

始



14. 24  
126

# 釀造試驗所報告

第百二十七號

昭和十三年二月



REPORT  
OF THE  
GOVERNMENTAL INSTITUTE  
OF  
BREWING

No. 127 (1938)

釀造試驗所

東京市瀧野川區瀧野川町

Published by

Governmental Institute of Brewing

Takinogawa, Tokyo, Japan

February 1938

416



**REPORT OF THE GOVERNMENTAL  
INSTITUTE OF BREWING**

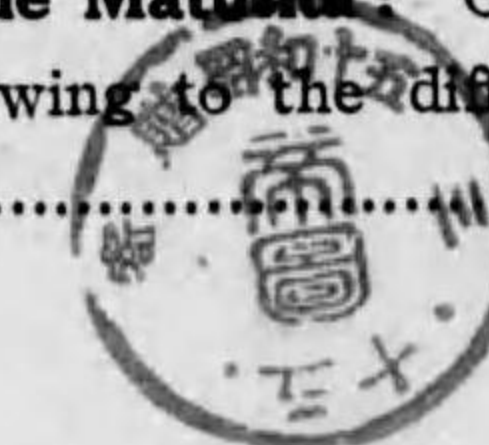
No. 127 (February 1938)

:o:

**CONTENTS**

**The part of scientific researches**

1. **Kanroku Kurono und Sumie Takizawa**: Über die antiseptische Wirkung von Fumarsäure ..... 1
2. **Masakazu Yamada, Seiji Tatuno and Kazuo Sugihara**: On acids in *saké* ..... 13
3. **Masakazu Yamada and Tatuó Urano**: On an irritant smell of *saké* changed in quality ..... 19
4. **Masakazu Yamada and Tatuó Urano**: On acids produced by *saké* yeast, Part II ..... 23
5. **Masakazu Yamada and Kazuo Sugihara**: On the fermentation products of *Bacillus mesentericus vulgatus sp.* ..... 27
6. **Masakazu Yamada and Tatuó Urano**: On the change of quality of barrelled *saké* ..... 33
7. **Hide Katume and Seiju Tanaka**: On the preservation of *saké* diluted with katadyn treated water ..... 35
8. **Sumie Takizawa und Seiju Tanaka**: Über die antiseptische Wirkung der verschiedene Materialien für *saké* ..... 41
9. **Masakazu Yamada and Seiji Tatuno**: On the diastatic enzymes in pasteurized *saké* ..... 47
10. **Sumie Takizawa**: Die Untersuchung über des Amylase von *Aspergillus oryzae* (I Mitt.) Über die Einzelheit des dextrinierendes Enzymes ..... 49
11. **Fujio Oana and Kazue Matusita**: On the difference of acid and glycerin formation owing to the different type of alcoholic fermentation ..... 59



12. <b>Fujio Oana</b> : Studies on yeast. Variation of properties by acclimatizing .....	63
13. <b>Fujio Oana and Kosei Zoku</b> : 3 kinds of <i>Rhizopus</i> (from chinese yeast 'Chizu') and their properties .....	79
14. <b>Sumie Takizawa</b> : Das Interesse der Dämpfung von Reis unter Hochdruck für <i>saké</i> -brauerei .....	89
15. <b>Tosi Fukai and Shōjirō Inamori</b> : On the colouring of 'shōyu' and 'miso'. Part I .....	91
16. <b>Masakazu Yamada and Kititarō Isimaru</b> : On the estimation of sugar in <i>shōyu</i> .....	115
17. <b>Kenji Matumoto and Shūkō Chō</b> : On bacteria in <i>shōyu</i> -manufactured with various raw materials and in 'Chian taofu' .....	123
18. <b>Kanroku Kurono und Osamu Tanabe</b> : Über die Säureverzuckerung von der Trockenbataten .....	299

1424  
126

## REPORT OF THE GOVERNMENTAL INSTITUTE OF BREWING

No. 127 (February 1938)

### CONTENTS

#### The part of brewing trials

1. <b>Kanroku Kurono, Masakazu Yamada, Hide Katume, Tatio Urano, Itiro Niimi and Kaisuke Siba</b> : On economical method of brewing to obtain the best quality of <i>saké</i> . Part II .....	309
2. <b>Kanroku Kurono, Masakazu Yamada, Yositaro Isimaru, Itiro Niimi and Kazuo Sugihara</b> : On economical method of brewing to obtain the best quality of <i>saké</i> . Part III .....	319
3. <b>Masakazu Yamada and Tatio Urano</b> : Brewing trial of <i>saké</i> with the <i>moto</i> -mash adjusted its acid-content. Part I .....	325
4. <b>Masakazu Yamada, Yositaro Isimaru and Kazuo Sugihara</b> : Brewing trial of <i>saké</i> with the <i>moto</i> -mash adjusted its acid-content. Part II .....	335
5. <b>Fujio Oana, Ryoji Hiyama and Rihei Sekiguti</b> : Steeping of rice in papain solution and its effect on the brewing of <i>saké</i> .....	343
6. <b>Fujio Oana, Ryoji Hiyama and Rihei Sekiguchi</b> : Application of "koji" of wheat-bran to <i>saké</i> brewing .....	369
7. <b>Hide Katume, Itirō Niimi and Kaisuke Siba</b> : Brewing trial of <i>saké</i> , employing special kind of <i>Aspergillus oryzae</i> (Part III) .....	379
8. <b>Kanroku Kurono, Hide Katume und Itirō Niimi</b> : Ein neuer mechanischen Apparat von der <i>Koji</i> -bereitung und der Versuch mit diesem Apparat (II) .....	391
9. <b>Kanroku Kurono, Hide Katume, Sumie Takizawa and Itiro Niimi</b> : Brewing trials of <i>saké</i> employing the <i>saké</i> waste hydrolyzed with a diluted hydrochloric acid.....	397

10. Kanroku Kurono, Hide Katume, Kigen Honda, Itirō Niimi, Yasuiti Harada, Hisamitu Seto, Kaisuke Siba, Tatu Urano and Keisaburō Nose: Brewing trials of <i>saké</i> for export.....	407
11. Masakazu Yamada and Kazuo Sugihara: An observation on time of steeping of the highly polished rice of soft nature.....	425
12. Masakazu Yamada, Hide Katume and Tatu Urano: On the variation of chemical composition of rice during the polishing ...	429
13. Kenji Matumoto and Tutomu Takahashi: The comparison of waters for <i>shōyu</i> -brewing.....	433
14. Kenji Matumoto, Yasuzō Yabuuti and Seiiti Nonomura: On the Application of special <i>shōyu</i> -mash by anaerobic culture for <i>shōyu</i> -brewing.....	439
15. Kenji Matumoto and Kiyosi Nagahasi: The comparison of several kinds of <i>Aspergillus oryzae</i> for <i>shōyu</i> -brewing .....	449
16. Kenji Matumoto, Tutomu Takahasi and Seiiti Nonomura: The comparison of various kinds of fat free soy-beans as raw material of <i>shōyu</i> . Part I .....	457
17. Kenji Matumoto, Tutomu Takahasi and Seiiti Nonomura: The comparison of various kinds of fat free soy-beans as raw materials of <i>shōyu</i> . Part-II .....	467
18. Kenji Matumoto, Yasuzō Yabuuchi and Seiiti Nonomura: The application of white rice-bran for <i>shōyu</i> -brewing. Part I.....	481
16. Kenji Matumoto, Tutomu Takahasi and Seiiti Nonomura: The application of white rice-bran for <i>shōyu</i> -brewing. Part II .....	489
20. Toshi Fukai, Yasuzō Yabuuti and Seiiti Nonomura: A new special method of light coloured <i>shōyu</i> -manufacture .....	503
21. Toshi Fukai, Yasuzō Yabuuti and Seiiti Nonomura: Trial of brewing by quick process, utilizing various substitutionary raw materials .....	513
22. Toshi Fukai and Shōjirō Inamori: Brewing trial of " <i>miso</i> " by system of warming .....	523
23. Kanroku Kurono and all members of alcohol-department: Industrial trials of the absolute alcohol manufacture .....	533

## 醸造試験所報告第二百二十七號目次

昭和十三年二月

### 學術的研究

フマル酸の防腐性に就て.....	{ 黒野勘六 滝沢澄江	1
清酒の酸に就て.....	{ 山田正一 立野静治 杉原一男	13
所謂ボテ香或はツン香に就て.....	{ 山田正一 浦野龍夫	19
清酒酵母の生産する酸に就て(第二報).....	{ 山田正一 浦野龍夫	23
細菌の生産物(第一報) 馬鈴薯菌の酸酵 生産物に就て.....	{ 山田正一 杉原一男	27
樽詰せる清酒の變化に就て.....	{ 山田正一 浦野龍夫	33
カダデン處理水による加水清酒の火持に 就て.....	{ 勝目英 田中清壽	35
數種藥品の清酒防腐性に就て.....	{ 滝沢澄江 田中清壽	41
古酒中の糖化酵素に就て.....	{ 山田正一 立野静治	47
麴菌のアミラーゼに関する研究(第一報) (澱粉糊精化酵素の獨立性に就て)	滝沢澄江	49
酒精酸酵形式による酸並にグリセリン生 成量の差違に就て.....	{ 小穴富司雄 松下一榮	59
酵母の研究(第一報) 馴致による性質變化	小穴富司雄	63
麴子より分離せる三種のリゾプスと其 の性質に就て.....	{ 小穴富司雄 續光清	79

酒造米高壓蒸煮の利害	浦沢澄江	89
醤油及味噌の着色に就て(第一報) 醤油 細菌と色素生成	{ 深井冬史 稻森庄次郎	91
醤油中の糖分の定量に就て	{ 山田正一 石丸吉太郎	115
原料を異にしたる各種醤油諸味竝に紅腐 乳中の細菌類に就て	{ 松本憲次 趙習恒	123
切干甘藷の酸糖化に就て	{ 黒野勘六 田邊脩	299

醸造試験所報告第二百二十七號目次

昭和十三年二月

實地醸造試験

吟醸經濟化試験(第二報)	{ 黒野勘六 山田正一 勝目英 浦野龍夫 新美一郎 斯波快助	309
吟醸經濟化試験(第三報)	{ 黒野勘六 山田正一 石丸吉太郎 新美一郎 杉原一男	319
適酸決定清酒醸造試験(第一報)	{ 山田正一 浦野龍夫	325
適酸決定清酒醸造試験(第二報)	{ 山田正一 石丸吉太郎 杉原一男	335
酒造米バイン浸漬試験(第一報)	{ 小穴富司雄 檜山亨以 關口利兵衛	343
麩麴使用清酒醸造試験	{ 小穴富司雄 檜山亨以 關口利兵衛	369
特種麴菌を使用せる清酒醸造試験 (第四報)	{ 勝目英 新美一郎 斯波快助	379
大藏式製麴機並びにその製麴試験 (第二報)	{ 黒野勘六 勝目英 新美一郎	391

酒粕酸分解液仕込清酒醸造試験	{ 黒野勘六 勝目英 滝沢澄江 新美一郎	397
輸出向清酒醸造試験	{ 黒野勘六 勝目英 本多紀元 新美一郎 原田保一 瀬戸久光 斯波快助 浦野龍夫 能勢繁三郎	407
軟質高度精白米の長時間浸漬と短時間浸漬との考察	{ 山田正一 杉原一男	425
精白に依る米の成分の變化に就て	{ 山田正一 勝目英 浦野龍夫	429
醬油醸造用水比較試験	{ 松本憲次 高橋孜	433
嫌氣的培養法諸味添加醬油醸造試験	{ 松本憲次 藪内安藏 野々村誠一	439
麴菌種比較醬油醸造試験(第二報)	{ 松本憲次 長橋清	449
各種脱脂大豆使用醬油醸造試験(第一報)	{ 松本憲次 高橋孜 野々村誠一	457
各種脱脂大豆使用醬油醸造試験(第二報)	{ 松本憲次 高橋孜 野々村誠一	467
白糖使用醬油醸造試験(第一報)	{ 松本憲次 藪内安藏 野々村誠一	481
白糖使用醬油醸造試験(第二報)	{ 松本憲次 高橋孜 野々村誠一	489

淡口醬油醸造試験	{ 深井冬史 藪内安藏 野々村誠一	503
代用原料速醸試験	{ 深井冬史 藪内安藏 野々村誠一	513
味噌温醸試験	{ 深井冬史 稻森庄次郎	523
無水酒精製造に関する工業的試験	{ 黒野勘六 酒精部員一同	533
昭和十一酒造年度全國優良新酒調査		573

—(目次終)—





# 醸造試験所報告第二百二十七號

昭和十三年二月

## 學術的研究

### フマール酸の防腐性に就て

Über die antiseptische Wirkung von Fumarsäure.

黒野勘六  
滝沢澄江

#### 總 說

フマール酸に関する古來の文献を徴するにツオツブ<sup>(1)</sup>は各種の食用茸菌類 (Früffel, Champignon, Schmarzmorchel 及び Fliegenpilz) 中にフマール酸の生成を發見し、ベルシュ<sup>(2)</sup>は *Sarcina flava* 菌に就てフマール酸の同化せらるゝ事を證し、又高橋偵造博士等<sup>(3)</sup>はフマール酸が麹菌の長期培養液中に生産せらるる事を認めたり。

尙フマール酸と其の異性體たるマレイン酸との比較的研究に就てマレイン酸はフマール酸より酸性強く糸狀菌及バクテリアに対してもフマール酸よりも安定にして、ブフナー<sup>(4)</sup>はフマール酸は其遊離酸及び中性アモニウム鹽の形態に於て青黴 (*Penicillium glaucum* 或は黒黴 (*Aspergillus niger*) によりて同化せらるゝもマレイン酸は然らずと報じ、ローラン<sup>(5)</sup>はフマール酸が酵母によりて同化せらるゝ事を證せり。フレンケル<sup>(6)</sup>は其著書に於てマレイン酸は高等動物に対して毒性を有すれどもフマール酸は無毒なりと記載せり。又フォデラ<sup>(7)</sup>はマレイン酸の溶液中に於て青黴は發育不良なるか或は全く發育せざるもフマール酸の溶液中に於ては發育頗る良好なりと報ぜり。

予輩は先づ *Bacillus aerogenes*, *B. aromaticus*, *B. butylicus*, *B. coli commuuis*, *B. fluorescens*, *B. mesentericus*, *B. proteus vulgaris*, *B. prodigiosus*, *B. butylicus* 等23種のバクテリア類を0.05%のフマール酸を中和状態及び遊離状態にて添加せるヴィオン培養基中に培養せしも其の添加せざるものに比し發育上何等の異變なきを認めたり。尙予輩は清酒酵母, 上面麥酒酵母, 下面麥酒酵母, 酒精酵母産膜酵母, *Chalara*, *Mycoderma*, *Sacch. apiculatus*, *Sacch. anomalus*, *Sacch. Ludwigii*, *Sacch. Marxianus*, *Sacch. Pasteurianus*, *Zygosacch. soya*,

*Zygosacch. salsus*, *Torula rosea*, *Aspergillus oryzae* 等 21 種の酵母類, 不完全酵母類及び麹菌を麹汁培養基に 0.05% のフマル酸を中和状態又は遊離状態にて添加せるものに培養せしめ其發育は無添加のものと差異なきを認めたり。然るに此の麹汁培養中に於て特に清酒より得たる 2 種の乳酸菌は中性又遊離フマル酸の添加によりて明に其の發育を阻害せらるることを認めたり。

茲に於て著者は進んで 3 割加水の清酒に就てフマル酸を 0.001, 0.005, 0.01, 0.02% の諸種の量に添加し火落菌を移殖して其の防腐作用を試験し、尙同時に既知の諸防腐剤と其の效力の程度を比較したるに、フマル酸は 0.02% 以上に於ては明瞭に火落防止作用あるを示し、マレイン酸より其の効力程度僅かに劣れども大差無し。次にサリチル酸或ひは  $\beta$ -オキシナフトイック酸に比較すれば其効力は遙かに劣り、サリチル酸及びパラオキシ安息香酸ブチルエステルの約半分の効力を有するものと認め得べし。然れどもハンマニ、ニバチン A, ニバソール M 等に比較すれば遙かに強力なる火落防止作用を示せり。

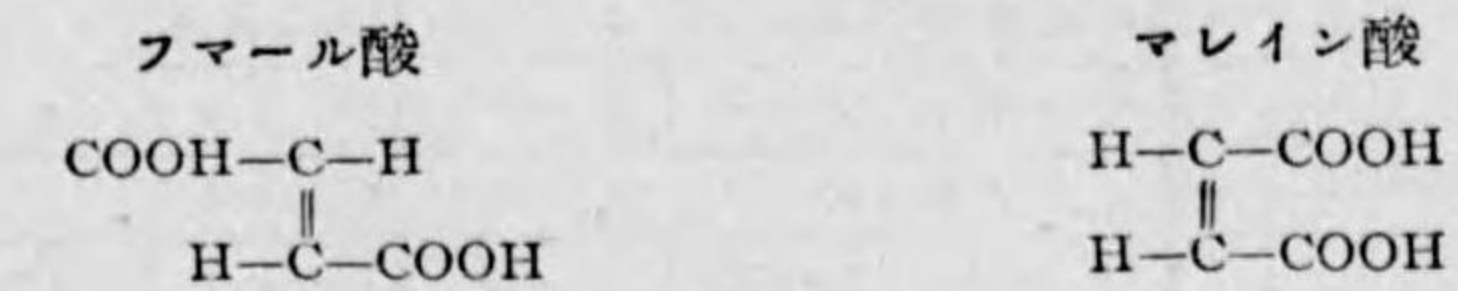
以上既往の文献及び著者の研究に徴するにフマル酸はマレイン酸と異なり高等動物及び一般腐敗バクテリア類、微類及び酵母類に對し全く無害無毒のものにして菌類によりて同化され全く防腐劑的物質に非ざること明瞭なり。然るに予輩の實驗に示す如く全く衛生無害なるフマル酸が乳酸菌並びに清酒の火落菌の發育を防止する特異性を有すること明瞭にして此事實は予輩初めて發見せる稀有の現象なりと信す。

由來清酒の如き其貯藏困難なる醸造酒は未だ防腐劑の必要を感じ従つてサリチル酸、パラオキシ安息香酸エステルの如き特に法律的に許容せられ居る防腐劑あり。然れども之等の防腐劑は多少其程度に差異こそあれ何れも衛生的に有毒作用を呈するものに外ならず、従つて法律的にも其使用量に一定の制限を附され居るなり。此故に眞に衛生上無害の物質にして只清酒火落菌の發育を防止する如き特異性を有する化合物の發見せらるる事は多年醸造界に於て曉望せられ居る重大問題なりとす。もし斯くの如き曉望を達する事を得ば法律的に於ても何等の束縛を施すの必要なく自由の見地に於て之を使用する事を得べく、清酒の貯藏を絶體に安全ならしむると同時に國民の衛生問題に對し至大の貢獻を呈するものと謂ふべし。然るに斯くの如き醸造界の宿望は百年河清を望むものとして一部の人士に依りては笑殺せられたる問題なりしなり。然るに幸に余輩等の研究が茲に其宿望の一端を満す事を得たるは醸造界の爲誠に本懐とする所なり。而かも此フマル酸は麹菌の種類及び其培養の如何によりて其生産に差異あり。或ひは皆無なる場合等あり。之等の生理的諸問題は今後遂次解決せんとする所にして之に依つて清酒本源の防腐性に關する重大問題の解決に一光明を與へるものと信するものなり。

過去に於てフマル酸は其火落防止的意義に就ては全く無意識なりと雖も理研酒の如き合成酒には單に一酸味料として琥珀酸等に代用せられつゝあるものなり。従て今後フマ

ル酸を天然醸造酒に利用し又は生理的に其生産増加を計る如きは何等法律上及び社會上の問題を誘起せざるものと思はせらる。

次にフマル酸及びマレイン酸の清酒火落防止作用は單に其の酸性度即ちカルボキシル基の存在に依るに非ず其分子構造中の二重聯結の存在に基くものたるを認め得べし。何となれば此兩酸は之を中和したる場合に於ても尙顯著の火落防止作用を呈するに依るなり。



次に予輩はフマル酸が清酒の火落防止作用を示す外に他の醸造酒、果汁及び清涼飲料に對し防腐的効力あるやを試験せしに、麥酒に就ては 0.01% にて其効力を認め得られ 0.04% にて著明に其効力を現はせり、又葡萄酒に就ては 0.02% にて効力を示し 0.05% にて顯著なる効力を示せり。然るに果汁及清涼飲料に就ては其効力無く又醬油の生黴防止作用に就ても其の効力無きことを認めたり。要するにフマル酸の特異作用は醸造酒の腐敗を防止し以て安全なる貯藏をなさしむるものなりと認めらる。

## 實 験 の 部

### 1. 諸菌類の培養に對するフマル酸の作用

#### A. ブイヨン培養試験

牛肉 750g に井水 150c.c. を加へ 50°C に 30 分間處理して濾過し、之にペプトン 15g 及び食鹽 7.5g を添加して加温溶解せしめたる後、苛性ソーダを以て酸を中和し、其一部を採りて 10c.c. 宛試験管に配布し(イ印)、殘液にはフマル酸を 0.05% になる如く添加し加温溶解せしめ其一部を採りて前回同様配布し(ロ)、最後に再び苛性ソーダを以て殘液の酸を中和後同様配布せり(ハ)。而して 1 時間宛 3 日蒸氣殺菌し各々に菌を移殖せる後 33°C 定温器に放置して日々其發育状態を觀察せり。表中+印多き程發育良好なり。

試験 番號	菌種名	経過日數		1		3		
		イ	ロ	(H)				
1	<i>Bacillus aerogenes</i> Kruse	イ	+	+	++	++	++++	++++
		ロ	+	+	+++	+++	+++++	+++++
		ハ	±	±	++	++	+++	++++
2	" <i>aromaticus lactis</i> Grimm	イ	+++	+++	++++	++++	++++	++++
		ロ	+++	+++	+++	++++	+++	++++
		ハ	+++	+++	+++	++++	++++	++++
3	" <i>butyricus</i> Hüppe	イ	+++	+++	++++	++++		
		ロ	+++	+++	++++	++++		
		ハ	+++	+++	++++	++++		

4	" coli communis Escherich	イ	++	++	+++	+++	+++	+++
		ロ	++	++	+++	+++	+++	+++
		ハ	++	++	+++	+++	+++	+++
5	" denitrificans	イ	+++	+++	++++	++++	+++++	+++++
		ロ	+++	+++	+++	+++	+++++	+++++
		ハ	+++	+++	+++	+++	+++++	+++++
6	" fluorescens albus Zimmermann	イ	+++	+++	+++	+++		
		ロ	+++	+++	+++	+++		
		ハ	+++	+++	+++	+++		
7	" lactis niger Gorim	イ	++	++	+++	+++	++++	++++
		ロ	++	++	+++	+++	++++	++++
		ハ	++	++	+++	+++	++++	++++
8	" latericus Adametz et Weichmann	イ	++++	++++	++++	++++		
		ロ	++++	++++	++++	++++		
		ハ	++++	++++	++++	++++		
9	" megatherium bombycus	イ	+++	+++	+++	+++	++++	++++
		ロ	+++	+++	+++	+++	++++	++++
		ハ	+++	+++	+++	+++	++++	++++
10	" mesentericus niger Lunt	イ	+++	+++	+++	+++		
		ロ	+++	+++	+++	+++		
		ハ	+++	+++	+++	+++		
11	" mesentericus vulgatus Flügge	イ	+++	+++	+++	+++		
		ロ	+++	+++	+++	+++		
		ハ	+++	+++	+++	+++		
12	" mycoides corall	イ	+++	+++	+++	+++		
		ロ	+++	+++	+++	+++		
		ハ	+++	+++	+++	+++		
13	" proteus vulgaris Hansen	イ	++	++	+++	+++		
		ロ	++	++	+++	+++		
		ハ	++	++	+++	+++		
14	" proteus zenkeri Hansen	イ	++	++	+++	+++		
		ロ	++	++	+++	+++		
		ハ	++	++	+++	+++		
15	" prodigiosus	イ	+++	+++	+++	+++	++++	++++
		ロ	+++	+++	+++	+++	++++	++++
		ハ	+++	+++	+++	+++	++++	++++
16	" ruminatus	イ	+++	+++	+++	+++	++++	++++
		ロ	+++	+++	+++	+++	++++	++++
		ハ	+++	+++	+++	+++	++++	++++
17	" typhi murium Mereschkowsky	イ	+	++	++	++	+++	+++
		ロ	+	++	+++	+++	+++	+++
		ハ	+	+	++	+++	++	+++

18	Bactericum nitrovorum	イ	-	±	+++	+++	++++	++++
		ロ	±	+	+++	+++	+++	+++
		ハ	-	-	+++	+++	++++	++++
19	" Jürgensens, Burchard	イ	-	-	+++	+++	++++	++++
		ロ	±	±	+++	+++	+++	+++
		ハ	-	-	+++	+++	++++	++++
20	Diplococcus concentricus	イ	+	+	++	++	+++	+++
		ロ	+	+	++	++	+++	+++
		ハ	±	+	++	++	+++	+++
21	Micrococcus candicans Flügge	イ	±	±	++	++	+++	+++
		ロ	+	+	++	++	++	+++
		ハ	±	+	++	++	+++	+++
22	" ureae	イ	±	±	+++	++	+++	+++
		ロ	+	+	++	+++	+++	+++
		ハ	-	±	+++	+++	++++	++++
23	Sarcina albida Gruber	イ	±	±	++	++	++	+++
		ロ	±	±	++	++	++	++
		ハ	-	-	+	+	+++	+++

B. 麹汁培養試験

Bilg. 12° 麹汁を採りて前試験と同様處理して試験管に配布し、殺菌移殖して放置せり。

試験番號	菌種名	経過日數													
		1 (日)	2	3	4	5	6	14	15						
1	Milchsäure bacteria aus Saké(良性)	イ	-	-	++++										
		ロ	-	-	-	-	±	±	±	±	±	±	++++		
		ハ	-	+	++	+++									
2	" (悪性)	イ	-	±	+	++	##	##							
		ロ	-	-	-	±	-	±	-	±	-	±	-	+	
		ハ	-	-	-	++	##	##							
3	Aging yeast for saké, Takahahi	イ	+	++	+++	+++									
		ロ	++	++	+++	+++									
		ハ	++	+++	+++										
4	Brennerei Hefe Rasse 2	イ	+++	+++	##	##									
		ロ	##	##											
		ハ	+++	+++											
5	Chalara mycoderma	イ	-	-	+	++	++	++	+++	+++					
		ロ	-	-	+	+	++	++	+++	+++					
		ハ	-	-	+	+	++	++	+++	+++					
6	Kahmhefe Fukumoto	イ	-	-	±	±	±	++	+	+++	+++	##	##		
		ロ	-	-	±	±	±	±	±	++	++	+++			
		ハ	-	-	±	±	±	+	±	++	++	+++			
7	Mycoderma Will	イ	+	+	+++	+++									
		ロ	+	+	+++	+++									
		ハ	+	+	+++	+++									



ソナフト イツク ダ酸	0.005%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	++	+++	+++				
	0.01%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.02%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
サリチル酸	0.001%	-	-	-	±	++	+++	-											
	0.005%	-	-	-	±	++	+++												
	0.01%	-	-	-	-	-	-	±	+	++	+++								
	0.02%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
エチル安息香 ダ1酸	0.001%	-	-	+	+++	+++													
	0.005%	-	-	±	++	+++													
	0.01%	-	-	-	+	+++													
	0.02%	-	-	-	+	+++													
プロピル安息香 ダ1酸	0.001%	-	-	-	±	++	+++												
	0.005%	-	-	-	-	-	±	++	+++										
	0.01%	-	-	-	-	-	-	-	-	±	+	++	+++						
	0.02%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+++	+	+++				
ハンサミ	0.001%	-	-	+	+++														
	0.005%	-	-	+	+++														
	0.01%	-	-	+	+++														
		-	-	+	+++														

ニバザンA	0.02%	-	-	+	+++														
	0.001%	-	-	+	+++	+++													
	0.005%	-	-	±	++	+++													
ニバソールM	0.001%	-	-	-	±	++	+++												
	0.005%	-	-	-	-	±	++	+++											
	0.01%	-	-	-	-	-	±	++	+++										
ニバザンA	0.01%	-	-	-	-	-	-	±	++	+++									
	0.02%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	++	+++						
	0.02%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

即ち前表に依ればフマル酸は 0.02% 以上に於ては明瞭なる火落防止作用を示し、マイレン酸よりは其効力程度僅かに劣れども大差無し。次に β-オキシナフトイツク酸及び其ソーダ鹽に比較すれば其効力遙かに劣れども、サリチル酸及びバラオキシ安息香酸ブチルエステルに比しては其約半分の効力を有するものと認め得べし。然れどもハンサミン、ニバザンA、ニバソールM 等に比較すれば遙かに強力なる火落防止作用を示せり。

#### B 他の二三の有機酸の同防腐力との比較

本所清酒に内3割加水せるものにフマル酸、琥珀酸、乳酸、麴酸を夫々 0.03% に添加し、之に火落菌を添加後 30°C 定温器に保持して日々其の火落状態を観察せり。

種類	経過日数 1 (日)	2	3	4	5	9	10	11	12	13	14	15
無添加対照	-	±	+	+++	++++							
フマル酸	-	-	-	-	-	-	±	±	±	±	+	+++
琥珀酸	-	-	±	+	+++							
乳酸	-	±	±	++	+++							
麴酸	-	±	+	+++	+++							

即ち一般に防腐の爲に使用せらるゝ濃度に於て、フマール酸は明かなる清酒防腐性を有すれども、他の三者は何れも殆んど防腐性を示さず。

C 酸を中和せるフマール酸及びマレイン酸の防腐性

本試験に於ては豫め苛性ソーダを以て中和せる兩酸を 0.01%、0.02%、0.05% の割合に加水酒に添加して其防腐性の有無を検したり。其結果次表の如し。

種類及濃度		経過日数												
		5 (日)	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		
比較	火落菌添加	-	-	+	+++									
	無添加	-	-	+	+++									
フマール酸	0.01%	-	-	+	++	++++								
		-	-	+	++	++++								
		-	-	+	++	++++								
マレイン酸	0.01%	-	-	±	+	+++								
		-	-	±	+	+++								
		-	-	±	+	+++								
0.02%		-	-	±	+	+++								
		-	-	±	+	+++								
		-	-	±	+	+++								
0.05%		-	-	-	±	+	+++							
		-	-	-	±	+	+++							
		-	-	-	±	+	+++							

即ち中和せるフマール酸は 0.05% に於て、マレイン酸は 0.02% 及び 0.05% に於て夫々效力を示せるを以て、兩酸の防腐性はカルボキシル基のみに因らずして、其分子中に存在する二重結合に因るものなるを確め得たり。即ちフマール酸の清酒火落防止作用は單に其の酸性によるものに非ざるを知るべし。

III 葡萄酒、麥酒、清涼飲料、果汁及び其他に對する防腐試験

フマール酸は更らに葡萄酒、麥酒、清涼飲料に對し防腐性を有するやを検せんが爲次の實驗を行ひたり。

A

日本藥局方藥用葡萄酒に 5 割加水し、其の 50c.c. 宛を殺菌せる 100c.c. 容機械口瓶に配布し、之に 1% のフマール酸酒精溶液 (二分し一半はアルカリを以て其酸を中和せり) を夫々添加して其濃度を 0.01—0.05% ならしめ、33°C 定温器に放置して日々其濁濁状態を

觀察せるに其結果次表の如し。

表中 A はフマール酸溶液を其儘添加せるものにして、B は該溶液をアルカリを以て中和し添加したるものなり。

試験 番號	経過日数 添加濃度	経過日数					
		1 (日)	2	3	4	5	6
1	無添加對照	-	+	++	+++		
		-	+	++	+++		
2	0.01%	A	-	+	++	++++	
		B	-	+	++	++++	
3	0.02%	A	-	±	+	++	
		B	-	±	+	+++	
4	0.03%	A	-	±	±	++	
		B	-	±	±	+++	
5	0.04%	A	-	±	±	++	++++
		B	-	±	±	++	++++
6	0.05%	A	-	±	±	+	++
		B	-	±	±	+	+++

即ち葡萄酒に就ても 0.02% 以上に於ては其防腐性を示し 0.05% に於ては其効果明瞭なり。

B

市販ビール 50c.c. 宛に前試験と同濃度にフマール酸を添加して防腐性を檢したり。

試験 番號	経過日数 添加濃度	経過日数							
		6 (日)	7	8	9	10	11	12	13
1	無添加對照	-	+	++	+++	++++			
		-	+	++	+++	++++			
2	0.01%	-	-	+	++	+++			
		-	-	+	++	+++			

3	0.02%	-	-	+	+	++	+++		
4	0.03%	-	-	+	+	++	+++		
5	0.04%	-	-	±	±	++	+++	+++	++++
6	0.05%	-	-	±	±	++	+++	+++	++++

即ち 0.01% にて既に其防腐效力を示し、0.04% 以上に於て其效果明瞭なり。

C

梨汁 50c.c. 宛に前試験と同濃度にフマル酸を添加して防腐性を検したり。

濃度	無添加対照	0.01%	0.02%	0.03%	0.04%	0.05%
24 時間後	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++
	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++

即ちフマル酸は果汁に対しては殆んど其防腐効力無しと認む。

D

市販サイダーを用ひて前回同様試験したるにフマル酸は其の濁濁防止作用無きことを認めたり。

E

5 割加水せる醬油に就て *Zygosaccharomyces salsa* を移殖せしにフマル酸は生菌防止作用皆無なるを認めたり。

## 文 獻

- (1) Zoff: Schenks Handbuch d. Bor., 4. 1890
- (2) Boersch: 1893
- (3) 高橋偵造, 坂口謹一郎: 日・農・化・誌, 1. 728. 大正13-14
- (4) Buchner: Ber. d. deutsche Chem. Ges., 25. 1161
- (5) E. Laurent: Ann. Soc., 14. 29. 1890
- (6) S. Fraenkel: Arzneimittel-Synthese, S. 120
- (7) Fodera, Ishizuka: Malys Jahresber. f. Tierchemie, 26. 97

## 清酒の酸に就て

On acids in saké.

山 田 正 一  
立 野 静 治  
杉 原 一 男

清酒中に存在する酸の種類に就ては古くより揮発酸として少量の蟻酸及び醋酸, 不揮発酸として乳酸及び琥珀酸が数へられ其の分離, 確認も行はれて毫も疑無き處なり。<sup>(1)(2)</sup> 唯酸類は清酒の風味に至大の關係あるものなるを以て或は更に何物か新しき意義ある種類を見出されざるものとは常に考へられ居りし處なり。

今之を醸造に與る微生物の生酸能に照合して考ふるに, 先づ乳酸菌は乳酸以外に少量の醋酸, 琥珀酸の如きを生成する機能あらんもアセトン菌に於て僅かに見出されたるが如きロイシン<sup>(3)</sup> (本酸は酸味は極めて微弱にして寧ろ甘味あり, 其のソーダ鹽の強き甘味あるは良く知られる事實なり) の生成に關しては疑はありても曾て生菌系酒母の濾液多量に就て検索せる場合に於て乳酸以外の液状不揮発酸を見出すに至らざりき, 次に麴菌は時に乳酸, 蔞酸, クエン酸, 麴酸, グルコン酸, 林檎酸等各様の酸類を生成する能力のある事を證明せられたるも, 何れも微を長期培養せる場合なるに酒造用の麴に於ては單に米粒表面に菌糸を繁殖せしめたる程度に止り, 其後は寧ろ微の本體よりは其の分泌したりし酵素類を利用する程度に止るを以て麴以後最早酸生成の機能を發揮する機會ありとは考へられず, 而して酒造用麴時代迄に生成せられし酸は種類の如何を問はず, 殆んど痕跡乃至極く微量の程度にして酸の種類を分離, 検出する等の企は到底及ばざるべきなり。最後に酵母は乳酸琥珀酸以外に少量の林檎酸を生成する事は屢々報告せられる處なり。

以上の如くなるを以て醋酸, 乳酸, 琥珀酸以外の少量の酸類の分離, 検出は相當困難なる事を豫期せざるべからず, 曾て大崎正雄氏は清酒 3% に就て酸の分離を試みられしものなれば今回は特に山卸廢止菌を使用し乳酸も酒母期の自然の乳酸醱酵に依り生成せるものを主體とするものなる事等由來の明かなる清酒, 昭和 10 酒造年度第 6 號を資料となし其の 30% に就き先づエーテル浸出を平均 32 時間強行して此の中に溶出し來るべき酸類に就て検索せり。

其の結果は毫も従來知られたる以上に出でず, 揮発酸に於ける醋酸以外に不揮発酸としてラセミ性乳酸と琥珀酸とを得たるに過ぎず, 蔞酸, クエン酸, 林檎酸の如きは痕跡も之

を認むるに至らざりき。少くとも本分離法にして誤無きものならば、假令從來檢出せられたる酸が存在するもそれは乳酸、琥珀酸等に比して殆んど無視して支障無き程度のものなる事を思はしめたり。

尚エーテル浸出物中中性区分に得られたる2,3ブチレングリコールは $[\alpha]_D^{20} = -6.12^\circ$ を示したり。

## 實 験

### 1. 資 料

昭和10酒造年度仕込6號(麴菌比較試験)にして酒母は山卸廢止醗なり。

火入時(前)の成分は下の如し。

清酒メーター -8.5 酒精 17.40% 總酸 0.1475% 糖分 4.478%

### 2. 酸類の分離

約 1/2 位宛枝付の蒸溜瓶に取り、吸引ポンプを用ゐて減壓蒸溜約半量迄濃縮す、一部の揮發酸は酒精、水と共に逸散すべし。

蒸溜残渣には(1:3)の硫酸を多量に加へ強酸性となしエーテル液體浸出器にて毎日8時間位宛約 32 乃至 150 時間許り浸出す、クエン酸の如きエーテルに溶け難き酸も或は此の操作により溶解し來るべきを期待せり。斯の如くにして 30% を處理す。

エーテル浸出物はエーテルを驅出後水に溶解し苛性ソーダにて中和後約 90 時間エーテル浸出し中性物質を分離せり。(I) 收量 11.5g

浸出残渣は硫酸にて酸性となし水蒸氣蒸溜に附し揮發酸を悉く溜出せしめたり。溜液(揮發酸)は苛性ソーダにて中和後濃縮少容となし再び硫酸酸性となしエーテル浸出し、醋酸臭強き区分を得たり。(II) 收量 5.0g

揮發酸を分ちたる蒸溜残渣は再び3週日許りエーテル浸出し多量の結晶と粘稠液との混合物を得たり。水酸化バリウムにて中和後湯煎上にて蒸發乾涸せしめ 80% 酒精にて處理し可溶部(乳酸バリウム)と不溶部とに分ちたり。

80% 酒精可溶のバリウム鹽は硫酸を加へて強酸性となし生成する硫酸バリウムを濾別しエーテルにて浸出して酸味ある粘稠液を得たり。(III) 收量 8g

80% 酒精不溶のバリウム鹽は硫酸酸性となし生ずる白沈を濾別後エーテルにて浸出し淡黄色の結晶を多量に得たり。(IV) 收量 11.0g

### 3. 各区分の吟味

#### I. 中性区分

全 11.5g を小枝付蒸溜瓶に移し常壓にて分溜す。

沸 點	收 量 g	沸 點	收 量 g
0—95°	2.9	184°—199°	1.3
95°—170°	2.9	殘 渣	4.0
170°—184°	2.9		

170~184° の区分は 2.3 ブチレングリコールにして(銀液の還元力無し)旋光度を測定せるに

$[\alpha]_D^{20} = -6.11^\circ$      $\alpha_D = -0.68^\circ$      $l = 2.2\text{dm}$      $C = 5.54\%$

### II 揮發酸部

全 5.0g を小枝付蒸溜瓶中にて分溜す。

	沸 點	收 量 g
VA <sub>1</sub>	60°—105°	0.5
VA <sub>2</sub>	105°—112°	1.1
VA <sub>3</sub>	112°—130°	1.4
VA <sub>4</sub>	殘 渣	1.7

VA<sub>3</sub>に就きて製したる銀鹽を分析の結果醋酸銀なる事を知れり。

物 質	0.0522g	銀	0.0337g	銀(實驗)	64.55%
				銀(計算)	64.64% (C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> O <sub>2</sub> Ag として)

初め真空蒸溜を行ひたるを以て一部は溜出し去りたる事明にして收量 4g 許は全量には非ず。

### III 80% 酒精可溶のバリウム鹽部

遊離酸 7.0g は炭酸亜鉛にて中和後過剰の炭酸亜鉛は濾し活性炭素にて脱色後結晶皿中に取り、湯煎上に蒸發濃縮す。微に甘味と澁味を有す。收量 5.0g

亜鉛鹽は 4.36% 溶液に於て 15°にて旋光度を測定せるに  $\alpha_D = 0$  なり。

更に 105~110°にて 5 時間乾燥す。

物 質	0.4767g	水分	0.0869g	水分(實驗)	18.23%
				水分(計算)	18.18% Zn(C <sub>3</sub> H <sub>5</sub> O <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 3H <sub>2</sub> O として

脱水後坩堝中にて燒きて灰分を求めたり。

灰 分	0.1301g	ZnO(實驗)	27.29%
		ZnO(計算)	27.27%    Zn(C <sub>3</sub> H <sub>5</sub> O <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 3H <sub>2</sub> O

乳酸は全くラセミ性なる事を示したり。



## IV 80% 酒精不溶のバリウム鹽

遊離酸は淡黄色結晶にして琥珀酸の旨味あり。此物を多量の水に懸垂するに大部分は溶解困難にして一部分溶解す、蓚酸、林檎酸、クエン酸の如きものが存在すれば溶解度大なるを以て溶液中に來るべし、水に溶解せるものに醋酸石灰の溶液を加へるも濁濁、沈澱を生ぜず、蓚酸は存在せず。水酸化石灰溶液にて充分中和し(1/)湯煎上に濃縮す、此物は熱湯に溶解し、ビーカー中にて強く煮沸するに多少不溶の白沈あり、温き中に急に濾過す(クエン酸石灰部)此の沈澱は硫酸にて強酸性となし液體浸出器を用て二週間エーテルにて浸出す。浸出物はエーテル驅出後は極めて少量にして結晶す、味酸味よりは琥珀酸様の旨味あり。スタール反應を全然示さず(平行せるクエン酸は顯著の濁濁を與ふ)。

結晶を粘土板に塗りて母液と分ちデシケーター中にて1日間乾燥後融點を測定せるに182~3°にして稍々不純の琥珀酸なり。

即ちクエン酸は遂に見出すに至らざりき。

水に容易に溶解する區分中石灰鹽の温湯に不溶のものを濾別せる濾液は再び硫酸にて酸性となし二週間エーテルにて浸出す。エーテルを驅出後現はれたる結晶は水に溶解し脱色後結晶皿中にて蒸發し、生ずる結晶を極力分ちつゝ、溶解、蒸發を繰り返し遂に極く少量の粘稠液を得たり。此物をアセトンに溶解し不溶部を除き、濾液にシンコニンのアセトン溶液を加へ徐々に蒸發し、デシケーター中に數週間放置するも生成する結晶は僅少にして母液のシラップと分つ事を得ず、即林檎酸の存在も決定的ならず。

斯くして80%酒精不溶のバリウム鹽より得られる遊離酸の結晶は大體琥珀酸なり、其脱色精製せるもの融點187~8°, 特有の旨味あり。銀鹽の分析結果次の如し。

物質	0.6145g	銀	0.3969g	銀(實驗)	64.59%
				銀(計算)	65.03% C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> O <sub>4</sub> Ag <sub>2</sub> として

## 摘 要

1. 清酒の酸に就て從來知られたる蟻酸、醋酸、乳酸、琥珀酸以外のものを求めんとして山卸廢止醗を使用して製したる清酒30%に就き長期のエーテル浸出法に依り浸出せられたる部分に就き検索せるも得られたるものは全く大崎氏の結果と同様にして醋酸、乳酸(ラセミ性)琥珀酸のみなり。此の成績より考ふるに其他の酸は假令存在するとするも極めて僅少にして味等に影響する程には非ざるべし。
2. 酸の實收量は下の如し。
 

醋酸(一部消散)	5g	乳 酸	7g	琥珀酸	11.0g
----------	----	-----	----	-----	-------
3. エーテル浸出物中、中性部に得られたる2.3ブチレングリコールは $[\alpha]_D^{20} = -6.11^\circ$ なり。

## 引用文献

- (1) 山田正一, 石田彰, 小林長三郎: 醸. 試. 報. 99. 188—211. 昭3
- (2) 大崎正雄: 醸. 雜. 12. 1—5. 昭9
- (3) E.G. Schmidt, W. H. Peterson: J. Biol. Chem. 61. 163. 1924
- (4) 山田正一: 醸. 試. 報. 119. 147—151. 昭. 9  
大崎正雄: 醸造論文集 4. 65—75. 昭. 11

## 所謂ボテ香或はツン香に就て

On an irritant smell of *saké* changed in quality.

山 田 正 一

浦 野 龍 夫

樽詰の清酒が其儘又は樽底となりし場合に濃褐色となり強烈なる木香と同時に一種の刺戟臭を發し酸味を加へる如き場合あり。之をボテ香（九州の或地方の特稱か）或はツン香と稱し、火落と同様に戻り酒となる場合多く酒造家の困難する處なり。

今其の著しき物を得て觀察するに、香氣は少しく不快に傾きたる強烈なる木香に醋酸様の刺戟臭を交へたる物にて、之がツン香なる氣分を表はすものにして他に微に醋酸エチルの特臭を認める場合多し。多くは酸味甚だしく何等か特殊の酸の生成を考へらる。總酸量 0.1770% のもの 0.324% のもの等あり。酒精は常に 12% 前後の僅少なる事は最も注目に値す。

更に、其の一部を取りて檢鏡するに細長き酵母の多數を見出すも細菌類は認め得られず酵母を分離、培養したる結果産膜性のウイリア又はミコデルマなる事を確め得たり。

一方杉材による酒精の酸化を試みんとして 5% 乃至 10% 酒精溶液に杉材片を投じたる場合に於て屢々アセトアルデヒドを通り越し甚だしき酸味と刺戟臭とを加へ、且つ醋酸エチルの特臭を示す場合ありて其の酸が全く醋酸なる事を確め得たるが、此の事實は良く前の清酒の場合と一致符合す、此の場合に於ても常に酒精溶液中に産膜性酵母の多數増殖するを發見せるも其他の微生物の何物をも見出す事を得ざりき。依りて考察するに本現象は清酒の樽詰に際し過度の割水により酒精含量が 12% 前後に到達せる場合、酒精が樽の杉材に依る酸化作用を受け一部がアセトアルデヒドになる反應と樽材に附着せる、ウイリア種が其の繁殖に好都合となりたる酒精濃度（12% 以下）に於て増殖を始め、酒精並にアセトアルデヒドを更に酸化して醋酸を生成せしむると同時に其の特性なる醋酸エチルの合成をも行ひたる結果なりと斷定する事を得べし。

即ち、本災厄を免れんが爲には樽の手當を嚴重にする事が第一義ならん。更に酒精 12% にも達するが如き過度の割水を行ふを嚴に慎むべきものなりとす。斯の如くなりたる清な酒を矯正するは甚だ困難にして普通の火落酒と異り活性炭素處理の如きも猶餘り効果適確らず、酸味と同時に甘味も少くなり居るを常とするを以て先づ炭酸カリ等により適當に脱酸し或は活性炭素處理又は粕濾の如きを適當に行ひ、更に甘味大なる清酒を適當混和す

る事等により幾分見返さしむる事を得べし、醋酸エチルの如き香氣は其の脱除甚だ困難なるもの故此の方は香氣良き樽に移す等により木香の附着を以て遮蔽するを可とす。

### 實 験

#### 1. ボテ香若しくはツン香を有し戻り酒となりたるものの分析成績

	清酒メーター	酒 精 %	總 酸 %	摘 要
福 岡 縣 産	(-) 5.0	12.5	0.1770	エステル臭あり、産膜酵母を分離す
上 の 原 酒	(+) 5.0	17.7	0.1623	此物に加水し樽詰して上の戻酒を得たり
埼 玉 縣 産 K	—	12.5	0.324	ツン香、醋酸エチル臭強し
埼 玉 縣 S	(-) 8.0	12.4	0.2299	ツン香強し

何れも總酸多く酒精は 12 %前後にして醋酸臭、醋酸エチル臭強し。

#### 2. 杉材に依る酒精液の酸化に際し酸及びエステルを生成せる場合、 酒精溶液 150 c.c. に杉材 18g を投ず。

	5% 酒精液			10% 酒精液		
	アルデヒド %	總酸(醋酸) %	摘 要	アルデヒド %	總酸(醋酸) %	摘 要
原 液	0.00157	0		0.00313	0	
16日目	0.03118	—		0.00440	—	
24日目	0.05019	0.0060	ウィリア現はる(800倍一視野3)	0.01233	0.3680	ウィリア現はる(800倍一視野10)
42日目	—	0.0300		—	0.6608	ウィリア存在するもバクテリア皆無
217日目	—	0.0826	醋酸エチル臭、酸量は少し	—	2.8674	
285日目	—	—		—	3.0029	

全く産膜酵母に依り酸乃至はエステルを生成あるを知らる。

#### 3. 酸 の 決 定

10%酒精液のもの 285日目に 50 c.c. を採りエーテルにて 24 時間浸出しエーテルを駆出せるに残渣は強醋酸臭あり。アンモニアにて中和後硝酸銀を加へ生ずる沈澱を温湯より再結して銀色光澤ある結晶を得たり。

分析結果下の如し

物 質 0.1722 g    銀 0.1112 g    銀%(實驗) 64.58%  
銀%(計算) 64.64% (C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>O<sub>2</sub> Agとして)

即生成せる酸は醋酸なり。

### 摘 要

1. 清酒の災害の一なるボテ香乃至はツン香なるものは清酒を其の酒精含量 12 %前後に於けるものを樽詰せる場合に於て、杉材の酸化、繁殖し來る産膜酵母の酸化、エステル形成等の共同作用にて生じ、木香と酒精より酸化化成せられたる醋酸、醋酸エチル等の香の混合せるものに與へられたる俗稱なり。
2. 此の香の生成を豫防せんには樽の手入を充分にすべきは勿論なるも清酒を其の酒精含量 12 %近くなる迄割水せざる事も必要條件なり。
3. 一旦此の香を生じたる清酒は、脱酸と活性炭素に依る脱臭、脱色、甘味多き清酒の混和、粕漉し、良木香の附與等により僅かに矯正する事を得るも概して困難なり。

本研究は最初久留米の酒造家田中麻吉氏の話により開始したるものなるが其後同種の清酒を取扱ふに従ひ漸く其の香りの本體を認知する事を得たる次第にて其間數年を経過せり。

たゞ此處に著者の認めたる香りが果して田中氏の所謂ボテ香なるか否か、急に確め得ざるは遺憾なり。又田中氏は酒精含量 15 %程度の清酒に於ても猶此の臭氣を認めらるる事ありと云ふ。此の點に關しては更に他日の研究に譲らんと欲す。

## 清酒酵母の生産する酸に就て 第2報

On acids produced by *saké* yeast. Part II.

山 田 正 一  
浦 野 龍 夫

前回は清酒酵母を用ゐて硫酸アンモンのみを窒素源とせる蔗糖溶液を醗酵せしめ、醋酸、琥珀酸、乳酸の三種の酸類の生成を確認せるが、元來蔗糖は清酒醸造には關係無き糖分なるを以て此の結果を類推する事の困難を思はしめざるには非ず。依りて今回は原料を清酒醸造の場合と同じと考へて可なる麴エキスを以てし再び之等の酸の生成有無を検したり。

用ゐたる酵母は前回同様日本醸造協會發賣の清酒酵母第5號にして培養液たる麴エキスは認むべき程の酸類を含有し居らざる事を確め置きたり。醗酵生産物に就て試験せる結果醋酸、琥珀酸、乳酸（初め確かに前回と反對に右旋性を認めたりしものも亞鉛鹽の再結數度の結果不旋光性となる）の生成は誤り無き事を確め得たり。

### 實 験

1. 培養液 麴エキス ボーリング10度のもの13ℓ 此物 800 c.c. 許に硫酸を加へ數月間エーテルにて浸出するもエーテル中には醋酸、琥珀酸、乳酸を認められず。
2. 醗 酵 上記麴エキスを5ℓ容フラスコに2.5ℓ位宛分取し、日本醸造協會發賣の清酒酵母第5號を接種す。13日間の醗酵にて全く糖分の痕跡をも認められざるに至りたるを以て酵母は沈停濾過し、濾液は中和後蒸發濃縮す。
3. 酸の分離 麴エキス醗酵後中和して濃縮せるものは約7ℓなり、硫酸を加へて強酸性となしエーテルにて毎日8時間位宛約3週間浸出す。

エーテル浸出物はエーテル驅出後苛性ソーダにて中和し、更にエーテル浸出を行ひ中性浸出物を分ちたり。

残渣は硫酸酸性となし蒸氣蒸溜し揮發酸部を得たり、此物は苛性ソーダにて中和後蒸發濃縮、少容となし、再び硫酸酸性となしエーテルにて浸出す。（揮發酸部、醋酸臭強し）

揮發酸を蒸溜し去りたる残渣はバリタにて中和、濃縮乾涸し 80%酒精にて處理して可

溶部と不溶残渣とに分ちたり。

#### 4. 各区分の吟味

##### i 揮發酸部

エーテル驅出後の収量は約 6g にして分溜の結果は次の如し。

	沸 點	收 量
A <sub>1</sub>	70~105°	0.85g
A <sub>2</sub>	105~112°	2.39
A <sub>3</sub>	112~125°	2.26
A <sub>4</sub>	殘 渣	0.65

A<sub>1</sub> は多少エーテルを混す, 其他の区分は醋酸臭強し, A<sub>3</sub> の少量を取りアムモニアにて中和後硝酸銀液を加へ生ずる沈澱を温湯より再結し銀鹽を製したり。

物 質	0.1123g	銀	0.0725g	銀%(實驗)	64.55%
				銀%(計算)	64.64% (C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> O <sub>2</sub> Agとして)

此区分は醋酸にして其他の区分も大體醋酸と見て可ならん。

##### ii 不揮發酸部, 80%酒精不溶のバリウム鹽。

硫酸酸性となし硫酸バリウムの沈澱を濾過後エーテル浸出す, エーテル驅出後琥珀酸特有の味を有する結晶 2.0g を得たり, 融點 187~8° 銀鹽を製す。

銀鹽。物質	0.1535g	銀	0.0978g	銀%(實驗)	63.71%
				銀%(計算)	65.05% (C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> O <sub>4</sub> Ag <sub>2</sub> )

琥珀酸なり。

##### iii 不揮發酸部, 80%酒精可溶のバリウム鹽。

硫酸を加へて生ずる沈澱を濾過し濾液をエーテル浸出す。エーテルを驅出せる残渣は收量 5.0g 炭酸亜鉛にて中和後脱色し湯煎下にて濃縮して微弱なる甘味と澁味とを有する白色粉末 3.5g (乳酸として 2.1g) を得たり。

此物を沈澱し得たる各区分に就き其の旋光度を測定せる結果は次の如し。

I. $[\alpha]_D^{16} = -4.05^\circ$	$\alpha = -0.24^\circ (16^\circ)$	C = 2.69%	l = 2.2dm.
II. $[\alpha]_D^{17} = -7.05^\circ$	$\alpha = -0.62^\circ (17^\circ)$	C = 4.00%	l = 2.2dm.
I, II を再結せるもの $[\alpha]_D^{19} = -2.26^\circ$	$\alpha = -0.09^\circ$	C = 1.81%	l = 2.2dm.

其後再度再結せるものに於ては

$[\alpha]_D^{19} = 0$	$\alpha = 0 (19^\circ)$	C = 1.61%
-----------------------	-------------------------	-----------

此物を 105° にて 5 時間乾燥せるに

物 質	0.2029g	H <sub>2</sub> O	0.0364g	H <sub>2</sub> O (實驗數)	17.94%
-----	---------	------------------	---------	------------------------	--------

H<sub>2</sub>O (計算數) 18.18% Zn (C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>O<sub>3</sub>)<sub>2</sub> + 3H<sub>2</sub>O として

更に燒きて,

ZnO	0.0555g	ZnO (實驗數)	27.35%
		ZnO (計算數)	27.27%

最後のものは確かにラセミ性乳酸なる事を示し居れども何故に再結に依り次第に旋光性を失したるものなるか不明なり。尙, 蔗糖の場合には左旋光性乳酸を得, 麴エキスにて右旋性若しくはラセミ性となりたる理由も明かならず, 只此處には實驗の儘を記録するに止めんと欲す。

乳酸亜鉛の酸化分解。

乳酸亜鉛の溶液 10 c.c. に 10% 硫酸 10 c.c. を加へ加熱煮沸し之に 2% 過マンガン酸カリ液を滴加しつつ蒸溜するに溜液はアセトアルデヒドの刺戟臭あり。リウキン氏反應眞青色を呈す。パラニトロフェニルヒドラゾン製したるに融點 129 度正にアセトアルデヒドのものに相當す。

##### iv 中性部

エーテルを驅出後分溜す。

	沸 點	收 量		
I.	60~105°	0.22g		
II.	105~160°	0.15		
III.	160~175°	0.63		
III. 區分の旋光度				
$[\alpha]_D^{17.5} = -5.10^\circ$	$\alpha = -0.10^\circ (17.5^\circ)$	C = 0.89%	l = 2.2dm.	

此区分はブチレングリコールなり。

### 摘 要

1. 麴エキスを清酒酵母にて醱酵せしめても醋酸, 琥珀酸, 乳酸の三有機酸を得らる。此の場合の乳酸と琥珀酸との収量は分離せられたる量にて比較するに略等量なり。
2. 乳酸は初め右旋性の如くなりしが乳酸亜鉛を再結を繰り返すに従ひ遂にラセミ性と化したるが如し。左旋光性のブチレングリコールを得たり。

### 引用文献

- (1) 山田正一, 浦野龍夫: 醸. 試. 報. 124. 19~21. 昭. 11

## 細菌の生産物 第1報

### 馬鈴薯菌の醗酵生産物に就て

On the fermentation products of *Bacillus mesentericus vulgatus* sp.

山 田 正 一

杉 原 一 男

馬鈴薯菌は醗酵の雑菌又は有害菌として知られたる所なるが醬油諸味等には常に見出され、何等かの役目を果たすかに想像せらる。而も其の生産物に就て餘り詳細に知られたる所少きを以て之を検索し一には近時擡頭せる醬油の香氣の研究に關與する所を知り、又一方微生物の常醗酵生産物たる 2,3-ブチレングリコールの性質(旋光性)を明にせんと欲し、松本憲次氏が醬油諸味より分離せられし品種とバチルス・メッセンテリクス・ヴルガツス・フリュゲの炭酸石灰含有麴汁に於ける生産物に就て調査せり。

兩者共、少量のジアセチル、アセトインと多量のブチレングリコール(共に左旋性)、醋酸(多量)、酪酸、乳酸(後者の場合は明に右旋性)と少量の琥珀酸とを生ず。

之等の附着する醗造物の香味に對し多少の寄與ある事が知らる。

### 實 験

1. *Bacillus mesentericus vulgatus* の變種の醗酵生産物。

#### 1. 培養液の處理

麴汁ボーリング 10 度のものを中和し、之にペプトン 0.05%、炭酸石灰 1%を加へ 5l 容變形瓶に 2.5l を入れ 1 日 1 時間宛 3 日間殺菌し、松本憲次氏が醬油諸味より分離せられし菌種を接種せり。25°にて約 3 ヶ月の後、黒褐色液は硫酸を加へて酸性となし、炭酸石灰の沈澱も共に分解し、硫酸石灰の沈澱は濾別後、濾液は須藤隈川氏液體浸出装置にて約 15 時間宛エーテルにて浸出を行ひたり。總液量 17550c.c. なり。

#### 2. 中性物質

エーテル浸出物は合併しエーテルを驅出するに溜出するエーテルは黄綠色を呈し、ジアセチルの混在を思はせたり。

殘液は苛性ソーダにて中和後再びエーテルにて 1 週間浸出す。

エーテル浸出物はエーテルを驅出せるに 86g あり、所謂細菌臭たるツワリ様香強し。

小枝付蒸溜瓶中にて分溜す

		III, IV.を合併して再溜す。	
	沸 點	收 量	
I.	135~160°	1.9 <sup>g</sup>	V. 135~175° 4.2 <sup>g</sup>
II.	160~167°	3.8	VI. 175~177° 35.1
III.	167~169°	3.5	VII. 177~179° 24.5
IV.	169~188°	64.7	VIII. 179~185° 3.3
	殘 渣 <sub>1</sub>	2.0	殘 渣 <sub>2</sub> 0.7

斯の如くして 145° 中心のアセトインは極めて少量にして大部分は 2.3 ブチレングリコールより成るは明かなるも其の主要部が該ブチレングリコールの沸點とする 184° よりは幾分下位にして 175~179° にて大部分溜出するは注意すべし。此区分は粘稠なる無色の液にして僅かに甘味あり、特別の香氣無し、銀鹽の還元を行はず。

主要溜分の旋光度は下の如し。

$$[\alpha]_D^{18.5} = -7.23^\circ \quad \alpha_D = -2.67^\circ \quad C = 16.78\% \quad l = 2.2\text{dm}$$

殘渣<sub>1</sub>は冷却後結晶状のものを生じたり。

### 3. 酸 部

中性エーテル浸出物を分ちたる殘渣は硫酸にて強酸性となし更に1週間エーテルにて浸出す。エーテル浸出物はエーテルを驅出後 132g あり。

#### i. 揮 發 酸

酸部は水蒸氣を通じて蒸溜し溜液約 2l を得たり。此物は苛性ソーダにて中和後蒸發皿中湯煎上に蒸發濃縮す。次に硫酸にて酸性となし再びエーテルにて浸出す。エーテル驅出後の收量 63g, 強き醋酸の刺戟臭に加ふるに酪酸臭強し、枝付蒸溜瓶に移し注意して分溜す。

2回に分溜の結果得たる区分は下の如し。

	沸 點	收 量 <sub>g</sub>	備 考		沸 點	收 量 <sub>g</sub>	備 考
I	0~95°	4.6	エーテル	VI	170~200°	3.7	水に難溶
II	95~105	15.1		VII	200~214	0.9	
III	105~125	21.4	僅かに酪酸臭	VIII	214~230	1.2	
IV	125~150	4.1	酪酸臭輕し	IX	230~250	0.8	
V	150~170	1.6	酪酸臭強	X	250 以上	2.3	
				計		55.7	

200 度以上の区分を零度に冷却するも固結せず。銀鹽の分析結果は下の如し。

區 分	物 質	銀 <sub>g</sub>	銀%(實驗)	銀%(計算)
III	0.0578	0.0370	63.00	64.64 (C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> O <sub>2</sub> Agとして)
IV	0.0613	0.0367	59.87	59.63 (C <sub>3</sub> H <sub>5</sub> O <sub>2</sub> Agとして)
V	0.0477	0.0265	55.56	55.34 (C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> O <sub>2</sub> Agとして)
VI	0.0069	0.0037	53.62	51.63 (C <sub>8</sub> H <sub>9</sub> O <sub>2</sub> Agとして)

此の数値のみを以て酸類を決定する事は困難なれども大部分は醋酸にして夫に酪酸の混入する事は明かなり。IV.の如き果してプロピオン酸なるか、醋酸と酪酸との半量混入か不明なれども恐らく後者ならんか。又酪酸以上の区分は銀鹽を作らんとするも收量甚しく悪く、中性物質の混在があるが如く中和價突然減少する事次の如し。

$$V. \quad 498.71 \quad VI. \quad 167.84$$

其上 0° に冷却するも固結する事無し。少量にして精査するを得ずと雖も其味酸味無く(230° 邊) 石鹼様異臭あり。高級脂肪酸の少量の混在を示すものならんか。

即ち, II.~III. は醋酸, IV. は醋酸と酪酸の混合物, V.~VI. を酪酸とすれば、概略

醋酸は 38.55g, 酪酸は 7.35g 程度の生産あるを伺はる。

#### ii. 不揮發酸

揮發酸を蒸溜し去りたる殘渣はバリタにて中和し湯煎上蒸發皿中にて蒸發乾涸し 80% 酒精にて處理し可溶部と不溶部とに分ちたり。

A, 80% 酒精可溶のバリウム鹽。

iv. 80% 酒精可溶部は硫酸にて酸性となし生ずる硫酸バリウムは濾別しエーテルにて數日間浸出す。エーテル驅出後の殘液 40g (33c.c.)

10g を採り水にて稀釋し炭酸亞鉛を加へて中和し過剰の炭酸亞鉛は濾別後、濾液は脱色、湯煎上にて濃縮す。亞鉛鹽收量 5.5g

此の亞鉛鹽は結晶の出づる順序に従ひ区分して其の旋光度を測定せるに次の如し。

$$\text{結晶(第1回目)} \quad [\alpha]_D^{17} = -6.25^\circ \quad \alpha_D = -0.26^\circ \quad C = 1.89\% \quad l = 2.2\text{dm.}$$

$$\text{再結第1.} \quad [\alpha]_D^{15} = -5.71^\circ \quad \alpha_D = -0.23^\circ \quad C = 1.83\% \quad l = 2.2\text{dm.}$$

$$\text{再結第2.} \quad [\alpha]_D^{14} = -5.65^\circ \quad \alpha_D = -0.24^\circ \quad C = 1.93\% \quad l = 2.2\text{dm.}$$

第1回の結晶に就て其の結晶水(105~110° に乾燥) 並に酸化亞鉛を測定するに

物質 0.1415g 水分 0.0255g 水分(實驗) 18.02%

〃 (計算) 18.18% Zn(C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>O<sub>3</sub>)<sub>2</sub> + 3H<sub>2</sub>Oとして

ZnO 0.0388g ZnO(實驗) 27.42%

〃 (計算) 27.27% Zn(C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>O<sub>3</sub>)<sub>2</sub> + 3H<sub>2</sub>Oとして

此の結果は旋光性を明に示すに拘らず其水分並に亞鉛含量はラセミ性のものに一致するは奇異なり。

依つて残りの乳酸亞鉛を合併し湯煎より再結す。此物は

$$[\alpha]_D^{23} = -5.32^\circ \quad \alpha_D = -0.29^\circ \quad C = 2.48\% \quad l = 2.2\text{dm}$$

物質 0.2758g 水分 0.0458g 水分(實驗) 16.61%

〃 (計算) 18.18% Zn(C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>O<sub>3</sub>)<sub>2</sub> + 3H<sub>2</sub>Oとして

〃 (計算) 12.89% Zn(C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>O<sub>3</sub>)<sub>2</sub> + 2H<sub>2</sub>Oとして

即ち、乳酸亜鉛はなほ左旋性にして水分量はラセミ性と旋光性のものの何れにも属せず、旋光性より見て或は一部がラセミ化せるものと考ふるが妥當ならんか。

#### B 80%酒精不溶のバリウム鹽。

硫酸にて酸性となし生ずる硫酸バリウムの沈澱は濾別後エーテルにて數日間浸出す。エーテル浸出物はエーテルを驅出するに結晶を生ず。

温湯に溶解し脱色後、湯煎上にて濃縮し結晶を得たり。收量 0.3g 此物は酸味と旨味あり 融點 185~6°

銀鹽の分析結果はよく琥珀酸のものに一致す。

物質 0.2305g 銀 0.1483g 銀(實驗) 64.34%  
銀(計算) 65.03% (Ag<sub>2</sub>C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>4</sub>として)

以上の如くして培養液 17550c.c.より得たる主なる生産物は下の如し。

2,3ブチレングリコール(左旋度)	74g
醋酸	38.55g
酪酸	7.35g
乳酸(右旋性とラセミ性の混物)	40g
琥珀酸	0.3g

即ち、本菌が直ちに醬油の香味を左右するが如き事は無からんも酪酸の生成あるが如きは未だ醬油中にて其の存在の明かならざる酸なるが故に香味に對する影響に關し注意を要すべき事なり。

#### II. *Bacillus mesentericus vulgatus*, Flügge の醗酵生産物。

##### 1. 培養液の處理

母氏 10度の麴エキスに 2%炭酸石灰を加へたるものを培養液とし 5立容變形瓶に 2.5l 宛入れ 100° に 1時間宛 3日間殺菌し之に細菌を接種 110日間培養す、全液 5730c.c.

全液を石灰の沈澱を含有せる儘硫酸にて酸性となしエーテルにて數日間浸出せり。エーテル浸出物はエーテルを驅出後苛性ソーダにて中和し、又エーテルにて浸出す。

##### 2. 中性物質

エーテルを驅出せるに 23.7gあり、小枝付蒸溜瓶にて分溜するに次の如し。

區分	沸點	收量	區分	沸點	收量
I.	75~85°	0.35 <sup>g</sup>	VI.	165~170°	2.85 <sup>g</sup>
II.	85~97°	1.04	VII.	170~174°	3.28
III.	97~101°	3.36	IX.	174~174.5°	3.22
IV.	101~125°	1.56	X.	174.5~175°	3.57
V.	125~165°	0.57	XI.	175~178°	3.28

#### VI. 殘流 0.6

125°迄は水を含有すると同時に黄色を帯びジアセチルの存在を示したり。

125°~165°の間はアセトイン區なり。(0.57g)

165°以上は 2,3ブチレングリコール區なり。(總量 16.8g)

ブチレングリコール區の旋光度を測定せるに下の如し。

$$[\alpha]_D^{20} = -11.17^\circ \quad \alpha_D = -4.07^\circ \quad C = 16.57\% \quad l = 2.2dm.$$

#### 3. 酸部

##### i 揮發酸

中性エーテル浸出物を分ちたる殘液は硫酸にて酸性となし水蒸氣蒸溜に附す。溜液は一且ソーダにて中和後濃縮小容となし再び硫酸にて酸性となしエーテル浸出を行ひ揮發酸區を得たり。エーテル驅出後の收量 5g許、之を分溜せるに次の如し。

沸點	收量	備考	IIの銀鹽は分析の結果酪酸なるを確めたり。
I. 70~105°	0.45g		物質 0.0525g 銀 0.0334g 銀(實驗) 63.62%
II. 105~130°	1.03g	醋酸臭	銀(計算) 64.64% (C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> O <sub>2</sub> Agとして)
			IIIの銀鹽分析結果は酪酸に近し。
III. 130~176	1.53g	酪酸臭	物質 0.1008g 銀 0.0552g 銀(實驗) 54.75%
IV. 殘流	1.0g		銀(計算) 55.34%(C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> O <sub>2</sub> Ag)

##### ii 不揮發酸

揮發酸を蒸溜し去りたる殘液はバリタにて中和し蒸發乾涸後 80%酒精にて處理す。

#### A 80%酒精可溶バリウム鹽。

硫酸にて酸性となし硫酸バリウムの沈澱は濾過後エーテル浸出す。エーテル浸出物はエーテルを驅出後炭酸亜鉛を加へて中和し過剰の炭酸亜鉛は濾別し濾液は結晶皿中にて濃縮す。亜鉛鹽の收量 4g 微甘澁味あり。旋光度を測定せるに次の如し。

$$[\alpha]_D^{17} = -8.23^\circ \quad \alpha_D = -0.92^\circ \quad C = 5.08\% \quad l = 2.2dm.$$

又、水分並に亜鉛を測定せるに次の如し。

物質	0.4049g	水分	0.0533g	水分(實驗)	13.17%
				〃(計算)	12.89% (C <sub>3</sub> H <sub>5</sub> O <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Zn+2H <sub>2</sub> O
		ZnO	0.1189g	ZnO(實驗)	29.37%
				〃(計算)	29.03% (C <sub>3</sub> H <sub>5</sub> O <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Zn+2H <sub>2</sub> O

本乳酸は右旋光性なり。

#### B 80%酒精不溶バリウム鹽。

硫酸にて酸性となし生ずる硫酸バリウムは濾別し、エーテル浸出に附したり。エーテル



驅出後、少量の結晶を得たり。融點 185~6° 酸味と旨味あり。銀鹽の分析結果次の如し。

物質 0.2065g 銀 0.1328g 銀(實驗) 64.31%  
 // (計算) 65.05% ( $C_4H_4O_4Ag_2$ として)

即ち、琥珀酸なり。

以上 5730c.c.より得たるものは、

アセトイン區	0.57g	乳酸(亞鉛鹽)	4g
2,3ブチレングリコール(左旋)	16.8g	琥珀酸	少量
醋酸	1.5g		
酪酸區	1.5g		

### 摘 要

1. 醬油諸味より分離せられたる *Bacillus mesentericus vulgatus* 變種松本により炭酸石灰含有麴エキスを醱酵せしめて得たる醱酵生産物はジアセチル、アセトイン、2,3ブチレングリコール(多量左旋) 醋酸(多量) 酪酸、乳酸、琥珀酸(少量)にして、*Bacillus mesentericus vulgatus* Flügge を以てせる場合も殆んど同様なれど乳酸は明に右旋性のものなり。
2. 此の種の細菌は通常雑菌とせらるるものなれども醬油等の醸造に關係あるを以て其の生産物は香味等に関し多少の注意を要す。
3. 得られたるブチレングリコールは共に左旋性なり。

## 樽詰せる清酒の變化に就て

On the change of quality of barrelled sake.

山 田 正 一

浦 野 龍 夫

桶圍ひせる清酒が次第に老熟し、特に其の酒精の一部は杉材に接觸せられアルデヒドに變じ行く事を認め、此の現象は樽詰せる清酒に於ても同じかるべき事を述べ置きしが、<sup>(1)</sup>果して樽詰せる場合の變化が幾何かの試験を缺きたり。通常清酒の飲頃となるは古酒を樽詰して2~3週間とせられたり。此の間の事情を明にせんが爲に樽詰による清酒の變化を試験せり。用るたる樽は新樽を得られざりしを以て一空樽の一は甲附一は赤味のものを以てせり。

其の結果はアルデヒドの増加と木香の附着は平行し漸進的なり。兩者共14~17日頃飲み頃となるも赤味の方少々速かなり。

### 實 験

#### 1. 樽

Aは東自慢の甲附一空樽にして良質とせられしものなり。

Bは餘り有名ならざる酒名の赤味一空樽にして樽の値も上者より安價なり。

#### 2. 清 酒

昭和10酒造年度攻酒にして其の成分は次の如し。

清酒メーター(一) 2.0, 酒精 16.5%, 總酸 0.118%, エキス 6.978%, 糖分 4.49%, アミノ酸 0.15% 此物にサリチル酸石當10匁を加へ 55°に火入樽詰せり。

#### 3. 變 化

室温は 22~25° なり。

月 日	日 次	A		B	
		アルデヒド %	備 考	アルデヒド %	備 考
8. 13	原 酒	0.00616		0.00616	
18	5 日	0.00925	木香良好	0.00969	木香附、熟化早し
22	9 日	0.01189		0.01321	
29	14 日	0.01541	味醇化す、木香桶圍程度	0.01409	醇化し、木香附過

		酸 0.1414%		酸 0.132%	市販の程度なり
9.1	17日	0.01541	飲み頃	0.01321	同會酒杯
5	21日	0.01541		0.01761	
10	26日	0.02025		0.01937	

アルデヒドは漸次増加すると同時に木香の附着あり、14~17日目あたりにて飲用に適する迄に熟化するを見るなり。

### 摘 要

清酒を樽詰（甲附と赤味）せる場合の變化を検したるにアルデヒドと木香とは平行して漸次増加し、14~17日目位にて飲み頃に到達せり。

### 引用文献

- (1) 山田正一：醸試報 100, 82-94, 昭3.  
全上：全上 106, 101-135, 昭5.

## カタジン処理水による加水清酒の火持に就て

On the preservation of *Saké* diluted with katadyn-treated water.

勝 目 英  
田 中 清 壽

### 緒 言

カタジン法はスイスの植物學者ネーグリー (V. Naegeli) 氏の發見に係る所謂オリゴダイナミック原理 (Oligodynamic principle) を應用したものである。約50餘年前ネーグリー氏は銀或は銅の如き金屬に水を長時間接觸せしむる時は其水がバクテリアを殺す性質を有することを認めた。其後幾多の研究者が此原理の應用について考究したのであるがクラウゼ (Dr. G. A. Krause) が先づ液體の處理に該方法を應用することに成功した。クラウゼは銀をイオンの形で多量に供給して短時間に目的を達することに成功したのであつて之を電氣カタジン法 (Electro katadyn process) と稱してゐる。而して此方法に於て得たる銀はオリゴダイナミックの性質を有すると同時に觸媒性をも具備することがわかつた。

カタジン處理を受けた水又は液は殺菌される丈でなく其後長日月殺菌性を保持し而も香味並に人體に何ら悪影響のない事が判明した。

カタジン法の利用の一つとして現在最も有效視されてゐるものは飲用水の殺菌であつて該問題に就いては列國に於ても多くの試験報告が發表されてゐる。吾國に於ても内務省衛生試験所に於て秋葉博士が之を試験し其有効性を證明してゐる。

更に醸造方面に於ては醸造用水、容器、管、壺等の殺菌に廣い利用範圍を有するものと思考されるのであるが、1932年にクライベ氏 (Dr. Heinrich Kreipe: Die Deutsche Essig-industrie, 1932, Nr. 32; 1933, Nr. 8) は酢の殺菌にカタジン法を利用した、同氏の試験に依れば酢のカタジンによる殺菌は1立 0.5 ミリグラムの如き高度殺菌に於ても其香味の變化なき事を認めてゐるが、0.3 ミリグラム以上に於ては多少濁濁を生ずることを認めてゐる。此濁濁は鹽化銀或は蛋白系統の銀化合物に基因すると述べてゐる。

エレクトロカタジン法の製造は極めて簡單なものであつて銀製の電極板或を棒二本相對峙せしめ、之を殺菌せんとする水或は液中に挿入し、之に直流の弱電流を一定時間通し銀イオンを放出せしめるのである。

ファラデーの法則によれば1アムペア時即ち1アムペアの電流を1時間通す時は理論上4.023 瓦の銀がイオンとなつて液中に出ることになる。而して銀をイオンとして放出せしむるに必要な電圧は極めて低く水の電解電圧より更に低いので普通 1.65 ボルトの乾電池を使用して充分である。

前述の如く銀イオンの放出量はファラデーの理論数では1アムペア時に付き 4.023 瓦であるが實際上に於ては水の場合約 50% 即ち 2.0125 瓦の銀を放出し酢の場合は 60% の収量 (current yield) しか得られない。

電氣カタジン法に於てはカタジンの程度を表はすのに 100 万分中の銀の量を以てする。而して之を p. p. m の符號を以て表示することになつてゐる。

著者は此電氣カタジン法を清酒醸造に利用せんとし先づ現今清酒業に於て最も危険視されてゐる清酒の割水用水の殺菌に之を利用せんとし、昭和11年の夏該試験を施行した。

而して本試験に於て使用した器械は巽商事株式會社提供の Electro Katadyn Test Set Model TA I である。

實 験

1. 用水の殺菌試験

緒言に於て述べたるが如くカタジンによる水の殺菌に就いては従來幾多の報告があるが本試験の豫備試験としてカタジンによる各種殺菌程度を試験し置く必要を認め以上述べる如き試験を行つた。

本試験に用ひた試料水は醸造試験所官舎前井水であつて殺菌の程度は通過水量及び通過電流量を色々に變へて殺菌し、該殺菌水を麴寒天培養基に依つて細菌の聚落數を比較した。

カタジンによる殺菌の條件は次表の通りである。

符 號	通過水量 c.c/m	電 流 m.A	p.p.m.	外 觀
A	原井水	—	—	透 明
B	235	2.9	0.33	〃
C	82	2	0.65	白乳灰色
D	110	4	1.0	〃
E	82	4	1.3	〃 不透明
F	35	2	1.5	〃 〃
G	20	2	2.7	〃 〃

上記各種殺菌試料につき細菌の調査を行ひ次の結果を得た。

符 號	麴寒天培養基に依る聚落數	肉汁培養基に依る聚落數
A	17.0	305
B	6.0	153
C	6.5	12
D	9.0	21
E	4.0	9.5
F	4.5	8.0
G	2.5	4.0

上表を見るに p.p.m. 數の高くなるに従つて殺菌の程度完全となることは明かにして特に 0.65 p.p.m. 以上に於て有効なることを認めた。

2. 加水清酒火落試験 (1)

本試験に於ては清酒の加水用水をカタジン法によつて殺菌し之を清酒に一定量宛添加水し其防腐試験を行つた。

用水竝に電氣量等は下表の通りである。

	通過電流	品 温	通過水量(1分間)	p.p.m.
井 水	2.9 M.A.	19.0°C	235c.c.	0.33
水道水	1.9 M.A.	18.0°C	235c.c.	0.22
清 酒	3.5 M.A.	17.0°C	235c.c.	0.40

水道水、井水及清酒の殺菌前後に於けるPHを測定 (比色法) せるに變化を認めず殺菌水は及可的に空氣に接觸せざる様工夫せり。

原水及殺菌水中の細菌検査

上記殺菌せる水道水、井水及び殺菌せざる原水を殺菌ビベットにて 0.05 宛採取し之を麴液寒天 (Ball 10°) 及肉汁寒天 (PH 5.8) に注入して流込培養を行ひ發生せる聚落數を計算した。(培養は同一試料につき 2 個宛行つた)

聚落數次の如し

培 養 基 種 別	試 料	聚 落 數 (1c.c.中)
麴 液 寒 天	井 水	38.4 — 44.4
肉 汁 寒 天	井 水	545.30—569.53
麴 液 寒 天	水 道 水	30.3 — 30.3
肉 汁 寒 天	水 道 水	238.31—214.07
麴 液 寒 天	殺 菌 井 水	17.17 — 6.00

肉汁寒天	殺菌井水	171.67—153.48
麴液寒天	殺菌水道水	9.67—10.10
肉汁寒天	殺菌水道水	68.66—177.72

上記の成績に於て殺菌後は殺菌前に比し細菌の聚落数は相當の減少を見せ、殊に井水は麴液寒天に於て $\frac{1}{5}$ 乃至 $\frac{1}{2}$ 肉汁寒天にては $\frac{1}{3}$ となり、水道水に於ても麴寒天、肉汁寒天共に $\frac{1}{3}$ 以下に減少せしことを認めた。

加水清酒火落試験

上記の各種用水並に其殺菌水を以て清酒の加水を爲し該加水酒の火落試験を行つた、試料調製法は次の如し。

番 號	原酒原酒及加水清酒の成分			
	清酒メートル	總酸 (琥)%	酒精 (容)%	エキス%
1 清 酒 + 井 水 (外三割)	-6.0	0.1110	12.0	4.915
3 清 酒 + 水 道 水 ( # )				
5 清 酒 + 殺 菌 井 水 ( # )				
7 清 酒 + 殺 菌 水 道 水 ( # )				
9 殺菌清酒 + 殺菌水道水 ( # )				
比 較 原 酒	-9.5	0.1450	12.0	4.915

上記の試料を殺菌せる1合容硝子瓶に各々130 兊宛採取しコルク栓にて密栓し 30°C の恒温器中に静置し、濁濁香氣變化に注意しつゝ、日々1回宛瓶を振盪混和せり。又同試料に火落菌(火落清酒より採取)を1瓶につき 0.03 兊の割合に添加し同じく恒温器中に静置して比較を試みた。

番 號	日 數										
	1	5	10	15	20	25	30	35	40	45	
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
比 較	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

何れも火落せず。

火落菌移植せるもの、

番 號	日 數										
	1	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
1	-	-	-	+	+	++	++	+++	+++		

3	-	-	-	+	+	+	++	+++	
5	-	-	-	-	-	+	++	+++	
7	-	-	-	-	-	-	+	++	+++
9	-	-	-	-	-	+	++	+++	
比 較	-	-	-	-	-	-	-	-	

即ち非殺菌水を以て加水せる清酒は 4~5 日早く火落せるを認む。

2. 加水清酒火落試験 (2)

前回試験に於ては完全に目的を達するを得ざりしが故に今回は殺菌の程度を高めて試験し併せて各種加水割合の清酒につきて試験を行つた。試料並に殺菌條件は次の如し。

水	醸造試験所井水
電流の強さ	3.5m.amp.
直過水量	毎分 150兊
P.P.m.	0.6

殺菌水は淡白灰色の濁濁を生じ半不透明となりたるも香味に變化を認めず。

殺菌水の細菌調査

前回と同様の方法にて試験を行ひたり。

麴寒天	殺菌前	聚落數	76.74	-181.75
麴寒天	後	〃	49.29	-96.94
肉汁寒天	前	〃	355.45	-195.89
肉汁寒天	後	〃	50.49	-53.11

殺菌前後に於ける聚落數を見るに麴寒天にては其の數約 $\frac{1}{2}$ となり、肉汁寒天にありては約 $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{7}$ に減少せり。

原酒並に加水清酒の成分次の如し。

種 別	清酒メートル	總酸 (琥)%	酒精 (容)%	エキス%
原 酒	-9.5	0.14375	15.0	6.5000
2 割	-8.0	0.11978	12.7	5.410
3 割	-6.5	0.1078	12.0	5.065
4 割	-5.5	0.09583	11.0	4.6670
5 割	-4.5	0.08385	9.0	4.091

上記各試料を 32°C の恒温器中に静置し其火落程度を比較せしに其結果次表の如し。

日数 番 號	1	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50
原酒. 比較	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2 割	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3 割	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4 割	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5 割	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

何れも火落せず。

次に上記と同一試料に火落菌（前回と同じ）0.03c.c. 宛添加して水落試験を試みしに次表の如き結果を得た。

日数 番 號	1	5	10	15	20	25	30	35
原 酒	-	-	-	-	-	-	-	-
2 割	-	-	-	-	-	-	-	-
3 割	-	-	-	-	-	-	-	-
4 割	-	-	-	-	-	-	-	-
5 割	-	-	-	-	+	+	+	+

即ち5割加水清酒のみは20日目に火落し他は異状なし。

### 結 論

清酒加水用水を電気カタジン法によつて殺菌し加水酒の火持を良好ならしめんとす本試験を行つたのであるが、其結果を綜括すれば次の通りである。

- (1) 電気カタジン法によつて水を処理する時は諸文献に示すと同様に殺菌は著しく良好である。然るに 2.7p.p.m の如き比較的高度カタジン処理に依つても尙殺菌の完璧は期し難し。
- (2) 3割加水酒に就きて試験した結果殺菌水使用の場合は非殺菌水使用の場合よりも火持が幾分良好なるも完全とは謂ひ難い。
- (3) 0.6p.p.m の強度で処理した水を以て加水した場合に（原清酒アルコール分 15%）外 2割, 3割, 4割加水酒の火持は良好なるも 5割加水酒の火持は不良なることを認めた。
- (4) 要之、カタジン処理水を以て清酒を加水する場合には該加水酒の火持は良好となるも絶対的のものとは謂ひ難い。尙清酒の火持は其成分に支配される事甚大なるが故に加水用水のカタジン処理条件は多数の試験結果より歸納すべきものと思せられる。

## 數種藥品の清酒防腐性に就て

Über die antiseptische Wirkung der verschiedene  
Materialien für Sake.

滝 沢 澄 江  
田 中 清 壽

曩に黒野博士はパラオキシ安息香酸及び其エステル類の清酒防腐性並びに醬油防菌性に就て<sup>(1)(2)</sup>、又之等新防腐劑類の合成並びに安價なる製造方法に就て<sup>(3)</sup> 攻究し、其中よりブチルエステルを推薦し、酒造組合及醬油組合は之が使用を當局に出願中、今回許可せられたるに當り、之と最近問題の藥品に就て同時に同一條件の下に其清酒防腐性を試験して效力の程度を比較し、併せて該ブチルエステルの溶解性並びに安定性を檢したるを以て茲に報じて一般醸造家の参考に資せんとす。

### 實 験

#### I. 數種藥品の清酒防腐性

(A) 本所清酒に外 3割加水したるもの 80c.c. 宛を殺菌せる 100c.c. 容機械口瓶に配布し、之に  $\beta$ -オキシナフトイツク酸<sup>(4)</sup>、同ソーダ鹽、サリチル酸、パラオキシ安息香酸ブチルエステル、同プロピルエステル、同エチルエステル、ハンサミン、ニバチンA、ニバソールM 等何れも硫酸乾燥器中に放置して一様に乾燥せるもの、1% アルコール溶液（50% アルコールに溶解せしめたるにナフトイツク酸のみは一部分不溶にして濁液のみ、使用せり）を 0.001%, 0.005%, 0.01%, 0.02%, 等になる如く夫々添加後 60°C にて 1 時間火入れし 30°C の定温器に 9 日間放置檢したるに何れも異状無き故、之等に強力なる火落菌含有清酒 1 滴（0.03 c.c.）宛を添加して再び同定温器に保ち日々火落状態を觀察せり。

4 日後に於てパラオキシ安息香酸エチル及びプロピルエステル、ハンサミン、ニバチンA、ニバソールM、安息香酸ブチルエステル（0.001—0.01%）、サリチル酸（0.001—0.01%）、 $\beta$ -オキシナフトイツク酸及び其ソーダ鹽（0.001%）等は何れも火落激しく、次に稍遅れて  $\beta$ -オキシナフトイツク酸（0.005%）、安息香酸ブチルエステル（0.02%）、サリチル酸（0.02%）、ナフトイツク酸ソーダ（0.005%）、の順序に順次火落せり。而して  $\beta$ -オキシナフトイツク酸及びソーダ鹽（0.01—0.02%）に於ては 60 日を經過するも異状なかりき。

(B) 大體前法に依りたるも、今回は加水酒に各種藥品を添加後直に火落菌を移殖し

30°C の定温器に保ちて日々其火落状態を観察せり。其結果次表の如し。

表中(-)印は清酒に異状無きを、(±)印は火落痕跡なるを、(+)印は火落明かなるを示す。尙各種2個の瓶を以て併行試験せり。

種類 及濃度	経過日数																
	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	40
比較 無添 加	原酒	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	”(火落菌添加)	-	-	-	-	±	+	+	++	+++							
	加水酒	-	+	++	+++												
	”(火落菌添加)	±	+++	+++													
β- オキ シナ フト イツ ク酸	0.001%	-	-	-	±	++	+++										
	0.005 "	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	++	+++			
	0.01 "	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.02 "	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
β- オキ シナ フト イツ ク酸 ソー ダ	0.001%	-	-	-	±	+	++	+++									
	0.005 "	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	++	+++			
	0.01 "	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.02 "	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
サリ チル 酸	0.001%	-	-	±	++	##											
	0.005 "	-	-	-	±	++	##										
	0.01 "	-	-	-	-	-	-	±	+	++	+++						
	0.02 "	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
バラ 酸 エチ ル オキ シ 安息 香	0.001%	-	+	+++	##												
	0.005 "	-	±	++	+++												
	0.01 "	-	-	+	+++												
	0.02 "	-	-	+	+++												
バラ 酸 プロ ピ ル オキ シ 安息 香	0.001%	-	±	++	##	+++											
	0.005 "	-	-	-	-	±	++	+++									
	0.01 "	-	-	-	-	-	-	-	±	+	++	##					
	0.02 "	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	++	+++		

バラ 酸 プロ ピ ル オキ シ 安息 香	0.001%	-	-	-	-	-	±	++	+++								
	0.005 "	-	-	-	-	-	-	-	+	+++							
	0.01 "	-	-	-	-	-	-	-	-	±	++	##					
	0.02 "	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	+++			
ハン サ ミ ン	0.001%	-	-	+	+++												
	0.005 "	-	-	+	+++												
	0.01 "	-	-	+	+++												
	0.02 "	-	-	+	+++												
ニ バ ヂ ン A	0.001%	-	-	+	+++	##											
	0.005 "	-	-	±	++	+++											
	0.01 "	-	-	+	+++	##											
	0.02 "	-	-	±	++	##											
ニ バ ソ ール M	0.001%	-	-	±	++	+++											
	0.005 "	-	-	±	++	+++	##										
	0.01 "	-	-	±	++	##											
	0.02 "	-	-	-	-	±	+++										

兩試験結果により各種薬品の效力程度を比較すれば次の如し。

品名	(效力表現濃度)
β-オキシナフトイツク酸及び同ソーダ鹽	0.001—0.005 %
サリチル酸	0.005—0.01 %
バラオキシ安息香酸ブチルエステル及びプロピルエステル	0.005 %
安息香酸エチルエステル、ハンサミン、ニバヂンA、ニバソールM	殆んど無効

II. バラオキシ安息香酸ブチルエステルの溶解性

試料の水、酒精、清酒等の溶媒に對する溶解度を檢して次の結果を得たり。

水	難溶、0.04% (醸試報 119 號 50 頁溶解度参照)
酒精	無水 溶解頗る容易
	50 % 2.7 %
	15 % 0.05 % 50°C にて加熱溶解せしむ
清酒 (酒精 15.3 %)	0.06 % 加熱溶解、常温にては長期日を要す 0.02 % 常温にては約7日を要す、其間數回振盪

尙バラオキシ安息香酸諸エステル<sup>(5)</sup>の溶解度に就ては石尾正文氏等の報告書中にもあり多少本結果と異なれども参照するを要す。

### III. 同エステルの安定性

清酒の酸度並びに其エステル價(清酒 25 c.c. に就てプロムチモルブリン、ニュートラルレッドの混合指示薬を以て其酸を滴定せる後、之に一定容の  $\frac{N}{10}$  苛性ソーダ溶液を添加して 24 時間放置後  $\frac{N}{10}$  硫酸溶液を以て残存アルカリを滴定して所要のエステル量に相當せるアルカリ量を求めたり。但し前後 2 回の滴定に於ては水素イオン濃度試験紙を以て PH を正確に 7.0 ならしめたり。) を測定せる後之を二分し其一には該エステルを 0.05% に加熱溶解せしめ、他半は其儘火入れし同時に 30°C の定温器に 1 ヶ月間放置し、其間 10 日目毎に夫々酸及びエステルの増減の有無を比較檢したるに兩者共に常に同一測定値を示せり。

### 結 論

即ち以上の實驗より次の結論を得べし。

1.  $\beta$ -オキシナフトイツク酸及び其ソーダ鹽、サリチル酸、バラオキシ安息香酸エチル、プロピル及びブチルエステル、ハンサミン、ニバチンA、ニバソールM 等の清酒防腐力を比較試験したるに、 $\beta$ -オキシナフトイツク酸及び其ソーダ鹽に於て防腐性頗る強く 0.001—0.005% にて效力を表し、サリチル酸、バラオキシ安息香酸ブチルエステル、プロピルエステル之に次ぎ其效力表現濃度は何れも 0.005—0.01% なり。
2. バラオキシ安息香酸ブチルエステルは無水酒精に頗る容易に溶解し、水に難溶性なれども、清酒には稍溶解度を増し 50°C に暫時加熱する時は 0.06% 迄溶解せり。更に該エステルの效力完全なる濃度即ち 0.02% を加熱せずして溶解せしめたるに常温に放置して約 7 日を要したり。而して其間數回振盪したるものなり。
3. バラオキシ安息香酸ブチルエステルを清酒に添加し 30°C に放置して其安定性を檢したるに 1 ヶ月を経過するも殆んど變化無し、即ち安定性頗る強し。
4. 清酒にバラオキシ安息香酸ブチルエステルを使用する場合 1 石に對し 10 匁即ち 0.02% にて充分にして、此の分量を清酒火入の際其まゝ添加良く攪拌すれば全く溶解す。尙冷酒に此の分量を其儘添加したる場合も 1 週間以上永き間に全く溶解するを以て防腐の目的に支障なし。

本研究中御懇篤なる御指導を賜はりし黒野先生に感謝の意を表す。

### 参 考 文 献

- (1) 黒野勘六, 岩下信雄, 島山史郎: 醸. 試. 報. 117. 1. 昭. 8

- (2) 黒野勘六, 岩下信雄: 醸. 試. 報. 119. 37. 昭. 9  
 (3) 黒野勘六, 肥田一夫: 醸. 試. 報. 119. 43. 昭. 9  
 (4) 加藤辨三郎, 松田岩雄: 日. 農. 化. 誌. 12. 249. 昭. 11  
 (5) 石尾正文, 坪井縁平, 遠藤興作: 日. 衛. 化. 誌. 9. 87. 昭. 12

## 古酒中の糖化酵素に就て

On the diastatic enzymes in pasteurized *saké*.

山 田 正 一  
立 野 静 治

清酒中に溶出し來れる酵素類が其の後熟現象の主要原因なる事は數多の試験成績に見て明かなるが、特に検出容易なる糖化酵素に就て見るも時に火入に依りて（尤も火入温度の45° 等低き時は想像せらるゝ所なるも）全くは破壊せらるゝ事無く火入後に於ても後熟作用を營むかの感あり。既に黒野博士等は第13回全國品評會出品の各等級併せて36點に於て糖化酵素力の殘存せるものゝ數例を検出せられたり。<sup>(1)</sup>

然るに余等も春に於て全國優良新酒中の糖化酵素力を測定して、ウォールゲムート數6.667~0.4を得たるを以て同法を古酒に適用せる場合の數値を知らんと欲し、第15回全國品評會優等品に就て再度試験せり。其の結果に見るに火入の効果は著しきものにして試験せる清酒396點中僅かに糖化酵素力を保有せるものは6點に過ぎず、其の數値も0.2~0.25なりき。

### 實 驗

#### 1. 試験法<sup>(2)</sup>

前回同様、ウォールゲムート氏法に依る。<sup>(2)</sup> 但し酵素力弱性なるを想像したれば0.1%澱粉液1c.c.（前回は2c.c.）を使用し清酒は1c.c.を加へて豫備試験せり。

清酒總點數	396 點
ヨード澱粉の青色を示したるもの	390 點
赤紫色のもの	6 點

酵素力を保有せしもの6點に就ては0.01%澱粉液を用ゐて其の力を比較せるに次の數値を得たり。

酒 銘	縣 別	酵 素 力	酒 銘	縣 別	酵 素 力
黒 松 正 宗	群 馬	0.25	白 鳩	廣 島	0.2
北 の 譽(イ)	北-海 道	0.2	千 代 む す び	鳥 取	0.25
樺 白 幔	樺 太	0.2	春 の 山	島 根	0.25



## 摘 要

古酒 396 點中其の殘存糖化酵素力をウォールゲムート氏法により檢定せるに酵素力を保有せしものは 6 點にして其の數値は 0.2~0.25 なり。

## 引用文献

- (1) 黒野勘六、肥田一夫：醸. 試. 報. 117, 9~18 昭. 8.  
 (2) 山田正一、立野静治：醸. 試. 報. 124, 23~28, 昭. 11.

## 麴菌のアミラーゼに関する研究 (第一報)

Die Untersuchung über des Amylase von *Aspergillus oryzae*. (I Mit.)

(澱粉糊精化酵素の獨立性に就て)

(Über die Einzelheit des dextrinierendes Enzymes)

滝 沢 澄 江

## 緒 言

澱粉のジアスターゼ酵素に依る分解の理論は頗る複雑にして今尙明らかならず、ボツテヴァン<sup>(1)</sup>氏はジアスターゼは澱粉より糊精を作る酵素と更に此の糊精より麦芽糖を作る酵素との二種より成ると主張せり。而して其の根據はジアスターゼを 80°C に 5 分間加熱する事に依りて澱粉の溶解作用を破壊する事無く、砂糖の生成作用を失はしむることを發見したるに依る。又クルツアシツク氏<sup>(2)</sup>等は前記二酵素説よりも尙進んで三酵素説を提唱せり。即ちジアスターゼは澱粉の液化、糊精化、糖化の三種の酵素より成ると稱せり。オルソン<sup>(3)</sup>氏は外圍の條件に依りてアミラーゼの作用を分別し得る事を正確に試験し、又化學的物質に依る兩酵素への影響をも研究せり。ホルムバーク氏<sup>(4)</sup>は沃度鹽を以て肝臟アミラーゼに限り兩酵素作用を分別し得べきことを示し、比爪氏<sup>(5)</sup>も亦同酵素に就て、沃化物が糊精の生成を促進し砂糖の生成を阻止する事を認めたり。更にフレンケル氏<sup>(6)</sup>等は夙に隔膜分離によりて兩酵素を分別し得ると報ぜり。即ち澱粉溶解酵素は膜内に残り、糖化酵素は消失する事を示せり。又クルツアシツク氏<sup>(7)</sup>は硫酸アンモニアを以て區分沈澱を行ひ、溶解酵素の方が早く沈澱する事により之を糖化酵素より分つ事の可能なるを報ぜり。尙フリツケー氏<sup>(8)</sup>等は電氣透析により溶解酵素作用の早く消失するを報ぜり。最近北野氏<sup>(9)</sup>は各種吸着劑を以てタガジアスターゼより、タカアミラーゼ (澱粉糖化酵素) 及びマルターゼ (麦芽糖分解酵素) 等の分離を行ひ、徳岡氏<sup>(10)</sup>は酒麴より鹽類溶液を以て各種アミラーゼの浸出等に就て報じ、又武富氏<sup>(11)</sup>等の沈澱法に依る麴アミラーゼの精製に関する研究等あり。

然るに現今迄の諸研究は前記ボツテヴァン氏の二酵素説及びクルツアシツク氏の三酵素説に對し何れも間接的の證明にして、未だ想像的域を脱せず。即ち各酵素を個別的に分離し各々の反應速度、最適水素イオン濃度等を決定し以て其差異を證明するに非ずんば本問題は永久に決定せられざるなり。著者は此の一大問題に對し研究に着手したが、本編は前記ボツテヴァン氏の加熱による糖化酵素の破壊を研究し以て所謂液化酵素(糊精化酵素)のみの酵素を得、之が反應速度及び最適水素イオン濃度等を檢し以て既知ジアスターゼの

反應速度及び最適水素イオン濃度等と比較して液化酵素の獨立性を證明せんと企てたるものなり。其結果の詳細は結論に於て之を記せる如く確實に糊精化酵素の獨立性を證し得たりと信ず。然れども之は澱粉糊液に作用して之を糊精化する酵素にして、固狀澱粉糊を可溶性となす酵素との區別即ちクルツアシツク氏の三酵素説は本報に於ては未だ證する能はざるなり。

實 験

(1) 加熱に依るアミラーゼの分離試験

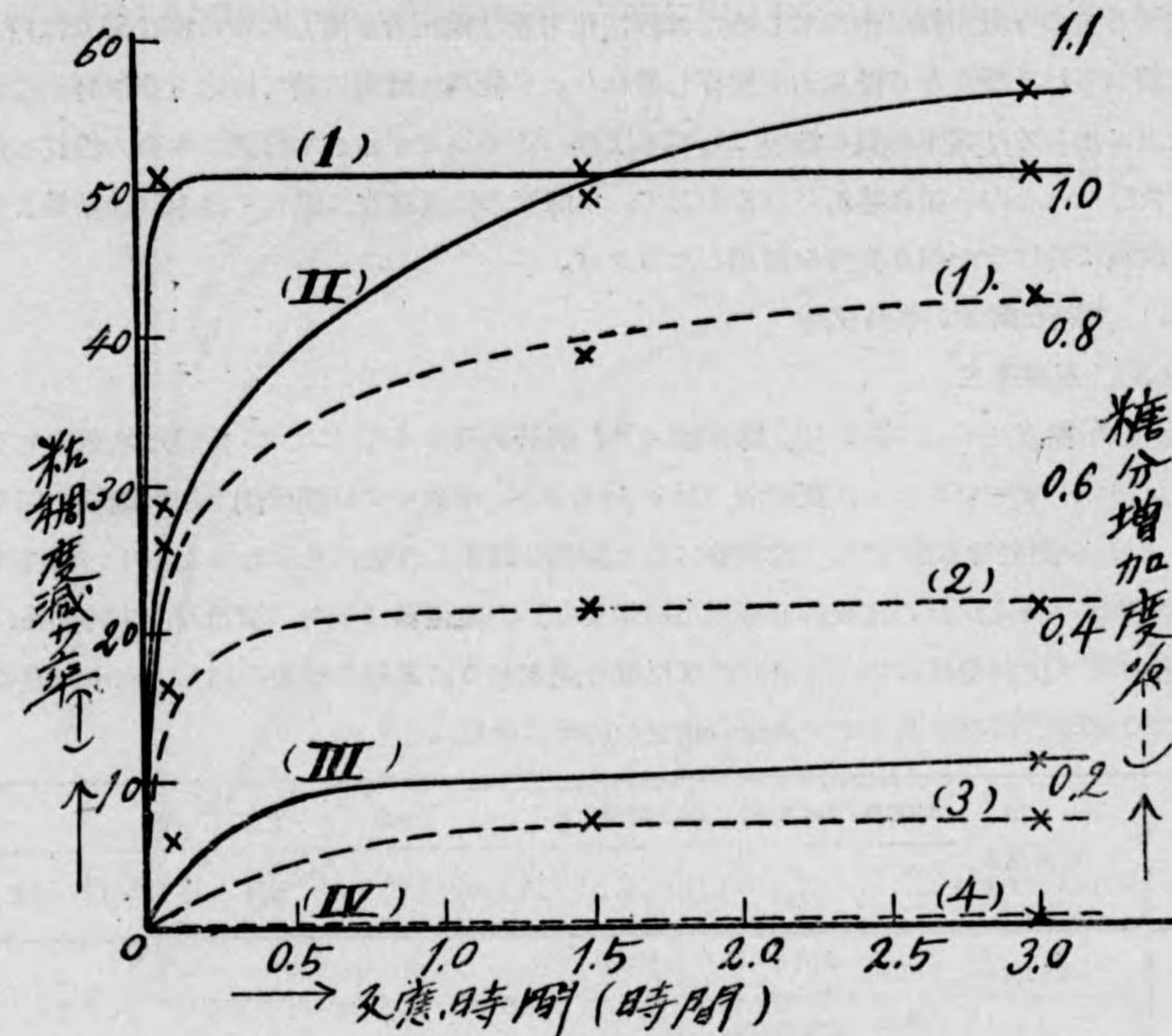
1% 澱粉糊液 (局方馬鈴薯澱粉 20g を 40~50°C の湯 200g に添加して乳狀となし、熱湯 1800c.c. を激しく攪拌しつゝ之に前記の乳を徐々に添加し終りて尙 3 分間攪拌後室温迄冷却し、絹篩を以て濾過して糊の小塊を除く) の 50g 宛に、各種酵素溶液 (5% 原酵素: 醸試報 115 號 47 頁: 溶液の一定容宛を夫々 65°C, 70°C, 97°C に 15 分間加熱處理せり) の 15 c.c. 宛を添加し、各々一分間振盪混合後直ちに糖分、沃度反應、粘稠度 (粘度計により試料温度 23°C に於て其流出時間を測定す) 等を測定後 40°C の定温器に保ち一定時間後同様に測定して夫々比較對照せり。其結果次表の如し。

番 號	試料酵素	開 始 (B) 混 合 より 5 分 後			粘稠度減少率及び糖分增加度		
		1.5時間後 (C)	3 時間後 (D)	(A)~(B)	(B)~(C)	(C)~(D)	
1	原 酵 素	粘 稠 度	103.1(秒) (49.0)	102.8 (48.9)	(51.0)	(0.1)	(0.0)
		沃 度 反 應	濃青藍色	濃 紫 色			
		糖 分	0.567(%)	0.773	0.567	0.207	0.082
2	65°C 加 熱	粘 稠 度	155.1 (73.7)	106.3 (50.5)	(26.3)	(23.2)	(6.8)
		沃 度 反 應	濃 青 色	濃青紫色			
		糖 分	0.330	0.428	0.330	0.098	0.0
3	70°C 加 熱	粘 稠 度	197.5 (93.9)	197.5 (93.9)	(6.1)	(0.0)	(5.1)
		沃 度 反 應	濃 青 色	〃			
		糖 分	0.047	0.142	0.047	0.095	0.0
4	97°C 加 熱	粘 稠 度	210.4(A) (100.0)	209.8 (99.7)	(0.0)	(0.3)	(0.0)
		沃 度 反 應	濃 青 色	〃			
		糖 分	0.0 (A)	0.0			

(表中括弧内の數字は番號 4 の開始に於ける粘稠度を 100 とし、之を基準として求めたる比率なり。)

之を曲線にて示せば第 1 圖の如し。

即ち煮沸せる酵素を加へたるものは粘稠度の減少度も砂糖の増加度も何れも全く零な



第 1 圖

り。然して 70°C に處理したる酵素を添加せるものは砂糖の増加度も極めて小なれども之と殆んど平行的に粘稠度の減少度も亦極めて小なり。然るに 65°C に處理したる酵素を加せるものは砂糖の増加度の減少せるにも係らず、粘稠度の減少率は著しく大なるを以て糊精化酵素の多量に残存せる事を證明し得。次に何等の處理を行はざる原酵素を添加せるものは數分後既に粘稠度の減少率最高點に達し其後は最早澱粉反應全く痕跡にして従て粘稠度減少率殆んど零なり。此故に原酵素の糊精化酵素の作用は極めて迅速なるものにして、本試験の如き稀薄なる澱粉溶液を用ふる場合は其粘稠度の定量に間に合はざる如き結果を呈するものなり。然れども砂糖の増加程度は此液化と平行せず全然個立的に時間の進行と共に規則的に増加するものなる事を示す。

要するに本試験の結果よりヂアスターゼの澱粉分解作用は其糊精化作用と糖化作用との殆んど個立せる如き二種の作用よりなる事を證し得べく、且つ原アミラーゼを 65°C, 15 分間處理する事によりて糖化酵素の大部分を破壊し、糊精化酵素を比較的純粹に分離せしむる事を認め得たり。

尚ボツテヴァン氏の糖化酵素の破壊に採用せる條件即ち原酵素を 80°C に 5 分間加熱

處理せるものを澱粉糊に作用せしめて其糊精化力及び糖化力を檢したるに糖化酵素は殆んど破壊せられて微かなる糖化力を殘し居れり。又糊精化酵素に於ては之も亦原酵素の糊精化力に比しては其作用頗る緩慢にして本實驗に於て見るが如き本酵素の本來の性質を殆んど失ひたるもの、如き感ありたるを以て、本酵素の性質調査に際しては本實驗結果より次の試験に於けるが如き條件を採用したるなり。

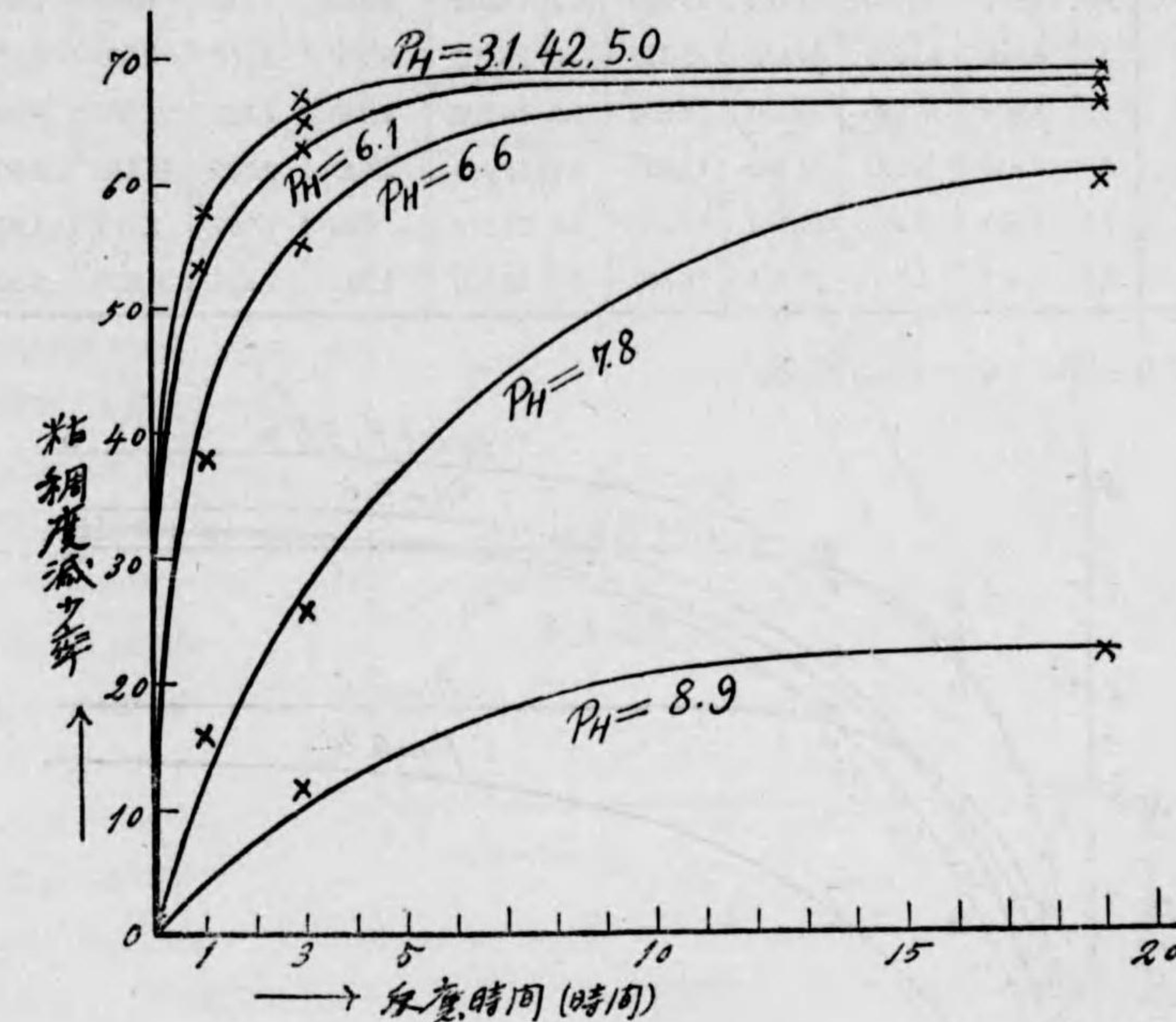
(II) 糊精化酵素の性質試験

(A) 反應速度

2% 澱粉糊液 100 g 宛に 1% 酵素液 (1% 原酵素液を 65°C にて 15 分間加熱處理せるもの) 10c.c, ゼーレンゼン氏緩衝液 25c.c 宛を加へ、水素イオン濃度測定用試験紙を以て各々 PH を測定せる後 23°C (前試験により糊精化酵素の反應は急激なるを以て、精確なる速度曲線を得んがため比較的低温度を採用せり) の定温器に保ち、開始及び定時間後に於て粘稠度 (試料温度は 24°C) 及び沃度反應を測定せるに其結果次表の如し。尙本試験は該糊精化酵素の最適水素イオン濃度の測定を同時に兼ねたるものなり。

番 號	開 始 PH	粘稠度及 沃度 反應(B)	1時間後 3時間後 19時間後				減 少 率			
			PH (C)	PH (D)	PH (E)	PH (E)	(A)~(B)	(B)~(C)	(C)~(D)	(D)~(E)
1	3.1	286.2(秒) (83.1)	149.8 (43.5)	113.6 (33.0) 濃紫青色	3.1 (31.4) 淡紫青色	(16.9)	(39.6)	(10.5)	(1.6)	
2	4.2	270.0 (78.4)	145.6 (42.3)	119.8 (34.8) "	4.2 (31.5) "	(21.6)	(36.1)	(7.5)	(3.3)	
3	5.0	249.0 (72.3)	145.8 (42.4)	121.0 (35.2) "	5.0 (31.4) "	(27.7)	(29.9)	(7.2)	(3.8)	
4	6.1	252.0 (73.2)	161.6 (46.9)	127.0 (36.9) "	6.1 (31.6) "	(26.8)	(26.3)	(10.0)	(5.3)	
5	6.6	277.2 (80.5)	213.6 (62.1)	154.2 (44.8) "	6.6 (32.9) "	(19.5)	(18.4)	(17.3)	(11.9)	
6	7.8	309.7 (90.0)	289.8 (84.2)	256.2 (74.4) 濃青色	7.7 (39.3) 濃紫青色	(10.0)	(5.8)	(9.8)	(35.1)	
7	8.9	344.2 (A) (100.0)	303.4 (88.1)	308.6 (89.7) 濃青色	8.8 (78.8) 濃紫青色	(0.0)	(11.9)	(0.0)	(10.9)	

(前表中括弧内の數字は番號 7 の開始粘稠度を 100 とし、之を基準として夫々求めたる比率なり)



第 2 圖

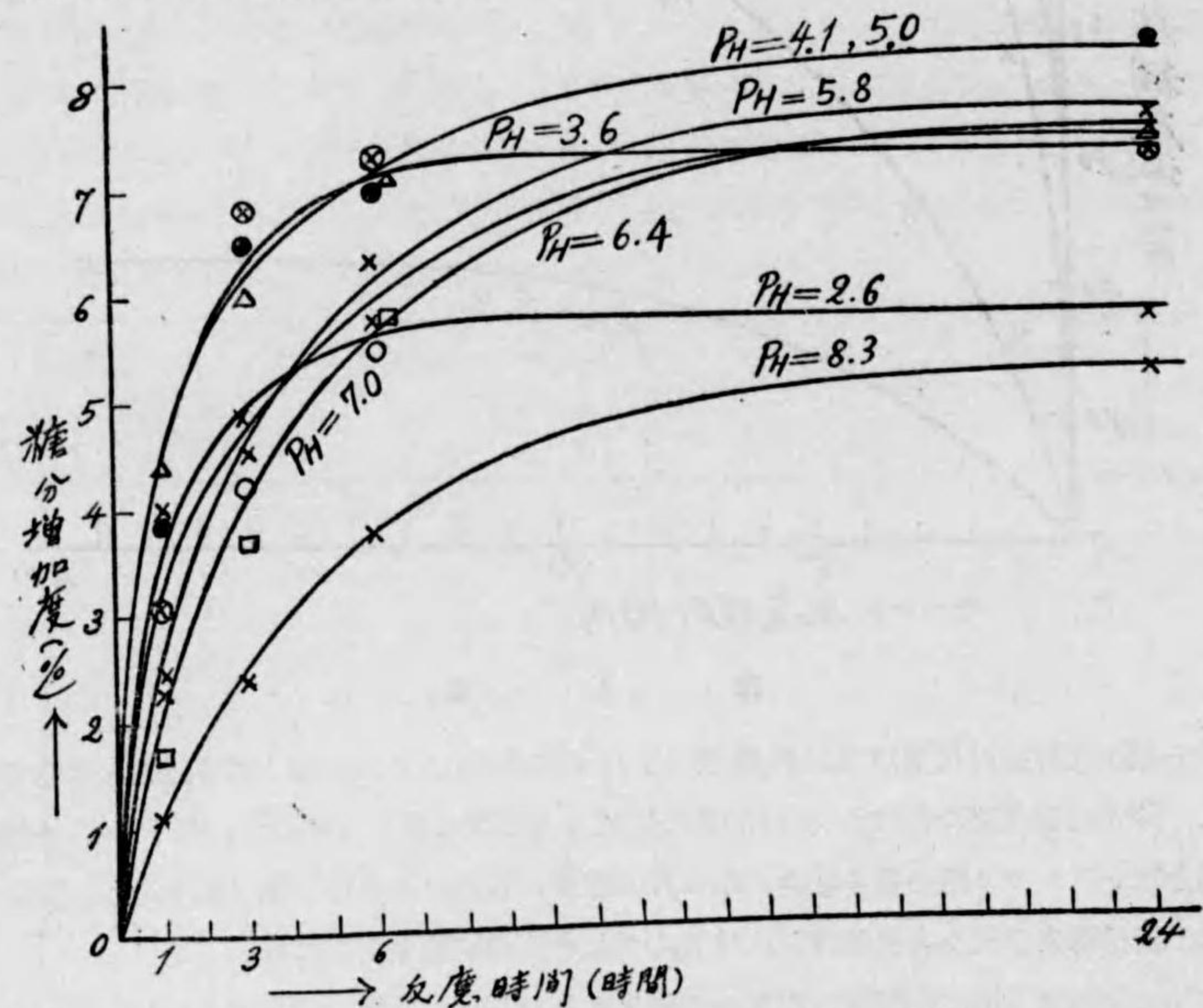
即ち糊精化酵素の反應速度は反應液の PH の如何によりては驚く可き迅速なるものにして、開始直後急速に行はれ 1 時間後には殆んど絶頂に達する位なり。只 PH の不適なる場合即ちアルカリ性の強き場合に限り反應速度は緩慢なる事第 2 圖に示す如し。更に之を眞の糖化酵素の反應速度曲線と比較せんがため次の試験をなしたり。

メルク製糊精 (糊精化酵素の作用を皆無ならしむる爲本基質を使用せり) 3 g 宛をエーレンマイヤー氏コルベンに配布し、之にゼーレンゼン氏緩衝液 80c.c. 宛を添加して夫々溶解せしめたる後 5% 原酵素液 20c.c. 宛を添加し PH を檢し、ペルトラン氏法に依りて試料 2c.c. 宛に就て糖分を測定後 40°C 定温器に保ち一定時間後に糖分増加量を檢したるに其結果次表の如し。

番號	開始 (A)		1時間後 (B)	3時間後 (C)	6時間後 (D)	24時間後 (E)		増 加 度			
	PH	糖 分				PH	糖 分	(A)~(B)	(B)~(C)	(C)~(D)	(D)~(E)
1	2.6	6.025 (%)	9.975	10.900	11.850	2.6	11.850	3.950	0.925	0.950	0.000

2	3.6	7.600	10.650	14.400	14.850	3.6	14.850	3.050	3.750	0.450	0.000
3	4.1	8.400	12.750	14.400	15.600	4.1	15.950	4.350	1.650	1.200	0.350
4	5.0	8.400	12.300	14.850	15.350	5.0	16.800	3.900	2.500	0.500	1.450
5	5.8	8.400	10.650	13.150	14.650	5.8	16.100	2.250	2.550	1.500	1.450
6	6.4	7.950	9.975	12.100	13.450	6.4	15.450	2.025	2.125	1.350	2.000
7	7.0	7.500	9.200	11.150	13.250	6.8	15.100	1.700	1.950	2.100	1.850
8	8.3	6.475	7.600	8.825	10.300	7.8	11.800	1.125	1.225	1.485	1.500

之を曲線にて示せば第3圖の如し。



第3圖

即ち本曲線は前記の糊精化酵素の曲線とは趣を異にし、反應速度は何れも一様に緩慢にして殆んど絶頂に達するには大體5時間位を要するものゝ如し。

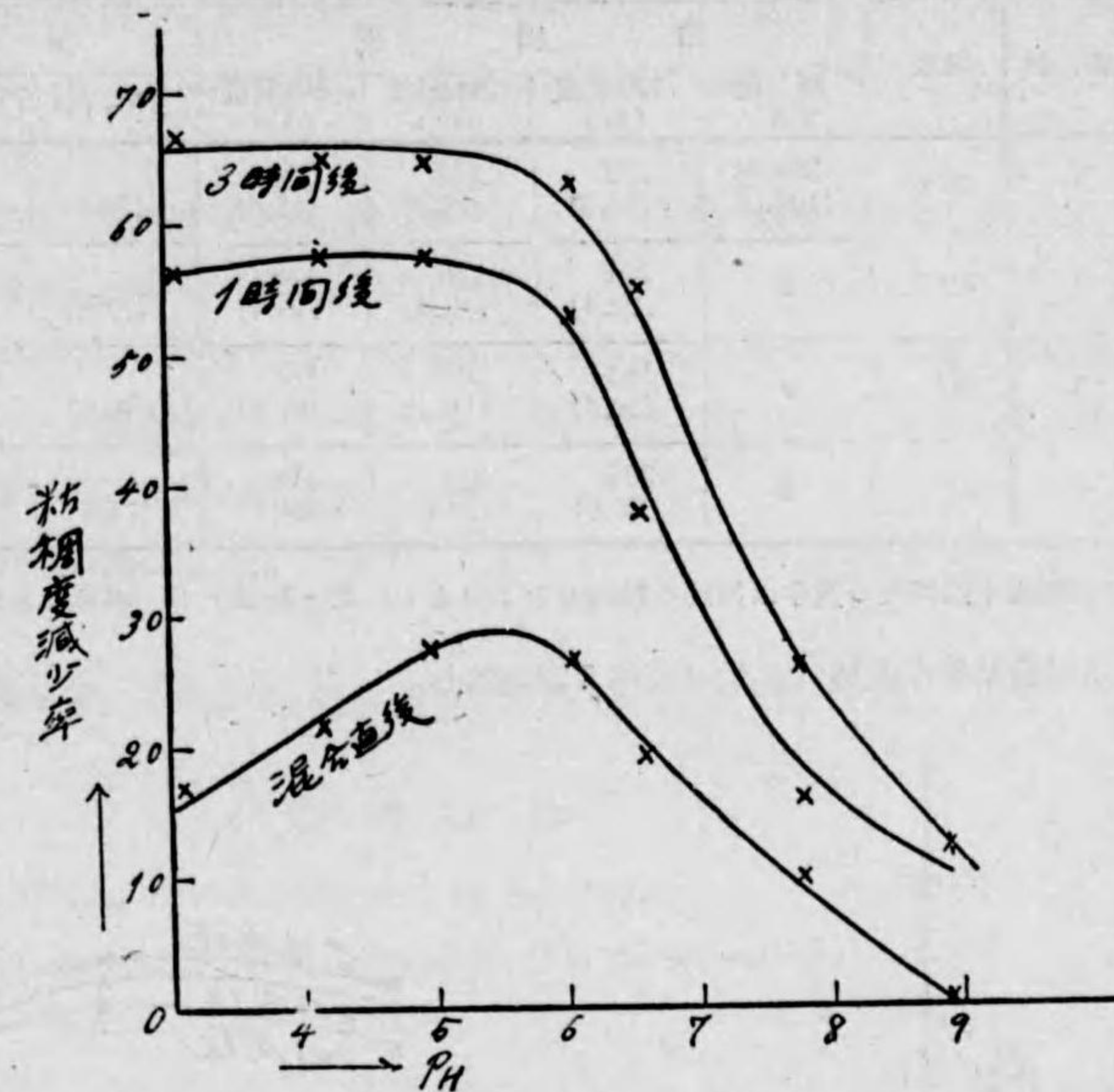
(B) 最適水素イオン濃度

前試験結果中前表より次の第4圖の曲線を得たり。

麹酵素の全酵素に就ての糖化力最適水素イオン濃度に関しては既往に測定せるもの多く大島氏は<sup>(12)</sup>PH=5.2(精製せる麹菌酵素)を、杉山氏等は<sup>(13)</sup>PH=4.8松本氏等は<sup>(14)</sup>PH=5.0(タカチアスターゼ)を、兼氏は<sup>(15)</sup>PH=4.4松本氏等は<sup>(14)</sup>PH=4.1-4.4(麹浸出液)を、松本氏

等は PH = 4.1 ~ 4.2 (麴其儘使用) を夫々示せり。即ち PH = 4.1 ~ 5.2 の範圍にあり。

然るに此の糊精化酵素の最適水素イオン濃度右圖に示す如く開始直後は PH = 5 ~ 6 の間を最適とし1時間後及び3時間後に於ては PH = 5.5 以上の酸性度強きもの皆平行的に最適曲線



第4圖

を示せり。即ち糊精化酵素と糖化酵素との最適 PH は全く異なるものなる事明瞭なり。

(C) 最適温度

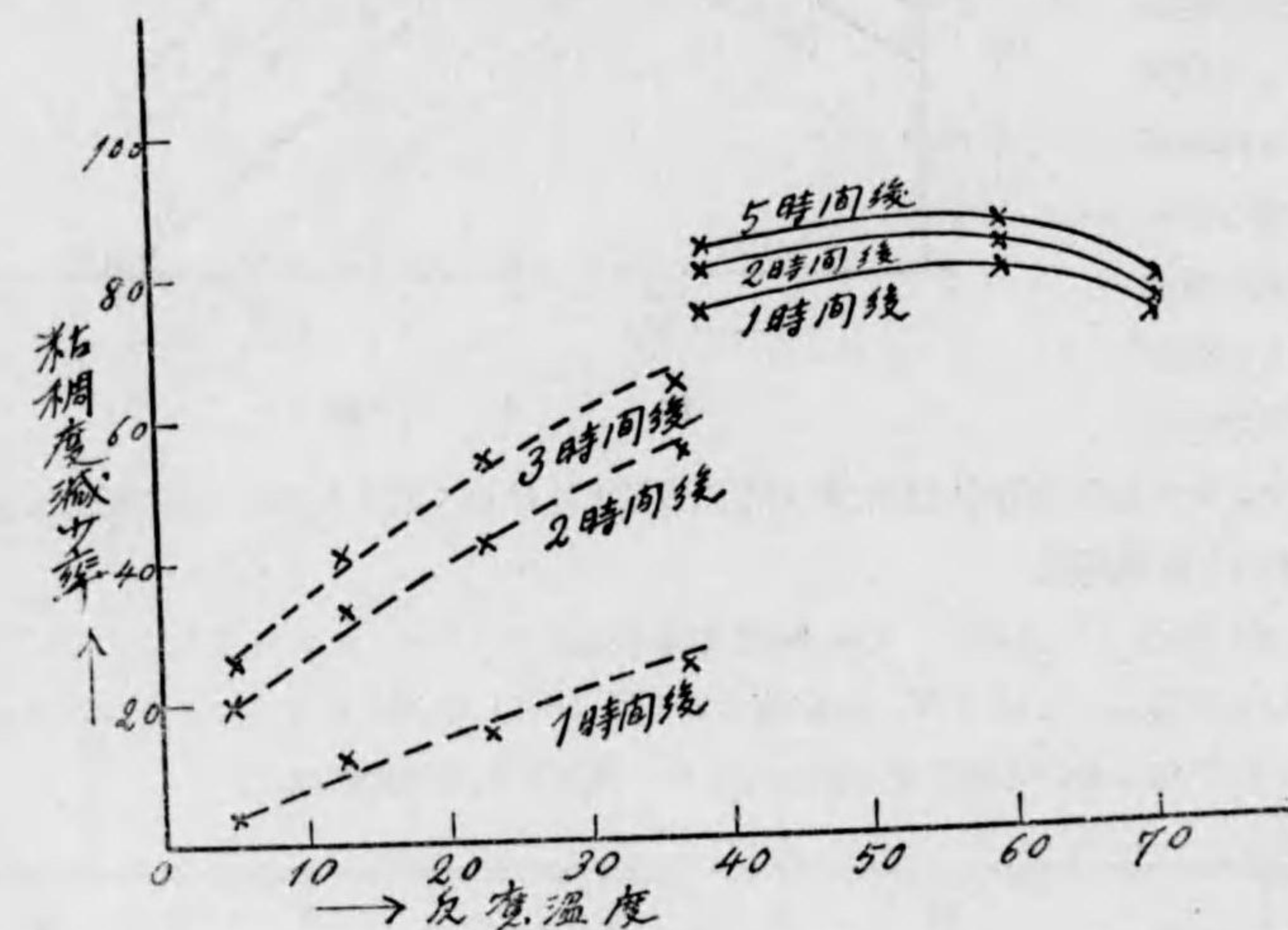
2% 澱粉糊液 150 g 宛に、1% 糊精化酵素溶液 15c.c. 宛を混和し直ちに粘稠度(試料の温度は前試験に於ては 23°C、後試験に於ては 16°C) を測定後次の如き各種の温度に保ち、一定時間後に於ける粘稠度を測定せるに、其結果夫々次表の如し。

番 號	温度	粘 稠 度				減 少 率		
		開 始 (A)	1時間後 (B)	2時間後 (C)	3時間後 (D)	(A)~(B)	(B)~(C)	(C)~(D)
1	5°C	524.0(秒) (100.0)	506.0 (96.6)	421.2 (80.4)	391.0 (74.6)	(3.4)	(16.2)	(5.8)
2	13°	〃	464.0 (88.5)	349.8 (66.8)	309.4 (59.0)	(11.5)	(21.7)	(7.8)
3	23°	〃	443.8 (84.7)	303.4 (57.9)	239.6 (45.7)	(15.3)	(26.8)	(12.2)
4	37°	〃	392.0 (74.8)	230.4 (44.0)	183.6 (35.0)	(25.2)	(30.8)	(9.0)

番 號	温 度	粘 稠 度				減 少 率		
		開 始 (A)	1時間後 (B)	2時間後 (C)	5時間後 (D)	(A)~(B)	(B)~(C)	(C)~(D)
1	39°C	897(秒) (100.0)	227 (25.3)	163 (18.2)	140 (15.6)	(74.7)	(7.1)	(2.6)
2	49°	"	201 (22.4)	156 (17.4)	138 (15.4)	(77.6)	(5.0)	(2.0)
3	60°	"	183 (20.4)	145 (16.2)	134 (14.9)	(79.6)	(4.2)	(1.1)
4	71°	"	239 (26.6)	215 (24.0)	216 (24.1)	(73.4)	(2.6)	(0.0)

(前兩表中括弧内の數字は開始の粘稠度を100とし、之を基準として求めたる比率なり)

兩試驗結果を曲線にて示せば第5圖の如し。



第 5 圖

即ち第5圖に示す如く澱粉糊精化の最適温度は55~60°Cに在りて、60°C以上にては急速に低下し始む。而してタカヂアスターゼの糖化力最適温度が55°C附近(13)にある事は本酵素の最適温度と略一致することを示す。

### 結 論

以上の研究の結果を摘録すれば次の如し。

1. ポツテヴァン氏の80°C5分間酵素を處理する方法は、著者の麹菌ヂアスターゼに於て

は糖化酵素を完全に破壊すると雖も糊精化酵素も亦其大部分を破壊するを以て、後者のみの酵素の特離には不適當なりと認む。著者の試験に於ては原酵素を65°C15分間處理するを適當と認めたり。

2. 單離せる糊精化酵素の反應速度は糖化酵素の夫れに比し極めて急激なるものにして、兩者は全く別種の酵素たる事を明瞭に認識し得べし。
3. 麹菌ヂアスターゼ全酵素の最適水素イオン濃度はPH4.1~5.2なるも、單離せる糊精化酵素の最適水素イオン濃度はPH5.0~6.0にして明に異なるPHを示す。即ち該點に於ても糊精化酵素の單一性を認識し得らる。
4. 單離せる糊精化酵素の最適温度は55~60°Cにしてヂアスターゼ全酵素の夫れと略一致す。

本研究中終始御懇篤なる御指導を賜はりし黒野先生に感謝の意を表す。

### 参 考 文 獻

- (1) Pottevin : Annales de l'Inst Pasteur, 13. 665. 1899
- (2) T. chrzaszcz, A. Joscht : Biochemische Zeitschrift, 80. 211. 1917
- (3) E. Ohlsson : Soc. Biol., 87. 1183 1922
- (4) O. Holmbergh : Zeitschrift für physiologische Chemie, 134. 68. 1924; Biochemische Zeitschrift, 145. 244. 1924
- (5) K. Hizume : Biochemische Zeitschrift, 146. 52. 1924
- (6) S. Fraenkel, Hamburg : Hofm. Beitr., 8. 389. 1900
- (7) T. Chrzaszcz : Wochenschrift für Brauerei, 23. 510. 1911
- (8) R. Fricke, Kaja : Berichte, 57. 313. 1924
- (9) 北野登志雄 : 工. 化. 誌. 39. 43-50; 318-326; 802-810; 昭 11  
40 70-78 昭 12
- (10) 徳岡有三 : 日. 農. 化. 誌. 12. 1185-1202; 昭; 11; 13. 35; 275-317  
昭 12
- (11) 武富昇, 武田貞榮 : 早. 應. 化. 報. 25. 11. 昭. 10
- (12) 大島幸吉 : 工. 化. 誌. 26 685
- (13) 杉山晋朗, 松下憲治 : 日. 醸. 協. 誌. 20. 29
- (14) 松本憲次, 窪田潔 : 同上 19. 28 大正 13 20. 37. 大正 14
- (15) 兼謙蔵 : 同上, 19. 33. 大正 13

## 醱酵形式による酸竝にグリセリン 生成量の差違に就て

On the degree of the formation of acid and glycerin  
owing to the different types of the fermentation.

小 穴 富 司 雄  
松 下 一 榮

余は常に清酒の品位を左右する条件の一として醱の醱酵形式の如何を重要視し居れり。即ち所謂前急後緩醱酵は大體に於て旨口にしてキメ濃き清酒を造るに適し、前緩後急醱酵は辛口にしてキメ荒き酒質を得るものとして實地試験の目標を定め居れり。清酒に酸多くエキス分少きものはキメ荒く感じ、反對に酸少くエキス分多きものはキメ細き感を與へる事は一般に信ぜらるゝ處なるも、醱酵の形式を變更することが果して斯様の成分上の相違を來すや否や數字的に發表せられたるを聞かず。全國の品評會等に於て優等賞を得し酒を分析する時常に感ずるは如何にもキメ細やかにして上品の旨味に富み居る點なるが、特に興味ある事實は酸量少きことと、グリセリン量が市販並酒に比して大なる點なり。而も夫等の優等酒の多くは前急後緩の形式に據りて製造され居るが故に、余は醱酵形式によりて酸竝にグリセリンの生成に相違を來すやを思ひ、本實驗を施行せり。其の結果は前緩後急形式の醱酵を採る時は酸の生成多くグリセリン量少きを示し、前急後緩醱酵に依る時は酸の生成少くグリセリン量多き結果を得たり。

清酒（即ち熟成醱）の酸量は有害バクテリアの繁殖する場合は別として、酵母のみによる健全醱酵の場合には、醱留後 3~4 日目頃に示す酸量（主として酒母が稀釋せられた酸量）に凡そ 0.1% 内外を増加したるものなることは多くの人の認むる處なるも、これは醱酵形式の相違によりて酸増量に變化のあることを忘るべからず。故に留後 3 日目に醱の酸量が 0.03% ありとするも醱酵形式の相違によりて或る場合には熟成醱に於て 0.13% なることあり。或る場合には 0.17% なることも生ずべし。吾人が所謂キメ細き清酒を得るために酒母の酸量を調節し而も相當若き酒母を使用する意味は一面には酒母より醱に移行稀釋せらるゝ時の酸量を少くする意味もあれど、他面には多酸にて馴養せられたる酒母が醱の醱酵を前緩後急に導く可能性ある（別報酵母の性質参照）が故に、之を適宜緩和する意味あることを看過すべからず。斯くして留後 3~4 日目に示す酸量よりも 0.1% 以上増酸せざる如き醱酵経過を採るために、酒母の育成法を研究するの必要を生ずべき理なり。

實 験

ボーマ 15° の麴エキスに酵母を移植し其一はボーマ 8° になるまでの前半日数を短縮し後半を緩徐醱酵ならしめるために、最初は常温 25°C を與へ、後半を 10°C 前後に保ちたり。又其二の醱酵形式に於ては反對に前半期を緩徐ならしめるために、ボーマ 8° までを室温 10°C 前後に放置し、後半を 25°C に保持して後急醱酵ならしめたり。兩者共室温の變更を行ふ時期を轉換期と稱し、何れもボーマ 8° の時期を選定したり。

(備考) 定量法は次の如し。

PH は Brom thymol blue 紙を用ゐる比色法に依る。

糖量は Pflüger 法にしてシヤン化加里を用ゐる滴定法に依る。

フーゼル油はヴァニリン硫酸法によりて定量す。

酸はアルカリに依る滴定法にして琥珀酸としての%を示す。

酒精は蒸溜法により浮秤を用ゐて檢せり。

グリセリンは沃化水素酸を用ゐる Zeissel, Fanto u. Stritar 氏法に依りて定量せり。

醱酵に用ゐたる麴エキスは次の如き組成なり。

ボーマ	15.0
PH	5.4
酸	0.0826
糖	30.8

この麴エキス 300c.c. を容量 500c.c. の三角瓶に入れ、之に日本醸造協會第 6 號酵母を移植せり。

醱酵經過次の如し、其一、其二とは同様の試験を 2 回繰返し行ひたるを示す。

前 急 後 緩				前 緩 後 急			
年, 月, 日	室温 (C)	其一 (ボーマ)	其二 (ボーマ)	年, 月, 日	室温 (C)	其一 (ボーマ)	其二 (ボーマ)
11, 2, 17	25	15.0	15.0	11, 2, 17	10	15.0	15.0
18	〃	14.5	14.5				
19	〃	13.0	12.8				
20	〃	10.5	10.3				
21	10 轉換	7.0	7.2				
24	〃	5.4	5.5	24	〃	14.8	14.8
26	〃	4.2	4.2	27	〃	14.5	14.5
3, 1	〃	2.6	2.6	3, 11	25 轉換	8.1	8.3
7	〃	1.8	1.8	16	〃	2.0	2.1
13	〃	0.95	1.0	20	〃	2.2	2.2
20	〃 最終	0.9	0.9	24	〃 最終	2.2	2.3

成分定量結果次の如し。

	前 急 後 緩		轉 換 期	前 緩 後 急	
	共 一	共 二		共 一	共 二
日 數	4	4		22	22
ボーマ 度	7.0	7.2		8.1	8.3
PH	—	—		4.0	4.0
酸 量 %	—	—		0.1888	0.1888
糖 量 %	13.44	14.06		16.24	16.66
酒 精 %	7.5	7.5		7.0	6.8
フューゼル油 %	0.04	0.05		0.03	0.03
グリセリン %	0.3153	0.3126		0.3212	0.3369
轉換期よりの					
日 數	27	27	最 終 期	13	13
ボーマ 度	0.9	0.9		2.2	2.3
PH	4.0	4.0		3.2	3.2
酸 量 %	0.2183	0.2124		0.2419	0.2419
糖 量 %	2.24	2.14		4.89	4.99
酒 精 %	13.0	13.0		11.5	11.0
フューゼル油 %	0.05	0.05		0.04	0.04
グリセリン %	1.2158	1.2021		0.8523	1.0095

以上の結果より判断するに前緩後急式醱酵による時は、ボーマ度の喰切悪しく且つ酒精の生成量少きに係らず、生酸量の多き事とグリセリンの生成少き特長を有する結果を與へ前急後緩醱酵による時は酸量少くグリセリン量の多きを示し居れり。即ち實地醸造に於て豫想し得たる結果を證明し得たるものと謂ふべし。

故に所謂濃醇にしてノビの利く普通酒造りには前緩後急醱酵形式を採用すべく、キメ細かにして穩雅なる酒質を得んとせば前急後緩醱酵形式を採用すべし。

要 旨

醱酵形式を變更することによりて生成物の量に相違を來すことを確め得たり。而して前緩後急式醱酵に於ては酸量多く、グリセリン量少き特長あり、前急後緩式醱酵に於ては酸量少く、グリセリン量多き結果を得たり。

## 酵母の研究(第一報)

### 馴致による性質變化

Studies on yeast. (Variation of properties by acclimatizing)

小 穴 富 司 雄

酵母の如き無性生殖を行ふ單細胞體の遺傳的性質の變化は有性生殖をなす高等動物のそれとは大に異なる點あり。環境の相違即ち培養狀態の變化によりて順應變性し又環境を變へることによりて他の性質に移行する例多し。例へば酵母を蔗糖液にて反覆培養することによりてインヅ、ターゼの生成を増大する如き、又ガラクトーズを醗酵し得ざる酵母にても遂に之を醗酵し得るに至る如きこれなり。又特殊の培養方法によりて上面酵母をして下面酵母に變化せしめ得るのみならず、反對に下面麥酒酵母を再三繰返し蔗糖液にて植換する<sup>(1)</sup>か、米を加へて反覆培養することによりて凝集力を失ひて浮游性を帶ぶることも可能なり。

余は清酒醸造に當りて酵母の種類の重要な役目を演ずることを信じ、常に之が優良酒の選擇を行ひ其の都度酵母比較試験として報告<sup>(2)</sup>し居り、Ka, Ki, F, AR 種等の優良種を分離し、其内 AR種は實地醸造上有用なりとの結論<sup>(3)</sup>を得たるを以て日本醸造協會に依頼して第六號酵母として一般酒造家に譲渡して好成績を收めつゝあり。

而して實地醸造の經驗より見るに、酒母の育成法の如何、即ち酸量、糖分、酒精の生成量何如によりて醗の醗酵狀態に變化を及ぼすこと頗る大なることを認め居るが故に、之を徹底的に検討すべく本實驗を行ひたり。大略の實驗法は酵母を濃糖液、濃酸液、濃酒精液に反覆培養すること 52~110 回の後各酵母の醗酵狀態並に孢子形成の有無を検したり。其他の性質に關しては順次研究を續くる考へなり。

#### 第一章 馴養酵母醗酵試験

##### 實驗方法

日本醸造協會第 5 號酵母を Lindner 氏小滴培養により純粹培養し、之を次の如き種々の培養液中にて繰返し培養したり。

N..... 30×8° の麴エキス

D..... 30×8° の麴エキス+20% 葡萄糖



L..... " + 1%乳酸  
 A..... " + 10%酒精

N, D, L, A, の如き略號は以下同様の意味に用ゐるものとす。

Nの方法は余等が平常酵母保存の際應用する方法なるを以て、之を基準培養(Normal)と稱することとし、Dを濃糖馴養、Lを酸馴養、Aを酒精馴養と稱することとせり。

馴養開始は昭和8年4月6日にして、以後3~5日毎に移殖して、同年11月20日までに52回移殖せり。4月6, 13, 25, 28, 5月2, 6, 10, 16, 22, 27, 6月2, 6, 13, 17, 21, 26, 29, 7月10, 14, 18, 22, 25, 28, 8月1, 4, 7, 12, 16, 19, 22, 25, 28, 31, 9月2, 5, 8, 11, 15, 18, 21, 25, 28, 10月2, 5, 9, 13, 19, 21, 23, 27, 11月2, 20。

但しA<sub>15</sub>のみは酵母の發育頗る困難にして上記の如く頻繁に行ひ難かりし爲め、上記の期間中16回移殖し得たるのみ。4月6, 13, 25, 5月2, 16, 27, 6月13, 26, 7月10, 25, 8月4, 15, 28, 9月12, 25, 10月16。

以上各馴養酵母の醱酵試験をなすに當り、使用したる醱を試液はポーメ8°の麴エキス、又は之に乳酸を1%若しくは2%添加したるもの、又はポーメ8°の麴エキスに葡萄糖を30%加へたるもの、其他なり。何れも醱瓶に醱酵試液を30c.c.又は50c.c.入れ、綿栓を施し、毎日30分宛3日間殺菌し、醱栓には硫酸又は鹽化石灰を入れ置き、一定量の試験酵母を添加し一定の温度に保持しつゝ毎日CO<sub>2</sub>の發生量を測り、目方の減量によりて醱酵力の強さを示したり。本試験の如き醱酵試験は最初に加へる酵母量の相違によりて、醱酵開始時期に遲速を生ずるものなるが故に出來得る丈に等量添加をなすことと、試験回数を多くして各酵母の醱酵線の緩急を判断するを要す。故に馴養酵母を醱酵試液に加へる際には1c.c.中1500萬個の酵母を含有する如く稀釋したるもの1c.c.(凡そ一金耳の酵母量に相當す)を加へることとし、且並行試験として二列又は四列の試験をなして過誤なからしむることを努めたり。以下の數字は何れも2~4回試験の平均値なり。

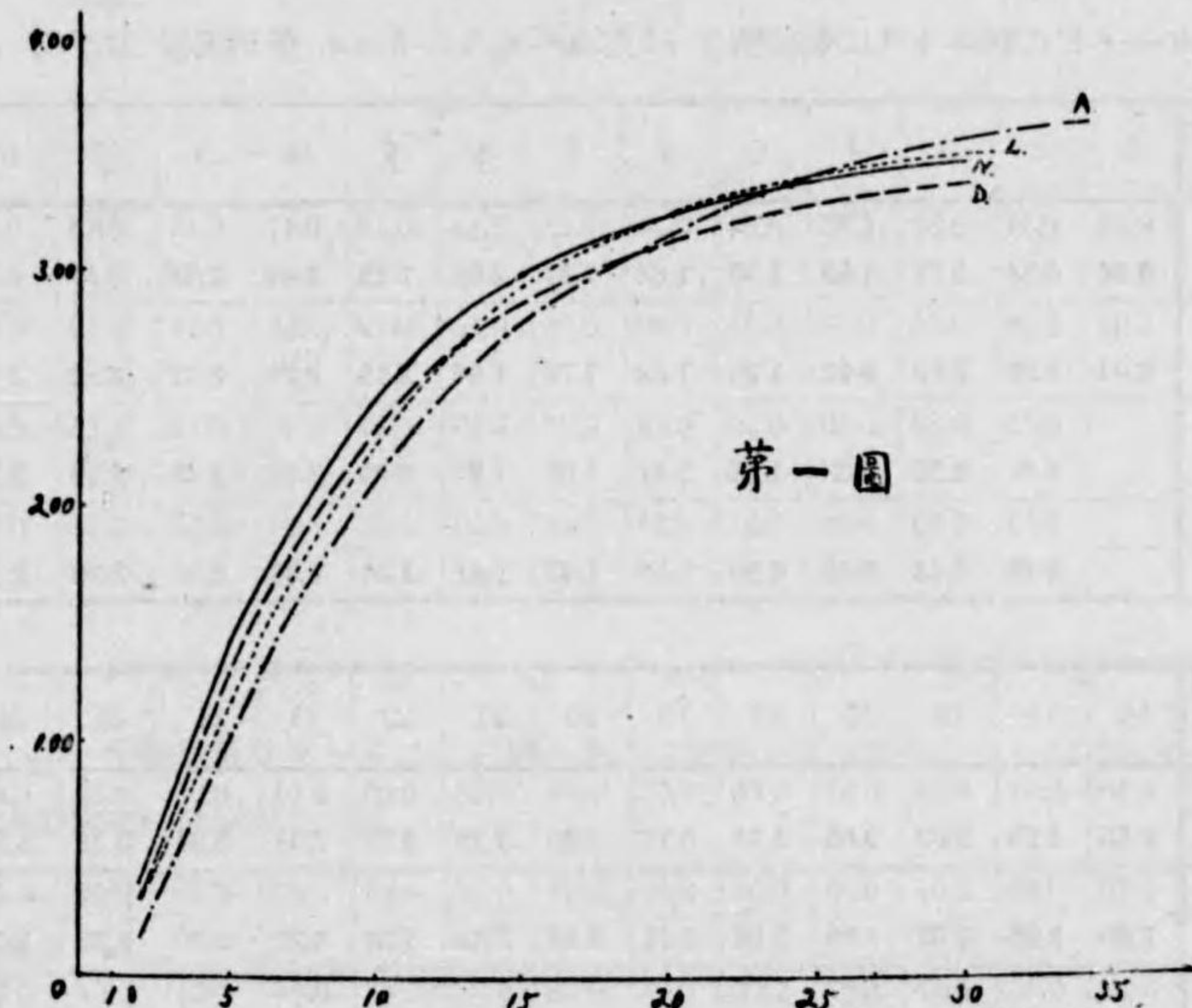
實 験 I

濃糖馴養酵母D, 1%乳酸馴養順酵母L, 酒精馴養酵母A, 及び基準培養Nの四種につき醱酵開始の遲速並に醱酵力を測定せり。醱酵試液はポーメ8°麴エキスに葡萄糖を30%加へたるもの30c.c., 室温20.5°C, 四回試験の平均を示す。又表中の數字は毎日の目方減量(瓦)及び之を積算したるものなり。

日 数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
N	0.03	0.34	0.34	0.34	0.33	0.29	0.25	0.18	0.17	0.19	0.13	0.13
		<b>0.38</b>	<b>0.72</b>	<b>1.06</b>	<b>1.39</b>	<b>1.68</b>	<b>1.93</b>	<b>2.11</b>	<b>2.28</b>	<b>2.47</b>	<b>2.60</b>	<b>2.73</b>

D	—	0.33	0.33	0.32	0.30	0.28	0.24	0.18	0.18	0.20	0.13	0.11
		<b>0.33</b>	<b>0.66</b>	<b>0.98</b>	<b>1.28</b>	<b>1.56</b>	<b>1.80</b>	<b>1.98</b>	<b>2.16</b>	<b>2.36</b>	<b>2.49</b>	<b>2.60</b>
L	—	0.33	0.31	0.30	0.33	0.26	0.16	0.19	0.20	0.19	0.16	0.14
		<b>0.33</b>	<b>0.64</b>	<b>0.94</b>	<b>1.27</b>	<b>1.53</b>	<b>1.69</b>	<b>1.88</b>	<b>2.08</b>	<b>2.27</b>	<b>2.43</b>	<b>2.57</b>
A <sub>15</sub>	—	0.16	0.31	0.27	0.29	0.25	0.25	0.18	0.20	0.20	0.16	0.18
		<b>0.16</b>	<b>0.47</b>	<b>0.74</b>	<b>1.03</b>	<b>1.28</b>	<b>1.53</b>	<b>1.71</b>	<b>1.91</b>	<b>2.11</b>	<b>2.26</b>	<b>2.46</b>

日 数	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
N	0.10	0.09	0.08	0.04	0.06	0.05	0.04	0.05	0.04	0.04	0.04	0.03
	<b>2.83</b>	<b>2.92</b>	<b>3.00</b>	<b>3.04</b>	<b>3.10</b>	<b>3.15</b>	<b>3.19</b>	<b>3.24</b>	<b>3.28</b>	<b>3.32</b>	<b>3.36</b>	<b>3.39</b>
D	0.10	0.10	0.07	0.06	0.05	0.06	0.04	0.04	0.04	0.06	0.04	0.03
	<b>2.70</b>	<b>2.80</b>	<b>2.87</b>	<b>2.93</b>	<b>2.98</b>	<b>3.04</b>	<b>3.08</b>	<b>3.12</b>	<b>3.16</b>	<b>3.22</b>	<b>3.26</b>	<b>3.29</b>
L	0.13	0.12	0.09	0.08	0.06	0.07	0.06	0.06	0.07	0.02	0.04	0.04
	<b>2.70</b>	<b>2.82</b>	<b>2.91</b>	<b>2.99</b>	<b>3.05</b>	<b>3.12</b>	<b>3.18</b>	<b>3.24</b>	<b>3.31</b>	<b>3.33</b>	<b>3.37</b>	<b>3.41</b>
A <sub>15</sub>	0.11	0.12	0.10	0.09	0.07	0.09	0.08	0.08	0.07	0.05	0.06	0.05
	<b>2.56</b>	<b>2.68</b>	<b>2.78</b>	<b>2.87</b>	<b>2.94</b>	<b>3.00</b>	<b>3.08</b>	<b>3.16</b>	<b>3.23</b>	<b>3.28</b>	<b>3.34</b>	<b>3.39</b>



第一圖

時日 酵母	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	合計
N	0.02 3.41	0.03 3.44	0.02 3.46	0.01 3.47	0.01 3.48	0.01 3.49	— 3.49					3.49
D	0.02 3.31	0.02 3.33	0.02 3.35	0.01 3.36	0.01 3.37	0.02 3.39	— 3.39					3.39
L	0.02 3.42	0.02 3.44	0.02 3.46	0.01 3.47	0.02 3.49	0.01 3.50	0.01 3.51	— 3.51				3.51
A <sub>15</sub>	0.04 3.43	0.03 3.46	0.04 3.50	0.03 3.53	0.03 3.56	0.02 3.58	0.02 3.60	0.02 3.62	0.02 3.64	0.01 3.65	— 3.65	3.65

本試験の結果によれば N, と D とは前急後緩の経過を示し, A は最も前緩後急を示し L は中間の経過を示したり。(第一圖参照)

實驗 II

醱酵試液を變へて (イ) ボーメ 8° の麴エキスに葡萄糖を 35% 加へたるもの, (ロ) ボーメ 8° の麴エキスに乳酸を 1% 加へたるものに就きて, N, D, L, A の各馴養酵母の醱酵経過を試験したり。

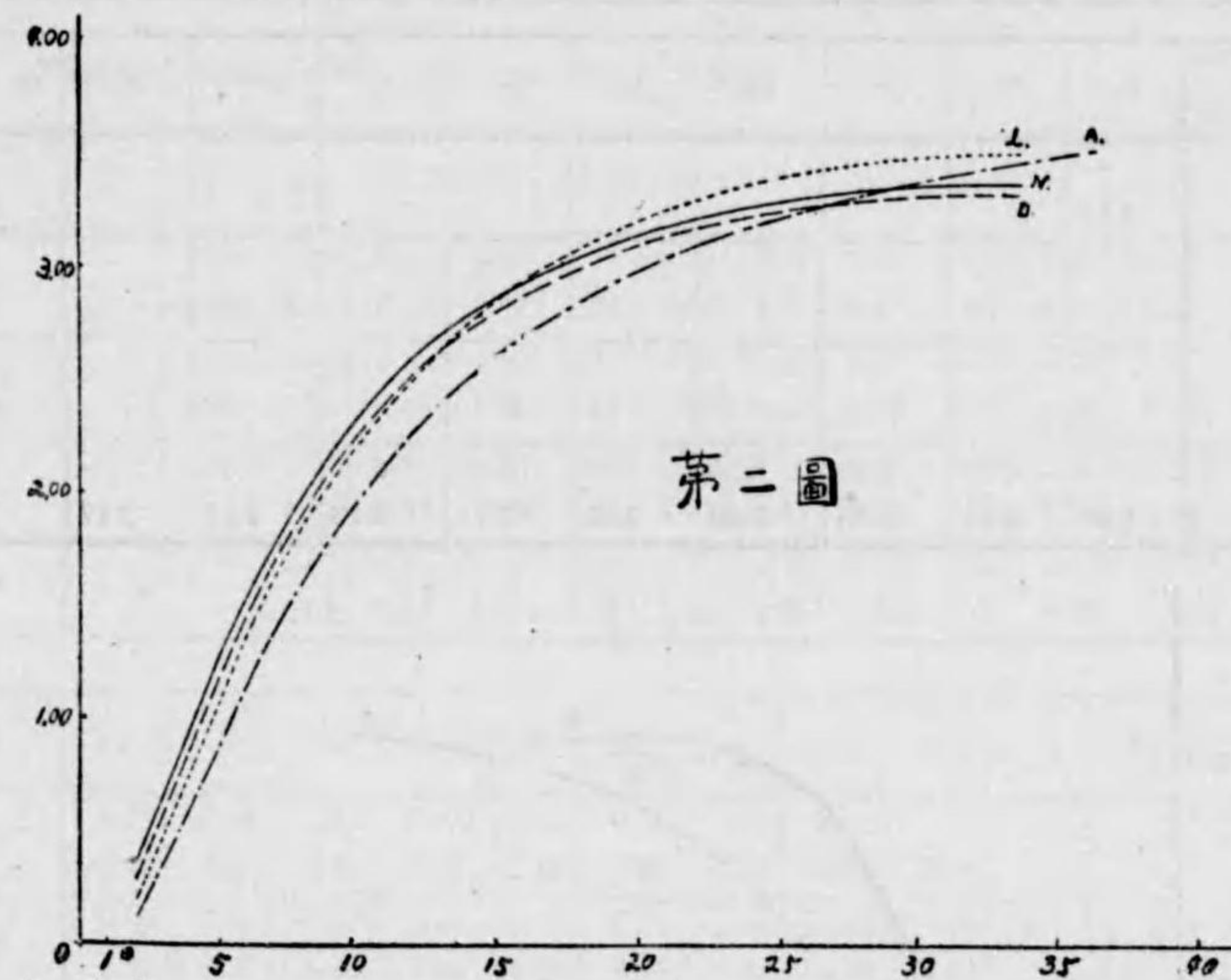
(イ) ボーメ 8° の麴エキスに葡萄糖を 35% 加へたるもの 30c.c. 使用室温 20.5°C,

時日 酵母	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
N	0.04 0.04	0.34 0.38	0.33 0.37	0.32 1.03	0.30 1.33	0.29 1.62	0.25 1.87	0.18 2.05	0.18 2.23	0.17 2.40	0.14 2.54	0.13 2.67	0.09 2.76
D	0.01 0.01	0.28 0.29	0.33 0.62	0.30 0.92	0.31 1.23	0.29 1.52	0.26 1.78	0.18 1.96	0.19 2.16	0.18 2.33	0.14 2.47	0.12 2.59	0.11 2.70
L	— —	0.21 0.21	0.32 0.53	0.30 0.83	0.30 1.13	0.28 1.41	0.27 1.68	0.19 1.87	0.21 2.08	0.20 2.28	0.15 2.43	0.15 2.58	0.13 2.71
A	— —	0.13 0.13	0.30 0.43	0.26 0.69	0.27 0.96	0.23 1.19	0.24 1.43	0.18 1.61	0.20 1.81	0.19 2.00	0.15 2.15	0.14 2.29	0.14 2.43

時日 酵母	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
N	0.10 2.86	0.07 2.93	0.09 3.02	0.03 3.05	0.06 3.11	0.05 3.16	0.04 3.20	0.05 3.25	0.03 3.28	0.03 3.31	0.03 3.34	0.02 3.36	0.02 3.38
D	0.10 2.80	0.08 2.88	0.07 2.95	0.05 3.00	0.06 3.06	0.05 3.11	0.05 3.16	0.05 3.21	0.03 3.24	0.03 3.27	0.03 3.30	0.02 3.32	0.02 3.32
L	0.12 2.83	0.10 2.39	0.07 3.00	0.07 3.07	0.06 3.13	0.08 3.21	0.06 3.27	0.05 3.32	0.05 3.37	0.04 3.41	0.04 3.45	0.02 3.47	0.02 3.49
A	0.12 2.55	0.09 2.64	0.09 2.73	0.07 2.80	0.06 2.86	0.08 2.94	0.07 3.01	0.07 3.08	0.05 3.13	0.06 3.19	0.05 3.24	0.04 3.28	0.04 3.32

時日 酵母	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	合計
N	0.02 3.40	0.01 3.41	0.01 3.42	0.01 3.43	0.01 3.44	— 3.44						3.44
D	0.02 3.36	0.01 3.37	0.01 3.38	0.01 3.39	0.01 3.40	— 3.40						3.40
L	0.02 3.51	0.01 3.52	0.02 3.54	0.01 3.55	0.01 3.56	— 3.56						3.56
A	0.04 3.36	0.04 3.40	0.03 3.43	0.05 3.48	0.02 3.50	0.02 3.52	0.02 3.54	0.02 3.56	0.01 3.57	0.01 3.58	— 3.58	3.58

上記の結果を見るに實驗 I と同様 D と N とは前急後緩の醱酵を遂げ, L は前急後緩にして, A は最も前緩後急なる経過を示したり。而して炭酸ガス發生量(酒精の生成量)は A 最も大にして L, N, D と順次少数を示し居れり。醱酵経過第二圖参照



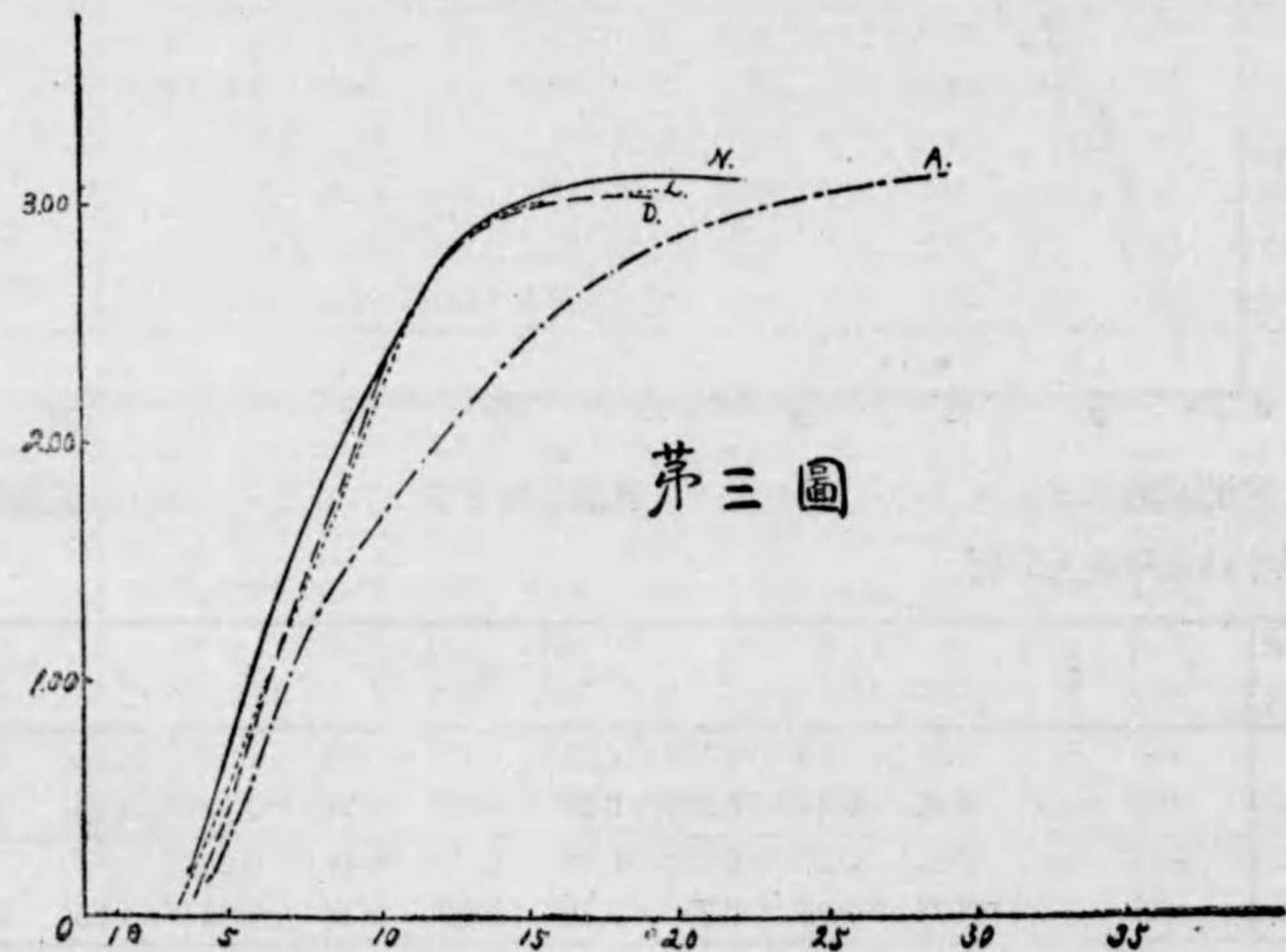
(ロ) 醱酵試液はボーメ 20° の麴エキスに乳酸 1% を加へたるもの 30c.c. 室温 20.5°C 表中の数字は前試験と同断。

時日 酵母	1	2	3	3.5	4	4.5	5	6	7	8	9
N	— —	— —	0.05 0.05	0.13 0.18	0.17 0.35	0.23 0.58	0.20 0.78	0.43 1.21	0.32 1.53	0.30 1.83	0.24 2.07
D	— —	— —	0.02 0.02	0.07 0.09	0.12 0.21	0.23 0.44	0.17 0.61	0.49 1.10	0.34 1.44	0.34 1.78	0.27 2.05

L	—	—	0.03	0.09	0.14	0.21	0.16	0.47	0.33	0.33	0.25
	—	—	<b>0.03</b>	<b>0.12</b>	<b>0.26</b>	<b>0.47</b>	<b>0.63</b>	<b>1.10</b>	<b>1.43</b>	<b>1.76</b>	<b>2.01</b>
A	—	—	0.01	0.03	0.08	0.16	0.13	0.39	0.27	0.24	0.19
	—	—	<b>0.01</b>	<b>0.04</b>	<b>0.12</b>	<b>0.28</b>	<b>0.41</b>	<b>0.80</b>	<b>1.07</b>	<b>1.31</b>	<b>1.50</b>

時日	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
N	0.25	0.22	0.21	0.15	0.08	0.07	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01
	<b>2.32</b>	<b>2.54</b>	<b>2.75</b>	<b>2.90</b>	<b>2.98</b>	<b>3.05</b>	<b>3.07</b>	<b>3.09</b>	<b>3.10</b>	<b>3.11</b>	<b>3.12</b>
D	0.27	0.22	0.21	0.15	0.08	0.06	0.03	0.01	0.01	—	—
	<b>2.32</b>	<b>2.54</b>	<b>2.71</b>	<b>2.85</b>	<b>2.94</b>	<b>3.00</b>	<b>3.03</b>	<b>3.04</b>	<b>3.05</b>	<b>3.05</b>	—
L	0.27	0.22	0.23	0.15	0.07	0.05	0.03	0.01	0.01	0.01	—
	<b>2.28</b>	<b>2.50</b>	<b>2.73</b>	<b>2.88</b>	<b>2.95</b>	<b>3.00</b>	<b>3.03</b>	<b>3.04</b>	<b>3.05</b>	<b>3.06</b>	—
A	0.20	0.16	0.17	0.15	0.09	0.15	0.11	0.10	0.10	0.09	0.07
	<b>1.70</b>	<b>1.86</b>	<b>2.03</b>	<b>2.18</b>	<b>2.27</b>	<b>2.42</b>	<b>2.53</b>	<b>2.63</b>	<b>2.73</b>	<b>2.82</b>	<b>2.89</b>

時日	21	22	23	24	25	26	27	28	29	合計
N	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3.12
	<b>3.12</b>	—	—	—	—	—	—	—	—	<b>3.12</b>
D	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3.05
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	<b>3.05</b>
L	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3.06
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	<b>3.06</b>
A	0.07	0.05	0.04	0.04	0.03	0.02	0.02	0.01	—	—
	<b>2.96</b>	<b>3.01</b>	<b>3.05</b>	<b>3.09</b>	<b>3.12</b>	<b>3.14</b>	<b>3.16</b>	<b>3.17</b>	<b>3.17</b>	<b>3.17</b>



上記の結果を見るに N, D は前急後緩なること従前試験と同様なれど、乳酸馴養の L が殆んど前二者と同様の経過を示せることは稍特異とするに足る。酒精馴養 A は依然として前緩後急式の醗酵をなし、且つ醗酵日数長き特長あり。第三圖参照

実験 III

以上実験 II までの酵母を更に反覆馴養を繰返し、最初より数へて一ヶ月一ヶ月、植替回数 110 回 (A のみは繁殖遅きため 34 回) の各酵母につき前同様の醗酵試験をなしたり。

反覆馴養液

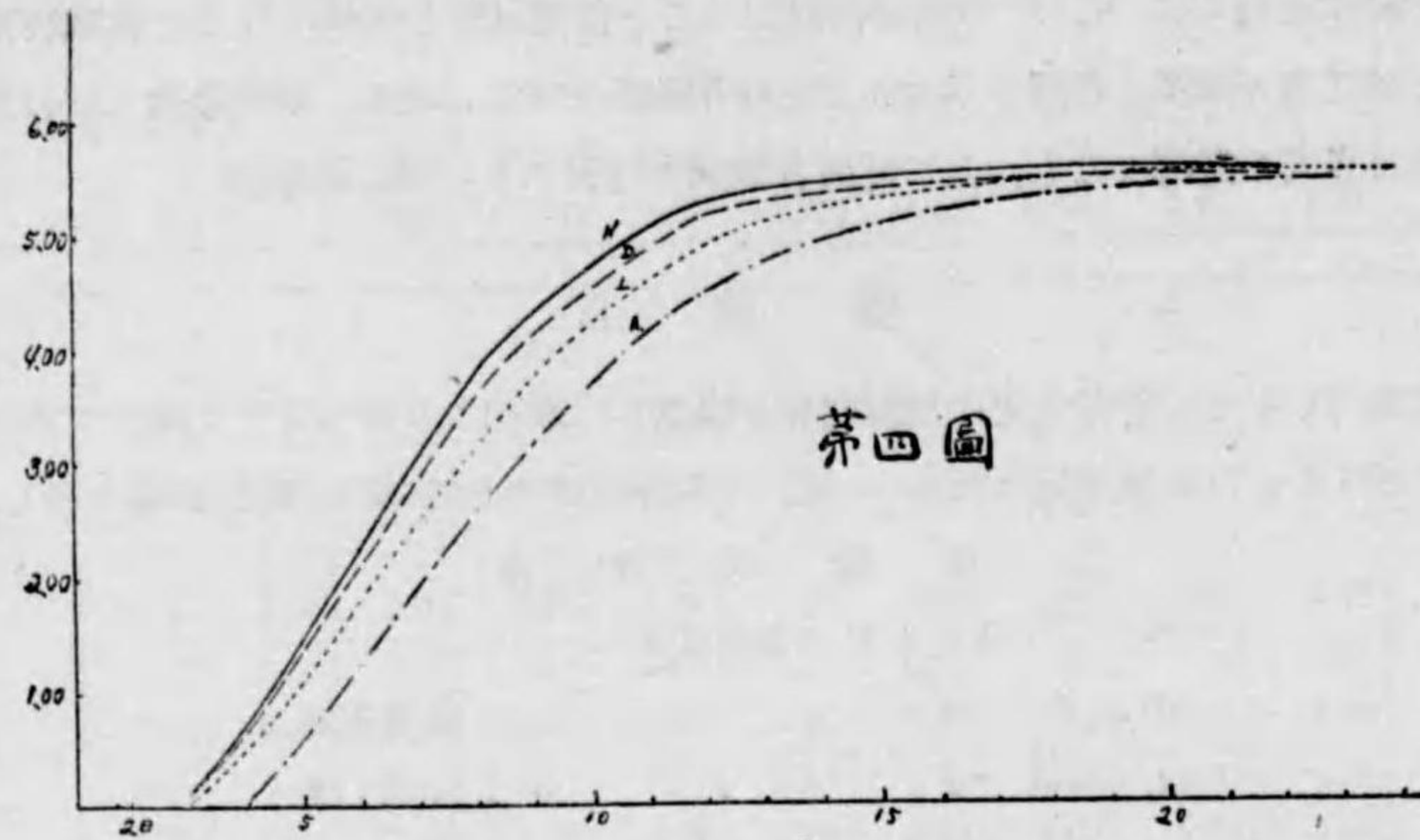
- N..... ホーメ 8° の麴越幾斯
- D..... " " + 20% 葡萄糖
- L..... " " + 1% 乳酸
- A..... " " + 10% 酒精

(イ) 醗酵試液はホーメ 20° 麴エキス 50c.c. 室温 23.0°C

時日	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
N	—	0.02	0.09	0.62	0.72	0.79	0.80	0.67	0.46	0.46	0.37	0.20	0.11
	—	<b>0.02</b>	<b>0.11</b>	<b>0.73</b>	<b>1.45</b>	<b>2.24</b>	<b>3.04</b>	<b>3.71</b>	<b>4.17</b>	<b>4.63</b>	<b>5.00</b>	<b>5.20</b>	<b>5.31</b>
D	—	0.01	0.01	0.56	0.68	0.76	0.78	0.60	0.57	0.45	0.38	0.20	0.14
	—	<b>0.01</b>	<b>0.11</b>	<b>0.67</b>	<b>1.35</b>	<b>2.11</b>	<b>2.89</b>	<b>3.49</b>	<b>4.06</b>	<b>4.51</b>	<b>4.89</b>	<b>5.09</b>	<b>5.23</b>
L	—	—	0.05	0.41	0.63	0.75	0.79	0.56	0.53	0.46	0.42	0.31	0.18
	—	—	<b>0.05</b>	<b>0.46</b>	<b>1.09</b>	<b>1.84</b>	<b>2.63</b>	<b>3.19</b>	<b>3.72</b>	<b>4.12</b>	<b>4.54</b>	<b>4.85</b>	<b>5.03</b>
A	—	—	0.01	0.12	0.44	0.66	0.83	0.59	0.57	0.48	0.40	0.30	0.23
	—	—	<b>0.01</b>	<b>0.13</b>	<b>0.57</b>	<b>1.23</b>	<b>2.06</b>	<b>2.65</b>	<b>3.22</b>	<b>3.70</b>	<b>4.10</b>	<b>4.40</b>	<b>4.63</b>

時日	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	合計
N	0.09	0.03	0.03	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01	—	—	—	5.54
	<b>5.40</b>	<b>5.43</b>	<b>5.47</b>	<b>5.49</b>	<b>5.51</b>	<b>5.52</b>	<b>5.53</b>	<b>5.54</b>	<b>5.54</b>	—	—	<b>5.54</b>
D	0.09	0.05	0.03	0.03	0.01	0.02	0.01	0.01	—	—	—	5.48
	<b>5.32</b>	<b>5.37</b>	<b>5.40</b>	<b>5.43</b>	<b>5.44</b>	<b>5.46</b>	<b>5.47</b>	<b>5.48</b>	<b>5.48</b>	—	—	<b>5.48</b>
L	0.17	0.08	0.04	0.07	0.03	0.03	0.03	0.02	0.03	0.01	—	5.54
	<b>5.20</b>	<b>5.28</b>	<b>5.32</b>	<b>5.39</b>	<b>5.42</b>	<b>5.45</b>	<b>5.48</b>	<b>5.50</b>	<b>5.53</b>	<b>5.54</b>	<b>5.54</b>	<b>5.54</b>
A	0.24	0.13	0.14	0.10	0.07	0.05	0.04	0.02	0.02	—	—	5.44
	<b>4.87</b>	<b>5.00</b>	<b>5.14</b>	<b>5.24</b>	<b>5.31</b>	<b>5.36</b>	<b>5.40</b>	<b>5.42</b>	<b>5.44</b>	<b>5.44</b>	—	<b>5.44</b>

上記の成績によれば実験 I 及 II と全く同様に D 及び N 前急後緩式の醗酵を示し、A は最も前緩後急式なり、又 L は兩者の中間経過を辿る。第四圖参照



第四圖

(ロ) 醱酵試液ボーメ20°の麴エキスに1%の乳酸を添加したるもの 50c.c. 室温 23°C

時日	時日												
酵母	1	2	3	4	4.5	5	5.5	6	6.5	7	8	9	10
N	—	—	—	—	0.01	0.05	0.15	0.29	0.32	0.26	0.67	0.40	0.48
					<b>0.01</b>	<b>0.06</b>	<b>0.21</b>	<b>0.50</b>	<b>0.82</b>	<b>1.08</b>	<b>1.75</b>	<b>2.15</b>	<b>2.53</b>
D	—	—	—	0.02	0.07	0.17	0.26	0.34	0.32	0.26	0.51	0.45	0.44
				<b>0.02</b>	<b>0.09</b>	<b>0.26</b>	<b>0.52</b>	<b>0.86</b>	<b>1.18</b>	<b>1.44</b>	<b>1.95</b>	<b>2.40</b>	<b>2.84</b>
L	—	—	—	—	0.02	0.08	0.21	0.31	0.31	0.30	0.57	0.53	0.50
					<b>0.02</b>	<b>0.10</b>	<b>0.31</b>	<b>0.62</b>	<b>0.93</b>	<b>1.23</b>	<b>1.80</b>	<b>2.33</b>	<b>2.83</b>
A	—	—	—	—	—	—	0.01	0.11	0.91	0.25	0.55	0.48	0.41
							<b>0.01</b>	<b>0.12</b>	<b>0.31</b>	<b>0.56</b>	<b>1.11</b>	<b>1.59</b>	<b>2.00</b>

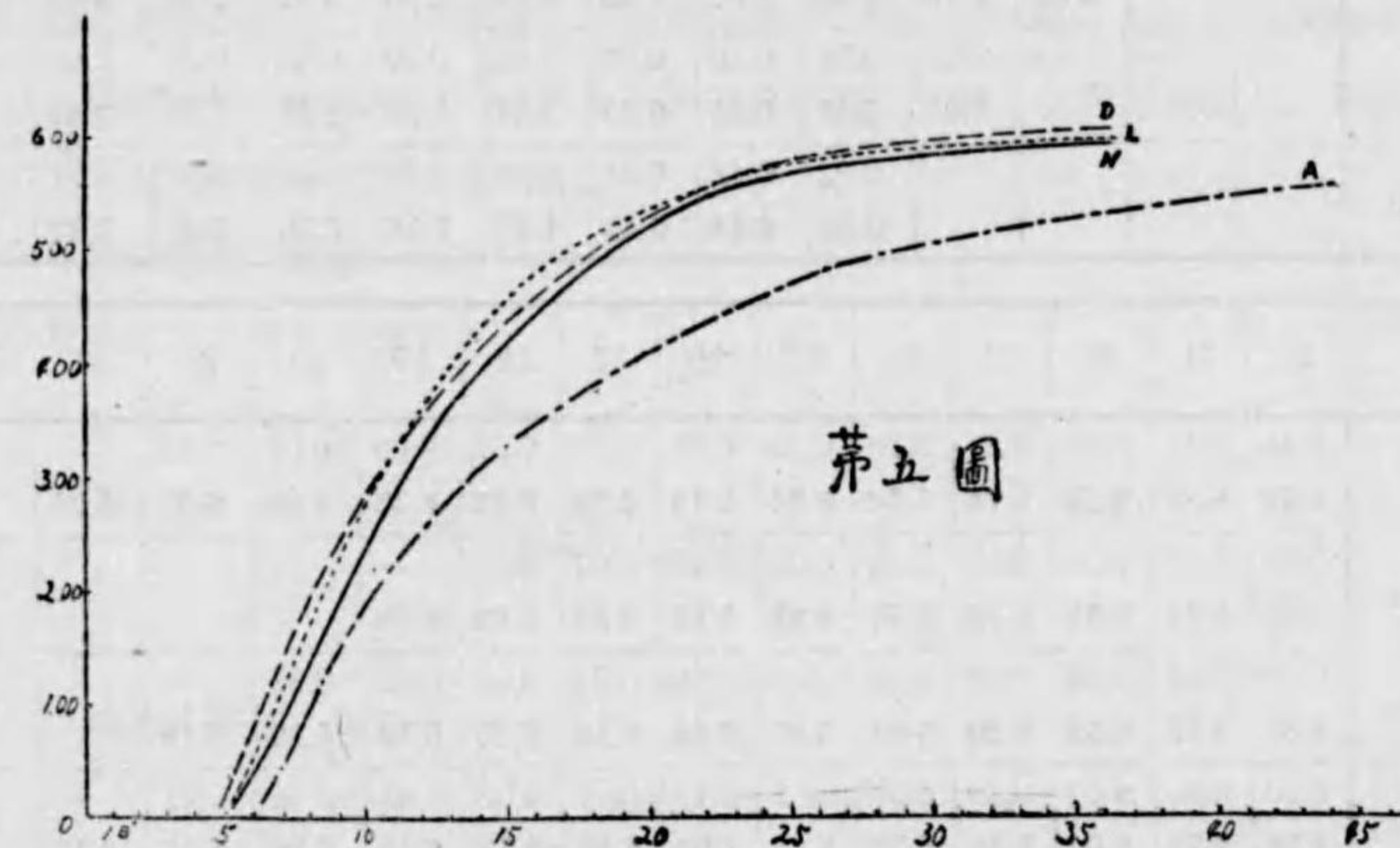
時日	時日											
酵母	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
N	0.42	0.37	0.33	0.29	0.15	0.32	0.23	0.20	0.17	0.14	0.12	0.11
	<b>3.05</b>	<b>3.42</b>	<b>3.75</b>	<b>4.04</b>	<b>4.19</b>	<b>4.51</b>	<b>4.74</b>	<b>4.94</b>	<b>5.11</b>	<b>5.25</b>	<b>5.37</b>	<b>5.48</b>
D	0.38	0.34	0.30	0.28	0.24	0.21	0.21	0.21	0.16	0.15	0.12	0.12
	<b>3.22</b>	<b>3.56</b>	<b>3.86</b>	<b>4.14</b>	<b>4.38</b>	<b>4.59</b>	<b>4.80</b>	<b>5.01</b>	<b>5.17</b>	<b>5.32</b>	<b>5.44</b>	<b>5.56</b>
L	0.43	0.39	0.34	0.30	0.24	0.25	0.16	0.18	0.14	0.12	0.10	0.08
	<b>3.26</b>	<b>3.65</b>	<b>3.99</b>	<b>4.29</b>	<b>4.53</b>	<b>4.78</b>	<b>4.94</b>	<b>5.12</b>	<b>5.26</b>	<b>5.38</b>	<b>5.48</b>	<b>5.56</b>
A	0.34	0.21	0.35	0.23	0.19	0.10	0.25	0.17	0.15	0.13	0.13	0.13
	<b>2.34</b>	<b>2.55</b>	<b>2.90</b>	<b>3.13</b>	<b>3.32</b>	<b>3.42</b>	<b>3.67</b>	<b>3.84</b>	<b>3.99</b>	<b>4.12</b>	<b>4.25</b>	<b>4.38</b>

時日	時日												
酵母	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	
N	0.08	0.06	0.06	0.05	0.04	0.04	0.04	0.03	0.02	0.02	0.02	0.01	
	<b>5.56</b>	<b>5.62</b>	<b>5.68</b>	<b>5.73</b>	<b>5.77</b>	<b>5.81</b>	<b>5.85</b>	<b>5.88</b>	<b>5.90</b>	<b>5.92</b>	<b>5.94</b>	<b>5.95</b>	
D	0.08	0.08	0.06	0.06	0.05	0.04	0.03	0.03	0.02	0.02	0.02	0.01	
	<b>5.64</b>	<b>5.72</b>	<b>5.78</b>	<b>5.84</b>	<b>5.89</b>	<b>5.93</b>	<b>5.96</b>	<b>5.99</b>	<b>6.01</b>	<b>6.03</b>	<b>6.05</b>	<b>6.06</b>	

L	0.07	0.06	0.05	0.04	0.04	0.03	0.03	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01
	<b>5.63</b>	<b>5.69</b>	<b>5.74</b>	<b>5.78</b>	<b>5.82</b>	<b>5.85</b>	<b>5.88</b>	<b>5.90</b>	<b>5.92</b>	<b>5.94</b>	<b>5.96</b>	<b>5.97</b>
A	0.10	0.10	0.15	0.13	0.03	0.02	0.02	0.02	0.07	0.06	0.05	0.05
	<b>4.48</b>	<b>4.58</b>	<b>4.73</b>	<b>4.86</b>	<b>4.89</b>	<b>4.91</b>	<b>4.93</b>	<b>5.05</b>	<b>5.12</b>	<b>5.18</b>	<b>5.23</b>	<b>5.28</b>

時日	時日											
酵母	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	合計
N	0.01	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5.96
	<b>5.96</b>	<b>5.96</b>										
D	0.01	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	6.07
	<b>6.07</b>	<b>6.07</b>										
L	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5.97
	<b>5.97</b>											
A	0.05	0.04	0.04	0.04	0.03	0.03	0.03	0.02	0.02	0.01	—	5.59
	<b>5.33</b>	<b>5.37</b>	<b>5.41</b>	<b>5.45</b>	<b>5.48</b>	<b>5.51</b>	<b>5.54</b>	<b>5.56</b>	<b>5.58</b>	<b>5.59</b>	<b>5.59</b>	

上記の結果を見るに実験 II (ロ) と同様 D と N とは前急後緩にして、L が殆んど之と同様の結果を示し居ることなり。而して A は前緩後急なるも最終の酒精生成総量は遂に D, N, L に及ばず。即ち長期酒精反覆馴養によりて醱酵力劣下せる結果を得たり。第五圖参照



第五圖

(ロ) 醱酵試液ボーメ 20° 麴エキスに乳酸 2% 添加したるもの 50c.c. 室温 23.0°C

本実験 (イ) と全く同様にして醱酵開始の早きものは D (四日) にして之に次ぎて N, L (五日半), A は最とおくれ (六日) たり。

D, N, L, の三者は殆んど同様の経過を示し, A は醱酵力劣りたり。炭酸瓦斯發生總量 N は 37 日間 4.40gr; D は 37 日間 4.76 gr; L は 36 日間 4.38 gr; A は 42 日間 3.82gr. なり。表及び圖面省略。

第二章 戻し酵母醱酵試験

以上の馴養酵母 N, D, L, A をポーメ 8° の麴エキス(即ちN)に戻し移植すること数回の後各酵母が如何なる醱酵経過を示すかを検したり。而して D を二回戻したるものを DN<sub>2</sub> と稱することとせり。同様の意味に於て L を戻したるものを夫々 LN<sub>2</sub> と稱し, A を戻したるものを AN<sub>2</sub> と稱せり。醱酵試液はポーメ 20° の麴エキス並に之に乳酸を 1% 添加したるもの兩様を使用せり。

實驗 III

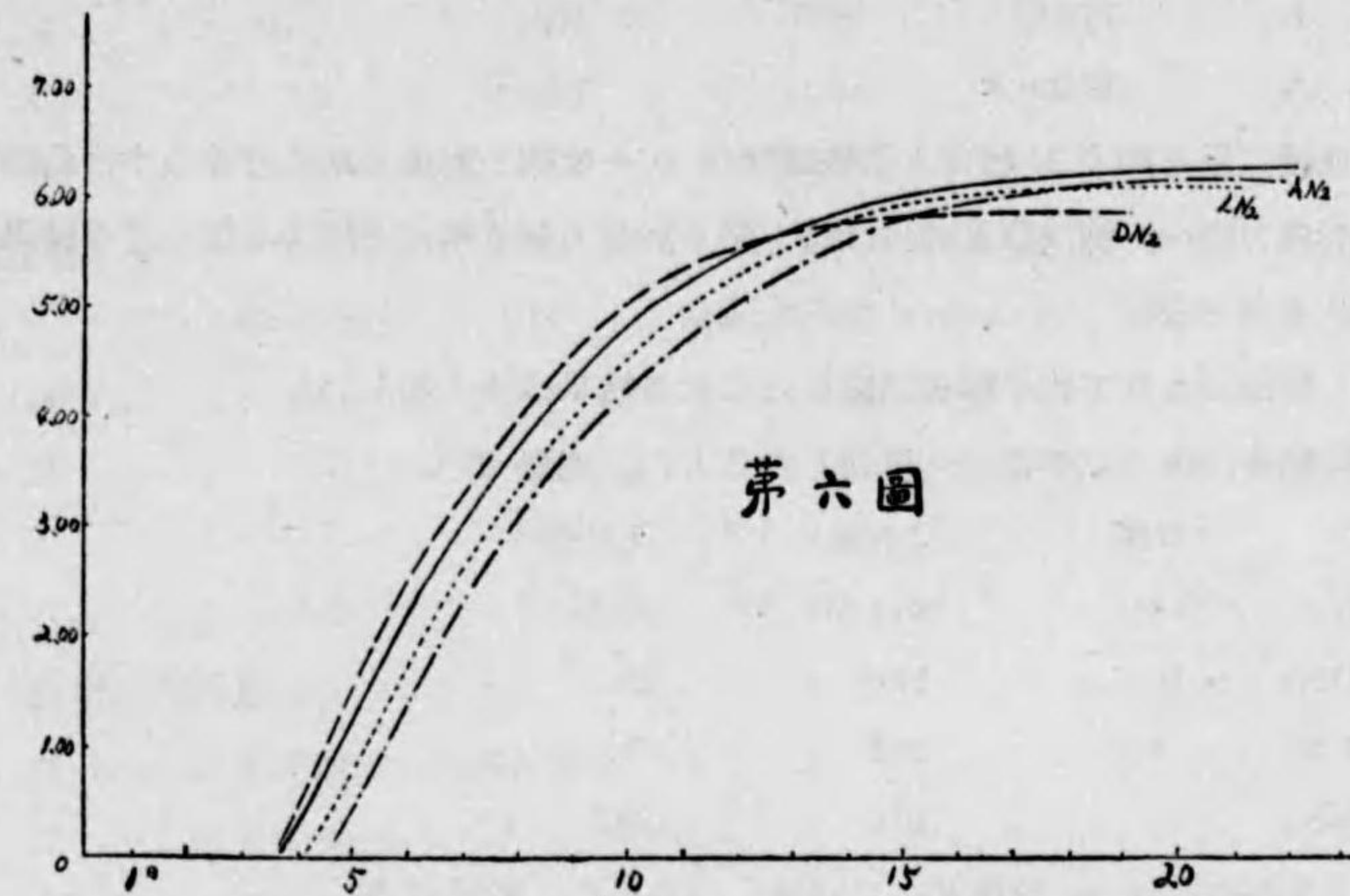
實驗 III に於ける馴養酵母を戻し培養二回行ひたる後, その醱酵試験を行ひたり。

醱酵試液ポーメ 20° 麴エキス 50c.c. 室温 18°C

時日	2	2.5	3	3.5	4	4.5	5	5.5	6	6.5	7	8	9
酵母													
N	—	—	0.01	0.03	0.24	0.50	0.56	0.56	0.43	0.42	0.41	0.70	0.61
			<b>0.01</b>	<b>0.04</b>	<b>0.28</b>	<b>0.78</b>	<b>1.34</b>	<b>1.90</b>	<b>2.33</b>	<b>2.75</b>	<b>3.16</b>	<b>3.86</b>	<b>4.47</b>
DN <sub>2</sub>	—	—	0.02	0.10	0.37	0.59	0.58	0.53	0.41	0.42	0.38	0.69	0.57
			<b>0.02</b>	<b>0.12</b>	<b>0.49</b>	<b>1.08</b>	<b>1.66</b>	<b>2.19</b>	<b>2.60</b>	<b>3.02</b>	<b>3.40</b>	<b>4.09</b>	<b>4.66</b>
LN <sub>2</sub>	—	—	—	0.01	0.04	0.26	0.56	0.60	0.49	0.43	0.34	0.69	0.63
				<b>0.01</b>	<b>0.05</b>	<b>0.31</b>	<b>0.87</b>	<b>1.47</b>	<b>1.96</b>	<b>2.39</b>	<b>2.73</b>	<b>3.42</b>	<b>4.05</b>
AN <sub>2</sub>	—	—	—	—	0.02	0.12	0.35	0.58	0.51	0.48	0.41	0.71	0.63
					<b>0.02</b>	<b>0.14</b>	<b>0.49</b>	<b>1.07</b>	<b>1.58</b>	<b>2.06</b>	<b>2.47</b>	<b>3.18</b>	<b>3.81</b>

時日	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	合計
酵母														
N	0.45	0.35	0.26	0.21	0.20	0.10	0.09	0.07	0.07	0.06	0.01	0.01	—	6.35
	<b>4.92</b>	<b>5.27</b>	<b>5.53</b>	<b>5.74</b>	<b>5.94</b>	<b>6.04</b>	<b>6.13</b>	<b>6.20</b>	<b>6.27</b>	<b>6.33</b>	<b>6.34</b>	<b>6.35</b>	<b>6.35</b>	
DN <sub>2</sub>	0.39	0.33	0.15	0.17	0.10	0.05	0.03	0.01	0.01	—	—	—	—	5.90
	<b>5.05</b>	<b>5.38</b>	<b>5.53</b>	<b>5.70</b>	<b>5.80</b>	<b>5.85</b>	<b>5.88</b>	<b>5.89</b>	<b>5.90</b>	<b>5.90</b>				
LN <sub>2</sub>	0.55	0.41	0.32	0.26	0.22	0.16	0.09	0.04	0.03	0.01	0.01	—	—	6.15
	<b>4.60</b>	<b>5.01</b>	<b>5.33</b>	<b>5.59</b>	<b>5.81</b>	<b>5.97</b>	<b>6.06</b>	<b>6.10</b>	<b>6.13</b>	<b>6.14</b>	<b>6.15</b>	<b>6.15</b>		
AN <sub>2</sub>	0.50	0.40	0.33	0.29	0.37	0.12	0.17	0.09	0.05	0.02	0.01	0.01	—	6.17
	<b>4.31</b>	<b>4.71</b>	<b>5.04</b>	<b>5.33</b>	<b>5.70</b>	<b>5.82</b>	<b>5.99</b>	<b>6.08</b>	<b>6.13</b>	<b>6.15</b>	<b>6.16</b>	<b>6.17</b>	<b>6.17</b>	

上記の成績によれば N と DN<sub>2</sub> とは早く醱酵を開始し LN<sub>2</sub> と AN<sub>2</sub> は稍醱酵開始がおくれる傾向を示せるも, 醱酵足跡は培養酵母の場合に比し幾分平行的に現れ居れり。この点より考ふるに戻し培養によりて幾分舊の性質に歸りたる點あるが如きも, 更に戻回数を重ねるに非ずんば結論を述べ難しと信するが故に引續き實驗の上報告せんとす。第六圖参照



第六圖

第三章 孢子形成力

基準培養と濃糖馴養と, 乳酸馴養と, 酒精馴養の四種に就き孢子形成力を試験せり。その方法は各馴養酵母の沈澱を一回水洗し, 圓心分離機にかけて沈澱を蒐集し, 常法によりて石膏上にて孢子形成をなさしめたり。

A. 半年馴養酵母。室温 20°C

石膏上にて 6 日の後検鏡

N	65 %	} 三回試験の平均。
D	57 %	
L	23.2%	
A	1 %以下	

B. 一年馴養の酵母。室温 22°C

	20 日の後	40 日の後
N	20.23 %	40.12 %
D	22.71 %	37.16 %
L	19.57 %	30.51 %
A	3.91 %	18.44 %

同反覆試験 10 日の後

N	24.8 %
D	22.5 %

L 16.5%  
A 形成せず

上記の成績に見る如く N 酵母と濃糖馴養酵母 D とは孢子形成力殆んど變らず、濃酸馴養酵母 L は形成力衰へ、酒精馴養酵母は最も孢子形成力弱り殆んど孢子を造らざる結果を得る例さへ生ず。

次に戻し酵母によりて孢子形成試験をなしたる結果は次の如し。

A. 半年馴養の後 N 培養基に一回戻したるもの。室温 27°C

	1日後	2日後	7日後
N	12%	26.4%	28%
DN <sub>2</sub>	11	19.0	28.5
LN <sub>2</sub>	4	11.5	31.0
AN <sub>2</sub>	2	10.0	29.5

B. 一年馴養の後 N 培養基に二回戻したるもの。室温 22°C

	6日の後
N	13.8%
D	15.1
L	14.5
A	15.9

上記の結果によれば戻し回数僅かに 2~1 回にて孢子形成力挽回し、L 及び A 酵母と孢子形成力は稍遅ると雖も 6~7 日の後には N と變らざる孢子形成を示したり

#### 第四章 酵母細胞の成分

日醸協第 5 號酵母を次の液中に於て 3~4 日毎に反覆培養すること 21 回に及びたる後酵母を濾別して細胞の分析を行ひたり。其の最後に培養したる液は 5~11 立の大量に於て行ひたり。

(イ) 培養液

N	ボーリング 14° の麹エキス	
D	〃	+ 葡萄糖 20%
L	〃	+ 乳酸 1%
A	〃	+ 酒精 10%

(ロ) 最後に培養したる液の成分

(移植前)

	ボーム度	PH	酸度(10c.c.を中和するに要したる N/10 苛性曹達 c.c.)
N	7.8	5.4	0.75

D	15.0	5.0	0.80
L	7.9	2.6	11.60
A	5.2	5.2	0.80

(培養終了後)

	ボーム度	PH	酸度(同上)	アルコール	培養日数
N	2.5	4.0	2.6	6.5	21
D	5.2	3.6	4.3	11.0	26
L	3.2	2.2	13.5	5.5	24
A	3.8	4.6	2.4	12.0	30

(ハ) 酵母の收得量

N	1.17 gr	(培養液量 5 立)
D	0.93 gr	( 〃 9 立)
L	1.17 gr	( 〃 8 立)
A	0.3 gr	( 〃 11 立)

(ニ) 酵母細胞の分析成績

	水分	乾燥物中の量		
		グリコーゲン及ゴム	蛋白質	脂肪
N	75.29	30.16	39.04	2.62
D	66.86	18.84	49.10	5.32
L	68.27	27.53	27.47	4.50
A	67.24	34.29	30.94	—

(備考) 蛋白質、脂肪は常法によりて行へり。グリコーゲン並ゴム質は橋谷氏改良法(同氏著酵母學)によりて行ひたり上記の結果によれば、アルコールを添加したる培養液中にては酵母の收得特に少きは注目に値する而して細胞の分析成績より觀るに蛋白質量は D に於て多く、之に次ぎ A と L に於て特に少きは目立ち居れり。又グリコーゲン及ゴム質の分量はアルコール馴養の A に於て多く、濃糖馴養の D に於て少きを示したり。  
戻し酵母の成分に就ては將來研究の豫定なり。

#### 第五章 論 究

清酒醸造特に醗に於ては其の醗酵經過即ち前緩後急とか前急後緩とかの問題は、製成清酒の品位を左右すること大にして、別報の如く醗の生酸量、グリセリン量、色澤等に影響する點多きが故に、余等は常に醗酵の母體をなすべき酒母の育成法に關し苦心しつゝあり。而して酒母に於ては濃糖、濃酸、濃酒精に酵母が培養さるゝを以て、この三條件を

如何に採擇すべきかは酒母育成の根幹を爲すものと謂ふべし。酵母が環境によりて變質することは従來多くの人によりて研究されたりと雖も、之を清酒醸造上に取り入れて解釋することは相當殘されたる點なり。既に實驗の部に於て知りたる如く、酵母は酸馴養又は酒精馴養によりて前緩後急醱酵を遂ぐべき性質を帯びるに至り、濃糖馴養によりては稀糖培養と異らざる醱酵經過を示すか故に之を酒母に利用する場合には次の如く解釋するを至當とすべし。

1. 前暖氣時代には酸を多く集積したるものは濃酸に長く馴養さるゝ結果、酵母は醱の醱酵をして前緩後急に傾かしむ。
2. 假令前暖氣中に於て酸の集積少き早湧酒母と雖も休温度高くし、老分することによりて熟成までの生酸を多からしむるか、酸を特に添加することによりて多酸ならしめ枯期間を長くする時は醱の醱酵を前緩後急ならしめ健全なる醱酵を遂行し得。
3. 所謂吟醸香を出し、酸量少く、キメ細き優良酒を得んとせば、酒母育成に當り、酸量を或る程度に調節し、若分をなして酒精の集積を少からしむることとし、枯し期間も短縮することによりて、酸並に酒精の馴養を控目となす要あり。
4. 所謂ノビの利く酒を希望する時は、清酒中の酸量も酒精も多きを必要とするが故に酒母の育成に當り多酸、多酒精なる如く工夫し、枯し期間も相當に延ばしたる老ね配となす要あり。

## 第六章 要 旨

清酒酵母を種々の環境に於て反覆馴養し、其の性質の變化を檢討せり。本報告には其の内醱酵形式と孢子形成のみに就きて記述せるのみ、他の生理化學的試験に就きては第二報以後に發表すべし。本試験の得たる結論は

- 1) 濃糖培養を繰返し行ひたる酵母は稀糖培養酵母とあまり變らざる性質を有し、之を新しき醱酵試液に投ずる時前急後緩式の醱酵經過を示す。
- 2) 培養液に乳酸1%を加へて反覆馴養する時は酵母の性質は原基培養に比して前緩後急の醱酵形式を取るに至る。
- 3) 培養液に酒精15%を加へて反覆馴養する時は最も前緩後急の醱酵形式を示すに至り酒精の生成量は半ケ年培養の程度にては幾分多量を示すも、一ケ年培養にありては殆んど等しきか幾分少目なり。
- 4) 以上の各酵母を元の原基培養に接種したるに、戻し二回の程度にては多少元酵母に似たる性質に還るが如きも、幾分DNは前急後緩式、ANは前緩後急の性質を具有せり。
- 5) 醱酵試液に乳酸1%を添加したる上にて試験せるに、原基酵母、濃糖馴養酵母、乳酸馴養酵母は殆んど同様の醱酵經過を示し、酒精馴養酵母のみは前緩後急の經過を示したり。

- 6) 孢子形成力は原基培養酵母、濃糖馴養酵母は殆んど變らず、酸馴養酵母は孢子形成力鈍り、酒精馴養酵母は著しく孢子形成力劣下す。
- 7) 各馴養酵母を原基培養に戻す時は孢子形成力殆んど回復す。
- 8) 馴養酵母の細胞を分析するに蛋白質量は濃糖培養酵母並に普通酵母に於て多く、アルコール馴養並に酸馴養酵母に於て少し。又グリコーゲン及ゴム質含量はアルコール馴養酵母に於て多く、濃糖馴養酵母に於て少し。

## 文 獻

- 1) 橋谷氏: 酵母學
- 2) 小穴: 醸. 試. 報. 119. 283~305. 昭. 9  
#: 醸. 試. 報. 122. 117~131. 昭. 10
- 3) 小穴 其他: 醸. 試. 報. 124. 205~214. 昭. 11

## 麴子より分離せる三種の *Rhizopus* と其の性質に就て

3 Kinds of *Rhizopus* (from chinese yeast "Chizu") and their properties

小 穴 富 司 雄

績 光 清

河北省唐山産の高梁酒用麴子一種と同地産黄酒用麴子一種と、山西省太原産の甘酒用麴子一種とを試料として之より絲狀菌 17 種を分離、夫等の糖化力を檢したる結果糖化力強き *Rhizopus* 三株につき生理的試験を行ふと共に之が酒精製造に應用せんことを試みたり。然れども三株共糖化力強く Amylo 法によりて酒精製造の價値を認めたりと雖も、從來酒精製造に應用されつゝありし *Rhizopus Delemar* 若くは *R. Javanicus* に比して稍糖化力劣るの結果を得たるが故に試験的價値を認めたるに留まる。

原料麴子の内唐山産の二種は煉瓦形をなし原料は大麥、小豆及び小麥を使用したもの太原産のものは小球狀にして原料は玄米の粗粉なり。

麴子を粉碎し試験管中の殺菌水中に投じよく振盪し、別に調製せる麴エキス寒天を用ゐて平面培養を行ひ、30°C の恒溫器中に靜置し、繁殖し來りたる菌株を試験管中にて麴エキス寒天を用ゐて斜面培養し、尙各斜面培養より平面培養に移すこと三回の後、純粹培養と認むる絲狀菌 17 種を得たり。夫等の大部分は *Rhizopus* 屬なるが、之を 10gr の蒸米の上に移植し 30°C に保ちて充分繁殖せる後 20c.c. の水を加へ 20°C にて 3 日間保ちて糖分の量を檢し、就中糖化力最大なる J, K, L の三株を得、是等につき齋藤、山崎、武田氏等の研究 (1) (2) (3) (4) (5) (6) を参考として次の如き檢索を行ひたり。三株の中 K, L, は唐山産麴子、J は太原産麴子より分離せるものなり。

### 第一 形態的觀察

麴エキス寒天培養基に移植し 30°C に於て 7 日の後檢鏡したる結果次の如し。

#### (1) J 株

孢子囊柄:— 細長 稍曲る、淡褐色、菌線の先端假根部膨大部等に發生し、幅 9~15 $\mu$ 、

膨大部は稀に見え、形狀は瓶子形なり。

孢子囊:— 多くは球形にして粒狀の棘を有す、黒褐色にして直徑 70~140 $\mu$

中軸:— 球形又は稍扁球形、面は平滑なり。大き (50~60)×(60~70) $\mu$

孢子:— 多くは兩尖端を有する楕圓形、淡黄色、表面に縦條を認む、大き (3.6~4.6)



×(4.8~8.6) $\mu$

假根:— 黄色, 滑面, 透明

菌絲:— 細長, 無色又は淺黄色透明, 平滑

(2) K 株

孢子囊柄:— 細長, 稍曲る, 黄褐色, 表面平滑, 菌絲及び假根部より生ずるもの多し,

幅 12~18 $\mu$

孢子囊:— 球形多く, 小粒狀の棘あり, 黒褐又は黒色, 直径 90~170 $\mu$

中軸:— 横軸長き扁球形, 黄褐色, 表面平滑, 大き約 (40~45)×(55~75) $\mu$

孢子:— 多くは楕圓形, 角あり, 黄色内容透明表面に條あり, 大き (3.6~4.8)×(4.8~8.6) $\mu$

假根:— 淡黄色, 透明, 滑面

菌絲:— 細長, 無色透明, 平滑

(3) L 株

孢子囊柄:— 細長, 稍曲る, 黄褐色, 表面平滑, 菌絲及び假根部より生ずるもの多し。

幅 12~18 $\mu$

孢子囊:— 球形多し, 小粒狀の棘あり, 黒褐色, 直径 90~140 $\mu$

中軸:— 稍扁球形, 黄褐色, 表面平滑, 大き (35~40)×(45~65) $\mu$

孢子:— 楕圓形, 角あり, 黄色, 内容透明, 表面に條あり, 大き (4.3~5.2)×(5.7~8.6) $\mu$

假根:— 黄色, 滑面, 透明

菌絲:— 細長, 無色透明平滑

第 二 各種培養基上に於ける繁殖状態

各種培養基に菌を移植し 30°C に放置して其の繁殖状態を検したり。

(1) J 株

麴エキス寒天 (麴汁ボーリング 14°, 寒天 1.5%):— 菌叢密生, 初め白色後灰色, 孢子と良く附着す。菌叢高さ 2 cm

麴エキス (ボーリング 14°):— 繁殖良好, 菌叢稍密, 高さ 1~1.5 cm 稍多量の孢子と共に灰色となる, 菌絲液中によく發育す。菌苔の下面に瓦斯泡を認む。

馬鈴薯:— 菌叢稍密, 高さ 3~3.5 cm, 孢子多量と共に灰色となる。

蒸米:— 菌叢疎, 高さ 1~1.5 cm, 孢子稍多, 菌絲灰色。

麴エキス晒膠 (麴エキス, ボーリング 14°, 晒膠 15%):— 温度 15~20°C, 菌叢疎, 高さ凡そ 1.5 cm, 孢子稍多, 淡灰色, 膠の液化力あり。

(2) K 株

麴エキス寒天:— 繁殖良好, 孢子多量, 菌叢稍粗, 高さ凡そ 1.5 cm, 菌絲初めは白色。後多量の孢子と共に黒褐色となる。

麴エキス:— 菌叢稍疎, 高さ凡そ 0.8~1.0 cm, 多量の孢子と共に灰白色となる。液中の菌絲發育僅少, 瓦斯泡を認む。

馬鈴薯:— 繁殖良好, 菌叢密, 高さ凡そ 4 cm, 多量孢子と共に灰白色となる。

蒸米:— 繁殖良好, 菌叢の高さ凡そ 1 cm, 稍多量の孢子と共に灰褐色となる。

麴エキス晒膠:— 菌叢密, 高さ凡そ 1 cm, 多量の孢子と共に灰色を呈す。膠液化力を有す。

(3) L 株

麴エキス寒天:— 菌叢密, 高さ凡そ 2.5 cm, 菌絲初めは白色, 古きは多量の孢子と共に黒褐色を呈す。

麴エキス:— 繁殖良好, 菌叢密, 高さ約 2 cm, 多量の孢子と共に灰褐色となる。菌絲液中の發育少し, 瓦斯泡を認む。

馬鈴薯:— 繁殖良好, 菌叢稍密, 高さ約 5 cm, 多量の孢子と共に黒灰色となる。

蒸米:— 繁殖良好, 黒色の孢子を多量に着す, 菌叢高さ 1.5~2.0 cm, 灰褐色を呈す。

麴エキス晒膠:— 菌叢密, 高さ凡そ 1.5 cm, 灰色, 膠液化力あり。

第 三 繁殖地に孢子形成最適温度

径 9cm のペトリ皿に麴エキス寒天を流し込み凝固を待ちて各菌を移植し, 下記夫々の恒温器中に於て繁殖する状態を検し, 菌叢の直径, 菌叢の粗密, 孢子囊の多少等によりて繁殖の最適温を決定したり。

(備考) 孢子囊:— 「-」形成せず, 「±」少しく形成, 「+」多量に形成, 「++」極めて多量形成の意。

菌絲:— 「-」見えず, 「±」粗, 「+」稍密, 「++」頗密, の意。

温度:— 太字は最適, 細字は略之に匹敵せるを示す。

菌符號	観察要點	移植後の時間								繁殖最適温度	孢子囊形成最適温度
		24				48					
		温度°C									
		25	30	35	40	25	30	35	40		
J	菌叢直径 (cm)	3.2	3.5	4.5	3.0	∞	∞	∞	∞	35~32	35~32
	孢子囊	-	-	-	-	±	+	+	±		
	菌絲	-	±	±	-	±	+	+	±		
K	菌叢直径 (cm)	3.8	7.5	7.5	4.5	∞	∞	∞	∞	35~33	35~33
	孢子囊	-	-	-	-	+	+	+	±		
	菌絲	-	+	±	±	+	+	+	±		

	菌叢直徑 (cm)	3.0 5.7 8.5 4.0	∞ ∞ ∞ ∞	37~35~33	37~35~33
L	胞子囊	- - - -	+ + + + ±		
	菌絲	- + + ±	± + + ±		

第四 死滅温度

麹エキス 5 c.c. を入れたる試験管を夫々の恒温器中に保ち 10~15 分間の後各菌を移植し、30 分間其の温度を保持したる上、之を取出して 30°C の恒温器に入れ 7 日の後發育の有無を観たり。

(備考) 「+」繁殖す、「-」繁殖せず。

菌 符 號	温 度			死 滅 温 度
	50°C	55°C	60°C	
J	+	-	-	55°C
K	+	+	-	60°C
L	+	+	-	60°C

第五 繁殖最適の水素イオン濃度

麹エキスに乳酸及び苛性曹達を用る、PH を變ぜしめたるものを試験管に 5 c.c. 宛入れ、殺菌の上各菌を移植し 25~30°C にて放置し 3 日目及び 7 日目に繁殖状態を検して最適 PH を決定せり。

(備考) 「繁」繁殖の意、「胞」胞子囊形成の意、繁殖の欄にて「-」は繁殖せず、「丁」は液中のみ繁殖、「上」は甚不良、「±」は不良、「+」は稍良好、「++」は頗る良好の意を示す。又胞子囊形成欄にては「-」は形成せず、「±」は僅微、「+」は多量、「++」は頗る多量を示す。

菌種	日數	PH											最 適 PH							
		2.2	3.0	3.4	4.0	4.6	5.2	5.8	6.4	7.0	7.4									
J	3日	-	-	丁	-	上	-	++	±	++	+	++	+	++	±	+	±	±	-	4.0~5.2
	7日	丁	-	上	-	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	±	
K	3日	-	-	±	±	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	±	3.4~6.4
	7日	丁	-	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	±	
L	3日	-	-	±	±	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	±	3.4~6.4
	7日	丁	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	±	

第六 各種炭水化物に対する繁殖状態

Pfeffer 氏液の蔗糖の代りに各種炭水化物を加へ各菌を移植し 20~25°C に於て 15 日間培養し其の繁殖状態を検したり。

(備考) 「-」は繁殖せず、「丁」は液中の繁殖のみ、「±」は不良、「+」は良好、「++」は極めて良好。

	J	K	L
アラビノース	±	±	±
デキストリン	++	+	++
ガラクトース	++	++	++
グルコース	++	++	++
イヌリン	+	+	++
乳糖	丁	丁	丁
麦芽糖	++	+	++
マンノース	+	++	++
ラフィノース	±	+	+
蔗糖	+	++	++

第七 各種窒素化合物と繁殖

Pfeffer 氏液に於て次の如く窒素化合物を夫々 1.5% 添加し 20~25°C にて 10 日間放置したる後其の繁殖状態を検したり。

(備考) 表中の符は第六と同様。

	J	K	L
硝酸アムモニウム	+	+	++
硫酸アムモニウム	+	++	++
グリコロール	++	++	++
アスパラギン	++	++	++
燐酸アムモニウム	+	+	丁
鹽化アムモニウム	++	++	++
ペプトン	++	++	++

第八 糖類醗酵の能否

Pfeffer 氏液の蔗糖の代りに各種の糖類を 5% 添加し、内徑 0.5 cm. の硝子管を V 字形に曲け一方を塞ぎ他端に綿栓を施したるもの中に充填し、綿栓を施したる側に各菌を移植し 30°C の恒温器中に静置し菌絲の繁殖適當となりたる時 (3 日後) 白金線を以て塞

きたる側に移動せしめ、再び 30°C の恒温器に入れ 10 日の後瓦斯の發生せるや否やを檢したり。

(備考) 「-」瓦斯を發生せず、「+」瓦斯發生あり。

	J	K	L		J	K	L
アラビノース	-	-	-	ガラクトース	+	+	+
デキストリン	+	+	+	葡萄糖	+	+	+
イヌリン	-	+	-	ラフィノース	-	-	-
乳糖	-	-	-	蔗糖	+	+	-
麦芽糖	+	+	+	トレハロース	+	-	-
マンノース	+	+	+	キシロース	-	-	-

第九 麹エキスより酒精及び酸の生成

ボーリング 14° 麹エキス 300 c.c. を 500 c.c. 容の三角コルペンに入れ各菌を移植しパラフィン紙にて綿栓部を包み 30°C の恒温器中に持すること 7 日間の後、生成せるアルコール、酸量及び残糖分を定量せり。

(備考) 酸度はフェノールフタレンを指示薬とし檢體 10c.c. を中和するに要する N/10 NaOH の c.c. 數にて示す。

アルコール液は豫め 0.1~0.3% の標準酒精液を造り置き其の 5c.c. に 2% 重クロム酸加里液 1c.c. と濃硫酸 5c.c. とを加へ加熱して生ずる色と、檢體を中和蒸溜して得たる溜液につき同様の處理法を施して得たる色とを比較して檢體 100c.c. 中のアルコール % を算出したり。

糖分はフェーリング液及びシヤン化加里を用ゐるブリューゲル法によりて定量し、100c.c. 中の葡萄糖 (gr) として出したり。

酸歩合は生成アルコール c.c. をゲールサツクの式による理論數 (c.c.) にて除したるものなり。

	糖 分			酸			ア ル コ ー ル	
	最初の糖量 %	移植後 7 日目の糖量 %	消費糖分 百分率	最初の酸度	移植後 7 日目の酸度	増酸度	生成量 %	酸 歩 合
J	17.50	7.10	59.48	0.9	6.5	5.6	0.60	5.34
K	17.50	6.42	63.31	0.9	9.0	8.1	1.00	8.89
L	17.50	5.45	68.85	0.9	7.5	6.6	0.83	7.38

第十 糖化力比較試験 (第一回)

既知 Rhizopus 數種と上記 J, K, L 種とを以て糖化力の比較試験をなしたり。使用菌種次の如し。

- Rhizopus japonicus (東大)
- 〃 (阪大)
- 〃 (本所)
- Rhizopus tonkinensis (東大)
- 〃 (阪大)
- Rhizopus Delemur (東大)
- Rhizopus javanicus (東大)
- Rhizopus J
- Rhizopus K
- Rhizopus L

試験方法は寶燒酎株式会社王子工場より蒸煮芋醪を譲受け、その 100 c.c. を 300 c.c. 容の三角コルペンに入れ、30 分間殺菌し、麹エキス寒天に斜面培養せる各菌を白金耳によりて移植し 30°C の恒温器に放置し菌絲發生 (24 時間) 後 1 日に 2 回振盪し、最初より 4 日目、7 日目、10 日目に取出し、10 倍に稀釋せる試料につき酸、糖分、酒精、全糖分、糖化歩合等を檢したり。

(備考) 分析法は次の如し。

酸はフェノールフタレンを指示薬としアルカリを以て滴定し檢體 100c.c. 中の乳酸 (gr) を示す。糖分はシヤン化加里を用ゐるブリューゲル法に依り 100c.c. 中の葡萄糖 (gr) として表す。酒精は中和蒸溜液につき重クロム酸加里と濃硫酸とを以てする比色法 (前述) により檢體 100c.c. 中の gr を示す。全糖分は生成せるアルコール 1gr を葡萄糖 1.9554gr に相當するものと見做し之に現存する糖分を加算し、檢體 100c.c. 中の gr に換算す。糖化歩合は芋醪中に存する澱粉並に糖分を全部糖分に換算して其の數を以て全糖分を除した數を云ふ。

芋醪の分析成績は次の如し。

(芋醪 100gr の分析成績)

總固形物	12.870gr	} 之を醪 100c.c. に換算すれば	13.526gr
總酸(乳酸として)	0.185		0.194
糖分(葡萄糖として)	0.102		0.107
澱粉	8.703		9.147
比重	1.051		-

而して芋醪 100c.c. 中の澱粉を糖分に換算し之に糖分を加ふる時は

$$(9.147 \div 0.9) + 0.107 = 10.27$$

菌種	4日目の糖分 gr.	7日目 (100 c.c. 中の gr)					10日目 (100 c.c. 中の gr)				
		酸	糖分	酒精	全糖分	糖化歩合 %	酸	糖分	酒精	全糖分	糖化歩合 %
R. Jap. (東大)	4.78	1.04	3.55	0.79	4.10	39.92	1.39	2.74	1.20	5.09	49.56
〃 (阪大)	2.89	0.24	3.16	2.16	7.38	71.86	0.27	2.59	3.00	8.46	82.61
R. Ton. (東大)	2.00	0.32	2.82	2.30	7.32	71.27	0.32	1.89	2.80	7.36	71.66
〃 (阪大)	2.20	0.23	1.38	2.05	5.39	52.48	0.27	1.20	—	—	—
R. Del. (東大)	2.70	0.45	3.16	2.05	7.17	69.81	0.36	2.19	3.00	8.06	78.48
R. Jav. (東大)	4.28	0.41	3.62	1.53	6.61	64.36	0.45	3.08	2.85	8.65	84.23
J.	3.10	0.32	2.42	1.59	5.53	53.85	0.63	2.05	2.30	6.55	63.78
K.	2.60	0.41	2.29	1.69	5.59	54.43	0.42	1.30	2.65	6.48	63.09
L.	2.80	0.41	2.05	1.04	4.08	39.73	0.63	2.09	2.15	6.29	61.25

第十一 同上 (第二回)

前回芋醗の代りに乾甘藷粉末 (澱粉含量 63.54%) 10 gr. と水 100 c.c. とを 300 c.c. 容の三角壺に入れて常壓の下にコッホ罐中に於て一時間蒸し、各菌を移植す。試験方法は前回と同様なるも表中の数字は試料 10gr に相当する各成分 gr 数を示す。

種	四日目					七日目					九日目				
	酸	糖分	酒精	全糖分	糖化歩合	酸	糖分	酒精	全糖分	糖化歩合	酸	糖分	酒精	全糖分	糖化歩合
R. jap. (東大)	0.41	1.05	0.80	2.61	36.96	0.68	1.05	0.90	2.81	39.80	0.86	1.15	1.08	3.26	46.17
〃 (阪大)	0.34	1.25	1.25	3.69	52.26	0.35	0.81	2.20	5.11	72.37	0.34	0.60	2.33	5.16	73.08
R. jav. (東大)	0.27	2.19	0.42	3.01	42.63	0.38	2.34	1.00	4.30	60.90	0.61	2.60	1.40	5.34	75.63
R. Del. (阪大)	0.35	1.00	0.80	2.56	36.26	0.49	0.76	1.14	2.99	42.35	0.61	0.71	1.74	4.11	58.21
〃 (東大)	0.24	1.15	1.07	3.24	45.89	0.35	0.90	1.70	4.22	59.77	0.49	0.76	2.07	4.81	68.13
R. ton. (東大)	0.23	1.60	1.15	3.85	54.53	0.35	1.40	1.53	4.39	62.18	0.36	0.71	2.00	4.62	65.43
〃 (阪大)	0.30	1.55	0.78	3.08	43.62	0.58	1.50	1.40	4.24	60.05	—	—	—	—	—
〃 (山崎)	0.45	1.10	0.62	2.31	32.71	0.63	0.71	1.00	2.68	37.81	0.70	0.95	1.44	3.77	53.39
J.	0.23	1.85	0.50	2.83	40.08	0.36	1.45	1.14	3.68	52.12	0.83	1.26	1.60	4.39	62.18
K.	0.35	1.50	0.55	2.57	36.40	0.49	1.60	0.90	3.36	47.59	0.81	0.90	1.50	4.83	54.24
L.	0.34	1.89	0.38	2.63	37.25	0.56	1.35	0.80	2.91	41.21	0.58	0.90	1.45	3.73	52.83

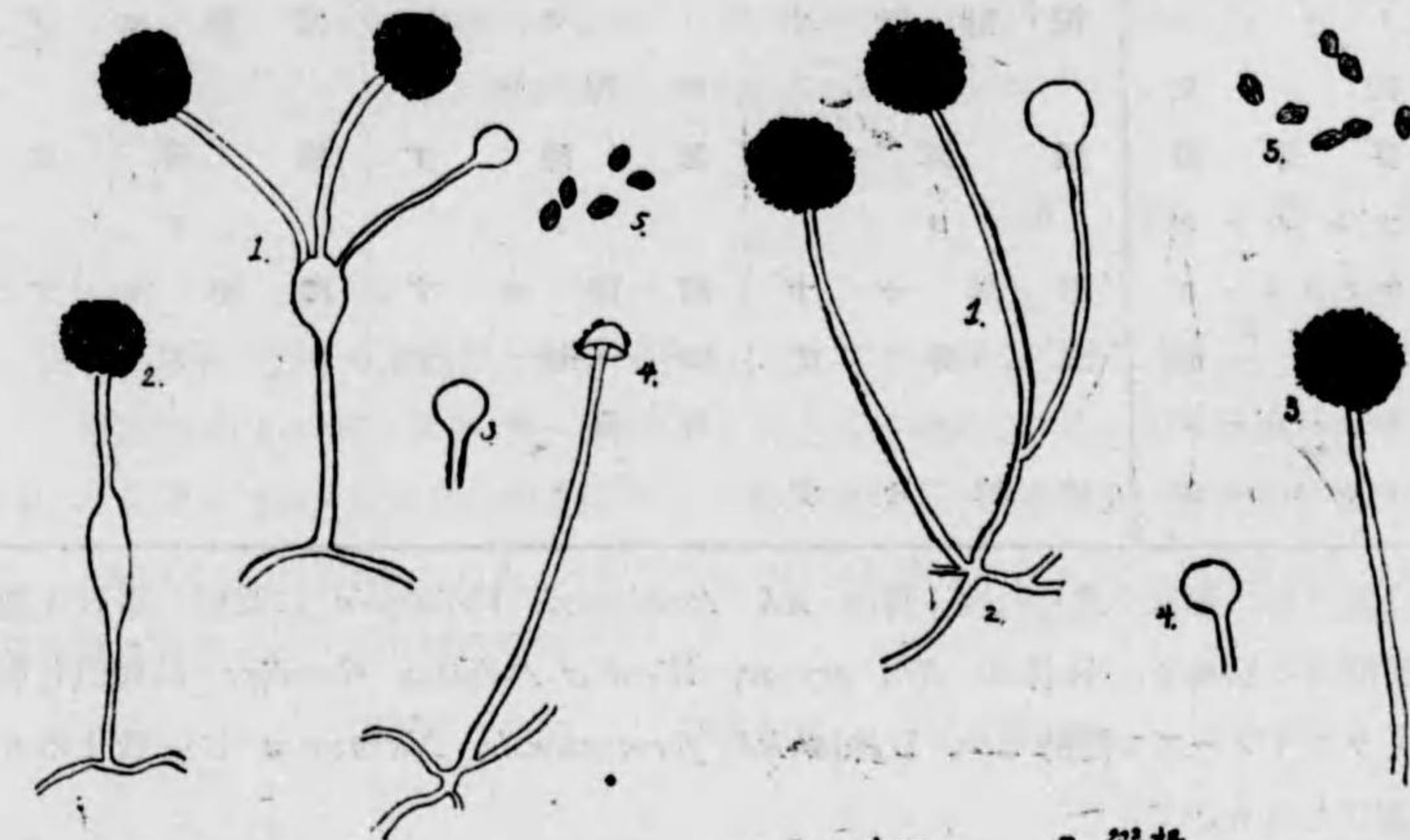
第十二 類 縁

上記 J, K, L の三種 Rhizopus を半澤氏、齋藤氏、Lindner 氏、山本氏、武田氏等の研究並に分類表に照し既知 Rhizopus 屬と比較して類縁を求めれば次の如し。

1 株——形態的並に生理的に *Rhizopus tonkinensis*, *Vuillemin* に類似し居れど、Saccharose を醗酵する點は異れり。

K 株——形態的並に生理的に *Rhizopus oryzae*, *Went et Prinsen Geerlig*s に近似し居れど Raffinose を醗酵せず。

L 株——形態的並に生理的に *Rhizopus formosacensis*, *Nakazawa*. に一致す。



1. 胞子囊柄及柄大部  
2. 胞子囊 3. 中軸  
4. 幼態の中心軸 5. 胞子

2. 假根  
4. 中軸

1. *Rhizopus tonkinensis*.

2. *Rhizopus Oryzae*.

要 旨

支那麹子三種より糸状菌 17 種を分離し就中糖化力強き三種の Rhizopus J. K. L. につき形態的並に生理的實驗をなし、兼ねて酒精製造に利用價值ありや否やを檢したり。

(1) 其の結果、詳細は各實驗の部に掲げ置きたれど、次に主なる部分に就ての結果を示せば

	J	K	L
胞子囊柄	稍 曲	稍 曲	稍 曲
胞子囊	70~140μ	90~170μ	90~140μ
中 軸	(50~60) × (60~70)μ	(40~45) × (55~75)μ	(35~40) × (45~65)μ
胞 子	角あり (3.6~4.6) × (4.8~8.6)μ	角あり (3.6~4.8) × (4.8~8.6)μ	角あり (4.3~5.2) × (5.7~8.6)μ
繁殖適温	30~35°C	33~35°C	35~37°C
アラビノーズ	醗 酵 せ ず	醗 酵 せ ず	醗 酵 せ ず

デキストリン	酸	酵	す	酸	酵	す	酸	酵	す
ガラクトース		〃			〃			〃	
グルコース		〃			〃			〃	
イヌリン	酸	酵	せず		〃		酸	酵	せず
乳糖		〃		酸	酵	せず		〃	
麦芽糖	酸	酵	す	酸	酵	す	酸	酵	す
マンノース		〃			〃			〃	
ラフィノース	酸	酵	せず	酸	酵	せず	酸	酵	せず
蔗糖	酸	酵	す	酸	酵	す		〃	
トレハロース		〃		酸	酵	せず		〃	
キシロース	酸	酵	せず		〃			〃	

(2) 上記三株の類縁を求むれば J 株は *Rh. tonkinensis Vuillemin* に類似し居れど蔗糖を醗酵する點異り、K 株は *Rh. oryzae, Went et Primsen Geerligs* に類似し居れどもラフィノースを醗酵せず、L 株は *Rh. formosensis, Nakazawa* に一致するものと断定したり。

(3) 上記三株は何れも糖化力強く (J, K, L の順法)、又酒精醗酵力あるを以てアミロ法に應用し酒精醗酵に資し得れど試験の結果は次記の如く更に一層強力な糖化力を有する Rhizopus あることを知りたるを以て實用に供することは有望ならざるものと謂ふべし。

糖化力順位 — *R. Javanicus* (東大), *R. Japonicus* (阪大), *R. Delemar* (東大), *R. tonkinensis* (東大), J 株, K 株, *R. tonkinensis, Yamazaki*, L 株, *R. Japonicus* (東大)

文 獻

- (1) 武田義人:— 日本農藝化學誌 第 11 卷 第 10 册 P. 845
- (2) 山崎百治:— 支那研究 第二號 P. 1. 同 第三號 P. 1.
- (3) 山本義彦:— 醸造學雜誌 第 4 卷 第 10 號 P. 815
- (4) 齋藤賢道:— 醗酵菌類檢索便覽
- (5) 臺灣醸造研究會:— 醸造便覽
- (6) 山崎百治:— 醸造學雜誌 昭和 7 年 第 10 卷 第 3 號 P. 216

酒造米高壓蒸煮の利害

Das Interesse der Dämpfung von Reis unter Hochdruck für Sake-brauerei.

滝 沢 澄 江

白米の溶解に對する蒸煮壓の影響を検せんとして本試験を行ひたり。

7 分搗白米 100 gr 宛をコルベンに採り、一夜浸漬後傾斜して水を切り綿栓して高壓 (5, 15, 30 封度) に 30 分間宛及び常壓 100°C に 1 時間蒸煮後夫々香氣及び着色度を檢したるに、5, 15 封度のものは無臭なるも、30 封度のものは臭氣強く着色も激しく淡黄褐色を呈せり。着色度を符號を以て示せば次の如し。

	100°C 1 時間	5 封度 30 分	15 封度 30 分	30 封度 30 分
色相度	-	-	+	+++++

此蒸米中高壓 (30 封度) 及び常壓蒸煮の二種に、夫々蒸縮水 200 c.c. 及び麴菌アミラーゼの 5gr. 宛を加へ、攪拌混合後トルオールを添加して 26—28°C の定温器中に保ちて日々振盪し、7 日及び 14 日後に於て其分解生成物を分析せるに其結果次表の如し。

	糖 分	糊 精	残留固形物	アミノ酸	比 重	PH
7 日後	(高壓) 29.65 %	-	-	-	-	-
	(常壓) 26.95 〃	-	-	-	-	-
14 日後	(高壓) 31.20 〃	0.0 %	7.6191g	0.830 %	11.21	6.3
	(常壓) 26.40 〃	0.0 〃	9.5354 〃	0.694 〃	11.12	6.4

即ち 30 封度の高壓に蒸煮するも其の蒸米の酵素に依る溶解度は常壓に依るものに比し僅かに 2 % 位の増加に過ぎず、而して高壓蒸煮に於ては前記の如く着色、臭氣を有する等の缺點あるを以て、高壓蒸煮は清酒醸造上有利ならざるを認む。

本研究に御指導を賜はりし黒野博士に感謝の意を表す。

## 醤油及び味噌の着色に就て (第一報)

### 醤油細菌と色素生成

On the colouring of *shōyu* and *miso*. (Part I)

深 井 冬 史

稻 森 庄 次 郎

#### 緒 言

醤油及び味噌には種々の種類があるが普通醤油或は仙臺味噌の如きは色相が赤褐色濃厚なるを賞美するに反し淡口醤油、白味噌等に於ては寧ろ其色澤の淡白なるを特色としてゐる。即ち是等の醸造物に於ては濃淡何れの場合に於ても常に色素と品質とは離るべからざる関係がある。

醤油竝に味噌の赤褐色色素が醸造物の微生物の作用に由来する事は疑ふ餘地のない所であるが其色素生成に関する微生物學的説明乃至は其生理學的機構に對しては何等整つた説明が未だ與へられて居ないのは遺憾である。從來是等色素に関する研究を擧げて見れば先づ黒野勘六氏は醤油から一種の赤褐色色素を化學的純粹に分離されメラニン酸の種類に屬すべきを決定した。尙ほ黒野氏及著者等<sup>(2)</sup>は其成因に就て酵母や乳酸菌が關與し色素の母體として糖類及びアミノ酸類が必要であり特に五炭糖が醤油色素と重要な關係を有する事を指摘した。其後石丸義夫氏は醤油諸味から分離した *Bac. mesentericus niger* <sup>(3)</sup>が各種の炭水化物から醤油色素の主成分に類似した色素を生産することを報じ其形態學上の説明を加へて居る。

醤油及び味噌の諸味中の微生物に關しては數多の貴重な業績があるが一般に其着色菌にまで研究が進んで居ないのが現状である。著者は偶々松本憲次氏及び趙習恒兩氏<sup>(4)</sup>が醤油から分離した *Bac. melanicus soya* が肉汁培養基中で極めて鮮明な醤油色素類似の赤褐色色素を生成する事實を目撃して興味を覺えたので特に兩氏より該菌の分譲を受け色素生成といふ事に見地を置き其生成の委曲に關し説明を與へやうとして本研究を企劃した。次に從來から分離されて居る細菌類に就て著者等の考案に成る分離培養基を採用して着色菌を検索し又味噌諸味よりも數株の着色菌を分離することに成功したので其一部を茲で報告する。

#### 實 験

##### 1. 各種炭水化物が *Bac. melanicus soya* 菌の色素成に及ぼす影響

肉汁培養基へ各種炭水化物を加へたるものに本菌を繁殖せしめ色素生成優劣を検した。本試験は液體培養固體培養の兩者に就て行つた。培養基の配合は炭水化物各々 0.5%, 尚肉汁はペプトン, 食鹽を加へたる常法に依り作つたものである, 固體培養に於ては上記のものに寒天 2% を添加し斜面培養となす, 試験管に注入後綿栓し殺菌は培養基の着色を防ぐ爲總て30分 1 回とし培養温度は攝氏30度内外とし定温器に静置した。菌體接種後24~48 時間にて繁殖し徐々に色素生成を開始す, 使用せる炭水化物は次の如きものである。

- |               |                               |                                     |
|---------------|-------------------------------|-------------------------------------|
| 1. lactose    | 9. maltose                    | 17. raffinose                       |
| 2. mannit     | 10. mannose                   | 18. fructose                        |
| 3. dextrin    | 11. gum arabic                | 19. agar                            |
| 4. galactose  | 12. methyl pentose            | 20. control (bouillon)              |
| 5. glycogen   | 13. methyl glucoside $\alpha$ | 21. control (bouillon agar)         |
| 6. saccharose | 14. amyllum soluble           | 但 19. agar は特に 0.25% 加へ半流動狀となす      |
| 7. arabinose  | 15. glucose                   | 21. control (bouillon agar) は斜面培養なり |
| 8. xylose     | 16. inulin                    |                                     |

I. 液體培養に於ける色素の生成

3 月 25 日菌體接種

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
3 月 26 日	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
31 日	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
4 月 4 日	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
6 日	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
8 日	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-
9 日	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-
10 日	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-

液體培養に於ては色素生成が認められず, 獨り21.斜面培養のみ著しく暗褐色となり, 11. gum arabic 及び 19. agar を除いては總て色素生成に何等關係なし, 11.19の兩者に於ける色素生成は他の液體培養に於ては菌體繁殖と共に液面に皮膜を形成するも非常に皮膜不安定にして僅少の振動其他の條件に依り破れ易く底部に沈下し酸化作用を受けざるも前記の兩者は共に半流動狀態にて皮膜形成後菌體自身液中に沈下せざる爲空氣との接觸に依り酸化作用充分行はれ色素生成せらると思惟す, 故に液體培養に於ては菌體の沈下を防ぐ方法を構じなければならぬ。

II. 寒天斜面培養に於ける色素の生成

3 月 28 日菌體接種

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
3 月 30 日	±	±	+	±	+	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
31 日	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
4 月 1 日	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
2 日	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
4 日	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
6 日	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
8 日	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
10 日	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±

本試験に於ては各種炭水化物は其の結果に於て殆ど差異をみとめず, 經過中 6. saccharose 13. methyl glucosid  $\alpha$  稍々優れたるも結局に於ては差違なし, 結論として炭水化物は色素生成には何等關係なきものと云つてよい。

上の經過表に於て5,7,12,の色素生成の優れざるは斜面部分の形狀に依るものにして酸化面積狭少なる爲ならん, 液體培養に於て gum arabic が色素生成著しきも本試験に於ては他のものと同様なり, この事實は皮膜沈下を防ぐ事により色素生成が促進せらるる説を裏書するものと認めてよい。

III. 要約

1. 各種炭水化物の本菌の色素生成に及ぼす影響は何等認められぬ。此點は石丸氏<sup>(3)</sup>の分離菌とは趣を異にするものである。
2. 本菌の色素生成には空氣が絶對的に必要にして aerobic oxidation ならん。
3. 上に述べたところに依り空氣接觸面積(酸化表面積)の大小と生成色素の色度の強さとは關係深く殆ど正比例する。
4. 液體培養に於ては色素生成が起らないか或は起つても非常に遅々として居るのは菌體が液中に沈下して aerobic oxidation の行はれざる爲と考へられる, 故に半流動狀となす事により色素の生成を速ならしめ得る。

2. 各種窒素物が Bac. melanicus soya 菌の色素生成に及ぼす影響

さきに各種炭水化物の色素生成との關係を試験し大體其の結果を得たる故, 引續き略同様の方法を以て各種窒素物の影響を検した。

1. 本試験はさきの實驗に依り液體培養より固體培養(寒天斜面培養)の方が色素生成速にして結果顯著なる事を認めたる故, 固體培養(寒天斜面)のみに就て行つた。ペプトンを添加せざる肉汁(食鹽 0.5% を加ふ)に各々窒素物 0.5% を添加し, 寒天は 2% を加へ斜面培養とす。殺菌30分 1 回, 培養温度攝氏30度内外とす。使用したる窒素化合物は次の如きものである。

- |                  |                      |  |
|------------------|----------------------|--|
| 1. glycocoll     | 6. phenyl alanine    | 11. tyrosine                             |
| 2. leusine       | 7. glutaminic acid   | 12. lecithin                             |
| 3. leucyl glycin | 8. ammonium sulphate | 13. cystin                               |
| 4. urea          | 9. ammonim phosphate | 14. pepton wuater                        |
| 5. asparagin     | 10. peptone          | 15. control (peptoneを含まざる bouillon agar) |

3月31日菌體接種

	1	②	3	4	5	⑥	7	8	9	⑩	⑪	12	13	⑭	15
4月1日	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2日	-	±	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
4日	±	+	±	±	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6日	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7日	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8日	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9日	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11日	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13日	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
14日	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

附記：○印は control より色度強く現はれたるものを示す。

即ち或種の窒素物は本菌の色素生成に深き関係を有し、⑩ tyrosine, ⑥ phenyl alanine, ② leucine は peptone と共に顯著なる結果を示した。此所に於て之等の條件を尙明瞭に決定せん爲に次の試験を行つた。

II. 再び肉汁(前回と同様)に以下記載のフェノール類を0.01%, 0.05%の二様に加へ寒天斜面培養となし色素生成の状態を検した。培養温度其他の條件は前試験と同様とせり。

- |                          |                           |                             |
|--------------------------|---------------------------|-----------------------------|
| 1. control               | 12. benzoic acid 0.01%    | 23. koji acid 0.05%         |
| 2. tyrosine 0.01%        | 13. " 0.05 "              | 24. peptone 0.01 "          |
| 3. " 0.05 "              | 14. phloroglucine 0.01 "  | 25. " 0.05 "                |
| 4. carbohic acid 0.01 "  | 15. " 0.05 "              | 26. phenolphthalein 0.01 "  |
| 5. " 0.05 "              | 16. hydroquinone 0.01 "   | 27. " 0.05 "                |
| 6. salicylic acid 0.01 " | 17. " 0.05 "              | 28. p-oxybenzoicacid 0.01 " |
| 7. " 0.05 "              | 18. phenyl alanine 0.01 " | 29. " 0.05 "                |
| 8. resorcine 0.01 "      | 19. " 0.05 "              | 30. guajaco 0.01 "          |
| 9. " 0.05 "              | 20. thymol 0.01 "         | 31. " 0.05 "                |
| 10. α-naphtol 0.01 "     | 21. " 0.05 "              | 32. pyrogallolicacid 0.01 " |
| 11. " 0.05 "             | 22. koji acid 0.01 "      | 33. " 0.05 "                |

- |  |                           |                    |
|--|---------------------------|--------------------|
| 34. adrenalinchloride 0.01% (0.1% alkali solution) | 36. malachite green 0.01% | 38. p-cresol 0.01% |
| 35. " 0.05%  | 37. " 0.05 "              | 39. " 0.05 "       |

4月10日菌體接種

	1	2	③	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	⑭	15	⑯	⑰	⑱	20
4月11日	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13日	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
14日	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
16日	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
17日	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
18日	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20日	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	
4月11日	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13日	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
14日	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
16日	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
17日	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
18日	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20日	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

備考 10. α-naphtol 0.01 % 11. α-naphtol 0.05 % 17. hydroquinone 0.05 % 21. thymol 0.05 % 26. phenolphthalein 0.01 % 27. phenolphthalein 0.05 % 31. guajacol 0.05 % 33. pyrogallolic acid 0.05 % 35. adrenalin 0.05 % 36. malachite green 0.01 % 37. malachite green 0.05 % は本菌の發育を全然阻害し繁殖せず其他 6. salicylic acid 0.05 % 32. pyrogallolic acid 0.01 % のものは繁殖極微量, 16. hydroquinon 0.01 % 20 thymol 0.01 % 39. p-cresol は 1. control より稍發育不良なり。

最も顯著に現はれたるものは ③ tyrosine, ⑭ ⑱ phloroglucine, ⑯ hydroquinone, ⑰ phenylalanine にして共に control より遙に強力にして本菌の暗赤褐色々素生成に明らかに窒素物の影響があるもので特にチロシンに於て最も著しきことを之に依り確認した。

色素生成に至る迄の機構は酵素作用單獨に依るものか或は又酵素作用と化學反應の連鎖作用に依るか二つに考へられるが未だ説明の域に迄達して居らない。tyrosine が特に顯著なる所よりみると該色素は tyrosinase に依るメラニン色素なるか或は又 oxidase, peroxidase, katalase 等に依りフェノール類が酸化されて生成せられた色素であるか種々



考へられる。以上の酵素作用ならば必然的に色素は窒素系物質なるも又別の考へとして窒素物は唯單にこの色素生成作用の促進性物質として關與すると云ふ如き場合も考へられる。これらの問題は後の研究に依らねばならぬ。

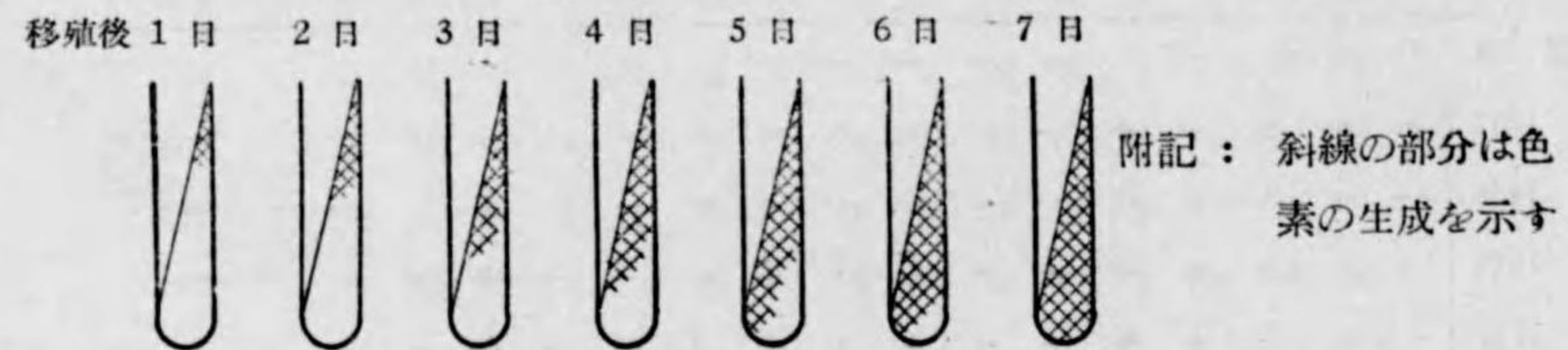
III, 要約

1. tyrosine, phloroglucine, hydroquinone, phenylalanine を添加せるものは色素生成顯著にして特に tyrosine に於て著し。

3. 各種培養状態に於ける *Bac. melanicus soya* 菌の色素生成の過程

本菌の色素生成と培養条件との關係は前に簡單に記載した所であるが改めて詳細實驗した所を記載する。

I 肉汁寒天斜面培養 peptone, 食鹽共に添加せざる肉汁に 0.05% tyrosine を加へ溶解せしめ寒天 2% を加へて斜面となす。殺菌は今迄と同様 30分 1 回とす。溫度は 30° C 内外に保つ。色素生成の過程は圖に示す如し。

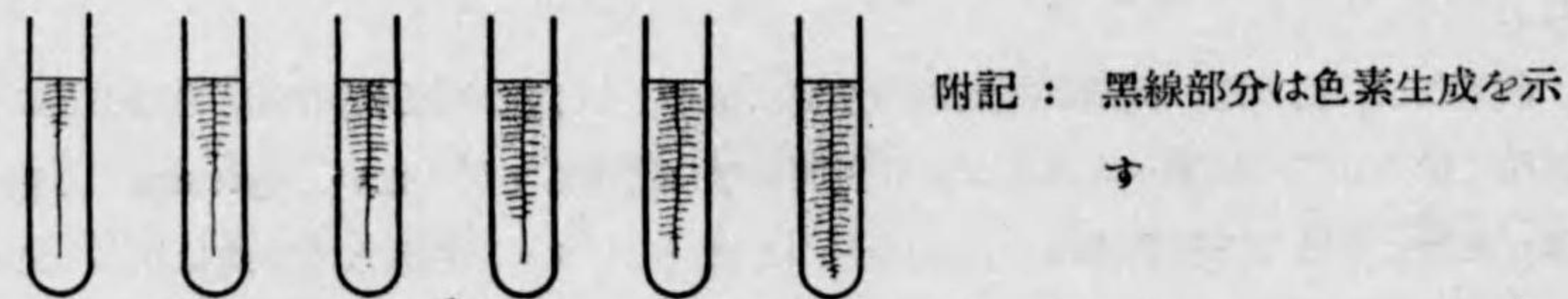


菌體接種後約 1 晝夜にして斜面全面に菌繁殖、繁殖力相當旺盛なり。色素は 1 晝夜にして斜面部分の上端より必ず始められ以後底部に向ふ。7 日前後にして完全に底部に達し培養基全體赤褐色殆ど透明となる。以後色度は依然として變化せず、尙培養基内に針狀又は×狀の結晶を見る。結晶は水、溫水、アルコール、溫アルコールに溶解せず、燒却後灰分多く黒色、無機鹽類ならん。

II 麴汁寒天斜面培養 常法に依り作れる培養基に接種、培養条件前者と同様。繁殖程度肉汁の場合より稍劣る。全然色素生成されず。

III 肉汁寒天穿刺培養 培養基は肉汁斜面培養の場合と同様、表面全體に發育良好、穿刺線に沿ふ毛根狀を爲す。

色素は始め表面に生成せられ後遂次に深部に達す。底部に達するに肉汁斜面培養より稍長時日を要す。



色素の底部に達する迄に要する時日は培養液の容量に依り深度異なる故明確に決定せられざるも 40 mm 進むに約 2~3 週間を要した。

IV 肉汁液體培養 peptone, 食鹽を加へざる肉汁に tyrosine 0.05% を添加し中和し Ph 價を 7.0 附近とし新鮮なる菌體を移植す。

2~3 日にして浮遊性物質を生じ皮膜形成、破れ易く容易に沈下す。1 ヶ月以内にして液體全部暗赤褐色となり底部に結晶を生ず。

振盪に依り皮膜沈下せし場合は色素生成遅延す。液層薄き程色素の生成早い。

V ペプトン水培養 ペプトン 2% 水溶液を中和し使用。繁殖、色素生成共に肉汁液體培養より稍劣る。其他同様なる故省略す。

VI 肉汁半流動狀培養 肉汁固體培養(寒天斜面)と異なる點は寒天を 0.25% に減少せしめ半流動態となし液體培養に依り皮膜沈下を防ぐ、前に報告せし如く之に依り色素生成を速ならしむることを得た。

VII 肉汁嫌氣的培養 嫌氣的方法として pyrogallolic acid 水溶液、苛性加里水溶液を用ひること常法の如し。本菌を接種するも發育せず、従つて色素生成に至らず。

VIII 高温培養 60° c 内外に保ち、肉汁斜面培養としても繁殖せず。

4. *Bac. melanicus soya* 菌の食鹽抵抗試驗

*B. prodigiosum* の色素生成が食鹽に影響ある所からして食鹽抵抗試驗をかねて *Bac. melanicus soya* 菌の色素生成作用が食鹽の有無に如何に影響あるかを調べた。

培養基としてペプトン水 (peptone 2% 水溶液を苛性加里にて中和 Ph 7.0) に食鹽 1% ~ 30% 迄加へ寒天 2% 添加、30分 1 回殺菌釜にて殺菌斜面培養とす。control と共に各% のもの 2 本宛、本菌の新鮮なるものを 1 白金耳宛接種後 30° C 内外に溫度を保ちて菌の經繁殖及び色素生成の状態を檢した。

經過は次の表に示す。

		Control	NaCl	NaCl	NaCl	NaCl	NaCl	NaCl	NaCl
		NaCl 0	1%	5%	10%	15%	20%	25%	30%
		a. b.	a. b.	a. b.	a. b.	a. b.	a. b.	a. b.	a. b.
移植後 1日	繁殖	+	+	-	-	-	-	-	-
	色素生成	+	+	±	±	-	-	-	-
2日	繁殖	+	+	-	-	-	-	-	-
	色素	+	+	±	±	-	-	-	-
3日	繁殖	+	+	-	-	-	-	-	-
	色素	+	+	±	±	-	-	-	-
4日	繁殖	+	+	±	±	-	-	-	-
	色素	+	+	±	±	-	-	-	-

6日	繁殖	++	++	++	++	±	±	-	-	-	-	-	-
	色素	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-
7日	繁殖	++	++	++	++	+	+	-	-	-	-	-	-
	色素	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-
8日	繁殖	++	++	++	++	+	+	-	-	-	-	-	-
	色素	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-
9日	繁殖	++	++	++	++	+	+	-	-	-	-	-	-
	色素	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-
13日	繁殖	++	++	++	++	+	+	-	-	-	-	-	-
	色素	+++	+++	+++	+++	±	±	-	-	-	-	-	-

即ち食鹽濃度 10% 以上は繁殖せず、元來細菌の發育は外圍物に影響せらる事甚大でペプトン水の如く營養物貧弱なるにも依るので本試験の結果は未だ不充分である。尙色素生成は食鹽の有無に何等影響なき事明らかである。

5. *Bac. melanicus soya* 菌の酵素試験

各種酵素中本菌の色素生成に關與しあると思はるゝ tyrosinase, oxidase, peroxidase, katalase に關し種々實驗を進めてみた。

I 乾燥酵素標品の調製 變形三角瓶20個を使用し肉汁(peptone 食鹽を添加せざるもの)を 60c.c. 宛とり綿栓後殺菌 30分 1回液層は特に皮膜の沈下を防ぎ菌體の收量を多からしむる爲薄くした。

本菌移殖後約 30°C に保ち10日間放置、培養基稍着色し始むるを見て遠心分離器にて操作し菌體を別離し濾紙上にて水分を吸収せしめ除湿器中にて rotary pump を使用し吸引乾燥せしむ。培養基 1.2 L. より乾燥菌體收量 2.15gr を得、金剛砂 2.40 gr (約倍量)を加へ乳鉢中にて完全に細粉し貯藏す。

II tyrosinase 此酵素は tyrosin 及其他水酸化ベンゾール誘導體を酸化して赤色を與へるもので其の際生じた赤色物質は更に酸化によつてメラニン色素となる。

[tyrosinase 試験]

1. 乾燥酵素標品(金剛砂混入のもの) 0.6gr. をとり 30c.c. の蒸溜水及びグリセリンの兩者にて別々に1晝夜室温にて浸出濾過し1% 酵素液として實驗に供せり。グリセリン浸出のものは濾過困難なる爲 pump にて吸引濾過す。酵素液極微黄色、清澄。

{	水浸出酵素液	Ph 7.0
	グリセリン液	Ph 6.8

酵素液 5c.c.宛を採り0.2% tyrosine 水溶液 2c.c. を加へ 37°C に保温して tyrosinase

反應を検した。

		添加せる觸媒	反應
A.	水浸出酵素液	なし	—
B.	〃	0.05% 過酸化水素 0.25c.c.	—
C.	グリセリン液	なし	—
D.	〃	0.05% 過酸化水素 0.25c.c.	—

共にチロシナーゼ反應皆無なるを以て實驗方法を變へ再度試みた。

[tyrosinase 再試験]

1. 0.5% p-cresol 水溶液5 c.c.宛試験管に採り、Ph價を調節、本菌の肉汁寒天に斜面培養せる新鮮なるもの2本分を無菌的に試験管内に移し換へ溶液の色相の變化を調べた。尙觸媒として過酸化水素 0.05% 水溶液を溶液5c.c.に對し0.25c.c.加へたるものを併せ試験した。

日 數	1日	2日	3日	4日	10日	15日
反應液						
Ph 6.2	—	—	—	—	—	—
〃 (觸媒添加)	—	—	—	—	—	—
Ph 7.4	—	—	—	—	—	—
〃 (觸媒添加)	—	—	—	—	—	—

III oxidase, peroxidase oxidase は直接に酸化作用を營み peroxidase は過酸化水素の存在に於て始めて該作用を完了する。普通のoxydaseに於ては過酸化物を形成し得べき有機物質を含有し之を缺く場合は oxidase 反應系を完全ならしむべき過酸化水素を必要とする譯なり。アクセプトールとしてグアヤコン酸を使用するときは oxidase に依り酸化されてグアヤコン青の深青色を呈す。尙この外 benzidin, α-naphtol, p-phenylendiamin 等がアクセプトールとして使用される。

[oxidase, peroxidase 試験]

1. グアヤコール反應 グアヤコール 1% 酒精溶液及び過酸化水素 3% 溶液を以て酵素標品。本菌々體酵素液並に control として麥芽の少許を各時計皿に取り下の如く呈色反應を試験した。

	グアヤコール滴數	過酸化水素滴數	2分後反應	5分後反應
A. 酵素標品	2	0	—	—
B. 〃	2	1	—	—
C. 本菌々體	2	0	—	—
D. 〃	2	1	—	—
E. 酵素液	2	0	—	—

F. "	2	1	-	-
G. 麥芽	2	0	+	+
H. "	2	1	+	+

供試物中 control, 麥芽を除く外 oxidase, peroxidase 反應陰性である。

2. ピロガロール反應 酵素液 5c.c. に 10c.c. の 10% pyrogallol 溶液及 1% 過酸化水素溶液 10c.c. を加へ 15~17°C にて 24 時間静置す。(oxidase, peroxidase の存在にありては Pyrogallol が酸化されてブルプロガリンの沈澱を生ず)

グリセリン浸出酵素液 反應 -

3. Nadi 反應 Nadi 試薬<sup>(8)</sup> (1% α-naphtol, 50% alcohol 溶液, 1% p-phenyldiamin HCl 水溶液を別々に貯へ使用前等量加ふ)

酵素溶液 5c.c. に Nadi 試薬 5~6 滴を加へ呈色反應を試験した。

(oxidase, peroxidase 存在せば始めピンク色後徐々に黒みを帯び遂に暗赤紫色に至る)

Nadi 反應 -?

IV katalase この酵素は過酸化水素を分解して發生機<sup>(9)</sup>の酸素及水を生成する。

[katalase 試験]

1. 酵素溶液少量を試験管に入れ 3% 過酸化水素数滴を注加するに直に氣泡を上昇す。故に Katalase の存在を認めた。

酵素試験結果を綜括すれば次の如くである。

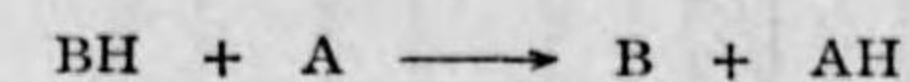
酵素種類	被檢物質	酵素の有無
tyrosinase	tyrosine	-
"	p-crsol	-
"	tyrosine + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	-
"	p-cresol + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	-
oxidase	guajacol	-
"	pyrogallol	-
peroxidase	guajacol + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	-
"	pyrogallol + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	-
oxydase, peroxydase	nadi reagent	-?
katalase	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	+

### 6. Dehydrogenase 試験

生理的條件の下で或る有機物に對しその水素の脱離を促進するか或は少くともその水素の易動化を促進する様な働のある有機觸媒即ち酵素を dehydrogenase と呼んで居る。<sup>(10)</sup>

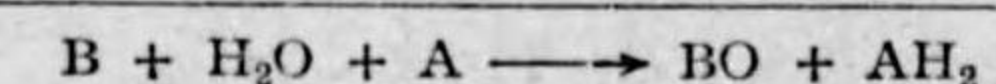
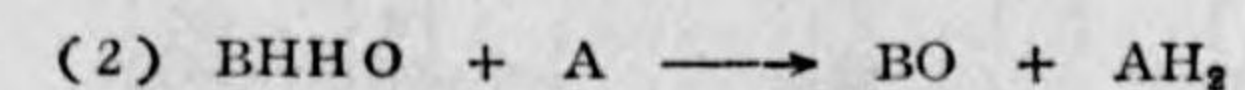
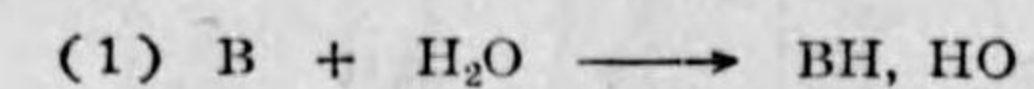
dehydrogenase の作用は酵母, 細菌, 微に廣く行はれるものであり, 種々なる物質が脱水素を受けられ共物質の族性により一定の dehydrogenase が認められる。<sup>(11)</sup>

Wieland 氏の所説を引用すれば<sup>(12)</sup>



donator acceptor 酸化 還元

若し物質分子内に直接脱離さるべき水素原子がないときは先づその分子に水分子が附加して後同反應を呈するものと考へられる。



若し酸素が acceptor (A) である場合には還元されて茲に H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> が生ずるのであるがそれは有毒なるを以て直に katalase に依つて分解されて酸素を放出し呼吸に使用される。

従來生体内に於ける酸化作用は先づ酸素の活性化によつて起るものと考へられたけれ共, これ等は妥當でないことが略明となつた。<sup>(13)</sup>

*Bac. melanicus soya* 菌の色素生成が tyrosinase, oxidase, peroxidase の酸化酵素の作用でないとしたならば必然的に dehydrogenase の酵素作用が考究されねばならぬ。

### 7. Dehydrogenase *Bac. melanicus soya* 菌生体内試験

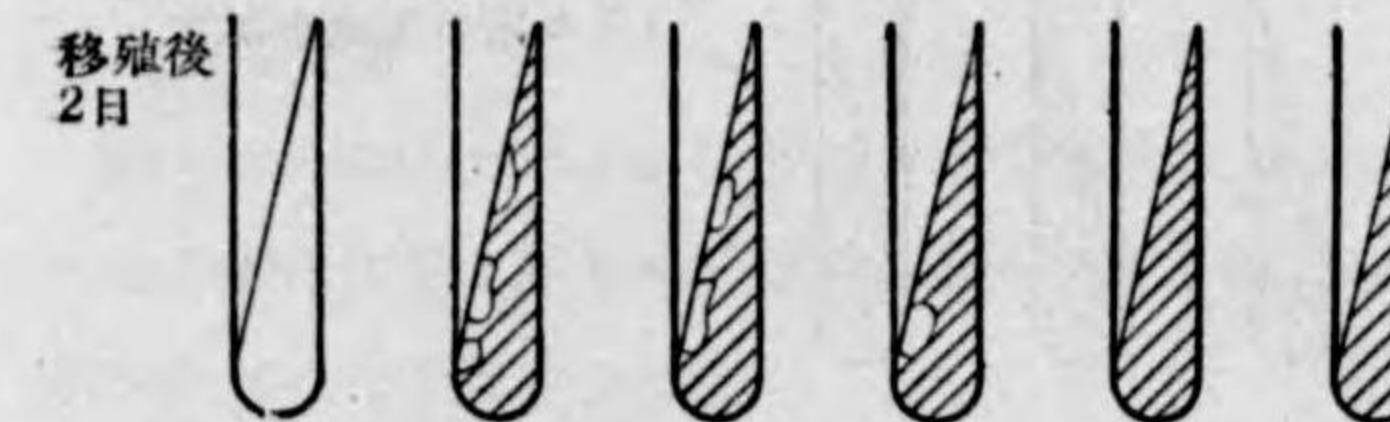
tyrosinase, oxidase, peroxidase の酵素試験の結果該諸酵素の存在せざるを認め従つて dehydrogenase の試験を進めた。

I methylen blue に依る dehydrogenase の試験

メチレン青を 0.01%, 0.05%, 0.0025%, 0.0012%, 0.0006%, 0.0003% になる如く肉汁培養基 (peptone を含まず) に溶解せしめ寒天 2% を加へ試験管に各 5c.c. 宛採り斜面培養と爲す。

5 月 19 日移殖, 培養温度 30°C 前後。

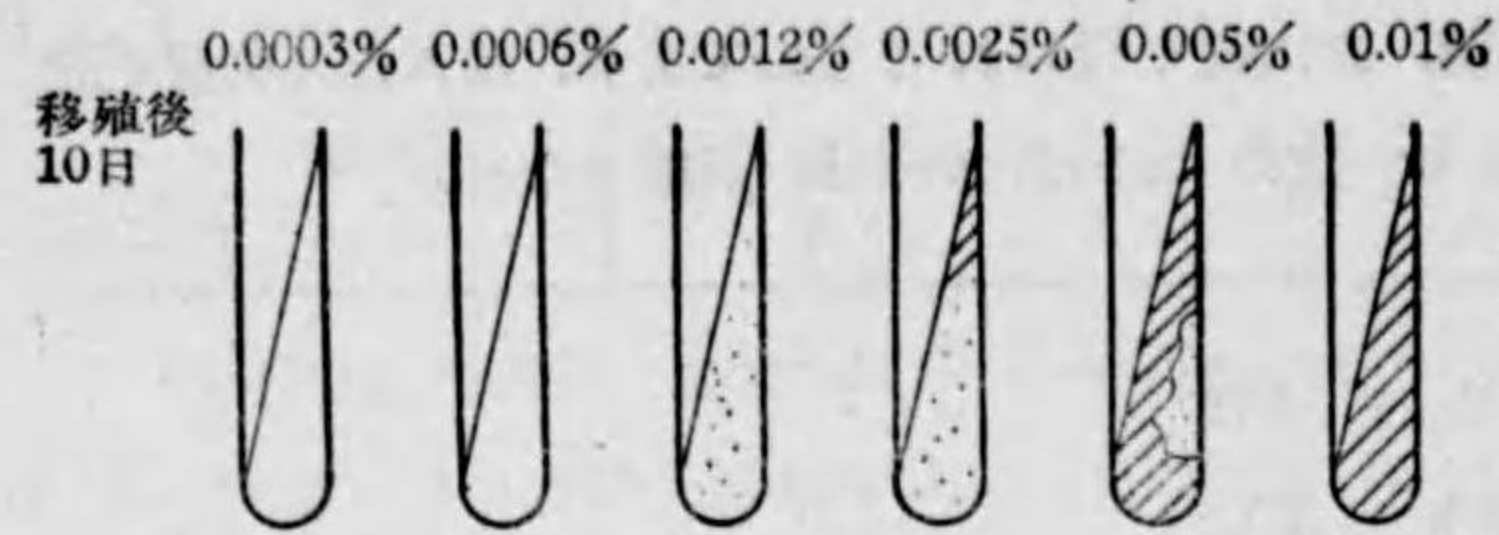
methylen blue  
0.0003% 0.0006% 0.0012% 0.0025% 0.005% 0.01%



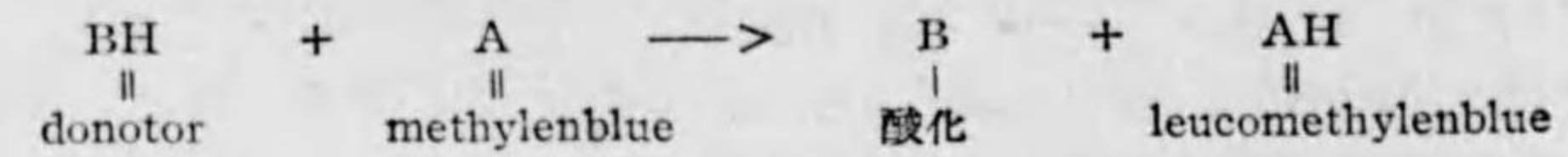
發淡不く  
育黄透還  
良褐明元  
好色、さ  
、全る

發繁限る  
育殖り  
稍面還  
不下元  
良にさ

繁殖極  
微量  
但 斜線 (ハツチング) の部分は  
Methylen blue に依る青藍  
色なるを示す  
點は還元により色度稍薄くな  
りしことを示す



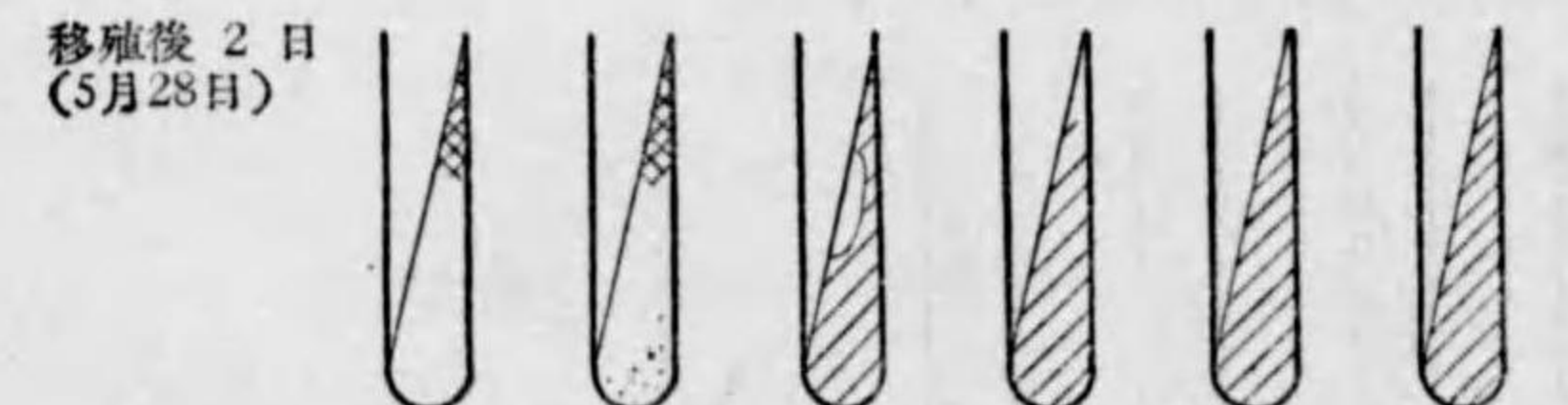
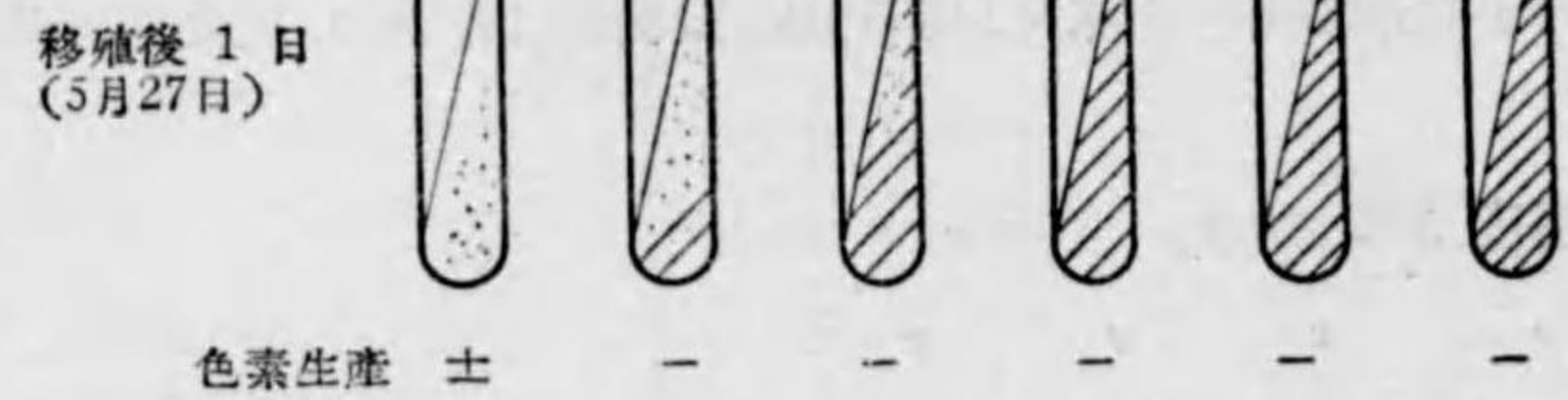
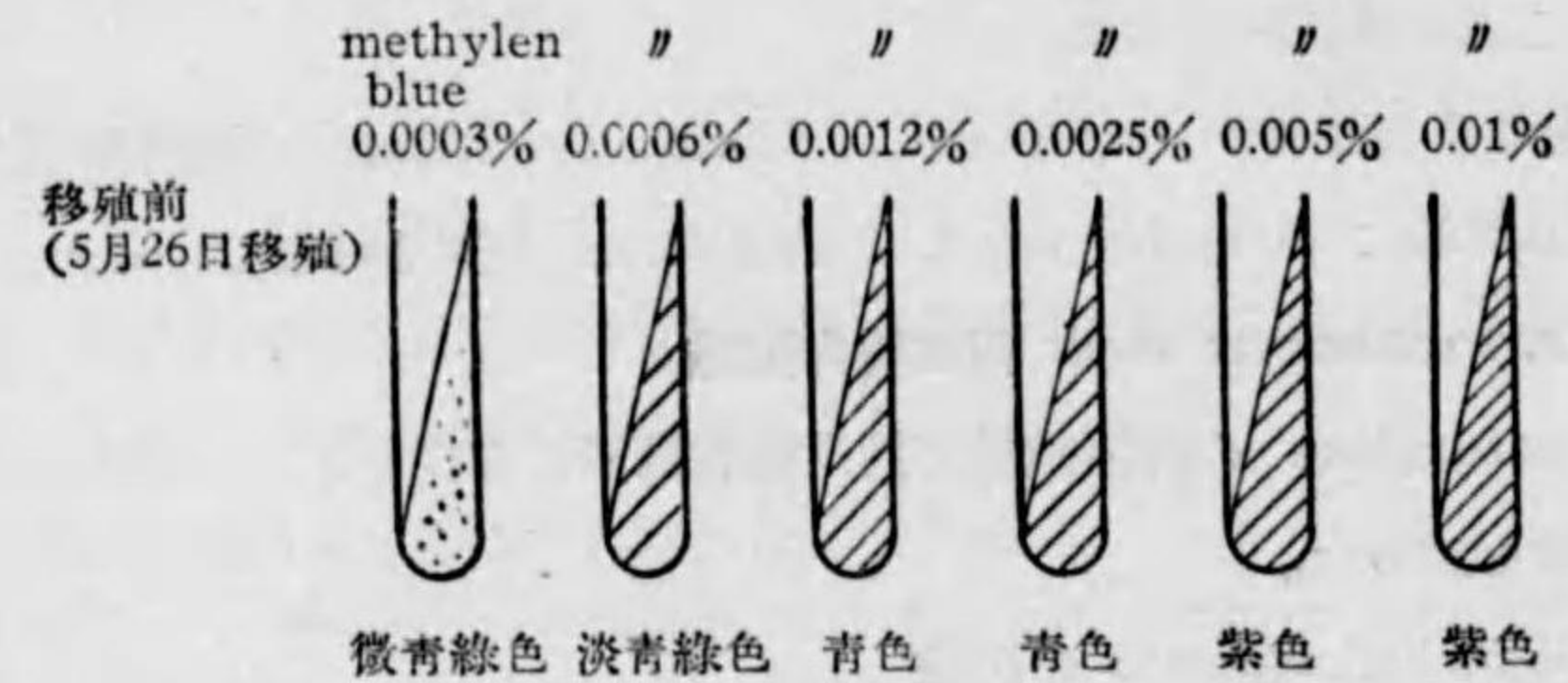
以上の実験で明らかに dehydrogenase の存在を認めた、即ち水素 acceptor として methylen blue が働いた場合



となつて methylen blue は還元され脱色すると先づ考へられる。

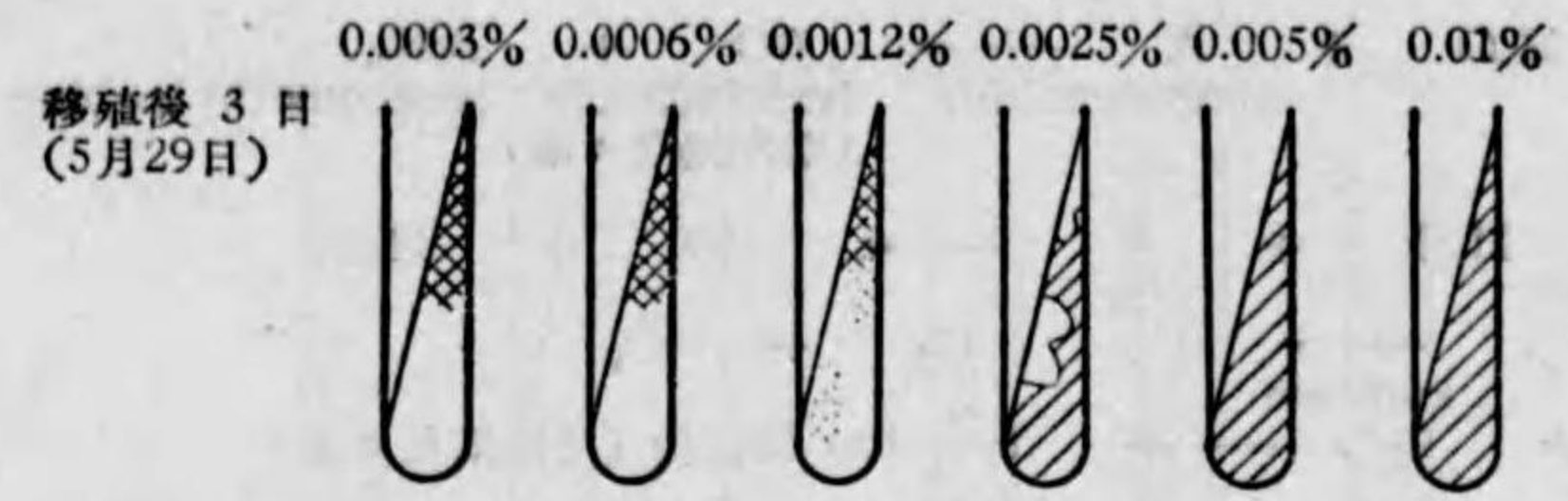
II tyrosine-methylen blue 培養基に依る dehydrogenase の試験

tyrosine 0.05%を添加せる肉汁寒天培養基にmethylen blue を 0.01%—0.0003% 迄加へ本菌に依る methylen blue の還元及び色素生成の状態を検した。



色素生産 + + ± - - -  
 培養基の着色は常に斜面部分の上端より始まる

但(交叉せる斜線は暗赤褐色色素の生成を示す)



色素生産 ++ + ± - -



色素生産 +++ ++ + - -



色素生産 +++ ++ + -

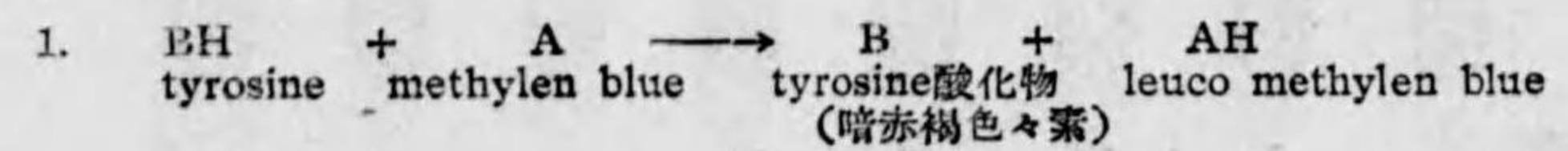


色素生産 +++ ++ + -



色素生産 +++ ++ + -

即ち methylen blue は還元されて無色の leuco methylen blue と變し同時に tyrosine の酸化作用が起り暗赤褐色色素が生成される事實は明瞭であるが、この機構に就て考察すれば次の如くである。

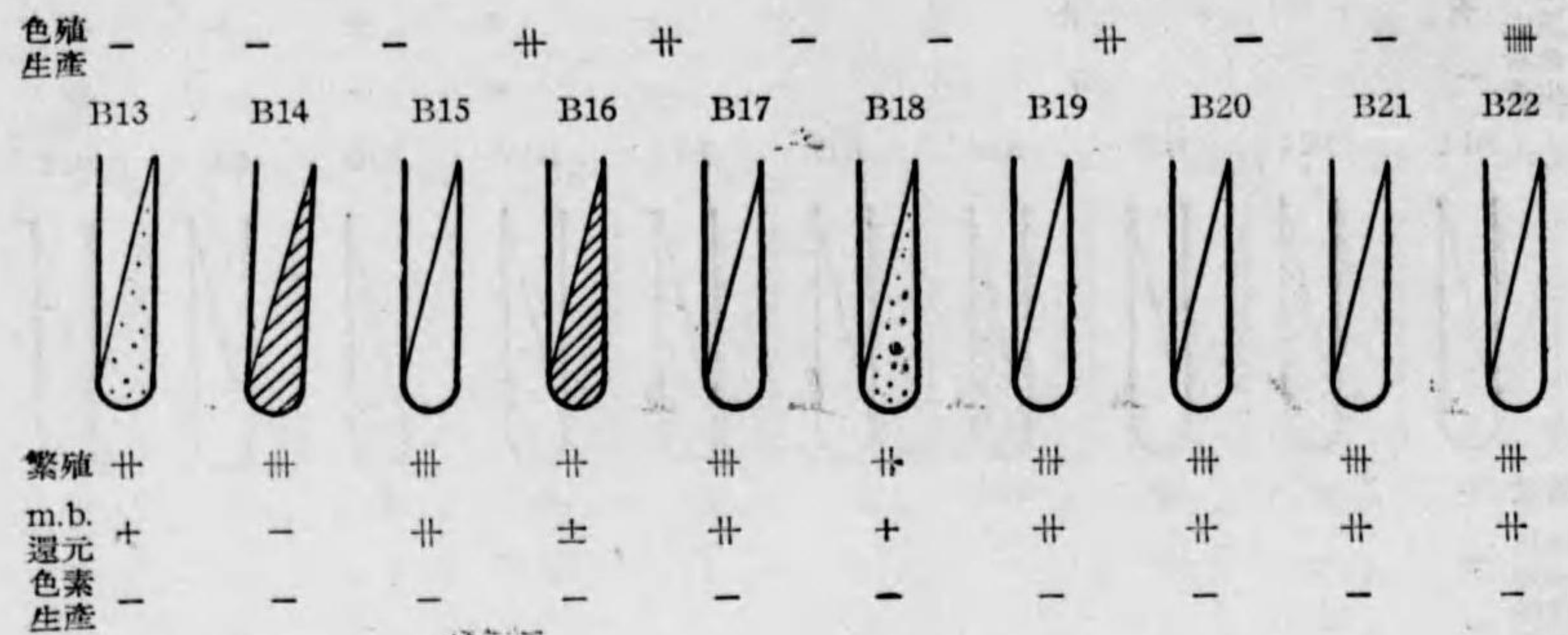


或は水素 donator へ水分子が附加して後同反應を呈するものか

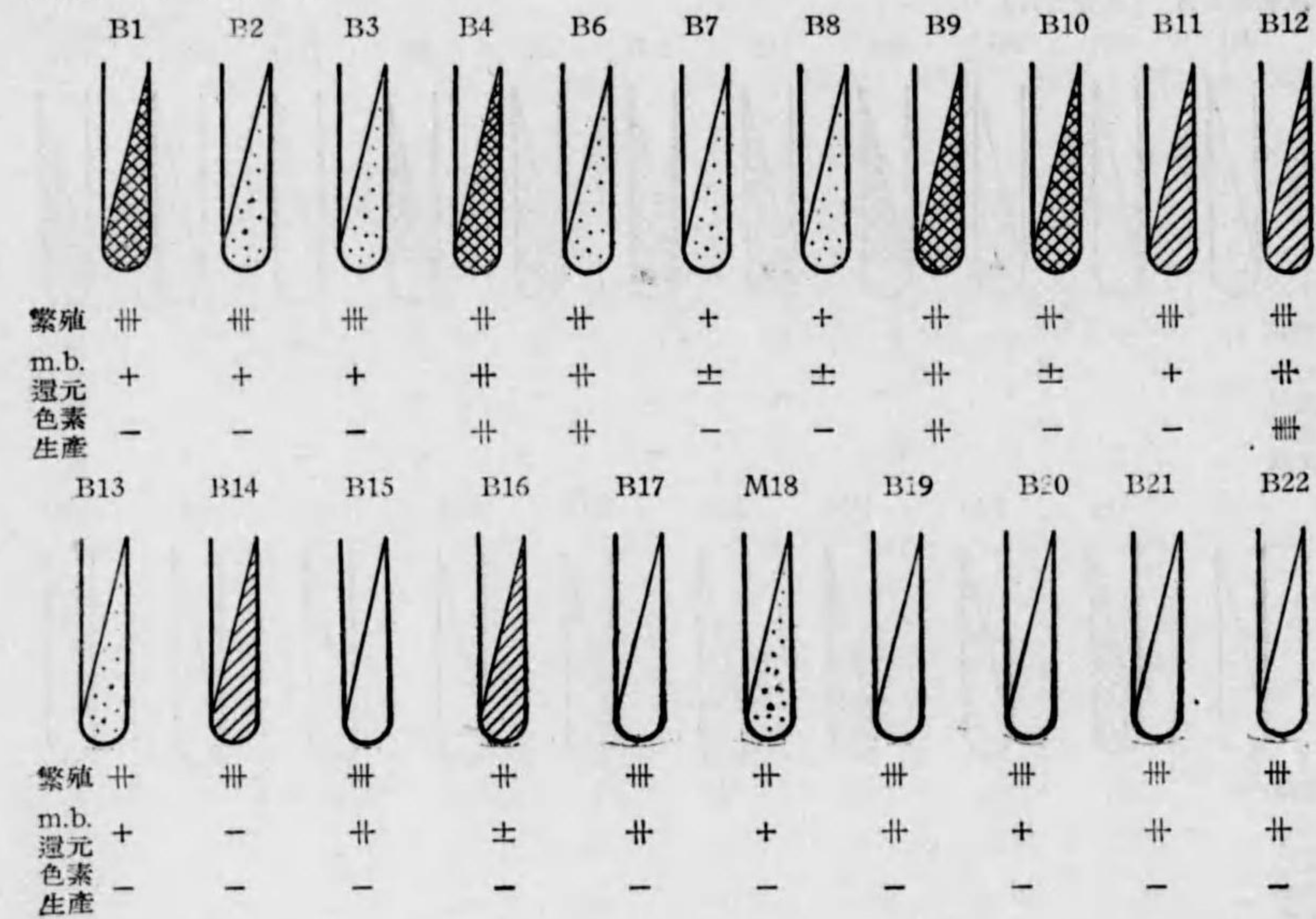








移殖後8日 (6月9日)



此所に疑問とするところはB20, B21, B22, の如き明らかに dehydrogenase の存在を認めたるにかかわらず色素の生成が何等行はれざる事である。今迄色素生成と dehydrogenase とは不可分の関係あるものとして来た考が多少信を置き難くなつたが尙今後の研究に俟たねばならぬ。

10. 其他醤油細菌より色素生成菌の検索

今迄醤油諸味より分離せる細菌中色素生成に關與したる數種の菌を検索したることは既報の如くであるが尙同様の方法を以て松本憲次氏分離の醤油細菌に就きて検索を行つた。

培養基 麴寒天培養基 麴汁を Balling 8° に井水にて稀釋し、アルカリにて完全に中和、tyrosine, 0.05% 及び methylen blue 0.0006% を加へ稍加温し溶解せしめ寒天2% を加へ濾過し殺菌せる試験管に採取、koch 殺菌釜にて蒸氣殺菌を行ひ斜面と爲す。

肉汁寒天培養基 中和せる肉汁に tyrosine 0.05%, methyle blue 0.0005% を加へ加温溶解せしめ寒天 2% を添加、濾過後殺菌せる試験管に採取し koch 殺菌釜にて蒸氣殺菌を行ひて斜面と爲す。

始め菌番號 A1 より 11B に至る68種のは麴寒天培養基を使用し菌體を移殖し、2週間 30° C の thermostatt にて培養、methylen blue の還元及び色素生成の状態を検するに顯著なる反應を與へるもの認めざるを以て續いて培養基を改め總ての菌株に對し肉汁寒天培養基を使用して試験を行つた。

以下試験結果を表示す。

菌株	繁殖	m.b.還元	色素	菌株	繁殖	m.b.還元	色素	菌株	繁殖	m.b.還元	色素	菌株	繁殖	m.b.還元	色素
A 1	+	-	-	A 23	+	±	±	B 17	+	±	±	C 21	+	-	-
A 4	+	-	-	A 25	+	±	±	B 18	+	±	±	C 22	+	-	-
A 5	+	±	±	A 26	+	±	±	B 15	+	-	-	C 23	+	-	-
A 7	+	±	±	A 27	+	±	±	B 20	+	±	±	C 24	+	±	±
A 8	+	-	-	B 1	+	±	±	C 1	+	±	±	C 26	+	±	±
A 9	+	±	±	B 2	+	±	±	C 2	+	-	-	C 27	+	±	±
A 10	+	±	±	B 3	+	-	-	C 4	+	±	±	H 1	+	±	±
A 11	+	±	±	B 5	+	-	-	C 5	+	-	-	H 2	+	±	±
A 12	+	-	-	B 6 <sub>1</sub>	+	-	-	C 6	+	±	±	H 3	+	±	±
A 13	+	-	-	B 6 <sub>2</sub>	+	±	±	C 8	+	±	±	H 4	+	±	±
A 14	+	-	-	B 7	+	±	±	C 9	+	±	±	H 5	+	±	±
A 15	+	-	-	B 8	+	±	±	C 11	+	-	-	1 A	+	±	±
A 16	+	±	±	B 10	+	±	±	C 12	+	±	±	1 a	+	±	±
A 17	+	±	±	B 12	+	-	-	C 13	+	-	-	11 B	+	±	±
A 18	+	-	-	B 13	+	±	±	C 17	+	-	-				
A 20	+	-	-	B 14	+	-	-	C 18	+	±	±				
A 21	+	-	-	B 15	+	±	±	C 19	+	±	±				
A 22	+	-	-	B 16	+	-	-	C 20	+	±	±				

備考 培養基は麴寒天を使用、菌體接種後2週間後に檢す、培養温度30°C 内外



菌株	9月7日			9月21日			10月12日			菌株	9月7日			9月21日			9月12日		
	繁殖	m.b.還元	色素	繁殖	m.b.還元	色素	繁殖	m.b.還元	色素		繁殖	m.b.還元	色素	繁殖	m.b.還元	色素	繁殖	m.b.還元	色素
A 1	+	-	-	+	-	-	+	-	-	B12	+	-	-	+	-	-	+	-	-
A 4	+	-	-	+	-	-	+	-	-	B13	+	-	-	+	-	-	+	-	-
A 5	+	-	-	+	-	-	+	-	-	B14	+	-	-	+	-	-	+	-	-
A 7	+	-	-	+	-	-	+	-	-	B15	+	-	-	+	-	-	+	-	-
A 8	+	-	-	+	-	-	+	-	-	B16	+	-	-	+	-	-	+	-	-
A 9	+	-	-	+	-	-	+	-	-	B17	+	-	-	+	-	-	+	-	-
A10	+	-	-	+	-	-	+	-	-	B18	+	-	-	+	-	-	+	-	-
A11	+	-	-	+	-	-	+	-	-	B19	+	-	-	+	-	-	+	-	-
A12	+	-	-	+	-	-	+	-	-	B20	+	-	-	+	-	-	+	-	-
A13	+	-	-	+	-	-	+	-	-	C 1	+	-	-	+	-	-	+	-	-
A14	+	-	-	+	-	-	+	-	-	C 2	+	-	-	+	-	-	+	-	-
A15	+	-	-	+	-	-	+	-	-	C 4	+	-	-	+	-	-	+	-	-
A16	+	-	-	+	-	-	+	-	-	C 5	+	-	-	+	-	-	+	-	-
A17	+	-	-	+	-	-	+	-	-	C 6	+	-	-	+	-	-	+	-	-
A18	+	-	-	+	-	-	+	-	-	C 8	+	-	-	+	-	-	+	-	-
A20	+	-	-	+	-	-	+	-	-	C 9	+	-	-	+	-	-	+	-	-
A21	+	-	-	+	-	-	+	-	-	C11	±	-	-	±	-	-	±	-	-
A22	+	-	-	+	-	-	+	-	-	C12	+	-	-	+	-	-	+	-	-
A23	+	-	-	+	-	-	+	-	-	C13	±	-	-	±	-	-	±	-	-
A25	+	-	-	+	-	-	+	-	-	C17	±	-	-	±	-	-	±	-	-
A26	+	-	-	+	-	-	+	-	-	C18	+	-	-	+	-	-	+	-	-
A27	+	-	-	+	-	-	+	-	-	C19	+	-	-	+	-	-	+	-	-
B 1	+	-	-	+	-	-	+	-	-	C20	+	-	-	+	-	-	+	-	-
B 2	+	-	-	+	-	-	+	-	-	C21	+	-	-	+	-	-	+	-	-
B 3	+	-	-	+	-	-	+	-	-	C22	+	-	-	+	-	-	+	-	-
B 5	+	-	-	+	-	-	+	-	-	C23	+	-	-	+	-	-	+	-	-
B6 <sub>1</sub>	±	-	-	±	-	-	±	-	-	C24	+	-	-	+	-	-	+	-	-
B6 <sub>2</sub>	±	-	-	±	-	-	±	-	-	C26	+	-	-	+	-	-	+	-	-
B 7	+	-	-	+	-	-	+	-	-	C27	±	-	-	±	-	-	±	-	-
B 8	+	-	-	+	-	-	+	-	-	H 1	+	-	-	+	-	-	+	-	-
B10	+	-	-	+	-	-	+	-	-	H 2	+	-	-	+	-	-	+	-	-

H 3	+	-	-	+	-	-	+	-	-	G23 <sub>3</sub>	+	-	-	+	-	-	+	-	-
H 4	+	-	-	+	-	-	+	-	-	G24	+	±	±	+	+	+	+	+	+
H 5	+	-	-	+	-	-	+	-	-	G25	+	-	-	+	-	-	+	-	-
1A	+	-	-	+	-	-	+	-	-	G26	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1a	+	-	-	+	-	-	+	-	-	G27	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11B	+	-	-	+	±	-	+	±	-	G28	+	-	-	+	-	-	+	-	-
G11	+	-	-	+	-	-	+	-	-	G29	+	-	-	+	±	-	+	±	-
G15	+	±	±	+	+	+	+	+	+	J 1	+	-	-	+	±	±	+	±	±
G16	+	±	±	+	+	+	+	+	+	J 3	±	-	-	±	-	-	±	-	-
G17	+	-	-	+	-	-	+	-	-	J 4	+	-	-	+	±	-	+	-	-
G18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	J 7	±	-	-	±	-	-	±	-	-
G19	±	-	-	+	-	-	+	-	-	J 8	+	-	-	+	-	-	+	-	-
G20	+	+	+	+	+	+	+	+	+	J 9	+	-	-	+	-	-	+	-	-
G22 <sub>1</sub>	+	-	-	+	-	-	+	-	-	J12	+	-	-	+	-	-	+	-	-
G22 <sub>2</sub>	+	-	-	+	-	-	+	-	-	B3J3	+	-	-	+	-	-	+	-	-

備考 ○印は色素生成せるものを表はす

菌體移植は 8月11日 培養温度 室温

色素生成せし G20, G26, G27 の 3 種の菌名は次の如し

G20 *Granulobacter saccharobutyricum* var.

G26 *Granulobacter saccharobutyricum* BI

G27 " BII

### 摘 要

1. 各種炭水化物約 20 種を使用し *Bac. melanicus soya* 菌の色素生成に對する炭水化物の影響を試験した結果、炭水化物は何等色素生成に關係なきことを認め同時に色素生成機構が好氣的酸化 aerobic oxydation に依るものならんこと概念を得たり。
2. 各種窒素化合物に依る *Bac. melanicus soya* 菌の色素生成に及ぼす影響を試験し結果として tyrosine, phloroglucin, hydroquinone, phenyl alanine は色素生成を顯著ならしめ特に tyrosine に於て著しきことを認めた。ここに於て以後色素生成菌の分離に tyrosine 培養基を使用することとした。
3. 各種培養基に依る培養状態と色素生成の過程を検した。
4. Pepton water 培養基を使用し食鹽抵抗試験を行ひ食鹽濃度 5% 迄は該菌の發育するを認め併せて色素生成と食鹽とは無關係なることを確認した。

5. 該菌の色素生成に關與しあると思考せらるゝ諸酵素の酵素試験を行ひて次の結果を得たり。

tyrosinase (-), oxidase (-), peroxidase (-), catalase (-)

6. 上記の結果よりして必然的に dehydrogenase の酵素試験を生体内に於て行ひ dehydrogenase の存在を認むると共に tyrosine-methylen blue 及び tyrosine-malachite green の兩培養基を使用し methylen blue, malachite green の還元と色素生成との相互關係を検した。

7. tyrosine 培養基を使用して松本憲次, 趙習恒兩氏の分離に係る醤油細菌より色素生成菌の檢索を行ひ *Bac. melanicus soya* 菌の外に B4, B6, B9, B20, の 4 種の菌を得たり。

8. tyrosin-methylen blue 培養基を使用し松本憲次, 趙習恒兩氏分離に係る醤油細菌の生体内 dehydrogenase の酵素試験を行つた。

9. 松本憲次氏分離醤油細菌より tyrosine 培養基を使用し色素生成菌の檢索を行ひ顯著に色素生成を行へる G20, G26, G27 の 3 種の菌を得た。

### 引用文獻

1. 黒野 勝目: 日本農藝化學會誌, 昭. 2. 3 卷, 594
2. 黒野, 深井, 館野: 同上 昭. 2. 3 卷, 10 册
3. 石丸 義夫: 醸造學雜誌, 昭. 3. 6 卷, 4 號
4. 松本, 趙: (本誌, 醸造試驗所報告, 127 號)
5. Kasakow, A. u. Kotschergina: Zentralbl. Bakt. 11, 88, 144 (1933)
6. Waksman and Davison: Enzyme
7. Waksman and Davison: Enzyme. 234
8. Waksman and Davison: Enzyme. 234
9. 田所: 酵素化學
10. 田宮譯: 生體酸化還元
11. Douglas C. Harrison: Ergebnisse der Enzymforschung. Band IV.
12. 齊藤: 醸造論文集, 第 4 輯 268.
13. Douglas C. Harrison: Ergebnisse der Enzymforschung, Band IV.
14. 松本: 醸造試驗所報告 99 號, 104 號,

### 醤油中の糖分の定量に就て

On the estimation of sugar in *shōyu*.

山 田 正 一

石 丸 吉 太 郎

醤油は其中に多量の蛋白質分解物を含有し之が銅液の還元を著しく妨害するを以てフェーリング氏液の還元を利用する糖分の諸定量法(ペルトラン, アリン, フフリーゲルの諸法)を施行するは普通の糖液の場合の如く容易ならず。試みに醤油の 10 倍程度の稀釋溶液をフェーリング氏液に加へて熱するに赤色細小の亞酸化銅(Cu<sub>2</sub>O)の沈澱を與へる代りに全液汚黄綠色となり黄褐色にして稍々膨大なる沈澱を析出し、此の沈澱を石綿濾過管にて濾過せんとするに概ね甚だしく困難なり。此の故に通常はリットハウゼン氏法に則り先づ醤油に同氏硫酸銅液を加へついで銅液と略々等量のリットハウゼン氏アルカリ液を加へて中和する時は蛋白質分解物は此處に生成せる水酸化銅に吸着せらるるを以て一旦全液を一定量に満たしたる後、濾過し濾液に就てフェーリング氏液の還元を行ふ。斯くすれば操作は稍々煩雜なるも兎に角醤油中の糖分を定量する事を得るなり。然るに近年醤油醸造界に於ては所謂「アミノ酸」と云ひて脱脂大豆の酸分解物を味附加工劑に使用する事流行し時に含糖アミノ酸液等と呼ばれ、蛋白質原料のみならず澱粉類をも加へて共に加水分解せる産物すら現はれ、其の一層複雑なる味を有するを以て賞用せらるるに至れるが之等の糖分は既にリットハウゼン氏法を應用するも極めて稀なる例を除きては概ね銅液の還元不充分なり。尙此の場合蛋白質沈澱劑として醋酸鉛、鹽基性醋酸鉛、燐ウオルフラム酸の如きを加へたるものの沈澱の濾液に就ても銅液の還元は充分ならざるを知れり。即ち斯の如きものに於てはフェーリング氏液を用る銅液の還元を行ひ生成せる沈澱より糖分を定量せんとする方法は應用するの餘地無きが如し。

一般に醤油乃至はアミノ酸液中の糖分の定量は甚だ困難にして一日も速に何等か適當なる方法を見出す必要に迫らるるに至れり。

第一に蛋白質分解生成物の影響を極力少なからしめんが爲に醤油を 20 倍に稀釋し(5 c.c. に水を加へて 100 c.c. に満たす)其儘フェーリング氏液の還元を行はしめしに偶然にして通常の如く亞酸化銅の赤色の沈澱を析出し、リットハウゼン氏法の適用は必要とせず。但し此の場合甚だしく稀釋せられたる液は餘りに少量使用する事は滴定數少く誤差を大ならしむる因となるものなれば 50 c.c. 等比較的少量を用る方が優れる事を認めたり。

一方に於て醬油の糖分平均含量を 3.0% とすれば之が 20 倍稀釋溶液は僅かに 0.15% にしてフェーリング氏液の還元を行ふ最適糖分含量とせらるる 0.5~1.5% より遙かに稀薄なるを以て果して定量法に應用して支障無きか否かを試験せるも大なる不都合を認め得ざりしは幸と云ふべし。

本稀釋法もアミノ酸液に對しては全く應用不可能なり。此の場合如何に稀釋するも赤色亞酸化銅の沈澱を與へる事無し。

近時清酒等に於ては其の操作の簡單なると加熱を要せざる點等よりしてヨードメトリーに依る糖分定量法が好んで行はるるに至り、醬油に於ても無條件にて應用せられし例あり。本法は定量法の操作中に何の支障をも來さず且つ兎に角何等かの數値を與ふる事確實なるを以て實際に其の示す値が糖分に該當するものならば好都合の方法と云はざるを得ず。然るに故意に葡萄糖を添加したる場合をも併せてフェーリング氏法と比較せるに醬油に於てヨード法の示す値は實際の約倍量なるが如く、全く糖分不含のアミノ酸液が尙糖分 3% 前後を含有するが如き數値を與へ、糖分定量法としては無意義なるを明にする事を得たり。而して此の場合ヨードを消費する大なる成分はアミノ酸類なるを知れり。

以上の如くして醬油はリットハウゼン氏法を應用するか稀釋法を適用して兎に角其の糖分を定量する事を得るもアミノ酸液は其の何れも適當せず、此儘ならば其の糖分を定量する見込み少きなり。

只近頃同じくフェーリング液の還元なるもメチレン青液を指示薬として用ゐて、糖液の滴下に依り銅液の還元の終末點を求める Henry Lane 法は割合に便なりとして清酒、酒精諸味等の工業分析に適用せらるる機運にあり。本法は銅液は如何様なる還元を行はんも要は銅液の全く還元し去らるる終末點を見るが特徴なるを以て或は醬油又はアミノ酸液に應用し得らるるに非ずやと思ひたれば試験せるに加熱時フラスコを握る不快、終末點の稍々不鋭敏等の不利はありしも醬油は勿論、アミノ酸液に於ても漸く其の糖分概量を知るに足る事を認めたり。即ち今後更に便利なる定量法の現はるる迄上記の方法を適當に應用して醬油又はアミノ酸液の糖分を定量する事を得ん。

實 驗

1. 醬油を單に稀釋せる場合の糖分定量。

普通醬油 5c.c. を定量フラスコに取り水を加へて 100c.c. に満たし(20倍稀釋) 其の 25c.c. を採り、フェーリング氏液 20c.c. (銅、アルカリ液各 10c.c.) に加へ加熱する時、普通の如く亞酸化銅の赤色沈澱を生ず。

青酸カリ滴定法に依り得たる糖分は 3.124% なり。

2. 糖液の稀釋がフェーリング氏液の還元に及ぼす影響。

前の醬油の例に於て約 3% の液を 20 倍に稀釋しフェーリング氏液の還元を行ふ時は其稀釋糖液は糖分を僅かに約 0.15% 含有するに過ぎず此の場合、普通に謂はれる糖含量 0.5~1.5% なるべしとするものに比し如何様の支障を示すものなりや、又斯の如き稀釋液は何 c.c. 位を定量に使用すべきかを試験せり。

糖液。葡萄糖 3% 溶液 (葡萄糖乾物の純度約 93%)

糖液稀釋度	フェーリング氏液と加熱時の濃度	稀釋糖液使用量 c.c.	添加水量 c.c.	青酸カリ (f=8.73) c.c.	糖 %
3 倍	1 %	10	—	20.9	2.801
6	0.5	10	—	11.05	2.947
20	0.15	10	—	3.6	3.342
20	0.15	25	—	8.8	3.136
20	0.15	50	—	17.0	3.028
20	0.15	100	—	31.4	2.845
3	1.0	10	10	20.9	2.801
3	1.0	10	20	21.05	2.823
3	1.0	10	40	21.3	2.854

上表より 20 倍等稀釋するは支障無きも此の場合はフェーリング氏液に添加する量は多ければ多き程正確なるを示したり。即ち 50~100c.c. を用ゐる方 10c.c. を用ゐるより正確なり。時にフェーリング氏液を更に無條件にて稀釋する事あるも 10~20c.c. の程度ならば大なる支障無し。

3. ヨードメトリーは果して應用して可なりや。

I ヨードメトリーを應用せる例。

日本醸造協會主催第 15 回全國酒類醬油品評會優等醬油の分析にヨードメトリーを應用せる結果は次の如し (第 15 回全國酒類醬油品評會報告書 140~142 頁)。  
日. 醸. 協. 32. 2. 98~100. 昭 12.

	ボ	メ	エ	キ	ス	總	酸	糖	分	灰	分	食	鹽
	%		%		%	%	%	%	%	%	%	%	
普通醬油 (43 點)	平均	26.7	46.325	1.049	5.4996	21.55	19.79						
	最大	29.0	49.97	1.260	7.2433	23.62	21.35						
	最少	25.3	42.49	0.846	4.3948	19.40	17.84						
薄口醬油 (4 點)	平均	25.225	42.605	0.785	6.649	19.552	18.21						
	最大	27.0	46.59	0.846	7.5240	20.24	18.78						
	最少	23.7	40.00	0.657	5.5867	19.02	17.64						
溜醬油 (3 點)	平均	28.866	54.753	1.134	5.3689	20.456	17.84						
	最大	29.50	56.90	1.170	6.6474	20.71	18.12						
	最少	27.7	50.49	1.080	3.8636	20.14	17.32						
再製醬油 (1 點)	29.0	56.22	1.728	5.0925	19.60	16.22							

糖分 4% 以上等の數値を見るは稍過多なる事を思はしむるに充分なり。

II 普通醬油 及びアミノ酸。

	原液 20 倍稀釋	原液 10 倍稀釋	原液 20 倍稀釋
	靑酸カリ法	ヨード法	ヨード法
普通醬油	3.124 %	6.413 %	7.722 %
アミノ酸(原料) ソヤレックス	—	2.844	—
〃 (原料) 高野豆腐	—	2.646	—

普通醬油に於てはヨード法は約倍の糖分を示したり。殊に大豆蛋白質なる高野豆腐の分解液の如き其の糖分皆無なるを期待せる場合に於ても尙 2% 以上の含量を示すは奇異なり。

III ヨード法に對するアミノ酸の影響。

醬油中の窒素化合物を假りに10%, アミノ酸液の窒素化合物を20%なりと見做し、次の各種のアミノ酸又はアミノ酸混合物の夫々 10~20% 溶液を作り、其の 10c.c. を 100c.c. に稀釋したるもの 10c.c. (1~2% 液となる) に就きヨード法に依り擬似糖分を定量せる結果は下の如し。

アミノ酸の濃度	絹絲分解 アミノ酸混合物	アラニン、ロイシ ン混合物。10ミリ80° のエスターより	グリコロール	ラセミン アラニン	左旋ロイシン
20 % 液	2.709 %	1.454 %	—	—	4.140 %
10 % 液	2.727 %	1.665 %	0.679 %	1.454	3.258 %

アミノ酸は分子量の大なるもの程擬似糖分を示す事大なり、但し其の濃度には必ずしも比例せず。

4. レーン法を應用せる場合

醬油又はアミノ酸液を其の推定糖分含量よりして糖分の約 0.1~0.3 % 溶液を製し之をビュレットに盛りてフェーリング氏液 10c.c. を滴定せり。靑色液が次第に汚黄綠色沈澱を加へ靑色の淡くなる時メチレン靑 1 % 溶液數滴を滴加し靑色が全く消失する時滴定を止む。

資 料	原 料	レーン法		ヨード法			
		稀釋率	糖分%	稀釋率	可檢糖液	糖分%	レーン法との差
合糖アミノ酸	白糖及ソヤレックス	50倍	9.487	50倍	10c.c.	18.293	+8.806%
〃	靱及ソヤレックス	20倍	4.764	20	〃	9.468	+4.704
アミノ酸	ソヤレックス A	原液	0	10	〃	4.901	+4.901
〃	同上葡萄糖5%添加	20倍	4.572	20	〃	10.305	+5.733
〃	ソヤレックス B	原液	0	10	〃	2.844	+2.844
〃	同上葡萄糖3%添加	20倍	2.749	20	〃	6.210	+3.461
〃	高野豆腐	原液	0	10	〃	2.646	+2.646

醬油	同上葡萄糖3%添加	20倍 20倍	2.844 3.039	10 10	〃 〃	4.595 6.413	+1.751 +3.374
----	-----------	------------	----------------	----------	--------	----------------	------------------

レーン法にて糖分全く皆無なるものがヨード法にて 2~5 % 程度の擬似糖分を示すを見るなり。實際に糖分を含有する液に於てもヨード法の値は著大に過ぐ。而してレーン法のもは靑酸カリ滴定法の可能なる普通醬油に於て相互に略々等しき糖分を示し (3.03 % と 3.124 %) 更に實際に糖分を添加せる糖量を測定し得るを見るなり。即ちレーン法は醬油並にアミノ酸液の糖分定量法として採用に堪ふべく現在に於てアミノ酸液中の糖量を知る唯一の方法と云ふを得ん。

摘 要

1. 醬油の糖分はリットハウゼン氏銅液及びアルカリ液を用て蛋白質分解物を吸着濾過せる濾液に就て普通の如くフェーリング氏液の還元を行はしめ、亞酸化銅の沈澱を重量的又は容量的に測定する方法を採用するか、簡單には醬油を20倍に稀釋せる液 50c.c. 位を用て直ちにフェーリング氏液の還元を行はしめて定量する事を得。後者の場合フェーリング氏液に加へる糖液の量は 5~10c.c. 等少きものは誤差多きを以て可及的 50c.c. 位を用ふべし。
2. フェーリング氏液の還元を行ふべく加へる糖液は其の糖分含量 0.5~1.5% なるべしとの規定あるも、0.1 % 等稀薄なるものに於ても比較的少量 (50~100c.c. 等) を用ふれば大なる誤差を示さず。
3. 所謂アミノ酸液はリットハウゼン氏液の扶を借るも亦稀釋するもフェーリング氏液の還元完全ならずして黄綠色沈澱を與へ濾過困難なるを以て其の糖分を定量する事を得ず。
4. 醬油又はアミノ酸液の糖分定量にヨードメトリーは應用するを得ず、蛋白質分解物特にアミノ酸類のヨード消費量甚だ大なればなり。
5. 一定量のフェーリング氏液を 1 % メチレン靑を指示薬として稀釋糖液 (0.1~0.3%) にて滴定するレーン法は醬油及アミノ酸液の糖分定量に應用して妙なり。特に後者に於ては現在に於て糖分定量の唯一の方法ならん。

レーン氏葡萄糖定量表

A : フェーリング氏液 10c.c. を還元する糖液滴定 c.c.

B : 糖液 100c.c. 中の糖量

A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
15.0	327.0	22.0	225.5	29.0	172.5	36.0	140.0	43.0	118.1
1	325.0	.1	224.6	.1	172.0	.1	139.6	.1	117.8

2	323.0	2	223.6	2	171.4	2	139.3	2	117.6
3	321.0	3	222.7	3	170.9	3	138.9	3	117.3
4	319.0	4	221.7	4	170.3	4	138.6	4	117.1
5	317.0	5	220.8	5	169.8	5	138.2	5	116.8
6	315.0	6	219.9	6	169.2	6	137.8	6	116.5
7	313.0	7	218.9	7	168.7	7	137.5	7	116.3
8	311.0	8	218.0	8	168.1	8	137.2	8	116.0
9	309.0	9	217.0	9	167.6	9	136.9	9	115.7
16.0	307.0	23.0	216.1	30.0	167.0	37.0	136.4	44.0	115.5
.1	305.2	.1	215.2	.1	166.5	.1	136.1	.1	115.3
.2	303.4	.2	214.4	.2	166.0	.2	135.7	.2	115.0
.3	301.6	.3	213.5	.3	165.4	.3	135.4	.3	114.8
.4	299.8	.4	212.6	.4	164.9	.4	135.0	.4	114.5
.5	298.0	.5	211.8	.5	164.4	.5	134.7	.5	114.3
.6	296.2	.6	210.9	.6	163.9	.6	134.3	.6	114.0
.7	294.4	.7	210.0	.7	163.4	.7	134.0	.7	113.8
.8	292.6	.8	209.1	.8	162.8	.8	133.6	.8	113.5
.9	290.8	.9	208.3	.9	162.3	.9	133.3	.9	113.3
17.0	289.0	24.0	207.4	31.0	161.8	38.0	132.9	45.0	113.0
1	287.5	.1	205.6	.1	161.3	.1	132.6	.1	112.8
2	286.0	.2	205.8	.2	160.8	.2	132.2	.2	112.5
3	284.5	.3	205.0	.3	160.3	.3	131.9	.3	112.3
4	283.0	.4	204.2	.4	159.8	.4	131.6	.4	112.0
5	281.5	.5	203.4	.5	159.4	.5	131.3	.5	111.8
6	280.0	.6	202.5	.6	158.9	.6	130.9	.6	111.6
7	278.5	.7	201.7	.7	158.4	.7	130.6	.7	111.3
8	277.0	.8	200.9	.8	157.9	.8	130.3	.8	111.1
9	275.5	.9	200.1	.9	157.4	.8	129.9	.9	110.8
18.0	274.0	25.0	199.3	32.0	156.9	39.0	129.6	46.0	110.6
1	272.6	.1	198.6	.1	156.5	.1	129.3	.1	110.4
2	271.2	.2	197.8	.2	156.0	.2	129.0	.2	110.2
3	269.8	.3	197.1	.3	155.6	.3	128.7	.3	109.9
4	268.4	.4	196.3	.4	155.1	.4	128.4	.4	109.7
5	267.0	.5	195.6	.5	154.7	.5	128.1	.5	109.5
6	265.6	.6	194.8	.6	154.2	.6	127.7	.6	109.3
7	264.2	.7	194.1	.7	153.8	.7	127.4	.7	109.1
8	262.8	.8	193.3	.8	153.3	.8	127.1	.8	108.8
9	261.4	.9	192.6	.9	152.9	.9	126.8	.9	108.6
19.0	260.0	26.0	191.8	33.0	152.4	40.0	126.5	47.0	108.4
1	258.7	.1	191.1	.1	152.0	.1	126.2	.1	108.2
2	257.5	.2	190.4	.2	151.5	.2	126.0	.2	108.0
3	256.2	.3	189.7	.3	151.1	.3	125.7	.3	107.7
4	255.0	.4	189.0	.4	150.6	.4	125.4	.4	107.5
5	253.7	.5	188.4	.5	150.2	.5	125.2	.5	107.3

.6	252.4	.6	187.7	.6	149.8	.6	124.9	.6	107.1
.7	251.2	.7	187.0	.7	149.3	.7	124.6	.7	106.9
.8	250.0	.8	186.3	.8	148.9	.8	124.3	.8	106.6
.9	248.7	.9	185.6	.6	148.5	.9	123.9	.9	106.4
20.0	247.4	27.0	184.9	34.0	148.0	41.0	123.6	48.0	106.2
.1	246.2	.1	184.3	.1	147.6	.1	123.3	.1	106.0
.2	245.1	.2	183.6	.2	147.2	.2	123.0	.2	105.8
.3	243.9	.3	183.0	.3	146.8	.3	122.8	.3	105.6
.4	242.8	.4	182.3	.4	146.4	.4	122.5	.4	105.4
.5	241.6	.5	181.7	.5	146.0	.5	122.2	.5	105.2
.6	240.4	.6	181.1	.6	145.5	.6	121.9	.6	104.9
.7	239.3	.7	180.4	.7	145.1	.7	121.6	.7	104.7
.8	238.1	.8	179.8	.8	144.7	.8	121.4	.8	104.5
.9	237.0	.6	179.1	.9	144.3	.9	121.1	.9	104.3
21.0	235.8	28.0	178.5	35.0	143.9	42.0	120.8	49.0	104.1
.1	234.8	.1	177.9	.1	143.5	.1	120.5	.1	104.0
.2	233.7	.2	177.3	.2	143.1	.2	120.3	.2	103.7
.3	232.7	.3	176.7	.3	142.7	.3	120.0	.3	103.5
.4	231.7	.4	176.1	.4	142.3	.4	119.8	.4	103.3
.5	230.7	.5	175.5	.5	142.0	.5	119.5	.5	103.1
.6	229.6	.6	174.9	.6	141.6	.6	119.2	.6	103.0
.7	228.6	.7	174.3	.7	141.2	.7	118.9	.7	102.8
.8	227.6	.8	173.7	.8	140.8	.8	118.6	.8	102.6
.9	226.5	.9	173.1	.9	140.4	.9	118.4	.9	102.4

原料を異にしたる各種醬油諸味  
竝に紅腐乳中の細菌類に就て

On bacteria in *shōyu*-mash manufactured  
with various raw materials and in *chian-tao-fu*.

松 本 憲 次  
趙 習 恒

目 次

緒 言

- 第一章 試料の説明
- 第二章 細菌分離の方法
- 第三章 試料中の細菌概數
- 第四章 分離したる細菌と試料との關係
- 第五章 好氣的細菌の試験
- 第六章 好氣的細菌の試験記載
- 第七章 嫌氣的細菌の試験
- 第八章 嫌氣的細菌の試験記載

結 論

附 録

穿刺培養の寫眞

斜面培養の〃〃

馬鈴薯培養の寫眞

緒 言

醬油諸味中の細菌類の研究に就ては、既に著者の一人松本及共同研究者により醸造試験所報告第99號、第107號及第109號に於て詳細報告したり。其後石丸義夫博士は醸造學雜誌第十一卷439, 576, 689, 778, 882, 986, 1076, に報告せられたるを以て重ねて研究の必要なが如く思ふも、著者等は、更に觀察點を異にし、改めて研究を開始したる所以は、兩來まで考へられたる諸味中に存在する細菌類中、如何なる細菌が熟成と關係するや、又有要なる菌なりや確然と決定したる點なく、然も何れの諸味にも共通に出現する菌が、偶應

用して不結果に終り是れ多數繁殖するが故に、人工的に添加するを不必要とすれば問題は解決したる如きも、之れ認識の不充分なる所なきやの疑念を抱懐せらるゝものあり。即ち諸味に共通的に現はる、分解力の強き細菌が不要視する點は理論的に考へ、其處に幾分の撞着ある如く思はれ、強勢にして多量存在する菌が諸味の熟成と關連を有する點は明にして、唯實際問題として利用方法の合理的ならざるに歸因すると思惟せらる。此の意味に於て、諸味中の細菌類を再検討するの必要に迫られたる所以なり。

唯本研究に於て諸味中の細菌を調査したるは各種の原料を使用したるものを採用しても尙醤油諸味に共通に現はるゝ細菌を検索して、該菌の諸味に對する實際的作用關係を究めんことに重點を置きたり。故に本報告には、各種原料を使用したる諸味中の細菌の調査を爲し、如何なる分布状態を表しをるやを考究したり。

實驗方法は著者の一人松本が已に研究報告に記載したるものと大體同様なるも、中には多少の変更を爲したり。尙附録として中華民國の紅腐乳中の細菌に就きて研究報告を併て掲載したり。

## 第一章 試料の説明

本所の各種醤油諸味及び中華民國の 2,3 の紅腐乳に就き研究を進めたるものにして、試験中類似の細菌類の顯はれたるものは代表的のものを採り他は削除したり。試料の詳細説明を記すれば下の如し。

- No. 1. 玄米使用量比較 (4 號) 仕込六號 桶 157 號  
昭和九年十一月九日仕込 大豆五 小豆五 玄米
- No. 2. 玄米使用量比較試験 (へ號) 仕込十一號 桶 162 號  
昭和九年十一月九日仕込 大豆五 小麥〇 玄米五
- No. 3. 大豆玄米白糖使用試験 (4 號) 仕込十二號 桶 141 號  
昭和九年十一月十二日仕込 大豆五 玄米三(製麴) 白糖二
- No. 4. 大豆玄米白糖使用試験 (ロ號) 仕込十三號 桶 142 號  
昭和九年十一月十二日仕込 大豆五 玄米三(一五製麴, 一五炒蒸割碎)白糖二
- No. 5. 講習實習普通大豆使用試験 仕込九號 桶 66 號  
昭和十年三月十一日仕込
- No. 6. 講習實習櫻豆使用試験 仕込十號 桶 65 號  
昭和十年三月十五日仕込
- 以上の六種の採取日は昭和十年八月二十九日なり
- No. 7. 淡口醤油醸造試験 仕込十五號 桶 64 號  
昭和十年一月十六日仕込

- No. 8. 濃口醤油醸造試験 仕込十六號 桶 62 號  
昭和十年一月二十一日仕込
- No. 9. 嫌氣的諸味添加醤油醸造試験 仕込一號 桶 63 號  
昭和十年一月三十日仕込
- No. 10. 嫌氣的諸味添加醤油醸造試験(標準仕込) 仕込二號 桶 61 號  
昭和十年一月三十日仕込
- No. 11. ソヤレックス使用試験 仕込五號 桶 151 號  
昭和十年二月五日仕込
- No. 12. 三菱 S. B. 使用試験 仕込六號 桶 152 號  
昭和十年二月五日仕込
- No. 13. 豐年櫻豆使用試験 仕込七號 桶 153 號  
昭和十年二月五日仕込
- No. 14. 豐年撒粕使用試験 仕込八號 桶 154 號  
昭和十年二月五日仕込

以上の八種の採取日は昭和十年十月七日なり。

- No. 15. 火腿腐乳 雙魚吉慶商標 上海英界四馬路中三五五號浙湖老紫陽觀中號の試料 東京源興號より購入したり。
- No. 16. 普通紅腐乳 浙江寧波産 東京源興號より購入したり  
以上の二種の採取日は昭和十年八月十三日なり。
- No. 17. 普通紅腐乳 山西太原産 太原世興號の試料 世興號よりその寄贈を受けたるもの  
以上の一の採取日は昭和十年十月二十二日なり。

## 第二章 分離の方法

分離方法は好氣的と嫌氣的との二方法を採用し、好氣的の方は醤油諸味の糶入直後、適當分量を殺菌したる匙にて殺菌したるシャーレに採取し、之を殺菌の終了したる乳鉢乳棒にて細菌を磨碎せざる程度に軽く諸味の塊物を細破し、之を 12 瓦秤り、10 鈞の殺菌蒸溜水とペトリ氏皿中によく混和して口径の大なる 5 鈞の特種形の殺菌したるピベットにて吸取し、之を殺菌をなしたる 5% 食鹽水 495 鈞を内容 800 鈞を有する有栓壺に入れ、烈しく振盪して其の 0.5 鈞を殺菌の終了したる一鈞のピベットにて吸取し、之を殺菌したる 5% 食鹽水 49.5 鈞の入れたる有栓小壺に入れよく振盪し、之を殺菌ピベットにて吸取し肉汁寒天培養基、未中和麴汁寒天培養基及中和麴汁寒天培養基に入れ、豫め溶解し 55°C 位に冷却し置きたる試験管三組(組毎に 3 本宛)に夫々 1 滴宛滴下しよく振盪して細菌の





細菌概數第二表 (中和麵汁寒天培養基)

試料番號	培養溫度	及時間數	各皿の聚落數			平均數	使用したる試料の滴數	試料中の概數	備考
			A	B	C				
1	30°C, 38hrs.		0	1	2	1.00	24	372,888	標準
2	"		0	0	0	0.00	20	—	玄米使用
3	"		3	2	2	2.33	22	796,427	玄米、白糠
4	"		2	1	1	1.33	24	495,941	玄米1.5製麵1.5炒熬割碎
5	"		6	9	13	9.33	26	3,768,965	普通大豆
6	"		2	3	5	3.33	20	1,034,764	櫻豆
7	30°C, 61hrs.		23	22	22	22.33	18	6,244,942	淡口醬油(玄米使用)
8	"		30	19	38	29.00	18	8,110,314	濃口醬油
9	"		2	1	1	1.33	22	454,613	嫌氣的培養
10	"		0	3	0	1.00	26	403,962	標準
11	"		15	14	5	11.33	20	3,520,684	ソヤレックス
12	"		2	0	0	0.66	24	246,106	三菱S. B.
13	"		2	1	1	1.33	20	413,284	豐年櫻豆
14	"		19	26	20	21.66	20	6,730,628	豐年撒粕
15	30°C, 38hrs.		12	11	15	12.66	18	3,697,125	火腿腐乳
16	"		9	14	13	12.00	22	4,283,136	紅腐乳(源興號)
17	"		0	0	—	0.00	28	—	紅腐乳

細菌概數第三表 (未中和麵汁寒天培養基)

試料番號	培養溫度	及時間數	各皿の聚落數			平均數	使用したる試料の滴數	試料中の概數	備考
			A	B	C				
1	30°C, 38hrs.		0	0	1	0.33	24	123,053	標準
2	"		5	1	—	3.00	20	932,220	玄米使用
3	"		6	20	4	10.00	22	3,418,140	玄米、白糠
4	"		6	3	4	4.33	24	1,614,605	玄米1.5製麵1.5炒熬割碎
5	"		11	7	7	8.33	26	3,365,003	普通大豆
6	"		1	1	1	1.00	20	310,740	櫻豆
7	30°C, 61hrs.		3	7	1	3.66	18	1,023,578	淡口醬油(玄米使用)
8	"		0	4	3	2.33	18	651,622	濃口醬油

9	30°C, 61hrs.	1	0	0	0.33	22	112,799	嫌氣的培養
10	"	0	0	0	0	26	—	標準
11	"	3	1	0	1.33	20	413,284	ソヤレックス
12	"	1	0	1	0.66	24	246,106	三菱S. B.
13	"	3	0	0	1.00	20	310,740	豐年櫻豆
14	"	6	20	10	12.00	20	3,728,880	豐年撒粕
15	30°C, 38hrs.	6	8	2	5.33	18	1,556,531	火腿腐乳
16	"	9	13	17	13.00	22	4,640,064	紅腐乳(源興號)
17	30°C, 62hrs.	1	2	—	1.50	28	681,408	紅腐乳

第一表に顯著に表はれたるは、濃口醬油諸味の細菌數が多き點なり。之は、特種法に依りたる所謂溜式醸造に近く、大豆多き麵にして、然も汲掛法により攪拌せざるものなれば、大體に於て、細菌の繁殖は多きを豫想せらるゝ點あり。次に、多きは撒粕にして、此れは肥料用として販賣せらるゝものにて、原料の精撰の不充分なること明かなり、従つて細菌數の多きは當然の如く思はる。第二表に於て大體同様の傾向を示したり。殊に撒粕使用の場合、三表共比較的細菌數多き結果を示したるは、大體正常なるものと思はる。更に、普通大豆と櫻豆と比較し前者の多きは、大方後者のベンチン浸出操作に際して細菌の比較的多く死滅したる爲めと想像せらる。

豐年會社製の櫻豆と撒粕との比較を見るに、撒粕は何れの表に於ても多く現はれたるは、櫻豆の製造原料が精選せられたるか、或は他に原因が存在するや否や不明なれど、製品前者優良なるよりすれば雑多なる細菌の附着が多からざるを示すものと思はる。三菱S. B.は肉汁寒天の方には櫻豆よりも多く現はれたるも、他の二表は何れも前二者の何よりも少數なり。ソヤレックスは撒粕より少なきも、他二者よりは多數現はれたり。淡口醬油が細菌の比較的の多きは、原料玄米にして諸味は濃口醬油諸味の近くにありし爲めとも思はる。

更に紅腐乳中の細菌數は稍多き方に屬す。

以上の如く、各原料種類により諸味細菌數に大なる徑庭を見たるは、一に原料の善悪によるは勿論にして、原料處理に當り溶劑使用の如きは細菌に對し殺菌的作用を爲したるものゝ如く一般に該諸味に菌數の少數なるを思はしむ。然れど細菌の多き爲め不良と云ふ意味にあらざれども、過多なる爲め不良になりしか、或は不良菌の多き爲めかの何れかに歸因するものと思はる。

#### 第四章 分離したる細菌と試料の關係

前述の如く、17種の試料より好氣的細菌22種、嫌氣的細菌13種を夫々分離したり。

各細菌の分布状態は次の表の如し。

試料より分離したる好氣性細菌の分布状態

細菌番号	試料番号	試料番号																
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
No. 1 <i>Bacillus mesentericus</i> vulgatus var.	B 1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
No. 2 " " fuscus Flügge var.	B 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
No. 3 <i>Bacterium vulgare</i> Hauser var.	B 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
No. 4 <i>Bacillus megatherioides</i> var.	B 4	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
No. 6 <i>Bacillus saccharobutyricus</i> Klecki var.	B 6	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+
No. 7 <i>Micrococcus candidans</i> var.	B 7	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-
No. 8 <i>Proteus vulgaris</i> Hauser var.	B 8	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+
No. 9 <i>Micrococcus pyogenes</i> α aureus var.	B 9	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
No. 10 " " β citreus "	B 10	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
No. 11 <i>Bacillus mesentericus</i> fuscus Flügge var.	B 11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-
No. 12 <i>Bacterium melanicus</i> soya Matsumoto. & Chao.	B 12	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
No. 13 <i>Micrococcus pyogenes</i> γ albus var.	B 13	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
No. 14 <i>Bacterium fluorescens</i> liquefaciens Flügge var.	B 14	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
No. 15 <i>Bacillus vulgatus</i> Migula var.	B 15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
No. 16 <i>Micrococcus pyogenes</i> α albus "	B 16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
No. 17 <i>Bacillus megatherium</i> var.	B 17	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
No. 18 <i>Micrococcus pyogenes</i> α aureus var.	B 18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-
No. 19 <i>Bacterium Zopfi</i> (Kurth) var.	B 19	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
No. 20 <i>Diplococcus roseus</i> Bumm var. (Henneberg)	B 20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
No. 21 <i>Bacillus megatherioides</i> Henneberg var.	B 21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
No. 22 <i>Micrococcus candidans</i> var.	B 22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-

上表に示されたる如く、各種原料を使用したる諸味中の細菌種類の分布状態を見るに、殆ど異例なく現はれたるは *Bacillus mesentericus vulgatus* にして、次に *Bacillus saccharobutyricus Klecki var.* *Proteus vulgaris* にして、次に多きは *Micrococcus candidans*,

*Micrococcus pyogenes* α aureus なり、又 *Bacillus megatherioides* 系も可なり多く現はる。而し一種の諸味より多きは六種類の細菌類現はれたるもの四種あり。大方生酸菌少なく、寧ろアルカリ細菌とも稱すべきもの多し。

試料より分離したる嫌氣性細菌の分布状態

細菌番号	試料番号	試料番号																
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
No. 1 <i>Bacillus Delbrücki</i> var. I	D 1	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-
No. 2 <i>Bacterium Wortmanni</i> Henneberg var. "	D 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
No. 3 <i>Bacterium Delbrücki</i> var. II	D 3	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
No. 4 <i>Bacterium Wortmanni</i> Henneberg var. II	D 4	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
No. 5 " " " III	D 5	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
No. 6 " " " Leichmanni II Henneberg var.	D 6	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
No. 7 <i>Saccharobacillus Pastorianus</i> var. berolinensis I	D 7	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
No. 8 " " " " II	D 8	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
No. 9 <i>Bakterium lactis acidii</i> var. I	D 9	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
No. 10 <i>Streptococcus lactis</i> II (Bakt. lactis acidii)	D 10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
No. 11 <i>Saccharobacillus Pastorianus</i> var. berolinensis	D 11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
No. 12 <i>Streptococcus lactis acidii</i> var. I	D 12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
No. 13 <i>Streptococcus lactis acidii</i> var. II	D 13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-

上記表に現はれたる如く、嫌氣的培養により分離したる細菌には、生酸菌が大部分にして、其の内 No. 1 *Bacillus Delbrücki* var. I に屬するもの大部分現はれたり。次に *Saccharobacillus var berolinensis* 及 *Streptococcus lactis acidii* 系のもの可なり多し、先づ大體に於て、本所の原料の如何に關せず、前三者が繁殖して生酸すること多きものと思はる。

要するに、生酸菌は蛋白質原料の異なることにより餘り乳酸菌發生の種類に相異を示さざる如く見ゆ。

### 第五章 好氣的細菌の試験方法

分離したる細菌類は、主として馬鈴薯菌類及び乳酸菌類等多きものと豫想して、此等細

菌類の研究方法に則り實驗を進めたり。下記に項を分ちて説明せんと欲す。

### 第一項 形態學的試驗

本試驗は主として、肉汁寒天培養基より採り、菌體の大きさ、形狀、運動性、孢子形成及びグラム染色 (Gram's stain) をも試験したり。

### 第二項 培養試驗

本試験は主として、菌類繁殖上縁の近き培養物質を選定して試験を爲し、既往に於て発見せられたる種類の培養上に於ける性状を、類似培養基に繁殖したる状態、特性より推定して分類上の所屬を決定したり。今下に培養したる培養基種類を列挙すべし。

#### 固態培養

- (1) 麴汁寒天扁平培養 (2) 同斜面斜培養 (3) 同穿刺培養 (4) 肉汁寒天斜面培養 (5) 肉汁膠穿刺培養 (6) 麴汁膠穿刺培養 (7) 馬鈴薯培養

#### 液態培養

- (8) 肉汁培養 (9) 肉汁 (食鹽と Peptone を無添加の肉汁) 培養 (10) 麴汁培養 (11) 牛乳培養 (12) Molke 培養 (13) 醬油と麴汁の等量培養 (14) Henneberg 氏醋酸菌培養液培養 (15) Henneberg 氏乳酸菌培養液 (16) 麥芽菌液培養 (17) 醬油麴液培養 (18) Peptone 水培養

### 第三項 各種炭水化物及びアルコールより生酸試験

本試験は肉汁に各種炭水化物及びアルコールを添加して生酸する状態を試験したるものなり。使用したる炭水化物は (1) Arabinose (2) Laevulose (3) Glucose (4) Galactose (5) Saccharose (6) Maltose (7) Lactose (8) Raffinose (9) Dextrin (10) Soluble starch (11) Inulin (12) Glycerin (13) Mannit (14)  $\alpha$ -methyl-glycosid, 酒精類は (1) Methyl alcohol (2) Ethyl alcohol (3) Propyl alcohol (4) Butyl alcohol (5) Amyl alcohol 等にして炭水化物類は 2% を添加し、小試験管に分注して常法の如く蒸氣殺菌し、酒精類は肉汁を 4 兎小試験管に入れ、蒸氣殺菌 3 回行へたる後、無菌箱に於て殺菌したるピペットにて 2% 夫々の酒精類を添加して各試験管に分離したる細菌を移植し、約 30°C の定温器に入れて 3 日間培養し、發育の模様を記載し、後 30°C に再び四日間保ちて東洋濾紙株式會社の水素イオン濃度試験紙を以て酸度を測定し、標準と比較して水素イオン濃度の 5.4 以下のものを別にピペットにて一兎を採り、蒸溜水にて稀釋し  $\frac{N}{10}$  の苛性ソーダ液にて滴定して滴定酸度も測定したり。

### 第四項 生産物試験

試料中より分離したる細菌類は、大體中和麴汁によく繁殖するを以て、生産物試験に麴汁を使用したり。

中和麴汁 (12°Ball.) のもの 10 兎を 250 兎のフラスコに分配し、細菌を移植し、約

30°C に保ち、毎日 1 回宛振盪し、4 週間後取り出して其の香氣を検査し、繁殖の模様を記載し、其の酸度を東洋濾紙株式會社水素イオン濃度試験紙にて測定し、一規定の苛性加里液にて中和し (苛性加里液の使用量をも記載したり) 蒸溜し、溜出液 60 兎を採り中止し、之を第一蒸溜液となし、更に、殘液に約五滴の濃硫酸を滴下して Congo-red 液にて検査し無色を示するまで蒸氣蒸溜をなし、其溜出液 100 兎を採り、之を第二蒸溜液となし、第二蒸溜の殘液を苛性ソーダにて中和し Litmus 試験紙にて検査して微アルカリ性を呈せしめ、小蒸發皿に傾入して湯煎上にて水分を蒸發し、蒸發中に液を酸性にならざる様注意し、終了したる後 Congo red 液にて検査し、紅色を呈す其濃縮したる液 (約 15 兎位) に濃硫酸 5~7 滴を滴下し、之を 250 兎の三角壺に移入したり。それに 50 兎エーテルを加へて振盪浸出すること 3 回にしてエーテルを Soxhlet 浸出器にて蒸散せしめて回収したり。殘渣に 20 兎位の蒸溜水を添加して第三液となし、夫々下列の如く定性試験を行ひたり。此の際標準として移植せざる麴汁に就ても同時に比較試験したり。

#### 第一蒸溜液試験の部

- (1) Amyl alcohol and methyl-lactide

高橋博士の方法に據りたるものにして、檢液 3~5 兎を試験管に採り、之に 1~2 兎の Anis-aldehyde の酒精溶液 5~10 滴を注加し、よく振盪したる後、極めて注意し、等量の濃硫酸を注加して兩液の接觸面に生ずる呈色を観察し、即ち上層帶褐黄色次層綠色下層黄色を呈す。

メチール、ラクテードは前方法と同様に行ふものにして呈色の相違より判断せらる。即ち試薬の注加後多少時間經過後青色を認めらるるにより檢定せらる。

- (2) Ethyl alcohol

第一法 Davy's method (See: Alfred I. Cohn: Tests and Reagents, 54) 若しも檢液中のエチール、アルコール含量千分の一以下に於ては此の方法を採用し得ず。

第二法 H. Aguthlon's method (参照内山恒三氏譯實驗生物化學 224)

第三法 沃度ホオルム反應方法 (参照實驗生物化學 224-225)

- (3) Aldehyde

Guyon's method (See: Tests and Reagents 110-111)

- (4) Acetone

Legal's method (See: Tests and Reagents 175)

- (5) Methyl alcohol

Cazeneuve Cottons method (See: Tests and Reagents 44)

- (6) Furfurol

檢液に稀釋醋酸を數滴を加へ、更にアニリン 2,3 滴を加ふれば、若し furfurol の存在する時は赤色を呈す。(參照坂口大町共著醸造試験法 30—30頁)

## (7) Acetyl-methyl-carbinol

Fehling's solution を使用する方法 (參照實驗生物化學 232—233)

## (8) Ammonia

Nessler's reagent を使用する方法。

## 第二蒸餾液試験の部

## (1) 蟻酸

## 第一法 重クロム酸の硝酸溶液還元法

檢液 2—3 兪を採り、5% 重クロム酸加里の濃硝酸液 2 兪を加ふれば、直ちに青色を呈するを以て容易に蟻酸の存在を認めらる。

## 第二法 銀鏡出現法

苛性曹達液を以て精密に中和したる蟻酸の溶液に、硝酸銀液を加ふれば、蟻酸銀の白色沈澱を生ず、加熱すれば (湯煎にて1時間以上) 黒變して所謂銀鏡の出現するを見る。

## (2) 醋酸プロピオン酸、酪酸ヴェレリヤン酸及びカプロン酸

アガーロン氏の揮發酸分離檢出法に従つて決定したり。(參照實驗生物化學 81 頁)

## 酪酸銀結晶の檢出法

第二蒸餾液 50 兪を採り、微アルカリ性にして濃縮して約五兪になし 5% 硝酸銀液を加ふれば沈澱を生ず、湯煎にて加温して 20 分間を經過後取出して放冷し、酪酸銀の結晶を出現すや否を鏡檢したり。

## 第三液試験の部

## (1) 乳酸

## 第一法 Uffelmann's reaction

約 1% の石炭酸水溶液 10 兪に 5% 第二鹽化鐵液 3—5 滴を加へ、美紫色を呈す。此液に第三液 2—3 兪を注加後黄色を呈したるは乳酸の存在を示す、然し此反應は乳酸以外の酸で同様の呈色あり。

## 第二法 Hopkins' reaction

試験管中に濃硫酸 2—3 兪を入れて飽和硫酸銅液二滴を入れて振盪、後檢液 2—4 兪を加へ、湯煎にて加熱 15 分間取出、放冷後テオフェン 2—3 滴を加へ、湯煎にて加熱 30 分間後取出して櫻紅色の呈色の如何を見る。

## 第三法 高橋・坂口兩氏反應

檢液 1—2 兪に  $\beta$ -Naphthol 液 3—5 滴を滴加し、靜かに濃硫酸 2 兪位を入れて 3—5 分後其兩液の接觸面の呈色を見る。

## 第四法 乳酸亞鉛の檢出法

檢液 5 兪に泥狀炭酸亞鉛を加へ、飽和せしめ湯煎にて加熱 1 時間にして直ちに濾過し、濾液を蒸發皿中に入れ、自然に水分蒸發し後結晶を採りて鏡檢したり。

## (2) 琥珀酸

Neuberg's method により試験を爲したり。即ち檢液 2 兪位に濃アムモニア水 1 兪を加へ、湯煎にて約 1 兪になるまで蒸發し、其れに 2 瓦の亞鉛粉末を加へ白煙の生ずるまで熱しマッチ棒に鹽酸を浸潤せしめ白煙に接觸し、直ちに紅色に變する時は琥珀酸の存在を知る。

## 第五項 Indol

人工培養液及びペプトン水に別々に 2 週間培養したる後ニトロソ・インドール反應 (Nitrosoindol reaction) によりインドールの有無を決定したり。(參照實驗生物化學 251 頁)

## 使用したる人工培養液

酸性磷酸加里	0.8%	アスパラギン	0.8%
硫酸苦土	0.6%	粗甘蔗糖	5.0%

## 第六項 死滅溫度

中和麴汁を入れたる試験管各 4 本宛採り、此れに 24 時間麴汁に培養したる細菌を各 1 白金耳量宛移植し、38°C に 5 時間保ち、細菌の芽胞を發育せしめ、後 60°C, 70°C, 80°C, 90°C, 別々に 40 分間加熱して後 28°—30°C の定温器に保ち、18—19 時間を經過後定温器より取出して死滅溫度を推測したり。

## 第七項 最適發育溫度

中和麴汁を入れたる試験管を準備し、豫め此れに 24 時間培養したる細菌を移植し、夫々 19°C, 28°C, 35°C, 45°C, 55°C 等に保ちて、其繁殖の状態をも検査して最適溫度の大體の程度を決定したり。

## 第八項 食鹽抵抗

中和麴汁に 5%, 10%, 15% 等の割合に食鹽を添加し、細菌を移植して發育繁殖の模様を検査し、更に醬油麴浸出液に食鹽 15%, 20% を添加して細菌を移植して其抵抗力を試験したり。

## 第六章 好氣的細菌の試験記載

細菌符號 B1. 細菌名稱 *Bacillus mesentericus vulgatus* Flügge var.

(1) 形態學的試驗

培養基: 肉汁寒天				培養基: 肉汁	
形状: 桿菌	連結状態	菌體の大小	Grams. 染色	運動性	胞子
	個個, 2個, 多數連結するものもあり	4~7.5x	+	+	+
		0.6~0.8			
		單位 μ	+ = positive - = negative ? = 不明	+ = 有 - = 無 ? = 不明	+ = 有 - = 無 ? = 不明

(2) 培養試驗(固體培養)

培養基及方法	時間溫度	記	載
肉汁寒天斜面培養 (PH 7.0)	70 時間 28°C	發育良好, 擴布狀, 薄膜, 光澤なし, 表面粉質狀, 不透明, 灰白色, 周圍不規則裂狀。凝縮水清澄, 水面と管壁の間に粉質膜を生ず, 沈澱稍々あり。檢鏡するに, 粗粒桑實狀, 灰色, 周圍不規則裂狀。 (本文末寫眞参照)	
肉汁膠穿刺培養 (PH 7.0)	70 時間 21°C	培養基の 1/10 上から全面溶解し, 中部から管底まで穿刺溝に沿ふて雲狀圓筒形になる。培養 10 日間後見ると培養基の 8/10 溶解し, 表面に僅少な斑點白膜を有し, 管底沈澱あり, 溶解せず。	繁殖状態 70 時間 10 日間 
麴液寒天穿刺培養 (PH 6.0)	47 時間 28°C	發育基表面の中心に發育す, 灰色膜, ヒダあり, 光澤なし。9 日間後見ると全表面に發育す。	
麴液寒天平面培養 (PH 6.0)	45 時間 28°C	發育速, 圓形, 薄膜, 不平滑, 周圍不規則裂狀, 粉質狀, 點質, 灰色。	
麴液膠穿刺培養 (PH 6.0)	69 時間 21°C	表面に粉質狀, 穿刺溝に沿ふてマツツニ漏斗形の如く繁殖す。9 日間後見ると表面の粉質白膜は管壁に沿ふて上昇し, 培養基の 3/10 を溶解す。	
馬鈴薯培養 (寫眞あり)	48 時間 31°C	發育速, アメーバ狀, 皺狀, 丘狀, 缺刻狀。11 日間後見るとヒダ多い, 薄灰色, 光澤なし, 白粉質狀。	
麴液寒天斜面培養 (PH 5.6)	65 時間 30°C	發育良好, 擴布狀, 周圍規則裂狀, 薄膜, 光澤なし, 表面粉質狀, 中部にはヒダ澤山あり。不透明, 暗黄色。	

(2) 培養試驗(液體培養) (B1)

培養基及方法	時間溫度	記	載
肉汁培養 (PH 6.9)	95 時間 30°C	沈澱僅少, 振盪により絲狀を呈す。液は稍々濁, 液面に膜を生ず。	
肉水培養 (PH 6.4)	65 時間 30°C	液面に白粉狀膜を生じ, 液は透明, 沈澱僅少, 振盪により散亂し易い。10 日間後見ると稍々濁, 振つて細砂狀。	
麴液培養 (PH 5.4)	65 時間 30°C	液面に粉狀膜を生ずる, 液は透明, 沈澱僅少, 振盪により絲狀。10 日間後見ると膜澤山, 液は濁, 振盪により膜は沈下す。	
牛乳培養 (PH 6.4)	12 日 30°C	ペプトン化し, 異臭なし, PH 6.9	
乳清培養 (PH 6.6)	78 時間 70°C	液面に白膜あり, 上昇の傾向あり。	
醬油・麴液等量培養 (PH 5.4)	20 日 30°C	生殖せず, 57 日目見るとやはり生殖せざる如し。	
Henneberg 氏醋酸菌培養液培養 (PH 6.6)	46 時間 30°C	液は透明, 液面と管壁の間に輪を生ずる。6 日間後見ると, 液面灰白色薄膜あり。管壁に沿ふて上昇し, ヒダあり。液中に粗沈澱あり。	
Henneberg 氏乳酸菌培養液培養 (PH 6.8)	44 時間 30°C	液面に斑點狀薄灰膜あり。液中並に底部に絮狀 Ppt あり。6 日間後見ると, 膜は管壁に沿ふて上昇す。	
麥芽液培養 (Bal. 13°) (PH 4.6)	6 日間 28°C	沈澱あり。振盪により散亂し易し。	
Peptone 水培養 (PH 7.1)	47 時間 30°C	液面に薄膜あり。液は稍々濁, 沈澱なし。6 日間後見ると膜は管壁に沿ふて上昇す。	
醬油麴液培養 (NaCl 15% 添加) (PH 6.6)	6 日間 28°C	沈澱あり, 振盪により絲狀を呈し, 散亂し易し。13 日間後反應 PH 6.6	

(3) 各種酒精より生酸試驗

酒精種類	繁殖状態 (3 日間の記載, 培養温度 34°C)	培養 7 日間の酸度測定		
		生酸性	絶対酸度	滴定酸度
Methyl alcohol	膜ある, 半光澤, ヒダあり, 液は綺麗, 沈澱微量あり, 膜は破碎にして上昇の傾向あり。	-	8.6	
Ethyl alcohol	液透明, 大ヒダの光澤ある膜を生じ, 上昇の傾向あり。沈澱あり。振盪により破碎しにくし。	-	8.4	
Propyl alcohol	ヒダなく光澤なき粉狀膜を生じ, 上昇の傾向あり。液透明沈澱あり。振盪により膜は破碎しにくし。	-	8.6	
Butyl alcohol	ヒダなき光澤を呈する臘狀膜を生じ, 液は稍々濁沈澱あり。振盪により膜は破碎しにくし。	-	8.2	
Amyl alcohol	光澤なき粉狀薄膜を生じ, 液は稍々濁, 沈澱あり。振盪により膜碎, 雲泥狀になる。	-	8.6	

(3) 各種炭水化物より生酸試験 (B1)

炭水化物	繁殖状態 (3日間の記載) 培養温度 34°C	7日間の酸度測定			9日 前の 呈色 反應
		生酸性	絶対 酸度	滴定 酸度	
Maltose (PH 6.8)	ヒダある粉狀膜を生じ、上昇の傾向あり。液透、明褐色を呈す、沈澱なし、振盪により液は破碎にくし、振盪により膜は破碎にくし。	-	8.4		+
Lactose (PH 6.8)	ヒダある粉狀膜を生じ、液透明、沈澱あり。振盪により液稍々濁、膜破碎にくし。	-	7.8		++
Galactose (PH 6.8)	粉狀薄膜を生じ、上昇の傾向あり。液破碎し易し。	-	7.0		+
Starch (PH 7.0)	光澤なきヒダ澤山ある膜を生じ、液、透明沈澱あり。振盪により極濁濁、膜は破碎にくし。	-	8.2		
Inulin (PH 6.8)	滑膜を生じ、液は稍々濁、沈澱あり。振盪により粘稠雲泥狀になる。	-	8.4		
α-methyl-glycosid (PH 7.0)	ヒダある薄膜を生じ、液透明、沈澱あり。振盪により膜破碎にくし。	-	8.4		(+)
Dextrin (PH 6.8)	粉狀白膜を生じ、液濁、膜破碎易し。	-	8.6		
Arabinose (PH 6.8)	乳灰色「ヒダ」ある薄膜を生じ、上昇の傾向あり。液透明沈澱あり。振つて液濁、膜破碎にくし。	-	8.0		
Glucose (PH 8.8)	薄膜を生じ、液は稍々濁、振つて膜破碎にくし	-	7.6		
Raffinose (PH 6.8)	「ヒダ」を有する粗面皮膜を生じ、上昇の傾向あり。液透明沈澱あり。振つて膜破碎にくし。	-	8.4		
Saccharose (PH 6.9)	極薄膜を生じ、液濁振つて膜破碎し、液は濁濁す。	-	8.0		
Glycerin (PH 6.9)	光澤稍々ある薄膜を生じ、上昇の傾向あり。液透、明、絮狀沈澱少量、振つて膜破碎易い。	-	7.8		
Mannit (PH 6.9)	白色光澤なき薄膜を生じ、上昇の傾向あり。液濁明、沈澱少量、振つて液濁、膜破碎にくし。	-	7.0		
Laevulose (PH 6.8)	光澤ありヒダある皮膜を生じ、上昇の傾向あり。液透明、振つて液稍々濁、膜破碎にくし。	-	8.0		

\* ++ 赤褐色; + 浅赤褐色; (+) 極浅赤色褐色。

(4) 生産物試験

第一蒸留液	Amyl alcohol	Takahashi's method	+
	Ethyl alcohol	H. Aguhlon's method	-
		Iodoform test	-
	Aldehyde	Guyon's method	-
	Acetone	Legal's method	++
	Methyl alcohol	Cazeneuve-Cotton's method	+++
	Furfurol	Aniline test	-
Acetyl-methyl-carbinol	Fehling sol. test.	(+)	
Ammonia	Nessler's reag. test,	-	
第二蒸留液	蟻酸	重クロム酸加里法	+
		銀鏡出現法	+
	酪酸	硫酸酒精法	+
	Propionic acid	Ethyl acetate method	-
硫磺酸	硫酸酒精法	++	
第三液	乳酸	Uffelmann's reaction	-
		Hopkins' reaction	-
		高橋・坂口氏反應	-
	琥珀酸	Neuberg's method	+

(5) Indol 試験

人工培養液	-
Peptone水	-

(6) 死滅温度試験

60°C	+
70°C	+
80°C	+
90°C	-
加熱度 28°C の定温器中に 18 時間培養したり。	

(8) 食鹽抵抗試験

(7) 最適發育溫度試験

19°C	2 *
28°C	3
35°C	5
45°C	3
55°C	1

\* 發育狀態數字

5=發育良好 4=中庸

3=貧弱 2=僅に發育を認む

1=發育せず

香氣の數字

1=良 2=可

3=無 4=惡

發育狀態は5日間後の記載

香氣及 PH は6日間後の記載

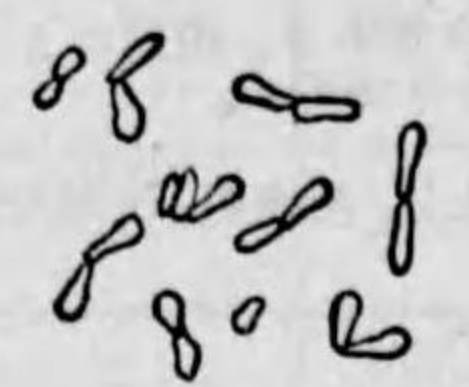
中 和 麵 液	NaCl 5%	發育狀態	5
		香 氣	3
		PH	6.2
	NaCl 10%	發育狀態	4
		香 氣	3
		PH	6.0
NaCl 15%	發育狀態	4	
	香 氣	3	
	PH	6.0	
醬 油 麵 液	NaCl 15%	發育狀態	3
		香 氣	3
		PH	6.6
	NaCl 20%	發育狀態	2
		香 氣	3
		PH	6.4

標 徵

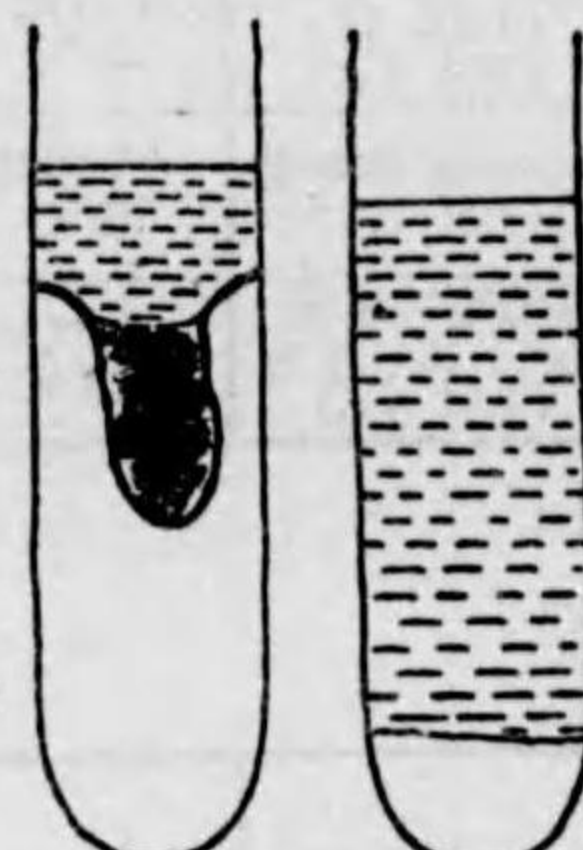
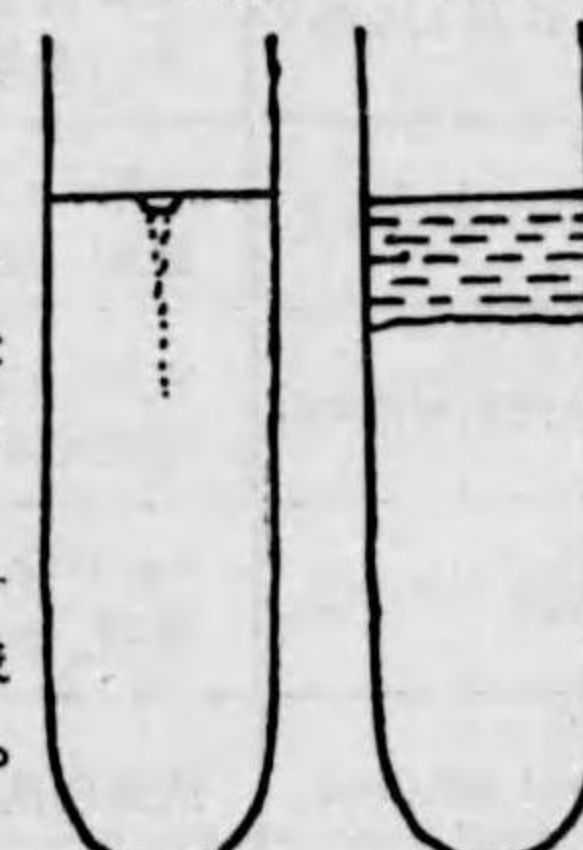
本菌の培養状態を見るに、液體に於ては常に被膜を形成し、且馬鈴薯上に於て一種特徴ある皺襞を持ち、加ふるに、白色粉狀を呈す。菌體は可なり太き桿狀菌にして、孢子形成しグラム氏法により染色し、可なり膠を溶解し、牛乳は凝固せずペプトン化し、液態表面に繁殖したる被膜は破碎し易しく、炭水化物よりの生酸は少なく、何れもアルカリ性に向く傾向あり。其他の性状は著書(醸造試験所報告第104號54頁)報告のB第1號菌バチルス・メセンテリクス・ウルガタスに類似する點あり。

細菌符號 B2 細菌名稱 *Bacillus mesentericus fuscus* Flüge var.

(1) 形態學的試驗

培養基: 肉汁寒天					培養基: 肉汁
形状: 桿菌	連結狀態	菌體の大小	Grams 染色	運動性	胞子
	2個連結するもの多し 單獨のものあり	3~6× 0.8~1.0 單位 μ	+	+	+
			+ = positive - = negative ? = 不明	+ = 有 - = 無 ? = 不明	+ = 有 - = 無 ? = 不明

(2) 培養試驗 (固體培養)

培養基及方法	時間溫度	記 載	繁殖狀態
肉汁寒天 斜面培養 (PH 7.2)	70 時間 28°C	發育良好、擴布狀、薄膜、光澤なし、表面粗澁、又透明、薄灰色、周圍又規則截裂狀。凝縮水清澄、沈澱稍々あり。水面と管壁の間に膜を生ず。檢鏡するにアメーバ狀、缺刻、中部は褐色を呈す。(本文末寫眞参照)	
肉汁膠 穿刺培養 (PH 7.0)	70 時間 21°C	培養基の上部から 2/10 を溶解し、穿刺溝に沿ふて圓の如く雲狀圓筒を爲し、10日間後見ると培養基の 8/10 を溶解し表面に白膜を生ず。	70 時間 10 日間 
麵液寒天 穿刺培養 (PH 6.0)	47 時間 21°C	表面にヒダある灰膜を生じ、光澤なし。(全面)	
麵液寒天 平面培養 (PH 6.0)	45 時間 28°C	發育速、圓形、粉質狀、中高、點數、灰色、周圍又規則截裂狀。	
麵液膠 穿刺培養 (PH 6.0)	69 時間 21°C	穿刺線に沿ふて點々の發育を認め、9日間後見ると表面に粉白膜を生じ、管壁に沿ふて上昇し、培養基の 3/10 を溶解す。	69 時間 9 日間 
馬鈴薯培養 (寫眞あり)	48 時間 31°C	發育速、點綴狀、皺狀、穹隆狀、木耳狀 11 日間後見ると水泡皺狀、薄灰色、白色粉質稍々あり、光澤も稍々あり。	
麵液寒天 斜面培養 (PH 5.6)	65 時間 30°C	發育良好、擴布狀、薄膜、光澤なし、表面灰色細粉質、下部にはヒダ多少あり。又透明、暗灰色、周圍不規則截裂狀。	

(2) 培養試験 (液體培養) (B2)

培養基及方法	時間温度	記 載
肉汁培養 (PH 6.9)	95 時間 30°C	液面に膜を生じ、稍々濁濁沈澱少量あり。振盪するに絲狀を呈す。
肉水培養 (PH 6.4)	65 時間 30°C	液面に白粉狀薄膜を生じ、液透明、沈澱少量あり。振盪により散亂し易し、10日目に輪を生じ、振盪により濁濁す。
麴液培養 (PH 5.4)	65 時間 30°C	液面に粉狀膜を生じ、管壁に沿ふて輪を生じ、液透明、沈澱なし、10日目に沈澱僅少。
牛乳培養 (PH 6.4)	12 日間 30°C	ペプトン化し、異臭なし、PH 6.9
乳清培養 (PH 6.6)	78 時間 30°C	液面に白膜を生じ、上昇の傾向なし。
醬油・麴液等量培養 (PH 5.4)	20 日間 30°C	繁殖せず、57日目にも生せず。
Henneberg 氏醋酸菌培養液培養 (PH 6.6)	46 時間 30°C	液透明。6日目に液稍々濁、沈澱僅少。液面に灰白色薄膜を生じヒダあり。上昇す。
Henneberg 氏乳酸菌培養液培養 (PH 6.8)	44 時間 30°C	液面に斑點狀薄灰膜を生じ、液の中部並に下部に絮狀沈澱あり6日間に膜厚くなりて液は清澄す。
麥芽液培養 (Pal; 13) (PH 4.6)	6 日間 28°C	沈澱あり。振盪するに散亂し易し。
Peptone 水培養 (PH 7.1)	47 時間 30°C	液清澄、液面に點々膜を生じ、沈澱なし、6日目に膜は厚くなり。
醬油麴液培養 (NaCl 15% 添加) (PH 6.6)	6 日間 28°C	沈澱あり。振盪するに砂土狀を呈し散亂し易し。(13 日間後の反應 PH 6.6)

(3) 各種酒精より生酸試験

酒精種類	繁殖状態 (3 日間の記載培養温度 34°C)	培養 70 日間の酸度測定		
		生酸性	絶対酸度	滴定酸度
Methyl alcohol	ヒダある光澤ある膜を生じ、液透明、沈澱微量あり。上昇して、振盪するに膜破砕せず。	-	8.8	
Ethyl alcohol	大形「ヒダ」ある光澤ある黄膜を生じ、上昇して、液透明、沈澱微量、振盪するに膜破砕せず。	-	8.6	
Propyl alcohol	大形「ヒダ」ある光澤なき膜を生じ、上昇して、液透明沈澱あり。振盪するに液濁、膜破砕せず。	-	8.6	
Butyl alcohol	「ヒダ」ある光澤ある潤滑の膜を生じ、上昇して、液透明、沈澱微量、振盪するに膜破砕せず。	-	8.4	
Amyl alcohol	液透明沈澱あり。振盪するに散亂し易し。	-	8.6	

(3) 各種炭水化物より生酸試験 (B2)

炭水化物の名稱	繁殖状態 (3 日間の記載培養温度 34°C)	7 日間の酸度測定			9 日間の呈色反應
		生酸性	絶対酸度	滴定酸度	
Maltose (PH 6.8)	ヒダなき滑性膜を生じ、上昇の傾向あり。液透明褐色を呈し、沈澱なし、振盪により膜破砕せず。	-	8.2		++
Lactose (PH 6.8)	ヒダある滑狀膜を生じ、液透明、沈澱あり。振盪により液は稍々濁る。膜破砕せず。	-	8.4		+
Galactose (PH 6.8)	滑狀薄膜を生じ、上昇の傾向あり。液濁、振盪により膜は破砕し易し。	-	8.0		+
Starch (PH 7.0)	光澤あるヒダなき膜を生じ、液透明沈澱あり。振盪する時膜は破砕せずして液濁濁す。	-	8.0		(+)
Inulin (PH 6.8)	滑膜を生じ、液濁、沈澱あり。振盪により粘稠雲泥狀を呈す。	-	8.4		
α-methyl-glycosid (PH 7.0)	ヒダある薄膜を生じ、液透明沈澱あり。振盪により膜破砕せず。	-	8.4		
Dextrin (PH 1.8)	粉狀膜を生じ、液透明、沈澱なし、振盪により膜破砕し易し。	-	8.6		(+)
Arabinose (PH 6.8)	微黄色ヒダある薄膜を生じ、上昇の傾向あり。液透明、沈澱あり。振盪により液濁、膜破砕せず。	-	8.4		
Glucose (PH 6.8)	薄膜を生じ、液稍々濁濁沈澱あり。振盪により膜破砕す。	-	8.6		(+)
Raffinose (PH 6.8)	ヒダある粗面皮膜を生じ、上昇の傾向あり。液透明沈澱あり。振盪により液濁、膜破砕しにくし。	-	8.6		
Saccharose (PH 6.9)	極薄膜を生じ、液濁、振盪により膜破砕す。	-	7.6		
Glycerin (PH 6.9)	光澤稍々あるヒダある薄膜を生じ、上昇の傾向あり。液透明沈澱少量あり。振盪により膜破砕せず。	-	8.4		
Mannit (PH 6.9)	光澤稍々ある薄膜を生じ、上昇の傾向あり。液透明、振盪により膜破砕せず。	-	7.6		
Laevulose (PH 6.8)	光澤あるヒダある膜を生じ、液透明、上昇の傾向あり。振盪により液濁して膜破砕せず。	-	8.4		

\* ++ 赤褐色; + 淺赤褐色; (+) 極淺赤褐色。



(4) 生産物試験

第一蒸餾液	Amyl alcohol	Takahashi's method	+
	Ethyl alcohol	H. Aguhlon's method	-
		Iodoform test	-
	Aldehyde	Guyon's method	-
	Acetone	Legal's method	++
	Methyl alcohol	Cazeneuve-Cotton's method	+++
	Furfurol	Aniline test	-
	Acetyl-methyl-carbinol	Fehling sol. test	(+)
	Ammonia	Nessler's reag. test	-
第二蒸餾液	蟻酸	重クロム酸加里法	-
		銀鏡出現法	(+)
	醋酸	硫酸酒精法	+
	Propionic acid	Ethyl acetate method	-
第三液	乳酸	Uffelmanns' reaction	-
		Hopkins' reaction	+
		高橋・坂口氏反應	-
	琥珀酸	Neuberg's method	+

(5) Indol 試験

人工培養液	-
Peptone 水	-

(6) 死滅溫度試験

60°C	+
70°C	+
80°C	+
60°C	+

加熱度 28°C の定温器中に 18 時間培養したり

(7) 最適發育溫度試験

19°C	2
28°C	3
35°C	5
45°C	2
55°C	1

\* 發育狀態數字

5=發育良好 4=中庸 3=貧弱

2=僅に發育を認む 1=發育せず

香氣の數字

1=良 2=可 3=無 4=惡

發育狀態は 5 日間後の記載

香氣及び PH は 6 日間後の記載

(8) 食鹽抵抗試験

中和麴液	NaCl 5%	發育狀態	5
		香氣	4 蛋白分解臭
		PH	6.4
	NaCl 10%	發育狀態	4
		香氣	(4)
		PH	6.2
NaCl 15%	發育狀態	4	
	香氣	2	
	PH	6.0	
醬油麴液	NaCl 15%	發育狀態	4
		香氣	3
	NaCl 20%	PH	6.4
		發育狀態	3
NaCl 20%	香氣	3	
	PH	6.4	

標 徴

本菌は第1號菌に比較し短桿狀にして、被膜は第 1 號の如く粉狀を呈すること少なく、破碎し難き性状を有する點は相違す。寒天斜面培養に於ては截裂狀の周邊を現はし、薄灰色にして凝縮水の潤濁せざる點は幾分メセントリクス・フスクス・フリウゲと異なるも、檢鏡に依る聚落の模様周邊は花環狀にして幾分透明、中心部に褐色部あり。其他膠の溶解力馬鈴薯の繁殖狀態、褶裝及網狀になる點はメセントリクス・フリウゲに類似す。故に變種として認むるを適當とす。

細菌符號 B3 細菌名稱 *Proteus vulgare* Hauser var.

(1) 形態學的試驗

培養基: 肉汁寒天				培養基: 肉汁	
形状: 桿菌	連結狀態	菌體の大小	Gram's 染色	運動性	胞子
	多數連結すること多し。個々、2個連結するものもあり。	4~7.5μ	+	-	-
		0.6~0.7			
	單位 α		+ = positive - = negative ? = 不明	+ = 有 - = 無 ? = 不明	+ = 有 - = 無 ? = 不明

(2) 培養試驗 (固體培養)

培養基及方法	時間溫度	記	載
肉汁寒天斜面培養 (PH 7.2)	96 時間 28°C	發育中庸, 散點狀, 丘狀, 光澤あり。平滑, 又透明, 薄灰色, 周圍滑又は不規則截裂狀。凝縮水潤濁, 檢鏡するに細點狀, 薄灰色, 周圍滑。(寫眞あり)	
肉汁膠穿刺培養 (PH 7.0)	70 時間 21°C	圖の如く釘狀の發育を認むるが溶解せず。10日間後見ると漏斗狀をなし, 溶解せず。	繁殖狀態 70 時間 10日間 
麴液寒天穿刺培養 (PH 6.0)	47 時間 28°C	繁殖せず	
麴液寒天平面培養 (PH 6.0)		繁殖せず	
麴液膠穿刺培養 (PH 6.0)	69 時間 21°C	繁殖せず	繁殖狀態 69 時間 9日間 
馬鈴薯培養 (寫眞あり)	48 時間 31°C	發育速, 平滑, 扁平, 均質, 周圍不規則形。11 日間後見ると無色, 光澤あり。	
麴液寒天斜面培養 (PH 5.6)	65 時間 30°C	發育良好, 廣帶狀, 丘狀, 光澤あり。表面平滑, 不透明, 灰色, 周圍半透明, 不規則截裂狀。	

(2) 培養試驗 (液體培養) B3

培養基及方法	時間溫度	記	載
肉汁培養 (PH 6.4)	95 時間 30°C	輪を生じ, 稍々潤濁, 沈澱僅少, 振盪するに帶狀を呈し粘稠なり。	
肉水培養 (PH 6.4)	65 時間 30°C	液は稍々潤濁, 沈澱なし, 10日目に輪を生じ, 沈澱あり。振盪により絲狀を呈し散亂し易し。	
麴液培養 (PH 5.4)	65 時間 30°C	液濁, 沈澱僅少, 振盪するに絲狀を呈す。10 日目に膜と輪を皆生じ, 沈澱多し, 振盪するに雲狀を呈し粘稠す。	
牛乳培養 (PH 5.4)	77 時間 30°C	12日目に半ベプトン化し, 異臭なし, PH 6.6	
乳清培養 (PH 6.6)	78 時間 30°C	繁殖せず。	
醬油・麴液等量培養 (PH 5.4)	20 日間 30°C	繁殖せず, 57日目に繁殖せず	
Henneberg氏醋酸菌培養液 (PH 6.4)	46 時間 30°C	變化なし。6日目に液稍々濁, 液面に點々白灰膜を生じ, 輪を生じ, 沈澱僅少, 振盪するに稍々粘稠す。	
Henneberg氏乳酸菌培養液 (PH 6.8)	44 時間 30°C	液は稍々濁, 沈澱多少あり, 振盪するに絲狀を呈す。6 日目に液濁, 沈澱多し, 振盪するに散亂し易し。	
麥芽液培養 (Bal. 13) (PH 7.1)	6 日間 28°C	沈澱多少あり。振盪するに散亂し易し。	
Peptone 水培養 (PH 7.1)	47 時間 30°C	繁殖せず, 6 日にも繁殖せず。	
醬油麴液培養 (NaCl 15%添加) (PH 6.6)	6 日間 28°C	沈澱多少あり。振盪するに片狀を呈し散亂せず。(13 日間後の反應 PH 6.4)	

(3) 各種酒精より生酸試驗

酒精種類	繁殖狀態 (3 日間の記載) (培養溫度 34°C)	培養 7 日間の酸度測定		
		生酸性	絕對酸度	滴定酸度
Methyl alcohol	少しく潤滑膜を生じ, 液濁, 沈澱多し, 振盪するに液は著しく潤濁し, 粘稠す。	-	8.6	
Ethyl alcohol	少しく膜狀膜を生じ, 液濁, 沈澱あり。振盪するに帶狀を呈し粘稠す。	-	8.6	
Propyl alcohol	半光澤ある膜狀膜を生じ, 液濁, 沈澱あり。振盪するに膜を粘稠塊狀になりて下降し, 液潤濁す。	-	8.4	
Butyl alcohol	少しく膜を生じ, 液中に懸濁物あり。振盪するに粘稠す。	-	8.4	
Amyl alcohol	液稍々濁, 沈澱あり。振盪するに散亂し易し。	-	8.2	

(3) 各種炭水化物より生酸試験

炭水化物 及 名 稱	繁殖状態 (3日間の記載) 培養温度 34°C	7日間の酸度測定			9日間の 呈色 反應
		生酸性	統計 酸度	滴定 酸度	
Maltose (PH 6.8)	滑膜を生じ液は非常に潤濁、振盪により膜破碎せず に沈降す。	-	8.4		
Lactose (PH 6.8)	光澤稍々ある滑膜を生じ、液濁、沈澱あり。振盪 により粘稠雲泥状を呈す。	+	6.4		
Galactose (PH 6.8)	液濁、輪あり。振盪により粘稠す。	+	6.4		
Starch (PH 7.0)	滑膜を生じ、液濁、沈澱あり。振盪により非常に潤 濁す。	+	6.4		
Inulin (PH 6.8)	滑膜を生じ、液濁、沈澱あり。振盪により粘稠雲泥 状を呈す。	-	7.4		
α-methyl- glycosid (PH 7.0)	輪あり、液中帶狀物を有す、振盪により粘稠す。	+	6.6		
Dextrin (PH 6.8)	輪あり、液濁、沈澱多し、振盪により粘稠雲泥状 を呈す。	-	8.8		
Arabinose (PH 6.8)	臘狀膜を生じ、液濁、沈澱あり。振盪により膜な くて液粘稠潤濁を呈す。	-	8.6		
Glucose (PH 6.8)	薄膜を生じ、液稍濁、沈澱あり。振盪により散亂 し易し。	+	5.8		
Raffinose (PH 6.8)	光澤ある臘狀膜を生じ、液稍々濁、沈澱あり、振 盪により粘稠す。	-	8.4		
Saccharose (PH 6.9)	液濁、沈澱あり。振盪により潤濁す。	+	6.0		
Glycerin (PH 6.9)	極薄臘狀膜を生じ、液濁、絮状沈澱あり。振盪によ り潤濁す。	+	6.0		
Mannit (PH 6.9)	臘狀膜を生じ、液稍々濁、沈澱あり。振盪により 散亂し易し。	+	6.6		
Laevulose (PH 6.8)	液濁、沈澱あり。振盪により更に潤濁す。	+	5.6		

\* ++ 赤褐色; + 淺赤褐色; (+) 極淺赤褐色

(4) 生産物試験 (B3)

第一蒸餾液	Amyl alcohol	Takahashi's method	++
	Ethyl alcohol	H. Aguhlon's method	-
		Indoform test	-
	Aldehyde	Guyon's method	+
	Acetone	Legal's method	+
	Methyl alcohol	Cazeneuve-Cotton's method	+++
	Furfurol	Aniline test	(+)
Acetyl-methyl-carbinol	Fehling sol. test	++	
Ammonia	Nessler's reag. test	-	
第二蒸餾液	蟻酸	重クロ=酸加里法	+
		銀鏡出現法	(+)
	醋酸	硫酸酒精法	-
	Propionic acid	Ethyl acetate method	-
酪酸	硫酸酒精法	-	
第三液	乳酸	Uffelmann's reaction	-
		Hopkins' reaction	-
		高橋・坂口氏反應	-
	琥珀酸	Neuberg's method.	(+)

(5) Indol 試験

人工培養液	-
Peptone 水	-

(6) 死滅温度試験

60°C	+
70°C	+
80°C	+
90°C	-

加熱度 28°C の定温器中に 18 時間培養したり。

(8) 食鹽抵抗試験

(7) 最適温度試験

19°C	1
28°C	2
35°C	5
45°C	1
55°C	1

\*發育狀態數字 5=發育良好 4=中庸

3=貧弱 2=僅に發育を認む

1=發育せず

香氣の數字 1=良 2=可 3=無 4=悪

發育狀態は5日間後の記載

香氣及びPHは6日間後の記載

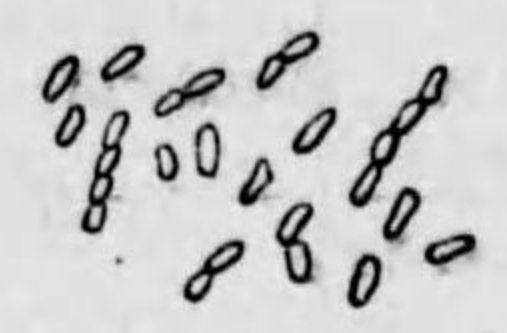
中	NaCl 5%	發育狀態	1
		香氣	3
		PH	6.2
和	NaCl 10%	發育狀態	2
		香氣	3
		PH	6.0
液	NaCl 15%	發育狀態	1
		香氣	3
		PH	6.0
醬	NaCl 15%	發育狀態	3
		香氣	3
		PH	6.4
油	NaCl 20%	發育狀態	2
		香氣	3
		PH	6.4

標 徵

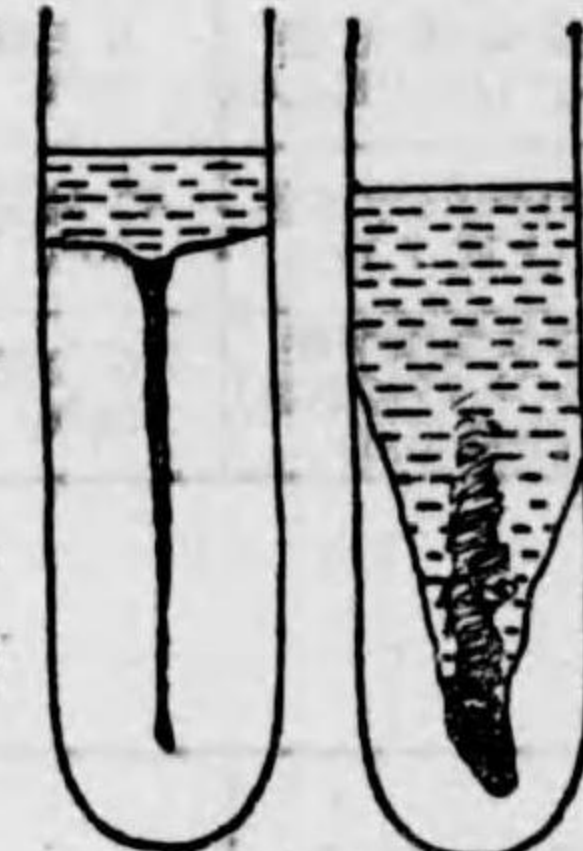
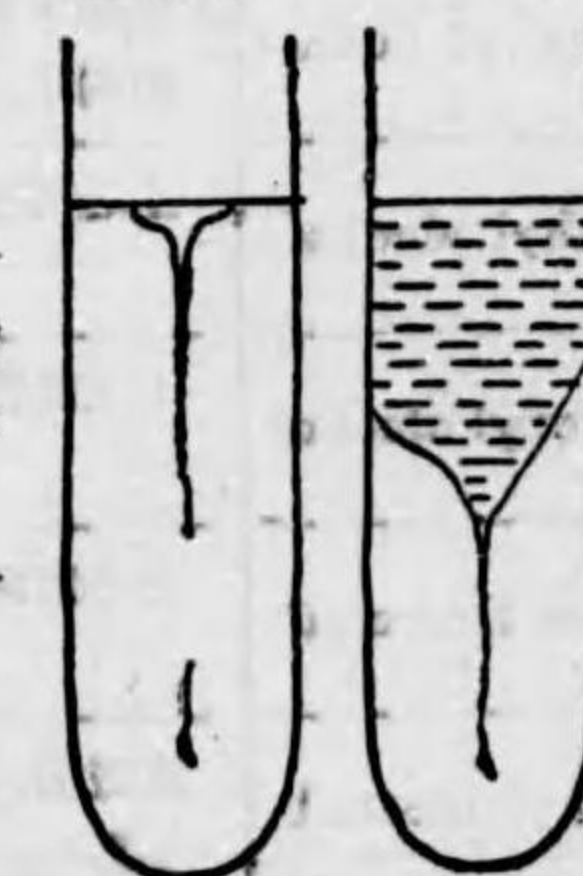
本菌は斜面培養に於て平滑且つ透明なる繁殖を爲し、發育狀態は恰乳酸菌狀を呈し、膠を溶解せず、馬鈴薯培養に於ては平滑、無色、光澤ある繁殖を爲す、本菌の斜面及穿刺培養狀態は *Bacterium murisepticum* (Flügge) migula (Lehmann-Neumann, Bakteriologie I. 33, 11, 391 参照) 類似す、又 *Proteus vulgare* Hauser (同上 I. 31) にも相似する點あり。本菌の眞なる點は運動性不活潑にして乳糖より生酸し、肉汁培養に於て濁濁甚しからざる點、其他膠液に對する狀態は多少プロテウス・ウルガレと異なるも大體に於て類似する性狀を認む。

細菌符號 B4 細菌名稱 *Bacillus megatherioides* var.

(1) 形態學的試驗

培養基: 肉汁寒天					培養基: 肉汁
形狀: 桿菌	連結狀態	菌體の大小	Gram's 染色	運動性	胞子
	單獨, 2個又は多數連結することあり	3~3.4μ 1.0~1.2	-	-	+
		單位 μ	+ = positive - = negative ? = 不明	+ = 有 - = 無 ? = 不明	+ = 有 - = 無 ? = 不明

(2) 培養試驗 (固體培養)

培養基及方法	時間温度	記 載	繁殖狀態
肉汁寒天斜面培養 (PH 7.2)	70 時間 28°C	發育良好, 帶狀, 中高, 濕光, 表面不平滑, 不透明, 灰色, 周圍濁狀。凝縮水清澄, 沈澱あり。檢鏡するに粗粒狀, 灰色, 周圍不規則裂狀。(寫眞あり)	70 時間 10 日間
肉汁膠穿刺培養 (PH 7.0)	70 時間 21°C	培養基の上部から 1/10 を溶解し, 10 日間後見ると袋狀を存し, 袋の上部は透明して下部は絮狀沈澱あり。	
麵液寒天穿刺培養 (PH 6.0)	47 時間 28°C	表面(全面)に乳灰色の膜を生じ, 光澤あり。9日間後見ると變化無し。	
麵液寒天平面培養 (PH 6.0)	45 時間 28°C	發育速。圓形, 平滑, 扁平, 等質, 灰色。	
麵液膠穿刺培養 (PH 6.0)	69 時間 21°C	培養基を溶解せずにコップエ漏斗狀の發育を認む。9日間後見ると面の如く溶解し, 白膜雲泥狀を呈す。	69 時間 9 日間
馬鈴薯培養 (寫眞あり)	48 時間 31°C	發育速, 廣帶狀, 滑, 不平, 丘狀, 均質, 周圍濁狀。11日間後見ると灰色を呈し光澤あり。	
麵液寒天斜面培養 (PH 5.6)	65 時間 30°C	發育良好, 廣帶狀, 丘狀, 光澤あり。表面平滑, 不透明, 乳灰色, 周圍滑。	

(2) 培養試験 (液體培養)

培養基及方法	時間溫度	記 載
肉汁培養 (PH 6.0)	95 時間 30°C	液は稍々濁濁沈澱あり。振盪により雲狀を呈す。
肉水培養 (PH 6.4)	65 時間 30°C	液は透明、沈澱あり。振盪により雲狀を呈し、10 日目に輪を生じ、著しく濁濁す。
麴液培養 (PH 5.4)	65 時間 30°C	液濁、沈澱多し。振盪するに雲狀を呈し粘稠す。
牛乳培養 (PH 6.4)	30°C	12 日間にベプトン化し、多少芳香あり。PH 6.6
乳清培養 (PH 6.6)	78 時間 30°C	微に發育を認む。
醬油・麴液等量培養 (PH 5.4)	20 日間 30°C	繁殖せず、75 日目に?
Henneberg 氏醋酸菌培養液培養 (PH 6.6)	46 時間 30°C	液は稍々濁、絮狀沈澱あり。6 日目に變化なし。
Henneberg 氏乳酸菌培養液培養 (PH 6.8)	44 時間 30°C	液は稍々濁、沈澱多少あり。振盪するに係狀を呈す。6 日目に變化なし。
麥芽液培養 (Bal 13)(PH 4.6)	6 日間 30°C	沈澱あり。振盪するに粘土狀を呈し、散亂し易し。
Peptone水培養 (PH 7.1)	47 時間 30°C	液透明、沈澱あり。振盪するに雲狀を呈し散亂し易し。6 日目に變化なし。
醬油麴液培養 (NaCl 15%添加) (PH 6.6)	6 日間 28°C	沈澱あり。振盪するに粘土狀を呈し散亂し易し。13 日間後の反應 PH 6.4

(3) 各種酒精より生酸試験

酒精種類	繁殖状態 (3 日間の記載培養溫度 34°C)	培養 70 日間の酸度測定		
		生酸性	絶対酸度	滴定酸度
Methyl alcohol	液稍々濁、僅に輪を生じ、沈澱あり。振盪するに濁濁す。	-	6.9	
Ethyl alcohol	上と同斷。	-	6.9	
Propyl alcohol	上と同斷。然し輪を生ぜず。	-	6.9	
Butyl alcohol	上と同斷。	-	6.9	
Amyl alcohol	液透明、沈澱微量、振盪するに細絲狀を呈し散亂し易し。	-	6.9	

(3) 各種炭水化物より生酸試験

炭水化物の名稱	繁殖状態 (3 日間の記載 培養溫度 34°C)	7 日間の酸度測定			9 日間の呈色反應
		生酸性	絶対酸度	滴定酸度	
Maltose (PH 6.8)	液濁、沈澱あり。振盪により濁濁す。	+	5.6		
Lactose (PH 6.8)	液は稍々濁、沈澱あり。振盪により濁濁す。	+	6.0		
Galactose (PH 6.8)	液濁、沈澱あり。振盪により濁濁す。	+	6.0		
Starch (PH 7.0)	液濁、沈澱あり。振盪により濁濁す。	+	5.6		
Inulin (PH 6.8)	液濁、沈澱あり。振盪により濁濁す。	+	6.6		
α-methyl-glycosid (PH 7.0)	液稍々濁、沈澱あり。振盪により濁濁す。	-	7.0		
Dextrin (PH 6.8)	液濁、沈澱あり。振盪により粘稠濁濁す。	+	6.0		
Arabinose (PH 6.8)	液濁、沈澱あり。振盪により濁濁す。	+	5.6		
Glucose (PH 6.8)	液濁、沈澱あり。輪あり、振盪により濁濁す。	+	5.2	0.45 e.c.	
Raffinose (PH 6.8)	液濁、沈澱あり。振盪により濁濁す。	+	5.6		
Saccharose (PH 6.9)	液稍々濁、輪あり。沈澱あり。振盪により濁濁す。	+	5.4	0.50	
Glycerin (PH 6.9)	液稍々濁、沈澱あり。振盪により濁濁す。	+	5.6		
Mannit (PH 6.9)	液透明清、沈澱あり。振盪により濁濁す。	+	5.6		
Laevulose (PH 6.8)	液透明、輪あり、沈澱あり。振盪により濁濁す。	+	5.6		

\* ++ 赤褐色, + 淺赤褐色, (+) 極淺赤褐色。

(4) 生産物試験 (B4)

第一蒸餾液	Amyl alcohol	Takahashi's method	-
	Ethyl alcohol	H. Aguhlon's method	-
		Iodoform test	(+)
	Aldehyde	Guyon's method	-
	Acetone	Legal's method	-
	Metyl alcohol	Cazeneuve-Cottom's method	+
	Furfurol	Aniline test	+
	Acetyl-methyl-carbinol	Fehling sol. test	-
	Ammonia	Nessler's reag. test	?
第二蒸餾液	蟻酸	重クロム酸加里法	-
		銀鏡出現法	+
	醋酸	硫酸酒精法	-
	Propionic acid	Ethyl acetate method	+?
硫酸	硫酸酒精法	+	
第三液	乳酸	Uffelmann's reaction	-
		Hopkins' reaction	-
		高橋・坂口氏反應	-
	琥珀酸	Neuberg's method	-

(5) Indol 試験

人工培養液	+
Peptone 水	+

(6) 死滅溫度試験

60°C	-
70°C	-
80°C	-
90°C	-
加熱度 28°C の定温器中に 18 時間培養したり	

(7) 最適發育溫度試験

15°C	1
28°C	2
35°C	5
45°C	1
55°C	1

(8) 食鹽抵抗試験

中和液	NaCl 5%	發育狀態	5
		香氣	4 什臭應用に適するかも知れない
		PH	5.0
	NaCl 10%	發育狀態	3
		香氣	(4)
		PH	5.4
NaCl 15%	發育狀態	2	
	香氣	3	
	PH	6.0	
醬油	NaCl 15%	發育狀態	3
		香氣	3
		PH	6.4
麵液	NaCl 20%	發育狀態	2
		香氣	3
		PH	6.4


\* 發育狀態數字  
 5=發育良好 4=中庸 3=貧弱  
 2=僅に發育を認む 1=發育せず  
 香氣の數字  
 1=良 2=可 3=無 4=悪  
 發育狀態は五日間後の記載  
 香氣及び PH は六日間後の記載

標 徴

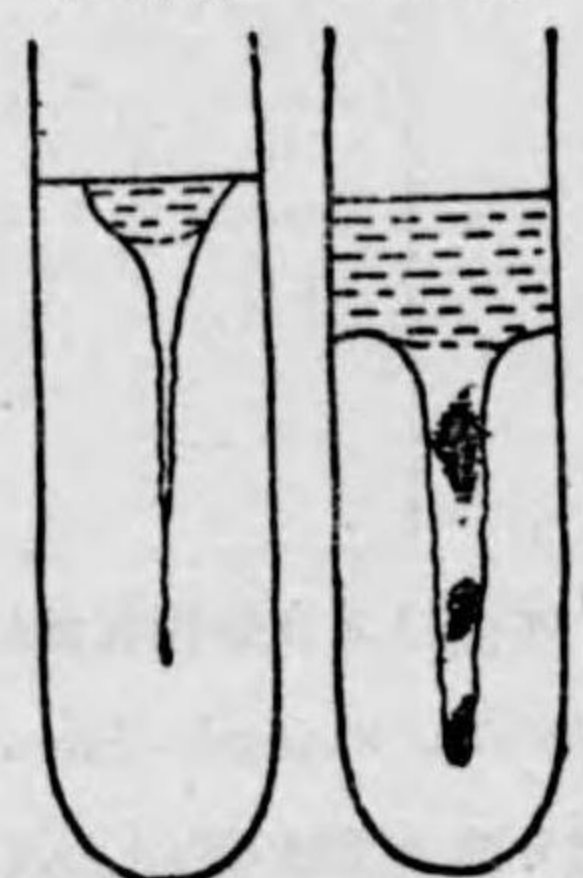
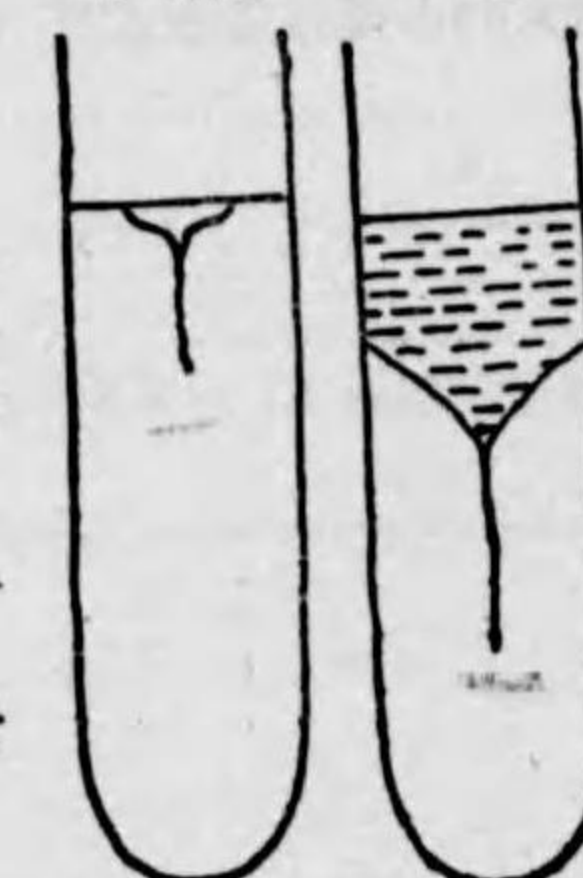
本菌は太き短桿狀菌にして、斜面培養、穿刺培養、其他の繁殖狀態は石丸博士 No. 10 *Bacillus megatherioides* var. *soya*, に類する點なり。唯だ本菌は運動性の不明にして、著者分離 A 第19號の *megatherioides* と類するもアルコール類よりの生酸は異なり、且つインドールの生産せらる點も相違す。石丸氏分離第10號とは生産狀態は相似す。其他は大體大同小異なるを以て *megatherioides* の變種と認むるを妥當とす。

細菌符號 B6 細菌名稱 *Bacillus Saccharobutyricus klecki* var.

(1) 形態學的試驗

培養基：肉汁寒天					培養基：肉汁
形狀：桿菌	連結狀態	菌體の大小	Gram's 染色	運動性	胞子
	2個連體	3~4 $\times$	+	+	+
	4個同	1~1.25			
	多數同	單位 $\mu$			
			+ = positive - = negative ? = 不明	+ = 有 - = 無 ? = 不明	+ = 有 - = 無 ? = 不明

(2) 培養試驗 (固體培養)

培養基及方法	時間溫度	記	載
肉汁寒天斜面培養 (PH 7.2)	70 時間 28°C	發育良好，帶狀，丘狀，鈍光，表面平滑，不透明，灰色，周圍薄狀。凝縮水清澄，沈澱あり。檢鏡するに粗粒狀，灰色，周圍不規則截裂狀。(寫眞あり)	
肉汁膠穿刺培養 (PH 7.0)	70 時間 21°C	圖の如く點線の上を溶解し，10 日間後見ると， $\frac{3}{10}$ を溶解し，圓筒中には溶解せずに絮狀沈澱あり。	繁殖狀態 70 時間 10 日間 
麴液寒天穿刺培養 (PH 6.0)	47 時間 28°C	全表面に乳灰色蜂窠狀の發育を認む。9 日間後見ると，穿刺溝にも絲狀の發育を認む。	
麴液寒天平面培養 (PH 6.0)	45 時間 28°C	發育速，圓形，平滑，丘狀，點質，灰色，周圍滑。	
麴液膠穿刺培養 (PH 6.0)	69 時間 21°C	培養基を溶解せずに圖の如くヌツエ漏斗狀の發育を認む。9 日間後見ると上部を溶解し泥狀を呈す。	繁殖狀態 69 時間 9 日間 
馬鈴薯培養 (寫眞あり)	48 時間 31°C	發育速，滑，不平，丘狀，均質，周圍不規則截裂狀。11 日間後見ると灰色を呈し光澤あり。	
麴液寒天斜面培養 (PH 5.6)	65 時間 30°C	發育良好，擴布狀，丘狀，光澤あり，表面粗皺狀，不透明，乳灰色，周圍滑	

(2) 培養試驗 (液體培養)

培養基及方法	時間溫度	記	載
肉汁培養 (PH 6.9)	95 時間 30°C	液は稍々濁濁沈澱あり。振盪するに粘土狀を呈す。	
肉水培養 (PH 5.4)	65 時間 30°C	液は透明，沈澱あり。振盪により雲狀を呈し，10 日目に輪を生じ，液は濁濁す。	
麴液培養 (PH 6.4)	65 時間 30°C	輪を生じ，液濁，沈澱多し，振盪するに雲狀を呈し粘稠す。	
牛乳培養 (PH 6.4)	30°C	12 日目にペプトン化し，僅に臭く，PH 6.6	
乳清培養 (PH. 6.6)	78 時間 30°C	微に發育を認む。	
醬油・麴液等量培養 (PH 5.4)	20 日間 30°C	繁殖せず，57 日目に繁殖す。	
Henneberg 氏醋酸菌培養液培養 (PH 6.6)	46 時間 30°C	液透明，絮狀沈澱あり。6 日目に沈澱多し，振盪するに濁濁す。	
Henneberg 氏乳酸菌培養液培養 (PH 6.8)	44 時間 30°C	液稍々濁，沈澱多少あり，振盪するに帶狀を呈し粘稠す。6 日目に液清，沈澱多し，振盪するに雲泥狀を呈し粘稠す。	
麥芽液培養 (Bal.13)(PH4.6)	6 日間 28°C	沈澱あり，振盪するに散亂し易し。	
Peptone 水培養 (PH 7.1)	47 時間 30°C	液稍々濁濁沈澱あり，振盪するに雲狀を呈す。6 日目に變化なし。	
醬油麴液培養 (NaCl 15% 添加) (PH 6.6)	6 日間 28°C	沈澱あり，振盪するに粘土狀を呈し散亂し易し。13 日間後の反應 PH 6.6	

(3) 各種酒精より生酸試驗

酒精種類	繁殖狀態 (3 日間の記載培養溫度 34°C)	培養 7 日間の酸度測定		
		生酸性	絕對酸度	滴定酸度
Methyl alcohol	輪を生じ，液稍々濁，沈澱あり，振盪するに雲泥狀を呈す。	-	7.4	
Ethyl alcohol	上と同斷。	-	7.0	
Propyl alcohol	液濁，沈澱あり，振盪するに濁濁す。	-	7.4	
Butyl alcohol	上と同斷。	-	7.0	
Amyl alcohol	液稍々濁，沈澱あり，振盪するに散亂し易し。	-	7.0	

(3) 各種炭水化物より生酸試験

炭水化物及名稱	繁殖状態 (三日間の記載, 培養温度 34°C)	7日間の酸度測定			9日間の 呈色 反應
		生酸性	絶対 酸度	滴定 酸度	
Maltose (PH 6.8)	液濁, 沈澱あり, 振盪により非常に濁濁す。	+	5.8		
Lactose (PH 6.8)	液濁, 沈澱あり, 振盪により濁濁す。	+	6.0		
Galactose (PH 6.8)	液透明, 沈澱あり, 振盪により濁濁す。	+	6.0		
Starch (PH 7.0)	薄膜を生じ, 液濁, 沈澱あり, 振盪により非常に濁濁す。	+	6.0		
Inulin (PH 6.8)	液濁, 絮状沈澱あり, 振盪により濁濁す。	+	6.4		
$\alpha$ -methyl- glycosid (PH 7.0)	液透明, 輪生じ, 沈澱あり, 振盪により濁濁す。	+	7.0		
Dextrin (PH 6.8)	濁濁, 輪生じ, 沈澱多し, 振盪により粘稠, 雲泥状を呈す。	+	5.4	0.45	
Arabinose (PH 6.8)	液濁, 沈澱多し, 振盪により濁濁す。	+	5.4	0.70 c.c.	
Glucose (PH 6.8)	液稍々濁, 輪生じ, 沈澱あり, 振盪により粘稠す。	+	5.6		
Raffinose (PH 6.8)	液濁, 沈澱あり, 振盪により濁濁す。	+	5.8		
Saccharose (PH 6.9)	液濁, 沈澱あり, 振盪により濁濁す。	+	5.4	0.80	
Glycerin (PH 6.9)	液濁沈澱あり, 振盪により絲状になり, 粘稠す。	+	5.4	0.80	
Mannit (PH 6.9)	液稍々濁, 沈澱多し, 振盪により散亂し易し。	+	5.4	0.70	
Laevulose (PH 6.8)	液濁, 沈澱あり, 振盪により濁濁す。	+	5.6		

\* ++ 赤褐色, + 浅赤褐色, (+) 極浅赤褐色。

(4) 生産物試験

第一蒸餾液	Amyl alcohol	Takahashi's method	-
	Ethyl alcohol	H. Aguhlon's method	-
		Iodoform test	(+)
	Aldehyde	Guyon's method	(+)
	Acetone	Legal's method	-
	Methyl alcohol	Cazeneuve-Cotton's method	+
	Furfrol	Aniline test	-
Acetyl-methyl-carbinol	Fehling sol. test	-	
Ammonia	Nessler's reag. test	?	
第二蒸餾液	蟻酸	重クロム酸加里法	-
		銀鏡出現法	-
	醋酸	硫酸酒精法	-
	Propionic acid	Ethyl acetate method	-
酪酸	硫酸酒精法	-	
第三液	乳酸	Uffelmann's reaction	-
		Hopkins' reaction	-
		高橋・坂口氏反應	-
琥珀酸	Neuberg's method	+	

(5) Indol 試験

人工培養液	(+)
Peptone 水	+

(6) 死滅温度試験

60°C	+
70°C	+
80°C	-
90°C	-

加熱後 23°C の定温器中に 18 時間培養したり。



(7) 最適發育溫度試驗

19°C	2
28°C	2
35°C	5
45°C	2
55°C	1

\* 發育狀態數字

5=發育良好 4=中庸 3=貧弱  
2=僅に發育を認む 1=發育せず  
香氣の數字  
1=良 2=可 3=無 4=惡  
發育狀態は5日後の記載  
香氣及び PH は6日間後の記載

(8) 食鹽抵抗試驗

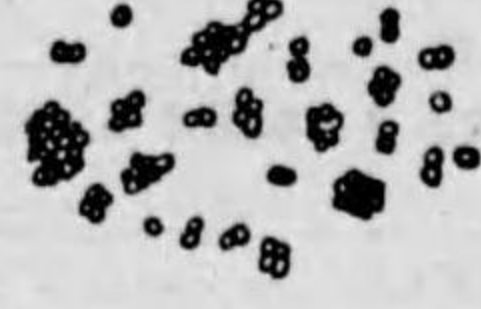
中 和 麴 液	NaCl 5%	發育狀態	5
		香氣	2 甘臭
		PH	5.0
	NaCl 10%	發育狀態	1
		香氣	3
		PH	6.0
NaCl 15%	發育狀態	1	
	香氣	3	
	PH	5.8	
醬 油 麴 液	NaCl 15%	發育狀態	2
		香氣	2
	NaCl 20%	發育狀態	1
		PH	6.4

標 徵

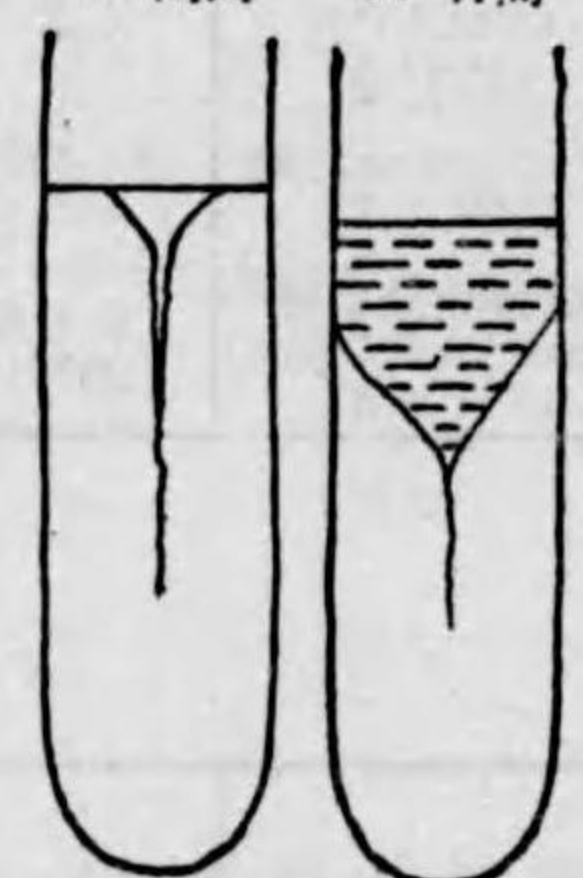
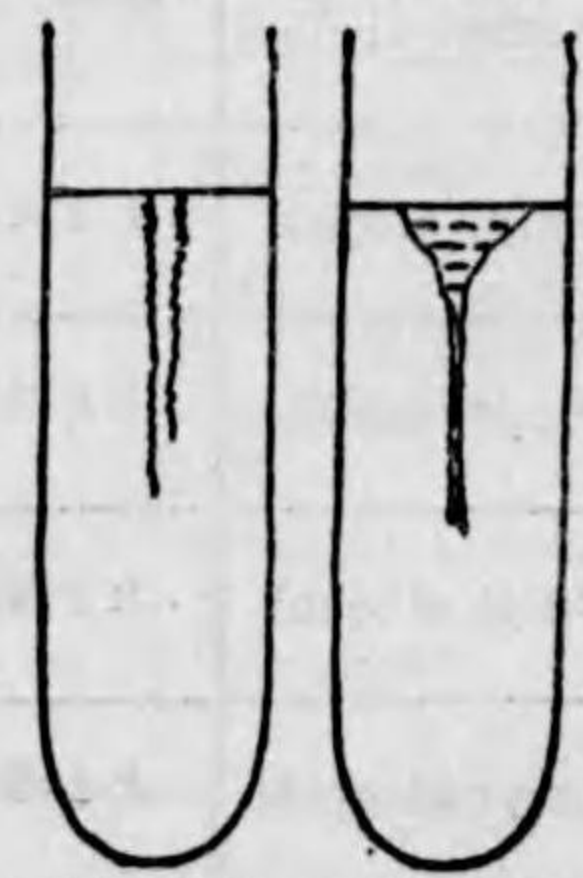
本菌は太き短桿狀菌にして、馬鈴薯菌とは異なり、特徴の褶襞を有せざる粘稠性物の如き繁殖を爲し、試験管壁に輪を形成す。而して各種の炭水化物より生酸するは馬鈴薯菌と相違し、著者分離 G 21號に類似する點あるもグラム氏法の染色により着色せざるは異なり。寧ろ G 2 號に近し、然し乳酸醋酸の生産なき點も G 20 號と相違す。其他は大體に於て G 2 號に極似するを以てパチルス・サッカロプチリクス・クレツキの變種と看做さる。

細菌符號 B7 細菌名稱 *Micrococcus candicans* var.

(1) 形態學的試驗

培養基：肉汁寒天				培養基：肉汁	
形狀：球菌	連結狀態	菌體の大小	Gram's 染色	運動性	胞子
	單獨，2個連結，多數	1~1.25 單位 μ	+	-	+
			+ = positive - = negative ? = 不明	+ = 有 - = 無 ? = 不明	+ = 有 - = 無 ? = 不明

(2) 培養試驗 (固體培養)

培養基及方法	時間溫度	記 載	繁殖狀態
肉汁寒天斜面培養 (PH 7.2)	24 時間 28°C	發育良好，絲狀，中高，光澤あり，表面平滑，不透明，乳灰色周圍灣狀。凝縮水潤濁，沈澱あり。檢鏡するに細粒狀，薄乳黃色，周圍灣狀。(寫眞あり)	
肉汁膠穿刺培養 (PH 7.0)	70 時間 21°C	培養基を溶解せず漏斗狀の發育を認む。10 日間後見ると漏斗狀の上部を溶解して潤濁す。	70 時間 10 日間 
麴液寒天穿刺培養 (PH 6.0)	47 時間 28°C	表面に一小部の發育を認む。穿刺溝に沿ふて發育をして絲狀を呈す。9 日間後見ると變化なし。	
麴液寒天平面培養 (PH 6.0)	45 時間 28°C	發育速，圓形，平滑，丘狀，均質，灰色，周圍滑。	
麴液膠穿刺培養 (PH 6.0)	69 時間 21°C	發育の痕跡を認むるも溶解せず。9 日間後見ると漏斗の上部を溶解す。表面に灰膜を生ず。	69 時間 9 日間 
馬鈴薯培養 (寫眞あり)	48 時間 31°C	發育速，絲狀，丘狀，均質，周圍灣狀 11 日間見ると乳色を呈し光澤あり。	
麴液寒天斜面培養 (PH 5.6)	65 時間 30°C	發育良好，絲狀，中高，光澤あり，表面滑，不平，乳色，不透明，周圍滑。	

(2) 培養試験 (液體培養)

培養基及方法	時間温度	記 載
肉汁培養 (PH 6.9)	95 時間 30°C	液濁, 沈澱あり, 振盪するに粘土状を呈す。
肉汁培養 (PH 6.4)	65 時間 30°C	液は濁, 沈澱少量あり。振盪するに粘土状を呈す。10 日目に液は稍々濁。
麴液培養 (PH 5.4)	65 時間 30°C	散亂薄膜を生じ, 輪をも生じ, 液濁, 沈澱あり, 振盪するに粘土状を呈し散亂し易し。
牛乳培養 (PH 6.4)	30°C	12 日目にベプトン化せず, 異臭なし, PH 6.0
乳清培養 (PH 6.6)	78 時間 30°C	液稍々濁す。
醬油・麴液等量培養 (PH 5.4)	20 日間 30°C	繁殖せず, 57 日目に繁殖せず。
Henneberg氏醋酸菌培養液培養 (PH 6.6)	46 時間 30°C	變化なし, 6 日目に繁殖せず。
Henneberg氏乳酸菌培養液培養 (PH 6.8)	44 時間 30°C	液濁, 沈澱あり, 振盪するに絲状を呈す。6 日目に沈澱多し, 振盪するに絲状を呈し散亂し易し。
麥芽液培養 (Bal.13°) (PH 4.6)	6 日間 28°C	沈澱あり, 振盪するに散亂し易し。13 日目に輪を生ず。
Peptone水培養 (PH 7.1)	47 時間 30°C	液透明, 沈澱多少あり, 振盪するに絲状を呈す。6 日目に變化なし。
醬油麴液培養 (NaCl 15%添加) (PH 6.6)	6 日間 28°C	沈澱あり, 振盪するに粘稠性塊状を呈し, よく振盪すれば散亂す。13 日間後之反應 PH 5.6

(3) 各種酒精より生酸試験

酒精種類	繁殖状態 (3 日間の記載培養温度 34°C)	培養70日間の酸度測定		
		生酸性	絶対酸度	滴定酸度
Methyl alcohol	液濁, 沈澱あり, 振盪するに濁す。	(+)	6.6	
Ethyl alcohol	上と同様。	-	6.8	
Propyl alcohol	上と同様。	(+)	6.6	
Butyl alcohol	上と同様。	(+)	6.6	
Amyl alcohol	上と同様。	(+)	6.6	

(3) 各種炭水化物より生酸試験

炭水化物及名稱	繁殖状態 (三日間の記載, 培養温度 34°C)	7 日間の酸度測定			9 日 前の 呈色 反應
		生酸性	絶対酸度	滴定酸度	
Maltose (PH 6.8)	液濁, 沈澱あり, 振盪により非常に濁す。	+	5.4	0.90 c.c	
Lactose (PH 6.8)	液濁, 沈澱あり, 振盪により濁す。	+	5.4	0.70	
Galactose (PH 6.8)	液濁, 沈澱あり, 振盪により濁す。	+	5.4	1.00	
Starch (PH 7.0)	液濁, 輪生じ, 沈澱あり, 振盪により極濁す。	-	8.4		
Inulin (PH 6.8)	液稍々濁, 沈澱あり, 振盪により雲泥状になつて粘濁す。	-	8.4		
α-methyl-glycosid (PH 7.0)	液濁, 輪あり, 沈澱あり, 振盪により散亂し易し。	-	8.0		
Dextrin (PH 6.8)	液濁, 沈澱あり, 振盪により濁す。	+	5.8		
Arabinose (PH 6.8)	液濁, 沈澱あり, 振盪により濁す。	-	7.4		
Glucose (PH 6.8)	液濁, 輪生じ, 沈澱あり, 振盪に散亂し易し。	+	5.4	0.90	
Raffinose (PH 6.8)	液濁, 沈澱あり, 振盪により著しく濁す。	-	7.4		
Saccharose (PH 6.9)	液濁, 沈澱あり, 振盪により濁す。	+	5.4	0.65	
Glycerin (PH 6.9)	液濁, 輪生じ, 沈澱あり, 振盪により濁す。	+	5.0	0.85	
Mannit (PH 6.9)	液濁, 輪生じ, 沈澱あり, 振盪により散亂し易し。	+	5.4	0.80	
Laevulose (PH 6.8)	液濁, 沈澱あり, 振盪により非常に濁す。	+	5.0	0.95	

\* ++ 赤褐色, + 淺赤褐色, (+) 極淺赤褐色。

(4) 生産物試験

第一蒸餾液	Amyl alcohol	Takahashi's method	+
	Ethyl alcohol	H. Aguhlon's method	-
		Iodoform test	-
	Aldehyde	Guyon's method	(+)
	Acetone	Legal's method	(+)
	Methyl alcohol	Cazeneuve-Cotton's method	+
	Furfurol	Aniline test	-
	Acetyl-methyl-carbinol	Fehling sol. test	(+)
	Ammonia	Nessler's reagent test	+
第二蒸餾液	蟻酸	重クロム酸加里法	-
		銀鏡出現法	-
	醋酸	硫酸酒精法	-
	Propionic acid	Ethyl acetate method	-
酪酸	硫酸酒精法	-	
第三液	乳酸	Uffelmann's reaction	-
		Hopkins' reaction	-
		高橋・坂口氏反應	-
	琥珀酸	Neuberg's method	-

(5) Indol 試験

人工培養液	-
Peptone 水	-

(6) 死滅溫度試験

60°C	-
70°C	-
80°C	-
90°C	-
加熱後 28°C の定温器中に 18 時間培養したり。	

(7) 最適發育溫度試験

19°C	2
28°C	4
35°C	4
45°C	2
55°C	1

(8) 食鹽抵抗試験

中和麴液	NaCl 5%	發育狀態	5
		香氣	2
		PH	4.8
	NaCl 10%	發育狀態	2
		香氣	3
		PH	6.0
NaCl 15%	發育狀態	1	
	香氣	3	
	PH	6.0	
醬油麴液	NaCl 15%	發育狀態	4
		香氣	2 甘臭
		PH	5.6
NaCl 20%	發育狀態	2	
	香氣	2	
	PH	6.2	

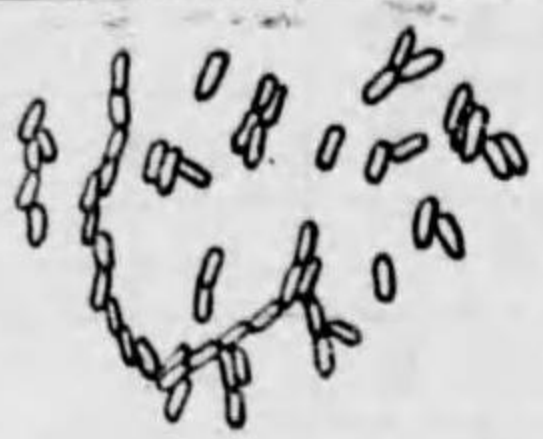
\* 發育狀態數字  
 5=發育色好 4=中庸 3=貧弱  
 2=僅に發育を認む 1=發育せず  
 香氣の數字  
 1=良 2=可 3=無 4=惡  
 發育狀態は5日間後の記載  
 香氣及び PH は6日間後の記載

標 徴


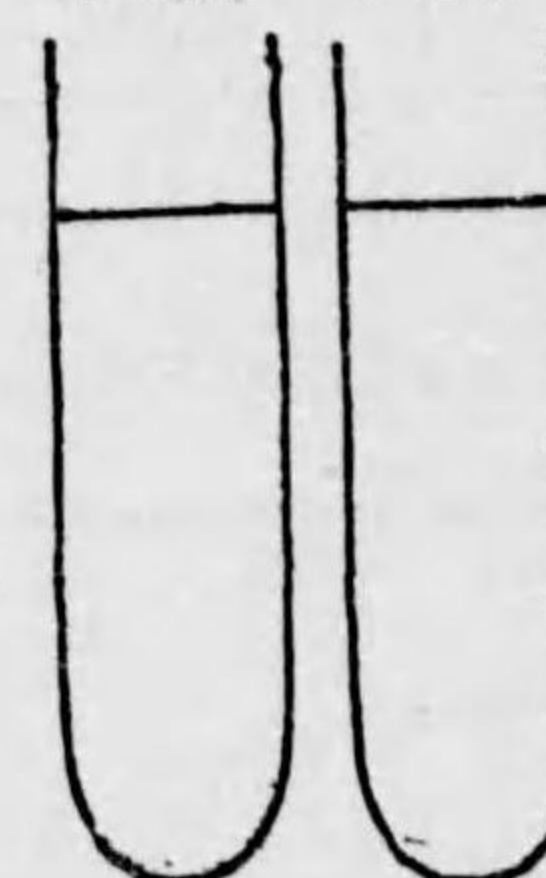
本菌は球菌にして、灰色平滑圓形の丘狀聚落に繁殖し、馬鈴薯に乳白色の隆起したる状態に繁殖す。膠の溶解は微弱にして、液體の培養は液濁濁し白色沈澱となる。各種の炭水化合物より稍生酸力あり。インドールの生産を示さず、其他の性状より觀て *Micrococcus candidans* に類する點多し。

細菌符號 B8 細菌名稱 *Proteus vulgaris* var.

(1) 形態學的試驗

培养基: 肉汁寒天					培养基: 肉汁
形状: 桿菌	連結狀態	菌體の大小	Gram's 染色	運動性	孢子
	個個, 2個連結 多個	4~6× 0.6~0.8	-	+	+
		單位 μ	+ = positive - = negative ? = 不明	+ = 有 - = 無 ? = 不明	+ = 有 - = 無 ? = 不明

(2) 培養試驗 (固體培養)

培养基及方法	時間溫度	記	載
肉汁寒天 斜面培養 (PH 7.2)	70 時間 28°C	發育良好, 絲狀, 丘狀, 光澤あり, 表面平滑, 透明, 無色, 周圍滑, 凝縮水清澄, 沈澱あり。檢鏡する顆粒狀, 無色, 圓滑。 (寫眞あり)	
肉汁膠 穿刺培養 (PH 7.0)	70 時間 21°C	僅に點々の發育を認む。	繁殖狀態 70 時間 10 日間 
麴液寒天 穿刺培養 (PH 6.0)	47 時間 28°C	繁殖せず。	
麴液寒天 平面培養 (PH 6.0)		繁殖せず。	
麴液膠 穿刺培養 (PH 6.0)	69 時間 21°C	繁殖せず。	繁殖狀態 69 時間 9 日間 
馬鈴薯培養 (寫眞あり)	48 時間 31°C	發育速, 廣帶狀, 平滑, 扁平, 均質 周圍濁狀。11 日間後見ると無色, 光澤あり。	
麴液寒天 斜面培養 (PH 5.6)	65 時間 30°C	發育良好, 點綴狀, 中高, 光澤あり, 表面平滑, 透明, 薄灰色。	

(2) 培養試驗 (液體培養)

培养基及方法	時間溫度	記	載
肉汁培養 (PH 6.9)	95 時間 30°C	液は稍々濁濁, 僅少, 振盪するに帶狀を呈し著しく粘稠す。	
肉水培養 (PH 6.4)	65 時間 30°C	液は稍々濁濁, 沈澱なし, 10 日目に輪を生じ, 沈澱あり, 振盪するに絲狀を呈す。	
麴液培養 (PH 5.4)	65 時間 30°C	繁殖せず。	
牛乳培養 (PH 6.4)	30°C	12 日目にペプトン化せず, 異臭なし, PH 6.2	
乳清培養 (PH 6.6)	78 時間 30°C	繁殖せず。	
醬油・麴液 等量培養 (PH 5.4)	20 日間 30°C	57 日目に繁殖せず。	
Henneberg 氏 醋酸菌培養液培養 (PH 6.6)	46 時間 30°C	繁殖せず。60 日目にも繁殖せず。	
Henneberg 氏 乳酸菌培養液培養 (PH 6.8)	44 時間 30°C	上と同斷。	
麥芽液培養 (Bal.13)(PH4.6)	6 日間 28°C	沈澱あり, 振盪にて散亂し易し。	
Peptone水培養 (PH 7.1)	47 時間 30°C	繁殖せず, 6 日目にも繁殖せず。	
醬油麴液培養 (NaCl 15% 添加) (PH 6.6)	6 日間 30°C	沈澱多少あり, 振盪するに絲狀を呈し散亂し易し。(13日間後 之反應 PH 6.6)	

(3) 各種酒精より生酸試驗

酒精種類	繁殖狀態 (三日間の記載培養溫度 34°C)	培養 7 日間の酸度測定		
		生酸性	絕對酸度	滴定酸度
Methyl alcohol	液透明, 沈澱微量, 振盪するに細絲狀を呈す。	(+)	6.4	
Ethyl alcohol	同	(+)	6.6	
Propyl alcohol	同	(+)	6.4	
Butyl alcohol	同	(+)	6.6	
Amyl alcohol	同	(+)	6.6	

## (3) 各種炭水化物より生酸試験

炭水化物及名稱	繁殖状態 (三日間の記載培養温度 34°C)	7日間の酸度測定			9日間の 呈色 反應
		生酸性	絶対 酸度	滴定 酸度	
Maltose (PH 6.8)	液透明, 沈澱微量あり, 振盪により散亂し易し。	+	5.8		
Lactose (PH 6.8)	液は稍々濁, 沈澱微量を有す, 振盪により細絲狀を呈し, 散亂し易し。	+	6.4		
Galactose (PH 6.8)	液透明, 沈澱微量あり, 振盪により散亂し易し。	+	6.0		
Strach (PH 7.0)	液濁, 沈澱あり, 振盪により潤濁す。	+	6.0		
Inulin (PH 6.8)	透明, 沈澱あり, 振盪により散亂し易し。	-	6.8		
$\alpha$ -methyl- glycosid (PH 7.0)	液透明, 沈澱微量あり, 振盪により細絲狀を呈す。	+	6.6		
Dextrin (PH 6.8)	液透明, 沈澱あり, 振盪により細絲狀を呈し, 散亂し易し。	+	6.2		
Arabinose (PH 6.8)	液透明, 沈澱, 微量あり, 振盪により細絲狀を呈す。	+	6.4		
Glucose (PH 6.8)	液稍々濁, 沈澱微量あり, 振盪により細絲狀を呈す。	+	6.2		
Raffinose (PH 6.8)	液稍々濁, 沈澱あり, 振盪により潤濁す。	+	6.2		
Saccharose (PH 6.9)	液透明, 沈澱少量あり, 振盪により細絲狀を呈す。	+	6.2		
Glycerin (PH 6.9)	液稍々濁, 沈澱少量あり, 振盪により散亂し易し。	+	6.6		
Mannit (PH 6.9)	液稍々濁 沈澱少量あり, 振盪により細絲狀を呈す。	+	6.6		
Laevulose (PH 6.8)	液透明, 沈澱少量あり, 振盪により細絲狀を呈す。	+	6.0		

\* ++ 赤褐色, + 浅赤褐色, (+) 極浅赤褐色。

## (4) 生産物試験

第一 蒸 餾 液	Amyl alcohol	Takahashi's method	-
	Ethyl alcohol	H. Aguhlon's method	-
		Iodoform test	(+)
	Aldehyde	Guyon's method	-
	Acetone	Legal's method	-
	Methyl alcohol	Cageneuve-Cotton method	++
	Furfurol	Aniline test	(+)
Acetyl-methyl-carbinol	Fehling sol. test	-	
Ammonia	Nessler's reag. test	+	
第二 蒸 餾 液	蟻 酸	重クロム酸加里法	-
		銀鏡出現法	+
	醋 酸	硫酸酒精法	-
	Propionic acid	Ethyl acetate method	-
酪 酸	硫酸酒精法	-	
第三 液	乳 酸	Uffelmann's reactin	-
		Hopkins' reaction	-
		高橋・坂口氏反應	-
	琥珀酸	Neuberg's method	-

## (5) Indol 試験

人工培培養	-
Peptone 水	-

## (6) 死滅温度試験

60°C	+
70°C	?
80°C	+
90°C	-

加熱後 23°C の定温器中に 18 時間培養したり。

(7) 最適發育溫度試験

19°C	3
28°C	3
35°C	3
45°C	2
55°C	1

\* 發育狀態の數字  
 5=發育良好 4=中庸 3=貧弱  
 2=僅に發育を認む 1=發育せず  
 香氣の數字  
 1=良 2=可 3=無 4=惡  
 發育狀態は5日間後の記載  
 香氣及び PH は6日間後の記載

(8) 食鹽抵抗試験

中 和 麴 液	NaCl 5%	發育狀態	1
		香氣	3
		PH	6.2
	NaCl 10%	發育狀態	1
		香氣	3
		PH	6.0
NaCl 15%	發育狀態	1	
	香氣	3	
	PH	6.0	
醬 油 麴 液	NaCl 15%	發育狀態	2
		香氣	3
		PH	6.4
NaCl 20%	發育狀態	1	
	香氣	3	
	PH	6.4	


標 徵

本菌は細桿狀菌にして聚落は *proteus vulgaris* に極似す。グラム氏染色は脱色する方なり。唯 *vulgaris* と異なり膠を溶解せず、恰も乳酸菌狀の點綴狀の發育を示す。平滑の發育を爲し可なり隆起す。又牛乳は *proteus vulgaris* の如く凝固せず、餘り變化を與へず、インドールは生産せず、炭水化物よりの生酸はイヌリンを除き大部分あり。又アルコール類よりの生酸は微弱ながら認めらる。

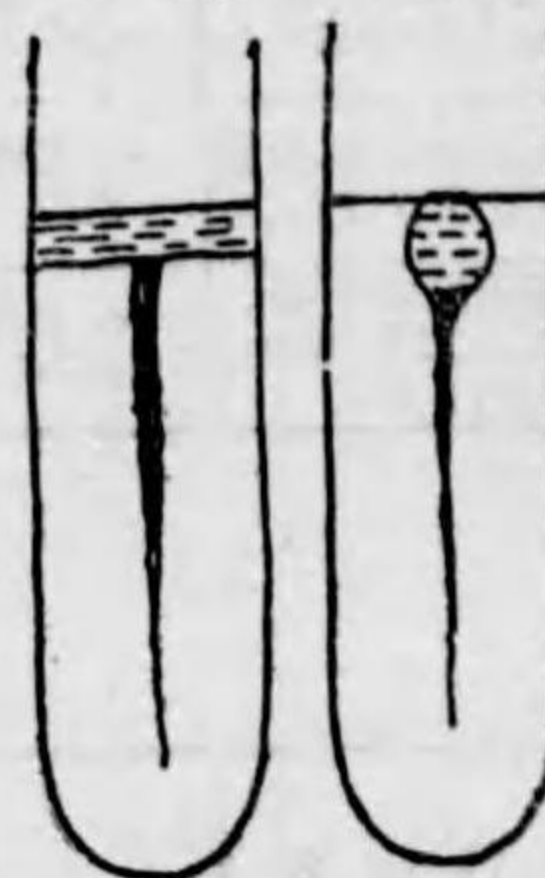

以上の如く多少 *proteus vulgaris* と相違する點あり。大體總合しては同種類と看做すこと得べし。

細菌符號 B9 細菌名稱 *Micrococcus pyogenes* α *aureus* var.

(1) 形態學的試驗

培養基：肉汁寒天				培養基：肉汁	
形狀：球菌	連結狀態	菌體の大小	Gram's 染色	運動性	胞子
	單獨，2個連結，葡萄狀のものあり	0.8~1.0 單位 μ	+	+	+
			+ = positive - = negative ? = 不明	+ = 有 - = 無 ? = 不明	+ = 有 - = 無 ? = 不明

(2) 培養試驗 (固體培養)

培養基及方法	時間溫度	記 載	繁殖狀態
肉汁寒天 斜面培養 (PH 7.2)	70 時間 28°C	發育良好，係狀，中高，光澤あり，表面平滑，不透明，橙黃色周圍滑。凝縮水清澄，沈澱あり。檢鏡するに細點狀，黃色，周圍滑。(本文末寫眞参照)	
肉汁膠 穿刺培養 (PH 7.0)	70 時間 21°C	釘狀の發育を認む。10 日間後見ると表面に橙黃色を呈し，小き圓大根の狀をなし，大根狀の部分を溶解す。	繁殖狀態 70 時間 10 日間 
麴液寒天 穿刺培養 (PH 6.0)	47 時間 28°C	穿刺溝に沿ふて絲狀の發育を認む。9 日間後見ると表面の 3/10 は臘狀にして平滑，光澤あり。	
麴液寒天 平面培養 (PH 6.0)	45 時間 28°C	發育不速，圓形，平滑，丘狀，均質，白灰色，周圍滑。多く處には橙黃色を呈す。	
麴液膠 穿刺培養 (PH 6.0)	69 時間 21°C	釘狀の發育を認む。9 日間後見ると魚體の樣をなし，體狀の上部を溶解して洞濁す，下部に沈澱あり。	繁殖狀態 69 時間 9 時間 
馬鈴薯培養 (寫眞あり)	48 時間 31°C	發育速，帶狀，平滑，丘狀，均質，周圍溝狀。11 日間後見ると橙黃色を呈し光澤あり。	
麴液寒天 斜面培養 (PH 5.6)	65 時間 30°C	發育良好，帶狀，中高，光澤あり。表面平滑，又透明，灰桃色，中部橙黃色稍々あり。	

(2) 培養試験 (液體培養)

培養基及方法	時間温度	記 載
肉汁培養 (PH 6.9)	95 時間 30°C	液濁, 沈澱あり。振盪するに絲狀を呈し, 散亂し易し。
肉水培養 (PH 6.4)	65 時間 30°C	液は稍々潤濁, 沈澱少量あり。振盪するに絲狀を呈し, 10 日目に沈澱多し。
麴液培養 (PH 5.4)	65 時間 30°C	液濁, 沈澱僅少, 振盪するに絲狀を呈し, 10 日目に著しく潤濁し, 輪を生じ, 沈澱多し。
牛乳培養 (PH 6.4)	30°C	12 日目に半ペプトン化し, 多少異臭あり。PH 7.1
乳清培養 (PH 6.6)	78 時間 30°C	液稍々濁, 沈澱あり。振盪するに絲狀を呈し粘稠す。
醬油・麴液等量培養 (PH 5.4)	20 日間 30°C	繁殖せず, 57 日目に繁殖せず。
Henneberg 氏醋酸菌培養液培養 (PH 6.6)	46 時間 30°C	液稍々濁, 橙黄色沈澱あり。振盪するに絲狀を呈す。6 日目に變化なし。
Henneberg 氏乳酸菌培養液培養 (PH 6.8)	44 時間 30°C	上と同斷
麥芽液培養 (Bal.13)(PH 4.6)	6 日間 28°C	沈澱あり, 振盪するに散亂し易し。
Peptone 水培養 (PH 7.1)	47 時間 30°C	液濁, 橙黄色沈澱あり。振盪するに絲狀を呈し粘稠す。6 日目に變化なし。
醬油麴液培養 (NaCl 15% 添加) (PH 6.6)	6 日間 28°C	沈澱あり。振盪するに絲狀を呈し粘稠す。13 日間後之反應 PH 6.6

(3) 各種炭水化物より生酸試験

酒精種類	繁殖状態 (三日間の記載培養温度 34°C)	培養7日間の酸度測定		
		生酸性	絶対酸度	滴定酸度
Methyl alcohol	液濁, 橙黄色沈澱あり, 振盪にする潤濁す。	-	7.0	
Ethyl alcohol	同	-	7.0	
Propyl alcohol	同	-	7.0	
Butyl alcohol	同	-	6.8	
Amyl alcohol	同 振盪するに散亂し易し。	-	6.8	

(3) 各種炭水化物より生酸試験

炭水化物及名稱	繁殖状態 (三日間の記載培養温度 34°C)	7日間の酸度測定			9日間の呈色反應
		生酸性	絶対酸度	滴定酸度	
Maltose (PH 6.8)	液は稍々濁, 沈澱あり。振盪により潤濁す。	-	7.0		
Lactose (PH 6.8)	液濁, 沈澱あり。振盪により潤濁す。	-	7.4		
Galactose (PH 6.8)	液透明, 沈澱あり。振盪により潤濁す。	-	7.0		
Starch (PH 7.0)	液濁, 沈澱あり。振盪により潤濁す。	-	7.8		
Inulin (PH 6.8)	液透明, 沈澱あり。振盪により雲泥狀を呈す。	-	7.4		
α-methyl-glycosid (PH 7.0)	液稍々濁, 沈澱あり。振盪により絲狀を呈し散亂し易し。	-	7.8		
Dextrin (PH 6.8)	液濁, 沈澱あり。振盪により潤濁す。	-	7.6		
Arabinose (PH 6.8)	液濁, 沈澱あり。振盪により潤濁す。	-	7.4		
Glucose (PH 6.8)	液濁, 黄色沈澱あり。振盪により粘稠して帶狀を呈す。	-	7.4		
Raffinose (PH 6.8)	液稍々濁, 沈澱あり。振盪により潤濁す。	-	7.4		
Saccharose (PH 6.9)	液濁, 沈澱あり。振盪により散亂し易し。	-	7.8		
Glycerin (PH 6.9)	液稍々濁, 沈澱少量あり。振盪により散亂し易し。	-	7.6		
Mannit (PH 6.9)	液濁, 黄色沈澱あり。振盪により散亂し易し。	-	8.2		
Laevulose (PH 6.8)	液濁, 沈澱あり。振盪により粘稠して帶狀を呈す。	-	7.0		

\* ++ 赤褐色, + 淺赤褐色, (+) 極淺赤褐色。

(4) 生産物試験

第一蒸餾液	Amyl alcohol	Takahashi's method	(+)
	Ethyl alcohol	H. Aguhlon's method	(+)
		Iodoform test	(+)
	Aldehyde	Guyon's method	-
	Acetone	Legal's method	-
	Methyl alcohol	Cazeneuve-Cotton's method	-
	Furfural	Aniline test	-
	Acetyl-methyl-carbinol	Fehling sol. test	-
Ammonia	Nessler's reag. test	+	
第二蒸餾液	蟻酸	重クロム酸加里法	-
		銀鏡出現法	+
	醋酸	硫酸酒精法	-
	Propionic acid	Ethyl acetate method	-
第三液	乳酸	Uffelmann's react	-
		Hopkins' reaction	-
		高橋・坂口氏反應	-
	琥珀酸	Neuberg's method	-

(5) Indol 試験

人工培養液	-
Peptone 水	-

(6) 死滅溫度試験

60°C	-
70°C	-
80°C	-
90°C	-
加熱後 28°C の定温器中に 18 時間培養したり。	

(7) 最適發育溫度試験

19°C	2
28°C	2
35°C	3
45°C	2
55°C	1

\* 發育の狀態數字  
 5=發育良好 4=中庸 3=貧弱  
 2=僅に發育を認む 1=發育せず  
 香氣の數字  
 1=良 2=可 3=無 4=惡  
 發育狀態は 5 日間後の記載  
 香氣及び PH は 6 日間後の記載

(8) 食鹽抵抗試験

中和液	NaCl 5%	發育狀態	5
		香氣	4
		PH	6.6
	NaCl 10%	發育狀態	4
		香氣	3
		PH	6.4
NaCl 15%	發育狀態	4	
	香氣	3	
	PH	6.4	
醬油	NaCl 15%	發育狀態	3
		香氣	3
		PH	6.6
麵液	NaCl 20%	發育狀態	3
		香氣	3
		PH	6.4


標 徴

本菌は、球菌にして肉汁斜面培養に於て橙黄色、光澤ある、滑なる繁殖を爲し、膠の溶解状態は袋狀の漏斗形を呈し、穿刺培養の表面には蠟狀平滑なる繁殖を爲す、其他の點は *Mirococcus pyogenes aureus* に極似す。尙、石丸博士の No. 12, *Bacterium citreus var. soya β* に似たる點あるも、本菌は球菌にしてグラム氏法により染色し、胞子の形成ある點は明瞭に相違す、本菌は大體に於て培養後の酸度はアルカリ性を呈する外、食酸に抵抗ある點よりすれば幾分諸味中に繁殖することと想像せらる。


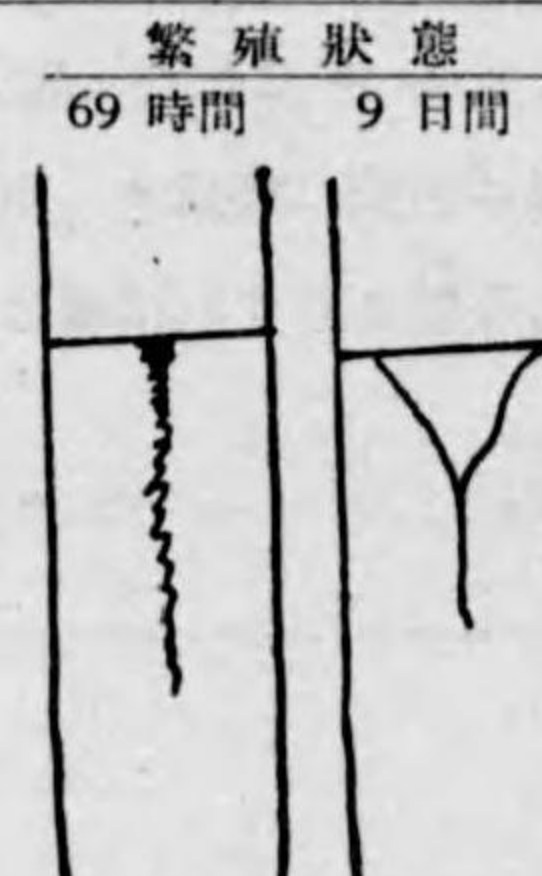
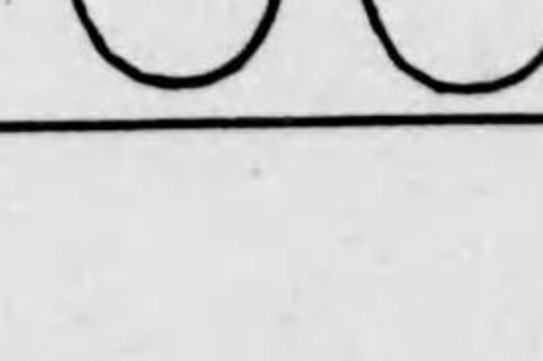


細菌符號 B10 細菌名稱 *Micrococcus pyogenes*  $\beta$  citreus

(1) 形態學的試驗

培養基: 肉汁寒天				培養基: 肉汁	
形狀: 球菌	連結狀態	菌體の大小	Gram's 染色	運動性	腔子
	單獨, 2個連結 多數連結	1.2~2.5	+	-	+
	單位 $\mu$		+ = positive - = negative ? = 不明	+ 有 - 無 ? 不明	+ = 有 - = 無 ? = 不明

(2) 培養試驗 (固體培養)

培養基及方法	時間溫度	記	載
肉汁寒天 斜面培養 (PH 7.2)	70 時間 28°C	發育良好, 絲狀, 丘狀, 光澤あり。表面平滑, 不透明, 鮮黄色 周圍滑。凝縮水清澄, 沈澱あり。檢鏡するに細點狀, 黄色, 周 圍滑。(寫眞あり)	
肉汁膠 穿刺培養 (PH 7.0)	70 時間 21°C	釘狀の發育を認む, 溶解せず。10 日 間後見ると漏斗狀の上部を溶解して, 下部は砂礫狀あり。	繁殖狀態 70 時間 10 日間 
麴液寒天 穿刺培養 (PH 6.0)	45 時間 28°C	穿刺溝に沿ふて絲狀を呈し, 9 日間後 見ると表面の $\frac{8}{10}$ 光澤ある鮮黄色圓形 を呈し, 放射狀紋もあり。	
麴液寒天 平面培養 (PH 6.0)	47 時間 28°C	發育速, 點狀, 平滑, 丘狀, 等質, 灰 色, 周圍滑。	
麴液膠 穿刺培養 (PH 6.0)	69 時間 21°C	穿刺線に沿ふて根狀の發育を認む。9 日間後見ると歪漏斗狀をなし, 表面に 白膜を生ず。	繁殖狀態 69 時間 9 日間 
馬鈴薯培養 (寫眞あり)	48 時間 31°C	發育速, 帶狀, 平滑, 丘狀, 均一, 周 圍滑。11 日間後見ると鮮黄色を呈 し光澤なし。	
麴液寒天 斜面培養 (PH 5.6)	65 時間 30°C	發育良好, 帶狀, 中高, 脂肪樣光澤あ り。表面條痕稍々あり。不透明, 黄色 周圍滑。	

(3) 培養試驗 (液態培養)

培養基及方法	時間溫度	記	載
肉汁培養 (PH 6.9)	95 時間 30°C	液は稍々濁濁, 沈澱あり。振盪するに粘土狀を呈す。	
肉水培養 (PH 6.4)	65 時間 30°C	液稍々濁, 輪を生じ, 黄色沈澱あり。振盪するに濁濁す。10日 に變化なし。	
麴液培養 (PH 5.4)	65 時間 30°C	液は濁濁せず, 沈澱僅少, 振盪するに絲狀を呈す。	
牛乳培養 (PH 6.4)	30°C	12 日目にペプトン化せず, 異臭なし, PH 6.2	
乳清培養 (PH 6.6)	78 時間 30°C	液稍々濁濁, 沈澱あり。振盪するに絲狀を呈し, 粘稠なり。	
醬油・麴液 等量培養 (PH 5.4)	20 日間 30°C	繁殖せず, 57 日目に繁殖す。	
Henneberg 氏 醋酸菌培養液培養 (PH 6.6)	46 時間 30°C	液は透明, 鮮黄色沈澱あり。振盪するに絲狀を呈す。6 日目に 變化なし。	
Henneberg 氏 乳酸菌培養液培養 (PH 6.8)	44 時間 30°C	液濁, 鮮黄色沈澱あり。振盪するに絲狀を呈す。6 日目に變化 なし。	
麥芽液培養 (Bal.13)(PH 4.6)	6 日間 28°C	沈澱あり。振盪するに絲狀を呈し散亂し易し。	
Peptone 水培養 (PH 7.1)	47 時間 30°C	乳酸菌培養液の記載と同。同。	
醬油麴液培養 (NaCl 15% 添加) (PH 6.6)	6 日間 28°C	沈澱あり。振盪するに絲狀を呈し粘稠なり。13 日間後之反應 PH 6.6	

(4) 各種酒精より生酸試驗

酒精種類	繁殖狀態 (三日間の記載培養溫度 34°C)	培養 7 日間の酸度測定		
		生酸性	絕對酸度	滴定酸度
Methyl alcohol	液濁, 鮮黄色沈澱あり。振盪するに濁濁す。	-	7.0	
Ethyl alcohol	同	-	7.0	
Propyl alcohol	同	(+)	6.6	
Butyl alcohol	同	-	7.0	
Amyl alcohol	液濁, 鮮黄色沈澱あり。振盪するに帶狀を呈し粘 稠なり。	-	7.0	

(3) 各種炭水化物より生酸試験 (B10)

炭水化物 及 名 稱	繁 殖 状 態 (3日間の記載 培養温度34°C)	7日間の酸度測定			9日 前 の 色 反 應
		生酸性	絶対 酸度	滴定 酸度	
Maltose (PH 6.8)	液濁, 沈澱あり。振盪により濁濁ず。	+	6.4		
Lactose (PH 6.8)	液濁, 沈澱あり。振盪により濁濁す。	-	7.8		
Galactose (PH 6.8)	上と同断。	-	7.2		
Starch (PH 7.0)	液稍々濁, 鮮黄色沈澱あり。振盪により濁濁す。	-	7.8		
Inulin (PH 6.8)	液透明, 沈澱あり。振盪により雲泥状を呈す。	-	8.2		
α-methyl- glycosid (PH 7.0)	透稍々濁, 鮮黄色沈澱あり, 振盪により粘稠にて濁濁す。	-	7.8		
Dextrin (PH 6.8)	液濁輪あり, 黄沈振あり, 振盪により濁濁す。	+	6.4		
Arabinose (PH 6.8)	液透明, 輪を生じ, 鮮黄色沈澱あり, 振盪により粘稠せず濁濁す。	-	7.6		
Glucose (PH 6.8)	液濁, 鮮黄色沈澱あり, 振盪により粘稠して濁濁す。	+	6.4		
Raffinose (PH 6.8)	液稍々濁, 僅に膜を生じ, 沈澱あり。振盪により濁濁す。	-	7.6		
Saccharose (PH 6.9)	液濁, 鮮黄色沈澱あり, 振盪により粘稠して帯状を呈す。	+	6.4		
Glycerin (PH 6.8)	液稍々濁, 黄色沈澱あり, 振盪により粘稠して帯状を呈す。	-	7.6		
Mannit (PH 6.9)	液濁, 輪を生じ, 鮮黄色沈澱あり。振盪により粘稠して帯状を呈す。	-	8.2		
Laevulose (PH 6.8)	液濁, 沈澱あり, 振盪により粘稠して帯特を呈す。	+	6.2		

\* ++ 赤褐色; + 淺赤褐色 - (+) 極淺赤褐色

(4) 生産物試験 (B 10)

第一蒸餾液	Amyl alcohol	Takahashi's method	(+)
	Ethyl alcohol	H. Aguhlon's method	-
		Iodoform test	-
	Aldehyde	Guyon's method	+
	Acetone	Legal's method	-
	Methyl alcohol	Cozeneuve-Cotton's method	+
	Furfurol	Aniline test	-
Acetyl-methyl-carbinol	Fehling sol. test	-	
Ammonia	Nessler's reag. test	+	
第二蒸餾液	蟻 酸	重クロム酸加里法	-
		銀鏡出現法	-
	醋 酸	硫酸酒精法	+
	Propionic acid	Ethyl acetate method	-
酪 酸	硫酸酒精法	-	
第三液	乳 酸	Uffelmann's reaction	-
		Hopkins' reaction	-
		高橋・坂口氏反應	-
	琥珀酸	Neuberg's method	-

(5) Indol 試験

人工培養液	-
Peptone 水	?

(6) 死滅温度試験

60°C	-
70°C	-
80°C	-
90°C	-

加熱度 28°C の定温器中に 18 時間培養したり。

(7) 最適發育溫度試驗

19°C	2
28°C	3
35°C	3
45°C	2
55°C	1

\* 發育狀態數字

5=發育良好 4=中庸 3=貧弱  
2=僅に發育を認む 1=發育せず  
香氣の數字  
1=良 2=可 3=無 4=惡  
發育狀態は 5 日間の後の記載  
香氣及び PH は 6 日間後の記載

(8) 食鹽抵抗試驗標徴


中 和 麴 液	NaCl 5%	發育狀態	5
		香氣	3 脂肪臭
		PH	6.4
	NaCl 10%	發育狀態	5
		香氣	3
		PH	6.2
NaCl 15%	發育狀態	5	
	香氣	3 脂肪臭	
	PH	6.0	
醬 油 麴 液	NaCl 15%	發育狀態	4
		香氣	2
		PH	6.4
	NaCl 20%	發育狀態	3
		香氣	3
		PH	6.4

標 徴

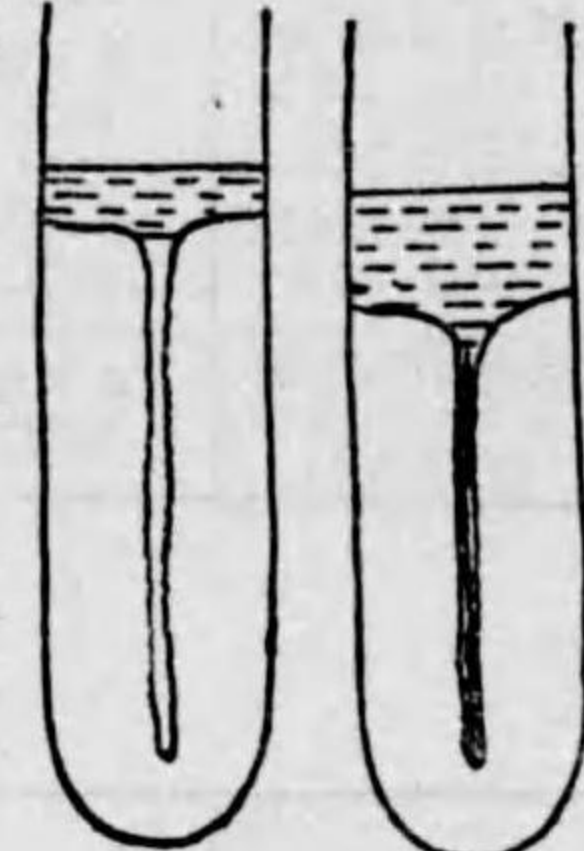
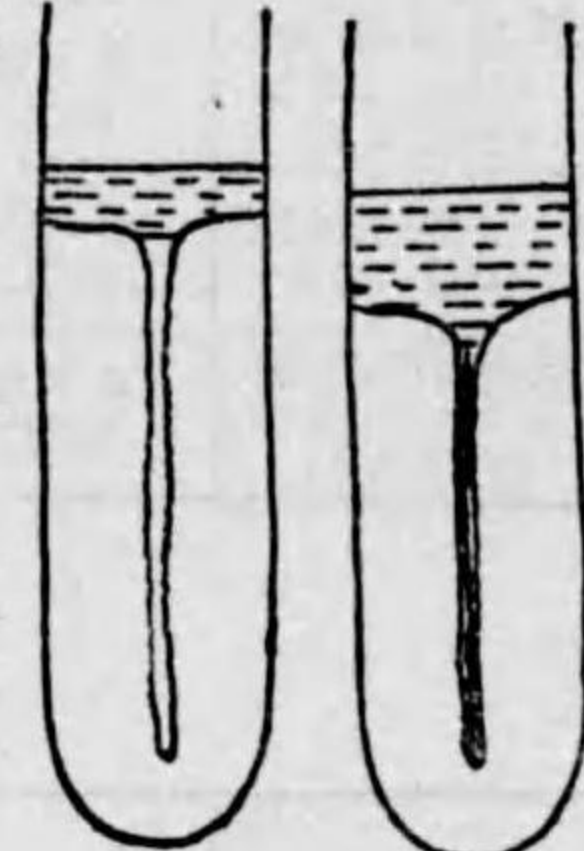
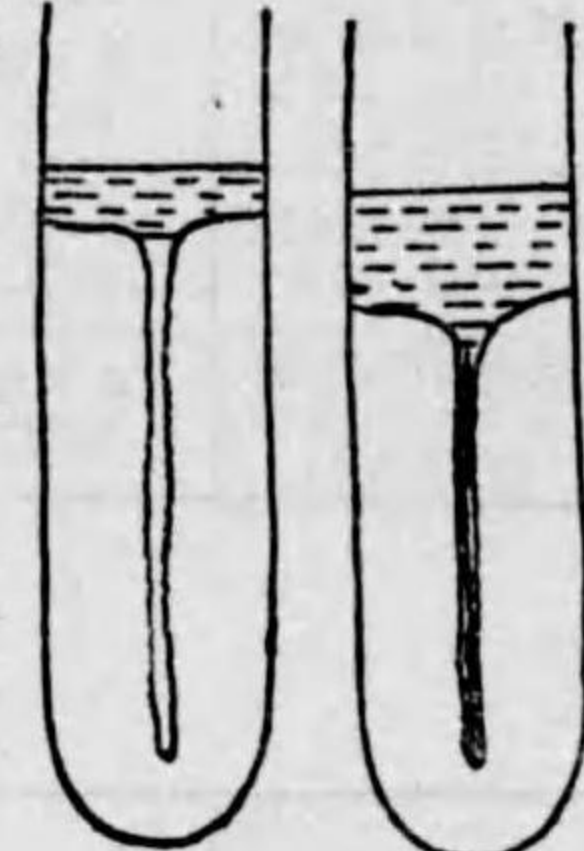



本菌は可なり大なる球菌にして斜面培養の色相より見れば *Sarcina aurantiaca* に類似する點あり。又 *Micrococcus pyogenes β citreus* にも類す、聚落狀態は平滑丘狀、等質、周圍は滑にして、膠は漏斗狀に少量溶解す。馬鈴薯上の繁殖は帶狀丘狀にして鮮黄色となり肉汁には、最初濁濁するも漸次に沈澱となり。一種の粘性塊狀を呈す。其他性狀より見る時は、*M. pyogenes β citreus* に極似する點多し。

細菌符號 B 11 細菌名稱 *Bacillus mesentericus fuscus* Flüggé var.

(1) 形態學的試驗

培養基: 肉汁寒天					培養基: 肉汁
形狀: 短桿菌	連結狀態	菌體の大小	Gram's 染色	運動性	孢子
	單獨, 2個 連結多數	2~4× 0.6~0.8	-	+	+
	單位 μ		+ = positive - = negative ? = 不明	+ = 有 - = 無 ? = 不明	+ = 有 - = 無 ? = 不明

(2) 培養試驗 (固體培養)

培養基及方法	時間溫度	記 載
肉汁寒天 斜面培養 (PH 7.2)	70 時間 28°C	發育良好, 擴布狀, 丘狀, 鈍光, 不平滑, 不透明, 乳灰色, 周圍菊花狀。凝縮水濁濁, 水面に膜を生じ, 沈澱あり。檢鏡するに細點狀, 灰色, 周圍濁濁。(寫眞あり)
肉汁膠 穿刺培養 (PH 7.0)	70 時間 21°C	表面に多少膜を生じ, 管壁に沿ふて上昇し, 培養基の上部から 1/10 を溶解し, 10 日間後見ると 2/10 位溶解す。 
麴液寒天 穿刺培養 (PH 6.0)	47 時間 28°C	穿刺溝に沿ふて絲狀を呈し, 全表面に發育を認む。9 日間後見ると全表面平滑にして光澤あり。 
麴液寒天 平面培養 (PH 6.0)	45 時間 28°C	發育速, 點狀, 丘狀, 等質, 灰色, 周圍滑。 
麴液膠 穿刺培養 (PH 6.0)	69 時間 21°C	穿刺線に沿ふて根狀の發育を認む。9 日間後見ると至漏斗狀をなし, 表面に白膜を生ず。 
馬鈴薯培養 (寫眞あり)	48 時間 31°C	發育速, 密柑絲絡狀, 皺狀, 薄膜, 均質, 周圍不規則狀。 
麴液寒天 斜面培養 (PH 5.6)	65 時間 30°C	發育良好, 帶狀, 丘狀, 光澤あり。表面不平滑, 不透明, 薄褐色, 周圍不規則裂狀。 

(2) 培養試験 (液體培養)

培養基及方法	時間温度	記 載
肉汁培養 (PH 6.9)	95 時間 30°C	ヒダある膜を生じ、稍々濁沈澱僅少、振盪するに絲狀を呈し、散亂し易し。
肉水培養 (PH 6.4)	65 時間 30°C	液は稍々濁、液面に光澤ある膜を生じ、沈澱少量あり、振盪するに粘稠を呈し、10日目に輪を生じ、沈澱多し、著しく濁す。
麴液培養 (PH 5.4)	65 時間 30°C	液稍々濁沈澱僅少、振盪するに絲狀を呈す。10日目に膜と輪を生ずる。
牛乳培養 (PH 6.4)	30°C	12 日目にベプトン化し、異臭なし、PH 6.4。
乳清培養 (PH 6.6)	72 時間 30°C	液稍々濁、粗膜を生ず。
醬油・麴液等量培養	20 日間 30°C	繁殖せず 57 日目に繁殖せず。
Henneberg 氏 酪酸菌培養液培養 (PH 6.6)	46 時間 30°C	液透明、沈澱あり、振盪するに絲狀を呈す。6日目に液稍々濁、片狀沈澱あり。
Henneberg 氏 乳酸菌培養液培養 (PH 6.8)	44 時間 30°C	液濁、沈澱あり振盪するに絲狀を呈す。6日目に沈澱多し、振盪するに散亂し易し。
麥芽液培養 (Bal. 13°) (PH 4.6)	6 日間 28°C	沈澱あり振盪するに散亂し易し。
Peptone水培養 (PH 7.1)	47 時間 30°C	乳酸菌培養の記載と同斷
醬油麴液培養 (NaCl 15%添加) (PH 6.6)	6 日間 28°C	沈澱あり、振盪するに粘稠狀を呈し散亂し易し。(13 日間後之反應 PH 6.6)

(3) 各種酒精より生酸試験

酒精種類	繁殖状態 (3 日間の記載) (培養温度 24°C)	培養 7 日間の酸度測定		
		生酸性	絶対酸度	滴定酸度
Methyl alcohol	少しく臘狀膜を生じ、液濁、沈澱あり、振盪するに膜破碎し、液濁す。	-	8.6	
Ethyl alcohol	ヒダある光澤ある濕潤膜を生じ、液透明、沈澱あり、振盪するに膜破碎せず液濁す。	-	8.4	
Propyl alcohol	光澤ある臘狀膜を生じ、液濁、沈澱あり、振盪するに雲泥狀を呈す。	-	8.4	
Butyl alcohol	液濁、沈澱あり、振盪するに濁す。	-	7.4	
Amyl alcohol	液稍々濁、沈澱あり、振盪するに散亂し易し。	-	7.4	

(3) 各種炭水化物より生酸試験 (B11)

炭水化物及名稱	繁殖状態 (3 日間の記載) (培養温度 34°C)	7 日間の酸度測定			9 日間の呈色反應
		生酸性	絶対酸度	滴定酸度	
Maltose (PH 6.8)	光澤あるヒダある膜を生じ、液は濁、沈澱微量あり、振盪により膜は破碎せず。	-	8.2		
Lactose (PH 6.8)	液濁、沈澱あり、振盪により濁す。	-	7.8		
Galactose (PH 6.8)	同上	-	7.4		
Starch (PH 7.0)	液は非常に濁濁して輪あり。	-	8.4		
Inulin (PH 6.8)	液濁、沈澱あり、振盪により雲泥狀を呈す。	-	8.6		
α-methyl-glycosid (PH 7.0)	液稍々濁輪と、膜を生じ、振盪により膜破碎せず液濁す。	-	8.4		
Dextrin (PH 6.8)	臘狀膜を生じ、液濁、沈澱あり、振盪により膜破碎せず液濁す。	-	8.8		
Arabinose (PH 6.8)	少しく點々の膜を生じ、液濁、沈澱あり、振盪により濁す。	+	6.6		
Glucose (PH 6.8)	液濁、沈澱あり、振盪により散亂し易し。	+	5.6		
Raffinose (PH 6.8)	液稍々濁少しく光澤ある膜を生じ、沈澱少量あり、振盪により液濁、膜破碎しにくし。	-	8.6		
Saccharose (PH 6.9)	液濁、沈澱あり、振盪により濁す。	+	5.8		
Glycerin (PH 6.9)	液稍々濁、沈澱あり、振盪により粘稠狀を呈して帶狀を呈す。	+	6.6		
Mannit (PH 6.9)	液濁沈澱澤山あり、振盪により著しく濁す。	+	5.4	0.60 c.c.	
Laevulose (PH 6.8)	液著しく濁濁沈澱あり。	+	5.4	0.75	