

- (1996).
- 3) 園元謙二, 松崎弘美, 石崎文彬: バイオサイエンスとインダストリー, **54**, 492 (1996).
 - 4) 園元謙二: 生物工学, **74**, 300 (1996).
 - 5) Matsusaki, H., Endo, N., Sonomoto, K., and Ishizaki, A.: *Food Sci. Technol., Int.*, **2**, 157 (1996).
 - 6) 松崎弘美, 園元謙二, 石崎文彬: 生物工学, **75**, 125 (1997).
 - 7) 園元謙二, 木村宏和, 松崎弘美, 石崎文彬: 食品微生物制御技術の進歩, 中央法規出版社, 印刷中 (1997).
 - 8) 木村宏和, 松崎弘美, 指原紀宏, 園元謙二, 石崎文彬: 日本農芸化学会大会要旨集, p. 335 (1997).
 - 9) Ray, B.: *Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria* (de Vuyst, L. and Vandamme, E. J.), p. 465, Blackie Academic & Professional, Glasgow (1994).
 - 10) Kimura, H., Nagano, R., Matsusaki, H., Sonomoto, K., and Ishizaki, A.: *Biosci. Biotech. Biochem.*, **61**, 1049 (1997).

4. プロピオン酸菌によるビフィズス菌増殖因子の生産

谷口 正之 (新潟大学工学部)

ビフィズス菌は、各種の生理効果(腸内菌叢の改善、腐敗産物の生成抑制、便性改善などの体調節機能、コレステロール低下作用、免疫賦活作用など)を有するため、特定保健用食品いわゆる機能性食品中の有効成分として、また生菌製剤としても非常に有用な乳酸菌である。著者らは、これまでに各種バイオリクターを用いた食品微生物、特に乳酸菌の生産および食品微生物による抗生物質、芳香成分、酵素などの有用物質の生産についてすでに報告してきた。¹⁻⁴⁾

プロピオン酸菌は、ビフィズス菌の増殖を特異的に促進させる物質(BGS: Bifidogenic Growth Stimulator)、すなわち2-アミノ-3-カルボキシ-1,4-ナフトキノンを生産することが、最近報告された。⁵⁾そこで、本稿では、BGSを利用したビフィズス菌の効率的な生産を最終目的として、まずプロピオン酸菌によるBGSの効率的生産について検討した。⁶⁻¹⁰⁾

1. BGS 活性の測定

BGSは0.1 ng/mlのオーダーでビフィズス菌に対して増殖促進効果を示すために、機器分析による定量は非常に煩雑になることが報告されている。⁵⁾そこで、BGSをバイオアッセイによって定量する方法について検討した。ビフィズス菌を懸濁したTPY寒天培地上にペーバーディスクを置いた後、そのディスクにBGSを含むプロピオン酸菌の培養液を含浸させて、ディスクのまわりに形成されるビフィズス菌の増殖円を測定した。ここで、サンプル液中にBGSが存在しなければ、ビフィズス菌はまったく生育できないように寒天培地成分の濃度およびpHを設定した。最終的に、増殖円を感度よくかつ正確に測定するための最適

な条件は、培地成分の濃度が標準の1/2倍、その培地のpHが8.5と決定できた。⁶⁾この条件において合成したBGS標準品が示す増殖促進円の直径と比較することによって、プロピオン酸菌によって培養液中に生産されたBGSの濃度を算出した。⁸⁾

2. BGS の基本的な生産条件

グルコースおよび乳酸を炭素源としたTPY培地を用いてプロピオン酸菌(たとえば、*Propionibacterium freudenreichii*)を培養した結果、増殖速度およびBGS生産量は、炭素源の種類によらずほぼ同じ程度であった。そこで、増殖速度およびBGS生産量に対する初期乳酸濃度の影響を5~20 g/lの範囲で検討した。初期乳酸濃度を高くするにつれてBGS濃度は徐々に高くなったが、BGS濃度が最大になるまでの培養時間は長くなった。これは、基質である乳酸の濃度が高い場合には、培養初期において増殖を阻害し、その後に代謝産物であるプロピオン酸と酢酸がプロピオン酸菌の増殖を阻害したためと考えられる。実際、プロピオン酸および酢酸を添加した培養において、プロピオン酸菌の増殖は著しく阻害された。^{8,10)}これらの結果より、乳酸による基質阻害を避けるために初期乳酸濃度を10 g/l程度として、増殖を阻害する代謝産物を除去できればBGSを効率よく生産できると考えられる。

3. BGS の効率的な生産

プロピオン酸菌の濃度を高く維持しながら、乳酸濃度を低レベルに制御できる培養技術を開発できれば、BGSの生産性を高めることができると考えられる。まず、オンライン乳酸コントローラ(BF-400: エイ

ブル(株)を用いて基質である乳酸の濃度を低レベルに制御した流加培養を行い、BGSの生産に対する乳酸濃度の影響を検討した。その結果、約3 g/lになるように乳酸を供給した流加培養において、BGS濃度は回分培養に比べて26倍高くなった。したがって、オンライン乳酸コントローラを用いて乳酸濃度を低レベルに制御する流加培養は、BGSの生産にとって有効であることがわかった。また、膜ろ過型バイオリアクターを用いることによって増殖阻害物質を除去でき、高菌体濃度を達成できることはすでに報告している。¹⁻⁴⁾そこで、膜ろ過型バイオリアクターにオンライン乳酸コントローラを組み込んだBGSの連続生産システムを開発した。このシステムを用いた培養において、150時間以上にわたって乳酸濃度を低く制御でき、かつ培養期間を通して生菌数を、平均 10^{10} のオーダーと高い値に維持できた。この培養において得られたBGS濃度と時間あたりのBGS生産性は、それぞれ回分培養の36倍と130倍であった。¹⁰⁾

以上の結果より、新しく開発した膜ろ過型バイオリアクターとオンライン乳酸コントローラを組み合わせた連続生産システムを用いることによって、BGSの生産性を大幅に向上させることができた。

文 献

- 1) Taniguchi, M., Kotani, N., and Kobayashi, T.: *J. Ferment. Technol.*, **65**, 179 (1987).
- 2) Taniguchi, M., Hoshino, K., Shimizu, K., Nakagawa, I., Takahashi, Y., and Fujii, M.: *J. Ferment. Technol.*, **66**, 633 (1988).
- 3) Taniguchi, M., Hoshino, K., Ito, T., Kumakura, H., and Fujii, M.: *Biotechnol. Bioeng.*, **39**, 886 (1992).
- 4) Taniguchi, M., Hoshino, K., Urasaki, H., and Fujii, M.: *J. Ferment. Technol.*, **77**, 704 (1994).
- 5) 金子 勉, 野田勝彦: 酪農科学・食品の研究, **45**, A83-A91 (1996).
- 6) 飛田和宏, 三澤克博, 堀内將史, 森 浩晴, 金子 勉, 谷口正之: 日本生物工学会大会講演要旨集, p. 64 (1996).
- 7) 三澤克博, 飛田和宏, 堀内將史, 伊澤佳久平, 金子 勉, 谷口正之: 日本生物工学会大会講演要旨集, p. 65 (1996).
- 8) 堀内將史, 飛田和宏, 三澤克博, 金子 勉, 梅沢 彰, 谷口正之: 日本生物工学会大会講演要旨集, p. 65 (1996).
- 9) 飛田和宏, 三澤克博, 堀内將史, 田中孝明, 金子 勉, 谷口正之: 化学工学会第62年会講演要旨集第1分冊, p. 119 (1997).
- 10) 堀内將史, 飛田和宏, 金子 勉, 梅沢 彰, 谷口正之: 日本農芸化学会大会講演要旨集, p. 246 (1997).

5. 自然界よりL-乳酸生産乳酸菌株のスクリーニング

岡田 早苗 (東京農業大学菌株保存室)

我々の日常生活の中で重要な役割を果たしているプラスチック製品はほとんどが石油に依存している。このプラスチック製品の一部を、L-乳酸からなるポリ乳酸のプラスチック(乳酸プラスチック)で置き換えることが可能であり、石油依存からの脱却の意味で注目されている。ポリ乳酸は生分解性プラスチックの1つであり、一定期間強度を保った後、土中などに埋没させておくと1年内外で自然崩壊し、元の原料の乳酸にまで分解が進み、さらに乳酸は土壌微生物の働きで炭酸ガスと水にまで分解される。環境にやさしいプラスチックであり、現在使用されているプラスチック製品の10%はこのような生分解性のプラスチックに置き換えが可能とされている。リ種々ある生分解性プラスチックの中で、特にポリ乳酸によるプラスチックが品質や加工のしやすさなどから、特に注目されている。

乳酸は不斉炭素原子を1つ持つために、2つの異性体(D-乳酸とL-乳酸)が存在する。ポリ乳酸の原料となる乳酸はD-あるいはL-乳酸のいずれの異性体でも使えるが、我々動物の筋肉乳酸がL-乳酸であることから、L-乳酸が利用される。原料となる乳酸は、D-乳酸の混在がより少ない純度の高いL-乳酸が求められている。乳酸の供給としては合成乳酸の利用も考えられるが、合成で作られる乳酸はラセミ(DL)の状態であり目的に合致しない。したがって、生物的生産、すなわちL-乳酸を多量につくることができる微生物、特に乳酸菌やクモノスカビなどの利用による生産が考えられる。

著者らは先に、L-乳酸を多量に蓄える乳酸菌 *Lactobacillus casei* を使って乳酸生産を試み、実験室レベルで15% glucoseを含む培地を使って中和培養を行い、24