

# プロピオン酸菌を利用した乳製品の高付加価値化

食品開発部畜産食品科 川上 誠

## 研究の概要

北海道内の乳素材より機能性（ビフィズス菌増殖性）が期待されるプロピオン酸菌を分離しました。この分離菌株および分離菌の発酵物のプロバイオティクス、プレバイオティクスとしての利用を検討し、プレバイオティクスとしての効果が期待される発酵乳およびナチュラルチーズを開発しました。

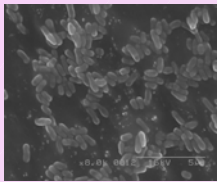
### 目的

プロピオン酸菌は発酵によってプロピオン酸を産生する、人や動物の表皮、腸管内に存在する微生物です。プロピオン酸菌の機能性は整腸作用、ビフィズス菌増殖作用、コレステロールの低減、ビタミンの産生などが報告されています。しかし、食品での利用例は少なく、スイスなどで一部のチーズに利用されているのみで、国内ではほとんど利用されていません。当センターでは北海道内の乳素材よりプロピオン酸菌を分離し、乳製品への利用を検討してきました。本試験ではプロバイオティクス、プレバイオティクスとして高付加価値化されたプロピオン酸菌による発酵乳、ナチュラルチーズの開発を検討しました。

### 1. プロピオン酸菌の分離および性質（これまでの成果）

北海道内の生乳、チーズよりGYP白亜寒天培地を用いてプロピオン酸菌と推定される短桿菌を分離しました。16SrDNA約1500bpの塩基配列および生化学試験から分離菌株はプロピオン酸菌 *Propionibacterium freudenreichii* Subsp. *shermanii* の近縁種と推定されました。

分離菌株は牛乳中の乳糖（ラクトース）を分解してL-乳酸を生成することが確認されました。乳酸菌と同様に乳酸発酵することから発酵乳などへの利用が期待されます。また、ブドウ糖（グルコース）や乳糖などよりも乳酸を炭素源として急速に増殖する性質が確認されました。このことから乳酸菌との共生の可能性が示されます。例えば乳酸菌によってあらかじめ牛乳中の乳糖を乳酸に変換しておくことでプロピオン酸菌がこれを利用して速やかに増殖する可能性があります。さらに分離菌株はラフィノースなどのオリゴ糖を炭素源として利用しません。ラフィノースなどのオリゴ糖はプレバイオティクスとしてビフィズス菌に利用されますが、ビフィズス菌を利用したヨーグルトの開発を考えた場合でもビフィズス菌との競争は生じません。



分離菌株  
*Propionibacterium freudenreichii*  
Subsp. *shermanii*

分離菌株の性状

グラム陽性	+
桿菌	+
硝酸還元	+
カタラーゼ	+

### 分離菌は乳製品に利用できるのか

#### 糖発酵試験

L-アラビノース	-	セルビオース	-
D-キシロース	-	マルトース	-
グルコン酸ナトリウム	-	メルビオース	-
グルコース	+	シュクロース	+
フルクトース	+	ラフィノース	-
ガラクトース	+	サリチン	-
マンノース	-	トレハロース	-
ラムノース	-	マンニトール	-
ラクトース	+	ソルビトール	-

糖源としてラフィノースなどのオリゴ糖を利用しないためビフィズス菌と競争しない。  
ビフィズス菌との混合も可能

乳酸発酵  
乳酸菌と同様に牛乳中のラクトース（乳糖）を乳酸に変換できる。発酵乳に利用可能

### 3. プロバイオティクスとしての利用可能性

分離株が生きたまま腸内に到達できるか、胃酸耐性、胆汁酸耐性を検討しました。

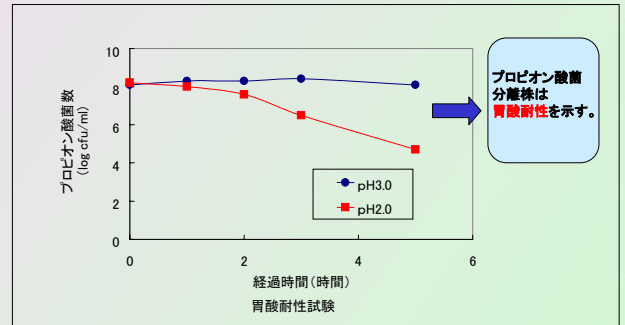
#### 試験方法

胃酸耐性試験は塩酸性（pH2.0、pH3.0）に調整したペプシン溶液（最終濃度0.4%）を人工胃液としてプロピオン酸菌培養液を添加し37°C、5時間静置してプロピオン酸菌生菌数の変化を計測しました。胆汁酸耐性試験はpH3.0人工胃液で4時間処理後のプロピオン酸菌溶液を胆汁末（最終濃度0.4%）で調整した人工腸液に添加して37°C、24時間静置してプロピオン酸菌生菌数を計測しました。

#### 試験結果

胃酸耐性試験から分離菌株の生菌数はpH2.0で減少傾向を示しましたが、pH3.0では処理5時間後も菌数の減少は認められませんでした。ヒトの胃内でのpHは摂食時にpH3~5程度で、消化物は2時間程度で十二指腸へ移送されることから、食品として利用する場合、分離菌株は十分な胃酸耐性を備えていると考えられます。一方、胆汁酸耐性試験では、分離菌株は0.4%胆汁酸中では6時間程度しか残存できないことが確認されました。ヒトの腸内では消化物の滞留は24時間程度であり、胆汁酸耐性の面からは十分な結果は得られませんでした。

プロピオン酸菌をプロバイオティクス利用していくためには生きたまま腸まで到達し、生育させる必要があります。さらに胆汁酸耐性、腸内定着性などの検討を行う必要があります。



### 4. プロピオン酸菌の利用

プロピオン酸菌の乳酸発酵を利用することによって発酵乳（ヨーグルト、フローズンヨーグルト）、クリームチーズの製造が可能であり、市販の乳酸菌と混合培養することで良好な製品が開発されました。プロピオン酸菌を利用することによってナッツ様のフレーバーとチーズアイ（炭酸ガスによるガスホール）を形成するアルペンタイプのチーズが試作されました。

プロピオン酸菌は炭素源として乳酸を利用することにより増殖を速め、プロピオン酸菌発酵物はビフィズス菌を増殖させます。今後、乳酸菌、プロピオン酸、ビフィズス菌の共生についての試験を行い、これら三者を複合した乳製品の開発を検討する予定です。

### 2. プレバイオティクスとしての利用可能性（ビフィズス菌増殖性）

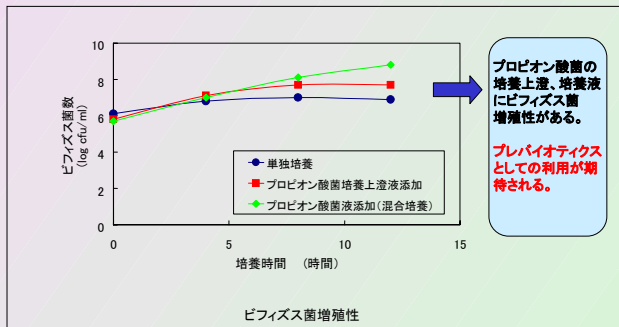
プロピオン酸菌の中にはビフィズス菌増殖因子（bifidogenic growth stimulator, BGS）を産生するものが知られています。そこで、分離菌株の発酵物にビフィズス菌増殖性が認められるか、また、分離菌株との混合培養によってビフィズス菌が増殖するのかが検討しました。

#### 試験方法

プロピオン酸菌液は分離菌株を乳酸ペプトン培地を用い35°C、24時間前培養して調製しました。プロピオン酸菌上澄液は、プロピオン酸菌液を遠心分離後0.2 μmフィルターで除菌処理して調製しました。増殖性を検討するビフィズス菌には *Bifidobacterium bifidum* NBRC100015を用い、培養は単独培養のほかプロピオン酸菌上澄液およびプロピオン酸菌液をそれぞれ10%添加して、乳糖ペプトン培地を用いて35°Cで行いました。ビフィズス菌数はTOSプロピオン酸寒天培地で計測しました。

#### 試験結果

プロピオン酸菌培養液またはプロピオン酸菌培養上澄液を添加することによってビフィズス菌の増殖が促進されることが確認されました。プロピオン酸菌が生きている培養液のみならず、菌体を除去した培養上澄液においてもビフィズス菌の増殖性が認められることから分離菌株の培養物にはBGSが存在が示唆されます。プロピオン酸菌分離菌株の培養物（発酵物）はプレバイオティクスとして利用可能であることが示されました。

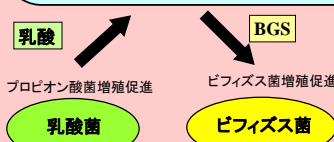


プロピオン酸菌の培養上澄液、培養液にビフィズス菌増殖性がある。  
プレバイオティクスとしての利用が期待される。

### プロピオン酸菌の利用

乳酸発酵：種やかな酸味  
発酵乳、クリームチーズに利用  
プロピオン酸発酵：特徴的な風味と炭酸ガス発生  
アルペンタイプチーズに利用  
(エメンタール、グリエール)

### プロピオン酸菌



製品化した発酵乳製品



アルペンタイプチーズの試作品  
プロピオン酸菌によって形成された  
チーズアイ（ガスホール）

### 用語の説明

**プレバイオティクス**：腸内に生息する有用菌に選択的に働き、増殖を促進したりその活性を高めることによって宿主の健康に有利に作用する物質。本試験ではビフィズス菌を増殖させるプロピオン酸菌の発酵物を想定しています。

**プロバイオティクス**：腸内フローラのバランスを改善することによって宿主の健康に好影響を与える生きた微生物菌体。本試験ではビフィズス菌を増殖させるプロピオン酸菌が生きたまま腸内で活動することを想定しています。

この発表に関するお問合せ  
北海道立食品加工研究センター  
食品開発部畜産食品科 川上  
TEL: 011-387-4118