

# 発酵食品(チーズ)におけるプロバイオティクス評価について

健康デザイン学科 4B 牟田明日香 指導：村松朱喜

## 【緒言】

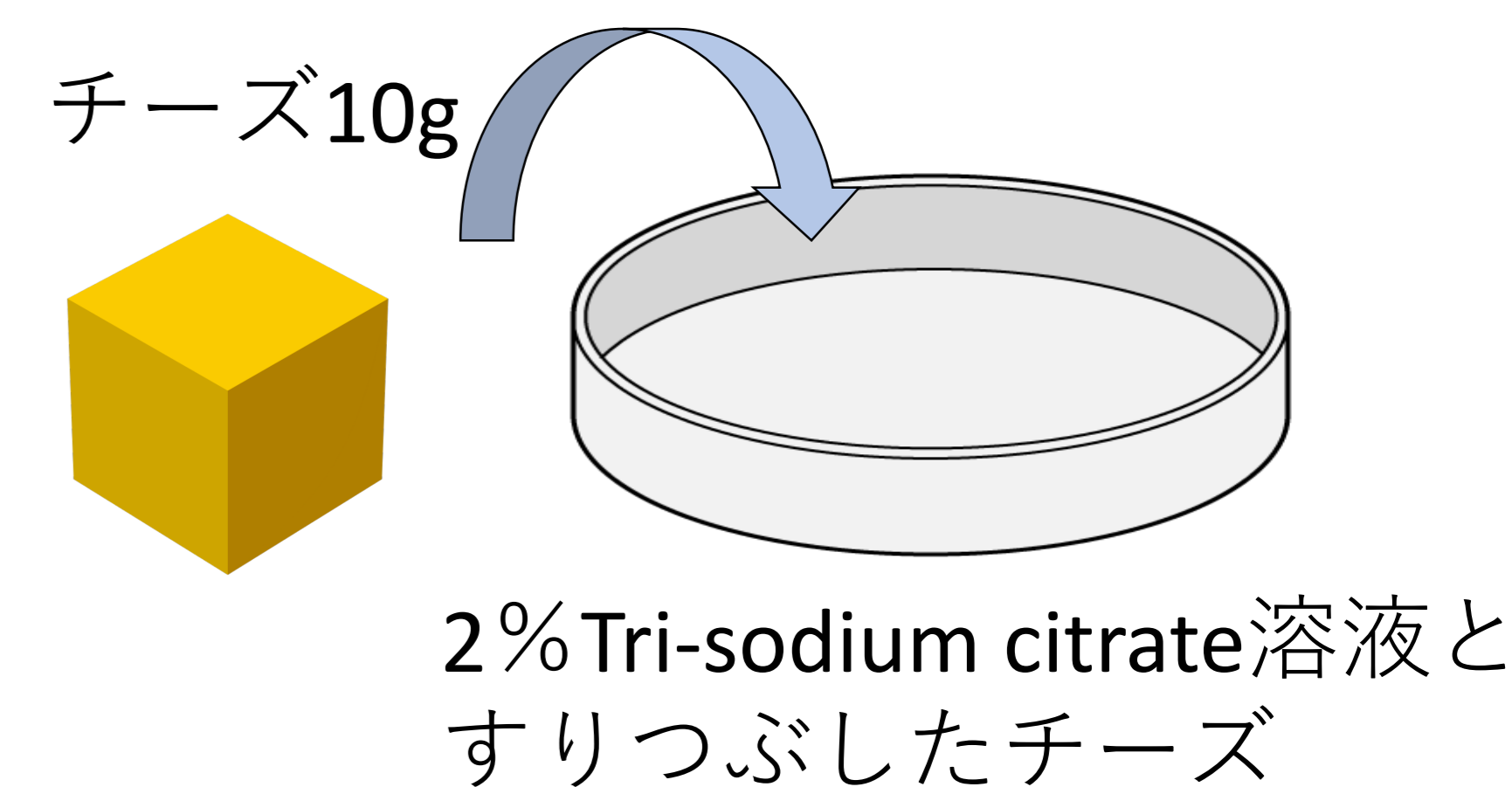
近年健康志向が高まる中で、発酵乳製品であるヨーグルトの健康効果が注目されている。一方で同じく発酵乳製品のチーズの人気も高まっているが、現時点ではヨーグルトに比べると栄養生理効果の報告が少ない。そこで、本研究ではチーズの乳酸菌に着目し、プロバイオティクス効果の検討を行うことを目的とし、まだ明らかにされていないチーズの可能性を見つけたいと考え、このテーマを選んだ。プロバイオティクスとは、「適切な量を摂取したときに宿主に有益な健康効果をもたらす非病原性の生きて微生物」と国際連合食糧農業機関 (FAO)、世界保健機構 (WHO) で定義されている。本研究では、プロバイオティクス評価項目の中でも胃液、胆汁などに耐えて生きて腸に到達できるかという条件にフォーカスして検証を行った。

## 【実験方法】

試料としてナチュラルチーズを用いた。パルメザンチーズ、ゴダチーズ、ゴダハーブチーズ、レッドチェダーチーズ、ステッペンチーズ、マリボーチーズ、モッツアレラチーズ、コルビージャックチーズ、ミモレットチーズ、サムソーチーズの10種類を用いた。

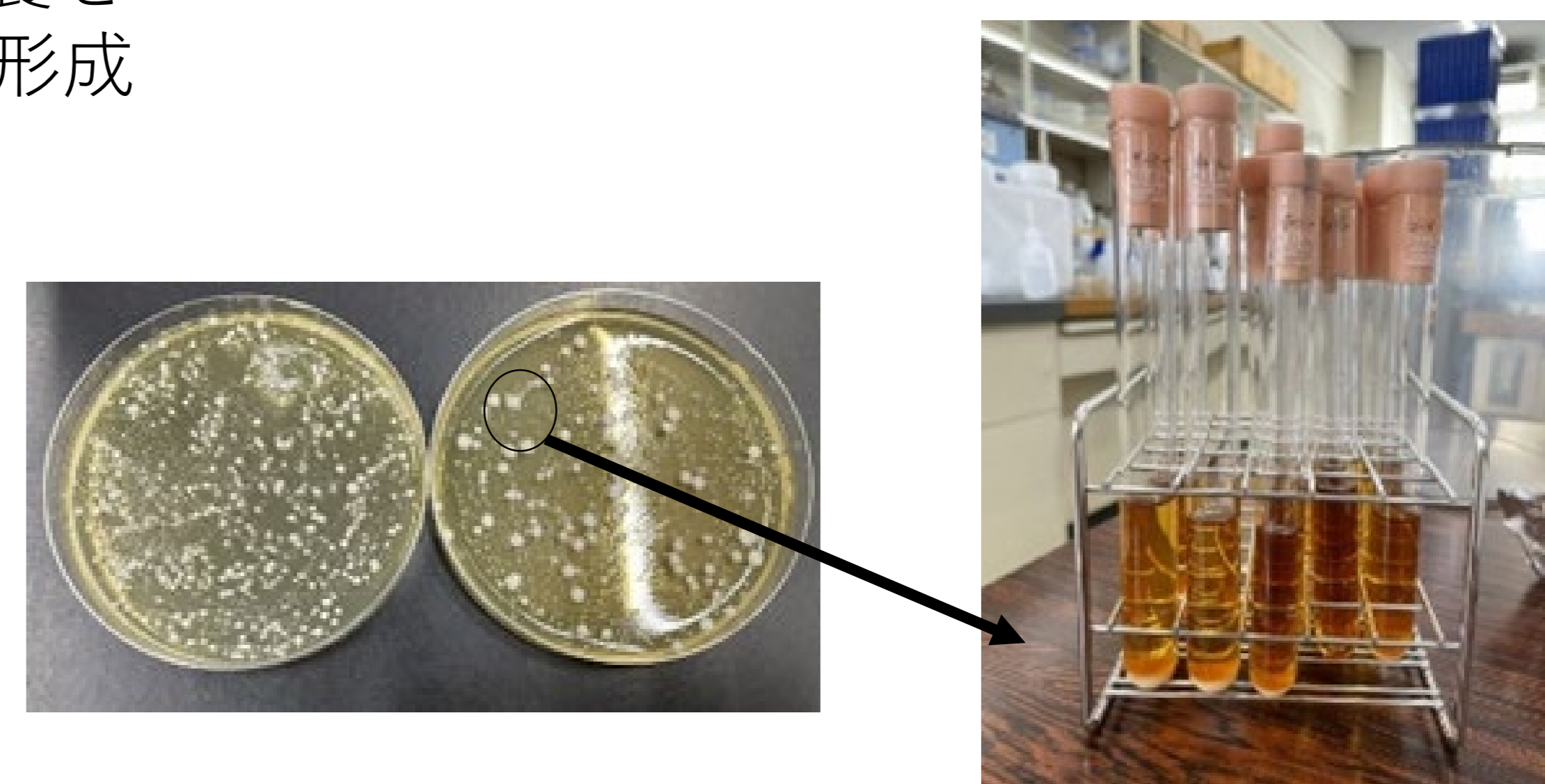
### 1. MRS-sorbitol培地による乳酸菌の検出

各種チーズを10g計り取り、2%Tri-sodium citrate溶液を10ml入れ、つぶしながら懸濁する。これをサンプルとした。マイクロチューブにサンプル100 $\mu$ lと2%Tri-sodium citrate溶液を900 $\mu$ l入れたものを原液とし、 $10^1$ ~ $10^4$ まで希釈した。原液から順番にMRS-Sorbitol寒天培地に100 $\mu$ l添加し、コンラージ棒で乾くまでスプレットした。その後、インキュベーターにて37 $^{\circ}$ Cで2~3日間静置培養した。



### 2. 炭酸カルシウム入りMRS培地による乳酸菌の単離

チーズ試料から分離した乳酸菌候補コロニーの1つをMRS-sorbitol液体培地に植菌し培養を行った。培養後、炭酸カルシウム入りMRS培地を用いて、混釈法によりクリアゾーンの形成の有無を判定することで乳酸菌の単離を行った。

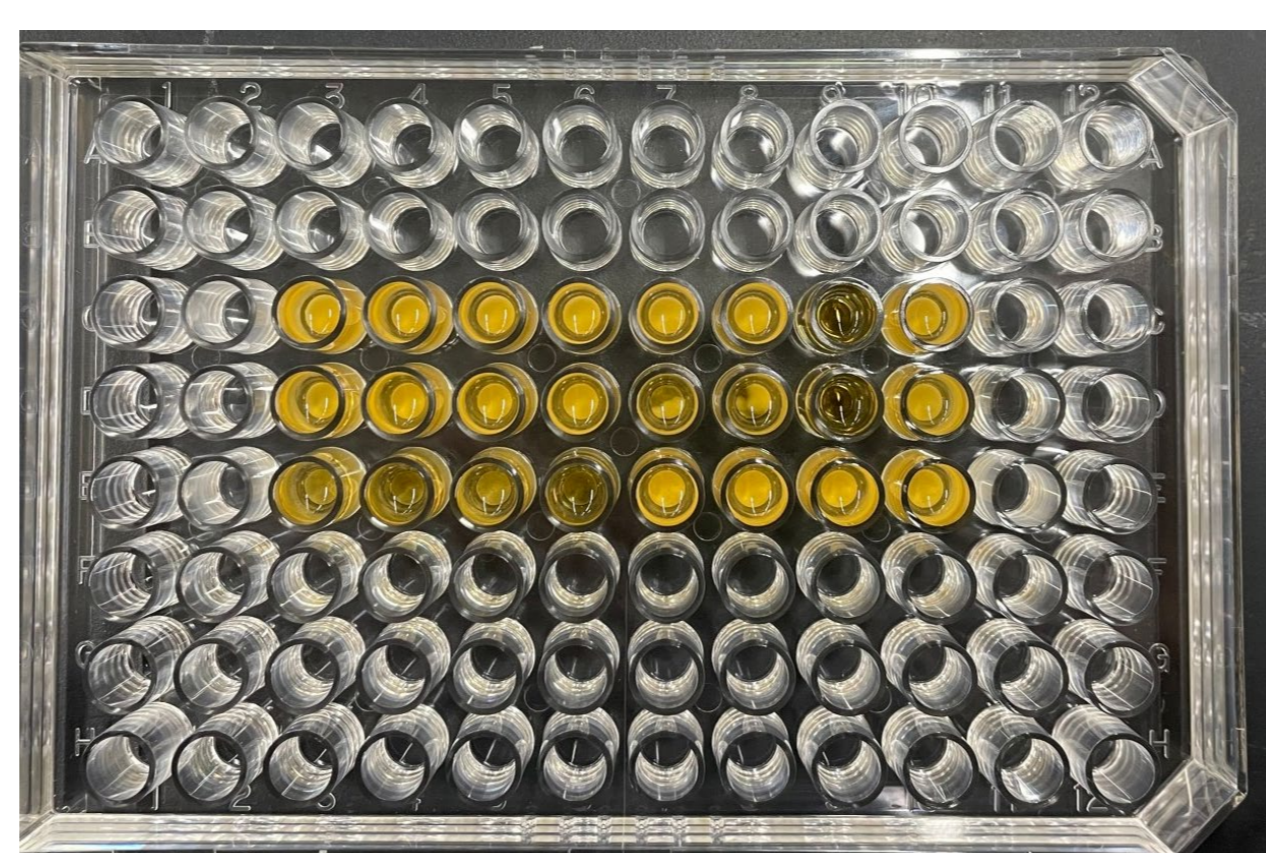


### 3. 乳酸菌の胃酸、胆汁酸の耐性の測定

胃酸への耐性は、ペプシン入りの培地を4.5mlずつ遠沈管に入れ、培養した乳酸菌が入った試験管から0.5mlずつ入れ、37 $^{\circ}$ Cで1時間静置培養した。MRS液体培地を300 $\mu$ lずつ96穴マイクロプレートに移し、培養した液体を10 $\mu$ lを入れ、37 $^{\circ}$ Cで0、48、72時間培養後、OD630nmを測定した。胆汁酸耐性は、Sodium Deoxycholate濃度0.2%、0.4%入り培地に乳酸菌を入れ、37 $^{\circ}$ Cで培養液を入れ、0、48、72時間培養後、OD630nmを測定した。

ペプシン入り培地 + 乳酸菌

→ 37 $^{\circ}$ Cで1時間静置培養 →



## 【結果】

乳酸菌と思われるコロニーを確認できたチーズは、以下の表に記載されている8種類のチーズだった。その中でもレッドチェダーチーズは、つるつるしたコロニーと、ざらざらとしたコロニーの見た目の違う2種類のコロニーが確認できた。違う種類の乳酸菌であると考えられたため、それぞれ実験を行った。

|                         | クリアゾーン判定 |
|-------------------------|----------|
| ステッペンチーズ                | ×        |
| コルビージャックチーズ             | ○        |
| パルメザンチーズ                | ○        |
| レッドチェダーチーズ (つるつるしたコロニー) | ○        |
| レッドチェダーチーズ (ざらざらしたコロニー) | ○        |
| マリボーチーズ                 | ○        |
| サムソーチーズ                 | ○        |
| モッツアレラチーズ               | ○        |
| ゴダチーズ                   | ×        |

クリアゾーン判定結果

|                   | 胃酸耐性の有無 | 胆汁酸耐性 Sodium Deoxycholate 0.2% | 胆汁酸耐性 Sodium Deoxycholate 0.4% |
|-------------------|---------|--------------------------------|--------------------------------|
| コルビージャックチーズ       | △       | ○                              | ○                              |
| パルメザンチーズ          | △       | ○                              | ○                              |
| レッドチェダーチーズ (つるつる) | ○       | ○                              | ○                              |
| レッドチェダーチーズ (ざらざら) | ×       | ○                              | ○                              |
| マリボーチーズ           | ○       | ○                              | △                              |
| サムソーチーズ           | △       | ○                              | △                              |
| モッツアレラチーズ         | ×       | ○                              | ○                              |

○：耐性あり △：結果にばらつきがあり断定できない ×：耐性なし

## 【考察】

本実験の結果、レッドチェダーチーズは2種類の乳酸菌が存在し、1種類 (つるつる) では、胃酸耐性と胆汁酸耐性の両方が見られ、生きて腸管まで届く可能性が高いと考えられる。また、腸管内の胆汁酸濃度は最高値で2%と報告されており、胆汁酸濃度0.4%においても生育が見られる乳酸菌が多く存在しており、喫食後に腸内で健康効果を発揮する可能性があると考えられる。

模擬人工胃液中の乳酸菌の生存率は乳酸菌含有チョコレートサンプルで高いことが明らかにされていることを踏まえると、チーズは脂質を多く含む食品であることからより高い生存率を持つ可能性が期待できる。今後さらに解析が進められることでチーズは、健康効果をもたらす発酵乳製品としてさらに広く普及すると考えられる。