

## 水産?酵食品の酵母に関する研究（第1報）：塩辛中の真正酵母菌の分類に就て

銭谷，武平  
九州大学農学部水産学教室

<https://doi.org/10.15017/21164>

---

出版情報：九州大学農学部学藝雑誌. 12 (3), pp.247-253, 1952-03. 九州大学農学部  
バージョン：  
権利関係：

# 水産醱酵食品の酵母に関する研究 (第1報)

## 塩辛中の真正酵母菌の分類に就て

銭 谷 武 平

Yeasts occurring in fishery-fermentation products

Part 1. On the generic classification of true yeast in "Shiokara"

Buhei Zenitani

### 緒 言

水産醱酵食品は塩辛及び其類似品、魚介醤油等の醱醬品、魚味噌及び魚粉ペースト等の如く製造工程の或る段階に於て微生物が醱酵作用を営み、それによつて熟成し香味を附与された製品であつてその種類も多い。特に塩辛類は昔から賞味され主に筋肉、内臓等の自己消化酵素と微生物及び食塩の作用によつて熟成される。その熟成前期は専ら自己消化酵素により後熟過程に於ては微生物が作用することは既にイカ塩辛に関する松井、深山両氏<sup>1)</sup>の研究、鰹塩辛に関する清水氏<sup>2)</sup>の研究によつて明らかにされた。塩辛類の微生物のうち細菌類に就ては既に若干の報告があるが酵母類に関しては極めて少い。即ち最初奥田氏<sup>3)</sup>は塩辛中に多数の酵母菌が存在することを指摘し喜多氏<sup>4)</sup>は分類学的に検討しイカ塩辛から4種の *Torula* 属酵母を分離した。又木村、小谷両氏<sup>5)</sup>は雲丹塩辛の異常醱酵の原体として2種の *Torula* 属酵母を分離した。他方塩蔵魚介汁も塩辛類と同様な菌類の生存環境と考えられるが Wehmer<sup>6)</sup>は鱈塩汁中に多数の酵母を認め特に "Salz Hefe" と称し *Torula* 属に入れた。その他半沢、武田両氏<sup>7)</sup>は塩蔵鱈の赤変の原体として *Torula Wehmeri* Hanzawa et Takeda を認め、木俣氏<sup>8)</sup>は水産煉製品のネトの一原体として *Torula Otanii* Kimata を分離した。斯様に水産加工品から総て *Torula* 属の酵母のみが分離されていることは他の醱酵食品の酵母分布とは大いに相違する事である。即ち農産醱酵食品のうち味噌、醤油、糠味噌、Cucumber Brine 等の如き含塩性食品の酵母類に関しては夫々詳細な分類学的研究が行われ多数の真正酵母菌の種類が決定され特に耐塩性酵母菌の孢子形成の困難なことも指摘されている。

著者は水産醱酵食品が本邦特有にして且栄養上秀れた食品であるにも拘らず尙原始的な製法に依存することを遺憾としてその熟成、保藏及び変敗に重要な関係をもつ微生物のうち酵母菌に関する研究を行つた。その結果多数の真正酵母菌を確認したので前記の如き水産食品から分離された酵母がすべて *Torula* であると記載されていることは孢子形成試験法の不全に基く誤謬であることを指摘したい。なお水産醱酵食品は他の醱酵食品に比し酵母菌相に著しい特色があることを明らかにした。

## 実 験 の 部

## I. 酵母菌の分離試料

酵母菌の分離には主に市販の塩辛及び其類似品、一部自家製品の分譲を受けたもの或は研究室に於て普通仕込法に準じて調製したものを供試材料とした。製品の熟成程度に就ては殊更に吟味をせず普通食用に供する程度を以て熟成品とみなし耐塩性酵母菌の分離を行った。尙雲丹、アサリ等の塩辛でガスを発生している製品も研究の対照とした。供試塩辛類の種類及び産地等は第 1 表の如くである。

第 1 表：分 離 試 料

試料符号	種 類	産 地	入手年月	摘 要
A	雲 丹 塩 辛	熊本縣 富岡町	IV, 1947	ムラサキウニ
B	〃	〃	〃	バフンウニ
C	〃	〃	〃	品 種 不 明
D	〃	〃	〃	バウンウニの内臓及び生殖腺
E	〃	長崎縣 平戸町	VI, 1947	品種不明, 異常醗酵製品
F	〃	熊本縣 富岡町	〃	品種不明, 異常醗酵製品
K	い か 塩 辛	下 関 市	〃	
L	〃	福 岡 市	〃	
M	え そ 塩 辛	〃	X, 1947	
N	しいら塩辛	長崎縣 壱岐	X, 1947	
O	かつを塩辛	鹿 児 島 縣	〃	
P	い か 塩 辛	福岡縣 柳河町	〃	
Q	〃	不 明	I. 1948	
R	あさり塩辛	福岡縣 中島町	II, 1948	熟成中ガス発生
S	かつを塩辛	宮崎縣 油津町	VI, 1948	
T	い か 塩 辛	佐賀縣 唐津市	XI, 1948	
U	うみたけ塩辛	〃	〃	
V	い か 塩 辛	鹿児島縣 枕崎市	X, 1948	
W	ぶり塩辛	長崎縣 五島	XI, 1948	
X	い か 塩 辛	岩 手 縣	III, 1949	
Y	このわた塩辛	長 崎 市	〃	

註：試料符号のうち欠号は酵母を分離し得なかつたもの。

## II. 酵母菌の純離法

塩辛中の食塩は約 20% 程度で熟成に關与する酵母菌も当然耐塩性を有するから最初の分離培養基には 15% 食塩含有の麦芽汁 (12' Bllg.) 寒天を用いた。試料を十分に混和し平板塗沫法に従い 30° に放置し菌の發育 (5~7 日) を待つて異なるコロニーを繪て分離し、平板培養を更に反復した後 Lindner 氏点滴培養法に依り純離した。斯くして多数の菌株を得たが同一試料からのものは整理し又一応同一種と認められる菌株でも試料が異れば繪て研究対照とした。尙菌株は試料符号に数字を附して區別し 21 試料から 合計 37 菌株を得ることが出来た。

### III. 子嚢胞子生産試験（真正酵母菌の決定）

従来の研究では水産加工品から分離された酵母菌は総て *Torula* 属と分類されている。然し乍らその一部は無胞子型酵母菌であつたとしても胞子形成試験を單に石膏法のみ  
に依存すれば胞子を生産せず *Torula* 属に入れられる懸念もあると思われる。一般に胞子  
生成には相當に難易があつて慣用法のみで全く胞子生成を見ない菌種でも無胞子酵母  
菌と決定することはなお躊躇されて夫々特殊の培養基を見出すなどの各種の方法が講じら  
れている。特に耐塩性酵母は胞子生産が困難であることは醬油酵母に就て高橋、湯川  
両氏<sup>9)</sup>、味噌酵母に就て茂木氏<sup>10)</sup>が夫々指摘され前者は稀釈醬油法、後者は人蔘汁石膏寒  
天を用い、Cucumber Brine 中の酵母に就ては Etchells 及び Bell<sup>11)</sup> が野菜汁を用い  
て胞子生成用の培養基として勝れている事を強調している。

塩辛酵母のうちには胞子生産の困難な種類が多く各種の試験方法に依つても生産不能の  
*Zygosaccharomyces* 属酵母等に著者は昆布汁寒天法及びマンニツト寒天法、米糠汁寒  
天法を創案応用することにより胞子を生成せしめることに成功して 37 菌株のうち 29 菌  
株を真正酵母菌と確認することが出来た。

A. 前培養：—前培養は胞子生産に著しい影響を与えるから濃厚麦芽汁（16° Bllg.）又  
はこれに 1% 肉汁を添加した寒天斜面に新鮮培養を数回反復した強壯酵母を次の試験培  
養基の末端迄に十分に接種した。

B. 胞子生産試験培養基：—次記の如き方法を採用した。1) Gorodkowa 寒天, 2)  
稀釈醬油法<sup>9)</sup>, 3) 5% 食塩 2% 葡萄糖ブイヨン, 4) 人蔘汁石膏寒天<sup>10)</sup>, 5) 稀釈麦芽  
汁寒天 (6° Bllg.)<sup>12)</sup> 6) ペプトン寒天, 7) 葡萄酒<sup>13)</sup>, 8) 人蔘片, 9) 馬鈴薯片, 10)  
石膏法（無菌水又は稀釈麦芽汁を使用）。

接種後 25°, 30° 或は室温に静置し隔日に観察し培養 5 週間後になお胞子形成を見ないも  
のは同試験を更に 3 回反復した後無胞子酵母菌と認定した。著者は胞子生成用培地を次の  
如く調製して好結果を得た。

(1) 昆布汁寒天—利尻昆布末に 10 倍量の 0.5% 硫酸を加え 1 晝夜放置後、浸出液を  
濾別し 10% NaOH を用いて pH を 4.5 に調節し寒天 2% を加えて斜面にした。

(2) マンニツト寒天—マンニツト 0.5%, ペプトン 1.0%, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.1%, NaCl 1.0  
%, CaSO<sub>4</sub> 1.0% に寒天 2% を加えて斜面にした。

(3) 米糠汁寒天—赤糠 5%, 乾燥酵母 2%, グリセリン 2.5%, CaCO<sub>3</sub> 1% を 30 分  
間煮沸し其儘寒天 2% を加えて斜面にした。

C. 胞子の確認：—確定困難な場合及び *Debaryomyces* 属の胞子の疣の不明瞭な場  
合には Klöcker の胞子染色法に従い確認した。

### IV. 試験結果並に観察事項

供試 37 菌株中 29 菌株の胞子生産を確めた。其結果は第 2 表の如くで又子嚢胞子の形  
成は Figure 1 に 8 例を掲げた。*Zygosaccharomyces* 属の胞子生産は困難であつて耐  
塩性酵母で有効と認められた方法も塩辛酵母には不適当な場合が多く N<sub>1</sub> 及び Q<sub>2</sub> の 2 菌  
株は昆布汁寒天にのみ胞子生産をした。又 R<sub>1</sub> 及び R<sub>3</sub> は Gorodkowa agar 上では異胎  
接合をなし昆布汁寒天では同胎接合をした。（図並に写真参照）。*Debaryomyces* 属の  
胞子生産は 12) 及び 13) 培養基が Gorodkowa agar と同様に良い結果を与えた。

Table 2: The ascospore-formation of "Shiokara"-yeasts"

Strain	Spore			Sporulation Test	Culturing		Note
	Form	Size ( $\mu$ )	Number*		Tp°C	Days	
A <sub>1</sub>	Round	2.5~3.0	1~2	Gips block	25	4	Spores, more or less warty.
A <sub>2</sub> , C <sub>4</sub>	"	2.5~3.2	1~2	Gorodkova agar	25	4	
B <sub>1</sub> , C <sub>1</sub> , Q <sub>3</sub> , R <sub>4</sub>	"	2.5~3.0	1	Gorodkova agar	25	4~6	
C <sub>2</sub>	"	3.0~4.0	1	Gorodkova agar	25	4	
O <sub>9</sub> , P <sub>2</sub> , Q <sub>4</sub>	"	2.5~3.0	1~2	Gorodkova agar	25	4~7	
S <sub>2</sub> , S <sub>4</sub>	"	2.4~3.0	1	Mannitol agar	25	4	
S <sub>3</sub>	"	2.4~3.0	1	Man. agar and	Rt.†	10	
V <sub>1</sub>	"	3.2~4.0	1	Rice bran agar	Rt.	6	
W <sub>1</sub>	"	2.4	1	Mannitol agar	Rt.	8	
X <sub>1</sub>	"	2.5~3.2	1	Rice bran agar	25	2	
X <sub>3</sub>	"	2.5~3.0	1		Rt.	10	
Y <sub>1</sub>	"	2.5~3.0	1				
E <sub>1</sub>	Round	3.0~4.0	1~3	Kombu-extract agar	Rt.	20	Spores formed by isogamous or heterogamous conjugation.
F <sub>1</sub>	Round	3.0~3.5×	1~4	5% NaCl, 2% glucose Bouillon agar	25	12	
F <sub>2</sub>	~oval	3.5~4.0			Rt.	20	
N <sub>1</sub>	"	2.0~3.0	1~4		Rt.	20	
Q <sub>2</sub>	"	2.4~3.0×	2~4	Kombu-extract agar	25	4	
R <sub>1</sub>	"	3.0~3.2			Rt.	25	
R <sub>2</sub>	"	2.4~3.2	1~2		Rt.	12	
R <sub>3</sub>	"	2.5~3.2×	2~4		Rt.	12	
U <sub>1</sub>	"	3.2~4.8	1~3	Mannitol agar	Rt.	19	
U <sub>1</sub>	"	2.4~3.2	2		Rt.	19	
M <sub>3</sub>	Round	3.2~4.0	1	Wort agar	35 Rt.	5	Spores formed after unsuccessful attempt to conjugate.
C <sub>3</sub>	Cap	2.0~2.5	2~3	Gorodkova agar	25	5	

Note : \* Spore per Ascus, † Room temperature.

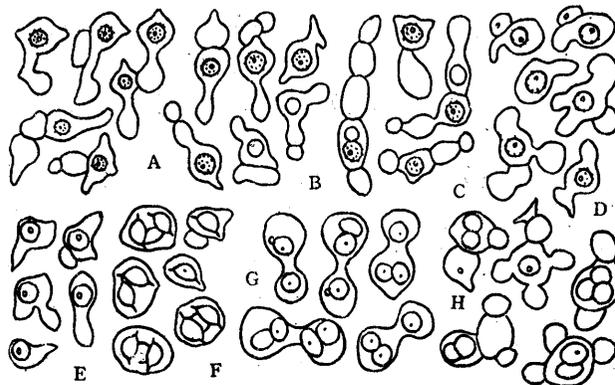
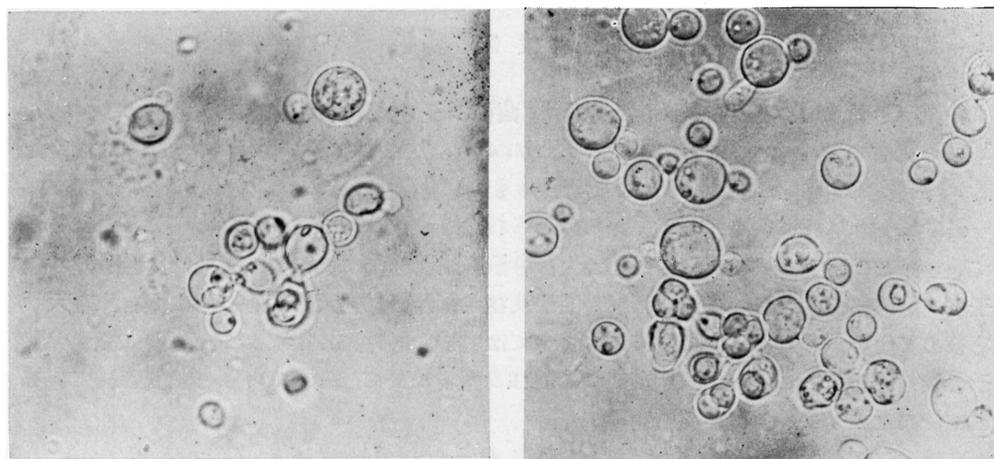


Figure 1. Asci and ascospores of "Shiokara"-yeasts.

- (A) *Debaryomyces* sp. B<sub>1</sub>      (E) *Torulasporea* sp. M<sub>3</sub>  
 (B) *D.* sp.                      C<sub>2</sub>      (F) *Hansenula* sp. C<sub>3</sub>  
 (C) *D.* sp.                      O<sub>9</sub>      (G) *Zygosaccharomyces* sp. N<sub>1</sub> (Isogamous conjugation)  
 (D) *D.* sp.                      S<sub>2</sub>      (H) *Z.* sp. R<sub>3</sub> (Heterogamous conjugation)



Z. sp. N<sub>1</sub> (X 1000)

Z. sp. R<sub>3</sub> (X 1000)

Figure 2. Sporulation of *Zygosaccharomyces* sp. N<sub>1</sub> and R<sub>3</sub> on "Kombu"-extract agar (after 5 days at 30°C).

*Debaryomyces* 属の特徴である胞子の疣の出現時期に就ては長西氏<sup>12)</sup>と茂木<sup>10)</sup>氏は夫々異なる観察を行い Mrak 及び Bonar<sup>14)</sup>は疣の出現には低温が必要であると述べているが、著者の観察では Gorodkowa agar よりも米糠汁寒天に形成した胞子には疣が明瞭であつて酵母の栄養状態も影響するのではないかと考えられる。

#### V. 塩辛酵母の所屬位置

眞正酵母菌 29 菌株の分類学的位置を Stelling-Dekker の分類を修正した Skinner<sup>15)</sup> の分類に従い決定すると第 3 表の如くである。尙無胞子酵母菌は一応 *Fungi Imperfecti* と一括したが其属名と眞正酵母菌の種名は後報に譲る。

Table 3. Generic classification of "Shiokara"-yeasts.

Genera of <i>Endomycetaceae</i> (Adopted from Skinner)	
Class <i>Ascomycetes</i>	Oder <i>Endomycetales</i> .
Subfamily	C. <i>Saccharomycoideae</i> .
Tribe b. <i>Saccharomyceteae</i> .	
Genus I. <i>Saccharomyces</i> .	
Subgenus <i>Zygosaccharomyces</i> .....	E <sub>1</sub> , F <sub>1,2</sub> , N <sub>1</sub> , Q <sub>2</sub> , R <sub>1</sub> , R <sub>3</sub> , U <sub>1</sub> . 8 strains
Genus II. <i>Torulasporea</i> .....	M <sub>3</sub> . 1 strain
Genus IV. <i>Hansenula</i> .....	C <sub>3</sub> . 1 strain
Genus V. <i>Debaryomyces</i> .....	A <sub>1</sub> , A <sub>2</sub> , B <sub>1</sub> , C <sub>1</sub> , C <sub>2</sub> , C <sub>4</sub> , O <sub>9</sub> , P <sub>2</sub> , Q <sub>3,4</sub> , R <sub>4</sub> , S <sub>2</sub> , S <sub>3</sub> , S <sub>4</sub> , V <sub>1</sub> , W <sub>1</sub> , X <sub>1</sub> , X <sub>3</sub> , Y <sub>1</sub> . 19 strains
Non-ascospore forming yeasts and yeasts-like-fungi.	
Class <i>Fungi Imperfecti</i>	Oder <i>Moniliales</i>
D <sub>1</sub> , K <sub>1</sub> , M <sub>1</sub> , M <sub>2</sub> , O <sub>2</sub> , S <sub>1</sub> , S <sub>5</sub> , X <sub>2</sub> . 8 strains	

## 考察並に総括

各種塩辛類 21 試料から分離した酵母 37 菌株のうち真正酵母菌は *Debaryomyces* 属 19 株, *Zygosaccharomyces* 属 8 株, *Hansenula* 属並に *Torulasporea* 属各 1 株の合計 29 菌株であつて無孢子酵母菌と認め得るものは 8 菌株であつた。

従来塩辛及び其他の水産加工品から分離された酵母菌は殆ど皆 *Torula* 属と記載されているがこの研究の結果によればその大部分が真正酵母菌であつた。著者は食塩酵母の孢子生成試験に有効とされている稀釈醬油法及び人蔘汁イ膏寒天法の外に特に昆布汁寒天法を初めて用いることによつて従来法によつては孢子形成を認め得なかつた菌種に於ても孢子形成を確認することが出来た。従つて既往の報告に於て *Torula* 属と記載されている菌は検討を要する訳である。

塩辛中の真正酵母菌の主體をなせるものが *Debaryomyces* 属と *Zygosaccharomyces* 属であることは他の醗酵食品と対比して著しい特徴であると考えられる。

本研究は九大農学部水産化学教室で行つたもので終始御指導を賜つた恩師富安教授に深く感謝の意を表す。尙文部省科学研究費(富安教授)に依つた。附記して謝意を表す。

## 文 献

1. 松井, 深山: 水講試験報告, **12**, 3 册, 1~14 (大 5).
2. 清水 亘: 水産製造会誌, **2**, 56 (1934).
3. 奥田 譲: 農学会報, **115**, 11 (明 45).
4. 喜多源逸: 工業化学雑誌, **15**, 151 (大 1).
5. 木村, 小谷: 水講試験報告, **22**, 292 (昭 2).
6. C. Wehmer: Z. f. Bakt., II, **3**, 209 (1897).
7. M. Hanzawa and S. Takeda: Arch. f. Mikrobiol., **2**, 1 (1931).
8. M. Kimata: Memories Coll. Agr. Kyoto. Univ., **59**, 63 (1951).
9. T. Takahashi and M. Yukawa: J. Coll. Agr. Imp. Univ. Tokyo, **5**, 227 (1915).
10. 茂木正利: 農化, **14**, 1175 (昭 13); **15**, 1023 (昭 14).
11. Etchells, J. L. and Bell, T. A: Farlowia, **4**, 87 (1950).
12. 長西広輔: 醸学, **12**, 229, 244 (昭 9).
13. Gh. Baltatu: Z. f. Bakt., II, **101**, 196 (1940).
14. Mrak, E. M. and Bonar, L.: Mycologia, **30**, 182 (1938).
15. Skinner, C. E., Emmons, C. W. and Tsuchiya, H. M.: *Henrici's Molds, Yeasts and Actinomycetes*, 274~275 (1948).

(九州大学農学部水産化学教室)

(長崎大学水産学部製造学教室)

### R é s u m é

The present investigation was carried out to obtain the basic information on the classification of yeasts in various kinds of "Shiokara." 37 strains of yeasts obtained from 21 samples were divided into 29 strains of true yeast and 8 strains of *Fungi Imperfecti*. The true yeasts were classified as follows: *Debaryomyces* 19 st., *Zygosaccharomyces* 8 st., *Hansenula* and *Torulaspota* one strain.

As the sporulation of salt-tolerance yeasts is very difficult, in some cases impossible, by any common method, these have usually been classified as the asporogenous yeast (*Torula*). The author could achieve the sporulation of "Shiokara"-yeasts by employing three media described below, thus establishing the superiority of these media to other ordinary ones.

- 1) Kombu-extract agar: Kombu (brown seaweed) was extracted with ten part of 0.5 % sulfuric acid for 24 hours, filtered and adjusted to pH 4.5 with 10 % NaOH, then agar (2 %) was added, tubed and sterilized.
- 2) Mannitol agar: 0.5 % mannitol, 1.0 % peptone, 0.1 %  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0.5 % NaCl, 1.0 %  $\text{CaSO}_4$  and agar.
- 3) Rice bran agar: 5 % rice bran, 2 % dry yeasts, 2.5 % glycerol, 1 %  $\text{CaCO}_3$  and agar.

The results given above lead us to believe that the classification of all yeasts isolated from fishery-products as *Torula* is due to the employment of the common or incomplete methods for the sporulation.

Compared with the yeast flora of the agricultural fermentation products, the characteristic of the yeast flora of "Shiokara" is considered to consist in the most widespread distribution of the yeasts belonging to *Debaryomyces* and *Zygosaccharomyces*.