

微生物利用による生体機能調節物質の生産に関する研究

渡辺泰成*¹ 横堀正敏*¹ 増田こずえ*² 奥沢洋平*¹ 館博***

Production of the Living Body Function Control Compounds by Microorganisms

WATANABE Yasunari*¹, YOKOBORI Masatoshi*¹, MASUDA Kozue*², OKUZAWA Youhei*¹,
TACHI Hiroshi***

抄録

生もとより取得した乳酸菌でおからを処理し、その抗酸化性及び血圧降下作用が期待されるアンジオテンシン変換酵素阻害活性を測定し、3株を選抜し、その同定を分子生物学的手法により行った。分離した乳酸菌は大豆蒸煮液、豆乳中で良く生育した。クエン酸の資化性が異なる菌株が見られ、乳酸、酢酸の生成経過、pH経過が異なった。大豆蒸煮液を前培養液として使用すると大豆由来成分のみからヨーグルト風豆乳を製造できることが示された。

キーワード：乳酸菌，生もと，抗酸化性，アンジオテンシン変換酵素阻害能，大豆蒸煮液
豆乳

1 はじめに

食品製造残渣にも有用成分が含まれており、その有効利用が求められている。食品残渣を主要原料として用い、微生物利用により新規機能性食品や食品素材の開発を目的として本研究を実施した。

豆腐製造時には栄養豊富なおからが副生し、食用にもなるが、腐敗し易く利用が限られてきた¹⁾。本研究では、植物性の環境であり、古くから使われてきたので安全性も確認されている、清酒の生もとから得た乳酸菌によっておからを処理し、有用な物質を生産させることを試みた。

また、大豆蒸煮液は、味噌、醤油、納豆等の製造において大豆を蒸煮する際に副生する。大豆蒸

煮液は栄養成分を豊富に含んでいるため利用法の検討が進められてきているが、未だ利用される例は少ない²⁾⁻⁴⁾。本年度は、清酒生もとから分離した乳酸菌の培養液として使用し、豆乳の乳酸菌発酵への利用を検討した。

2 実験方法

2.1 供試菌株

清酒の生もとから得た乳酸菌については、前回報告した50株⁵⁾より、生育性の悪いものを除いた27株について、試験を行った。

また、以下の微生物を使用した。

Lactobacillus casei JCM1134、*Lactococcus lactis* JCM5805

2.2 おからの乳酸菌処理

乾燥おから0.5gに水10mLを加え、脱気、混合後、MRS液体培地による乳酸菌の前培養液1mLを添加し、28℃で培養した。これをろ過し

*¹ 北部研究所 生物工学部

*² 北部研究所 技術支援交流室(現生物工学部)

*** 東京農業大学

たる液を以下の試験に供した。

2.3 抗酸化性の測定

カロチン退色法による抗酸化能及び 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) ラジカル消去能を、前報⁵⁾と同様に測定した。

2.4 アンジオテンシン変換酵素 (ACE) 阻害活性の測定

セミマイクロセルに Trinity Biotech 製 ACE REAGENT 1mL、試料(ブランクは水)0.02mL、Trinity Biotech 製 ACE CONTROL-N 0.1mL を入れてよく混ぜ、37℃ で 30 分後と 60 分後の 340nm の吸光度の差をとった。これは N-[3-(2-furyl)acryloyl]-L-phenylalanyl-glycylglycine の ACE による加水分解を 340nm の吸光度変化で追ったもので、この変化が小さいほど、血圧上昇作用のある ACE を阻害したことになる。試料添加時の吸光度減少を A、ブランクを A₀ と表した場合、 A/A_0 を ACE 阻害能として、これが小さいほど ACE 阻害活性が大きいものとした。

2.5 乳酸菌の分子生物学的手法による同定

16S rRNA の配列をデータベースで同源性検索を行った⁶⁾。

2.6 乳酸菌の培養及び菌数測定

大豆蒸着液は限外ろ過(分画分子量 20000)し、加熱滅菌したものを使用した。対照として MRS 培地を使用した。どちらの場合も前培養液 0.1mL を加え、30、16 時間培養した。生菌数の測定には MRS 培地を使用した。

2.7 豆乳の乳酸発酵

レトルトパックされた豆乳(固形分 14%)50mL を滅菌した 100mL ビーカーに取り、各乳酸菌の大豆蒸着液培養液 0.5mL を加え 30℃ で培養した。

2.8 有機酸の分析

昭和電工製有機酸分析システムを使用し行った。

3 結果及び考察

3.1 抗酸化性、ACE 阻害活性による乳酸

菌の選抜

生育性の良い乳酸菌全 27 株について、3 日間おからを処理したる液の、カロチン退色法による抗酸化能、DPPH ラジカル消去能、ACE 阻害能を図 1 ~ 3 に示した。それぞれ活性の高い株として、No.10、21、17 を選択した。

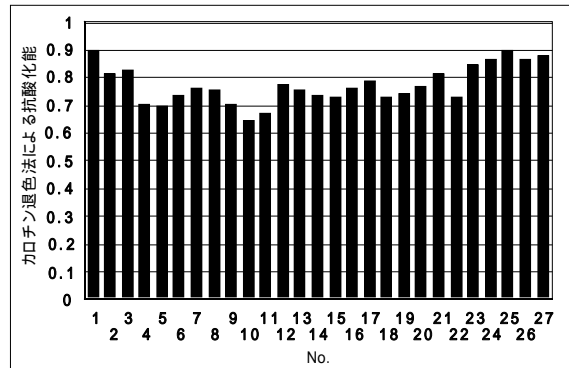


図1 カロチン退色法による抗酸化能

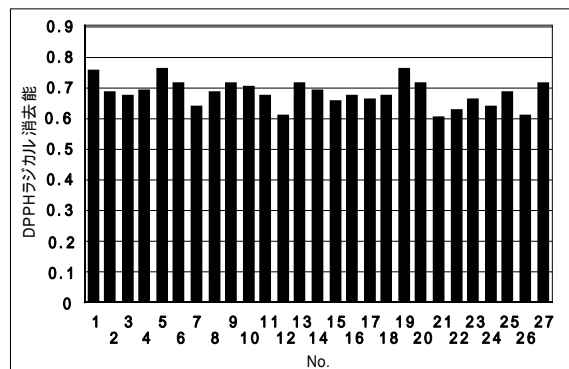


図2 DPPH ラジカル消去能

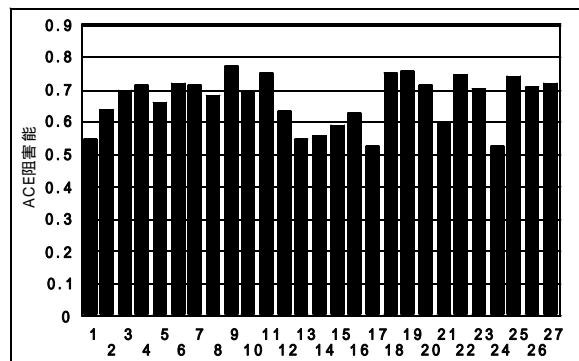


図3 ACE 阻害能

3.2 各活性の経時変化

3.1 で選択した 3 株について、乳酸菌処理時間を変えた場合の各活性を測定した(図 4 ~ 6)。2 ~ 3 日の処理で活性が高くなった。

3.3 乳酸菌の同定結果

同源性検索の結果、No.10 は *Lactobacillus curvatus*(同源性 100%)、17 は *Leuconostoc citreum*

(相同性 100%)、21 も同じく *Leuconostoc citreum*
(相同性 99 ~ 100%) であった。

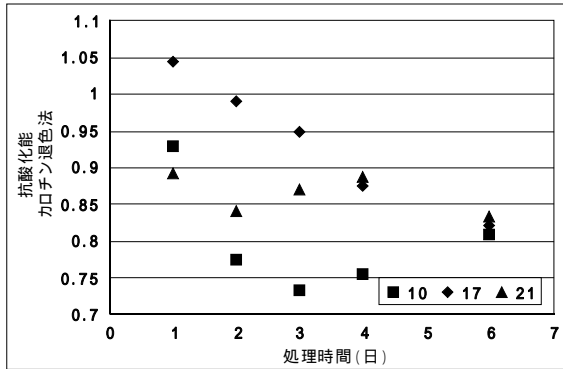


図4 カロチン退色法による抗酸化能の経時変化

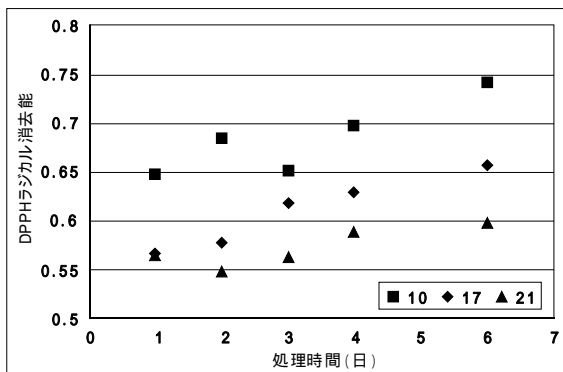


図5 DPPHラジカル消去能の経時変化

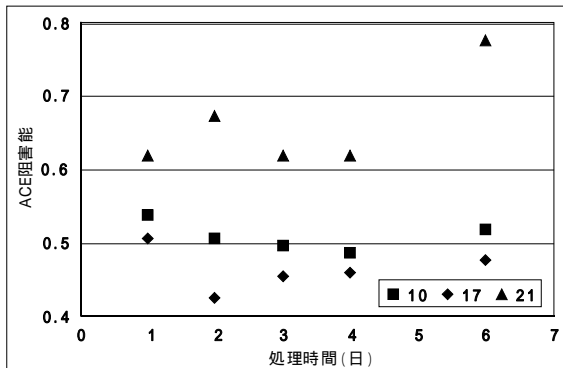


図6 ACE阻害能の経時変化

3.4 大豆蒸煮液、豆乳での乳酸菌の生育

清酒生もとから分離した乳酸菌のうち、15株は大豆蒸煮液に良好に生育した。その中で抗酸化性に優れていた No.21、26 について、MRS 培地、大豆蒸煮液、豆乳中での生育を *Lactobacillus casei* JCM1134、*Lactococcus lactis* JCM5805 と比較した。対照とした乳酸菌は MRS 培地に比べ豆乳中での生育が少なかったが、生もと乳酸菌 2 株は比較的良好であった(図7)。

3.5 分離乳酸菌の有機酸生成

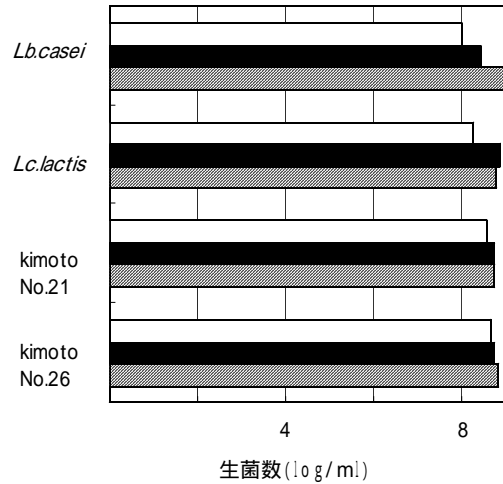


図7 乳酸菌の生育に対する培地の影響

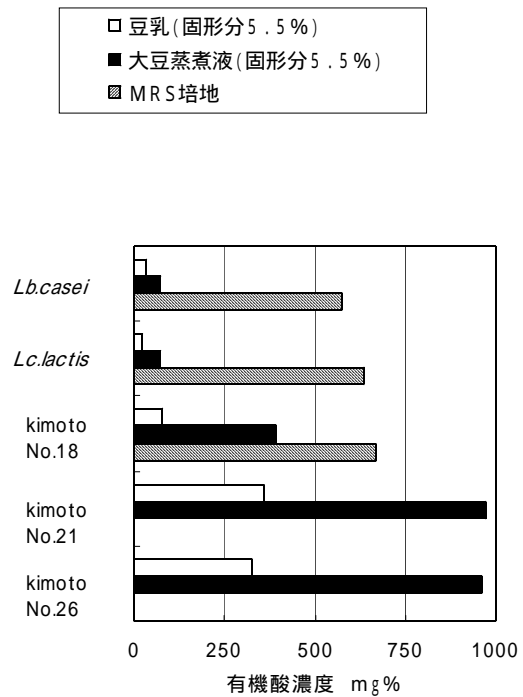


図8 大豆蒸煮液での乳酸菌の有機酸生成

大豆蒸煮液で生育の良好であった生もと由来乳酸菌の有機酸生成経過をみた結果、クエン酸を資化する菌(11株)と資化しない菌(4株)とが見られた。代表例を図8に示す。また、乳酸と酢酸の比率も異なった。

3.6 豆乳の乳酸発酵

豆乳の乳酸発酵中の有機酸生成、pHの経過を図9、10に示す。図9はクエン酸を資化する

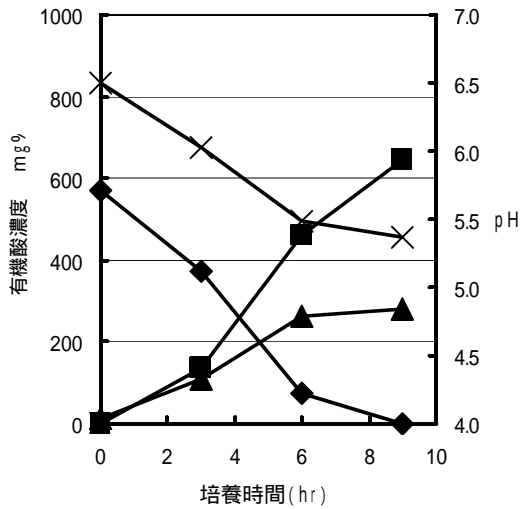


図9 kimoto No.21株の豆乳中での有機酸生成、pH経過

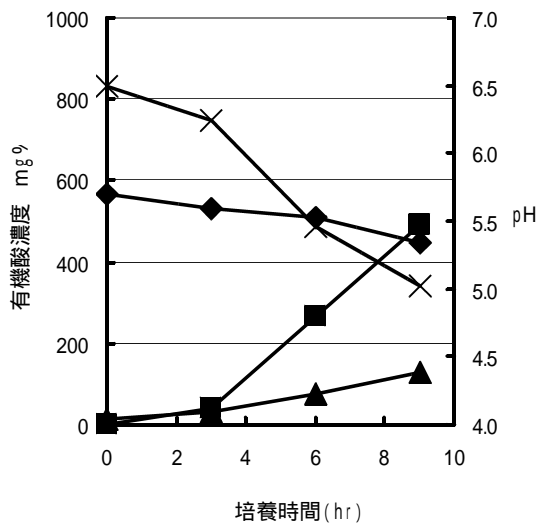
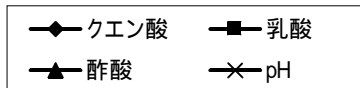
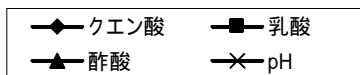


図10 kimoto No.18株の豆乳中での有機酸生成、pH経過



No.21 株の結果でクエン酸の減少に伴い乳酸、酢酸が生成するが No.18 株に比べ酢酸の比率が大きく pH の低下が緩慢である。図 10 は No.18 株の結果でクエン酸はほとんど減少せず、No.21 株に比べ酢酸の比率が小さく、pH の低下が急である。

培養 6 時間前後から粘性が増加し、その後ヨー

グルトのような状態となる。官能的には No.18 株の方が、酸味が強いものの好まれ、ヨーグルト風豆乳の製造への可能性が示された。

分離した乳酸菌は大豆蒸煮液での生育が良好で、これを前培養液として使用すると基本的には他の栄養成分を添加することなく大豆由来成分のみから製造できることになる。

また、豆乳にショ糖を添加し、乳酸菌を培養した場合は、その生育に伴いショ糖は減少し、果糖が増加(検出されず 3.5%(No.18株) 3.8%(No.21株))した。この結果は荒等⁷⁾が報告した現象と同一と思われる、No.18,21 株はショ糖を分解してブドウ糖を生育に利用するため、果糖が蓄積されたものと推定された。

4 まとめ

(1) 生もとから得られた乳酸菌でおからを処理し、その抗酸化性と ACE 阻害性から 3 株を選択した。

(2) これらの菌株により生体機能調節物質の生産が可能であることが示された。

(3) 選択した 3 株について、分子生物学的手法による同定を行った。*Lactobacillus curvatus* が 1 株と *Leuconostoc citreum* が 2 株であった。

(4) また、分離した乳酸菌は大豆蒸煮液、豆乳中で良く生育した。クエン酸の資化性が異なる菌株が見られ、乳酸、酢酸の生成経過、pH 経過が異なった。

(5) 大豆蒸煮液を前培養液として使用すると大豆由来成分のみからヨーグルト風豆乳を製造できることが示された。

謝辞

生もと及び大豆蒸煮液を提供していただいた県内各企業に感謝いたします。

参考文献

- 1) 遠藤浩志：食品工場からの副産物の有効利用，日本醤油研究所雑誌，24，(1998)225

- 2) 岡秀樹：純植物性乳酸菌飲料について，食品工業，**31**，15(1988)72
- 3) 古田正範，樋口智子：食品関連未利用資源の素材化に関する調査研究，福岡県工業技術センター研究報告，**14**，(2004)39
- 4) 松田茂樹：発酵食品副産物の機能性成分と再資源化技術の開発，日本食品保蔵学会誌，**30**，(2004)141
- 5) 渡辺泰成，横堀正敏，増田こずえ，奥沢洋平，館博：微生物利用による生体機能調節物質の生産に関する研究，埼玉県産業技術総合センター研究報告，**2**，(2004)87
- 6) 井上和春，大澤千恵子，高橋広子，石川準一，吉岡久雄，又重英一：乳酸菌・酵母を利用した新規穀類加工食品の開発，埼玉県産業技術総合センター研究報告，**2**，(2004)92
- 7) 荒勝俊，吉松正，小島みゆき，川合修次，大久保一良：新規乳酸菌を用いた豆乳発酵食品の呈味改善，日本食品科学工学会誌，**49**，(2002)377