

Title	表面培養に於けるペニシリン産生菌株及び培地組成に関する知見
Sub Title	Comparison of Penicillin-producing strains and effects of culture nutrients in surface culture
Author	梅澤, 純夫(Umezawa, Sumio) 須網, 哲夫(Suami, Tetsuo)
Publisher	慶應義塾大学工学部
Publication year	1948
Jtitle	慶應義塾大学工学部研究報告 (Proceedings of Faculty of Engineering, Keiogijuku University). Vol.1, No.1 (1948. 4) ,p.12(12)- 19(19)
JaLC DOI	
Abstract	Three strains were tested for penicillin-production. Q176 (Wisconsin) which was found to be exceptionally good penicillin-producer in submerged culture in America and offered to our country owing to the good offices of America, produced best yield also in surface culuture, when grown in a synthetic medium. The good effects of phenylacetic acid on penicillin-production and yield at every stages in the extraction by carbon process were also examined.
Notes	目次のタイトル : 表面培養に於けるペニシリン産生菌株及び培養組成に関する知見
Genre	Departmental Bulletin Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KO50001004-00010001-0012

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

第 8 表に對應する第 5 圖結果は配合割合を $[Na_2O]/[Al_2O_3]=1.0$, $[CaO]/[SiO_2]=1.5$, $[CaO]/[Fe_2O_3]=1.5$ に一定にして酸化鐵含量がアルミナ溶出率に及ぼす影響を見たものであるが新配合係數から之を見ると第 8 表が示す様に酸化鐵含量の増加即ち Fe_2O_3/Al_2O_3 比の増大と共に A_N/A 比が著しく減少し、之に伴つてアルミナ溶出率も可成り低下して居る。即ち第 3 節 § 3 では原鑛中の酸化鐵含量の増大と共にアルミナ溶出率は低下する傾向があると述べたが新配合係數から検討すると第 8 表が示す様にアルミナ溶出率の低下は酸化鐵含量の増加のためではなく寧ろ配合の適正を缺きソーダ配合量の過少のために招來されたと見る事が出来る。故に更にソーダの配合量を増大すればアルミナの溶出率は増大すべきで此の推測は第 9 表の $C_{21-1050}$ 燒成物の溶出成績が良く之を裏付けて居る。

第 9 表燒成物は酸化鐵に對してソーダ 1 をモル配合したものであるから新舊配合係數の値に變化が起らない。本表から明かな様に各燒成物の配合係數は略く同一である。従つて酸化鐵含量が大幅に變化してもソーダ及びアルミナ溶出率には殆んど影響が無い。換言すれば原鑛中の酸化鐵の量はソーダ及び石灰の配合量を適當にすれば溶出率に悪影響は殆んどない。唯だ本群燒成物のソーダ溶出率が他群燒成物に比べて全般的に 2~3% 低い事は注目すべき現象である。

以上之を要するにソーダ及び石灰配合量の規準は $[N]/[F]=1.0$, $A_N/A=0.7\sim 0.9$ とし、原鑛中の SiO_2/Al_2O_3 比に應じて $[C]/[A_N]+[S]$ 比を 1.0~2.0 の間で變化させる。即ち SiO_2/Al_2O_3 比が 0.40 乃至 0.50 以下の原鑛に對しては本モル比を 1.0 内外にし SiO_2/Al_2O_3 比の増大と共に之を次第に増して行くべきであろう。

表面培養に於けるペニシリン產生菌株 及び培地組成に關する知見

昭和 23 年 (1948) 2 月 27 日受理

梅 澤 純 夫*
須 網 哲 夫**

Sumio Umezawa* and Tetsuo Suami**: Comparison of Penicillin-producing Strains and Effects of Culture Nutrients in Surface Culture. Three strains were tested for penicillin-production. Q 176 (Wisconsin) which was found to be exceptionally good penicillin-producer in submerged culture in America and offered to our country owing to the good offices of America, produced best yield also in surface culture, when grown in a synthetic medium. The good effects of phenylacetic acid on penicillin-production and yield at every stages in the extraction by carbon process were also examined.

目 次

I. 概 説

* 慶應義塾大學教授、理博；Dr. Sci. Prof. of Keiogi-juku University.

** 慶應義塾大學助教授；Assist. Prof. of Keiogi-juku University.

II. 実験及び結果

III. 考察及び結論

I. 概 説

著者等は昭和 19 年初頭以來ペニシリンに関する研究に従事し、同年秋ペニシリンの分離に成功せる結果に就いて報告した。¹⁾

當時使用せるペニシリウムに屬する菌株は本邦産の P 176, U 33 等であつた。培地としては複合有機培地を主として使用し、當時の培地濾液のペニシリン濃度は完全抑制が平均 1:200 すなわち 40 u/cc 程度であつた。一昨年秋來朝せる J. Foster 教授は米國に於ける深い研究²⁾ の結果分離せられた優秀な菌株 *Penicillium notatum* NRRL 1249, B 21, *Penicillium chrysogenum* NRRL 1978, B 2, *Penicillium chrysogenum* NRRL 1951, B 25, *Penicillium chrysogenum* Q 176 (Wisconsin) を我國に提供した。

著者等も現在はこれ等の菌株を使用し、變異株の中に優秀な菌株を不斷に探究すると同時にこれ等に適切な培地組成に就いて研究してきた。

本報告に於ては著者等の研究室に於けるこれ等の結果の蒐集の中から重要な記録に就いて報告する。

ペニシリンの産生は菌株によつて著しく差異があるとともに、培地組成によつて著しく影響される。ペニシリンの産生は屬の示す特徴ではなくて屬の中の特定の菌株に付與された特徴である。菌株に就いてそれぞれ適切な培地組成が研究されねばならない。菌株 1978, B 2 は米國諸工場に於て表面培養に對し使用せられて良好な結果を與え、Q 176 は液内培養に於て極めて優秀な成績を示した。Q 176 に對しては培地組成としてコーンステープ (Corn steep) を添加することによつて比類なくペニシリンの産生が高められ實に 1000u/cc を示した。³⁾ なお 1978 B 2 及び Q 176 に對して培地の炭素給源として乳糖が特に好影響を示すことが見出された。コーンステープ・乳糖培地は米國ペニシリン工業の發展に至大の貢獻をなした。⁴⁾

著者等は現在 Q 176 を表面培養に使用し、培地に窒素給源として硝酸ソーダ 0.5%, 硝酸アンモニウム 0.5%, 或は硫酸アンモニウム 0.3% を、炭素給源として乳糖 3% を添加することにより表面培養としては極めて優秀な結果を得つつある。すなわち培養濾液が平均約 400 u/cc を示してゐる。著者等の知るかぎりでは米國に於ては夙に研究が表面培養から液内培養に移つたために表面培養に於てかかる高單位は報告されていない。液内培養に適當すると考えられていた菌株 Q 176 が培地組成を適切にすれば表面培養に於ても極めて優秀性を示したことは培地組成の重要性を物語るものである。

ペニシリンの化學構造に関する研究は今次大戦中米英兩國科學者の協同研究⁵⁾ によつて

1) 梅澤純夫, 梅澤濱夫, 島内文雄, 阿部芳郎, 鹽澤富美子: 日本化學會常會講演, 昭 20 年 (1945) 1 月。

2) J. W. Foster: Three Days Symposium on Penicillin Production (Japan Penicillin Research Association) 1947, p 5.

3) J. W. Foster: *ibid*, p 6.

4) Moyer, A. J., and Coghill, R. D.: *J. Bact.*, 50 (1946), 517.

5) The Committee on Medical Research, O. S. R. D., Washington, and the Medical Research Council, London.: *Science*, 102 (1945, December) 627-629.

輝かしい成果をおさめた。米國の化學者はペニシリン G を純結晶として分離し、英國の研究者はペニシリン F を單離した。この他にペニシリン X 及び K が分離せられ化學構造が決定せられた。これ等のペニシリン類の安定性に關する Coghill 等の報告⁶⁾によれば K, F, X, 及び G の pH 2.5, 24°C に於ける半衰時間が 7, 11, 11, 18.5 分であり比較的含量がペニシリン G に於て大なることが望ましい。ペニシリン G は分解生成物にフェニル醋酸を與へる。従つて培地にフェニル醋酸を添加した場合の影響は興味ある問題であつたが Moyer 及び Coghill の系統的研究⁷⁾はフェニル醋酸は菌株に幾分有毒であるが 0.2~0.8% を添加し培地の pH を KOH により稍大とすることにより毒性を減少せしめ一般にペニシリン G 含量を著しく高め得ることを明かにした。

著者等もまた上述の菌株を著者等の培地に發育せしめた場合にフェニル醋酸添加の影響を追試した。ペニシリン類の比較的含量の差異は抽出工程に於ける收率に直ちに影響する。培養濾液の單位を基礎としたペニシリン收率はペニシリン F の含量が比較的大なる場合には抽出工程に於ける損失が大なるため小となり、ペニシリン G の含量が比較的大なる場合には損失が小となるため大となることが考察される。

著者等は活性炭法^{8, 9)} (Carbon process) による抽出工程の各段階に於ける收率を測定し、フェニル醋酸添加の著しい好影響を確認した結果に就て報告した。

II. 實驗及び結果

培養はすべて 24°C, 700 cc 硬質手形フラスコ中にて行つた。培養液量は 200 cc, 液層の厚さは 1.5 cm である。無菌的に米粒上に各菌株を接種、繁殖せしめた孢子を滅菌された各培養液中に米粒 5~10 粒宛とともに無菌的に投入した。

ペニシリンの測定には著者等の研究室に於てはカップ法¹⁰⁾ (Cup method) を採用し、その要領は米國聯邦登録¹¹⁾ に従つた。本測定に使用した標準ペニシリン G は過般來朝せる Foster 教授がペニシリン中央研究所に分與されたものである。従つて力價單位 (Potency) は國際單位 (本報に於ては u と記した) とす。

まず培養期間中に於ける培地のペニシリン含量の變化を測定し、最高含量を示す時期に培養液を氷冷し、直ちに抽出工程に移り、各段階に於けるペニシリン收率を測定した。

培養期間中に於ける培地のペニシリン力價 (Broth potency) の變化を Fig. 1, Fig. 2, Fig. 3, Fig. 4, Fig. 5, 及び Fig. 6 に示した。

使用せる培地組成を一括して Table 1-4 に示した。

次に抽出工程各段階に於けるペニシリン收率を Table 5, Table 6, Table 7, Table 8 に示した。

6) Benedict, R. G., Schmidt, W. H., and Coghill, R. D.: J. Bact. 51 (1946) 291-292.

7) Moyer, A. J. and Coghill, R. D.: J. Bact. 53 (1946) 355-357.

8) Whitmore and coworkers: Ind. Eng. Chem., 38 (1946) 942-948.

9) 梅澤純夫, 須網哲夫, 仲田三郎: 工業化學會第 50 周年記念會講演 昭 22 (1947) 4, 3 印刷中

10) Foster, J. W. and Woodruff, H. B.: J. Bact. 47 (1944) 43-58.

11) Federal Register, October 17 (1946), Title 21, Food and Drugs I., part 141.

Table 1. Peptone Medium
(PH 5.8-6.1)

Lactose	3.0	%
Peptone	2.0	%
KH_2PO_4	0.05	%
NaNO_3	0.3	%
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.002	%
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.025	%
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.00005	%

Table 2. Synthetic Medium
I (pH 6.1)

Lactose	4.0	%
Glacial acetic acid	0.5	%
NH_4NO_3	0.5	%
KH_2PO_4	0.1	%
NaNO_3	0.5	%
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.05	%
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.02	%
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.004	%
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.0005	%

Table 3. Synthetic Medium
2 (pH 6.1)

Lactose	3.0	%
Glucose	0.5	%
NaNO_3	0.5	%
Glacial acetic acid	0.5	%
NH_4NO_3	0.1	%
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.025	%
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.02	%
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.004	%
$\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.0005	%

Table 4. Synthetic Medium
3 (pH 6.1)

Lactose	3.0	%
Glucose	0.5	%
NaNO_3	0.5	%
Glacial acetic acid	0.5	%
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0.3	%
KH_2PO_4	0.1	%
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.025	%
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.02	%
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.004	%
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.0005	%

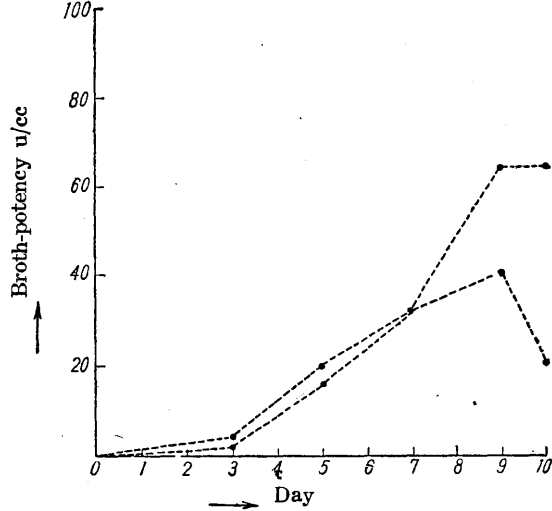


Fig. 1. P 176 8 A 10, peptone medium

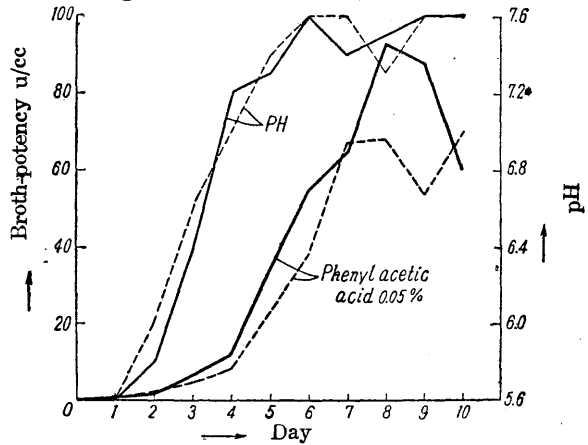


Fig. 2. 1978 B 2, peptone medium

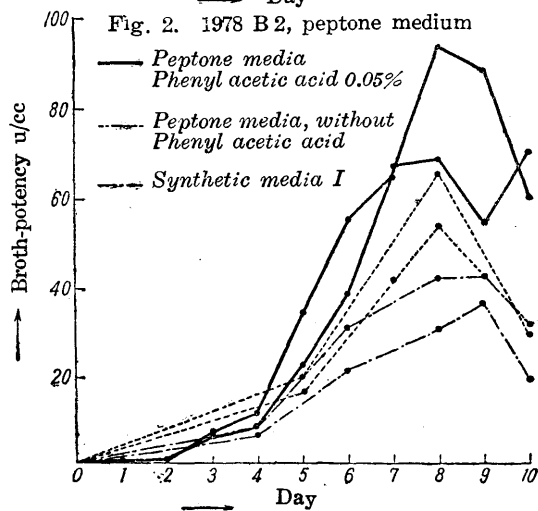


Fig. 3. 1978 B 2

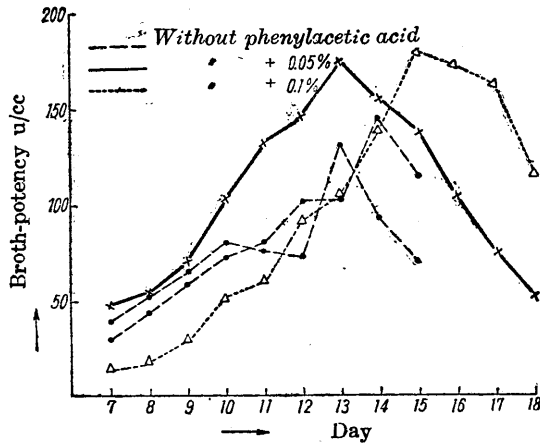


Fig. 4. Q 176, peptone medium

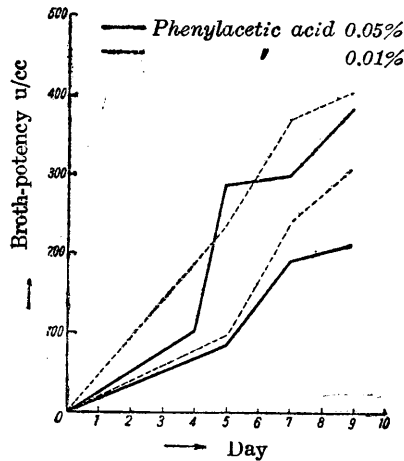


Fig. 5. Q 176, synthetic medium 2

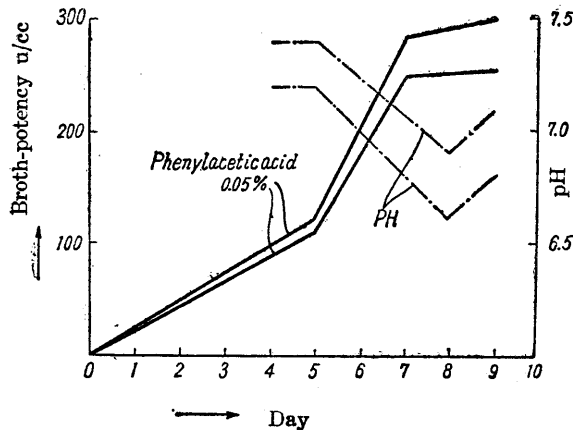


Fig. 6. Q 176, synthetic medium 3

菌株 Q 176 を使用した場合の合成培地 2 に於ては Table 8 に示した様に抽出工程に於けるペニシリン收率の損失が比較的小なる故にアセトン濃縮液 (Aceton concentrate) を pH 2.5 として析出する不純物を急速に濾過除去する精製方法を試みた。(この大膽な方法は最も簡単であるが従來の菌株及び培地組成に於ては濾過時に於ける損失が pH が低いために約 20~30% に達し不可能であつた。) この結果は Table 9 に示した様に損失が 5~9% にとどまつた。この不純物濾去の操作によつて製品の mg 當りの力價は著るしく上昇し、なお注射時に於ける疼痛を殆どなくし得たことをも知つた。

III. 考察及び結論

(1) 培養期間中に於ける培地のペニシリン含量の變化をみるに、一般に第 4 日乃至第 5 日より急激にペニシリン含量が上昇する。第 8 日乃至第 9 日に於て含有量最高に到達し、その後急速に低下の一途をたどることが認められる。しかし Q 176 ペプトン培地の例の如く第 13 日乃至第 14 日に於て含有量最高に到達する場合もある。

(2) 培地にフェニル醋酸を添加した影響は一般に培地の力價が上昇する。更に重要な點は力價最高の繼續期間がやや延長されることである。添加されたフェニル醋酸がペニシリン G の形成に加はり、ためにペニシリン類中最も安定な G の含量比率が大になる結

果と考察される。これは工業的處理を容易ならしめる。

フェニル醋酸は既に Moyer 及び Coghill⁷⁾ の述べた如く菌株に毒性を及ぼすために添加量には限度がある。(この毒性は分子状フェニル醋酸に基くと考へられる)。著者等の Q 176, ペプトン培地 (Fig. 4) の結果は 0.1% が既にある程度の毒性を示しており含有量最高に到達するに 15 日を要している。

(3) 培養期間に於ける pH の變化は一般に最初漸次上昇し pH 7~7.5 に到達し、一時 pH の低下を見るが、この時期に於てペニシリン含有量が最高に到達する。その後ペニシリン含有量の低下とともに pH は再び上昇する。この

Table 5. P 176 8 A 10, peptone medium.

Phenylacetic acid		—	—
Broth	Volume L	7.0	1.0
	Potency u/cc	8	20
	Total u	56000	20000
Acetone	Volume L	3.5	0.7
	Potency u/cc	16	20
	Total u	56000	14000
	%	100.0	70.0
Conc.	Volume L	0.45	0.15
	Potency u/cc	80	80
	Total u	36000	12000
	%	64.5	60.0
F. R. W.	Volume cc	15	4.7
	Potency u/cc	1600	2000
	Total u	24000	9400
	%	42.8	47.0
Powder	Weight mg	167	42
	Potency u/mg	96	160
	Total u	16000	6720
	%	29.0	33.6

Table 6. B2, peptone medium.

Phenylacetic acid		+0.05 %	+0.05 %	—	—
Broth	Volume L	30	47	8.0	9.0
	Potency u/cc	57.0	91.0	26.0	33.0
	Total u	170 × 10 ⁴	427 × 10 ⁴	20.8 × 10 ⁴	29.7 × 10 ⁴
Acetone	Volume L	18.0	20.0	3.5	4.0
	Potency u/cc	77.2	182	51.4	57.0
	Total u	139 × 10 ⁴	364 × 10 ⁴	18.0 × 10 ⁴	22.8 × 10 ⁴
	%	81.9	85.1	86.3	77.0
Conc.	Volume L	2.2	3.2	0.4	0.7
	Potency u/cc	586	1090	415	300
	Total u	128 × 10 ⁴	350 × 10 ⁴	16.6 × 10 ⁴	21.0 × 10 ⁴
	%	75.2	82.0	80.0	71.0
F. R. W.	Volume cc	400	300	61	136
	Potency u/cc	2300	7000	1600	900
	Total u	92.0 × 10 ⁴	210 × 10 ⁴	9.8 × 10 ⁴	12.3 × 10 ⁴
	%	54.1	49.3	47.0	41.5
Powder	Weight mg	9560	7620	1450	1610
	Potency u/mg	85	244	49	57
	Total u	81.3 × 10 ⁴	186 × 10 ⁴	7.1 × 10 ⁴	9.2 × 10 ⁴
	%	48.0	43.6	34.0	31.0

Table 7. Q 176, peptone medium.

Phenylacetic acid			+0.05 %	+0.05 %	—	—
Broth	Volume	L	39.5	38.0	41.4	35.0
	Potency	u/cc	166	147	75	110
	Total	u	655×10^4	559×10^4	311×10^4	385×10^4
Raffinate	Volume	L	39.0	37.0	40.9	33.7
	Potency	u/cc	7.8	7.8	6.3	8.5
	Total	u	30.4×10^4	28.9×10^4	25.8×10^4	28.6×10^4
	%		4.6	5.2	8.0	7.4
Acetone	Volume	L	17.5	20.5	20.0	17.0
	Potency	u/cc	320	264	127	192
	Total	u	560×10^4	541×10^4	254×10^4	326×10^4
	%		85.5	96.8	81.7	84.9
Conc.	Volume	L	3.75	2.80	3.00	2.50
	Potency	u/cc	1420	1910	841	1200
	Total	u	533×10^4	535×10^4	252×10^4	200×10^4
	%		81.3	96.0	80.9	73.0
F. R. W.	Volume	cc	100	110	70	87
	Potency	u/cc	46000	33700	19600	25600
	Total	u	460×10^4	370×10^4	137×10^4	223×10^4
	%		70.2	66.0	44.0	53.0
Powder	Weight	mg	31600	24500	10600	16800
	Potency	u/mg	133	139	97	107
	Total	u	420×10^4	340×10^4	103×10^4	180×10^4
	%		64.1	61.0	33.1	47.0

Table 8. Q 176, synthetic medium 2 and 3.

Phenylacetic acid			NH ₄ NO ₃	NH ₄ NO ₃	(NH ₄) ₂ SO ₄	(NH ₄) ₂ SO ₄
			+0.05 %	+0.05 %	+0.05 %	+0.05 %
Broth	Volume	L	69	10	10	16
	Potency	u/cc	262	321	270	396
	Total	u	1810×10^4	321×10^4	270×10^4	635×10^4
Acetone	Volume	L	20	4.0	3.7	4.4
	Potency	u/cc	815	445	625	1210
	Total	u	1630×10^4	266×10^4	235×10^4	533
	%		90.0	83.0	87.0	84.1
Conc.	Volume	L	3.7	0.76	0.61	0.67
	Potency	u/cc	4300	3360	6350	7200
	Total	u	1590×10^4	257×10^4	218×10^4	482×10^4
	%		88.0	80.0	81.0	76.0

F. R. W.	Volume	cc	155	39.4	21.0	59.0
	Potency	u/cc	78000	52000	86900	65000
	Total	u	1210×10^4	205×10^4	182×10^4	384×10^4
	%		62.0	64.0	67.5	60.6
Powder	Weight	mg	24700	3750	4950	6240
	Potency	u/mg	421	501	415	567
	Total	u.	1040×10^4	188×10^4	164×10^4	354×10^4
	%		57.1	58.0	60.8	55.8

の pH の特徴ある変化はペニシリン收獲時期をある程度示唆することになる。

(4) 抽出工程に於けるペニシリン收率に對する培地組成の影響をみるに、ペプトン培地に於ては、合成培地に比較し活性炭吸着率が比較的低い。

(5) 抽出工程に於けるペニシリン收率に及ぼすフェニル醋酸添加の影響をみるに極めて著しい。抽出工程の各段階に於てフェニル

Table 9. Penicillin yield when precipitate of acetone-concentrate at pH 2.5 filtrated.

		I	II
Acetone conc.	Volume cc	100	100
	Potency u/cc	2730	6010
	Total u.	273000	6010000
After filtration at pH 2.5, 0°C	Volume cc	98	99
	Potency u/cc	2650	5530
	Total u.	25970	547000
	%	95.3	91.0
Loss	%	4.7	9.0

醋酸を添加した場合と添加せざる場合とを比較するに前者に於て著るしい増収が認められる。特に最後の操作すなわち凍結乾燥時に於て、後者に於ては従来 10~20% の損失が認められるが、前者に於ては約 5% 以下にとどめ得る。培地單位を基礎とする總收率に於ては 15~30% 程度の増収が前者に於て認められる。

變壓器絶縁劣化及び故障の検出法

昭和 23 年 (1948), 2 月 25 日受理

森 元 吉*

Motokichi Mori*: Detection of Insulation Deteriorations and Locations of Transformer. The insulations of transformer and generator will be deteriorated or injured and even if the deterioration proceeds to the layer short or grounding, it will be difficult to point out the insulation faults, unless the facts are recognized from outer circumference, that the current flowing, local heating smelling, and carbonizing. Before the insulation faults extends to be recognized from the outer circumference, there is a period which the local conductivity of insulation is growing or something like pin holes are in causing. If the deterioration of insulation

* 慶應義塾大學教授, 工博; Dr. Eng. Prof. of Keiogijuku University.