総 説

乳酸菌利用技術の発達と今後の展望

森地敏樹

日本大学生物資源科学部

はじめに

乳の利用は、世界各地の牧畜文化の原点である。乳は腐敗しやすく、また昔は大量に得られる季節が限られていたため、牧畜民族は乳を保存性のよい乳製品に加工しなければならなかった¹⁾。乳加工に用いられるいくつかの基本的手法のなかで、最も自然な方法が乳酸発酵であったといえる。

発酵乳の歴史はきわめて古く、例えば旧約聖書の創世記に、アブラハムが3人の天使を凝乳でもてなしたと記されている。世界には牛乳だけでなく、山羊乳、羊乳、水牛乳、馬乳などを原料とするいろいろな発酵乳があり、ヨーグルトや発酵クリームをはじめ、レーベン、ダヒ、アイラン、ケフィール、クミスなども1,000年から3,000年に及ぶ歴史をもつ発酵乳である。

一方、チーズはおよそ8,000年前にティグリス川とユーフラテス川にはさまれた「肥沃な三日月」地帯で最初につくられた²⁾。チーズについては、旧約聖書のヨブ記やサムエル記、古代エジプトの墓、ホメロスやアリストテレスらの著したギリシャの古典のなかに記述されている³⁾。ギリシャで高度に発達したチーズの製造技術は紀元前1,000年頃に海路イタリアにもたらされ³⁾、ローマ時代に入るとチーズの製造法はほぼ確立された。ローマ帝国時代にすでに現在のパルメザンやゴルゴンゾラの原型ができ上がっていたといわれ³⁾、後者の名前は897年の文献に見出される³⁾。

中世のヨーロッパにおいて、チーズ製造技術を継承し、発展させる役割を果たしたのは、主として修道院と封建領主の荘園であった。それらの生活環境は基本的に自給自足であったから、同一の原料乳を使ってもそれぞれ独自のチーズを生み出した。その結果、現在400種類とも、1,000種類ともいわれる多種多様なチーズが生れたと考えられる³⁾。14世紀半ばに刊行された

デカメロン⁴⁾のなかでパルミジャーノ・レジャーノ（パルメザン）の美味が賛美されているが、松平³⁾は北イタリアのポー河流域の現在のパルミジャーノ工場で、「夕乳を一晩静置する脱脂工程で牛乳中の乳酸菌を増殖させ、さらに前日のチーズホエーを伝統的な壺で一晩発酵したシエロ・インネスト（おそらく特有の高温性乳酸菌を多数含む）を接種する」製法が7世紀前とまったく同様に、頑固に守り続けられている状況を記述している³⁾。このように人類は未だ乳酸菌の存在を知らないうちに、発酵乳製品をはじめ、各種食品の調味と保蔵に適した乳酸菌を巧みに利用する知恵を身につけ、継承してきた。今回機会を与えられたので、浅学を顧みず、乳酸菌利用技術の発達と今後の展望について私見を述べさせていただく。もとより網羅的な総説を意図したものでないことをあらかじめお断りしておきたい。

乳酸菌の発見と分類体系の進歩

周知のごとく、乳酸菌が Pasteur (1857) によって発見されたのは、いまから約140年前である。その後、主要な乳酸菌は20世紀初頭までに発見された。すなわち、1873年に Lister が酸敗した乳から初めて *Bacterium lactis*（現在の *Lactococcus lactis*）を分離し、続いて1889年に Tissier がビフィズス菌、1900年に Moro が *Lactobacillus acidophilus*、1904年に Metchnikoff がヨーグルトの特徴的な乳酸菌を発見した。その後 Orla-Jensen がヨーグルトから分離される桿菌を *Thermobacterium bulgaricum*（現在の *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*）、球菌を *Streptococcus thermophilus* と命名し、さらに乳酸菌全般にわたる分類体系の基礎を築いたのが1919年である⁴⁾。Orla-Jensen は、乳酸菌を7属、

すなわち *Thermobacterium*, *Streptobacterium*, *Betabacterium* (以上3属が現今の *Lactobacillus*), *Streptococcus*, *Betacoccus* (*Leuconostoc*), *Tetracoccus* (*Pediococcus*), *Microbacterium* (*Brochothrix*) に分けたが、その体系の大筋は現行のものに取り入れられている。

爾来、1984年に *Streptococcus* 属から *Enterococcus* 属の独立、1985年に同じく *Lactococcus* 属の独立が提言されるまで約65年間、主要な乳酸菌は *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* の4属とされてきた。そして鈴木⁵⁾が指摘した通り、1986年に Bergey's Manual of Systematic Bacterio-

logy Vol.2 が出版された直後から、乳酸菌は系統分類学的アプローチにより属レベルの体系の再構築が進められた。現在の分類体系では乳酸菌は12属(以上)に分けられる。これらの表現型形質による識別の要点は表1の通りである⁶⁾。この表では *Carnobacterium* と *Lactobacillus*, *Vagococcus* と *Lactococcus* の区別はできないが、*Carnobacterium* と *Vagococcus* は特有の菌体脂肪酸組成により化学的に他の乳酸菌と識別できる。また、*Oenococcus* は従来の検査法では *Leuconostoc* 属に紛れこむが、酸とエタノールに対する高い耐性によって容易に見分けられる⁶⁾。

表1 表現形質による乳酸菌の属レベルの識別 (Axelsson⁶⁾)

検 査 項 目	桿 菌		球 菌							
	<i>Carnobacterium</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Aerococcus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Lactococcus</i> { <i>Vagococcus</i>	<i>Leuconostoc</i> { <i>Oenococcus</i>	<i>Pediococcus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Tetragenococcus</i>	<i>Weissella</i>
四連球菌の形成	—	—	+	—	—	—	+	—	+	—
グルコースからのCO ₂ 生成	—	±	—	—	—	+	—	—	—	+
10℃での発育	+	±	+	+	+	+	±	—	+	+
45℃での発育	—	±	—	+	—	—	±	±	—	—
6.5%NaCl耐性	ND	±	+	+	—	±	±	—	+	±
18%NaCl耐性	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—
pH4.4での発育	ND	±	—	+	±	±	+	—	—	±
pH9.6での発育	—	—	+	+	—	—	—	—	+	—
乳酸の旋光性	L	D,L,DL	L	L	L	D	L,DL	L	L	D,DL

註 (1)表中の+は陽性、—は陰性、±は菌種によって異なる、NDは測定結果なし。

(2)*Weissella*は菌種によって形態が桿状を呈する場合もある。

(3)グルコースからのCO₂生成で、—はホモ発酵型、+はヘテロ発酵型を意味する。*Lactobacillus*の±は、菌種によりホモまたはヘテロの相違があることを示す。

(4)*Carnobacterium*は培地の種類によっては少量のCO₂を生成する場合がある。

(5)乳酸の旋光性が2または3種類併記されている場合は、菌種によって相違があることを意味する。

表1に示した12属の乳酸菌は、16SリボソームRNAの塩基配列に基づくグラム陽性細菌 Low G+C グループ (53%以下) の進化系統樹においてひとつのクラスターにまとまっていて、系統分類学的な近縁関係が明らかにされつつある⁹⁾。*Lactobacillus* 属は60種以上の菌種を包含し、G+C%が33~55%に及ぶかなり異質な構成の属であるが⁹⁾、現在では絶対ホモ型 (EMP経路をもつ)、通性ヘテロ型 (EMP経路とHMP経

路をもつ)、絶対ヘテロ型 (HMP経路をもつ) の3群に分けられる。これは前述の Orla-Jensen⁹⁾ の分類における *Thermobacterium*, *Streptobacterium*, *Betabacterium* とほぼ対応するものである^{5,7)}。乳業関連の乳酸菌の菌種については、別の場所で私見を述べたので⁸⁾、ここでは割愛する。

なお、*Bifidobacterium* (ビフィズス菌) はグラム陽性細菌の High G+C グループに属し、偏性嫌気性、

多形性桿菌で、グルコース 1 モルから乳酸 1 モルと酢酸 1.5 モルを産生し、栄養要求性もかなり特異的である。しかし現在この細菌がプロバイオティックスとして広く実用化されており、乳酸生成量も理論的には 50 % であるので、“広義の” 乳酸菌に含めて考える場合が多い。

スターターの誕生とその管理技術の進歩

食品原料にはいろいろな種類の“野生型” 乳酸菌が存在する。昔の発酵乳やチーズの製造は自然の乳酸発酵に任せるか、あるいは偶然よくできた製品の一部を共種式に添加して行われた。このことは前述のパルメザンチーズの伝統的な製造法にも見られるところである。漬物類の製造でも多くの場合、野菜に付着している乳酸菌を巧みに生育させる手法が用いられる。また、インドネシアの伝統的発酵乳グディヒは、未殺菌の水牛乳を新鮮な竹筒に入れ、バナナの葉で覆い一夜室温で発酵するが、乳酸菌は原料乳、竹筒、バナナの葉に由来すると考えられる⁹⁾。酸度が適度で、フレーバーのすぐれた発酵クリームを「天然スターター」として、殺菌クリームに加えるようになったのは 1890 年頃のことである。そして 20 世紀初頭に、自然界から分離した乳酸菌の純粋培養をスターターとして接種し、良質な発酵乳を安定的に生産する技術が発達し、これと相俟って乳業用乳酸菌に関する研究も進展した。スターター用乳酸菌は人々が長い年月をかけて利用目的に叶った優良な菌種・菌株を自然界から選抜・馴致した、いわば“ドメスティケートされた” 細菌である。一例を挙げると、*Streptococcus lactis* (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*) は作物や生乳に広く分布し、どちらかといえば野生的な乳酸菌である。一方、この菌の亜種とされる *Streptococcus cremoris* (*L. lactis* subsp. *cremoris*) は、発酵乳製品（チーズなど）以外には自然界にほとんどは存在せず、これは人間が育成した乳酸菌のひとつと考えることができる¹⁰⁾。

現在かなり多くの種類のスターター用乳酸菌¹¹⁾が市販されており、容易に入手できる。乳業用スターターは中温性と高温性に大別され、中温性スターターは通常 21~30℃ で培養するのに対し、高温性スターターの適温は 40~50℃ の範囲にある。中温性スターターは各種チーズ、発酵バター、サワークリームなどの製造に用いられ、*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *L. lactis* subsp. *cremoris*, *L. lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* などの一部または全部を含んでいる。菌種・

菌株の構成とバランスは重要であり、中温性スターターは次の 4 種類に細分できる^{12,13)}。

- (1) 単一菌株スターター：ひとつの菌種のひとつの菌株の純粋培養。
- (2) 多菌株スターター：ひとつの菌種の複数の菌株を含む。
- (3) 多菌種・多菌株スターター：複数の異なる菌種の異なる菌株を含む。
- (4) 伝統的な混合スターター：菌種・菌株の一部または全部が不明。

従来、ヨーロッパのチーズの製造には伝統的な混合スターターが使われてきた。現在でもオランダでは菌株が適切なバランスを保った P スターターをローテーションなしに利用している。これと対照的にニュージーランドではすでに 1934 年に *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* の純粋培養が商業的に導入された。このタイプのスターターは、含まれている菌株の数と特性が知られていることが特徴で、フェージに対する抵抗性を基礎に選抜された多菌株スターター方式は 1970 年代にニュージーランドに定着し、その後各国に普及した。

一方、高温性スターターとしては、ヨーグルト用の *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* と *Streptococcus thermophilus* ならびにクッキング温度の高い一部のチーズの製造に用いる *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. delbrueckii* subsp. *lactis*, *L. helveticus* などがある。スイスやイタリアでつくられる超硬質チーズには主として伝統的な混合スターター（アルチザン・カルチャー）が用いられる。前述のパルミジャーノ工場の発酵ホエー（シエロ・インネスト）がその好例である。これに対して、フランスやフィンランドでは *L. helveticus* や *S. thermophilus* などの単一菌株スターターが利用されている。さらに最近では、イタリアの硬質チーズのスターターに用いる *L. helveticus* の表現型形質¹⁴⁾だけでなく、遺伝子型¹⁵⁾の多様性が菌株レベルで論議される段階に達している。

直接使用型濃縮スターター

ここ約 1/4 世紀の間における乳酸菌利用技術の大きな変革のひとつとして、伝統的なスターター・システムが徐々に直接接種型濃縮スターターに移りつつあることが指摘される。もちろん液体培養（マザースターター）を継代・増菌する従来の方式が今後も広く利用されるであろうことは間違いないが、一方で液体窒素凍結または凍結乾燥した濃縮菌液スターター（frozen

or freeze-dried concentrated culture) の利用^{8, 13, 16)}も急速に普及することが予想される。この技術は、伝統的に乳酸菌を使い慣れている乳業界だけでなく、それ以外の分野においても乳酸菌スターターの利用を容易にした点で画期的な意義をもつものである。

直接使用型濃縮スターターの利点は次の通りである。(1)継代によってスターターの菌群構成や特性が変化することおそれがない。(2)有害菌やファージが汚染する危険がない。(3)何段階かの増菌操作を省略でき、資材・労力の節約とともに、製造計画に柔軟性をもたせることができる。(4)実施に際して特別の熟練を必要とせず、しかも品質の安定した製品をつくることができる。(5)使用に先立って活性を測ることができる。(6)混合培養が困難なスターターでも、個々の濃縮菌を適宜混合して直接製造に利用でき、また接種量の調整が容易である。(7)*Lactobacillus acidophilus* やビフィズス菌のように発酵過程で生ずるフレーバーが必ずしも好ましくない菌でも、直接製品に添加することにより、その欠陥を回避できる。

これに対して、本システムには次のような欠点もあることを忘れてはならない。(1)活性を安定に維持するため、輸送や貯蔵の際、特に凍結菌の場合は厳密な温度管理が必要である。(2)この点で凍結乾燥菌は輸送や保管が容易であるが、乾燥処理で生ずる代謝障害^{17, 18)}により活性が低下することおそれがあり、その防止に工夫を要する。(3)品質や活性の検査が必要である。(4)自社内で濃縮スターターを調製しない限り、幅広い製品の独自性を打ち出すことが難しい。すなわち、製品の最終的品質を左右する重要な部分をスターター提供者に依存することになる。(5)産業的に利用されるすべての乳酸菌の大量培養、凍結あるいは凍結乾燥保存が成功しているわけではない。なお、コストの問題は、このシステムの利点を勘案しつつ、経営として総合的に判断すべき事項である。

利用範囲の拡大

乳酸菌スターターの利用は、当初発酵乳製品が中心であったが、次第に利用範囲が広がった。例えば、乳酸菌はセミドライまたはドライソーセージの製造において、練り肉の熟成期間を短縮し、適度な酸味と独特のぴりとしたフレーバーを生ずるとともに、肉蛋白質の変性により発酵ソーセージ特有のしまりのあるテクスチャーとするため、重要な役割を果たしている。また乳酸菌は製造工程の安全性を確保し、製品の貯蔵性を高める効果をもつ。米国では1940年にセミドライ

タイプの発酵ソーセージに*Lactobacillus plantarum*などの乳酸桿菌を適用する特許が取得された。そして1957年に*Pediococcus cerevisiae* (現在の分類では*P. acidilactici*)を含むスターターが初めて商業的に導入された。ヨーロッパのドライソーセージでは、むしろ micrococci の利用が先行したが、1966年には *pediococci* に加えて、*L. plantarum* がスターターとして使われるようになった。現在では、*Pediococcus acidilactici*, *P. pentosaceus*, *Lactobacillus plantarum*, *L. sake*, *L. curvatus* などが食肉用のスターター菌として利用されている¹⁹⁾。乳酸菌添加は発酵ソーセージや加熱食肉製品では実用化されているが、今後燻煙ハムや非加熱食肉製品の製造、あるいは健康的見地からプロバイオティックな効果(後述)をもつ菌種の導入も検討されている²⁰⁾。

周知のごとく、乳酸菌は多くの種類の食品と関係をもつ。すなわち、チーズ、発酵乳、乳酸菌飲料、発酵バター、発酵ソーセージ、熟成ハム、馴れずし、魚糠漬、菜漬(野沢菜、高菜、広島菜、キムチ、すんき、酸菜、搾菜、サワークラウトなど)、根菜漬(たくわん、糠みそ漬、赤かぶ漬など)、オリーブやキュウリの漬物、野菜ジュース、発酵茶、発酵豆乳、清酒、ワイン、ウイスキー、味噌、醤油、パン(サワーブレッドなど)、クラッカーなど、乳酸菌が重要な役割を演ずる食品は身近にたくさんある。これらの食品のなかで、乳酸菌スターターの使用範囲が拡がりつつあることは確実であり、最近ではソーセージだけでなく、野菜ジュースやワインなどの発酵に用いる乳酸菌の選択基準も示されている²⁰⁾。

乳酸菌の分子育種

昔から人々は利用目的に叶った乳酸菌菌株を自然界から分離・選択し、さらにもっと使いやすい優良菌株を育成することを強く望んできた。一般に微生物株の育種には、(1)遺伝子に永続的変化が生じた菌株を取得する(自然突然変異、誘発突然変異)、(2)外来遺伝子を導入する(形質導入、接合伝達、細胞融合、形質転換)、(3)一部の遺伝子を脱落させる(プラスミドやプロファージのキュアリング)という3つのアプローチがある²¹⁾。

突然変異を誘発して、実用面でも有用な変異株、例えばジアセチル・アセトイン合成の制御、酸生成能の強化、チーズの苦味発生を防ぐペプチダーゼ欠損、あるいはチーズ熟成を促進する蛋白分解能変異や温度感受性変異などを付与したものが作出されている²¹⁾。

突然変異による優良菌株の取得は、偶然的要素が強く、いつも成功するとは限らない。そこで目的とする遺伝子を外部から導入する方法に期待が寄せられる。しかし乳酸菌は栄養要求性が複雑で培養が容易でないこと、卵白リゾチームでは細胞壁の溶解が難しく、プロトプラストの調製や再生が困難であったこと、DNA分解酵素活性が高いことなどの理由により、分子遺伝学的な手法が実用化するまでかなりの年月を要したが、現在までに乳酸菌の遺伝的改良については多くの研究成果が蓄積されつつある²²⁾。

1987年に Harlander が *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* で最初にエレクトロポレーション法による形質転換を報告し、同年 *Lactobacillus casei* でも成功した²³⁾。この方法は、原理的にはいかなる乳酸菌にも適用でき、実際に *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* で成功例が報告された²⁴⁾。したがって乳酸菌でもようやく遺伝子操作が可能な段階に達したといえることができる。最近の応用例として、ペディオシン PA-1 をコードしたプラスミドを導入した *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* をチェダーチーズのスターターに用い、*Listeria monocytogenes* を制御した試作試験が報告されている²⁵⁾。

これからは分子育種した菌株の有用性や安定性ととも、安全性の確認が必須の条件となる。乳酸菌の利用範囲は主として食品であり、人々の食生活に深くかかわっているので、乳酸菌の遺伝子操作による組換え体の実用化については、社会的コンセンサスが得られる安全性評価の手法を確立し、科学的基盤に立った情報の提供に努めなければならない²⁶⁾。すでに食品に利用可能なベクター (food-grade vector) の構築や、食品などの最終産物には望ましくない抗生物質耐性やベクター部分を切除できる手法などが提案されているが、このような研究開発は今後非常に重要と考えられる。

チーズの熟成促進への応用

発酵食品における乳酸菌の働きはきわめて多彩であり、今後とも食品のフレーバー向上に乳酸菌を一層効果的に利用するための研究開発が続けられることは間違いない。ここでは、現在生産量が世界的に著しく増大しつつあるチーズを例にとって述べる。中温性ならびに高温性チーズ用乳酸菌の菌種はすでに述べたが、これらの乳酸菌は原料乳の乳糖を分解して乳酸を生成し、pHを低下させてレンネットの凝乳作用を助ける。

そして徐々に進行する乳酸発酵によって適度の酸味を付与するとともに、カード粒の結着とホエーの排出を促し、また有害微生物の増殖を抑制するなど、多様な働きを示す。さらにチーズの熟成過程において、乳酸菌の菌体内酵素が乳成分をゆっくりと分解し、チーズ特有のフレーバーが形成される²⁷⁾。このチーズの熟成は長時間を要し、熟成工程の管理費は生産コストのなかで大きな割合を占める。したがって熟成期間の短縮は重要な課題であり、従来から様々な工夫が為されてきたが、ここ約30年の研究結果は、チーズの熟成促進には乳酸菌とその酵素がもっとも有用であることを示している²⁸⁾。

Lactobacillus casei, *L. helveticus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. delbrueckii* subsp. *lactis* などの菌体抽出液^{29,30)}あるいは中性プロテアーゼと *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* のペプチダーゼに富む菌体抽出液との混合物 (Accelase)³¹⁾などが試みられた。豊田³²⁾も酸性ジペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼ P と乳酸菌酵素液 (*L. lactis* subsp. *lactis* リゾチーム処理菌体) を組み合わせて、ゴーダチーズで熟成促進効果を認めている。

熟成促進のために、チーズにあまりに多量の乳酸菌を加えると、最終製品で酸生成量が過剰になる可能性が高い。そのため乳酸菌を物理的に処理したのち添加するか、あるいは乳糖非発酵性変異株を利用する²⁸⁾。乳酸菌に加える物理的処理としては、加熱、凍結、噴霧乾燥、凍結乾燥などがあり、例えば *L. helveticus* では69℃、15秒³³⁾、*lactococci* (混合培養) では56.5℃、17秒処理³⁴⁾が提案されている。後者の条件では供試乳酸菌の酸生成力は93~97%減退するが、細胞壁プロテアーゼとアミノペプチダーゼ活性は15~30%低下するだけであった³⁴⁾。また、スターター乳酸菌の酸生成の影響を受けずにその添加量を増やす手段として乳糖非発酵性変異株の導入が試みられ^{35,36)}、*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* の Lac⁻Prt⁻ 変異株はチーズの熟成を促進し、苦味を生ぜず、フレーバーも向上すると報告されている。このように酸生成力を弱めた乳酸菌の利用は技術的には導入が容易であるが、コスト面での評価が必要である。今後の方向として、プロテアーゼやアミノペプチダーゼを過剰に生成し、その活性が高い菌株を遺伝子操作で作出する試み^{37,38)}は技術的にはきわめて有望と考えられるが、その実用化は社会的コンセンサスが前提であり、さらに研究を続ける必要がある²⁸⁾。一方、乳酸菌は菌株によって細胞の自己融解の起こりやすさが相違し³⁹⁾、またその速度は温度、

Naイオン, pH, 凍結処理などの影響を受ける²⁸⁾。例えば, 30℃では正常に生育するが, クッキングの温度(チェダーチーズでは38~40℃)で短時間のうちに溶菌して細胞内の酵素を放出する lactococci が分離されている^{40~42)}。このような乳酸菌の細胞生理学的研究を踏まえたチーズの熟成促進は期待が持たれるアプローチである。

乳酸菌と酵母との共生

乳酸菌相互の共生, 特にヨーグルト用の *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* と *Streptococcus thermophilus* との共生関係はよく知られているが, この点については別の機会に述べた⁹⁾ので割愛し, ここでは乳酸菌と酵母の共生についてすこし触れたい。

清酒の醸造において, 古来の「山廃もと」は乳酸菌の雑菌抑制力を利用している。これは開放発酵でありながら最終的に酒母酵母の純粋培養に導くものであり, 低温性の *Leuconostoc mesenteroides* や *Lactobacillus sake* が順次生育することが大切である。乳業分野においては, 伝統的なケフィールの製造に用いるケフィール粒はかなり多くの種類の乳酸菌と酵母などとの共生培養であり, いわば「固定化菌体」の原型ともいうべきものである。また, サンフランシスコサワーブレッドやパネトーネでは乳酸菌がパンの風味や保存性に寄与するが, 例えば *Lactobacillus sanfrancisco* は, 共存する酵母の自己分解物中のペプチドで生育が促進される。さらに私たちが日常的に食べる食パン(ホワイトブレッド)の生地にも酵母(生イースト, ドライイースト)由来の乳酸菌が多数含まれていて, パンのフレーバーに好ましい影響を与えていることが見出された⁴³⁾。岡田ら⁴⁴⁾は真にパンに適した乳酸菌の検索はこれからの課題と考えている。乳酸菌のように自らがつくる酸のために急速に死滅しやすい細菌を人類が連綿として維持して今日に伝え得たことには, おそらく自然の共生培養系が貢献しており, その中でも乳酸を資化する酵母との共生は重要なものであったと推論される。

なお, ワイン中に含まれるリンゴ酸は乳酸菌(*Leuconostoc oeni*, *Lactobacillus plantarum*)によって乳酸とCO₂に分解される。このマロラクティック発酵によりワインの酸味は低減し, 風味が改善されると同時に, 微生物学的に安定化される。日本でも1996年以降, 乳酸菌スターターの使用が認められ, 今後その需要が高まると予想されている⁴⁵⁾。

乳酸菌が他の微生物に及ぼす抑制効果

乳酸菌の病原細菌や腐敗細菌に対する抑制効果については多数の報文と総説が発表されている^{45~48)}。

乳酸菌が生成する乳酸とそれに伴うpHの低下のほかに, 副生する少量の揮発性脂肪酸(酢酸, ギ酸), 過酸化水素, ジアセチル, アセトアルデヒド, β -ヒドロキシプロピオンアルデヒド, 2-ピロリドン-5-カルボン酸などは有害微生物を抑制する効果を発揮する。最近では食生活の質的向上に伴って, できるだけ素材の特徴を生かした新鮮感覚でナチュラルな食品を求める傾向が強まってきた。そのため, 過度の加熱を避けるとか, できるだけ化学的に合成された保存料の代わりに「人々が長年にわたり食品として, あるいは食品とともに, 何らの害作用もなしに食べてきた植物・動物あるいは微生物起源の抗菌性物質」(バイオプリザバティブ)を効果的に活用しようとする食品の保存法に強い関心が集まっており, 乳酸は代表的なバイオプリザバティブといえることができる。松田⁴⁸⁾は, 乳酸は各種細菌に対し生育阻止作用のみでなく, 増殖の誘導期を延長する作用があり, 通常の有機酸ではほとんど抗菌作用が期待できないpH7.0, 温度25℃のような条件下で, 細菌の発育誘導期が顕著に延長される特徴をもつことを指摘している。

また, 乳酸菌は各種のバクテリオシンを生成する。菌種としては *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *L. lactis* subsp. *cremoris*, *L. lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis*, *Streptococcus thermophilus*, *S. mutans*, *S. salivarius*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. gasseri*, *L. helveticus*, *L. sake*, *L. plantarum*, *L. casei*, *L. brevis*, *L. curvatus*, *L. fermentum*, *L. reuteri*, *L. johnsonii*, *L. delbrueckii*, *Pediococcus acidilactici*, *P. pentosaceus*, *Enterococcus faecalis*, *E. hirae*, *Leuconostoc gelidum*, *L. mesenteroides* subsp. *dextranicum*, *Weissella paramesenteroides*, *Carnobacterium piscicola*, *Bifidobacterium bifidum* などが挙げられる^{45, 47)}。乳酸菌の生成するバクテリオシンは, ①クラスⅠ ランチビオティクス, ②クラスⅡ 分子量が小さく(10kDa以下)比較的熱安定性が高い, ランチオニンを含まない膜活性ペプチド, ③クラスⅢ 分子量が大きく(30kDa以上)熱に不安定な蛋白質, ④クラスⅣ 複合蛋白質でリポド/炭水化物を含む, 以上の4種類に分類できる⁴⁷⁾。このうち抗菌スペクトルが比較的広いものはクラスⅠに属するナイシンとクラスⅡに属するペディオシンAcH(PA-1)で, 特に前者は約50カ国

(ただし日本を除く)でチーズ、ハム、ソーセージ、缶詰などの*Bacillus*, *Clostridium*や*Staphylococcus*を抑えるために使用が許可されている^{46,48)}。特に*Clostridium*属の芽胞に対するナイシンの阻害効果は食品工業全般に有用と考えられる。1996年9月にオランダで開催された5th Symposium on Lactic Acid BacteriaでもAntimicrobials and Food Spoilageのセッションに67題の発表があり、*Listeria*などを目標に新しいバクテリオシンの発見が続いており、ナイシンに次ぐものが近いうちに現われるかも知れない⁴⁹⁾。なお、ナイシン生産性のスターターをチーズなどの製造に利用することもできる⁵⁰⁾。また、ナイシン抵抗性の*Listeria monocytogenes*を抑えるためにナイシンと別のタイプのバクテリオシン生産性スターター(*Lactobacillus sake*, *Enterococcus faecium*)を組み合わせて使用した報告例⁵¹⁾も参考になる。川井・伊藤⁵²⁾は乳酸菌のバクテリオシンに関する今後の研究課題として、作用機構の解明、in vivoでの安全性の確認、バクテリオシン耐性獲得機構の検討と抗生物質や薬剤耐性菌の出現頻度との比較などを指摘している。

ところで、乳酸菌が糸状菌に対して生育抑制効果をもつかどうかは未だよく分かっていない。鈴木および著者ら⁵³⁾は特定の乳業用混合スターターに含まれる*Leuconostoc mesenteroides*が*Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*などの生育を阻止する事実を見出した。また、*Lactobacillus*や*Pedococcus*が糸状菌の生育やアフラトキシン産生を抑える可能性も報告されており⁵⁴⁻⁵⁶⁾、今後さらに検討するに値する課題と考えられる⁵⁷⁾。

乳酸菌の健康的意義

近年、発酵乳ならびにその製造に使う乳酸菌が有する健康的意義に強い関心をもたれ、研究・開発が急テンポで進行し、多数の総説・解説が発表されている⁵⁸⁻⁶³⁾。著者^{8,11)}も従来から述べているように、発酵乳が私たちの健康に及ぼす効果は、①乳酸発酵による乳成分の栄養的価値の向上、②生きている乳酸菌が発揮する生理的效果、③乳酸菌の発酵生産物または菌体の有する生理的效果に分けて考えることができる。

まず、牛乳そのものが高い栄養的価値をもつが、発酵乳は蛋白質が部分的に加水分解されていること、乳糖分解酵素の活性が高く、日本人に比較的多くみられる乳糖不耐のトラブルが避けられること、カゼインが凝固し、カルシウムや鉄などのミネラルが利用しやすい形になっていることなど、消化・吸収面ですぐれた

特徴をもつ。つぎに、生きている乳酸菌が腸内菌叢を改善し、好ましい整腸作用を発揮するプロバイオティックな効果がある^{65,67)}。そのため、腸管に届いてそこに定着し得る乳酸菌(*Lactobacillus acidophilus* グループ、*L. casei*, *L. reuteri* など)やビフィズス菌(*Bifidobacterium bifidum*, *B. longum* など)が利用され⁶⁴⁾、これらの菌を添加した発酵乳・乳酸菌飲料が普及している。従来の*L. acidophilus* グループは、DNAホモロジーで*L. acidophilus*, *L. crispatus*, *L. amylovorus*, *L. gallinarum*, *L. gasseri*, *L. johnsonii*の6種に分けられるが、このなかでプロバイオティックスとして主に使われるのは*L. gasseri*と*L. johnsonii*であり、一部で*L. acidophilus*, *L. crispatus*が用いられる⁶⁴⁾。*Lactobacillus casei*については、シロタ株の諸性状、保健効果および安全性に関する研究がこのほど集大成された⁶⁸⁾。

プロバイオティックスの投与は、下痢、便秘、鼓腹などに効果的で、乳酸菌製剤(生菌製剤)としても市販されている。また、特定保健用食品として、何種類かの乳酸菌やビフィズス菌を含む発酵乳に対して、腸内環境を良好にし、お腹の調子を整えるという表示が認められている。さらに、現在許可されている特定保健用食品を機能成分別にみると、ほぼ半数は難消化性オリゴ糖を中心とする糖質であって、これは腸管内のビフィズス菌などの増殖を促進する物質として、プロバイオティックスの定義のなかに含まれるものである。なお、飼料添加用として、家畜・家禽やペットなどの下痢予防、感染予防、成長促進など、畜産領域におけるプロバイオティックスの利用も拡大しつつあり^{62,66)}、期待のもてる課題である。

ヒト用プロバイオティックスとしての乳酸菌に望まれる条件は、①ヒト由来であること、②胃酸と胆汁に抵抗性をもつこと、③腸管細胞に付着すること、④腸管内でコロニーを形成すること、⑤抗菌性物質を生成すること、⑥病原細菌に対する抑制効果をもつこと、食品または臨床的に用いた場合安全であること、⑧臨床的に確認され、文書化された保健効果があること、⑨加工および貯蔵中に安定であることである⁶⁹⁾。特に安全性⁶⁵⁾の確認は絶対不可欠な事項である。

さらに、乳酸菌の発酵生産物や菌体成分の有する生理的效果も重要視される。例えば、発酵乳において乳酸菌が乳成分に作用し、その結果健康に寄与する物質が生成される可能性がある。*Lactobacillus helveticus*でつくった酸乳に血圧降下作用が認められるが、これはβ-カゼインから本菌のプロテアーゼやペプチダー

ゼの作用で生成されるトリペプチド (Val-Pro-Pro, Ile-Pro-Pro) がアンジオテンシン変換酵素を阻害する活性を有するためであることが明らかにされた^{61, 62)}。これらのトリペプチドを含む乳製品乳酸菌飲料 (殺菌) は血圧が高めの人に適した食品として特定保健用食品の認可が得られている。

また、乳酸菌の生成する細胞外多糖として、以前からデキストランやレバンが知られていたが、このほかにも α -または β -グルカンや多数のヘテロ多糖をつくる乳酸菌 (例えば *Lactobacillus kefiranofaciens* など) が知られている。これらの多糖のなかには、抗腫瘍効果や免疫賦活作用が認められるものがあるので、健康面からみても乳酸菌の多糖に関する研究・開発の進展が期待される。

最後に乳酸菌の菌体成分についてであるが、特にその細胞壁成分が、細胞外多糖と同様に、抗腫瘍性、抗変異原性、血圧降下作用、血清コレステロール低下作用などを発揮することが注目されている。例えば、発癌剤メチルコランスレンをマウスの背部皮下に注射し、その前後に *Lactobacillus casei* を経口投与したところ、注射後150日の発癌率が投与しないマウスに比べて有為に低かった^{62, 68)}。このような実験成績はかなり多数報告されている。ただし、乳酸菌菌体や多糖の抗腫瘍作用は、癌細胞を直接破壊するものではなく、宿主の生体防御機能を高めることによって、癌細胞の増殖を抑えるものである点に留意しなければならない。むしろ食品や食品の加工に用いる有用微生物の保健効果としては、この方が自然で好ましいと思われる。変異原性物質を吸着・排除する効果は死菌でも生菌と差がなく、高い抗変異原性を有する乳酸菌の選定とヨーグルトでの応用も試みられている⁶⁹⁾。なお、乳酸菌の血清コレステロール上昇抑制効果の有無については意見が分かれていたが、菌株を選べばその効果が期待できると思われる⁷⁰⁾。

さらに、免疫賦活活性として、マイトジェン活性、インターフェロン誘発、マクロファージ機能の賦活化、各種病原菌に対する感染防御作用などが注目される。このような効果を示す乳酸菌としては、*Lactobacillus acidophilus*, *L. gasseri*, *L. casei*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium longum*, *B. breve* などが報告されている。これらの現象の実際的応用とともに、その免疫賦活機構を明らかにすることは乳酸菌の健康的意義を考える上に、今後きわめて重要な課題と考えられる。

食品加工以外の利用

これまで述べてきたように、乳酸菌は多くの種類の食品と密接な関係を持ち、そのなかで天然に分布する菌だけに頼らず、適切なスターターを応用しようとするケースも次第に増加してきた。一方、乳酸菌は食品加工以外の分野でも利用されており、ここでも新しい用途が増大しつつある。

まず乳酸菌が生成する乳酸 (発酵乳酸) は、酸味料や pH 調整剤などとして食品添加用に広く用いられ⁷¹⁾、前述の通り代表的なバイオプリザバティブのひとつである⁴⁸⁾。またカルシウム塩や鉄塩の形でミネラル補給用にも使用される⁷¹⁾。さらに、精製した発酵乳酸を重合させてポリ乳酸が生産される。ポリ乳酸は引張強度、曲げ強度および弾性率が高く、伸びが小さく、生分解性プラスチックのなかで唯一無色透明な材料である。ただし、衝撃強度が低い点は今後改良が必要といわれている⁷²⁾。乳酸ポリマーは生体吸収材質として縫合糸や骨接合材、包帯など、医療用に役立っている。日本における汎用プラスチックの年間生産量 (1,400万トン) の20%は生分解性プラスチックの潜在的な市場とされ、乳酸菌は地球環境の保全に寄与すると思われる⁷²⁾。化学的に合成した DL-乳酸を原料とするとポリマーの融点が低く、結晶性が低下するので⁷²⁾、選択された乳酸菌で高純度の D-または L-乳酸を効率よく生産する技術が重要である。

乳酸菌の産生する細胞外多糖の健康的意義については先に触れたが、現在工業的に生産・利用されているのはデキストランとケフィランである。デキストランはこれまで血漿増量剤として利用されてきたが、いまでは抗血液凝固剤、クロマトグラフィー担体、あるいは食品添加物などとして使われている。また、ケフィランの誘導体が保湿剤として化粧品に添加されている⁷³⁾。このような乳酸菌の多糖の新しい用途開発にも興味を持たれるところである。

反芻家畜の飼料に用いるサイレージの発酵にも乳酸菌が重要な役割を担っている^{45, 74~76)}。一般にサイレージ発酵の初期に乳酸球菌群が活発に増殖し、特に *Leuconostoc mesenteroides* が高頻度で検出される。発酵の中〜後期には *Lactobacillus plantarum*, *L. casei*, *L. brevis* などの乳酸桿菌が優勢になる傾向があり、サイレージにおける微生物群の推移は清酒の「山廃もと」の場合とよく似ていて興味深い⁷⁵⁾。牧草・飼料作物には、数の多少は別として、乳酸菌が付着しているので、それらの菌が利用し得る糖類が充分量存

在すれば、埋蔵過程で急速に増殖する。しかし乳酸菌数が少ない材料草で、特に埋蔵初期にサイロに多量の空気が侵入した場合などはサイレージが酪酸発酵で変敗する可能性があり、このときは材料草に糖源とともに乳酸菌 (*L. plantarum* など) をスターターとして添加すると良質のサイレージをつくることのできる⁷⁴⁾。最近ではサイレージの発酵と品質改善に有効な乳酸菌菌株の検索や改良に関する研究が盛んになってきた。この場合も、分子生物学的手法の応用が試みられ、高温耐性、乳酸耐性、高分子量の炭水化物の資化性、有害細菌や酵母・糸状菌を抑えるバクテリオシン生産性などを付与した菌株の開発が進んでいる⁷⁵⁻⁷⁷⁾。日本の粗飼料生産でサイレージの果たす役割は重要であり、この分野における研究の進展が期待される。

最近注目すべき研究動向のひとつとして、乳酸菌を抗原運搬体とする経口ワクチンの開発がある⁷⁸⁻⁸¹⁾。五十君⁸⁰⁾によれば、ある感染症に対するワクチンはその感染症の感染経路に沿って投与するのがもっとも効果的である。したがって腸管感染症に対するワクチンは経口および腸管粘膜上皮からの投与が望ましく、それによる粘液中の IgA 抗体産生の増強が重要である⁸⁰⁾。コレラワクチンを例にとると、現在自然感染に近い免疫を誘導できる経口ワクチンの開発が試みられており、弱毒コレラ生菌経口ワクチン、あるいはサルモネラや赤痢菌の弱毒株を抗原運搬体とするワクチンの有効性が示され、実用化に近づいているが、もっと安全性の保障された腸内生息菌の利用が注目されている⁸⁰⁾。腸管上皮細胞に抗原刺激を届ける運び屋に乳酸菌を選ぶと、①安全性が高いので、多量の抗原刺激を持ち込むことができる、②腸内生息菌のバランスを崩す恐れが少ない、③一度作出すれば、培養するだけで容易にワクチンが得られる、④病原体を使った弱毒生菌ワクチンと比べ、変異による病原性の復活の危険性がないなどの利点がある⁷⁹⁾。現段階では乳酸菌の遺伝子組換え技術は lactococci がもっとも高い水準にあり、腸管系の lactobacilli ではベクターの数が限られ、bifido bacteria では確実なベクターがさらに少ないのが実情である⁸⁰⁾。したがって経口ワクチンの実用化には乳酸菌の遺伝子組換え技術の進展が不可欠であり、また同時に組換え体の効果と安全性の評価体制が確立しなければならない。

おわりに

与えられた「乳酸菌利用技術の発達と今後の展望」という課題で、利用技術の発達の概観はともかくとし

て、今後の展望を明確に示すことは、非力の著者にはとても無理であって、本稿が羊頭狗肉で終わったことをお詫びしたい。数千年に及ぶ人類の歴史において、その安全性が実証された乳酸菌が私たちの生活を豊かにし、健康に役立つことは大変喜ばしいことである。いま乳酸菌に関する研究・開発は国際的にみてきわめて活発に行われており、日本でも今後特に若い人々の活躍が期待される。幸いにして、日本乳酸菌学会には若手の会員が多いので心強く思われる。なお、最近では乳酸菌とその利用に関する研究分野は分子レベルの先端的な研究が盛んで、このこと自体は誠に喜ばしいが、これと同時に乳酸菌の生態、細胞構造、代謝、栄養などの“基盤的”分野でも意欲的な研究が進展することが望まれる。例えば、乳酸菌やビフィズス菌の培養条件や検出法の検討などは、地味な課題かも知れないが、実用面できわめて重要な研究と思われる。

参 考 文 献

- 1) 石毛直道：乳利用の文化誌，“乳利用の民族誌”（石毛直道・和仁皓明編著），p.9-21，中央法規出版（1992）
- 2) Fox, P. F. : Cheese : An overview, Cheese : Chemistry, Physics and Microbiology, Vol. 1 General Aspect (P. F. Fox ed., 2nd Ed.), p.1-36, Chapman & Hall, London (1993)
- 3) 松平博雄：“チーズ魅力のすべて”，p.9-78，チーズ&ワインアカデミー東京（1992）
- 4) Orla-Jensen, S. : The Lactic Acid Bacteria, Fred Host and Son, Copenhagen (1919)
- 5) 鈴木健一郎：乳酸菌の定義と分類・同定 5 分類体系と分子系統，“乳酸菌の科学と技術”（乳酸菌研究集談会編），p.24-46，学会出版センター（1996）
- 6) Axelsson, L. : Lactic acid bacteria : Classification and physiology, Lactic Acid Bacteria (S. Salminen & A. von Wright eds., 2nd Ed.), p.1-72, Marcel Dekker, New York (1998)
- 7) Stiles, M. E. and Holzapfel, W. H. : Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy, *Int. J. Food Microbiol.*, **36**, 1-29 (1997)
- 8) 森地敏樹：乳酸菌の特性と利用：最近の研究動向，*ミルクサイエンス*, **46**, 1-20 (1997)
- 9) 細野明義：乳酸菌の歴史，“乳酸発酵の文化譜”（小崎道雄編著），p.12-34，中央法規出版（1996）
- 10) 森地敏樹：畜産における乳酸菌，*日本畜産学会報*，

- 44, 535-553 (1973)
- 11) 森地敏樹：乳酸菌の特性と利用について，日本乳酸菌学会誌，8，71-75 (1998)
- 12) Mayra-Makinen, A. and Bigret, M.: Industrial use and production of lactic acid bacteria, *Lactic Acid Bacteria* (前掲書)，p.73-102 (1998)
- 13) 森地敏樹：最近のスターター管理技術の進歩，乳技協資料，44，68-79 (1994)
- 14) Fortina, M. G., Nicastro, G., Carminati, D., Neviani, E. and Manachini, P. L.: *Lactobacillus helveticus* heterogeneity in natural cheese starters: the diversity in phenotypic characteristics, *J. Appl. Microbiol.*, **84**, 72-80 (1997)
- 15) Giraffa, G., De Vecchi, P., Rossi, P., Nicastro, G. and Fortina, M. G.: *Genotypic heterogeneity among Lactobacillus helveticus strains isolated from natural cheese starters*, *J. Appl. Microbiol.*, **85**, 411-416 (1998)
- 16) 石橋憲雄：乳酸菌スターターの培養と利用技術，“乳酸菌の科学と技術” (前掲書)，p.343-355 (1996)
- 17) 森地敏樹：生細胞の凍結乾燥，冷凍，**56**，1032-1049 (1981)
- 18) 森地敏樹：各種の理化学的処理で生ずる非致死の損傷菌の特徴とその検出法，防菌防黴誌，**17**，541-550 (1989)
- 19) Hammes, W. P., Bantleon, A. and Min, S.: *Lactic acid bacteria in meat fermentation*, *FEMS Microbiol. Rev.*, **87**, 165-174 (1990)
- 20) Buckenhuskes, H. J.: *Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as starter cultures for various food commodities*, *FEMS Microbiol. Rev.*, **12**, 253-272 (1993)
- 21) 佐々木隆，森下隆，門多真理子：乳酸菌の遺伝と育種 3 遺伝子の導入と変異の誘起，“乳酸菌の科学と技術” (前掲書)，p.152-159 (1996)
- 22) von Wright, A. and Sibakov, M.: *Genetic modification of lactic acid bacteria*, *Lactic Acid Bacteria* (前掲書)，p.161-210 (1998)
- 23) Chassy, B. M. and Flickinger, J. L.: *Transformation of Lactobacillus casei by electroporation*, *FEMS Microbiol. Lett.*, **44**, 173-177 (1987)
- 24) 佐々木隆：乳酸菌の遺伝と育種 3.5 形質転換，“乳酸菌の科学と技術” (前掲書)，p.171-177 (1996)
- 25) Buyong, N., Kok, J. and Luchansky, J. B.: *Use of a genetically enhanced, pediocin-producing starter culture, Lactococcus lactis subsp. lactis MM217, to control Listeria monocytogenes in Cheddar cheese*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **64**, 4842-4845 (1998)
- 26) 桜井稔三，森地敏樹：序論 乳酸菌の一世紀，“乳酸菌の科学と技術” (前掲書)，p.1-7 (1996)
- 27) Olson, N. F.: *The impact of lactic acid bacteria on cheese flavor*, *FEMS Microbiol. Rev.*, **87**, 131-148 (1990)
- 28) El Soda, M. A.: *The role of lactic acid bacteria in accelerated cheese ripening*, *FEMS Microbiol. Rev.*, **12**, 239-252 (1993)
- 29) El Soda, M., Desmazeaud, S., Abou Donia, S. and Kamal, K.: *Acceleration of cheese ripening by the addition of whole cells or cell-free extracts from L. casei to the cheese curd*, *Milchwissenschaft*, **36**, 140-142 (1981)
- 30) El Soda, M., Desmazeaud, S., Abou Donia, S. and Badran, A.: *Acceleration of cheese ripening by the addition of extracts from Lactobacillus helveticus, L. bulgaricus and L. lactis to the cheese curd*, *Milchwissenschaft*, **37**, 325-327 (1982)
- 31) Law, B. and Wigmore, A.: *Accelerated ripening of Cheddar cheese with a commercial proteinase and intracellular enzymes from starter streptococci*, *J. Dairy Res.*, **50**, 519-526 (1983)
- 32) 豊田修次：チーズの乳酸菌，乳酸菌研究集談会誌，**2**，74-80 (1992)
- 33) Petterson, H. and Sjostrom, G.: *Accelerated cheese ripening. A method of increasing the number of lactic starter without detrimental effect to the cheese making process and its effect on cheese ripening*, *J. Dairy Res.*, **42**, 313-326 (1975)
- 34) Exterkate, F., De Veer, G. and Stadhouders, J.: *Acceleration of the ripening process of Gouda cheese by using heat-treated mixed strain*, *Neth. Milk Dairy J.*, **41**, 307-320 (1987)
- 35) Grieve, P. and Dulle, J.: *Use of Streptococcus lactis lac⁻ mutant for accelerating Cheddar cheese ripening. 2. Their effect on the rate*

- of proteolysis and flavor development. *Aust. J. Dairy Technol.*, **38**, 49-54 (1984)
- 36) Kamaly, K., Johnson, M. and Marth, E.: Characteristics of Cheddar cheese made with mutant strains of lactic streptococci as adjunct sources of enzymes, *Milchwissenschaft*, **44**, 343-346 (1989)
- 37) Alen-Boerrigter, I., Baankreis, R. and De Vos, W. M.: Characterization and over expression of the *Lactococcus* *Pep N*. gene and localization of its product aminopeptidase N, *Appl. Environ. Microbiol.*, **57**, 2555-2561 (1991)
- 38) Bruinenberg, P., Vos, P. and De Vos, W. M.: Proteinase over production in *Lactococcus lactis* strains: Regulation and effect on growth and acidification in milk, *Appl. Environ. Microbiol.*, **58**, 78-84 (1992)
- 39) Langsrud, T., Landans, A. and Castberg, H.: Autolytic properties of different strains of group N streptococci, *Milchwissenschaft*, **42**, 556-560 (1987)
- 40) McKay, L. L. and Baldwin, K. A.: Applications for biotechnology: present and future improvements in lactic acid bacteria, *FEMS Microbiol. Rev.*, **87**, 3-14 (1990)
- 41) Feirtag, J. M. and McKay, L. L.: Isolation of *Streptococcus lactis* C2 mutants selected for temperature sensitivity and potential use in cheese manufacture, *J. Dairy Sci.*, **70**, 1773-1778 (1987)
- 42) Feirtag, J. M. and McKay, L. L.: Thermoinducible lysis of temperature sensitive *Streptococcus cremoris* strains, *J. Dairy Sci.*, **70**, 1779-1784 (1987)
- 43) 岡田早苗: パン生地発酵と乳酸菌 [前編], *日本乳酸菌学会誌*, **9**(1), 5-8 (1998)
- 44) 岡田早苗, 柳田藤寿: 酵母で発酵した食品における乳酸菌の作用, “バイオプリザベーション” (森地敏樹・松田敏生編著), p.125-135, 幸書房 (1999)
- 45) Lindgren, S. E. and Dobrogosz, W. J.: Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentations, *FEMS Microbiol. Rev.*, **87**, 149-164 (1990)
- 46) Vandenberg, P. A.: Lactic acid, their metabolic products and interference with microbial growth, *FEMS Microbiol. Rev.*, **12**, 221-238 (1993)
- 47) Ouwehand, A. C.: Antimicrobial components from lactic acid bacteria, *Lactic Acid Bacteria* (前掲書), p.139-159 (1998)
- 48) 松田敏生: 乳酸菌などの抗菌作用, “バイオプリザベーション” (前掲書), p.42-64 (1999)
- 49) 伊藤敏敏: 第5回乳酸菌シンポジウムからSection C: Antimicrobials and Food Spoilage, *乳酸菌研究集談会誌*, **7**, 25 (1996)
- 50) Roberts, R. F., Zottola, E. A. and McKay, L. L.: Use of a nisin-producing starter culture suitable for Cheddar cheese manufacture, *J. Dairy Sci.*, **75**, 2353-2363 (1992)
- 51) Schillinger, U., Chung, H. S., Keppler, K. and Holzapfel, W. H.: Use of bacteriocinogenic lactic acid bacteria to inhibit spontaneous nisin-resistant mutants of *Listeria monocytogenes* Scott A, *J. Appl. Microbiol.*, **85**, 657-663 (1998)
- 52) 川井泰, 伊藤敏敏: 乳酸桿菌の作る抗菌性バクテリオシンの特性, *ミルクサイエンス*, **47**, 165-172 (1998)
- 53) Suzuki, I., Nomura, M. and Morichi, T.: Isolation of lactic acid bacteria which suppress mold growth and show antifungal action, *Milchwissenschaft*, **46**, 635-639 (1991)
- 54) Karunaratne, A., Wezenberg, E. and Bullerman, L. B.: Inhibition of mold growth and aflatoxin production by *Lactobacillus* spp., *J. Food Protect.*, **53**, 230-236 (1990)
- 55) Luchese, R. H., Martins, J. F. P. and Harrigan, W. F.: Aflatoxin production in a meat mix model system in the presence of *Pediococcus* and *Lactobacillus*, *J. Food Protect.*, **55**, 583-587 (1992)
- 56) Gourama, H. and Bullerman, L. B.: Inhibition of growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus* by *Lactobacillus* species, *J. Food Protect.*, **58**, 1249-1256 (1995)
- 57) El-Nezami, H. S. and Ahokas, J. T.: Lactic acid bacteria: an approach for detoxification of aflatoxins, *Lactic Acid Bacteria* (前掲書), p.359-367 (1998)

- 58) Gilliland, S. : *Health and nutritional benefits from lactic acid bacteria*, *FEMS Microbiol. Rev.*, **87**, 175-188 (1990)
- 59) 細野明義 : 発酵乳の生理活性, 乳技協資料, **40**, 207-224 (1990)
- 60) 伊藤敏敏 : 発酵乳用乳酸菌の持つ機能性, 日本畜産学会報, **63**, 1276-1289 (1992)
- 61) 森下芳行, 金子勉, 鈴木豊, 中村康則, 石橋憲雄, 横倉輝男, 老川忠雄 : 乳酸菌・乳酸発酵食品の栄養・生理効果の追求 (第5回乳酸菌研究集談会セミナー報告), 乳酸菌研究集談会誌, **5**, 47-78 (1995)
- 62) 高野俊明, 中村康則, 横倉輝男, 阿部文明 : 乳酸菌, 発酵食品の栄養生理効果, “乳酸菌の科学と技術” (前掲書), p.311-341 (1996)
- 63) Salminen, S., Deighton, M. A., Benno, Y. and Gorbach, S. L. : Lactic acid bacteria in health and disease, *Lactic Acid Bacteria* (前掲書), p.211-253 (1998)
- 64) Klein, G., Pack, A., Bonaparte, C. and Reuter, G. : *Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria*, *Int. J. Food Microbiol.*, **41**, 103-125 (1998)
- 65) Donohue, D. C., Salminen, S. and Marteau, P. : Safety of probiotic bacteria, *Lactic Acid Bacteria* (前掲書), p.369-383 (1998)
- 66) Nousiainen, J. and Setälä, J. : Lactic acid bacteria as animal probiotics, *Lactic Acid Bacteria* (前掲書), p.437-473 (1998)
- 67) Ballongue, J. : Bifidobacteria and probiotic action, *Lactic Acid Bacteria* (前掲書), p.519-587 (1998)
- 68) ヤクルト本社中央研究所編 : “ラクトバチルス カゼイ シロタ株—腸内フローラおよび健康とのかかわり—”, ヤクルト本社中央研究所 (1999)
- 69) 橋本英夫, 大根田啓二, 中村昇二, 細野明義 : 高い抗変異原性を有する発酵乳用乳酸菌の選定に関する研究, *ミルクサイエンス*, **47**, 101-110 (1998)
- 70) 橋本英夫, 山崎和幸, 何方, 荒井靖子, 川瀬学, 細田正孝, 細野明義 : 乳酸菌のラット血清コレステロール上昇抑制作用に関する研究, 日本畜産学会報, **69**, 702-706 (1998)
- 71) 岡田早苗 : 乳酸菌の挙動と利用1.7発酵乳酸の利用, “乳酸菌の科学と技術” (前掲書), p.264-266 (1996)
- 72) 小原仁実 : 乳酸発酵は地球を救う 21世紀のプラスチック・ポリ乳酸, *Contemporary Health Digest* [雪印乳業(株)健康生活研究所刊] **14**, 1-8 (1999)
- 73) 向井孝夫, 戸羽隆宏 : 乳酸菌利用に関係する主要な諸性質 5 細胞外多糖, “乳酸菌の科学と技術” (前掲書), p.215-227 (1996)
- 74) 大山嘉信, 森地敏樹 : サイレージにおける微生物の動態—要因の解析と発酵の制御, “微生物の生態6” (微生物生態研究会編), p.161-178 (1979)
- 75) 大桃定洋 : 乳酸菌の挙動と利用1.6サイレージ, “乳酸菌の科学と技術” (前掲書), p.260-264 (1996)
- 76) 大桃定洋, 田中治 : サイレージ発酵用乳酸菌に求められる能力とその検索, 乳酸菌研究集談会誌, **7**, 72-78 (1997)
- 77) Weinberg, Z. G. and Muck, R. E. : *New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage*, *FEMS Microbiol. Rev.*, **19**, 53-68 (1996)
- 78) Marteau, P. and Rambaud, J. C. : *Potential of using lactic acid bacteria for therapy and immunomodulation in man*, *FEMS Microbiol. Rev.*, **12**, 207-220 (1993)
- 79) 五十君静信 : はたして乳酸菌組換えワクチンは誕生するか? 日本乳酸菌学会誌, **8**, 42 (1997)
- 80) 五十君静信 : 乳酸菌を抗原運搬体とする経口ワクチンの開発, 日本乳酸菌学会誌, **8**, 101-105 (1998)
- 81) Gasson, M. J. : *Progress and potential in the biotechnology of lactic acid bacteria*, *FEMS Microbiol. Rev.*, **12**, 3-20 (1993)

Progress and Potential in the Technology Using Lactic Acid Bacteria

Toshiki Morichi

(College of Bioresource Sciences, Nihon University)

Progress and future prospect for the technology using lactic acid bacteria are reviewed. Advances in classification, starter technology including concentrated culture, and genetic modification of lactic acid are discussed. Areas of technological application considered include use for various food commodities, acceleration of cheese ripening, synbiotic growth with yeast, antimicrobial components, probiotics and other beneficial effects on human health, silage fermentation, poly-lactate as new plastics, and oral vaccination.