発酵漬物中の各種乳酸菌群の選択計数

宮 尾 茂 雄*・小 川 敏 男**

Selective Media for Enumerating Lactic Acid Bacteria Groups
from Fermented Pickles

Shigeo MIYAO* and Toshio OGAWA**

* Tokyo Metropolitan Agricultural Experiment Station, 3-8-1,
Fujimi-cho, Tachikawa-shi, Tokyo 190** Ogawa Pickles Laboratory, 1-13-8, Asahigaoka,
Hino-shi, Tokyo 191

For enumerating the groups of lactic acid bacteria in fermented pickles, selective effects of PES (Phenyl Ethyl Alcohol-Sucrose Agar), M-Enterococcus and M-LBS media were studied by the use of bacteria closely related to fermented pickles. It was suitable for enumeration of leuconostocs to incubate for 3 or 4 days at 20°C using the PES medium containing sucrose and phenyl ethyl alcohol due to the production of dextran and the inhibition of Gram-negative bacteria. The commercially available M-Enterococcus agar medium was applicable to enumerate streptococci and pediococci by incubation for 3 or 4 days at 37°C. It was suitable for enumeration of lactobacilli to incubate for 4 days at 30°C using the M-LBS medium modified by addition of acetic acid and sodium acetate to the commercially available LBS medium. Effectiveness of the enumerating media described here was confirmed by applying to examine the changes of microflora during the fermentation of cabbage.

(Received Oct. 27, 1987)

発酵漬物の製造に関与する乳酸菌については、わが国ではぬか漬¹⁾²⁾、すぐき漬³⁾、すんき漬^{4)~6)}、かぶ漬⁷⁾、国外ではサワークラウト⁸⁾⁹⁾、発酵ピクルス¹⁰⁾¹¹⁾、キムチ¹²⁾、フィリピンの発酵野菜¹³⁾などを対象にした報告があり、発酵漬物の各発酵段階におけるマイクロフローラの優勢菌群は、開始時にはグラム陰性細菌であるが、発酵経過にしたがい、球状乳酸菌の *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, つぎに桿状乳酸菌の *Lactobacillus* となるのが一般的である。そして、これらの乳酸菌の挙動が発酵漬物の風味や品質に大きな影響をおよぼすことが知られている。したがって、発酵漬物の乳酸菌群の質的、量的な変化を調べることが必要であるが、一般的には代表菌株を釣菌し、それらを同定することによっているため、作業はかなり繁雑となること

が多い。

乳酸菌の分離計数に関する報告は数あるが、ほとんどの場合は乳製品を対象としたもので漬物を対象としたものは伊藤ら¹⁴⁾によるものの他はあまりない。そこで、発酵漬物に関連の深い乳酸菌群を数種類の培地を用いて分離計数する方法について検討を加えた。

球状乳酸菌のなかでも主要な菌である *Leuconostoc* の分離計数培地に関しては、 α -ブロムプロピオン酸¹⁵⁾、アジ化ナトリウム¹⁶⁾、テトラサイクリン¹⁷⁾などを添加し、他の細菌の増殖抑制を利用したものがある。しかし、漬物を対象に実際に応用してみた場合、混在する他の乳酸菌の増殖がかなり認められたり、操作が繁雑なものもあり、発酵漬物中に出現する *Leuconostoc* を分離計数することが困難であることが知られた。

* 東京都農業試験場 (〒 190 東京都立川市富士見町 3-8-1)

** 小川漬物研究所 (〒 191 東京都日野市旭が丘 1-13-8)

そこで著者らは、発酵漬物に出現する *Leuconostoc* の多くのものがしゅ糖を利用し、多量のデキストランを生成することに注目し、簡易に *Leuconostoc* の分離計数を可能とする培地について検討を加えた。また、*Streptococcus*, *Pediococcus* および *Lactobacillus* に関してはそれらの計数に適した分離培地の選択および一部のものについては培地の改良を行った上で実際の発酵漬物に応用し、その有効性を調べ、若干の知見を得たので報告する。

実験方法

1. 使用菌株

実験に使用した菌株の多く (20 株) は、漬物原料野菜および発酵漬物より当研究室において分離同定した保存株であるが、乳酸菌に対する分離計数の効果を調べる際には 8 株の標準菌株 (*Leuconostoc mesenteroides* ATCC 9135, ならびに IFO 12060, *Streptococcus faecalis* ATCC 10100, *Streptococcus faecium* ATCC 14436, *Pediococcus acidilactici* IFO 3888, *Pediococcus pentosaceus* IFO 3892, *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014, *Lactobacillus brevis* ATCC 3345) を使用した。供試菌株の前培養は、培地として次の組成のもの (トリプチケースペプトン 5 g, 酵母エキス 2.5 g, ぶどう糖 1 g/蒸留水 1 l) を用い、25~30℃ で 1~2 日間培養した。

2. 培養温度特性

乳酸菌の培養温度特性を調べる際は、培地としては前培養に用いたものを使用し、一夜培養菌を培地 10 ml に対し、0.1 ml 接種し温度帯を 10℃ から 50℃ の間に 12 段階として調整した温度勾配培養装置を用いて、L 字培養管で軽く振とうしながら 5 時間培養した。そして、増殖の程度は培養後、分光光度計にて 660 nm の吸光度をそれぞれ測定することによって得た。なお、比較の際は、最適増殖温度における吸光度を 1.0 とした場合の各培養温度における吸光度との比で表した。

3. 分離計数培地

Leuconostoc の分離計数の実験に用いた培地組成は、Table 1 にしめすとおりである。すなわち、デキストランの生成を促すために糖源としてしゅ糖を添加するとともに発酵初期に多く出現するグラム陰性菌の増殖を抑制する目的でフェニルエチルアルコールを 0.25% 添加したものを調製し、本培地をフェニルエチルアルコールシュクロース培地 (以下 PES 培地とする。) とした。培養は表面塗抹法により 20℃ で 5 日間まで行い、コロ

Table 1 Composition of selective medium for enumerating leuconostocs from fermented pickles

PES Medium (Phenyl ethyl alcohol-sucrose agar medium)	
Tripticase peptone	5.0 g
Yeast extract	0.5 g
Sucrose	20.0 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	2.0 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.244 g
KH ₂ PO ₄	1.0 g
Agar	15.0 g
Phenylethyl alcohol	2.5 g
Water	1 000 ml

ニー形成の有無を調べた。なお、嫌気培養を行う場合は、ガスバック法によった。

Streptococcus および *Pediococcus* の分離計数は腸球菌の計数用として開発された M-Enterococcus Agar (BBL) を用い、37℃ で 4 日間培養することによって行った。

Lactobacillus の分離計数は LBS 培地を用いて行ったが、そのままでは *Pediococcus* の増殖がみられ分別が困難であったため、本培地の組成を一部改変した改変 LBS 培地 (Table 5 で示す M4 培地、以後 M-LBS 培地とする。) を用い、30℃ で 3 日間培養することによって行った。

発酵漬物のマイクロローラを調べる際は漬液を検液とし、乳酸菌に関しては上記培地を用いたが、グラム陽性菌は 0.25% フェニルエチルアルコール加標準寒天で 30℃、48 時間、グラム陰性菌は CVT 寒天 (日水製薬) で 30℃、48 時間、大腸菌群はデソキシコーレート培地で 35℃、24 時間、真菌はクロラムフェニコール加ポテトデキストロース培地で 25℃、5 日間培養し、計数した。

4. 分離計数培地から分離した菌株の同定

発酵漬物を対象に PES, M-Enterococcus および M-LBS 培地の三種類の分離計数培地を使用し、それぞれの培地に生育のみられたコロニーを無作為に約 50 株ずつ釣菌し、菌株の形状、芽胞の有無、運動性、好氣的発育性、嫌氣的発育性、カタラーゼ、オキシダーゼ、OF 試験、ぶどう糖からのガス生成、しゅ糖培地におけるデキストランの生成、60℃ 30 分加熱後の生育、pH 9.6 での生育、各炭水化物からの酸生成などの諸性状をもとに BERGEY's Manual¹⁸⁾ および GIBBS¹⁹⁾ らの成書を参考

Fig. 1 Effects of temperature on the growth of lactic acid bacteria

- × *Leuconostoc mesenteroides* IFO 12060
- *Streptococcus faecium* ATCC 14436
- ▲ *Pediococcus acidilactici* IFO 3888
- *Lactobacillus brevis* ATCC 3345
- *Streptococcus faecalis* ATCC 10100
- △ *Pediococcus pentosaceus* IFO 3892
- *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014

にした上で属レベルでの同定を行った。

5. 試料

発酵漬物の調製は、キャベツを原料とし、水道水で洗浄した後、野菜スライサーで短冊状に細刻したものに食塩濃度が3%となるように食塩を添加し、5, 15, 30°Cで発酵を行った。

実験結果および考察

1. 各乳酸菌の培養温度特性

発酵漬物は開始時には主に原料野菜に由来するグラム陰性菌の増殖がみられるが、発酵の進行につれ、早期に乳酸菌が混在する状態になるのが通常である。

そこで、漬物に出現することの多い乳酸菌を対象に培養温度特性を調べたものが Fig. 1 である。 *Leuc. mesenteroides* は 10~25°C の比較的低温な状態でも他の乳酸菌と比較して生育は良好で、増殖最適温度は 30°C 付近であった。これに対し、それ以外の乳酸菌では桿状乳酸菌の *L. plantarum* および *L. brevis* は低温下でやや生育が弱く、球状乳酸菌の *S. faecalis*, *S. faecium* および *P. pentosaceus*, *P. acidilactici* は

Table 2 Comparison of selective effect of PES agar

Strains		Days				
		1	2	3	4	5
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	L-11	*	+	+	+	+
<i>Streptococcus faecalis</i>	ML-8	*	*	*	*	*
<i>Streptococcus faecium</i>	ML-12	—	*	*	*	*
<i>Streptococcus lactis</i>	ML-20	—	*	*	*	*
<i>Pediococcus pentosaceus</i>	ML-4	—	*	*	*	*
<i>Pediococcus acidilactici</i>	ML-5	—	—	—	*	*
<i>Pediococcus halophilus</i>	ML-16	—	—	—	—	—
<i>Pediococcus cerevisiae</i>	ML-18	—	*	*	*	*
<i>Lactobacillus plantarum</i>	L-4	—	*	*	*	*
<i>Lactobacillus brevis</i>	L-13	—	—	*	*	*
<i>Propionibacterium</i> sp.	M-11	—	—	—	—	—
<i>Bacillus subtilis</i>	B-7	*	+	+	+	+
<i>Micrococcus luteus</i>	M-3	—	—	—	—	—
<i>Escherichia coli</i>	E-1	—	—	—	—	—
<i>Enterobacter aerogenes</i>	E-6	—	—	—	—	—
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	E-8	—	—	—	—	—
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	P-24	—	—	—	—	—
<i>Arthrobacter</i> sp.	M-19	—	*	*	*	*
<i>Flavobacterium</i> sp.	F-4	—	—	—	—	—
<i>Erwinia carotovora</i>	E-7	—	—	—	—	—

+: growth, *: pinpoint growth, -: no growth

かなり弱かった。そして、それらのいずれもが最適温度は35~40℃と高かった。

したがって、以上の結果から増殖の差を考慮し、培養温度を *Leuconostoc* は20℃, *Lactobacillus* は30℃, *Streptococcus*, *Pediococcus* は37℃にすることとした。

2. 各種細菌の PES 培地における増殖

漬物に比較的關係の深い20種の細菌を対象とし、それぞれの培養菌液を適度に希釈したものを PES 培地に表面塗抹し、20℃で5日間培養を行い、その間における増殖の様子を調べた結果が Table 2 である。

グラム陰性菌のいずれもが増殖を抑制され、*Leuc. mesenteroides* 以外の乳酸菌は生育はするものの、いずれもピンポイントコロニーにとどまっていた。一方、*Leuc. mesenteroides* は2日目以降、肉眼的に計数が

可能な大きくなり、特徴ある半透明でムコイド状のコロニーを形成した。なお、グラム陽性菌では *Bacillus subtilis* がやや不透明なムコイド状のコロニーを形成したが、*Leuc. mesenteroides* が通性嫌気性菌であることから PES 培地を嫌気培養することによって防止することが可能であった。したがって、*Bacillus* の汚染が高い試料で発酵開始時のような場合には、PES 培地に試料を表面塗抹後、嫌気培養することが必要である。

3. 各種乳酸菌の PES 培地における増殖

つぎに、漬物に關係の深い7種の乳酸菌の標準菌株および当研究室保存株を対象とし、それぞれの培養菌液を PES 培地および標準寒天培地に表面塗抹し、20℃で4日間培養した。そして、経時的に PES 培地のコロニー数を計数し、標準寒天培地におけるコロニー数と比較したものが Table 3 である。

Table 3 Viable cell counts of lactic acid bacteria on PES and platecount agar

Strains		colony counts ($\times 10^8$)			PCA counts
		2 days	3 days	4 days	
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	ATCC 9135	2.8	2.8	2.8	2.6
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	IFO 12060	1.2	1.2	1.2	1.3
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	L-11	*	2.4	2.4	2.6
<i>Streptococcus faecalis</i>	ATCC 10100	*	*	*	1.6
<i>Streptococcus faecium</i>	ATCC 14436	*	*	*	1.8
<i>Pediococcus acidilactici</i>	IFO 3888	—	—	—	2.1
<i>Pediococcus pentosaceus</i>	IFO 3892	*	*	*	5.4
<i>Lactobacillus plantarum</i>	ATCC 8014	—	*	*	5.1
<i>Lactobacillus brevis</i>	ATCC 3345	—	*	*	3.0

+: growth, *: pinpoint growth, -: no growth, PCA: plate count agar

Table 4 Viable cell counts of lactic acid bacteria on M-Enterococcus and plate count agar

Strains		colony counts ($\times 10^8$)			PCA counts
		2 days	3 days	4 days	
<i>Streptococcus faecalis</i>	ATCC 10100	4.2 r	4.2 r	4.2 r	4.3
<i>Streptococcus faecalis</i>	ML-8	1.5 r	1.5 r	1.5 r	1.5
<i>Streptococcus faecium</i>	ATCC 14436	7.6 r	8.0 r	8.0 r	8.0
<i>Streptococcus faecium</i>	ML-12	3.4 r	3.4 r	3.4 r	3.6
<i>Pediococcus pentosaceus</i>	IFO 3892	1.0 w	1.1 w	1.1 w	1.2
<i>Pediococcus pentosaceus</i>	ML-4	1.2 w	1.3 w	1.3 w	1.2
<i>Pediococcus acidilactici</i>	ML-5	*	1.0 w	1.1 w	1.2
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	ATCC 9135	—	—	—	2.5
<i>Lactobacillus plantarum</i>	ATCC 8014	—	—	—	1.1
<i>Lactobacillus brevis</i>	ATCC 3345	—	—	—	3.8

*: pinpoint growth, -: no growth, r: red colony, w: white colony PCA: plate count agar

S. faecalis, *S. faecium*, *P. pentosaceus*, *L. plantarum*, *L. brevis* はピンポイントコロニーにとどまり, *P. acidilactici* は生育がみられなかったが, *Leuc. mesenteroides* はいずれの菌株も 3 日目以降は計数可能な状態に増殖し, 菌数も標準寒天培地の場合とあまり変わりがなかった。

4. 各種乳酸菌の M-Enterococcus 培地における増殖

M-Enterococcus 培地は汚水や糞便中の腸球菌の計数培地として SLANETZ ら²⁰⁾が開発したものであるが, 本培地が *Streptococcus* および *Pediococcus* の選択計数培地として応用可能かどうかについて検討を加えた。

Table 4 は各乳酸菌の培養菌液を M-Enterococcus 培地および標準寒天培地に表面塗抹し, 37°C で 4 日間培養しその間における M-Enterococcus 培地でのコロニー数を計数し, 標準寒天培地におけるコロニー数と比較したものである。

Leuc. mesenteroides, *L. plantarum*, *L. brevis* はいずれも増殖が抑制されたが *Streptococcus* はトリフェニルテトラゾリウムクロライドの還元による赤色コ

ロニーを形成し, *Pediococcus* は白色のコロニーを形成した。計数の結果, 菌数も標準寒天培地の場合とあまり変わりがなく, M-Enterococcus 培地は *Streptococcus* および *Pediococcus* の選択計数に応用可能と考えられた。

5. LBS 培地の改変および各種乳酸菌の M-LBS 培地における増殖

LBS 培地は牧草飼料²¹⁾や乳製品中に存在する乳酸菌の選択培地として利用された例はあるが, 漬物を対象にしたものについてはあまり見当たらないので LBS 培地を用い, 培養温度 30°C で 4 日間培養し, *Lactobacillus* に対する選択性について調べ, Table 5 の結果を得た。

市販の LBS 培地をそのまま使用すると *Pediococcus* の増殖が認められ, *Lactobacillus* との判別が困難であったので本培地の改変を試み, 酢酸および酢酸ナトリウムの添加量を変えてみたところ, 培地 1000 ml に対し酢酸を 2.5 ml, 酢酸ナトリウムを 35 g とすることによって *Pediococcus* の増殖をピンポイントコロニー以下にとどめることができた。しかし, 酢酸を 3.7 ml, 酢酸ナトリウムを 40 g とした場合は *Lactobacillus*

Table 5 Effects of acetic acid and sodium acetate in the LBS agar on the number of lactic acid bacteria incubated at 30°C for 3 days

Strains		colony counts on each medium**($\times 10^6$)					PCA counts
		M1	M2	M3	M4	M5	
<i>Lactobacillus plantarum</i>	ATCC 8014	4.1	4.2	4.1	4.2	*	4.3
<i>Lactobacillus plantarum</i>	IFO 3074	1.3	1.2	1.4	1.4	*	1.4
<i>Lactobacillus plantarum</i>	L-4	1.7	1.5	1.5	1.6	*	1.5
<i>Lactobacillus brevis</i>	ATCC 3345	1.3	1.3	1.3	1.4	*	1.3
<i>Lactobacillus brevis</i>	L-13	3.2	3.2	3.3	3.1	*	3.3
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	ATCC 9135	—	—	—	—	—	3.4
<i>Streptococcus faecalis</i>	ATCC 10100	—	—	—	—	—	4.1
<i>Streptococcus faecium</i>	ATCC 14436	—	—	—	—	—	2.8
<i>Pediococcus acidilactici</i>	IFO 3888	1.2	1.3	*	*	*	1.3
<i>Pediococcus pentosaceus</i>	IFO 3892	3.7	4.1	*	*	*	4.0

* : pinpoint growth PCA : plate count agar

** : the quantities of acetic acid and sodium acetate per 1000 ml in the modified LBS medium

Medium	Acetic acid(ml)	Sodium acetate(g)
M1	0	25
M2	1.32	25
M3	1.9	30
M4	2.5	35
M5	3.7	40

Table 6 Isolated bacteria from PES, M-Enterococcus and M-LBS medium

Media	<i>Leuconostoc</i>	<i>Streptococcus</i>	Isolated bacteria		Others
			<i>Pediococcus</i>	<i>Lactobacillus</i>	
PES	48	0	0	0	0
M-Enterococcus					
Red colony	0	26	3	0	1
White colony	0	0	28	0	0
M-LBS	0	0	2	43	0

もピンポイントコロニーとなった。

なお、各乳酸菌の培養菌液を改変培地 (M-LBS 培地) および標準寒天培地に表面塗抹し、30℃で4日間培養し、その間におけるコロニー数の変化を調べたところ、*Streptococcus* および *Leuconostoc* は増殖が抑制され、4日後においてもコロニーの形成は見られず、また、*Pediococcus* は3日目以降コロニーの形成が見られたが、ピンポイントコロニーにとどまった。一方、*Lactobacillus* は3日目からコロニーを形成し、4日目には標準寒天培地における菌数とほぼ同様の菌数となったことから、*Lactobacillus* の選択計数には M-LBS 培地が有用と考えられた。

6. 各分離計数培地からの分離細菌

発酵漬物を対象に、PES、M-Enterococcus および M-LBS 培地を用いて選択分離を行い、PES 培地ではムコイド状のコロニー、M-Enterococcus 培地からはピンポイントコロニーを除いた赤色および白色コロニー、

Fig. 2 Changes in microflora during the fermentation of cabbage at 30°C

- Gram positives
- Gram negatives
- △ *Leuconostoc*
- ▽ *Streptococcus*
- ▼ *Pediococcus*
- ▲ *Lactobacillus*
- Coliforms
- Yeasts

Fig. 3 Changes in microflora during the fermentation of cabbage at 15°C

- Gram positives
- Gram negatives
- △ *Leuconostoc*
- ▼ *Pediococcus*
- ▲ *Lactobacillus*
- Coliforms
- Yeasts

Fig. 4 Changes in microflora during the fermentation of cabbage at 5°C

- Gram positives
- Gram negatives
- △ *Leuconostoc*
- ▲ *Lactobacillus*
- Coliforms
- Yeasts

M-LBS 培地からはピンポイントコロニーを除いたものから無作為に釣菌した約 150 株の菌株の同定を行ったところ Table 6 に示すように PES 培地より分離した細菌の全てが *Leuconostoc* であった。M-Enterococcus 培地より分離したものでは *Streptococcus* および *Pediococcus* に計数されるもののなかに一部混在がみられ、また、M-LBS 培地より分離したものではほとんどが *Lactobacillus* で、一部 *Pediococcus* の混在がみられたものの概ね良好な結果であった。

7. 発酵漬物における各乳酸菌群の計数

三種類の選択培地を使用した各乳酸菌群の選択計数が実際の発酵漬物に対して応用可能かどうかをみる目的から、キャベツを原料野菜に 5, 15, 30℃ で発酵を行い、それぞれの発酵経過における各乳酸菌群の菌数変化について調べた結果を Fig. 2, Fig. 3, Fig. 4 に示した。その際、同時にグラム陽性菌数、グラム陰性菌数、大腸菌群数、酵母数についても調べ、比較検討した。

30℃ で発酵させた場合は大腸菌群およびそれを含むグラム陰性菌は 1 日後に 10^6 /ml に達した後、pH の低下に伴い減少し、4 日目には死滅した。*Leuconostoc* は開始時には 10^2 /ml 以下であったが、発酵の進行にしたがって急速に増加し、3 日目には 10^8 /ml に達した。*Streptococcus* は 2 日目に、*Pediococcus* は 4 日目に 10^6 /ml のピークに達した。しかし、引き続き *Lactobacillus* の増殖によって、漬け液の pH が 3.8 以下になる頃から球状乳酸菌は減少し始め、*Streptococcus* は 6 日目、*Leuconostoc* および *Pediococcus* は 8 日目には死滅し、代わって酵母が増殖した。

球状乳酸菌の挙動をみると、低温で発酵させた場合は *Streptococcus* と *Pediococcus* の増殖が弱くなり、*Leuconostoc* が活発に増殖する様子がみられた。特に、5℃ の場合、20 日目には 10^8 /ml 近辺に達し、60 日目には 10^7 /ml とやや減少するものの 30℃ の場合と異なり死滅することなくかなりの菌数に残り、*Lactobacillus* および酵母と共存している状態が知られた。

以上の結果から、実際の発酵漬物においても三種類の選択計数培地を使用することによって、各乳酸菌群の生菌数を簡易に計数することが可能であり、発酵漬物におけるマイクロフローラと漬物の品質との関係を解析する上で有効的な手段と考えられた。

要 約

発酵漬物中の各乳酸菌群を簡易に選択計数するための培地として PES 培地を考案するとともに M-Enterococcus

coccus および M-LBS 培地の選択効果について発酵漬物に関連の深い細菌を対象に検討を加えた。また、実際の発酵漬物を対象に、各乳酸菌群の挙動を以上の三種類の選択計数培地を用いた場合の有用性について検討を加え、以下の結果を得た。

(1) *Leuconostoc* の選択計数は *Leuconostoc* のデキストラン生成およびグラム陰性菌の増殖阻止を考慮し、しょ糖とフェニルエチルアルコールを添加した PES 培地を用い、20℃、3～4 日間培養するのが適切であった。

(2) *Streptococcus*, *Pediococcus* の選択計数は M-Enterococcus 培地を用い、37℃、3～4 日間培養するのが適切であった。

(3) *Lactobacillus* の選択計数は市販の LBS 培地に酢酸および酢酸ナトリウムを添加した M-LBS 培地を用い、30℃、4 日間培養するのが適切であった。

(4) キャベツを原料とした発酵漬物を調製し、発酵経過におけるマイクロフローラの変遷を PES, M-Enterococcus, M-LBS 培地を使用して調べたところ有効な結果を得ることができた。

文 献

- 1) 今井正武・平野 進・饗場美恵子：農化，57，1105 (1983)。
- 2) 今井正武・後藤昭二：農化，58，545 (1984)。
- 3) 中浜敏雄：「乳酸菌の研究」(北原覚雄編)，東京大学出版会，p. 507 (1966)。
- 4) 中山大樹・小池弘子：醸酵工学，43，157 (1965)。
- 5) 中山大樹・小池弘子：醸酵工学，43，799 (1965)。
- 6) 板橋雅子・清都正子・宮尾茂雄：34，439 (1987)。
- 7) 宮尾茂雄・青木睦夫：東京農試研報，13，102 (1980)。
- 8) PEDERSON, C.S.: *New York State Agr. Exp. Sta. Tech. Bull.* No. 168 (1930)。
- 9) PEDERSON, C.S. and ALBURY, M.N.: *Food Technol.*, 8, 1 (1954)。
- 10) ETCHHELLS, J.L. and JONES, I.D.: *J. Bacteriol.*, 52, 593 (1949)。
- 11) PEDERSON, C.S. and WARD, L.: *New York State Agr. Exp. Sta. Tech. Bull.* No. 288 (1949)。
- 12) 河 徳模：発酵と工業，37，202 (1979)。
- 13) ORILLO, C.A., SISON, E.C., LUIS, M. and PEDERSON, C.S.: *Appl. Microbiol.*, 17, 10 (1969)。
- 14) 伊藤 寛ほか：「微生物の分離法」(山崎一英ほか編)，R & D プランニング，東京，p. 307 (1986)。
- 15) PROUTY, C.C. and GLENN, W.E.: *Proc.* 35th

- Ann. Meeting West. Div. Amer. Dairy Sci. Assoc., (1954).
- 16) MAYEUX, J.V., SANDINE, W.E. and ELLIKER, P.R.: *J. Dairy Sci.*, **45**, 655 (1962).
- 17) McDONOUGH, F.E., HARGROVE, R.E. and TITSLER, R.P.: *J. Dairy Sci.*, **45**, 656 (1962).
- 18) BUCHANAN, R.E. and GIBBONS, N.E., *BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology* 8th Ed., Williams & Wilkins Co., Baltimore, (1974).
- 19) GIBBS, B.M. and SKINNER, F.A., *Identification Methods for Microbiologists Part A*, Academic Press, London and New York (1966).
- 20) SLANETS and BARTLEY: *J. Bact.*, **74**, 591 (1957).
- 21) KEMPTON and SAN CLEMENTE: *Appl. Microbiol.*, **7**, 362 (1959).

(昭和62年10月27日受理)