

報 文

醤油の微生物に関する研究 (第1報) 天然醸造諸味の Microflora の動態

好 井 久 雄・中 野 政 弘 (農林省食糧研究所)

緒 言

醤油醸造に関与する微生物については、既にきわめて多数の研究が行われている。

酵母についての、既往の研究の概要は、茂木氏等¹⁾によつて集約記載されている。又、細菌類については、松本²⁾、石丸³⁾、小原氏⁴⁾等の報告がある。その他、植村⁵⁾、佐々木氏⁶⁾によつて、醤油微生物の扱い方について、二三の見解も述べられている。

著者は、別報⁷⁾において、味噌について行つたのと同様に、各種の醸造型式の醤油諸味について、その醸造経過を追うて、Microflora の動態を調査し、之と成分変化、醤油品質との関連性、或は各微生物の酵素作用や、醤油醸造においてになる役割の解明を目的として、一連の研究を進めているが、本報には、天然醸造諸味について、その Microflora の動態を調査した結果について報告し、引き続いて温醸、新式等の醸造型式について報告する。

実 験 の 部

I. 実 験 方 法

(1) 微生物の分離方法, Microflora の Grouping

攪拌直後の桶、又はタンタから、約100gの諸味試料を採取する。この中から10g¹⁾の諸味を秤量し、別報⁷⁾に報告したのと同じ方法で、Dilution plate 法を行い、各 Group の微生物の、諸味1g中の生菌数を算出した。

用いた Selective media の組成も、別報⁷⁾ Table 1 の通りであるが、唯酵母分離用培地の調整に当つては、味噌浸出液の代りに、熟成諸味の浸出液を使用し、培地中の食塩濃度は、7~10%とした。

又、諸味微生物の Grouping は、味噌の場合と同じく、一応現段階においては、1. 酵母(産膜酵母は別にする) 2. 細菌総数 3. *Bacillus* group の細菌 4. 乳酸菌(嫌気性分離)の4群に大別した。

(2) 成分変化の分析方法

一般分析は常法によつた。即ち、アミノNはフオルモール法、全Nはケルダール法、直糖は FEHLING-LEHMAN-SCHOORL 法によつて Glucose として算出し、又 pH は試験紙を用い、総酸は滴定値を乳酸として表わす。一部試料について行つた色度とは、標準色液を、醤油(2倍希釈した試料)と同一色を呈する迄、蒸留水中に滴下した際の所要量を示す数字で、正確なものではないが、醸造中の色沢の増加を示す相対的な値として掲げた。

II. 実 験 結 果

調査を行つたのは、東京都内の醸造工場2ヶ所、茨城県下の工場1ヶ所の天然醸造諸味についてであるが、仕込時期によつて区分して、以下に表示する。

(1) 秋仕込天然醸造中の Microflora の動態

都内の醸造工場Sの10月仕込、翌年12月迄醸造の諸味2点について、約1ヶ月おきに、経時的に調査を行つた結果を、Fig. 1(a, b) 及び Fig. 2 に示す。(此の諸味の成分変化は、Fig. 1 に示した諸味と類似しているので省略する)

又、都内の醸造工場Mの同じく10月仕込、翌年9月迄醸造の諸味についての結果を、Fig. 3(a, b) に示す。

以上の結果から、秋仕込天然醸造諸味の Microflora の動態を、各 Group の微生物について、概説すれば次の如くである。

1. 酵母数は、仕込当初に一部の減少がある(これは後報にのべる如く、仕込の際に、麴その他から移行して、既に諸味中に存在した菌株の中に、食塩耐性等の関係で諸味の環境に適応出来ず、死滅減少するものがある為と推定される)が、気温が適当となれば、漸次増殖を示し、7~9月に至つて最高数を示す。此の時期は、成分変化においては、糖分の大半が急激に消費される時期に当る。Fig. 3(b)、都内工場Mの諸味においては、糖分の

(362)

(好井, 中野) 醬油の微生物に関する研究 (第1報)

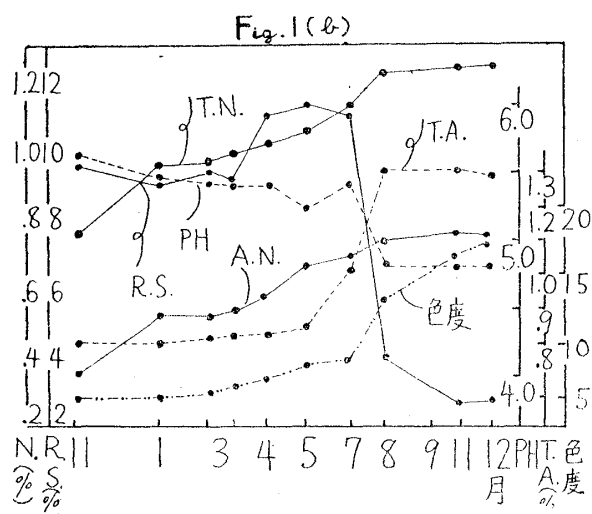
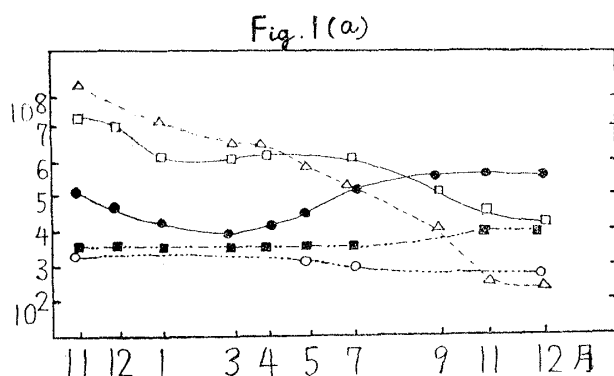


Fig. 1(a) Change of microflora in the process of shōyū-brewing (Brewery S, Tōkyō, Tank 1) (viable cell/g moromi)

—●— Yeast,○..... Film yeast,
—□— Total bacteria (isolated aerobically),
—■— *Bacillus* group, ---△--- *Lactobacteriaceae*

Fig. 1(b) Change of components in the process of shōyū-brewing (above sample)

T. N. Total nitrogen %, A. N. amino nitrogen %, T. A. Total acid %, R. S. reducing sugar %

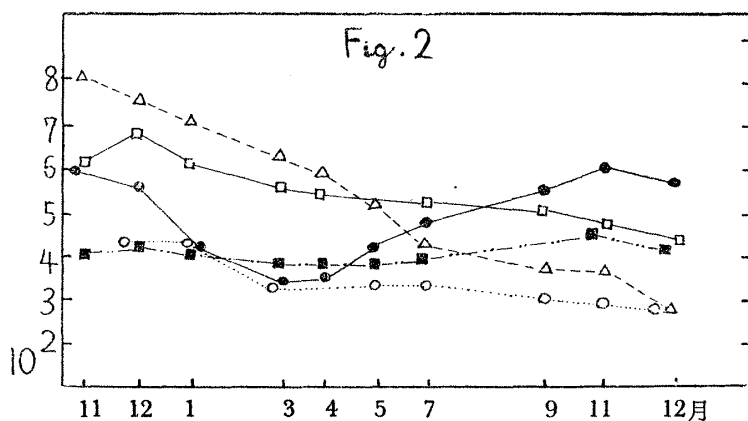


Fig. 2. Change of microflora (Brewery S, Tōkyō, Tank 2)

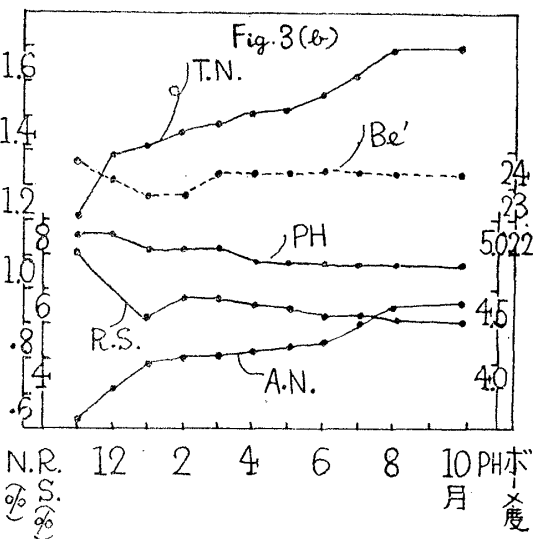
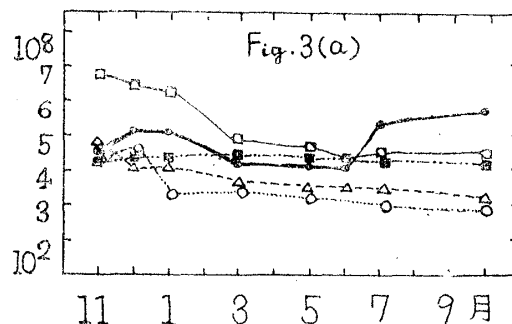


Fig. 3 (a) Change of microflora (Brewery M, Tōkyō, Tank 1)

Fig. 3 (b) Change of components (above moromi)

消費は、あまり明らかではないが、これは本諸味では、この時期の酵母の増殖、活動が良好でなかつた事に起因する。

2. 産膜酵母は、仕込時より存在するが、醸造中における増殖は、あまり行われなない。

3. 細菌総数は、経過を追うて、漸次多少減少する傾向がみられ、酵母の如く夏期になつても増加はみられなかつた。減少の傾向は、仕込当初(その理由としては、酵母と同じく仕込時に存在した細菌の一部の死滅減少に由来するものと推定する)、及び、夏期(諸味 pH の下降等も一因をなすと考える)に夫々一つの時期がみられた。

4. *Bacillus* group の細菌は、醸造全期間を通じて、殆んど増減はなく、一定数が分離される。

5. 乳酸菌数は、醸造経過を追うて、

漸次減少し、醸造末期においては、仕込当初に比較すれば、ごく少数となる。

6. かび類の動態については、別に常法の麹汁寒天培地 (pH 5.0位) を用いて分離を行つた結果によれば、仕込当初の諸味には、麹菌以外にも、*Rhizopus*, *Mucor* 類が多数存在するが、漸次減少する。麹菌胞子の生存期間は、かなり長期に亘り、一部の試料については、醸造末期にも、麹菌が少数分離された。

(2) 春仕込天然醸造中の Microflora の動態

都内醸造工場 S の 3 月仕込、12 月迄醸造の諸味についての調査結果を、Fig. 4(a, b) に示す。

又、都内工場 M の同じく 3 月仕込、9 月迄醸造の諸味についての結果を、Fig. 5 に示す。

茨城県下醸造工場 Y の 6 月仕込、翌年 1 月迄醸造の諸味についての結果を、Fig. 6 に示す。

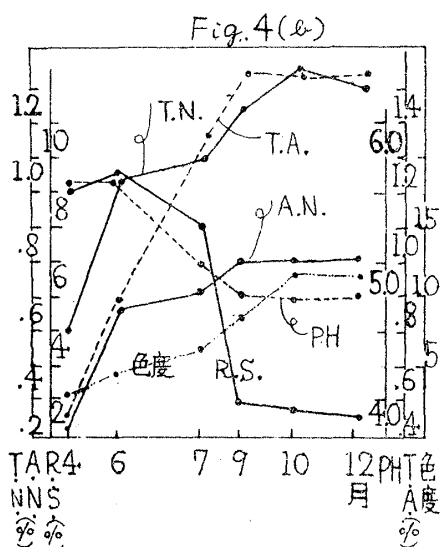
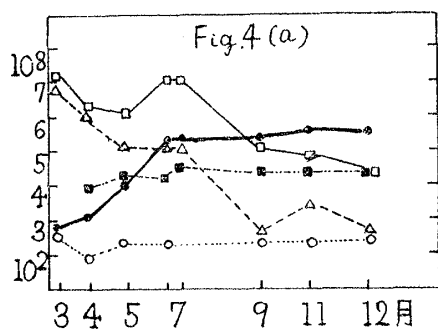


Fig. 4 (a) Change of microflora (Brewery S, Tōkyō, Tank 3)

Fig. 4 (b) Change of components (above moromi)

の酵母増殖の休止期間はなく、酵母は仕込後直ちに増殖をはじめて相当数に達し、夏期に至つて最高に達する。糖分の急激な消費も相伴つて起る。Fig. 5, 都内工場 M の諸味の成分変化は揭示しなかつたが、この工場の諸味は、秋仕込のそれと同じく、酵母の増殖は遅延し、夏期における糖分の消費も顕著でなかつた)

(3) 古い諸味の Microflora の変化

以上にあげた例は、何れも醸造期間が、1 年内外の諸味についての調査であるが、これ以上に醸造が長期に亘

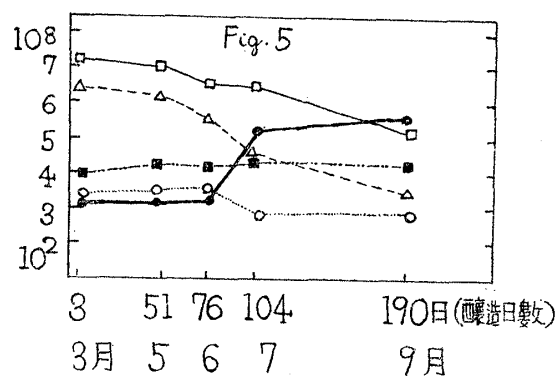


Fig. 5 Change of microflora (Brewery M, Tōkyō, Tank 2)

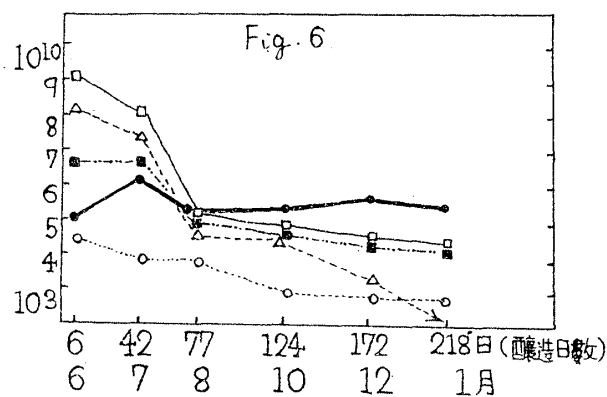


Fig. 6 Change of microflora (Brewery Y, Ibaragi, Tank 1)

春仕込の天然醸造諸味についても、各 Group の微生物の動態は、秋仕込のそれと類似した傾向を示している。唯、気温の関係によつて、後者にみられた冬期

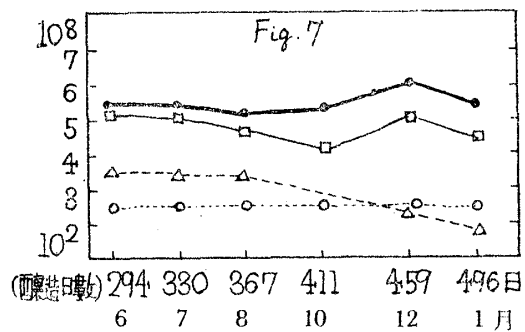


Fig. 7 Change of microflora (Brewery Y, Ibaragi, Tank 2)

つた諸味についての調査結果を, Fig. 7に示す. (茨城県下醸造工場Y, 前年の8月に仕込んだ諸味を, 翌年の6月より調査)

一夏を経過した諸味においては, 酵母の増殖は既に一定数に達し, 細菌, 乳酸菌の減少も又, 或る一定したレベルの数迄安定化しており, 再び夏期を経過しても, Microfloraの変動は, 仕込初期の変化, 或は前記の諸試料に比較すれば, 僅かにしか行われない.

(4) 熟成諸味の Microflora の構成

東京都内をはじめ, 数ヶ所の醸造工場の, 压榨して製品化する段階となつた熟成諸味について, Microfloraの構成を調査した結果を, Table 1に示す.

前項迄の調査から分る様に, 醸造末期の Microfloraは, 醸造経過中減少して, 仕込当初に比較すれば, ごく少数となつた乳酸菌, 同じく漸減した細菌 (*Bacillus group* が大部分をしめる様になる), 及び増殖した酵母によつて構成される. その数は, 同一醸造場においても, 諸味によつて相当の差があるが, 今回の調査試料の大部分は, 細菌総数は $10^4 \sim 6$, 乳酸菌 $10^2 \sim 4$, 酵母 $10^5 \sim 6$ の範囲であつた. 就中, 酵母数の少い諸味は, 官能審査等で, 良質の諸味とは認められなかつた.

考 察

1. 以上の Microflora の調査は, 僅か数ヶ所の醤油工場の諸味について行つたものであつて, 醸造場が異なり, 或は原料や, 仕込後の管理が違つた場合についても, 一般に

Table 1 On the microflora of raped moromi (viable cell/g moromi)

Brewery		Brewing period (month)	Bacteria total	<i>Lactobacilli</i>	Yeast (film y.)
Tōkyō	S	14	$3 \sim 5 \times 10^4$	1×10^4	3×10^5
		8	3×10^4	3×10^4	8×10^6
		6	9×10^3	1×10^3	1×10^6
	M	25	10^5	2×10^4	1×10^5
		13	10^6	4×10^4	5×10^5
		F	10^5	10^4	9×10^6
Ibaragi	Y	8	10^5	10^4	6×10^6
		22	3×10^5	1×10^3	2×10^4
		11	2×10^5	5×10^3	1×10^6 (10^2)
	H	17	1×10^3	5×10^3	4×10^5 (2×10^3)
		//	1×10^6	2×10^2	1×10^6
		9	5×10^5	4×10^2	8×10^4 ($< 10^3$)
Kanagawa	H	8	5×10^5	4×10^2	4×10^5
		9	5×10^4	10^3	10^5 ($< 10^3$)
		6	10^4	9×10^3	5×10^5 (5×10^4)
Nagano	D	12	6×10^5	10^4	2×10^3
Chiba	//	1	8×10^4		3×10^5 (2×10^3)
		2	1×10^5		5×10^6
		3	5×10^5	1×10^4	7×10^6 (2×10^5)
		7	10^7		5×10^6 (7×10^4)
		14	10^6		2×10^7 (3×10^5)
		5	1×10^6		8×10^6 (2×10^6)

妥当性があるや否やについては, 尚検討の余地があるであろう.

2. 複雑な素地を有する醤油諸味において, 本調査でえられた Microflora の変動と, 対応する成分変化, 或は又醤油品質との間に, 直に直接的な関連性を見出す迄には至らなかつた. 但し, 夏期における酵母の増殖と, 糖分の消費減少の間には, かなりはつきりした関係が見出される. これは, 酵母の醗酵 (諸味の湧き) が, 醤油醸造において, 必須の条件であるといわれる従来の考えを裏付ける事にもなるし, 又その湧きの度合が, 以後の成分変化と相まつて, 醤油の品質に影響する処が大きい事も予想される. (この事は, 後の報告でのべる温醸, 又は新式, 味液加工等の醗酵過程, 或は味噌醸造中における酵母の活動の度合⁷⁾と比較する時に, 一段と明らかになるであろう.)

3. 味噌醸造の際⁷⁾と同じく, 醤油醸造過程を通じて, はば一定数分離される *Bacillus group* の細菌が, いかなる役割をになうかについては, 此等細菌の酵素と諸味中における作用程度の解明をまたなくては, 結論を下す事が出来ないと思う. 又, 乳酸菌についても, その生理, 活動状態に, 今後解析を加える必要がある.

4. 諸味という複雑な環境下に作用する Microflora の分離に当つては, 本実験に採用した培地, 或は培養方法には尚欠陥があるかも知れない. したがつて, 他に存在するかも知れぬ重要なものを見落している危険もある.

分離方法の改良, 或は plate 法以外の何らかの方法を併用し, 総合的に判断して, Microflora を論ずる必要もあるであろう。

又, Microflora の Grouping は現段階においては, 一応前記の区分によつたが, 各 group 内の微生物について, 更にその細分, 或は特定菌の動態をとりあげる事については, 今後の研究に待ちたいと思う。

総 括

1. 味噌醸造中の Microflora の動態を調査する際に採用した方法を用い⁷⁾, 数ヶ所の醤油工場の天然醸造諸味について, 仕込後熟成に至る迄の Microflora の動態を, 経時的に調査した。

2. 酵母は, 何れの諸味においても, 気温が適当となれば, 増殖を示し, 夏期において最高数に達し (今回調査した諸味については, 大体 10^6 以上迄), これに対応して, 糖分の大半が急激に消費される。

3. 細菌総数は, 仕込当初に減少があり, 以後も漸減する傾向がみられるが, *Bacillus group* の細菌は, 醸造全期間を通じ, ほゞ一定数が分離される。

4. 乳酸菌も, 醸造経過と共に漸減し, 醸造末期においては, 仕込時に比較すればごく少数となる。

5. したがつて, 諸味の Microflora, 就中, 細菌, 乳酸菌については, 仕込時の構成が大きな意味をもつ事を推定しえたが, 此の仕込時の構成については, 別の報告⁸⁾で詳述する。

6. 麹菌 (孢子) の, 醤油諸味中における生存期間は, かなり長期に亘る。

7. 各 Group 微生物の分類, 生理については, 機会を改めて報告する予定である。

終りに臨み, 本研究に対して, 御懇切なる御指導を賜つた尾崎所長, 並びに諸味試料を提供され, 種々御便宜を計つて下さつた醸造家各位に深謝する。

文 献

- 1) 茂木, 大西: 本誌, **34**, 108 (1956).
- 2) 松本: 醸試報, **99**, 1 (1928), **104**, 1 (1929), **109**, 1 (1930).
- 3) 石丸: 本誌, **11**, 439, 576, 689, 778, 882, 986, 1076 (1933), 農化, **9**, 859, 953, 1143 (1933).
- 4) 小原: 本誌, **30**, 179 (1952).
- 5) 植村: 醤油と研究, 上, 21 (1951).
- 6) 佐々木: Ibid, 下, 19 (1951).
- 7) 好井, 中野: 本誌, **34**, 348 (1956).
- 8) 好井, 中野: 本誌, 投稿中, 味噌の微生物に関する研究 (第2報).

(昭和 31, 4, 19 受理)

味噌の微生物に関する研究 (第2報) 仕込時, 及び製麹経過の微生物

好井 久雄・中野 政弘 (農林省食糧研究所)

緒 言

著者は, 第1報¹⁾において, 味噌醸造過程における仕込後の Microflora の動態について報告した。その際, 酵母は, 醸造経過と共に, 増殖を示すが, 細菌類の動態については, 仕込当初に, 一部の細菌, 乳酸菌の減少があるが, 以後の増減は少く, 殆んど一定数が分離される事を認めた。又, *Bacillus group* の細菌は, 醸造全過程を通じて, 増減は殆んどない事も併せて報告した。

したがつて, 味噌醸造過程において, 細菌類については, 仕込時の構成状態が, きわめて大きな意義を持つものと推定され, 又, 酵母についても, 醸造中増殖を行う源となる原菌は, 既に, 仕込の際迄に, 味噌原料中に含有されている事も予想される。本報においては, 仕込迄の各操作について, 微生物の調査を行つた結果について報告する。

実 験 の 部

I. 微生物の分離方法

採取した試料の取扱い, 出来るだけ無菌的注意を払つて, 第1報¹⁾にのべた方法に従つて, Dilution plate 法を用いて, 試料1g中の生菌数を, 各 Group の微生物²⁾について算出した。培地, 及び培養方法は, 細菌類は, 第1報の Table 1に示した Selective media を使用し, 酵母類は, 味噌浸出液の代りに, 常法の麹汁寒天培地 (Ball. 8, pH 4.6) を用いて分離を行つた。

II. 実験結果