(2) 二國：農學，2，3 (1948)。

(3) K. MYRBÄCK：Advances in Carbohydrate Chemistry, 3, 25 (1948)。

Summary

In this study we observed that the sweet-potato leaf extract possessed the starch-saccharifying activity, and the enzyme system of the leaf amylase was different in comparison with that of the tuber amylase (crude juice). The former is thought to be almost entirely of β -amylase.

麹菌の生産する抗生物質 Oryzacidin に關する研究

(第1報) Oryzacidin の分離

下 田 忠 次 郎 (山邑酒造研究所)

昭和 26 年 3 月 22 日 受理

Studies on an Antibiotic Substance *Oryzacidin* against Sake-putrefying Bacteria,
Produced by *Asp. oryzae*. Part 1. Isolation of *Oryzacidin*.

By Chujiro SHIMODA (The Yamamura Sake-Brewing Laboratory)

緒 言

清酒醸造に於て製成酒を貯藏する場合、黴類の繁殖した貯藏桶を使用するのに單に熱湯處理して製成酒を收容すれば、貯藏酒は却つて火落しないことはよく觀られる。即ち黴類の火落菌に對する拮抗作用は清酒醸造上に於ても觀察される現象である。

高橋博士並に鈴木彰氏⁽¹⁾は火落菌の研究に際し、市販米麹の差違により、それによつて調製した麹汁に火落菌の繁殖能否あることを觀察され、兩氏は單獨の麹菌によつて製麹して試験をされた。その結果酒精生産型の麹菌によるものには火落菌は繁殖するがクエン酸並にグルコン酸生産型による麹汁及び麴酸生産型による麹汁で 100° に加熱したものには繁殖しないことを研究されて、麹菌の火落菌に對する拮抗性に就いて一示唆を與えられた。

大谷義夫氏⁽²⁾も火落菌の繁殖に關し同様の觀察された。即ち *Asp. oryzae* 3 株、*Penicillium* 屬 8 株を各別に麹汁に培養し、その培養液を清酒に添加し、これに火落菌を接種して 30° に 12 日間靜置し、其の繁殖狀態を觀察した。それ等の内 *Asp. oryzae* str. 2 及 *Pen. fluitans* (0) の 2 株培養液は火落菌の發育阻止作用のあることを認め清酒に對し 10% 以上添加の場合有効であると報告された。

著者は前述酒造上に於ける拮抗作用を究明しようとして、主に著者の分離した絲狀菌に就て火落菌に對する抗菌性を探索して確實に有效な抗生物質を生産する *Asp. oryzae* の 1 株を發見した。仍て其の生産條件を検べ、續いて有效成分をその麹菌の培養液から抽出精製して、物理的並に化學的諸性質を研究した結果本抗生物質は、從來 *Asp. flavus* 培養液から分離された aspergillie acid⁽³⁾⁽⁴⁾ 或は flavicin⁽⁵⁾ と物理的及び化學的に全く異つた新物質である事を知つた。仍てこれを Oryzacidin と命名した。

實 驗 の 部

I. 黴類の抗火落菌性追求 著者供試の黴類は主として市販種麹及び酒造蔵の諸器具に發育せるものを採取し單孢子培養を行つて純粹に分離したもので、他に *Asp. niger*, *Penicillium*, *Cit.omyces* 屬の菌株の分離を受けたものを合せて 53 株である。抗火落菌性物質探索の目的で、300 cc 容 Roux 瓶に Bllg. 10° の麹汁 100 cc を容れ常法によつて殺菌したものに、これらの黴を斜面麹汁寒天に 2 回前培養を行つたものの分生孢子を 1 白金耳接種して、25° に於て 10 日間培養瓶を横置して表面培養を行つた (10 日目には各黴類の繁殖特徴を觀察し、且つ生産物を分析し特に *Asp.* 屬に於ては麴酸の生産を検べた)。

かく 10 日間培養した後その培養濾過液を pH 4.5~5.0 に調製し、その 2 cc を清酒 (分析：清酒メートル - 8.25, pH 4.5, 總酸 0.127%, 酒精 16.06 vol %, エキス分 6.62%) 8 cc に添加し、これに基本火落菌培養液 (後記) を 1 滴 (=0.03 cc) 接種し、次に牛肝臓片⁽⁶⁾ 1 個を投入してゴム栓を施し 30° の恒温器内に收容して日々その繁殖狀態を觀察した。

火落菌が繁殖して濁濁を生ずるに早いものでは 24 時間後である。殆んど全部は 5 日目位で濁濁と共に沈渣を生ずる。麴酸を多く含有する培養液は肝臓片中のヘモグロビンと化合して赤褐色を呈して火落菌の繁殖はやや遅

いがやがては濁濁を生ずる。ペニシリン生産株の培養液は全然その効果はない。然るに唯麹菌の 1 株 (A33 號麹菌と命名した) の培養液のみは 30 日を経過するも濁濁を生じない。又その香氣を検べるに何等變調を來たさない。仍てこの試験を數回繰返して A 33 號麹菌は抗火落菌性物質を生産することを確認した。

II. 基本火落菌 本實驗に必要なことは使用すべき基本火落菌の設定である。貯藏酒の火落現象を觀察するに大體 3 型がある、即ち i) 始め香氣が變調を來たしやがて濁濁を生ずるもの、ii) 始めより濁濁を生ずるもの、iii) 濁濁を生ぜず沈渣を生ずるもの等である。仍てこの特徴を判然と而も強力に現わす試料を集め、各 1 滴を 30% 加水清酒肝片培養基に培養して後、これらの 1 滴宛を同培養基に混合培養したものを基本火落菌とする。その形態及び生理を検べると次の通りである。

(A) 形態 (1) 清酒肝片培養基に於ける形態：30° に於て 10 日間培養した細菌を鏡檢するに、桿狀で兩端圓曲、單獨又は 2~3 連結するものが多い。長さ 1.0~3.5 μ 、幅 0.3~0.6 μ 、(2) 清酒肝臟エキスを寒天穿刺培養に於ける形態：上部に清酒を注ぎゴム栓を施し 30° に於て 30 日間培養するに穿刺線に沿つて灰白色の線狀の聚落を生ずる。細胞は捻曲するものも多く、長さも著しく短縮して 2 μ 以下のものが多い。幅も 0.3 μ 以下である。(3) グラム染色 (+), 抗酸性菌染色：(-)。(4) 運動性及び孢子生産性 無い。

(B) 生理 (1) 各種培養基に於ける繁殖：好氣的及び嫌氣的に行つた。麹汁、酵母水、葡萄糖 (0.5%)—酵母水、ブイオンには繁殖不能、清酒のみに繁殖する。(2) 繁殖最適温度：30° (以後斷りなき限り 30° にて培養する) (3) 繁殖最適 pH：4.5~5.0。(4) 死滅温度：55° 10 分間、60° 5 分間。(5) 繁殖最適加水稀釋度：既掲清酒に各段階に加水して培養期間中の濁濁度を定め、30% 加水清酒に於て最もよく繁殖する。(6) 前培養期間による繁殖度：30% 加水清酒肝片培養基に基本火落菌を培養し、培養期間 10~20 日のものの培養液各 1 滴を 30% 加水清酒 10 cc に滴加して、各培養経過日に繁殖程度を觀察して濁濁度を以て表わした。その結果は Table 1 に示す。

Table 1. Reproduction (represented by turbidity) of 'Hiochi' Bacteria for Various Preculture Periods.

Culture days							
Preculture		5	9	13	18	18	
Days	No. of Bacteria per drop ($\times 10^6$)					pH	Acidity increased
10	3.20*	+++**	+(6)	+(6)	+(6)	3.8	2.50
12	3.14	++	+(5)	+(6)	+(6)	"	"
14	2.80	++	+(5)	+(6)	+(6)	"	"
15	2.31	+	+(4)	+(5)	+(6)	"	"
16	1.71	+	++	+(5)	+(6)	"	"
17	1.61	+	++	+(5)	+(6)	"	"
18	1.56	—	++	+(5)	+(6)	"	"
20	1.40	—	++	+(4)	+(6)	"	2.25

* The number of bacteria is counted in each drop taken from the depth of 1 cm from the surface of culture media.

** Correlation between numbers of bacteria by Thoma's haemocytometer and turbidity.

Number of bacteria per cc ($\times 10^6$)	0	1.6	3.2	6.4	12.9	25.8	51.7	103.5	207
Sign	—	±	+	++	+++	+(4)	+(5)	+(6)	+(7)

以上の實驗に於て inoculum age の長いものは初め繁殖力は弱いが或期間を経過すればその短いものと同等の濁濁度に達する。仍て本實驗に於ては基本火落菌を 30% 加水清酒肝片培養基に 16 日間培養して 1 滴 (= 0.03 cc) 中約 1.6×10^6 (1 cc 中 55×10^6) の細菌數を有する培養液を以て基本火落菌培養液と定めた。

其の他の性質 (7) カタラーゼ反應を呈しない (8) 硝酸還元性、 H_2S -, indol-, NH_3 -gas 生成は無い。(9) Acetoin 生成：30% 加水清酒に 30 日間培養した液を VAN NIEL 氏法⁽⁷⁾によつて定量するに 0.0066% 生成する。(10) Diacetyl 生成：同氏法によつて定量するに 0.0021% 生成する。(11) 2,3-Butylene glycol 生成：BROCKMANN 及び WERMANN 氏法によつて定量するに 0.0283% 生成する。(12) 生成酸：陰性—クエン酸、蔞酸、琥珀酸、酒石酸、陽性—乳酸、フマル酸、林檎酸。

III. 選出麹菌 (A 33 號菌)

(A) 形態 (1) 菌叢：麹汁寒天扁平培養基上に孢子をも白金耳接種して 30° の恒温器内に收容した 4 日目の菌叢はほぼ正圓形で直径 3.9~4.0 cm, 周邊白色で, 高さ 0.15 cm である。中心部羽毛状の氣菌絲密生して盛り上がり高さ 0.67 cm, 菌絲密で Reed Yellow (RIDGWAY) の分生孢子を着生する。裏面平滑 Primrose Yellow を呈する。(2) 鏡檢：以上のものを鏡檢するに (i) 菌絲：表面平滑で膜薄く内容は粒質物を含む。(ii) 分生孢子：球狀粗面で壁は厚い, 直径 6.8~7.6 μ 。(iii) 分生孢子頭：扇狀をなす, 直径平均 90 μ 。(iv) 分生孢子柄：内容粒狀物を含み壁薄く分枝するものもある。長さ 170~340 μ , 幅 3.8~7.6 μ 。(v) 頂囊：フラスコ型で粗面である。直径 12.5~22.5 μ 。(vi) 梗子：單列で徳利狀又は砲丸型である。長さ 10~15 μ , 幅 2.5~6.3 μ 。(vii) 被子器及び菌核：形成しない。

(B) 分類 以上の形態により本麹菌の特徴を挙げれば (i) 分生孢子は小突起を着生しない, (ii) 頂囊は球狀でない, (iii) 菌蓋の裏面は橙赤色でない, (iv) 分生孢子的の大きさは中, (v) 菌叢は黄綠色である。坂口・山田兩氏分類法⁽⁸⁾に従えば *Asp. oryzae* s. str. WEHMER に屬する。

(C) 生理 (1) 繁殖最適温度：35° (2) 繁殖最適 pH：5.6~6.6 (3) 死滅温度：70°, 30 分間 (4) 各炭素源に對する發育適否：最適—*d*-キシロース, *d*-葡萄糖, *d*-果糖, *d*-マンノース, 麥芽糖, 澱粉, 可溶性澱粉, 糊精, グリセリン。適—ラムノース, *d*-ガラクトース, 蔗糖, イヌリン。不良—乳糖。ガス發生最大—*d*-マンノース, イヌリン (5) 各窒素源に對する繁殖適否：最適— NH_4NO_3 , グリシン, アスパラギン, グルタミン。適— NH_4 -oxalate, KNO_3 , NaNO_3 , 尿素, アラニン, *l*-アスパラギン酸, *l*-グルタミン酸。不適— NH_4 -acetate, NaNO_2 。(6) 酵素力試験：本麹菌孢子を蒸米 10 g に接種 48 時間繁殖せしめたものを 1% 食鹽水 100 cc と磨り潰して 4 時間浸出後濾過液をとつて酵素液とし, 著者の分離した強力な diastase を有する B. 1 麹菌⁽⁹⁾によつて同様に處理したものと比較した。酵素力測定法は別報⁽⁹⁾と同様に行つた。結果は Table 2

Table 2. Enzyme Activity of *Asp. oryzae* sp. A 33

	α -Amylase (D_{30}^{40})	β -Amylase (Red. sugar produced, g)	Protease (Amino-N produced, mg)
<i>Asp.</i> <i>oryzae</i> sp. A 33	10.0	12.10	0.26
// B. 1	30.0	17.15	0.26

の通りである。

(7) 生成酸：蔗糖 50 g, ペプトン 20 g, KH_2PO_4 5 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 2.5 g, CaHPO_4 2.5 g.

蒸溜水 1 l よりなる培養基に本麹菌孢子を接種して 30° に於て 15 日間培養したものに就いて分析を行つた。(i) 酢酸, 陰性である。(ii) クエン酸⁽⁷⁾, 培養液中 0.0518%。(iii) 麴酸, 陰性である。(iv) フマル酸, 0.0086%。(v) 林檎酸, 0.0174%。(vi) 琥珀酸, 陰性である。(vii) グルコン酸, 0.0032%。即ち本麹菌はクエン酸生産型である。

IV. A 33 號麹菌培養液の抗火落菌性 (A) 生産條件

(1) 人工培養基の選定：供試の人工培養基は MAYER, PFEFFER, CZAPEK, CZAPEK-DOX, HENNERG 培養基及び MAYER 培養基の無機窒素源をペプトンに改變した 6 種である。これ等の液を ROUX 瓶に容れ本麹菌孢子を接種して 25° に於て表面培養を行つて各経過日に培養液に就いて抗火落菌性を檢べた。

抗菌力檢定法 稀釋法による。試験液は清酒を 70% 含有させ, 残りの 30% を培養液及び水を加えた。その 10 cc に對し基本火落菌培養液を 1 滴加え, ゴム栓を固く施して 30°, 30 日に亘つて火落菌の繁殖状態を觀察した。

・その結果前 5 者の培養基に於ては抗菌性を生産しないが, 改變 MAYER 培養基 (組成：蔗糖 5 g, ペプトン 2 g, KH_2PO_4 0.5 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.25 g, CaHPO_4 0.25 g, 蒸溜水 100 cc) の培養液は 13 日目に於て最高 400 倍稀釋に於て火落菌の發育を阻止した。以後この培養基を基本にして生産條件を檢べた。(2) 生産最適温度：25° (3) 生産最適初發 pH：6.0 (4) 炭素源：改變 MAYER 培養基の炭素源を種々に換えて檢べた。不適—*d*-キシロース, ラムノース, *d*-マンノース, *d*-ガラクトース, 乳糖, ラフィノース, 澱粉, 可溶性澱粉, イヌリン, *d*-マンニト。稍適—後期デキストリン。適—*d*-葡萄糖, *d*-果糖, 麥芽糖, 蔗糖。(5) 窒素源 改變 MAYER 培養基中の N 量の當量に他の窒素源を換えて試験した。不適—無機窒素物, アミノ酸類, NH_4 -oxalate, 尿素, 酵母浸出液, ブイヨン, corn steep liquor 及び大豆-, 卵白-, 蛹粕蛋白質, カゼイン, ゼラチン等の酸加水分解物。適—ペプトン (6) 炭素源及び窒素源の最適割合：8:1 (7) 培養容器の影響：

諸種型の培養瓶について表面培養試験するに ROUX 瓶は最もよい。

(B) 培養中に於ける成分の化学変化と抗菌力 蔗糖 5g, ペプトン 2g, KH_2PO_4 0.5g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.25g, CaHPO_4 0.25g, 蒸溜水 100 cc を 300 cc 容 ROUX 瓶に容れ常法により殺菌したものに本麹菌胞子を接種し 25° に於て表面培養を行い各経過日に培養液の分析と抗菌力を調べた。結果は Table 3 及び Fig. 1 の通りである (3 回実験結果平均)。

Table 3. Analysis of Broth and Antibiotic Activity

Cult. days	sp. gr.	pH	Acidity	Total sugar (g/100cc)	Total N (%)	Wt. of Mold	Antibiotic Activity
0 (cont.)	1.075	5.8	3.20	5.011	0.2392	—	—
8	1.069	4.4	4.95	2.994	0.1996	0.764	—
9	1.065	4.2	8.50	2.513	0.1867	1.031	×100
10	1.062	4.4	6.50	1.095	0.1762	1.205	×100
11	1.059	4.6	4.60	1.073	0.1600	1.282	×200
12	1.058	4.8	4.00	0.479	0.1548	1.640	×300
13	1.059	6.0	0.60	0.088	0.1184	1.665	×400
14	1.058	6.2	0.50	0.064	0.1036	1.762	×300
15	1.058	6.8	—	0.049	0.0542	1.555	×200
16	1.056	7.0	—	—	0.0528	1.235	—

Fig. 1

Table 4. Heat Stability of the Antibiotic Substance

pH of cult. med.	Dilution	60°		100°		No. heating
		30 min.	60 min.	30 min.	60 min.	
3.0	×200	—	—	—	+	—
	×300	+	+	+	+	—
4.0	×200	—	—	—	+	—
	×300	—	+	+	+	—
	×400	+	+	+	+	—
5.0	×200	—	—	—	—	—
	×300	—	+	+	+	—
	×400	+	+	+	+	—
6.0	×200	—	—	—	—	—
	×300	—	—	—	+	—
	×400	—	+	+	+	—
	×500	+	+	+	+	+
7.0	×200	—	+	+	+	—
	×300	+	+	+	+	+
8.0	×200	+	+	+	+	+

* Note (+) indicates "H'ochi" bactetria growth, (—) no grow h.

(C) 培養液の諸性質

(1) 静菌的效果： 前諸実験に於て火落菌の發育を阻止した試験液の 1 滴を取り、新に 30% 加水清酒 10 cc 中に注加して培養すれば 5 日後には火落菌は再び繁殖を始める。即ち本麹菌の產生する抗生物質は火落菌に對して静菌的效果のあることを知る。(2) 加熱の影響： 本麹菌を改變 MAYER 培養基に 13 日間培養した液をとり種々の pH に調整して後、60° 及び 100° でそれぞれ 30 分及び 60 分間加熱した液について抗菌力を調べた。その結果は Table 4 の通りである。

V. 抗火落菌性物質の化学

(A) 抽出 (1) 培養： (i) 培養基： 蔗糖 500g, ペプトン 200g, KH_2PO_4 50g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 25g, CaHPO_4 25g, 蒸溜水 10l : pH 6.2 (ii) 培養容器 300 cc 容 ROUX 瓶に培養基 100 cc を注入、液の深さ 1.5 cm, 液表面 $9 \times 11 \text{ cm}^2$. (iii) 接種量： 本麹菌胞子 1 白金耳表面培養 (iv) 培養温度 25° (v) 培養期間 13 日。

(2) 抽出方法： 溶劑法を採用し曹達鹽として抽出した。即ち培養濾液を pH 2.5 となし之の 1/5 容の醋酸ブチルで 2 回抽出し、それを 1/10 容 2% 重曹水に轉溶する。これを再び pH 2.5 にして 1/5 容醋酸ブチルで 2 回轉溶し、2% 重曹水で pH 6.8 まで滴定しこれを凍結乾燥して曹達鹽を得た。

(3) 曹達鹽： 吸湿性の微褐色の無晶形粉末である。水、アルコール類、エステル類、グリセリンに易溶、エーテル、アセトン、クロロフォルム、ベ

ンゲン、石油エーテルに不溶である。蛋白質呈色反應陰性、 FeCl_3 、 HgCl_2 、 Hg-acetate 、燐タングステン酸等と無反應。

抗菌スペクトラムは Table 5 の通りである。

Table 5. Antibiotic Spectrum of a Crude Na-salt

Organisms	Broth	Culture		Activity (by dilution)
		Temp.	Time	
"Hiochi"-Bacteria	Sake with 30% water	30°	30 days	$\times 150,000$ (Control : Salicylic acid, $\times 2,500$)
<i>Diploc. Pneumoniae</i> Type I.	Bouillon (pH 7.0)	37°	24 hr.	10,000.
<i>Strept. haemolyticus</i> Type β	"	"	"	5,000
<i>Staph. aureus</i> 209-P	"	"	"	5,000
" " TERAJIMA	"	"	"	5,000
<i>B. subtilis</i> T	"	"	"	2,000
<i>S. lutea</i>	"	"	"	2,500
<i>E. coli</i>	"	"	"	—
<i>Proteus vulgaris</i>	"	"	"	—
<i>B. mesentericus vulgatus</i>	"	"	"	2,000
" <i>fuscus</i>	"	"	"	5,000
<i>B. megatherium</i> DE BARY	"	"	"	10,000
<i>Leuc. mesentroides</i> α	10° Bilg. Koji ex.	30°	48 hr.	5,000
" " var. Sake KITAHARA	"	"	"	5,000
<i>L. Sake</i> KATAGIRI et KITAHARA	"	"	"	5,000
<i>L. #27</i> TAKEDA Laboratory	"	"	"	2,000
<i>Pedioc. lindneri</i> HENNEBERG	"	"	"	2,500
<i>Bact. acetosum</i> HENNEBERG	"	"	"	2,500
<i>Willia belgica</i> LINDNER	"	"	3 days	1,000
<i>Tolura utilis</i> HENNEBERG	"	"	"	1,000
<i>Sacch. sake</i> No. 2	"	"	"	1,000
Brennereihefe Rasse II	"	"	"	1,000
<i>Sacch. cerevisiae</i>	"	"	"	1,000
<i>Zygosacch. salsus</i>	"	"	5 days	5,000
" <i>major</i>	"	"	"	5,000
" <i>soya</i>	"	"	"	5,000
" <i>Sake</i> SUMINOE	"	"	"	5,000
<i>Debaryomyces sake</i> SAITO et ODA	"	"	"	5,000
<i>Asp. oryzae</i> sp. A33	"	"	"	500
" Higuchi Sake Koji	"	"	"	500
<i>Asp. niger</i> #15	"	"	"	500
<i>Pen. sp.</i> #233	"	"	"	1,000
<i>Cit glaber</i>	"	"	"	1,000
<i>R. javanicus</i> TAKEDA	"	"	"	1,000

毒性試験 (a) 腹腔内注射、體重約 20 g のマウスに對し 500~2,500 mg/Kg の注射では毒性は認められなかつたが、1 回注射 4,000 mg に達すれば 5 日後に斃死する。(b) 経口投與、最少致死量 10,000 mg で 5 日後に斃死する(豫防衛生研究所に委嘱試験)。

(B) 精製 (1) キナ鹽：粗曹達鹽メタノール溶液に、鹽酸キニーネ・メタノール溶液を加えればキナ鹽を生ずる。メタノール溶液をシラップ状まで濃縮し、残渣をクロロフォルムに溶かし、これに活性アルミナを加えキナ鹽を吸着させる。これからメタノールを以て溶出し、メタノールを追い出して、アセトンで過剰の鹽酸キニーネを除いた後、熱水から反覆再結すれば mp. 210° (分解) の細長い板狀結晶を生ずる。温水、アルコール類、醋酸エチルに易溶、水、醋酸ブチル、醋酸アミルに難溶、エーテル、アセトン、クロロフォルム、四鹽化炭素、石油エーテルに不溶である。N を含み、S, Cl, P を含まない。

<i>Anal.</i>	Subst. (mg)	CO ₂ (mg)	H ₂ O (mg)	C (%)	H (%)
	3.090	6.883	1.991	60.75	7.21
	3.591	7.999	2.165	60.75	6.75
	Average			60.75	6.98
	Subst. (mg)	N ₂ (cc)	b (mm)	t (°C)	N (%)
	2.383	0.159	769	14	7.82
	2.300	0.151	763	14	7.68
	Average				7.75
Molecular Wt. (Rast's method)					
I	1113,	II .	1128,	Average	1120

以上の結果より分子式を $C_8H_{13}O_3N(C_{70}H_{21}O_2N_2)_2 \cdot 5H_2O$ と推定した.

	<i>M. W.</i>	C %	H %	N %
Calcd.	941	61.10	7.54	7.44
Found	1120	60.75	6.98	7.75

以上の結果より分子式を $C_8H_{13}O_5N(C_{20}H_{21}O_2N_2)_2 \cdot 5H_2O$ と推定した。

	M. W.	C %	H %	N %
Calcd.	941	61.10	7.54	7.44
Found	1120	60.75	6.98	7.75

エタノール、フロパノール、熱アセトンに易溶、ブタノール、醋酸エチルに難溶、エーテル、アセトン、クロロフォルム、四鹽化炭素に不溶である。蛋白質呈色反應は陰性。FeCl₃、HgCl₂、Hg-acetate、AgNO₃、燐タングステン酸等で沈澱を生じない。OH⁻、CHO⁻、-CO⁻ 基は存在せず、COOH 基を有する。

<i>Anal.</i>	Subst. (mg)	CO ₂ (mg)	H ₂ O (mg)	C (%)	H (%)
	2.896	5.032	1.672	47.39	6.46
	2.181	3.819	1.213	47.72	6.22
	Average.			47.55	6.34
	Subst. (mg)	N ₂ (cc)	b (mm)	t (°C)	N (%)
	3.775	0.218	760	14	6.73
	2.506	0.147	764	13	6.90
	Average				6.81
Molecular	Wt. (Rast's method)				
I	220	II	225		
	Average		222		

以上の結果より分子式を $C_8H_{13}O_5N$ と推定した。

	M. W.	C (%)	H (%)	N (%)
Calcd.	203	47.20	6.40	6.90
Found.	222	47.55	6.34	6.81

WEHMER) である。本實驗に於ては A 33 號麹菌と名づけた。

(3) A 33 號麹菌の抗火落菌性物質生産の最適條件を定め、その人工培養液から抗生物質を曹達鹽として抽

(2) 遊離結晶：キナ鹽を水に懸垂し振盪しつつ 1% HCl を滴加してキナ鹽をとかす。これを凍結乾燥して水分を取つた後メタノールに溶しアセトンを加えれば白色結晶が沈澱する。これをメタノール及びアセトンから反覆再結して遊離結晶を得た。mp. 162~163° (分解) の白色針狀結晶、吸濕性で水溶液は紫外線照射によつて美麗な碧色螢光を放つ。[α]_D²⁵ = -133°, pH 2.5, 水, メタノール,

火落菌に對する抗菌力：前同様試驗するに 30 萬倍稀釋濃度に於て火落菌の發育を阻止する。

總 括

(1) 清酒醸造に於て觀察される黴類の火落菌に對する拮抗作用を究明しようとして、絲狀菌數十株に就き抗火落菌性物質生産を探索して、著者は酒藏の一器具に繁殖した黴より採取分離したものの内より 1 株を發見した。

(2) この菌株の形態を研究するに、麹菌 (*Asp. oryzae* s. str.

Fig. 2
Crystals of Oryzacidin
quinine-salt (×110)

Fig. 3
Crystals of free
Oryzacidin (×6)

出した。このものは 30% 加水清酒中に於て 15 萬倍の稀釋濃度に於て火落菌の發育を阻止する。

(4) 曹達鹽からキナ鹽に誘導し $C_9H_{13}O_6N$ ($C_{20}H_{21}O_2N_2$) $\cdot 5H_2O$, mp. 210° の白色板狀の結晶を得た。次でキナ鹽から遊離の結晶を得た。このものは $C_9H_{13}O_6N$, mp. 162~163° の白色針狀で、火落菌に對しては同様の試験に於て 30 萬倍稀釋濃度に於てその發育を阻止する。

(5) この結晶は物理的及び化學的諸性質に於て從來 *Asp. flavus* 培養液から分離せられた *aspergillilic acid* 或いは *flavicin* と全く異なる物質である。仍てこれを “*Oryzacidin*” と命名した。

本實驗は東京大學坂口謹一郎博士、住木諭介博士、朝井勇宣博士、大阪大學赤堀四郎博士、谷久也博士の御懇篤なる御指導を得た。特に化學分析は住木研究室に於て行われた。茲に深甚なる感謝の意を表する。並に御後援御鞭撻を賜つた山邑酒造株式會社々長山邑太左衛門氏、實驗に協力された中村精二、島田四郎兩君に深謝する。尙本實驗の經費の一部は文部省科學試驗研究費によつた。茲に記して厚く感謝する。

- (1) 高橋, 鈴木: 農化, 8, 1064 (昭7).
- (2) 大谷: 醸造學, 15, 203 (昭12).
- (3) WHITE and HILL: *J. Bact.*, 45, 433 (1943).
- (4) MENZEL, WINTERSTEINER and RAKE: *ibid*, 46, 109 (1943).
- (5) MCKREE and MAC PHILLAMY: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 53, 247 (1943).
- (6) 山崎: 農化, 5, 377 (昭4).
- (7) 大阪醸造學會編, 釀酵工業便覽, 第6版, 337 頁 (昭24).
- (8) 坂口, 山田: 農化, 20, 65 (昭19).
- (9) 下田: 釀酵工學, 26, 219 (昭23).

Summary

A strain of *Asp. oryzae* isolated at a brewery of sake (“Sakura-Masamune”) has been proved to produce an antibiotic substance against the “hiochi” bacteria responsible for the putrefaction of sake. The author isolated this antibiotic substance in a crystalline form from the artificial medium of this strain. This crystalline substance at the dilution of 1:300,000 showed the activity against the “hiochi” bacteria in the sake medium with 30% water. It has the following properties: molecular formula, $C_9H_{13}O_6N$; m.p. 162-163°; white needles. Physical and chemical properties of this substance differ from those of the antibiotic substances from *Asp. flavus-oryzae* formerly reported. Thus it is named “*Oryzacidin*”

たばこ化學成分の研究 (第2報) 種子中の新三糖體に就て

仁尾正義, 和田英之助, 山崎鏡次 (日本專賣公社中央研究所たばこ研究部)

昭和26年3月30日受理

Chemical Constituents of Tobacco. Part 2. On A New Trisaccharide in Tobacco Seeds.

Seigi NIŌ, Einosuke WADA, and Kyoji YAMAZAKI

(Tobacco Research Department, the Central Research Institute of the Japan Monopoly Corporation, Tokyo)

緒言 たばこ (*Nicotiana tabacum* L.) の種子は極めて小さく (1,000 粒が 0.05~0.08 g にあたる), かつこれを多量に入手することが困難なためか、從來たばこ種子の糖としては *sucrose* 以外の存在は知られていない⁽¹⁾⁽²⁾。すなわち I. M. SHABANOV⁽²⁾ は完熟したたばこ種子中には 0.5~2.0% の *sucrose* が存在するが、單糖類は存在せず、單糖類の存否によつて種子の熟度を知ることが出来る⁽¹⁾と述べている。我々は 24 年度産黄色種種子 (*Nicotiana tabacum*, L. “Bright Yellow”) を相當量手に入れたので、ペーパー クロマトグラフィーによつて種子中の糖についてしらべ、*sucrose* 以外に一つの新しい三糖體 (*fructose*, *glucose*, *galactose* よりなる) が存在することを認めたので報告する。

實驗の部

黄色種の種子 (發芽率 80% 以上) 50 g を乳鉢でよく磨碎し、これをソックスレー抽出器を用いてエーテルでよく油脂分を除いた後、數回 60% アルコールで水浴上で 30~60 分間沸騰抽出を繰返し、各抽出液は濾過後合して減壓濃縮し醋酸鉛を加えて生じる沈澱を除く。濾液は硫化水素ガスを通じて過剰の醋酸鉛を除き、濾過後遊離した醋酸をアムモニアで中和する。この液を減壓濃縮して約 20 cc とし、これを試料としてペーパー クロマ