

乳酸菌を使用した微生物生育抑制技術

半明桂子*・中野 敏*²・中野律子*²

Microbial Control Technology by Lactic Acid Bacteria
Keiko Hammyo, Satoshi Nakano and Ritsuko Nakano

伝統的な漬物(ハクサイ漬け)の製造には乳酸菌など多数の微生物が関与し、独特の香味を作り出している。その香味や外観を損なわずに消費者に届けるためには加熱殺菌が難しく、膨れなどの不具合がおこる。本テーマでは膨れの原因となる微生物を推定し、それらの生育を乳酸菌の代謝物で抑制したいと考え、抑制能力を有する乳酸菌を分離した。分離した乳酸菌を漬物の試作工程に添加したところ、膨れを抑制することができた。

1. 緒 言

伝統的な発酵食品において、独特の香味付与や pH 低下による保存性向上に乳酸菌が関与していることは広く知られている。これらの乳酸菌は原料などから持ち込まれ自然発生的に生育してきたが、近年は品質の安定や香味の向上¹⁾、整腸作用、免疫賦活化²⁻³⁾など多岐にわたる目的に応じた乳酸菌を添加する事例が増えてきた。また菌体の性質を利用する方法以外にも、乳酸菌が生産する抗菌性ペプチドを分離・精製して保存料として使用する技術などが確立されてきた⁴⁾。この抗菌性ペプチドは発酵食品とともに長年摂取されており、また体内の消化酵素でアミノ酸に分解されることが明らかにされているため、ナチュラル志向の消費者ニーズに適した製剤として注目されている。このような乳酸菌の有用性が広く知られてきた一方で、製品に混入し、パッケージが膨れるといった製品の不具合の原因として食品製造業者を悩ませている⁵⁻⁶⁾。このように乳酸菌が様々な側面を持つ微生物であることが明らかになる中で、乳酸菌が伝統的な発酵および膨れなどの製品不具合に大きく関与する漬物について、膨れに関与する乳酸菌の働きを抑制する技術を開発したいと考えた。本テーマでは、食味や外観が変化するため加熱殺菌が難しいハクサイ漬けを対象として検討を行ったので、報告する。

2. 実験方法および結果

2・1 市販ハクサイ漬けの分析・評価

市販ハクサイ漬けは、うまもん(株)の製品 2 度漬けおよび 3 度漬けを使用した(図 1)。原料であるハクサイの産地は、季節により九州から信州の各地に切り替わるため、発酵工程に持ち込まれる微生物も変化すると考えられた。そこで、製品の通年変化を乳酸菌数と糖・有機酸・アミノ酸の種類および濃度で評価した。

最初に市販ハクサイ漬けのドリップを 1%炭酸カルシウム添加 MRS 寒天培地に添加・培養し、阻止円(ハロー)のあるコロニー数を測定した。培養後の寒天培地に生育したコロニーにはほぼ全てにハローが形成され、また外観とカタラーゼ反応から、測定対象である乳酸菌であると推測され

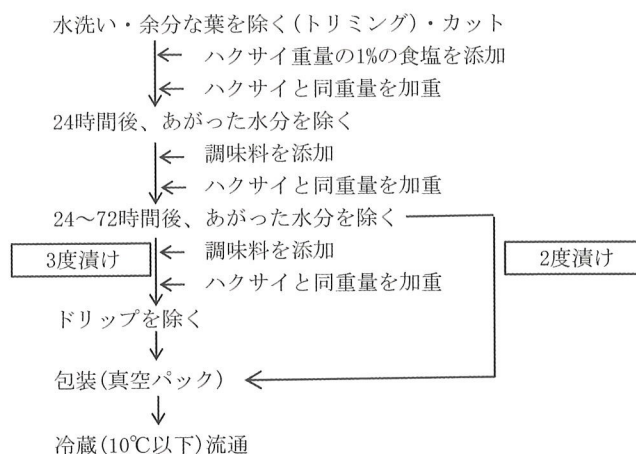


図1 ハクサイ漬けの製造方法

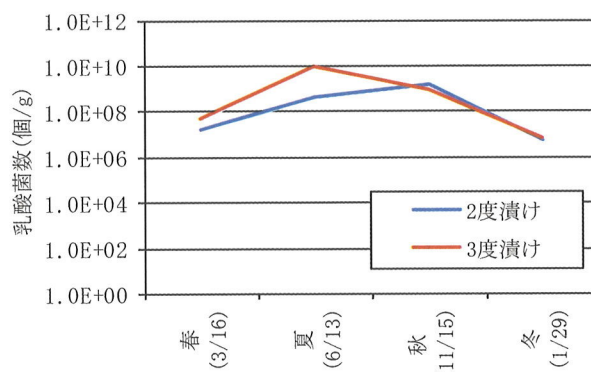


図2 製造時期による製品中乳酸菌数の変化

た。乳酸菌数には季節により 100 倍程度の差があり、多い夏季では 4.3×10^8 個/g と市販ヨーグルトに迫り、少ない冬季でも 5.0×10^6 個/g と、市販乳酸菌飲料⁷⁾に近かった(図 2)。この季節による乳酸菌数の差は、発酵温度が外気温に影響を受けているためと考えられた。また 2 度漬けより 3 度漬けの乳酸菌数が多いことについては、漬け込み回数が多いと発酵時間も長くなるためと考えられた。

次に、高速液体クロマトグラフィーを用いてグルコース・乳酸・エタノール濃度を、アミノ酸分析計を用いて遊離アミノ酸濃度を測定した。グルコース濃度は微生物の炭素源として消費されるため、気温が高く発酵が旺盛な夏季~秋

* 企業支援部食品技術グループ

*² うまもん株式会社

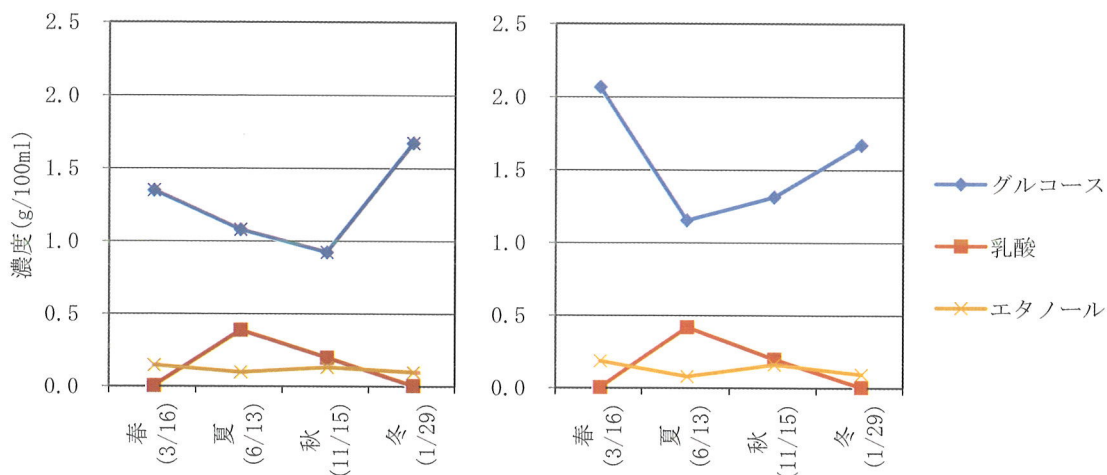


図3 製造時期による成分変化

左:2度漬け 右:3度漬け

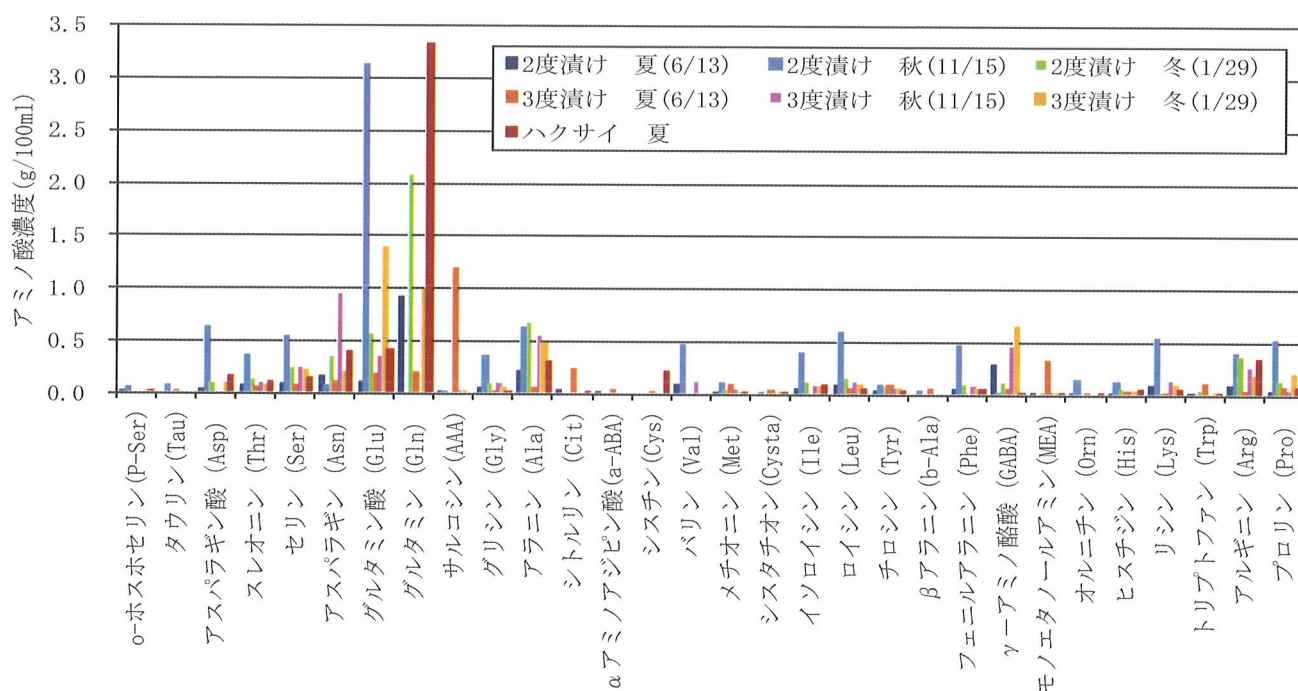


図4 製品に含まれる遊離アミノ酸

季に少なく、気温の低い冬季～春季に多く残存していた(図3)。また、グルコースの代謝物である乳酸とエタノールについて、乳酸濃度は製品中の菌数が増える夏季に増加していたが、エタノール濃度は変化が少なかったことから、製品中に含まれる微生物のほとんどが乳酸を主に生産する乳酸菌であると重ねて推測された。遊離アミノ酸は30種類が検出され、生鮮ハクサイと比べて多くのアミノ酸量が変化していることがわかった(図4)。特徴的なアミノ酸としてはリラックス効果があると言われるγ-アミノ酪酸(GABA)が含まれていた。GABAは乳酸菌によって生成されることが知られており、発酵期間の長い3度漬けの含有量が0.3～0.6mg/mlと2度漬けの0.01～0.3mg/mlより多いことから、発酵期間による製品の差別化が可能であると推察された

(図5)。3度漬けのGABA含有量について、季節による差はあるものの、他社市販ハクサイ漬け(4種類)の含有量0.2～0.4mg/g⁸⁾より多かった。

2・2 ハクサイ漬けの膨れに関する微生物の分離・推定

2・2・1 ハクサイ漬けの膨れに関する微生物の分離

ハクサイ漬け製品の膨れの状況を確認するため28℃で保管し、膨れの進行状況と膨れた製品中の乳酸菌数および成分を分析した。膨れの進行は夏季製造品で早く、2日でパッケージが大きく膨れた。その他については4～10日とまちまちであったが、春季製造品の3度漬けは10日と最も膨れにくかった(表1)。乳酸菌数や乳酸量に大きな差は無かったが、膨れが早かった夏季製造品のグルコース残存

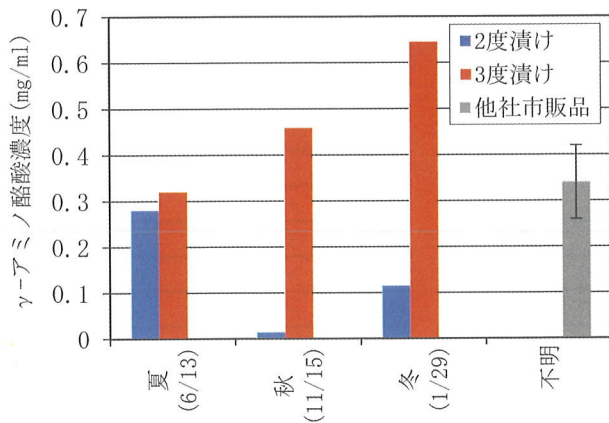


図5 製品に含まれるγ-アミノ酪酸

表1 28°Cで保管した製品中の乳酸菌数と膨れに要した日数

	製造時期	春 (3/16)	夏 (6/13)	秋 (11/15)	冬 (1/29)
		2度漬け	2度漬け	2度漬け	2度漬け
乳酸菌数 (個/ml)	2度漬け	3.4E+08	8.4E+08	5.2E+08	1.1E+09
	3度漬け	4.5E+08	1.2E+09	7.4E+08	3.0E+08
膨れに要した日数	2度漬け	5	2	4	7
	3度漬け	10	2	4	7

量は少なく、エタノール含有量が多かった(図6)。このことから、膨れが早かった製品には、エタノールや炭酸ガスも生成する酵母が生育が旺盛に保管し、膨れの進行状況と膨れた製品中の乳酸菌数および成分を分析した。膨れの進行は夏季製造品で早く、2日でパッケージが大きく膨れた。その他については4~10日とまちまちであったが、春季製造品の3度漬けは10日と最も膨れにくかった(表1)。乳酸菌数や乳酸量に大きな差は無かったが、膨れが早かった夏季製造品のグルコース残存量は少なく、エタノール含有量が多かった(図6)。このことから、膨れが早かった製品には、エタノールや炭酸ガスも生成する酵母が生育が旺盛に

生育したと推測された。以上の結果をふまえ、製品の膨れに関与する微生物として春・夏・秋・冬季それぞれの製造品からカタラーゼが陰性でハローを形成する乳酸菌と思われる51菌株、カタラーゼ陽性でハローを形成しない酵母と思われる4菌株、カタラーゼ陰性でハローも形成しない4菌株を分離した。

2・2・2 分離微生物の推定

2・2・1で分離した菌株の膨れへの関与を評価するために、オートクレーブ滅菌した生鮮ハクサイ搾汁液(以下ハクサイエキス)における炭酸ガス発生量を測定した。真空パック用袋(飛竜-N)にハクサイエキスを20ml分注し、MRS液体培地で前培養した分離菌株100μlを添加し、密封後28°Cで14日間培養した。発生した炭酸ガス量は水上置換法で測定した。その結果、菌株による炭酸ガス発生量が異なることがわかった(表2)。炭酸ガス発生量の多い菌株のうち、乳酸菌と推測されるC-101およびE-3、酵母と推測されるE-9を製品の膨れに大きく関与する製品汚染菌株として実験に用いることにした。なお、炭酸ガスの発生量が同程度で分離源が同じ菌株(菌株名のアルファベットが同じ菌株)については、同じ微生物である可能性が高いため、重複して選択することを避けた。この3菌株の資化性をapiマニキュアルキット(シスメックス・ピオメリユー(株)社製)を用いて確認した結果、C-101(*Lb. buchneri*(一致率99.9%))、E-3(*Lb. brevis*(一致率59.5%))、E-9(酵母)であること同定された。

2・3 製品汚染微生物の生育を抑制する乳酸菌の分離・評価

2・3・1 製品汚染微生物の生育を抑制する乳酸菌の分離

2・1で示した乳酸菌数測定方法を用いて春・夏・秋・冬季それぞれの製品のドリップを培養し、乳酸菌と推測される158菌株を分離した。さらに当所が保有する73菌株(いずれも食品や発酵工程から分離)を加えた231菌株の汚染

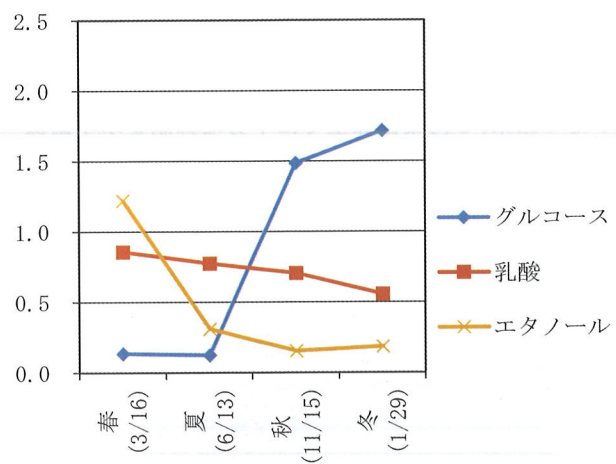
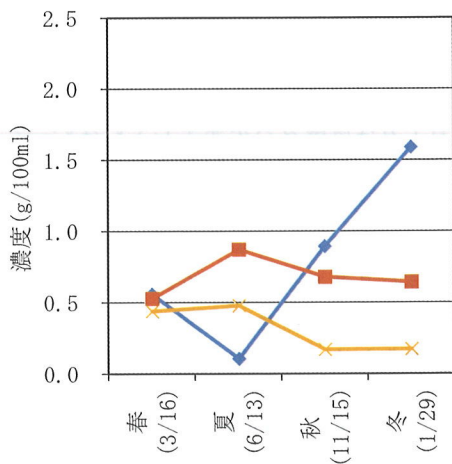


図6 28°Cで保管した製品中の成分

左: 2度漬け 右: 3度漬け

表 2 ハクサイエキスにおける分離乳酸菌株の炭酸ガス発生量

菌株	カタ ラーゼ	ハロー	炭酸ガス 発生量 (ml)	菌株	カタ ラーゼ	ハロー	炭酸ガス 発生量 (ml)	菌株	カタ ラーゼ	ハロー	炭酸ガス 発生量 (ml)
C-101	-	+	4.5	K-4	-	+	0.5	M-4	-	+	0.0
C-102	-	+	5.0	K-5	-	+	0.3	M-5	-	+	0.4
C-103	-	+	3.0	K-6	-	+	0.4	M-6	-	+	0.2
C-104	-	+	4.0	K-7	-	+	0.3	M-7	-	+	0.2
E-1	-	+	1.0	K-8	-	+	0.4	M-8	-	+	0.2
E-2	-	+	1.0	K-9	-	+	0.2	M-9	-	+	0.3
E-3	-	+	5.8	K-10	-	+	0.2	M-10	-	+	0.3
E-5	-	+	2.9	K-11	-	+	0.1	M-11	-	+	0.3
E-6	-	+	1.0	K-12	-	+	0.1	M-12	-	+	0.1
I-1	-	+	2.5	K-13	-	+	0.0	M-13	-	+	0.0
I-2	-	+	3.0	K-14	-	+	0.3	M-14	-	+	0.0
I-3	-	+	0.7	K-15	-	+	0.4	C-201	+	-	7.5
I-4	-	+	2.1	K-16	-	+	0.4	E-4	+	-	41.0
I-5	-	+	1.4	K-17	-	+	0.1	E-8	+	-	34.5
I-6	-	+	3.6	K-18	-	+	2.5	E-9	+	-	43.5
I-7	-	+	1.1	K-19	-	+	3.6	E-7	-	-	1.8
I-8	-	+	0.3	K-20	-	+	0.3	E-10	-	-	32.5
K-1	-	+	0.3	M-1	-	+	0.2	E-11	-	-	16.5
K-2	-	+	0.2	M-2	-	+	0.3	E-12	-	-	26.0
K-3	-	+	0.5	M-3	-	+	0.1				

※-は陰性，+は陽性，ハローは孔の縁に 1mm 以上の幅でクリアゾーンが形成されたものを陽性とした。

菌株生育抑制能力を評価するため、Ager well diffusion 法⁹⁾による試験を行った。Ager well diffusion 法用培地は、MRS 寒天培地を 3~4 mm の厚さに調製し、その上に各汚染菌株を 100 μ l/100ml 濃度で添加した 0.8%寒天添加 MRS 液体培地を重曹・凝固させて調製した。培地の重層部分に滅菌したパスツールピペットで孔を穿ち、リン酸バッファー(KH₂PO₄ 70g, Na₂HPO₄ 400g, H₂O 1000ml)で約 pH6.0 に調整した試験菌株を 100 μ l ずつ添加することで、汚染菌株に作用させた。各菌株の前培養は MRS 液体培地で 28℃, 72 時間行った。pH 調整用バッファーは実験に影響を及ぼさないことを確認したうえで、前培養に 10%添加した。培養は 28℃で行い、試験菌株を添加した孔の周囲に汚染菌株の生育が抑制された際に現れるハローの有無で評価した(図 7)。その結果、3 汚染菌株全てに十分な抑制を示す菌株はなかったものの、それぞれに抑制を示す 54 菌株を選抜

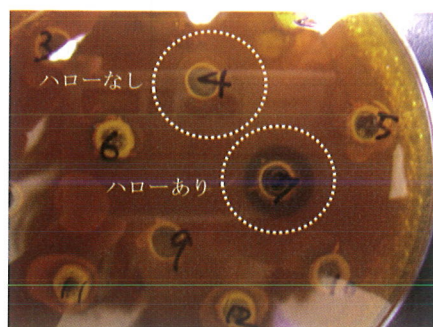


図 7 Agre well diffusion 法による抑制能力の評価

することができた(表 3)。これらのうち、炭酸ガスを生成するヘテロ発酵型は膨れを防ぐ目的に合致しないため除き、炭酸ガスを生成しないホモ発酵型で特にハローの大きかった 20 菌株(表 3 の着色菌株)のハクサイエキスにおける炭酸ガス発生抑制能力を確認することにした。

2・3・2 ハクサイエキスにおける炭酸ガス発生抑制

2・3・1 で効果を示した菌株と汚染菌株 200 μ l を、2・2・2 と同様に、ハクサイエキス 20ml に添加・密封・培養し、炭酸ガス発生量を測定した。汚染菌株を複数作用させる場合は、各菌株の前培養液を等量混合したものを 200 μ l 添加した。結果は表 4 に示したように、炭酸ガス発生抑制の明確な効果を見ることはできなかった。ハクサイエキスには 1%程度のグルコースが含まれているが、汚染菌株のみの試験区でも十分な炭酸ガスが発生していないことから、微生物の成育および炭酸ガスの発生に必要な炭素源が不足していると考えられたため、ハクサイエキスに 2%のグルコースを添加することにした。またデータは示さないが、同様の試験を生鮮ハクサイを使用して行ったところ、いずれの試験区でもガスが発生した。生鮮ハクサイには多種類の微生物が付着するため、1 種類の菌株では、炭酸ガスの発生を抑制しきれなかったと考えられた。そこで、異なる汚染菌株に効果を示した菌株を組み合わせることで、炭酸ガス発生抑制効果に幅を持たせることが可能となるのではないかと考え 2・3・1 と表 4 の結果から効果が高いと推測された 6 菌株を混合し、再試験を行った。対照には汚染菌株生育抑制能力を示さない 4 菌株(AS-1, K-11, J-15, H-31)を使用

表 3 汚染菌株の生育抑制能力

乳酸菌株					汚染菌株					乳酸菌株					汚染菌株					乳酸菌株					汚染菌株				
記号	分離源	C-101	E-3	E-9	記号	分離源	C-101	E-3	E-9	記号	分離源	C-101	E-3	E-9	記号	分離源	C-101	E-3	E-9	記号	分離源	C-101	E-3	E-9	記号	分離源	C-101	E-3	E-9
A-7	漬物	—	±	—	H-25	漬物	—	±	—	K-9	漬物	±	—	—	A-10	漬物	—	—	—	H-27	漬物	+	±	—	K-10	漬物	±	—	±
A-12	漬物	++	±	—	H-28	漬物	+	±	—	K-11	漬物	—	—	±	A-13	漬物	—	—	—	H-32	漬物	+	—	—	K-13	漬物	±	±	±
B-1	漬物	+	—	—	H-33	漬物	+	—	—	TM-7	ドライ フルーツ	+	±	—	B-3	漬物	—	±	—	H-35	漬物	+	—	±	TM-8	ドライ フルーツ	—	±	—
B-8	漬物	±	—	—	H-39	漬物	+	+	—	HI-2	清酒	—	±	—	B-9	漬物	—	±	—	H-41	漬物	+	—	—	HI-5	清酒	—	±	—
C-1	漬物	±	—	—	J-1	漬物	++	—	—	UN-8	清酒 もろみ	—	±	—	C-3	漬物	±	—	—	J-3	漬物	+	—	—	AN-11	清酒 もろみ	±	—	—
C-5	漬物	±	±	—	J-5	漬物	++	—	—	AN-12	清酒 もろみ	±	—	—	G-2	漬物	+	—	—	J-9	漬物	—	+	—	AN-13	清酒 もろみ	±	—	—
H-1	漬物	±	—	—	J-11	漬物	+	—	±	AN-14	清酒 もろみ	±	—	—	H-4	漬物	—	+	—	J-14	漬物	++	—	—	AN-15	清酒 もろみ	±	—	—
H-7	漬物	—	±	—	J-17	漬物	—	+	—	AN-16	清酒 もろみ	±	—	—	H-13	漬物	—	±	—	J-18	漬物	±	—	±	AN-17	清酒 もろみ	±	—	—
H-16	漬物	±	—	—	J-20	漬物	—	++	—	AN-18	清酒 もろみ	±	—	—	H-18	漬物	±	—	—	K-4	漬物	—	±	—	AN-20	清酒 もろみ	±	—	—

※孔の縁に形成されたクリアゾーンの幅が 1mm 未満を±, 1~2mm を+, 2mm 以上を++, 不形成を—とした。

表 4 汚染菌株の炭酸ガス発生抑制能力①

静菌性 乳酸菌株	汚染 菌株	炭酸ガス 発生量 (ml)	静菌性 乳酸菌株	汚染 菌株	炭酸ガス 発生量 (ml)
A-12	C-101、E-3	0.90	J-3	C-101	0.45
TM-7	C-101、E-3	0.15	J-5	C-101	0.02
H-27	C-101、E-3	0.65	J-11	C-101	0.25
H-28	C-101、E-3	0.45	J-14	C-101	0.55
H-39	C-101、E-3	0.45	H-4	E-3	0.65
B-1	C-101	0.35	J-9	E-3	0.40
G-2	C-101	0.30	J-17	E-3	0.30
H-32	C-101	0.25	J-20	E-3	1.00
H-33	C-101	0.45	—	C-101	0.75
H-35	C-101	0.20	—	E-3	0.25
H-41	C-101	0.75	—	E-9	5.60
J-1	C-101	0.00	—	—	0.32

した。その結果を表 5 に示す。汚染菌株のみ添加したコントロールで発生した炭酸ガス量に対して減少した量を抑制率として評価したところ、各作用菌株は C-101 および E-3 には炭酸ガス発生抑制効果を示した。このことから、炭酸ガス発生抑制能力を有する乳酸菌株を混合・添加することで、静菌効果に幅を持たせることが可能であると分かった。一方、対照の 3 菌株 (AS-1, K-11, J-15) も類似の効果を示

していた。これについては、表 5 の備考に示した各菌株の MRS 培地におけるグルコース残存量の差から、対照 3 菌株の生育が汚染菌株の生育を上回るほど強かったことが原因と推測された。目標とする品質がザワークラウトのように酸味の強い製品であればこれらの菌株をスターターとして使用することもできるが、酸味の強いハクサイ漬物が目標の品質ではないため、これらの菌株を使用するのは難しい

表 5 汚染菌株の炭酸ガス発生抑制能力②

作用 乳酸菌株	汚染菌株	炭酸ガス 発生量 (ml)	抑制率 (%)	備考
H-35, TM-7, J-1, J-5, J-17, J-20	C-101, E-3	0.2	92	静菌性アリ, ホモ発酵型
	C-101, E-3, E-9	58	-5	
	—	0.2	—	
AS-1	C-101, E-3	0.2	92	静菌性ナシ, ホモ発酵型, グルコースの資化強く MRS培地での培養時グルコース残らない
	C-101, E-3, E-9	67.35	-22	
K-11	C-101, E-3	0.2	92	静菌性ナシ, ホモ発酵型, グルコースの資化強く MRS培地での培養時グルコース残らない
	C-101, E-3, E-9	72.5	-31	
J-15	C-101, E-3	0.2	92	静菌性ナシ, ホモ発酵型, MRS培地での培養時グ ルコース0.15%残る
	C-101, E-3, E-9	61.25	-11	
H-31	C-101, E-3	1.85	26	静菌性ナシ, ホモ発酵型, MRS培地ではグルコー ス0.35%残る
	C-101, E-3, E-9	64.5	-17	
無添加	C-101, E-3	2.5	—	—
	C-101, E-3, E-9	55.25	—	
	—	0.0625	—	

表 6 炭酸ガス発生抑制能力を示す乳酸菌株の同定結果

乳酸菌株	Taxon	% ID
H35	<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	99.9
TM-7	<i>Lactobacillus brevis</i> 1	59.1
J-1	<i>Lactobacillus plantarum</i> 2	70.2
J-5	<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	99.9
J-17	<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	99.9
J-20	<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	99.9

と判断された。汚染菌株 E-9 にはいずれの作用菌株も抑制ではなく、促進効果を示した。E-9 は酵母であるため、その他の汚染菌株とは異なる挙動を示すと考えられた。

2・3・3 スクリーニング菌株の同定

炭酸ガス発生抑制能力を示した菌株の同定を行ったところ、表 6 に示すとおり *Lactobacillus plantarum* と *Lactobacillus brevis* であることが明らかになった。これらの菌種はいずれも食品への使用例があることから、製品に使用可能であると判断した。

2・4 試作

分離・選抜した炭酸ガス発生抑制効果を示す乳酸菌株の効果を確認するため、2 度漬けの製造方法(図 1)で、小規模試作を行った。ハクサイは 1 玉を縦に 8 等分した後、横に 1.0~1.5cm 幅でカットし、1 つの試作に 200g 使用した。乳酸菌株は 2・3・2 の表 5 の試験と同様に調整し荒漬けの工程でハクサイの重量に対して 1% 添加した。漬け込みは 10℃、真空パック後は 25℃で 20 日間保管した(図 8)。対照として、汚染菌の生育抑制を示さない乳酸菌株 H-31 を用いた。結果を表 7 に示す。赤線で囲った炭酸ガス(気泡)は、炭酸ガス発生抑制効果を示す乳酸菌株を添加した試作で最も少なく、汚染菌株生育抑制能力を示さない乳酸菌株を添加した試作および乳酸菌株を添加しなかった試作で同程度であった。ハクサイには汚染菌以外の微生物も付着しているた

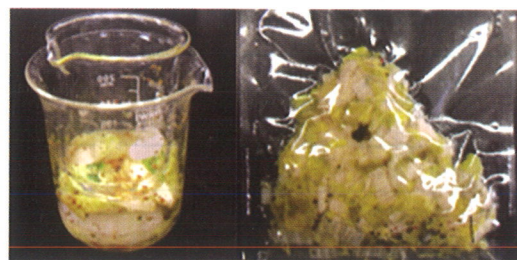


図 8 小規模試作

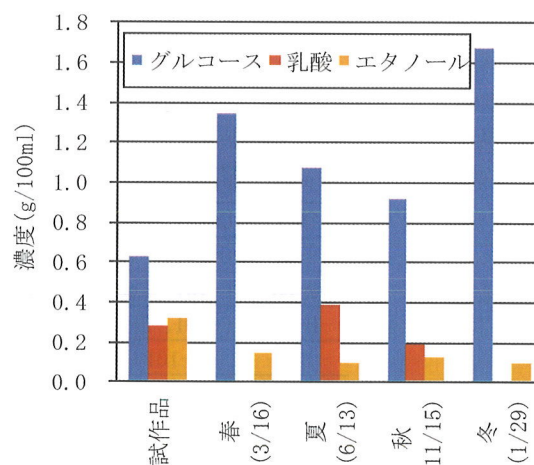


図 9 試作品とハクサイ製品の成分

め、炭酸ガス発生を完全に抑制することは難しかったが、炭酸ガス発生抑制効果を示す乳酸菌株による効果を確認することができた。次に、乳酸菌株を添加した試作品は従来製品と比べ甘味や酸味などが異なる可能性があったため、味に影響する成分であるグルコース・乳酸・エタノール濃度を測定した結果を図 9 に示す。試作品について、グルコースがやや少なく乳酸が多いものの、夏季に製造された製品と同程度であったことから、従来製品と同様の味であったと考えられた。

表 7 小規模試作結果

作用乳酸菌株	炭酸ガス発生	外観
H-35, TM-7, J-1, J-5, J-17, J-20	+	
H-31	++	
無添加	++	

※赤で囲った箇所は、発生した炭酸ガス(気泡)

3. 結言

昔ながらの製法で造られたハクサイ漬けは、乳酸菌とその代謝物から成る、調味液につけた浅漬けにはない特徴を備えた製品である。その香味や外観を製品に残すには、未加熱で出荷する必要があるため、発酵に寄与した微生物による膨れが発生する。本テーマでは、製造工程、原料や香味を変えずに膨れを抑制したいと考え、乳酸菌による汚染微生物の抑制を検討した。膨れの原因となっている微生物のうち特に炭酸ガスの発生量が多い菌株を汚染菌株とし、それに対して生育抑制能力を示す乳酸菌株を分離した。分離した菌株はハクサイエキスにおいて十分な炭酸ガス抑制効果を示したため、これらを使用した小規模試作を行った。小規模試作には未殺菌の野菜を使用するため汚染菌株以外の混入が起こり、添加した乳酸菌株だけの効果をみることは難しかったが、汚染菌株生育抑制能力を示さない乳酸を添加した試作や乳酸菌を添加しなかった試作に比べ、膨れを抑制することができた。これらのことから、膨れの原因微生物の成育を抑制する乳酸菌を製造工程に添加することにより、膨れにくいハクサイ漬けを製造可能であることが示唆された。

参考文献

- 1) 乳酸菌研究集談会：乳酸菌の科学と技術， 乳酸菌研究集談会編，株式会社学会出版センター， pp. 343-355 (2003)。

- 2) 牧野聖也： *Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus* OLL1073R-1 で発酵したヨーグルトおよび産生多糖の免疫賦活効果， *Milk Science*, **58**, pp. 35-40 (2009)。
- 3) 赤谷薫，岸 惇子，扇谷えり子，小久保あおい，宇野賀律子，藤田哲也，岸田鋼太郎：2001年度日本乳酸菌学会秋期セミナー 要旨集講演番号5， *Japanese Journal of Lactic Acid Bacteria*, **12**, pp. 110-111 (2001)。
- 4) 園元謙二：乳酸菌バクテリオシン食品への応用，そして拡大する利用分野， *食品と開発*, **49** (10), pp. 7-10 (2014)。
- 5) 内藤茂三：乳酸菌による食品の変敗とオゾンによる止技術， *防菌防黴*, **27** (3), pp. 171-181 (1999)。
- 6) 内藤茂三：乳酸菌による食品の変敗現象とその防止対策， *醬研*, **33** (4), pp. 257-266 (2007)。
- 7) 岩崎修一，山川 崇，杉谷佳世子，横井謙二：市販乳製品乳酸菌飲料に含まれる乳酸菌の腸管生存性， *日本乳酸菌学会 2011 年度大会講演要旨集*, p. 23 (2011)。
- 8) 大野一仁，松永 崇，佐野和男：野菜による γ -アミノ酪酸の蓄積， *愛媛県工業系研究報告*, **45**, pp. 29-34 (2007)。
- 9) 原 詩織，菅原 誠，本多芳孝，柳田藤寿：抗菌活性を有した乳酸菌の検索と味噌への応用， *日本乳酸菌学会 2009 年度大会講演要旨集*, p. 21 (2009)。