(1) われわれが土壌から分離した粘質物生産菌, ペニシリウム strain No. 2282 を *Pen. aculeatum* Raper and Fennell var. *apiculatum* Abe と同定した。

(2) 既知のペニシリウムによる生産試験において, 試験したペニシリウムのうち9種13株が(1)の菌と同様の粘質物を生産し, このような粘質物生産菌は *Biverticillata symmetrica* section にかかなり広く分布していることが認められた。

終りに菌株の同定について御懇篤な御指導をいただいた協和醸酵工業株式会社東京研究所阿部重雄博士, ペニシリウムを分与していただいた東大応微研飯塚広博士, 長尾研究所緒啓介博士に厚く感謝いたします。

(本報の要約は昭和36年4月, 日本農芸化学会大会で報告した。)

(1) 中村典郎, 大山次郎, 田辺 脩: 本誌, 35 , 949 (1961).	(1949).
(2) H. Raistrick, M. L. Rintoul: <i>Trans. Roy. Soc. (London)</i> , B 220 , 255 (1931); <i>C. A.</i> , 2486 (1932).	(6) J. Baddiley et al.: <i>J. Chem. Soc.</i> , 1953 , 1944.
(3) S. Abe: <i>J. Gen. Appl. Microbiol.</i> , 2 , No. 1, 2, March (1956).	(7) G. G. Freeman, C. S. MacPherson: <i>Biochem. J.</i> , 45 , 179 (1949).
(4) S. Abe: <i>ibid.</i> , 2 , No. 3, July (1956).	(8) P. F. Lloyd et al.: <i>Chem. and Ind.</i> , March, 172 (1956).
(5) K. B. Raper et al.: "A Manual of the <i>Penicillia</i> ", The Williams & Wilkins Co.	(9) M. J. Geoghegan, R. C. Brian: <i>Biochem. J.</i> , 43 , 5 (1948).

〔農化 第36巻, 第6号, p.524~526, 1962〕

Penicillium による D-アラボアスコルビン酸の生成に関する研究 (第6報)*

D-グルコノ- δ -ラクトン $\rightleftharpoons$ D-グルコノ- γ -ラクトン反応について

高橋 健, 光本守孝 (東京農工大学農学部農芸化学科)

昭和36年10月26日受理

緒 論

さきにわれわれは *Penicillium* による D-アラボアスコルビン酸 (以下 D-AA と略す) の生成経路として下図の如き仮説を提出した⁽¹⁾。

従来 D-glucono- δ -lactone (以下 G- δ -L と略す) と D-glucono- γ -lactone (以下 G- γ -L と略す) の相互転換は, 必ず遊離の glucon 酸 (以下 GA と略す) を中間体とすると考えられていたが, 1960 年 Jermyn⁽²⁾ は遊離の GA を経ない G- δ -L $\rightleftharpoons$ G- γ -L の直接転換反応が可能であることを推定した。われわれも種々の実験からこのラクトンの直接転換反応が可能であり, かつそれが D-AA 生成機構中に存在すると考えて, 上記の仮説を提出したのであるが, ここにそれを支持すると思われる 2, 3 の実験的事実について報告する。

実 験 方 法

(1) 標準 G- γ -L は G- δ -L から H. S. Isbell⁽³⁾ の方法によって調製したもので, 本法によればほとんど

* Studies on the Production of D-Araboascorbic Acid by *Penicillium*. Part VI. The Direct Transformation of D-Glucono- δ -lactone to D-Glucono- γ -lactone.
By Takeshi TAKAHASHI and Moritaka MITSUMOTO (Department of Agricultural Chemistry, Tokyo University of Agriculture and Technology)

G- δ -L を含まない純粋な G- γ -L を得ることができる。

(2) 標準 G- δ -L は藤沢薬品から分与されたものである。

(3) G- δ -L, G- γ -L の判定はすべてペーパークロマトグラフィーによった。展開剤は D-AA に用いたアセトニトリル:アセトン:水:酢酸=80:5:15:1 で、呈色はヒドロキシルアミンのアルカリ溶液と塩化第二鉄によった。

写真 1 G- δ -L $\rightarrow$ G- γ -L 転換を示す
ペーパークロマトグラム
(数字はおのおの溶解した緩衝液の pH を示す)

写真 2 G- γ -L $\rightarrow$ G- δ -L 転換が起こらない
ことを示すペーパークロマトグラム

結果並びに考察

G- δ -L を室温で水並びに種々の pH の N/5 フタル酸と N/5 Na_2HPO_4 の混合緩衝液に溶解し、直ちに濾紙上にスポットしてペーパークロマトグラフィーを行なうと、写真 1 に見る如く緩衝液中においては少なくとも pH 4.5 以上、場合によっては pH 2.0 においても G- γ -L が検出される。pH が高くなるに従い G- γ -L の呈色は濃くなり、G- δ -L のそれは淡くなる。N/5 トリス・マレート緩衝液においても全く同様な結果を得る。

次にこれと同様な操作を GA について行っても何らラクトン反応物質は検出されない。従来酸からラクトンを生成せしめるには酸を酸性で加熱するのが当然とされ、アルカリ性においては酸からラクトンは生成しないものとされている。また Jermyn によれば、pH 5.0 で 1 M の GA と平衡するグルコノラクトンは 5 mM にすぎないので、本実験の如き条件で遊離酸からラクトンが検出されないのは当然である。

以上のことからこの G- γ -L は遊離の GA を経ずに G- γ -L から直接生成したもので、しかもこの反応は非酵素的であり、室温で極めて短時間に行われるものであることがわかる。

各基質からの D-AA 生成最適 pH は前に報告⁽¹⁾したが G- δ -L $\rightarrow$ G- γ -L 反応が pH 4.8~6.5 において行われることと、グルコース並びに G- δ -L から D-AA の生成がほぼ同じ pH でよく行われることは極めてよく一致する。またこの pH において GA からの生成が極度に少ないことは、前述の酸からラクトンが生成しにくいという事実とよく一致している。

すなわち、グルコースから D-AA の生成において、グルコース酸化酵素によって生じた G- δ -L は GA を経過せず、直接非酵素的に G- γ -L となり、G- γ -L 酸化酵素の作用を受けるものと考えられる。

次に本反応の逆反応であるが、Jermyn は G- γ -L が G- δ -L 加水分解酵素の作用を受けることから G- γ -L $\rightarrow$ G- δ -L が正反応と考えているので、われわれは G- γ -L を上記と同様な操作を行ったが、写真 2 の如く、すべての pH において G- γ -L から生ずる G- δ -L は極めて微量かまたは皆無であると認めた。このことは少なくとも G- γ -L $\rightarrow$ G- δ -L 反応が正反応であるとは認められず、むしろ平衡は G- γ -L に大きく片寄っているものであると考えられる。

G- δ -L $\rightarrow$ G- γ -L 反応が以上の如く中性付近の pH で、しかも常温で行われるものであるならば、G- δ -L が多量に存在するいわゆるグルコン酸醗酵の濾液中に G- γ -L が存在するはずである。そこでそれを実験したのが写真 3 であり、

- (3) H. S. Isbell : *Bureau of Standards J. of Research*, **11**, 649 (1933).