1. Lipase inside the organism is powerful at 24 hours and that outside it is of a low activity.
2. Lipase in the culture media showed its activity during 48 to 72 hours of fermentation.
3. Enzymatic chemical properties were studied: the optimal pH was relatively low; acetic acid acted as an inhibitor, while ammonium hydrate and ammonium sulfate acted as activators. NaF showed little influence.

Autolysis phenomena due to addition of soybean oil during 48 to 72 hours of fermentation were parallel to higher lipase activity.

Penicillium chrysogenum Q 176 振盪培養に於ける大豆油の影響 (第 4 報) 大豆油による毒性に對する對策

安田春太郎, 山崎 敬三, 溝口 幸子 (明治製菓株式會社川崎工場)

昭和 26 年 3 月 24 日 受理

Effect of Soybean Oil on Shaking Cultures with *Penicillium chrysogenum* Q 176.

Part 4. Studies on Counter-measures against Toxicity of Soybean Oil.

By Shuntarō YASUDA, Keizo YAMASAKI, and Sachiko MIZOGUCHI

(Meiji Confectionery Co., Ltd., Kawasaki Plant)

緒 言

我々は既報の研究に依り大豆油添加に依る毒性の極端な現れである原形質分離現象の大きな原因の一つは培地組成でないかと云う事實を示した。如何にすればこの悪影響を避け得るかに就いては先ず培地組成の選擇である。即ち STONE & FARREL 系のものを選ぶ事, 又 MOYER L. C. 培地にあつても炭素源として乳糖單用を避けるべき事, 即ち乳糖使用に際しても葡萄糖の少量を混用すれば充分である事が既報の實驗に依り明らかであるが, 本報に於ては L. C. 培地 (乳糖單用) でこの對策を得んとするものであるが, 大豆油を必ず使用するものとして考えると先ず NH_3 level を低くする事であるが H. KOFFLER 等⁽¹⁾の研究で boron に依る方法, 本邦では秋草氏が disinfectant としての報告がある。又根本の方策としては available な C-source が無い場合 amino acid に oxidase が deaminase として作用し, 生成した有機酸を利用し NH_3 が集積するがこれを避ける爲めに有機酸を添加する事が考えられる。

S. G. KNIGHT⁽²⁾に依ると上述の作用は振盪培養では 3 日目が最高であり硫安は inhibitor, NaF は影響なく, oxidase の最適 pH は 8.0 であるが菌の發育しつつある pH 4.0~5.0 でも尙生産され pH の 7.2~7.8 である 7 日目頃には original activity の 1/2 以下であると, 同時に NH_3 は好ましい N-source であると報告している。なお, 酸素の供給に關係ある catalase activity に就いては L. C. 培地で得た結果では最適 pH は 6.8 であり $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ は activator, NaF は inhibitor として作用し菌體中の activity は 48~72 時間が最高であった。

別に lipase activity を抑える事に依り目的が達せられぬかを考え各種藥物を添加して見た。

實 驗 方 法

培養方法: L. C. (乳糖 3%) 培地, 其他條件前報に同じ。

實 驗 成 績

豫備實驗 1 NH_3 level と autolysis; 18 時間及び 40 時間培養の broth に NH_4OH , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 加えて NH_3 level を變えて試験した。結果は Table 1 に示す。成績を見て解る事は人工的に極端に NH_3 level を高くするも極端な autolysis phenomena は認め難し。

豫備實驗 2 NaF, 及び MgSO_4 の penicillin yield に及ぼす影響: 成績は Table 2 に示す。

NaF 0.01% と MgSO_4 0.1% 混用すれば penicillin yield の著しき低下なし。

實驗 1 NaF, CH_3COOH , P. A. A. 添加に依る影響: 成績は Table 3. に示す

大豆油添加區は全區共に autolysis し阻止の効果なし。但し NaF 0.01% 添加區は少しは良好。

實驗 2 CH_3COOH , boric acid 添加に依る影響: 成績は Table 4. に示す。

Table 1. Effect of NH_3 Level on Autolysate Phenomena.

Exp. No. 1. Culture Age 18 hr.							Exp. No. 2. Culture Age 40 hr.						
No.	S.B. Oil 1% adding	pH (before)	Total $\text{NH}_3\text{-N}\%$	pH (after)	Reagent adding		Autolysis (after hrs.)	No.	S.B. Oil 1% adding	pH (before)	Total $\text{NH}_3\text{-N}\%$	pH (after)	Autolysis (after 2 hrs.)
					NH_4OH	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$							
1	control	6.4	0.0245	6.6	—	—	—	1	control	—	—	7.0	0.030 —
2	+	6.3	0.0245	6.2	—	—	+	2	+	—	—	7.0	+
3	—	>7.8	0.0745	7.8	+	—	++~#	3	+	—	—	7.0	+
4	—	7.8	0.0495	7.2	+	—	—	4	—	+	—	>8.0	0.080 +
5	—	7.4	0.0435	6.8	+	—	—	5	—	+	—	7.7	0.055 —
6	—	7.2	0.0370	6.8	+	—	—	6	—	+	—	7.8	0.055 —
7	+	7.8	0.0745	7.5	+	—	+	7	—	+	—	7.4	0.043 —
8	+	7.8	0.0495	6.6	+	—	++~###	8	+	+	—	7.7	0.055 +
9	+	7.8	0.0495	6.8	+	—	++~###	9	+	+	—	7.7	0.055 +
10	+	7.3	0.0435	6.6	+	—	++~###	10	—	—	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	7.7	0.063 —
11	+	7.1	0.0370	6.6	+	—	++~###	11	+	—	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	7.2	0.063 +
12	—	6.4	0.0578	7.0	—	+	—	12	+	—	G.A.A. 0.05 cc	5.2	0.030 +
13	+	6.4	0.0745	6.4	—	+	+	13	+	—	G.A.A. 0.02 cc	6.3	0.030 +
14	+	6.4	0.0745	6.6	—	+	+	14	—	—	G.A.A. 0.05 cc	5.2	0.030 —
15	+	6.4	0.0578	6.4	—	+	++~###	*15	+	+	—	7.5	0.055 +
*16	+			6.9	+	—	###	*16	+	+	—	7.4	0.050 +
*17	+			7.0	+	—	###	*17	+	+	—	7.2	0.043 +
* G. A. A. 0.2% adding at 0 hrs.								*18	+	—	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	7.2	0.063 +
								19	+	—	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	7.2	0.075 +
								* Reagent adding age 24 hr.					

Table 2. Effect of NaF and MgSO_4 on Penicillin Yield

Adding Reagent	NaF %						
	—	—	—	0.01	0.005	0.001	0.01
Max. average u/cc	MgSO ₄ %						
	—	0.1	0.05	—	—	—	0.1
pH at max. u/cc	191	172	183	162	204	179	179
	7.7	7.8	7.8	7.8	7.8	7.8	7.7

Table 3. Effect of Reagent on Autolysate Phenomena by Soybean Oil Adding.

S.B. Oil 1% at 48 hr.	Control	—	—	+	+	+	+
Reagent each % at 0 hr.	—	NaF 0.01	MgSO ₄ 0.1	NaF 0.01	NaF 0.01	CH ₃ COOH 0.1	P.A.A. 0.001
Max. average u/cc	33	300	293	220	135	176	174
pH at max. u/cc	8.1	8.2	8.2	6.7	7.9	6.9	7.6

全區共に NH_3 level 誠に高く 0.04~0.06% にして大豆油添加に依り自己消化したるも培養時間 72 時間頃に回復し penicillin yield は反つて上昇した。以上の如く autolysate を完全に阻止するに至らず CH_3COOH も CH_3COOK の形で存在するものと見られるが意外に早く消費されるものの如く、大豆油添加時には殆んど僅少であろう。添加方法を變える必要あり。

實驗 3 實驗 2 の添加方法の改良及び initial pH の影響：成績は Table 5 に示す。

考 察

NH_3 level のみを人工的に増加しても NH_3 自体に依つても、又それに大豆油添加するも極端な自己消化は認められず、 NaF , MgSO_4 混用に依り少しは阻止出来るが著效は認められず。又、 CH_3COOH の添加が初期である場合著しい阻止の效果は認められなかつたが、autolysis は回復し著しい力價の向上を見た。0.2% 添加は場合に依り反つて自己消化は著しかつたが 0.1% でも大豆油添加直前に添加する事に依り完全に autolysis を阻止したのみならず、著しい力價の向上を見た。Boric acid は高濃度の場合には效果がない。以上 NH_3 level と共に色々の因子を考えざるを得ない。即ち NH_3 level 高くその誘因に依る發育不良が自己消化受け易くすると斷定出来ず、即ち、 CH_3COOH 0.2% 0 hr. 添加區は極めて發育旺盛であつたが反つて、大豆油添加に依り著しい autolysis を認めた。

綜 括

我々は L.C. (乳糖 3%) 培地に於て次の方法で大豆油添加に依る autolysis を阻止すると共に反つて penicillin 力價の向上を得た。

1. CH_3COOH (pH 6.0 K-salt) 0.1% を大豆油添加前に加えた。
2. Boric acid を 0.1~0.05% 添加した。
3. Initial pH を 4.5~5.0 とした。

終りに際し御指導御鞭撻頂いた中川薬品課長、検定して頂いた検定室諸氏に厚く感謝致します。

附記：本報は昭和 24 年 4 月に研究したものである。

(1) H. KOFFLER, et al. : J. Bact., 50, 517 (1945).

(2) S.G. KNIGHT : J. Bact., 55, 401 (1948).

Summary

In the LC (lactose 3%) medium, we could prevent the autolysis produced by the addition of soybean oil and increase penicillin potency by the following treatments:

1. 0.1% of acetic acid (pH 6.0, K-salts) was added before the addition of soybean oil.
2. 0.1 to 0.05% of boric acid was added.
3. The initial pH was adjusted to 4.5 to 5.0.

非常食糧に関する研究 (第 16 報) 廿日鼠の酵素

山 藤 一 雄, 田 中 千 波 (九州大學農學部農藝化學教室)

昭和 23 年 7 月 12 日 受理

Ueber die Nahrungsmittel in der Notzeit. XVI. Mitteilung. Enzyme der Maus.

Von Kazuo YAMAFUJI und Chinami TANAKA. (Agr.-chem. Inst., Kyushu Univ.)

緒 言 當教室に於ては食品製造に関する研究のみならず生體酸化、バイラス生成の實驗に於ても廿日鼠を材料とする事多く、其の組織酵素の性狀を知悉する要あるに拘らず、之に就ての業績の發表されたるものがないので、茲に此目的に對して行われた成績の若干を報告する。

實 驗 (1) **カタラーゼ** 先ず筋肉アセトン耐久劑を用い其の過酸化水素分解反應速度恒數が時間と共に漸増し 25 分以後に於て始めて弱化する事が認められた。次に pH を 6.8 とし各種臓器の一定量につき 37° に於て測定されたる數値をイ表に記す

(イ)	臓 器	心 臓	血 液	肝 臓	脾 臓	筋 肉	胃	腸
	作 用 力	5.4	18.1	41.7	3.4	6.4	2.6	7.6

(2) **リパーゼ** :— 大豆油を基質とし pH 6.8 のクラーク、ラブス氏磷酸緩衝液を添加して 24 時間作用せしめ、反應溫度間の差異を見たるにロ表の結果を得た。

(ロ)	溫 度	15	25	37	42	50	溫 度	15	25	37	42	50
	脾 作 用	1.7	3.0	4.0	2.8	2.5	脾 作 用	0.4	0.9	1.3	1.1	0.8
	胃 作 用	1.8	2.8	8.2	3.3	5.1	腎 作 用	0.5	2.5	5.0	2.5	2.4

數字は 1/10 規定苛性曹達の滴定 cc であるが、37°, に保持し相異なる酸度に於ける作用度はハ表の如くであ