飼料酵母の生産培地への骨脂の利用

大武由之・山内 亨・飯田 貢*

宇都宮大学農学部, 宇都宮市 321

*東京理科大学理工学部, 野田市 278

(1982. 5. 31 受付)

畜産副産物の牛脂は、熱量の増加を主な目的として、飼料に配合して利用されている¹⁾。食肉産業での副生物の家畜や家禽の骨は、脂肪含量が多いが、骨脂は食用としては利用性が乏しい。このような動物性脂肪を、単に熱量源としての利用だけでなく、菌体蛋白質の生産原料に活用し、食肉生産における副生物をさらに有効に利用することを考えて、骨脂を唯一の炭素源とする培地で飼料酵母生産の予備試験を行なった。この際、酵母による脂肪質化の一端を知る目的もあって、菌体脂質の脂肪酸組成を調べた。

実験方法

食肉工場の原料肉処理における除骨工程で得られた豚の前肢および後肢の骨から骨髓を取り出し、加熱溶出して骨脂を製取し、温湯で洗浄して試験に供した。骨脂の一部は塩酸メタノールでメチルエステルを調製した。また一部はアルコール性苛性カリで加水分解して脂肪酸を得た後、水酸化カリウムで中和して骨脂の脂肪酸カリウム塩を製した。さらに一部はアンモニウム緩衝液を用い豚の膵臓リパーゼで処理し²⁾、約30%加水分解を行なって骨脂の加水分解物を得た。これらの骨脂ならびに骨脂からの誘導体、調製品は培地の炭素源として試験に用いた。

培養に使用したのは石油質化酵母として知られている *Candida rugosa* JF 101 で、東京理科大学理工学部応用生物科学科の保存菌株である。

培地は硫酸アンモニウムと尿素を窒素源とし、 FeCl_3 を含むリン酸緩衝液 (pH 7.2) の無機培地で、これに骨

脂または骨脂からの調製誘導体を1%を加えたものである。

培養には500 mlの三角フラスコに培養液80 mlを入れ、滅菌した後、酵母を接種して27°Cで5日間の振盪培養を行なった。なお比較のため、グルコースおよびグリセロールを炭素源とした培地についても培養試験を行なった。培養後、遠心分離して菌体を集め、菌体は緩衝液で2回、ついでヘキサソで2回洗浄した後、凍結乾燥して試験に供した。

菌体の脂質を調べるため、凍結乾燥標品から Bligh-Dyer 法に準じて脂質を抽出し³⁾、それぞれの脂質は三フッ化ホウ素-メタノール溶液でメチルエステル化して^{4,5)}、ガスクロマトグラフィーによって脂肪酸組成を調べた。ガスクロマトグラフィーには島津製作所 GC 4CM PF を用い、運転条件は以前に行なったとおなじ方法で実施した。クロマトグラムの各脂肪酸メチルエステルのピーク面積は、島津デジタルインテグレーター 1TG4A によって測定し、これより脂肪酸組成を算出した。

結果および考察

骨脂を含む無機培地で *Candida rugosa* を27°Cで培養したとき、振盪培養中に骨脂が凝集して液表面に浮遊したり、フラスコの壁面に付着したりして、培養液中での骨脂の均等な分散が見られなかった。

石油酵母の生産で、炭化水素の同化は、酵母細胞と油滴との充分な乳化によって起るといわれる⁷⁾ので、培地中の炭素源の分散を良くするため、骨脂脂肪酸のカリウム塩、あるいは骨脂の加水分解物を用いて、培養液中で

The Utilization of Bone Fat as a Culture Medium of Feed Yeast Production: Yoshiyuki OHTAKE, Tooru YAMAUCHI and Mitsugi IIDA* (Faculty of Agriculture, Utsunomiya University, Utsunomiya-shi 321 *Science University of Tokyo, Department of Applied Biological Science, Noda-shi 278)

Table 1. The cell yield and the fatty acid compositions of total lipids from *Candida rugosa* yeast grown on the media containing various lipids, glucose or glycerol as the sole carbon source

Fatty acid	Carbon source						Original bone fat
	Bone fat	Bone fat Me-ester	Bone fat K-salt	Bone fat hydrolyzate	Glucose	Glycerol	
(Weight %)							
14:0	0.5	0.9	0.6	0.9	0.5	0.7	1.1
14:1	0.3	0.2	0.4	2.3	0.4	1.5	tr*
15:1	0.1	tr	0.2	tr	tr	0.5	tr
16:0	20.1	28.3	19.7	27.6	18.0	20.5	24.3
16:1	3.3	3.8	2.2	16.3	11.2	4.2	2.2
17:0	0.5	0.7	0.4	0.4	0.3	0.4	0.4
17:1	0.7	1.3	0.8	2.6	1.3	1.6	0.3
18:0	20.9	29.4	20.9	15.0	6.2	15.0	14.7
18:1	42.7	21.8	44.1	18.8	30.8	38.1	43.2
18:2	3.6	7.8	4.5	11.7	27.5	8.9	10.2
18:3 } 20:0 }	1.3	3.2	1.0	4.1	3.2	5.2	2.3
20:1	3.5	1.7	3.3	0.1	0.3	1.9	0.9
20:2	0.2	0.6	1.4	0.2	0.3	1.0	0.4
unknown	0.6	0.1	0.1	—	—	0.1	—
unknown	1.6	0.2	0.4	—	—	0.4	—
Cell yield**	5.30	3.70	3.28	4.01	1.66	0.75	

* tr: trace (below 0.1%). **Grams of dry cell per liter of medium.

の脂質の乳化性を高める試みを行なった。また骨脂そのものよりも融点の低い骨脂脂肪酸メチルエステルを炭素源として培養試験を行なってみた。さらにグルコース培地およびグリセロール培地での試験を含めて、各炭素源で培養して得た菌体収量ならびに菌体脂質の脂肪酸組成は表 1 に示すとおりである。

培地中での脂質の分散を良くし、菌体収量を高める目的で、種々の方法を試みたが、骨脂脂肪酸カリウム塩も 1% 濃度では完全に溶解しなかったし、骨脂加水分解物も振盪培養の条件では充分な乳化状態を保持し得なかった。また骨脂脂肪酸メチルエステルは、骨脂自体で培養した時よりも菌体収量がよくなって、期待した結果が得られなかった。

炭化水素培地で固体の炭素源の乳化、分散状態を良くするために、界面活性剤 Tween 80 の使用や、ヘキサンの使用の方法もあるが、培養液中で基質脂肪に対する乳化力の強い酵母の菌種を選ぶほうが得策かと思われる。また、脂肪を炭素源とする場合は、適当な方法で低融点画分を分取して、これの利用の方法も有利かと思われる。

る。

なお今回の試験で、グリセロール培地では菌体収量が最も低く、グルコース培地でも骨脂培地に比して収量がよくなかった。MISHINA らは *Candida lipolytica* の培養で、グルコース培地よりも炭化水素を培地としたときのほうが菌体収量がよく⁸⁾ 菌体の脂質含量も多かった⁹⁾ と報告している。

得られた酵母の菌体脂質は、骨脂培地と骨脂脂肪酸カリウム塩培地ではよく似た脂肪酸組成を示していたが、その他の炭素源で培養した酵母の脂質は、それぞれ異なった脂肪酸組成を有していた。ことにグルコース培地の菌体脂質は、骨脂培地のものに比べて、脂肪酸組成で大きな差異があった。これは、グルコース培地では菌体脂質が、全合成によって生産されるのに対して、脂質培地では菌体は培地の脂肪酸も利用して、菌体脂質を構成しているのによると考えられる。

酵母の菌体脂質は、酵母の種類¹⁰⁾、培地の炭素源の種類^{8,11)}、培養の温度^{12,13)} や培養液の pH、菌の生長の段階¹⁴⁾、炭化水素を炭素源としたときは炭素鎖のちがいがな

どで、脂質の組成や脂肪酸組成にかなりの変動、差異が認められている。

炭化水素を用いて酵母を培養すると、培養液から多くの脂肪酸が優先的に分離されるとともに、アルコール、アルデヒドの存在が認められ^{11,15)}、酵母は炭化水素を酸化し、脂肪酸を生産して利用している^{15,16)}。さらに脂肪酸化能力の優れた酵母の選択を試み、畜産副生物の有効な資源利用をはかることが、本試験の今後の目的と考えている。

文 献

- 1) 勝木辰男, 日畜会報, **35**: 199-208. 1964.
- 2) JACK, E. L., C. P. FREEDMAN, L. M. SMITH, and B. MICKLE, J. Dairy Sci., **46**: 284-290. 1963.
- 3) 渋谷 勲・赤松 稔・土井 脩・鬼頭 誠, 生物と化学, **10**: 672-681. 1972.
- 4) METCALFE, L. D., A. A. SCHMITZ and J. R. PELKA, Anal. Chem., **38**: 514-515. 1966.
- 5) ENDRES, J. G., J. Am. Oil Chemists' Soc., **43**: 600. 1966.
- 6) 大武由之・中里孝之・斉藤 馨・佐藤清之・谷田部治之・高橋光輝・岸本赳夫, 日畜会報, **41**: 407-413.
- 7) GOMA, G., A. PAREILLEUX and G. DUGAND, Agr. Biol. Chem., **38**: 1273-1280. 1974.
- 8) MISHINA, M., S. YANAGAWA, A. TANAKA and S. FUKUI, Agr. Biol. Chem. **37**: 863-870. 1973.
- 9) MISHINA, M., M. ISURUGI, A. TANAKA and S. FUKUI, Agr. Biol. Chem. **41**: 517-520. 1977.
- 10) KANEKO, H., M. HOSOHARA, M. TANAKA and T. ITOH, Lipids, **11**: 837-844. 1976.
- 11) KLUG, M. J. and A. J. MARKOVETZ, J. Bacteriol., **93**: 1847-1852. 1967.
- 12) BROWN, C. M. and A. H. ROSE, J. Bacteriol., **99**: 371-378. 1969.
- 13) McMURROUGH, I. and A. H. ROSE, J. Bacteriol., **114**: 451-452. 1973.
- 14) ITOH, T., H. WAKI and H. KANEKO, Agr. Biol. Chem., **39**: 2365-2371. 1975.
- 15) IIZUKA, I., M. IIDA and Y. UNAMI, J. Gen. Appl. Microbiol., **12**: 119-126. 1966.
- 16) LEBEAULT, J. M. and E. AZOULAY, Lipids, **6**: 444-447. 1971.