本報告の要旨は 1957 年の日本農芸化学会大会に於て講演した。

(1) P. Karrer, E. Jucker : Carotenoids (1950).	170, 104 (1952).
(2) T. W. Goodwin : The Comparative Biochemistry of the Carotenoids (1952).	(9) T. W. Goodwin : <i>Biochem. J.</i> , 50, 550 (1952).
(3) T. W. Goodwin : <i>Biochem. J.</i> , 58, 90 (1954).	(10) T. W. Goodwin, M. Jamikorn, J. S. Willmer : <i>Biochem. J.</i> , 53, 531 (1953).
(4) T. W. Goodwin : <i>Biochem. J.</i> , 50, 550 (1952).	(11) G. Mackinney : <i>Ann. Rev. Biochem.</i> , 21, 473 (1952); J. A. Jenius, G. Mackinney : <i>Genetics</i> , 38, 107 (1953).
(5) L. Zechmeister : Carotenoides (1932).	(12) M. Zaloker : <i>Arch. Biochem. Biophys.</i> , 50, 71 (1954).
(6) J. W. Potter, K. E. Lincoln : <i>Arch. Biochem.</i> , 27, 390 (1950).	(13) E. A. Shneour, I. Zabin : <i>J. Biol. Chem.</i> , 226, 861 (1957).
(7) G. Turian : <i>Helv. Chim. Acta</i> , 33, 1988 (1950).	
(8) T. W. Goodwin, M. Jamikorn : <i>Nature</i> ,	

Rhodotorula 属菌種のカロチン生成に就いて (第 4 報)*

Rhodotorula 属 Rh-100 株のカロチン生成とステロール生成との関連性

中 川 昌 平, 辰 巳 忠 次 (大阪府立大学農学部農芸化学科)

昭和 34 年 9 月 5 日 受 理

最近バリン, ロイシンのような分枝アミノ酸やステロイド, ゴムのようなイソプレン重合体の生合成に関する研究が多く行われているが, これらのものは何れも醋酸からアセト醋酸を経て生成される C_5 の分枝脂肪酸が骨格となって合成されると考えられている⁽¹⁻⁵⁾. Goodwin 等は *Phycomyces* sp. のカロチノイド生成に対するバリン, ロイシンの影響をグルコース 1% の培養液で検討した結果, これらの脱アミノ化合物が大きな促進効果のあることを認め, 更に醋酸, アセトン, ピルビン酸および中間体と考えられる多くの C_5 , C_6 化合物に就いて同様な実験を行った結果大部分のものは毒性があって促進効果がなかったが, ただ β -methylcrotonaldehyde は低濃度で促進効果があったと報告している⁽⁷⁾. 他方で Grob 等⁽⁸⁾は *Phycomyces* sp. を用い $CH_3C^{14}OOH$, $C^{14}H_3COOH$ を炭素源とした場合生成されたカロチンでその炭素骨格の約 50% が C^{14} であったと報告している. Skegger 等⁽²¹⁾により *Lactobacillus acidophilus* の醋酸代替因子として発見された mevalonic acid がその後 Tavormina 等⁽¹³⁾によりコレステロールの生合成に醋酸, β -methyl-crotonate 又は β -hydroxy- β -methyl-glutarate (HMG) よりも相当有効に利用されることが見出され, 又 *Phycomyces* sp. でのカロチン生合成⁽¹⁴⁾にも同様に効果的に利用されることが見出されたので mevalonic acid のイソプレン単位としての重要性が顕著になってきた. そして現在醋酸, ロイシンからのイソプレノイド化合物の生合成機作は次の如く考えられている⁽²²⁾.

これらの研究報告からもカロチンはステロイド, ゴムと同様な中間体をへて生成されるであろうことが推測される。

筆者はグルコース 4% 基本培養液を用い *Rhodotorula* 属菌種 Rh-100 の β -カロチン生成に対する窒素源の影響に就いての実験に於てバリン, ロイシンの促進効果が認められなかったことは既に第 1 報⁽¹⁹⁾で報告した. 然し Goodwin はグルコースの濃度の高い場合にはバリン, ロイシンの促進効果がマスクされると述べているので, 筆者はグルコースの低濃度で同様に実験を行ったところ, 窒素源がアスパラギンの場合に比しバリン, ロイシンは約 2 倍の促進効果を示すことを認めた.

Diphenylamine (DPA) は各種微生物の色素生成を阻害するが, Rh-100 のカロチン生成に対してもかなり阻害作用を示した. 然し Rh-100 に於ては他の微生物に於ける DPA 阻害の結果見られるが如き飽和のカロチンの

* Studies on the Carotenogenesis of *Rhodotorula* sp. Part IV. The Relation between Carotene Synthesis and Sterol Synthesis by *Rhodotorula* sp. Rh-100 Strain.

By Masahira NAKAGAWA and Chuji TATSUMI (Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, University of Osaka Prefecture)

蓄積は認められず、この菌より見出される最も飽和度の高いカロチン、即ち β -カロチンが僅かに増加するに止まった。これらの事実からカロチノイドもまたステロイド、ゴムと同様の中間体から生成されるのではないかと想定し、*Rh-100* のカロチン生成に於ける DPA 阻害を行った場合のステロールの蓄積ならびに kojic acid のような β -カロチン生成を促進する物質を添加した場合のステロールの蓄積をそれぞれ検討することによって、カロチンとステロールとの生合成の関連性の有無を知らんとして本実験を行った。

実験および結果

Rh-100 の培養方法は第1報⁽¹⁹⁾に於て述べた如くである。窒素源の影響を検討するため、基本培養液のアスパラギン 0.2% (窒素量 0.0374) の窒素量の2倍を含有する D,L-バリンまたはアスパラギン+D,L-バリン (単独添加量の 1/2) を使用した。カロチンの定量は窒素源の影響に就いての実験に於ては α -, β -カロチンの総量を以てし、その他の実験に於ては第3報⁽²⁰⁾に述べた方法により分離定量した。

ステロールの分離 *Rh-100* の生成するステロールを確認するため基本培養液で培養した菌体約 20 g より油脂 10 g をえ、これより Windaus, Grosskopf⁽⁹⁾ の方法によって分離精製し、m. p. 161° の結晶をえ、これを Eastman Kodak Co. のエルゴステロールの再結晶したものとの混融試験を行い融点降下を認めず、また両結晶をクロロホルムに溶解して紫外部に於ける吸収スペクトルを比較したものは第1図である。従って *Rh-100* によって主として生成されるステロールは、エルゴステロールであることを確認した。

エルゴステロールの定量 Stoadt 等⁽¹⁰⁾の方法に従って Liebermann-Burchard 反応を利用して、その吸収極大のある 420, 670 m μ に於ける吸光度から純粋なエルゴステロールに就いて標準直線を作成し、これを用いて *Rh-100* によって生成されるステロールをエルゴステロールとして定量した。

1. カロチンおよびステロール生成に対するバリンの効果とグルコース濃度との関係: Garton 等⁽¹¹⁾は *Phycomyces* sp. の β -カロチン生成に対する種々の窒素源の影響をグルコース 3% 培養液によって検討した結果、グリシン以外のアミノ酸は殆んど効果がなかったと報告しているが、その後 Goodwin 等⁽⁷⁾ はグルコースの濃度の高い場合にはバリン、ロイシンのようなカロチン生成の中間体となり得る炭素骨格をもつアミノ酸の促進効果がマスクされる可能性

第1図 *Rh-100* のエルゴステロールの吸収スペクトル
——市販再結エルゴステロール
----*Rh-100* //

第2図 *Rh-100* のカロチン、エルゴステロール生成に対するバリンの効果とグルコース濃度との関係

○—○	D, L-バリン	} 菌体収量
●—●	アスパラギン	
○—●	D, L-バリン+アスパラギン	
○—○	上に同じ	} カロチン
●—●	上に同じ	
○—○	上に同じ	} エルゴ・ステロール
●—●	上に同じ	

があると考え、グルコースの濃度を 1% にして実験を行ったところ、明らかに促進効果を認めることができたこと報告している。そこで筆者は *Rh-100* を用いグルコース 1~5% の培養液に於て窒素源としてのバリン、アスパラギン、バリン+アスパラギン（窒素量を一定とする）の効果を検索せんとして菌体収量、カロチン含量、エルゴステロール含量を測定した。その結果を第 2 図に示す。

窒素源がバリンの場合菌体収量は他の 2 者に比して幾分低いが、カロチンの生成はアスパラギンに比し約 2 倍であることがグルコース濃度 1~2% に於て認められた。バリン+アスパラギンの場合もグルコース濃度 1% に於てカロチン生成が約 2 倍に増加した。エルゴステロールの生成に就いてもバリンがやはりグルコースの低濃度に於て相当促進効果のあることを見出しえた。そしてその生成曲線はカロチンの生成曲線に類似している。このようなことから *Rh-100* に就いても *Phycomyces* sp. でえられた結果と同様に、高いグルコース濃度の場合にはバリンのカロチン生成に対する促進効果がマスクされるのであると思われ、低いグルコース濃度の場合には促進効果はバリンの脱アミノされた炭素骨格が一部カロチン、ステロール生成の中間体となることが推察される。

2. DPA 阻害に就いて：第 3 報⁽²⁰⁾に於て述べた如く DPA 阻害を行った場合、*Rh-100* によって生成される最も飽和度の高いカロチンは ζ -カロチンである。そして DPA 阻害による不飽和のカロチン (β -カロチン) の減少量に対し ζ -カロチンの量は相対的に増加しなかった。それゆえカロチンと同一の中間体から生成されると思われエルゴステロールが squalene に水素添加して生成されと考えられていることから、 β -カロチン生成を阻害する DPA はエルゴステロールの生成にもまた大きく影響をおよぼすものと考えられるので、DPA 阻害を行った *Rh-100* に就いてカロチン、エルゴステロールを測定した。その結果を第 1 表に示す。

グルコース、グリセリンいずれの炭素源に於ても DPA の濃度の増加と共に菌の生育、カロチンおよび油脂の生成は減少した。然るにエルゴステロールの生成のみが増加した。特にグルコースの炭素源に於ては DPA $1/6.5 \times 10^4$ w/v 濃度、グリセリンの炭素源に於ては DPA $1/8 \times 10^4$ w/v 濃度に就いて観察するに、生育阻害が比較的現われていないにもかかわらずこの傾向が明かに示されている。そしてそれ以上の DPA 濃度ではカロチン生成阻害の他に生育阻害が著しくなることから DPA は *Rh-100* に対しその増殖、呼吸等に関与する脱水素酵素にも阻害作用があると思われ。

3. Kojic acid の促進効果に就いて： β -カロチン生成に対する phenol の影響に就いては Turian が *Mycobacterium* sp. を用いて阻害のあることを認めているので、筆者は 2, 3 のフェノール化合物に就いて追試したが、就中第 2 報⁽²⁵⁾にて述べた如くフェノール性 OH を有する kojic acid は阻害作用よりもむしろ促進作用のあることを見出した。即ち適当な kojic acid の濃度に於ては *Rh-100* の殆んど総てのカロチン生成を促進した。これに反してエルゴステロールは kojic acid の濃度の増加と共に減少する傾向が認められた。この実験結果は

第 1 表 *Rh-100* の生育およびカロチン、ステロール、油脂生成に対する DPA の影響

炭素源	DPA 濃度 w/v	菌体収量 g/100cc	エルゴステロール mg/g	α -カロチン μ g/g	β -カロチン μ g/g	ζ -カロチン μ g/g	neurosporene μ g/g	油脂 g/100g
グルコース	$1/4.5 \times 10^4$	0.494	46.65	微量	1.69	3.64	微量	29.1
	$1/5.5 \times 10^4$	0.557	39.60	0.40	11.70	4.16	0.69	32.8
	$1/6.5 \times 10^4$	0.991	19.10	1.05	21.00	5.74	1.75	43.4
	$1/7.5 \times 10^4$	1.013	17.50	1.71	31.30	4.80	2.24	54.9
	対 照	1.073	14.68	4.90	35.94	1.31	1.40	53.9
グリセリン	$1/5 \times 10^4$	0.368	19.10	—	微量	微量	微量	23.2
	$1/6.5 \times 10^4$	0.557	19.52	—	1.05	1.86	微量	30.5
	$1/8 \times 10^4$	0.653	17.11	0.84	7.21	2.60	0.61	38.3
	$1/10 \times 10^4$	0.695	15.83	1.43	12.75	5.10	2.53	39.4
	対 照	0.759	15.80	3.06	15.70	1.79	0.90	39.3

第 2 表 *Rh-100* の生育およびカロチン、ステロール、油脂生成に対する kojic acid の効果

炭素源	kojic acid 濃度 w/v	菌体収量 g/100cc	エルゴステロール mg/g	α -カロチン μ g/g	β -カロチン μ g/g	ζ -カロチン μ g/g	neurosporene μ g/g	油脂 g/100g
グルコース	$1/1.25 \times 10^3$	0.785	11.3	8.92	39.00	2.67	1.85	37.6
	$1/2 \times 10^3$	0.904	13.0	7.75	43.00	2.40	1.53	44.4
	$1/5 \times 10^3$	0.910	17.0	6.85	31.40	2.08	1.39	41.4
	対 照	0.911	17.9	5.44	31.00	1.43	0.91	46.0
	$1/1.25 \times 10^3$	0.897	6.4	4.05	22.85	1.11	0.31	33.7
グリセリン	$1/2 \times 10^3$	0.842	7.9	5.36	20.81	1.07	0.38	37.9
	$1/5 \times 10^3$	0.843	8.4	3.61	21.20	1.28	0.48	38.9
	対 照	0.759	15.8	3.06	15.70	1.79	0.90	39.3

第 3 表 DPA, kojic acid を添加した場合の *Rh*-100 の生育およびカロチン, ステロール生成と培養時間との関係

添加物濃度 w/v	培養時間 hr	菌体収量 g/100cc	エルゴステロール mg/g	α -カロチン $\mu\text{g/g}$	β -カロチン $\mu\text{g/g}$	ζ -カロチン $\mu\text{g/g}$	neurosporene $\mu\text{g/g}$
DPA $1/5 \times 10^4$	24	0.124	52.30	—	8.15	微量	—
	48	0.144	41.17	—	2.17	4.00	微量
	72	0.348	39.83	微量	1.42	2.33	1.91
	96	0.538	38.15	微量	3.03	4.33	1.01
kojic acid $1/2 \times 10^3$	24	0.345	10.18	5.32	21.80	微量	1.01
	48	0.520	10.44	7.77	26.00	2.02	2.26
	72	0.630	11.42	8.00	38.65	2.45	2.33
	96	0.783	13.35	12.70	37.00	1.79	2.32
対 照	24	0.518	10.60	2.52	10.50	1.40	1.76
	48	0.815	10.85	2.78	15.72	2.40	1.90
	72	1.006	12.00	3.28	22.42	1.90	1.73
	96	1.124	17.95	6.07	32.87	2.53	2.04

第 4 表 DPA, kojic acid の添加時期と *Rh*-100 の生育およびカロチン, ステロール生成との関係

添加物濃度 w/v	添加時期 (培養開始 後の時間)	菌体収量 g/100cc	エルゴステロール mg/g	α -カロチン $\mu\text{g/g}$	β -カロチン $\mu\text{g/g}$	ζ -カロチン $\mu\text{g/g}$	neurosporene $\mu\text{g/g}$
DPA $1/4.5 \times 10^4$	0hr	0.337	43.58	—	—	1.04	—
	24	0.707	31.55	0.30	6.03	3.39	0.55
	48	0.816	27.40	0.46	8.34	3.12	0.65
	72	0.799	25.33	1.69	23.33	2.00	1.53
kojic acid $1/2 \times 10^3$	0	0.750	13.05	11.64	38.54	1.76	2.26
	24	0.710	13.65	9.17	41.81	2.11	2.05
	48	0.833	14.70	8.20	37.34	2.02	2.35
	72	0.910	15.80	8.40	37.46	1.52	1.61

対照は第 3 表による。

第 2 表に示す如くで, kojic acid は DPA とは全く逆の効果を示している。

4. DPA, kojic acid を添加した場合の生育およびカロチン, ステロール生成と培養時間との関係: DPA, kojic acid それぞれ最もよく作用効果を示す濃度でグルコース培養液を用い種々の培養時間に於ける *Rh*-100 の生育およびカロチン, エルゴステロール生成を検討した。その実験結果を第 3 表に示す。

菌の生育は DPA 添加に就いては対照に比し非常に悪く, kojic acid 添加に就いてはやや悪かった。エルゴステロールの生成は DPA 添加に就いては培養の初期に於て菌の生育, カロチンの生成共に非常に悪いにもかかわらず相当に多く, また何れの培養時間に於ても対照に比し非常に多かった。他方 kojic acid 添加に就いては培養の初期に於てエルゴステロールの生成は対照に比し大差は認められなかったが, 時間の経過と共に対照に比し減少して行くことが認められた。これに対しカロチンの生成は DPA 添加に於て 24 時間培養の場合が 48 時間培養の場合に比し多くなっているが, これは菌の生育が悪いためであって接種菌の影響が大きく出ているからである。そして時間の経過と共に対照に比しカロチン生成の非常に悪いことを示している。kojic acid 添加に於てはカロチンの生成をすみやかにし, 24 時間培養で α , β -カロチンが既に対照に比し約 2 倍生成され, また時間の経過と共に生成を増加し, 特に α -カロチンの増加が著しかった。

5. DPA, kojic acid の添加時期と生育およびカロチン, ステロイド生成との関係: 筆者はこれまでの実験では菌の生育と並行して生成物の検討を行ってきたのであるが, *Rh*-100 のカロチン生成に対する DPA 阻害は DPA が菌の生育を大きく阻害するため, 他の実験との差異を比較する場合菌体収量の点で常に障害を伴ってきた。それゆえある程度菌の生育した後 DPA を添加してこの障害を除かんとした。即ち培養開始後 24 時, 48 時, 72 時に於て DPA を添加して 96 時間培養を行い菌体収量, エルゴステロール, カロチンを測定した。また kojic acid に就いても同様な実験を行った。これらの実験結果を第 4 表に示す。

24 時間培養に於て DPA を添加した場合, 菌体収量はほぼ対照ならびに kojic acid 添加の場合と同程度であって, それより後の時期に於て添加した場合も同様な傾向を示した。これらの DPA 添加時期によるエルゴステロール, カロチン生成は培養開始時に添加した場合と比してそれぞれ多少増加, 減少が見られたが, エルゴステロール, カロチン生成の傾向は第 3 表に示された実験結果と全く同様であった。これらのことから DPA は菌の生育程度に関係なくカロチン生成を阻害し, エルゴステロール生成を促進することが認められた。同様な実験によって kojic acid は DPA とは全く逆な作用を示すことが認められた。

考 察

醋酸がカロチノイド生合成の出発物質であることは Grob 等⁽⁸⁾の研究で明らかな如く、これらが結合して C_6 , C_8 の分枝脂肪酸になると考えられている。これらの合成中間体はカロチンと同じイソプレン重合体であるステロイド, ゴムに就いても多く研究され, 最近 mevalonic acid がコレステロールの前駆物質としての可能性の大きくなることが考えられている⁽¹³⁾。カロチンに就いては Mackinney 等⁽²⁴⁾は *Phycomyces* sp. によって HMG, mevalonic acid を用いその前駆体に就いての実験を行い, HMG はカロチン生合成を著しく促進したが mevalonic acid は効果が少なかったという報告をしているが, Goodwin^(14,23) の *Phycomyces* sp. による実験で mevalonic acid がカロチン生成を増加させるロイシンと同程度の効果があったと報告している。このような化合物が脱炭酸されて C_5 のイソプレン単位となり, これが 6 個結合した triterpene が squalene であり, 8 個結合した tetraterpene が β -カロチンの前駆物質であると想定される。この 8 個結合した化合物は単離されていなかったが, 最近 Rabourn 等⁽¹⁵⁾の phytoene に就いての詳細な構造の研究から tetraterpene の中央の位置が 2 重結合された構造を有するものが phytoene であることを確認した。このことから Nash 等⁽¹⁶⁾の構造決定した ξ -カロチンと異性体であることになり, phytofluene も同様で 2 重結合の位置の異なる異性体であることになる。

筆者の実験に於てパリンがグルコースの低濃度でカロチン, エルゴステロール生成を相当増加に導くことは, *Rh-100* のカロチン, ステロール生成が同一の前駆物質から合成されることを示唆し, *Rh-100* のカロチン生成を DPA によって阻害した場合, ξ -カロチンのような β -カロチンに比してより飽和されたカロチンの蓄積の少いということは DPA がこの段階より前の段階にて阻害することは確かである。又 kojic acid のカロチン生成に対する促進作用に就いては α -, β -カロチンの如きより不飽和なカロチンの増加に導くような傾向を示したので, これも ξ -カロチンより前の段階で促進的な作用を示すものと思われる。

筆者は上述のような結果からカロチンと同一の中間体から他のイソプレノイド化合物が合成されと考え, その 1 つの対照として triterpene が加水素されて合成されるエルゴステロールに就いて DPA および kojic acid の影響を検討したのである。その結果は第 1, 3, 4 表に示された如く, DPA で β -カロチン合成を阻害した場合その培養条件の如何に関係なくエルゴステロールが増加することを見出した。又 kojic acid で逆に β -カロチン合成を促進した場合は第 2, 3, 4 表に示された如くエルゴステロールの合成は幾分減少することを見出した。カロチンとステロールの生合成に於てその中間体を異にするという Mackinney 等⁽²⁴⁾の提言もあるが, 筆者は *Rh-100* に就いては同一の中間体を経てそれぞれ合成されるのであると考える。

更に第 1, 2, 3 報^(19,20,25)および本報に互って *Rh-100* の β -カロチン生合成の実験結果から, Goodwin 等⁽¹⁷⁾の common precursor から並行的にカロチンが生合成されるという考え方より, Poter, Lincoln⁽¹⁸⁾の一連の合成系の経路をへて *Rh-100* のカロチンが生合成されるのであると考える。

要 約

Rhodotorula 属菌種 *Rh-100* を使用してグルコースの低濃度に於ては窒素源がパリン, パリン+アスパラギンの場合にはアスパラギンのみの場合に比し約 2 倍のカロチン, エルゴステロールを生成した。このことはカロチン, ステロールが同一の C_5 の脂肪酸から生成されることを想定させる。カロチン生成を阻害する diphenylamine はエルゴステロール生成を促進し, カロチン生成を促進する kojic acid はエルゴステロール生成を抑制した。このような傾向は菌の生育の程度に関係なく示された。

本報告の要旨は 1957 年の日本農芸化学会大会に於て講演した。

(1) S. Gurin : <i>Federation Proc.</i> , 14, 752 (1955).	mer : <i>ibid.</i> , 53, 208 (1953).
(2) H. Rudney, T. G. Farkas : <i>ibid.</i> , 14, 757 (1955).	(8) E. C. Grob, G. G. Proetti, A. von Muralt, W. H. Schopper : <i>Experientia</i> , 7, 218 (1951).
(3) J. L. Rabinowitz, F. Ditur, F. Cobey, S. Gurin : <i>ibid.</i> , 14, 760 (1955).	(9) A. Windaus, W. Grosskopf : <i>Z. Physiol. Chem.</i> , 124, 8 (1922).
(4) M. J. Coon : <i>ibid.</i> , 14, 762 (1955).	(10) T. H. Stoudt, J. W. Foster : <i>Applied Microbiol.</i> , 2, 385 (1954).
(5) J. Bonner : <i>ibid.</i> , 14, 765 (1955).	(11) G. A. Garton, T. W. Goodwin, W. Lijinsky : <i>Biochem. J.</i> , 48, 154 (1951).
(6) T. W. Goodwin, W. Lijinsky : <i>Biochem. J.</i> , 50, 268 (1951).	(12) G. Turian : <i>Helv. Chem. Acta.</i> , 34, 1060
(7) T. W. Goodwin, W. Lijinsky, J. S. Will-	

- (1951).
- (13) P. A. Tavormina, M. H. Gibbs, J. W. Huff : *J. Amer. Chem. Soc.*, 78, 4498 (1956).
- (14) G. D. Braithwaite, T. W. Goodwin : *Biochem. J.*, 66, 31 (1957).
- (15) W. J. Rabbourn, F. W. Quackenbush : *Arch. Biochem. Biophys.*, 61, 111 (1956).
- (16) H. A. Nash, F. W. Quackenbush, J. W. Porter : *J. Amer. Chem. Soc.*, 70, 3613 (1948).
- (17) T. W. Goodwin : *Biochem. J.*, 50, 550 (1952).
- (18) J. W. Porter, K. E. Lincoln : *Arch. Biochem.*, 27, 390 (1950).
- (19) 中川昌平, 辰巳忠次 : 本誌, 34, 195 (1960).
- (20) 中川昌平, 辰巳忠次 : 本誌, 34, 310 (1960).
- (21) H. R. Skegger, L. D. Wright, E. L. Cresson : *J. Bact.*, 72, 519 (1956).
- (22) E. E. Dekker, M. J. Schlesinger, M. J. Coon : *J. Biol. Chem.*, 233, 434 (1958).
- (23) G. D. Braithwaite, T. W. Goodwin : *Biochem. J.*, 67, 13 (1957).
- (24) C. O. Chichester, H. Yokoyama, T. O. M. Nakayama, A. Lukton, G. Mackinney : *J. Biol. Chem.*, 234, 598 (1959).
- (25) 中川昌平, 辰巳忠次 : 本誌, 34, 199 (1960).

肉類の貯蔵に関するポーラログラフ的研究 (第 7 報)*

ポリエチレン包装牛肉に及ぼす γ 線照射の影響 (その 2)

小原哲二郎, 小笠原八十吉 (東京教育大学農学部農業化学科)

昭和 34 年 9 月 14 日 受理

緒 言

第 6 報⁽¹⁾に於いて著者等は薄いポリエチレンで真空包装した場合の牛肉に及ぼす γ 線照射の影響に関する実験を行ない、牛肉の臭、色、Walkiewicz 反応、pH、水分量、水抽出液並びに食塩水抽出液中の蛋白量と γ 線照射量との間にはそれぞれ一定の傾向を示し、特に $259 \times 10^4 \text{ r}$ 附近の高線量に及べば有機酸、遊離アミノ酸類、特に遊離クレアチニン並びにクレアチンは著しく変化することを明らかにした。然しながら $259 \times 10^4 \text{ r}$ 以下のいずれの照射肉から得られた水並びに食塩水抽出液の場合にも、その蛋白波の波形や波高の変化は認められなかった。

以上の実験は照射牛肉を 0° に 6 日間放置後測定した結果であったが、著者等は更にそれらの同一照射肉を 20° , 57 日間貯蔵後の水抽出液並びに食塩水抽出液蛋白波の変化に関する実験を行ない、その波高や crossing point と γ 線照射量との関係についての比較検討を行った。以下その結果について報告する。

実 験 方 法

試料の調製及び照射方法、ポーラログラフ蛋白波の測定方法^(2,3)、Walkiewicz 反応⁽⁴⁾、pH⁽¹⁾、水分量並びに水抽出液及び食塩水抽出液中の蛋白量⁽⁵⁾の測定方法は第 6 報⁽¹⁾と全く同一に行った。

実験結果並びに考察

I. 照射牛肉貯蔵後の Walkiewicz 反応、pH、水分量並びに蛋白量の変化 照射牛肉を 20° で 57 日間貯蔵後の Walkiewicz 反応、pH、水分量並びに蛋白量の測定結果を示すと第 1 表の通りになる。これによれば

第 1 表 貯蔵* された照射牛肉の変化

		総照射線量 ($\times 10^4 \text{ r}$)				
		対照肉	70.3	111	185	259
Walkiewicz 反応	A 液 (1% HgCl_2)	++	++	++	++	++
	B 液 (1% HgCl_2 + 0.05% 酢酸)	++	++	++	++	++
pH		8.60	7.88	7.82	7.80	7.80
水分量 (牛肉中の%)		69.3	66.9	66.9	72.1	68.7
蛋白量	水抽出液 (牛肉中の%)	4.29	3.80	3.30	3.48	4.44
	食塩水抽出液 (牛肉中の%)	1.41	2.76	3.09	2.73	2.73

* 対照肉は 20° 貯蔵 43 日後、照射肉はいずれも 20° 貯蔵 57 日後の結果を示した。

$259 \times 10^4 \text{ r}$ 以下のいずれの照射肉の場合にも 7.80 附近の pH 値に達し、この値や Walkiewicz 反応から判断すればいずれの照射肉も腐敗していた。第 3 報⁽⁶⁾からも明らかな如く対照肉は貯蔵の進むにつれて腐敗が著しくなり、 20° 貯蔵 20 日後既に pH 7.8 に及び、 20° 貯蔵 43 日

* Polarographic Studies on Storage of Meats. Part VII. Influence of Gamma-Ray Irradiation on Beef in Polyethylene Bag. (2)

By Tetsujiro OBARA and Yasokichi OGASAWARA (Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, Tokyo University of Education)