

県内資源を活用した加工食品の開発 ～長崎県産物由来の植物性乳酸菌及び酵母を活用した加工食品の開発～

食品・環境科	科 長	河村俊哉
食品・環境科	専門研究員	晦日房和
食品・環境科	主任研究員	玉屋圭
食品・環境科	研究員	松本周三
長崎国際大学	薬学部 教授	榊原隆三
九州大学大学院	農学研究院 准教授	松井利郎
長崎県立大学シーボルト校	看護栄養学部 教授	田中一成

食品製造企業5社

長崎県内産の発酵食品や農産物から植物性乳酸菌を分離し、得られた乳酸菌の食品機能（機能性、保存性、呈味性）を調べることで有用微生物を獲得する。得られた微生物を活用し食品機能を向上させた新規発酵食品の商品化を目指している。今回は昨年に引き続き、漬物、醤油、味噌製造企業をはじめとした県内の発酵食品製造企業から製品や原料等のサンプルをいただき、植物性由来の原料から乳酸菌を分離した。さらに、獲得した乳酸菌による製品の味に関わる乳酸、酢酸等を産生する能力を調べるため、乳酸菌を MRS 培地で培養した後の発酵培養液の有機酸分析を行った。また、発酵培養液の抗酸化能を調べるために DPPH ラジカル消去活性試験も行ったので報告する。

1. 緒言

生活習慣に起因するメタボリックシンドローム等により医療費が増加する中、セルフケアという観点より毎日の食事から健康を維持していくことが重要とされる。食品業界にもその責務が求められ、さまざまな研究、技術開発を行い対応にあたっている。これまでの研究により「プロバイオティクス(腸内の微生物のバランスを改善することにより、人や動物に有益に働く菌体のこと)」等の概念が次第に広まり、古くから食される微生物を利用した発酵食品は特に見直されている。

そのような中で乳酸菌を活用した市場は、植物性乳酸菌を含む飲料を投入したことで、売上高が約 1.5倍となった乳酸菌飲料市場をはじめ、乳製品市場、化粧品市場、健康食品市場、さらにはペット市場にまで大きな広がりを見せており、潜在的な市場が存在すると考えられる。また、発酵食品業界では価格競争が厳しいこともあり、乳酸発酵にかかわる微生物資源の探索や、機能性を付加した新しい商品の開発が強く求められているのが現状である。

そこで、機能性成分や良好な呈味・香気成分、抗菌成分を生産する有用な微生物を探索する。そして、そ

れらの微生物を活用し発酵食品の味や香りを改善し、保存性を向上させ、効率的に食品機能の改善、品質の安定化を図る。また、製品の食味、香り、食感の評価、比較を行うことで差別化し、付加価値の高い商品開発、消費の拡大に繋がる技術支援を目的に本研究を行う。

2. 実験方法

2. 1 乳酸菌培養液の有機酸分析

分析用の乳酸菌培養液は MRS培地に各乳酸菌を植菌後、48時間嫌気条件下で培養したものを 2,000 × g で遠心分離し、その上清を用いた。有機酸の分析には各サンプルを 10倍希釈し、0.45 μm のフィルターでろ過した後、以下の条件で測定した。

- ・装置 : HPLC Waters 660
- ・検出器: 電気伝導度検出器 Waters 431
- ・カラム: Organic Acid 7.8 × 300 mm (Waters)
- ・温度: 50°C
- ・移動相: 5 mM p-トルエンスルホン酸水溶液
(緩衝液: 5 mM p-トルエンスルホン酸水溶液、100 mM EDTA・2Na、20 mM Bis-Tris)
- ・流速: 0.8 ml/min

2. 2 乳酸菌培養液の DPPHラジカル消去能による抗酸化作用の測定

乳酸菌培養液の抗酸化作用の評価は、有色で簡易迅速な手法である DPPH(1,1-ジフェニル-2-ピクリルヒドラジル)ラジカルを用いて実施した。方法は、須田らの方法を一部改変して行った^[1]。試料は、MRS培地に乳酸菌を接種後 36° Cで 2日間嫌気培養し、5,000 rpmで遠心した培養上清を純水で 12.5倍希釈して用いた。なお、ここではブランクに純水を、またコントロール(C)は同じ培地で菌の接種を行わないで同様に嫌気培養・希釈したものを使用した。400 μ M DPPH (in EtOH)、0.2 M MES buffer (pH 6.0)及び EtOHの 3試薬を同量混合し、96穴プレートに各々 150 μ l分注した。さらに試料の希釈培養液(又は希釈培地、純水) 50 μ lを加え攪拌し、室温で 20分間反応した。その後、反応液をマイクロプレートリーダー波長 520nmで測定した。結果は、1次スクリーニングでは n=2で、2次スクリーニングでは n=4で行った平均値を用い、ブランクに対する DPPHラジカルの消去能を相対比として算出した。

3. 結果及び考察

発酵食品製造企業よりいただいた漬物、醤油、味噌、果実等のサンプルから乳酸菌及び酵母が得られた。前年度分を合わせ、これまでに乳酸菌が計 600株、酵母が計 150株獲得することができた^[2]。

有機酸の分析結果から乳酸、酢酸の量を図 1に示す。乳酸を 15 mg/ml 以上産生する菌は比較的酢酸の産生量も多く、目視による菌の増殖も早いものが多かった。乳酸の量は味や香り品質保持に関わるため、今後の試作に用いる菌を選ぶ際の大きな指標となる。

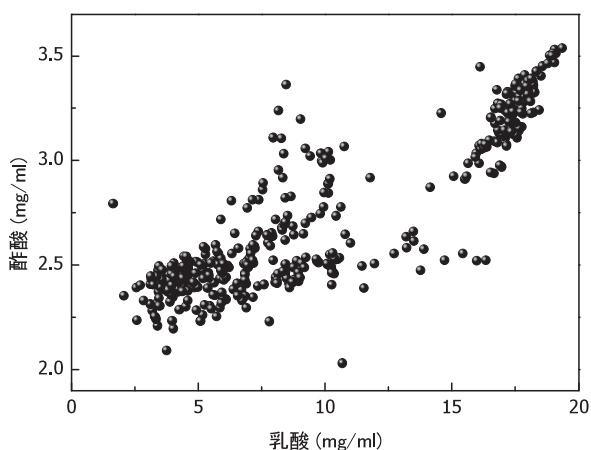


図 1 乳酸菌培養液の乳酸及び酢酸量

抗酸化作用の測定は予備試験として、好気条件で MRS培地の濃度を変えて DPPHラジカル消去能を調べたところ、培地自身に活性があることが判明した。そこで、一般的な乳酸菌の培養である嫌気条件でも調べたところ、嫌気条件は好気条件より DPPHラジカル消去活性が高く、時間的にもその活性が維持されていることもわかった。これらのことから、試料である培養液と培地の比較が容易ではないことが予想された。そのため、培養液と培地の条件を菌の接種の有無だけの最小限の違いになるよう条件設定した。

1次スクリーニングの結果の一部を図2に示している。コントロール(C)の培地だけで約 20%の DPPHラジカル消去活性が認められるが、これに対し A1、A2、A4および A6はその活性がコントロールより 5%以上高く、再現性も確認できた。このような手法により、598株の乳酸菌培養液を調べ 93株選択した。さらに、2次スクリーニングでは n=4で活性及び再現性を確認し、抗酸化性物質を生産する可能性のある乳酸菌として 46株選択した。

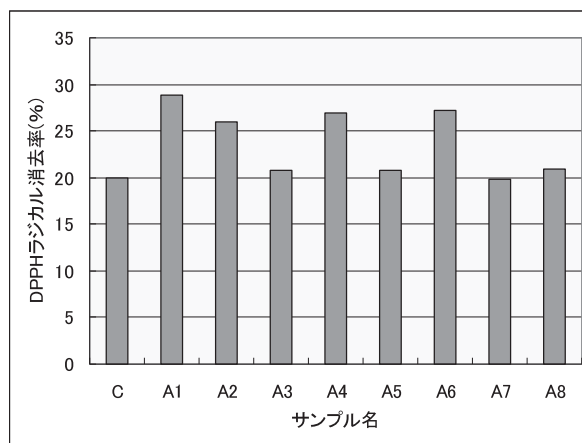


図 2 乳酸菌培養液の DPPHラジカル消去率

4. 結言

本年度の研究で、獲得乳酸菌の有機酸産生能、抗酸化能が明らかになった。今後は乳酸菌の機能性をさらに調べるとともに、試作及び官能試験を行い、製品化へと繋げていく。

5. 謝辞

終わりに臨み、共同研究者であり、乳酸菌や酵母の分離源となるサンプルの提供や試作のアドバイス等をいただいた県内食品製造企業 5社の方々、また本研究に関わる一連のご指導、ご協力をいただきました、長崎国際大学薬学部の榊原隆三教授、九州大学大学院農

学研究院の松井利郎准教授、長崎県立大学シーボルト校看護栄養学部の田中一成教授、を始め関係の方々に深くお礼を申し上げます。

参考文献

- [1] 須田郁夫: 抗酸化機能①分光学的抗酸化機能評価、食品機能研究法、pp.218-223、光琳
- [2] 河村、他: 長崎県工業技術センター研究報告 39、pp.1-2(2009)