

## 石油資源と微生物

大阪大学産業科学研究所 原田篤也

## はしがき

戦後日本人を始め欧米人の平均寿命がいちじるしく伸びてきたが、この主要な原因はペニシリン、ストレプトマイシンなど多くの抗生物質が安く生産され広く使用されるようになってきて種々な病原細菌、リケッチャ、ビールスによっておこる病気が治るようになってきたからである。さらに最近では種のイモチ病菌をおさえるプラストサイジンのような抗生物質も生産されてきている。こういった物質は微生物が生産するので工業的には大きなタンクが用いられこの中で微生物が培養され、培養液から物質がとりだされている。種なしブドーなどをつくることのできるジベレリンとよぶ植物ホルモンもある種のカビによって生産されている。ビタミンAの前駆物質であるカロチンや黄色のビタミンであるビタミンB<sub>2</sub>や赤色のビタミンで悪性の貧血症にきくビタミンB<sub>12</sub>などのビタミンも微生物によりつくられ、アミノ酸では呈味物質としてのグルタミン酸の生産が年5万トンに及ぶ醸酵工業に育ってきたり、さらに栄養的に欠乏し易い必須アミノ酸であるリジンが微生物で生産されてきている。一方イノシン酸、グァニル酸などのヌウクレオチドが新しい味の成分として酵母から取り出されたりもしている。アミラーゼ、セルラーゼ、プロテアーゼ、リパーゼなどの加水分解酵素は消化酵素としてまた食品の加工用などに利用され、グルコースオキシダーゼは食品の着色防止に用いられたりしている。また特殊な医薬的な酵素としてチトクロームが新しく登場してきており、今後も新しく種々な酵素が私達の生活に役立っていくことであろう。これらの酵素はほとんど特殊な微生物を使用してつくられているのが現状である。酵母の菌体が飼料の一部として添加されてきているが、微生物により食料に適した蛋白質、脂肪あるいは炭水化物がつくられることも考えられ、そのような目的の下に研究もされている。

さてこのような物質を微生物でつくらせる場合、多くは植物のつくったデンプンあるいはその分解物であるグルコース場合によっては糖蜜などが用いられる。古くから微生物を利用してビール、ブドー酒、日本酒などがつくられてその原料の主要成分が炭水化物であることを考えると、炭水化物資源が微生物工業に使用されているこ

とは当然なことであろう。

しかし微生物の物質の変化に対する能力には高等動物よりさらに無限ともいってよいような種々な能力がひそんでいることを忘れてはならない。したがってなにも生成、微生物工業の材料としてデンプンやグルコースのみを中心に考える必要はない。その時代時代に応じて新しく登場する種々な安価な材料、現在においては石油あるいは石油から安く生産される種々な有機化合物を考えてよかろう。

アメリカとの戦争中日本の陸軍糧秣本廠では空気中(1)の窒素を固定できる細菌アゾトバクターを培養して菌体蛋白質を生産し、これをパンなどに添加することを考えた。しかしこの菌は窒素源として空気中の窒素のみでよいのだが、炭素源としてはグルコースなどを使用しなければならなかった。酵母の場合には空気中の窒素を利用できないからアンモニウム塩を使用するので、酵母を培養するのとアゾトバクターを培養するのでは培養基の点からではアンモニウム塩を使用するかしないかの差だけしかない。しかし酵母の方が培地中に菌体を多く集積するので結局は酵母の方が菌体蛋白質をつくるのに有利になっていた。その頃一方私共はメタンやメタノールを利用して菌体蛋白質をつくるという研究に従事していた。しかしこの場合も菌体生産量はそれほど多くないので研究の進展がみられなかった。最近アメリカでメタンを始め種々な炭化水素を利用し、しかも空気中の窒素を利用するアゾトバクターが見つけれられたという。筆者は上に(2)のべた過去の経験が思い出されて大変興味深く感じている。この菌を石油と共に土壌中に加えると空気中の窒素が固定され窒素肥料の節約になるのである。菌体が繁殖してくるということは蛋白質、脂肪、炭水化物、ビタミン類がそのような簡単な培地から合成できるということで、このような菌を培養すればその菌体は人間の食料にもなる可能性がある。今後ともまだまだ私共の予測し得ない種々な興味あり役に立つ菌が見出されてくることが期待される。

## 1. 鎖状飽和炭化水素の代謝の概略

まず石油中の飽和鎖状炭化水素が微生物によりどのように代謝されるか今までの研究から判断してみると図1

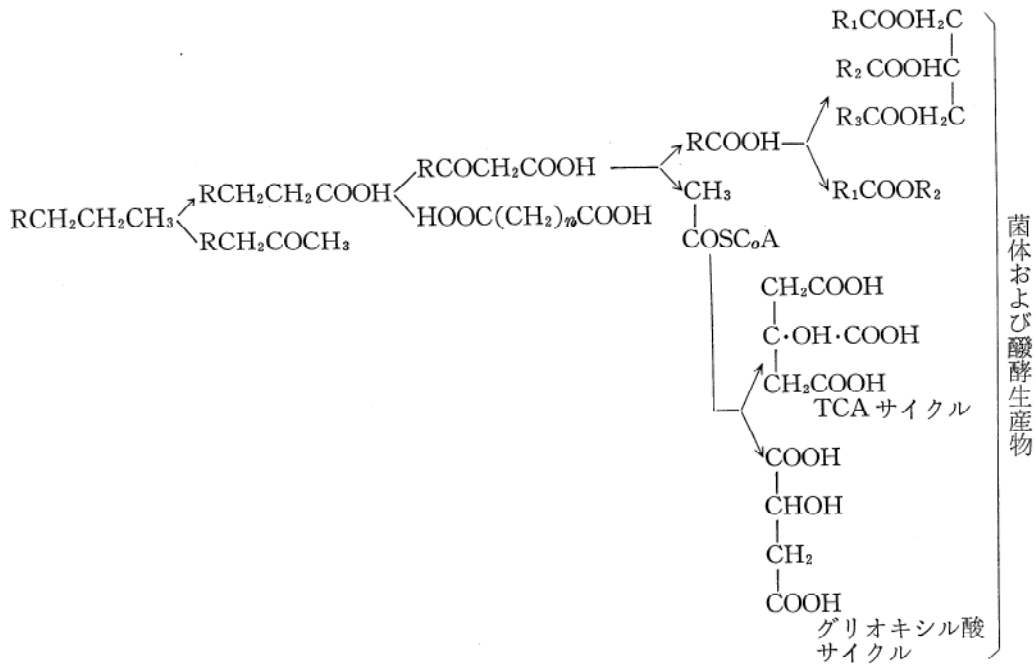


図1 石油（鎖状炭化水素）の代謝の概畧

表1 石油および石油二次製品から微生物による食品の生成

石油	石酢フその 油酸   他   酸	石油	石その 油他
↓	↓	↓	↓
酵母菌 菌体 (食飼料)	グリアそ ルジスの タンパ他 ミン ラの 酸 ギア   ノ   酸	ビビイ オタノ チミン ンン <sup>23)</sup> B <sub>12</sub> <sup>25)</sup> <sup>24)</sup>	多脂 糖肪 類

の如くなる。炭化水素の酸化の最初は  $C_1$  あるいは  $C_2$  の酸化であり、まず脂肪酸かケトン化合物ができる。脂肪酸はついで  $\beta$ -ケト酸になるかもう一方のはしのCが酸化されて二塩基性脂肪酸になる。ついで  $\beta$ -ケト酸は一般の脂肪酸の代謝と同様C 2つ少ない脂肪酸と酢酸とになる。さらに脂肪、ワックスが生産されてくる。したがって石油の醗酵生産物として一塩基、二塩基の脂肪酸、脂肪、ワックスを問題にすることができる。酢酸はグルコースの場合と同様、TCA サイクルあるいはグリオキシル酸サイクルに入って行く。ほとんどすべての微生物はグルコースを利用することができるが、石油を利用できる微生物は非常に限られている。多くの菌は炭化水素を酸化する酵素がないのである。しかしなかにはグルコースを利用できなく、メタンやメチノールのみを利用できる細菌やエタンその他の炭化水素以外にはエタノールか酢酸しか利用できない細菌も存在している。多くの石油

を利用できる微生物は一般にはグルコースなども利用できる。そういった菌はふつうの土の中などにも存在している。

## 2. 石油および石油二次製品からの食品の生成

石油および石油の二次製品から微生物による食品の生成を表1に示す。石油は価格が安いので石油から蛋白質や核酸などを多量にふくむ菌体を製造できないか、この菌体を飼料、食料あるいはイノシン酸などの製造原料に使用できないかという問題がある。菌体の生産についてはフランスの British petroleum 会社の研究<sup>1)</sup>がまずあげられる。これは石油中の鎖状炭化水素を酵母で分解利用し菌体をつくらせ、一方これによっていわゆる脱ろうを行ない石油成分として価値の低い鎖状炭化水素をふくまない環状炭化水素のみに精製する研究である。この場合には鎖状飽和炭化水素の重量に対し約100%の収量でリジン、スレオニンに富む乾燥菌体ができるという。同様な研究は ESSO 社を始め多くのアメリカの石油会社でもなされている。日本でも高橋らは *Pseudomonas aeruginosa* S7 B1 は 灯油から60%の収量で生菌体をつくること<sup>2)</sup>、また *Candida tropicalis* S315 Y1<sup>3)</sup> は  $C_{15}$  ~  $C_{19}$  のアルカンをよく利用し、その乾燥菌体中には粗蛋白質 30.4%、リボ核酸 5.3%をふくむことを報告している。武田らは<sup>4)</sup> 培地中に Fe 塩, Mg 塩, Ca 塩を多量に加えるとある *Pseudomonas* の菌株が灯油の80%、100 ml 中 1.7g の菌体、またある *Torulopsis* の菌株が軽油の70%、100 ml 中 1.5 g の菌体を生成することを報告している。有馬ら<sup>5)</sup> はある *Pichia* の菌株がデカン

の56.4%の菌体をつくることまた田辺ら<sup>6)</sup>は *Candida tropicalis* PK 233 が石油から菌体をつくることを報告している。しかしこれらの文献のみから判断すると培地中の菌体の生産量また石油からの収率はいずれも高くなく、工業化にはまだ遠い感がする。しかし特許にはかなり収量のよい結果を示しているものもある。

石油からもっと値の高い物質たとえばアミノ酸ができないか、ことに日本では微生物を用いてのアミノ酸の製造、研究が活発であるので、石油あるいは石油から安くできる有機化合物を原料にしてアミノ酸を生産する研究がうまれてくる。高橋ら<sup>7)</sup>によれば *Corynebacterium hydrccarboclastus* S10 B1 は培地に 1 l 中 3~5  $\mu\text{g}$  のビタミン B<sub>1</sub> を添加すると C<sub>10</sub>~C<sub>18</sub> のアルカンの混合物の約17%の収率 100 ml 中 500 mg のグルタミン酸を生成する。さらに井口ら<sup>8)</sup>はペニシリンの添加がこの生産を増大すること、またある細菌 SB-4112<sup>9)</sup>がヘキサデカン 5 g, コーンステイプリーッカー 0.3 g, 酵母エキス 0.3 g, これに無機塩類を加えた 100 ml の培地に培養後16時間でペニシリン 1 ml 当り 50 u を加えると 100 ml 中 1.3 g のグルタミン酸を集積すると報告している。しかしグルコースからのグルタミン酸の生産量にははるかに劣る。木下ら<sup>10)</sup>のグルコースを炭素源とした培地に灯油を25~50%ほど添加して 100 ml 中 6~8 g のグルタミン酸を集積させている特許もある。

石油から安くできる有機化合物から石油よりも収率よくグルタミン酸をつくる研究がなされている。酢酸からのグルタミン酸の生成は角田ら<sup>11)</sup>が *Brevibacterium flavum* 2247 を用い、9 g の酢酸、0.2%のコーンステイプリーッカーと 10  $\mu\text{g}$  のビタミン B<sub>1</sub> をふくんだ 100 ml の培地から、2.3 g のグルタミン酸を得ている。酢酸からグルタミン酸の生産については協和醸造のフランスでの特許もある。フマル酸 4g, グルコース 3g をふくんだ培地から *B. pumulis*<sup>12)</sup> がグルタミン酸 2.94 g をつくること、乳酸 250 g, ブドウ糖 10 g, コーンステイプリーッカー 5 g をふくんだ培地から *Brevibacterium glutamium*<sup>13)</sup> が 71 g のグルタミン酸をつくること、又プロピレングリコール 5 g, ブドウ糖 0.5 g を主とした培地から *Brevibacterium saccharolyticum* No. 7636<sup>14)</sup> がグルタミン酸 1.2 g をつくること報告されている。このように一般にグルタミン酸は炭素源としてグルコース以外の種々な物質からつくられるようであるが、栄養的に欠乏しやすい必須アミノ酸であるリジンを集積する菌はなかなかみつからない。リジンはグルタミン酸をつくる菌の変異株によってグルコースからつくられている。 $\alpha$ -アミノ酪酸 3 g, グルコース 5 g, ペプトン 2 g, アスパラギン酸 2 g の培地に *B. megatherium* L26127<sup>15)</sup>

を作用させて 2.8 g のリジンを得る特許がある。また *E. coli* の変異株<sup>16)</sup>を用いてグルコース培地からジアミノピナリン酸を生成させ、これを脱炭酸してリジンを得る方法、酵母の生細胞を用いて<sup>17)</sup>グルコースと共に  $\alpha$ -アミノアジピン酸を加えるとリジンができることなどが報告されている。 $\alpha$ -アミノ酪酸からイソロイシンを *B. subtilis* No. 14-F 165<sup>18)</sup>が、 $\gamma$ -アミノ酪酸からグルタミン酸を *B. pumilis* 134 a<sup>19)</sup> が、アントラニール酸からトリプトファンを *Hansenula* HO 95<sup>20)</sup>が、 $\gamma$ -メチルメルカプトン  $\alpha$ -オキシ酪酸からメチオニンを *Pseudomonas*, *Serratia*, *Streptomyces*, *Penicillium* や *Torula* の菌株など<sup>21)</sup>がそれぞれつくることが研究されている。フマル酸からアスパラギン酸を微生物の酵素でつくことは多くの人々により研究され工業化もされている。エタノールアミンからグリシンをつくる細菌も見出されている<sup>22)</sup>。

6%の灯油にアミノ酸混合物を加えた培地を用い *Pseudomonas* 5-2 菌株を作用させてグルコースの場合より約3倍量のビオチン (1 ml 中 1  $\mu\text{g}$ ) が生成されることが報告されている<sup>23)</sup>。特にピメリン酸を加えるとさらにビオチンの生産量が増加することが知られているので炭化水素はピメリン酸のような二塩基性酸になり、それからビオチンができるものとみられている。1.5%の *n*-ヘキサデカンと少量の酵母エキス, Tween 40 をふくんだ培地から *Corynebacterium simplex* ATCC 6946<sup>24)</sup> が 1 l 中 500~600  $\mu\text{g}$  のビタミン B<sub>12</sub> をつくること報告されておりグルコースの培地よりかなり収量がよい。ヘキサデカンの培地から *Corynebacterium petrophilum* SB-4082-u-1542<sup>25)</sup> が 1 l 中 1.49 g のイノシンをつくること報告されているが、このものはグルコースからはイノシンをつくらないので機構の面からも大変興味がある。

鎖状の飽和炭化水素が酸化されてアルコールや脂肪酸が中間物質としてできるわけであるが培養中にアルコールや脂肪酸の集積量はごくわずかの量しか見出されていない。二塩基性酸の培地中における検出は細菌である *Corynebacterium* 7EIC<sup>26)</sup>, 酵母 *Yeast* Y 3<sup>27)</sup>, *Botrytis* S547<sup>28)</sup>にみられている。特定なワックスの生産は Kallio らによって研究され *n*-ヘキサデカン 2%の培地からその約30%の収量でセチルパルミチン酸が得られ<sup>29)</sup>, *n*-オクタデカンの場合にはオクタデシルステアリン酸とオクタデシルパルミチン酸 (1 : 1) の混合物が得られ<sup>30)</sup>, *n*-ヘプタデカンからはヘプタデシルマルガリン酸が得られている<sup>31)</sup>。グリセライドの生産は Raymond ら<sup>32)</sup>により研究され *Nocardia* によって 1 l の培地中の 28 g のオクタデカンを利用して 25 g の菌体と粘質物をつくり、その菌体の73%はリピドであり、さらにリピドの60%は

グリセライドであること、C<sub>16</sub>~C<sub>19</sub> がリピドの生産によいことなどが報告されている<sup>33)</sup>。石油を炭素源として培養すると培地が粘濁になることがみられるが、これはおそらく生産された多糖類によるものと思われる。エチレングリコールを利用する *Alcaligenes faecalis* var. *myxogenes* 10C3 がエチレングリコールの約20%サクシノグルカンとよぶコハク酸をふくむ新しい酸性多糖類を生産することが知られている<sup>34)35)</sup>。この菌の変異株Kはカードランとよぶ加熱するとかたまる寒天かコンニャクに似た性質をもつ多糖類をつくる<sup>36)37)</sup>。エタノールアミンからグリシンを生成するある細菌<sup>22)</sup>がエタノールアミンのかわりに唯一の炭素源としてエタノール、*n*-プロパノールあるいは *n*-ブタノールを使用して培養するとそれぞれホモセリンとエタノール、プロパノールあるいはブタノールとのエーテル化合物をつくることがわかった。<sup>33)</sup> このような化合物はグルコースやコハク酸を炭素源とした培地からは生成されないのでその生成機構に興味もたれている。

### 3. 炭化水素から特殊な物質の生産

鎖状、環状の炭化水素から種々な特定な物質がつけられるがこれを図2に示す。

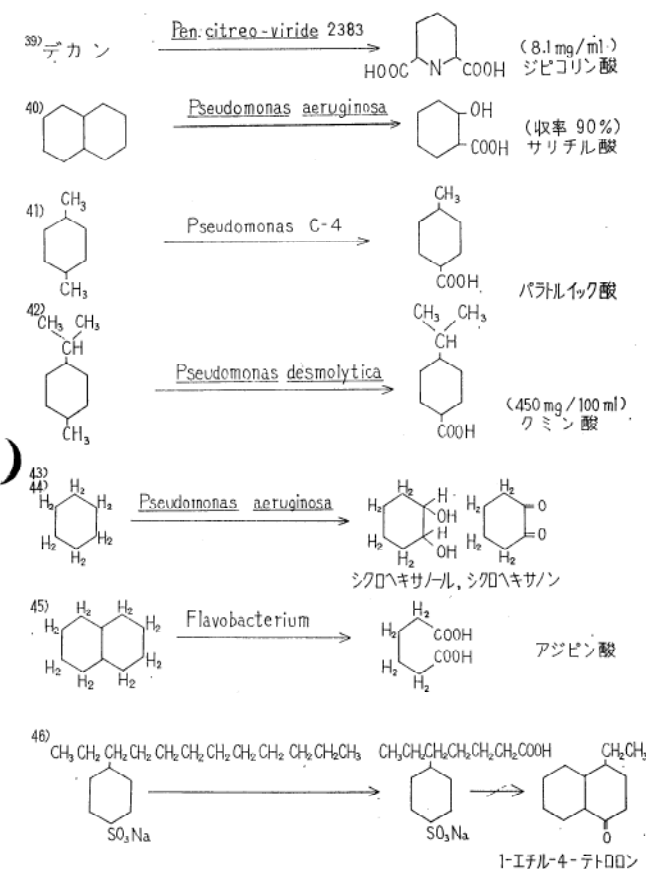


図2 炭化水素から特殊な物質の生成

### 4. 合成有機化合物の微生物による分解

下水処理の際合成洗剤として使用されているアルキルベンゼンスルホン酸やアルキルアルコール硫酸エステルの存在のため、多量に泡を生ずるので、酸素を与え好氣的な分解を行なわせにくくなり、完全処理ができなくなる。また化粧品などに用いられるポリエチレングライコールなどがいつまでも分解されなかったりする。一方農業に使用される種々な物質が栽培後もながくその成分が未分解で栽培地に残ったり、さらに流水、溜池に残ったりし、場合によっては人や家畜に害を与えたりする。そこでこれらの有害な成分を特殊な微生物を用いて除去することが考えられている。通常唯一の炭素源としてこれらの物質をふくんだ合成培地を分離培地としてこれらの物質を分解する微生物を分離している。ドデシル硫酸エステル<sup>47)</sup>やトリエチレングライコール<sup>48)</sup>などを分解する微生物は比較的容易に分離されているが、下水などでは分解が困難といわれているドデシルベンゼン硫酸<sup>47)</sup>を分解する細菌も分離されている。ポリエチレングライコールを分解する細菌<sup>49)</sup>は2つから600の重合度のものを分解できるが、これより分子量の大きいものに対してはごくわずかしき作用しない。農業としての2,4D<sup>49)</sup>や柑橘類のカイガラ虫の除去に使われるモノフロアセドアミド<sup>50)</sup>を分解する細菌なども分離されている。これらの分解菌は他のグルコースなどの炭素源が存在するようなどころでは上記の基質を分解できない。

## むすび

今後種々な特殊な微生物が見いだされるとともに新しい酵素(系)、新しい反応(系)も発見されてくることと思う。そしてその反応(系)を活用して新しい有機化合物をつくること、また能率よく有効な有機化合物をつくることもさらに活発になされてくることであろう。いまや有機合成化学、微生物化学が互いに協力しあって新しい発展に向うときであり、また微生物工業の資源にデンプンなど炭水化物資源と石油資源とがお互いにそれぞれの長所を活かされながら使用されていくべきときでもあろう。

## 文 献

- 1) A. Champaynat, C. Vernet, B. Lainé, J. Filosa, *Nature*, **197**, 13 (1963).
- 2) J. Takahashi, K. Kobayashi, Y. Kawabata, K. Yamada, *Agr. Biol. Chem.*, **27**, 836 (1963).
- 3) J. Takahashi, Y. Kawabata, K. Yamada, *Agr. Biol. Chem.*, **29**, 292 (1965).
- 4) I. Takeda, T. Iguchi, T. Kawamura, S. Horiguchi, S. Hayakawa, S. Senoh, *Agr. Biol. Chem.*, **29**, 796 (1965).
- 5) K. Arima, S. Ogino, K. Yano, G. Tamura, *Agr. Biol. Chem.*, **29**, 292 (1965).

(以下25頁へ)