- (4) WEBB: *J. Am. Chem. Soc.*, 48, 2589 (1926)
 (5) 志村: 農化., 23, 48 (1949)
 (6) BUTLER: *Structure and Molecular Forces in Pure Liquids and Solutions*, pp. 229 (1936)

Summary

From the relationship between the partial molal volume of glycine in acetone-water solution and the dielectric constant of the solvent, the author has calculated the free energy of hydration of glycine and found: $F = -102.3 \text{ Kcal/mol}$.

On the other hand the free energy of hydration of amino acids could be estimated from the magnitude of the electrostriction of solvent according to the WEBB's theory, namely, for the glycine: $F = -81.7 \text{ Kcal/mol}$.

Deriving the heat of hydration from the free energy of hydration and using the heat of solution, the crystal energy of glycine was obtained: Crystal energy of glycine = 103.1 Kcal/mol .

麥角菌に関する研究(第18報) 液内培養における麥角アルカロイドの生産に就て

阿部又三, 山野藤吾, 高津嘉春, 楠本 貢 (財団法人 醸酵研究所)

昭和 25 年 8 月 3 日 受理

Researches on Ergot Fungus. Part 18. Production of Ergot Alkaloids in Submerged Cultures.

By Matazō ABE, Tōgo YAMANO, Yoshiharu KOZU, and

Mitsugi KUSUMOTO (The Institute for Fermentation, Osaka)

さきに阿部はいわゆる麥角アルカロイドは *Sphacelia* が菌核になるような方向に發育する過程で、いゝ換えれば麥角菌がその本然の發育を辿る過程で生産されるものであることを認め⁽¹⁾、且つどのような條件の下で *Sphacelia* が菌核にまで發展していくかということに就てもほぼこれを明かにした⁽²⁾。同時に阿部は菌の種類によつてアルカロイドを生産する能力がそれぞれ異つていること、また同一種類の菌でも寄主に寄生する場合には多量のアルカロイドを生産するにも拘らず培養基上ではたといそれが本然の發育を辿つてもアルカロイドを微量にししか生産しないというような事實のあることなどをも明らかにした⁽³⁾。その際阿部は培養基上でアルカロイドを特に多量に生産する能力のある 1 菌種を選択し、これを主として應用上の見地からアルカロイドの多量生産種として他の少量乃至微量生産種と類別したが、他面その培養から一種の新アルカロイドを抽出してそれを *Agroclavine* と名附けた⁽³⁾。その後このアルカロイドの多量生産種は培養基上にだけでなく寄主に寄生する場合にも同様に *Agroclavine* を生産するという事⁽⁴⁾、しかもこの菌種は天然培養のいずれでも *Agroclavine* だけを生産してこれと違うアルカロイドを全く生産しないということ⁽⁵⁾、更にこれとは反對にアルカロイドの少量乃至微量生産種は天然培養のいずれでも從來認められているのと同じ母核をもつアルカロイドだけを生産して *Agroclavine* を全く生産しないといふこと⁽⁶⁾などがそれぞれ認められ、それにより麥角アルカロイドの生産される事情に關して 1 つの説明が得られた。即ち一般に麥角アルカロイドが生産されるための條件というものは *Sphacelia* が菌核への方向に發育するための條件と嚴密には同一ではないことが明らかにされ、且つ *Lysergic acid* 或は *Isolysergic acid* を母核にもつてゐるようなアルカロイドが多量に生産されるためには、勿論菌が菌核になるような方向に發育することは必要な條件ではあるが、しかしそれだけでは十分でなくて、その上にそれらのアルカロイドの生産に直接不可欠な何等かの物質が外部から供給されなければならないものであるとの推論が得られた⁽⁶⁾。

さて、上述のようにいわゆるアルカロイドの多量生産種は、それが本然の發育を辿り得る條件の下で發育する限り、培養基上でも一種のアルカロイド *Agroclavine* を多量に生産する。而してこのアルカロイドもまた從來得られている 1 群の麥角アルカロイドとほぼ同様の生理作用を有している事實^{(8),(7)} からその工業的生産が期待されるに至つた。今日のところこのアルカロイドの生産は専らいわゆる表面培養法によつてゐるが、しかし量産という面からはこの場合もいわゆる液内培養法が採用されるに至らなければならないと信じられる。そこで著者

等は今回始めて振盪乃至通氣培養で麥角アルカロイド特に *Agroclavine* の生産される状態を検討して見た。その結果液内培養では麥角アルカロイドは *Agroclavine* でさえも極めて微量にしか生産されないという事實が認められた。勿論液内培養でも表面培養の場合と同様に菌株とその菌齡、いゝ換えれば供試菌株の細胞の内的素因によつては元より培養基の組成、その pH、接種量、培養温度その他の條件によつて成績の動搖する事實が認められた。而して *Agroclavine* はその最も好適な條件の下でも培養濾液 100cc 當り 0.3~5.5 mg 程度にしか生産されなかつたが、この成績は表面培養で通常見られるその 1/100 にも當らない。また液内培養でも菌は表面培養の場合と同様の「相」を示しながら繁殖することが知られたが、この場合上記のように最も好適な條件の下で繁殖した菌絲細胞にすらも組織化するような形態的變化の跡は全然認められなかつた。他面液内培養でも脂肪、蛋白質物などの代謝される量とアルカロイドの生産される量との間の相互の關係では表面培養の場合とほぼ一致しており、例えばアルカロイドが多少とも生産される培養ではその殆ど生産されない培養にくらべて脂肪はより少量に、蛋白質物はより多量にそれぞれ集積されるという事實が認められた。これらの事實から液内培養でも表面培養の場合と同様に培養の當初から C-給源に對するよりはむしろ N-給源に對する代謝がより旺盛に行われ、菌がより本質的な發育を辿るほどより多量のアルカロイドが生産されるものであると結論された。またこれより液内培養では *Agroclavine* でさえも極めて微量にしか生産されないという實驗結果はこのような培養方法はそのものが適當でなくて上記のような合目的な物質代謝が行われ難いのに基いていると歸結された。

實驗の部

[I] 液内培養で麥角アルカロイドの生産される状態に就て

(1) 振盪培養による麥角アルカロイドの生産： 著者等は差當り麥角菌が振盪培養でどのように繁殖するかということに就てしらべて見た。こゝに振盪機は往復運動を行う三段積みの比較的大型のものをを用い、また培養瓶は 300cc 容首長平底瓶を使用した。この培養瓶には培養液を 30~50cc づつ容れ、且つその綿栓は能うだけ軽くした。なお培養温度、接種法その他培養上の諸條件は表面培養で得られている諸成績を基準にし、振盪法もペニシリン酸酵その他で行われているところを參酌した。而して麥角菌も振盪培養で比較的單時間に繁殖すること、また養分その他の培養條件によつて菌絲細胞がいわゆるピレット狀、カヌ狀その他の外觀を示すことなどが先ず知られた。他面振盪培養でも菌の繁殖状態を菌體の増殖する状態、養分の消費される状態、及び培養液の pH の變化する模様の相互の關係で見るとは表面培養の場合⁽⁸⁾と同様にこれに次のような 3 種類の相があること、しかもそれらが表面培養の場合と同様に主として榮養條件に關連しているということが知られた。即ちその 1 つは表面培養で第 1 發育相として類別されたものであつて、菌が完全な榮養條件の下で、いゝ換えれば C-, N-各給源がいずれも發育に適合しているばかりでなく、量的には均衡がとれているような培養液に發育する場合に見られる相である。この場合は菌體の最大増殖量が大であり、且つ培養液の pH が培養の當初に一旦下降するがその後徐々に上昇する。他の 1 つは表面培養で第 2 發育相として類別されたものであつて、菌が C-給源にくらべて N-給源の過少な、または發育に適合しないような培養液に發育する場合に見られる相である。この場合は C-給源の消費が抑制され、且つ培養期間内には原則として菌體量では減少するような、また培養液の pH では上昇するような各傾向をあまり示さない。他のもう 1 つは表面培養で第 3 發育相として類別されたものであつて、菌が N-給源にくらべて C-給源の過少な、または發育に適合しないような培養液に發育する場合に見られる相である。この場合は菌體の最大増殖量が極めて小であり、且つ培養液の pH が培養の當初から上昇の傾向を辿る。これにより菌が外觀上どのような形態をとつて發育するにしても、その發育の良否乃至遲速を正確に識別し得ることが始めて知られたが、著者等は次に振盪培養で麥角アルカロイドの生産される状態に就てしらべて見た。この場合アルカロイドの量は主として培養濾液そのものが *p*-Dimethylaminobenzaldehyde-硫酸液で與える呈色度を *Agroclavine* の琥珀酸溶液が同試薬で與えるそれと比色して定量した。而して振盪培養ではアルカロイドは *Agroclavine* でさえも極めて微量にしか生産されないということが知られた。同時に振盪培養でもアルカロイドは大體表面培養の場合と同様に菌が完全な榮養條件の下で第 1 相の發育を辿る時、しかも培養基の種類、その pH、培養温度などによつてその發育が適度に抑制されるような場合に比較的多量に生産されるといえることも知られた。なお *Agroclavine* 生産種の振盪培養で生産したアルカロイドが *Agroclavine* そのものであることも吸収スペクトルをしらべるることによつて確認された。著者等はこれらの實驗成績に基いて、今度は保存の凡ての

Agroclavine 生産株, これらは凡て個々の麥角から純粹分離し, それから更に望返し平板培養法で分けたものであるが, 夫々に就き同じ振盪装置により培養液の組成, その pH, 培養温度, 菌齡, 接種量, 或は振盪回数, 振幅などの諸條件と Agroclavine の生産される量との間の相互の關係を仔細に吟味して見た. この場合, Agroclavine の量は培養濾液に就て前の場合と同様にして比色定量したが, 同時に菌體量, 培養液中の糖分, 培養液の pH などは勿論, 分生孢子の數をも測定した. なお分生孢子の數は培養液を振盪しながら酵母計算器土に採つてこれを計算した. 而して Agroclavine は結局微量にしか生産されず, しかも反復によつて必ずしも一定の成績が得られなかつたが, とにかく振盪培養でも表面培養の場合と同様に菌株とその菌齡, 養分とその組成などがアルカロイドの生産されるための條件として重要なものとなつてゐるという結論が得られた. こゝに本實驗で Agroclavine が比較的多量に生産された場合の 1 例を圖示すると Fig. 1 の如くである. 本例の培養條件は次の如くであつた.

Fig. 1. Cultural Process in a Shake Flask Culture with High Agroclavine Yields.

One selected culture grown on a medium containing 3 per cent mannitol, 1 per cent ammonium succinate, 0.1 per cent KH_2PO_4 , and 0.03 per cent $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (pH 5.2).

寒天 3% の麥芽汁寒天液を 8 cc づつ分注して調製したもの) に接種し, 26° の下に 14 日間保つた. 接種法: 上記の斜面培養 1 本から菌苔を完全に剥ぎとり, 殺菌水 5 cc 中で搗碎して分生孢子の懸濁液を得, これを 2 滴 (約 0.1 cc) づつ上記の培養基に接種した. 培養温度: 24~26°. 振盪回数: 140 r.p.m. 振幅: 約 3 cm.

即ち比較的好成績の見られた場合でも Agroclavine は培養濾液 100 cc 當り 0.3 mg の程度にしか生産されなかつた. なおこの場合培養に直接酸素を通じるとか或は培養を酸素に富める環境に置くとかすることも試みて見たが, それらの實驗ではなるほどそれによつて菌の繁殖そのものは大いに助長されるけれども Agroclavine の生産は逆に阻害されるという結果が得られた.

(2) 通氣培養による麥角アルカロイドの生産: 著者等は次に通氣培養で麥角アルカロイドがどの程度まで生産されるかということに就て諸種の條件の下で検討して見た. 培養装置は大體平氏等⁽⁹⁾の考案したものになつたが, 培養瓶, 與濕瓶ともに高さ 35 cm, 徑 12 cm, 内容 3 l の平底瓶を使用した. また培養液の種類によつては培養の過程で可なり起泡したが, これは培養瓶を軽く振盪して制禦し, 泡止めはあくまで使用しなかつた. 勿論アルカロイドその他の諸項目の測定は (1) の場合と同様にして行つた. 而して通氣培養では麥角アルカロイドは振盪培養の場合よりもつと微量にしか生産されないという結果が得られた. しかしながら Agroclavine 生産株に就て仔細に検討した結果から見るに通氣培養でもまた菌株とその菌齡, 更に培養基の組成などがアルカロイドの生産されるための一應の條件となつてゐるといえることが知られた. こゝに比較のために本實驗で Agroclavine が微量ながら生産された場合の 1 例を振盪培養の場合と同様の方法で圖示すると Fig. 2 の如くである. なお本例の培養條件は次の如くであつた.

培養基: マンニット 3%, 琥珀酸アンモニア 0.7%, KH_2PO_4 0.1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.03% の組成の水溶液 1.5 l を琥珀酸で pH 5.2 に調節し, 1.5 氣壓の下で 30 分間殺菌したのちこれを無菌箱内で培養瓶に注入した. 菌株: Agroclavine 生産種のうち振盪培養で比較的良好な成績を示したもの. これを使用する場合の培養條件は振盪培養で例示したものと同様である. 接種法: 振盪培養で例示したのと同様の方法で分生孢子懸濁液を得, その全部を上記の培養基に投入した. 培養温度: 24~26°. 通氣量: 1.6 l.p.m.

即ち通氣培養では Agroclavine も痕跡程度にしか生産されなかつたが, しかしこの培養でも振盪培養で良好な

Fig. 2. Cultural Process in an Aerated Bottle Culture with High Agroclavine Yields

One selected culture grown on a medium containing 3 per cent mannitol, 0.7 per cent ammonium succinate, 0.1 per cent KH_2PO_4 , and 0.03 per cent $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (pH 5.2).

Fig. 3. Cultural Process in a Surface Culture with High Agroclavine Yields

The same culture as in Fig. 1 grown on a medium containing 5 per cent mannitol, 0.8 per cent ammonium succinate, 0.1 per cent KH_2PO_4 , and 0.03 per cent $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (pH 5.2).

をこの表面培養の例と対照して見るに、各圖で明かなように液内培養では Agroclavine が極めて微量にしか生産されないという外に分生胞子の形成される状態に特異性のあるのが先ず知られる。また圖には表わされていないが、表面培養で發育した菌絲細胞には部分的ではあるにせよ組織化するような形態上の變化のあるのが認められるのに對して通氣培養で繁殖した細胞には勿論、振盪培養でのそれにもこれが全然認められない。而して表面、液内兩培養の間におけるこれらの差異に説明を與えるためには、兩者における物質代謝上の模様を相互に比較検討して見る必要が感じられるのである。しかも表面培養の場合のそれに就ては既に詳細に検討されたところである⁽¹⁰⁾ので、著者等はこゝに Agroclavine 生産種である 1 菌株が振盪培養で Agroclavine を多量に生産する場合とこれを殆ど生産しない場合とに就て、それらの培養過程における菌體量、培養液の pH、糖分、アルコール、蓆酸、或は脂肪、蛋白質物などの消長状態を相互に比較して見た。この實驗では前項で優良株として選擇された菌株を使用し、その使用方法、培養温度、振盪條件などは凡て前項の實驗で最も良好な成績の見られた場

成績の見られた營養條件の下で、しかも振盪培養で良好な成績を示した菌株を同様の方法で使用した場合に他に比べて良好な成績が得られた。

[II] 液内培養における物質代謝上の模様について

前項で同様に Agroclavine を生産する菌種でも菌株によつてそれぞれ差異のあることが認められ、振盪培養で比較的明瞭に Agroclavine を生産する 2, 3 の菌株が選別された。しかしこれらのいわゆる優良株も表面培養では他の供試株にくらべてそれ程優れているとは認められなかつた。こゝに比較のために振盪培養で最も良好な成績を示した菌株が表面培養で Agroclavine をやゝ多量に生産した場合の成績を前項の場合に準じてとり、これを前の各例の場合と同様の方法で圖示すると Fig. 3 の如くである。

但しこの場合、分生胞子数の測定は次のようにして行つた。即ち直径約 0.5 mm の鐵の管で菌苔のほぼ中央部から菌苔を抜きとり、これを蒸留水 10 cc 中に投じて攪碎し、生じた分生胞子懸濁液を振盪しながら酵母計器器上にとつてその数を計算した。また圖には培養液中の Agroclavine の量だけを示した。既に明らかにされたように表面培養では培養基の種類、接種方法その他の諸條件が全く同一であつても液層の高さによつて異つた成績が得られるが、この場合の培養條件は次の如くであつた。即ちマンニット 5%, 琥珀酸アンモニア 0.8%, KH_2PO_4 0.1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.03% の組成の水溶液を更に琥珀酸で pH 5.2 に調節したのち、これを 200 cc 容三角瓶に 60 cc づつ分注し、1.5 氣壓の下で 15 分間殺菌して培養基とした。この培養基に供試菌株から前の各例の場合と同様の方法で得た分生胞子懸濁液を 3 滴づつ接種し、これを軽く振盪したのち 26° の下に靜置した。

さて、振盪並に通氣培養で得られたそれぞれの例

合のそれらに準じた。また諸項目の測定も従来と同様の方法によつて行つた。而して培養基としてマンニット 3%, 琥珀酸アンモニア 0.6%, KH_2PO_4 0.1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05% の組成の水溶液を更に琥珀酸で pH 5.6 に調節したのち、前述の培養瓶に 50cc づつ分注して 1.5 気壓の下で 15 分間殺菌したものを使用した場合には Agroclavine が比較的明瞭に生産されたが、それに就ては Table 1 で示すような成績が得られた (前項の成績からも知られるようにこの培養基で最初の pH がこれよりも低い場合、また N-給源の濃度がこれよりも高い場合は菌の繁殖は遅れるが Agroclavine はこれよりも多量に生産される)。

Table 1. Metabolic Changes in a Shake Flask Culture with High Agroclavine Yields.

(One culture grown on a medium containing 3% mannitol, 0.6% ammonium succinate, 0.1% KH_2PO_4 , and 0.05% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (pH 5.6).)

Hours	Dry weight of mycelium (g)	pH	Number of conidia per section of hemocytometer	Mannitol (%)	Agroclavine (mg/100cc)	Alcohol (mg/5cc)	Oxalic acid (mg/20cc)	Fats		Proteins	
								(%)	(g)	(%)	(g)
66	—	5.6	0.04	2.9	0	0	0	—	—	—	—
91	0.096 (0.093)*	5.6	0.04	2.8	0	0	0	6.5	0.006	25.8	0.024
138	0.310 (0.282)*	5.6	0.03	2.4	0	0	0	10.6	0.030	22.3	0.063
162	0.550 (0.518)*	5.8	0.03	1.5	0	0	0	10.0	0.052	23.4	0.121
186	0.600 (0.570)*	5.8	0.28	0.4	trace	0	trace	11.2	0.064	25.2	0.144
210	0.620 (0.602)*	6.0	0.23	0.02	0.1	0	trace	9.1	0.055	26.1	0.157
234	0.539 (0.506)*	6.4	2.07	trace	0.2	0	trace	8.5	0.043	25.7	0.130
258	0.399 (0.376)*	6.8	5.12	trace	0.2	0	trace	8.0	0.030	22.1	0.083

* : Dried under 100°C for 2 hours.

また培養基として葡萄糖 3%, 琥珀酸アンモニア 0.6%, KH_2PO_4 0.1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.03% の組成の水溶液を同様にして pH 5.6 に調節したのち同様の培養瓶に分注して 3 回間断殺菌したものを使用した場合には Agroclavine は殆ど生産されなかつたが、それに就ては Table 2 で示すような成績が得られた。

Table 2. Metabolic Changes in a Shake Flask Culture with Low Agroclavine Yields.

(The same culture as in Table 1 grown on a medium containing 3% glucose, 0.6% ammonium succinate, 0.1% KH_2PO_4 , and 0.03% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (pH 5.6).)

Hours	Dry weight of mycelium (g)	pH	Number of conidia per section of hemocytometer	Glucose (%)	Agroclavine (mg/100cc)	Alcohol (mg/5cc)	Oxalic acid (mg/20cc)	Fats		Proteins	
								(%)	(g)	(%)	(g)
66	—	5.5	0.06	2.8	0	trace	0	—	—	—	—
91	0.072 (0.070)*	5.4	0.05	2.6	0	2.8	0	7.1	0.005	20.0	0.014
138	0.320 (0.300)*	4.4	0.03	1.8	0	3.5	0	12.0	0.036	15.0	0.045
162	0.412 (0.390)*	4.2	0.04	0.9	0	4.2	trace	14.1	0.055	23.3	0.091
186	0.488 (0.468)*	4.2	0.02	0.2	0	6.9	trace	15.0	0.070	23.5	0.110
210	0.512 (0.482)*	6.0	19.60	0.1	0	2.4	trace	12.7	0.061	23.2	0.112
234	0.485 (0.457)*	6.6	30.15	0.04	0	1.8	trace	7.4	0.034	23.6	0.108
258	0.361 (0.339)*	7.0	33.40	0	0	trace	trace	6.5	0.022	21.8	0.074

* : Dried under 100°C for 2 hours.

但し各表で菌體量は CaCl_2 除濕器中で乾燥した菌體をそのまま秤量して得た量であり、脂肪、蛋白質物などの量はこの菌體量からその含有する水分の量を差引いた純菌體量當りの量である。

即ち既に前項でも知られたように、液内培養では分生胞子は表面培養の場合とは異つて培養基中に養分が十分に存在する間は全く増加しないが、養分が少量になるにつれて次第に増加する。しかも各測定値相互間の関係より見るにこの分生胞子数の増加は表面培養で第2次的に見られるそれと同様に豫め與えられた養分の他に代謝産物であるアルコール、脂肪その他を消費しながら増殖する菌絲によつてもたらされるものであることが知られる。

なお Agroclavine が生産される培養ではその殆ど生産されない培養にくらべてこの培養末期に増加する分生胞子の数が少い。また Agroclavine が生産される培養ではその殆ど生産されない培養にくらべて菌苔の増殖する量並に蛋白質物の集積される量が多く、反對にアルコール、脂肪などの集積される量が少いということも知られる。これらの関係は凡て表面培養の場合と全く同様であるが、この事實から見るに、液内培養でも表面培養の場合と同様に麥角アルカロイドは培養の當初から C-給源に對するよりはむしろ N-給源に對する代謝がより旺盛に行われ、菌がより本質的な發育を辿るほど多量に生産されると容易に結論されるのである。従つて液内培養では Agroclavine でさえも極めて微量にしか生産されないという現實の事實はこのような培養方法そのものが適當でなくて上記のような合目的な物質代謝が行われ難いのに基いていると歸結される。しかもどの培養でも細胞に組織化するような形態的變化が現われないという前述の事實、また各表でも知られるように液内培養では蓚酸が殆ど集積されないが、この事實なども一面からこれを立證していると考えられる。

要 約

(1) 振盪並に通氣の兩培養で麥角アルカロイドの生産される状態を検討した。(2) 液内培養でも菌の繁殖状態を菌體の増殖する状態、養分の消費される状態、及び培養基の pH の變化する模様の相互の関係で見る時は表面培養の場合と同様にこれに3種類の相がある。(3) 表面培養の場合と同様に液内培養でも麥角アルカロイドが生産されるかどうかは元より菌の種類によるが、同一種類の菌でもその菌株によつて、また1菌株においてもその菌齡によつて、つまり供試の菌株における細胞の内的素因によつて支配される。(4) 液内培養でも麥角アルカロイドは菌が表面培養で第1發育相として類別された型の發育を辿る時に、しかも培養基の組成、その pH、培養温度などの諸條件によつてその發育が適度に抑制される場合に多量に生産される。(5) 液内培養では細胞に組織化するような形態的變化が全然現われないし、また蓚酸も極めて微量にしか集積されない。しかし液内培養でも表面培養の場合と同様に麥角アルカロイドの生産される培養ではその生産されない培養にくらべて菌體の増殖する量と蛋白質物の集積される量とが多く、反對にアルコール、脂肪などの集積される量が少い。(6) 液内培養でも表面培養の場合と同様に麥角アルカロイドは培養の當初から C-給源に對するよりはむしろ N-給源に對する代謝がより旺盛に行われ、菌がより本質的な發育を辿る場合により多量に生産されると結論される。(7) 麥角アルカロイドは通氣培養法によるよりも振盪培養法によつて多量に生産される。しかしその量はいずれも微量であつて Agroclavine でさえも多くて培養濾液 100cc 當り 0.3~0.5 mg 程度にしか過ぎない。Agroclavine のこの成績は表面培養で通常に見られるその 1/100 にも當らない。(8) 液内培養では Agroclavine でさえも微量にしか生産されないという事實は、このような培養方法そのものが不適當で、菌がその本然の發育を辿り難いのに基いていると歸結される。

終りに臨み、御懇篤な御指導と御鞭撻を賜つた當研究所長佐藤喜吉博士に深謝する。また終始御懇篤な御指導を賜つた朝比奈泰彦、中澤亮治の兩先生及び坂口謹一郎先生に深甚の謝意を表する。なおまた實驗に際して御助力を願つた小寺峰子氏に感謝の意を表する。(本報告は昭和 24 年 4 月第 20 回日本農學會大會農藝化學部會講演會で講演した)

- (1) 阿部：農化，22，152 (1949)
- (2) 阿部：農化，21(抄)，29 (1946)
- (3) 阿部：農化，22(抄)，2 (1948)
- (4) 阿部：農化，22(抄)，61 (1948)
- (5) 阿部：農化，22(抄)，62 (1948)

- (6) 阿部 : 農化, 22(抄), 87(1948)
- (7) 安井, 楠本 : 産科と婦人科, 14, 144(1947)
- (8) 阿部 : 農化, 21(抄), 9(1946)
- (9) 平, 大和谷, 小松, 高本, 田邊 : ペニシリン, 2, 355(1949)
- (10) 阿部 : 農化, 22(抄), 86(1948)

Summary

(1) In the submerged cultures the ergot alkaloids are produced under the same conditions as in the surface culture, though their yields are generally very low.

(2) Agroclavine is produced under the best conditions at the rate of 0.3~0.5 mg per 100cc of broth filtrate ; the yield is less than one-hundredth of that found in a culture medium of an ordinary surface culture.

(3) These experimental results are attributable to the fact that the cultural methods themselves are inadequate and the environments are apart from such conditions as enabling the fungus to follow the substantial development.

乳酸菌による蛋白質の栄養價の測定に就て (豫報)

田村學造, 角田俊直, 桐村二郎, 坂口謹一郎, 有馬 啓

(東京大學農學部農藝化學科)

昭和 25 年 8 月 15 日受理

The Estimation of Nutritive Value of Proteins by Lactic Acid Bacteria.

preliminary paper

By G. TAMURA, T. TSUNODA, J. KIRIMURA, K. SAKAGUCHI and K. ARIMA

(Dept. Agr. Chem., Univ. of Tokyo)

I. 緒 言

人間及び動物のアミノ酸要求は ROSE^{9), 10)}一派により研究され, その必須アミノ酸もほぼ確定されており, 蛋白質の栄養價はそれを構成するアミノ酸の問題として論ぜられる. 従つて蛋白質の栄養價も個々のアミノ酸の代謝機構を解明する事によつてのみ精細に論じ得られる様になる事は論を俟たない. 即ち個々のアミノ酸相互の間には代替又は拮抗作用を有するものもあり, 互に複雑なる關聯を有し^{11), 8)}, 従つて正常なる生育をなさしめる爲には蛋白質中に存する必須アミノ酸量及び他のアミノ酸組成をも含めたアミノ酸相互の量的關係の問題としても考慮せねばならぬ. その他蛋白質分子内に於ける構成アミノ酸の配列又は結合に關する因子例えば streptogenin 等の如き問題もある. 蛋白質の栄養價は之等複雑なる諸因子の綜合結果とみられる動物實驗の示す biological value を基として論ぜられていると思われる. アミノ酸の微生物學的定量の基となる乳酸菌のアミノ酸要求は動物及び人間とは相違があるが¹²⁾, 乳酸菌が動物及び人間の如くアミノ酸をその必須栄養源として要求する事は明らかである. 従つて蛋白質の栄養價に關聯して之等微生物の蛋白質による生育その他菌の代謝に於ける相違をみる事は興味があると思われる.

著者等は乳酸菌によるアミノ酸の bioassay を行わんとしていたが, 之に使用する純粹アミノ酸, biotin 等の不足の爲先づ蛋白質加水分解物による乳酸菌の培養試験を行い, その生育生酸を比較して蛋白質間に於ける相違を検討した.

II. 實驗方法

アミノ酸の微生物定量に用いられる方法を參考とし, 乳酸菌のアミノ酸以外の栄養要求を充す合成培地を決定し, 之を基礎培地として之に蛋白質加水分解液を N-源として添加し培養した.

基礎培地組成は第 1 表に示す如く, 葡萄糖, 醋酸ソーダ, 磷酸鹽その他の鹽類, アデニン, ビタミン B 群よりなるが, 乳酸菌の生育に必要な biotin が入手されなかつた爲, その代用として yeast autolysate より抽出したアミノ酸不含の fraction を添加した.