

マイワシミール製麴中における細菌相の変遷^{*1}国本正彦^{*2}・垣尾真由^{*3}・金庭正樹^{*4}・上西由翁^{*2}Changes in the Bacterial Flora of the Fermented Sardine Meal by *Aspergillus oryzae*, Koji, during molding^{*1}Masahiko Kunimoto^{*2}, Mayu Kakio^{*3}, Masaki Kaneniwa^{*4}, and Yoshio Kaminishi^{*2}

We tried Koji making to apply the fish meal as the substrate of Koji making at different temperatures and moistures, and then investigated the contaminative bacterial flora in some stages of molding. *Aspergillus oryzae* was used as the mold for Koji making. The Koji was made in a stainless steel vat under the control of both temperature and moisture in an open system. The viable bacterial count was the order of 10^8 and 10^5 cfu/g at temperature above 33°C and moistures above 37%, and below 30°C and below 35%, respectively. *A. oryzae* grew well in the moisture above 35%, but poorly below 32%. *Micrococcus* became dominant in the final stage of Koji making in all cases, even though putrefactive bacteria such as *Pseudomonas*, *Achromobacter* was predominant in early stage of Koji making.

1 緒 言

日本では麴を利用した食品の製造に長い歴史があり、科学的知見のない時代から従事者の経験に基づいて麴は作られてきた。これらの麴は穀物を原料とした基質に麴菌を接種し培養したもので、麴菌に由来する多様な機能を示す。近年、この麴菌の機能に着目して、水産物の加工に利用する試みもみられる¹⁻⁴⁾。麴の製造は解放的な環境で行われるため、麴菌以外の微生物の発育が同時に起こることが予想され、麴の品質を管理するためには、これら微生物の動態も検討する必要がある。麴の細菌相については米あるいは大豆のような植物由来の原料を基質にした麴を対象に研究され、温度や水分などの環境要因に留意した管理により、

細菌相を制御できることが知られている⁵⁻⁷⁾。また、製麴中に麴菌はコウジ酸や亜硝酸など他の微生物の発育を抑制する物質を生産することが知られている⁸⁻⁹⁾。穀物を基質とした麴では *Micrococcus* 属や乳酸菌などで細菌相が構成されている⁵⁻⁷⁾が、このような細菌相を構成する要因についてはまだ解明されていない。一方、魚肉のような動物性の原料を基質とした場合の細菌相については報告が見あたらない。そこで、マイワシの湿ミールを基質として、*Aspergillus oryzae* をいくつかの培養条件のもとに培養し、製麴中の細菌相の変遷を検討したので報告する。

水産大学校研究業績 第1487号 1994年12月20日受付。

Contribution from Shimonoseki University of Fisheries, No. 1487. Received Dec. 20, 1994.

^{*1} 平成5年4月2日 平成5年度日本水産学会春季大会(東京)にて発表

^{*2} 水産大学校製造学科水産製造学講座 (Department of Food Science and Technology, Shimonoseki University of Fisheries).

^{*3} 江崎グリコ株式会社菓子開発企画部 (Planning Division, Ezaki Glico Ltd.).

^{*4} 中央水産研究所利用化学部 (Marine Biochemistry Division, National Research Institute of Fisheries Science).

2 実験方法

2.1 種麴

20 g の麴に同量の水を加えた後、1 l の三角フラスコに入れ、121℃で45分間滅菌した。この培地に *Aspergillus oryzae* IFO 4202株の胞子を1白金耳量接種後、25℃で15日間培養して胞子を十分着生させたものを種麴とした。

2.2 製麴

下関市の魚市場から入手した新鮮なマイワシ (*Sardinops melanostictus*) を試料とし、全魚体を蒸し器で中心温度が90℃になるまで加熱した。加熱後、氷酢酸を0.14% (V/W) となるように添加・混合したものをナイロン製の布袋に入れ、圧搾機で煮汁を圧出した。圧搾ミール500 g を5 mm のスクリーンを装着した肉挽機で細砕した後、品温が50℃以下であることを確認し、ミール重量に対し10% (W/W) の可溶性デンプンと 10^8 cfu の胞子を含む種麴を良く混合し、さらに5 mm のスクリーンを装着した肉挽機を通して造粒した。製麴は麴蓋法で行った。すなわち、種付けしたミールをポリエチレン製の吸湿フィルムを敷いたステンレス製のバットに3 cm の厚さに堆積し、恒温器中で製麴した。

実験1では、麴の品温が30℃を保つように温度管理を行うとともに、製麴中は麴蓋を湿タオルで覆って麴の乾燥を抑えながら製麴した。実験2では、実験1と同様の試料を用いたが、品温を30℃以下を保つように温度管理をした。また、製麴12時間目以後は湿タオルを用いず、麴の乾燥を促進しながら製麴した。実験3では、製麴前のミールの細菌相を複雑にするため、圧搾ミールに5% (W/W) の生マイワシの背肉を加えた基質を用い、品温を30℃以下を保つように温度管理をするとともに、製麴12時間までは乾燥を促進しながら、12時間目以後は乾燥を抑えながら製麴した。

なお、実験1から3における麴の品温と湿度の調整については、結果およびTable 1にその詳細を示した。

製麴中は一定時間ごとに麴の品温、pH、水分含量、グルコサミン含量および生菌数を測定した。製麴約24時間後に発熱が激しくなり、また麴が締まるため、手入れを行うとともに、品温調整のため堆積を1.5 cm と薄くし、さらに30時間後には堆積を0.7 cm にした。また、製麴中に麴のpHが上昇しはじめpH6.0を越えた時には、pHを低下させるために、ミール重量に対し8% (W/W) の50%ブドウ糖溶液を散布した¹⁰⁾。製麴は48時間行った。

2.3 pHと水分含量の測定

麴のpHは麴3.3 g に10 ml の蒸留水を加えて5分間スターラーでかく拌した後、pHメーターで測定した。また、水分含量は、麴2 g を105℃で24時間乾燥し、その乾燥減量を水分とした。

2.4 グルコサミンの定量

製麴中の麴菌の菌糸体量の指標としてグルコサミンを定量した。グルコサミンの定量はSakurai et al. の方法¹¹⁾によった。

2.5 生菌数の測定

一定時間培養した麴を採取し、この麴に10倍量の生理食塩水を加えてホモジナイザーで細砕したものを原液とし、標準寒天混濁培養法(30℃, 48時間)で測定し、麴1 g 当りの生菌数で表した。

2.6 分類学的検査法

各麴の生菌数測定を終了したシャーレから無作為に集落を釣菌し、968株の菌株を得た。これらの分離菌株は標準寒天培地で画線培養を行い純粋分離した。得られた分離菌株はCowenの検索表¹²⁾およびBergey's manual of systematic bacteriology¹³⁾により属レベルの分類を行った。培養温度は特記しないかぎり30℃で行った。試験項目は次の通りである。

菌形：標準寒天培地で30℃, 13~24時間培養した菌の菌形および細胞の配列を観察した。

グラム染色性：Huckerの変法¹⁴⁾によった。

運動性：懸滴標本により観察した。

鞭毛：西沢・菅原の方法¹⁵⁾によった。

酸素に対する態度：45℃の1%ブドウ糖肉汁寒天に濃い菌液を加えて、よく混ぜて高層にし、30℃で7日間培養した。培地の表面とそれに近い部分にのみ発育する細菌を好気性菌、培地全般に発育がみられるものを通性嫌気性菌とした¹⁵⁾。

食塩添加培地における発育：パイオン寒天培地に0, 0.5および7.0%の食塩を添加し、発育の程度を観察した。

カタラーゼ産生試験：スライドガラス上に3%過酸化水素水を取り、24時間培養した供試菌の少量を混和し、発泡の有無を観察した。

チトクロームオキシダーゼ試験：Kovacsの方法¹⁶⁾によった。

糖の分解：基礎培地として Hugh-Leifson 培地¹⁷⁾ を使用し、供試菌を穿刺培養後、糖（ブドウ糖）からの酸とガスの好気的および嫌气的産生を観察した。また、グラム陽性で孢子を形成しない桿菌には、Hugh-Leifson 培地で発育が認められないため、クロロフェノールレッドを添加した MRS 培地¹⁸⁾ を用いた。

ゼラチン分解性：Smith による Anthony の変法¹⁹⁾ によった。培養は20℃で7日間行った。

3 結 果

3.1 製麴

マイワシ麴製麴中の温度、水分、pH、グルコサミン量、一般生菌数の変化を Table 1 に示した。A. oryzae を用いて麴を作る場合、培地となる基質の形状が麴菌の発育に影響するため、マイワシは加熱して、肉の粘りを弱くするとともに、圧搾により脱水と脱脂を容易にした。圧搾ミールは水分含量が45%から47%にまで絞ることができ、チョッパーを通すことにより造粒ができた。

実験1では、引き込み温度（製麴開始時の恒温器内温度）を32℃と高めに、また製麴中、麴蓋を湿タオルで覆い麴の乾燥を抑制した。その結果、麴の品温は製麴12時間目で30℃を越え、最も発熱の激しい24時間目には35℃に達した。この時、麴をよくほぐし、堆積を1.5cmに広げた。その後も堆積を薄くし、品温を33℃に保って製麴した。麴の水分含量は製麴12時間目から24時間目の発熱にともない36%にまで減少したが、その後は発熱も弱く、35~38%に推移した (Table 1)。製麴30時間目には麴の pH が上昇したため、ブドウ糖溶液を添加して pH の上昇を抑えた。麴中のグルコサミン量を指標にした A. oryzae の発育は、水分含量が高い製麴12~24時間で旺盛であった。製麴24時間から30時間目の麴の水分含量が低いときは、グルコサミンはほとんど増加しなかった。しかし、水分含量が高くなった30時間以降は徐々に増加した。

実験2では麴の品温を30℃以下に保ちながら、製麴開始後12時間は湿タオルで麴蓋を覆い乾燥を抑えたが、それ以後は湿タオルを取り外し、乾燥を促進しながら製麴した。

Table 1. Changes in temperature of incubator and Koji, relative humidity of incubator, moisture content, bulk pH, glucosamine content and viable bacterial counts of Koji during molding

Cultivation time (h)	Temperature (°C)		Relative humidity (%)	Bulk pH	Moisture (%)	Glucosamine (mg/g)	Viable bacterial count (cfu/g)
	incubator	Koji					
Experiment 1							
0	32.0	26.0	69.0	5.6	43.7	2.4	1.0×10 ²
12	32.0	30.0	69.0	5.6	41.8	2.7	2.4×10 ³
24	32.0	35.0	91.0	5.9	35.5	5.2	1.2×10 ⁵
30	26.0	33.0	52.0	5.9	37.7	5.2	1.1×10 ⁵
36	26.0	33.0	99.9	6.1	37.2	5.7	1.6×10 ⁶
48	26.0	26.0	77.5	6.3	31.4	6.9	4.0×10 ⁸
Experiment 2							
0	29.0	18.0	66.0	6.0	41.3	2.3	9.6×10 ¹
12	30.8	30.8	54.0	5.7	41.0	3.0	1.9×10 ³
24	29.2	29.2	62.0	7.3	31.6	5.2	7.9×10 ⁴
30	24.2	24.2	72.0	7.2	31.7	5.3	8.8×10 ⁴
36	23.0	28.0	83.0	7.0	32.6	5.4	3.4×10 ⁵
48	25.0	25.5	90.0	6.0	31.6	5.9	3.2×10 ⁶
Experiment 3							
0	30.0	21.0	44.0	6.0	44.4	2.3	3.2×10 ³
12	28.8	26.5	60.0	5.9	38.3	3.2	5.7×10 ³
24	23.0	24.0	80.0	7.3	32.7	5.1	3.4×10 ⁴
30	26.0	28.5	95.0	6.8	33.6	5.2	3.9×10 ⁴
36	23.0	23.5	80.0	6.8	35.2	5.5	5.8×10 ⁴
48	22.5	22.5	88.0	6.6	33.4	6.8	3.1×10 ⁵

Table 2. Characteristics of genera for the identification of isolated strains

Characteristics	<i>Micrococcus</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Brochothrix</i>
Form	Coccus	Coccus	Rod	Rod	Rod
Motility	—	ND	ND	ND	—
Gram stain	+	+	+	+	+
Flagella	ND	ND	ND	ND	ND
Endspore	ND	ND	+	—	—
Capsule	ND	—	ND	ND	ND
NaCl requirement	ND	ND	—	ND	ND
Strictly aerobic	+	—	+, —	—	—
Facultatively anaerobic	—	+	+, —	+	+
Pigment	+, —	ND	ND	ND	ND
Cytochrome oxidase	ND	ND	ND	ND	ND
Catalase	+	+	+	—	+
Gelatinase	ND	ND	ND	ND	ND
Acid from glucose:					
aerobic	+, —	+	+, —	ND	+
anaerobic	—	+	+, —	ND	+
Acid from glucose in MRS medium	ND	ND	ND	+	ND
Gas from glucose	—	—	ND	+, —	—

+, positive; —, negative; ND, not determined.

製麴12~24時間に *A. oryzae* の発育と乾燥が認められ、24時間目以後は *A. oryzae* の発育は弱くなった。これらの結果から *A. oryzae* の発育は水分含量の影響が大きく35%以下では発育が遅かった。実験3では麴の初発の細菌相を複雑にするため、生のマイワシの背肉を加えた湿ミールを用い、製麴12時間までは、麴蓋に湿タオルを掛けず乾燥を促進しながら、その後は、麴蓋を湿タオルで覆い麴の乾燥を抑制しながら製麴した。また、引き込み温度を30℃にするとともに、製麴中の品温が30℃を越えないように低めに温度管理を行った。製麴24時間目までの *A. oryzae* の発育は実験1の場合とほとんど変わらず、また麴の水分含量も33%まで急速に乾燥した。*A. oryzae* の発育は麴の乾燥とともに遅くなり、麴の水分含量の比較的低い製麴24~36時間ではほとんど発育しなかった。しかし、ブドウ糖溶液を添加して水分含量が上昇した36時間目以後は、再び発育が認められた。

3.2 製麴中の生菌数の変化

マイワシ麴製麴中の一般生菌数を Table 1 に示した。実験1では製麴0時間の生菌数は 10^1 cfu/gで、その後増加して培養48時間目には 10^8 cfu/gに達した。実験2では、初発生菌数は 10^2 cfu/gであったが、その後、生菌数は徐々に増加し、48時間後には 10^6 cfu/gまで増加した。実験3の麴の生菌数は生肉を5%添加したため、初発の生菌数は 10^3 cfu/gと高いが、製麴中の生菌数の増加は遅く、48時間後でも 10^5 cfu/gだった。実験3における初期の生菌数は実験2のそれより高いが、培養時間の経過とともに生菌数はほとんど変わらなくなった。両者の水分含量の比較では実験3が若干高いにもかかわらず、実験2の生菌数の増加の方が大きいことから、細菌の発育には水分含量より温度の影響が大きかった。

3.3 製麴中の細菌相

製麴条件の異なる麴を培養0, 12, 24, 30, 36および48時間目に採取し、合計968株の菌株を分離後、属レベルの同定を行い (Table 2)、その結果をもとに製麴中の細菌相の変遷を検討した (Table 3)。

引き込み温度を32℃、品温を30~33℃と高めに、また製麴中、麴蓋を湿タオルで覆い麴の乾燥を抑制した実験1では、培養開始時には分離菌株30株のうち *Micrococcus* 属18株、*Bacillus* 属11株、*Pseudomonas* 属1株であったが、培養12時間目には、*Micrococcus* 属と *Bacillus* 属の比率が低下し、*Staphylococcus* 属が現れた。しかし、培養24時間目には、再び *Micrococcus* 属が優勢になり、菌相構成菌の96%を占めた。培養24時間目に麴の pH が高くなったためブドウ糖溶液を添加したためと推測されるが、培養30時間では、再び *Bacillus* 属が優占菌の一つになり、*Bacillus* 属と *Micrococcus* 属が、それぞれ菌相構成菌の48%、46%を占めた。また、*Enterobacteriaceae* 科に類似するが、鞭毛が単極毛である点でこの科の菌株と異なる菌株が2株分離された。36時間目の菌相は30時間のそれと大きく変わらなかったが、48時間後には、再び、*Micrococcus* 属が優占菌になり、分離菌株62株のうち60株を占めた。

実験2では、麴の品温を30℃以下、水分含量を32%前後に低く抑えて製麴した。このとき、培養開始時の分離菌株43株の内訳は、*Micrococcus* 属20株、*Staphylococcus* 属7株、*Bacillus* 属5株、*Pseudomonas* 属4株、その他、*Alcaligenes* 属に類似しているが、カタラーゼテストが陰性のもの1株、*Enterobacteriaceae* 科に類似しているが、単極毛のもの1株、グラム陽性で孢子を形成せず、カタラーゼ陽性の桿菌が2株であった。培養12時間後には分離菌株の全てが *Micrococ-*

<i>Pseudomonas</i>	<i>Acinetobacter</i>	<i>Moraxella</i>	<i>Flavobacterium</i>	<i>Alcaligenes</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>
Rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Rod
+	-	-	-	+	+
-	-	-	-	-	-
Polar	ND	ND	ND	Peritrichous	Peritrichous
ND	ND	ND	ND	ND	ND
ND	ND	ND	ND	ND	ND
-	-	-	-	-	-
+	+	+	+	+	-
-	-	-	-	-	+
+, -	+, -	-	+	+, -	ND
+, -	+	+	+	+	-
+	+	+	+	+	+
-	+, -	+, -	+, -	-	+, -
+, -	+, -	-	+	+, -	+
-	-	-	-	-	+
ND	ND	ND	ND	ND	ND
-	-	-	-	-	+, -

cus 属と *Staphylococcus* 属になった。さらに、培養24時間目には *Micrococcus* 属が優勢になり菌相の98%を占めていた。培養30時間目には *Bacillus* 属3株がみられたが、培養が進むとともに *Bacillus* 属、*Staphylococcus* 属は検出されなくなり、*Micrococcus* 属だけの単純な菌相になった。

実験3の0時間では、基質に生肉を添加したため実験1と菌相は大きく異なった。分離株菌60株の内訳は、*Pseudomonas* 属18株、*Acinetobacter* 属10株、*Alcaligenes* 属7株、*Flavobacterium* 属7株、*Moraxella* 属3株、その他、*Pseudomonas* 属に類似した特性を示すが、カタラーゼテストが陰性である点が *Pseudomonas* 属と異なる菌株3株、*Alcaligenes* 属に類似した特性を示すが、オキシダーゼテストが陰性である点が *Alcaligenes* 属と異なる菌株3株であり、グラム陰性の桿菌が菌相の88%を占めていた。しかし、培養

12時間では、*Micrococcus* 属、*Staphylococcus* 属、*Lactobacillus* 属が菌相構成菌の、それぞれ55%、19%、11%を占めた。その他、*Lactobacillus* 属に類似しているが、ブドウ糖からの酸の生成が陰性である菌株13%を含め、全てグラム陽性菌になった。培養24時間目には *Micrococcus* 属が優勢になり菌相構成菌の90%を占め、*Staphylococcus* 属8%を含めると、球菌が菌相のほとんどを占めた。しかし、ブドウ糖溶液を添加した後の培養30時間目には *Micrococcus* 属が菌相に占める割合が70%に低下し、*Enterobacteriaceae* 科に類似しているが単極毛を持つ点で異なるもの、*Flavobacterium* 属に類似しているがオキシダーゼテストが陰性である点で異なる菌株のグラム陽性桿菌が現れた。36時間、48時間と培養時間の増加とともに、再び、*Micrococcus* 属の割合が高くなり、グラム陰性菌は検出されなかった。

Table 3. Numbers of bacterial strains isolated from sardine Koji at various molding times

Genus	Molding time (h)	Experiment 1						Experiment 2						Experiment 3					
		0	12	24	30	36	48	0	12	24	30	36	48	0	12	24	30	36	48
<i>Micrococcus</i>		18	8	54	33	33	60	20	31	57	55	56	57	6	27	44	36	48	42
<i>Staphylococcus</i>		0	15	2	2	6	1	7	28	2	3	0	0	0	9	4	5	5	3
<i>Bacillus</i>		11	1	0	34	31	0	5	0	0	3	2	0	1	0	0	1	0	2
<i>Brochothrix</i>		0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Lactobacillus</i>		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0
<i>Pseudomonas</i>		1	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	18	0	0	0	0	0
<i>Acinetobacter</i>		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0
<i>Alcaligenes</i>		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0	0
<i>Flavobacterium</i>		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0	0
<i>Moraxella</i>		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0
<i>Enterobacteriaceae</i>		0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0
Unidentified		0	0	0	2	8	1	4	0	0	0	0	0	8	6	0	5	2	0
Total		30	24	56	71	81	62	43	59	59	61	58	57	60	47	49	49	55	47

4 考 察

4.1 製麴

Aspergillus oryzae (麴菌)は粒状の基質を用いる麴, いわゆる, ばら麴の製造に用いられる菌種であるため²⁰⁾, マイワシ麴を製麴する際, 原料を粒状に形成する必要がある。生の魚肉は水分が多く, また粘りが強く, 造粒するためには大量の賦形剤を添加する必要がある。そのため, 魚肉由来の固形物より賦形剤の方が多くなり, マイワシを麴にするという目的を逸脱する恐れがある。魚肉を加熱変性した後, 圧搾することにより, 水分含量が45~47%のミールを得ることができ, このミールは粘りがなく, 10%のデンプンを添加することにより容易に造粒できた。造粒したミールは水分含量が41~44%で, 米麴に比べると高いが, 味そ玉の水分に比べ低く,⁷⁾ 麴を作ることのできる水分含量であった。麴菌の培養, すなわち製麴においては, 用いる原料や出来あがった麴の用途により, 製麴環境温度や麴の品温の管理が異なる。例えば, 米麴の場合は, 環境温度30~35℃, 品温28~30℃で製麴を始め, 製麴18時間後に品温が40℃に上昇した頃に手入れをし, その後は34℃前後で培養を続ける。しょう油麴では, 培養初期に品温を40℃まで上昇させるが, その後は25~28℃の低温で製麴を行う。また, 味そ玉麴でも30℃以下で製麴を行っている。このように, 窒素含量の高い原料を用いる麴は, 雑菌の発育を抑えるために, 低温製麴が有効であることが知られている^{6-7, 21)}。本実験においても, マイワシの麴はしょう油麴や味そ玉のように窒素含量の高い原料を使用しているため低温製麴が有効であると考え, 実験2および3において品温を30℃以下に保ち製麴した。比較のため実験1では, 品温を33~35℃に保った。その結果はTable 1に示すように, いずれの場合も培養12時間前後で発熱が始まり, 24時間前後で最も発熱した。引き込み温度は麴菌の発育にはほとんど影響しなかった。実験1と実験2および3を比較すると, 水分含量の精密なコントロールが困難なため正確な比較はできないが, 傾向として品温の低い実験2および3が実験1に比べ生菌数が少なかった。また, 水分含量の低い実験2と3の比較にしても品温の低い実験3で生菌数は少なかった。これらのことより, 細菌の発育抑制には低温での製麴が好ましいと考えられる。

製麴中, 発育熱の発生にともなって, いずれの麴も急速に乾燥した。乾燥にともなう水分含量の変化が麴菌の発育に及ぼす影響を検討するために, この期間に培養環境の湿

度を調節することにより, 麴の水分含量を調節した。実験1および3では水分含量が35%以上の時, グルコサミンを指標とした麴菌の発育が認められたが, 実験2のように水分含量33%以下ではその発育は著しく遅かった。実験3では培養24時間で水分含量が33%にまで低下したが, その後水分含量を35%に調節することにより, 実験1と同じ量にまで増加した。麴菌の菌糸体由来するグルコサミン量は基質の種類や培養条件によって変動するが, 同一の基質について, 経時的にみると菌糸体の発育を反映していることが知られており¹¹⁾, 実験2の麴でグルコサミン含量が低かったことは, 麴菌の発育が弱く, 菌糸体の量が少なかったものと考えられる。このように, 麴菌を十分に発育させるためには, 発熱にともなう乾燥を抑えながら製麴する必要があると思われる。

次に, 麴の品質の観点からみた場合, 穀物を原料に用いた麴では, *Bacillus* 属が増加すると, 麴は粘りが出て糸を引くよう(すべり麴)になり, その後の製麴を困難にするとともに, この麴を使用した製品に残存して品質を低下させる。この原因は, 窒素源が多く, 品温の上がり易い麴を高い温度で製麴し続けたことによる²¹⁾。製麴中, 品温の高かった実験1のマイワシ麴においても, すべり麴の原因となる *Bacillus* 属が検出されたことから, 品質を考慮して, 30℃以下で製麴を行うことが好ましいと考えられる。

したがって, 麴菌の量および麴の質の点から培養条件を考えたとき, 麴菌の発育を維持するためには麴の水分含量を35%以上に, 品温を30℃以下に保つことが必要であると推測された。なお, 実験1, 2の培養48時間の麴のグルコサミン量は, フラスコ内で無菌的に培養した米麴, 大豆麴のその約70%に, 工場生産された米麴の約130%に相当し¹¹⁾, マイワシミールが麴になっていることを示唆していた。

4.2 麴の細菌相

製麴48時間後の麴の生菌数は $10^5 \sim 10^8$ cfu/gで麴の品温を高く保って製麴した場合に多くなる傾向が認められた。穀物を原料にした麴に一般的にみられる生菌数は, 米麴では乳酸菌 $10^1 \sim 10^6$ cfu/g, *Micrococcus* 属 $10^4 \sim 10^6$ cfu/g, *Bacillus* 属 $0 \sim 10^7$ cfu/g, 味りん麴では *Micrococcus* 属, *Streptococcus* 属および *Bacillus* 属で構成される $10^8 \sim 10^9$ cfu/g, しょう油麴では *Bacillus* 属, *Streptococcus* 属, *Micrococcus* 属で構成される $10^7 \sim 10^9$ cfu/g, 麦麴では生菌数として 10^6 cfu/g, 味そ玉麴では *Bacillus* 属 $10^4 \sim 10^8$ cfu/g, 生酸菌 $10^7 \sim 10^8$ cfu/g を持っていたことが報告されており^{5-7, 22-23)}, これらの麴に比べるとマイワシ麴の

生菌数は低かった。米や麦を基質にした麩に比べ大豆を基質にした麩の生菌数は多いが、このことは基質のタンパク質含量が多いためではなく、麩の形態や製麩条件によるものと考えられる。また、培養48時間後の細菌相をみても、いずれの実験でも *Micrococcus* 属が菌相構成菌の90%以上を占める優占菌になっており、穀物麩に比べて単純で安定した細菌相になるものと考えられる。いずれの実験でも培養12時間目 *Staphylococcus* 属が優勢になるが、培養が進むとともに減少した。この現象は製麩の進行にともない麩が乾燥するとともに麩内部の性状が変化し、通性嫌気性の *Staphylococcus* 属の発育に好適な条件から好気性の *Micrococcus* 属の発育に適した環境に変わったものと考えられる。味そ玉麩のように基質の形状が大きく、組織の締まったものでは通性嫌気性の球菌や *Lactobacillus* 属が菌相構成菌の大きな部分を占めていることから⁷⁾、麩内部に性状の変化が起き、菌相に影響を及ぼしていることが示唆される。

実験3の麩では、基質に生のマイワシを加えたため、製麩開始時の生菌数が多く、*Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella* 属など魚介類の腐敗細菌として知られる²⁴⁾ グラム陰性桿菌が菌相の88%を占めていたが、培養12時間後には優勢菌は *Micrococcus*, *Staphylococcus* 属などのグラム陽性菌に変化し、その後も、グラム陰性桿菌が優占菌になることはなかった。これらの結果から、魚肉を基質に用いた場合も、基質の形状、製麩中の温度および水分含量などを適切に管理することにより、環境からの汚染が予想されるグラム陰性桿菌が優占菌になることはなく、*Micrococcus* 属を優占菌とする安定した細菌相を持つ麩を製造できるものと考えられる。

引用文献

- 1) 東秀雄・新田忠雄・長倉克雄・梅本滋：日水誌，**17**,147-156(1952)。
- 2) 加藤富民雄・中里一郎・白石剛・林浩司・村田晃，米康夫：農化，**59**,901-907(1985)。
- 3) 国本正彦・星野保・中野道紀：日水誌，**55**,1097-1102(1989)。
- 4) M. Kurimoto, K. Terao, and M. Kaneniwa: *Nippon Suisan Gakkaishi*, **58**,1471-1476(1992)。
- 5) 竹間武子・大川弘幸・真野史義・奈良岡英樹・松山正宣：醸協，**73**,663-665(1979)。
- 6) 窪田譲・伊藤公雄・今井学・早出昭雄・望月務：信州味噌研報，**17**,1-6(1976)。
- 7) 好井久雄・吉田政次：醸工，**39**,251-256(1961)。
- 8) 小谷隆・榎本五男・辰巳忠次：醸工，**51**,66-70(1973)。
- 9) 下岸伊作：醸協，**71**,305-307(1976)。
- 10) 照井堯造：醸工，**35**,312-317(1957)。
- 11) Y. Sakurai, T. H. Lee, and H. Shiota : *Agric. Biol. Chem.*, **41**,619-624(1977)。
- 12) S. T. Cowan : 医学細菌同定の手びき。第2版，(坂崎利一訳)，近代出版，東京，1974，pp.62-164。
- 13) N. R. Krieg and J. G. Holt: *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Williams and Wilkins Co., Baltimore, 1984, pp.140-601。
- 14) R. N. Doetsch : Determinative Methods of light microscopy," In *Manual of methods for general bacteriology*, American society for microbiology, Washington, 1981, p.26。
- 15) 駒形和男：細菌-好気性細菌。“改訂版 微生物の分類と同定(下)”(長谷川武治編)，学会出版センター，東京，1982，pp.112-113。
- 16) N. Kovacs : *Nature*, **178**,703(1956)。
- 17) R. Hugh and E. Leifson : *J. Bact.*,**66**,24-26(1953)。
- 18) O. Kandler and N. Weiss : Regular, nonsporing gram-positive Rods." In *Bergey's manual of determinative bacteriology*, section 14, 9 edition", Williams & Wilkins Co. 1988, p. 1216。
- 19) 駒形和男：細菌-好気性細菌。“改訂版 微生物の分類と同定(下)”(長谷川武治編)，学会出版センター，東京，1982，p.122, p.149。
- 20) 加藤百一：麩の歴史。“麩学(村上英也編)”，日本醸造協会，東京，1985，pp.1-30。
- 21) 廣瀬義成：製麩法-醬油麩。“麩学(村上英也編)”，日本醸造協会，東京，1985，pp.266-286。
- 22) 山下勝：製麩法-一味りん麩。“麩学(村上英也編)”，日本醸造協会，東京，1985，pp.248-254。
- 23) 好井久雄・中野政弘：醸工，**34**,365-369(1956)。
- 24) The international commission on Microbiological specifications for foods : "In *Microbial ecology of foods* vol. II *Food commodities*", Academic press, NewYork, 1980, pp. 579-586。