

ケフィアニュース

KEFIR NEWS Volume 19. Number 1. (March 1. 2012)

編集・発行者 有限会社中垣技術士事務所 〒593-8328 大阪府堺市西区鳳北町 10-39

豆乳で発酵させよう

ケフィアの発祥地コーカサスでもヨーグルトの発祥地ブルガリアでも、牛乳などの獣乳を発酵させています。日本では豆乳で発酵させたいという要望が多いが、豆乳を発酵させたケフィアやヨーグルトに関する研究が少ない。弊社のホームメイド・ケフィアやプロバイオティクスGBN1は豆乳でも発酵できますので、ホームメイド・ケフィアで発酵させた豆乳の健康効果について日本獣医生命科学大学の藤澤先生に研究をお願いしました。藤澤先生はその研究結果を論文[※])にまとめ、筆者と連名で英国の学術雑誌に投稿されました。インターネットで検索すればこの論文を英文で読むことができますが、本誌の読者のために、藤澤先生に日本語で寄稿していただきました。内容は専門用語が多くやや難解ですので、筆者がわかりやすく図解して次頁に解説しました。

※) Effects of non-fermented and fermented soybean milk intake on faecal microbiota and faecal metabolites in humans.

International Journal of Food Sciences and Nutrition, 2011;Early Online:1-9



ヨーグルトサポーター (ヨーグルト発酵器)

ヨーグルトサポーターができました。ケフィアサポーター同様に牛乳パックに巻きつけて、電源プラグをコンセントに挿しておくとヨーグルトの発酵適温に保てます。プロバイオティクスGBN1やローズヨーグルトの発酵にご利用ください。(編集責任 中垣剛典)

ホームメイド・ケフィアで発酵させた豆乳（以下豆乳発酵食品）の整腸効果

本文は4頁に掲載した藤澤先生から寄稿していただきました論文“高活性ケフィア菌用いて作製された豆乳発酵食品の摂取がヒト腸内環境におよぼす効果”の解説です。

論文中に記載されているとおり、ホームメイド・ケフィアで発酵させた豆乳を摂取した被験者の腸内細菌叢、糞便に含まれる有機酸や硫化物の濃度に顕著な変化が見られました。

6頁の表1)について、変化の著しいビフィズス菌、乳酸桿菌、クロストリジウム菌の増減を示したのが図1です。

図1) 発酵豆乳を摂食した時の腸内細菌叢の変化

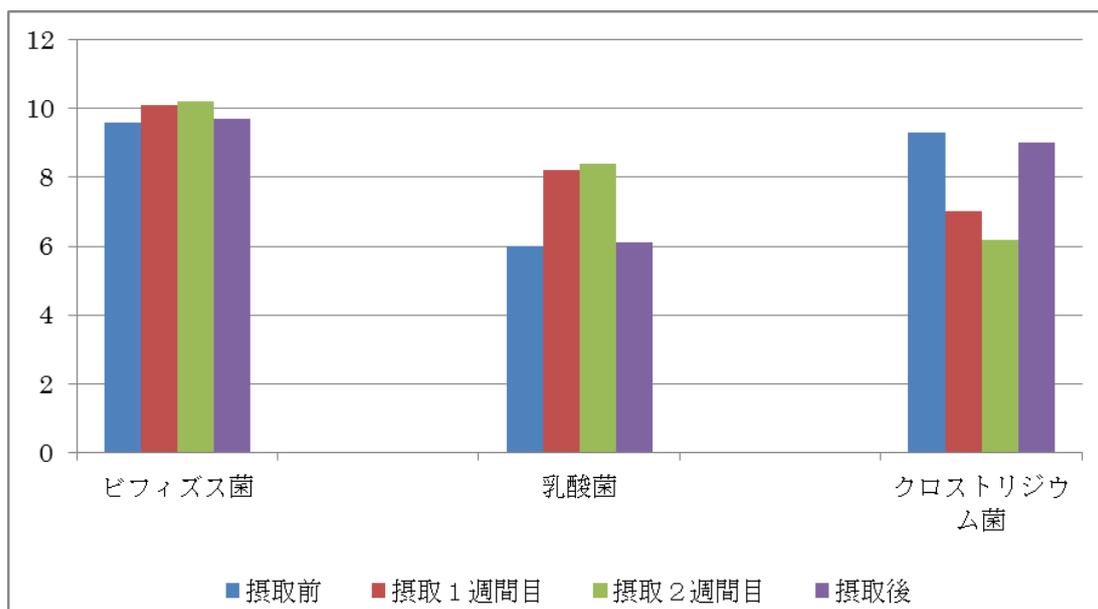


図1)を見ると、豆乳発酵食品摂取中に善玉菌といわれるビフィズス菌、乳酸桿菌が増え、悪玉細菌であるクロストリジウム菌の減少が見られます。また豆乳発酵食品の摂取を止めるとビフィズス菌、乳酸菌などの善玉菌の菌数が摂取前の菌数まで低下し、悪玉菌が増加しますので、豆乳発酵食品は継続して摂取する必要があることを示しています。

図2)から豆乳発酵食品の摂取によって、糞便中の酢酸濃度が顕著に高くなることがわかります。この結果はビフィズス菌の増加によるものです。ビフィズス菌は酢酸を作り、腸内を酸性にして、悪玉菌の増殖を抑制する働きがあります。

図3)から豆乳発酵食品の摂取によって、硫化物の濃度の低下が著しいことがわかります。この結果もまたビフィズス菌の増加によるものです。すなわちビフィズス菌が悪玉菌の増殖を抑制した結果、悪玉菌による腸内腐敗を防ぎ、腐敗産物である硫化物の生成を抑えていることを示しています。

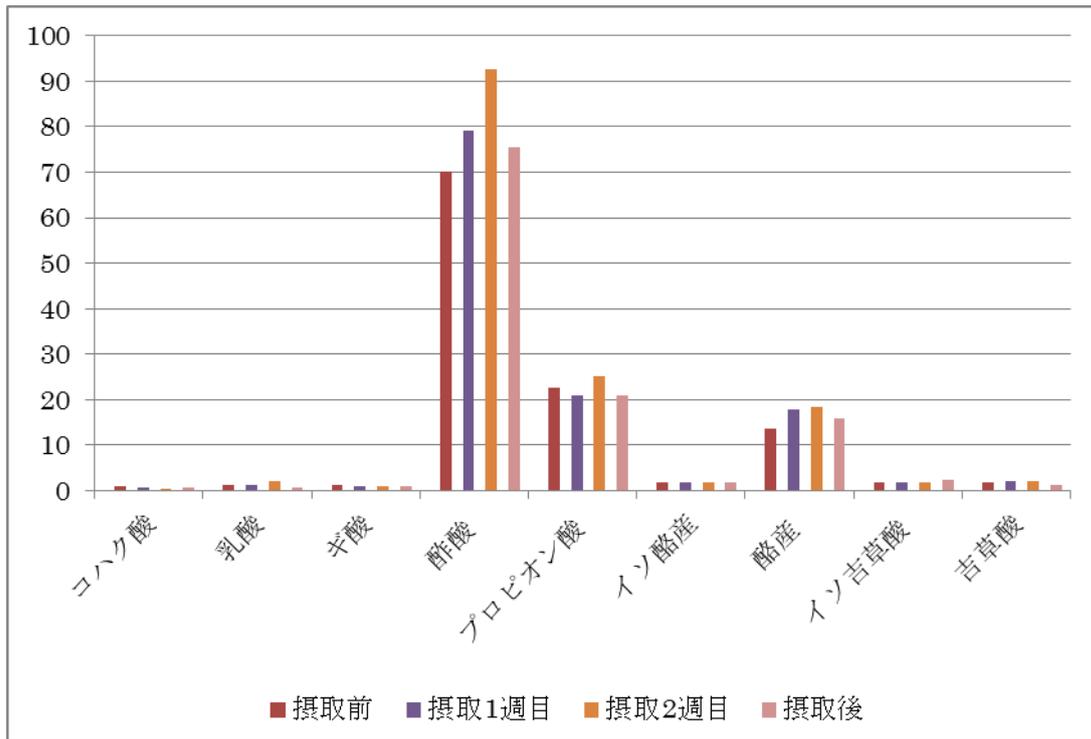
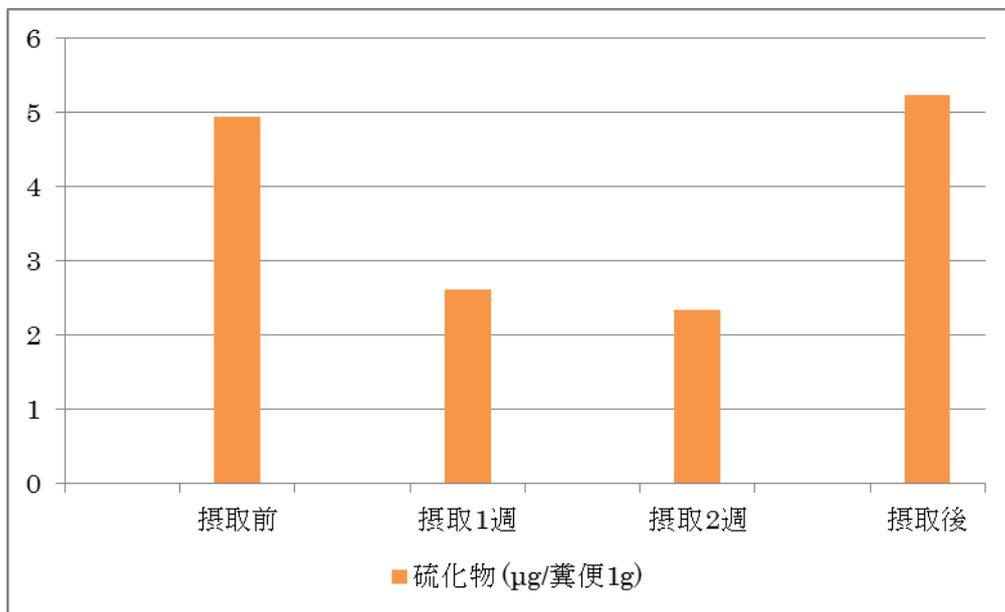


図3) 発酵豆乳を摂食した時の糞便中の硫化物濃度の変化



【要約】

豆乳発酵食品、すなわちホームメイド・ケフィアで発酵させた豆乳を摂取すると、善玉菌優勢の腸内細菌叢が形成され、腸内腐敗が抑制されます。

高活性ケフィア菌を用いて作製された豆乳発酵食品の摂取がヒト腸内環境におよぼす効果

日本獣医生命科学大学教授

農学博士 藤澤倫彦

【著者紹介】

日本獣医生命科学大学 応用生命科学部 食品科学科 食品衛生学教室教授、農学博士
(東京大学)

日本細菌学会会員、日本食品衛生学会会員、日本食品微生物学会会員 他

日本ビフィズス菌センター評議員・編集委員、日本乳酸菌学会評議員・編集委員

(著書) 食品衛生検査指針微生物編、腸内フローラの生態と役割、プロバイオティ

クス・プレバイオティクス・バイオジェニクス、最新細菌・カビ・酵母図鑑「*Lactobacillus* 属」担当 他
多数



1. はじめに

近年、わが国においては食事の欧米化などの影響による生活習慣病の増加に伴い、種々の機能性食品が注目されてきているが、このなかには伝統食品である納豆やおからなども含まれている。これらの食品はオリゴ糖、イソフラボン、サポニン、タンパク質、レシチン、リノール酸、各種ビタミン類、各種ミネラルなど機能性成分・栄養成分を含んだ大豆が原料であり、腸内環境改善効果のあることが示されている。さらに、大豆中には多くの抗がん物質が含まれている⁽¹⁾ことや疫学調査で大豆製品中のイソフラボンの摂取と結腸がんの発がんリスク低下との関連性⁽²⁾が報告されている。これらのことから、最近では欧米でも大豆食品が着目されはじめてきている。一方、熱水で抽出した液である豆乳も大豆由来の機能性成分・栄養成分を含んだ食品であるため、近年における健康志向の高まりに伴う健康食品ブームから需要も高まりつつあり、また、大豆豆乳の異臭除去に有効⁽³⁾であることが知られている乳酸菌を用いて発酵させた豆乳発酵食品の製造についてもいくつかの試みが報告されている⁽⁴⁾。ところで、腸内環境を改善する機能性食品はその作用メカニズムによってプレバイオティクス、プロバイオティクスおよびバイオジェニクスの3グループに分類される。豆乳発酵食品には大豆由来のオリゴ糖や乳酸菌が含まれているため、プレバイオティクスとしてのみならずプロバイオティクスとしての効果も期待できると考えられるが、現在までこれらに関する報告は皆無に等しい。そこで今回、高活性ケフィア菌を用いて作製した豆乳発酵食品の腸内細菌叢や糞便理化学性状などの腸内環境におよぼす影響についてヒトボランティアを用いて検討を行い、若干の知見を得た⁽⁵⁾ので紹介する。

2. 材料および方法

2-1. 高活性ケフィア菌による豆乳発酵食品の作製

無調整豆乳(めいらく) 900 mLを洗浄、滅菌したガラス容器に移し、スターター1袋(1g)を加え、攪拌の後、35°Cで12時間培養した。なお、スターターについては高活性ケフィア菌

(製造元：ローゼル社； 発売元：中垣技術士事務所)を使用した。本スターターには乳酸桿菌 (*Lactobacillus*)、乳酸球菌 (*Lactococcus* および *Leuconostoc*) ならびに酵母 (*Saccharomyces*) が含まれている。

2-2. 腸内環境におよぼす影響

2-2-1. 被験者および摂取方法

21~25歳の健常な10名を被験者(男性6名および女性4名)とし、豆乳発酵食品摂取直前、豆乳発酵食品(100g/day)摂取7日目、14日目および接種後7日目に糞便を回収し、実験に供した。試験期間中の食事は試験開始1か月前から試験終了までの間、ヨーグルトや漬物などの乳酸菌を含んだ食品、他のオリゴ糖、抗生物質など、腸内細菌叢に著しい影響を与えるものの摂取を控えるほかは、厳しい食事制限は行わなかった。なお、本研究は「ヘルシンキ宣言」の精神に則り、試験の趣旨と方法に関する説明を行い、被験者の同意に基づいて実施された。

2-2-2. 腸内細菌叢の検索

Mitsuoka ら^(6,7)および Terada ら⁽⁸⁾の方法にほぼ準拠し、培養法により実施した。すなわち3種類の非選択培地 (TS, BL, EG の各培地) および13種類の選択培地 (LBS, VS, NBGT, TATAC, PEES, NN, P, DHL, ES, BS, NAC, CW, TOS プロピオン酸寒天の各培地) を用い、これら培地に適宜希釈された糞便検体を接種し、37°C、1~3日間嫌気または好気培養後に発育した集落について集落およびグラム染色による菌形態の観察、好気条件下での発育ならびに一部菌群については生化学的性状試験を実施して菌群の同定を行い、各菌群の菌数を算出した。

2-2-3. 糞便 pH、短鎖脂肪酸および硫化物の測定

Hara ら⁽⁹⁾および Terada ら⁽¹⁰⁾の方法に準拠して実施した。すなわち、糞便 pH は直接電極を糞便に挿入し、短鎖脂肪酸 (酢酸、プロピオン酸、乳酸、酪酸、吉草酸、イソ酪酸、イソ吉草酸、コハク酸、ギ酸) は高速液体クロマトグラフを用い、さらに硫化物は硫化物イオン総合電極を用いてそれぞれ測定した。

2-3. 豆乳および豆乳発酵食品中に含まれる各種糖の定量

Narai-Kanayama ら⁽¹¹⁾の方法に準拠して定量した。

2-4. 豆乳中に含まれる主な糖の腸内細菌による資化性試験

Shinohara ら⁽¹²⁾によって記載された方法にほぼ準拠して実施した。すなわち、PYF 培地に各種糖 (グルコース、シュクロース、フルクトース、大豆オリゴ糖、ラフィノースおよびスタキオース) をそれぞれ0.5%含む糖培地を準備し、これに供試腸内細菌を接種し、37°C、48時間嫌気培養後、培地 pH を測定した。資化性試験の判定基準は pH 6.0 以上を陰性一、pH5.5~5.9 を弱陽性(+)、pH5.0~5.4 を陽性+、pH 4.9 以下を強陽性++とした。なお、陰性コントロールとして糖を含まない PYF 培地についても同様に実施した。

2-5. 統計処理

本研究で得られた腸内細菌叢、糞便 pH、短鎖脂肪酸および硫化物の成績に関しては

Kruskal-Wallis 検定および Steel-Dwass 検定を用いて解析した。一方、豆乳および豆乳発酵食品中の糖濃度に関しては対応のある t -検定を用いた。

3. 成績

3-1. 豆乳発酵食品の摂取が腸内環境におよぼす影響

3-1-1. 腸内細菌叢

豆乳発酵食品の摂取により *Bifidobacterium* および *Lactobacillus* が有意に増加した。また、レシチナーゼ陰性 *Clostridium* が有意に減少した(表 1)。

表 1. 豆乳発酵食品の摂取がヒト腸内細菌叢におよぼす影響*。

菌 群	摂取前	摂取1週目	摂取2週目	摂取後
総 計	10.7±0.2	10.6±0.1	10.7±0.2	10.6±0.2
Bifidobacteria	9.6±0.4 (100)	10.1±0.2 (100)	10.2±0.3 [†] (100)	9.7±0.4 (100)
<i>Bacteroidaceae</i>	10.2±0.2 (100)	10.1±0.2 (100)	10.0±0.3 (100)	10.2±0.2 (100)
Anaerobic Gram-positive rods	9.6±0.8 (100)	9.6±0.3 (100)	9.6±0.4 (100)	9.8±0.3 (100)
Anaerobic gram-positive cocci	9.8±0.5 (100)	9.5±0.3 (100)	9.5±0.3 (100)	9.7±0.4 (100)
Veillonellae	6.5±3.2 (40)	6.8±1.2 (20)	6.9±2.8 (50)	7.2±0.9 (40)
Clostridia				
Lecithinase-positive	3.2±1.6 (30)	2.7±0.4 (30)	3.6 (10)	4.2±1.5 (30)
Lecithinase-negative	9.3±0.8 (80)	7.0±1.4 (50)	6.2±1.0 [†] (60)	9.0±0.9 (80)
Lactobacilli	6.0±1.6 (100)	8.2±0.7 [†] (100)	8.4±1.6 (100)	6.1±1.8 (80)
<i>Enterobacteriaceae</i>	7.8±0.8 (100)	7.0±0.9 (100)	7.2±0.7 (100)	7.6±1.1 (100)
Streptococci	8.4±0.8 (100)	8.8±1.2 (100)	8.5±1.0 (100)	8.3±1.1 (100)
Staphylococci	3.7±0.5 (80)	3.3±0.5 (40)	3.5±0.8 (40)	3.3±0.7 (70)
<i>Pseudomonas</i>	4.3±1.1 (60)	3.9±0.6 (70)	4.2±1.1 (40)	3.6±1.1 (40)
Yeasts	3.9±1.1 (40)	3.5±0.9 (90)	4.0±0.8 (100)	3.9±1.1 (60)

*該当する菌群が検出された例について糞便1g当りの菌数の対数値の平均値±標準偏差(検出率 %)

[†]摂取前の値と比較して有意差有り($p < 0.05$).

一方、その他の菌群については全試験期間を通して顕著な変動は見られなかった。

3-1-2. 糞便 pH, 短鎖脂肪酸ならびに硫化物

豆乳発酵食品の摂取により酢酸濃度の増加傾向および硫化物濃度の有意な減少が認められた(表 2)。一方、pH および酢酸以外の短鎖脂肪酸濃度に関しては全試験期間を通して顕著な変動は認められなかった。

表2. 豆乳発酵食品の摂取が糞便理化学性状におよぼす影響*.

項目	摂取前	摂取1週目	摂取2週目	摂取後
pH	6.5±0.6	6.3±0.7	6.3±0.7	6.1±0.6
硫化物 (μg/糞便1g)	4.94±0.58	2.62±0.80 [†]	2.34±0.53 [†]	5.24±0.81
短鎖脂肪酸 (μmol/糞便1g)				
コハク酸	0.94±0.54	0.58±0.43	0.32±0.20	0.73±0.70
乳酸	1.03±0.76	1.16±0.74	2.00	0.57±0.35
ギ酸	1.12±0.77	0.87±0.26	0.78±0.15	0.75±0.33
酢酸	70.24±20.58	79.07±28.02	92.76±20.03	75.59±25.98
プロピオン酸	22.44±11.50	20.99±8.97	25.17±9.67	20.75±12.06
イソ酪産	1.85±1.04	1.59±0.96	1.65±0.64	1.84±0.97
酪産	13.52±4.95	17.88±13.08	18.32±10.35	15.80±9.84
イソ吉草酸	1.78±1.23	1.61±0.94	1.72±0.73	2.42±0.77
吉草酸	1.59±1.06	1.95±1.00	2.01±1.49	1.24±0.93

*各値は平均値±標準偏差.

[†]摂取前の値と比較して有意差有り ($p < 0.05$).

3-2. 豆乳および豆乳発酵食品中の主な糖の含有量

豆乳中に含まれる主な糖としてグルコース、フルクトース、シュクロース、スタキオースならびにラフィノースが検出された。また、豆乳と豆乳発酵食品との比較では後者においてグルコースならびにシュクロース濃度が有意に低かったが、フルクトース、スタキオースおよびラフィノース濃度については顕著な差異は見られなかった (表 3)。

表 3. 豆乳および豆乳発酵食品中の各種糖濃度*.

糖	豆乳	豆乳発酵食品
グルコース	1.21±0.26 mM	0.35±0.09 mM [†]
フルクトース	0.69±0.06 mM	0.68±0.07 mM
シュクロース	36.82±5.23 mM	30.74±1.76 mM [†]
ラフィノース	2.49±0.13 mM	2.49±0.16 mM
スタキオース	11.94±1.42 mM	10.85±1.37 mM

*各値は平均値±標準偏差 (n=6).
[†]豆乳の値と比較して有意差有り ($p < 0.05$).

3-3. 腸内細菌による豆乳中に含まれる糖の資化性

27 株の標準株ならびに糞便由来株を用いた各種糖の資化性試験の結果を表 4 に示した。*Bifidoacterium* では *Bifidobacterium bifidum* を除いたすべての供試菌種で大豆オリゴ糖ならびに大豆オリゴ糖の構成糖であるラフィノースおよびスタキオースの資化が認められたが、*Clostridium perfringens* および *Escherichia coli* においては *E. coli* の 1 株を除くすべての供試菌株においてこれら糖の利用は認められなかった。

表4. 供試菌株による各種糖の資化性*

菌 株	糖無添加	グルコース	フルクトース	シュクロース	ラフィノース	スタキオース	大豆オリゴ糖
<i>Bifidobacterium</i>							
<i>B. longum</i> ATCC15707 ^T	—	++	++	++	++	++	++
<i>B. longum</i> Ni	—	++	++	++	++	++	++
<i>B. longum</i> SH7	—	++	++	++	++	++	++
<i>B. longum</i> S1	—	++	++	++	++	++	++
<i>B. catenulatum</i> JCM1194 ^T	—	++	++	++	++	++	++
<i>B. catenulatum</i> group HR3	—	++	++	++	++	++	++
<i>B. catenulatum</i> group SH1	—	++	++	++	++	++	++
<i>B. catenulatum</i> group S1	—	++	++	++	++	++	++
<i>B. pseudocatenulatum</i> JCM1200 ^T	—	++	++	++	++	++	++
<i>B. adolescentis</i> JCM1275 ^T	—	++	++	++	++	++	++
<i>B. adolescentis</i> OB3	—	++	++	++	++	++	++
<i>B. adolescentis</i> A54	—	++	++	++	++	++	++
<i>B. adolescentis</i> HR3	—	++	+	+	++	++	++
<i>B. bifidum</i> SH1	—	++	++	—	—	—	—
<i>B. bifidum</i> OB2	—	++	++	—	—	—	—
<i>B. bifidum</i> T1	—	++	++	—	—	—	—
<i>B. breve</i> ATCC15700 ^T	—	++	++	++	++	++	++
<i>B. breve</i> 33	—	++	++	++	++	++	++
<i>B. breve</i> T1	—	++	++	++	++	++	++
<i>B. breve</i> 103	—	++	++	++	++	++	++
<i>B. infantis</i> ATCC15697 ^T	—	++	++	++	++	++	++
<i>B. infantis</i> NM	—	++	++	++	++	++	++
<i>Clostridium</i>							
<i>C. perfringens</i> ATCC 13124 ^T	—	++	++	++	—	—	—
<i>C. perfringens</i> S-79	—	++	++	++	—	—	—
<i>Escherichia</i>							
<i>E. coli</i> ATCC11775 ^T	—	++	++	—	—	—	—
<i>E. coli</i> ATCC25922	—	++	++	—	—	—	—
<i>E. coli</i> 123	—	++	++	—	(+)	(+)	(+)

*判定基準: —, pH \geq 6.0; (+), 5.5 \leq pH \leq 5.9; +, 5.0 \leq pH \leq 5.4; ++, pH \leq 4.9.

4. 考察

大豆オリゴ糖の摂取^(13, 14)により糞便中の有用細菌である *Bifidobacterium* が増加することや大豆オリゴ糖の構成糖であるラフィノースの摂取でも糞便中の *Bifidobacterium* の増加が示されている⁽¹⁵⁻¹⁶⁾。さらに、大豆食品である納豆⁽¹⁷⁾や納豆を加えた味噌汁（納豆汁）⁽¹⁸⁾ならびにおから⁽¹⁹⁾の摂取でも *Bifidobacterium* の増加が確認されている。一方、*Bifidobacterium* は大豆オリゴ糖やその構成糖であるスタキオースならびにラフィノースを資化し、腸内で腐敗物質を産生する細菌である *C. perfringens* や *E. coli* はこれらを利用しないことも報告されている^(9, 13)。今回の研究ではこれらの報告と一致する結果が得られた。豆乳中に含まれるスタキオースやラフィノースは本研究での発酵条件下では減少しないことから、今回用いた豆乳発酵食品はプレバイオティクスとして有用であることが示された。豆乳発酵食品摂取中の酢酸の増加傾向や硫化物の減少は *Bifidobacterium* の増加や *Clostridium* の減少に関連しているものと考えられる。すなわち、*Bifidobacterium* の代謝産物である酢酸濃度の上昇は本菌の増加に関連し、*Clostridium* などが産生する硫化物の減少はその菌数の減少と関連しているものと思われる。硫化物は老化や発がんに関与するとされている腸内腐敗物質の一種であり⁽²⁰⁾、本物質が減少したことはアンモニアやフェノール、インドールなど、硫化物以外の腐敗物質が減少し、腸内腐敗が抑えられていることを示唆するものと考えられる。豆乳発酵食品摂取中の *Lactobacillus* の増加は本食品に *Lactobacillus* が 10⁷~10⁸CFU/g 含まれているため、これらの摂取によって増加したものと思われる。

5. おわりに

大豆オリゴ糖^{13,14}や納豆¹⁵、納豆汁¹⁶、さらにはおから¹⁷の摂取によっても腸内環境の改善に有効であることが報告されており、大豆そのものならびに大豆を原料とした食品にもその効果のあることが示されている。今回、豆乳を乳酸菌で発酵させた食品にも同様の有用作用が示された。豆乳発酵食品中には豆乳とほぼ同量のオリゴ糖が含まれており、プレバイオティクスとしての作用が推察された。一方、豆乳発酵食品中に含まれる乳酸菌や酵母の直接的な腸内環境改善作用は確認できなかったが、摂取中に *Lactobacillus* の増加が見られるなど豆乳発酵食品はプレバイオティクスとしてのみならずプロバイオティクスとしても有用であることが示唆された。今後は種々の発酵スターターを用いて同様の効果が得られるかどうかを検討し、プレバイオティクスとしてのみならずプロバイオティクスとしての効果のメカニズムを解明するための基礎データを得たいと考える。

6. 引用文献

- (1) Messina, M.J., Persky, V., Setchell, K.D.R. and Barnes, S. Soy intake and cancer risk: a review of the in vitro and in vivo data. *Nutr. Cancer*. 1994. **21**:113-131.
- (2) Adlercreutz, H. Epidemiology of phytoestrogens. *Baillière's Clin. Endocrinol. Metab.* 1998. **12**:605-623.
- (3) 稲神馨. 乳酸菌の食品への利用. *発酵と工業*. 1979. **37**:122-132.
- (4) 伊藤雅子、前田赴史、児島雅博、内藤茂三. 乳酸菌を用いた大豆乳の新規利用法の開発. ー大豆乳における乳酸菌の生育ー. *愛知県産業技術研究所研究報*. 2005. **4**:138-141.
- (5) Inoguchi, S., Ohashi, Y., Narai-Kanayama, A., Aso, K, Nakagaki, T. and Fujisawa, T. Effects of non-fermented and fermented soybean milk intake on faecal microbiota and faecal metabolites in humans. *Int. J. Food Sci. Nutr.* (in Press)
- (6) Mitsuoka, T., Segal, T. and Yamamoto, S. Eine verbesserte Methodik der qualitativen und quantitativen Analyse der Darmflora von Menschen und Tieren. *Zentralbl. Bakteriol. Hyg. Orig.* 1965. **195**: 455-469.
- (7) Mitsuoka, T., Ohno, K., Benno, Y., Suzuki, K. and Namba, K. Die Faekalflora bei Menschen. IV. Mitteilung: Vergleich des neu entwickelten Verfahrens mit dem bisherigen üblichen Verfahren zur Darmfloraanalyse. *Zentralbl. Bakteriol. Hyg. Abt. Orig.* 1976. **A234**: 219-233.
- (8) Terada, A., Hara, H., Ikegame, K., Sasaki, M. and Mitsuoka, T. Recommended method for enumeration of lecithinase-positive clostridia in human feces. *Bifidobacteria Microflora*. 1994. **13**: 27-30.
- (9) Hara, H., Li, S.T., Sasaki, M., Maruyama, T., Terada, A., Ogata, Y., Fujita, K., Ishigami, H., Hara, K., Fujimori, I. and Mitsuoka, T. Effective dose of

- lactosucrose on fecal flora and fecal metabolites of humans. *Bifidobacteria Microflora*.1994.. **13**: 51-63.
- (10) Terada, A., Hara, H., Sato, D., Higashi, T., Nakayama, S., Tsuji, K., Sakamoto, K., Ishioka, E., Maezaki, Y., Tsugita, T., Takekawa, T. and Mitsuoka, T. Effect of dietary chitosan on faecal microbiota and faecal metabolites of humans. *Micorial. Ecol. Health Dis.* 1995. **8**:15-21.
- (11) Narai-Kanayama, A., Tokita, N. and Aso, K. Dependence of fructooligosaccharide content on activity of fructooligosaccharide- metabolizing enzymes in yacon (*Smallanthus sonchifolius*) tuberous roots during storage. *J. Food Sci.* 2007. **72**: S381-S387.
- (12) Shinohara, K., Ohashi, Y., Kawasumi, K., Terada, A. and Fujisawa, T. Effect of apple intake on fecal microbiota and metabolites in humans. *Anaerobe.* 2010. **16**: 510-515.
- (13) Hayakawa, K., Mizutani, J., Wada, K., Masai, T., Yoshihara, I. and Mitsuoka, T. Effects of soybean oligosaccharides on human faecal flora. *Microbial Ecol. Health Dis.* 1990. **3**:293-303.
- (14) 和田光一、水谷 潤、渡部恂子、鈴木宏美、白柳 覚. 大豆オリゴ糖の各摂取量によるヒト腸内フローラに及ぼす影響. *ビフィズズ*. 1991. **5**:51-54.
- (15) Benno, Y., Endo, K., Shiragami, N., Sayama, K. and Mitsuoka T. Effects of raffinose intake on human fecal microflora. *Bifidobacteria Microflora.* 1987. **6**: 59-63.
- (16) 名倉泰三、村口博俊、内野敬二郎、有塚 勉、辨野義己. ラフィノース含有スープのヒト糞便内菌叢および排便習慣に及ぼす影響. *腸内細菌学雑誌*. 1999. 13:1-7.
- (17) Terada, A., Yamamoto, M. and Yoshimura, E. Effect of the fermented soybean product “Natto” on the composition and metabolic activity of the human fecal flora. *Jpn. J. Food Microbiol.* 1999. **16**:221-230.
- (18) Fujisawa, T., Shinohara, K., Kishimoto, Y. and Terada, A. Effect of miso soup containing Natto on the composition and metabolic activity of the human faecal flora. *Microbial. Ecol. Health Dis.* 2006. **18**:79-84.
- (19) Yogo, T., Ohashi, Y., Terakado, K., Harada, Y., Nezu, Y., Hara, Y., Tagawa, M., Kageyama, H. and Fujisawa, T. Influence of dried okara-tempeh on the composition and metabolites of fecal microbiota in dogs. *Int. J. Appl. Res. Vet. Med.* 2011. **9**: 181-188.
- (20) Mitsuoka, T. Significance of dietary modulation of intestinal flora and intestinal environment. *Biosci. Microflora.* 2000. **19**: 15-25.

プロバイオティクス GBN1 とローズヨーグルト

—ブルガリアの伝統食品からグローバルな健康食品へ—

国立民族学博物館外来研究員

文学博士 マリア ヨトヴァ

【著者紹介】

ブルガリアのヴェリコ・タルノヴォ大学言語学部を卒業後、日本の埼玉大学に日本語・日本文化研究生として1年間留学。帰国後、ソフィア芸術高等学校での英語・日本語教育や、日本国際協力機構（JICA）のカザンラク地域活性化プロジェクトに携わった後、日本とブルガリアの組織文化やヨーグルト食文化をめぐる比較研究を始める。

ブルガリアのソフィア技術大学大学院修士課程修了（経営学修士）、日本の総合研究大学院大学博士後期課程修了（博士（文学））。2011年10月より国立民族学博物館外来研究員（ヨーグルト研究家）。



バルカン半島東南部、現在のブルガリアを中心とした地域に、紀元前三千年前からトラキア人と称された古代民族が暮らしていた。ブルガリアにおける考古学的研究調査の結果によると、トラキア人は農業および牧畜を生業としており、羊の大群の飼育に長けていたことがわかっている。また、ヘロドトスをはじめとする古代ギリシャの著述家らによる「トラキア地方は羊の母」や「トラキア人は発酵乳に馬の血を混ぜて飲む」という記述からも彼らの暮らしぶりがうかがえる。このように、ブルガリアの乳加工技術は古代トラキア起源であるとほぼ確実視されているが、それ以外にワイン作りの伝統や民間治療におけるバラの利用なども古代トラキア人から伝わっているといわれている。言うまでもなく、民間薬としてのバラやヨーグルトなどの発酵乳はブルガリアだけではなく、インドやエジプトなど様々な地域においても幅広く使用されていた。現在、ブルガリアのヨーグルトも、バラも「世界一」といわれるに至ったのだが、その背景には人の健康と幸福を支える力をもつブルガリアの伝統として、国籍を問わず多くの研究者や学者の注目を集めてきたことであり、さらに国内外における科学研究が進められてきたことである。

ブルガリア人である筆者は日常生活においてヨーグルトとバラの恩恵を受けてきただけでなく、日本とブルガリアをつなげた文化的な側面にも、それらに対して強い関心をもっている。そのことから、本稿では、民間治療におけるヨーグルトとバラに注目しつつ、ブルガリア生まれの手作り用の「プロバイオティクス GBN1」および「ローズヨーグルト（種菌）」に関する研究の背景について取り上げる。つまり、古代から伝承されてきたブルガリアのバラとヨーグルトの文化を過去の遺産あるいはロマンチズムとして捉えるのではなく、科学的発展を経て、今もなお乳酸菌研究とともに展開していくブルガリア人の生活文化の基盤として理解するための一助になり得ると考えられる。

ブルガリアは、国土の大部分に広大な平地が広がり、中央部には東西に伸びるバルカン

山脈、南西部にはピリン山脈、リラ山脈、ロドピ山脈が散在している。山脈といっても最も高い地点でも 3,000m を越えることはなく、標高 1,000m 台の比較的低い丘陵地帯が展開し、丘陵間には河川をともなった狭い低地が広がっていることが地理的特徴である。低地部では穀物や野菜の栽培が大規模におこなわれており、主食的に栽培されている農産物は小麦である。ロドピ山脈などの丘陵地帯では羊の移牧が長い歳月を経ておこなわれてきた。つまり、ブルガリアの人びとは家畜を飼いつつ、野菜・穀物も栽培する半農半牧という生業形態をとっている。そのなかでさまざまな発酵食品が作られているが、日常食生活において不可欠なものは、パンとヨーグルトである。この組み合わせは、特に子どもや年配層の人びと、持病のある人やスポーツ選手などにとって、定番メニューとなっている。ヨーグルトはタンパク質として、貴重な栄養源であるとともに、腎臓の炎症からやけどまで、民間治療において幅広く使われている。昔の人びとは畑仕事の際、夏バテや疲労回復のために、アイリヤンという塩味のヨーグルトを水で薄め、飲んでいたことが伝わっており、日焼け止めクリームがなかった時代、美肌を保つためにも、顔や手に塗ることもあったという [Markova 2006]。

一方、ブルガリアの中央部には、バルカン山脈とスレドナ・ゴラ山脈に挟まれている「バラの谷」と呼ばれる地域では、ダマスクローズというバラが栽培されている。この品種は、世界中に 2 万種以上のバラのなかでも、最も香りが強いとされており、その花卉から最高級のバラ香料が抽出される。一年のうちでも、5 月中旬から 6 月の中旬の約 1 ヶ月しか収穫できず、また 1 キロを作るために 3.5 トンの花卉が必要となるため、非常に貴重なものである¹。ブルガリアでは、香料、化粧品、飲食用としても用いられている。日常生活において特に重要なバラの産物は、ローズ香水やローズティー、バラのジャムやバラ酒などである。これらはバラの谷の最高の嗜好品としてのみならず、便秘や歯茎の炎症などを防ぐ民間薬としてもよく知られている [Nikolov 1941]。「下痢にならないようにヨーグルトを、便秘にならないようにバラのジャムを」という言い回しからも、ヨーグルトとバラの整腸作用がうかがえる。その働きを裏付けるようなデータは、現在は微生物学や医学、農業学や遺伝子学などの研究分野から幅広く取り上げられている。

ブルガリアの自家製ヨーグルトに初めて着目したのは、20 世紀初頭にフランスのパスツール研究所のノーベル賞学者メチニコフである。当時、彼は免疫の働きや、老化と腸内腐敗を研究し、組織の細胞の老化が腸内にある腐敗菌の出す毒素の影響によるものであると考えた。メチニコフは、ヨーロッパ主要国における長寿者の人口について調査をおこなったところ、ブルガリア人 100 万人に対して 426 人が 100 歳以上であったが、フランスやドイツ人は 100 万人に対し 2 人、イギリスやスイス人は 1 人しかいないという驚くべき結果であった。そしてメチニコフは、ブルガリア人がヨーグルトを常食としていることから、腸内にある腐敗菌の働きを抑えるためには、ヨーグルトに含まれる乳酸菌が効果的である

¹ 現在、ブルガリアのローズオイルは、世界の供給量の 7 割を占めており、Nina Ricci, Chanel, Christian Dior, Kenzo などの高級香水に欠かせない原料となっている。

と推論し、この考えを実証するための研究を続けた。一方、1905年、ジュネーブ大学でブルガリア人留学生グリゴロフが母国から持参したヨーグルトのなかから3種類の乳酸菌の存在を発見し、その論文が掲載された。グリゴロフの発見に関心を寄せたメチニコフは、グリゴロフをパスツール研究所に招待し、講演を依頼した。さらにグリゴロフが持参したヨーグルト菌の同定を部下の研究者におこなわせると同時に、腸内細菌の作る有毒な物質について調べはじめた。その結果、腐敗菌はアルカリ性の環境を好み、弱酸性の環境には住みつけないことを明らかにし、ブルガリア菌で発酵させたヨーグルトの摂取は、その乳酸菌の働きによって腸内を弱酸性に保ち、腐敗菌の増殖を防ぐために有効であることが確かめられた [Metchnikoff 1908]。ヨーグルトをめぐるメチニコフの不老長寿説は300歳も生きるような不老不死という幻想的なものではなく、ブルガリア人の自家製ヨーグルトの摂取を通じて老化という自然現象を遅らせ、健康寿命の延長を論理的に説いたものである。そのため、ブルガリアのヨーグルトが研究者の関心はもとより、企業家からも多くの関心をひきつけた。これまで欧米文化圏ではほとんど知られていなかったヨーグルトは、欧米の庶民の間でも長寿食として話題になり、商品化とともに、徐々に食生活にも浸透していった。このように、メチニコフの研究は、西欧において大きな影響を与え、ブルガリア人が昔から食べてきた伝統食品に歴史的な転機をもたらした。また、それはのちにブルガリアの乳酸菌研究にも大きな刺激を与えることとなり、ブルガリア菌と長寿・健康維持との関係性に関する多くの研究成果につながった。

ブルガリアにおけるヨーグルトの研究は、乳加工技術専門家ポプディミトロフや乳酸菌研究者カトランジェフなどから始まる。彼らは、1905年に自国のヨーグルトから乳酸菌を発見したグリゴロフと、ブルガリア菌の研究にもとづいて「不老長寿説」を訴えたメチニコフの業績から刺激を受け、家庭で伝承される発酵方法や保存方法、職人による製造技術、その栄養価と健康への効果など、ブルガリアにおけるヨーグルトの研究の基盤を作っていく [Katrandjiev 1962, Popdimitrov 1938]。それ以降の研究者は、ヨーグルトの微生物を研究するためにブルガリア各地の山間部へ向かい、その農村各地の自家製ヨーグルトから乳酸菌を抽出し、それぞれの乳酸菌が胃腸の病や糖尿病などの病気にいかなる影響を与えるのかを調べていった [例えば Kondratenko 1985, Kondratenko and Simov 2002, Peichev and Penev 1977 など]。そのなかで、国立乳酸研究所の設立者マリア・コンドラテンコの研究成果が国内外においても特に高く評価されていた。彼女を中心に、国内においては国立腫瘍病院や小児医療センターにおける「ヨーグルト治療法」の導入、「純粋種菌」(菌株 A-5)の科学技術委員会での金メダル受賞、国立乳酸菌研究所の学術的地位授与などの業績が授けられた。また国外ではヨーグルトの種菌の22ヵ国での特許化や高活性ブルガリア菌で開発された栄養補助食品の国際展示会での金メダル授与などの成果があげられた。

このようにマリア・コンドラテンコは、30年にわたり国立乳酸菌研究所の所長として活躍し、ブルガリアの乳酸菌研究の第一人者として名声をあげたが、社会主義体制崩壊後まもなく退職し、1991年にブルガリア初の乳酸菌研究専門会社ゲネジスを設立することにな

った。国立乳酸菌研究所での長年の経験や研究努力によって、10年でゲネジス社をブルガリアの代表的な乳酸菌研究所として育て上げたのである。ブルガリアの国内国外を問わず、できるだけ多くの人びとに健康を届けるという理念のもとで、機能性の高い乳酸菌株の分離同定や様々な成人病と闘う菌の発見とともに、美味しい乳製品を作る種菌の開発を日々の研究活動としている。その成果として最近、脚光を浴びているのは、LDL コレステロール (low density lipoprotein cholesterol, 悪玉コレステロール) と闘うプロバイオティクス GBN1 という菌株である。その効能を取り上げた論文のなかには、GBN1 の摂取によって、悪玉リポタンパク質コレステロールの血液中の濃度が下がり、高コレステロール血症など循環器疾患の一因の抑制につながったという研究結果が提示されている [Doncheva et. al. 2002]。このように、ゲネジス社は、大学の学者や病院の医者との共同研究にもとづき、GBN1 株で発酵させたヨーグルトを食べると、コレステロールが下がることを証明した。プロバイオティクス GBN1 には、ラクトバチルス・ブルガリクス GBN1 菌株以外に、整腸作用に優れた5つの種類のビフィズス菌や、ビフィズス菌の働きを促進するミルクオリゴ糖が含まれている。ヨーグルトの手作り伝統が根付いているブルガリアでは、自家製ヨーグルトの種菌としてグリゴロフ博士財団のもと、ヨーグルト博物館などで販売されている。また、国内に限らず海外の乳加工業者向けにも提供されており、健康な生活をサポートする日常食として先進諸国の間で浸透しつつある。プロバイオティクス GBN1 が2009年に日本で発売されて以来、年を追うごとに愛用者は絶え間なく増加しており、特に豆乳による発酵は日本特有の注目すべき使われ方である。

他方、ブルガリアでは日本とは異なり、大豆や豆乳の発酵の伝統はないものの、身近な民間薬として古代から利用されてきた植物はダマスクローズである [Nikolov 1941]。そのバラは、ラクチナという乳酸菌研究専門会社と国立バラ研究所との技術提携によって、ローズヨーグルト (種菌) としての新たな誕生を迎えることとなり、バラの谷の特産物としてだけでなく、全国においても人気を博しつつある。このように、ラクチナ社はバラ研究所との協力によって、ヨーグルト用の乳酸菌 (ブルガリア菌とサーモフィラス菌) と凍結乾燥したダマスクローズの花弁の粉末を合わせて天然のバラの香りのするヨーグルトの種菌の開発に成功した。これは世界初の試みであり、また香料や色素は使用していないため、消費者のみならず、美容や医学分野における応用の可能性からも医者、美容師、アロマセラピストの間でも話題になっている。

ブルガリアでは科学者によるバラの研究が、第二次世界大戦後の社会主義時代に開始された。ブルガリア国立科学アカデミーの中にバラ専門の研究課が設けられ、さまざまな動物臨床実験などを通じて科学的データが蓄積されてきた。社会主義体制崩壊後、科学アカデミーのみならず、バラ国立研究所やプロフディフ食品技術大学の研究が続けられており、現在に至って新たな転機を迎えている。その背景には、天然薬材の法的見直しや、オルタナティブ・メディシン (無薬療法) への注目の高まりがある。そのなかで、今後ともダマスクローズは、さらなる応用の広がりが見込まれている [Nedkov 2004]。ここで特筆す

べきは、1995年4月にプロフディフ技術食品大学でおこなわれた国際会議の「口臭治療におけるダマスクローズの応用」という発表である [Atanassova et.al. 1995]。それ以来、ダマスクローズの、口腔衛生における重要性や抗炎症薬としての効能について、数多くの研究成果が蓄積されてきた [Atanassov et.al. 2002, Atanassova et.al. 1996, etc.]。ローズヨーグルト（種菌）で発酵させたヨーグルトを口に含むと芳ばしいバラの香りが広がるが、この天然のバラの香りを楽しめるだけではなく、ダマスクローズの殺菌効果や乳酸菌の整腸採用によって腸内腐敗を防ぎ、アンモニアやインドールなどの悪臭成分の体内吸収を抑えることが期待できる。さらに、ダマスクローズの花弁は抗酸化力のあるポリフェノールやフラボノイドを多く含み、活性酸素を除去する効果があるといわれるため、乳酸菌との組み合わせによって、肌の再生力を促進させるローズヨーグルトパックとしての利用も美容分野において注目されている。ブルガリアでは、肌の質を問わず、ヨーグルトパックが標準的に使用されているが、ダマスクローズと乳酸菌の力との組み合わせによって、リラクゼーション効果も付加されるため、心身の調子を整えると、美容界では話題になっている。ラクチナ社は、長寿者の多いことで知られているロドピ山脈周辺の村で作られている自家製ヨーグルトから、ダマスクローズの香りと相性がいい乳酸菌を分離し、ダマスクローズと乳酸菌の黄金比を見出し、美容と無薬療法という応用領域へと導いた。

ヨーロッパ乳酸菌の学会では、「人の健康に役立つ微生物を含んだ食品」をプロバイオティクスとして定義している。ゲネジス社とラクチナ社がそれぞれに提供しているブルガリア生まれのホームメイド・ヨーグルトは、人の健康に役立つ菌株を含んでいるため、「プロバイオティクス・ヨーグルト」と呼ぶにふさわしいと考えられる。ゲネジス社とラクチナ社の共通点は、両社の社長も、上述した国立乳酸菌研究所の所長を経験しており、退職後それぞれの乳酸菌研究の専門会社を創業していることである。その背景には、社会主義崩壊以降、自由市場の導入や健康ブームの到来によって、消費者志向やニーズの多様化が飛躍的に進んだことがあげられる。この社会変化の中で、ヨーグルトは栄養源としての重要性よりも、むしろ研究成果にもとづいた健康への効果や味の個性が重視されるようになっていった。このように、伝統的なヨーグルトの時代からプロバイオティクスの時代に移行しているなかで、ゲネジス社およびラクチナ社のそれぞれの創業者は、乳酸菌研究に独自の技術的知見をもとに、ブルガリアにおけるプロバイオティクス研究の先頭に立ち、現代の人びとの健康的な生活に貢献できるように、新たな種菌を開発していった。このような動きをみると、ブルガリアの乳酸菌研究は、メチニコフやグリゴロフ、さらには国立乳酸菌研究所の研究成果を引き継ぎながらも、単なる「ヨーグルトが健康に良い」という主張から脱却し、自家製ヨーグルトや自然の中から新しく分離された乳酸菌の働きを調べて、どのように人の健康に役立つかを究明して機能性の高いプロバイオティクス・ヨーグルトへと進化を遂げたものであると考えられる。その結果、今やブルガリアのヨーグルトは単なる「伝統食品」というだけではなく、国境を超えた、成人病やストレスなどといった現代社会に共通する健康問題と闘うグローバルな健康食品へと姿を変えていったのである。

参考文献

- ATANASSOV, B., P. BOTHUSHANOV, El. KIROVA, T. ATANASSOVA, R. BORISSOVA, St. VLADIMIROV
2002 *Sredstva za higiena, profilaktika i lechenie na ustnata kuhina*. Avtospektar.
(Means of Oral Hygiene, Prevention of Diseases and Medical Treatment of the
Mouth Cavity)
- ATANASSOVA, T., B. ATANASSOV, El. KIROVA
1995 Prilojenie na naturalna rozova voda i ekstrakt ot roza v produkti za higiena
na ustata. Second National Conference on Chemistry April 12-14, Plovdiv
University of Food Technologies. *Proceedings*. p. 396. (Applications of Natural
Rose Water and Rose Extracts in Oral Hygiene)
- 1996 Vodi za usta - savremenni aspekti na razvitie. *University of Food Technologies
Plovdiv*, 41 (2): 191-201. (Mouth Rinse Solution - Some Recent Developments)
- DONCHEVA, Nadezhda, Georgi ANTOV, Ekaterina SOFTOVA, Yuri NYAGOLOV
2002 Experimental and Clinical Study on the Hypolipidemic and Antisclerotic Effect
of Lactobacillus Bulgaricis Strain GB N 1 (48). *Nutrition Research* 22: 393-403.
- KATRANJIEV, Kosta
1962 *Bulgarskoto kiselo mliako*. Marin Drinov. (The Bulgarian Yogurt)
- KONDRATENKO, Maria
1985 *Bulgarsko kiselo mliako*. Zemizdat. (Bulgarian Yogurt)
- KONDRATENKO, Maria and Jeliazko SIMOV
2003 *Bulgarsko kiselo mliako*. Association of Milk Processors. (Bulgarian Yogurt)
- MARKOVA, Maria
2006 Traditsionna tehnologia na bulgarskoto kiselo mliako. *Minalo* 2: 48-56.
(Traditional Technology of Bulgarian Yogurt)
- METCHNIKOFF, Elie
1908 *The Prolongation of Life: Optimistic Studies*. G.P. Putnam' s Sons.
- NEDKOV, Nedko
2004 *Eterichnomasleni i lekarstveni kulturi*. Helikon. (Ethereal Oil and
Pharmaceutical Plants)
- NIKOLOV, P.
1941 *Rozata kato lekarstvo*. Sofia. (The Rose as a Medicine)
- PEICHEV, Peicho и Penyu PENEV
1977 *Lechebni i hranitelni svoistva na mliakoto i mlechnite produkti*. Hristo Danov.
(Pharmaceutical and Nutritive Values of Milk and Milk Products)
- POPDIMITROV, K.
1938 *Bulgarskoto kiselo mliako*. Spass Bojinov. (Bulgarian Yogurt)