假性酸化細菌に就て (第3報) アセトイン醗酵に就て

朝井勇宣, 池田庸之助, 佐々木俊郎 (東京大學農學部農藝化學科)

昭和24年2月15日受理

Studies on the Pseudooxidative Bacteria. Part 3. Acetoin Fermentation.

By Toshinobu ASAI, Yonosuke IKEDA and Toshiro SASAKI

(Department of Agricultural Chemistry, University of Tokyo)

著者¹⁾は先に菌の選擇の際 *B. mesentericus* (馬鈴薯菌), *Pseudomonas cyanogenes* (青乳菌), *Serratia marcescens* (靈菌) 等がグルコン酸石灰及びマンニットより著量のアセトインを生産し, その量は多い時は基質の30%に及ぶことを知つた。依つて今回はグルコースを基質としアセトインの大量集積を行うべく實驗を行つた。

實驗の部

(1) 使用菌株: *B. mesentericus*, *Ps. cyanogenes* は豫備選擇に用いた株と同じであり, *S. marcescens* は2-ケトグルコン酸生成に用いた株である。

(2) 培養條件 炭素源: 加藤化學藥品會社製純度84%のグルコースを使用した。窒素源: 乾燥酵母及びペプトン(武田製ポリペプトン)を使用した。無機鹽はペプトンを窒素源にした場合に食鹽を0.5%添加した以外特に添加しなかつた。pH: 約1%の炭酸石灰を添加した故特に調節しなかつた。培養液量: 靜置培養は500cc容エルレンマイヤーフラスコに100cc, 振盪培養は500cc容平底コルベンに60ccずつ注加した。培養法 靜置培養は30°及び37°の恒溫器中で, 振盪培養は25°の恒溫室中で振幅5cm, 1分間140~150往復で行つた。

(3) 分析方法. アセトインの證明: 前實驗に同じ。但し表中のフェーリング液還元力は試料5ccの還元する銅量を示す。

(4) 窒素源濃度の影響: 前に酵母水に就て行つたので, 今回はペプトンを用いた。第1表はグルコース5%, 炭酸石灰添加, 32°, 23日, 靜置法の結果を示す。

(5) 炭酸石灰添加の影響: *S. marcescens* に就てのみ行つた。條件はグルコース5%, ペプトン0.5%,

pH=7.2, 32°, 靜置法。その結果は第1圖の如くで炭酸石灰を添加したものの方がアセトイン收量大であつた。無添加の場合アセトイン量の少いのはpHが酸性に傾くためと思われる。

(6) 振盪の影響: 富安²⁾によれば振盪はアセトインの生産を低下させるとゆうが, VERHAVE³⁾は振盪によりアセトインを増産させる特許をとつていたので振盪法を試みた。その結果は第2表の如くで第1表と比較する時期からアセトインの收量を低下させた。條件はグルコース5%, ペプトン0.5%炭酸石灰1%添加, 25°。

(7) 培養日數との關係: グルコース7.5%, ペプトン1%, 炭酸石灰添加, 37°,

Fig. 1. Production of Acetoin (*S. marcescens*)

— CaCO₃ added
.... CaCO₃ not added

Table 1. Acetoin Production at Different Peptone Concentration (Surface Culture)

Conc. of Peptone (%)	<i>B. mesentericus</i>			<i>Ps. cyanogenes</i>			<i>S. marcescens</i>		
	pH	Cu mg/5cc	Acetoin (g/100cc)	pH	Cu mg/cc	Acetoin (g/100cc)	pH	Cu mg/5cc	Acetoin (g/100cc)
1.0	7.0	145	0.324	7.4	164	0.368	5.6	121	0.444
0.5	6.9	124	0.263	7.7	94	0.396	6.0	105	0.466
0.2	7.6	69	trace	6.6	341	0.249	6.2	56	0.075

Table 2. Acetoin Production by Shaking Culture.

Incubation(hr.)	40		64		89		112		136	
Microorganism	pH	Acetoin (mg/100cc)	pH	Acetoin (mg/100cc)	pH	Acetoin (mg/100cc)	pH	Acetoin (mg/100cc)	pH	Acetoin (mg/100cc)
<i>B. mesentericus</i>	6.3	0	6.4	0	6.7	0	7.0	0	6.6	0
<i>Ps. cyanogenes</i>	6.2	0	6.2	0	7.8	0	8.2	0	7.9	0
<i>S. marcescens</i>	6.3	0	6.2	0	7.7	45	8.0	47	8.5	40

Fig. 2. Production of Acetoin

— *B. mesentericus* *S. marcescens*

静置法で 1 l の培養を行つた時の経過は第 2 圖の如くで, *B. mesentericus* の場合 30 日で對糖收量 19.3% に相當する. (*Ps. cyanogenes* は變性の模様なので割愛した).

考 察

著者等は *B. mesentericus*, *Ps. cyanogenes*, *S. marcescens* の 3 種の細菌を用い, アセトインの生産條件を検討したが, (1) 窒素源としてはペプトン 1% 前後, (2) 炭酸石灰は添加した方がよく, (3) 振盪はアセトインの生成を抑制し, (4) 静置法ではアセトイン生成量の最大に達するまでに 20~30 日かゝることを知つた.

このようにアセトイン生成に長期間かゝり, 收量之余り香しくない (對糖 15~20%) のが缺點であるが, HOROWITZ-WLASSOWA 及び RODIONOWA⁴⁾ の報ずる如く馬鈴薯を原料とし, 副生する 2,3-ブチレングリコールをも利用してジアセチルを合成する時は, 馬鈴薯 1kg より 2,000~3,000kg 分のマーガリンの香料が得られる譯で特殊な条件下に於ては本醱酵も應用の道があるものと思われる.

- (1) 池田: 農化, 24, 51 (1950)
- (2) 富安: 農化, 14, 1 (1938)
- (3) VERHAVE: *B. P.* 315263 (1928), *D. R. P.* 575594 (1933)
- (4) HOROWITZ-WLASSOWA u. RODIONOWA: *Zentl. f. Bakt.*, II, 87, 333 (1933)

Summary

Production of acetoin (acetylmethylcarbinol) was studied. Among three bacteria (*B. mesentericus*, *Ps. cyanogenes* and *S. marcescens*) *B. mesentericus* was the most active and produced 10~20% acetoin, but it took long days.