

## 醤油麴中の細菌の生産する抗黴性物質（第1報）

# 抗黴性物質生産菌の分離と同物質の調製

中 浜 敏 雄・萬 雄 治

TOSHIO NAKAHAMA, YUJI MAN: On the antifungal substance produced by one of bacteria which grow in soja-koji usually. (Part 1)  
The isolation of one of the bacteria producing antifungal substance and the separation of it from the culture solution.

### 結 論

抗黴性物質生産菌に対する研究として JOHNSON<sup>(1)</sup>, LANDY<sup>(2)</sup>, MICHENER<sup>(3)</sup>, 照井及び芝崎<sup>(4)</sup> 等の報告がある。著者等は醤油麴の製麴中の物料に *Absidia* 及び *Mucor* の生育を抑制する細菌の存在を屢々発見した。

醤油用の製麴は清酒用の場合に比較して粗雑な取扱いをされる場合が多く、従つて空気中や器物等から迷入する *Absidia*, *Mucor* 及びその他の糸状菌が混入するのが普通である。しかしながら製麴に当り種麴を接播するために麴菌が速かに繁殖し、そのため普通混入糸状菌が優勢に繁殖する余地は無いものと推察される。混入糸状菌については一時にその多量に迷入するとは考えられないから、当然以上の推定は論理的に解釈さるべきである。然る処著者等は混入糸状菌の繁殖を抑制する細菌の類が著者等の採取した殆んど製の試料について繁殖しているのを発見したので、これらの細菌もまた迷入糸状菌の繁殖を或程度抑制する一因をなすものではなからうかと想像した。しかも著者等が今まで分離した抗黴性物質生産細菌の殆んどは *Aspergillus* 属に対するよりは *Absidia* 属, *Mucor* 属及びその他に対して、一層強い抑制作用を示していた。又20回の試料採取（3工場より）中2試料に対してはかかる抗黴性物質生産細菌を発見する事が出来なかつたが、この場合麴菌の繁殖が旺盛で十分な検索が出来なかつたので実験上の不備と見なすべきであり、他の18試料に対してはいずれもそれぞれ抗黴性物質生産菌の聚落を発見した。とも角普通の醤油用製麴法に於ては大體に於てかかる細菌の生育が推察し得るので製麴上その作用を無視する事は出来ないと思う。著

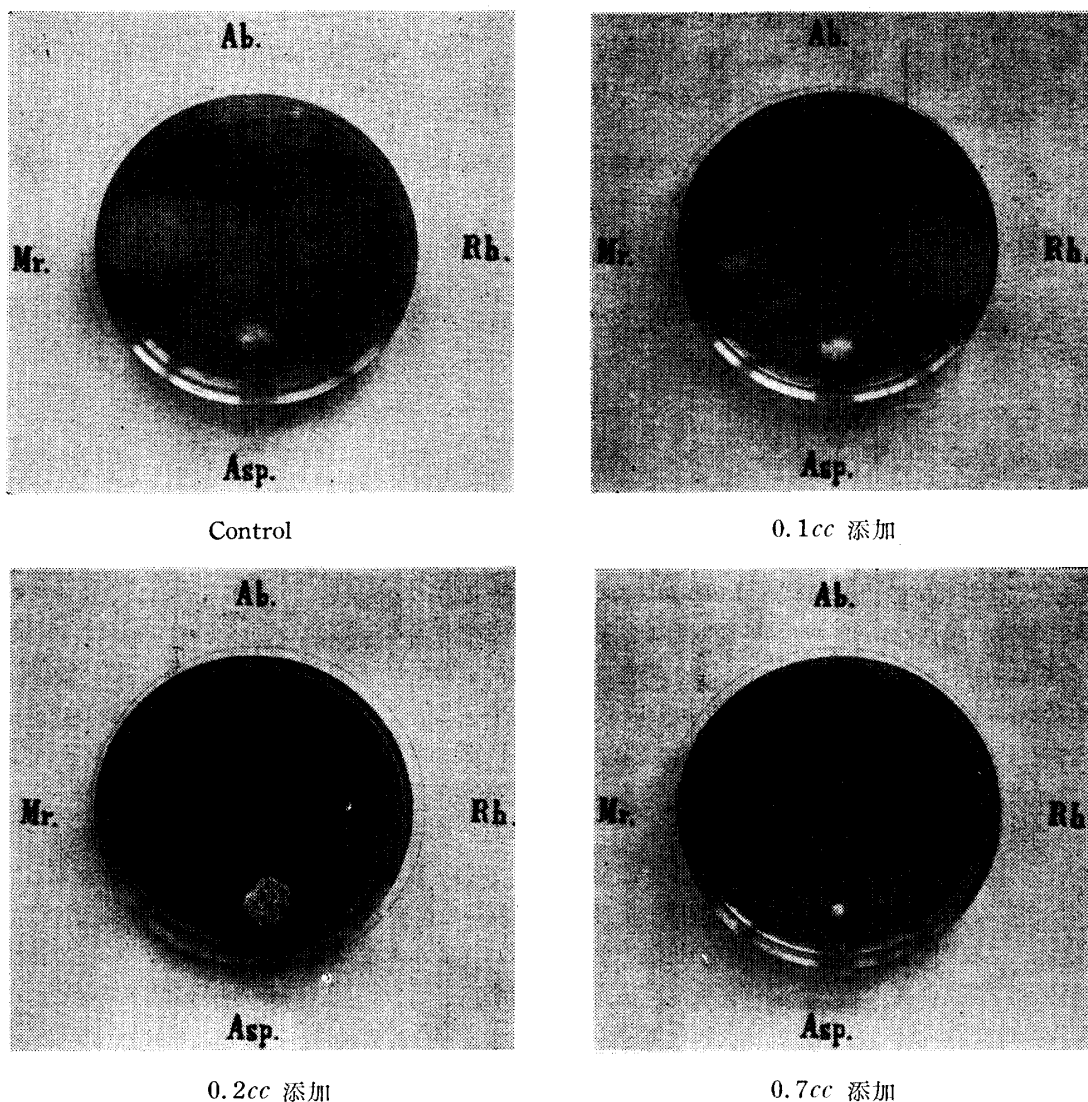
者等は分離した細菌より抗黴性強力なる1株を選択してその分類学的特徴を検索する一方、抗生物質生産の条件並びにその性質について検討したので報告する。

### 実 験 の 部

#### (1) 菌の分離と選択

抗黴力試験の対照糸状菌としては著者等が醤油麴より常法に依つて分離した *Absidia* 属, *Mucor* 属, *Rhizopus* 属, 各1株と種麴の原株である *Aspergillus oryzae* 1株合計4株を使用した。

抗黴性物質生産細菌の分離は3醤油工場（京都府2ヶ所, 静岡県1ヶ所）で製麴された物料より試料を採取し麴汁・肉汁寒天に混じて平面培養を行う際に生成する糸状菌の聚落の近接部の發育を抑制する如く見える細菌の聚落より菌株を分離し、この菌株に就いて照井・芝崎<sup>(5)</sup>の静菌力測定法に準ずる方法によりその抗黴性物質の生産を確めた。即ち分離細菌を麴汁・肉汁培地に繁殖せしめた培養液にペニシリン 1mg/cc を加えて暫時放置し細菌を死滅せしめたもの 1cc を含む麴汁寒天培地 10cc をペトリシャーレに注入、固化せしめた後平板の4隅に対照糸状菌の孢子懸濁液 1白金耳宛を接種して 30° に置き夫々の糸状菌が發育して完全な聚落を形成し得るやを観察し、4種の糸状菌の中1種でもその發育が阻止される場合は抗黴性物質が生産されているものと推定した。20試料の中18試料より合計24株の抗黴性物質生産菌を分離し得たが、その中4種の糸状菌全部の發育を阻止したものの2株、又 *Aspergillus oryzae* のみを阻止しなかつたものの2株であつた。前者の場合も細菌培養液の混入量を 1/50 に稀釈すると *Aspergillus oryzae* は十分に繁殖した。又これらの中抗黴性物質の生産力が顕著である1株を



Ab.: *Absidia sp.* Asp.: *Aspergillus oryzae* Rh.: *Rhizopus sp.* Mr.: *Mucor sp.*

第 1 図

*Bac. AR* と仮称してその分類学的特徴及び抗微生物性の検討を行つた。

(2) 細菌の分類学的特徴

加糖ブイオンに増殖せる栄養細胞は短桿状 (0.6~0.8×2.0~4.0 $\mu$ ) 両端鈍円。鞭毛は細胞の両端に束生し活潑に運動する。グラム染色は陽性。胞子嚢は桿状 (0.8~1.0×3.0~5.0 $\mu$ )。胞子は細胞の略中心に存在し、楕円形 (0.5~0.7×1.0~2.0 $\mu$ ) である。

加糖ブイオン寒天上の聚落は、不整形、灰色、無光沢。ブイオン液体培地では培養の初期に僅かに濁濁するが直ちに有皺皮膜を形成し液は透明となる。肉汁ゼラチン穿刺培養では Napiform に液化する。牛乳は凝固せず、ペプトン化し、リトマス乳清を徐々に青変する。血清寒天を液化せず、馬鈴薯培地上の聚落は、灰色、皺曲状。色素を生産せず、メチレンブルーを褪色

しない。カタラーゼ、ウレアーゼ、オキシダーゼを有する。加糖ブイオン培地に於て硫化水素を生成せず、アセトインを生成する。ペプトン水に於てインドール、スカトールを生成しない。硝酸塩還元性があり、澱粉を加水分解する。シュクローズ、グルコース、マルトース、フラクトース、デキストリン、グリセリンより生酸する。その他、形態的及び生理的特徴より BERGEY<sup>(6)</sup> の分類に依る *Bacillus cereus* FRANKLAND に近似する。只血清を液化しない点に於て稍異なる。以上の特徴より *Bac. AR* は *B. cereus sp.* と認める事が至当であろう。

(3) 抗微生物物質生産の条件と経過

(a) *Bac. AR* の抗微生物性

*Bac. AR* を麴汁・肉汁培地で 30°, 7日間培養後その培養液について前記に準ずる抗微生物力試験を行つ

た。尚表に於て *Bac. AR* 培養液量は対照糸状菌の培地たる麴汁寒天培地に添加した *Bac. AR* 培養殺菌液量を示し、又この対照糸状菌に対する *Bac. AR*

の力価は糸状菌培地 1 cc に対しその生育阻止に必要な *Bac. AR* の培養殺菌液量の最低量の逆数を以て表示した。

第1表 *Bac. AR* の抗微生物性 (+は対照糸状菌の繁殖を示す)

<i>Bac. AR</i> 培養液量 (cc) 糸状菌	control	0.01	0.05	0.07	0.1	0.2	0.5	0.7	1.0	1.5	2.0	3.0	力価( $\frac{1}{c}$ )
<i>Absidia sp.</i>	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	100.0
<i>Rhizopus sp.</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	14.3
<i>Mucor sp.</i>	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	50.0
<i>Aspergillus oryzae</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<3.3

第1表に示す如く *Absidia sp.* 及び *Mucor sp.* に対しては比較的強力な抗微生物性を示すが *Rhizopus sp.* に対しては稍劣り *Aspergillus oryzae* に対しては甚だ微弱な抗微生物性を示すに過ぎなかつたが、この場合に於ても培養液量の添加量の増加と共に *Asp. oryzae* の繁殖は劣勢となり 1.0 cc 以上添加したのものには孢子の形成は認められなかつた。

(b) 培養基組成の検討

窒素源として燐安、尿素、肉汁、或はペプトン、又炭素源として麴汁又はグルコース等を含む数種の培地に於て、30°, 7日間培養後その培養液の抗微生物力を測定した結果第2表の如くであつた。尚燐安又は硫安

等を窒素源として使用した場合は殆んど細菌の繁殖を認めなかつた。

表に示す如く培地Aに繁殖せしめた場合が最も力価高く、次いで培地E即ち脱脂大豆抽出液を用いた場合であるが、この事より製麴物料に多量の大豆又は大豆粕を使用する所の醤油麴製造中に於てこれらの細菌が繁殖する際の抗微生物作用を想像する事が出来る。

(c) 製麴原料に培養した *Bac. AR* の抗微生物性

脱脂大豆 25g, 割砕小麦 25g を混合し、これに水 50 cc を撒布し殺菌後 *Bac. AR* の種培養 10 cc を加え 30°, 7日間製麴様培養を行つた後これを水 100 cc で抽出し、抽出液の抗微生物力を測定した結果第3表に示

第2表 *Bac. AR* の培養基組成と抗微生物性 (30°)

培養基	組	成	系	状	菌	力	価 ( $\frac{1}{c}$ )	
A	ペプトン 肉エキス 食塩 麴汁(糖濃度5%)	0.5 g	<i>Absidia sp.</i>			>	50.0	
		0.5 g					<i>Rhizopus sp.</i>	10.0
		0.1 g					<i>Mucor sp.</i>	> 50.0
		100.0 cc					<i>Aspergillus oryzae</i>	3.3
B	ペプトン 尿素 グルコース KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O CaCO <sub>3</sub> 水	0.5 g	<i>Absidia sp.</i>			<	3.3	
		0.1 g					<i>Rhizopus sp.</i>	<< 3.3
		4.0 g					<i>Mucor sp.</i>	<< 3.3
		0.01g					<i>Aspergillus oryzae</i>	<< 3.3
		0.005g						<< 3.3
0.01g								
100.0 cc								
C	尿素 麴汁(糖濃度5%)	0.2 g	<i>Absidia sp.</i>			<	10.0	
		100.0 cc					<i>Rhizopus sp.</i>	< 3.3
							<i>Mucor sp.</i>	5.0
							<i>Aspergillus oryzae</i>	< 3.3
D	燐酸アンモン 麴汁(糖濃度5%)	0.2 g	<i>Absidia sp.</i>			<	5.0	
		100.0 cc					<i>Rhizopus sp.</i>	< 3.3
							<i>Mucor sp.</i>	< 3.3
							<i>Aspergillus oryzae</i>	< 3.3
E	脱脂大豆抽出液 (全窒素 0.2g/100cc)	100.0 cc	<i>Absidia sp.</i>			<	20.0	
							<i>Rhizopus sp.</i>	6.7
							<i>Mucor sp.</i>	6.7
							<i>Aspergillus oryzae</i>	< 3.3

第3表 製麴原料に培養した *Bac. AR* の抗微生物性

培養液 (cc)	糸状菌	control	0.01	0.05	0.07	0.1	0.2	0.5	0.7	1.0	1.5	2.0	3.0	力価( $\frac{1}{c}$ )
	<i>Absidia sp.</i>	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	100.0
	<i>Mucor sp.</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	20.0
	<i>Aspergillus oryzae</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	< 3.3

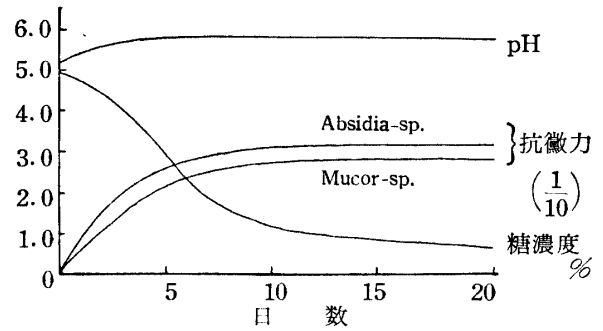
す通りであった。

表に示す如く *Aspergillus oryzae* に対しては抗微生物性は弱い、その他の糸状菌には明かな抗微生物性を示した。よつてかかる固体培地に於ても、この細菌は旺盛に繁殖すると共に抗微生物物質を生産する事を認めた。

(d) 培養液の変化

*Bac. AR* を前記A培地に30°、に培養し培養液の糖濃度、抗微生物力の変化及び pH を培養日数の経過と共に測定した。抗微生物力測定は前記の方法により、又糖はベルトランド法により測定した、その結果は第2図に示す通りであった。

図に示す如く糖は接種後暫時の後急激に減少しその後次第に緩慢となり、糖の減少と共に抗微生物力は増加する。pH は 5.8 附近に達した後は培養期間中殆んど変化が無い。



第2図 培養経過 (30°)

(4) 各種既知菌株に対する抗微生物性

*Bac. AR* を前記A培地に 30°、7日間培養し、その培養液について第4表に示す各種の既知菌株に対する抗微生物性を測定した。

表によつて明かな如く *Bac. AR* の培養液中の抗微生物

第4表 各種既知菌株に対する抗微生物性

菌 株	力価( $\frac{1}{c}$ )	菌 株	力価( $\frac{1}{c}$ )
<i>Asp. niger</i> van TIEGHAM	100.0	<i>Mucor rouxii</i> anus WHEHMER	10.0
<i>Asp. flavus</i> LINK	20.0	<i>Absidia lichtheimi</i> LENDNER	33.3
<i>Asp. ostianus</i> WEHMER	10.0	<i>Cunninghamella echinulata</i> SACCARDO	33.3
<i>Asp. wentii</i> WEHMER	20.0	<i>Syncephalastrum racemosum</i> SCHROETER	33.3
<i>Asp. awamori</i> NAKAZAWA	10.0	<i>Neurospora sitophila</i> SHEAR et DODGE	100.0
<i>Pen. spinulosum</i> THOM	100.0	<i>Pichia membranaefaciens</i> HANSEN	6.7
<i>Pen. veltinum</i> van BEYMA	6.7	<i>Hansenula anomala</i> HET P. SYDOW	5.0
<i>Pen. corylophilum</i> DIERCKX	6.7	<i>Schwaniomyces occidentalis</i> KLOCKER	< 3.3
<i>Pen. notatum</i> WESTLING	10.0	<i>Saccharomycodes ludwigii</i> HANSEN	10.0
<i>Pen. roqueforti</i> THOM	20.0	<i>Saccharomyces delbrückii</i> van MONGOLICUS	< 3.3
<i>Rh. nigricans</i> EHRENBERG	100.0	<i>Torulospora delbrückii</i> LINDNER	< 3.3
<i>Rh. tritici</i> SAITO	6.7	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i> BAINIER	333.3
<i>Rh. javanicus</i> TAKEDA	10.0	<i>Candida tropicaulis</i> BERKHOUT	3.3
<i>Rh. chinensis</i> SAITO	10.0	<i>Candida utilis</i> LODDER et van RIJ	< 3.3
<i>Rh. oryzae</i> WENT et PRNSSEN GERLIGS	10.0	<i>Willia belgica</i> LINDNER	1000.0
<i>Mucor circinelloides</i> van TIEGHAM	33.3	<i>Mucor sp.</i>	50.0

物質は著者等が製麴物料より分離した *Absidia sp.* 及び *Mucor sp.* に対して抗微生物性を示すのみならず、多くの糸状菌に対しても広くその抗微生物性を認め得た。一

方酵母に対しては2、3の例外を除けば抗微生物性は極めて弱いか又は殆んど認められなかつた。

(5) *Bac. AR* の耐塩性

製麴中に麴菌と共に *Bac. AR* が繁殖した醤油麴が諸味仕込のために使用された際、*Bac. AR* が尚高食塩濃度の諸味中で繁殖を続けるならば抗微生物物質も引きつづき生産されるであろう。この時の実情を探索す

る目的で前記A培地に食塩を夫々 5, 8, 12 及び 18% の濃度に添加し *Bac. AR* を接種後その繁殖状態を糖消費率によつて測定すると共にその培養液の抗微生物性を測定した。

第5表 食塩含有培地に於ける繁殖とその液の抗微生物力 (30°, 7日間)

食塩濃度 %	糖消費率 %	糸状菌	力価 ( $\frac{1}{c}$ )
0.5 (対照)	54.31	<i>Absidia sp.</i>	50.0
		<i>Mucor sp.</i>	20.0
		<i>Aspergillus oryzae</i>	< 3.3
5.0	60.36	<i>Absidia sp.</i>	10.0
		<i>Mucor sp.</i>	20.0
		<i>Aspergillus oryzae</i>	< 3.3
8.0	12.46	<i>Absidia sp.</i>	10.0
		<i>Mucor sp.</i>	10.0
		<i>Aspergillus oryzae</i>	< 3.3
12.0	5.31	<i>Absidia sp.</i>	< 3.3
		<i>Mucor sp.</i>	< 3.3
		<i>Aspergillus oryzae</i>	< 3.3

食塩濃度18%以上では *Bac. AR* の繁殖は殆んど認められなかつた。表に示す如く食塩濃度12%では糖消費率は著しく減少し細菌の繁殖も微弱で、殆んど抗微生物性を示さない。従つて該菌は製麴中に於ては抗微生物物質生産が可能であるが諸味中に於ては新たに抗微生物物質を生産する事はないものと推定し得る。

(6) 抗微生物性に対する温度及び pH の影響

前記A培地に 30°, 7日間培養した *Bac. AR* の培養液を夫々 pH 2.0, 5.8, 及び 9.0 に調整し、100° の沸騰水中に 2分及び 5分間浸漬後、その抗微生物性を測定した。

2分間及び 5分間煮沸に於てその抗微生物性は明かに減少するが、殊に中性以外の溶液中に於ける加熱に対しては不安定である。

(7) *Bac. AR* 培養液の製麴に対する影響

製麴状態に於て該菌の示す抗微生物作用を検討するため脱脂大豆 25g に水 100cc を撒布し40分煮沸後、焙炒割砕小麦 25g を混合し殺菌の後予め用意した *Bac. AR* の培養液にペニシリンを 1 mg/cc 添加して、*Bac. AR* の細胞を死滅せしめた液 5cc を夫々撒布し、これに各糸状菌孢子懸濁液 5cc を夫々単独に加えて 30° で製麴状態に培養し、各糸状菌の繁殖の有無を観察した。

表に示す如く *Bac. AR* の培養液を撒布すると *Mucor sp.* は殆んど完全に発育が抑制され、*Absidia sp.* も繁殖が抑制され7日後に至つても孢子の着生は認められなかつた。一方 *Aspergillus oryzae* については既に2日後に孢子着生が認められ、旺盛に繁殖し

第6表 抗微生物性に対する温度及び pH の影響

処 理 pH	糸状菌	力 価 ( $\frac{1}{c}$ )		
		対照 (無処理)	2 分間煮沸	5 分間煮沸
2.0	<i>Absidia sp.</i> <i>Rhizopus sp.</i> <i>Mucor sp.</i> <i>Aspergillus oryzae</i>	—	10.0	6.7
		—	< 3.3	< 3.3
		—	3.3	< 3.3
		—	< 3.3	< 3.3
5.8	<i>Absidia sp.</i> <i>Rhizopus sp.</i> <i>Mucor sp.</i> <i>Aspergillus oryzae</i>	100.0	20.0	20.0
		10.0	< 3.3	< 3.3
		20.0	20.0	20.0
		< 3.3	< 3.3	< 3.3
9.0	<i>Absidia sp.</i> <i>Rhizopus sp.</i> <i>Mucor sp.</i> <i>Aspergillus oryzae</i>	—	10.0	10.0
		—	< 3.3	< 3.3
		—	3.3	3.3
		—	< 3.3	< 3.3

第7表 培養液の製麴に対する影響

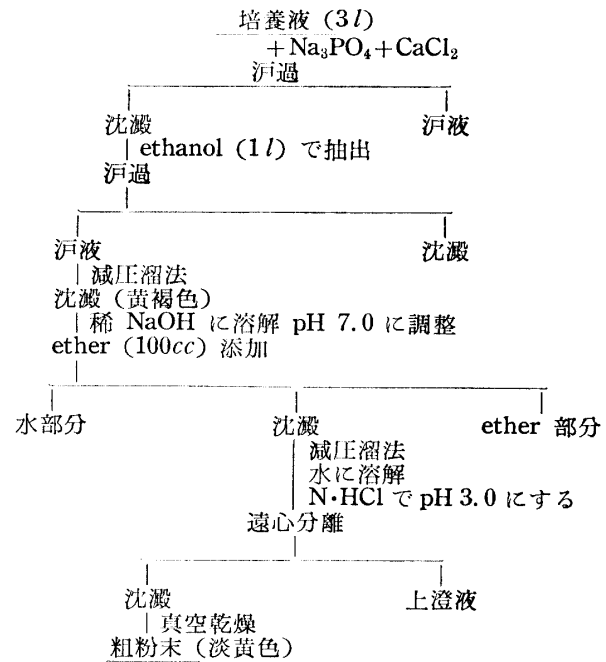
培養液	糸状菌	2 日	3 日	7 日
5cc 添加	<i>Absidia sp.</i>	±	+	+
	<i>Mucor sp.</i>	-	-	-
	<i>Aspergillus oryzae</i>	+	++(胞子)	++(胞子)

該抗黴性物質の影響に対して敏感で無い事が推察された。尚本研究の前記第1表に於て *Absidia sp.* に対する抗黴性は *Mucor sp.* に対するよりも強力である事を指摘したが、これと実験結果とはこの点矛盾する如く思われるが、これは培地及び培養状態等の相異に基づくものと考えられ、これが究明は今後の研究にまつものである。

(8) *Bac. AR* の生産する抗黴性物質の分離

細菌の生産する抗黴性物質の分離に関しては加酸沈澱法<sup>(1, 2)</sup>, ブタノール抽出法<sup>(3)</sup>, 吸着法<sup>(4)</sup>, 等の各種の方法が適用されているが, *Bac. AR* の生産する抗黴性物質の分離精製に於ける予備的実験として, 上記の諸法を検討した結果, 何れも有効であるが褐色不純物の除去が不十分である。著者等は実施容易であり, 且つ, 純化に対して効果的である次の方法によつて, *Bac. AR* の抗黴性物質を粗粉末として分離し得た。即ち第3図に示す如く *Bac. AR* の培養液 3l に  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  と  $\text{CaCl}_2$  とを 1% 宛加え, よく攪拌し加温(50~60°)後, 濾別して得た沈澱を ethanol にて 2~3 回抽出し, 溶媒を減圧下に溜去し黄褐色の物質を得る。本物質を約 100cc の稀 NaOH に溶解し, 不純物を除去後 N·HCl で pH 7.0 に調整し, 約 100cc の ether を添加する。この場合 ether 層の下部に生ずる沈澱を取り, ether を減圧下に溜去後水に溶解し, N·HCl で pH 3.0 として暫時後淡黄色の沈澱を遠心分離し真空乾燥して淡黄色の粉末を得た。収量 325mg, この粉末 100mg を稀 NaOH に中和的に溶解し 10cc とし, その抗黴力を測定した結果第8表の通りであつた。表に於ける発育阻止濃度は対照糸状菌の発育を完全に抑制する粉末物質の最低濃度を示すものである。

即ちここに得た粉末は *Absidia sp.* に対しては顕



第3図 抗黴性物質の分離

著な抗黴性を示す事を認めた。尚  $\text{Na}_3\text{PO}_4$ ,  $\text{CaCl}_2$  吸着後の濾液, ether 添加後の水層及び ether 層には殆んど抗黴性を認めなかつた。又 pH 3.0 に於ける上澄液にも抗黴性を認めず, よつて抗黴性物質はこの付近に等電点を有する様に想像される。

(9) 既知合成抗黴物質との比較

次に示す合成抗黴性物質を何れも無菌水又は稀アルコール溶液として用い抗黴性を測定した。尚試験培地中の僅少量のアルコールの発育に対する影響は無視し得る事を確めておいた。

表に示す如くこれらの既知抗黴性物質の抗黴力は, 著者等が分離した4種の糸状菌に対して平衡的でない

第8表 分離抗黴性物質の抗黴力

糸状菌	control	0.01	0.05	0.07	0.1	0.2	発育阻止濃度
<i>Absidia sp.</i>	+	-	-	-	-	-	1 : 10,000 >
<i>Rhizopus sp.</i>	+	+	+	-	-	-	1 : 1,440
<i>Mucor sp.</i>	+	+	-	-	-	-	1 : 2,000
<i>Aspergillus oryzae</i>	+	+	+	+	-	-	1 : 1,000

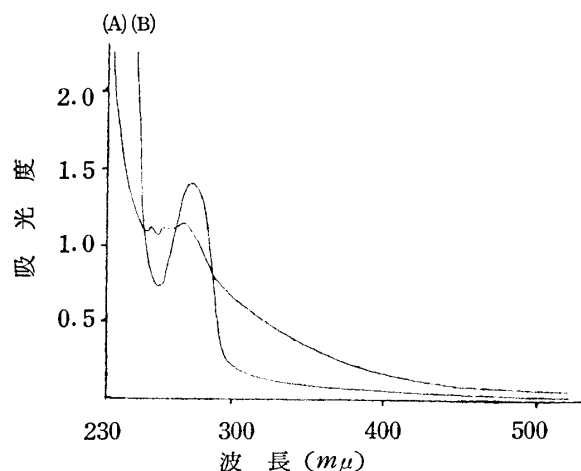
第9表 既知合成抗微生物物質の抗微生物性

糸状菌	発育阻止濃度			
	デハイドロ酢酸 ソーダ (DHA)	Vitamin K <sub>3</sub> (K <sub>3</sub> )	プロピオン酸ソ ーダ (S-P)	Bac. AR 分離 粗粉末
<i>Absidia</i> sp.	1 : 2,000	1 : 20,000	1 : 1,428	1 : 10,000>
<i>Rhizopus</i> sp.	1 : 5,000	1 : 4,000	1 : 667	1 : 1,440
<i>Mucor</i> sp.	1 : 5,000	1 : 4,000	1 : 5,000	1 : 2,000
<i>Aspergillus oryzae</i>	1 : 2,000	1 : 20,000	1 : 1,428	1 : 1,000

が大体 K<sub>3</sub>>DHA>S-P の強力順位の抗微生物性を示した *Bac. AR* の培養液より分離した粗粉末の抗微生物性は K<sub>3</sub> と DHA の中間の力度に位する程度であるが、*Aspergillus oryzae* に対して選択的に微弱である点はこれらの既知合成抗微生物物質との甚しき相異点である。

#### (10) *Bac. AR* の生産する抗微生物物質の吸収スペクトル

*Bac. AR* 培養液の10倍稀釈液及び上記粗粉末 10 mg を 10 cc に溶解した水溶液を、島津製ベックマン Du 型分光光度計を用いて紫外部及び可視部に於ける吸収スペクトルを測定比較した。



(A) : *Bac. AR* 培養液  
(B) : 分離粗粉末の水溶液

第4図 抗微生物物質の吸収スペクトル

第4図に示す如く、培養液に於ては 270mμ 附近に弱い吸収を示すが、分離精製された粗粉末の水溶液に於てもほぼ一致した 275mμ に強い吸収を示す事を認めた。

## 要 約

醤油麹中より *Absidia*, *Mucor*. 及び *Rhizopus* 等の糸状菌を分離し、これらの糸状菌の繁殖を抑制する

細菌が往々醤油麹中に存在する事を数種の麹について確めた。

殊に著者等が分離選択した細菌はこれらの糸状菌の繁殖を顕著に抑制するが、*Asp. oryzae* の繁殖に対しては甚しい抑制作用を示さない抗微生物物質を生産する事を確めた。該菌の分類学的特徴より *Bacillus cereus* の1変種であると認めた。

該菌は麹汁・肉汁培地又は大豆粕・焙炒割砕小麦培地に著しく繁殖し、且つ抗微生物物質を生産した。この際抗微生物物質の生産は糖消費量に伴つて増加する。又醤油諸味の如き高食塩濃度中では殆んど該菌の繁殖は認められなかつた。

該菌の生産する抗微生物物質は前記分離糸状菌以外の各種糸状菌に対してもその繁殖を抑制したが、酵母に対する抑制作用は 2, 3 の特別の例外を除けば殆んど認められなかつた。

該菌の生産する抗微生物物質をその培養液より分離するため、燐酸石灰吸着沈澱、アルコール抽出、エーテル洗滌、等電点沈澱等の過程を経て淡黄色の粗粉末を得た。本物質は Vitamin K<sub>3</sub> と DHA の中間に位する力度の抗微生物性を有するが、*Aspergillus oryzae* に対しては選択的に微弱である事を認めた。又本物質及び培養液の吸収スペクトルを測定し、共に 270~275 mμ に於て強い吸収を示す事を認めた。

研究に関し、醗酵研究所佐藤喜吉、緒方浩一両氏より御指導と御援助を受け、数株の糸状菌の分譲を賜つた。又長西広輔博士よりも研究の御援助を頂いた。ここに合せて感謝の意を表する。

## 文 献

- (1) E. A. JOHNSON, K. L. BURDON : J. Bact, **51**, 591 (1946)
- (2) M. LANDY et al. : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **67**, 539 (1948)
- (3) M. D. MICHENER : Arch. Biochem., **22**, 208 (1948)

- (4) 照井堯造・芝崎 勲: 醸酵工学, **31**, 339 (1953)      (6) BERGEY'S Manual of Determinative Bacteriology **VII** (1957)
- (5) 照井堯造・芝崎 勲: 醸酵工学, **31**, 28 (1953)

### Summary

We showed that there are some strains of bacteria which repressed the growth of *Absidia*, *Mucor* and so on in soja-koji being produced. We isolated several strains in it which showed markedly the similar action, and confirmed that they produced antifungal substances in various culture solutions, specially in the solution extracted from soy-bean and wheat, the materials of soja-koji making.

Some natures of the antifungal substance which was produced by one of these bacteria (signed *Bac. AR*) were examined.

We showed that the substance had no anti-biotic effect to the growth of yeasts except the specific kinds of them.

We studied on the characters of the bacterium and concluded that it was one species of *Bacillus cereus*.

The supposition is possible that these bacteria would contribute somewhat to making soja-koji because these bacteria repress less the growth of *Aseprgillus oryzae* than those of the other molds isolated in soja-koji.

We have carried out the isolation and the purification of the antifungal substance from the culture solution by the absorption with tertiary calcium phosphate gel and the eluation by ethanol, and we prepared the powder from it, containing very small amount of light yellow impurity.

The absorption spectrum of the solution of this powder and that of the culture solution were measured on account of supposing the maximum absorption of the antifungal substance.

Antifungal activity of this powder was compared with those of vitamin K<sub>3</sub>, sodium dehydroacetate and sodium propionate.