

(364)

(茂木, 中島, 井口) 強化味噌の研究 (第2報)

4. 照射. このように作製した孢子懸濁液 0.5cc を直径 7cm の時計皿に採り光源より 30cm の距離に於て 15 分間連続照射した.

5. 照射後の処理. 一定時間照射終ればその孢子懸濁液を 0.06% 寒天添加の無菌蒸溜水にて 100~200 倍に稀釋し, その 0.5cc を採つて常法の如く麴汁寒天にて平面培養を行い, 30°C にて 72 時間後に聚落を觀察し變異したと認めた聚落を全部ツアベツフ寒天斜面培地に移植した.

6. 變異率並に死滅率. 孢子の變異率は 12.2%, 死滅率は 94.7% であつた (但しこの結果は 20 數回の平均値である).

7. 變異菌株. 以上の操作に依り 743 株の變異株を得たがこれを形態的並に培養的な相違より分類すれば第 1 表に示す如く 13 のタイプになる.

第 1 表 味噌麴菌の變異タイプ

タイプ	菌株數	タイプ	菌株數	タイプ	菌株數
Restricted	3	Light	162	Yeast	8
Albino	8	Sterile	141	Flat	10
Yellow	1	Floccose	7	Intermediate	381
Brown	2	Nitratophobe	7		
Heavy	7	Nitrate non Assimilative	10		

而して以上の變異タイプは著者等の一人井口⁷⁾ が醤油麴菌 *Asp. sojae* の紫外線照射で得た變異タイプと殆んど同一であつた.

實驗其の 2. 變異株によるフラビン生産試験

以上分離した 743 株の變異株のフラビン生産試験を行うため次の實驗を行つた. ベツフアー氏液 8 cc を採つた試験管に各菌株の孢子を接種し, 37°C に 10 日間斜面静置培養し次でこれを濾過し濾液に就て第 1 報の如く處理し, その螢光度を觀察し原株より螢光度の特に強いもの次の 19 株を選出した. 選出した菌株のタイプ並に菌號は次の如し.

Albino type 122. Brown type 364. Light type 328, 142, 249. Sterile type 8. Flat type 62, 352, 18. Intermediate 514, 268, 51, 39, 41, 24, 86, 193, 95, 770.

實驗其の 3. フラビン生産強き變異株の製麴試験

1. 大豆麴によるフラビン生産試験. 大豆を良く洗つて 50°C 温水にて 1 時間浸漬し, 水切り 30 分後に 5 封度, 1.5 時間蒸煮し, 蒸煮大豆 200g を採り實驗其の 2 に於て選出した 19 株の各變異菌株を接種, 第 1 報に於て行つたと同様大型銅製シャレ中にて製麴した. 麴は 3 日麴とし何れも良好なものを得た. 尙その結果は第 2 表の如くである. (大豆, 3.000kg, 浸漬重量, 4.750kg, 蒸煮重量, 4.910kg.)

第 2 表 大豆麴のフラビン並に出麴の状態

菌號	タイプ	蒸煮大豆重量 (g)	出麴重量 (g)	出麴水分 (%)	出麴の状態	麴のフラビン (100g 中 r)
514	Intermediate	200	177	47.478	淡黄色 良好	474.2
268	"	"	176	45.748	"	482.1
51	"	"	"	46.079	"	1017.4
39	"	"	173	44.153	"	949.2
41	"	"	171	44.582	"	565.6

24	Intermediate	200	176	47.047	淡黄色 良好	589.0
86	"	"	173	44.837	淡黄緑色 良好	461.5
193	"	"	174	46.471	淡黄色 良好	731.9
95	"	"	178	46.207	"	461.0
770	"	"	"	47.691	"	693.7
122	Albino	"	171	45.402	純白 良好	792.8
364	Brown	"	170	45.823	褐色 "	685.9
328	Light	"	179	46.190	白色ピロッド状胞子の着生少く良好	508.5
142	"	"	176	46.644	胞子の着生少く良好	744.2
249	"	"	174	45.370	淡黄色 良好	809.1
8	Sterile	"	178	46.761	"	381.1
62	Flat	"	162	42.627	黄緑色胞子着生多し	1035.2
352	"	"	168	41.899	"	707.9
18	"	"	166	44.218	"	539.2
原株	"	"	189	49.560	淡黄色 良好	298.8

(尙本試験に使用した大豆のフラビン含量は 182.0r で、水分は 14.317% であった。)

2. 米麴によるフラビン生産試験. 精白米を良く洗つて40°Cの温水にて3時間浸漬し水切り1時間後蒸気釜にて1.5時間蒸餾し、蒸餾米200gを採り試験管に豫め培養した各変異株の胞子を接種し、まづ直径9cm、高さ10cm、のビーカーに入れ上に蓋をして30°Cで20時間前培養した後大豆麴に於て使用した銅製大型シャーレに移して製麴した。麴は3日麴にして何れも良麴を得た。尙その結果は第3表の如くである。(精白米, 4.500kg, 浸漬重量, 5.825kg, 蒸餾重量, 6.180kg)

第3表 米麴のフラビン及び出麴の状態

菌 號	タ イ プ	蒸餾米重量 (g)	出麴重量 (g)	出麴水分 (%)	出 麴 の 状 態	麴のフラビン (100g中r)
514	Intermediate	200	177	31.443	淡黄色, 胞子着生少く, 破精込良好	400.6
268	"	"	183	33.602	"	202.0
51	"	"	185	34.184	淡黄緑色, 胞子着生少く, 破精込極めて良好	433.4
39	"	"	182	34.109	淡黄色, 胞子着生少く, 破精込良好	172.3
41	"	"	"	33.754	"	243.0
24	"	"	"	33.973	"	408.2
86	"	"	183	33.828	39 に 同 じ	171.7
193	"	"	181	33.476	"	247.1
95	"	"	189	35.299	白色, 胞子僅に着く, 破精込良好	243.5
770	"	"	187	31.347	白色, 良好	208.8
122	Albino	"	179	34.548	純白, 胞子着生良く, 破精込良好	269.3
364	Brown	"	178	34.092	黄褐色の胞子着く, 良好	174.2
328	Light	"	185	33.679	白色, 胞子僅に着く, 破精込極めて良好	283.8
142	"	"	187	36.278	"	168.7
249	"	"	176	30.805	白色, 胞子着かず, 破精込良好	198.4
8	Sterile	"	181	33.518	淡黄色, 胞子僅に着く, 良好	351.2
62	Flat	"	175	31.364	白色, 菌糸短く, 破精込やゝ悪し	481.0
352	"	"	185	32.527	"	314.1

(366)

(茂木, 中島, 井口) 強化味噌の研究 (第2報)

18	Flat	200	176	31.995	淡黄色, 胞子着生よく, 菌糸短し, 良好	451.3
原株		"	182	33.414	淡黄色, 胞子僅に着く, 破糖遅良好	173.9

(尙本試験に使用した精白米のフラビン含量は16.6r, 水分は11.112%であつた.)

又麴のフラビンの定量は大豆麴に於ては60°Cで14時間乾燥, 粉碎後その10gを採り, 米麴に於ては60°Cで7時間乾燥, 粉碎後その20gを採り藤田氏法¹⁰⁾によつて定量した。

即ち以上の実験の結果出麴の状態並にビタミンB₂生産量を考え合せれば, 大豆麴に於ては51, 39, 122, 62の4株が, 又米麴に於ては514, 51, 24, 62, 18の5株が夫々優秀と断定される。尙参考までに用いた大豆及び精白米の原料分析結果は第4表の如くである。

第4表 原料分析結果 (%)

原料別	産地	水分	粗蛋白質	澱粉	粗繊維	粗灰分	粗脂肪
大豆	北海道	14.317	42.250	13.494	4.600	4.245	21.608
精白米	千葉県	13.057	8.474	74.500	1.600	0.403	0.501

実験其の4. フラビン生産強き變異菌株の酵素力

1. 酵素液の調製. 小麦麴7gに70%撤水しこれを150cc容三角フラスコに採り30分蒸気殺菌を行い, 次で豫め試験管に培養した變異菌株を接種し30°Cにて48時間(3日麴)培養した. 次で出麴5gを採つて良く磨碎後水を加えて50ccとし室温にてトルオール添加の下に17時間浸出せしめ濾過して10%酵素液とした。

2. 蛋白分解力測定. 1%カゼイン液(乳製)70ccに上述の10%酵素液20cc, Mc ILVAINE 緩衝液10cc (pH6.0)を添加40°Cに4時間作用せしめ後之を折半してフォルモール法によりアミノ態窒素を測定し, 酵素液10cc(麴1gに相當)により生じたアミノ態窒素を計算し原株のそれと比較した。

3. 澱粉糖化力測定 3%可溶性澱粉液(Merck製)10ccに10%酵素液1ccと緩衝液2cc(pH4.8)を合して55°Cに2時間糖化せしめ, 生成された直接還元糖をベルトラン氏法にて定量し原株の糖量と比較し, 又澱粉の糖化率を検討した. これらの結果は第5表の如くである。

第5表

菌 號	澱粉糖化力		蛋白分解力	
	澱粉の糖化率(%)	原株の直糖を100とした比較値	アミノ窒素量(mg)	原株が生成したアミノ窒素を100とした比較値
514	64.2	104.5	0.0199	96.6
268	62.5	98.7	0.0208	100.9
51	60.5	98.4	0.0211	102.4
39	60.5	98.4	0.0208	100.9
41	66.2	107.6	0.0192	90.6
24	60.5	98.4	0.0210	101.9
86	66.2	107.7	0.0206	100.0
193	63.3	103.0	0.0208	100.9
95	63.3	103.0	0.0205	99.5
770	30.2	49.2	0.0089	40.2
122	60.5	98.4	0.0197	95.6

364	64.2	104.6	0.0206	100.0
328	57.7	93.9	0.0208	100.9
142	60.5	98.4	0.0206	100.0
249	66.2	107.7	0.0193	90.6
8	71.9	116.9	0.0208	100.9
62	60.5	98.4	0.0202	98.1
352	62.5	101.5	0.0212	102.9
18	60.5	98.4	0.0216	104.9
原株	61.5	100.0	0.0206	100.0

即ち第5表の示す如く770号菌を除いては澱粉糖化力並に蛋白分解力共に原株のそれと殆んど差がなかつた。

実験其の5. 51号菌による米味噌試醸試験

前実験で得られた菌株中フラビン生産強く且つ味噌麴として適當と思われる51号菌を用いて實際に米味噌の試醸を行った。

仕込年月日：昭和27年1月22日。

A. 原料及び原料配合割合。

51号菌及び對照菌(H1菌)共次の割合で行つた。

白米, 7kg, 大豆, 6.5kg, 食鹽(比島鹽), 2.0kg。

B. 原料處理

イ. 米處理 (14kg). 浸漬：室温10~2°C, 水温11~4°C, 16時間, 水切1時間, 浸漬重量, 18.1kg。

蒸餾：蒸餾1時間, 蒸餾重量, 15.2kg。

これを二等分して試験菌及び對照菌の麴を作つた。

出麴重量：51号菌, 8.1kg, 對照菌, 8.3kg。

第6表 米麴製麴經過表

操 作	年 月 日	操 作 時 刻	品 温	室 温	濕 球	備 考
引 込	27, 1, 19	後 2.00	29.5	25.0	24.0	
		床 揉	10.00	28.0	23.0	
一 番 手 入	20	前 8.00	42.0	20.0	19.0	
		後 1.00	30.0	21.0	20.0	
		3.00	28.0	20.0	19.0	
		5.00	{30.0 28.0}	28.0	27.0	
		10.00	{37.0 36.0}	33.0	32.0	
出 麴	21	前 8.00	{35.0 30.0}	23.0	22.0	
		後 8.00	{22.0 20.0}	16.0	15.0	

(但し上段51号菌, 下段對照菌の品温)

ロ. 大豆處理 (13kg), 浸漬：50°Cの温湯にて1時間浸漬, 浸漬重量, 22.3kg。

蒸煮：5封度にて1時間40分, 蒸煮重量, 24.4kg。

これを二等分して試験菌及び對照菌を麴を作つた。

(368)

(茂木, 中島, 井口) 強化味噌の研究 (第2報)

出麴重量: 51號菌, 10kg, 對照菌, 10.3kg.

第7表 大豆麴製麴經過表

操 作	年 月 日	時 刻	品 温	室 温	湿 球	備 考
盛 込	21, 1, 20	後 3.00	33.0	28.0	27.0	
		5.00	30.0	33.0	32.0	
		10.00	24.0	23.0	22.0	
	21	前 8.00	20.0	16.0	15.0	
		10.00	26.0	32.0	31.0	
		後 1.00	35.0	29.0	28.0	
	22	前 3.00	36.0	29.0	28.0	
		6.00	34.0	25.0	25.0	
		8.00		8.0		

(但し製麴經過は51號菌, 對照菌とも同じであつた.)

ハ. 食鹽: 混鹽日數1日.

C. 仕込方法

大豆麴に温湯(51號菌麴3立, 對照菌麴2.7立)を添加1時間放置して吸水せしめ鹽切麴と良く混合し, 搗碎仕込を行つた. 搗碎は何れも容易であつた. 尙仕込の際に於ける麴のフラビン含量は第8表の如し(100g中r).

即ち第8表で明らかな如く51號菌は對照菌に比してビタミン B₂ 含量は米麴に於て約3倍, 大豆麴に於て約2倍強であつた. 次でこの51號菌を使用して米味噌の試醸を行つたその分析結果は第9表の如くである.

第8表 麴の水分及びフラビン含量

	米 麴		大 豆 麴	
	51號菌	對照菌	51號菌	對照菌
水分(%)	27.337	27.895	49.764	49.168
B ₂	416	168	980	420

第9表 米味噌分析結果(%) (40~50°C)

菌 株 別	51 號 菌 使 用			對 照 菌 使 用		
	仕 込 直 後	熟 成 3 日	熟 成 7 日	仕 込 直 後	熟 成 3 日	熟 成 7 日
熟成期間						
成 分						
水 分	40.795	46.903	47.785	43.925	46.161	47.573
粗 蛋 白 質	13.693	14.959	13.914	15.136	15.236	13.859
粗 脂 肪	2.754	2.717	2.702	2.833	2.717	2.628
糖 分	13.395	21.222	20.972	12.605	21.695	20.972
澱 粉	14.679	2.808	5.316	12.876	3.774	4.816
食 鹽	9.180	8.160	8.160	8.160	7.854	7.956
アミノ窒素	0.017	0.266	0.434	0.014	0.266	0.434
總 酸	0.990	1.620	1.620	0.990	1.620	1.620
灰 分	1.402	1.374	1.303	1.440	1.443	1.522
粗 纖 維	2.042	2.121	2.029	1.982	1.990	2.002
エキス分	35.290	38.810	38.720	33.070	37.480	37.275
水に不溶解分	22.000	16.000	15.500	22.000	17.000	16.000

色	ロチダ	赤	2.3	3.0	3.4	2.3	3.0	3.4
	ボト	黄	2.7	3.6	3.8	2.7	3.6	3.8
	ンド1	青	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74
澤	Ridgway	Tawnyolive	Tawnyolive (濃)	同 左	Tawnyolive	Tawnyolive (濃)	同 左	
播 碎 度	2.0mm	7.5	1.0	trace	7.5	0.5	trace	
	1.0	4.0	1.5	1.5	4.0	1.5	1.5	
	0.5	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.5	
	合計	12.50	3.5	2.5	12.5	3.0	2.5	
鑑 評			香味色澤良好, 少し軟い感じ 品温 35°C	香味色澤良好 品温 32°C		香味色澤良好, 少し軟い 品温 35°C	香味色澤良好 品温 32°C	
B ₂ (100g中γ)		812		790	390		380	

即ち米味噌の試験結果51號菌使用のものは原株使用のものに比してビタミン B₂ 含量は熟成7日(製品)に於て約2倍強の結果を示した。又一般味噌麹菌によつた米味噌に比せば第1報の結果からしても、約6倍以上のビタミン B₂ を強化した事になる。

摘 要

1. 第1報に於て選出したフラビン生産の強い味噌麹菌に紫外線を照射し743の變異株を分離し之を13の變異タイプに分類した。
2. これら變異菌株をベツファー氏液に培養しフラビンの生産強きもの19株を選出した。
3. この19株を使用して大豆麴及び米麴を作りフラビンを定量した。フラビン生産は大豆麴では其の4株が原株の約3倍、米麴では其の3株が約2倍に増加し其の他のものも原株に比して増加していた。
4. この19株の酵素力を検討して見た處770號菌を除いては澱粉糖化力並に蛋白分解力共原株との差は殆んどなかつた。
5. これら19株の變異株中味噌麴として最適で且つフラビン生産強き51號菌により米味噌の試験を行い、原株使用の味噌と比較した處、フラビンの生産は原株使用のものに比し約2倍強に増加し製品の品質に於ても殆んど優劣はなかつた。

終りに臨み本試験に際し實驗の一部に御助力を願つた本所員吉田文彦、菅谷貞雄兩君に感謝する。尙本研究費の一部は昭和26年度文部省科學試験研究費によつたことを附記し併せて強化食品委員長柳金太郎博士の御援助に對し感謝する。

尙本報の大要は昭和27年5月8日の京大醫學部に於ける第6回營養食糧學會で講演した。

文 献

- 1) 茂木, 中島, 井口, 吉田: 本誌, 29, 302 (1951).
- 2) 松山: 本誌, 19, 235 (1941).
- 3) 中澤, 霜: 農化, 14, 845 (1938).
- 4) LOCKWOOD: Amer. J. Bot., 32, 214 (1945).
- 5) 堀井, 寺田, 渡邊: 醸協誌, 8, 9 (1950).
- 6) 小田, 高田: 大阪醸造學會第3回講演會, 26, 10, 6, 於大阪大學.
- 7) 井口: 農化, 23, 16, 357 (1949), 24, 283 (1950), 25, 81 (1951).
- 8) 金子, 坂口, 木原: 本誌, 26, 369 (1947), 27, 156 (1949).
- 9) 有馬: J. Antibiotics, 3-6, 347 (1950).
- 10) 藤田: ビタミン研究, 8號, 24頁.