

泡盛酒造場から分離した黒麹菌について

その培養特長と二、三の生理的性質

化学室 照屋比呂子

1. はじめに

昭和50年、泡盛酒造場から採取した麹、建物片、道具片などの試料79点から黒麹菌を分離、類別し、酒造への適応を目的として、その培養特長と二、三の生理的性質を検討した。また、あらたに分譲をうけた7株の黒麹菌 Type Culture についても同様に検討を行ったのであわせて報告する。

2. 実験方法

2-1 試料

採取した試料数及び採取場所、種類を第1表に示す。

第1表 黒麹菌採取試料数

採取場所 試料の種類	南部	中北部	八重山	宮古	計
麹	14	9	3	6	32
建物片	12	8	4	8	32
道具片	5	5	1	4	15
計	31	22	8	18	79

2-1 黒麹菌株の分離

黒麹菌の分離は管間¹⁾の方法に準じて行った。すなわち、麹試料は、その0.5gを10mlの殺菌水(Tween 80 0.1%)に投入、振とうし、その2白金耳を5mlの殺菌水(A)にとり、次に(A)の2白金耳を5mlの殺菌水(B)にとり、(A)(B)の約0.2mlをそれぞれOZAPBK寒天平板培地(P^H4.5)に塗抹し、38°Cで培養、5日目のコロニーを観察し、集落形の異なるものを1~5株えらび、麦芽汁寒天培地に釣菌して分離した。

建物及び道具片試料は、その2~3片を1mlの殺菌水(Tween 80 0.1%)に投入し、上記の方法に準じて釣菌し分離した。

2-2 黒麹菌株の類別

分離した黒麹菌株について、OZAPBK寒天平板培地(P^H5.0)で34°C、7日間培養後、同一コロニーを作るものを一つにまとめ類別した。

類別した菌株の各タイプの代表菌株について、さらに次の試験を行った。

2-3 ヨード反応

秋山²⁾の方法に準じ、CZAPPEK培地に1%デンプンを加えた寒天平板培地で34℃、4日間培養後N/100ヨード液を滴下し、コロニー周辺より反応の消失ゾーンmm数を測定した。また同時にコロニーの径(繁殖速度)も測定した。

2-4 亜硝酸の同化

坂口等³⁾の方法にしたがいCZAPPEK培地の窒素源(NaNO_3)を NaNO_2 2.00gに変えた斜面培地に34℃で培養し、3日目、7日目、10日目にその繁殖の程度を観察した。

2-5 分離麹菌株の生理的性質

分離した各タイプの菌株により米麴をつくり、アミラーゼ系酵素力、生酸力について調べた。製法方法はタイ碎米の蒸米20gを200ml容三角フラスコに入れ、菌を接種、30℃、44時間培養した。これを2本づつ作り1本を酵素力、他の1本を生酸力の測定に供した。糖化力 α -アミラーゼ、生酸力の分析方法は国税庁所定分析法によった。

3. 試験結果及び考察

3-1 黒麹菌の分離と類別

黒麹菌試料の採取場所及び試料の種類、分離菌株を第2表に示す。またその類別の結果を第3表に示す。第2表、第3表に見るように黒麹菌195株を分離し、これは、12タイプ(A1、A2、B1、B2、B3、B4、C1、C2、D、E、F、G)に類別された。

3-2 黒麹菌の培養特長及び二、三の生理的性質

分離した12タイプの菌株の代表菌株をえらび(麴汁液体静置培養により分離した全菌株の生酸力をしらべ最も生酸力の大きいものを代表株とした)、これと分譲をうけた7株のType Cultureの計19株について、培養特長及び二、三の生理的性質をしらべた結果を第4表に示す。

第4表で見ると、アミラーゼ系酵素力(α -アミラーゼ、糖化力)の強い菌株は、A1、A2、Eタイプであり、これはヨード反応の消失ゾーンも大きかった。

生酸力の強い菌株はGタイプとS2(*Asp awamori* var *ferruginensis*)であった。またこれらのヨード消失ゾーンはやはり小さい。

S4(*Asp awamori* var *fumeus* NAKAZAWA)は、酵素力、生酸力共に良好な菌株であったが、そのヨード反応消失ゾーンは、その α -アミラーゼがやや低いいためか、小さかった。

亜硝酸の同化は坂口ら⁴⁾のBlack *Aspergillus*の検索で、黒麹菌類別の重要な目安とされており、その検索表によると亜硝酸を同化するものは*Asp usamii*、*Asp inuii*、*Asp aureus*で

第2表 黒麹菌試料採取場所及び試料の種類、分離菌株 (1)

	試料採取工場	試料の種類	分離菌株
1	太平酒造場	麹	A1-1、A1-2、A1-3、
2	合資会社 新里酒造工場	"	A2-1、A2-2、A2-3、
3	識名酒造場	"	A4-1、
4	宮里酒造所	"	A5-1、A5-2、A5-3、
5	合資会社 石川酒造場	"	A6-1、A6-2、
6	咲元酒造合資会社	"	A7-1、A7-2、A7-3、
7	"	"	A7-1、A7-2、A7-3、A7-4、A7-5、A7-6、A7-7、
8	瑞泉酒造株式会社	"	A8-1、A8-2、A8-3、
9	合資会社 比嘉酒造	"	A9-1、A9-2、A9-3、A9-4、A9-5、
10	上原酒造所	"	A10-1、A10-2、A10-3、A10-4、
11	瑞穂酒造株式会社	"	A13-1、A13-2、
12	神谷酒造所	"	A16-1、A16-2、A16-3、A16-4、
13	崎山酒造廠	"	B1-1、B1-2、B1-3、
14	金武酒造所	"	B2-1、B2-2、
15	田嘉里酒造所	"	B6-1、B6-2、
16	与儀酒造所	"	B8-1、B8-2、B8-3、
17	龍泉酒造所	"	B9-1、B9-2、
18	山川酒造所	"	B11-1、
19	今婦仁酒造所	"	B13-1、B13-2、B13-3、
20	玉那覇酒造工場	"	B14-1、B14-2、B14-3、
21	比嘉酒造工場	"	B15-1、B15-2、
22	石垣酒造有限会社	"	C3-1、C3-2、C3-3、C3-4、
23	八重泉酒造所	"	C4-1、C4-2、C4-3、
24	仲間酒造所	"	C7-1、C7-2、
25	古謝酒造所	"	D1-1、D1-2、
26	菊の露酒造合名会社	"	D2-1、D2-2、D2-3、
27	池間酒造所	"	D6-1、D6-2、D6-3、
28	渡久山酒造所	"	D8-1、D8-2、
29	"	"	D8-1、D8-2、
30	下地酒造所	"	D9-1、D9-2、D9-3、
31	種麴 1	"	E1-1、E1-2、E1-3、
32	太平酒造所	建物片	A1T-1、A1T-2、A1T-3、
33	合資会社 新里酒造工場	"	A2T-1、A2T-2、A2T-3、
34	久米山酒造株式会社	"	A3T-1、
35	識名酒造所	"	A4T-1、
36	"	道具片	A4D-1、
37	宮里酒造所	"	A5D-1、
38	合資会社 石川酒造場	建物片	A6T-1、A6T-2、A6T-3、A6T-4、
39	咲元酒造合資会社	"	A7T-1、A7T-2、A7T-3、
40	瑞泉酒造株式会社	"	A8T-1、A8T-2、A8T-3、A8T-4、

第2表 黒麹菌試料採取場所及び試料の種類、分離菌株 (2)

	試料採取工場	試料の種類	分離菌株
41	瑞泉酒造株式会社	道具片	A8D-1、A8D-2、A8D-3、A8D-4、
42	上原酒造所	建物片	A10T-1、
43	大城酒造所	"	A11T-1、A11T-2、
44	合資会社 神村酒造所	道具片	A12D-1、A12D-2、
45	瑞穂酒造株式会社	"	A13D-1、A13D-2、A13D-3、A13D-4、
46	合資会社 仲里酒造	建物片	A14T-1、A14T-2、
47	米島酒造所	"	A15T-1、A15T-2、
48	神谷酒造所	"	A16T-1、A16T-2、A16T-3、
49	崎山酒造廠	"	B1T-1、
50	"	道具片	B1D-1、
51	恩納酒造所	建物片	B3T-1、B3T-2、
52	"	道具片	B3D-1、B3D-2、B3D-3、
53	合資会社 津嘉山醸造所	"	B5D-1、B5D-2、
54	"	建物片	B5T-1、B5T-2、
55	田嘉里酒造所	道具片	B6D-1、B6D-2、
56	宜名真酒造所	"	B7D-1、
57	与儀酒造所	建物片	B8T-1、B8T-2、B8T-3、
58	龍泉酒造所	"	B9T-1、B9T-2、B9T-3、
59	山川酒造所	"	B11T-1、B11T-2、B11T-3、
60	今帰仁酒造所	"	B13T-1、B13T-2、
61	玉那覇酒造工場	道具片	B14D-1、B14D-2、
62	比嘉酒造所	建物片	B15T-1、B15T-2、B15T-3
63	玉那覇酒造所	"	C2T-1、
64	石垣酒造有限会社	"	C3T-1、C3T-2、
65	八重泉酒造所	道具片	C4D-1、C4D-2、C4D-3、
66	"	建物片	C4T-1、C4T-2、C4T-3、
67	仲間酒造所	"	C7T-1、
68	古謝酒造所	"	D1T-1、D1T-2、D1T-3、
69	菊の露酒造合名会社	"	D2T-1、D2T-2、
70	多良川酒造所	"	D3T-1、D3T-2、
71	明星酒造場	"	D4T-1、
72	山内酒造場	"	D5T-1、D5T-2、
73	池間酒造場	道具片	D6D-1、D6D-2、
74	宮泉酒造合名会社	建物片	D7T-1、D7T-2、D7T-3、
75	"	道具片	D7D-1、D7D-2、
76	渡久山酒造所	"	D8D-1、D8D-2、D8D-3、
77	"	建物片	D8T-1、
78	ことぶき酒造所	"	D9T-1、D9T-2、D9T-3、
79	種麴 2	麴	E2-1、E2-2、E2-3、E2-4、

第3表 分離した黒麹菌株の類別表

菌株 No.	A1		A2	B1		B2		B3		B4	C1	C2	D	E	F	G
	菌株 記号	菌株 記号	菌株 記号	菌株 記号	菌株 記号	菌株 記号	菌株 記号	菌株 記号	菌株 記号	菌株 記号	菌株 記号	菌株 記号	菌株 記号	菌株 記号	菌株 記号	菌株 記号
1	A2-2	A13D-1	A1-1	A1-2	D1T-3	A5-1	C7T-1	A7-1	D8T-1	A1T-1	A7-1	A9-5	C3-3	B2-1		
2	A2-3	A13D-2	A2-1	A4-1	D5T-1	A5-2	D3T-2	A9-4	A9-4	C4T-1	A7-3	B1-1	A6T-4		A10-3	
3	A7-2	A14T-1	A7-6	A5-3	D6D-1	A6-2	D4T-1	B8-3	B8-3		A7-4	B8-2	B14D-1			
4	A7-3	A15T-2	B2-2	A6-1	D7T-2	A7-2	D7T-1	C7-2	C7-2		A7-5	A8T-4				
5	A8-3	A16T-1	B8-1	A10-2	D8D-2	A8-2	D7D-1	D2-1	D2-1		A7-7	A8D-3				
6	A9-3	B1T-1	B9-1	A13-1	E2-1	A10-1	D7D-2	D8-2	D8-2		A8-1	A15T-1				
7	A16-4	B3D-1	B11-1	A13-2	E2-4	A10-4	D8D-1	E1-3	E1-3		A9-1	B1D-1				
8	B1-2	BT-1	B14-1	A13-3		B1-3	D8D-3	A1T-2	A1T-2		A16-1	B1T-2				
9	B6-2	BD-1	C3-2	A14-3		B6-2	D9T-1	A2T-2	A2T-2		A16-2	B15T-1				
10	B13-1	B7D-1	A2T-1	C3-4		B9-2	D9T-3	A2T-3	A2T-3		A16-3	D1T-2				
11	B13-2	B8T-2	B3T-1	C4-1		C4-2		A3T-1	A3T-1		B14-2					
12	C7-1	B9T-2	B3D-2	D9-1		C4-3		A4T-1	A4T-1		B15-1					
13	D1-2	B1T-3	B8T-1	D9-3		D1-1		A4D-1	A4D-1		B15-2					
14	D2-2	B15T-2	B3T-1	A7T-1		D2-3		A5D-1	A5D-1		C3-1					
15	D9-2	C2T-1	B3T-2	A7T-3		D6-1		A6T-1	A6T-1		B5D-1					
16	D8-1	C4D-2	B14D-2	A8T-3		D6-2		A6T-2	A6T-2		B9T-3					
17	E1-2	D2T-1	C3T-2	A1T-2		D6-3		A6T-3	A6T-3							
18	A1T-3	D2T-2	D1T-1	B3T-2		D8-1		A10T-1	A10T-1							
19	A7T-2	D3T-1		B3D-3		D8-2		A14T-2	A14T-2							
20	A8T-1	D5T-2		B5D-2		E1-1		A16T-2	A16T-2							
21	A8T-2	D6D-2		B5T-2		A12D-2		A16T-3	A16T-3							
22	A8D-1	D7T-3		B6D-2		A13D-3		B10T-1	B10T-1							
23	A8D-4	D9T-2		B8T-3		A13D-4		B15T-3	B15T-3							
24	A11T-1	E2-2		C4D-3		B9T-1		C3T-1	C3T-1							
25	A12D-1	E2-3		C4T-3		C4D-1		C4T-2	C4T-2							
菌株数	50		18	32	35	26	2	16	10	3	1	1	1			
計195																

第4表 黒麹菌株の培養特長と生理的性質

黒麹菌株			菌 株 名	培 養 特 長				麹汁 米 麹				
				巨大コロニー	菌※	亜硝酸同化	生 酸	生 酸	糖 化	アミラーゼ		
タイプ	代表株		胞子着生	ひ色	大きさ 4日目	ヨード反応	そ う 色	力 mℓ	力 mℓ	力	D ₃₀ ^{40°}	
1	A ₁	B8T-2	細かい	多い	オリブ茶	20 7	かっ色	-	4.3	1.0	8.9	9.3
2	A ₂	B8T-1	"	少ない	"	18 7	"	-	4.2	0.8	6.0	8.2
3	B ₁	A13-2	粗い	多い	"	27 5	黒かっ	-	6.1	1.8	5.1	3.3
4	B ₂	D8-1	"	少ない	"	27 5	"	-	6.2	2.4	4.5	3.2
5	B ₃	B15T-3	"	無	"	20 6	"	-	5.6	2.3	5.1	2.9
6	B ₄	C4T-1	細かい	少ない	淡茶	20 7	"	-	4.6	2.0	4.5	3.0
7	C ₁	B14-2	"	無	オリブ茶	28 4	"	-	3.5	1.9	5.1	3.3
8	C ₂	D1T-2	"	無	"	28 4	"	-	3.1	1.4	5.9	2.8
9	D	B14D-1	"	無	"	36 4	"	※※※	1.6	1.2	5.7	4.2
10	E	B2-1	"	少ない	茶	19 8	かっ色	-	3.3	0.9	10.3	16.5
11	F	A10-3	"	無	"	13 7	黒かっ	-	6.7	2.0	5.6	4.3
12	G	A8D-2	"	無	灰茶 をけ	41 0	"	-	6.1	5.4	8.1	4.5
13	S ₁	ASP usamii SAKAGUCHI, IIZUKA et YAMAZAKI				51 0	"	+		1.5	6.4	3.6
14	S ₂	Aspergillus awamori var. ferruginensis				48 0	"	-		5.6	2.5	1.5
15	S ₃	Aspergillus luchuenis INUI			白色菌糸	19 5	かっ色	※十一		0.4	4.8	4.5
16	S ₄	Aspergillus awamori var. fumeus NAKAZAWA				33 2	黒かっ	+		3.9	8.7	4.8
17	S ₅	Aspergillus awamori var. fuscus NAKAZAWA			白色菌糸	53 0	"	-		1.1	5.3	1.7
18	S ₆	Aspergillus awamori var. minimus NAKAZAWA			"	42 0	かっ色	-		0.2	1.5	0.3
19	S ₇	Aspergillus awamori NAKAZAWA				27 6	黒かっ	※※※		1.5	4.0	4.3

※麦芽汁斜面培養

※ 7 日目、※※ 10 日目に繁殖顕著

同化しないものは *Asp. awamori*、*Asp.saitoi* その他となっている。本試験の分離菌株には、亜硝酸を同化する菌株は一株もなく、又その菌そうの色から、A1、A2、Eタイプは、*Asp. awamori* B1～B4は、*Asp. Saitoi*と思われる。その他の分離菌株はその両タイプが若干変った形態を示したものである。

また長期保存された Type Culture は、その菌株の発育速度は早く、巨大コロニーでは8日目で9 cmシャーレの一ぱいとなり、又白色菌糸におおわれたものもあり、その形態、色の観察が困難だった。

4. 要約

泡盛酒造場から採取した麴、建物片、道具片などの試料79点から黒麹菌195株を分離し、これは12タイプに類別された。この12株 (A1、A2、B1、B2、B3、B4、C1、C2、D、E、F、G) と、あらたに分譲をうけた7株 (S1～S7) の Type Culture について、酒造への適応を目的として、その培養特徴と二、三の生理的性質を検討した。

- 1) 分離した菌株の種類は少なく、*Asp. awamori* タイプと *Asp. Saitoi* が多くを占めているようである。
- 2) 生酸力の強い菌株はGタイプとS2 (*Aspergillus awamori* var. *ferruginensis*) であった。
- 3) アミラーゼ系酵素力の強い菌株はA1、A2、Eタイプであった。
- 4) 生酸力、アミラーゼ系酵素力共に良好な結果を示した菌株はS4 (*Aspergillus awamori* var. *fumeus* NA KAZAWA) であった。

おわりに黒麹菌 Type Culture を分譲下さった琉球大学農芸化学科 当山清善教授に厚くお礼申しあげます。

文 献

- 1) 菅間他：醸協、70、595 (1975)
- 2) 秋山他：醸協、56、728 (1961)
- 3) 坂口他：農化、10、459 (1934)
- 4) 坂口他：応用菌学、3、53、56、79 (1949)
応用菌学、4、1、1 (1950)

編 集 沖縄県工業技術センター

発 行 沖縄県工業技術センター

〒904-2234 沖縄県うるま市字州崎 12 番 2

T E L (098)929-0111

F A X (098)929-0115

U R L <https://www.pref.okinawa.lg.jp/site/shoko/kogyo/>

著作物の一部および全部を転載・翻訳される場合は、当センターにご連絡ください。