

ヨーグルト製造に適した乳酸菌の選抜方法の開発

酸生成能の高い高温性乳酸菌の効率的選抜方法の開発

徳田 瑞貴

- ヨーグルト製造に適した乳酸菌を視覚的に判別可能な選抜方法を開発しました。
- この選抜方法の開発により、ヨーグルト製造に適した高い酸生成能を有する高温性の乳酸菌を簡便に取得することが可能となりました。

背景と目的

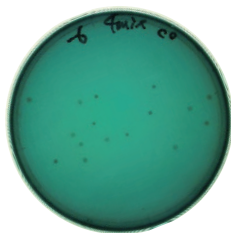
乳酸菌はヨーグルト製造などに利用される乳酸発酵を行う有用微生物であり、食品や食材などからの分離も盛んに行われています。現在の一次選抜方法に用いる分離方法では、ヨーグルト製造に適さない酸生成能の低い菌株も同時に分離されてしまい、二次選抜に多大な労力と時間がかかることが問題となっています。そのため、道内の乳製品製造企業からは、ヨーグルト製造に適した酸生成能が高く、高温性の乳酸菌を効率的に分離する方法の開発が求められています。

そこで、本研究では培地の変色と生育条件を指標として、適性の高い乳酸球菌および乳酸桿菌を平板培地上で簡便に判別できる選抜方法の開発に取り組みました。

成果

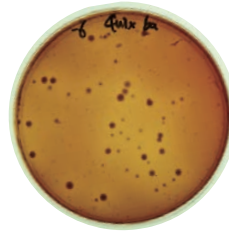
(1) 酸生成能の高い乳酸球菌および乳酸桿菌の簡便な選抜条件

従来の乳酸菌分離培地に用いられるpH指示薬のプロモクレゾールパープル（BCP）よりも低いpHで変色するプロモクレゾールグリーン（BCG）やアリザリンレッド（AR）などのpH指示薬を用いて、酸生成能の高い乳酸球菌および乳酸桿菌のみを選抜可能な培地組成および培養条件を検討しました。その結果、乳酸球菌は、M17-BCG 培地・好気条件、乳酸桿菌はMRS-AR培地・嫌気条件で各々42℃ 24～30h培養が有効であることが明らかになりました(図)。



M17-BCG培地（乳酸球菌用培地）

組成	(g/L)
M17 Broth(Merck)	42.3
Tween80	1.0
L-システイン	0.1
プロモクレゾールグリーン（BCG）	0.1
寒天粉末	13.0
NaOHを用いてpH7.0に調整	



MRS-AR培地（乳酸桿菌用培地）

組成	(g/L)
MRS Broth (BD)	55.0
アリザリンレッドS (AR)	0.1
寒天粉末	13.0
NaOHを用いてpH7.0に調整	

培養条件：シャーレ1枚あたり16mLで調製。

M17-BCG培地は好気条件、MRS-AR培地は嫌気条件(CO₂放出型脱酸素剤使用)で42℃・24～48h培養。

図 乳酸球菌および桿菌の選抜における培地組成と培養条件

(2) 開発した選抜方法の検証

乳酸球菌と乳酸桿菌を接種した生乳モデルを用い、MRS-AR培地およびM17-BCG培地による乳酸菌の選抜方法を検証した結果、選択的に乳酸球菌と乳酸桿菌を判別可能でした。このように、本研究で開発した選抜方法により、酸生成能の高い高温性の乳酸球菌および乳酸桿菌を簡便に選抜可能であることが明らかとなりました(表)。

表 生乳モデルによる選抜方法の評価

対象	培地	目視判定 陽性数	検鏡判定		一致率 (%)
			乳酸球菌数	乳酸桿菌数	
乳酸球菌	M17-BCG培地	31 ^a	31	0	100
乳酸桿菌	MRS-AR培地	37 ^b	0	37	100

生乳モデルは10%スキムミルクに*S. thermophilus* STI-12と*L. delbrueckii* ssp. *bulgarius* LB-13を1:1の菌数で添加して調製した。

a: 周辺が変色したコロニー数

b: 周辺の培地が変色した直径2mm以上のコロニー数