

古糊生成過程における微生物調査

藤波朋子・高瀬亜津子*¹・飯野久和・大沢眞澄

A Study on related microorganisms in aging process of wheat starch paste Tomoko FUJINAMI, Atsuko TAKASE, Hisakazu IINO and Masumi OSAWA

The microflora in aging process of wheat starch paste into Furu-Nori under the definite storage condition was examined. Six paste samples, prepared every winter during six years from 1992 to 1997, and related materials that were water layers on each of the pastes and so on were used respectively in this study.

All samples were examined for pH and microflorae such as total bacteria, acid forming bacteria, fungi, and yeast, including starch utilizing microbes. The pH of samples showed about 3.0 in spite of their storage times. Eighty two strains from samples belonged to mostly mesophiles, but they were possible to grow at 10°C. All strains were grown up in soluble starch medium(SYP-ager) and also measured for enzyme productibilities; α -amylase, β -amylase, glucoamylase, and isoamylase, for proving evidence of some activities against to the aging process of starch paste. As a result, the activities of α -amylase were shown in all strains, but that of β -amylase and glucoamylase were not. The activities of isoamylase were recognized in some of filamentous yeasts. It was concerned that the molecular sizes of wheat starch became lower and to be fixed slowly by the enzyme production from some filamentous yeasts as isoamylase producer under the low temperature.

はじめに

“古糊”とは、しょうふ（生麩）糊とよばれる小麦デンプン糊（新糊）を容器に入れ、数～20有余年間冷暗所に貯蔵し粘着強度を低下させたものの呼称で、掛軸や巻物などの表具、およびそれらの修復の際に用いられる¹⁾。その物性の特徴には、軸物の表具に用いた場合、仕上がりがしなやかでカビが生えにくいこと等が挙げられ、表具には欠かせないものであり、特に文化財の保存修復の分野では欠かせないものとして現在でも使用されている。

古糊に関する研究は、古糊の特徴を初めて科学的観点から考察した大槻の先駆的な研究²⁾以来、山田ら³⁾、見城ら^{4),5),6)}、早川ら⁷⁾によって新糊と古糊のデンプン科学的研究が行われ、主にその物性の特徴が明らかにされてきた。し

かし、その物質的特徴発現については、物理化学的影響に起因するだけでなく、貯蔵過程における微生物作用等の生物科学的要因も重要であると類推されたにもかかわらず、未だこの観点からの研究へのアプローチは大槻^{8),9)}、滝沢ら¹⁰⁾以来殆どなされていないといっても過言ではない。

そこで本研究では、古糊生成過程における微生物作用を明らかにするための第一歩として、その生成過程に関与する微生物の挙動を明らかにし、貯蔵年数により微生物の挙動に変化があるのかを知ることを目的として、古糊生成過程に関与する微生物について調査を行った。

調査方法

1. 試料

*¹ 金沢文化財保存修理研究所

本研究では、平成9年1月10日に金沢文化財保存修理研究所が開催した寒糊炊きの際に調製された糊（平成9年糊）と、同所により平成4～8年の大寒の時期に調製され、それ以後貯蔵されてきた生成過程の糊（糊塊上部）および糊上に張ってある水（以下上層水とする）等、表1に示した14点を供試試料とした。糊試料のうち最も古いものは5年の貯蔵期間を経ている。製造者により3年間の貯蔵で古糊として扱われるものも存在するが、本研究で扱う糊試料は生成過程の糊と定義し、図1に示したような工程より調製されたものを用いた。

2. 古糊中および上層水中の微生物の生菌数とpH測定

試料のpHはpHメーター（堀場製作所製pHメーター F-12）にて測定した。また、微生物の分離は各試料を6段階まで希釈し、各段の希釈液を図2の方法で培地に混釈・培養し、一般細菌、カビ・酵母、生酸菌、嫌気性細菌、芽胞形成菌の生菌数（cfu/ml）を測定した。ここで出現した微生物を純粋分離・保存し、一部を以下の実験に供した。なお、分離培地は、一般細菌、嫌気性細菌、芽胞形成菌には標準寒天培地（栄研社製）を、カビ・酵母にはPDA寒天培地（栄研社製）を、生酸菌分離にはBCP寒天培地（栄研社製）を用いた。また、分離菌株の保存には、生酸菌にはGYC寒天培地を用い、その他に対しては分離に用いた培地を各々用い、4℃にて行った。使用培地の組成を以下に示した。

標準寒天培地		GYC寒天培地	
酵母エキス	2.5g	酵母エキス	10g
トリプトン	5g	ブドウ糖	30g
ブドウ糖	1g	炭酸カルシウム	20g
寒天	15g	寒天	20g
蒸留水	1000ml	蒸留水	1000ml

SYP寒天培地

可溶性デンプン	10g
酵母エキス	5g
ペプトン	3g
寒天	20g
蒸留水	1000ml

BCP寒天培地

酵母エキス	2.5g
ペプトン	5g
ブドウ糖	1g
ツイーン80	1g
L-システイン	0.1g
プロムクレゾールパーブル	0.04g
寒天	15g
蒸留水	1000ml

PDA寒天培地

パレイショ浸出液	200g
ブドウ糖	20g
寒天	15g
蒸留水	1000ml

※SYP液体培地組成は、上記SYP寒天培地組成から寒天を除いたものである。

3. 分離菌の生育温度に関する調査

古糊の原料となる糊は、1年で最も寒い大寒の時期に調製され、1年後の大寒に水の交換を行うために開封されるまで密封され、冷暗所に保管される。大槻は、貯蔵1年目の熟成において、微生物のうち冬期に多く現れるものがあり、“寒期には耐寒性の菌類が特に旺盛なる繁生をなすべし”⁹⁾と述べている。このことから、糊中には低温菌が多く存在し、1年という貯蔵期間中の初期段階では低温菌が主体的に関与すると推察される。試料より分離された菌株のうち細菌35株、カビ20株、酵母27株を供試菌株とし、10℃、20℃の2条件下で培養を行い、その比較を行った。すなわち、分離菌株をSYP液体培地に接種し前培養後、その培養液を同液体培地に各々1白金耳ずつ接種し、10℃と20℃の2条件下でそれぞれ3日間培養した。培養後、液体培地を各々よく懸濁し、細菌、酵母については660nmの濁度により生育度を計測した。なお、生育度の表示は0.10未満を±、0.10～0.25

を+、0.25~0.50を++、0.50以上を+++とした。また、カビに関しては、同様の各温度でSYP寒天培地上でのコロニー形成の観察により判断を行った。

4. 分離菌のデンプン利用性

微生物が糊中で生育するためには、炭素源としての糊化デンプンの利用が必要となる。すなわち、菌体外あるいは菌体内に酵素を生産して糊中の主成分であるデンプンを分解し、その分解物を炭素源として利用することが必要である。

そこで、糊中から分離された微生物のデンプン利用性についてSYP寒天培地での生育より判定後、デンプン分解性をヨウ素デンプン反応より調べた。すなわち、SYP寒天培地に接種し25℃にて1週間培養後、ヨウ素溶液を培地上に滴下し、ヨウ素デンプン反応の消失を検討した。また、デンプン利用性が認められた分離菌株をSYP液体培地に25℃で1週間培養し、その培養液の遠心分離後の上澄み液を粗酵素液とした。この粗酵素液について液化力 (α -アミラーゼ)、糖化力 (β -アミラーゼ)、グルコアミラーゼ力、イソアミラーゼ力をそれぞれヨウ素呈色法、Somogyi-Nelson法¹¹⁾、グルコースBテストワコー、ヨウ素呈色法¹²⁾にて検討した。測定の詳細を図3に示す。なお、液化力は、ヨウ素デンプン反応による呈色を5%減少させる酵素力を1単位、イソアミラーゼ力はヨウ素デンプン反応の呈色を5%増加させる酵素力を1単位とし、糖化力、グルコアミラーゼ力については1分間に1 μ molの還元糖を生成する酵素力を1単位とした。

結 果

試料とした糊容器中の菌膜の状態を写真1~5に示した。写真1に示した平成8年調製糊容

器のように菌膜の形成がないものがある一方、写真3、4に示した平成6年、平成5年調製糊容器のように全面に菌膜が形成されるものもある等、菌膜の状態の相異と貯蔵年数差との関連性は必ずしも認められなかった。一般に糊の状態評価は製造者により肉眼観察にて行われるが、良好な状態とされるものは通常水面に菌膜が張り、水と糊塊が分離したままの状態であることが条件として挙げられる。この意味から良好な状態と評価されるものは写真4に示した平成5年調製の糊であり、対照的に不良とされるものは写真5に示した平成4年調製糊であった。後者は糊塊と上層水の境界が判別できないほどクリーム状に混合し、糊塊も殆ど認められない状態で、糊としては使用できない典型的な例であった。

pHの測定結果と、生菌数の測定結果を表2に示した。古糊として使用される糊はpH3前後の酸性であることは大概²⁾、見城⁵⁾らの研究により既に知られているが、本調査においても糊および上層水は調製後1年(貯蔵1年目)の間にpH3前後まで低下しており、それ以降1年毎に新しい水への交換や貯蔵期間を重ねた試料も同様のpHであった。

生息微生物では、酵母が貯蔵期間が長くなるとともに若干の増加傾向を示したのに対し、一般細菌、生酸菌では経年による減少の傾向がみられた。芽胞形成菌は、各試料での経年による変遷は認められなかったことから、試料中では芽胞として存在するだけで、増殖を伴う生育はしていないものと考えた。また、熟成の良好でなかった平成4年糊試料では一般細菌数が供試試料中最も多く検出され、生酸菌数も他試料で見られる減少傾向に反し、多く検出された。

分離された細菌・酵母・カビの10、20℃での生育状態の比較を表3に示した。その結果、分離菌株の生育は殆どの菌株が20℃での生育

が良好である中温菌であった。

菌膜を形成するカビの分離結果と容器中の菌

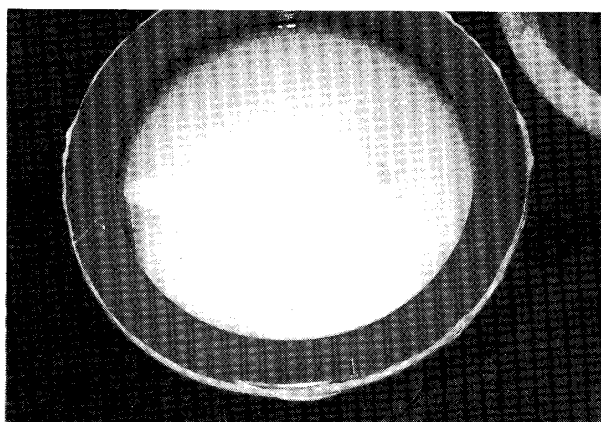


写真1 平成8年調製糊の熟成状態 (貯蔵年数 1年)

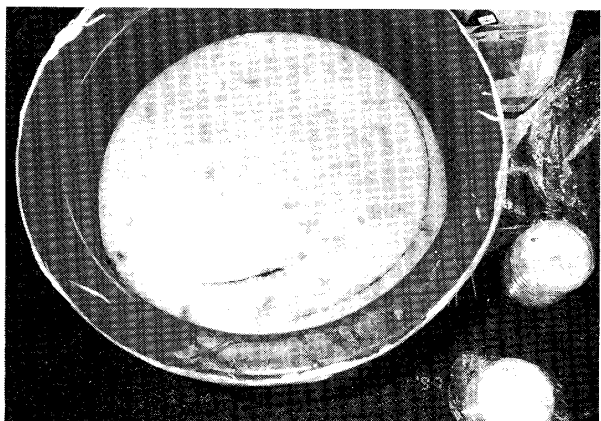


写真2 平成7年調製糊の熟成状態 (貯蔵年数 2年)

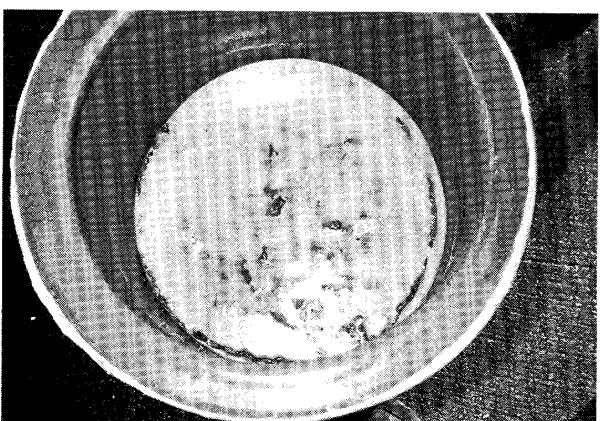


写真3 平成6年調製糊の熟成状態 (貯蔵年数 3年)

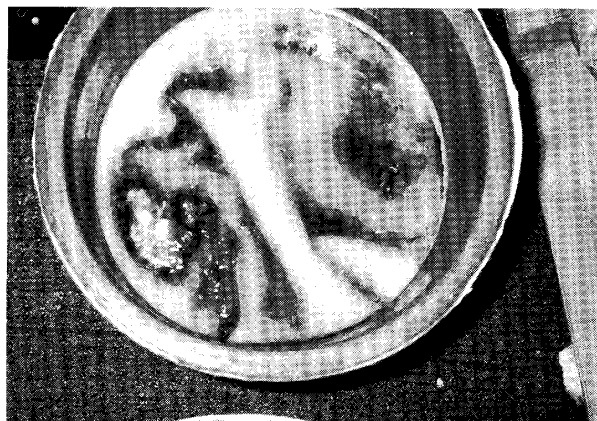


写真4 平成5年調製糊の熟成状態 (貯蔵年数 4年)

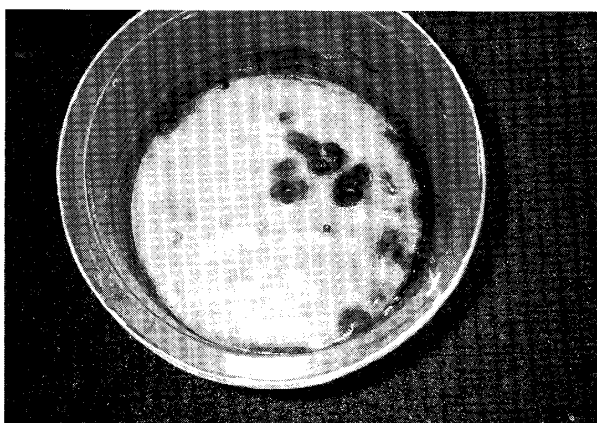


写真5 平成4年調製糊の熟成状態 (貯蔵年数 5年)

膜形成の状態を表4に示した。滝沢ら¹⁰⁾は、古糊熟成中にみられるカビから *Penicillium* 属や *Aspergillus* 属等を分離したことを報告しているが、本調査では *Cladosporium* 属、*Penicillium* 属が多数分離されたことから、これらの分離菌は菌膜形成に主体的に関与しているものと推察された。

デンプン利用性についての調査結果では、供試した分離微生物の細菌35株、カビ20株、酵母27株は、3株を除きすべてSYP寒天培地に生育し、デンプン利用性が認められた。これらの菌株のデンプン分解酵素の菌体外生産性を表5に示した。殆どの菌株に、強力ではないものの α -アミラーゼ活性が認められた。一方、デン

ブンを単糖あるいは二糖まで高率で分解するグルコアミラーゼ、 β -アミラーゼ力はないか、あるいは微弱であった。また、イソアミラーゼ活性は強力ではないものの分離酵母に比較的多く認められた。

考 察

古糊の原料となる糊の調製、菌膜の除去、上層水の交換が行われる時期は1年間のうちで最も気温が低く、環境中の微生物が1年間のうちで最も少なくなる時期であり、糊中および糊容器中への微生物の混入を最小限に抑えるという意味で、微生物の影響を受けにくい環境を経験的に選択し、行われてきている。一方、混入する微生物には調査結果からも推察される通り、生育下限の低いものが多くなり、冬季中の低温環境下において微生物の糊への関与は緩やかに進行すると考えられる。通性好冷菌とみられる微生物の多少が糊の熟成に及ぼす影響は、今回の調査結果からは明らかな相違は発見できなかったが、これらの微生物の糊への穏やかな関与の熟成への影響の有無を確認することも今後の検討課題の一つである。

また、各試料は1年間の貯蔵期間を経た時点でpH 3前後まで低下していたが、pH低下に関与する微生物としては乳酸菌や酢酸菌等の生酸菌が知られている。試料から分離された生酸菌のうち、試料調製後1年を経過した試料からはグラム陽性菌（乳酸菌）が多く分離された。グラム陽性菌としては乳酸菌が挙げられ、グラム陰性の生酸菌としては酢酸菌、大腸菌等が挙げられる。これらの生酸菌の代謝産物である有機酸は、微生物の生育をコントロールする静菌効果を有し、その静菌効果は乳酸、酢酸、プロピオン酸の順に大きいことが知られている。一般的にはこのようなpH低下には乳酸菌の関与が考えられるが、水分蒸発を無視した場合、乳酸

菌の生育のみによるpH 3までの低下は不可能であることを考えあわせると、酢酸菌等、他の生酸菌の関与も否定できなかった。古糊生成に関する微生物の主な働きとしては、pH低下とデンプンの低分子化が考えられるが、前述のようにpH低下には生酸菌によることが明らかになったものの、その微生物相の挙動については、仕込み後から短期間で形成されると考えられるため、経年ではなく年間を通じての調査が必要と考えた。

古糊の貯蔵過程では菌膜形成から糊としての評価がなされる場合が多々ある。密閉容器中で菌膜が形成された場合、気相内の酸素は菌膜構成菌により消費されるとともに、菌膜下環境は嫌氣的に保たれることとなる。これにより菌膜下では乳酸発酵効率が上昇することから、乳酸菌等の生酸菌の生育を助長する面も考えられる。また、カビにより形成された菌蓋（菌膜）は、下層の水分を蒸発させる機能をもつことから膜下の環境は更に酸性へと移行することが考えられる。従って、古糊製造ではその初年次からの菌膜の形成が糊熟成の環境を調製することに対して重要な因子となる可能性があり、菌膜形成に関与する微生物は、以降年次の糊の質形成に重要な微生物群として無視できないものと考えた。

古糊の熟成では新糊に比較し、粘度の低下がよく知られ、これについて中野ら¹⁰⁾は物理化学的側面より主に貯蔵期間を想定した加速試験から、温度変化の繰り返しによりデンプンの低分子化が促進されると報告している。本調査では、古糊熟成に微生物がどのように関与するかを明確にすることを主目的としてデンプン分子への影響から検討した。一般に α -アミラーゼはデンプンをランダムに切断し、グルコースとデキストリンを生成することから、糊化デンプンの低分子化は速やかに行われ、液状化とともに

に良好な微生物生育環境を形成することから、雑菌の生育および褐変等の肉眼的劣化が懸念されることとなる。一方、イソアミラーゼはデンプン分子の1-6結合を切断し、 α -アミラーゼとは別の形でデンプンの低分子化に関与し糊の粘度低下を促進することが考えられる。しかし、分離微生物の菌体外への酵素生産性は弱かったことから、その多くは菌体内酵素により分解物を得て生育すると考えられ、生成された単糖や還元糖は微生物自身の生育に使用するため、古糊中に残存する微生物の利用可能な炭素源は少なくなっていることが推察された。しかしながら、微生物の生育度合は貯蔵環境が低温のため非常に低く、それにともない酵素生産性および酵素活性も抑制されることが予想される他、酸性環境下においては酵素のタンパク質の変成が考えられることから、酵素によるデンプン分解は主にpH低下以前になされることが示唆された。

これらの酵素作用や菌膜形成による環境制御が糊の熟成にどのような影響を及ぼすかを、肉眼による糊の状態評価が対照的である平成5年糊試料と平成4年糊試料について比較すると、前者のように菌膜形成がなされた熟成では菌膜下の環境がpHが酸性域となるのに適しており、生成された有機酸による生菌作用により微生物制御がなされ、安定な熟成が進行すると考えられた。一方、後者のような菌膜形成がなされない場合は、好氣的環境において一旦はpHが低下してもアミノ酸等の代謝産物の緩衝作用によりpHの上昇が生じ、熟成に不要あるいは悪影響を及ぼす細菌が増殖する。また、生産されたアミノ酸とデンプン分解物としての糖類との褐変反応が生じる等の影響があると考えられた。

以上のことから、古糊生成過程における微生物の主要な役割は、デンプン分子の低分子化と

いうより、第一義的には微生物生育に伴うpH低下で生じる静菌作用による、糊に関与することのできる微生物種を選択及び微生物量の制限等の糊熟成のコントロールにあると推察された。また、デンプンの低分子化には微生物酵素によることが示唆されるものの、その反応性は貯蔵環境下の温度およびpHから非常に低いことが予想された。

要 約

本調査では、古糊の生成過程の微生物の関与を把握するために、金沢文化財保存修理研究所の調製した新糊と、貯蔵過程の古糊及び上層水を試料として、各々の微生物相を調べた。その結果、生成過程にある糊および糊上の水のpHは大寒の水交換時には貯蔵年数の多少にかかわらず3.0前後まで低下していることが確認され、貯蔵1年目より微生物によって生成された有機酸等により静菌作用が働いていることが推察された。しかし、その作用は1年よりも短い期間で既に発現していると予想されたため、その時期の確定および関与する微生物の確認には、年間を通しての微生物の挙動およびそれに伴う貯蔵環境の変化について、より詳細に調査することが必要であると考えられた。

また、比較的低温下でも生育が認められる微生物が多く分離されたことから、冷暗所に貯蔵中も微生物による緩やかな関与を受けている状態であることがわかった。このことから、微生物の関与速度をより詳細に検討することにより、糊の熟成との関係をより明確にすることができると考えた。

さらに、分離菌の菌体外への酵素生産性は弱かったことから、低温度環境下における微生物によるデンプンの低分子化は、非常に緩やかに行われることが示唆された。

これらのことから、古糊生成過程における微

生物の主要な役割は、微生物生育に伴うpH低下で生じる静菌作用や菌膜形成による菌膜下環境の制御による、糊に関与することのできる微生物種を選択及び微生物量の制限等の、糊熟成のコントロールにあると推察した。

研究試料について、色々ご指導いただいた、金沢文化財保存修理研究所所長 川口法男氏をはじめ、馬場秀雄氏、荒木史氏に感謝いたします。

なお、本研究の一部は日本文化財科学会第15回大会（講演要旨集 P61, 190-191 (1998年))、文化財保存修復学会第20回大会（講演要旨集 P40, 116-117 (1998年)) にて発表した。

文 献

- 1) 例えば 神奈川大学日本常民文化研究所監修, 中藤靖之著:『古文書の補修と取扱い』, 雄山閣, p.52-53(1998)
- 2) 大槻虎男:糊の生化学的研究 I 古糊とその材料に就て, 植物及動物, 2, 1818-1824 (1934)
- 3) 山田哲也・中野勲・寺西克倫・久松眞:古糊の研究, 応用糖質科学 43(2), 137-142(1996)
- 4) 見城敏子:古糊の特徴, 文化財の虫菌害 No.31, 14-17(1996)
- 5) 見城敏子:古糊の研究(2), 文化財の虫菌害 No.35, 18-21(1998)
- 6) 見城敏子・新井英夫:古糊の研究, 文化財の虫菌害 No.32, 6-9(1996)
- 7) 早川典子・川野辺渉・株式会社岡墨光堂:古糊の物性と化学組成に関する基礎的研究, 文化財保存修復学会第22回大会講演要旨集, 108-109(2000)
- 8) 大槻虎男:糊の生化学的研究 II 古糊熟成第一年の経過に就て, 植物及動物, 3, 1426-1432(1935)
- 9) 大槻虎男:糊の生化学的研究 II 古糊熟成第一年の経過に就て (承前), 植物及動物, 3, 1599-1605(1935)
- 10) 滝沢孝一・山田豊一:古糊の研究, 中央大学理工学部紀要 29, 317-333(1986)
- 11) 福井作蔵:『還元糖の定量法』, 学会出版センター, p.10-11(1982)
- 12) 小崎道雄監修:『酵素利用ハンドブック』, 地人書館, p.80(1980)
- 13) 滝沢孝一・鈴木隆元・福田憲六:古糊の坑カビ性について, 日本農芸化学会誌, (7), 551-553(1980)
- 14) 中野勲・久松眞・寺西克倫・山田哲也:古糊の研究 (第二報), 応用糖質科学 41(3), 382(1994)

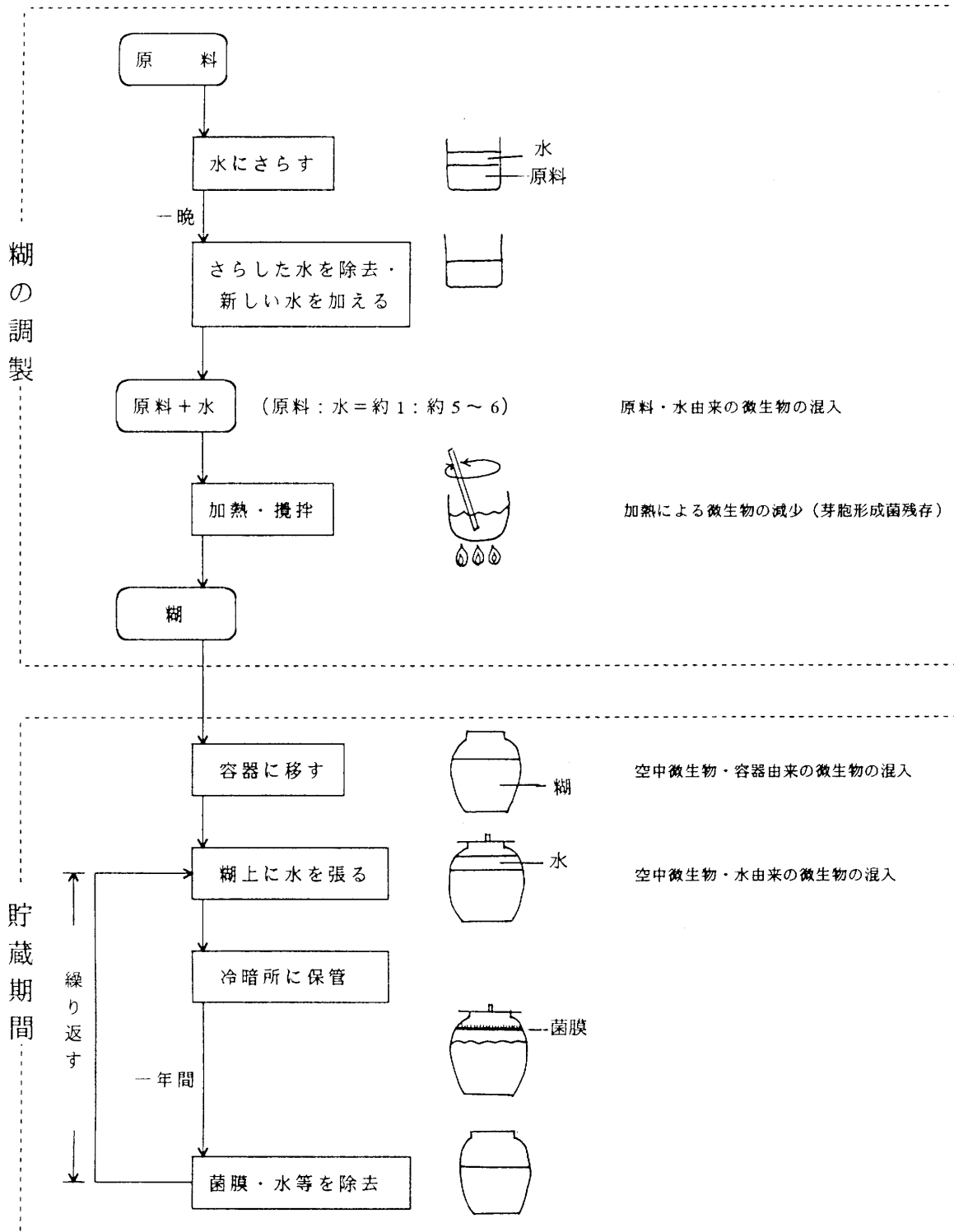


図 1 古糊の生成過程

古糊生成過程における微生物調査

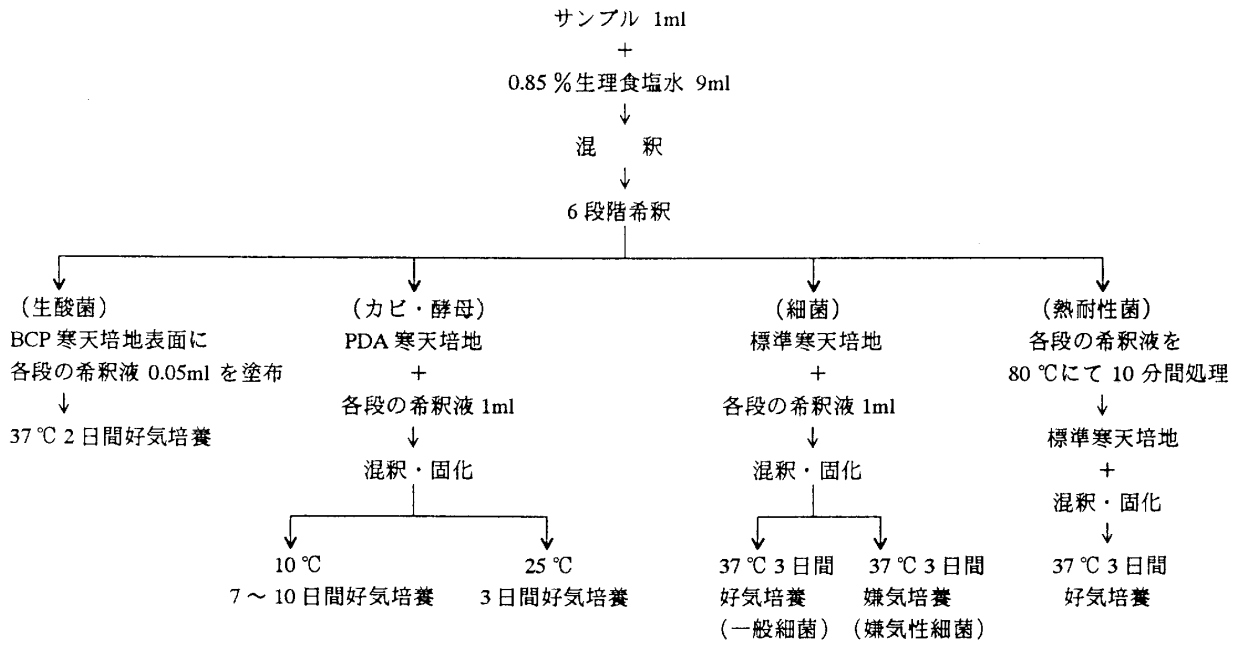


図 2 試料中の微生物の分離方法

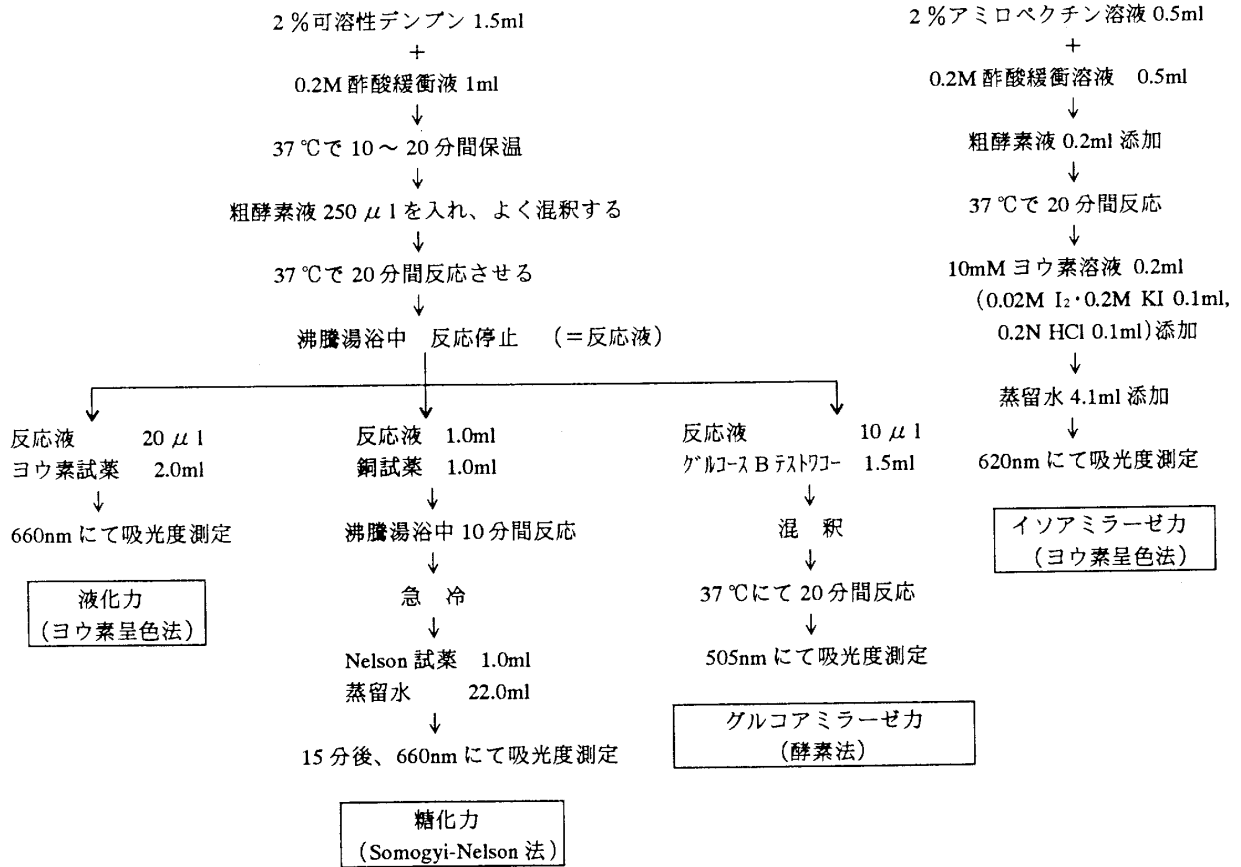


図 3 酵素活性測定方法

表 1 試料一覧

採取試料	摘 要	
平成9年調製糊	新糊 (貯蔵期間を経ていない、調製直後の糊)	
平成8年調製糊	熟成経過 やや良 菌膜形成なし	写真1
平成8年上層水	糊塊と上層水は分離している	
平成7年調製糊	熟成経過 良好 菌膜形成あり	写真2
平成7年上層水	糊塊と上層水は分離している	
平成6年調製糊	熟成経過 良好 菌膜形成あり 糊塊と上層水は分離している	写真3
平成6年上層水	糊塊と上層水は分離している やや着色あり	
平成5年調製糊	熟成経過 試料中最良 菌膜形成あり 糊塊と上層水は分離している	写真4
平成5年上層水	糊塊と上層水は分離している	
平成4年調製糊	熟成経過 不良 菌膜形成なし 糊塊なし (糊と上層水が同化しクリーム状となっている)	写真5
平成4年上層水	糊とほぼ同じ状態	
水①	調製前に原料をさらした後の水	
水②	金城霊沢 糊調製及び張り水用	
水③	清酒用水 糊調製及び張り水用	

表 2 供試試料の生菌数(cfu/ml)とpH

試料	pH	カビ		酵母		一般細菌	嫌気性細菌	生酸菌	芽胞形成菌
		10°C	25°C	10°C	25°C				
平成9年調製糊	6.84	5.0×10^3	4.0×10^2	—	3.0×10^3	4.0×10^6	1.0×10^4	3.0×10^6	—
平成8年調製糊	2.99	0	1.0×10^2	6.0×10^2	9.0×10^2	5.0×10^4	9.0×10^5	2.0×10^5	0
平成8年上層水	2.89	7.0×10^4	1.0×10^3	2.0×10^5	7.0×10^4	2.7×10^6	2.7×10^6	6.0×10^5	5.0×10
平成7年調製糊	2.69	3.0×10^2	6.0×10^3	1.2×10^3	1.0×10^3	1.9×10^6	4.0×10^6	4.7×10^4	1.0×10
平成7年上層水	2.79	1.0×10^3	1.0×10^6	2.0×10^3	1.0×10^3	3.0×10^5	—	3.0×10^3	2.0×10^2
平成6年調製糊	2.92	3.0×10^2	1.0×10^3	1.0×10^4	3.0×10^2	1.0×10^2	3.0×10^3	0	0
平成6年上層水	2.95	3.0×10^4	3.0×10^5	3.0×10^5	3.0×10^4	2.2×10^5	2.0×10^5	0	3.0×10
平成5年調製糊	3.06	1.0×10^4	2.0×10^2	4.0×10^4	1.0×10^4	9.5×10^3	4.1×10^4	0	2.0×10^2
平成5年上層水	2.86	1.0×10^4	6.0×10^3	6.0×10^5	1.0×10^4	1.2×10^6	—	0	2.0×10
平成4年調製糊	2.84	0	2.0×10^3	0	0	7.0×10^6	4.0×10^6	5.3×10^4	1.0×10^2
平成4年上層水	2.86	6.9×10^4	3.0×10^2	5.4×10^4	6.9×10^4	3.0×10^4	5.2×10^5	0	2.0×10^2
水①	6.86	—	—	—	—	—	—	—	—
水②	7.28	—	—	—	—	—	—	—	—
水③	7.49	—	—	—	—	—	—	—	—

— : 未検討

古糊生成過程における微生物調査

表 3 各温度における分離菌の生育

菌株No.	10℃	20℃	形態・性状等	分離源	菌株No.	10℃	20℃	形態・性状等	分離源
細菌					酵母				
B1,B19	+	+++	グラム陰性桿菌	平成9年調製糊	YH30	±	±	卵形酵母(多極性出芽)	平成7年上層水
B3,B5,B6	+	+	グラム陽性桿菌	平成9年調製糊	YH42	+	++	卵形酵母(多極性出芽)	平成7年上層水
B8	-	+	グラム陰性桿菌	平成9年調製糊	YH74,	±	±	卵形酵母(多極性出芽)	平成6年調製糊
B9	++	+++	グラム陰性桿菌	平成9年調製糊	YH97,YH103				
B11	±	+++	グラム陰性桿菌	平成9年調製糊	YH100	±	+	菌糸状酵母(膜形成あり)	平成6年調製糊
B15	±	+	グラム陰性桿菌	平成9年調製糊	YH106	±	++	卵~楕円形酵母(多極性出芽・膜・菌糸形成あり)	平成6年調製糊
B16	+	++	グラム陽性桿菌	平成9年調製糊	YH120	±	±	卵~楕円形酵母(疑菌糸形成あり)	平成5年調製糊
B28	-	+	グラム陽性桿菌・生酸性あり	平成8年調製糊	YP48	±	±	菌糸状酵母	平成5年調製糊
B31	+	+	グラム陰性桿菌	平成8年上層水	YP54	±	+	卵~楕円形酵母(疑菌糸形成あり)	平成5年上層水
B41	±	++	グラム陰性桿菌	平成8年上層水	YH139	±	++	卵形酵母(多極性出芽)	平成4年上層水
B45,B46, B48,B59	±	+	グラム陽性桿菌・生酸性あり	平成7年調製糊	YH140	-	+	楕円形酵母(疑菌糸形成あり)	平成4年上層水
B60,B63	±	++	グラム陽性桿菌・生酸性あり	平成7年上層水	YP58	±	++	球形酵母(多極性出芽)	平成4年上層水
B66	±	±	グラム陽性桿菌	平成6年調製糊	カビ				
B67	-	±	グラム陰性桿菌	平成6年調製糊	F3	+	+++	Penicillium属	平成9年調製糊
B89, B92,B98	±	±	グラム陰性桿菌	平成5年調製糊	F4	±	++	Penicillium属	平成9年調製糊
B90	-	±	グラム陰性桿菌	平成5年調製糊	F11,F12	±	++	未同定カビ	平成8年調製糊
B95	±	+++	グラム不定桿菌	平成5年調製糊	F18	++	+++	Penicillium属	平成7年調製糊
B96	±	±	グラム陽性球菌	平成5年調製糊	F19	±	++	未同定カビ	平成7年調製糊
B104	±	++	グラム陰性桿菌	平成5年調製糊	F24	±	++	Cladosporium属	平成6年調製糊
B119	+	++	グラム陽性桿菌	平成5年調製糊	F25	±	+++	Penicillium属	平成6年調製糊
B122	±	+	グラム陰性桿菌	平成5年調製糊	F27	±	++	Cladosporium属	平成6年調製糊
B132	±	+++	グラム陰性桿菌・生酸性あり	平成4年調製糊	F28	±	++	Penicillium属	平成6年調製糊
B141,B148	±	+	グラム陰性桿菌	平成4年調製糊	F30,F36,F40	++	+++	Penicillium属	平成6年上層水
B144	±	±	グラム陽性桿菌	平成4年調製糊	F39	±	++	Penicillium属	平成6年上層水
酵母					F44	+	++	未同定カビ	平成5年調製糊
YP1	+	+	球形酵母(多極性出芽)	平成9年調製糊	F46,F47	±	+	Cladosporium属	平成5年調製糊
YP2	++	+++	卵形酵母(多極性出芽)	平成9年調製糊	F51	±	+	Cladosporium属	平成5年上層水
YH21	±	+	菌糸状酵母	平成8年調製糊	F55	+	++	未同定カビ	平成5年上層水
YH22	±	++	卵形酵母(多極性出芽)	平成8年調製糊	F57	±	++	未同定カビ	平成4年上層水
YP6	±	±	球形酵母(多極性出芽)	平成8年調製糊					
YP7	±	++	卵形酵母(多極性出芽)	平成8年調製糊					
YP8	±	++	卵~楕円形酵母(疑菌糸形成)	平成8年調製糊					
YP43	±	±	菌糸状酵母	平成8年調製糊					

細菌・酵母(吸光度) - : 生育なし ± : 0.10未満 + : 0.10~0.25 ++ : 0.25~0.50 +++ : 0.50以上
 カビ(ジヤイアントコロニーの肉眼観察) - : 生育なし ± : 直径1.0cm未満 ++ : 1.0~2.0cm +++ : 2.0cm以上

表 4 各容器中の菌膜の形状及び分離されたカビ

調製年	菌膜の形成	菌膜・上層水の色調・形状等	菌株No.	菌株の形態・性状等	分離源
平成8年	なし	糊と上層水は分離している	F11 F12	未同定 未同定	平成8年調製糊 平成8年調製糊
平成7年	あり	膜はやや厚い 表面・裏面 クリーム色、縁は黒色 糊と上層水は分離している	F17,23 F18 F19	未同定 Penicillium属 未同定	平成7年調製糊、上層水 平成7年調製糊 平成7年上層水
平成6年	あり	膜は薄いが固い 表面 黒色 裏面 赤・クリーム色 糊と上層水は分離している	F24,27 F25 F28 F30,37 F39,40	Cladosporium属 Penicillium属 Penicillium属 Penicillium属 Penicillium属	平成6年調製糊 平成6年調製糊 平成6年調製糊 平成6年上層水 平成6年上層水
平成5年	あり	膜は薄いが固い 表面・裏面とも黒色 糊と上層水は分離している	F44 F46,47 F51 F55	未同定 Cladosporium属 Cladosporium属 未同定	平成5年調製糊 平成5年調製糊 平成5年上層水 平成5年上層水
平成4年	なし	糊塊と上層水とが混合し、 クリーム状に同化している	F56 F57	未同定 未同定	平成4年調製糊 平成4年上層水

表 5 分離微生物の菌体外アミラーゼ活性とデンプン利用性

分離源	菌株No.	液化力 (unit)	グルコアミラーゼ 力 (unit)	糖化力 (unit)	イブミラーゼ 力 (unit)	α-アミラーゼ 生産性	分離源	菌株No.	液化力 (unit)	グルコアミラーゼ 力 (unit)	糖化力 (unit)	イブミラーゼ 力 (unit)	α-アミラーゼ 生産性		
平成9年調製糊	B1	0.43	-	0.01	-	-	平成6年調製糊	B66	1.33	-	-	-	-		
	B3	0.90	-	-	-	+		B67	0.35	-	-	-	-	+	
	B6	0.70	-	-	-	+		YH74	-	-	-	0.89	-	-	
	B8	0.59	-	0.02	-	+		F24	0.94	-	-	-	2.90	-	
	B15	1.13	-	-	-	+		F28	0.14	-	-	-	-	-	
	B16	0.49	-	-	-	+		平成5年調製糊	B95	1.85	-	-	-	-	+
	YP1	0.66	-	-	0.46	-			B104	0.43	-	-	-	-	-
	YP2	1.01	-	0.02	-	+			YH97	0.10	-	-	-	-	-
	F3	1.26	-	-	-	+			YH99	0.49	-	-	-	-	-
	F4	0.80	-	0.01	-	+			YH100	0.87	-	-	-	-	-
平成8年調製糊	B28	0.70	-	0.02	-	+	YH103		1.08	-	-	-	1.33	-	
	YP8	0.49	-	-	-	-	YH106		0.07	-	-	-	0.44	-	
	YH21	0.10	-	-	-	-	YH108		0.59	-	-	-	0.36	-	
	F11	0.80	-	0.01	0.42	-	YP43		0.27	-	-	-	-	-	
	F12	1.19	-	-	-	-	F51		0.28	-	-	-	-	-	
	平成7年調製糊	B45	0.45	-	-	-	+	F55	1.26	-	-	-	-	-	
B48		0.18	-	-	-	+	平成4年調製糊	B132	0.38	-	0.02	-	+		
YH53		0.69	-	-	1.44	-		B141	0.20	-	-	-	-	-	
F18		1.08	-	-	-	-		B144	0.70	-	-	-	-	-	
F19		0.59	-	-	-	-		B148	0.78	-	-	-	-	-	
								YH139	0.73	-	-	-	-	-	
								YH140	0.90	-	-	-	0.62	-	
						YH146		-	-	-	-	0.36	-		
						F57	1.36	-	-	-	-	-			