

- (1977).  
 43) 佐藤, 大場, 高橋: 醸協, 72, 314 (1977).  
 44) 西谷, 久保井, 菅間: 醸協, 72, 310 (1977).  
 45) 布川, 三上, 土佐, 千畑: 醸酵工学, 55, 343 (1977).  
 46) 佐藤, 蓼沼, 大場, 高橋: 醸協, 72, 231 (1977).  
 47) 永谷, 服部, 布川: 醸酵工学, 55, 175 (1977).  
 48) 宇佐見, 福富: 醸酵工学, 55, 44 (1977).  
 49) 鈴木, 宮野, 梅田, 池田, 斉藤, 佐野, 佐藤, 新里, 大塚: 醸協, 72, 388 (1977).  
 (醸試 永谷正治)

## 2. 有機酸

### Organic Acids

#### 2-1 L-りんご酸

グルコース含有培地に *Rhizopus arrhizus* NRRL1526 と, フマラーゼ活性の高い *Proteus vulgaris* AHU 1144 を混合培養すると, 最終産物として著量の L-りんご酸が蓄積する.<sup>1)</sup> フマル酸からりんご酸への発酵転換には, 対数増殖期の細胞よりも定常期の細胞を接種した方が好適であり, 混合培養 3~4 日で初めの糖に対し 70~75% の収率でりんご酸がえられた. *Paecilomyces varioti* AHU 8007, 9254, 9417 が酢酸カルシウム(酢酸として 3%) 添加培地の振とう培養によりそれぞれ 27.5%, 37.7%, 48.0% の収率で L-りんご酸を生産する事が見出された. これらの菌株は, プロピオン酸, エタノール等を炭素源とした場合にも 30~37% の収率でりんご酸を蓄積する.<sup>2)</sup> *Candida brumptii* IFO-0731 株は *n*-パラフィンより L-りんご酸を生産する. 窒素源として尿素 (2g/l) が適し, 最適条件下で 4% (v/v) *n*-パラフィンから 25.4g/l, 収率約 80% で得られる.<sup>3)</sup> この生産は増殖非連動型で, 酸生産期においてグリオキシル酸回路関与のイソクエン酸リアーゼとりんご酸合成酵素活性が著しく高くなることが明らかにされ, さらに L-りんご酸は菌体内から能動的に排出されることを示唆する結果が得られた.<sup>4)</sup>

#### 2-2 くえん酸

*n*-パラフィンから高収率でくえん酸を生産する酵母 2 株が分離され, *Candida citrica* n. sp. と命名された. この菌株の人工変異株 (MT-1001) は最高収率 150% (w/w) でくえん酸を生産し, くえん酸と (+) イソクエン酸の生成比は 92.6 : 7.4 であった.<sup>5)</sup>

#### 2-3 イタコン酸

鋸屑をイタコン酸発酵原料として利用するプロセスについて提案がなされた.<sup>6)</sup> すなわち, 鋸屑を濃硫酸

により糖化し, 糖化後の廃硫酸を湿式りん鉱分解に利用してりん酸を遊離させ, 得られたりん酸を含む糖化液から沈殿分離, 電気透析などによりりん酸と糖液を分離し, 糖液をイオン交換処理により精製後, *Aspergillus terreus* K 26 によるイタコン酸発酵に供する. 一方, りん酸は最終的に肥料として付加価値の高い  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  として分離する.

#### 2-4 遊離型スピクリスポール酸

土壌から分離された *Penicillium spiculisporum* Lehman に属する 1 菌株が, グルコース培地の振とう培養で培地中に多量の針状結晶性物質を生産することが見出され, スピクリスポール酸 (S 酸) の遊離型 (O 酸) と同定された. 両酸の平衡反応はみかけ 1 次可逆反応で, S 酸/O 酸の比は 80° および 100°C でそれぞれ 5.3, 7.0 であること, 両酸ともに室温では水にほとんど不溶であるが, 温度による溶解度差が著しいことなども明らかにされた.<sup>7)</sup> 本菌の生育および生酸の至適温度はそれぞれ 36°C, 30°C, 至適 pH は 2 以下である. グルコースを培養中間けつ的に添加すると酸生成量は高められ, 10 日間の振とう培養で 110g/l に達し, 収率は消費グルコースに対し約 40% であった.<sup>8)</sup>

#### 2-5 その他

*Mycobacterium* に属するイソプロパノール資化性菌 (N-79, S-1) が  $\alpha$ -ケトグルタル酸とこはく酸を蓄積する.  $\alpha$ -ケトグルタル酸の蓄積には培地の pH を 4 付近に維持するのが重要で, N-79 菌のジャーフェメンターによる pH 制御培養 (pH 3.5) で酸生成速度 0.015 g/l/hr の結果がえられた.<sup>9)</sup>

*Brevibacterium ammoniagenes* ATCC 6872 から誘導したウロカナーゼ欠失株 KY 10550 は, L-ヒスチジン 10mg/ml から 7.2mg/ml のウロカニン酸を蓄積する.

さらに、ヒスチジンアナログ、プリンアナログ、ストレプトマイシン耐性を順次付与した菌株 FTGSA-7 は、糖質から 7.3 mg/ml のウロカニン酸を蓄積する。有効な蓄積のための炭素源、天然栄養源、窒素源についても検討された。<sup>10)</sup>

安息香酸分解性の *Corynebacterium glutamicum* (AKU 509) から誘導されたカテコール蓄積性変異株の生化学的検討の過程で、カテコールの分解反応液中に *cis*-, *cis*- ムコン酸の蓄積が認められ、本物質を蓄積する変異株が誘導された。<sup>11)</sup>

## 2-6 有機酸代謝

土壌からベラトル酸資化性の *Pseudomonas* sp. が分離され、代謝経路が検討された。これらの菌株はベラトル酸から微量のプロトカテキン酸のほか、代謝中間体としてバニリン酸およびイソバニリン酸のいずれかを優先的に蓄積する。菌株によってはフェルラ酸、アニス酸など、メトキシル芳香族有機酸も資化する。ベラトル酸は脱メチルされてバニリン酸またはイソバニリン酸となり、これらはプロトカテキン酸をへて分解されると結論している。<sup>12)</sup>

種々のかびによるソルビン酸 (SA) の代謝が検討された。その結果、*Mucor* 属かびはすべて *trans*-4-hexenol (4-HEL) への変換を行い、*Rhizopus* 属は 4-HEL と sorbic alcohol (SAL) を蓄積することが明らかにされた。*Mucor* sp. A-73 の休止菌による SA から 4-HEL への変換においては、その還元反応にグルコースを要すること、SA( $\rightarrow$ sorbaldehyde) $\rightarrow$ SAL の経路は適応酵素系、SAL $\rightarrow$ 4-HEL の経路は構成酵素により触媒される。<sup>13)</sup> *Mucor* sp. A-73 株は、*trans*-2-octenoic acid (2-OEA) を L-3-hydroxyoctanoic acid, mono-octyl phosphate (OLP), 1-octanol および 1,3-octanediol に変換する。これら代謝産物の相互関係が検討され、基質のほとんどは最終的に OLP に変換されることが確認された。<sup>14)</sup>

## 文 献

- 1) Takao, S., Hotta, K.: *Agric. Biol. Chem.*, **41**, 945 (1977).
- 2) Takao, S., Tanida, M., Kuwabara, H.: *J. Ferment. Technol.*, **55**, 196 (1977).
- 3) Sato, S., Nakahara, T., Minoda, Y.: *Agric. Biol. Chem.*, **41**, 967 (1977).
- 4) Sato, S., Nakahara, T., Minoda, Y.: *Agric.*

*Biol. Chem.*, **41**, 1903 (1977).

- 5) Furukawa, T., Matsuyoshi, T., Minoda, Y., Yamada, K.: *J. Ferment. Technol.*, **55**, 356 (1977).
- 6) 小林, 中川, 中村: 農化, **51**, 551 (1977).
- 7) Tabuchi, T., Nakamura, I., Kobayashi, T.: *J. Ferment. Technol.*, **55**, 37 (1977).
- 8) Tabuchi, T., Nakamura, I., Higashi, E., Kobayashi, H.: *J. Ferment. Technol.*, **55**, 43 (1977).
- 9) Sato, A., Misono, T., Miura, Y.: *Report of the Fermentation Research Institute*, **49**, 123 (1977).
- 10) 小林, 荒木, 中山: 農化, **51**, 543 (1977).
- 11) 辻, 桑原: 醸酵工学, **55**, 95 (1977).
- 12) 桑原, 鹿島, 波川, 岩原: 醸酵工学, **55**, 248 (1977).
- 13) Tahara, S., Kuroguchi, S., Kudo, M., Mizutani, J.: *Agric. Biol. Chem.*, **41**, 1635 (1977).
- 14) Tahara, S., Suzuki, Y., Mizutani, J.: *Agric. Biol. Chem.*, **41**, 1643 (1977).

## 有機酸関係特許公告

- 昭52-112 発酵法によるピルビン酸の製造法 炭素数2ないし10の脂肪酸アミドを主炭素源とする培地にノカルディア属等微生物を培養。
- 昭52-113 発酵法によるこはく酸の製造法 アブシデア属, アニキシエラ属, アラクニオタス属, またはセルコスボラ属微生物を液体培地に好氣的に培養。
- 昭52-114 発酵法によるくえん酸の製造法 生育にL-グルタミン酸を要求するブレビバクテリウム・フラバム属微生物を液体培地に培養。
- 昭52-1994 微生物による有機酸の製造法 イソプロパノールを主炭素源とする培地にミコバクテリウム属菌を培養し、 $\alpha$ -ケトグルタル酸およびこはく酸を生成せしめる。
- 昭52-21593 くえん酸の製造法 シゾフラビン添加培地にカンジダ属酵母を培養。
- 昭52-49066 酵母による有機酸発酵法 炭化水素を資化しうるブレタノマイセス・ペトロフィラム酵母菌を炭化水素含有培地で 30°C 以上で培養。
- 昭52-52998 発酵法によるL-りんご酸の製造法 炭化

水素を資化する酵母を糖アルコールを  
添加した培地に好氣的に培養。

(筑波大 中村以正)

### 3. アミノ酸

#### Amino Acids

##### 3-1 L-グルタミン酸

L-グルタミン酸発酵工業のファージ汚染<sup>1)</sup>は環境を浄化して、空気中のファージ濃度が0~150 PFU/mlになるように維持すれば、工業的な防除の目的はほぼ達成できることが明らかになった。

また、L-グルタミン酸生産菌 *Corynebacterium glutamicum* の培養液中に  $\gamma$ -L-グルタミール-L-グルタミン、 $\gamma$ -L-グルタミール- $\gamma$ -L-グルタミール-L-グルタミン酸など5種の $\gamma$ -グルタミールペプチド<sup>2)</sup>が存在し、これらは本菌により生産されることが明らかになった。

さらに、L-グルタミン酸生産菌から著量のN-アセチル-L-グルタミンを生産<sup>3)</sup>する *Corynebacterium glutamicum* KY 9003 株がスクリーニングされた。本菌は塩化アンモニウムとビオチンの存在下で対糖約20%, 35 mg/ml のN-アセチル-L-グルタミンのみを生産することが明らかになった。

##### 3-2 L-イソロイシン

*Corynebacterium glutamicum* のスレオニン生産菌より順次イソロイシンアナログ抵抗性を付与して、イソロイシン生産能の増大した変異株<sup>4)</sup>が得られ、イソロイシン生産能と硫酸アンモニウム濃度との関係が明らかにされた。

##### 3-3 L-ロイシン

*Aspergillus oryzae* 460 のロイシンアミノペプチダーゼ IV<sup>5)</sup> が分離・精製され、その酵素化学的諸性質が明らかにされた。

##### 3-4 L-リジン

*Saccharomyces cerevisiae* からS-(2-アミノエチル)-L-システインおよびリジンアナログ抵抗性を付与して得られた変異株が著量のリジンを蓄積<sup>6)</sup>すること、また、*Candida pelliculosa* のリジン硫黄アナログ、S-( $\beta$ -アミノエチル)-L-システイン耐性株もリジンを蓄積<sup>7)</sup>することが見出された。

さらに、*Achromobacter obae* nov. sp. などと同定され

た4種のDおよびL-アミノラクタム資化性菌数株が土壌より分離され、その菌体を用いてラセミ化<sup>8)</sup>を行うと、微量のリジンの副生を伴うがラセミ化は完結することが見出され、ついで、*Cryptococcus laurentii* と *Achromobacter obae* nov. sp. 菌体共存下でDおよびL-アミノカプロラクタムのL-リジンへの変換<sup>9)</sup>を行うと、転換率99.8%でL-リジンが生成することが明らかにされた。

また、残基数25~30の $\epsilon$ -ポリリジン<sup>10)</sup>を著量生産する *Streptomyces albulus* 類縁菌が分離された。

##### 3-5 L-フェニルアラニン

ワイン酵母 *Saccharomyces acidifaciens* によるL-フェニルアラニンの代謝<sup>11)</sup>はL-フェニル乳酸、2-ヒドロキシ-3-フェニルプロピオン酸、フェニル酢酸を生成し、また、 $\beta$ -フェニルアルコールも生成するがフェニルピルビン酸は生成されないことが明らかにされた。

##### 3-6 L-トリプトファン

DL-5-インドイルメチルヒダントインを不斉水解する誘導酵素をもつ細菌が分離され、本菌体を酵素源として1%のラセミ体基質を35時間水解すると、モル収率82%でL-トリプトファンを生産することができる改良法<sup>12)</sup>が明らかになった。

##### 3-7 L-バリン

グルタミン酸生産菌 *Brevibacterium lactofermentum* のバリン生産変異株について、バリン発酵と酸素供給量<sup>13)</sup>との関係が明らかにされ、また、*Methylobacterium aminofaciens* からバリンとロイシンの生産能の高いバリン、ロイシンアナログ抵抗性変異株<sup>14)</sup>が得られ、バリンヒドロキサメート抵抗性変異株が著量のL-バリンとL-ロイシンを生産することが見出された。さらに、土壌から *Methylobacterium aminofaciens* nov. sp. と同定されたメタノール資化性のアミノ酸生産菌が分離され、本菌が多量のバリンとロイシンを生産<sup>15)</sup>することが見出された。