

新規海苔由来乳酸発酵食品素材の製法確立及び用途開発

食品コスメ部

柘植圭介 岩元彬

佐賀大学農学部

小林元太

株式会社オフィス・タカハン

高橋勝則

色落ち海苔等の低品質海苔の有効活用を目指して、有明海で摘採した生海苔から発酵性の高い2種類の新規乳酸菌 *Latilactobacillus sakei* D-1 株及び *Lactococcus lactis* D-2 株を取得した。これらの菌株の性質について調べた結果、海苔の発酵性は D-1 株の方が高かったが、末梢血単核球の IgA 産生能を指標とした免疫賦活作用は D-2 株にのみ認められ、その効果は D-2 の基準株よりも高いことが明らかとなった。D-1, D-2 株で海苔発酵食品を効率よく製造するための原料の前処理法について検討した結果、海苔の構成多糖マンナンを酵素処理してマンノースとすることによる発酵性の改善や、マンナーゼ分解前に弱酸加熱処理することによる抽出液粘性の低減に至った。確立した手法により調製した海苔抽出液における D-1, D-2 株の発酵性は基準株と比べても高く、これらの株は海苔の発酵に適した乳酸菌として活用し得ると判断された。

1. はじめに

乳酸菌は、糖を発酵して多量の乳酸を生産する細菌の総称であり、地球上の至るところに存在している。低温あるいは高温下で生育できる株、高濃度の食塩に耐性を有する株、酵素の有無を問題とせず増殖する株、産業上有用な抗菌物質を生産する株など多岐にわたる。乳酸菌は環境に対して広範に適応しているため、その分布は、土壌、海洋、河川など多種多様である。

乳酸発酵は、食品の保存性の向上、好ましい風味や生理機能の付与などの目的で古来より広く用いられ、その形態としてはヨーグルトなどの乳製品、キムチなどの漬物、サプリメントなど多岐にわたっている。

佐賀県の有明海沿岸域は、海苔(スサビノリ)の養殖が盛んであり、佐賀県の実績は19年連続日本一を誇る。しかしながら、近年価格のつかない色落ち海苔が問題となっている。色落ち海苔は栄養塩不足等の影響を受けた低品質海苔で、市場価値が低くその多くが廃棄される。佐賀県における2022~2023年シーズンの養殖海苔は、色落ちの影響により販売額・販売枚数ともに大幅に落ち込み、大きな問題となっている¹⁾。

色落ち海苔の有効活用は食品業界にとって重要な課題であり、これまでに様々な研究がなされてきた。例えば、海苔構成多糖であり乾燥海苔重量あたり約30%を占めるポルフィランについては脂質代謝改善作用²⁾や抗腫瘍活性³⁾等が示されている。また、色落ち海苔

の乳酸発酵によるGABA生産についての報告⁴⁾や、色落ち海苔のみに含まれる糖アルコールがビフィズス菌の発酵の基質として利用されたことを示す報告⁵⁾など、色落ち海苔の有効活用手段としての「発酵」に注目が集まっている。

色落ち海苔は通常の実績と比べてタンパク質量が少ない一方で、炭水化物量は多いとされている⁶⁾。そのため、色落ち海苔を乳酸発酵の基質として利用できる可能性がある。

以上の背景から、我々は、色落ち海苔の乳酸発酵により新たな付加価値を付与することを目的として、有明海からの乳酸菌の分離を試みた。その結果、分離源としてこれまで例がない、生海苔から有用な特性や機能性を有する新規乳酸菌の取得に至った。本報告では、生海苔から分離した新規乳酸菌の特性や生理機能について述べる。

2. 実験方法

2.1 分離源

有明海佐賀県エリアの6海域(図1:A~F)から生海苔を摘採し(摘採日2020.2.5)、乳酸菌の分離源に使用した。

2.2 使用培地

分離にはMRS培地(Difco™ Lactobacilli MRS Broth; 表1)を使用した。寒天培地の場合は、MRS液体培地

に寒天 1.5%, 炭酸カルシウム 0.5%を添加した。

2.3 分離方法

分離源を液体培地に懸濁後、アネロパック®・ケンキ(三菱ガス化学)を用いて 30°Cで嫌気培養を行った。その後、炭酸カルシウム含有のプレート培地に塗布し、同様に嫌気培養した。酸の生成能を有しクリアゾーンを形成しているコロニーを釣菌し、炭酸カルシウム含有のプレート培地に接種後、嫌気培養を行った。コロニーに 3%過酸化水素水を 10 µL 加えカタラーゼ試験を行った。カタラーゼ陰性を示したコロニーを、グリセロールと培養液を 1:1 の割合で混合したものに添加し、凍結保存した。

2.4 菌株の選抜

コロニー形状、クリアゾーン形成能、培養液の観察により、分離源の海域ごとに代表株を 5 株ずつ釣菌し、そのうち異なる特性を有する菌株を区域あたり 2 株ずつ選抜した。

2.5 菌の同定

表 2 に記載の 16S rRNA 領域のプライマーを用い、表 3 及び 4 に記載の条件で Colony direct PCR を行った。16S rRNA 領域を増幅後、アガロースゲル電気泳動で DNA 断片を確認した。ISOSPIN PCR Product (ニッポンジーン) を用いて PCR 産物を精製した。サイクルシーケンス反応は、BigDye™ Terminator v3.1 Cycle



図 1 生海苔の摘採場所

表 1 MRS 培地組成

Protease peptone No. 3	10 g/L
Beef extract	10 g/L
Yeast extract	5 g/L
Dextrose	20 g/L
Polysorbate 80	1 g/L
Ammonium citrate	2 g/L
Sodium acetate	5 g/L
Magnesium sulfate	0.1 g/L
Manganese sulfate	0.05 g/L
Disodium phosphate	2.0 g/L

Sequencing Kit (Applied Biosystems) を用いて表 5 及び 6 に記載の条件で行った。DNA シーケンシングは 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) で実行した。

National Center for Biotechnology Information NCBI のデータベースを対象にした BLAST 検索により塩基配列の相同性を解析した。

2.6 分離株の乳酸発酵能の評価

分離培地である MRS 培地と色落ち海苔成分を抽出して作成した海苔抽出液培地を使用した。海苔抽出液は、色落ち海苔乾燥物 100 g に水 1.4 kg を添加し、数

表 2 プライマー組成

Primer Name	Sequences (5'→3')
8-519S (Forward)	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG
8-519A (Reverse)	ATTACCGCSGCTGCTG

表 3 PCR 反応液組成

10x Ex Taq Buffer	5 µL
dNTPs	2 µL
Forward Primer (8-519S) (10 µM)	2.5 µL
Reverse Primer (8-519A) (10 µM)	2.5 µL
Ex Taq HS	0.2 µL
dH ₂ O	37.8 µL

表 4 PCR 反応条件

94°C	5 min
94°C	30 s
55°C	30 s
72°C	1 min
72°C	5 min

表 5 サイクルシーケンス反応液組成

Sequencing RR-100 433691 (ABI)	0.25 µL
5×Sequencing Buffer P/N: 4336697 (ABI)	1.875 µL
10 µM Primer	0.3 µL
Template*	1 µL
dH ₂ O	6.575 µL
Total	10 µL

表 6 サイクルシーケンス反応条件

96°C	1 min	} 25cycles
96°C	10 sec	
50°C	10 sec	
60°C	4 min	
4°C	pause	

回攪拌しながら2時間静置して抽出し、ろ布を用いて圧搾した。これを海苔抽出液培地（以下、NE培地）とした。

MRS培地に1%にて接種後、30°Cで24時間培養したものを前培養液とした。MRS培地、NE培地それぞれに、前培養液を終濃度 $OD_{660} = 0.1$ になるよう接種し、30°Cで培養した。

MRS培地における培養では2日後、NE培地における培養では4日後に培養液を1 mL採取し、遠心分離（4°C, 13,000 x g, 5 min）及び精密ろ過によって上清を回収した。培養上清の乳酸濃度を有機酸分析システム（島津製作所）により測定した。

カラムは Shim-pack SCR 102H（300 mm L. × 8.0 mm I.D.; 島津製作所）を3本直列で用いた。移動相は5 mM p トルエンスルホン酸水溶液を、緩衝相は5 mM p トルエンスルホン酸及び100 mM EDTAを含む20 mM Bis tris 水溶液を使用した。移動相と緩衝相ともに流速0.8 mL/min、カラム温度は35°Cとした。検出器は電気伝導度検出器 CDD 10（島津製作所）を用いた。培養は各1回実施した。ブランクとして培養初期の培地の乳酸濃度も測定し、培養上清の乳酸濃度から差し引くことで正味の乳酸生産量とした。

2.7 ナチュラルキラー細胞の細胞障害性の評価

菌株選抜の指標として、ナチュラルキラー（NK）細胞の細胞障害活性の評価を行った。供試試料は、各菌株の培養上清とし以下に準じて調製した。

MRS培地に凍結保存していた乳酸菌懸濁液を接種後、30°Cで24時間培養したものを前培養液とし、MRS培地に前培養液を終濃度 $OD_{660} = 0.1$ になるよう接種し30°Cで培養した。培養48時間の培養液1 mLを採取し、遠心分離（4°C, 13,000 × g, 5 min）により上清を回収しフィルター滅菌したものを試料とした。調製は同一菌株を3反復して実施した（n=3）。

NK細胞障害活性は、以下により評価した。培地としてフェノールレッド不含RPMI 1640 + 1% FBS培地を使用した。NK細胞傷害性のモデルであるヒトNK様細胞KHYG-1を100 U/mLのIL-2を含む培地に懸濁し、 1.5×10^4 cells/wellの細胞密度で100 μLずつ96 wellプレートに播種した。所定濃度に希釈した試料10 μLを添加して24時間培養（37°C-5% CO₂）し、別途培養したヒト慢性骨髄性白血病細胞株K562を 1.5×10^4 cells/wellの密度で100 μLずつ96 wellプレートに播種した。培養4時間後に上清を回収し、マイクロプレートリーダーで蛍光強度を測定した（Ex: 485 nm, Em: 520 nm）。1菌株あたりの反復は3（n=3）とした。

2.8 末梢血単核球の免疫賦活作用の評価

選抜株の免疫賦活作用の指標として、Kawashimaらの方法⁷⁾に準じて末梢血単核球（PBMC）の抗体（Immunoglobulin A; IgA）産生能を評価した。

10% FBS含有RPMI1640培地で前培養（37°C-5% CO₂）したヒトPBMC（クラボウ）を細胞培養用96 wellプレートに250 μLずつ分注し、所定濃度の乳酸菌存在下5日間培養した。PBMCの細胞密度は 2×10^5 cells/mLとした。培養後の培養上清のIgAレベルを常法に従いELISA法にて測定した。乳酸菌無添加の培養上清を対照区とし、IgA産生量を比較した。乳酸菌は70°Cで30分加温して殺菌したものをを用いた。1試験区あたりの反復は4（n=4）とした。

2.9 NE培地の製法改善及び選抜株の乳酸発酵試験

NE培地の糖質含量の増加及び粘性低減を目的としてNE調製時の糖質分解酵素処理及び弱酸加熱処理の併用について検討した。

50 mL容のコニカルチューブに0.07%硫酸30 gを入れ、2×5 mm程度に細断した乾燥海苔2.5 gを加えてよく混合した。チューブをヒートブロックにセットして、95°Cで20分反応し弱酸加熱処理を行った。

次に、25 mgの酵素を1 mLの水に溶かして添加し、55°Cに加熱したヒートブロックに入れ24時間酵素反応させた。反応後、100°Cに加熱したヒートブロックに移して酵素を失活させた後、15,000 × gで15分遠心分離して上清を得た。この上清の固形分、タンパク質濃度、粘度及び遊離糖濃度を測定した。

2.10 統計解析

得られたデータは、GraphPad prism 9を用い、Tukeyの多重比較で有意差検定を行った。

3. 結果及び考察

3.1 NK細胞の細胞障害性

有明海6海域の生海苔から各5株ずつ計30株を単離した。さらに、地点ごとに分離株のコロニー形状や培養液の観察を行い、異なる形状を示すもの2株ずつを代表株とし、計10株を選抜し、16S rRNA遺伝子の相同性解析により菌種を同定した（表7）。

有明海の生海苔からの乳酸菌の分離の例はこれまでになく、初めて海苔からの分離に成功し、乳酸菌が海苔に付着して生育している可能性が示された。B地点から単離した5株はすべてカタラーゼ陽性を示し、コロニー直径が小さくクリアゾーンの形成能が低いなど同様の特性を示していた。代表株として同定したB1株は*Staphylococcus warneri*であった。これらのことから、B地点の生海苔は他の地点に比べ*Staphylococcus*属の細菌が優位に生育している可能性が考えられた。

分離株 10 株について、分離培地である MRS 培地、NE 培地でそれぞれ乳酸生産能を評価した。図 2 に示すように、MRS 培地において分離株は培養 2 日間で 6.6~10.8 g/L の乳酸濃度となり、特に *Latilactobacillus sakei* D-1 株で高い生成量を示した。また、図 3 に示すように、NE 培地においては、0.8~1.5 g/L の乳酸濃度となり、特に D-1 株及び *Leuconostoc mesenteroides* E-5 株で高い生成量を示した。

3.2 NK 細胞の細胞障害性の評価

図 4 に NK 細胞の細胞障害性を示した。10 菌株のうち、D-1 株、*Lactococcus lactis* D-2 株及び *Lactococcus lactis* F-2 株で有意に高い細胞障害性を示した。

3.3 PBMC の免疫賦活活性の評価

培養上清において NK 細胞の細胞障害性を向上させた菌株のうち、NE 培地での発酵性が最も高かった D-1 株と、発酵性が比較的高かった D-2 株の 2 菌株を選抜し、PBMC の免疫賦活活性を評価した。比較として、D-1 及び D-2 株の分類学上の基準株 (Type strain; NBRC 提供菌) の活性も評価した。

その結果、図 5 に示すように D-1 株及びその基準株は乳酸菌無添加に比して特段の IgA 濃度の増強は見られなかったが、D-2 株及びその基準株は、 10^7 及び 10^8 Colony Forming Unit (CFU) の添加量で乳酸菌無添加より明らかに高い IgA 濃度を示した。低濃度 (10^6 CFU) における IgA 濃度は、D-2 株が最も高かった。この結果は、海苔由来乳酸菌の中でも D-2 株に強い PBMC の免疫賦活作用を有する可能性があり、その性質は基準株とは異なるものであることを示唆していた。

3.4 弱酸加熱及び酵素処理の併用による NE 培地の製法改善

NE 培地で乳酸発酵する際に抽出液の「糖質含量の

表 7 生海苔から単離・同定された乳酸菌

	同定菌株
A-1	<i>Lactococcus lactis</i>
A-2	<i>Lactocaseibacillus manihotivorans</i>
C-1	<i>Enterococcus faecium</i>
C-2	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
D-1	<i>Latilactobacillus sakei</i>
D-2	<i>Lactococcus lactis</i>
E-1	<i>Lactococcus lactis</i>
E-5	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
F-1	<i>Lactococcus lactis</i>
F-2	<i>Lactococcus lactis</i>
B-1	<i>Staphylococcus warneri</i>

※B-1 株はカタラーゼ陽性を示した株。

低さ」と「粘性の高さ」がデメリットとなっている。そこで、これらを解消するため、海苔固有の粘性多糖類の低分子化が期待される弱酸加熱処理と糖質分解酵素処理について検討した。

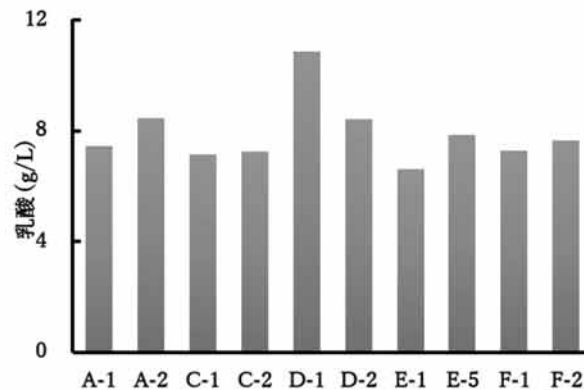


図 2 MRS 培地における分離株の乳酸生産量

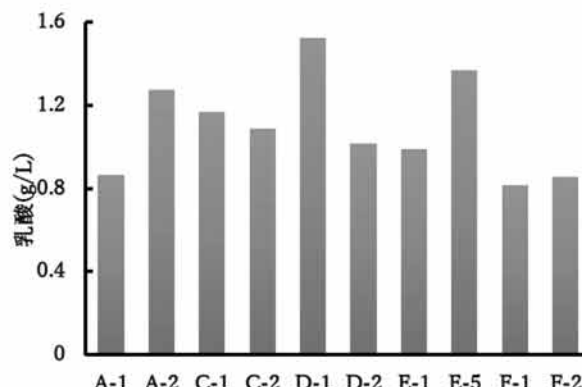


図 3 NE 培地における分離株の乳酸生産量

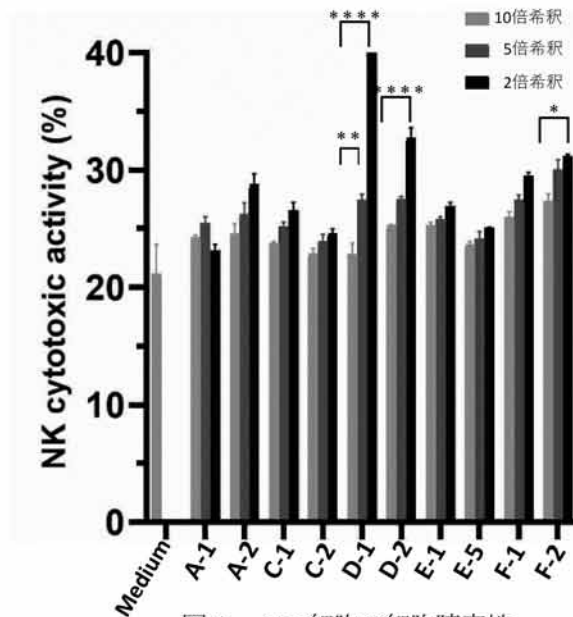


図 4 NK 細胞の細胞障害性

各乳酸菌の培養上清を希釈して細胞に添加した。

p<0.01, **p<0.0001 vs Medium

まず、使用酵素を選定するため種々の糖質分解酵素で海苔を処理した。抽出物の遊離糖含量を比較したところ、表8に示すように、濃度が最も高かったのは、マンナナーゼの一種であるセルロシン GM5 (エイチアイビィ) であった。さらに、他社のマンナナーゼ2

種類と比較しても遊離糖の濃度が最も高かったのはセルロシン GM5 であったため (データ示さず)、酵素処理はセルロシン GM5 で行うこととした。

次に、弱酸加熱処理の有無で NE 培地の固形分、タンパク質濃度、粘度及び遊離糖濃度を比較した結果を

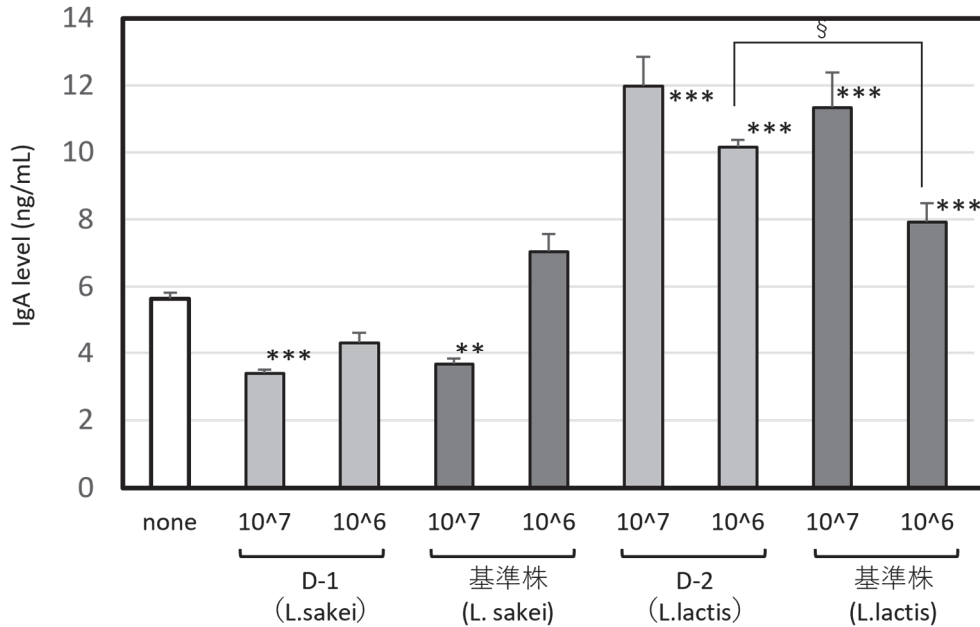


図5 ヒト末梢血単核球のIgA産生能に及ぼす乳酸菌(死菌)の影響
 , * Data are statistically significant vs "none" as p<0.01, <0.001 respectively (Tukey), § p<0.001 (Tukey).

表8 種々の糖質分解酵素で処理した海苔抽出液の性状

	酵素名	pH	DM %	CP %	粘度 mPa・s	遊離糖, mg/mL					総糖, mg/mL						
						Fuc	Gal	Glc	Man	Xyl	Total	Fuc	Gal	Glc	Man	Xyl	Total
1	スミチーム C	3.70	2.76	0.12	9.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
2	スミチーム AC	3.71	4.18	0.36	30.8	0.0	0.6	4.2	10.1	0.0	14.9	0.2	23.6	4.8	9.2	0.0	37.8
3	スミチーム MC	3.70	3.09	0.25	15.9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
4	スミチーム X	3.67	3.11	0.17	16.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
5	スミチーム NX	3.72	4.02	0.41	33.2	0.0	1.5	4.2	7.2	0.0	12.9	0.2	24.4	5.2	7.1	0.0	36.8
6	スミチーム ACH	3.74	4.18	0.41	37.5	0.0	1.5	4.4	3.2	0.0	9.1	0.2	24.7	5.3	10.6	0.0	40.9
7	セルロシン HC100	3.74	4.29	0.44	49.4	0.0	3.5	5.1	7.2	0.0	15.8	0.3	24.7	5.9	7.1	0.0	37.9
8	セルロシン GM5	3.76	4.18	0.48	44.4	0.0	3.7	3.2	10.7	0.0	17.7	0.3	25.6	4.1	10.5	0.0	40.6
9	酵素無添加	3.67	2.86	0.15	6.6	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.1	0.1	19.8	0.0	0.0	0.0	19.9

DM: 固形分濃度、CP: タンパク質濃度 (全窒素 x 6.25)、Fuc: フコース、Gal: ガラクトース、Glc: グルコース、Man: マンノース、Xyl: キシロース

表9 酵素反応前の弱酸加熱による粘度低下

条件	上清回収量 g	pH	粘度 mPa・s	DM %	CP %	遊離糖濃度, mg/mL			
						ガラクトース	グルコース	マンノース	Total
弱酸加熱なし	17.7	3.62	93.5	5.93	1.04	1.54	2.20	6.29	10.02
弱酸加熱あり	23.8	3.62	38.5	5.65	1.03	1.56	2.18	5.63	9.37

表9に示す. pH, 固形分, タンパク質濃度及び遊離糖濃度においては, 両者に大きな違いは認められなかった. 一方, 粘度においては, 弱酸加熱処理することで93.5 mPa・sから38.5 mPa・sに低下した. さらに粘度の低下により固液分離効率が向上したことで, NEの上清回収量も向上し, 抽出液の製造コストの低減に寄与すると考えられた.

以上の結果は, 抽出時に弱酸加熱処理とマンナナーゼ処理を併用することにより, 粘性が低く, 糖質源が豊富な海苔発酵原料を製造できることを明示するものであった.

3.5 D-1及びD-2株の改良NE培地での乳酸発酵試験

弱酸加熱処理とマンナナーゼ処理を併用して調製した改良NEを原料とする乳酸発酵過程における乳酸生成量及び遊離糖(ガラクトース, グルコース及びマン

ノース)の濃度の推移を図6A~Dに示した.

図6Aに示すように, 乳酸生成量はD-1株が発酵2日で, D-1基準株が発酵1日でプラトーに達し, 両方とも問題なく発酵していると判断された. また, D-2株も発酵1日でプラトーに達したが, D-1株より乳酸生成量がやや低い推移を示した. D-2基準株はさらに遅い立ち上がりを示した.

図6Bに示すように, ガラクトースの濃度はD-1株のみ発酵と共に低下し, 乳酸菌によって消費されているものと思われた. 一方, D-2株およびその基準株においては低減が見られず, これらの菌株はガラクトースの資化性が低いものと思われた.

図6Cに示すように, グルコースは4菌株全てにおいて発酵1日で検出されなくなり, 全株が資化性を有するものと思われた.

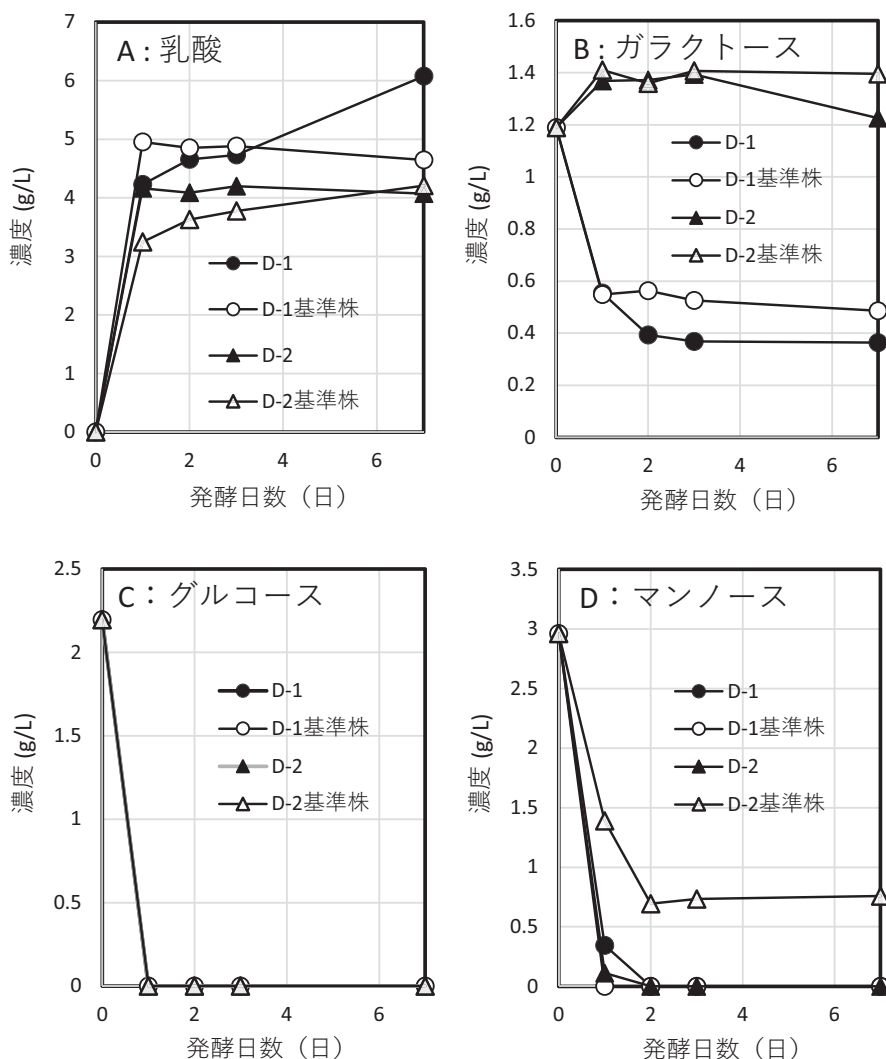


図6 乳酸発酵における乳酸及び遊離糖含量の推移

図 6D に示すように、マンノースは D-2 基準株以外の菌株は発酵 1~2 日で検出されなくなり、D-2 基準株以外はマンノースの資化性を有するものと思われた。

海苔が属する紅藻類は、陸上植物と違ってグルコースで構成されるデンプンが少なく、マンノースで構成されるマンナンや、ガラクトースで構成されるポルフィランを多く含んでいる。海苔の乳酸発酵においては、マンノースやガラクトースなど非グルコースの資化性が高い乳酸菌の方が有利である。海苔由来の培地を使った発酵試験の結果から、D-1 株や D-2 株は、それらの基準株に比べても海苔の発酵により適した乳酸菌であることが示唆された。

4. おわりに

乳酸菌は、現在までに 400 種近くが命名され⁸⁾、その一部は、食品の保存性や風味の向上のために古来より利用されてきたが、近年はプロバイオティクス（整腸作用）や免疫賦活作用などの生理機能性も見出され、ヒトの健康維持や体調改善に貢献している。

本研究では、低品質の海苔の付加価値向上を目指して、生海苔からの乳酸菌の取得を試みた結果、海苔の発酵性が高い乳酸菌株を初めて単離し、その同定に至った。同定した乳酸菌のなかでも *Latilactobacillus sakei* D-1 株は、海苔を最もよく発酵し、海苔由来の発酵食品の生産に適していると考えられた。一方、D-1 株にも NK 細胞の障害性向上作用が見られたが、PBMC の IgA 抗体産生能は *Lactococcus lactis* D-2 株の方が強く、その作用は D-2 の基準株を凌駕するものであった。したがって、海苔発酵食品を機能性食品として商品化するには、機能性が高い D-2 株を使用の方が好ましいと考える。ここで、実際の製造を意識した 50 kg スケールの発酵試験の結果から、発酵初期の菌数を増やすことで D-2 株でも海苔を十分発酵し得ることが明らかとなっている（データ示さず）。

最近では乳酸菌の整腸作用だけでなく、免疫調節作用も報告されており、PBMC の IgA 産生に働きかける乳酸菌としてはすでに *Pediococcus acidilactici* K15 株が報告されている⁷⁾。また、大手食品会社が、免疫の司令塔とされるプラズマサイトイド樹状細胞を直接活性化させる新しい乳酸菌（プラズマ乳酸菌）の取得に成功し⁹⁾、免疫賦活機能を訴求する機能性表示食品¹³⁾への産業利用につながっている。

先述した *Pediococcus acidilactici* K15 株の PBMC 活性化作用は、菌体を構成する成分が直接 PBMC に作用することが明らかとなっている⁷⁾が、我々が見出した *Lactococcus lactis* D-2 株の PBMC 活性化作用のメカニ

ズムは現段階では明らかでない。今後、免疫賦活にはたらく機能性食品として D-2 株を産業利用するためには、免疫賦活の作用メカニズムの解明や、実験動物及びヒトに対する作用のエビデンス取得を積み重ねていくことが重要である。併せて、有明海沿岸域が抱える色落ち海苔の問題解決に貢献し、地域産業や人々の暮らしを支える視点が必要不可欠であると考えられる。本乳酸菌や、乳酸菌で発酵させた新規海苔発酵食品が実用化され、サステナブルな未利用資源の有効活用や新産業創出に結実することを強く期待するものである。

なお、研究を実施するにあたって使用したマイクロプレートリーダーは、電源立地地域対策交付金で導入した。

本研究の遂行にあたりご協力を賜った佐賀大学農学部修士課程（研究当時）木下千鶴氏に多大なる感謝を申し上げる。本当にありがとうございました。

参考文献

- 1) NHK NEWS WEB 2023 年 1 月 12 日
<https://www3.nhk.or.jp/lnews/saga/20230112/5080013614.html>
- 2) Tsuge et al, Dietary effects of porphyran from *Porphyra yezoensis* on growth and lipid metabolism of Sprague Dawley rats, *Food Sci. Technol. Res.*, **10**, 147-151 (2004)
- 3) Yoshizawa et al, Macrophage stimulation activity of the polysaccharide fraction from a marine alga (*Porphyra yezoensis*) structure function relationships and improved solubility, *Biosci Biotechnol Biochem.* **59** 1933-1937 (1995)
- 4) Tsuchiya et al, GABA production from discolored laver by lactic acid fermentation and physiological function of fermented laver, *Food Preserv. Sci.*, **33** 121-125 (2007)
- 5) Muraoka et al, Fermentation properties of low quality red alga *Susabinori Porphyra yezoensis* by intestinal bacteria, *Biosci Biotechnol Biochem.*, **72**, 1731-1739 (2008)
- 6) 二羽 恭介, ノリの化学, 朝倉書店 (2020)
- 7) Kawashima et al, The molecular mechanism for activating IgA production by *Pediococcus acidilactici* K15 and the clinical impact in a randomized trial, *Scientific Reports.* **8**, 5065 (2018)
- 8) 辨野義己 プロバイオティクスとして用いられる乳酸菌の分類と効能, *モダンメディア.* **57** (10), 277-287 (2011)
- 9) Tsuji et al, The Effects of dietary supplementation of *Lactococcus lactis* strain Plasma on Skin Microbiome and Skin conditions in Healthy Subjects—A Randomized,

- Double-Blind, Placebo-Controlled Trial, Microorganisms. **9**, 563 (2021)
- 10) Sugimura et al, Effects of oral intake of plasmacytoid dendritic cells-stimulative lactic acid bacterial strain on pathogenesis of influenza-like illness and immunological response to influenza virus, *Br J Nutr.* **114**, 727-733 (2015)
- 11) Sugimura et al, Immunomodulatory effect of *Lactococcus lactis* JCM 5805 on human plasmacytoid dendritic cells, *Clin Immunol.* **149**, 509-518 (2013)
- 12) Sugimura et al, Plasmacytoid dendritic cell dysfunction caused by heat stress is improved by administration of *Lactococcus lactis* strain Plasma in mice, *Biosci Biotech Biochem.* **83** (11), 2140-2143 (2019)
- 13) キリン・プラズマ乳酸菌 免疫ケアスペシャルサイト, <https://www.imuse-p.jp/plasma/>

※本研究は令和4年度に実施しましたが、知的財産保護の観点から令和6年度の報告書に掲載しました。