

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 1 2 3 4 5

始



昭和六年七月

釀造試驗所報告 第百十二號

(學術的研究)

釀造試驗所



醸造試験所報告第百十二號目次

一、トリアプトファン「分解酵素ニ就テ」……………	一
二、原料ヨリ分離セル「ファカルタテイバクテリア」ニ就テ……………	二七
三、醬油諸味ヨリ分離シタル細菌類(追補)……………	五一
四、同上(追補)……………	五七
五、清酒酵母ノ「メチレン」青ニ依ル染色法ニ就テ……………	六二
六、比濁法ニ依ル微量磷酸定量法ニ就テ……………	七四
七、酵母ニ依ル「ノルマル」型「アミノ」酸ノ分解ニ就テ……………	九一

釀造試験所報告第百十二號 (昭和六年七月)

一 「トリプトファン」分解酵素ニ就テ(第一報)

枝 師 黒 野 勘 六
囑 託 勝 目 英
元 研 修 員 大 木 宏 男

第一章 緒 論

清酒ハ其ノ新酒中ニ「トリプトファン」ヲ含有シ古酒ニ於テハ該物質ヲ含有セズ。從テ清酒ノ新古ヲ區別スルニハ「トリプトファン」ノ反應ヲ試驗スルヲ便トストハ嘗テ高橋偵造博士(日本釀造協會雜誌第六年第五號二頁明治四十四年)ニヨリテ提唱セラレタル所ナリ。同氏ハ此「トリプトファン」ノ定性試験トシテ清酒ニ直接「プロム」反應ヲ試ミタリ。然ルニ余輩ハ近時「トリプトファン」ノ精密ナル定量法發見セラレタルヲ以テ曩ニ清酒ノ新古酒數十種ニ就テ「トリプトファン」ノ精密定量ヲ行ヒシ結果新酒中ニハ平均〇・〇〇六六%ヲ含有シ、古酒ニハ平均〇・〇〇一七%ヲ含有スルコトヲ認メ清酒ハ其新古ヲ問ハズ何レモ「トリ

「トリプトファン」分解酵素ニ就テ

ブトフアン」ヲ含有スレドモ新酒ニ比較的多ク古酒ハ約其四分ノ一ヲ含ミ或種ノ古酒ハ殆ド痕跡ニ達スルモノアルヲ報告セリ(醸造試験所報告第百〇六號二八頁昭和四年)。

本試験ニ於テハ先ヅ清酒醸造中ニ於ケル「トリプトファン」含量ノ増減ニ就テ調査シ進ンテ其ノ「トリプトファン」含量ノ減少スル理由ニ就テ研究セシ結果該作用ハ全ク特種ノ酵素的作用ニ因ルコトヲ認メタリ。然シテ此酵素ハ「ロイシン」等ノ如キ其ノ他一般ノ固有ノ「モノアミノ」酸ヲ分解セザルヲ以テ一般的ノ「デアミダーゼ」ト認ムルヲ得ズ、又有色素物質ヲ生ゼザルヲ以テ「チロシナーゼ」又ハ「クロモオキシダーゼ」ノ作用トモ認ムル能ハズ、全ク「トリプトファン」固有ノ酵素ナルベク、即チ從來既知ノ酵素ニ非ズ全然新種ノ酵素トナスヲ合理ナリト思惟シタルヲ以テ、之レニ「トリプトファンナーゼ」(Tryptophanase)ノ名稱ヲ附シタリ。尙該酵素ハ麴菌ノ酵素劑タル「タカヂアスターゼ」中ニ發見セルノミナラズ、市販ノ「ペプシン」「トリプシン」「ババイン」中ニモ存シ又清酒酵母浸漬汁中ニモ含有スルコトヲ證明セリ。

元來「アミノ」酸類ヲ分解スル酵素中固有ノ「アミダーゼ」ハ代表的ノ「酸アミド」化合物ヲ分解スルモノニシテ之ニ屬スルモノハ馬尿酸ヲ安息香酸ト「グリコロール」トニ分解スル「ヒストチーム」、「アスバラギン」ヲ分解スル「アスバラギナーゼ」、尿素ヲ分解スル「ウレアーゼ」其ノ他「アルギニン」ヲ分解スル「アルギナーゼ」ガ發見サレ居ルノミナリ。

次ニ「アミノ」基ヲ分解スル所謂脱「アミノ」作用(Desaminieren)ヲ行フ酵素ニ就テハ主トシテ「アミノプリン」ノ分解ニ就テ研究サレ居レリ。例ヘバ「グワニン」ヲ分解シテ「キサントシン」ヲ生ズル「グワナーゼ」、「アデニン」ヲ分解シテ「ヒポキサンチン」ヲ生ズル「アデナーゼ」ノ如キ然リトス。然シナガラ固有ノ「アミノ」酸ノ脱「アミノ」作用ハ決シテ簡單ナル作用ニ非ズ。最近ノイベルヒノ説ニ依リテエアリツヒノ

生活酵母ニ依ル「アミノ」酸ノ分解作用ガ證明セラレタルノミナリ。

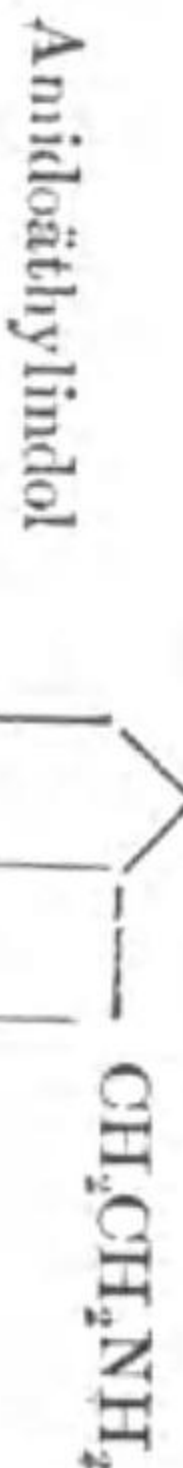
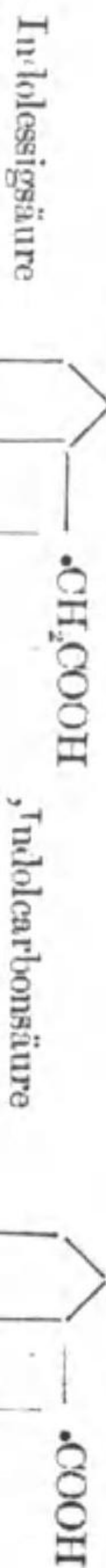
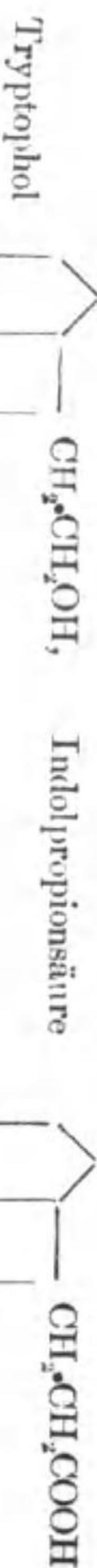
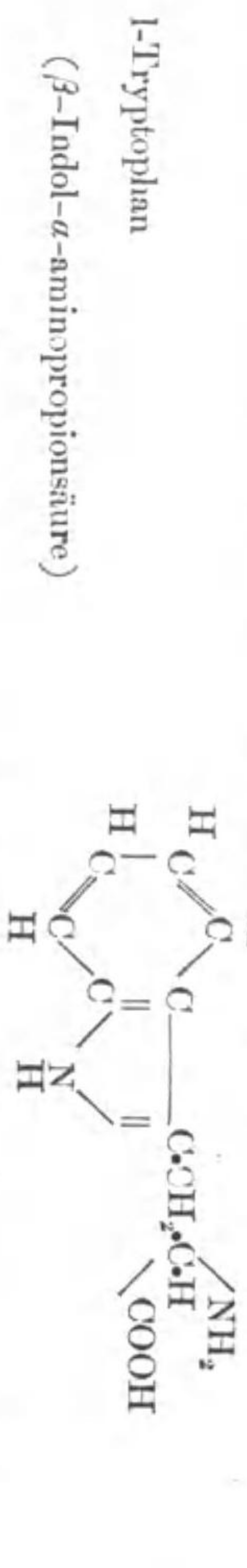
是等固有ノ「アミノ」酸類ガ植物體、酵母類、黴類等ニ依リ「アミノ」基ヲ分解セラルル事實ハ既ニ多數ノ著者ニ依リテ認メラレタル處ナリ。今主トシテ本論ニ關係アル麴菌酵素即チ「タカヂアスターゼ」中ノ「アミダーゼ」ニ就キテ文献ヲ調査スルニイベルヒ及ビローゼンタール(Neuberg u. Rosenthal: Bioch. Z. 145, 18 6, 1924)、「タカヂアスターゼ」中ニ「ヒストチーム」ノ存在ヲ證シ、又ノイベルヒ及野口氏(Bioch. Z. 147 370, 1924)ハ馬尿酸ノ「ホモローグ」タル「フェナセチユールズイン」($C_6H_5CH_2CO_2NH_2 \cdot CH_2COOH$)ヲ分解スル酵素ノ存在ヲ證セリ。尙ノイベルヒ並ニリンハルト(Neuberg u. Linhardt: Bioch. Z. 147, 372, 1924)ハ同様ナル「ホモローグ」タル「ペンゾイルアラニン」ヲ分解スル酵素ノ存在ヲ證セリ。之ヨリ先柴田桂太氏(Hofm. Beitr. 5, 385, 1904)ハ黴類中ニ「アミノ」分離酵素ノ存在ヲ試験シ、「アセトンダウエルヘーフェ」
「アスベルギルス」等ニ就キテ馬尿酸、「ビユレット」「アセタミド」「オキサミド」「アスバラギン」等ヲ分解スレドモ「ウレタン」「グワニチン」「アラントイン」「尿酸」「ペンザミド」ハ分解セズト報ゼリ。

要之ニ「トリプトファン」ノ分解酵素ニ就キテハ未ダ之ヲ證明セルモノ無シ。勿論前記エアリツヒ(Ber. Deutsch. chem. Ges. 45, 383, 1912)ハ生活酵母ニ依ル砂糖醱酵ニ際シテ「トリプトファン」ヨリ「トリプトファン」ヲ生ズル事一般ノ「フリーゼル」油成因ト同様ナル事ヲ證セルモ其ノ酵素的證明ハ不能ナリキ。

次ニ「トリプトファンナーゼ」ニ依ル「トリプトファン」ノ分解生成物ニ就キテハ其ノ材料ノ僅少ナルガ爲ニ未ダ其研究ヲ完結シ能ハズト雖モ今迄ノ研究成績ニ依リテ見ル時ハ單ナル「アミノ」基ノ分離又ハ側連鎖ノ脫離等ニ非ザルガ如シ。今豫メ「トリプトファン」ノ分解ニ依ル生成物ニ就キテ既往ノ文献ヲ調査スルニ下ノ如シ

「トリプトファン」分解酵素ニ就テ

先づ「トリプトファン」ノ分解物質トシテ想像サルベキ各種ノ物質及ビ構造式ヲ記載スレバ



尙フレンケル (S. Frenkel: Bioch. Z. 120, 128; 130, 592; 134, 3, 3; 145, 225 (1921—1924)) 六十日ノ如キ長期ノ「トリプシン」消化液中ニハ「チロシン」「トリプトファン」「ロイシン」ノ如キ特種ナル「アミノ」酸ハ二個ノ「カルボキシル」基ガ互ニ作用シテ「アンヒドリック」ヲ作用爲ニ光學的旋光度ヲ逆轉スル事ヲ認メ該作用ハ酵素ノ作用ニ依ルモノナリトシ「トリプシン」中ニ「アンヒドラーゼ」ト「ワルデナーゼ」ノ二種ノ酵素ノ存在ニ依ルト想定セリ。然レドモ此新酵素ニ對シテオツペンハイマー等ハ疑ヲ有シ居レリ。何トナレバ該酵素ニ就テハ酵素的性質ノ何等ノ證明ガ行ハレ居ラザルガ故ニシテ同氏等ハ單ナル一種ノ可逆反應ナリト認メ居レリ。

尙又「チロシナーゼ」ガ「チロシン」ヨリ不明ノ色素即チ「メラニン」ヲ構成スル如ク「トリプトファン」「アドレナリン」「ピロール」等ヨリモ「チロシナーゼ」又ハ「クロモオキシダーゼ」ノ作用ニ依リ「メラニン」ヲ構成スル事フェルト (O. v. Firth: Hb. der Bioch. Bd. I, s. 944, 1924.) サシカルヂー (P. Saccardi: Bioch. Z. 132, 439; 169, 149, 143, 1922.) ロンヴェー (P. Rondoni: Bioch. Z. 169, 149, 1926.) 等ノ研究ニ依リテ證明サレ居レリ。

余輩ハ「トリプトファン」ヲ「タカデアスターゼ」ヲ以テ分解セシメタル液ニ就キ上記各種ノ化合物ニ就キテ定性反應ヲ行ヒシモ「インドール」「スカトール」「インドールカルボン」酸「インドール」醋酸「インドールプロピオン」酸、「アスラニール酸」「トリプトフォル」「キヌレン」酸ノ何レヲモ證明スルヲ得ズ僅ニ「インドールカルボン」酸「インドール」醋酸ノ微弱ナル反應ヲ呈セシノミナリ。尙又該分解液ニ就テ色素ノ生成ヲ試験セシニ之又全ク陰性ノ結果ヲ得タリ。從テ此「トリプトファン」ニ依ル「トリプトファン」ノ分解ハ「オキシダーゼ」ノ作用ト全ク異リ「メラニン」構成等ヲ行ハザルモノノ如シ。要スルニ本酵素ニ

「トリプトファン」分解酵素ニ就テ

依ル「トリプトファン」ノ分解生成物ハ今尙研究中ナルヲ以テ次回ニ之ヲ詳報スベシ。

第二章 實驗方法

一、「トリプトファン」ノ製造

試験ニ供シタル「トリプトファン」ハ之ヲ自製シタリ。其ノ方法ヲ略記セバ「カゼイン」一盞ヲ〇・三%苛性曹達ニ飽和スルマデ溶解シPH四・八トナルマデ強ク攪拌シツツ醋酸ヲ滴加ス。此際「カゼイン」ノ凝固セザル様充分ニ攪拌ス。而シテ防腐ノ爲「トルオール」ヲ全液面ヲ覆フマデ加ヘ更ニ「タカチアスターゼ」一〇〇瓦ヲ加ヘ三七—四〇度定温器中ニ保持ス。時々攪拌シ「トリプトファン」生成ノ有無ヲ試料ニ就テ試験ス。七日ノ後全液ニ硫酸「アルミニウム」約二〇〇瓦ノ水溶液ヲ添加シテ過剰ノ蛋白質ヲ凝固セシム、沈澱ヲ濾過シ其濾液ニ一〇%トナル如ク硫酸ヲ添加シ五%硫酸水銀液(一〇%硫酸溶液)ヲ加ヘ沈澱ヲ完結ス。

此沈澱ヲ「ミロン」反應無キニ至ル迄一〇%硫酸ニテ洗滌シ、然ル後茲ニ得タル「トリプトファン」水銀ヲ水ニ懸浮セシメ硫化水素ヲ通ジ硫化水銀ノ沈澱ガ完結スルニ至ル迄硫化水素ヲ飽和セシメ濾過ス。沈澱ハ硫化水素水ニテ洗滌ス、濾液並ニ洗滌液ハ更ニ硫酸水銀ヲ加ヘ前記ノ方法ヲ反覆シ最後ニ游离「トリプトファン」ヲ含ム濾液中ノ硫酸ヲ「バリタ」ヲ以テ定量的ニ沈澱セシメ濾過ス。尙活性炭〇・〇五%ヲ加ヘテ處理シ濾液ニ少量ノ酒精ヲ加ヘ真空蒸餾ヲ爲シテ濃縮ス。此ノ舍利別狀ノ濃縮液ヨリ結晶ヲ析出セシメ粗製「トリプトファン」五・四瓦ヲ得タリ(理論數「カゼイン」一盞ヨリ「トリプトファン」九瓦)

茲ニ得タル粗製「トリプトファン」五・四瓦ニ九〇%酒精約二〇〇瓦ヲ加ヘ重盪煎上ニテ煮沸溶解セシム。冷却後濾過シ約三倍量ノ「エーテル」ヲ加ヘ沈澱ヲ完結セシム。沈澱物ハ濾過シ真空下ニ乾燥ス。斯クシテ

精製「トリプトファン」二瓦ヲ得タリ。

茲ニ得タル精製「トリプトファン」ノ熔融點ハ二五八度(理論數二五二、二七三、二八九)ニシテ「メルク」製純「トリプトファン」ト比色定量法ニ依リ比較セシニ九八・七%ノ純度ヲ有セリ。

二、「トリプトファン」ノ定量方法

本實驗ニ採用シタル「トリプトファン」ノ定量方法ハラギン(I. K. Ragin: J. Biol. Chem. 80, 543, 1928.)ノ提出セル比色定量法ニ據ルモノニシテ其方法ノ詳細ハ下記ノ如シ

本定量法ニ必要ナル試薬ヲ列記スレバ次ノ如シ

- a 「トリプトファン」標準液、最純「トリプトファン」〇・〇五瓦ヲ水ニ溶解シ一〇〇瓦ト爲シタルモノ。即チ此液一瓦ハ「トリプトファン」〇・〇〇〇五瓦ヲ含ム
- b 五%硫酸
- c 五%硫酸水銀
- d 「ゲアニリン」試薬五〇%ノ醋酸ニ「ゲアニリン」〇・五%ヲ溶解セルモノ
- e 濃硝酸

供試液中蛋白質存在スル時ハ「トリプトファン」水銀ノ遠心分離ニ長時間ヲ要スルヲ以テ豫メ鹽基性醋酸鉛ヲ以テ之ヲ除去シタリ。即チ供試液五〇瓦ニ對シ五瓦ノ飽和鹽基性醋酸鉛ヲ加ヘ濾過シ、濾液三〇瓦ヲ採リ過剰ノ鉛ヲ除去センガ爲一〇瓦ノ硫酸ヲ加ヘ濾過シ「トリプトファン」ノ比色定量ニ供シタリ。勿論茲ニ用フル供試液ハ原供試液ニ對シ六八・二%ノ濃度トナレルモノナルガ故ニ補正スルヲ要ス。

先ヅ二個ノ遠心分離管ヲ取り第一管ニ「トリプトファン」標準液〇・五瓦ヲ採リ第二管ニハ五瓦ノ檢液ヲ採ル。次ニ此兩管ニ五%硫酸二瓦宛ト五%硫酸水銀一瓦宛トヲ添加シ密栓シ二時間放置ス。然ル後遠心分離機ニ依リテ「トリプトファン」水銀ノ沈澱ヲ分離シ、沈澱ハ更ニ五%硫酸約五瓦ニテ二—三回洗滌ス。茲ニ得

「トリプトファン」分解酵素ニ就テ

タル沈澱ニ夫々五%硫酸水銀〇・五珎宛ヲ加ヘ次ニ〇・四珎ノ「ヴァニリン」試藥最後ニ六珎ノ濃鹽酸ヲ添加ス沈澱ヲ充分溶解セシメ密栓シテ一晝夜靜置シ後一〇〇珎ニ充シテ比色シタリ。

第三章 豫備試驗

一、清酒釀造中ニ於ケル「トリプトファン」ノ増減

清酒中ノ「トリプトファン」含量ニ就テハ既ニ醸造試験所報告書第百六號（昭和五年一月）ニ於テ報告シ新酒中ニ多ク古酒ニハ甚ダ少キ事ヲ認メタリ。故ニ今回ハ清酒釀造ノ全經過中ニ於テ「トリプトファン」量ノ増減ヲ研究シ之ヲ曲線ニ表ハシ以テ其ノ意義ヲ探究セント企テタリ。而シテ其ノ結果ハ頗ル興味アル曲線ヲ示セリ。即チ酒母ニ於テハ既立後次第ニ「トリプトファン」量増加シ既後四日目ヲ最高點トシ其ノ後ハ再ビ少シク其ノ量ヲ減少ス。醪ノ場合ニ於ケルモ醱酵ノ進ムニ從ヒ急激ニ「トリプトファン」量ヲ増加シ、尙搾揚後ニ於テモ其ノ量ヲ減ズル事無ク搾揚後二十日ノ後ヲ最高點トシ其ノ後ハ少シク其ノ量ヲ減少スル事ヲ認メタリ。再ビ其ノ量ヲ増加スレドモ之ヨリ秋季熟成ニ至ルマデ「トリプトファン」量ハ遂次減少スル事ヲ認メタリ。然ルニ「フォルモール」法ニ依ル「モノアミノ」酸全量ハ酒母又ハ醪及清酒タルヲ問ハズ何レモ遂次増加ノ曲線ヲ示モリ。斯ク全「モノアミノ」酸量ノ變化ト「トリプトファン」量ノ變化トガ全ク反對ノ曲線ヲ呈スル事ハ生理上重大ナル意義アルモノニシテ、「トリプトファン」ガ特別ナル作用ニ依リテ其ノ量ヲ減少スル事ヲ暗示スルモノナリトス。該變化ガ單ナル化學的作用ナリヤ或ハ酵素的作用ニ基クモノナリヤハ別項ニ於テ之ヲ報告スレドモ其ノ酵素的作用ニ據ル事ハ最早疑無キモノトス。

實驗 第一

試料 醸造試験所昭和四酒造年度仕込酒母第十五號、醪第七號ノ濾液ヲ使用セリ。

醸造各期ニ於ケル分析結果ハ左ノ如シ。

表中* 印ノ標準液ハ一〇〇珎、供試液ハ五〇珎ニ稀釋シテ比色セルモノナリ。

月 日	時 刻	操 作	「トリプトファン」		「トリプトファン」	
			「フォルモール」法ニヨル	「モノアミノ」酸%	比色計ノ高(珎)	標準液使用珎
一三	前	既立	一・二〇	〇・一五七二	一〇〇	〇・〇〇六〇六二
一九	後	既立	一・八〇	〇・二三五八	一〇〇	〇・〇〇七八二八
二一	前	初添	一・八五	〇・二四二四	一〇〇	〇・〇〇八一六八
二二	前	仲添	一・九〇	〇・二四八九	一〇〇	〇・〇〇八八一六
二五	前	荒添	二・〇〇	〇・二六二〇	一〇〇	〇・〇〇八四七九
二七	前	初添後	二・一〇	〇・二七五一	一〇〇	〇・〇〇八二四一
三〇	後	仲添後	二・一五	〇・二八一七	一〇〇	〇・〇〇七九九〇
三一	後	荒添後	一・三〇	〇・一七〇三	三〇	〇・〇〇一九七三
二	後	留添後	一・〇〇	〇・一三一〇	三〇	〇・〇〇一五四九
四	前	一時間後	〇・六五	〇・〇八五二	一〇	〇・〇〇〇三四九
六	前	四、〇〇	〇・六五	〇・〇八五二	一〇	〇・〇〇〇三八一
八	前	四、〇〇	〇・三五	〇・〇三九三	一〇	〇・〇〇〇三七九
一〇	前	後四、〇	〇・五五	〇・〇七二一	一〇	〇・〇〇〇四九五六
一二	同	〇後打	〇・八二	〇・一〇七四	三〇	〇・〇〇〇五八二一
一四	同		一・〇〇	〇・一三一〇	六〇	〇・〇〇〇六八九八
一六	同		一・三〇	〇・一七〇三	六〇	〇・〇〇〇六七六〇

トリプトファン分解酵素ニ就テ

九

清酒中ノ「トリプトファン」ガ清酒酵母中ノ酵素ニ依リ分解セラル、ヤ否ヤヲ試験セン爲其ノ豫備試験トシテ清酒ニ乾燥清酒酵母ノ「マセラチオンスザフト」ヲ添加シ「トリプトファン」ノ増減ヲ試験セリ。

一〇瓦ノ乾燥酵母（協會第一號清酒酵母）ヲ採リ之ニ三七度ノ温水四〇瓦ヲ加ヘ四〇度ノ定温器ニ二時間半保チ時々攪拌シタル後之ヲ取り出シ冷蔵庫中ニテ濾過ス。

A 新酒一〇〇瓦ニ酵母浸漬汁一〇瓦ヲ加フ

B 新酒五〇瓦ニ五瓦ニノ酵母浸漬汁ヲ三〇分間煮沸シタル物ヲ加フ。

A' 新酒一〇〇瓦ニ一〇瓦ノ酵母浸漬汁ヲ加ヘ更ニ防腐劑トシテ「チモール」ヲ〇・一瓦加ヘ室温ニ放置ス。以上ノ如ク作りタル試料ヲ各三角瓶中ニ容レ五〇度ノ定温器ニ保チ時々「トリプトファン」ノ定量ヲ行ヒタリ。結果ハ次ノ如シ。

經過時間	トリプトファン%	
	A)	B)
〇時間	〇・〇〇五九	〇・〇〇五六
一九	〇・〇〇四五	〇・〇〇四三
四八	〇・〇〇四三	〇・〇〇三四
一四四	〇・〇〇四一	〇・〇〇五五
二一六	〇・〇〇四一	〇・〇〇三四
二四〇	〇・〇〇四一	〇・〇〇三四
	〇・〇〇四一	〇・〇〇三四

即チ清酒酵母ノ「マセラチオンスザフト」ハ清酒中ノ「トリプトファン」ヲ良ク分解ス。而シテ煮沸シタル酵母浸出液ハ全ク之ヲ分解セズ。此故ニ清酒酵母中ニ「トリプトファン」ヲ分解スル酵素ノ存在スルコトハ明瞭ナリ。

第四章 「トリプトファン」分解酵素ノ證明

前章豫備試験ニ於テ清酒中ノ「トリプトファン」含量ガ「タカチアスターゼ」並ニ清酒酵母浸漬汁ノ添加ニ依リ何レモ速カニ減少スルコトヲ認メ且ツ煮沸セル酵母浸漬汁及「タカチアスターゼ」ハ殆ド「トリプトファン」含量ヲ減ゼザルカ或ハ其ノ減少度少ナキヲ認メタリ。従ツテ「タカチアスターゼ」及酵母浸漬汁中ニハ「トリプトファン」ヲ分解スル酵素ノ存在ヲ思ハシム。茲ニ於テ更ニ進ンデ純粹ノ「トリプトファン」ニ就テ其ノ分解酵素ノ存在ヲ確證セントシ次ノ實驗ヲ行ヒタリ。

一、麴菌酵素中ニ「トリプトファン」分解酵素ノ存在證明

麴菌酵素トシテハ市販ノ「タカチアスターゼ」ノ〇・一%溶液ヲ濾過シテ使用シ次ノ如キ試験ヲ行ヒタリ。對照試験トシテハ三〇分間煮沸セル酵素液ヲ用ヒ又「チモール」ニテ防腐セルモノヲモ試験シタリ。

A 「トリプトファン」溶液（〇・〇二五%）三〇瓦ニ三瓦ノ「チアスターゼ」溶液ヲ添加ス。

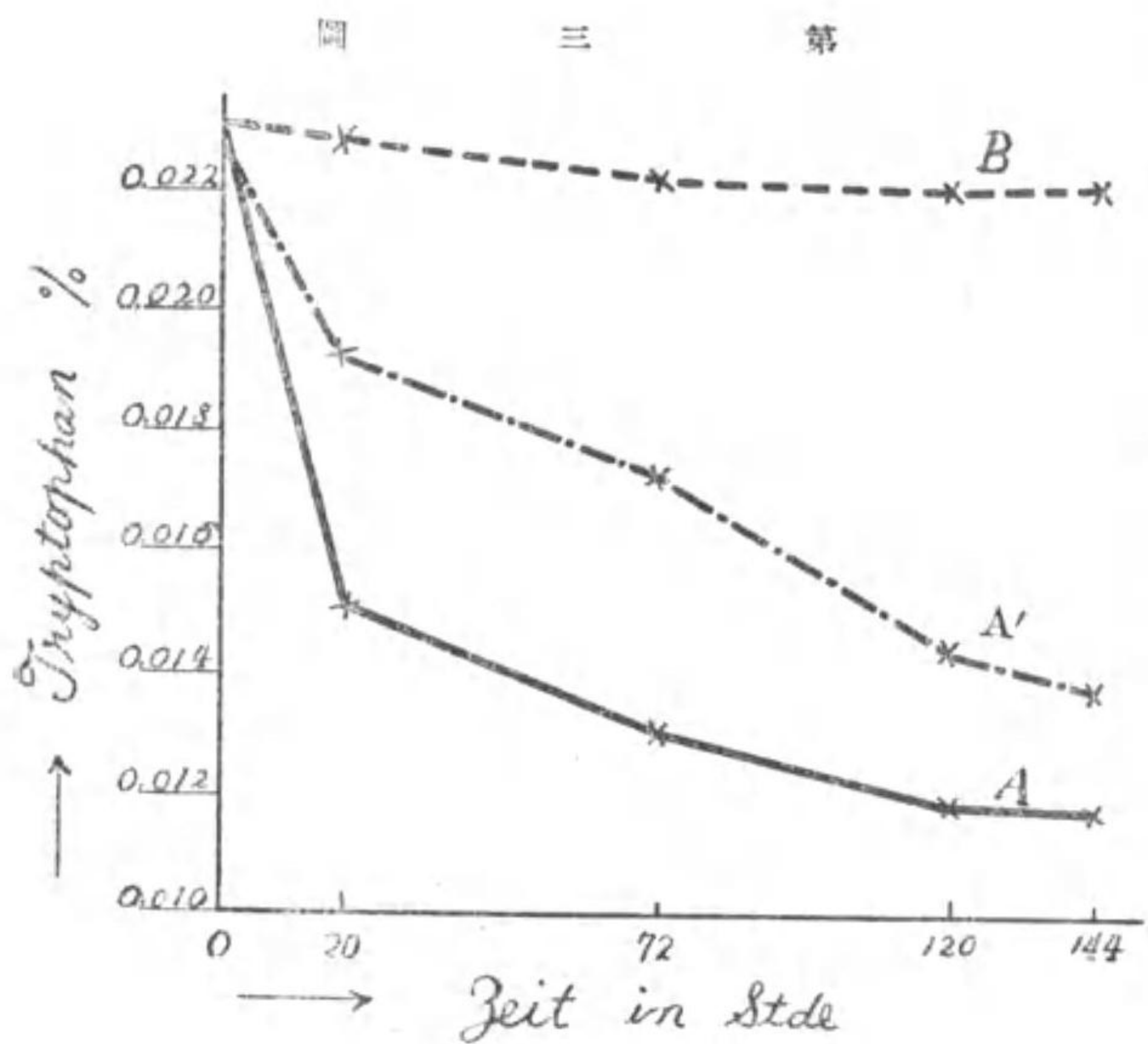
A' 「トリプトファン」溶液三〇瓦ニ三瓦ノ「チアスターゼ」溶液ト〇・〇三瓦ノ「チモール」ヲ添加ス。

B 「トリプトファン」溶液三〇瓦ニ煮沸セシ「チアスターゼ」溶液三瓦ヲ添加ス。

以上三種ノ液ヲ夫々三角瓶ニ入レテ密封シテ攝氏四十度定温器中ニ保持シ時々「トリプトファン」ノ定量ヲ行ヒシニ其ノ結果次ノ如シ。

經過時間	トリプトファン%		
	A)	B)	A')
〇時間(チアスターゼ添加直後)	〇・〇二三一	〇・〇二三一	〇・〇二二九
二〇	〇・〇二五一	〇・〇二二九	〇・〇一九三

之レヲ曲線ニ表ハセバ第三圖ノ如シ。



七〇 〇・〇一三一
 一二〇 〇・〇一一九
 一四四 〇・〇一一八
 〇・〇二二三
 〇・〇二二一
 〇・〇二二一
 〇・〇一七二
 〇・〇一四三
 〇・〇一三九

即チ煮沸セル「タカチアスターゼ」溶液ハ「トリプトファン」ヲ殆ド分解セザルニ反シ煮沸セザル物ハ甚ダ良ク「トリプトファン」ヲ分解ス。然モ「チモール」ニテ防腐セルモノニ於テモ殆ド同様ニ之ヲ分解ス。故ニ「タカチアスターゼ」中ニ「トリプトファン」ヲ分解スル酵素ノ存在確實ナリトス。

二、酵母汁ニ「トリプトファン」

分解酵素ノ證明

前豫備試験ニ於テ清酒酵母ノ「マセラチオンスザフト」ヲ新酒中ニ添加スル時ハ其ノ「トリプトファン」含量ヲ減ズル事ヲ認メタリ。故ニ茲ニ純粹ノ「トリプトファン」溶液ヲ用ヒ此ノ酵母浸漬汁中ニ「トリプトファン」分解酵素ノ存在ヲ確認セントシ次ノ試験ヲ行ヒタリ。

「トリプトファン」溶液ハ純粹「トリプトファン」

〇・〇二五%水溶液ヲ用ヒタリ。

清酒酵母ノ浸漬汁ハ第一號清酒酵母ノ乾燥粉末一〇瓦ニ攝氏三七度ノ温水四〇瓦ヲ加ヘ良ク乳鉢中ニテ混磨シ四十度定温器中ニ保持シ一五分毎ニ良ク攪拌シ二時間半ノ後二重濾紙ニテ冷蔵庫中ニテ濾過シテ使用ス

試験液ハ次ノ三種ヲ造ル。

- A 「トリプトファン」溶液三〇瓦ニ酵母浸漬汁三瓦ヲ添加ス。
- A' 「トリプトファン」溶液三〇瓦ニ酵母浸漬汁三瓦ヲ加ヘ更ニ「チモール」〇・〇三瓦ヲ添加シ防腐ス。
- B 「トリプトファン」溶液三〇瓦ニ三十分間煮沸セル酵母浸漬汁三瓦ヲ添加ス。

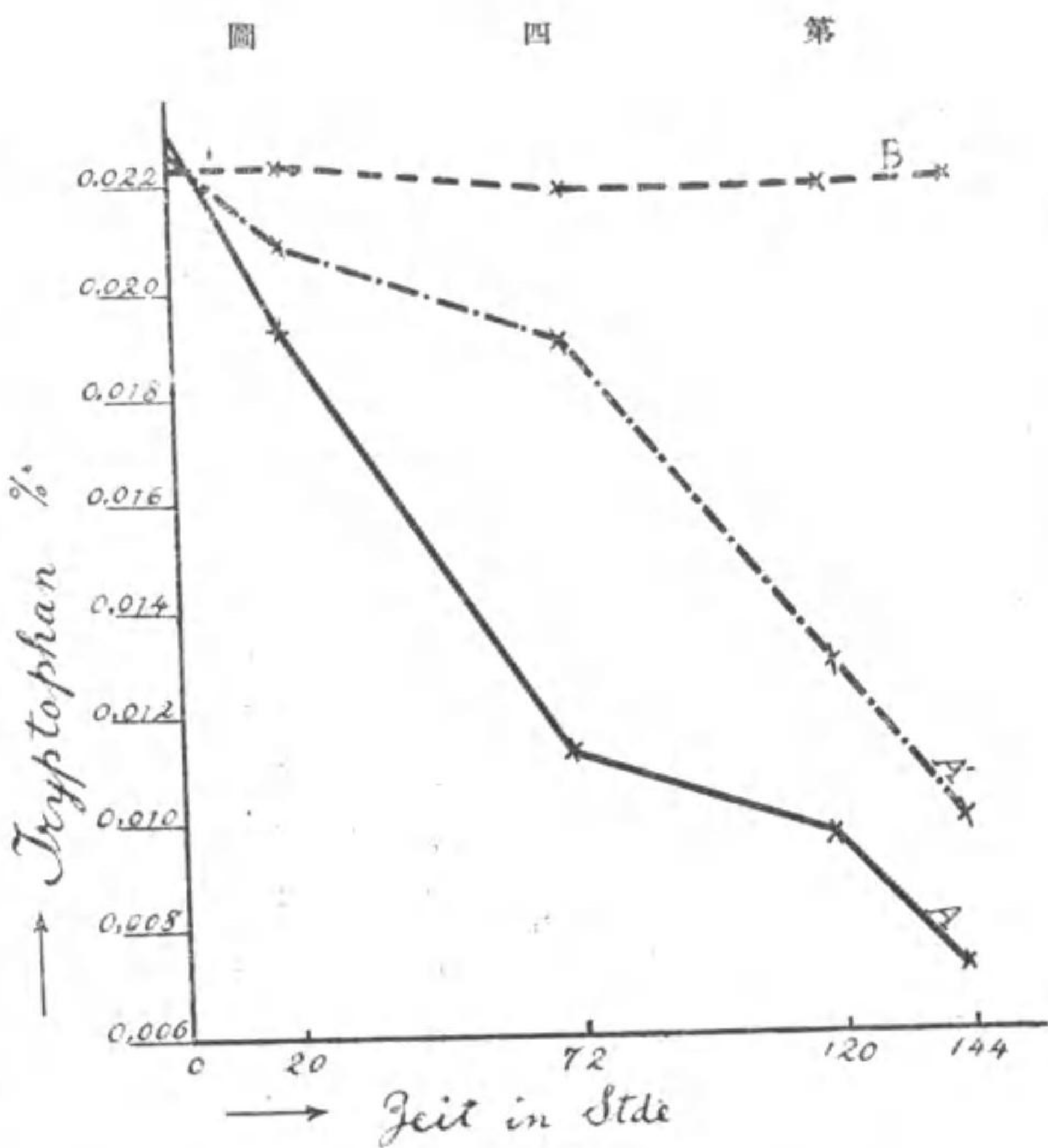
以上三種ノ試験液ヲ夫々三角瓶中ニ入レ密栓シ四十度定温器中ニ保持シ時々「トリプトファン」ノ定量ヲ行ヒシニ其ノ結果次ノ如シ。

經過時間	トリプトファン %
〇時間(酵母浸漬汁)	〇・〇二二九
二〇	〇・〇一九二五
七二	〇・〇一一三
一二〇	〇・〇〇九九
一四四	〇・〇〇七一
	〇・〇二二三
	〇・〇二二三
	〇・〇二二三
	〇・〇二二八
	〇・〇二二八
	〇・〇二二八
	〇・〇二二六
	〇・〇二〇九
	〇・〇一九〇
	〇・〇一三〇
	〇・〇一一〇

之レヲ曲線ニ表ハス時ハ第四圖ノ如シ。

即チ清酒酵母浸漬汁ハ「タカチアスターゼ」ニモ勝リテ良ク「トリプトファン」ヲ分解ス。然シテ「チモール」ヲ以テ防腐セルモノモ良ク「トリプトファン」ヲ分解ス。之ニ反シテ煮沸セル酵母汁ハ全ク「トリプトファン」ヲ分解セズ。之レニ依ツテ見ルモ清酒酵母ノ浸漬汁中ニハ強力ナル「トリプトファン」分解酵素

トリプトファン分解酵素ニ就テ



第四圖
 ントシ「メルク」製「ペプシン」、「グリュウブラー」會社製「トリプシン」
 バイン」ニ就テ同様ニ「トリプトファン」ノ分解ヲ試験セリ。
 是等ノ「プロテアーゼ」及ビ「タカチアスターゼ」ノ夫々〇・〇一%水溶液ヲ製シ之ニ「トリプトファン」

ノ存在明瞭ナリトス。
 尙「タカチアスターゼ」ノ場合モ酵母
 浸漬汁ノ場合モ同様ニ「トリプトファン」
 分解酵素ハ多少「チモール」ノ添加ニ依
 リテ其ノ酵素力ヲ減ズル傾向アルコト一
 般ノ酵素的性質ト同様ナリ（「トリオー
 ル」モ同様ナル結果ヲ示セドモ定量ノ際
 沈澱ノ採取困難ナルヲ以テ「チモール」
 ノ方便ナリトス）

三、市販ノ各種「プロテアーゼ」中
 ニ「トリプトファンナーゼ」ノ有無

前記「タカチアスターゼ」清酒酵母浸
 漬汁中ニ其ノ存在ヲ認メラレタル「トリ
 プトファン」分解酵素ガ尙市販ノ各種「プ
 ロテアーゼ」中ニ存在スルヤ否ヲ試験セ

〇・〇一%及ビ「チモール」〇・〇一%ヲ溶解シ二〇度ノ定温器中ニ保持シ、四八時間後「トリプトファン」ノ
 殘量ヲ定量セシニ次ノ如キ結果ヲ得タリ。試験液ノ P_H ハ六・一九ナリ。

酵素名	トリプトファン分解殘量
タカチアスターゼ	〇・〇〇六五%
メルク製ペプシン	〇・〇〇六九%
グリュウブラー製トリプシン	〇・〇〇六〇%
マリアナ製バイン	〇・〇〇五五%

此結果ニ依レバ供試「ペプシン」「トリプシン」「バイン」中ニハ何レモ「トリプトファン」分解酵素ノ存
 在明瞭ニシテ四八時間後ニハ殆ド「トリプトファン」量半減シ其ノ分解程度ハ「バイン」最モ強ク「トリ
 プシン」「ペプシン」ハ略「タカチアスターゼ」ノ強サト同様ナリ。

第五章 「トリプトファンナーゼ」ノ性質

一、「トリプトファンナーゼ」ノ最適水素「イオン」濃度及分解速度

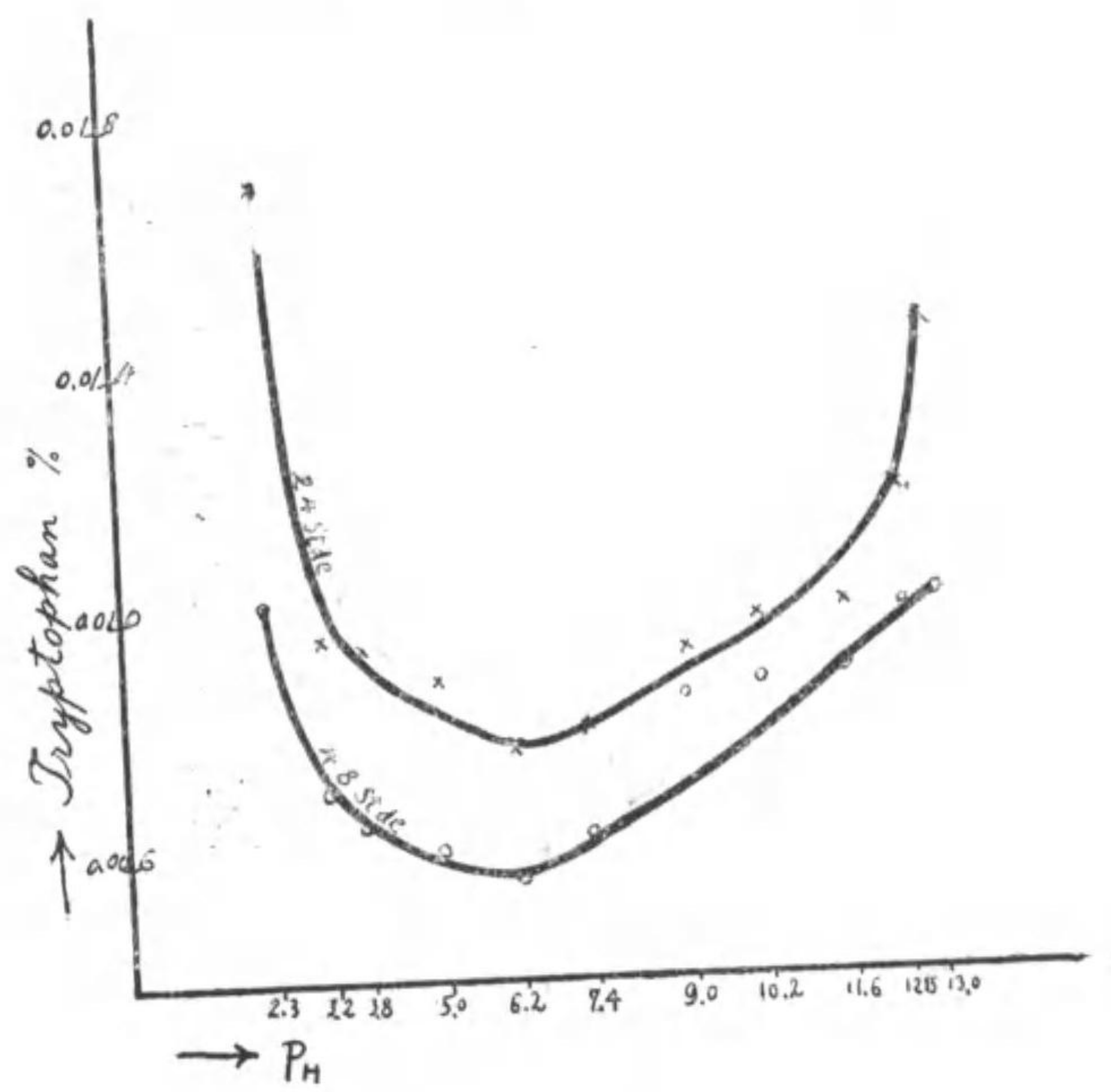
礦物酸ノ添加ガ「トリプトファン」定量ニ支障アルヲ認メタルヲ以テ十分ノ一規定乳酸ト十分ノ一規定苛
 性曹達トヲ種々ノ量ニ混合シ各種ノ「ブツファア」溶液ヲ造リ電氣法ニ依リテ各自ノ P_H ヲ測定セリ。此ノ各液三
 〇珩毎ニ一%「タカチアスターゼ」溶液五珩〇・〇五%「トリプトファン」溶液五珩宛ヲ添加シ尙五%「チモ
 ール」酒精溶液一珩宛ヲ添加シ密栓シテ四十度定温器中ニ保持シ、當初、二四時間後、四八時間後及ビ一九
 二時間後ニ「トリプトファン」ノ定量ヲ行フ。此ノ場合試料ハ豫メ乳酸又ハ苛性曹達ニテ良ク中和シタル後
 定量ヲ行ヒタリ。定量結果及其ノ曲線圖（第五圖）ハ次ノ如シ。

トリプトファン分解酵素ニ就テ

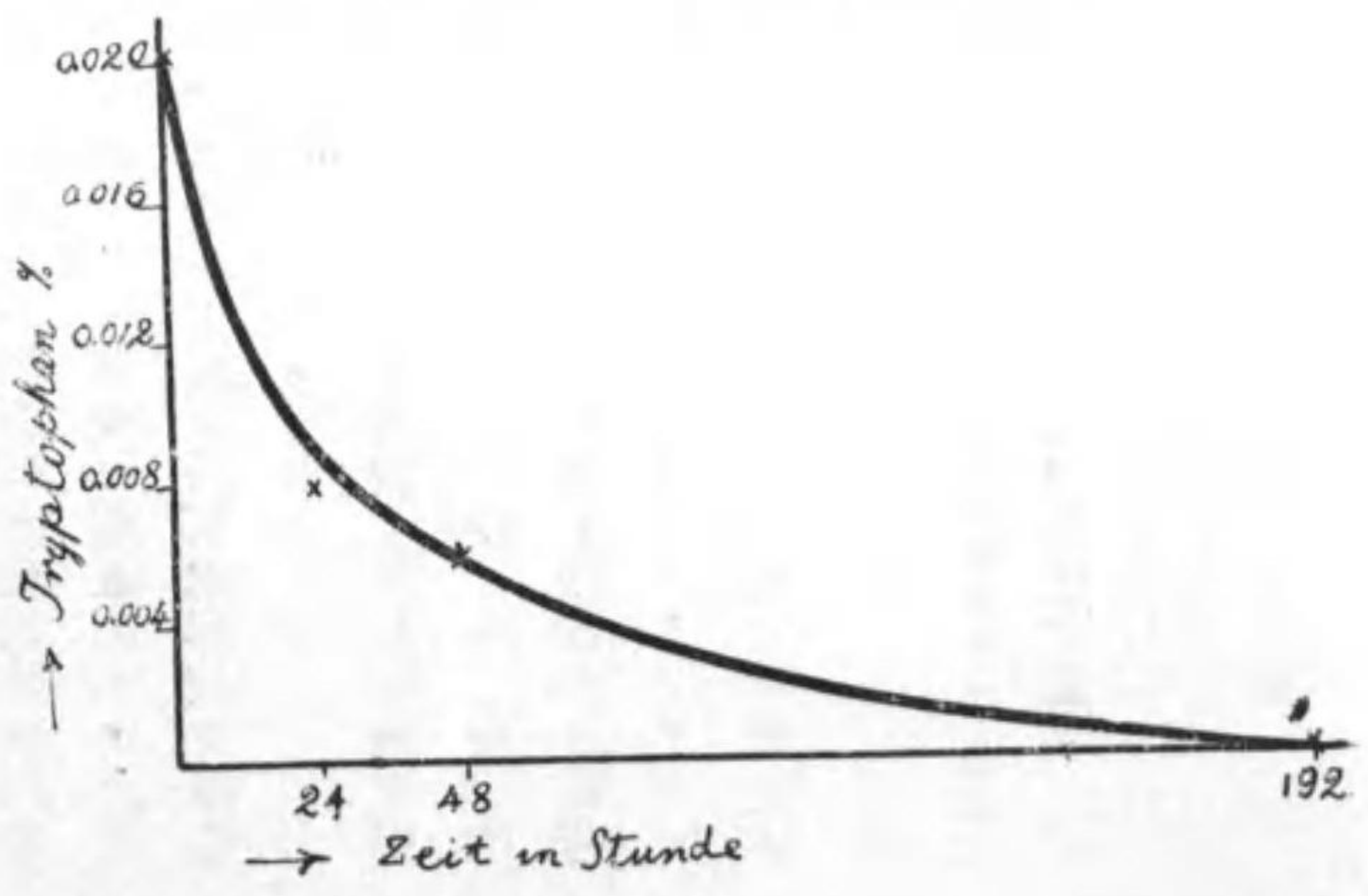
實驗番號	pH	〇時間	二四時間後	四八時間後	一九二時間後
一	二・三	〇・〇一九五	〇・〇一七一	〇・〇一〇二	〇・〇〇九一
二	二・六	同	〇・〇一四五	〇・〇〇九二	〇・〇〇八九
三	二・八	同	〇・〇〇九八	〇・〇〇八二	〇・〇〇八二
四	三・二	同	〇・〇〇九六	〇・〇〇七二	〇・〇〇六九
五	三・六	同	〇・〇〇九五	〇・〇〇六八	〇・〇〇六七
六	三・八	同	〇・〇〇九〇	〇・〇〇六六	痕跡
七	五・〇	同	〇・〇〇九〇	〇・〇〇六三	同
八	六・二	同	〇・〇〇七八	〇・〇〇五七	同
九	七・四	同	〇・〇〇八二	〇・〇〇六四	同
一〇	九・〇	同	〇・〇〇九六	〇・〇〇八七	〇・〇〇八七
一一	一一・六	同	〇・〇〇一〇	〇・〇〇九〇	〇・〇〇九一
一二	一二・二	同	〇・〇〇一〇	〇・〇〇九三	〇・〇〇九三
一三	一二・五	同	〇・〇〇一一	〇・〇〇一〇	〇・〇〇一〇
一四	一二・八	同	〇・〇〇二七	〇・〇〇一〇	〇・〇〇一〇
一五	一三・一	同	〇・〇〇四七	〇・〇〇一〇	〇・〇〇一〇

以上ノ結果ニ依レバ「トリプトファンナーゼ」ノ最適水素「イオン」濃度ハ pH 六・二ニシテ即チ pH 六ノ附近ニアリト云フヲ得ベシ。
 次ニ前表中ノ最適 pH ノ場合ニ於ケル本酵素ノ分解速度ヲ見ルベク、之ヲ曲線ニ表ハス時ハ次ノ曲線圖（第六圖）ノ如ク二四時間後マデ分解速カニシテ夫以後ハ分解徐々ニ行ハレ一九二時間ニテハ殆ド痕跡トナレリ此曲線ハ一般酵素ノ曲線ト同様ニ双曲線ヲ呈セリ。

度速解分ノ「セーナアフトプリト」圖五第



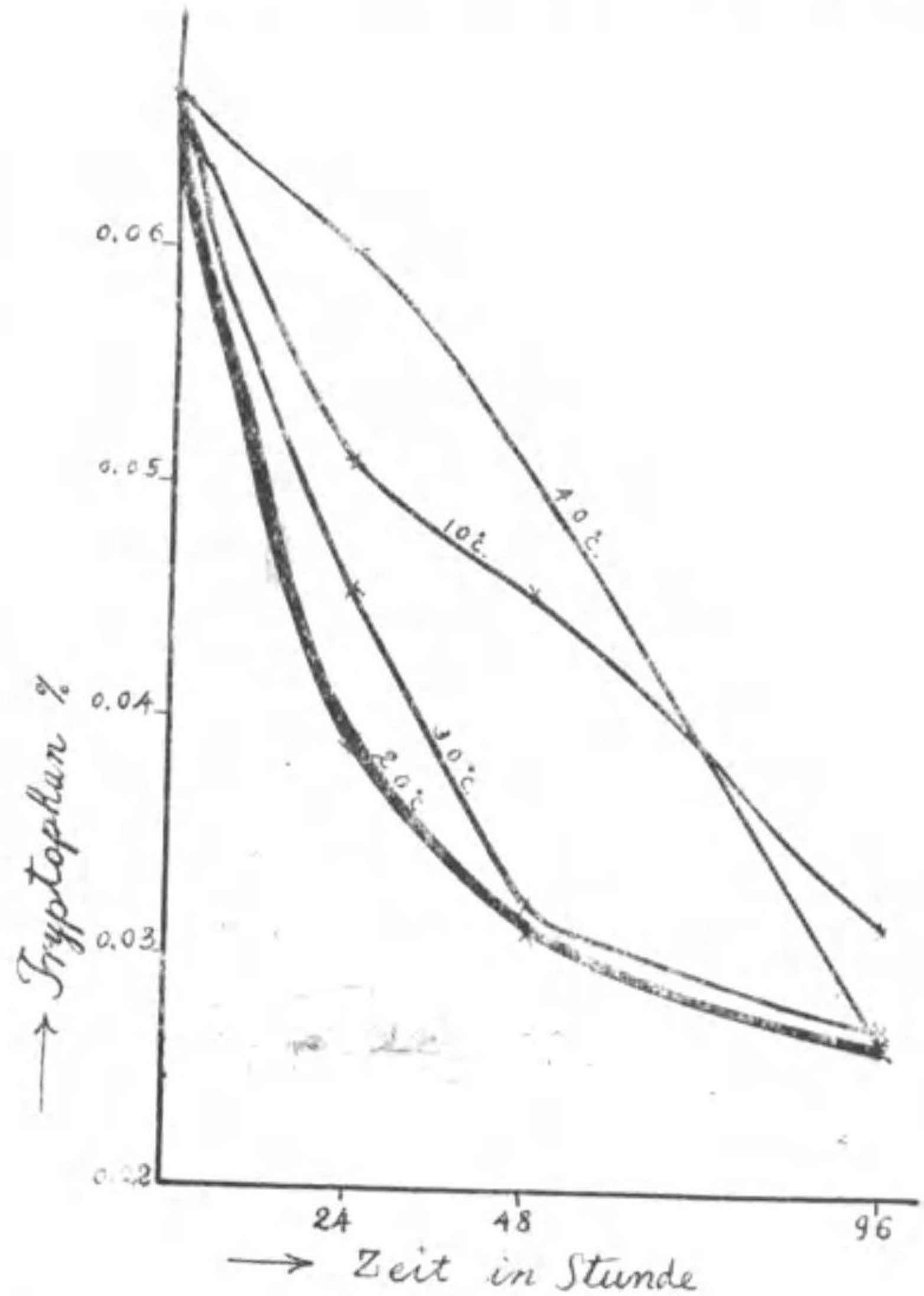
線曲PH「セーナアフトプリト」圖六第



「トリプトファンナーゼ」ノ最適温度
 「トリプトファン」ヲ分解スル最適温度ヲ試験セントシ本試験ヲ行ヘリ。

トリプトファン分解酵素ニ就テ

第七圖「トリプトファン」作用ノ温度トノ關係



「トリプトファン」 0.005 瓦及「チモール」 0.01 瓦ヲ 100 瓦ノ蒸溜水ニ溶解シ之ニ「チアスターゼ」溶液 100 瓦ヲ添加ス。「チアスターゼ」溶液ハ市販ノ「タカチアスターゼ」 0.1% 水溶液ヲ濾過シテ用ヒタリ。

以上ノ如ク調製セル試験液ヲ同時ニ 10 度、 20 度、 30 度、 40 度(攝氏)ノ各定温器中ニ保持シ一定時間後「トリプトファン」ノ殘量ヲ定量セリ。其ノ結果左ノ如シ。

攝氏温度	經過時間	○時間(チアスターゼ)添加直後	二四時間後	四八時間後	九六時間後
一〇(冷蔵庫)		0.06519	0.05172	0.04698	0.03225
二〇		0.06519	0.03873	0.03102	0.02621
三〇		0.06519	0.04549	0.03261	0.02703
四〇		0.06519	0.06000	0.06000	0.02655

即チ此結果ヲ曲線ニテ表示スル時ハ第七圖ノ如シ。

結論要旨

- 一、清酒醸造中全期間ニ於ケル「トリプトファン」ノ増減ヲ精密ニ調査シ之ヲ曲線ニ圖示セリ。
- 二、「トリプトファン」ヲ分解スル新酵素ヲ發見シ「トリプトファンナーゼ」(Tryptophanase)ト命名セリ。
- 三、「トリプトファンナーゼ」ハ麹菌ノ酵素タル「タカチアスターゼ」中ニ存在シ又清酒酵母浸漬汁(Maceration)中ニモ含有スルコトヲ認メタリ。尙市販ノ蛋白質分解酵素タル「ペプシン」、「トリプシン」、「ババイン」ノ製品中ニモ等シク「トリプトファンナーゼ」ノ含有スルコトヲ證明セリ。惟フニ「トリプトファンナーゼ」ハ其分布廣クシテ一般ノ蛋白質分解酵素ニ伴フテ存在スルモノノ如シ。
- 四、「トリプトファンナーゼ」ノ最適水素イオン濃度ハ $pH 6.2$ ノ附近ニアリ $pH 3.0$ 以下ノ酸性、 $pH 11.0$ 以上ノ「アルカリ」性ニテハ殆ド其ノ作用ヲ破壊サル。
- 五、「トリプトファンナーゼ」ノ最適温度ハ比較的低位ニアリ攝氏 20 度附近ヲ最適トシ攝氏 30 度之レニ次グ
- 六、「トリプトファンナーゼ」ハ攝氏百度ニ煮沸スルコトニ依リ殆ド完全ニ破壊セラレ其ノ作用ヲ停止ス。
- 七、「トリプトファンナーゼ」ハ「チモール」、「トリユオール」ノ如キ殺菌劑ニ依リ僅カニ其作用ヲ阻害セラル。
- 八、清酒ガ其ノ新酒時代ヨリ古酒トナル貯藏期間中ニ於テ其ノ含有スル「トリプトファン」量ヲ著シク減少スル理由ハ單ニ火入等ノ如キ加熱ノ影響ニ因ルニアラズ麹菌及清酒酵母ヨリ溶出殘留セル酒中ノ酵素「トリプトファンナーゼ」ノ作用ニ因ルコトヲ證セリ。
- 九、「トリプトファンナーゼ」ニ依ル「トリプトファン」ノ分解ハ普通ノ「アミダーゼ」ノ作用ト異ナリ脱「アミノ」作用ニ依リ「アムモニア」ヲ游離スルコトナシ。

トリプトファン分解酵素ニ就テ

十、「トリプトファン」ニ依ル「トリプトファン」ノ分解生成物ハ「メラニン」等ノ如キ有色素體ヲ生ズルニ非ラズ、從ツテ「クロシナーゼ」又ハ「クロモオキシダーゼ」ノ作用ニ非ラズ。

十一、「トリプトファン」ニ依ル「トリプトファン」ノ分解生成物トシテハ僅カニ「インドールカルボン」酸及「インドール」醋酸ノ微弱ナル反應ヲ認メタルノミニシテ其構造ヨリ推定サルベキ物質タル「インドール」、「スカトール」、「インドールプロピオン」酸、「アンスラニール」酸、「キヌレン」酸、「トリプトフォー」ル」ニ就テ試験セルモ資料少キ爲メ未ダ陽性ノ結果ヲ得ズ。尙該點ニ就テハ多量ノ資料ヲ得テ試験ヲ續行シ次回ニ之レヲ報告スベシ。

一 原料ヨリ分離セル「ファカルタタイプバクテリア」ニ就テ

技師 松 本 憲 次

醤油醸造ニ關スル細菌類ニ就テ(補遺)

一、醤油醸造原料ニ附着セル「ファカルタタイプ」細菌類

醤油諸味中ニ顯ハル、細菌類ハ如何ナル徑路ヲ經テ移行スルモノナリヤヲ探究スル必要アルヲ以テ、先ヅ原料ニ附着セル細菌類ヲ研究シ、已ニ醸造試験所報告第百〇九號ニ報告シタリ。然シ此場合ノ細菌類ハ主トシテ好氣性的分離法ニ依レルモノナリ。今回ハ嫌氣性的培養法ニヨリ大豆ト小麦ト小麥ヨリ分離シタル細菌類ニ就テ調査シタリ。勿論主トシテ成酸菌ニシテ比較的ニ食鹽ニ抵抗力アルモノ、ミヲ選擇シ大體ノ諸性質ヲ一般法ニ從ヒ調査シ其種類ヲ決定シタリ。

試験方法ハ「ブフナー」氏管ノ「ピロガロール」法ヲ採用シ、培養液トシテハ中性麴液及肉汁ニ一〇%食鹽添加シタルモノニ各原料ヲ少量投入シ培養シテ、三回移植ヲ繰リ返シタル後、普通ノ麴液及肉汁寒天培養法ヲ行ヒ分離シタリ。而シテ類似シタルモノハ此レヲ整理シテ異ナルモノ丈ケ選擇シテ實驗ヲ進メタリ。

試験資料ハ前第四報ニ掲載シタルモノト同様ニシテ番號モ共通ナリ。唯ダ分離シタル細菌類中ニハ抵抗力薄弱ナル爲メ淘汰シタルモノ可ナリ存在ス。

原料ヨリ分離セル「ファカルタタイプバクテリア」ニ就テ

試験方法中培養實驗ハ「フナー氏管」ヲ使用シタルノミニテ他ハ從來ノ方法ト何ラ變ル所ナシ。今左ニ分離細菌類ノ特性ヲ掲載スベシ。

第二號「バクテリウム、コリ、コムニウス」變種

本菌ハ桿狀菌長 1.4-2.0μm 巾 0.7μm 個々又二個連結ス、運動性アリテ廻旋運動ト游泳運動ヲナス。孢子ヲ形成ス。肉汁ニ三日間位培養スル時ハ不規則型ヲ認メ孢子狀ノモノ見ラル。グラム氏法ニテ着色セズ。

培養試驗

肉汁寒天斜面培養、二八度ニ培養シタルモ微カナリ。能ク硝子壁ト寒天接面ニ沿フテ繁殖ス。多少瓦斯ヲ發生スル傾向アリ。穿刺培養ニ於テモ可ナリ微カナル繁殖ヲ爲シタリ。

麴液寒天斜面培養 繁殖ノ模様ナシ。穿刺培養二八-三〇度ニテモ七日穿刺溝ニ沿フテ發育ヲナス。空氣中ニ放置シテハ發育不充分ニシテ、フナー氏ノ嫌氣培養ニ於テハ滑ラカナル等質ノ圓形ノ集落ニシテ肉眼ニテハ半透明狀ナリ。馬鈴薯ニハ繁殖セズ。

麴液懸垂培養ニ於テハ桿狀ヲナシテ繁殖シタルヲ見ル。

肉汁ハ三〇度ニ三日間培養ニテ多少濁ヲ見タリ。「ペプトン」水ニハ痕跡ノ發育ヲ爲シ、酵母水ニ可ナリ能ク繁殖ス、二八-三〇度位ニテ四日目ニ於テハ沈澱ヲモ生ズ。

麴液牛乳ハイタツク氏液。瀧液(一〇%食鹽添加) 酵母水ニ葡萄糖添加液、麥芽液、清酒(二割加水)及清酒十葡萄糖、醬油培養液等ニハ繁殖ヲ示サズ。

醬油一割添加麴液(食鹽六%添加)ニハ四日間二八度ニ於テハ連結シタ糸狀菌ヲ見出シ香氣ハナク、反應ニハ變化ナシ。

生産物試驗

硫化水素ヲ生ゼズ。亞硝酸曹達ヨリ瓦斯ヲ發生セズ、又「メチレン」青ヲ微カニ還元スル性質アルモ微弱ナリ。

窒素物質ノ同化

人工培養液ニ「アスバラギン」酸「ペプトン」尿素「グルタミン」酸等ヲ添加シテ培養シタルニ何レニモ繁殖セズ、尙硝酸加里、硫酸「アンモン」磷酸「アンモン」炭酸「アンモン」及鹽化「アンモン」等ノ中炭酸「アンモン」ハ痕跡ニ繁殖シタルガ如シ。

炭水化物ヨリノ生酸試驗

「ラヒノース」「アルファメチール、グルコシッド」及果糖等ヨリ可アリ生酸シ葡萄糖、麥芽糖、糊精ヨリ稍ヤ生酸シ「ラクトース」ヨリ微量ニ生ズルモ「アラビノース」「ソルボース」「キシロース」「ラムノース」「マンニット」「グリセリン」「イヌリン」「ガラクトース」澱粉、甘蔗糖、等ヨリ生酸セズ。

最適發育溫度

四〇度近傍ニ於テ旺盛ナルガ如シ。

死滅溫度ハ不明ナルモ四五度ニ於テモ充分ニ繁殖シタルヲ認メタリ。

標 徵

本菌ハ上記記載シタル諸項ヨリ考ヘエセリヒ氏ノ「バクテリウム、コリ、コムニウス」ニ類似スルヲ以テ左ニ特性ヲ比較スベシ。

ビ出ス場合アリ。其他ノ性状ヲ觀ルニ「バチルス、ラクチス、アシヂ、ライヒマン」ニ類スル點アリ。又高橋博士ノ火落酒ヨリ分離シタル「ラクチス、アシヂ」トヲ糖類ヨリ生酸状態ヲ比較スレバ左記ノ如シ。

物質名	本 菌	バクテリウム、ラクチス、アシヂ、 タカハシ	バクテリウム、 ライヒマン
アラビノース	+	+++	-
果 糖	+++	+++	+++
葡 萄 糖	+++	+++	+++
ガラクトース	+	+	x
甘 蔗 糖	(+)	+++	+++
麥 芽 糖		+++	+++
乳 糖	(+)	+++	+++
ラヒノース	+++	++	(+)
糊 精	-	+	+
澱 粉		+	
イヌリン	x	-	+
マンニット	+	-	(+)
キシロース	-	+	-
ラムノース	-	+	-
アルファ、メチ ド、グルコシツ	-	+++	-

以上ノ如ク「バチルス、ラクチス、アシヂ」ト比較スルニ高橋博士ノモノハ酵母水、麴液清酒寒天ニ繁殖セズ且ツ砂糖類ヨリノ生酸ヲ異ニス又最適繁殖温度モ高橋博士ノモノニ比較シテ高キ傾向アリ(醸造試験所報告第十二號参照)

要スルニW第二號ニ類スル一種ノ乳酸菌ニシテ「バクテリウム、ラクチシ、アシヂ」ノ變種ト思ハル。W第四號

檢 鏡

本菌ハ桿狀菌ニシテ長1.0-2.1μ 細胞ハ個々又二個連續シ菌體ハ多少屈曲スルコトアリ。運動性アリテ、胞子ヲ形成ス。グラム氏法ニヨリ着色ス。

培養試験

肉汁寒天斜面培養 三〇度ニ二日間培養ニ於テ薄ク透明ニシテ殆水滴ノ如ク繁殖シ、凝縮水ハ滲濁シタリ。又瓦斯ヲ發生ス。試験管壁ト寒天トノ接面ニ繁殖シ嫌氣性ニ於テ繁殖良好ナリ。穿刺培養ニ於テハ穿刺溝ニ繁殖シタルモ薄ク、平面ノ孤狀菌叢ヲ生ズ、表面ハ繁殖ヲ認メズ。麴液寒天培養ニ於テハ可ナリ繁殖良好ニシテ層モ厚ク瓦斯ヲ發生ス。馬鈴薯ニハ繁殖セズ。清酒寒天(二%葡萄糖添加ニハ繁殖セズ。「ペプトン」水寒天ニ繁殖セズ。)

肉汁ニ微カニ繁殖スルモ、麴液其儘、酵母水、及酵母水(葡萄糖添加)麥芽液、清酒(二割加水)及葡萄糖添加牛乳、瀧(一〇%食鹽添加)稀薄醬油(二割ニ六%食鹽添加)ニ炭酸石灰ヲ入レタルモノニ繁殖シタリ。

炭水化物ヨリノ生酸試験

葡萄糖「ガラクトース」麥芽糖、糊精、果糖「アルファメチール、グルコシツド」等ヨリ生酸ハ顯著ニシテ「ラヒノース」「イヌリン」「マンニット」「キシロース」「ラムノース」等ヨリ多少酸ヲ生成シ、乳糖「ザリシン」「アラビノース」ヨリハ微量ノ生成ヲ示ス。

原料ヨリ分離セル「ファカルタテイバクテリア」ニ就テ

生産物試験

硫化水素ヲ微ニ生産シ、硝酸加里ヨリ亞硝酸ヲ微ニ生ジ、窒素給源トシテ炭酸「アンモン」ヲ取ル如ク、瓦斯ヲ生シ、沈澱トナリ繁殖シタリ。

最適發育溫度ハ三五度近傍ニシテ、五五度ニ於テ衰弱シタルモ六〇度ニ堪ユルガ如ク思ハル。

標 徴

短桿狀菌ニシテ、運動性アリ。水滴狀ニ寒天表面ニ繁殖ス。嫌氣性培養ノ方ハ良好ニシテ。瓦斯ヲ發生スル點ハW第三號ト同様ナリ。生酸ハ可ナリアル方ニシテ、多少弱性ニシテ他ノ分離ヨリ死滅ハ速ヤカナル方ナリ。

W第九號「バクテリウム、ククメリス、フェルメンタチ」(ヘンネベルヒ)變種

檢 鏡

本菌ハ短桿狀菌ニシテ先端ハ不鮮明ノ輪廓ヲナス。長2.0—3.0 μ 巾0.5 μ ニシテ運動性ナシ、時ニ運動スル如ク見ユ、胞子ヲ形成シ外部ニ放出スルガ如シ。形ハ丁度連球菌狀ニ見ユ。グラム氏法ニヨリ着色セズ。

培養試験

肉汁寒天斜面培養 三〇度ニ二日間培養ニ於テ薄ク繁殖ヲナシ、恰乳白色ノ滴狀ニ生ズ。繁殖ハ良好ノ方ニシテ、凝縮水ハ溷濁ス、培養基ニハ結晶ヲ生ズ。空氣中ニ放置スル時ハ淡黄色光澤アル糊狀ノ粘稠性ヲ帶ブ凝縮水ハ淡黄白色ノ沈澱ヲ生ズ。又棒色ノ光澤アルモノニ變ズ。空氣中ノ方ハ嫌氣性的培養ノ方ヨリ繁殖良好ナリ。穿刺培養ニテハ可ナリ穿刺溝ニ發育ヲナシ。表面ニモ繁殖ヲナス。麴液寒天斜面ニ繁殖ヲ認メズ、清酒寒天斜面培養(二%葡萄糖添加)二八—三〇度ニ七日間ノ培養ニ於テ灰白色滑澤ノ繁殖ヲナシ、瓦斯ヲ發生

ス、凝縮水ハ溷濁シ且ツ微ニ粘稠性ヲ帶ブ。「ペプトン」寒天斜面培養ニモ繁殖ス、馬鈴薯ニハ淡黄色光澤アル糊狀ノ發育ヲナス。肉汁ニハ液溷濁シ、麴液ニハ發泡シツ、繁殖溷濁シ沈澱物ヲ生ジタリ。酵母水、微ニ溷濁シ反應ハ多少酸性ナリ。酵母水葡萄糖添加、被膜ヲ多少生ジテ溷濁シタリ。浮游物ガ振盪ニヨリ沈下ス多少醱酵シテ發泡シタリ。清酒及清酒葡萄糖添加、麥芽液等ニ溷濁シテ繁殖シ且ツ沈澱ス。醬油ト麴液等量(三%食鹽添加)繁殖ヲ認メ香氣良好ナリ。牛乳ハ酸性トナルモ瀕(一〇%食鹽添加)ニハ繁殖セズ。

炭水化物ヨリノ生酸試験

果糖、葡萄糖「ガラクトース」麥芽糖「ラヒノース」マンニツト「アラビノース」キシロース」等ヨリ生酸強ク、甘蔗糖、乳糖、糊精「ラムノース」ヨリ多少生酸スルモ「ソルビオース」及「ザリシン」ヨリ痕跡ノ生酸ヲ認ム。「イヌリン」「グリセリン」澱粉及「アルファ、メチール、グルコシド」ヨリ生酸セズ。

窒素物ノ同化

「アスバラギン」「ペプトン」尿素ハ適當スルモ「グルタミン」酸ハ不適當ナリ。又無機物質中ニハ炭酸「アンモン」適合スルガ如シ。

生産物ノ試験

「メチール、ラクテード」「エチール・アルコール」「アセトン」「アセチール・メチール・カルビノール」ノ外醋酸及乳酸ヲ認メタリ。硫化水素ヲ發生セズ「インドール」反應ナシ。硝酸加里ヲ多少還元ス。最適發育溫度ハ二五度近傍ニシテ五〇度ニ三分間ナレバ死滅スルガ如シ。

標 徴

本菌ハ「バクテリウム、マエルケリ」(ヘンネベルヒ)カ「バクテリウム、ククメリス、フェルメンタチ」(ヘ

ンネベルヒ)ノ何レカニ屬スル如キモ、前者ハ幾分菌體長ク、瓦斯ヲ發生セザル點相違ス。後者ハ形狀及瓦斯發生點ヨリシテ本菌ト類似ス。又本菌ヲ高橋博士分離ノ火落菌第五號ト比較スルニ繁殖狀態及生理的狀況可ナリ類似スル點アルモ、本菌ハ「グルコース」ヨリ生酸シテ「アルファメチール、グルコシッド」ヨリ生酸セザル點ハ高橋博士ノ第五號ト相違ス。

W 第一一號「バクテリウム、ライヒマンニ」(ヘンネベルヒ、第二號)變種

檢 鏡

本菌ハ小形短桿菌ニシテ長 2.0 μ 、二連球菌狀ナリ運動性アリテ、孢子ヲ形成ス。「メチレン」青液ニテ染色スル粘液着色ス、孢子ハ菌體外ニ飛出スモノアリ。グラム氏法ニテ着色セズ。

培養試驗

肉汁寒天斜面培養、三〇度二日間培養ニ於テ、極メテ薄キ透明無色ノ繁殖ヲ爲シ、凝縮水ハ溷濁ス。培養基中ニ大形ノ結晶ヲ認メ、空氣中ニ放置スル時ハ淡暗黃色滑澤ナル發育ヲナス。W 第九號ヨリ少シク濃厚ナリ。空氣中ノ方ハ嫌氣性ヨリ繁殖良好ナリ。穿刺培養ニ於テハW 第九號ト同様ニシテ、表面ニ少シク發育ヲ示シタリ。麴液寒天斜面培養ニ於テハ透明ニ近キ而シテ溷濁面ノ「サラサラ」シタル如ク曇リ、硝子狀周邊ハ「ボカシ」タル狀ナリ。清酒寒天斜面(二%葡萄糖添加)七日間(二八—三〇度)ニ微カニ繁殖ヲナシ、丁度酵母狀ノ光澤ノ聚落ヲ形成ス。馬鈴薯ニハ糊狀ノ少シク黃色ヲ帶ビタル繁殖ヲ爲ス。「ペプトン」水寒天斜面培養ニ於テハ乳白ノ光澤アル糊狀表面ハ粒狀ニシテ周邊ハ不規則ニシテ半透明ナリ。肉汁ニハ微ニ溷濁シ且沈澱ヲ生ジタリ。麴液ハ沈澱ヲ生ジ醱酵ヲ示シ液溷濁シタリ。液ハ酸性ヲ呈ス。酵母水、二八—三〇度ニ四日間ノ培養ニ於テ沈澱ヲ生ジ、同時ニ多少ノ溷濁ヲ呈シ、且ツ振盪ニヨリ強ク溷濁

ス。酵母水(葡萄糖添加)前同様ニ溷濁ヲ生ジ沈澱モ可ナリ生ジタリ。牛乳ハ凝固シ上面ニ「カゼイン」ノ如キ物質ニヨリ蓋ヲ爲シ、二週間後液ハ酸性ヲ呈ス、麥芽液ハ溷濁ト沈澱ヲ生ジタル、清酒(二割加水)及葡萄糖添加ノ場合モ繁殖セズ。瀾(一〇%食鹽添加)繁殖セズ。醬油稀釋液(五倍三%食鹽添加)ニハ微ニ繁殖シタリ。

炭水化物ヨリノ生酸試驗

果糖、葡萄糖、「ガラクトース」甘蔗糖、乳糖「ラヒノース」糊精「マンニット」「ラムノース」「ザリシン」「アラビノース」等ヨリ可ナリ生酸シ、「イヌロン」ヨリハ稍生酸ヲ示スモ「ソルビオース」「キシロース」ヨリ微量生ジタリ。

窒素化合物ノ同化ニ際シテハ「磷酸、アンモニウム」及多少炭酸「アンモニウム」ガ適當スルガ如シ。

生産物試驗

液ニ培養シタルモノ腐敗臭アリ。「メチール・アルコール」「エチール・アルコール」「アセトン」「アルデハイド」等ハ可ナリ生ジ多少「アセチール・メチール・カルビノール」ノ反應アリ。醋酸、琥珀酸多少生ジ、乳酸ハ可ナリ生座ス。

硫化水素及「インドール」ノ反應ヲ與ヘズ。

「メチレンブリー」ヲ還元セズ、硝酸加里添加ニ於テ還元ヲ現ハシ亞硝酸反應ヲ微ニ呈ス。

標 徵

本菌ハ前記諸性状ヨリ觀テ一種ノ乳酸菌ナルコトヲ知ルモノニシテ、糖類ヨリノ生酸狀態ハ「バクテリウム、リステリ」(ヘンネベルヒ)又「バクテリウム、ライヒマンニ」(ヘンネベルヒ)第二號ノ何レカニ屬スル

原料ヨリ分離セル「ファカルタテイバクテリア」ニ就テ

モノナリ。唯前者ハ「イヌリン」及「アルファ、メチール、グルコシツド」ヨリノ生酸ハ弱キモ後者ハ強キ點ハ、本菌ニ對照シ後者ニ類縁スルモノト思ハレ、培養ニ於テハ浮游狀ヲ爲ス點ハ「バクテリウム、リステリ」ニ類スル如ク見ユルモ大體糖類ヨリノ生酸状態ハ「バクテリウム、ライヒマンニ」ノ變種ト看做スヲ至當ト思ハル。

S 第三號「バクテリウム、ククメリス、フェルメンタチ」(ヘンネベルヒ)變種

檢 鏡

本菌ハ短桿狀菌ニシテ長サ1.9-2.2μ 巾0.7μ 運動性ニシテ、孢子ヲ形成セズ、懸垂培養ニ於テハ、桿狀ニシテ激シク運動ス。グラム氏法ニヨリ着色セズ。

培養試験

肉汁寒天斜面培養、三〇度ニ二日間ノ培養ニ少シク有色ノ透明ノ泡狀ヲ爲シ、凝縮水ハ溷濁ス。培養基ニハ結晶ヲ生ジ。空氣中ニ於テハ白色ヲ帶ビタル、光澤アル多少隆起シタ發育ヲナス。穿刺培養ニ於テハ穿刺溝ニ繁殖ヲ示シ、試験管ト寒天ノ接面ニ繁殖スル時ハ醱酵シテ泡ヲ生ズ。

馬鈴薯ニ二・五度ニ二日間培養ニ於テ汚白黄色ノ濕潤ノ隆起シタル繁殖ヲナス。清酒寒天斜面培養(二%葡萄糖添加)ニハ繁殖セズ「ペプトン」水寒天ニモ十分ニ繁殖セズ。

内汁ニ三〇度ニ三日間ノ培養ニ於テ可ナリ沈澱ヲ生ジ、振盪ニヨリ糸狀ニナリ動搖シ液溷濁シタリ。麴液ハ醱酵ヲナシ液溷濁シ、反應ハ酸性ニテ可ナリ強シ。牛乳ヲ多少凝固シ、瀧(食鹽一〇%添加)少シク繁殖シ液ハ溷濁シタリ。酵母水、清酒、麥芽糖等ノ培養液ニ繁殖ヲ示サズ。

炭水化合物ヨリノ生酸試験

果糖、麥芽糖、乳糖「ラヒノース」「イヌリン」「アルファメチール・グルコシツド」「ザリシン」及「アラビノース」等ヨリ可ナリ生酸ヲ示シ「ソルビオース」糊精及「ラムノース」等ヨリ多少生酸シ甘蔗糖「キシロース」ヨリ微量ニシテ「ガラクトース」及「マンニツト」「グリセリン」澱粉等ヨリ生酸セズ。

窒素化合物ノ同化

有機態窒素化合物中「アスバラギン」酸「ペプトン」尿酸等ハ可ナリ能ク同化ス、無機物中ニハ窒素ノ給源トナルモノ少ナシ。

生産物試験

「メチール・アルコール」「エチール・アルコール」「アセトン」「アセチール・メチール・カルビノール」ハ反應ヲ認メ、醋酸ヲ多少生ズルガ如シ。液ハ可ナリ酸性ヲ呈シ、硫化水素ヲ發生セズ。還元性トシテ「メチレン」青ノ脱色度強シ。硝酸加里ノ添加ニヨリ亞硝酸ノ檢出ハ可ナリ顯著ナリ、紅色ナル脱黄色トナル。肉汁ニ硝酸曹達ヲ入レ醱酵管ニ培養シタルニ瓦斯ヲ生ズ多分窒素瓦斯ト思ハル。

最適發育溫度ハ二五度近傍ニシテ、五〇度ニ三〇分ノ加熱ニ於テハ死滅ス。

標 徵

本菌ハW 第九號菌ニ類スルモノニシテ、殊ニ寒天、馬鈴薯、麴液等ニハ類似ス。食鹽ニ對シテハ本菌ハW 第九號ニ比較シ強ク。又「ガラクトース」「マンニツト」「甘蔗糖」等ヨリ生酸セズ「アルファメチールグルコシツト」ヨリ生酸スル點ハW 第九號ト異ナルモ、大體ノ性状ハ類似ス。

本菌ヲ更ラニ、高橋博士ノ火落菌第四號ト比較スルニ「ガラクトース」「甘蔗糖」「イヌリン」等ヨリノ生酸狀況ヲ異シ、又本菌ノ酵母水、麥芽糖、清酒中ニハ繁殖セザルハ同第四號菌ト相違スル處ナリ。

原料ヨリ分離セル「フアカルタテイバクテリア」ニ就テ

要スルニ、W第九號ニ近似シ「バクテリウム、ククメリス、フェルメンタチ」(ヘンネルベルヒ)ノ變種ト見做サル。

S第五號「ベデオコックス、リンドネリ」(ヘンネベルヒ)變種

檢 鏡

本菌ハ二連菌ニシテ繭形狀ニシテ直徑0.1 μ ヲ有シ運動セズ。胞子形成ハ不明瞭ナリ。時ニハ「ザルシナ」狀ヲナス、グラム氏法ニヨリ染色ス。

培養試験

肉汁寒天斜面培養、薄ク透明ノ發泡狀ヲナシ繁殖ヲナス。室温ニテハ極メテ薄層ニ透明ナル繁殖ヲ見ル。空氣中ヨリハ嫌氣性ノ方良好ナリ。聚落ハ光澤アル白色ナリ。穿刺培養ニ於テハ穿刺溝ニ繁殖ス。麴液寒天斜面ニハ點々狀ヲナシ微ニ繁殖ヲ示シ、清酒寒天斜面(二%葡萄糖添加)繁殖ヲ示サズ。馬鈴薯繁殖セズ。肉汁ニハ多少繁殖シ一〇日間後ニハ沈澱ヲ生ジ液透明トナル。反應ハ酸性ナリ。麴液ニハ多少繁殖シ溷濁シ液ハ酸ヲ可ナリ形成ス。牛乳ニハ繁殖シ可ナリ酸性トナル。酵母水、溷濁シ液酸性トナリ。葡萄糖ノ添加ノ場合モ沈澱ヲ生ジタリ。「ペプトン」水ニ微ニ繁殖シタリ。清酒麥芽汁及瀾等ニハ繁殖ヲ示サズ。醬油ト麴液等量(食鹽ヲ三%添加)微ニ繁殖シタリ。

炭水化物ヨリノ生酸試験

「アラビノース」「ラムノース」果糖「ガラクトース」「甘蔗糖、乳糖」「ラヒノース」糊精「マンニツト」「アルフアメチール・グルコシッド」「ザリシン」等ヨリ可ナリ生酸ス。「ソールビオース」「麥芽糖ヨリ生酸シ」「キシロース」及澱粉ヨリ微ニ生酸スルモ「グリセリン」「イヌリン」等ヨリ生酸セズ。

生産物試験

「エチール・アルコール」「アンモニア」「乳酸ヲ生産シ」「インドール」及硫化水素ノ反應ヲ認ム。多少還元物質ヲ生ジ、硝酸鹽ヨリ亞硝酸ヲ生ジ「メチレイン」青ヲ多少脱色ス。

標 徵

本菌ハ「ベデオコックス」形狀ヲ爲シ、「ベデオコックス、アシデ、ラクチシ」(リンドナー)及(ヘンネベルヒ)ト較類似スル點アリ。最適發育溫度、死滅溫度ノ如キハ殆ト同ジ、「ベデオコックス、リンドネリ」(ヘンネベルヒ)ノ如キハ「ラムノース」「甘蔗糖、麥芽糖」「ラヒノース」糊精「イヌリン」「マンニツト」等ヨリ生酸ヲ示サズ、然ルニ本菌ハ「イヌリン」ヨリ生酸セザルモ前記糖類ヨリハ大方生酸ヲ示シタリ。「バクリウム、ラクチシ、アシデ」「ライヒマン」ニ類似スル點アルモ形狀及砂糖ヨリノ生酸ハ趣キヲ異ニス要スルニ諸性質ヨリ「ベデオコックス、リンドネリ」(ヘンネベルヒ)ノ變種ト見ルヲ至當トスベシ。

S 第八號 バクテリウム、スゼンバツヒ(ヘンネベルヒ)變種

檢 鏡

本菌ハ桿狀菌ニシテ長4.0 μ 中1.6 μ 時ニ長3.0—4.2 μ 中0.6 μ 位ヲ示ス時アリ。割合大形ニシテ、運動性ニシテ鰻ノ游泳運動ノ如シ、細胞ハ個々又二個連結シ胞子ヲ形成ス。細胞ハ異形體ヲ形成シ彎曲セル細胞内脂肪狀球ヲ多含ス。グラム氏法ニヨリ着色ス、

培養試験

肉汁寒天斜面培養白色ノ光澤アル繁殖ヲナシ、透視スルニ乳白色ナリ。空氣中ニ放置シタルモノハ「バチ

ルス、ズブチリス」狀ノ繁殖ヲナシ、濕潤ニシテ多少光澤アル白色陶器狀色ニシテ可ナリ繁殖良好ナリ、嫌氣性ノ方寧發育不良ナリ。穿刺培養ニ刺狀ニ穿刺溝ノ側面ニ繁殖シ、寒天溷濁狀ヲ呈ス。麴液寒天斜面培養ニ於テハ繁殖セズ、清酒寒天ニモ繁殖セズ、馬鈴薯、光澤ナキ薄キ白色ノ繁殖ヲナシタリ。隆起ハ甚シカラズ、表面ニ可ナリ廣ガル。

肉汁 液底ニ多少綿狀ノ沈澱ヲ生ジタリ、麴液ハ溷濁シ多少沈澱ヲ生ジタリ、牛乳ハ凝固シ酸性ヲ呈シ。酵母水ニハ一三〇度ニ四日間ニ於テハ液ハ透明ニシテ沈澱ヲ生ジ、振盪ニヨリ溷濁シ、酸性トナル。

清酒、麥芽液及瀨(一〇%食鹽添加)ニハ繁殖セズ。醬油ト麴液等量ニハ多少繁殖シタル傾向アリ。

炭水化物ヨリノ生酸試験

「ソルビオース」果糖「グルコース」麥芽糖、糊精澱粉等ヨリ可ナリ生酸シ、乳糖「ラヒノース」「ラムノース」「グリセリン」等ヨリ多少生酸シ、「ガラクトース」「ザリシン」等ヨリ痕跡生ジ「マンニット」「イヌリン」ヨリ生酸セズ。

窒素化合物ノ同化

「アスパラギン」尿酸「グルタミン酸」ヲ同化セザルモ「ペプトン」ハ同化ス。

生産物試験

「アミール・アルコール」「エチール・アルコール」「アンモニア」ヲ生産シ、醋酸ヲ可ナリ生ジ乳酸ハ微量ナリ。「インドール」及硫化水素ヲ生セズ。

最適發育溫度ハ二五度近傍ニアルガ如ク、六〇度ニ三〇分間加熱ニヨルモ死滅セズ。

標 徵

本菌ハ「バクテリウム、スゼンバツヒ」(ヘンネベルヒ)ニ類似スル點アリ。液體培養ニ於テハ厚キ皮膜ヲ生ゼズ、時ニ容器ノ壁ニ皮膜ヲ附着スルコトヲ見ル。即チ輪ヲ形成ス。其他ハ卵形ニシテ、最適溫度ハ二五度近傍ニアル點ハ「バクテリウム、スゼンバツヒ」ニ類似ス、然レドモ「マンニット」「アラビノース」ヨリ生酸ナク甘蔗糖ヨリノ生酸惡シキコトモ大體ヨリスレバ「バクテリウム、スゼンバツヒ」ト類似スル點多キヲ以テ該菌ノ變種ト看做サル。

S 第二號「バクテリウム、ウオルトマニ」(ヘンネベルヒ)變種

檢鏡 本菌ハ球狀菌ニシテ二連形ナリ橢圓形ヲ呈スルガ如シ運動性ナク、直徑0.6ミクロングラム氏法ニヨリ染色ス。麴液ノ小滴培養ニテ二連球菌狀ニ繁殖ニ見ユ。

培養試験

肉汁寒天斜面培養 薄ク濕潤狀多少光澤アル發育ヲナシ、可ナリノ繁殖アリ。清酒寒天斜面培養ニ微ニ繁殖シ、培養基内ニ繁入シ「ペプトン」寒天ニモ同様ナリ、肉汁ニ液底ニ沈澱シ振盪ニヨリ線狀ヲナシ動搖ス。酵母水及其レニ葡萄糖添加液等ニハ繁殖シ溷濁シ且ツ沈澱ス。醬油培養液(醬油ニ一割ノ麴液ト食鹽ヲ六%添加)ニ繁殖シタリ。又醬油ト麴液等量ニ食鹽六%炭酸石灰ヲ入レタルモノニ嫌氣性的培養ニテ短桿狀ニ繁殖ス。

炭水化物ヨリノ生酸試験

可ナリ糖類ヨリ生酸ス。「キシロース」「アラビノース」「ザリシン」等ヨリモ生酸ス。

窒素物トシテハ「ペプトン」適當トス。

生産物試験

原料ヨリ分離セル「ファカルタタイプバクテリア」ニ就テ

乳酸ノ「ウツヘルマン」ノ反應ハ顯著ナルモ乳酸亞鉛法ニテハ不明瞭ナリ。且ツ醋酸モ多少生成ス、液ハ芳香ニシテ一〇c.c.ニ對シ十分ノ一苛性曹達ノ二・八c.c.位ノ生酸アリ。硫化水素ヲ發生シタレドモ「インドール」ノ方ハ不明ナリ。硝酸鹽ヲ還元セズ。

標 徴

本菌ハ「バクテリウム、フェルメンタチ」「バクテリウム、ブラシカエ、フェルメンタチ」「バクテリウム、ウオルトマンニ」「バクテリウム、ウエメリ」等ノ何レカニ屬スルモ「ブラシカエ」或ハ「ウエメリ」等ハ瓦斯ヲ發生スルヲ以テ本菌ト區別シ得ベキヲ以テ、「ククメリス、フェルメンタチ」カ「ウオルトマンニ」ノ何レカニ屬スベキモ、前者ハ短桿菌ニシテ且ツ最適温度ハ多少異ナルガ如シ。要スルニ後者ノ「ウオルトマンニ」近似スルモノト思ハル。

第二號B (醋酸菌)?

檢 鏡

本菌ハ桿狀菌ニシテ巾ヒコ長チヨウ細胞ハ個々又ハ二個連結ス。孢子ヲ先端ニ生ジ、運動性アリ。グラム氏法ニヨリ染色ス。

培養試験

肉汁寒天斜面培養 半透明ノ光澤アル周邊ノ穩カナル繁殖ヲナシ同時ニ多少ノ皮膜ヲ凝縮水上ニ形成ス。穿刺培養ニ於テハ微ニ穿刺溝ニ繁殖ス。幾分醗酵スル傾向アリ。麴液寒天ニハ繁殖ヲ示サズ。清酒寒天モ同様ナリ「ペプトン」水寒天斜面ニ於テ暗赤色ノ表面ハ粒狀ヲ呈シ、光澤アリ。丁度「プロテキオザス」ノ如シ。肉汁ニ沈澱物ヲ生ジ振盪ニヨリ絲狀ニ動搖ス。麴液、瀧、牛乳、酵母水、清酒及麥芽液等ハ繁殖ノ模様ナ

キモ醬油ノ稀釋液ニハ多少繁殖ス。

炭水化物ヨリノ生酸試験

果糖、葡萄糖「ガラクトース」甘蔗糖、麥芽糖、乳糖「ラヒノース」「マンニツト」等ヨリ可ナリ生酸シ糊精ヨリ稍生シ「アラビノース」「イヌリン」「キシロース」「アルファアメチール、グルコシッド」等ヨリ微ニ生酸ス。

窒素化合物ノ同化

硝酸加里、炭酸「アンモン」ハ稍ヤ利用セラル、ガ如シ。

生産物試験

「メチール・アルコール」「エチール・アルコール」「アルデハイド」「アミール、アルコール」「アンモニア」等生産シ「メチール、アルコール」ハ就中多シ。又醋酸及琥珀酸ハ微ニ生シタリ。

硝酸鹽ヨリ亞硝酸ヲ生ズル力非常ニ強ク、又「メチレン」青液ノ脱色モ可ナリ強キ方ナリ。最適發育温度トシテハ不充分ナルモ五〇度ニ三〇分間ノ加熱ニテ死滅ス。

標 徴

分 離 細 菌 ノ 分 布 狀 態

分離細菌名	小麥及大豆ノ試料番號											
	No. 1.	No. 2.	No. 3.	No. 4.	No. 5.	No. 6.	No. 7.	No. 8.	No. 9.	No. 10.	No. 11.	No. 12.
バクテリウム、コリ、變種	W. +	W. +		W. +								
バクテリウム、アラビノース、アラビノース變種			W. +									
バクテリウム、アラビノース、アラビノース變種									W. +			

原料ヨリ分離セル「フアカルタテイバクテリア」ニ就テ

W. 4.	桿狀菌ニシテ長 1.0—2.1μm、0.8μ 二個連結ス 胞子ヲ形成セズ菌體 多少風折スル時アリ	運動性アリ	未菌狀ニ 發育ヲナス	Banilian 培養スル時ハ 濁濁シ沈澱ヲ 生ズ波ハ透明 トナル	Indol 生セズ H ₂ S ヲ微ニ發生ス	最適發育溫度、 35°C 延傍ニアリ
W. 9	短桿狀菌 長2.0—3.0μm、中2.0μ 胞子ヲ形成ス	運動性不明 グラーメ氏法ニ ヨリ着色セズ	乳白色ノ透明 ノ凝塊ヲ生ズ 好ノ凝塊中ノ方 好	液濁ノ沈澱 ヲ生ズ皮膜又 ハ輪ヲ生ズニ於 テ(空氣中ニ於 テ)	メチル、ラクト アセトン、酢酸 ヲ生ズ、及乳糖 反應ヲ認メズ	最適發育溫度、 25°C、ナルカ 50°C、ナルカ如 シ、80分間ニ於 テ死 滅ス
W. 11	小短桿狀菌 長2.0μm、中0.6μ 連階珠菌狀	運動性アリ グラーメ氏法ニ ヨリ着色セズ	薄キ透明ノ無 色ノ凝塊ヲ生 シ時ニ凝塊 ノ凝塊ヲ生ズ	沈澱ハ早シ粘 着性トナリ、 於ニ於テ、 空氣中ニ於テ ハ皮膜ヲ形成 ス、牛乳トナ ルニ至リ	「エチールアル コール」 乳酸ヲ生ズ、 メチル、ラクト アセトン、酢酸 ヲ生ズ、及乳糖 反應ヲ認メズ	最適發育溫度 25°C、近傍ニシ テ、50°C ニ至リ、80分 間ニ於テ死 滅ス
S. 2.	短桿狀菌ニシテ 長1.8—2.2μ 中0.7μ 胞子ヲ形成セズ	運動性アリ グラーメ氏法ニ ヨリ着色セズ	光澤アル薄層 ノ凝塊ヲ生ズ 自起シ、 多量ノ凝塊 ヲ生ズ	沈澱ヲ生ズ、 凝塊ハ早シ、 粘着性トナリ、 於ニ於テ、 空氣中ニ於テ ハ皮膜ヲ形成 ス、牛乳トナ ルニ至リ	「エチールアル コール」 乳酸ヲ生ズ、 メチル、ラクト アセトン、酢酸 ヲ生ズ、及乳糖 反應ヲ認メズ	最適發育溫度 40°C、近傍ニシ テ、60°C、 30分間後死滅 ス
S. 5	連菌ニシテ砂皿時計 ノ如シ、 直徑 0.75μ	運動性アリ グラーメ氏法ニ ヨリ着色セズ	極メテ薄層 ノ凝塊ヲ生ズ 透明ナル、 凝塊ハ早シ、 粘着性トナリ	沈澱ヲ生ズ、 凝塊ハ早シ、 粘着性トナリ、 於ニ於テ、 空氣中ニ於テ ハ皮膜ヲ形成 ス、牛乳トナ ルニ至リ	「エチールアル コール」 乳酸ヲ生ズ、 メチル、ラクト アセトン、酢酸 ヲ生ズ、及乳糖 反應ヲ認メズ	最適發育溫度 50°C、近傍ニシ テ、80分 間ニ於テ死 滅ス
S. 8.	桿狀菌ニシテ 長4.0μ、中1.6μ、普通 3.0—4.μ、中0.6μ 胞子ヲ形成ス 點型體ヲ生ズ	運動性アリ グラーメ氏法ニ ヨリ着色セズ	白色ノ光澤 アル凝塊ヲ生 ズ、凝塊ハ 早シ、粘着 性トナリ	沈澱ヲ生ズ、 凝塊ハ早シ、 粘着性トナリ、 於ニ於テ、 空氣中ニ於テ ハ皮膜ヲ形成 ス、牛乳トナ ルニ至リ	「エチールアル コール」 乳酸ヲ生ズ、 メチル、ラクト アセトン、酢酸 ヲ生ズ、及乳糖 反應ヲ認メズ	最適發育溫度 25°C、近傍ニシ テ、60°C、 30分間ニ於 テ死滅 セズ
2. B	桿狀菌ニシテ 長4.5μ、中2.0μ 二個連結 胞子ヲ先端ニ生ズ	運動性アリ グラーメ氏法ニ ヨリ着色セズ	牛乳透明ノ光澤 アル凝塊ヲ生 ズ、凝塊ハ 早シ、粘着 性トナリ	沈澱ヲ生ズ、 凝塊ハ早シ、 粘着性トナリ、 於ニ於テ、 空氣中ニ於テ ハ皮膜ヲ形成 ス、牛乳トナ ルニ至リ	「エチールアル コール」 乳酸ヲ生ズ、 メチル、ラクト アセトン、酢酸 ヲ生ズ、及乳糖 反應ヲ認メズ	最適發育溫度 50°C、近傍ニシ テ、80分 間ニ於テ死 滅ス

S. 11	桿狀菌 胞子形成ス	運動性ナシ グラーメ氏法ニ ヨリ着色セズ	水晶體ノ牛乳 透明ノ凝塊ヲ 生ズ、凝塊ハ 早シ、粘着性 トナリ	沈澱ヲ生ズ、 凝塊ハ早シ、 粘着性トナリ、 於ニ於テ、 空氣中ニ於テ ハ皮膜ヲ形成 ス、牛乳トナ ルニ至リ	「エチールアル コール」 乳酸ヲ生ズ、 メチル、ラクト アセトン、酢酸 ヲ生ズ、及乳糖 反應ヲ認メズ	最適發育溫度 50°C、近傍ニシ テ、80分 間ニ於テ死 滅ス
-------	--------------	----------------------------	---	--	--	---

以上ノ實驗成績ヨリ觀ル時ハ乳酸菌トシテ一番多ク諸味ヨリ顯ハレタルハ「バクテリウム、ククメリス、フェルメンタチ」ナリ。此ノ菌ハ外國ニ於テモ發表セラレタル如ク食鹽ニ對シ相當ニ抵抗力ヲ有スル乳酸菌ニシテ多ク野菜類ノ鹽藏品中カラ可ナリ分離セルルヲ以テ、諸味中ニ移行スル如ク思ハル。唯本實驗ニ於テ後述スル如ク、諸味ノ嫌氣性培養ニ於テ顯ハル、「バクテリウム、アシヂ、ラクチシ」又ハ「バクテリウムラクチシ、アシヂ」菌ノ各種諸味ヨリ出現セザルハ多少奇異トスル所ニシテ、此等菌ハ後日繁殖ヲ逞ウシテ熟成諸味ニモ多ク顯ハル、モノトモ思ハル。以上兩種菌ハ一般植物體ニ附着シタル普通ノ乳酸菌ナルヲ以テ、大豆及小麥等ニハ當然ニ附着シ來ルモノト思ハル。

結 論

一、大豆及小麥ノ少量ヲ採リ麴液及肉汁ニ培養シ數回移植繁殖ヲ爲ス時ハ、比較的ニ生酸菌ノ繁殖スルコト多キヲ認ム。而シテ大豆ヨリモ小麥ノ方ハ成酸菌ノ多ク顯ハル、コトヲ知ル。
二、大豆及小麥ニ附着セル成酸菌中食鹽ニ抵抗力アルモノ、中最モ多キハ「バクテリウム、ククメリス、フェルメンタチ」菌ノ種類ガ顯ハレタリ。左ニ分離シ得タル成酸菌ヲ示スベシ。

1. Bact. Cui var.
2. Bact. Lactic Acidii var.
3. Bact. Cucumeris fermentati var. I. II.

原料ヨリ分離セル「フアカルメタイバクテリア」ニ就テ

- 4. Bact. Leichmanni var.
- 5. *Pefiosoccus Lindner* var
- 6. Bact. *S. huzen bachi* var
- 7. Bact. *Worlmanni* var.

三 醤油諸味ヨリ分離シタル細菌類(追補)一

技師 松 本 憲 次

A 第二十八號「バクテリウム、ラクチス、アシヂ、ライヒマン」變種

資料 熊本市 玉城常八氏 大正十四年八月三十日(諸味)

本菌ハ著者ノ「醤油醸造ニ關スル細菌類ニ就テ」ニ於ケ報告スベキ筈ナリシモ、比較的食鹽ニ抵抗力弱キヲ以テ特ニ除外シ置キタルモ、性質ヨリ觀テ可ナリノ特性アル菌ニシテ良性ニシテ、且ツ生酸力モ強キヲ以テ、其以後研究ヲ進メ、學術的ニハ勿論、實際應用方面ニモ研究シタルヲ以テ、茲ニ報告シテ參考ニ資セント欲スルモノナリ。

實驗之部

本菌ノ分離ニハ助手佐野善兵衛氏擔任シタルモノニシテ、炭酸石灰ヲ添加シタル扁平培養法ニ依リタルモノニシテ、一般ノ乳酸菌ノ分離法ニ準據シタリ。

檢鏡 本菌ハ「ストレプトコックス」菌屬ニ類スルモノニシテ亞鈴狀ノ連菌ニシテ連鎖ヲ爲ス、長サ(二個連結シタマ、)一・八μニシテ、球ノ直徑〇・五μナリ。孢子ヲ形成セズ。

培養試驗

醤油諸味ヨリ分離シタル細菌類(追補一)

固體培養 肉汁寒天扁平培養、攝氏二七—二九度ニ二日間ノ培養ニ於テハ頗小形ノ聚落ニシテ、六〇倍率ニテ檢鏡スルニ暗黄色ニシテ面ハ小顆粒狀ヲ呈ス。一船ノ普通乳酸菌ノ性状ヲ有スル聚落ヲ呈ス。表面發育ヲ爲シタルモノハ周邊ハ模糊トシ不鮮明ナリ。而シテ少シク内部ハ淡黄色ニシテ時ニ解離聚落ヲ見受ケラ。即チ透明ナル聚絡ト暗色ノモノト現ハル。(Z. Bakt. Parasit. u. Infekt. 81 Bd.193). Nr.1/7, 9. W. P. Teraizky und. Lydia Starygin 參照) 即チ前記兩者ノ實驗ハ「ストレフトコックス、ラクチス」菌ニ就テ行ハレタルモ本菌モ大體同様菌ノ如ク思ハル。本菌ノ寒天内部ニ繁殖シタルモノハ輪廓ヲ有ス。形ハ圓形ニ近キモ正圓ニアラズ、不正形モ可ナリ多シ。

肉汁寒天斜面培養、移植線ニ沿フテ夥粒狀ニ繁殖シ、薄キ層ニシテ表面濕潤ニシテ透視シテ見ルニ、幾分薄キ牛乳濁色ヲ爲ス凝縮水ハ幾分透明ナリ。表面ハ濕潤ニシテ多少光澤アリ。灰白色ヲ呈ス。

肉汁寒天穿刺培養 前ト同様ノ條件ノ下ニ培養シタルニ可ナリ穿刺溝ニ沿フテ繁殖ヲナシ、表面ニハ繁殖ハ甚シカラズ、泡沫狀ヲナシ瓦斯ヲ發生ス、穿刺溝ニハ滑ラカナル條狀ニ發育シ濃キ層ヲナス。

肉汁膠穿刺培養 薄ク條狀ニ繁殖ヲナシタリ。

麴液寒天斜面培養 色ノ少ナキ濕潤狀ノ薄層ニ發育ヲナス。

麴液寒天穿刺培養 表面ノ繁殖ハ不良ナルモ、穿刺溝ニハ可ナリ能ク繁殖ヲナス。

馬鈴薯培養 白色ノ光澤アル陶器狀ヲナシ少カニ繁殖ヲ見タリ。

液態培養、肉汁培養 二七—二九度ニ二日間培養ニ於テ溷濁シテ發育ヲナシタリ。酵母水、繁殖シ溷濁後清澄シテ沈澱ヲ生シタリ。肉汁ニ一〇%食鹽ヲ添加シタル液ニハ繁殖セズ「ペプトン」水ニモ繁殖ナキモ溷ニ食鹽五%添加シタルモノニ繁殖シテ溷濁シタリ。糯及粳米ノ粥ニモ能ク繁殖シ液酸性ヲ呈ス。蒸大豆ニ繁

殖シタル如キモ充分ニアラズ。表面多少ノ繁殖ヲ見タリ。牛乳ニ二八度ニ二日間培養ニ於テ繁殖ヲ示シタリ。麴液(中性)ハ肉汁ヨリ繁殖充分ナルガ如シ、麴液ニ一〇—一五%炭酸石灰ヲ投入シ培養シテ置ク時キハ一ヶ月位ニシテ一〇%ノ方ハ石灰全部溶解シタリ。

各種炭水化物及「アルコール」ヨリ生酸試験

物質名	繁殖状態	生酸性	培養温度	培養日數	バクテリアウムラチス、アシゲ
アラビノース	水酸化物狀ノ沈澱ヲ生シ液透明ナリ。	+++	三〇度	二日	(+)
葡萄糖	水酸化物狀ノ沈澱ヲ生シ可ナリ多ク液ハ透明ニ近シ	+++	"	"	+++
甘蔗糖	同	+++	"	"	++
麦芽糖	液溷濁シ綿狀ノ沈澱物ヲ生ズ	+++	"	"	+++
乳糖	液溷濁シ多少液沈澱シタリ	++(+)	二七—二八	三日間	—
ラヒノース	多少溷濁シタルモ僅少ナリ	(+)	"	"	—
イヌリン	液溷濁シタリ	+++	"	"	—
糊精	水酸化物狀沈澱ヲ生シ可ナリ多シ液ハ少シク溷濁シ	++++	三〇度	二日間	—
澱粉	同香氣ハ揮發性狀ノモノナリ	+++	二八度	"	—
グリセリン	繁殖セズ	+	二七—二八	三日間	+
マンニツト	僅ニ繁殖シタリ	++	三〇度	二日間	+
エチールアルコール	水酸化物狀ノ沈澱ヲ生ズ	++	三〇度	"	++
アルファメチール	同様ニシテ、液透明水酸化物標ノ沈澱ヲ生ズ	+++	"	"	++
グルコシツド		+++	"	"	++

生産物試験

醬油諸味ヨリ分離シタル細菌類(追補一)

麴液一四度ヲ二立ニ少シク炭酸石灰ヲ添加シ一〇日間培養シテ、其ノ生産物ヲ普通ノ如クシテ試験シタリ。第一蒸留液ニハ「アミール、アルコール」及「メチール、ラクテード」ノ反應ハ充分ニアラズ「ヴァニリン」ト硫酸ニテハ青綠色ヲ呈ス。「エチール、アルコール」ハ多少反應アリ。「アルデハイド」ハ反應ナシ、「フロロール」「アセトン」「アセチール、メチール、カルビノール」ナク。唯「アンモニア」ノ反應アリ。

第二蒸留液 蟻酸、酪酸及醋酸ノ反應ヲ認ムルモ僅少ナリ。第三液ニハ乳酸ハ明瞭ニ現ハレ、琥珀酸ノ反應ヲ呈ス。而シテ沈澱石灰鹽ヲ硫酸ニテ分解シ亞鉛鹽トナシタリ、此ノ際「アルコール」ニテ洗滌シタル濾液ハ更ニ次回ノ試験ニ供シタリ。前記「アルコール」ニテ洗滌シタル沈澱物ハ白色ノ塊狀トナリシヲ以テ乾燥シ一定量ヲ採リ、水分ト石灰ヲ定量シタリ。其結果ハ下記ノ通ナリ、水分、一四・〇九%、二四%灰分二・六・六〇〇四%ニテ此レヲ不旋光性乳酸ノ水分・二八・一八%灰分二七・二七%ト比スレバ水分ハ多少多キモ灰分ハ大體近似數ヲ得タリ。

「アルコール」洗滌ニハ「チロシ」様光澤ノ白色結晶ヲ得タリ。此ノ物質ハ柱狀結晶ニシテ灰分ヲ殘シ、無機酸水「アルコール」苛性曹達及醋酸ニ溶解シ沈澱物ヲ濾紙上ニ置ク時ハ、量ヲ減ジテ十數日後ニハ殆三分ノ一位トナル。ウツヘルマン氏黃色ヲ呈シ乳酸ノ反應ヲ與ヘタリ。培養シタル石灰ヲ除キタル濾液ニツキ試験シタルニ其ノ乳酸亞鉛ニ相當スル結晶ノ水分ハ九・七二四七%灰分ハ三〇・三一%ニシテ旋光性ノ乳酸亞鉛即チ水分一二・八九%灰分二九・〇三%ト比較シ水分少ナキモ灰分即酸化亞鉛ハ殆ド近似スル數ヲ得タリ。而シテ兩者ノ乳酸亞鉛ノ結晶ハ炭酸石灰ニナリシ分多キヲ以テ本菌ハ不旋光性乳酸ヲ生ズル菌ト認ムルコトヲ得ベシ（附記以上乳酸亞鉛ノ實驗ハ助手出井眞平氏ノ擔任シタルモノナリ。）
以上ノ生産物ノ外ニ琥珀酸ノ生産モ多少見受ケラル。

最適發育溫度

本菌ヲ麴液ニ移植シテ繁殖ノ狀況ヲ檢シタルニ左記ノ結果ヲ得タリ。

培養溫度	25	30	35	40	50
繁殖程度	+	++	+++	+++	—

即チ三五度近傍ガ最旺盛ナルガ如シ。

標 徵

本菌ハ「ストレプトコックス」狀ノ菌ニシテ二連球菌狀ニ見ユル恰砂時計狀ヲ呈ス、小圓形、平キ白色光澤アル聚落ニシテ穿刺培養ニ能ク繁殖シ、瓦斯ヲ發生シ、麴液ハ肉汁ヨリ繁殖良好ナリ。葡萄糖、甘蔗糖、麥芽糖、糊精、澱粉等ヨリ可ナリ生酸シ「アラビノース」乳糖「イヌリン」「マンニット」「アルファメチール、グルコシット」及「エチール、アルコール」等ヨリモ生酸シ「ラヒノース」及「グリセリン」ヨリ生酸セズ。生産物ノ主ナルモノハ不旋光性ノ乳酸ヲ生ジ。最適發育溫度ハ三五度近傍ニアリ。

以上大體ノ性状ヨリスレバ「バクテリウム、ラクチス、アシデ（ライヒマン）」ニ類屬スベキ菌ニシテ唯ダ「ライヒマン」ノモノト異ナルハ瓦斯ヲ發生シ且ツ、乳糖、糊精「イヌリン」等ヨリ。生酸スル點ナリ。更ニ同類ト思ハル、「ストレプト、コックス、フェーシウム、エーレンセン」ト比較スルト多少本菌ニ近似スル點アリ。

要スルニ「バクテリウム、ラクチス、アシデ、ライヒマン」ノ變種ト思ハル。

應用實驗

本菌ハ醬油諸味ヨリ分離シタルモ、人工的培養液ノ食鹽五%以上ヲ含有スルモノニ繁殖ハ困難ナル場合多

キヲ以テ實際上諸味添加應用ニハ至難ナリ。唯ダ諸味仕込後糖分ノ多量生シタル頃或ハ繁殖シ得ルヤモ圖ラレズ。然シ純粹培養菌ヲ増殖シテ應用スルハ多少不充分ナルヲ以テ著者ハ該菌ヲ瀾應用番水製造及「ソース」製造用母液ノ製造ニ應用シタルヲ以テ其ノ試験報告ヲ試験新報告第百〇七號中ニ特記シタルヲ以テ重ネテ掲載スルコトヲ避ケタリ。

結 論

- 一、醬油諸味中ヨリ炭酸石灰添加ノ扁平培養法ニヨリ一種ノ乳酸菌ヲ分離シ特性ヲ調べタル結果「バクテリウム、ラクチス、アシデ、ライヒマン」ニ類縁スルヲ認メタリ。該菌ハ麴液培養ヨリ不旋光性乳酸ヲ大部分トシ活性乳酸ヲモ生産セラル。
- 二、本菌ヲ實地ニ應用スル等ハ醬油諸味ニハ繁殖不充分ナルモ食鹽濃度ノ少ナキ瀾其他ノ液ニ培養シテ番水及ソース製造ニ利用シテ効果ヲ認メタリ。

四 醬油諸味ヨリ分離シタル細菌類(追補)二

技 師 松 本 憲 次

「ペプトン」醱酵スル嫌氣性菌

新種 *Streptococcus acidi peptonicus. natsumoto.*

本菌ハ諸味中ヨリ嫌氣性培養ニヨツテ分離シタル菌ニシテ能ク「ペプトン」又瀾ヲ醱酵スル特性ヲ有スル一種ノ生酸菌ナリ。今特徴ヲ調査シタルヲ以テ左ニ掲載セント欲ス。

檢鏡 本菌ハ球菌狀ニシテ二連菌ヲ爲シ恰モ砂時計狀ニシテ長 1.8μ 巾 $0.5-0.6\mu$ ニシテ孢子ヲ形成スル如キモ不明瞭ナリ。加熱法ニヨリテハ孢子形ヲ認メズ、グラム氏法ニヨリ染色ス。

培養試驗(何レモブフナー氏管ヲ使用シテ嫌氣性培養ヲ行フ)

固體培養、肉汁寒天斜面培養表面ハ薄ク光澤アル透明狀ニ繁殖シ、穿刺溝ニハ可ナリ發育ヲ見タリ。肉汁寒天斜面培養、二八度ニ二日間培養ニ於テハ薄キ層ノ透明ニ近キ繁殖ヲ爲シ透視シテ乳白色ヲ呈シ、肉汁寒天「ロール」培養二八度ニ二日間ニ於テハ小形ノ圓キ薄キ聚落顯鏡ニテ淡黄色薄イ形ノ不正形ノ聚落ナリ。瀾寒天培養ニ於テハ圓形ニシテ光澤アル乳白色ノ聚落ヲ生ズ。麴寒天、清酒寒天等ニハ繁殖セズ。液體培養 牛乳ニ繁殖シテ恰モ「バター」様香氣ヲ生ズ、液ハ酸性ナリ。肉汁ニハ可ナリ嫌氣的ニ培養シテ

醬油諸味ヨリ分離シタル細菌類(追補二)

醱酵シテ瓦斯ヲ生産ス。「ウツエテ、ペプトン」ハ照内氏「ペプトン」ヨリ瓦斯ノ發生多シ。麴液ニハ繁殖セズ人工培養基ニ繁殖セズ、又「ヘンネベルヒ」氏ノ乳酸菌培養液ニモ繁殖セズ、酵母水、麥芽液、麴液ニ一〇%食鹽添加ノモノニモ繁殖セズ。唯ダ醬油ト麴液ノ等量ニ炭酸石灰添加シタルモノ幾分繁殖シタル傾向アリ。此ノ際ニ三%食鹽添加シタルモノモノ可ナリ繁殖シタルヲ認メタリ。肉汁一〇%ヲ添加シタルモノニ繁殖セズ。二割加水清酒及其寒天斜面培養ニ繁殖セズ、且ツ葡萄糖添加スルモ同様繁殖セズ、(人工培養基 0.5% NH₄oc, 0.05% K₂ HPO₄, 0.02M₂SO₄ 1% (各々々) NaC₂H₃O₂ C₂H₅OHCOOH (Ca-Succinate) 2.5% Glucose (2:Can sugar) 0.25 Asparagin)

各種炭水化物及「アルコール」ヨリ生酸試験

物質名	繁殖状態	生酸性	繁殖日数及温度	バチルスワクチヌアシゲ
アラビノース	液多少潤濁シ沈澱モ多少アリテ發泡シタリ	+	三〇度二日間	-
葡萄糖	液透明ニシテ多少沈澱アリ發泡シ多少刺戟性アリ	++++	"	++++
甘蔗糖	液潤濁シ激シク發泡シ沈澱アリ	++++	"	++++
麥芽糖	液透明ニシテ沈澱物可ナリ多シ多少發泡シタリ(硫化水素臭)	++++	"	++++
乳糖	液透明ニシテ沈澱物アリ液透明ナリ	++++	"	++++
ラヒノース	液多少潤濁シ沈澱ヲ生シ發泡シタリ	+	"	(+)
糊精	液潤濁シ沈澱ヲ生シタリ	++++	二八度二日間	++++
澱粉	激シク混濁醱酵モ盛ナリ沈澱ス	++	"	-
グリセリン	液潤濁シ沈澱シ發泡シタリ	+++	三〇度四日間	(+)
マンニツト	液透明多少沈澱アリ少々硫化水素臭アリ	(+)	三〇度二日間	(+)

エチール
アルコール
アルブアメチール
ゲルコンツド

少々沈澱物ヲ生シ液透明ナリ
液透明ニシテ多少ノ沈澱物アリ

二八度二日間
++

生産物試験

瀧(一・〇二五比重)ニ〇・五%ノ食鹽ヲ添加シ一立ノ「フラスコ」中ニ七〇〇ccヲ入レ常法ニヨリ蒸氣殺菌ヲ行ヒ後真空狀ニナシ培養シタリ(三〇度ニ三日間)培養シタル液ハ一〇ccニ對シ十分ノ一規定苛性曹達四ccヲ要シ、標準ノモノノ滴定數ヲ差引三、三ccノ生酸アリ。此ノ液ヲ使用シ乳酸亞鉛ヲ生ゼシメ試験シタルニ乳酸ノ存在ヲ認メズ、而シテ瓦斯分析ヲ行ヒタル結果ハ

一〇〇ccノ瓦斯中(ヘンネル氏裝置ニヨリ測定シタリ)
炭酸瓦斯 三八・cc
酸素(ピロガロールニ吸收量) 一cc
水素及メタン 四五・二cc

以上ノ結果ヨリ見ル時ハ可ナリ水素又「メタン」醱酵ヲ行フ事ヲ認メラル「アミール、アルコール」
「メチールラクトテード」
「エチールアルコール」
「フルフロール」
「アセチールメチール、カルビノール」等ノ反應ヲ認メズ
「アセトン」ハ微ニ反應ヲ認メ「メチールアルコール」ノ反應アリ。
蟻酸及酪酸ノ存在ヲ認メ、照内氏「ペプトン」使用シタルモノハ醋酸ハ酪酸ヨリ多ク現ハレ。硫化水素ヲ認メタルモ「インドール」ヲ存在セズ。
硝酸鹽ノ還元力ヲ示シ、又メチレーン青液ヲ還元ス。

標 徴

醬油諸味ヨリ分離シタル細菌類(追補二)

本菌ハ「ストレプトコックス」ニ屬スル嫌氣的菌ニシテ、特ニ「ペプトン」ヲ醱酵スル點ハ多少特徴トスベキ點ナリ。瓦斯ヲ發生シ且ツ其ノ瓦斯中ニハ「メタン」水素ノ如キモノ多量ニ含有シタル點ヲ見又ハ生成物中ニ酪酸ノ生産ヲ認ムルヲ以テ一種ノ酪酸菌ノ如ク思ハル、モ一般ノ性状ハ乳酸菌ニ近キ點アリ。醋酸ヲ生ズル外ニ蟻酸ノ生産ハ本菌ノ特性ニシテ乳酸ノ反應ヲ認メザルハ大ニ注意スル點ナリ。

本菌ヲ「ストレプト、コックスアシヂ、ラクチシ、グロテンフェルド」菌ト比較(Lehm. u. Neu. Bakt. II. 176)ト比較スルニ、本菌ハ牛乳ヲ凝固セズ、瓦斯ヲ發生スル點及形狀モ相違ス。次ニ「バクテリウム、ラクチス、アエロダネス、エセリヒ」(Henneberg: Gar. Bakt. II. 188)ハ瓦斯ヲ發生スル菌ナルモ皮膜ヲ形成スル點ヲ異ニス又ヘンネベルヒ氏分離シタル瓦斯發生菌ニシテ飼料酵母ヨリ分離「バクテリア」トハ繁殖模様及形狀ヲ異ニシ、穀類醱ヨリ分離シタル瓦斯發生菌トモ形狀及運動性ナル點相違ス(Henneberg: Gar. Bakt. II. 186.)

要スルニ本菌ハ一種ノ「ペプトン」ヲ醱酵スル生酸菌ニシテ「ストレプトコックス」ニ屬スル「バクテリウム、アシヂ、ラクチシ」ニ類屬スベキモノニシテ特ニ嫌氣的培養ニ於テ「ペプトン」ヲ醱酵スルヲ以テ一種ト認ムベキモノナリ。「ストレプト、コックス、アシヂ、ペプトニクス」ト名命ス

五 清酒酵母ノ「メチレン」青ニヨル染色法ニ就テ

技師 松 本 憲 次
 研修員 小 林 重 久

「メチレン」青ハ「テトラメチール、チオニン」鹽基ノ鹽デアルガ就中其ノ鹽酸鹽ガ染色法ニ用ヒラレタノハ、一八八五年ニ始メテエアリツヒ氏ニヨリテ生體染色法ニ應用セラル、様ニ至ツタモノデ、始メハ主トシテ神經系ノ染色細菌類ノ核染色等ニ使用サレタガ、現今デハ酵母ノ生死判別法トシテ用ヒラレル様ニナツタガ、恐ラク獨逸ニ於テ「ビール」酵母ニ應用サレテ以來我が國ニ於テモ主トシテ清酒醱中ノ酵母ノ生死判別ニ使用セラル、様ニナツタノデアラウガ、然シ「メチレン」青染色率ト實際應用ノ結果ガ往々齟齬スルコトガアルト云フ事實ヲ聞知シタノデ、此レハ方法ノ不備カラ起ツタ結果デアラウト云フ見當カラ、著者等ハ研究ヲ始メタノデアアル。獨逸デハ近年 H. Hehn, M. Glanbitz 兩氏ガ麥酒酵母ニ本法ヲ應用セシメタ試驗ノ結果ヲ發表シ、次デフックス、フィンク、ワインフルトナー氏等(Wochenschrift für Brauerei 1929, Nr. 32,43; 1930, Nr. 10,11)モ詳細ナル研究ヲ發表シタ、此ノ以外ニ麥酒酵母ニ就テ實際應用セラレタノハボコルニー、ウキル、チケス、バイエリンク、シユリヒテイング、ウキンテル、レフレル、ウエーマー、ワトソン、アルベルト、リンドナ、クリツケル、ヘネヒ等(醸造試験所報告第七十四號參照著者報告)更ニ最近ニナツテフィンク、ヘルマン

兩氏ハ酵母細胞ノメチレン青染色ト酵母細胞膜ノ滲透作用ニ關スル論文ヲ (Zeitschrift für Physiologische Chemie Band 195-215-216, 1931) ニ掲載シテタル、著者等ハ前研究者中主トシテヘーン、グラウビッツ、フックス、フィンク、ワインフルトナー氏等ノ研究ヲ襲踏シテ日本酒酵母ヲ以テ實驗ヲ行フタ、尙最後ノフィンク及ヘルマン氏等實驗結果ヲ發表セラレタ中水素「イオン」ト酵母細胞ノ染色スル關係ハ著者等ハ單獨ニ行フタモノデ決シテ模倣シタモノデナイ事ヲ斷ツテ置ク。既ニ一部ノ水素「イオン」關係ハ第二輯醸造論文集ニモ發表シテタルノデモ解ル事ト思フ。著者等ハ日本酒酵母特ニ醗液中ニ於ケル酵母ノ生死ノ判定法ヲ一層確實ナモノニシヨウト思フテ實驗ヲ進メタノデアアル。其ノ前ニ主ナル最近研究者ノ大體ノ要項丈々掲ゲテ本實驗ノ參考ニシヨウト思フ。

「ヘーン」等ニ依ル研究結果ヲ略述スレバ左ノ如クデアアル

- 一、虛弱ナル細胞 (麥酒酵母) ハ色素液ヲ滲入セシメル事ガ容易デアアル
 - 二、一定濃度ノ「メチレン」青液ハ細胞ニ無害デアアル。
 - 三、色素ノ濃度ハ「ウイル」「クレツカー」「シユネツク」ノ言フ如ク一萬分ノ一ガ適當デアアル。又作用セシメル時間ハ成ルベク短時間デナケレバナラス。
 - 四、染色スル事ナク單ニ檢鏡ニヨツテ、熟練セル人ハ、ソノ細胞ノ生死ヲ判別スル事ガ出來ル。コノ方法ト染色法トニヨル結果ヲ比較シタルニ、大體ニ一致シ、ソノ成績ハ良好デアツタ。
- 更ニ「フックス」等ノ研究結果ハ次ノ如クデアアル。
- 一、麥芽汁ニ於テ染色スル時ハ一萬分ノ一色素液ヲ、酵母液ノ四乃至五倍容ダケ加エルノガ適當デアアル。
 - 二、種々ノ染色過程ヲ試驗セル結果、色素ガ細胞内ニ浸入スル原因ハ、純物理學的現象例ヘバ表面張力、

毛管現象、吸着等ニモ亦重大ナ關係アル事ヲ認メタ。

- 三、色素液ハ酵母ノ「レダクターゼ」ニヨリ脱色サレル。又麥芽汁中ニ含有スル酸性磷酸加里、並ビニ乳酸ニヨリ脱色サレル。

- 四、細胞ガ薄ク染色スル程度ノモノデハ、尙芽胞ヲ生ズル可能性ガアル。
- 五、色素ノ濃度ハ「ヘーン」等ノ如ク、一萬分ノ一ヲ用ヒ、ソレ以上濃厚ナルモノヲ用ヒザルヲ可トス。
- 六、鹽類ハ、染色ニ、密接ナル關係ヲ有シ、無鹽類 (蒸餾水) 中ニ於テハ、生細胞迄モ染色スルガコレニ食鹽ヲ添加スル時ハ、染色率ハ著シク減退スル。又無鹽類液ニ於テハ、コレニ砂糖ヲ添加スル時ハ、更ニ同作用ヲ大ナラシムル。

コレ等ノ詳細ナル報告ニ依レバ「メチレン青」ヲ一定ノ適當ナル條件ノ下ニ使用スル時ハ、左シタル不都合ナク、ソノ生死判別ノ目的ヲ達シ得ル事ハ明ラカデアアル。即チ適當ナ鹽類ヲ含ミ、適當ナ「 Ca^{++} 」ヲ有スル溶液デアアルコトハ勿論、酵母ノ種類、培養法、等ヲモ考慮ニ入レ、一定濃度ノ色素液ヲ以テ、染色法ヲ實施シ、時ニ、本法使用ニ疑問ヲ生ジタ場合ニハ、同時ニ他ノ試驗ニヨリ、コレヲ適當ニ、調節シテ行カネバナラナイ。又一方、酵母膜ヲ構成スル「セルローズ」「ペクチン」様物質並ビニ「ヘーフェン・グミー」等ガ「 Ca^{++} 」變化ニヨリ、如何ニソノ滲透性ニ變化ヲ來シ、コレガ直接又ハ間接ニ、染色率ニ變化ヲ來スカ、ト言フ問題ハ、又一方、滲透性ノ問題ニ貴重ナル資料ヲ與エルモノデアロウ。

特ニ著者等ハ、コレ等ノ諸問題中、日本酒醗中ニ於ケル酵母ノ染色率ヲ試驗スル上ニ、必要ナル條件、ヤ注意ニ就キ實驗シ以テ、本法ノ最モ精確ナル使用法ヲ見出サントシタ。

實驗ノ部

清酒酵母ノ「メチレン」青ニヨル染色法ニ就テ

本試験ニ使用セル色素ハ「メルク」製ニシテ鹽化亞鉛ヲ含マザル柱狀結晶ノ製品ヲ、蒸餾水ニ溶解セルモノヲ用ヒタ。又酵母ハ協會清酒酵母第一、第二、第五號ノ各株ニ就キ試験シタ。染色法ハ、醱酵液又ハ酵母懸垂液(井口水ヲ用ヒ、一坵中、一千萬個内外ヲ適當トス)一坵ヲ取り、コレニ、五坵ノ色素液ヲ混和シタルモノヲ「トーマ」氏血球計ニヨリ、檢鏡シ、約五百個ノ細胞ニ就テ試験スルコトトシタ。コレハ主トシテ麴液ニ於ケル場合デアツテ、實際方面ニ於ケル醱液中ノ細胞ニ就テノ染色率ヲ求ムル方法ハ後ニ述ベルコトトスル

一、各種濃度ノ色素液ヲ用ヒテ、染色率ヲ試験シタ。酵母ハ、既述ノ三株ノモノヲ用ヒ、麴液(バリンダ一三度)中ニテ三日間、二十八度ニ於テ培養セルモノヲ、遠心分離器ニヨリ、大部分ノ醱酵液ヲ去リタル後、井口水ヲ加エテ、適度ニ薄メタルモノヲ供試ス。コレハ、醱酵液ノ酸性物質等ニヨリ、色素ガ還元脱色サルル場合ヲ考慮シテ行ツタモノデ、コノ事ニ關シテハ後述スル。

(第一表)

一萬分ノ一色素液 染色後ノ經過 時間(分)	染色率		
	第一號 酵母	第二號 酵母	第五號 酵母
5 10 15 30	20.5%	9.6%	17.3%
	25.0%	11.7%	17.9%
	29.6%	14.2%	18.2%
	37.0%	17.2%	18.4%

カ、ル染色率ヲ有スル酵母ヲ、一日間室温(約五度)ニ放置セル後供試ス

(第二表)

一萬分ノ一色素液 染色後ノ經過 時間(分)	染色率			五千分ノ一色素液 第一號	第二號	第五號
	第一號 酵母	第二號 酵母	第五號 酵母			
5 10 15 30	24.6%	8.3%	15.1%	30.3	11.0	13.0
	25.2%	9.0%	15.5%	33.3	12.4	13.7
	27.0%	9.2%	15.7%	44.8	12.7	16.6
	31.2%	13.8%	16.7%	58.5	13.4	22.2

二千五百分ノ一色素液			
分	第一號	第二號	第五號
5	46.3	14.3	16.8
10	71.4	23.3	23.0
15	79.0	36.6	34.4

色素ノ細胞内ニ浸入スルコトガ、純理學的原因例ヘバ滲透作用ニ重大ナ關係アルコトハ明カデ、細胞ヲ色素液中ニテ、放置シタルママ觀察スル時ハ、色素ヲ吸收セザリシモノモ漸次細胞内ニ色素ノ浸入スルヲ見ルモノニシテ、コノ實驗結果ニヨツテモ明カニ、コレヲ察知シ得ラレル。即チ、初メニ全然染色セザリシ細胞一染色的ニ、生細胞ナリト判定サレシモノ——モ、時間ト共ニ、漸次色素ヲ吸收スル結果、時トシテ、譬ヘ生細胞デアツテモ死細胞トシテ誤認セラレルコトガアル。又、初メヤ、虛弱ナリシ細胞ガ、染色サレル場合ニハ、色素ガ細胞内ニ浸入スル結果、ソノ毒作用ガ漸次、大トナリ終ニ死ニ至ルコトモ考ヘラレル。又、色素液濃度ガ濃キニ過ギタル場合ニハ、液ノ滲透壓モ亦大ニナル故、細胞ノ染色數モ過大トナリ、時間ト共ニ増

清酒酵母ノ「メナレン」青ニヨル染色法ニ就テ

加スル染色細胞ノ割合モ亦大トナルベキデアル。從ツテ、コノ實驗結果カラ、明カナルコトハ、五千分ノ一以上ニ濃厚ナル色素液ハ、使用ニハ不適當デアルコト、更ニ、第一號酵母デハ、五千分ノ一濃度ノモノモ既ニ、濃キニ過ギルコトデアル。コレハ第一號酵母ガ「メチレン」青ノ如キ色素ニ對シ、特ニ、抵抗性ノ弱イ事ヲ意味スルモノデ、實際方面ニ於テハ一萬分ノ一ノ色素液ヲ最モ適當トスル。

二、酸性液ガ、色素ヲ脱色スルコト、並ビニ「アルカリ」性溶液中ニ於テ、色調ガ濃厚ニ染色スル事實ヨリシテ、水素「イオン」濃度ト染色率トノ關係ヲ確メントシテ、次ノ實驗ヲ行ツタ。

第一號酵母ヲ、一五度ニテ、四日間、麴寒天斜面ニテ培養シタルモノヲ、各種ノ緩衝液中ニ投ジタル後、直チニ染色檢鏡セリ

第三表

第一號酵母	染色率
井戸水	20.1%
PH2.0	0
" 3.0	0
" 4.0	20.3
" 7.0	20.2
" 8.0	23.5
" 9.0	27.0

備

考

染色細胞ハ深青色ヲ呈シ區別明瞭ナリ

極メテ薄キ靑色乃至靑綠色ヲ呈スル共染色細胞トハ認め難クナリ

不染色細胞トノ區別明瞭ナラス。

ヤ、薄キ靑色ヲ呈シ區別シ得

深青色ニテ區別明瞭

染色度更ニ強シ

コノ結果ヨリPHノ變化ニヨリ染色率モ亦、大ナル變化ヲ受ケルコトガ明ラカデ、本試験デハ單ニ、染色直

前ニ、菌體ヲ緩衝液中ニ投入シタ爲メ、ソノ酸性液ノ影響モ、長時間該液ノ作用下ニオイタモノニ比シ、遙カニ小ナル事ガ察セラレル。從ツテ實際ノ醗液中ニ於ケル細胞ノ染色率ニ關シテハ、別ニ、コレヲ實驗シタ。(後述)。

更ニ、酸性液ガ、色素ノ浸入ヲ妨グル事實ヲ確メントシテ、一號酵母ヲ、井戸水中ニ懸垂シタルモノヲ七〇度ニテ一五分間加熱シタル後染色シタルニソノ染色率ハ一〇〇%デアツタガ、コレニ約〇・八%ニ相當スル乳酸ヲ添加シタル後直チニ染色セルニ殆ンド、青色ヲ呈スルモノナク、極メテ微カナル靑綠色(判別困難ナル)ヲ呈スルニ過ギナカッタ。勿論、同時ニ、平扁培養ニヨツテ、細胞ガ全部死滅セルコトヲ確メタ。從ツテ相當酸性ノ強イ醗液中ノ酵母ノ染色法ニ當ツテハ、考慮ヲ要スル問題ト言ハネバナラナイ。

三、溶液中ニ含まレル鹽類ガ、染色率ニ、影響ヲ及ボス事ハ已ニ「フイソク」氏等ノ報告ニ於テ明ラカデアリガ、清酒ノ實際方面ニ當ツテハ、特ニ考慮ヲ要スベキ條件デハナイガ、清酒酵母ニ就テモ、ソノ事實ヲ確メル必要アル爲メ、簡單ナル試験ヲ行ツタ。勿論、微量ニテモ鹽類ガ存在スル時ニハ大ナル影響ヲ認メズ唯、殆ンド無鹽類ノ状態ニオイタ時ノミ、染色率ガ、過大ニナルト言フノデアルカラ、始メノ培養液ガ、鹽類ニ富ムモノデアルトカ、鹽類ノ豊富ナ液中ニ、培養サレル種類ノ菌ニ於テハ、數回單ニ蒸留水デ洗滌シタ丈ケデハ明ラカナ影響ヲ認メルコトハ不可能デアル。

第四表

(一號酵母 五日間培養)		染色率
井戸水	蒸留水	34.0%
	(何レモ同液中ニテ一晝夜放置セルモノ)	53.4

清酒酵母ノ「メチレン」青ニヨリ染色法ニ就テ

(二號酵母 三日間培養)		染色率
井戸水	蒸留水	6.5%
	(蒸留水ニテ三回洗滌後直チニ染色ス)	15.5

清酒酵母ニテ三回洗滌後直チニ染色ス

簡單デハアルガ、コノ實驗ニ依レバ「フイソク」氏等ノ報告ノ如ク、清酒酵母ニ於テモ亦同様ノ鹽類ノ影響ガ認めラレル。從ツテ、特ニ鹽類ノ缺乏セル醸造用水ニ於テハ、相當、注意ヲ要スル事實ト云フベキデアラウ。

四、次ニ清酒醸造ノ實際方面ニ就テ、更ニ、研究ヲ進メタ。コノ方面ニ、「メチレン」青染色法ガ應用サルルノハ、主トシテ酒母ノ場合デアアル。從ツテ、コノ場合ハ酒母中ノ諸條件ニ就テ、考慮セネバナラス。特ニ麥芽汁ト異ル點ハ、多量ノ澱粉「デキストリン」其ノ他ノ醱質物ヨリ成リ、特ニ、「配分」ノ時期ニ近ヅクニ從ツテ、酸度ガ激増シ價ハ、實ニ、三・五乃至三・四ニ、至ルモノデ、コノ點ニ就テ、特ニ研究ヲ行ツタ。使用色素ハ一萬分ノ一ノモノ三——五倍量ヲ以テシタ。

二ヶ月間常溫ニテ、麴汁中ニテ培養セル第一號酵母ヲ、一ハ井戸水中ニ懸垂シ、一ハ〇・八六%ノ乳酸中ニ懸垂シ、直チニソノ染色率ヲ檢ス

第五表

二ヶ月培養第一號酵母	染色率
井戸水	41.1%
乳酸液(0.86%)	1.0
同上乳酸液ヲ青性醱造ニテ醱造セルニ中和セル後染色セルモノ	58.4

本試驗ハ、他ノ膠質物ナル條件ヲ控除シテ、單ニ、酸度ト染色率トノ關係ヲ試驗セルモノデアツテ、井戸水中ニ於テ染色率四一%ノモノガ乳酸液内ニ於テハ、殆ンド零ニ等シイ結果ヲ示シ、コレヲ、再ビ「アルカリ」ニテ微酸性ニ中和セル後染色スル時ニハ再ビ、三八・四%ノ染色率ヲ生ズルニ至ルモノデ、「配分」以後ノ酒母ニ就テハ、實ニカ、ル酸度ノ影響アルコトガ、從來無視サレテ居タノデアアル。然ルニ、從來、尙、コ

レ等配試驗ニ於テ染色率ガカカル過小ノ結果ヲ得ナカッタト言フノハ、使用色素液ガ、濃厚ナルニ過ギタル結果、酸性ノ影響ト、色素濃度ノ影響トガ互ニ相殺シ合ツテ、コ、ニ、從來ハ正確ナリト認めラレタ染色率ガ生ジタモノト考ヘラレル。コノ推定ノ正シキ事ハホボ第八表ニ依リテモ、察知スルコトガ出來ルノデアアル。

次ニ同様ノ實驗ヲ酒母ノ濾液ニ就テ行ツタ

第六表

第一號酵母	染色率
井戸水	40.1%
酵母添加後— 夜放置シタル 後染色ス	1.2 (コノ染色細胞ノ色ハ薄シ)
同上濾液ヲ中和後直チニ染色セルモノ	39.1

酒精ト染色率トノ關係ヲ確メル爲メニ、各濃度ノ酒精液中ニ一夜酵母ヲ放置セル後(定溫)染色ス。

第七表

(第一號酵母)	染色率
井戸水	34.0%
井戸水ニテ 醱造セル酒 結露液	47.6 52.8 85.0
	100.0 (アラスモリーセ)

コノ結果ヨリ見レバ、酒精ソレ自身ハ酵母ニ不利デアアルガ、色素ノ浸入ヲ阻止シ又ハ容易ナラシメルガ如キ事實ハ推定サレナイ。

最後ニ、コレ等ノ結果ヲ綜合シ、合ハセテ色素ノ反應ニ及ボス膠質物ノ影響ヲ認めル爲メニ、酒母ソノマノモノニ就テ、實際上ノ染色率ヲ檢シタ。尙、コノ實驗ニハ酒母染色ニ先立ツテ、コレヲ微酸性ニ中和ス

清酒酵母ノ「メチレン」青ニヨル染色法ニ就テ

ル事ノ必要ヲ既ニ認メタル故(五表、六表)コノ方法ト從來ノ方法トヲ、同時ニ行ヒ、ソノ結果ニ於テ、如何ナル差異アルカラ確定セントシタ。コレニ使用セル醗液ハ、「グルコン」酸ト乳酸トヲ、同量添加セルモノニシテ、P_H三、四ノモノデアル。醗ニ使用セシハ五號酵母デアル。酒母ハ井戸水ニテ約十倍ニ稀釋シタルモノヲ使用ス。

第八表

色素液濃度	染色後ノ 經過時間 分	染色率	
		醗ソノ前(PH 3.4)	中和シタル後染色
一萬分ノ一	10	0	11.4
	15	0	11.4
	30	0	11.9
	5	0	12.5
	10	0	12.5
	15	0	13.0
五千分ノ一	5	2.5	14.1
	10	3.1	35.8
	15	5.6	50.8
二千五百分ノ一	5	20.0	83.3
	10	6.4	—
	15	16.7	—
一千分ノ一 (0.1%)	5	35.6	—
	10	54.8	—
	15	—	—

即チ酒母液ヲソノママ染色スル時ニハ一萬分ノ一乃至五千分ノ一濃度液デハ酵母ハ全然染色シナイコトガ判ル。所ガ、コノ酒母液ヲ微酸性迄中和シタ後ニ染色スルト、一萬分ノ一乃至五千分ノ一デ、充分ナ染色ヲ得、且ツ、兩者ホゞ同等ノ染色率ヲ示シタカラ、實際方面ニハ、五千分ノ一迄ノ色素液ヲ應用シテ差支エナイ事ガ判ル。(但シ、コレハ五號酵母ノ場合デアル)尙、コレヲ從來ノ方法ニツイテ見ルニ、今迄ハ〇・二—〇・五%ノ色素液ヲ以テ、中和セザル醗液ヲ染色セル結果ハ、コレヲ第八表ノ一千分ノ一色素ヲ用ヒタ染色結果ト對比スル時、コノ不完全ナル事ヲ、推定シ得ルト思フ。

五 更ニ「メチレン青」ガ酵母細胞内ニ浸入スル際ニ、考ヘラレル「フアクター」トシテ、細胞ノ老弱、又ハ細胞膜ノ厚薄強弱ガアル、即チ、若イ細胞ハ、細胞膜モ薄ク、外液ニ對シテ、老細胞膜ヨリモ敏感デ抵抗力ノ弱イ事ガ考ヘラレル、從ツテ又、色素ニ對シテモ、遙カニ、實際ノ死細胞ヨリモ過大ナル染色細胞ヲ生ズル事ガ推定サレル。コレヲ確メル爲メニ、麴液中ニテ、酵母ガ醗酵ヲ初メテヨリ、終息後ニ至ル間ノ染色細胞ノ變化、並ビニ、染色時間ニヨル變化ヲ、試験シタル結果ハ次ノ如シ。

第九表

酵母	染色後ノ 經過時間 分	一日間 差(5分後ト30分後トニ於ケル)				四日間 差				五日間 差				七日間 差				十八日間 差			
		第一號	5 10 15 30	33.5% 35.2 45.1 70.6	47.1	34.4% 56.6 69.1 87.4	53.0	32.9% 51.0 63.3 78.7	45.8	18.7% 25.5 32.5 43.7	30.0	13.6% 27.2 33.8 53.3	37.7	16.0 16.6 18.3 26.0	10.0	13.1 13.7 15.5 31.0	17.9	13.1 13.7 15.5 31.0	17.9	16.0 16.6 18.3 26.0	10.0
第二號	5 10 15 30	10.0 14.4 22.0 65.5	55.5	11.9 16.8 20.6 31.6	22.7	11.9 16.8 20.6 31.6	22.7	13.1 13.7 15.5 31.0	17.9	16.0 16.6 18.3 26.0	10.0	13.1 13.7 15.5 31.0	17.9	16.0 16.6 18.3 26.0	10.0						

清酒酵母ノ「メチレン」青ニヨル染色法ニ就テ

第五號	5	12.9	18.5	10.3	10.4	9.3
	10	26.6	30.8	11.9	13.8	11.0
	15	37.9	42.4	17.8	17.7	14.6
	30	73.7	56.4	27.6	27.6	20.3
備考	[何レモ醗酵ヲ始メタル共 5>2>1ノ順ナリ]		[醗酵終息セリ。コノ 日ヨリ室温5—10°C ニ放置ス]			
	温度 3—25°C					

コノ表ニヨレバ一般ニ醗酵ヲ初メテカラ、終息ニ至ル迄ノ間ハ、色素ニ對シテ抵抗性弱ク、後ニ至ル程、抵抗性が大ニナル事ガ判ル。コレハ、又一面、酵母ノ「メタボリズム」ノ方カラ考ヘルト、醗酵中ニハ、糖分其ノ他ノ營養物ノ攝取及ビ老廢物ノ排泄ガ盛シナ爲メ、同時ニ亦色素モ、細胞中ニ浸入シ易イ事ガ豫想サレル。從ツテ、糖分其ノ他ノ榮養物ノ存在ニ於ケル場合ノ染色率ハ、コレ等ノ乏シイカ又ハ全然存在セヌ場合ノ染色率ニ比シ、過大トナル傾向ガアルノデアアル。コレハ亦「フイソク」等ガ無鹽類液ニ於テ、砂糖ヲ添加スル時ハ、ソノ染色率ハ更ニ大トナル事實ヨリスルモ、興味アル問題デアアルト共ニ、實際染色法ニ當ツテモ相當考慮ヲ要スル事實デアアル。然シ、第九表ノ示ス如ク、染色ノ時間ガ、五分間以内デアアル場合ニハ、コレ等糖分ノ作用モ、殆ンド影響セズ、大差ナキ結果ガ得ラレル。又實際、滲透性問題カラ考ヘテモ、染色率ニハ、時間ト温度ガ、非常ニ關係スルモノデアアルカラ、出來得ル限リ短時間内ニ、試験スル事ガ、望マシイ事デアアル。

結論

一、使用色素液ノ濃度ハ一萬分ノ一ヲ適當トス。コレヲソノ時ノ供試料ニ應ジテ三倍容乃至五倍容使用スル但シ酵母ノ試験(使用酵母ハ第五號)ニ於テハ五千分ノ一迄ノモノヲ使用シ得タ。

二、染色率ト水素「イオン」濃度トハ密接ナル關係ヲ有シ、 P_H 三前後ノ液中ニ於テハ、死細胞ト雖モ染色シ

ナイ。而シテ、コレヨリ順次「アルカリ」性ニ近ヅクニ從ヒ、ソノ色調ヲ増加シ行クモノデアアル。

三、染色率ト鹽類トニ於テモ「フイソク」等ト、ホ、同様ノ關係ヲ認メタガ、其ノ影響ハ、遙カニ小デアアル。

四、酒母ノ判定ニ於ケル實際ノ染色法ハ次ノ如ク行フ。

酒母ヲ井戸水ヲ以テ適宜ニ稀釋シタル後、稀薄ナル「アルカリ」溶液ヲ以テ中和(リトマス紙ニ對シ微酸性ナル程度)シタル後、一萬分ノ一乃至五千分ノ一色素液三倍乃至五倍容ヲ加ヘ、ヨク混和シ、直チニ染色率ヲ檢スベシ。染色後ノ測定ハ、出來得ル限リ短時間(約五分)ニ行フ事、コレニハ、先ズ、染色細胞ヲ先ニ測定シ、後ニ、總細胞ヲ測定スルノガ便利デアアル。計算法トシテハ、「トーマ」血球計ヲ應用シ得ルガ、區劃ガ供試液ノ下ニナル爲メ、觀察困難ナル場合ガアルカラ、將來、實際方面ニ於テハ「デツキグラス」ニ區劃ヲ有スルモノヲ使用シ、ソノ特定區劃内ノ細胞ニ就テ、ソノ一定數(例ヘバ細胞五百個)ニ就キ試験スルコトヲ希望スル、コレハ、出來得ル限リ、誤差ヲ生ズベキ虞アル諸條件ヲ一定ニシテ、一方測定ノ際ニ這入リ易イ觀察者自身ノ意志ヲ出來ル丈ケ除外セントスルニ由ルモノデアアル。

五、老細胞ハ、幼細胞ニ比シ色素ニ對スル抵抗性が強い。或ハ酵母ノ「メタボリズム」ノ旺盛ナル時ハ、休止時期ニ比シテ、色素液ヲ浸入セシメル事ガ容易デアアル。

六、比濁法ニ依ル微量磷酸定量法ニ就テ

元醸造試験所技手 藤 田 英
元 研 修 員 大 木 宏 男

曩ニ本所黒野技師等ハ醸造用水中ノ微量磷酸ヲ定量スル方法トシテ尿中ノ磷酸定量ニ用ヒラルルブリツクス氏ノ比色定量法ヲ應用スルコトヲ提唱セリ（醸造試験所報告第百〇六號自四二頁至五八頁）然ルニ今回更ニ黒野技師指導ノ下ニ血液中ノ磷酸定量等ニ使用セラル、ブローア氏比濁法（*Bloor-Journ. biol. chem.* 36: 33, 1928.）ヲ試験シ醸造用水並ニ一般醸造物ノ磷酸定量ニ應用シ得ベキヤ否ヲ研究セリ。又該法ト前記ブリツクス氏法トノ比較定量ヲモ行ヒタリ。

本定量法ニハチュボスク氏比色計（*Dubosq's colorimeter*）ヲ使用セリ。此ノ比色計ハ比色法（*Colourimetric Method*）ニ用フルノミナラズ比濁法（*Nephelometric Method*）ニモ共用セラル便宜ヲ有ス。

一、定量方法

本法ハ百珎中〇・〇三—〇・二珎ノ P_2O_5 ヲ定量シ得ルモノトサレ居レリ。本法ノ要旨ハ磷酸溶液（有機磷ハ酸化シテ生ジタル液）ニ「モリブデン」酸「ストリキニン」溶液ヲ加ヘ磷「モリブデン」酸「ストリキニン」ノ沈澱ヲ生ゼシメ其ノ濁濁ヲ標準液ト比較セルモノナリ。

試薬調製法

一、磷酸標準液

(A) 酸性磷酸加里 (KH_2PO_4) ノメルク製品ヲ蒸氣浴中ニテ一時間以上加熱シタル後、乾燥器中ニテ冷却シ充分水分ヲ除去シタルモノ〇・四三九四瓦ヲ正確ニ計量シ、蒸留水ニ溶解シ、一立ノ計量瓶ニ充ス、此標準液一珎中ニハ〇・一珎ノ磷 (P) ヲ含ム、即 P_2O_5 トセバ〇・二二九珎ニ相等ス、
(B) 以上ノ標準液一〇〇珎ヲ採リ、蒸留水ニテ一立計量瓶ニ充ス
以上標準液ハ永ク貯藏スル爲メ五珎ノ「クロ・フォルム」ヲ加ヘ防腐シ置ク可シ

二、「モリブデン」酸「ストリキニン」液

「モリブデン」酸「ストリキニン」ヲ造ルニハ「モリブデン」酸「ナトリウム」ヲ造リ之ヲ強酸性トナシ硫酸「ストリキニン」ヲ加フレバ「モリブデン」酸「ストリキニン」ヲ生ズ。即無色「モリブデン」酸七・二瓦ヲ蒸留水三〇珎ニ加ヘ、之ヲ四〇%苛性曹達（約一〇珎）ヲ滴加シ、中和溶解シタル後、水ヲ加ヘテ一定量（五〇珎）トシ三〇分間煮沸ス。此際沈澱ヲ生ゼバ苛性曹達ヲ加ヘ清澄ナラシム、次ニ滑石一瓦ヲ加ヘ五分間煮沸シタル後濾過シ濾液ヲ五〇珎トス、此液全部ヲ「ビーカー」ニ入レ七五珎ノ濃鹽酸ト同量ノ水トヲ攪拌シツツ滴下ス。

次ニ硫酸「ストリキニン」ノ飽和溶液四〇珎ヲ五〇〇珎ノ水中ニ攪拌滴下シタル液ト前記鹽酸性「モリブデン」酸曹達液二〇〇珎及ビ約五〇〇珎ノ水ヲ加ヘテ良ク混ジ一兩日放置シタル後上部ノ透明部分ヲ分離シテ用フ

試 驗 方 法

比濁法ニ依ル微量磷酸定量法ニ就テ

(イ) 無機磷ノミヲ定量スル場合

試薬「モリブデン」酸「ストリキニン」一〇珪ヲ採リ之レニ供試液一—二珪ヲ添加シタルモノト、之レト同時ニ試薬一〇珪ニ磷酸標準液一—二珪(標準液ノ濃度ハ豫メ供試液ノ濁濁程度ニ依リ適當濃度ノモノヲ使用ス)ヲ同條件ノ下ニ添加シタルモノトヲ直チニ「デュボスク」氏比色計ニ依リ比濁定量ス可シ

(ロ) 總磷(有機磷ヲモ)ヲ定量スル場合

供試液五珪ヲ分解燻ニ採リ之ニ濃硫酸、濃硝酸(二)混液五珪ヲ加ヘ煮沸シ若シ透明トナラザル場合ハ更ニ濃硫酸五珪ヲ加ヘ透明トナル迄煮沸ス、次ニ之ヲ五〇珪容「メスコルベン」ニ蒸留水ヲ以テ洗入シ五〇珪トナス、斯クシテ操作終レバ「コルベン」ヨリ二珪ヲ採リ試験管ニ入レ「フェノールフタレン」二滴ヲ加ヘ二五%苛性曹達ニテ中和シ後二五%硫酸一滴ヲ加ヘ弱酸性トナシ一〇珪ノ「モリブデン」酸「ストリキニン」液ヲ加ヘ直チニ「デュボスク」氏比色計ニ依リ標準磷酸液ト比濁定量ス、而シテ(イ)、(ロ)何レモ比濁ノ結果ハ次式ニ依リ算出シ得可シ

$$c_1 = \text{標準磷酸液ノ濃度}$$

$$c_x = \text{供試液ノ濃度}$$

$$h_1 = \text{標準磷酸液ノ高サ}$$

$$h_x = \text{供試液ノ高サ}$$

$$c_1 : c_x = h_x : h_1$$

$$\therefore c_x = \frac{c_1 \cdot h_1}{h_x}$$

二、「フロアー」氏磷酸定量法ニ對スル諸鹽類ノ影響

「フロアー」氏法ニ對スル水中ノ他ノ諸鹽類ノ影響ヲ試験シ以テ本法ノ精確度ヲ決定セントシ左ノ實驗ヲ試

ミタリ。

標準液ノ作り方

一〇珪ノ「フロアー」氏液ニ一珪ノ蒸留水ヲ加ヘ更ニ酸性磷酸加里一珪(一cc中Pトシテ〇・〇一珪ヲ含有セルモノ)ヲ加フ。

供試液ノ採取法

一〇珪ノ「フロアー」氏液ニ%ノ異ナリタル各鹽類一珪ヲ加ヘ更ニ酸性磷酸加里一珪(一cc中トシテ〇・〇一珪ヲ含有セルモノ)ヲ加ヘ「デュボスク」氏比色計ニ依リ比濁ス。

實 驗

(一) 食 鹽

水中ノ「ナトリウム」鹽ハ主トシテ食鹽ニシテ外ニ硫酸曹達、硝酸曹達又ハ磷酸曹達ノ少量ヲ含有ス此處ニハ單ニ食鹽及參考トシテ重碳酸曹達ニ就テノミ試験ヲ行ヒタリ。其量ハ水中ニ含有セル、最少量ヨリ最大量ニ至ル範圍トシ又例外トシテ一%ノモノヲモ合セ行ヒタリ。今左ニ試験ニ供セル例ヲ示ス。

水十萬分中NaCl(58)トシテノ瓦數	1.0	10.0	32.1	1000.0
右ヲ%ニ改算セルモノ	0.001	0.1	0.3	1.0
記 號	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄
水十萬分中Na ₂ Oトシテノ瓦數	0.5	2.0	10.0	1000.0
右ヲ%ニ改算セルモノ	0.0005	0.002	0.1	1.0
右ニ相當スルNaHCO ₃ (84)ノ量%(記號)	(B ₁)0.0007	(B ₂)0.0028	(B ₃)0.014	(B ₄)1.4

右表ノ如キ量ノ食鹽重碳酸曹達ヲ蒸留水ニ溶解シ之ニ標準酸性磷酸加里液ヲ一立中Pトシテ一〇珪ニ相當ス

比濁法ニ依ル微量磷酸定量法ニ就テ

ル様添加シ先ツ其ノPHヲ測定シ比色計ヲ用ヒ標準液トノ比較試験ヲ行ナヒタリ。其結果左表ノ如シ。

記號	PH	供試液檢出應數	記號	PH	供試液檢出應數
A ₁	5.2	9.3	B ₁	—	9.5
A ₂	5.2	8.8	B ₂	—	1.3
A ₃	3.2	10.0	B ₃	—	10.0
A ₄	5.4	10.0	B ₄	9.6	12.0

右表ノ如ク食鹽一%ニ於テモ何等影響ナケレド重碳酸曹達ニ於テ見ルニB₂迄ハ影響ナクB₄ニ於テ溷濁増加セシ故參考マデPHヲ測定セリ

(二)「マグネシウム」鹽類

水中ノ苦土ハ主トシテ碳酸苦土トシテ溶存シ一部ハ硫酸苦土トシテ存ス。其他多少ノ鹽化苦土ヲ含有スルコトアリ。

清酒釀造用水ノ苦土含量ハ一立中酸化苦土トシテ五—三〇庭ニシテ供試料モ亦其範圍ヲ主トシ例外トシテ一%ノモノヲモ調整セリ。

水十萬分中H ₂ O(40)トシテノ瓦數	0.5	3.0	12.0	1000.0
右ヲ%ニ改算セルモノ	0.00065	0.033	0.012	1.0
右ニ相當スルMgCO ₃ (84)ノ量%(記號)	(C ₁) 0.00105	(C ₂) 0.0063	(C ₃) 0.0252	(C ₄) 2.10
右ニ相當スルMgSO ₄ ·7H ₂ O(248)ノ量%(記號)	(D ₁) 0.00315	(D ₂) 0.0183	(D ₃) 0.0732	(D ₄) 6.15
右ニ相當スルMgCl ₂ ·6H ₂ O(303)ノ量%(記號)	(E ₁) 0.0025	(E ₂) 0.015	(E ₃) 0.06	(E ₄) 5.075

右表ノ如キ量ノ苦土鹽類ヲ添加シ磷酸ハ前試験ノ如ク一立中Pトシテ一〇庭ニ相當スル様調整シタルモノニ就キ試験セル結果次表ノ如シ

記號	PH	供試液檢出應數	記號	PH	供試液檢出應數
C ₁	5.0	9.3	D ₁	5.2	9.5
C ₂	3.0	9.7	D ₂	5.2	9.5
C ₃	3.2	9.5	D ₃	5.2	9.4
C ₄	8.0	13.8	D ₄	5.4	8.7
記號	PH	供試液檢出應數			
E ₁	5.4	9.1			
E ₂	5.4	9.3			
E ₃	5.4	9.6			
E ₄	5.4	9.3			

之ヲ見ルニ碳酸苦土ノC₁—C₃迄ハ影響ナクC₄ノモノ高位ヲ示ス。硫酸苦土、鹽化苦土ニ於テハ影響ナシ。

碳酸苦土ハ水ニ不溶解ナルヲ以テ碳酸瓦斯ヲ通シ溶解セシメタリ。唯MgOトシテ一%ノモノハ全部溶解セズ實際溶解セルハ一・一一二瓦、酸化苦土トシテ〇・七四一瓦ナリ。

(三)「カルシウム」鹽類

「カルシウム」鹽類ハ主トシテ碳酸石灰、硫酸石灰トシテ水中ニ流存シ又微量ノ磷酸石灰、硝酸石灰等ヲ含有スルコトアリ。

我國清酒釀造用水ハ二〇庭内外ニシテ硬水地方ニテハ六〇—七〇庭ヲ含有ス。今試験ニ供セル鹽類ハ四種ニシテソノ量次ノ如シ。

水十萬分中CaO(56)トシテノ瓦數	2.00	7.0	23.0	1000.0
右ヲ%ニ改算セルモノ	0.002	0.007	0.02	1.0
右ニ相當スルCaCO ₃ (100)ノ量%(記號)	(F ₁)0.0036	(F ₂)0.0123	(F ₃)0.036	(F ₄)1.786
比濁法ニ依ル微量磷酸定量法ニ就テ				七九

右ニ相當ナルCaSO ₄ ・2H ₂ O(172)ノ量%(記號)	(G ₁)0.006	(G ₂)0.021	(G ₃)0.06	(G ₄)3.071
右ニ相當ナルCaNO ₃ (164)ノ量%(記號)	(H ₁)0.0058	(H ₂)0.0304	(H ₃)0.058	(H ₄)2.928
右ニ相當ナルNaCl(111)ノ量%(記號)	(I ₁)0.004	(I ₂)0.014	(I ₃)0.04	(I ₄)1.982

右ノ如キ量ノ鹽類ヲ一立中一〇庇ヲ含有スル標準燐酸液中ニ添加シ比較定量ヲ行フ事前試験ノ如シ。					
記號	PH	供試液檢出底數	記號	PH	供試液檢出底數
F ₁	5.0	9.8	G ₁	2.6	10.0
F ₂	5.4	10.0	G ₂	2.0	9.8
F ₃	5.4	10.0	G ₃	1.6	10.0
F ₄	6.4	11.8	G ₄	1.2	10.3

右ノ結果ヲ見ルニ炭酸石灰ノ第四ノミ呈色稍高ク他ノ鹽類ニハ殆ド影響ナシ。炭酸石灰ノ瓦數ハ一〇〇〇中一・七八五七瓦ナレド水ニ不溶ニシテ炭酸ガスヲ通シタル結果溶解セルハ一・三七七瓦、之ヲCaOニ換算スレバ〇・七八二瓦ナリ。斯クCaCO₃ガ實際水中ニ溶存スル程度外ニアリ。

(四) 加里鹽類

水中ノ加里鹽類ハ主トシテ硫酸加里ニシテ其外炭酸加里、鹽化加里、硝酸加里等トシテ存在スルヲ常トス。醸造用水ノ加里含量ハ酸化加里トシテ一立中五―二〇庇ヲ普通トシ最少ナルモノハ痕跡ニ止ルモノアリ。

此處ニ試験セル鹽類ハ右四種ニシテソノ外參考迄亞硝酸加里ヲモ行ヘリ。供試量ハ前試験ニ同ジク水中ニ含有セラル、最少ヨリ最多量ニ到ル範圍トシ例外トシテK₂Oノ一%モ同時ニ之ヲ行フ。表示スレバ次ノ如シ

水十萬分中K ₂ O(94)トシテノ瓦數	0.5	2.0	13.0	1000.0
右ニ相當ナルK ₂ SO ₄ (174)ノ量%(記號)	(J ₁) 0.0039	(J ₂) 0.0137	(J ₃) 0.0185	(J ₄) 1.851
右ニ相當ナルK ₂ CO ₃ ・2H ₂ O(174)ノ量%(記號)	(K ₁) 0.0009	(K ₂) 0.0037	(K ₃) 0.0185	(K ₄) 1.851
右ニ相當ナルKCl(74)ノ量%(記號)	(L ₁) 0.0004	(L ₂) 0.0016	(L ₃) 0.0080	(L ₄) 0.7872
右ニ相當ナルKNO ₃ (101)ノ量(記號)	(M ₁) 0.0005	(M ₂) 0.0021	(M ₃) 0.0114	(M ₄) 1.074

磷酸含量ヲ一立中一〇庇トシ右量ノ鹽類ヲ添加シ試験スルコト前同ニ同シ、試験結果左ノ如シ。					
記號	PH	供試液檢出底數	記號	PH	供試液檢出底數
J ₁	5.4	10.2	K ₁	6.2	10.2
J ₂	5.4	10.2	K ₂	7.0	9.8
J ₃	5.4	10.3	K ₃	8.4	10.5
J ₄	5.4	10.5	K ₄	11.0	20.0
記號	PH	供試液檢出底數	記號	PH	供試液檢出底數
L ₁	5.4	9.9	M ₁	5.2	9.8
L ₂	5.4	10.0	M ₂	5.2	8.9
L ₃	6.0	9.1	M ₃	5.2	10.5
L ₄	6.0	10.5	M ₄	5.2	7.7

右表ニ示ス如ク硫酸加里、鹽化加里、硝酸加里ハ酸化加里トシテノ一%ニ至ルモ何等影響ナクソノ濁濁ハ標準ノモノト良ク一致ス。

亞硝酸加里ハ〇・〇五%及ビ〇・五%ノ多量ニ至ルモ影響ナシ。K₄ニ於テハ濁濁急ニ増加セシ故左ニ炭酸加里ノ影響試験表ヲ示ス。

比濁法ニ依ル微量磷酸定量法ニ就テ

水十萬分中K ₂ O トシテノ凡數	上ニ相當ナルK ₂ CO ₃ 2H ₂ O(174) ノ量%	PH	供試液檢出應數
162	0.03	9.8	10.5
516	0.04	10.0	9.8
972	0.05	10.0	9.1

右ニ於テ〇・〇四%ハ試薬ノミニテ微濁シ〇・〇五%ニ於テハ試薬ノミニテ濁濁セリ、從ツテ〇・〇四%ヨリ鹽類ノ増加ト共ニ濁濁度モ増加スルコトヲ知ル。

(五) 硅酸鹽類

硅酸鹽類トシテハ硅酸曹達及硅酸「アルミニウム」ノ二種ニ就キ試験セリ。供試量次ノ如シ。

水十萬分中SiO ₂ トシテノ凡數	右ヲ%ニ改算セルモノ	右ニ相當ナルNa ₂ SiO ₃ 2H ₂ O(212)ノ量%(記號)	水十萬分中SiO ₂ トシテノ凡數	右ヲ%改算セルモノ	右ニ相當ナルAl ₂ O ₃ SiO ₂ (322)ノ量%(記號)
0.5	0.0005	(N ₁) 0.00177	1.13	0.00113	(C ₁) 0.0021
2.0	0.002	(N ₂) 0.00707	4.5	0.0045	(C ₂) 0.0084
5.0	0.005	(N ₃) 0.0177	11.3	0.0113	(C ₃) 0.021
1000.0	1.0	(N ₄) 3.536	2320.0	2.32	(C ₄) 4.396

硅酸「アルミニウム」ハ水ニ不溶ニシテSiO₂ノ二・三%ニ相當スルモノテ實際溶解セルハ〇・〇七一二四瓦ナリ。

右量ノ鹽類ニ一立中一〇珄ニ相當スル磷酸液ヲ添加スル事前試験ニ同ジク比濁ノ結果次表ノ如シ。

記號	PH	供試液檢出應數	記號	PH	供試液檢出應數
N ₁	6.2	13.4	O ₁	3.4	9.8
N ₂	8.2	10.3	O ₂	2.8	10.0
N ₃	9.8	9.2	O ₃	1.8	9.5

右ニ於テ見ルニ硅酸「アルミニウム」ハ何等影響ナクN₄ニ於テ濁濁度濃厚トナレリ。茲ニ於テソノ影響スル程度ノ試験ヲ行ヒタリ。結果左ノ如シ。

水十萬分中Si ⁴⁺ トシテノ凡數	上ニ相當ナルNa ₂ SiO ₃ 2H ₂ O(212) ノ量%	PH	供試液檢出應數
177	0.1	—	9.8
354	0.2	—	9.5
1062	0.6	—	9.0
1416	0.8	12.5	11.4

硅酸曹達〇・六%迄何等影響ナキモ〇・八%ニ至リ試薬ノミニテ濁濁ヲ呈セリ。從ツテ〇・八%ヨリ鹽類ハ増加ト共ニ濁濁モ増ス事ヲ知ル。直ホ炭酸加里硅酸曹達ノ各1%溶液ヲ稀硫酸ニテ中和シ前ト同様試験セシニ實驗結果ハ次表ノ如シ

記號	PH	供試液檢出應數
K ₁	—	10.6
N ₁	—	4.0

右ノ結果ヲ見ルニ炭酸加里ニ於テハ中和セルモノノ濁濁程度ハ中和セザルモノト左程變ラズ。

硅酸曹達ニアリテハ中和セルモノトセザルトニアリテ濁濁程度ノ差大ナリ。

要之ニ「ブロー」ノ磷酸定量ニ於テソノ濁濁度ニ影響スル鹽類ハ重炭酸曹達ノ1%以上〇・〇四%以上ノ炭酸加里〇・八%以上ノ硅酸曹達ナリ。

然レドモ右量ハ何レモ水中ニ含有セラル、程度以外ニアリ。故ニ普通ノ醸造用水中ニ含マルル程度ノ諸鹽

比濁法ニ依ル微量磷酸定量法ニ就テ

類ノ量ハ本定量ニ對シテ殆ド影響無キモノトス。

三、酒母中ノ磷酸定量

試料ハ酒母製造中ノ濾液ヲ五分一乃至十分一ニ稀釋シブローア氏ノ定量法ニ供セリ。又ブリックス氏法ニ於テハ酒母濾液五珎ヲ採リ蒸留水ニテ二倍ニ稀釋シテ更ニ此一珎ヲトリ九珎ノ蒸留水ヲ加ヘ一〇珎トナシテ供試液トセリ。標準液モ亦供試液ト同様標準液(A)五珎ヲ採リ蒸留水ニテ二倍ニ稀釋シテ其一珎ニ蒸留水九珎ヲ加ヘ一〇珎トナシ標準液トナス。

尚ブリックス氏法ニ就テハ酒母中ノ酸度ニヨル影響ヲ試驗スル爲酒母液ヲ中和セルモノト中和セザルモノトヲモ比較セリ

品名	一立中磷(P)ノ含有量(珎)	
	ブローア氏法	ブリックス氏法
酒母仕込後四日目(湧付後)	六八・九六	中和セザルモノ 七二・七三
同 五日目	二二・二二	中和セザルモノ 二六・三二
同 六日目(ヌツミ取前)	二二・八一	中和セザルモノ 三一・二五

即チ本實驗ノ結果ヲ通覽スルニブローア氏法ニヨル結果ハ常ニブリックス氏法ニヨル結果ヨリ幾分少キ數ヲ得タレドモ略近似セルヲ認ム、故ニ酒母等ノ如キ磷酸含量比較的多量ナル試料ニ於テハブローア氏法ヲ應用シウル事ヲ認ム。

四、醸造用水ノ磷酸定量

豫備實驗

醸造用水中ニ含有セラルベキ各種磷酸鹽ノ一定量ヲ蒸留水ニ溶解シ各種濃度ニ於テ磷ノ定量ヲ行ヒ此定量法ノ正確度ヲ試驗セリ。

此實驗ニ使用セシ標準液ハ一立中P 一〇珎ヲ含有スルモノニシテ定量ハ供試液標準液共ニ一珎ヲ採リ一〇珎「ストリキニン」試薬ヲ添加シ比濁セルモノナリ

實驗番號	一立中ノP mg (理論數)	比濁計ニ表ハレタル高サ耗		一立中ノP mg (實驗數)	正確度(%)
		標準液	供試液		
(イ) K ₃ PO ₄					
一	一〇〇	五〇	五	一〇〇・〇	一〇〇・〇
二	五〇	四〇	七・四	五三・三	一〇六・六
三	二五	二〇	八・〇	二五・〇	一〇〇・〇
四	一〇	二〇	二一・五	九・三	九三・〇
五	一	一〇	三六・三	二・七五	五五・〇
六	一	五〇	五・一	九八・〇	九八・〇
(ロ) K ₂ HFO ₄					
一	一〇〇	四〇	八・二	四八・八	九七・六
二	五〇	二〇	八・五	二三・五	九四・〇
三	二五	二〇	一九・〇	一〇・五	一〇五・〇
四	一〇	一〇	四四・八	二・二三	四四・六
五	一	測定不可能			
六	一	測定不可能			
(ハ) KH ₂ PO ₄					
一	一〇〇	四・七		一〇六・四	一〇六・四
二	五〇	七・六		五二・六	一〇五・二
三	二五	八・一		二四・七	九八・八
四	一〇	二〇・〇		一〇〇・〇	一〇〇・〇
五	一	三〇・七		三二・六	六五・二

比濁法ニ依ル微量磷酸定量法ニ就テ

レモ「ストリキニン」液ニヨリ濁濁極微量ニシテ比濁スル事ヲ得ザリキ

要之蒸餾水ニ各種磷酸鹽ノ一定量ヲ溶解シ各種濃度ニ於ケル磷ノ含量ヲ本方法ニヨリテ定量シ理論數ト對比シテ本法ノ正確度ヲ試験セシニ次ノ如キ結果ヲ得タリ

一、一立中P一〇厩以上ヲ含有スル水ニ於テハ正確度一〇〇前後ノ數ヲ得タリ。即チ一立中P一〇厩以上ノ含量ノ場合ハ本法ヲ適用シウ。事ヲ認メタリ

二、一立中P五厩ヲ含有スルモノニアリテハ平均五〇%内外ノ正確度ヲ得、更ニ一立中P一厩ヲ含有スルモノニアリテハ（磷酸「アムモニア」以外ノ磷酸鹽ノ場合）試薬ニヨリ成生スル濁濁甚ダ微量ニシテ殆ド比濁不可能ナリ。故ニ一立中P一〇厩末滿ヲ含有スル試料ニ於テハ本法ヲ適用シ得ザル事ヲ認メタリ

醸造用水ノ磷酸定量

醸造用水中ノ磷酸含量ハ前報ブリツクス氏法ニヨル分析結果ニヨレバ普通一立中P一〇厩以下ナルヲ以テ本フロアー氏法ヲ適用スルコトハ不可能ナリト信ズ。試ミニ全国各地醸造用水中數種ヲ選ビブリツクス氏法ニヨリ磷酸含量ヲ測定シ、フロアー氏法ト比較セシニ、ブリツクス氏法ニヨリテ一立中P〇・四二厩——三・八四厩含有ノ水六種類共ニフロアー氏法ニヨリテハ極ク微量ノ濁濁ヲ生ズルニ止マリ定量不可能ナリキ、不幸ニシテ一立中P一〇厩以上ノ檢液ヲ得ザリシガ故ニ一〇厩以上ノ含量ノモノニ此儘フロアー氏法ヲ適用シ得ルヤ否ハ確證シ得ザリキ、然ルニ一般ニ醸造用水中ノ磷酸含量ハ一立中P一〇厩以内ナルガ故ニ本法ハ適用シ得ザルモノト認ム

結 論

一、酒母ノ如キ醸造物ニアリテハ其磷酸含量多キガ故ニフロアー氏法ニヨリテ磷酸ヲ定量シウル事ヲ認メ其

定量方法ヲ設定セリ

二、醸造用水ニアリテハ一般磷酸含量極メテ少ク普通水一立中P一〇厩ノ含量一——一〇厩ニ過ギザルヲ以テフロアー氏法ニテハ定量シ得ザル事ヲ認ム。故ニ水中ノ磷酸定量ハ前報ブリツクス氏法ニヨルヲ可トス

三、フロアー氏定量法ノ實施ニ當リ其影響ヲ及ボス無機鹽類ハ重碳酸曹達ノ一%以上、炭酸加里ノ〇・〇四%以上、及び硅酸曹達ノ〇・八%以上ナリ。要スルニ試験液ノ「アルカリ」性ヲ呈スルコトハ最モ惡影響アルモノトス

附記 本試験中黒野技師ノ御指導並ニ勝目英氏ノ御補助ニ對シ深ク感謝ノ意ヲ表ス

(前報告訂正)

曩ニ醸造試験所報告第百六號「醸造用水ノ磷酸定量ニ就テ」題下第四五頁表中ノ數字ニ誤植アリシヲ以テ茲ニ訂正ス

誤		正		誤		正	
一坵中ノ糖 (1坵)	一立中ノ糖 (1坵)	一坵中ノ糖 (1坵)	一立中ノ糖 (1坵)	一坵中ノ糖 (1坵)	一立中ノ糖 (1坵)	一坵中ノ糖 (1坵)	一立中ノ糖 (1坵)
0.001	1.0	0.0001	0.1	0.013	13.0	0.0013	1.3
0.002	2.0	0.0002	0.2	0.014	14.0	0.0014	1.4
0.003	3.0	0.0003	0.3	0.015	15.0	0.0015	1.5
0.004	4.0	0.0004	0.4	0.016	16.0	0.0016	1.6
0.005	5.0	0.0005	0.5	0.017	17.0	0.0017	1.7
0.006	6.0	0.0006	0.6	0.018	18.0	0.0018	1.8
0.007	7.0	0.0007	0.7	0.019	19.0	0.0019	1.9
0.008	8.0	0.0008	0.8	0.020	20.0	0.0020	2.0
0.009	9.0	0.0009	0.9				
0.010	10.0	0.0010	1.0	0.030	30.0	0.0030	3.0
0.011	11.0	0.0011	1.1	0.040	40.0	0.0040	4.0
0.012	12.0	0.0012	1.2	0.050	50.0	0.0050	5.0

七 酵母ニ依ル「ノルマル」型「アミノ」酸ノ分解ニ就テ

第一報豫備試験 (酒精醱酵副生産物ノ研究第三報)

技手 山 田 正 一

正「プロピルアルコール」ハ「フーゼル」油構成ノ常成分トシテ擧ゲラル、ヲ通例トスルニ拘ラズサキニ著者或ハ共同研究者ト共ニ本邦産ノ原料、採取法ヲ異ニセル數種ノモノニ就テ之ガ檢索ヲ行ヒタルモ遂ニ、一モ其ノ存在ヲ確認スルニ至ラザリキ(1)

初メエーリヒ氏ハ有名ナル「フーゼル」油ノ成因ニ關スル研究ニ於テ、本「アルコール」ノ母體トシテ諸種「アミノ」酸中「グルタミン」酸ヲ推シタリシガ、後實驗ノ結果此物ヨリハ毫モ正「プロピルアルコール」ヲ得ラレズ、寧ロ多量ノ琥珀酸ヲ分離シ得テ其ノ母體ナル事ヲ確認セリ(2)

今、エーリヒ氏ノ所謂「アミノ」酸ノ「アルコール」醱酵ニ於テ、正「プロピルアルコール」ニ相當スル「アミノ」酸ヲ求ムレバ「アルファアミノ、ノルマル」酪酸ヲ推サザルベカラズ、即チ次式ノ如シ。



「アミノ」酪酸ガ各種蛋白質ノ構成分子トシテ存在スル事ハ、フオアマン、アブダーハルデン、ウアイル氏等ニ依リ述ベラレタル所ナルガ、其物ガ「ノルマル」型カ「イン」型カ等ノ構造論ニ至リテハ未ダ判然セザル所ナリ(3)

酵母ニ依ル「ノルマル」型「アミノ」酸ノ分解ニ就テ

假リニ「ノルマル」型ナリトシ本物質ノ「アルコール」醱酵ヲ行ハシメタル時ニ果シテ豫想通り正「プロピルアルコール」ヲ得ラルレバ、其ノ成因ヲ究メ得タル事ニナリ同時ニエーリヒ氏ノ「アミノ」酸醱酵形式ガ「ノルマル」型「アミノ」酸ニモ適用セラレ得ベキ事ヲ證シ得タル事トナルベシ

只遺憾ナルハ環狀「アミノ」酸ニ於テハ「チロシン」「フェニルアラニン」「トリプトファン」等何レモ酵母ニヨル分解生成物ニ就テハエーリヒ氏ニヨリ明ニセラレアレド簡單ナル鎖狀「モノアミノ」酸ニ於テハエーリヒ氏ハ僅カニ「ロイシン」「イソロイシン」ノ二者ヲ取扱ヒ、夫々對應スル炭素一原子少キ「アルコール」ニ至ル事ヲ後者ノ酸化ニヨリテ生ズル「ヴァレリアン」酸ヲ分離シテ證シタルト、黒野博士ガ自ラ合成セラレタル「メチル」正「プロピル」、アルファ「アミノ」醋酸ノ酵母ニ依ル分解ニ於テ對應スル「メチル」正「プロピルカルビノル」ヲ得タル⁽⁴⁾トノ諸例アルニ過ギザルガ如シ、通常各種蛋白質ヲ加水分解シテ比較的少量ニ得ラル、「グリコ、ール」「アラニン」「ヴァリン」等ニ就テ尙、充分ニ吟味セラレタルモノヲ缺クハ此ノ方面ニ於ケル不備ナル點ナリトセズヤ、殊ニ前二者ノ如キハ「ロイシン」等トモ異リ其ノ構造上最簡單ナル「アミノ」酸ナル事及ビ「ノルマル」型ニ屬スル點等ノ特徴アルナリ。

故ニ「アミノノルマル」醋酸ト共ニ之等ヲモ共ニ追究スル時、其ノ間ニ存スル諸種ノ關係ヲ明ニスル事ヲ得ルノ見込充分ニシテ今本表題ヲ掲ゲテ論究セントスル所以ナリ。

「グリコ、ール」ノ醱酵ニ就テハ、古キ頃黒野博士ノ研究アリ。

ハイダツク氏液ノ「アスパラギン」ニ代フルニ本物質ヲ以テシ、之ニ清酒酵母ノ少量ヲ接種二十數日ニシテ酒精醱酵ヲ完全ニ終了セシメタルモノニ就テ吟味セルニ「グルタミン」酸「アスパラギン」酸「アムモニウム」等ヲ窒素源トセル場合ト異リレーゼ法ニテ殆ンド「ロイシン」ノ場合ニ匹敵スルガ如キ多量ノ「フリーゼル」

油生成ヲ定量シ得更ニ高橋博士ノ「アニスアルデヒド」硫酸試薬ニテ美紅色ヲ呈スル等ノ點ヲ認メラレ、レーゼ法ニ於ケル「クロ、フォルム」増容ノ原因トシテ、或ル種ノ「エステル」ノ存在ニ歸スベキモノトナシ之ヲ醋酸「エチルエステル」ノ生成セラレタル爲ナラント結論セラレタリ。茲ニ注意スベキハ「アニスアルデヒド」硫酸ニヨル「フリーゼル」油ノ呈色反應ニシテ該「アルデヒド」ニ代フル「ヴァニリン」ヲ以テスル反應ト共ニ頗ル鋭敏ニテ「イソプロピル」正「プロピル」ヨリ分子量大ナル「アルコール」類ハ何レモ稀薄液ニテ顯著ナル紅色乃至紫紅色ヲ呈スルモノナルガ試ミニ醋酸「エチルエステル」ニ就テ「ヴァニリン」硫酸反應ヲ行フニ只淡黄色ヲ示スノミニシテ「フリーゼル」油ニ特有ノ紅色ヲ毫モ呈セズ「アニスアルデヒド」硫酸ニテモ略々同様ナリ。即チ、黒野博士ガ「グリコ、ール」ノ醱酵生産物トシテ「醋酸エチルエステル」ナリト想像セラレシモノハ全ク該物質ニ非ザル事明トナリ、尙一層吟味スベキモノナル事ヲ知レリ。

實際ニ著者ノ實驗ニ於テモ「グリコ、ール」ヲ以テセル場合常ニ「ヴァニリン」硫酸反應顯著ナル紅色反應ヲ呈スル物質ノ生産アルヲ示シタリ。

エーリヒ氏ノ「アミノ」酸醱酵形式ニ從ヘバ正ニ木精ノ生産アルベキ等ナレドモ、醱酵生産物中木精ノ存在ハ屢々説ヘラレシ程度ニ止リ、而モ、其ノ母體ニ關シテハ現在ハ寧ロ「ベクチン」等ノ分解ニ歸セラル、狀況ニアリ⁽⁶⁾

次ニ「アラニン」ニ就テ見ルニ本物質ガ酵母ニヨリテ分解セラレ「アセトアルデヒド」ヲ生ズトハ、アツシユダウン、ヘーウイット兩氏ノ説⁽⁷⁾ナルガ其ノ然ラザル事ニ就テハ既ニ論ジタル所⁽⁸⁾後ニ再ビ詳述セント欲ス。

若シ此物モエーリヒ氏「アミノ」酸「アルコール」醱酵形式ニ從ヒテ分解スルモノトセバ、生成スル物質ハ

正ニ酒精ナルベキナリ、而シテ酒精ハ、「ヴァニリン」硫酸反應淡黄色ナルノミナレバ、ハイダック氏液ノ「アスバラギン」ニ代ルニ此物ノ窒素當量ヲ以テシ酵母ニテ醱酵ヲ行ヒタル場合ニ於テハ溜液ニ於テ「ヴァニリン」硫酸反應同様ニシテ淡黄色ナルベキナラン、然ルニ實驗ノ結果ハ該反應濃紫紅色ヲ呈スル事ヲ認メタリ即チ酒精トハ別ニ何等カ「フリーゼ」油組成成分ナル「アルコール」様物質ノ生成ヲ推定セラル、ナリ。同様ニシテ「アルファアミノ、ノルマル」酪酸ヲ以テセル場合モ溜液ニ於テ「ヴァニリン」硫酸反應紅色ヲ呈スルヲ見タリ。

但シ次上位ノ「アルファアミノノルマルヴァレリアン」酸(ノルヴァリン)ノ場合ハ該反應餘リ顯著ナラザルノ事實ニ遭遇セリ。

爰ニ吟味スベキ事ハ斯クノ如クハイダック氏液ノ「アスバラギン」ニ代フルニ諸種ノ「アミノ」酸ヲ以テシテ「ヴァニリン」硫酸反應紅乃至紫紅色ヲ呈スル物質ヲ生ズル場合ニ於テ此ノ生成物ガ果シテ「アミノ」酸ヲ母體トシテ來ルカ或ハ用ヒタル糖分、酵母ノ自己消化生成物等ヨリ來ルカ等ノ問題ナリ。

之ヲ「アラニン」ヲ例ニシテ見ルニ市販ノ白ザラメ糖ヲ以テスル場合及ビ之ヲ酒精ヨリ一回再結シテ行ヒタル場合何レモ生成物ニ於ケル「ヴァニリン」硫酸反應ハ全ク同様ニ紅色ヲ呈ス、且ツ本蔗糖ノ窒素ヲ定量セルモ極メテ微量ニ過ギズ格別ノ意義ヲ認ムルニ足ラザル事更ニ此ノ種砂糖ノミノ溶液ニ稍々多量ノ酵母ヲ接種醱酵セシムルモ「フリーゼ」油生成痕跡ニ過ギザルヲ知レリ、酵母ノ分泌物若シクハ酵母ノ自己消化生成物ヨリ化成シ來ル物質ヲ母體トスルカノ問題ニ就テハ多量ノ酵母ノ温浸出物ヲ作り一ハ残渣ノ酵母ヲモ混ヘ一ハ濾過シタル酵母水ニ夫々糖分ヲ添加醱酵ヲ試ミタルモ何レモ「フリーゼ」油様物質ノ生成僅少ニ過ギズ又他ノ窒素化合物タル「アスバラギン」「グルタミン」酸曹達、磷酸「アムモニウム」硫酸「アムモニウム」等ヲ代

用セル場合ハ「フリーゼ」様物質ノ生成殆ンド皆無ナル事ヲ認メタリ。

之等ノ事實ヲ綜合考察スルニ「グリコ、ール」「アラニン」等ヲ窒素源トシテ糖液ニ加ヘテ酵母ニ依ル醱酵ヲ試ミタル場合生成スル「フリーゼ」油様物質(「ヴァニリン」硫酸反應紅色ヲ呈スル物質ヲ意味ス)ハ糖分ヨリ來ルニモ非ズ、酵母ノ自己消化生成物ヨリ來ルニモ非ズ、實ニ「アミノ」酸自身ノ分解ニヨリ生成セラレタル事明ナリ

斯ノ如クシテ之等ノ「ノルマル」型「アミノ」酸ヨリ生成セラレタル物質ガ何物ナルカニ就テハ別報ニ於テ順次ニ述ベン事ヲ期ス。

最後ニ注意スベキハ高級「アルコール」生成ト酵母量トノ關係ナリ。

此ノ件ニ關シテモ既ニ黒野博士ハ其ノ實驗ニ於テ考察セラレタル所ナルガ(4)一ハ相當多量ノ酵母ヲ糖類及ビ「アミノ」酸ヲ含有スル培養液ニ加ヘ短時間ニ主醱酵ヲ終了セシムル方法ニシテ又一ハハイダック氏液ニ於ケルガ如ク「アミノ」酸混合培養液ニ鑛物鹽ヲ補ヒツ、極メテ少量(一白金耳等)ノ酵母ヲ接種シ徐々ニ繁殖ヲ行ハシメツ、醱酵セシムルノ法ナリ、而シテ兩者ヲ比較スルニ常ニ後者ニ於テ「フリーゼ」油生成量遙ニ多量ナルヲ見タリ、此ノ事實ハ良クエーリヒ氏ノ說ニ一致スル所ニシテ即チ酵母ハ自ラ繁殖ヲ行ハンガ爲ニ、「アミノ」酸ヲ分解シテ一方ニ高級「アルコール」ヲ生成セシメツ、「アミノ」基ノ分離シテ生ズル「アムモニア」ヲ利用スト考ヘラルサレバ餘リ多量ノ酵母ヲ使用セバ砂糖ノ消費ノミ徒ニ多ク「フリーゼ」油生産僅微ナルノ事實ニ遭遇スルナリ。

實 驗

一、窒素物ヲ異ニスル場合ニ於ケル「フリーゼ」油生成量

酵母ニ依ル「ノルマル」型「アミノ」酸ノ分解ニ就テ

培養液、ハイダック氏液「アスパラギン」ニ代フルニ等量ノ窒素ヲ含有スル「アミノ」酸其他ノ窒素化合物ヲ以テセリ、但シ「アスパラギン」ハ「アミノ」窒素二個ヲ有シ其ノ一ハ酸「アミド」ノ形ニシテ此ノ分解ニ關シテハ多少ノ異論アランモ便宜、全窒素量ニ等シキ窒素ヲ含有スル窒素化合物ヲ用ヒタリ。

試験法

- 1 酒精 比重法
- 2 總酸 琥珀酸トシテ算出
- 3 「フーセル」油 高橋氏原法佐田氏改良「ゲアニリン」硫酸法(9) 「アミルアルコール」標準液ト比色ス

次ノ窒素化合物ヲ含有スル培養液各一〇〇珎ニ清酒酵母日本醸造協會第一號協一 一白金耳ヲ接種二八—二九度ニテ培養ス、砂糖ハ市販ノ白ザラメ糖ナリ。

窒素化合物	培養期間	酒精	フーセル油	總酸
1 グリコ、ール	八日	三・八五%	〇・〇七%	〇・二〇〇六%
2 右旋アラニン	六	四・七五	〇・〇七	〇・一七七〇
3 アスパラギン	六	四・八五	〇・〇二	〇・一六五二
4 アルタミン酸曹達	六	三・六五	〇・〇二	〇・二五九六
5 磷酸アムモニウム	六	二・六五	淡青綠色	〇・二三六〇
6 硫酸アムモニウム	六	四・八五	淡青綠色	〇・三〇六八

2、6 最モ醱酵旺盛、53之ニ次ギ1は最モ遅ル、「ゲアニリン」硫酸反應12ノミ濃紫紅色ヲ呈スルハ注意スベク、無機窒素化合物ノ場合ハ殆ド其ノ生産ヲ認メラズ。

二 葡萄糖ヲ用ヒタル場合

ハイダック氏液ノ「アスパラギン」ハ他ノ「アミノ」酸ニテ換ヘ蔗糖ハ、純白ナル無水葡萄糖ヲ以テセリ、全

量五〇珎ノ培養液ニテ二七—八度四日間後ノ結果ハ次ノ如シ。

窒素化合物	酵母量(協1)	酒精	フーセル油
1 無添加	小豆粒位	一・七%	〇・一〇
2 グリコ、ール	二白金耳	四・一	〇・一〇
3 右旋アラニン	二白金耳	四・三	〇・〇七

窒素物無添加ノモノハ相當酵母量ヲ大トセルモ醱酵ナホ充分ナラズ、「フーセル」油ノ生産無シ「グリコ、ール」アラニン」ノモノハ前回同様「フーセル」油生産顯著ナリ。

三 窒素化合物無添加ノ場合

ハイダック氏液ノ糖分ヲ次ノ如キモノヲ以テシ、窒素化合物ハ加ヘズ泥狀協1 酵母小豆大量ヲ加ヘ、二七—二九度ニテ醱酵セシメタル結果ハ次ノ如シ(全液二〇〇珎ニテ)

	期	酒精	フーセル油
1 白ザラメ	二〇珎	七	〇・〇〇三
2 葡萄糖 (淡黄色)	九	一九七五	〇・〇〇三
3 葡萄糖 (褐色)	九	四・〇五	〇・〇〇四
4 「フーセル」油ノ生産痕跡ナリ、但シ醱酵ハ必ズシモ充分ナラズ	九	二・七〇	〇・〇〇四

四 蔗糖ノ吟味ト精製

白ザラメ糖ハ市販ノ蔗糖中ニテハ比較的純粹トセラル、今其ノ窒素ヲキエルダール法ニテ定量セルニ

全窒素 〇・〇三七三% 蛋白質トシテ 〇・二三三三%ナリ
一〇%溶液ハネスラー氏試薬、二五〇%燐「ウオルフラム」酸液ニテ毫モ沈澱ヲ生ゼズ、其ノ二五珎ヲ採リ「フ

酵母ニ依ル「ノルマル」型「アミノ」酸ノ分解ニ就テ

オルモール」法ニテ「アミノ」酸ヲ定量セルニ皆無ナリ。
 精製。白ザラメ糖三五〇瓦ヲ約三〇〇瓦ノ温蒸溜水ニ溶解シ濾過後之ニ三〇〇瓦ノ九二%酒精ヲ加へ、結晶塊一―二粒ヲ投ジ冷所ニ數日間放置シ純品ヲ得タリ。
 之ヲ市販ノ白ザラメ糖、葡萄糖トジエンドラシツク氏反應(鹽化鐵ト赤血鹽ノ各、〇・〇〇一規定液ノ等量ヲ混ジタルモノ)ニテ比較スルニ次表ノ如シ。

一〇%糖液二瓦ヲ上記試薬ノ五瓦ニ加フ。	無水葡萄糖(純白)	葡萄酒(褐色)	葡萄酒(淡黄)	白ザラメ糖	白ザラメ糖(再結)
反應	濃 藍色	濃 青色	濃 藍色	藍 色	淡 黄 褐

五 精製白ザラメ糖ヲ用ヒタル場合

前ノ如クシテ精製セル白ザラメヲ用ヒ變形ハイダツク氏液ニテ試験セル結果ハ次ノ如シ(二九度四日間ノ培養、各一〇〇瓦ニテ)

窒素物	酵母(協1)	酒 精	フリーセル油	總 酸
1 無添加	大豆大四ヶ	四・八八	〇・〇一五	〇・二八八八
2 グリコロール	小豆大四ヶ	四・六五	〇・〇三五	〇・二五三四
3 右旋アラニン	小豆大四ヶ	四・七五	〇・〇七五	〇・二一八〇
4 左旋ロイシン	小豆大四ヶ	四・七〇	〇・一五〇	—

「グリコロール」ハ前回ヨリ少量ナレドモ「アラニン」ハ略々等シキ「フリーセル」油生産アリ「ロイシン」ノモノ最大生産量ヲ示シタリ。即チ精製蔗糖ヲ以テセルモ市販白ザラメノ場合ト略々同様ノ結果ヲ得ラル。

六 右旋「アラニン」ト「ラセミ」性「アラニン」トノ對比

培養液、精製蔗糖ヲ使用シハイダツク氏液ノ「アスバラギン」ニ代フルニ「アラニン」ヲ以テスルモノ一〇〇瓦。二六―二九度、六日目ノ生産物ハ次ノ如シ。

窒素化合物	酵母量(協1)	酒 精	フリーセル油	總 酸
1 右旋アラニン	大豆大一ヶ	五・四	〇・〇一〇	〇・〇八二六
2 ラセミ性アラニン	大豆大一ヶ	四・六五	〇・〇一〇	〇・二二九八

七 「ラセミ」性「アラニン」ト「ラセミ」性「アルファアミノ」正酪酸トノ比較

培養液。變形ハイダツク氏液五〇瓦、(「アスバラギン」ニ代フルニ他ノ窒素物ヲ以テス)培養温度二三―二八度酵母ハ協1號一白金耳宛接種、タダ次表中45ハ醗酵稍々遅ル、ヲ以テ三日目酵母ヲ更ニ二白金耳追補6ハ初メヨリ三白金耳ヲ加フ、又、蔗糖ハ、1―5ハ精製品6ハ市販白ザラメヲ用ヒタリ。

窒素物	培養日數	酒 精	フリーセル油
1 硫酸	〇・二五瓦	五・一	〇・〇一
2 ラセミ性アラニン	〇・二瓦	五・四	〇・一〇
3 ラセミ性アラニン	〇・一瓦	四・五五	〇・〇七
4 ラセミ性アミノ正酪酸	〇・二瓦	三・一〇	〇・〇八
5 同右	〇・一瓦	四・九五	〇・一〇
6 同右	〇・二瓦	五・三六	〇・二二

「アミノ、ノルマル」酪酸ノ場合モ著量ノ「フリーセル」油ノ生産アリ、一般ニ「フリーセル」油生産量ハ充分酒精醗酵ヲ行ハシメタルモノニ多シ。

八、「ラセミ」性「ヴァリン」ノ場合

酵母ニ依ル「ノルマル」型「アミノ」酸ノ分解ニ就テ

培養液 變形ハイダック氏液一〇〇珎ニ協₅。酵母一白金耳接種、二五—二六度ニテ一八日間醱酵ヲ繼續セシム、「アラニン」等ニ比シ、酵母ノ繁殖極メテ困難ナリ「ラセミ」性「ヴァリン」添加量〇・三五珎、十一日目協₅小豆大一ヶ宛ヲ加フ。

精製糖ノ場合	酒	糖	フリーゼル油
1	四・五%	〇・〇三五	
2	四・六%	〇・〇二五	

「フリーゼル」油生成微量ナルハ注意スベキ事ナリ。

九 「ラセミ」性「アルファアミノ」正「ヴァレリアン」酸ノ場合(ノルヴァリン)

培養液 變形ハイダック氏液一〇〇珎、協₅。ヲ一白金耳宛加ヘシモ、2號ノミ、繁殖遅ル、ヲ以テ三日目更ニ泥狀酵母小豆大一ヲ加フ、二五度一〇日目ノ生産物左ノ如シ。

窒素物	酒	糖	フリーゼル油
1 硫安	〇・五珎	五・五%	〇・〇
2 ノルヴァリン	〇・三四	五・五%	〇・〇二
3 グルタミン酸曹達	〇・六四	五・二	〇

此ノ「ノルヴァリン」ニテモ「フリーゼル」油生産僅少ナリ。

十 酵母ノ多少ト「フリーゼル」油生産量

A 多量ノ酵母ヲ加ヘシ場合

培養液 一〇%蔗糖液一〇〇珎 二五—二八度ニテ協₅。乾燥物一・二珎宛ヲ加フ。

窒素物	培養期間	酒	糖	フリーゼル油
1 無添加	四	三・八%	〇・〇三	
2 右旋アラニン	三	四・八三	〇・〇四	
3 ラセミ性アラニン	四	五・〇	〇・〇三	
4 左旋ロイレン	三	—	〇・〇五	

多量ノ酵母ヲ用ヒ急速ニ醱酵ヲ營マシムレバ「フリーゼル」油生産僅少ナルガ如シ。

B 少量ノ酵母ヲ用ヒシ場合

培養液 ハイダック氏液ノ「アスパラギン」ヲ他ノ窒素化合物ニテ換フ。

酵母 協₅。一白金耳宛接種、日々振盪シツ、徐々ニ繁殖セシム。

培養温度廿八度、糖ハ市販ノ白ザラメ。一〇%溶液ナリ。

窒素化合物	蔗糖	培養期間	酒	糖	フリーゼル油
1 グリコロール	〇・三珎	一〇珎	四・〇五%	〇・〇五	
2 ノルヴァリン	〇・四珎	一〇	四・八	〇・〇二	
3 ラセミ性ヴァリン	〇・二珎	五	繁殖充分ナラズ		
4 グルタミン酸曹達	〇・六	一〇	四・一	淡藍色	〇・〇一
5 アスパラギン	〇・二五	一〇	四・一		〇・〇一

「グリコロール」以外ハ「フリーゼル」油生成ハ僅微ナリ。

C 酵母ノ多少ニ關スル對稱試験

「フリーゼル」油生成ノ確實ナル「アラニン」及ビ「ロイシン」ニ就テ酵母接種量ノ多少「フリーゼル」油生成ニ及ボス影響ヲ比較セリ。

酵母ニ依ル「ノルマル」型「アミノ」酸ノ分解ニ就テ

變形ハイダック氏液各五〇ㇼニテ協⁵酵母ヲ使用二八度ニテ培養ス

窒素化合物	酵母	培養期間	酒精	フリーセル油
1 ラセミ性アラニン 〇・二五	一白金耳	七	四・三	〇・〇五
2 同右	泥狀物大豆大三ヶ	四	四・三	〇・〇〇七
3 左旋ロイシン 〇・二五五	一白金耳	七	四・三	〇・〇七五
4 同右	泥狀物大豆大三ヶ	四	四・四	〇・〇三

酵母ノ量ヲ少シク徐々ニ繁殖醱酵ヲ營マシムル時「フリーセル」油生成多ク、反之シ酵母ヲ多量ニシ、急ニ醱酵ヲ終結セシムル時ハ「フリーセル」油生成僅少ナルヲ明ニセリ。

十一 「ラセミ」性「ロイシン」ヲ用キシ場合

變形ハイダック氏液五〇ㇼニ、協⁵酵母一白金耳ヲ播種、三〇度ニテ培養ス。

ロイシン	酒精	フリーセル油
1 左旋體 〇・一七五	五・〇	〇・〇八
2 ラセミ體 〇・一七	五・〇	〇・〇七
3 左旋體 〇・二四五	三・六	〇・〇五
4 ラセミ體 〇・二四五	四・一	〇・〇五

「ロイシン」ニ於テハラセミ體ト左旋體トニ拘ラズ「フリーセル」油生産量大差無シ

十二 酵母體、酵母水中ノ窒素化合物ノ影響。

酵母體ガ主トシテ蛋白質ヨリ形成セラレ特ニ其構成分子トシテ「ロイシン」「ヴァリン」「アミノ」酸ノ著量ナルヲ證セラレアル事ナレバ或ハ蛋白質ノ分解ニヨリ生成セル之等「アミノ」酸ヨリエイリヒ氏醱酵形式ニ從ヒ、「アミルアルコール」「ブチルアルコール」等ヲ生成セシメ居ル事等考ヘラレザルニ非ズ、即チ酵母體

水母酵ニ就テノ吟味ヲ行ヒタリ。

協⁵乾燥酵母五瓦ニ井水一〇〇ㇼヲ加ヘ三角瓶ニ入レ煮沸セル湯煎中ニ一時間放置シ、半分ハ、濾過、半量ハ其儘使用ス、次ノ如ク配合セル培養液ニ協⁵酵母一白金耳ヲ接種、三〇度ニテ醱酵セシム

酵母水	糖	ハイダック氏礦物液	水	酒精	フリーセル油
1 濾液 五〇ㇼ	一〇瓦	二ㇼ	四八ㇼ	五・〇	淡黄 無シ
2 酵母殘渣ヲ含ム酵母水五〇ㇼ	一〇	二	四八	四・六	淡黄 〇

即チ酵母體ヨリ直接來ル事皆無ナリ、醱酵ハ極メテ良好旺盛ナリ。

摘要

一、高級「アルコール」ニ特有ナル「ヴァニン」「硫酸反應ヲ以テ檢索スルニ、「アスバラギン」ニ代フルニ諸種ノ「アミノ」酸ヲ以テセル變形ハイダック氏液ニ清酒酵母ヲ培養セル場合、「グリコロール」(〇・〇三五—〇・一%) 右旋性及「ラセミ」性「アラニン」(〇・〇五—〇・一%)「ラセミ」性「アルファアミノ」正酪酸「〇・〇七—〇・一%」等ニ於テ、括弧内ニ示セル程度ノ「フリーセル」油ノ生成ヲ認メラル。

二、上記ノ培養法ニヨル場合「ラセミ」性「ヴァリン」「ラセミ」性「ノルヴァリン」ヲ以テセル場合ニハ「フリーセル」油生成僅少ナリ。(〇・〇三%程度)

三、右旋性「アラニン」ト「ラセミ」性「アラニン」左旋性「ロイシン」ト「ラセミ」性「ロイシン」トニ於テ「フリーセル」油生成量ヲ比較スルニ大差ナシ。

四、前記ノ諸例ニ於テ「フリーセル」油ハ、用ヒタル糖分。酵母蛋白質ノ分解ノ結果ヨリ由來スルノ證ヲ得ラレズ、全ク用ヒタル「アミノ」酸ヨリ來ルモノト考ヘラル。

五、接種酵母量多大ナル時ハ、徒ニ糖分ノ消費ト酒精醱酵ノミ進行シ、「アミノ」酸ノ分解惡シク、「フリーセル」

酵母ニ依ル「ノルマル」型「アミノ」濾ノ分解ニ就テ

油生成モ、僅少ナリ。

六「アスバラギン」「グルタミン」「酸曹達、磷酸」「アンモニア」「硫酸」「アンモニア」等ヲ以テスル場合「フリーゼル」油生産殆ンド皆無ナリ。

七 用ヒタル「アミノ」酸中「ロイシン」「アラニン」ノ兩者ハ最モ醱酵旺盛ニシテ、「アスバラギン」「酸」「グルタミン」「酸曹達」之ニ次ギ「アミノ」「正酪酸」「グリコフォル」「ノルヴァリン」ハ稍々悪シク「ヴァリン」ニ於テ醱酵最モ困難ナリ、硫酸、燐安等ハ大體「ロイシン」等ト同様、醱酵順調ナリ。

引 用 文 献

- (1) 山田正一、乳井正一郎：醸試報，110, 48-74, 昭和5
山田正一：同上 75-84
- (2) F. Ehrlich : Zs. Ver. Kubenzuck.-Ind. 539-67, 1905
Biochem. Zs. 18,391-423, 1909.
- (3) F. W. Foreman: Biochem. Zs. 56, 1-10, 1913,
E. Abterhalden. and H. Weil : (1913)
- (4) 黒野勘六：日，酸，雑，19, 5-6-7, 大正13
- (5) 黒野勘六：東京化學會誌，31, 129-64, 明治43
- (6) Th. v. Kellenberg : Ch. Zentrbl. II. 501, n. 942, 1914, I, 539, 1916, I, 1154, 1917
- (7) O. E. Ashdown and J. Th. Hewitt: J. Chem. Soc. London 97, 1636-48, 1910
- (8) 山田正一：醸試報 100, 35, 昭和3
- (9) 佐田樂造：醸試報，44, 13-4, 大正元

第二報 「アラニン」(酒精醱酵副生産物ノ研究第四報)

一九〇六年エーリヒ氏ハ「ラセミ」性「アラニン」ヲ糖分ニ加ヘ多量ノ酒精酵母ヲ以テ醱酵セシメ、理論數ノ六五%ノ良好收量ヲ以テ左旋性「アラニン」ヲ獲得セリ⁽¹⁾只此ノ場合醱酵液ノ處理ニ當リ、酵母ヲ濾過後、直チニ蒸發濃縮セルヲ以テ揮發性生産物ニ就テハ吟味スルニ至ラザリキ今若シ本「アミノ」酸モ亦エーリヒ氏ノ「アミノ」酸ノ「アルコール」醱酵形式ニ從ヒ分解スルモノトセバ、次式ノ如ク終極生産物トシテ酒精ヲ得ラル



ベク假想的中間體トシテ、「オキシン」酸、「ケトン」酸、「アセトアルデヒード」



ノ如キガ考ヘラル、ナリ。

其後アツシユダウン、ヘーウイット兩氏ハ、一九一〇年酵母ニ依ル「アラニン」ノ醱酵ヲ試ミ生産物中稍々多量ノ「アセトアルデヒード」ノ存在ヲ認メ前ノ如ク「アラニン」ヨリ酒精ニ至ル中間體トシテ現ハル、モノナレバ當然ノ歸結ナリトセリ⁽²⁾而シテ本結果ハ、シエード氏ノ「アラニン」ガ、酒精醱酵中間生成物ナリトスルノ說ヲ支持スルニ好都合ナルカノ如ク考ヘラル、ニ至レリ。

茲ニ「アミノ」酸ノ「アルコール」醱酵ニ際シ中間生成物トシテ屢々「アルデヒード」ヲ擧ゲラル、根據ハ曾テオールドンノー氏ガ酒精中「イツヴァレルアルデヒード」ノ存在ヲ證シタルニアリ、然レドモ斯ノ如キ事ハ、醱酵ノ蒸溜時極メテ容易ニ行ハレ得ル現象ニシテ果シテ醱酵ニ際シ該「アルデヒード」ガシカク容易ニ生産セラル

酵母ニ依ル「ノルマル」型「アミノ」酸ノ分解ニ就テ

、カ否カハ寧ロ難問ナリト云フベキハ著者が曾テ述べ置キタル所ナリ。(4)
 一方既ニ第一報ニ於テ述べタル如ク「アラニン」ヲ醱酵セシメテ酒精ヲ得ラル、モノナラバ、其ノ溜液ニ於テハ「ヴァニリン」硫酸ノ「フリーゼ」油反應淡黄色ナルベキニ實際ハ顯著ナル紫紅色ヲ呈シ何物カ高級「アルコール」様物質ノ生成ヲ立證シ居ルナリ。

又十數年前鈴木梅太郎博士ハ糖類ニ「アラニン」ヲ加ヘテ酵母ニ依リ醱酸ヲ行ハシムル時ハ清酒様ノ芳香ヲ發生スル事ヲ認メ實地ニ應用セラレタルガ其ノ何故ニ然ルカニ就テハ格別追求セラレザリシガ如シ
 要之スルニ米ヲ初メトシ、一般動物性蛋白質ヲ加水分解スル時、其ノ構成分子トシテ概ネ現レ來ル本「アミノ」酸ニ就テ其ノ醱酵現象ニ伴ヒ如何ナル變化ヲ受クルモノカ未詳ナルハ生産物ノ研究上甚ダ不便ナリ、因リテ之等ノ諸問題ヲ解決シ併セテ「ノルマル」型「アミノ」酸ノ醱酵形式ヲ吟味セントテ稍々大規模ノ試験ヲ行ヒタリ。

最初ニハイダツク氏液ノ「アスバラギン」ニ代フルニ「右旋性アラニン」〇・四%ヲ以テセルモノ三〇立ヲ日本醸造協會、清酒酵母第一號(協)ニテ醱酵セシメタリ。全ク糖分消滅後蒸溜シ、溜液ヲ數十分溜シテ最後ニ得タル「フリーゼ」油區分ヲ吟味セルニ大部分ハ沸點一〇〇—一一五度ニテ蒸溜シ外ニ一一五—一三〇度ノ區分ヲ得タリ。前者ハ沸點、香氣、溶解度等ノ性質及ビ三・五「ヂニトロ」安息香酸「エスター」「フェニルウレタン」ノ融點其ノ分析結果等ヨリシテ全ク「イソブチルアルコール」ナル事ヲ知り同様ニシテ後者ハ通常ノ「フリーゼ」油、主成分タル「イソアミルアルコール」ナル事ヲ證シ得タリ。

エーリヒ氏ノ說ニ從ヘバ「イソブチルアルコール」ノ母體ハ當ニ「ヴァリン」ナルベキナリ、即チ用ヒタル右旋性「アラニン」ガ屑礫ノ加水分解物ヨリ通常ノ「エスター」法ニ依リテ製シタルモノナレバ或ハ不純分ノ多量ナルハ注目ニ價ス。

爰ニ於テ先ヅ八%甘蔗糖溶液二〇立ヲ日本醸造協會清酒酵母第五號泥狀物(乾燥酵母トシテ約六四瓦)ニテ醱酵セシメ、其ノ「フリーゼ」油區分ニ就テ檢索セルニ僅少ノ沸點一二〇—一二八度ノ區分ヲ得ラレシニ過ギズ「イソブチルアルコール」區分ハ皆無ナリキ。

殘ルハ「アミノ」酸ノ純否ノ問題ナリ、之ガ爲ニハ、全ク「フリーゼ」油ヲ含有セザル酒精ヨリ出立シテ「ラセミ」性「アラニン」ヲ製シ試験ニ供シタリ。

初メ〇・三四%ノ「ラセミ」性「アラニン」ヲ含有スル變形ハイダツク氏液三七・五立ニ日本醸造協會清酒酵母第一號ノ麴「エキス」ニ培養シ、充分洗滌セル泥狀物(乾燥酵母トシテ約三五瓦)ヲ分割接種シ、約一〇日間ニシテ全ク糖分ノ消失セル時蒸溜ニ附シタリ。然ルニ之ヨリ分溜獲得セル「フリーゼ」油區分モ實ニ沸點一〇六乃至一一〇度ノ「イソブチルアルコール」ニ相當スルモノ大部分ニシテ、約其ノ半量ノ「アミルアルコール」區分ヲ得ラル、ナリ又誘導體(「フェニルウレタン」及ビ三・五「ヂニトロ」安息香酸「エスター」)ノ融點分析結果等ヨリシテ、正ニ、前者ノ「イソブチルアルコール」ナル事ヲ確メタリ「アルデヒド」ノ生成ハ八日目ニ於テ僅々〇・〇〇一六四%ニシテ謂フニ足ラズ。

蒸溜殘渣中ヨリ左旋性「アラニン」ヲ得ラル、事エーリヒ氏ノ場合ト同シ、

只一回ノ試験ノミニテハ稍々不安ナレバ、異種ノ酵母ニ依ル場合ヲ重ネテ吟味シタリ。

酵母ニ依ル「ノルマル」型「アミノ」酸ノ分解ニ就テ

一ハ、某工場ノ御好意ニ依ル麥酒酵母ニシテ、一ハ臺灣總督府中央研究所酒精酵母三九六號ナリ。
 麥酒酵母ニ於テハ其ノ泥狀物約五・五盃ヲ殺菌セル一〇％糖液、五〇立ニ「ラセミ」性「アラニン」二〇〇
 瓦ヲ溶解セルモノ（〇・四％）ニ投ジ、六日間後全ク糖分ノ消失スルニ至リテ蒸溜ニ附シタリ、然ルニ意外ノ
 事ハ、本「フリーセル」油區分ハ、極メテ微量ニシテ而モ之ヲ分溜シ得タルモノハ、殆ンド一二〇度以上ノ區分
 ノミナリ、之餘リニ多量ノ酵母ヲ用ヒタルガ爲ニシテ斯ノ如キ場合ハ、徒ニ糖分ノミヲ消費シ盡シ「アミノ」
 酸ハ殆ンド分解セラレザルモノ、如ク、從ツテ「アミノ」酸ノ分解生成物ヲ得ルニハ不適當ニシテ得ラル、
 ハ、「アミノ」酸無添加ノ場合ト同様ナルノ事實ニ逢合セルナリ、果シテ蒸溜殘渣ヲ處理シテ「アラニン」一四
 九瓦ヲ回收セリ。

此ノ酵母ノ多少ト「フリーセル」油分生産量トノ關係ハ前報ノ小試験ノ結果モ全ク同様ナルヲ以テ最後ニ變形
 ハイダック氏液ニ酵母ノ一金耳ヨリ培養シタル場合ノ結果ヲ吟味セリ。

培養液ハ「ラセミ」性「アラニン」〇・三四％ヲ含有スル變形ハイダック氏液ニシテ、初メ其ノ一〇〇耗ニ前
 記臺研、酒精酵母一金耳ヲ接種繁殖セシメタルモノヲ更ニ一立ノモノニ移シ斯ノ如クシテ順次及ボシテ全
 量約三二立ヲ醱酵セシメタリ、一日目ノ「アルデヒド」生産量〇・〇〇四五三％ニシテ亦特ニ「アラニン」
 ヨリ生成セルノ證ト謂ヒ難キ量ナリ。

分溜ニ依リテ得タル「フリーセル」油ハ多量ノ「ブチルアルコール」區分ト「アミルアルコール」區分トヨリ成
 ル事、前二回ノ試験結果ト一致シ、而モ其ノ收量モ豫想ノ如ク今回ハ最モ大ナリ、即チ酵母ハ自ラガ増殖セ
 ン爲メニ「アミノ」酸ノ窒素ヲ利用シ後ニ分解生成物トシテ「アルコール」類ヲ殘存セシムルエーリヒ氏ノ
 解釋ヲ裏書セリ。

「ブチルアルコール」ガ「イツブチルアルコール」ナル事ハ前同様ニシテ證スル事ヲ得タリ。又左旋性「アラ
 ニン」約四五瓦ヲ回收シタリ、尙酵母ノ收量ハ乾燥物トシテ五五瓦ナリ。

以上總括スルニ糖液ニ「アラニン」ヲ加ヘテ醱酵セシムレバ、「イツブチルアルコール」ヲ得ラレ酵母ノ種
 類如何ニハ關係セズ、而シテ其ノ生成ハ酵母ノ増殖ノ行ハル、事ニ併行スルモノナル事想像セラル。

此ノ際「アセトアルデヒド」ノ生成ニ關係アルモノトハ考ヘラレズ。

但シ「イツブチルアルコール」生成機作ニ就テハ直チニ「アラニン」ヨリ來ルモノトセバ三原子ノ炭素化
 合物ヨリ四原子ノ炭素化合物ヲ得ラル、事トナリ甚ダシク不可思議ノ現象ニシテ從來ノ說ニテハ解明スル事
 困難ナリ、或ハ云ハン酵母ハ「アラニン」ヲ利シテ自體ノ蛋白質ヲ構成シ更ニ之ヲ分解シテ其ノ中ノ「ヴァ
 リン」ヨリエーリヒ氏ノ說ニ從ヒテ「イツブチルアルコール」ヲ生成スルナラント、然レドモ著者ノ實驗ニ
 ヨレバ自製セル「ラセミ」性「アラニン」ヲ初メ其他二、三ノ鎖狀「アミノ」酸ヲ加ヘテ糖液ノ醱酵ヲ試ミタル
 モ未ダ他ノ「アミノ」酸ヨリハ一モ「イツブチルアルコール」ノ生成ヲ證スルニ至リタル例ナシ。

但シ此處ニハ單ニ「アラニン」ヲ加ヘテ糖液ヲ醱酵セシムル時、生産物トシテ常ニ「イツブチルアルコ
 ル」ヲ得ラル、トイフノ事實ヲ記載スルニ止メント欲ス、嘗テ清酒中ノ「フリーセル」油分ヲ檢索シ「ブチルア
 ルコール」區分ノ比較的の多量ナルヲ認メタルガ其ノ理由モ解セラレタルガ如シ。

實 驗

一 右旋性「アラニン」ト清酒酵母 協¹

1 「アラニン」ノ資料ハ故松浦信次氏ノ遺品ニシテ層蘭ヲ加水分解シ「エスター」法ニ依リ一〇耗四〇一六〇
 度ニテ溜出スル區分ヲ分離シ、之ヨリ鹼化シテ得ラレシモノニシテ分析ノ結果窒素一四・九三％（「アラニン」

酵母ニ依ル「ノルマル」型「アミノ」酸ノ分解ニ就テ

八一五・七三%) ニシテ稍々低値ナリ。

2 培養液 「アスパラギン」ニ代フルニ「アラニン」ヲ以テスル變形ハイダック氏液ニシテ其ノ組成次ノ如シ。

甘蔗糖(白ザラメ)

一〇〇瓦

右旋性アラニン

四瓦

ハイダック氏礦物液

二〇瓦

之ニ井水ヲ加ヘ一立ニ滿タシタリ。

3 酵母 日本醸造協會、清酒酵母第一號(協1)ニシテ之ヲ母氏十度ノ麴エキスニ培養シ一週日ニシテ濾過滅菌水ニテ洗滌ス(總テ殺菌セル器具ヲ用キ濾過操作ハ無菌箱ニテ行ヘリ、以下之ニ倣フ)斯クシテ二立ノ麴エキスヨリ得ラル、量ハ乾燥物トシテ五瓦ノ計算ニ從ヒタリ。

4 醱酵 培養液ハ一―二・五立宛變形瓶ニ採リ型ノ如ク綿栓ヲ施シ、日々四〇分―一時間宛三日間殺菌ス。

斯ノ如キ培養液三〇立ニ豫メ麴エキス四立ニ培養シテ得タル泥狀酵母(乾燥物トシテ約一〇瓦)ヲ分割接種シ二六―二八度ニテ培養ス、醱酵ハ極メテ旺盛ナリ、此ノ間朝夕一回宛振盪シ、瓶ノ重量ガ含有スル糖分ノ約半量強ヲ減ジタル時酵母ハ傾瀉又ハ濾過シテ蒸溜ニ附シタリ、此時機ニ於テハ醱酵液ハ、最早フェーリング氏液ヲ還元セズ、一種ノ芳香ヲ有ス。

醱酵液の酸度

〇・一二九八%

アルデヒド

〇・〇〇二四一%

フェーセル油

〇・〇四一〇・〇五%(ツアニリン硫酸反應)

即チ特ニ「アルデヒド」ノ生産大ナル事無ク此ノ程度ノ量ハ普通ノ醱酵ニテ常ニ觀察セラル。

5 蒸溜。一回一〇立宛ヲ約一斗入兜釜ニテ直火ヲ以テ蒸溜ス、九二度ヨリ溜出シ初ムルヲ以テ九二―九六度

九六―九九度、九九度以上ノ三區分ニ分割セリ、此ノ中九二―九六度ノ區分「フリーゼル」油含量最モ大ナリ各區分ハ再三再四蒸溜ヲ繰リ返シ極力水分ヲ除去、酒精ノ濃縮ニ努メタリ、斯クテ後ニハ五球ヲ有スル隔温蒸溜器ヲ附シ「ツアニリン」硫酸反應ヲ目標トシテ十數回ノ分溜ヲ繰リ返シタリ、酒精濃度六〇%以上ニモ到達スレバ「フリーゼル」油分ハ蒸溜殘液ノ方ニ濃縮シ來リ顯著ナル香氣ニテ夫ト知ラル、而シテ遂ニハ黃褐色油狀ヲ分離スルニ至レリ、水層ハ更ニ二球ヲ有スル分溜管ヲ附シ、數回蒸溜ヲ繰リ返シ油分ハ前ノモノニ合併シ、水層ハ約三〇瓦容小蒸溜瓶ニテ蒸溜シ寒暖計ノ示度一〇〇度以上ノ部ハ水トシテ廢棄セリ。

斯クテ得タル油分ハ一四・六瓦、ナホ水分及ビ酒精ヲ含有ス、之ヲ更ニ小蒸溜瓶ニテ蒸溜シ最後ニ沸點一〇〇度以上ノ區分約五瓦餘ヲ得テ次ノ分溜ニ附シタリ。

水層ヨリ油分ノ分離スル事他ノ「アミルアルコール」等ノ場合ニ比シ幾分困難ニシテ濃縮度ヲ高メテ初メテ然ルガ如キヲ經驗セリ、油狀體ガ水ニ溶解度稍々高キ事ヲ暗示スルモノナリ。

6 「アルコール」分ノ收量

初溜分	量	酒精%	備考
第一溜分	二〇〇	九四・二	アルデヒドヲ含ム、ツアニリン硫酸反應濃縮
第二溜分	一一一〇	九四・五	フリーゼル油を含有セズ
第三溜分	一三	九二	×フリーゼル油 約〇・〇七八瓦
第四溜分	二八	八八	×フリーゼル油 約三・五瓦

× 〇・五瓦ヲ二〇%酒精ニテ一〇〇瓦ニ稀釋シ、之ヨリ〇・一―〇・五瓦ヲ採リ型ノ如ク「ツアニリン」硫酸反應ニテ定量ス。

外ニ油分 五・三五瓦

7 油分ノ分溜

酵母ニ依ル「ノルマル」型「アミノ」酸ノ分解ニ就テ

油分ハ三〇珦容小蒸溜瓶ニ移シ「バラフィン」浴上ニテ注意シテ蒸溜セリ、初メ七區分ニ分チ更ニ多量ノ區分ハ蒸溜ヲ繰リ返シ二回目ニ得タル各區分ノ收量ハ次ノ如シ、(全五・三五瓦)

區分	沸點 度	浴温 度	收量 瓦
A ₁	一〇〇—一〇五・五	一四五—一五〇	〇・六五
A ₂	一〇五・五—一〇八	一四五—一五〇	〇・六
A ₃	一〇八—一一三	一四九—一五八	一・五
A ₄	一一三—一二二	一五八—一六一	〇・三
A ₅	一二二—一二七・五	一六一—一六四	〇・六
A ₆	一二七・五—一二九	一六四—一六五	一・一
A ₇	殘渣		〇・二五
點溜損失			〇・三五

假リニA₄區ヲ「ブチル」「アミル」兩區ニ 分シテ考フレバ、

ブチルアルコール 二・九瓦
アミルアルコール 二・一瓦ニシテ

外ニ、分離シ得ザルモノ、約三・六瓦アリ、主トシテ「ブチルアルコール」ナラント考ヘラル。

前記「アミルアルコール」ノ量ハ此ノ程度ノ醱酵試験ニテハ通常得ラル、量アレバ結極「ブチルアルコール」區分ノ多量ナルニ注意スベキナリ。

但シ、茲ニ沸點一一〇度附近ノモノヲ文獻ニ求ムレバ、

イソブチルアルコール 一〇八度
メチルイソブチルカルピノール 一一三度(アミルアルコール同族體)

ノ二者ナルガ後ノ吟味ノ結果前者トシテ記載シタリ。

8 「アルコール」分ノ吟味

A₂ハ沸點「イソブチルアルコール」ノモノニA₆ハ「イソアミルアルコール」ノモノ(一三〇度)ニ夫々略々一致ス。

イ、三・五「チニトロ」安息香酸「エステル」

A₂ノ約〇・二瓦ヲ以テ常法ノ如クシテ製シタル三・五「チニトロ」安息香酸「エステル」ハ融點、八三—四度ニシテ文獻ノ八六—七度ヨリ僅カニ低值ナリ。

之ヲ他ノ「ブチル」油ヨリ分離シタル「イソブチルアルコール」ヨリ自製セルモノ(八五・五度)ト混融ヲ試ミタルモ降下ヲ示サズ。

分析結果

物質 〇・〇五三六瓦 窒素 四・七五珦(一六度七六四・二珦) 窒素實驗數 一〇・四一% 計算數 一〇・四五%($C_{11}H_{24}O_2N_2$)

正ニ「イソブチルアルコール」ノモノニ一致ス。

A₆ヨリ製シタル三・五「チニトロ」安息香酸「エステル」ハ融點五七度、文獻ノ「イソアミルアルコール」ノモノ(六一—二度)ヨリ稍々低シ、之ヲ清酒ヨリ分離セル「アミルアルコール」ノモノ(五九度)ト混融ヲ試ミルニ五八度ニテ融解ス「イソアミルアルコール」ノモノト考ヘラル。

ロ「フェニルウレタン」

A₂ノ約〇・二瓦ニ「フェニルイソチアチート」數滴ヲ加フルニ發熱シテ固結ス、之ヲ「ベンゾール」ニテ處理シ「デフェニル」尿素ヲ濾別セル濾液ヲ湯煎上ニテ蒸發スレバ、後ニ殘ル粘稠液ハ冷後、針狀ニ結晶ス。

融點八〇度ニシテ「イソブチルアルコール」ノモノ(八〇度)ト能ク一致ス

酵母ニ依ル「ノルマル」型「アミノ」酸ノ分解ニ就テ

分析結果

物質 〇・〇九八三瓦 窒素 六・二瓦(一五度七六七・七耗) 窒素 實驗數七・四六% 計算數 七・二五%(C₁₂H₁₅O₂N)

9 蒸溜殘渣

蒸溜殘渣ハ扇風器ヲ用キテ溫煎上蒸發濃縮シ、約一立軒トナシテ後濾過シ、綠色ヲ呈スルヲ以テ硫化水素ニテ銅ヲ去リ更ニ濃縮粘稠ナル舍利別トナセバ冷時固結ス、結晶ハ濾過後一旦水ニ溶解シ、「アムモニア」水ヲ加ヘテ生ズル「コロイド」狀沈澱(磷酸鹽)ヲ濾過シ、濾液ハ脱色後濃縮少量トナシ之ニ九〇%酒精ヲ注加スレバ冷却後、結晶ス、斯クシテ分解セザル「アラニン」ヲ回收ス、收量三〇瓦

二 無窒素糖液ノ醱酵

糖液ニ窒素化合物ヲ全ク加ヘズ酵母ニ依リテ醱酵セシムル時「フリーセル」油ノ生成アリヤ、又生成アラバ其ノ性質ハ如何等ノ問題ヲ解決セン爲ニ行ヒタルモノニシテ窒素化合物添加ノ場合ノ標準ニモ當ルベキモノナリ、只此處ニ糖液ノミニ酵母ヲ培養セントスルニ一白金耳等ノ少量ヲ數立ノ液ニ加フルモ殆ンド繁殖ヲ見ザルハ常ニ經驗スル處ニシテ相當多量ノ酵母ヲ接種シテ初メテ醱酵ヲ營マシ得ルモノナリ。從ヒテ本試驗ニ於テモ止ムナク此ノ方法ニ依リタリ。

1 培養液

八%甘蔗糖液(白ザラメヲ用フ)ニシテ一—二・五立宛變形「コルベン」ニ入レ一日一時間宛三日間殺菌ス、全量二〇立。

2 酵母

日本醸造協會清酒酵母第五號(協₅)ヲ母氏一〇度ノ麴エキスニ繁殖セシメタルモノヲ無菌狀態ニテ濾過洗

滌シ泥狀體トシテ加フ。

全酵母ハ二七・五立ノ麴エキスニ培養セルモノニシテ乾燥物トシテ約六三瓦(二立ノ麴エキスニ於ケル酵母收量四・六瓦トシテ算出)ナリ。

3 醱酵

醱酵溫度ハ二七—九度ナリ一日二回振盪ス、概ネ五—七日ニテ含有セル糖分ノ目方ノ約半量ノ減少アリ醱酵ノ終了ヲ示セルヲ以テ酵母ハ傾瀉、或ハ濾過ニヨリ分テ、醱酵液ハ、一五立宛兜釜ニテ蒸溜ス。此ノ時ノ醱酵液ヲ分析セルニ

酒 精	四・〇%
フリーセル油	〇・〇〇五%
總 酸	〇・〇九四四%

4 蒸 溜

兜釜ヨリノ溜液ハ更ニ五球ヲ有スル分溜管ヲ附シ「ヴァニリン」硫酸反應ヲ目標トナシ、十數回蒸溜酒精ヲ濃縮シツ、「フリーセル」油分ヲ分ツニ努メ遂ニ次ノ結果ニ到達セリ。

第一溜分	酒精九四・二%	六九五瓦	(「フリーセル」油を含まず)
第二溜分	九一・六%	四・七瓦	(「フリーセル」油約〇・九四瓦含有)
フリーセル油		〇・六瓦	

5 「フリーセル」油ノ分溜

「フリーセル」油分ハ三〇瓦容小枝付瓶ヲ用キ「パラフィン」溶上ニテ分溜ス

酵母ニ依ル「ノルマル」型「アミノ」酸ノ分解ニ就テ

區分	沸點	パラフィン浴温	收量
O ₁	一二〇—一二八度	一四五—一五〇度	〇・二瓦
O ₂	殘渣		〇・三瓦

「フリーゼル」油ノ生産ハ極メテ僅少ナリ

O₁ヨリ製シタル三・五「チントロ」安息香酸「スター」ハ融點五二度、「イツアミルアルコール」ノモノ(六二度)ノ不純ノモノト見做スペシ。

6 殘物處理

酵母ハ乾燥後秤量セルニ五四瓦アリ。

又、蒸溜殘渣ヲ濃縮シ「エーテル」ト數回振リ「エーテル」層中ノ「エーテル」ヲ去レバ、美シキ結晶ヲ得タリ收量一・八瓦。濾液全部ヲ重土鹽トナシ、蒸發乾涸シ八〇%酒精ニテ處理シ、溶解スルモノト然ラザルモノトニ分チタリ。

a 八〇%酒精溶解部、此處ニハ乳酸鹽ガ來ル理ナレドモ、硫酸亞鉛水溶液ヲ加ヘ生成スル、硫酸「バリウム」ヲ濾過シ、濾液ハ脱色後濃縮シタルモ極メテ少量ノ結晶ヲ得タルノミニシテ精査スルニ至ラザリキ

b 八〇%酒精不溶解部 〇・五瓦 琥珀酸重土ナリ。

前ニ得タル結晶ハ、味全ク琥珀酸特有ノモノニシテ融點一八五—一七度ヲ示シタリ

斯ノ如クシテ糖液ノミヲ醱酵スルモ尙琥珀酸ノ生産アル事明ナリ。

即、糖液ノミヲ酵母ニ依リ醱酵セシムルモ極メテ僅少乍ラ「フリーゼル」油ヲ生ズ、而シテ其ノ性質ハ略々

「イツミルアルコール」ノモノニ近シ。

三 「ラセミ」性「アラニン」ト清酒酵母協

1 「ラセミ」性「アラニン」ノ資料ハ全ク「フリーゼル」油反應ヲ有セザル酒精ヨリ出立シテ自製セル純品ニシテ其ノ窒素含量、一五・八〇%(計算數一五・七三)ナリ。

2 培養液

甘蔗糖	一〇〇瓦	(白ザラメ)
ラセミ性アラニン	三四瓦	
ハイダツク氏鐵物液	二〇瓦	

之ニ井水ヲ加ヘ一立ニ滿タシタリ。

3 酵母、日本醸造協會清酒酵母第一號(協1)ニシテ之ヲ母氏十度ノ麴「エキス」ニ培養シ五—七日ニシテ濾過滅菌水ニテ洗滌シ泥狀物ヲ直チニ培養液ニ投ズ(二立ノ麴「エキス」ヨリ得ラル、モノヲ乾燥物トシテ、約四・六瓦ノ計算ニ從フ)

4 醱酵 培養液一—二・五立宛ヲ變形瓶ニ採リ、型ノ如ク綿栓ヲ施シ日々四〇分—一時間宛三日間殺菌ス、全量三七・五六立(アラニン一二七・五瓦)之ニ添加セル酵母ハ、二七・六瓦培養温度ハ二四—一九度ナリ。

醱酵ハ酵母接種後翌日ヨリ旺盛ナリ、朝夕一回宛振盪ス一〇—一二日ニシテ全ク醱酵終了シ、醱酵液ハ「フエーリング」氏液ヲ全ク還元セズ、酵母ハ傾瀉ニ依リ分チ、(乾燥物トシテ一〇瓦)醱酵液ハ蒸溜ニ附シタリ、醱酵液ハ常ニ一種ノ芳香ヲ示シタリ然レドモ斯ノ如キ香ハ「グリコロール」ノ場合「アミノ」正酪酸ノ場合ニ於テモ感知シ得タリ。八日目ニ於ケル「アルデヒド」ハ、〇・〇〇—一六四%ニシテ特ニ「アラニン」ヨリ來ルノ證トシテハ餘リニ僅少ナリ。 一二日目ニ於テハ

酵母ニ依ル「ノルマル」型「アミノ」酸ノ分解ニ就テ

酸度 〇・〇九一二%
酒精 四・七%

フリーセル油 〇・〇七%

5 蒸溜 一回約一〇立位宛一斗入兜釜ニテ直火ヲ以テ蒸溜ス、溜液ハ再溜ヲ重ネ、分溜ヲ繰リ返ス事數十回、酒精ヲ濃縮セシメツ、分離シ來ル油分ヲ捕集シ水分ヲ棄却スル等全ク前例ニ從フ、

「アルコール」ノ收量

初溜分	一九五 耗	九五・二%	アルデヒドを含みグアニリン硫酸反應者
第二溜分	一五四〇	九五・二	フリーセル油を含まず
第三溜分	一六・五	九〇・〇	フリーセル油 一・六五瓦
外に油分	六・一瓦		

7 油分ノ分溜

油分ハ三〇瓦容小蒸溜瓶ニ移シパラフィン溶上ニテ注意シテ蒸溜ス、初メ八區分ニ分チ更ニ一二四度迄ノ區分ヲ再溜ス、二回目ニ得タル各區分ノ收量ハ次ノ如シ。

區分	沸點	浴温	收量
a ₁	八五—一〇六度	一一五—一二八度	〇・五瓦
a ₂	一〇六—一一〇	一二八—一三〇	一・七
a ₃	一一〇—一一三	一二八—一三〇	〇・六
a ₄	一一三—一二〇	一三一	〇・三
a ₅	一二〇—一二九	一三一—一四三	〇・八
a ₆	一二九—一三〇	一四三	〇・九
a ₇	残渣	一四三	〇・五

前一分離シ得ザリシ一・六五瓦ヲ「アチルアルコール」トシテ加フレバ大體ノ區分ハ、

アチルアルコール 四・七五瓦
アミルアルコール 二・二瓦

8 「アルコール」分ノ吟味

イ、三・五「デニトロ」安息香酸「エステル」

a₂ 約〇・二瓦ヲ以テ常法ノ如クシテ製シタル「エステル」ハ融點八五・五—八六度、之ヲ甘藷諸味「フリーゼ」油ノ沸點一〇七—八度ノ區分ヨリ製シタルモノ（融點八七度）ト混融スルニ八六・五度ニテ熔融シ降下ヲ認メズ。

分析結果

物質 〇・〇五一二瓦 窒素 四・五五耗（一五度七六一耗） 窒素實驗數 一〇・四七% 計算數 一〇・四五% (C₁₁H₁₂O₂N₂)

「イツブチルアルコール」ノモノニ一致ス。

a₅ ヨリ製シタルモノハ、融點 六二度 分析結果左ノ如シ

物質 〇・〇五八二瓦 窒素 四・九耗（一五度七六二・五耗） 窒素實驗數 九・九二% 計算數 九・九三% (C₁₂H₁₄O₂N₂)

「アミルアルコール」ノモノニ一致ス

ロ、「フェニルウレタン」

a₂ ヨリ製シタルモノハ八二・五—三度、文獻ノ「イツブチルアルコール」ノモノノ八〇度ヨリ稍々高値ナリ。分析結果次ノ如シ。

物質 〇・〇七九八瓦 窒素 四・九耗（一三度、七六五・五耗） 窒素 實驗數 七・三三% 計算數 七・一五% (C₁₁H₁₂O₂N₂)

酵母ニ依ル「ノルマル」型「アミノ」酸ノ分解ニ就テ

略々「イソブチルアルコール」モノニ一致ス。
斯クシテ生成セル「フリーセル」油ノ主要部ハ「イソブチルアルコール」ナリ。

9 蒸溜殘渣

蒸溜殘渣ハ扇風器ヲ用キテ湯煎上ニ蒸發濃縮シ約一立許トナシ濾過シ硫化水素ヲ通ジテ銅ヲ除去ス、濾液ハ湯煎上ニ暖メツ、濾シ殘リノ硫化銅ヲ集合セシメテ濾過シ、更ニ濃縮スレバ舍利別ハ冷後固結ス、結晶ハ一旦濾過シ、水ニ溶解シ濃厚「アムモニア」ヲ加ヘテ生ズル燐酸化合物ハ濾別シ、濾液ハ脫色濃縮少量トナシ、九〇%酒精ヲ注加スレバ直チニ結晶析出ス、收量四五・六瓦、二〇%鹽酸溶液ニ於テ旋光度ヲ測定セルニ、

$$r = -0.83^\circ \quad l = 2.24m. \quad C = 6.29 \%$$

$$\therefore [\alpha]_D^{20} = 6.00$$

「エーリヒ」氏ノ得タルモノハ鹽酸鹽ノ溶液ニテ $[\alpha]_D^{20} = -0.83^\circ$ ヲ示シタリ故ニ分解ハ十分トハ云ヒ難シ

四、「ラセミ」性「アラニン」ト麥酒酵母、

1 「ラセミ」性「アラニン」 二ノモノニ同ジ。

2 培養液

- 甘蔗糖(白ザラメ) 一〇〇瓦
- 「ラセミ」性「アラニン」 四瓦
- 井水(一回殺菌ス) 一〇〇〇瓦

3 酵母 其麥酒會社ノ惠與セラレシ新鮮泥狀物一〇立ニシテ濾過、滅菌水ニテ洗滌ス、全五五七五瓦

4 醱酵 大形硝子圓筒(一〇立容及ビ二〇立容)ニ、六立—一五立ノ培養液ヲ入レ之ニ、前記泥狀酵母ヲ分割接種ス。

全液、五〇立、(砂糖五瓦「アラニン」二〇〇瓦)
無菌狀況ノ醱酵ハ望ミ難キヲ以テ初メノ仕込溫度ヲ一四度トナシ可及的低溫經過ヲ取ラシメ日々三回激シク攪入攪拌ス、酵母投入後暫時ニシテ醱酵開始シ、泡立及ビ瓦斯發生強烈ナリ、三日目既ニ甘味ノ存在僅微ニシテ、五日目ニ於テハ最早醱酵液ハフエーリング氏液ヲ還元セズ品温ハ順次下降シ八—九度ヲ示シタリ酵母ハ傾瀉後蒸溜ニ附シタリ、酵母收量 乾燥物、一〇五〇瓦六日目ニ於ケル生産物ハ次ノ如シ

酒精	四・八五%
フリーセル油	〇・〇〇七%
總酸	〇・〇四一三%

此ノ結果ニ見ルニ「フリーセル」油生産極メテ僅少ニシテ殆ンド窒素物無添加ノモノニ近似ス、之第一報ニ於テ述べタルガ如ク餘リニ多量ノ酵母ヲ用ヒタルノ結果ト考ヘラル、即チ徒ニ砂糖ノ消費ノミ多ク「アミノ」酸ハ其儘殘存セルモノナラント想像セラル。

5 蒸溜

第一回ハ一斗容兜釜ニ依リ後ニハ五球ヲ有スル分溜管ヲ附シ、蒸溜ヲ繰リ返ス事數十回酒精ヲ濃縮セシメツ、分離シ來ル油分ヲ集メタリ。

6 「アルコール」分ノ收量

初溜分	一一〇瓦	酒精	九四・六%	ウアニリン硫酸反應青	一一一
酵母ニ依ル「ノルマル」型「アミノ」酸ノ分解ニ就テ					

第二溜分	八七〇	九二・六	フーゼル油ヲ含マス
第三溜分	一七五〇	九三・六	同右
第四溜分	四四	七五・〇	フーゼル油〇・七瓦
外に油分		一・八瓦	

7 油分ノ分溜

油分ハ三〇珎容小枝付蒸溜瓶ニ移シ、バラフィン溶上ニテ注意シテ分溜ス

區分	沸點	收量
BA ₁	一〇〇—一二〇度	〇・一五瓦
BA ₂	一二〇—一二八	〇・三
BA ₃	一二八—一三〇	一・〇瓦
BA ₄	殘流	〇・三
全		一・七五

斯ノ如クシテ全ク「ブチルアルコール」區分ヲ得ラズ「アミル」區分ノミナリ、恐ラク酵母ノ繁殖無ク「アミノ」酸ノ分解殆ンド行ハレザリシモノト考ヘラル、其ノ麥酒酵母ナリシガ故トハ考ヘラレザルナリ。

8 「アミノ」酸ノ回收

蒸溜殘渣ハ湯煎上扇風器ヲ用ヒテ、蒸發小容トナシ銅ハ硫化水素ニテ去リ更ニ濃縮シ、一四九瓦ノ多量ヲ回收スル事ヲ得タリ。即チ、ナホ舍利別ヨリ分離シ難キモノモアルヲ以テ其ノ分解ハ極メテ僅少ナリシ事想像セラル。

五 「ラセミ」性「アラニン」ト酒精酵母、

1 「ラセミ」性「アラニン」ノ資料 前掲同物

2 培養液

甘蔗糖 (白ザラメ)	一〇〇瓦
「ラセミ」性「アラニン」	三・四瓦
ハイダツク氏礦物液	二〇珎
井水ヲ加ヘテ一立ニ滿タス。	

3 酵母 臺灣總督府中央研究所酒精酵母三九六號

4 醱酵 培養液二・五立宛ヲ變形瓶ニ採リ綿栓ヲ施シ日々一時間宛三日間殺菌ス、別ニ一〇〇珎及ビ一立ノモノ各二本宛ヲ用意シ、酵母ハ最初ニ一〇〇珎ノモノニ一白金耳ヲ接種、徐々ニ繁殖セシメタルモノヲ一立ノモノニ移シ、更ニ二・五立ノモノニ分割注入シ斯クシテ麥酒酵母ノ場合ト全ク方法ヲ換ヘ酵母ヲシテ極メテ徐々ニ繁殖醱酵ヲ行ハシム。

蓋シ、第一報ニ於ケル豫備試驗ト麥酒酵母ニ於ケル例ニ見テ斯ノ如ク醱酵ヲ緩徐ニ行ハシムレバ「フーゼル油」ノ生産著量ナルノ豫想ヲ得タルヲ以テナリ。

全液量 三二・二立 (蔗糖三・二二珎「アラニン」一〇九・四八瓦)

培養溫度ハ、二六—二八度ニシテ朝夕二回宛振盪ス、一〇—一二日目ニテ全ク醱酵終了シ(加ヘタル糖分ノ半量強ノ減量アリ)醱酵液ハフエーリング氏液ヲ還元セズ、醱酵液ハ常ニ一種ノ芳香ヲ呈シタリ、酵母ハ傾瀉並ビニ濾過シテ分チ(泥狀物トシテ一七七瓦乾燥後五五瓦)醱酵液ハ蒸溜ニ附シタリ。生産物ハ次ノ如シ。

酒 糖	四・五%
フーゼル油	〇・一%
酵母ニ依ル「ノルマル」型「アミノ」酸ノ分解ニ就テ	

アルデヒド 〇・〇四五三%
總酸 〇・一〇六二%

果シテ「フーゼル」油生成量多シ（「ヴァニリン」硫酸法ニ依リ定量セルモノガ實際ニ分離セシモノヨリ常ニ多キニ過グルハ分離ノ不完全トイフヨリハ寧ロ呈色反應ニ於テ現ハル、青色ガ赤色ヲ覆ヒテ紫色ヲ呈セシメ過大ナラシムル爲ト考ヘラル）「アルデヒド」量ハ特ニ「アラニン」ヲ用ヒタルガ爲ニ生成セルガ如キ意義ヲ示ス程多量ナラズ。

5 蒸溜 前例ニ倣フ

6 「アルコール」分ノ收量

初溜分	二三〇瓦	九四・一%	ヴァニリン硫酸反應青色
第二溜分	一二八〇	九四・八%	フーゼル油ヲ含マズ
第三溜分	六七	八七%	フーゼル油 五・九瓦

外ニ油分、沸點一〇〇度以上） 九・八瓦

7 油分ノ分溜

油分ハ、三〇瓦容小蒸溜瓶ヲ用ヒバライソル浴上ニテ注意シテ分溜シ、沸點一〇〇—一二〇度ノ區分ハ更ニ再溜ス。各區分ノ收量ハ次ノ如シ。

區分	沸點	浴温	收量
AA ₁	一〇〇—一〇六度	一一八度	一・四瓦
AA ₂	一〇六—一一二	一一八—一二二	二・三
AA ₃	一一〇八—一一九	一一八—一二二	二・三
AA ₄	一二二—一二六	一二二—一二五	一・一

總收量 七・一瓦

若シ前ノ第三溜分中ノ「フーゼル」油ヲ「フチルアルコール」區分ニ混ズレバ、

區分	沸點	浴温	收量
AA ₁	一〇〇—一〇六度	一一八度	一・四瓦
AA ₂	一〇六—一一二	一一八—一二二	二・三
AA ₃	一一〇八—一一九	一一八—一二二	二・三
AA ₄	一二二—一二六	一二二—一二五	一・一
AA ₅	一一六—一二二	一一三—一一五	〇・七
AA ₆	一二二—一二八	一一三—一一四〇	〇・八
AA ₇	一二八—一三〇	一四〇—一四六	一・〇
殘渣			〇・二

總收量 二・七瓦

フチルアルコール 一三・〇瓦
アミルアルコール 二・七瓦
トナルナリ

8 「アルコール」分ノ吟味

イ、三・五「チニトロ」安息香酸「エステル」

AA₂ 約〇・二瓦ヨリ製シタルモノハ融點八五度 分析結果ハ左ノ如シ

物質 〇・〇七五三瓦 窒素 六・八五瓦（一九度七六一・二耗） 窒素實驗數 一〇・五一% 計算數 一〇・四五% (C₁₁H₁₂N₂)
即チ「イソブチルアルコール」ノモノニ一致ス

AA₆ ヨリ製シタルモノハ融點六一度、分析結果ハ次ノ如シ

物質 〇・〇五二五瓦 窒素 四・五五瓦（二二度七五六耗） 窒素實驗數 九・七九% 計算數 九・九三% (C₁₁H₁₆N₂)
略々「イソアミルアルコール」ノモノト考ヘラル。

ロ「フェニルウレタン」

AA₅ ヨオ製シタルモノハ融點八三度、分析結果ハ左ノ如シ、

物質 〇・〇八五四瓦 窒素 五・四瓦（一八度七五八耗） 窒素實驗數 七・三一% 計算數 七・二五% (C₁₁H₁₆O₂N₂)
酵母ニ依ル「ノルマル」型「アミノ」酸ノ分解ニ就テ

「イソブチルアルコール」ノモノニ一致ス

「イソブチルアルコールフェニルウレタン」ノ融點ニ就テ

「イソブチルアルコールフェニルウレタン」ノ融點ハ通常文獻ニ於テ八〇度ト記サレタリ、然ルニ余輩ノ場合ニ於テ此ノ區分ニ相當スルモノ（沸點一〇七—一〇八度）ヨリ製シタルモノハ、

有旋性「アラニン」ト 協1ノ場合

八〇度

「ラセミ」性「アラニン」ト協1ノ場合

八二・五—八三度

「ラセミ」性「アラニン」ト塞研三九六號ノ場合

八三度 ニシテ

最高値ハ八三度ナリ。

今通常ノ「フーゼル」油ニ來ルト考ヘラル、成分ニ於ケル「フェニルウレタン」ノ融點ハ、

酒 精

五二度

正「プロピルアルコール」

六七度

活性アミルアルコール

三〇度

イソアミルアルコール

五五度

トアリ、此ノ中本溜分ニ最モ影響アルモノ換言セバ痕跡混在ノ疑アルモノトシテハ酒精並ビニ「イソアミルアルコール」ヲ擧ゲザルヲ得ズ而モ二者共ニ其ノ「ウレタン」ノ融點「イソブチルアルコール」ノモノヨリ遙ニ低位ナルヲ以テ之等ノ混在アラバ混合融點ノ理ヨリスルモ八〇度ヨリモ一層低値ヲ示スベキナリ、斯ノ如キ理由ヨリシテ「イソブチルアルコールフェニルウレタン」ノ融點ハ寧ロ八三度ヲ可トセンカ、

9 油分ノ旋光度

「ブチルアルコール」區分、一〇〇—一二度迄(AA₁トAA₂)ニ於ケル、旋光度ヲ酒精溶液トシテ測定セルニ

$[\alpha]_{D}^{20} = -0.31^{\circ} \quad l = 2.24m, \quad C = 18.89\%$

殆ンド皆無ニ近シ

「アミルアルコール」沸點 一一六—一二〇度(AA₅—AA₇)ノ區分ニテ

$[\alpha]_{D}^{20} = -2.29^{\circ} \quad r = -0.61^{\circ} \quad l = 2.24m, \quad C = 12.109\%$

10 蒸溜殘渣

蒸溜殘渣ハ扇風器ヲ使用シ湯煎上ニテ小容ニ煮詰メ、銅ハ硫化水素ヲ通ジテ除キ更ニ濃縮シ舍利別狀ト爲シ九八%酒精ヲ加フルニ多量ノ結晶性沈澱ヲ生ズ。沈澱ハ一旦冷水ニ溶解シ濃厚「アムモニア」ヲ加ヘ生ズル糊狀沈澱ハ濾別シ、濾液ハ脱色後濃縮シ、酒精ヲ加ヘ冷所ニ放置ス、生成セル結晶ハ主トシテ左旋性「アラニン」ナリ、回收量 四五・五瓦、其ノ旋光度ハ二〇%鹽酸溶液ニ於テ次ノ如シ。

$[\alpha]_{D}^{20} = -6.43^{\circ} \quad r = -0.92^{\circ} \quad l = 2.24m, \quad C = 6.5\%$

摘 要

- 一、糖液ニ右旋性「アラニン」ヲ加ヘ清酒酵母(協1)ニテ醱酵セシメテ得ラルル「フーゼル」油分ハ「イソブチルアルコール」ヲ主成分トシ僅少ノ「アミルアルコール」ヲ混ズ。
- 二、糖液ノミヲ清酒酵母ニテ醱酵セシムル時ハ「フーゼル」油生成微量ニシテ其ノ組成ハ「アミルアルコール」ノミナリ。
- 三、糖液ニ「ラセミ」性「アラニン」ヲ加ヘ清酒酵母(協1)ニテ醱酵セシムル時ノ結果モ一ト同ジ、但シ、蒸溜殘渣ヨリ左旋性「アラニン」ヲ回收シ得ラル、事エーリヒ氏ノ結果ト同様ナリ。
- 四、糖液ニ「ラセミ」性「アラニン」ヲ加ヘ多量ノ麥酒酵母ヲ添加シテ急速ニ醱酵ヲ行ハシメタル「アラニン」ノ

酵母ニ依ル「ノルマル」型「アミノ」酸ノ分解ニ就テ

分解頗ル悪シク「フーゼル」油生産モ少ク其組成ハ「アミルアルコール」ヨリ成リ「イソブチルアルコール」ヲ全ク含有セザリキ

五、糖液ニ「ラセミ」性「アラニン」ヲ加へ、臺灣總督府中央研究所酒精酵母(三九六)ヲ一白金耳ヨリ培養徐々ニ醱酵セシメタルニ「フーゼル」ノ生成最モ良ク且ツ其ノ組成ハ大部分「イソブチルアルコール」ヨリ成ル事ヲ證シ得タリ、即チ酵母ハ増殖ニ際シ「アミノ」酸ヲ分解シテ其ノ窒素ヲ利用シ、「フーゼル」油分ヲ殘スノエーリヒノ説ヲ裏書セルガ如シ。

六、糖液ニ「アラニン」ヲ加へテ醱酵セシムルモ特ニ「アルデヒド」ノ生産大ナルノ證ヲ得ラレズ
七、「イソブチルアルコール」フエニルウレタン」ノ融點トシテ、八三度ノ數値ヲ得タリ、從來ノ文獻ニアルモノニ比シ三度高値ナリ。

八、糖液ニ「アラニン」ヲ加へテ醱酵ニヨリ醱酵セシムル場合ニ感知セラル、ラ芳香ハ他ノ「アミノ」ノ或者ヲ以テセル場合ニモ全ク同様ナル事ヲ知レリ。

擧筆スルニ當リ、生前調製シ置カレシ右旋性「アラニン」ヲ斯ノ如キ目的ニ使用セシ事ヲ故松浦信次氏ニ報告シ、「ラセミ」性「アラニン」調製ニ盡力セラレシ乳井正一郎氏貴重ナル藥劑ヲ惠與セラレシ坂口謹一郎氏並ビニ資料ヲ提供下サレシ、某麥酒會社ノ御厚意ニ對シ併セテ深厚ナル謝意ヲ表ス。

引用文獻

- (1) F. Ehrlich: Biochem. Zs. 1, 8, 1906
- (2) O. S. Ashdown and G. T. Hewitt. J. Chem. Soc. London. 97, 1635-48, 1910
- (3) H. Shude: Biochem. Zs. 7, 299-323(1908)

- (4) 山田正一: 醸試報, 100, 53-81; 100, 95-105, 昭和 3

第三報 「アルファアミノ」正酪酸

(酒精酸酵副生産物ノ研究第五報)

アブダーハルデン、チャング、ウアーム三氏ハ天然ニ存在スベキ、「アルファアミノ」酪酸ノ光學的性質ヲ決定センガ爲メ「ラセミ」性「アルファアミノ」酪酸一〇瓦ヲ二・五%糖液ニ立ニ溶解シ酵母一五〇瓦ヲ加へ、醱酵分解セシメテ左旋體ヲ得、他ノ「アミノ」酸ノ結果ヨリ類推シテ右旋體ガ天體物ナラントシタリ、但シ此ノ場合「ラセミ」體ノ分割ハ完全ナラザル事ヲ示シタリ (E. Abderhalden, H. M. Chang u. E. Wurm. Zs. Physiol. Chem. 72, 24-36. 1911) 其後本「アミノ」酸ニ對スル酵母ノ作用ヲ檢シタルモノ無ク從テ醱酵ニ依リ生成スベキ揮發性物質ニ關シテ吟味セルモノアルヲ見ズ。

今天然ニ存在スル「アルファアミノ」酪酸ハ「ノルマル」型ナリトセバ之ヲエーリヒ氏ノ「アミノ」酸ノアルコール「醱酵形式ニ倣ヒテ生成スベキモノハ正ニ正」プロピルアルコール「ナルベキナリ、然レドモ第二報ニ於テ述ベタルガ如ク「アラニン」ノ場合生成セシハ「イソブチルアルコール」ナルヨリ見レバ未ダ俄ニ推量ヲノミ逞シウスルヲ許サルナリ。

一方ニ於テ第一報ニ於ケル豫備試験ニ見テ本「アミノ」酸ヲ糖液ニ混ジ、酵母ニヨリ醱酵セシムル場合、何等カ高級「アルコール」様物質ノ生成セラル、事明カナリ。即チ比較的大規模ノ試験ヲ行ヒタル所以ニシテ生

酵母ニ依ル「ノルマル」型「アミノ」酸ノ分解ニ就テ

産物ノ決定ト共ニ「ノルマル」型「アミノ」酸醱酵ニ於ケル通則モ存在スルモノナリヤヲ明カニセント欲シタリ
 「アスバラギン」ニ「代フル」ニ「ラセミ」性「アルファアミノ」正酪酸ヲ以テセル變形ハイダツク氏液「一三・二立
 ニ日本醸造協會清酒酵母第五號泥狀物ヲ接種、醱酵セシメ生成セル「アルコール」區分ヨリ分離セル「フー
 ゼル」油分ヲ吟味セルニ、主要部ハ「二二・一八・五度間」ニテ溜出ス、三・五「チニトロ」安息香酸「エスタ
 ー」ハ融點八〇―八一・五度、「フェニルウレタン」ノ融點ハ三二・五度ニシテ活性「アミルアルコール」ノ三〇
 度ニ極メテ近似ス、而シテ分析結果ハ正ニ「アミルアルコール」同族體ナル事ヲ示シタリ、試ミニ比旋光度ヲ
 測定セルニ左旋五・五五度ニシテ之亦、活性「アミルアルコール」ノ左旋五・九〇度ニ略々一致スルナリ。
 蒸溜残渣ヨリ回收セル「アミノ」酸ノ比旋光度ハ、二〇%鹽酸液ニテ、僅カニ左旋一・一四度ニシテ「アミ
 ノ」酸分解ノ完全ナラザルカ又ハ必ずシモ右旋體ノミガ分解セラル、ニ非ザルカラ暗示セルガ如シ。
 スクシテ、「アミノ」酪酸ヨリ來ルモノガ、活性「アミルアルコール」ナリトセバ「アラニン」ノ場合ニ於
 ケルガ如ク「アミノ」酸ヨリ炭素一原子大ナル「アルコール」ヲ得タル理ニシテ勿論エリーヒ氏ノ形式ハ當テ儀
 ムベクモ無キモ果シテ如何ナル機作ニヨリ來ルカ未明カナラズ。

實 驗

1 「アミノ」酸ノ資料

「ラセミ」性「アルファアミノ」正酪酸ハメルク製、正「プロピルアルコール」ヨリ出發シテ合成ス、融點二
 八二度、窒素含量一三・四五%(理論數一三・五九%)

2 培養液

甘 蔗 糖(白ザラメ) 一〇〇g

ラセミ性アミノ正酪酸 三g
 ハイダツク氏礦物液 二〇g
 之ニ井水ヲ加ヘ一立ニ滿タス

3 酵母 日本醸造協會清酒酵母第五號(協₅)ニシテ之ヲ母氏十度ノ麴エキスニ培養シ、一週日ニシテ濾過
 滅菌水ニテ洗滌ス(無菌狀況ニテ處理ス)二立ヨリ得ラル、酵母ハ乾燥物トシテ四・六瓦ノ計算ニ從フ

4 醱酵

培養液二立宛ヲ變形瓶ニ採リ型ノ如ク一時間宛三日間殺菌ス、全量一三・二立ニ麴エキス一〇立分ヨリ得
 タル泥狀酵母(乾燥物トシテ二三瓦)ヲ分割播種ス、培養溫度二五―二九度

醱酵ハ酵母接種ノ翌日ヨリ旺盛ニシテ「アラニン」ノ場合ノ如ク一種ノ芳香ヲ發散ス、朝夕二回振盪ス、
 一一日目ニテ醱酵全ク終了シ醱酵液ハフエーリング氏液ヲ全ク還元セズ。

醱酵生産物ハ左ノ如シ。

酒 精 四・四%
 フーゼル油 〇・〇七%
 總 酸 〇・一四一六%

5 蒸溜

酵母ハ傾瀉ニテ除キ醱酵液ハ約一斗容兜釜ニテ直火ヲ用ヒ蒸溜ス、溜液ハ再溜ヲ繰リ返シ、酒精分ヲ濃縮
 シ後ニハ五球ヲ有スル分溜管ヲ附シ「ヴァニリン」硫酸反應ヲ目標トシテ數十回蒸溜ヲ行ヒ油分ハ分チ、水分ハ
 棄却セリ。

6 「アルコール」分ノ收量

酵母ニ依ル「ノルマル」型「アミノ」酸ノ分解ニ就テ

初溜分	一六〇耗	九四・七%	ザアニリン硫酸反應膏
第二溜分	四七二	九二・五%	フーセル油を含まず
第三溜分	二四	九〇・〇%	フーセル油〇・七六八瓦沸點九七度附近ノモノハ得ラレズ
外に油分(沸點一〇〇度以上)	七・三瓦		

7 油分ノ分溜

油分ハ三〇耗容小蒸溜瓶ニ採リ「バラフィン」浴上ニテ注意シ、蒸溜ス、初メ七區分ニ分チ、其ノ中沸點一三乃至一九度迄ノモノヲ併セ再溜ス各區分ノ收量ハ次ノ如シ。

區分	沸點	浴温	收量
AB ₁	一〇〇—一〇七度	一四〇—一四七度	〇・二瓦
AB ₂	一〇七—一一六	一四七	〇・三
AB ₃	一一六—一二三	一四七—一五三	〇・一
AB ₄	一二三—一二六	一五三—一五四	一・七
AB ₅	一二六—一二七・五	一五四—一五五	一・七
AB ₆	一二七・五—一二八・五	一五五—一七〇	二・〇
AB ₇	殘渣		〇・五
全			六・五

即チ主要部ハ一二三—一二八・五度ノ間ニ溜出ス

8 「アルコール」分ノ吟味

イ、三、五「ヂニトロ」安息香酸「エステル」
AB₄ヨリ製シタルモノハ融點八〇度、又AB₅ヨリ製シタルモノハ八一・五度ニシテ分析結果ハ左ノ如シ

AB ₄ 物質	〇・〇五六四瓦	窒素四・七耗(一五度七六八・三耗)	窒素實驗數	九・八九%
AB ₅	〇・〇六六六	五・七(一五度七六〇・五耗)	同	一〇・〇五%

計算數 九・九三% (C₁₂H₁₀O₆N₂)

即チ「アミルアルコール」同族體ニシテ恐ラクAB₄AB₅ハ同物ナラン

ロ、「フェニルウレタン」

BA〇、二瓦ニ「フェニルイソチアナート」數滴ヲ加フレバ發熱シテ化合シ、暫時ニシテ固結ス、「ベンゾール」ニテ處理シ不溶ノ「ヂフェニル」尿素ヲ濾別シタル殘液ハ湯煎上ニテ温メ「ベンゾール」ヲ驅出スレバ冷後針狀ニ結晶ス、融點三二・五度「メチルエチルカルビンカルビノール」(活性「アミルアルコール」)ノモノ、三〇度ニ酷似ス。分析結果ハ次ノ如シ

物質 〇・〇七一五瓦 窒素 四・二耗(一五度七六四耗) 窒素實驗數 六・九三% 計算數 六・七六%(C₁₂H₁₇O₆N₂)
「アミルアルコール」ノモノナリ。

9 旋光性

試ミニAB₄AB₅ヲ混ジ旋光度ヲ測定セルニ

$[\alpha]_D^{20} = -5.55^\circ$ $r = -3.62^\circ$ $l = 2.2dm$ $C = 29.64\%$

ニシテ活性「アミルアルコール」ノ

$[\alpha]_D^{20} = -5.90^\circ$ ニ極メテ近似ス。

10 蒸溜殘液

蒸溜殘液ハ扇風器ヲ用ヒテ湯煎上約一立迄濃縮シ銅ハ硫化水素ニテ去リ濾液ヲ更ニ煮詰メテ九五%酒精ヲ

酵母ニ依ル「ノルマル」型「アミノ」酸ノ分解ニ就テ

加フルニ、冷後多量ノ結晶ヲ生ズ、之ヲ濾過シ冷水ニ溶解シ濃厚「アムモニア」水ヲ加フレバ、磷酸鹽ノ糊狀沈澱ヲ生ズルヲ以テ濾別シ、濾液ハ更ニ濃縮、舍利別トナシ酒精ヲ加ヘ放置スレバ「アミノ」酸ハ析出ス、收量 七・六瓦

其ノ旋光度ヲ二〇%鹽酸溶液トシテ測定セルニ、

$$[\alpha]_D^{20} = -1.14^\circ \quad \rho = -0.16^\circ \quad l = 2.24\text{m} \quad C = 6.37\%$$

摘要

- 一、ハイダツク氏液ノ「アスバラギン」ニ代フルニ「ラセミ」性「アルファアミノ」正酪酸ヲ以テシ、清酒酵母協ニ依リ醱酵セシメタルニ、沸點一二三—一二八度ノ一高級「アルコール」ヲ得タリ、其ノ性質略々「メチルエチルカルビンカルビノール」ニ一致ス
- 二、本「アミノ」酸ノ醇光學的分割ハ著シカラザルガ如シ。
- 三、本「アミノ」酸ノ醱酵ニ際シ正「プロピルアルコール」ノ生成ヲ認めラレズ。

昭和六年七月二十五日印刷
昭和六年七月三十日發行

發著作者兼 釀造試驗所

東京府北豐島郡瀧野川町

印刷者 渡邊一郎

東京市小石川區西古川町二十五番地

印刷所 中外印刷株式會社

東京市小石川區西古川町二十五番地

終

