

34
 (16) (小田, 池田, 谷口) 強力なタンナーゼを生成する麴黴屬絲狀菌の検索並に検索菌種の代用醬油製造への應用

	抽出液量(倍)	抽出(B ₂ r/cc)	B ₂ 抽出率%
第1回抽出	3.7	1250	63
第2回抽出	4.8	400	26
合計	8.5	770	89

即ち抽出液收得量は合せて給水量の85%に當り2回の抽出で約90%のB₂を抽出し得た。

〔Ⅲ〕 総 括

Fremothecium Ashbyii 胚芽培養物からB₂の抽出試験を行つた結果抽出液中のB₂溶解度は水に對する溶解度より著しく多く常溫でも880r/cc以上を示した。即ち胚芽培養物中にはB₂の溶解度を増大せしめる物質が存在する。抽出には溫度を上昇した方が成績がよく煮沸抽出を適當とする。抽出時間は2時間位いでよい。1回に5倍の水を用い2回抽出すればB₂の90%は溶液中に移行せしめ得る。
 (高田研究室報告第272)

強力なタンナーゼを生成する麴黴屬絲狀菌の検索 並に検索菌種の代用醬油製造への應用

小田 雅夫・池田 恭一・谷本 正尙

(大阪大學工學部醸酵工學教室)

I 緒 言

醸酵工業原料は食糧と競合になる場合が多いので現今尙甚だ窮屈である其處で食糧になるべく差障りのない農林水産の未利用資源乃至廢資源中に是を探求することが努められ其一例として「どんぐり」其他の殼斗科植物の子實の利用が圖られてゐる。然るに是等の子實にはかなり多量のタンニンが含有せられ此タンニンは微生物の發育繁殖を阻害する他種々の支障を生ずることがあるので是等の子實をタンニン含有の儘使用すると不適當な場合が多いから多くの場合タンニンは豫め除去せられる。其タンニン除去法として從來溫湯抽出法, 稀鹽酸抽出法若しくは稀アルカリ抽出法等が應用せられ是等の方法には夫々多少の得失はあるが大體目的は達せられる。然し原料に對し豫めタンニン除去法を施すことは餘分の勞力と時間を要するのみならずタンニン除去の爲に行はれる抽出により原料中の糖分其他の有用成分の損失も免ぬがれ得ない。今若し生化學的方法即ち絲狀菌等の生成するタンナーゼ酵素の作用を巧に利用する事が可能ならば前述の各種抽出法によるタンニン除去の不便を除き得るのではないかと考へ此試験を行つた。

タンナーゼの *Aspergillus* 屬, *Penicillium* 屬其他の菌類に於ける分布に就いては從來已に多數⁽¹⁾の研究があり又是等の菌類によりて生成せられるタンナーゼの性質に就いても已に幾多⁽²⁾の研究がある。

前述の如く *Penicillium* 屬のものの中にもタンナーゼ生成力の強い種類の存することは知られてゐるが此種類は醸酵工業上應用するに當り場合によりては此種の絲狀菌に特有な微臭い臭氣の生成が妨げとなることもあるかも知れないので此種類のものを避け其恐れのない *Aspergillus* 屬のものの中にタンナーゼ生成力の強い種類を検索し併せて此種の菌の應用に就いて試験した。

(小田,池田,谷口) 強力なタンナーゼを生成する麹黴屬絲狀菌の検索並に検索菌種の代用醬油製造への應用 (17)

II 強力なタンナーゼを生成する麹黴屬絲狀菌の検索

従来から教室に保存してゐる菌株及び著者の1人小田が新に分離したものを併せて18株の *Asp. Oryzae* 菌株並に他の *Aspergillus* 屬菌種43株合計61株を對象として試験した。

a) 試験方法：タンナーゼを生成する菌種はタンニン炭素源として發育なし得るものと考え Czapeck 培養液の糖類をタンニン(1~2%)で置き代へ苛性ソーダでpH5.8に調節した培養基に供試菌種を接種して25°Cに培養して菌絲の發育と分生芽胞の形成状態とを比較觀察して發育繁殖状態の旺盛なものをタンナーゼ生成力の強いものと認定した。

b) 試験結果：供試の全菌株61を前記の方法で培養を試み全然發育しないか發育の微弱なものは是を淘汰し殘部の發育の比較的良いもの21株を選び前記同様の方法で再試験した。其試験の結果は次表の如くである。

培養基上に於ける發育状態(培養8日)

菌種名	菌絲	分生芽胞	菌種名	菌絲	分生芽胞
<i>Asp. awamori</i> (Usami)	++	++	<i>Asp. Oryzae</i> (4)	++	+
" <i>Batatae</i>	+++	+++	" " 黒變	+++	+++
" <i>candidus</i> (北大)	+++	+++	" " (Fugu 1)	+++	++
" <i>carbonarius</i>	+++	+++	" " 小豆島 a)	+++	+++
" <i>flavus</i>	+++	+++	" " (Higeta)	++	+
" <i>japonicus</i>	+++	+++	" " (河盛)濃	+++	+++
" <i>niger</i> (Washington)	+++	+++	" " (河盛)淡	+++	+++
" <i>Oryzae</i> Forma Tannase	+++	+++	" " 新	+++	+++
" " (1)	++	++	" " 香川工試 No.3	+++	+++
" " (2)	+++	+++	" " 香川工試No.g	++	+
" " (3)	+++	++			

此試験の結果から供試の菌株中 *Asp. japonicus* と *Asp. Oryzae* Forma Tannase(以下 *Asp. Oryzae* F.T. と略稱する)がタンニン含有の培養基上で發育繁殖が最も良好であり此2株がタンナーゼ生成力が最も強い菌株と認め後の試験は此2株に就いて行つた。

III *Asp. Oryzae*F.T. 及び *Asp. Japonicus* のタンナーゼ生成に對する培養條件

實驗 1. タンナーゼ生成に對する最適温度試験

a) 實驗方法：DYCKERHOOF⁽²⁾等が *Asp. niger* のタンナーゼ試験に用ひた各種培養液中でAの處方に大體準據した下記に示す配合の培養液50ccに供試菌株を接種し25°Cから40°Cに至る各段階の温度に72時間培養した後培養液中のタンニンの消費量を試験して各種温度に於けるタンナーゼの生成力を比較した。但しタンニンの定量には RIND and SMITH⁽²⁾の方法を用ひた。以下の實驗に於いてもタンニンの定量には此方法を用ひた。

培養液組成：(NH₄)₂SO₄1.0%, K₂HPO₄0.03%, MgSO₄0.01%, タンニン0.3%

b) 實驗結果：表示すれば次の如くである。

培養温度 (C)	對 照	タンニン消費量 (mg/培養液1cc)		タンニン消費率(%)	
		<i>Oryzae</i> F. T.	<i>japonicus</i>	<i>Oryzae</i> F. T.	<i>japonicus</i>
40	3.113	2.989	3.007	96.0	96.6
37	"	3.007	3.024	96.6	97.1
30	"	2.989	3.024	96.0	97.1
25	"	2.936	—	94.3	—

註：表中の對照は菌接種前の培養液1cc中のタンニン含量である。

(18) (小田, 池田, 谷口) 強力なタンナーゼを生成する麹菌属糸状菌の検索並に検索菌種の代用醤油製造への應用

此實驗結果からタンナーゼ生成力は *Asp. Oryzae* F.T. に於いては37°Cで培養する時が最も強く *Asp. Japonicus* に於いては30~37°Cでの培養が好適であることを知つた。

實驗 2. タンナーゼ生成に對する最適pH價試験

a) 實驗方法：前記實驗1に用ひたのと同様な配合の培養液を磷酸鹽緩衝液を用ひて調節してpH4.2から5.8に至る各種段階のものを作り 其50cc宛に供試菌株を接種し30°Cに80時間培養した後培養液中のタンニンの消費量を試験して各pH價に於けるタンナーゼの生成力を比較した。

b) 實驗結果：次表の如くである。

pH	對 照	タンニン消費量 (mg/培養液1cc)		タンニン消費率(%)	
		Oryzae	japonicus	Oryzae	japonicus
5.8	3.113	2.919	2.910	93.8	93.5
5.4	3.111	2.927	2.972	94.1	95.5
5.0	3.109	2.989	3.024	96.1	97.3
4.6	3.101	2.805	2.963	90.5	95.6
4.2	3.112	—	2.910	—	93.5

註：表中の對照は菌接種前の培養液1cc中のタンニン含量である。

此試験結果から *Asp. Oryzae* F.T. 及び *Asp. Japonicus* のタンナーゼ生成には培養液のpH5.0附近が好適なることを認めた。

Ⅲ *Asp. Oryzae* F.T. 及び *Asp. Japonicus* をどんぐりに培養した場合のタンナーゼ生成力

前記の *Asp. Oryzae* F.T. 及び *Asp. Japonicus* を醸酵工業に應用する意圖の下に是等の菌をどんぐりを培養基として培養する場合即ち是等の菌を應用してどんぐり麴を製する場合に於けるタンナーゼの生成力乃至其作用状態を知る爲に次に述べるが如き二三の試験を行つた。

1. どんぐりを單獨に培養基とした場合

實驗 1. 製麴期間に於けるタンニン分解の試験

a) 實驗方法：風乾したどんぐりの果肉を粗碎して是に重量で約60%の水を撒布して約1時間蒸煮し適度に冷却後菌種を接種して30°Cで約96時間培養した。此操作は大略穀類を用ひて製麴する場合と同様である。斯様にして出來たどんぐり麴についてタンニン含有量を試験し是を原料中のタンニン含有量と對比して製麴期間中に於けるタンニンの分解状態を試験した。タンニンの試験には原料であるどんぐり10g, *Asp. Oryzae* F.T. のどんぐり麴15.68g (原料10gに相當する), *Asp. Japonicus* のどんぐり麴16.23 (原料10gに相當する)の各々に水150ccを加へて1度煮沸して上澄液を分け残渣に更に60°Cの温湯150ccを加へて60°Cに1時間保つてタンニンの抽出を行ひ上澄液を分けた。斯様にして温湯抽出を繰返すこと6回で上澄液にタンニンの存在を認めない迄に至り全抽出液を集めて正しく1Lになし是に就いてタンニンの定量を行つた。定量法は前述のⅢ項に用ひたのと同方法である。

b) 實驗結果：出來上つた2種の麴について觀察するに普通の穀類を用ひて製した麴と外觀上大差なく(但し *Asp. Japonicus* の麴は此菌の性質上赤褐色を呈してゐる) どんぐり粒表面に於ける破精互りは良好であるが破精込みが少々劣る嫌がある。次に製麴中に是等の菌の生成するタン

(小田,池田,谷口) 強力なタンナーゼを生成する麹黴屬糸状菌の検索並に検索菌種の代用醬油製造への應用 (19)

ナーゼによつて原料中のタンニンの分解された状態を示せば次表の如くである。

區 分	タンニン含量 (g)	被分解タンニン量 (g)	残存タンニン率 (%)	タンニン分解率 (%)
對 照	0.2318	—	—	—
Oryzae 麴	0.1845	0.0473	79.61	20.39
japonicus 麴	0.1391	0.0927	60.00	40.00

實驗 2. 麴の浸漬中に於けるタンニン分解試験

麴に水を加へてタンナーゼの適温附近に一定期間保持する場合に麴中の残存タンニンの分解する状態を試験する目的で此實驗を行つた。

a) 實驗方法：實驗1同様 Oryzae 麴は15.68g (原料10gに相當する), Japonicus 麴は16.23g (同前)を各々2個のフラスコに取り對照にする夫々の1個は酵素を破壊して其作用を停止せしめる目的で重湯煎鍋上で30分間加熱し不加熱の2本と共に1%のトルオール添加の下に37°Cに7日間放置した後上澄液並に殘渣を前實驗同様の方法で温湯抽出を行つて得られた全抽出液を合して1Lとなし共に就いてタンニンの定量を行つて残存タンニン量を求め其によつて麴を水中に浸漬し7日間保温した期間中に於けるタンニンの分解状態を試験した。

b) 實驗結果：次表の如くである。

區 分	タンニン含量 (g)	被分解タンニン量 (g)	タンニン分解率 (對對照中タンニン) (%)	タンニン分解率 (對原料中タンニン) (%)
對 照	0.1845	—	—	—
Oryzae 麴	0.1699	0.0146	7.86	6.27
對 照	0.1391	—	—	—
japonicus 麴	0.0927	0.0464	3.336	20.02

以上實驗第1及び第2の結果を總合するに供試の Asp. Oryzae F.T.及び Asp. Japonicus は共にどんぐりに良好なる發育繁殖を遂げ普通の穀類を原料とする麴と外觀上大差を認めないが只破精込みが穀類麴に比較して稍々劣る感じがする。原料中のタンニンは製麴期間中に顯著に分解せられるが出麴に水を加へて浸漬して保温中にも緩徐ながら分解せられる。是は製麴中に菌によりて生成せられたタンナーゼによつて残存するタンニンが分解せられるものと解せられる。而して此兩種の菌のタンナーゼ生成力を比較するに Asp. Japonicus の方が Asp. Oryzae F.T.よりも強大なることが認められた。

2. 穀添加どんぐりを培養基とした場合

前記の試験に於いてどんぐりを單獨に培養基として Asp. Oryzae F.T.及び Asp. Japonicus を培養した場合に於いて外觀上の發育繁殖は普通の穀類を培養したものと大差を認めなかつたが破精込みが稍々劣る傾きのあるのを認め又タンナーゼの生成力も充分満足出来る程でなかつた。是はどんぐりの組織が堅くて菌絲のどんぐり粒内部への發育を妨げる爲と考へられどんぐりの前處理方法を工夫することによつて破精込みを良くなし得る餘地はあると考へる。然し又一面ではどんぐりの供試菌に對する營養源的組成の點で幾分缺ける爲に菌の充分な發育を妨げてゐることも考へられる。此試験はどんぐりの營養源的組成の缺點を補ふ意味でどんぐりに少量の麴を添加し其混合物に供試菌株を培養する場合に於けるタンナーゼ生成状態を試験する目的で行つた。

實驗 1. 製麴期間中に於けるタンニン分解の試験

a) 實驗方法：此實驗に於いてはどんぐりと麴を7:3の割合に混合し其混合物を培養基とし

58
 (20) (小田, 池田, 谷口) 強力なタンナーゼを生成する麹菌属糸状菌の検索並に検索菌種の代用醤油製造への應用

て Asp. Oryzae F.T. 及び Asp. Japonicus を培養し充分發育を遂げた後 Asp. Oryzae F.T. 麴は 22.19g(どんぐり量10gに相當する), Asp. Japonicus 麴は22.60g(同前)を試料として採り製麴期間中に於けるタンニンの分解状態を試験した. 此實驗に於ける培養基の處理方法培養條件並に其他の實驗方法等は總て前のどんぐりを單獨に培養基とした試験の場合と同様である.

b) 實驗結果: 出来上つた麴に就いて觀察するに兩種共前のどんぐりを單獨に用ひた場合に比し外見上菌絲の發育が幾分良く殊に老麴に於いて分生芽胞の着生が一層良く又菌絲のどんぐり粒内への破精込みも稍々良好である様に感ぜられる. 次に製麴中にどんぐり中のタンニンの分解された程度を示せば次表の如くである.

區分	タンニン麴 (g)	被分解タンニン量 (g)	残存タンニン率 (%)	タンニン分解率 (%)
對照	0.2318	—	—	—
Oryzae 麴	0.1104	0.1214	47.61	52.39
japonicus 麴	0.0662	0.1655	28.57	71.43

實驗 2. 麴の浸漬中に於けるタンニン分解の試験

前のどんぐりを單獨に培養基として製した麴の場合と同様に出来上つた麴に水を加へて適温に保持する場合に於ける麴中に残存するタンニンの分解する状態を試験した.

a) 實驗方法: 試料を實驗1と同量採り前のどんぐりを單獨に培養基とした試験と全く同様な方法で試験した.

b) 實驗結果: 次表の如くである.

區分	タンニン含量 (g)	被分解タンニン量 (g)	タンニン分解率 (對對照中タンニン) (%)	タンニン分解率 (對原料中タンニン) (%)
對照	0.1104	—	—	—
Oryzae 麴	0.0662	0.0442	40.03	19.07
對照	0.0662	—	—	—
japonicus 麴	0.0618	0.0044	6.65	1.90

以上實驗第1及び第2の結果を總合するにどんぐりに麴の少量を添加することによつて供試の兩菌株の發育に好影響を與へるのみならず製麴中に於ける原料中のタンニンの分解率を著しく増大し Asp. Oryzae F.T.に於いて約52%, Asp. Japonicus に於いては71%に達する. 是は麴の添加がどんぐりの營養源的缺點を補足して是等の菌株の發育を助長し其結果タンナーゼの生成を促進する爲と考へる. 麴を水に浸漬して一定時間保温する場合 Asp. Japonicus 麴に於ける分解率の小なるは製麴中に原料中のタンニンの大部分は已に分解せられ出麴中に残存するタンニン含量が少量となつてゐる關係ではないかと考へる.

V Asp. Oryzae F.T. 及び Asp. Japonicus をどんぐりに培養する場合のアミラーゼ及びプロテアーゼの生成力試験

Asp. Oryzae 及び Asp. Japonicus がアミラーゼ及びプロテアーゼを生成することは已に衆知の事實であつて從來是等の菌を醸酵工業上に應用するは主として是等の酵素の利用にあつた. 然るに是等の酵素の生成は同一菌株にあつても其培養條件殊に培養基の組成の影響を受けることが大である. 此試験は Asp. Oryzae F.T. 及び Asp. Japonicus をどんぐり單獨又は麴添加どんぐりに培養する場合に於けるアミラーゼ及びプロテアーゼの生成力を試験する目的で行つた.

(小田, 池田, 谷口) 強力なタンナーゼを生成する麹黴屬絲狀菌の檢索並に檢索菌種の代用醬油製造への應用 (21)

a) 實驗方法: 供試の2菌株をどんぐり及び麩添加どんぐりに培養してアミラーゼ及びプロテアーゼの生成力を試験した。此試験での原料の處理方法及び培養條件は前記タンナーゼの生成力試験に於けると同様でありアミラーゼ作用は Wohlgemuth 法⁽⁷⁾により又プロテアーゼ作用は大島改變 Fuld-Gross 法⁽⁸⁾によつて測定した。

b) 實驗結果: 表示すれば次の如くである。

區 分	アミラーゼ	プロテアーゼ
Oryzae F.T. 麩 A	D 38°C 24時間 20	>0.5
" B	" " 200	7.1
japonicus 麩 A	" " 10	>0.5
" B	" " 83	5.0

註: 麩Aはどんぐりを單獨に, 又麩Bは麩添加どんぐりを培養基としたものである。

此結果を見るに Asp. Oryzae F.T. 麩は Asp. Japonicus 麩に比較しアミラーゼ及びプロテアーゼの兩酵素力共に強力である。而してどんぐりに少量の麩を添加すればどんぐり單獨の場合に比し兩酵素力の増強せられることが認められた。

VI Asp. Oryzae F.T.及び Asp. Japonicus 應用のどんぐり麩を用ひ魚汁を原料とする代用醬油製造試験*

醬油及びアミノ酸の主原料である大豆又は脱脂大豆が戦時中から最近に至る迄非常に不足し其代用原料が種々の方面に探求せられてゐる。其代用原料の一つとして鯉節の製造や魚類の干物製造の際に副生せられる魚汁が用ひられ是を以つて製造した代用醬油乃至アミノ酸液が相當多量市販せられてゐるが是等の中には魚類特有の腥臭い異臭の除去に餘り意を用ひなかつたと思はれ異臭を残して居て品質の良くない製品も少くない。此處に於いて著者等は麩菌が動物油脂類の異臭の除去に効果があると從來知られて居る事實⁽⁹⁾⁽¹⁰⁾を考慮に入れ且つなるべく從來の普通醬油に似た製品を得ようとする意圖の下に蛋白質原料として種々の魚汁を用ひ又炭水化物原料としては穀類の如き主食糧を避けてどんぐりを用ひ普通醬油醸造方式に近い製造方法の下に代用醬油の製造を試み比較的好成績を得たので其試験結果を報告する。

a) 實驗方法

製麩: 脱皮風乾したどんぐりを適度に破細して約1晝夜水に浸漬した後約1時間蒸煮する方法と, どんぐりの所要量の約半量を前記同様にして浸漬蒸煮し, どんぐりの残りの半量は炒熬した後稍々細く粉碎して前記蒸煮したどんぐりに撒布して是を被覆する方法との2様の方法で處理し是に Asp. Oryzae F.T. 及び Asp. Japonicus の2菌株を夫々別に接種して30°Cで3~4日間培養した

仕込及び熟成: 魚汁の試料としては鯉の煮汁, 鰻の煮汁, 雑魚の煮汁等を用ひた。是等の魚汁は其種類により濃度が一樣でなく従つて蛋白質含有量に於いて差異があるので必要に應じ適度に濃縮した。濃度の大體の標準は18°Béとした。此魚汁に防腐に必要な最小限度である15%※※の食鹽を添加した後前記の如くして製したどんぐり麩を魚汁に對し20~30%量を加へて37°Cに保つ事5~7日間の後液温を30°Cに冷却して是に豫め別に培養して置いた醬油酵母 *Zygosaccharomyces major* 及び *Zygosaccharomyces Soya* の各培養液の少量を添加したものと並に此2種の酵母の他に更に *Hansenia anomala* の培養液の少量を添加したものとを準備し是等を30°Cに45~50日間保持した後是に必要な量の食鹽を追加して食鹽量を整へた後壓搾濾過し更に60°C附近に加熱して今一度濾過して製品とした。

b) 實驗結果: 食鹽添加の魚汁にどんぐり麩を加へ37°Cに5~7日間保持することにより魚汁の

*此方法を應用した醬油製造法は昭和23年10月20日附を以つて日本特許第1768.7號として登録せられた。

※※此食鹽の添加量は別な試験で決定した。

1860
 (22) (小田, 池田, 谷口) 強力なタンナーゼを生成する麴黴屬絲狀菌の検索並に検索菌種の代用醤油製造への應用

異臭の大部分は除去せられた。是に醤油酵母の培養液を加へて30°Cに保持して置く間に液中に醱酵が起り時日の経過と共に魚汁の異臭が更に一層消失し其と同時に醤油に近い香氣を生じて來た。尙熟成が進むに伴ひ液は赤褐色に着色し其色調は時日と共に濃度を増し完熟した頃には人工的に着色を施すことなしに普通醤油に似た色調を呈するに至つた。醤油酵母の他に更に *Hansenula anomala* の培養を添加したものは香氣は一層佳良であるが色相が醤油酵母のものに比し淡いことを認めた。次に麴の黴として應用した2菌株の製品への影響に就いて比較するに *Asp. Japonicus* を用ひたものは其香氣の點に於いて *Asp. Oryzae* F.T. を用ひたものに比して優るが其味は *Asp. Oryzae* F.T. 應用のものに比し稍々淡白である様感ぜられ兩菌株に夫々特徴のあることを認めた。麴原料であるどんぐりの処理方法の2様式即ち原料全部を浸漬して蒸煮する方法と原料の半分を浸漬蒸煮し残りの半分を炒つて粉細して此兩者を混合する方法との製品への影響については別段差異あることを認めなかつた。尙前述の如くタンナーゼ生成試験に於いてどんぐりに麴の少量を添加すれば菌の發育に好影響を及ぼしタンナーゼの生成力を助成することを認めたから本試験に於いても製麴に際しどんぐりに麴を添加すれば恐らく好結果を來すものと信するが本試験では其を試みなかつた。

今實驗結果の一例として魚汁の試料として鰻の煮汁を用ひ是に *Asp. Oryzae* F.T. を應用したどんぐり麴を30%の割合に用ひ更に *Zygosaccharomyces major* 及び *Zygosaccharomyces Soya* の2種の醤油酵母を應用して製した製品の分析結果を示せば次の如くである。

ポーメ示度20°

試料100cc中, 食鹽17.415g, 總窒素0.704g, 糖分0.769g, 總酸0.399g

本品に就いて感應的に審査した所魚臭は全く除去されてゐるのみならず醤油に近い香氣を有し旨味も相當にあつて異味を有せず色調も普通醤油の其に似て居り香味全般に於いて普通醤油の優秀品には及ばないかも知れないが普通市販の醤油乃至醤油代用品に比較して勝るとも劣らないと認めた。尙本品に就いて當業の實際家其他數氏に鑑評を乞ひしに割合に好評を得た。

本試験に於いて魚汁特有の異臭の除去に豫想以上の好結果を得た原因に就いて考察するに前述の麴黴に特有な作用が興つて力ありと考へるが一面又田中氏⁽⁷⁾が囊に示したタンニンの作用も見逃し得ないと考へる。即ち田中氏は蛹中に含有せられる有臭物質がタンニンの作用により變質して脱臭せられることを示してゐるが此處に述べる代用醤油製造法に於いて仕込當初の液中にはどんぐり麴中に殘存した少量のタンニンが移行して居り其が魚汁の脱臭に作用することも考へられることである。次に本法の熟成期間中に於いて液汁が自然に醤油に近い色調に着色せられる原因に就いて考察するにタンナーゼの分解作用によつてタンニンから生成せられる没食子酸が熟成期間中に何等かの作用を受けて斯様な色素に化成せられるものと考へる。

Ⅶ 綜 括

- 1) 供試の麴黴屬絲狀菌61株中にタンナーゼ生成力の最強な菌株を検索し *Asp. Japonicus* 及び *Asp. Oryzae* F.T. の2株を選出した。
- 2) 前記2菌株のタンナーゼ生成に對する好適溫度を試験し *Asp. Japonicus* に對しては30~37°C *Asp. Oryzae* F.T. に對しては37°Cであることを知つた。
- 3) *Asp. Japonicus* 及び *Asp. Oryzae* F.T. のタンナーゼ生成に好適な培養基のpH價を試験し兩菌共pH5.0附近であることを認めた。
- 4) *Asp. Japonicus* 及び *Asp. Oryzae* F.T. をどんぐりを單獨に培養基として培養する場合に其培養期間中に *Asp. Japonicus* は培養基中に含有せられるタンニン全量の40%を分解し又 *Asp.*

(小田, 池田, 谷本) 強力なタンナーゼを生成する麹菌類糸状菌の検索並に検索菌種の代用醤油製造への應用 (23)

Oryzae F.T.は同じく20%を分解する。

5) *Asp. Japonicus* 及び *Asp. Oryzae* F.T.のどんぐり麴を水に浸漬して37°Cに7日間保温せしに緩徐ながら残存タンニンの分解が進行し前者に於いて20%(原料中のタンニンに對し), 後者に於いて6%(同前)の分解率を示した。

6) どんぐりに少量の麴を添加して兩菌株を培養すれば菌の發育を助長してタンナーゼの生成力も増強せられ培養期間中に *Asp. Japonicus* は培養基含有タンニン量の71%, *Asp. Oryzae* F.T. は同様52%を分解する。

7) 兩菌株の麴添加どんぐり麴を水に浸漬して保温せし場合の残存タンニンの分解率は *Asp. Japonicus* に於いて1.9%(原料中のタンニンに對し)又 *Asp. Oryzae* F.T.に於いて19%(同前)であつた。

8) 兩菌株のどんぐり麴並に麴添加どんぐり麴に於けるアミラーゼ及びプロテアーゼ酵素力を比較するに兩酵素力共に *Asp. Oryzae* F.T.が *Asp. Japonicus* に優ることを認めた。而してどんぐりへ麴を添加すればアミラーゼ及びプロテアーゼの酵素力の増強にも好影響あることを認めた。

9) *Asp. Japonicus* 又は *Asp. Oryzae* F.T.を應用しどんぐりを原料として製した麴を魚汁に加へて熟成を圖る代用醤油の製造を試みしに製品に魚汁特有の異臭が全くなく色調も醤油に近似したものが得られ好成績を得た。

10) *Asp. Japonicus* と *Asp. Oryzae* F.T.との應用上での優劣を比較するに製品の香氣の點では *Asp. Japonicus* を用ひたものが稍々優り味の點では *Asp. Oryzae* F.T.を用ひたものが優ることを認めた。

擧筆するに當り本研究中實驗を援助せられた福島穰及び布谷昭兩君に感謝する。

尙本研究結果の概要は昭和23年10月17日に開催せられた關西諸學協會連合講演會に於いて報告したことを附記する。

文 献

- 1) van Tieghem, Ph. : *Ana. Sc. nat. Bot.* (5) **8**, 210(1867), through Thom. the *Aspergilli* p. 63 (1926) ; Weidemann, C. : *Centralbl. Bakt.* II, **19**, 675, 755(1907) ; Knudson, L. : *J. biol. Chem.*, **14**, 159(1913) ; *ibid.*, **14**, 185(1913) ; Koch, A. : *Centralbl. Bakt.* II, **41**, 545(1914) ; Koch, A. und Oelsner, A. : *Centralbl. Bakt.* II, **43**, 107(1916) ; van Beyma, F. H., Thoe Kingma : *Verhand. Koninkl. Akad. Westensch. Amsterdam Afdeel. Nat. Sect. II*, **26** (2), 21(1928), through Thom's the *Penicillia* p. 103 (1930) ; Rippel, A. und Keseling, J. : *Arch. Mikrobiol.*, **1**, 60 (1930).
- 2) Fernbach : *Compt. rend.*, **131**, 1214 (1900) through Oppenheimer, C. : *Die Fermente und ihre Wirkungen* Bd. I, 5 aufl. 512 (1925) ; Pottevin : *Compt. rend.*, **131**, 1215 (1900) ; Oppenheimer, C. : *Die Fermente und ihre Wirkungen* **1**, 512, 5 Aufl. (1925) ; Freudenberg, K. und Vollbrecht, E. : *Z. physiol. Chem.*, **116**, 277 (1921) ; Rind, D. and Smith, F. E. : *Biochem. J.*, **16**, 1 (1922). Nierenstein, M. : *Biochem. J.*, **16**, 514(1922) ; Freudenberg, K., Blümmel, F. und Frank, Th. : *Z. physiol. Chem.*, **164**, 262(1927) ; Nicholson, W. N., Nierenstein, M., Pool, J. C. and Price, N. V. : *Biochem. J.*, **25**, 752(1931) ; Dyckerhoff, H. und Armbruster, R. : *Z. physiol. Chem.*, **219**, 38(1933).
- 3) Wohlgemuth, J. : *Biochem. Z.*, **9**, 1(1908) ; 大谷武夫 : 實驗酵素化學, 324頁(昭和14).
- 4) 大島幸吉 : 醸學誌, **1**, 213(大正12~13).
- 5) 星一 : 日本特許, 63613(大正14).
- 6) 島居嘉夫 : 食料品工業, 138(昭和17).
- 7) 田中精太 : 日本特許, 80796(昭和4).