

でんぷん分解性乳酸菌 *Lactobacillus plantarum* A305株の培養特性 およびマルトオリゴ糖の生成

藤原朋子・山内慎也*・土屋義信

Cultural characteristics of amylolytic *Lactobacillus plantarum* A305 and production of
maltooligosaccharides

Tomoko Fujiwara, Shinya Yamauchi* and Yoshinobu Tsuchiya

Lactobacillus plantarum A305, an amylolytic lactic acid bacterium isolated from wheat bran, produces maltooligosaccharides in soluble starch culture media. We examined conditions in which maltooligosaccharides were produced from soluble starch in the culture using the A305 strain, with the aim of producing maltooligosaccharides in high content. MRS medium in which the carbon source was replaced by soluble starch was used as the culture medium. The A305 strain was cultured at 37°C in 900 ml of MRS medium, inoculated with 100 ml of A305 preculture medium. The mixture was agitated at 100 rpm. In the pH 6.5-controlled culture, growth stopped at an early culture stage, due to the low activity of amylolytic enzymes; no accumulation of maltooligosaccharides was observed. In the pH 4.5- and 5.0-controlled cultures, growth continued until the soluble starch added as the carbon source was completely consumed. As for the production of maltooligosaccharides, some amounts of G3, G4 and G5 were produced, but they disappeared as the A305 strain increased. In the presence of viable A305 in the culture medium, G1 and G2 were consumed by viable A305; the remaining maltooligosaccharides were mostly G3 and G4. To accumulate G3 and G4 as major maltooligosaccharides in the culture medium, we needed - after promoting the increase of the A305 strain and the production of amylolytic enzymes - to maintain the pH at the level low enough to suppress A305 growth but high enough for the strain to remain viable.

近年、乳など動物由来資源での発酵に関わる乳酸菌の他に、野菜、果物など植物資源で増殖可能な乳酸菌を用いた発酵が注目され、様々な発酵食品やリキッド飼料などの開発に利用されている¹⁾。また、植物資源の中で重要な位置を占めるでんぷんを分解・利用できる乳酸菌として、*Lactobacillus* 属では、*L. amylovorus*²⁾、*L. manihotivorans*³⁾、*L. cellobiosus*⁴⁾、*L. plantarum*^{5) 6)}などが報告されている。特に、Giraud⁷⁾らは、発酵キャッサバから分離した*L. plantarum* A6株が、生でんぷんを分解すると報告している。このA6株は、pH6を保持すると菌体外で高い α -アミラーゼ活性を示すが、乳酸の生成に伴い、培養液のpHが3.5に低下すると、 α -アミラーゼ活性が低下し、ほとんどでんぷんを分解できなくなると報告されている。一方、Minervaら⁸⁾は、魚と米の発酵食品から分離された*L. plantarum* L137株のでんぷん分解酵素を精製し、その酵素の至適温度と至適pHは、それぞれ35°CおよびpH3.8~4.0であり、20~45°CおよびpH3.5~5.0の範囲で高活性を

維持すると報告している。さらに、可溶性でんぷんからの分解生成物は、グルコース (G1)、マルトース (G2) も存在するが、主要なものはマルトオリゴ糖のマルトトリオース (G3)、マルトテトラオース (G4)、マルトペンタオース (G5) であることを報告している。

マルトオリゴ糖は、低甘味、高粘性を示し、G3やG4は特にでんぷんの老化抑制効果を有する⁹⁾。また、人に対する機能性として、G4の摂取により腸内環境を改善する効果が認められている¹⁰⁾。一方、乳酸菌そのものは、整腸作用や血中コレステロール低減作用、血圧降下作用など人の健康に役立つとされている¹¹⁾。

著者らはこれまでに、小麦フスマから、可溶性でんぷんを単一炭素源とした培地で増殖する*L. plantarum* A305株を単離している¹²⁾。本菌株について、可溶性でんぷんを炭素源とした培地で、マルトオリゴ糖の生成がみられた。

そこで、本研究では、食品、飲料等に利用可能な、マルトオリゴ糖を高含有する乳酸発酵物製造を目的に、*L. plantarum* A305株を用い、でんぷんを原料としてマルトオリゴ糖を高生成する培養方法について検討した。

*広島県西部厚生環境事務所

*Hiroshima Prefecture Western Office of Health, Welfare and Environment

実験方法

1. 供試乳酸菌

小麦フスマから分離した *Lactobacillus plantarum* A305 株 (以下, A305株とする)¹²⁾ を, 供試乳酸菌として用いた。A305株は, 可溶性でんぷん, α 化でんぷん, 生小麦でんぷん, 米粉およびパン粉等のでんぷん源を発酵して乳酸を生成する。本菌株は, 10%グリセロール中に菌体を懸濁後, -80°C で凍結保存し, 随時復元して試験に供した。

2. 培地および培養条件

供試培地には, MRS 培地¹³⁾ の炭素源をグルコースから可溶性でんぷん (和光一級でんぷん (溶性)) に代えたもの (以下, MRS-可溶性でんぷん培地とする) を用いた。なお, 培地は, 調製時に可溶性でんぷんも同時に溶解し, pH7.0に調整後, 120°C 15分間オートクレーブ殺菌した (殺菌培地とする)。培養は, 全容量2Lのジャーファメンター (三ツツ MINI-JAR-FERMENTOR KMJ) を用い, 実容量1L, 37°C , 無通気で, pH制御あるいはpH無制御の回分方式で行った。pH制御を行う場合は, pHコントローラーにより, 2mol/L水酸化ナトリウム水溶液を添加し, 所定のpH, すなわち pH6.5, pH5.0およびpH4.5に維持した。なお, 培養中は, 培養液を均一にするため100rpmで穏やかな攪拌を行った。前培養は, MRS-可溶性でんぷん培地 (可溶性でんぷん20g/L) 100mLを入れた300mL容三角フラスコを用いて, 30°C , 24時間の静置培養で行った。実容量の10% (v/v) 量の前培養液100mlを殺菌培地900mlへ接種した。培地pHは5.5程度に低下したため, 水酸化ナトリウム水溶液の添加で, 初発pHを約6.5に調整して培養を開始した。

3. 分析方法

(1) 培養液の成分分析

マルトオリゴ糖の生成条件について検討するため, 各種条件で培養中の培養液をサンプリングし, 光学的濁度 (以下O.D.), 乾燥菌体量, 乳酸量, 全糖量, マルトオリゴ糖量およびグルコース量を測定し, 経時変化を調べた。O.D.は, 波長660nmで, サンプリングした培養液を殺菌培地により希釈して測定した。また, 乾燥菌体量は, あらかじめ作成したO.D._{660nm}と乾燥菌体濃度との関係より求めた。乳酸量は, F-kit L-乳酸/D-乳酸測定キット (J.K. インターナショナル) を用いて測定し, 全糖量はグルコース量としてフェノール-硫酸法で測定した¹⁴⁾。マルトオリゴ糖およびグルコース量は, 高速液体クロマトグラフ (HITACHI L-6000型) により, Shodex Asahipak NH2P-50 4E カラム (4.6×250mm), HITACHI L-3300 RI Monitor, 溶離液アセトニトリル/水 (60/40), 流速1.0mL/min, 温度 30°C で測定した。

(2) でんぷん分解酵素活性

i) 培養液中のでんぷん分解酵素活性

培養液中のでんぷん分解酵素活性の存在画分を明らかにするために, MRS-可溶性でんぷん培地で 37°C , 24時間, pH無制御でA305株を培養した培養液について, 菌体を含む培養液, 培養液の遠心上清および遠心回収菌体を用いてでんぷん分解酵素活性を測定した。酵素活性測定の反応液は, 100mmol/L酢酸緩衝液 (pH5.0) 5ml, 2% (w/v) 可溶性でんぷん水溶液4ml, 検体1mlの全量10mlとした。pH4.5~4.6, 37°C で6時間または30分間酵素反応させ, 沸騰水中で5分間加熱することにより酵素反応を停止し, 反応液中の残存でんぷん量と, マルトオリゴ糖およびグルコース量を測定した。残存でんぷん量は, ヨウ素-でんぷん結合色により測定し, 30分間で10mgの可溶性でんぷんを分解する酵素量を1unitとし¹⁵⁾, これにより酵素活性を比較した。マルトオリゴ糖およびグルコース量は, 既述の培養液の成分分析と同様に, 高速液体クロマトグラフにより行った。なお, 培養液の遠心分離 (KUBOTA6900, RA-400ロータ) は, $4\,300\times g$, 4°C で10分間行った。

ii) でんぷん分解酵素反応におよぼすpHの影響

でんぷん分解酵素反応に及ぼすpHの影響を明らかにするため, 酵素反応液のpHを緩衝液の変更により調整した。すなわち, 反応液のpHをpH2.2~3.0とするために100mmol/Lグリシン-塩酸緩衝液を, pH4.0~5.5とするために100mmol/L酢酸緩衝液を, pH6.5~8.0とするために100mmol/Lリン酸緩衝液をそれぞれ用いて調整した。

実験結果

1. pH無制御培養 (初発可溶性でんぷん濃度20g/L)

初発可溶性でんぷん濃度を20g/Lとした, pH無制御下でのA305株の培養結果を図1に示した。培養開始後, pHは, 初発の6.7から乳酸の生成とともに低下した。培養9時間後にはpH4.1となり, 24時間後にはpH3.7に低下した (図1-i)。菌体濃度は, 培養9時間で静止期に達し, 2.5g/Lとなり, その後は増加しなかった。一方, 全糖は, 培養9時間後には8.3g/Lに低下し, 24時間後には全て消費された。乳酸は, 9時間後には18g/L, 24時間後には25g/Lに達した (図1-iii)。また, 培養中期では, 培養液中に, マルトトリオース (G3), マルトテトラオース (G4), マルトペンタオース (G5) が検出されたが, 24時間後にはすべて消失した (図1-ii)。グルコース (G1), マルトース (G2) およびマルトヘキサオース (G6) からマルトデカオース (G10) のマルトオリゴ糖 (G6~G10) は検出されなかった。

2. pH制御培養

(1) pH6.5での培養

初発可溶性でんぷん濃度20g/Lとし, 培養液のpHを6.5に維持した培養結果を図2-aに示した。A305株の増殖速度は小さく, また, 培養7時間後には, 培地中の全糖が約18g/L残存しているにもかかわらず, 菌体の増殖および糖

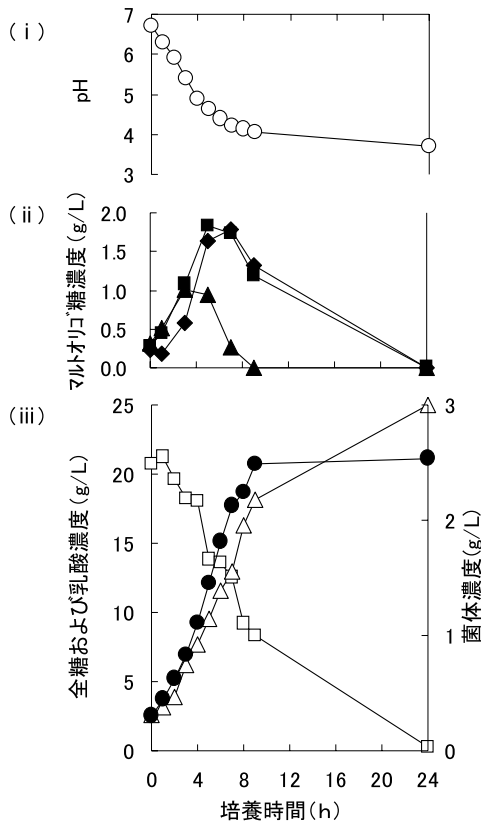


図1 *Lactobacillus plantarum* A305株の pH 無制御培養 (初発可溶性でんぷん濃度20g/L)
 (i) pHの変化 (ii) マルトオリゴ糖濃度の変化
 (iii) 全糖, 乳酸および菌体濃度の変化
 ◆, マルトトリオース (G3); ■, マルトテトラオース (G4);
 ▲, マルトペンタオース (G5); □, 全糖; △, 乳酸;
 ●, 菌体.

の消費, 乳酸の生成ともほぼ停止した (図2-a- iii). マルトオリゴ糖は, G3, G4, G5が培養3, 4時間後までわずかに検出された (図2-a- ii). pH5.5の中性域では, でんぷんを基質とした乳酸発酵は, 全糖が初発濃度の半分以上残存した状態からほとんど進まなかった.

(2) pH5.0での培養

次に, 培養液の pH を酸性域に制御した A305株の培養について検討した. A305株は, pH 無制御培養において, 乳酸の生成に伴い pH が低下したときには, でんぷんを分解した (図1) ことから, 酸性域では分解がすすむことが予想されたため, でんぷんの消費量が大きくなることを想定し, 初発可溶性でんぷん濃度を40g/Lに増加して培養実験を行った.

初発可溶性でんぷん濃度を40g/Lとし, 前培養液接種後, 2mol/L の水酸化ナトリウム水溶液の添加による pH 調整を行うことなく, pH5.6で培養を開始し, pH5.0に低下後は, pH5.0で維持して培養を行った結果を図2-b に示した. pH は, 培養3時間後に5.0となった. 培養24時間後には全糖は全て消費され, 乳酸は46g/Lに, 菌体濃度は4.8g/Lに達した (図2-b- iii). このように, pH を5.0に制御した条件下では, A305株の増殖は停止することなく, 糖を全て消費した. 培養液中には, 培養初期にG1とG2がわずかに検出され, 培養中期にG3, G4, G5が多く検出され, 培養5時間後のマルトオリゴ糖濃度は, G3が3.6g/L, G4が4.4g/L, G5が2.2g/Lであった (図2-b- ii). しかし,

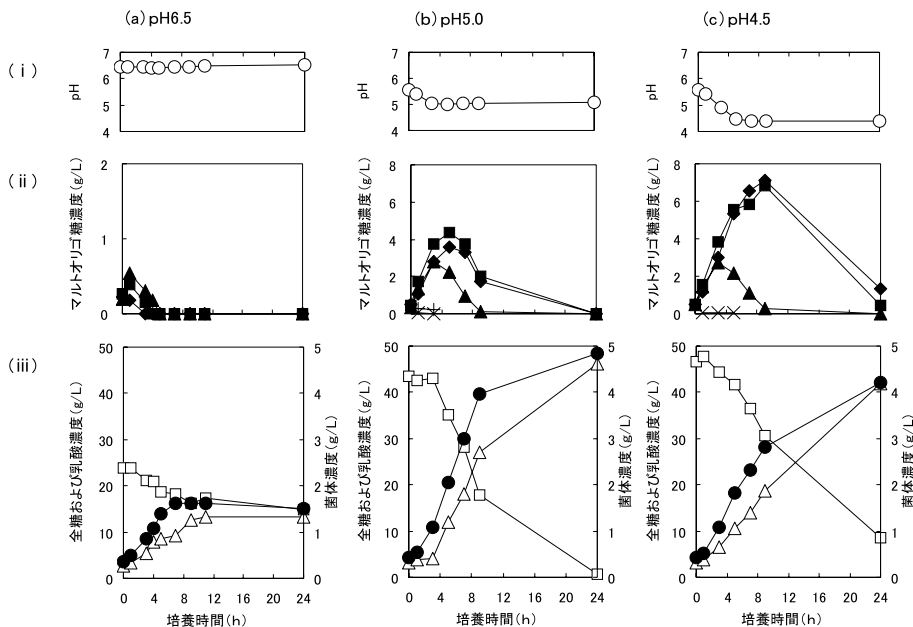


図2 *Lactobacillus plantarum* A305株の pH 制御培養
 (a) pH6.5制御 (初発可溶性でんぷん濃度20g/L) (b) pH5.0制御 (初発可溶性でんぷん濃度40g/L)
 (c) pH4.5制御 (初発可溶性でんぷん濃度40g/L)
 (i) pH の変化 (ii) マルトオリゴ糖濃度の変化 (iii) 全糖, 乳酸および菌体濃度の変化
 +, グルコース (G1); ×, マルトース (G2); ◆, マルトトリオース (G3);
 ■, マルトテトラオース (G4); ▲, マルトペンタオース (G5); □, 全糖; △, 乳酸; ●, 菌体.

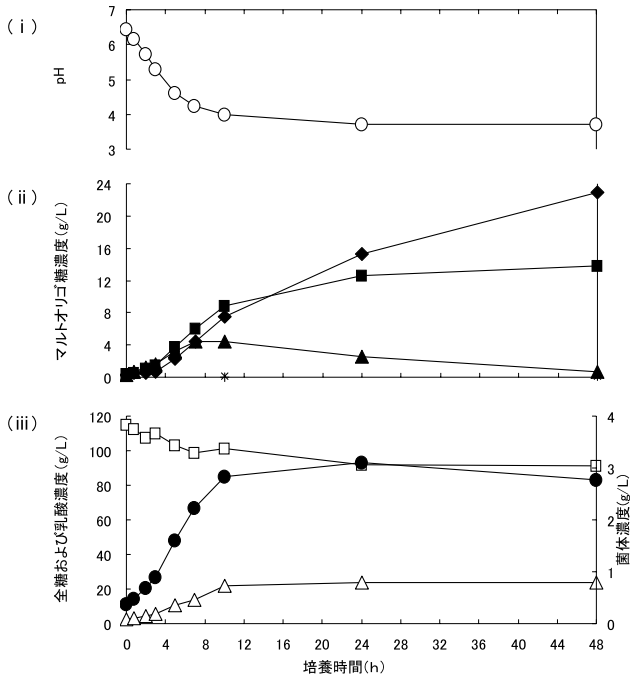


図3 *Lactobacillus plantarum* A305株の pH 無制御培養 (初発可溶性でんぷん濃度100g/L)

- (i) pH の変化
(ii) マルトオリゴ糖濃度の変化
(iii) 全糖、乳酸および菌体濃度の変化
+, グルコース (G1); ×, マルトース (G2); ◆, マルトトリオース (G3); ■, マルトテトラオース (G4); ▲, マルトペンタオース (G5); □, 全糖; △, 乳酸; ●, 菌体.

24時間後にはマルトオリゴ糖は全て消失した。

(3) pH4.5での培養

初発可溶性でんぷん濃度を40g/Lとし、培養をpH5.6で開始し、培養5時間後にpH4.5に低下後は、pH4.5に維持した培養結果を図2-cに示した。菌体の増殖量は、pH5.0とした培養に比べて小さく、培養24時間後の菌体濃度は4.2g/Lであった(図2-c-iii)。一方、培地中の全糖は、培養24時間後でも、約8g/L残存し、乳酸は42g/Lとなった。培地中のマルトオリゴ糖は、培養9時間後では、pH5.0で培養した場合に比べて多く生産され、G3が7.1g/L、G4が6.8g/L、G5が0.3g/L検出された。しかし、24時間後には、G3は1.4g/L、G4は0.4g/Lまで低下した(図2-c-ii)。また、G2は培養初期にわずかに検出されたのみであった。

3. pH 無制御培養 (初発可溶性でんぷん濃度100g/L)

既述のように、pH6.5に制御した培養に比べ、pH5.0およびpH4.5の酸性域での培養では、でんぷんの全てあるいは大部分が分解され、また、培養5時間または9時間後に、マルトオリゴ糖の大幅な増加が認められた。しかし、それ以後は、いずれの場合もマルトオリゴ糖は減少した。そこで、培養液中に過剰なでんぷんが存在する環境下で、マルトオリゴ糖の生成の推移をみるため、初発でんぷん濃度を100g/Lとした培養を行った。なお、pH5.0以下4.0付近の範囲の酸性領域では、効率的なマルトオリゴ糖生産がみら

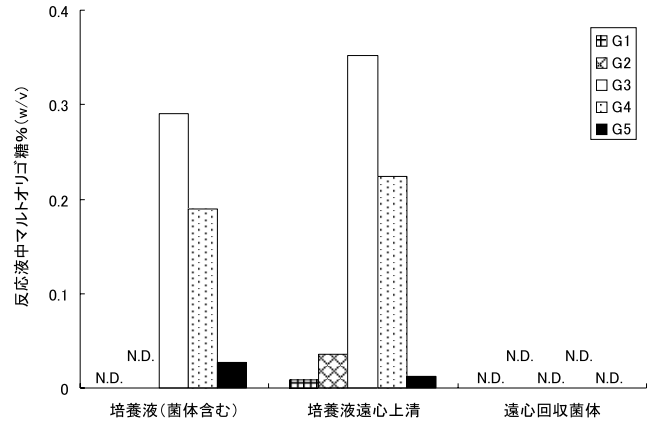


図4 *Lactobacillus plantarum* A305株の培養液中でのでんぷん分解酵素活性とマルトオリゴ糖の生成 (可溶性でんぷん0.8% (w/v), 37°C, pH4.6, 6時間反応) N.D. は不検出を示す。定量下限0.05g/L(0.005%)。

れたこと(図2-b, 2-c)から、実現場を想定してpH制御を行わない培養を行うこととした。その結果を図3に示した。初発可溶性でんぷん濃度20g/Lの培養(図1)と同様に、pHは、初発の6.5から、乳酸の生成とともに低下し、24時間後には3.7となった(図3-i)。菌体濃度の推移から、菌体の増殖は培養10時間後にはほぼ停止した。培養24時間後には、全糖の低下および乳酸の生成は共にほぼ停止し、以降、菌体濃度、全糖および乳酸濃度は、培養48時間後までほとんど変わらず横ばいで推移した(図3-iii)。初発可溶性でんぷん濃度100g/Lでも、増殖速度に影響は認められなかった。しかし、増殖がほぼ停止した培養10時間以後も、G3、G4は増加し、24時間後にはそれぞれ14g/Lおよび12g/Lに達した。また、G5は、培養10時間後までは増加したが、その後減少した。一方、G1、G2は、培養8~10時間にわずかに検出されたのみであった。培養48時間後には、マルトオリゴ糖は、G3が21g/L、G4が13g/Lまで増加したが、G5は逆に0.7g/Lまで減少した(図3-ii)。

4. でんぷん分解酵素活性

(1) 培養液中でのでんぷん分解酵素活性とマルトオリゴ糖の生成

A305株の生成するでんぷん分解酵素の活性画分を検討するため、菌体を含む培養液、培養液の遠心上清および遠心回収菌体について、でんぷん分解酵素活性を測定した。37°Cで6時間反応させたときの、反応液中のマルトオリゴ糖量を図4に示した。遠心回収菌体をでんぷん分解酵素反応に用いると、G1~G5は検出されなかった。一方、菌体を含まない遠心上清をでんぷん分解酵素反応に用いると、G1~G5が生成された。すなわち、供試したA305株のでんぷん分解酵素活性は、菌体ではなく菌体外に認められた。しかし、菌体を含む培養液の場合には、G3~G5が検出されたが、G1およびG2は検出されなかった。

(2) でんぷん分解酵素反応に及ぼすpHの影響とマルトオリゴ糖の生成

培養液の遠心上清中に含まれるでんぷん分解酵素について、反応液の pH を調整し、酵素反応に及ぼす pH の影響を調査した結果を図5に示した。でんぷん分解酵素活性は、pH4.5~5.0で最も高く (図5-a)、G3~G5のマルトオリゴ糖も多く生成された (図5-b)。なお、この反応に用いた培養液の遠心上清の酵素活性は、0.3unit/mLであった。

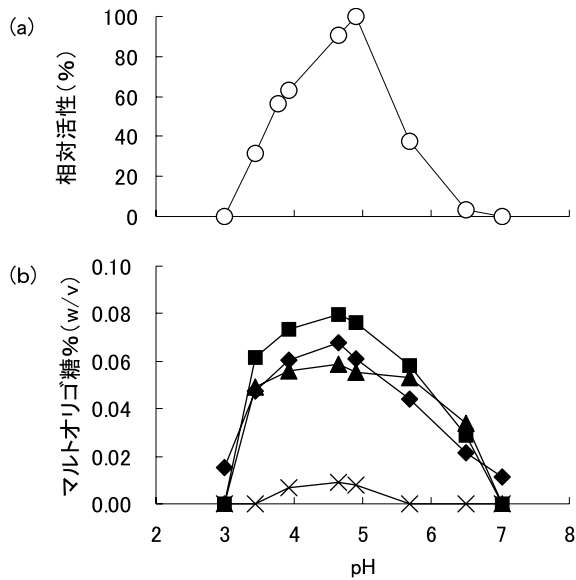


図5 *Lactobacillus plantarum* A305株でのんぷん分解酵素反応に及ぼす pH の影響とマルトオリゴ糖の生成 (可溶性でんぷん0.8%(w/v), 37°C, 30分間反応)
 (a) 最大酵素活性を100としたときの相対活性
 (b) 反応液中のマルトオリゴ糖生成量
 ×, マルトース (G2); ◆, マルトトリオース (G3); ■, マルトテトラオース (G4); ▲, マルトペンタオース (G5).

考 察

本研究において、A305株を用いた培養試験における増殖停止 (図1, 図3) の要因は、炭素源の欠乏または pH の低下、およびその両方と考えられた。乳酸の生成により、pH が3.7程度に低下すると、糖が存在しても増殖が停止した (図3)。

培養液の pH を中性域 (pH6.5) に制御して培養を行った場合 (図2-a)、菌体の増殖が遅く、糖が残存しているにもかかわらず培養8時間後に増殖が停止した。この培養において、でんぷんの分解産物であるマルトオリゴ糖量をみると、培養初期に少し検出されたのみであった。本培養で維持した pH6.5においては、でんぷん分解酵素活性が低い (図5) ため、グルコースおよびマルトオリゴ糖の供給が追いつかなかったものと考えられた。これら少量の糖は、培養液中に存在する菌体によって消費されたため、菌体の増殖には適する pH にもかかわらず、炭素源の欠乏で増殖が停止したと考えられた。

これに対し、酸性域の pH5.0および pH4.5といったでんぷん分解酵素の至適 pH を維持した培養 (図2-b, 2-c) で

は、でんぷんを炭素源として消費し終えるまで増殖可能であった。すなわち、この pH 域は、菌体の増殖には最適な pH 域ではないものの、増殖が停止する pH ではないため、でんぷん分解酵素の働きによりでんぷんは G1, G2にまで分解され、菌体はこれらの糖を取込んで増殖したものと考えられた。pH5.0と pH4.5での培養を比較すると、pH5.0で増殖量が多かったのは、pH5.0の方がより菌体の増殖に適する pH であったためと考えられた。マルトオリゴ糖については、pH5.0および pH4.5において、培養中期では顕著な生成がみられていたにもかかわらず、その後は減少し、24時間後にはほぼ全量が消費された。G3~G5のマルトオリゴ糖も、でんぷん分解酵素による作用が進行すると分解され、菌体により消費される。すなわち、G3~G5の生成には、菌体の増殖とでんぷん分解酵素活性のバランスを考えた pH 制御が重要であることが示唆された。

可溶性でんぷん100g/Lとした高濃度の炭素源で pH 無制御培養 (図3) した場合、pH が3.7まで低下すると、A305株の増殖はほぼ停止したが、G3, G4の生成量は増加していった。菌体量の増加により、でんぷん分解酵素が十分に生産されるとともに、pH の低下で増殖がほぼ停止した後も、でんぷん分解酵素が作用する pH 域は十分維持されたものと考えられた。

培養液中に含まれる菌体を取除いた遠心上清による酵素反応 (図4) では、生成される G1, G2はそのまま存在するが、菌体が共存する培養液による酵素反応では消失した。上記、菌体の増殖がほぼ停止していた場合 (図3) にも、菌体の増殖は停止していたが、菌体が死滅していなかったため、でんぷん分解酵素の作用は持続し、生成した G1, G2は菌体に取込まれて維持代謝に消費され、マルトオリゴ糖として、ほぼ G3と G4のみになったと考えられた。

このようにでんぷん分解酵素が生産され、かつでんぷんが供給されている場合、菌体の増殖が停止し、生菌体が存在している環境、すなわち pH4程度の酸性域の条件下では、でんぷんから生成した G1, G2は、維持代謝のため、菌体により取込まれて消費され、その結果、G3, G4の蓄積が可能になると考えられた。したがって、A305株を用いて、回分培養系で可溶性でんぷんからマルトオリゴ糖を蓄積するには、以下の条件が必須である。pH 中性域から培養を開始し、培養前期で菌体増殖を図り、でんぷん分解酵素の生産を促すと同時に、乳酸生成させることにより pH を4程度に低下させる。これにより、菌体の増殖を抑え、マルトオリゴ糖量が最大になった時点で、加熱等により酵素反応を停止させることである。

Lactobacillus 属のでんぷん分解酵素による分解産物として、マルトオリゴ糖が生成されることは、Minervaらによっても報告されている⁸⁾。しかし、培養によってマルトオリゴ糖の蓄積を示した例はない。食品製造に利用され

ているマルトオリゴ糖は、でんぷんを原料として α -アミラーゼで液化反応を行った後、特定のマルトオリゴ糖を生成するアミラーゼと、プルラーゼやイソアミラーゼ等の枝切り酵素を併用して糖化反応を行い、その後、濾過、脱色、脱イオン精製、膜濾過、濃縮工程等を経て製造されるものが多い⁹⁾。このようなマルトオリゴ糖シロップを、菓子の保湿効果や、貯蔵による老化防止に利用する場合、砂糖の25~30%代替が可能である¹⁶⁾。パンやスポンジ生地への利用は、粉の量に対し、6~7%の利用となる⁹⁾。今回の検討結果では、マルトオリゴ糖の蓄積は、G3とG4を合わせても、培養液中で3%程度が最大であった。今後、G3、G4を主とするマルトオリゴ糖を高含有する乳酸発酵物を、食品、飲料等の製造へ利用するためには、さらなるマルトオリゴ糖の高濃度生成が必要となり、培養条件の検討を要する。

要 約

マルトオリゴ糖を高含有する乳酸発酵物製造の基礎とするために、でんぷん分解性乳酸菌 *Lactobacillus plantarum* A305株を用いた培養による可溶性でんぷんからのマルトオリゴ糖生成条件の検討を行った。

pH無制御で、可溶性でんぷんを炭素源とした培養では、培養液中にマルトトリオース (G3)、マルトテトラオース (G4)、マルトペンタオース (G5) が一時検出されたが、その後、培養液から消失した。

培養液のpHを中性域 (pH6.5) に制御すると、A305株の増殖は培養早期に停止し、マルトオリゴ糖の蓄積も認められなかった。pH6.5では、でんぷん分解酵素の作用が不十分なため、グルコースやマルトオリゴ糖の供給不足により増殖が停止したと考えられた。

培養液のpHを酸性域のpH4.5およびpH5.0に制御した培養では、炭素源として可溶性でんぷんを消費し終えるまで、A305株は増殖可能であった。一方、マルトオリゴ糖は、G3、G4、G5が途中である程度生成したが、菌体の増殖に伴い培養液から消失した。

高濃度に可溶性でんぷんを投入したpH無制御下での培養では、A305株の増殖は、pH3.7程度に低下した時点で停止した。しかし、その後もでんぷんの分解酵素の作用は続き、G3、G4の蓄積が進行した。

A305株を用いた培養液の、遠心上清中に含まれるでんぷん分解酵素による可溶性でんぷんの分解では、G3、G4を主としてG1~G5までのマルトオリゴ糖が生成された。一方、でんぷん分解酵素反応液中に、生菌体が存在する条件下では、ほぼG3とG4のみが検出され、G1、G2は菌体により取込まれて消費されたと考えられた。また、A305株のでんぷん分解酵素活性はpH4~5の範囲で高かった。

G3とG4を主なマルトオリゴ糖として蓄積するためには、まず菌体の増殖を図り、でんぷん分解酵素を多量に生産させてでんぷんを分解し、次いで菌体により生成される乳酸で菌体の増殖を抑え、生菌体が生存可能な、pH4程度の低pHにすることが必要であった。

文 献

- 岡田早苗, 植物性乳酸菌世界とその秘める可能性, 日本乳酸菌学会誌, **13** (1), 23-35 (2002).
- Nakamura, L.K., *Lactobacillus amylovorus*, a new starch-hydrolyzing species from cattle waste-corn fermentations. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **31**, 56-63 (1981).
- Morlon-Guyot, J., Guyot, J.P., Pot, B., Jacobe de Haut, I. and Raimbault, M., *Lactobacillus manihotivorans* sp. nov., a new starch-hydrolysing lactic acid bacterium isolated from cassava sour starch fermentation. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **48**, 1101-1109 (1998).
- Lindgren, S. and Refai, O., Amylolytic lactic acid bacteria in fish silage. *J. Appl. Bacteriol.*, **57**, 221-228 (1984).
- Giraud, E., Brauman, A., Keleke, S., Lelong, B. and Raimbault, M., Isolation and physiological study of an amylolytic strain of *Lactobacillus plantarum*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **36**, 379-383 (1991).
- Minerva, O., Ono, H., Shinmyo, A. and Takano, M., Lactic acid bacteria in a fermented fishery product, "Burong Bangus". *J. Ferment. Bioeng.* **73** (3), 193-197 (1992).
- Giraud, E., Alain, C. and Maurice, R., Degradation of Raw Starch by a Wild Amylolytic Strain of *Lactobacillus plantarum*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **60** (12), 4319-4323 (1994).
- Minerva, O., Fukuda, H., Ono, H., Kaneko, Y. and Takano, M., Characterization of Starch-Hydrolyzing Lactic acid bacteria isolated from a fermented Fish and rice food, "Burong Isda", and its amylolytic enzyme. *J. Ferment. Bioeng.*, **80** (2), 124-130 (1995).
- 戸塚篤史, マルトオリゴ糖, 「オリゴ糖の新知識」, 第1版, 早川幸男編, (食品化学新聞社, 東京), pp.155-166 (1998).
- 菅原正義, 竹内政保, 中久喜輝夫, 光岡知足, マルトテトラオース (G4) 含有シラップのヒト腸内フローラに及ぼす影響, 栄食誌, **42** (2), 123-127 (1989).
- 高野俊明, 乳酸菌, 発酵食品の栄養生理効果, 「乳酸菌の科学と技術」, 第2版, 乳酸菌研究集団会編, (学会出版センター, 東京), pp.316-321 (1996).
- 山内慎也, 角川幸治, 松本英之, 土屋義信, 井尻哲, 食品残さの発酵リキッド飼料化に用いる乳酸菌の特性評価, 日本養豚学会誌, **44** (2), 51-58 (2007).
- de Man, J.C., Rogosa, M. and Sharpe, M.E., A medium for the cultivation of lactobacilli. *J. Appl. Bacteriol.*, **23** (1), 130-135 (1960).
- 根岸由紀子, 全糖の定量, 「新 食品分析ハンドブック」, 第1版, 菅原龍幸, 前川昭男監修, (健帛社, 東京), pp.103-104 (2000).
- Giraud, E., L. Gosselin, B. Marin, J. L. Parada, and M. Raimbault., Purification and characterization of an extracellular amylase from *Lactobacillus plantarum* strain A6. *J. Appl. Bacteriol.*, **75**, 276-282 (1993).
- 鈴木綾子, 新しい食品糖質と調理・食品加工, 「糖質の科学」, 第1版, 新家龍, 南浦能至, 北畑寿美雄, 大西正健編, (朝倉書店, 東京), pp.141-145 (1996).