素源とするときは vitamins を添加しなければ繁殖を示さない。

2. 更に amino acids 中特に histidine を要求し amino acids より histidine を除くと繁殖を示さない特異性をもつた酵母である。

3. *Saccharomyces Sake* は *Mycotorula No. 1* とは対照的で硫安は其のまま同化し得るが amino acids を窒素源にするときは vitamins が要求される。

4. これらの現象はいずれも接種菌体量と大なる関係があり、現在迄の実験では接種菌体数を培養液 1 cc 当り 5000 以下で行う必要がある。此の問題に関しては後に報告する予定である。

本報告を終るに臨み終始御懇篤なる御指導を賜りました恩師坂口教授に感謝申し上げますと共に種々御助言を戴きました有馬助教授始め坂口研究室室員各位並びに多大な御援助を戴きました宮沢滋氏に厚く御礼申し上げます。

(1) 山本：農化, 1, 1051 (19) .	(5) SCHULTZ : <i>Arch. of Biochem.</i> , 14, 36. (1947).
(2) 田所：農化, 16, 1041 (19) .	
(3) PRINGSHEIM : <i>Zentbl. f. Bakt.</i> , 11, Abt. 16 (1916).	(6) ATKIN : <i>Wallerstein Laboratories Communication</i> , 12, 141~50 (1949).
(4) ROGER and WILLIAM <i>J. Biol. Chem.</i> , 38 (1911).	(7) HERMAN, FINK : <i>Biochem. Z.</i> , 309, 212~3 (1941).

Summary

1. The author has isolated *Mycotorula No. 1* from acid digest of soy bean. This strain could utilize the amino acids mixture as nitrogen source without vitamins, and this amino acid was proved as histidine.

Optimum concentration of histidine was from 1 mg/cc to 4 mg/cc in 5% glucose medium.

2. On the contrary the *Saccharomyces Sake* required the vitamins in the medium of amino acid mixture as nitrogen source.

3. These results can be observed when the inoculum size was controlled under 5000 cells per 1 cc of culture medium.

Investigation of this problem will be published later.

酵母の Amino Acids 及び Vitamins 要求に就て (第 2 報)

高 橋 雅 弘 (東京大学農学部農芸化学科)

昭和 29 年 1 月 9 日 受 理

Studies on the Requirements of Amino Acids and Vitamins of Yeasts. Part. 2.

By Masahiro TAKAHASHI (Department of Agricultural Chemistry,
Faculty of Agriculture, University of Tokyo)

前報に於て既述せる如く酵母増殖に於ける amino acids, 硫安, 及び vitamins の要求は酵母の種類に依り異なる。本報に於ては第 1 報に一問題として提示せる *Saccharomyces* 属に対する amino acids, vitamins の関係に就き報告する。

Saccharomyces 属の amino acids 及び vitamins の影響に就いては近時多数の報告がある。即ち SWANSON⁽¹⁾ (1948 年) の *Saccharomyces cerevisiae* 培養に於ける増殖及び同化に要求される amino acids 及び vitamins に就いて, SCHULTZ⁽²⁾ の増殖に対する amino acids, vitamins の影響に関する報告, 又 WICKERHAM⁽³⁾ の多数の論文等多くの報告がある。

著者も亦 *Saccharomyces* 属の清酒酵母, アルコール酵母, ビール酵母を対象として, これら酵母の増殖時に於ける vitamins 及び amino acids の影響を検討したので茲に報告する次第である。

清酒酵母, アルコール酵母, ビール酵母は所謂培養酵母として実用上の分類がなされている。然るにこの三者は amino acids を窒素源とする場合, 何れも vitamins を必要とし vitamins を欠くときは全く繁殖しない (一部第 1 報)。しかも要求する vitamins は三者間に特異性があつて, これら三者の酵母を判別する上に一つの拠点となし得ると考えられる。

実 験 の 部

実 験 1.

培養液: Table 1 に示す如く葡萄糖, 塩類に窒素源として amino acids (18 種混和), 或いは硫安を与え更に vitamins, purine base, pyrimidine base を添加した 5 種類の培養液を調製した。

Table 1. Composition of the Culture Medium.

1. Salts+Glucose+Amino acids
2. Salts+Glucose+ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
3. Salts+Glucose+Amino acids+Vitamins
4. Salts+Glucose+Amino acids+Purine base
+Pyrimidine base+Vitamins
5. Salts+Glucose+Amino acids+Purine base
+Pyrimidine base.

Salts (1). Salts solution 50 ml/l.

KH_2PO_4 22 g; KCl 17 g; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g; MgSO_4 5 g; FeCl_3 0.1 g MgSO_4 0.1 g; Fill up to 1 l by dist. Water.

(2). Citrate buffer 25 ml/l

$\text{K}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{H}_2\text{O}$ 100 g; $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{H}_2\text{O}$ 20 g; Fill up to 1 l by dist. Water.

Glucose 5%

Amino acids or $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.03%

(As Nitrogen)

Vitamins.

Vitamin B_1 1 mg/l.; Vitamin B_2 1 mg/l., Biotin 10 γ /l, Vitamin B_6 1 mg/l, Folic acids 10 γ /l, Nicotinic acid 1 mg/l Paraaminobenzoic acid, 200 γ /l, Pantothenic acid 1 mg/l.

Purine base. (Adenine, Guanine,

Xanthine) 10 mg/l.

Pyrimidine base (Uracil) 10 mg/l.

pH=4.8

Amino acids

<i>dl</i> -Alanine	200	<i>l</i> -Proline	200
<i>d</i> -Aspartic acid	400	<i>dl</i> -Threonine	200
<i>l</i> -Arginine	200	<i>l</i> -Tyrosine	100
<i>l</i> -Glutamic acid	500	<i>l</i> -Valine	200
<i>l</i> -Lysine $\text{HCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$	200	<i>dl</i> -Tryptophan	100
<i>l</i> -Histidine	100	<i>l</i> -Cystine	100
<i>dl</i> -iso Leucine	200	<i>dl</i> -Serine	100
<i>dl</i> -Methionine	200	Glycine	100
<i>d</i> -Phenylalanine	200	<i>dl</i> -Leucine	100

formosensis NAKAZAWA; Rasse II; Rasse XII.

Br. H.: 醸造学雑誌 Vol. 15, 634

ビール酵母.

Untergär. Hefe, Froberg; Untergär. Hefe, Saaz; Untergär. Hefe, Carlsberg; Untergär. Hefe, München; Strain F. No. 1; Strain F. No. 2; Strain F. No. 3; Strain G. No. 1; Strain G. No. 2; Strain G. No. 3; Strain G. No. 4.

Strain F, Strain G: *Saccharomyces Carlsbergensis*

即ち清酒酵母 10 種, アルコール酵母 12 種, ビール酵母 11 種を使用した.

其の結果は Table 2 の如くで要約すると,

1. Amino acids のみを窒素源とした培養液には vitamin 欠の場合酵母は全く繁殖しない.
2. 硫安を窒素源とする場合はいずれも繁殖する.
3. Amino acids を窒素源とする時 vitamins を添加すれば繁殖が認められる.
4. Purine base, pyrimidine base は amino acids, 硫安の何れも窒素源とするも殆ど影響は認め得ない.

此等の結果は第 1 報で対比的に報告した *Saccharomyces Sake* の場合に現われたものと同一で *Saccharomyces*

これらの培養液を 2 cc 宛殺菌試験管に分注し, 115-15 分間殺菌し試験培養液とした.

前培養: 斜面培養せる各酵母 1 白金耳を麴試験管培地 (Ballg. 4) 5 cc に接種, 30°, 24 時間培養後同前培地に植継ぎ 30°, 20 時間培養し接種菌体とした.

接種: 前培養液を遠心分離し, 上澄を傾斜除去後殺菌生理的食塩水に懸濁遠心分離を行う. この洗滌操作を二度繰返し, 菌体の洗滌を完全に行つて後遠心分離後菌体を秤量する. 此の菌体を殺菌生理的食塩水に懸濁後, 培地 1 cc 当り 5000 以下に稀釈する. この稀釈菌体懸濁液を殺菌スポイドで 0.05 cc 宛前記 2 cc 培養液に滴下接種する.

測定法: 接種後菌の増殖に依つて生ずる混濁度を光電比色計で測定増殖度とした.

使用酵母: 使用せる酵母は当教室に保有する酵母と新たに現在工場で使用している分譲を受けた酵母である.

清酒酵母 *Saccharomyces Sake*

A. 25, A. 35, A. 36, 醸造協会 1 号, 醸協 2 号, 醸協 3 号, 醸協 4 号, 醸協 5 号, B. 6, B. 19, A. 及び B.: 農学部紀要 (古在, 高橋)⁽⁵⁾, 醸造協会 1~5 号: 日本醸造協会: 勝屋, 北村⁽⁶⁾.

アルコール酵母

Brennerei Hefe 1; Br. H. 14; (Brennerei Hefe, Copenhagen, Denmark) Br. H. 20; Br. H. 21; Br. H. 22; Br. H. 37 Br. H. 26; Br. H. 50; Br. H. 61; *Sacch.*

属に於ては amino acids を窒素源とする場合 vitamins が其の同化に多大の影響のあることを示している。又硫酸が直ちに同化される事実は極めて興味ある事実で更に検討する必要がある。

Table 2. Effect of the Nitrogen Source, Vitamins, Purine Base and Pyrimidine Base on the Growth of the Yeasts.

Medium						Medium						Medium								
Hrs.						Hrs.						Hrs.								
	1	2	3	4	5		1	2	3	4	5		1	2	3	4	5			
A. 25.	20	0	+	++	++	0	Br.	24	0	+	+	+	0	Unter-	20	0	0	0	0	0
	55	0	++	++	++	0	H. 22.	48	0	++	+	++	0	gar.	44	0	+	+	+	0
	84	0	++	++	++	0		72	0	++	++	++	0	Hefe,						
A. 36.	20	0	0	++	++	0	Br.	24	0	+	+	+	0	Mün-	72	0	++	+	++	0
	55	0	++	++	++	0	H. 21.	48	0	+	+	++	0	chen.						
	84	0	++	++	++	0		96	0	++	++	++	0							
醸 協	20	0	+	++	++	0	Br.	24	0	+	+	+	0	Strain	20	0	+	+	+	0
2 号	55	0	++	++	++	0	H. 20.	48	0	++	+	++	0	F. No. 1	44	0	+	+	+	0
	84	0	++	++	++	0		72	0	++	++	++	0	(F. Bre-	72	0	++	+	++	0
A. 35.	20	0	0	++	++	0	Rasse	24	0	+	+	+	0	wing						
	55	0	++	++	++	0	II.	48	0	++	+	++	0	Co.)	72	0	++	+	++	0
	84	0	++	++	++	0		72	0	++	++	++	0	Strain	20	0	+	+	+	0
醸造協	20	0	+	++	++	0	Br.	24	0	+	+	+	0	F. No. 3	48	0	++	+	++	0
会 1 号	55	0	++	++	++	0	H. 26.	48	0	++	++	++	0	Co.)	72	0	++	++	++	0
	84	0	++	++	++	0		72	0	++	++	++	0	Unter-	20	0	+	+	+	0
醸 協	20	0	+	++	++	0	Br.	24	0	+	+	+	0	gar.	44	0	++	++	++	0
3 号	48	0	++	++	++	0	H. 37.	48	0	++	++	++	0	Hefe,						
	72	0	++	++	++	0		96	0	++	++	++	0	Carlsb-	72	0	++	++	++	0
醸 協	20	0	+	++	++	0	Rasse	24	0	+	+	+	0	erg.						
4 号	48	0	++	++	++	0	XII	48	0	++	++	++	0	Strain	20	0	+	-	+	0
	72	0	++	++	++	0		96	0	++	++	++	0	F. No. 2	48	0	+	+	+	0
B. 6.	20	0	+	++	++	0		24	0	+	+	+	0	Co.)	72	0	++	++	++	0
	48	0	++	++	++	0		48	0	++	++	++	0		20	0	+	+	+	0
	72	0	++	++	++	0	Unter-	20	0	-	-	-	-	gar.	48	0	++	+	++	0
Br.	24	0	+	0	+	0	gar.	44	0	+	+	+	-	Hefe,	72	0	++	++	++	0
H. 1.	48	0	++	+	++	0	Froh-	72	0	++	+	++	-	berg.						
	72	0	++	++	++	0	Br.	24	0	+	+	+	0	Strain	20	0	+	+	+	0
醸 協	20	0	+	++	++	0	H. 50.	48	0	++	+	++	0	G. No. 4	48	0	+	+	++	0
5 号	48	0	++	++	++	0		96	0	++	++	++	0	(G. Bre-	72	0	++	++	++	0
	72	0	++	++	++	0	Sacch.	24	0	+	+	+	0	wing						
B. 19.	20	0	0	++	++	0	formo-	48	0	++	++	++	0	Co.)	20	0	+	+	+	0
	48	0	++	++	++	0	sensis	96	0	++	++	++	0	Strain	48	0	+	+	++	0
	72	0	++	++	++	0	Unter-	20	0	+	+	+	0	G. No. 3	72	0	++	++	++	0
Br.	24	0	+	0	+	0	gar.	44	0	+	+	+	0	(G. Br-	20	0	+	+	+	0
H. 14.	48	0	++	+	++	0	Hefe,	72	0	+	+	+	0	wing	48	0	+	+	++	0
	72	0	++	++	++	0	Saaz.						Co.)	72	0	++	++	++	0	
Br.	24	0	+	+	+	0														
H. 61.	48	0	++	++	++	0														
	72	0	++	++	++	0														

実験 2 実験 (1) に依り *Saccharomyces* 属の増殖に於て amino acids を窒素源とする場合には vitamins を必要とすることが明らかにされたので次の実験を行った。

培養液 Table 3 に示した如く窒素源には amino acids を用い、葡萄糖塩類を加え、其れに vitamins 全部を添加したものと、vitamins を 1 種宛欠いたもの、更に全 vitamins を抜いた合計 10 種類の培地を調製した。pH は 4.8 に調節し殺菌試験管に 2 cc 宛分注 115°, 15 分殺菌を行った。

前培養： 実験 (1) に同じ。

接 種： 実験 (1) に同じ。

測定法： 実験 (1) に同じ。但し Table 4 は最大繁殖時の Extinction Coefficient を 100 とし、其れに対する比率を以て表示した。

Table 3. Composition of the Culture medium.

1. Salts + Glucose + Amino acids + Vitamins.
2. Salts + Glucose + Amino acids + (Vitamins - Vitamin B₁)
3. Salts + Glucose + Amino acids + (Vitamins - Vitamin B₂)
4. Salts + Glucose + Amino acids + (Vitamins - Vitamin B₆)
5. Salts + Glucose + Amino acids + (Vitamins - Pantothenic acid)
6. Salts + Glucose + Amino acids + (Vitamins - Nicotinic acid)
7. Salts + Glucose + Amino acids + (Vitamins - Folic acid)
8. Salts + Glucose + Amino acids + (Vitamins - Biotin)
9. Salts + Glucose + Amino acids + (Vitamins - *p*-Aminobenzoic acid).
10. Salts + Glucose + Amino acids

Salts; Vitamins; See the table 1.; Glucose. 5%;

(a) 清酒酵母 使用酵母: A. 25, A. 35, A. 36; 醸協 1 号, 醸協 2 号, 醸協 3 号, 醸協 4 号, 醸協 5 号, B. 8, Strain A; Strain B. No. 1, Strain No. 2

以上 12 種に就き培養試験を行なつた。実験結果は Table 4 (1) の如くである。

1. Pantothenic acid を欠く培地では繁殖しない。
2. *p*-Aminobenzoic acid を欠く培地では培養後 24 時間に於ては未だ繁殖しないものと繁殖しても 0.9%, 1.4% 等の vitamins 欠培地よりも繁殖が劣つている。所謂 "Time lag" がある。
3. Vitamin B₆ 欠培地も亦 *p*-aminobenzoic acid の場合に類似し 24 時間培養後では 0.1%, 2.5% 等の繁殖率である。
4. Vitamins 欠培地では実験 (1) 同様繁殖を認め得ない。唯注意すべきは接種菌体量で接種菌体量が多い場合は amino acids を窒素源としても vitamins の影響が現われないことである。接種菌体量と増殖の関係は今後検討を要する問題であり、現在迄の実験結果では培養液 1 cc に対して接種酵母菌体数 3000~5000 以下にする必要がある。

(b) アルコール酵母 使用酵母: Brennerei Hefe. 1; Br. H. 11; Br. H. 14; Br. H. 20; Rasse XII; Strain C; Strain D; Strain E;

以上 8 種類に就き前回同様な増殖試験を行い測定した結果 Table 4 (2) の如くになつた。即ち

1. Pantothenic acid 及び全 Vitamins を欠如する培地には清酒酵母同様酵母の増殖は全く認められない。
2. Biotin 欠培地には培養 24~48 時間でも酵母の増殖を認めず、72 時間以後始めて繁殖を認め得る。然し乍ら其時に於ても他の培地に比較して繁殖悪く、最大増殖時に於て標準培地と比較するに約 5~10% の増殖を示すに過ぎない。しかもこの培地に於ては菌体は凝集する傾向がある。
3. *p*-Aminobenzoic acid は清酒酵母の場合の如き影響は全く見受けられない。

Fig. 1.

- (1) Complete medium, which contains whole vitamins
- (5) Lacking medium of Pantothenate
- (8) Lacking medium of Biotin
- (9) Lacking medium of *p*-Aminobenzoic acid.
- (10) Lacking medium of whole vitamins

18 hrs	10.7	4	7.3	0	0	5.3	4	0	5.3	0
24 hrs	25	—	34	6	0	16	18	0	19	0
48 hrs	86	68	91	31	0	83	82	0	53	0
72 hrs	100	100	96	67	0	100	100	4.7	100	0
96 hrs	—	—	—	—	—	—	13	100	0	0

Strain E (E. Baker's yeast Co.) (E=1.37)										Br. H. 14 (E=1.60)											
18 hrs	13	5.9	15	7.3	0	9.5	15	0	16	0	96 hrs	94	94	96	98	0	92	84	0	96	0
48 hrs	73	73	85	70	0	87	81	0	81	0	130 hrs	100	100	100	100	0	100	100	0	100	0
96 hrs	98	—	98	97	0	97	91	0	95	0											
130 hrs	100	98	100	100	0	100	100	10.1	100	0											
Br. H. 21 (E=1.56)										Br. H. 20 (E=1.49)											
24 hrs	3.3	2.7	4	4.7	0	3.3	5.4	0	4	0	24 hrs	3.3	1.1	7.5	4	0	4.7	4.7	0	4	0
48 hrs	82	50	86	86	0	70	75	3.3	7.00		48 hrs	47	37	87	21	0	46	57	0	59	0
96 hrs	96	91	93	90	0	93	100	6.7	100	0	96 hrs	88	85	89	32	0	85	80	7.3	87	0
130 hrs	100	93	100	—	0	100	—	9.3	—	0	130 hrs	100	100	93	60	0	87	87	14	87	0
																					91

Table 4. (3) Brewery yeast. (Beer Hefe)

Untergär. Hefe, Froberg (E=1.08)											Untergär. Hefe, Saaz (E=1.02)										
48 hrs	13	15	20	16	—	8	19	4	28	0	48 hrs	26	8	22	8	—	17	18	4	2	0
66 hrs	80	45	74	37	—	69	82	—	78	0	66 hrs	61	42	60	41	—	51	55	10	64	0
101 hrs	98	97	100	91	91	97	100	10	100	0	101 hrs	98	100	97	80	36	94	97	10	95	0
121 hrs	100	—	—	97	—	—	—	10	—	0	121 hrs	100	—	100	83	90	—	—	—	—	0
Untergär. Hefe, München. (E=1.05)											Strain F. No.1. (F. Brewing Company.) (E=1.10)										
48 hrs	17	10	23	5.2	4.2	15	14	1.7	17	0	44 hrs	9.4	5.1	6.8	8.0	2.5	6.0	4.2	5.1	8.0	0
72 hrs	81	97	61	65	48	88	61	9	55	0	68 hrs	65	43	50	41	36	53	56	14	50	0
96 hrs	100	—	90	85	60	95	80	17	88	0	92 hrs	100	97	80	82	80	100	95	18	91	0
Strain F. No.2 (F. Brewing Company) (E=1.17)											Strain F. No.3 (F. Brewing Company). (E=0.96)										
44 hrs	16	7.2	5.7	5.0	—	3.6	2.5	3.0	5.00		44 hrs	10	3.1	2.5	6.2	—	—	3.1	3.1	5.0	0
68 hrs	73	61	25	54	31	37	27	10.1	41	0	68 hrs	57	40	26	26	18	37.5	31	6	38	0
92 hrs	100	95	72	98	96	102	100	13	90	0	92 hrs	100	96	60	94	55	66	71	11	56	0
Strain F. No.4 (F. Brewing Company) (E=1.36)											Untergär. Hefe, Carlsberg (E=1.7)										
48 hrs	12	10	4	6.6	4	4.7	5.6	3.7	17	0	48 hrs	20	0.1	20	8.2	11.7	5.4	23	5.7	19	0
66 hrs	80	74	—	54	—	40	31	—	82	0	66 hrs	84	—	82	21	46	7.2	79	7.9	60	0
101 hrs	100	90	93	100	91	98	90	37	94	0	101 hrs	95	28	100	—	61	11	100	8.9	86	0
											121 hrs	100	68	—	71	68	68	—12	98	0	
Strain G. No.1. (G. Brewing Company) (E=1.10)											Strain G. No.2. (G. Brewing Company) (E=1.17)										
24 hrs	4.6	2.7	4.5	4.5	—	4.5	10	6.3	3.6	0	24 hrs	3.4	2	3.4	2.6	—	2.6	0.8	0.01	0.1	0
44 hrs	53	34	46	34	—	53	50	10	76	0	44 hrs	38	14	38	31	8.5	19	19	0.1	24	0
52 hrs	87	—	87	55	30	72	76	11	87	0	52 hrs	55	35	42	71	21	49	34	6	43	0
120 hrs	100	100	—	78	87	91	93	—	—	0	120 hrs	100	100	82	103	82	100	100	22	85	0
Strain G. No.3. (G. Brewing Company) (E=0.98)											Strain G. No. 4. (G. Brewing Company) (E=1.44)										
24 hrs	3.6	2.6	—	3.1	—	0.1	3.1	0.16	4.2	0	24 hrs	4.2	2.4	4.3	2.1	—	2.1	2.80	7	3.5	0
44 hrs	52	16	34	34	6.8	27	43	4.2	45	0	44 hrs	39	31	40	33	16	35	29	3.8	35	0
52 hrs	55	40	50	37	13	82	75	7.3	75	0	52 hrs	63	36	—	42	35	—	63	7.7	42	0
120 hrs	100	101	95	84	77	—	92	8.3	100	0	120 hrs	100	90	91	94	83	73	75	10.4	90	0

考

案

Saccharomyces 属中清酒酵母, アルコール酵母, ビール酵母の amino acids 及び vitamins の繁殖に及ぼす影響を検討した結果此等三者の酵母は何れも amino acids のみを窒素源とした場合は繁殖しないことを認めた。此の現象は接種酵母菌体量により甚しい影響を受け, 培養液 1 cc に対して接種菌体数は 5000 以下に於て現われるものである。若し菌体数がこれ以上の場合には見掛け上は正常な繁殖を示す。其の原因は種々考えられるが更に実験的に追窮を要する問題である。Bio assay の報告は現在多数あるが此の問題に関して明確な解答を与えたものは未だ発表されていない。更に *Saccharomyces* の以上三者は amino acids のみを窒素源にした場合同時に vitamins を与えると正常な繁殖を示す。しかも三者間に要求する vitamins に種類の差異がある。即ち清酒酵母とアルコール酵母は pantothenic acid が無いと amino acids の培地には全く繁殖しないが, ビール酵母は対照培地に比較して 40~60% までは繁殖を示す。

清酒酵母とアルコール酵母との間では清酒酵母は *p*-aminobenzoic acid 欠培地では増殖時間が延引し増殖率も 80~90% となるがアルコール酵母にはこの現象は現われない。更にアルコール酵母では Biotin 欠培地に於て繁殖が悪く繁殖開始が遅れると同時に増殖率も対照に比し 10~15% の低率を示すが清酒酵母には此の影響は

ない。Biotin の影響はビール酵母にもあつて Biotin 欠培地ではビール酵母は繁殖悪く増殖率 10% 以下である。

これら vitamins に対する傾向は明瞭に現われたもののみを考察したのであつて詳細には他の vitamins に就いても更に検討を要する。

然してこのような実験は今迄にも全くないわけではなく、SCHULTZ⁽²⁾, WICKERHAM⁽³⁾, ATKIN⁽⁴⁾ 等が発表している中に見出す事が出来る。然し乍ら此等の報告に於ては今回の様な実用分類的なものを対照としていない。又 ATKIN の報告では先ず接種菌体量が相当に多く、更に amino acids 混合の代りに casein hydrolyzate (vitamins free) を用いている。著者は実験途中で一度この casein hydrolyzate を用いたが amino acids 混合培地と全く異なり、ATKIN 等が報告している様にはならず対照の培地と同一な繁殖を認め amino acids 混合培地に依る結果は得られなかつた。そこで ATKIN 等が用いたビール酵母の要求する vitamins と著者の実験とに多少の相違が生ずるのは寧ろ当然なものと考えている。

又此の vitamins 要求の差が生理的に安定性のあるものと考えられる一つの根拠として、本実験に使用した酵母が約半数各種共当坂口教室に数十年植つがれたものである事実である。即ち、麴寒天培地に繰返し植付けられて来た酵母と、今回新たに各現場から分譲を受けた酵母との間に何等の vitamins 要求の差が無かつた。

此のような amino acids 培地に於ける *Saccharomyces* の種類に依る vitamins 要求の差異は何に其原因があるかは大きな一つの問題である。又各の要求する vitamins がどのような役割りをしているのかに就いても追及する必要が今後に残されている。

総 括

1 清酒酵母, アルコール酵母, ビール酵母は窒素源に amino acids のみを与えても繁殖を認めないが硫安のみでは繁殖する。

2. 清酒酵母, アルコール酵母, ビール酵母は amino acids を窒素源とした場合 vitamins を要求し、其の各の酵母の要求する vitamins は種類に依り異なる。(Table 4, Fig. 1).

3. これらの現象は接種菌体量に影響があり、培養液 1 cc 当り接種菌体数 5000 以下なるを要する。

4. Amino acids 混合液の代りに casein hydrolyzate を使用すると、vitamins に関係なく繁殖し ATKIN 等の報告と相違がある。此原因の一つは上述の接種菌体数と関聯があると考えられるが、此の事に関しては菌体数の問題と共に後刻報告する予定である。

終りに臨み本研究に終始御懇篤なる御指導を賜りました恩師坂口謹一郎教授に感謝申上げると共に適切なる御助言を戴きました有馬助教授、坂口研究室の各位並びに御援助戴きました宮沢滋、角田俊直両氏に厚く御礼申し上げます。

又酵母分譲を辱くしました三共株式会社、東洋醸造株式会社、白鶴酒造株式会社、大日本製糖株式会社、本嘉納商店、キリン、ニホン両ビール株式会社の方々に厚く御礼申し上げます。

(1) H. SWANSON, and C. E. LIFTON : <i>J. Bact.</i> , 56, 155 (1948).	(3) WICKERHAM : <i>J. Bact.</i> , 52, 292(1944).
(2) SCHULTZ : <i>J. Bact.</i> , 40, 339 (1940); <i>Arch. Biochem.</i> , 14, 36 (1947); <i>Arch. Biochem.</i> , 19, 184 (1948).	(4) ATKIN. : <i>Arch. Biochem.</i> , 15, 305(1947); <i>Wallerstein Laboratories.</i> 7, 153 (1945).
	(5) 古在, 高橋 : 農学部紀要
	(6) 勝屋, 北村 : 日本醸造協会誌 44, 7(1949).

Summary

In this investigation, an attempt has been made to study growth of yeast, so-called brewery yeasts, distillery yeasts and sake-yeasts, in the solutions of amino acids mixture as nitrogen source. It was found that these groups of yeasts can not grow in the solution of amino acids mixture as nitrogen source without vitamins.

And these required vitamins were different among the above three groups of yeasts (see the figure 1).

These results can be observed when the inoculum size was controlled under 5000 cells per 1 cc of culture medium.

These growth requirments were found to be relatively stable and could be used to identify the above specific groups of the yeasts.