

# 梅漬けから分離した産膜酵母に対するユッカ抽出物の抗菌性

誌名	日本食品保蔵科学会誌
ISSN	13441213
著者名	乙黒,親男 田村,幸吉 横塚,弘毅 後藤,昭二
発行元	日本食品保蔵科学会
巻/号	24巻1号
掲載ページ	p. 3-10
発行年月	1998年1月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



## 梅漬けから分離した産膜酵母に対する ユッカ抽出物の抗菌性

乙黒親男\*・田村幸吉\*\*・横塚弘毅\*\*\*・後藤昭二\*\*\*

Inhibitory Effect of Yucca Extract on the Growth of Film-Forming Yeasts  
Isolated from *Ume-Zuke*, Salted Japanese Apricot Fruit

OTOGURO Chikao\*, TAMURA Yukiyoshi\*\*, YOKOTSUKA Koki\*\*\* and GOTO Shoji\*\*\*

\* *Yamanashi Industrial Technology Center,*  
2094 Otsu-cho, Kofu-shi, Yamanashi 400

\*\* *Maruzen Pharmaceuticals Co., Ltd.,*

22-1 Takanishi-cho, Fukuyama-shi, Hiroshima 729-01

\*\*\* *The Institute of Enology and Viticulture, Yamanashi University,*  
1-13-1 Kitashin, Kofu-shi, Yamanashi 400

The inhibitory effects of Yucca extract (YE) and various additives on the growth and film-formation of 20 strains of film-forming yeasts belonging to 4 genera isolated from *ume-zuke*, a salted Japanese apricot (*Prunus mume*) fruit product were studied. The minimum inhibitory concentrations (MIC) of YE against the isolated film-forming yeasts were 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  for *Pichia anomala*, 200 ~ 400  $\mu\text{g}/\text{ml}$  for *Kloeckera apiculata* and *Candida guilliermondii*, and 1000  $\mu\text{g}/\text{ml}$  for *Debaryomyces hansenii*. *Deb. hansenii* and *C. guilliermondii* could tolerate YE relatively well, but the former was sensitive to thiamine dilaurylsulfate, sulfur dioxide, and sodium benzoate, and the latter to sodium cinnamate. *Deb. hansenii* was more susceptible to the organic acid concentration, as well as to a low pH (below 2.0), and a high storage temperature (above 30°C). The inhibitory effects were enhanced and showed a broad antimicrobial spectrum when YE was used in combination with various additives (thiamine dilaurylsulfate, potassium sorbate, sulfur dioxide, sodium benzoate, sodium cinnamate, and sodium acetate). From the results, YE is considered to be effective for the preservation of *ume-zuke*.

(Received Sep. 10, 1997)

前報<sup>1)</sup>において、梅漬け製造工程に於ける産膜酵母発生機構について検討した結果、汚染の主要な役割を果たす酵母は *P. anomala* および *C. guilliermondii* であることを明らかにした。これらの菌種は塩蔵初期から増殖し、皮膜の形成に伴って有機酸が資化され、pHが上昇する

により、腐敗あるいは果実組織崩壊が引き起こされる。

したがって、この代表的な汚染菌である産膜酵母の発生を防止できれば、広範囲な微生物に対する殺菌対策を施さなくても、梅漬けの保存性を向上させることが可能と考えられる。現在産膜酵母の発生防止法<sup>2)</sup>として、加

\* 山梨県工業技術センター (〒400 山梨県甲府市大津町2094)

\*\* 丸善製薬(株) (〒729-01 広島県福山市高西町22-1)

\*\*\* 山梨大学工学部発酵化学研究施設 (〒400 山梨県甲府市北新1-13-1)

熱殺菌、酸素の遮断、合成保存料、酢酸あるいはエタノールの添加が行われているが、不十分であり、新たな保存法が望まれている。これら酵母に対して有効な抗菌剤としてはソルビン酸が利用されているが、天然系のは少なかつた。最近になってこれに対して特異的に生育抑制効果を示すカラシ油<sup>3)</sup>、ユッカ<sup>4),5)</sup>およびパブリカ種子抽出物<sup>6),7)</sup>の抗菌性について報告がされてきている。ユッカ抽出物については、抗菌作用の主体はサポニンで、抗菌成分として8種類のスピロスタン型サポニンが単離され、それらの構造と各化合物の抗菌活性も明らかにされている。

しかし、抗菌活性の測定は標準菌株に対して検討されているが、実際の製造工程での汚染酵母に対する効果あるいはそれらが発生し、さらに増殖しやすい環境条件下での効果については検討されていない。

そこで、梅漬けの塩蔵工程で分離した産膜酵母に対するユッカ抽出物の生育抑制効果を、従来から保存料、強化剤あるいは香料等として使用されているソルビン酸、亜硫酸、安息香酸、チアミンラウリル硫酸塩、有機酸等と比較するとともに、それらとの併用効果を分離産膜酵母が増殖しやすい25%希釈の梅酢液を使用して検討した。

## 実験方法

### 1. 供試菌株

梅漬け製造工程から分離された菌株<sup>1)</sup>の中から、産膜汚染の代表的菌種に属する20株、*Kloeekera apiculata* (266, 203, 208), *Pichia anomala* (201, 202, 204, 256, 211, 241, 260, 219, 223, 252), *Candida guilliermondii* (213, 222, 224), *Debaryomyces hansenii* (206, 215, 220, 225) を供試した。いずれも山梨県工業技術センター保存株である。なお、対照の標準菌株として次の5株を用いた。*Debaryomyces hansenii* (JCM 5023), *Pichia anomala* (JCM 3585), *Zygosaccharomyces rouxii* (IFO 0517), *Candida krusei* (RIFY YTa3), *Candida vini* (RIFY 2024)。

### 2. ユッカ抽出物の調製

ユッカ (*Yucca schidigera*) 根茎粉碎物100gを80℃の熱水1ℓで抽出し、得られたろ液を減圧濃縮し、これに乾燥賦形剤としてデキストリン17gを加え、噴霧乾燥し、ユッカ抽出物(粉末、以下ユッカ)34gを得た。この抽出物は丸善製薬(株)で調製したものである。

### 3. 抗菌性試験に用いた添加物

次に示した14種類の添加物を単独あるいは併用し、抗菌力試験を行った。なお、チアミンラウリル硫酸塩以

外は和光純薬工業(株)試薬特級を用いた。

ソルビン酸カリウム、メタ重亜硫酸カリウム(以下亜硫酸)、安息香酸ナトリウム、シナム酸ナトリウム、チアミンラウリル硫酸塩(ヒタゲン・AS2、田辺製薬(株)、以下チアミン)、エタノール、有機酸(酢酸ナトリウム、アジピン酸、フマル酸、コハク酸、DL-乳酸、50%グルコン酸水溶液、クエン酸、L-リシニン)

### 4. 梅酢培地の調製

梅酢は、梅干し原料として適熟期にあるウメ果実(‘甲州小梅’; Japanese Apricot, *Prunus mume* Sieb. et Zucc. var. *microcarpa* Makino)に、果実重量に対し20%の食塩(並塩)を加え、2週間浸漬させた後、梅酢(食塩:17.41%, 総酸:4.30%, pH:1.94)を得た。なお、抗菌力試験には主要な汚染産膜酵母が低pH耐性を有し、至適食塩濃度(2.5%~7.5%)であること<sup>8)</sup>を考慮して梅酢を4倍希釈した梅酢液(食塩:4.35%, 総酸:1.08%, pH:2.47)を用いた。

### 5. 産膜酵母に対する抗菌力試験

食塩5%含有YM液体培地で前培養(振盪培養:25℃, 2日間)した酵母菌体を滅菌生理食塩水に懸濁し、上記の加熱殺菌した梅酢液5mlに $10^5$  CFU/mlとなるよう接種した。これを25℃, 10日間静置培養し、生育および産膜形成状態を経時的に肉眼的に観察し、それらの程度を次の4段階で判定した。生育せず、管壁に微弱、管壁および液面に生育、両者に生育良好あるいは著しく生育。

なお、ユッカおよび各添加物の抗菌力試験は、梅酢に所定濃度添加後、加熱殺菌(65℃, 15m)したが、メタ重亜硫酸カリウムおよびエタノールは揮発性であることから、梅酢液を加熱殺菌後に無菌的に添加した。

また、生育の認められない最小濃度を最小生育阻止濃度(以下MICと略)とした。

### 6. 亜硫酸の測定

100ml容三角フラスコに各濃度の梅酢液90mlとメタ重亜硫酸カリウム(SO<sub>2</sub>として50%含有換算)を加え、密封し、25℃の恒温室に保存した。これを経時的に改良RANKINE法<sup>9)</sup>で測定した。

## 結果および考察

### 1. 産膜酵母の各梅酢濃度における生育

はじめに、各希釈段階における梅酢液中での分離菌株20株および標準菌株5株、合計25菌株の産膜酵母を25℃, 10日間静置培養し、その生育および産膜形成について検討した結果をFig. 1に示した。標準菌株として



用いた5株；*Deb. hansenii* JCM5023, *P. anomala* JCM 3585, *Zygosacch. rouxii* IFO0517, *C. krusei* RIFY YTa3, *C. vini* RIFY2024は、分離菌株に比較して生育が悪かったが、*C. krusei*は50%梅酢液まで生育した。一方、分離菌株では、*P. anomala*および*C. guilliermondii*のすべてが75%梅酢液まで皮膜を形成し、*Kl. apiculata*の2株(203, 208)が50%まで、収穫直後のウメ果実に付着していた*Kl. apiculata*(266)と塩蔵段階のpHが上昇した後半に優勢となる*Deb. hansenii*は25%までで、産膜酵母の属間に著しい生育および皮膜形成の差異が認められた。この結果は、既報<sup>9)</sup>で産膜汚染を起こした製品から分離した産膜酵母の内、梅酢液(食塩：8.0%，総酸：1.9%，pH2.0~2.5)中で生育および産膜形成が良好であった菌株が*P. anomala*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*および*C. famata*であったことや上記産膜汚染酵母がpH2.0で良好に生育および皮膜形成し、その菌株が*P. anomala*および*C. guilliermondii*であることから<sup>1)</sup>も両者に属する菌株が耐酸性でかつ耐塩酵母であることが確認できた。

以上の結果から、以後の実験にはすべての産膜酵母が生育良好で、抗菌剤の生育抑制効果が短期間に比較し易い25%梅酢液を基本培地とし、耐酸性で耐塩酵母である分離菌株について比較検討を行った。

## 2. 分離産膜酵母に対する各添加物の最小生育阻止濃度

分離産膜酵母に対するユッカおよび各種添加物の生育抑制効果をFig. 2および3に示した。添加物としては大別して次の3種類を用いた。界面活性作用をもつユッカおよびチアミン、酸型保存料としてソルビン酸、亜硫酸、安息香酸およびシナム酸、有機酸として酢酸、アジピン酸、フマル酸、コハク酸、乳酸、グルコン酸、リンゴ酸、クエン酸を用いた。その結果、ユッカのMICは、*P. anomala*が100  $\mu$ g/ml, *Kl. apiculata*および*C. guilliermondii*が200~400  $\mu$ g/ml, *Deb. hansenii*が1000  $\mu$ g/mlで、産膜汚染を引き起こす主要な産膜酵母である*P. anomala*に対して顕著な効果が認められたが、分離酵母に対する抗菌スペクトルは比較的狭かった。また、ユッカに対して比較的耐性を示した*Deb. hansenii*, *Kl. apiculata*および*C. guilliermondii*では、*Deb. hansenii*に対してはチアミン、亜硫酸、安息香酸およびシナム酸、*Kl. apiculata*に対してはシナム酸、*C. guilliermondii*に対しては亜硫酸およびシナム酸が効果的であった。一方、分離酵母に対して最も生育抑制効果の強かった亜硫酸は、*C. guilliermondii*に対するMICがやや他の菌株に比較して低かったが一樣に効果的であった。今回分離した産膜酵母は、真性産膜性酵母

Acids (%)		Strain (No.)									
		K. a		P. a				C. g		D. h	
		266	203	204	256	241	223	213	222	206	225
Acetic	0.50										
	0.25										
	0.125										
	0.063										
Fumaric	0.625										
	0.50										
	0.375										
	0.25										
Adipic	0.125										
	2.00										
	1.50										
	1.00										
Succinic	0.50										
	0.25										
	2.00										
	1.50										
Lactic	1.00										
	0.50										
	0.25										
	2.00										
Gluconic	1.50										
	1.00										
	0.50										
	0.25										
Citric	5.00										
	4.00										
	3.00										
	2.00										
Malic	1.00										
	5.00										
	4.00										
	3.00										
	2.00										
	1.00										

Fig. 3 Comparison of inhibitory effects of organic acid on the growth and film-formation of isolated film-forming yeast

Each organic acid used was added to ume-vinegar sol., Ume-vinegar sol. was the same as Fig.2.

Symbols same as Fig.1.

に属し、亜硫酸耐性が200~350  $\mu$ g/mlと著しく高い仮性産膜酵母に比較して亜硫酸耐性が25~75  $\mu$ g/mlと著しく低いことが報告<sup>10)</sup>されており、分離酵母に対して亜硫酸が極めて効果的であることを裏付けた。

次に、分離酵母に対する添加物のタイプ別の生育抑制効果にはあまり関連性が認められなかった。この中で界面活性作用を持つユッカおよびチアミンの*P. anomala*および*Deb. hansenii*に対する生育抑制効果は対照的であった。両菌株とも*Kl. apiculata*および*C. guilliermondii*(222, 224)に比較して産膜性が著しく強いことから、細胞表面の荷電が少なく、強い疎水性を

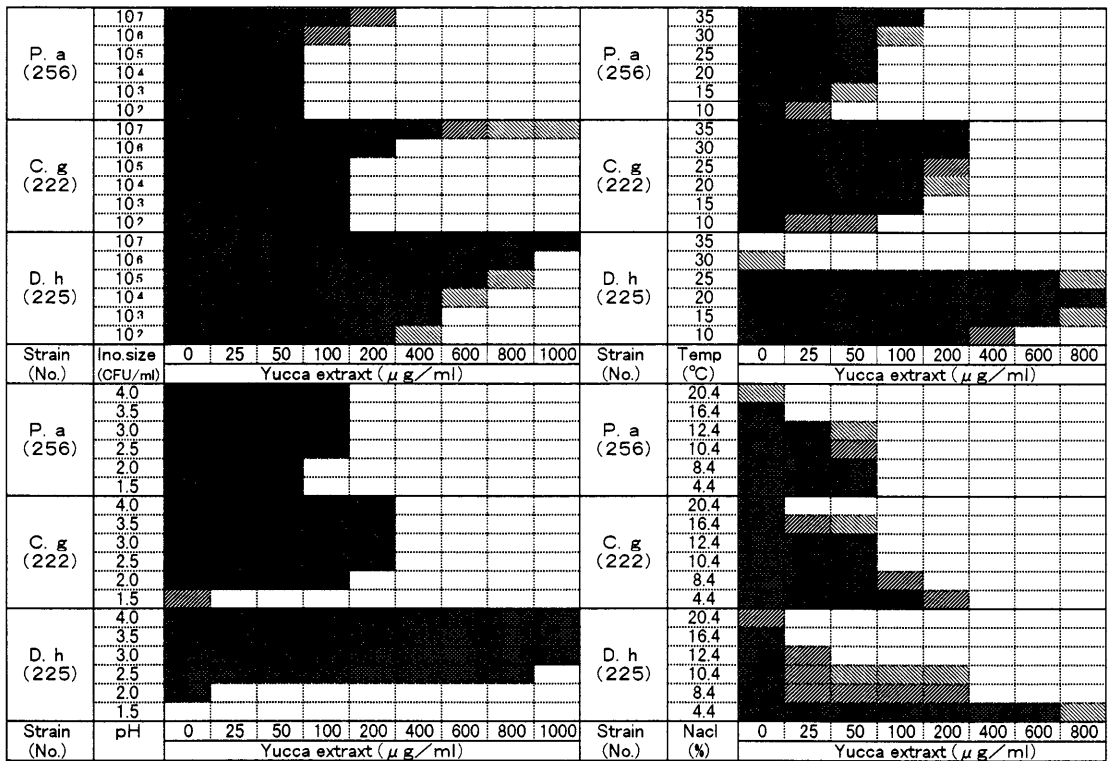


Fig. 4 Effect of inoculum size, temperature, pH and sodium chloride conc. on the inhibitory effect of Yucca extract  
 The pHs of ume-vinegar sol. were adjusted with NaOH sol. or HCl sol.  
 Symbols same as Fig.1.

もつこと<sup>11)</sup>が推察される。さらに、界面活性剤の酵母に対する作用機作は完全に解明されていないが、徳岡ら<sup>12)</sup>は各種界面活性剤が細胞表層に作用してその構造を弱めるとし、生育抑制効果の差に、細胞膜構造の差が関与していることを示している。分離酵母に対する有機酸の生育抑制効果は弱く、特に *P. anomala* および *C. guilliermondii* (213) に対してはクエン酸あるいはリンゴ酸を5%添加しても生育を阻止することは不可能であった (Fig. 3)。

一方、*Deb. hansenii* (206, 225) は、両者に比較すると酢酸、フマル酸およびアジピン酸に対して感受性が高いことが認められた。有機酸の抗菌力については、細胞膜透過性を有する非解離型分子の濃度によることが知られており<sup>13), 14)</sup>、今回の結果はそれを裏付けた。

このように、添加物の種類によって分離酵母に対する生育抑制効果はかなり異なったが、分離酵母の細胞表層の差異およびそれに対する添加物の作用機作については

今後の課題である。

3. ユッカ抽出物の抗菌性に及ぼす諸要因 (初発菌数, 温度, pHおよび食塩濃度) の影響

分離酵母3菌株に対するユッカの抗菌性に及ぼす初発菌数, 温度, pH, および食塩濃度の影響について Fig. 4に示した。

ユッカは、初発菌数およびpHは低い程、また食塩濃度は高い程3菌株に対するMICが低下した。特に、*Deb. hansenii*は低pH (2.0以下) あるいは高食塩濃度 (12.4%以上) でのMICへの影響が大きかった。

次いで、温度の影響では、ユッカは温度が低い程 *P. anomala* および *C. guilliermondii* に対するMICは低下したが、*Deb. hansenii* では30℃以上でMICが25~0 µg/mlに低下、10℃では25℃に比較してMICは半減した。この結果は、前者が生育最適温度が30~35℃の中温性に対し、後者は低温酵母<sup>15)</sup>に属することを示している。また、*Deb. hansenii*は塩蔵工程後半における産膜

酵母の主体で、低塩・調味された梅加工品（食塩濃度：5～12%，pH：2.8～3.5）の産膜酵母による不良品の発生が5～6月あるいは9～10月に集中していることと関連あるものと推察される。

一方、塩蔵初期における産膜酵母の主体は耐塩性および耐酸性である*P. anomala*および*C. guilliermondii*であり、塩蔵中における梅漬けおよび梅干の成分が、一般的にpHが前者で2.5～3.0、後者で2.0～2.5、食塩濃度が16～22%であることを考慮すると、食塩、pHあるいは室内温度調整で工場内における2次汚染を防ぐことは困難と考えられる。

Strain (No.)	Thiamine ( $\mu\text{g/ml}$ )	Yucca extract ( $\mu\text{g/ml}$ )								
		0	25	50	100	200	300	400	600	800
K. a (203)	25									
	12.5									
	6.25									
	0									
P. a (256)	25									
	12.5									
	6.25									
	0									
C. g (222)	25									
	12.5									
	6.25									
	0									
D. h (225)	12.5									
	6.25									
	3.13									
	0									

Fig. 5 Inhibitory effect of Yucca extract in combination with other additives  
Inhibitory effect of Yucca extract in combination with thiamine was the same pattern as Yucca extract and thiamine  
Symbols same as Fig.1.

#### 4. ユッカ抽出物および各添加物併用による抗菌効果

次いで、ユッカおよび各添加物（チアミン、ソルビン酸、亜硫酸、安息香酸、シンナム酸および酢酸）の両者を種々の濃度で梅酢液に添加し、両者併用による抗菌性試験を行った。各組合せとも併用効果が同じパターンであったので、その代表例としてユッカおよびチアミン併用による各分離菌株に対する生育抑制傾向をFig. 5に示した。すべての組合せにおいていずれかのMICが単独よりも低下し併用効果が認められた。特に、*Deb. hanseni* (225) に対しては、チアミンを添加することでユッカのMICは、1000  $\mu\text{g/ml}$  から200  $\mu\text{g/ml}$  と1/5に低下した。

これらの結果から、上記5種類の添加物は、ユッカと併用することでその添加量を低減できることが分かった。

#### 5. 梅酢中におけるユッカ抽出物および各添加物の抗菌力の特続性

ユッカおよび各添加物を梅酢に添加した後、それぞれの抗菌力の特続性を検討するため、ユッカ（75～900  $\mu\text{g/ml}$ ）、亜硫酸（6.25～50  $\mu\text{g/ml}$ ）、チアミン（6.25～50  $\mu\text{g/ml}$ ）、ソルビン酸（25～100  $\mu\text{g/ml}$ ）、安息香酸（25～100  $\mu\text{g/ml}$ ）、シンナム酸（25～100  $\mu\text{g/ml}$ ）および酢酸（1250～5000  $\mu\text{g/ml}$ ）を25%梅酢液に添加し、1、2、4、7および10日後に分離菌株を $10^5$  CFU/mlになるよう接種した。その結果、亜硫酸を除くユッカおよび5種類の添加物の梅酢中における抗菌力は、安定して保持された（Fig. 6）。

一方、本実験で用いた添加物中、最も抗菌力の強かった亜硫酸は、その添加量により抗菌力の特続性が異なったが、いずれも日数の経過に伴い抗菌力が低下した。

そこで、25%梅酢液中の25  $\mu\text{g/ml}$  亜硫酸添加における亜硫酸含量を測定したところ、添加直後は26.8  $\mu\text{g/ml}$

Strain	Additives*	<i>K. apiculata</i> (203)						<i>P. anomala</i> (256)						<i>C. guilliermondii</i> (222)						<i>D. hanseni</i> (225)					
		0	1	2	4	7	10	0	1	2	4	7	10	0	1	2	4	7	10	0	1	2	4	7	10
Yucca ( $\mu\text{g/ml}$ )	900																								
	600																								
	300																								
	150																								
	75																								
SO <sub>2</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ )	50.0																								
	37.5																								
	25.0																								
	12.5																								
	6.25																								

Fig. 6 Comparison of inhibitory effect of Yucca extract and various additives with the passage of time

Inhibitory effect of thiamine dilaurylsulfate, sorbate, benzoate, cinnamate, and acetate with the passage of time was the same pattern as Yucca extract.

Symbols same as Fig.1.

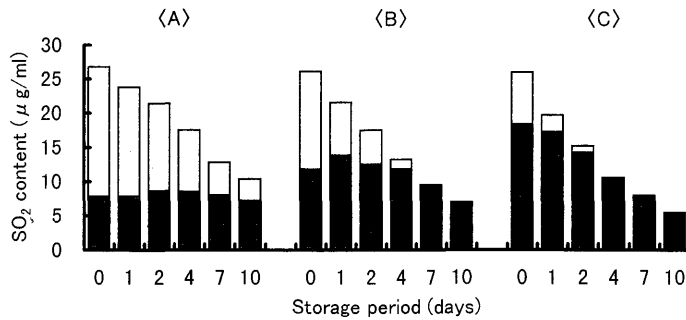


Fig. 7 Changes of SO<sub>2</sub> content in ume-vinegar sol. during storage

Potassium metabisulfite was added to ume-vinegar sol.

(25, 50 and 100%) as 25 mg/ℓ of SO<sub>2</sub>.

<A> : 25% conc. ume-vinegar sol., <B> : 50% conc. ume-vinegar sol.,

<C> : original ume-vinegar sol., □: Free-SO<sub>2</sub>, ■: Bound-SO<sub>2</sub>.

ml, 4日後は17.5μg/ml, 10日後には10.4μg/mlに減少し, 減少した亜硫酸含量のほとんどが遊離型であった (Fig. 7)。また, 梅酢含量が50% (Fig. 7, <B>) あるいは100% (Fig. 7, <C>) と増加するのに伴って, 梅酢液に存在する亜硫酸結合物質が増加するため, 結合亜硫酸が増加し, その分遊離亜硫酸が減少した。亜硫酸の抗菌力は, 遊離亜硫酸が主体とされ, その一部はカルボニル化合物等と結合<sup>16)</sup>したり, あるいは順次酸化され硫酸塩となり抗菌力および抗酸化力を失うこと<sup>17)</sup>が知られている。結果を示さなかったが, 100%梅酢液中における 50μg/ml 亜硫酸添加における含量(遊離型)は, 上記の25μg/ml亜硫酸添加 (Fig. 7 <C>) と同様の亜硫酸含量変化のパターンを示し, 添加直後は55.0 (23.6) μg/ml, 4日後は33.2 (8.2) μg/ml, 10日後には12.3 (0) μg/mlに急速に減少することから, 実際の現場で梅酢に添加した亜硫酸の抗菌力は短期間であると推察される。

## 要 約

梅漬けから分離された4属20菌株の産膜酵母に対するユッカ抽出物および各添加物の抗菌効果について検討し, 次の結果を得た。

分離菌株に対するユッカ抽出物の最小生育阻止濃度は, *Pichia anomala*が100μg/ml, *Kloeckera apiculata*および*Candida guilliermondii*が200~400μg/ml, *Debaryomyces hansenii*が1000μg/mlであった。

ユッカ抽出物に対して比較的耐性を示した*Deb. hansenii*および*C. guilliermondii*では, 前者がチアミンラウリル硫酸塩, 亜硫酸および安息香酸に, 後者がシナナム酸ナトリウムに対して感受性が高かった。

また, *Deb. hansenii*に対するユッカ抽出物の抗菌性は, 有機酸, pH, 作用温度 (30℃) および食塩濃度に影響された。

一方, 抗菌効果の高かった亜硫酸は, 経時的に遊離亜硫酸が減少し, その効果の持続性が短かったが, 他の各添加物は抗菌効果の持続性が認められた。

以上の結果, ユッカ抽出物は各添加物を併用することで, 抗菌スペクトルおよび抗菌効果が向上した。

## 文 献

- 1) 恩田 匠・乙黒親男・飯野修一・後藤昭二: 食科工, **44**, 463 (1997)
- 2) 三好英晃: 漬物加工要説 (食品研究社, 東京), p. 181 (1981)
- 3) ISSHIKI, K., TOKUOKA, K., MORI, R. and CHIBA, S.: *Biosci. Biotech. Biochem.*, **56**, 1476 (1992)
- 4) 田村幸吉: クリーンテクノロジー, **6** (3), 67 (1996)
- 5) 山本正次: フードケミカル, **1996-10**, 105 (1996)
- 6) YAJIMA, M., TAKAYANAGI, T., NOZAKI, K. and YOKOTUKA, K.: *Food Sci. Technol., Int.* **2**, 234 (1996)
- 7) 矢嶋瑞夫・野崎一彦・高柳 勉・横塚弘毅: 防菌防黴, **25**, 131 (1997)
- 8) FUJITA, K. et al.: *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, **168**, 293 (1979)
- 9) 恩田 匠・乙黒親男・飯野修一・後藤昭二: 食科工,



- 44, 407 (1997)
- 10) 飯村 讓・大塚謙一・原 昌道：醸工, **58**, 449 (1980)
- 11) 大塚謙一・飯村 讓・戸塚 昭・木崎康造・袖山 政一：醸工, **56**, 265 (1978)
- 12) 徳岡敬子・石谷孝佑：日食工誌, **38**, 1103 (1991)
- 13) 野本正雄・奈良橋快子・新川保太郎：農化, **29**, 805 (1955)
- 14) 山本 泰・東 和男・好井久雄：日食工誌, **31**, 525 (1984)
- 15) 好井久雄・金子安之・山口和夫：食品微生物学ハンドブック (技報堂, 東京), p.102 (1995)
- 16) 乙黒親男・萩野 敏・渡辺正平：醸協, **74**, 761 (1979)
- 17) SCHOPFER, J. F. and AERNY, J.: *Bull.L'OIV*, **652**, 515 (1985)

(平成9年9月10日受理)