

# 漬物における乳酸菌の働き

## ——乳酸菌叢の形成とその機能

小野 浩 Hiroshi Ono

東海漬物株式会社 漬物機能研究所要素技術開発グループ グループ長

善藤 威史 Takeshi Zendo

九州大学 大学院農学研究院生命機能科学部門 助教

ぬか漬などの発酵漬物では、熟成に伴って乳酸菌叢が形成される。乳酸菌は発酵漬物の酸味や風味を形成し、乳酸やバクテリオシンなどの抗菌性物質を生産して漬物の保存性を高めている。漬物由来乳酸菌には腸内環境改善作用などの機能性をもつものも見いだされており、これらを利用した機能性発酵漬物の安定的な製造が期待される。

### 1 漬物と乳酸菌

漬物とは「漬物の衛生規範」で以下のように定義されている。「通常、副食物として、そのまま摂食される既成食品であって、野菜、きのこ、海藻等を主原料として、塩、しょう油、みそ、かす（酒かす、みりんかす）、こうじ、酢、ぬか（米ぬか、ふすま等）、からし、もろみ、その他材料に漬込んだものをいう」。日本では全国各地で多種多様な漬物が製造され、食されている。食品新聞社が発表した2015年の漬物品目別推定出荷額（表1）では、浅漬の出荷額が約900億円と最も多く、野菜をなるべくフレッシュな状態で喫食することが



「漬物御膳」(松屋旅館、愛媛県西予市)

(撮影：小野 浩)

#### 【関連する領域】

組織：大学（農学、栄養学系）  
業界：食品、醸造  
学科：生物、化学

学問：生物学、農学、バイオテクノロジー、医学、薬学、栄養学  
情報源：厚生労働省HP、農林水産省HP、全日本漬物協同組合連合会HP、東海漬物株式会社HP

好まれていることがわかる。1990年台後半から台頭し、浅漬に続いて出荷額の多いキムチでは、国内製造品の出荷額が韓国からの輸入品よりも大幅に多い。韓国からの輸入キムチは、賞味期間内で**乳酸菌\***が増殖し、酸味が段々強くなる発酵キムチである。一方、国内製造品の多くは、乳酸菌が増殖することなく、味が変化しない熟成タイプのキムチである。キムチが市場に浸透するにつれ、日本人好みに味付けされ、賞味期間内に味が変わらないキムチが好まれるようになってきた。また、刻み漬等の古漬製品においても、漬液のpH低下、日持ち向上剤やアルコールの添加により、保存効果を高めて製品中で微生物が増殖しないように工夫されたものが多い。このように、一般に流通している漬物のほとんどが発酵により製造されており、生野菜もしくは塩蔵野菜を調味することにより製造された漬物である。

しかしながら、昨今の発酵食品ブームにより、すんぎ漬、すぐき漬、ぬか漬といった乳酸発酵漬物に対する注目が高まっている。乳酸発酵漬物は主に乳酸菌の活動により、特有の酸味や風味が形成され、乳酸発酵の進行度合により漬物の風味が変化する特徴があり、*Leuconostoc mesenteroides*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*などの乳酸菌が分離されている<sup>1)</sup>。乳酸発酵漬物において乳酸菌の活動状況は一般的に以下のような挙動を示すといわれている。まず、発酵初期は乳

表1 漬物の分類と推定出荷額(2015年)

食品新聞社調べ。

大分類	主な漬物	推定出荷額
浅漬	白菜浅漬, 野沢菜, 千枚漬など	900億円
キムチ	白菜キムチ, カクテキなど	700億円
沢庵・大根漬	塩押し沢庵, 干し沢庵, べったら漬など	470億円
梅干・梅漬	白干し梅, カリカリ梅など	380億円
酢漬	紅生姜, 新生姜, ガリ生姜, 楽京漬など	330億円
刻み漬	福神漬, きゅうりの醤油漬, しば漬など	210億円
菜漬	高菜など	110億円
姿物古漬	胡瓜姿物古漬, 茄子姿物古漬など	50億円
その他	すんぎ漬, すぐき漬など	90億円

酸含量が少なく、通常0.3~0.4%である。このような環境では酸に対する抵抗性の弱い*Leu. mesenteroides*が優勢になることが多い。さらに乳酸濃度が高くなり、漬物のpHが低下すると、酸耐性の強い*Lb. plantarum*や*Lb. brevis*が優勢になり、さらにpHは低下する。乳酸発酵が進行し、乳酸量が1.2%を超えるとすべての乳酸菌の活動は抑制されるようになる<sup>1)</sup>。

## 2 むか床と乳酸菌

ぬか漬は日本の家庭で好まれている発酵漬物の一つである。ぬか漬は野菜を漬床であるぬか床に漬け込んで製造される。ぬか床は、米ぬかに塩と水を加えて練り合わせたものであり、これに野菜を漬け込むことで発酵が進み、独特の風味が作り出されていく。古くからぬか床に乳酸菌が生育することは知られており、ぬか床から乳酸菌の分離がおこなわれてきた。支倉は、風味が良好なぬか床から*Lb. plantarum*が分離されると報告している<sup>2)</sup>。今井らは、ぬか床の発酵が進むにつれ、*Enterobacter*属細菌を中心とするグラム陰性菌が優勢な環境から、*P. pentosaceus*, *Pediococcus halophilus* (*Tetragenococcus halophilus*), *Lb. plantarum*, *Lb. brevis*等の乳酸菌中心の**菌叢\***へと変化し、発酵日数が長くなると、*Pediococcus*属よりも*Lactoba-*

### 用語解説 Glossary

#### 【乳酸菌】

消費したグルコースに対して50%以上の乳酸を生産する細菌の総称。グラム陽性、非運動性、孢子非形成、カタラーゼ陰性、桿菌もしくは球菌といった特徴を有し、30以上の属で構成されている。

#### 【菌叢】

細菌をはじめとする微生物の集まり。さまざまな種類の微生物で構成される群集を指す。ここでは、とくに乳酸菌を含む細菌叢について解析した。

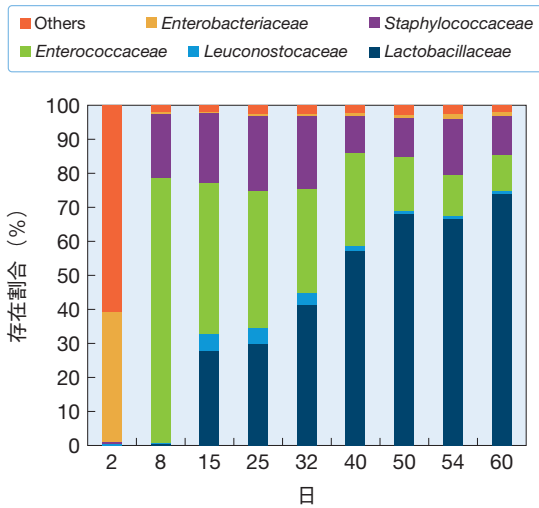


図1 むか床の菌叢変化(科レベル)

参考文献4のデータを改変した。

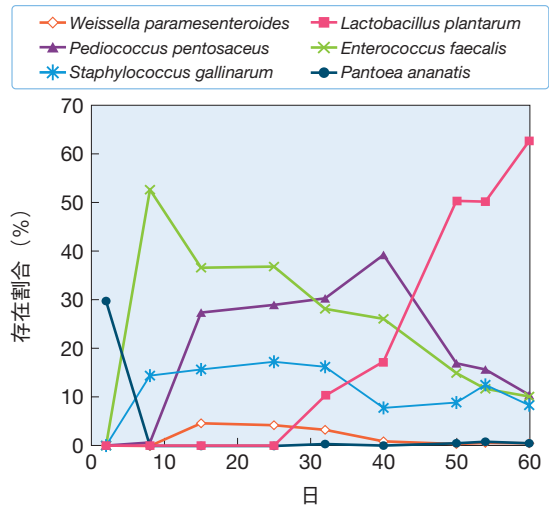


図2 むか床の菌叢変化(種レベル)

参考文献4のデータを改変した。

*cillus*属の存在割合が増加すると報告している<sup>3)</sup>。

筆者らは、塩分5%のむか床を作成し、60日間のむか床発酵、熟成過程をロッシュの454 genome sequencerを利用したピロタグ法\*によって、遺伝子レベルで菌叢変化を解析した<sup>4)</sup>。その結果、科レベルでは、発酵初期はEnterobacteriaceaeが多く検出され、発酵が進むにつれEnterobacteriaceaeの存在割合が減少し、Staphylococcaceae, Enterococcaceae, Lactobacillaceae, Leuconostocaceaeの存在割合が増加し、60日目には、Lactobacillaceaeは70%を超える存在割合となった(図1)。続いて、種レベルで解析したところ、発酵初期はグラム陰性菌であるPantoea ananatisが優占種であったが、発酵が進むにつれ優勢菌はStaphylococcus gallinarum, E. faecalis, P. pentosaceus, Lb. plantarumと変化した。Lb. plantarumは25日目以降、急激に存在割合が増加し、43日目には優占種となり、60日目には60%を超える存在割合となった(図2)。

以上の結果から、むか床の発酵、熟成過程における菌叢変化をまとめると、発酵初期はグラム陰性菌、乳酸菌ではないグラム陽性菌がむか床の主

菌叢を占めるが、その後、乳酸球菌E. faecalis, P. pentosaceusへと菌叢が大きく変化する。乳酸球菌が主菌叢となって以降、徐々に乳酸桿菌の存在が高くなり、乳酸球菌から乳酸桿菌Lb. plantarumが主菌叢へ変換することがわかった。一方、中山らは、北九州地方に100年以上に渡り継代されているむか床(超長期熟成むか床)の菌叢解析を同じくピロタグ法を用いておこなった結果、Lactobacillus acetotoleransとLactobacillus namurensisが優占種として検出されたと報告している<sup>5)</sup>。これらの結果から、60日程度の発酵期間ではLb. plantarumが優占菌となり、その後、発酵、熟成が長期間にわたると、さらに菌叢が遷移し、Lb. plantarumから、Lb. namurensisとLb. acetotoleransへ優勢菌が変化すると考えられた。これらの乳酸菌

用語解説 Glossary

【454 genome sequencer を利用したピロタグ法】

ここでは、試料ごとに異なるバーコード付きプライマーを用いて細菌16S rRNA遺伝子上の特定領域をPCRで増幅したものを多数混合してピロシーケンス法で塩基配列を読み取り、タグごとに振り分けて各細菌の存在比を解析した。

はぬか床発酵に重要な役割を果たしていると考えられるが、ぬか床中での役割についてはよくわかっていない。それぞれの乳酸菌とぬか床の風味との関係にも非常に興味を持たれ、今後の研究の発展に期待したい。

### 3 漬物由来乳酸菌が生産するバクテリオシン

このように、乳酸発酵漬物やぬか漬には多くの種類の乳酸菌が関わっており、漬物中の乳酸菌は、酸味をはじめとする風味を付与するほか、保存性の向上にも寄与している。乳酸菌は主な代謝物として、細菌に対して広く抗菌活性を示す乳酸を生産し、ほかにも酢酸やエタノール等の種々の低分子抗菌性物質を生産することで、雑菌による汚染から発酵食品を守り、保存性を高めている。乳酸菌の中には、さらにバクテリオシン\*と総称される抗菌ペプチドを生産するものもあり、バクテリオシンが漬物の保存性の向上にも寄与していることが予想される。

乳酸菌が生産するバクテリオシンは、一般のタンパク質と同様に遺伝子にコードされており、リボソーム上で生合成される抗菌ペプチドである。古くは最初に発見された抗生物質であるペニシリンと時を同じくして1928年に、発酵乳から分離された乳酸菌 (*Lactococcus lactis*) から発見された。これが現在でも最も代表的な乳酸菌バクテリオシンであるナイシンAである [図3(a)]。その後、強力な抗菌活性や広い抗菌スペクトル、さらには高い安全性が実証され、ナイシンAは日本を含め世界中で広く食品保存料として利用され、最近で

#### 用語解説 Glossary

##### 【バクテリオシン】

細菌によって生産される、一般のタンパク質と同様に遺伝子にコードされリボソーム上で生合成される抗菌ペプチド。乳酸菌をはじめ、さまざまな細菌種によって生産されることが知られている。

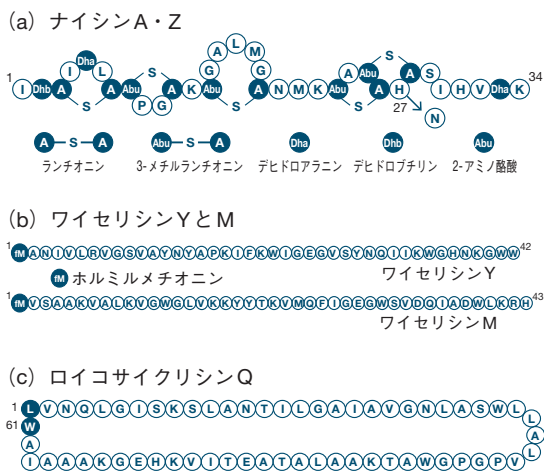


図3 ナイシンAと漬物由来乳酸菌から発見されたバクテリオシンの構造

- (a) ナイシンAは翻訳後修飾によって生じる種々の異常アミノ酸を有している。ナイシンZではナイシンAの27番目のアミノ酸が置換している。
- (b) ワイセリシンYとMのN末端はホルミル化されている。
- (c) ロイコサイクリンQのN末端とC末端はペプチド結合している。

は口腔ケア剤などにも応用されている<sup>6)</sup>。これまでに、乳酸菌バクテリオシンの研究は欧米を中心に進められ、発酵乳などから分離されたさまざまな種類の乳酸菌から多数のバクテリオシンが発見され、バクテリオシンの構造や性質が多岐にわたることが明らかになってきている。そこで、筆者らは、日本特有の漬物を分離源とし、新しいバクテリオシンを生産する乳酸菌の探索をおこなってきたので、いくつかの例を紹介したい。

高菜漬けから分離された乳酸菌 *Weissella hellenica* QU 13から、ワイセリシンYとワイセリシンMと命名した2種の新奇バクテリオシンを発見した [図3(b)]<sup>7)</sup>。これらのバクテリオシンは漬物の汚染菌となりうる *Bacillus* 属細菌などに抗菌活性を示す。また、この二つのバクテリオシンの生産は、栄養条件によって制御されていることが明らかとなった<sup>8)</sup>。この乳酸菌は高菜漬けの初期段階で見いだされたことから、生産される二つのバクテリオシンが発酵の初期段階での雑菌汚染防止や菌叢の安定に貢献していることが考えられる。

赤かぶ漬けから分離された乳酸菌 *Leuconostoc*

*mesenteroides* TK41401からは、ロイコサイクリシンQと命名した新奇環状バクテリオシンを発見した[図3(c)]<sup>9)</sup>。ロイコサイクリシンQは*Bacillus*属細菌をはじめ種々のグラム陽性細菌に対して強い抗菌活性を示す。また、N末端とC末端のアミノ酸残基がペプチド結合をした特異な環状構造を有することが明らかとなっている。現在までにその生合成機構の一端が明らかとなり、菌体内で環状化がおこなわれた後にバクテリオシンが分泌されることが推定されている<sup>10)11)</sup>。このバクテリオシンは広い抗菌スペクトルを示すことから、こちらも発酵の初期段階に存在していると考えられる種々の雑菌による汚染の防止や菌叢の安定に貢献していることが予想される。

ぬか床から分離された*Lactococcus lactis*に分類される複数の乳酸菌が、ナイシンAのアミノ酸の一つが置換した類縁体であるナイシンZを生産することが明らかとなった[図3(a)]<sup>12)13)</sup>。ほかにも、ナイシンZ生産乳酸菌は、島根県産の津田かぶ漬けなど<sup>14)</sup>、日本中のさまざまな漬物から広く見いだされており、日本中の発酵漬物に広く分布していることが推察された。

以上のように、漬物にはバクテリオシンを生産する乳酸菌がさまざまに見いだされ、とくに発酵の浅い漬物に多く存在していると考えられる。バクテリオシン生産乳酸菌は、発酵の初期段階において安定な菌叢の形成を促し、漬物の保存性の向上に寄与していることが推察される。バクテリオシン生産乳酸菌およびそのバクテリオシンの漬物中での実際の働き、つまり雑菌への抗菌作用や他の乳酸菌への影響など、発酵漬物の製造や熟成における直接的な役割については依然不明な点が多く残されている。

#### 用語解説 Glossary

##### [cfu]

Colony Forming Unit (コロニー形成単位) の略で、寒天培地上に形成されるコロニーの数を表す。一般に1個の細胞から一つのコロニーが形成されることから、試料中の増殖可能な微生物細胞の数を表す。

るが、その解明には非常に興味を持たれる。将来の漬物由来バクテリオシン生産乳酸菌の積極的な利用に向けても、今後の研究成果を期待したい。

## 4 漬物由来乳酸菌の機能性

乳酸菌が健康にもたらす良好な効果についてはさまざまに実証され、特定の乳酸菌株がヨーグルトなどに広く利用されている。上述のように多様な乳酸菌が見いだされることから、漬物も機能性をもつ優れた乳酸菌の分離源・供給源となりうると思われ、研究が進められている。

*Lactobacillus plantarum* TK61406は、漬物由来乳酸菌1,000株から、人工消化液耐性の最も高い乳酸菌として選抜された生姜漬由来の乳酸菌である<sup>15)</sup>。このTK61406について、ヒトでの有効性、安全性が報告された。TK61406を25億cfu\*含む発酵液2.5 mLを摂取した群では、プラセボ食群と比較し、糞便内のビフィズス菌および乳酸菌が有意に増え、アンモニア濃度が有意に減少した。また、このような腸内環境改善作用以外にも、顔肌の目立つ毛穴数の有意な減少、連続計算負荷試験時の計算時間が有意に早くなることが明らかとなった<sup>16)</sup>。TK61406発酵液は12週間の長期にわたる連続摂取において安全性に問題がなく<sup>17)</sup>、TK61406を125億cfu含む発酵液12.5 mLを1日1回、4週間連続摂取するという過剰摂取においても安全性に問題がなく、整腸作用が確認された<sup>18)</sup>。これらのことから漬物由来乳酸菌TK61406はヒトにとって安全かつ有用性が高い乳酸菌であると考えられる。

上述のように漬物からは多様な乳酸菌が見いだされるものの、その機能性や保健効果を明らかにした例はまだ少なく、さらに優れた乳酸菌の分離源として漬物は非常に有望と考えられる。機能性をもつ漬物由来乳酸菌やそれらを使って機能性を強化した漬物が、昨今のヨーグルトと同じように、プロバイオティクスとして広く摂取される日もそう遠くはないかもしれない。

## 5 まとめと今後の展望

漬物からはさまざまな乳酸菌が見いだされ、漬物において乳酸菌は酸味・風味の形成や抗菌性物質の生産による保存性の向上に寄与している。発酵の進行に伴って菌叢は刻々と変化して各漬物に特有の乳酸菌叢が形成され、漬物が熟成される。その過程には、乳酸菌によって生産される乳酸のほか、バクテリオシンなどの抗菌性物質の関与が予想される。漬物中での雑菌汚染の防止や特有の乳酸菌叢の形成におけるバクテリオシンの役割の詳細については、今後の研究成果を待たねばならないが、バクテリオシン生産乳酸菌の積極的な利用は、漬物のみならずさまざまな食品の保存性向上に貢献できるものと思われる。

たとえば、漬物由来のバクテリオシン生産乳酸菌は、漬物のスターターカルチャーとしての利用が期待される。仕込み時に、その漬物由来のバクテリオシン生産乳酸菌を加えることで、その漬物本来の風味を保ち、日持ち向上剤やアルコール、塩分の添加を抑えつつ、雑菌汚染の防止が期待できる。このように、バクテリオシン生産乳酸菌を使用することで、品質を安定させることが難しい発酵漬物を安定的かつ容易に製造できる可能性がある。

一方、漬物由来の乳酸菌の中には優れた機能性をもつものもあり、その機能性乳酸菌を利用した機能性漬物の創出も期待される。将来的にバクテリオシンによる菌叢の調整機構を自在に操ることが可能となれば、風味や保存性、機能性を高めた漬物の創出も容易となるかもしれない。機能性を付与した発酵漬物を安定的に製造できれば、漬物市場の活性化にもつながる可能性がある。

### [文献]

- 1) 宮尾茂雄. 日本乳酸菌学会誌, **13**, 2-22 (2002).
- 2) 支倉サツキ. 家政学雑誌, **28**, 1-14 (1977).
- 3) 今井正武, 平野進, 饗場美恵子. 日本農芸化学会誌, **57**, 1105-1112 (1983).
- 4) Ono, H., Nishio, S., Tsuri, J., Kawamoto, T., Sonomoto, K. *et al. J. Biosci. Bioeng.*, **118**, 520-525 (2014).

- 5) Sakamoto, N., Tanaka, S., Sonomoto, K. & Nakayama, J. *Int. J. Food Microbiol.*, **144**, 352-359 (2011).
- 6) 善藤威史, 石橋直樹, 園元謙二. 日本乳酸菌学会誌, **25**, 24-33 (2014).
- 7) Masuda, Y., Zendo, T., Sawa, N., Perez, R. H., Nakayama, J. *et al. J. Appl. Microbiol.*, **112**, 99-108 (2012).
- 8) Masuda, Y., Perez, R. H., Zendo, T. & Sonomoto, K. *J. Appl. Microbiol.*, **120**, 70-79 (2016).
- 9) Masuda, Y., Ono, H., Kitagawa, H., Ito, H., Mu, F. *et al. Appl. Environ. Microbiol.*, **77**, 8164-8170 (2011).
- 10) Mu, F., Masuda, Y., Zendo, T., Ono, H., Kitagawa, H. *et al. J. Biosci. Bioeng.*, **117**, 158-164 (2014).
- 11) Mu, F., 益田時光, 善藤威史, 小野 浩, 北川博史, 他. 日本生物工学会誌, **94**, 71 (2016).
- 12) Ennahar, S., Zendo, T., Sonomoto, K. & Ishizaki, A. *Jpn. J. Lactic Acid Bacteria*, **10**, 29-37 (1999).
- 13) 善藤威史, Ennahar, S., 園元謙二, 石崎文彬. 日本生物工学会誌, **77**, 463-465 (1999).
- 14) Aso, Y., Takeda, A., Sato, M., Takahashi, T., Yamamoto, T. *et al. Curr. Microbiol.*, **57**, 89-94 (2008).
- 15) 小村美香, 西尾翔子, 河本哲宏, 日野真吾, 森田達也. 日本食物繊維学会誌, **18**, 9-17 (2014).
- 16) 森下美香, 西尾翔子, 伊與田哲也, 小室あゆ美, 河本哲宏. 新薬と臨床, **65**, 1274-1294 (2016).
- 17) 森下美香, 西尾翔子, 伊與田哲也, 小室あゆ美, 河本哲宏. 新薬と臨床, **65**, 1296-1309 (2016).
- 18) 森下美香, 西尾翔子, 伊與田哲也, 河本哲宏. 新薬と臨床, **65**, 1310-1325 (2016).



### 小野 浩 Hiroshi Ono

東海漬物株式会社 漬物機能研究所要素技術開発グループ グループ長

2005年, 三重大学大学院生物資源学研究所博士前期課程修了, 同年東海漬物株式会社入社。2011年, 九州大学大学院生物資源環境科学府博士後期課程入学。2014年, 九州大学大学院生物資源環境科学府博士後期課程修了, 博士(農学)。2016年より現職。専門は, 発酵学, 応用微生物学。生物工科学論文賞(2015年)を受賞。主な著書に, 地域資源活用, 食品加工総覧。(分担執筆, 農山漁村文化協会, 2009)。



### 善藤 威史 Takeshi Zendo

九州大学 大学院農学研究院生命機能科学部門 助教

2004年, 九州大学大学院生物資源環境科学府生物機能科学専攻博士後期課程修了, 博士(農学)。2006年, 九州大学大学院農学研究院 助手。2007年より現職。専門は, 応用微生物学。農芸化学奨励賞(2012年), 生物工科学論文賞(2015年, 2016年)を受賞。主な著書に, 乳酸菌とビフィズス菌のサイエンス。(分担執筆, 日本乳酸菌学会編, 京都大学学術出版会, 2010)。