

白麴菌 (*Aspergillus Kawachii* Kitahara) の生物化學的研究 (第1報)

教授 農學博士 西 田 孝 太 郎
山 元 正 明

I 緒 言

著者等が茲に白麴菌と稱するものは10數年前鹿兒島稅務署技師河內源一郎氏が、甘藷燒酎用の種麴菌で氏の所謂中酸性黑麴菌を食パンに培養して、硫酸デシケーター内に保存中突然變異によつて發生した一新菌種である。同氏の實驗によれば硫酸デシケーター内に於ては雜菌は5日間位で死滅するが、白麴菌は20日位生存し得るので此性質の差を利用して該菌を純粹にすることが出来る。尙河內氏の實地試驗結果によれば、白麴菌は黑麴菌に比べて製麴が容易で、甘藷の樹脂分解力も強く、又生成した燒酎の品質は著しく優良である。従つて最近では黑麴より白麴に轉向する業者が増加しつつある状態である。

最近北原博士⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾は上記白麴菌の形態學的並に諸種の生理的性質に關する研究を行つた結果、該菌は明かに從來未記載の麴菌の一新菌種と認めて之に對し發見者の名に因み *Aspergillus Kawachii* と命名した。

次に白麴菌に關する北原博士の研究結果を要約すれば次の5項目となすことが出来る。(1)白麴菌の Diastase 組成を他の菌種と比較した場合次表の如き特異性が認められる。

	α -Amylase	β -Amylase	Maltase
黄 麴 菌	87	24	2.6
ア ミ ロ 菌	5	49	5.9
黑 麴 菌	約 40		8.3
白 麴 菌	100	28	16.1

即ち黑麴菌に欠けて居る α -Amylase を強く含んで居ることは醸造上1つの優れた點と考へられる。(2)中和劑を添加しない場合の酸形成試験に於て糖濃度10%の人工培養液に30° C, 7日間の培養で酸度 10c.c. 最高酸度は2週間位で大體 15c.c 程度となり、pHは比較的速に2.6位となるがそれ以上酸性にはならない。この事實から推して工場操作の場合でも恐らく酵母の醱酵を安全ならしめ得ると思われる。而して生成する酸の種類は主として枸橼酸で2週間位で最高に達する。(3)中和劑として炭酸石灰を添加した場合は、2週間位で略90%の糖が消費されるが、其消費糖に對し約70%の收量でグルコン酸が得られる。(4)白麴菌は protease, Invertase をも生産する。(5)形態的特徴について詳細研究された結果、河內氏の中酸性黑麴菌は乾氏の *Asp. luchuensis* に近似的の菌株であるが、白麴菌はその突然變異によつて出現したものと思はれる。今兩者を比較對照すれば次表の如くである。

	<i>Asp. luchuensis</i> (乾氏)	白 麴 菌 (北原氏)
菌 糸 の 色	白	白
菌 叢	白一褐黒色	白一黄一淡赫土色
分 生 子 柄	10~15 μ ×1,000~2,000	10~15 μ ×400~800
頂 囊	球形~橢圓20~30 μ	球形 20~30 μ
梗 子	單梗 6×3 μ	單梗 8~10×2.5~4 μ
分 生 子	往 4~4.5 μ 微棘褐黒	往 3~4.5 μ 粗面, 棘面, 淡赫土色
菌 核	不 認	未 認
適 温	30~35°C	30~35°C

北原氏以外には該白麴菌に關する研究を報告した者はないので、著者等は此特徴ある極めて有用な新しい麴菌に就て其生物化學的研究を企てた次第である。

I 實 驗 及 考 察

(1) 發育最適pH價に就て

武田氏⁽⁴⁾は *Aspergillus* 屬の諸性質を研究したが、*Asp. awamori*, *Asp. niger*, *Asp. Oryzae* の繁殖最適水素イオン濃度は肉眼的觀察によつて夫々、3.9~5.4, 3.0~4.9, 3.4~5.4であると述べて居る。

著者等は下記の如く肉眼的觀察と菌體重量とによつて白麴菌の繁殖最適pH價を求めんと試みた。

菌體重量に於ては各pH系列共大なる差は無いが、4.0附近と6.6附近に於て比較的多量と認められる。一方肉眼的觀察によれば酸性度の強いものほど液面の繁殖狀況は悪く、pH 4.0附近より酸性側に於ては菌蓋は液全面を蔽ふに至らず、且又色相も白色を呈して胞子の着生は不良である。

故に正常なる繁殖最適pH價は5.0~6.6と認める。

實 驗 の 部

(i) 培養基 蔗糖 100g, ペプトン 6g, KH_2PO_4 0.3g, $\text{Mg SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1g, Ca Cl_2 , Na Cl , FeCl_3 , 痕跡, 之を蒸溜水 1,000c.c. にとかしたるものを 200c.c. 内容綿栓三角フラスコに 50c.c. 宛取り, 下記の通り HCl と NaOH とを以て pH 2.0~8.0迄 (0.5毎) 各々 3 本宛調整常法に従い殺菌せるものを使用した。

番 號	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
HCl ^{cc}	1.0N 1.5	1.0N 1.1	0.1N 8.6	0.1N 7.6	0.1N 4.3	0.1N 3.3	0.1N 2.0	0.1N 0.5	—	—	—	—	—
NaOH ^{cc}	—	—	—	—	—	—	—	—	0.15N 1.0	0.15N 2.0	0.15N 2.5	0.15N 3.0	0.15N 4.5
H ₂ O ^{cc}	8.5	8.9	1.4	2.4	5.7	6.7	8.0	9.5	9.0	8.0	7.5	7.0	5.5
pH	2.0	2.5	3.0	3.4	4.0	4.4	5.0	5.5	6.2	6.6	7.2	7.4	8.0

(ロ) 培養法 上記各番號のもの3本宛計 39本について Asp. Kawachii 寒天斜面培養基上5日間(30°C)培養したものから胞子のみを接種して37°C恒溫器中で培養し、培養5日、9日、11日、の3回に亘り各1個宛取り出して觀察秤量した。

(ハ) 分析法 取り出した各培養基は直ちに菌體を濾別、充分水にて洗滌した後乾燥秤量した。

(ニ) pH價測定 接種前培養基pH價は、前記の如く酸、アルカリを添加した後コツホ殺菌器にて2回加熱後、東洋濾紙pH試験紙を以て檢した。

原培養基 の pH	5 日 間 培 養		原培養基 の pH		
	菌體量	繁 殖 状 況			
2.0	0.55	菌蓋は米粒大、塊状をなして液面上、極まばらに點在す。色相白色、胞子着生不認。	4.4	0.80	菌蓋は殆ど全面に亘り起伏し襞を生じ灰褐色を呈し、胞子着生多く白色部は見られず。
2.5	0.58	同 上。	5.0	0.75	菌蓋は完全に全面を蔽ひ起伏甚しく灰褐色にして胞子着生多し。
3.0	0.67	菌體は米粒大、まばらに點在す。色相は白色、胞子着生不認。	5.5	0.75	同 上。
3.4	0.68	菌蓋は米粒大、漸く各所に連結し、色相白色、灰褐色、胞子點々着生す。	6.0	0.75	同 上。
4.0	0.78	菌蓋は3.4に比し、液面露出部少く灰褐色を呈し、白色部點在す。胞子着生。	6.6	0.69	同 上。
4.4	0.63	菌蓋は殆ど全面に亘り襞を生じ、灰褐色を呈し、胞子着生す。	7.0	0.90	菌蓋は厚く全面を蔽ふも襞は餘り形成せず。他は同上。
5.0	0.61	同 上。	7.4	0.65	菌蓋は稍々うすく全面を蔽ひ灰褐色、胞子着生多し。
5.5	0.48	同 上。	8.0	0.67	同 上。
6.0	0.61	同 上。			
6.6	0.64	同 上。	原培養基 の pH	11 日 間 培 養	
7.0	0.63	菌蓋はうすく全面にひろがり、襞少く灰褐色、胞子着生。		菌體量	繁 殖 状 況
7.4	0.55	同上にして、襞を形成せず。	2.0	0.93	菌蓋は前回に比べ稍々發育せるも殆ど同じく胞子着生見られず。
8.0	0.53	同 上。	2.5	0.90	同 上。
			3.0	0.97	同上、點々と灰褐色を呈し胞子着生す。
原培養基 の pH	9 日 間 培 養		3.4	0.96	前回と容貌殆ど變らず、液露出面稍々少し。
	菌體量	繁 殖 状 況	4.0	0.90	前回と同様なるも殆ど液全面を蔽ふ。
2.0	0.80	菌蓋は小豆大、塊状まで發育せるも他は前回と同じ。	4.4	0.84	菌蓋全液面を蔽ひ起伏甚しく襞を生じ、灰褐色にして胞子良く着生す。
2.5	0.89	同 上。	5.0	0.85	菌蓋は全液面を蔽ひ周圍は多少隆起し厚味を加ふ。他は前に同じ。
3.0	0.83	同 上。	5.6	0.91	同 上。
3.4	0.97	小豆大塊状、菌蓋となり液面に於ける起伏甚だしく、白色を呈し頂部は灰褐色となり胞子着生す。	6.2	0.86	同 上。
4.0	0.82	3.4に類似するも灰褐色部多く白色部は僅少、胞子着生稍々多し。	6.6	0.82	同 上。
			7.2	0.80	前回と同様、起伏は餘り見られず菌蓋厚味を加ふ。
			7.4	0.73	菌蓋は襞を生ぜず液面に厚く擴がる。
			8.0	0.74	同 上。

(2) 生酸最適pH價に就いて

北原氏⁽⁵⁾は白麴菌の生酸する主なる酸類として蔞酸、枸橼酸、グルコン酸を定量して居るが、著者は2.0~8.0迄の各pHに於て適定酸度の最高を示す個所を知る爲に實驗を行つた。

酸度適定値としては pH 2.5, 4.0, 7.2 附近に於て比較的高い値を示すが、その内でも微酸性からアルカリ性に傾くにつれて高い値を示す傾向にあり、7.2附近が最高値を示して居る。又短時日の培養に於ては pH 2.5~4.0 附近が比較的早く高い値に達するが、酸度の減少も早い。培養11日間に於ては、残糖は未だ2%内外存するが、酸度は減少し、その減少度は pH 5.0以下に於て速かとなる傾向がある。

滴定酸度に於て3ヶ所の高い値が見られるのは前述した様に蓚酸、枸橼酸、グルコン酸等が混合して生産されるので、かゝる現象が見られるものと思考する。而して中性乃至アルカリ性側に近づくにつれその消費糖は少いにかゝわらず、酸度は高い値を示すから、此の側に於ては主として蓚酸を多く生産するものと考えられる。

培養中のpH値の變化を見ると培養5日間に於て6.2~2.0迄のものは、既にpH2.8以下となり、9日間培養に於ては全部2.7以下に達し、pH2.0と2.5は當初のpHと培養後のpHとは餘り差が見られない。11日間培養では、pH2.0, 2.5をを除き、その最終pHは2.6~2.8となつて、殆んど接近して来る。

實 験 の 部

(i) 培 養 基 (1)の場合と同様

(ii) 培養方法 (1)の場合と同様

(v) 分 析 法

1 酸度 先づ菌體を濾別し、濾液は洗液と合して 100c.c. となし、その内から 10c.c. を取り N/10NaOHを以て phenolphthalein を指示薬として滴定し、原培養液 10c.c. 中の酸度に換算して、その滴定數を以て表はす。

2 消費糖 前記 100c.c. 中より 5c.c. を取り、ベルトラン法に依り残糖を轉化糖として滴定、原培養液 100c.c. 中の瓦數を以て示す。

3 pH 菌接種前の培養基pHは(1)と同じく pH調整液添加後培養基を2回コッホで殺菌後東洋濾紙製pH試験紙によつて測定した。培養後のpHは同じく直ちにpH試験紙を用いて測定した。

菌接種 前 pH	培 養 期 間 5 日			9 日			11 日		
	酸 度	消費糖	最終pH	酸 度	消費糖	最終pH	酸 度	消費糖	最終pH
2.0	4.16	6.10	1.8	4.16	7.15	1.8	2.34	7.66	1.8
2.5	5.00	6.10	2.2	5.40	7.41	1.9	3.40	7.58	2.0
3.0	4.66	6.70	2.2	5.40	7.66	2.0	0	8.33	2.6
3.4	4.66	6.80	2.2	3.20	7.58	2.2	2.82	8.25	2.6
4.0	5.20	7.25	2.3	5.20	7.58	2.3	4.34	8.20	2.5
4.4	2.80	6.03	2.7	4.20	7.41	2.4	4.20	8.16	2.6
5.0	2.50	5.93	2.7	5.80	7.50	2.6	3.40	7.66	2.7
5.5	4.16	5.60	2.7	3.00	6.80	2.7	6.20	8.33	2.6
6.2	3.20	6.63	2.8	5.60	7.41	2.5	4.50	8.50	2.8
6.6	4.16	6.20	3.0	6.20	7.24	2.5	5.80	7.95	2.8
7.2	4.00	5.80	3.4	6.60	7.74	2.6	6.42	7.45	2.7
7.4	4.60	5.93	3.2	4.20	6.50	2.7	6.34	7.31	2.7
8.0	4.00	5.80	3.2	5.40	6.80	2.6	6.60	7.66	2.6

註 原培養基全糖 10.20.

■ 要 約

(1) 白麴菌の正常なる繁殖最適pH値は5.0~6.6である。而して菌體重量に於ては各pH系列共大きな差は認められない。

(2) 生酸に對する最適pHは、滴定酸度については2.5, 4.0及び7.2附近の3點が認められるが、就中7.2附近が最も著るしい。而してpH 4.0~2.5では酸の生成は速かであるが、その消費も亦早い傾向を示す。

(3) 培養中のpH値の變化は各系列共に5日にして著しく低下し、9日間にして2.7以下となり、11日間では2.6~2.8となつて互に極めて接近して來る。但し菌接種前pH 2.5及び2.0のものは培養11日後に於ても其溶液のpHは2.0以上にはならない。

文 献

- (1) 北原覺雄, 吉田満知子: 日本農化關西支部例會報告, (昭21・10)。
- (2) 北原覺雄: 醱酵工學雜誌, 27 (1949), 162.
- (3) 北原覺雄, 久留島通俊: 同誌, 同卷, 1~3號, 1, 4號, 6, 8號, 182.
- (4) 武田義人: 日本農藝化學會誌, 10 (1934), 1305.
- (5) 北原覺雄: (2)に同じ。

Résumé

Biochemical Studies on "White-Kōji Mold"

Aspergillus Kawachii Kitahara (I)

K. Nishida and M. Yamamoto

Abuot twenty years ago Mr. G. Kawachi isolated "White-kōji mold" from the "Black-kōji mold" *Aspergillus awamori* by mutation, and Dr. K. Kitahara has recently investigated the mold, and named it *Aspergillus Kawachii*. In recent years, "White-kōji mold" are coming into general use for brewing the "shōchū" of superior quality.

We have attempted to study on the biochemistry of the "white-kōji mold" and in this experiment the optimum pH for the growth of the mold, and for the total acid formed by the mold were determined as follows:

- (1) The optimum pH for the normal growth was 5.0~6.6.
- (2) The maximum point of the total acidity were about pH 2.5, 4.0 and 7.2 at the first period of the culture, but the total acidity decreased more rapidly at the acidic medium than at the alkaline. The optimum pH for the maximum total acidity, therefore, was 7.2.
- (3) The pH of media found after the mold-culture changed as follows: pH 2.7 to 2.0 after 9 days, and pH 2.8 to 2.6 after 11 days, thus approximating to one another, with the exception of the media, the initial pH of which were 2.5 and 2.0.