[農化 第 36 卷, 第 2 号, p. 167~172, 1962]

青酸性状に関する研究 (第 3 報)*

青酸 4 量体の近縁化合物のポーラログラフ及び紫外分光分析について

小 野 田 潔 (日本特産株式会社)

昭和 36 年 7 月 13 日 受 理

緒 言

前報^(1,2)において青酸重合変質物中から抽出した $(\text{HCN})_4$ について, ポーラログラフ及び紫外分光分析による定量が可能となったことを報告した. この定量法の基礎となる $(\text{HCN})_4$ の分子構造については, 従来諸種の提案が行われてきたが未だ定説がなく, かつその提案に対し十分な証明が行われていなかった. 青酸の変質重合物は最初は総称してアツルミン酸と呼ばれていたが⁽³⁾, Bedel⁽⁴⁾ により 4 分子重合体であると考えられ, その構造はアミノマロンジニトリルの青酸塩であるとされた. 1928 年 Gryszkiewicz-Trochimowski⁽⁵⁾ はこのものは [I] ジアミノマレオジニトリルであると提案した. さらに 1937 年に至り Hinkel 等⁽⁶⁾ により [I] の構造は否定され, [II] アミノイミノサクシノジニトリルがもっとも確かな構造であると修正された.

著者は $(\text{HCN})_4$ のポーラログラフによる電解酸化還元波, 及び著しい紫外吸収から, 上述した諸説のうち, $(\text{HCN})_4$ の分子構造はその骨格に共役する 2 重結合 $>\text{C}=\text{C}<$ 結合を有するものが, もっともよく実験結果と一致することを知った.

よって $(\text{HCN})_4$ の推定構造は [II] ではなくて [I] であると推論し, これに近縁な各種化合物を選定し, これらの化合物と $(\text{HCN})_4$ のポーラログラム及び紫外吸収を比較検討することにより, この推論をさらに確認することができた.

実験方法及び実験結果

[1] ポーラログラフ法 提案された青酸重合体の分子構造はジカルボン酸のジニトリルにアミノ基またはイミノ基が附加したものであるから, $(\text{HCN})_4$ の近縁化合物としてまずマロン酸及びグルタミン酸アミドを選んだ. アミノ基またはイミノ基をもつ化合物としてはそれぞれグリコル, アルギニンを選んだ.

さらに分子構造の争点となった [I] 及び [II] の両構造については, 共役二重結合を行っている $>\text{C}=\text{C}<$ の有無について検討することとし, アスパラギン酸(アミノコハク酸), コハク酸, マレイン酸, フマル酸の 4 化合物について比較検討を行った.

最後にニトリル基を有する化合物として, シアノグアニジン, アセトニトリルを選定した.

ここに選定された 10 種類の化合物は, アミノ, イミノ基をもつ化合物, カルボン酸, ジカルボン酸, 4 炭素ジカルボン酸類, ニトリル類であって, 既往に提案された推定分子構造を検討するために必要な基を包含するものとする.

ポーラログラフ法による電解還元測定範囲は 0~ -2.0 V であって, 電解支持液の組成は主として N/10 KCl を使用したが, 必要な場合にあっては pH 1~10 の緩衝液⁽⁷⁾を用い, それぞれ対応する電解液中における $(\text{HCN})_4$ の電解酸化還元液と比較することとした.

実 験 結 果

a) 実験装置: 柳本製作所印画紙ポーラログラフ装置.

* Studies on the Chemical Properties of Hydrocyanic Acid. Part III. Polarographic and Ultraviolet-photometric Studies on Hydrocyanic Acid Tetramer and Related Compounds.

By Kiyoshi ONODA (Nippon Tokusan Co., Ltd.)

第1表 (HCN)₄ 及び近縁化合物のポーラログラフ

番号	化合物	構造式	融点 (分解点)	酸化, 還元波	$\pi_{1/2}$	電解液	温度	感度
No. 1	Glycocol	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{COOH} \\ \\ \text{H} \end{array}$	260° (decomp.)	還元波	なし	N/10 KCl	7.0°	
No. 2	Malonic acid	$\begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{H}_2\text{C} \\ \\ \text{COOH} \end{array}$	135° (decomp.)	還元波	なし	N/10 KCl	7.0°	
No. 3	Glutamic acid	$\begin{array}{c} \text{H} \text{ H} \text{ H} \\ \text{ } \text{ } \\ \text{HOOC}-\text{C}-\text{C}-\text{C}-\text{COOH} \\ \text{ } \text{ } \\ \text{H}_2\text{N} \text{ H} \text{ H} \end{array}$	249° (decomp.)	還元波	なし	N/10 KCl	7.0°	
No. 4	Arginine	$\begin{array}{c} \text{H} \text{ H} \text{ H} \text{ H} \text{ H} \\ \text{ } \text{ } \text{ } \text{ } \\ \text{HN}-\text{C}-\text{N}-\text{C}-\text{C}-\text{C}-\text{C}-\text{COOH} \\ \text{ } \text{ } \text{ } \text{ } \\ \text{H}_2\text{N} \text{ H} \text{ H} \text{ H} \text{ NH}_2 \end{array}$	207°	還元波	なし	N/10 KCl	7.0°	
No. 5	Cyano guanidine	$\begin{array}{c} \text{NH} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C} \\ \\ \text{NH-CN} \end{array}$	205~207°	酸化波 還元波	pH 10.0, -0.2 V なし	pH 3.0 ~10.0	7.0°	1/50
No. 6	Aspartic acid	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{COOH} \\ \\ \text{H}_2\text{C}-\text{COOH} \end{array}$	270°, 290° (decomp.)	還元波	なし	N/10 KCl	8.5°	
No. 7	Succinic acid	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{C}-\text{COOH} \\ \\ \text{H}_2\text{C}-\text{COOH} \end{array}$	185~187°	還元波	なし	N/10 KCl	8.5°	
No. 8	Maleic acid	$\begin{array}{c} \text{H}-\text{C}-\text{COOH} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{COOH} \end{array}$	130~131°	還元波	-1.01 V, -1.20 V	pH 6.0	7.0°	1/50
No. 9	Fumaric acid	$\begin{array}{c} \text{H}-\text{C}-\text{COOH} \\ \\ \text{HOOC}-\text{C}-\text{H} \end{array}$	300~302°	還元波	-1.09 V, -1.37 V	pH 6.0	7.0°	1/50
No. 10	Acetonitrile	CH ₃ CN	b. p. 82°	酸化波 還元波	pH 10.0, -0.2 V なし	pH 3.0 ~10.0	8.5°	1/50
No. 11	(HCN) ₄		178~179° (decomp.)	還元波 酸化波	pH 10.0, -1.24 V pH 10.0, -1.58 V	pH 6.0 ~10.0	8.0°	1/100

試料濃度 10⁻³ mole/l 測定電圧 0~-2.0 V実験条件： 前報^(1,2)と同一条件にて実験を行った。

b) 実験試料： 検体 No. 1~10 は市販試薬（純品）を使用し水溶液原液を作り，支持電解液を加えて 10⁻³ mole/l の濃度に調製した。検体 No. 11 は (HCN)₄ の無色針状結晶 m. p. 178~179° を用い同一方法にて 10⁻³ mole/l の濃度とした。

c) 実験結果： 第1表はポーラログラフ法による (HCN)₄ 及び近縁化合物の電解酸化還元の実験結果の一括

第1図 (HCN)₄ 及び近縁化合物のポーラログラム
 I. Cyano guanidine, pH 10 II. Aceto nitrile, pH 7
 III. Maleic acid, pH 7 IV. (HCN)₄, pH 10
 10⁻³ mole/l, S=1/50

表を示した。グリコロール，マロン酸，グルタミン酸，アルギニン還元波を与えなかった。シアノグアニジン，アセトニトリルは還元波を与えなかったが，pH 10 において-0.2~-0.3 V 附近に酸化波を与えた。アミノコハク酸及びコハク酸は還元波を与えなかったが，マレイン酸，フマル酸は還元波を与え，pH 6 においてそれぞれ -1.01 V 及び -1.20 V，-1.09 V 及び -1.37 V に2段波を示した。

(HCN)₄ は N/10 KCl 電解液中にあっては -1.57 V 附近に1段の還元波を与え，pH 10 において -1.24 V 及び -1.58 V 附近に2段の還元波を与えるほか，

-0.2~-0.3 V 附近に酸化波を与えた。

第 1 図に (HCN)₄ 及び近縁化合物の電解酸化還元波を図示した。

[2] 紫外分光分析法 前項ポーログラフ法において行った如く、従来の (HCN)₄ の推定構造に対し近縁化合物と考えられる物質を選定し、これらの化合物と (HCN)₄ の紫外吸収を比較検討することとした。選定された化合物は、前項中アルギニン、シアノグアニジン、アスパラギン酸を除き、代りにロイシン、シアンール酸を加えた。

青酸が重合閉環し複素環式 6 員環を作ることはよく知られている。この青酸 3 量体シアンール酸を自ら調製して用いた⁽⁸⁾。

実 験 方 法

a) 実験装置：Beckmann Quartz Spectrophotometer UC 型。

実験条件：前報⁽²⁾と同一条件にて行った。測定範囲 200~400 mμ, 1.0 cm 石英 cell を使用した。

b) 実験試料：検体試薬中市販品は純品を使用し、ペーパークロマトグラフにより純度を確めて実験に供した。(HCN)₄ は無色針状結晶 m. p. 178~179° を使用した。

c) 紫外吸収測定結果：第 2 表に (HCN)₄ 及び近縁化合物の紫外吸収を示した。

マレイン酸、フマル酸、(HCN)₄ は強い紫外吸収を示したが、その他の化合物の紫外吸収は微弱であった。

マレイン酸：濃度 0.00067% 水溶液の吸収の山は 211 mμ, $E_{1cm}^{1\%} = 1210$ 。

フマル酸：濃度 0.000796% 水溶液の吸収の山は 207~208 mμ, $E_{1cm}^{1\%} = 1220$ 。

(HCN)₄：濃度 0.000822% イソプロパノール溶液中の吸収の山は 300~301 mμ, $E_{1cm}^{1\%} = 1210$ 。この他に

第 2 表 (HCN)₄ 及び近縁化合物の紫外吸収

番号	化 合 物	構 造 式	融 点 (分解点)	検体濃度	紫 外 吸 収		溶媒の種類
					山の位置; $E_{1cm}^{1\%}$	谷の位置; $E_{1cm}^{1\%}$	
No. 1	Glycocoll	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{COOH} \\ \\ \text{H} \end{array}$	260° (decomp.)	0.01%	240~241 mμ 7.4	229.5 mμ 6.0	水 溶 液
No. 2	Malonic acid	$\begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{H}_2\text{C}-\text{C}-\text{COOH} \\ \\ \text{COOH} \end{array}$	135° (decomp.)	0.1133	200 mμ 10.75 280 mμ 0.062	250 mμ -0.062	"
No. 3	Glutamic acid	$\begin{array}{c} \text{H} \text{ H} \text{ H} \\ \text{ } \text{ } \\ \text{HOOC}-\text{C}-\text{C}-\text{C}-\text{COOH} \\ \text{ } \text{ } \\ \text{H}_2\text{N} \text{ H} \text{ H} \end{array}$	249° (decomp.)	0.01	239~241 mμ 5.1	230 mμ 3.8	"
No. 4	Leucine	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \text{ H} \text{ H} \text{ H} \\ \text{ } \text{ } \\ \text{CH}_3-\text{C}-\text{C}-\text{C}-\text{COOH} \\ \text{ } \text{ } \\ \text{H} \text{ H} \text{ NH}_2 \end{array}$	293° (decomp.)	0.01	239 mμ 9.0	225 mμ 7.1	"
No. 5	Succinic acid	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{C}-\text{COOH} \\ \\ \text{H}_2\text{C}-\text{COOH} \end{array}$	185~187°	0.01	200 mμ 37.5	—	"
No. 6	Maleic acid	$\begin{array}{c} \text{H}-\text{C}-\text{COOH} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{COOH} \end{array}$	130~131°	0.00067	210 mμ 1210.0	—	"
No. 7	Fumaric acid	$\begin{array}{c} \text{H}-\text{C}-\text{COOH} \\ \\ \text{HOOC}-\text{C}-\text{H} \end{array}$	300~302°	0.000796	207~208 mμ 1220.0	—	"
No. 8	Cyanuric acid	$\begin{array}{c} \text{OH} \\ \\ \text{N}=\text{C}=\text{N} \\ \text{ } \text{ } \\ \text{HO}-\text{C}_\text{N}-\text{N}-\text{C}-\text{OH} \end{array}$	decomp. -HCN	0.0044	213~214 mμ 45.5 270 mμ -0.22	239 mμ -9.3	"
No. 9	Acetonitrile	CH ₃ -CN	b. p. 82°	0.379	300~310 mμ 0.03 300~301 mμ	240~245 mμ -0.05	イソプロパ ノール
No. 10	(HCN) ₄		178~179° (decomp.)	0.000822 0.000548 0.000411 0.005.....	1210.0 221 mμ 208.0 (420 mμ; fluol)	235 mμ 67.0	イソプロパ ノール

ただし cell の幅 1.0 cm

第 2 図 (HCN)₄, マレイン酸, フマル酸の紫外吸収

- I ○—○ (HCN)₄ イソプロパノール液
 II ●—● マレイン酸水溶液
 III ○—○ マレイン酸イソプロパノール液
 IV ×—× フマル酸水溶液
 V ●—● フマル酸イソプロパノール液

第 3 表 ニトリル基をもつ化合物の紫外吸収

波長 mμ	シアヌール酸		アセトニトリル		(HCN) ₄	
	水 溶液	$E_{1\text{cm}}^{1\%}$	イソプロパ ノール液	$E_{1\text{cm}}^{1\%}$	イソプロパ ノール液	$E_{1\text{cm}}^{1\%}$
205	35.6		0.000			
213	45.4	△				
220	27.2				208	
230	-4.1		0.000		83	
239	-9.3	▽			70	▽
240	-9.1		-0.050	▽		
250	-6.1		-0.025		125	
260	-1.8		0.0175			
270	-0.22	△	0.020			
280					772	
300	-1.1		0.030	△	1210	△
320	-1.1		0.020		188.5	
350	-0.45		0.0075			
400	-0.68		0.0000			

還元電位につき比較すると、この 3 つの物質は共通の被還元構造 $>C=C<$ をもち、立体構造及び置換基を異にするものと考えることができる。この中で *cis* 型のマレイン酸の非解離分子及び解離イオンによる両波^(12,13)がもっとも早く $\pi_{1/2} = -1.01$ V, -1.20 V 附近に現われ、*trans* 型のフマル酸は陰にかたより $\pi_{1/2} = -1.09$ V, -1.37 V となった。(HCN)₄ はこれらのジカルボン酸にアミノ及びニトリルが置換したものと考えられるから、電解還元における電気陰性律 (electronegativity)⁽¹⁴⁾ に従い、さらに陰に移動し $\pi_{1/2} = -1.5$ V 附近に至り還元されたものと説明することが妥当であろう。

シアノグアニジン、アセトニトリルの示す酸化波は、ニトリルに起因するものであって⁽¹⁵⁾、(HCN)₄ の酸化波も同一位置に極めて近似した波形をあたえることから、この特殊な波は (HCN)₄ 分子中に予想されるニトリルによるものと推論することが妥当であろう。

第 1 図左側に (HCN)₄ 及びニトリル類の酸化波を示した。

[2] 紫外分光分析法：カルボン酸、ニトリル等について紫外吸収を測定した結果、No. 1~5 の化合物は $E_{\text{max.}} = 50$ 以下の弱い吸収を示すに過ぎなかった。

不飽和結合が互に共役する場合 $\pi-\pi^*$ 吸収帯に属する特有吸収が近紫外部に現われることはよく知られるところで⁽¹⁶⁾、マレイン酸、フマル酸の強い吸収は共役する 2 重結合 $>C=C<$ によるものである。この立体異性体をなす両化合物については、一般に *trans* 型は *cis* 型より長波長部に現われ、最長波長部の吸収が強くなるとされているが⁽¹⁷⁾、フマル酸の面積強度 (area intensity) はマレイン酸よりやや強いように推察されたが明瞭でない。

221 mμ, $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 208$ 程度の増大しつつ遠紫外部につづく吸収を示した。吸収の谷は 235 mμ, $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 67$ 。

蛍光発光：(HCN)₄ 濃度 0.005% 水溶液は 420 mμ に蛍光をあらわした。

第 2 図に (HCN)₄, マレイン酸, フマル酸の紫外吸収図を示した。

第 3 表にニトリル基をもつ化合物の紫外吸収を示した。

考 察

[1] ポーラログラフ法：カルボン酸類、アミノ、イミノ基、ニトリル基が還元波を示さないことは No. 1~7, No. 10 の実験結果から明らかである。この例に示された如く (HCN)₄ の還元波はイミノ基に起因するものとは考えられない。アミノ、イミノ基についてはさらに後報する。

マレイン酸、フマル酸はコハク酸と異り還元波を示した。この還元は良く知られている如く、マレイン酸、フマル酸が電解還元されてコハク酸となるもので^(10~12)、これは共役を行っている 2 重結合 $>C=C<$ の存在することを示している⁽⁹⁾。(HCN)₄ が還元波を示すためには推定分子構造中共役 2 重結合をなす $>C=C<$ を有する [I] がもっとも妥当であると考えられる。

(HCN)₄, マレイン酸, フマル酸の

(HCN)₄ が加水分解することをさけ、測定を正確にするためイソプロパノール溶液としたが、水溶液とする場合の紫外吸収と比較のため、間接的にマレイン酸、フマル酸の水及びイソプロパノールの両溶媒による測定を行い、第 2 図に示す結果がえられた。マレイン酸、フマル酸共にイソプロパノールを溶媒とするものは、水溶液と比較して吸収の山が長波長にかたより、吸収の強さは約 1/2 に減少した。

(HCN)₄ のイソプロパノール溶液の示す著しい紫外吸収は、推定分子構造中 [I] のうちに見られる $>C=C<$ 結合に $-C\equiv N$ が共役して近紫外部に吸収を現わしたものと考えることが妥当であろう。さらに共役を行っている 2 重結合 $N\equiv C-C=C-C\equiv N$ にアミノ基が加わることにより、長波長側に移行したものと考えられる⁽¹⁸⁾。

この吸収帯の位置はイソプロパノール溶液においてはさらに長波長側に移り 300 mμ に吸収の山が現れたものと考え、シアヌール酸、アセトニトリルの両化合物は、共に近紫外部に発光を行い、シアヌール酸水溶液は $E_{min} = -9.3$ であった。

第 3 表にニトリル基をもつ化合物の紫外吸収を示した。

3(HCN) は 6 員環トリアジン環を作るが、シアヌール酸の紫外吸収はベンゼン核に対応する 3 つの吸収帯⁽¹⁹⁾が予想されたが、実験結果は第 3 表に示すごとく、2 つの弱い吸収帯が現われたにすぎない。

(HCN)₄ の強い吸収と比較して、シアヌール酸に予想される吸収帯を併せ考え、(HCN)₄ がその構造中にトリアジン環をもつとすることは適当でないと考えられた。(HCN)₄ の発光については前報⁽²⁾に報告したように可視部に螢光 (exitor 250~300 mμ, fluol 420 mμ) を現わし、0.005% の濃度で検知可能であった。後報する如く (HCN)₄ は青酸の安定に有害な物質であるから、農業としての青酸の安全な保存のためにも、かかる鑑識手段は意義あるものとする。

要 約

青酸 4 分子重合体及び近縁化合物につきポーラログラフ並びに紫外分光分析により検討を行った結果、その分子構造は、従来提出されている 2 つの推定構造中 diamino maleodinitrile [I]。

の方がよく実験結果と一致することを知った。

従って (HCN)₄ の定量分析の基礎となる分子構造は [I] が妥当なものであらうと推論した。

実験結果については次の通りであった。

(1) $>C=C<$ 結合について：ポーラログラフ並びに紫外分光分析の両測定結果は、コハク酸に対しては、還元波並びに十分な紫外吸収を示さなかったが、共役 2 重結合を行っているマレイン酸は、還元波及び著しい紫外吸収を現わした。同様の結果が (HCN)₄ において得られるから、その分子構造内に $>C=C<$ 結合の存在が推定された。

(2) $=NH$, $-NH_2$ 結合について：両分析法を用い、これら 2 つの結合基を直接検出測定することができなかったが、(HCN)₄ の著明な還元及び吸収に対し直接の起因でないことを知った。

(3) $-C\equiv N$ 結合について：ポーラログラフによる酸化波より、(HCN)₄ 中にニトリル基の存在することを定性的に明らかにした。紫外分光分析においてニトリル及び (HCN)₄ が発光することを知り、青酸中に生ずる (HCN)₄ に対する螢光鑑識の可能性を見出した。

(4) トリアジン環について：紫外分光分析の結果から (HCN)₄ の分子内にトリアジン環が存在すると思えることは、不適当と思われた。

本研究にあたり熱心な御指導を賜った京都大学農学部 館 勇教授、名古屋大学工学部武内次夫教授、並びに研究発表に際し御検討いただいた東京大学応用微生物研究所北原寛雄教授に感謝する。

(本研究は昭和 27 年 9 月、第 92 回日本農芸化学会京都支部例会において講演発表)。

(1) 小野田 潔：本誌, 35, 1323 (1961).	chem., 8, 165 (1928).
(2) 小野田 潔：本誌, 35, 1327 (1961).	(6) L.E. Hinkel: J. Chem. Soc., 1432(1937).
(3) W. Lewcock: Pharm. J., 47, 50 (1918).	(7) 吉村寿人: pH の理論と測定法, 丸善, p. 226 (1942).
(4) C. Bedel: Compt. rend., 176, 168(1923).	(8) E. Walther: J. Prakt. Chem., (2) 79,
(5) E. Gryszkiewicz-Trochimowski: Roc.	

- 128 (1909).
 (9) L. Schwaer : *Collection*, 7, 326(1935).
 (10) E. Vopička : *ibid.*, 8, 349 (1936).
 (11) P. Herasymenko : *ibid.*, 9, 104(1937).
 (12) P. I. Elving, C. Teitelbaum : *J. Am. Chem. Soc.*, 71, 3916 (1949).
 (13) H. Brdička : *Chem. Listy*, 44, 291(1950).
 (14) A. Winkel : *Ber.*, 69, 1917(1936).
 (15) 館 勇 : ポーラログラフイー, 岩波書店, p. 31, 52 (1954).
 (16) 長倉三郎 : 化学の領域, 7 号, 南江堂, p. 79 (1952).
 (17) G. M. Wyman : *Chem. Revs.*, 55, 625 (1955).
 (18) K. F. Herzfeld : *J. Chem. Phys.*, 10, 508 (1942).
 (19) 坪村 宏 : 高分子実験学総論, 共立出版, Vol. 1, 154 (1959).

[農化 第 36 卷, 第 2 号, p. 172~176, 1962]

アミノ酸発酵に関する研究(第9報)*

L-グルタミン酸発酵からコハク酸発酵への 発酵転換の機作について(その2)

大石邦夫, 相田 浩, 朝井勇宣 (東京大学応用微生物研究所)

昭和 36 年 7 月 13 日 受 理

緒 言

前報⁽¹⁾において著者らは *Brevibacterium divaricatum* nov. sp. S-1627 が培地中のコーンステープリカー量を増加させるか,あるいは通気量を減少させることにより, L-グルタミン酸発酵からコハク酸発酵へ発酵転換を行うことを報告した。またその際コーンステープリカーの効果はそこに含まれるビオチンによるものであること, コーンステープリカー量によって当菌の C₄ ジカルボン酸に対する酸化能に変動が生じること, さらにトレーサー実験によってコハク酸生成は還元的に 1 モル/モルの炭酸ガス固定を伴って行われること等を観察し, かくて当菌のコハク酸生成の経路を, 通気の不十分な条件下ではほぼ定量的に TCA サイクルの逆行によるフマル酸からの経路, 通気が充分でかつコーンステープリカー量が豊富な条件下では主として上述の経路, その他 α -ケトグルタル酸の脱炭酸またはイソシトリターゼ反応の経路をたどるものであることを報告した。

その後, 通気が充分な条件下でのビオチンの効果について研究を進めた結果, 二, 三の知見を得たので, 今回はこれについて報告する。

実 験 方 法

使用菌は前報⁽¹⁾と同じく *Brevibacterium divaricatum* nov. sp. S-1627 で, 東大農化蘇, 山田氏の御好意により分譲を受けたものである。

- * 前培養のスラントからグルコース 5%, 尿素 0.8%, KH₂PO₄ 0.1%, MgSO₄·7H₂O 0.05% (pH 7.0), これに後述する量のビオチンを添加し 100 ml/500 ml 容フラスコに分注した培地に菌を接種し, 24~30 時間, 30° で振盪培養する。ついでこれを 6,000 r. p. m., 20 分遠心分離し, 得られた菌は蒸溜水で 2 回洗滌後 KH₂PO₄ 0.1%, MgSO₄·7H₂O 0.05% (pH 7.0) の液に 200 mg/ml の割合に懸濁し, 生菌懸濁液とした。菌磨碎物はこの懸濁液を 10 kc, 30 分音波で破壊して得た。無細胞抽出液は菌磨碎物を 12,000 r. p. m., 20 分遠心分離し分別される上澄液をとり, 0°, 4 時間, スターラー上で蒸溜水に対し透析したものを用いた。

DPN, TPN, FAD, FMN は東京化成工業株式会社製, メチルビオロゲン は British Drug Houses Ltd. 製, その他の試薬はすべて特級の市販品を用いた。

実 験 結 果

1. 発酵転換に対するビオチンの影響 前報において当菌がコーンステープリカー量の不十分な条件下で

* Studies on Amino Acid Fermentation. Part IX. On the Mechanism of Conversion of L-Glutamic Acid Fermentation to Succinic Acid Fermentation. (2)

By Kunio ÔISHI, Kô AIDA and Toshinobu ASAI (Institute of Applied Microbiology, University of Tokyo)