ホエー中での *Lactobacillus acidophilus* の生育の改善

伊藤敬敏・山路厚雄・西村順子

東北大学農学部, 仙台市 981

(Received August 10, 1990)

Key words: *Lactobacillus acidophilus*, whey

Lactobacillus acidophilus や *Bifidobacterium* は人の腸管内で生育することができることから, これらを経口的に摂取することによって, 腸管内における有害な細菌の生育が抑制され, 抗腫瘍活性や血清コレステロール値の低下などの好ましい生理的効果の得られることが示唆されている^{1,4)}. わが国では, 近年特に *Bifidobacterium* に注目が集まり, これを用いた発酵乳などの製品の普及が著しいが, 欧米では古くから, *L. acidophilus* を用いた製品が広く普及している⁵⁾. *L. acidophilus* は腸管内においては主として小腸下部に優勢であり, 大腸に優勢な *Bifidobacterium* とはすみわけがなされていると考えられている. また, その生育には *Bifidobacterium* ほど強い嫌気的条件を必要とせず, 生菌の生残性も高いことから, 発酵乳などの製造も比較的容易である. 従って, *L. acidophilus* の利用についてはわが国でももっと考慮すべきものと考えられる.

しかしながら, *L. acidophilus* は牛乳中では一般的に生育が遅く, 特に人の腸内から分離した菌株は増殖が緩慢である. そこで本研究では, 牛乳中での生育促進をはかる目的で, ホエーを用いて *L. acidophilus* の生育状況と添加物の効果について調べた.

材料および方法

菌株は理化学研究所より分与をうけた *Lactobacillus acidophilus* JCM 1028, 1034, 1132, 1229, 2125, 5342, 5808, 5811 の 8 菌株を使用した. これらのうち, JCM 5808 を除いて人の腸管由来の菌株である.

酵母エキス, カジトンおよび牛肉エキスは Difco Lab (USA) のものを, ポリペプトン・ペプトンは BBL

(USA) のものを使用した.

除タンパク酸ホエーおよび除タンパクレンネットホエーの調製: 脱脂粉乳またはレンネットホエーパウダーを水に溶解して, それぞれ 10% および 7% 溶液としたのち, 2 N HCl を加えて pH 4.6 とし, 90°C 以上で 30 分間加熱した. 沈殿を遠心分離で除去し, 上澄を 2 N NaOH で pH 6.7 としたのち, 再度 90°C 以上で 30 分間加熱した. 沈殿を遠心分離で除去したものをそれぞれ, 除タンパク酸ホエーおよび除タンパクレンネットホエーとした.

肝臓および卵黄の酵素分解物の調製: 豚肝臓をスライスし, 100°C で 15 分間水煮したのちスライス部を水と共にホモジナイズし, 1 N アンモニアで pH 7.8 とした. 卵黄は布ろ過したのち水で 8 倍に希釈し, 100°C で 20 分間加熱し, 全体をホモジナイズした. ホモジナイズした肝臓と卵黄に, トリプシン (Sigma, USA) を固形分量のそれぞれ約 1/50 量および 1/100 量加えて, 37°C で 24 時間反応させた. 反応後 100°C で 10 分間加熱して反応を止め, 不溶物を遠心分離によって除去した. 卵黄の上澄液はさらにメンブランフィルター (0.22 μ m) でろ過した. それぞれの上澄部をとって凍結乾燥した. 豚肝臓および卵黄より調製した凍結乾燥物中の窒素含量は, それぞれ 13.45% および 12.03% であり, いずれも 12% トリクロル酢酸で沈殿を生じなかった.

培養試験法: *L. acidophilus* は MRS 培地⁶⁾を用いて 37°C で 24 時間の前培養を 2 度くりかえしたものをスターター菌とした. 培地として, 除タンパク酸ホエーまたは除タンパクレンネットホエーを基礎として, これに種々の添加物を加えたものを共栓付試験管中でオートク

Improvement of Growth of *Lactobacillus acidophilus* in Whey: Takatoshi ITOH, Atsuo YAMAJI and Junko NISHIMURA (Faculty of Agriculture, Tohoku University, Sendai-shi 981)

レーブ滅菌した。これにスターターを2%量加えたのち、キャピラリーを通してCO₂を30秒間吹き込み、密栓して37°Cで培養を行ないながら、660 nmで経時的に濁度を測定した。

結 果

図1-Aは除タンパク酸ホエーを用いて *L. acidophilus* 8菌株を培養した場合の菌の増殖の状況である。いずれも生育は緩慢であり、ゆっくりとした増殖を示すものと、ほとんど増殖しないものに大別された。

図1-Bは、同じ8菌株を除タンパクレンネットホエー中で培養した場合の結果である。JCM 1034を除いては、一般的に増殖速度が増加した。レンネットホエーは、チーズ製造時に添加されるレンネット中のキモシンやペプシンの作用によって乳タンパク質の一部が分解され、低分子窒素化合物が増加しており、これが生育促進効果を示すものと考えられる。しかしそれでも、生育は一般的に満足なものとはいえなかった。

図1-Cは、JCM 5342株を用いて、除タンパク酸ホエーに、市販の種々の培地成分を加えて、生育状況を調べた結果である。いずれの添加物も、JCM 5342の生育をいくぶん向上させたが、これらの単独の添加によっては顕著な効果は認められなかった。JCM 5342はMRS培地中では良好な生育を示し、37°Cで24時間の培養後に660 nmの吸光度が約1.4に達する。MRS培地は糖源がグルコースであるが、除タンパクホエーにグルコースを1%添加しても生育がそれほど向上しないことから、ホエー中での生育の悪さは、糖源がラクトースであることによるためだけではないと考えられる。

図1-Dは、*L. acidophilus*の生育に有効な成分を検索する目的で、種々の成分について試験を行なった結果の中から、肝臓と卵黄のトリプシン分解物の効果について示したものである。除タンパク酸ホエー中で特に生育の不良なJCM 1032、1132、2125および5342は、肝臓分解物の添加によっていずれも生育が大幅に向上し、卵黄分解物もそれに次ぐ効果を示し、これらが、*L.*

Fig. 1. Growth of *Lactobacillus acidophilus* in deproteinised acid whey and deproteinised rennet whey, and effect of several additives.

Strains; ▲; JCM 1028, △; JCM 1034, ▼; JCM 1132, ▽; JCM 1229, ●; JCM 2125, ○; 5342, ■; JCM 5808, □; JCM 5811,

A: Deproteinised acid whey base.

B: Deproteinised rennet whey base.

C: Deproteinised acid whey base, 1; no additive, 2; casitone 0.5%, 3; polypeptone-peptone 0.5%, 4; yeast extract 0.5%, 5; beef extract 0.5%, 6; glucose 1%.

D: Deproteinised acid whey base, —; no additive,; tryptic hydrolysate of egg yolk 0.5%, - - - -; tryptic hydrolysate of liver 0.5%.

acidophilus のホエー中での生育促進に有効であることが知られた。なお、データとして示していないが肝臓と卵黄から、トリプシンとアクチナーゼ E による同一条件での分解によって得られた成分の比較では、トリプシン分解物の方がいくぶん良好な効果を示した。また、トリプシン分解物の効果は、分解条件によってかなり異なることが観察されたことから、分解の最適条件については検討する必要があると考えられた。

一方、加熱卵白のトリプシン分解物やトマトの水抽出成分には全く効果が認められなかった。また酸カゼインのトリプシン分解物の効果も低いものであった。なお CO₂ の吹き込みは、全体的に *L. acidophilus* の生育を向上させた。

考 察

L. acidophilus は一般的に牛乳中での生育が遅く、特に人の腸内より分離した菌株は増殖が緩慢であるといわれている。用いた菌株もホエー中では生育が遅く、特に除タンパク酸ホエー中での生育の悪いものが多かった。レンネットホエー中ではかなりの改善がみられることから、レンネット処理によって生じる分解生成物の中に、生育を向上させる成分のあることが考えられる。

乳酸菌の牛乳中での生育をはかるために、アミノ酸、ペプチド、核酸関連物質、ビタミンなどの添加が行なわれることがある。*L. acidophilus* では、脱脂乳への 0.02% のシスチン、0.1% のグルコースなどの添加が有効であると報告されている³⁾。しかし、JCM 5342 を用いた今回の試験ではこれらの単独の添加は、必ずしも良好な結果を示さなかった。

肝臓や卵黄のプロテアーゼ分解物が、ホエー中で特に生育の不良な 4 種の *L. acidophilus* の生育促進に有効であった。このようなタンパク質のプロテアーゼ分解物中に含まれる有効成分については、ペプチド関連物質の効果の面から追求が行なわれており、低分子ペプチドが有効であることが知られている²⁾。しかし結局は特定

のペプチドが特異的に関与するものではなく、種々のペプチドの組み合わせによって効果が生まれるものと考えられている。肝臓や卵黄のプロテアーゼ分解物中の有効成分についてはまだ不明であるが、ペプチド以外の成分も関与していることが予想される。湧口は魚肉のプロテアーゼ分解物が、乳酸菌の生育、促進に有効であることを報告しているが⁷⁾、これらの成分も *L. acidophilus* の生育を促進することが期待される。

なお、肝臓プロテアーゼ分解物には特有の臭気が残っているため、牛乳やホエーを用いての発酵乳の製造には適さない面もあるが、このような場合には卵黄分解物が適していると考えられる。

文 献

- 1) GILLILAND, S.E., *Acidophilus* milk products: a review of potential benefits to consumers. *J. Dairy Sci.*, **72**: 2483-2494. 1989.
- 2) 北原覚雄, 乳酸菌の研究. 279-283. 東京大学出版会. 1966.
- 3) MARSHALL, V.M., W.M. COLE and J.R. VEGA, A yoghurt-like product made by fermenting ultrafiltered milk containing elevated whey proteins with *Lactobacillus acidophilus*. *J. Dairy Res.*, **49**: 665-670. 1982.
- 4) 中澤勇二・細野明義編, 発酵乳類の機能. 297-307. 321-331. 食品資材研究会. 東京. 1988.
- 5) ROBINSON, R.K. and A.Y. TAMIME, Microbiology of fermented milk. in *Dairy Microbiology* Vol. 2 (ROBINSON, R.K. ed). 272-273. Applied Sci. Pub., London. 1981.
- 6) 山里一英・宇田川俊一・児玉 徹・森地敏樹編, 微生物の分離法. 441. R and D プランニング. 東京. 1986.
- 7) 湧口浩也, 魚肉分解物の醗酵乳への利用に関する研究, 第 1 報, 各種乳酸菌の発育に及ぼす魚肉分解物の影響. 酪農科学・食品の研究, **30**: A-95-A-104. 1981.