清酒製造場における野生キラー酵母の 調査とその防止策の検討 (第4報)

こうじの汚染調査

広島国税局鑑定官室

昭和 56 年 8 月 17 日受理

Studies on Wild Killer Yeasts and Their Prevention in Saké Breweries (Part 4)

Investigations on Yeast Contamination in Koji
(Office of Technical Officers, Hiroshima Regional Taxation Bureau)

緒 言

我々は先に清酒もろみの野生酵母及び野生キラー酵母による汚染の実態を調査し報告した¹⁾。それによると野生酵母によって汚染されているもろみが依然としてみられ、またキラー酵母によって汚染されている製造場も4場あった。

野生酵母による汚染の経路は種々考えられるが²⁾、一つはこうじからの持ち込みであり、こうじ中の野生酵母を計測することは庫内の汚染のメルクラールになると考えられる。

そこで本報では、こうじの汚染の実態を調査したので報告する。

実 験 方 法

1. 試 料

広島国税局管内の清酒製造場からランダムに選んだ132場(各1点)の留こうじ

2. 試料の採取時期

昭和 56 年 1 月～2 月

3. 細菌酸度

YAS 培地を常法³⁾どおり調製し、10 ml ずつ試験管に分注後殺菌したものに、こうじ5粒を入れ 25℃ で培養した。培養液 10 ml 当りの N/10 NaOH 滴定酸度で示した。

4. こうじ中の酵母の検出

集殖培養法⁴⁾によった。

ポーメ 10 度のこうじ汁 (pH 4.0) 15 ml を試験管に

とり殺菌後、こうじ 1 g を入ってから流動パラフィンを重ねし、25℃ で培養した。2・3・4 日後に濁り及び発泡の有無を観察し発酵性酵母の存在を確認した。

また発泡の認められたものについては、TTC 法により酵母の分別を行うと共に、前報の方法¹⁾でキラー酵母の存在を確認した。

5. こうじ中の発酵性酵母数の推定

発泡が認められるまでの日数からこうじ中の発酵性酵母数を推定するため検量線を作成した。

上記のこうじ汁に既知量の協会 7 号酵母を接種し、発泡が何日目認められるかを観察した。発泡は酵母数が約 $5 \times 10^7 / \text{ml}$ ($8 \times 10^8 / 15 \text{ ml}$) になった時認められたので

第1図 酵母数検量線
酵母は2日前培養した協会7号を使用

この酵母数を発泡までの日数0の時の酵母数と見なし、接種酵母数（対数）を発泡までの日数をプロットすると第1図に示すとおりほぼ直接関係が認められたので、この結果を用い酵母数の推定を行った。その結果

2日後に発泡…… 5×10^3 /g 麴 以上

3日後に発泡…… 10^1 /g 麴 以上

4日後に発泡…… 10^0 /g 麴 以上

と推定した。

ただしこうじ中の酵母は Lag time がかなり長いことも考えられるので、実際の数値より低く出ると思われる。

6. 酒母及びもろみの酵母純度

前報⁷⁾の方法で TTC 法及びキラー試験を行い酵母純度を調べた。

実験結果

1. 細菌酸度

第1表に示した如く、細菌細度 1 ml 以下のものが 89.8 % で大部分は問題なかったが、2 ml 以上のものが 2.3 % みられた。

2. 集殖培養

第2表に示した如く、集殖培養により発泡が認められないものが 39.4 % あったが、残りの 60.0 % には発酵

第1表 細菌酸度

酸度	0～	0.5～	1.0～	1.5～	2.0～	2.5～
場数	29	89	6	5	1	2
%	22.0	67.4	4.6	3.8	0.8	1.5

第2表 集殖培養

	2日後	3日後	4日後	発泡認められず
場数	9	50	21	52
%	6.8	37.9	15.9	39.4
推定酵母数 (麴 1g 当り)	5×10^3 以上	10^1 以上	10^0 以上	—

第3表 細菌酸度と酵母による発泡までの日数との関係

発泡が認められた日	2	3	4	認められず
細菌細度	n	9	50	21
酸度	σ	0.63	0.70	0.64
		0.14	0.53	0.29
			0.29	0.32

第4表 TTC 法による麴中の酵母の分別

Red %	0	～20	～40	～60	～80	～100
場数	11	2	7	7	13	23
%	13.8	2.5	8.8	8.8	16.3	28.5

第5表 キラー酵母が存在したこうじを使用した酒母・もろみの分析

酒母の種類	酒		もろみ	
	TTC Red	TTC Pink	TTC Red	TTC Pink*
A酒造場 速 醸	61%	39%	38%	62%
B酒造場 速 醸	—	—	56%	44%
C酒造場 高温糖化	99%	1%	97%	3%

* TTC ピンク酵母はいずれもキラー酵母である

性の酵母が存在していた。

また酵母数と細菌酸度との間に関係が見られないかと検討してみたが、第3表にみられるとおりで、t 検定によって関係は認められなかった。

3. 酵母の分別

集殖培養で発泡の認められた 80 点について TTC 法で酵母の分別を行った結果を第4表に示した。

TTC Red 酵母がかなりの比率でこうじ中で増殖していることがわかる。

またキラー試験を行ったところ、3点にキラー酵母の存在が確認された。

4. キラー酵母の存在したこうじを使用したもろみの分析

キラー酵母の存在が認められた3場については、酒母・もろみの酵母純度を追跡調査し、その結果を第5表に示した。

いずれも野生キラー酵母の存在が認められ、もろみの方が酒母に比べてキラー酵母の比率が高くなっている。C酒造場は高温糖化酒母であるためか汚染率は低い。このA酒造場とC酒造場は55年度のもろみの酵母純度調査においてもキラー酵母が検出された製造場である。

考 察

こうじの酵母による汚染については大内ら⁶⁾の報告がある。それによるとこうじ中には産膜系の酵母が主体で、発酵性の酵母は比較的少ないが、中には発酵性の酵母が多量に存在するものもあると述べている。

今回の調査でも検体 132 点中 39.4 % のものは発酵性の酵母が認められなかったが、残りの 60.06 % には発酵性の酵母が存在し、中でも9点には推定 5×10^3 /g こうじ以上とかなり多量の発酵性酵母が存在していたので、醸造工程への野生酵母の汚染源の一つになっているのではないかと懸念される。この酵母数は活性酵母の数として計数されているので、添加酵母が弱性化している場合には汚染源となることは十分に考えられる。

検出された酵母の中には TTC Red の酵母がかなりあるので、添加酵母がこうじの中に混入していることが推定され、野生酵母の数はさらに少ないと考えられる。しかし逆にこれは庫人の手あるいはその他を介して庫内の酵母がこうじに持ち込まれていることを物語るものであるので、庫内が汚染された場合には即こうじの汚染につながる恐れが十分にあり注意を要する。

また3場にはキラー酵母が検出された。大内ら⁶⁾、今村ら⁷⁾の調査によると野生酵母中にはかなりの比率でキラー酵母が存在しているといわれているので、こうじの野生酵母中にもかなりキラー酵母が存在しているのでは

ないかと予想したが、結果は以外に少なかった。しかし、キラー酵母の存在したこうじを使用したもろみにはいずれもキラー酵母が検出されているので、こうじがキラー酵母の一つの汚染源になっていると予想される。また庫内のキラー酵母による汚染のメルクマールにもなっていると考えられる。

しかし今回はこうじ中のキラー酵母数の定量を行っていないので、キラー酵母による汚染に対するこうじの寄与は明らかではなく、また他の汚染源もあると考えられる。この点を明らかにするために、例年キラー酵母によって汚染を受けているA酒造場についてより詳細な調査

を行った結果を次報で報告する。

最後に本研究に当り終始貴重な御助言をいただきました岡田前鑑定官室長に深謝いたします。

（文責 伊藤）

文 献

- 1) 中村・緒方・家藤・今村・荒巻・伊藤・池田・猿渡・岡田：醸協，76，411（1981）
- 2) 改訂清酒酵母の研究，p. 483（1980）清酒酵母研究会
- 3) 清酒製造技術，p. 118（1979）日本醸造協会。
- 4) 同上，p. 119
- 5) 大内，長井，菅間，野白：醸協，61，646（1966）
- 6) 大内，川島：醸協，69，629（1974）
- 7) 今村，川本，高岡：発工，52，293（1974）