

れている食用黄色4号(4-p-Sulfophenyl-azo-1-p-sulfophenyl-5-hydroxy-pyrazole-3-carboxylic acid)のNa塩、以下SPAPと略記)を脱色する性能をもつ細菌類を調査し、その脱色が黄色1号の赤変と同じく還元によつて起ること、およびその還元生成物を確認しようとした。

方法 1%のペプトン水培地に大根片を入れたり、あるいは入れないで分離菌株や既知菌種を接種して脱色性能を検し、SPAPの水溶液に10%ハイドロサルファイト液を加温しないで滴下し、完全に脱色するまで加えた還元液、およびSulfanilic acidの純品、ならびに代表分離菌株を培養した脱色培地を東洋濾紙No.50の原点につけ、3種の展開溶媒を使用して展開し、紫外線下で鑑別、あるいは津田試薬およびエールリッヒ試薬で発色させて、そのRf値を測定した。

結果 1. 脱色性能をもつ分離菌株は*Pseudomonas aeruginosa* [N 7] 株, *Xanthomonas* sp. [T 19] 株, *Bacillus circulans* [T 29B] 株, *Bacillus* sp. [N42B] 株のほか7菌株、既知菌種では*Bacillus cereus*, var. *mycoides*, *Pseudomonas* IFO. No. 3080, *Serratia marcescens* ほか数種があり、菌株によつて脱色と同時に培地を褐変するものがあつた。

2. P.P.Cにより、SPAPは細菌によつてそのアゾ結合部で還元分解され、Sulfanilic acidと1-p-sulfophenyl-3-darboxy-4-amino-5-hydroxypyrazoleとの2種のアミンが生成され脱色が起ることが明らかとなつた。

43. 食品のガス殺菌に関する研究

(第2報) 供試薬剤のガス状態における殺菌特性について

阪大醸酵 芝崎 勲, 照井 堯造

目的 著者は種々のガス殺菌用薬剤の殺菌作用特性を把握し、その有効なる適用法を確立する目的をもつて、まずこれら薬剤の水溶液中での殺菌作用特性について検討し、その概要は日農化大会(昭36, 4, 2)において報告した。本報においてはこれら薬剤のガス状態における殺菌特性について検討した結果を示す。

方法 殺菌試験は一定湿度に調整した密閉ガラス容器を用い、殺菌作用は常法による生菌数測定により検討した。供試菌種としては主として*B. subtilis*の胞子を用いたが、その他2, 3の無胞子細菌をも供試し

た。供試薬剤としてはプロピレンオキサイド(PO), エチレンオキサイド(EO), フォルマリン(F), β -プロピオラクトン(PL)を用いた。

結果 各薬剤について諸種の条件下における殺菌経過を検討した結果、供試薬剤の殺菌力は水溶液中での結果と平行的であり、また殺菌速度恒数—供用濃度関係より算出した殺菌濃度指数も水溶液中で得た値と大差ないことが認められた。その他殺菌作用に及ぼす温度等の影響についても検討し、さらにガス状態での殺菌作用に対しては作用環境の水分が重要な影響因子であることを認めた。

44. 細菌による藍の工業的還元に関する研究 (第19報) 還元酵素について

工技院発研

高原 義昌, 高崎 義幸, 田辺 脩

目的 演者等が分離使用しておる藍還元細菌*Bacillus alkaliphilus*の生成する還元酵素の一般性質および阻害剤に対する態度を明らかにすること。

方法 藍玉培地に菌を接種、30℃で48時間培養し、冷凍遠沈と燐酸緩衝(pH 11.0)による洗滌とを繰返したのち、同液に懸濁させたものを酵素液として使用した。

酵素活性の測定には原則として次の如き反応系で45℃、60分作用させたのち、醋酸エチル10ccで抽出し、光電比色計によつて測定した吸光度をもつて表示した。

又阻害剤の作用測定には阻害剤を同系に添加し同様にして吸光度を測り、無添加の場合を100として残在活性率又は恢復率として表示した。

反応系

M/20 燐酸緩衝液 (pH 11.0)	5 cc
酵素液	1 cc
M/10 グルコース	1 cc
M/200 TTC 液	1 cc

結果 本菌株の生成する還元酵素の作用適温は45~50℃で、80℃、10分の熱処理で完全に失活する。作用の至適pHは9.6でこれより酸性側においては不安定であるが、アルカリ側においては安定である。酵素生成の至適pHは作用至適pHより高く11前後である。

この酵素は重金属イオンおよびSH試薬によつて

(696)

大阪醸造学会第13回講演会研究発表要旨

阻害され又キレート試薬とくに EDTA によつて完全に阻害されるが、 Mg^{++} の添加により回復がみられることから本酵素の活性発現には Mg^{++} が必要であること等を認めた。

45. 細菌による藍の工業的還元に関する研究 (第20報) 藍還元機構について

工技院発研

高原 義昌, 高崎 義幸, 田辺 脩

目的 藍還元細菌 *Bacillus alkaliphilus* の生成する酵素系によつて基質から色素に至る迄の水素の受渡経路について検討し、藍還元機構を解明すること。

方法 前報と同様にして洗滌菌体を得、石英砂を加えて磨砕したのち緩衝液を加えて冷凍遠沈して細胞抽出液を作り酵素液とした。

基質効果および阻害試験は原則として次の如き反応系により45℃、10～30分作用させたのち、醋酸エチル2ccで抽出し、比色計によつて吸光度を測定、グルコースまたは阻害剤無添加のものを100とした相対活性により表示した。

反応系

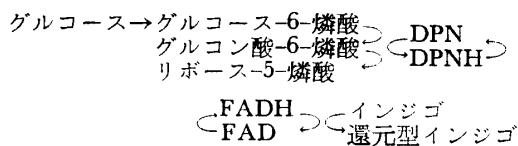
$5 \times 10^{-2} M$	緩衝液	1.4cc
$10^{-2} M$	TTC 液	0.2cc
$10^{-3} M$	グルコース液	0.2cc
	酵素液	0.2cc

又脱水素酵素の助酵素の検討には、前記酵素液のpHを塩酸にて6.0としたのちNorite 1%を加えて低温、嫌気下に5分間攪拌しアルカリにてpHをもとにもどし遠沈して助酵素を除く。

これにDPN又はTPNを加えワールブルグ検圧計により常法により検圧し μl にて表示。

更に中間伝達体の検討には酵素液にP-アミノ・サルチル酸を加えてFAD(又はFMN)を結合させることによりFAD又はFMNの効果を相対活性度によつて判定した。

結果 *Bacillus alkaliphilus* の酵素系による藍還元機構は次の如く推定された。



46. *Schizophyllum commune* の培養液より L-Malic acid の単離

(リンゴ酸醗酵 VII)

立命館大理工 立花 精

目的 微生物の有機酸代謝の研究

方法 *Schizophyllum commune* Fries IFO No.4928 を葡萄糖を炭素源とした $CaCO_3$ 添加合成培地に培養し、培養液中に有機酸を生成せしめたのちCa塩を分離精製して、有機酸の同定を行なう。

結果 n-ブタノール・ギ酸・水(4:1:1)の展開剤によるペーパークロマトグラフでRf 0.5を示す有機酸が当該菌の主生産物であり、その単離精製は比較的容易であつた。この有機酸はRf値、融点、シンコニン塩、元素分析及び赤外スペクトル等によりMalic acidであることが判明した。又Malic enzymeによる脱炭酸や旋光度よりL型であることが確かめられた。本実験条件では、培養液中にはL-Malic acidの他僅少のSuccinic acidとOxalic acidが認められるだけでCitric acidは認められなかつた。

47. *Schizophyllum commune* による L-Malic acid 醗酵 (その1)

(リンゴ酸醗酵 VIII)

立命館大理工 立花 精, 塩出 十一

目的 L-Malic acid の生成機構の研究

方法 静置培養と振盪培養の2培養法の比較、炭素源の質と量の検討、窒素源の比較及び接種の問題等基本的培養条件の吟味。

結果 振盪培養が静置培養に比し対糖収率や醗酵時間の点で勝っていたので好氣的醗酵に属することが考えられた。葡萄糖、麦芽糖、澱粉、糖蜜は何れもL-Malic acidの好収率を与えるが乳糖は殆んど利用されなかつた。糖濃度の限界は15%附近であつた。窒素源として無機態の NH_4NO_3 、 $NaNO_3$ 、 $(NH_4)_2HPO_4$ 、 $(NH_4)_2SO_4$ や NH_4Cl は何れも好収率を与えるが有機態の $(NH_4)_2CO$ 特にペプトンは著しく収率を低下させた。 $CaCO_3$ は不可欠であつた。よつて葡萄糖5g、 NH_4NO_3 0.1g、 KH_2PO_4 0.1g、 $MgSO_4$ 0.05g、KCl 0.05g、水100mlに $CaCO_3$ 3%加えたものを基本培地とした。接種は麩培養物を0.05～0.1%程度加え、28～30℃に保温、培養6日で最高