

伝統的発酵における乳酸菌と酵母の共存と複合バイオフィルム形成

古川壮一・森永 康（日本大・生資科）

バイオフィルムとは、一般に、固-液や気-液などの界面に形成されるフィルム状の微生物集落を指し、食中毒や慢性型感染症における微生物汚染源として広く知られている。現在までに多くの研究報告があるものの、その形成メカニズムや性質などについては未解明の点が多い。一方、バイオフィルム形成能は多くの微生物が普遍的に有しており、有用微生物の形成するバイオフィルムが人間生活に寄与してきた側面もあると考えられる。

我々は、これまでに伝統発酵食品中にみいだされる複数種の有用微生物を組み合わせた共培養系で形成されるバイオフィルムについて、その形成機構や利用について研究を行ってきた。その過程で、乳酸菌と酵母の 2 菌種、さらには酢酸菌を加えた 3 菌種の共培養系で形成される特異な複合バイオフィルムを見出し、その利用法について産業応用可能な知見を得てきた。ここでは、それらについて簡単に解説するとともに、今後の展望についても述べたい。

我々は、かねてより鹿児島県で約 200 年に亘り製造されている福山壺酢の製造過程における菌叢変遷や物質生産プロファイルの変化について検討を行ってきた。福山壺酢は、壺に原料を仕込んだ後、人工的管理を行うことなく数カ月間静置するという特徴的なプロセスで製造され、この間、嫌氣的なアルコール発酵と好氣的な酢酸発酵が、一部並行しながら進行する。我々は、福山壺酢の製造工程より分離した微生物菌株の中から、共培養時に顕著な複合バイオフィルムを形成する出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae* Y11-43) と乳酸菌 (*Lactobacillus plantarum* ML11-11) の組み合わせを見出した。また、当該複合バイオフィルム形成には酵母と乳酸菌の共凝集が重要な役割を果たしていることを明らかにした。加えて、上記の乳酸菌 ML11-11 と出芽酵母が形成する複合バイオフィルムの微細構造を観察して、基底部に主として乳酸菌が存在し、その上に乳酸菌と酵母菌が集積することにより、分厚い構造体を形成していることを明らかにしてきた。さらに、酵母と乳酸菌の共凝集は、乳酸菌表層のレクチン様タンパク質と酵母表層のマナン糖鎖を介して行われることが示された。

次に、これらの酵母・乳酸菌複合バイオフィルムの固定化菌体としての利用を検討した結果、当該複合バイオフィルムは物理的耐性が高く、セルロースビーズなどに形成させたものは、コンタミネーション耐性も高く、一月以上の連続的な発酵に用いることができた。この耐性の高さの要因には、乳酸による pH の低下が一定の寄与を果たしているものと考えられた。

また、福山酢より分離した酢酸菌 (*Acetobacter pasteurianus* A11-10) と乳酸菌との複合培養についても検討したところ、乳酸菌の共存により酢酸菌膜（ペリクル、気液界面のバイオフィルム）の形成が顕著に促進されるという現象が見出された。さらに、酵母菌と酢酸菌の共培養系に乳酸菌を添加した 3 菌種複合系では、酵母菌と酢酸菌の 2 菌種複合系に比べて酢酸発酵能が有意に上昇した。これらの酵母、乳酸菌、酢酸菌によるバイオフィルム形成は、

福山壺酢の発酵の成立にも寄与している現象ではないかと考えている。

我々は、以上のように、酵母菌、乳酸菌、酢酸菌の相互作用によって生み出される巧みな共役系が、福山酢の簡易でありながら安定かつ効率的な発酵システムを支えていることを明らかにすることができた。

謝辞

本研究は、日本大学生物資源科学部・食品生命学科・食品微生物学研究室において、多くの大学院生や学部生の皆さんと共に行われたものです。謹んで感謝の意を表します。本研究の遂行に際しまして多くのご指導を賜りました食品微生物学研究室前教授（東京大学名誉教授）・山崎真狩先生、ならびに、研究当初から一貫してご支援を賜りました同食品衛生学研究室・荻原博和教授には、心より感謝申し上げます。なお、本研究の遂行に際しましては、日本大学生物資源科学部内外の共同研究者の方々をはじめとする多くの方々から多大なるご支援を賜りました。心より感謝申し上げます。

参考文献

- 1) Soichi Furukawa et al., *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 74, 2316–2319 (2010).
- 2) Soichi Furukawa et al., *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 75, 1430–1434 (2011).
- 3) Soichi Furukawa et al., *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 76, 326–330 (2012).
- 4) Satoru Hirayama et al., *BBRC*, 419, 652–655 (2012).
- 5) 古川壮一ら：日本生物工学会誌, 90, 188–191 (2012).
- 6) Atsumu Abe et al., *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 171, 72–79 (2013).
- 7) 森永康ら：月刊 BIO INDUSTRY, 30, 49–57 (2013).
- 8) Soichi Furukawa et al., *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 116, 533–539 (2013).
- 9) 古川壮一ら：日本醸造協会誌, 109, 228–238 (2014).