

薬用としての酵母製造に関する二三の考察（第一報）

中濱敏雄・岩畑嘉樹*

Studies on the Manufacture of Yeast for Medical Use. I

By

TOSHIO NAKAHAMA • YOSHIKI IWAHATA

酵母の Vitamin B₁ 合成能否に關しては、幾多の研究が行はれて來た。其の結果大體酵母の B₁ 合成能力は腸内微生物の如く肯定され、而も之は B₁ 及び其の構成物質を含有する培地に於て認められるが、普通の場合其の作用は甚しからず、薬用酵母即ち麥酒酵母細胞内に含有される B₁ の多くは、酵母が培地より吸収、蓄積したものであるとされた。尙培地中に B₁ が多量に溶解してゐる場合、酵母菌體中の B₁ 含有量も大である。之等に就て研究の一部を紹介すると、井上氏は B₁ をアルカリ又は熱で處理して不活性化したものが、活性酵母に依つて再生され、活性 Vitamin として酵母體内に集積される事を報告した。高田氏は *Torula utilis*, *Sacchromyces agglutinans* 其の他の酵母を用い、夫々 B₁ 缺除人工培養液に通氣培養した結果、總ての酵母に B₁ 合成能を認め其の合成量は乾燥麥酒酵母の B₁ 量の約 $\frac{1}{10}$ ~ $\frac{1}{100}$ に相當し、之等の結果から斯る程度に於ての B₁ 合成能は、一般酵母の通有性であると決論した。次に前田氏は酵母の種類に依り差異はあるが、一般に酵母は B₁ 分解物から B₁ を合成する作用を有し、而も分解程度過度の物質からは合成する事が出来ない事を指摘した。市川氏も *Sacchromyces sake* に對し平均 38 γ /g, 又 *Torula utilis* に對し平均 29 γ /g の合成能力を認めた。芦田氏は B₁ の母體であるチアゾール核及びピリミジン核から酵母が B₁ を再生する能力が顯著なる事を實驗的に證明した。而し普通の場合、酵母の B₁ 合成能力は著しからず、薬用酵母の含有する B₁ の大部分は、酵母が自體にて合成したのではなく、培養液中に存在する B₁ を吸収、蓄積したものである事は容易に想像される處である。而して培養液中の B₁ を吸収する酵母の能力は甚だ強く、適當の條件に於ては培養液中の B₁ を全部吸収する事も出来る事が實證され、従つて酵母體内の B₁ 含有量が

* 西京大學農學部農産製造學研究室

培養液の B₁ 量に支配される事は著しい。高田氏は酵母の B₁ 集積力の強弱が酵母の種類に依つて差があり, *Saccharomyces agglutinans*, *Torula utilis* 等に於て著しく強力である事を報告した。小田氏等は糖蜜の 0.5% 溶液に米糠の水浸出液中の B₁ を添加し, 之に麴菌を繁殖せしめ, 酵母の B₁ 集積力を検討した處 500~600 γ /g の多きに達する事を指摘した。又金子氏等は, 人工培地に種々の濃度に結晶 B₁ を溶解せしめて培母を培養し, 酵母の B₁ 吸着作用の極めて著しい事を確認した。

著者等は, 大麥胚芽が多量の Vitamin B₁ を含有する事に着目し之の糖化液を培養液として即ち胚芽中の炭素源, 窒素源及び塩類を酵母の栄養として二三の酵母菌株を培養し, 此の培養液の中に胚芽の中から浸出された B₁ を酵母が吸収し, 又は甚だしからざる程度に分解溶解された B₁ 構成成分から酵母が B₁ を合成する事を推定の下に, 大麥胚芽の利用を試みると共に酵母の B₁ 集積又は合成に對し検討を試みんとした。本報に於ては先づ酵母の繁殖に對し大麥胚芽を原料とする培養液の調整に就て研究を行つた。

實 験 の 部

大麥胚芽の成分測定: 試料としての大麥胚芽に就て必要成分を測定した。

Table 1

water (%)	starch (%)	reducing sugar (%)	vitamin B ₁ (γ /g)
12.06	25.98	1.62	27

Table 1 に依り胚芽中の炭水化物が全部糖化されるとすれば理論上 30.49% の還元糖が生成される筈である。

$$25.98 \div 0.9 + 1.62 = 30.49 (\%)$$

併し實際には胚芽中の澱粉量に相當する炭水化物の全量が還元糖となる事は疑問にして, 又糖化の爲の胚芽麴を作る場合には麴菌の増殖の爲にも消費せられ, 更に全然酵母に依り利用されない炭水化物の存在も考へられるから, 上記の還元糖量を以つて酵母培養の際の糖濃度として培養液を調整する事は勿論誤謬が考へられるが, 培養液調整に關する實驗に於て標準として大體之等の炭水化物の殆んどが酵母に利用され得る還元糖であり, 或は還元糖に變化し得るものとして本研究を進める事は差支へないであらう。又試料として選んだ大麥胚芽は, 從來指摘されてゐる如く相當量の B₁ を含有して居り, 變質せる原料ではなく實驗に用ひ得るものである事を確認した。尚 Vitamin B₁ の測定は P-Aminoacetophenon 法に従つた。

大麥胚芽の稀塩酸分解に依る培養液：胚芽の分解液が酵母の培養に適するや否やを検索する目的を以つて胚芽試料を稀塩酸で分解糖化して培養液を調整し、之に Bass's beer yeast を接種し繁殖せしめた場合の酵母收量を測定した。先づ培養液の調整は次の如くして行つた。即ち大麥胚芽 100g を 2% の塩酸にて 4 時間煮沸して糖化を行つた後中和し、其後更に 1 時間煮沸して濾過せる液を、糖濃度約 1% となる如く稀釋し培養溶液 2550cc を得た。溶液の pH 及び糖濃度は測定に依り次の如くであつた。

pH=5.5 還元糖=0.998%

上記の培養液 1L 宛に Bass's beer yeast を接種し防泡劑として少量の 1% 玉蜀黍油を添加して、28°C にて通氣培養を行ひ夫々 24 時間、48 時間及び 72 時間培養後、遠心分離に依り酵母菌體を採取し、素焼板上に真空乾燥して乾燥酵母の量を測定した。其の結果は次に示す如くであつた。

Table 2

duration (hrs.)	medium after cultivation		ratio of sugar consumed (%)	dry weight of yeast	
	pH	reducing sugar (g/100 cc)		g/100 cc	$\frac{\text{dry weight of yeast}}{\text{sugar consumed}} \times 100$
24	4.8	0.226	77.4	0.182	23.6
48	5.6	0.122	87.8	0.288	32.9
72	6.2	0.050	95.0	0.463	48.8

Table 2 に見られる如く Bass's beer yeast の培養に對し大麥胚芽の稀塩酸處理液は培養液としての價値を有してゐる事、又三晝夜の範圍に於ては時間と共に還元糖の消費が著しく、一方菌體及び菌體の消費還元糖に對する割合も亦顯著に増大する事が認められる。之は通氣の不足其他培養條件の不完全に依るものであらう。

次に *Tolula utilis* に就て同一實驗を行ひ、培養 72 時間に於て Bass's beer yeast の場合と比較した。

Table 3

duration (hrs.)	medium after cultivation		ratio of sugar consumed (%)	dry weight of yeast	
	pH	reducing sugar (g/100 cc)		g/100 cc	$\frac{\text{dry weight of yeast}}{\text{sugar consumed}} \times 100$
72	4.4	0.088	91.2	0.497	54.6

Table 3 に於て見られる如く *Torula utilis* も亦胚芽稀塩酸分解糖化液に良く繁殖し、之を Bass's beer yeast の場合と比較すると大體類似的であり、菌體量並びに菌體量の消費還元糖に對する割合に於て僅かに後者より優つてゐる事が認められた。

胚芽麴の糖化に依る培養液： 大麥胚芽400gを粉末にし、之を適量の水に浸して加熱糖化した。之に對し200gの大麥胚芽より製麴せる麴を加へて糖化し、濾過して得たる溶液5L宛2組を殺菌して培養液とした。此の培養液のpH及び糖濃度は測定の結果次の如くであつた。

pH=6.0 還元糖=0.945%

Bass's beer yeast - 白金耳を5 cc の麥芽汁に移植し28°Cにて24時間培養せるものを上記の培養液3L宛に移殖し28°Cにて夫々24時間及び48時間培養したる後菌體の乾燥量を測定すると同時に菌體を除去せる廢液のpH及び還元糖を測定した。其の結果は Table 4 に示す如くであつた。

Table 4

duration (hrs)	medium after cultivation		ratio of sugar consumed (%)	dry weight of yeast	
	p H	reducing sugar (g/100 cc)		g/100 cc	$\frac{\text{dry weight of yeast}}{\text{sugar consumed}} \times 100$
24	4.5	0.149	84.2	0.263	33.0
48	4.4	0.118	87.5	0.397	48.0

即ち胚芽の糖化は、胚芽麴に依る場合も塩酸に依る場合の如く酵母に對しては好適である如く思考される。而して塩酸分解を行へるものよりも麴糖化に依る培養液の方が胚芽中の Vitamin B₁ が破壊されないか又は過度な破壊を受けないで存在する割合が大である事が想像される故に、Table 3, Table 4 に依る菌體量に著しい變化の認められない限り、研究の目的に對しては麴に依る糖化法を選択する方が一層好ましいと考へられる。

麴用絲狀菌に就ての吟味： 胚芽麴を製造する場合の絲狀菌の種類に就て考へると、胚芽は蛋白質の含有量が多い故製麴を目的とする絲狀菌の選擇としては Proase 作用の強力なものが有利である事は云ふ迄もないが、更に製造された胚芽麴を以つて原料胚芽を糖化せしめる場合にも、胚芽蛋白の分解が同時に存在する炭水化物の糖化に又窒素源として後に酵母培養の際に好影響を與へる事も想像され得る。之等の推定より絲狀菌の種類を異にした胚芽麴を作り之に依り原料胚芽を糖化せしめた結果を検索した。實驗方法は、胚芽10g宛を三角瓶に採り、各々水道水6 cc を以つて潤し棉栓

して一時間程蒸して後、之に夫々糸状菌を接種、28°C に3日間培養して各菌株に依る麴を得る。一方原料としての胚芽10gを三角瓶に添加し水道水100ccを注入蒸して後pH=6.0, 50°C で5時間保温して糖化せしめ、濾過後濾液に就て還元糖を測定した。糖化温度を Amylase の最適温度より些か低くしたのは、麴の Protease 作用をも考へた爲である。

Table 5

No. of strain	origin	reducing sugar(%)	$\frac{\text{reducing sugar}}{\text{total barley embryo}} \times 100$
No. 1	miso-moyashi	1.46	7.30
No. 2	Hishiroku-moyashi	1.79	8.95
No. 3	Tonomura-moyashi	0.95	4.75
No. 4	orange	0.87	4.35
No. 5	water-plant	0.41	2.05

Table 5 に於て見られる如く、大麥の胚芽麴製造用の菌株としては味噌もやし又は粟六もやしより分離したものを適當とする。

胚芽と麴との割合： 能率的糖化を行ふ可き胚芽對麴の割合を決定する爲に次の實驗を行つた。此の比率は糖化時間に依つて左右されるものと推察される故、糖化時間を5時間に限定せる場合に就て檢べた。菌株としては、前實驗の結果を參照してNo. 1 (味噌もやし) を選んだ。

實驗方法は次の如くした。大麥胚芽にNo. 1 株を繁殖せしめて胚芽麴を調整して乾燥し、乾燥胚芽10gに相當する蒸胚芽に對し夫々10%、20%、25%及び30%になる様麴を混じ、水道水1000ccを加へpH6.0, 50°C に5時間保温して糖化せしめたる後濾過し濾液に就て還元糖を測定した。

Table 6

$\frac{\text{weight of Miso-koji}}{\text{weight of Barley embryo}} \times 100$	reducing sugar (%)	$\frac{\text{reducing sugar}}{\text{total barley embryo}} \times 100$
10	1.07	9.73
20	1.97	16.42
25	1.94	15.52
30	1.92	14.77

實驗結果に依れば、實驗の糖化條件に於て原料に對する麴の適量は約20%であつて其れ以上麴を加へても糖化量は増加しない。

糖化時間： 麴が大麥胚芽の糖化に要する時間を檢索した。10gの胚芽を蒸してNo. 2 (凌六もやし) を60時間、28°Cにて繁殖せしめ充分胞子を着生せしめてもやしを製成する。別に大麥胚芽100gを大型ペトリ皿に入れ、水道水30ccにて濕潤せしめたる後1時間蒸し、冷却後前述のもやしを移し28°Cで60時間培養して白色麴を製成する。上記白色麴全部と原料胚芽400gを採り、之に5Lの水道水を注入して50°Cに於て時々攪拌し乍ら6時間糖化を行ふ。其の際糖化開始後3, 4, 5, 6時間目に液の一部を採り還元糖を定量した。

Table 7

duration of saccharification(hrs)	reducing sugar(%)	$\frac{\text{reducing sugar}}{\text{total barley embryo}} \times 100$
3	1.65	16.18
4	2.11	20.69
5	2.00	19.61
6	2.08	20.39

Table 7に見られる如く糖化時間に就ては、實驗の條件に於て4時間にて略々一定の糖濃度に達する。

Summary

It was found that barley embryos could be used as suitable materials for yeast cultivation, when they were saccharified by Haiga Koji, culture of *aspergillus oryzae* on barley embryos, for 4 hours at 50°C.

The two strains of *aspergillus oryzae* var. "Miso" and var. "Hishiroku" were most favourable for the manufacture of Haiga Koji.