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

誌名	日本醸造協会誌 = Journal of the Brewing Society of Japan
ISSN	09147314
著者名	宮本,拓 烏力吉徳力根 豊川,佳奈子
発行元	日本醸造協会
巻/号	112巻4号
掲載ページ	p. 223-233
発行年月	2017年4月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council Secretariat

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

近年，日本では健康志向がますます高まり，乳酸菌飲料や乳酸発酵食品や関連するサプリメントなどが人気である。ヨーロッパのチーズやヨーグルトについては，国内でも数多くの製品が販売されている。一方，モンゴルや中央アジアの乳酸菌飲料や乳酸発酵食品については情報が限られており，それらの国々の乳酒や乳製品を口にすることは皆無といってよい。本稿では，あまり知られていないモンゴルの乳酒や乳製品について詳しく解説して頂いた。

宮本　拓[1,2*]・烏力吉徳力根[2]・豊川佳奈子[2]

はじめに

中央アジアからモンゴル高原にかけては遊牧を主体とした家畜の飼養形態が共通しており，北方遊牧民としてのモンゴル民族の牧畜と乳利用には注目すべきものがある。モンゴル民族は，主に中国内モンゴル自治区およびモンゴル国に跨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。伝統的なモンゴル民族の食生活は乳製品類を主要な食材としており，白い食べ物と呼ばれる。

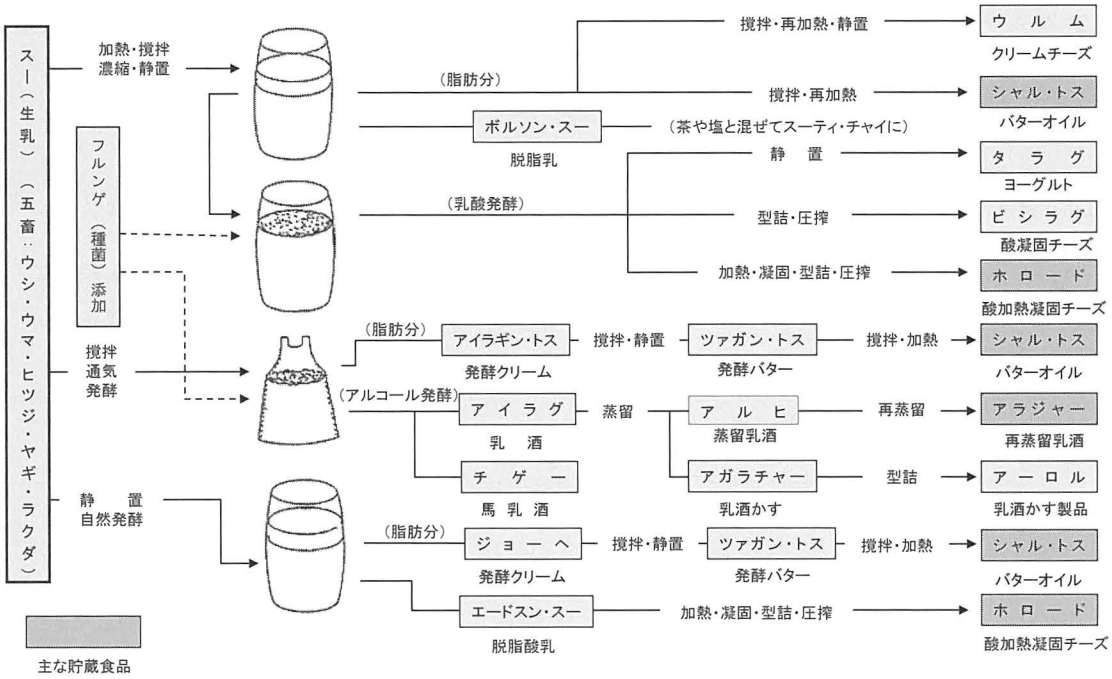
家畜の種類はウシ，ウマ，ヒツジ，ヤギ，ラクダなどがある。それらの家畜の種類は地域において特色がある。多くの種類の家畜から乳を搾り，それを乳製品製造に利用しているために，加工法は基本的に同じであっても最終製品はかなり違うものとなり，それがモンゴルの乳製品の種類の豊富さに結びついている。

中江[1)]，梅棹[2)]，越智[3)]，小長谷[4)]，水谷ら[5)]，そして高橋[6)]の調査に基づくモンゴル（外モンゴルと内モンゴル）の乳加工体系によれば，モンゴルの乳製品には30種類以上の名前が知られており，それらの中には，世界に類を見ないユニークな乳製品もある。第1図は，上述の文献ならびに筆者らの現地調査をもとにモンゴルの主な乳製品の加工体系を示したものである[7)]。いずれもスー（生乳）を出発点とするが，乳酸発酵あるいはアルコール発酵の場合はボルソン・スー（脱脂乳）やエードスン・スー（脱脂酸乳）を原料にすることもある。

これらのうち，乳酸発酵乳製品には液状飲料のタラグ（ヨーグルト）や棒状，板状などに成形するホロート（チーズ）がある。一方，アルコール発酵（乳酸発酵も同時に進行）にはウマ，ウシ，ラクダなどの乳が使われ，樽桶などの容器（古くは皮袋を使用）内で撹拌通気すると酵母の働きでドブロクのような乳酒（アイラグ）ができる。これを蒸留して，蒸留乳酒（アルヒ）を製造する。蒸留した残りはアガラチャーと呼ばれ，アーロルのような酒かす製品を得る。また，ウマの乳から作る馬乳酒は直接飲用されるもので，チゲーもしくはグン・アイラグと呼ばれる。

世界の各民族の食文化はその地域で調達できる食材に負うところが大きいと同時に，また，その利用食材によるアルコール発酵飲料の生産の有無がその民族の精神文化に連動しているように考える。古い文献を参考にしても，現状から見ても，乳からアルコール発酵飲料を始めて実用化した民族はモンゴル民族ではないかと考えられる[8,9)]。古来から現在に渡って，モンゴ

Traditional Preparation Processes and Microbiological Characteristics of Fermented Mare's Milk "Airag" in Mongolia
Taku MIYAMOTO[1,2*], Wulijideligen[2] and Kanako MATSUNAGA-TOYOKAWA[2] ([1]*Faculty of Food Culture, Kurashiki Sakuyo University*, [2]*Functional Food Creation Research Institute Co., Ltd.*)
＊連絡先（Corresponding author），〒710-0292　岡山県倉敷市玉島長尾3515　taku.miyamoto@ksu.ac.jp



第１図　モンゴルの主な乳製品

ルの遊牧民は厳寒と乾燥の特殊環境下で伝統的な手法によって乳を醸造し，あるいはそれを蒸留することで乳酒を製造してきた。馬乳酒は醸造乳酒であり，モンゴルでは子供から高齢者まで好んで愛飲する。小沢重男氏訳の「元朝密史全訳」などの記載では，馬乳酒アイラグのことをエスギ（Esugi）とも言う[8,9]。

現在，中国内モンゴル自治区での馬乳酒アイラグの生産は，中部に位置するシリンゴル盟のアバハ・ノール旗（シリンホト市の所在旗）を中心とした草原地域の遊牧民の家庭で，主に行われており，内モンゴルのその他の盟では乳酒の製造はほとんどみられない。現地調査に基づく馬乳酒の製造方法を解説した報告は多く見られるが，それの製造用微生物に関する研究は少ない。そこで，著者らはモンゴル地域（モンゴル国ならびに中国内モンゴル自治区）でのアイラグの製造状況を調べ，採取したアイラグの微生物学的な特徴を調査した。

馬乳酒アイラグの伝統製法

1. 馬乳酒アイラグの製造法

ここでは，中国内モンゴル自治区での調査をもとに，馬乳酒アイラグの製造方法を述べる。中国内モンゴル自治区では毎年の６～９月にかけて，ウマの乳を絞り撹拌と発酵を繰り返して馬乳酒を製造し，飲用する習慣がある。ウマの搾乳期間はウシやラクダに比べてかなり短い。とくに，暑中や雨期には搾乳を停止するときもある。搾乳数は牛と比べて頻度が多く，毎日４～６回もしくは８回であり，絞った乳は撹拌－発酵－撹拌－発酵の工程により約１週間でアルコール含量が1.5～3.0%位の馬乳酒が出来る。アイラグの製造において，注意することは温度管理である。寒い時には容器の外側に皮などの掛け物を付ける。アイラグのpHは4.0～4.5の酸っぱい液状である。

夏季のゲル（モンゴルの移動式住居）の温度は通常22～25℃であるのに対して，アイラグの実際の発酵温度は４～14℃の低い範囲である。これは風通し良い場所に置き，生水で冷やしたり，容器の下層部を埋めたりする工夫をするためである。

昔のモンゴル人は羊や牛などの皮袋を使いアイラグの発酵を行っていたが，現在では，陶器や木製容器を使うのが普通になった。アイラグの撹拌には，先が十字型などのブルール（Buluru）と呼ばれる木製棒で500～1,500回程度上下方向に移動する。撹拌数が多ければ多いほど良い発酵が出来ると経験的に知られて

いるが，とくに，決まりはない。毎日6回で，1回当たり1,500回以上の攪拌することで製造されるアイラグの味は美味しくなると言われる。アイラグの製造には3つの容器を必要とする。最初の容器で発酵を行い，2番目の容器を飲用に供し，そして3番目の容器は保存用の予備として使われる。これらの3つの容器は時々攪拌をする。アイラグは牛乳に比べて色が薄く，少し酸っぱい味のある液状のアルコールを含む乳飲料である。アイラグを伝統的に製造している遊牧民の間では製造時にリンゴ，ナシあるいはブドウなどの果物を加えて，果実酒に似た味のものも製造されている。

2. 種菌フルンゲの製造法

馬乳酒アイラグの製造にはフルンゲ（Hurunge）と呼ばれるスターター用の種菌（第2図）を使って，発酵を始める。中国内モンゴル自治区では，フルンゲを以下の6種類の方法を用いて製造している。

①乳から製造したアイラグ（牛乳製の酸乳）をスターターとして清潔な容器に，十分冷やした馬乳と一緒に加えて攪拌し，発酵を始める。

②牛の初乳にアイラグを加えて，攪拌発酵を行ったのち，馬乳酒のフルンゲに用いる。

③他の遊牧民から発酵した馬乳酒を借りて，スターターに使用する。

④清潔な容器を使い，2.5kgの馬乳に対して，200～250mlの蒸留酒を加えるか，もしくはビールを1本分加えて，時々攪拌発酵を行い，フルンゲに用いる。

⑤その年の最終の発酵で得られた馬乳酒を清潔な容器に移し，蓋をしっかり締めて保管し，翌年の発酵に使う。

⑥袋には50～100gの穀物（アワ）を入れ，2～3分間程度湯の中で軟らかくした後に，馬乳酒に3～7日間浸ける。それを取り出して，乾燥保存もしくはアイラグに浸けて保管し，必要に応じてスターターに用いる。

以上の製造方法のうち，⑥番が一般的に使われている。

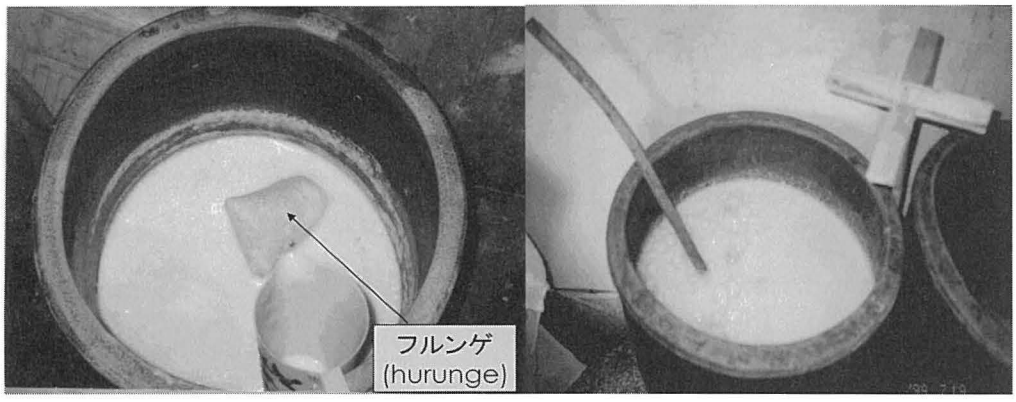
馬乳酒アイラグの微生物学的特徴

1. 微生物フローラの解析法

伝統的な発酵食品は長い年月をかけて複数の微生物からなる安定なフローラ（菌叢）が構築されている場合が多い。そのフローラは微生物同士が共生と拮抗を経て安定的なフローラを確立したものと考える。伝統的な発酵食品のフローラを詳細に把握することは，その発酵食品を安定的に製造，あるいは商業的に生産する際の微生物制御において重要となる。

従来，微生物フローラの調査では，サンプルを均質化後，段階的に希釈したサンプル液を寒天培地で培養する手法（プレート法）が行われてきた。この手法では検出されたコロニーを釣菌し，単一菌株での培養が可能となるため，その菌株固有の特性を調べることができるといったメリットが存在する一方で，希釈段階の低いプレートで優勢な菌株にかくれてしまうマイナーな菌株は，発酵食品の風味や組織形成には不可欠であるにもかかわらず，検出が困難になるというデメリットがある。

近年になって，サンプルを培養することなくDNAからフローラを解析する手法が考案されている。この



第2図　スターター用種菌フルンゲと馬乳酒アイラグの製造

手法では通常の培養方法では生育が観察されない難培養微生物の検出が可能になる。そしてプレート法に比べマイナー菌の解析能力が高いといったメリットが存在する一方，死菌も検出するという問題点や，菌株を分離培養しないため菌株特性が把握できないといったデメリットがある。このDNAを用いた解析手法のなかでDGGE法（Denaturing Gradient Gel Electrophoresis；変性剤濃度勾配ゲル電気泳動法）あるいはTTGE法（Temporal Temperature Gradient Gel Electrophoresis；温度勾配ゲル電気泳動法）はDNA断片の1塩基の違いを検出する能力があり，未知のフローラを解析するのに適した手法といえる[10]。

本研究では，従来法に加えてDGGE法を併用することによって伝統的発酵乳アイラグのフローラを調査し，新たな特性を持った菌種やマイナーではあるが発酵乳の特性を形づくるのに不可欠な菌種の機能を解明する。

2. アイラグの微生物フローラ

ラクトース発酵性酵母や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ール（kefir）ならびにモンゴルをはじめとする中央アジア一帯で作られているクーミス（koumiss，モンゴルではアイラグと呼ぶ）がある。

ケフィールは，牛乳，山羊乳，羊乳などを原料に複数の乳酸菌と酵母で複合発酵させる発酵乳で，そのふるさとは世界長寿村のひとつである北コーカサスである。伝統的にはケフィール粒と呼ばれる種菌をスターターにして，ヤギの胃袋を容器に用い，撹拌と発酵を繰り返すことで製造され，爽快でまろやかな酸味と発泡性のあるアルコール性保健飲料ができあがる。この中には乳酸（0.9－1.1%），エタノール（0.3－1%）および炭酸ガス（1%）を含む[11]。

スターターとなるケフィール粒は，ケフィランと呼ばれる粘性多糖を含み，乳酸菌，酵母，酢酸菌などの微生物で構成されている。ケフィール粒の微生物フローラは多くの研究者によって検討されている。Wszolekら[12]によると，*Lactobacillus brevis*や*Lactobacillus kefiranofaciens*（ケフィラン生産菌）などの乳酸桿菌，*Streptococcus thermophilus*，*Lactococcus*属および*Leuconostoc*属の乳酸球菌，*Acetobacter aceti*や*Acetobacter rasens*などの酢酸菌，そして*Saccharomyces*属，*Kluyveromyces*属，*Candida*属などの酵母に加え，*Geotrichum candidum*などのカビも検出されるという。KosikowskiとMistryの著書[13]によると，優勢な酵母は*Saccharomyces kefir*，*Torula*属あるいは*Candida kefyr*であり，優勢な細菌は*Lactobacillus kefir*，*Lactococcus*属および*Leuconostoc*属の乳酸菌であるという。現在では，この伝統的な製法によらないケフィールの製造が西欧をはじめとする多くの国で行われている。

一方，クーミ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る。アルコール発酵した乳酒をモンゴルではアイラグ（airag）と呼ぶ。そのうち，馬乳のアイラグ（馬乳酒）をチゲー（chigee）もしくはグン・アイラグ（gun airag），そして駱駝乳のアイラグ（駱駝乳酒）をインギン・アイラグ（engin airag）もしくはホゴルマグ（hogormag）と呼んでいる。アルヒ（aruhi）は牛乳のアイラグ（牛乳酒）を蒸留して作る蒸留酒である。

クーミスの微生物フローラについてはRobinsonら[14]よって報告されており，乳酸桿菌，乳糖発酵性酵母，乳糖非発酵性酵母，*Lactococcus*属菌種の存在が示唆されている。一方，アイラグおよびアイラグの種菌となるフルンゲに関する微生物フローラは，日本や中国，モンゴルの研究者によって調査されている[15,16]。共通性の高いものとして，*Lactococcus lactis*，*Leuconostoc mesenteroides*，*Enterococcus*属菌種などの乳酸球菌と*Lactobacillus plantarum*，*Lactobacillus casei*，*Lactobacillus paracasei*などの乳酸桿菌を含む。馬乳酒，駱駝乳酒およびそれらの種菌フルンゲには上述の乳酸菌に加えて，*Candida kefyr*，*Saccharomyces cerevisiae*，*Kluyveromyces marxianus* var. *lactis*などの乳糖発酵性あるいは乳糖非発酵性の酵母を含む。その他に検出される乳酸菌として，*Lactobacillus helveticus*が比較的に共通性の高い菌種である。

馬乳酒アイラグの生理機能に関する研究

1. アイラグの栄養学的特徴と保健効果

第1表に示したように馬乳の一般組成からみれば，馬乳の全固形分，乳蛋白質，乳脂肪および灰分含量は牛，駱駝，綿羊や山羊の乳と比べて少ない。しかし，馬乳の乳糖含量はその他の家畜の乳と比べて高く，人間の乳にとても類似している。また，馬乳100 gの中

第1表 数種の哺乳動物と馬乳酒アイラグの一般組成

哺乳動物	全固形分 (%)	タンパク質 (%)	脂肪 (%)	乳糖 (%)	灰分 (%)
ウシ[a]	12.7	3.4	3.7	4.8	0.7
ウマ[a]	11.2	2.5	1.9	6.2	0.5
ラクダ[a]	15.0	3.9	5.4	5.1	0.7
ヒツジ[a]	19.3	5.5	7.4	4.8	1.0
ヤギ[a]	13.2	2.9	4.5	4.1	0.8
アイラグ[b]	7.9	2.9	1.8	2.3	0.4

[a] Larson B.L. & V.R. Smith : Lactation (Vol. Ⅲ), 56-75, Academic Press, New York (1974)
[b] Watanabe, J. *et al.* : Milk Science, **47**, 1-8 (1998)

にはビタミンA (130ppm), ビタミンB_1 (0.095ppm), ビタミンB_2 (0.061ppm), ビタミンC (11.5ppm) およびビタミンE (0.24ppm) が含まれる[9]。

一方，アイラグの乳蛋白質，乳脂肪および無機成分の含量は馬乳と比べてほとんど違いがみられない。しかし，ビタミンBグループとビタミンCの含量が高くなるとの報告がみられる[17]。アイラグは野菜の摂取が少ない遊牧民にとって，夏季の貴重なビタミンC補給源である。馬乳の乳糖含量は6～7%で，アイラグの場合は1.4～4.4%までに低下する。これらの変化はアイラグ製造過程での乳酸菌と酵母を含む微生物フローラの働きにより乳糖から乳酸などの有機酸，アルコールおよび炭酸ガスなどが生成されるためである。

馬乳酒アイラグによる療法は，モンゴル飲膳療法のなかで重要な位置を占める独特なものであり，十三世紀に名をはせた療法である。ヨーロッパの著名な旅行家であるウィリアム・ルブルクはその“モンゴル旅行記”に，「クーミスはモンゴルやアジア遊牧民の飲みなれた飲料であり，栄養に富み，肺病を治す効能がある」と記している[18]。中国内蒙古自治区のシリンゴル盟にあるモンゴル医学研究所では，主にアイラグ治療の研究を行い，“酸馬乳療法”と題するアイラグ治療を述べた専門書 (1986)[9]に，アイラグは高血圧，痛風，心臓病，肺結核，胃炎，胃潰瘍，結腸炎，結核性腹膜炎，細菌性赤痢，糖尿病，神経衰弱，神経性頭痛，肺気腫などの病気に効果があるという。ただし，アイラグは万病に役立つわけではなく，肺炎や腎炎による高熱のある患者と骨の怪我をした患者にはアイラグ治療は不適との報告もみられる[9]。

アイラグには乳酸菌と酵母が主に含まれており，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部分を占めている。乳酸発酵とアルコール発酵による代謝産物がアイラグの独特な風味に影響を与えている。また，発酵過程で生産された酸および抗菌物質は，最終製品における微生物学的な安全性と製品における保存性を高めることになる。一方で，プロバイオティクス，バイオジェニクスあるいはイムノバイオティクスとしての乳業用乳酸菌や酵母の生理機能が解明されつつある。このように，馬乳の栄養物質や発酵に関与する微生物とその代謝産物がアイラグの保健効果に寄与していると考えられる。

2. 分離乳酸菌の保健効果の検索と応用

日々の食生活を改善することで，薬にたよらないで健康な体を保つ，いわゆる予防医学の考えが広く認識されるなかで，乳酸菌や発酵乳などの保健効果が注目されている[19]。保健効果には抗変異原性（発ガン・変異原物質の減弱），血圧低下作用，免疫賦活作用，血中コレステロール軽減作用，病原菌に対する拮抗作用，腸管内有害物質の低減作用による腸内環境改善作用などが期待され，さまざまな研究が行われている。

こうした状況のもと筆者らは，保健効果を有し，かつ発酵乳等の発酵食品製造に応用可能な乳酸菌を探索する目的で，モンゴルの発酵乳製品からの分離乳酸菌について，それらの保健効果の検索と応用に関して検討した。

1) プロバイオティクスとプレバイオティクス乳酸菌の探索と応用

モンゴル原産発酵乳製品から分離した多数の乳酸菌のうち，プロバイオティクス機能を有する乳酸菌を探索し，発酵乳の開発に資することを目的とした。

まず，プロバイオティクス機能を有する乳酸菌として，12%還元脱脂乳培地で24時間培養後の酸度が0.69% (pH4.9)，0.3%Oxgall含有MRS液体培地での比生育度が60%，pH2.0に調整した人工胃液中で3時間後の生存率が71%であり，しかも人工腸液に耐性を示した乳酸桿菌 (301102株) を選択した。この菌株は，中温性のホモ型乳酸桿菌でDL-乳酸を生産し，*Lactobacillus plantarum* と同定した。胆汁酸に対する耐性は極めて高く20%Oxgall含有MRS液体培地で生育した。また分子量の異なる6つの機能不明なプラスミドDNAを保有していた[20]。

次に，本菌株の腸内フローラ改善効果および腸内到

達性ををブタを用いて検討した。その結果，301102株で調製した発酵乳を投与した群で乳酸桿菌数およびビフィズス菌数の増加が認められ，また，投与したすべてのブタの糞便からこの菌株を回収できたことから，ブタ腸内フローラの改善効果および腸内到達性を有することが明らかとなった。さらに発酵乳の投与を止めて一週間後にも6頭中4頭から回収できたことから，腸内定着性を有することが示唆された。ブタの腸内環境はヒトのそれよりも厳しく，胆汁酸による殺菌作用の強いことが知られている。今回選択した菌株はヒトに摂取した場合も生きたまま腸管に届き腸内フローラ改善効果を発揮すると考えられた[21]。

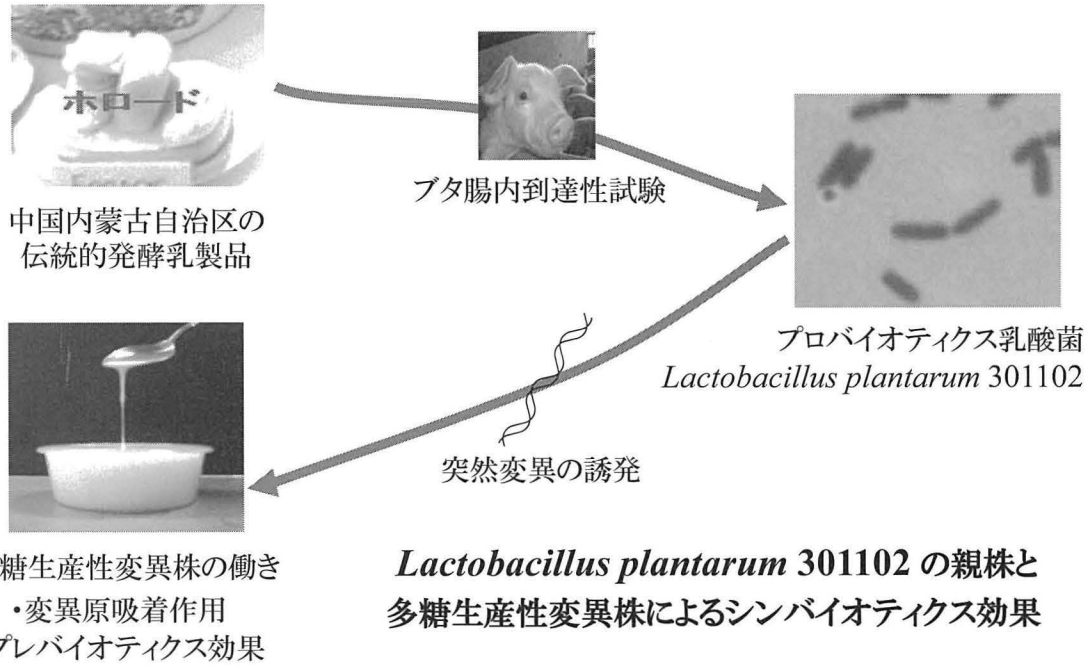
一方，*Lactobacillus plantarum* 301102をDNA複製阻害剤であるノボビオシンとアクリジンオレンジで変異誘発処理した結果，菌体外多糖（EPS）生産性変異株（301102S株）を得た。301102S株の多糖生産性は繰り返しの植え継ぎで失われることなく極めて安定であった。この多糖生産性変異株は食品変異原のTrp-P-1などに対して抗変異原作用を示し，その抗変異原性は生産されるEPSへの変異原吸着作用によるものと考えられた。*Lactobacillus plantarum* 301102Sを発酵乳製品製造に応用した場合，生産された多糖が腸内において食品変異原物質を吸着し，変異原性を減弱化することが期待できる[22]。

種々の乳酸菌における生産多糖の利用性を調べ，さらにプレバイオティクスとしての特性を明らかにする目的で，大腸菌を対照に用いた場合の親株や各種の乳酸菌株に対する影響を検討した。その結果，変異株が生産する多糖は親株である *Lactobacillus plantarum* 301102に対して特異的に利用され，最も高いプレバイオティクス活性値を示した[23]。

以上を総括すると，中国内蒙古自治区の伝統的発酵乳製品ホロード由来の乳酸菌 *Lactobacillus plantarum* 301102はブタ腸内フローラの改善効果および腸内到達性を有する乳酸菌であり，その変異株が生産する多糖は抗変異原性を有し，親株に特異的に利用されることが明らかとなった。このプロバイティクスとプレバイオティクス効果が期待できる親株および変異株の応用はシンバイオティクス発酵乳製品の創製に寄与するものである（第3図）。

2）GABA生産活性を有する乳酸菌の探索と応用

γ-アミノ酪酸（GABA）は自然界に広く分布している非タンパク性のアミノ酸であり，生体内では抑制性の神経伝達物質として，血圧低下作用やストレス低減



第3図　プロバイオティクス乳酸菌の探索とその多糖生産性変異株によるプレバイオティクス効果

作用などの働きをする。最近では様々な食品に含まれていることも明らかになっており，最も注目されている機能性物質の一つである。本研究では研究室保有の乳酸菌の中から高いGABA生産能力を持つ乳酸菌をスクリーニングし（第4図），GABA生産活性に及ぼす要因について調べ，応用面についても検討した。

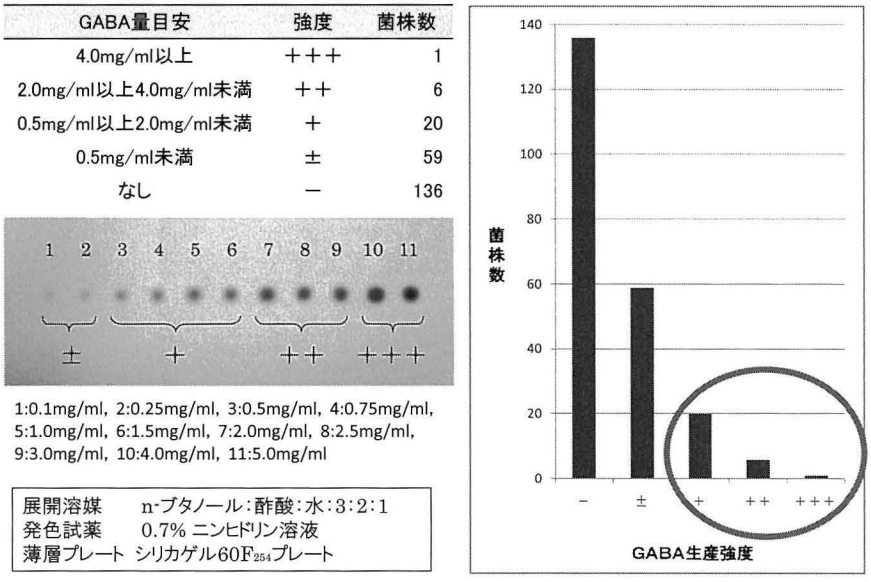
1%のグルタミン酸ナトリウムを含むGYLP液体培地に乳酸菌を1%量接種して適温下で72時間培養し，その培養上清中のGABAをTLC法およびHPLC法で検出することにより，ヘテロ発酵型中温性乳酸桿菌1株（1056株）とホモ発酵型中温性乳酸球菌2株（DH1株，KM株）を選択した。アピシステムで同定した結果，前者は*Lactobacillus brevis*であり，後者の2株は*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*であった。GABA生産活性に及ぼす培養条件の影響を検討したところ，培地の初発pHは5.0の時がGABA生産には最適であり，培養72時間から96時間においてGABA生産のピークになっていた。培地のグルタミン酸ナトリウム濃度を1%，初発pHを5.0，培養時間96時間でのGABA生産量は，それぞれ1056株が6.34mg/ml，DH1株が5.60mg/ml，KM株が2.87mg/mlであった。また3株とも高濃度（2～10%）のグルタミン酸ナトリウム存在下で生育したが，1056株が高いGABA変換率を維持する一方で，DH1株とKM株のGABA変換率は著しく低下した[24]。

今回選択した乳酸菌株を応用することでGABAを増強した付加価値の高い発酵食品や機能性食品素材の開発が望まれる[24-26]。

3）抗真菌活性を有する乳酸菌の探索と応用[27,28]

乳酸菌は乳酸を始めとする有機酸やバクテリオシンなどの各種の抗菌性物質を生産し，食品の製造と保存に寄与している。しかしながら，乳酸菌の抗微生物作用に関する研究の大部分は細菌の抑制効果に向けられており，真菌（カビや酵母）に対する抑制効果の研究はほとんど見られない。そこで，発酵食品あるいは飼料添加剤の新たな開発を目標に，抗真菌活性を有する乳酸菌を探索した。

供試乳酸菌を混釈した脱脂乳含有寒天培地上に，指標菌*Penicillium roqueforti*の胞子を塗抹し，さらに軟寒天を重層して30℃で3日間培養後，出現する真菌の生育度を観察することで抗真菌活性を測定した。強い抗真菌活性を示した乳酸菌については菌種の同定を行った。その結果，供試乳酸菌のうち，*Lactobacillus*属19705株が強い抗真菌活性を示した。19705株の生産する抗真菌性物質は，*Penicillium roqueforti*の他に食品汚染真菌3株（*Penicillium*属2株，*Kluyveromyces*属1株）に対しても活性を示した。19705株はモンゴルのホロード（酸凝固型チーズ）か



第4図 TLC法によるγ-アミノ酪酸(GABA)生産活性を有する乳酸菌の探索

ら分離した菌株であり，16SrDNA の塩基配列に基づく相同性検索等の同定試験から，*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* に帰属する菌株であった。19705 株を添加した還元脱脂乳培地に *Penicillium roqueforti* を接種して経時的に菌数を測定したところ，培養 36 時間後に生育が完全に抑制された。さらに，飼料添加剤としての有用性を調べる目的で，家畜飼料に本菌を接種したところ，汚染青カビ *Penicillium olsonii* の明らかな生育抑制が確認された（第 5 図）[27]。

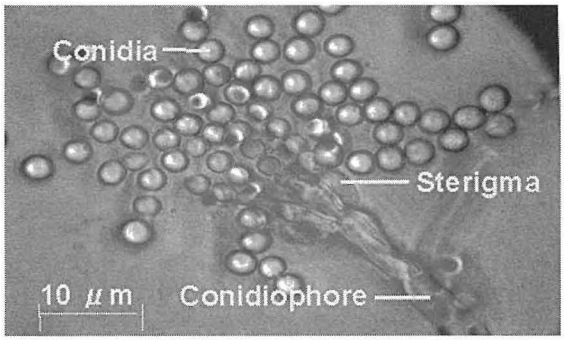
以上のように，本研究で得られた抗真菌活性を持つ乳酸菌は，付加価値の高い発酵食品あるいは飼料添加剤の開発に有意義である。同時に本研究の成果は，バイオプリザベーションとしての食品の保存技術に資するものである。

4）アイラグから分離した乳酸菌と酵母における微生物間相互作用[29, 30]

アイラグはモンゴル族の伝統的なアルコール発酵乳であり，馬乳，牛乳，駱駝乳などを乳酸菌と酵母の働きにより自然発酵させて製造され，独特な乳飲料として古来からモンゴル族の遊牧民に愛飲されている。アイラグの製造においては自然環境に由来する多種類の乳酸菌や酵母が共生，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。

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[29]。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* subsp. *dextranicum* 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，



飼料に生育したカビの顕微鏡写真
（*Penicillium olsonii*と同定）

第 5 図　*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*19705 を添加した飼料のカビ抑制効果

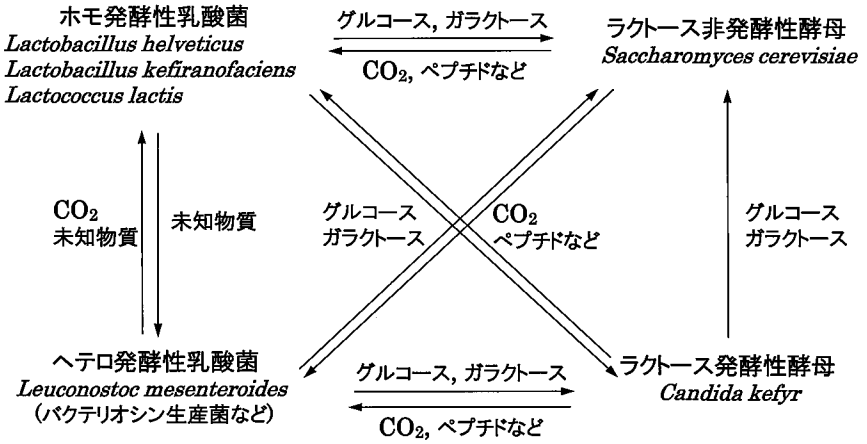
pH4.6に調整し，遠心分離によって得たホエーに9倍量のエタノールを加えて分画し，エタノール可溶性画分および不溶性画分をそれぞれトリプトンおよびグルコースなどを含むTG液体培地に添加し，乳酸菌に対する生育促進効果を調べた結果，エタノール不溶性画分において生育促進効果が見られた。さらに，酵母2Y305株の単独および乳酸菌6B2081株との混合培養による調製ホエーからのエタノール不溶性画分をゲルろ過法（セファデックスG25）および逆相HPLC法（コスモシール5C18-AR-300）によって生育促進物質の精製を試みた結果，単独培養に比較すると混合培養では明らかに減少したペプチド画分が認められ，これら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* subsp. *mesenteroides* 406をスクリーニングした[30]。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および生育の経時的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。これらの結果から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[31]であると考えられた。

以上のように，本研究ではモンゴル地域の伝統的アルコール発酵乳アイラグにおける乳酸菌と酵母の共生作用をはじめて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（第6図）。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，共生微生物や抗菌・抗カビ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。

まとめ

モンゴル族は馬乳酒アイラグを発酵乳飲料として古



第6図　アルコール発酵乳アイラグにおける微生物間の相互関連(推定)

くから製造し，愛飲してきた。しかし，アイラグに関する研究は多くみられず，とくに，製造時に関与する微生物の役割についての研究は非常に少ない。現在，中国では人口の激増や草原の砂漠化などの原因により，伝統的なアイラグは内モンゴル自治区中部に位置するシリンゴル盟を中心とした草原地域の遊牧民によってのみ製造されている状況で，この伝統的な製造技術は中国では失われる恐れがある。このような現状を鑑み，シリンゴル盟の草原地域に住む遊牧民の家庭を対象に，アイラグの製造状況について現地調査を行った。また，中国内蒙古自治区とモンゴル国でのアイラグの製法ならびに採取したアイラグ試料についての微生物学的な特徴を調べるとともに，アイラグの栄養的あるいは保健治療的効果についての検討を実施した。

伝統的な発酵食品は長い年月をかけて複数の微生物からなる安定なフローラ（菌叢）が構築されている場合が多い。そのフローラは微生物同士が共生と拮抗を経て安定的なフローラを確立したものと考える。伝統的な発酵食品のフローラを詳細に把握することは，その発酵食品を安定的に製造，あるいは商業的に生産する際の微生物制御や生理機能の確立において重要となる。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り，今後，共生微生物や抗菌物質生産性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。

この解説記事は，財団法人日本醸造学会編集部からの執筆依頼に基づき作成されたものである。なお本研究の詳細は，岡山大学農学部学術報告に総合論文[32]として掲載されている。

〈[1]くらしき作陽大学食文化学部，
[2]株式会社機能性食品開発研究所〉

文　献

1) 中江利孝：乳利用の国モンゴルとその乳製品．乳技協資料，**26** (1)，14-25（1976）
2) 梅棹忠夫：梅棹忠夫著作集 第2巻 モンゴル研究．pp.267-351，中央公論社，東京（1990）
3) 越智猛夫：乳酒の研究．pp.139-174，pp.231-256，八坂書房，東京（1997）
4) 小長谷有紀：加工体系からみたモンゴルの「白い食べ物」．モンゴルの白いご馳走（石毛直道編著），pp.129-184，チクマ秀版社，東京（1997）
5) 水谷　潤・斎藤芳男・渡部恂子・高野俊明・有賀秀子：中華人民共和国内蒙古自治区における伝統的乳製品の製造法と乳利用体系．ミルクサイエンス，**46**，193-200（1997）
6) 高橋富士雄：モンゴルの乳利用．New Food Industry，**42** (12)，1-8（2000）
7) 宮本　拓・布仁特古斯：白い食べ物 - モンゴルの乳製品について．Museum Kyushu，**71**，34-44（2002）
8) 小沢重男：元朝秘史全訳（中巻），風間書房，東京（1985）
9) 烏扎木蘇：酸馬奶療法．pp.52-198，内蒙古人民出版社，呼和浩特（1986）
10) Muyzer, G. : DGGE/TGGE a method for identifying genes from natural ecosystems. Current Opinion in Microbiology, **2**, 317-322 (1999)
11) Shah, N.P. : Health benefits of yogurt and fermented milks. *In* Manufacturing Yogurt and Fermented Milks (Chandan, R.C. ed.), pp.327-340, Blackwell Publishing, Iowa (2006)
12) Wszolek, M., B. Kupiec-Teahan, H. Skov Guldager and A.Y. Tamime : Production of kefir, koumiss and other related products. *In* Fermented Milks (Tamime, A.Y. ed.), pp.174-216, Blackwell Publishing, Iowa (2006)
13) Kosikowski, F.V. and V.V. Mistry : Cheese and fermented milk foods. Vol.1, pp.57-74, Kosikowski, F.V., L.L.C., New York (1997)
14) Robinson, R.K., A.Y. Tamime, and M. Wszolek : Microbiology of fermented milks. *In* Dairy Microbiology Handbook (Robinson, R.K. ed.), pp.367-430, John Wiley & Sons, New York (2002)
15) 宮本　拓：世界の発酵乳とそれらの微生物フローラ．ミルクサイエンス，**55**，253-262（2007）
16) 宮本　拓：乳業に利用されるその他の微生物．ミルクの事典（上野川修一・清水　誠・鈴木英毅・高瀬光徳・堂迫俊一・元島英雅 編），pp.282-283，朝倉書店，東京（2009）
17) Sun Zh., W.J. Liu, J.C. Zhang, J. Yu, W. Gao, M. Jiri, B. Menghe, T.S. Sun and H.P. Zhang : Identification and characterization of the dominant lactic acid bacteria isolated from traditional fermented milk in Mongolia, Folia Microbiologica, **55**, 270-276 (2010)

18) 小長谷有紀：モンゴルの馬乳酒治療．モンゴルの白いご馳走（石毛直道編著），pp.223-233，チクマ秀版社，東京（1997）
19) Lee,Y.K. and S. Salminen: Handbook of Probiotics and Prebiotics (2nd ed.), John Wiley & Sons, New Jersey (2009)
20) Tsuda, H. , K. Hara and T. Miyamoto : High bile-and low pH-resistant lactic acid bacteria isolated from traditional fermented dairy products in Inner Mongolia, China. Milk Science, **55**, 129-134 (2007)
21) Tsuda, H., K. Hara and T. Miyamoto : Survival and colonization of orally administered *Lactobacillus plantarum* 301102 in porcine gastrointestinal tract. Animal Science Journal, **79**, 274-278 (2008)
22) Tsuda, H., K. Hara and T. Miyamoto : Binding of mutagens to exopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* mutant strain 301102S. Journal of Dairy Science, **91**, 2960-2966 (2008)
23) Tsuda, H. and T. Miyamoto : Production of exopolysaccharide by *Lactobacillus plantarum* and the prebiotic activity of the exopolysaccharide. Food Science and Technology Research, **16**, 87-92 (2010)
24) 侯　歌川・藤川皓江・荒川健佑・宮本　拓：γ-アミノ酪酸（GABA）を高生産する乳酸菌の選抜と鶏肉発行調味液のGABA富化．日本食品科学工学会誌，**60**，125-132（2013）
25) 宮本　拓・荒川健佑・栗木隆吉：γ-アミノ酪酸高生産性乳酸菌を応用した鶏肉発酵調味液の開発．日本醸造協会誌，**108**，652-659（2013）
26) 金本繁晴・尾崎雄一・植向直哉・宮本　拓：γ-アミノ酪酸高生産能を有する乳酸菌並びにそれを利用しγ-アミノ酪酸富化した食品及び該食品の製造方法．特許第5441519号，平成25年12月27日（2013）
27) 宮本　拓・内藤善夫：新規な乳酸菌．特許第4199685号，平成20年10月10日（2008）
28) Wulijideligen and T. Miyamoto : Screening and identification of lactic acid bacteria from airag for antifungal activity. Journal of Animal and Veterinary Advances, **10**, 2751-2757 (2011)
29) Sudan, Wulijideligen, K. Arakawa, M. Miyamoto and T. Miyamoto : Interaction between lactic acid bacteria and yeasts in airag, an alcoholic fermented milk. Animal Science Journal, **84**, 66-74 (2013)
30) Wulijideligen, T.Asahina, K.Hara, K.Arakawa, H.Nakano and T.Miyamoto : Production of bacteriocin by *Leuconostoc mesenteroides* 406 isolated from Mongolian fermented mare's milk, airag. Animal Science Journal, **83**, 704-711 (2012)
31) 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）
32) 宮本　拓：モンゴルの伝統的発酵乳アイラグに関する微生物学的研究．岡山大学農学部学術報告，**104**，35-47（2015）

執筆者紹介（順不同・敬称略）

宮本　拓＜ Taku MIYAMOTO ＞
昭和24年9月10日生まれ＜勤務先と所在地＞くらしき作陽大学食文化学部　〒710-0292 岡山県倉敷市玉島長尾3515 ＜略歴＞昭和49年3月に岡山大学大学院農学研究科を修了後，昭和49年4月より岡山大学農学部教務員，助手，助教授を経て，平成元年4月より岡山大学農学部教授に昇任，その間，東北大学より農学博士の学位を取得。平成27年3月に定年退職，岡山大学名誉教授。平成27年4月より，くらしき作陽大学食文化学部学部長・教授，現在に至る。

大久長範＜ Naganori OHISA ＞
昭和23年7月30日生まれ＜勤務先と所在地＞地域創生ビジョン研究所　〒982-0222 仙台市太白区人来田1-20-20 ＜略歴＞昭和54年大阪府立大学大学院修了，平成19年宮城大学，平成26年定年退職。現在，山形県農業総合研究センターアドバイザー，仙台市地域連携アドバイザー＜抱負＞現在，仙台市のプロジェクトで日射量とエダマメの糖含量の関係を調査している。＜趣味＞フォトブックを作ること①キャンパスライフ②被災地「閖上」の猫など