

# 腐造泡盛もろみより分離した腐造細菌の性質

化学室 池 間 洋一郎

照 屋 比呂子

宮 城 勝 治

## 緒 言

泡盛のもろみは温度、栄養源等細菌の増殖に好適な条件下にあり、その発酵工程も他の酒類と同様開放下で進められているので、常に雑菌汚染の危険性がある。泡盛の正常なもろみは黒麹菌の生産する十分な酸によりもろみ汚染を防止しているが、酸の少い麴による仕込みや夏場の気温の高い時期におけるもろみ品温管理の失敗等から、腐造が起ることが経験上知られている。

腐造に關与する細菌については、清酒では、秋山<sup>1)</sup>らが清酒もろみの変調は生酸菌のためであると<sup>2) 3) 4) 5)</sup>し、また外池、百瀬らは腐造細菌について、菌学的、生態学的な面から詳細に追究している。

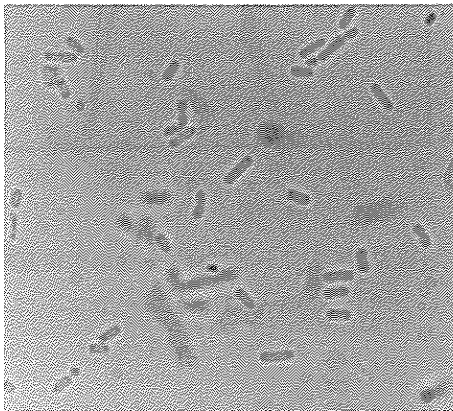
しかし、低温下で発酵が行われている清酒に比べ、高温下で行われている泡盛もろみについて、腐造細菌の検討は殆んどなされていない。

そこで本報では県内の1泡盛工場から腐造もろみを採取し、分離した腐造細菌(MT-1、MT-2)の性質について検討した結果を報告する。

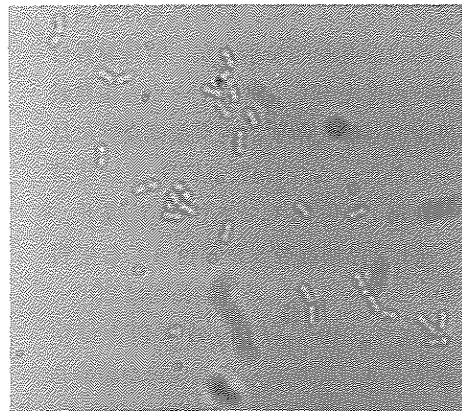
## 実験方法及び結果

### 1 細菌の分離

腐造初期のもろみ(4日目)を泡盛工場から採取し、これを市販のYAS培地(pH6.8)に炭酸カルシウム2%、寒天2%を加えた培地に接種し、30℃で96時間平面培養した。出現したコロニーからまわりの炭酸カルシウムを溶かしている生酸菌を取り出し、純粹になったと思われるまで4~5回培養、分離をくり返した。培養所見の違いから2種類の腐造細菌(MT-1、MT-2)を選んだ。



第1図 MT-1 桿 菌



第2図 MT-2 球 菌

## 2 形態的性質

培地はこうじ汁をBrix 8.0に水で希釈し、NaOH 溶液で pH 6.0 に調整して用いた。30℃、48時間培養後の腐造細菌を鏡検した。

MT-1は第1図に示すように、長径 1.5～1.9  $\mu$ 、短径 1.0  $\mu$ の桿菌で運動性がなく、通常、単在するか、2細胞連鎖する。

MT-2は直径 0.7～0.8  $\mu$ の連鎖状球菌で、2～4細胞連鎖して運動性がある。その顕微鏡写真を図2に示す。

## 3 培養的性質

いずれの菌もこうじ汁寒天培地に平面培養を行うと炭酸カルシウムを円形に溶かし、円形の小さなコロニーを生ずる。MT-1、MT-2とも斜面培養ではほとんど生育が認められないが、せん刺培養ではせん刺穴に沿って一様に良好な生育を示す。こうじ汁液体培地に良く生育し、その生育状態は肉眼的な差がはっきりしている。すなわち、MT-1は生育するにしたがって、菌体の白い沈でんのみを生じ、MT-2は24時間培養後から菌体の沈でんとともに強い混濁を示す。この混濁は5日間培養しても清澄しない。なお、培養後の液はいずれも腐造特有の酸臭がした。

## 4 生理的性質

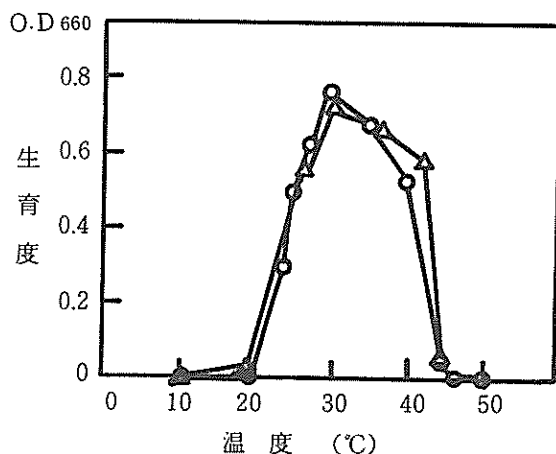
特に断わらない限り前培養にはこうじ汁 (Brix 5.0) にペプトン 1%を加えた培地 (pH 6.0) を用い、各々の試験にはこうじ汁培地 (Brix 8.0、pH 6.0) を用いた。培養はすべて静置で行い、前培養は 5.0 ml の培地に菌体接種後 30℃、40時間、各々の試験には前培養液を滅菌水で 2,500倍希釈した液 0.2 ml をこうじ汁培地 9.8 ml に接種して 30℃、48時間培養を行った。

生育度は培養液を蒸留水で5倍に希釈して分光光度計で測定し、O.D 660 nm の値で表わした。

### 1) 生育温度範囲

培養は温度を 10～50℃ に設定した温度勾配バイオフィトレコーダー (東洋 TN-112 D 型) を使用した。また、生育境界温度付近における培養は各温度に設定した恒温器を用いて行い、その生育状況を確認した。

第3図に示すように、いずれもほぼ同じような生育温度範囲を示すが、生育境界付近の生育温度を詳しく調べてみると生育最大温度は同じ値を示すが生育最低温度には差がみられた。すなわち、MT-1は生育可能範囲は 21～46℃であり 20℃以下、47℃以上では培養を5日間行っても生育しない。MT-2は生育可能範囲は 20～46℃であり、19℃以下、47℃以上は生育できず、5日間培養しても生育が認められない。いずれの菌も最適温度は 30℃である。なお、菌体接種後、低温下で生育できなかった培養液を 30℃の条件に移すと、MT-1、MT-2とも増殖を開始することが認められた。



第3図 MT-1、MT-2の生育温度

○—○ : MT-1

△—△ : MT-2

## 2) 死滅温度

第1表、第2表は菌体接種後各々の温度に所定の時間加熱した後急冷し、30℃で24、48、72時間培養した時の生育状況を示したものである。

いずれも55℃、30分間の加熱処理を行っても生育する。MT-1は60℃、30分間加熱の条件で熱の影響が認められ、65℃10分間加熱処理で完全に死滅する。MT-2はMT-1に比較してやや熱に弱く、60℃、10分間処理から生育に遅れがみられ、60℃、30分間加熱処理で死滅する。

## 3) 生育 pH

培養は培地をpH 3.0、3.3、3.5、3.8、4.0、4.5、5.0、6.0に調節し、菌体を接種後、25℃、30℃、35℃の各温度で行った。第4

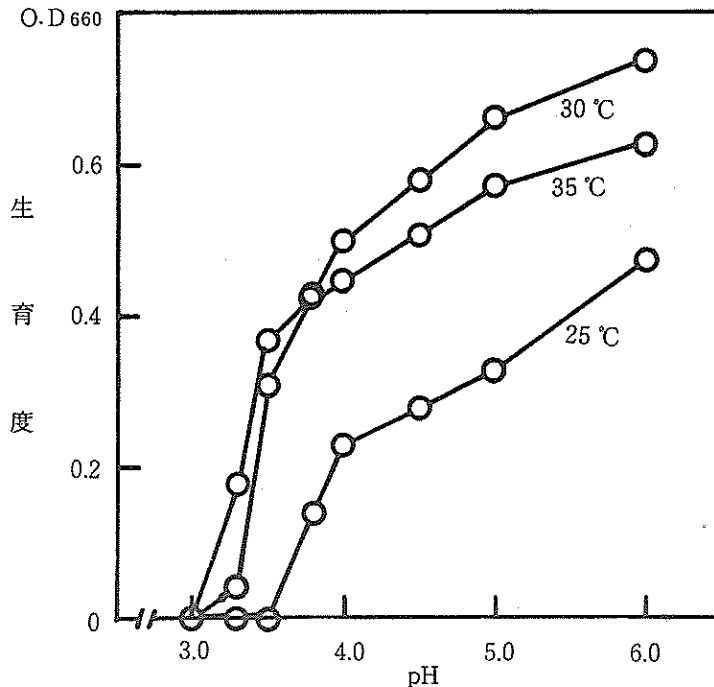
図、第5図に結果を示す。培地のpHがpH 3.0～4.0にかけてはpHの上昇に伴っていずれも各温度下で急激に生育値が上昇し、その後pH 4.0～6.0までゆるやかに上昇してpH 6.0で最大値をとる。また、培養温度別の生育値を比較すると、pH 4.0～6.0では30℃以外はMT-1、MT-2とも生育が低下し、特に25℃培養では最適pH (pH 6.0) 条件下でも、30℃培養の約70%の生育

第1表 MT-1と死滅温度

処理時間 (min) 培養時間 (hr) 加熱温度(℃)	10			20			30		
	24	48	72	24	48	72	24	48	72
	50	+	+	+	+	+	+	+	+
55	+	+	+	+	+	+	+	+	+
60	+	+	+	+	+	+	-	+	+
65	-	-	-	-	-	-	-	-	-

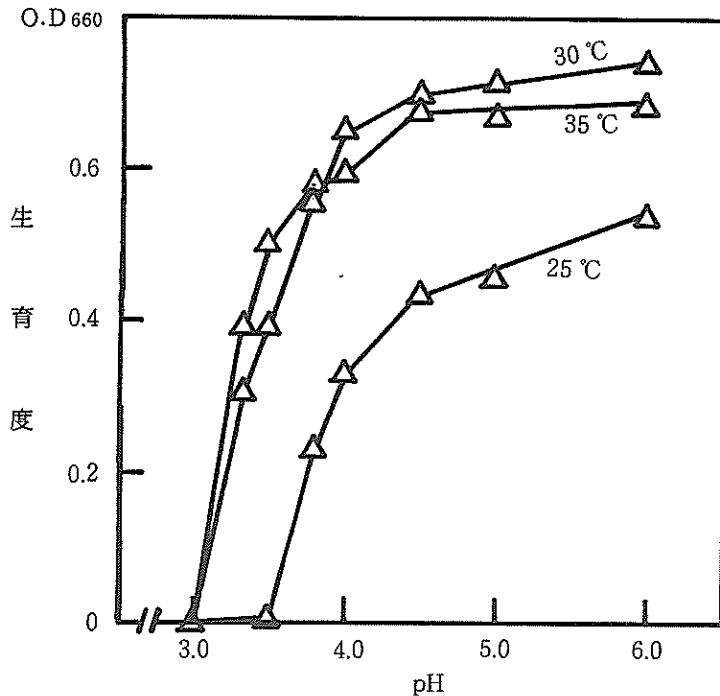
第2表 MT-2と死滅温度

処理時間 (min) 培養時間 (hr) 加熱温度(℃)	10			20			30		
	24	48	72	24	48	72	24	48	72
	50	+	+	+	+	+	+	+	+
55	+	+	+	+	+	+	+	+	+
60	-	+	+	-	±	+	-	-	-
65	-	-	-	-	-	-	-	-	-



第4図 培地の pH と MT-1 の生育

値しか示さない。また pH 3.0~3.8 にかけては、MT-1、M-2 は、30℃ 培養よりもむしろ 35℃ 培養の生育が良好である。



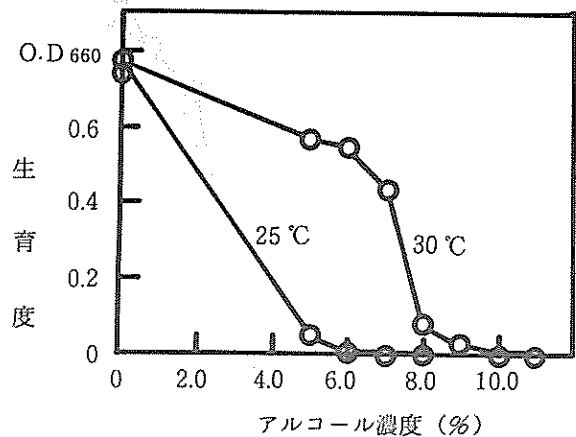
第5図 培地の pH と MT-2 の生育

#### 4) アルコール耐性

エチルアルコールを 5%、6%、7%、8%、9%、10%、11% を含む Brix 8.0、pH 6.0 のこうじ汁培地を作り、無菌ろ過した後菌体を接種して 25℃、30℃ の各温度で 72 時間培養し、その生育を調べた。

第6図に示すように、MT-1 は 30℃ では培地のアルコール濃度 7% まではアルコール濃度の増加に伴って生育値はゆるやかに低下するが、8% になると急に生育が低下し、10% 以上では生育できない。また、25℃ 培養ではアルコール濃度 5% ですでに生育が低下しており、6% 以上になると生育しない。

MT-2 は、30℃ ではアルコール濃度 8% までは生育値にあまり変化がみられず、9% で急激に生育が低下して 10% 以上のアルコールが存在する時は生育できない。また 25℃ 培養では MT-1 を培養した時よりも急激な生育の低下はみられず、アルコール濃度 6% で急に生育値が低下し 8% 以上になると生育できない。結果を第7図に示す。



第6図 MT-1 とアルコール耐性

MT-1、MT-2を比較すると、MT-1はMT-2に比べてアルコール濃度と温度の影響が大きい。

### 考 察

腐造泡盛もろみより分離した細菌（MT-1、MT-2）を、すでに多くの文献で明らかにされている清酒もろみの腐造細菌と比較してみると、いくつかの類似性と差がみられる。

一般に清酒もろみの腐造乳酸菌の性質は生育最適温度が25～30℃、生育最低温度が5～8℃、生育最低pHが3.3付近にあり、耐アルコール性は培養温度15℃で、菌種の違いにもよるがアルコール濃度15%以上のもろみでは生存しえないといわれている<sup>6)</sup>。また、外池、百瀬らは生育可能温度範囲が10～40℃、13%以上のエチルアルコールの存在下では生育できない腐造乳酸菌を分離しており、また生育最大温度42℃の腐造乳酸菌を分離している<sup>3) 4)</sup>。

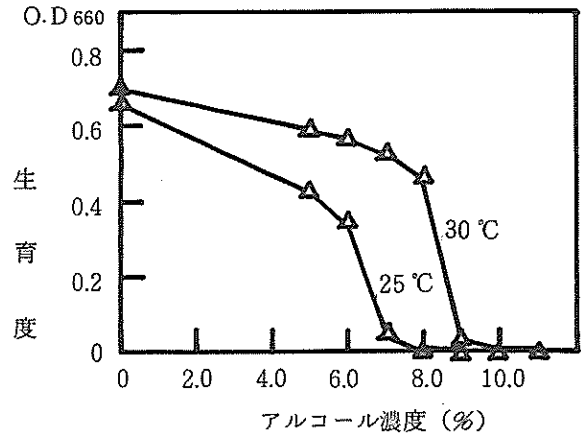
腐造泡盛もろみより分離したMT-1、MT-2は形態的性質や生育最適温度（30℃）、生育最低pH（pH 3.3）については清酒腐造乳酸菌と同じような性質を示すが、生育温度範囲、死滅温度、アルコール耐性については差がみられる。特に生育温度範囲に大きな差があり、いずれも生育最低温度が清酒腐造乳酸菌よりも10℃以上高い20℃付近、また、生育最大温度は3℃も高い46℃の条件でも生育できる。

死滅温度は、70℃、10分間の加熱処理で死滅する清酒腐造乳酸菌<sup>1)</sup>に比べて、MT-1、MT-2は生育最大温度が高いにもかかわらず、いずれも低い温度（65℃）で死滅する。

アルコール耐性については、清酒腐造乳酸菌がアルコール濃度の高い培地でも生育可能なのに対して、MT-1、MT-2はアルコール濃度の低い培地でしか生育せず3～5%アルコール耐性の差がある。このようなアルコール耐性の差は、腐造細菌を、清酒ではアルコール濃度10%以上の熟成もろみから、泡盛では仕込後4日目のアルコール生成の低いもろみから分離していることに関係があると思われる。

MT-1、MT-2の性質を熟知した上で、泡盛もろみが腐造になる可能性を考えてみると、正常な経過をとったもろみでもMT-1、MT-2が単独、あるいは混合で大量に侵入してきた場合、もろみの腐造が起ころうることを説明することができる。

MT-1、MT-2は、25～30℃では生育最低pHが3.0～3.5の間にあり、このpH範囲内ではpHもしくは温度がわずかに上昇しても生育値は急激に上昇する。したがって侵入時の培地のpHと培養温度がMT-1、MT-2の生育に大きな影響を与えることになる。普通、泡盛もろみのpHは3.2～4.0にあり、品温は25～30℃に管理されているが、仮にもろみのpHを3.5とすると、MT-1あるいはMT-2が侵入してきた場合、品温25℃ではいずれの細菌もほとんど増殖できな



第7図 MT-2とアルコール耐性

い。しかし 30℃では最適 pH で生育した値の約 50%の生育値を示し、正常なもろみ中でも MT-1、MT-2 は十分に生育が可能である。このように腐造細菌がもろみ中に生存している時、もろみ品温を過度に上昇 (35~40℃) させると酵母は死滅し、腐造細菌のみ増殖して、腐造もろみに進行することが考えられる。

実際の現場ではいろいろな要因が複雑に組み合わさって腐造が起これると考えられるが、これら腐造が起これる条件やその防止方法については今後検討していきたい。

## 要 約

腐造初期の泡盛もろみから 2 種類の腐造細菌 (MT-1、MT-2) を分離し、その性質を調べた。

1) MT-1 は運動性なく、通常単在するか 2 細胞連鎖する桿菌である。MT-2 は連鎖状球菌で、2~4 細胞連鎖していて運動性がある。

2) いずれの菌もこうじ汁寒天斜面培地には繁殖せず、せん刺培養では良く繁殖する。こうじ汁液体培地で良好に生育し、MT-1 は沈でんのみを生じ、MT-2 は強く混だくする。

3) 生育温度範囲は MT-1 では 21℃~46℃、MT-2 は 20℃~46℃である。生育適温はいずれの菌も 30℃である。

4) 死滅温度は MT-1 では 65℃、10 分、MT-2 は 60℃、30 分加熱処理で完全に死滅する。

5) 生育最適 pH はいずれも pH 6.0 であり、生育限界最低 pH は、いずれも 25℃では pH 3.5 以下、30℃、35℃では pH 3.0 以下になると生育できない。

6) いずれの菌もアルコール濃度が高くなると生育が低下してアルコール濃度 10%以上になると生育できない。

## 参考文献

- 1) 秋山裕一、中山大樹：日本醸造協会誌 46、111 (1951)
- 2) 外池良三、百瀬洋夫：日本醸造協会誌 56、632 (1961)
- 3) 外池良三、百瀬洋夫：日本醸造協会誌 58、647 (1962)
- 4) 外池良三、百瀬洋夫：久富鉄也：日本醸造協会誌 59、165 (1963)
- 5) 百瀬洋夫、前川秀義、久富鉄也、外池良三：日本醸造協会誌 59、1006 (1964)
- 6) 清酒製造技術 (財) 日本醸造協会 216 (1979)

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。