンジンの組織と復水について

柴崎 一雄*・浅野 三夫*

凍結乾燥食品（以下凍乾と略す）は従来の天日あるいは熱風乾燥（以下熱乾と略す）などに比べて色、形、成分などがほとんど変わらず、しかも組織が収縮変形せず多孔質であるので復水性がきわめて優秀であるが、この反面表面積が非常に大きいので吸湿や酸化による変退色、かっ変¹⁾などが著しいといわれている。

いろいろの方法によって乾燥した肉類の組織については報告²⁾³⁾をみるが、そ菜類についてはほとんどその報告を見ない。そこで凍乾、熱乾および真空乾燥などの方法によって組織がどのようなになるか、また凍乾する際の予備凍結の条件や乾燥時の加熱条件によってはどうか、さらにそれを復水した場合の組織がどうかをそれぞれ顕微鏡的に観察し、復水の速度や量、すなわち復水性について検討を行なった。試料として各種のそ菜を用いた

が本報ではニンジンについて報告する。

実 験 方 法

1. 前 処 理

市販長ニンジンを用いたが、太さのほぼ同一の箇所（径、約30mm）をスライサーで、1, 3, 6mmに輪切りにし、沸騰水中にそれぞれ0.5, 1, 2分間浸漬前処理を行なったものを試料とした。

2. 凍 結

凍乾を行なう場合既に報告⁴⁾したように、試料を入れた乾燥室を真空にすることにより蒸発を行なわせて凍結させる自己凍結法があるが、凍結温度および速度が組織の状態に著しく影響するので、あらかじめ一定の条件で凍結を行なった。すなわち下記のような、超急、急、緩

* 東北大学農学部食糧化学科（仙台市北六番丁）

Studies on Freezing and Freeze-drying of Foods. Part II. The tissue and rehydration of freeze-dried carrot. By KAZUO SHIBASAKI and MITSUO ASANO.