

640

酒粕培地における *Aspergillus* S-4 の生成する未知物質の同定
(神戸大自然科学研究科) ○川窪淳子、青木健次、新家 龍

1) 目的 これまで、培養液中にフェノール化合物を生成する微生物を自然界から分離することを目的として検索を続けてきた。¹⁾ その中で、酒粕を含む培地を用いた分離条件より、プロトカテキュ酸、没食子酸などを生成すると考えられる菌株を分離した。本菌株の培養液について高速液体クロマトグラフィーで分析し、比較的多量の未知生成物質のピークが認められた。²⁾ そこで、この未知物質に注目し、その構造を明らかにすることを目的として各種機器分析を行い、また、その培養条件について、若干の検討を加えたので報告する。

2) 方法および結果 まず、分離菌株 *Aspergillus terreus* S-4 の培養液より未知物質の分離、精製を行った。培養は、合成培地 (Glucose 1%, NH_4NO_3 0.12%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05% KCl 0.01%, KH_2PO_4 0.1%) を用い、30°C で5日間、振とう培養を行った。その培養濾液を酢酸エチルで抽出し、エバポレーターで乾固、少量のメタノールに溶解し、薄層クロマトグラフィーによる分離を繰り返して、針状の結晶を得た。次に、得られた結晶について MS、NMR、IR 等の各種機器分析を行った。それらの結果より、分子量 154、分子式 $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{O}_3$ 、Terrein (4,5-Dihydroxy-3-propenyl-2-cyclopenten-1-one) と同定した。

1) J. Kawakubo et al. *Agric. Biol. Chem.*, 55(3), 875-877, 1991

2) 川窪ら：日本発酵工学会大会講演要旨集 p.233, 1991.

Identification of unknown substances produced by *Aspergillus* S-4 in Sake cake medium.

○Junko Kawakubo, Kenji Aoki and Ryu Shinke

Graduate School of Sci. & Technol., Kobe University

641

デンプンからのクエン酸生産性が増大した *Aspergillus niger* 変異株の造成
(早大・理工、*磐田化学) ○Rugsaseel Sugima、井上真二、寺田三也司*、
桐村光太郎、宇佐美昭次

1. 目的 *Aspergillus niger* によるデンプンからのクエン酸生産性を増大させるためには、クエン酸生産条件でデンプン分解性が高い変異株の取得が必要であると考えられる。そこで、デンプン-メチルレッド寒天培地を作成し、デンプン分解性が高く、デンプンからのクエン酸生産性が高い変異株の選択を行った。

2. 方法 *Aspergillus niger* WU-2223L¹⁾ を親株として、分生子に紫外線照射して変異株を造成した。液内振とう培養によるクエン酸生産は、120 g/l のグルコース (初発 pH 3.0) または可溶性デンプン (初発 pH 4.25) を炭素源とし、2%(v/v) メタノールを添加して行った。¹⁾

3. 結果 *Aspergillus niger* WU-2223L より、300 株の変異株を単離した。これらを作成したデンプン-メチルレッド寒天培地上に移植し、デンプン分解性と酸生産性の高いものを選択した。8 株を優良株として選択したが、これらは液内振とう培養においても可溶性デンプンからのクエン酸生産性が増大していた。すなわち 9 日間の液内振とう培養を行った場合、120 g/l の可溶性デンプンから WU-2223L 株は 35.1 g/l、代表変異株 2M-43 株は 48.0 g/l のクエン酸を生産した。また、WU-2223L 株と 2M-43 株の両者について 3 日目に培養液中のグルコアミラーゼ活性が最大となり、それぞれ 2.11 U/ml と 3.62 U/ml に達した。しかし、グルコースを炭素源として液内振とう培養を行った場合、2M-43 株を含めて取得した変異株では、クエン酸生産性が WU-2223L 株より低下していた。

1) Kirimura, K. et al.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 36, 573 (1992).

Selection of mutant strains of *Aspergillus niger* showing enhanced citric acid production from starch

○Sugima Rugsaseel, Shinji Inoue, Miyaji Terada*, Kohtaro Kirimura, Shoji Usami
(School of Science and Engineering, Waseda University; Iwata Chemical Co.,)