

氏名	田 中 渥 夫 た なか あつ お
学位の種類	工 学 博 士
学位記番号	工 博 第 164 号
学位授与の日付	昭 和 44 年 5 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	工 学 研 究 科 工 業 化 学 専 攻
学位論文題目	STUDIES ON PRODUCTION OF SOME USEFUL SUBSTANCES FROM HYDROCARBONS BY MICROORGANISMS (微生物による炭化水素からの有用物質の生産に関する研究)

論文調査委員 (主査) 教授 福井三郎 教授 宍戸圭一 教授 野崎 一

論 文 内 容 の 要 旨

この論文は炭化水素を炭素源とする発酵により、生理的に重要な活性を有し、しかも構造の複雑な各種のビタミン類および補酵素類などを生産することを目的とし、またこれらの発酵に関連した微生物的生理について行なった研究結果をまとめたものであり本文8編、緒言、概要および総括よりなっている。

本文第1編は炭化水素培地における *Candida albicans* のビタミン B₆ およびその補酵素型 (ピリドキサル・リン酸エステル) の生産を述べている。酵母、細菌、および糸状菌の炭化水素資化性とビタミン B₆ 生産性を調べて、最も有用な菌株として選んだ *Candida albicans* IFO 0583 を用いて培養液組成、培養条件等につき検討を加えた結果、窒素源としては硝酸アンモニウム、天然栄養源としてはコーン・ステープ・リカーを補足し、適当な非イオン界面活性剤を添加するか、通気攪伴を上げし行なうことによつて、培養物 1 ℓ 当たりビタミン B₆ 約 1 mg を生成せしめた。このようにして生産されたビタミン B₆ はピリドキサル・リン酸エステルの割合の高いことが認められた。炭化水素発酵によるビタミン B₆ 生成様式の特徴は、炭素源が消費され酵母の増殖が止まったのちも菌体内でビタミンの生成が続くことと、培養上清中へ補酵素型のままで排出される割合が大きいことであつた。これらの現象は糖質を炭素源とした発酵の場合と非常に異なっている。

第2編では炭化水素培地に増殖した酵母チトクローム c 生産を取り扱っている。第1章ではノルマル・アルカンを炭素源とする培地での酵母の増殖におよぼす培養条件の影響について検討し、炭化水素の乳化分散と pH 調節の重要性を認めている。第2章では *Candida albicans* の増殖と菌体チトクローム c 含量との関係を検討し、対数増殖期における比増殖速度とチトクローム c 含量との間に正の相関関係のあることを明らかにした。これらの結果より設定した最適条件では、*Candida albicans* および *Candida lipolytica* はノルマル・アルカン培地でそれぞれ培養物 1 ℓ 当たり 7.5 mg および 11 mg のチトクローム c を生成することを第3章で示した。

第3編は *Mycobacterium smegmatis* によるカロチノイド生産に関する研究をまとめたものである。

第1章では培養条件につき検討を加え、炭素源としてはノルマル・ヘキサデカン、ノルマル・テトラデカン、あるいは炭素数10~14のノルマル・アルカン混合物が適当であり、窒素源として弱酸のアンモニウム塩がすぐれていることを示した。ヒスチジンなど数種のアミノ酸、チアミンなどのビタミン類、および非イオン界面活性剤の添加が有効であり、最適通気量の存在を明らかにした。また銅などの重金属イオンがカロチノイド生産に悪影響を与えることを証明した。第2章は本菌の生産するカロチノイドの単離と構造決定を取り扱っている。生産されるカロチノイドは9種類以上であり、大部分は4-ケト- γ -カロチンおよびその誘導体からなっていることを示し、同時に本菌が炭化水素培地で生産するカロチノイドの代謝経路につき推定を加えている。第3章では炭化水素培地およびグルコース培地で生育した本菌の性質を電子顕微鏡で観察した結果を述べており、両者の間にいくつかの興味のある差異を認め、炭化水素生育菌のカロチノイドが容易に抽出される事実に説明を与えている。

第4編は *Mycobacterium smegmatis* によるポルフィリンの蓄積に関する結果を述べている。本菌は炭化水素培地で通気量を減じて培養すると多量の赤色素を培養液中に排出したが、この色素が遊離のコプロポルフィリンⅢであることを明らかにした。

第5編は炭化水素発酵における酵母の基質特異性に関するものである。個々のノルマル・アルカンにたいする微生物の態度については他の研究者の報告があるが、本研究はノルマル・アルカン混合物に *Candida* 属酵母を培養した場合に、増殖がアルカン混合物の組成により大きい影響を受けることを示し、工業的規模でノルマン・アルカン混合物を炭素源として発酵を行なうための情報を与えている。

第6編では、灯油、軽油などの粗炭化水素混合物、芳香族炭化水素、高級脂肪酸や高級アルコールなどを炭素源とした場合の生育性を、酵母および糸状菌について広く調べた成績をまとめている。これらの物質の利用は発酵工業に新しい炭素源を与えるものであるが、ノルマル・アルカン類に比較して資化能力をもつ酵母ならびに糸状菌が少ないことを示している。糸状菌についてはノルマル・アルカン混合物を炭素源として、振りませ、表面および界面の三種の培養条件下での生育を比較し、おのおの培養法における糸状菌の生育様式などを検討している。

なお緒言では炭化水素発酵の意義、微生物による炭化水素の代謝経路に関する現在の研究などについて論評し、総括では本論文の内容をまとめて将来への展望を述べている。

論文審査の結果の要旨

石油系水素を炭素源とする発酵は最近内外で注目をひいているが微生物菌体のたん白、脂質などを利用するだけでは工業的に採算のとれる段階に至っていない。著者は炭化水素の発酵により、ビタミン B₆ およびその補酵素型、チトクローム c、カロチノイド、ポルフィリンなどの生理活性を持ち構造が複雑で価値の高い物質を生産するために、発酵化学の立場から研究を行なつてつぎのような成果を得ている。

1. 各種の酵母、細菌、糸状菌の炭化水素培地における増殖とビタミン B₆ 生産性を調べた。そのうち *Candida albicans* の一菌株につき最適の培養条件を設定して培養物 1 ℓ 当たり約 1 mg のビタミン B₆ を生成せしめ、とくに補酵素型のピリドキサル・リン酸エステルの割合が高いことを認めた。また炭化水素発酵におけるビタミン B₆ 生成経過の特徴として、培地中の炭素源が消費されて酵母の増殖が止まったのち

も菌体内に蓄積する炭化水素代謝産物よりのビタミン生成が続くことと、培養上清中に補酵素型のままで排出される割合が大きく細胞壁または細胞膜の性質が糖質培地に生育した場合と異なることを示した。

2. *Candida albicans*, *Candida lipolytica* などの酵母を用いて炭化水素培地における増殖とチトクローム c 生成を研究した。著者の設定した培養条件では培養物 1 ℓ 当たり 10 mg 前後のチトクローム c が生産された。また対数増殖期における比増殖速度と菌体チトクローム c 含量間に正相関関係が成立することを示し、炭化水素の酸化的代謝経路におけるチトクローム c の役割に興味ある示唆を与えた。

3. *Mycobacterium smegmatis* をノルマル・アルカン混合物を炭素源として培養する場合、適当な条件下で大量のカロチノイド色素が菌体内および培養中に生成することを認めた。生成されたカロチノイド混合物を分離し、主なものの構造を調べて 4-ケート- γ -カロチンおよびその誘導体を主体とするキサントフィル類であることを証明した。この結果にもとづいて本菌が炭化水素培地で生産するカロチノイドの代謝経路について論じた。炭化水素発酵では菌体内に生成したカロチノイドが有機溶剤により容易に抽出される点に特徴があるが、炭化水素培地およびグルコース培地で生育した菌体の電子顕微鏡による観察の結果、両者の間にいくつかの興味ある差異を示した。また、*Mycobacterium smegmatis* を炭化水素培地で培養する際通気量が少ないと培養液中に大量の赤色色素が蓄積することを認め、この色素がコプロポルフィリン III であることを証明した。

4. 各種の微生物の、ノルマル・アルカン、芳香族炭化水素、高級脂肪酸、高級アルコール、灯油、軽油の資化性におよぼす培養条件の影響を調べて、工業的に炭化水素およびその誘導体を原料として発酵を行なうための有用な基礎知識を得た。

以上を要するに、この論文は炭化水素を原料とした発酵法による上記 4 種類の生理活性物質の生産に関する研究をまとめたものである。生産量については一層の向上が望まれるが、これらはいずれも最初の企てであって、炭化水素発酵に新しい領域を開いたものであり、またこれらの発酵に関する微生物の生理について興味深い知見を得ており、学術上および実際上寄与するところが大きい。

よって本論文は工学博士の学位論文としての価値を有するものと認める。