- (2) B. SUZUKI and U. NISHIMOTO *Proc. Imp. Acad.*, 6, 262 (1930).
 (3) *ibid.*, 8, 424 (1932).
 (4) E. TWITCHELL : *Ind. Eng. Chem.*, 12, 806 (1921).

Summary

The author investigated the phosphatide of Sawa-Millet oil and found out the following results :

1. Sawa-Millet oil contains about 0.14% phosphatide.
2. This phosphatide is composed of about 23% lecithin and about 76% cephalin.

日本産葡萄酒産膜酵母に関する研究 (第 1 報)

有 胞 子 産 膜 酵 母 の 分 類

横 塚 勇, 後 藤 昭 二 (山梨大学醸酵研究所)

昭 和 29 年 9 月 10 日 受 理

Studies on Japanese Wine Film Yeasts. Part 1. A Taxonomy of Sporulating Film Yeasts

By Isami YOKOTSUKA and Shôji GOTÔ (Research Institute of Fermentation, Yamanashi Univ.)

緒 言 葡萄酒の貯蔵中表面に生育する film yeasts の或る種のものは wine に香味共好影響を与える。即ち H. SCHANDERL⁽¹⁾, W. V. CRUESS^(2,3,4,5,6,7) 等多くの研究者は sherry 醸造に於ける film yeasts — “flor” — を分離、これらが sherry にそれ特有の香味を与えたと述べている。しかし film yeasts の生育する多くの場合にはアルコールの酸化、酸の増大、香味及び色調の悪変等の悪影響が目立つ。欧米に於ては早くから wine film yeasts の研究がなされて来たが、吾国では僅かに味噌、醤油に於て為された。

著者等は山梨県地方の wines の film yeasts による悪変の大なるを知り数年来 film yeasts の研究を始めたが、ここに分離した wine film yeasts を LODDER 等⁽⁸⁾の方式に依り分類検索した結果、有胞子酵母として *Pichia* 属 131, *Hansenula* 属 1, *Saccharomyces* 属 1, *Devariomyces* 属 1, *Sporobolomyces* 属 4 株を得たので報告する。

I. 資料及び分離方法

山梨県下の 56 の醸造所、葡萄園数カ所及び梨大醸酵研究工場の葡萄酒及び果汁 443 を資料とした。

Table 1. Sample

Region	Wineries	Variety of grape
Aioki	2	K., D., A.,
Enzan	4	K., D., Mills.
Ichimiya	3	K., A.,
Iwai	16	K., D., A.
Katsunuma	10	K., D., A.
Kōun	4	K., D.
Matsuzato	4	K., D., A.
Okunoda	7	K., D.
Satogaki	3	K., D., A.
Siozaki	1	D., Mills., Kawakami No. 2.
Suwa	4	K., D.
KOTOBUKIYA.	1	Mills, Merlot, Muscat Bailey A, B,
Inst. Ferment. of		" " " Red Millenium, Black Queen,
Yamanashi Univ.		Rose Ciotat, Chasseles Dere, K., D., A., etc.
K : Koshu, D : Delaware, A : Adirondac.		

集積には麴汁 (Brix. 10°, pH 5.0) と EtOH (3%) 及び醋酸 (0.05%) 含有の麴汁 (pH 4.6) を用い 20° 及び 30° にて集積、後酒石酸にて pH 3.2~3.4 に調製した麴寒天にて反復平板培養を行い、786 株を分離し斜面及液体培養の 266 株を選び、これを純粋分離し更に typical strains 174 株を選んで実験に供した。本報はこの中有胞子酵母 138 の結果である。

II. 実験方法

諸実験方法は総て LODDER 等⁽⁸⁾の方式に従ったが sugar assimilation は Auxanographic method のみで行った。Giant colony は Koji 及び malt gelatin を用い、20°, 50日後に観察した。

III. 実験結果及び類縁、考察

同一種の strains は Table 7 に上げた。又 WF 23 他 128 strains については次報に述べる。(各写真誌は続報参照)

Table 2~6 に示した実験結果より LODDER 等⁽⁸⁾の分類方法に従つて検索するに WF 174 (他 3 株) は kidney-shap の細胞及び sterigmata を持ち, carotinoid 性色素を生産する等明かに *Sporobolomyces* に属す。醗

Table 2. Cells and Pellicle in Malt Ext. at 20°

Strain No.	Cells after 3 days	Film
WF 174	oval, long oval to elongate, kidney shaped and sterigmata: $(4.0\sim6.0)\times(5.5\sim12.0)\mu$	wrinkled, pinkish white to salmon colored, dull pellicle.
WF 128	round to oval and long oval to cylindrical: $(2.0\sim4.0)\times(4\sim6)$, $(2.5\sim4)\times(6\sim10)$	white to yellowishgray, a thick, dull, wrinkled film
WF 153	long oval to cylindrical: $(3\sim4)\times(6\sim10)$	a white wrinkled pellicle
WF 107	round to short oval, $(3\sim7)\times(4\sim8)$	a very thin, smooth, moist film
WF 164	round to oval, $(2\sim3)\times(3\sim6)$; occasionally elongate.	a thick and creeping ring, in malt ext. a pall buff smooth thin film, in Koji ext.
WF 23	cylindrical, $(2\sim4)\times(8\sim18)$.	white, wrinkled thin film

Table 3. Streak Culture on Malt Agar at 20° after One Month.

Strain No.	Color	Elevation	Border	Surface
WF 174	pink to salmon-color	raised	erose to undulate	powdery, tough, roughly netted, moist, shiny, dull smooth:
" 128	white to pale olive-buff	"	lobate	moist, shiny, dull, powdeey or partly wrinkled:
" 153	cream-colored to white	"	"	dull, roughly wrinkled;
" 107	buff to cream-color	umbonate	erose to lobate	moist, dull, shiny, wrinkled over to entire surface with sectors:
" 164	milk colored	flat	entire	moist, shiny and smooth:
" 23	pale olive-buff	umbonate	undulate	moist, shiny, smooth over the whole surface:

Table 4. Spore and Slide Culture

Strain No.	Spore	Pseudomycelium	Blastospore
WF 174	kidney-shaped; 1	true mycelium is formed.	
" 128	hat-shaped; 1~3	+	+
" 153	round to oval; 1~4, hetero- or isogamous conjugation	+	+
" 107	round to oval; 1~4	-	-
" 164	round; 1~4, hetero- or isogamous conjugation	+	+
" 23	oval or hemispherical; 1~4	+	+

Table 5. Physiological Properties

Strain No.	Fermentation						Sugar assimilation					KNO ₃	EtOH	Splitting
	glucose	galactose	saccharose	maltose	lactose	raffinose	glucose	galactose	saccharose	maltose	lactose	assimilation	as sole source of carbon	of arbutin
WF 174	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-
" 128	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+
" 135	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-
" 107	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-
" 164	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
" 23	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-

Table 6. Giant Colony

Strain No.	Color	Form	Elevation	Diameter	Border	Surface
WF 174	pale salmon-colored	round	flat	20~30	entire	dry, dull, smooth on wrinkled and powdery
" 128	pale olive-buff	"	convex	16	erose	dull, dry, wrinkled; big crater at the center; many radiant ray.
" 153	vinaceous-buff to pale vinaceous fawn	"	"	9.5	entire	moist, dull, smooth.
" 107	white to olive-buff	star-like	capitate	11	lobate	dull, wrinkled; many concentric circles, several sectors.
" 164	pale olive buff	round	convex	8	repund	moist, dull, smooth.
" 33	tilleul-buff	"	"	8	entire	slightly moist, dull, smooth.

酵性なく, glucose を資化又硝酸加里をも資化するので *Sp. salmonicolor* と同定される。WF 128 は *Hansen-*

Table 7. Resembling Strains

Typical strain No.	Numbers of strains
WF 174	WF 188, WF 29, WF 33
" 128	
" 153	WF 140
" 107	
" 164	
" 23	128 strains

ula 属特有の hat-shape の胞子及び ester の生成能を持ち更に硝酸加里を資化する。Glucose, galactose, saccharose, maltose 及び raffinose を醗酵し, arbutin を分解するので *Hansenula anomala* と同定した。WF 153 (WF 140) は胞子は半球乃至橢円而又接合に依つても形成される。硝酸加里を資化せず。

arbutin を分解しない。皮膜を良く形成する等 *Pichia* 属に入る。Glucose を醗酵し glucose, galactose を資化するので *Pichia farinosa* と同定した。WF 107 は胞子は 1~4 個の円~橢円, 細胞も円~橢円, 其の他硝酸加里, アルコールを資化せず arbutin を分解しない等 *Saccharomyces* に属する。然して glucose, saccharose, maltose 及び raffinose を醗酵資化する事から *Sacch. fermentati* と同定される。しかし麦芽汁上薄膜を形成する事は差がある。WF 164 は streak culture が shiny entire 及び smooth である事, EtOH 培地に生育しない事及び malt ext. 上に ring を形成し Koji ext. 上では薄い皮膜を形成する事等が LODDER 等⁹⁾に依る *Devariomyces vini* と異なる。しかし他の性質—胞子は 1~4 個で, 接合による場合もあり, 糖を醗酵せず glucose, galactose, saccharose 及び maltose を資化する。更に KNO₃ を資化せず, arbutin を分解しない—が *Dev. vini* とよく一致するので一応本菌を *Dev. vini* と同定した。WF 23 外 128 株は glucose を資化するのみで醗酵力なく (WF 114 のみは僅かにガスの発生があつた), EtOH 培地上皮膜を形成 KNO₃ を資化せず arbutin を分解せず又胞子は 1~4 個で半円又は橢円である所から, いずれも *Pichia membranaefaciens* に属す。しかし吾々の実験結果によれば形態的な差が個個に見られた。この事については次報に述べる。

要 約

山梨県下殆ど全の醸造場等の葡萄酒及び果汁 443 資料より葡萄酒産膜酵母 786 株を分離, これより typical strains 174 株を選んだ。その中有胞子酵母 138 株を LODDER 等の方式に従つて分類した結果 *Pichia membranaefaciens* 129, *P. farinosa* 2, *Hansenula anomala* 1, *Devariomyces vini* 1, *Sporobolomyces salmonicolor* 4 及び *Saccharomyces fermentati* 1 を得た。

終りに御指導下さいました東大教授坂口, 朝井両先生及び研究に御協力下された滝千代子嬢に深謝致します。

(1) SCHANDERL, H.: <i>Wein und Rebe</i> , 18 Abt. (1936).	(6) CRUESS, W. V. HOHL, L. H.: <i>Zent. Bakt II Abt.</i> , 101, 65 (1939).
(2) CRUESS, W. V.: <i>Wine Rev.</i> , 5, 1 (1939).	(7) CRUESS, W. V. Bulletin 710 October, Coll. Agri., Unir. Calif. (1948).
(3) CRUESS, W. V. and HOHL, L. H.: <i>J. Bact.</i> , 36, 76 (1938).	(9) LODDER, J. and N. J. W. KREGER RIJ: <i>The Yeasts</i> (1952).
(4) CRUESS, W. V. WEAST, C. and GILILLAND, R.: <i>Fruit Prod. J.</i> , 68, 229, 251 (1938).	
(5) CRUESS, W. V. and I. BRAJNIOFF: <i>Food</i>	

Summary

786 cultures of film yeasts from 443 samples of wine and grapes collected at almost wineries etc. in Yamanashi Prefecture. 174 typical strains were selected and sporulating yeasts 138 were classified by LODDER's method. They included 129 strains of *Pichia membranaefaciens*, 3 of *P. farinosa*, 1 of *Hansenula anomala*, 1 of *Devariomyces vini*, 4 of *Sporobolomyces salmonicolor* and 1 of *Saccharomyces fermentati*.