

## 県内農林水産物酵素分解物の乳酸菌生育への影響と その発酵液の ACE 活性阻害について

苔庵泰志\* , 藤原孝之\* , 栗田 修\*

### Effect of Enzymatic Digests from Natural Resources on Cell Growth in Lactic Acid Bacteria and Inhibition of ACE (Angiotensin Converting Enzyme) Activity in their Fermented Products

Yasushi KOKEAN, Takayuki FUJIWARA and Osamu KURITA

#### 1. はじめに

近年、高齢社会の加速や生活習慣病の増加により、消費者の関心は、食事による健康維持・増進に集まっている。特に、「科学的根拠に基づく機能性食品」に対する関心は高い。特定保健用食品を含む健康関連食品市場は1999年に7,500億円であったが、2005年には1兆2,850億円に達した。昨年度はアガリクスの安全性を巡る騒動や、大豆イソフラボンの上限値問題等でこの20年間でははじめてマイナス成長となったが、長期的には高齢化や生活習慣病の増加が予想され、健康食品市場の成長は今後も続くと考えられる<sup>1)</sup>。その中で、特に微生物を利用するプロバイオティクス等の効果を持った発酵食品素材は、今後の成長が期待されている。

これまで当研究課では、県内産農林水産物の機能性や、食品物性に関する研究開発を行ってきた。その成果として、モロヘイヤに含まれる主要な多糖の性質の解明や、それを素材として利用した食品の試作<sup>2-3)</sup>、食用きのこハタケシメジが血圧上昇抑制作用等の機能性を有し<sup>4-5)</sup>、機能性食品素材としての利用も可能であることについて明らかにしてきた<sup>6)</sup>。また、平成17年度から発酵作用により素材の機能を向上させることを目的として、乳酸菌や麹菌等の食品微生物の利用に関する事業を実施している。平成17年度は、食用きのこであるハタケシメジおよびモロヘイヤ酵素分解物を用い、素材の分解に適した酵

素の選定および素材単独での乳酸菌の生育・発酵増進効果を明らかにした<sup>7)</sup>。一方、発酵産物の香りや ACE 活性阻害作用等の機能性向上には、副素材としてタンパク質や糖類の添加が有効との報告がなされている<sup>8)</sup>。また、発酵産物の食材としての利用や<sup>9)</sup>、発酵産物から分離した酵母や乳酸菌についても報告がなされている<sup>10)</sup>。そこで本年度は、昨年度用いたモロヘイヤ、ハタケシメジに加えて県内産の海藻、特にアナアオサ、ハバノリを発酵素材として用い、酵素分解物に副素材を添加した時の乳酸菌の生育および発酵液の ACE 活性阻害の影響に関して検討を行ったので、その結果を報告する。

#### 2. 原材料および乳酸菌

モロヘイヤ (*Corchorus olerarius*) 乾燥粉末は、(株)あぐりネット三重中央から購入した。アナアオサ (*Ulva pertusa*) は伊勢市二見町海岸、ハバノリ (*Petalonia binghamiae*) は鳥羽湾内で採集した。ハタケシメジ (*Lyophyllum decastes*, 亀山1号菌株) は、ポット栽培した瓶から石づき部分を除去した可食部(子実体)を使用した。原料は、凍結乾燥後、粉体ミルで粉末化し、試験試料とした。

乳酸菌は植物由来として *Lactobacillus plantarum* NBRC15891, 腸管由来として *Lactobacillus rhamnosus* NBRC3425 を(独)製品評価技術基盤機構から購入して発酵試験に用いた。

\* 医薬品・食品研究課

### 3. 実験方法

乳酸菌が資化できる糖類は、単糖およびオリゴ糖である。そこで、モロヘイヤのペクチナーゼ処理物、およびアナアオサ、ハタケシメジ、ハバノリのセルラーゼ処理物<sup>7)</sup>に副素材を添加し、120、15分間オートクレーブした後に乳酸菌を添加し、生育・発酵試験を行った。乳酸菌は、MRS培地で一晚培養した後、660nmでの吸光度が1.0となるように生理食塩水で希釈した菌液を、培地の1/100量(v/v)加えた。培養は、30℃で、4日間行った。

副素材は、脱脂粉乳5%(w/v)、グルコース5%(w/v)を用いた。乳酸菌数は、培養終了後に培養液をBCP寒天培地に添加し、30℃で24時間混釈培養した後に得られたコロニー数を計測することによって求めた。また、発酵終了後の培養液を室温6,000×gで遠心分離し、得られた上清についてアンジオテンシン変換酵素(ACE: Angiotensin Converting Enzyme)活性阻害をHip-His-Leuを基質としてCushmanらの方法により測定した<sup>11)</sup>。

### 4. 結果および考察

表1 副素材添加による乳酸菌の増殖効果

モロヘイヤ (cell/ml)		
培地	NBRC15891	NBRC3425
副素材無し	1.0 × 10 <sup>8</sup>	1.5 × 10 <sup>8</sup>
+D	1.6 × 10 <sup>8</sup>	3.4 × 10 <sup>8</sup>
+D,G	2.6 × 10 <sup>8</sup>	1.4 × 10 <sup>8</sup>
アナアオサ		
培地	NBRC15891	NBRC3425
副素材無し	1.3 × 10 <sup>8</sup>	5.7 × 10 <sup>8</sup>
+D	7.4 × 10 <sup>8</sup>	3.3 × 10 <sup>8</sup>
+D,G	5.2 × 10 <sup>8</sup>	8.6 × 10 <sup>8</sup>
ハバノリ		
培地	NBRC15891	NBRC3425
副素材無し	2.2 × 10 <sup>8</sup>	3.3 × 10 <sup>8</sup>
+D	7.0 × 10 <sup>8</sup>	3.9 × 10 <sup>8</sup>
+D,G	6.5 × 10 <sup>8</sup>	7.4 × 10 <sup>8</sup>
ハタケシメジ		
培地	NBRC15891	NBRC3425
副素材無し	3.3 × 10 <sup>8</sup>	2.7 × 10 <sup>8</sup>
+D	2.3 × 10 <sup>8</sup>	1.1 × 10 <sup>9</sup>
+D,G	5.8 × 10 <sup>8</sup>	1.1 × 10 <sup>9</sup>

+D: 脱脂粉乳添加

+D,G: 脱脂粉乳, グルコース添加

NBRC15891: *Lactobacillus plantarum*

NBRC3425: *Lactobacillus rhamnosus*

表2 副素材添加した乳酸菌培養液のACE活性阻害

モロヘイヤ (%:ACE inhibition)				
培地	NBRC15891		NBRC3425	
	発酵前	発酵後	発酵前	発酵後
副素材無し	33.0	N.D.	28.7	N.D.
+D	27.8	N.D.	25.3	8.2
+D,G	15.8	12.2	2.8	44.7
アナアオサ				
培地	NBRC15891		NBRC3425	
	発酵前	発酵後	発酵前	発酵後
副素材無し	53.1	66.6	4.8	36.5
+D	55.9	28.2	59.2	29.9
+D,G	48.8	39.7	46.4	66.2
ハバノリ				
培地	NBRC15891		NBRC3425	
	発酵前	発酵後	発酵前	発酵後
副素材無し	60.1	50.0	55.0	46.0
+D	51.5	37.2	52.6	37.2
+D,G	49.5	54.2	46.3	101.6
ハタケシメジ				
培地	NBRC15891		NBRC3425	
	発酵前	発酵後	発酵前	発酵後
副素材無し	72.8	84.8	74.3	83.7
+D	86.3	75.7	78.4	83.4
+D,G	77.1	77.7	81.2	60.2

+D: 脱脂粉乳添加

+D,G: 脱脂粉乳, グルコース添加

NBRC15891: *Lactobacillus plantarum*

NBRC3425: *Lactobacillus rhamnosus*

各種素材の酵素分解物に副素材を添加したところ、*Lactobacillus plantarum* NBRC15891、*Lactobacillus rhamnosus* NBRC3425共に、副素材無し、脱脂粉乳のみの添加、脱脂粉乳とグルコースの添加、いずれの試験区においても良好に生育し、pHの低下が認められた(図表示せず)。

培養最終日での乳酸菌の菌数を表1に示す。ハタケシメジで脱脂粉乳、脱脂粉乳とグルコースの添加区で、他の試験区に比べ菌数が多くなったが、概ね各試験区とも同様に良好な菌増殖が認められた。

乳酸菌の生育による発酵産物のACE活性阻害作用を表2に示す。NBRC15891での発酵では、全試験区で、ACE活性阻害作用を明らかに強める効果は認められなかったが、NBRC3425では素材により違いが認められた。NBRC3425での発酵により、モロヘイヤ、ハバノリに副素材として脱脂粉乳とグルコースを添加したときにACE活性阻害作用は強くなった。脱脂粉乳のみの添加では、ACE活性阻害作用

は大きく変化しなかったことから、グルコースの添加により、ACE 活性阻害作用に影響を与えたと考えられる。また官能試験において、副素材を添加した全ての試験区でヨーグルト様の甘い香りが認められ、原材料特有の香りが改善された。

## 5. まとめ

モロヘイヤ、アナアオサ、ハバノリ、ハタケシメジの酵素分解物に副素材として脱脂粉乳、グルコースを添加することにより、乳酸菌はいずれも良好に生育した。また、モロヘイヤ、あるいはハバノリの酵素分解物にグルコースと脱脂粉乳を添加して乳酸菌 *Lactobacillus rhamnosus* NBRC3425 を培養した場合には、発酵培養液の ACE 活性阻害作用が強くなったことから、グルコースが ACE 活性阻害に関与していることが明らかとなった。

## 参考文献

- 1)食品と開発編集部：“健康食品の市場動向と素材・技術研究”。食品と開発，42(2)，p16-17(2007)
- 2)苔庵泰志ほか：“天然由来の糖質による機能性食品素材の開発（第1報）”。三重県科学技術振興センター工業研究部研究報告，29，p1-6(2005)
- 3)中林徹ほか：“天然由来の糖質による機能性食品素材の開発（第2報）”。三重県科学技術振興センター工業研究部研究報告，29，p7-10(2005)
- 4)苔庵泰志ほか：“ハタケシメジの投与が高血圧自然発症ラットの血圧に及ぼす影響”。日本食品科学工学会誌，49(2)，p126-129(2002)

- 5) Kokean, Y. et al.：“Effect of frying with edible oil on antihypertensive properties of Hatakeshimeji (*Lyophyllum decastes* Sing.) Mushroom”. Food Science and Technology Research, 11(3), p339-343(2005)
- 6)苔庵泰志ほか：“ハタケシメジを添加した炊飯米の物理特性について”。日本きのこ学会誌，14(2)，p91-98(2006)
- 7)苔庵泰志ほか：“ハタケシメジ (*Lyophyllum decastes*) およびモロヘイヤ (*Corchorus olitorius*) 酵素分解物による乳酸菌の生育効果について”。三重県科学技術振興センター工業研究部研究報告，30，p107-109 (2006)
- 8)比嘉賢一ほか：“沖縄産海藻の新規利用法の開発”。沖縄県工業技術センター研究報告，4，p13-18(2002)
- 9)内田基晴：“海藻の乳酸発酵”。月刊海洋，35(号外)，p270-279(2003)
- 10) Uchida M. et al.：“Isolation of a lactic acid bacterium and yeast consortium from a fermented material of *Ulva* spp.(Chlorophyta)”. J. Appl. Microbiol., 97, 1297-1310(2004)
- 11)Cushman, D. W. et al.：“Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung”. Biochem. Pharmacol., 20, p1637-1648(1971)

(本研究は法人県民税の超過課税を財源としていません)