

## 発酵食品から分離した乳酸菌の特徴

高山 清子\*<sup>1</sup>・黒木 加奈子\*<sup>1</sup>・水谷 政美\*<sup>1</sup>・山本 英樹\*<sup>1</sup>・越智 洋\*<sup>1</sup>・工藤 哲三\*<sup>1</sup>

Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from the Fermented Foods in Miyazaki

Kiyoko TAKAYAMA, Kanako KUROKI, Masami MIZUTANI, Hideki YAMAMOTO,  
Hiroshi OCHI and Tetsuzo KUDO

県内の焼酎もろみや漬物から分離した乳酸菌の生化学試験をおこない、乳酸菌の特徴について調べた。生化学試験はグラム反応、カタラーゼ試験、運動性試験、グルコースからのガス発生試験、乳酸旋光性試験、アルギニンからのアンモニア生成試験、発酵形式試験、生育温度試験、耐塩性試験、耐アルコール試験、初発pH試験をおこなった。その結果、漬物から分離した乳酸菌にはD-乳酸の旋光性を示す乳酸菌が確認された。また、菌種の違いにより最適な生育温度の違いが見られた。一方、焼酎もろみから分離した乳酸菌には、アルコール耐性、酸耐性を有する乳酸菌が確認された。

キーワード：乳酸菌，焼酎もろみ，漬物，生化学試験

### 1 はじめに

これまでに県内の発酵食品製造場から、焼酎もろみや漬物、醤油もろみ等を探取し、乳酸菌を分離した<sup>1,2)</sup>。分離した乳酸菌について16S rDNA解析により分類した結果、様々な乳酸菌種が確認された。そこで本研究においては、各種生化学試験をおこない、それぞれの発酵食品に生育する乳酸菌の特徴について確認した。

### 2 実験方法

#### 2-1 供試菌株

各試験には、これまでに県内の発酵食品製造場から分離し、16S rDNA解析により同定した乳酸菌9株を使用した。選抜した乳酸菌を表1に示した。

#### 2-2 乳酸菌の生化学試験

乳酸菌はグラム陽性、カタラーゼ陰性菌であるため、簡便法<sup>3)</sup>にてグラム反応、カタラーゼ試験をおこなった。次に、乳酸菌の生理的性質の違いを確認するため、運動性試験、グルコースからのガス発生試験、乳酸旋光性試験、アルギニンから

表1 供試菌株

No.	16S rDNA解析結果	分離源
KM1	<i>Lactobacillus curvatus</i>	漬物
KM8	<i>Lactococcus lactis</i>	漬物
HD25	<i>Lactobacillus sakei</i>	漬物
HD17	<i>Lactobacillus plantarum/pentosus</i>	漬物
HD27	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	漬物
-----		
LT19	<i>Lactobacillus fermentum</i>	焼酎もろみ
LT23	<i>Lactobacillus fermentum</i>	焼酎もろみ
DG1	<i>Lactobacillus paracasei/tolerans</i>	焼酎もろみ
DM1	<i>Lactobacillus plantarum/pentosus</i>	焼酎もろみ

のアンモニア生成試験、発酵形式試験をおこなった。さらに、分離源の生育環境から考えられる乳酸菌の特徴を確認するため、生育温度試験、耐塩性試験、耐アルコール試験、初発pH試験を定法<sup>4)</sup>によりおこなった。そのうち、乳酸旋光性試験、発酵形式試験にはFキット(株)JKインターナショナル)を用いておこなった。グラム反応の簡便法では、3%水酸化カリウム水溶液とコロニーをかき混ぜ、糸を引くものをグラム陰性、サラサラと溶解して糸を引かないものをグラム陽性と判定した。カタラーゼ試験の簡便法では、3%過酸化水素水をコロニーに滴下し、コロニーから気泡を発生するものは陽性、発生しないものは陰性と判定した。

\*1 応用微生物部

### 3 結果および考察

#### 3-1 漬物から分離した乳酸菌の特性

漬物から分離同定された乳酸菌は全てグラム陽性、カタラーゼ陰性であった。これらの乳酸菌の分離源は主に大根の下漬けであり、比較的溫度が低く、塩分濃度が高いものが多かった<sup>2)</sup>。漬物から分離した乳酸菌は低温において、あるいは高塩濃度で生育できる可能性が考えられたため生育溫度試験、耐塩性試験をおこなった。漬物から分離した乳酸菌の各種生化学試験結果を表2に示した。発酵形式試験の結果、*Leuconostoc mesenteroides* (HD27)のみがヘテロ発酵型を示し、その他の菌株はホモ発酵型を示した。乳酸旋光性試験において、*Leuconostoc mesenteroides* (HD27)はD-乳酸の旋光性を示した。生育溫度試験において、*Lactobacillus curvatus* (KM1)では20の試験区でのみ増殖した。*Lactococcus lactis* (KM8)は30から40の中、高温領域で増殖した。その他、*Lactobacillus sakei* (HD25)では10から35の範囲で、*Lactobacillus plantarum* (HD17)では20から40の範囲で増殖した。また、*Leuconostoc mesenteroides* (HD27)では10から40と幅広い溫度域で増殖した(表3)。分離源の漬物には塩分濃度が10%を超えるものがあったが、耐塩性試験において、どの乳酸菌も10%の塩分濃度では増殖しなかった。

表2 漬物から分離した乳酸菌の生化学試験

	KM1 <i>Lb. curvatus</i>	KM8 <i>Lc. lactis</i>	HD25 <i>Lb. sakei</i>	HD17 <i>Lb. plantarum</i>	HD27 <i>Leu. mesenteroides</i>
Gram stain	+	+	+	+	+
Catalase	-	-	-	-	-
Mobility	-	-	-	-	±
gas from glucose	-	-	-	-	+
D(-)-Lactic acid	-	-	-	ND	+
L(+)-Lactic acid	-	+	-	ND	-
DL-Lactic acid	+	-	+	ND	-
NH <sub>3</sub> from arginine	-	+	-	-	-
Fermentation type	homo	homo	homo	homo	hetero
optimum temperature	20°C	30°C	30°C	35°C	30°C
Growth in 5% NaCl	+	+	+	+	+
Growth in 10% NaCl	-	-	-	-	-

ND: not determined

表3 漬物から分離した乳酸菌の生育溫度試験

菌株	5	10	20	30	35	40	45	50
KM1	-	-	++	-	-	-	-	-
KM8	-	-	-	++	+	+	-	-
HD25	-	+	+	++	+	-	-	-
HD17	-	-	+	+	++	+	-	-
HD27	-	+	+	++	+	+	-	-

#### 3-2 焼耐もろみから分離した乳酸菌の特性

焼耐もろみから分離同定された乳酸菌は全てグラム陽性、カタラーゼ陰性であった。分離源の焼耐もろみは酵母によるアルコール発酵、および白麹、黒麹菌により生成されるクエン酸によりアルコール濃度、酸濃度が高いという特徴がある。焼耐もろみから分離した乳酸菌では、アルコールや酸耐性を有している可能性が考えられたため、アルコール耐性、初発pH試験をおこなった。焼耐から分離した乳酸菌の各種生化学試験結果を表4に示した。発酵形式試験の結果、*Lactobacillus fermentum* (LT19, LT23)はヘテロ発酵型を示し、*Lactobacillus paracasei* (DG1)、*Lactobacillus plantarum* (DM1)はホモ発酵型を示した。また、耐アルコール試験において、*Lactobacillus paracasei* (DG1)は高いアルコール耐性を示し、初発pH試験において、*Lactobacillus fermentum* (LT19, LT23)は高い酸耐性を示した。

表4 焼耐もろみから分離した乳酸菌の生化学試験

	LT19 <i>Lb. fermentum</i>	LT23 <i>Lb. fermentum</i>	DG1 <i>Lb. paracasei</i>	DM1 <i>Lb. plantarum</i>
Gram stain	+	+	+	+
Catalase	-	-	-	-
Mobility	-	-	-	±
gas from glucose	+	+	-	-
D(-)-Lactic acid	-	-	ND	ND
L(+)-Lactic acid	-	-	ND	ND
DL-Lactic acid	+	+	ND	ND
NH <sub>3</sub> from arginine	-	-	-	-
Fermentation type	hetero	hetero	homo	homo
Alcohol Growth at 7.5 %	+	+	+	+
10 %	-	-	+	-
12.5 %	-	-	+	-
Initial pH for growth	pH 3.2	pH 3.2	pH 4.0	pH 3.5

ND: not determined

### 4 まとめ

県内の焼耐もろみや漬物から分離した乳酸菌の生化学試験をおこない、乳酸菌の特徴について調べた。その結果、漬物から分離した*Leuconostoc mesenteroides* (HD27)は、D-乳酸の旋光性を示した。また、菌種の違いにより最適な生育溫度の違いが見られた。一方、焼耐もろみから分離した*Lactobacillus paracasei* (DG1)は高いアルコール耐性を示し、*Lactobacillus fermentum* (LT19, LT23)は高い酸耐性を示した。

## 5 参考文献

- 1) 竹下淳子, 工藤哲三, 山本英樹, 水谷政美, 柏田雅徳: 宮崎県工業技術センター・食品開発センター研究報告, 49, 119-125 (2004)
- 2) 高山清子, 水谷政美, 山本英樹, 越智洋, 長友絵美, 工藤哲三: 宮崎県工業技術センター・食品開発センター研究報告, 52, 89-90 (2007)
- 3) 伊藤武: 食品衛生物の簡便迅速測定法はここまで変わった!, サイエンスフォーラム (2002)
- 4) 小崎道雄: 乳酸菌実験マニュアル, 朝倉書店 (1992)