

1. 食品産業の新分野に乳酸菌をいかに利用するか

石崎 文彬*・園元 謙二

乳酸菌はあらゆる食品と共存している微生物であり、生鮮食品はもちろん、加工食品であっても、加熱殺菌し、無菌的に包装されたもの以外のほとんどあらゆる食品に存在している。これら食品中に共存している乳酸菌の働きは多様であり、食品の種類や加工プロセスの違いに応じて異なっている。たとえば、清酒、みそ、しょうゆなど我が国の伝統発酵では、かびや酵母と共に必ず乳酸菌が働いている。これら乳酸菌の働きは、我が国の多くの著名な研究者たちの研究テーマとなってきた。一方、ヨーグルトに代表される発酵乳食品群は、単に整腸剤としての効果にとどまらず腸管免疫系の賦活効果もあることが明らかになりつつあり、発酵乳がヒトの健康維持に係る機能が大きく期待されてきている。

乳酸菌は一般に、増殖にともなって糖から乳酸を生成するため、菌増殖環境の pH を低下させ、このため他の菌の増殖を押さえる効果がある。さらに、乳酸菌は一般にカタラーゼを保有しないので、乳酸菌の増殖環境には過酸化水素が生成する。過酸化水素やジアセチルなどは殺菌効果や増殖抑制効果を有し、このため食品に共存する乳酸菌は食品の保蔵性を増す機能を有する。このように、乳酸菌は古くから食品製造に利用されてきたし、研究も蓄積している。しかし、最近再び乳酸菌に関する研究が脚光をあびるようになって、いままでの知見になかった乳酸菌の新しい機能が次々に明らかになってきている。その代表の1つは乳酸菌の生産するバクテリオシンである。

1. 乳酸菌の生産する“ランチビオティック”

バクテリオシンは細菌の生産するペプチド系の抗菌物質で、従来は種特異的な抗菌活性しか示さない非常に特殊なものとされてきた。しかし、乳酸菌の生産する各種のバクテリオシン、なかでも不飽和アミノ酸や分子内モノスルフィド結合を形成するランチオニンなどの異常アミノ酸を含むランチビオティックと呼ばれるバクテリオシンは広い抗菌スペクトルを有し、あたかも抗生物質に似た働きをすることが知られるようになった。したがって、ランチビオティックを生産する乳酸菌は天然の食品保存料を生産する微生物として、食品の保存性を増し、加工プロセスにおける雑菌汚染を防止する有用な微生物として新しい用途が期待できる。¹⁻³⁾ 特にランチビオティックはグラム陽性菌 *Bacillus*, *Staphylococcus* および *Clos-*

tridium に抗菌活性を示す。一方、ここ数年来病原性大腸菌 O-157 による食中毒が多発しており、食品を有害菌の汚染から防除する手段の開発が関心を集めている。最新の知見では、乳酸菌の生産するバクテリオシンはグラム陰性菌である大腸菌に対しても静菌作用を示すという報告がある。バクテリオシンを生産する乳酸菌を食品に共存させておけば、微生物汚染のレベルを低下させ、また乳酸菌の生産する有機酸をはじめとする各種の微生物増殖阻害物質がグラム陰性菌を含めた汚染菌レベルの低下に働く可能性がある。事実、最近では、いろいろな乳酸菌培養液が食品加工プロセスへの天然の殺菌剤の目的で開発市販されている。また、かいわれ大根の種子の洗浄に乳酸菌培養液を使用し、効果を上げている例も報告されている。このように、乳酸菌もしくは乳酸菌培養液は、最近盛んに天然の安全な食品保存料として期待され、用途開発が進んでいる。

2. 食品製造への新しい乳酸菌の利用法の開発

我々は *Lactococcus lactis* IO-1 の生産するランチビオティックを過去10年以上にわたり研究してきた。また、長期にわたり腐らずに保存されてきたと言い伝えられているぬか床から新しいランチビオティックを生産する菌を分離した。⁴⁾ これらの抗菌物質は分離源となった漬物その他の伝統発酵食品の製造や食品そのものの微生物的品質管理に貢献しているものと考えられる。しかも、これらの乳酸菌は従来日本人の食習慣にあるもので、安全が保証された天然物質である。そこで、これら乳酸菌の生産する新しい抗菌物質を食品製造に利用することができれば、製造工程の微生物汚染防止、製品品質の向上に大きな貢献が期待できる。このような視点から、我々は現在2つのプロジェクト、すなわち食品産業センター委託研究としての「食品安全性向上技術開発事業」の分担テーマ「安全な天然保存料としての乳酸菌が生産するペプチド性抗菌物質の検索と生産技術の開発」と財団法人福岡県産業・科学技術振興財団の推進する産学官共同研究事業「フローラ調節機能をもつ乳酸菌由来バクテリオシンを利用した機能性食品製造プロセスの開発」を実施中である。

いずれも、我々が独自に我が国の食品や食材関連物質から分離した乳酸球菌の生産するランチビオティックを地場食品産業の製造プロセスに利用し、品質向上を図る

* 連絡先 九州大学農学部食糧化学工学科

〒812-8581 福岡市東区箱崎6-10-1 TEL./FAX. 092-642-3019

E-mail: ishizaki@agr.kyushu-u.ac.jp

うとするものである。ナisin系のランチビオティックは、おにぎりをモデルに使用した雑菌増殖のアッセイ系で市販の各種静菌剤に比較しすぐれた効果を示すことが明らかになった。実用化については、ランチビオティック生産菌の培養液を直接使用するのでは、抗菌物質の単位力価が低かったり、培地の栄養成分が雑菌増殖を促進したりするので、簡単な有効成分の濃縮が必要である。これについては、効率の良い吸着分離が可能なクロマトグラムの開発が進んでいる。また、コストを安く生産す

るには、培地コストの低減が重要である。ホエーに焼酎かすを混合した食品産業廃棄物からの生産を検討している。

- 1) 園元謙二ら：バイオサイエンスとインダストリー，54, 26 (1996).
- 2) 松崎弘美ら：生物工学，75, 125 (1997).
- 3) Matsusaki, H. et al.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 45, 36 (1996).
- 4) Kimura, H. et al.: *Biosci. Biotech. Biochem.*, 61, 1049 (1997).

2. 緩慢な生育をする乳酸菌の特性解明への第一歩

岡田 早苗

食品の混濁事故の原因細菌として分離される乳酸菌の中に生育が非常に緩慢なものがある。一般の乳酸菌が24時間以内に最高生育に達するのに対して、緩慢な生育をする乳酸菌は2日以上、場合によっては7日以上もかかるものがある。特に生育に時間がかかる、あるいは平板プレート上でコロニーを形成しにくい乳酸菌が食品に混入していた場合、それらを検出できずに食品が流通することになる。そして流通過程中にそれら乳酸菌が徐々に生育をし、食品混濁やガス発生、パック膨張などといった事故を引き起こすことになる。ビール混濁、滋養強壮剤のガス発生、減塩醤油のプラスチック容器の膨張など稀に起こる原因は生育が緩慢な乳酸菌によることが多い。

ビールを混濁させる乳酸菌や生育が緩慢なためにそのすぐれた能力の活用に支障を来しているウィスキー発酵醗中の有用乳酸菌について、その生育特性について検討をした。生育の段階に従って、誘導期(lag phase)を短縮することや対数期(log phase)の増殖速度を上昇させるための条件について検討をし、生育が緩慢である原因の解明を試みることにした。これまでに得られた知見からは、緩慢な生育を十分に説明できる結果や考察は得るに至っていないが、下記のような特徴がわかった。

①対数期の増殖速度については、酵母菌体由来する成分を補強することにより、改善を図ることができた。これらの検討の中から酵母菌体由来するナイアシンなどのビタミン結合ペプチド(分子量1,300前後)の存在が明らかになった。¹⁾②誘導期短縮に関連して、NADH/NADのリサイクルに注目し、NADH oxidase 活性を検討したところ、緩慢な生育をする乳酸菌にはその活性がないものが見られた。²⁾このことが乳酸菌の生育段階の初期にどのような影響があるのか検討中である。③生育

が特に緩慢であるビール混濁乳酸菌は生育が認められるまで、4日以上を必要とする。それらの分離株について、DNA=DNA hybridizationの実験結果から、*Lactobacillus lindneri* であるとの結論を得ている。³⁾しかし、*L. lindneri* NRIC 0204^T (type strain) は乳酸菌用一般培地であるMRS培地において、48時間以内にfull growthに達する生育の速い株である(Fig. 1)。DNA同士が高いホモロジー値を示している³⁾にもかかわらず、生育の大きな差は何に由来するのか、解決の手段に使えらと考えている。④混濁事故を起こしたビールから分離直後の乳酸菌をビールなどの液体培地で継代培養する場合、培養液量が少量(5 ml~10 ml)では生育がまったく見られないが、100 ml以上の培地液量にすると生育が見られる。これは乳酸菌が強い嫌気を要求しているわけではないこともわかっている。さらにこのような乳酸菌を実験室で長く継代培養を繰り返していると、生育がやや良好になる傾向がある。生育が良好になるといっても、24時間や48時

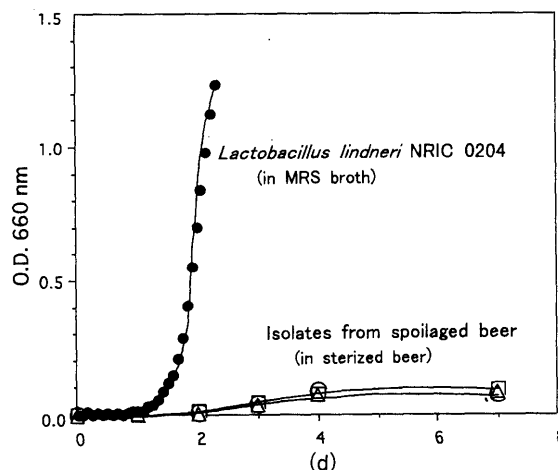


Fig. 1. Growth curves of *Lactobacillus lindneri* NRIC 0204^T and lactic acid bacteria isolated from spoiled draft beer.