(1950).

Summary

1. Potato soluble starch produced a considerable amount of glucose and no maltose, when degraded by the acid-treated Taka-diastase solution which has rich maltase activity and only a trace of α -amylase activity. The iodine reaction persisted to be of blue-violet color in this degradation. (Fig. 1).

Therefore the Taka-diastase was not found to contain an enzyme comparable to the malt β -amylase, but it was proved to contain a special amylase (similar to the glucogenic enzyme system found in *Rhizopus* by CORMAN and LANGLYKKE in 1948).

2. The data of alcohol fermentation of potato soluble-starch mashers were given in Table 2 and Fig. 3 with saccharifying agents of different enzymic ratios (by treated Taka-diastase).

It was shown that a high alcohol yield was obtained usually, when the ratio of α -amylase activity to maltase activity was small in saccharifying agent.

Alcohol yields were shown to have a higher correlation with maltase activity (accompanied by limit-dextrinase activity) rather than with α -amylase activity.

Aspergillus oryzae 及び *Asp. sojae* の分生 胞子柄表面の性質に就て*

坂口謹一郎, 飯塚 廣 (東京大学農芸化学科)

昭和 28 年 1 月 19 日 受理

A Study on the Nature of Conidiophore-walls of *Aspergillus oryzae* and *Asp. sojae*

By Kinichiro SAKAGUCHI, and Hiroshi IIZUKA

(Dept. Agr. Chem., Univ. of Tokyo)

麹菌の形態及び分類の研究において分生胞子柄の性質はしばしば重要な意義を有する。従来, *Aspergillus oryzae* (Ahl.) COHN の分生胞子柄の壁の表面の性質については M. BÜSGEN⁽¹⁾ (1885) は粗であるとし, J. SCHRÖTER⁽²⁾ (1893) は滑かであるとし, C. WEHMER⁽³⁾ (1895) は滑又は粗 (glatt, raub) としているが, 高橋慎造博士⁽⁴⁾ (1909), 斎藤賢道博士⁽⁵⁾ (1909), J. JANKE⁽⁶⁾ (1924), A. KLÖCKER⁽⁷⁾ (1924), W. HENNEBERG⁽⁸⁾ (1926) は別に記載していない。Ch. THOM 及び M. CHURCH⁽⁹⁾ (1921) は此の性質について「低倍率の観察によれば分生胞子柄の壁は delicately rough であり, 又分生胞子は delicately rough or spiny であるが, 高倍率で注意して観察すれば之はくぼみ (pits) のためにかかる状態にみえるのである」と断定した。更に Ch. THOM 及び K. B. RAPER⁽¹⁰⁾ (1945) は之を “definitely pitted or rough” と表現して此等の *Asp. flavus-oryzae* group をその他の緑色アスペルギルスから区別する際の重要な特長としている。著者の一人坂口は麹菌の研究⁽¹¹⁾ (1933) において多数の麹菌(主として清酒用麹菌)は光学顕微鏡では分生胞子柄の表面は粗にみえるが, 一部の麹菌(主として古くは溜糟に自生して現在醤油用に使われているもの)では滑かであり, 且つ分生胞子の表面が前者では粗にみえるが後者では明かに多数の小突起を認めうる事を指摘した。同様の事実は其後, 吉備氏⁽¹²⁾ (1936) も醤油麹菌の研究において認めている。以上の事実及び分生胞子柄面の粗滑に基き坂口, 山田⁽¹³⁾ (1944) は従来の所謂麹菌を *Asp. oryzae* s. str (THOM 及び CHURCH の *Asp. flavus-oryzae*) と *Asp. sojae* nov. sp. とに分類すべきであると主張した。即ち THOM and CHURCH⁽⁹⁾ は勿論, THOM and RAPER⁽¹⁰⁾ の分類においても此等の所謂 *Asp. flavus-oryzae* group は本邦産麹菌の全部は包括し得るものではない。

更に分生胞子の表面の性質については著者等⁽¹⁴⁾ (1949) は電子顕微鏡によつて追究した結果両種とも多数の小突起があるがその大きさが異り *Asp. oryzae* では光学顕微鏡の分解能の範囲外であるのに対し, *Asp. sojae* では 0.2 μ 附近以上のものが多く従つて明かな小突起として観察されたのであることが判明した。

* 本研究の大要は 1952 年 12 月 20 日, 日本農芸化学会例会で発表した。

Fig. 1. Conidiophore-walls of *Asp. oryzae* (strain A)

Fig. 2. Conidiophore-walls of *Asp. sojae* (strain SH10-1)

そこで今回は両種の分生孢子柄の表面の性質の差について更に電子顕微鏡的研究を行った。

実 験 の 部

供試菌株は従来の研究⁽¹³⁾⁽¹⁴⁾において標準株と考えられているものの中から現在最も適当と認められる *Asp. oryzae* A 及び *Asp. sojae* SH-10-1 を使用し, Czapak agar 培地に 30°, 14日間培養したものを用いた。鏡検標本の作製に際しては、分生孢子柄の直径は *Asp. sojae* では 6.5~8.5 μ , *Asp. oryzae* では 14~23 μ を普通とするから電子顕微鏡の生体試料としてはむしろ大形に過ぎるので、観察の際の真空の影響或は電子線照射の影響を考慮し、種種の標本作製法を試みた。例えばコロジオン・レブリカ⁽¹⁵⁾の作製、或はミクロトームによる分生孢子柄の横断切片の作製等を行ったのであるが、之等の標本についてはいずれも明確な像が得られず、かえって単にコロジオン支持膜にのせた直接法による場合が最も良好であつた。観察及び撮影条件は加速電圧 50 kV 直接倍率 3000 倍前後で、使用器械は日立製作所製で東大電子顕微鏡室所属のものである。

結 果

直接法による写真を Fig. 1 及び 2 に示したが、*Asp. oryzae* ではその表面には多数のくぼみ (pits) があるのではなく Fig. 1 の様に全表面に多数の小突起を着生しておりしかもこの小突起は電子線を透過しにくく従つて壁よりも著しく密度の大なものからなつてゐることが判る。なおこの小突起は高さ 0.24~0.08 μ 程度と認められる。

之に対して *Asp. sojae* では Fig. 2 のように壁の表面は全く平滑である。

以上の結果によつて本邦産麹菌の主要な 2 菌種である之等両種の相異は一層判然となつたものと云える。

(1) M. BÜSGEN : <i>Ber. deutsch. Bot. Ges.</i> ,
Heft. 66 (1885).	bact. Bd II. s. 338 (1926).
(2) J. SCHRÖTER : COHN's Kryptogamen-
flora Schlesiens, III, 2 : 216 (1893).	(9) C. H. THOM and M. CHURCH : <i>Amer.</i>
<i>Jour. Bot.</i> , 8, p. 106 (1921).
(3) C. WEHMER <i>Centbl. f. Bakt.</i> II.
Abt., I; 150, 209 (1895).	(10) C. H. THOM and K. B. RAPER : <i>A Manual</i>
<i>of the Aspergilli</i> , p. 261 (1945).
(4) T. TAKAHASHI <i>J. College of Agri-
culture</i> , Vol. 1, No. 1 p 137 (1909).	(11) 坂口謹一郎 : 醸造論文集, 第 3 輯, 247 頁,
日本醸友会 (1933).
(5) 斎藤賢道 : 東洋産麹菌, 博文館 (1909).	(12) 吉備政次郎 農化, 12, 889 (1936).
(6) A. JANKE : <i>Allg. Tech. Mikrobiologie</i>
s. 199 (1924).	(13) 坂口謹一郎, 山田浩一 農化, 20, 64 (1944).
(7) A. KLÖCKER <i>Die Gärungsorganismen</i>
s. 305 (1924).	(14) 坂口謹一郎, 飯塚 広, 黒田 徹 農化,
23, 100 (1949).
(8) W. HENNEBERG <i>Handb. der Gärungs-</i>	(15) R. W. G. WYCKOFF : <i>Electron Micros-</i>
<i>copy</i> , Chapt. 4 (1949).

Summary

As for the conidiophore-walls of *Asp. flavus-oryzae*, THOM and CHURCH⁽¹⁾ (1921) pointed out that "stalk walls when examined with low magnification are often recorded as delicately rough, and conidia as delicately rough or spiny. Careful examination with high powers shows these appearances to be due to pits"

One of the present authors⁽²⁾ (1933), on his taxonomic studies upon *Asp. oryzae* strains, has found that conidiophore-walls of some members of these yellow green Aspergilli, especially those used in Soy sauce or Tamari Soy sauce making, are seen to be quite smooth with ordinary or low magnification. SAKAGUCHI and YAMADA⁽³⁾ (1944) have proposed a new classification dividing these strains into two main groups; i.e. (I) *Asp. oryzae* s. str. SAKAGUCHI and YAMADA, or synonymous with *Asp. flavus-oryzae* THOM and CHURCH, and (II) *Asp. sojae* nov. sp. S. & Y.

As for the conidial walls of the both species, SAKAGUCHI *et al.*⁽⁴⁾ (1949) pointed out that "the both species gave equally echinulate appearance of the same nature on their conidial walls, except that those of *Asp. sojae* have somewhat higher echinulation than the other in the extent of 0.2 μ or higher which is within the limit of the resolution power of optical microscope"

The present authors succeeded to show the electron micrographs of conidiophore-walls of the both species. As shown in the figures, the surface of conidiophore-walls of the new

species, *Asp. sojae*, is apparently smooth, while that of *Asp. oryzae* is provided with numerous projections, ranging from 0.24 to 0.08 microns in height.

- (1) THOM and CHURCH : *Amer. J. Bot.*, 8, 106 (1921).
- (2) SAKAGUCHI, K. : *Jōzōrombunshū* Vol. 3 P. 247 (1933).
- (3) SAKAGUCHI, K. and YAMADA, K. : *J. Agr. Chem. Soc. Japan*, 20, 65 (1944).
- (4) SAKAGUCHI, K. and IIZUKA, H. : *J. Agr. Chem. Soc. Japan*, 23, 100 (1949).

微生物によるビタミン B₁₂ の生産に就て (第 2 報)

各種微生物の B₁₂ 生産試験

酒 井 平 一* (東京大学農学部醸酵学教室)

昭和 28 年 1 月 19 日 受理

On the Vitamin B₁₂ Production by Fermentation. Part. 2. Production Test of B₁₂ by Various Microorganisms.

Hiichi SAKAI (Fermentation Laboratory, Agricultural Faculty, Tokyo University)

米国及び英国等に於ては、すでに放線菌及び細菌等の培養液から B₁₂ の生産が工業的に行われていることは一般に知られている所であるが、各種の微生物菌株に就てその B₁₂ 生産力を試験した文献はなく、ただ RICKES⁽¹⁾, HENDLIN⁽²⁾等が簡単な報文で *Streptomyces* sp., *Bac. subtilis*, *Lactobacillus arabinosus*, *Mycobacterium smegmatis*, *Pseudomonas* 等に強い B₁₂ 生産力がある旨を述べている。又 B₁₂ 高単位生産菌として *Bac. megatherium*⁽³⁾, *Aerobacter aerogenes*⁽⁴⁾, *Streptomyces olivaceus* 等が挙げられているが、微生物各種にわたる B₁₂ 生産性の記載は未だ見られない。従つて筆者は酵母、糸状菌、細菌、放線菌、その他各種の微生物について主として振盪培養により、若干の菌について麹培養による B₁₂ 生産性を調べたので茲に報告する次第である。

実 験 の 部

I. 振 盪 培 養 試 験

方 法 使用した微生物は主として当研究室に保存してあるもので、若干は新に分離した菌も使用した。培養液としては次のものをを用いた。

酵母用 : HENNEBERG 液改変培地 (グルコース 15%, ペプトン 0.5%, KH₂PO₄ 0.5%, MgSO₄ 0.2%, Na₂CO₃ 0.5%, 肉エキス 0.3%)

糸状菌その他用 : HENNEBERG 液改変培地 (グルコース 10%, ペプトン 1%, (NH₄)₂HPO₄ 0.2%, KNO₃ 0.2%, MgSO₄ 0.05%, CaCl₂ 0.01%, 肉エキス 0.3%)

細菌用 : 肉エキス 1%, ペプトン 1%, 食塩 0.5%

放線菌用 : グルコース 1%, 肉エキス 0.5%, ペプトン 0.5%, 食塩 0.5% NaOH で殺菌前 pH 7.6 に補正す。

培養は 500 cc 容コルベンに培養液を 50 cc 宛分注し 120°, 10 分滅菌後接種し, 20° で 6 日間振盪培養した。細菌は中型試験管に 15 cc 宛培養液を分注し同様に滅菌接種し, 37° に 3 日間静置培養した。この培養液を遠心分離或は濾過によつて菌体を除き, 前報⁽⁵⁾の方法によつて *Lactobacillus lactis* Dorner 活性物質を測定し, これを一応 B₁₂ と見做してその結果を Table 1 に示した。

Table 1. V. B₁₂ Producing Potency of various Micro organisms in Shaking Culture.

Yeast	my/cc	ZS-5	Soja yeast HIGETA	10.5	Misc.-3	<i>Debaryomyces</i>	
	B ₁₂ (LLD active substance)	Wil-7	<i>Wil. anomala</i>	8.2		KLÖCKER	6.7
SH 2-2 <i>Sake yeast</i> SAKURA	5.8	TH-8	<i>Torula rubecens</i>	15.0	// -5	<i>Endomyces Hordei</i>	2.7
BrH7-2 Fleischman yeast	2.7	SH-9	<i>Torula utilis</i>	15.0	// -6	<i>Mycoderma C</i>	6.6
BH 1-2 Beer yeast YEBISU	3.7	Misc.-1	<i>Hanseniaspora</i>		// -7	<i>Pichia miyaji</i>	
SHS2-10 <i>Schizosacch. pombe</i>			<i>valbyensis</i>	2.7		No. 1	15.0
OGASAWARAENSIS	2.2						

* 財団法人医薬資源研究所員。