

日本農芸化学会北海道支部
日本土壤肥料学会北海道支部
北海道農芸化学協会
シンポジウム及び合同学術講演会
講演要旨

シンポジウム「畜産食品をめぐる諸問題」：

昭和53年7月7日（金） 13：30～17：30

1. アンチゲンとして見た乳タンパク質の研究動向と2, 3の問題

信州大農 鶴田文三郎 氏

2. ミルクアレルギーにおける乳蛋白質の抗原性について

森永乳業研 清沢 功 氏

3. 肉製品の発色機構

九州大農 永田致治 氏

4. 肉製品における亜硝酸塩の行方 東京大農 沖谷明絵 氏

一般講演：

昭和53年7月8日（土） 9：00～12：30

北海道農芸化学協会総会：

昭和53年7月8日（土） 13：30～14：00

特別講演：

昭和53年7月8日（土） 14：00～16：00

シラカンバ樹皮の構造と2次代謝生産物の特性

帯広畜産大 三宅基夫 氏

Chemical characteristics of lipids in cows' milk

英國ストラスクライド大食品科学 W. R. Morrison 氏

懇親会：

昭和53年7月8日（土） 17：30～19：30

池田町ブドウ・ブドウ酒研究所内「レストラン十勝」

中川郡池田町字清見83 Tel. 01557-2-2467 (内線33)

会費 3,000円 (学生 1,500円)

シンポジウム 「畜産食品をめぐる諸問題」

13:30 開会

13:40 1. アンチゲンとして見た乳タンパク質の研究動向と 2, 3 の問題

(信州大農) 鶴田文三郎

乳の免疫学的研究は決して新しい科学分野ではなく、既に1899年 Boedet により研究されている。その後多くの研究者が続き、1921年 Wells らにより初期の研究成果の総説が発表され、その中には現在問題になっている多くの課題が提起されている。しかし、近年の乳成分の免疫化学的研究は、或いは1959年頃からの Hanson らの一連の研究と共に活発化したと思われる。筆者らもその頃、この科学分野に関心を寄せたといえる。

1. 研究の成果と問題

近年の免疫化学の進歩と相俟って、乳成分の抗原性に関する研究は極めて多岐に渡り前進している。しかし、その成果はなお定性的であり、質的研究はこれからであろう。

(1) 一般に物質の抗原決定基はアミノ酸残基、単糖類残基にして少なくとも 4 ~ 6 個の連続残基に、或は不連続残基にあるといわれている。Bing ら、筆者らの高次構造を変化させる諸処理、或いは一次構造の切断などとその抗原価の変化の観察から、乳タンパク質の抗原決定基はアミノ酸の連続残基にあると推測された。その小分子活性フラグメントとして、次の 3 種が確認されている。

α_{S_1} -カゼインに、The • Thr • Met • Pro • Leu • Try (分子量 148)

β -ラクトグロブリンに、Lys₂, Asp, Ser₂, Ile₃ (分子量 903)

β -ラクトグロブリンに、Lys, Asp, Glu, Ala, Leu (分子量 575)

しかし、この結果に疑問もあり、未だ決定基は連続残基にあるといえない。後述するハプテン活性物質と合わせて、決論するまでの研究課題が多い。

(2) 交叉反応により見た乳成分の研究結果は非常に多い。すなわち、血液成分、体成分、或いは他種動物乳成分と/or種の動物乳成分は、微弱に交叉反応するものが比較的多く確認されている。この結果には、化学的精製度の疑問も残るが、例えば、牛乳 α -カゼインは他動物乳のカゼインと、或いは牛乳 β -カゼインとも交叉反応する。さらに乳の微量成分、例えば、ラクトフェリンは胃腸壁の正常およびガン組織、又は白血球成分と交叉反応するが、血中の類似物質トランスフェリンとは関係がない。また、脂肪

球皮膜のムコタンパク質の一部はホエータンパク質の或る成分と交叉反応する。このような異種成分間の交叉性は乳成分の生合成、或いは移行に興味ある課題を提起し、また、牛乳の人乳化という応用分野にも或る種の示唆を与えるように思われる。

(3) 牛乳の処理加工の過程に、新抗原決定基をもつ成分が形成されるらしいことは古くから推測されていた。約10年前から、その新抗原物質として 1-deoxy-hexulose-protein および lactose-endo が認められている。なお定性的であるが、これら物質は強いアレルゲンとしての性質をもっていると注目されている。この新抗原活性は市乳にも認められ、かつその本体は不明であるが、乳の酵素処理、放射線処理によても類似の新抗原性の発現が推測されている。乳の製造加工科学を専門とする私達にとっては、非常に関心のある問題であり、その中には基礎的にも、応用的にも大きな期待がもたれる。

2. 今後の課題

前述の成果になお多くの問題のあることは述べてきたが、さらに、乳の糖類、脂質類の免疫化学は新しい課題と見てよい。

現在注目されている乳糖の抗原性は、加熱の過程でペプチド鎖と結合した物質として取扱われていることは前述した。しかしさらに、 α -アミノエノールを介して糖とタンパク質を配結した人工抗原のハプテン活性をもつ糖類、或いは血液型ハプテン活性を示す基本単位のフコシルラクトースと人乳少糖類は、共に低分子性であり、かつ、その反応は特異的である点も含めて注目すべきである。

また、それ自身完全抗原となり難い脂質類も、例えば、低分子のホスファチジルセリンを、担体となり得るタンパク質と共に免疫すると抗体が得られる。すなわち、ホスファチジルセリンは抗原となり得ることになる。類似の物質が古くから医学分野で利用されていることも事実である。ともあれ、これらの糖、脂質類の基礎研究は乳成分の免疫化学的研究の今後の課題を示唆していると思われる。その他の成果も基礎にして述べたい。

14:30 2. ミルクアレルギーにおける乳蛋白質の抗原性について

(森永乳業研) 清沢 功

牛乳の蛋白質の抗原性は、ヒトの体内で抗体を產生し、ミルクアレルギーとしての複雑な症状を惹き起す原因となり得ることが、古くから知られている。そのため、ミルクアレルギー治療の上から、牛乳蛋

白質の内、どの種の蛋白質に抗原性が高いのか、他成分との反応などによりその抗原性がどのように変化するか、あるいはその抗原性を低下しないしは消失するにはどのような方法があるかなどの問題について多数の研究が行なわれてきた。しかし、試験管内あるいは動物における抗原抗体反応とアレルギー症状との関係が、必ずしも明確にされていない現状である。

最近、食餌アレルギーの内、即時型の過敏性反応をおこす皮膚感作抗体としてIgEが発見され、さらに特異IgE抗体の測定が可能になるに及んで、ミルクアレルギーにおけるアレルゲンと抗体との関係が、一段と明らかになってきた。

特異IgE抗体を測定する RAST (radio allergo-sorbent test) の原理は、paper discなどの支持体にアレルゲンを化学的処理により結合し、このpaper discと患者血清とを反応させて、特異抗体をアルゲンに結合させる。さらに¹²⁵I 標識抗IgE血清と反応させた後、血清中の特異IgE抗体を測定するものである。この測定値と高い相関を示すアレルギー症状は、アナフィラキシー、喘息、血管性浮腫、過敏性湿疹であるが、牛乳アレルギーでは、63%程度の一一致率が得られている。従って、牛乳アレルギーでは、特異IgE抗体以外の抗体も関与していることが明らかである。

最近、食餌アレルギーにおける特異IgG抗体の測定も、RASTの方法により可能になり、牛乳蛋白質に対する特異IgG抗体が高値を示す患者では、難治性下痢、嘔吐、吸収不全などの症状が高率で認められている。

ミルクアレルギー患者に対する治療法としては、牛乳蛋白質を含まない食餌を与えることが、容易に考えられるが、牛乳蛋白質以外の蛋白質を食餌から摂った場合でも、その抗原性によって同様の問題が発生する可能性がある。従って、アレルギー症状の発現抑制ないしは緩和のために、牛乳蛋白質の抗原性を低下しないしは消失することは重要な問題である。

牛乳蛋白質の抗原性を低下しないしは消失する方法として、蛋白質分解酵素で処理することが最も合理的であるが、その抗原性を判定する方法には、抗原抗体反応に基づいたいろいろの方法がある。ミルクアレルギーの臨床的立場から、これに関与する特異IgE抗体との反応性を検討することも必要である。たとえば、牛乳カゼインを蛋白質分解酵素により経時に分解し、その分解物とミルクアレルギー患者血清の特異IgE抗体との反応性を RASTにより調べると、8時間の分解によりその抗原性がかなり低下することが明らかである。また、モルモットの皮内に家兔抗カゼイン血清を注射し、約4時間後に静脈からカゼインまたはカゼイン分解物とエバンスブルーを注射し、いわゆるPCA反応によって皮内

染色度合を観察すると、カゼイン5μgの注射により染色が認められる反応も、8時間以上のカゼイン分解物では、20mgの注射でもこの反応が認められない。さらに、ラットでカゼインに対する特異IgE抗体を産生し、その血清を用いてPCA反応を行なっても同様の結果が得られる。

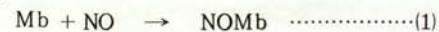
このようなカゼイン分解物を用いて、ミルクを調製し、難治性下痢、湿疹などのミルクアレルギー患者に与えると、患者血清の特異IgE抗体が低下する例もあり、その症状が著しく改善される場合があることが認められている。

3. 肉製品の発色機構

(九州大農)永田致治

肉製品製造の際、原料肉に塩漬剤を加えて加工を行なう目的の一つは、肉製品に比較的安定な美赤色を与えることであって、肉製品の発色（肉色の固定）をよくすることは肉加工上重要な問題の一つとなっている。そのため塩漬剤の一つとして古くから硝酸塩が用いられてきたが、硝酸塩は塩漬中に細菌により亜硝酸塩に還元されること、また生じた亜硝酸塩が肉製品の発色により密接に関与していることなどが明らかになり、亜硝酸塩が発色剤として現在ひろく使用されている。

発色の結果生じた塩漬肉色 (cured meat color) の本体が酸化窒素ミオグロビン (NOMb) であることはすでに明らかにされているが、筋肉の主要な色素蛋白質であるミオグロビン (Mb) と添加した亜硝酸塩が肉中でどのように反応して NOMb を生成するかについてはいくつかの考え方がある。これを大別すると次の2通りの反応式で表わすことができる。



ただし、Mb : 還元型ミオグロビン、NO : -酸化窒素、MetMb : メトミオグロビン、NOMb : 酸化窒素メトミオグロビン。

しかし、亜硝酸塩のNOへの還元、MbあるいはMet MbへのNOの転移反応、肉の示す還元作用やアスコルビン酸塩のような発色促進剤の作用様式などについて酵素的ならびに非酵素的反応の面から多くの研究があり、これらに基づいていくつかの発色経路が考えられている。どの経路をたどるにせよ、塩漬肉を加熱すると NOMb はより安定な淡紅色の酸化窒素ヘモクロムに変化する。これが普通の肉製品が示す色調 (cooked cured meat color) の本体で、その構造は NOMb の場合と同じようにヘム1分子に NO が 1分子結合していると従来から考えられているが、¹⁵Nでラベルした NaNO₂ を用いた Cassens ら (1976) の実験で、酸化窒素ヘモクロムのヘム鉄の2個の配位座は2分子のNOによって占められているとの Tarladgis (1962) の仮説を裏付け

る結果が得られている。

上述のように、肉製品の発色にはMbと亜硝酸塩からなる反応系が基本的に関与しているが、この系にはいろいろな因子が直接的あるいは間接的に影響を及ぼしており、その内容が最近少しづつ明らかにされつつある。ここでは数多い関与因子のうち、特に筋肉成分の影響について我々の研究室で行なわれている研究について若干述べてみたい。

まず、豚筋肉組織を4つの画分、すなわち筋漿、ミクロソーム、ミトコンドリア、ミオフィブリルに分け、それぞれにMbと亜硝酸塩を一定量加え嫌気的条件下（pH 5.5）において加熱し、発色に及ぼすこれら画分の促進効果と亜硝酸塩分解作用を調べたところ、その効果は筋漿画分が最も強力であった。この筋漿画分を透析法とゲル濾過法さらに細分画し、その有効成分が低分子であることを認めた。この低分子画分中に存在する物質の検索を行なっている。またこの画分中に Fe^{2+} が検出されたが、 Fe^{2+} はpH 5-6で加熱処理により亜硝酸塩を分解し、この場合に還元剤が共存すると Fe^{2+} のみならず、 Fe^{3+} も著しく亜硝酸塩の分解を促進することを認めているので、筋肉中の金属イオンの関与も注目に値する。一方、筋漿の非透析性の高分子画分について調べた結果、セファデックスG-100によるゲル濾過で比較的早く溶出されてくる画分に、蛋白質含量は少ないにもかかわらずかなりの発色促進効果を示す成分が見いだされ、現在その成分の同定と作用機構を調べている。Tinbergen(1973)も同様の実験を行ない、牛筋肉の水溶性低分子画分に有効成分を認め、その成分は分子量500以下のアミノ酸か小分子のペプチド（おそらくSH基を含む）とアミノ酸以外の化合物であろうと推定している。

肉製品の発色機構に関する研究がこれに関与する因子との関連において今後さらに進められることによって、亜硝酸塩のより安全で効果的な合理的な使用条件が見いだされ、常に一定した発色効果の得られる肉製品製造技術が開発されるであろう。

16:10 4. 肉製品における亜硝酸塩の行方

(東京大農) 沖谷明紘

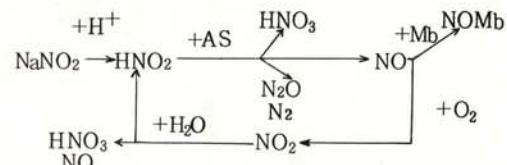
肉製品製造の塩漬時に用いられる亜硝酸塩は、製品に好ましい赤色と獨得のcured meat flavorを与える、有害微生物の生育を抑えるという重要な働きをする。そのほか、製品中の脂肪の酸敗を抑える効果も示す。亜硝酸塩より生成した一酸化窒素(NO)が反応して出来るニトロソミオグロビン(NOMb)が赤色の本体である。NOMb生成で酸化触媒となるヘム鉄がその能力を失うために抗酸化性が得られるとされている。Cured meat flavorの本体は不明である。亜硝酸塩と肉成分との反応で生成する未同定物質に由来するのか、あるいは単に脂肪の酸化が抑えられるためなのかもしれない。亜硝酸塩添加

の最大の効果はボツリヌム菌の主育抑制であるが、それは亜硝酸自体か、その反応生成物、あるいはその両者によるものかもまだ不明である。

これらの効用に対して、亜硝酸塩は発ガン性のニトロソアミン類を生成するという重大な欠点をもつ。この事由からその使用を中止するとき、前述の効用面、特にボツリヌム中毒を如何に防止するかが問題となる。

この問題解決の一方法として、亜硝酸塩の全反応生成物を明らかにし、それらが正反いずれの効用に帰属するかを明らかにする試みが、Dr. Cassensのグループと我々の研究室で独立に進められてきた。以下に記すのは、我々がこれまでに得た結果の概略である。

亜硝酸をMbとアスコルビン酸(AS)存在下、pH 5.5, 70°Cで1時間加熱した場合、亜硝酸塩由来のNは亜硝酸塩、硝酸塩、NOMb、ガス態N化合物(^{15}N 発光分析にて測定)としてはその全量が回収された。ガス態N化合物はAS存在下、加熱によって生成した。4°Cで7日間の塩漬により亜硝酸塩のほとんどが硝酸塩に変換したが、これはMbとASの共同作用によることが示された。これらの結果と従来の知見をあわせて、本条件下での亜硝酸塩の分解経路を下図のように推定した。添加した亜硝酸塩は分解しながら HNO_3 , N_2O , N_2 , NOMb



として系から除かれ消失すると推定した。

次いでMbの代りに肉を用いて上記と同様の実験を行なった。この時にはSH基との反応物ニトロソチオール量も測定した。その結果、添加亜硝酸のNの回収率は66-90%に減少し、亜硝酸塩由来の未同定物質(MX)の生成することが示された。肉を低濃度塩可溶透析性画分(F-1)、同非透析性画分(F-2)、高濃度塩可溶性画分(F-3)、同不溶性画分(F-4)に分けて、各々と亜硝酸塩とを反応させたとき、F-1とF-2では塩漬日数の長短にかかわらず20-26%のNXが生成した。F-3では塩漬0日ではNXは生成しないが以後増加した。F-4でのNXの生成はごくわずかであった。

F-1と亜硝酸塩との反応物をSephadex G-15カラムで分画すると、添加亜硝酸のN(^{15}N で追跡)は大略3つのピークとなって溶出し、最も遅く溶出するピーク(P3)がNXに相当した。これはスクレオチド、アミノ酸、ペプチドのいずれでもなく、Dr. CassensらのグループがComminuted luncheon meatからSephadex G-10カラムで分離し

たNXと似ているが、亜硝酸塩に対する溶出位置が逆であった。P3画分はP, Sを含んでおらず、強酸性であった。Amesテストでは幸いにも突然変異原性は認められなかった。

F-1をDowex 50X4で非吸着区分(A)と吸着区分(B)に分けて亜硝酸塩と反応させ、NX生成能力を調べた結果、Aのそれがより大きかった。Bに含まれるヒポキサンチンにもその能力が認められた。遊離アミノ酸はすべてBに含まれたが、ニトロソ化、ニトロ化したアミノ酸の生成はなかった。AをさらにDowex 1X4で非吸着区分(C)と吸着区分(D)に分けたとき、NX生成能はDに集中した。ここに含まれると推定されるシステイン酸、タウリン、IMPのいずれにもNX生成能が認められた。これらの結果からは、NXの前駆体となりうる成分が1つではなく、数種あることが示された。

以上のように、亜硝酸塩から生成する未同定物質に関する研究はまだスタートの段階にある。今後、多くの研究者の協力によって亜硝酸塩の行方の全貌が一日も早く明らかになることを期待したい。

一般講演

講演時間 12分 討論 2分
○印は講演者

9:00 1. 米糠の新ステロール配糖体、ステリルジグリコシドの構造

(帯畜大農化) ○大西正男, 伊藤精亮, 藤野安彦
 目的: 植物に特徴的なステロール系の糖脂質として、モノグリコシル型のステリルジグリコシドとその脂肪酸エステルがよく知られているが、ジグリコシル型のステロール配糖体についての報告はほとんどない。今回われわれは、米糠からステリルジグリコシドを単離し、その化学構造を明らかにしようとした。
 方法: 米糠から常法に従って全脂質を抽出し、これをケイ酸カラムクロマトグラフィーに供して、糖脂質を分別した。次いで、再ケイ酸カラムクロマトグラフィー、弱アルカリ処理などを行い、ステリルジグリコシドを単離精製した。これを赤外線吸収分析とGC-MS分析に供した後、構成成分の組成とモル比をGLCで調べた。また、糖鎖部の結合様式をクロム酸酸化、完全メチル化などによって決定した。
 結果: ステリルジグリコシドの構成ステロールは、 β -シットステロール、カンペステロールおよびスチグマステロールが主なもので、構成糖はグルコースであった。糖鎖は、 $\beta 1 \rightarrow 4$ 結合あるいは $\beta 1 \rightarrow 3$ 結合で連結した2種類の型が存在することが示された。主要な構造は、セロビオシル-($\beta 1 \rightarrow 3'$)- β -シットステロールであった。

9:14 2. 米糠中の新グリセロ糖脂質: テトラヘキソシリジアシルグリセロールの単離と構造決定

(帯畜大農化) ○宮沢陽夫, 藤野安彦
 目的: 演者らは先に、米糠の糖脂質画分中に極性の高い未知の脂質を見出し、これをテトラグリコシリジグリセリドと推定した.* 今回は、この脂質を米糠から単離して、その構造を明らかにすること目的とした。
 方法: 米糠からクロロホルム-メタノール抽出で全脂を調製し、これをケイ酸カラムクロマトグラフィーに供して糖脂質を分離し、さらにカラムクロマトグラフィーと分取薄層クロマトグラフィーを繰り返してテトラグリコシリジグリセリドを単離精製した。このものの構成成分のモル比の測定、赤外線吸収スペクトル分析、水解産物のガスクロマトグラフィー、脱アシル化物の質量スペクトル分析、脂質のクロム酸処理および完全メチル化糖の調査を行って構造を解析した。

結果: 米糠からテトラグリコシリジグリセリドを単離し、その主要構造を $1,2\text{-diacyl}(\text{palmitoyl}, \text{linoleoyl etc})-\text{Gal}(\alpha 1' \rightarrow 6')-\text{Gal}(\alpha 1' \rightarrow 6')-\text{Gal}(\alpha 1'$

$\rightarrow 6')-\text{Gal}(\beta 1' \rightarrow 3)-sn\text{-glycerol}$ と確定した。高等植物からテトラグリコシリジグリセリドを単離し、その構造を明らかにしたのはこれが初めてである。

*宮沢、藤野: 農化, 52, 37 (1978)

9:28 3. 乳酸菌の細胞表層の構造と機能に関する研究

II. 乳酸菌中のグリセロ糖脂質の構造

(帯畜大畜産環境) ○中野益男, 根岸 孝
 目的: グラム陽性菌の細胞膜にのみ見出されるリポタイコイン酸は、グリセロ糖脂質を共通のコアとして形成され、特異な膜の構築とファージ吸着や抗原抗体反応に見られるような機能の発揮に関係しているものと考えられる。先にリポティコイン酸とグリセロ糖脂質の相関関係を明らかにするために、*L. casei* のグリセロ糖脂質について明らかにしたが、今回は *L. plantarum* ATCC 8014, *L. acidophilus* ATCC 11506, *L. helveticus*, *L. fermentum* NCIB 6991 のグリセロ糖脂質について検索し、その構造を解析した。

方法: Bligh-Dyer の変法により全脂質を抽出し、DEAE-cellulose カラムと TLC によりグリセロ糖脂質を単離・精製した。各グリセロ糖脂質を構成している糖の種類および結合様式は、GC-MS、クロム酸酸化、酵素分解および完全メチル化により解析した。

結果: グリセロ糖脂質として *L. fermentum* からはモノ-, ジ-, アシルジグリコシリジグリセリド (MGDG, DGDG, AcDGDG) を、他の乳酸菌からは上記の他にトリ-, アシルトリグリコシリジグリセリド (TGDG, AcTGDG) を単離した。これらの構造は、それぞれ Glc ($\alpha 1 \rightarrow 3$)-, Gal ($\alpha 1 \rightarrow 2$) Glc ($\alpha 1 \rightarrow 3$)-, Gal ($\alpha 1 \rightarrow 2$) Acyl \rightarrow 6 Glc ($\alpha 1 \rightarrow 3$)-, Glc ($\beta 1 \rightarrow 6$) Gal ($\alpha 1 \rightarrow 2$) Glc ($\alpha 1 \rightarrow 3$) DG, Glc ($\beta 1 \rightarrow 6$) Gal ($\alpha 1 \rightarrow 2$) Acyl \rightarrow 6 Glc ($\alpha 1 \rightarrow 3$)-ジグリセリドと同定された。

9:42 4. 土壌中の多核芳香族炭化水素の分析

(帯畜大畜産環境) ○小林進介, 中野益男, 根岸 孝

目的: 大気に放出された多核芳香族炭化水素 (PAH) の多くは土壤に蓄積し、それらのうちいくつかは食物連鎖などを通じてわれわれの体内に摂取され健康に悪影響をおよぼすことが考えられる。しかし土壤中の PAH に関する研究は極めて少なく、不明な点が多い。これは分析法がいまだに確立されていないためと考えられる。そこで今回は主に自動車排ガス

に汚染された土壤と非汚染土壤のPAHの分析法を検討しながら測定した。

方法：試料は帯広市中心街路樹土壤と畜大草地土壤である。一定量の土壤をベンゼンで抽出した。これを減圧濃縮後、ヘキサンに溶解しアセトニトリルで溶出した。その溶出部をケン化後、セファデックスLH-20によるカラムクロマトグラフィーおよび薄層クロマトグラフィーに供してPAHを分離、精製した。PAHの同定はガスクロマトグラフィーおよびガスクロマトグラフ-マススペクトルメトリーによった。

結果：街路樹土壤中のPAHは、アントラセン、フェナントレン、フルオランテン、ビレン、クリセン、ベンツ(k)フルオランテンおよびベンツ(a)ビレンが、また非汚染土壤ではフェナントレンのみが検出された。

9:56 5. *Mucor* 属カビに含まれるオキシ酸に関する研究 第1報 オキシ酸の構造決定

(北大農化) ○細川敬三、田原哲士、水谷純也

目的：カビ類の構成脂肪酸組成に対するソルビン酸の影響を調べている際に、*Mucor* 属の菌体に特異的なオキシ酸が含まれていることを見出した。そこで、このオキシ酸の構造決定のために本実験を行なった。

方法及び結果：*Mucor* sp. A-73をglucose-peptone-yeast extract の液体培地で2日間培養後、菌体をメタノール性苛性カリで加水分解、酸性部をメチル化後、ケイ酸カラムクロマトによりオキシ酸画分(GLC溶出順にI, II, III)を得た。IIの水酸基をオキシ塩化リンで塩素置換後、LiCl/DMFで脱塩化水素を行ない、更に水添して飽和脂肪酸に誘導したところ、GLC及びGC-MSからmethyl-dodecanoateと同定された。一方、GC-MSにより3成分ともm/e 159($\text{CH}_3\text{O}_2\text{C}(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\overset{\text{OH}}{\text{C}}$)、m/e 130($\text{CH}_3\text{O}_2\text{C}(\text{CH}_2)_5+\text{H}^+$)、m/e 127(159- CH_3OH)が検出されることから水酸基の位置はいずれもC-7と推定した。Methyl 7-hydroxy-decanoate, methyl 7-hydroxydodecanoateを合成してGLC及びMSの比較を行なったところ、それぞれI及びIIと完全に一致した。Iは植物中に存在が知られているがIIとIIIは初めて見出されたものである。

10:10 6. Germacrene D の酸による異性化並びにその関連反応

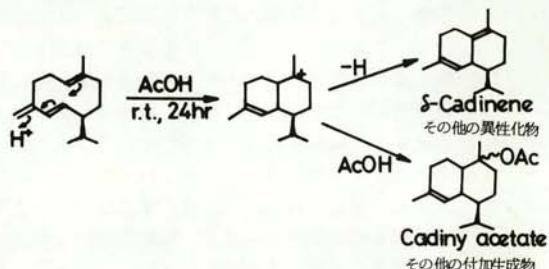
(北大農化) 西村弘行、○長谷川裕正、瀬尾明、高橋弘治、田原哲士、水谷純也

目的：ワモンゴキブリの性フェロモン様物質であるgermacrene D (各種キク科植物より単離) は、10員環トリエン構造を持つセスキテルペンで、熱や光に不安定であるため、全合成が困難であるとされて

いる。Germacrene D の諸性質を調べた結果、酸に対して極めて不安定で、容易に異性化することがわかった。今回、酸による異性化生成物並びに付加生成物の同定を報告し、さらにそれらの生成機構に関して若干考察する。

方法：Germacrene D はセイタカアワダチソウより各種のクロマトグラフィーにより単離精製された。酸としては、氷酢酸、メタノール性HCl、メタンスルホン酸等を用いて、各種の温度条件下で異性化を行なった。

結果：Germacrene D を氷酢酸中室温(25°C)で24時間放置すると、ほぼ100%変化して、以下のような機構で異性化生成物及び付加生成物を与えると考えられる。



10:24 7. 甜菜の生実およびエイジングにより生成する成熟主根の細胞壁結合型サッカラーゼの性質の比較

(帯畜大農化) ○増田宏志、菅原四郎

目的：我々は甜菜生実および成熟主根スライスのエイジング中に生成される細胞壁結合型酵素について研究してきたが、用いた粗酵素標品間では共通する性質をもつことは観察されていた。両酵素の異同を比較することにより甜菜のショ糖代謝における役割がさらに明らかにされるものと考え、今回は両酵素を精製し、種々の性質を比較検討したので報告する。

方法：生実およびエイジングした主根スライスからの結合型サッカラーゼの抽出は従来の方法に従った。精製はSepharose 6B, CM-celluloseおよびBio-gel P-150により行い、それぞれ80倍、123倍に精製された。

結果：両酵素ともゲル濾過および電気泳動的に单一であって移動度も一致した。分子量も同じで約50,000であった。DNAとは低濃度の塩溶液中で不溶化し、その溶解性におよぼす塩濃度もほぼ一致した。

以上の結果から両酵素は種々の性質について一致することから同一酵素であるものと思われる。このことから甜菜における結合型サッカラーゼとショ糖代謝との関連について考察した。

10:38 8. 梗種水稻乳熟種子のQ-酵素の作用について

(北大農化) ○岩井恒彦、山田次良、伊沢正夫

目的：梗種水稻乳熟種子中のQ-酵素を精製し、そ

の反応生成物と天然のアミロペクチンとの比較を行なった。

方法：粳種水稻乳熟種子（品種「ゆうから」）からリン酸ナトリウム緩衝液を用いる抽出、硫安分画、DEAE-cellulose、リン酸カルシウムゲル、ヒドロキシアバタイト及び Sephadex G-100 カラムクロマトグラフィーにより Q-酵素を精製した。酵素の反応はヨード呈色で調べた。反応生成物の鎖長分布はイソアミラーゼで分解後、Bio-gel P-6 によるクロマトグラフィーにより分析した。

結果：精製酵素はゲルfiltration 及び Disc 電気泳動的に单一で Sephadex G-100 ゲルfiltration による分子量は 53,000、SDS 電気泳動では分子量 80,000 を示した。

ヨード呈色による反応の追跡では $\overline{DP} = 25$ のアミロデキストリンには反応せず、 $\overline{DP} = 50$ のものには反応した。アミロースに対する反応は粳米アミロペクチンの段階で止まらず、糯米澱粉と類似のヨード呈色を示した。反応生成物の平均鎖長は約19となり、鎖長分布の分析では糯米澱粉のそれとやや異なった。

10:52 9. 水稻 α -Glucosidase II の加水分解作用に対する各種阻害剤の影響および化学修飾 (北大農化) ○松井博和、村田 進、千葉誠哉

下村得治

目的：水稻 α -glucosidase II の maltase 及び glucoamylase 活性におよぼす各種阻害剤の影響を調べ、両活性に対する阻害度、あるいは阻害型式に差異が認められるか否かを検討した。更に、本酵素のカルボキシル基の修飾を試みた。

方法：酵素は水稻未発芽種子から従来の方法によりディスク電気泳動的に単一な標品として精製した。阻害剤としては、Tris, erythritol, methyl- α -glucoside, trehalose, δ -gluconolactone, sucrose, NaF を用いた。カルボキシル基の修飾には水溶性カルボジイミドを用いた。酵素反応は、基質終濃度 0.2%，pH 4.0, 37°C で行ない、遊離したグルコースは Glucostat 法を用いて測定した。

結果：Tris (100 mM) 及び δ -gluconolactone (30 mM) は maltase 及び glucoamylase の両活性を約90%阻害した。他の阻害剤による影響は比較的小さかった。これら阻害剤の中には、両活性のいずれか一方のみを選択的に阻害するものは認められなかった。阻害型式は全て拮抗型であった。一方、水溶性カルボジイミドによる修飾で本酵素は完全に両活性を失った。部分修飾酵素のマルトース及び可溶性澱粉に対する K_m 値、 V_{max} を求め、未処理酵素の両基質に対するそれぞれの値と比較したところ、 V_{max} のみに明らかな変動が認められた。

10:06 10. 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase による coronamic acid の分解 (北大農化) ○本間 守、下村得治 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACPC)

deaminase は ACPC に対して高い特異性をもつ酵素である。一方、生理活性物質 coronatine を構成する coronamic acid は、(+)-(1R, 2R)-1-amino-2-ethylcyclopropane-1-carboxylic acid であることが報告され、ACPC の 2-エチル置換体である。

ACPC deaminase は dl-coronamic acid を ACPC の場合の約38%の最大速度で分解し、 α -keto-n-caproic acid を生成した。長時間の反応では、加えられたアミノ酸の約1/2量が分解され、その反応液から(-)-coronamic acid が分離された。この結果は、天然型である(+)-coronamic acid のシクロプロパン環 1-2 炭素結合が切断されたことを表わす。

ACPC deaminase が ACPC を分解するとき、L-セリン、L-アラニン、L- α -アミノ酪酸、L-ホモセリンで拮抗阻害を受け、それぞれ 0.9, 5.3, 62, 12 mM の K_i 値を示したにかかわらず、D-型アミノ酸では D-セリン ($K_i = 17$ mM) が僅かに阻害作用を示すのみであった。この結果から ACPC の、D-アミノ酸ではなく、L-アミノ酸に相当する炭素鎖が酵素との結合に関与していると考えられる。更に、この事と coronamic acid 分解の結果とから、ACPC のシクロプロパン環 1-C からみて pro-S 側が酵素と結合し、pro-R 側の炭素結合が切断されると理解される。

11:20 11. ウシ内臓の可溶性タンパクとその性質

(帯畜大保蔵) ○鈴木盛充、三浦弘之

目的：食肉産業からの副産物である内臓の構成タンパクのうち、可溶性タンパクについてその抽出性と理化学性をしらべた。

方法：ウシの内臓のうち肺、胃および小腸から、みかけ上の脂肪を除き、水洗して細切し、0.1 N 苛性ソーダと 0.1 N 塩酸で pH を 2 から 12 の範囲で調整して 2 時間抽出した。抽出性の高い pH 10 における抽出物について構成アミノ酸および SDS ポリアクリルアミド電気泳動パターンをみた。

結果：細切した肺、胃および小腸の粗タンパクは、それぞれ 18.5, 13.4 および 11.6 % であった。各 pH のものとの抽出性はアルカリ側で高いことから、pH 10 における抽出タンパクの凍結乾燥物を調整し、その構成アミノ酸をしらべると、いずれもアスパラギン酸、グルタミン酸、ロイシンが 10% 以上を占め、グリシン、アラニン、リジンを多く含んでいて、牛肉の組成に近似していた。電気泳動的に推定した分子量からみて、肺では 13 本以上のバンドのうち 8 本が 100,000 以上のバンドであるが、濃度の濃いバンドは 18,000, 61,000, 95,000 で、胃では 10 本以上のバンドのうち 64,000 および 83,000 のバンドが特に濃かった。

11:34 12. 固定化 *Proteus vulgaris* を用いるリンゴ酸の生産

(北大農化) ○河合啓一, 清野清彦, 土谷啓文
江口良友

目的: 酵素の分離精製操作を省いたり、複合酵素系を利用する目的で微生物菌体そのものを固定化する研究がなされている。フマール酸からリンゴ酸への転換活性の高い *Proteus vulgaris* AHU 1144 をポリアクリルアミドゲル中に包括し、固定化菌体としてその基礎条件の検討および連続反応への利用について調べた結果を報告する。

方法: 洗浄菌体をアクリルアミド法により固定後、ホモゲナイザーで破碎し固定化菌体を得た。フマール酸は 280 nm における吸光度より、リンゴ酸は 2,7-ナフタレンジオール法により定量した。反応液中の有機酸の有無はペーパークロマトグラフィにより調べた。

結果: 固定化直後の固定化菌体の活性収率は約 50% であった。自己消化、トルエン処理、凍結処理あるいは界面活性剤処理等により活性を 2~6 倍上昇することが出た。最適 pH は固定化直後では 7.5 であったが、トルエンあるいは凍結処理により 0.5 H 単位アルカリ側に移行した。1 M フマール酸を用いて連続反応を行なったところ、トルエン処理固定化菌体では急激な活性の低下がみられたが、凍結処理固定化菌体では長期間の連続操作が可能であり、40°C SV = 0.018 における半減期は 200 日であった。反応液中にはリンゴ酸以外の有機酸の副成は全く認められなかった。

11:48 13. ダイズ根粒菌 (*Rhizobium japonicum*) の有効菌および無効菌の免疫学的および微生物学的性質について (予報)

(帶畜大農化, *十勝農協連研究所)

○佐藤哲也, 成田知子, 菅原四郎,
*竹田茂, *高橋利和, *伊藤晃

目的: マメ科作物の生育において根粒菌の果す役割は大きい。しかし同一交互接種群においても、作物の品種ならびに根粒菌の菌株の違いにより、着生した根粒の窒素固定能に大きな差異を生ずることがある。ダイズ根粒菌のうち J 1-0 株はダイズ品種トヨスズに対し有効根粒を着生するが、S 32 株は無効根粒を着生することが知られている。そこで免疫学的および微生物学的技法を組合わせることによりこれら菌株の差異を明らかにすることを目的として実験を行なった。

方法および結果: *R. japonicum* J 1-0 は有効根粒より、S 32 は無効根粒より分離した。AHU 1130 は北大応用菌学教室より分譲されたものを用いた。培養は酵母エキス・マンニット培地を用い 30°C で行なった。J 1-0 株および 1130 株はリトマスミルクをペプトン化したが S 32 株は変化なかった。寒天培

地上の発育も異り、S 32 株は最も劣っていた。最適発育温度は J 1-0 株および S 32 株は 28°C, 1130 株は 32°C であった。最適発育 pH は J 1-0 株は S 32 株および 1130 株 (pH 6.5~6.7) と異り pH 7.7 であった。それぞれ最適条件での生育の比は 3~4 : 1 : 2 であった。J 1-0 株に対して得た抗体を用い免疫学的差異を調べた。J 1-0 株を抗原とした場合強い凝集反応を示したのに対し S 32 株を用いた場合は全く認められなかった。このことから両者の菌体表面の抗原構造に著しい差異があると考えられ、これら菌株の識別に免疫学的技法の導入の可能性が示唆された。

12:02 14. 微生物の発育に及ぼす可視光線の影響

(第 3 報)

Penicillium 属かびの胞子発芽について

(北大応菌) ○伊藤彰敏, 高尾彰一
微生物の発育に及ぼす可視光線の影響は、光合成細菌、植物病原菌などについてはかなり研究されているが、応用微生物学上有用なかびについてはほとんど研究されていない。

そこで当応用菌学教室では、各種のかびを波長の異なる可視光線の下で培養し、光線条件の違いによって発育に差異を呈するかびが多数存在することを認め、しかも多くのかびで光線の影響が分生胞子の発芽段階でもすでに現われることを初めて見いだし、すでに発表した。

今回は、*Penicillium* 属かび 27 株を供試し、それらの分生胞子発芽に及ぼす各種可視光線の影響を詳細に検討し、発芽率と光線条件の関係から、供試した *Penicillium* 属かびを数種の型に分けうることを認めたので、それらの結果を報告する。

12:16 15. 北海道内醤油諸味酵母に関する研究 (19)

耐・好塩性酵母の細胞内浸透圧

(北大応菌) ○吉田忠, 高尾彰一

細菌の細胞内浸透圧は *Escherichia coli* などのグラム(-)菌で 4~7 atm, グラム(+)の *Staphylococcus aureus* では 20~30 atm であるとされているが、酵母についてはほとんど調べられていない。ここでは、従来行われてきた原形質分離の顕微鏡観察法とともに Scheie (1973) が *E. coli* について開発した酵素法に準じ、Zymolyase を利用する方法も併用して、耐・好塩性酵母の内部浸透圧を測定した。その結果、耐塩性の *Saccharomyces rouxii* は 40~100 atm, 好塩性の *Torulopsis versatilis* は 40~135 atm, *T. etchellsii* では 60~185 atm となり、高浸透圧培地に生育したものでは内部浸透圧が高まる傾向が認められた。また、生育可能の浸透圧 (260 atm) との間にかなりの差のあることが判った。

7月8日（土） 14：00～16：00

帯広畜大畜産環境学科棟 1000 番教室

特 別 講 演

14：00 1. シラカンバ樹皮の構造と2次代謝生産物
の特性

（帯畜大農化）三宅基夫

樹皮は、樹木外層部を取りまく部分の総称で、通常外樹皮（外皮）、内樹皮（内皮）に分けられる。組織学的には、皮層内に後生分裂組織として生じたコルク形成層により外方に形成されるコルク皮層の部分を外皮と言い、木部形成層により外方に形成される2次節部（韌皮部）が内皮である。前者は外界からの保護をつかさどっている組織で、後者は節管による糖の移動およびそれの2次代謝と生産された代謝物の移動、貯蔵など生活上重要な働きを行なっている組織である。

通常の樹木は生長に伴いコルク形成層の移動が起き内外皮の組織が錯綜して来るため、組織別の成分の相違や、生理的意義などほとんど解明されていない。然るに、シラカンバは生長によるコルク形成層の移動が生じない樹種で、組織別の分離が容易である。このためシラカンバを用い、組織別に骨格成分である多糖類、リグニン、スペリンなどの特色、存在様式を追究するとともに、種々のフェノール配糖体類やテルペン類を明確にし、生長時期、季節などとの関連において生理的意義なども考えて見た。

なお、この研究は未利用資源である樹皮の有効利用を開発するための基礎研究の一部である。

15：00 2. Chemical characteristics of
lipids in cow's milk

（英国ストラスクライド大食品科学）

W. R. Morrison

7月8日（土） 13：30～14：00

帯広畜大畜産環境学科棟 1000 番教室

北海道農芸化学協会総会

北海道農芸化学協会特別会員御芳名

(ABC順)

旭油脂株式会社
福山醸造株式会社
合同酒精株式会社
北海道朝日麦酒株式会社
北海道農協乳業株式会社
北海道日産化学株式会社
北海道理化器械株式会社
北海道糖業株式会社
北海道和光純薬株式会社
北海三共株式会社
北開水工測量社(有限会社)
北海製罐株式会社 罐詰研究所
ホクレン開発研究部
池田町ブドウ・ブドウ酒研究所
関東化学販売株式会社
日本化学飼料株式会社
日本理化器械株式会社
日本清酒株式会社
日本新薬株式会社 札幌工場
日本甜菜製糖株式会社 技術部
ニッカウヰスキー株式会社
サッポロビール株式会社 札幌工場
札幌酒精工業株式会社
サントリー株式会社 千歳工場
宝酒造株式会社 札幌工場
高砂香料工業株式会社 札幌出張所
東洋科学産業株式会社 札幌営業所
雪印乳業株式会社
雪印食品株式会社