

海藻成分が及ぼす乳酸菌生育への影響
－動物性乳酸菌と植物性乳酸菌についての比較研究－

海老澤 薫*¹ 本田 杏奈*²
久木 久美子*³ 坂井 孝*⁴

**Effect of Seaweed Components on the Growth of
Lactic Acid Bacteria
－ Comparison between animal lactic acid bacteria and
plant origin lactic acid bacteria －**

Kaoru Ebisawa*¹ Anna Honda*²
Kumiko Hisaki*³ Takashi Sakai*⁴

Abstract

Many varieties of seaweed grow in Japan, and we have incorporated a large amount of seaweed into our diet. Many reports have been made on the bioactivity of seaweed. Seaweed is rich in water-soluble dietary fiber, and these fibers are known to be prebiotics that support the growth of good bacteria such as lactic acid bacteria. On the other hand, we have been ingesting lactic acid bacteria, one of the intestinal bacteria, as food for a long time. In this study, we investigated the effects of seaweed (*kombu*, *wakame*, *nori*) components on *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*) and *Lactobacillus brevis* KB290.

It was confirmed that the addition of *kombu*, *wakame*, and *nori* all affected the growth of lactic acid bacteria. Furthermore, it was also shown that there is a difference in response to seaweed components between lactic acid bacteria and plant origin lactic acid bacteria.

キーワード

海藻、乳酸菌、腸内細菌、プレバイオティクス、プロバイオティクス

-
- * 1 えびさわ かおる：大阪国際大学短期大学部講師（2021. 12. 3 受理）
* 2 ほんだ あんな：大阪国際大学短期大学部非常勤講師
* 3 ひさき くみこ：大阪国際大学短期大学部教授
* 4 さかい たかし：大阪国際大学短期大学部教授

I. はじめに

1. 海藻の種類と消費量

海藻とは海で生育する藻類の総称であり、緑藻類、褐藻類、紅藻類に大別される。四方を海に囲まれた日本沿岸には多くの種類の海藻が生育し、これまでに約 1,500 種が報告されている^{8,14)}。われわれ日本人は古くから海藻類を食材として様々な方法で摂取してきた³⁾。海藻を用いた料理は海藻種、調理法、地域性が相まって多岐にわたる。海藻は日本の食文化を形成してきた食材の一つであるといえる。総務省の 2018 年～2020 年の家計調査（二人以上の世帯）品目別年間支出金額及び購入数量によると、乾物・海藻類購入への年間の支出額は全国平均で 9,287 円であり、そのうち干しノリが 2,973 円、ワカメが 1,603 円、コンブが 890 円、その他の海藻類が 2,951 円となっている。世帯の構成年齢、地域により異なるが、海藻類の中でもノリ、ワカメ、コンブの 3 種類が多く消費されているといえる^{4,11)}。

2. 海藻の生理活性成分

近年、血中コレステロール値の低下、食後血糖値の上昇抑制、抗ガン、抗肥満、抗糖尿病などの生活習慣病予防や免疫増強活性など海藻がもつ様々な生理活性が数多く報告されている^{5,6,7,10)}。海藻のもつ生理活性成分として、海藻のヌメリ成分である細胞間粘質多糖に代表される食物繊維とフコキサンチンに代表されるカロテノイド色素が挙げられる。

3. 海藻摂取と肥満改善効果

近年、食生活や生活習慣の多様化からわが国において肥満の人口が急激に増えている。肥満に関する研究のうち近年の傾向として、腸内細菌叢と肥満の関係、食習慣と腸内細菌との関係性を探る研究が精力的に進められている。腸内細菌叢は、大きく善玉菌と悪玉菌に分類される。代表的な善玉菌に乳酸菌やビフィズス菌がある。これらの細菌は“発酵”により体内で消化されない食物繊維やオリゴ糖などから乳酸や酢酸を産生し、腸内を酸性に保つ働きがある。乳酸菌やビフィズス菌が産生する短鎖脂肪酸は腸から吸収されて血液を通じて全身に届けられる。この短鎖脂肪酸はヒトの腸を健全化するほか、脂肪細胞に働きかけると脂肪の取り込みを停止させることが報告されている。

坂井らの研究チームは、肥満関連遺伝子である $\beta 3$ アドレナリン受容体 ($\beta 3$ ADR) 遺伝子変異を有する人の中で、海藻類の摂取習慣のない人は、摂取習慣がある人に比べ、BMI が 25 以上（肥満）となる可能性が約 10 倍高くなることを示した¹⁰⁾。すなわち、海藻成分と腸内細菌との関連性について詳細な知見を得ることは、肥満改善への個別化栄養指導へ繋がるのが可能であると考えられる。

さらに、2010 年に Jan-Hendrik Hehemann らによって、腸内常在細菌の 1 つであるバクテロイデス・プレビウス (*Bacteroides plebeius*) は海藻に含まれる食物繊維を分解する酵素であるポルフィラナーゼを有しており、このプレビウス菌は海藻を日常的に摂取する習

慣のある日本人に特有のものであることが報告された³⁾。

Ⅱ. 本研究の目的

これまで、海藻と乳酸菌を共存させる研究として、海藻を酵素セルラーゼで分解処理して糖源として乳酸菌による乳酸発酵を行う例が報告されている¹³⁾。海藻に含まれる食物繊維と腸内細菌との関係について報告がある一方で、海藻成分が与える腸内細菌の一つである乳酸菌生育へ与える影響については報告が少ない。近年、プロバイオティクスへの関心の高まりから乳酸菌の様々な生理活性が着目され、機能性を持つ乳酸菌を利用した食品が販売されている。すなわち、海藻成分が与える乳酸菌への影響について検討して知見を得ることは、腸内環境改善につながる海藻や乳酸菌のスクリーニング、さらに“食べ合わせ”など食生活の改善につながると考えられる。そこで本研究では、*in vitro*での海藻成分の乳酸菌への影響ならびに動物性乳酸菌および植物性乳酸菌の乳酸菌種の違いについて明らかにすることを目的とした。乳酸菌を含む食品はヨーグルトやチーズなどの乳製品、漬物などの発酵食品と多岐にわたるが、本実験では動物乳酸菌試料としてヨーグルト、植物性乳酸菌として植物性乳酸菌飲料を用いた。海藻試料として、日本人が日常的に摂取する機会の多いコンブ、ワカメ、ノリの3種類を実験に供し、比較した。

Ⅲ. 実験方法

1. 試料

1-1) 海藻試料

コンブ、ノリについては市販品を購入し、ワカメ試料は有限会社高木商店より提供していただいたものを実験に供した。なお、ノリ試料は実験直前に乳鉢にて粉碎し、粉末化させた。

〈コンブ試料〉

ヤマトタカハシ社製 北海道道南産昆布粉末

〈ノリ試料〉

ニコニコのり株式会社製 有明海産磯薫りのり

〈ワカメ試料〉

有限会社高木商店製 ワカメ粉末

1-2) 乳酸菌試料

大学近郊の生鮮食料品を扱うスーパーマーケットにて冷蔵品として流通しているヨーグルトおよび植物性乳酸菌飲料を試料とした。消費期限内のものを購入し、購入日を含めて

4日以内に実験に供した。商品名および乳酸菌の種類は以下のとおりである。

〈動物性乳酸菌試料〉

雪印メグミルク「牧場の朝 生乳仕立て」

乳酸菌：*Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*

〈植物性乳酸菌試料〉

カゴメ「ラブレ 甘さすっきりプレーン」

乳酸菌：*Lactobacillus brevis* KB290

2. 乳酸菌の培養および菌数の測定

2-1) 培地

乳酸菌の培養には、食品衛生法に基づく「乳及び乳製品の成分規格に関する省令」で定められた公定培地であるBCP (Bromocresol purple) 加プレートカウント寒天培地 (栄研化学株式会社製) を使用した。培地の組成 (培地 1,000mL あたり) は次のとおりである。

酵母エキス：2.5g、ペプトン：5.0g、ブドウ糖：1.0g、ポリソルベート 80：1.0g、L-システイン塩酸塩：0.1g、プロムクレゾールパープル：0.04g、カンテン：15.0g

2-2) 培養条件

混積平板培養を用いた。滅菌シャーレに乳酸菌希釈液 1mL を分注し、そこに高圧蒸気滅菌 (オートクレーブにて 121℃、15 分間) を行った後、約 50℃ に保温した培地 15mL を加えて検体と培地が均一になるよう混積した。公定法に基づいて恒温器にて $36 \pm 1^\circ\text{C}$ 、 72 ± 3 時間、倒置培養した。

2-3) 乳酸菌の菌数測定

BCP 加プレートカウント寒天培地は培地中に Bromocresol purple を含む紫色を呈した培地であり乳酸菌が産生する乳酸により黄変する。すなわち、黄変の見られたコロニーを測定して cfu (Colony Forming Unit：コロニー形成単位) とした。

2-4) 乳酸菌希釈系列の作成

均一化した試料から無菌的に 1g を秤量し、3M 社製滅菌リン酸緩衝液 (phosphate-buffered saline：以下 PBS) 9 mL に懸濁した。これを 10 倍希釈検体すなわち 10^1 希釈液とした。乳酸菌試料の希釈には、実験操作中の乳酸菌への損傷を軽減するために、菌体と等張環境に近い PBS を使用した。これまでの研究から、筆者らは 10^7 希釈したものがコロニー数として実験に適していること、PBS は培地に影響を及ぼさないことを報告している²⁾。本実験では 10^7 希釈したものを実験に供した。

3. 海藻成分の抽出および培地への添加方法

本実験では海藻に含まれる成分の乳酸菌への影響を調べるため、溶媒による分画を行わない方法での抽出法を採用した。すなわち、培地調製時に海藻粉末を培地全体の0.5%、1.0%濃度となるよう添加し、高圧蒸気滅菌作業により海藻成分を抽出した。培地中に海藻を含まないものをコントロール（対照培地）とした。

なお、海藻成分によるBCP加プレートカウント培地への影響についてはPBSを乳酸菌検液として培養した結果、培地の凝固不良、黄変や変色は認められないことを確認した。

4. 統計解析

各種海藻添加が与える乳酸菌数への影響についてはそれぞれの培地条件における乳酸菌数についてエクセル分析ツール（バージョン2110）を用いてT検定により調べた。危険率が0.05以下のとき、有意であるとみなした。

IV. 結果および考察

海藻を培地に添加した場合の培養後の乳酸菌数を図1に、乳酸菌数の変化率について表1に示す。

実験の結果、牧場の朝ではコンブ、ワカメ、ノリを添加したものでコントロールと比較して0.5%、1.0%添加ともに乳酸菌数が有意に減少した。一方、ラブレではワカメ1.0%添加を除いて有意な減少は認められなかった。すなわち、牧場の朝に使用されている動物性乳酸菌 *Lactobacillus bulgaricus* および *Streptococcus thermophilus* の2種はコンブ、ワカメ、ノリに含まれる何らかの成分によって影響を受けることが示唆された。他方、ラブレに使用されている植物性乳酸菌 *Lactobacillus brevis* KB290はその影響はほぼ受けないと考えられる。本実験では、海藻からの成分抽出方法として培地の滅菌条件である121℃、15分の熱水加熱抽出を行った。すなわち、この条件では高極性の水溶性成分の他に、Log P値（オクタノール/水分配係数）の高い疎水性成分も抽出されていると考えられる。今後は海藻成分の分画を行い、フラクション毎の乳酸菌増殖に与える影響を検討する予定である。

乳酸菌は生育する環境によって動物性乳酸菌と植物性乳酸菌に大別されるが、動物性乳酸菌は動物の乳中に生育するとされ、チーズ、ヨーグルト、乳酸菌飲料製造に使われる。一方、植物性乳酸菌は植物素材からグルコース、フルクトース、スクロース、マルトースを糖源として発酵を行い、漬物、味噌、酒造りに使用される。実験に供した植物性乳酸菌飲料に含まれる *Lactobacillus brevis* KB290はすぐき菜漬けから単離されたものである。いずれの乳酸菌も発酵には糖源が必要であるが、発酵形式に違いが見られる。*Lactobacillus bulgaricus* および *Streptococcus thermophilus* の2種はホモ型乳酸発酵を行い、1分子のグルコースから2分子の乳酸を産生する。一方、*Lactobacillus brevis* KB290はヘテロ型乳酸発酵を行い、1分子のグルコースから1分子の乳酸の他にエタノールと二酸化炭素を産生する。動物性乳酸菌、植物性乳酸菌間で海藻成分による挙動に差が見られた理由として、これらの乳酸菌の生理・生化学的な性状の違いが関与していることも考えられる。

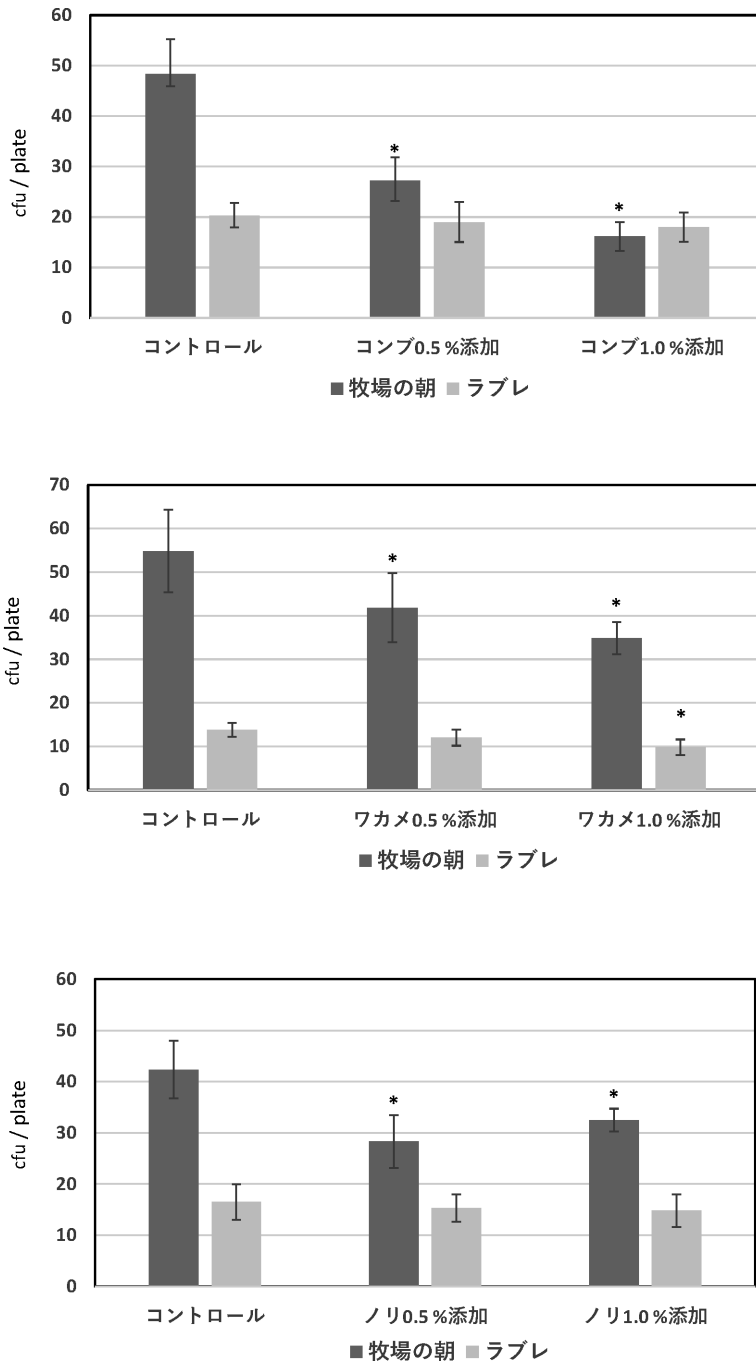


図1 各種海藻添加下における乳酸菌数 (cfu/plate)

*: コントロールに対する差が有意 ($p < 0.05$) であることを示す。(n = 6, mean ± SD)

表 1 各種海藻成分添加が乳酸菌増殖に与える影響*

海藻	添加濃度 (%)	牧場の朝	ラブレ
コンブ	control	1.0	1.0
	0.5	0.56	0.93
	1.0	0.33	0.89
ワカメ	control	1.0	1.0
	0.5	0.76	0.87
	1.0	0.64	0.71
ノリ	control	1.0	1.0
	0.5	0.67	0.93
	1.0	0.77	0.90

* : 海藻無添加をコントロールとして培養後の乳酸菌数（平均）を 1 とした。

現在、プロバイオティクスへの関心の高まりから様々な機能性を持った乳酸菌（主に動物性乳酸菌）を使用したヨーグルトや乳酸菌飲料が販売されている。乳酸菌関連の食品市場は 8,000 億円を超える規模となっており、その 6 割がヨーグルトとされる¹²⁾。そこで本研究では、動物性乳酸菌試料としてヨーグルトを用いた。また、海藻成分と乳酸菌との関連性を食生活の観点からも調べる上で、本実験では比較的安価で購入が可能かつ、古くからヨーグルト作りに使用されている *Lactobacillus bulgaricus* および *Streptococcus thermophilus* を含む雪印メグミルク「牧場の朝 生乳仕立て」を試料とした。今後は他の乳酸菌について調査を継続する予定である。

V. まとめ

本実験では、乳酸菌培養における培地中に海藻を 0.5 % または 1.0 % 添加することによりコンブ、ワカメ、ノリの成分が与える乳酸菌の増殖への影響について検討した。乳酸菌として動物性乳酸菌では *Lactobacillus bulgaricus* および *Streptococcus thermophilus* を、植物性乳酸菌では *Lactobacillus brevis* KB290 を使用した。実験の結果、*Lactobacillus bulgaricus* および *Streptococcus thermophilus* では海藻を添加することでコントロールと比較して培養後の乳酸菌数が有意に低下した。一方、*Lactobacillus brevis* KB290 ではワカメ 1.0% 添加を除いては乳酸菌数の減少は認められなかった。乳酸菌の種類間での海藻成分に対する挙動の違いが観察された。本実験は *in vitro* での実験系であるが、得られたデータは腸内細菌の一つである乳酸菌や海藻の効率的な摂取や調理方法を考えるうえで有用なデータになりうると考えることができる。

引用・参考文献

- 1) 別冊うかたま 伝え継ぐ日本の家庭料理「いも・豆・海藻のおかず」, 農文協, 2021
- 2) 海老澤薫, 坂井孝, 学生実験における市販発酵食品を用いた乳酸菌に関する実験の導入
- 実験方法の検討および実践報告 -. 大阪国際大学・大阪国際大学短期大学部紀要: 国際研究論叢. Vol 35, No.2, 145-157, 2022
- 3) Jan-Hendrik Hehemann, Gaëlle Correc, Tristan Barbeyron, William Helbert, Mirjam Czejzek, Gurvan Michel. Transfer of carbohydrate-active enzymes from marine bacteria to Japanese gut microbiota. *Nature* volume 464, 908-912, 2010
- 4) 家計調査 (二人以上の世帯) 品目別都道府県庁所在市及び政令指定都市ランキング 2018年 (平成30年) ~ 2020年 (令和2年) 平均. 総務省 (オンライン), 入手先 <<https://www.stat.go.jp/data/kakei/5.html>>, (参照 2021-11-30)
- 5) 亀井勇統. 海藻のもつ多彩な生理機能性成分. *化学と生物*. 39 (2), 92-96, 2001
- 6) 川瀬学, 何方. プロバイオティクス発酵乳による抗肥満作用. *腸内細菌学雑誌*. 24 : 265-271, 2010
- 7) Mikami N, Hosokawa M, Miyashita K, Sohma H, Ito YM, Kokai Y. Reduction of HbA1c levels by fucoxanthin-enriched akamoku oil possibly involves the thrifty allele of uncoupling protein 1 (UCP1): a randomised controlled trial in normal-weight and obese Japanese adults. *札幌医学雑誌*. 86 (1-6), 108-109, 2017
- 8) 日本の海藻 - 美しく多様な海藻の世界 -. 国立科学博物館 (オンライン), 入手先 <<http://www.tbgekahaku.go.jp/research/database/seaweedworld/html/index/index2.html>>, (参照 2021-11-30)
- 9) 日本食育学会 第13回大会 (2018年6月開催)
- 10) 西澤一俊, 大野正夫. 海藻由来の水溶性食物繊維の化学構造と薬理的機能. *日本食物繊維学会誌*. 8 (1), 1-12, 2004
- 11) 大房 剛. 日本での最近の食用海藻業界の動向と問題点. *Algal Resources* 4 : 15-21, 2011
- 12) 特集【乳酸菌】乳酸菌市場 8,000億円規模に到達 - 熾烈な競争で差別化戦略進む -. *健康産業新聞* (オンライン), 入手先 <https://www.kenko-media.com/health_idst/archives/13581>, (参照 2021-12-2)
- 13) 内田基晴. 海藻の乳酸発酵に関する研究. *水研センター研報*. No.14, 21-85, 2005
- 14) 吉田忠生, 鈴木雅大, 吉永一男. : 日本産海藻目録 (2015年改訂版). *藻類 Jpn. J. Phycol. (Sôru)* 63: 129-189, 2015