

〔醸酵工学会誌 第59巻 第3号 207-216. 1981〕

麹汚染細菌の蒸し米上での増殖特性

奈良原 英 樹

(株)樋口松之助商店

Growth characteristics of *kōji*-infecting bacteria incubated on steamed rice. NARAHARA, H. (*Higuchi Matunosuke Shoten Co. Ltd., Harimacho, Abeno-ku, Osaka 545*) *Hakkokogaku* 59: 207-216. 1981.

Five bacterial strains isolated from rice *kōji* were inoculated onto steamed rice singly or mixed with *Aspergillus oryzae* and incubated under various conditions to investigate effect of each factor on their growth.

In single culture, the five strains gave growth curves for varying *Aw* or temperature similar to those in liquid culture reported by us previously. Most vigorous growth was shown by *Micrococcus varians* and *Bacillus subtilis* under all conditions. *Flavobacterium lutescens* and *Pseudomonas* sp. were so sensitive to *Aw* and temperature that they hardly grew under the normal conditions for *kōji*-making. *Bacillus megaterium* showed intermediate character between these two types.

In mixed culture, the growth rate of all strains was suppressed markedly, growth ceased at an early stage of incubation, and the final biomass of each bacterium was at most one-thousandth of that single culture. Temperature and moisture content affected considerably the growth of *B. subtilis*, whereas mixing of the medium mid-way through the incubation period had most effect on *M. varians*.

The effect of the conditions mentioned above was compared between the organisms and discussed with regard to *kōji*-making.

米麹の工業的製造法は、現実には一部ないし全工程が開放的であり、製麹工程中に細菌により汚染され、出麹中には多種多数の細菌が存在することが知られている。^{1,2)}

麹中の細菌の有害性は、生成物、菌体、麹菌の生育と酵素生成阻害などに関して報告されている³⁻¹³⁾が、有用性に関しては明らかでない現状では、製麹工程において、汚染細菌の混入を防止することはもとより、汚染細菌の増殖を抑制し麹菌のみの増殖を促進する操作を行うことが望ましい。その方法を検討するにあたり、汚染細菌と麹菌の増殖特性に関するデータの必要性から、先に著者らは、汚染細菌の分離同定を行い、¹⁴⁾さらに麹菌、汚染細菌の増殖特性を主として水分活性、培養温度の面から検討して報告した。^{15,16)}

本報では、蒸し米上での、汚染細菌単独ならびに麹菌との混合培養における原料処理、接種菌の種と量、培養条件、培養操作などの因子の細菌増殖への影響を調べ、その結果を製麹法との関連において検討した。

実験材料および方法

α 米の調製 85%精白米の蒸し米を、室温で真空乾燥して水分6.04%の α 米を調製し、密閉して15°Cで保存し、全実験期間中これを用いた。

使用菌株 麹菌は、*Aspergillus oryzae* var. *brunneus* (W03)を用い、一部では生育速度の遅い菌として *A. oryzae* var. *viride* var. nov. (RIB 203) mut. FN16 も使用した。汚染細菌は、前報¹⁴⁾の分離菌中 *Bacillus subtilis* (S7), *B. megaterium* (S10), *Micrococcus varians* (S12), *Flavobacterium lutescens* (S4), *Pseudomonas* sp. (S9) の5株を用いた。

接種菌の調整 麹菌は、0.5%リン酸3カリ添加米を用い試験管培養し胞子形成後乾燥したものに、界面活性剤(ノイゲン 160, 第一工業製薬 K.K.) 0.2 mg/ml を含む殺菌水を加えて振とうし、胞子懸濁液として用いた。汚染細菌は、Scott が *Staphylococcus* の培養に用いたカザミノ酸、酵母エキス、キャシトー

ンを主成分とする C. Y. C. 培地¹⁷⁾にて 30°C で振とう培養し、定常期到達後 5～10 時間の培養液を吸光度を測定し、0.1% ポリペプトン水溶液¹⁸⁾にて適当に希釈したものを接種菌とした。芽胞子を接種する場合は、0.05% 塩化マンガンを加えて培養し、48 時間目のものを 80°C、30 分熱処理して用いた。

培養 α 米 20 g をシリコン栓付 200 ml 三角フラスコに採り、計算量の水を加えて時々かくはんしながら 1 時間静置し均一に吸水させた。そして、120°C で 10 分間滅菌し冷却したものに、接種菌液を滅菌ピペットにて麹菌は約 10^6 /g、細菌は 10^3 /g 接種し、フラスコを振とうして接種菌を分散させておく。別に、計量滅菌ずみのシリコン栓付 100 ml 三角フラスコを 1 点につき 5 本用意し、これに接種ずみの α 米をクリーンベンチ内で 5 等分し、各フラスコを計量後、恒温器内で培養した。

菌数測定 培養経過中 0, 8, 16, 24, 40 時間目にフラスコを 1 本ずつ取り出し、界面活性剤（ノイゲン 160）を含む 0.1% ポリペプトン水（滅菌ずみ）50 ml

を加え、振とうして α 米上の増殖した菌体を液中に懸濁し、これを順次ポリペプトン水で希釈しプレート法で生菌数を測定した。分裂回数、平均分裂時間は次式により求めた。

$$x = \log_2 N/N_0, \quad td = t/x$$

N : 測定時生菌数/g(α 米), N_0 : 初発生菌数/g(α 米)

x : 分裂回数, t : 培養時間, td : 分裂時間

実験結果および考察

各汚染細菌の蒸し米上での単独培養における、増殖への影響因子

培地水分 蒸し米の初発水分を 22, 30, 35, 40% に調整し、各菌株を単独で約 10^3 /g 接種し 30°C にて培養し、経時的に生菌数を測定した結果を Fig. 1 に示した。増殖の速い *B. subtilis*, *B. megaterium*, *M. varians* においては、水分 35, 40% では最大増殖期は接種後 8 時間以内にあり、この間の平均分裂時間は 0.94～1.1 hr で、これは前報¹⁶⁾の液体培養におけ

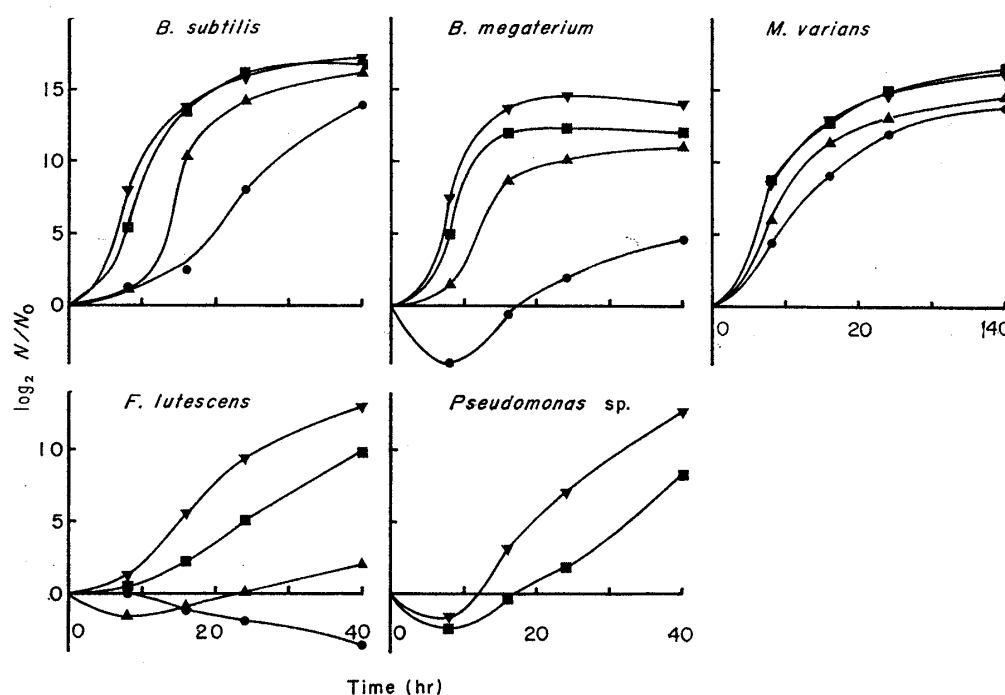


Fig. 1. Influence of water content of medium on the growth of bacteria isolated from koji.

Each strain was inoculated onto steamed rice with water content of 25 (●), 30 (▲), 35 (■) or 40 (▼) %, and incubated at 30°C. The inoculum size was about one thousand viable cells per gram of steamed rice. The ordinate shows the numbers of doublings of N/N_0 , where N_0 and N are the number viable cells per gram of steamed rice at the start and after 40 hr of incubation respectively.

る A_w 0.990, 30°C の平均値 1.2~1.4 hr と比較して相当速い増殖速度である。24時間以後は見掛け上ほとんど増殖が見られなかった。*B. subtilis* と *M. varians* の40時間後の生菌数は 10^8 /g にも達し、これは増殖曲線よりほぼ増殖限界量と言える。*F. lutescens* と *Pseudomonas* sp. においては、増殖速度は比較的遅く、40時間の培養期間中増殖を続けた。最適水分は、いずれの菌株についても40%または、それ以上にある。水分量の低下の増殖速度に及ぼす影響の最も少ないのは *M. varians* 次いで *B. subtilis* で、*Bacillus* 2株は水分25%においては lag time と増殖速度に著しい影響が現れる。*F. lutescens* と *Pseudomonas* sp. は、培地水分の影響を受けやすく30%以下では増殖しない。

培養温度 25, 30, 35, 40°C の温度条件で、35%

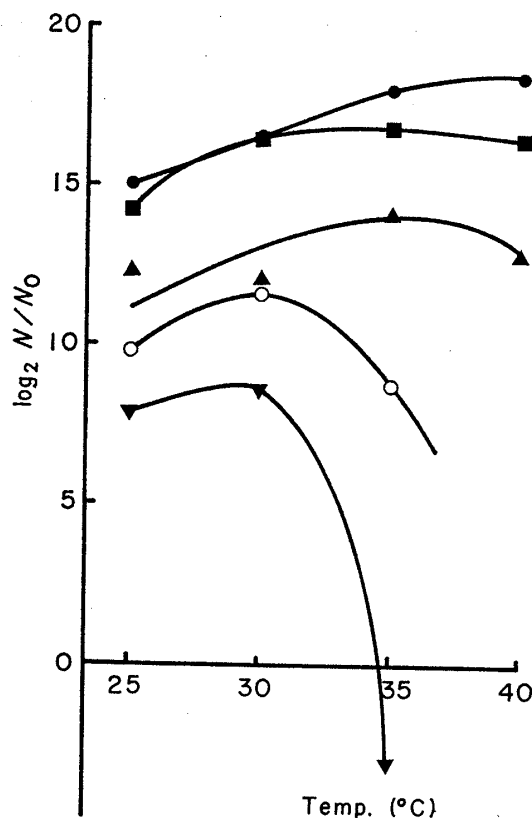


Fig. 2. Influence of incubation temperature on the growth of bacteria.

Organisms were inoculated onto steamed rice and incubated for 40 hr at the indicated temperatures. The water content of steamed rice was adjusted to 35% by adding an appropriate volume of water to α -rice before steaming. Organisms: *F. lutescens* (○), *Pseudomonas* sp. (▼), *B. subtilis* (●), *B. megaterium* (▲), *M. varians* (■).

水分の蒸し米上での40時間培養における各菌の増殖率を Fig. 2 に示した。最適温度は、5菌株共に前報¹⁶⁾の液体培養の結果とよく一致している。*F. lutescens* と *Pseudomonas* sp. は、30°C 付近に最適温度があり、それを過ぎると共に生育が著しく阻害され、*Pseudomonas* sp. では35°C においてすでに生育が見られず、*F. lutescens* は増殖量が1/8になり40°C では生育が見られなかった。これに反し他の3株は、培養温度が増殖量に与える影響は少なく、*B. subtilis* で、増殖菌数の最も少ない25°C に対する最も多い40°C における生菌数の比は約10倍で、*B. megaterium*, *M. varians* は35°C において最大増殖数を示すが、最少の25°C の菌数との比は5倍以内であった。しかし、データは示していないが最適温度を外れるに従い lag time が長くなる傾向があり、特に25°C においては著しく、*Bacillus* 2株は25°C においては8時間目においてすら増殖が見られなかった。

水分活性 (A_w) 培地の水分を、前報の蒸し米の等温吸着線¹⁵⁾より A_w に換算し、各菌の増殖に対する A_w の影響を Fig. 3 に示した。*M. varians* を除き他の菌はいずれも A_w の影響が著しく、16時間培養において A_w 0.95 以下では増殖が見られない。液体

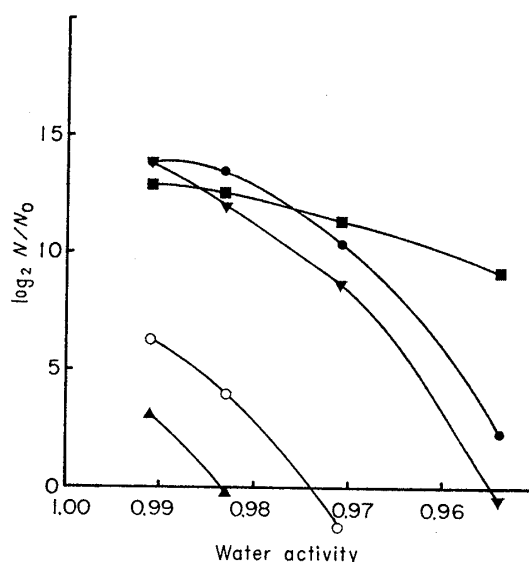


Fig. 3. Relation between A_w and the growth of bacteria.

Organisms were inoculated onto steamed rice adjusted to various A_w levels by controlling water contents and incubated for 16 hr at 30°C. Organisms: *B. subtilis* (●), *B. megaterium* (▼), *M. varians* (■), *F. lutescens* (○), *Pseudomonas* sp. (▲).

培養における24時間培養の生育限界 A_w は、前報¹⁶⁾ より *Pseudomonas* sp. が 0.98, *F. lutescens* が 0.96, *B. megaterium* 0.95, *B. subtilis* 0.94, *Micrococcus* sp. 0.86 で Fig. 3 の結果とよく一致しており、液体、固体にかかわらず A_w により培地の水分を表示することにより、普遍的に細菌の増殖への水分の影響を論ずることが可能であることを示している。

温度、水分の両面より汚染細菌の増殖特性を比較すると、*M. varians* が蒸し米上で最も増殖しやすく次いで *B. subtilis* で、*F. lutescens* と *Pseudomonas* sp. は水分過多の蒸し米上で 30°C 付近の温度で培養しない限り増殖が起こらないと言える。実際、工業生産された麹より分離される菌の中で出現頻度と数量の多いのは *Micrococcus* であることは、窪田ら,¹⁹⁾ 芦沢ら,²⁰⁾ 山下²¹⁾ らの報告があり著者らも同様の結果を報告している。²²⁾

麹菌と汚染細菌との混合培養における汚染細菌の増殖への影響因子 製麹工程における汚染細菌の経時的増殖変化とそれに影響を与える要因を検討する目的

で、以下の因子について調べた。

水分 麹菌は、通常の製麹時接種濃度に近い、 α 米 1 g 当たり 10^8 の胞子を接種し、各細菌 10^3 /g と混合培養した。培地の水分は 30, 35, 40% に調整し、30°C における培養過程での生菌数の変化を細菌の単独培養と比較して Fig. 4 に示した。混合培養では、単独培養に比して、いずれの菌においても8時間を過ぎると増殖速度が著しく低下し、16時間以後は生菌数は減少に向かい、40時間目には接種菌数以下になる場合も見られた。40時間目における単独培養に対する比は、35% 水分で 30°C 培養の場合において、実験の都度バラツキがあるが、*M. varians* で数百分の一、他の4株は数千分の一となり混合培養における麹菌の細菌抑制作用は著しい。培地初発水分の影響は、*M. varians* においては 30~40% の間ではほとんど見られなかった。これは単独培養に見られるのと同じ傾向であるが、一方 *Bacillus* においては単独培養に比して初発水分を下げることによる増殖速度の低下が顕著に見られた。

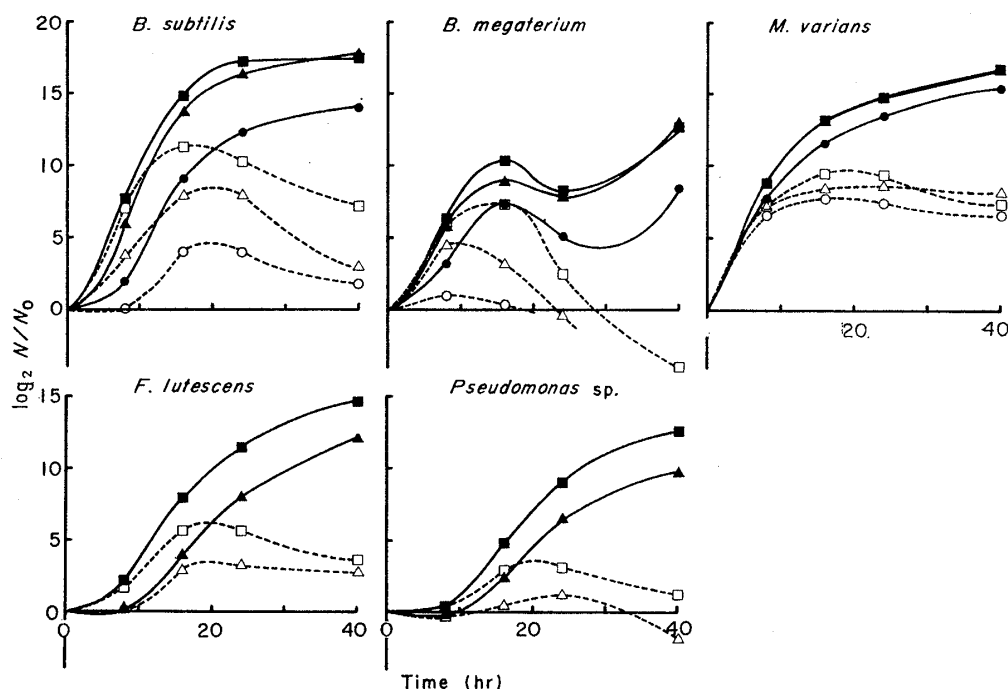


Fig. 4. Influence of water content of medium on the growth of bacteria in single or mixed culture.

Solid lines shown single cultures of bacteria; broken lines shown mixed cultures with *A. oryzae* W03.

Organisms were inoculated onto steamed rice containing 30 (○, ●), 35 (△, ▲), 40 (□, ■) % of water and incubated at 30°C. Inoculum sizes were about one thousand viable cells of bacteria and one million viable conidia of *A. oryzae* per gram of α -rice.

百瀬ら²³⁾は乳酸菌において、また大内ら^{24,25)}は酵母に関してではあるが、製麹工程中の動向を調べ、いずれも麹菌の増殖に伴い単独培養に比して、これらの菌の増殖が抑制され、やがて生菌数の減少をもたらすことを報告している。その原因に関しては、百瀬らは要因不明であるとし、大内らはカリウム、マグネシウム、無機リンの不足によるものと考察しているが、麹菌の増殖に伴い還元糖が著しく増加している点については言及していない。著者らは、麹菌による細菌増殖の著しい抑制と、低水分においてその効果が顕著に現れる原因は、その詳細は別に報告するが、麹菌の増殖に伴い生成される酵素によるデンプンの低分子化により、蒸し米の A_w が著しく低下し40時間目では0.90以下になる²⁶⁾ので、培養中に A_w が *Micrococcus* を除く4株の生育限界 A_w 以下になり細菌の増殖は停止し一部は死滅することによるもので、また初発水分の少ない蒸し米は、出発時すでに細菌の最適 A_w よりその A_w は低く、麹菌の増殖に伴い生育限界 A_w への到達時間も早く、従って出発水分を下げることで細菌の増殖抑制に顕著に働くものと推察した。

培養温度 これまでの結果より、汚染細菌中その増殖量より主として注目されるべきは *M. varians* と *B. subtilis* と言える。この2株について30, 35, 40°Cと培養温度を変えて、麹菌との混合培養における増殖の経時的变化を調べ Fig. 5 に示した。麹菌は発芽最適温度が28~34°C,²⁷⁾ 増殖最適温度は37.5°Cにあり、40°Cでは増殖速度が著しく低下する。²⁸⁾ 従って、35~

40°Cに最適温度のある *M. varians* や、40°C以上の *B. subtilis* との最適温度の相違により、40°Cにおいては両細菌の増殖は他の温度に比して盛んで、特に *B. subtilis* においては、平行して行った単独培養との比は30°Cで約 5×10^{-4} 、35°Cでは 5×10^{-3} 、40°Cでは 5×10^{-2} と *B. subtilis* の最適温度に近づくにつれ麹菌の抑制効果は明らかに減少した。また、肉眼的な観察による麹菌の増殖は40°Cで最も悪く、このことは細菌の増殖が先行し逆に麹菌の増殖が抑制されたことを意味する。芦沢ら²⁰⁾も30°Cに比して40°Cで *Micrococcus* sp. の増殖が旺盛で麹菌の生育が悪いと報告している。

接種の均一性 工業的規模での製麹では、麹菌胞子の蒸し米への均一な散布が困難で、そのことが、麹菌の増殖不完全な“はぜ落麹”の一因となっているのみならず、汚染細菌の増殖に適した状況をもたらすことが推測された。そこで、混合接種された蒸し米中に、その1/4量の細菌のみ接種した蒸し米を置き、不均一接種の状態をフラスコ内につくって培養し、その結果を Fig. 6 に示した。

不均一接種により、均一接種に比して著しい細菌の増加が見られた。このことは、一部単独培養が行われている状態より当然と言えるが、しかし40時間目における生菌数は、細菌の単独培養より推計される菌数に比し1/7~1/20と5株共少なくなっており、また単独培養と異なりいずれも24時間以後の増殖が鈍り、むしろ生菌数の減少をもたらした。この現象は、混合培養された80%の蒸し米の A_w の低下によりフラスコ

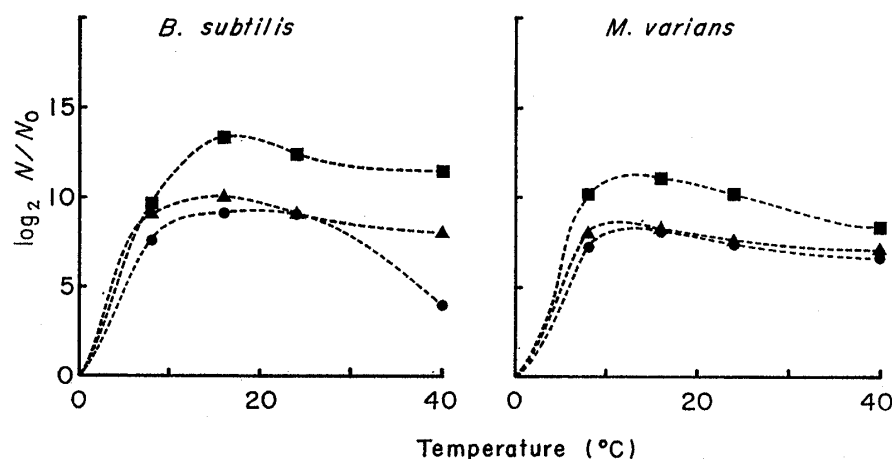


Fig. 5. Influence of temperature on the growth of bacteria in mixed cultures of *A. oryzae* with *B. subtilis* or *M. varians*.

Organisms were inoculated onto steamed rice and incubated at 30 (●), 35 (▲) or 40 (■) °C. The inoculum sizes were about one thousand viable cells of bacteria and one million viable conidia of *A. oryzae* per gram of α -rice.

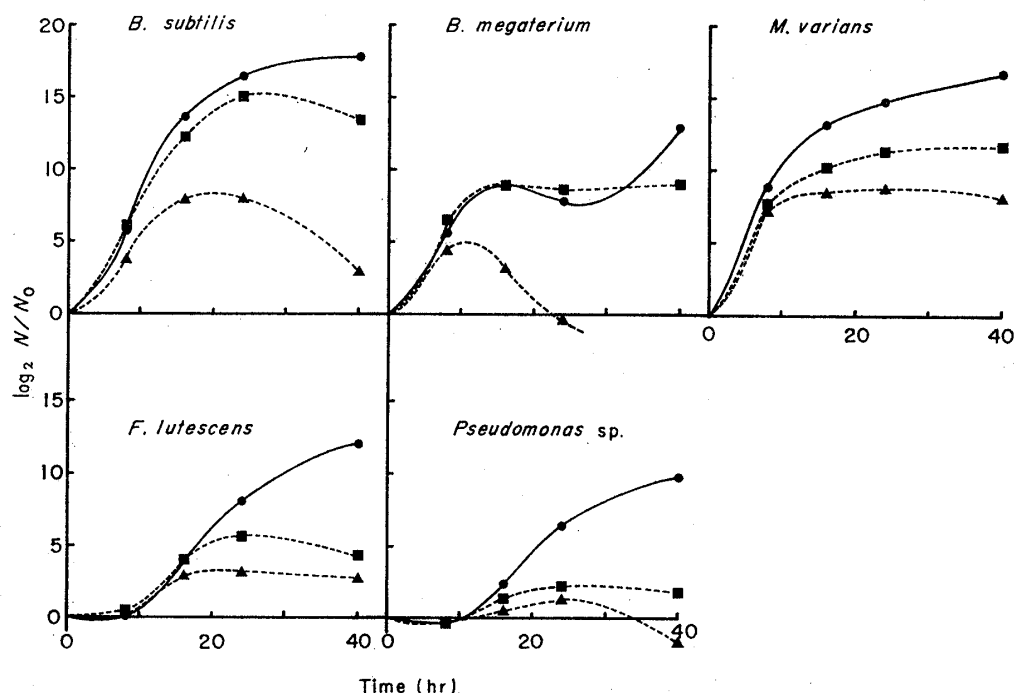


Fig. 6. Influence of homogeneity of inoculation of *A. oryzae* conidia on the growth of bacteria in mixed cultures.

Organisms were inoculated onto steamed rice containing 35% of water and incubated at 30°C. Solid lines show single cultures of each bacterium; broken lines show mixed cultures with *A. oryzae* W03. Square symbols represent inhomogeneously inoculated cultures: one-fifth of the steamed rice was inoculated with only the bacterium and added at the initial stage of incubation, without blending, to the remainder of the steamed rice inoculated homogeneously with the fungal conidia and bacterial cells.

内の相対湿度が低下し、間接的に残り 20% の単独接種の蒸し米の A_w の低下をもたらしたことが主因と推察される。

麹菌の増殖速度および接種量 菌株による増殖速度の差が、混合培養において細菌の増殖にいかに関与するかを調べる目的で、増殖速度の遅い変異株 *A. oryzae* FN-16 (W03 に対し 30°C で測定した μ の比は 0.73) と、蒸し米水分 35%、培養温度 30°C で比較したところ、16 時間目において麹菌の増殖の遅れによる細菌増殖量の差がはっきり見られ、*B. subtilis* で約 4 倍、*M. varians* で約 10 倍の増加となり、その後は共に増殖は停止しほぼ平行に推移した。このことは、麹菌の増殖速度の差の影響は細菌、麹菌共に、対数増殖している製麹の前半において現れることを示している。また、接種量が主として lag time に影響し、岡崎ら²⁹⁾ は 10 倍量使用で 6~7 時間短くなるとし、著者らは 4 倍量で約 2 時間短くなるデータを得ている

(未発表) ので、W03 株の接種量を通常製麹の場合の接種量 $10^6/\text{g}$ の 1/5 と 5 倍量を接種し、混合培養して lag time の変化の影響を調べた (Fig. 7)。接種菌量の差は両細菌に対し 8 時間目頃より現れ、16 時間目でははっきりとし以後ほぼ平行に推移し、40 時間目において両細菌共に 1/5 接種では標準接種量の場合の 3~4 倍、5 倍接種では 1/20 に抑制された。 A_w の低下による影響を受けにくい *M. varians* においても、8 時間目よりはっきり麹菌胞子量の影響が見られたのは、運動性のないこの菌において、蒸し米表面の麹菌との占有競争が増殖量を大きく左右しているものと推察される。なお、栄養の奪い合い、阻害物生産によらないというデータを得ているが別に報告する。

かくはん 機械製麹工程では、麹菌の増殖が肉眼的に観察される 16~24 時間目に“切り返し”という蒸し米のかくはんが一般に行われる。*M. varians* は運動性がなく、静置培養においては、蒸し米に接種され

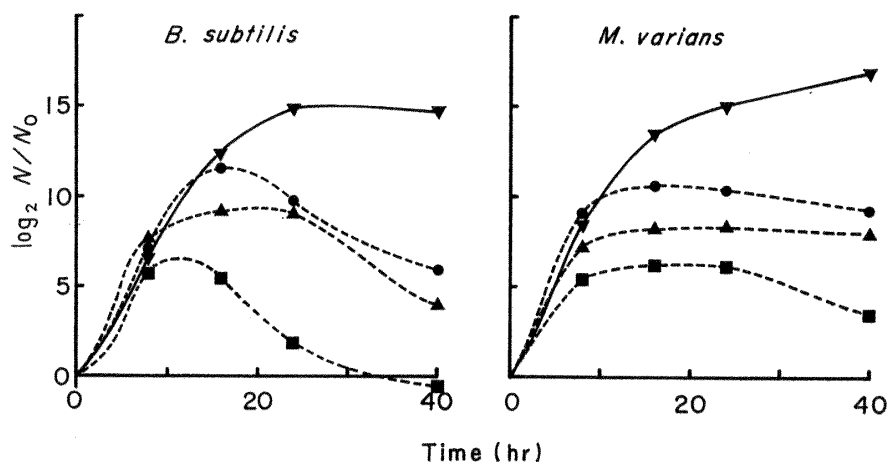


Fig. 7. Influence of inoculum size of *A. oryzae* on the growth of bacteria in mixed culture.

10^8 cells/g *B. subtilis* or *M. varians* were inoculated onto steamed rice containing 35% water together with *A. oryzae* W03 conidia and incubated at 30°C. Inoculum levels of conidia were: 2×10^5 /g (●), 10^6 /g (▲), 5×10^6 /g (■), and none (▼).

た菌はその位置で分裂を重ね、40時間目では肉眼的にも観察できる大きさのコロニーを形成した (Fig. 8). 培養途中でのかくはんは、増殖した菌体を蒸し米上の他の未接種部位に再接種することを意味し、初期菌数が少ないほどかくはん後の増殖速度の増加と、従って出麹時の菌数の増加をもたらすことが予想された。そこで、 α 米1g当たり 10^5 , 10^6 の *M. varians* を接種し、切り返し時に相当する16時間目にフラスコを手で振ることにより蒸し米のかくはんを行い、経時的に菌

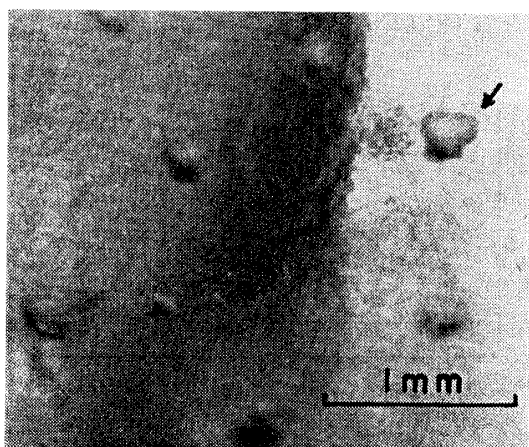


Fig. 8. Colonies of *M. varians* incubated on the surface of steamed rice.

About thirty cells of *M. varians* were inoculated onto a steamed rice grain containing 40% water and incubated for 40 hr at 40°C. Arrow indicates a colony of *M. varians*.

数変化を測定した (Fig. 9). 単独培養においてはかくはんの影響が明らかに現れ、特に接種菌種の少ない10/gにおいては16時間から24時間の間の平均増殖速

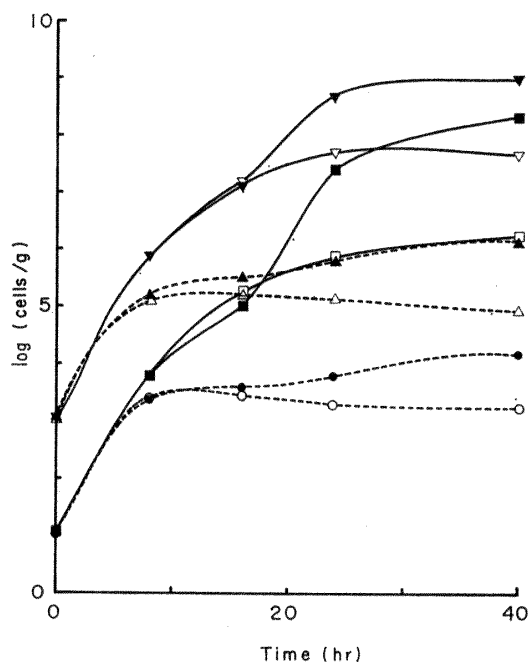


Fig. 9. Influence of mixing (*kirikaeshi*) 16 hr after inoculation on the growth of *M. varians*. Solid symbols: Cultures in the flasks were shaken by hand to mix 16 hr after inoculation. Open symbols: without mixing. Solid lines: single cultures of *M. varians*. Broken lines: mixed cultures of *A. oryzae* W03 and *M. varians*.

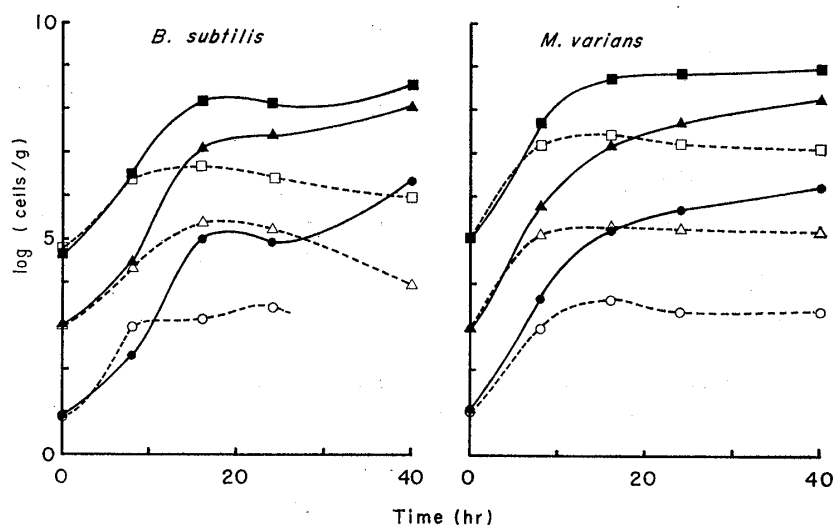


Fig. 10. Influence of inoculum size on the growth of bacteria.

Organisms were inoculated onto steamed rice containing 35% water and incubated at 30°C. Solid lines show single cultures of *B. subtilis* or *M. varians*. Broken lines show mixed cultures of *A. oryzae* W03 and *B. subtilis* or *M. varians*. Inoculum size of *A. oryzae* W03 was one million viable conidia per gram of α -rice in each mixed culture. Inoculum size of bacterial cells: circles, 10^3 /g; triangles, 10^4 /g; squares, 10^5 /g.

度は見掛け上かくはんにより60倍となり、接種量 10^3 /g の場合においても9倍であった。40時間目の菌数では、 10^3 /g 接種で約100倍、 10^4 /g 接種では6倍となった。混合培養においては、接種菌数の影響は少なく、いずれも10~20倍となった。

北原ら⁸⁰⁾は、走査型電顕を用いて醤油麹を観察し、*Micrococcus* が麹菌の菌糸に付着し、菌糸の伸長に伴いまんえんするものと考察しており、混合培養においてかくはんの影響の少ない原因の1つには北原らの説が考えられるが、他に麹菌増殖による蒸し米上の占有面積の減少や、 A_w 低下が影響しているものと推察される。

接種菌量 汚染細菌の接種量を 10^3 /g, 10^4 /g, 10^5 /g の3段階にして単独、混合両培養における初発菌濃度の影響を見た (Fig. 10)。単独培養の 10^5 /g 接種では、*B. subtilis*, *M. varians* 共に16時間では増殖限界量に至り、 10^3 /g 接種においても40時間目の菌数は、やはり増殖限界量に近い。その他の場合は、単独、混合培養共に接種量に関係なく、増殖曲線はほぼ同一な経過を示し、これらの菌による汚染では、最終菌数の比は初発菌数の比に等しいことを意味している。

接種菌の菌令 工業的製麹過程において、汚染菌は、有孢子細菌では孢子の状態で混入するケースが多いと考えられ、*B. subtilis* について対数期、定常期の細

胞、および孢子を接種し、単独ならびに混合培養の増殖曲線を比較した (Fig. 11)。単独培養においては、8時間目において孢子を接種したものに僅かな遅れが見られるのみであるが、混合培養においては、孢子発

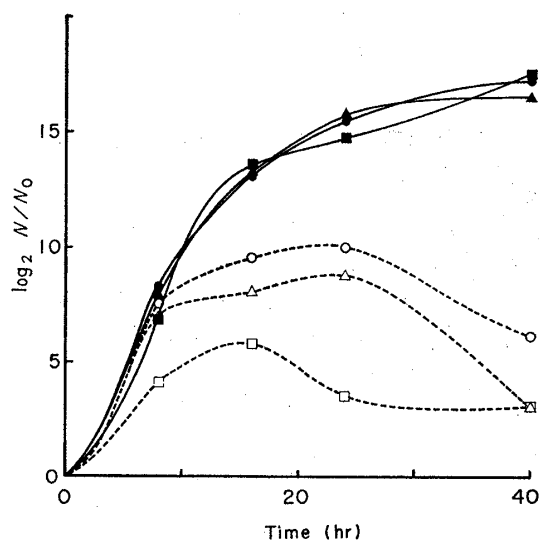


Fig. 11. Influence of inoculum age on the growth curve of *B. subtilis*.

Solid lines show single cultures of *B. subtilis*. Broken lines show mixed cultures of *A. oryzae* W03 and *B. subtilis*. Inoculum: log-phase culture ($\circ$, $\bullet$), stationary-phase culture ($\triangle$, $\blacktriangle$), spores ($\square$, $\blacksquare$) of *B. subtilis*.

芽に要する時間的な遅れは大きく影響し、8時間目において対数期接種の1/15の増殖量を示すのみであった。この結果は、製麹工程中の部所において、栄養分と水分の残留する所に増殖した汚染細菌の混入は、原料や空気中などよりの休止状態の菌による汚染よりも、その生菌数の実数以上に汚染源として注意をはらう必要性を示している。

これまでの結果を、各要因について基準状態に対する増殖量の比として、まとめて Table 1 に示した。

B. subtilis に関しては、培養温度、水分共に混合培養においてその影響が著しく、基準条件 (30°C 培養, 35% 水分) より 5°C, 5% の上昇は、各々約 20 倍の生菌数の増加を引き起こした。麹菌胞子の不均一散布

は、最も汚染の進行を促し、麹菌胞子の均一散布がこの細菌の増殖抑制に最も重要な点である。*M. varians* においては培養温度、水分の影響は少なく、製麹過程におけるかくはんによる二次接種が生菌数の異常な増加を引き起こす主因となっている。

麹菌胞子の 5 倍量接種は、*B. subtilis*, *M. varians* の増殖を共に約 1/20 に抑制するが、細菌増殖抑制手段としては麹の品質への影響と経済性についての検討の必要がある。

麹菌の菌株による生育速度の差の影響は、混合培養において無視できないものであり、工業的には菌自体の生育速度の差による直接の影響より、増殖の遅い菌株は増殖速度を早めるため高温で初期の培養が行われ、

Table 1. Effect of conditions on the growth of bacteria.

Condition		Growth ratio									
		<i>B. subtilis</i>		<i>B. megaterium</i>		<i>M. varians</i>		<i>F. lutescens</i>		<i>Pseudomonas</i> sp.	
		S	M	S	M	S	M	S	M	S	M
Temperature	40°C	3.2	175	1.6		1.0	3.2				
	35	2.4	17.7	4.4		1.1	1.5	0.13		3×10 ⁻⁴	
	*30	1	1	1		1		1		1	
	25	0.34		1.3		0.22		0.28		0.66	
Water content	40%	1.4	18	3.5	0.34	1.2	0.57	6.6	18	18	8.0
	*35	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	30	0.72	0.44	0.48		0.26	0.32	6×10 ⁻⁸			
	25	0.15		6×10 ⁻⁸		0.14		4×10 ⁻⁵			
Mixing	*none	1	1			1	1				
	at 16 hr	1.2	1.6			6	19				
Homogeneity of inoculum	*100%		1		1		1		1		1
	80		1×10 ³		3×10 ²		11		22		12
Inoculum size of <i>A. oryzae</i> conidia	2×10 ⁵ /g		3.9				2.6				
	*10 ⁶ /g		1				1				
	5×10 ⁶ /g		4×10 ⁻²				5×10 ⁻²				
Inoculum size of bacteria	10/g	2.8				0.9	1.5				
	*10 ⁸ /g	1	1			1	1				
	10 ⁵ /g	8×10 ⁻²	1.4			5×10 ⁻²	0.8				
Species of <i>A. oryzae</i>	*W03		1				1				
	FN-16		2.3				7.2				

Figures in the table show N/N_0 under the given conditions divided by N/N_0 under the standard conditions (*). N : cells per gram of steamed rice after 40 hr of incubation. N_0 : cells per gram of steamed rice at start.

Organisms were inoculated onto steamed rice containing 35% of water and incubated for 40 hr at 30°C, except when temperature or water content was varied. S: single culture. M: mixed culture with *A. oryzae*.

この高温培養による汚染細菌の増殖速度の増加が、麹菌株の生育速度の差として現れることになる。従って、工業的製麹においては、その影響は *M. varians* より *B. subtilis* において著しく発現することが推察できる。*F. lutescens*, *Pseudomonas* sp. は、共に温度、水分条件に影響されやすく、一般製麹条件よりも水分過多で、低温操作されない限り汚染細菌として発現し難い菌であり、これらの菌が多量に見られる麹は原料処理に誤りがあることを意味している。

要 約

麹汚染細菌 5 株を蒸し米上で単独培養し、水分、温度条件の影響を検討したところ、これらの条件に最も影響されず増殖量の多いのは *Micrococcus varians* で、次いで *Bacillus subtilis* であった。*M. varians*, *B. subtilis*, *B. megaterium* の初期増殖速度は、前報¹⁶⁾ の液体培養に比して勝った。

汚染細菌と麹菌の混合培養において、汚染細菌の増殖速度は単独培養に比して著しく低下し、培養16時間以後はその増殖は見られなかった。このことは、汚染細菌の混入時期が培養初期、特に麹菌接種以前であるほどその影響が著しく現れることを示している。

混合培養において、出麹の菌数は接種量に比例し、また菌令の若い接種菌ほど増殖量が多い。

混合培養の結果より、*M. varians*, *B. subtilis* が麹汚染菌として出現しやすい菌と言える。

製麹初期の細菌による汚染を防止し難い現状の製麹法では、増殖を抑制する方法としては、*B. subtilis* では高温、高水分の培養を避け、*M. varians* では培養中にかくはんを行わないことが効果的である。また、共通して言える点は、増殖速度の早い麹菌株を用い多量に均一な接種を行うことであるが、麹の品質面への影響に関する検討が必要である。

本研究は、一部大阪大学工学部醸酵工学科田口研究室で行い、その際、田口久治教授、吉田敏助教授にご指導賜りましたことを深く感謝いたします。また、実験に協力下さいました下村智津子氏、ならびに樋口松之助商店研究の皆様に心よりお礼申し上げます。

文 献

- 村上：醸協，**60**，106 (1965)。
- 来間，岩野，衣山，中村，河地：醸協，**64**，826 (1969)。
- 高橋：醸協，**62**，941 (1967)。
- 今井，鈴木：調味科学，**14**(4)，1 (1967)。
- 上田，今村，石上，奥野：調味科学，**19**(5)，29 (1972)。
- 上田，今村，石上，奥野：調味科学，**19**(6)，31 (1972)。
- 上田，桜井，奥野，石上：調味科学，**19**(7)，30 (1972)。
- 今井，窪田，伊藤，味沢，早出，望月：信州味噌研究所研究報告，**14**，28 (1973)。
- 窪田，伊藤，今井，早出，望月：信州味噌研究所研究報告，**15**，7 (1974)。
- 今井，窪田，伊藤，味沢，早出，望月：信州味噌研究所研究報告，**15**，10 (1974)。
- 伊藤，窪田，今井，望月：味噌の科学と技術，No. 265，30 (1976)。
- 千葉：醬研，**2**，31 (1976)。
- 鈴木，大藤，柴田：醬研，**5**，117 (1979)。
- 竹間，大川，真野，奈良原，松山：醸協，**73**，663 (1978)。
- 奈良原：醸酵工学，**55**，254 (1977)。
- 奈良原，松山：醸酵工学，**56**，101 (1978)。
- Scott, W. J.: *Australian J. Biol. Sci.*, **6**, 549 (1953)。
- Straka, R. P., Stokes, J. L.: *Appl. Microbiol.*, **5**, 21 (1957)。
- 窪田，今井，早出，伊藤，望月：信州味噌研究所研究報告，**13**，10 (1972)。
- 芦沢，斉藤：醸協，**60**，55 (1965)。
- 山下，河村：醸工，**40**，342 (1962)。
- 奈良原，真野，大川，川井，松山：醸協，**64**，915 (1969)。
- 百瀬，大沼，外池：醸協，**61**，936 (1966)。
- 大内，石戸，菅間，野白：醸協，**63**，186 (1968)。
- 大内，菅間，野白：醸協，**63**，1300 (1968)。
- 小山，奈良原，田中，吉田，田口：日本醸酵工学会大会要旨集，p. 217 (1979)。
- 菅間，本郷：日本醸酵工学会大会要旨集，p. 11 (1972)。
- 岡崎，竹内，菅間：醸協，**74**，683 (1979)。
- 岡崎，福田，菅間：醸協，**74**，687 (1979)。
- 北原，水沼，逆井：醬研，**6**，118 (1980)。

(昭 55. 12. 22 受付)