

# 生もと酒母からの乳酸菌の分離

## Isolation of Lactic Acid Bacteria from Kimoto Sake Base

伊藤一成・三宅剛史・利守忠義\*

Kazunari ITO, Tsuyoshi MIYAKE and Tadayoshi TOSHIMORI\*

キーワード 生もと / 乳酸菌

KEY WORDS Kimoto / Lactic acid bacteria

### 1 はじめに

伝統発酵食品である清酒は、現代に至るまで長年培ってきた杜氏の経験と勘に頼った製造が行なわれており、製品の品質が安定しないことが問題になっている。清酒の品質を安定にする、あるいは品質を向上させるための1つの方法として、醸造に関連する微生物管理の向上が挙げられる。これら微生物の特性の把握と改良は清酒製造の場において、問題解決のための一つの重要な指標である。

清酒製造において、古来からの製法である生もと造りは、硝酸還元菌、乳酸菌、酵母と3つの微生物が関与する。生もと酒母作りは、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、これまでの伝統的な生もと造りにおいては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。そこで、この問題を解決するため、実際の生もと酒母から乳酸菌の同定を試み、その寄与を検討することを目的とした。

### 2 方法

#### 2.1 生もと酒母からの生酸菌の分離

酒造現場から採取した生もと酒母(前暖気期)を適時希釈後 MRS(1%CaCO<sub>3</sub>)培地に混釈し、30℃で5日間の嫌気培養を行なった。そして生酸によるクリアゾーンが現れた生育コロニーから生酸菌を分離取得した。

#### 2.2 乳酸菌の同定

グラム染色、カタラーゼ試験、顕微鏡による形状の観察を行ない、乳酸菌の特徴を持つか比較した。乳酸菌の種類をアピ 50CH キットにより酸の

産生を見て同定した。

### 3 結果

#### 3.1 生酸菌の同定

MRS(1%CaCO<sub>3</sub>)培地による嫌気培養の結果、39株の生酸菌を分離取得した。それらの性状を確認したところ、すべてグラム陽性の桿菌または球菌でカタラーゼ陰性であったため、乳酸菌であると思われた。分離した39株の乳酸菌を改めて MRS(1%CaCO<sub>3</sub>)培地で嫌気培養を行ない、生育と生酸力について調べたところ、①桿菌(中)で生酸力が中弱のもの6株、②桿菌(短)で生酸力が強のもの11株と中のもの15株、③球菌(連)で生酸力が弱のもの7株に大きく分けられた。今回試料とした生もと酒母に存在した乳酸菌はおよそ3種類で桿菌(短)群が優勢(試料採取時)であった。

#### 3.2 乳酸菌の同定

分類した乳酸菌のうち、それぞれ代表的な菌株(桿菌(中)で生酸力が中弱のもの2-6株、桿菌(短)で生酸力が強のもの2-2、2-4、2-5株と中のもの2-11、2-13株、球菌(連)で生酸力が弱のもの2-7株)を選び、アピ 50CH により同定を行なった。その結果、これら桿菌のすべてが *Lactobacillus curvatus*、球菌は *Leuconostoc mesenteroides* に同定された(表1)。

一般的に生もと酒母に寄与する乳酸菌は前期に *L. mesenteroides*、後期に *L. sakei* であると言われている。しかしながら近年ではこれ以外の乳酸菌(*Leuconostoc citreum* など)による生もと酒母も報告されており、生もとに寄与する乳酸菌の多様性が考えられる<sup>1)</sup>。今回の同定菌株(桿菌)が、一般的な *sakei* でなく *curvatus* に分類されたが、*curvatus* は系統上 *sakei* の近縁種とされる。そしてメリビオースを資化しないことから *curvatus* であると確認できる(*sakei* はメリビオースを資化する)。一方球菌は、*mesenteroides* ssp *dextranicum*1 に分類され、

\* 利守酒造

ショ糖を資化しデキストランを生成したことから *dextranicum* と確認できた。

#### 4 まとめ

生もと造りは古来の清酒製造であるが、杜氏の勘と経験によるところが大きく、清酒の品質を安定させることは難しい。そこで、実際の生もと酒母に関与する微生物を単離し、特徴をつかむことで、安定した品質の清酒を得ることができると考えた。本研究ではまず、生もと造りに特徴的に関

わる生酸菌を酒母より単離した。単離した生酸菌は、様々な試験から乳酸菌であることが分かった。今後この生もと造りに寄与する乳酸菌の挙動、特性を調べることで、微生物管理の向上が期待でき、品質を安定させることができるようになると思われる。

#### 参考文献

- 1) 黒瀬直孝, 浅野忠男, 川北貞夫, 垂水彰二: 生  
物工学会誌, 82, 183-190 (2004)

表 1 分離乳酸菌の同定

桿菌: *Lactobacillus curvatus* ssp *curvatus* (99.9%)

ct	GLY	ERY	DARA	LARA	RIB	DXYL	LXYL	ADO	MDX
-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
GAL	GLU	FRU	MNE	SBE	RHA	DUL	INO	MAN	SOR
+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
MDM	MDG	NAG	AMY	ARB	ESC	SAL	CEL	MAL	LAC
-	+	+	-	-	+	+	-	+	-
MEL	SAC	TRE	INU	MLZ	RAF	AMD	GLYG	XLT	GEN
-	+	-	-	-	-		-	-	-
TUR	LYX	TAG	DFUC	LFUC	DARL	LARL	GNT	2KG	5KG
-	-	-		-	-	-	-	-	-

球菌: *Leuconostoc mesenteroides* ssp *mesenteroides*/ *dextranicum*1 (97.1%)

ct	GLY	ERY	DARA	LARA	RIB	DXYL	LXYL	ADO	MDX
-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
GAL	GLU	FRU	MNE	SBE	RHA	DUL	INO	MAN	SOR
+	+	+	+	-	-	-	-	?	-
MDM	MDG	NAG	AMY	ARB	ESC	SAL	CEL	MAL	LAC
-	+	+	+	+	+	+	+	+	?
MEL	SAC	TRE	INU	MLZ	RAF	AMD	GLYG	XLT	GEN
+	+	+	-	-	+		-	-	+
TUR	LYX	TAG	DFUC	LFUC	DARL	LARL	GNT	2KG	5KG
+	-	-		-	-	-	+	?	?