

醤油醸造での醤油乳酸菌の働きとその影響

田中 昭光

醤油醸造には、麹菌、乳酸菌および酵母の3種類の微生物が関与し、それぞれが影響し合っているようであるが、残念ながら、それらの共生関係については知見がない。しかし、乳酸菌はその多様性から醤油の品質に影響を及ぼし、さらには酵母の生育にも影響を及ぼす場合がある。そこで、醤油諸味中で働く乳酸菌にフォーカスを当てて、その性質や働き及び酵母との関係について紹介する。ただし、示したデータはモデル実験系でのものであり、諸味温度管理や初発乳酸菌・酵母数によっても結果が変化する可能性が高いことを承知いただきたい。

醤油乳酸菌の品質・生産性への影響

醤油諸味中では醤油乳酸菌と酵母が働いている。醤油乳酸菌 *Tetragenococcus halophilus* (以下、醤油乳酸菌) は、1907年に醤油諸味から分離され、その後、諸味の発酵と熟成に関わる主要な微生物として性質などが明らかにされたり。醤油乳酸菌の乳酸発酵はホモ発酵であり、グルコースからL-乳酸を生成するが、グルコース以外のさまざまな糖類も乳酸発酵に利用できる。また、一般的な乳酸菌の性質と大きく異なる点は耐塩性であり、生育にもっとも適した食塩濃度は5~10%であるが、24%の食塩濃度でも生育が可能である。

醤油諸味の初期pHが、醤油乳酸菌の至適pHに近いこともあり、まず、醤油乳酸菌の生育が先行するが(図1)、その活動は醤油の品質や生産性に重大な影響を与える。たとえば、醤油の原料である大豆や小麦のタンパク質やデンプンは、製麹時に麹菌が生産するプロテアーゼやアミラーゼなどの酵素の作用により、諸味中でアミノ酸や糖にまで分解される。しかし、乳酸発酵が旺盛で諸味pHが急激に低下したり低くなりすぎると、麹菌酵素が早く失活して窒素利用率が下がってしまう。逆に、乳酸発酵が弱く諸味pHが高めで推移すると、窒素利用率は向上するが、香味や色が悪く、かつ防霉力も低くなることが知られている。

醤油乳酸菌と酵母はけんかする？

先に述べたように醤油乳酸菌と酵母の共生関係は報告されていない。むしろ、醤油乳酸菌と酵母は、諸味の中でけんかしているのかもしれない。

図1にも示したように、醤油乳酸菌は、乳酸発酵後期になると諸味pHの低下に伴い死滅に向かい、代わって酵母が増殖しアルコール発酵が始まる。ところが、後述するアミノ酸分解株には、速やかに死滅せずに、発酵後期まで生残するものが存在する。このような醤油乳酸菌

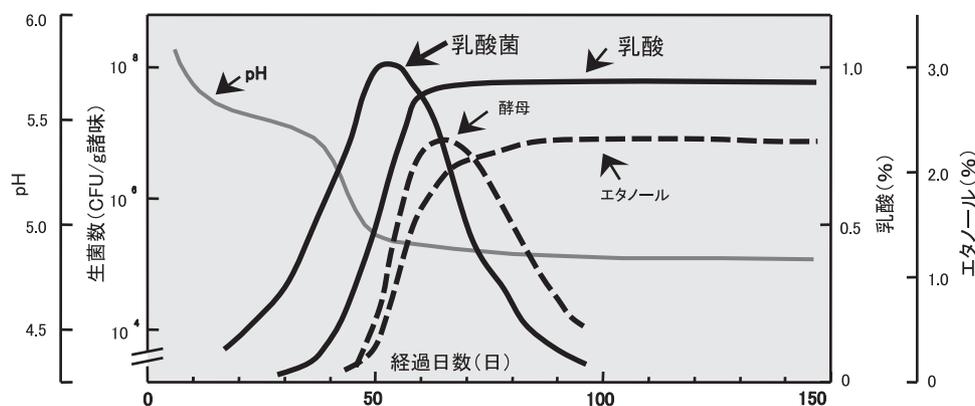


図1. 醤油諸味中での微生物の挙動

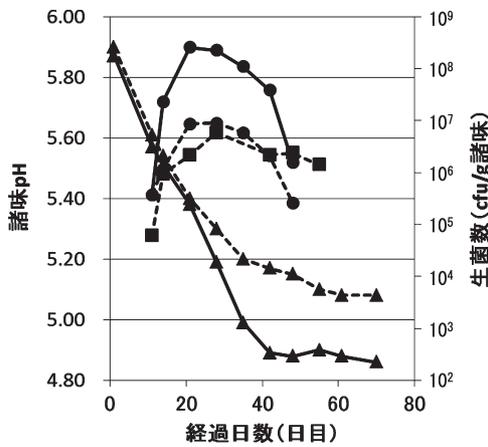


図2. 仕込初期の酵母の影響. ▲: 諸味pH, ●: 乳酸菌数, ■: 酵母数, 実線: 酵母無添加諸味 (対象), 破線: 酵母添加諸味.

株がメインで働いた諸味では酵母の生育が阻害され、その結果、アルコールと芳香が低い醤油となる場合がある。また、通常、乳酸菌の後に増殖する酵母が醤油乳酸菌と同時期に増殖すると、醤油乳酸菌の生育が阻害され乳酸発酵が微弱となる場合があることが報告されている²⁾ (図2)。このように、醤油乳酸菌と酵母は「けんか」とまでは言わないまでも、諸味中で絶妙なバランスを保っているのである。しかも、そのバランスは恐らく醤油メーカー毎に異なり、醤油メーカー間の品質や個性の差を形成する要因の一つになっている可能性がある。

醤油乳酸菌の多様性について

先に述べたように、醤油乳酸菌はグルコース以外にさまざまな糖類も乳酸発酵に利用できる (以下、「糖の発酵性」と呼ぶ) が、利用できる糖類は菌株間で異なることが知られている。さらに、諸味中での菌数や諸味pH推移も菌株毎に異なっており³⁾ (図3)、中には「諸味での乳酸発酵にほとんど寄与しない」と思われる菌株も存在する。

また、アミノ酸の分解性、有機酸の代謝⁴⁾や諸味の還元力⁵⁾などが菌株間で大きく異なる。そのため、メインで活動した菌株の性質によっては、醤油の品質が大きな影響を受ける⁶⁾。以下に醤油乳酸菌のアミノ酸分解性について紹介する。

アミノ酸分解性と品質への影響 醤油乳酸菌には、ある種のアミノ酸を他のアミノ酸などに分解 (変換) す

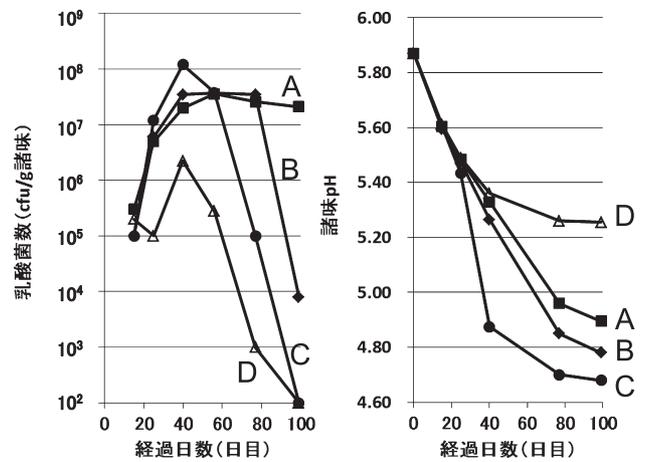


図3. 菌株毎の諸味中での菌数と諸味pH推移の違い. 諸味中で異なる菌数推移を示す醤油乳酸菌4株 (A~D株) を諸味に添加し、それらの諸味のpHを測定した.

る、たとえばアスパラギン酸やアルギニン等を別のアミノ酸に分解する能力を有する株が存在する。アスパラギン酸を分解する醤油乳酸菌 (以下、アスパラギン酸分解株) は、アスパラギン酸/アラニン変換系を有し、アスパラギン酸を脱炭酸することで、アラニンを生成する⁶⁾。また、アルギニンを分解する醤油乳酸菌 (以下、アルギニン分解株) は、アルギニンデイミナーゼ経路 (ADI経路) を有しており、アルギニンをオルニチンまで分解し、ア

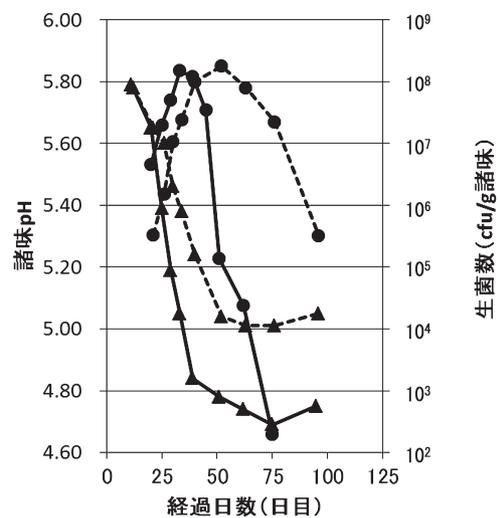


図4. アルギニン分解株を添加した諸味の乳酸菌数とpHの挙動. 非アミノ酸分解株あるいはアルギニン分解株を、仕込み時に添加し、菌数とpHの挙動を確認した. ▲: 諸味pH, ●: 醤油乳酸菌数, 実線: 非アミノ酸分解株添加諸味 (対象), 破線: アルギニン分解株添加諸味.

ンモニアを生成する⁷⁾。アミノ酸非分解株は、乳酸発酵によるpH低下によって死滅するが、これらのアミノ酸分解株は酸性物質の生成や塩基性物質の分解によって周辺環境のpH低下を抑制することで、諸味中で長期間に渡って生残することができる(図4)。言わば、「生き残り戦略」である。

しかし、このようなアミノ酸分解株は、醤油の品質に影響を与える場合がある。アルギニン分解株を使用した醤油の成分値を表1に示した。乳酸菌が長期に渡り残存したことで乳酸量は高くなったが、諸味pHは高めとなった。また、諸味pHが高めで推移したことで(図4)、窒素量も高くなった。ただし、酵母の生育が阻害されたため、アルコールは低く、その結果、直接還元糖(直糖)が高めとなった。さらに、アミノ酸組成はアルギニンが低く、オルニチンが高い醤油となった(図5)。

表1. アルギニン分解株を作用させた醤油の成分値

	窒素 (%)	直糖 (%)	乳酸 (%)	アルコール (%)
対象	1.85	3.18	0.87	3.77
試験	1.94	5.38	1.71	2.13

対象：非アミノ酸分解株を添加した諸味
 試験：アルギニン分解株を添加した諸味

乳酸発酵の安定化に向けて

以上のように、諸味中での醤油乳酸菌の活動は、醤油の品質・生産性に重大な影響を与えるため、乳酸発酵の安定化が不可欠である。ところが、乳酸発酵の安定化は非常に難しい。フローラが複雑な上、仕込初期にメインに存在していた醤油乳酸菌株が、必ずしも乳酸発酵最盛期にメインになるとは限らず、さらに、フローラやその変化は諸味毎で異なっている可能性があるからである(図6)。このような、醤油乳酸菌株の複雑なフローラとその変化は、醤油乳酸菌株の性質の違いやフェージの影響⁸⁾によると考えられる。

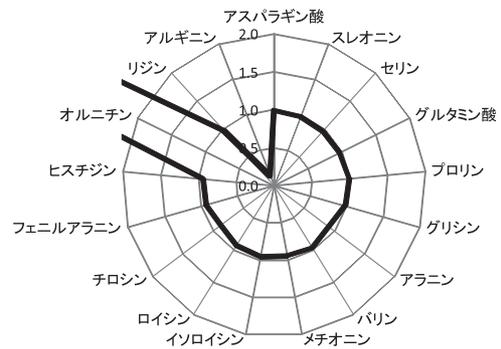


図5. アルギニン分解株を使用した醤油のアミノ酸組成。非アミノ酸分解株を使用した醤油を1としたときの各種アミノ酸の割合。

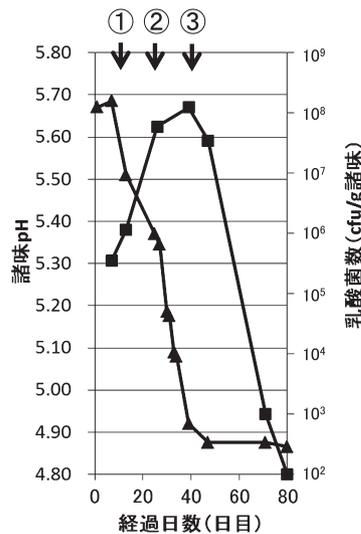
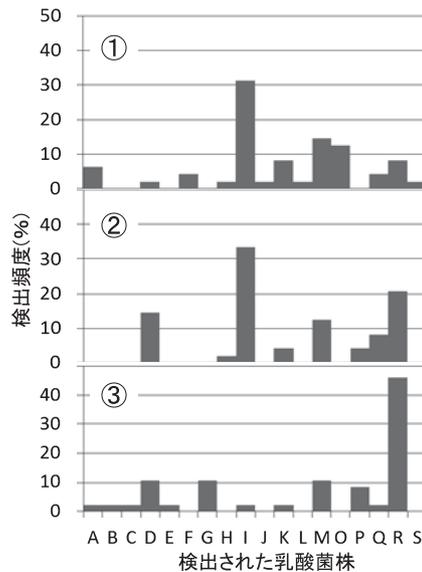


図6. 発酵過程での醤油乳酸菌フローラの変化。仕込み後、13日目(①)、25日目(②)および40日目(③)の諸味から醤油乳酸菌株を分離し、「糖の発酵性」と「アミノ酸分解性」で分類した。分類された各菌株の割合を算出し、それを検出頻度とした。



そこで近年では、性質の明らかな菌株の添加によって、乳酸発酵の安定化を図る試みもなされているようであるが、いまだ経験に基づく諸味管理から脱し切れていないのが現実である。また、先にも述べたように、使用する菌株によっては、これまで製造してきた醤油の品質が大きく変化する場合もあるため、添加する菌株の選定には最大限の注意を払う必要がある。さらに、醤油乳酸菌には、多種多様なファージが存在しているため、仮に優良な菌株を添加しても、ファージによって添加した菌株の生育が阻害される可能性があり、このようなファージの存在も、乳酸発酵の安定化を困難にしている要因の一つである。

今後の醤油乳酸菌研究への期待

醤油乳酸菌に関する研究は少なく、近年はほとんど報告がない。しかし現在、ゲノム解析が行われており、耐塩性などの醤油乳酸菌の基本的な性質の解明以外に、「菌株スクリーニングの効率化」や「ファージ感染/耐性機構の解明」に関する研究が加速することが期待される。そして、それらの研究成果をより発展させることで、乳酸発酵のより一層の安定化が図れると考えられる。

最後に、醤油乳酸菌の新しい機能について紹介する。近年、乳酸菌の機能性が注目され、それを応用した機能性食品が数多く開発・商品化されている。醤油乳酸菌でもその機能性が研究されており、醤油乳酸菌の中から抗アレルギー作用の指標であるインターロイキン12 (IL-12) の高い産生誘導能を示す株が発見されている⁹⁾。さらに、この菌株は臨床試験においても抗アレルギー効果及びその安全性が確認されている¹⁰⁾。今後は、醤油醸造技術の向上のためだけでなく、機能性食品の素材としても醤油乳酸菌は期待される。

文 献

- 1) 内田金治：醬研, **9**, 29 (1983).
- 2) 藤元秀雄ら：醬研, **6**, 213 (1987).
- 3) 藤元秀雄ら：醬研, **4**, 191 (1978).
- 4) 寺沢 学ら：醬研, **5**, 15 (1979).
- 5) 神戸千幸ら：農化, **58**, 487 (1984).
- 6) 内田金治ら：醬研, **13**, 251 (1987).
- 7) 飯塚庚一ら：調味科学, **20**, 17 (1973).
- 8) Uchida, K. *et al.*: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **39**, 429 (1993).
- 9) Masuda, S. *et al.*: *Int. J. Food. Microbiol.*, **121**, 245 (2008).
- 10) Nishimura, I. *et al.*: *Allergol. Int.*, **58**, 179 (2009).