



米麴からの低温発酵性 *Leuconostoc citreum* の 分離と諸性質

(生物工学会誌, 第 82 巻, 第 5 号, 183-190, 2004)

黒瀬 直孝*・浅野 忠男・川北 貞夫・垂水 彰二

清酒醸造に關与する有用乳酸菌として、古くから製造されている生もと系酒母の中で自然発生する球菌の *Leuconostoc mesenteroides* や桿菌の *Lactobacillus sakei* が知られている。生もと系酒母は、醪に乳酸を添加せず、自然発生する乳酸菌によって生成される乳酸で雑菌の抑制を行い、酵母の純粋培養を導くものである。生もと系酒母は低温で製造され、その中の乳酸菌の挙動については多くの研究が成されている。定説として低温環境下での生育が速い *L. mesenteroides* が先に生育し、少し遅れて *L. sakei* が生育するといわれている^{2,3)}。生もと系酒母で生育することができる乳酸菌は、これらの2種のみとされており、これは4°Cという低温においても生育可能であるという特徴を有しているためであると考えられている。このような生もと系乳酸菌は、生もとや山廃もとから分離されているが、百瀬ら⁴⁾は最近の生もと系酒母からは *L. sakei* が検出されない場合もしばしばあることを報告している。一方、生もと系酒母にこれら2種以外の乳酸菌が存在することも示唆されているが、生もと系乳酸菌に匹敵するような低温発酵性の乳酸菌の分離については報告がなかった。

筆者らは、清酒工場で製造した米麴8点に蒸留水を加えて15°Cで1週間培養し、酸度の上昇した培養液から乳酸菌を分離した。酸度が上昇しないものからは、乳酸菌を分離することは困難であった。炭酸カルシウムを含む寒天培地上でコロニーの周囲にクリアゾーンを形成する乳酸菌が多数得られ、その中から生もと系乳酸菌と同等以上の低温発酵性を有する乳酸菌を3株分離した。そのうちの1株(NL7-3)は顕微鏡下においては短桿菌のように見えたが、遺伝子的な同定を行った結果、*L. citreum* であることがわかった。NL7-3株は低温でのD-乳酸の生成能が高く、またクエン酸を資化して乳酸を生成した。類似の乳酸菌に対する抗菌活性も有していた。

清酒の小仕込試験における固形酵母仕込みの初添工程で乳酸の代わりにNL7-3株を添加すると、3日後の留添工程で酸度が乳酸添加の対照と同等になり、正常な醪の発酵経過を示した。製成酒の有機酸分析を行った結果、

クエン酸が顕著に低下し、リンゴ酸もやや減少する特徴的な有機酸組成を呈し、官能的には対照の乳酸添加清酒に比べてソフトで味にふくらみを感じられた。

乳酸球菌 *L. citreum* は10°C以下の低温での生育に関する報告はなく、その標準株JCM9698^Tは4°Cでの生育がきわめて緩慢であった。今回、この種に属する乳酸菌であって、低温(4°C)で良好に生育し、生もと系乳酸菌の標準株よりも乳酸を高生成する分離株を取得したことになる。Bergey's Manual 第9版では、*L. citreum* の形態について“sometimes short rods with rounded ends”と記載され、球菌でありながら短桿菌様の楕円状をしているという特徴がある。分離株NL7-3株は *L. sakei* と形態が類似しており、生理的な特徴においても同程度の低温発酵性、アルコール耐性およびpH耐性を有していることは、生もとや山廃もとの酒母中で生育する乳酸菌は *L. mesenteroides* と *L. sakei* の2種に限られず、*L. citreum* も増殖していた可能性があることを示唆している。これらの菌株はお互いに抗菌活性を有しており、菌株の組み合わせによっては酒母中で先に生育した菌株が優位にたち、酒母中の菌叢に影響を与えるものと考えられる。その結果、乳酸桿菌が増殖しない生もと系酒母が製造される場合も起こり得る。

このように、4°Cでも生育できる低温発酵性の *L. citreum* が米麴という清酒原料中に存在するのを見いだした。そして、この乳酸菌が生もと系酒母において優先的に増殖した場合には、D-乳酸の含有量が高くなることに加えて、クエン酸の含有量が低くなることが推察できる。そのため、生もと系酒母中で優先的に増殖する乳酸球菌の種によって酒母の酸味成分が多様化する可能性が考えられた。

- 1) 片桐英郎, 北原覚雄: 農化, **10**, 965 (1934).
- 2) 芦沢 長, 斎藤孔男: 醸協, **61**, 638 (1966).
- 3) 芦沢 長, 斎藤孔男: 醸協, **61**, 1033 (1966).
- 4) 百瀬洋夫, 鎌尾敦子: 醸協, **88**, 76 (1993).

* 著者紹介 宝酒造(株)技術・供給本部(専任課長) E-mail: kurosen@takara.co.jp