

【研究論文】

【平成27～29年度 県単研究】

地域資源微生物の食品加工特性評価

石川 潤一, 樋口 敦^{*1}, 小山 誠司^{*2}, 畑中 咲子

食品バイオ技術部

(*1現 新産業振興課, *2現 企画・事業推進部)

発酵食品に欠かせない乳酸菌や酵母は、食品の発酵のみならず機能性成分の産生など、多くの可能性を秘めている。本研究では、これまでに乳酸菌として収集した959菌株の生酸菌の8割の属種を同定するとともに、抗菌物質産生の有無を調査した。次いで、一部の菌株について抗生物質耐性を調べ、食体験のある属種であり、抗菌物質を産生せずかつ抗生物質耐性のなかった菌株を選抜した。更に、これらのうちからヨーグルトおよび漬物への適用を目標に、ヨーグルトスターターとして良好な生酸性、凝乳性に優れた菌株を、なす漬への応用を視野に、官能評価、ガスクロマトグラフ質量分析により香気の優れた菌株を選抜した。

キーワード：乳酸菌、バクテリオシン、抗生物質耐性、香り評価、ガスクロマトグラフ質量分析

1 緒言

味噌、醤油をはじめチーズ、ヨーグルト、漬物等の発酵食品に欠かせない乳酸菌や酵母は、食品の呈味向上、風味向上、保存性向上だけでなく種々の健康機能性成分の産生など、多くの可能性を秘めている。国内においては、酵母や乳酸菌などの有用微生物をその地域の食材や自然界から分離して微生物バンクを構築し、地域の食産業振興に活用する取り組みが増えている。

本県においても、生酸性を指標とし、乳酸菌の取得を目標として被災地域などの地域資源から分離し、微生物バンクを構築、これまでに959菌株の生酸菌を分離してきたが、加工適性に加え食品衛生上の安全性が求められるため、これらを用いた加工食品への利用は必ずしも進んでいなかった。

本研究では、加工食品への適用の観点から、これまでに収集した生酸菌を同定し、抗菌物質産生の有無と抗生物質耐性について調査することで安心して食品加工に使える乳酸菌の選抜を試みた。次に、それらの乳酸菌を応用するため、凝乳性などの特性からヨーグルトスターター株を選抜するとともに、漬物製造への応用を視野に、香り評価による選抜を試みたので報告する。

2 材料と方法

2.1 16S rDNA配列解析による簡易同定

食体験のある菌株を食品加工に用いることで安全性

を確保する観点から、平成16年から平成27年にかけて宮城県内の発酵食品、野菜を中心に植物などから定法を用いて分離した959菌株の生産菌についてDNA配列解析による菌種の簡易同定を行った。30%グリセロールに分散し、-80℃にて保存された各菌株を、MRS Broth(日本ベクトン・ディッキンソン株式会社、東京)にて18h～48h程度静置培養し、塩化ベンジル法¹⁾にて菌体を溶解、エタノール沈殿によりDNAを精製した後、TE緩衝液(pH 8.0)に溶解したものをDNA溶液とした。このDNA溶液を鋳型とし、63fプライマー(5'-CAG GCC TAA CAC ATG CAA GT-3')²⁾および1525rプライマー(5'-AAA GGA GGT GAT CCA GCC-3')³⁾を用いて16S rDNAの全長配列を増幅、ダイナーミネーター法により、GenomeLab™ GeXP Genetic Analysis System(Beckman-Coulter, 米国)にて配列を解析した。得られた16S rDNAの塩基配列について、NCBI(National Center for Biotechnology Information)のBLAST(Basic Local Alignment Search Tool)プログラムにより相同性検索を行い、菌種を推定した。

2.2 抗菌物質産生評価

生酸菌株の抗菌物質産生評価は、産生されるバクテリオシンの抗菌スペクトルを考慮して2種類の菌株を指標菌として用い、*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* JCM1002^T株(以下、JCM1002^T株)を指標菌としたペニシリンカップ法⁴⁾及び*Bacillus* sp. C107株⁵⁾(以下、C107株)を指標菌としたWST法⁶⁾にて行った。ペニシ

リンカップ法は、指標菌を0.25 %となるよう接種した0.75 % MRS agarにペニシリンカップ(外径8 mm, 内径6 mm)を静置、ペニシリンカップの中に培養上清100 μ Lを添加し、37 $^{\circ}$ Cで一晩培養後、阻止円の直径(mm)を測定した。抗菌の強さを簡易的に示す活性レベルは、抗菌活性を示さなかったものを「0」、ペニシリンカップ内のみ指標菌の生育が抑えられているものを「1」、阻止円の直径が8 mm以上、12 mm未満のものを「2」、阻止円の直径が12 mm以上、18 mm未満のものを「3」、18 mm以上のものを「4」とし、5段階で評価した(図1左)。WST法では、Microbial Viability Assay Kit-WST(株式会社同仁化学研究所, 熊本)を用いた。活性の有無は比色法により判定し、指標菌である*Bacillus* sp. C107株の生育を示す赤褐色の発色を観察することで行った。活性値は、450 nmにおける吸光度が2.0以上のものを「0」、1.0以上、2.0未満のものを「1」、1.0未満のものを「2」とし、3段階で評価した(図1右)。

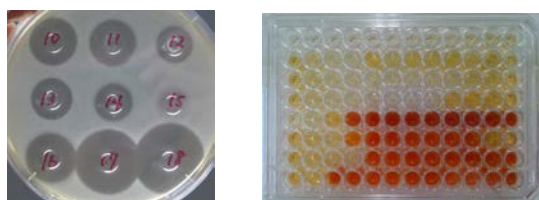


図1 ペニシリンカップ法(左)とWST法(右)による評価の様子

2.3 ディスク拡散法による抗生物質耐性試験

乳酸菌の培養菌液をMRS agarに塗抹し、24 h培養した。次に、2~3コロニーを滅菌生理食塩水に懸濁、標準比濁液を参考にしてマクファーランドNo.0.5となるように調製した。更に滅菌綿棒を用いて菌液を感性ディスク用培地(日水製薬株式会社, 東京)に4方向から均等に塗布し、3 min~5 min静置した。菌を接種した寒天培地に間隔を24 mm以上離して14種のBDセンシディスク™(6 mm)(日本ベクトン・ディッキンソン株式会社, 東京)を置き、35 $^{\circ}$ Cで24 h培養した後、ディスク周辺に形成された阻止円直径を測定した。耐性の有無は、アメリカ臨床・検査標準協会(CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute)の判定基準値に基づき判定した⁷⁾。使用したディスクに含まれる抗生物質とその作用部位について、図2に示したが、菌種により阻止円の大きさが異なる薬剤については、記載されている中で最も厳しい評価のもの(阻止円が小さいもの)をブレイクポイント

(BP)として採用し、「耐性あり」と判断した。

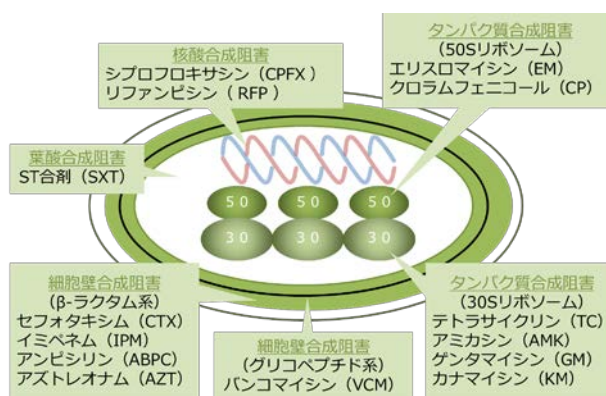


図2 各抗生物質の略号と作用部位

2.4 加工特性による実用株の選抜

2.4.1 ヨーグルト乳酸菌株の選抜

ヨーグルト向け乳酸菌は、保存菌株の中で白石市にある酪農場の草木、あるいは、その酪農場で飼育されている乳牛の生乳から分離した70菌株の生酸菌を候補とした。これらの生酸菌株を、10 %スキムミルク、0.006 %プロモクレゾールパープル(BCP)を含むリトマスミルクに植菌し、37 $^{\circ}$ Cで24 h培養した。リトマスミルクにおける培養で、酸の生成とスキムミルクの凝固が認められた菌株については、前述の手法で16S rDNA配列の相同性解析を行い、属種を簡易同定した。また、抗菌物質産生についてもペニシリンカップ法により安全性を評価した。さらに、選抜した菌株を市販スターターとともに市販の牛乳に添加し、40 $^{\circ}$ C、24 h保持してヨーグルトを試作、ヨーグルト製造技術者の官能評価により供試菌株を決定した。

2.4.2 なす漬用乳酸菌の探索

なす漬向け乳酸菌候補株は、保存菌株の中で仙台市にあるナスの圃場のナスの花およびナスの未熟な果実から分離した生酸菌株について、前述の手法で16S rDNA配列の相同性解析を行い、属種を簡易同定した。

なす漬加工適性評価については、生酸菌添加調味液の香り評価と香気成分分析、技術者による官能評価にて行なった。なす漬に使用される調味液およそ50 mLに分離した生酸菌株を 10^5 cfu/mL程度になるように植菌し、10 $^{\circ}$ Cで24 hおよび48 h培養後、2.0 mLを香り分析、

2.7 mLをガスクロマトグラフ質量分析に、残りを官能評価に供した。

香り評価は、香り評価装置 α HERACLES (Alpha MOS, フランス)を使用し、バイアルに注入したサンプルを40 °C保持後、バイアルのヘッドスペースの揮発成分を分析した。分析カラムは、(5 %-フェニル)メチルポリシロキサン無極性汎用カラム(Agilent, 米国)と(14 %-シアノプロピルフェニル)メチルポリシロキサン低—中極性カラム(Agilent, 米国)を使用し、FID検出器により検出した。各ピークの保持時間及び面積についてAlpha SOFT (Alpha MOS, フランス)により主成分分析を行った。

香氣成分分析は、GCMS-QP2010 Plus(株式会社島津製作所, 京都)を用いた。バイアルに注入したサンプルに10 ppmシクロヘキサノールを内部標準として添加し、ヘッドスペースの揮発成分をDVB/CAR/PDMS SUPELCO SPMEファイバー(シグマアルドリッチジャパン, 東京)に40 °C, 20 min吸着させた後、直ちにガスクロマトグラフ質量分析装置にスプリットレスモードで注入した。GCカラムはDB-WAX(Agilent, 米国)を60 m使用し、分析時間は40 min, カラムオープン温度は40 °C(0 min)から200 °C(40 min)まで線形変化させた。気化室温度は250 °C, キャリアガスはHeを使用し、圧力は124.9 kPa, カラム流量は3.00 mL/minに設定した。

官能評価は、なす漬製造企業の技術者に協力していただき、サンプルを鼻嗅ぎによりおいを評価し、自由意見にて好ましいフレーバーを選択した。

3 結果と考察

3.1 センター保存生酸菌株の16S rDNA配列に基づく簡易同定

センター保存の生酸菌株を培養したところ、全959菌株中、グリセロールストックからの培養が可能であったのが926菌株、配列解析により属レベルで同定できたのが764菌株であった。同定できた菌株の属割合を図3に示した。乳酸菌と知られている属名が多数を占めたが、乳酸菌に分類されない*Bacillus*属, *Staphylococcus*属がそれぞれ10菌株程度混入していた。乳酸菌の中で、食品に応用可能な、食経験のある属として、*Lactobacillus*属, *Lactococcus*属, *Pediococcus*属が代表として上げられるが、これらの菌株で全体のおよそ60 %であった。また、ヒトを含め広く動物の腸管に生育していることで知られ⁹⁾, 乳酸菌整腸剤としても応用されている*Enterococcus faecalis*, *Ec. faecium*を含む*Enterococcus*属は、9.5 %で

あった。しかしながら、*Enterococcus*属は、病原性を指摘されている種が複数あること¹⁰⁾, *Ec. faecalis*および*Ec. faecium*は、抗生物質耐性遺伝子を含むプラスミドを保有、伝播、プールする可能性があることから¹¹⁾, 食品に応用する場合には完全に殺菌するなど、安全性を十分に確保する必要があると考えられた。

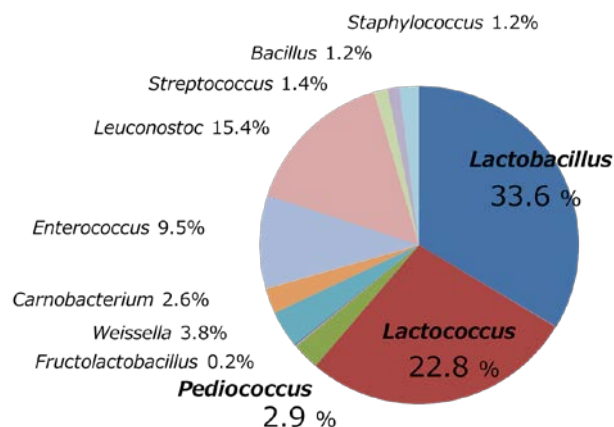


図3 センター保存生酸菌株の属割合

3.2 抗菌物質産生評価

表1に生酸菌培養上清の抗菌活性レベルを調査した結果を示した。調査に供した908菌株のうち、JCM1002^T株に抗菌活性を示した株が全体の41.1 % (373菌株), C107株に抗菌活性を示した株が、全体の50.8 % (461菌株)であった。

表1 センター保存乳酸菌株の抗菌試験

活性レベル	菌株数 ()内は%	
	ベニシリンカップ法 指標菌 <i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>blugaricus</i> JCM1002 ^T	WST法 指標菌 <i>Bacillus</i> sp.C107
0	535 (58.9)	447 (49.2)
1	248 (27.3)	144 (15.9)
2	96 (10.6)	317 (34.9)
3	19 (2.1)	—
4	10 (1.1)	—
合計	908 (100.0)	908 (100.0)

乳酸菌は、乳酸を含めた有機酸をはじめとする様々な抗菌物質を産生することで知られている。中でも乳酸菌が産生するバクテリオシンは、グラム陽性の類縁菌に対して殺菌的に作用することから、食品分野の保存性向上について応用を検討する研究が盛んに行なわれている^{13) 14) 15)}。当センターの乳酸菌株にも少なからずバクテリオシン産生株があると考えられ、活性レベル2以上の菌株については、明確な抗菌阻止円およびWST法に

おける生育阻止が観察されていることから、バクテリオシン産生株であると推察した。

バクテリオシンは、乳酸菌を含めた真性細菌により産生されること、分子量10,000以下の耐熱性ペプチドであること¹⁶⁾、構造遺伝子がゲノムまたはプラスミド上にあることなどの定義から¹⁷⁾、カビや酵母が産生し、医薬品として応用されている抗生物質とは明確に異なる特徴を持つ。乳酸菌が産生するバクテリオシンの中で、特に *Lactococcus lactis*種が産生するナイシンAは、グラム陽性細菌に対して広範囲に抗菌性を示し、酸や熱に対する高い安定性、たんぱく質分解酵素で容易に失活するという安全性を有している。ナイシンAは、日持ち向上用途での食品添加物として食品への応用が認められた唯一のバクテリオシンである一方、ナイシンAとほぼ同様の抗菌活性を示すナイシンZやその他のバクテリオシンは食品添加物として認められていない。食品中で乳酸菌が活動することで産生されたバクテリオシンは、物質として意図的に添加されたものではないため、食品衛生法による規制の対象外と考えたが、最終製品に存在するバクテリオシンが微生物による産生によるものか、意図して添加されたものかの判別が難しいと想定されるため、安全性の観点からバクテリオシン産生性の乳酸菌は、実用化検討対象から外すこととした。

3.3 ディスク拡散法による薬剤感受性試験

当センターにおいて実用化を検討している

*Lactobacillus*属の抗生物質耐性を表2に示した。*Lactobacillus* sp. A株は、アズトレオナム(AZT)、カナマイシン(KM)に耐性を示し、*Lactobacillus* sp. B株は、AZT、ゲンタマイシン(GM)、KMに耐性を示し、*Lactobacillus* sp. C株は、AZT、GM、KM、リファンピシン(RFP)に耐性を示した。試験に供した実用化候補株には、後天的に獲得したと思われる抗生物質耐性は確認できなかった。しかし、近年、抗生物質耐性遺伝子の伝播により、多剤耐性菌の出現が報告され¹⁸⁾、深刻なリスクとして懸念されている。当センターの微生物バンクに登録されている乳酸菌の後天的な抗生物質耐性の有無については、今後も調査して評価していく必要があると考えられた。

3.4 加工特性による実用株の選抜

3.4.1 ヨーグルトスターター乳酸菌株の選抜

候補株について属種の簡易同定、菌株単体でのスキムミルク凝固性、スターターと共培養した場合の凝固性を調査した結果を表3に示した。いずれの菌株も、リトマスミルク試験において、酸の生成が認められた菌株であったが、菌株単体での凝乳性は認められない株もあった。また、興味深いことに、*Lc. lactis* MBR807株(以下、MBR807株)および*Lc. lactis* MBR808株(以下、MBR808株)は、市販のヨーグルトスターターと共培養しても凝乳性を示さなかった。また、上記2菌株は、ペニシリンカッ

表2 実用化株の抗生物質耐性

	阻止円直径 (mm)													
	ABPC	AMK	AZT	CP	CPF	CTX	EM	GM	IPM	KM	RFP	SXT	TC	VCM
<i>Lactobacillus</i> sp. A株	32	12	7	28	8	33	33	13	31	9	18	7	15	7
<i>Lactobacillus</i> sp. B株	22	10	7	28	7	22	35	12	48	7	18	7	28	7
<i>Lactobacillus</i> sp. C株	18	7	7	14	18	18	14	12	22	12	11	7	18	7
ブレイクポイント阻止円直径 (r_{bp})	13	6	15	12	6	14	6	12	6	13	16	6	11	6

表3 ヨーグルトスターター候補株

株名	分離源	属種 (16S rDNA相同性解析による推定)	菌株単体での 乳凝固	市販スターターと 同時培養での凝固	抗菌活性
MBR669	クリの花	<i>Lb. sakei</i>	×	○	×
MBR699	生乳	<i>Lb. plantarum</i>	×	○	×
MBR701	生乳	<i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>delbrueckii</i>	○	○	×
MBR756	生乳	<i>Lb. zeae</i>	○	○	×
MBR761	生乳	<i>Lb. rhamnosus</i>	○	○	×
MBR807	生乳	<i>Lc. lactis</i>	×	×	○
MBR808	生乳	<i>Lc. lactis</i>	×	×	○

プ法による抗菌物質産生試験において、直径18 mmを越える明瞭な生育阻止円が観察された(図4)。

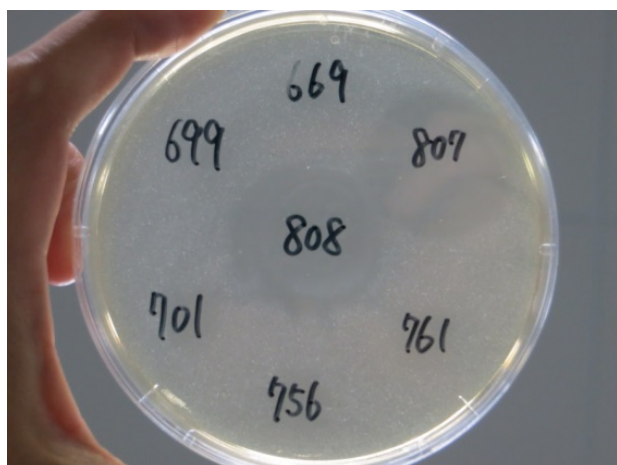


図4 ヨーグルト候補株の抗菌活性試験(ペニシリンカップ法)

ヨーグルトを製造スケールで量産するためには、工程内で安定した凝乳性や、消費期限内において、規定以上の菌数を保持するなど様々な条件が必要であることから、乳酸菌選抜では市販スターターとの共培養で安定した品質を保持できることが重要であると考えた。MBR807株およびMBR808株が市販スターターと共培養した場合でも凝乳性を示さなかった理由として、この2菌株は抗菌物質を産生し、共培養したスターターに含まれる乳酸菌の生育を阻害したため、凝乳性を示さなかったと推察し、今回は使用不能と判断した。

最終的に、製品の安定性、食経験、官能評価による自由意見、分離源のイメージを考慮し、*Lb. sakei* MBR669株をヨーグルトスターター乳酸菌株とした。

3.4.2 なす漬用乳酸菌の探索

表4にナスの圃場から分離した生酸菌の属種の簡易同定結果を示した。ナスの花および果実から分離した17菌株の生酸菌のうち、7菌株が食経験のある乳酸菌と推定された。

作製したなす漬の発酵調味液を香り評価装置に供し、菌株ごとのフレーバーの違いを可視化するため、官能評価と香り成分の消長から主成分分析を行った結果を図5に示した。Controlである調味液と比較すると、香りの傾向は大きく異なることが示唆された。座標の中心部に*Lc. lactis*、*Lb. ozensis*などの多くのサンプルが位置する

グループを形成したが、*Lb. sakei* NA-1、*Lb. plantarum* NA-2、*Lc. lactis* NA-3、*Lb. ozensis* NA-7は、それらのグループとは離れたところに位置し、異なる特徴があることを示した。

表4 ナスの圃場から分離した生酸菌

株名	分離源	属種 (16S rDNA相同性解析による推定)	食経験	香り評価 / GC-MS
NA-1		<i>Lb. sakei</i>	○	○
NA-2		<i>Lb. plantarum</i>	○	○
NA-3		<i>Lc. lactis</i>	○	○
NA-4		<i>Lc. lactis</i>	○	○
NA-5	ナスの花	<i>Lc. gariviae</i>		
NA-6		<i>Lc. gariviae</i>		○
NA-7		<i>Lb. ozensis</i> / <i>Lb. micheneri</i>	△	○
NA-8		<i>Weissella confusa</i>		○
NA-9		<i>Lb. ozensis</i> / <i>Lb. micheneri</i>	△	
NA-10		<i>Enterobacter</i> sp.		○

NB-1		<i>Lc. lactis</i>	○	○
NB-2		<i>Lc. lactis</i>	○	○
NB-3		<i>Lc. lactis</i>	○	○
NB-4	ナスの 未熟な果実	<i>Lc. gariviae</i>		
NB-5		<i>W. confusa</i>		
NB-6		<i>Enterobacter</i> sp.		
NB-7		<i>W. cibaria</i>		

一方、なす漬製造企業の技術者による官能評価の結果は、*Lb. sakei* NA-1、*Lb. plantarum* NA-2、*Lc. lactis* NA-3、*Lb. ozensis* NA-7が特に良好であり、「すっきりしている」「花様の香り」といった評価であった。

図6に各サンプルのガスクロマトグラフ質量分析スペクトルとピークの化学種を同定した結果を示した。各サンプルにおいて、発酵によりピークの消長が確認された。すべてのサンプルにおいて、図中15のピーク(n-デカノール)は消失または減少した。また、*Lc. lactis* NA-4株、*Lc. lactis* NB-1株において、図中14のピーク(2-エチルヘキサノール)が著しく増加するなど、菌株毎に発酵生成物に差異があることが示唆された。今回の試験では、香り評価とガスクロマトグラフ質量分析スペクトルの関連付けはできなかったが、菌株ごとの香りについて、香り評価による主成分分析と官能評価を関連付けることができた。今後は、香り評価の手法を有用菌株選抜に応用したいと考えている。

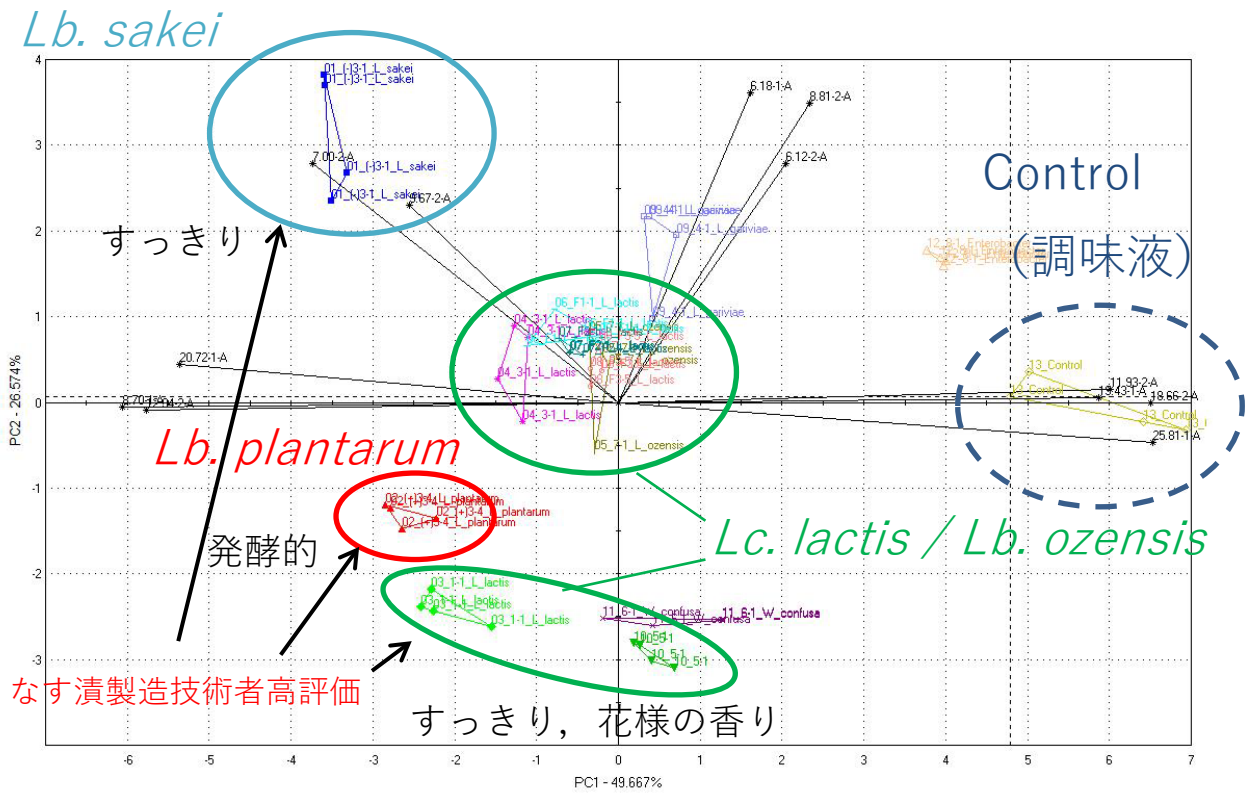


図5 主成分分析による乳酸菌発酵調味液の香り評価

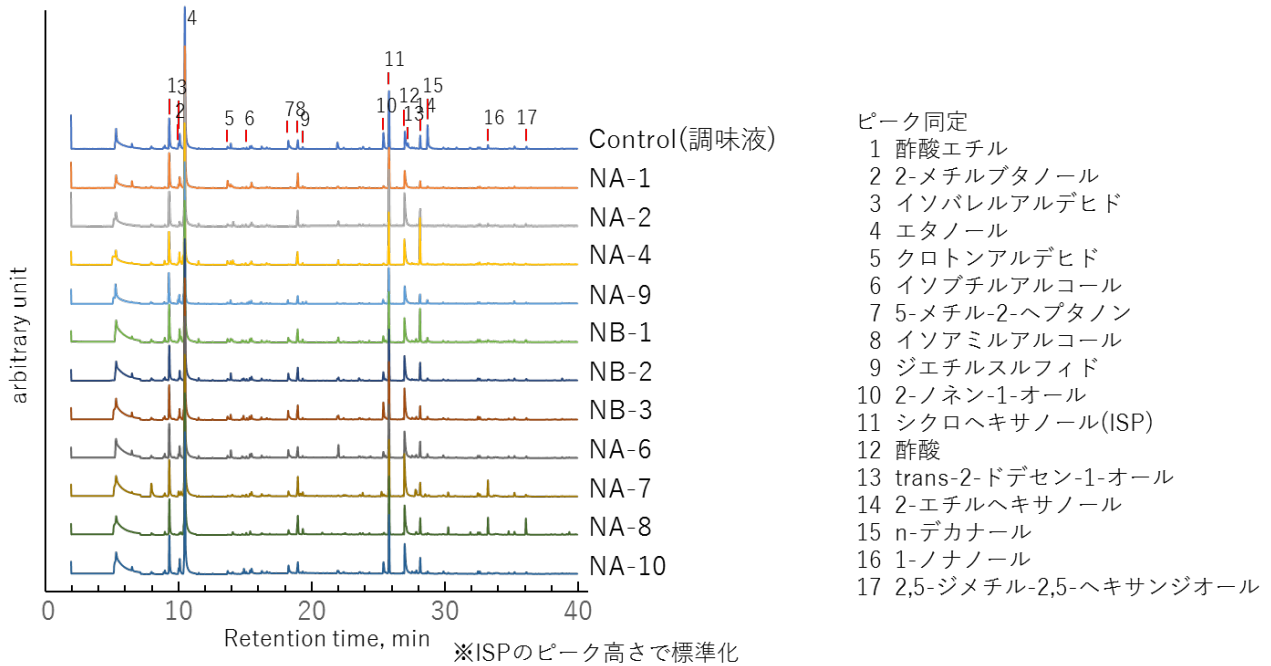


図6 調味液を各乳酸菌株で発酵させた調味液香気成分のGC/MSスペクトルと各ピークの化学種同定

4 結言

本研究をまとめると次のとおりである。

①乳酸菌の安全性調査

- a. センター保有生酸菌 959菌株のうち、約80 %にあたる764菌株が簡易同定された。
- b. 生酸菌908菌株について、抗菌物質の産生の有無を評価した。
- c. 実用化候補の乳酸菌について、後天的に獲得した抗生物質耐性は確認できなかった。

②食品加工への応用

- a. ヨーグルト向け乳酸菌について、リトマスミルク試験と凝乳性から、ヨーグルトスターターとして適した乳酸菌を選抜し、官能評価で実用株を決定した。
- b. なす漬向け乳酸菌について、官能評価と香り評価による菌株のグルーピングにより、なす漬における好ましいフレーバーを有すると思われる乳酸菌候補を選抜した。実用株については、今後試作を進める計画である。

謝辞

本研究を進めるにあたり、保健環境センター微生物部 有田富和副主任研究員、東海大学農学部バイオサイエンス学科 木下英樹先生から多くの助言を頂きましたので、感謝申し上げます。

参考文献

- 1) Zhu, H., Qu, F., and Zhu, L.H.: Isolation of genomic DNAs from plants, fungi and bacteria using benzyl chloride. *Nucleic Acids Res.*, **21**, pp. 5279-5280, (1993)
- 2) Marchesi, J.R., Sato, T., Weightman, A.J., Martin, T.A., Fry, J.C., Hiom, S.J., Dymock, D., and Wade, W.G.: Design and evaluation of useful bacterium-specific PCR primers that amplify genes coding for bacterial 16S rRNA. *Appl Environ Microbiol*, **64**, pp. 795-799, (1998)
- 3) Hutter, G., Schlagenhauf, U., Valenza, G., Horn, M., Burgemeister, S., Claus, H., and Vogel, U.: Molecular analysis of bacteria in periodontitis: evaluation of clone libraries, novel phylotypes and putative pathogens. *Microbiology*, **149**, pp. 67-75, (2003)
- 4) Cholden, L.S.: A Simplified Technique for the Agar Cup Assay of Penicillin. *J. Bacteriol.*, **47**, pp. 402-403, (1944)
- 5) 石川潤一, 橋本建哉, 川井泰, 齋藤忠夫, 矢口仁: 笹かまぼこ汚染菌叢の解析と乳酸菌による保存性向上の可能性. 平成 20 年度宮城県産業技術総合センター研究報告, pp. 22-25, (2009)
- 6) Tsukatani, T., Higuchi, T., Suenaga, H., Akao, T., Ishiyama, M., Ezoe, T., and Matsumoto, K.: Colorimetric microbial viability assay based on reduction of water-soluble tetrazolium salts for antimicrobial susceptibility testing and screening of antimicrobial substances. *Anal Biochem*, **393**, pp. 117-125, (2009)
- 7) 日本臨床微生物学会: 「抗菌薬感受性検査のための標準法」, 特定非営利活動法人日本臨床検査標準協議会, (2012)
- 8) Akopyanz, N., Bukanov, N.O., Westblom, T.U., and Berg, D.E.: PCR-based RFLP analysis of DNA sequence diversity in the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nucleic Acids Res.*, **20**, pp. 6221-6225, (1992)
- 9) Kanoe, M., Toda, M., Kamikasa, T., and Kudara, Y.: Studies on Enterococci, I. Enterococci in Poikilothermal Animals. *Food Hygiene and Safety Science*, **8**, pp. 513-517, (1967)
- 10) 池康嘉: 腸球菌(Enterococcus)の病原性因子. *日本細菌学雑誌*, **72**, pp. 189-211, (2017)
- 11) Sievert, D.M., Rudrik, J.T., Patel, J.B., McDonald, L.C., Wilkins, M.J., and Hageman, J.C.: Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* in the United States, 2002-2006. *Clin Infect Dis*, **46**, pp. 668-674, (2008)
- 12) 石川潤一, 木下英樹, 菰田俊一, 須田義人, 石田光晴: 乳酸菌を用いた多剤耐性菌の殺菌効果の検討とプロテアーゼ耐性バクテリオシンの評価. *ミルクサイエンス*, **65**, pp. 179-190, (2016)
- 13) Arakawa, K., Kawai, Y., Iioka, H., Tanioka, M., Nishimura, J., Kitazawa, H., Tsurumi, K., and Saito, T.: Effects of gassericins A and T,

- bacteriocins produced by *Lactobacillus gasseri*, with glycine on custard cream preservation. *J. Dairy Sci.*, **92**, pp. 2365-2372, (2009)
- 14) Hashimoto, K., Bari, M.L., Inatsu, Y., Kawamoto, S., and Shima, J.: Biopreservation of Kamaboko (Steamed Surimi) Using Piscicolin KH1 Produced by *Carnobacterium maltalomaticum* KH1. *Japanese Journal of Food Microbiology*, **28**, pp. 193-200, (2011)
- 15) Nakamura, K., Arakawa, K., Kawai, Y., Yasuta, N., Chujo, T., Watanabe, M., Iioka, H., Tanioka, M., Nishimura, J., Kitazawa, H., Tsurumi, K., and Saito, T.: Food preservative potential of gassericin A-containing concentrate prepared from a cheese whey culture supernatant from *Lactobacillus gasseri* LA39. *Anim Sci J*, **84**, pp. 144-149, (2013)
- 16) Cotter, P.D., Hill, C., and Ross, R.P.: Bacteriocins: developing innate immunity for food. *Nat Rev Microbiol*, **3**, pp. 777-788, (2005)
- 17) Dufour, A., Hindre, T., Haras, D., and Le Pennec, J.P.: The biology of lantibiotics from the lactacin 481 group is coming of age. *FEMS Microbiol. Rev.*, **31**, pp. 134-167, (2007)
- 18) 荒川宜親: 広域 β -ラクタム薬耐性に関与する β -ラクタマーゼの特徴と遺伝的相関. *日本臨床微生物学雑誌*, **13**, pp. 150-161, (2003)