

生もと酒母より分離した乳酸菌の生育特性

Growth Characteristics of Lactic Acid Bacteria Isolated from Kimoto Sake Base

伊藤一成、田村豊和*、利守忠義*、三宅剛史

Kazunari ITO, Toyokazu TAMURA, Tadayoshi TOSHIMORI and Tsuyoshi MIYAKE

キーワード 生もと / 乳酸菌

KEY WORD Kimoto / Lactic acid bacteria

1 はじめに

清酒製造において、伝統的な製法である生もと造りでは、乳酸菌を自然から取り込み、乳酸を作らせ酸性にすることで環境中に存在する雑菌や野生酵母を淘汰し、目的酵母の純粋培養を達成している。しかしこれまで自然増殖する乳酸菌に頼っていたことが適切な微生物群の管理を困難にし、品質が不安定になる一因になっていた。このような背景のもと、実際の生もと酒母から乳酸菌の分離を行い、2つの優勢種の菌株を取得した¹⁾。

一般に生もとは低温下(通常 7°C 程度)で仕込まれ暖気入れまでの長い間ほぼその温度で囲われる。暖気入れ後も差しもと(酵母の添加)まで 15°C を超すことはほとんどない。この間、硝酸還元菌の増殖により生成される亜硝酸と次いで起こる乳酸菌の増殖により生成される乳酸による酸性化との相互作用により、酒母に必要な細菌(硝酸還元菌も含む)と野生酵母は死滅し、これにより健全な酒母の育成(目的酵母の純粋増殖)が可能となっている。従って、生もと酒母の初期で寄与する乳酸菌は亜硝酸への耐性があることと低温での発酵性に優れていることが必要である。加えて、酵母の増殖後は生成されるエタノールにより速やかに死滅することも求められる(死滅しないものは汚染菌(たとえば火落菌)である)。また今回分離を行った実試料は前暖気期のものであったため、亜硝酸の履歴(生成と消失および濃度)や、その後の低温発酵性(この株が優勢種のまま酒母が育成されたのか)およびエタノール耐性などの性質については検証できておらず明確にできていない。そこで代表菌株である *Lactobacillus curvatus* 2-4 株と *Leuconostoc mesenteroides* 2-7 株の温度依存性、亜硝酸耐性、エタノール耐性について検証を行うことにした。

2 方法

MRS 液体培地(日本ベクトンデッキンソン株式会社)を用い各条件下での静置培養を行い、培養液の吸光度(OD₆₀₀)を測定した。なお、亜硝酸やエタノールに対する耐性は培養温度に依存しないと考え、培養温度は 30°C で加速的な検討を行った。

3 結果および考察

温度依存性

4°Cを除くいずれの温度においても2-4株が2-7株よりも良く生育したが、これらの2株は10°C

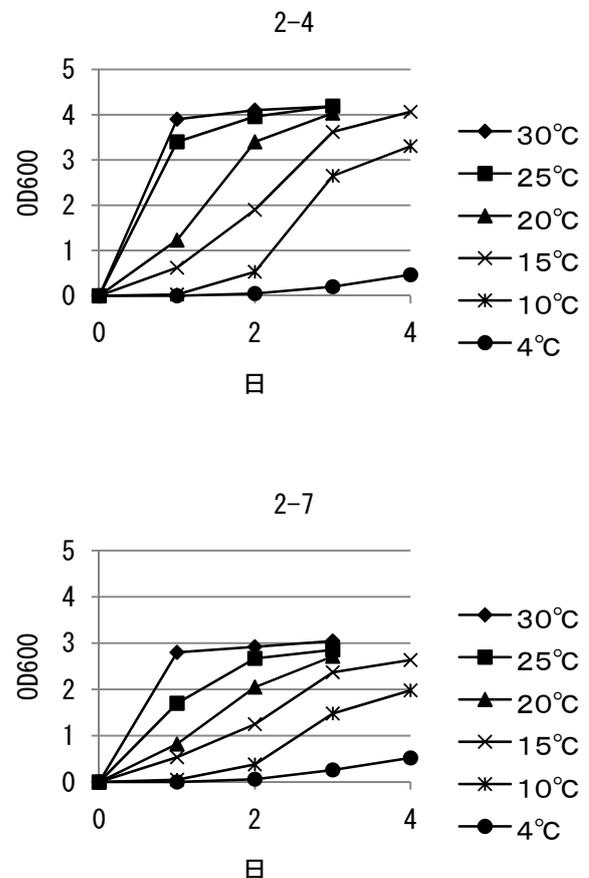


図1 2-4株と2-7株の温度依存性(MRS培地)

*利守酒造株式会社

および 15°C において良好に生育するとともに、4°C においても増殖が確認でき、低温発酵性を有していることが判った(図 1)。炭素源の発酵性試験¹⁾におけるガス発生の有無から、2-4 株はホモ型で 1 分子のグルコースから 2 分子の乳酸を、2-7 株はヘテロ型で 1 分子のグルコースから 1 分子の乳酸を生成すると考えられる。乳酸の生成は増殖菌数と相関することから、2-4 株は 2-7 株の最大で約 2.6 倍の乳酸生成能を有していると判断できる。また低温では増殖の遅延から乳酸の生成もやや遅れると思われる。

亜硝酸耐性

生もと酒母の初期では硝酸還元菌によりおよそ 10ppm 程度の亜硝酸が蓄積することが知られている。MRS 培地に 6、24、48、96ppm の亜硝酸を添加したところ、2-4 株は 24ppm まで良好な生育を示し 48ppm 以上では大きく抑えられた。一方 2-7 株は亜硝酸の増加にともない生育が減少したが、96ppm でも一定の生育を示した(図 2)。いずれにしてもこれらの 2 株は、生もと乳酸菌に必要な亜硝酸に対する耐性を有していることが判った。

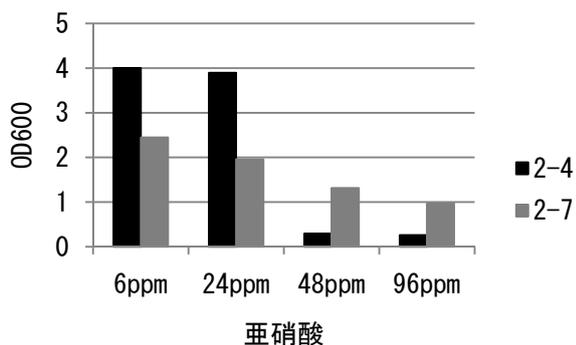


図 2 2-4 株と 2-7 株の亜硝酸耐性(MRS 培地、30°C、3 日)

エタノール耐性

酒母では通常 8-12%程度のエタノールが生成されるので、このレベル以上のエタノール耐性を有していると汚染菌として問題となる。結果、2 株とも 10%以上のエタノール存在下では生育できず、問題となるエタノール耐性は有していないことが判った(図 3)。

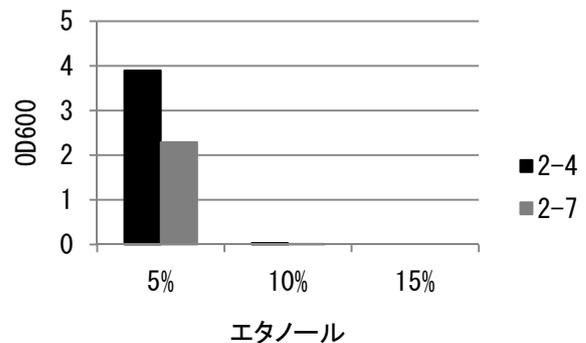


図 3 2-4 株と 2-7 株のアルコール耐性(MRS 培地、30°C、3 日)

4 まとめ

分離した 2 株はいずれも低温発酵性、亜硝酸耐性、エタノール耐性を有していた。さらに、どちらの菌株でも増殖に伴う培地の酸性化がおこるとともに、酒母仕込み時の添加試験においても増殖に相関した乳酸の生成を確認することができたことから、十分な乳酸生産能(2-4 株>2-7 株)を有していることが判った。すなわち、これらの 2 株はいずれも生もとに寄与する乳酸菌として十分な性質を備えていることが明らかになった。

1) 伊藤一成, 利守忠義, 三宅剛史: 岡山県工業技術センター報告, 35, 17 (2009)