

醬油の産膜性酵母に関する研究 (第7報)

酵母の糖代謝に及ぼす界面活性剤の影響

今原 広次*・中 浜 敏 雄*

HIROTSUGU IMAHARA and TOSHIO NAKAHAMA: Studies on the film-soya-yeasts Part (VII) Influence of surface active agents for the carbohydrate metabolism of yeasts.

摘 要 七種の界面活性剤の酵母に及ぼす影響に就て主としてグルコース代謝を中心として検討を行なった。

- (1) 基本培地で培養して得られた Intact cell のグルコース代謝は非イオン活性剤によつては直接的に大なる影響は受けなかつたが、陰イオン及び陽イオン活性剤はその順に強く阻害的影響を及ぼした。
- (2) 非イオン活性剤で予め Intact cell を処理すれば、菌株により幾らか炭水化物醗酵性に変化が認められる。
- (3) 非イオン活性剤を添加して培養した場合、その生育状態が変化すればその条件に適応する如く、グルコース代謝に於て変化を受けている様であつた。

緒 言

微生物の分野に於ける界面活性剤の応用としては、カチオン及びアニオン活性剤が殺菌剤として使用されているのが主なものであり、生育阻止作用が前二者に比べて微弱なる非イオン活性剤等が微生物の生育及び代謝に及ぼす影響、更には微生物の酵素に及ぼす影響等に就ては、ようやく近年注目されるに至つたにすぎない。而してこれ等界面活性剤が微生物の生理作用等に種々な影響を及ぼすであろう事は容易に想像されうる問題であつて、既にカチオン及びアニオン活性剤に関しては H. N. GLASSMAN¹⁾ の総説があり、又糸状菌の生育状態²⁾或いは細菌細胞膜の透過性³⁾⁴⁾に対する界面活性剤の作用に関して興味ある知見が報告されている。著者等⁵⁾⁶⁾も主として酵母の生育に対する非イオン界面活性剤の影響に就て二、三の検討を加えたが、更に数種の酵母の炭水化物代謝に対してこれ等界面活性剤の影響を種々検討した結果、若干の知見を得たのでここに報告する。

実 験 之 部

使用菌株

Saccharomyces cerevisiae
Zygosaccharomyces soya
Zygosaccharomyces salsa
Hansenula anomala

使用界面活性剤

界面活性剤	種 類	構 造
Tween 20	エステル型非イオン	polyoxyethylene sorbitan monolaurate
Tween 80	"	polyoxyethylene sorbitan monooleate
Emulgen 106	エーテル型非イオン	polyoxyethylene lauryl alcohol ether
Emulgen 408	"	polyoxyethylene oleyl alcohol ether
SDS	陰イオン	sodium dodecyl sulfate
CTAB	陽イオン	cetyl trimethyl ammonium bromide
CPC	"	cetyl pyridinium chloride

(Emulgen は花王石鹼KK製品である)

培養方法及び菌体懸濁液調製法

基本培地としては第1表に示すものを用い、500 cc マイエルに各々 200 cc 宛分注して殺菌後各菌を接種し、30°C 5日間培養を行なつた。培地に界面活性剤を添加する場合は接種と同時に所定量の界面活性剤を無菌的に注加して培養を行なつた。培養はすべて静置培養である。培養終了後、遠心分離により菌体を取り生理食塩水約 200 cc で洗滌した後、同液で以て菌体を懸濁し、既報の方法に従つて所定菌体濃度に調製した。

* 京都府立大学農学部醗酵生理学研究室

第1表 基本培地

Glucose	50 g
yeast extract	5 g
KH ₂ PO ₄	2 g
MgSO ₄ ·7aq	1 g
蒸留水にて 1 l とする (pH 5.8)	

炭水化物代謝実験法

各々の炭水化物を基質として pH 5.6 で 37°C 120 分間 Warburg's manometer を用いてその好氣的代謝の様子を O₂ 吸収と CO₂ 発生とを測定して検討した。Warburg's manometer の反応容器内の反応液組成は次の如くである。

main flask	菌懸濁液 (5 mg/cc)	0.5cc
	M/15-Phosphate Buffer(pH 5.6)	0.4cc

	M/100 MgCl ₂ 液	0.1cc
	水又は添加物質溶液	0.5cc
	水	0.2cc
side flask	炭水化物溶液 (M/10)	0.5cc
center	KOH (15%液) 又は水	0.2cc

1. 炭水化物代謝に対する直接の影響

夫々の菌株のグルコース代謝に対して、これ等界面活性剤が直接的に如何なる影響を及ぼすかに就て検討する為に各菌株を前記基本培地を用いて培養し、得たる菌体の懸濁液を使用して界面活性剤存在下に於けるグルコース代謝の状態を Warburg's manometer によつて検討した。尚各々の界面活性剤はその一定濃度を 0.5 cc 加え、反応液中に於て所定濃度を示す如くして使用した。その結果は第2表に示す如くであった。

第2表 グルコース代謝に及ぼす界面活性剤の影響

界面活性剤	濃度 (%)	<i>S. cerevisiae</i>		<i>Zygos. soya</i>		<i>Zygos. salsus</i>		<i>H. anomala</i>	
		Qco ₂	Qco ₂ /Qo ₂	Qco ₂	Qco ₂ /Qo ₂	Qco ₂	Qco ₂ /Qo ₂	Qco ₂	Qco ₂ /Qo ₂
Tween-20	0.01	335.2	4.53	81.6	2.12	102.5	0.99	131.4	0.80
Tween-80	0.01	361.5	4.51	87.4	2.10	117.4	1.01	129.5	0.80
Emulgen 106	0.01	337.4	4.51	80.3	2.12	103.8	0.99	128.4	0.81
Emulgen 408	0.01	334.8	4.52	75.4	2.11	90.4	0.99	116.9	0.81
SDS	0.005	161.3	4.36	25.7	2.09	39.5	0.99	64.2	0.80
CTAB	0.005	0	—	0	—	0	—	0	—
CPC	0.005	0	—	0	—	0	—	0	—
無添加	—	324.3	4.50	78.4	2.10	92.4	0.98	105.7	0.78

この結果より考察すれば、一般に非イオン活性剤はグルコース代謝に対し阻害作用を示すことなくむしろ促進作用を示し、特にエステル型非イオン活性剤は各菌共に促進効果を示している。又エーテル型非イオン活性剤は Emulgen 408 の場合、*Zygosaccharomyces* に対して僅かに阻害的影響が見られる様であった。一方、陰イオン活性剤は各菌株共に強い代謝阻害を示したが、陽イオン活性剤に於ては更に強い阻害作用が見られ、全く代謝活性が見られなかつた。而して Qco₂/Qo₂ の値に就て考えると、非イオン及び陰イオン活性剤共にその値を大きく変化させることは認められず、従つてグルコース代謝の機構に大なる影響を与えるとは考えられなかつた。又、非イオン活性剤の場合にグルコース代謝が僅かに促進される現象は菌体の分散が良好になり、従つて物質の摂取及び分泌が促進される事によるものと想像されたが、この点に関しては更に検討を要する問題である。

2. 界面活性剤処理菌体の炭水化物代謝

前項に於ては Intact cell を用いてグルコース代謝

を測定する時に、同時に界面活性剤を添加してその影響を観察したが、次に Intact cell を各濃度の界面活性剤溶液中で一定時間 incubate した場合、その炭水化物代謝の状態が如何なる影響を受けるかに就て検討を加えた。一般に酵母の糖醗酵性有無はその分類上重要な指標の一つであるが、糖醗酵性の有無、或いは強弱は醗酵に関与する酵素系の有無による事は勿論であるが、細胞膜の透過性の相違に就ても考慮を払うべきであり、これらの点に就て界面活性剤が如何なる影響を与えるかも併せ検討した。

即ち基本培地を用いて培養して得た菌体を 0.9% 食塩を含む各界面活性剤の所定濃度液で懸濁し、30°C 30分間振盪後、直ちに遠心分離にて菌体を分離し、生理食塩水にて3乃至5回洗滌後、懸濁液として実験に供した。使用した界面活性剤は非イオン活性剤のみに止め、陰イオン及び陽イオン活性剤に就てはその代謝阻害作用、殺菌作用等の点を考慮に入れて検討すべきであり、今回はグルコース代謝に対し阻害的影響を示さない非イオン活性剤に関して検討を行なつた。

第3表 界面活性剤処理菌体の炭水化物代謝

菌 株	基 質	Intact cell (Qco ₂)	Tween-20 処理菌体 (Qco ₂)
<i>S. cerevisiae</i>	Glucose	324.3	325.7
	Sucrose	265.1	291.3
	Lactose	0	28.7
	Dextrine	0	0
	Soluble Starch	0	0
<i>Zygos. soya</i>	Glucose	78.4	80.2
	Sucrose	15.2	26.7
	Lactose	0	0
	Dextrine	0	0
	Soluble Starch	0	0
<i>Zygos. salsus</i>	Glucose	92.4	94.7
	Sucrose	23.5	30.6
	Lactose	0	0
	Dextrine	0	0
	Soluble Starch	0	0
<i>H. anomala</i>	Glucose	105.7	112.3
	Sucrose	87.5	91.4
	Lactose	0	23.7
	Dextrine	62.3	70.4
	Soluble Starch	28.4	36.5

基質濃度 M/50 ; 界面活性剤濃度 0.05%

その結果第3表に示す如くであつた。

第3表によれば、*S. cerevisiae* 及び *H. anomala* に於て Intact cell は全く乳糖醱酵を示さないが、Tween 20 処理菌体は若干醱酵を営んでいる如くであり、又 *H. anomala* に於て蔗糖、デキストリン、澱粉の資化醱酵能が Tween 20 で処理する事により若干増強されている事を認めた。併し乍ら他の菌株に於ける乳糖、デキストリン、澱粉の場合には、上記の如き傾向は認められなかつた。従つてこの結果より炭水化物の細胞膜透過性の増減を論ずることは早計であるが、界面活性剤処理によつて菌体の炭水化物醱酵能が若干影響を受けるであろうと想像された。

3. 界面活性剤添加培養の菌体

界面活性剤の添加によつて既報⁽²⁾⁽³⁾の如く微生物の生育状態が変化するが、その場合、菌体内代謝系の適応的变化の誘起も充分想像される所である。著者等は培地に界面活性剤を添加して生育増殖せる菌体の炭水

化物代謝に及ぼす影響に就て検討を加えた。即ち陰イオン及び陽イオン活性剤は酵母の生育を強く抑制するので、非イオン活性剤 Tween-20 0.05% 添加して培養後、得られた菌体のグルコース代謝に就てその嫌氣的代謝系の消長を測定した。その結果は第4表に示す如くであつた。尚嫌氣的代謝系の消長は 2,4-dinitrophenol を M/2000 添加して好氣的代謝を抑制せる条件下に於て Q_{co₂}^{air} を測定した。

第4表によれば、非産膜性の上部二株に於ては、Tween 20 添加培養によつて得られた菌体の嫌氣的代謝が、特に著しく変化を受けている事は認められなかつたが、好氣性の二株、即ち *Zygos salsus* 及び *H. anomala* に於ては Tween 20 添加培養によつてその嫌氣的代謝系が強く増大している事を認め、適応的現象が想像される。即ち基本培地に於ては好氣的産膜状態で生育するが、Tween 20 添加によつて嫌氣的非産膜状態に生育し、その為菌体内のグルコース代謝の

第4表 界面活性剤添加培養の菌体のグルコース代謝

菌 株	添 加	基本培地培養菌体 Qco ₂	Tween-20 添加培地 培養菌体 Qco ₂
<i>S. cerevisiae</i>	無 添 加	335.2	324.3
	DNP 添加	240.5	218.4
<i>Zygos. soya</i>	無 添 加	81.6	78.5
	DNP 添加	47.4	43.6
<i>Zygos. salsus</i>	無 添 加	102.5	110.4
	DNP 添加	19.3	68.4
<i>H. anomala</i>	無 添 加	131.4	130.7
	DNP 添加	20.4	81.4

好氣的代謝系がやや抑制され、代つて嫌氣的代謝系が適応的に強化されたものと推察された。

文 献

- 1) H. N. Glassman : *Bact. Rev.*, **12**, 105 (1948)
- 2) 高橋讓二・安倍川佳司・山田浩一 : *日農化*, **34**, 1043 (1960)
- 3) 大林 晃・岩野貞雄・日下 巖・北原覚雄 : 同誌, **34**, 16 (1960)
- 4) 大林 晃 : 同誌, **35**, 61 (1961)
- 5) 中浜敏雄・今原広次 : 同誌, **33**, 949 (1959)
- 6) 中浜敏雄・今原広次 : *醸工*, **39**, 608 (1961)

Summary

We studied the influence of surface active agents (detergents) for some yeasts. In order to the observation of carbohydrate metabolism, we measured the CO_2 uptake by Warburg's manometer. Glucose metabolism of intact cell would not be much influenced by nonionic detergents, but inhibited by the both cationic and anionic detergents. The carbohydrate metabolism of

some yeasts was varied by incubation of the intact cell in detergent solution. The cell which had been cultured in medium with detergents was varied the glucose metabolism as adaptation to growth condition, ie it seem to indicate that the respirative metabolism was decreased but the fermentative metabolism was increased.