

発表番号 44

食塩耐性能を備えたプロバイオティック乳酸菌の作出と利用法の開発

有原圭三・石川伸一

北里大学獣医畜産学部

Lactobacillus acidophilus グループや *Bifidobacterium* 属は、プロバイオティクスとして注目され、発酵乳を中心に多くの食品に利用されている。食肉製品においても、このような微生物を利用することにより、保健的付加価値の高い製品が開発できると考えられる。これまでの検討により、プロバイオティック乳酸菌の中には、食肉製品のスターターとして利用できる菌株が存在することが判明したが、そのような菌株は一部の菌種のみに見られた。食肉製品の多くは、原料に食塩や亜硝酸塩の添加しなければならず、これらの物質は、乳酸菌などの増殖にも影響を及ぼす。本研究では、食塩や亜硝酸塩に対して耐性能を有するプロバイオティック乳酸菌変異株の作出と食肉製品への利用を目指した。

紫外線照射を用いた方法により、食塩と亜硝酸塩耐性を備えた変異株を得ることができた。変異株の中から、*L. gasei* KU3101 を親株として得られた 3101-M08 と *B. bifidum* KU4002 を親株として得られた 4002-M22 の2株を用いて検討を行った。それぞれの親株は食塩と亜硝酸塩を添加した寒天培地では、コロニーを形成しなかったが、変異株はいずれも良好な増殖を示した。また、変異株の食塩・亜硝酸塩耐性能は、継体培養を続けても失われることはなく、安定した形質であった。親株と変異株を用いてモデルソーセージを調製し、それぞれの菌株の増殖性（食塩・亜硝酸塩耐性能）を検討した。*L. gasei* の親株 KU3101 は豚肉中では良好な増殖をしたが、食塩と亜硝酸ナトリウムを添加した場合はほとんど増殖をしなかった。一方、変異株 3101-M08 は、食塩と亜硝酸ナトリウムを添加した豚肉中においても良好な増殖を示した。*B. bifidum* の変異株 4002-M22 も、食塩と亜硝酸ナトリウムを添加した豚肉中で増殖し、その有効性が確認された。*L. gasei* と *B. bifidum* の親株と変異株の細胞表層タンパク質の SDS-PAGE 像を比較した結果、いずれの変異株も細胞表層タンパク質の構成に変化が認められた。しかし、このことと食塩・亜硝酸塩耐性との関連性を直接示すデータはなく、この点は今後の検討に委ねられる。なお、親株と変異株の他の表現形質（糖類発酵性など）に、大きな違いは認められなかった。微生物の発酵により、食品タンパク質から生理活性ペプチドが生成することが知られている。今回の発酵モデルソーセージ中にも、このようなペプチドが生成しているのではないかと考え、検討した。ここでは、血圧降下作用の指標としてよく用いられる ACE 阻害活性を測定した。発酵前の豚肉抽出液に比べ、*L. gasei* や *B. bifidum* で発酵させた後の豚肉抽出液は ACE 阻害活性が高く、発酵に伴い ACE 阻害ペプチドが生成したものとみられた。

食塩耐性能を備えたプロバイオティック乳酸菌の作出と利用法の開発

助成研究者：有原圭三（北里大学獣医畜産学部）

共同研究者：石川伸一（北里大学獣医畜産学部）

1. 研究目的

乳酸菌は古くから多くの発酵食品に利用されてきた代表的な有用細菌である。近年、さらに乳酸菌の保健的効用が科学的に解明されるに伴い、その利用も一段と盛んになってきた。特に消化管内由来の有用菌株は、プロバイオティクスとして大きな注目を集め、乳製品を中心として多くの保健的機能性の高い食品が開発されている。プロバイオティクスは、「摂取によりの腸内菌叢が改善され、宿主（ヒトや動物）の健康状態に良い影響を与える生きた微生物あるいはそれを含む食品等」である（Havenaar and Huis in't Veld, 1992）。この概念を積極的に取り入れたヨーグルト等が数多く登場している（有原, 2000a, 2004）。

ところで、食肉を主原料として乳酸菌などの微生物により発酵させて製造する発酵食肉製品は、欧米では古くから一般的な食品として馴染まれている（Hammes and Hertel, 1998, 2003）。しかし、食肉製品における乳酸菌の利用目的は、貯蔵性や嗜好性の向上に限定され、保健的付加価値を付与するという観点からの乳酸菌利用に関する検討は、最近まで全く行われることがなかった。われわれは、食肉製品においても乳酸菌やビフィズス菌を利用することにより、保健的付加価値の高い製品が開発できるのではないかと考え、検討を行ってきた（有原, 1997a, 2000b, 2002a; Arihara et al., 1997, 1998; Sameshima et al., 1998）。一連の検討によりある程度の成果が得られ、特許取得や実際の製品の誕生にも至っている（有原, 2001, 2000b, 2002b; Arihara, 2004）。さらには、これまでほとんど関心が持たれることがなかった、食肉製品へのプロバイオティック乳酸菌の利用という領域を作り出すことができたものと考えている。最近のこの領域の状況が総説としてまとめられている（Pennacchia et al., 2003; Tyopponen et al., 2003）。

これまでの検討により、プロバイオティック乳酸菌の中には、食肉製品のスターターとして利用できる菌株が存在することが明らかにされたが、そのような菌株はごく一部の菌種（*Lactobacillus rhamnosus* など）であることも判明した。ヨーグルトなどの発酵乳に利用されている大部分のプロバイオティック乳酸菌は、食肉製品のスターター菌株としては適さない。

発酵食肉製品が該当する非加熱食肉製品（日本の食品衛生法による分類）では、原料に食塩や亜硝酸塩の添加が法的に義務付けられている。また、そのような規定がない国にお

いても、食塩や亜硝酸塩は食味等の点から、添加が必須である。食塩や亜硝酸塩は殺菌作用を有する物質で、これらを添加することにより食肉製品の貯蔵性が向上する。当然、乳酸菌のようなスターター微生物の増殖にも影響を及ぼすことから、食肉製品の発酵スターターには、比較的食塩や亜硝酸塩に対する耐性の強い菌株が利用されてきた。ヨーグルトなどの発酵乳製品によく利用されているプロバイオティック乳酸菌として、*Lactobacillus acidophilus* グループがあるが、これらの乳酸菌を検討した結果、低濃度の食塩や亜硝酸ナトリウムの存在下に限っては、食肉中で良好な増殖を見せたが、通常の食肉製品に用いられる濃度(食塩 3.3%、亜硝酸ナトリウム 200 ppm)では、十分な増殖を示さなかった(Arihara et al., 1997, 1998)。

食肉製品のスターターとして利用可能なプロバイオティック乳酸菌をスクリーニングにより自然界から得るのは一つの方法であるが、育種により得るのも有効な方法と考えられる。すなわち、適当な変異処理により食塩や亜硝酸塩に対する十分な耐性を備えた菌株の作出である。このような変異株の作出には、耐性遺伝子の導入・改変による手法も考えられるが、遺伝子組換え微生物の食品への利用は、未だコンセンサスが得られていない状況であることから、本研究では、古典的な変異誘起方法により、変異株の作出を目指した。このような食塩耐性を有するプロバイオティック乳酸菌は食肉製品に限らず、食塩を比較的多く含む食品(例えば、漬け物類)にも利用可能なものであり、付加価値の高い食品の開発に寄与するものと思われる。

2. 研究方法

2.1 使用微生物株および培地

乳酸菌およびビフィズス菌株として、北里大学食品機能・安全学研究室で保存している *Lactobacillus gasseri* KU3101 および *Bifidobacterium bifidum* KU4002 を用いた。これらの菌株の培養は、MRS 液体培地あるいは MRS 寒天培地(ともに Difco 社製品)を用いて 37°C で行った。本研究で用いた菌株(変異株を含む)はすべて、10% になるようにグリセリンを添加した MRS 液体培地に懸濁させ、-80°C で凍結保存することにより維持した。

2.2. 食塩耐性変異株の作出

乳酸菌およびビフィズス菌の食塩耐性変異株作出は、食塩(0~4%)あるいは亜硝酸ナトリウム(0~400 ppm)を添加した MRS 寒天培地に変異前の親株を接種(寒天培地1枚当たり、 $10^8 \sim 10^9$ 個の細胞)し、紫外線を照射することにより行った。紫外線源として、15 W の UV 管(通常利用される殺菌灯、東芝製)を用いた。UV 管から寒天培地までの距離は 60 cm とした(照射時間は、0~15 秒間)。紫外線照射後、寒天培地は 37°C で炭酸ガス置換下(嫌氣的条件)で、コロニーが十分な大きさになるまで(48~96 時間)培養した。培養後、コロニーから菌をとり、別の MRS 寒天培地に接種し、純化した。

2.3 モデルソーセージの調製

モデル食品系として、モデルソーセージを利用した。新鮮な豚もも肉を挽き肉にし、これにグルコース(1%)、食塩(0あるいは3.3%)、亜硝酸ナトリウム(0あるいは200 ppm)、アスコルビン酸ナトリウム(550 ppm)を添加し、均一になるように混合した。さらに、スターター微生物として乳酸菌あるいはビフィズス菌を接種(肉1g当たり 10^7 個)した。これを50gずつ、ポリエチレンチューブ(直径2cm、厚さ10 μ m)に空気が入らないように充填し、37°Cで24時間発酵させた。

2.4 SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動法(SDS-PAGE)

変異による親株の性状変化の一端を知るために、親株と変異株の細胞表層タンパク質の違いをSDS-PAGEにより比較した。細胞表層タンパク質の抽出とSDS-PAGEの実施は、既報(Mukai and Arihara, 1994)の記載に従って行った。

2.5 アンジオテンシンI変換酵素阻害活性(ACE阻害活性)

血圧降下作用のin vitroにおける検索指標としてよく用いられるACE阻害活性を検討した。発酵させたモデルソーセージに等量の蒸留水を加え、ホモジナイズした後に、遠心分離と濾過を行い、不溶物を除去した溶液を測定試料とした。ACE阻害活性の測定は、既報(Nakashima et al., 2002)の記載に従って行った。

3. 研究結果

紫外線照射により、食塩と亜硝酸塩耐性を備えた変異株を得ることができた。これらの変異株は、食塩および亜硝酸ナトリウム添加MRS培地で、十分な増殖性を示した。得られた変異株の中から、*Lactobacillus gasei* KU3101を親株として得られた3101-M08と*Bifidobacterium bifidum* KU4002を親株として得られた4002-M22の2株を用いて実施した検討結果を、以下に記載する。

図1および図2に、それぞれの親株および変異株(食塩・亜硝酸塩耐性株)のMRS寒天培地上のコロニーの様子を示した。それぞれの親株は食塩と亜硝酸塩を添加した寒天培地では、コロニーを形成しなかったが、得られたそれぞれの変異株は良好な増殖を示した。また、変異株の食塩・亜硝酸塩耐性能は、継体培養を続けても失われることはなく、安定した形質であると考えられた。

親株と変異株を用いてモデルソーセージを調製し、食品中におけるそれぞれの菌株の増殖性(食塩・亜硝酸塩耐性能)を検討した。表1に示したように、*L. gasei*の親株KU3101は食塩や亜硝酸ナトリウムを添加しない豚肉中では良好な増殖をし、pHが低下していたが、食塩と亜硝酸ナトリウムを添加した豚肉中ではほとんど増殖をせず、pHの低下も認められなかった。なお、ここでは、乳酸菌は増殖に伴い多量の乳酸を生成し、周囲のpHを低下させることを利用し、pHを増殖指標として用いた。*L. gasei*の変異株3101-M08は、食塩と亜硝酸ナトリウムを添加した豚肉中においても良好な増殖を示し、得られた変異株が食

品中でも有効であることが明らかにされた。表2に示したように、*B. bifidum* の変異株4002-M22も、食塩と亜硝酸ナトリウムを添加した豚肉中で増殖し、その有効性が確認された。

今回得られた変異株で、食塩および亜硝酸塩耐性が獲得された理由の一端を明らかにすることを目的とし、親株と変異株の細胞表層タンパク質を比べてみた。乳酸菌において細胞表層タンパク質が、菌体外からの物質の取り込みや防御に関与していることが報告されている（Lotal, 1993）。図3および図4に、*L. gasseri* と *B. bifidum* の親株と変異株の細胞表層タンパク質の SDS-PAGE 像を示した。いずれの変異株も細胞表層タンパク質の構成に変化が認められた。しかし、このことと食塩・亜硝酸塩耐性との関連性を直接示すデータはまだなく、この点は今後の検討に委ねられる。なお、親株と変異株の他の表現形質（糖類発酵性など）に、大きな違いは認められなかった。

微生物の発酵により、食品タンパク質が分解され、各種の生理活性ペプチドが生成することが知られている（Korhonen and Pihlanto, 2003）。このようなペプチドのひとつに、血圧降下ペプチドがある。発酵食肉製品からの血圧降下ペプチドの報告はないが、われわれは、食肉タンパク質の酵素分解物から血圧降下ペプチドを見出している（Nakashima et al., 2002）。そこで、今回の発酵モデルソーセージ中にも、このようなペプチドが生成しているのではないかと考え、検討した。ここでは、血圧降下作用の *in vitro* の指標としてよく用いられる ACE 阻害活性を測定した。表3に示した通り、発酵前の豚肉抽出液に比べ、*L. gasseri* や *B. bifidum* で発酵させた後の豚肉抽出液は ACE 阻害活性が高く、発酵に伴うタンパク質分解により ACE 阻害ペプチドが生成したものとみられた。

4. 考 察

腸管内に棲息する乳酸菌やビフィズス菌は、宿主に様々な有益な作用をもたらしていると言われている。このため、このような乳酸菌（プロバイオティクス）を利用した食品が多く登場している（有原, 2004）。しかし、このような製品は、ヨーグルトなどの乳製品に集中しており、他の食品における利用は、十分に展開していない状況でもある。食肉製品においても、乳酸菌を利用した発酵ソーセージ等の製品は、欧米諸国では古くから一般的な食品であるが、プロバイオティクスの導入は最近までほとんど注目されていなかった（有原, 1997a, Pennacchia et al., 2003, Tyopponen et al., 2003）。本研究では、食肉製品へのプロバイオティック乳酸菌の利用を拡大することを期待し、食塩・亜硝酸塩耐性を備えた菌株の作出と、その利用を検討した。その結果、通常の食肉製品に添加されているレベルでの食塩や亜硝酸ナトリウムに対して十分な耐性を示す菌株が、*Lactobacillus gasseri* と *Bifidobacterium bifidum* から得ることができた。これらの乳酸菌やビフィズス菌は、プロバイオティクスとしてよく利用されている菌種であり（Benno et al., 1989）、その有効性が期待できる。今回、変異能獲得のメカニズムについて十分な検討を行うことができなかった

が、この点は興味ある部分である。細胞表層タンパク質の変化と耐性獲得の明確な関係等が明らかにされれば、今後、計画的に乳酸菌やビフィズス菌の育種を行うこともできよう。

今回得られた変異株を用い、実際の製品に近いレベルでの検討を現在続けている。特に *L. gasseri* の変異株を用いた場合、嗜好性の面においても、通常の食肉製品用のスターター乳酸菌を利用したものと遜色のないものが得られている。しかし、*B. bifidum* の場合、単独で用いた場合、嗜好性に大きな問題がある。これを解決するためには、乳酸菌との併用等の検討 (Arihara et al., 1997) も必要であろう。さらに、ビフィズス菌は貯蔵中における生菌数の維持が困難であることも知られており、食肉製品においてもこの点が危惧されるため、重要な検討事項である。

乳製品や食肉製品以外におけるプロバイオティック乳酸菌の利用は、新製品開発において大きな可能性が秘められていると考えている。これまでに、われわれは卵製品においても、プロバイオティック乳酸菌の検討を利用してきた (有原, 1997b; 有原ら, 2003)。漬け物など食塩濃度が比較的高い食品においても、適切な菌株の選択と育種により、プロバイオティック乳酸菌の利用は可能であろう。

5. 今後の課題

プロバイオティック乳酸菌の利用により保健的付加価値を高めたとしても、食品である以上、その嗜好性はきわめて重要である。したがって、今後、食品として魅力ある製品を開発するために、嗜好性が高く消費者に受け入れられる製品の開発を視野に入れ、検討を進めていくことが重要であろう。

また、得られた変異株の耐性獲得メカニズムについても明らかにする必要があると考えている。今回用いたような手法で得られた微生物変異株の安全性が問題となる場合はほとんどないようだが、食の安全性に対する関心がきわめて高い状況にあることを考えると、きちんとした説明ができるもののみを食品原料とすべきという主張に対してもうなずけるものがある。

文 献

- 有原圭三. プロバイオティック乳酸菌の食肉製品への利用. 食肉の科学. 38: 47-56. 1997a.
- 有原圭三. 卵製品への乳酸菌の利用. 畜産の研究, 51: 1001-1006. 1997b.
- 有原圭三. 乳・肉・卵製品へのプロバイオティック乳酸菌の利用. ミルクサイエンス, 49: 183-188. 2000a.
- 有原圭三. 腸管由来の乳酸菌およびそれを利用した非加熱食肉製品. 特許第 3034451. 2000b.

- 有原圭三. 微生物を利用した新しいタイプの食肉製品の開発. 畜産の情報, 140: 18-26. 2001.
- 有原圭三. 食肉を原料とする機能性食品の開発動向. Health & Meat, 14: 63-69. 2002a.
- 有原圭三. 微生物や酵素を利用した保健的付加価値の高い食肉製品の開発. 畜産の情報, 155: 24-28. 2002b.
- 有原圭三. 機能性畜産食品の現状と展望. 関東畜産学会報, 54: 51-57. 2004.
- Arihara, K. Functional foods. in Encyclopedia of Meat Sciences (eds. W. K.Jensen et al.) , Elsevier (Oxford), p. 492-499. 2004.
- Arihara, K., Itoh, M., Kondo, Y. Utilization of *Lactobacillus gasseri* and *Bifidobacterium bifidum* for meat fermentation. Proceedings of International Congress of Meat Science and Technology, 43: 364-365. 1997.
- Arihara, K., Ota, H., Itoh, M., Kondo, Y., Sameshima, T., Yamanaka, H., Akimoto, M., Kanai, S., Miki, T. Application of *Lactobacillus acidophilus* group lactic acid bacteria to meat fermentation. Journal of Food Science, 63: 544-547. 1998.
- 有原圭三, 伊藤 良, 近藤 洋. ヒト腸管由来の乳酸菌を利用した卵製品の製造方法. 特許第 3440086 号. 2003.
- Benno, Y., Endo, K., Mizutani, T., Namba, Y., Komori, T., Mitsuoka, T. Comparison of fecal microflora of elderly persons in rural and urban areas of Japan. Applied and Environmental Microbiology, 55: 1100-1105. 1989.
- Hammes, W. P., Hertel, C. New developments in meat starter cultures. Meat Science, 49 (suppl. 1): S125-S138. 1998.
- Hammes, W. P., Haller, D., Ganzle, M. G. Fermented meat. in Handbook of Fermented Functional Foods (ed. E. R. Farnworth), CRC Press, p. 251-275. 2003.
- Havenaar, R., Huis in't Veld, J. H. J. Probiotics: a general view. in The Lactic Acid Bacteria in Health and Disease (ed. B. J. B., Wood), Elsevier (Oxford), p. 151-170. 1992.
- Korhonen, H., Pihlanto, H. Food-derived bioactive peptide. Current Pharmaceutical Design, 9: 1297-1308. 2003.
- Lotal, S. Crystalline surface-layers of the genus *Lactobacillus*. In Advances in Bacterial Paracrystalline Surface Layers (eds. T. J. Beveridge and S. F. Koval), Plenum Press (New York), p. 57-65. 1993.
- Mukai, T., Arihara, K. Presence of intestinal lectin-binding glycoproteins on the cell surface of *Lactobacillus acidophilus*. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, 58: 1851-1854. 1994.
- Nakashima, Y., Arihara, K., Sasaki, A., Mio, H., Ishikawa, S., Itoh, M. Antihypertensive

activities of peptides derived from porcine skeletal muscle myosin in spontaneously hypertensive rats. *Journal of Food Science*, 67: 434-437. 2002.

Pennacchia, C., Ercolini, D., Blaiotta, G., Pepe, O., Mauriello, G., Villani, F. Selection of *Lactobacillus* strains from fermented sausages for their potential use as probiotics. *Meat Science*, 67: 309-317. 2003.

Sameshima, T., Magome, C., Takeshita, K., Arihara, K., Itoh, M., Kondo, Y. Effect of intestinal *Lactobacillus* starter cultures on behaviour of *Staphylococcus aureus* in fermented sausage. *International Journal of Food Microbiology*, 41: 1-7, 1998.

Tyopponen, S., Petaja, E., Mattila-Sandholm, T. Bioprotectives and probiotics for dry sausages (review). *International Journal of Food Microbiology*, 83; 233-244. 2003.

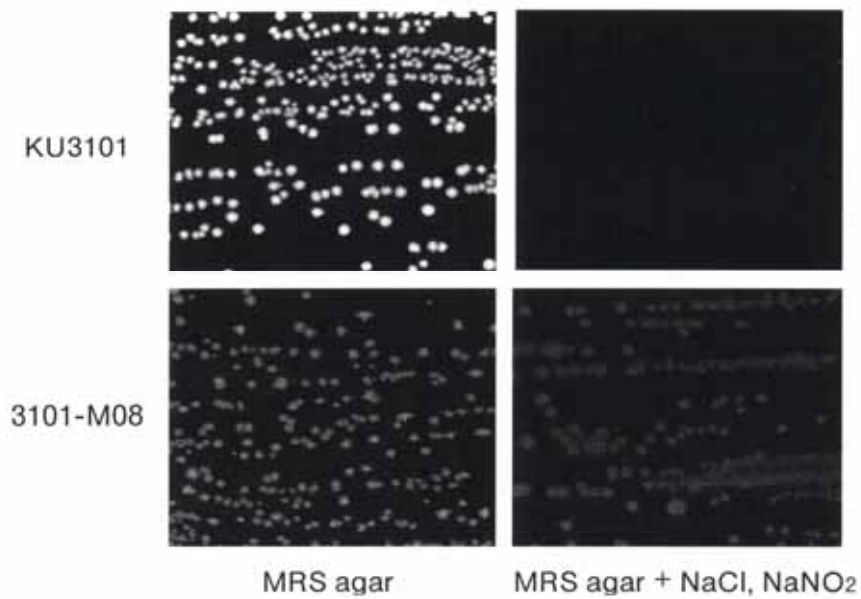


Figure 1. Colonies of *Lactobacillus gasseri* KU3101 and UV-induced strain 3101-M08 formed on MRS agar plates with and without 3.3% sodium chloride and 200ppm sodium nitrite.

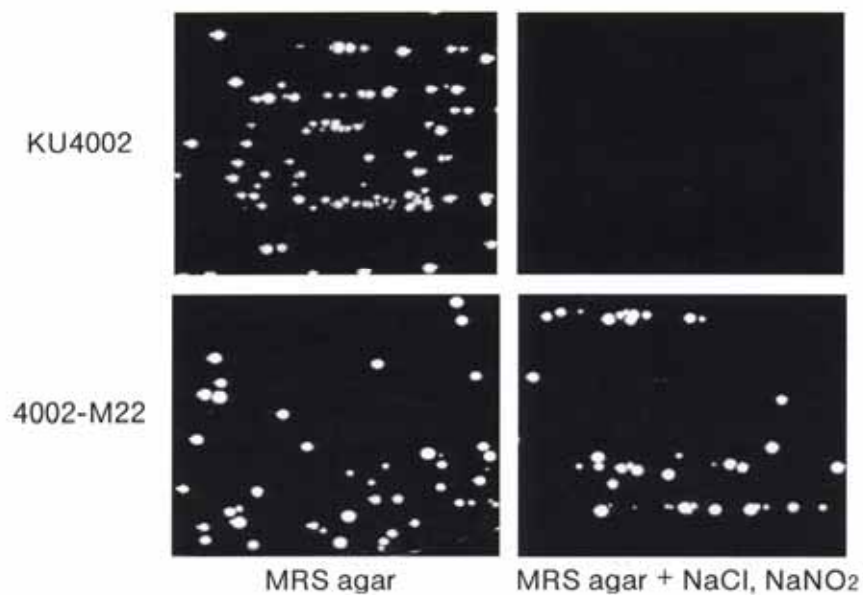


Figure 2. Colonies of *Bifidobacterium bifidum* KU4002 and UV-induced strain 4002-M22 formed on MRS agar plates with and without 3.3% sodium chloride and 200ppm sodium nitrite.

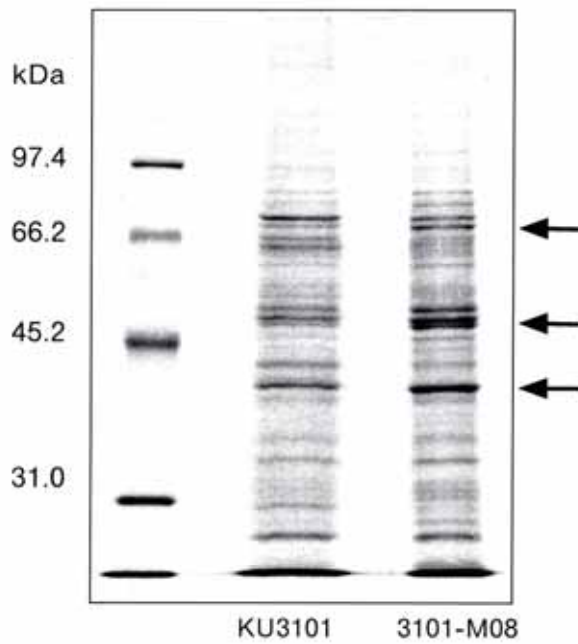


Figure 3. SDS-PAGE of cell surface proteins from *Lactobacillus gasseri* KU3101 and UV-induced strain 3101-M8. Arrows indicate major difference in SDS-PAGE patterns.

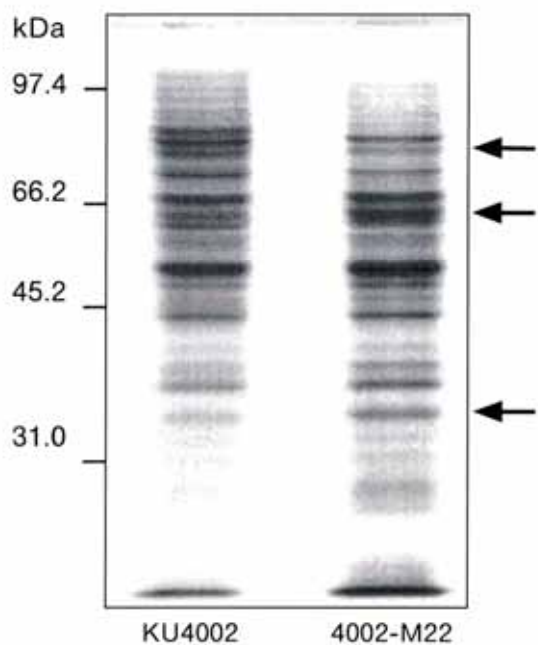


Figure 4. SDS-PAGE of cell surface proteins from *Bifidobacterium bifidum* KU4002 and UV-induced strain 4002-M22. Arrows indicate major difference in SDS-PAGE patterns.

Table 1. Resistance of *Lactobacillus gasseri* strains (original strain of KU3101 and UV-induced strain 3101-M08) to sodium chloride and sodium nitrite in model sausages^a.

Strains of <i>L. gasseri</i>	pH of sausages after 24h fermentation ^b	
	Without NaCl and NaNO ₂	With 3.3% NaCl and 200 ppm NaNO ₂
KU3101	4.1	5.9
3101-M08	4.2	4.5

^a Model sausages were prepared from ground pork trim with glucose (1%), sodium chloride (0, 3.3%), sodium nitrite (0, 200 ppm), sodium ascorbate (550 ppm) and *Lactobacillus* cells (10⁷ cfu/g meat).

^b The pH of sausages prior to fermentation was 6.1.

Table 2. Resistance of *Bifidobacterium bifidum* strains (original strain of KU4002 and UV-induced strain 4002-M22) to sodium chloride and sodium nitrite in model sausages^a.

Strains of <i>B. bifidum</i>	pH of sausages after 24h fermentation ^b	
	Without NaCl and NaNO ₂	With 3.3% NaCl and 200 ppm NaNO ₂
KU4002	4.6	6.0
4002-M22	4.7	5.1

^a Model sausages were prepared from ground pork trim with glucose (1%), sodium chloride (0, 3.3%), sodium nitrite (0, 200 ppm), sodium ascorbate (550 ppm) and *Bifidobacterium* cells (10⁷ cfu/g meat).

^b The pH of sausages prior to fermentation was 6.2.

Table 3. Generation of the inhibitory activity of angiotensin converting enzyme (ACE) from porcine skeletal muscle after fermentation by *Lactobacillus gasseri* or *Bifidobacterium bifidum*.

Strains	ACE inhibitory activity (%)
Porcine muscle	4.6
<i>L. gasseri</i>	
KU3101	47.7
3101-M08	44.2
<i>B. bifidum</i>	
KU4002	34.1
4002-M22	31.5

Generation of probiotic lactic acid bacteria resisting sodium chloride and their application to food fermentation

Keizo Arihara

Kitasato University, School of Veterinary Medicine and Animal Sciences

Summary

Probiotics are defined as cultures of live microorganisms that, applied to animals or humans, benefit the host by improving properties of indigenous microflora. *Lactobacillus acidophilus* group lactic acid bacteria and *Bifidobacterium* have been widely utilized as probiotics. Although these bacteria have been applied to various dairy products industrially, they have not been applied to meat products. Since these bacteria are relatively sensitive to sodium chloride and sodium nitrite. In many countries, most meat products must contain these compounds for preservation during storage. For example, regulations for the maintenance of meat products safety in Japan require the use of 3.3% sodium chloride and 200 ppm sodium nitrite. Therefore, effective starter cultures for fermented meat products are claimed to resist these compounds. In this study, we carried out the generation of mutant strains of *Lactobacillus gasseri* and *Bifidobacterium bifidum* resisting sodium chloride and sodium nitrite by UV irradiation. Such strains could be utilized for producing new probiotic meat products, and these products may develop new markets in the meat industry.

UV irradiation to the strains of *Lactobacillus gasseri* KU3101 and *Bifidobacterium bifidum* KU4002 generated several mutants resisting sodium chloride and sodium nitrite. A mutant strain 3101-M08 generated from *Lactobacillus gasseri* KU3101 and a mutant strain 4002-M22 from *Bifidobacterium bifidum* KU4002 demonstrated satisfactory growth in meat containing 3.3% sodium chloride and 200 ppm sodium nitrite. Although proteins extracted from the cell surface of both mutant strains were slightly different from those of the original strains, other biochemical characteristics of both strains were indistinguishable from those of original strains. These results suggest *Lactobacillus gasseri* and *Bifidobacterium bifidum* mutants obtained in this study would be utilized as a starter culture to develop probiotic meat products.