

生醗系酒母の菌叢の多様性と制御の可能性

醸造微生物研究部門 高橋 正之

1. はじめに

酒母の目的は、乳酸を多量に含み、雑菌汚染のない清酒醸造に適した酵母を純粋培養することにあります。近年のような微生物培養技術のなかった時代には自然に増加する乳酸（すなわち自然環境に存在する乳酸菌）を利用して、それを達成していました。清酒や酒母における乳酸菌研究の歴史は古く、1913年には酒母等から単離された乳酸菌について糖発酵性や耐熱性、生育温度や清酒中での生育に関する詳細な研究が行われています¹⁾。また、1934年には生醗の膨れ時期から乳酸球菌及び乳酸桿菌が単離され、それぞれ *Leuconostoc mesenteroides*、*Latilactobacillus sakei*（旧名：*Lactobacillus sakei*）と命名されました²⁾。その後、乳酸球菌と乳酸桿菌が生醗や山麩など生醗系酒母製造でのキープレイヤーであると考えられるようになり、1935年には初期に乳酸球菌が生育し、その後菌叢の変遷が起こり乳酸桿菌が優占種となって生育するというモデルが提案されております³⁾。菌叢変遷モデルはこの時点でほとんど完成しており、近年のような分子生物学的ツールがなかった時代にこのような精緻なモデルを推定できたことは驚くべきことと言えます。

さて近年、伝統的な方法への原点回帰、嗜好の多様化に伴う特長的な酒質、乳酸菌を活用した製法というストーリー性など高付加価値化の観点から、生醗や山麩等の生醗系酒母が見直されてきています。一方で生醗系酒母の工程管理は難しく、また、醸造器具や製造環境が、生醗系酒母が広く用いられていた時代とは大きく異なっています。そのため、たとえ教本通りに行っても異なる経過となったり、場合によっては十分な酸度が得られないことがあります。また、環境の変化も影響してか、従来のモデル通りではない菌叢推移が複数報告されており、生醗系酒母を安定的に醸造するためには、改めて近年の菌叢構造（どのような菌がどの程度いるか）や菌叢変遷（経時的な菌の趨勢）を把握しておく必要があります。さらに、従来の研究のほとんどは細菌を寒天培地などの上に生育させて解析する培養法で行われており、温度などの環境条件や栄養条件で生育速度が大きく異なる細菌を同時に培養する場合、手法によるバイアスがかかる可能性がありました。現在、菌叢構造の解析ツールとして遺伝子をターゲットとした手法が広く用いられるようになってきました。本研究では、複数の清酒メーカーにご協力いただき、そのような培養のバイアスのないツールを用いて、近年の生醗造りにおける乳酸菌叢の変遷を明らかにし、今後どのように乳酸菌を管理していけるのか考察しました。

2. 生醗系酒母製造で見られる乳酸菌とその特徴

前述のとおり、生醗系酒母製造工程中で見られる乳酸菌は大きく分けて2グループ存在し、製造工程前半に乳酸球菌（*Leuconostoc* 属細菌）、後半に乳酸桿菌（*Latilactobacillus* 属細菌）であるとされています。最も多数を占める菌が経時的に乳酸球菌から乳酸桿菌へと遷移が起こるメカニズムについては現在のところ断片的にしか解明されていませんが、乳酸球菌と乳酸桿菌の栄養要求性や低温での生育能、亜硝酸の生成の有無、乳酸菌の亜硝酸や乳酸への感受性、経過が進むことで増加するペプチドの生育促進作用などの要因が絡み合った結果だと推定されています。今回、培養を介さない網羅的菌叢解析法により解析を行った結果、従来モデルに従う変遷が見られたメーカーもありましたが、それだけでなく、期間を通じて乳酸球菌が主体だったメーカーや反対に乳酸桿菌が主体だったメーカー

など様々なパターンが見られました。検出された乳酸菌種もこれまでに報告のあるものだけでなく、多様な種が検出されたことから、実際には製造場に存在する乳酸菌の種類は多様であり、酒母における乳酸菌叢の移り変わりも多様であることが示唆されました。

酒母の酸性化には乳酸菌による乳酸の生産が必要ですが、その生酸性は乳酸菌種ごとに異なることが知られており、一般に乳酸球菌よりも乳酸桿菌の方が、生酸性が高いとされています。しかし、実際の酒母試料中でどの乳酸菌がどの程度乳酸を生成しているか検討を行った報告はありませんでした。そこで、酒母において各乳酸菌がどの程度乳酸を生産していたかを推定した結果、乳酸桿菌 (*Lactobacillus* 属) の乳酸生成能が高いことが明らかとなり、すなわち、酒母における乳酸蓄積には乳酸桿菌の生育が大きく寄与していることが実製造環境中でも裏付けられました。

3. 乳酸菌の生育の制御と生醗系酒母製造の安定化

乳酸の生成（酸度の上昇）を速やかに再現性良く促し、安定的に酒母を造るためには、まずは乳酸桿菌の生育を管理・制御することが一つの重要な選択肢となります。そこで、生醗系酒母中に存在する乳酸桿菌の生育特性を詳細に解析し、酒母中の品温経過に基づいてどの程度生育するか予測できるようモデルの作成を試みました。得られたモデルは乳酸桿菌が主体となるケースにおいて、精度良くその生育・乳酸蓄積量・pH変動・酸度を予測することができ、このことは、実製造において、①予定の品温経過では何日目くらいに酸度がどの程度になるかの目安を予め知ることができる、或いは、②酸度の経過の目標値に合わせるように品温経過を設定する、といった活用に繋げることができると考えられます。その一方、今回作成したモデルで説明できない酒母経過もあり、これは乳酸球菌の存在や乳酸桿菌の株の違いによるものであると考えられ、今後、より多くの乳酸球菌、乳酸桿菌の生育特性を解析していくことで改善できるものと思われれます。

4. まとめ

生醗系酒母製造においてはメーカー毎に菌叢変遷が異なる可能性があり、製造場の菌叢に合わせた工程管理が望ましいことが示唆されました。メーカー毎に存在している乳酸菌は当然異なるものと考えられ、また、そのことは本研究の菌叢解析でも一部裏付けられています。そして、メーカー毎に存在する乳酸菌が異なることは画一的な発酵管理方法で目的とする経過を達成することを難しくしています。今回作成された生育予測モデルでは、初期に存在する乳酸菌の量や種類が分かれば、その生育を予測して工程管理に活かすことができる可能性が示されました。今後さらに乳酸菌毎の詳細な解析が進めば、モデルの高精度化が期待でき、メーカー毎にオーダーメイドな発酵管理が提案できるようになります。また、過去に単離された生醗系酒母由来の乳酸菌株は微生物資源として保存されていることから、それらの解析により過去の生醗系酒母製造の工程管理や醸造環境を推定することができるかもしれません。今後はそういった活用をしていくためのデータの蓄積を進めていく予定です。

5. 参考文献

- 1) 善田ら：乳酸菌に関する調査，醸造試験所報告，50，153-216（1913）。
- 2) 片桐，北原：酒母より分離せる乳酸菌の研究（第1～4報），農芸化学会誌，10(9)，942-969（1934）。
- 3) 齋藤：酒母中の細菌に関する研究（第1報）。醸造学雑誌，13(6)，503-522（1935）。