

## 報 文

## 清酒紅醗(猩々醗)に関する研究 (第1報)

一紅醗より分離した桿状細菌の菌學的性質に就て\*

長西廣輔・能美良作・川上 襄・島 英三・羽村健一 (廣島大學工學部醸酵工學教室)

## 緒 言

本邦に於ける清酒醸造技術は醸酵學の進歩と共に、その理論應用共に目ざましい進展を示したけれども、いまだ解明せられざる幾多の謎の存することも衆知の事實である。中でも生醗系山卸廢止醗に時折出現する異常醗である紅醗(猩々醗)に就ては、いまだ殆んど解明せられず、一度紅醗の生成するや關係者はすべて爲す所を知らず、徒らに拱手傍觀の止むなき状態にある。そこで實地酒造家の間での紅醗に對する考え方は如何と云えば、地方によつては甚だしく紅醗の出現を嫌惡する反面、他の地方ではこれにより健全なる醗の生成するものとして却つて喜び、且つ何等かの吉兆として祝事を催すことすらあると云う。かく定説なき紅醗という異常醗が果して如何なる現象なのであるか、即ち俗に紅醗と稱せられて居るものが常に一定の状貌を以て現れるものであるか、又は時により所により種々異つた状貌を呈するものであるのか、更に又一度現れた色調は最後迄同一色調を保持するものであるか、はたまた漸次變色することもあり得るのか等、種々不明の點が存在するが、これは紅醗現象に關する集計發表の無いこと、従つて紅醗に對する一定の定義が無いことが問題を複雑にする原因である。筆者等は酒造技術の發展の爲に是非この方面の實際資料の蒐集に努め完全な解決を計りたいと考えるが、何分意にまかせないことが多く充分な知識を得ることが出来ない。か然し現在迄に集め得た資料によれば、俗に紅醗と云われる現象は暖氣樽4~5本目迄位にその初兆が認められ、その後長短の差はあるが一定期間の間漸次呈色濃度を増加するもの、様である。且つその色調は薔薇色、桃色、櫻色等のものより帶紫赤色、赤褐色、更に薄黄色乃至澁色に至るものも俗に紅醗と稱せられて居る如くであり、又色調も時間と共に少しづつ變色するものがある。又臭氣も無いとするものより異臭を訴えるものまでである。

ひるがえつて従來紅醗に關する文献として發表されたものとしては二説がある。その一つは黒野氏<sup>1)</sup>の酪酸菌の一種によるとする説であるが氏は醗より赤色色素を生産する細菌を分離され、その菌學的性質を調査して紅醗の成因菌となり得ると推論された。然しそれ以上の實驗は行われなかつた様である。他の説は村山氏<sup>2)</sup>の紅色酵母によるとする説であるが氏は該菌を金鷄正宗の紅醗より分離され、その菌學的性質を調査し紅醗成因菌なりとして更にそれにより紅醗の生成する際の意義に就て推論されて居るが、實際に該菌を用いて紅醗生成機作の研究解明は行われなかつた様である。更に江田氏の著書<sup>3)</sup>による時もその成因はトルラ屬赤色酵母によるものにして古來紅醗を醗に使用して危険なしとされて居ると述べられて居る。同様に山田氏<sup>4)</sup>の著書による時は、生醗系酒母の打瀬の頃から橙色又は薄桃色となり、成因菌はトルラ酵母にして稍々不快な微臭を示すが使用して一向差支無いと述べられて居る。筆者等は後報に於て觸れる如く廣島縣西條町の一酒造場の醗より紅色酵母を分離して山廢醗に接種して見た所、その條件によつては迅速によく發育して鮮かな紅色を呈するに至つたので、紅醗の一成因菌として紅色酵母を擧げることの妥當性を信ずるに至つた。然し乍ら俗に紅醗と稱せられる現象が上記の如く廣範圍のものであるとするならば、紅色酵母による呈色のみを以てしては聊か理解に苦しむ點もあり、他に成因菌のあることも容易に想像される所である。のみならず紅醗中にも醗に使用して思わしからざる結果を招來した實例もあり、且つその經過表より醗に使用することの安全性を疑わしむる場合もあつて、筆者等は必ずしも従來の考え方を全面的に肯定する譯には行かないものという結論に到達した。

たまたま筆者等は昭和26年1月廣島縣醸造試験場より廣島市内の一酒造場に於て發生した紅醗の送附を受け、直ちに鏡檢した所桿状の細菌が酵母細胞と共に發育して居ることを認めたので、Czapek-Dox+0.2% Peptone

\* 本報の要旨は昭和26年10月大阪醸造學會第2回學術講演會に於て筆者等の1人長西が“紅醗生成の1細菌に就て”と題して發表した。

寒天培地を用いて平板培養法により細菌の分離を試みた所、汚赤褐色細菌聚落(最濃部に於ては mineral red; Ridgway colorstandardによる)が可成の數發生し、聚落周囲の寒天が淡褐鮮紅色に染色することを認めた。しかも分離試験の結果よりこの細菌は可成り多數該紅醗中に存在する如く考えられ、且つこの紅醗で仕込まれた麴並びにそれから得られた粕からも同一の桿狀細菌を容易に分離し得た。依つて筆者等は該細菌を紅醗の一成因菌と考へ得るに至つたので再三純粹分離を繰返えし得た純粹株を用いて種々實驗を行つた結果、細菌による紅醗の生成もその可能性の大なることを知り得たのみならず、紅色酵母によつては説明不可能な現象もよく理解し得るに至つたものである。又本細菌は種々實驗の結果後記の如く黒野氏の發表された酪酸菌とは明かに異なるので、こゝに實驗結果を報告して諸家の御批判を仰ぐと共に紅醗に関する資料の御教示を御願ひいたす次第である。本報に於ては主に菌學的性質に就て報告する。

## 實 験

### I 菌株の分離

培地として Czapek-Dox+0.2% Peptone 寒天培地(C源としては市販蔗糖使用)を用い紅醗を適當に稀釋し平板培養に附した所、聚落は培地表面に現れその大部分が最初白色斑點狀であるが間もなく扁平濕潤にして汚赤褐色となり表面に擴がる。これを再三平板培養を行つて純粹株とした。これを用い酒造用麴に水を加えて殺菌、泥狀となせる培地に接種した所櫻色となり、これに酵母を添加せる所能く發育を見、旺盛な醗酵があつたので紅醗成因菌の可能性を持つものとして種々實驗を行つた。

### II 性 質

#### A) 形態學的性質

桿菌にしてその長さは培養條件によつて可成り變化する。2~3箇の連鎖をなすものもあるも長連鎖は無い。極めて孢子を形成し易く孢子は容易に細胞外に逸出する。細胞中孢子の位置は培養條件によつて異なることあり一定しないが細胞體の一端に偏在する場合が多い。鞭毛を有し周毛である。グラム陽性、莢膜なし。

1) 加糖 Bouillon 寒天斜面, 38°C, 24時間培養—孢子を有する細胞多く孢子は橢圓形滑面1箇にして細胞體の一端に偏在する。孢子形成による細胞形の變化は認められない。細胞 $1.9\sim 3.2\mu \times 0.8\sim 1.3\mu$  孢子 $1.4\sim 1.7\mu \times 0.5\sim 0.8\mu$

2) 加糖 Bouillon 液體, 38°C, 5日培養—濁濁せる液中の細胞の大いさは次の如くであるが、孢子の形成は極めて稀である。細胞 $4.8\sim 8.0\mu \times 0.8\sim 1.3\mu$

3) 無糖 Bouillon 液體, 38°C, 5日培養—皮膜中細胞の長さには種々あり次の如し。尙お孢子多數を有するも大部分は細胞外に出で細胞内のものはその一端に偏在するもの、中央部に存在するもの兩者あり。孢子形成による細胞形の變化は認められない。細胞 $(3.2)\sim 4.8\sim 8.0\sim (15.9)\mu \times 0.8\sim 1.3\mu$  孢子 $1.3\sim 1.6\mu \times 0.6\sim 1.0\mu$

#### B) 培養的性質

本細菌は Bouillon, 麥芽汁, 麴汁, 馬鈴薯, Czapek-Dox (市販蔗糖使用) 等、種々天然並びに合成培地に發育可能である。

#### 1) 液體培養

a) 無糖 Bouillon—培養溫度38°C: 接種の翌日既に液面の大半を蔽ふ白色濕潤薄き脆弱皮膜を形成す。この皮膜は日と共に生長肥厚し破れ易く2~3日にして完成するが、この頃になると僅かの振盪により破綻し液中に沈降する。そのあとには新に皮膜を生成し生長、破綻、沈降を繰返えず。皮膜の生長肥厚せる頃には管壁に沿ひ僅かに攀上り、この部分は後日培養液の蒸發減量した後皮輪として殘存する(帶褐白色)。液は皮膜形成期間中液面下に於て僅かに濁濁するも皮膜形成能が衰えれば(3~4週間後)透明となる。醗酵性なし。管底に生ずべき沈渣菌塊は殆んど生成せず。但し皮膜の自然に沈降せるものは日と共に増加し皮膜形成能を消失する頃には可成り多量の沈降皮膜を推積す。振盪により反古紙の如き觀を呈して舞上る。

培養溫度32°C: 38°Cの場合と類似するも異なる點は38°Cに較べ發育の遲延し、従つて又發育期間も少しく長い。

b) 加糖 Bouillon—培養溫度38°C: 無糖 Bouillon の場合と少しく趣を異にす。即ち接種の翌日は液面に皮輪を生じ尙お細菌島嶼數箇を生ずるも皮膜とは稱し難い。この島嶼は日と共に増加するもその速度は遅く外觀上判然たる皮膜として完成するには5~10日を要する。尙おこの皮膜は無糖 Bouillon の場合に較べその初期に於て殊に薄い。但し日と共に次第に肥厚する。皮膜の管壁に接する部分が皮輪として殘存すること、皮膜が破綻沈

降すること, その性状等は無糖 Bouillon の場合に等しい. 尙お無糖 Bouillon の場合と異なる他の點は接種翌日既に液中可成り濁濁することであり, その濁濁は上部程甚だしく下部に下るに従いその程度を減ずる. 液面下1~1.5cmは特に甚だしく濁濁する. 3~5日にして濁濁最高に達し20~24日にして透明となる. 酸酵性なし.

培養温度32°C: 無糖 Bouillon 培養38°C及び32°Cの關係に略々同じ.

c) 麥芽汁—接種翌日既に液面全體を蔽う薄き白色濕潤皮膜を形成するも極めて脆弱にして僅かの振動にて破綻沈降する. 以後皮膜は形成破綻沈降を繰り返す. 液は接種翌日液面下に於て少しく濁濁しその後次第に濁濁の度を増す. 3~5日にして高度の濁濁度を示すに至り, そのまゝ約2ヶ月間を経るもその濁濁度を減じない. その他の點では上記に等しい.

d) 麴汁(酒造用麴を糖化するもの)—麥芽汁の場合に類似するも液の濁濁度は麥芽汁より遙かに劣る.

## 2) 固體培養

a) 無糖 Bouillon 寒天斜面—培養温度38°C, 24時間: 發育良好, 菌苔は扁平擴散性にして軟質なり. 2部より成る如き外觀を興える. 第1の部分は劃線沿いに斜面の内側大半を占め濕潤にしてむらのある粗面白色不透明にして光澤なし. 第2の部分は第1の部分の周邊に白色にして稍々透明平滑なる部分を生ず. 前者の不透明部分は周囲の稍々透明部分と不規則なる長截裂状出入をなす. 菌苔最外周邊は大略平滑なり. 下部凝縮水部分には皮膜あり底部管壁を少しく攀上る. 4日にして菌苔下部稍々赤色を帯ぶるに至る.

培養温度32°C, 24時間: 發育良好なるも38°Cに劣る. 38°Cと大略同様なる状態を呈す.

b) 加糖 Bouillon 寒天斜面—培養温度38°C, 24時間: 發育旺盛にして無糖 Bouillon 寒天38°Cに優る. 既に24時間にして菌苔中央部は可成り赤色を帯ぶ. その他の特徴に就ては上記に同じなるも更に顯著なり, 4日にして菌苔全體赤色系となる.

培養温度32°C, 24時間: 發育良好なるも加糖 Bouillon 寒天38°Cより劣り無糖 Bouillon 寒天38°Cより優る. 大略上記と同様なる状態を呈するも24時間にては菌苔呈色せず4日にして斜面の一部赤色を現す.

c) 麥芽汁寒天斜面—培養温度38°C, 24時間: 發育旺盛, 菌苔白色濕潤粗面可なり光澤あるも下記麴汁寒天に劣る. 周邊灣状乃至截裂状小出入あり. 菌苔の厚みは扁平なるも Bouillon 寒天の場合より厚し. 菌苔下部僅かに櫻色を呈す. 48時間: 發育極めて旺盛となり菌苔2部より成る如き外觀を呈することは上記に等しきも菌苔最外周邊も灣状乃至截裂状小出入あり. 菌苔稍々櫻色を呈す.

培養温度32°C, 24~48時間: 38°Cの場合と大略同様なる状態を呈するも發育稍々劣る.

d) 麴汁寒天斜面(酒造用麴糖化液寒天斜面)—培養温度38°C, 24時間: 發育良, 但し上記のいずれよりも劣る. 菌苔は白色濕潤にして稍々粗面強き光澤あり. 周邊不規則なる灣状乃至截裂状小出入あり. 菌苔の厚みは扁平なるも上記いずれの場合よりも厚い. 48時間にして僅かに櫻色を帯ぶ.

培養温度32°C, 24時間: 發育は38°Cの場合と大差なきも僅かに劣る. 38°Cの場合と大略同じき状態を呈す.

e) Czapek-Dox 寒天斜面(市販蔗糖使用)—培養温度38°C: 24時間後劃線に沿つて發育良好, 菌苔白色扁平濕潤僅かに光澤あり. 2日後には發育更に良好となり菌體は2部より成る如き外觀を興える. 第1の部分は劃線沿いに發育した内層で淡橙赤色乃至櫻色に着色し, 第2の部分は内層を包んでその外部に發育し白色である. 内層の周邊は多少凹凸あるも略々平滑, 外層の周邊は不規則な灣状出入あり. 更にこの時期には培地寒天中に薄桃色乃至櫻色の色素を溶出する. 3日目(發育最高に達す)以後は菌苔の色は次第に褪せ淡紫褐色となると共に培地中の溶出色素も褪せ赤色味を消失する.

f) 馬鈴薯塊上培養—培養温度38°C: 24時間後發育旺盛, 菌苔扁平平滑濕潤少しく光澤あり. 色調は櫻色乃至淡肉紫色. 2日後發育はますます旺盛となり色調は赤褐色, 3日以後は赤褐色よりチョコレート褐色となる.

g) 膠穿刺培養—培養基として無糖 Bouillon gelatin 及び加糖 Bouillon gelatin 兩者を用い, 室温22~27°Cに培養した所, 強い溶膠性を示した. 即ち兩培養基共接種翌日既に穿刺口附近を漏斗状に液化す. 2日後液化は表面全體に及び表面下は皿状に溶解す. その後は大略表面に平行に溶膠が進行する.

## C) 生理學的性質

1) 硝酸還元性—陽性 (Peptone 1%+Glucose 1%+NaNO<sub>3</sub> 0.5%培地を用い, GRIESS 氏法に依る)

2) アンモニウム鹽の生成—陽性 (同上培地を用い, NESSLER 法に依る)

3) 硫化水素の生成—疑陽性 (Peptone 1%+Glucose 1%+MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5%培地を用い, 醋酸鉛法に

## (264) (長西, 能美, 川上, 島, 羽村) 清酒紅醗(猩々醗)に関する研究(第1報)

よる時不明, モール氏鹽法に依る時僅かに  $H_2S$  の發生を認む)

4) Indol 及び Scatol の生成—陰性(培地として Bouillon, Peptone 1%+Glucose 1%+ $NaNO_3$  0.5% 兩培地を用い, 北里 SALKOWSKI 反應, Vanillin 反應, LÉGAL 氏反應, 蔞酸法等を試みたがいずれも陰性)

5) アセトインの生成—陽性(Peptone 1%+Glucose 1%+ $NaNO_3$  0.1%培地を用い, VOGES-PROSKAUER 氏反應に依る)

6) メチルレッド反應—陰性(Peptone 1%+Glucose 1%培地使用)

7) リトマス乳清反應—陰性(リトマス乳清pH6.8, 38°C培養5日後に至るも色調に何等の變化を認めず)

8) 脱脂乳に對する作用—24時間後無變化, 2日後 soft coagulate, 3日後稍々 peptonizing 作用進み液は上部僅かに透明化する. coagulate せる casein は試験管下部に少しく沈澱す. 4日以後更に peptonizing 作用進み液の透明化は上部より次第に下部に及び日と共に進行する.

9) 麴汁培養による酸生成試験—酒造用醗麴を糖化せる10°B., pH 5.3の麴汁50ccを100cc綿栓フラスコに注入殺菌後細菌接種, 38°Cに培養し4日後滴定を行つた. 滴定は指示薬として Bromthymolblue を用い, 1/10N·NaOH に行つた所, 對照麴汁20ccによつて消費せられた NaOH は0.86ccであるに反し培養液20ccによつて消費せられた NaOH は0.62ccであつた. 即ち酸生成は認められない.

10) 酸に對する抵抗力(發育の限界)—培養基としては麴汁, 無糖 Bouillon, 加糖 Bouillon の三者を用い, これに酸として乳酸を夫々0.05%, 0.1%, 0.2%, 0.4%, 0.6%の割合に添加し夫々の5cc宛を綿栓試験管に分注後常法により殺菌す. 別に殺菌水5ccに菌體二白金耳量を懸濁せるものを作り, これより三卷白金耳にて夫々一耳量宛を採り上記培養液に接種し38°Cにて培養して菌體の増殖を觀察した. 觀察は7日間經續す. 但し Bouillon 培地は兩者共乳酸添加0.1%以上に於て酸添加の爲濁濁沈澱を生ずる爲, 各濃度に於て對照液を設けて比較した. 上記3種培地に各濃度の乳酸を添加したものの pH は第1表の如くである.

第1表 3種培地に添加せる酸濃度と pH との関係

| 培地 \ 乳酸添加量 % | 對照  | 0.05 | 0.1 | 0.2 | 0.4 | 0.6 |
|--------------|-----|------|-----|-----|-----|-----|
| 麴汁           | 5.2 | 4.5  | 4.3 | 4.1 | 3.7 | 3.5 |
| 無糖 Bouillon  | 6.2 | 4.7  | 4.3 | 4.1 | 4.0 | 3.9 |
| 加糖 Bouillon  | 6.0 | 4.7  | 4.4 | 4.2 | 4.0 | 3.9 |

### 結 果

a) 麴汁の場合—乳酸無添加の對照麴汁(pH5.2)に於ては旺盛に發育し24時間後にして可成り濁濁し薄き皮膜を形成し, その後は麴汁液體培養と同様な経過を辿つた. 然るに乳酸を添加せるものはそのすべての濃度に於て全く發育しない.

b) 無糖 Bouillon の場合—乳酸無添加の對照 Bouillon (pH6.2)に於ては既述液體培養と同様な経過を辿つた. 0.05%乳酸添加(pH4.7)のものに於ては接種24時間後液面皮膜の形成が對照に比し少しく劣るも48時間以後には對照と略々同様な経過を辿つた. 0.1%(pH4.3)以上の乳酸添加に於ては全然發育しない.

c) 加糖 Bouillon の場合—無糖 Bouillon の場合と同様である. 0.05%乳酸添加(pH4.7)せるものは大略對照と同様にして, 0.1%(pH4.4)以上添加せるものは全然發育しない.

以上を要約するに麴汁の場合乳酸添加0.05%(pH4.5)にして既に發育を停止し, Bouillon 兩培地の場合は乳酸添加0.05%(pH4.7)に於ては能く發育するも0.1%(pH4.3~4.4)となれば發育を停止する. 即ち本細菌は乳酸に對する抵抗力が極めて弱い. 尙お清酒醗に類似する膠質狀培地を用いての pH と發育並びに呈色との關係に就ては後報に於て報告する.

12) アルコールに對する抵抗力(發育の限界)—培養基として酒造用醗麴を糖化せる麴汁(10°B)を用い, これに第2表の如き割合(容量%)に90%アルコールを添加したもの各5ccを入れた綿栓試験管に細菌を接種して發育の有無を調べた. アルコールは麴汁の殺菌後添加し, 接種に際しては菌體四白金耳量を殺菌水5ccに懸濁したものより三卷白金耳にて一耳量宛接種した. 表中斜線の上は液面の皮膜發生度にして, ++は皮膜が液面の全面を蔽う場合, +は%, +は%, ±は僅かの意. 斜線下は液中濁濁程度にして+の數はその程度を示し±は僅かの意.

第2表より明らかな如く本細菌のアルコール濃度に依る發育の限界は90%(容量)アルコール添加量3%(容量)前後である.

第2表 アルコール濃度と發育との關係

| 培養日數 | アルコール<br>(容量%) | 對照     | 0.2    | 0.5   | 1   | 2   | 3   | 4   | 6   | 8   |
|------|----------------|--------|--------|-------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
|      | 1              | ++/+   | -/-~±  | -/-~± | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- |
| 2    | ++/++          | -/±    | -/±    | -/-   | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- |
| 3    | ++/++          | +/+    | ±/±    | ±/±   | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- | -/- |
| 4    | +++/++         | +++/+  | +++/~+ | +/±   | ±/± | ±/± | -/- | -/- | -/- | -/- |
| 5    | +++/>+++       | +++/~+ | +++/>+ | +/±   | +/+ | ±/± | -/- | -/- | -/- | -/- |
| 6    | +++/>+++       | +++/~+ | +++/>+ | +/+   | +/+ | ±/± | ?/? | -/- | -/- | -/- |
| 7    | +/>+++         | +++/~+ | +++/>+ | +/+   | +/+ | ±/± | ?/? | -/- | -/- | -/- |

13) 熱に對する抵抗力(胞子の死滅溫度)一本細菌は極めて胞子を形成し易く, 胞子を含まぬ榮養細胞のみを取ること難事である爲, 胞子の熱に對する抵抗力を測定した. 即ち古き斜面培養上胞子のみとなり殆んど榮養細胞を含まぬ培養より, 約十五白金耳量を探り殺菌水5 ccに懸濁せるものを作る. これより三卷白金耳にて三耳量を探り綿栓薄肉試験管中の5 cc殺菌麥芽汁へ接種後所要溫度にて湯槽中熱處理を行い, 直ちに冷却38°Cに靜置し菌の發育の有無を検した. 熱處理に際しては試験管中麥芽汁の溫度が所要溫度に昇つた後, 各一定時間を経て湯槽中より出し直ちに冷却した.

表中發育所要日數とは顯著な發育が認められる迄に要する培養日數である. 觀察は7日間繼續した.

第3表 熱に對する抵抗力

| 溫度(°C) | 70 |    |    | 80 |    |    | 90 |    |    | 100 |    |    |
|--------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|----|----|
|        | 5  | 10 | 30 | 5  | 10 | 30 | 5  | 10 | 30 | 5   | 10 | 30 |
| 發育所要日數 | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 2  | 2  | -  | -   | -  | -  |

第3表より明らかな如く本細菌の胞子は麥芽汁(10°B)中にて90°C, 10分間の加熱に耐え, 90°C, 30分, 又は100°C, 5分間加熱すれば死滅するものである.

### 考 察

筆者等が紅醗より分離せる細菌は以上の如き性質を有するものであるが, これを齋藤賢道博士著“清酒醸造學の菌學”<sup>4)</sup>掲載の細菌と比較する時, *Bacillus farinarius* ODA<sup>5)</sup>及び *Bacillus mesentericus ruber* GLOBIGに類似するも, 前者とは主に聚落表面の狀貌, 色調に於て異り, 後者とは主に大いさ, 馬鈴薯培養, 牛乳培養に於て異なる. 又黒野氏が紅醗成因菌として擧げられた *Bacillus butyricus roseus moromi*と比較する時, 酸素に對する態度, 膠穿刺培養, 液體培養, 酸生成能, 死滅溫度等多數の點で異り全く別種のものである. よつて現在までに分離された清酒醸造細菌にはこれと一致するものは無いと考える.

次に本細菌による紅醗生成の可能性を考える時, 酸及びアルコールに對する抵抗力の弱いことより, 速醸醗に於ては勿論, 山廢醗に於ても乳酸菌の發育後には發生しないと考えられ, 従つて又酵母の發育してアルコールを生産するに及んでは絶対に紅醗は發生しないと云える. たゞ後報に於てその詳細を報告の豫定であるが, 低pHの培養に本細菌が發育した時は培地pHが約6.0~6.5位迄移動するものであり, 従つて本細菌が發育を開始し好條件が與えられれば或る程度までの乳酸には耐え得るものと考えられる. その際醗の造酸量とpHとの關係は正常の経過とは少しく異つたものとなるであらう.

又本細菌の生産する色素は水溶性と考えられるが, その色素は殆んど酒粕の部に吸着移行すること, 及び菌體自身の着色が強いこと, 並びに生産される色素は培地組成によつて可成り廣範圍にその色調を變ずること, 更にこの種細菌が1種にとどまらざること等は興味あることで後報に於て報告の豫定である.

尙お本細菌の分類學的位置を考察する時, 従來の分類<sup>6)</sup>によれば, *Bacillus mesentericus*に屬するものと考えられるが, 1948年の BERGEY 氏分類<sup>7)</sup>による時は *Bacillus subtilis*に屬さしめるべきであらう.

(266)

(井口, 中島, 茂木) 味噌麹菌に関する研究(第4報)

### 總 括

従来清酒紅麴の成因菌としては黒野氏<sup>1)</sup>の酪酸菌の1種による説と村山氏<sup>2)</sup>その他の紅色酵母による説と二説があつたが, 筆者等は紅麴より一紅色色素生産細菌を分離して, これによる紅麴生成の可能性を論ずる爲, 本報に於て先ず該細菌の形態學的並びに生理學的性質を報告した. 本細菌は馬鈴薯菌の1種と考えられ好氣性にして酸及びアルコールに對する抵抗力は弱く, 酸を生成せず, 硝酸還元性を有し, 溶膠性强く, 且つ赤色素を生産する細菌である.

### 文 献

- 1) 黒野勘六: 東京帝國大學農科大學紀要, 第1巻, 301頁. 2) 村上誠己: 昭和24年10月大阪醸造學會第1回學術講演會に於て“狸々麴に於ける紅色菌に就いて”と題し發表, 及び日本醸友會大阪支部報第1報に同題にて掲載(謄寫版). 3) 江田鎌治郎著: 酸類馴養最新清酒連環法, 大正6年6月20日發行, 254頁. 4) 齋藤賢道著: 清酒醸造の菌學, 昭和25年6月大阪醸造學會發行. 5) 醸造學雜誌, 13, 1113(昭10). 6) BERGEY'S manual of determinative Bacteriology 5th ed. 1940. 7) ibid. 6th ed. 1948. 8) 山田正一: 酒類工業, 朝倉書店發刊, 農藝化學全書, 第21冊, 117頁, 昭和24年12月發行. (昭和28, 2, 20受理)

## 味噌麹菌に関する研究(第4報) 味噌麹菌の栄養變異株について

井口信義・中島茂次・茂木正利 (野田産業科學研究所)

### 緒 言

微生物に紫外線, X線, nitrogen mustard 等の刺戟を與えると形態的な變異株が造成されると同時に栄養的變異株(nutritional deficient mutant)が得られる事は現在迄種々報告されている<sup>1-9)</sup>.

著者等は強化食品委員會の構成員として在來の味噌醸造法を變更する事なく, たゞ使用する麹菌を撰擇してフラビン生産多きHI菌を用い味噌のフラビン強化に或る程度の成果を収め<sup>10)</sup>, 更に進んでこのHI菌に紫外線照射を行いフラビン生産能を2倍程度強力にした51號菌を得た<sup>11)</sup>. 而して今回この51號菌に更に紫外線照射を行った處, 硝酸曹達を窒素源とするツアベック氏液には全然生育せず麹汁エキス等の天然培地には良く生育する栄養變異株10株を得てこれらの栄養要求を検討したところ, 生育するためには或るアミノ酸を必須とする事が判明したのでそれらの結果について報告する.

### 實 験 方 法

(1) 原株, 本實驗に使用した原株は味噌用「樋口もやし」より分離したHI菌に紫外線を照射してフラビン生産能を高めた51號菌であり, 孢子の着生は密で氣菌糸は殆んどなく, 黄綠色の *Aspergillus oryzae* でやゝ長毛型に屬する. 勿論合成培地のツアベック氏液には良く生育する.

(2) Induction of Mutation, 「マツダ」5W石英殺菌灯(全輻射量の90%が2537Åの紫外線)を無菌箱中に裝置して使用した. 單孢子懸濁液(2~3萬/cc) 0.5ccを時計皿に採り光源より30cmの距離で5分, 10分, 15分, 20分, 25分連續照射し同一條件で10回照射を行い約420株の形態的變異株と10株の biochemical mutant を得た. 尙10回照射の生存率と變異率は第1表の如くである.

(3) 供試變異株, biochemical mutant の採取法としては fungi については LEIN 等<sup>12)</sup>, FRIES<sup>13)</sup>が, 又細菌については LEDERBERG 等<sup>14)</sup>, DAVIS<sup>15)</sup>等の報告があるが今回著者等の採つた方法は次の如くである. 即ち紫外線照射を受けた孢子は麹汁寒天培地で常法の如く平面培養し30°C, 72時間後に聚落を觀察し, 變異したと思われる菌株をツアベック氏寒天に移植する. この際ツアベック氏寒天に生育しない菌株には麹汁を投入して生育するものゝみを集めて biochemical mutant とした. 尙供試菌株の内51-U2, 51-U5, 51-U7, 51-U8の4株は原株と殆んど變らず, 51-U6, 51-U10, 51-U12, 51-U13の

Table 1. Survival Rate and Mutation Rate of *Aspergillus oryzae* irradiated by Ultraviolet

| Time (Min) | Survival Rate | Mutation Rate |
|------------|---------------|---------------|
| 5          | 63.4          | 15.1          |
| 10         | 92.9          | 28.2          |
| 15         | 97.0          | 31.8          |
| 20         | 99.1          | 25.8          |
| 25         | 99.7          | 26.6          |