

(218)

(高原, 田辺) 細菌による藍の工業的還元に関する研究 (第3報)

その結果は浸漬液100cc当り局方フォルマリン0.2ccまでの添加が納豆の品質に対しほとんど影響が認められなかつた。しかしこの実験に当つて浸漬大豆の蒸煮程度を同一とするため、フォルマリン濃度の異なる浸漬液で浸漬した大豆を蒸煮した。そのためフォルマリン濃度の高い浸漬液を用いた大豆から発散した微量のフォルマリンが低濃度のフォルマリンを用いた大豆や対照の水浸大豆に影響を与えたものでないかとの疑問を生ずる結果となつた。事実蒸煮後オートクレーブのふたを開いた際若干フォルマリン臭が認められた。

第二の実験は前実験の場合の対照に対するフォルマリンの影響を除くため、蒸煮大豆にフォルマリンを添加した。本実験では対照をも含めていずれも前2回の実験より著しくアミノ酸量の少い製品を得たが、品質上フォルマリンの影響がほとんど認められなかつた。しかし粘質物の生成のみがフォルマリンによつてかなり阻害された。これはフォルマリンが直接大豆表面に接したため、納豆菌の発育を阻害した結果と認められる。この点はフォルマリンの濃度を低げるかまたはろ紙を直接大豆と接触せしめないよう実験方法の検討の必要を認める。

第三の実験は水浸大豆の蒸煮時にフォルマリン水を並置して蒸煮の際フォルマリンをオートクレーブ中に発散させる方法をとつたが、この場合フォルマリンの影響が認められなかつた。

以上の三実験の結果からフォルマリンの影響に関して始めに予想したような明確な解決を得られなかつた。本実験結果からすればむしろフォルマリンの影響がないと解する方が妥当なようである。しかし第1表と第2表で見られるようにこれまでの実験結果から見て、過量と見なされる程度のアミノ酸量を得ておる。この点は間接的としてもフォルマリンとなんらか関連があるように思われる。これらの原因は追つて検討したい。

ともあれ上述のように醗酵室のフォルマリン消毒と納豆の品質と直接関連がないものとするれば、消毒後の納豆の良品を得る原因を他に求めねばならない。この原因の一つとして醗酵室や製造用器材類に発育する雑菌類の生産物質の影響が推定される。これは別途納豆の通気醗酵を行つた実験で、蒸煮大豆を入れたフラスコを2~3個連結して醗酵を行つた場合、常に第一のフラスコ中の納豆が最も良好であつたことからの推定である。

上述のとおり納豆の製造工程中醗酵室におけるフォルマリンの存在と納豆の品質と直接的な関連はまずないものと認められる。しかし納豆の製造上醗酵室や製造器材類をフォルマリンなどの消毒剤による滅菌消毒を適時行なうことは良好な納豆の製造上必要なことは論ずるまでもない。この際消毒後醗酵室内に微量のフォルマリンが残留するとしても、納豆の醗酵状態に悪影響を与えないことは本実験から明かである。

### 要 約

納豆の製造用醗酵室の消毒に用いるフォルマリンについて、納豆の品質に与える影響を検し次の成績を得た。

- 1) 納豆の醗酵中微量のフォルマリンガスの存在によつて納豆粘質物やアミノ酸の生成量に対する効果を認めなかつた。
  - 2) 醗酵室内で肉眼的に感知出来る程度のフォルマリンの存在は、納豆の品質上悪影響を与えなかつた。
- 終りに当り御指導と御校閲を賜つた恩師九州大学農学部岩田教授に厚く御礼申し上げます。

(昭和34, 13, 15 受理)

## 細菌による藍の工業的還元に関する研究

### (第3報) 炭素源と窒素源の補添効果

高原 義 昌, 田 辺 脩 (工業技術院醗酵研究所)

### 緒 言

醗酵建には藍玉とともに醗酵剤、助剤、「ハラシ」等と称して主に麩が用いられているが、所によつては麩の代りに甘藷粉、糖蜜、水飴、葡萄糖等を用いている所もある。

麩は大略50%の澱粉と2%前後の全窒素をもつておるので、炭素源としても窒素源としても役立つており、水飴、葡萄糖等は専ら炭素源として用いられていると考えられる。藍玉は天然物であり前報<sup>1)</sup>に記載した程度の全還元糖と全窒素とをもつので、醗中には藍玉使用量に応じた量が各々存在するわけである。

然し<sup>1)</sup>藍玉からの全糖は0.25%前後にすぎず、澱粉質が生酸醗酵の基質となることを考えれば更に補添する

必要であろう。又窒素源についても麩を使用していない所では、特に窒素源と考えられるものを補添していない所もあり、その種類や補添量を明確にする必要がある。

この点に関する既往の記載は全く曖昧で、現場においても専ら経験によつて行なつておるにすぎないので、前報の基本培地を使用して検討した結果について報告する。

#### 〔I〕 炭素源補添効果

前報の培地より小麦粉を除き炭素源として各種の糖質を加え、種母5%を加え30°Cで72時間培養した結果は第1表の如くである。

第1表 糖質補添の影響

No.	糖質	添加量 (%)	仕込時		72時間		
			pH	Eh(-mV)	pH	Eh(-mV)	還元状態
1	なし	0	12.1	410	11.8	640	±
2	小麦粉	0.2	"	"	11.8	720	±
3	"	0.5	"	"	11.4	"	±
4	"	1.0	"	"	10.0	"	±
5	糖蜜	0.5	"	"	11.5	"	±
6	"	1.0	"	"	10.2	"	±
7	葡萄糖	0.2	"	"	11.8	"	±
8	"	0.5	"	"	11.5	"	±
9	"	0.7	"	"	11.0	"	±
10	麦芽糖	0.2	"	"	11.8	"	±
11	"	0.5	"	"	11.6	"	±
12	"	0.7	"	"	11.3	"	±

炭素源として糖質を特に補添することは極めて効果的で、無添加のものではpHも殆んど低下しないばかりでなく全く還元状態が認められないが、少しでも添加したものは確実に還元状態が得られる。添加量は0.2~1.0%の範囲では大差ないが、添加量が多くなる程醱酵が早く進み、従つてpHの低下も早くなるので注意を要することは種母添加量の場合と全く同様で、実用的には0.5%程度あれば充

分である。加える澱粉質の種類は皆殆んど同様な効果を示したので、入手し易く廉価なものを用いるべきである。

#### 〔II〕 窒素源補添効果

通常の醱酵建は大略5%前後の藍玉を使用し醱中に全窒素として100~130mg/100cc程度あり、その内、水溶性の窒素は80~95mg/100cc位となりこの上更に窒素を補添する効果の有無について検討するため、基本培地の内小麦粉と同量の局方馬鈴薯澱粉を用いた培地を使用し、種母を添加し30°Cに72時間培養した結果は第2表の如くである。

第2表 窒素源補添効果 (藍玉5%)

No.	窒素源	添加量 (%)	仕込時		48時間	72時間		
			pH	Eh(-mV)	還元状態	pH	Eh(-mV)	還元状態
1	—	—	12.0	420	±	11.4	710	±
2	麩	0.5	"	"	±	9.8	720	±
3	"	1	"	"	±	9.6	720	±
4	"	2	"	"	±	8.9	720	±
5	玉蜀黍	0.5	"	"	±	10.4	710	±
6	"	1	"	"	±	10.3	720	±
7	"	2	"	"	±	9.5	720	±
8	米糠	0.5	"	"	±	10.1	720	±
9	"	1	"	"	±	9.8	710	±
10	"	2	"	"	±	9.6	710	±

藍玉5%程度の通常の醱酵建においては、特に窒素源を補添する効果は認められない。添加量が増す程醱酵が早く進んだのは窒素源として天然物を用いたため同時に加えた澱粉質の影響と考えられる。

次に藍玉4%の同様培地で行なつた結果は第3表に示す如くでこの場合の醱中全窒素は約20mg/100cc程低下

## (高原, 田辺) 細菌による藍の工 業白芽に及ぼす研究 (第3報)

第3表 窒素源補添効果 (藍玉4%) その1

No.	窒素源	添 加 量 (mgT.N./100cc)	仕 込 時		48 時 間	72 時 間		
			pH	Eh(-mV)	還元状態	pH	Eh(-mV)	還元状態
1	—	—	12.0	400	+	11.5	690	##
2	麸	20	"	"	++	11.2	710	###
3	"	40	"	"	++	10.8	710	###
4	米 糠	20	"	"	++	10.9	710	###
5	"	40	"	"	++	10.8	710	###
6	玉蜀黍	20	"	"	++	10.9	710	###
7	"	40	"	"	++	10.8	710	###

第4表 加水分解物補添効果

No.	窒素源	加水分解法	48時間後 還元状態	72時間後 還元状態
1	麸	未 分 解	++	###
2	"	水	++	###
3	"	苛性ソーダ	##	###
4	"	硫 酸	++	###
5	米 糠	未 分 解	++	###
6	"	水	++	###
7	"	苛性ソーダ	##	###
8	"	硫 酸	##	###

することになるので全窒素として20mg及び40mg/100ccの補添をした。

藍玉4%の場合はこの様に補添効果が認められた。即ち醗100cc当り、100mg程度の窒素量が必要と考えられ、藍玉の使用量の少いうすい仕込や、粗悪な藍玉を使用した場合は窒素源を補添する事が必要である。4%では窒素源として天然物の補添効果を認めたので、之らを加水分解して補添した結果は第4表の如くである。即ち各天然物10%を苛性ソーダは0.2%、硫酸は0.5%で100°Cに5時間加水分解したのち中和し全窒素として25mg/100cc相当量を補添した。

天然物を加水分解しても殆んど窒素源としての効果は変りない。次に無機及び有機の窒素源として通常用いられているものに付全窒素として20mg及び40mg/100ccとなる如く添加した結果は第5表の如くである。

第5表 窒素源補添効果 (藍玉4%) その2

No.	窒 素 源	添 加 量 (mgT.N./100cc)	仕 込 時		48 時 間	72 時 間		
			pH	Eh(-mV)	還元状態	pH	Eh(-mV)	還元状態
1	—	—	12.0	400	+	11.5	690	##
2	硫 安	20	"	"	-	11.7	500	±
3	"	40	"	"	-	11.8	500	±
4	硝酸ソーダ	20	"	"	+	11.6	660	##
5	"	40	"	"	+	11.5	680	##
6	尿 素	20	"	"	+	11.5	680	##
7	"	40	"	"	+	11.5	680	##

使用した窒素源は何れも特に補添効果を認めたものはなく、その上硫安の補添は却つて阻害的な傾向が認められたが、これについては更に次報で検討することにした。

## 要 約

醗酵建において炭素源(糖質)及び窒素源の補添効果を検討した。

(1) 澱粉質を補添することは極めて効果的で、その量は対醗0.5%程度でよく、その種類は問はないので入手しやすく廉価なものを用いることが得策であろう。

(2) 通常の醗酵建には特に窒素源を補添する必要はないが、うすい仕込や粗悪な藍玉を用いた場合等では、全窒素として100mg/100cc程度迄補添する事が望ましい。

(3) 窒素源としては天然物が最もよく、有機窒素がこれにつぐが無機のものは無効で特にアムモニウム塩は

阻害的である。

終りに臨み終始御指導を戴いた阪大照井教授に深謝致します。

#### 文 献

1) 高原, 田辺: 本誌, **38**, 180 (1960).

(昭 35, 2, 25 受理 経費著者負担)

## 細菌による藍の工業的還元に関する研究

### (第4報) 窒素源について

高原 義昌, 田 辺 脩 (工業技術院醸酵研究所)

#### 緒 言

種々の醸酵工業に利用されている細菌の窒素要求については可成り詳細に研究されている。例えば *Gluconobacter*<sup>1)</sup> は無機窒素を利用し得ず有機窒素を利用しなければならず、この内ペプトンが最もよいと云われ、*Pseudomonas*<sup>2)</sup> は硫酸等の無機窒素をよく利用するが、乳酸菌<sup>3)</sup> では菌種や菌株によつて必須とするものを異にしその要求が複雑なるため、米糠、麸、玉蜀黍等の天然物が用いられる場合が多く、*Propionibacterium*<sup>4)~6)</sup> は酵母エキスが最もよいが適当な生育因子があればアンモニアのみを窒素源として生育し、又ワイツマン型のブタノール菌<sup>7)</sup> では有機窒素を要求する度合が高くアンモニウム塩だけを窒素源にした場合普通これを利用し難いが、玉蜀黍<sup>8)</sup> 等の醗に添加すれば資化されるので低廉な硫酸が多く用いられている。

一方藍の醸酵建においては関与する細菌は未だ明確ではないが、前報<sup>10)</sup> において醗 100cc 当りの全窒素が 100 mg を低下する様な、うすい仕込には窒素源を補添する必要を認めるが、効果的なものは麸、米糠等の天然物で硫酸は阻害的であること等を認めたので、補添する窒素源の種類が醸酵建に及ぼす影響について検討を加えた結果について報告する。

#### 実 験

##### 〔I〕 判定方法

前報迄醸酵は全て醗の還元状態を肉眼的に観察して来たが、その程度を数量化するため T.T.C. (2, 3, 5, Triphenyltetrazolium chloride) を還元させて赤色の T.P.F. となしこの T.P.F. を比色計によつて透過率を測定する方法 (以下 T.T.C. 還元力と称す) を併せ行ない判定の資料とした。即ちツンベルグ管を使用し、次の如く入れ

主 室	} 試料	1.5cc	副 室	} $10^{-3}$ M	T.T.C. 水溶液	5.0cc
		緩衝液			$10^{-1}$ M	葡萄糖
		(NaOH-Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 系, pH11.0)				

ポンプにて脱気後、両液を合し 30°C に 1 時間作用させたのち、20% トリクロール醋酸 2 cc を加えて反応を停止させ、酢エチ 10cc を添加してよく抽出し遠沈後、その上澄液をセルに移す。

比色計はエルマ光電比色計を用い 530m $\mu$  の波長にて、液槽 3 mm のセルにより蒸留水を 100 とした時の透過率を以つて表示した。

##### (II) 使用培地

醸酵建はうすい仕込又は粗悪な藍玉の使用等により醗中窒素濃度が低下せる場合のみ窒素の補添効果が表れるので、窒素源の種類による差異を明確にさせるため藍玉濃度を更に減らし、これに麸抽出液 (10% 抽出液を濾過後 10°C 以下に一夜放置し、沈澱せる澱粉質を遠沈によつて除去せるもの) を窒素源として加え、力価の復元する限界濃度を採用することとし検討した結果は次の如くである (第 1 表)。

麸、抽出液を添加することにより減退した還元力が復元するのは 2.0~2.5% であるので以後 2.5% 藍玉濃度で検討を行なつた。