

## 次世代プロバイオティクス資源としての未利用・低利用褐藻類

○久田 孝（東京海洋大学 学術研究院 食品生産科学部門）

### 【目的】

褐藻のカジメ類 *Ecklonia* およびアラメ類 *Eisenia* の消費地域や消費量はあまり大きくはないが、水溶性食物繊維（細胞壁間多糖類のアルギン酸、貯蔵多糖類のラミナラン）やフロロタンニンを含む、その機能性が期待される。近年、従来からのプロバイオティクスであるビフィズス菌だけでなく、酪酸を産生する *Faecalibacterium* や *Roseburia*、免疫調節機能や抗炎症性を有する *Bacteroides xylanisolvens* や *Bacteroides uniformis* も次世代プロバイオティクス (NGPs) として報告されている。このうち *B. xylanisolvens* はアルギン酸とラミナランを、*B. uniformis* はラミナランを分解・発酵する株が報告されている。本研究では、カジメ類とアラメ類の *B. xylanisolvens* および *B. uniformis* に対する（次世代）プロバイオティクス効果について検討した。

### 【実験方法】

1 mm<sup>2</sup> 以下に粉碎したツルアラメ *Ecklonia cava* subsp. *stolonifera* (ES)、クロメ *Ecklonia kurome* (EK)、アラメ *Eisenia bicyclis* (EB)、およびサガラメ *Eisenia nipponica* (EN) 1.5 g を、70% EtOH で洗浄し、洗浄前後の試料を 1/4 濃度の GAM 糖分解試験用ブロス (GAM1/4) 30 mL に懸濁した。115℃で 15 分間オートクレーブ処理後、遠心分離して得られた熱水抽出液 4 mL にヒト糞便由来の *B. xylanisolvens* H-Alg-1 および *B. uniformis* H-Lam-1 を接種した。37℃で 72 時間嫌気培養後、pH、粘度、有機酸 (HPLC) を測定した。また、EtOH 洗浄した ES と EB の培養液について抗酸化性 (DPPH ラジカル消去能、鉄還元能) およびマクロファージ様 RAW264.7 細胞の NO 産生に及ぼす影響を検討した。

EtOH 洗浄した EB および ES を懸濁した GAM1/4 (5 mL) に新鮮ヒト糞便 10 倍希釈スラリー (0.5 mL) を接種した。37℃で 24 時間嫌気条件下で振とう (60rpm) 培養後、pH、有機酸および腐敗産物（アンモニア、フェノール、インドール）を測定した。また、細菌叢を 16S rDNA(V3-V4) アンプリコンシーケンス法で解析した。

### 【結果および考察】

EtOH 洗浄前サンプルのうち EK、ES、EB は *B. xylanisolvens* および *B. uniformis* によって発酵され、*B. xylanisolvens* が酢酸、コハク酸、*B. uniformis* が乳酸、プロピオン酸を生成した。EtOH 洗浄したサンプルでは ES、EB、EN がよく発酵されたが、EK の発酵は弱かった。各培養液の粘度は *B. xylanisolvens* による発酵で低下した。EtOH 洗浄 ES と EB の培養液は、発酵により抗酸化性が上昇し、EB による RAW264.7 の NO 産生促進（免疫賦活作用）も増加した。

ヒト糞便培養系でも褐藻サンプルを添加していない Control 群と比較して ES 群、EB 群で有機酸産生量が有意に増加し、特に EB 培養液では乳酸、酢酸、プロピオン酸、n-酪酸の増加が確認された。また、pH の低下と腐敗産物（アンモニア、インドール、フェ

ノール) の顕著な抑制がみられた。

ヒト糞便培養液の細菌叢に個人差があったが、属レベルで、ES および EB では *Bacteroides* 占有率が有意に高く、*Faecalibacterium* も増加する傾向であった。さらに EB は *Fusicatenibacter* も増加させた。ASV レベルでは、ES、EB とともに NGPs である *B. uniformis* が、EB ではラミナラン分解菌の *Thomasclavelia ramose* の他、腸内酪酸量と正の相関を示し NGPs としても注目される *Fusicatenibacter saccharivorans* も有意に増加した。

分離菌による発酵試験において EN の EtOH 抽出液に抗菌性があることが推察されたため、各 EtOH 抽出液の総フェノール化合物含量 (TPC)、抗酸化性および抗菌性を検討した。EN の TPC および抗酸化性は、他の褐藻類サンプルよりも顕著に高かった。EN の EtOH 抽出液はグラム陽性食中毒菌の *Bacillus cereus*、*Staphylococcus aureus*、*Listeria monocytogenes* に対して明確な抗菌性を示した。また、上記のラミナランで増加するヒト腸内のグラム陽性菌 *F. saccharivorans*、*T. ramose* に対しても明確な抗菌性を示した (MIC < 2.5 mg/mL)。

以上の結果より、アラメ類、カジメ類は NGPs の *B. xylanisolvans* および *B. uniformis* の発酵基質となり、その代謝産物は酪酸生成菌や *F. saccharivorans* など、他の NGPs も増加させる次世代プレバイオティクス素材として期待できる。今後はフロロタンニンの抗酸化性や抗菌性の影響も含め、in vivo 実験やヒト介入試験が必要と考えられる。

