

Penicillium paraherquei IFO 6243 によって菌体外に 生産される 280 nm に強い吸収をもつ不飽和ラクトン

藤井貴明・高橋ひろ子・吉川恵美子
篠山浩文・安藤昭一・矢吹 稔
(応用微生物学研究室)

宇田川俊一
(国立衛生試験所)

An Unsaturated Lactone with a Strong Absorption at 280nm Extracellularly Produced by *Penicillium paraherquei* IFO 6243

Takaaki FUJII, Hiroko TAKAHASHI, Emiko YOSHIKAWA,
Hirofumi SHINOYAMA, Akikazu ANDO and Minoru YABUKI

Laboratory of Applied Microbiology

Shunichi UDAGAWA

Mycology Laboratory, National Institute of Hygienic Science

ABSTRACT

Penicillium paraherquei IFO 6243 extracellularly produced a compound (P_{280}) with a strong absorption at 280nm (absorption maximum, 274nm). But the production of P_{280} was not observed with several fungi related to strain IFO 6243. About 100 mg of P_{280} was obtained from 800ml of the culture filtrate of strain IFO 6243 by extraction with ethyl acetate and gel filtration using a Sephdex G-10 column. Its purity was over 98% on high performance liquid chromatography. Analysis of the purified P_{280} by GC-MS, MNR and IR indicated the molecular structure to be a α, β -unsaturated lactone composed of $C_7H_6O_4$.

緒 言

Penicillium paraherquei は *Penicillium simplicissimum* のシノニムとされている糸状菌であるが (PITT, 1979), さきに, 本菌と近縁の一群の菌株がリグニンスルホン酸を硫黄源とする培地に生育し, リグニンスルホン酸を吸着除去するため, 本物質に基づく液中の 280 nm における吸光度や黒褐色の色調を著しく低下させるのに対して, *P. paraherquei* IFO 6243 は逆に 280 nm における吸光度を増大させる現象を見出した. この現象は, 予備的な検討により, リグニンスルホン酸が低分子化した結果によるのではなく, 本菌によって 280 nm に吸収を示す物質が *de novo* 合成された結果であることが確かめられている (篠山ら, 1985).

P. paraherquei とその近縁の糸状菌の培養において, それらの培養液の 280 nm における吸光度が著しく増大する事実を報告したものはこれまでに見あたらないので,

本報では, *P. paraherquei* IFO 6243 による 280 nm に吸収を示す物質 (P_{280}) の生産性を, 本菌ならびにこれと近縁の菌株についても検討し, また, 本菌の培養液より P_{280} を精製し, その化学構造を推定した.

実験材料および方法

使用菌株

Penicillium paraherquei IFO 6243, *Penicillium ochrochloron* IFO 4612, *Penicillium piscarium* IFO 8111, *Penicillium simplicissimum* IFO 5762 は, (財)発酵研究所より, *Penicillium paraherquei* NHL 6127 は, 国立衛生試験所より, *Penicillium brasilianum* ATCC 12070, *Penicillium ochrochloron* ATCC 10540, *Penicillium cremeogriseum* ATCC 18323, *Penicillium janthinellum* ATCC 10455, 同 ATCC 10482, *Penicillium piscarium* ATCC 10482 は American Type Culture Collection より分譲を受けた.

Penicillium sp. O-7Wは土壌から分離されたものを用いた(藤井ら, 1982). *Penicillium paraherquei*のHI, HU, HK, HE, HOおよびHS株は北海道農業試験場より分譲を受けた。

菌株の培養は、1%グルコースを炭素源とし、リグニンスルホン酸を硫黄源とする塩類培地(リグニンスルホン酸培地, 藤井ら, 1982)とこの硫黄源をリグニンスルホン酸の代りに硫酸ナトリウム(0.2 g/l)にかえたもの(硫酸ナトリウム培地)を用い、この80 mlを500 ml容坂口フラスコに入れたものに供試菌株の分生孢子懸濁液($10^4 \sim 10^5$ spores/ml)の0.7~0.8 mlを接種し、30℃下で90時間往復振盪して行った。なお、分生孢子懸濁液は、10日間培養したPotato Dextrose Agar (Difco) 斜面培養に滅菌水約10 mlを加えて調製した。

各種定量法

P. paraherquei IFO 6243の生産する P_{280} は、培養濾液中の280 nmにおける吸光度の上昇より分析した。吸光度および吸収スペクトルの測定には島津自記分光光度計UV-240を用いた。

菌体乾燥重量は、培養液から菌体を濾別したのち、蒸留水で洗浄し、これを濾紙にはさんで脱水し、105℃にて24時間熱乾燥し恒量になったものを秤量して求めた。

培養液中のグルコース濃度は3,6-ジニトロフタル酸法(百瀬ら, 1964)によって定量した。

リグニンスルホン酸量は、液中の280 nmの吸光度の変化より定量した(藤井ら, 1982)。

P_{280} の精製法

P. paraherquei IFO 6243を前述の方法で培養したものから菌体を濾別し、得られた培養濾液をロータリー・エバポレーターを用いて45℃で25~30倍に濃縮した。なお、濃縮液中より析出してきた塩類は濾別してとり除いた。この濃縮液の10 mlをあらかじめ蒸留水で平衡化しておいたセファデックスG-10カラム(ϕ 2.6×45 cm, Pharmacia)に添加したのち流出させた。なお、流速は30 ml/hrとし、10 mlずつ分取した。カラムより流出した280 nmの吸光度が高い画分を集め、次に、これを同量の酢酸エチルで3回抽出した。酢酸エチル層をエバポレーター中で蒸発乾固後、さらにデシケーター中で乾燥し、得られた淡黄色の残渣を P_{280} の精製標品とした。

機器分析

(1) 高速液体クロマトグラフィー

P_{280} の純度は高速液体クロマトグラフィー(HPLC)により検定した。セファデックスG-10カラムよりの流出

画分は、その5 μ lを試料とし、カラムはODS-1201-N (Senshu Pak)、液送ポンプ、インテグレーターはそれぞれSP-8700, SP-4270 (Spectra Physics)を用い、 V_4 可変ディテクター(ISCO)により280 nmにおいて検出した。溶媒はメタノール-水(70:30, V/V)を用いた。酢酸エチル抽出層の分析は、その20 μ lを試料とし、前述と同じカラムを用い、CCPMマルチポンプ、UV-8000ディテクター(東洋曹達工)からなるHPLCシステムで分析した。カラムは、0.5 ml/minの流量で、60分間にメタノール-水の0~100%のリニアグラディエントをかけて流出した。

(2) ガスクロマトグラフ直結質量分析(GC-MS)

P_{280} はジアゾメタンで常法によってメチル化したのち分析に供した。分析には、日本電子JMS-P300ガスクロマトグラフ質量分析計を用いた。

カラムは、 ϕ 0.3×150 cmのガラスカラムに液相を5% SILAR5CP、担体をChromosorb W AW (80~100 mesh)にして充填したもの(ガスクロ工業)を用い、キャリアーガスは窒素、カラム温度は7.5℃/minとした。また、質量分析のイオン化電圧は20 eVとした。

(3) 核磁気共鳴(NMR)スペクトル

^{13}C -NMRスペクトルおよび ^1H -NMRスペクトルは、 P_{280} を重アセトン溶液にし、それぞれSingle gated bilevel decoupling法(SGBCM)およびSingle gated non decoupling法(SGNON)によって日本電子NMR G-270(観察周波数67.8 MHz, 270 MHz)を用いて測定した(森島, 1976; 日本電子編, 1984)。また、Hの相対位置を確認するためにSingle gated homo decoupling法により測定した。

(4) 赤外線吸収(IR)スペクトル

IRスペクトルは、日本分光IR A-1を用いて、通常のKBr錠剤法に従って測定した。

実験結果

P. paraherquei IFO 6243と*Penicillium* sp. O-7Wのリグニンスルホン酸培地中での培養経過

すでに、*Penicillium* sp. O-7Wはリグニンスルホン酸を唯一の硫黄源とする培地に生育し、これを培養液からより大量に吸着除去することが知られている(藤井ら, 1982, 1985)。その経過は、Fig. 1に示すようにリグニンスルホン酸分子中の芳香環に基づく280 nmにおける吸光度の減少として観察され、また、リグニンスルホン酸分子と金属イオンのキレート形成等によって生じる培養液の黒褐色の濃い色も除かれてくるというものであった(Fig. 2)。一方、*P. paraherquei* IFO 6243の培養においては黒褐色の色調の変化はみられなかったが、液中の

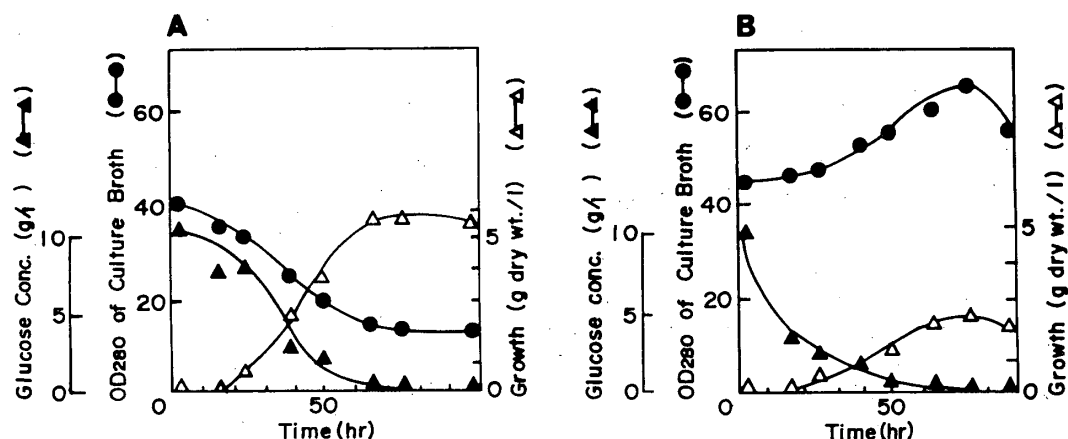


Fig. 1 Time course of growth of *Penicillium* sp. O-7W and *P. paraherquei* IFO 6243 in lignosulfonate medium.
A; *Penicillium* sp. O-7W, B; *P. paraherquei* IFO 6243.

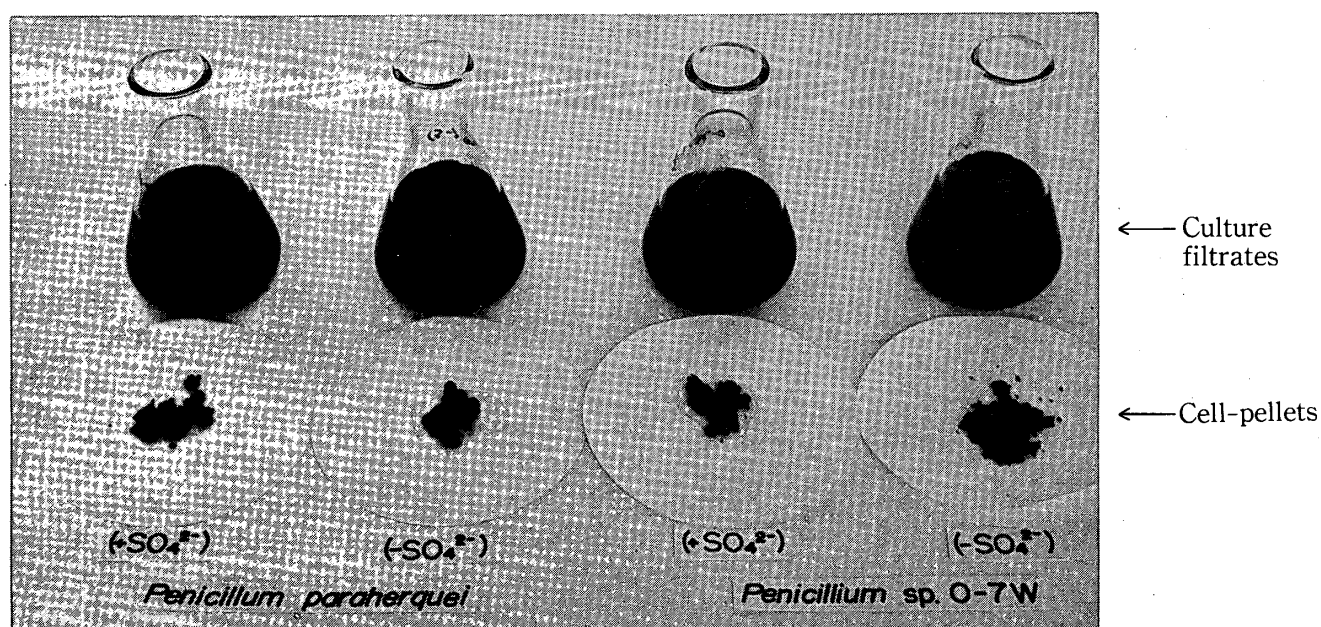


Fig. 2 Culture filtrates and cell-pellets of *Penicillium* sp. O-7W and *P. paraherquei* IFO 6243.

280 nm における吸光度は逆になりに増大を示した。

以上により、*P. paraherquei* は O-7W 株とは異なり、リグニンスルホン酸を液中より吸着除去しないことがわかった。しかしながら、本菌によるリグニンスルホン酸培地中での 280 nm における吸光度の増大は、リグニンスルホン酸の低分子化によることも予想されたので、この点を確認するために培養液をセロファンチューブを用いて透析して、その内液および外液に回収される吸光度を調べた。培養液の初発の吸光度が 55.5 で、培養 75 時間後には 86.0 になった IFO 6243 株の培養濾液を透析した結果、内液の吸光度は 48.0 で黒褐色を呈し、一方、外液はほとんど無色で吸光度は 39.4 であった。なお、両液の吸光度は計算によって初めの液量に換算したものであ

る。この外液は、後述するように 274 nm に極大吸収を示した。これらより、*P. paraherquei* IFO 6243 の培養においては、リグニンスルホン酸は培養濾液中に回収され、本菌は、これとは別に、280 nm に吸収を示す比較的低分子化合物 (P₂₈₀) を生産していることが予想された。

***P. paraherquei* IFO 6243 の同種異株および異種近縁株による P₂₈₀ の生産。**

上述したように *P. paraherquei* IFO 6243 は、リグニンスルホン酸を硫黄源とする培地で培養液中の 280 nm における吸光度を著しく上昇させる。すなわち、P₂₈₀ を生産するが、硫黄源を硫酸ナトリウムにかえて同様な結果が得られるかどうかを、本菌とともにこれと同種異株ならびに近縁の *Furcatum* 亜属に属する数種の菌株を用い

て検討した。なお、これらの菌株については、*P. brasiliense*, *P. piscarium*, *P. paraherquei* は *P. simplissimum* のシノニム、*P. cremeogriseum* は *P. janthinellum* のシノニムであり、(Pitt, 1979) また、*Penicillium* sp. O-7W は *P. ochrochloron* にきわめて近い菌株であるとされている(藤井ら, 1982)。Table 1 に示すように、*P. paraherquei* IFO 6243 のみが硫酸ナトリウム培地においてもリグニンスルホン酸培地におけると同様 280 nm における吸光度を増大させ、一方、他の菌株においてはいずれもほとんどその増大が観察されなかった。なお、*P. paraherquei* IFO 6243 の生育は他の菌株と比較してかなり劣っていた。

Table 1 Production of compound P_{280} by several fungi related to *P. paraherquei*.

Strain	P_{280} produced (OD 280 nm)
<i>P. paraherquei</i> IFO 6243	30.3
NHL 6127	1.3
HI	0.6
HU	0.9
HK	1.1
HE	0.6
HO	0.8
HS	0.6
<i>P. brasiliense</i> ATCC 12070	1.8
<i>P. cremeogriseum</i> ATCC 18323	2.7
<i>P. janthinellum</i> ATCC 10455	2.1
ATCC 10482	2.1
<i>P. ochrochloron</i> ATCC 10540	1.5
IFO 4612	2.4
<i>P. piscarium</i> ATCC 10482	2.3
IFO 8111	2.4
<i>P. simplicissimum</i> IFO 5762	2.1
<i>Penicillium</i> sp. O-7W	2.7

P. paraherquei IFO 6243 による P_{280} 生産におよぼす諸因子

P. paraherquei IFO 6243 は硫酸ナトリウム培地に種々の炭素源を 1.0 % の濃度で加えたものを用いて検討した結果比較的広い範囲の炭素源を利用し、マンノース、フルクトース、スクロース、マルトース、ラフィノースからはグルコースと同等かそれ以上の、リボース、キシロース、ガラクトース、デンプンではグルコースを用いた場合の 80 % ~ 60 % の P_{280} を生産した。しかしながら、アラビノース、ラクトース、グリセロールを用いた場合には本菌は良好に生育したが、これらを含む培地中では

P_{280} の生産はほとんどみられなかった。なお、グルコースを用いた場合には、その濃度が約 20 g/l の時に P_{280} の生産は最大に達した。

窒素源は、アンモニウム塩、ペプトンを用いた場合に生育ならびに P_{280} の生産が良好で、硝酸塩は利用されなかった。尿素を用いた場合には生育は良好となったが、 P_{280} の生産性が低かった。窒素源としてリン酸アンモニウムを用いた場合に、 P_{280} の生産はその濃度が 0.5 g/l の時に最大となり、これ以上の濃度ではむしろ生産性は低下した。なお、生育量は 1.5 g/l 付近で最大となった。

本菌は、リグニンスルホン酸の他にタウリンなどの C-S 結合を持つ化合物中の硫黄を利用して P_{280} を生産したが、リグニンスルホン酸分子中の硫黄と炭素の結合のモデル低分子化合物と考えた α -スルホフェニル酢酸(藤井ら, 1985) を用いた場合には、その生産はきわめて少量であった。

P. paraherquei IFO 6243 の培養濾液からの P_{280} の精製

硫酸ナトリウム培地で約 90 時間培養した *P. paraherquei* IFO 6243 の培養濾液 800 ml (吸光度約 66) をエバポレーターを用いて 30 ml に濃縮し、これを 10 ml ずつ 3 回に分けて、それぞれセファデックス G-10 カラムに添加して、流出液を 10 ml ずつ分取した。280 nm の吸収を与える画分はフラクション No. 27 ~ 29 に主に回収され、この区分を合わせた回収率は 67 % であった。

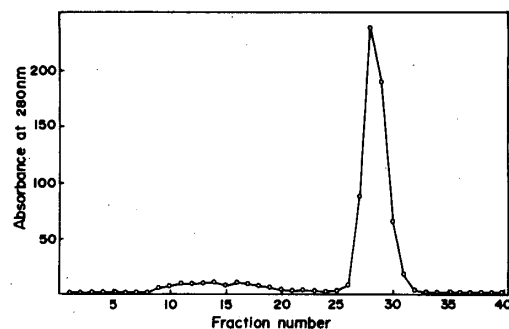


Fig. 3 Gel filtration of P_{280} on Sephadex G-10.

(Fig. 3). この結果、30 ml の濃縮液から 85 ml の P_{280} 画分を得た。本菌の培養液は赤褐色で、366 nm の紫外線下で蛍光を示したが、フラクション No. 27 ~ 29 は、淡黄色で蛍光を示さなかった。着色された画分は主にフラクション No. 16 に回収され、これは蛍光を与えた。さきのフラクションの 5 μ l を HPLC で分析した結果、リテンションタイム 2.83 min に主要なピークが観察された。その純度は約 98 % であった。

ゲル濾過によって得られた P_{280} 画分 85 ml (吸光度約 372) を同量の酢酸エチルを用いて 3 回抽出した。酢酸エ

チル層への抽出率は 97 % であった。この酢酸エチル層は、HPLC でメタノール-水のグラジエント溶媒系を用いて分析した結果単一のピークを与えた。酢酸エチル層をエバポレーターで蒸発乾固させ、さらにデシケター中で乾燥して、最終的に 800 ml の培養濾液から約 100 mg の淡黄色物質を得た。これを P_{280} 精製標品として以下の分析に用いた。

P_{280} の構造の検討

(1) P_{280} の GC-MS スペクトル

精製 P_{280} 標品はジアンゾメタンによってメチル誘導体としたのち、分析された。メチル誘導体標品は、ガスクロマトグラフ上で主要ピーク (97 %) のほかに 3 つの小ピークがみられた。主要ピークを P_{280} と考え、そのマススペクトルより、親ピークは 168 m/e と算定した (Fig. 4)。P+1 ピークは、8.5 % と読みとられ、分子量 168 を有する化合物のうち、P+1 ピークへの同位体の寄与が 8.5 % 前後である物質を BEYNON の表 (BEYNON and WILLIAMS, 1963) から検索すると、 P_{280} の分子式は $C_8H_8O_4$ であると推定された。 P_{280} は予備的な定性試験の結果、

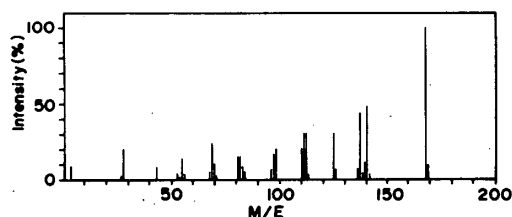


Fig. 4 Mass spectrum of P_{280} .

酸性的挙動を示した。従って、 P_{280} は、窒素原子を含まないと仮定した。これは、 P_{280} をメチル化処理して得られた結果なので、実際の P_{280} は分子量 154、分子式 $C_7H_6O_4$ と推定した。また、次式により不飽和箇所 (Unsat.) は 5 箇所と算出した。

$$\text{Unsat.} = \text{炭素数} + 1 - \frac{\text{水素数}}{2} - \frac{\text{ハロゲン数}}{2} + \frac{3 \times \text{価窒素数}}{2}$$

$$= 7 + 1 - 3 - 0 + 0 = 5$$

Fig. 4 Mass spectrum of P_{280} .

(2) P_{280} の ^{13}C および 1H -NMR スペクトル

Fig. 5 に P_{280} の SGBCM による ^{13}C -NMR スペクトルを示す。これより、 $C_1 \delta 170$, s; $C_2 \delta 110.6$, d, $^1J_{CH} = 189$; $C_3 \delta 152$, s; $C_4 \delta 89.31$, t; $C_5 \delta 108.9$, dd, $^1J_{CH} = 162$, $^2J_{CH} = 7$; $C_6 \delta 147$, d, $^1J_{CH} = 148$; $C_7 \delta 59.61$, t, $^1J_{CH} = 170$ のシグナルが読みとれた。その他は溶媒や不純物によるシグナルと思われる。

Fig. 6 に P_{280} の SGNOM による 1H -NMR スペクトルを示す。また、図には示さなかったが、SGHOM による各プロトンの相対位置をさらに分析した。これらより、 $H_2 \delta 6.3$, d, $J_{H_2H_5} = 4$; $H_5 \delta 4.3$, dd, $J_{H_5H_6} =$

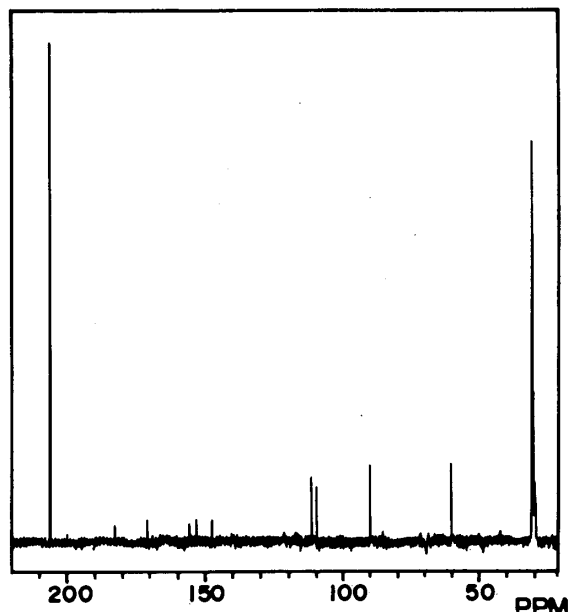


Fig. 5 ^{13}C -NMR spectrum of P_{280} .

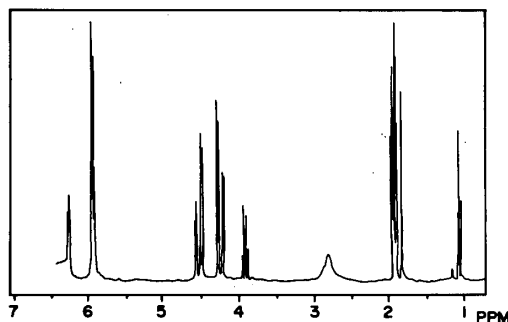


Fig. 6 1H -NMR spectrum of P_{280} .

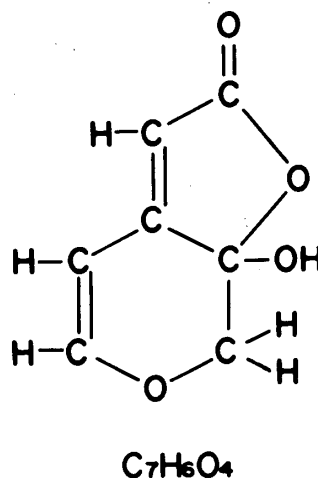


Fig. 7 Structural formula of P_{280} .

14, $J_{H_2H_5} = 4$; $H_6 \delta 4.6$, d, $J_{H_6H_5} = 14$, $H_7 \delta 6.0$ (2H), s, のシグナルが読みとれた。その他のシグナルは溶媒ならびに不純物によるものと思われる。

以上の結果より, P_{280} の化学構造は Fig. 7 に示すような分子内でエステル化しているラクトン環を有するものと推定した。

(3) P_{280} の IR スペクトル

P_{280} の IR スペクトルを Fig. 8 に示す。これより, 1775 cm^{-1} , 1745 cm^{-1} にラクトン環の $C=O$ 伸縮による強い吸収が認められた。 3400 cm^{-1} 付近の大きな吸収は OH の伸縮による, 2925 cm^{-1} の吸収は C_7-H_7 の逆対称伸縮, 2856 cm^{-1} は対称伸縮によるものと思われる。 1670 cm^{-1} と 1615 cm^{-1} には $C_2=C_3-C_5=C_6$ の伸縮による吸収が見られた。 1220 cm^{-1} は C_6-O-C_7 の逆対称伸縮による吸収, 1065 cm^{-1} ならびに 1040 cm^{-1} には対称による吸収が見られた。また, 1175 cm^{-1} はラクトンの $C-O$ 伸縮による吸収と思われる。

以上のように, IR スペクトルの分析結果は推定構造を良く支持するものであった。

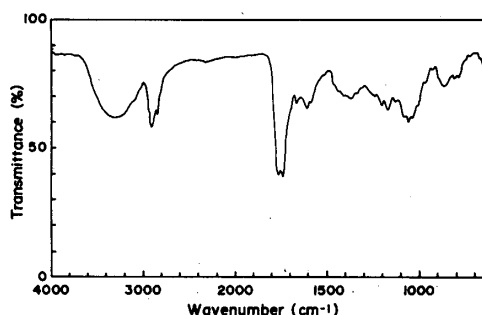


Fig. 8 IR spectrum of P_{280} .

(4) P_{280} の UV スペクトル

P_{280} は正確には蒸留水中で 274 nm に特異的吸収を与えた (Fig. 9)。上述の推定構造 (Fig. 7) によれば, P_{280} はジエノン結合をもつ化合物である。FIESER のジエノン吸収法則により, この構造を有する物質の極大吸収の理論値は, 下記に示した式より $\lambda = 280\text{ nm}$ と計算される (BASSER & SILVERSTEIN, 1970)。しかしながら, これが水にとけた状態では 8 nm 短波長側に吸収帯がシフトするので $\lambda = 272\text{ nm}$ となる。この値は P_{280} の吸収の実測値とほぼ一致した。

この点からも P_{280} の推定構造は支持される。

λ (計算値)

195	($\alpha\beta$ -不飽和エステル)
30	(二重結合共役)
24	(2- β 置換)
31	(δ -OR)
+) - 8	(水の溶媒補正值)
272	

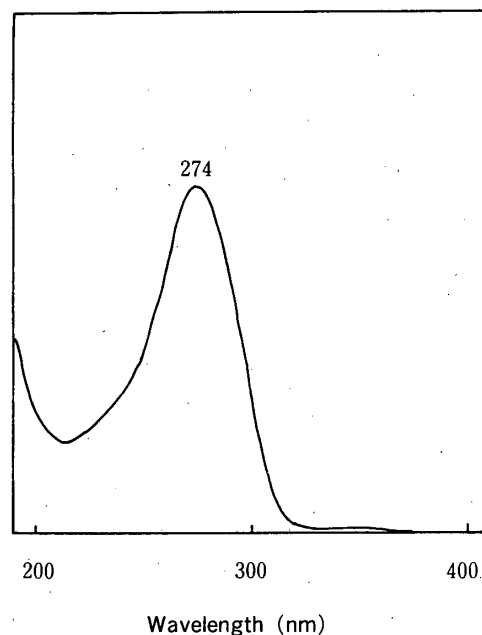


Fig. 9 UV spectrum of P_{280} .

考 察

P. paraherquei IFO 6243 の培養濾液から精製された P_{280} 標品は HPLC 的には 98% 以上の純度で得られているが, 精製操作過程における蒸発乾固とラクトン環との関係, 残留溶媒の存在等, まだいくつか再検討しなければならない点も残されている。これらは, 各種の物理化学的測定において, 一応無視できるものと考えて, 本実験に示すような方法で P_{280} の化学構造を Fig. 7 のように推定した。

Penicillium 属の糸状菌は, ペニシリンをはじめとする抗生物質, また, 各種のマイコドキシンを二次代謝生産物として生産することが知られているが (PITT, 1979), 推定された P_{280} の構造は α, β 不飽和ラクトン環を有することで, これらの代謝生産物のうちでペニシリン酸あるいはパツリンの構造と比較的類似していると考えられる。特にパツリンは P_{280} と同じ分子式をもっている。パツリンは抗菌性を示すが, 予備的な検討結果では, P_{280} も大腸菌, *Bacillus circulans* に抗菌性を示すことが見出されている (藤井ら, 未発表)。宇田川らは, *P. paraherquei* がペニシリン酸を生産することを確認し (UMEDA, 1974), 続いて verruclogen を生産することを明らかにしている (YOSHIZAWA *et al.*, 1976 a, 1976 b)。これによれば, 検討した *P. paraherquei* の 11 株のすべてが verruclogen を生産し, そのうち 4 株はペニシリン酸も同時に生産することが明らかにされている。

P_{280} の生産については, 本報で検討したかぎりでは, *P. paraherquei* IFO 6243 を除いて, これと同種異株あるい

は近縁の異種菌株のいずれもが生産性をもたないという結果が得られている。この、IFO 株は本報に示したように各種の炭素源より P_{280} を生産するが、その生産性だけではなく、各種寒天培地 (Czapek-寒天、ポテト・グルコース-寒天) 上での生育や分生胞子の形状も *P. paraherquei* に属する他の 7 菌株とは異なっていた (藤井ら、未発表)。*P. paraherquei* は *P. simplissimum* のシノニムとされているが、同じ *Furcatum* 亜属の *P. ochrochloron* のシノニムに属する菌株とされている記載もある (PITT, 1979)。 P_{280} の構造がペニシリン酸やパツリンに類似していることから、これらを生産する菌株について広く P_{280} の生産との関連性を検討することは、分類学上のみならず、生産機構の解明の上からも興味のもたれるところと考えられる。

要 約

Penicillium paraherquei IFO 6243 は 280 nm 付近 (極大吸収 274 nm) に吸収を示す物質 (P_{280}) を菌体外に生産した。 P_{280} の生産は、本菌と同種異菌株や異種近縁株にはみられなかった。IFO 株の培養液 800 ml より約 100 mg の淡黄色の精製 P_{280} 標品を得た。このものは、高速液体クロマトグラフィーにおいて 98 % 以上の純度を示した。精製標品の GC-MS, NMR, IR, UV 各スペクトルの分析結果より、 P_{280} は分子式 $C_7H_6O_4$ を示す α 、 β -不飽和ラクトンであると推定した。

謝 辞

GC-MS および NMR 分析につき助言をいただいた工技院微生物工業技術研究所主任研究官大淵薫氏、山崎幸苗氏に厚くお礼申しあげる。

リグニンスルホン酸を分与下さった(株)興人、 α -スルホフェニル酢酸を分与下さった武田薬品工業(株)に深謝する。

引用文献

BEYNON, J.H. and A.E. WILLIAMS (1963) : Mass and Abundance Tables for Use in Mass

Spectrometry, Elsevier, Amsterdam.

藤井貴明, 片野正明, 本田 洋, 安藤昭一, 矢吹 稔 (1982) : 硫黄化合物制限条件下で土壌より分離された糸状菌によるリグニンスルホン酸の除去, 醸酵工学, 60, 359-362.

藤井貴明, 篠山浩文, 本田 洋, 大久保純寿, 矢吹 稔, 宇田川俊一 (1985) : *Penicillium* sp. によるリグニンスルホン酸の除去現象と硫黄の利用性, 醸酵工学, 63, 1-7.

百瀬 勉, 向井良子, 河辺 節, 鈴木順子, 山本恭子 (1962) : 3, 6-ジニトロフタル酸による還元糖の定量において共存する物質の影響, 分析化学, 11, 956-959.

森島 績 (1976) : 磁気共鳴 (新実験化学講座 3, 日本化学会編) 丸善, p. 354-520.

日本電子編 (1984) : 高分解能磁気共鳴装置イントラクションマニュアル.

PITT, J.I. (1979) : The Genus *Penicillium* and its Teleomorphic States *Eupenicillium* and *Talaromyces*, Academic Press Inc., New York.

篠山浩文, 吉川恵美子, 藤井貴明, 矢吹 稔, 宇田川俊一 (1985) : 二種の *Penicillium* 属糸状菌によるリグニンスルホン酸に対する対称的な作用, 日本農芸化学会大会要旨集, p. 99.

SILVERSTEIN, R.M. and G.C. BASSLES (1970) : 有機化合物のスペクトルによる同定法 (荒木峻, 益子洋一訳) 東京化学同人.

YOSHIZAWA, T., N. MOROOKA, Y. SAWADA and S. UDAGAWA (1976a) : Termogenic mycotoxin from *Penicillium paraherquei*, Appl. Environ. Microbiol., 32, 441-442.

YOSHIZAWA, T., N. MUROOKA and S. UDAGAWA (1976b) : Pro. Jap. Assoc. Micotoxicol., No. 314, 39-40.

UMEDA, M., T. YAMASHITA, M. SAITO, S. SEKITA, C. TAKAHASHI, K. YOSHIHARA, S. NATORI, H. KURATA and S. UDAGAWA (1974) : Jap. J. Ex. Med., 44, 83-96.