

## 微生物によるグリセリン代謝機構に関する研究

(第4報) 酵母によるグリセリン資化性に就て

大塚 謙一, 増田 博

(昭和29年1月20日受理)

Studies on the Mechanism of Glycerol-metabolism  
by Microbes

Part 4. On the Assimilation of Glycerol by Yeasts

Ken-ichi OTSUKA, Hiroshi MASUDA

The yeasts of about 300 strains (from the collection of Tokyo University) are examined comparatively with regard to the assimilation and the respiratory quotient of glycerol.

*Saccharomyces* and *Shizosaccharomyces* without exception have not abilities to assimilate and to oxidize glycerol. While, other yeasts which can grow in an artificial glycerol-medium belong to the so-called "film-forming yeast", and they have the high rate of glycerol-oxidation.

Above results indicate that *Saccharomyces* may be distinguishable from other yeasts as to the activity to glycerol-assimilation.

As *Saccharomyces* have the such high rate of sucrose-or alcohol-oxidation as other yeasts, they may be lacking a part of the mechanism of glycerol-oxidation.

## 緒 言

糖類よりのグリセリン生成に就ては, Embden, Meyerhof, Neuberger 等による解糖機構並びにグリセリン酸酵機構の解明により明らかにされている。而るにグリセリンよりの代謝は細菌<sup>(1)(2)(3)(4)</sup>, 黴に<sup>(5)</sup> 就ては古くより研究されているにも拘らず, 未だ解明されない点が少ない。著者の一人<sup>(6)</sup>も細菌による代謝機構に就て先に報告したが, グリセリンが醸造酒に於てはエキス分中の大半を占め, 熟成にも関係ありと考えられるところから, 著者等は, ここに酵母によるグリセリン代謝研究を計画した。

実験の進め方として先ず繁殖試験により酵母のグリセリン資化性を検討し, 次いで或る基質に対する微生物の繁殖能と酸化能とは必ずしも一致しないことが考えられるので, 更に酵母の休止細胞を用いグリセリン酸化能を測定し, 繁殖能と比較検討した。

## 実験の部

## 実験 I. 繁殖試験

## 供試酵母

東大坂口研究室 (FAT) 保存の酵母約300株 (Table 1) に就て試験した。(うち *Pichia* は財団法人醸造研究所 (IFO) 保存のものである) これらの酵母は試験前改めて麴汁寒天に依り平面純粋培養を行い, 麴寒天斜面に植え継いだ。

Table 1. Origins and Numbers of the Strains of Yeasts studied.

Cultures	Origins	Strain No.	Numbers of strains studied
Sake yeast	FAT	SH 1~7	56
Beer yeast		BH 1~2	12
Wine yeast		WH 1~9	57
Alcohol yeast		BrH 1~7	47
Cider yeast		AY 1~2	12
<i>Schizosaccharomyces</i> sp.	FAT	SHS 1-1	1
<i>Sz. santawensis</i>		SHS 1-2	1
<i>Sz.</i> sp.		SHS 1-3~7	5
<i>Sz. octosporus</i>		SHS 1-8	1
<i>Sz. pombe</i>		SHS 1-9, 2-10~16	6
<i>Zygosaccharomyces barkeri</i>	FAT	ZS 1	1
<i>Zg. mandshuricus</i>		ZS 2	1
<i>Zg. bisporus</i>		ZS 3	1
<i>Zg. salsus</i>		ZS 4	1
<i>Zg.</i> sp.		ZS 5,6	2
<i>Zg. suminoe</i>		ZS 7	1
<i>Hansenula anomala</i>	FAT	Wil 2~8	7
<i>H. saturnus</i>		Wil 9	1
<i>H. miyaji</i> B		Wil 10	1
<i>Pichia farinosa</i>	IFO-0465	P 1	1
<i>P. hyarospora</i>	IFO-0180	P 2	1
<i>P. mandshurica</i>	IFO-0181; 0186; 0191	P 3~5	3
<i>P. membranaefaciens</i>	IFO-0182; 0189	P 6,7	2
<i>P. miso</i> Mogi	IFO-0193	P 8	1
Shaoshingchiu yeast	FAT	SHK 1	8
		SHK 2	3

<i>Torula</i> sp.	FAT	TH 1~5	5	}	9
<i>T. rubra</i>		TH 7	1		
<i>T. rubescens</i>		TH 8	1		
<i>T. utilis</i>		TH 9	1		
<i>Torulasporea delbruecki</i>		TH 10	1		
<i>Torulalactis</i> $\alpha$ var. <i>japonica</i> Hongo		LH 1,5,8	3	}	8
<i>Torulopsis lactica</i> Hongo	FAT	LH 7	1		
<i>T. lactis</i> var. <i>japonica</i> Hongo		LH 2~4	3		
<i>T. mandshurica</i> Hongo		LH 9	1		
<i>Hanseniaspora valbyensis</i>	FAT	Mis 1	1	}	8
<i>Pseudosaccharomyces mülleri</i>		Mis 2	1		
<i>Debaryomyces klockeri</i>		Mis 3	1	}	8
<i>Endomyces lindneri</i>		Mis 4	1		
<i>Mycoderma</i> sp.		Mis 6	1		
<i>Mycotorula japonica</i> Yamaguchi		Mis 8,9	2	}	1
<i>Endomyces fibuliger</i>		Mis 10	1		

### 培 養 基

次の如き4種類の人工培地を用いた (Table 2)。いづれも乾熱殺菌試験管に約7ccの培養液を分注し、15ポンド10分で殺菌し、寒天の入った培地Iは斜面とした。

Table 2. The Synthetic Media for the test contains:

	Glycerol-Pepton agar (I)	Glycerol-Pepton water (II)	Sucrose-Pepton water (III)	Glycerol-NH <sub>4</sub> Cl water (IV)
Glycerol . . . . .	2.5 %	2.5 %	— %	2.5 %
Sucrose . . . . .	—	—	2.5	—
Pepton . . . . .	0.1	0.1	0.1	—
NH <sub>4</sub> Cl . . . . .	0.3	0.3	0.3	0.3
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> . . . . .	0.05	0.05	0.05	0.05
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> . . . . .	0.05	0.05	0.05	0.05
MgSO <sub>4</sub> · 7aq . . . . .	0.03	0.03	0.03	0.03

The pH is adjusted to about 6.0. It is sterilized in the test-tube for 10 minutes at 15 lbs.

培地 I ; この培養基には無機窒素及び有機窒素を含み、且つ斜面と云ふ好気状態のグリセリン培地である。故に当培地に繁殖不能のものは炭素源としてグリセリンを資化出来ないものと思はれる。

培地 II ; 寒天中に含まれる不純物の影響を除く為に、寒天を除いたグリセリン培地である。

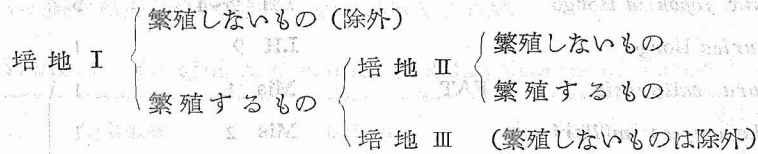
培地 III ; 酵母自身の繁殖力の弱化を考え、培地IIと併行して蔗糖培地を用い、これに繁

殖不能のものは除外した。

培地 IV ; 培地 II よりペプトンを除いた培地である。故に此の培地に繁殖可能の酵母は、炭素源としてグリセリンを資化したものと考えられる。

試験方法

麹寒天斜面培養の酵母を一白金耳づゝ培地 I に植菌し、培養温度 30 度に 10 日間繁殖状況を観察した。これに繁殖したものを次の培地に植え継いだ。(培地 I より採菌した) 培養基は次の順序で使用した。



繁殖試験結果 ;

Table 3-1. The Glycerol Assimilation by Yeasts.

Formation of a Sediment (S), Turbidity (T) and a Film (F) was observed in each Media (initial pH 5.4) after 2~10 days at 30°.

Yeast	Medium																	
	I days				II days				III days				IV days				pH	
	5	10	2	4	6	10	pH	2	4	6	10	pH	2	4	6	10		pH
SH1-1	+	+	-		S	S	5.5	S	S	S	S	3.8	-	-	-	-	5.4	
2	+	+	-		S	TS	5.4	TS	S	S	S	3.2	-	-	-	-	5.4	
3	+	+	-		S	S	5.5	S	S	S	S	3.2	-	-	-	-	5.4	
4	+	+	-		S	S	5.5	S	S	S	S	3.2	-	-	-	-	5.4	
5	+	+	-		S	S	5.4	TS	S	S	S	3.8	-	T	-	-	5.4	
6	+	+	-	T	S	S	5.5	S	S	S	S	3.8	-	-	-	-	5.4	
7	+	+	-	T	S	S	5.4	S	S	S	S	3.7	-	-	-	-	5.4	
8	+	+	-	T	TS	TS	5.5	S	S	S	S	4.5	-	-	-	-	5.4	
9	+	+	-	-	S	S	5.3	S	S	S	S	3.2	-	-	-	-	5.6	
10	+	+	-	-	S	TS	5.5	S	S	S	S	3.6	-	-	-	-	5.4	
SH2-1	+	+	-	TS	S	TS	5.5	-	S	S	S	3.6	-	-	-	-	5.4	
2	+	+	-	TS	TS	TS	5.4	-	S	S	S	3.7	-	T	-	-	5.4	
3	+	+	T	TS	S	S	5.5	-	S	S	S	3.6	-	-	-	-	4.9	
4	+	+	-	S	S	S	5.4	-	S	S	S	3.6	-	T	-	-	5.4	
5	+	+	-	S	S	S	5.6	-	-	S	S	3.7	-	-	-	-	5.4	
6	+	+	-	S	S	S	5.5	-	S	S	S	3.9	-	-	-	-	5.4	
8	+	+	T	S	S	S	5.5	-	S	S	S	3.8	-	T	-	-	5.4	
SH3-1	+	++	-	-	S	S	5.5	S	S	S	S	3.8	-	-	-	-	5.4	
2	+	++	T	T	T	TS	5.3	S	S	S	S	3.2	-	-	-	-	5.4	
3	+	+	T	T	T	TS	5.3	-	S	S	S	3.6	-	-	-	-	5.4	
4	+	+	-	-	S	S	5.4	-	-	S	S	3.7	-	-	-	-	5.4	
5	+	++	T	-	T	TS	4.9	S	S	S	S	3.2	-	-	-	-	5.4	
8	+	+	TF	T	T	TS	5.3	S	S	S	S	2.8	-	-	-	-	5.4	
9	+	+	-	-	S	S	5.4	S	S	S	S	3.9	-	-	-	-	5.4	
SH4-1	+	+	T	TS	TS	TS	5.5	S	S	S	S	3.7	-	-	-	-	5.3	
2	+	+	T	TS	TS	TS	5.5	S	S	S	S	3.8	-	-	-	-	5.4	

3	++	++	T	S	S	S	5.5	S	S	S	S	3.7	-	-	T	T	4.7
4	+	+	T	S	S	S	5.5	S	S	S	S	3.8	-	-	-	-	5.4
SH5-1	+	+	T	TS	S	TS	5.5	S	-	S	±S	2.8	-	-	-	-	5.5
2	+	+	-	-	S	TS	5.4	TS	S	S	S	3.9	-	-	-	-	5.5
3	+	+	T	TS	TS	TS	5.4	S	S	S	S	3.9	-	-	-	-	5.5
4	++	+	T	TS	TS	TS	5.5	TS	S	S	S	3.4	-	-	-	-	5.2
5	+	+	-	-	S	S	5.5	S	S	S	S	3.4	-	-	-	-	5.5
6	+	+	T	TS	TS	TS	5.4	S	S	S	S	3.6	-	-	-	-	5.5
8	+	+	-	-	S	TS	5.5	S	-	TS	S	2.8	-	-	-	-	5.5
9	+	+	T	TS	TS	TS	5.5	S	S	S	S	3.8	-	-	-	-	5.5
10	+	+	T	TS	TS	TS	5.5	TS	S	S	S	3.0	-	-	-	-	5.0
SH6-1	+	+	T	S	TS	S	5.5	S	S	S	S	3.0	-	-	-	-	5.4
2	+	+	-	S	S	S	5.4	S	S	S	S	3.4	-	-	-	-	5.6
3	++	++	-	T	S	S	5.3	S	S	S	S	3.6	-	-	-	-	5.4
4	++	++	T	T	TS	S	5.5	S	S	S	S	3.3	-	-	-	-	5.4
5	+	+	T	S	S	S	5.3	S	S	S	S	3.9	-	-	-	-	5.4
6	+	+	-	S	TS	TS	5.1	S	S	S	S	4.3	-	-	-	-	5.4
7	+	+	-	T	TS	TS	5.3	S	S	S	S	3.2	-	-	-	S	4.5
8	+	+	-	T	S	S	5.2	TS	S	S	S	3.7	-	-	-	-	5.4
9	+	+	-	S	S	S	5.1	S	S	S	S	3.2	-	-	-	-	4.9
10	+	+	-	S	S	S	4.9	S	-	F	-	4.6	-	-	-	-	5.4
SH7-1	+	+	T	T	TS	TS	5.6	-	-	S	S	3.8	-	-	-	-	5.4
2	+	+	T	T	T	TS	4.9	-	-	S	S	3.7	-	-	-	-	5.4
3	+	+	T	T	T	TS	5.3	-	-	S	S	3.8	-	-	-	-	5.4
4	+	+	T	T	T	TS	5.5	S	S	S	S	3.9	-	-	-	-	5.4
5	+	+	-	S	S	TS	5.3	S	S	S	S	3.7	-	-	-	-	5.4
6	+	+	-	S	S	S	5.4	S	S	S	S	3.3	-	-	-	-	5.4
7	+	+	T	TF	TF	TF	5.4	S	S	S	S	3.2	-	-	-	-	5.4
8	+	+	-	S	S	S	5.5	-	-	S	S	3.8	-	-	-	-	5.4
9	+	+	-	S	S	S	5.5	-	-	±S	±S	2.8	-	-	-	-	5.4
BH1-1	-	+	-	-	-	S	5.5	S	S	S	S	4.5	-	-	-	-	5.4
2	+	+	-	-	-	S	5.5	S	S	S	S	3.4	-	-	-	-	5.4
3	±	+	-	-	-	S	5.5	S	S	S	S	3.7	-	-	-	-	5.4
4	±	+	-	-	-	S	5.1	TS	S	S	S	5.4	-	-	-	-	5.4
5	-	+	-	-	-	S	5.5	S	S	S	S	3.8	-	-	-	-	5.4
6	-	+	-	-	-	S	5.5	S	S	S	S	3.2	-	-	-	-	5.4
8	-	+	-	-	-	S	5.5	S	S	S	S	3.2	-	-	-	-	5.4
BH2-1	-	+	-	T	T	T	6.0	S	S	S	S	3.7	-	-	-	-	5.5
2	-	+	-	-	-	-	5.5	S	S	S	S	3.7	-	-	-	-	5.4
3	-	+	-	-	-	-	5.5	S	S	S	S	3.7	-	-	-	-	5.4
4	-	+	-	-	-	-	5.5	S	S	S	S	3.2	-	-	-	-	5.4
5	-	+	-	-	-	-	5.5	S	S	S	S	3.7	-	-	-	-	5.4
WH1-1	+	+	-	-	-	-	5.1	-	-	S	S	3.2	-	-	-	-	5.4
2	+	+	-	-	-	-	5.5	-	-	S	S	3.6	-	-	-	-	5.4
3	+	+	-	-	-	-	5.5	-	S	S	S	3.6	-	-	-	-	5.5
4	+	+	-	-	-	-	5.5	S	S	S	S	3.3	-	-	-	-	5.5
5	±	+	-	-	-	-	5.5	S	S	S	S	3.6	-	-	-	-	5.5
WH2-1	±	+	-	-	-	S	5.5	S	S	S	S	3.4	-	-	-	-	5.4
2	-	+	-	-	-	S	5.4	S	S	S	S	3.2	-	-	-	-	5.4

WH2-3	T ±	+	-	-	-	S	5.5	S	S	S	S	3.4	-	-	-	-	5.4
4	-	+	T	-	-	S	5.2	S	S	S	S	3.6	-	-	-	-	5.4
5	+	+	T	-	-	S	5.2	S	S	S	S	3.3	-	-	-	-	5.4
WH3-1	+	+	-	-	-	S	5.6	-	S	S	S	3.6	-	-	-	-	5.5
2	+	+	-	-	-	S	5.7	-	S	S	S	3.6	-	-	-	-	5.5
3	+	+	-	-	-	S	5.6	-	S	S	S	3.8	-	-	-	-	5.7
4	+	+	-	-	-	S	5.5	-	S	S	S	3.2	-	-	-	-	5.4
5	+	+	-	-	-	S	5.5	-	S	S	S	3.2	-	-	-	-	5.5
6	+	+	-	-	-	TS	5.4	-	S	S	S	3.7	-	-	-	-	5.6
7	+	+	-	-	-	S	5.4	-	S	S	S	3.2	-	-	-	-	5.4
8	+	+	-	-	-	S	5.7	-	S	S	S	3.8	-	-	-	-	5.4
9	+	+	0	-	-	F TF	5.4	-	T	S	S	3.4	-	-	-	-	5.4
10	+	+	T	-	-	S	5.5	-	S	S	S	3.3	-	-	-	-	5.4
WH4-1	+	+	T	-	-	S	5.5	TF	S	S	S	3.4	-	-	-	-	5.4
2	+	+	T	-	-	S	5.5	TS	S	S	S	3.3	-	-	-	-	5.4
3	+	+	T	-	-	S	5.4	TS	S	S	S	3.3	-	-	-	-	5.4
4	±	+	T	-	-	S	5.5	TS	S	S	S	3.2	-	-	-	-	5.4
5	+	+	T	-	-	S	5.4	TS	S	S	S	3.3	-	-	-	-	5.4
WH5-1	+	+	T	-	-	S	5.6	S	S	S	S	3.1	-	-	-	-	5.4
2	+	+	T	-	-	S	5.4	S	S	S	S	3.1	-	-	-	-	5.4
3	+	+	-	-	-	S	5.5	S	S	S	S	3.2	-	-	-	-	5.4
4	+	+	T	-	-	S	5.4	S	S	S	S	3.2	-	-	-	-	5.5
5	+	+	T	-	-	S	5.5	S	S	S	S	3.2	-	-	-	-	5.7
6	+	+											-	-	-	-	5.4
7	+	+											-	-	-	-	5.5
8	+	+											-	-	-	-	5.4
9	+	+											-	-	-	-	5.4
WH6-1	+	+	-	-	±	S	5.5	S	S	TS	TS	3.1	-	-	-	-	5.4
2	+	+	-	-	±	S	5.4	S	S	S	S	3.4	-	-	-	-	5.4
3	±	+	-	-	±	S	5.6	S	S	S	S	3.2	-	-	-	-	5.4
4	±	+	-	-	±	S	5.5	S	S	S	S	3.2	-	-	-	-	5.4
WH7-1	+	+	-	-	±	S	5.4	S	S	S	S	3.1	-	-	-	-	5.5
2	+	+	-	-	-	S	5.4	S	S	S	S	3.0	-	-	-	-	5.4
3	+	+	-	-	-	S	5.2	S	S	S	S	3.1	-	-	-	-	5.4
4	+	+	-	-	-	S	5.4	S	S	S	S	3.2	-	-	-	-	5.4
5	+	+	-	-	-	S	5.2	S	S	S	S	3.0	-	-	-	-	5.4
WH8-1	+	+	0	-	-	T T	5.4	S	S	S	S	3.1	-	-	-	-	5.4
2	+	+	-	-	-	S	5.4	S	S	S	S	3.1	-	-	-	-	5.4
3	+	+	F	0	-	T T	5.4	S	S	S	S	3.0	-	-	-	-	5.4
4	+	+	-	-	-	S	5.4	S	S	S	S	3.0	-	-	-	-	5.6
5	-	±	-	-	-	S	5.5	S	S	S	S	3.0	-	-	-	-	5.4
6	+	+											-	-	-	-	5.4
7	+	+											-	-	-	-	5.4
8	+	+											-	-	-	-	5.4
9	+	+											-	-	-	-	5.4
WH9-1	-	+	-	-	±	S	5.4	S	S	S	S	3.4	-	-	-	-	5.4
3	+	+	-	-	±	S	5.4	S	S	S	S	3.4	-	-	-	-	5.4
4	+	+	-	-	±	S	5.5	S	S	S	S	3.2	-	-	-	-	5.4
5	+	+	-	-	±	S	5.0	S	S	S	S	3.2	-	-	-	-	5.4

WH9-6	+	+	-	-	±	S	5.4	S	S	S	S	3.1	-	-	-	-	5.4	
BrH1-1	+	+	-	-	±	S	5.0	-	S	S	S	3.8	-	-	-	-	5.4	
2	+	+	-	-	±	S	5.2	-	S	S	S	3.7	-	-	-	-	5.5	
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
4	+	+	-	-	±	S	5.4	-	S	S	S	3.6	-	-	-	-	5.5	
5	+	+	-	-	±	S	5.3	-	S	S	S	3.8	-	-	-	-	5.4	
7	+	+	-	-	±	S	5.1	-	S	S	S	3.2	-	-	-	-	5.4	
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
9	-	+	-	-	±	S	5.4	-	S	S	S	3.0	-	-	-	-	5.4	
10	-	+	-	-	±	S	5.0	-	S	S	S	3.1	-	-	-	-	5.6	
BrH2-1	+	+	-	-	T	TS	4.9	S	S	S	S	3.4	-	-	-	-	5.4	
4	+	+	-	-	T	S	4.8	S	S	S	S	3.4	-	-	-	-	5.4	
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
6	+	+	-	-	T	S	5.1	S	S	S	S	3.3	-	-	-	-	5.4	
9	+	+	-	-	-	S	4.9	S	S	S	S	3.2	-	-	-	-	5.4	
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
BrH3-1	+	+	-	-	S	S	5.4	S	S	S	S	3.1	-	-	-	-	5.2	
2	+	+	-	-	S	S	5.5	S	S	S	S	3.2	-	-	-	-	5.4	
3	+	+	-	-	S	S	5.5	S	S	S	S	3.2	-	-	-	-	5.4	
4	+	+	-	-	S	S	5.4	S	S	S	S	3.4	-	-	-	-	5.4	
5	+	+	-	-	S	S	5.5	S	S	S	S	3.1	-	-	-	-	5.4	
BrH4-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
2	+	+	-	-	-	S	5.6	S	S	S	S	3.0	-	-	-	-	5.4	
3	+	+	-	-	-	S	5.5	S	S	S	S	3.0	-	-	-	-	5.4	
4	+	+	-	-	-	S	5.5	S	S	S	S	3.1	-	-	-	-	5.4	
5	+	+	F	F	F	TS	5.5	S	S	S	S	3.1	-	-	-	-	5.4	
BrH5-1	±	+	-	-	T	TS	TS	4.9	-	S	S	S	3.6	-	-	-	-	5.4
2	±	+	-	-	S	TS	5.4	S	S	S	S	3.7	-	-	-	-	5.4	
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
4	+	+	-	-	T	TS	TS	5.2	S	S	S	S	3.4	-	-	-	-	5.4
5	-	+	-	-	S	S	5.1	S	S	S	S	3.4	-	-	-	-	5.4	
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
BrH6-1	±	+	-	-	±	S	5.5	S	S	S	S	3.6	-	-	-	-	5.2	
3	±	+	-	-	±	S	5.4	S	S	S	S	3.2	-	-	-	-	5.2	
4	-	+	-	-	±	S	5.4	-	S	S	S	3.4	-	-	-	-	5.2	
BrH7-1	±	+	-	-	±	S	5.6	-	S	S	S	3.6	-	-	-	-	5.4	
2	±	+	-	-	±	S	6.6	S	S	S	S	3.6	-	-	-	-	5.4	
3	-	+	-	-	±	S	5.5	S	S	S	S	3.8	-	-	-	-	5.4	
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
6	+	+	-	-	±	S	5.5	S	S	S	S	3.2	-	-	-	-	5.4	
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
8	+	+	-	-	±	S	5.3	S	S	S	S	3.6	-	-	-	-	5.4	
9	+	+	-	-	±	S	5.5	S	S	S	S	3.2	-	-	-	-	5.4	
10	+	+	-	-	±	S	5.5	S	S	S	S	3.2	-	-	-	-	5.4	
AY1-1	+	+	S	S	S	S	5.0	-	S	S	S	2.8	-	-	-	-	5.0	

AY1-2	+	+	S	S	S	S	5.0	-	S	S	S	3.0	-	-	-	-	5.4
3	-	+	S	S	S	TS	5.0	-	S	S	S	3.0	-	-	-	-	5.2
4	+	+	S	S	S	S	5.2	-	S	S	S	2.4	-	-	-	-	5.0
6	+	+	S	SF	T	TS	5.2	-	S	S	S	3.0	-	-	-	-	5.2
7	+	+	S	S	S	S	4.9	-	S	S	S	2.9	-	-	-	-	5.0
8	+	+	S	S	TS	TS	5.2	-	S	S	S	2.9	-	-	-	-	4.9
9	+	+	S	S	TS	S	5.0	-	S	S	S	2.8	-	-	-	-	5.0
AY2-2	+	+	S	TS	S	S	4.8	±	S	S	S	2.8	-	-	-	-	5.2
3	+	+	-	S	S	S	5.2	±	S	S	S	3.2	-	-	-	-	5.2
4	+	+	S	S	S	S	4.9	±	S	S	S	2.8	-	-	-	-	5.0
5	+	+	S	S	S	S	5.2	±	S	S	S	2.9	-	-	-	-	4.9
SHS1-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	+	+	-	S	S	S	5.0	±	S	S	S	2.8	-	-	-	-	5.2
4	+	+	-	S	S	S	5.0	±	S	S	S	2.8	-	-	-	-	5.4
5	+	+	-	S	S	S	5.0	±	S	S	S	3.0	-	-	-	-	5.4
6	+	+	-	S	S	S	5.2	±	S	S	S	3.0	-	-	-	-	5.3
7	+	+	-	TS	T	S	5.0	±	S	S	S	2.9	-	-	-	-	5.0
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SHS2-10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	±	+	-	S	-	-	5.0	S	S	S	S	3.0	-	-	-	-	5.0
14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ZS	1	-	+	-	-	-	5.2	-	S	S	S	4.1	-	-	-	-	5.4
2	++	++	FS	FS	FS	FS	2.4	FS	FS	FS	FS	2.2	-	F	F	F	2.3
3	+	+	-	-	-	-	6.0	-	S	S	S	5.4	-	-	-	-	5.4
4	++	++	FS	FS	FS	FS	2.3	FS	FS	FS	FS	2.3	-	F	F	F	2.8
5	++	++	-	-	-	S	5.6	-	S	S	S	4.8	-	-	-	-	5.5
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	++	++	-	-	-	-	5.6	-	S	S	S	2.8	-	-	-	-	5.5
SHK1-1	++	++	F	F	F	TF	5.3	F	F	F	F	2.3	F	F	F	F	2.3
2	++	++	F	F	F	TF	5.0	F	F	F	F	2.1	F	F	F	F	2.6
3	+++	+++	F	F	F	TF	4.5	F	F	F	F	3.0	F	F	F	F	2.9
4	+	+	±	±	±	±	5.4	T	S	S	S	5.0	-	-	-	-	5.4
5	±	+	±	±	±	±	5.9	T	S	S	S	5.8	-	-	-	-	5.4
6	++	++	F	F	F	TF	4.5	F	F	F	F	2.6	T	F	F	F	3.3
7	++	++	F	F	F	TF	4.9	F	F	F	F	2.6	F	F	F	F	2.9
8	++	++	F	F	F	TF	4.9	F	F	F	F	2.7	-	F	F	F	2.8
SHK2-1	++	++	TF	TF	TF	TF	5.0	F	F	TF	TF	3.1	-	F	F	F	3.4
2	++	++	TF	TF	TF	TF	4.6	F	F	TF	TF	2.5	-	F	F	F	3.1
3	++	++	TF	TF	TF	TF	2.8	F	F	TF	TF	2.8	-	F	F	F	2.8
Wil	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	F	F	F	2.8
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	F	F	F	F	2.3
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	F	F	F	F	2.3
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	F	F	F	2.8
6	++	++	F	F	F	F	2.4	F	F	F	F	2.3	-	F	F	F	2.5
7	++	++	F	F	F	F	2.4	F	F	F	F	2.2	-	F	F	F	2.6



Wil	9	++	++	F	F	F	F	2.4	F	F	F	F	2.6	-	F	F	F	2.3
	10	++	++	F	F	F	F	2.4	F	F	F	F	2.4	-	F	F	F	2.8
	8													F	F	F	F	2.9
P	1	++	++	F	F	F	F	2.4	F	F	F	F	5.4	-	F	F	F	2.0
	2	+	+	F	F	F	F	4.6	F	F	F	F	2.4	-	-	-	F*	2.6
	3	+	+	-	-	±F		4.8	-	-	-	-	3.0	-	-	-	-	5.6
	4	±	+	F	F	F	F	3.2	F	F	F	F	2.5	-	-	-	F*	3.0
	5	±	+	-	-	±F		4.1	-	-	-	-	2.9	-	-	-	-	5.4
	6	+	+	F	F	F	F	2.9	F	F	F	F	2.3	-	-	-	F*	4.1
	7	+	+	F	F	F	F	2.9	F	F	F	F	2.8	-	-	-	F*	5.4
	8	++	++	F	F	F	F	2.9	F	F	F	F	2.8	-	F	F	F	2.3
Mis	1													-	-	-	-	5.6
	2													-	-	-	-	5.4
	3													-	-	-	-	5.4
	4													-	-	-	-	5.4
	6													-	-	-	-	5.4
	8													-	-	-	-	5.2
	9													-	-	-	-	5.7
	10													-	-	-	-	5.2
TH	1	-	-															
	2	+	+	-	FS	FS	FS	5.8	-	S	-	-	4.6	-	-	-	-	5.5
	4	+	+	FS	FS	FS	FS	5.8	-	S	-	-	4.6	-	-	-	-	5.4
	5	+	+	TS	FS	T	TS	5.0	T	T	T	T	5.0	T	-	-	-	5.0
	7	+	+	S	S	-	-	6.2	-	S	S	-	5.2	-	-	-	-	5.4
	8	++	++	S	FS	F	F	5.7	-	S	FS	FS	4.4	-	-	-	FT	2.6
	9	++	++	S	S	T	T	4.8	S	S	S	S	2.9	-	T	-	-	4.5
	10	+	+	S	S	-	-	5.1	-	S	-	-	5.0	-	-	-	-	5.4
LH	1	-	-															
	2	-	-															
	3	-	-															
	4	±	+	-	-	-	-	5.6	-	S	S	S	2.8	-	-	-	-	5.4
	5	-	-															
	6	-	+	-	-	-	-	5.8	-	S	S	S	2.8	-	-	-	-	5.4
	7	±	+	-	-	-	-	5.7	-	S	S	S	4.4	-	-	-	-	5.4
	8	±	+	-	-	-	-	5.8	-	S	S	S	2.9	-	-	-	-	5.4
	9	-	-															

\* 13日後に於ける観察

各培地に於ける繁殖状況を Table 3-1 に示した。観察は毎日行い、明らかに菌体沈澱の増したものをS、濁濁せるものをT、産膜せるものをFとし、10日後液のpHを試験紙にて測定した。原培養液のpHは5.4である。

培地II, IIIに於ける沈澱量の増加は判り難いが、培地IVを対照として観察すると肉眼的にも判定出来る。蔗糖培地の繁殖は良く、pHも3.0以下に迄下がる。グリセリン培地(II及びIV)はpHの変化は一般に少ないが産膜性のもは3.0以下になる。これらのpHの低下は塩素残基及び生酸によるものである。内主なるものを綜括したものがTable 3-2表である。これをみると *Saccharomyces* は培地IIIに於て沈澱増殖を示し、培地IIに

Table 3-2. The Glycerol Assimilation by Yeasts.

Yeast	(Numbers)	Medium			
		I	II	III	IV
Beer yeast	BH (12)	±	—	S	—
Alcohol "	BrH (47)	<sup>13</sup> — <sup>34</sup> +	±	S	—
Wine "	WH (57)	+	±	S	—
Cider "	AY (12)	+	S	S	—
Saké "	SH (56)	+	S	S	—
<i>Shizosaccharomyces</i>	SHS (14)	<sup>8</sup> — <sup>6</sup> +	S	S	—
<i>Zygosaccharomyces</i>	ZS (6)	<sup>4</sup> + <sup>2</sup> ++	— F	S F	— F
Shaoshingchiu yeast	SHK (11)	<sup>9</sup> ++ <sup>2</sup> +	FT ±	F S	F —
<i>Pichia</i>	P (8)	<sup>2</sup> + <sup>6</sup> +	F F	F F	— F
<i>Hansenula</i>	Wil (9)	++	F	F	F
<i>Torulopsis</i>	TH (7)	<sup>5</sup> + <sup>2</sup> ++	± FT	± S	— FT
	LH (8)	<sup>4</sup> + <sup>5</sup> —	—	S	—

対しては麦酒酵母 (BH) は繁殖不能, 糖蜜用酒精酵母 (BrH), ブドウ酒酵母 (WH) は増殖の不明瞭 (むしろ負の結果) を示し, 後者の2群は培地 I に繁殖しているのて, 好気条件の有無が繁殖に関係あるとも考えられる. 前者の BH は違つた傾向が認められるが, この傾向は BH が弱体化して従つてビタミン等を要求し, 人工培地では繁殖出来ないことも考えられる. リンゴ酒酵母 (AY), 清酒酵母 (SH) は培地 II に対し, 沈澱増殖を示し, これらはペプトン等の有機態窒素を資化する結果と思はれる (ペプトンを除いた培地 VI に繁殖不能の理由) 以上の *Saccharomyces* は培地 IV にはいずれも繁殖を示さず, 他の酵母とは区別される (但し *Shizosaccharomyces* も AY, SH と同一行動を示す). *Zygosaccharomyces* は培地 III に於て産膜と非産膜とに区別され, 前者は培地 II 及び IV にも産膜して繁殖するが, 後者は培地 II 及び IV に繁殖出来ずサツカロミセス型に似ている. 同様な傾向は紹興酒酵母 (SHK) にも認められる. *Pichia* は一般に産膜して繁殖出来るが, 培地 IV に於て, 繁殖不能を示すものがある. これは *Pichia* の分類学上の考察の進歩を俟つて改めて再検討する予地がある. *Willia* はすべての培地に繁殖旺盛でいずれも産膜性であり, *Pichia* と較べて繁殖が速い. *Torula* は一般に人工培地に於ける繁殖は良くない. 結局酵母はグリセリン培地繁殖試験により, グリセリンを唯一の炭素源に出来ない群 (サツカロミセス型) とグリセリンを資化して産膜する群 (産膜酵母型) とに区別さ

れる。Table 3-2 の型は殆ど例外がなく、かなり厳密に区別されると考えてよい。

## 実験 II. グリセリン酸化能

基質に対する酸化能と資化能との関係は、必ずしも一致しないものであるが、酵母のグリセリンに対する酸化能と、実験 I の資化能とを比較検討した。

### 酵母菌体の調製

麴汁寒天斜面培養より麴汁試験管（約 7 cc 分注）に一白金耳植菌 30°C で約 20 時間前培養する。次に之を麴汁 100 cc を分注した 500 cc 容三角フラスコに加え、30°C で 40 時間振盪培養し、菌体を遠心分離器で集めた。これを生理的食塩水で 2 回洗滌し、約 50 cc の食塩水（pH 5.9-ゼーレンゼン磷酸緩衝液 5 cc, 0.5% 硫酸マグネシウム 0.5 cc を含有する）に懸濁せしめて、約 2 時間振盪した（飢餓操作）後、遠心分離して菌体を集め、一回洗滌し再び食塩水に懸濁して 1 cc 中約 20 mg になる様にする。菌体量は 1 cc とり遠心分離器を用いて菌体を集め、これを蒸溜水で 2 回洗滌し、80°C で乾燥秤量した。

### 酸素吸収量測定法

ワールブルク検圧計を用いて測定した。容器内の組成は次の如し。

	添加物	基質添加区	基質無添加区
主室	磷酸緩衝液 (pH)	5.0cc	0.5cc
	酵母懸濁液	1.0	1.0
	蒸溜水	—	0.2
副室	20% KOH	0.2	0.2
側室	1% グリセリン	0.2	—
	又は蔗糖液		

操作：反応温度 30°C, ガス腔は空気、温度平衡迄 10 分間予備振盪をした後、基質を添加した。反応は基質添加より 70 分間測定し、 $Q_{O_2}$  の算出に当つては基質添加後 10 分から 70 分迄の 60 分を使用した。

$$Q_{O_2} = \frac{\text{酸素吸収量 (グリセリン又は蔗糖)} - \text{酸素吸収量 (自己呼吸)}}{\text{乾燥菌体の重量 (mg)} \times 1 \text{ (時間)}}$$

### 酸素吸収能の比較

Table 4 及び Table 5 にグリセリン蔗糖に対する各酵母の  $Q_{O_2}$  の値を示した。Table 4 の酵母はグリセリンを酸化出来ないと同時に、グリセリンを資化する事も出来ない酵母である。これに属する酵母は、*Saccharomyces*, *Shizosaccharomyces* であるが、殆んど例外なくこれに含まれる。Table 5 には主としてグリセリンを酸化出来る酵母を掲げた。此の値を見ると、酸化能と資化能が必ずしも一致するものでない事がわかる。グリセリンを酸化出来るにも拘らず繁殖出来ない酵母が可成存在する。これは他の栄養源の欠乏であると

Table 4. The Relative Rates of the Glycerol- and Sucrose-Oxidation by Yeasts.

Yeast	Q <sub>O<sub>2</sub></sub>			Yeast	Q <sub>O<sub>2</sub></sub>			
	Glycerol	Sucrose	Growth		Glycerol	Sucrose	Growth	
SH	1 - 5	0	20.6	—	SHS 2 - 14	0.5	15.3	—
	2 - 5	0.2	19.9	—	2 - 16	0.2	12.0	—
	3 - 5	1.2	21.9	—	ZS 1	2.3	23.8	—
	4 - 3	0	21.3	—	2	9.7	—	F
	5 - 5	0	25.2	—	3	16.3	14.8	—
BH	6 - 5	0	33.1	—	4	25.7	19.0	F
	1 - 1	0.2	3.1	—	5	8.7	0.5	—
	1 - 2	0	1.8	—	6	0	3.2	—
	1 - 4	1.6	0.2	—	SHK 1 - 1	11.7	34.4	F
	2 - 1	0	1.2	—	1 - 2	3.7	1.7	F
WH	2 - 2	0	10.3	—	1 - 3	16.3	6.9	F
	1 - 5	0	7.5	—	1 - 4	0.3	10.1	—
	2 - 5	0.1	1.2	—	2 - 1	5.3	4.5	F
	3 - 1	0.4	8.6	—	2 - 2	22.3	11.3	F
	4 - 1	0.8	14.9	—	TH 2	31.8	7.7	—
BrH	5 - 2	0	12.1	—	5	0.4	0.3	—
	1 - 1	0.3	3.0	—	7	6.6	8.9	—
	1 - 3	0	8.5	—	9	21.9	17.3	±
	2 - 1	0.1	16.5	—	Mis 1	7.3	1.6	—
	3 - 1	0.2	30.9	—	3	6.6	1.7	—
AY	4 - 1	0	22.3	—	5	3.4	6.9	—
	5 - 1	0.3	5.8	—	4	7.1	13.7	—
	1 - 1	0.1	7.4	—	10	5.9	9.8	—
	1 - 3	0	2.4	—	Wil 2	6.7	8.4	F
	2 - 2	0.9	7.7	—	3	2.5	2.4	F
SHS	2 - 3	0.4	14.6	—	4	0	8.9	F
	1 - 3	0	3.6	—	8	28.3	47.2	F
	1 - 4	0	19.9	—	P 1	10.5	2.0	F
	1 - 5	2.3	19.4	—	2	0.8	2.9	F
	1 - 6	0	13.9	—	3	29.6	4.1	—
SHS	2 - 12	0.4	9.6	—	6	15.4	2.1	F
	2 - 13	1.9	19.6	—	8	5.7	0.1	—

想像される。またグリセリンを酸化する酵母は総てこれを資化出来るようである。(こゝに示された Q<sub>O<sub>2</sub></sub> の値は絶対的なものでなく、こゝに用いられた条件に於ける相対的な値である) また蔗糖区は対照の意味で行つたのであるが、清酒酵母 (SH) はグリセリンを酸化する事は出来ないが、蔗糖に対する酸化能は一般に強い。また麦酒酵母 (BH) を見ると、グリセリン、蔗糖共に比較的弱い。これは酵母自体が弱つてゐるものと考えられる。Table 5 でグリセリン区の方が蔗糖区よりも Q<sub>O<sub>2</sub></sub> が高い酵母が見られることは興味深いことである。

Table 5. The Relative Rates of the Ethylalcohol-oxidation by Living Yeasts and Glycerol-oxidation by Dried Yeasts.

Yeast	Q <sub>O<sub>2</sub></sub> (Living)			Q <sub>O<sub>2</sub></sub> (Dried)		Growth (Glycerol)
	Alcohol	Sucrose	Glycerol	Glycerol		
SH 5 - 5	32.5	25.2	0	—		—
WH 5 - 2	2.7	12.1	0	—		—
BrH 3 - 1	35.4	30.9	0.2	—		—
SHS 2 - 13	22.8	19.6	1.9	—		—
ZS 3	11.5	14.8	16.3	—		—
4	31.0	19.0	25.7	0.7		F
P 3	146.0	4.1	29.6	12.8		F
Wil 7	21.6	7.4	17.2	8.7		F
10	24.3	7.1	17.7	2.1		F
8	45.3	47.2	28.3	10.1		F
TH 2	4.0	7.7	31.8	0		—
9	40.5	17.3	21.9	0.9		±
LH 1	31.1	20.3	20.8	0		—
3	14.6	9.2	15.3	0		—
SHK 1 - 3	18.0	6.9	16.3	3.3		F
2 - 2	14.7	11.3	22.3	1.5		F

### 実験 III. アルコール酸化能

上の実験で見る如く、*Saccharomyces* はグリセリンは酸化出来ないが、蔗糖は良く酸化する。この事はこの両者の酸化機構に差がある事を示す。グリセリンは多価アルコールであるので、エタノールの酸化能と比較して見た (Table 5 参照) エタノールに対しては、いづれの酵母も大きな酸化能を示した。この事もグリセリン酸化が、アルコールの酸化と異なる事を示している。Table 5 には同時に、休止細胞の乾燥菌体に依るグリセリン酸化能の値を掲げた。一般に乾燥に依り著しい酸化能の低下を見た。

### 考 察

グリセリン酸化能並びに酸化能を各種酵母に就て検討すると、*Saccharomyces*, *Shizosaccharomyces* は他の酵母から区別出来る。このことは分類上の一問題となりうる。

他面、アルコール醗酵を強力に営む酵母 (*Saccharomyces*) がグリセリンに対して非活性であるにも拘らず、蔗糖及びアルコールに対しては強い酸化能を持つていることは、グリセリン酸化が後者のそれと異ると考えられる。著者等は *Saccharomyces* がグリセリン酸化機構の一部を失っているものと想定し、目下追及中である。

### 結 語

東大坂口研究室保存の酵母約 300 種について、グリセリンに対する酸化能並びに酸化能を比較検討した。

1. *Saccharomyces*, *Shizosaccharomyces* は唯一の炭素源としてグリセリンを資化も、酸化も出来ない (サツカロミセス型).

2. 他の一般の酵母はグリセリンを酸化出来ても、唯一の炭素源としてグリセリン培地に繁殖出来ない.

3. グリセリンを資化し、酸化も出来るのは産膜酵母である (産膜酵母型).

終りに臨み、終始御懇篤なる御指導を戴きました、東京大学坂口教授、朝井教授に感謝致します。  
(本報告の要旨は昭和28年4月農学大会にて講演発表した)

- (1) Braak, H. R. : On der zoekingen over vergisting van glycerine, Dissert , Delft, (1928)
- (2) Wood, H. G. and Werkman, C. H. : *Biochem. J.*, **32**, 1262 (1938)
- (3) Gunsalus, I. C. and Umbreit, W. W. : *J. Bakt.*, **49**, 347 (1945)
- (4) King, T. E. and Cherdelin, V. H. : *J. Biol. Chem.*, **198**, 127; 135 (1952)
- (5) 馬場眞一郎 : 農化, **18**, 818 (1942)
- (6) 大塚謙一 : 農化, **27**, 530 (1953) ; **28**, 11 (1954)