

(276)

(石井, 宮本) 微生物のカロチン生産に関する研究 (第8報)

供試有機酸の酵母に対する態度は、すべてこの2つの範疇(乳酸型と酢酸型)に分類することが出来る。すなわち、前者の乳酸型に属するものは、乳酸、枸橼酸、酒石酸、琥珀酸、蔞酸、林檎酸、マロン酸、マレイン酸、および焦性葡萄糖(これらはオキシ酸、二鹽基酸、乃至は三鹽基酸である)であり、それらの有機酸の効果の間には、若干の差異はあるが、大體の傾向は乳酸と同じである。後者の酢酸型に属するものは、蟻酸、酢酸、プロピオン酸、酪酸、吉草酸、および安息香酸(一鹽基脂肪酸)であり、これらの中では炭素原子数が多くなるに従つて、増殖阻害作用が漸次強くなっている。

なお、酵母増殖に対する乳酸型有機酸の最適濃度としては、實驗的には0.05~0.10Mということをも認めたが、transaminationの理論から計算すると0.06Mとなり、實驗結果と一致していることを見出した。

終りにのぞみ、御指導御鞭撻を賜つた京大高田亮平教授に深謝すると共に、研究に當り御指導並びに多大の便宜をはかつて下さつた三共田無工場長吉留渉氏、三共研究部長松居宗俊氏、同研究室長中村路一氏に對して感謝の意を表する。

文 献

- 1) WHITE, J. and MUNNS, D.J.: J. Inst. Brewing, 57, 142 (1952). 2) WHITE, J.: J. Inst. Brewing, 55, 261 (1950). 3) MEISSL: Z. Brauwesen, 6, 312 (1884). (イースト工業會パン酵母檢定規程)
(昭和29, 5, 7受理)

微生物のカロチン生産に関する研究 (第8報)

Neurospora sitophila Conidia の發芽促進法について

石井 隆一郎・宮 本 敏 彦 (大阪市立衛生研究所)

〔I〕 緒 言

Ascospore は一般に Conidia より濕熱では耐熱性であるが又發芽も困難である。SHEAR and DODGE¹⁾は、DODGE²⁾, RAMLOW³⁾ 及び BETTS⁴⁾ 等が他の菌種の Ascospore の發芽促進のために實施した方法を用いて *N.S* の Ascospore の發芽促進法として heat shock を利用し、20~30min間に室温から90°Cに昇温せしめると、發芽困難な Ascospore も4~5 hrsで略純粹状態において發芽せしめる事が出来ると述べている。

N.S 菌の培養によるカロチンの生産にあつては主としてその Conidia (Cn) を播種するが Cn の發芽は Ascospore に比し遙に容易であるとはいへ製麹法の場合のように、その培養環境が完全に純粹状態にあるとは言えず、特に他の糸状菌の繁殖條件と同一培養条件下にあるため培養時間の短縮の上からも發芽促進の必要性は多言を要しない所である。この意味から heat shock による Cn の發芽促進法について實驗した結果を報告する。

〔II〕 實 驗 方 法

I 種培養基及び發芽用培養液

種培養にはサイコロ状のパン片を用い、發芽用麥汁は1.7~2.5 Bl/g のものを120°C, 20min 殺菌して用いた。

II Conidia 發芽率測定法

種培養より Cn を1白金耳とり發芽用麥汁1 ccを含む發芽用試験管に移し、一定温度の恒温器内で一定時間加熱後、25°Cで一定時間培養し、この Cn 懸濁液を直にとりだして鏡檢し、視野にある Cn 100ヶ中發芽したものの数を測定し、その測定を數回繰返して平均し發芽率%を算出した。

〔III〕 麥汁濃度の發芽に及ぼす影響

發芽用麥汁の發芽に對する最適濃度と發芽率の時間的経過とを知るために行つた。その結果は第1表の如くで發芽には2 Bl/g 附近が適している。又短時間後の發芽率は長時間後のそれに略々比例している事を確かめた。

Table 1. Effect of malt extract concentration(Balling) on the germination of Conidia (Germination %)

Germination time hrs	1	3	5	7	24
Balling					
10.0	3	9	19	21	52
6.8	4	8	16	25	50
5.8	5	7	22	33	60
4.0	5	11	24	34	60
3.0	5	11	33	39	73
1.7	5	16	34	36	86

Experiments were carried out with the conidia, incubated and produced on bread medium for 8 days.

Table 2. Effect of previous heat treatment on the germination of conidia (I) (Germination %)

Temp °C, heated		35		37		40	
Germ. media	Germ. time	3		3		3	
	Heated hrs	3	6	3	6	3	6
Malt extract 1, 7 Balling	0	6	27	6	27	6	27
	1	10	41	6	30	8	25
	2	21	51	17	28	11	21
	3	24	57	17	21	9	17
Malt extract 1,7 Balling + 1% NaCl	0	4	29	4	29	4	29
	1	15	28	7	25	14	31
	2	12	27	16	26	5	7
	3	25	34	17	22	6	11
Malt extract 1,7 Balling + 2% NaCl	0	3	28	3	28	3	28
	1	3	33	4	18	3	28
	2	14	34	10	19	5	9
	3	22	22	14	21	10	17

Experiments were carried out with the conidia, incubated and produced on bread medium for 7 days. The conidia suspended in malt extracts were kept at 35 or 37°C

を直接加温した。その結果は第3表に示す如くであるが、35~37°Cの加温が有効のようであつた。

〔Ⅴ〕 昇温法による発芽促進効果

実験法は〔Ⅳ〕Ⅰに準じたが発芽用試験管は Cn を移植後、恒温槽にいれ22.5°Cより0.22°C/minの速度で昇温し所定温度に達したら直に25°Cの恒温器に移し3及び6 hrs培養後発芽状態を観察した。尚一定温度に達するに要した時間は35°Cでは57min, 37°Cで61mi, 40°Cで78minであり、対照として22.5°Cで60minのものを採用した。

その結果は第4表に示す如くで35°C及び37°Cでは6 hrs後の観察でその促進効果が明確に認められた。又定温昇温法共食塩の添加は鏡検下の発芽率にはむしろ阻害作用を示したが一晝夜培養後の培養基表面の菌糸及び Cn 着生を顕著に促進した。これは菌糸の生育に適した滲透圧を與えた事と食塩添加により浮力を増大した培養液のため、Cnが浮上し直接空気に接觸したためではないかと考えられる。

〔Ⅳ〕 定温法による発芽促進効果

Ⅰ. Conidia 懸濁麥汁を加温した場合

35, 37, 40°Cにて1, 2, 3 hrs 加温しその影響を調べた結果は第2表に示す如くで、35及び37°Cの2~3 hrs 処理が初期の発芽率をたかめるようである。

Ⅱ. Conidia を直接加温した場合.

Ⅰの場合は Cn を1.7 Bllgの麥汁に分散後加温したが今回は Cn のみ

Table 3. Effect of previous heat treatment on the Germination of Conidia (II) (Germination %)

Temp. °C, heated		35		37	
Geam. media	Germ. time	3		3	
	Heated hrs	3	6	3	6
Malt extract 2,5 Balling	0	8	31	8	31
	1	9	35	7	40
	2	8	34	12	41
Malt extract + 1% NaCl	0	3	26	3	26
	1	10	28	13	32
	2	14	33	12	25
Malt extract + 2% NaCl	0	2	20	2	20
	1	4	23	3	26
	2	2	23	4	25

Experiments were carried out with the conidia, incubated and produced on bread medium for 12 days. The conidia only was kept at 35 or 37°C

(278)

(石井, 宮本) 微生物のカロチン生産に関する研究 (第8報)

Table 4. Effect of heat treatment, gradually heated on the germination of conidia. (Germination %)

Germ. media Temp C. heated	Malt extract 1.7 Balling				Malt extract +1% NaCl				Malt extract +2% NaCl			
	23	35	37	40	23	35	37	40	23	35	37	40
Germ. hrs												
3	29	28	27	10	29	20	18	32	26	24	20	6
6	29	36	41	29	37	42	36	51	33	44	31	16

The conidia incubated and produced on bread medium for 7 days, and the conidia was suspended in malt extracts and kept at 35-40°C.

Table 5. Effect of previous heat treatment of conidia on growth and conidia production by *Neurospora sitophila*.

Cultivation days Temp and hrs, preheated	No.	1		2		3		4		5	
		M	C	M	C	M	C	M	C	M	C
Control	1	-	-	5	-	6	-	7	+	8	1
	2	-	-	5	-	6	-	7	2	8	4
	3	-	-	5	-	6	-	7	1	8	3
35°C 1 hr 1 % NaCl	1	-	-	5	±	6	+	8	8	9	9
	2	+	-	5	1	7	4	10	9	10	10
	3	+	-	5	+	6	2	8	8	9	9
35°C 1 hr	1	+	-	5	±	6	+	8	3	9	5
	2	+	-	5	±	6	+	8	2	9	4
	3	+	-	5	-	6	-	8	1	9	3
37°C 1 hr	1	+	-	5	-	6	-	7	3	8	7
	2	+	-	5	+	6	1	7	5	8	8
	3	+	-	5	+	6	1	7	4	8	7

M: Mycelia, C: Conidia.

〔Ⅵ〕 製麹時における定温法の菌糸及び Conidia 生産に及ぼす影響

麴 5g, 酢酸緩衝液 pH 5.2, 7.5cc に Cn 1 白金耳を播種 25°C でシャーレ培養を行い菌糸及び Cn 生産の状況を観察した結果を第5表に示す。乃ち heat shock による促進効果は明確である事を確かめた。又食鹽添加の効果も明かであるが後報において述べる予定である。

〔Ⅶ〕 総 括

Conidia を播種するに先立つて 35~37°C に 1~3 hrs 加温するとその発芽率は増大し製麹工程の短縮に効果的である事を認めた。

終始御指導御鞭撻を賜りました所長茶珍博士, 恩師京大教授高田博士, 阪大教授照井博士に深謝し, 御援助下さいました日本資糧工業株式会社大阪工場長八幡武徳氏に御禮申し上げます。

尙本研究は昭和28年10月16日本會講演會にて報告した。(Neurospora sitophila に関する研究第17報)

文 献

- 1) SHEAR, C.L. and DODGE, B.O.: J. agric. Research, **34**, 1019 (1927).
 - 2) DODGE, B.O.: Bull. Torrey Bot. Club, **39**, 139 (1912).
 - 3) RAMLOW, G.: Mycol. Centbl., **5**, 177 (1914).
 - 4) BETTS, E.M.: Am. J. Bot., **13**, 427 (1926).
- (昭和 29, 4, 16 受理)