



モンゴルの馬乳酒アイラグにおける微生物間相互作用

宮本 拓*

(公益財団法人日本乳業技術協会学術顧問, 岡山大学名誉教授,
くらしき作陽大学食文化学部 学部長・教授, 〒710-0292 岡山県倉敷市玉島長尾3515)

酵母と乳酸菌などをスターターとして製造されるアルコール発酵乳で、代表的なものとして旧ソ連邦コーカサス地方原産のケフィアならびにモンゴルをはじめとする中央アジア一帯でつくられているクーマスがある。クーマスは馬乳を原料として製造されるアルコール発酵乳であり、アルコール発酵した乳酒をモンゴルではアイラグと呼ぶ。そのうち、馬乳のアイラグ（馬乳酒）をチゲーもしくはグン・アイラグ、そして駱駝乳のアイラグをホゴルマグもしくはインギン・アイラグと呼んでいる。アルヒは牛乳のアイラグ（牛乳酒）を蒸留して作る蒸留酒である。

モンゴル民族は、主に中国モンゴル自治区およびモンゴル国にまたがって生活している民族で、古来から今日に至るまで、遊牧の生活を受け継いでいる数少ない民族である。モンゴルの遊牧民は厳寒と乾燥の特殊な環境下で伝統的な手法によって、ウマ、ウン、ラクダなどの乳を醸造し、あるいはそれを蒸留する目的でアイラグを製造してきた。馬乳酒の製造には、フルンゲと呼ばれるスターター用の種菌を使って発酵を始める。フルンゲは穀物（アワなど）の入った袋を湯の中で軟らかくしたのちに、馬乳酒に3～7日間浸ける。それを取り出して、乾燥保存もしくは馬乳酒に浸けて保管し、必要に応じてスターターに用いる。馬乳酒製造に用いられるフルンゲは、遊牧民の貴重な所有物とみなされている¹⁾。

馬乳酒の微生物フローラは、ホモ発酵性乳酸菌、ヘテロ発酵性乳酸菌、乳糖発酵性酵母、乳糖非発酵性酵母など自然環境に由来する多種類の乳酸菌と酵母が共生、拮抗を繰り返しながら一定のフローラを形成していると考えられ、含まれる乳酸菌と酵母の共生関係を明らかにすることはアイラグの製造技術を研究する上で重要である。

図1に示すように、アイラグに由来する乳酸菌9株と酵母5株を用いて微生物間相互作用を検討した²⁾。それらの菌株のうち、乳酸菌3株と酵母2株を選択し、共生関係を調べたところ、*Leuconostoc mesenteroides* 6B2081と*Saccharomyces cerevisiae* 4Cあるいは*Candida kefyr* 2Y305の間では双利共生作用が認められた。還元脱脂乳培地での糖含量の変化を測定した結果、乳酸菌の生産するグルコースとガラクトースを酵母が利用していることがわかった。

次に、酵母の生産する乳酸菌の生育促進物質について検討した。乳糖発酵性酵母*Candida kefyr* 2Y305で7日間単独培養した還元脱脂乳培地からホエーを調製し、乳酸菌6B2081株の生育に及ぼす影響を調べたところ、菌無添加の対照に比べ、2Y305株からの調製ホエーを添加した還元脱脂乳培地では滴定酸度が明らかに上昇し、乳酸菌数も4日目以降で高い値を示していた。酵母2Y305株を還元脱脂乳培地で一週間培養後、pH4.6に調整し、遠心分離によって得たホエーに9倍量のエタノールを加えて分画し、エタノール可溶性画分および不溶性画分をそれぞれトリプトンおよびグルコースなどを含むTG液体培地に添加し、乳酸菌に対する生育促進効果を調べ

* E-mail: taku.miyamoto@ksu.ac.jp

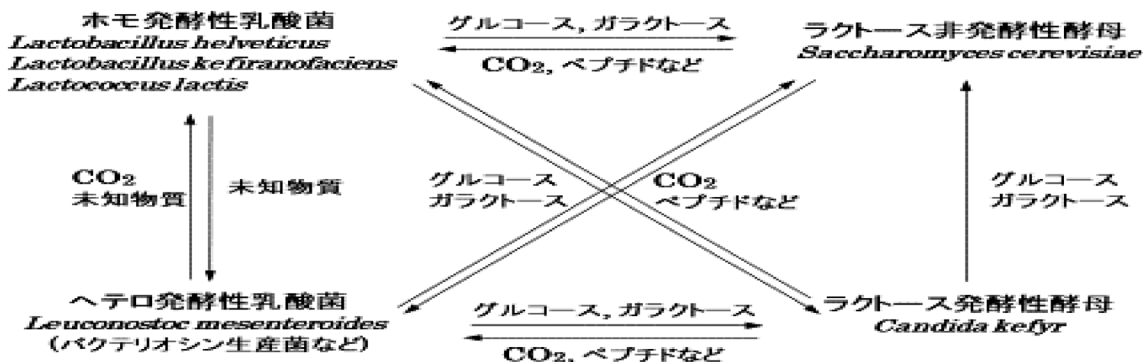


図1 馬乳酒アイラグにおける微生物間の相互関連 (推定)

た結果、エタノール不溶性画分において生育促進効果が見られた。さらに、酵母2Y305株の単独および乳酸菌6B2081株との混合培養による調製ホエーからのエタノール不溶性画分をゲルろ過法（セファデックス G25）および逆相 HPLC 法（コスモシル 5C18-AR-300）によって生育促進物質の精製を試みた結果、単独培養に比較すると混合培養では明らかに減少したペプチド画分が認められ、これらのペプチド画分が乳酸菌の生育に有効なものと推定された。HPLC のクロマトグラムから各画分を回収し、TG 液体培地に加え、乳酸菌の生育に及ぼす影響を検討した結果、TG 液体培地において高い生育促進効果を示す画分があった。

一方で、アイラグから分離した乳酸菌の抗菌活性を寒天平板拡散法によって調べたところ、抗菌活性が最も強かった *Leuconostoc mesenteroides* 406 をスクリーニングした。406 株は *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum* などの食品汚染菌あるいは食中毒菌に対して抗菌活性を示した以外に、いくつかの乳酸菌に対して抗菌活性が見られた。406 株において、MRS 液体培地を用い、抗菌活性、pH および生育の経時変化を調べたところ、抗菌活性は培養 6 時間から検出され、定常期である 24-36 時間で最高値 (4,000 AU/mL) に達した。培養 36 時間から低下したが、72 時間まで抗菌活性があった。また、406 株の抗菌活性に及ぼす pH、酵素処理および熱処理の影響を調べたところ、抗菌活性は pH4-7 において安定であり、pH が高くなるにつれて、抗菌活性が低下し、pH12 では失活した。いくつかのタンパク質分解酵素処理では抗菌活性が失われたが、カタラーゼ処理では失活しなかった。また pH6.0 の条件下で、熱安定性を示した。これらの結果が 406 株の生産する抗菌物質は抗リステリア活性を持つクラス IIa のバクテリオシン³⁾であると考えられた。次に、406 株を MRS 液体培地で 25 °C 24 時間培養後、上清液の 80% 硫酸アンモニウム沈殿画分について、その SDS-PAGE により、バクテリオシンの分子量を推定したところ、406 株の生産するバクテリオシンは約 3,300 ダルトンであった。このバクテリオシンの分子量は従来の報告とは異なっていた⁴⁾。また、406 株のドラフトゲノム配列を決定した⁵⁾。

以上のように、本研究ではモンゴル地域の馬乳酒アイラグにおける乳酸菌と酵母の共生作用をはじめ明らかにするとともに、抗菌物質生産性乳酸菌を単離した。すなわち、アイラグの製造過程で乳酸菌による乳酸発酵と酵母によるアルコール発酵が重要な役割を果たし、構成微生物の間では、乳酸菌の生産するグルコースとガラクトースを酵母が利用すると共に、酵母の生産するペプチドなどを乳酸菌が利用し、双利共生作用の見られることが示唆された。また、食品汚染微生物に対して拮抗作用を有する乳酸菌は食品の安全性に有効である。これらの知見はアイラグの製造技術を改良する上で有意義な情報となる。今後、共生微生物や抗微生物活性を示す乳酸菌などをスターターとした新たなアルコール発酵乳への応用研究が望まれる。

文 献

- 1) 宮本拓 他：モンゴルの馬乳酒アイラグの伝統製法と微生物学的特徴．日本醸造協会誌，112, 223-233 (2017)
- 2) Sudan et al.: Interaction between lactic acid bacteria and yeasts in airag, an alcoholic fermented milk. *Animal Science Journal*, 84, 66-74 (2013)
- 3) 戸羽隆宏：乳酸菌ならびにビフィズス菌の生産する抗菌物質．発酵乳の科学—乳酸菌の機能と保健効果—(細野明義編)，pp. 244-261，アイ・ケイコーポレーション，川崎 (2002)
- 4) Wulijidelligen et al.: Production of bacteriocin by *Leuconostoc mesenteroides* 406 isolated from Mongolian fermented mare's milk, airag. *Animal Science Journal*, 83, 704-711 (2012)
- 5) Morita, H. et al.: Draft genome sequence of *Leuconostoc mesenteroides* 406 isolated from the traditional fermented mare milk airag in Tuv Aimag, Mongolia. *Genome Announcements*, doi:10.1128/genomeA.00166-16 (2016)

※「読者からの話題提供」は、読者の皆様から頂いた酪農乳業に関連する話題を掲載するコーナーです。皆さまからの寄稿をお待ちいたします。なお投稿にあたっては、詳細については、あらかじめ協会事務局までお尋ねください。