



1964 No. 1

(通巻第 31 号)

CHEMICAL TIMES

目 次

(通巻ページ)

新年のご挨拶	関東化学株式会社々長	大 塚 内 蔵	502
工業分析化学随説(IV) 抽出試薬としての有機リン酸化合物(II)	東北大学 教授 理学博士 東北大学 助教授 理学博士	加 藤 多 喜 雄 武 井 信 典	502
ホタルの発光物質 Luciferin の化学構造と合成	明治薬科大学教授 薬学博士	富 松 祥 郎	507
抗酸化剤としての β -ナフタリンチオール	日 本 大 学 工 学 部	板 橋 国 重 夫	510
ラブ酸素レンニンの生化学的意義	星薬科大学教授 薬学博士	涌 井 袈 裟 参	511
ノーベル賞者ものがたり(3) ビタミン研究のハワースとカーラー(遺稿)		橋 爪 愼 椰 子	517
アニス酸による麹菌分生子の紅変現象	立正学園女子短大 理学博士 教 授	黒 沢 雄 一 郎	518
アミノ酸醗酵(1)	東北大学 教授 農学博士	志 村 憲 助	521
スタンホード大学の一隅から(続)	理学博士	大 橋 守	522
編 集 後 記			524

KANTO CHEMICAL CO., INC.

昭和三十九年一月十日 発行

発行者 関東化学株式会社

ケミカルタイムス編集委員会



新年のご挨拶

関東化学株式会社々長 大塚内蔵

謹んで新年のお慶びを申し上げます。

1964年は日本産業界も大きく変容し、愈々世界経済の仲間入りをする為に、量的成長から質的変換へと意義ある夜明けを迎えたわけでありましたが、開放経済下旧年以上に固い決意を以て新局面に対処する事が要望されております。此の時に当り各種の試験、研究、開発を通じて企業合理化発展の一翼を担っておられる皆様のご活躍こそこの新しい課題を推進する原動力と存じます。当社でもかかる推移を予想して生産管理の機能を強化し、販売機構を整備して拡く需要家の皆様のご要望に副うべく努力して参りましたが、新年度は更に皆様の研究開発にご協力致すべく斯界の諸先生方のご指導を得て有機、無機試薬全般に亘り尚一層の充実を期する所存であります。

ケミカルタイムスも新版第2年(1964 No.1 通巻31号)を迎えるに到りましたが、本年も昨年以上に社業の充実発展を反映する為編集を強化する計画で御座いますので一層のご支援を賜ります様お願い申し上げます。

貴社のご躍進と皆様のご多幸をお祈りして新年のご挨拶と致します。

工業分析化学随説 (IV)

抽出試薬としての有機リン酸化合物 (II)

東北大学教授 理学博士 加藤多喜雄
東北大学助教授 理学博士 武井信典

前号においては種々の陽イオン交換型酸性有機リン酸化合物について簡単に紹介したが引続いて中性有機リン酸化合物を抽出剤として検討した論文を簡単に紹介する。

中性有機リン酸化合物はその構造から酸性化合物と同様に Phosphate, Phosphonate, Phosphinate, Phosphine oxide に分類される(前号参照)が、抽出剤として最初に検討され、実用に供されるようになったのは Phosphate 型化合物であり、他の誘導体はその後に研究されるようになったので、ここでも順序としてまず Phosphate 型化合物について記すこととする。

Phosphate 型抽出試薬

硝酸ウラニル、硝酸トリウムがエーテル、メチルイ

ソブチルケトンのような非解離性塩基性溶媒により抽出されることは古くから知られていたが、同じく非解離性強塩基性化合物である Tri-n-butyl Phosphate $[(n-C_4H_9O)_3P=O]$ (以下 TBP と略記) が同様に種々の硝酸塩を抽出する能力を有することが知られて¹⁾ 以来 TBP 並に類似の Phosphate 型化合物による金属塩の抽出は極めて詳細に検討され、現在 TBP はこの種の抽出機構を示す代表的な溶媒とみなされている。よって Phosphate 型については専ら TBP に主眼をおいて記すこととする。

1 TBP の性質

TBP の水への溶解度は Alcock 等²⁾、及び Higgi-

ns 等³⁾が TBP-P³²を用いて測定を行なっているが、表1に Higgins 等による測定結果を示す。

表1 TBP の水に対する溶解度

Temp °C	3.4	4.0	5.0	13.0	25.0	50.0
mg TBP/ℓ	1075	1012	957	640	422	285
mole/ℓ	0.0040	—	—	—	0.0016	0.0011

表1より TBP の水に対する溶解度は温度の上昇と共に減少することが知られる。

水相に対する電解質の添加はその塩析効果により TBP の溶解度を減少せしめるが、その効果は NaOH > NaCl > KCl > CsCl > LiCl > LiBr > KI > AgNO₃ > NaI > HCl > HNO₃ > LiI > HBr > HI の順に減少し、HBr, HI の添加は逆に TBP の溶解度を増加せしめる³⁾。

Higgins 等³⁾は電解質の塩析効果について熱力学的考察も行なっている。

尚、Alcock 等²⁾は TBP ~ 希釈剤-H₂O 系における TBP の分配も測定し、希薄な TBP 溶液を用いるときは両相は TBP について理想溶液となっているが、パラフィン系溶媒を用いるときは1%以上、ベンゼン、トルエンを用いるときは10%以上の濃度となると有機相は非理想溶液であることを認めている。

TBP に対する水の溶解度については Alcock 等²⁾, Tuck⁴⁾, Whitney 等⁵⁾が Karl Fischer 滴定、体積変化測定、赤外吸収スペクトル測定等により検討しており、何れも水の飽和した TBP 相の TBP と水のモル比は1に等しいことを認めており、更に Whitney 等は赤外吸収スペクトルより TBP 中の水は TBP と (BuO)₃P→O…HOH の形で水素結合をしていることを認めている。又、Whitney 等は TBP ~ CCl₄ - H₂O 系における(1)の反応の平衡定数も求めている。



(o は有機相を示す)

II TBP による酸の抽出

TBP は先にも記したように非解離性強塩基性溶媒であるから金属塩だけでなく種々の酸と結合し、これを水相から有機相に抽出し得る性質を持っている。この点については今までに HNO₃, HCl, HClO₄, H₂SO₄, H₃PO₄, HReO₄, HNO₂, H₂Cr₂O₇ 及び種々の有機酸について数多くの報告が見られるが、その要点を簡単に紹介する。

II-1 TBP - HNO₃ 系

TBP が最初 HNO₃ 酸性溶液からの UO₂²⁺, Th⁴⁺ その他の抽出剤として用いられるようになったために、これに関連して TBP による HNO₃ の抽出も早くから詳しく検討されている。

先ず Alcock 等²⁾は TBP ~ 希釈剤-H₂O-HNO₃

系について HNO₃ の抽出を中和滴定法で測定し、次のような結果を得ている。

- 有機相中で HNO₃ は TBP · HNO₃ として存在する。
- 有機相中の TBP がすべて TBP · HNO₃ となると共に HNO₃ の分配量はほぼ飽和値を示す。
- TBP 低濃度のときは(2)式に示すような関係が成立する。

$$[\text{TBP} \cdot \text{HNO}_3]_o / [\text{HNO}_3]_w \cdot [\text{TBP}]_o = \text{const.} \cdots (2)$$
(o, w は夫々有機相, 水相を示す)
- TBP ~ ケロシン-H₂O-HNO₃ 系において、水相 HNO₃ 濃度が極めて大となると第三相が生成し、その組成はほぼ TBP · HNO₃ に等しい。その構造について Alcock 等は (BuO)₃P→O…HONO₂ を推定している。

但し(2)式に示すような関係は TBP 濃度が大となると共に成立し難くなり、又、有機相の TBP が定量的に TBP · HNO₃ となる水相 HNO₃ 平衡濃度 5~7 M 以上に HNO₃ 濃度が増加するに伴い、図1に示すように有機相の HNO₃ 濃度も次第に増加する。

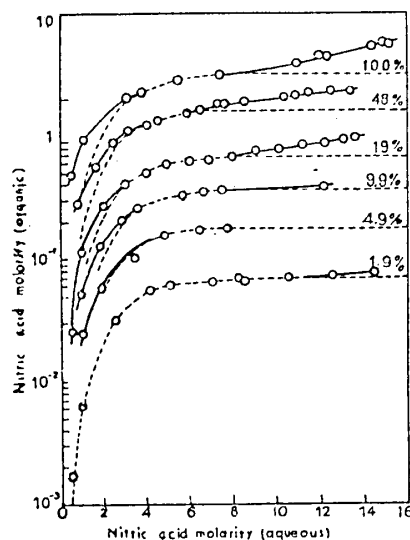


図1 TBP~ケロシン溶液に対する HNO₃ の分配
点線は(2)式より求めた理論曲線

この点について Alcock 等は有機相の HNO₃ 濃度の増加に伴って、TBP のブトキシ基 (Bu-O-) の酸素も水素結合にあずかるようになって TBP · (HNO₃)₂, TBP · (HNO₃)₃ のような組成の錯体が生成するためか、或は単なる HNO₃ の分配によるものか不明としている。

次に TBP による酸の抽出に伴って常に問題となるのは水の抽出であるが、Alcock 等は Karl Fischer 法によりこれを検討し、図2に示すようなかなり複雑な結果を得ている。

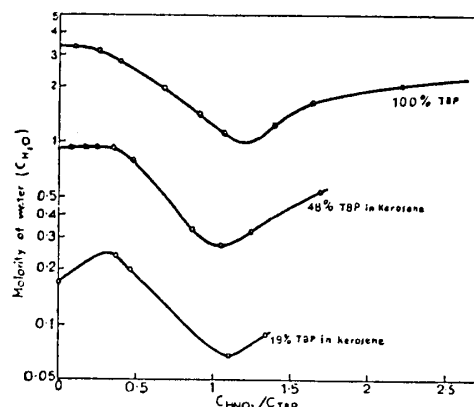
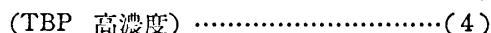
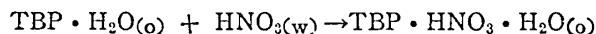
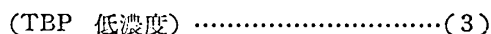


図2 TBP 相の水含量 19% TBP in kerosene

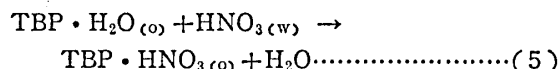
この結果について Alcock 等は HNO_3 低濃度領域では $\text{TBP}_{(o)} + \text{HNO}_{3(w)} \rightarrow \text{TBP} \cdot \text{HNO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}_{(o)}$



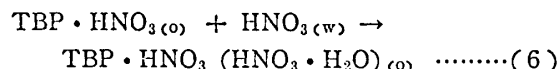
で示される反応が起り、次で HNO_3 濃度の増加に伴って無水錯体の量を増すために有機相の水含量は減少し、有機相の HNO_3 と TBP の濃度の比が1を越える附近から再び水和錯体を生ずるようになり水含量を増すと説明している。

尚、Alcock 等は $\text{TBP} - \text{H}_2\text{O} - \text{HNO}_3$ 系において各 HNO_3 濃度における TBP 相の粘度と電導度を測定し、Walden's rule ($A\eta/60 \propto \alpha$, η : 粘度, A : 電導度 α : TBP 相における HNO_3 の解離度) より HNO_3 の解離度を求め、その極めて小なるを認めている。

次で Tuck⁴⁾ は $\text{TBP} - \text{H}_2\text{O} - \text{HNO}_3$ 系について TBP 相の体積変化より HNO_3 の抽出を検討し、 HNO_3 平衡濃度約7M以下では TBP のホスホリル基 ($\rightarrow \text{P} \rightarrow \text{O}$) により (5) 式に示すような反応が起り、



HNO_3 濃度が更に高くなると TBP のブトキシ基の酸素も反応系に加わり(6)式に示すような反応が起るとして

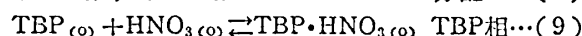
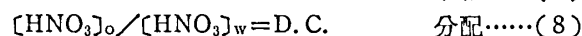
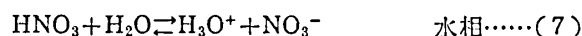


その後 Tuck⁴⁾ は更に $\text{TBP} - \text{H}_2\text{O} - \text{HNO}_3$ 系の TBP 相の粘度測定結果から TBP 相における各化学種間の相互作用について論じている。

一方 Collopy 等⁸⁾ は TBP による HNO_3 の抽出は水相における非解離状態の HNO_3 と TBP の間の反応によるものとして $\text{TBP} \sim \text{CCl}_4 - 100\% \text{HNO}_3$ 系の反応を、紫外部における吸収を利用して連続変化法及びモル比法により検討し、抽出系で生成される錯体は $\text{TBP} \cdot \text{HNO}_3$

だけで、それ以上の高次の錯体の生成は認められず、又、 $\text{TBP} - \text{H}_2\text{O} - \text{HNO}_3$ 系についての HNO_3 の分配平衡の測定結果からも抽出系の平衡は非解離状態の HNO_3 濃度により規定されることを認めている。

次で Collopy 等⁸⁾ は上記の結果に基づき、TBP による HNO_3 の抽出は



によるものとして、(8)の分配係数、(9)の平衡定数を求めている。

(TBP による HNO_3 の抽出が非解離の HNO_3 によるものであろうことはその後 Tuck, Diamond²²⁾ により同様に推定されている)

このように Collopy 等は $\text{TBP} - \text{HNO}_3$ 系では $\text{TBP} \cdot \text{HNO}_3$ 以外の錯体の生成を認めていないが、これに対し Tuck⁹⁾ は希釈剤を含む系と純 TBP 系では結果は異なる筈としている。

その後内藤等⁹⁾ は $\text{TBP} - \text{H}_2\text{O} - \text{HNO}_3$ 系、TBP~希釈剤- $\text{H}_2\text{O} - \text{HNO}_3$ 系について HNO_3 の抽出を HNO_3 、TBP 濃度を変化せしめて検討し、 HNO_3 低濃度領域において生成する錯体は TBP 低濃度のときは $\text{TBP} \cdot \text{HNO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ であり、TBP 高濃度のときは $(\text{TBP})_2 \cdot \text{HNO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ であるとしている。

以上のように TBP による HNO_3 の抽出反応については必ずしも一致した結果は得られていないが、反応条件、測定方法の相異もその理由の一つとして考えられる。

II-2 TBP-HCl 系

この系においては Irving 等¹⁰⁾ は $\text{TBP} - \text{H}_2\text{O} - \text{HCl}$ 系及び $\text{TBP} \sim \text{希釈剤} - \text{H}_2\text{O} - \text{HCl}$ 系について検討し、純 TBP 相に抽出された HCl の解離度を Walden's rule より測定して 0.1% 以下であること、HCl と共に抽出される水は HNO_3 の場合に比して多く、HCl 水相濃度の低いときは $[\text{H}_2\text{O}]_o / [\text{HCl}]_o$ は4前後の値を示し、又、希釈剤としてクロシンを用いるときは、HCl 水相濃度5M以上で第3相を形成すること等を認めているが、抽出相に生成する錯体の組成についてはふれていない。

次で Kertes¹¹⁾ は $\text{TBP} - \text{H}_2\text{O} - \text{HCl}$ 系について HCl の抽出を TBP 相の体積、密度、粘度、電導度の変化、水抽出量の測定により検討して図3に示すような結果を得、これよりこの系における反応は次の如くであるとしている。

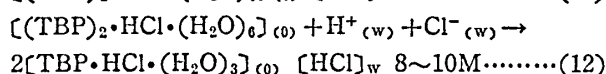
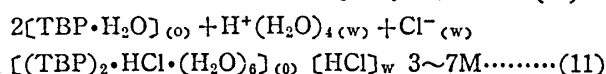
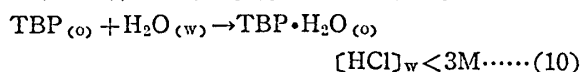
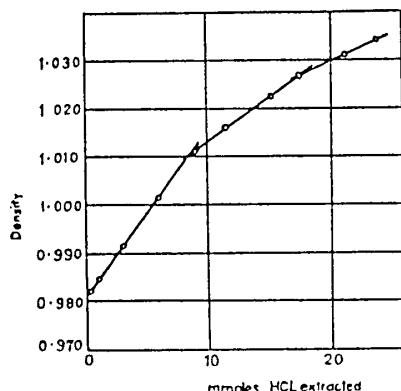


図 3 有機相の密度と抽出量の関係

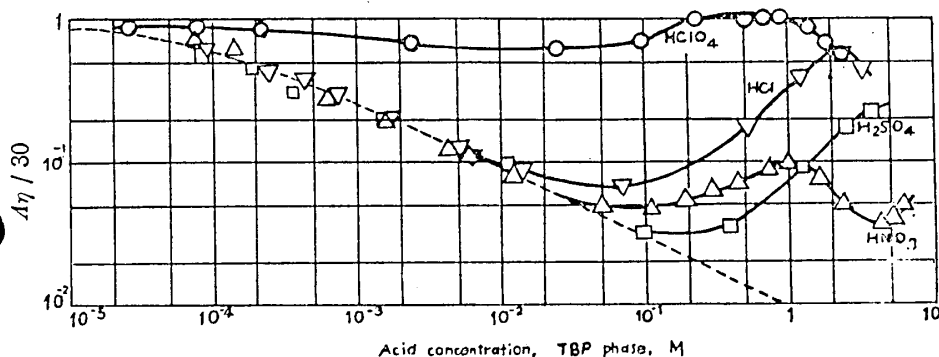


更に Kertes 等¹²⁾ は同様に TBP-H₂O-HBr 系についても検討し、HBr 中濃度領域において生成する錯体は (TBP)₂·HBr·(H₂O)₆ であることを認め、又、HBr 高濃度領域において生成する錯体は同様に TBP·HBr·(H₂O)₃ であろうとしている。

一方内藤等⁹⁾ は TBP~CCl₄-H₂O-HCl 系について HNO₃ の場合と同様に検討し、HCl 低濃度域で生成する錯体は TBP 5% 以下では TBP·HCl·(H₂O)₇ であり、20% 以上では (TBP)₃·HCl·(H₂O)₇ であると報告している。

このように Kertes の得た結果と内藤等のそれとは一致していないが、それぞれが純 TBP 又は TBP の希薄溶液から得たものであるためかと考えられる。

図 4 Walder's rule より求めた TBP 相の酸の解離度



点線は解離定数を 9×10^{-5} として求めた理論曲線

尚、Irving 等は上記のように希釈剤としてケロシンを用いると有機相は2層になることを認めているが、この点について Foa 等¹³⁾ は更に詳細に検討し、脂肪族系炭化水素を溶剤として用いたときのみ第3相の生成することを認めてその温度効果を検討し、有機相の低層部の組成は TBP·HCl(H₂O)_n で示されることを知り、又無水の TBP-希釈剤系に HCl ガスを通気しても2層に分離することから水の存在は必ずしも必要ではないことを認め、更に第3相は錯体 TBP·HCl(H₂O)_n が TBP-希釈剤への溶解度以上に生成するときに生成するとして、

TBP~ドデカン-H₂O-HCl 系の平衡図を求めている。

II-3 TBP-HClO₄ 系

先ず Hesford 等¹⁴⁾ は HCl, HNO₃, H₂SO₄, HF と共に HClO₄ について、純 TBP 並に TBP-希釈剤を用いて検討し、各酸の分配係数を求め、生成錯体についても簡単に述べ、更に純 TBP 相における各酸の解離度を Walden's rule を用いて測定し、図4に示すような結果を得た。

これにより Hesford 等は HCl, HNO₃, H₂SO₄ (第1段) は TBP 中では解離定数 9×10^{-5} の弱酸で、HF の解離度は更に小さいが、これに反し HClO₄ は TBP 中でも強酸で、濃度 10^{-2} M 以下では完全に解離していると述べている。但し、TBP の希薄ベンゼン溶液中では HClO₄ は殆んど解離していないことを認めている。

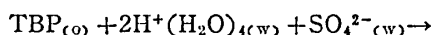
その後 Whitney 等⁹⁾ は TBP~CCl₄-H₂O-HClO₄ 系について検討し、TBP の濃度 0.1M 以下においては生成する錯体は水相 HClO₄ 平衡濃度 6 M 以下では 3 TBP·H₃O⁺·yH₂O...ClO₄⁻ ($0 \leq y \leq 1.0$), 12M 附近では TBPH⁺...ClO₄⁻ であり、6-10M では 2TBP·H₃O⁺·H₂O...ClO₄⁻, 2TBP·H₃O⁺...ClO₄⁻, TBP·H₃O⁺...ClO₄⁻, TBPH₄·H₂O...ClO₄⁻ 等であろうと推定し、抽出機構についても論じている(後述)。

又、内藤等⁹⁾ は HNO₃ の場合と同様に HClO₄ 系も検討し、生成する錯体は (TBP)₃·HClO₄(H₂O)_{4.5} であると報告している。

II-4 TBP-H₂SO₄ 系

Brauer 等¹⁵⁾ は TBP~希釈剤-H₂O-H₂SO₄ 系について、TBP の種々の希釈度における H₂SO₄ の抽出を検討し、H₂SO₄ の抽出については水相 H₂SO₄ 濃度の増加と共に $[H_2SO_4]_0/[TBP]_0$ は一定値に近づき、その値は TBP の希釈度の大きな程大きいことを認め、水の抽出については TBP の希釈度により異なるかなり複雑な結果を得ている。例えば TBP 1~5

%ケロシン溶液では水相 H₂SO₄ 濃度 5 M 附近で水の抽出量は極大値を示すが、このときの反応は(12)式で示されるとしている。



一方、内藤等⁹⁾ は生成する錯体は (TBP)₃·H₂SO₄(H₂O)_{4.5} であるとしている。

II-5 その他の酸

TBP-H₃PO₄ 系については内藤等⁹⁾, Higgins 等¹⁶⁾ の報告があり、内藤等は錯体として、(TBP)₃·H₃PO₄(H₂O)

4.5 の生成を認めており、一方、Higgins 等は非常に広範囲の H_3PO_4 濃度について検討しているが、酸濃度の高い領域におけるリン酸の表現に疑問が持たれ、再検討を要するものと思われる。

TBP-希釈剤- H_2O - $\text{H}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 系については Tuck 等¹⁷⁾ の報告があり、 HCl , HBr 酸性溶液からの抽出反応は (13) 式で示され、

$\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 + \text{HX} + \text{TBP} \rightarrow 2 \text{HCrO}_3\text{X} \cdot 3 \text{TBP} \dots\dots (13)$
 1~5M H_2SO_4 , 3M HClO_4 , 3M HNO_3 酸性溶液における反応は

$\text{HCr}_2\text{O}_7^- + \text{H}^+ + 3\text{TBP} \rightarrow \text{H}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 \cdot 3\text{TBP} \dots\dots (14)$
 で示されるとしている。

TBP- HReO_4 系については Kertes 等¹⁸⁾ 及び Whitney 等⁵⁾ の報告があり、Kertes 等は TBP- CCl_4 - H_2O - HNO_3 - KReO_4 系における反応は

$4\text{TBP}_{(o)} + \text{H}^+_{(w)} + \text{ReO}_4^-_{(w)} \rightleftharpoons (\text{TBP})_4\text{HReO}_4 \dots (15)$
 で示され、 KReO_4 と HNO_3 のモル比が 1 に近いときは (15) 式の反応により HNO_3 の抽出は抑制されることを認め、更に (15) の反応の平衡定数を求めている。一方、Whitney 等⁵⁾ は TBP-オクタン- H_2O - HReO_4 系について検討し、 $[\text{H}^+]_0/[\text{TBP}]_0$ は 3 であると述べており、Kertes 等とは異なる結果となっている。

TBP- H_2O - HNO_2 系については Fletcher 等¹⁹⁾ が検討しており、 HNO_2 は TBP により殆んど定量的に抽出され、生成する錯体は $\text{TBP} \cdot \text{HONO}$ で、水の共抽出は認められないと報告している。

その他種々の有機酸については Pagel 等²⁰⁾、内藤等⁹⁾、Tuck²¹⁾ の報告がある。

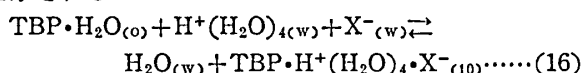
次に、此等の酸の TBP による抽出のされ易さの順については、内藤等⁹⁾ によれば純 TBP では $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \sim \text{HOAc} > \text{HClO}_4 > \text{HNO}_3 > \text{H}_3\text{PO}_4 > \text{HCl} > \text{H}_2\text{SO}_4$ で、陰イオンの水和エネルギーの大きい程酸は抽出され難く、TBP の 20% 溶液では $\text{HOAc} > \text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 > \text{HNO}_3 > \text{HClO}_4 > \text{HCl} > \text{H}_2\text{SO}_4 \sim \text{H}_3\text{PO}_4$ で、水和数の多い酸抽出され難いことを認めている。一方、Tuck²¹⁾ によれば純 TBP を用いるときは弱酸では $\text{CCl}_3\text{CO}_2\text{H} > \text{HNO}_3 > \text{H}_3\text{PO}_4$ であり、強酸では $\text{HClO}_4 > \text{HBr} > \text{HCl} > \text{H}_2\text{SO}_4$ である。Tuck は此等の結果及び種々の有機酸についての測定値²⁰⁾、di-isopropyl Ketone, di-isopropyl ether, dibutylcellosolve 等による酸の抽出結果から TBP 等の塩基性溶媒を用いるときは、i 酸が弱い程、ii 陰イオンの水和度が低い程、iii 陰イオンが大きい程、その酸は抽出され易いとしている。

II-6 塩基性溶媒による酸の抽出機構

上述の如く TBP による酸の抽出反応はかなり複雑であり、未だ明確な結論の得られていない系もあるようであるが、これに関連して酸と共に抽出される水の問題に

ついて大変興味ある報告が Tuck, Diamond, Whitney 等により提出されているので、これを含めて、TBP による酸の抽出機構について簡単に述べる。

まず、Tuck, Diamond²²⁾ は TBP, dibutylcellosolve による HClO_4 , HCl , HBr , HNO_3 , $\text{CCl}_3\text{CO}_2\text{H}$ の抽出を体積変化法により検討し、酸抽出量と体積変化が直線関係にある範囲内では HClO_4 , HCl , HBr については有機相に抽出された酸と水のモル比はほぼ 4 に等しいことを認め、これよりエーテル、ケトン、エステルのような適度な塩基性を持つ溶媒を用い、7M 程度以下の強酸水溶液から酸を抽出するときは水相のヒドロニウムイオン H_3O^+ は 3 水和物 $\text{H}^+(\text{H}_2\text{O})_4$ の形で抽出されるとし、他の方法²³⁾ でも認められた H_3O^+ の 3 水和物 $\text{H}^+(\text{H}_2\text{O})_4$ の存在を抽出法によっても確認し得たと述べている。従って、TBP による強酸の抽出反応は (16) 式で示される。



一方、TBP により HNO_3 , $\text{CCl}_3\text{CO}_2\text{H}$ を抽出するときは $\text{H}^+(\text{H}_2\text{O})_4$ の抽出は認められず、生成する錯体の組成は $\text{TBP} \cdot \text{HNO}_3$, $\text{TBP} \cdot \text{CCl}_3\text{CO}_2\text{H}$ である。これに対し Tuck 等はこの相異の原因は HNO_3 , $\text{CCl}_3\text{CO}_2\text{H}$ が HClO_4 等に比し弱酸であるためであり、 HNO_3 , $\text{CCl}_3\text{CO}_2\text{H}$ は非解離の形で抽出されたとした。

又、TBP- HNO_3 系及び TBP- $\text{CCl}_3\text{CO}_2\text{H}$ 系で生成する錯体が $\text{TBP} \cdot \text{HNO}_3$ 、及び $\text{TBP} \cdot \text{CCl}_3\text{CO}_2\text{H}$ で、dibutylcellosolve (DBS)- HNO_3 系 DBS- $\text{CCl}_3\text{CO}_2\text{H}$ 系からは DBS- $\text{HNO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 及び DBS- $\text{CCl}_3\text{CO}_2\text{H} \cdot \text{H}_2\text{O}$ が生成するのは溶媒の塩基性の強弱にその原因があり、DBS のように溶媒の塩基性が余り強くないときは水は HNO_3 と水素結合し、次で更に溶媒とも水素結合して錯体が生成するが、TBP のように塩基性のかなり強い溶媒のときは TBP は水と HNO_3 に対する水素結合をきそい得ようになり、その結果無水錯体 $\text{TBP} \cdot \text{HNO}_3$ が生成するとした。

次で Whitney 等⁵⁾ は TBP- CCl_4 - H_2O - HClO_4 系で HClO_4 の抽出量の低い領域で生成する錯体が $3 \text{TBP} \cdot \text{H}_3\text{O}^+ \cdot y \text{H}_2\text{O} \cdots \text{ClO}_4^-$ ($0 \leq y \leq 1.0$) (II-3 参照) で $[\text{TBP}]_0/[\text{H}^+]_0$ が 3 となるのは図 5 に示すように H_3O^+ の各水素と TBP が水素結合するためであり、

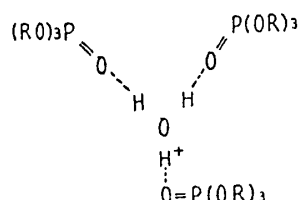


図 5

又, H_3O^+ の水和数が3でないのは希釈剤である無極性の四塩化炭素が水饱和度が高く極性の強い種の抽出を妨げるため、TBP の濃度の増加と共に有機相の錯体の組成は図6のようになるとした。

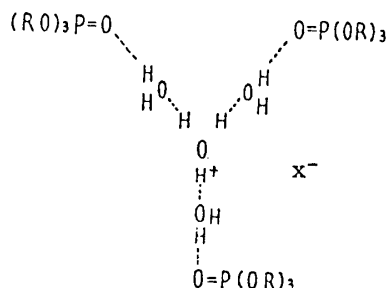
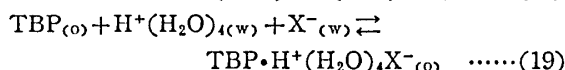
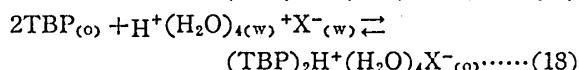
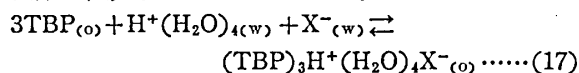


図 6

又, Tuck²⁰⁾ は TBP-強酸系で生成する錯体中の TBP の数は酸の濃度に依存し, TBP 相の $\text{H}^+(\text{H}_2\text{O})_4$ の濃度の増加と共に (17)~(19) 式に従い錯体中の TBP の数は次第に減少すると説明している。



以上簡単に TBP の性質並に TBP による酸の抽出について記した。更に続いて TBP その他による金属塩の抽出等について記す予定であるが、何かのお役に立てば幸である。

文 献

- 1) J. Warf: J. Am. Chem. Soc., 71, 3257 (1949)
- 2) K. Alcock, et al: Trans. Faraday Soc., 52, 39 (1956)
- 3) C. E. Higgins, et al: J. Phys. Chem., 63, 113 (1959)
- 4) D. G. Tuck: J. Chem. Soc., 2783 (1958)
- 5) D. C. Whitney, R. M. Diamond: J. Phys. Chem., 67, 209 (1963)
- 6) D. G. Tuck: Trans. Faraday Soc., 57 1297 (1961)
- 7) T. J. Collopy, J. F. Blum: J. Phys. Chem., 64, 1324 (1960)
- 8) T. J. Collopy, J. H. Cavendish: ibid., 64, 1328 (1960)
- 9) 内藤, 鈴木: J. Phys. Chem., 66, 933 (1962)
- 10) H. Irving, D. N. Edgington: J. Inorg. Nucl. Chem., 10, 306 (1959)
- 11) A. S. Kertes: ibid., 14, 104 (1960)
- 12) A. S. Kertes, V. Kertter: Canad. J. Chem., 38, 612 (1960)
- 13) E. Foa, et al: J. Inorg. Nucl. Chem., 23, 109 (1961)
- 14) E. Hesford, H. A. C. McKay: ibid., 13, 156 (1960)
- 15) E. Brauer, E. Högfeldt: ibid., 23, 115 (1961)
- 16) C. E. Higgins, W. H. Baldwin: ibid., 24, 415 (1962)
- 17) D. C. Tuck, R. M. Walters: J. Chem. Soc., 1111 (1963)
- 18) A. S. Kertes, A. Beck: ibid., 1921 (1961)
- 19) J. M. Fletcher, et al: ibid., 1705 (1961)
- 20) H. A. Pagel, F. W. McLafferty: Anal. Chem., 20, 272 (1948)
- 21) D. G. Tuck: J. Chem. Soc., 2736 (1963)
- 22) D. G. Tuck, R. M. Diamond: J. Phys. Chem., 65, 193 (1961)
- 23) 文献 (22) 参照

ホタルの発光物質 Luciferin の化学構造と合成

明治薬科大学教授 薬学博士 富 松 祥 郎

1. ま え が き

動植物の生化学的発光現象については古く Francis Bacon による発光キノコの発見や Robert Boyle による発光性細菌の研究が知られており、これに関する成書¹⁾もあるが発光本体をなす物質の化学的研究や発光現象の物理的ならびに化学的究明に関しては案外に報告が少ない。ことに初夏の風物として古くから我々に親しまれているホタルの発光現象は Luciferin という物質が Luciferase と呼ばれる酵素の触媒作用により空気酸素で酸化される反応の結果として光を出すということが知られており、これと類似の機構による物質の発光現象を一般に蛍光と呼ぶのもこのためであるが Luciferin の化学構造が最近に至るまで不明のままであったことは、むしろ意外の感がある。しかるに最近、アメリカで E. H. White, F. McCapra, G. F. Field らの共同研究として Luciferin の化学構造を確定し得たことが本年になっ

てアメリカ化学会誌に報告された²⁾。蛍光現象の工業的利用には蛍光塗料、蛍光漂白剤などのあることは衆知の通りであるが現在までのところ、その実用化は比較的特定の場合に限られている。しかし物質の発光現象自体が科学的に興味あるのみならず、化学構造と発光の関係がさらに解明されるに従って将来、利用の途も一層拡大されるものと考えられる。ことに Luciferin の構造決定は最近の有機化学における研究方法の動向を示す好適例の一つと思われるのでここにその概要を紹介することとする。紙数の関係上、抽出、単離操作については省略させていただきます。

2. 構 造 決 定

ホタルの Luciferin は 1957 年 はじめて単離され Bitler ら³⁾により $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}_2$ の組成が与えられたが、その後 White ら²⁾により $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{H}_2\text{O}_5\text{S}_2$ と訂正された。Luciferin は mp. 190°(分解)を示す青みがかった黄色のこ

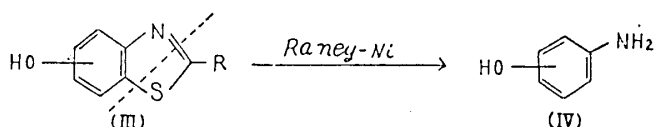
まかい結晶性物質であるが、不安定で再結晶することも昇華させることも困難である。

組成の確定が容易でなかったのも、このためと思われる。Spot testによると Diazonium塩と couple し得る group を含むことが認められ、水溶液中での紫外部吸収スペクトル (UV) では $\lambda_{\max}$ 265 $m\mu$ (broad, $\log \epsilon$ 3.90), 327 $m\mu$ ($\log \epsilon$ 4.30) を示すがアルカリ性溶液中 (PKa 8.4 の変化に対して) では $\lambda_{\max}$ 238 $m\mu$ ($\log \epsilon$ 3.88) $\lambda_{\max}$ 383 $m\mu$ ($\log \epsilon$ 4.27) に移動する。これらのデータから Luciferin には Phenol 性 OH の存在が予測された。また Spot test で -SH, >C=S, -S-S-等の基を含まないことがわかったので硫黄は環内に含まれている公算が大きい。赤外線吸収スペクトル (IR) においても OH 伸縮振動の領域に幅広い band を示すが Carbonyl 領域にも 1本の吸収が認められる。しかし Luciferin はジアゾメタンと反応してエステルと思われる物質を生じ、アンモニアとの反応生成物は IR スペクトルの Carboxylate ion に特徴的な位置 (6.3 μ , 1587 cm^{-1}) に吸収を示すので Carbonyl 領域の吸収は Carboxyl 基のそれによるものと推測され、従って3個の酸素は Phenol性 OH および COOH であると判定された。

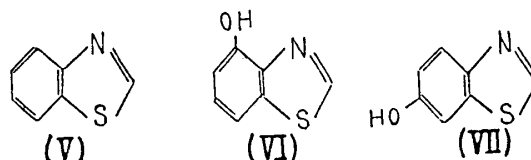
Luciferin は酸素、光、酸に対して不安定で空気酸素により容易に酸化されて $C_{11}H_6N_2O_3S_2$ の組成の物質になる。本物質を Dehydroluciferin と呼んでいる。これはまた Luciferin をアルカリ性溶液中、赤血塩で酸化しても得られる。その IR スペクトルは Luciferin のそれに類似しているが、UV スペクトルは長波長に移動し $\lambda_{\max}$ 273 $m\mu$ ($\log \epsilon$ 3.95), 350 $m\mu$ ($\log \epsilon$ 4.38) を示すことから共役系が Luciferin より長くなっていることがわかる。両者の化学的性質におけるいちじるしい相異は Dehydroluciferinの方が酸に対してはるかに安定なことである。この点と前記のごとく硫黄は -SH, >C=S, -S-S- などとしては存在していないという事実から Dehydroluciferin には Thiazole 核 (I), 従って Luciferin には Thiazoline (Dihydrothiazole) 核 (II) が存在するのではないかと推測された。この推測は Thiazoline は加水分解されやすく、Thiazole は安定という既知の事実⁴⁾とも一致する。このことをもとにして Thiazole核の探索を第一の目標として研究が進められた。

Luciferin あるいは Dehydroluciferin をエタノール中ラネーニッケルとともに加熱還流させると UV 吸収の $\lambda_{\max}$ は 221, 270および 277 $m\mu$ (PH 1) に移動する。この極大吸収は *p*-Aminophenol のそれ ($\lambda_{\max}$

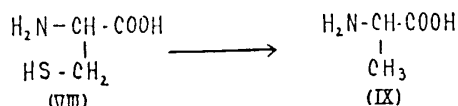
220, 272, および 278 $m\mu$) にほぼ一致するが *p*-(methyl amino)-phenol や *m*-および *o*-Aminophenol のそれ⁵⁾にも非常に似ているのでそれだけでは OH の位置は明らかでないが前記のごとく Luciferin には Phenol 性 OH の存在が予測されていることと Benzothiazole (V) はラネーニッケルによってアニリンを生ずるという知見⁶⁾と考え合わせると原物質には Benzothiazole 核 (III) が存在し、これが、この反応によって還元的開裂を起して次式のごとく Aminophenol 類 (IV) を生じたことはほぼ確実と思われる。



そこで Luciferin を濃塩酸で処理したところ、2種の物質の生成を認め、そのうち溶液から水を蒸発し、残渣を昇華させて得た結晶体の UV スペクトルを観察してみると果して Benzothiazole のそれに類似しているが吸収極大は Benzothiazole そのもの (V) よりはやや長波長にあり、しかもこれをアルカリ性溶液中で観察すると、さらに長波長に shift することから、Phenol 性 OH の存在は一層確実とされたので既に記載されている 4-Hydroxybenzothiazole (VI) のスペクトル⁷⁾ および既知の方法⁸⁾で 6-Nitrobenzothiazole から別途合成した 6-Hydroxybenzothiazole (VII) のそれと比較したところ、(VI) のそれとは全く異なり (VII) のそれと第1図に示すごとく完全に一致することがわかったので Phenol 性 OH 基の位置は Benzothiazole 核の 6位と決定した。

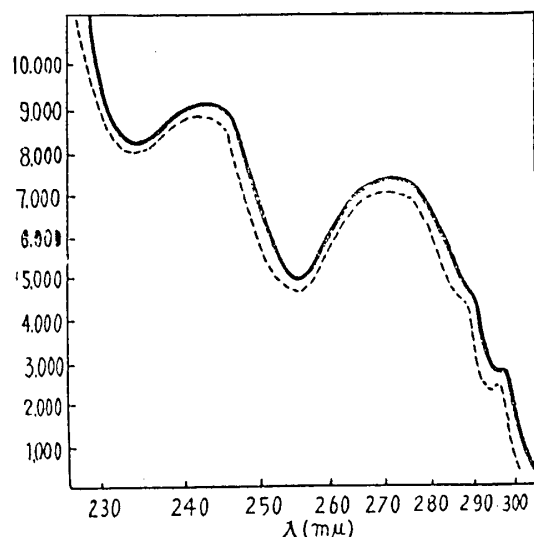


上記の塩酸で処理して得たもう一つの物質は水溶性でペーパークロマトグラフィーで Cysteine (VIII) の存在を認めたのでこれをラネーニッケル脱硫反応に付し、Alanine (IX) に誘導し、これを確認した。



そこで Luciferin は (VII) および (VIII) の部分構造を有することが判明したが、その組成は C_{11} であり、(VII), (VIII) を合わせると C_{10} になるから Luciferin の構造は (VII) および (VIII) を、あと残り1個の炭素で連結した

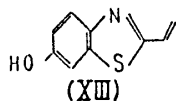
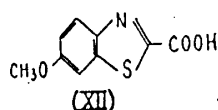
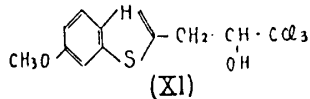
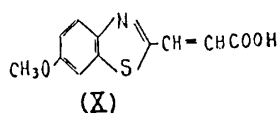
ものでなくてはならぬ。しかるに Luciferin を接触還元すると1モルの水素を吸収するが還元生成物の UV スペクトルは (VII) とほとんど変わらないので Benzothiazole 核は還元されておらず、側鎖部分に還元が起ったと考えねばならぬ。ゆえに側鎖不飽和結合の Benzothiazole 核との共役関係を検討するため (X), (XI), (XII)



第 1 図

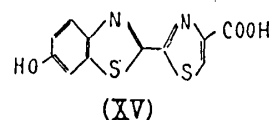
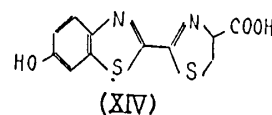
—— Luciferin の加水分解生成物
 6-Hydroxybenzothiazole (VII)
 (95%エタノール溶液中)

のようなモデル化合物を作り、それらの UV スペクトルと前記の Luciferin のそれを比較した。側鎖部で $C=C$ と $>C=O$ が Benzothiazole 核に共役している (X) では λ_{max} 267m μ ($\log \epsilon$ 3.79), 338m μ ($\log \epsilon$ 4.28) で長波長側にあり、共役が長すぎることをあらわしており、側鎖が飽和の (XI) では λ_{max} 271m μ ($\log \epsilon$ 4.01) 287m μ ($\log \epsilon$ 3.79), 298m μ ($\log \epsilon$ 3.58) で短波長側にあり、共役が短かすぎるのがわかるが、(XII) では λ_{max} 260m μ ($\log \epsilon$ 3.86), 312m μ ($\log \epsilon$ 4.06) で Luciferin のそれに近づくことから Benzothiazole 核と共役する不飽和結合は1個、すなわち (XIII) の型であると推定された。



(VII), (VIII) の構造に炭素1個を加え、以上の知見を

総合して Luciferin の平面構造は次の (XIV) であると結論された。



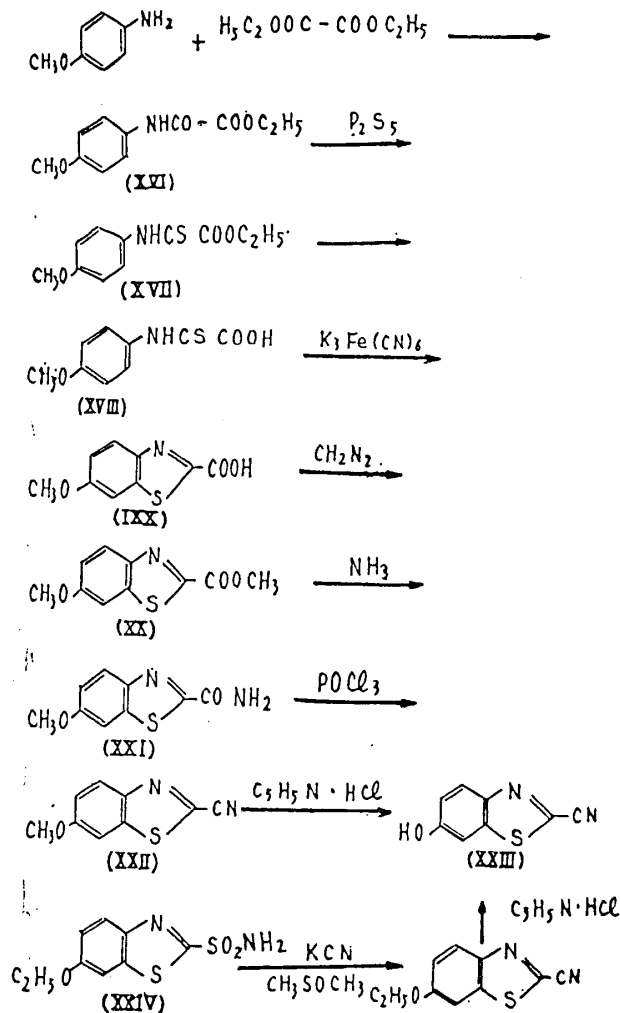
この結論はさらに核磁気共鳴分光学 (NMR) を用いて確証された。すなわち NMR スペクトルの芳香核領域には 2.2 τ ($J_{4,5}=10$ c.p.s) の二重線, 2.5 τ ($J_{5,7}=3$ c.p.s) の二重線および 2.9 τ に重心を有する一対の二重線があり、これらの Signal はそれぞれ分子の 6-Hydroxybenzothiazole 部分におけるおよ 4, 7 および 5 位の Proton に assign された。また脂肪族領域では推定式からいわゆる A_2X 系を形成しているわけであるが、4.4 τ に重心を有する三重線, 5.6 τ における二重線 ($J=10$ c.p.s) はこれを裏付ける。かくして Luciferin の構造は (XIV) すなわち 2-(6-Hydroxy-2-benzothiazolyl)-4²-thiazoline-4-carboxylic acid であると確定された。

3. 合成と立体配位

Thiazoline 核は不安定であるから中間過程での attack を避けるため、まず Benzothiazole 部分を合成し最終工程で Thiazoline 部分を形成させる方針をとった。Thiazoline 核形成は Nitrile 基への Cysteine の付加で一挙に達せられると目算を定め、まずこれに必要な 2-Cyano-6-hydroxybenzothiazole (XXIII) の合成からとりかかることとし、それには p-Anisidine を出発物質とする Reissert の Benzothiazole 核合成法⁹⁾ が採用された。

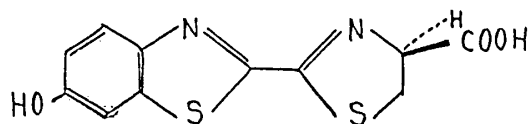
まず p-Anisidine を Ethyl oxalate と結合させて Ethyl N-(4-methoxy-phenyl)-oxamate (XVI) とし、五硫化磷で対応する Thioamide (XVII) とし、これを単離することなく、ただちに加水分解して N-(4-methoxyphenyl)-thiooxamic acid (XVIII) とし、これをアルカリ性で赤血塩により酸化すると 6-Methoxybenzothiazole-2-carboxylic acid (XIX) が得られた。なお (XI) は前記の (X) を $KMnO_4$ で酸化しても得られる。この酸をジアゾメタンでメチルエステル (XX) にし、これとアンモニアの作用で対応する Amide (XXI) に変え、これをオキソ塩化磷で脱水すると 2-Cyano-6-methoxybenzothiazole (XXII) が得られる。次に methoxy 基を脱メチルすると (XXIII) が得られるわけであるが、この種の化合物の Nitrile 基は Libman¹⁰⁾ が既に記載しているように、はなはだ活性で脱メチル化の常法である HBr などを用いると CN がただちに加水あるいは加水分解を受けるので、この段階でかなり苦労した様子

である。しかしこの難点は Prey の提案しているビリジン塩酸塩を用いる脱メチル化法¹¹⁾を採用することにより解決された。かくして Luciferin の Benzothiazole 部の合成が達せられたのである。なお (XXIII) の合成はその後 Korman¹²⁾ が先に記載している 6-Ethoxybenzothiazole-2-sulfonamide (XXIV) を Dimethyl-sulfoxide 中でシアニ化カリウムと作用させてニトリル化しやはりビリジン塩酸塩法で脱エチル化することにより、はるかに簡易化されたようである。



さて最終工程の (XXIII) と Cysteine の付加反応であ

るが、これは Kuhn, Drawert らの Nitrile と Amino-thiol の付加反応¹³⁾ に準じて行なわれた。すなわち (X XIII) と D-Cysteine を水性メタノール中で作用させたところ、予期のごとく反応し、一挙に目的の Luciferin の合成を達し得たのである。このようにして得られた合成 Luciferin は IR, UV スペクトルが天然 Luciferin と完全に一致するのみならず、試験管中で酵素を作用させるとホタルに独特の発光現象を呈し、天然物と同一物であることが確認された。Cysteine との縮合に Thiazolinecarboxylic acid 合成の常法である Iminoether と Cysteine ester との反応を用いなかったのは縮合後、エステルを加水分解する際に起ると予想される D-Cysteine の不斉中心における配位の反転¹⁴⁾を避けるための考慮である。D-Cysteine の絶対配位 (absolute configuration) は既に確定している¹⁵⁾ これをもとにして Luciferin の Thiazoline 核における不斉中心の絶対配位は Carboxyl 基が β 配位、水素が α 配位、すなわち (下式) に示すごとくであると結論された。



文 献

- (a) E. N. Harvey "Bioluminescence" Academic Press, Inc, New York, N. Y., 1952
(b) E. N. Harvey "A History of Luminescence" The American Philosophical Society, Philadelphia, Pa. (1957)
- White, McCapra, Field : J. Am. Chem. Soc, 85, 337 (1963)
- Bitler, McElroy : Arch. Biochem. and Biophys., 72, 358 (1957)
- Martin, Lowey, Elson, Edsall : J. Am. Chem. Soc, 81, 5089 (1959); Martin Parcell : ibid. 83, 4830 (1961)
- Ungnade "Organic Electronic Spectra Data" Vol. II, Interscience Publishers, Inc., New York, N. Y. 1960
- Ivanov : Comp. rend. acad. Bulgare Sci. 5, No. 1, 13 (1953)
- Erlenmeyer, Ueberwasser Weber : Helv. Chim. Acta., 21, 709 (1938); Erlenmeyer, Ueberwasser ibid. 25 515 (1942)
- Boggust, Cocker : J. Chem. Soc., 335 (1949)
- Reissert : Ber. 37, 3708 (1904)
- Libman, Slack : J. Chem. Soc. 2253 (1956)
- Prey : Ber. 75, 445 (1942)
- Korman : J. Org. Chem. 23, 1768 (1958)
- Kuhn, Drawert : Ann. 590 55 (1954)
- Arnstein : Biochem. J. 68 333 (1958)
- Greenstein, Winitz : The chemistry of the Amino Acid, Vol. 1 P. 52

抗酸化剤としての β -ナフタリンチオール

(シカチオール β)

日本大学理工学部 板 橋 国 夫

各種の有機イオウ化合物が有機物の酸化防止に有効な事は知られているが¹⁾, β -ナフタリンチオール (NT) は

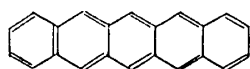
特に有効であり、炭化水素、合成高分子化合物の抗酸化剤として種々の文献、特許がある。ポリエチレン (PE)

に対する有機イオウ化合物の抗酸化性は NT とカーボンブラック (CB) の組合せがすぐれ、それぞれの相剋効果がみられ有効な抗酸化剤である。

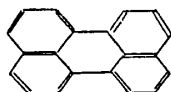
PE に対する CB の抗酸化作用は CB の表面の含酸素官能基のためといわれるが、Hawkins らはイオウ化合物との相剋効果はこのためでなく、CB の高度の共軛構造によるものと考えている²⁾。

彼等はこの点について検討を加え、多環芳香族炭化水素と NT を併用する事により PE に対しすぐれた抗酸化性を与える事に成功しているので簡単に紹介する³⁾。

共軛構造を有する化合物として種々の多環芳香族炭化水素と NT の組合せを試験した結果ではナフタリン、アントラセンはほとんど無効であり、テトラセン、ペンタセン、ペリレンが著しい相剋効果を示した。



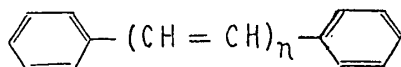
ペンタセン



ペリレン

しかし NT, ペリレンそれぞれ単独では殆んど効果を示さなかった事は興味深い。その結果は図の通りである。

又ジフェニルポリエンの様な線状の共軛系でも同様の効果があったが、この場合も $n \geq 3$ の高度の共軛系が必要であった。



ジフェニルポリエン

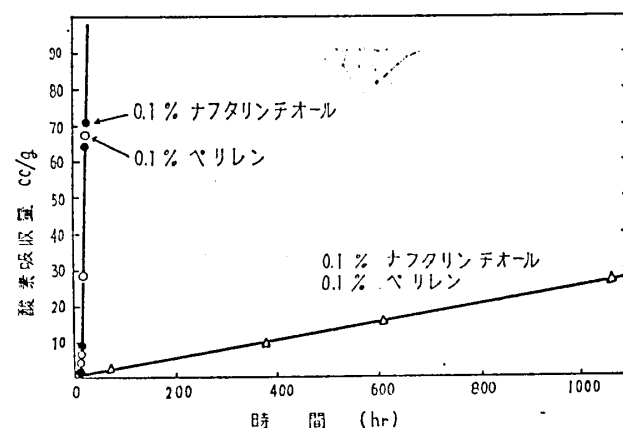
β -カロチンは芳香核を有しないが、11個の二重結合を

含み、NT との相剋効果がみられた。

炭化水素以外でも高度の共軛系を有する化合物例えば 3, 5, 3', 5'-テトラ-*t*-ブチル-4, 4'-ジフェノキノン、同様なスチルベキノンも NT と相剋効果を示した。

一方 CB とは ジ- β -ナフチルジスルフィド、テトラアルキルチウラムジスルフィド、4, 4'-チオ-ビス (3-メチル-6-*t*-ブチルフェノール) 等が有効であった。

以上述べた様に NT と共軛系を有する化合物の組合せが PE の酸化防止に有効であると、CB 配合の為さけられなかった着色はなく淡色の製品が得られるので応用の面も広いと思われる。



ポリエチレンの酸素吸収速度 (140°)

文 献

- 1) E. E. Reid, Organic Chemistry of Bivalent Sulfur Vol. 1. 253
- 2) W. L. Hawkins et al., J. appl. Polymer Sci. 1959. 1. 43
- 3) W. L. Hawkins et al., Chem. and Ind. 1960. 1023

ラブ酵素レンニンの生化学的意義

星薬科大学教授 薬学博士 涌 井 袈 裟 参

ラブ (Lab) 酵素レンニンは犢の第四胃¹⁾ にあって、強い凝乳作用をあらわす、凝乳時の至適 pH がペプシンとほぼ同じ 5 付近にあるため、ペプシンとレンニンとが同一物であるか、異種物質であるかについて、従来しばしば論議的となった。

Pawlaw²⁾ およびその共同研究者達は、レンニンとペプシンとを同一物とみなし、その作用の異なるのは、作用時の pH の相違によるのであって、同一酵素が pH 2 のときには、ペプシンとして働くのであるとした。

しかしこの説は Hammersten³⁾ が、犢の第四胃からレンニンを牛乳凝固素として分離し、更にこのものがペ

プシンと全く異なるものであることを立証して、これに Labferment または Chymosin なる名称を与え、更に 1932 年 Tauber および Kleiner³⁾ による Prorenin および Rennin の精製、また 1943 年 Hankinson⁴⁾ 1945 年 Berridge⁵⁾ による結晶レンニンの単離によって、従来レンニンおよびペプシンが同一酵素であるとの説は、全く解消されるに至った。

レンニンが犢の第四胃中にあることは、多くの人々によって認められているが、他の若い哺乳動物の胃中にも存在するかどうかについては異説がある。

Holter, Anderson⁶⁾ らは、他の若い哺乳動物の胃お

よび成長した牛の胃中には、存在しないといい、赤堀⁷⁾は乳児の胃粘膜に存在し、乳汁を凝固させ、ついで消化作用を助けるといっている。

Dotti および Kleiner⁸⁾ らは、胃中にレンニンが存在しないのは、胃中のレンニンがペプシンによって消化されて、消失したためであって、レンニンまたはレンニン様物質(カテプシン)が分泌されていないということは立証されていないといっている。なおカテプシンは人の胃液中に豊富に存在し、その至適 pH が 4~5 であり、非常によくレンニンに似ていることが、Freundenberg⁹⁾ および Bucks¹⁰⁾ によって明かにされた。

1. ラブ酵素の牛乳凝固機構 ラブ酵素による牛乳の凝固機構は、多くの研究者^{11)~20)} によって研究されているが、まだ詳かでない。今日までの研究結果を見ると、これを大別して物理的および化学的变化に分けることができる。そのうち、物理的变化によるという説は 2~3 であって、他の大部分は化学的变化によるという説で、Wright¹⁰⁾ はラブ酵素のあらゆる化学的な作用を否定し、その凝固作用をカゼインのコロイド状態の変化による結果であるとしている。

Richerdson および Palmer¹¹⁾ は電気的研究の基礎に立って、ラブ酵素の凝固作用を電気的過程とし、凝固はカチオンとして働く酵素分子によるカゼイン粒子の電荷低下によるといっている。

同様な結果は、最近 Dyachenko¹²⁾ (1950) によっても報告された。彼はラブ凝固をカゼイン磷酸石灰コンプレックスの電荷低下であると観察している。

Hammersten¹³⁾ は、ラブ作用をカゼインが二つの単一蛋白質すなわちバラカゼインと、Molkeneiweiss に分解する結果としている。

Bosworth¹⁴⁾ は、ラブ酵素がカゼイン分子を 2 分子のラブカゼインに分解することによって起るとし、この反応は CaCl_2 によって促進されるという。

最も一般的でまた最も確実なのは、Calsberger Laboratrien の説である。この説によると、カゼインは単一な物質でなく三つの複合体からなっているという。

Linderström および Lang¹⁵⁾ はカゼインをアルコール製塩酸で分割沈殿すると、数種の複合体に分離することを確認した。

Mellander¹⁶⁾ は、電気透析による移動感受性によって、カゼインを α , β , γ の 3 種に分離した。

Warner¹⁷⁾ は、等電点の移動沈殿により、純粋な α , β , 区分を取り出し、更に γ -カゼインを Hipp¹⁸⁾ およびその共同研究者が純粋に製出した。

Hostettler および Rychener¹⁹⁾ は、三つのカゼイン複合体の分離により、その中に更に種々の微粒子を見つけ、また遠心分離により、牛乳にふくまれている五つの

カゼイン因子を見出した。この研究から、種々の大きさのカゼイン粒子の組成は α , β および γ -カゼインの含量に変化のないことがわかった。

Holter²⁰⁾ および Linderström, Lang²¹⁾ の説によると、不溶性カルシウムカゼインの析出は、今日なお究明されていないカゼイン複合体の保護膠質作用が失われ、それにより Ca イオンの作用のもとに、沈殿が生起するのであるといい、この保護膠質説によると凝固過程は次の二つに分けられる。

① 酵素の第二次反応, ② 非酵素的第二次反応

Linderström, Lang の保護膠質説は、最近 Nitschmann および Lehmann によって支持された。それは酸カゼインとラブカゼインとの混合物から Ca イオンによって両方のカゼインが 1 : 1 の割合で沈殿され、この現象はカゼイン複合体の保護膠質作用で明瞭に説明される。

この報告は、電気泳動により α -カゼインの変化がラブ酵素の作用によって行われるものであることを明瞭にした。

第一次段階の反応の説明に対する更に進んだ研究は、最近 Nitschmann およびその協同研究者によって行われ、カゼインおよびその関係物質から、非蛋白性窒素(N.P.N)の分離の研究によって、ラブ凝固の第 1 次的反応であることが認められた。それによると、NPN を析出させる化学的過程は、凝固過程の第 1 次反応と同一であることを推量できると発表した。

Cherbuliz および Baudet²²⁾ の研究結果との一致において、それは保護膠質説とも適合する。この研究は保護膠質がカゼインの α -因子の中に存在することを説明している。

Holter および Sioh Li²³⁾ は、更にラブ作用の研究を行い、ラブは人工的につくった物質 N-(P-Chloro phenyl)-Amido phosphorsäure の加水分解が可能であり、その作用においては、他の蛋白分解酵素が優れていることを確定した。このことは、カゼインの N,P 結合に対する反応の可能性を示すものである。

Mc Kerns²⁴⁾ は、カゼインのペーパークロマトグラフ研究の基礎に立って、ラブ作用を長いポリペプチド鎖の形成の下における α -カゼイン分子の分離あるいは分解であるとみた。カゼインの分解成績体中には、アミノ酸は全く見出されなかった。

Berridge²⁵⁾ は、ラブ化の第一の変化を蛋白分解過程として観察した。温度係数における研究の基礎に立って、凝固過程の第二の非酵素的変化を Berridge は、つぎのように説明している。すなわち反応の第二の部分は難溶性の塩による通常の沈殿生成でなく、熱による蛋白の凝固による変性過程のためであるとした。従って牛乳凝固

の第二の変化は、カゼインの完全または一部の変性によるものとした。すなわちカゼインは、酵素作用によって酵素を加えないときよりも、熱変性が低温においても沈殿するように感受性が大となるためである。Berridge は、この変性理論を次のことで確立した。15° 以下における凝固過程は起らず、蛋白質変性が起る如く、温度係数の大きさ（つまり高温）によって起ることを確立した。

これに対して Varin は、凝固が低温で起ることを確かめ Berridge の実験上の説を疑問であるとした。

この関連において、Pyne は更に研究を続けたのは興味がある。Pyne²⁷⁾ はラブ作用をカゼインの α , β 区分の上においた。そのラブ作用は α -カゼイン化溶液が低温(0°)において、比較的僅かな濃度の Ca イオンで凝固すること。

また β -カゼイン化溶液は、初め高温(20°~25°以上)において比較的高濃度の Ca イオンによって凝固する。両区分の混合物を凝固させるためには、純 α -カゼインを凝固させるときよりも、高濃度のイオンを必要とする。

低温では、反応混液から β -カゼインの残物を得るのは充分でない。Pyne によると、これはラブ作用によって得た Ca- α -カゼイン塩がすでに低温で凝固した α -カゼインが Ca イオンの凝固に対して、あたかも一つの保護性を与えるからであるとした。この β -カゼインの保護作用は、凝固過程の非酵素的变化の上のみ限られる。

最後に Beau²⁸⁾ は合成理論を出した。それによると、酵素はカゼインのカルボキシル基、アミノ基、磷酸基などを遊離し、これらは、Ca イオンの助力によってカゼイン分子間で結合してゲルを形成し、ラブ凝固は、これらの重合過程として形成されるという。最近 Pierre Jolles 及び Charles Alais³⁰⁾ らは牛乳及び牛乳カゼインにレンニンを作用して得られる glycopeptide についての研究を発表し glycopeptide の末端位に N-acetyl-neuramin 酸の存在を報告している。また、R. A. Gibbons 及び G-C. Cheesemann³⁷⁾ らによれば、カゼインにレンニンを作用した結果として Glycomono macropeptide fragment が遊離してくるという。

2. 凝乳酵素レンニン ラブ酵素レンニンが、生体内において乳汁を凝固させることはわかっているが、乳汁がなぜレンニンによって凝固されなければならないか、まだレンニンの存在理由は明瞭ではない。

赤堀²⁹⁾は、レンニンが乳汁を凝固させて、次にくる消化作用を助けるといっている。また Haurowitz³⁰⁾ は乳汁の胃液による消化には、前もって凝固することが必要である。もし乳汁が凝固しなければ、それは水その他の飲料と同じように、速かに胃中を通りすぎてしまい、乳汁カゼインは消化されないであろう。凝固することによって、乳汁の胃中停滞時間は長くなり、従って消化がそ

れだけよく行われるであろうと述べている。

乳汁のレンニンによる凝固は、赤堀 Haurowitz らのいうように、ただそれだけの意義であろうか、乳汁の凝固が、胃中停滞時間を長くするだけの理由であるなれば、胃中には塩酸があり、またペプシンも存在し、それらによっても乳汁は凝固するのであるから、乳汁凝固の目的がただ乳汁の胃中停滞時間の延長だけであるとするなれば、レンニンの存在意義はなくなり、不必要物となるであろう。

3. 乳汁の凝固 乳汁カゼインは、ラブ酵素レンニンによって凝固する。なお、乳汁は酸の添加による pH の移動や、蛋白質消化酵素ペプシンによっても凝固する。酸による凝固は可逆的^{29) 31)} であるに対し、レンニンによる凝固は非可逆的であり、またペプシンによる凝固はあとで述べるように、その pH に相異がある。

ペプシンおよびレンニンは、共に pH が小さいほど凝乳作用は強いが、pH 5~6.5 では、両者がほとんど同様の活性度をしめす。pH6.5 以上になると、ペプシンの凝乳作用は急に弱まり、pH6.7 以上では、もはやその作用は起らない。

これに反し、レンニンはこの pH では、依然として活性を続け、pH 7.3 になっても、なお凝乳作用を現わす。

すなわちペプシンは限られた酸性範囲内において、凝乳作用を現わすに過ぎないのに対し、レンニンは酸性アルカリ性共に凝乳作用を現わし、乳汁凝固の pH の幅がペプシンに比較して広い。

このことは、乳児が乳汁を飲下した際に、胃中の塩酸が、乳汁消化に消費されて pH が大となり、酸およびペプシンによる凝固（仮定）が不能となった際にも、レンニンによって依然として凝乳は続けられ、従って乳汁の消化は円滑に行われることとなる。

4. 乳汁カゼインの緩衝作用の低下または破壊 牛乳に塩酸を加えて一定の pH にする際、レンニンを加えて凝固させた牛乳(ラブ処理乳)とレンニンを加えない生乳(未処理乳)とでは、加える塩酸の消費量に差異³¹⁾ がある。すなわち pH6.8 の生乳 40ml を pH6.0 に補正するのに要する 0.1 N HCl の量は、ラブ処理乳は 3 ml、未処理乳は 5 ml を要し、ラブ処理乳は未処理乳より 2ml 少ない。

また、この両牛乳に 0.1 N HCl を 1 滴ずつ滴下し、1 時間後に、全量 20ml を加えたときの両乳の pH は、ラブ処理乳の pH 4 に対し、未処理乳は pH 4.3 をしめす。

この事実によって、pH 6.8 の牛乳 20ml をペプシンの蛋白質消化限度の pH 4 に補正するに要する。0.1 N HCl の所要量は、未処理乳は 112.2ml、ラブ処理乳は 100.6ml となり、差引きラブ処理乳は未処理乳より塩酸

所要量 11.6ml 少い。

また乳児1日の牛乳飲下量を約4合 720ml とし、これを牛乳消化の前程として、必要であるといわれている乳汁の凝固に要する次の3種 ①塩酸のみによる凝固 ②ペプシンによる凝固 ③レンニンによる凝固に分けて塩酸の所要量を検討すると、次のようになる。

第 1 表

	塩 酸	ペプシン	レンニン
N/10HClの所要量	400ml	165ml	108ml

以上の事実がしめすように、レンニンは乳汁を凝固する際にも、更に凝固乳を消化に適切な pH に補正するにも、他の凝固性物質、塩酸、ペプシンなどに対して塩酸の所要量は著明に少量である。

このラブ処理乳の pH 補正に要する塩酸消費量の減少並びに乳汁を凝固する際に要する使用塩酸量の寡少現象を、筆者はラブ酵素の塩酸節約作用と仮称し、その根源は乳汁カゼインが、ラブ酵素レンニンによって、カゼインのもっている緩衝作用の低下または破壊をきたしたことに因ると考える。

5. 緩衝用破かいの意義、ラブ酵素レンニンによる牛乳の緩衝作用の低下あるいは破かいによる塩酸の節約作用は、胃中の pH 調節および乳汁の消化に相当大きな意義をもたらす、すなわち、もし胃中ラブ酵素が存在しないか、あるいはいずれかの原因によって、その分泌が減少して必要量を充し得ず、乳汁の凝固が行われないか、あるいは行われたとしても、凝固不十分であったとするならば、飲下された乳汁の凝固あるいは消化に必要な pH に補正するのに、多量の胃中塩酸の分泌と消費とを要することとなるであろう。この必要な塩酸の補給が不十分である場合には、胃中の pH は大となり、ペプシンによる蛋白質消化は減退または停止され、最悪の場合は胃中における蛋白質の異状分解の生起も、考えられるのである。

このように考察すると、ラブ酵素の存在は、胃中乳汁の凝固による停滞時間の延長はもちろんのこと、乳汁を凝固させることによる塩酸の節約作用を行って、蛋白質の消化を助け、かつまた胃中の pH の調節を司って、胃中すべての運行を円滑にするという幾多重要な役割を演ずるのである。

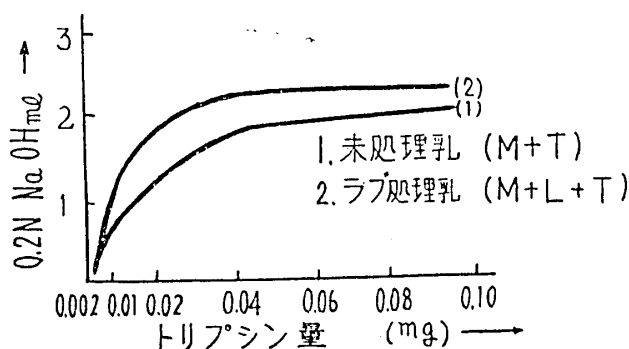
6. アルカリに対する作用 ラブ処理乳は前述のように、塩酸に対して節約作用を現わすが、アルカリに対して塩酸のときと同様の傾向³¹⁾ をしめす。すなわち pH 6.8 の牛乳 40ml を pH 7.2 に補正するのに、ラブ処理乳は 0.1 N NaOH 2ml を要するに対し、未処理乳は、0.1 N NaOH 2.5ml を消費する。またこの両乳に 0.1 N NaOH 4ml を加えると、ラブ処理乳は pH 7.75

となるに対し、未処理乳は 7.5 となる。

この現象は、腸内における乳汁蛋白質の消化に際し、また相当の効果を現わすものと考えられる。

ラブ処理乳と未処理乳との塩酸およびアルカリに対する消費量の相異並びにそれによるところの結果は上記のようであるが、またこれら両者はトリブシン消化に対しても差異を現わす。

7. トリブシン消化に対する両乳の相異 ラブ処理乳と未処理乳とに同一条件のもとで、トリブシンを作用させ、そこに生成したアミノ酸の量を Formol 法で定量すると、前者は後者より滴定に要する苛性アルカリの量³¹⁾ が大である。



第1図 トリブシン量

同様の方法によって、更に①未処理乳 ②ラブ処理乳 ③塩酸処理乳 ④乳酸処理乳について、トリブシン消化率を検討した結果は $2 > 1 > 3 > 4$ となり、ラブ処理乳は同様消化率³²⁾ がよい。

更に生乳、低温殺菌乳、高温殺菌乳について、トリブシン消化率を見ると、三者の間に大きな差異が認められない。ただし高温殺菌乳は胃中レンニンによる凝固が遅延するから、それだけ間接的にみられることは考えられる。

またペプシンおよびレンニンによって生じた凝固乳についてのトリブシン消化率試験では両者間に差異は認められない。

8. 金属イオン添加凝固乳のトリブシン消化、乳汁をラブ酵素で凝固させる際、金属イオンを添加すれば、乳汁は凝固するがその際金属イオンの種類によって、凝固を促進させるものと遅延させるものがある。これらの金属イオンの添加によって生じた凝固乳は、凝固促進性金属イオンによるものは、凝固遅延性金属イオンによるものよりトリブシンによる消化が悪い、その順位³²⁾ は次のようになる。Ni 処理 > Co 処理 > ラブ処理 > Mg 処理 > Mn 処理 > Ca 処理。

ここで注意を引くことは、凝固促進性の金属イオンによる凝固乳が、凝固遅延性のものに比し、トリブシンによる消化が悪いことである。つまり Ca, Mg, Mn など

の牛乳凝固促進性イオンによるものは消化が悪く、Ni, Co など凝固遅延性のものは消化がよい。

この現象は、凝固乳中にある金属イオンの消化酵素に対する抑制作用による直接性のものであるか、あるいは乳汁の消化には Haurowitz のいうようにその前程として凝固が必要であり、その凝固は粒子の大小、粗密の度合が消化に関係をもち、ラブ凝固乳はその条件が丁度合致しており、Ni, Co などの凝固乳もそれと同様な意味において、消化がよいのであろうか。

もし金属イオンが、消化酵素そのものに対して抑制的に働くために消化が悪くなるとするならば、Ca, Mg などよりも、Ni, Co などの方が、抑制作用は強力であろうと考えられ、従って Ca, Mg, Mn-凝固乳よりも、Ni, Ca-凝固乳の方が、消化が悪いはずであるにもかかわらず、事実は全くこれと反対であることをみると、この場合トリプシンによる消化のよいのは、Ni, Co 添加の凝固乳の粒子が、消化に最も適当した条件にあるためであると考えられる。

事実ラブ酵素凝固乳についての実験では、酵素濃度を大にして瞬間的に凝固させたものよりも、酵素の濃度をうすめて一定時間内に緩慢に凝固せしめたものの方が、トリプシンに対する消化はよい。

9. 金属イオンの添加と凝乳作用 牛乳は種々の因子によって凝固する。例えば、酵素、pH の変化、金属イオンなどによってそれぞれ凝固する。

酵素としては、レンニン、ペプシンなどがあり、pH の変化には、各種の酸があり、金属イオンとしては³³⁾Ca, Ba, Mg, Zn, Fe, Mn などがあり、なお Ni, Co, Pb, Ag などあげられるが、前例の金属イオンと後例のそれとでは、その性質に多少の相異がある。

すなわちラブ酵素を加えて牛乳を凝固させるとき、Ca, Ba, Mg, Mn, Zn, Fe などの各種イオンの添加は、牛乳凝固を促進させる性質を現わすが、Co, Ni, Cu などのイオンは、かえって凝固乳を遅延させる。

これらの金属イオン、正しくいえば凝乳作用を促進あるいは遅延させる添加金属塩の作用は、金属イオンそのものによる作用であるか、それとも添加した金属塩の加水分解による pH の移動によるものであるかも、区別して考える必要がある。われわれの研究によれば、その結果は次のように解析される。

- (1) 金属イオンの促進性+酸度による促進性=凝固促進
- (2) 金属イオンの促進性+酸度中性による促進性=凝固促進
- (3) 金属イオンの抑制性+酸度による促進性=凝固促進
- (4) 金属イオンの抑制性+酸度中性による促進性=凝固抑制

この場合、酸度による促進性とは、添加した金属塩が

水溶液となる際、加水分解して生ずる PH による促進性である。

10. 金属イオンと H 濃度影響との分離 ラブ酵素による牛乳凝固の際、金属塩の添加による凝乳の遅速の結果が、金属イオンそのものの影響によるものであるか、または添加した塩の加水分解によって生じた pH の影響によるものであるか、この両者を分離しなければ、その結果がわからない。

筆者はこれを次の稀釈法によって分離し、それによって目的をある程度まで達成し得た。

それは例えば硝酸塩の場合は、まず硝酸そのものをうすめて、もはやラブ酵素の凝乳に影響しない濃度を見出し、次に添加しようとする金属塩例えば $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ならば、これをうすめてその塩が加水分解して生ずる水素イオンの影響がなくなる濃度とし、その際に現われた牛乳凝固の影響結果を、その塩例えば $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ならばカルシウムイオンの作用としたのである。このような方法によって、その塩の金属イオンの影響と、酸 H イオンの影響とを分離した結果をその金属イオンの凝固促進性あるいは抑制性とした。

いま $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ について解説すれば、牛乳をラブ酵素で凝固する際、これに $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ の 0.1 N 液 0.5ml を添加したときの凝固時間 21.6 秒で、そのときの対照(ラブ酵素のみによる凝固時間)は 44.8 秒で $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ は明かに乳化促進性である。一方この場合の $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ の水溶液の pH、解離度を見るに 3.5×10^{-3} でそのときの牛乳凝固時間は 20.6 秒、そのときの対照は 45.2 秒で、前の塩による凝固時間 21.6 秒、後の H 濃度による凝固時間 21.6 秒で、共に対照より早く、結局「塩の凝固促進性+その酸度の促進性=凝固促進」の項にあてはまることとなる。

$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ をうすめて 0.05N 溶液について検すると、同じ結果になるが、更に 0.01 N にうすめて上と同じ検討を行った結果は $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ による凝固時間 33.1 秒、そのときの対照 32.5 秒で、対照よりおそく、そのときの H^+ は 3.4×10^{-4} で凝固時間 29.4 秒、対照は、30.2 秒で対照より早い。その塩のもつ H^+ による牛乳凝固は、対照より早いにもかかわらず、塩全体として凝固時間の遅延は、鉛イオンが凝固抑制性であるからである。

この方法によれば、Ca, Ba, Sr, Mg, Mn および Zn は凝乳促進性であり、Ag, Ni, Co および Cu は抑制性であり、Fe, Al および Pb はその中間で、どちらかといえば抑制性である。また F^- , I^- および Br^- ³³⁾ は、抑制性 NO_3^- および Cl^- は影響を認めない。

これは生乳についての各種金属イオンのラブ酵素凝乳への影響であるが、低温殺菌乳、高温殺菌乳については、どうであろうか。

11. 低温乳, 高温乳のレンニンによる凝固 ラブ酵素による生乳, 低温乳, 高温乳³⁴⁾の凝乳は, 生乳 > 低温乳 > 高温乳の順位となり, 殊に高温での長時間加熱乳は凝固がおそい。

つぎに生乳, 低高温殺菌乳に, それぞれ一定濃度の酵素液を加えたときの凝固時間を示すと, 第2表の通りで, 生乳と低温乳とは, 凝固時間に大差はない。もし乳汁の凝固がその消化と関係があるとするならば, 高温殺菌乳は, 生乳および低温殺菌乳に比べて結果が悪いことになる。

第2表 (5%酵素 0.1ml 加える 35°)

加熱時間	0"	10"	15"	20"	30"	60"
生乳	15"2					
低温殺菌乳			16"6		16"6	18"8
高温殺菌乳		1'03"6		1'12"33'14"0		

12. 低温高温乳に金属イオンの添加 前述のように高温殺菌乳は, 生乳および低温殺菌乳に比し, 凝固が著しく遅延するが, これに Ca, Mn イオン³⁴⁾を添加すると, 凝固は著しく促進される。

すなわち, 生乳と低温殺菌(10")との凝固時間の比較は 8"3 : 13"0 であるに対し, これらに 0.1N Ca(NO₃)₂ 0.1ml ずつを添加すると, その比較は 4"2 : 4"7 となり, 殊んど差が認められなくなる。以上は生乳, 低温乳, 高温乳について, ラブ酵素凝固時の各種金属イオ

第3表

	酵素のみの 凝固時間	酵素+0.1N Ca(NO ₃) ₂ 0.1ml	酵素+0.1N Mn(NO ₃) ₂ 1ml
生乳	8"3	4"2	3"2
低温	10"	13"0	4"7
殺菌乳	30"	14"0	5"2
高温	10"	3'43"1	8"9
殺菌乳	30"	11'14"2	10"1

ンの影響について述べたが, この検討は牛乳に各種ミネラルの強化などのとき大いに考慮されるべきであろう。

13. ラブ酵素凝乳とビタミン 乳汁がラブ酵素によって凝固する際, これにビタミンを添加³⁵⁾すれば, ビタミンCおよびビタミンB₁は凝固を促進し, ビタミンB₂は遅延性である。

ビタミンB₁₂及びビタミンKについても, 同様の試験を行ったが, これはそれらの結晶を使用したのでないから正確ではないが製品についての結果では, ほとんど影響は認められなかった。

む す び

以上ラブ酵素レンニンの性能を考察するに Haurowitz

のいうように, レンニンによる牛乳の凝固は, 胃中の停滞時間の延長はもちろんであるが, そのほかに, 次のような事項が考えられる。

- (1) 牛乳はレンニンによる凝固によって, 本来保有している緩衝作用は低下または破壊される。
- (2) 牛乳の緩衝作用の破壊によって, 消化器内の塩酸およびアルカリの消費量は節約される。しかもこの節約作用は, 消化器管内の pH の必要値の保持調節に有効な役割を演ずる。この点はラブ酵素レンニンの最も特異的存在であると考えられる。
- (3) またレンニンは, 牛乳を凝固する pH の幅が広く, 酸性でもアルカリ性でもその機能を現わすこともレンニンの特長といえる。更にレンニンによる凝固乳は, 他のペプシン, 酸などによる凝固乳よりもトリプシン消化率が良い。

文 献

- 1) Hammersten : J. Prakt. Chem. 6, 371 (1872)
- 2) Pawlow : Lehrbuch der Physiol. Cheme. 12 469 (1955)
- 3) H. Tauber, I. S. Kleiner : J. Biol. Chem. 96, 715 (1932)
- 4) C. L. Hankinson : J. Dairy. Sci. 26, 53 (1943)
- 5) N. J. Berridge : Nature 151, 473 (1943)
- 6) N. I. Berridge : Biochem. J. 39 179 (1945)
- 7) H. Halten, B. Anderson : Biochem. Z. 269 285 (1934)
- 8) 赤堀, 蛋白質化学Ⅲ. 144 (1955)
- 9) L. B. Dottic, I. S. Kleiner : Am. J. Physiol. 138 557 (1932)
- 10) E. Freudenberg, S. Buchs : Schweiz. med. Wochenschr. 70 249 (1940)
- 11) Wright : Biochem. 18, 245 (1924)
- 12) Richerdson, Palmer : J. Phys. Chem. 33, 557 (1929)
- 13) Dyachenko : Milch Industry U. S. S. R. 11, 27 (1950) : Zitirt nach Dairy Sci. Abh. 13 516 (1951)
- 14) Hammersten : Z. Physiol. Chem. 102, 33 (1918) ; ibid. 108, 243 (1919) 121, 240 (1922)
- 15) Bosworth : J. Biol. Chem. 19, 397 (1914)
- 16) Linderström, Lang : C. R. Trav. Lab. Carlsberg. 16 48 (1925), ibid. 17, 9 (1929)
- 17) Mellander : Biochem. Zeitschr. 300, 240 (1939)
- 18) Warrer : J. Am. Chem. Soc. 56, 1725 (1944)
- 19) Hipp et al. : J. Am. Chem. Soc. 72, 4928 (1950)
- 20) Hostettler, Rychener u. Kunzle : Landw. Jahrbuch der Schweiz. 63, 31 (1949)
- 21) Holter, Biochem. Ztscher. 255, 1601 (1932)
- 22) Linderström u. Lang : C. R. Trav. Lab. Carlsberg 16, 48 (1925), ibid. 17, 9 (1929)
- 23) Nitschmann, Lehmann : Helv. Chimica Acta 30, 804 (1947)
- 24) Cherbilz, Baudet : Helv. Chimica Acta 33, 398, 1673 (1950)
- 25) Holter, Sioh Li : Acta Chem Scand. 4, 1321 (1950)
- 26) Mcker : Canad. J. Med. Sci. 29, 59 (1951)
- 27) Berridge : Nature 149, 194 (1942)
- 28) Pyne : Chemistry & Industry 9, 171 (1952)
- 29) Beau : Le Lait 12, 618 (1932)
- 30) 赤堀 : 蛋白質化学 (Ⅲ) (共立出版) 144 (1955)
- 31) F. Haurowitz : "Chemistry and Biology of Proteins" 201 (1950)
- 32) 涌井, 河内 : 薬学雑誌 75, 1293 (1955)
- 33) 涌井, 河内 : 第76回日本薬学会年回発表 (1950)
- 34) 涌井, 河内 : 薬学雑誌 74, 304 (1954)
- 35) 涌井, 河内 : 薬学雑誌 74, 1129 (1955)
- 36) 涌井, 河内 : 薬学雑誌 75, 598 (1955)
- 37) P. Tolles, C. Allais ; Compt. rend. 251, 2605~2607 (1960)
- 38) R. A. Gibbons, C. Checseman ; Biochim. Biophys. Acta 56, 354 (1962)

ノーベル賞者ものがたり (その3)

ビタミン研究のハワースとカーラー (遺稿)

橋 爪 檳 榔 子

昔から果実野菜を好んでとってきた日本人の間には典型的な壊血病はほとんど見られなかった。ところがヨーロッパでは、古くから航海者、探險家、軍隊、戸外で働く人びとばかりでなく屋内で働く人たちの間にもこの病気は普通にはじまっていた。これは当時交通が開けず、長い冬の陰うつな期間、野菜や果物が不足勝ちだったからである。やがて貿易自由化で馬鈴薯などが欧州に輸入されるようになってからは次第に壊血病もへりだした。

この疾病のことはギリシャの医聖ヒポクラテス時代の書記から引証する歴史家もあるが、始めてはっきりした記録が残っているのは13世紀の十字軍時代からであった。中でも航海王バスコダガマが15世紀の末、アフリカの南端希望峰を廻航したとき、160人の乗船員中100人もの壊血病に罹ったという世にも残酷物語は今を昔の語り草である。

それから間もなく、船員たちはエゾ松の葉の煎汁を飲むとこの病気の予防となり、“アレクサンドリアの妙薬”とか“壊血病草”として価値ある妙薬になった。やがてレモン汁にとり変えられ19世紀に入って、英海軍は食事に必ずレモン汁を加えてこの難を避ける次第となった。

そこで独のホルストとフレリッヒは協同研究で“抗壊血病性因子”をヘキシロン酸と呼び、間もなく、1928年当時ケンブリッジでこの研究に没頭していたハンガリー生まれの化学者セント・ギョルギー (Szent Györgyi) はビタミンCであることを突きとめ、日本でも理研の丸山、三浦、辻村氏らは積極的な研究発表を行った。三浦氏は歌手で有名だった三浦たまき女史の夫君であり、その名声はビタミン界に拍車をかけるのだった。もともと、ビタミンCの名づけ親は1919年に英のドラモンド (Drummond) その人であった。

このCをめぐる合成研究には多くの化学者が精力的にたずさわり、中でも英のハワース (Hawase)、スイスのカーラー (Karrer) の業績が買われ、第二次大戦の直前の1937年、そろってノーベル化学賞を得た。以来まさにC時代に入り、製薬メーカーは保健美容向けにCのPRに熱中しだした。これは果実野菜の加熱やミキサー処置で多分のCが失われる点を強調して、合成C剤の功績をたたえる筋合となった。

そこで、ハワースは1883年イギリスのランカンシアに生まれ、スコットランドのアンドリュス大学で名だたる色素化学者パーキンについて精油の研究を始め、後にパーキンのすすめでドイツに留学、ゲッティンゲン大学のワッハ教室入りとなり、数年後母校の教授に迎えられ、糖類研究から独のエミル・フィッシャーや英のパーティとともに、ブドウ糖が6角形の構造をもつことを発見、

立体構造説をうちたてた。

特に彼は果糖類を導きだす研究で、副産物としていくつかの新しい物質を結晶の形でとりだし、その1つにビタミンCのアスכולビン酸をえた。そして彼は1920年以来20年にわたる不屈の糖類研究の結果、ついにビタミンCの構造と合成に成功することになった。

一方、1889年、モスクワ生まれのカーラーは父母の生地スイスに移り、チューリッヒ大学のノーベル賞者ウェルナーの化学教室で砒素の研究に従い、同じノーベルマンで独のフランクフルト大学でサルバルサンをやっていたエールリッヒは彼をドイツに招くことになった。

カーラーはここで6年間、エールリッヒについてサルバルサンを合成。初め梅毒の化学療法を見出し、その名声はエールリッヒとともに世界的となり、日本の秦佐八郎の3者はついに不治の梅毒の救世主の名を輝かせた。

そこでカーラーは考えた。「これからは人間の病気を治すよりも病気に罹らないよう、予防法につとめねばならない……」として、再びチューリッヒ大学のウェルナーのもとにもどってきた。ふるさとの夏のみどりはなつかしく、キャンパスの並木道には、ジュネーブ生まれのブロッホ処女歌劇「マクベス」のメロディーがユダヤの情熱を静かに流れていた。欧州大戦で敗北の爪の跡に荒れていたフランクフルトとは比較にならないほどの中立国の静穏な1919年でもあった。

彼はまず生化学のうち、植物の体をつくっているデンプンやセルロースがどうしてつくられるかの疑問から、水と炭酸ガスは植物の中で H_2 と C と O_2 の3つの原子にわかれてブドウ糖の分子をつくりだすことを知りとった。そしてブドウ糖を2つ結びつけると砂糖や麦芽糖乳糖になり、これらの糖がたくさん結合したものがデンプンやセルロースであることをつきとめるのだった。

これに力をえた彼は1926年、植物色素に手を染め特にニンジンにふくまれるカロチノイドという黄色い色素の正体を追い、この物質が動物の体内に入るとビタミンAと同じ作用をするという推理に立ち、ニンジンを食べると、体内でカロチンがビタミンAに変るという重大な発表を行い、英のパーミンガム大学のハワースと協力してビタミンCを追及しだした。1937年、第2次大戦勃発の前夜、スウェーデン国王はこの2人にノーベル化学賞を贈ることになった。

牛乳中の生長成分はAであり、新鮮な野菜やレモン、ミカン、リンゴにあるCは壊血病の予防になる妙薬である学説はついに実用化されサルバルサン合成以来、カーラーの念願であった病気予防の手がかりがつかめ、“バスコ・ダ・ガマのうれい”はこれでめでたく解消され、

イギリスの航海王クックは初めて世界一週に成功することができた。

カーラーのこの A と C の成果は各国の専門家にうけつがれ、多数のビタミンは、20世紀のあけぼのとともにその全貌を現わし、熱に弱いビタミンCの合成時代に入り、[B 剤とともに C 剤の発展は世界的な“家庭薬”となり、翌 1938 年、ノーベル賞をえたドイツの化学者リチャード、クーンも硝煙弾雨のうちに B₂ 合成を勝ちとるのだった。

(明薬大講師、医薬評論家)

本文連載ノーベル賞者ものがたりの筆者橋爪恵(めぐみ)(筆名檳榔子(びんらうじ))は、あの独特流麗なる筆法で広く読者に親しまれてきたが、新日本医師会の訪ソ視察団に加わり10月7日帰国後発病、11月8日心臓衰弱で68歳の生涯を終られた。誠に哀惜の念に堪えない。謹んで弔意を表する。氏は大正11年東大薬学部を卒業し、更に昭和2年千葉医大を卒業した薬・医学士であるが、専ら都下の新聞、週刊誌諸製薬会社機関誌などに投稿され、医薬評論家として有名であった。著書には学芸挿話、欧亜新風景、医薬合成化学、医科学の三巨人等がある。明治薬大では専門学校時代から約30年の長きにわたって講師をされた。氏は今回訪ソされるに当り編集者稲垣に五都遊記を貸せという電話があった。五都遊記は稲垣の渡欧に際し恩師恩田重信(剛堂)先生がわざわざベデカーを訳した旅行案内記である。それがどのように役立ったか、今は永久に聞くことができないのが残念である。(昭和38.12.3 稲垣)

アニス酸による麴菌分生子の紅変現象

立正学園女子短大教授 理学博士 黒 沢 雄 一 郎

アニス酸 (P-methoxybenzoic acid : $\text{CH}_3\text{O}-\langle \text{C}_6\text{H}_4 \rangle-\text{COOH}$) が麴菌、アスペルギルス、オリーゼ *Aspergillus oryzae* の分生子を紅変せしめる現象は著者が偶然見出したものであるが、実は之は現在、明治薬科大学の講師をされて居られる橋爪檳榔子先生との交流に始まったものであり、丁度今から11年前、当時小生が該薬大の微生物教室に在職中に、先生が「香料工場に勤務する従業員には結核患者が少ないのは面白いことだ、君、種々の香料について結核菌に対する抗菌性を検討してみたらどうか」としきりに申されたので、当時は抗生物質ブームの時代でもあり、早速細菌類として大腸菌、黄色ブドウ球菌、結核菌 607 号の三種を選択し、更に糸状菌に麴菌、青かび、水虫菌の三種を選び、スクリーニングを開始したのであるが、間もなく豊玉香料 K. K. から購入したオーベピンクリスタル aubepine crystal m.p. 38-9°C が *Asp. oryzae* の分生子を紅変せしめる現象を認めたのである。之を動機として、この化合物、並に之と類縁の化合物について、研究を行い、その結果、アニス酸と麴菌について興味ある結果を得るに至った。最初は雑菌によって、この様な現象が起ったものではないかと思ひ、同一実験を3回繰返してみたが、いずれも同一の現象を示し、形態的にも麴菌であることに間違いなく、紅変の後、緑色の菌叢になり、ついで正常に培養されたものと同一の外観を呈する様になる。紅変中は麴菌とは全く考えられぬ程美しい菌叢を呈している。菌類の大家、元長尾研究所長の小南清先生も紅変中の分生子を見て、之を見ただけでは麴菌とは思われないと当時申されたことを記憶している。

さて、aubepine crystalについて m. p. が38-9°C であることから同一の m. p. を示す P-methoxyacetophenon に注目し、之の合成¹⁾を行い、両者混融して m. p. の降

下なく、更に semicarbazone も両者共に m. p. 181-2°C で、混融降下を認めなかった。

この様に aubepine crystal が *Asp. oryzae* の分生子を上記の如く紅変せしめた事から、この変色現象が Thome and Raper²⁾ の分類に従ったアスペルギルスの14群に属する凡ての菌株に同様な現象が示されるのかどうか14群の代表的な菌株について、検討を行ってみると、第1表の如く *Asp. flavus-oryzae* 群に属する菌株、並にこの群の菌株と類縁と思われる *Asp. sojae*, *Asp. tamaritii* の如き菌株の分生子だけに同様な紅変現象が認められた。

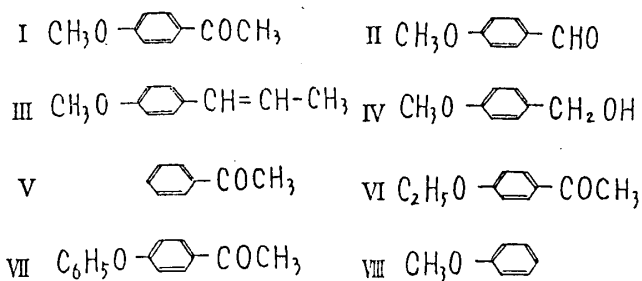
Table 1
Influence of spice for the species of *Aspergillus*

Strains	Medium	
	Czapek-agar	Koji-agar
<i>Asp. niger</i> (N.I. 5106)	-	-
<i>Asp. melleus</i> (N.I. 5516)	-	-
<i>Asp. fumigatus</i> (N.I. 5505)	-	-
<i>Asp. wentii</i> (N.I. 5365)	-	-
<i>Asp. candidus</i> (N.I. 5031)	-	-
<i>Asp. terreus</i> (N.I. 5399)	-	-
<i>Asp. flavipes</i> (N.I. 5390)	-	-
<i>Asp. clavatus</i> (N.I.T. 216-3)	-	-
<i>Asp. versicolor</i> (N.I. 5349)	-	-
<i>Asp. ustus</i> (N.I. 5527)	-	-
<i>Asp. amstelodami</i> (N.I. 5533)	-	-
<i>Asp. tamaritii</i> (N.I. 5333)	+	+
<i>Asp. oryzae</i> (N.I. 5173)	+	+
<i>Asp. oryzae</i> (N.I. 5176)	+(faintly)	+(faintly)

<i>Asp. oryzae</i> (N.I. 5178)	+	+
<i>Asp. oryzae</i> (Ohara strain)	+	+
<i>Asp. oryzae</i> (N.I. 5489)	+(faintly)	+(faintly)
<i>Asp. oryzae</i> (N.I. 5167)	+	+
<i>Asp. flavus</i> (N.I. 5594)	+	+
<i>Asp. flavus</i> (N.I. 5597)	+	+
<i>Asp. flavus</i> (N.I. 5051)	+	+
<i>Asp. parasiticus</i> (Ohara strain)	+	+
<i>Asp. effusus</i> (N.I. 5560)	+(faintly)	+(faintly)
<i>Asp. pseudoflavus</i> (N.I. 5310)	+(faintly)	+(faintly)
<i>Asp. gymnosardae</i> (N.I. 5077)	+(faintly)	+(faintly)
<i>Asp. citrisporus</i> (N.I. 5537)	-	-
<i>Asp. terricola</i> var. <i>americana</i> (N.I. 5337)	+	+
<i>Asp. panamensis</i> (N.I. 5564)	-	-
<i>Asp. avenaceus</i> (N.I. 5555)	+	+
<i>Asp. alliaceus</i> (N.I. 5554)	-	-
<i>Asp. sojae</i> (N.I. 5524)	+	+
<i>Asp. sojae</i> (N.I. 5595)	+	+
<i>Asp. sojae</i> (N.I. 5596)	+	+

+.....showing the color of conidia changed to pink;
-.....no discoloration

そこで、P-methoxyacetophenone (I) と構造の類似している数種の化合物、anisaldehyde (II), anetol (III), anisalcohol (IV), acetophenone (V), P-ethoxyacetophenone (VI), P-phenoxyacetophenone (VII), anisol (VIII) について



Asp. flavus-oryzae 群中の代表的な3菌株と *Asp. sojae* について行ったものが第2表である。この表から *Asp. parasiticus* のみが anisaldehyde, anisalcohol によって紅変現象が認められた。更に *Asp. flavus-oryzae* 群の種々の菌株について検討してみたが、矢張り *Asp. parasiticus* のみであり、本菌株だけに特有であることは極めて興味あることである。

さて、次に本題アニース酸に入ることにする。本化合物は市販の anisaldehyde を出発原料として、之を10% NaOH 溶液中で、少量の硫酸第二鉄を触媒とし、冷水中で徐々に30% H_2O_2 を滴下して行き、原料の油状物が消失する迄加える。次に HCl で酸性にすればアニース酸が析出して来るので、之を濾取し、熱水から2回再結すると m.p. 184°C の針状品が原料 13g から約 10g 得られる。本品を糸状菌の一般培地である Czapek-Dox-

Table 2
Influence of several compounds

Compounds	OCH_3	COCH_3	$\text{CH}=\text{CHCH}_3$	CH_2OH	CHO	OC_2H_5	OC_6H_5
Strains							
<i>Asp. oryzae</i> (N.I. 5173)	-	-	-	-	-	-	-
<i>Asp. flavus</i> (N.I. 5597)	-	-	-	-	-	-	-
<i>Asp. parasiticus</i> *	-	-	-	+	+	-	-
<i>Asp. sojae</i> (N.I. 5596)	-	-	-	-	-	-	-

+.....showing the color of conidia changed to pink.
-.....no discoloration.

agar, Koji-agar, Wort-agar の如き培地に 0.05% 程度 (最適量である) 加え、斜面培地となし、之に接種して、30°C に放置し紅変現象の有無を観察すればよい。第3表からアニース酸によって *Asp. oryzae* の分生子は2株を除いて凡て紅変するが、同群に属する *Asp. flavus* の分生子は1株を除いて凡て紅変されないことを認めた。

Table 3
Influence of anisic acid for *Asp. oryzae* and *Asp. flavus*.

Strains	Koji-agar Medium
<i>Asp. oryzae</i> (N.I. 5166)	-
<i>Asp. oryzae</i> (N.I. 5167)	+
<i>Asp. oryzae</i> (N.I. 5168)	+(faintly)
<i>Asp. oryzae</i> (N.I. 5172)	+
<i>Asp. oryzae</i> (N.I. 5173)	+
<i>Asp. oryzae</i> (N.I. 5175)	+
<i>Asp. oryzae</i> (N.I. 5176)	+
<i>Asp. oryzae</i> (N.I. 5178)	+
<i>Asp. oryzae</i> (N.I. 5182)	+
<i>Asp. oryzae</i> (N.I. 5183)	+
<i>Asp. oryzae</i> (N.I. 5184)	+
<i>Asp. oryzae</i> (N.I. 5186)	+(faintly)
<i>Asp. oryzae</i> (N.I. 5188)	+
<i>Asp. oryzae</i> (N.I. 5190)	+
<i>Asp. oryzae</i> (N.I. 5193)	+
<i>Asp. oryzae</i> (N.I. 5200)	+(faintly)
<i>Asp. oryzae</i> (N.I. 5201)	+
<i>Asp. oryzae</i> (N.I. 5206)	+(faintly)
<i>Asp. oryzae</i> (N.I. 5211)	+
<i>Asp. oryzae</i> (N.I. 5215)	+
<i>Asp. oryzae</i> (N.I. 5489)	+
<i>Asp. oryzae</i> var. <i>microsporus</i> f. <i>flavo-Viridis</i> (N.I. 5525)	-
<i>Asp. oryzae</i> var. <i>microsporus</i> f. <i>flavescens</i> (N.I. 5526)	+
<i>Asp. oryzae</i> var. <i>welmeri</i> (N.I. 5586)	+
<i>Asp. oryzae</i> var. <i>sporoflavus</i> (N.I. 5587)	+
<i>Asp. flavus</i> (N.I. 5051)	-
<i>Asp. flavus</i> (N.I. 5590)	-
<i>Asp. flavus</i> (N.I. 5591)	-
<i>Asp. flavus</i> (N.I. 5592)	-
<i>Asp. flavus</i> (N.I. 5593)	+(faintly)
<i>Asp. flavus</i> (N.I. 5594)	-
<i>Asp. flavus</i> (N.I. 5597)	-

+.....showing the color of conidia changed to pink.
-.....no discoloration

元来 *Asp. oryzae* と *Asp. flavus* については高橋³⁾, Smith 等⁴⁾ は両者は殆んど区別なく両名を附したことは初めから無理であるとし, Blochwitz は *oryzae* は *flavus* の培養変種であるとして取扱って居り, 齊藤は *oryzae* は *flavus* よりも凡て稍々大きいだけで, 両者の区別はその他の性質に於て極めて少なく, 而も *oryzae* と *flavus* との関係は中間株によって相連続し, 両者の間隙が充されていることを指摘している. 根平⁵⁾ は日本産 *Asp. flavus-oryzae* 群及びその近縁種を次の如く分類している. (i) *Asp. flavus* Link (ii) *Asp. parasiticus* Spear (iii) *Asp. tamarii* Kita となし, *oryzae* を *flavus* の変種として取扱っている.

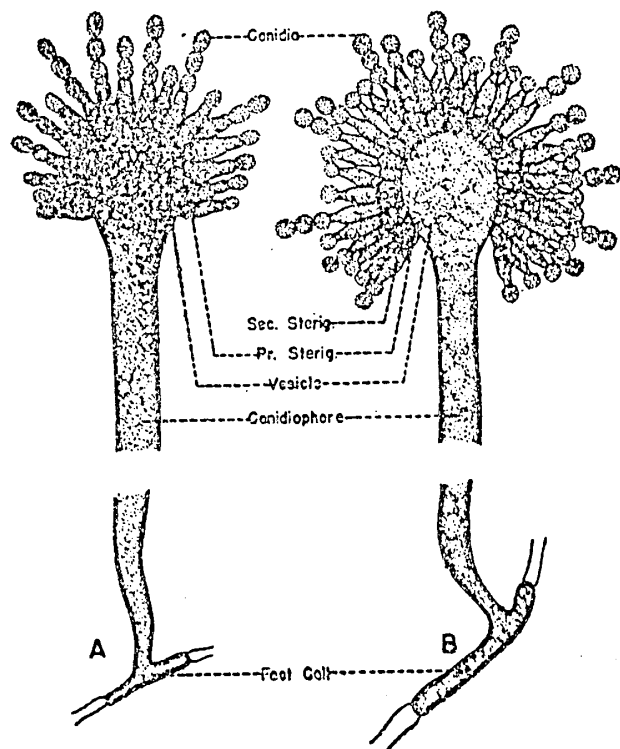
Thom 等²⁾ は *oryzae* の梗子 (sterigmata) は一般に単列で複列のものもあり, 分生胞子柄 (conidiophore) は 1~数 mm で, 分生子 (conidia) は緑黄色であるのに対し, *flavus* の梗子は一般に複列で単列のもの或は同一の頂囊 (vesicle) に双方とも見られる場合もあり, 分生胞子柄は 0.4~1 mm を普通とし, 分生子は黄緑色であることを特徴としていることを記載している. この Thom 等の分類を基準として, 坂口, 飯塚等⁶⁾ は溜麹から梗子の主として複列 (約60%) の菌株を分離し, 野生のものの中には *flavus* の存在していることを報告している. 以上は形態学的な見解から *oryzae* と *flavus* の差異について報告されているものであるが, 生理学的な方面の研究では, 大谷⁷⁾ は澱粉, 蛋白質に対する分解能について, *oryzae* は *flavus* よりも強力であることを報

について *oryzae* と *flavus* との相違を報告している.

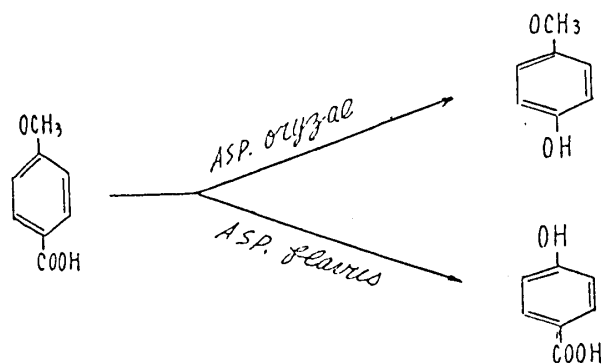
この様に *oryzae* と *flavus* とは形態的には極めて類縁関係にあることは事実であるが, 生理的な面から観察すれば矢張り明かな相違が認められて居り, 著者のアニース酸を用いての紅変現象の有無も明らかに両者の相違を示すものであると考えられる.

Florante 等⁹⁾ は水虫菌 *Trichophyton mentagrophytes* と *Trichophyton rubrum* との区別に potato-dextrose-agar, corn meal-dextrose-agar の如き培地の平板に両菌株を培養すると, 平板の undersurface に生成される色調の相違, 又は色素生成の有無から特に corn meal-dextrose-agar を使用すると, *Tri. mentagrophytes* では色素の生成は認められないが, *Tri. rubrum* では wine red の色調を呈し, この呈色率は使用菌株の95%であったと報告している. 著者は第3表から *Asp. oryzae* の供試菌株25株中2株に, *Asp. flavus* 7株中の1株に各々紅変現象の例外を認めたのであるが, この菌株について長尾研究所に Thom 等の分類に従った形態学的な検討を載き, その結果, 紅変されなかった2株は *Asp. flavus* に, 紅変された1株は *Asp. oryzae* として取扱ってよいとの返信を得た. 従って両菌株についてはアニース酸による生理学的な面と, Thom 等の形態学的な分類面とが一応 parallel に行くことを認めた.

更に著者^{10,11)} はアニース酸が *Asp. oryzae* によって



告し, 根平⁵⁾ も同様に糖化曲線から *flavus* の酵素活性は *oryzae* の約 1/40 程度であると報告している. また小原⁸⁾ は各種の糖類から麴酸 (Kojic acid) 生成の有無



脱炭酸, 酸化された hydroquinone-monomethylether に, *Asp. flavus* によって脱メチルされた p-hydroxybenzoic acid に代謝されることを確認した.

以上から, p-メトキシ-アセトフェノン, アニースアルデヒド, アニースアルコール, アニース酸の如き化合物が *Asp. flavus-oryzae* 菌の菌株又はその菌中の特殊の菌株又はその菌中の特殊の菌株の分生を紅変せしめる興味ある現象から, リトマス紙が, 酸, アルカリの試験紙として古から用いられている様に, 上記の化合物が過言かも知れないが, 微生物確認法の一助として生物試薬に大いに利用されるならば著者の喜びとするところである.

文 献

- 1) L. Gattermann, R. Ehrhardt, H. Maisch: Ber., 23, 1201
- 2) C. Thom, K.B. Raper: A Manual of the Aspergilli, (1954)
- 3) 高橋 信造: 総合農産製造学 (醸造編), 頁 59 (昭 22)

- 4) G. Smith: An Introduction to Industrial Mycology, 頁 63 (1939)
 5) 根平 武雄: 醸酵工学, 35, 50 (1957)
 6) 坂口謙一郎, 飯塚 広: 農化誌, 25, 79 (昭 26-27)
 7) 大谷 義夫: 最新醸酵工業, 頁 463 (昭 25)

- 8) 小原 巖: 岐阜大農報, 1, 72 (1951)
 9) C. Florante, W. Roda: Mycologia, 23, 291 (1949)
 10) 黒沢雄一郎: Nagaoa, 5, 41 (1955)
 11) 黒沢雄一郎: 農化誌, 32, 419 (1958)

アミノ酸 醗酵 (1)

東北大学教授 農学博士 志 村 憲 助

われわれの身体の主要構成成分である種々の蛋白質は、御承知の通り約20種のアミノ酸からつくられているが、これらの蛋白質は、一度出来上ったらそのままというのではなく、絶えず新しいものと入れ換えられている。文字通り「新陳代謝」しているわけであり、このような現象を turnover (代謝回転) と呼んでいる。その速度は意外に速く、たとえば肝臓のように代謝が活発な器官では、3週間もするとほぼ完全に新しくなってしまう程である。

以前から、大人1日当り60グラム位の蛋白質を食事としてとる必要があるといわれていたが、この蛋白質の大部分は、新しく体内で合成される蛋白質の合成原料として使用され、その分だけ古い蛋白質や分泌蛋白質(消化液など)が体外へ排泄されてしまうわけである。したがって生命現象を正常に維持してゆくためには、われわれは蛋白質を常に摂取しなければならないのであるが、この場合必ずしも蛋白質でなくてもよい。つまりアミノ酸の混合物でも充分代用させることが出来る。実際に臨床的にアミノ酸混液の注射が広く行われはじめていることは今更申し上げるまでもないことである。また発育盛りの幼児とか、われわれの食習慣などから、蛋白質の全量はそれ程充分でないが特定のアミノ酸が不足し勝なことがある。そのような場合に1,2のアミノ酸を食事中に補給すると著しい栄養効果を発揮することがしばしばである。

このようなわけで、これまで主として試薬として考えられてきたアミノ酸類は、最近食物として考えてもよいような傾向が強くなってきた。ここで一番問題になるのが、アミノ酸を如何に多量、しかも安価に生産するかということである。通常天然の蛋白質中に含まれているアミノ酸はすべて L-型であり、高等動物は L-型を選択的によく利用する。したがって L-型アミノ酸が多量に、しかも安い価格で得られたならばと誰しも考えるのであるが、通常の有機合成では L-型の収量は最大50%であり、他のよりよい方法が要望されていたわけである。その1つとして数年前より急速に発展してきたのが、ここで述べようとしているアミノ酸醗酵である。グルコースのような糖質と、アンモニア、尿素などの簡単な窒素化合物からなる培養液に微生物を培養して、アミノ酸を培養液中に直接蓄積させる方法で、この方法によると生成してくるアミノ酸はごく特殊な例を除いてすべて L-型で、その収量も培養液 1 ml 中に十数 mg から数十 mg にも達する程のものもあり、アミノ酸生産の方法としては極めて有利な方法となった。しかもこの分野の開発が、ほ

とんどわが国の研究者の手によって行われ、世界をリードしていることも注目に値しよう。

1. グルタミン酸

醗酵法によってアミノ酸を生産する最初の糸口となったのがグルタミン酸である。味の素として広く使用されているこのアミノ酸は、小麦や大豆などの天然蛋白質を加水分解して専ら調製されて来たが、蛋白質中のグルタミン酸の含量 20~30% 程度で、副産物の利用の問題がつきまとっていた。合成品では味が悪く、 α -ケトグルタル酸から酵素的に L-グルタミン酸をつくることはできるが大量生産には不向であった。以前から微生物の培養液中にグルタミン酸が検出されることが知られていたが、この現象を巧にとらえて、グルタミン酸の工業的生産にまで発展させ、ひいてはアミノ酸醗酵という新しい分野の端緒を用いたのが協和醗酵の研究グループおよび東大応用微研の朝井らの研究グループである。

グルタミン酸醗酵の詳細を説明することはここでは避けるが、基本的な考え方は、適当な糖質(グルコース、蔗糖、ペントースなど)と無機窒素化合物(アンモニウム塩、尿素、液体アンモニアなど)を含む培地に細菌を培養して、培養液中に直接グルタミン酸を蓄積させる方法である。この目的に適した細菌が多くの研究者によって分離されているが Micrococcus 属、Brevibacterium 属、Pseudomonas 属などに属するものが多い。

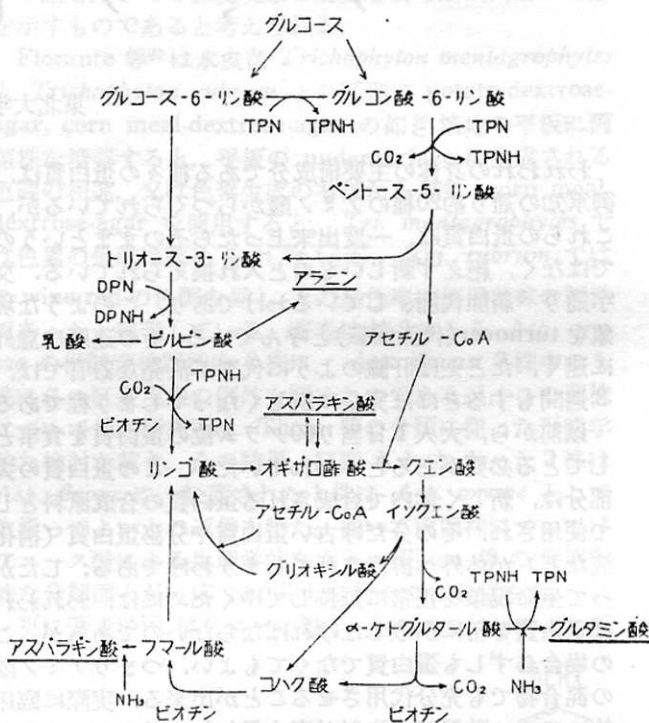
実際にグルタミン酸を多量に蓄積させるには、その培養条件が重要な因子となってくるが、中でも特に特徴的な因子として 1) 培養中の通気量と攪拌量 2) 糖質の濃度 3) ビオチンの必須性などがあげられよう。通常の微生物の培養では、糖濃度はせいぜい 2% 程度であるのに対して、グルタミン酸醗酵ではグルコース濃度 5~10% の場合がもっともよい結果を与える。このような高い糖濃度に加えて、さらに激しく通気する条件が必要である。培養液中の溶存酸素速度定数 $K_d=3\sim5\times 10^{-6}$ 位が適当で、酸素が不足すると乳酸などの生成が増加し、逆にあまり通気量が多くてもかえってグルタミン酸の生成量は低下し、 α -ケトグルタル酸が蓄積する結果を与えている。上のような至適条件下では、グルコースの量に対して 50% 以上の収量で L-グルタミン酸を蓄積させることが出来る。呈味物質としてのグルタミン酸は L-型でなければならない(D-型は味がほとんどない)ので、醗酵法で L-型のみが得られることは極めて好都合であることは云うまでもない。現在わが国で生産されて

いるグルタミン酸は月産4,500トン位に達しているが、その50%よりやや多い量がすでに醗酵法により生産されているのであるから、如何に勝れた方法であるかが容易に推察されるであろう。

さてグルタミン酸醗酵の要因の一つとしてあげたビオチンとの関係は、なかなか複雑な問題である。グルタミン酸生産菌はいずれも共通して生育にビオチンを要求するが、ビオチンが多過ぎるとグルタミン酸の生成量は少く、ビオチンがある制限量存在する場合にグルタミン酸の収量が最高となる。つまり或る程度のビオチンの存在量で生育した菌が、ついで代謝的にビオチン欠乏状態となった結果、異常に多量のグルタミン酸が蓄積するものと考えられている。木下らによると、グルタミン酸生成に寄与する直接の反応は、第1図に模式的に示したように、 α -ケトグルタル酸とアンモニアから、TPNHの存在で還元的にアミノ化される反応と考えられている。ビオチンが欠乏している系では、グルコースから α -ケトグルタル酸の生成迄はそれ程影響を受けないが、それ以後の反応がビオチンを必要とするために低下し、したがって α -ケトグルタル酸の蓄積が起ってくる。一方グルタミン酸醗酵菌は、グルコースの酸化過程中に生成してくるTPNHの酸素につながら酸化能が弱いことが一つの特徴で、その結果TPNHが過剰になる傾向がある。このような環境に NH_3 が存在するとTPNHは α -ケトグルタル酸と NH_3 から還元的にグルタミン酸を生成する方向に反応を進める結果となる。さらにビオチンは細菌の細胞膜の透過性にも関係し、ビオチン欠乏

によって菌体内のグルタミン酸が体外へ分泌されやすくなる効果もあると推定されている。(以下次号につづく)

第1図 グルタミン酸生成と糖代謝経路との関係
(木下, 化学と工業, 16, 458 (1963) より引用)



スタンホード大学の一隅から(続)

理学博士 大 橋 守

III. Eleventh Annual Conference on Mass Spectrometry.

“高分解質量分析法をどう思うかね” “有機化学者にと

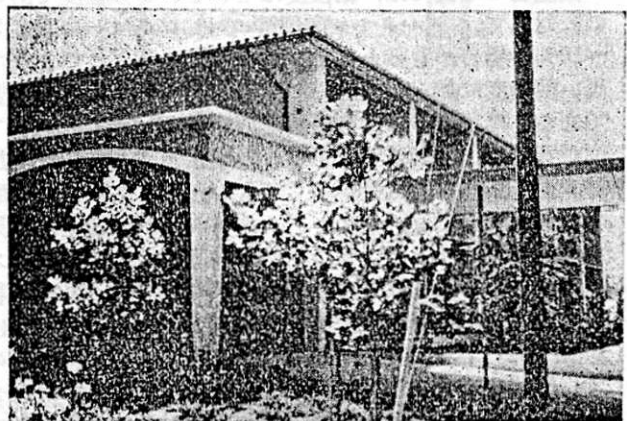


写真1. Stauffer Bd 二階が Tohuson, 一階が Djerassi 教授の研究室
地下に NMR, Mass Spectrometry 元素分析などの実験室

ってはいささかむづかし過ぎる技術だ。しかしまたひとつ厄介だが強力な武器が増えることは確実だな” ASTM (American Society of Testing Materials) 主催の “第11回 Mass Spectrometry and Allied Topics” の討論会が5月19日から一週間にわたって開かれた。おもに Double focus による高分解技術が話題になっている会場 San Francisco, Sheraton Palace Hotel のロビーでのひとこまである。固体試料導入の技術が開発されて以来有機化学特に天然物有機化合物構造決定に必須の研究手段となりつつある Mass Spectrometry ではあるが、日本ではまだ石油関係や二、三の大学研究室以外あまりなじみの深いものではないようなので簡単に紹介しておこう。既に邦文でも荒木教授の “質量分析法” を始め多くの著述があり、有機化学の立場から眺めたものとして J.H. Beynon, “Mass Spectrometry and its Use in Organic Chemistry” Elsevier Publ. Co. (1960)., K. Biemann, “Mass Spectrometry, Organic Chemistry



写真 2. International Potluck picnic で料理を並べる Djerassi 教授-Djerassi 教授宅

Application" McGraw-Hill Book Co. (1962) や F.W. McLafferty (Ed), "Mass Spectrometry of Organic Ions" Academic Press (1962) などの名著も出版されている。要するにその原理は Aston による同位元素確認以来周知のごとく気体分子 (固体物質を気化させる方法として heated Inlet System や direct Inlet System) をイオン化し (普通は熱電子をぶつける方法) 高電圧で加速して磁場に導入する。このとき電磁気学の法則でイオンはその質量数に応じた円弧をえがく、 $m/e = H^2 r^2 / 2V$ (m : 質量数, e : 電荷, H : 磁場の強さ, r : 円弧の半径, V : 加速電圧)。技術的には r は一定で H あるいは V を漸次変えて対応するイオン m/e を記録する。有機化合物が高エネルギー (70 eV が普通) をもった電子によって結合電子が叩き出されると安定なイオン種へと次々に分解して一連のイオンからなるスペクトルが得られる。これが Mass Spectrum であってこの有機イオンの分解の仕方は測定条件が同一である限り一定のものであり物質の確認、分析に適用される。この分解反応は最近の技術が生んだ有機化学の新分野であり、この道の先駆者 Dr. MacLafferty の言うように (1962年5月 Stanford 大学でゼミ) 溶媒和のない気体状態における Carbonium ion の単分子分解反応という背景から生れた現象であろう。ここ十年来地味な研究が続けられ有機分子種 (例えばアルコール類、エステル類など) ごとに分解の法則性が追求され経験的に或程度の規則が発見されて来た。1960年 Biemann 教授 (M.I.T) が天然物の Indole Alkaloid の構造決定に用いて素晴らしい成功を収めて以来急速に適用が広まり、アルカロイド類は勿論、テルペン、ステロイド、アミノ酸、糖、油脂などの殆んどすべての分野にわたってその応用が試みられて来た。新分野のことであり、分解したイオンの構造がはっきりしないためブラグマティックな反応機構の想定も随分多かったが漸く各種 Isotope を用いて実証的に分解イオンの構造が追求さ

れ、反応機構の議論に基礎が与えられるようになって昨今である。そこに技術は高分解という武器を投げかけたのだ。高分解能とはイオンを電場と磁場を通すことにより極度に分解精度をあげたものである。一般に各種イオンの質量数は構成原子の組成により必ず異なっている。各原子の質量数が質量欠損の法則により厳密には ^{16}O を 16.000000 としたとき整数にはならないからである。 $^{12}\text{C}=12.00384$, $^{14}\text{N}=14.007550$, $^1\text{H}=1.008145$ となり、例えば質量数28のものには N_2 : 28.0151, CO : 28.0038, CH_2N : 28.0277, C_2H_4 : 28.0403 の4種が存在する。高分解質量分析計はこの区別を可能にするもので、分解イオンの原子組成を明確に示すことができる。これは反応機構の解明に飛躍的な進歩をもたらすものであることはもちろん、こと天然物有機化学に应用された場合長年親しまれてきたまず結晶化して元素分析という方法を駆逐し、1 mg 以下の試料で一回の測定で確実に分子式を決定できるという驚異的なものになるのだ。ガスクロマトで試料を分離し、結晶化させることなくそのまま Mass spectrum を測定し分子式其他の性質を決定する。Pregl の微量元素分析法の出現に対比できる革命的なことではないだろうか。このことが既に実用の段階にきていることが上記討論会ではっきり認識させられる羽目になったのである。Application of High resolution Mass Spectrometry Section 中で K. Biemann 教授による "The use of High-Resolution Mass Spectrograph in the Determination of the Structure of Organic Molecule" の一時間にわたる研究発表がはっきりとその未来像を示したのである。

従来でも必要に応じて Glasgo 大学に測定を依頼していたこの化学教室であったが Double-focus の材料購入に教授間の話がまとまったと聞かされたのはこの会議から一ヶ月もたたないうちであった。

IV Built by Optical Rotatory Dispersion

1891年創立の Stanford 大学は9000エーカーの敷地 (東大の73.5倍) をもち9500人の学生 (内女性30%, 大学院学生3800人) と860人の教師 (ノーベル賞受賞者5人) 達にとって春から夏にかけてのピクニックの舞台には事欠かない。大学本部からすこしはなれて舞台正面に Hoover Tower を望見する野外劇場、1935年 Frost 氏寄贈になる Frost Amphitheater は卒業式を始めとして、この時期の活躍の中心である。

四月、異常に長かった雨期も終り緑の美しい五月の一日 International Student Festival と銘打って500人、65ヶ国の外国留学生の祭りが開かれる。Faculty-staff Women's Club から召集されて家内もこの日は着物姿で寿司をサービスする。正面舞台では学生達の祖国の歌や踊りがそれぞれの国の風俗をしのばせて披露される。丁度、招聘教授として東洋古典音楽を専攻しておられる東京大学の岸辺教授御夫妻がいらっしゃる折とて、岸辺教授を先頭に日本語クラスの学生十数人、教授夫人の三味線に合わせて佐渡オケサなど盆オドリを一さし、一切れ10枚のノリマキも忽ちうり切れる。"コノオスシタカイデスネ" とおぼつかない日本語で言いながら十数コも

買っていった浴衣姿の学生もあると家内が苦笑する。Djerassi 教授夫人も令嬢と一語に顔をみせられ、“ヨコは暑いだろう”と盛んに家内に同情しながらオスシはおいしかったとお世辞をおっしゃる。陽にすっかり焼けた楽しい一日を過ぎて一週間後、今度は Spring Sing と名付けた伝統的なフラタニティ間の歌合戦が月光の下でくりひろげられる。陽が落ちるととたんに冷え込むカルホルニアとて毛布持参で観戦の市民達、タイマツをかざしてワグナーを合唱する学生達、白衣の制服で黒人霊歌を歌う Medical School の職員達、最後には聴衆も一斉にマッチをとめてスタンホードの夜を讃えたロマンチックな楽しい一夜、そしてガウンにかざられたいかめしい卒業式も済んで、夏休みの今は半裸で背を干す恋人達や子供を連れた職員達の憩いの場としてその幸をそっと包む。大学の裏手にはまだ“Lake Lagnita”があり水泳は禁止されているがボートハウスがある。五月の快晴の日曜日、水開きがおこなわれる。美しい女子学生達の水上スキーにみとれている間にこっそり近ずいた腕白学生の海賊船にホースから水をぶっかけられ、おかげで風邪を引いたにがさも青春のイタツラのとばっちりにはふさわしい。Djerassi 教授曰く“そんな事があったなら来年は見にいこう”。研究室では五月の土曜日 Djerassi 教授御夫妻の招待による“International Potluck Picnic”なるものが開かれる。Djerassi 研は世界各国からの Post. Doc. が多いので、彼等の祖国の軽食を持ち寄って珍味を楽しもうというわけだ。有名なブラジルのコーヒー、ドイツのビールは勿論、スコットランドのニンソ料理、オーストリアのクッキー、スイスの生の牛肉、テキサスのコーン、そして日本は“Emergency food when the

birds attack”と書かれた握り飯と梅干が意外に好評であった。おしゃべりの頃合いを見て教授は一同をプールに導く。Post. Doc. と大学院学生の連中ひそかに用意しておいた教授や研究員を皮肉る替歌を大声で合唱し、教授夫妻を苦笑させておいて 75°F に保たれた 20×10m 位の美しいプールに飛込む。泳ぎでは Colledge で教えた事があるという教授夫人や F 夫人が飛抜けて上手だ。午後の陽光をほしいままにとらえて輝く丘の上のプール、底にはくっきりと Built by Optical Rotatory Dispersion と刻まれていた。

【編集後記】

本号は従来の 16 頁を 24 頁に増加した特大号であります。前年度に受付けた各方面からの原稿を全部掲載したわけですが、それでも志村教授のアミノ酸醗酵は紙面の都合でグルタミン酸だけで、あとのアスパラギン酸以下は次号にまわしました。

本誌では志村教授のアミノ酸の醗酵、富松教授の Luciferin の構造と合成および板橋先生のナフタリンチオールなど有機製造化学領域の新しい分野のものが豊富に紹介されて読者からの御要望に応えられると思います。

橋爪楢子氏のノーベル賞者ものがたり、“ビタミン研究のハワースとカーラー”がはからずも氏の絶筆となり、氏はわが医学薬学界の特異な存在として有名でありました。東京工業大学金属分析科の金子正己先生から本誌に対し大変参考となっているという礼状を戴きました。読者各位からの忌憚なきご意見をお願いします。(稲垣)

関 東 化 学 株 式 会 社

本 社 東京都中央区日本橋本町 3 丁目 7 番地
電話 (241) 5126~9・2882・4958・5059・5502

工 場	日本工業規格表示許可工場 埼玉県草加市稲荷町 2048 番地	電話 草加 4177~4178
出張所	札幌市北九条東 1 丁目 北九州市戸畑区天神町 2 丁目 76 番地	電話 札幌 (71) 0724・1446 電話 戸畑 (88) 3961・3962
連絡所	東京都大田区大森町 7 丁目 236 番地 東京都北多摩郡国分寺町 1392 千葉県今井町 268 番地 大宮市東町 2 丁目 17 番地	電話 東京 (761) 5585・5786 電話 国分寺 (2) 3489・1935 電話 千葉 (2) 3117 電話 大宮 (41) 2094

大 阪 関 東 化 学 株 式 会 社

大阪市東区瓦町 3 丁目 1 番地 電話大阪 (231) 代表 1672~4

横 浜 関 東 化 学 株 式 会 社

横浜市西区桜木町 7 丁目 42 番地 電話横浜 (44) 5784・5796

昭和三十九年一月十日 発行

発行者 関東化学株式会社

ケミカルタイムス編集委員会