

しょうが刻み漬から分離した酵母による

食用色素102号の退色について

加藤 熙・小野甚一*

食用色素102号で着色したしょうが刻み漬は、小袋詰後貯蔵する間に退色して品質低下を生ずることがある。一般に合成色素の退色は物理化学的反応によって生じるが、この場合には、小袋詰製品をカートンケースに詰めダンボール箱に納めたものを倉庫に保管中に退色するので、微生物の増殖によるものと推定された。

退色したしょうが刻み漬から、赤色102号退色能を有する細菌及び酵母を分離した。芥田は沢庵漬中の黄色4, 5号の変色について報告^{1)~4)}し、細菌による黄色4, 5号の変色に関して、培地組成の影響^{5), 6)}、還元酵素の確認⁷⁾と諸性質^{8)~16)}について詳細な研究を行っている。酵母による食用色素の吸着については小野崎ら^{17), 18)}の報告があり、また、角田ら¹⁹⁾は*Candida curvata*によるアゾ色素の脱色について培養条件等との関連を検討し、染料工場排水処理への実用化が可能であると報告している。著者らは、しょうが刻み漬から分離した酵母による赤色102号の退色、吸着に影響する諸因子について検討したのでその結果を報告する。

実験方法

1. ショウガ刻み漬

台湾産塩漬しょうがを水洗後スライス、短冊切りして圧搾塩抜き後、漬液に漬込んで製品とする。漬液の1ℓ当りの組成は、グルタミン酸ナトリウム2.8g、食塩114g、クエン酸0.6g、フマル酸0.6g、コハク酸ナトリウム1.9g、グリシン0.6g、酢酸1.14ml、カリ磷酸0.85g、赤色102号20mgで、pH4.1とした。漬込み後の総重量に対して0.2%ソルビン酸を添加し、200gずつ袋詰めした。包装直後のものと工場倉庫に保管中退色したものを試料とした。

2. 生菌数の測定

各試料1g当りの酵母数、一般細菌数を希釀平板培養により測定した。酵母用培地の組成は、酵母エキス0.15%、ポリペプトン1%、グルコース1%、食塩5%、寒天2%で、pH5.4とし、クロラムフェニコール2.5μg/mlを添加した。細菌用培地は、ポリペプトン1%，酵母エキス0.5%，肉エキス1%，

*小野甚一醤油株

グルコース1%，食塩5%，寒天2%で，pH7.0とした。

3. 分離微生物の赤色102号退色能の測定

ポリペプトン1%，肉エキス1%，酵母エキス0.5%，グルコース1%，グルタミン酸ナトリウム0.3%，コハク酸0.2%，酒石酸0.2%，フマル酸0.15%，グリシン0.06%，食塩5%，pH6.0の組成に，赤色102号を $10\mu\text{g}/\text{ml}$ 添加した液体培地100mlを綿栓三角フラスコに分注滅菌し，分離微生物を接種して，30℃7日間培養した後の，菌体量，pH，色素残存量を測定した。

4. 菌体量の測定

培養液1mlを採取し，遠心分離と水洗を3回繰り返した後，菌体を5ml蒸留水に懸濁し，660nmの吸光度を測定した。

5. 色素残存量の測定

3,000rpmで15~20分遠心分離した培養液について，可視部吸収スペクトルを目立 E P S 20型自記分光光度計で測定し，508nm（λmax）における吸光度で示した。

6. pH測定

東亜電波HM-5A型ガラス電極pH計により測定，少量試料の場合は，飽和KC1の濾紙ブリッジ法により測定した。

7. 色素の菌体吸着量の測定

菌体に吸着した色素量は，小野崎らの方法¹⁷⁾により抽出した。すなわち，遠心分離後水洗した菌体に，0.5Nアンモニア水10mlを加えて30分間沸騰水中で加熱後，遠心分離した上澄液を1N酢酸で中和後10mlとし，5.項によって色素量を測定した。

8. 分離酵母による退色条件の検討

試験管に9mlずつ分注した培地（組成は因子により下記のように変更）を滅菌後（115℃10分），別に同条件で滅菌した赤色102号液を1mlずつ添加（最終濃度 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ ），これに2日間前培養した酵母を生理食塩水で3回洗浄した後，懸濁液とし， $10^3/\text{ml}$ のレベルになるよう接種した。30℃7日間培養した後の色素量，pH，菌体量を測定した。

1) pH，エチルアルコール，ソルビン酸，リン酸緩衝液，グルコース濃度，各種アミノ酸，各種糖類の影響　基本培地は，グルコース5%，アスパラギン酸ナトリウム0.25%， K_2PO_4 0.1%， MgSO_4 0.3%，pH5.3とし，それぞれ該当する成分等を実験結果の項で後述するように変更した培地を用いた。

2) 食塩濃度の影響　基本培地として，Fries完全培地を使用した。

3) 各種ビタミンの影響　ビタミンフリーカザミノ酸0.5%，グルコース5%に，無機塩とクエン酸緩衝液を添加した組成の基本培地を使用した。

実験結果及び考察

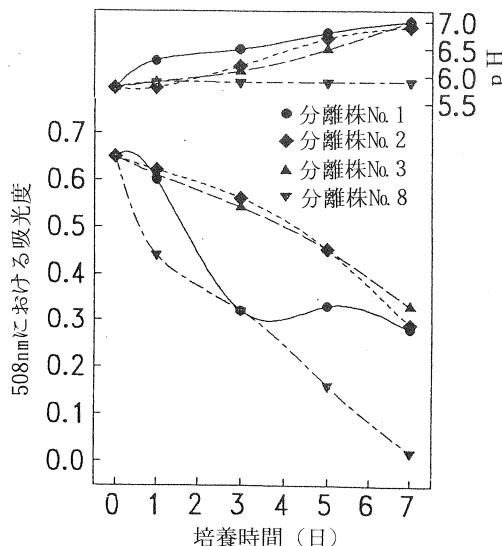
1. 退色原因菌の分離

しょうが刻み漬の漬液の成分分析値は、全窒素0.26%，食塩9～10%，滴定酸度（酢酸換算）0.67%，pH 4.2～4.3であるが、退色した漬物は、アミン臭を呈し、pH 7.0～7.8であった。赤色102号は、2～3日後に完全に退色する場合もある。赤色102号をしょうが熱水抽出液と加熱・沸騰させても色調変化は認められず、色素液に1/10N塩酸または水酸化ナトリウムを添加してpH 1～10まで変えても色調に変化を生じない。漬物の退色は、しょうが成分との化学反応や漬液pHの変化によって生じたとは考えられない。

原料しょうがや漬物正常品及び退色品は、第1表に示すように、かなり高レベルの酵母数や細菌数であった。分離した微生物は、コロニーの形状、液体培地での発育状況、顕微鏡観察の結果から、8種類の細菌と1種類の酵母で、これら9菌株の内、退色能を有するものは、3種類の細菌と酵母であった。第1図は、退色能を有する4菌株について、培養中のpH及び508nmに於ける吸光度の経時変化を示す。

第1表 試料の微生物数等

	刻みしょうが	刻み漬正常品	退色品
pH	—	4.2	6.5～7.8
食塩 %	—	10.0	9.8～10.0
ソルビン酸 mg/kg	—	474	322
一般細菌数 /g	2×10^7	7×10^3	4×10^7
酵母数 /g	3×10^7	2×10^4	3×10^5



第1図 分離4菌株の培養液の色素量及びpHの経時変化

しょうが刻み漬から分離した酵母による食用色素102号の退色について

分離株No.1, No.3は、いずれもグラム陽性球菌で、*Micrococcus*と推定された。両菌は、食塩濃度12%まで生育可能、6%で最大増殖度を示し、赤色102号の退色も最大となる。培地pHは1週間培養後も6.0であり、生酸性は大きくなかった。

分離株No.8は、グラム陽性桿菌で、食塩濃度10%でも良好な増殖を示し、退色度も大であったが、食塩濃度が4%以下及び14%以上では生育、退色ともに微弱であった。培養後の培地pHは5.6で弱い生酸性を示した。

これら微生物の増殖とともに、培地中の色素は退色し、7日後には培地の赤色は消滅した。しょうが抽出液の培地への添加は菌の増殖ならびに退色能に対してまったく影響を与えたなかったので、しょうが成分は微生物による色素の退色に無関係であると考えられた。

Pseudomonas, *Alcaligenes*など細菌類による合成色素の変色については、芥田が詳細な報告をしているが、本試験でも、退色品から分離した3菌株の細菌はいずれもかなり大きな退色能を有し、分離細菌の培養液pH変化も漬物とほぼ同じであるので、しょうが刻み漬の退色の主原因菌は細菌類であると考えられる。

しかし、しょうが刻み漬には酵母もかなり高レベルで生残し、酵母による退色も無視できないと考えられた。分離株No.2の酵母（写真1）は、始発時pHを6としたとき、食塩濃度4%以下では培地pHをかなり低下させるが、食塩濃度6～8%では培養中にpHを上昇させる。しょうが刻み漬の食塩濃度から考えると、退色品のpH上昇は、細菌類の増殖によるアルカリ生成だけではなく、酵母の増殖も原因の一つと考えられた。フラスコ底部に沈殿した酵母菌体は赤色に染色されていなかったので、培養液中の色素は単純に吸着されるだけではなく、なんらかの化学的変化を受けて呈色能を失ったと考えられる。酵母による赤色102号の退色については詳細な研究も行われていないので、酵母の増殖と退色能との関係を知るため、分離株No.2の赤色102号退色能に対する培地のpH、食塩濃度、グルコース濃度、及び窒素源の影響を検討した。

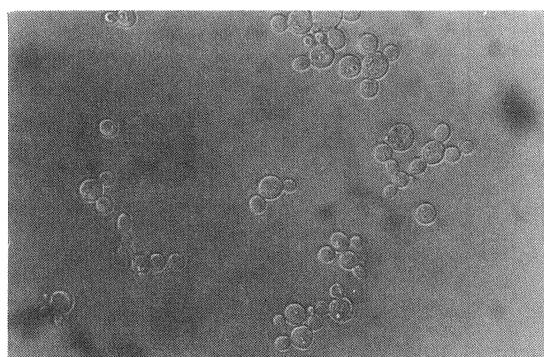
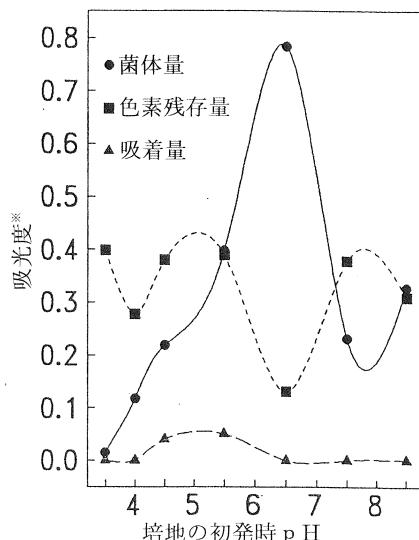


写真 赤色102号を退色する酵母（分離株No.2）の顕微鏡写真

2. 培地 pH の影響

第2図に示すように、本酵母はかなり広範な pH 域で生育し、pH 6.0で最大増殖度を示した。赤色102号添加培地では、無添加培地より良好な増殖を示し、pH 6.5で最大増殖度を示した。本酵母による色素の退色は、pH 5.5～7.5で認められ、最大増殖度となる pH 6.5で退色度も最大となった。他の pH 領域における退色能は微弱で、pH 4.0～6.0では酵母菌体への吸着が認められた。吸着量は、培地への添加量の 1/10以下であり、他の pH 域ではまったく認められなかった。小野崎ら¹⁷⁾によれば、パン酵母に対する赤色102号の吸着量は、pH 1.4で最大となり、乾燥酵母 10mg 当り 0.24mg であるが、本酵母の最大吸着量は小さくまた pH 4.0以下では吸着能は認められない。本酵母は、乾燥パン酵母とは異なり、増殖時には色素吸着能より退色能の方が大であった。



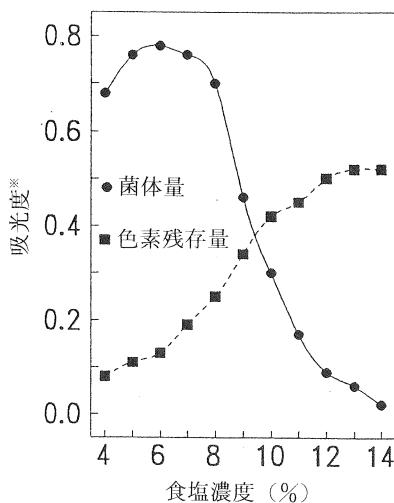
第2図 初発時 pH が菌体量、色素の残存及び吸着量に及ぼす影響

分離株 No. 2 (酵母)

※菌体量は 660nm、色素量は 508nm における吸光度

3. 培地食塩濃度の影響

第3図は、pH 5.3における本酵母の増殖ならびに赤色102号の退色と培地食塩濃度との関係を示す。図から明らかなように、食塩濃度 8% 以下では、非常に良好な増殖度を示すが、10% では最大値の約 1/2 の増殖度となり、14% では殆ど増殖しなかった。退色能は、食塩濃度の増加とともに低下し、10% 以上では非常に微弱となり、菌体増殖度と関連すると考えられた。1週間培養後の培養液 pH は、食塩濃度 6～8% では 6.6～6.8 まで上昇するが、他の食塩濃度ではやや低下の傾向 (4.8～5.1) が認められた。しかし、10% 以上の食塩濃度でも菌体への吸着は認められなかった。



第3図 培地食塩濃度の影響(分離株No.2)

※第2図と同じ

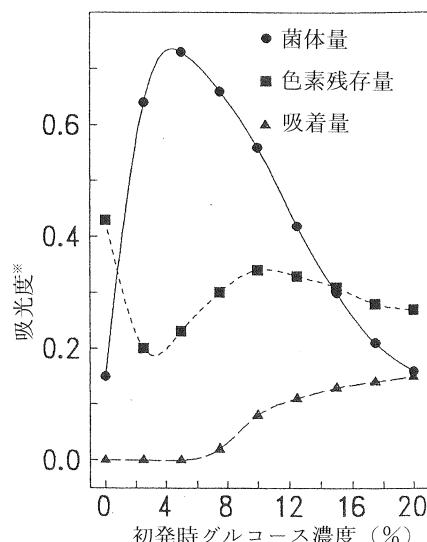
4. グルコースならびに各種糖類の影響

本酵母は、かなり大きな耐浸透圧性を有し、グルコース濃度20%においても増殖度が大(第4図)であった。グルコース濃度が2.5~5.0%で最大増殖度を示し、退色度も最大となった。菌体への色素の吸着は7.5%以下でまったく認められず、7.5%以上では糖濃度の増加とともに増加して20%で最大量となつた。

本酵母の各種糖類資化性と各糖類添加培地での赤色102号残存量(培養1週間後)を第2表に示す。マンノース、ラフィノースを糖質源としたとき、増殖度は小さいが、他の糖類では良好な増殖を示した。とくに、フラクトース、ガラクトース及びショクロースで大きな増殖度を示した。

赤色102号の退色度は、培地に磷酸緩衝液を添加したため(後述)前項までの実験結果より小さいが、フラクトース、グルコース、及びマルトースの場合に他の糖類より大きな退色度が認められた。ガラクトースでは最大の増殖度が認められたにもかかわらず、色素の退色は生ぜず、ラクトース、ラフィノースでも退色は認められなかった。マンノース、ショクロース、デキストリンでは退色度が微弱であった。

本実験では、菌体への色素吸着は生じなかったが、小野崎¹⁸⁾のパン酵母による色素吸着の実験においても、ガラクトースでは他の糖類より吸着量が小さく、グルコース、フラクトース、マルトースなど発酵性糖類ではデキストリンなどより吸着量が大となるという。色素の吸着あるいは退色の機構を同一視できないが、いずれにおいてもガラクトースとフラクトースなどに対する挙動が類似している。酵母による赤色102号の吸着・退色は、糖代謝とも関連すると考えられる。



第4図 グルコース濃度の影響（分離株No.2）

※第2図と同じ

第2表 酵母（分離株No.2）の退色能と各種糖類の影響

糖類	菌体増殖度 ^{*2}	残存色素量 ^{*3}	培地pH
対照 ^{*1}	—	1.570	5.4
グルコース	0.320	0.801	5.2
フラクトース	0.728	0.115	3.7
マンノース	0.197	1.434	4.4
ガラクトース	0.936	1.549	5.0
シュクロース	0.637	1.088	5.2
マルトース	0.544	0.822	4.6
ラクトース	0.428	1.560	5.4
ラフィノース	0.228	1.583	5.4
デキストリン	0.497	1.384	4.8

^{*1} 培養前^{*2} 30℃ 7日培養後, 660nmにおける吸光度^{*3} 30℃ 7日培養後, 508nmにおける吸光度

5. 窒素源の影響

ポリペプトン, 酵母エキス, カゼミノ酸, 肉エキスなど有機窒素化合物と酒石酸アンモニウム, 硝酸アンモニウム, 磷酸アンモニウム, など無機窒素化合物を窒素源としても, 本酵母は良好な増殖を示し, 赤色102号を退色させた。芥田⁶⁾によれば, 黄色1号の細菌による変色にはアミノ酸と炭素源が必須要素であり, 無機窒素源の場合には変色を生じないと報告している。本酵母の窒素源資化性と退色能の関係は細菌の場合と異なるものと考えられた。

しょうが刻み漬から分離した酵母による食用色素102号の退色について

第3表に本酵母のアミノ酸資化性と赤色102号の吸着退色能との関係を示す。表から明らかなように、L-リジン、L-アスパラギン酸、L-プロリン、D-イソロイシン、L-チロシン、L-トリプトファン、L-アルギニンのように非常に良好な増殖が認められたアミノ酸では、赤色102号の退色が顕著であり、菌体への吸着は認められなかった。また、D-バリン、L-フェニルアラニンは、良好な増殖を示し退色度も大であったが、同時に菌体への吸着も生じた。

L-シスチン、L-グルタミン酸の場合には、菌体増殖度はそれほど大きくなかったが退色度はかなり大となった。L-グルタミン酸では菌体への吸着も認められた。

他のアミノ酸の場合には、いずれも菌体増殖度が小さく、赤色102号を退色しなかったが、これらアミノ酸の中で、グリシン、ロイシン、L-セリン、L-メチオニンでは菌体への吸着が認められた。退色及び吸着を生じなかったのは、L-アラニン、L-ヒスチジンの2種類であった。

しょうが漬に使用されているグルタミン酸、アスパラギン酸の2種類のアミノ酸が、本酵母による赤色102号の退色、菌体吸着に関与することは明らかで、退色防止のためには、微生物の混入防止等に十分な配慮が必要である。

6. ビタミン類の影響

9種ビタミン添加培地から1種類ずつ除去した場合と、無添加培地に1種類ずつ添加したときの、本酵母の増殖と赤色102号の退色の状況を第4表及び第5表に示す。本酵母の増殖はピリドキシン及びビオチン欠によって抑制され、リボフラビン単独添加では回復しなかった。ピリドキシン及びビオチンの2種ビタミンが本酵母の増殖に必須であると考えられた。

第3表 酵母（分離株No.2）の退色・吸着能に対するアミノ酸の影響

アミノ酸	菌体増殖度	残存色素量	吸着色素量 ^{*1}	培地 pH
グリシン	0.120	0.318	0.032	3.5
L-アラニン	0.118	0.320	0.000	3.5
D-バリン	0.504	0.065	0.081	3.4
ロイシン	0.150	0.340	0.042	3.4
D-イソロイシン	0.910	0.120	0.000	3.3
L-セリン	0.098	0.352	0.032	3.4
L-シスチン	0.140	0.283	0.000	3.3
L-メチオニン	0.120	0.396	0.020	3.4
L-フェニルアラニン	0.625	0.025	0.090	3.3
L-チロシン	0.822	0.065	0.000	3.0
L-トリプトファン	0.822	0.055	0.000	3.0
L-プロリン	0.943	0.022	0.000	3.5
L-ヒスチジン	0.203	0.300	0.000	2.9
L-アルギニン	1.072	0.000	0.000	4.3
L-リジン	1.425	0.000	0.000	3.8
L-アスパラギン酸	1.120	0.062	0.000	3.7
L-グルタミン酸	0.140	0.190	0.131	3.0

*1 培養液 5 ml で増殖した菌体から抽出、10 ml に定容後 508 nm での吸光度

第4表 酵母(分離株No.2)の退色能と各ビタミン欠の影響

ビタミン	菌体増殖度	残存色素量	培地pH
チアミン塩酸塩	1.070	0.745	5.7
リボフラビン	1.070	0.120	5.2
ピリドキシン塩酸塩	0.749	0.120	5.8
パントテン酸カルシウム	1.129	0.315	5.8
ニコチン酸	1.087	0.165	5.6
パラアミノ安息香酸	0.946	0.270	5.6
葉酸	1.055	0.515	5.7
ビオチン	0.675	0.412	5.6
コリン塩酸塩	1.125	0.373	5.7
9種ビタミン	0.817	0.240	5.6

第5表 酵母(分離株No.2)の退色能と各ビタミン添加の影響

ビタミン	菌体増殖度	残存色素量	培地pH
チアミン塩酸塩	0.929	0.170	5.2
リボフラビン	0.664	0.980	4.5
ピリドキシン塩酸塩	1.115	0.250	4.9
パントテン酸カルシウム	1.191	0.082	4.9
ニコチン酸	1.028	0.427	4.8
パラアミノ安息香酸	1.180	0.150	4.9
葉酸	1.305	0.100	4.9
ビオチン	1.525	0.128	5.0
コリン塩酸塩	1.310	0.220	5.2
9種ビタミン	1.310	0.091	5.3

ビタミン無添加培地へのリボフラビン単独添加は、増殖抑制とともに退色も阻害し、またリボフラビン欠培地における退色度が9種ビタミン添加培地より大となったので、リボフラビンは退色能を阻害すると考えられた。同様の傾向は、ニコチン酸、ピリドキシンにも認められ、単独培地での退色度はリボフラビンより小さいが、除去培地での退色度は大となった。

チアミン、パントテン酸カルシウム、パラアミノ安息香酸、葉酸、ビオチン、コリンの添加は、いずれも退色を促進した。とくにチアミンの影響は他のビタミンに比して顕著であり、単独除去によって退色能が大きく抑制された。除去による退色能の抑制は、葉酸、ビオチンがチアミンに次いで大きく、他のビタミンの場合にはそれほど大きくなかった。

7. 各種添加物の影響

酵母の増殖抑制と赤色102号の退色防止を図るため、ソルビン酸、磷酸緩衝液及びエタノールの添加効果を検討した。

しょうが刻み漬から分離した酵母による食用色素102号の退色について

ソルビン酸は、食塩無添加、pH 5.7の液体培地で0.7mg/ml以上添加により酵母の増殖及び退色を阻止した(第6表)。この条件の培地では、0.5mg/ml添加で微弱な増殖及び退色が認められ、0.1mg/ml以下の添加では、明らかに退色が認められた。漬物に対するソルビン酸の使用基準は1mg/gであるから、基準量の添加により酵母の増殖を阻止できると考えられる。しかし、ソルビン酸添加量を減らしたり、基準量添加においても細菌類が増殖した場合とか、食塩濃度を低くしたためアルカリ生成が起こり漬物pHが上昇してソルビン酸の効力低下をもたらすことも考えられるので、ソルビン酸添加だけで退色を阻止することは困難であると考えられる。

芥田¹⁶⁾は、漬物にポリ磷酸塩を添加することによって変色防止が可能であることを認め、それがポリ磷酸塩による微生物の黄色1号還元酵素の失活に起因すると報告している。本実験においても、1/10M磷酸緩衝液(pH 5.0)が本酵母による赤色102号の退色を阻害する(第7表)ので、退色において還元酵素系が関与していると推察された。

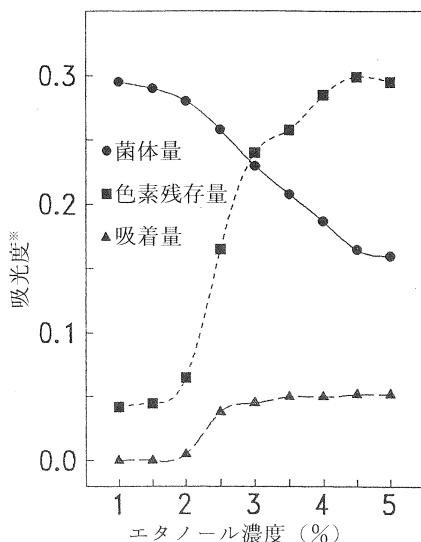
第5図に、エタノール添加量と退色能との関係を示した。酵母の増殖は4%以上のエタノール添加によって抑制される²⁰⁾が、本酵母のアルコール耐性は大きく、4%においても増殖が認められた。1~2%添加でやや増殖は抑制されるが、大きな退色が認められ、吸着は生じなかった。2.5%以上の添加で退色は抑制され、菌体への吸着が認められた。

第6表 酵母(分離株No.2)に対するソルビン酸の影響

添加量	菌体増殖度	残存色素量	培地pH
0.1 mg/ml	0.072	0.325	4.4
0.3	0.018	0.375	4.7
0.5	0.010	0.390	5.1
0.7	0.004	0.395	5.3
1.0	0.003	0.398	5.6
1.5	0.003	0.398	5.7

第7表 磷酸緩衝液の効果(分離株No.2)

緩衝液	始発pH	培養後pH	菌体量	残存色素量
第2クエン酸ナトリウム +水酸化ナトリウム	5.64	3.35	0.15	0.298
	6.67	4.70	0.21	0.286
磷酸1カリウム +磷酸2ナトリウム	5.59	4.00	0.16	0.399
	6.98	6.20	0.26	0.382
酢酸 +酢酸ナトリウム	5.60	4.22	0.15	0.280
	6.62	6.18	0.24	0.188
磷酸2ナトリウム +クエン酸	5.60	4.19	0.16	0.396
	7.00	6.30	0.23	0.378



第5図 エチルアルコール濃度の影響 (分離株No.2)

※第2図と同じ

要 約

しょうが刻み漬の赤色102号色素の退色が、微生物の増殖に起因することを確認、原因菌として、細菌3菌株と酵母1菌株を分離した。とくに酵母について、退色能に影響する因子を検討した結果、

1. 酵母（分離株No.2）はpH6.5において最大増殖度を示すとともに、色素の退色度も最大となつた。退色を生じるpH域は5.5～7.5で、6.0以下では菌体への吸着も生じた。

2. 本酵母は、食塩12%まで、グルコース20%でも増殖し、かなり大きな耐浸透圧性を有している。色素の退色は、食塩8%以下、グルコース5%以下で非常に大きく、それ以上の濃度では、微弱であった。高食塩下では菌体への吸着は認められないが、グルコース7.5%以上では吸着が認められた。

4. 糖質源として、ガラクトース、フラクトース、シュクロースを用いたとき、酵母の増殖が大で、ガラクトースでは最大増殖度を示すにもかかわらず退色を生ぜず、グルコース、マルトースで大きな退色が認められた。

5. L-リジン、L-アスパラギン酸、L-アルギニン、L-プロリン、D-イソロイシン、L-トリプトファンで、本酵母は良好な増殖を示し、退色度も大であった。D-バリン、L-フェニルアラニン、L-グルタミン酸では退色と吸着を生じ、L-シスチンでも退色を生じた。グリシン、ロイシン、L-セリン、L-メチオニンでは吸着を生じた。

6. リボフラビン、ニコチン酸、ピリドキシンは酵母による退色を阻害し、チアミン、葉酸、ビオチン、パントテン酸カルシウム、パラアミノ安息香酸、コリンは、退色を促進した。

7. 磷酸緩衝液の添加は、退色防止に効果があり、ソルビン酸添加も酵母の増殖抑制に効果があった。エタノール 4 % の添加は、酵母の増殖を阻止できず、また色素の退色と吸着を生じた。

文 献

- 1) 芥田三郎, 大桑敬一・伊福 靖: 酸工, 29, 78-85(1951)
- 2) 芥田三郎: 酸工, 39, 98-104(1961)
- 3) 芥田三郎: 酸工, 39, 104-109(1961)
- 4) 芥田三郎: 酸工, 39, 132-137(1961)
- 5) 芥田三郎: 酸工, 39, 477-482(1961)
- 6) 芥田三郎: 酸工, 39, 482-486(1961)
- 7) 芥田三郎: 酸工, 40, 51-56(1962)
- 8) 芥田三郎: 酸工, 40, 107-112(1962)
- 9) 芥田三郎: 酸工, 40, 112-116(1962)
- 10) 芥田三郎: 酸工, 40, 227-232(1962)
- 11) 芥田三郎: 酸工, 40, 232-237(1962)
- 12) 芥田三郎: 酸工, 40, 280-286(1962)
- 13) 芥田三郎: 酸工, 40, 286-290(1962)
- 14) 芥田三郎: 酸工, 40, 401-405(1962)
- 15) 芥田三郎: 酸工, 40, 433-437(1962)
- 16) 芥田三郎: 酸工, 40, 497-499(1962)
- 17) 小野崎博通・南 公子・高桑稔子: 食品工誌, 18, 346-350(1971)
- 18) 小野崎博通・南 公子: 酸工, 49, 918-924(1971)
- 19) 角田潔和・館野悦之・小泉武夫・小玉健吉・吉沢 淑・野白喜久雄: 酸工, 70, 387-393(1992)
- 20) 山下 勝・深谷伊和男: 本誌, 12, 105-110(1971)