

微生物の油脂生成 (第5報)

油脂生成機能に対するビタミンの影響

今原 広次

HIROTSUGU IMAHARA : Fat formation by micro-organism (V)
Influence of some vitamins on fat formation.

I 結 論

中浜・石田^{(1),(2)}は氏等の分離した *Endomyces* に属する一菌株 (FH 菌) がその細胞内に於て油脂生成顕著な事を認め、これを甘藷搾汁⁽³⁾に培養してその油脂生成能を検討し、更に培地にエタノールを添加する場合の影響⁽⁴⁾よりエタノールも油脂生成の基本成分たり得る事を推察した。一方 FINK⁽⁵⁾に依れば糖蜜を原料とした場合、floor method に於て 100 kg の使用糖より 7.6 乃至 7.9 kg の油脂を得、又 tray method に於て 100kg の使用糖より 10 乃至 12kg の油脂を得ている。油脂の生体内での生成機構に就ては BARKER 氏等⁽⁶⁾が又生成油脂の脂肪酸組成に就ては NORD⁽⁷⁾, FIORE⁽⁸⁾, WEISS⁽⁹⁾ 氏等により詳細な研究が進められている。勿論この油脂生成機構は解糖反応とそれらの分解産物の縮合反応による事は推察に難くないがその中間過程を司ると考えられる酵素系の反応を促進

せしめ得る物質を添加する事により油脂生成量が増大するであろうと考え、著者は更に培地に数種の Vitamin を選んで添加しその影響を検討した。

II 実 験 之 部

1 糖蜜を基質とした場合の油脂生成とエタノールの影響

先づ糖蜜を炭素源とせる培地に於て FH 菌を培養し別に同一培地にエタノールを添加して培養せる場合との油脂生成能を比較し、エタノール添加の影響を確かめた。即ち糖蜜 50g 及び磷安 (又は硫安) 20g を蒸溜水に溶解して 1l となし、500cc Fernbach blask に 200cc 宛入れて殺菌後 FH 菌を接種し 30°C, 15日間培養した。又エタノールの添加は無菌的に接種と同時に行う場合と、同量を培養前と培養中の二回に分けて与える場合と二つの方法を採用した。醗酵液の分析及び菌体量並びに油脂量は中浜・石田^{(1),(2),(3)}の方法で行

第1表 糖蜜培地に於ける油脂生成とエタノール添加の影響 (30°C, 15 days)

窒素源	培 養 条 件	pH	全 糖 g/100cc	全窒素 g/100cc	エタノ ール g/100cc	消 費 全 糖 g/100cc	生 成 菌体量 g/100cc	生 成 菌体内 油 脂 含有率	生 成 油 脂 油量 g/100cc
磷 安	接種時にエタノール添加	培養前	5.6	3.238	0.409	1.490	—	—	—
		培養後	4.8	1.312	0.264	0.271	1.826	1.399	35.26
	接種時及び5日後エタノール添加	培養前	5.6	3.238	0.409	0.746 (0.746)	—	—	—
		培養後	4.6	1.308	0.258	0.215	1.830	1.421	34.28
	エタノール無添加	培養前	5.6	3.238	0.409	—	—	—	—
		培養後	4.6	1.370	0.324	—	1.868	0.526	35.79
硫 安	接種時にエタノール添加	培養前	5.8	3.238	0.415	1.490	—	—	—
		培養後	4.6	1.872	0.309	0.240	1.466	1.191	32.09
	接種時及び5日後エタノール添加	培養前	5.8	3.238	0.415	0.746 (0.746)	—	—	—
		培養後	4.6	1.841	0.266	0.228	1.497	1.281	30.92
	エタノール無添加	培養前	5.8	3.238	0.415	—	—	—	—
		培養後	4.8	1.950	0.326	—	1.288	0.540	32.04

つた。

表に見る如くエタノールを添加する事により著しく菌体量は増大するが、何れの場合も菌体内油脂含量は略近似的である。又エタノールの添加も二回に分けて添加する方がややすぐれている。更に窒素源としては硫安より燐安の方が、菌体量に於て少々多い事を認め

た。

2 糖蜜培地に於ける FH 菌と酵母との共棲

糖蜜培地にエタノールを添加する代りに *Saccharomyces sake* と共棲醗酵せしめた場合の FH 菌の油脂生成に就て検討した。

FH 菌を酵母と共棲せしめた場合、FH 菌単独培養

第 2 表 糖蜜培地に於ける酵母との共棲に依る油脂生成 (30°C, 15 days)

窒素源	培 養 条 件	pH	全 糖 g/100cc	全窒素 g/100cc	エタノ ール g/100cc	消 費 全 糖 g/100cc	生 成 菌 体 量 g/100cc	菌体内油 脂含有率	生 成 油 脂 量 g/100cc
燐 安	FH 菌のみ培養	培養前	5.8	3.236	0.414	—	—	—	—
		培養後	5.0	1.375	0.328	—	1.866	0.572	34.79
	FH 菌と酵母と共棲	培養前	5.8	3.236	0.414	—	—	—	—
		培養後	4.8	0.501	0.288	0.070	2.741	1.159	33.14
硫 安	FH 菌のみ培養	培養前	6.0	3.236	0.406	—	—	—	—
		培養後	4.8	1.687	0.312	—	1.549	0.590	31.78
	FH 菌と酵母と共棲	培養前	6.0	3.236	0.406	—	—	—	—
		培養後	4.6	0.687	0.283	0.131	2.549	1.102	31.94

より後者の菌体量及び油脂生成量共に増大しその結果著量の油脂生成を認め、之は前実験と併せ考えると酵母の生成するエタノールの影響と推定する事が出来る。又酵母との共棲の場合は特に糖消費量が著しいが之は酵母の生育及び醗酵の炭素源として利用された事

を容易に推察し得る。又この場合に於ても窒素源としては燐安の添加の方が硫安の添加より優れていた。

3 糖蜜を基質とした場合の油脂生成に及ぼすビタミンの影響

FH 菌による油脂生成に於て以上の如き各種の条件

第 3 表 糖蜜培地に於ける油脂生成に及ぼすビタミンの影響 (30°C, 15 days)

培 養 条 件	pH	全 糖 g/100cc	全窒素 g/100cc	消 費 全 糖 g/100cc	生 成 菌 体 量 g/100cc	菌体内油 脂含有率	生 成 油 脂 量 g/100cc
ビタミン B ₁ 10mg/100cc 添加	培養前	5.8	3.217	0.411	—	—	—
	培養後	4.8	0.421	0.271	2.796	1.163	33.21
ビタミン B ₁ 100mg/100cc 添加	培養前	5.8	3.217	0.411	—	—	—
	培養後	4.8	0.417	0.264	2.800	1.171	33.19
ビタミン B ₂ 10mg/100cc 添加	培養前	5.8	3.211	0.409	—	—	—
	培養後	4.6	1.391	0.318	1.812	0.486	29.31
ビタミン B ₂ 100mg/100cc 添加	培養前	5.8	3.211	0.409	—	—	—
	培養後	4.6	1.410	0.325	1.801	0.491	29.15
ニコチン酸 10mg/100cc 添加	培養前	5.8	3.203	0.411	—	—	—
	培養後	5.0	0.413	0.268	2.790	1.174	33.48
ニコチン酸 100mg/100cc 添加	培養前	5.8	3.203	0.411	—	—	—
	培養後	5.0	0.405	0.267	2.788	1.179	33.10
パントテン酸石灰 10mg/100cc 添加	培養前	5.8	3.221	0.409	—	—	—
	培養後	5.2	1.015	0.308	2.206	0.802	31.27
パントテン酸石灰 100mg/100cc 添加	培養前	5.8	3.221	0.409	—	—	—
	培養後	5.2	1.007	0.295	2.214	0.824	31.57
ビタミン B ₆ 10mg/100cc 添加	培養前	5.8	3.219	0.410	—	—	—
	培養後	4.8	1.385	0.320	1.834	0.524	30.51
ビタミン B ₆ 100mg/100cc 添加	培養前	5.8	3.219	0.410	—	—	—
	培養後	4.8	1.380	0.317	1.839	0.531	31.24
無 添 加	培養前	5.8	3.215	0.412	—	—	—
	培養後	5.0	1.370	0.321	1.845	0.576	34.51

で培養生育せる菌体の油脂含量は略近似せる値を示し各条件に於ける生成菌体量の多少が生成油脂量を左右するものと考えられる。従つて FH 菌の生育を促進せしむべき物質の添加が望まれる事は当然であり、又一方油脂合成の中間過程の反応を司る酵素系の関聯物質を添加する事も油脂生成量を左右するであろうと考えられる。従つて著者は之等の観点よりビタミン B₁, ビタミン B₂, ニコチン酸, ビタミン B₆, パントテン酸を添加した場合の油脂生成を検討した。即ち前実験と同一培地に FH 菌を接種し、同時に所定量の各ビタミンを夫々添加し 30°C, 15日間培養を行い油脂生成に対する効果を検討せんとした。

ビタミン B₁ 及びニコチン酸を添加した場合は菌体量多く、従つて生成油脂量も増大した。然しビタミン B₂ 及びビタミン B₆ 添加の場合は菌体量も生成油脂量も無添加の場合と等しいか寧ろ減少した。又パントテン酸石灰添加の場合は菌体量及び生成油脂量共に僅かに増大した。各ビタミンの添加量は 10mg/100cc の場合も 100mg/100cc の場合も大きな相違は見られず、ビタミン B₁ 乃至ニコチン酸添加の効果は何れも 10

mg/100cc の添加量で充分であると推察された。而して何れの場合も菌体内油脂含量は略近似せる値を示し生成菌体量が増減してもその菌体内の油脂含量は一定値に保たれている。

4 葡萄糖を基質とした合成培地に於ける油脂生成に及ぼすビタミンの影響

糖蜜の代りに葡萄糖及びエタノールを炭素源とした合成培地を用い油脂生成に及ぼすビタミンの影響に就て検討を行つた。使用せる合成培地の組成は次の如きものである。

合成培地組成	
葡萄糖 (又はエタノール)	2.0g
磷酸アンモン	2.0g
第一磷酸カリ	0.1g
塩化カリ	0.1g
硫酸マグネシウム	0.05g
塩化ナトリウム	0.01g
硫酸第一鉄	0.0005g
ビタミン	0.01g
蒸溜水に溶解して 100cc とする	

表の結果に於て明かなる如く、糖蜜を基質とした場

第4表 葡萄糖基質の場合の油脂生成に及ぼすビタミンの影響 (30°C, 15 days)

培 養 条 件	pH	葡 萄 糖 g/100cc	全 窒 素 g/100cc	消 費 糖 g/100cc	生 成 量 g/100cc	菌 体 内 油 脂 含 有 率	生 成 油 脂 量 g/100cc
ビタミン B ₁ 10mg/100cc 添加	培養前	5.8	1.915	0.402	—	—	—
	培養後	5.0	0.145	0.304	1.770	0.475	17.32
ビタミン B ₂ 10mg/100cc 添加	培養前	5.8	1.915	0.402	—	—	—
	培養後	4.8	1.121	0.351	0.794	0.213	16.92
ニコチン酸 10mg/100cc 添加	培養前	5.8	1.915	0.402	—	—	—
	培養後	4.8	0.128	0.295	1.787	0.492	17.05
パントテン酸石灰 10mg/100cc 添加	培養前	5.8	1.915	0.402	—	—	—
	培養後	5.0	1.014	0.345	0.901	0.301	16.38
ビタミン B ₆ 10mg/100cc 添加	培養前	5.8	1.915	0.402	—	—	—
	培養後	5.2	1.245	0.352	0.670	0.198	17.21
無 添 加	培養前	5.8	1.915	0.402	—	—	—
	培養後	5.0	0.824	0.312	1.090	0.385	17.45

合と同様にビタミン B₁ 及びニコチン酸の添加により菌体量及び生成油脂量が増大する。又、他のビタミンは生成油脂量の増大に対する効果は認められなかつた。何れの場合も菌体内油脂含量は大差ないが、糖蜜培地の場合に比較して葡萄糖基質の合成培地に於ては少々少く17%前後の値を示した。

5 エタノールを基質とせる合成培地に於ける油脂生成に及ぼすビタミンの影響

エタノールよりの油脂生成機能に対するビタミンの

影響を検討するため炭素源としてエタノールを使用して FH 菌を培養し油脂生成量を測定した結果次の如くであつた。

この場合に於てはビタミン B₁ のみが生成油脂量の増大効果を示しニコチン酸は前実験と異り、他のビタミン同様に効果を示さなかつた事は今後疑問を残す点である。又この場合に於ても菌体内油脂含量は大差なく、生成菌体量の大小が生成油脂量を左右する結果となつた。

第5表 エタノール基質の油脂生成に及ぼすビタミンの影響 (30°C, 15 days)

培 養 条 件	pH	エタノール g/100cc	全 窒 素 g/100cc	消費エタノール g/100cc	生 菌 体 量 g/100cc	菌体内油脂含有率	生 成 油 脂 量 g/100cc
ビタミン B ₁ 10mg/100cc 添加	培養前	5.6	1.581	0.398	—	—	—
	培養後	5.0	0.475	0.315	1.376	0.642	14.42
ビタミン B ₂ 10mg/100cc 添加	培養前	5.6	1.745	0.398	—	—	—
	培養後	5.0	1.023	0.342	0.723	0.227	15.03
ニコチン酸 10mg/100cc 添加	培養前	5.6	1.826	0.398	—	—	—
	培養後	4.8	1.042	0.315	0.784	0.234	15.11
パントテン酸石灰 10mg/100cc 添加	培養前	5.6	1.721	0.398	—	—	—
	培養後	4.8	1.012	0.305	0.709	0.215	14.05
ビタミン B ₆ 10mg/100cc 添加	培養前	5.6	1.837	0.398	—	—	—
	培養後	5.0	1.234	0.319	0.603	0.192	14.19
無 添 加	培養前	5.6	1.855	0.398	—	—	—
	培養後	5.0	0.706	0.320	1.149	0.422	14.31

III 要 旨

1 糖蜜を使用せる培地に於て *Endomyces* (FH) 菌を培養する事に依り次の事実を認めた。

a. エタノールを添加すると FH 菌の生成菌体量及び生成油脂量が增大する又エタノールの添加は二回に分けて行う方が僅かに良好な結果を得た。

b. エタノール添加の代わりに FH 菌を酵母と共棲醗酵せしめる場合も同様な効果を得た。

c. ビタミンを添加するとビタミン B₁ 及びニコチン酸添加の場合のみ生成菌体量及び生成油脂量の増大を認め得たが、ビタミン B₂ パントテン酸石灰及びビタミン B₆ は良い結果を与えなかつた。又ビタミンの添加量は 10mg/100cc 程度で充分であつた。

2 合成培地の炭素源として夫々葡萄糖及びエタノールを使用した場合のビタミン添加の影響を検討した所、葡萄糖の場合はビタミン B₁ 及びニコチン酸が良好な結果を与えたが、アルコールの場合はビタミン B₁ のみが良好な結果を与えた。

3 糖蜜を基質とした場合の菌体内油脂含量は31~34%位であり、葡萄糖基質の場合は17%前後、エタノール

ール基質の場合は14%前後で、この油脂含有率はビタミンの添加によつて著しい変化が起る事は認められずこの際の油脂収量の増大は生成菌体が増大する事に基く事を認めた。

本研究は本学当講座主任、中浜敏雄教授の御指導に依るもので、ここに深謝の意を表する。

文 献

- (1) 中浜敏雄：醗酵工学, **29**, 331 (1951)
- (2) 中浜敏雄：同誌, **30**, 11 (1952)
- (3) 中浜敏雄・石田博之：同誌, **30**, 100 (1952)
- (4) 中浜敏雄・石田博之：同誌, **30**, 260 (1952)
- (5) FINK, H. HANSEN and HOERBURGER, W : *Chem. Ztg.* **61**, 689 (1937)
- (6) STADTMAN, E. R and BARKER, H. A : *J. Biochem. Chem.* **184**, 769 (1950)
- (7) WEISS, S., FIORE, J. V and NORD, F. F : *Arch. Biochem.* **15**, 326 (1947)
- (8) WEISS, S., FIORE, J. V and NORD, F. F : *ibid.* **17**, 345 (1948)
- (9) FIORE, J. V. : *ibid.* **16**, 161 (1948)

Summary

1. The fat formation of *Endomyces* species, FH, was studied when it was cultured in the molasse medium. On the result of addition of ethanol to the medium, the amount of total fat

produced by FH was increased according to the increasing of the pellicle. By symbiosis of FH with *Saccharomyces* sake, the similar effect as the addition of ethanol was shown. When I added

vitamin B₁ or nicotinic acid to the culture solution, the quantity of the pellicle and total fat produced by FH were both increased and I could not show the similar effect by the addition of the other vitamins which were experimented.

2. The influence of addition of vitamins was examined in the synthetic medium which was used glucose or ethanol as the carbon source. Both vitamin B₁ and nicotinic acid were effective in glucose medium, while only vitamin B₁ was

effective in the ethanol medium.

3. The fat contents of the pellicle was 31-34% on the molasse medium, about 17% on the glucose medium and about 14% on the ethanol medium. On each case, the fat content in the cell should not be shown remarkable change by the addition of vitamins and the increasing of yield in the certain culture solution due to the increasing of the pellicle quantity.