

404 Lactobacillus sp. による H_2O_2 生成

(阪大・醸造) の高野光男, Bambang Haryono, 井上喜雅, 芝崎 勲

1. 目的. 演者らは乳酸菌の示す抗菌性に注目し, このを生物的食品保存法に利用するための研究を行なっている. Lactobacillus sp. 105 は条件によって H_2O_2 を多量に蓄積する. この H_2O_2 生成をコントロールするため諸因子を検討した結果, グルコース濃度, pH, Mn 含量が顕著な影響を示したので報告する.

2. 方法. H_2O_2 生成能がとくに大であった Lactobacillus sp. 105 を使用した. この菌はグルコースからのガス生成はなく, リボース資化性があり, DL-乳酸を生成, また各種糖の資化性をめり, L. casei または L. plantarum 類縁の菌とみられる. グルコースおよび Mn^{++} 含量をのみえた MRS 培地を用い, 窒素置換した密栓フラスコによる嫌気培養, またはミニジャー (容量 2.5 l 容) により pH をコントロールした好気培養を行なった. グルコースはグルコスタット法, H_2O_2 は Gilliland 法によった. 菌体懸液および超音波処理による菌体抽出液を用い, 基質酸化活性は電極法, NADH 酸化活性および NADH peroxidase 活性は吸光法によって求めた. このうち後者は N_2 置換したツンベルグ型セルを用い, H_2O_2 存在下で行なった. O_2^- 消去活性は, EDTA の添加および無添加の両条件下で Xanthine-oxidase-cytochrome 法によって求めた.

3. 結果. 1) グルコース 0.5% を含む MRS での発育は Mn^{++} 濃度のみ依存し, 好気および嫌気両条件の差は全く認められなかった. 2) 好気培養では培地中のグルコースが消費し終つてから H_2O_2 が生成しはじめた. 3) pH 5.5 以上に保持するとき, H_2O_2 の生成は著しく, 300 $\mu g/ml$ 以上蓄積し菌は死滅した. ところが pH 4.5 以下の場合 H_2O_2 の生成は全くみられなかった. 4) 培地中の Mn が 0.5 ~ 250 μM の範囲で変化させると, 発育には大差はなかったが, 0.5 ~ 6 μM では H_2O_2 は全くあるいはわずかに生成せず, 18 μM 以上で Mn 量の増大に応じて H_2O_2 生成量も増大した. 5) pH 5.5 の好気培養でグルコース残存期 (I 期) の菌体とグルコース消失期 (II 期) の菌体の酸素吸収能を比較すると, グルコースに対しては II 期で若干低下したが, lactate, malate に対しては II 期で著しく増大した. とくに菌体抽出液を用いると, lactate に対し II 期は I 期の 15 倍以上に活性が増大した. この lactate の酸化は H_2O_2 生成を伴い lactate oxidase 活性によるとみられた. この活性は培養時の Mn^{++} の増大によって増大した. 6) 両抽出液の NADH 酸化活性には大差はなかった. この NADH 酸化活性は 0.1 mM シアレンでは全く阻害されなかったが, 1 mM シアレンで 90% 以上の阻害を受け, NADH 酸化に伴う H_2O_2 生成は検出されなかった. 7) NADH peroxidase 活性は I 期では高かったが, II 期で著しく減少した. この減少は培養時の Mn^{++} 濃度の大きな程顕著であった. 8) O_2^- 消去活性は EDTA の存在に因縁なく微弱 (1 u./mg protein 以下) であった.