総 説

酵母による食用油脂 の生物学的改質

藤本健四郎・遠藤 泰志

東北大学農学部応用生物化学科

(〒981 仙台市青葉区堤通兩宮町 1-1)

Biomodification of Edible Fats and Oils by Yeasts

Kenshiro FUJIMOTO and Yasushi ENDO

Faculty of Agriculture, Tohoku University

(1-1, Tsutsumidori-Amamiyamachi, Aoba-ku, Sendai-shi, 〒981)

Lipid-biomodification ability was examined for yeasts isolated from soil using culture medium containing beef tallow (2 %). Some yeasts, e.g. *Candida*, *Trichosporon* and *Rhodotorula* species were able to grow on fats and oils. Fatty acid and triacylglycerol compositions were modified in lipids of some strains. *Candida* sp. MIS-1 and YM1-1 preferentially produced oleic acid. *Candida* sp. MIS-1 had high level of triacylglycerol with a melting point like olive oil. Fatty acid composition of lipids in *Candida lipolytica* IAM4948 and *Rhodotorula* sp. AO3-5 was similar to that of cacao butter. Yeast oils obtained from *C. lipolytica* provided the melting characterization different from beef tallow.

1 はじめに

微生物による油脂生産の研究の歴史は古く、第一次世界大戦下のドイツで、微生物油脂の食料化の研究が始められた。油脂生産微生物には、細菌、かび、緑藻と共に酵母があり、糖みつ(蜜)やパルプ廃液を炭素源とする培養が行われている¹⁾。

近年、微生物自身や微生物由来の酵素を用いたバイオテクノロジーによる、栄養学的あるいは食品学的に付加価値の高い油脂、いわゆる機能性油脂の生産が試みられている。これまでの代表的な研究例としては、糸状菌による γ -リノレン酸²⁾や海洋性細菌によるイコサペンタエン酸(EPA)の生産³⁾、海洋性微細藻類によるドコサヘキサエン酸含有油脂の生産⁴⁾、あるいはリパーゼやホスホリパーゼによるトリアシルグリセリンやリン脂質のエステル交換反応^{5), 6)}などが上げられる。

特に微生物の中でも、酵母は古くからパンや酒、発酵食品など食品製造に利用されているが、その他にも、*n*-パラフィンを炭素源とする、いわゆる石油酵母の発酵生産が活発に研究され、新たなタンパク質源として期待されたが、日本では工業化されなかった⁷⁾。

一方、筆者らのグループは、本学やマレーシア、アメリカの土壌から採取した酵母の中から、脂質を唯一の炭素源として生育する酵母をスクリーニングしたところ、*Candida* 属をはじめとするいくつかの菌株が脂質を資化する能力のあることを認めた⁸⁾。

本稿では、近年、食肉消費の増大にともなって増加している副産物の牛脂を有効利用することを目的として、これらの脂質資化性酵母を牛脂で培養することにより、牛脂の組成改変を試みた。その結果、牛脂からオレイン酸を選択的に生成する菌株 *Candida* sp. MIS-1 とカカオ脂様油脂を生成する菌株 *Candida lipolytica* IAM 4948 の存在を認めたので紹介する⁹⁾。

2 脂質資化性酵母

脂質資化性微生物は、トリアシルグリセリンをはじめ炭化水素やリン脂質などの脂質を炭素源として生育する微生物であるが、実際には有用なタンパク質や脂質を生産する微生物が対象となる。実際に脂質資化性微生物としては、*Aspergillus* 属¹⁰⁾、*Pseudomonas* 属¹⁰⁾、*Corynebacterium* 属¹¹⁾、*Micrococcus* 属¹²⁾、*Alcaligenes* 属¹³⁾などのバクテリアの他に、*Mortierella* 属の糸状菌、また *Geotrichum* 属¹⁴⁾、*Saccharomycopsis*

連絡者: 遠藤泰志

属¹⁵⁾や *Candida* 属¹⁶⁾などの酵母が見つっている。脂質資化性微生物の中、とくに油脂や脂肪酸などをエネルギー源として利用し、脂質を改変する微生物としては、*Micrococcus* 属¹²⁾、*Alcaligenes* 属¹³⁾などによるオレイン酸からヒドロキシ酸やオキソ酸への変換、*Candida* 属によるモノカルボン酸からのジカルボン酸の生成¹⁷⁾やパルミチン酸の不飽和化¹⁸⁾などが報告されている。また筆者らは、牛や羊の胃から採取した *Butyrivibrio fibrisolvens* や *Selenomonas ruminantium* などのルーメンバクテリアを用いて、リノール酸の水素添加反応を行い、(トランス)パクセン酸やステアリン酸を生成することを報告した¹⁹⁾。

今回は、酵母を用いて牛脂の化学的あるいは物理的性質を変えることを目的として、以下のような方法で脂質資化性酵母のスクリーニングを行った。尿素を窒素源に用い、炭素源として牛脂(ケンネン脂)を培地に2%添加し、26℃において500 mLのフラスコで振とう(120 rpm)培養を行った。なお、培地の組成はTable-1に示した。培養後、遠心分離によって菌体を捕集し、乾燥菌体重量、脂質含量、脂肪酸組成並びに脂質組成を測定

した。Table-2に生育が良好だった菌株の培養4 d後の性状を示す。スクリーニングした菌株の中、*Trichosporon* 属、*Rhodotorula* 属、*Geotricum* 属、*Candida* 属が生育が良く、特に *Trichosporon cutaneum* ZS6-2 と *Candida* sp. MIS-1 は乾燥菌体重量が18 g/Lと生育が最も良かった。また脂質含量は14~61%と菌株によって異なったが、平均して30%前後で、特に *Trichosporon cutaneum* ZS6-2 が高い油脂生産能(7.6 g/L)を示した。一方、酵母抽出脂質の脂肪酸組成を分析した結果、*Candida* 属3株と *Rhodotorula* 1株が牛脂の脂肪酸組成、すなわちパルミチン酸(23%)、ステアリン酸(24%)、オレイン酸(43%)のパターンと大きく異なった。この中、*Candida* sp. MIS-1 と *Candida* sp. YM1-1 ではオレイン酸含量が60%以上と高い値を示した。また *Rhodotorula* sp. AO3-5 と *Candida lipolytica* IAM4948はカカオ脂に近い脂肪酸組成〔パルミチン酸(23%)、ステアリン酸(28%)、オレイン酸(35%)〕を示した。

酵母の中でも、*Candida* 属は、不完全酵母に属し、胞子を作らずに、多側面出芽で増殖する。本属には196種もの種類があり、種類によってはエタノール発酵するなど資化能や生産能が異なることが知られている。とくに *Candida* 属には、*n*-パラフィンや、動・植物油からタンパク質、いわゆるSCP(Single Cell Protein)生産に適する菌株が多数見つっている²⁰⁾。このように、*C. lipolytica* や *C. tropicalis* に脂質資化能が確認されているし、*C. cylindracea*²¹⁾、*C. curvate*²²⁾、*C. antarctica*²³⁾などにリパーゼ生産株が見いだされている。そこで *Candida* 属の高オレイン酸油脂生産酵母として *Candida* sp. MIS-1 と、カカオ脂様油脂生産酵母として *Candida lipolytica* IAM4948 について脂質特性を検討した。

Table-1 Composition of culture medium.

Component	Concentration
Beef tallow	1.0 g
KH ₂ PO ₄	0.3 g
MgSO ₄ ·7 H ₂ O	25.0 mg
(NH ₂) ₂ CO	0.1 g
Yeast extract	10.0 mg
Corn steep liquor	50 μL
Deionised water	
Total	50 mL (pH 4.6)

Table-2 Characteristics of yeasts grown on the beef tallow.

Yeast	Dry cell weight (g/L)	Lipid content (%)	Lipid yield (g/L)	Fatty acid (%)				
				16 : 0	16 : 1	18 : 0	18 : 1	18 : 2
<i>Trichosporon cutaneum</i> ZS6-2	19.9	38.3	7.6	18.9	4.0	12.3	53.8	9.2
<i>Rhodotorula</i> sp. AO3-5	17.4	22.7	3.9	19.6	1.9	39.3	29.8	6.0
<i>Geotricum</i> sp. MO2-1	8.3	60.8	5.1	14.9	4.2	28.7	42.9	6.2
<i>Candida lipolytica</i> IAM4948	10.4	18.4	1.9	28.5	4.9	39.3	20.9	4.9
<i>Candida</i> sp. MIS-1	18.3	30.8	5.6	15.5	5.3	9.6	64.2	4.3
<i>Candida</i> sp. YM1-1	11.7	28.1	3.3	18.9	3.2	7.4	63.1	4.2
<i>Candida</i> sp. MIM-1	16.4	25.4	4.2	23.3	4.1	19.0	49.1	3.4
<i>Candida</i> sp. M1-3	11.5	30.9	3.6	17.7	3.5	24.4	47.4	1.7
<i>Candida</i> sp. A19-1	10.0	14.7	1.5	15.3	4.3	25.8	45.3	5.9
Beef tallow				22.6	3.8	24.0	43.4	1.7
Cacao butter				23.4	—	28.2	35.3	11.6

3 オレイン酸生産酵母 *Candida* sp. MIS-1

オレイン酸生産酵母 *Candida* sp. MIS-1 の増殖や脂質性状に及ぼす培養条件の影響を検討した。牛脂添加培地において 25, 30, 37℃ で 1~5 d 培養した。Table-3 に示すように培養温度に関係なく培養 3 日目に最大乾燥菌体重量を示したが、脂質含量は 30 および 37℃ で培養した時の方が高く、30 % 以上（脂質重量として 7 g/L）であった。また添加した牛脂は高温域においてはほとんど消費され、菌体外に残存していなかった。上記の結果は、山内ら^{24), 25)}がラードを基質として *Candida* 属を培養した時の結果と類似していた。Table-4 に示すように、脂質組成は、培養温度が高くなるにつれ、トリア

シルグリセリン含量が高くなり、最大で全脂質の 95 % を占めた。また本菌株のステロール組成を見ると、元来牛脂に含まれているコレステロールは約 1/4 に減少し、プロビタミン D であるエルゴステロールが新たに検出されたが、その含量は他の菌株より極めて少なかった。一般に培養温度が微生物の脂肪酸組成に影響を及ぼすことが知られているが、全脂質の脂肪酸組成では、37℃ の培養において、リノール酸とステアリン酸がわずかながら減少する傾向が見られたものの、培養日数や温度に関係なく、オレイン酸が主成分で 60 % を占めた。またトリアシルグリセリン組成を HPLC 分析した結果、Fig.-1 に見られるように、トリオレオイルグリセリン (OOO) とジオレオイルモノパルミトイルグリセリン (POO) が主成分であり、培地に添加した牛脂には見られない OOO が多いことから、*Candida* sp. MIS-1 は、牛脂を単に蓄積あるいは加水分解しているのではなく、脂質（主にトリアシルグリセリン）をあらたに合成あるいは組み換えしているものと推察された。しかし、培養温度や窒素源としての尿素の添加量の違いによる脂質組成やトリアシルグリセリン組成に顕著な差は認められなかった。

Candida sp. MIS-1 から調製したトリアシルグリセリンの物理的性質として融点の測定を示差走査熱量 (DSC) 分析により行った。Fig.-2 に示すように、牛脂は、3℃, 16℃ および 33~45℃ にかけて幅広い吸熱ピークを有しており、極めて温度幅の広い融解特性を持つ。一方、*Candida* sp. MIS-1 から調製したトリアシルグリセリンは、0 から -4℃ にシャープな吸熱ピークを示し、牛脂とは著しく異なった融解特性であることが確かめられた。

オレイン酸含量の高い油脂としてオリブ油（オレイン

Table-3 Effect of culture condition on the growth of *Candida* sp. MIS-1.

Condition	Dry cell weight (g/L)	Lipid content (%)	Lipid yield (g/L)	Utilization (%)
25℃				
1 d	3.6	54.4	2.0	27.5
3 d	15.4	26.2	4.0	70.5
5 d	16.5	25.2	4.2	80.5
30℃				
1 d	10.8	46.9	5.1	59.2
3 d	21.1	34.7	7.3	96.6
5 d	20.8	28.6	5.9	97.1
37℃				
1 d	14.6	51.4	7.5	85.6
3 d	19.5	36.3	7.1	98.0
5 d	16.9	28.9	4.9	98.1

Table-4 Effect of culture condition on the lipid and fatty acid compositions in *Candida* sp. MIS-1.

Condition	Lipid (%)			Fatty acid (%)				
	Triacylglycerol	Polar lipid	Other	16 : 0	16 : 1	18 : 0	18 : 1	18 : 2
25℃								
1 d	87.6	10.4	2.0	20.4	2.8	12.0	55.5	6.5
3 d	83.4	15.6	1.0	15.1	4.7	11.0	64.3	4.9
5 d	88.8	10.2	1.0	18.3	5.0	12.9	59.3	4.5
30℃								
1 d	91.7	8.3	—	18.5	5.0	10.6	58.9	5.6
3 d	90.0	10.0	—	19.5	4.5	13.2	57.2	4.2
5 d	89.0	11.0	—	20.2	5.1	12.1	58.1	4.5
37℃								
1 d	95.3	4.7	—	21.7	5.7	8.8	58.9	3.4
3 d	92.7	7.3	—	20.6	5.6	8.1	61.7	3.4
5 d	88.0	12.0	—	20.0	4.7	7.9	64.2	3.2

P (16 : 0), S (18 : 0), O (18 : 1)

Fig.-1 HPLC chromatograms of triacylglycerols in *Candida* sp. MIS-1 grown on the beef tallow at 25°C and 30°C.

Fig.-2 DSC analysis of beef tallow (---) and cacao butter (-.-), and oils obtained from *Candida* sp. MIS-1 (-x-) and *Candida lipolytica* IAM4948 (—).

酸を70%以上含む)が最もよく利用されているが、オリブ油のトリアシルグリセリンの主成分は000とPOOであり、融点は0~6°Cであることが知られている。本酵母より得られた脂質は、化学的および物理的にもオリブ油に極めて近いことが明らかとなり、オリブ油の代替になりうると思われた。

4 カカオ脂様油脂生産酵母 *Candida lipolytica*

カカオ脂はチョコレートの原料および坐剤基剤として利用価値が高いが、供給が不安定であることから、パーム油やオリブ油などの植物油のエステル交換油などがカカオ脂の代用として用いられているのが現状である^{26),27)}。

カカオ脂は1,3位に飽和脂肪酸(パルミチン酸, ステアリン酸), 2位に不飽和脂肪酸(オレイン酸)を持つトリアシルグリセリンからなり、極めて特異な融解特性を有することが知られている。そのために *Apiotrichum curvatum* や *Rhodotorula graminis*, *Motuliterella vinacea* などの微生物^{28)~30)}を用いて、グルコースを基質とした培地で培養することによりカカオ脂様油脂を生産することが試みられているが実用化にはいっていない。

筆者らは、先のスクリーニングにおいてカカオ脂と似た脂肪酸組成からなる脂質を有する *Rhodotorula* sp. AO3-5 と *Candida lipolytica* IAM4948 の2株の中から、東京大学応用微生物研究所から提供された *Candida lipolytica* IAM4948 について培養条件を検討しながら脂質性状を調べた。

25および30°Cにおいて、牛脂添加培地を用いて振とう培養した際の乾燥菌体重量、脂質含量、脂肪酸組成をTable-5に示した。本酵母もまた *Candida* sp. MIS-1と同様、25および30°C培養3日目に最大菌体重量を示した。しかし、脂質含量は、25°C培養では5d後、30°C培養では3d後に最大(脂質重量として3.4~3.8 g/L)に達した。一方、脂肪酸組成は、いずれの培養温度でも、パルミチン酸、ステアリン酸とオレイン酸が22~42%と主成分であったが、30°C培養においてパルミチン酸が減少し、代わってパルミトレイン酸(16:1)が増加する傾向がみられ、培養温度が脂肪酸組成に影響することが示唆された。

C. lipolytica から抽出した脂質の組成並びにステロール含量をTable-6に示す。本酵母の脂質は *Candida* sp. MIS-1と大きく異なり、トリアシルグリセリン(27~41%)以外に、リン脂質をはじめとする極性脂質(30~50%)や炭化水素(20~30%)を多く含んでいた。またステロール含量も高く、特にエルゴステロール(プロビタミンD)含量は培養温度が高いほど、高い値

Table-5 Effect of culture condition on the growth of *C. lipolytica*.

Condition	Dry cell weight (g/L)	Lipid content (%)	Lipid yield (g/L)	Fatty acid (%)				
				16 : 0	16 : 1	18 : 0	18 : 1	18 : 2
25°C								
3 d	12.9	22.4	2.9	32.9	2.8	35.8	22.3	5.3
5 d	11.6	29.4	3.4	36.6	2.1	41.8	15.4	2.9
30°C								
3 d	14.6	26.0	3.8	23.2	6.6	42.2	23.0	4.4
5 d	12.2	16.2	2.0	22.0	7.5	38.5	26.5	5.8

Table-6 Effect of culture condition on the lipid and sterol compositions in *C. lipolytica*.

Condition	Lipid (%)			Sterol (mg/g)	
	Hydrocarbon	Triacylglycerol	Polar lipid	Cholesterol	Ergosterol
25°C					
3 d	20.9	34.6	44.5	4.2	9.7
5 d	29.7	39.7	30.6	1.9	3.5
30°C					
3 d	26.9	41.0	32.1	3.2	13.4
5 d	23.0	27.4	49.6	5.7	20.6

Fig.-3 HPLC chromatograms of beef tallow and cacao butter (a), and triacylglycerols in *Candida lipolytica* IAM4948 and *Rhodotorula* sp. A03-5 grown on the beef tallow at 25°C (b).

を示した。一方、本酵母 *C. lipolytica* のトリアシルグリセリン組成は、Fig.-3 に示すようにトリオレオイルグリセリン (OOO)、ジパルミトイル-モノステアロイル-グリセリン (PPS)、モノパルミトイル-ジステアロイル-グリセリン (PSS) が主成分で、トリステアロイルグリセリン (SSS) も含み、POO を主なトリアシルグリセリンとする牛脂、あるいは前述の *Candida* sp. MIS-1 のトリアシルグリセリン組成とも著しく異なっていた。またカカオ脂の特徴的なトリアシルグリセリン組成〔ジパルミトイル-モノオレオイル-グリセリン (PPO)、パルミトイル-ステアロイル-オレオイルグリセリン (PSO)、ジステアロイル-モノオレオイルグリセリン (SSO) が主成分〕とも異なっていた。

一方、*C. lipolytica* と同様、カカオ脂様の脂肪酸組成を示した *Rhodotorula* sp. AO3-5 のトリアシルグリセリン組成は、OOO と POO が主成分で、*Candida* sp. MIS-1 と似たトリアシルグリセリンパターンを示した (Fig.-3)。

培養条件として、培地に牛脂を添加する際、牛脂の乳化性を高めるために界面活性剤として Tween 80 を添加した。Table-7 に示すように 0.02 % の Tween 80 の添加では、酵母の増殖が活性化されたが、脂質重量に差は認められなかった。一方、0.05 % 添加では、酵母の著しい生育阻害が観察された。0.02 % の Tween 80 添加では、無添加の場合と比べ酵母の脂質組成に大きな違いがみられ、脂質中のトリアシルグリセリンの割合が増加し、炭化水素が減少した。

一方、脂肪酸組成においては、Tween 80 の添加により、パルミチン酸やステアリン酸の飽和脂肪酸が減少すると共にオレイン酸やリノール酸の不飽和脂肪酸が増加した。また HPLC 分析より、飽和トリアシルグリセリン (PPS, PSS など) の顕著な減少が観察されたことから、界面活性剤の添加は、脂肪酸不飽和化酵素の発現を活性化し、結果として脂肪酸組成に大きく影響を及ぼすことが示唆された。

また本菌株はパーム油でも培養が可能であり、その際に菌体内の脂肪酸組成が変化することを確認している。

先の脂肪酸分析より、*C. lipolytica* 抽出脂質の脂肪酸組成はカカオ脂に類似しているものの、トリアシルグリセリン組成はカカオ脂とは異なることが認められたが、物性の点においてもカカオ脂と異なった性質を有するのか、特に融解特性について DSC 分析による融点の測定を行い、カカオ脂と比較した。その結果、Fig.-2 の昇温曲線に見られるように、カカオ脂は 34℃ にシャープな吸熱ピークを示し、他の油脂には見られない融解特性を有する。一方、*Candida lipolytica* 4948 から調製したトリアシルグリセリンは、ややピーク幅が広いものの、38℃ 付近に単一の吸熱ピークを示したことか

Table-7 Effect of surfactants on the growth and lipid of *C. lipolytica*.

	Control	Tween 80 (0.02 %)	Tween 80 (0.05 %)
Dry cell weight (g/L)	11.6	14.6	7.3
Lipid content (%)	29.4	20.9	9.9
Lipid yield (g/L)	3.4	3.0	0.7
Lipid composition (%)			
Hydrocarbon	29.7	<1.0	2.4
Triacylglycerol	39.7	67.3	16.2
Free fatty acid	—	1.6	—
Polar lipid	30.6	31.1	81.4
Sterol composition (mg/g lipid)			
Cholesterol	1.9	2.2	0.9
Ergosterol	3.5	3.8	33.0
Fatty acid composition (%)			
16 : 0	36.6	20.9	10.6
16 : 1	2.1	7.5	9.0
18 : 0	41.8	24.3	8.3
18 : 1	15.4	38.4	56.0
18 : 2	2.9	7.0	13.2

ら、牛脂よりもむしろカカオ脂に近い融解特性を有することが示唆された。

5 おわりに

以上、酵母による食用油脂の生物学的改変の可能性について、著者らの研究を中心に述べてきたが、脂質を炭素源として増殖する脂質資化性酵母は無数に存在すること、また同属の酵母であっても、菌株の種類により脂質組成や脂肪酸組成が大きく異なることが明らかとなった。さらに酵母によっては、その脂質特性が温度や基質などの培養条件に影響されることが確認された。牛脂を原料に用いた場合には、脂肪酸組成の変化と共に、コレステロールの大幅な減少とエルゴステロールの生成が特徴であり、日本人のカルシウム摂取の現況から考えると、プロビタミンDの存在の意義は大きいと思われる。

以上の結果は、使用目的に応じて酵母を選択すれば、食用油脂の化学的および物理的性質を改変できることを示唆するもので、今後は、実用化をめざして、酵母の安全性を含めて栄養学的検討や大量培養による油脂生産性の向上、酵母タンパク質の利用などが必要と思われる。

さらに本技術は食用廃油の再生にも応用が可能であり、環境保全の面から資源の有効利用への活用も今後の課題である。

なお、本稿で引用した著者らの研究は東北大学農学部で行われたもので、本研究を遂行するにあたり、終始ご

指導, ご助言を賜りました東北大学扇元敬司先生をはじめ, ご協力を頂きました杉谷善信氏, 活水女子短期大学瀬戸美江女史に深く感謝いたします。また研究助成を頂きました東北テクノブレインズおよび栄和食肉に謝意を表します。

〔平成7年(1995年)6月12日受理〕

文 献

- 1) 山田浩一, “近代化学工学, 23巻(生物工業化学)”, 小田良平ら編, 朝倉書店(1969) p. 251
- 2) 中原東郎, 横地俊弘, 神坂 泰, 鈴木 修, 油化学, 42, 242 (1993)
- 3) 渡部和郎, 矢澤一良, 油化学, 42, 278 (1993)
- 4) D.J. Kyle, V.J. Sicotte, J.J. Singer, S.E. Reeb, “Industrial Application of Single Cell Oil”, ed. D.J. Kyle, C. Ratledge, Am. Oil Chem. Soc. (1992) p. 287
- 5) T. Yagi, T. Nakanishi, Y. Yoshizawa, F. Fukui, *J. Ferment. Bioeng.*, 69, 23 (1990)
- 6) 西本次雄, 和泉次夫, 久保田隼人, 油化学, 41, 960 (1992)
- 7) 石油発酵研究会編, “石油発酵”, 幸書房(1970).
- 8) 遠藤泰志, 笹井宏一, 藤本健四郎, 扇元敬司, 第32回油化学討論会・研究発表会講演要旨集(大阪), p. 174 (1993)
- 9) 遠藤泰志, 瀬戸美江, 藤本健四郎, 杉谷善信, 扇元敬司, 第33回油化学討論会・研究発表会講演要旨集(東京), p. 106 (1994)
- 10) S. Koritala, C.W. Hesseltine, E.H. Pryde, T.L. Mounts, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 64, 509 (1987)
- 11) C.W. Seo, Y. Yamada, N. Takada, H. Okada, *Agric. Biol. Chem.*, 45, 2025 (1981)
- 12) N. Esaki, S. Ito, W. Blank, K. Soda, *Biosci. Biotech. Biochem.*, 58, 319 (1994)
- 13) N. Esaki, S. Ito, W. Blank, K. Soda, *J. Ferment. Bioeng.*, 77, 148 (1994)
- 14) H.H. Hottinger, T. Richardson, C.H. Amundson, D.A. Stuibier, *J. Milk Food Technol.*, 37, 463, 522 (1974)
- 15) K.H. Tan, C.O. Gill, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 20, 201 (1984); 21, 292 (1985)
- 16) B.A. Glatz, E.G. Hammond, K.H. Hsu, L. Baehman, N. Bati, W. Bednarski, D. Brown, M. Floetenmeyer, “Biotechnology for the Oils and Fats Industry”, ed. C. Ratledge, P. Dawson, and J. Rattray, Am. Oil Chem. Soc. (1984) p. 163
- 17) N. Uemura, A. Taoka, M. Takagi, “World Conference on Biotechnology for the Fats and Industry” ed. T.H. Applewhite, Am. Oil Chem. Soc. (1988) p. 148
- 18) N. Bati, E.G. Hammond, B.A. Glatz, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 61, 1743 (1984)
- 19) K. Fujimoto, H. Kimoto, M. Shishikura, Y. Endo, K. Ogimoto, *Biosci. Biotech. Biochem.*, 57, 1026 (1993)
- 20) 高 正三, 養田泰治, 油化学, 33, 672 (1984)
- 21) 町田晴夫, 東 俊彦, 国生純孝, 農化誌, 58, 799 (1984)
- 22) D. Montet, R. Ratomahenina, P. Galzy, M. Pina, and J. Graille, *Fette Seifen Anstrichm.*, 87, 181 (1985)
- 23) 石井三千代, 鈴木えりか, 阿保正信, T.B. Nielsen, H.P. Heldt-Hansen, 発酵工学, 66, 408 (1988)
- 24) 山内 享, 飯田 貢, 大武由之, 日食工誌, 33, 125 (1986)
- 25) 山内 享, 木村貞司, 梅沢勝正, 大武由之, 日食工誌, 33, 256 (1986)
- 26) 田中 崇, 石原 勝, 小野栄治, 発酵と工業, 41, 375 (1983)
- 27) 澤村紀夫, フードケミカル, 1989-7, 49
- 28) M. Beavan, A. Kligerman, R. Droniuk, C. Drouin, B. Goldenberg, A. Effio, P. Yu, B. Giuliany, J. Fein, “Industrial Applications of Single Cell Oils”, ed. D.J. Kyle, C. Ratledge, Am. Oil Chem. Soc. (1992) p. 156
- 29) H. Smit, A. Ykema, E.C. Verbree, I.I.G.S. Verwoert, M. Kater, “Industrial Applications of Single Cell Oils”, ed. D.J. Kyle, C. Ratledge, Am. Oil Chem. Soc. (1992) p. 185
- 30) 山根恒夫, 「機能性脂質の開発と応用」, 佐藤, 山根, 岩橋, 森編, シーエムシー(1992) p. 74