

## 埼玉県乳酸菌ライブラリーの構築

松本美樹\* 和田健太郎\*

### Establishment of the Saitama Prefecture Lactic Acid Bacteria Library

MATSUMOTO Miki\*, WADA Kentaro\*

#### 抄録

北部研究所では過去に乳酸菌に関する研究が多数実施され、様々な食品・環境から分離された約200株の乳酸菌が保存されている。本研究では埼玉県乳酸菌ライブラリー構築を目的として、基盤情報となる乳酸菌の特徴や食品への適性を調査した。未同定菌株の同定試験及び食品への適性試験を実施した結果、120株の菌種同定に成功し、77株の優良乳酸菌株候補を選抜した。食品適性試験として実施した項目は牛乳凝固性、豆乳凝固性、耐塩性であり、各特徴を有する菌株はそれぞれヨーグルトやチーズ等の乳製品や、プラントベース発酵食品、醤油・味噌・漬物等の発酵食品への利用が期待される。

キーワード：乳酸菌，牛乳凝固，豆乳凝固，耐塩性

## 1 はじめに

乳酸菌はヨーグルトやチーズ等の乳製品製造に主として使用されるほか、清酒・味噌・醤油・漬物など多様な食品の製造に利用されている。近年では乳酸菌の腸内環境改善効果やストレス緩和作用の機能性が注目され、乳酸菌入りの菓子類や乳酸菌を高濃度含む乳酸菌飲料等も人気が高まっている。埼玉県産業技術総合センター北部研究所でも過去に乳酸菌に関する研究<sup>1)~5)</sup>が実施され、様々な食品や環境から分離された約200株の乳酸菌が保存されている。優良な株は県内企業に有償で頒布しているが数はまだ少なく、県内企業がニーズに合った乳酸菌を選択する際に利用できる乳酸菌ライブラリーの構築が急務である。そこで本研究では、現在北部研究所で保有している乳酸菌の特徴を調査し、乳酸菌ライブラリーの基盤情報蓄積を試みた。

## 2 実験方法

### 2.1 菌種同定試験

北部研究所で保有している乳酸菌のうち、菌種が未同定であった菌株 43 株の推定試験・同定試験を実施した。推定試験は乳酸菌同定キット(ビオメリュー・ジャパン(株)製 API50CHL)を使用した。培養後、プレート上の 49 種類の炭素源の資化性パターンから菌種を推定した。また、同定試験は、細菌の種の同定に用いられる 16S rRNA の塩基配列を解析することにより行った。塩基配列の解析は(株)マクロジェン・ジャパンへ委託した。

### 2.2 牛乳凝固試験

1 mL の MRS 培地(BD 社製)で、乳酸菌を 30℃ で 48 時間培養した。市販牛乳に、培養液を 10% 添加し、30℃及び 40℃で 24 時間発酵させた。発酵後、目視観察と pH 測定により牛乳凝固性を評価した。

\* 食品・バイオ技術担当

### 2.3 豆乳凝固試験

1 mL の MRS 培地で、乳酸菌を 30°C で 48 時間培養した。市販豆乳に、培養液を 10% 添加し、30°C で 30 時間発酵させた。発酵後、目視観察と pH 測定により豆乳凝固性を評価した。

### 2.4 耐塩性試験

1 mL の MRS 培地で、乳酸菌を 30°C で 48 時間培養した。10%食塩添加 MRS 培地に培養液を 10% 添加し、30°C で 48 時間培養を行った。培養後、目視観察により生育を確認し、耐塩性を評価した。

## 3 結果及び考察

### 3.1 菌種同定試験

北部研究所で保有しており、分離源の判明している乳酸菌 207 株のうち、菌種が未同定であった菌株 43 株の同定試験を新たに実施し、合計で 120 株の菌種同定が完了した。菌種の内訳は表 1 のとおりである。なお、菌種同定が完了した菌株のうち、*Enterococcus* 属 8 株及び *Weisella* 属 6 株は食品製造には適していない可能性があるため、以降の実験では使用を中止した。

### 3.2 牛乳凝固試験

牛乳凝固試験を実施した 102 株中 39 株で牛乳凝固がみられた。凝固程度の差と菌種は表 2 のとおりである。凝固程度が優、あるいは良の 26 株はいずれも凝固後の香りはヨーグルト様の良好な香りであった。

### 3.3 豆乳凝固試験

豆乳凝固試験を実施した 84 株中 72 株で豆乳凝固がみられた。凝固程度の差と菌種は表 3 のとおりである。凝固程度が優の 16 株はカッテージチーズ様のタンパク質凝固がみられ、凝固程度が良の 52 株はヨーグルト様になめらかな凝固がみられた。凝固後の香りはヨーグルト様のものや豆乳らしい豆感のある香り等多様性があり、良好な香りのものが多かった。

表1 菌種内訳

菌種	株数	分離源
<i>Lactococcus lactis ssp lactis</i>	22 株	自然環境、パン種、漬物
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	7 株	自然環境、漬物
<i>Pediococcus pentosaceus</i>	14 株	米粉パン種、米粉、米麴
<i>Leuconostoc citreum</i>	4 株	米粉パン種、米粉
<i>Tetragenococcus halophilus</i>	49 株	醤油もろみ、醤油
<i>Lactiplantibacillus pentosus</i>	3 株	漬物
<i>Levilactobacillus brevis</i>	1 株	漬物
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	1 株	漬物
<i>Fructilactobacillus sanfranciscensis</i>	2 株	パン種
<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	1 株	α 化米米粉パン種
<i>Companilactobacillus kimchii</i>	1 株	漬物
<i>Latilactobacillus curvatus</i>	1 株	みかん酒

表2 牛乳凝固菌種

凝固程度	株数	菌種
優 (+++)	2 株	<i>L. plantarum</i>
良 (++)	24 株	<i>L. lactis</i> <i>L. plantarum</i> <i>P. pentosaceus</i> <i>L. pentosus</i> <i>L. curvatus</i>
可 (+)	13 株	<i>L. lactis</i> <i>P. pentosaceus</i> <i>T. halophilus</i>

表3 豆乳凝固菌種

凝固程度	株数	菌種
優 (+++)	16 株	<i>P. pentosaceus</i> <i>L. citreum</i> <i>L. paracasei</i> <i>C. kimchii</i> <i>L. curvatus</i>
良 (++)	52 株	<i>P. pentosaceus</i> <i>L. pentosus</i> <i>L. plantarum</i> <i>T. halophilus</i> <i>L. lactis</i> <i>L. brevis</i> <i>L. mesenteroides</i> <i>F. sanfranciscensis</i> <i>L. curvatus</i>
可 (+)	4 株	<i>T. halophilus</i> <i>L. lactis</i>

### 3.4 耐塩性試験

耐塩性試験を実施した 50 株中 50 株で 10%耐塩性が確認された。菌種は表 4 のとおりであり、漬物や醤油もろみ、醤油など塩分を多く含む環境から分離された菌株であった。

表4 耐塩性菌種

塩分濃度	株数	菌種
10%	50 株	<i>L. plantarum</i> <i>T. halophilus</i>

## 4 まとめ

本研究にて菌種同定された菌株は一部の *Enterococcus* 属及び *Weissella* 属を除き、全て食品からの分離報告例や食品への利用例のある菌種であったため、食品製造に適した菌株であると考えられる。また、特性評価を実施した菌株のうち、凝乳性のある菌株はヨーグルトやチーズ等の乳製品、豆乳を滑らかに凝固させる菌株は豆乳ヨーグルト、豆乳をしっかりと凝固させる菌株はプラントベース食品（チーズ様食品や大豆ミートなど）への利用が期待される。また、耐塩性のある菌株

は、醤油、味噌、漬物、チーズなど食塩を多く含む食品への利用が期待できる。今後さらに、実際の食品製造に類似した条件での特性試験や試作試験を実施することで、さらに各食品への適性を明らかにすることができると考えられる。これらの基盤情報をまとめてライブラリー化することで、乳酸菌頒布事業がより利用しやすくなることが期待される。また埼玉県内で分離された優良な乳酸菌を用いた新製品や、県内企業同士のコラボレーション製品等の開発に積極的に利用されることを期待する。

### 謝辞

本研究を進めるに当たり、客員研究員として御指導いただきました高崎健康福祉大学の辻聡講師に感謝の意を表します。

### 参考文献

- 井上和春, 大澤千恵子, 高橋広子, 石川準一, 吉岡久雄, 又重英一, “乳酸菌・酵母を利用した新規穀類加工食品の開発 (第 2 報)”, 埼玉県産業技術総合センター研究報告, vol. 3, pp. 66-68 (2005).
- 渡辺泰成, 横堀正敏, 増田こずえ, 奥沢洋平, 館博, “微生物利用による生体機能調節物質の生産に関する研究”, 埼玉県産業技術総合センター研究報告, vol. 3, pp. 61-65 (2005).
- 細井永次, “新規の  $\gamma$ -アミノ酪酸高生産菌の検索及び食品加工残渣への応用”, 埼玉県産業技術総合センター研究報告, vol. 6, pp. 88-92 (2008).
- 鶴菌 大, 細井永次, 富永達矢, 常見崇史, “新規減塩漬物の製造技術の開発”, 埼玉県産業技術総合センター研究報告, vol. 11, pp. 13-16 (2013).
- 原田雅典, 和田健太郎, 松本美樹, 秋山稔, 山川翔平, “森林資源を活用した新たな食品開発—植物由来乳酸菌の探索と食品への利用検討—”, 埼玉県産業技術総合センター研究報告, vol. 22, pp. 33-36 (2024).