助けて自然に有害菌の繁殖を抑制する巧妙なる技法とも解され、かかる意味でまた醗の腐造細菌として真に恐るべきものは嫌気性乃至半嫌気性的のものであるとも言い得るのではなからうか。

要 旨

好気的生育型（呼吸型）の黄麹菌 *Asp. oryzae* var. *Saké* は他の種々のカビに較べてその酸素要求性が特に大きいことを明らかにし、これと清酒醸造との関係を考察し、従来経験的にのみ知られて来た若干の酒造現象に対し合理的な説明を行った。

本研究に当り終始御懇篤なる御指導と御鞭撻を賜った東大教授坂口 謹一郎博士、醸造試験所長山田正一博士に対し深甚なる謝意を表する。

(1) 村上英也：本誌, 32, 19 (1958).	(10) 寺本四郎：醸造学, 14, 201, 671 (1936).
(2) 安藤福三郎：醸造試報, 7, 46~54 (1906).	(11) E. Abderhalden, M. Guggenheim：Z. f. physiol. Chem., 54, 331 (1907); 57, 329 (1908).
(3) 村上英也：本誌, 31, 707 (1957).	(12) I. W. Sizer：Advances in Enzymology, 14, 129~161 (1953).
(4) 村上英也等：醸協, 52, 896 (1957).	(13) 村上英也, 矢野裕通：醸協, 52, (8)42 (1957).
(5) 村上英也：本誌, 31, 715 (1957).	(14) 村上英也, 河合美登利：醸協, 51, (8)73 (1956).
(6) 田宮 博：Acta phytochim., 3, 51 (1927); 4, 77, 215, 343 (1928~29).	
(7) 村上英也：本誌, 31, 710 (1957).	
(8) 松島欽一：本誌, 28, 711 (1955).	
(9) 村上英也等：醸協, 52, (7) 62 (1957).	

Pulp disc 法によるビタミン及びアミノ酸の微生物定量法 (第 3 報)*

ビタミン及びアミノ酸の標準曲線の作成

小嶋 尚 夫, 松 谷 豊 (東北大学農学部)

昭和 32 年 6 月 21 日 受 理

緒 言

前報^(1,2)において B 群ビタミン類の微生物定量に Pulp disc 法を適用して、定量の簡易化を計り、数種のビタミンについて検討して定量条件を設定した。更に数種の試料の定量を行って、その分析結果を tube 法と比較し、これらの成績から本法が Routine assay として適當する事を認めた。

Jones 等⁽³⁾はカップ法によって種々のビタミンの定量を行い、アミノ酸にも適用できることを示唆したが、最近、Simpson 等⁽⁴⁾は数種のビタミン及びアミノ酸にカップ法を適用し、tube 法に比して精度も高く、容易に定量出来ることを述べている。又、牛場等⁽⁵⁾が *E. coli* の栄養変異株を用いて、カップ法によるアミノ酸の定量を試みた。

本報では更に本法が他のビタミン又はアミノ酸の定量に適用し得るか否かについて、数種の定量菌株を用いて検討を加え標準曲線を求めたが、その結果、他のビタミン及びアミノ酸にも若干の困難を認める場合もあるが、本法が適用可能であることを認めたので報告する。

実 験 方 法

(1) 定量を試みた B 群ビタミン及びアミノ酸と使用した菌株は夫々第 1 表と第 2 表に記載した。

表註* 表中のチアミン要求酵母、コリン要求酵母は佐藤等⁽⁶⁾によって醬油諸味より分離した菌株である。

コリン要求酵母に関しては別報⁽⁷⁾で報告したが、その要求性は変化し易く、生育帯が得られない場合もあるので、目下安定な条件を更に検討中である。

使用菌株は第 1 報で述べたと同様にして保存し、*Lact. leichmannii* は日産水研製の保存培地に 1 週間毎に植え継ぎ氷室に保存した。

* Studies on the Microbiological Assay of Vitamins and Amino Acids by the Pulp Disc Method. Part III. On the Standard Curves for B-Vitamins and Amino Acids Assay. By Hisao KOJIMA and Yutaka MATSUYA (Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, Tôhoku University)

第 1 表 Pulp disc 法における定量範囲と生育帯の様相 (ビタミン)

ビタミンの種類	使用菌株	生育帯の様子	測定 難易	菌 濃 度	培養 時間	定 量 範 囲	
						Pulp disc 法 (γ/ml)	Tube 法 (γ/ml)
チ ア ミ ン*	○チアミン要求酵母(17-1)	鮮明である	卅	0.8	14	0.1~10	
"	* コリン要求酵母(2-2)	比較的不明確で長時間でも 変化少い	卅	0.8	14	"	
"	* チアミン要求酵母(12-2)	平面的な生育帯で 2-2 に同 じ	卅	0.8	14	"	
"	○ <i>Sacch. cerevisiae</i>	中央部の盛上つた鮮明な生 育帯を生ず	卅	0.8	14	"	0.0002~0.002
"	<i>Lact. fermenti</i>	生育帯の濃度稀薄で明確に 得るに難点有	+	0.92	12	"	0.005~0.1
リボフラビン	<i>Lact. casei</i>	生台帯濃度稀薄である	卅	0.8	12	0.5~10	0.03~0.5
ピリドキシン	○ <i>Sacch. carlsbergensis</i>	全面に均一に生育する	卅	0.8	14	0.1~10	0.0005~0.005
"	<i>Sacch. cerevisiae</i>	"	卅	0.76	14	"	0.0005~0.004
ニコチン酸	○ <i>Lact. arabinosus</i>	鮮明である	卅	0.9	12	0.5~50	0.02~0.5
"	<i>Lact. casei</i>	生育帯稀薄で拡る傾向あり	卅	0.9	12	"	0.02~0.8
"	<i>Leuc. mesenteroides</i>	鮮明である	卅	0.2	12	"	
パントテン酸塩	<i>Sacch. carlsbergensis</i>	全面に均一に生育する	卅	0.63	14	0.5~50	0.01~0.4
"	○ <i>Lact. arabinosus</i>	鮮明である	卅	0.9	12	"	0.02~0.2
"	<i>Lact. casei</i>	生育帯周縁不鮮明で拡がる 傾向あり	卅	0.9	12	"	0.03~0.1
"	<i>Leuc. mesenteroides</i>	鮮明である	卅	0.9	12	"	
ビオチン*	チアミン要求酵母(12-2)	"	卅	0.7	14	0.005~0.5	
"	*○コリン要求酵母(2-2)	最も鮮明で長時間でも変化 少い	卅	0.8	14	"	
"	<i>Sacch. carlsbergensis</i>	やや鮮明度劣る	卅	0.63	14	"	
"	<i>Sacch. cerevisiae</i>	測定に難あり	卅	0.8	14	"	0.00002~0.001
"	○ <i>Lact. arabinosus</i>	鮮明である	卅	0.9	12	"	0.00002~0.001
"	<i>Lact. casei</i>	稀薄で拡がる傾向あり	卅	0.9	12	"	0.00002~0.001
"	<i>Leuc. mesenteroides</i>	滑らかな生育帯を生ず	卅	0.9	12	"	
葉 酸	<i>Lact. casei</i>	鮮明であるが条件に左右さ れる	卅	0.9	12	0.01~1	0.0005~0.015
"	<i>Str. faecalis</i>	"	卅	0.9	12	"	0.0005~0.005
イノシトール	○ <i>Sacch. carlsbergensis</i>	比較的鮮明であるが測定時 間に注意を要す	卅	0.8	14	10~1000	0.05~1.0
"	<i>Sacch. cerevisiae</i>	層全面に生育しかすかに高 濃度で生育帯認め	+	0.9	14	"	0.5~4.0
コ リ ン*	コリン要求酵母(2-2)	時間と共に変化し長時間で 測定不能である	+	0.9	14	10~1000	0~0.1
パラアミノ安息香酸	<i>Lact. arabinosus</i>	生育帯生成せず	—	0.65	12	"	0.0001~0.0005
ビ タ ミ ン B ₁₂	<i>Lact. leichmannii</i>	生育が稀薄である	卅	0.6	12	0.01~0.5	0~0.0000005

備考 測定難易の表示法 卅: 測定極めて容易, 卅: 測定容易, +: 測定に難があるが可能, ○印は適当菌株を示す。

定量に適當な条件

酵母: $-\log T=0.6$ 程度の菌液を 1% 接種し 14 時間から 16 時間で測定するのが適當である(Inositol は菌濃度 0.6 を用いるとよい)。乳酸菌: 一般に $\log T=0.9$ からやや濃厚な菌液を 1% 接種し, 12 時間で測定する。

次の乳酸菌は明確な生育帯を得にくく培地組成, 寒天濃度にも考慮を要するが次の条件で行う。

Lact. casei: $-\log T=0.9$ 1% を接種 15 時間で測定 (寒天 0.5%)*Lact. fermenti*: " " " "*Str. faecalis*: $-\log T=0.65$ " " " "*Lact. leichmannii*: $-\log T=0.6$ " " " "

(2) 定量培地: 各々のビタミン, アミノ酸及び使用菌株について用いた定量培地は次に示した。

ビタミン又は
アミノ酸の種類

使用菌株

定 量 培 地

B 群ビタミン 酵 母 各 菌 株

Atkin 等の培地⁽⁸⁾及び Snell 等の改変培地⁽⁹⁾(第 1 報参照)

B 群ビタミン 乳 酸 菌 各 菌 株

Snell 等の改変培地⁽¹⁰⁾(第 1 報参照)リボフラビン *Lact. casei*Snell 等の培地⁽¹¹⁾(Difco 製)葉 酸 *Lact. casei*, *Str. faecalis*Capps 等の培地⁽¹²⁾(Difco 製)ビタミン B₁₂ *Lact. leichmannii*

U.S.P. XV & XIV 記載の培地(日産水研製)

ア ミ ノ 酸 乳 酸 菌 各 菌 株

田村等の培地⁽¹³⁾* アラニンの定量にはこの培地に更に *Citrovorum factor* 源として Liver fraction L (G.B.I. 製) を 500 γ/ml 添加した。(3) 接種菌液: 接種菌液は第 1 報に記載したと同様にして調製した。但し, *Lact. leichmannii*, *Lact. casei*, *Str. faecalis* はビタミン B₁₂ 定量用前培養培地(日産水研製)に培養して調製した。接種菌液の濃度は比色計により $-\log T=0.6\sim0.9$ の heavy inoculum を使用した。

第2表 Pulp disc 法における定量範囲と生育帯の様相 (アミノ酸)

アミノ酸の種類	使用菌株	生育帯の様子	測定 難易	菌 濃 度	培養 時間	定 量 範 囲	
						Pulp disc 法 (γ/ml)	Tube 法 (γ/ml)
DL-α-アラニン	<i>Lact. citrovorum</i>	周縁やや不鮮明である	++	0.9	12	100~1000	0~20
L-アルギニン	<i>Leuc. mesenteroides</i>	周縁鮮明で測定容易である	+++	0.9	12	50~5000	0~15
DL-アスパラギン酸	"	高濃度標準液の生育帯に dike 生ず。測定容易である	+++	0.9	12	50~5000	0~25
L-シスチン	"	"	+++	0.9	12	25~2500	0~1
L-グルタミン酸	<i>Lact. arabinosus</i>	生育帯稀薄で dike 生ず、 測定容易である	+++	0.9	12	50~5000	0~30
"	<i>Leuc. mesenteroides</i>	生育帯比較的鮮明で測定 容易である	+++	0.9	12	50~5000	0~30
グリシン	"	生育帯は拡大し、周縁不明 確である	+	0.9	12	25~2500	0.5~10
L-ヒスチジン	"	生育帯稀薄で拡大するが測 定可能である	++	0.9	12	50~5000	0~10
DL-イソロイシン	<i>Lact. arabinosus</i>	周縁やや不鮮明であるが測 定可能である	++	0.9	12	50~5000	1~20
L-ロイシン	"	生育帯拡大の傾向あり、測 定可能である	++	0.9	12	50~5000	0~20
L-リジン	<i>Leuc. mesenteroides</i>	生育帯鮮明で dike 生ず、 測定容易である	+++	0.9	12	50~5000	0~15
DL-メチオニン	"	生育帯に dike 生じ、測定 容易である	+++	0.9	12	25~2500	0~10
DL-フェニルアラニン	<i>Lact. arabinosus</i>	周縁は鮮明で測定容易である	+++	0.9	12	50~5000	0.5~10
L-プロリン	<i>Leuc. mesenteroides</i>	生育帯拡大し、測定困難で ある	+	0.9	12	50~5000	2~12.5
DL-セリン	"	周縁拡大し稀薄となつて測 定に難あり	++	0.9	12	50~5000	1~12.5
DL-スレオニン	"	周縁拡大の傾向があつて測 定困難である	++	0.9	12	50~5000	3~15
DL-トリプトファン	<i>Lact. arabinosus</i>	高濃度標準液で生育帯拡大 の傾向がある。測定容易	+++	0.9	12	25~2500	0~5
L-チロシン	"	生育帯鮮明で測定容易で ある	+++	0.9	12	25~2500	0~7.5
DL-バリン	"	拡大の傾向があつて周縁部 が稀薄になる	+	0.9	12	50~5000	0~35

備考 測定難易の表示法 ++: 測定極めて容易, ++: 測定容易, +: 測定は難があるが可能である

定量に適当な条件は測定容易なアミノ酸はこの表の条件によるが、測定の難しいアミノ酸については更に条件を検討する必要がある。

定量操作その他は第1報で設定した条件に基づいて行い、最も明確な生育帯の認められる時間(12~14時間)で測定を行った。

実験成績並びに考察

I. 定量範囲: 11種類のビタミン並びに18種類のアミノ酸について試験管法で用いられている定量菌株を用いて Pulp disc 法を試みて標準曲線を求め定量範囲を検討した。第1報の定量条件で得られた標準曲線は第1図にビタミン、第2図にアミノ酸の場合を示したが、パラアミノ安息香酸の場合以外はいずれも生育帯が得られ、それらの生育帯の直径から図の様な直線関係が得られた。図の横軸は第1報の場合と同様に各ビタミン又はアミノ酸の濃度の対数を示している。各々のビタミン又はアミノ酸によって生成される生育帯の直径の大きさと濃度との関係は定量する物質の拡散速度と菌株の生育速度との関係に基づいて決まると見られるが、図に明らかな様に定量菌株によって異なってくる。又、夫々のビタミン及びアミノ酸について本法の定量範囲を一括して第1表及び第2表に示し、試験管法による定量範囲を併記しておいた。両者の方法における定量範囲を比較すると、本法ではいずれも最少有効濃度が高くなるが、定量範囲は著しく広がる。前報でもあげた様に場合によっては稀釈を要せず定量できるので有利な場合が多いと考えられる。いづれも定量範囲は直線関係になる範囲を示したが接種量や寒天濃度等の条件によっては若干移動するし、直線の勾配も異なる場合もある。しかしここに示した範囲外の濃度における生育帯直径と定量物質濃度との関係は求めなかった。ペニシリンのカップ法では極めて広範囲に亘って観察すると阻止帯と濃度の関係がS字状になることが言われ、ペニシリン検定にはS字状曲線の実験改良式を求めて定量値の算定を行うことも提出されている。本法の場合にも広範囲に亘って検討すればこの様な関係が見られるかもしれないが、図に示した範囲では直線関係と見做されるので実際には直線として定量に適用して差支えないと考えられる。

II. 生育帯の形状: Pulp disc 法で定量を行う際、生育帯の直径を測定するのに、生育帯の様相、特に生育帯の周縁の境界線が明確に判別できることが望まれる。Pulp disc の周縁に生ずる生育帯の様相については第1報

第 1 図 ビタミンの標準曲線

(1)~(6) チアミン・HCl, (7) リボフラビン, (8) (9) ビリドキシン・HCl, (10)~(12) ニコチン酸, (13)~(16) Ca-パントテン酸, (17)~(22) ビオチン, (23)~(24) 葉酸, (25) イノシット・2H₂O, (26) コリン・クロライド, (27) ビタミン B₁₂
 17-1: チアミン要求酵母 17-1, 12-2: チアミン要求酵母 12-2, 2-2: コリン要求酵母 2-2, Se: *Sacch. cerevisiae*, Sa: *Sacch. carlsbergensis*, F: *Lact. fermenti*, C: *Lact. casei*, A: *Lact. arabinosus*, M: *Leuc. mesenteriodes*, S: *Str. faecalis*, L: *Lact. leichmannii*

でも触れたが、定量菌株の種類、接種菌濃度、培養時間のみならず定量するビタミン又はアミノ酸の種類及び濃度によっても、更にまた、定量培地の組成並びに使用する寒天の濃度によっても変化する。ここでは前項で述べた様に同一の条件の下で、種々のビタミンやアミノ酸について生育帯の生成と標準曲線を求め定量範囲の検討を行ったが、生育帯の測定には個々の場合についてみると難易が認められた。その各々の場合の生育帯の様相については第 1 表及び第 2 表に示したが、測定に難点のあるものについては更に適当な条件を求めるべく検討を行った。これらの生育帯については個々のビタミン又はアミノ酸の種類によってその働き方並びに拡散の仕方と用いた菌株の生育の仕方の相互の關係から

第2図 アミノ酸の標準曲線

(1) DL- α -アラニン, (2) L-アルギニン $\cdot$ HCl, (3) DL-アスパラギン酸, (4) L-シスチン, (5) L-グルタミン酸, (6) グリシン, (7) L-ヒスチジン $\cdot$ HCl $\cdot$ 2H $_2$ O, (8) DL-イソロイシン, (9) L-ロイシン, (10) L-リジン $\cdot$ HCl, (11) DL-メチオニン, (12) DL-フェニルアラニン, (13) L-プロリン, (14) DL-セリン, (15) DL-スレオニン, (16) DL-トリプトファン, (17) L-チロシン, (18) DL-バリン, (19) L-グルタミン酸
C: *Leuc. citrovorum*, A: *Lact. arabinosus*, M: *Leuc. mesenteroides*

についても生育帯が平板上に平面状になって全面に均一に発展するものと平板上に盛り上った感じの生育帯を生ずるものがあり、生育帯が均一な場合にも粗なるものと密なるものがあるが、菌濃度や培地組成等によっても影響を受け、周縁を明確にするには個々の条件について更に適当な条件を求めなければならない。又乳酸菌においても、その嫌気性の程度や生育の仕方によって寒天内部全面に比較的濃厚に生育して明確な生育帯を生ずるもの(*Lact. arabinosus*, *Leuc. mesenteroides*)と寒天内部に曇ったように稀薄な生育帯を生ずる傾向のもの(*Lact. fermenti*, *Lact. casei*, *Str. faecalis*, *Lact. leichmannii*)とがある。しかし、同一菌株でもここにあげた諸要因を適当に調整することによって生育帯の様子は変ってくる。嫌気性の高い菌で生育帯の濃厚にならない様なものは培養条件を嫌気性に行き行く様なことも今後検討して見たい。

(2) 接種菌濃度： 夫々の菌株によって程度の差はあるが明確な生育帯を得る為に適当な接種菌濃度を用いる必要があって、定量するビタミン及びアミノ酸の拡散と菌の生育との調整を計って適当な濃度を決定する必要

生育帯の様子に夫々特徴が出て、測定にも難易の差が生ずるものと考えられる。これらの関係にあずかる要因は互に関連しあっているが若干の検討を加えてみると次のものが指摘される。

(1) 定量菌株： 本報では個々のビタミン又はアミノ酸について入手し得る範囲で種々の定量菌株を供試してみたが、菌株によってその性質から当然に生育帯の様子は異なってくる。数種の菌株を供試した場合にはその生育帯の様子と取扱いを考慮して Pulp disc 法に適用して扱いやすいものには第 1 表に印を施した。無論、酵母と乳酸菌では生育帯の様子は異なるが、酵母では寒天平板の表面に生育帯が得られ、乳酸菌の場合にはその性質からむしろ寒天平板の内部に生育帯を生ずる。同じ酵母に

があるし、それに伴って測定に適当な培養時間も決ってくる。第 1 表及び第 2 表に各々の場合について適当な菌濃度と培養時間を記載しておいたが、この菌濃度と培養時間は明確な生育帯を得るために最も注意すべき条件である。接種菌濃度を加減することによって他の条件の影響を相当程度迄調整することができる。前報でも触れた様に本法では試験管法に比べて著しく高濃度の接種菌液を用いることになり、濃度が稀薄に過ぎると生育帯が二重になって dike が生じたり、明確な生育帯が得られない。又、菌濃度を適当に調整することによって、生育帯の発現時間を短縮し迅速に定量する事も可能である (後報)。又菌濃度を高めると定量の最少有効濃度が高くなり、定量範囲が若干移動する。

(3) ビタミン又はアミノ酸の種類：菌の種類のみでなく定量すべきビタミン又はアミノ酸の種類によっても生育帯の様子、直径の大きさも異ってくる。これはその栄養素の拡散やその機能によって変化が現われるもので、菌株の選択と菌濃度によって調整することができるが、寒天濃度によっても明確度が異なる程に著しく影響をうけるものもあって (*Lact. casei*, *Str. faecalis*, *Lact. fermenti*, *Lact. leichmannii*)、寒天濃度を考慮することによって、より明確な生育帯が得られる場合がある。又、定量範囲内でビタミン又はアミノ酸の濃度によって生育帯の様相に相違が見られる場合もあるが、この場合には菌濃度によって調整することができる (この場合標準曲線には影響がない)。

(4) 定量用培地の組成：酵母については定量用培地の組成を、第 1 報で用いた Snell の改変培地⁽⁹⁾と、Atkin の培地⁽⁹⁾の両者を用いて検討した。生育帯の大きさと標準液濃度の関係も若干異なるが、Atkin の培地を用いた場合にはより明確な生育帯が得られた。乳酸菌については培地組成については検討してみなかったが、培地を改変することによって、より明確な生育帯を得ることができることは十分予測される。

(5) 培養時間：以上あげた諸要因は最も影響の大きいものであるが、一般に生育帯の発現時間は接種菌濃度を高くすると短縮され、測定に適当な培養時間も早くなる (第 1 表及び第 2 表に示した様に 12~15 時間である)。培養時間が延びると生育帯の周縁が拡大して不鮮明になって測定が困難になる。殊にこの傾向は酵母において著しいので注意を要する。その他の条件、例えば前培養法の相違や、Pulp disc を載せる際の操作上の相違や、incubate 迄の時間等については特に検討しなかったが、これらも一定の条件で行う様にする。以上の様な諸要因については定量するビタミン又はアミノ酸についてさらに詳細に検討しなければならないが、第 1, 2 表に一応適当な条件を記載し併せて特に注意すべき事項を記載した。尚、菌株の選択に当っては定量するビタミン又はアミノ酸について明確な生育帯が容易に得られる様な菌株を選ぶことが望ましい。定量の目的によってはその菌株の栄養要求の特異性を考慮して選択しなければならない。例えば、ピリドキシンについては *Sacch. carlsbergensis* を用いれば B₆ 群全体を測定することになるが、ピリドキサールのみを測定する場合には *Lact. casei* を選ばねばならない。又ニコチン酸のみを測定する目的には *Leuc. mesenteroides* を用いなければならない様にその取扱いは

第 3 図 生育帯の測定台

総

括

試験管法と同じである。又、定量に当って明確な生育帯が得られないものについては培養条件を考慮するとか、人工変異による栄養変異株を作成する方法等によって Pulp disc 法に適した栄養要求株を求め、定量をより簡便にしたいと考えている。又、同様にして核酸その他の定量も可能と考える。尚、生育帯の測定に当っては斜方向から光線をあてて透視すると生育帯を明確に認める事ができるので第 3 図の様な測定台を作成して測定している。

ビタミン 11 種及びアミノ酸 18 種について主として従来試験管法に用いられている定量菌株数種を用いて標準曲線の作成を試み、パラアミノ安息香酸以外のものについて、測定に難易があるが各々標準曲線を得た。生成する生育帯の明確度に差異のある点から、これに影響を及ぼす諸要因について考察を加え、各々の適当条件を記載した。

本研究について終始御指導並びに御鞭撻を戴いた植村定治郎教授, 菌株の分与に御便宜を戴いた三共製薬研究
室の宮沢氏, 並びに食研の杉村氏に感謝する。又, 種々御援助を戴いた日本皮革株式会社社長伊藤勇二氏並びに
日本皮革研究所の諸氏に深謝の意を表する。

尚, 本報告の一部は昭和 32 年 4 月, 日本農芸化学会大会で講演した。

(1) 小嶋尚夫, 松谷 豊, 男沢熙子, 今野 周,
植村定治郎: 本誌, 32, 33 (1958).	C. N. Frey: <i>Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.</i> , 15, 141 (1943).
(2) 小嶋尚夫, 松谷 豊: 本誌, 32, 38 (1958).	(9) 佐藤正弘, 山田一弥, 植村定治郎: 本誌,
30, 492 (1956).
(3) A. Jones, S. Morris: <i>Analyst</i> , 79, 586
(1954).	(10) E. E. Snell, J. L. Wright: <i>J. Biol. Chem.</i> ,
139, 675 (1941).
(4) J. S. Simpson, D. F. Harris: <i>ibid.</i> , 82,
210 (1957).	(11) E. E. Snell, F. M. Strong: <i>Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.</i> , 11, 346 (1936).
(5) 牛場大蔵, 金城清勝, 徐 毓芝, 吉岡守正:
バイオアッセイ集談会誌, 2, 3 (1955).	(12) Capps, Hobbs, Fox: <i>J. Bact.</i> , 55, 869
(1948).
(6) 佐藤正弘, 斎藤恭子等: 本誌, 31, 675 (1957).	(13) 田村学造, 角田俊直, 桐村二郎, 宮沢 滋:
本誌, 31, 738 (1957).
(7) 男沢熙子, 小嶋尚夫, 植村定治郎: 本誌,
31, 738 (1957).	
(8) L. Atkin, W. L. Williams, A. S. Schultz,	

Pulp disc 法によるビタミン及びアミノ酸の微生物定量法 (第 4 報)*

数種のアミノ酸の定量について

松谷 豊, 小嶋 尚夫 (東北大学農学部)

昭和 32 年 6 月 21 日 受 理

緒 言

さきに B 群ビタミン類の定量に Pulp disc 法が充分適用され得ることを認め, これを報告したが^(1,2), 更に第 3 報⁽³⁾において, その他のビタミン及びアミノ酸への適用を試み, 本法によってアミノ酸類が定量可能なる事を認め, 種々の条件について考察を加えた。

本報ではその中, リジン, メチオニン, グルタミン酸, フェニールアラニンについて定量を行って本法の条件と分析結果の検討を行った。その結果, この場合には十分に満足すべき成績を得, 試験管法に比べて操作の簡易な点から Routine Work に適当することを認めたので報告する。

尚, Lees 等^(4,5)及び Simpson 等⁽⁶⁾は Plate 法における要因分析を行い, 定量誤差の少いことを認め, tube 法に勝っていることを報じている。

実 験 方 法

(1) 定量アミノ酸と使用菌株: 第 3 報に供試したアミノ酸の中, リジン, メチオニン, グルタミン酸, フェニールアラニンの 4 種を次に示す菌株を用いて定量した。

アミノ酸の種類
L-リジン, DL-メチオニン
L-グルタミン酸, DL-フェニールアラニン

使用菌株
Leuc. mesenteroides
Lact. arabinosus 17-5

使用菌株の保存は第 1 報の記載と同様に行った。

(2) 定量培地は第 3 報に記載した培地を用いた。

(3) 接種菌液の調製は第 3 報と同様にして行い, 特に記載のない場合は $-\log T=0.9$ を示す heavy inoculum を用いた。その他定量操作法等は第 1 報で述べた様にして行い, 第 3 報記載の条件について検討を行った。

* Studies on the Microbiological Assay of Vitamins and Amino Acids by the Pulp Disc Method. Part. IV. On the Assay of Several Amino Acids.

By Yutaka MATSUYA and Hisao KOJIMA (Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, Tôhoku University).