(7) 蒸溜残渣 残渣を鹼化分解して得た脂肪酸をソーダ塩アセトン法に依り処理し、温度差に依る各脂肪酸塩の溶解度の差を利用して分別を試みた。即ち沸騰アセトンに溶解したソーダ塩溶液を 20°~25° で 5 時間静置した後、不溶性ソーダ塩を濾別し、これより脂肪酸 R-P-I を得た。

濾液は更に 0° に於て 1 夜静置した結果、多量の析出物を生じたので、之を速かに吸引濾過を行い不溶性ソーダ塩を分別し、これより脂肪酸 R-P-II を得た。濾液は更に零下 20° で 1 昼夜放置後、前記同様処理して不溶性ソーダ塩より脂肪酸 R-P-III を得た。最後の濾液より脂肪酸 R-S を得た。上記各脂肪酸の収量及び性状は Table 12 の通りである。

Table 12. Separation of Residual Fatty Acid

Sample No.	Yield (%)	Ref. Ind. n_D^{20}	Neutr. value	Iodine value
R-P-I	45.4	1.5301	172.9	228.1
R-P-II	29.0	1.5159	166.8	255.0
R-P-III	3.0	1.5142	163.1	267.0
R-S	22.2	1.5109	158.7	335.4

本実験成績より蒸溜残渣中に多量の高度不飽和酸重合物を含むことが明かである。併し R-S はその中和価、及び沃素価がテトラコサペンタエン酸の中和価 156.6、及び沃素価 354.2 に近似し、且つ外山氏⁽¹¹⁾等の分離した上記脂肪酸の屈折率 n_D^{20} 1.5075 に近似している。依つて更に分別沈澱を行つた結果、沃素価 356.0 (理論値 354.2)、中和価 156.8 (理論値 156.6)、屈折率 n_D^{20} 1.5080 の $C_{24}H_{38}O_2$ 酸を得られた。依つて C_{24} 酸は主としてペンタエン酸より成るものと考えられた。

粗高度不飽和酸の組成 粗高度不飽和酸メチルエステルの分溜に於て、各溜分はほぼ炭素数相隣りあう脂肪酸メチルの混合物と考えられる故、之等溜分の収量、鹼化価、沃素価より該脂肪酸メチルエステルの炭素数に関する組成を算出すれば次の通りである。

C_{10} 脂肪酸メチル 0.2%, C_{12} 脂肪酸メチル 0.4%, C_{14} 脂肪酸メチル 2.1%, C_{16} 脂肪酸メチル 4.9%, C_{18} 脂肪酸メチル 20.5%, C_{20} 脂肪酸メチル 42.0%, C_{22} 脂肪酸メチル 25.7%, C_{24} 脂肪酸メチル 4.1%。而して各炭素数脂肪酸の組成は前述の如く明かであるから、上記結果と総合して計算すれば、粗高度不飽和脂肪酸の組成は Table 13 に示す通りである。

Table 13. Constituents of Fatty Acid from Acetone Soluble Sodium Soap.

Carbon No.	C_{10}	C_{12}	C_{14}	C_{16}	C_{18}	C_{20}	C_{22}	C_{24}	Total
F ₀	0.2	0.4	0.5	0.8	—				1.9
F ₁			1.6	3.9	11.6	5.3			22.4
F ₃				0.2	8.0				8.2
F ₄					0.8	34.2	4.0		39.0
F ₅					0.1	2.5	12.7	4.1	19.4
F ₆							9.1		9.1
Total	0.2	0.4	2.1	4.9	20.5	42.0	25.8	4.1	100.0

Summary of this paper is stated in the following paper of (Part 2)

Constituents of Fatty Acids (2)

柔魚内臓油の化学的成分とその利用に就て (第 2 報)

柔魚内臓油の脂肪酸成分に就て (其の 2)

高尾正保, 富山新一 (ライオン油脂株式会社研究部)

昭和 28 年 6 月 4 日 受理

Studies on Chemical Constituents and Utilization of Cuttle Fish Oil. Part 2.

Constituents of Fatty Acids. (2)

By M. TAKAO and S. TOMIYAMA (Research Department of Lion Fat and Oil Co., Ltd.)

B. 低度不飽和酸及び飽和酸 第 2 報 (其の 1) に於てアセトン不溶性ソーダ塩より得た低度不飽和酸と飽和酸との混合物を常法に従いメチルエステルとした。このメチルエステルの性状は Table 14 の通りである。

本メチルエステル 800 g を Stedman Wire Gauge Cone⁽¹²⁾ を充填した塔長 1250 mm, 直径 27 mm の精溜塔を附した蒸溜フラスコに仕込み、極めて注意しつつ真空中に精密分溜を行つた成績は Table 15 に示す通りである。

Table 14. Properties of Crude Lower Unsaturated and Saturated Fatty Acid Methyl Ester from Acetone Insoluble Sodium Soap.

Iodine value	92.1
Sapon. value	189.3
Acid value	3.1

Table 15 に示す分溜成績より見るに、分溜効果は極めて良好で C_{14} より C_{22} までの単一炭素数脂肪酸メチルより成る溜分を得た。これら溜分の純度は下記の試験成績の通りである。

Table 15. Fractional Distillation of Fatty Acid Methyl Ester from Acetone Insoluble Sodium Soap.

Fraction No.	Distillation temp. °C/3mm Hg	Yield (%)	Ref. Ind. n_D^{20}	Sapon. value	Iodine value
1	-120	1.5	1.4190	243.1	8.2
2	-121	5.2	1.4217	230.8	10.2
3	-138	3.0	1.4289	216.3	18.3
4	-140	30.6	1.4345	208.1	22.8
5	-156	4.3	1.4386	199.2	52.3
6	-158	26.2	1.4420	189.3	87.8
7	-175	3.9	1.4464	180.9	131.7
8	-177	18.0	1.4510	173.8	169.2
9	-193	3.1	1.4539	169.5	181.5
10	-195	4.2	1.4576	161.7	198.7
R	—	0.6	—	—	—

Table 16. Purities of Rectifying Fraction.

Kinds of Fatty Acid Carbon No.			C ₁₄	C ₁₆	C ₁₈	C ₂₀	C ₂₂
Rectifying Fraction No.			2	4	6	8	10
Rectifying Fraction	Iodine value		10.2	22.8	87.8	169.2	168.7
		{	Obs.	230.8	208.1	189.3	173.8
	Sapon. value		Calcd.	231.8	208.4	189.4	173.6
	Neutr. value		246.9	218.5	198.2	178.9	164.3
		{	Calcd.	245.8	218.9	197.4	179.6
	Fatty Acid from Hydrogenated Rectifying Fraction	m.p. (°C)		52.8~	61.5~	68.5~	75.5~
{				53.8	62.5	69.0	76.6
		Mix. of pure acid		53.0~	61.5~	63.5~	75.5~
			53.8	62.5	69.5	76.3	81.5
Lit.			53.8	62.5	69.6	77.0	82.0

上記実験成績より溜分 2, 4, 6, 8, 10 はそれぞれ C_{14} , C_{16} , C_{18} , C_{20} , C_{22} 脂肪酸メチルより成る事明かとなつた。依つて各溜分を試料として各炭素数脂肪酸の成分を検索し、且その組成を明かにする為次の実験を行つた。

(1) C_{14} 脂肪酸：溜分 2 より得た脂肪酸を酒精を用い数回分別結晶を行い、白色光沢ある融点 53.5~53.8°, 中和価 246.2 の結晶を得た。本結晶と純ミリスチン酸と混融したが、融点は降下しなかつた。依つて本結晶はミリスチン酸である事を確認した。従つて C_{14} 脂肪酸成分はミリスチン酸及びテトラデセン酸であつて、その組成は沃素価より計算した結果、次の通りである。ミリスチン酸 90.4%, テトラデセン酸 9.6%。

(2) C_{16} 脂肪酸：溜分 4 より得た脂肪酸を鉛塩アルコール法に依り分別した結果は次の通りである。

上記成績及び前報 (其の 1) に於て既にパルミチン酸及びヘキサデセン酸の存在を確認している点より考え、 C_{16} 脂肪酸の成分はパルミチン酸及びヘキサデセン酸より成ることが明かなので、その組成は沃素価より計算した結果は次の通りである。パルミチン酸 73.7%, ヘキサデセン酸 26.3%

(3) C_{18} 脂肪酸：溜分 6 より得た脂肪酸を鉛塩アルコール法に依り固体酸及び液体酸を得た。その実験成績次の通りである。下記固体酸を酒精を用い分別結晶を行つて結晶を得、之を更に数回再結晶して融点 69.2~69.7°, 中和価 197.5 の結晶を得た。本結晶を純ステアリン酸と混融するも、融点が降下しないので本結晶は純ステアリン酸であることを確認した。

	収率(%)	沃素価
固体酸	33.8	8.7
液体酸	66.2	132.0

不飽和酸は、液体酸の沃素価及び、前述のアセトン可溶性ソーダ塩を生成する脂肪酸より得た C_{18} 脂肪酸の成分検索結果より次の如く算出される。

ステアリン酸 30.5%, オクタデセン酸 54.4%, オクタデカトリエン酸 15.1%。

(4) C_{20} 脂肪酸：溜分 8 より得た脂肪酸は、液状で沃素価の高い点を考慮して、先ずこの 60 g をリチウム塩アルコール法に依つて処理し不溶部と可溶部に分別し、それぞれより分解して脂肪酸を得た。その成績は次の通りである。

可溶部より得た脂肪酸は、その沃素価より考えて、主として $C_{20}H_{34}O_2$ 酸 (沃素価 333.1) より成るものと考え

えられ F_2 , F_3 のような中度不飽和酸の存在は考えら

れない。不溶部よりの脂肪酸は更に飽和酸を検出する

ために、先ずこの脂肪酸 30 g を 95% 酒精に溶解し、

分別結晶を行い結晶 4.2 g を得た。この結晶を 95% 酒精より再結晶して m. p. 75.3~75.8°, 中和価 179.3 (理論値 179.6) のアラキジン酸 0.8 g を得。その存在を確認した。

次に上記の初めの分別結晶に於て得た濾液よりの脂肪酸を取り、80% 酒精より数回再結晶して 6 g の結晶を得た。その結晶は針状結晶で m. p. 23.5~24.0°, 中和価 179.8 (理論値 179.9), 沃素価 81.5 (理論値 81.8) の性状を有し、ガドレイン酸の性状と一致している。

この脂肪酸を HAZURA 氏法にて酸化し、生成物を 90% 酒精より再結晶した結果、光沢を有する中和価 161.9 (理論値 163.0), m. p. 127.5~128° のジオキシアラキジン酸を得た。これはガドレイン酸より得られるジオキシ酸の性状と一致する故、 C_{20} モノエチレン酸はガドレイン酸であることを確認した。

以上の実験結果より C_{20} 酸の組成は次の如く計算される。

アラキジン酸 3.4%, エイコセン酸 (ガドレイン酸) 60.5%, エイコサテトラエン酸 36.1%

(7) C_{22} 脂肪酸: 溜分 10 より得た脂肪酸 15 g を前記の C_{20} 酸の場合と同様に、リチウム塩アルコール法にて処理して不溶部と可溶部に分別し、それぞれより分解して脂肪酸を得、その性状を測定した結果は次の通りである。

可溶部より得た脂肪酸の沃素価は $C_{22}H_{36}O_2$ の理論	不溶部よりの脂肪酸	収率(%)	沃素価
沃素価 305.6 に極めて近い値を有しているの、主と	可溶部よりの脂肪酸	47.9	80.3
してこの酸より成るものと思われ、 $C_{22}H_{36}O_2$, $C_{22}H_{40}O_2$ のような脂肪酸の存在は認められなかつた。不溶部よりの脂肪酸は、更に飽和酸を検出するために、この脂肪酸 7 g をとり 95% 酒精より分別再結晶を試みたが析出物微量のためベヘニン酸は存在するとしても微量なるものと考えられる。		52.1	300.8

次に酒精を除去した脂肪酸に 85% 酒精を加え、ドライアイスで -20° に冷却して白色の結晶 3 g を得た。此の結晶を更に 85% 酒精より -20° で再結晶を行つて m. p. 31.5~32.0°, 沃素価 75.2 (理論値 75.0), 中和価 166.3 (理論値 166.0) の性状を有し、 $C_{22}H_{42}O_2$ 酸の性状と一致している結晶 0.8 g を得た。これはエルシン酸であるか鯨油酸であるかは試料が僅少である為に確認出来なかつたが、おそらく鯨油酸であるものと考えられる。

以上の実験結果より、本 C_{22} 脂肪酸は殆んど F_1F_4 酸より成るものと考えられるので、分別脂肪酸の沃素価及び収量よりその組成は次の如く計算される。

ドコセン酸 50.0%, ドコサテトラエン酸 50.0%

中低度不飽和酸及び飽和酸の組成: 前述メチルエステルに分溜に於て、溜分 2, 4, 6, 8, 10, はそれぞれ C_{14} , C_{16} , C_{18} , C_{20} , C_{22} 脂肪酸より成り、その中間溜分は前後の溜分の混合物であると考えられ、又第 1 溜分は鹼化価より C_{12} 及び C_{14} 酸メチルの鹼化価及び沃素価より、該脂肪酸メチルの炭素数に関する組成を算出した結果は次の通りである。

C_{12} 脂肪酸メチル 0.6%, C_{14} 脂肪酸メチル 7.0%, C_{16} 脂肪酸メチル 34.0%, C_{18} 脂肪酸メチル 30.0%, C_{20} 脂肪酸メチル 22.0%, C_{22} 脂肪酸メチル 6.4%。

各炭素数脂肪酸の成分組成は前述の如く判明しているので、中低度不飽和酸及び飽和酸混合部の成分組成は

Table 17. Constituents of Fatty Acid from Acetone Insoluble Sodium Soap.

Carbon No.	C_{12}	C_{14}	C_{16}	C_{18}	C_{20}	C_{22}	Total
Unsaturation	F_0 0.6	6.3	25.0	9.1	0.7	3.2	41.7
	F_1	0.7	9.0	16.3	13.4	3.2	42.6
	F_3			4.6			4.6
	F_4				7.9	3.2	11.1
Total	0.6	7.0	34.0	30.0	22.0	6.4	100.0

Table 17 に示す通りである。

Table 13 及び Table 17 の結果とこれら 2 者脂肪酸の収率より算出した柔魚内臓油脂肪酸組成は Table 18 に示す通りである。

Total 18. Constituent of Cuttle Fish Fatty Acid.

Carbon No.		C ₁₀	C ₁₂	C ₁₄	C ₁₆	C ₁₈	C ₂₀	C ₂₂	C ₂₄	Total
Unsaturation	F ₀	0.1	0.5	3.6	13.6	4.8	0.3			22.9
	F ₁			1.2	5.8	14.3	9.8	1.8		32.9
	F ₃				0.1	6.2				6.3
	F ₄					0.4	20.5	3.5		23.9
	F ₅						1.3	6.2	2.0	9.5
	F ₆							4.4		4.4
Total		0.1	0.5	4.8	19.4	25.7	31.7	15.8	2.0	100.0

III. 考 察 並 に 総 括

以上の実験成績より脂肪酸成分として単離確認したものは、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、アラキジン酸、ゾーマリン酸、オレイン酸、ガドレイン酸、ドコセン酸、C₂₀H₃₂O₂ 酸、C₂₀H₃₀O₂ 酸、C₂₂H₃₄O₂ 酸、C₂₂H₃₂O₂ 酸、C₂₄H₃₈O₂ 酸の14種で、存在が確認されたものは、カプリン酸、ラウリン酸、テトラデセン酸、C₁₈H₂₈O₂ 酸、C₁₈H₃₀O₂ 酸、C₂₂H₃₆O₂ 酸の6種である。

脂肪酸組成を炭素数より見れば、最も多いのはC₂₀酸でC₁₈、C₁₆、C₂₂酸が之に次ぎ、C₁₄、C₂₄、C₁₂、C₁₀酸の含有量は僅少である。不飽和度より見れば、F₁酸が最も多くF₄酸が之に次ぎ、F₀酸も多く、最も多いと予想されたF₅酸は比較的少く、F₆酸がかなり多く含まれていることが注目される。

Table 14に示す脂肪酸組成は、柔魚と同じく軟体動物であつて増本氏⁽⁴⁾に依りその成分組成が明かにされているマガキ油の脂肪酸組成と近似していることは生化学的に興味深いことである。

代表的な魚油である鰯油の脂肪酸組成はARMSTRONGにより明かにされているが、その鰯油脂肪酸組成に比較すれば、飽和酸ではステアリン酸が多く、ミリスチン酸が少く、不飽和酸ではC₂₀酸が特に多く、他は少く、特にC₁₆酸は半分以下の含有量であることが注目される。

従つて柔魚油脂肪酸成分の特徴は、C₂₀F₄、C₂₂F₅、C₂₂F₆、を主体とする高度不飽和酸の含有量が多いこと、C₂₀、C₁₈、C₂₂酸の含有量が多く、C₁₆以下の低級酸の含有量の少ないことである。

柔魚油の利用は、此の脂肪酸の組成の特性に従つて、C₂₀酸を中心とする高度不飽和酸を主体とする部分と、C₁₆酸を中心とする飽和酸を主体とする部分に、適当な経済的方法に依り分別し、それぞれを乾性油並びに石鹼、食用油等の方面に使用することが最も適切であるものと考えられる。

本研究に終始御指導を賜つた北海道大学小幡教授に深謝の意を表するものであります。

(本報告は昭和18年6月 日本農芸化学会例会に於て講演した)。

(1) 辻本満丸：東工試，22，(12)，73 (1927).	chse, I, 243.
(2) 外山修之，土屋知太郎：東工試，22 (1)，(1)，1，15 (1927).	(9) PROCTER：J. Soc Chem. Ind., 1022 T (1898).
(3) Ad. GRUN：Analyse d. Fette u. Wachse, I, 223.	(10) 松田住雄：工化，45，247 (1942).
(4) 辻本満丸：工化，26，608 (1923).	(11) 外山修之，土屋知太郎：東工試，30 (6)，27 (1935).
(5) 外山修之，土屋知太郎：Bull. Chem. Soc. Japan, 10, 192 (1935).	(12) D. F. STEDMAN：Canadian J. Research, 15, 383 (1937).
(6) BENEDIKT-ULZER：Analyse d. Fette u. Wachsarten, I, 179.	(13) E. TWITCHELL：Ind. Eng. Chem., 13, 806 (1921).
(7) 外山修之：工化，30，603 (1927).	(14) 増本政次郎：日化，62，547，740 (1941).
(8) Ad. GRUN：Analyse d. Fette u. Wachse,	

Summary

The following facts were found on the constituents of fatty acids of cuttle fish oil.

1. Fatty acids of cuttle fish oil is composed of about 22% saturated fatty acids, about 33% monoethenoid acids and about 45% higher unsaturated acids.
2. Saturated fatty acids consist of 13.6% palmitic, 4.8% stearic, 3.6% myristic and small amount of arachidic, lauric, capric acid.
3. Monoethenoid acids consist of 14.3% oleic, 9.8% gadoleic, 5.8% zoomaric and small amount of docosenic, tetradecenoic acid.
4. Higher unsaturated acids consist of 20% eicosatetraenoic, 6.2% docosapentaenoic, 4.4

% docosahexaenoic, 3.5% docosatetraenoic, 2.0% tetracosapentaenoic and small amount of eicosapentaenoic, octadecatetraenoic, hexadecatrienoic acid.

5. The facts are noticeable that the amount of C_{20} acids are that largest and docosahexaenoic acid is present.

細菌の Amylase 生成に関する研究 (第 1 報)

有用菌の分離, その菌学的性質, 並に Amylase

生成に対する基本的条件について

福 田 重 夫 (東京大学理学部植物学教室)

昭和 28 年 6 月 16 日 受理

Studies on the Amylase Formation by Bacteria. Part 1. Isolation,
Characteristics and Fundamental Conditions on Amylase
Formation of a Powerful Strain.

By Shigeo FUKUDA. (Dept. of Bot., Fac. of Science., Univ. of Tokyo)

Amylase 生産菌の分布は環境の多様性からして極めて広範な分野に亘っており, その種類も甚だ多数知られている⁽⁴⁾⁻⁽⁸⁾. 従来の報文⁽²⁾⁻⁽⁸⁾によれば強力な amylase を生産する細菌は概ね好気性中温細菌類であるが, E. KNEEN⁽⁹⁾によれば細菌の生産する amylase は一種類でなく saccharifying type, α -amylase type, β -amylase type, special amylase type の 4 型に分けられると報告している. α -amylase type の性質はアルカリ側に於て抵抗性が大で, 糖化力に比して液化力の甚だしく大きい事が特徴であるのは周知の事実で, 既に織布の糊拔剤として現在繊維工業に重要な役割を果しつつある. それ故 amylase 生産の工業的合理化を図る事は経済的にも能率的にも極めて重要で, その培養方式が問題となり, 内外共にその方面の研究が行われている⁽⁸⁾⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾⁽¹²⁾⁽¹⁶⁾. 筆者はこのような目的をもって本研究に着手し, 一応菌株の撰択を行い 256 株のうち有用菌 1 株を分離し得たので, その菌学的性質並に基本的生産条件を明らかにし, 液内培養についても検討中なのでここに逐次報告する.

実 験 の 部

【I】 菌の分離 細菌の酵素生成に基質特有の影響をも考慮に入れて, 穀実豆莢類や草本植物を主とし, これに土壌, 海水, 川水, 空気等をも併せて試料に供し, 分離用培地には次の組成のものを用いた.

馬鈴薯澱粉 1.5%, ペプトン 0.1%, KH_2PO_4 0.05%, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.01%, 寒天 2.0% (pH 7.0)

試料は予め滅菌水に投じて振盪した後その一定量を, 或はまた直接に上記の培地に混入し, 通常の混和平板法によつて 35~37° に 48 時間培養した後に N/100 ヨード液を流してヨードにより生成した非染色円内の聚落を α -amylase を生成する菌株として判定した. 空気については培地を直接空気にさらし上記の方法によつて分離を行つた. それらの分離菌は肉汁に培養して, 2 日後より毎日, その培養濾液を酵素原液として便宜上 WOHL-GEMUTH* 法⁽¹³⁾に準じて酵素力を測定し, amylase 力価の強い数種を撰んで更に混和平板法によつて反覆して純粋にし, LINTNER-SOLLIED-DOESSEL** 法⁽¹⁴⁾をも併用して amylase 力価の最も優秀な 1 株を撰択した. この分離菌は東京大学構内の草本植物より得たものである.

【II】 分離菌の菌学的性質 (A) 形態的性質 栄養細胞は肉汁に 37°, 24 時間培養後は両端円滑な桿状で単独または連鎖することがあり, グラム陽性で運動性がある. 大きさは 0.8~1.0×2.5~3.5 μ である. 50 時間培養後は母細胞は膨大して中央附近に円筒形の孢子嚢を形成し, その大きさ 1.2~1.7×2.5~3.0 μ で, その中央に卵円形の孢子を形成し, 長さ 0.7~0.8×1.0~1.2 μ .

* 酵素原液 1 cc が 40°, 30 分間に完全に分解しうる 1.0% 可溶性澱粉の液量 (cc 数) を糊精化力判定の基準として D_{540}^{40} 単位にて表した. なお比色にはデキストリン武田にヨードを作用させて得られる赤色液を基準として用いた.

** 酵素原液 1 cc によつて 60°, 15 分間に液化される風乾馬鈴薯澱粉の重量 (g) を以て示し L. S. V. にて表した.