

## 種 麴 菌 の 貯 蔵 に つ い て (第1報) 湿度条件の検討

松 山 正 宣 (株式会社樋口松之助商店研究室)

## (I) 緒 言

清酒, 味噌, 醤油の醸造に当り製麴原料用種麴として使用せられる米, 麦類の昭和25年度農林省払下数量は約5,000余石<sup>1)</sup>となつてゐるが, 其他大豆, 麴等を合すと相当多量の農産資源が消費されている。

種麴はその製品が生菌であるため極めて不安定な状態を示し, かつ培養基である米麦類がそのまゝ乾燥製品となつてゐるので本邦夏期のように高温多湿の下では製品の吸湿による芽胞子の死滅及び雑菌の侵害による種麴菌の不良化が相当多量にのぼる現状である。

種麴菌は米麦等の穀類に麴菌を培養し約100時間の後, 芽胞子を完全に老熟せしめた上, 天日乾燥, 人工乾燥等により水分5~8%位迄乾燥せしめた上, 通常紙袋詰として製品化している。

種麴菌の貯蔵については PALEY<sup>2)</sup> は種麴芽胞子の乾燥貯蔵法, GREENE, FRED<sup>3)</sup> は土壌培養法, 坂口氏等<sup>4)</sup> は麴, 麴室の土, もろみ等混在の種麴芽胞子の耐久性について報告しているが, 種麴製品の貯蔵に関する報告はみない。

著者は種麴菌の貯蔵に最も影響の大きいと考えられる湿度と芽胞子安定性の関係について試験した。

## (I) 実 験

## (1) 実験の方法

## (i) 供試菌株

実験に使用した菌株は既報<sup>5)</sup>に明かにした黄麴菌5株を用い, 粗搗精内地米の蒸米に木灰を吸着せしめその50gを500ml マイエルコルペンに入れ, 蒸気滅菌後各麴菌を接種し27~28°Cに4日間培養後コルペンより取出し2日間通風乾燥した。

## (ii) 貯蔵条件

関係湿度(以下R.Hと略記)は鯨井氏<sup>6)</sup>等の行つた硫酸濃度を異にするデシケーターを用いた。即ちR.H 0~100%の間のデシケーターに(i)の種麴を口経約5.cm高さ7cmの白色広口瓶に約1cm厚さ位に入れ, 開蓋のまゝ保存した。貯蔵温度は鉄筋コンクリート内に作られた麴室内に貯蔵した。この室内の1日の室温は変化なく1年を通じ最低8°C, 最高24°Cの間をゆるやかに上下する。

## (i) 芽胞子発芽力の測定

供試種麴の安定性は雑菌侵害の有無, 香気の変化等を調べた後, 芽胞子の発芽力を測定した。発芽力測定は中野氏等<sup>7)</sup>の行つた直接検鏡法を modify して行つた。即ち10%Bg 麴汁を用い, 供試種麴の1~2粒を麴汁試験管内に入れ振盪, 30分放置後再びよく振盪して芽胞子を分散せしめたものをデツキグラスに塗布し, 直ちにホールオブジェクトグラス上に倒置しワセリンで四囲を封じ, 30°Cに5時間静置発芽せしめ, これを顕微鏡下で観察し, 発芽, 未発芽の芽胞子数を計数し比率を出す。

この直接検鏡法が最も簡便で正確と考えられるが, 時には極端な数値の出る場合も多い。今1例を示すと次の如くである。

(貯蔵広口瓶の各部分9ヶ所より一粒宛を採り行つた。実験末期の試料について行つたため数値は低い)。

生存率%: 60 53 51 50, 46, 62, 56 64 53 58 61

平均値 55.8% 限界46~64%

## (2) 予備実験

予備実験として次の5種類の黄麴菌を(i)(i)の方法で種麴とした。

1) *Aspergillus oryzae* WEHMER No.1 (清酒用株)

2) " " " No.31 (醤油用株)

3) *Asp. oryzae* (K.B)

4) " " var. *magnasporus* No.49 (味噌用株)

(30)

## (松山) 種 麴 菌 の 貯 蔵 に 就 て (第1報)

5) *Asp. sojae* SAKAGUCHI et YAMADA No.55芽胞子発芽減少率は  $\frac{A-B}{A} \times 100$  で示し

第1表 供試種麴菌(培地、米)の乾燥による芽胞子の安定性

| 菌株<br>No. | 種 麴 水 分 (%) |       | 芽 胞 子 生 存 率 (%) |       |                |
|-----------|-------------|-------|-----------------|-------|----------------|
|           | 出麴直後        | 乾 燥 後 | 出麴直後            | 乾 燥 後 | 乾燥による<br>発芽減少率 |
| 1         | 54.66       | 6.23  | 88.7            | 67.2  | 24.3           |
| 2         | 57.42       | 5.53  | 94.5            | 79.5  | 15.9           |
| 3         | 50.37       | 5.88  | 86.8            | 73.5  | 15.4           |
| 4         | 60.84       | 3.56  | 98.0            | 39.0  | 60.2           |
| 5         | 60.00       | 4.60  | 94.0            | 73.5  | 21.8           |

た。

A=最初の生存率%, B=一定貯蔵時間後の生存率%

コルベン培養種麴は37~38°Cに約20時間電熱送風乾燥機で乾燥した。

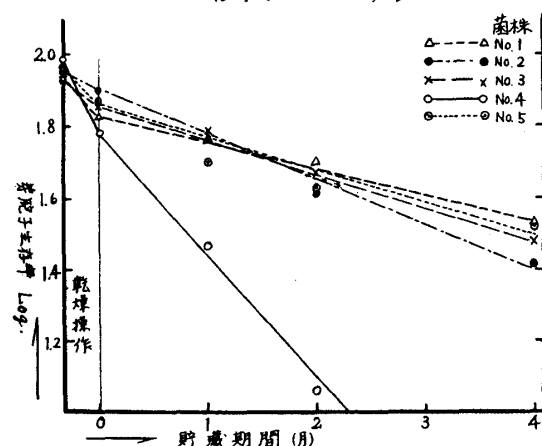
乾燥前後の芽胞子生存率は第1表の如し。

第1表にみる如く出麴水分は著しく多く、これは原料蒸米の少し軟かく蒸気殺菌(2回)時に Condense water の溜ること、綿栓の少し固かつたこと等が原因するものと考えられる。

又No. 4株は既報<sup>5)</sup>に示したように subculture により著しく変異し、白色長毛化し芽胞子形成力の著しく低下した大孢子株であるが、乾燥操作により60%もの芽胞子減少率をみた。

この風乾種麴菌を(1)(a)の方法で4ヶ月貯蔵した結果は第1図に示した(貯蔵温度8~16°C)。

第1図 種麴(種麴)貯蔵中の芽胞子生存率(R.H.50%)



第1図の結果は R.H 50%を示したが、R.H 0~100%における貯蔵結果をみるに次の如し。

1) R.H 100%では27日目、種麴は吸湿してその水分26.8~38.7%となり酸臭を呈し、青カビ等の Contamination を認め、芽胞子生存率はNo. 4は32%他は5.7~8.9%の低下を認めた。

2) R.H 75%は香気、外觀4ヶ月に至るも異常なく、水分は27日目7.67~8.57%であつたが芽胞子の死滅は相当著しかつた。

3) R.H 0, 25, 50%も大体 R.H 75%に似ているが、0.25%は貯蔵時よりも27日目僅かに含水量は減少した。

4) 変異の著しい株は、この場合乾燥貯蔵による芽胞子の死滅は著しく、又製麴中の水分の多い関係か一般に芽胞子の安定性は低かつた。

5) No. 4株は別として他の黄麴菌種麴の芽胞子の安定性は大体同じ傾向にあるものと考えられる。

## (3) 第2次試験

予備試験で菌株は健全なものでは凡そその芽胞子生存率は相似であるので本試験では一種類の株を用い、供試種麴は工業的に行つている麴蓋培養を用い、一部コルベンを併用した。

実験方法は前回同様であるが試料は最小6ヶ所から採取し得た芽胞子生存率の平均値を求めた。供試菌株はNo. 1清酒用株1株を用いた。

供試種麴は麴蓋を用い、出麴後30~40°Cに24時間風乾した。この種麴の一部を50メツシ篩にかけ米粒を除き、芽胞子(菌糸混在)と米粒附着のまゝの2つについて貯蔵を行つた。今回は R.H 100%を除き90%を作つた。供試種麴の通風乾燥操作前後の芽胞子生存率は次の通りである。

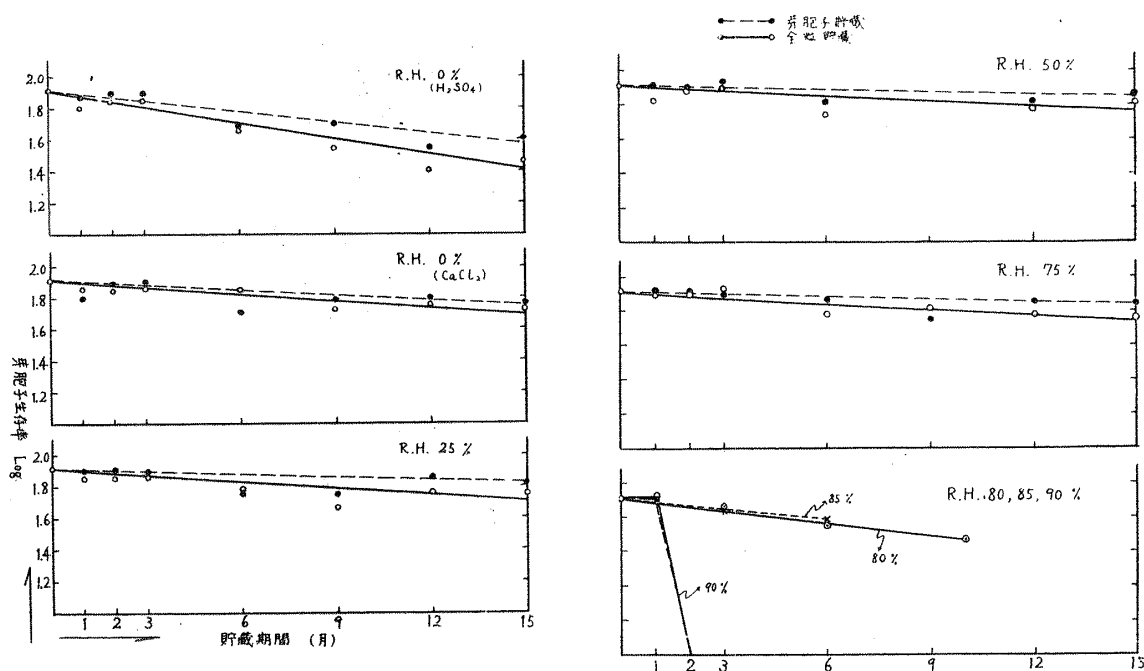
出麴直後: 芽胞子生存率 95.0% 水分23.39%

乾 燥 後: " 80.8% " 6.07% 芽胞子減少率15%

貯蔵15ヶ月間の芽胞子生存率は第2図に示す如し。

この結果 R.H 90%は100%の場合と全く同様であつたので更に80, 85% R.Hについて試験した。供試種麴は同じくNo. 1清酒用株を用い、麴蓋及びコルベン両培養種麴について検討した。今回のコルベン培養に当つては可及的原料蒸米を放冷して一は蒸気滅菌1回(A)他はせず(B)に培養後30~40°Cに36時間通風乾燥し、50メツ

第2図 種麴菌(清酒用株)貯蔵中の芽胞子生存率



シの篩にかけ米粒を除いたもので R.H 80, 85%貯蔵試験を行つた。

供試種麴乾燥処理前後の芽胞子生存率次の如し。

|            | 麴 蓋    | コルベン A | コルベン B |
|------------|--------|--------|--------|
| 出麴直後芽胞子生存率 | 96. 2% | 92. 7% | 92. 8% |
| 水 分 %      | 25.19  | 45.13  | 38.44  |
| 乾燥後芽胞子生存率  | 81. 3  | 76. 1  | 72. 2  |
| 減 少 率      | 15. 5  | 18. 0  | 22. 1  |

貯蔵の結果は第2図に示した。

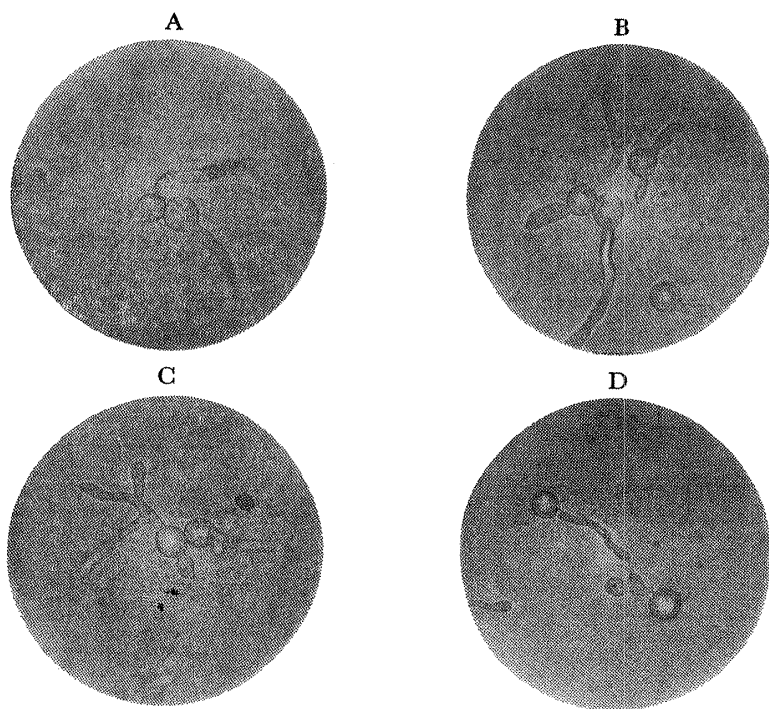
以上の結果について考察するに大体次の様な結論を得た。

- ① 予備試験の場合と異り本実験に於けるコルベンに培養した種麴菌芽胞子は安定度高く、予備試験のときと異なる点は出麴水分が大分低かつたが、或いはこの点が影響しているのではあるまいか、但し麴蓋で培養した芽胞子の方が少しく安定度は高かつた(第2図は麴蓋培養種麴のみ記載した)。
- ② R.H 90%では100%のときと同様2ヶ月目には酸臭を生じ、Contaminationを受けた。
- ③ R.H 85, 80%では篩分芽胞子(菌糸混在)はモグサ状に吸湿固結し、特に85%のものは Contamination も早かつた。芽胞子の死滅は90%と異り比較的安定であるが吸湿甚だしくて貯蔵条件としては極めて悪い。
- ④ R.H 75%(実測72%)以下のものは大体15ヶ月貯蔵後も芽胞子の生命は大体 10~30%が失われる様である。
- ⑤ R.H 0%で  $H_2SO_4$  (Sp.gr. 1.84) 使用デシケーターは  $CaCl_2$  使用に比し保存性悪く  $CaCl_2$  の場合15ヶ月後の芽胞子発芽減少率は10~30%に比し  $H_2SO_4$  は40~50%であつた。これは  $H_2SO_4$  が徐々に濃褐黒色となり刺戟臭を発してきたが、これに起因しているのではないかと考える。
- ⑥ 全体に亘り米粒附着のまゝの貯蔵よりも芽胞子丈けの貯蔵の方が5~10%芽胞子生存性が高いようである。
- ⑦ R.H 85, 80% 6ヶ月後及び75%, 15ヶ月目の芽胞子の発芽は正常ではなく deformed germination のものが多い。供試種麴菌が長い Subculture の下に保存してきた株で形態的に相当 deformation を起しているの確実なことは分らないが R.H 0, 25, 50%のものでは deformed germination は見られなかつた(写真参照)。
- ⑧ 以上の点から種麴は R.H 0-50%では少くとも15ヶ月位は芽胞子は 30%の減少で比較的安全に貯蔵できると思われるが芽胞子発芽率の測定方法、deformed germination 等については更に検討する必要がある。

( 32 )

(松山) 種 麴 菌 の 貯 蔵 に つ い て (第1報)

Germinated conidia of *Aspergillus oryzae*. ( $\times 450$ )



A: storage for 15 months at R. H. 50% (normal)

B-D: storage for 15 months at R. H. 75% (deformed)

(Ⅲ) 結 論

種麴(黄麴菌)を15ヶ月間種々の湿度条件で8~24°Cの下に貯蔵し、芽胞子の安定性を測定した結果次の如し。

- (1) 特に変異していない黄麴菌の芽胞子生存力は大体相似である。
- (2) 種麴菌貯蔵の安全湿度はR.H 70%以下で80%をこえると吸湿 Contamination し、90%以上では速かに芽胞子は死滅した。
- (3) R.H 25~70%15ヶ月貯蔵で凡そ30%芽胞子発芽減少率をみた。
- (4) R.H 0%の乾燥剤としては Conc.  $H_2SO_4$  よりも  $CaCl_2$  の方がよかつた。
- (5) 培養基(この場合米) 附着のまゝよりも芽胞子だけの方が安定性がよかつた(麴菌に関する研究第12報)。(本稿は大阪醸造学会1955, 10, 15に口演済である)。

終に臨み御指導賜つた京都大学高田教授、大阪大学小田教授に深謝致します。 尙お食研報告を御恵与下さつた食研、中野部長に深謝致します。

文 献

- 1) 樋口楠, 樋口健: 醗酵工業の展望, p.219 (1952) 大阪醸造学会.
- 2) PALEY: Arch. Mikrobiol., 7, 206 (1936).
- 3) GREENE, H.G, FRED, E.B.: J. of Ind. Eng. Chem., 26, 1297 (1934).
- 4) 坂口, 飯塚, 山口: 農化, 24, 317 (1950).
- 5) 松山, 谷口: 本誌, 31, 455 (1953).
- 6) 鯨井, 小林, 鳥山: 理研彙報, 2, 105 (1923).
- 7) 中野, 松浦: 食研報告, 第3号, 133 (1950).

(昭和 30, 10, 8 受理)