

## 奄美大島の伝統飲料「ミキ」中の乳酸菌

誌名	日本醸造協会誌 = Journal of the Brewing Society of Japan
ISSN	09147314
著者名	久留,ひろみ 玉置,尚徳 和田,浩二 伊藤,清
発行元	日本醸造協会
巻/号	105巻11号
掲載ページ	p. 741-748
発行年月	2010年11月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



## 奄美大島の伝統飲料「ミキ」中の乳酸菌

久留ひろみ・玉置尚徳・和田浩二・伊藤 清  
(鹿児島大学大学院連合農学研究科)

平成 22 年 4 月 8 日受理

Lactic acid bacteria in miki (a traditional beverage in Amami Island)

Hiromi HISADOME, Hisanori TAMAKI, Koji WADA, and Kiyoshi ITO

(The United Graduate School of Agricultural Sciences, Kagoshima University,  
1-21-24 Korimoto, Kagoshima-City, 890-0065)

Miki (a traditional beverage in Amami Island) was prepared in a laboratory (Kagoshima University) using boiled rice and raw sweet potato. Simultaneously, miki was prepared in Amami Island and commercial miki made in Amami Island was purchased. Lactic acid bacteria (LAB) in them were identified using a 16S ribosomal DNA analysis. It was shown that LAB in laboratory made miki were *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (30/30). However, LAB in miki made in Amami Island were different from the laboratory one. *Leuconostoc lactis* (3/6), *Leuconostoc citreum* (2/6), and *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (1/6). LAB in the commercial drink was *Leuconostoc citreum* (5/6) and *Leuconostoc mesenteroides* (1/6). These results indicated that microflora of LAB differed according to the lot of raw sweet potato and circumstances, the details of which are future problems. *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* is known as producer of bacteriocin (nisin), so the production of bacteriocin or possession of nisin gene was examined from the halo formation of the sensitive strain or PCR of genomic DNA. The results showed that *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* in miki produces bacteriocin and they possess nisin-A gene. The succession of bacteria was examined using CaCO<sub>3</sub> plates, which showed that non-halo forming bacteria appeared at an early stage (before 3 days) but disappeared at a late stage (after at least 4 days after mashing) along with an increase in halo forming bacteria. We considered that these non-halo forming bacteria were aerobic bacteria which did not produce acid, and halo forming bacteria were LAB which produce acid. Using a starter of LAB, we were able to suppress the appearance of non-halo forming bacteria and make possible the stable production of miki.

**Key words** : ミキ, 乳酸菌, 16S リボソーム DNA, スターター

### 緒 言

ミキは奄美大島の伝統的な飲み物で、昔は家庭でも作られるなど奄美大島の人々に馴染みの深い飲み物である。ミキは、米・白糖・サツマイモのみで作られ、自然食品として注目されている。この飲料は甘く、仕込み後 2 日目ぐらいから発酵し酸味が出る。また、沖

縄にも分布が見られるが、奄美大島のそれとは若干製法や品質が異なると思われる。我々は実験室でミキを調製し、それを分析した結果について報告した<sup>1)</sup>。ミキ中のデンプンは生サツマイモ中の  $\beta$ -アミラーゼによって加水分解されマルトースを生成した。また、主要な酸は乳酸であったので、乳酸菌の関与が考えられた。

ミキの健康的だと考えられる要因は乳酸菌のプロバイオティック効果<sup>2)</sup>によると考えられるので、ミキ中の乳酸菌のマイクロフローラについて分析を行った。近年、菌の同定は16SリボゾームDNA解析によってなされることが多いので<sup>3,4)</sup>、我々もCaCO<sub>3</sub>培地で乳酸菌を分離後、16SリボゾームDNA解析によって菌の同定を行った。ここで得た結果は、実験室で調製したミキについてのものであるが、これは再現性を高めるために行ったものである。また、実験室法に近い方法で、商品としてのミキを調製する計画も立てている。現場のものとは大きく傾向を異にすると考えられるが、現場のミキに近づくための1ステップであると認識している。奄美大島で調製したミキも一部は取り入れた。

以前、乳酸菌は発酵乳や発酵肉<sup>5,6)</sup>等の動物性由来のものから分離されていたが、最近は韓国や日本の漬物から分離される事例<sup>7,8)</sup>も増えてきた。このような植物由来の乳酸菌は動物由来のものよりも健康によいとして注目されている。

ミキは馴染みの深い伝統飲料であるが、ミキのマイクロフローラを科学的に研究した事例はほとんど見られない。健康食が注目されている今、ミキについて科学的な研究を行っておくことには大きな意義があると考えられる。また将来、ミキの製造を合理的に管理する際にも、有効な情報となることが期待される。

## 実験方法

### 1. 原料

サツマイモはコガネセンガンを用いた。米については粳米の粉(上新粉)で代用したが、精米歩合は約93%である。これらの原料はいずれも鹿児島大学周辺の店舗で購入した。

### 2. ミキの仕込み

ミキの伝統的な製法については前報<sup>1)</sup>で報告したが、本方法は米を粉砕する等の煩雑なステップを踏む。そこで、再現性を高めるために、粳米の粉(上新粉)を原料とする方法に変更した。方法の概略をFig. 1に示した。なお、伝統的な製法ではショ糖を加えるが、これは飲み味をマイルドにするためのものである。本研究においてはこれを省略し、以下のデータは全てショ糖を使用しないものである。便宜的に仕込み当日の日数を0日目、以後24時間経過する毎に1~6日目とした。

### 3. 培地

乳酸菌の培養にはMRS培地<sup>9)</sup>を用いた。ナイシン試験用には802培地を用いた。培地1l中の組成は次の通りである。polypepton 10 g, yeast extract 2 g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 1 g。プレート作成用には上記培地に寒天1.5%を加えた。

### 4. 乳酸菌の分離

3日培養後のサンプルを0.85%食塩水を用いて適当な濃度に希釈し、その100 μlを0.5% CaCO<sub>3</sub>を含有

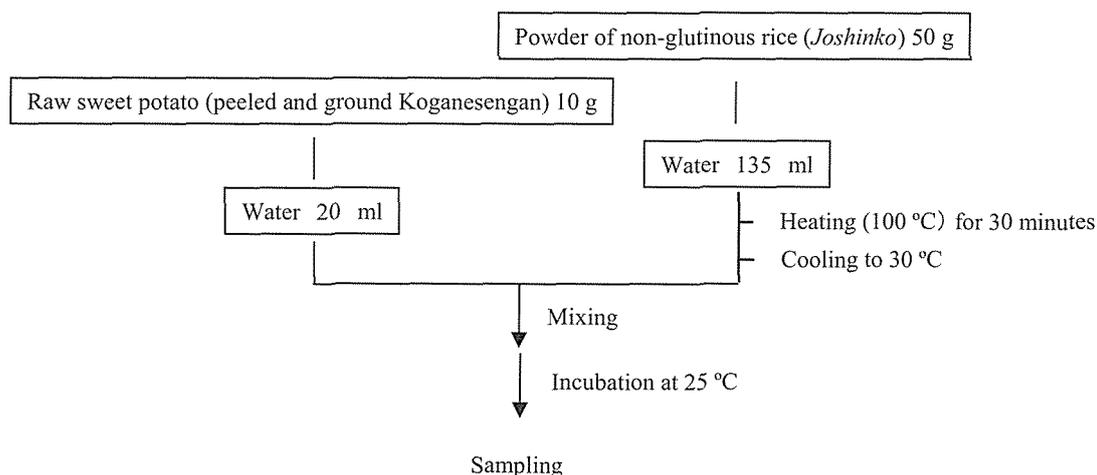


Fig. 1 Procedures for preparing miki (laboratory method).

する MRS + 寒天培地に塗布し、30℃・3日間培養後、ハローの形成がみられたコロニーを生酸菌として分離した。なお、奄美大島で調製したミキ及び市販のそれも、冷蔵庫で保存した以外は同様の方法で行っている。

#### 5. 標準菌株

乳酸菌の同定には、以下の菌株を標準菌株として用いた。*Lactobacillus brevis* NBRC 3345, *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* NBRC 3070, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* NBRC 3426, *Pediococcus pentosaceus* NBRC 3182, *Lactobacillus casei* NBRC 15883, *Lactobacillus sakei* NBRC 3541, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* NBRC 12007, *Leuconostoc citreum* NBRC 102476, and *Lactobacillus fermentum* NBRC 3071。ナイシン試験の感受性株としては、以下の菌株を用いた。*Bacillus cereus* NBRC 13494, *Bacillus subtilis* NBRC 3134 及び *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* NBRC 12732。菌株は NITE biological resource center (NBRC, Japan) から求めた。

#### 6. DNA の抽出

DNA 抽出は、文献<sup>10)</sup>を参考にしながら行った。

#### 7. プライマー

乳酸菌の同定に使用したプライマーは、27F 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' と 1492R 5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3'<sup>11)</sup> 及び Lac1-F 5'-AGCAGTAGGGAATCTTCCA-3', Lac3-F 5'-AGCAGTAGGGAATCTTCGG-3' と Lac2-R 5'-ATTY-CACCGCTACACATG-3'<sup>12)</sup> の組み合わせである。プライマーは文献<sup>11,12)</sup>に従って作成したが、若干の修正は加えてある。最初に 27F と 1492R の組み合わせで PCR を行ったが、この組み合わせで失敗した場合には、Lac1-F + Lac3-F (混合プライマー) と Lac2-R の組み合わせで PCR を行った。ナイシン試験用のプライマーとしては NSF 5'-TAGATACAATGATTTTCGTTC-3 と NSR 5'-AGCTCACTATTATGGT-3' を使用した<sup>13)</sup>。

#### 8. PCR 増幅

PCR 増幅には PTC-1148 MJ Mini Thermal Cycler (BIO-RAD, 東京) を使用した。10 pmol の各プライマー、2 mM MgCl<sub>2</sub>、0.2 mM 各 deoxyribonucleotide triphosphate、1.25 U の PrimeSTAR HS DNS Polymerase (タカラバイオ, 滋賀)、50 ng の染色体 DNA を含む 50 μl の反応液を用いて PCR を行った。PCR

の条件は、94℃・2分、98℃・10分、55℃・5秒、72℃・1.5分、step2 から step4 までを 29 回繰り返し、最後に、72℃・7分の反応を行った。PCR 反応物は Wizard SV Gel and PCR Clean-UP System (Promega, USA) で精製を行った。

#### 9. 塩基配列解析のための PCR

塩基配列解析のためのサンプル調製は BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit (ABI, USA) により、27F あるいは Lac2-R プライマーを用いて、PCR 法により行った。なお、ナイシン試験用には NSF をプライマーとして使用した。PCR の条件は、96℃・1分、96℃・10分、50℃・5分、60℃・4分、step2 から step4 までを 24 回繰り返し返した。

#### 10. 塩基配列の決定及び解析

塩基配列の決定は ABI Prism 310 DNA sequencer (ABI, USA) を用いて行い、塩基配列は GenBank データベースを用い BLAST 解析を行った<sup>14)</sup>。

#### 11. ナイシン試験

802 培地で 30℃・2日間振とう培養した、*Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* 及び *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* 溶液の培養液 100 μl を、10 ml の 802 + 寒天培地に添加し、802 プレートに重層した。次に上述のプレート上に置いたペーパーディスク (トーヨー紙会社, 東京) に 50 μl の乳酸菌培養液を添加し、30℃・2日間培養しハローの形成を観察した。同時に、PCR 法でナイシン遺伝子の有無を確認した。

#### 12. 乳酸菌スターターの培養

乳酸菌 (菌株 1, Table 1) を、サトウキビジュース (10% sucrose) を用いて 25℃・2日間培養し、20 ml を遠心分離後、滅菌水を 20 ml 加えて再懸濁し、スターター液とした。

### 実験結果及び考察

#### 1. ミキの調製

ミキを実験室で調製するとともに (Fig. 1), 奄美大島でも、現地のサツマイモを使い、同様の条件で調製した。なお、市販のミキも調達したが、これの製法は不明である。ただし、伝統製法に近い方法であると推察している。実験室で調製したミキの成分変化については既に報告したが<sup>1)</sup>、仕込みに伴い乳酸が増加するので、乳酸菌の関与を考えている。

## 2. ミキ中での菌の遷移

CaCO<sub>3</sub>培地上での、ハローを形成する菌とハローを形成しない菌の変化を Fig. 2 に示した。Fig. 2 には、ミキ中の pH の変化も併せ示した。なお、0 日目は流動性が全く無いので測定不可能であった。1 日目には、ハロー形成菌は観察されなかったが (<10<sup>3</sup>), 2 日目以降にはハロー形成菌が急速に増え、最終的には (6 日目) 4 × 10<sup>8</sup>/ml に達した。逆に、ハロー非形成菌は 1 日目には多量に存在したが (6 × 10<sup>8</sup>/ml), その数は急速に減少し、4 日目には観察されなくなった (<10<sup>3</sup>)。ハロー形成菌が増加するとともに、pH の値が急速に低下した。我々は菌の遷移が起こる原因として次の要因を考えている。増殖速度の違い (ハロー形成菌 < ハロー非形成菌), CO<sub>2</sub> の放出に伴う酸素濃度の減少, 乳酸の蓄積に伴う pH の低下, バクテリオシン (ナイシン) の蓄積などである。我々は、ハロー非形成菌は好気バクテリアであり酸を生産せず、ハロー形成バクテリアは乳酸を生産する菌と考えている。ハロー非形成菌コロニーの形や色は多様であるので、複数の微生物の関与を考えているが、詳細は不明である。

## 3. 乳酸菌の同定

実験室で調製したミキ中の乳酸菌の同定結果を Ta-

ble 1 に示した。なお、この表では No4 ~ No27 を省略して記してあるが、同定結果は 30 検体いずれも *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* であった。我々は、実験室法で調製したミキ中の乳酸菌は全て同じものに由来したので、このような結果が得られたものと考えている。そこで、奄美大島で調製したミキ、及び市販のミキ中の乳酸菌を調査し、結果を Table 2 と Table 3 に示した。なお、この場合には菌株の同定を各 6 回に限定した。

3 種類の乳酸菌が奄美大島で調製したミキ中に、2 種類の乳酸菌が市販のミキ中に検出された。なお、現地のミキ中の乳酸菌の広範な調査については、今後委ねることとしたい。

*Leuconostoc citreum* は韓国キムチ中の主要な乳酸菌として有名な菌である<sup>7)</sup>。我々はサトウキビジュースの生酸菌として酢酸菌 (*Gluconobacter frateurii*) を検出しているが、これは分離の条件がより好気的であったためと推察している。近年、植物由来の乳酸菌が動物由来の乳酸菌よりも健康によいとして注目されている<sup>15)</sup>。この主要な要因として、植物性乳酸菌の方が動物性由来のものに比べ、多様な種類の糖の利用、多様な濃度の糖の利用、悪い条件あるいは悪いバラン

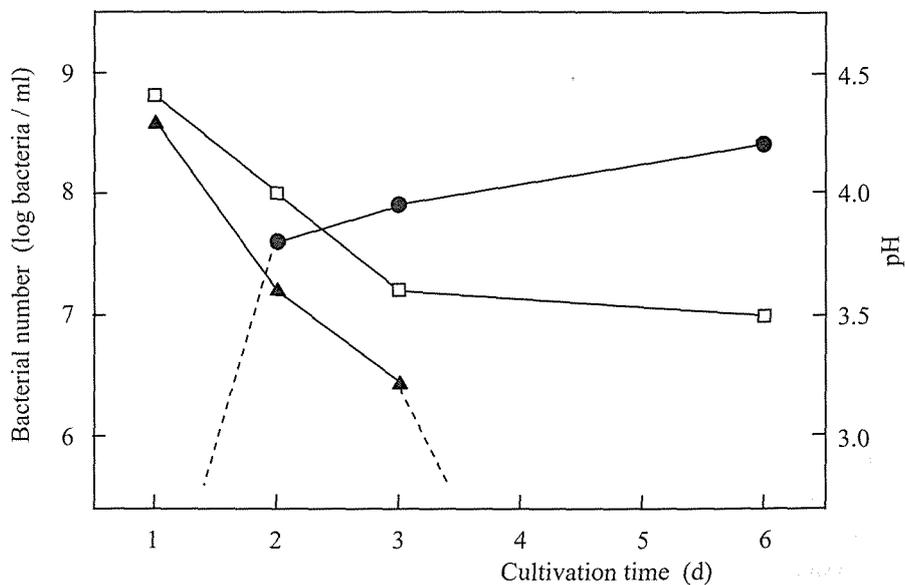


Fig. 2 Succession of bacteria and changes in pH of miki. Closed circle: halo forming bacteria; closed triangle: non-halo forming bacteria in CaCO<sub>3</sub> medium and open square: pH. Dashed line shows that the bacterial number was below 10<sup>3</sup>/ml at 1 day or 4 day of cultivation.

**Table 1** Identified lactic acid bacteria (LAB) in miki made in a laboratory.

No	Used primers for PCR	Used primer for sequencing	Identified LAB
1	27F-1492R	27F	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>
2	27F-1492R	27F	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>
3	27F-1492R	27F	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>
Data from No4 to No27 were omitted for the simplicity.			
28	27F-1492R	27F	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>
29	Lac1,3F-Lac2R	Lac2R	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>
30	Lac1,3F-Lac2R	Lac2R	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>

Identified LAB of all 30 samples was *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*.

**Table 2** Identified lactic acid bacteria in miki made in Amami Island.

No	Used primers for PCR	Used primer for sequencing	Identified LAB
1	27F-1492R	27F	<i>Leuconostoc citreum</i>
2	27F-1492R	27F	<i>Leuconostoc lactis</i>
3	27F-1492R	27F	<i>Leuconostoc lactis</i>
4	27F-1492R	27F	<i>Leuconostoc citreum</i>
5	27F-1492R	27F	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>
6	27F-1492R	27F	<i>Leuconostoc lactis</i>

**Table 3** Identified lactic acid bacteria in commercial miki.

No	Used primers for PCR	Used primer for sequencing	Identified LAB
1	27F-1492R	27F	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
2	27F-1492R	27F	<i>Leuconostoc citreum</i>
3	27F-1492R	27F	<i>Leuconostoc citreum</i>
4	27F-1492R	27F	<i>Leuconostoc citreum</i>
5	27F-1492R	27F	<i>Leuconostoc citreum</i>
6	27F-1492R	27F	<i>Leuconostoc citreum</i>

ス中での栄養素の利用、多様な微生物との共存、高い酸耐性、高い食塩耐性、等が挙げられている。我々は、ミキ由来の乳酸菌は植物性乳酸菌と推察する。

#### 4. ナイシン試験

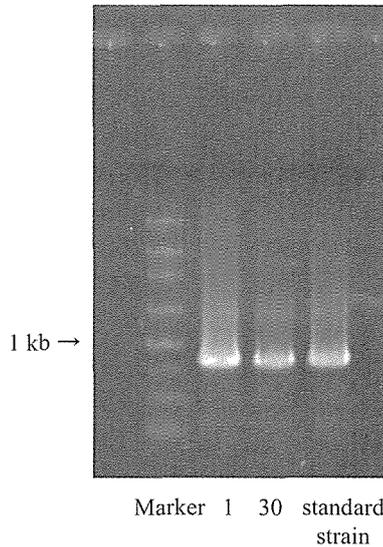
*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* はナイシン（バクテリオシンの1種）生産菌として知られている<sup>16,17)</sup>。そこで、ナイシン遺伝子の有無をPCR法で検索した。使用したサンプルは菌株1及び30（Table 1）とナイシン生産標準菌株（*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* NBRC 12007）である。この標準菌株はNBRCのオン

ラインカタログにおいても、ナイシン生産菌として記述されている。結果はFig. 3に示したが、いずれの菌株もナイシンを生産していることがわかった。

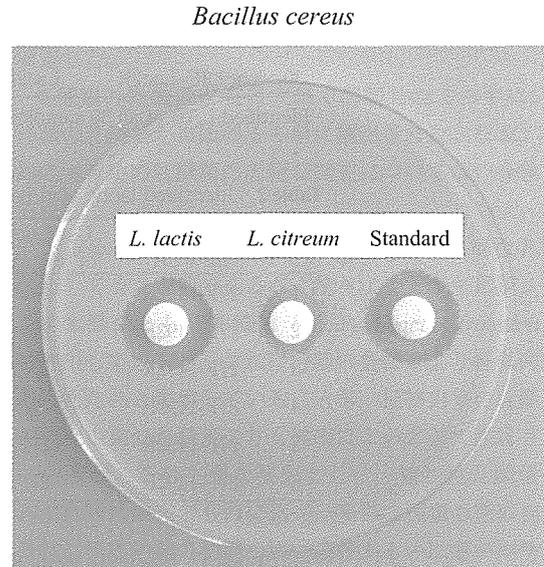
*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* の生産するナイシンの主要なものはナイシンAあるいはナイシンZであり<sup>18)</sup>、その差はわずかに、27番目のアミノ酸残基がナイシンAにおいてはHであり、ナイシンZにおいてはNであるだけである。そこで、PCR産物の塩基配列決定を行った。なお、3種共に塩基配列決定を行ったが、その結果はいずれも同じであったため、1種

ATGAGTACAAAAGATTTTAACTTGGATTGGTATCTGTTTCGAAGAAAGATTCAGGTGCATCACCACGCATTACAAGTATTTTCGCTA  
 M S T K D F N L D L V S V S K K D S G A S P R I T S I S L  
 TGTACACCCGGTTGTA AACAGGAGCTCTGATGGGTTGTAACATGAAACAGCAACTTGTTCATTGTAGTATTACGTAAGCAAATAA  
 C T P G C K T G A L M G C N M K T A T C H C S I H V S K \*

**Fig. 4** ORF and deduced amino acids of the PCR product in *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (No1 in Table 1). Underlining indicates gene codes of nisin A not nisin Z.



**Fig. 3** Photograph of gel for electrophoresis of PCR products. Samples 1 and 30 are lactic acid bacteria in laboratory miki (Table 1), and the standard strain is *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* NBRC 12007.



**Fig. 5** Halo formation. Halos of *B. cereus* formed with the production of bacteriocin by lactic acid bacteria are shown. *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (No1 in Table 1), *Leuconostoc citreum* (No1 in Table 2), and standard *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (NBRC 12007) were inoculated on the paper disc.

だけについて推定アミノ酸残基配列と共に Fig. 4 に示した。その結果、これら菌株のナイシンはナイシン A であることが分かった。塩基配列決定のデータにおいて、ナイシン B の部分配列も確認されるので、これらの遺伝子群はナイシン A 以外にも他のナイシン生成に関する遺伝子群 (B, C, T, I 等) を持っていると推定されるが<sup>16)</sup>、詳細は不明である。

次に、バクテリオシンの生産を文献<sup>19)</sup>を参考にしながら、感受性株の阻止円形成により確認し、結果を Fig. 5 に示した。この図において乳酸菌としては、ミキ中に見出された *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (No1 in Table 1) 及び *Leuconostoc citreum* (No1 in Table 2)、そしてナイシン生産の標準菌として *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (NBRC 1200) をペーパー

ディスク上に植菌した。なお、*Leuconostoc citreum* (negative control) の周辺にも阻止円のようなものが観察されたが、これは大量に *Leuconostoc citreum* を植菌したために栄養分が吸収され形成されたものと推定している。*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (2 種) の阻止円とはその面積が明らかに異なる。

*Leuconostoc citreum* が阻止円を形成しないのに対し、ミキ中の *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 及び標準菌株 (positive control) は明瞭な阻止円をペーパーディスクの周辺に形成した。この結果はミキ中の *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* はバクテリオシンを生産することを示している。この図においては、感受性

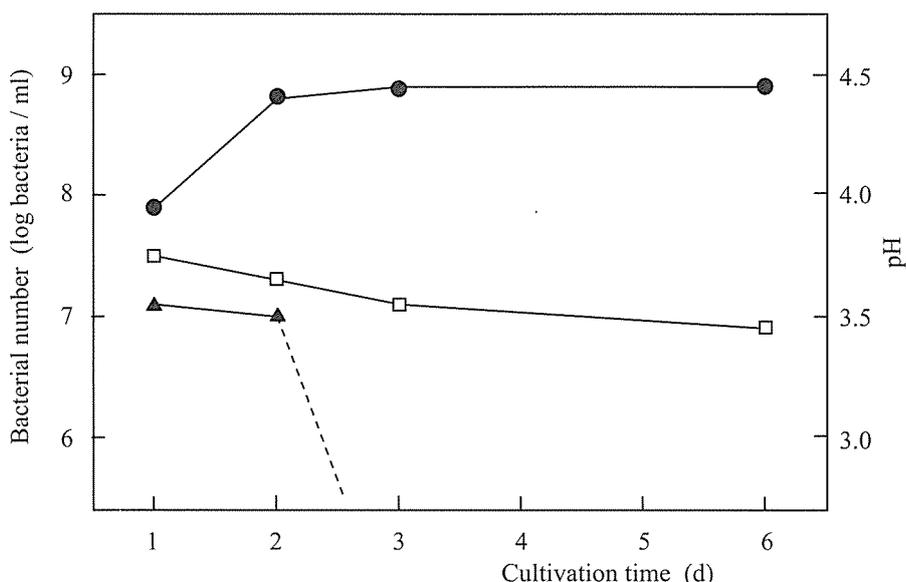


Fig. 6 Succession of bacteria and changes in pH in miki used a starter. Symbols are the same as in Fig. 2.

株として *Bacillus cereus* を用いたものだけを示したが、他の2株 (*Bacillus subtilis* と *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*) については同様の結果が得られたので割愛した。

#### 5. ミキ生産におけるスターターの調製

ミキ調製の初期においては、多量の好気性菌が観察されるが、4日目以降においては消失する。しかし、初期においても好気性菌が観察されることは、次のような種々の恐れが心配される。①健康に対する悪いイメージ②ミキ調製の不安定さ③ミキの品質への悪影響などである。これらのことは、スターターを調製すれば効率的に低減されることが報告されている<sup>20)</sup>。従って、乳酸菌スターターの調製を試みた。方法は「実験方法」の項に記した通りであるが、Fig. 1の水20 mlを乳酸菌入り水に変えたのみである。CaCO<sub>3</sub>培地上での、ハローを形成する菌とハローを形成しない菌の変化、及びミキ中のpHの変化をFig. 6に示した。Fig. 2と比較すればよくわかるが、初期のハロー非形成菌の割合が劇的に減少し、pHの値が初期から下がっていた。これは、スターター中に存在する乳酸菌の効果と思われる。今回はサトウキビジュースを前培養の培地として使用したが、これは奄美大島で比較的容易に手に入るという理由で選択したものである。容易に手に入るものであれば、他の物で代替しても構わな

い。また、今回は培地を捨て乳酸菌の菌体のみを利用したが、培地も利用すれば乳酸菌の生産物（バクテリオシン及び乳酸等）の利用も可能となり、効果がより初期から現れると思われる。我々は、スターターの利用はミキ調製において最適方法と確信している。

#### 要 約

実験室（鹿児島大学）及び奄美大島でミキを調製し、並びに市販のミキを購入した。それらのミキ中の乳酸菌を16SリボソームDNA解析により同定した。実験室で調製したミキ中の乳酸菌を30種同定したが、全て *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* と同定された。しかし、奄美大島で調製したミキ中の乳酸菌（6種を同定）は実験室由来のものとは異なり、*Leuconostoc lactis* (3/6)、*Leuconostoc citreum* (2/6) 及び *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (1/6) であった。また、市販のミキ中の乳酸菌（6種を同定）は *Leuconostoc citreum* (5/6) 及び *Leuconostoc mesenteroides* (1/6) であった。これらの結果は、ミキ中の乳酸菌は原料サツマイモや環境の違いによって異なることを示しているが、詳細な調査は今後の課題である。*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* はナイシンの生産菌として知られているが、ミキ中の *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* もナイシンを生産した。ミキ中のバクテリアには乳酸

菌の他に好気性菌も存在するが、ミキ培養の後半には好気性菌（CaCO<sub>3</sub>プレート上でのハロー非形成菌）の存在はなくなり、乳酸菌3（ハロー形成菌）だけでフローラを形成した。乳酸菌のスターターを使用することにより、ミキ初期の好気性菌の存在を大幅に低減した。スターターの使用は、ミキを安定的に製造する上で重要であると判断した。

#### 文 献

- 1) 久留ひろみ, 吉崎由美子, 玉置尚徳, 和田浩二, 伊藤清, 醸協, **105**, 167-174 (2010)
- 2) S.M. Lim, D.S. Im; *J. Microbiol. Biotechnol.*, **19**, 178-186 (2009)
- 3) S. Ennahar, Y. Cai, Y. Fujita; *Appl. Environ. Microbiol.*, **68**, 444-4451 (2003)
- 4) J.L. Balcázar, I. de Blas, I. Ruiz-Zarzuela, D. Vendrell, O. Gironés, J.L. Muzquiz; *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, **30**, 111-118 (2007)
- 5) M. Kahala, M. Mäki, A. Lehtovaara, J.M. Tapanainen, R. Katiska, M. Juuruskorpi, J. Juhola, V. Joutsjoki; *J. Appl. Microbiol.*, **105**, 1929-1938 (2008)
- 6) L. Aquilanti, S. Santarelli, G. Silvestri, A. Osimani, A. Petruzzelli, F. Clementi; *Int. J. Food Microbiol.*, **120**, 136-145 (2007)
- 7) K.M. Cho, R.K. Math, S.M. Islam, W.J. Lim, S.Y. Hong, J.M. Kim, M.G. Yun, J.J. Cho, H.D. Yun; *Mol. Cell. Probes.*, **23**, 90-94 (2008)
- 8) A. Endo, H. Mizuno, S. Okada; *Lett. Appl. Microbiol.*, **47**, 221-226 (2008)
- 9) 乳酸菌研究集団会：乳酸菌の科学と技術, 学会出版センター (1996)
- 10) R.J. Schmidt, M.G. Emara, L.Jr. Kung; *J. Appl. Microbiol.*, **105**, 920-929 (2008)
- 11) M. Kim, J. Chun; *Int. J. Food Microbiol.*, **103**, 91-96 (2005)
- 12) A. Endo, S. Okada; *J. Biosci Bioeng.*, **99**, 216-221 (2005)
- 13) S.H. Park, K. Itoh, E. Kikuchi, H. Niwa, T. Fujisawa; *Curr. Microbiol.*, **46**, 385-388 (2003)
- 14) S.F. Altschul, W. Gish, W. Miller, E.W. Myers, D.J. Lipman; *J. Mol. Biol.*, **215**, 403-410 (1990)
- 15) T. Yakabe, E.L. Moore, S. Yokota, H. Sui, Y. Nobuta, M. Fukao, H. Palmer, N. Yajima; *Food Chem. Toxicol.*, **47**, 2450-2453 (2009)
- 16) O.P. Kuipers, M.M. Beerthuyzen, R.J. Siezen, W.M. De Vos; *Eur. J. Biochem.*, **216**, 281-291 (1993)
- 17) O.P. Kuipers, M.M. Beerthuyzen, P.G. de Ruyte, E.J. Luesink, W.M. de Vos; *J. Biol. Chem.*, **270**, 27299-27304 (1995)
- 18) L.C. Lay, B. Akerey, I. Fliss, M. Subirade, M. Rouabhia; *J. Appl. Microbiol.*, **105**, 1630-1639 (2008)
- 19) O. Akçelik, C. Tükel, G. Ozcengiz, M. Akçelik; *Mol. Nutr. Food Res.*, **50**, 306-313 (2006)
- 20) I.K. Choi, S.H. Jung, B.J. Kim, S.Y. Park, J. Kim, H.U. Han; *Antonie Van Leeuwenhoek*, **84**, 247-253 (2003)