

連載「微生物の産業利用—はたらく有用微生物」



第2回 発酵乳製品の有用微生物

篠田 直

カルピス株式会社 基礎研究フロンティアラボラトリー 〒229-0006 神奈川県相模原市淵野辺5丁目11-10

Useful microbes in fermented milk products

Tadashi Shinoda

Calpis Co., Ltd. Frontiers Laboratory, R&D Center

11-10, 5-chome, Fuchinobe, Sagami-hara-shi, Kanagawa 229-0006, Japan

1. はじめに

明治時代に日本人が牛乳を飲むようになって100年以上が経ちます。当時、牛乳は薬のように珍重されていましたが、今日では“牛乳離れ”すら起っていると聞きます。牛乳は子牛が成長するために必要な栄養をすべて含む、バランスの良い食品です。しかし保存性の観点で言えば決して日持ちの良い食品であるとは言えません。世界的に見れば、歴史の記録が始まる遙か以前に、保存食としての乳の加工製品の記述が認められています。それは乳酸菌などの微生物を用いた発酵乳製造技術によるもので、今日では保存性だけでなく、風味の向上、そして有用な生理効果をもつことが分かってきました。このように長い歴史のなかで人々の生活にすっかり定着した発酵乳食品ですが、いま一度、本稿では微生物の有用性という視点で紹介したいと思います。

2. 発酵乳の微生物

まず発酵乳とは何か、から始めたいと思います。牛乳、羊乳、山羊乳などの獣乳に微生物を加えて酸度を上げたものを発酵乳と呼びますが、加える微生物の種類や獣乳の種類により、世界各地でさまざまな種類の発酵乳が作られています。日本においては、発酵乳の種類は「乳及び乳製品の成分規格等に関する省令」、いわゆる乳等省令により規定されています。この省令において「はっ酵乳とは乳又はこれと同等以上の無脂乳固形分を含む乳等を乳酸菌又は酵母ではっ酵させ、糊状又は液状にしたもの又はこれらを凍結したもの」

と規定されています。無脂乳固形分 (solid non fat; SNF) とは、乳全体から水分を除いた全固形分のうち、乳脂肪を除いた残りの部分を指します。表1にありますように、無脂乳固形分が8%以上のものを「はっ酵乳」と呼び、3%以上8%未満のものを「乳製品乳酸菌飲料」、またそれを加熱殺菌した「乳製品乳酸菌飲料(殺菌)」、そして3%未満の「乳酸菌飲料」に分かれています。乳等省令では使用する微生物が乳酸菌又は酵母と示されていますが、酵母を用いた発酵乳はその炭酸ガス生産性などから、あまり一般的ではないかもしれません。おそらくヨーロッパなどで普及しているケフィア (kefir) やクーミス (kumiss) といった酵母を使用した乳製品を包括する必要があるためと考えられます。このような酵母は乳糖資化性をもつ酵母 (*Kruyveromyces* 属酵母など) や乳酸菌との共生関係にある乳糖非資化性酵母 (*Saccharomyces* 属酵母) であることが知られています。

世界的に見た場合、狭義のヨーグルトでは使用する微生物を *Streptococcus thermophilus* と *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* の二種類に限り、乳脂肪分3.0%以上、無脂乳固形分が8.2%以上のものを「ヨーグルト」、乳脂肪分が0.5%以上3.0%未満の「部分脱脂ヨーグルト」、乳脂肪分が0.5%未満のものを「脱脂ヨーグルト」といい、無脂乳固形分による分類や乳酸菌飲料のような分類は一般的ではなく、日本固有のものようです。

前述のように世界的には *Str. thermophilus* と *Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus* の二菌種を使用しないとヨーグルトとは呼ばない訳ですが、日本においては *Lb. casei* や *Lb. gasserii*, *Lb. rhamunusos*, *Lb.*

E-mail: tadashi.shinoda@calpis.co.jp

表 1 乳等省令による発酵乳等の規格

種類別	無脂乳固形分	乳酸菌又は酵母の菌数	大腸菌群	代表例
はっ酵乳	8.0% 以上	10,000,000 個/ml 以上	陰性	プレーンヨーグルト
乳製品乳酸菌飲料	3.0% 以上	10,000,000 個/ml 以上	陰性	ヤクルト
乳製品乳酸菌飲料 (殺菌)	3.0% 以上	—	陰性	カルピス
乳酸菌飲料	3.0% 未満	1,000,000 個/ml 以上	陰性	カルピスキッズ

reuteri, *Lb. acidophilus*, *Lb. helveticus*, *Lacococcus lactis subsp. Lactis*, *Lc lactis subsp. cremoris*, *Bifidobacterium longum*, *Bif. bifidum*, *Bif. breve* など様々な菌株を用いた発酵乳が使用されています。これらの菌株は前述の乳等省令により 1 ml あたり $10^6 \sim 10^7$ 個以上の乳酸菌数を示す必要がありますが、この菌数の測定方法は公定の培地 (BCP (プロモクレゾールパープル) 加プレートカウント寒天培地) 上で 35-37°C, 72±3 時間の培養したときの黄変コロニー数で計測する方法で行います。この培地は、栄養要求性の厳しい乳酸菌は増殖しないこと、また培養条件が好気的な条件であるので耐酸素性の低い乳酸菌は増殖できないことがあります。このため、日本の発酵乳製造に用いられる乳酸菌には好気培養に耐える性質が必要とされており、好気培養の難しい *Bifidobacterium* 属は乳等省令上の乳酸菌数を示すことが困難なようです。

3. 発酵乳中の微生物の保健効果 (プロバイオティクスとプレバイオティクス)

乳酸菌で発酵させた発酵乳の生理効果のなかで最もよく知られたものの一つに整腸作用があります。1991 年よりスタートした特定保健用食品の制度のなかでも、「お腹の調子を整える」ことを謳った商品群が大きなジャンルを形成しています。多くの試験では乳酸菌が便秘傾向のボランティアの排便回数を更新していることから、整腸作用は便秘の改善を示していることとなります。その一方で、近年では過敏性腸症候群のような神経性下痢症改善の報告があり、新しい整腸作用として注目されています。

ボランティアでの発酵乳の摂取による整腸作用試験では、排便回数の増加と経口投与した乳酸菌が便中に生きていることが認められることが合わせて示されることが多く、乳酸菌が生きて腸に届くことが必要であると言われていました。ただ、排便回数の増加が認められる乳酸菌株でも便中では培養できない状態で存在している可能性が認められることから、必ずしも生きて検出される必要はないのではないか、ということは議

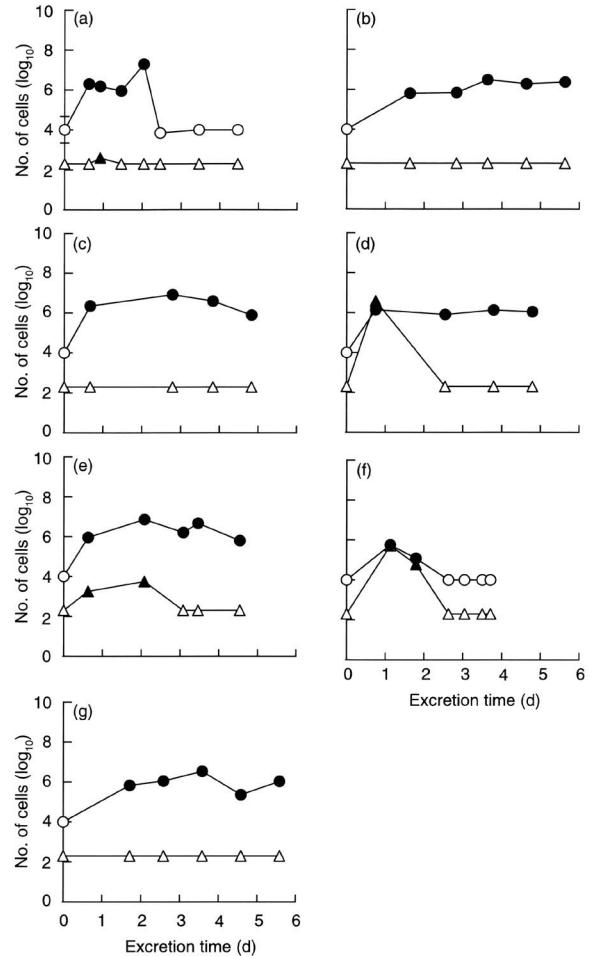


図 1 乳酸菌投与におけるヒトボランティアの排便回数と便中の菌体の検出

▲は生菌数を示し、△は検出限界以下をあらわす。●は標識 DNA による検出を示し、○は検出限界以下をあらわす (Shinoda *et al.*, 2001)。

論の余地があるように思います (図 1)。

現象面では排便回数の増加/減少という明快な整腸作用も、実際の作用メカニズムとなると不明確な点が多いのも事実です。排便回数増加のメカニズムに関しては、摂取した乳酸菌が直接に腸管内で生産する有機酸が腸管を刺激することで蠕動運動が亢進するのではないかと、という推定がなされています。しかしながら

表2 健康成人の腸内細菌叢における乳酸菌とビフィズス菌の菌数と発酵乳製品中の菌数の比較

種類	菌濃度 (個/g)	総内容量 (g)	総菌数
腸内細菌			
<i>Bifidobacterium</i>	$10^{10} \sim 10^{11}$	1.5×10^3	およそ $10^{13} \sim 10^{14}$
<i>Lactobacillus</i>	$10^7 \sim 10^8$	1.5×10^3	およそ $10^{10} \sim 10^{11}$
発酵乳			
乳酸菌	$10^7 \sim 10^8$	100	およそ $10^9 \sim 10^{10}$

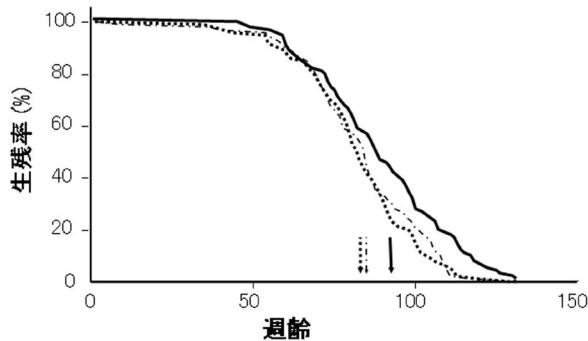


図2 カルピス酸乳の寿命延長効果

実線がカルピス酸乳投与群、破線が未発酵乳投与群、一点鎖線が通常飼料投与群をそれぞれ示す。縦の矢印はそれぞれ対応する群の平均寿命を示し、カルピス酸乳投与群で 91.8 ± 20.0 週、未発酵乳投与群で 84.4 ± 17.4 週、通常食投与群で 84.9 ± 18.9 週であった (荒井ら, 1980)。

表2で簡易に計算しましたように、もともと腸内に存在する乳酸菌やビフィズス菌の菌数に対して、乳製品で摂取した乳酸菌などの菌数は1桁から2桁ほど少なく、局所的に高濃度になることはあっても腸管全体への影響を与えるとするには不十分ではないか、という意見もあります。つまり、乳製品の乳酸菌を摂取したことで腸内菌叢のバランスが変化し、もともと腸内にいた乳酸菌・ビフィズス菌が増加するのではないかという考え方です。この推定では、発酵乳の乳酸菌はプロバイオティクスな働きではなく、むしろプレバイオティクスのように働いていることと言えます。従来、プレバイオティクスは難消化性のオリゴ糖や食物繊維などが中心で、これらはヒトの消化管で消化吸収を受けずに腸内へ達して、そこに存在する乳酸菌/ビフィズス菌の栄養源となることで腸内細菌叢のバランスを乳酸菌/ビフィズス菌が優位な環境とする食品成分を指します。

また整腸作用以外にも発酵乳などの乳酸菌を摂取することで、腸管を介したヒトへの影響として免疫賦活作用やアレルギー抑制作用などの報告が数多くなされています。例えば、経口で投与された乳酸桿菌やビフィ

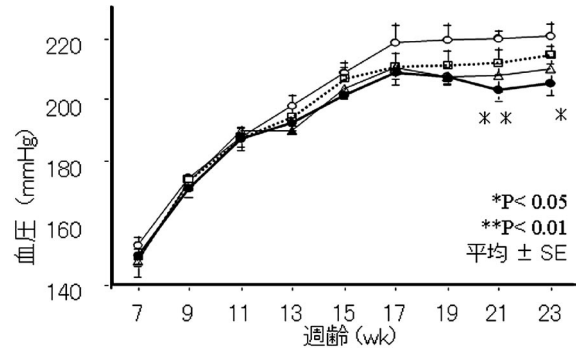


図3 カルピス酸乳の自然発症高血圧ラットへの投与

○は通常飼料投与群の血圧を示し、□は0.25% (w/w) カルピス酸乳混餌投与群を、△は1.25% (w/w) カルピス酸乳混餌投与群を、●は2.50% (w/w) カルピス酸乳混餌投与群をそれぞれ示す (Nakamura *et al.*, 1996)。

ズス菌が粘膜免疫に重要な働きをもつ分泌型IgAの産生を増強することや、血中の抗体であるIgGの産生を促すことが報告されています。腸管経由で感染する細菌・ウイルス性疾患の予防に役立っているものと考えられています。またこれらの微生物がサイトカイン産生を変化させることで細胞性免疫を調節しているという報告もあります。これらの作用が、例えば必要な免疫作用を増強することでガン抑制効果として認められたり、不必要な免疫作用であるアレルギー反応の抑制効果として認められたりしています。

一方で、腸内細菌が腸管の中で有害な物質を吸着し、体外へ排泄しているという報告もあります。有害な物質として、加熱したアミノ酸に由来する Trp-P1 (3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido (4,3-b) indole) や Trp-P2 (3-amino-1-methyl-5H-pyrido (4,3-b) indole) などの変異原性物質などやアフラトキシンなどのカビ毒、芳香族有機塩素化合物などが報告されている。また、毒性物質以外にも消化管中で胆汁に由来する胆汁酸と結合して排泄することで、胆汁酸の前駆物質であるコレステロールの血中濃度を抑制したという報告もあります。これらのプロバイオティクス効果は医薬

品のような強い作用ではないけれども、日々の食事のなかで継続して摂取でき、穏やかな作用で健康維持、病気の発生を予防するという食事本来の目的に合致していると言えます。

4. 発酵生産物の保健効果 (バイオジェニックス)

菌体が宿主に対して生理効果を示すプロバイオティックスやその菌体の増殖を助けるプレバイオティックスに対して、発酵によって生じる物質による生理効果が知られるようになって来ています。前述の規格では「乳製品乳酸菌飲料(殺菌)」となる飲料「カルピス」は *Lb. helveticus* と *Saccharomyces cerevisiae* を含む発酵乳と砂糖などで作られており、製造過程で熱殺菌を行っているため製品には生きた乳酸菌は含まれません。このカルピスの発酵乳(カルピス酸乳)を ICR マウスに混餌投与を終生行った試験では、通常飼料や未発酵の牛乳を投与した場合に比べて、平均寿命が約8%延長することが示されました(図2)。このような寿命延長効果は他のヨーグルトやビフィズス菌の発酵乳でも認められています。20世紀初頭に Metchnikoff が提唱したヨーグルト不老長寿説を直接的に示した試験結果ではありますが、この効果は発酵乳のさまざまな生理効果が複合して作用した結果であろうと考えられています。

カルピス酸乳の投与試験において、主要なマウスの死因の一つである循環器疾患の発症時期が投与群では遅延していました。このことをヒントにカルピス酸乳を自然発症高血圧ラットに投与したところ、有意な血圧降下作用が見られました(図3)。その後、有効成分は乳清部分に含まれること、そして乳のカゼイン蛋白質を分解して生じたペプチドによるものであることが示されました。特に *L. helveticus* 発酵乳中からは IPP, VPP, YP, KVLPVPE といった血圧降下ペプチドが見出されました。in vitro の解析から IPP, VPP にはアンギオテンシン変換酵素阻害活性が認められたこと、そして化学合成で作った IPP 及び VPP を自然発症高血圧ラットへ投与したところ有意な血圧降下作用が認められたことから、生体中でこのペプチドがアンギオテンシン変換酵素の活性を阻害することで血圧の上昇を抑制しているものと推定されていま

す。しかし、YP や KVLPVPE といったペプチドには強いアンギオテンシン変換酵素阻害活性は認められないことから、血圧降下作用には副次的な経路が存在していることも示唆されています。

このほかにも、乳酸菌やビフィズス菌の発酵乳中には様々な物質が生成していますので、今後新たな生理活性物質が見出される可能性は大いにあるものと期待されています。

5. おわりに

本稿では、発酵乳製品の規格、菌体の生理機能、発酵生産物の有用性の概要を簡単にご説明いたしました。限られた紙面ですので、十分にご紹介し切れなかった事項もまだまだたくさんあることと思います。発酵食品において、パン類、醸造酒、味噌醤油などと並んで身近な発酵食品である発酵乳にはまだまだ未解明な有用性がたくさんあると思います。乳酸菌は現在、次々にゲノム配列が明らかにされていますので、菌の持つポテンシャルが明らかになり、より有用な微生物で作った乳製品が食卓に上るようになる日も来ることと思います。このような産業界との距離の近い乳業微生物は非常にエキサイティングな学問領域ですので、若い研究者が興味をもって参加してくれることを期待しております。

文 献

- Nakamura, Y., Masuda, O. & Takano, T. (1996). Decrease of tissue angiotensin I-converting enzyme activity upon feeding sour milk in spontaneously hypertensive rats. *Biosci. Biotech. Biochem.* **60**: 488-489.
- Shinoda, T., Kusuda, D., Ishida, Y., Ikeda, N., Kaneko, K., Masuda, O. & Yamamoto, N. (2001). Survival of *Lactobacillus helveticus* strain CP53 in the human gastrointestinal tract. *Lett. Appl. Microbiol.* **32**: 108-113.
- 荒井幸一郎, 室田一也, 早川邦彦, 片岡元行, 光岡知足 (1980). 殺菌発酵乳投与のマウスの寿命, 腸内細菌におよぼす影響について. *栄養と食糧* **33**: 219-223.