

う事が出来る。

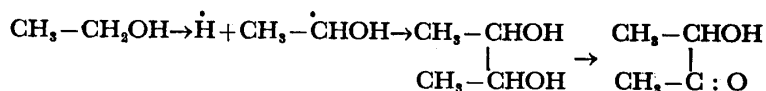
Fig. 2 Mechanism of acetoin production

更にアルコール溶液単独の場合でも γ 線照射に依つて Acetoin が生成しており、此の生成経過としてはアルコールから Aldehyde が生成して Acyloin 縮合をおこす場合と、同一物質でも複雑な分解再合

Acyloin condensation



Radical reaction



成等が放射線化学で認められており、一般に γ 線照射を行つた場合は Free radical の生成が認められているのでアルコールから Acetoin の生成の場合には Radical 反応も考えられる。

以上 Acetoin の生成機構を総括すると第2図の如く清酒中の Acetaldehyde 及びアミノ酸、有機酸、糖等が分解されて生ずる Aldehyde の Acyloin 縮合によるものと Radical 反応として例えばアルコールの場合は CH_3-CH_2OH の α の位置の CH が $-OH$ の極性効果から切れて H radical が生成しその $CH_3\dot{C}H \cdot OH$ radical が重合して 2,3-Butyleneglycole となり水から OH radical と H radical の作用で酸化され Acetoin となる機構等が推定される。

総 括

殺菌の目的で γ 線照射を行つた清酒中に生成する照射臭の一因となると考えられる Mercaptan 及び Acetoin の生成機構について考察を行つた。

清酒中に含有されている主要なアミノ酸、有機酸及び Aldehyde を個々に又混合して γ 線照射を行い生成する Mercaptan, Acetoin の測定を行つた。その結果 Mercaptan は含硫黄アミノ酸の分解により、Acetoin は Aldehyde, アミノ酸及びアルコール等から分解により生成した Aldehyde の Acyloin 縮合か、又は複雑な Radical 反応により生成するものと結論される。尚これら Mercaptan, Acetoin が更に反応して複雑な化合物を生成しそれが照射臭の一因となることが考えられる。

終りに本研究に協力された石上有造、岡島三恵子両君に感謝します。本研究は昭和33年度文部省科学研究費により行つた。尚本報告は昭和34年農芸化学会シンポジウムにて発表した。

文 献

- 1) 寺本, 田口等: 本誌, **36**, 519 (1958).
- 2) 寺本, 田口等: 本誌, **36**, 169 (1958).
- 3) 寺本, 田口等: 本誌, **37**, 103 (1959).
- 4) 田村等: 日農化, **26**, 480 (1952).
- 5) 上田: 未発表.
- 6) HOORMAN, M.: Anal. Chem. Acta, **3**, 606 (1949).
- 7) SLIWINSKI, R.A.: J. Agr. Food. Chem. **6**, 41 (1958).
- 8) BATZER, O.F.: J. Agr. Food. Chem. **3**, 64 (1955).
- 9) 松島: 大有機化学, **3**, 15 (1958).

(昭和 34, 4, 21 受理)

納豆に関する研究 (第1報) 低温納豆菌株の検索とその性状

林 右 市 (大阪市立衛生研究所)

緒 言

現今一般に納豆と呼ばれる糸引納豆は我国固有の食品で、その食品価値の優秀なことは今さら述べるまでもない。微生物利用食品として見るも西洋のチーズやヨーグルトに比肩すべきもので、納豆に含まれる酵素力を考慮に入れるとその優れた点はむしろチーズやヨーグルトをしのぐものと考えられる。

納豆が科学的研究の対照として取り扱われたのは明治27年矢部規矩治氏¹⁾の細菌学的研究に始まり、以来納豆生成菌に関する研究^{2,3)}、製法⁴⁻¹⁰⁾、製品の品質及び納豆菌の利用に関する研究¹¹⁻¹⁵⁾など報告はすこぶる多い。しかし従来取り扱われてきた納豆菌はいずれも40°Cあるいはそれ以上を適温とするもので、いわゆる糸引納豆の生成には40°C内外の温度を要し37~35°C以下では納豆粘質物を生成しない¹⁶⁾とされている。しかも良好な糸引納豆の製造は至つて困難なもので、失敗を重ねやすいものとされ、中島氏¹⁷⁾も「純粋培養の納豆菌を購入しその記述を参照して製造を試みた場合、失敗を招く方が当然と思うに至つた」と述べている。その製造条件もすこぶる複

雑多岐にわたるものとされているが、その限界についてはいずれもばくぜんとして明確を欠いており、発酵室の温度や湿度に関しても報告者によつて一致しないように見受ける。著者も失敗を重ねた一人であるが、失敗を重ねるたびにその温度条件などにさえも疑問をもつようになった。すなわち従来製造適温とされておる温度は高きに過ぎ、製造困難の一因はあまりにもこの製造温度にこだわり過ぎることにあるやに考えるに至つた。納豆と同様に発酵工程を伴う麴の製造などではほとんど失敗を見ない。もちろん細菌とかびとの相異があるも、麴の場合の発酵室温は25~30°Cである。このような点からも発酵室温と製造の難易と密接な関連性があるように考える。他面経済上も保温熱源や管理などの点から、発酵室温を従来よりも低下し得れば好都合である。また従来納豆が食味や消化の点からその価値が認められおるにもかかわらず、家庭においての製造利用の普及しないことは、小規模の製造に適する納豆菌株の無いことと、その製造室温を40~45°Cの高温度にしかも一定に保つことの困難なためと考える。もし現在より簡易に優良品がつけられるようになれば国民の栄養向上に益するところも至大なものがあろう。

さらに納豆の栄養価値に関しても一般にすこぶる優良なものを見なされているが、この根拠をなす報告はほとんど見当らない。大豆成分が納豆化する際の変化に関しては、すでに報告されておるとおり栄養的に有利に変化しておると考えて誤りない。しかし製造条件と大豆成分の変化に関してはなんら研究が行われていない。したがつて納豆の栄養価値の判定も既報の結果からの推定によるものが主である。生物学的結果については田所氏¹⁹⁾の白鼠の成長試験が直接納豆の栄養を対象としたものでは唯一のもののように見受けられる。

これらに関し中島氏¹⁹⁾は「従来の優良な糸引納豆とは香気高く、よく糸を引く納豆の意で、納豆の品質とその成分との間にはなんら直接的な関係がなく、したがつてこの点の研究を必要としなかつたことによるものならん」としている。

さらに納豆菌の酵素作用については驚異的なものがある。これを大豆蛋白質の分解上から見ても、味噌や醤油ではその熟成に少くとも10日内外から、ときには1~2年の長期間を要するも、納豆では1~2日の短時間で蛋白質の大部分が分解される。このように微生物による分解作用が短期間内に行われることは、それだけその間における消耗が少いことになる。

本研究は上述のような観点から企画したものである。その一は従来よりも低温度すなわち30°C内外で従来の納豆とはほぼ同等な製品の製造可能な納豆菌株の検索を行い、ここに得た納豆菌株についてその製造条件を確立すると同時に、従来の製造困難の原因を明かにすることである。その二はここに得た納豆の栄養的価値を明かにすると共に、大豆を納豆として利用することの適否をも検討することである。

実 験

I 納豆菌株の検索

納豆菌の分離にはなるべく低温度で香味や糸引の優良な納豆を生成し、かつ従来の製品よりもアミノ酸の生成割合が多く、アンモニア生成量の少いことを目標とした。分離原として大阪市内で市販の納豆3種、水稲わら及び別途食品の腐敗防止に関する実験中、雑穀混入米飯や煮豆並びに蒸干芋、菓子あん類に自然に発生した粘質物を用いた。分離方法は常法により普通寒天培養基を用い32°Cで24~48時間、平板と斜面による培養をくりかえし、おおむね異株かつ有望と認められるもの26株を得た。これらを2 kg 圧下で煮沸した大豆に接種し、32°Cに24時間培養後再び平板寒天培養基上32°Cで48時間分離培養後、さらに斜面寒天培養基上32°Cで48時間培養した。これを分離した納豆菌株として2 kg 圧下で煮沸した大豆に接種し、32°Cと42°Cの定温器（飽和に近い湿度状態）中にそれぞれ24時間静置して納豆を製した。製品は室温に取り出して2時間後その性状を検し、ついで全窒素とアミノ酸窒素及びアンモニアの定量を行つた。糸引の程度は納豆粘質物をガラス棒につけて引きのばしたときの粘糸の長さをもつて区別し、+は30cm長を、++は60cmを、+記号右肩の(°)、(′)はそれぞれ15cmの増減を示すものとした。香味は感覚により優、良、可、不可に大別し、判定には関西納豆組合佐藤理事長の助力を得た。全窒素とアンモニアは検体を乳ばちで粉砕後、その一定量について測定し、アミノ酸窒素は水溶液の濾液についてバンスライクのアミノ酸定量器によつて求めた。その結果の主なものを示すと次のとおりであつた（第1表）。

下表のとおり製品の官能的判定上、いわゆる現在の糸引納豆の製造に使用し得る納豆菌株は、No. 3, No. 4, No. 11, No. 12の4株で、その内No. 4は32°Cでは著しく納豆粘質物の生成が不良ゆえ、純然たる従来の菌株に属するものと認められる。32°Cで納豆生成能を有するものはNo. 3, No. 11, No. 12の3株である。アミノ酸の

第1表 分離した主な納豆菌株の納豆生成能

納豆菌株	発酵室温 °C	納豆の 香 味	納豆の 糸引度	納豆の 乾物量 %	納豆の 全N量 (乾物中) %	納豆のアミ ノ 酸 態 N		納豆のアン モニア態N	
						乾特中 mg%	全N 100分中	乾物中 mg%	全N 100分中
No. 1	32	可	+	38.47	7.51	1731	23.05	1048	13.95
	42	//	++'	33.51	7.62	1764	23.15	785	10.30
No. 2	32	//	0	37.54	7.72	1380	17.87	1268	16.42
	42	//	++°	37.34	7.51	1725	22.97	1079	14.37
No. 3	32	良	+++	35.22	7.83	2311	29.51	1342	17.14
	42	優	+++°	35.00	7.91	1840	23.26	1031	13.03
No. 4	32	//	+'	38.40	7.88	1927	24.45	1057	13.41
	42	//	+++	36.90	7.94	2238	28.19	783	9.86
No. 5	32	可	+	37.50	7.27	1973	27.14	1205	16.57
	42	良	+	36.83	7.49	2172	29.00	980	13.08
No. 6	32	//	0	39.41	7.66	2065	26.96	1030	13.45
	42	//	+'	39.20	7.87	2258	28.69	1028	13.06
No. 11	32	//	+++	37.66	7.40	2143	28.96	231	3.12
	42	//	+++	37.28	7.50	2065	27.53	314	4.19
No. 12	32	//	+++	37.80	7.45	1534	20.59	390	5.23
	42	//	+++	37.60	7.62	1350	17.72	255	3.35
No. 19	32	//	++	37.96	7.50	1846	24.61	274	3.65
	42	//	++	37.92	7.78	1690	21.72	417	5.36
No. 20	32	//	±	39.81	7.63	1316	17.25	176	2.31
	42	//	±	36.99	8.25	2242	27.16	354	4.29
No. 21	32	//	+	39.88	7.72	705	9.13	308	3.99
	42	//	++	39.56	7.70	1105	14.35	331	4.30
蒸煮大豆	—	—	—	39.61	7.55	479	6.78	126	1.67
市販納豆	43~45	良	(+++)	42.80	7.23	1743	24.11	528	7.30

- 備考 1. 発酵時間は各24時間とす。
 2. 各3回の実験の平均値を示すものとす。
 3. 市販品は室出1日後の製品についての結果である。

生成能はNo. 3が最も強く、No. 11はやや劣り、No. 12はかなり低い。アンモニア量はやはりNo. 3が最高で全窒素量の17%に達したが、No. 11とNo. 12では、はるかに少く3~5%であつた。

Ⅰ カゼイン消化力の比較

前実験で分離した納豆菌株について、カゼインに対する消化力を比較した。実験方法は半沢、佐々木氏法²²⁾に従い脱脂牛乳添加寒天培養基を調製し、あらかじめ普通寒天斜面培養基上に培養した納豆菌1白金耳を100 ccの滅菌水に懸濁したもの1滴を加え、32°C及び42°Cの定温器中に静置し、カゼインの溶解度を測定した。その結果は次のとおりであつた(第2表)。

すなわちカゼインの消化力はNo. 11とNo. 12の両株が最も強いことが認められた。しかもこの両株は32°Cと42°Cとで温度差による消化力の差異がほとんどなく、100時間ころから32°Cの方がやや大きくなる傾向があつた。

(236)

(林) 納豆に関する研究(第1報)

第2表 分離した主な納豆菌株のカゼイン消化力

納豆菌株	作用温度 °C	24時間 mm	48時間 mm	72時間 mm	96時間 mm	120時間 mm	144時間 mm
No. 3	32	3.5	11	15	19	22	25
No. 4	32	5	11	15	20	23	26
No. 5	32	6	13	17	22	26	28
No. 11	32	7	15	20	24	28	30
	42	9	15	21	24	27	28
No. 12	32	8	15	20	24	27	30
	42	9	16	21	24	27	29
No. 13	32	7	13	19	23	27	29
	42	8	15	19	22	24	27
No. 15	32	7	15	19	23	27	29
	42	9	14	20	24	26	28
No. 17	32	7	14	19	23	27	29
	42	8	14	18	21	23	26
No. 18	32	7	14	18	22	26	28
No. 19	32	5	13	18	22	26	29
No. 21	32	7	15	20	23	28	29
No. 22	32	6	13	—	18	—	26
No. 23	32	6	13	—	18	—	26
市販菌 (村松菌) の1株	32	4	10	15	19	—	—
	42	7	13	17	19	—	—

■ でん粉糖化力の比較

抽出法による大豆粕5%浸出液を用い、32°Cで48時間培養後遠心器で納豆菌体を分離した液10ccを、2%可溶性でん粉液50cc (pH 5) に加え、40°Cで30分間保温後N/5水酸化ソーダ液10ccを加え、フェーリング液1ccに対する所要量を求め、別にぶどう糖標準液から生成糖量を算出した。その結果は次のとおりであつた(第3表)。

でん粉の糖化力はNo. 3株が最大で、No. 12株が最小であつた。その他はNo. 3株の約60%程度では市販菌株の糖化力と等程度であつた。

IV No. 11菌株の納豆生成時の発酵室温と発酵時間の限界

前実験で分離した納豆菌26株中No. 11株が最も本研究での選抜目標に近いことが認められたので、これについて納豆生成に要する発酵室温と発酵時間の限界を求めた。供試大豆はおもに昭和19年から20年にかけて入手した満州大豆である。大豆の品質はあまり良好でなく納豆用

第3表 分離した主な納豆菌株のでん粉糖化力

納豆菌株	フェーリング液 1ccに対する作用 でん粉液の所要量 cc	転化糖量 ぶどう糖として mg	同前の比較 (No. 3の糖 化力を100 として)
No. 3	8	37	100
No. 4	15	20	53
No. 5	16	19	50
No. 11	15	20	53
No. 12	17	18	47
No. 13	10	30	80
No. 15	14	21	57
No. 17~1	13	23	62
No. 17~2	11	27	72
No. 18	12	25	67
No. 19	15	20	53
No. 20	11	27	72
No. 21	14	21	57
No. 22	15	20	53
No. 23	14	21	57
市販菌(村松菌) の1株	14	21	57

には不適品で、国内産の新大豆にくらべて糸引度なども劣つたものを得た。しかし適品の入手が困難なため、やむを得ず使用したもので、23年末から漸く国内産の新大豆を少量づつ入手し得るようになったのでこれを併用した。したがって特に示さないかぎり満州大豆による実験結果である。供試大豆はあらかじめ色沢、粒状の出来るだけ等一のものを選別した。この10gを精量し水洗後4倍量の水を加えて32°Cの定温器中で10時間浸漬した。次いで浸漬大豆を漏斗上に移し浸液を分ち、さらに浸漬液と同量の水で洗浄し30分間放置して水切り後、100 ccの三角フラスコに移し緯栓を付し加圧蒸煮を行つた。蒸煮の程度はオートクレーブの蒸気圧が2 kgに達したとき加熱をとどめ、自然放冷で常圧に復した後蒸煮大豆をとり出した(約70分間を要した)。次いで納豆菌液0.1cc (斜面寒天培養菌1白金耳を100 ccの滅菌水に懸濁した液)を加え、ほぼ飽和に近い湿度の定温器中に静置した。一定時間後に取り出した納豆は2時間室温で放冷した後直に実験に供した。その結果は次のとおりであつた(第4表)。

No. 11株による納豆製造の際の発酵室温の範囲は27~47°C間で、25°Cまたは52°Cでは粘質物やアミノ酸の生成量が少く、香味も劣るものを得た。しかし27°Cでは古大豆などを用いた場合、糸引の不良なものを得たこともあり、製造上やや不安定であつた。ゆえに実用上の「製造限界室温」はまず32~42°C間にあるものと認められる。この間では室温の高いほどアンモニアの生成量増加の傾向があつたが、アミノ酸量には大した変動がなかつた。発酵状態は経過時間と共に進行するは述べるまでもないが、20~25時間で糸引度を増し、アンモニアとアミノ酸も急激な増加が見られた。香味は30~35時間に至ると、いわゆる過熟臭を生じ、著しく香味を低下することを認めた。

第4表 No. 11菌株の発酵室温及び発酵時間と納豆の品質

発酵 室温 °C	発酵 時間 時	納豆の 糸引度	納豆の 乾物量 %	納豆の 全N量 (乾物中) %	納豆のア ミノ酸N (乾物中) mg%	納豆のア ンモニア N (乾物中) mg%	備 考
50	15	++	40.95	7.23	472	43	被膜ほとんどなし。香味可
	20	+++	41.93	7.77	326	125	同上
	25	+'	40.23	7.68	784	130	煮豆臭有香味可
	30	+	41.58	7.41	426	186	〃
	35	0	42.84	7.23	320	246	〃
47	15	+++	38.42	7.46	752	178	被膜僅微
	20	+++	40.75	7.86	1276	451	香味可
	25	++	42.00	7.71	1655	767	香味良
	30	+°	42.67	7.89	1687	635	香味可
	40	+°	39.45	7.95	1926	1351	〃
	45	+°	40.41	7.75	2400	1475	〃
42	15	+++°	36.83	7.65	570	310	〃
	20	+++°	38.63	7.68	852	329	香味良
	25	+++	38.69	7.66	1147	470	微過熟臭*
	30	+++	38.76	7.40	1672	608	稍過熟臭
	35	+++	37.69	7.27	1751	669	著過熟臭
	40	+++	43.12	7.15	1783	659	〃
	45	+++	41.32	7.70	1849	830	〃
37	15	++	37.52	7.43	373	209	香味良
	20	++	37.96	7.68	555	199	〃
	25	+++	38.99	7.72	1654	455	〃
	30	+++	38.24	7.80	1734	536	〃
	35	+++	36.32	7.77	1780	739	過熟臭
	40	+++	36.38	7.80	1775	712	〃
	45	+++	36.88	7.75	2163	798	〃
	65	++	35.66	7.95	1867	933	〃

(238)

(林) 納豆に関する研究 (第1報)

32	15	++	41.59	6.73	865	277	微納豆香氣
	20	++	41.24	7.13	1220	383	香味可
	25	++	39.54	6.73	1650	327	香味良
	30	+++	38.91	7.63	1560	442	//, 甘味増加
	35	+++	38.50	7.41	1695	508	//
	40	++	40.63	7.42	2240	284	被膜老化**
	45	++	41.40	7.68	2242	487	//
	60	++	39.31	9.61	2490	916	過熟臭有
27	20	++	36.88	7.29	913	227	国内産新大豆製品 香味良
	25	++	35.76	7.43	1307	391	
	30	++	35.94	7.59	1370	389	
25	20	+	35.48	7.50	371	118	国内産新大豆製品 香味可
	25	+	34.55	8.51	485	81	
	30	+	34.56	8.10	499	162	

* 納豆が古くなると不快でない焦げ臭類似の香氣を伴うに至る。これを過熟臭と呼んだ。

** 納豆粘質物に固有の白粉状態が失われ褐橙色湿润状態化したことを示すものとす。

V 大豆の仕込量と納豆の品質

前実験はいずれも 10g 内外の大豆を用いたものゆえ、発酵中に納豆の自己発熱によつて品温が、発酵室温より著しく高くなることは、ほとんどないものと考えられる。しかし製造量の多い場合には発酵熱による品温の上昇は当然おこり得ることである。したがつてこの場合発酵状態に影響を及ぼすことは明かである。よつてこの間の事情の一端を知るため次の実験を行つた。すなわち大豆300gを前実験同様に処理した後、縦20cm、横15cm、深さ6cmのすぎ板製木箱に入れ木ぶたを付して、32°Cの定温器に入れて納豆を製してその品質を検し次の結果を得た(第5表)。

第5表 大豆の仕込量と発酵時間

大豆の仕込量 g	発酵室の温度 °C	発酵時間 時	納豆の糸引度	納豆の乾物量 %	納豆の全N量 (乾物中) %	納豆のアミノ酸N量 (乾物中) mg%	納豆のアミノ酸N量 (乾物中) mg%	発酵容器
10	32	24	++	41.24	7.13	1220	383	100cc三角フラスコ綿せん付
300	32	19	++	39.10	7.41	1500	231	15×20×6cmふた付木箱

すなわち発酵室温が同一の場合でも、大豆の仕込量の多いものは少いものよりも発酵が早く進行し、仕込量300gを用いた19時間製品は、10gを用いた24時間発酵による製品にはほぼ近い品質のものとなつた。

VI 納豆菌 No. 11株の性状

前実験で No. 11株が納豆の製造に利用可能なことがほぼ明らかになつたので、本菌株の性状を検し次の結果を得た。

(1) 形態

10%全粒大豆浸出液を用い、32°Cで20時間培養した菌体の性状は次のようであつた。

菌の形状 両端おおむね鈍円な長かん状で、2個または数個連続し糸状を呈す。大きき2.8~3.6×0.7μである。

孢子 細胞の端部に形成し、だ円形で大きき1.7~2.1×1.0μである。

べん毛 周毛 おおむね8~16本 グラム染色法 陽性である。

(2) 培養基上における発育状態

普通寒天へん平培養

集落の発育は現在の市販菌株及びその他の菌株に比べやや不良である。32°C、48時間の発育は従来の菌株及び

本研究で得た No. 3 株の 32°C, 24 時間発育のものとはほぼ等程度で, その集落はへん平類円形で灰白色または極微帯黄白色粉状, 無光沢, 乾燥状を呈す。周辺裂開状, 鈍歯状で中心核はほとんど認めがたい程度に存在する。基は微納豆臭を有した。

普通寒天斜面培養

32°C, 48 時間で菌たいは灰白色, へん平, 乾燥状, 周辺鈍きよ歯状, 凝結水は清澄で灰白色の被膜を生じ, 管壁を上昇する。沈でん物を生ずる。

普通寒天せん刺培養

32°C, 48 時間で上面に灰白色小しわ状, 乾燥性の菌たいを生ずるも, せん刺線に沿う発育きわめて微弱で, 10 日間に至るも発育はほとんど進行しない。

全粒大豆浸出液

32°C, 15 時間で液面に灰白色の被膜を生じ, 被膜が管壁を上昇し液はほとんど透明である。

牛乳

32°C, 48 時間で凝固するも, 凝固物は No. 12 株及び市販の従来株と差異を認めない。7 日間で凝固物の大部分を溶解す。不溶物は透明な溶解液の中間層に浮遊する (No. 12 株と従来株の不溶物は沈下した)。

馬鈴しよ培養基

32°C, 24 時間で発育中程度, 灰白色肥厚性のしわを生ずる (中央部は帯黄灰色)。10 日間で帯黄白色粘性しわ状となる。凝結水はやや混濁し沈でん物を有した。42°C においては凝結水は透明で沈でん物を有した。基は変色しない。

(3) 生理的性質

インドールの形成

0.1%トリプトファン添加 1%ペプトン水で 37°C, 5 日間に至るも陰性であつた。

硫化水素の生成

pH 7 の 1%ペプトン水で, 37°C, 5 日間で極微陽性の反応が認められた。

アンモニアの生成

5%全粒大豆浸出液で 37°C, 40 時間で微陽性であつた。

色素の還元性

メチレン青添加大豆浸出液で 37°C, 48 時間で色素の還元が認められた。

ガス生成

ぶどう糖添加寒天高層培養基で, 37°C, 7 日間に至るも外見上陰性であつた (この項は別の実験で詳しく検討の予定である)。

死滅温度

ペプトン水を用いた際の死滅温度は次のとおりであつた (第 6 表)。

糖類の分解

BARSIKOW 変法培養基 37°C での分解は次のとおりであつた (第 7 表)。

ゼラチンの液化

柱高 50 mm の 20%ゼラチン添加肉じゅう培養基を用い 32°C で培養した際, これを属状に液化し, 24 時間で約 1/3 を, 72 時間

第 6 表 納豆菌 (11 号株) の死滅温度と死滅時間

加熱時間	1 時間			2 時間		
培養基の pH	6	7	8	6	7	8
90°C	+	+	+	+	+	+
100°C	+	+	+	—	—	—

第 7 表 納豆菌 (No. 11 株) の糖類の分解能

培養時間 時	24	48	72	96
でん粉	—	±	+	+
グリセリン	—	±'	±	+
キシロース	—	±'	±	+
乳糖	—	—	±'	+

第 8 表 納豆菌 (No. 11 株) に対する酸, アルカリなどの生育濃度

供試薬剤	発育可能な 濃度 %	発育不能な 濃度 %
塩酸	0.035	0.04
硫酸	0.05	0.07
りん酸	0.05	0.07
硝酸	0.05	0.07
酢酸	0.06	0.07
石炭酸	0.07	0.10
水酸化ナトリウム	0.01	0.02
アンモニア水	0.05	0.06
エチールアルコール	4.00	5.00
りん酸ソーダ (I)	0.10	0.20
りん酸アンモニア	0.10	0.20
酒石酸カリ	0.20	0.30
塩化カリ	0.20	0.30
食塩	5.50	6.00

で完全に液化したが、pH 8 では pH 6～7 の場合よりやや劣つた。

酸、アルカリ、塩類及びその他の影響

5 %全粒大豆浸出液を用い37°C, 72時間の影響は次のとおりであつた(第8表)。

発育可能な酸類の濃度は塩酸で0.04%, その他の酸類はおおむね0.05%程度であつた。水酸化ソーダでは0.01 %, アルコールで4 %, アルカリ塩類は0.1～0.2%程度で、食塩は6 %以内であつた。

考 察

納豆製造の際の発酵室の温度を従来行われているよりも低下する目的で、室温30°Cを目標として製造可能な納豆菌の分離を企て、ほぼ所期の目標に近い一菌株を得た。製品の成分上からは従来よりも幾分でもアミノ酸量が多く、アンモニア量の少いことを目標とした。

従来の報告でのアンモニア量²³⁾は納豆の全窒素 100 分中 2～5 となつておる。この数値を納豆乾物中の含量に換算すると、150～400mg %位となる。従来の納豆は40°C内外の室温で製造するものであり、かつ現在の市販品の分析結果などから見て上記のアンモニア量は少な過ぎるようである。これは納豆を一たん乾燥処理したもののついでの実験結果で、乾燥の前後に組成上ある程度の変動を伴つたように推察される。もちろん蛋白質などの分解の程度などは製造工程中の条件によつて異なるものと考えられるので、この点はなお検討を要する。

半沢、佐々木氏法によるカゼインの分解力は No. 11 と No. 12 の 2 菌株が最強で、対照として用いた市販菌株ではかなり低く、特に32°Cでは温度低下による影響が著しかつた。納豆菌について半沢、佐々木氏法によつてカゼインの分解力を測定した結果は少いが、斉藤氏²⁴⁾の行つた北大菌株についての結果と、本実験での結果と比較すると次のとおりである(第9表)。

第9表 北大の納豆菌株のカゼイン消化力との比較

納豆菌株	北大株	No. 11株		No. 12株		村松菌の1株	
作用温度 °C	40	32	42	32	42	32	42
1日後 mm	8～10	7	9	8	9	4	7
2 " "	14～16	15	15	15	16	10	13
3 " "	16～18	20	21	20	21	15	17
4 " "	20～23	24	24	24	24	19	19
5 " "	22～24	28	27	27	27	—	—
6 " "	25	30	28	30	29	—	—
7 " "	26	—	—	—	—	—	—
8 " "	27	—	—	—	—	—	—
9 " "	31	—	—	—	—	—	—
10 " "	31	—	—	—	—	—	—

初めの2日間は北大菌株の方が本実験での No. 11 及び No. 12 の両株よりやや高い分解力を示している。これは接種菌量の差異による結果と考えられる。同一菌株の場合でも接種菌量の多少でかなり差異の生ずることを本実験でも認めた。本実験での菌量は、1白金耳を100 ccの滅菌水に懸濁したもの1滴を用いたが、斉藤氏の場合は1白金耳の菌量を直接培養基上に接種されたもので、このため納豆菌の発育が急速に行われた結果と判断される。3日以後においては No. 11 株も No. 12 株も発育が斉藤氏の場合と同様な状態に達したた

め北大株以上の結果を示すに至つたものと思われる。厳密な意味での比較はすべて同一の条件下で行わないかぎり困難であるが、本実験で得た No. 11 株と No. 12 株の牛乳カゼインに対する分解力は少くとも北大株と同等以上の性能を有するものと考えられる。

上述のとおり本実験で分離した納豆菌株中 No. 11 株と No. 12 株とはカゼインの分解力の点からも、また納豆の生成能の点も非常に類似した性能を有した。しかし納豆のアミノ酸とアンモニア量の点で、No. 11 株が No. 12 株よりまさるようになされたので No. 11 株をとることとした。

No. 11 株を用いた場合の納豆製造に要する発酵室温は、納豆の粘質物の生成や香味及びアミノ酸量などの点から40～32°C間の任意温度が適当で、47°C以上また27°Cではやや不安定なものと認められた。この際の実験時間は20～25時間が適度である。しかし発酵時間は実験Ⅴで明かなように製造時の仕込大豆量とも関連するもので、実際の工場製造では現在行われているように19時間内外で足りるものとする。この点は製造工場での実験でも一応確めた。これらの点から No. 11 株を用いて納豆を製造する場合の発酵室温は発酵室の温度管理や熱源などの点から、32°C前後が最も妥当と考えられるので、この温度を No. 11 株に対する「経済的適温」と考えている。発酵

室温32°Cということは盛夏時では、蒸煮大豆の品温と発酵中に生ずる発酵熱のみで十分なことで、その他の季節においても発酵室の保温熱量を節約し得ることは明かである。この点は製造工場での実験回数が少ないので未だ正確な結果を得ていないが、厳冬時に木炭を用いた場合従来の43°C内外の保温に比べて木炭量を半減し得る成績を得た。また家庭で自家用として少量の納豆を製造する場合、アルミ製べんとう箱と湯タンポを用いた実験を数家庭について試みたがいずれも良結果を得た。

最近恩師村松舜祐博士から「従来よりも温度範囲の広い菌株を分離したが、これによつて納豆の製造がすこぶる容易となつた」との報を受けた。これは前述のとおり従来の納豆製造上の難点の一因が、製造温度の不適当な点にあるとの著者の予想の誤りでなかつたことを証するものと考ええる。

次に No. 11株の性状と従来の主要菌株の性状²⁵⁾の要点を比較すると次のとおりである (第10表)。

第10表 納豆菌株の主性状の比較

分 離 者	沢 村	村 松	山本, 田村	呉, 中村	林	
菌 株	//	No. 1	No. 5	(北大株)	No. 6	No. 11
菌の形状	かん状	かん状	かん状	かん状	かん状	かん状
菌の大きさ μ	2~3×1	5~8×1	3.5~6 ×1~1.5	3~4.5 ×0.8~1.4	3.5~6.0 ×0.8~1.0	2.8~3.6 ×0.7
べん毛		周毛	周毛	周毛	周毛	周毛
孢子 {	多くは中央	端部	端部	端部	中央	端部
		形状	橢円形	橢円形		橢円形
		大 小 μ	1.6×1.2	1.2~1.6 ×1~1.4		1.7~2.1 ×1.0
グラム染色	+	+	+	+	+	
寒天へん平培養	中央に小点あり	中央に星状核あり		中央に核あり	中央に核あり	中央に極微小核あり
牛乳培養		凝固後溶解す	凝固せず溶解す	凝固後溶解す	凝固後溶解す	凝固後溶解す
ゼラチンの液化		ろーと状	ろーと状	さら状	ろーと状	層 状
発育適温 $^{\circ}\text{C}$		40~45	40	40~50	35~40	32~47
水酸化ソーダ液の限界濃度 %		0.3				0.02
食塩水の限界濃度 %		20		8.5		5.5
死滅温度					100 $^{\circ}\text{C}$ 50分	100 $^{\circ}\text{C}$ 1時間以上

本研究で得た No. 11株の性状は納豆生成に対する発酵室温以外の点では、おおむね従来の菌株の性状に類似しておる。しかし菌の形状は沢村氏²⁶⁾より大きく、村松株²⁷⁾や北大株²⁸⁾よりかなり小型で、呉, 中村氏²⁹⁾の6号株にやや近い。孢子の形状は村松株や北大株とはほぼ同等である。普通寒天へん平培養での集落では、他株はいずれも明かな中心核を有するようであるが、本実験での No. 11株はこれを欠くか、あるいは極めてかすかに存するに過ぎない。ゼラチンの液化は村松株, 呉, 中村氏の6号株はロート状, 北大株は皿状に対し、No. 11株は層状である。

薬剤の作用は水酸化ソーダで村松氏の No. 1株³⁰⁾の0.3%に対し、No. 11株は0.02%で著しい差異がある。また食塩に対しても村松氏の No. 1株の20%, 北大株の3.5%に対し、No. 11株は5.5%である。

以上の結果から本研究で分離し得た No. 11株は、沢村氏, 村松氏, 山本, 田村両氏及び呉, 中村両氏らのそれぞれの菌株と類似点を有するも、若干の明らかな相異点を有するものと認められる。ゆえにこれを「納豆菌株11号株」(*Bacillus Natto* SAWAMURA Strane No. 11 HAYASHI) として区別することにしたい。

附記：本研究で従来の納豆の製造困難の主因を温度条件にあるものと予測したが、その後の検討でこの点を究明し一応の結論を得た。これに関しては、大阪市立衛生研究所報告, 19, 105~109 (1957) を参照されたい。

なお本研究は製造の部, 栄養の部, 窒素化合物の部の3部をもつて完結する予定で、栄養に関する事項は国民

(242)

(北御門) ビタミン K の抗菌作用機構

衛生, 28巻 (1959) に発表の予定である。

要 約

従来の納豆製造上失敗を招く原因の主な一つが発酵室温の高い点にあるものと推定し, これを改善する目的で従来よりも低い室温で製造可能な納豆菌株の検索を行い, ほぼ所期の目的にかなう一菌株を得た。

(1) 本菌株による納豆の製造可能な発酵室温は, おおむね $42\sim 32^{\circ}\text{C}$ (時に $47\sim 27^{\circ}\text{C}$) 間で, 32°C 内外が最も実用上の適温と認められる。この場合の発酵時間は大体 $20\sim 24$ 時間が適度である。

(2) 本菌株について細菌学的にその性状を検し, これを文献上の従来の菌株と比較したところ, 大体その性状類似するも納豆の生成能及びその他明らかな異点も認められたゆえ, これを納豆菌の一変株と見なし「納豆菌林 11号株」として区別することとした。

実験に当り御指導と御校閲を賜わった恩師九州大学教授岩田久敬博士, 納豆菌の分離に際し有益な御忠言をいただいた恩師村松舜祐博士, 及び大阪大学教授照井博士並びにたえず激励していただいた前所長下田吉人博士にそれぞれ深く御礼申し上げます。また納豆菌の性状に関する実験の一部については清田亮夫所員の協力を得たものである。

文 献

- 1) Kikuji. YABE: The Bull. Coll. Agr. Tokyo Imp. Univ. Japan. II, 68~72 (1894~97). 2, 16) Shunnske. MURAMATSU: J. Coll. Agr. Imp. Univ. Tokyo V, 81~94 (1912). 3) Shin. SAWAMURA: J. Coll. Agr. Imp. Univ. Tokyo V, 189~192 (1912). 4) 山崎, 川俣: 醸雑, 1, 291~313 (1924). 5) 半沢編: 納豆製造法並びに納豆に関する智識 (1930). 6) 半沢著: 納豆 (酵素化学工業全集, 13) (1941). 7) 村松, 成瀬著: 最新納豆製造法 (1937). 8) 中島: 農化, 19, 155~162 (1943). 9) 中島, 池田: 農化, 20, 425~433 (1944). 10) 三浦, 山崎: 納豆の合理的製造法 (1949). 11) 山崎: 醸誌, 12, 175~191 (1934). 12) 山崎: 醸誌, 16, 446 (1937). 13) 大崎: 応用菌学, 2, 47~52 (1948). 14) 平, 伊丹: 応用菌学, 2, 77~83 (1948). 15) 斎藤: 応用菌学, 2, 105~111 (1948). 17, 19) 中島: 農化, 19, 159 (1943). 18) 田所著: 代替主食の研究, 46~49 (1947). 20) 林, 大島: 大阪市生研報, 17, 2 (1946). 21) 林, 古野: 大阪市衛研発表会で報告 (1951). 22) 半沢, 佐々木: 醸誌, 19, 8 (1941). 23) 半沢: 納豆 (酵素化学工業全集, 13) 26 (1941). 24) 斎藤: 応用菌学, 2, 106 (1948). 25~29) 半沢編: 納豆製造法並びに納豆に関する智識, 279~282 (1930). 30) 村松, 成瀬著: 最新納豆製造法, 22 (1937). (昭和 34, 4, 9 受理)

ビタミン K の抗菌作用機構 磷酸サイクルの阻害

北 御 門 学 (三重県立大学水産学部)

著者¹⁻³⁾は先に微生物の酸化還元, 加水分解, 脱アミノ, 脱炭酸, 磷酸化作用等に対する合成 VK 化学物の影響を検討し, 微生物の増殖を阻止する程度の合成 VK 化学物量によつて阻害されるのは TCA サイクル上の基質の酸化作用並びにそれと共軛した磷酸化作用であることを報告した。しかしながら細菌 Intact 細胞を用いた実験では酸化作用と磷酸摂取作用とはほぼ同濃度の合成 VK 化合物によつて阻害され, 代表的 Uncoupler である 2,4-Dinitrophenol の如く酸化作用と磷酸摂取作用との阻害の間に判然たる濃度差を認めることができなかった。従つて合成 VK 化合物による Intact 細胞酸化作用の阻害は, 磷酸サイクルの阻害から二次的に惹起されるのか, 又は酸化酵素系等の直接の阻害も原因し得るのか不明であつた。

著者は本報告において微生物の Cell free 酸化酵素 (SH 酵素) を抽出し, その合成 VK 化合物による影響を検討した。そして合成 VK 化合物はシステインやグルタチオンの如き SH 化合物とは反応するけれども, 酸化酵素の活性 SH 基に対しては微生物の増殖を阻止する程度の濃度範囲内では阻害的に働き得ないことを知つた。

一方微生物の磷酸摂取や磷酸サイクルを介して行われる種々の同化作用は, 呼吸阻害や増殖阻止に必要な量よりも少い合成 VK 化合物量によつて完全に阻害された。従つて Intact 細胞の行う種々の代謝系のうち合成 VK 化合物によつて一次的に阻害されるのは磷酸サイクルであり, Intact 細胞の酸化作用の阻害もこれを原因として