甘藷澱粉製造における副産物の利用 (第4報)

甘藷汁で培養した酵母の核酸原料, 飼料としての検討

高桑正義* 池田一美* 村上 徹**

(昭和46年12月3日受理)

Utilization of By-products in Manufacture of Sweet
Potato StarchPart 4. Utilization of *Saccharomyces cerevisiae* Cultivated in Sweet
Potato Juice as Food Yeast or Materials of Nucleic Acids.

Masayoshi TAKAKUWA*, Kazumi IKEDA* and Tōru MURAKAMI**

* College of Agriculture, Ehime University (Tarumi-chō, Matsuyama)

** Doi Branch of Ehime Prefectural Nomura High School
(Shirokawa-chō, Higashiura-gun, Ehime Prefecture)

As *Saccharomyces cerevisiae* cultivated in the fruit water of a sweet potato starch factory was confirmed to have good qualities for a baker's yeast, some other uses of the yeast were investigated. The content of RNA in the yeast was only 60% of that in *Candida utilis* manufactured for a food yeast. In the feeding experiments, the increase of body weight of the rabbits given dry yeast in place of soy bean cake was larger than that in the control, while no difference was recognized between the control and the rabbits given the dry yeast from which RNA had been extracted.

甘藷澱粉製造廃液がパン酵母製造原料として有用であることを、さきに報告した¹⁾が、パン酵母は通常生酵母として使用されており、その耐久力²⁾は10日内外であって、夏季高温多湿の地方ではとくにその長期の貯蔵が不可能である³⁾。したがって、パン酵母は、わが国では特定の数社により製造販売されており、澱粉工場で廃液から製造された場合のパン酵母の販路が問題となると考えられる。亜硫酸パルプ廃液では、*Candida utilis* を培養してイノシン酸など呈味成分を調製するための核酸原料酵母が製造されており、その際、核酸を除いた脱核酸酵母が飼料として利用されているようである⁴⁾。そこで、パン酵母用として製造された酵母が他の目的にも使用されるか否かの検討が必要であろうと考えて、核酸原料や飼料としての価値を検討するために本実験を行なっ

た。

実験方法

菌株は、市販のパン酵母から分離した *Saccharomyces cerevisiae* を使用した。圧搾酵母の調製は常法に従って行なった⁵⁾。すなわち、あらかじめ1日試験管で前培養したものを接種して500 ml 容坂口フラスコ中100 ml の培養基で2日間振とう培養した後、種酵母として使用し、10 l 容ジャーファーメンターにより培養基を交換しながら連続通気培養して得た酵母をブフナー漏斗上に圧搾して調製した。乾燥酵母は、Faust-Heim 型の乾燥機により30°~35°C で通風乾燥して調製した。培養基は、甘藷汁に glucose と urea を補充して糖濃度1%, 対供与糖室素率3%となるように調製した。

飼料酵母 (*Candida utilis*) は KK 興人よりもらい受けた。その乾燥酵母は、そのまま乾燥したものであり、脱核酸酵母は RNA を抽出後乾燥調製したものである。

* 愛媛大学農学部 (松山市樽味町)

** 愛媛県立野村高等学校土居分校 (愛媛県東宇和郡城川町)

Fig. 1. Preparation of RNA-free dry yeast.

Fig. 2. Absorption spectrum of RNA-solution.

飼料価値の検討などにおける、粗タンパク量は micro Kjeldahl 法で全窒素を定量し、6.25 を乗じて算出した。

結 果

1. 核酸原料としての検討

酵母細胞よりの核酸の抽出は、*C. utilis* について緒方らが行なった方法⁶⁾を参考として、Fig. 1 のように実

Table 1. Content of RNA. RNA content is shown in terms of percent on the dry yeast cells.

	<i>Candida utilis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	
		commercial	cultured
Content	7.07	6.47	4.37
Ratio per <i>Candida utilis</i> %	100	91.5	61.8

施した。1 kg の圧搾酵母から 1.4 l の RNA 溶液が得られ、この溶液の紫外吸収スペクトルは Fig. 2 に示すごとくであって、260 mμ に明瞭な最大吸収を示した。

RNA の $\epsilon(p)=8900$, RNA の P 含量 9% として 260 mμ 吸光度から算出した RNA 含量を Table 1 に示す。この結果より、甘藷汁から調製した *S. cerevisiae* の RNA 含量は、*C. utilis* の 61.8%, 市販パン酵母のそれは *C. utilis* の 91.5% であって、調製酵母の RNA 含量は低かった。

2. 飼料価値の検討

飼料試験には大量の酵母を必要とするので、市販の圧搾パン酵母について検討を行なった。飼料として使用した乾燥酵母は、圧搾酵母を 30°C で通風乾燥した後、細

Table 2. Composition of each feed. Each feed was prepared to contain crude protein 15.6%. Its component is shown by the ratio of weight per the sum of components of the control feed.

	Soy bean cake	RNA-free dry yeast	Dry yeast	Wheat bran	Alfalfa meal
Control	5	0	0	30	65.0
A I	4	1	0	30	65.5
A II	3	2	0	30	66.0
B I	4	0	1	30	65.8
B II	3	0	2	30	66.6

胞を完全に死滅させるために 120°C で 2 時間加熱して調製した。あらかじめ Fink の methylene blue 染色法で細胞の死滅率をしらべたところ、30°C 通風乾燥では大半が生存しているが、この乾燥酵母を 100°C で 45 分間加熱するとき生細胞率が 4~5% となり、90 分間加熱では生細胞がまったく認められなかった。乾燥酵母と比較するために脱核酸酵母の調製においても、Fig. 1 に示すように同様の処理 (120°C, 2 時間加熱) を行なった。

飼料効果は家兎を使用して検討した。すなわち、日本白色種 33 頭を使用し、10 月 6 日から 10 月 26 日までの 20 日間飼育試験を実施した。10 月 6 日より 10 月 10 日までは予備飼育期間とした。飼料配合の割合は Table 2 に示す。給与飼料中に酵母を含まないものを対照区とし、試験区は A I~B II の 4 区とした。すなわち、A I, II は対照区の大豆粕をそれぞれ脱核酸酵母 20%, 40% で代替したものであり、B I, II は大豆粕をそれぞれ乾燥酵母 20%, 40% で代替して配合したものである。

飼養標準は森本の方法⁷⁾に準じて粗タンパク質 15.6% を含む飼料を配合して、朝昼各 50 g, 夕 60 g を給与し、毎夕給与前に残食量を測定した。水は給水器より自由に与えた。

採食状態については、試験兎は各区とも飼料を好んで食し、糞、被毛その他一般的健康状態に何ら異常が認められなかった。

体重は個体別に 5 日ごとに測定した。試験期間中各区分別の 1 頭当たり平均体重の変化を Table 3 に示す。対照区の増体率を 100 とした場合の各試験区の指数は Table 4 に示すとおりであって、Table 3, 4 より脱核酸酵母による大豆粕 40% までの代替は大豆粕だけと大差がなかった。乾燥酵母では、増体指数が 26 日の値からすると 20% 代替で 169, 40% 代替で 258 であって、大豆粕だけよりも明らかに高い率を示した。この結果は、Fig. 1 の

Table 3. Change of body weight. Average body weight (g) is shown in the Table.

	Oct. 11	Oct. 16	Oct. 21	Oct. 26
Control	2017	2040	2040	2073
A I	2117	2160	2173	2180
A II	1833	1820	1873	1887
B I	2025	2010	2085	2120
B II	1950	1970	2080	2090

Table 4. Increase of body weight. Increase of body weight is compared with the control.

	Oct. 16	Oct. 21	Oct. 26
Control	100	100	100
A I	178	232	107
A II	-62	197	105
B I	-65	256	169
B II	90	585	258

ような脱核酸処理を行なっただけでその効果を失なうような、何らかの体重増加促進因子が乾燥酵母中に存在していることを暗示している。

3. 消化試験

パルプ廃液からは、すでに工業的規模で飼料酵母が *C. utilis* を菌株として培養製造されているが、タンパク質の大部分をこの酵母で代替して飼育するとき⁴⁾、ラットが肝臓壊疽をおこして死亡するといわれる。また、乾燥酵母をそのまま食用に供するとき、その呈味の悪いことと消化がよくないことなどのため、1 日の摂取量が制限を受けるとも報告されている⁸⁾。そこで、消化試験についての検討を堀米らの報告⁹⁾を参考として実施した。

約 50 ml の共栓試験管中に、あらかじめ定量しておいた粗タンパク含量から計算して、タンパク質量 100 mg となるように試料を秤量し、緩衝液 10 ml, 酵素液 1 ml

を加え、はげしく混和、37°Cで振とうして消化を行なわせた。緩衝液として pepsin の場合は pH 2.0 の Walpole 緩衝液 (HCl-CH₃COONa), trypsin の場合は pH 9.0 の Sørensen 緩衝液 (硼砂-HCl) を使用した。24 時間消化後 20% trichloroacetic acid 5 ml を添加、混和し、冷蔵庫中に放置した。1 夜後 4000 rpm 5 分間遠心分離した上澄液を東洋濾紙 No. 5c で濾過し、濾液を試料として消化タンパク質量を算出した。試料を含まない反応液で測定した。消化タンパク質量を酵素液 1 ml の自己消化量として試験値より差し引き、各試料の消化率を算出した。消化試験の結果は Table 5 に示す。

Table 5. Digestability of dry yeast protein.

		<i>Candida utilis</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i>		
		RNA-free		
Pepsin	Ratio of digestion %	48.5	19.7	63.8
	Hydrolysed protein* mg	65.4	67.6	104.8
Trypsin	Ratio of digestion %	57.5	80.0	12.3
	Hydrolysed protein* mg	72.6	83.3	35.2

* determined by Lowry's method using ovalbumin as standard protein.

pepsin 消化試験の結果では、*S. cerevisiae* (パン酵母) から調製した乾燥酵母は消化率 64%、Lowry 法¹⁰⁾により測定した可溶化タンパク質量 105 mg で、*C. utilis* から製造した乾燥酵母にくらべて前者で 30% 後者で 60% 大であった。これに反して trypsin 消化試験では、*S. cerevisiae* の消化率はわずかに 12.3%、Lowry 法で測定した可溶化タンパク質量 35 mg で、*C. utilis* にくらべてそれぞれ 1/5、1/2 であった。

C. utilis について乾燥酵母と脱核酸酵母とを比較したところ、消化率は pepsin 消化で前者が 2.5 倍高かったが、trypsin 消化では逆に前者が後者の 72% であった。このように消化率では両者に差があったが、Lowry 法による可溶化タンパク質量の測定では両者の値がほぼ一致した。したがって、粗タンパク質量を定量して算出される消化率は、タンパク態窒素以外の窒素の可溶化をも含むものと考えられ、上述の *S. cerevisiae* と *C. utilis* のタンパク質消化の比較では Lowry 法による測定値の比較がより妥当と考えられる。

考 察

1) 酵母の核酸の大部分は RNA であって、パン酵母では RNA/DNA は約 13 であると Vendrely は報告している¹¹⁾。酵母中の核酸含量はタンパク合成、細胞増殖に関連するものとして試料の growth phase に著しく左右され、タンパク合成の盛んな growth phase では RNA 含量が高く、lag phase では核酸合成はまったく認められない¹²⁻¹⁴⁾。

本実験で甘藷汁で培養した *S. cerevisiae* の RNA 含量が市販パン酵母の 2/3 であったが、これは、甘藷汁で培養した酵母細胞が市販パン酵母よりも十分に成熟しているためと考えられる。このことは、タンパク質含量が 40% 以下^{1,10)}で市販の酵母にくらべて低く¹⁶⁾、耐久力もかなり大きいこと⁵⁾などからも首肯される¹⁷⁾。

また、本実験で測定した RNA 含量からすると、甘藷汁で培養調製した *S. cerevisiae* を核酸原料として使用することは適当でないと考えられる。

2) 一般に飼料酵母として使用されているのは *C. utilis* であるが、これは、*C. utilis* が pentose 資化性酵母であって、パルプ廃液での培養が可能であること、および、そのタンパク質含量が高いこと¹⁶⁾によると考えられるが、前述のようにタンパク質の代替として利用されており、その動物成長促進の効果についてはあまり報告されていない⁴⁾。本実験で *S. cerevisiae* の大豆粕タンパク質に対する 40% 代替がかなりの体重増加促進効果を示したことは、興味深く、今後さらに検討する必要がある。

このような効果の原因は、*C. utilis* よりも *S. cerevisiae* の消化がよいためとも考えられるので、工業的に製造されている飼料酵母 (*C. utilis*) と比較したところ、pepsin 消化に対しては *S. cerevisiae* のほうが消化率が大であったが、trypsin 消化に対しては *S. cerevisiae* のほうが消化率が小さかった。胃中で pepsin により消化された後に腸で trypsin の消化を受けると考えるとき、さらに pepsin 消化物について trypsin の消化率を検討しなければ、いずれが消化されやすいと断ずることはできないであろう。しかし、*C. utilis* の乾燥酵母と脱核酸酵母との比較から考えると、消化率では *S. cerevisiae* でも乾燥酵母と脱核酸酵母との間で差がないと思われるのに、飼料試験では両者間にかかなりの差が認められたから、*S. cerevisiae* の乾燥酵母による体重増加促進の効果は、消化率に基づくよりも、むしろ脱核酸処理で消失するような微量成分の影響と考えられる。

なお、従来消化率の比較に当たって可溶性粗タンパク量の比較が行なわれている⁹⁾が、本実験における Lowry 法による測定値との関係から、タンパク質の消化を論ずる場合には、このようなタンパク態窒素自体の定量を考慮する必要がある。

これまでの本研究の結果^{1,5,15)}を総括すると、甘藷汁で培養した *S. cerevisiae* は、パン酵母として利用するのが最良であるが、余剰の酵母については飼料酵母としての利用が可能と考えられる。

要 約

甘藷澱粉製造廃液で培養された *S. cerevisiae* のパン酵母以外の用途を開発するために、核酸原料や飼料としての価値を検討した。

1) 甘藷汁で培養した酵母細胞の RNA 含量は、飼料酵母として製造されている *C. utilis* の細胞の約 60% であって、市販パン酵母の RNA 含量よりも低かった。

2) 家兎を使用した飼料試験では、脱核酸酵母は大豆粕の 40% 代替が可能であること、核酸を除去していない乾燥酵母の代替は大豆粕よりも成長を促進することを認めた。

3) 消化率試験の結果から、*S. cerevisiae* の乾燥菌体中には、大豆粕に比して何らかの動物成長促進因子が含まれていることを推論した。

以上の結果から、甘藷汁で培養製造した *S. cerevisiae* の菌体は、核酸原料としてよりも飼料酵母として利用す

るほうが適当と考えられる。

本研究に使用した費用の一部は、文部省科学研究費(試験研究)補助金によるものであり、付記して謝意を表する。

文 献

- 1) 高桑正義, 田中俊輔: 澱粉工誌, **11**, 20 (1964).
- 2) イースト工業会: パン用酵母試験法, 1956, p. 3.
- 3) 佐藤友太郎: 農化, **30**, A 86 (1956).
- 4) 橋谷義孝編: 酵母学, 岩波書店, 534, (1967).
- 5) 高桑正義, 白戸美登里: 澱粉工誌, **10**, 168 (1963).
- 6) 緒方浩一: 化学と生物, **1**, 14 (1962).
- 7) 森本 宏, 亀岡暄一: 農技研報告 G, **4**, 113 (1952).
- 8) 橋谷義孝編: 酵母学, 岩波書店, 418, (1948).
- 9) 堀米隆男, 神立 誠: 農化, **38**, 121 (1964).
- 10) O. H. LOWRY, N. J. ROSEBROUGH, A. L. FARR, R. J. RANDALL: *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1951).
- 11) 橋谷義孝編: 酵母学, 岩波書店, 283, (1967).
- 12) T. CASPERSSON, K. BRANDT: *Protoplasma*, **35**, 507 (1941).
- 13) B. J. KATCHMAN, O. O'FETTY: *J. Bacteriol.*, **69**, 607 (1955).
- 14) D. H. WILLIAMSON, A. W. SCOPES: *Exptl. Cell Research*, **20**, 338 (1960).
- 15) 高桑正義: 澱粉工誌, **15**, 7 (1967).
- 16) 橋谷義孝編: 酵母学, 岩波書店, 272, (1967).
- 17) 高桑正義: 愛媛大学紀要, 第6部(農学), **8**, 365 (1962).