

## 清酒醸造において酵母と共に活躍する乳酸菌の魅力

高橋俊成（菊正宗酒造（株）・総研）

### 清酒酵母天下統一の影の立役者

清酒造りで活躍する役者達を考えた時に思いつくのは、原料となる米や水、そして並行複発酵を担う酵母や麹菌ではないだろうか。しかし、清酒製造の歴史を考えた時に忘れてはならない影の立役者が存在する。秋山裕一先生の著書「日本酒」（岩波新書）の中には、以下のような記述がある。

日本酒造りでもっともすばらしい発明は、清酒酵母だけを集殖培養する方法として生酏（きもと）が考案されたことであろう。江戸時代のことである。

酵母の存在も知らなかった江戸時代に、なぜ酒造りに適した酵母だけを繁殖させることができたのか。大気中や水の中には様々な微生物がただよっているのに、薬品は何も使わずに、また殺菌という手段もとらずに清酒酵母だけが培養できる理由は何か。ビールなどは完全に殺菌した液に純粋酵母を植えつけて発酵させるというのに・・・（98 ページより抜粋）

さて、それではどのようにして清酒酵母だけを純粋に培養できたのであろうか。ちなみにこの清酒酵母だけを純粋培養する「酒母」は、その後の醪でのアルコール発酵のスターターの役割を果たす。

酒母製造方法には大きく分けて、速醸酒母と生酏酒母の 2 種類がある。速醸酒母では、仕込み時に乳酸を加え、低 pH にすることにより雑菌汚染を防止すると同時に清酒酵母を育成する方法であり、雑菌汚染の心配が少なく、短時間で育成できるメリットがあり、今日の酒母製造で汎用されている。

一方、生酏では、蒸米、米麴、水を混ぜ合わせた後、6°C くらいの低温に保つことにより野生酵母などの汚染微生物の活動を抑える。この期間が打瀬である。打瀬期間にはまず硝酸還元菌が生育し、硝酸を還元して亜硝酸を生成する。一方、低温増殖性の乳酸菌も活動を開始する。まず、球菌である *Leuconostoc mesenteroides* が生育を始め、その後、桿菌である *Lactobacillus sakei* が増殖することにより優占菌の遷移が起こることが知られている。そして乳酸菌がつくり出す乳酸と亜硝酸により野生酵母は淘汰される。このような乳酸酸性環境下において、乳酸に強い清酒酵母が増殖するとともにエタノールをつくり出す。生酏で生育する乳酸菌はエタノールに弱いため死滅し、やがて清酒酵母のみが増殖することになる。以上のように、乳酸菌は清酒酵母が天下統一を果たすために活躍する陰の立役者なのである。本講演では、この酵母とともに清酒醸造で活躍する乳酸菌にスポットライトを当て、その魅力について紹介する。

### ひっそりと蔵で生き抜く乳酸菌

生酏で生育する乳酸菌は果たしてどこからやってくるのだろうか。かつての蔵つき酵母の

ように乳酸菌も酒造蔵内に生態的地位を築いて生酏の菌叢形成に関わっているのだろうか。このような疑問を解消すべく、我々の研究グループでは、20年にわたり菊正宗酒造（株）嘉宝蔵の生酏より乳酸菌を分離保存してきた。そこで、これらの乳酸菌の遺伝学的類似性を調べるため、院内感染や食中毒の原因の特定に広く利用されており、分子疫学の解析において信頼されている PFGE（Pulse-field Gel Electrophoresis）を用いて解析を行ったところ、*L. mesenteroides* は、酒蔵内の木製道具類などにハビタットを持つと推定され、酒造年度をまたいで同じ系統タイプの株が現れる、いわゆる蔵付き乳酸菌のような挙動を示すのに対し、*L. sakei* は蔵内に安定したハビタットを持たず、米麴などの原材料を介して、酒造年度ごとに多様な菌株が生育してくるものと推察された。

## スポットライトを浴びる生酏乳酸菌

ここまでは、酵母ともに活躍する陰の立役者としての乳酸菌の話をしてきたが、ここからは生酏乳酸菌が主役として活躍する事例をいくつか紹介する。

### 1. 生酏乳酸菌を利用した酒類開発

生酏で生育する乳酸菌は細胞壁の構成成分である D-アミノ酸を生成する能力を有し、生酏においても D-アミノ酸濃度が高くなる。D-アミノ酸は L-アミノ酸とは異なる呈味性を示すだけでなく、近年、その美容効果や食品にコクを与える効果などから注目を集める成分である。そこで、生酏造りを模した一段仕込みを行ったところ、D-アミノ酸が高濃度含まれる酒類の製造が可能となった。D-アミノ酸をつくる能力は菌株ごとに差異があることから、D-アミノ酸生成能の高い乳酸菌株を利用することで、さらに D-アミノ酸を高含有する酒類の開発が期待される。

### 2. 生酏乳酸菌を利用した食品・化粧品開発

近年の健康志向の高まりから乳酸菌のプロバイオティクス効果に注目が集まり、乳酸菌を利用した食品の市場は拡大を続けている。しかし、生酏より分離した乳酸菌の利用については清酒醸造以外で利用された例はほとんどない。そこで、乳酸菌のもつ生体調節作用に注目し、食品や化粧品へ応用できる菌株の選抜を行った。食品への応用のため、培養細胞を用いて免疫調節作用が高い乳酸菌株のスクリーニングを行い、*L. sakei* LK-117 株を選抜した。マウスを用いた実験から LK-117 株の死滅乾燥菌体にはアレルギー抑制作用やアトピー性皮膚炎発症抑制作用が認められた。また、化粧品素材への応用のため、培養細胞を用いて抗炎症作用が高い乳酸菌株のスクリーニングを行い、*L. mesenteroides* LK-16 株を選抜した。この乳酸菌を用いた米発酵液は、ヒト皮膚細胞においてヒアルロン酸産生促進効果を示し、実際のヒト試験の結果でも保湿作用が高いことが明らかとなった。

以上、ここまで紹介した乳酸菌を主役とした酒類、食品、化粧品は、現在いずれも実用化に至っている。今後さらに商品の認知度が上げ、生酏乳酸菌の魅力をさらに高めるとともに、日本独自の清酒醸造技術を広く世界に発信できればと思う次第である。