

氏名	西尾尚道 <small>にし お なお みち</small>
学位の種類	農学博士
学位記番号	論農博第737号
学位授与の日付	昭和53年1月23日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	<b>UTILIZATION OF NON-CARBOHYDRATE CARBON SOURCES FOR B-VITAMIN PRODUCTION BY MICROORGANISMS</b> (微生物によるB群ビタミン生産における非糖質炭素源の利用)
論文調査委員	(主査) 教授 上久保 正 教授 岩井和夫 教授 栃倉辰六郎

### 論文内容の要旨

有用物質の醸酵生産における微生物の主栄養素の1つである炭素源として従来は澱粉や糖蜜のような糖質が使用されているが、これらは食飼料として貴重な資源である。一方、世界人口の急激な増加に対する将来の食糧問題解決の一助として、醸酵生産における糖質に代替し得る炭素源の利用と併せて微生物蛋白質 (SCP) 生産の研究が約20年前から急激に盛んになり、更に種々の物質生産にまで及んだ。

糖質に代わる炭素源としては、まず石油系炭化水素のうち特に n-パラフィン、次いでメタン、メタノール等の C<sub>1</sub> 化合物、更に最近は廃セルローズその他の農産物廃棄物の酵素的分解産物であるグルコース等、諸炭素源の利用が研究対象である。

本論文は、まず従来あまり研究されていない n-パラフィンやメタノールを資化し、より付加価値の高いビタミン B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> 生産力を有する微生物を土壌より分離し、一部菌の同定及び培養条件の詳細な検討を行った。

*Pichia guilliermondii* Wickerham NK-1 と同定された酵母は n-パラフィン培地で最適条件下で約 280mg/l のビタミン B<sub>2</sub> を生成し、その大部分は遊離型として存在した。この値は炭化水素培地での従来の最高値である。また、菌体蛋白質のアミノ酸分析の結果 SCP として利用価値の高いことを示した。

次に、*P. guilliermondii* Wickerham NK-2 と同定された酵母は n-パラフィン培地で、検討した最適条件下で約 25mg/l のビタミン B<sub>6</sub> を生産した。この値は微生物によるビタミン B<sub>6</sub> 生産量としては最高である。本菌を使用してビタミン B<sub>6</sub> 生合成機構にも検討を加え新知見を得ている。

ビタミン B<sub>12</sub> に関しては、著者が *Bacillus badius* と同定した細菌の n-パラフィン培地でのビタミン B<sub>12</sub> 生成量は最高 130μg/l と低いが、他の細菌と異なり培養液中に補酵素型として存在するという興味ある知見を得た。更に著者が分離同定した細菌 *Klebsiella* sp. No. 101, 他のメタノール資化性菌 *Pseudomonas* AM-1, *Microcycylus eburneus* のメタノール培地での B<sub>12</sub> 生産は回分培養では 150~250 μg/l で、*Propionibacterium shermanii* などによる糖質発酵の場合に比較してはるかに低い。そこで、

*Klebsiella* sp. No. 101及び *Pseudomonas* AM-1 について pH スタットによる流加培養を試み、菌体収量及びビタミン B<sub>12</sub>生産量を飛躍的に高めることに成功した。

更に、これらメタノール資化性菌が1,2-プロパンジオール及びその他のアルコール類も資化できることを明らかにした。

### 論文審査の結果の要旨

本論文は、醗酵生産における微生物の炭素源として従来使用されている澱粉、糖蜜等の糖質を、石油系炭化水素やメタノール等のいわゆる非糖質炭素化合物に代替して、微生物蛋白質 (SCP) 及びより付加価値の高いと考えられるビタミン B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> の有効生産を目的としたものである。

まず、n-パラフィンあるいはメタノール資化性を有し、ビタミン B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> 生産能を有する微生物を土壌より分離し、次いで100株以上の分離微生物の中から特に上記生産能の優れた菌株を選び出し、それらについて詳細な培養条件の検討を行い、それぞれについて最適条件の設定をし、ビタミン B<sub>12</sub> 生産菌の1株については菌学的検討を行い *Klebsiella* sp. No. 101 と同定した。

n-パラフィンの資化においては、分離した酵母の1株 *Pichia guilliermondii* Wickerham NK-1 がこの種の培地で従来最高の280mg/l のビタミン B<sub>2</sub> を、また他の1株 *P. guilliermondii* Wickerham NK-2 が同じく微生物による従来最高の25mg/l のビタミン B<sub>6</sub> を生産し、細菌の *Bacillusadius* は 130µg/l と低い。他の細菌と異なり培養液中に補酵素型ビタミン B<sub>12</sub> を生産するという興味ある知見を示した。

メタノールの資化においては、著者が分離・同定した *Klebsiella* sp. No. 101 に加え、*Pseudomonas* AM-1, *Micrococcus eburneus* のビタミン B<sub>12</sub> 生成の詳細な検討を行った結果、それぞれ最適条件下でも150~250µg/l で *Propionibacterium shermanii* その他の細菌による糖質醗酵における生産量と比較してはるかに低かった。そこで *Klebsiella* sp. No. 101 と *Pseudomonas* AM-1 について、pH スタットによる流加培養を試み菌体ならびにビタミン B<sub>12</sub> 収量を飛躍的に増進することに成功した。

また、使用したメタノール資化性菌が1,2-プロパンジオールの他種々のアルコール類をも資化できることを発見し、その代謝経路に酵素学的検討を行い新知見を得ている。

以上のように本論文は醗酵工学、ビタミン学に寄与するところが大きい。

よって、本論文は農学博士の学位論文として価値あるものと認める。