

醤油の産膜性酵母に関する研究 (第3報)

醤油酵母のグルコース代謝に対する食塩の影響

今原 広次*・萬 雄治*・原田 芳祐**・中浜 敏雄*

H. IMAHARA, Y. MAN, Y. HARADA and T. NAKAHAMA :
Studies on film-soya-yeast (Part III)
Influence of salts to the metabolism by soya-yeasts

結 論

醤油諸味に生育する産膜性酵母に就て其の生理的作用の結果醤油醸造上有害な影響を及ぼすものであると考えられて来たが著者等は既報⁽¹⁾に於て其の有害な作用は産膜性酵母の本来の性質に依るものでなくて此等産膜性酵母も嫌氣的条件に於てはアルコール醸酵を行ひ不快物質を生産する事はなく即ち条件に依つては必ずしも害作用を与えられず諸味中に於て嫌氣的に生育して居る部分は諸味の熟成に關係して居る事を推論した。更に前報⁽²⁾に於て此等酵母の耐塩性の問題に就て二三の検討を試みた而して微生物の耐塩性に就ては食塩の酵素及び酵素系に対する影響⁽³⁾⁽⁴⁾或は生理的性質に対する影響⁽⁵⁾⁽⁶⁾等主として細菌に関する知見⁽⁷⁾が見られ、醤油酵母に就ての検討は植村、佐藤⁽⁸⁾⁽⁹⁾⁽¹⁰⁾氏等の研究が見られ主として此の場合は食塩と其の生育度との關係に就て検討され、其の代謝状態に就ての検討は未だ不十分な点が多い。著者等は産膜性酵母と非産膜性酵母のグルコース代謝に及ぼす食塩の影響に就てワールブルグ検圧計を用いて比較検討したのでその結果を報告する。

I. 実験方法

(a) 使用菌株 非産膜性酵母として当研究室保存の Z-6, Z-17 及び産膜性酵母として同じく Z-4, Z-21 合計4株を用いた。此等の酵母菌株の入手は夫々次の如くである。

Z-4 丸天醤油株式会社, Z-6 丸天醤油株式会社
Z-17 阪大工学部醸酵研究室, Z-21 醸酵研究所

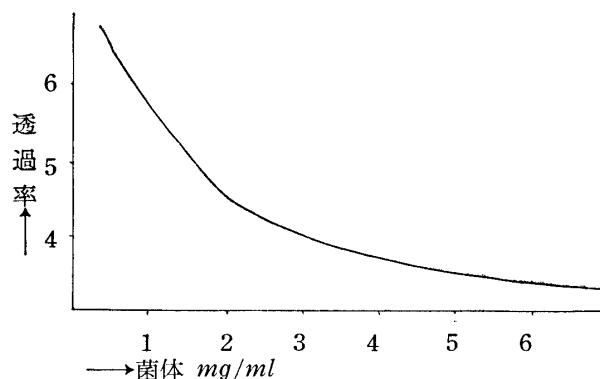
(b) 培養方法及び菌懸濁液調製法

*西京大学農学部農産製造学研究室
**日本丸天醤油株式会社

下記の基本培養基並びにそれに食塩を3%及び15%添加した各培養基 250 ml に各菌を夫々接種し、30°C 7日間培養して得た菌体を生理的食塩水150mlで洗滌後下記飢餓培地 100 ml に移し、30°C 24時間静置後再び生理的食塩水 150 ml で洗滌し、同じ液で菌体濃度 7.5mg/1ml になる如く光电比色計に依つて懸濁液を調製した。

基本培地	肉エキス	5.0g
	ペプトン	5.0g
	麴汁(糖12%)	500ml
	食塩	5.0g
	水	500ml
飢餓培地	肉エキス	5.0g
	ペプトン	5.0g
	食塩	5.0g
	水	1000ml

菌体濃度測定法：上記の如くして培養した菌体を蒸留水に懸濁させ種々の濃度に希釈して該液の透過率を光电比色計に依つて求め、一方該液中に含まれる菌体量を乾燥菌体として測定し夫々の透過率の場合の菌体濃度を決定し第1図の如き標準曲線を求め、新に調製せる菌懸濁液の透過率によつて所定の菌体



第1図 菌体濃度と透過率 (430 m μ)

濃度を有する懸濁液を調製した。

(c) グルコース代謝測定法

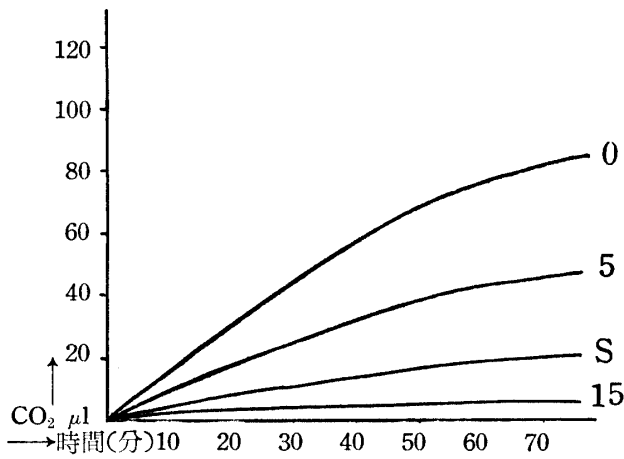
グルコースを基質として pH5.4 (Phosphate buffer) で 30°C, 120 分間 ワールブルグ 検圧装置を用いその好氣的代謝の様子を O₂ 吸収と CO₂ 発生とを測定して検討した。ワールブルグ検圧計 1cup 当りの反応組成は下記の如くで基質は 1cup 当り $\frac{M}{100}$ 量を使用し又菌体は 1cup 当り 3 mg が適当である事を予備実験より確めた。

main flask	菌懸濁液	0.4ml	} 全量
	磷酸緩衝液(pH5.4)	0.5ml	
	水又は食塩水	0.8ml	
side flask	グルコース溶液($\frac{M}{20}$)	0.5ml	} 2.5ml
center	苛性カリ(15%液)	0.2ml	

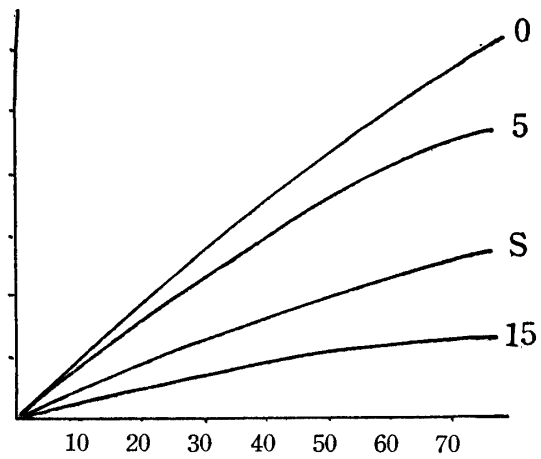
5%, 15%食塩濃度に於ける代謝測定の場合は食塩水及びグルコース溶液に所定濃度になる様に食塩を予め添加して液を使用した。

II. 実験結果

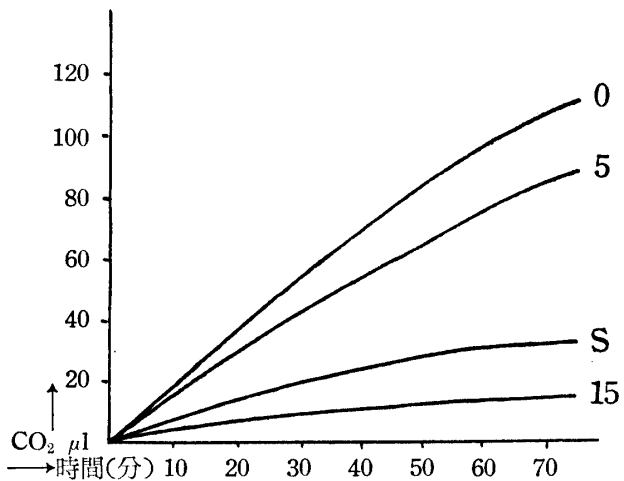
前記 4 株に就て夫々基本培地, 3%及び15%食塩含有培地で 30°C 7日間培養後調製せる菌体を夫々無食塩区 5 及び15%食塩濃度区に於てガス代謝の状況を測定した結果第 2 図に示す如くなつた。尚産膜性酵母は皮膜及び沈澱の両者に於て其の生理的性質が若干異なる事を認めしたが、非産膜性酵母との比較の為に先づ皮膜及び沈澱を混合均一にした状態で用い、又別に皮膜と沈澱とに分別して両者の検討を行つた。実験結果に示す I~VI の図に於て明かな如く、3%食塩含有培地で培養した菌体では非産膜性酵母、産膜性酵母何れも 5%食塩濃度区に於て無食塩区の代謝に比してその代謝量は僅かに弱く、更に15%食塩濃度区に於ては夫々の自己代謝以下の値を示し、斯る食塩濃度に於ては菌体自身の有する代謝能もかなり変化を示すものと考えられ



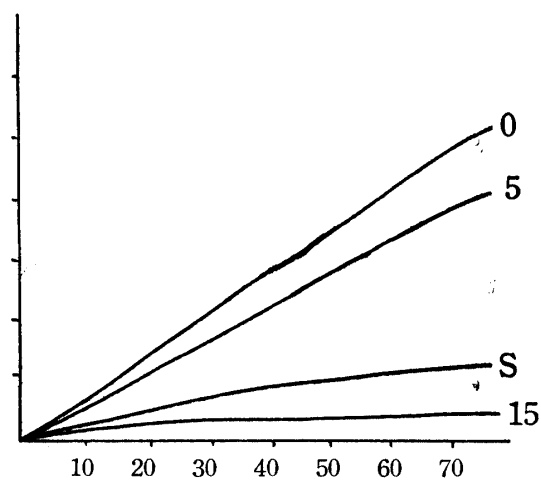
I Z-6 3%食塩含有培地培養菌体 (均一)



II Z-17 3%食塩含有培地培養菌体 (均一)



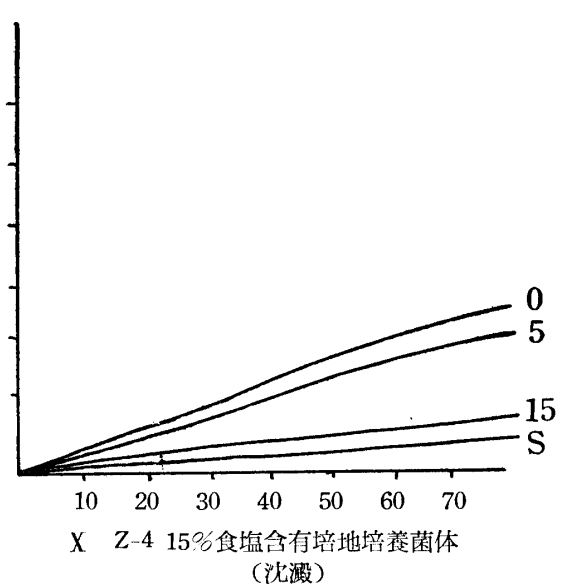
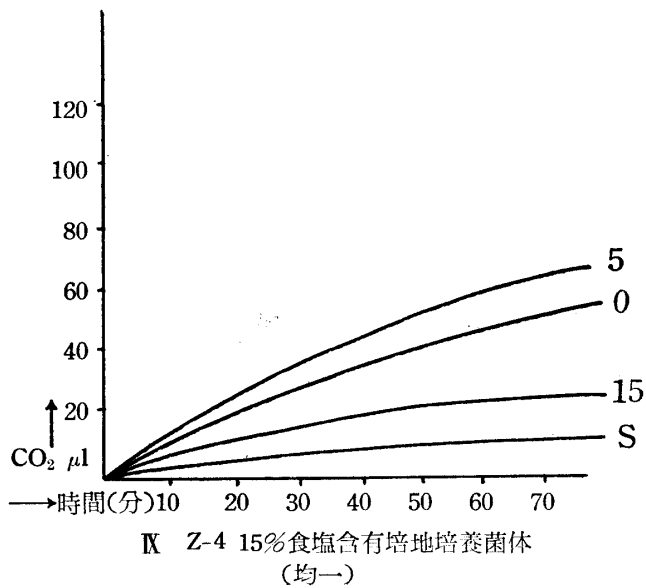
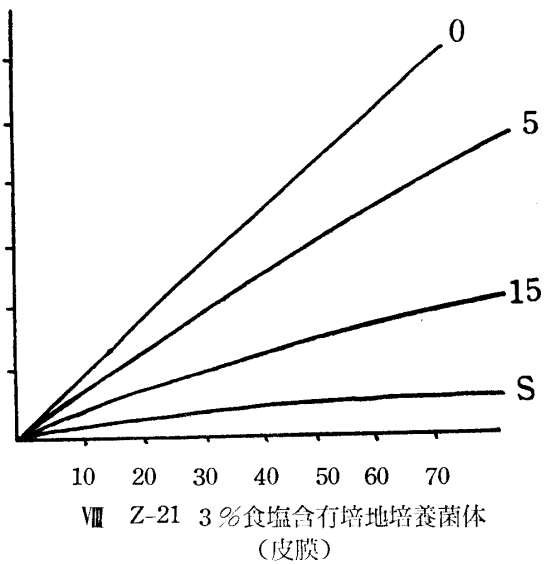
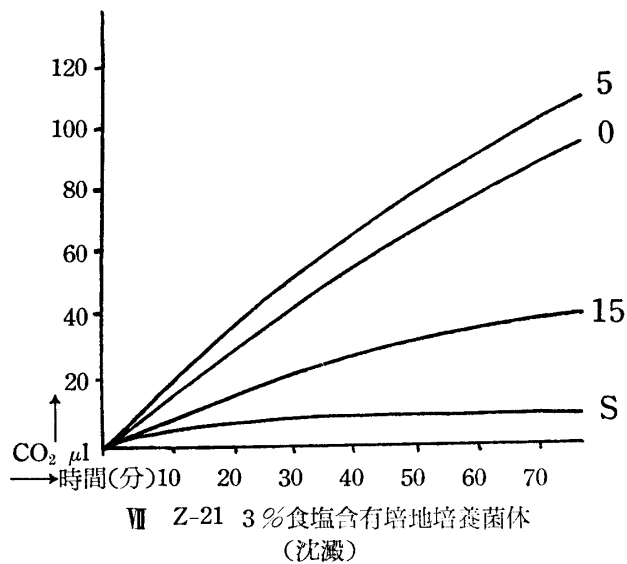
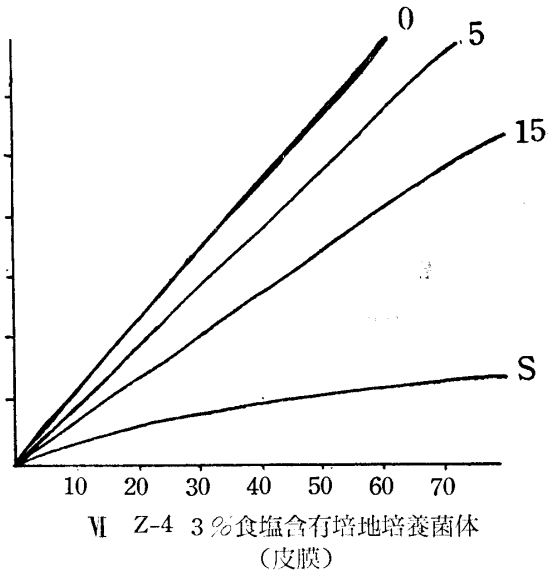
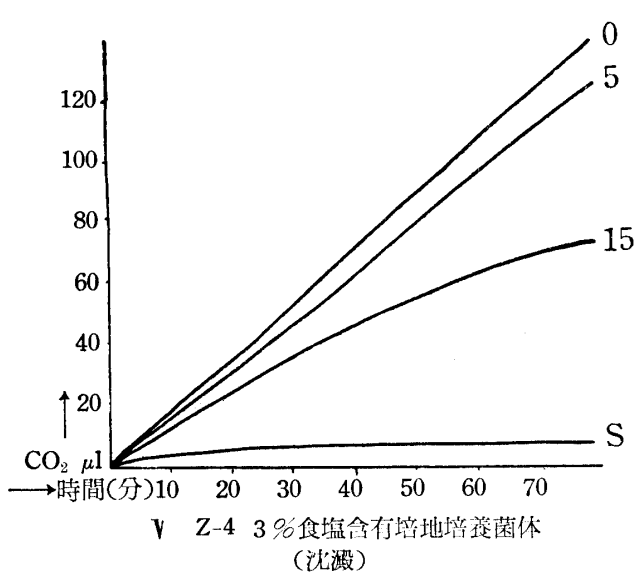
III Z-4 3%食塩含有培地培養菌体 (均一)

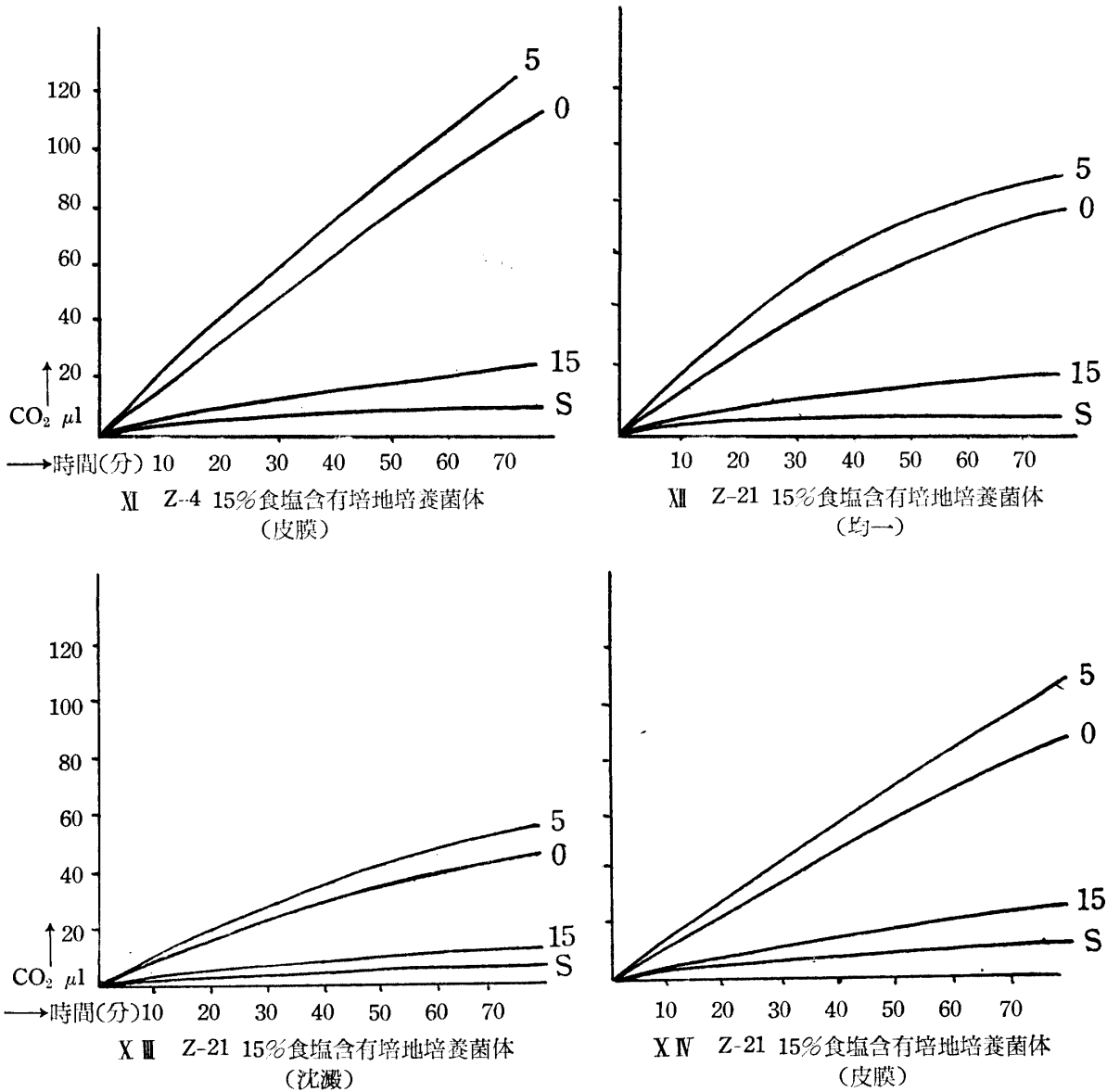


IV Z-21 3%食塩含有培地培養菌体 (均一)

る。又ⅢとⅣ及びⅤとⅥのグラフを比較すると、15%食塩濃度に於て培養された菌体はその代謝能が既に弱

まっているが、此れが5%食塩濃度区で代謝する場合は3%食塩含有培地で培養した場合と逆にその代謝能





第2図 グルコース代謝

{ 0 : 無食塩区代謝
 { 5 : 5%食塩濃度区代謝
 15 : 15%食塩濃度区代謝
 S : 自己代謝

は無食塩区の場合より僅かに上昇する傾向にあり、或程度の耐塩性を獲得したものと考えられるが、15%食塩濃度区に於ても3%食塩含有培地で培養した場合の如く、自己呼吸以下にならず、此点からも耐塩性の獲得を想像し得る。又一方産膜性酵母の場合、沈澱と皮膚を比較してみると、3%及び15%食塩含有培地で培養した場合、何れも皮膚の方が沈澱より代謝能の高いことを示している。又沈澱の場合は15%食塩含有培地で培養した場合、特にその代謝能は低下して居り、従つて全体としての代謝能は皮膚の方に主として存在する様に考えられる。尚 Z-6 及び Z-17 の非産膜性酵母の15%食塩含有培地で培養せる菌体に就て同様に代謝能を検討したか、殆ど検圧計で測定し得る程度の代

謝を示さなかつた。此の事は此等非産膜性酵母は高食塩濃度に於ては殆ど好氣的代謝を示さないものと考えられ、此の場合でもかなりの菌体を生成し且つ糖消費が認められることより嫌氣的代謝を行つて居るのではないかと推察される。従つて斯くの如き好氣的条件下に於ける代謝能測定のみでは明確にその実態を把握し得なかつたものと考えられる。

III. 考 察

4株の酵母は何れも食塩の存在によつてその代謝能に影響を受けるが、又一方予め15%程度の食塩を含有する培地に培養せる菌体は耐塩性を獲得して或程度の

第1表 各菌株の夫々の代謝の場合に於ける R-Q

菌 株	培養食塩濃度(%)	菌体試料	R-Q		
			無食塩区	5%食塩濃度区	15%食塩濃度区
Z-4	3	均一	0.82	0.81	0.81
Z-17	3	均一	0.76	0.89	0.74
Z-6	3	均一	0.86	0.81	0.93
Z-21	3	均一	0.99	0.96	1.09
Z-4	3	皮膜	0.89	1.04	1.18
Z-4	3	沈澱	0.94	1.17	1.13
Z-21	3	皮膜	0.89	0.86	1.09
Z-21	3	沈澱	0.79	0.92	0.71
Z-4	15	均一	0.86	0.93	1.07
Z-4	15	皮膜	0.86	0.94	1.15
Z-4	15	沈澱	1.04	0.91	1.33
Z-21	15	皮膜	0.86	0.93	1.00
Z-21	15	沈澱	1.01	1.20	1.38

食塩存在下に於ても代謝し得る様になるか、或は斯かる好氣的代謝とは異つた代謝を示す様になる。此處に於て此等の実験の夫々の場合の R-Q (呼吸率) を試みに比較検討してみると、第1表の如くなる。

全般的に見て R-Q は何れの場合も略 0.7~1.2 の間の値を示すが、3%食塩含有培地で培養された菌体でも一部例外もあるが、高食塩濃度区に於ける代謝の R-Q 値は大となる傾向を示し、それは皮膜、沈澱の何れの部分に於てもその傾向を認め得る。又高食塩濃度で培養された菌体は特に此の傾向は明かであり、此の点より食塩の存在に依つて好氣的代謝は弱くなり、嫌氣的代謝がそれに代つて行われる様になると想像し得る。而して非産膜性酵母に於ては特にその好氣的代謝が高食塩濃度で培養した場合見られなくなる事実の原因も、斯かる推論により或程度説明されるものと思われる。勿論以上の代謝能測定は何れも好氣的条件下に於て行つたものであり、更に此の推論を確かめる為引続き嫌氣的条件下に於ける代謝の検討を行う可きと考える。

要 旨

1. 産膜及び非産膜醬油酵母の代謝能と食塩との関係をワールブルグ検圧計を用いて好氣的に測定した結果、食塩の存在によつてその代謝能は何れの場合も弱められる事を認めた。

2. 予め高食塩濃度で培養した場合の菌体代謝能は一般に弱められているが、食塩に対する或程度の耐性を示した。尚非産膜性酵母の場合は全くその好氣的代謝能を測定し得なかつた。

3. 産膜性酵母の皮膜と沈澱の両部分の菌体に就て高食塩濃度に於てはその代謝能は主として皮膜に存在する事を認めた。

4. R-Q の示す結果より菌体各試料共にその代謝に於て食塩の添加と共に R-Q 値が僅かに増大する傾向を認めた。即ち食塩の存在によつて好氣的代謝が弱められ、それに代つて嫌氣的代謝が行われるであろうと推察した。

尚本実験の中菌体濃度測定に使用せる光電比色計は中江氏寄付のものを使用した。又ワールブルグ検圧計の使用に便宜を与えられた本学森教授に併せて深謝する。

文 献

- (1) 原田芳祐・中浜敏雄：醬油と技術. 2, 56 (1953)
- (2) 今原広次・原田芳祐・中浜敏雄：西京大学学術報告. 農学, 9, 78 (1957)
- (3) W. L. FLANNERY and R. N. DOETSCH : J. Bact. 66, 526 (1953)
- (4) J. ROBINSON and H. KATZNELSON : Nature 172, 672 (1953)

- (5) J. ROBINSON and N. GIBBONS : J. Bact. 64, 69 (1952)
- (6) L. S. SMITH and A. P. KRVEGER : J. Gen. Physiol. 38, 161 (1955)
- (7) W. L. FLANNERY : Bact. Rev. 20, 49 (1956)
- (8) 佐藤正弘・山田一彌・植村定治郎 : 日農化. 30, 492 (1956)
- (9) 佐藤正弘・植村定治郎 : 日農化. 30, 492 (1956)
- (10) 佐藤正弘・植村定治郎 : 日農化. 32, 79 (1958)

Summary

1. We investigated the influence of sodium chloride for the metabolism of film soya-yeasts and nonfilm soya-yeasts by Warburg's manometer in the aerobic condition. The metabolism of both film-soya-yeasts and non-film-soya-yeasts is weakened by increasing of salt concentration.

2. The metabolism of the viable cells which are prepared from the cultures in the high concentrated salt is generally weakened, having a little resistance for salt. The aerobic metabolism of the cells of nonfilm-soya-yeasts which are prepared in the same condition cannot be estimated by such experiment.

3. The comparison of the metabolism between the films and the precipitates of the cells of film soya-yeasts in high concentration of salt was performed and the result shows that the part of films has much metabolic power in such condition.

4. The respirations quotients of the metabolism at every experiment are shown to be slightly increased by adding of salt. These results are suggesting that the anaerobic metabolism of two kinds of soya-yeasts is raised up by increasing of salt concentration, being weakened in aerobic metabolism.