

乳酸菌ライブラリーの構築と利用法の提案

ー鹿児島県由来乳酸菌の特徴ー

食品・化学部 ○内村望空、東條 裕、富吉彩加、下野かおり、亀澤浩幸
企画支援部 安藤義則*
(*現 産業立地課)

1. はじめに

本県には、焼酎や黒酢、麦味噌など特色ある発酵食品が数多く存在し、これらの発酵食品には、原材料や製造環境に由来する乳酸菌が関与していることが知られている。また、乳酸菌は培養が容易で、グルコースをはじめとする様々な糖類を利用できることから、発酵食品のみならず、食品残渣や醸造副産物の有効利用への活用が期待される。そこで、本研究では県内の発酵食品や植物等から単離した乳酸菌の特性を評価し、その特徴を明らかにするとともに、食品等への利用可能性を検討した。さらに、県内企業へ提供可能な本県オリジナル乳酸菌ライブラリーの構築を図った。

2. 実験方法

2. 1 培養条件

特記のない限り、本研究ではMRS培地を用いて、30℃、2日間静置培養した。なお、寒天培地での培養時はアネロパック・ケンキを用いた。

2. 2 菌株の単離と保存

本県の発酵食品や植物などの天然資源を分離源として、炭酸カルシウム含有寒天培地を用いて乳酸菌を単離した。単離した菌株はグリセロールストックにより-80℃で保存した。

2. 3 種同定

単離・保存した菌株は、MALDI-TOF MSを用いて菌種を同定した。

2. 4 機能性アミノ酸： γ -アミノ酪酸（GABA）産生能の評価

先行研究¹⁾²⁾を参考に、培養液中のGABA生産量を評価した。培地はGYP液体培地（1%グルコース、1%酵母エキス、0.5%ハイポリペプトン、0.05%Tween80、0.02%硫化マグネシウム七水和物、0.001%硫化マンガン四水和物、0.001%硫化鉄七水和物、0.001%塩化ナトリウム）に1.3%グルタミン酸ナトリウム一水和物を添加したものをを用いて、2日間または7日間培養した。測定は、鹿児島大学先端科学研究推進センター遺伝子実験部門に委託した。

3. 結果及び考察

3. 1 収集した乳酸菌の菌種の特徴

71の分離源から、乳酸菌の可能性のある菌株197菌株を単離した。うち156菌株が乳酸菌と同定され、これらは26菌種に分類された。分離源は図1に示すとおり9分類に分けられ、「発酵食品」が約43%を占めた。実際にそのまま食せる食品としては、71の分離源のうち19が該当した。同定された菌株のうち、*Lactiplantibacillus plantarum*が最多の25菌株となり、発酵食品由来の菌株が多かった。

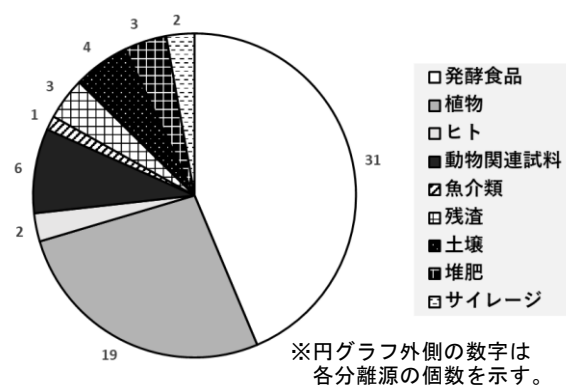


図1 分離源の分類内訳

一方、植物由来の菌株は *Lactococcus* 属の菌種が過半数を占めた。また、7 菌種については同定された菌株内で 1 菌株のみ確認されたことから、本ライブラリーとしては貴重な菌株であると言える。

3. 2 GABA 産生能の評価

乳酸菌は GABA などの健康機能を有する成分を産生することで知られている。同定された菌株のうち、発酵食品及び植物由来の菌株を中心に 26 菌種 38 菌株を選抜し、GABA 産生能を評価した(図 2)。その結果、5 菌種 7 菌株(5、7、13、14、15、16、17)で、2 日間培養後の GABA 生産量が 1,000 μM (約 0.1 mg/mL)以上となった。しかしながら、GABA を高生産する菌種として知られる *Levilactobacillus brevis* (27)ではほとんど検出されなかった。そこで、本菌株と前述の 7 菌株について培養期間を 2 日間から 7 日間へ延長したところ、全菌株で GABA 生産量が増加し、*L. brevis* (27)では 50,000 μM (約 5 mg/mL)以上検出された(図 3)。本研究における GABA 増加の要因として、培養期間の延長に伴いグルタミン酸から GABA への変換が進行したことが考えられた。特に、*L. brevis* (27)では他菌株と比較してグルタミン酸減少割合が高く、元培地の約 5 割まで減少した。また、培地の pH が 5 前後で、GABA 高生産となる条件を満たしていたことが考えられた³⁾。

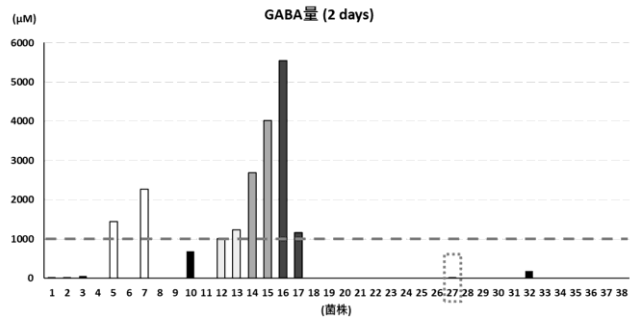


図 2 乳酸菌 38 菌株の GABA 産生量

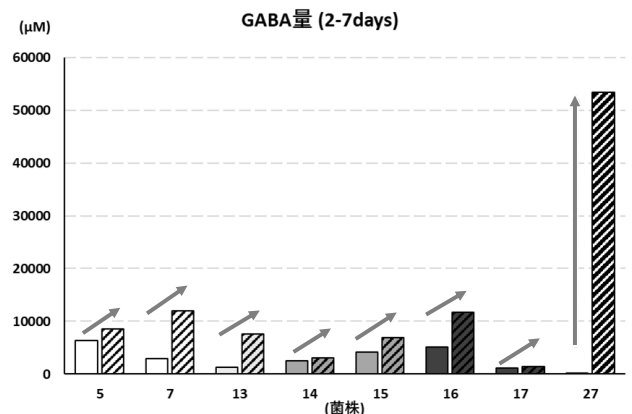


図 3 乳酸菌 8 菌株の GABA 産生量
(左棒：2 日間培養、右棒：7 日間培養)

4. おわりに

本研究では、上記試験以外に有機酸及び糖の代謝特性や、塩分・アルコールに対する耐性、増殖可能な温度条件などの観点から各菌株の特性を評価した。その結果、本県特産の発酵食品等への活用が期待される乳酸菌株を見出すとともに、各菌株の発酵特性に関する知見を蓄積することができた。さらに、これらの結果をもとに当県オリジナルの乳酸菌ライブラリーを構築し、県内企業が活用できるよう整備した。今後もライブラリーの充実を図るため、さらなる特性評価や乳酸菌を活用した発酵食品等の応用検討を進めるとともに、県内企業への技術支援ができるよう取り組む。

謝辞

本研究にご協力いただきました県内食品製造企業各社、鹿児島市平川動物公園、鹿児島大学先端科学研究推進センター遺伝子実験部門、宮崎県食品開発センター及び大分県産業科学技術センターの皆様には厚く御礼申し上げます。さらに、多大なるご助言を賜りました鹿児島大学農学部の藤田清貴教授に感謝申し上げます。

参考文献

- 1) 上野義栄ら：生物工学会誌、85(3)、109-114(2007)
- 2) 渡辺祐子ら：茶業研究報告、107、61-69(2009)
- 3) Yanhua Cui *et al.* : Int. J. Mol. Sci., 21(3), 995(2020)