

衛生試驗所彙報

第六十六號

厚生省衛生試驗所

昭和二十三年十一月

目 次

	頁
1. ロベリア草アルカロイドの製造に就て(第2報) 工業的製造私案法の批判並改良試験	近市 藤川 龍 藤 田 重 春 1
2. ロベリア草アルカロイドの製造に就て(第3報) 工業的製造私案法の各工程に於ける副生物質の検明處理並 副アルカロイドの分離精製	近市 藤川 龍 藤 田 重 春 17
3. ロベリア草アルカロイドの製造に就て(第4報) 副生物質より收得せる各種鹽基の鹽酸ロベリン製造原料と しての適否試験	近市 藤川 龍 藤 田 重 春 31
4. タール鹽基を原料とするニコチン酸の製造試験.....	菅 野 三 郎 竹 江 玉 枝 43
5. タマサキツヅラフヂの暗點病.....	平 山 重 勝 山 本 昌 木 53
6. テウセンアサガホの葉枯性細菌病(第1報).....	山 本 昌 木 63
7. テウセンアサガホの栽培に関する二、三の成績.....	平 間 好 美 73
8. 中毒小麦粉の生物學的研究(第1報).....	平 山 重 勝 山 本 昌 木 85
9. 麥類に對する <i>Claviceps litoralis</i> KAWATANI の寄生性に就て... ハマニンニク麥角に関する研究(第3報)	川 谷 豐 彦 101
10. <i>Aspergillus fumigatus</i> の生産する抗菌性物質に関する研究.....	平 山 重 勝 山 本 昌 木 123
11. 齒科用銀合金に就て..... (鋳用及鑄造用銀合金)	藤 井 正 道 榎 本 正 義 山 大 内 八 東 大 澤 芳 子 139
12. 義齒牀用アクリリクレジンに就て.....	藤 井 正 道 榎 本 正 義 山 大 内 八 東 大 澤 芳 子 147
13. ビタミンB ₁ の呈色試薬.....	小 川 俊 太 郎 151
15. 三鹽化アンチモンに依るビタミンAの呈色反應に就いて.....	小 川 俊 太 郎 太 幡 利 一 157
15. V. A. の簡易比色定量法(中間報告)..... (永久比色標準液の考察)	小 川 俊 太 郎 太 幡 利 一 163
16. 黴(糸狀菌)の生成する抗生物質に関する研究(その一)..... グラム陰性菌發育阻止物質——パトリンに就て	八 田 貞 義 平 山 重 勝 宮 本 晴 夫 西 山 村 秀 夫 167

17. 黴（糸狀菌）の生成する抗生物質に関する研究（その二） 黴の振盪培養法に関する基礎的研究	八宮青宇 田山都 貞晴好則 義夫作久	177
18. 放線狀菌の產生する抗生物質に関する研究（第一報）	宮青宇丹 本山都治 晴好則園 夫作久枝	183
18. 放線狀菌の產生する抗生物質に関する研究（第二報）	藤中 本野 愛 進子	193
20. 放線狀菌の產生する抗生物質に関する研究（第三報） 抗生物質產生に及ぼす炭素源の影響	宮青丹 本山治 晴好園 夫作枝	197
21. 新制腸チフスパラチフス混合ワクチン注射に對する一觀察	乗木秀夫	213
22. 二、三色素の水に於ける殺菌作用に及ぼすアンモニア前處置 の影響	齊藤功	219

ロベリア草アルカロイドの製造に就て

(第 2 報)

工業的製造私案法の批判並改良試験

技 官 近 藤 龍
技 官 市 川 重 春
元 陽 託 藤 田 知 一 郎

目 次

第1章	工業的製造私案法の批判
第1節	工業的製造私案法に依る製造試験成績の比較
第2節	内地産ロベリア草を原料とせるロベリア・アルカロイド定量法に依るロベリア・アルカロイド製造試験
第3節	内地産ロベリア草を原料とせる工業的製造私案法に依るロベリア・アルカロイド製造試験
第2章	工業的製造私案法の改良試験
第1節	工業的製造私案法の工程簡略化試験
第2節	工業的製造私案法各工程に於ける旋光度測定
第3節	クロロホルム溶液を振盪洗滌せる塩酸水溶液中の トロペリンの回収
第4節	ロベリア・アルカロイド塩類溶液よりロベリン塩基 をエーテルに轉溶析出せしむる際の pH に就て
結 論	
引用文献	

余等は第1報に於て從來のロベリア・アルカロイド抽出製造法を追試したる結果從來の諸法の工業的實施に際し幾多の難點あるに鑑み工業的製造法として實行を容易ならしめんと企圖し、アルカロイドに對する酸性白土の吸着作用を利用せる、ロベリア・アルカロイド製造私案法を創案し、該法の改良比較試験の結果ロベリア・アルカロイドの工業的製造私案法を提案し、その製造試験成績に就き記述せり (第1報第9表参照)。

余等は該工業的製造私案法に依り昭和 13 年度より内地産ロベリア草を原料として塩酸ロベリンの製造に従事し爾來種々改良研究の結果年と共に收得量も漸次増加し 15 年度に於ては第1報記載 (第9表参照) の如き良好なる成績を納め得たりと雖も、該法に依り果してロベリア草中のアルカロイドは完全に收得し得べきや否やは疑問なり。依つて此疑問を解決せんと欲しロベリア草アルカロイドの定量法に準據して製造試験を行ひその試験成績と工業的製造私案法に依る試験成績とを比較したるに私案法の收得量は定量値と良く一致し私案法は工業的製造法として推奨すべきものなるを確認せり。

然れ共定量値の約 8.5 %内外を結晶性塩基として收得せしのみにして其約 90 %は樹脂様物質として残留せり。依つて茲に生成する樹脂様物質の結晶化は研究を要すべきものと思料し、

爾來該私案法に依り L-ロベリンを分離し局方塩酸ロベリンの製造に従事する傍ら該法工程中の副生物なる樹脂様物質の検明試験を行ひたるに副生物より L-ロベリン及副アルカロイドを分離すると共に該法の製造工程中不備なる點あるを發見せり。

依つて以下第2報として工業的製造私案法の批判並該法工程中の缺點を除去すべく施行せる改良試験成績に就き詳述すべし。

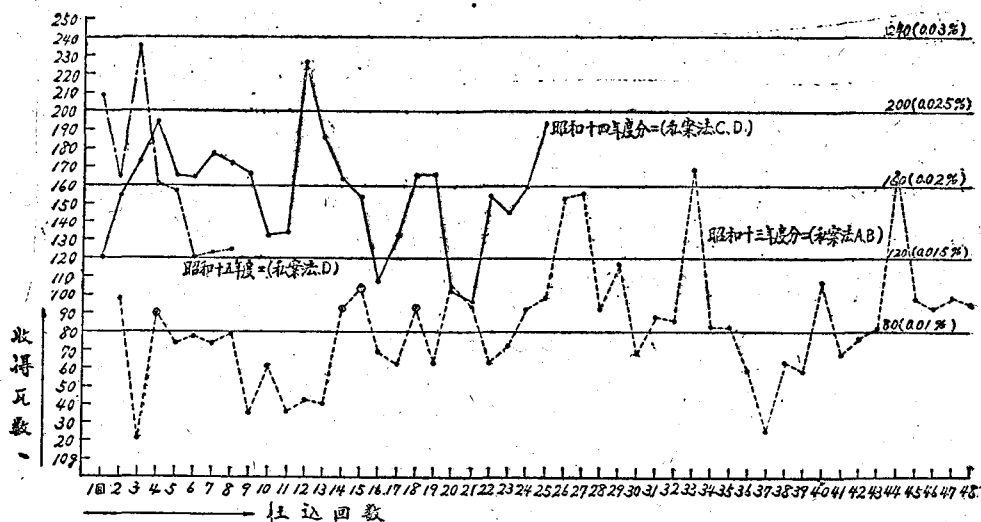
第1章 工業的製造私案法の批判

第1節 工業的製造私案法に依る製造試験成績の比較

工業的製造私案法の改良進歩の過程を了解せしめんが爲め、茲に初年度(昭和13年度)以降3ヶ年間に於ける内地産ロベリア草を原料とする工業的製造私案法に依るロベリア・アルカロイド製造試験成績を比較對照して圖示すれば第1圖表の如し。

第1圖表 ロベリン塩基收得量比較對照圖表

ロベリア草仕込量毎回 800kg



備考 昭和13年度仕込回数48回中800kg仕込17回あるも收得量80g以上は◎印4回のみなり

平均收得率 { 昭和13年度 0.0117% 昭和14年度 0.0199%
 昭和15年度 0.0202%

備考:

私案法Aは第1報第3章のロベリア・アルカロイド製造私案法の處方を工業的規模に於て施行せるものにして、初年度仕込第19號迄實施せり。

* 第3報参照

私案法 B は A に於けるトリクレン濃縮液を合併して処理せるものにして初年度仕込第 20 號以降に實施せり。

私案法 C は A に於ける酸性白土のメタノール浸漬工程及トリクレン抽出液の濃縮工程を省略せるものにして昭和 14 年度第 5 號仕込より實施せり。

第 1 圖表の試験成績を通覽するにロベリン塩基の收得率逐年増加せり、之蓋し初年度は機械器具の不備技術の不熟練に加ふるに原料ロベリア草は採集期に洪水のため浸水し微を生ぜしもの多かりしに起因するならん。昭和 14 年度原料ロベリア草は其品質 13 年度に比し良好なりし上に機械器具の整備すると共に製造技術の熟練せしため收得量増加せるものと思料す。昭和 15 年度は收得率最も良好にして H. Lestra²⁾ の記録^{***}を凌駕するに至れり。之過去ニケ年間の經驗に徴し改良すべきは改良し製造技術の圓熟したる上に原料ロベリア草の品質優秀なりしに依るものと思料す。

第 2 節 内地產ロベリア草を原料とせるロベリア・アルカロイド定量法に依るロベリア・アルカロイド製造試験

余等は曩に³⁾ロベリア草中のアルカロイド定量法として今日迄公表されたる諸法中 Peyer 及 Gstirner 法、Markwell 法及瑞西局方の 3 法に就き比較試験の結果ロベリア草のアルカロイド含量檢定には瑞西局方法の最も適當なるを認めたり。依つて本製造試験も瑞西局方法のロベリア・アルカロイド定量法に準據して施行せり。即ち内地產ロベリア草品位 0.3274 % (茨城縣竹原村產昭和 14 年度使用原料) 1 kg を原料として次の處理法に依り製造試験を實施せり。

製 造 試 験 實 施 法

ロベリア草細末 1 kg を内容 20 l の浸出器に取り、エーテル 8 l 及 20 % アンモニア水 350 cc を注加し (pH 9.6)、2 時間攪拌抽出し濾過す、エーテル抽出液を A とす。ロベリア草殘渣は更にエーテル 7 l、20 % アンモニア水 100 cc を注加し (pH 9.6)、2 時間攪拌抽出し濾過す、エーテル抽出液は A と合併し N-HCl 2 l 宛數回 1 時間宛攪拌振盪して抽出し酸液分は合併し、エーテル分 (約 15 l) は蒸溜して回収す (回収エーテル 11.7 l)。

合併せる塩酸抽出液 (約 5 l) は分液漏斗中にてアンモニア・アルカリ性 (pH 8.6~9.4) となし (20 % NH_4OH 580 cc; 40 cc; 50 cc)、エーテル (1 l; 0.5 l; 0.5 l) にて 15 分間宛三回振盪抽出し、エーテル抽出液は合併し、水洗後 K_2CO_3 にて脱水したる後エーテルを蒸溜して大部分を回収し (1.8 l)、濃縮液を氷室に放置す。然る時は 3 日後に結晶を析出するを以て之を濾

* 當所彙報第 57 號 97 頁 (昭和 16 年) 參照

** H. Lestra に依れば種々の結晶性塩基 (l-ロベリン) の分離法中實用的に最良なるは Wieland Böhrlinger 法なりと云ふ、而して同氏は 1 kg の生薬より總アルカロイド 3.9 g を得、この中より結晶性塩基 (l-ロベリン) は 0.2 g を收得せり

集しエーテル(20 cc 宛3回)にて洗滌し乾燥するに第一次結晶(Fp 114~119°) 0.1g を收得す(収得率 0.01%)。

母洗液は更に濃縮し氷室に放置するに一週間後結晶を析出す之を濾集しエーテルにて數回洗滌後乾燥するに第二次結晶(Fp 123~125°) 0.12g を收得す(収得率 0.012%)。

エーテル母洗液は尙更に濃縮し氷室に放置するに一夜にして針狀結晶を析出す、之を濾集しエーテル洗滌後乾燥するに第三次結晶(Fp 118~121°) 0.05 g を收得す(収得率 0.005%)。

最後の母洗液は之を濃縮し氷室に放置するに最早結晶の析出を見ず殆んど樹脂化せる褐色の飴狀となれり、依つて加温(50°)してエーテルを驅除したるに樹脂様物質 2.8 g を残留せり(収得率 0.28%)。

上記製造試験の結果はロベリア草(品位 0.3274%) 1 kg より結晶性アルカロイド合計 0.27 g 及樹脂様物質 2.8 g 總計 3.07 g を收得し(収得率 0.307%)、ロベリア草の定量値(0.3274%)と殆ど一致するを認めたり。

即ちロベリア草アルカロイド定量法に準據して製造せる總アルカロイド量(3.07 g)に對する結晶性塩基及樹脂様物質の収得率は夫々 8.797% 及 91.02% なるを認めたり。

第3節 内地產ロベリア草を原料とせる工業的製造

私案法に依るロベリア・アルカロイド製造試験

第2節に於て記述せる如く定量法に準據する製造試験に依ればロベリア草 1 kg 仕込にて結晶性塩基 0.27 g 及樹脂様物質 2.8 g を收得せる故之をロベリア草 800 kg 仕込に換算すれば結晶性塩基 216 g 及樹脂様物質 2240 g を收得すべき筈なり。

然して工業的製造私案法に依りロベリア草 800 kg 仕込の昭和 15 年度製造試験成績(第1報第9表參照)に依れば毎回 800 kg 仕込 8 回即 6400 kg のロベリア草より收得せる結晶性ロベリア・アルカロイドは總計 1814 g にして毎回 800 kg 仕込の平均收得量は 226.75 g となり工業的製造私案法に依る收得量は定量法に準據せる製造試験の收得量と大體に於て良く一致するを認めたり。

尙工業的製造私案法の定量法に準據せる製造法に對する優劣を比較せんが爲めに同一のロベリア草(品位 0.3274%) 1 kg を原料として工業的製造私案法に依り製造試験を施行したるに第一次結晶(Fp 123~124°) 0.25 g (収得率 0.025%); 第二次結晶(Fp 127°) 0.03 g (収得率 0.003%); 樹脂様物質^{*} 2.9 g を收得せり。

* 樹脂様物質は結晶性塩基採集後のみならず、クロロホルム轉溶工程中 1-ロベリン塩酸塩を溶存せるクロロホルム溶液を減壓濃縮に依りクロロホルムの大部分を回收したる後蒸留水を添加し更にクロロホルムを完全に除去する際にも亦生成す、之等の樹脂様物質の檢明處理に就きては第3報に於て記述すべし。

第 2 章 工業的製造私案法の改良試験

第 1 節 工業的製造私案法の工程簡略化試験

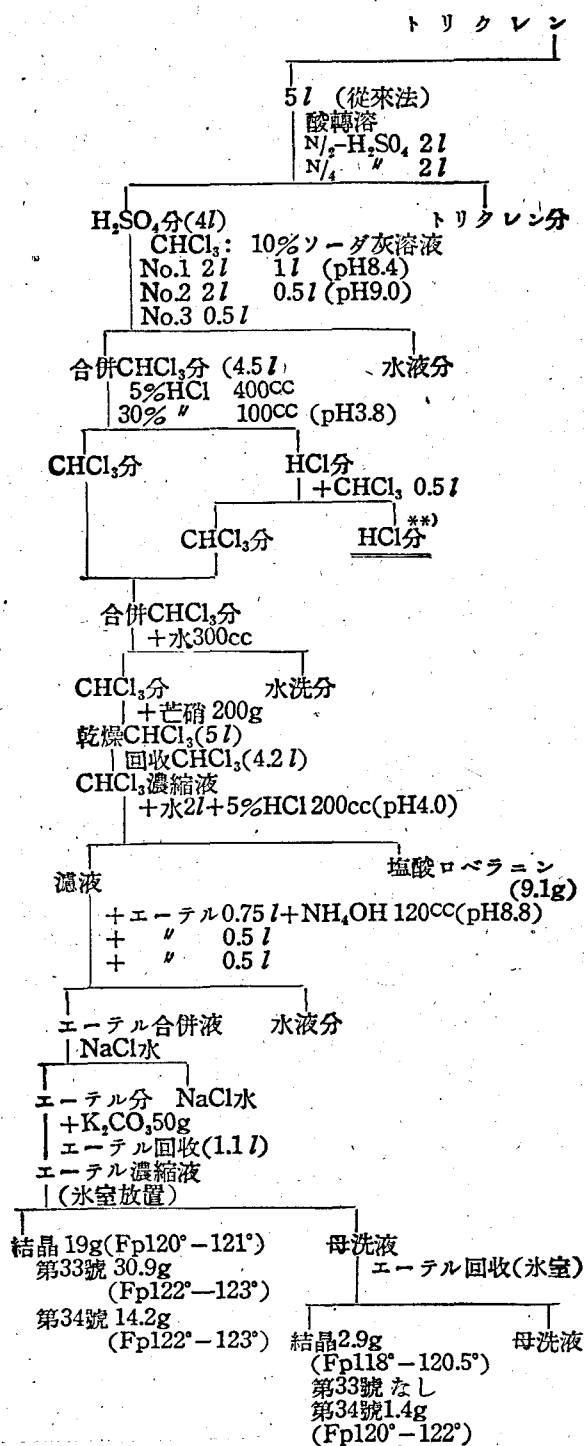
余等の提案せるロベリア草アルカロイドの工業的製造法は一仕込 800 kg の大規模に於ても何等不便を感じる事なく全工程を完了し得る事は第 1 報製造試験成績に依り實證せり、依つて更に該私案法の工程を簡略化せんと企圖し先づ硫酸轉溶工程を省略し得るや否やを決定せんと欲し、同一檢體（トリクレン抽出液）を二等分し其一半は硫酸轉溶工程を経てソーダ・アルカリ性に於てクロロホルム轉溶を行ひクロロホルム抽出液を塩酸水にて酸性となし振盪し、クロロホルム分に L-ロベリン塩酸塩を溶存せしむ（之を従來法と稱す）、他の一半は硫酸轉溶工程を省略し、トリクレン抽出液を直接塩酸水にて振盪し塩酸水液をクロロホルムにて振盪し、クロロホルム分に L-ロベリン塩酸塩を溶存せしむ（之を簡略法と稱す、第 3 表參照）。上記兩法に依り得たるクロロホルム分は従來法と同様に處理し兩法の比較試験を施行したるに第 2 表の結果を得たり。

第 2 表の成績は従來法並簡略法はロベリン塩基の總收得量に於ては大差なきを示し硫酸轉溶工程は之を省略し得べきを立證せり。

第 2 表 従來法と簡略法の比較試験成績表

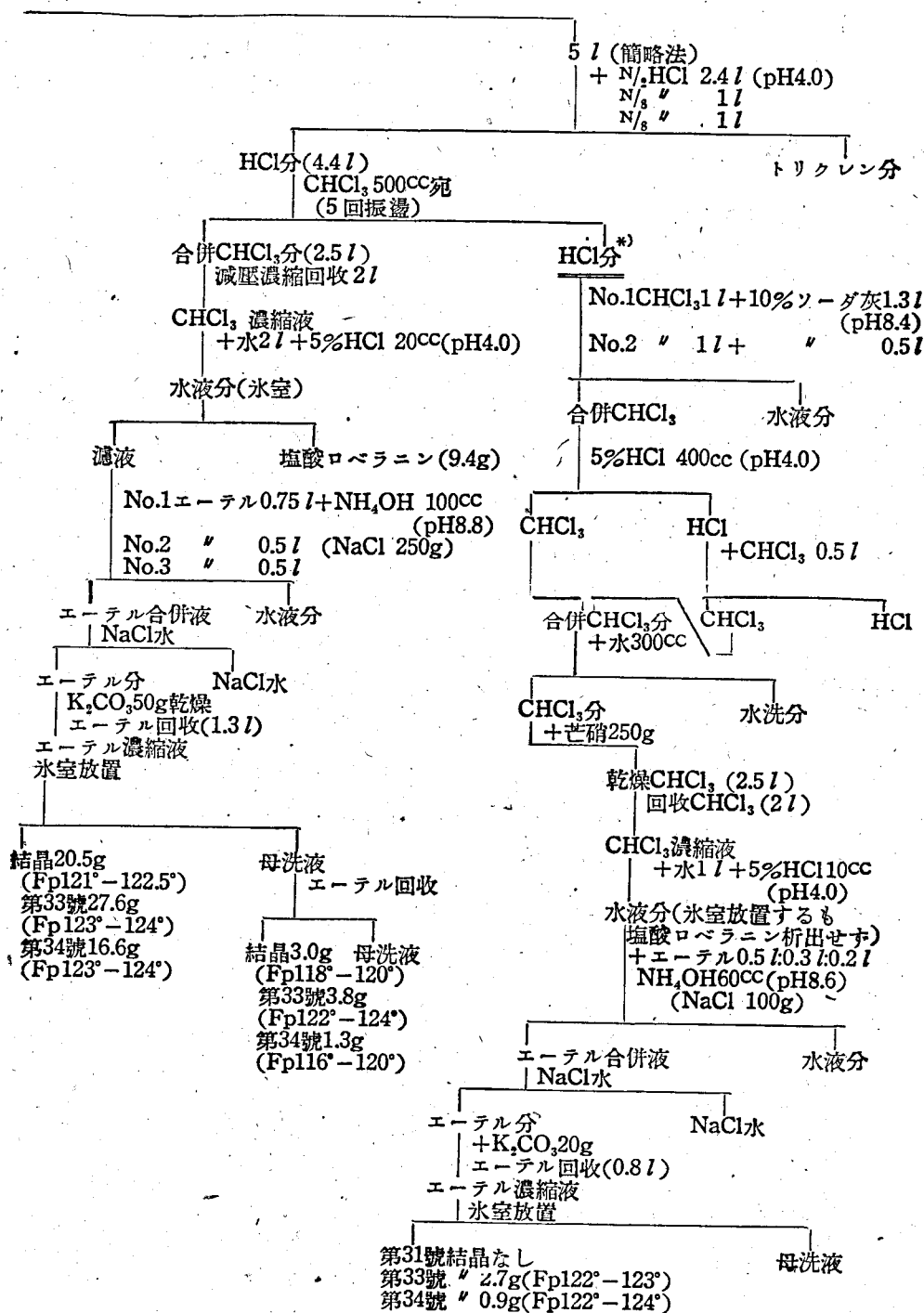
使用藥品 仕込番號 收得塩基	従 來 法			簡 略 法		
	第 31 號	第 33 號	第 34 號	第 31 號	第 33 號	第 34 號
硫 酸	$\frac{N}{2} 2l \frac{N}{4} 2l$	$\frac{N}{2} 2.7l \frac{N}{4} 2l$	$\frac{N}{2} 2.5l \frac{N}{4} 2l$	—	—	—
クロロホルム	4l	4l	4l	3l (5回)	3.5l (7回)	3.5l (5回)
塩 酸	5% 500cc	5% 400cc 30% 50cc	5% 500cc	$\frac{N}{2} 2.4l \frac{N}{8} 2l$	$\frac{N}{2} 3l \frac{N}{8} 2l$	$\frac{N}{2} 2l \frac{N}{8} 3l$
ソーダ灰 10% 液	1.8l	2.3l	2.5l	—	—	—
アンモニア水	120cc	100cc	110cc	100cc	140cc	100cc
塩酸ロベラニン	9.1g	12.0g	8.0g	9.4g	10.0g	12.1g
ロベリン第一回	19.0g (Fp120-121)	30.9g (Fp122-123)	14.2g (Fp122-123)	20.5g (Fp121-122.5)	22.6g (Fp123-124)	16.5g (Fp123-124)
〃 第二回	2.9g (Fp118-120.5)	析出せず	1.4g (Fp120-122)	3.0g (Fp118-120)	3.8g (Fp122-124)	1.3g (Fp116-120)
クロロホルム振盪後の塩酸性水溶液處理分より析出せるロベリン	—	—	—	析出せず	2.7g (Fp122-123)	0.9g (Fp122-124)

第3表 従来法と簡略法



の比較試験処理法圖表

濃縮液 10 l



第2節 工業的製造私案法各工程に於ける旋光度測定

試に第1節記述の簡略法に於けるクロロホルム振盪後の塩酸水溶液 (第3表 $\text{HCl}^{*)}$ 分) を更に従来法の硫酸液の処理法に従ひ第3表 $\text{HCl}^{**)}$ 分以下の如く処理したるに時としてロベリン塩基の析出を見たり。此事實はアルカロイドの塩酸塩溶液より塩酸ロベリンのクロロホルム中に轉溶不充分なるを示すと共に此ロベリン收得量をも加算すれば簡略法の方遙に收得量多きを立證せり。

然るに比較試験に使用せし檢體は同一檢體を二等分せしものなるを以て含有せるアルカロイドは同量なるべき筈なれば従来法の各工程中にロベリンの損失を來す處あるべしと思料せるを以て試に従来法に於けるクロロホルム振盪後の塩酸水溶液 (第3表 $\text{HCl}^{**)}$ 分) に就き旋光度を検するに旋光度を有し従来法のクロロホルム振盪操作も亦 L -ロベリン塩酸塩のクロロホルム中に溶存不充分なる事實を認めたり。依つて余等は先づ工業的製造私案法の各工程に於ける旋光度を測定し L -ロベリンの行方を探求したるに第4表の如き結果を得たり。

第3節 クロロホルム溶液を振盪洗滌せる塩酸水溶液中の L -ロベリンの回收

工業的製造私案法のクロロホルム轉溶工程に於ては總アルカロイドを含有せるクロロホルム溶液を塩酸水 ($\text{pH}3.8\sim4.0$) にて振盪洗滌しアルカロイドを塩酸塩となし、 L -ロベリンの塩酸塩をクロロホルム中に溶存せしめ副アルカロイドの塩酸塩を塩酸水溶液中に轉溶せしむる目的なるが、其効果如何を第4表の旋光度測定成績に就きて検討するにクロロホルム溶液を塩酸水にて處理しアルカロイドを塩酸塩となしたる際のクロロホルム溶液の旋光度は -3.25° にして又塩酸水溶液の旋光度は -4.61° を示し L -ロベリン塩酸塩のクロロホルム中に溶存不充分にして塩酸水溶液中にも相當量移行するを認めたり。此塩酸水溶液に移行せる L -ロベリンを回收する爲に私案法に於ては塩酸水溶液を更にクロロホルムにて振盪して L -ロベリン塩酸塩をクロロホルムに移行せしめたり。此際のクロロホルムの量並振盪回数は充分なりや否を確認せんと欲し次の如き處理を行へり。

I 酸性に於けるクロロム反覆振盪法に依る旋光度移動狀態試験

L -ロベリン含有の塩酸水溶液を2倍容量のクロロホルムにて振盪したるにクロロホルム分に一部分のみ回收せらるるを認めたり。依つて次に4倍容量、20倍容量及60倍容量のクロロホルムにて順次振盪處理をなしたるも L -ロベリンは幾分回收せらるるのみにして完全には回收されず (第5表参照)、完全に回收せんがためには恐らく數十回の振盪處理を必要とすべし。

* Wieland は粗製ロベリア・アルカロイドの弱酸性溶液を20倍容量宛のクロロホルムにて10回振盪せり。

と思料し、此振盪回数限度を決定すべく次の如き處理を施行せり。

塩酸洗滌分 500 cc を分液漏斗に取り クロロホルム 500 cc 宛にて毎回 30 分間宛 7 回振盪し毎回分離せる塩酸分及クロロホルム分の pH, 旋光度及著色度の變化等を測定しアルカロイドの移行状態をも測定したるに第 6 表の結果を得たり。

第 6 表の成績を通覽するにクロロホルム分は第 1 回より第 4 回迄著色し旋光度も移動し 1-ロベリンの移行せるを認むるも第 5 回以後は變化を認めず、塩酸水溶液に於ても第 4 回以後は旋光度變化せず、アルカロイド分も亦移行せず一定の限度あるを認めたり。

II アルカリ性に於けるクロロホルム反覆振盪法に 依る旋光度移動状態試験

上記 I の試験に於て塩酸洗滌分中の旋光度等は酸性に於ては完全にクロロホルム分に移行せず一定の限度あるを認めたり、此限度に到達せる塩酸洗滌分を 10% ソーダ灰溶液にて處理し pH を種々に變化せしめアルカリ性に於ては旋光度等はクロロホルム中に幾何程度移行するやを試験せるに第 7 表の結果を得たり。

第 7 表の成績は pH 3~9 の間に於てのみ旋光度及アルカロイドは塩酸分よりクロロホルム分に移行するを示せり。

III 塩酸洗滌分中の 1-ロベリン回収試験

塩酸洗滌分 (旋光度 -4.61°) を減壓蒸溜してクロロホルムを完全に溜去して得たる暗赤色澄明液 (pH 1.4) を氷室に放置せるに最早結晶を析出せず、依つて塩酸洗滌分中には塩酸ロベラニンは最早混溶せざるものと認め該液 500 cc を檢體として 10% ソーダ灰溶液 100 cc 宛を分割的に注加するに其 pH は次の如く變化す。

塩酸洗滌分500cc	{	+(No.1) 10%ソーダ灰溶液 100cc;	pH 2.4; CO ₂ を發生す
		+(No.2) "	pH 3.2;
		+(No.3) "	pH 3.4; 白色沈澱を生ぜしも溶解す
		+(No.4) "	pH 6.8~7.0; 乳狀化を生成す

依つて先づ此 pH 6.8~7.0 に於てエーテル 300 cc を注加し振盪するにエーテル分は黄茶色透明となり分離せるも乳狀化層と水液層との三層に分離せり、此エーテル分を分取し食塩水にて洗滌後炭酸カリにて脱水しエーテルを回収し濃縮液を氷室に放置せるも結晶を析出せず、而るに之を塩酸塩溶液となすに旋光度 -0.75° を示せり。次に水液分は乳狀化層を自然濾過し濾液を放置するに器壁に茶灰色の飴狀物を析出するを以て之を濾過したるに濾液 (pH 7.0) は旋光度 -1.24° を示せり。依つて之にエーテル 100 cc を添加し 10% ソーダ灰溶液 50 cc を追加し pH 8.4 となし振盪しエーテル分を分取しエーテル回収後殘渣を塩酸水に溶解したるに旋光

第4表 工業的製造私案法各工程に

各工程に於ける可検體名稱	pH	可 検 體 外 観
ロベリア草硫酸水浸出濾液 (第一回)	3.8	茶 色, 不透明
" (第二回)	3.8	" "
" (第三回)	4.0	" "
第一回浸出液の珪藻土處理終了濾液	3.8	茶 色, 透 明
第二回 "	3.8	" "
第三回 "	4.0	" "
第一回浸出液の酸性白土吸着母液	3.8	淡茶色, 透 明
第二回 "	3.8	" "
第三回 "	4.0	" "
酸性白土の No.1 トリクレン抽出液	8.6	セビヤ色, 不透明
酸性白土の No.2 トリクレン抽出液	8.8	" "
酸性白土の No.3 トリクレン抽出液	9.0	" "
トリクレン出出液よりの硫酸轉溶液 (No.1)	1.2	赤 色, 透 明
" (No.2)	1.2	" "
" (No.3)	1.2	茶 色 "
" 水洗滌液	3.0	淡黄色 "
硫酸溶液よりソーダ・アルカリ性に於て CHCl_3 轉溶液 (No.1)	7.2	赤 色 "
" (No.2)	8.6	茶黑色, Emulsion 多し
" (No.3)	9.0	" "
クロロホルム溶液を振盪洗滌せる塩酸溶液	3.6-4.0	茶 赤 色, 透 明
塩酸水で振盪洗滌せるクロロホルム溶液	"	" "
クロロホルム溶液より CHCl_3 溜去後の塩酸水溶液	"	茶赤色, 鮮 明
塩酸ロベラニン結晶分離後の塩酸水溶液	"	" "
エーテル轉溶液 (No.1)	8.4	
" (No.2)	9.0	
エーテル振盪母液	"	茶黄色, 鮮 明
母液を振盪せるクロロホルム溶液	"	茶 色 "
クロロホルム振盪後の最後の母液	"	青茶色 "

於ける旋光度試験成績表

旋光度	可検体内容状態	備考
0 (光輝不鮮明)	ロベリア草 800kg 水 10000l 工用硫酸 7l	Mayer Reakt. 陽性
0 (")	" 工用硫酸 5l	"
0 (稍々鮮明)	" 工用硫酸 3l	"
0 (稍々鮮明)	珪藻土 20kg	"
0 (")	" 10kg	"
0 (")	" 5kg	"
0 (鮮明)	酸性白土 35kg	Mayer Reakt. 陰性
0 (")	" 15kg	"
0 (")	" 5kg	"
0 (光輝不鮮明)	酸性白土 55kg (トリクレン 150l Na-Mathylat 3l	Mayer Reakt. 顯著
0 (")	(トリクレン 100l Na-Mathylat 3l	"
0 (")	(トリクレン 100l Na-Mathylat 3l	"
- 1.03°	(トリクレン抽出液 350l 2N-H ₂ SO ₄ 10l	Mayer Reakt. 陽性
	" N-H ₂ SO ₄ 10l	"
0	" N ₂ -H ₂ SO ₄ 5l	"
0	水 5l	"
- 0.53°	硫酸溶液 25l 10%ソーダ灰溶液 6l クロロホルム 3l	ロベリン, ロベラニン 其他を含む
	" ソーダ灰溶液 5l クロロホルム 2l	"
	" ソーダ灰溶液 2l クロロホルム 1l	"
- 4.61°	{クロロホルム分 6.5l 5%HCl 0.2l:30%HCl 0.3l	副アルカロイド塩酸 塩を含む筈
- 3.25°	{クロロホルム分 6.5l	塩酸ロベリンを含む筈
- 4.34°	{クロロホルム残溜物 4l	氷室放置前
- 4.43°	水 "	
0	エーテル 2l	
0	" 0.5l	
0	母液 4l	
0	クロロホルム 0.3l	
0	母液 4l	

第5表 ロベリンのクロロホルム溶液

各工程に於ける可検體名稱	pH
クロロホルム溶液を振盪洗滌せる塩酸水溶液	3.6~4.0
塩酸水で振盪洗滌せるクロロホルム溶液	"
塩酸で洗滌せる CHCl_3 分を水にて洗滌せる水の分	4.0~5.0
洗滌塩酸分を四倍量のクロロホルムにて振盪せる HCl 分	3.6~4.0
洗滌塩酸分を四倍量のクロロホルムにて振盪せる CHCl_3 分	"
更に此の CHCl_3 振盪後の HCl 分の中 20cc を取り 40 倍のクロロホルムにて振盪後の CHCl_3 分	"

第6表 塩酸洗滌分中の旋光度の

振盪回数	塩 酸 洗 滌 分			
	旋 光 度	pH	色 調	Mayer Reakt.
振盪前	-7.25°	1.2	茶 紅 赤 色	+
第1回	-6.62°	1.4	茶 赤 色	+
第2回	-5.25°	1.6	小 豆 赤 色	+
第3回	-5.20°	"	"	+
第4回	-5.20°	"	"	+
第5回	-5.20°	"	"	+
第6回	-5.20°	"	"	+
第7回	-5.20°	"	"	+

第7表 塩酸洗滌分中の旋光度がアルカリ性に

振盪回数	10%ソーダ灰 溶液添加量	塩 酸 洗 滌		
		旋 光 度	pH	色 調
振盪前		-5.20°	1.6	茶 小 豆 色
第1回	40cc	-5.20°	2.0	"
第2回	"	-4.36°	3.0	稍 濃 茶 赤 色
第3回	20cc	-3.55°	4.2~4.4	茶 色
第4回	"	-2.50°	5.8~6.0	茶 黄 色
第5回	40cc	-1.68°	6.8~7.2	淡 茶 黄 色
第6回	20cc	-0.36°	8.0~8.2	黄 色
第7回	60cc	0	9.0	薄 黄 色
第8回	10cc	0	9.0	"
第9回		0	"	"
第10回			"	"

此の後白沈を生ぜず

並塩酸溶液相互間に於ける轉溶狀態試驗成績表

可檢體外觀	旋光度	可檢體内容狀態	備考
茶赤色, 透明	-4.61°	{クロロホルム分 6.5l 5% HCl 0.2l 30% HCl 0.3l	
" "	-3.25°	クロロホルム分 6.5l	
茶色 透明	-5.71°	{クロロホルム 6.5l 水 200cc	
" "	-3.13°	{HCl 500cc CHCl ₃ 2000cc	
淡黄色 "	-0.87°	CHCl ₃ 2000cc	
淡色 "	-0.86°	CHCl ₃ 800cc	

クロロホルム分に移動狀態試驗成績表

クロロホルム抽出分				備考
旋光度	pH	色調	Mayer Reakt.	
0		無色	-	塩酸洗滌分 500cc をクロロホルム 500cc 宛 30 分間宛振盪す
- 0.88°	6.2	茶黄色	+	
- 0.62°	6.0	黄色	+	
- 0.58°	"	淡黄色	+	
少許	"	僅微黄色	+	
0	"	無色	-	
0	"	"	-	
0	"	"	-	

於てクロロホルムに移動する狀態試驗成績表

分	クロロホルム抽出分				備考
	旋光度	pH	色調	Mayer Reakt.	
+	0	0	無色	-	酸液 500cc をクロロホルム 500cc 宛 30 分宛振盪
+	0	弱酸性	無色	微少	
+	-0.34°	"	僅微	+	Emulsion 析出し始む
+	-0.85°	"	黄色	+	
+	-1.25°	中~弱酸	"	+	Emulsion 析出多量, 濾過す
+	-2.20°	6.8~7.2	"	+	
+	-1.75°	7.8~8.2	茶黄色	+	Emulsion 少し
微少	-0.44°	9.0	"	+	Emulsion なし
-	0	"	淡黄色	微少	"
-	0	"	無色	-	"
-	0	"	"	-	"

度 -2.50° を示せり。水水分は更にエーテル 100 cc を添加し 10% ソーダ灰溶液 50 cc を追加し pH 9.0 となし振盪しエーテル分を分取後回収し其残渣を塩酸溶液となすに旋光度 -2.07° を示せり、而して最後のエーテル振盪母液は最早旋光度を認めず。

尙先に器壁に析出せる飴狀物はアセトン・クロロホルムに溶解し放置せるも析出物なし、依つて之を蒸發し其残渣を塩酸溶液 (pH 4.0) となし更にクロロホルム轉溶法を繰返したるも何れの個所にも旋光度は認められず、即ち析出飴狀物には最早 *l*-ロベリンは含有せざるものと思料す。

上記の豫試験の結果より塩酸洗滌分中の *l*-ロベリン回収は次の處理法に據るを得策と認むる次第なり。

即ち塩酸洗滌分は減壓に於てクロロホルムを完全に溜去したる後 10% ソーダ灰溶液を注加し pH 6.8 となし不純物を飴狀物質として析出せしめて濾去し、濾液に更に 10% ソーダ灰溶液を分割的に注加し pH 7.0; pH 8.4 及 pH 9.0 の三回にエーテル振盪を行ひエーテル分は各別に食塩飽和水にて洗滌し炭酸カリにて脱水後エーテルを回収し *l*-ロベリンを結晶せしむ。

試に茲に pH 別に振盪せるエーテル分の蒸發残渣を塩酸水溶液となし旋光度を測定したるに其成績次の如し。

pH 7.0 よりのエーテル残渣	→	塩酸水溶液旋光度	-0.75°
pH 8.4	→	"	-2.50°
pH 9.0	→	"	-2.07°

註：飴狀物質及 pH 9.0 以上よりのエーテル部分には *l*-ロベリンを含有せず。

第4節 ロベリア・アルカロイド塩類溶液よりロベリン塩基をエーテルに轉溶析出せしむる際の pH に就て

ロベリア・アルカロイド塩類溶液より *l*-ロベリンを結晶性として分離せしむるには第1報に於て記述せる如く2法あり、即ち一は塩類溶液をアルカリ性に於てエーテルにて振盪しエーテル分を合併し水洗脱水後エーテルを濃縮し適度の濃度となし(純 *l*-ロベリンを接種し)冷處に數日間放置して *l*-ロベリンを結晶せしむる法、他の一はアルカリ性となす際にアルカリ劑を分割的に添加し pH 別にエーテル振盪を行ひエーテル分は各別々に濃縮して *l*-ロベリンを分離する法なり。今此2法の優劣を比較するに前者はエーテル分を合併し處理する故操作上に於ては簡略なるも結晶の析出に時間を要し析出不充分なる時は更に母液を濃縮して第二結晶を析出せしめざるべからず、之を要するに適當の濃度の選定困難なると共に副アルカロイドが多量に混溶せる状態に於ては *l*-ロベリンは結晶析出困難にして且不純となるの缺點あり。之に

反し後者はアルカリ剤を分割的に添加し、pH 別にエーテル振盪処理を行ふ故操作上煩鎖の厭あるも塩基度の差に依り轉溶せしむる故 *l*-ロベリンの結晶析出迅速且分離完全にして多くの場合 *l*-ロベリンは第一結晶として完全に析出し母液を濃縮するも第二結晶の析出殆どなく第一結晶母液はエーテルを回収して副アルカロイドの分離（第 3 報第 3 章第 2 節参照）に移すも支障なし、依つて *l*-ロベリンの分離法としては後者に依るの有利なるを認めたり。

依つて更に *l*-ロベリンのエーテル轉溶工程に於ける最適 pH を實驗的に比較し決定せんがため次の試験を施行せり；即ち後述第 3 報第 3 章第 2 節 *l*-ロベリンの結晶採集後の樹脂様物質の検明試験の實驗に於てロベリンの結晶析出を見たるは pH 7.6~8.2 なるを認めし故先づ pH 7.0；pH 8.0~8.2；pH 9.0~9.2 になる様にアンモニア水の分割添加を行ひ pH 別にエーテル振盪を施行しエーテル分は各別々に濃縮して得たる結晶の收得量、融點等を比較せるに *l*-ロベリンをエーテルに轉溶し析出せしむる際には pH 7.0；8.2 及 9.2 の三回に分割的に振盪し各 pH 別に處理するを最適とするを認めたり。

以上の試験成績を總括して結論すれば次の如し。

結 論

1. 第 1 報に於て提案せるロベリア・アルカロイド工業的製造私案法に依るロベリア・アルカロイド收得量は瑞西局方のロベリア・アルカロイド定量法に準據せる製造に依る收得量と良く一致せり。
2. ロベリア草定量に依りて得たる總アルカロイドの中約 8.5% 内外は結晶性塩基として分離するを得たるも 90% 内外は樹脂様物質として残留するを認めたり。
3. 瑞西局方のロベリア草アルカロイド定量法に準據し比較的簡単に結晶性ロベリア塩基を分離し得べきを認めたり。然るに多量のエーテルを使用するを以て工業的抽出製造法としては實施不可能なり。
4. 工業的製造私案法は瑞西局方定量法に準據せる製造法に匹適する收得量を得るのみならず、製品の純度等に於ても優秀にして工業的製造法として推奨すべきものなるを確認せり。
5. 工業的製造私案法の工程簡略化試験の結果硫酸轉溶工程を省略し得べきを立證せり。
6. 工業的製造私案法のクロロホルム轉溶工程中塩酸水振盪操作中 *l*-ロベリンの損失を來すを認め之が回收方法に就き研究せり。
7. ロベリア・アルカロイド塩類溶液よりロベリン塩基をエーテルに轉溶し析出せしむる際の最適 pH を實驗的に決定せるに pH 7.0；8.2 及 9.2 の三回に分割的に振盪し轉溶せしめ各別々に處理するの得策なるを認めたり。

引用文献

- 1) 近藤・市川・藤田：當所彙報 61. 63~84 (昭和 18 年)
- 2) H. Lestra : Bull. Scienc. pharmac. 1926. S. 16.
- 3) 近藤・市川・藤田：當所彙報 57. 90~97 (昭和 16. 年 3 月)

昭和 19 年 10 月

ロベリア草アルカロイドの製造に就て

(第 3 報)

工業的製造私案法の各工程に於ける副生物質の 検明處理並副アルカロイドの分離精製

技 官 近 藤 龍

技 官 市 川 重 春

元囑託 藤 田 知 一 郎

目 次

第 1 章 粗製硫酸ロベラニンの検明試験

第 1 節 粗製硫酸ロベラニンより ロベラニン塩基の分離

第 2 節 粗製硫酸ロベラニンの精製處理(水再結晶法)

第 3 節 粗製硫酸ロベラニンの精製處理 (アセトン再結晶法)

第 2 章 粗製塩酸ロベラロニンの検明試験

第 1 節 粗製塩酸ロベラニンの各種溶媒に對する溶解度試験

第 2 節 粗製塩酸ロベラニンの検明處理法

第 3 章 樹脂標副生物質の検明處理

第 1 節 クロロホルム轉溶工程中の副生物なる樹脂標物質の
検明試験

第 2 節 l-ロベリン結晶採集後のエーテル母液より得たる樹
脂標物質の検明試験

結 論

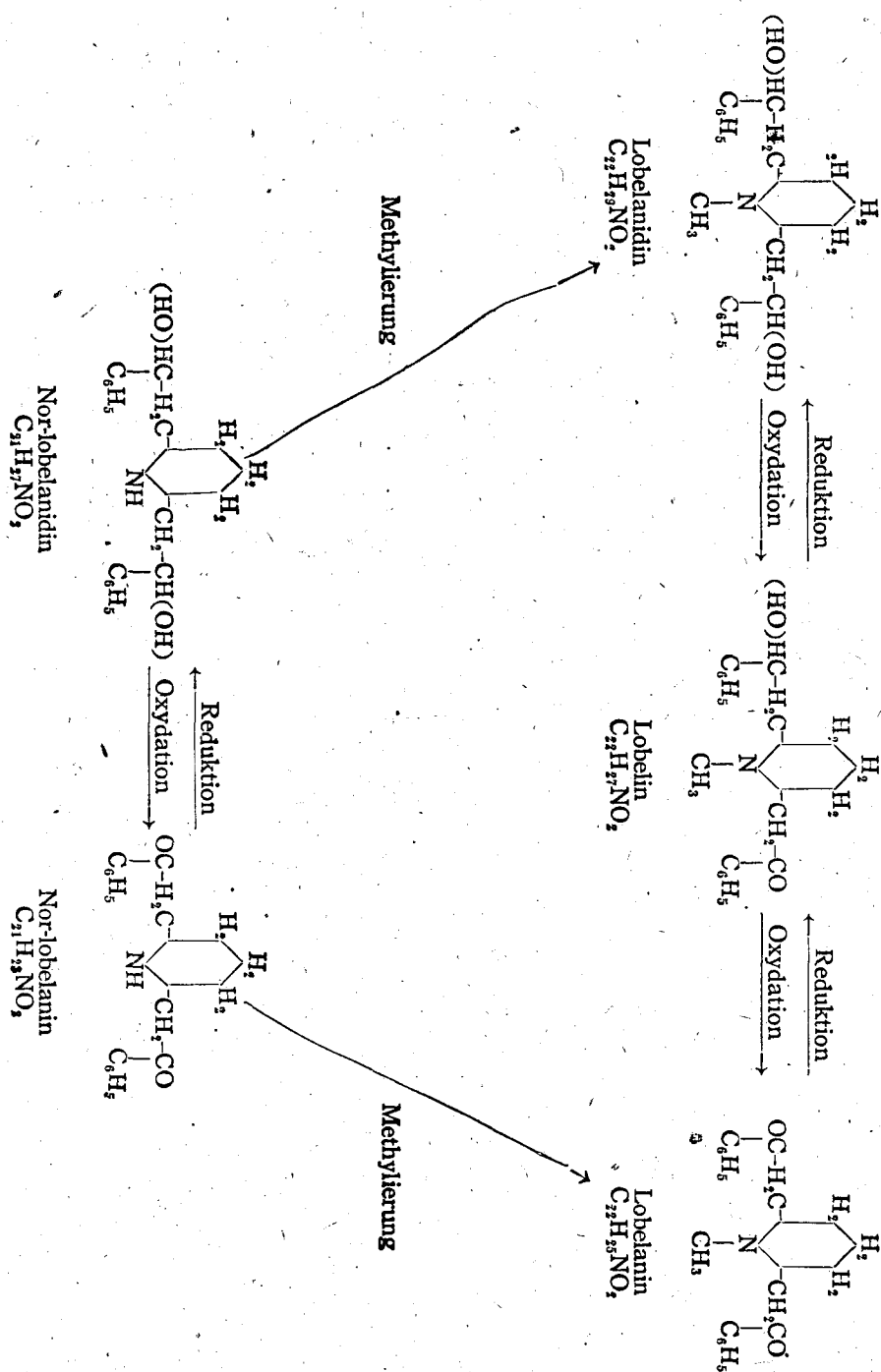
引用文献

ロベリア草中に發見されたるアルカロイドは現今約 10 種を數ふるに至れるも、呼吸興奮藥として賞用せらるるは l-ロベリンのみにして、他の副アルカロイドは呼吸興奮作用何れも l-ロベリンに比し著しく弱きものの如く¹⁾、目下副アルカロイドは臨床上に使用せらるるに至らずと雖も、副アルカロイド就中ロベラニン及ロベラニデンとロベリンとは化學構造上非常に密接なる關係を有し、ロベラニデン及ロベリンを氷醋酸と CrO_3 にて酸化すればロベラニンを生じ反對にロベラニン及ロベリンを Na-amalgam にて還元すればロベラニデンを得べし、又ロベラニンを接觸還元すれば d,l-ロベリンを得之を光學的分割處理法に附せば l-ロベリンとなすを得べし (第 1 圖表参照)。

依つて副アルカロイド中少くとも d,l-ロベリン、ロベラニン及ロベラニデンはロベリア草の重要成分と謂ふを得べし。

余等は第 1 報及第 2 報に於て主として l-ロベリンの製造試験に就き記述し、傍らロベラニン等の副アルカロイドを副生物として收得せる成績に就き報告せり。爾來余等は工業的製造私

第1圖表 ロベリンと副アルカロイドの関係



案法の各工程に於ける副生物中の成分検明試験を續行中なりしが是等の副生物中より上記の副アルカロイドを分離精製せるを以つて茲にその試験成績を第 3 報として報告すべし。

第 1 章 粗製硫酸ロベラニンの検明試験

第 1 報記述の工業的製造私案法のトリクレン抽出液より硫酸轉溶工程（主として第二回 $\text{N-H}_2\text{SO}_4$ 振盪の際）に於て析出せる硫酸ロベラニンと稱する結晶は $\text{Fp } 62\sim 65^\circ$ を示し（時として 70° なる事あり），本品 1 分は常溫に於て 80 分の水に溶解し（約 50° に加溫すれば 20 分の水にても容易に溶解す）淡青色透明液（ $\text{pH } 2.6$ ）となり旋光度を有せず。本品の水溶液にアルカリを添加し塩基を遊離せしむるに其 $\text{Fp } 92\sim 94^\circ$ を示し，文献記載のロベラニン塩基の $\text{Fp } 99^\circ$ より著しく低く本結晶は粗製硫酸ロベラニンなるものゝ如し。

依つて該結晶を検明せんと企て先づ各種溶媒に對する溶解度を試験したるに第 2 表の如き成績を得たり。

第 2 表 粗製硫酸ロベラニンの溶解度試験成績表

檢體量	溶媒名稱	溶媒量	溶解度	不溶分量	備 考
1g	水	80cc ^{*)}	可 溶	0	^{*)} 50° に加溫すれば 20cc にても易溶なり。加溫して得たる溶液は放冷するに $\text{Fp } 66^\circ$ の結晶 (0.64g) を析出す。 本溶液は放置するも結晶析出せず濃縮し放置するに $\text{Fp } 66^\circ$ の結晶 (0.4g) を析出す。 アセトン溶液は放置するに第一結晶 $\text{Fp } 135^\circ$ (0.1g) を析出し、此結晶母液を濃縮するに $\text{Fp } 66^\circ$ の第二結晶 0.4g を析出す。
"	エーテル	20cc	不 溶	1g	
"	純アルコール	"	可 溶	0	
"	アセトン	"	可 溶	0	
"	ベンゼン	"	不 溶	0.95g	
"	クロロホルム	"	不 溶	1g	
"	トリクレン	"	不 溶	0.95g	

第 2 表の結果を通覽するに本結晶は水、純アルコール及アセトンには可溶なるも其他の溶媒には殆んど不溶なるを示せり。而して水に對する溶解度は溫度に依りて著しく差異あり加溫して得たる溶液を單に放冷するのみにて $\text{Fp } 66^\circ$ の結晶 64% を析出するを以て本品の精製用溶媒としては水が最適なるを認めたり。之に反し純アルコール溶液は之を放置するも結晶析出せず、濃縮すれば初めて $\text{Fp } 66^\circ$ の結晶 40% を析出し、又アセトン溶液は放置中に第一結晶として $\text{Fp } 135^\circ$ の結晶 10% を析出し此結晶母液を濃縮するに更に $\text{Fp } 66^\circ$ の第二結晶 40% を析出せり。

文献を徴するに硫酸ロベラニンの Fp の記載なく上記の各種溶媒より得たる精製品の中 $\text{Fp } 66^\circ$ のものと $\text{Fp } 135^\circ$ のものと何れが硫酸ロベラニンなるやを確定せんがために次に記述する如き検明處理試験を施行せり。

* 硫酸ロベラニンの Fp は文献記載なし

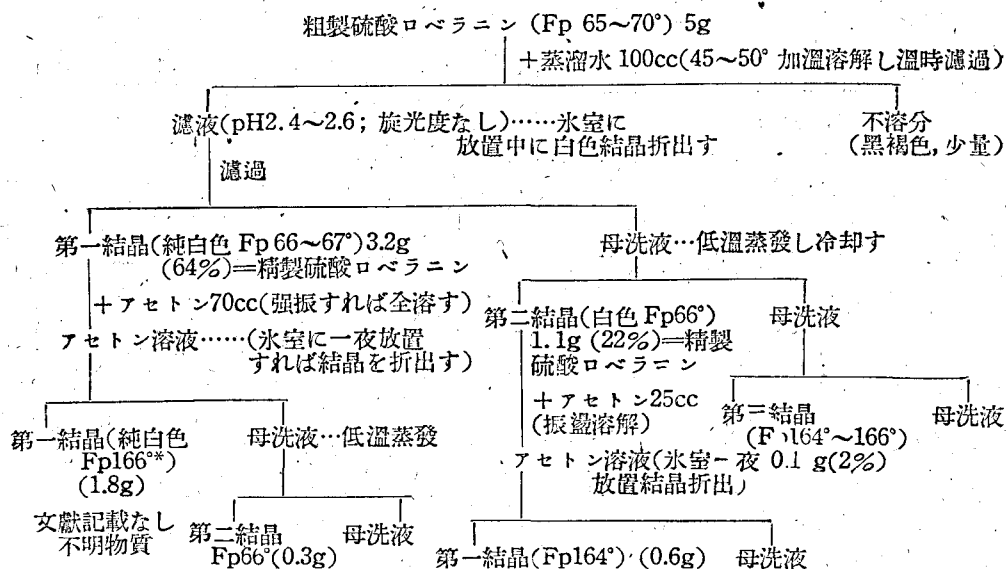
第1節 粗製硫酸ロベラニンより ロベラニン塩基の分離

A: 粗製硫酸ロベラニン (Fp 62~65°) 1g に水 80cc を注加し溶解せしめたる水溶液にアンモニア水を滴加しアルカリ性となし塩基を遊離せしめ之を濾別水洗し硫酸上に乾燥したるに其融點 92~94° を示せり。

B: 粗製硫酸ロベラニン (Fp 65~70°) 5g に水 100cc を注加し 45~50° の温水中に於て加温溶解し温時濾過し濾液 (pH 2.6 旋光度なし) にエーテル 100cc を注加し、アンモニア水 (10%) 20cc を添加し pH 9.0 となし振盪しエーテル分を分取し水洗脱後エーテルを回収し濃縮液を放置すれば純白色の結晶 2.1g (Fp 97.5~98°) を收得す、母洗液は更に濃縮し放置すれば第二結晶 0.18g (Fp 92~94°) を收得す。

C: 粗製硫酸ロベラニンを後述の處理法に依り精製せる Fp 66~67° の結晶 1g 宛を取り上記 A 及 B と同様に處理したるに遊離せる塩基は其 Fp 夫々 97~98; 98~99° を示せり。

第3表 粗製硫酸ロベラニン検明處理法:



* 粗製硫酸ロベラニン (Fp 65~70°) を精製しないでそのまま 1g をとりアセトン 20cc にて處理し再結晶する時は第一結晶として Fp 135° の結晶 0.1g を得 (該品も文献なし)。

第2節 粗製硫酸ロベラニンの精製處理（水再結晶法）

粗製硫酸ロベラニン (Fp 65~70°) 5 g を蒸溜水 100cc 中に投じ温水 (45~50°) 中に於て加温し溶解し温時に濾過し、濾液 (pH 2.6 旋光度なし) を氷室に放置する時は白色結晶を析出す、此第一結晶を濾集し水洗後乾燥するに Fp 66~67° の結晶 3.2 g を收得せり (收得率64%)、第一結晶母液は濃縮し冷却するに白色の第二結晶 1.1g (Fp 66°) を得、(收得率22%)、更に第二結晶母液よりは第三結晶 0.1 g (Fp 164~166°) を收得す。(收得率2%) (第3表参照)。

第3節 粗製硫酸ロベラニンの精製處理（アセトン再結晶法）

A : 粗製硫酸ロベラニン (Fp 65~70°) 5 g にアセトン 100cc を注加し強く振盪し完全に溶解せしめたる後濾過し濾液を氷室に放置するに第一結晶として Fp 135° の結晶 0.5 g を析出す、此結晶母液を濃縮し放置すれば第二結晶 2.0 g (Fp 66°) を收得す。

B : 粗製硫酸ロベラニンを上記の水再結晶法により處理して得たる第一結晶 3.2g (Fp 66~67°) にアセトン 70cc を注加し A と同様に處理するに第一結晶として純白色なる結晶 1.8 g (Fp 166°) を收得す、更に此結晶母液を濃縮すれば第二結晶 (Fp 66°) 0.3 g を收得す (第3表参照)。

C : 上記の水再結晶法により處理して得たる第二結晶 1.1 g (Fp 66°) を B. と同様にアセトン 25cc より再結晶するに Fp 164~166° Z. の結晶 0.6 g を收得せり (第3表参照)。

硫酸ロベラニンの Fp は文献記載なきも上記の精製處理法に依り得たる Fp 66~67° の硫酸塩より遊離せしめたる塩基の Fp がロベラニンに一致せるを以て Fp 66~67° を以て硫酸ロベラニンの Fp と認むるを至當と思料す。

依つて上記の檢明諸試験の結果は粗製硫酸ロベラニンと稱せし結晶は約 86% は硫酸ロベラニンにして他は Fp 135° 及 Fp 164~166° の硫酸塩より成れるを示せり。而して之等の二物質は文献に記載なきものにして二者同一物質なりや否やは他日の研究により決定すべし。

第2章 粗製塩酸ロベラニンの檢明試験

第1報記述の工業的製造私案法²⁾のクロロホルム轉溶工程に於て析出せる塩酸ロベラニンと稱する結晶は Fp 184° を示し正規の塩酸ロベラニン (Fp 188°) に比し粗製品なり。此粗製塩酸ロベラニン一分は蒸溜水八〇分に溶解し (但し 20° に加温す) 本水溶液は旋光度を有せず、之にアンモニア水を添加し塩基を遊離せしむるに Fp 88° の塩基を得純粹のロベラニンの Fp 99° より著しく低く粗製品なるを認めれば之が精製を行はざるべからず。文献を徴するに Wieland 及 Schöph³⁾ は粗製塩酸ロベラニンを 25%、アルコール 8 倍量に溶解し再結晶すれば Fp 188° の純塩酸ロベラニンを得、此結晶を熱湯に溶解し炭酸ソーダ溶液にて塩基を遊離せしむれば Fp 99° のロベラニン塩基を得べきを報告せり。

依つて余等は本法の追試を行ひたるに 25% アルコール 8 倍量にては 50~60° に加温し 40 分間に及ぶも全溶せず不溶分多く (45%), 之を温時濾過せる濾液は氷冷するに第一結晶として Fp 184~185° のもの 25% を収得せるのみにして結果良好ならすかかる純度の粗製塩酸ロベラニンの精製法としては本法は不適當なるを認めたり。

依つて先づ粗製塩酸ロベラニンの純度を決定せんと欲し次記の如き溶解度試験を行へり。

第1節 粗製塩酸ロベラニンの各種溶媒に對する溶解度試験

粗製塩酸ロベラニン 1 g 宛を試験管に取り各種溶媒 20cc 宛を注加し密栓し強く振盪したる後放置して濾過し洗滌し乾燥して秤量し溶解状況を觀察したるに第4表の結果を得たり。

第4表 粗製塩酸ロベラニンの各種溶媒に對する溶解度試験成績表

檢體量	溶媒名稱	溶媒量	溶液pH	可溶量	不溶量	不溶分Fp	備 考
1g	水	20cc	6.0~6.2	—	1.0g	184°	20° に加温すれば (1:80) にて全溶す
"	エーテル	"	"	0.2g	0.8g	181°	
"	純アルコール	"	"	0.35g	0.65g	187°	
"	アセトン	"	"	0.4g	0.6g	187°	
"	ベンゼール	"	"	0.2g	0.8g	181°	
"	クロロホルム	"	"	0.8g	0.2g	191°	
"	トリクレン	"	"	0.2g	0.8g	179°	

第4表の試験成績表を通覽するに粗製塩酸ロベラニンの精製法としては約 20 倍容量の純アルコール又はアセトンにて處理し易溶性物質を除去する時は不溶分として Fp 187° の精製塩酸ロベラニンを収得し得べきを認め得べし。然るに有機溶媒の入手困難なる現狀に鑑み有機溶媒の使用は可及的之を避くるを得策なりと思ひ粗製塩酸ロベラニンの水に對する溶解度は温度の差に依り著しき差異あるに着目し水再結晶法に依るを適當と認め次に記述する如き檢明處理法を實施せり。

第2節 粗製塩酸ロベラニンの檢明處理法

粗製塩酸ロベラニン (Fp 184°Z.) 粉末 100 g に蒸溜水 3000cc を加へ強く振盪後 55° の温水中に入れ 30 分間攪拌振盪操作を行ひたれ共全溶せず、依つて之を温に乗じて吸引濾過し (濾液を A とす)、不溶分は更に順次之に蒸溜水 (2000cc; 1000cc; 1000cc) を追加し同様に處理したるに第四回目には殆んど完全に溶解せり、毎回の處理液は温時に濾過し各濾液 (A, B, C, D とす、何れも旋光度なし) を氷室に放置するに A, B 及 C よりは塩酸塩の第一結晶 (純白色) を析出せり (A No. 1: 37g (Fp 185°); B No. 1: 19g (Fp 187°); C No. 1: 9g (Fp 188°)) D よりは第一結晶を析出せず。

A No. 1 結晶を濾集せる母洗液は低温蒸發して濃縮し氷室に放置したるに第二結晶 14.5 g (Fp 168~170°) を得たり, 第二結晶の母洗液はアンモニア・アルカリ性としてエーテル轉溶處理を行ひ塩基として回収せんと企てたるに塩基の析出を見ず依つて之を塩酸々性となすに白色の第三結晶 2.5 瓦 (Fp 170°) を得たり.

B No. 1 及 C No. 1 結晶を濾集せる母洗液は A 母洗液と同様に處理したるも最早第二結晶を析出せず依つて之等は濾液 D と合併し上述の如くアンモニア・アルカリ性に於てエーテル轉溶處理を行ひたる後エーテル濃縮液を氷室に放置するに塩基の結晶 3 g (Fp 119~120°) を得たり.

上記の處理法に依り收得せる塩酸塩の結晶中 Fp 185~188° のものは之より塩基を遊離せしむるに Fp 98~99° を示しロベラニンの Fp と一致するを以て塩酸ロベラニンにして, 又 Fp 168~170° を示すものは旋光度なく d, l-ロベリンの塩酸塩に該當し, Fp 119~120° を示す塩基は Nor-lobelanin 若くは Nor-lobelanidin なりと認め得べし.

即ち上記檢明試験の結果は粗製塩酸ロベラニンと稱せる副生物質は鹽酸ロベラニンを主成分 (65%) とし, 塩酸 d, l-ロベリン 17%, 及 Nor-Lobelanin 若くは Nor-Lobelanidin 3% より成るを示せり, 而して何れも旋光度なき故粗製塩酸ロベラニン中には l-ロベリンを混有せざるべし.

叙上の結果より粗製塩酸ロベラニンの精製法としては先づ 15~20 倍量の蒸溜水にて加溫處理して比較的易溶性の塩酸塩(例へば塩酸 d, l-ロベリン)を溶解除去したる後不溶分に 45~50 倍量の蒸溜水を注加し加溫溶解し溫に乗じて濾過し濾液を氷室に放置し結晶を析出せしむる法を得策とすべし.

第 3 章 樹脂様副生物質の檢明處理

第 1 節 クロロホルム轉溶工程中の副生物なる樹脂様物質の檢明試験

工業的製造私案法のクロロホルム轉溶工程(第 1 報²⁾製造工程圖表参照)中 l-ロベリン塩酸塩を溶存せるクロロホルム溶液を減壓濃縮に依り, クロロホルムの大部分を回収したる後蒸溜水を添加しクロロホルムを完全に除去する際に細心の注意を拂ひて低温(35~40°)に於て CO₂を通じつゝ處理する時と雖も, 多くの場合器底に油狀物質を析出し冷却するに従ひ樹脂様物質に變化するは第 1 報に於て既述せる處なり. 此副生物の生成原因に就き考ふるにトリクレン抽出工程に於てトリクレン抽出液を濃縮せる時は實驗の結果その量著しく多量なるを認めたり(第 5 表成績表参照), 之蓋しトリクレン濃縮中にアルカロイドの分解せるなるべし. 依つて此副生物の生成を防止せんと欲し添加する水の量を増減し又は pH を變化せしむる等種々研究せ

第5表 樹脂様物質の検明試験成績表

仕込番號	塩 酸 ロベラニン	ロベリン塩基		備 考
		收得量	融 點	
第 30 回	12.5g	18.0g	110~115°	昭和 13 年度仕込(トリクレン抽出液を濃縮す)
第 31 回	20.0g	19.3g	119~121°	"
第 32 回	12.3g	27.3g	126~128°	"
第 33 回	15.6g	69.9g	116~118°	主分：塩酸ロベラニン29.5g；ロベリン塩基 60.8g Fp 124~125°
第 34 回	12.8g	30.8g	122~124°	主分：塩酸ロベラニン26.5g；ロベリン塩酸基 51.6g Fp 122~123°
第 35 回	19.4g	21.1g	115~118°	主分：塩酸ロベラニン34.5g；ロベリン塩酸基 61.4g Fp 125~126°
第 36 回	17.6g	12.0g	123~125°	主分：塩酸ロベラニン37.9g；ロベリン塩酸基 47.0g Fp 124~125°
第37~39回	22.0g	33.4g	121~122°	昭和 13 年度仕込(トリクレン抽出液を濃縮す)
第40~43回	4.7g	16.7g	125~126°	"
第44~48回	35.3g	118.0g	110~115°	"
第 1~13回	30.5g	34.8g	128°	昭和 14 年度仕込(トリクレン抽出液濃縮工程 省略)
第14~25回	35.7g	38.5g	125~126°	

しも水量を多量となし且 pH を強くすと雖も全然防止する事は不可能なり、但し原料ロベリア草の種類に依り油狀物質の析出量少量なる事あり。

文献に據れば該油狀物質は副アルカロイドの塩酸塩なりとせるも果して然るや否やを検明せんと欲し試に此樹脂様物質を塩酸水に溶解するに其溶液は旋光度を有し L-ロベリンを含有するを認めたり。依つて此樹脂様物質を可及的少量のクロロホルムに溶解せしめたる後再び塩酸水を注加し pH 3.8~4.0 に調製し減壓濃縮に附しクロロホルムを完全に除去し主分と同様に處理したるに第 5 表に示す如く L-ロベリン及塩酸ロベラニンを分離回収するを得たり。

第 5 表の成績を通覽するに昭和 13 年度仕込に於ては毎回多量の樹脂様物質を析出し之より分離採集せる L-ロベリン及塩酸ロベラニンの收得量も相當多く殊に第 33 回仕込の如きは樹脂様物質中に含有せるロベリンは主分の L-ロベリンよりも多量なり、之に反し昭和 14 年度仕込に於ては毎回仕込の樹脂様物質の析出量少量にしてアルカロイドの分離收得量も亦著しく減少せり。之蓋し昭和 13 年度仕込の原料ロベリア草は洪水のために浸水埋没せるものを採集せるもの多く、且トリクレン抽出液を濃縮したるに反し昭和 14 年度仕込の原料ロベリア草は新鮮

なる優良品にして尙トリクレン濃縮工程を省略せる等の理由に起因せるものと思料す。

上記處理法に依り樹脂様物質中より分離取得せるロベリン塩基中 Fp 118° 以上のものは其儘塩酸ロベリン製造原料として使用し得べきも^{*)} Fp 低きものは d,l-ロベリン等を混有せるを以て精製するを要す、之等の分離精製に就きては第4報第2章並第3章に記述すべし。又塩酸ロベラニンも粗製品にして其 Fp 188° を示さず恐らく他の副アルカロイドを混有すべく精製せざるべからず、之の分離精製に就きては已に前章第2節記述せり。

第2節 l-ロベリン結晶採集後の樹脂様物質の検明試験

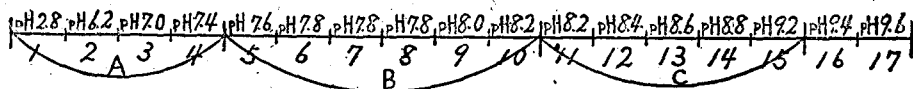
工業的製造私案法に依り l-ロベリン結晶を析出採集後の最早結晶を析出せざるに至れる最後のエーテル性母液はエーテルを完全に溜去する時は暗赤褐色樹脂様物質となる此樹脂様物質中には如何なる塩基を含有するやを検明せんと欲し Wieland, Schöpf und Hermesen⁴⁾ のロベリン製造の際の副アルカロイド分離法に従ひ處理したるに良好なる結果を得難きを認め他の方法に依り種々分離試験を試みたるに塩基度の差に依る分離法の有利なるを確認せり。依つて塩基度に依る副アルカロイドの分離試験成績に就き記述すべし。

塩基度に依る l-ロベリンと副アルカロイドの分離

文献を繙くに粗製のロベリア・アルカロイドより結晶性の l-ロベリンの製造法として塩基度に依り分離する獨逸特許⁵⁾あるも正確なる pH の最適度の記述を缺けり。依つて pH の最適度を決定すべく次の處理を施行せり。

樹脂様物質を適當量の N-HCl に溶解せしめ、次いで之に N-NaOH を加へて塩基を遊離せしむる場合に大體必要量の N-NaOH を約 15 回に分割的に添加し pH を異にし析出する塩基は各 pH 別にエーテルに轉溶せしめエーテル溶液は脱水後濃縮し氷室中に放置して夫々の結晶析出状態を観察せり。

即ち1回より15回迄を A, B 及 C の三部に區分し其 pH を夫々次圖の如く變化せしめたるに B の部よりは總て結晶の析出を見たるも A 及 C の部よりは結晶の析出を認めず。



依つて更に A 及 C 部よりロベリンの結晶を得んと欲し A 及 C を更に2分して B に近き半分即ち A よりは塩基度の強き後半, C よりは塩基度の弱き前半を取りロベリンの結

*第1報第6章B参照

晶析出を觀察せり、即ち A 及 C 部の塩基のエーテル溶液を各々其容量の半量の N-HCl を使用して轉溶せしめ A の部より轉溶し來れるもの、C の部よりは轉溶せずして残れる塩基に就き試験したるに A の後半より更にロベリンの結晶を收得せり。

之を要するに *l*-ロベリンの結晶を得んと欲する時は大體 pH 7.0~8.2 の間に析出する塩基を集め其前後に析出するものは之と區別するを得策とす。

尙 A 及 B 部のロベリン結晶を採集せる殘留物及 C の塩基を塩酸塩となすに B より塩酸ロベラニン、塩酸ロベラニジン、C より塩酸ロベラニジンの結晶を多量に析出せり。

實 驗 之 部

l-ロベリンの結晶を採集しエーテルを除去して得たる暗赤褐色鉛狀物質 1kg を N-HCl 3*l* に溶解したる赤褐色透明液 (pH 2.2) に N-NaOH を下記の處方の如く分割的に加へ其際析出する塩基は各別にエーテルに轉溶せしめエーテル溶液を K₂CO₃ にて脱水後濃縮し氷室中に放置するにロベリンの結晶析出を見たるは pH 7.6~8.2 (B部) にして其收得量次の如し。

塩基度依る副アルカロイド分離處理處方：

(1)	N-NaOH	200cc	pH	2.8	A	エーテル	300cc
(2)	"	200cc	"	6.2		"	300cc
(3)	"	200cc	"	7.0		"	500cc
(4)	"	100cc	"	7.4		"	300cc
(5)	"	100cc	"	7.6	B	"	300cc
(6)	"	100cc	"	7.8		"	300cc
(7)	"	200cc	"	"		"	500cc
(8)	"	200cc	"	"		"	400cc
(9)	"	200cc	"	8.0	C	"	300cc
(10)	"	200cc	"	8.2		"	300cc
(11)	"	200cc	"	8.2		"	300cc
(12)	"	200cc	"	8.4		"	300cc
(13)	"	200cc	"	8.6	C	"	400cc
(14)	"	200cc	"	8.8		"	300cc
(15)	"	200cc(最早白沈	"	9.2		"	300cc
(16)	"	100cc 生ぜず)	"	9.4		"	200cc
(17)	"	200cc	"	9.6		"	200cc

(5)	pH 7.6	結晶析出量	1g	Fp	114°
(6)	pH 7.8	"	3g	"	127°
(7)	pH "	"	4g	"	127°
(8)	pH "	"	5g	"	108°
(9)	pH 8.0	"	7g	"	124°
(10)	pH 8.2	"	5g	"	127°

然るに A 及 C 部は約 10 日間放置するも結晶の析出を見ず、依つて更に次の如く處理す。

A 部の處理：

結晶の析出を見ざる部分を合併してエーテル約700ccに溶解し之にN-HCl (200cc; 150cc) を添加し振盪して得たる酸性溶液に N-NaOH を分割的に4回 (No. I. 10cc; No. II 50cc; No. III 50cc; No. IV 70cc) に添加し生成せる沈澱は各 pH 別にエーテルに轉溶せしめ脱水後濃縮して放置するに No. II 及 No. III より Fp 129° の結晶 2 g No. IV より Fp 124° の結晶 2 g を收得せり。

C 部の處理：

結晶の析出を見ざるC部を合併してエーテル1lに溶解せしめ其半量をN-HCl 250ccを以て振盪し轉溶せしめ、殘部のエーテル溶液は其儘脱水後濃縮し放置するに何れも結晶の析出を見ず、依つて兩方を合併し塩酸を數回に分割的に添加し塩酸塩となし結晶の析出状態を觀察するに Fp 135° の結晶 (塩酸ロベラニデン) 14g 及 Fp 95° の結晶 2g を收得せり。

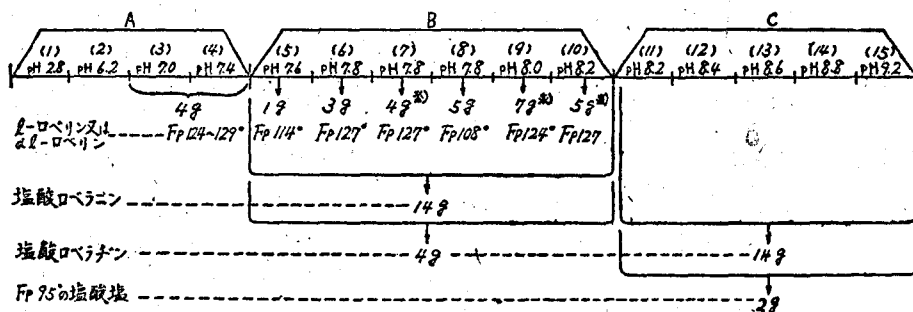
A 及 B 部より、ロベリンの結晶採集後の殘留部の處理：

殘留部には夫々塩酸を數回に分割的に添加し塩酸塩となし結晶の析出状態を觀察したるに、B部より Fp 184° の結晶 14 g 及 Fp 135° の結晶 4 g を收得せり。

上記實驗の結果樹脂様物質中には尙 l-ロベリンを溶存するのみならず d,l-ロベリン、ロベラニン及ロベラニデンをも溶存せるを檢明せり。即ち樹脂様物質 1 kg より塩基度に依る分離法に據り分離せる各種アルカロイドの收得量は次の如し。

Fp 124~129° の塩基	23 g
Fp 108~114° の塩基	6 g
Fp 184° の塩酸塩	14 g
Fp 135° の塩酸塩	18 g
Fp 95° の塩酸塩	2 g
Fp 102° の塩基	4 g
Fp 105° の塩基	2 g

尙上述の各種アルカロイドの收得部分並其收得量を圖示すれば次の如し。



*) (7) の母液→Fp 105° 塩基2g; (9)及(10)の母液→Fp 102° 塩基4g

以上の試験成績を總括して結論すれば次の如し。

結 論

1. 副生物質なる粗製硫酸ロベラニン (Fp 62~65° 時として 70°) を水並純アルコールより再結晶法に依り精製するに第一結晶及第二結晶共 Fp 66~67° の硫酸塩を生じ、水よりは尙第三結晶として Fp 164~166° の硫酸塩を析出せり。然るにアセトンより再結晶に依り精製する時は第一結晶として Fp 135° の硫酸塩を析出し、第二結晶として Fp 66° の硫酸塩を析出せり。
2. 水再結晶法に依り精製せる第一結晶 (Fp 66~67°) をアセトンより再結晶するに第一結晶として Fp 166° のもの、第二結晶として Fp 66° のものを析出せり。
3. 硫酸ロベラニンの Fp は文献記載なきも上記の精製處理法に依り得たる Fp 66~67° の硫酸塩より遊離せしめたる塩基の Fp がロベラニンに一致せるを以て Fp 66~67° を以て硫酸ロベラニンの Fp と認むるを至當と思料す。
4. 粗製硫酸ロベラニンと稱せし結晶は検明試験の結果大部分 (約 86 %) は硫酸ロベラニンにして他に文献記載なき Fp 135° 及 Fp 164~166° の硫酸塩を混有するを認めたり。
5. 粗製塩酸ロベラニンの精製法としては Wieland 及 Schöpf の稀アルコール再結晶法よりも水再結晶法の適當なるを確認し水再結晶法に依り検明處理を行ひたるに次の結果を得たり。即ち粗製塩酸ロベラニンと稱せる副生物質は塩酸ロベラニンを主成分 (65 %) とし、塩酸 d,l-ロベリン (17 %) 及 Nor-Lobelanin 若くは Nor-Lobelaidin (3 %) より成れるを認めたり。
6. クロロホルム轉溶工程中の副生物なる樹脂様物質の検明試験の結果 l-ロベリン及塩酸ロベラニンを分離回収するを得たり。
7. l-ロベリン結晶採集後の樹脂様物質を Wieland, Schöpf 及 Hermesen の副アルカロイド分離法に従ひ處理したるに良好なる結果を得難きを認め他の方法に依り種々副アルカロイド分離試験を試みたるに塩基度の差に依る分離法の有利なるを確認せり。
8. 塩基度に依る分離法検明試験の結果 l-ロベリン採集後の樹脂様物質中には尙 l-ロベリンを溶存するのみならず d,l-ロベリン、ロベラニン及ロベラニヂンをも溶存せるを認め之等各種塩基を分離する最適塩基度を決定し l-ロベリンと之等の副アルカロイドとを分離精製せり。

引 用 文 献

- 1) Herm. Wieland u. Rud. L. Mayer : Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 92. 195 (1922)

- 2) 近藤・市川・藤田 當所彙報 61. 71 (昭和 18 年 3 月)
- 3) Heinr. Wieland, u. C. Schöpf : Ann. 444. 50 (1925)
- 4) Heinr. Wieland, C. Schöpf u. W. Hermesen : Ann. 444. 40 (1925).
- 5) D. R. P. 362380

昭和 19 年 10 月

ロベリア草アルカロイドの製造に就いて

(第 4 報)

副生物質より収得せる各種塩基の塩酸 ロベリン製造原料としての適否試験

技 官 近 藤 龍
技 官 市 川 重 春
元 嘱 託 藤 田 知 一 郎

目 次

第1章	粗製塩酸ロベリンの精製試験
第2章	各種粗製ロベリア塩基の旋光度に就て
第3章	融點低き各種粗製塩基の精製分離試験
第1節	クロロホルム・エーテル再結晶法に依る融點 107~108° の塩基の精製分離試験
第2節	エーテル再結晶法に依る融點 107~108° の塩基の精 製分離試験
第3節	融點 97~98° の塩基の精製分離試験
第4章	融點高き粗製塩基（粗製ロベリン塩基）の精製分離試験
第5章	l-ロベリン及 d, l-ロベリン混和物の融點並旋光度の關 係に就て
第1節	l-ロベリン及 d, l-ロベリン混和物の融點測定
第2節	l-ロベリン及 d, l-ロベリン混和物の旋光度測定
結 論	
引 用 文 献	

余等は第1報第6章塩酸ロベリンの製造試験¹⁾に於て塩酸ロベリン製造用としてのロベリン塩基の純度に就て比較研究の結果ロベリン塩基の融點 118° 以上のものより製造せる製品は局方規定の各條項に適合すれども融點 118° 未滿の塩基を使用せし場合の製品は局方不適となるを認め（第1報第12表参照）融點 118° 未滿の塩基は豫めエーテル又はベンゾール再結晶法に依り融點 118° 以上の純度に迄精製する必要があるを記述せり。

然るに第1報記載の工業的製造私案法に依り収得するロベリア・アルカロイドの主分は融點 124~126° の塩基なりと雖も、第3報既述の如くクロロホルム轉溶工程中の副生物並 l-ロベリン採集後のエーテル性母液より得たる樹脂様物質等を處理して得らるる塩基の融點は第1表の如く何れも 118° より低きを普通とす（第3報第3章参照）。

今文献記載のロベリア主要アルカロイド並其塩酸塩の融點を表示すれば第2表の如くにして之を第1表の融點と比較對照して考察するに II は l-ロベリンを多量に含有すべく、III 及 IV は d, l-ロベリンの含量多かるべく、又 V はロベラニンを主成分とすと思ふるを至當とすべし。

第1表 工業的製造私案法に於て收得せるロベリア塩基の融點表

番 號	收 得 せ る 工 程 別	融 點
I	主 分	124~126°
II	クロロホルム轉溶工程中の副生物なる樹脂様物より分離 收得せるもの	115~117°
III	副生物並にロベリン採集後の樹脂様物より分離收得せるもの	110~114°
IV	同上及第二次結晶	107~108°
V	ロベリン採集後の母液並樹脂様物質より分離收得せるもの	105~102°
VI	粗製塩酸ロベラニン又は粗製硫酸ロベラニンより分離收得せるもの	97~98°

第2表 ロベリア主要塩基並其塩酸塩の融點一覽表

塩 基 名 稱	融 點	塩 酸 塩 名 稱	融 點
ロ ベ リ ン	130~131°	塩 酸 ロ ベ リ ン	182°
d, l-ロ ベ リ ン	110°	塩 酸 d, l-ロ ベ リ ン	170°
ロ ベ ラ ニ ン	99°	塩 酸 ロ ベ ラ ニ ン	188°
ロ ベ ラ ニ デ ン	150°	塩 酸 ロ ベ ラ ニ デ ン	135~138°

依つて之等の種々の純度のロベリア塩基は果して塩酸ロベリンの原料として使用し得るや否やを決定すると共に其融點の差に因り其精製法も亦考慮せざるべからず、例へばIIの塩基の如きは之を塩酸塩となさば融點の 175°^{*)}の製品を得る(第1報第12表 E 参照)を以て之を精製して局方適品となすを得策とするやも測られず、又 V の如きは其融點のみより見ればロベラニンに該當する部分を多量に含有すべしと考へらるるも之を塩酸塩となすに其融點 168°を示し(第1報第12表 F 参照) d, l-ロベリンの塩酸塩 (Fp 170°) に該當する故本品は大部分 d, l-ロベリンならんとも思考せらるるを以つて上述の如く豫め塩基を再結晶法に依り精製したる後塩酸ロベリン製造に使用するを捷徑とするやも知れず、かかる疑問を解決すべく實施せる検明試験成績に就き第4報として報告すべし。

第1章 粗製塩酸ロベリンの精製試験

副生物質より分離收得せる Fp 115~117° の塩基(第1表 II)を原料として製造せる塩酸塩は Fp 175°^{*)}、旋光度 -0.42° にして之より遊離せしめたる塩基は融點 115~116°^{**)}を示し局方不適なり(第1報第12表 E 参照)と雖も、之を精製する時は局方適品となすを得べきや否を確定せ

* 獨逸局方は 178° 以上を規定す, ** 日本局方 118° 以上を規定す.

んため次の如き處理法に依り精製試験を行へり。

粗製塩酸ロベリン (Fp 175°) 10 g を秤取し蒸留水 250cc (25 倍) を注加し 50° に於て加温溶解せしむるに 40 分後には殆んど溶解せるも尙僅少の結晶残存せり (水溶液は微黄色にして濁濁し汚染せり), 之を保温漏斗にて濾過するに濾紙上に褐色の汚染残渣少許を残留す。濾液 (微黄色透明, pH 5.0~5.2) は之を氷室に放置するに顆粒狀の結晶を析出せり, 依つて之をショット濾過器にて濾過し, 結晶は蒸留水 5~6cc にて一度洗滌し硫酸乾燥器中に乾燥するに Fp 177~179° の精製品 4 g (40 %) を收得せり, 結晶母液は之に 10 % HCl 10 滴を添加し pH 4.0 となし氷室に放置するに第二次結晶を析出す, 依つて之を濾過水洗後乾燥するに Fp 180° の製品 0.3 g (3 %) を收得せり。

第二次結晶母液 (微黄色透明液 pH 4.0 約 290cc) は之を二等分して 145cc 宛となし次の比較試験を行へり。

A. 局方註解法:

母液の半量 (145cc) をクロロホルム (145; 75; 40; 40cc) にて 20 分間宛 4 回振盪抽出し, クロロホルム分は合併し (300cc), 之に脱水芒硝 30 g を加へ脱水後クロロホルム分を減壓濃縮し, 茲に得たる残渣 (淡黄色透明の樹脂様物) に温水 (40~50°) 80cc を注加し良く浸出溶解せしめ一度濾過し透明溶液となし 10 % HCl にて pH 3.8 となし氷室に放置するに結晶析出せず。

B. 私案法:

母液の半量に局方エーテル 300cc [塩酸鹽理論含有量 2.85 g の約 100 倍^{*)}] を加へ 10 % NH₄OH を滴加しつつ pH 7.2 となし振盪して遊離せるロベリン塩基をエーテル中に移行せしめ分液す。水液分は更にエーテル (150cc; 75cc) を加へ 10 % NH₄OH にて順次 pH 7.8 及 8.2 となし同様に 2 回抽出處理を行ひ, エーテル抽出液は合併し (525cc), 之を脱水後濃縮し氷室に放置するに結晶を析出す, 依つて之を濾集し乾燥するに Fp 122~125° の細針狀結晶 1 g を收得す。母液は更に濃縮し氷室に放置するに第二次結晶として Fp 123° のもの 0.15 g を收得す。最後の母液は少しく粘稠となり之を約 10cc に濃縮し氷室に放置するに樹脂化し最早結晶を析出せず。

叙上の粗製塩酸ロベリンの精製試験の結果は何れも損失量多くして推奨すべき方法に非らざるを認めたり。

依つて粗製ロベリン塩基 (Fp 118° 未滿) は先づ精製して Fp 118° 以上の純度となしたる後塩酸ロベリンの製造に使用すべきものにして初めに粗製の塩酸鹽となし精製するは不得策なるを確認せり。

^{*)}母液 145cc 中には理論上 2.85g の塩酸鹽 ($(10 - (4 + 0.3)) \div 2$) を含有すべきなり。

第2章 各種粗製ロベリア塩基の旋光度に就て

第1表記載の融點低きロベリア塩基は其融點を第2表記載の文献の融點と比較照覽するに全く一致するものなく何れも單一なる塩基に非らずして各種塩基の混合物にして粗製品なりと思料す。然して粗製塩基は豫め精製して $F_p 118^\circ$ 以上となしたる後塩酸塩の製造原料となすを得策とするは既に第1章に於て記述せり。

然るに第1報に記述せる如く最も低き融點 102° の塩基も塩酸塩となすに旋光度を有す事實(第1報第12表 F 参照)より見れば若干量の *l*-ロベリンを混有するを確認し得べし、依つて各種粗製塩基の精製試験に先達つて先づ各種粗製塩基に就き融點と *l*-ロベリン含有量との關係を推察せんがために其旋光度を測定したるに第3表の結果を得たり。

第3表 各種塩基の融點並旋光度測定試験成績表

番 號	熔 融 點	旋 光 度
I	$124\sim126^\circ$	-0.61°
II	$115\sim117^\circ$	-0.44°
III	$110\sim114^\circ$	-0.12°
IV	$107\sim108^\circ$	—
V	$102\sim105^\circ$	—
VI	$96\sim97^\circ$	—
對 照	$130\sim131^\circ$	-0.64°

第3章 融點低き各種粗製塩基の精製分離試験

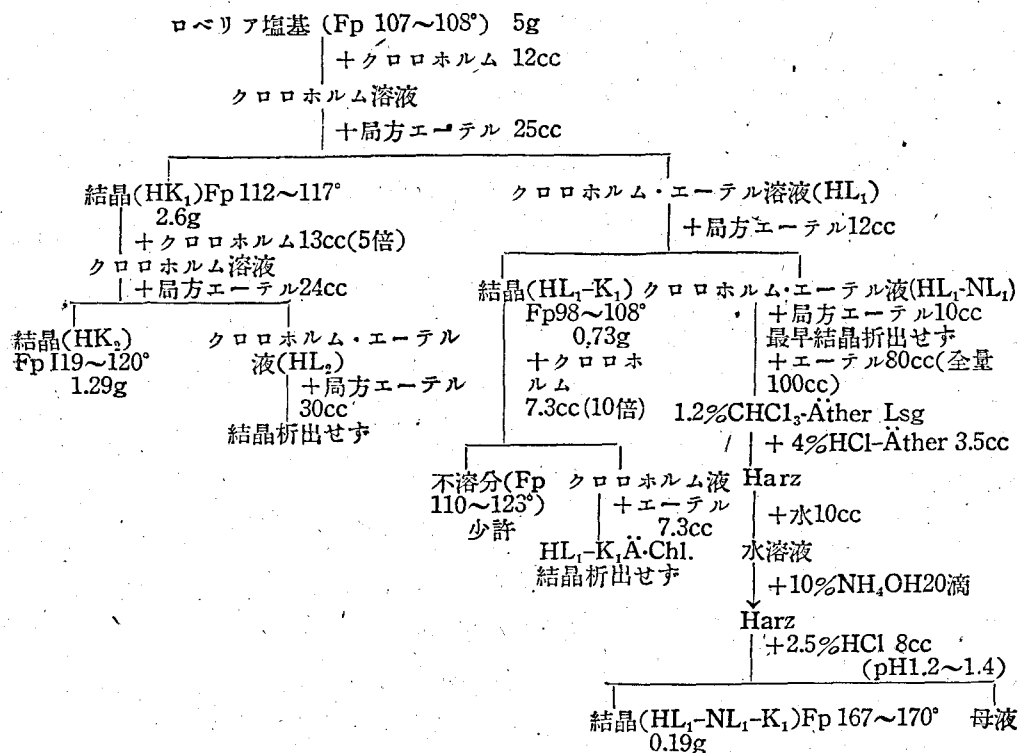
第2章の試験結果は各種塩基の1%塩酸々性溶液に於ては融點 $110\sim114^\circ$ の塩基より旋光度を確認し融點 110° 未滿の塩基にありては旋光度顯著ならずと雖も、是溶液の濃度にも依るべく融點 110° 未滿の塩基中には *l*-ロベリンを含有せざと斷定すべきに非らず、依つて旋光度を確認せざる塩基は全然 *l*-ロベリンを含有せざるや否やを決定せんがために融點低き各種粗製塩基に就き次の如き種々の精製分離試験を施行せり。

第1節 クロロホルム・エーテル再結晶法に依る融點 $107\sim108^\circ$ の塩基の精製分離試験

檢體 5 g をクロロホルム 12cc に溶解せしめたる溶液に攪拌しつつ局方エーテル (25cc) を少量宛添加し白濁するに至らしめ之を氷室に放置し結晶を析出せしむる法を繰返し行ひたるに融點 $119\sim120^\circ$ の塩基 1.29 g (25.8%), 融點 $98\sim108^\circ$ の塩基 0.73 g (14.6%) 及融點

167~170° の塩酸塩の結晶 0.19 g (3.8%) を分離取得せり (第4表参照)。

第4表 Fp 107~108° の塩基の精製分離處理圖表
(クロロホルム・エーテル再結晶法)



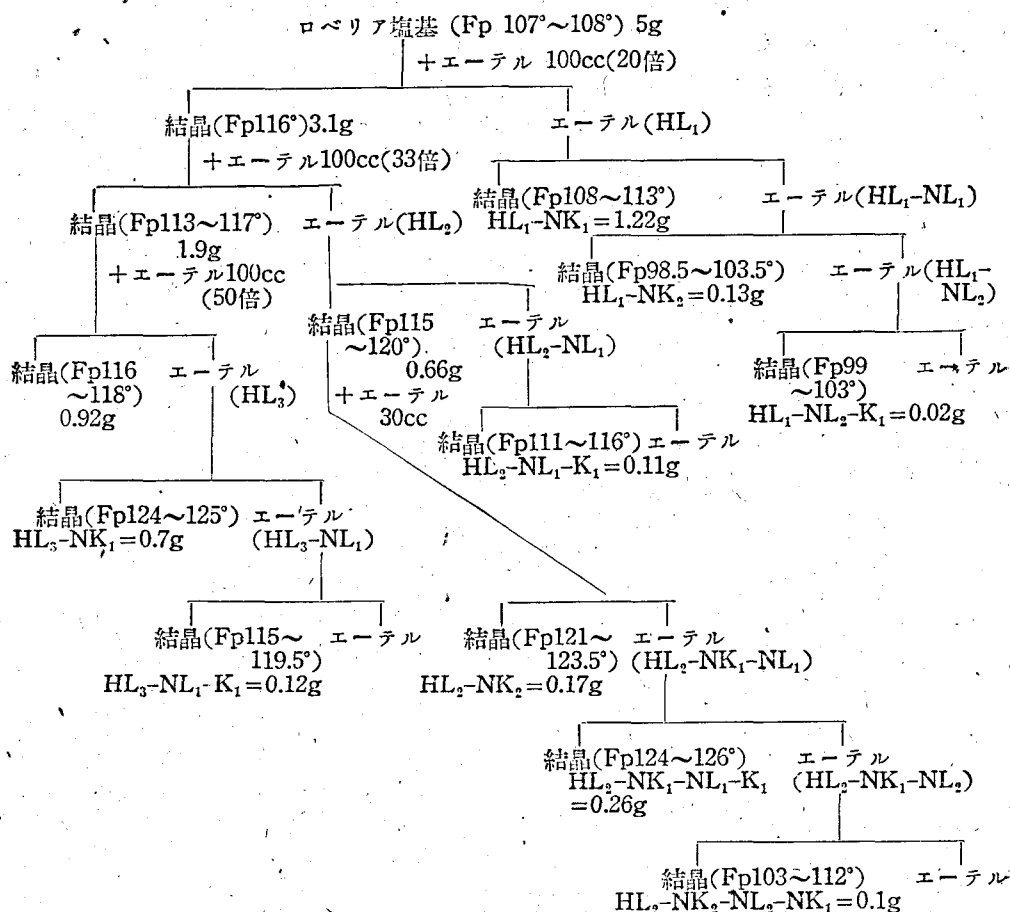
第2節 エーテル再結晶法に依る融點 107~108° の塩基の精製分離試験

檢體 5 g を秤取し局方エーテルを用ひて再結晶法を繰返へし精製試験を施行したるに 融點 120~126° の塩基 1.13 g (22.6%), 融點 115~119° の塩基 1.04 g (20.8%), 融點 103~115° の塩基 1.43 g (28.6%) 及 融點 98~103° の塩基 0.15 g (3%) を分離精製するを得たり (第5表~第7表参照)。

第3節 融點 97~98° の塩基の精製分離試験

檢體を局方エーテルにて浸漬洗滌法に依り精製分離試験を行ひたるに不溶分及再結晶品とも同一の融點(97~98°)を示したれば此不溶分に就き更にクロロホルム・エーテル再結晶法並アルコール・エーテル再結晶法に依り精製試験を施行したるに精製品は何れも融點 98~99° を示し

第5表 Fp 107~108° のロベリア塩基の精製分離處理圖表
(エーテル再結晶法)



l-ロベリンに該当する融點の塩基は分離せず。

上記試験の結果は旋光度を確認せざる融點低き塩基の中融點 107~108° のものはクロロホルム・エーテル再結晶法並エーテル再結晶法に依り精製すれば d, l-ロベリン及ロベラニン等の副アルカロイドを分離して旋光度を確認し得べき融點の粗製ロベリン塩基を精製し得べきを示し融點 110° 未滿の塩基中にも l-ロベリンを含有するを認めたり。然るに融點 97~98° の塩基は何れの再結晶法に依り精製するも融點の變化を示さずロベラニン塩基なるを認めたり。

第4章 融點高き粗製塩基(粗製ロベリン塩基)の精製分離試験

文献に依れば純ロベリン塩基の融點は 130~131° ならば余等が第1報塩酸ロベリン製造に¹⁾

第 6 表 Fp 107~108° のロベリア塩基 5g を局方エーテルにて 3 回精製せる収得量表

第一回精製試験成績			第二回精製試験成績			第三回精製試験成績		
融 點 (°)	収得量 (g)	収得率 (%)	融 點 (°)	収得量 (g)	収得率 (%)	融 點 (°)	収得量 (g)	収得率 (%)
116	3.1	62.0	116~117	1.9	38.0	116~118	0.92	18.4
98.5~103	0.13	2.6	98.5~103	0.13	2.6	98.5~103	0.13	2.6
99~103	0.02	0.4	99~103	0.02	0.4	99~103	0.02	0.4
108~113	1.22	24.4	108~113	1.22	24.4	108~113	1.22	24.4
			111~116	0.11	2.2	111~116	0.11	2.2
			124~126	0.26	5.2	124~126	0.26	5.2
			103~112	0.10	2.0	103~112	0.10	2.0
			121~125	0.17	3.4	121~125	0.17	3.4
						115~119.5	0.12	2.4
						124~125	0.70	14.0
計	4.47	89.4	計	3.91	78.2	計	3.75	75.0

第 7 表 Fp 107~108° のロベリア塩基 5g を局方エーテルにて 3 回精製せる綜合成績表

融 點 (°)	収得量 (g)	収得率 (%)	備 考
98~103	0.15	3.0	HL ₁ -NK ₂ (0.13g)+HL ₁ -NL ₂ -K ₁ (0.02g)
103~115	1.43	28.6	HL ₁ -NK ₁ (1.22g)+HL ₂ -NL ₁ -K ₁ (0.11g)+HL ₂ -NK ₁ -NL ₂ -NK ₁ (0.1g)
115~119	1.04	20.8	HK ₁ (0.92g)+HL ₃ -NL ₁ -K ₁ (0.12g)
120~126	1.13	22.6	HL ₃ -NK ₁ (0.7g)+HL ₂ -NK ₂ (0.17g)+HL ₂ -NK ₁ -NL ₁ -K ₁ (0.26g)
計	3.75	75.0	

使用せし融點 118° 以上の旋光度を確認する塩基は粗製ロベリンと稱するを至當と思考す。

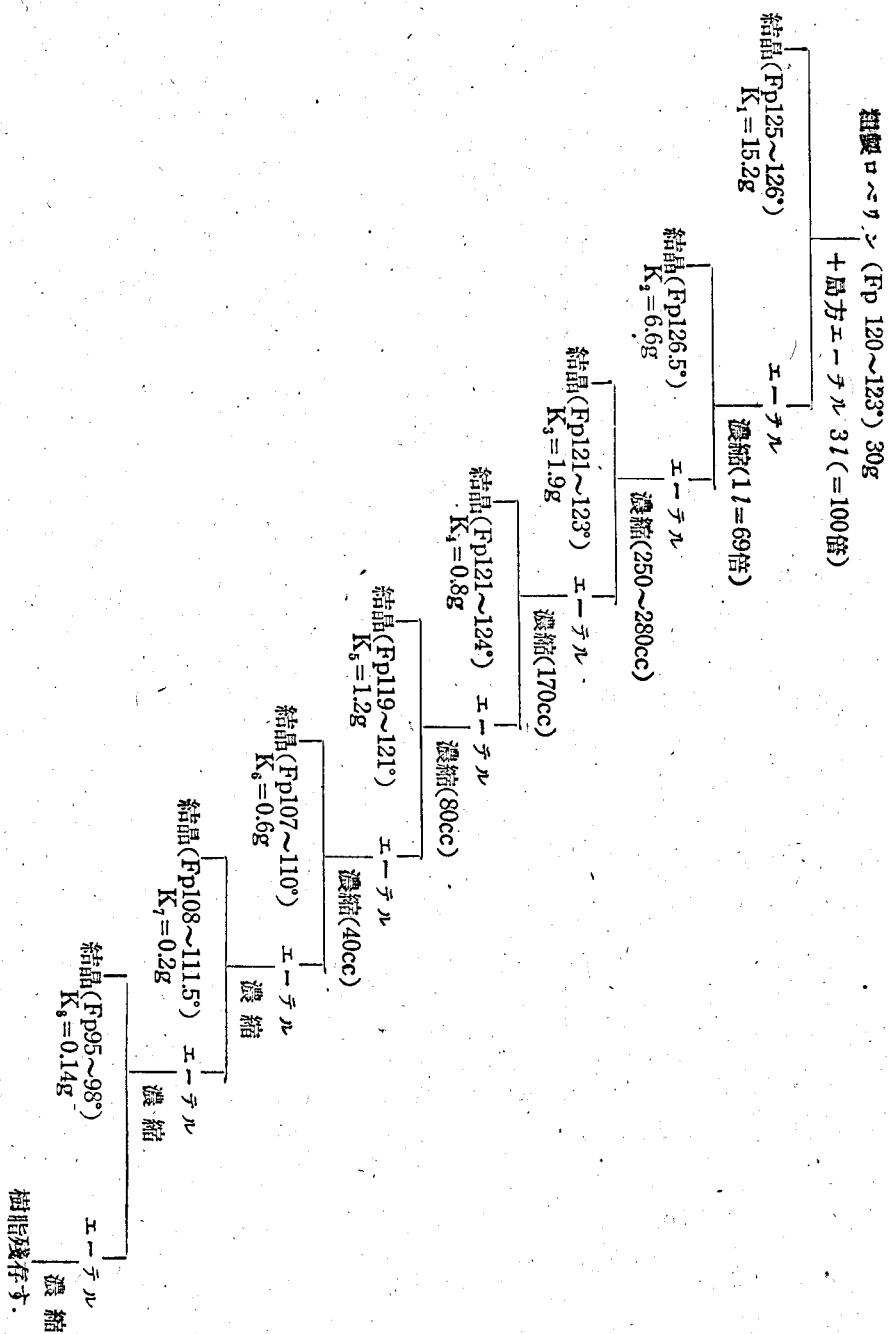
既述の如く融點 118° 以上の純度の粗製ロベリンは局方塩酸ロベリンの製造原料として何等支障なけれ共前章試験の結果旋光度を確認せざる程度の融點低き塩基の d,l-ロベリン及ロベラニン含有量と旋光度を確認し得べき程度の融點高き粗製塩基(粗製ロベリン)の d,l-ロベリン及ロベラニン含有量との関係を知らんがため先づ中間程度の融點即ち 120~122° の粗製ロベリン^{*}に就き精製分離試験をエーテル再結晶法に依り施行したるに第 8 表の如き結果を得たり。

第 8 表の成績を總括分類して各種塩基の収得量並収得率を表示すれば第 9 表を得。

第 9 表に見る如く粗製ロベリン塩基のエーテル再結晶法に依る分離精製の結果は本粗製塩基は塩酸ロベリン製造用として適用し得べきロベリン塩基 25.7 g (87.9%), d,l-ロベリンに該當する塩基 0.8 g (2.6%) 及ロベラニンに該當する塩基 0.14 g (0.46%) より成り非結晶性の

* 本検査は第 1 報第 7 章 塩酸ロベリンの製造の實驗仕込番號の 6~15 の殘品にして平均 94.03 % の収得率を以つて局方適品を収得せるものなり(第 1 報第 13 表参照)。

第 8 表 粗製ロベリン (Fp 120~123°) の精製分離處理圖表



第9表 Fp 120~123° の粗製ロベリン塩基 30g の精製試験成績表

融 點 (°)	收 得 量 (g)	收 得 率 (%)	備 考
125~126	21.8	72.6	K ₁ (15.2g)+K ₂ (6.6g)
121~124	2.7	9.0	K ₃ (1.9g)+K ₄ (0.8g)
119~121	1.2	6.3	K ₅ (1.2g)
107~116	0.8	2.6	K ₆ (0.6g)+K ₇ (0.2g)
95~98	0.14	0.46	K ₈ (0.14g)
計	26.64	90.96	

不純物 3.36 g (9.04 %) を含有せり。

然して茲に精製分離せる融點 119° 以上の塩基 (25.7 g) を原料として塩酸ロベリンを製造したるに融點 180° の塩酸ロベリン 27.29 g を收得し (收得率 95.83 %) 之より分離せる塩基の融點は 120~123° を示し局方適品となるを認めたり。

第5章 l-ロベリン及 d,l-ロベリン混和物の融點並旋光度の關係に就て

工業的製造私案法の各工程に於ける副生物質より精製分離せる各種の副アルカロイド中 d,l-ロベリンを光學的分割處理すれば l-ロベリンとなすを得べく、ロベラニンは接觸還元すれば d,l-ロベリンを得、又ノルロベラニンはメチル化してロベラニンとなし、ノルロベラニヂンはメチル化してロベラニヂンとなし酸化すればロベラニンを得茲に得たるロベラニンを接觸還元して d, l-ロベリンとなし光學的分割處理法に附せば l-ロベリンを收得し得べし³⁾ (第3報第1圖表参照) と雖も、第4章の精製分離試験成績の如き l-ロベリンに d, l-ロベリンの混有せる粗製ロベリン (Fp 118° 以上) を原料とし塩酸ロベリンを製造するも局方塩酸ロベリンの規格に適合するは第1報第7章の實驗に於て立證せり。

依つて更に純粹の l-ロベリンに對し d, l-ロベリンを幾何%迄混和するも局方適品となるやを決定し d, l-ロベリンの分割處理を省略せんと欲し種々の % の混和物を調製し次に記述するが如き方法に依り其融點並旋光度を測定したるに第10表~第11表の成績を得たり。

第1節 l-ロベリン及 d, l-ロベリン混和物の融點測定

檢體 l-ロベリンはエーテルより再結晶して得たる針狀結晶にして融點 130~131° d, l-ロベリンはアルコールより再結晶せるプリズム狀結晶にして融點 110° なり。

測定法： 兩塩基の下記各種割合の混和物をエーテルに溶解したる溶液より エーテルを溜去して得たる殘渣を瑪瑙乳鉢中にて研磨せる後眞空乾燥せるものに就き毛管法に依り融點を測

定す、但し融點測定は日本薬局方規定の方法に準據し参考として始融點及透明點をも測定す、茲に始融點は檢體の收縮し始むる點、融點は檢體全體が正に液狀となりたる點を求めたり。

註：熔融點の欄中 3 個の數字を記載せるは左より順次始融點融點透明點を示す。

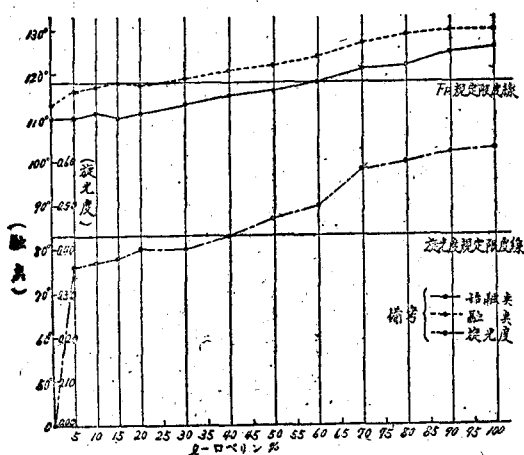
第2節 l-ロベリン及 d,l-ロベリン混和物の旋光度測定

第1節の融點測定に使用せる兩塩基の各種檢體 0.2 g を水 20cc に浮遊せしめ攪拌しつゝ稀

第10表 l-ロベリン並 d,l-ロベリン混和比と其融點並旋光度試験成績表

番 號	兩 塩 基 混 和 比		l-ロベリン 含 有 率 (%)	兩 塩 基 混 和 物			
	l-ロベリン	d,l-ロベリン		溶 融 點	旋光度	溫度	pH
1	—	1.00	0	110~113~115	—	—	—
2	0.05	0.95	5	110~116~117	-0.36	20°	(B.P.B) 3.2
3	0.10	0.90	10	111~117	-0.37	"	"
4	0.15	0.85	15	110~118	-0.38	"	3.4
5	0.20	0.80	20	111~117.5	-0.40	"	3.2
6	0.30	0.70	30	113~119	-0.40	"	"
7	0.40	0.60	40	115~121	-0.43	"	3.4
8	0.50	0.50	50	116~122	-0.47	"	3.2
9	0.60	0.40	60	118~124	-0.50	"	3.4
10	0.70	0.30	70	121~127	-0.58	"	3.2
11	0.80	0.20	80	122~129	-0.60	"	"
12	0.90	0.10	90	125~130	-0.62	"	3.0
13	1.00	—	100	126~130	-0.63	"	(B.C.G.) 4.4

第11表 l-ロベリン及 d,l-ロベリン
混和物の融點曲線並旋光度圖表



塩酸を滴加して酸性となし完全に溶解せしめたる後濾過し其混液を測定管 (層長 1 dm) に採り 20° に於て Mitscherlich 氏偏光計に依り旋光度を測定す。

第10表の結果は旋光度に於ては l-ロベリン 40 : d,l-ロベリン 60 の比に混和するも規定の旋光度を示し、融點に於ては l-ロベリン 60 : d,l-ロベリン 40 の比に混和するも規定の融點を示し結局 l-ロベリンに對し d,l-ロベリンの混和限度は 40 % なるを示せり。

依つて此兩塩基の混和限度の混和物を原料とし第1報第7章に準據し塩酸ロベリンを製造したるに融點 180° の塩酸ロベリンを得、之より分離せる塩基の融點は 118° 以上を示し局方適品となるを認めたり。

以上の試験成績を總括して結論すれば次の如し。

結 論

1. 第3報記述の處理法に依りて副生物質より分離收得せる塩基は其純度區々にして直ちに局方塩酸ロベリンの製造原料となす能はざるものもあり、之等を原料として塩酸ロベリンを製造するに際し先づ塩基を一定限度迄 (Fp 118° 以上) 精製したる後局方塩酸ロベリンを製造する法と先に粗製塩酸ロベリンを製し之を精製し局方品となす法との優劣を比較試験せる結果後者は損失量多くして推奨すべき方法に非らず、粗製塩基は先づ精製して Fp 118° 以上の純度となしたる後塩酸ロベリン製造原料となすの有利なるを確認せり。

2. 各種粗製塩基の溶融點と *l*-ロベリン含有量との關係を推察せんがため其旋光度を測定したるに 1% 塩酸々性溶液に於ては Fp 110° ~ 114° の塩基より旋光度を確認し、Fp 110° 未滿の塩基にありては旋光度顯著ならず。

3. 旋光度顯著ならざる低融點の塩基は全然 *l*-ロベリンを含有せざるや否やを決定せんがために各種塩基に就き種々の精製分離試験の結果次の成績を得たり。

a) Fp 107° ~ 108° の塩基をクロロホルム・エーテル再結晶法に依り精製分離したるに Fp 119° ~ 120° の塩基 25.8%, Fp 98° ~ 108° の塩基 14.6% 及 Fp 167° ~ 170° の塩酸塩 3.8% を分離收得せり。

b) Fp 107° ~ 108° の塩基をエーテル再結晶法に依り精製したるに Fp 120° ~ 126° の塩基 22.6%, Fp 115° ~ 119° の塩基 20.8%, Fp 103° ~ 115° の塩基 28.6% 及 Fp 98° ~ 103° の塩基 3% を分離收得せり。

c) Fp 97° ~ 98° の塩基は何れの製精法に依るも精製品は Fp 98° ~ 99° を示し *l*-ロベリンに該當する Fp の塩基は分離せず。

4. 旋光度を確認せる塩基の *l*-ロベリン含有量の程度を確認せんと欲し Fp 124° ~ 126° の粗製塩基のエーテル再結晶法に依り分離精製せる結果は Fp 118° 以上の塩基 87.9%, *d,l*-ロベリン 2.6%, ロベラニン 0.46% 及非結晶性不純物 9.04% より成れるを示せり。

5. 副生物質より分離精製せる各種副アルカロイドを *d,l*-ロベリンとして利用するに際し純粹の *l*-ロベリンに對し混和し得べき極限を知らんと欲し兩塩基の種々の比例の混和物を調製し其 Fp 並旋光度を測定したるに旋光度に於ては *l*-ロベリン 40 : *d,l*-ロベリン 60 の比に混和するも規定の旋光度を示し、Fp に於ては *l*-ロベリン 60 : *d,l*-ロベリン 40 の比に混和

するも規定の F_p を示し結局 *l*-ロベリンに對し *d,l*-ロベリンの混和限度は 40% なるを示せり。

6. 兩塩基の混和限度の混和物を原料として製造せる塩酸ロベリンは局方適品なるを認めたり。

引用文献

- 1) 近藤・市川・藤田：當所彙報 61, 77~80 (昭和 18 年 3 月)
- 2) 近藤・市川・藤田：當所彙報 66, 23 (昭和 23 年 11 月)
- 3) 近藤・荅口：當所彙報 55, 22 (昭和 15 年)

昭和 19 年 10 月

タール塩基を原料とするニコチン酸の製造試験

(第一報)

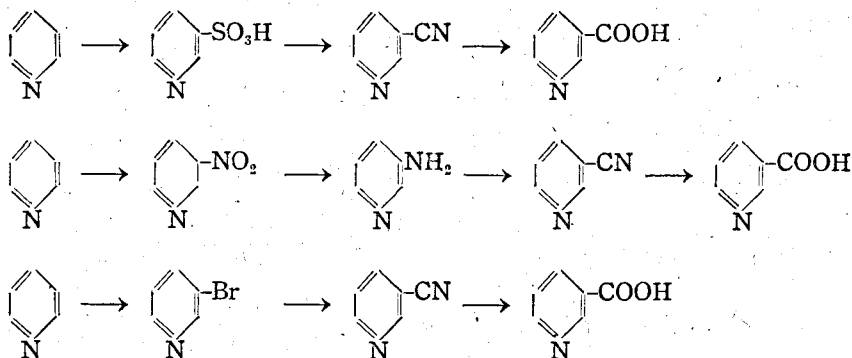
技 官 菅 野 三 郎

助 手 竹 江 玉 枝

ニコチン酸は抗ペラグラ性ビタミンとしてのみならず強心剤コラミンの原料として極めて重要なにかんがみ、石炭タール塩基より簡便にニコチン酸を合成する意圖を以て先づ最初にタール塩基の基礎原料としてピリジン、ヒノリン、ルチデンを選び、その製造比較試験を実施した。その中、ピリジンのブロム化及びヒノリンのニトロ化に就いては、精細な比較合成を行つたので、特に詳しく報告したいと思う。

(A) ピリジンよりニコチン酸の合成

ピリジンよりニコチン酸に到達する方法としては次の三通りの方法が考えられる。



此の中、ピリジンのスルホン化及びニトロ化は収量極めて不良で到底製造試験には不適當であるとみなさざるを得なかつたので、第三の方法即ちピリジンのブロム化に依る方法を検討することにした。

1. ピリジンのブロム化

Maier-Bode¹⁾ はピリジン塩酸塩に昇汞を觸媒とし熔融状態に於いて臭素を滴加反應せしめ、3-ブロムピリジン及び 3,5-ジブロムピリジンを得た。然るにその方法に従えば、ピリジン 1 mol に對し臭素 2 mol 以上の大過剰を用いてゐる故に原料上不經濟な難點を有するのみならず、3-ブロムピリジンの收得率は僅かに 27.5% であるに反し、3,5-ジブロムピリジンの收得率は 55% の多きに達する故に、3-ブロムピリジンの製法としては甚だ不適當であつた。

宮木及び片岡兩氏は此の方法を追試し、臭素を蒸氣状態に於いて導入反應せしめた結果を報告して居られる。²⁾ 筆者等も此の方法を追試し、更に 3,5-ジブロムピリジンが塩酸々性に於いても水蒸氣蒸溜され得る事に着目して、3-ブロムピリジンとの分離を充分ならしめるようにした結果、次のような成績を得た。

ピリジン	Br ₂	時間	回収ピリジン	ブロムピリジン	ジブロムピリジン
40g	30cc.	3	15g	14g	10.5g
"	"	6	14g	14g	14g
"	"	6	12g	13g	17g

此の結果に依れば次の如き不利な點がある。

1. 原料ピリジンは能う限り脱水することを要する。
2. 臭素の導入時間が長びけば、それにつれて副成物たる 3,5-ジブロムピリジンの量が増大し、回収ピリジンの量が減少するにも拘らず、3-ブロムピリジンの量は増大せず、従つて時間的ファクターを考慮する必要がある。

然るに一方、Englert 及び Mc Elvain³⁾ はピリジン HBr 塩に氷醋酸溶液中に於いて臭素を滴加し、氷醋酸を溜去して得たる Pyridin-HBr-Perbromid を加熱せしめて臭素の核内轉位を行い、3-ブロムピリジン及び 3,5-ジブロムピリジンを得ることを報告してゐる。此の際注目すべきことは、ピリジン HBr 塩 1 モルに對し、 $\frac{1}{2}$ モルの臭素を附加せしめた Perbromid は 3-ブロムピリジンと 3,5-ジブロムピリジンとの混合物を與え 1 モルの臭素を附加せしめた Perbromid は 3,5-ジブロムピリジンのみを與えると記載してゐることである。然りとすれば MaierBode の方法に比し、臭素は少量にて足り、更に時間的ファクターを顧慮する必要なく、工業的に遙かに有利である。然るに筆者等の追試に依れば次の如き缺點をまぬかれなかつた。

1. 氷醋酸は脱水することを要する。
2. Pyridin-HBr-Perbromid に附着せる氷醋酸を能う限り除去することなく加熱を行えば Bromoform の生成をみ、3-ブロムピリジンの生成を全くみない。たとえ、氷醋酸を能う限り除去したとしても（素焼板上に塗りつぶし、減壓乾燥器中に數日放置。）得量は著しく不良であり、ピリジン 40g より 3-ブロムピリジン 6g を得たに過ぎない。

Bromoform の生成は恐らく氷醋酸の存在に歸因するのであろう。若し果して然りとすれば、Perbromid を製するに當つて氷醋酸に代えるに他の適當な溶媒を以てするならば臭素の核内轉位は豫期通り行はなければならない筈である。筆者等は次の如き條件に適する溶媒としてメタノールを選んだ。

1. ピリジン-HBr 塩を溶解しなくてはならぬ。

2. 臭素を消費するものであつてはならぬ。
3. 経済的に安価であり、資源的に豊富でなくてはならぬ。
4. 生成せる Perbromid を破壊するものであつてはならぬ。

ピリジン-HBr 塩は極性化合物である故、溶媒も亦極性の大きなものでなくてはならぬ。然るに氷は 1, 2, 3, の条件には適合するけれども、4 の条件には適合しない。Perbromid は水の存在下徐々に臭素を脱離することが認められたからである。溶媒としてメタノールを選んだゆえんである。又メタノールは分溜のみによつて脱水が可能である故、氷醋の脱水の如く困難ではない。

さてメタノールを溶媒として Perbromid を製し、その加熱による臭素の核内転位を行はしめた結果は次の通りである。

ピリジン	Br ₂	回収ピリジン	3-ブロムピリジン	3,5-ジブロムピリジン
40g	40g	26g	12.5g	8g
"	60g	24g	14g	12g
"	80g	21g	15g	15g

此の結果によればピリジン-HBr 塩 1 モルに對し、1 モルの臭素を附加せしめた Perbromid は 3,5-ジブロムピリジンのみを與えらるやう。Englret 及び McElvain の記載と一致しない。かえつて、3-ブロムピリジンの收得量は 1/2 モルの臭素を附加せしめた Perbromid の與える收得量よりもやゝ増加してゐる。とは云え、臭素を基準として計算した收得率は 1/2 モルの臭素を附加せしめた Perbromid の方が良好である故、工業的にはこれが有利であらう。

此の方法の有利と認むべき點をあければ

1. 臭素の量が少くてすむ。
2. Maier-Bode 法の如く觸媒を必要としない。
3. 時間的ファクターを考慮する必要なく得量は常に凡そ一定である。
4. 溶媒メタノールは氷醋に比し安価であり、且つ又回収可能である。

猶觸媒として昇汞を加えたならば 3-ブロムピリジンと 3,5-ジブロムピリジンとの收得率に何等かの變化を認め得るに非ずやとの意圖のもとに少量の昇汞を添加して試みたけれども著明な變化はみられなかつた。

實 験 の 部

1. 酸化バリウムにて完全に乾燥せるピリジン 40g に氷冷下乾燥塩酸ガスを通じて塩酸塩となし、昇汞 8g を添加し、溫度 210~220° に於いて、乾燥臭素 30c.c. を乾燥炭酸ガスにて

揮散せしめながら導入する。導入後、そのまゝ、水蒸気蒸溜をなし、溜出する 3,5-ジブロムピリヂンを濾取、アルコールより再結晶する。Fp. 110°. 次に残液をナトロソアルカリ性となし、再び水蒸気蒸溜に附して溜出せるピリヂン及び 3-ブロムピリヂンをナトロンにて塩析後、エーテルにて振盪抽出、苛性カリ乾燥後分溜する。3-ブロムピリヂンの Kp 165~170°. 各物質の収得量は前記の通り。

2. ピリヂン 40g に氷冷下ブロム水素酸 48% 溶液計算量を滴加して後減壓濃縮しピリヂン-HBr 塩を作り、メタノール 150cc. を加えて溶解せしめ、次いで氷冷下臭素 40g を攪拌下徐々に滴加する。滴加後再び減壓濃縮してメタノールを溜去し、こゝに得たる Pyridin-HBr-Perbromid を浴温 230~250° に 6~8 時間加熱する。その後の操作は前記の通り。

2. 3-シアノピリヂン

3-ブロムピリヂンの Br を CN に置換せしめる事はチアン第一銅によつて達せられる。⁴⁾ 原報の記載によればその収得率は僅かに 50% であるが筆者等の追試によれば最高 90% 近くまで高める事が出来た。

3-ブロムピリヂン	CuCN	時間	温度	収得量	収得率
15.8g	9g(1 mol)	1	165~170	5.5g	52%
"	13.5g(1.5mol)	1	"	6.2g	60%
"	"	1.5	220~230	7g	69%
"	"	1.5	180~190	2.3g	19%
"	18g	1.5	"	9.3g	89%
"	18g	1.5	"	9.1g	88%

此の結果によれば 3-シアノピリヂンの収得量を高めるには次の注意が肝要である。

1. 必要以上の温度をかけない事。
2. 必要以上の時間をかけない事。

即ち、必要以上の温度及び時間は反応混合物の粘着性を増大し、樹脂化を促進する事が認められた。

実験の部

3-ブロムピリヂン 15.8g, 新たに製したチアン銅 13.5g をゼーベルフラスコに入れ、浴温 180~190° に 1.5 時間加熱後そのまゝ減壓蒸溜する。Kp₄₅ 105~110°. これを氷冷した後、素焼板上にて微量の油状物質を除く。Fp 49~50°. 白色針状晶。

3. ニコチン酸

3-シアノピリヂンを苛性ソーダを以て加水分解すれば、極めて簡単にニコチン酸に変化する。⁴⁾ 原報に依れば溶媒として 70% アルコールを記載してゐるけれども唯單に水のみで充分であり、従つて 70% アルコール溶媒を一度蒸發しなければならない手間を省くことができた。

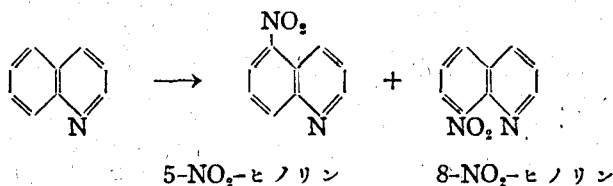
実験の部

苛性ソーダ 8g を水 15cc. に溶解しこれに 3-シアノピリヂン 7.2g を加え、水浴上にて時々振盪しつつ加温すれば、急速に反應を起し、3-シアノピリヂンは溶消する。更に 30 分加温し次いで反應の結果生じたアンモニヤを追出するため 10 分間煮沸せしめ、冷後計算量の塩酸 (35% HCl 21g) にて中和し、析出せる結晶を水より再結晶する。Fp 231~232°。小針狀白色結晶。收量 7.6g. 90%。

(B) ヒノリンよりニコチン酸の合成

ヒノリンを中性或いはアルカリ性にて過マンガン酸カリを以て酸化すれば、ヒノリン酸を生ずる事は周知の事實であるけれども、筆者等の追試に依るに、その收量は約 42% を挙げ得たに過ぎない。若しヒノリンに代るにヒノリンより誘導せるニトロ置換體、或いはアミノ置換體を以てするならば收量を高めることができないであらうか、更に出來得べくば現在拂底状態にある過マンガン酸カリに代るに他の酸化劑例えば硝酸の如きものを以てすることが出來ないであらうか、かゝる見地よりして、ヒノリンのニトロ化及びそれらニトロ置換體の還元を吟味した次第である。

(1) ヒノリンのニトロ化



ヒノリンのニトロ化はその基礎的重要性にも拘わらずその反應條件を検討した記載は殆どない。文献に依るに次の三通りの記載がある。

(A) Claus 及び Kramer の方法⁵⁾

(B) Claus 及び Setzer の方法⁶⁾

(C) Meigen の方法⁷⁾

此の中、(A) 法は樹脂及びデニトロ化合物を大量に生成し (B) 法亦著明の樹脂化を防ぎ得ない。これら樹脂化の原因を考えるに

- (1) 硝酸の量は原料ヒノリンに對し大過剰 ((A)法は約 10 モル, (B) 法は約 3 モル) を用いてゐるが爲に酸化作用の起り得ること。
- (2) 操作上ヒノリンを硝酸中に滴加するが爲に常に硝酸は過剰であり, その爲酸化作用は益々促進せられ得ること。
- (3) (A) 法, (B) 法共に反應混合物を長時間加温或いは放置する故にその間に酸化作用の進行し得ること。

などであろう。又 (C) 法に依るに樹脂化の程度は前二法に於けるよりもやゝ僅少ではあるけれども, 筆者等の追試に依ればその收得率は文献記載の 89% を遙かに下つて約 60% を挙げ得たに過ぎない。前二法に比しやゝ長所と認むべき操作上の特徴はニトロ化を徐々に行はしめる目的を以て, ヒノリンを溶解せる發煙硫酸層を下層に, 發煙硝酸を上層に靜置して二層を形成せしめ, その接觸面より徐々に反應を進行せしめてゐる事である。かゝる特異な操作を以てしても, 猶且樹脂化を防ぎ得ず收量 60% 以上に舉がり得ないのは, その接觸面に相當の温度上昇を來すが爲であらうか。

以上の考察よりして筆者等はニトロ化の常法, 即ちヒノリンを溶解せる發煙硫酸液中に冷却攪拌下硫酸を滴加する方法を以て最も合理的であるとみなし, 更に温度, 發煙硫酸の濃度, 硝酸のモル数の三要素をも考慮しつゝ検討した結果次の如き成績を得た。

	Chinolin (g)	發煙硫酸		發煙硝酸 (d=1.497/15°C) g(mol)	硝酸滴 加中の 温度	硝酸滴加 終了後		5-Nitrochi. (g)	8-Nitrochi. (g)	收得 率 (%)
		(g)	比重(15°C)			温度	時間			
1.	20	60	1.982	31.5g(3mol)	0~3°	80°	2	3	3	22.2
2.	20	60	1.982	15.7g(1.5mol)	"	80°	2	6	7	48.1
3.	20	60	1.982	15.7g(1.5mol)	"	0°	0.5	8.8	9	65.9
4.	20	60	1.974	15.7g(1.5mol)	"	80°	0.5	8	8.5	61.1
5.	20	60	1.974	15.7g(1.5mol)	"	0°	0.5	8.8	9.2	66.6
6.	20	60	1.924	31.5g(3mol)	"	15°	12	4	4.5	31.4
7.	20	60	1.924	15.7g(1.5mol)	"	0°	1	9.2	9.5	69.2
8.	20	60	1.924	13.7g(1.3mol)	"	0°	10分	10.2	10.2	75.5
6.	20	60	1.842	15.7g(1.5mol)	"	0°	1	2	2.5	16.6

上表より次の事が結論され得る。

1. 發煙硫酸の濃度は比重 1.924/15° 附近のものを以て最適なりとみなすを得べく, それ以上の高濃度或いは 98% 硫酸を以てしては樹脂様物質の副生を増大する傾向がある。

(註) (1) 比重 1.994~1.982 の發煙硫酸は常温に於いて結晶状である爲その比重測定には, 先づ一度發煙硫酸に温度をかけて溶解せしめ, 靜かに温度を下降せしめて, 液状を保たせ, Pyknometer を以て測定した。

(2) 上表中 8-Nitrochinolin は全く純粋な物ではなく, 微量の 5-Nitrochinolin を夾雜する。

2. ニトロ化は硝酸滴加と殆んど同時に完結する故に、反応混合物を加温或いは放置する必要なく、むしろ樹脂化を促進する意味からして不利である。

猶硝酸中に混在する亜硝酸の影響より全く隔離する目的を以て硝石を用いて試みたけれどもその結果は次の如くあまり良好とは云えない。

Chinolin (g)	發煙硫酸又は硫酸		硝 石 (g)(mol)	温 度	時 間	5-Nitro. 收 得 量 (g)	8-Nitro- 收 得 量 (g)	收得率 %
	(g)	比重/15°C						
20	60	1.924	17.3(1.1)	80°	5	4.2	4.3	31.4
20	60	1.842	17.3(1.1)	80°	5	3.2	3	23

實 験 の 部

ヒノリン 20g に攪拌冷却下比重 1.842/15° の濃硫酸 15g を徐々に加えて硫酸塩を作りたる後、發煙硫酸 (d=1.924) 60g を注加して攪拌を続け、硫酸塩が全溶するのを待つて發煙硝酸 (d=1.497/15°) 13.7g と發煙硫酸 20g の混液を分液漏斗より極めて徐々に滴加する。此の時温度 0~3° に保たれるよう注意する。滴加終了後更に 10 分間攪拌を續けたる後反應液を氷水中に注加する。析出せる少量の樹脂を濾去し、濾液に氷片を加えて濃アンモニヤ水にて徐々に中和する。再び析出せる少量の樹脂を濾去し、濾液を濃アンモニヤ水にてアルカリ性となす。析出せる結晶を濾取して、これを稀硝酸 (D=1.12) 200cc. に温時溶解せしめ、活性炭を以て處理した後放冷すれば 5-ニトロヒノリンの硝酸塩の黄色粉末狀結晶が析出して来る。これを濾別し濾液を中和すれば微量の 5-ニトロヒノリンを混じた 8-ニトロヒノリン析出。收量 10.2g. Fp 84~85°。アルコールより一度再結晶して 5-ニトロヒノリンを除けば Fp 89~90°を示し、0-ニトラニリンのスクラウプ反應に依つて合成した 8-ニトロヒノリンと混融して融點の降下をみない。先に濾別した 5-ニトロヒノリンの硝酸塩はこれを温水約 200cc. に溶解し活性炭を以て處理した後アンモニヤアルカリ性となれば 5-ニトロヒノリン析出。Fp 72°。收量 10.2g.

(2) アミノヒノリン

ニトロヒノリンを還元してアミノヒノリンとするには文献に依れば

1. 鐵と塩酸⁸⁾
2. 亜クロール錫と塩酸⁹⁾

などの方法があるけれども、その操作上の詳細に關しては全く省略せられてゐる。筆者等は工業的見地よりして (1) の方法を採用した。

先づ筆者等はアミノヒノリンの性質を調べる爲ニトロヒノリンを Pd-炭に依る接觸還元

附した。此の際興味ある事は、5-ニトロ置換體は圓滑に理論量の水素を吸収するに反し、8-ニトロ置換體は途中にて水素の吸収を中止する事である。さて、かくして得られた 5-アミノヒノリンは、これを水蒸氣蒸溜に附したところ、全く溜出しない事が判明した。然るにその水に対する溶解度は熱時相當に可溶である。此の事實を利用して實驗の部に記すが如く鐵化合物より簡単に分離し得た。8-アミノヒノリンは 5-アミノヒノリンと違つて水蒸氣蒸溜のなし得られる事は Claus 及び Kramer の指摘したところであり、その精製は極めて簡單である。

實 験 の 部

(1) 5-ニトロヒノリンの接觸還元

5-ニトロヒノリン 1.74g を K. HCl 4.5g, 水 20cc. に溶解し Pd-炭にて接觸還元する。水素吸収後、觸媒を濾去し、濾液を苛性ソーダアルカリ性となれば 5-アミノヒノリン析出。眞空乾燥して結晶水を飛ばしたものの融點 110° 。收量 1.37g. 95%。

(2) 5-ニトロヒノリンの鐵と塩酸とに依る還元

5-ニトロヒノリン 6.96g を鐵粉 14g (計算量の約 2倍) 水 200cc. K.HCl 1.5g より成る混合物に攪伴下 $80\sim 90^{\circ}$ に於いて徐々に加える。更には 2~3 時間加熱攪拌を續けた後炭酸ソーダ 1g にて弱アルカリ性となし熱時急速に濾過する。濾液を食塩を以て塩析すれば 5-アミノヒノリン析出。收量 4.6~4.9g. $80\sim 85\%$ 。Fp 110°

(3) 8-ニトロヒノリンの鐵と塩酸とに依る還元

8-ニトロヒノリン 20.88g を鐵粉 42g, 水 100cc, K·HCl 3g を以て前記同様還元したる後苛性ソーダにて強アルカリ性となし水蒸氣蒸溜を行う。收量 13~13.8g, $75\sim 80\%$ Fp 65° 。

(3) ヒノリン及びヒノリン誘導體の酸化

ヒノリン及び前述のニトロヒノリン・アミノヒノリンを夫々過マンガン酸カリ酸化及び硝酸酸化した結果は次の通りである。

1. ヒノリン, ニトロヒノリン, アミノヒノリン共に硝酸にてはヒノリン酸に誘導することは出来ない。
2. ニトロヒノリン, アミノヒノリン共に過マンガン酸カリにてはヒノリン酸に誘導することが出来るけれどもその收量はヒノリンそのものに比して決して有利と認める事は出来ない。その成績次の通り。

	使用量(g)	KMnO ₄ (g)	收得量(g)	收得率(%)
ヒ ノ リ ン	10	120	5.5	42.7
5-ニトロヒノリン	10.44	120	4.5	45

8-	"	10.44	120	4	40
5-アミノピノリン		7.2	80	1.5	18
8-	"	7.2	80	1.7	20

実験の部

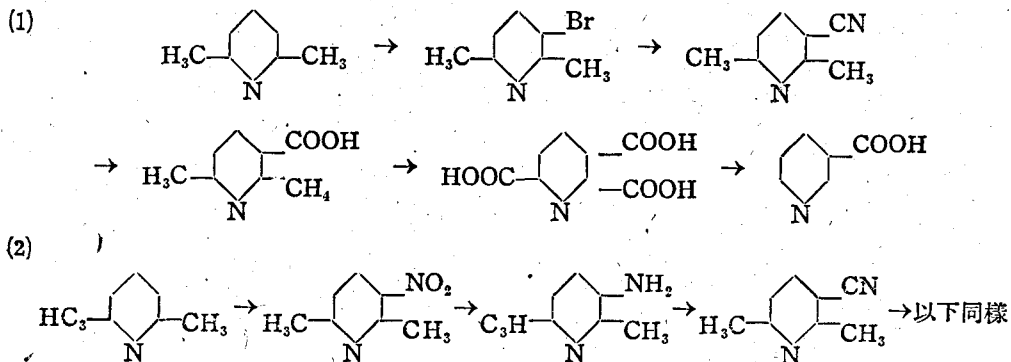
例を 5-ニトロピノリンに取つて記述する。他も同様。5-ニトロピノリン 10.44g を温水約 700cc. に懸垂せしめ過マンガン酸カリ 120g を 20g づつ 6 回にわたつて加える。加える度ごとに發熱する故、發熱の度合が小さくなつてから次の 20g を加えるようにする。全部加え終つた後、更に水浴上にて 10 數時間加温する。過マンガン酸カリの紫色の消失するに至つたら生成した二酸化マンガンを分離し濾液を硫酸にて微酸性とした後硫酸銅溶液を以てピノリン酸の銅塩を析出せしめる。これを濾取して温水に懸垂せしめ、 H_2S を通じ濾液を蒸發濃縮すればピノリン酸の結晶を得る。Zp. 190°.

(4) ピノリン酸よりニコチン酸へ

ピノリン酸を 190~210° に數時間加熱すれば、簡単に 3位の CO_2 が飛んでニコチン酸に変化する。水より再結晶する。得量 90%

(C) ルチデンよりニコチン酸へ

2,6-ルチデンを原料とし、ニコチン酸へ到達する徑路として、筆者等の考えた反應徑路は次の二通りである。



α 及び α' 位に於けるメチル基の影響は m に於ける Br 及び NO_2 の置換を容易ならしめる筈である。ニトロ置換は既に Plazek の指摘したところであり、¹⁰⁾ その収量もピリジンそのものに比して遙かに良好である。然るに Br 置換は未だ記載をみず、筆者等の実験に依るにハロゲン陽性の不明物質 (Fp 105°) を痕跡量得たに過ぎず爾後の実験を中止した。アミノルチデンよりシアノルチデンに変化する記載も未だなく、筆者等は、常法通りザンドマイヤー反應を實

施した結果、3-Cyano-lutidin と信ぜられる物質を捕捉し得たが、収量やはり不良にて、以後の實驗を中止した、これを以てみるに、2,6-ルチヂンを原料としてニコチン酸に到達する事は工業的に全く困難とゆう他はない。

實 驗 の 部

1. ルチヂンと臭素との反應

2,6 ルチヂン 20.8gに氷冷下徐々に計算量の 48% ブロム水素酸を加えた後、減壓濃縮してルチヂンのブロム水素酸塩を形成せしめ、これに脱水メタノール 100cc.を加えて溶解せしめた後臭素 32g (1 モル) を冷却下滴加する。メタノールを減壓溜去して得るルチヂンブロム水素酸塩の Perbromid を 220~230° に 1 時間加熱後ナトロナルカリ性となして水蒸氣蒸溜に附する。溜液中に白色針狀晶析出する故これを濾取し、アルコールより再結晶する。Fp 105 の不明物質 1g を得る。残液はエーテルにて浸出し分溜するにルチヂン 6g を回収したるのみ、

2. アミノルチヂンのザンドマイヤー反應

ニトロルチヂンの接觸還元によつて得たアミノルチヂン 1.63g を硫酸 3.2g と水 14cc. より成る溶液に溶し、これを冷却下亞硝酸 0.96g と水 2.8cc. との溶液を以てジアゾ化した後、硫酸銅 3.48g, シアンカリ 3.72g, 水 20cc. より成る溫溶液に注加する。冷後ナトロナルカリ性としてエーテルにて抽出し、エーテル層を芒硝乾燥後溶媒を溜去する。黃色結晶狀物質、常壓にて分解する事なく蒸溜可能。Kp. 210° Fp. 80~82°. 收得量 0.43g. ナトロナル液に不溶なるも、長時間加温する時は溶解し去る。ニトリルの存在を思はせる。

終りに臨み種々御指導をたまわつた近藤部長に感謝の意を表する。

文 献

- 1) Ber. 69, 1534
- 2) 化學實驗學合成篇 III P. 340
- 3) J. Am. Chem. Soc. 1929. 863
- 4) J. Am. Chem. Soc. 1941, 2283
- 5) B. 18. 124. 8
- 6) J. pr. [2] 53, 390
- 7) J. pr. [2] 77, 473.
- 8) J. pr. [2] 53, 400.
- 9) B. 18. 1245
- 10) B. 72, 575.

タマサキツツラフヂの暗點病

技官 平 山 重 勝 技官 山 本 昌 木

Leaf spot disease of *Stephania cephalantha* HAYATA

Shigekatsu HIRAYAMAA and Masaki YAMAMOTO

タマサキツツラフヂ (*Stephania cephalantha* HAYATA) は臺灣南部山林地帯特産の防已科植物にして、大正 3 年早田文蔵博士により初めて發表せられ、昭和 11 年山本博士により、揚子江以南一帯 (7) に廣く分布する事を暗示せられたるものなり (19)。本植物は漢防己と同様毒蛇の咬傷を治し、全草骨傷藥として効ありとし、古來漢方藥の一として廣く民間に使用されしものなるが、大正 15 年近藤、落合兩博士に依り、本植物の塊根に Cephalantin なるアルカロイドの一種を含有する事を認められ、最近、長谷川、近藤、富田の三博士により、結核治療上有効なることの實驗的證明を與へられたり。上記の如く本植物の自生地は限らるが故に、その栽培法も漸く研究せられるに至れるも、これに伴ふ病害の發生も又等閑に附すべからざるものなり。

偶々著者等は、昭和 21 年 8 月 23 日埼玉縣南埼玉郡春日部町粕壁の當試驗所植物部園場に於て、本植物の被害激甚なる一病害を観察し、檢鏡の結果 *Phyllosticta* 屬菌の侵害に起因するものなる事を確めたり。尙本病害は和歌山縣日高郡矢田村當試驗所和歌山分場に於てもその發生を認められたり。

10 月 4 日更に病葉の標品を粕壁より得、之より病原菌の分離を行ひ、その形態的、生理學的、並に病理學的性質に就きて研究を行へるを以て、その試驗結果の概要を述ぶる事とす。

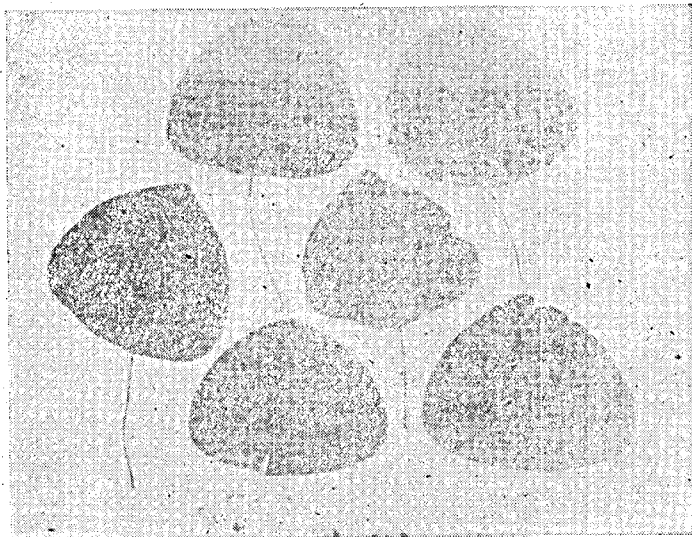
本研究を遂行するに當り種々御便宜を賜りたる當試驗所所長松尾仁博士、又シマハスノハカヅラの御鑑定を爲されたる東大教授本田正次博士に對し、深甚なる感謝を捧げんとす。又實驗に對し援助されたる助手湯川良夫氏、藤本京子女史に對し謝意を表す。

【病徴】本病は 5 月中旬頃より發病し 10 月收穫期に至る迄全生育期を通じて病徴を認むる事を得、病斑は葉に散生し、圓狀又は點狀、褐色乃至暗褐色にして輪郭判然とするも、時として不明瞭なる事あり。又黒色の同心輪を描くものあり。病勢未だ進まざるものは、病斑部以外綠色を保てども、進展せるものは全葉褐變し落葉す。病斑の大きさ 1—12mm、葉裏は淡灰綠色なり。

【病原菌】菌絲は無色隔膜あり、100 個測定の結果 2.66—4.33 μ 、柄子殻は葉の兩面に生じ球形、又は扁球形、黄褐色～暗褐色、200 個測定の結果は、51.6—148.2 μ 平均 62.04 $\pm$ 0.759 μ 。

標準偏差 $19.628 \pm 0.5402 \mu$ なり。柄子殻の壁細胞は不規則なる多角形にして、大いさ $3.84 - 10.98 \mu$, 孔口は中央に一個あり、直径 $5.49 - 3.84 \mu$. 培養基上にて孔口より淡朱赤色の Spore-horn を放出す。柄胞子は橢圓形にして兩端に 2 個の油滴あり、無色にして大さ 200 個測定の結果は $1.99 - 5.00 \times 0.33 - 4.29 \mu$, 平均 $3.398 \pm 0.3929 \mu$, 標準偏差 $0.829 \pm 0.2794 \mu$ なりき。

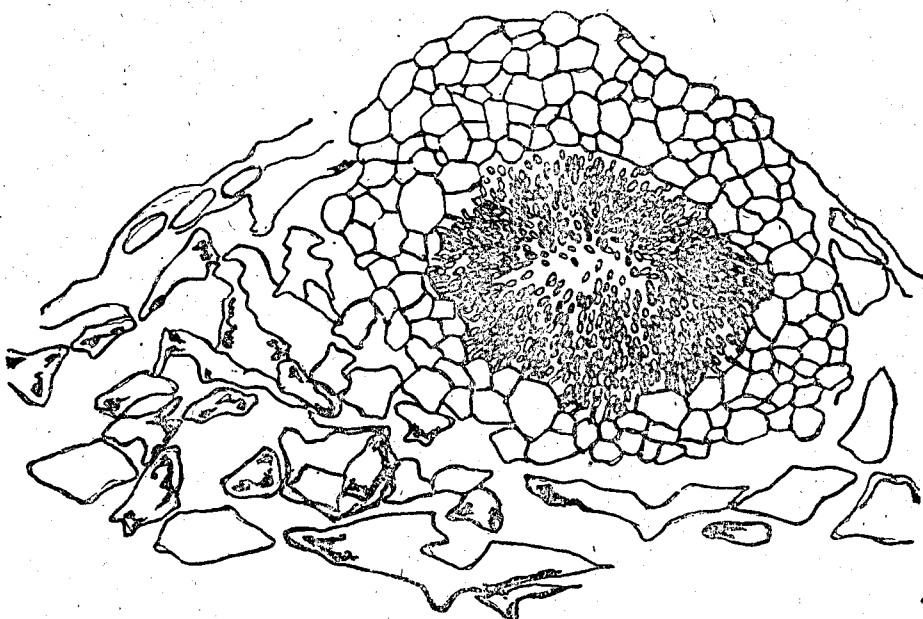
第 1 圖 タマサキツヅラフデ暗點病病葉



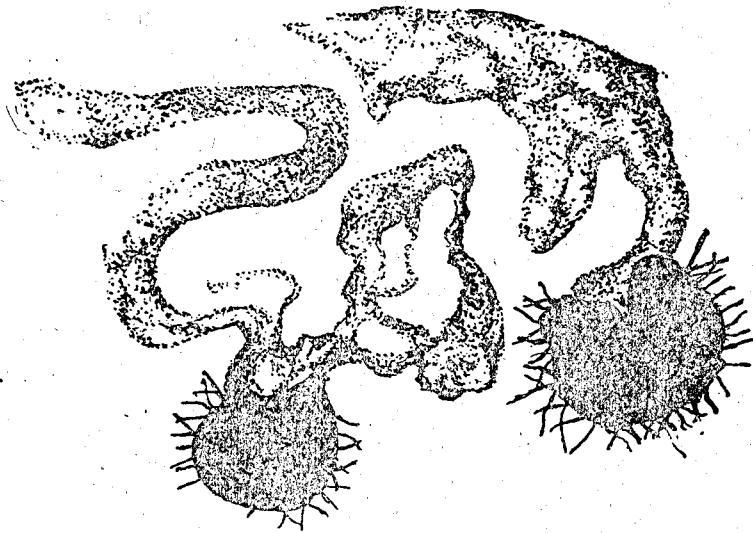
【病原菌の分類學的考察】

本菌の柄子殻は圓形、橢圓形又はレンズ形にして膜質又は炭質、暗色乃至黑色寄主植物葉中に存在するか又は表皮性、柄胞子は 1 細胞、透明、球形乃至橢圓形、柄子殻は散在、平滑なるが故に、本菌は不完全菌類中 (Sphaeropsideae), Phoma-taceae 中の *Phyllosticta* に屬するものなり。

第 2 圖 タマサキツヅラフデ暗點病病斑縦斷 (柄子殻及び柄胞子を示す)



第 3 圖 柄子殻より Sporehornの逸出する状態
(蜜柑皮培養基)



ツヅラフデ科 Menispermaceae に寄生する *Phyllosticta* 属及びこれに類似の菌としては、
第 1 表の如きものあり。

第 1 表 ツヅラフデ科植物上に発見せられたる菌類

菌 名	寄 主 植 物	着生部位	産 地
<i>Macrophoma Stephanotidis</i> F. TASSE	<i>Stephanotidis floribunda</i>	枯枝	伊 太 利
<i>Phoma Anamirtae</i> F. TASSE	<i>Cocculus laurifolius</i>	枯枝	伊 太 利
<i>Phoma Menispermii</i> PECK	<i>Menispermum Canadense</i>	葉柄	北 米
<i>Phoma sarmenticia</i> SACC	<i>Menispermum Canadense</i>	枝	フ ラ ン ス
<i>Phyllosticta abortiva</i> E. et K.	<i>Menispermum Canadense</i>	葉	北 米
<i>Phyllosticta Cocculi</i> SPÉG	<i>Cocculus laurifolius</i>	落葉	アルゼンチン
<i>Phyllosticta Menispermii</i> PASSER	<i>Menispermum Canadense</i>	葉	伊 太 利
<i>Phyllosticta stephaniae</i> . SAWADA	<i>Stephania cephalantha</i>	葉	臺 灣
<i>Phyllosticta stephanotidis</i> GROVE	<i>Stephanotidis floribunda</i>	葉	英 國

Phyllosticta Menispermii PASSER (1)(9)(13), の病斑は多角形をなし、柄胞子の大き $5-6 \times 3\mu$,
本菌より稍大型にして、*Menispermum* 属に寄生す。

Phyllosticta Stephanotidis GROVE (11)(14), は柄胞子の大き $12-16 \times 4-5\mu$ 柄子殻は 0.25mm
にして、本菌に比して著しく大型なり。

Phoma Anamirtae F. TASSE (4)(15) は *Cocculus* に寄生し、柄胞子の大き $6-7 \times 2.5-3.0\mu$

にして, *Phyllosticta Cocculi* SPEG. (8) とは近けれども, 柄子殻は葉裏に生じ, 稍不透明, 黒褐色にして $80-100\mu$ なり.

Macrophoma Stephanotidis F. TASSE (3)(11) は $14-16 \times 4\mu$, *Phoma sarmentica* SACC. (2) (9) は $20 \times 1\mu$ の柄胞子を有し著しく大型なり.

其他 *Phoma Menispermii* PECK (10) (12), *Phyllosticta abortiva* E. et K. (9) 等あり, 今これらをまとむれば第2表の如し.

第2表 ツヅラフデ科植物を侵す菌類の形状

菌名	事項	病斑	菌糸	柄子殻	壁細胞	孔口	柄胞子
<i>Macrophoma Stephanotidis</i> F. TASSE				$100-120\mu$			$14-16 \times 4\mu$
<i>Phoma Anamiriae</i> F. TASSE				$330-500\mu$			$6-7 \times 2.5-3.0\mu$
<i>Phoma Menispermii</i> SACC.				$8-16 \times 2-2.25\mu$			$20 \times 1\mu$
<i>Phoma sarmentica</i> SACC.							
<i>Phyllosticta abortiva</i> E. et K.		$1/4-1\text{cm}$					
<i>Phyllosticta Menispermii</i> PASSER							
<i>Phyllosticta Cocculi</i> SPEG.				$80-100\mu$			$5-6 \times 3\mu$
<i>Phyllosticta stephaniae</i> SAWADA (澤田菌)		$1-8\text{mm}$	$25-5\mu$	$130-180\mu$	$4-6\mu$	$15-23\mu$	$4.5-7.8 \times 2-14\mu$
<i>Phyllosticta staphanotidis</i> GROVE				250μ			$12-16 \times 4-5\mu$
著者菌		$1-12\text{mm}$	$2.6-4.3\mu$	$51.6-148.2\mu$	$3.84-10.98\mu$	$5.49-3.84\mu$	$1.99-5.00 \times 0.33-4.29\mu$

Phyllosticta stephaniae SAWADA と本菌とを比較するに, 本菌の柄子殻は稍小にして暗色乃至黒色, 柄胞子の長さも稍小にして多少の差異あるも, 記載略々合致するを以て, 本菌を暫く *Phyllosticta stephaniae* SAWADA と同定せんとす.

【病原性】第1回實驗: 豫めタマサキツヅラフデ及びシマハスノハカヅラの葉面をよく滅菌水にて洗滌し置き, 昭和21年10月29日 WAKSMAN 寒天上にて2週間培養せる本菌柄胞子の懸濁液を塗抹し, 滅菌ペトリ皿に2枚宛納めたり. 標準區として無接種のものを設け, 各々滅菌水にて濕したる濾紙を以て蒸發を防ぎ, $22^{\circ}-23^{\circ}\text{C}$ の定溫室に納めたり. 5日後タマサキツヅラフデに病斑を認めたるも, シマハスノハカヅラ及び標準區は變化なし, 日を経るに従ひ, タマサキツヅラフデの病斑は益々擴大せしが, シマハスノハカヅラ及び標準區は1箇月後に至るも變化なかりき.

第2回實驗：昭和22年6月22日豫め WAKSMAN 寒天培養基上にて柄胞子を形成せしめ、之より懸濁液を作り、鉢植とせるタマサキツヅラフデに、撒布し、硫酸紙製袋にて被覆せり。6月29日調査を行ひたるに、接種せし植物は2本共明らかに病斑を生ぜるも、標準區は毫も變化なかりき。

第3回實驗：方法は第2回實驗と同じ。昭和22年8月11日夕方接種を行ひ、8月20日明らかに病狀を呈したり。

尙2回の實驗を通じて、何れも病徴は日數の経過と共に進展を示したるも、自然發生に於て屢屢見受けらるるが如き大型の病斑は認められざりき。

【培養基上の性質】 馬鈴薯煎汁寒天、人參煎汁寒天、蜜柑皮煎汁寒天、葱頭煎汁寒天、普通肉汁寒天、麥芽汁寒天、WAKSMAN 寒天、CZAPEK 寒天、稻蘖培養基、タマサキツヅラフデ莖培養基、大豆莖培養基、USCHINSKY 培養液、COHN 培養液を用ひ、22°-23°Cにて培養し、1週間後及び20日後にその狀態を調査せるに第3表の如き結果を得たり。色彩の記載は OSTWALD 色圖符號に依り、和田三造・色名總鑑を参照せり。

第3表 タマサキツヅラフデ暗點病菌培養基上の性質

培 養 基	菌叢の發育狀態	菌 叢 の 色 彩		氣 中 絲	柄子殼の形成	培 養 基 面	培 養 基 中 の 色 彩
		中 央 部	周 緣				
馬鈴薯煎汁寒天	卅 絨毛狀	04CF-(鼠色)	00EC-(蒸栗色-金絲雀色△)	卅	-	中央稍隆起	00CA-00EC(蒸栗色)
人參煎汁寒天	卅 絨毛狀	12GB-00CA(欸冬色-蒸栗色)	02GE-02NL(桑色白茶-利久茶△)	±	-	平 滑	19EA-(柿色)
蜜柑皮煎汁寒天久	卅 絨毛狀	12GB-(欸冬色)	52FE-(空色△)	+	-	中央稍隆起	12GB-(欸冬色)
葱頭煎汁寒天	卅 絨毛狀	19FB-(利久茶)	04CF-(油色)	+	-	中央丘狀に隆起	04EB-(利久茶△)
普通寒天	卅 絨毛狀	12GB-(欸冬色)	00IF-02IF(油色△弱茶)	+	-	中央丘狀に隆起	04CF-(油色△)
麥芽汁寒天	卅 絨毛狀 綿毛狀	12BA-肌色	12BA-00IF(肌色-茶種油色△)	+	-	平 滑	14NC-(香色△)
WAKAMAN 寒天	卅 絨毛狀	12GB-(欸冬色)	12GB-15GE(欸冬色-香色△)	+	-	中央稍隆起	12GB-(欸冬色)
CZAPEK 寒天	卅 絨毛狀	12BA-(肌色)	13ED-(櫻鼠)	+	-	中央隆起	12BA-(肌色)
稻 蘖	+	白色綿毛狀の菌絲を生ず		+	-		
大 豆 枝	+	綿毛狀					
タマサキツヅラフデ莖	卅	白色綿毛狀の菌絲を生ず		+	-	氣中菌絲極めて良好	

七日間培養結果(二二三度)

	培 養 基	菌叢の 發 育	菌叢の 狀 態	菌 叢 の 色 彩		氣 中 糸 菌	柄子殻 の形成	培 養 基 面	培 養 基 中 の 色 彩
				中 央 部	周 緣				
	USCHINSKY 培 養 液 COHN 培 養 液	+	液表面・液中共に發育可成良好 小形結晶を液中に生ずpH6.2 (植付時pH5.4) " pH6.0 (植付時pH5.3)			+	-		
二十日培養結果(二一三度)	馬鈴薯煎汁 寒天	卅	叢毛狀	96PN-(千齋 茶)	96PN-(千齋 茶)	+	-	中 央 隆 起	96PN-(千齋 茶)
	人參煎汁寒天	卅	絨毛狀	96PN-(千齋 茶)	96PN-(千齋 茶)	+	+	中 央 隆 起	96PN-(千齋 茶)
	蜜柑皮煎汁 寒天	卅	絨毛狀 叢毛狀	04EB-10BB (油色△-灰 櫻)	04EB-10BB (油色△灰櫻)	+	卅	平 滑	05PA-(山吹 色)
	普 通 寒 天	卅	絨毛狀	08GB-08BB (幹色△-黃茶 △)	08GB-08LD (幹色△-黃茶)	-	-	平 滑	10LA-10EB (柑子色-淡香 色)
	麥芽汁寒天	卅	絨毛狀 綿毛狀	12BA-(肌色)	12BA-08GB (幹色△-黃茶)	-	-	平 滑	13ED-15GC (櫻鼠-香色)
	Waksman 寒 天	卅	絨毛狀	10BB-(灰櫻)	10BB-(灰櫻)	-	+	Spore- horne の形成 良好	98PI-(橄欖 色)
	Czapek寒天	卅	叢毛狀	10BB-(灰櫻)	10BB-(灰櫻)	-	卅	Spore- horne	98PI(橄欖色)
	稻 藁 大 豆 枝	+	絨毛狀			+	卅		
	タマサキツ ブツラフデ莖	+	絨毛狀			-	+	接種部を中心 として多數の 柄子殻を生ず	10LA-16PA (淡香色-橙 色)
	USCHINSKY 培 養 液 COHN培養液	+	液中、液面共に發育良好(液中 に結晶を生ず)						

△印は近似の色彩なる事を示す。

【菌叢發育に及ぼす温度の影響】菌叢を直径 3 mm に切り取り WAKSMAN 寒天上にて扁平培養を行ひ、各種温度の定温器に納め、7 日後菌叢の直径を測定してその發育と温度との關係を調査せるに、第 4 表の如き結果を得たり。

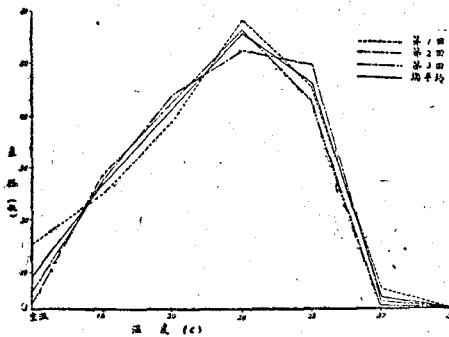
各區共 1 回 5 枚のベトリ皿を用ひ、各皿縦横直径を測定し、その平均を求めて測定値とせり。

この結果を見るに、20°C より 28°C に於て發育良好にして、24°C 附近が發育に對する最適温度と思惟せらる。4°—14°C の室温にては尙その發育を認むるも、36°C に至れば發育を停止するものの如し。

第 4 表 タマサキツヅラフデ暗點病菌菌叢發育に及ぼす温度の影響 (單位耗)

	室 温 11-14; 8-12; 4-10°	16°C	20°C	24°C	28°C	32°C	36°C
第 1 回	15.46	24.60	38.35	58.00	45.50	6.54	3.00
第 2 回	6.14	27.06	43.16	52.50	49.52	4.28	3.00
第 3 回	3.90	28.26	43.06	56.26	42.80	3.44	3.00
總 平 均	9.16	26.64	41.51	55.58	45.84	4.75	3.00

第 4 圖 タマサキツヅラフデ暗點病菌菌叢發育に及ぼす温度の影響

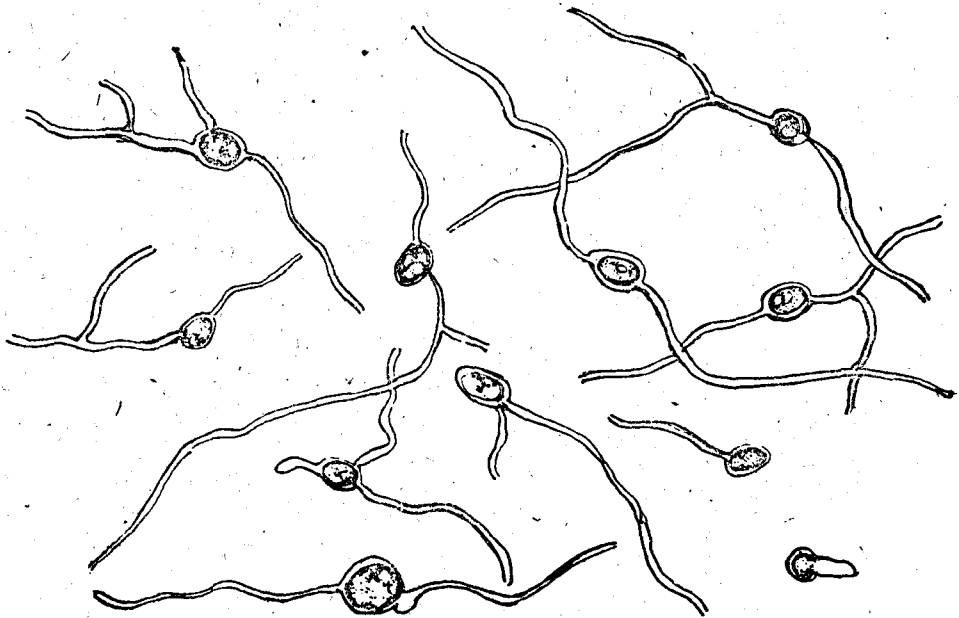


【柄胞子の發芽に及ぼす温度の影響】 WAKS-

MAN 培養基上に形成されたる柄胞子の滅菌水懸濁液を作り、之をベトリ皿中に流し込みたる WAKSMAN 寒天上に撒布し、各種温度に所要時間放置せり。定温器より取出したる直後ホルマリン液にて固定し、適宜 Methyleneblau 又は Genvianviolet にて染色を行ひ、寒天を切り取り検鏡、その發芽を検せり。發芽の状態は第 5 圖に示す如く、柄胞子は發芽前に比し著しく膨

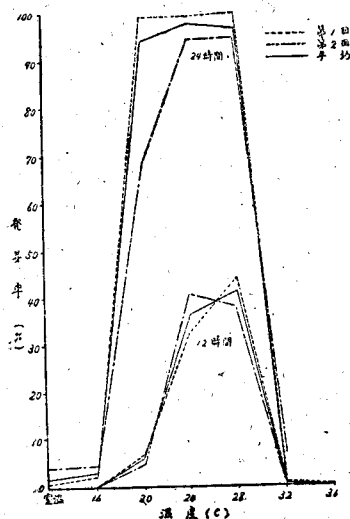
大し、内容顆粒状となるものなり。發芽試験の結果は第 5 表に示すが如し。

第 5 圖 タマサキツヅラフデ暗點病菌柄胞子の發芽



第5表 柄胞子の發芽と温度の關係

温 度 (C°)			室 温 10°—14°	16°	20°	24°	28°	32°	36°
十二時間後	第一回	測定胞子數	500	500	500	500	500	500	500
		發芽胞子數	0	0	30	160	221	2	0
		發芽率	0	0	6.0	32.0	44.2	0.4	0
	第二回	測定胞子數	500	500	500	500	500	500	500
		發芽胞子數	0	0	26	203	192	0	0
		發芽率	0	0	5.2	40.6	38.4	0	0
	平均	測定胞子數	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
		發芽胞子數	0	0	56	363	413	2	0
		發芽率	0	0	5.6	36.3	41.3	0.2	0
二十四時間後	第一回	測定胞子數	500	500	500	500	500	500	500
		發芽胞子數	1	10	495	497	500	0	0
		發芽率	0.2	2.0	99.0	99.4	100	0	0
	第二回	測定胞子數	217	375	97	505	313	91	—
		發芽胞子數	8	15	65	484	283	6	—
		發芽率	3.7	4.0	67.0	94.8	92.0	6.6	—
	平均	測定胞子數	717	875	597	1005	813	591	500
		發芽胞子數	9	25	560	981	788	6	0
		發芽率	1.3	2.9	93.8	97.6	96.9	1.1	0

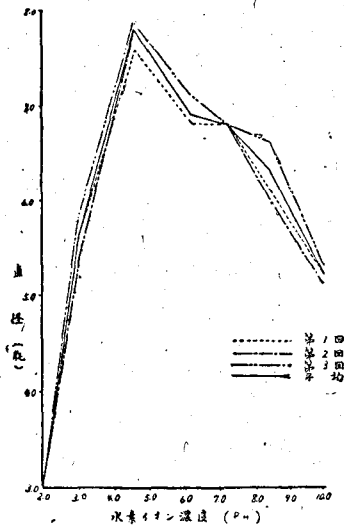
第6圖 タマサキツブラフデ暗點病菌柄
度胞子發芽に及ぼす温の影響

この結果を見るに、12時間後の調査によれば、16°C以下及び32°C以上にては發芽は行はれざるも、20—28°Cの間に於て發芽し、24—28°C間に於て發芽最も適當なるものの如し。24時間後の調査によれば、室温より32°C迄發芽は行はれ、特に24°Cに於て最高の發芽率を示せり。本結果は培養基上に於ける發育の最適温度と略々一致す。

【菌叢の發育と水素イオン濃度との關係】

本菌の發育と水素イオン濃度との關係を知らんとして次の實驗を行へり。即ちCZAPEK 寒天と0.1N鹽酸及び0.1N苛性カリを別々に滅菌し置き、使用時に混合ペトリ皿に分注し、豫めWAKSMAN寒天上に1週間培養せる本菌菌叢を直径3mmに切り取り、ペトリ

第7圖 タマサキツヅラフデ暗點病菌發育 皿の中央に植付け、24°C に調節せる定溫器に 6 日 に及ぼす水素イオン濃度の影響



間納めたる後、その直径を縦横直角に測定し、その平均値を求めたるに第6表の如き結果を得たり。

上表により明らかなる如く、本菌は pH 2.0 にては發育を認めざるも pH 3.0 より pH 9.8 に至るも尙よく發育するものにして、發育に對する最適水素イオン濃度は pH 4.6 附近に在ると考へる。

第6表 タマサキツヅラフデ暗點病菌菌叢發育に及ぼす水素イオン濃度の影響 (單位耗)

回 數	pH	2.0	3.0	4.6	6.2	7.2	8.4	9.8
第 1 回	回	3.0	5.6	7.6	6.8	6.8	6.1	5.2
第 2 回	回	3.0	5.4	7.8	6.9	6.8	6.0	5.1
第 3 回	回	3.0	5.8	7.9	7.1	6.8	6.6	5.3
總 平 均		3.0	5.6	7.8	6.9	6.8	6.3	5.2

註. 各實驗の數値はペトリ皿各5枚の測定値の平均を示す。

摘 要

1. 本報告はタマサキツヅラフデの葉に病斑を形成する1病害につきての觀察並に實驗結果の概要を記述す。
2. 本病害はタマサキツヅラフデの暗點病と稱せらるるものにして、その病原菌は、*Phyllosticta stephaniae* SAWADA と同定せんとす。
3. 種々の培養基を用ひ、本菌の培養上に於ける性質を調査せり。
4. 本菌の發育に及ぼす溫度の影響を調査したるに、發育最適溫度は 24°C 附近、發育最高溫度は 32°C と 36°C との間にして、最低溫度は 10°C 以下と認めらるる。
5. 本菌柄胞子の發芽溫度は、24°—28°C 最適にして、32°C と 36°C との間、32°C より稍高き

處に於て最高を示し、 10° — 14°C 以下にその最低溫度を有するものの如し。

6. 本菌の發育は、水素イオン濃度 pH 2.0 にては發育せず、pH 3.0 より發育を認め pH 9.3 以上に於ても尙發育するものにして、最適水素イオン濃度は pH 4.6 附近と思惟せらる。
7. 本菌は、接種試験の結果、タマサキツヅラフデに病原性を認めたるも、シマハスノハカヅラ（漢防已）に對しては無きものの如し。

参 考 文 献

- (1) ALLESCHER, A.; RABENHORST's Kr. Fl., Auf. II, Bd I, Abt. VI, S. 131, 1901.
- (2) ALLESCHER, A.; RABENHORST's Kr. Fl., Auf. II, Bd I, Abt. VI, S. 307, 1901.
- (3) ALLESCHER, A.; RABENHORST's Kr. Fl., Auf. II, Bd I, Abt. VII, S. 839, 1903.
- (4) ALLESCHER, A.; RABENHORST's Kr. Fl., Auf. II, Bd I, Abt. VII, S. 795, 1903.
- (5) ALLESCHER, A.; RABENHORST's Kr. Fl., Auf. II, Bd I, Abt. VII, S. 1195, 1903.
- (6) 長谷川秀治；結核の化學療法に關する研究 pp 925, 1942 (昭 17).
- (7) 早田文藏；臺灣植物圖譜 第3卷 12 頁 1912 (大正 3).
- (8) OUDEMANS, C. A. J. A; Enumeratio Systematica Fungorum, Vol III, p. 191, 1921.
- (9) OUDEMANS, C. A. J. A; Enumeratio Systematica Fungorum, Vol III, p. 192, 1921.
- (10) OUDEMANS, C. A. J. A; Enumeratio Systematica Fungorum, Vol III, p. 193, 1921.
- (11) OUDEMANS, C. A. J. A; Enumeratio Systematica Fungorum, Vol IV, p. 521, 1923.
- (12) SACCARDO, P. A.; Sylloge Fungorum, Vol III, p. 136, 1884.
- (13) SACCARDO, P. A.; Sylloge Fungorum, Vol X, p. 129, 1892.
- (14) SACCARDO, P. A.; Sylloge Fungorum, Vol X, p. 132, 1892.
- (15) SACCARDO, P. A.; Sylloge Fungorum, Vol XIV, p. 869, 1899.
- (16) SACCARDO, P. A.; Sylloge Fungorum, Vol XIV, p. 890, 1899.
- (17) 澤田兼吉；臺北農林學會報, Vol VII, No1, p. 25, 1943 (昭 20).
- (18) 和田三造．色名總鑑 1935 (昭 10).
- (19) 山本由松；日臺產ハスノハカヅラ屬に就て．臺灣博物學會報, 第26卷 241—243 頁 1936 (昭 11).

テウセンアサガホの葉枯性細菌病 (第1報)*

技 官 山 本 昌 木

Studies on the bacterial leaf spot of Jimson weed (*Datura* spp.). I

Masaki YAMAMOTO

昭和21年10月4日埼玉縣南埼玉郡春日部町東京衛生試験所藥用植物栽培園場にて、ケテウセンアサガホ (*Datura metel*) の葉に白色病斑を生ずる疾病を発見し、検鏡の結果一種の細菌に基因するを認めたり。又10月14日東京都世田ヶ谷區玉川用賀町東京都製藥研究所園場にて同様の病害を観察せり。爾後之が研究に従事しつゝあるも、現在迄に得られたる結果の概要を記さんとす。

本研究を爲すに當り、種々御授助と御便宜を與へられたる當所長松尾仁博士、又終始御懇篤なる御指導を賜りたる平山重勝植物部長に對し謹んで衷心より感謝の意を表す。又實驗を援助されたる助手湯川良夫氏、藤本京子、大坂他家子兩女史に深謝す。

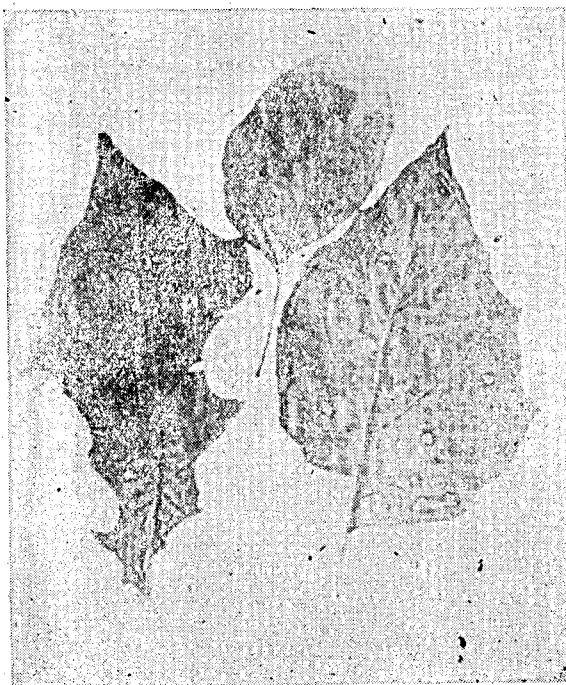
【病徴】 粕壁園場にては、8月中旬頃より漸く發病多きものの如く、最初水浸狀の小斑點を生じ、漸次擴大し圓形、楕圓形乃至不正形を呈し、時には病斑數個融合して流れたる形狀をな

すものあり、直徑略々15mmに達す。

内部は白色乃至淡灰褐色、稍透明にして周圍には境界比較的明瞭なる褐色帶を有す。病斑は數個乃至數拾個、葉の全面に散生すれども就中葉の先端の部分に多く散見せらる。病勢進展せるものは、全葉黃變下垂し遂に離層より脱落早期落葉を見るに至る。(第1圖参照)

本病は *Datura metel* 及び *D. meteloides* に被害激甚にして、*D. stramonium*, *D. alba* 等には殆どその被害なきものの如し。

【病原菌の分離】 被害初期の病斑を切抜き、瞬時アルコールに浸したる後、1000倍昇汞水に投じ、5分間



第1圖 テウセンアサガホ葉枯性細菌病病葉

* 邦産藥用植物病害に関する研究 第2報

表面消毒を行ひ、之を滅菌水にて充分洗滌し、昇汞を洗ひ去り、殺菌したるメスにて破碎し、被害組織中の細菌をブイヨン中に浮遊せしめ、之より寒天培養基を用ひて流し込み培養を行ひ淡黄白色のコロニーを認めたり。又切抜きたる病斑を殺菌、洗滌後、豫めペトリ皿に流し込みたる普通寒天上に戴せ、22~23°Cの定温室に納め細菌の發育を待ちたり。何れの場合にも同一種と思はれる細菌を分離する事を得たり。

【病原細菌の形態】 1. 形状、寒天培養基上 24 時間培養の菌を用ひ、石炭酸フクシンにて染色せるものは兩端鈍圓の短桿菌にして、その大いさ $1.3-2.2 \times 0.3-0.7 \mu$ なりき。

2. グラム染色性：黄色葡萄狀球菌と對比染色を行ひたるにグラム陰性なり。

3. 抗酸性：Ziel 及び Neelsen 氏法に依りて抗酸性を検したるに非抗酸性なり。

4. 芽胞：Möller 氏法に依り染色を行ひたるも芽胞の存在を認めず。

5. 包囊：Räbiger, Johne, Hiss, Gins 諸氏法にて染色を行ひたるも包囊の存在を認めず。

6. 鞭毛：Löffler氏法により染色を行ひ單極生 1 乃至 3 本の鞭毛を認めたり。

【病原性】 第 1 次接種試験は、昭和 21 年 11 月 21 日粕壁産 *Datura metel* の葉より分離せる菌につき *D. stramonium* 及び蕃茄の葉に行ひたり。接种植物としては 15~20cm の幼苗各 2 本宛を用ひ、各葉の中央部を各 1 箇所滅菌水にて潤し、殺菌せる針にて刺突を行ひ、寒天 24 時間培養の滅菌水懸濁液を 1 白金耳宛接種し、濕度を飽和に保てる接種箱に納め 22~23°C の定温室に 24 時間放置後温室より取出し、更に 24 時間定温室に放置せるに、*D. stramonium* 蕃茄兩植物共に病斑を形成し、病勢の進展と共に接種部位より折れ曲り萎凋せり。(第 2 圖参照) 第 2 次接種試験は昭和 22 年 6 月 18 日鉢植となしたる *D. stramonium*, *D. Tatula*, *D. metel*, *D. meteloides*, *D. inermis* 及び蕃茄の苗につきてその葉に接種を行ひたり。豫め滅菌水にて葉を潤し、その中央に 1 白金耳宛細菌を接種せり。22 日調査を行ひたるに何れも小型の病斑を生じたり。第 3 次接種試験は昭和 22 年 10 月 11 日鉢植となせる *D. metel*, *D. stramonium*, 蕃茄、煙草、蕃椒及び馬鈴薯の葉に接種を行ひたり。接種方法は脱脂綿に細菌懸濁液を浸ませ、葉の表面に塗布せり。16 日觀察を行へるに *D. metel* の接種を行へる葉は、何れも萎凋狀を呈したるも、標準區は毫も變化なかりき。*D. stramonium* 及び蕃茄にては、小水浸狀の病斑を認めたり。然る後、降雨ありて萎凋せし *D. metel* は健全なるものと差違なく回復したるかの如く見受けられたるも、20 日再び觀察したるに、接種したるものは水浸狀の小病斑を無數に生じ、進みたるものは白色の透明斑を形成せり。日を経ると共に何れも野外にて觀察せらるると同じき病徴を呈せり。煙草、蕃椒及び馬鈴薯は、23 日に至るも變化なかりき(第 3 圖参照)。尙 1 回の實驗なれども、7 月 28 日 *Petunia* に接種、1 週間後病徴を認めたり。病原性に關する實驗は不完全にして、尙今後究明する處多きものと思惟せらる。

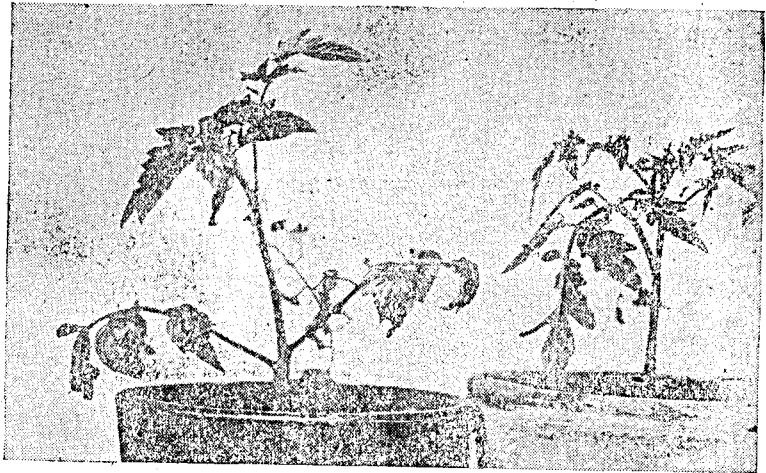
【病原細菌の培養的性質】

I. 試験管培養

A. 固體培養

1. 寒天斜面……發育の程度中庸，菌層の形刺棘狀 (echinulate)，高さ丘狀 (raised)，表面の狀態平滑 (smooth)，稍疣狀を呈する事あり (verrucose) 光澤濕光 (glistening)，不透明，菌層の色白色～淡黃色，無臭，菌層の質粘稠。

第2圖 テウセンアサガハ葉枯性細菌病菌を蕃茄に接種せるもの (右は標準區)



2. 寒天高層 (穿刺培養) ……溝内發育狀態上下一様，穿刺溝内菌層の形絲狀 (Filiform)

3. 膠質斜面……發育良好，菌層の形刺棘狀 (echinulate)，高さ扁平 (flat)

光澤鈍光 (dull). 菌層の表面の狀態平滑 (smooth) 半透明，菌層の色無色，無臭，菌層の質粘稠，膠質を溶解す。

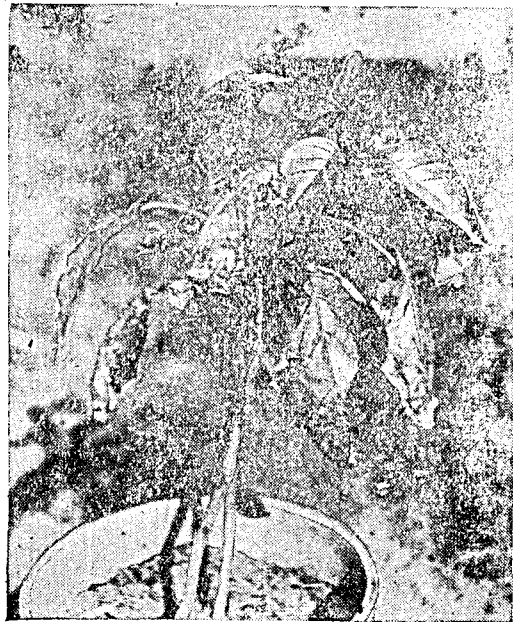
4. 膠質高層 (穿刺培養) ……穿刺溝内の發育は蕪菁狀 (napiform) ゼラチンを徐々に溶解す。

5. 馬鈴薯培養……發育良好，菌層の形刺棘狀 (echinulate)，菌層の高さ丘狀 (raised)，光學的性質不透明，菌層の色桑色白茶 (olive buff) 菌層の表面の狀態平滑 (smooth) 無臭，菌層の質泥質。

B. 液體培養

1. ブイヨン……培養液表面の發育狀況，輪及び薄膜を形成せず。濁濁の程度著し。無臭，沈澱，雲狀，(flocculent.)

第3圖 テウセンアサガハ葉枯性細菌病菌を Datura metel に接種せるもの



2. 牛乳……凝固と消化、一旦凝固せるカゼインを徐々に消化す。粘稠度低し。酸を生ず。色の變化無し。
3. リトマス牛乳……一旦凝固せるカゼインを徐々に消化、酸を生じ赤色に變ず、割合粘稠。
4. ウシンスキー氏液……中等度に發育し薄膜を形成す。
5. コーン氏液……殆ど發育せず。

II. 扁平培養

寒天。聚落の形成速。聚落の形、圓狀 (circular)。聚落高さ、薄膜 (effused)。聚落の周縁、全縁 (entire)。聚落の内容均質 (amorphous)。

III. 酸酵管培養

2% 葡萄糖、蔗糖、乳糖、3% グリセリン、1% 硝酸加里ブイオンにて培養を行ひ、22~23°Cにて培養後調査を行ひたるに次表の如き結果を得たり。

	培養時間	閉管部發育	U字管部沈澱	瓦斯發生量(cc)	酸の生成
葡萄糖	24	+	++	1.65	-
	48	+	++	9.85	-
	72	+	++	14.45	+
蔗糖	24	+	++	1.90	-
	48	+	++	19.70	-
	72	+	++	24.30	+
乳糖	24	+	+	0	-
	48	+	+	0	-
	72	+	+	0	+
グリセリン	72	+	++	14.30	+
	120	+	++	23.10	+
	168	+	++	29.90	+
硝酸加里	72	+	+	0	-
	120	+	+	0	-
	168	+	++	3.00	-

尙乳糖分解の有無を確かむる爲、遠藤氏寒天にて稀釋、ペトリ皿に流し込み、24時間後に觀察したるも、コロニー赤變せず。

【病原細菌の生理學的性質】

1. 酸素との關係：嫌氣性菌の培養法を行ひたり。

- a. 高層寒天に穿刺培養、之に溶解せる寒天を流し込み空氣を遮斷、細菌の發育の有無を檢したるに發育を認めず。

b. BUCHNER 氏法による、即ち大型試験管内に焦性炭食子酸を 100cc の空気に對し、約 1g の割合に入れ、0.1N 苛性加里 10cc の割合に加へ、細菌を移植せる寒天を内容とせる小型試験管の綿栓を緩くして、大型試験管内の柱上に坐らしめ、大型試験管にゴム栓を爲し、パラフィンにて封じ、24 時間室温に保ちたる後 32°C の定温器に納めたり。24 時間内に菌の發育を見ざりき。依て本菌は好氣性菌なりと認めらる。

2. 細菌の生成する物質

a. 亞硝酸鹽。硝酸加里 1 % 加ペプトン水 10cc に病原細菌を植付、24°C に 5 日間保ちたる後亞硝酸鹽の檢出を試みたり。檢體 10cc に薄き澱粉糊 1cc を滴下、次で新鮮なる沃度加里液（沃度加里 1g を水 250cc に溶解）1cc を加へ、濃硫酸を 1 滴宛滴下せるに濃藍色を呈したり。依つて本菌は、硝酸塩を還元するものの如し。

b. アンモニア。亞硝酸加里 1 % 加ペプトン水に病原菌を植付け、24°C に 1 週間保ちたる後、ネスラー試薬にてアンモニアの檢出を試みたるに黄色を呈したり。依つて本菌は、亞硝酸塩を還元するものと認めらる。

c. インドール。ペプトン水に細菌を培養し、5 日後 SALKOWSKI 氏法により之を檢せり。即ち培養液 5cc に亞硝酸加里の 0.02 % 液 0.5cc を加へ、硫酸（強硫酸 1 : 水 1）約 1.5cc を

	時間	温度°C	室温 (2~8)	16	20	24	28	32	36
第 I 回實驗	2		—	—	—	—	—	+	+
	4		—	—	±	++	++	++	++
	6		—	—	±	++	++	++	++
	8		±	±	+	++	++	++	++
	16		+	++	++	++	++	++	++
	18		+	++	++	++	++	++	++
	20		+	++	++	++	++	++	++
	22		++	++	++	++	++	++	++
	24		++	++	++	++	++	++	++
第 II 回實驗	2	室温 3~10°C	—	—	—	—	—	—	—
	4		—	—	±	±	±	+	+
	6		—	±	+	+	++	++	++
	10		—	±	+	+	++	++	++
	20		±	+	++	++	++	++	++
	24		+	+	++	++	++	++	++
第 III 回實驗	4	室温 2~6°C	—	—	—	—	±	+	+
	8		—	—	+	++	++	++	++
	10		—	—	+	++	++	++	++

滴下、静置したるに 5 分以内に紅色を呈したり。

d. 硫化水素. ブイオンに細菌を培養し、鉛糖紙を綿栓の間に挟み置きしに 5 日後黒變せり

3. 細菌の發育と溫度との關係 24 時間を経たるブイオン培養より、1 白金耳宛ブイオンに移植、室温、16°C、20°C、24°C、28°C、32°C、36°C の各溫度に保ち、その發育の良否を検せるに前頁の表の如き結果を得たり。

以上の實驗に依りて本細菌は 36°C 以上にても發育可能にして、32°C 附近が最適溫度なる事を知る。

4. 細菌の死滅溫度. 湯煎槽を用ひ、一定の溫度に調節し、殺菌ブイオンを入れ、寒暖計を挿入ブイオンと湯の溫度とが一定となりたる後、24 時間を経たるブイオン培養より 1 白金耳を鈎菌し、槽中の試験管内のブイオンに移植し、10 分間湯に觸れしめたる後、32°C に 24 時間放置してその潤濁を検したり。

3 回の實驗を通じ見るに、53°C 迄は發育を認むるも、55°C 10 分間にては死滅するものの如し

溫度 °C	35	40	45	50	51	53	55	60	65	70	75
第 I 回	卅	卅	卅	卅	卅	卅	—	—	—	—	—
第 II 回	卅	卅	卅	卅	卅	卅	—	—	—	—	—
第 III 回	卅	卅	卅	卅	卅	卅	—	—	—	—	—

5. 細菌の抵抗力

a. 食塩に對する抵抗力. 植付後 24 時間のブイオン培養より、1, 2, 3, 4, 5 % の割合に食鹽を加へたるブイオンに、1 白金耳量宛をとりて移し、24 時間 32°C に保ちてその潤濁を検したるに次表の如き結果を得たり。

食鹽の濃度 (%)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
第 I 回	卅	卅	卅	卅	卅	+	+	+	+	—	—
第 II 回	卅	卅	卅	卅	卅	+	+	+	±	—	—

2 回の實驗結果を通じて、8 % 迄は能くその發育を認むるも、9 % にては發育せざりき。

b. 酸及びアルカリに對する抵抗力

試験別	水素イオン濃度 (pH)	3	4	5	6	7	8	9
第 I 回		— (3.0)	— (4.0)	+(6.0)	卅 (6.0)	卅 (7.0)	卅 (7.6)	+(5.4)
第 II 回		— (3.2)	— (4.1)	+(6.2)	卅 (6.4)	卅 (7.2)	卅 (7.6)	+(5.9)
第 III 回		— (3.4)	— (4.1)	+(5.9)	卅 (6.4)	卅 (7.8)	+(7.5)	+(6.6)
第 IV 回		— (3.4)	— (3.9)	卅 (6.0)	卅 (6.4)	卅 (7.0)	+(7.6)	+(6.6)

0.1N 塩酸及び 0.1N 炭酸ソーダにてブイオンを種々の水素イオン濃度に變じ、1 白金耳量を接種し、32°C に 24 時間保ちて、その發育を検したり（前頁の表参照）。

4 回の實驗結果より案するに、本菌は pH 5 より pH 9 以上に於ても尙發育し、就中 pH 6 又は pH 7 に於て發育最も良好なるを認めたり。pH 3 以下の酸性側に於ては全く發育せず。

6. 細菌の酵素

A. 外酵素

a. Diastase 寒天培養基に 0.2 % の可溶性澱粉を加へてペトリ皿に流し込み、固化するを待ちて劃線培養せり。之を 24°C の溫度に 7 日間保ちたる後、沃度の 50 % Alcohol 飽和液を寒天の表面に流せるに、菌層を中心とし、帶幅 3mm に及べり。即ち本菌は Amylase を有するものの如し。

b. Invertase 2 % 蔗糖液 10cc、細菌懸濁液 5cc Thymol 1 % 添加、32°C、2 日間放置、Fehling 氏液にて檢したるに、8 日後に至るも Invertase の作用を認めず。

c. Lactase 2 % 乳糖加ブイオンに植付、32°C 24 時間放置、FEHLING 氏液を加へ加熱赤褐色の沈澱を生ず。Lactase を有す。

d. Maltase 2 % 麥芽糖加ブイオンに植付、32°C 24 時間放置、FEHLING 氏液にて検査せるに、Maltase を有するものと思惟せらる。

e. Trypsin 3 % Thymol 加 10 % Gelatin 液を試験管に分注（垂直に固らす）之に 2 % Thymol 加培養液を 1cc 注ぎ室温に放置、液化せず。Trypsin 無し。又 Fibrin を水洗細斷し 0.5 % Kongorot 溶液に 24 時間浸漬したる後、60°C 5 分間加熱し、水洗したる Kongorot-Fibrin 片を細菌液に加へ放置す。12 時間を経るも、赤色消化液を認めず。故に Trypsin 無し。

f. Pepsin 細菌培養液（酸性）の中へ少量の Fibrin を投入し、30 分間放置し、之を取出し蒸溜水にてよく洗滌、0.1 % 鹽酸 5cc を入れたる試験管中に投じ、38°C に放置、1 時間後消化現象を認む。故に Pepsin 有。

g. Lipase バターを 24 時間水浸、鹽分を溶出せしめ、之を溶解しペトリ皿に流し込み固らせ、寒天培地を溶し、1 白金耳の菌を植ゑ、之をバターの上に流し固らしむ。32°C に培養するに、コロニーの周圍透明とならず。

h. Lab 新鮮牛乳 10cc 細菌液 2~4cc を取り、之に Thymol 2 % を加へ、菌液、牛乳共中性に調節、37°C に 24 時間放置せるも、牛乳凝固せず。

i. Pectinase ブイオンに 30°C 3 日間培養、1 % Thymol を加へ殺菌す。之に徑 0.8mm のコルクボーラーにて取出したる人參を約 1cm に切りたるものを加へ、36°, 32°, 28°, 26°, 20°, 16°C に放置、人參細胞の崩壊するや否やを、1 週間目に調査せるに、20°C 以上はすべて

崩壊したり。依つて本菌は Pectinase を有す。 . . -

j. Catalase 試験管に 3 %過酸化水素を入れ、固形培地より 1 白金耳量の菌を添加せるに持続的に泡沫發生す。

k. Oxydase 2 % Hydrochinon 加ブイオンに植付け 32°C に放置。赤黒色に變す。故に本菌は酸化酵素を有するものと認めらる。

B. 内酵素 肉汁寒天培養基を分注したる 20 個のペトリ皿に、30°C にて 20 日間培養し、表面に發育せる細菌を 150~200cc の滅菌水にて洗ひ落とし、充分分散せしめ、遠心分離を行ひ、沈澱せる細菌を 200cc のアルコール、エーテル (3:1) にて乳鉢中に摺り潰し、多量の同一溶媒中に流し込みたり。乾燥せるに灰白色粉末を得たり。酵素液は、この乾燥細菌に 20 倍の水及び 4 %のトルオールを加へ、3 日間 25°C に於て浸漬を行ひたる後遠心分離し、透明なる酵素液を得たり。之より次の酵素につきて實驗を行ひたり。

a. Diastase

- | | | | | | |
|----------|-------|----------|--------|--------|-------|
| 1. 酵素液 | 5cc + | 1 %可溶性澱粉 | 20cc + | Toluol | 0.3cc |
| 2. 煮沸酵素液 | 5cc + | " | + | " | " |
| 3. 殺菌水 | 5cc + | " | + | " | " |
| 4. 酵素液 | 5cc + | 殺菌水 | 20cc + | " | " |

を 35°C, 定溫器に 66 時間保ちたる後、還元糖の形成を FEHLING 氏液にて檢したるに、1 は還元糖の反應を呈したるも他は陰性なり。依つて本菌は Diastase を有す。

b. Invertase 2 %蔗糖液 10cc, 酵素液 5cc, Toluol 數滴を加へ、32°C に放置す。FEHLING 氏液にて轉化糖の有無を檢したるに、2 日後は變化を見ざるも、5 日後赤褐色の沈澱を生じたり。故に本菌は Invertase を有す。

c. Lactase 2%乳糖加ブイオンに本菌を植付し、32°C, 24 時間放置、FEHLING 氏液にて糖分を檢せり。青色還元され、赤褐色の沈澱を生じたるを以て、本菌は Lactase を有するものと認めらる。

d. Maltase 2 %麥芽糖加ブイオンに植付し、32°C, 24 時間放置、FEHLING 氏液にて還元糖を檢したるに、赤褐色の沈澱を生じたり。よつて本菌は Maltase を有するものの如し

7. グループナンバー (Group number)

内生孢子形成せず	200.
純好氣性菌	10.
膠質を溶解す	1.
葡萄糖より酸及び瓦斯を生ず	.02
蔗糖より酸と瓦斯を生ず	.001

瓦斯を出して硝酸鹽を還元す	.0001
色素を出さず	.00000
馬鈴諸澱粉を糖化する作用強し	.000001
グリセリンより酸と瓦斯を生ず	.0000001
故に本菌の Groupnumber は	211.1211011 なり

尙本菌は、未記載の菌株と認めらるゝを以て、その詳細は、今後の研究を俟ちて闡明するところあらんとす。

摘 要

1. 本論文は一種の細菌の寄生に基き、テウセンアサガホ屬植物の葉に斑點を生ずる疾病につき行ひたる觀察並びに實驗結果の一部を記述せり。
2. 本病は8月中旬頃より漸く發病多きものの如くにして、最初水浸狀の斑點を生じ、漸次擴大す。内部は白色稍透明乃至淡灰褐色、周圍には比較的明瞭なる褐色帶を有す。病勢進みたるものは、全葉黃化下垂し早期落葉を見るに至る。
3. 病原細菌はその大きさ $1.3-2.2 \times 0.3-0.7 \mu$ 、グラム陰性、非抗酸性、芽胞、包囊を形成せず1~3本の極生鞭毛を有す。好氣性にして、ゼラチンを溶解す。

葡萄糖・蔗糖・グリセリン・硝酸加里より瓦斯を發生すれども、乳糖にては認められず。葡萄糖・蔗糖・乳糖・グリセリンより酸を形成するも、硝酸加里にては認められず。硝酸鹽・亞硝酸鹽を還元し又、硫化水素・インドールを形成す。本菌は 36°C 以上にてても發育可良、 32°C に於て發育最適、死滅溫度 55°C 。食鹽に對して8%迄抵抗、pH 3.0 以下にては全く發育せざるも、pH 9.0 以上にてても尙發育良好なり。最適水素イオン濃度は pH 6~7 と思惟せらる。

本細菌は Diastase, Invertase, Lactase, Maltase, Pepsin, Pectinase を有するものの如くなるも、Trypsin, Lipase, Lab の存在は不明なり。グループナンバーは 211.1211011 と認めらる。

4. 接種試験の結果、テウセンアサガホ屬植物及びトマトに病原性を有す。

テフセンアサガホの栽培に関する二、三の成績

技 官 平 間 好 美

茲に當所彙報第 64 號に報告せるテフセンアサガホ屬品種の生産力調査に依りスコボラミンの製造原料を目的とするに於てはテフセンアサガホが最も優良なること明となりたるを以て之が栽培法と収量との関係につき調査中なるが茲にその二、三の成績を概報し参考に資せんとす

1. 種子の覆土の深淺が發芽に及ぼす影響

テフセンアサガホの種子は概して發芽困難にして發芽に多くの日数を要し或は又發芽甚しく不齊一となり栽培上支障を來すこと少なからず、播種より發芽迄の間に於ける土壤水分量の多少と密接なる関係を有するが如し。此處には覆土の深淺が發芽に及ぼす影響につき調査を行ひたり。

調査材料及び方法

種子は昭和 18 年度産完熟果より採取せる優良種子を供す。畑地は砂質壤土にして前作芍藥收穫後再耕起し床面 100 cm の短冊形の冷床として覆土の深淺により淺いものは播條、深いものは播穴を作り 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 4.0, 5.0, 10.0 cm の試験種別を設け 3 區制により一區の粒数を 50 とし昭和 19 年 4 月 14 日に丁寧に播種す、發芽歩合に就ては一定期間の發芽数を調べ比較せり。

調査成績

第 1 表、發芽數に關する調査

覆土の 深淺別 (cm)	發 芽 數 (本)				發芽歩合 (%)	發 芽 勢 (%)	發芽勢の 締切日數
	5 月 6 日	5 月 11 日	5 月 30 日	累 計			
0	0	0	1	1	0.6	0.6	47
0.5	21	32	15	68	45.3	35.3	27
1.0	52	38	35	125	83.3	60.0	27
1.5	51	65	36	147	97.9	77.3	27
2.0	43	35	71	149	99.3	99.3	47
2.5	9	32	59	100	66.6	66.6	47
3.0	2	35	58	95	63.3	63.3	47
4.0	0	17	64	81	53.9	53.9	47
5.0	0	0	1	1	0.6	0.6	47
10.0	0	0	0	0	0		

(註) 發芽數は同一試験種別の 3 區分を一括せるものなり。

成績の摘要及び考察

播種日より23日目(5月6日), 28日目(5月11日), 47日目(5月30日)の3回に亘りその間の発芽数を調査せるにその成績は第1表及び第1圖の如し, 即ち覆土2 cm 區に於て99.3%の発芽歩合の高率を示し之を中心として深淺相隔るに従ひ漸次低下する傾向を認めらる. 覆土0.5 cm 區は何れも僅かに0.6%にして10 cm 區に於ては播種後47日目の5月30日に至るも發芽を見ず. 發芽勢に就ては覆土2 cm 區最も良好にして1.5 cm 區之に次ぐ.

以上の成績を綜合するに砂質壤土に於けるテウセンアサガホの覆土は1.5~2.0 cm が最適深度と認めらる.

要するに覆土の深淺により發芽の良否は元より幼植物の地上部と地下部との發育不均衡惹いては生育不良となるを以て實際栽培上其地の氣象, 土質, 地下水の高低等の事項を考慮して最適深度をなすべきものなり.

2. 直播法と移植法との収量比較

從來よりテウセンアサガホ屬植物の栽培法には直播と移植との二種あり何れも栽培上に得失あるも兩者の収量比較調査を行へり.

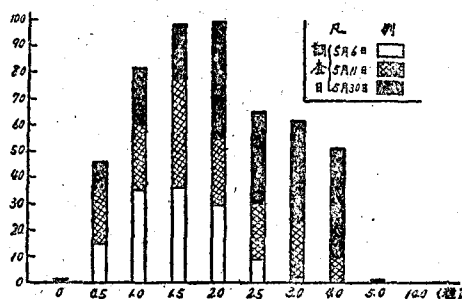
調査材料及び方法

本調査に供せる畑地は砂質壤土にして前作山紫蘇收穫後耕起, 直播區の部分のみ丁寧に地均し畦間130 cm 方向東西株間90 cm 1ヶ所5粒宛とし, 昭和18年4月15日に播種す. 移植區は6月1日再耕, 前者の栽植距離と同様に植穴を設け基肥として下記肥料(直播區は追肥として苗の兩側に施用)を施し置き別に冷床に於て3月20日播種養成せる草丈略々7 cm 程度の苗を選び6月9日に定植す, 肥料は反當堆肥375 kg, 草木灰40 kg, 人糞尿281.25 kg 是等の三要素成分窒素3.281 kg, 磷酸0.937 kg, 加里4.378 kgを直播區は追肥, 移植區は基肥として施用す, 除草, 中耕は隨時行ひ7月1日に土寄す, 收穫は葉は生育に支障を來さざる程度に熟葉より逐次摘取り, 果實は蒴の裂開を待ち果梗より切取り直に果皮と種子とに分ち陽乾す.

調査成績

(1) 地上部の伸育状況

覆土別
第1圖 覆土の深淺と發芽歩合比較

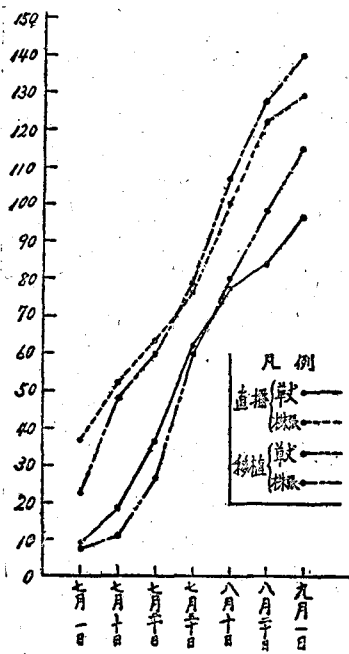


直播區は發芽後生育順調にして7月1日には草丈略々8.2 cm, 株張35.7 cm, 移植區は定植後の發育遅々にして草丈略々8.1 cm, 株張22.2 cm程度なり. この日より毎10日目に伸長状況を調査せるにその成績は第2圖の如し, 即ち7月1日に於ける草丈は直播, 移植何れも略同一なるも其後10日目に至りて直播區は10cm程度伸長するに對し移植區は僅かに4cm程度に過ぎざりしも其後發育順調となり7月20日, 31日, 8月1日に於ては何れも直播區と大差なく, 8月20日, 9月1日に至りては移植區莖葉良く繁茂し却つて伸長大なり, 株張に就ては直播, 移植何れも大差を認められざるも8月20日~9月1日の間に於ては直播區の伸長は遅々として休止の狀を呈せるも移植區に於ては尙伸育を持續す.

調 査 日

第2表 生育に関する調査

第2圖 草丈株張の伸育状況



(註) 草丈は地表より植物體の最高部位までの垂直距離株張は横張につき調査せるものなり。

試験別	草丈 (cm)	同 比	株張 (cm)	同 比	1株當 新鮮植物體重 (g)	同 比	摘 果 着手日
直 播	97.7	89.4	128.1	89.3	54.5	54.5	8月31日
移 植	115.0	100.0	143.3	100.0	100.0	100.0	9月4日

(註) (1) 草丈株張は生育末期(9月1日)に調査せるものなり。
(2) 1株當新鮮植物體重は收穫終了後(12月1日)拔取り根付のまゝ秤量せるものなり。

(2) 生 育 状 況

第2表に示す如く草丈株張及び1株當新鮮植物體重は何れも移植區大にして莖葉良く繁茂し生育旺盛なるも熟期遅し。

(3) 收 穫 量

時期別の収量は第3表及び第3圖の如し, 即ち7月10日20日の2回共直播區収量多く, 8月以降に至りては毎回何れも之と相反し11月13日の新芽を含む収量に於ては直播區多きを示す. 9月10日迄の収量を見るに新鮮量, 風乾量何れも移植區収量多きも乾燥歩留に於ては却つて低率を示す. 100枚當の時期別風乾重に於て直播, 移植何れも8月1日に収

せるもの最大を示し之を中心に早晚相隔るに従ひ漸次低下する傾向を有し兩者の間に一定の關係を認められず。

(4) 收 實 量

時期別の収量は第4表の如し, 即ち10月20日迄の収果數並に風乾量は直播區は移植區に比し何れも半量程度にして又11月中に於ける風乾量は僅かに6.16kgなり. 12月1日の未熟果

第3表 収葉量に関する調査

時期別 試験別	10 a 當 時期別 収葉風乾量 (kg)						
	7月10日	7月20日	8月1日	8月10日	8月20日	9月1日	11月13日
直 播	1.84	7.12	10.96	8.96	59.32	16.00	12.80
移 植	0.80	4.64	13.12	18.24	67.20	25.60	9.92

10a當 (7月10日～9月10日) 間収量			新鮮量より 風乾得量 歩 合 (%)	風乾量比率	100 株 當 風乾量(kg)	
葉 數	新鮮量(kg)	風乾量(kg)				
192,880	607.68	104.20	17.1	80.4	11.84	直 播
244,160	926.00	129.60	13.9	100.0	14.72	移 植

に就て見るに直播區は移植區より収果數に於て 5,600 果も多く風乾量に於て約 4 倍の多收を示す。總じて移植區の新鮮量よりの風乾得量歩合が低率なる結果を見るは一定時期に於ける 1 果當種子新鮮量大なり即ち果肉多量によるものと認めらる。摘果着手日より 10 月 30 日及び 12 月 1 日迄の風乾量は何れも移植區は直播區に比し 2 割 5 分程度の増收なり。

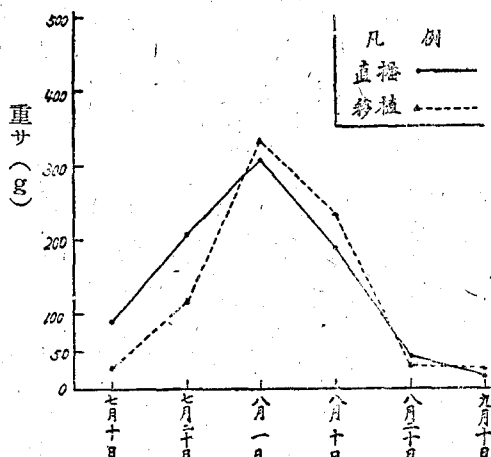
成績の摘要及び考察

1. 本調査はテフセンアサガホの直播法と移植法との収量比較調査を行へり。
2. 生育は直播區は發芽後發育順調、移植區は定植後一時發育停止に近い状態となりしも活着後即ち地上部と地下部の生育が正常的状態に復せしため發育旺盛となり 8 月上旬の頃には兩者共最盛期となり、移植區に於ては初秋の頃までその傾向を持續するも直播區は其後衰退するに至る。
3. 収量に就ては収葉量は移植區は直播區に比し約 2 割の増收なるのみならず葉形大にして収葉に便なり、収實量は収葉量の場合と同様に移植區が 2 割 5 分程度の増收なり。

以上の成績を綜合するにテフセンアサガホの栽培に當りては事情の許す限り移植法に依るを

調 査 日

第3圖 100枚當の時期別風乾量比較



可とす。

前述の移植区の苗は冷床に養成せるものにして、葉實を含む總收量に於て直播法に對し4割5分程度の增收なる結果を得たるを以て苗の養成を溫床法とし1~2回の假植により充分に發

第4表 收實量に關する調査

時期別 試驗別	10a 當時期別收量									
	8月30日~10月20日間					10月21日~31日間				
	果數	收實量(kg)		新鮮量より 風乾得量 歩合(%)	10月1日 收1果當 種子新鮮 量(g)	果數	收實量(kg)		新鮮量より 風乾得量 歩合(%)	10月25日 收1果當 種子新鮮 量(g)
		新鮮量	風乾量				新鮮量	風乾量		
直 播	16.720	169.00	71.20	42.1	10.0	21.040	198.08	80.00	40.3	9.9
移 植	31.440	271.76	140.00	51.5	10.0	17.760	177.20	65.76	37.1	11.0

11月1日~30日間					12月1日					
果 數	收實量 (kg)		新鮮量より 風乾得量 歩 合 (%)	11月15日 收1果當 種子新鮮 量 (g)	果 數	未熟果收實量		新鮮量より 風乾得量 歩 合 (%)	1果當種 子新鮮量 (g)	果 數
	新鮮量	風乾量				新鮮量	風乾量			
3.280	15.20	6.16	40.5	6.0	15.040	105.76	47.20	44.6	7.0	37.760
18.560	141.60	53.92	38.0	8.2	10.640	42.48	12.40	29.1	3.9	49.200

10a 當 自 8 月 30 日 間の收實量 至 10 月 31 日						10a當 自 8 月 30 日 間の收實量 至 12 月 1 日			
收實量 (kg)		新鮮量より 風乾得量 歩合 (%)	風乾量 比 率	百 株 當		果 數	風 乾 種 實 量 (kg)	同 比	
新鮮量	風乾量			果 數	風乾種 實 量				
367.08	151.20	41.1	73.4	4.290	17.181	56.080	204.56	75.1	直 播
448.96	205.76	45.6	100.0	5.590	23.381	78.400	272.08	100.0	移 植

本調査に當りし關根正治、清水源八氏の助力に對し此處に其勞を謝す。

根せしめ定植後の植痛みを軽減するに於ては更に增收を擧げ得られるものと豫測せられ、移植に依る植物體の發育生理、生態的諸問題に關しては目下究明中なるも栽培地の前作、土質、氣象、勞力條件に對して極めて密接なる關係を有するが故是等條件を斟酌し夫々各地に適合せる

移植栽培を計畫的に實施するを得策とす。

3. 栽植様式と収量との關係

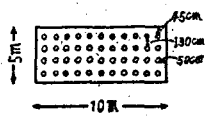
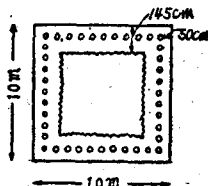
從來の普通栽培に於ては莖葉良く繁茂し收穫上幾多の不便困難のみならず多量の勞力を要する關係上農家一戸當の大面積栽培は不可能なるものと考慮せられ作業、畑地利用上の點からして畦畔作りとなすを可と思料せられるを以て栽植様式中の普通作と畦畔作との収量比較調査を行へり。

調査材料及び方法

本調査に供せる畑地は砂質壤土にして前作山紫蘇收穫後耕起、普通作區は供試面積 0.5a を丁寧に地均し畦間 130 cm、方向東西、畦畔作區は供試面積 1a の畑地の周邊に於て 130cm (中央部の一般作物栽培を勘案し 145 cm の幅となす) 株間 90 cm とし 1ヶ所 5 粒宛夫々昭和 18 年 4 月 15 日に播種す。

兩者の栽植様式圖解を示せば下記の如し。肥料は追肥として反當堆肥 375 kg、草木灰 40 kg 人糞尿 281.25 kg を 6 月 1 日 (苗の最大葉長約 8 cm) 苗の兩側に施用す。除草、中耕は隨時行ひ 7 月 1 日に土寄せ。收穫は葉は生育に支障を來さざる程度に熟葉より逐次摘取り、果實は蒴の裂開を持ち果梗より切取り直に果皮と種子とに分ち陽乾す。

栽植様式圖解

區 分	様式別	普 通 作	畦 畔 作
			
供 試 面 積		0.5 a	1 a
栽 植 面 積		0.5 a	0.5 a
栽 植 本 數		44	40

調 査 成 績

(1) 生 育 状 況

第5表に示す如く草丈は兩者共に大差なきも株張に於ては畦畔作區は極めて大にして莖葉良く繁茂す、従つて1株當の新鮮植物體重も重し、又摘果着手日の早きを見るは莖の第一分岐點の低きに依る。

第5表 生育に関する調査

試験別	草 丈 (cm)	同 比	株 張 (cm)	同 比	1株當 植物體 新鮮量 (g)	同 比	莖の第一 分岐點の 高 (cm)	同 比	摘 果 着手日
普通作	97.7	100.0	128.1	100.0	545	100.0	30.9	100.0	8月31日
畦畔作	97.1	99.3	151.3	118.1	800	146.7	23.6	76.3	8月30日

- (註) 1. 草丈株張は生育末期(9月1日)に調査せるものなり。
 2. 1株當植物體新鮮量は收穫終了後拔取り根付のまゝで秤量せるものなり。
 3. 莖の第一分岐點の高さは地際より第一分岐點に至る高さを調査せるものなり。

(2) 收 量

葉及び實の収量を比較せば第6表の如し。即ち畦畔作區は普通作區に比し収葉量に於て3割5分程度の增收を示す。時期別の収實量は摘果着手日より10月31日迄、11月1日~30日間の収量は何れも畦畔作區の方が収量多く12月1日の未熟果に於ては之に相反す。總収量に就て見れば畦畔作區は普通作區に比し果數に於ては約8割1分も多收を示すも収果、調製等に多

第6表 収量に関する調査

試験別	收穫別	100株當の風乾收量					
		收葉量 (kg)	同 比	自8月30日 至10月31日の間		自11月1日 至11月30日の間	
				果 數	種實量(kg)	果 數	種實量(kg)
普通作		13.30	100.0	4.290	17.18	372	0.70
畦畔作		18.00	135.3	8.172	23.00	2,364	7.90

12月1日未熟果		自8月30日 至12月1日の間總収量				1果當種實量 (g)
果 數	種實量(kg)	果 數	同 比	種實量(kg)	同 比	
1.700	5.36	6.362	100.0	23.24	100.0	3.63
1.026	1.90	11.562	181.7	32.80	141.1	2.83

量の労力を要するのみならず風乾量は僅かに4割1分の増収に過ぎざるは1果當風乾量の輕重に依る。

成績の摘要及び考察

1. 本調査は栽植様式中の普通作り、と畦畔作り、との収量比較調査を行へり。
2. 生育は普通作區の莖の第一分岐點の高いことは榮養生長期に於て徒長せるものと認められる又草丈稍々高し従つて第1果は晩熟、畦畔作區は榮養生長期間短く従つて莖の第一分岐點低く且分枝角大にして第1果は早熟なり。
3. 収量に就ては畦畔作區は普通作區に比し葉に於て約3割5分、實に於て約4割1分夫々増収なり。

以上の成績を綜合するに普通作とするよりも畦畔作とするに於ては收穫の勞力、不便困難等の緩和を圖るのみならず葉、實を含む總収量に於て約7割6分の増収となる結果なるを以て畑地空地等の利用上又初心者之の栽培等に於ては栽植様式は畦畔作とするを最適様式と認めらる。尙栽植様式別による苗の密度並に施用量が生産力に及ぼす關係に付ては更に調査を行はんとす。

4. 摘心が葉及び實の収量に及ぼす影響

從來テウセンアサガホは葉、實何れも製藥原料に供せらるゝも最近製藥資材、製造作業等の關係上製造業者側としては葉を希望する傾向なるに鑑み摘心處理が葉及び實の収量に如何なる影響を及ぼすものやにつき豫備的調査を行へり。

調査材料及び方法

栽培法は一般標準栽培に準じたるも株間のみを30cmとし密植栽培法を取り對照區(無摘心)と摘心區の二種を設け摘心は草丈略々25cm(第一分岐せんとする頃)の頃に摘心せり。

調査成績

(1) 摘心處理に基く地上部の發育狀況

1. 葉の變化

100枚當の時期刊新鮮葉量を比較せば第7表の如し、即ち摘心當日、其後10日目の收葉時は兩者共大差なく7月26日の收葉は摘心區は1株當2~3枚は特に肥大せるを以て別に收葉せるに對照區に比し倍重なり。(第4圖參照)之れ植物の榮養生長の過程に於て常に地上部と地下部との相對的發育生理の原理に基き摘心により地上部と地下部とは量的にも機能的にも均衡が破れ地上部の伸育は一時停止に近い狀態となるが植物體內成分に於ては急激なる變化を豫測

せられ斯かる場合には植物は環境適應性によつて地上部と地下部との均衡を正常的状態に復せんとするの葉の肥大變化と意料せらる、8月6日以降毎回共に摘心區は對照區に比し何れも葉重大なり。之レテフセンアサガホ屬植物は榮養生長期間短く榮養生長と生殖生長とが相對的に生育するものなるも摘心により榮養生長の増強されしものと認めらる。又收葉回数を重ねるに従ひ兩者共何れも葉重は低下する傾向を示す。

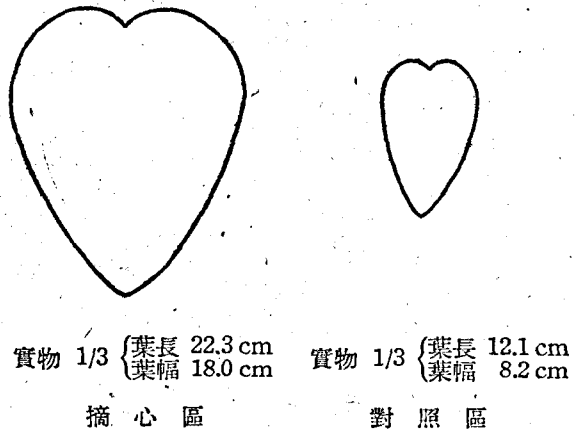
第7表 時期別新鮮葉量の比較

時期別 試験別	100枚當 時期別新鮮葉量 (g)							
	7月7日	7月17日	7月26日		8月6日	8月15日	8月31日	9月14日
對 照	406	595	568		361	181	126	88
摘 心	395	612	298	1103	470	265	137	100

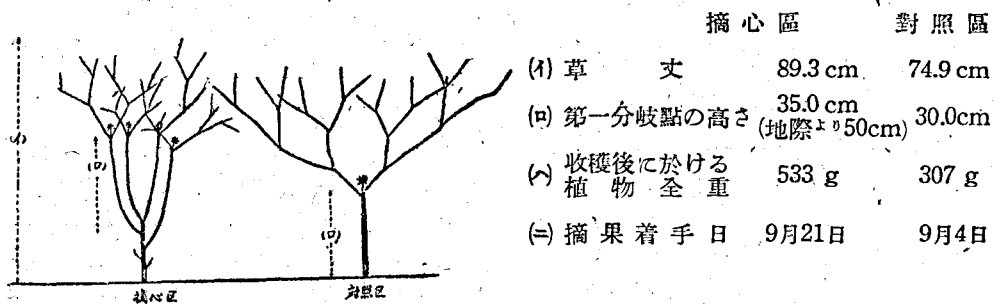
ロ. 地上部の變化

草丈、分枝數、植物體重莢果着生狀況は第5圖の如し、即ち對照區は草丈 30cm 程程度にして分枝しその第一分岐點には7月20日に初開花となりたるに反し摘心區は分枝4本以上となり夫々發育旺盛にして第一分岐點に至るに35cm(地際より50cm)に伸育初めて開花を見るに至れり。従つて摘心區は草丈は大きく莢果の成熟遅く莖葉良く繁茂せり。

第4圖 7月26日收葉時の葉の比較



第5圖 地上部變化狀況比較



第8表 收量に關する調査

試驗別 收量別	10a當 風 乾 收 量					
	葉 の 收 量				實 の	
	枚 數	同 比	葉 重(kg)	同 比	果 數	同 比
對 照	1,136,000	100.0	162.60	100.0	47.790	100.0
摘 心	1,568,000	138.0	250.60	154.1	36.990	77.4

		100 株 當 風 乾 收 量				
收 量		葉 の 收 量		實 の 收 量		
種質量(kg)	同 比	枚 數	葉 重 (kg)	果 數	種質量(kg)	
170.44	100.0	43.030	6.159	1.810	6.469	對 照
84.56	49.5	59.242	9.494	1.400	3.206	摘 心

附 表 收 支 比 較

試驗別 種 別	10a當					
	收 穫 勞 力				葉 の 收 益	
	收 穫(人)	摘 果(人)	累 計(人)	金 額(圓)	收 量(kg)	金 額(圓)
對 照	70	180	250	500	162.60	520.32
摘 心	120	110	230	460	250.60	801.92

實 の 收 益		總 收 益		差 引 額	同 比	
收 量(kg)	金 額(圓)	收 量(kg)	金 額(圓)			
170.44	681.78	343.04	1202.10	702.10	100.0	對 照
84.65	338.61	335.25	1140.53	680.53	96.6	摘 心

- (註) 1. 收穫勞力の收葉は毎回の收葉乾燥、摘果は毎回の摘果調製乾燥に要せる勞力累計延人員なり。金額は收葉摘果の時期を何れも1日女2圓として概算せるものなり。
 2. 販賣價格は製藥業者側の協定價格に依りkg當葉は3圓20錢、實は4圓として概算せるものなり。

(2) 収 量

葉及び實の収量を比較せば第8表の如し。葉の収量は摘心區は對照區に比し收葉枚數に於て約3割8分の増収に對し風乾葉量に至りては約5割4分の収量多きを示すは摘心處理に基く葉の肥大に依る。然れども收實量に於ては果數風乾種實量何れも葉の収量の場合と相反せり。即ち果數に於て約2割3分の減に對し風乾種實量に至りては約5割1分の著減を見るは榮養生長と生殖生長の相對的の生育期間に於て摘心處理により榮養生長の増強に基く結果と立證せらる。

成績の摘要及び考察

1. 摘心處理が葉及び實の収量に及ぼす影響につき調査を行へり。
2. 草丈約25cmに達せる苗を摘心せるに地上部と地下部との相對的の發育生理の原理により地上部の伸育は一時停止狀態となり之が正常的狀態に復せんがため一部葉の肥大發育變化を生ずると共に分枝數は對照區の倍となり急速に伸育從つて莖葉良く繁茂す。
3. 収量は摘心區は對照區に比し收葉量に於て約5割4分の多收なるを示し收實量に至りては之に相反す從つて葉及び實を含む總収量に於ては兩者共に大差を認められず。

以上の成績を綜合するに摘心せるものは收葉量に於ては増収5割以上の好結果を得たるも收實量に至りては却つて半減せり從つて製藥業者側の希望に對しては期待に副ふも栽培業者側に於ては單位面積に於ける總収量大なるを希望する處にして茲に葉の収量を主體とする場合に於ける摘心處理栽培と葉及び實の収量の絶體量を目的とする普通栽培(對照區)との兩者間の生産費中收穫勞力と収益との關係を比較し見るに附表の如し。即ち總収益に於ては對照區は多益なるを示すも差引額に於ては兩者何れも大差なきを以て栽培當業者としては勞力其他の事情に應じ便宜の方法を選び栽培するを可とす。

テフセリアサガホの栽培上最も憂慮せられる摘果調製作業等の勞力節減を考慮するに摘心處理栽培を推奨す。

昭和19年12月10日

中毒小麥粉の生物學的研究 (第1報)

技官 平山重勝, 技官 山本昌木

Biological studies on the poisonous wheat flour (I)

Shigekatsu HIRAYAMA and Masaki YAMAMOTO

緒 言

昭和21年8月下旬から同年10月に亘つて東京都内の一部に配給された小麥粉による食中毒事件が突發した。その中毒症状は比較的輕くは有つたが發生が集團的であつたために當時問題となつたのである。筆者等は松尾所長よりその原因について生物學的檢索を行ふやう依頼されたので本研究を開始した。未だ結論を得るには至らないが一應現在迄の研究結果を報告する次第である。

生物學的見地から有毒小麥粉發生の原因を尋ねると次のことが考へられる。

1. 有毒雜草種子の混在
2. 寄生菌に感染した麥粒の混在

有毒雜草種子としてムギナデシコ (*Lychnis Githago* SCOP.) ヤハズエンドウ屬植物 (*Vicia-alia* L., *V. angustifolia* ROTH.) 等擧げられるが、就中注意を要するのは毒麥 (*Lolium temulentum* L.) で歐洲では古くから問題となつて居り、本邦でも明治14年頃島根縣下に發生し、後福井縣にも發生した記録があり、更に明治37年前後に熊本、島根、埼玉、山梨、石川、新潟、北海道に發生したと云ふ(9, 15, 18) 毒麥の澱粉粒は所謂複合澱粉で小麥澱粉とは異なるので、顯微鏡檢査によつて異種澱粉粒存在の有無を檢査した。試料中には之を發見し得なかつたので之等に對する嫌疑は薄らぎ第二の可能性について考察を行つた。

小麥に寄生する菌類中有毒とせられるものに腥黑穗病菌 (*Tilletia tritici*), 麥角菌 (*Claviceps purpurea*), 赤黴病菌 (*Gibberella saubinetii*, *Fusarium* spp.) 等が報ぜられ、就中後二者は中毒例が多く著名である。腥黑穗病菌混在の場合には穀粉は黒味を帶び魚臭があるので比較的容易に檢索され、麥角菌の場合には特徴ある菌核の外部組織が殘存し又混入率も比較的多い場合にのみ中毒するやうで、ロシアでは混入率0.15%迄許されて居ると云ふから(18), 本事件の原因が麥角及び腥黑穗病菌に因るものでないと斷定して誤りないものと思へる。

赤黴病(黒點病)となつた麥類の穀粒は、"Scabby-grain" とよばれ、本病穀粒の人畜に對す

本研究に際し始終御鞭撻を賜つた松尾所長、動物試驗について御援助を戴いた古賀動物園長並に實驗中助力された青山好夫、湯川良夫兩氏に深厚なる謝意を表したい。

る有毒性は歐洲ロシア、東部シベリアで早くから注目され、之によつて有毒となつたパンを “Drunk bread”, “Inebriant bread” 等と云ひ、中華民國農民は “Mi-chun” と稱することが報ぜられる (7)(23)。赤黴病の原因は *Gibberella saubinetii* (MONT.) SACC. といふ一種の子囊菌の寄生によるのが主であつて、その分生種子時代は *Fusarium graminearum* SCHWABE とされてゐる。又本病の病原として本菌の他、數種の *Fusarium* 屬菌即ち *F. culmorum*, *F. herbarum*, *F. avenaceum*, *F. solani*, *F. moniliforme* 等も參與すると云はれる。赤黴病による穀類の中毒についてロシアでは既に 1898 年に WORONIN の研究があり (9) 其後にも NAUMOV (23), DUONIN (7) 氏等が報告を行ひ、病狀として頭痛、眩暈、惡感、嘔吐、視力障害を擧げてゐる。1928 年北米合衆國中西部 (Corn-belt region) に本病の大發生があり之は家畜飼料として有害なので問題となり、偶々歐洲に飼料として輸出した大麥中に本病被害粒が混じて居たため獨逸で豚の中毒が頻發した。中毒症狀としては惡心 (Nausea), 嘔吐 (Vomiting) 體重の減少である。之を契機として獨逸 (1, 4, 12, 14, 19, 20, 22) 及び米國で研究が行はれ 1929 年暮の米國植物病理學會では MUNDKUR, COCHRAN (16), ROCHE (21), DICKSON (5) 氏等の研究發表があり、1930 年には MAINS, VESTAL 氏等 (13), 1936 年には CHRISTENSEN 氏等 (3) の動物實驗の結果が報ぜられてゐる。

日本で本病被害穀物の中毒が報ぜられた例は少いが、昭和 7 年北海道で燕麥に本病の大發生があり馬の食はぬ飼料として困惑したといふことであり翌年北大橋内教授 (25) は動物試驗の結果モルモットにも病變を起すことを報じ、同年ト藏氏 (2) も被害麥を馬に給與すれば下痢し、被害粒の多數を混じたものを「麥コガシ」として食べれば嘔吐下痢する旨を記し、原氏 (8) も「著者の知るところによるも被害穀粒が人類に 1 種の下痢を起さしむるものなり」と記してゐる。

赤黴病被害粒の有する中毒物質についての知見は少いが DICKSON 氏等 (6) はグルコシード、又は鹽基性窒素化合物とし、POPP (20) は有毒蛋白又は有毒窒素化合物が生成されるためと論じ、DANCKWORTT 氏 (4) は被害粒には青酸及びアルカロイド反應はないが、アンモニア、アミン等を證明し、SCHROETER, STRASSBERGER 兩氏 (22) はヒヨリンカヒヨリンの脂肪酸エステルが有毒麥に多量に存在すると云ふ。高橋、白濱氏等 (24) も非蛋白質窒素が多くなり、ヒヨリン及びアミンが檢出され、又脂肪酸も變質して有害な Lysolecithin 類似物質を認めてゐる。

既に述べたやうに今回の小麥粉中毒事件については生物學的に數種の原因が存在する可能性があるが、その内赤黴病被害粒の存在する疑が最も濃厚なのでこの點について究明を行つた。

研 究 結 果

I. 菌の分離試験

方 法 小麥粉の場合には WAKSMAN 氏寒天培地, 又は乾杏煎汁寒天を用ひ, 稀釋法によつて平板培養を行ひ, 玄麥の場合には無消毒のまゝ或は 0.1%昇汞水で5分間表面消毒後滅菌水にて洗滌し, WAKSMAN 寒天培地上に播種して發育して來る絲狀菌の分離を行つた。

結 果 A. 中毒小麥粉

1. 9月5日警視廳より送付された試料

分離菌株數	出現した <i>Fusarium</i> 株數	其他の菌
19 株	2	<i>Macrosporium</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Aspergillus</i>

2. 9月20日警視廳より送付された試料で中野六丁目町會に配給した中毒小麥であるが, 配給所で交換のため回収したものである。

試 驗 番 號	分離菌株數	出現した <i>Fusarium</i>	其 他 の 菌
I	21	0	<i>Penicillium</i> (16), <i>Aspergillus</i> (4) 不明 (1)
II	17	0	<i>Penicillium</i> (15), <i>Aspergillus</i> (2)

3. 10月16日杉並區天沼一丁目町會に配給し中毒を起した小麥粉 (a) 及び同地配給所から得た試料 (b) で, 共に小山工場の製品である。

試 驗 番 號	試 料	分離菌株數 總	出現した <i>Fusarium</i> 株 數	其 他 の 菌
I	a	18	0	<i>Penicillium</i> (14) <i>Cladosporium</i> (1) <i>Macrosporium</i> (1) <i>Rhizopus</i> (1), <i>Mucor</i> (1)
	b	1	1	0
II	a	11	2	<i>Penicillium</i> (3), <i>Aspergillus</i> (3) <i>Cladosporium</i> (1) 種屬不明菌(2)
	b	6	0	<i>Penicillium</i> (3), <i>Aspergillus</i> (1), <i>Rhizopus</i> (1) 種屬不明菌(1)
III	a	66	36	<i>Penicillium</i> (26) <i>Aspergillus</i> (3), <i>Cladosporium</i> (1)
	b	49	13	<i>Penicillium</i> (36)
計	a	95	38	<i>Penicillium</i> (43), <i>Aspergillus</i> (6), <i>Cladosporium</i> (3) <i>Macrosporium</i> (1), <i>Rhizopus</i> (1), 種屬不明菌(3)
	b	56	14	<i>Penicillium</i> (39), <i>Aspergillus</i> (1) <i>Rhizopus</i> (1) 種屬不明菌(1)

B. 無毒小麥粉

1. 9月5日頃世田谷區玉川用賀町に配給のもの。

4株の絲狀菌を分離したが *Penicillium* 及び *Aspergillus* に屬するもので *Fusarium* 屬菌を得ない。

2. 10月16日杉並區天沼一丁目の中毒事件の際中毒粉と引換えに配給した高崎日清製粉所産のもの。

實驗 番 號	試 料	分離菌株 總 數	出現した <i>Fusarium</i> 株 數	其 他 の 菌
I	a	5	0	<i>Penicillium</i> (2), <i>Aspergillus</i> (1), <i>Mucor</i> (1), 細菌(1)
	b	1	0	種屬不明菌(1)
II	a	5	0	<i>Penicillium</i> (1), <i>Aspergillus</i> (3), <i>Rhizopus</i> (1)
	b	2	0	<i>Penicillium</i> (2)
III	a	12	0	<i>Penicillium</i> (10), <i>Aspergillus</i> (2)
	b	10	0	<i>Penicillium</i> (10)
計	a	22	0	<i>Penicillium</i> (13), <i>Aspergillus</i> (6), <i>Rhizopus</i> (1), <i>Mucor</i> (1), 細菌(1)
	b	13	0	<i>Penicillium</i> (12), 種屬不明菌(1)

3. 小山工場から送付の内地産小麦粉、麴等

- a. 麴 *Penicillium* 10 株
- b. 製粉の際、最初に出る粉 *Penicillium* 14 株, 細菌 1 株
- c. 同上最後の粉 *Penicillium* 8 株
- d. 同上糠 *Penicillium* 11 株, 種屬不明菌 1 株
- e. 同上糠(混砂) *Penicillium* 1 株 *Rhizopus* 1 株

之等の試料からは *Fusarium* 屬菌を得て居ない。

C. 玄 麥

1. 中野中毒事件の際の玄麥と稱するもの。

a. 表面消毒を行はず分離試験を行つた結果

試 料	供 試 粒 數	分離菌株總數	<i>Fusarium</i> を 分離した粒數
玄 麥	300	40	6
枇	150	67	3

但し枇とは外觀上稔實不完全なものを選別したもので 1267 粒中 276 粒 (13.1%) を得た試料である。

b. 表面消毒を行つて分離試験を行つた結果

試験番號	供 試 粒 數	菌の發生した 粒 數	<i>Fusarium</i> の 發生した粒數
I	300	35	7
II	120	15	2
III	300	20	1
IV	250	6	1

2. 小山工場から送付された麩及び屑. 之等は中毒小麥粉製粉の際得られたものである.

Fusarium 屬菌 5 株を分離した.

D. 内地産玄麥

春日部分場所産のもの : 表面消毒を行つたもの 300 粒について分離試験を行つたが菌が發育して來たのは 17 例, *Macrosporium* (*Alternaria*) 及び種屬不明菌 (2 例) であつて *Fusarium* に屬するものは無かつた.

以上の分離試験の結果を綜合して見ると, 中毒小麥粉として提出され試料の内中野六丁目町會に配給したといふものを除いて殆ど毎回の分離試験に *Fusarium* 屬菌を得て居る. 更に中毒小麥粉の玄麥及びその麩等からも *Fusarium* 屬菌を分離した. 殊に表面消毒を行つた玄麥でも之が發育して來たことは注意を要する. 之に反して對照として用ひた無毒小麥粉及び無毒玄麥からは今迄の處 *Fusarium* 屬菌を分離することがなかつた.

II. 中毒小麥から分離した *Fusarium* 屬菌の菌學的性質

a. 供 用 菌 株

F₁.....無消毒玄麥から分離したもの.

F₄, F₁₂.....表面消毒を行つた玄麥から分離したもの.

F₇, F₈, F₉ ...製粉時破碎した玄麥から分離したもの.

F₁₁麩から分離したもの.

GM₅, GM₆...中毒小麥粉から分離したもの.

b. 各種培養基上の性質

CZAPEK氏寒天, 馬鈴薯煎汁寒天, 蒸白米, 馬鈴薯, 大豆莖, 稻稈, 乾杏煎汁寒天, WAKSMAN氏寒天, 玉蜀黍粉寒天等の各培養基上に菌を植付け 8 日後及び 21 日後に觀察した結果を示すと次のやうである (第1表, 第2表)

第 1 表 中毒小麥から分離した *Fusarium* spp. の

菌 株		F ₁			F ₄			F ₇			F ₈		
培養基													
玉蜀黍 寒天	氣菌中糸	柑綿玉	毛蜀黍	粗狀色	柑綿白	毛	粗狀	同		左	同		左
	基菌中糸	十淡	黃	藥	十深	支	子	十淡	黃	藥	同		左
WAKSMAN 寒天	氣菌中糸	柑綿白	毛	密狀色	柑綿淡	毛黃	密狀藥	柑綿白	毛	密狀	柑綿白	毛	密狀
	基菌中糸	柑香		色	柑香		色	柑香		色	柑香		色
乾杏煎汁 寒天	氣菌中糸	十綿白	毛	粗狀	柑綿白	毛	粗狀	十綿白	毛	密狀	柑綿白	毛	密狀
	基菌中糸	柑香		色	柑香		色	柑香		色	柑香		色
馬鈴薯煎汁 寒天	氣菌中糸	柑綿白	毛	密狀	柑綿淡	毛黃	密狀藥	柑綿淡	毛卵	密狀色	柑綿白	毛	密狀
	基菌中糸	柑白		茶	柑白		茶	柑白		茶	柑白		茶
大豆莖 寒天	氣菌中糸	柑綿白	毛	密狀	柑綿淡	毛黃	密狀藥	柑綿白	毛	密狀	柑綿白	毛	密狀
	基菌中糸	柑白		茶	柑白		茶	柑白		茶	柑白		茶
稻稈 寒天	氣菌中糸	柑白		粗	柑白		粗	柑白		粗	柑白		粗
	基菌中糸	柑淡	卵	密色	柑綿白	毛淡	密狀色	柑綿白	毛淡	密狀色	柑綿白	毛淡	密狀色
蒸白米 寒天	氣菌中糸	柑白		密	柑白		密	柑白		密	柑白		密
	基菌中糸	柑黃		茶	柑白		茶	柑黃		茶	柑黃		茶
馬鈴薯 寒天	氣菌中糸	柑綿白	毛	密狀	柑綿淡	毛黃	密狀藥	柑綿白	毛	密狀	柑綿白	毛	密狀
	基菌中糸	柑白		茶	柑白		茶	柑白		茶	柑白		茶

1. 色の記載は和田三造：色名總鑑によるものである。又(+)は生育の度合を示す。

第Ⅱ表 中毒小麥から分離した *Fusarium* spp. の

培養基			F ₁			F ₂			F ₇			F ₈		
玉蜀黍	寒天	氣菌中糸 基菌中糸	卅玉	蜀黍	密色	卅玉	蜀黍	密色	卅玉	蜀黍	密色	卅玉	蜀黍	密色
			卅淡	香	色	卅淡	香	色	卅淡	香	色	卅淡	香	色
WAKSMAN 氏寒天	氣菌中糸 基菌中糸		卅綿淡	毛黃	密狀藥	卅綿山	毛吹	密狀色	卅綿白	毛	密狀	卅綿白	毛	密狀
			卅幹		色	卅金		茶	卅金		茶	卅金		茶
乾杏煎汁	寒天	氣菌中糸 基菌中糸	卅綿白	毛	粗狀	卅綿淡	毛香	粗狀色	卅淡	一香	密狀色	卅淡	一香	密狀色
			卅香		色	卅香		色	卅香		色	卅香		色
馬鈴薯煎汁	寒天	氣菌中糸 基菌中糸	卅綿白	毛	密狀	卅綿山	毛吹	密狀茶	卅綿山	毛吹	密狀茶	卅綿白	毛	密狀
			卅丁	字	茶	卅檜	皮	色	卅檜	皮	色	卅檜	皮	色
大豆莖		氣菌中糸	卅綿白	毛	密狀	卅綿白	毛	密狀	卅綿白	毛	密狀	卅綿白	毛	密狀
稻稈		氣菌中糸	卅白			卅白			卅白			卅白		
CZAPEK 氏寒天	氣菌中糸 基菌中糸		卅綿淡	毛卵	密狀色	卅綿淡	毛卵	密狀色	卅綿淡	毛黃	密狀藥	卅綿黃	毛藥	密狀色
			卅玉	蜀黍	色	卅檜	皮	色	卅檜	皮	色	卅檜	皮	色
蒸白米	基菌中糸 基菌中糸		卅白		密	卅白		密	卅白		密	卅白		密
			卅落	葉	色	卅落	葉	色	卅落	葉	色	卅落	葉	色
馬鈴薯	氣菌中糸		卅白	口一丁	密狀茶	卅白	口一丁	密狀茶	卅白	口一丁	密狀茶	卅白	口一丁	密狀茶

各種培養基上の性質（植付後 21 日目）

F ₉			F ₁₁			F ₁₂			GM ₅			GM ₆		
卅玉	蜀 黍	密色	卅玉	蜀 黍	密色	十玉	蜀 黍	密色	卅玉	蜀 黍	密色	卅玉	蜀 黍	密色
卅飴		色	卅飴		色	卅飴		色	卅紅	海 老 茶	色	卅飴		色
卅綿白	毛	密狀	卅綿淡	毛黄	密狀葉	卅綿長	毛香	密狀色	卅綿淡	毛卵	密狀色	卅綿白	毛	密狀
卅幹		色	卅丁	字	茶	卅幹		色	卅幹		色	卅幹		色
卅ビ淡	一香	密狀色	卅ビ淡	一香	密狀色	十茜	基面を織	細なる菌糸にて覆	卅細淡	菌香	色	十ふ淡	香	色
卅香		色	卅香		色	卅茜		色	卅茜		色	卅茜		色
卅綿山	毛吹	密狀茶	卅綿山	毛吹	密狀茶	卅綿洗	毛	密狀茶	卅綿山	毛吹	密狀茶	卅綿銀	毛煤	密狀色
卅檜	皮	色	卅媚	茶	色	卅媚	茶	色	卅媚	茶	色	卅媚	茶	色
卅綿白	毛	密狀	卅綿白	毛	密狀	卅綿白	毛	粗狀	卅綿白	毛	密狀	卅綿白	毛	密狀
卅白			十白			卅白			十白			卅白		
卅綿油	毛	密狀色	卅綿青	毛松	密狀葉				卅綿白	毛	密狀茶	卅綿淡	毛黄	密狀葉
卅檜	皮	色	卅檜	皮	色				卅檜	皮	色	卅玉	蜀 黍	色
卅白		密	卅白		密				卅白		密	卅白		密
卅落	葉	色	卅落	葉	色				卅白	茶, 玉蜀黍	色	卅落	葉	色
卅ビ白	一ド	密狀茶	卅ビ落	一葉	密狀色	卅綿ト	毛	密狀口	卅ビ白	一ド	密狀茶	卅ビ白	一ド	密狀茶

C. 胞 子

中毒小麦粉、玄米、麴等から分離した *Fusarium* の各株を WAKSMAN 氏寒天培養基に移植し、各型胞子の形成の有無、大型分生胞子の大きさ等について調査した。その結果は第3表の如くである。但し培養日数 21 日目、測定胞子数は各 200 個である。(附圖参照)

第3表 中毒小麦から分離した *Fusarium* 菌胞子の記載

菌 株	胞子形成の有無			大型分生胞子の大きさ、隔膜数 (括弧内の数字は標準偏差)					
	大型分生胞子	小型分生胞子	厚膜胞子	長 さ (単位 μ)		巾 (単位 μ)		隔 膜 数	
				範 圍	平 均 値	範 圍	平 均 値	範 圍	平 均 値
F ₁	—	—	+						
F ₄	—	—	+						
F ₇	+	+	+	20.0~ 41.3	28.8±0.19 (4.03±0.14)	2.7~ 5.0	3.5±0.01 (0.31±0.01)	2~5	3.3±0.02 (0.50±0.02)
F ₈	—	—	+						
F ₉	+	+	+	16.6~ 40.0	26.2±0.18 (3.87±0.13)	2.7~ 6.0	3.3±0.02 (0.34±0.01)	3~6	3.4±0.03 (0.57±0.02)
F ₁₁	+	+	—	16.6~ 40.0	27.5±0.29 (4.01±0.14)	2.9~ 4.3	3.3±0.01 (0.26±0.01)	2~6	3.5±0.03 (0.73±0.02)
F ₁₂	—	—	+						
GM ₅	+	+	+	5.0~ 36.7	24.1±0.18 (4.17±0.12)	2.3~ 4.3	3.15±0.01 (0.33±0.01)	2~5	3.8±0.02 (0.46±0.01)
GM ₆	+	+	—	12.7~ 25.0	1.77±0.15 (3.43±0.11)	2.3~ 4.3	3.15±0.02 (0.36±0.01)	1~5	3.4±0.03 (0.67±0.02)

II. 動 物 實 験

a. 緒言に述べたやうに外國で發生した麥中毒は豚が特に敏感であるから、上野動物園の好意によつて同園飼育の家豚について攝食試験を行った。

試料：中毒小麦粉としては9月20日警視廳より送付の中野六丁目會に配給したと云ふもの及び菌の純粹培養を用いた。之には1l三角コルベンに内地産麴200gr水道水250grを入れ高壓滅菌した後9月28日F₄(表面消毒した麥から分離したもの)及び對照としてY₁(和歌山縣産小麦稈から得た *Fusarium* sp.)を植付け、10月10日に取出して60°Cにて乾燥し粉末としたものを煮沸麥に混じた。小麦粉の場合は團子とした。供試動物及び實驗飼料の混合割合は次表の通りである。

試験区	供 試 動 物	煮 沸 麥	菌 培 養 麩	麩	中毒小麥粉	計
	貫	gr	gr	gr	gr	gr
I	5.050 (牝)	250	100 (F ₄)	0	0	350
II	6.100 (牡)	200	200 (F ₄)	0	0	400
III	5.560 (牡)	200	200 (Y ₁)	0	0	400
IV	4.070 (牡)	0	0	0	600	600
V	3.550 (牝)	200	0	200	0	400

結 果： 前日から絶食させた豚を 10 月 11 日正午頃各別箇の檻に入れて上記の飼料を與えた。攝食状況は初めはいつれの動物もよく食べたが不味のためか中途にて中止し若干時の後に再び食するもの多く、いづれも多少を残した。但し IV 区のもはこの飼料（中毒小麥粉團子）を好み初め與へた 300gr を直ちに食ひ、更に 300gr を追加したが之も全部を食した。

動物の状態を 4 時間に亘つて觀察したが第 I 区及び第 III 区はやや敏活に運動しないやうではあつたが異狀とは認められず、文献に見えるやうな嘔吐等は全然見られなかつた。更に其後の觀察によるも變調は無かつた。

尙同日本實驗に使用した小麥粉 600gr を蒸パンとして 4 人で試食したが何等の異狀がなかつたことを追記したい。

b. 小麥粉、玄麥、麩等から分離した *Fusarium* 屬菌を WAKSMAN 氏培養液に 11 月 1 日播種し翌年 1 月 12 日その培養濾液を滅菌してマウスの腹腔内に注射した。その結果 F₄（表面消毒を行つた玄麥から分離したもの）の培養濾液を注射したものは 0.5cc 以上で斃死した。他株の培養濾液では全然異狀を認めなかつた。

考 察

生物學的見地から今回の小麥粉中毒事件を考察すれば、試料中には異物が混在して居るとは認め難いから、從來穀物中毒の原因として知られてゐる赤黴病に罹つた小麥粉が混在する可能性を考へ、各種の材料について菌の分離試験を行つた。その結果中毒小麥粒、同玄麥、麩等から *Fusarium* に屬する菌を分離した。殊に表面消毒を行つた玄麥から *Fusarium* を分離したことは麥の内部に同菌が潜在してゐたことを確實に示すものと云ひ得る。但しその出現率が比較的少いことも考慮に入れなければならぬ、もつとも中野六丁目會に配給せられたと稱する試料からは *Fusarium* を全然分離して居ないが、これを豚及び人が食して何等異狀が無かつたことも注意すべきである。次に内地産の玄麥、無毒小麥粉からは *Fusarium* 菌が 1 例も分離されてゐない。

動物試験の結果は本菌の麩上の純粹培養は何等の毒性を豚に示さず、大部分の菌培養濾液も無毒であつたことは吾々の期待を裏切るやうでもある。但し米國で MAINS, VESTAL 氏等 (13) 及び CHRISTENSEN, KERNKAMP 氏等 (3) の試験結果も *Gibberella* (赤黴病菌) の純粹培養では著明な中毒症状を起してゐない。又動物試験も例数が少いので決定的なことは云ひ得ないであらう。

吾々が分離した *Fusarium* 屬菌の種名等については目下考慮中であるが多くの菌株は *Gibberella saubinetii* とは異つて居るもののやうである。但し玄麥から得た F_{12} の如きものは培養上の性質が *G. saubinerii* に酷似してゐる。

穀物の赤黴病が中毒原因となることは文献の示す處であるから、今回の中毒原因が赤黴病によるものであり、且我々の分離した菌が本中毒を起した原因の菌であることは今日迄の實驗結果からは結論することは出来ないが、密接な關係が存在するやうに考へられる。

摘 要

昭和 21 年 8 月より 10 月に亘つて東京都内に發生した中毒小麥粉について生物學的檢索を行つた。

顯微鏡検査の結果、異種澱粉、異物の混在を認めなかつたので有毒植物種子、麥角、腥黑穗病菌の混在によるものでないと推察して他の生物學的原因を考へ分離試験を行つた。

この結果有毒小麥粉、同玄麥、製粉の際出來た麩等から *Fusarium* に屬する菌を分離した。一方無毒小麥粉等からは之を分離してゐない。分離した *Fusarium* の各株について形態及び培養基上の性質を調査したが、現在迄中毒穀類の原因であると云はれる *Gibberella saubinetii* と同定し得なかつた。純粹培養についての動物試験の結果もその有毒性を確認するには至らないが、*Fusarium* に感染した穀粒の混在と本中毒事件の原因に密接な關係が有るやうに思はれる。

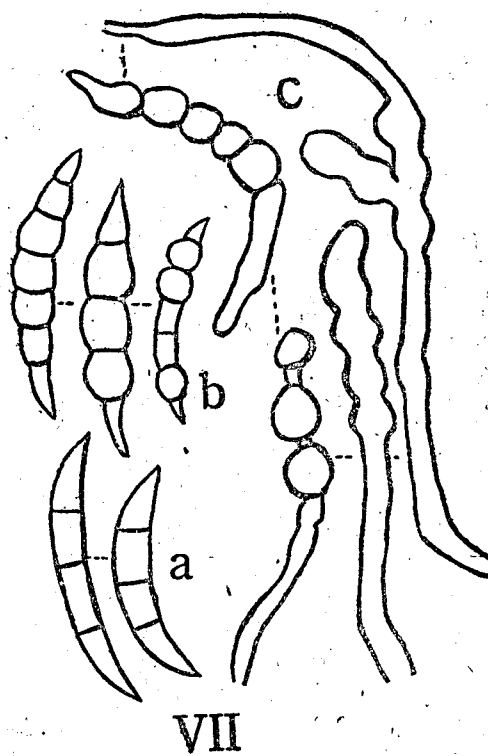
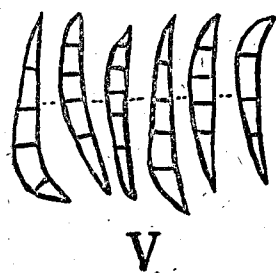
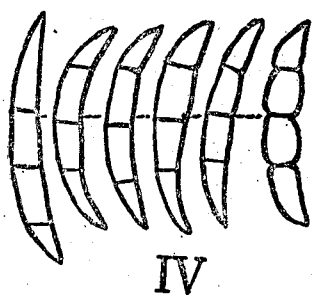
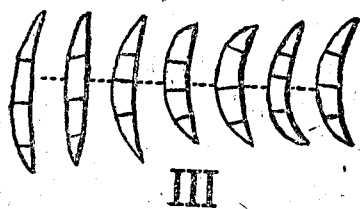
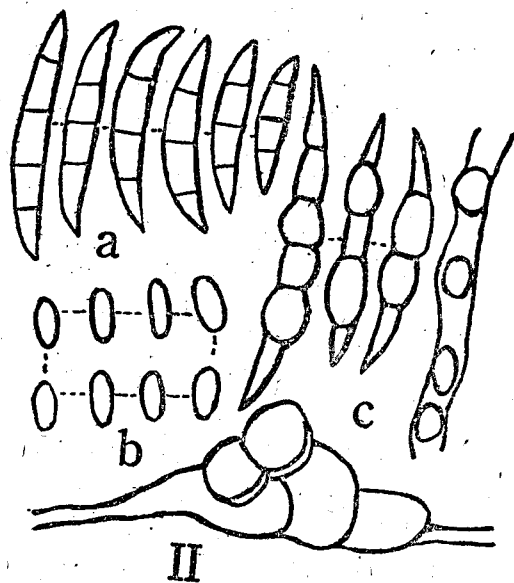
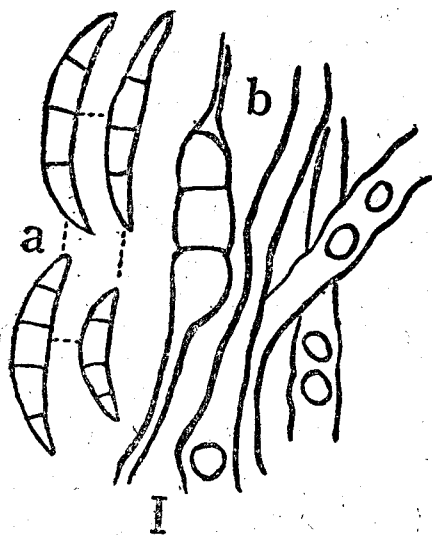
文 献

- (1) : Die Ursache der Giftigkeit der amerikanischen Gerste. Mitt. Gesellsch. Vorratsschutz, 4 (6) : 66-67, 1928.
- (2) 卜藏梅之丞 : 麦類病害論 (8). 病虫雜, 20 (5) : 390-397, 昭和 8 (1933).
- (3) CHRISTENSEN, J.J. and KERNKAMP, H.C.H. : Studies on the toxicity of blighted barley to swine. Tech. Bull. Minn. Agr. Exp. Sta., 113, 1936.
- (4) DANCKWORTT, P.W. : Chemische Untersuchung der amerikanischen Giftgerste. Deut. tierärztl. Wochenschr., 37 (11) : 170-171, 1929. (R.A.M., 8 : 440, 1929)
- (5) DICKSON, J.G., SHANDS, R.G., HOPPE, F.E., JOHANN, H. and MAINS, F.B. : Progress report on barley and wheat scab. Phytopath., 20 (1) : 131, 1930.
- (6) DICKSON, A.D., LINK, K.P., ROCHE, B.H. and DICKSON, J.G. : Report on the emetic substances in Gibberella infected barley. Phytopath., 20 (1) : 132, 1930.
- (7) DUONIN, M. : The fusariosis of cereal crops in European Russia in 1923. Phytopath., 16 (4) : 305-308, 1926.
- (8) 原攝祐 : 實驗作物病理學 養賢堂.
- (9) 出田新 : 日本植物病理學 下卷 裳華房 明治 44 (1911).
- (10) " : 續日本植物病理學 上卷 裳華房 大正 12 (1923).
- (11) JANOVA, N. : (Determination of the parasitic properties of some Fusarium species parasitizing wheat by their amine nitrogen production.) Summ. Sci. Res. Wh. Inst. Pl. Prot., Leningrad, 1935 : 496-498, 1936. (R.A.M., 16 : 31, 1939).
- (12) KUCHLER, L.F. : Über die Ursachen der Erkrankungen und Bekömmlichkeitsverluste bei der verfütterung ausländischer Futterstoffe. Prak. Blätter f. Pflanzenbau u. Pflanzenschutz, 7 (6) : 137-143 ; (7) : 171-174, 1929. (R.A.M., 9 (1) : 30, 1930)
- (13) MAINS, E.B., VESTAL, C.M. and CURTIS, P.B. : Scab of small grains and feeding trouble in Indiana in 1928. Proc. Indiana Acad. Sci., 39 (1929) : 101-110, 1930.
- (14) MIESSNER, H. and SCHOOP, G. : Über den Pilzbefall amerikanischer "Giftgerste". Deut. tierärztl. Wochenschr., 37 (11) : 167-170, 1929. (R.A.M., 8 : 440, 1929)
- (15) 宮本三七郎・大川徳太郎 : 家畜有毒植物學 克誠堂, 昭 17 (1942).
- (16) MUNDKUR B.B. and COCHRAN, R.L. : Some feeding tests with scabbed barley. Phytopath., 20 (1) : 132, 1930
- (17) MUNDKUR, B.B. : Some preliminary feeding experiments with scabby barley.

- Phytopath., 24 (11) : 1237-1247, 1935.
- (18) 中田覺五郎・日野巖 : 植物病理學大系 養賢堂, 昭13 (1938)
- (19) OPFERMANN und DOENOCKE : Fütterungsversuche mit amerikanischer "Giftgerste"
Deut. tierärztl. Wochenschr., 37 (11) : 165-167, 1929. (R.A.M., 8 : 440, 1929)
- (20) POPP, M. : Untersuchungen über die amerikanischer Giftgerste. Chem. Zeit., 54
(74) : 715, 1930.
- (21) ROCHE, B.H., BOHSTEDT, G. and DICKSON, J.G. : Feeding scab infected barley.
Phytopath., 20 : 132, 1930.
- (22) SCHROETER, G. und Strassberger, L. : Cholin als Schadstoff in kranker Gerste.
Bioch. Ztsch., 232 : 452-458, 1931.
- (23) SHAPOVALOV, M. : Intoxicating bread. Phytopath., 7 : 384-386, 1917.
- (24) 高橋榮治・白濱潔 : 札幌農林會報 25 : 375, 1934.
- (25) 柄内吉彦 : 禾穀類の黒點病に就て 病虫雜, 20 (2) : 106-114, (3) : 179-188, 昭和8
(1933).

圖 版 說 明 (× 600)

- (I) F_1 a. 大型分生孢子; b. 厚膜孢子
- (II) F_4 a. 大型分生孢子 b. 小型分生孢子
- (III) F_8
- (IV) F_{12}
- (V) GM_5
- (VI) GM_6
- (VII) F_9 a. 大型分生孢子 b. c. 厚膜孢子



麥類に對する *Claviceps litoralis* KAWATANI の寄生性に就いて

ハマニシク麥角に關する研究 (第3報)*

技官 川谷 豊彦

I 緒言

多くのイネ科植物 Poaceae は *Claviceps* によつて胃され、それによつておこる疾病は所謂麥角病として知られてゐる。其他少數のタケ科 Bambusaceae、カヤツリグサ科 Cyperaceae、キ科 Juncaceae のものも *Claviceps* に胃されるものがある。*Claviceps* の寄主植物は富樫⁽⁶³⁾ (1942) によれば變種・品種等をも含めて 279種 (内日本産 54種) と發表してゐる。これによればタケ科 3種 (〃 2種)、イネ科 266種 (〃 49種)、カヤツリグサ科 9種 (〃 2種)、キ科 1種 (〃 無し) となつて居り、イネ科が最もよく胃される事が了解される。之に對し現在迄記載された *Claviceps* の種類は世界を通じて 22種、本邦産のものとしては 5種知られてゐるに過ぎない。これら *Claviceps* の内最も古くより知られ研究されてゐる種は *C. purpurea* (Fr.) TULASNE でライ麥に寄生してライ麥麥角病を發生する。

而してライ麥麥角病はライ麥の栽培分布に一致して世界各地より報告されてゐるが、特に歐洲に於ては屢々發生してライ麥收量の激減を來す事がある⁽²⁾⁽³⁾⁽²⁶⁾。SEYMOUR及びMcFARLAND⁽⁵⁵⁾ (1921) によればライ麥の麥角病による減收は穀粒が麥角によつて置換されるによるのみでなく糞を生ずる事にも原因する。而して胃されたる穂は然らざるものに比し穗長も短く穗重も輕いと言はれる。KIRCHHOFF⁽²⁸⁾ (1929) によれば胃されたる穂の穀粒の千粒重は健全なる穂のものより 3.2-8.3% 輕いといふ。實際、減收率は年により氣候により異なるのは勿論で、1917年ウィスコンシン州での大發生の時は殆ど總ての穂が1又はそれ以上の麥角を發生してゐたと言はれるが、歐米に於いて 20-50% の穂に發生する事は珍らしくない。ライ麥穗上に發生せる麥角は刈取前に一部は地上に落下するが他は穂に附着せるまゝ脱穀調製の際も穀粒に混じ、其の儘製粉されてパン中に混ずる爲屢々麥角中毒 Ergotism を生ずる。中世より近世に至る迄麥角中毒の發生は歐大陸諸國に於ては枚舉に遑のない處である⁽³⁾。現今はライ麥栽培の進歩と製粉技術の向上により麥角中毒は激減してゐるが、それでも 1926年東部ロシアに麥角中毒の大發生⁽³⁾ があり、Sarapoul 州では 11,319 人の中毒者を生じ、内 0.8% は死亡し、14.3% は重症であつたと言はれる。1927年には英國のマンチエスターに大發生⁽⁵⁵⁾ し多數の中毒者を生じた。禾

* 昭和 19 年 12 月 23 日、日本作物學會第 65 回講演會に於いて發表

Kawatani, Toyohiko (1944): On the Infectivity (Parasitism) of *Claviceps litoralis* Kawatani on Barley, Wheat, Rye, and Oats. Studies on the Ergot Fungus of American Dunegrass (*Elymus mollis* Trin.). III. (With English résumé, pp. 235-237).

穀作物たる大麥・小麥・燕麥も *C. purpurea* (Fr.) TULASNE に冒され麥角病を發生するが、*C. purpurea* に對する抵抗性大で、ライ麥に比すれば疾病の發生は餘程稀である爲比較的重要な視されてゐない。飼料作物にも麥角病發生し、爲に乾草の品質を損じ、又家畜に麥角中毒を惹起せしむる事も稀でない。

麥角は一面に於て重要な醫藥品であり主として産婦人科領域に古來繁用されてゐる。

即ち *C. purpurea* がライ麥に寄生して發生せる菌核を所謂麥角と稱し本邦に於ても之を藥局方に收載してゐるが、本邦には産出無き爲、ロシア・スペインより年々多量に輸入し來つたのである。世界に於ける商品としての麥角の産地は東部歐洲（主としてロシア・ポーランド）及びイペリヤ半島西北部の濕潤なる地方（スペイン・ポルトガル）であつて、世界の 2 大産地とされてゐる。最近、スペインに於けるライ麥栽培方法の改善、及びロシアに於ける國內事情とは麥角の發生を愈々少ならしめ、爲に麥角の産額は減少の一途を辿りつゝある。従つてその對策の一として、（ライ麥）麥角菌 *C. purpurea* を圃場に於て、栽培ライ麥に接種して麥角を得んとする方法即ち所謂麥角人工栽培が研究され、HECKE^{(17) (18) (19)} (1921-23), FALCK⁽¹¹⁾ (1922), FRON⁽¹²⁾ (1926), KIRCHHOFF⁽²⁸⁾ (1929), MC CREA⁽⁴³⁾ (1931), BEKESY^{(5) (6) (7)} (1938-40), SCOSSIROLI⁽⁵⁷⁾ (1939) 等の報告がある。近時滿洲國に於ても研究され松岡⁽⁴¹⁾ (1942)、竹内・松岡・木田⁽⁶⁶⁾ (1942) の報告がある。而して本邦に於ては大谷⁽⁵³⁾ (1928)、緒方・大谷⁽⁵²⁾ (1932) の研究がある。而して未だ成功の域に達してゐない。

大東亞における戰局の發展によりロシア・スペインよりの輸入は全く杜絶し國內自給の要に迫られた。著者⁽⁴⁰⁾ (1944) は、ハマニニクに發生する麥角はライ麥麥角 *C. purpurea* に比し大きさ・重量に於て敢へて遜色なく、有効成分含量・藥理作用に於ても毫も劣る事無く、採收亦極めて容易である處から、人工接種によつてハマニニクに發生せしめたるハマニニク麥角菌の麥角を以てライ麥麥角に代替せしめん事を企圖して昭和 16 年研究に着手した。而して先づ昭和 16 年・17 年・18 年の 3 箇年の研究成績を取纏め“ハマニニク麥角に関する研究（第 1 報）”⁽⁴⁰⁾ として既に其の大要を公表した。又、著者⁽²⁷⁾ (1944) はその研究に従ふうち、ハマニニクに寄生する麥角菌は全然新種なる事を發見し、*Claviceps littoralis* KAWATANI（和名ハマニニク麥角菌又はテンキ（グサ）麥角菌）と命名公表⁽²⁷⁾ した。

著者は昭和 18 年・19 年の 2 年に亘り麥類に對する *Claviceps littoralis* KAWATANI の寄生性に就き實驗を行ひ、且つ形成せられたる麥角のアルカロイドの存否を検索して興味ある結果を得たから、茲に公表して御参考に供する次第である。

本論文はハマニニク麥角に関する研究（第 3 報）をなすものである。

本論文を草するに當り、懇篤なる御指導と御校閲の勞を執られたる東京帝國大學南方自然科學研究所東條教授に對し衷心より感謝の意を表する。多數の麥類種子を分譲されたる東京帝國

大學農學部農場・各縣農事試験場の各位に對して厚く御禮申上げる。尙アルカロイド試験に就いて多大の便宜を與へられたる東京帝國大學醫學部藥理學教室竹本常松氏に向つて茲に敬意を表する。

II ハマニンニク と *Claviceps litoralis* KAWATANI

ハマニンニク *Elymus mollis* TRINIUS⁽⁴³⁾ はイネ科に屬する多年生草本であつて樺太・千島・北海道の海岸に豊富に自生する。本州に於ては青森・岩手・秋田の諸縣に特に多く、南に行くに従ひ少となり日本海側では鳥取縣地方迄、太平洋側では茨城縣地方迄自生する。一般に海岸砂地及び海岸に近き川口の濕潤地に生じ、本邦北部地方（樺太・千島・北海道・本州東北地方）にては概してハマニンニクを優占種とするハマニンニク群叢 *Elymus mollis* association を現出するが、それ以南にては他の植物と共に群叢をなす事が多い。海岸礫地及び崖には自生は少い。特殊の地形をなす場合を例外として、一般に自生は海岸より 30 m を限度とし内陸には自生を見ない。ハマニンニクの外國に於ける分布は (1) (14) (23) (29) (30) (31) (32) (33) (34) (37) (38) (39) (42) (45) (46) (56) (62) (63) 北極海に面せるシベリア、チユクチ半島、カムチャツカ半島、オホーツク海に臨むシベリア地方（オホーツク・アヤン）、北樺太、滿洲（遼東半島方面）、黑龍江流域、黑龍江河口より豆滿江河口に至る日本海に臨む沿海州、アリユーション列島、アラスカよりサントクルーズ（カリフォルニア州）に至る太平洋岸、北極海に臨む北アメリカ、グリーンランド、ラブラドルよりマサチューセッツ州に至る大西洋岸、スベリオル湖、及びミシガン湖畔となつてゐる。朝鮮には (24) (48) (50) ハマニンニクの變種たるテウセンテンキ *Elymus mollis* TRINIUS var. *coreensis* (HACKEL) HONDA がある。ハマニンニクは種々の方面に利用されてゐる。即ち、北海道アイヌは葉を以て蓆を、千島アイヌは袋・帽子・畚箕・魚籠其他の器具を編製する⁽⁴⁷⁾。アリユーション土人は Tiriyoho と稱し、葉の未だ幼く巻いてゐる時採集し細く裂いて乾燥せしめたるものを以て籠を製しアツツ島に於ては Attu Basket と稱し名物の一となつてゐる⁽³⁰⁾。又、全草は飼料として利用される^{(25) (29)}。尙、アメリカインディアンは種實を食物として用ひてゐる⁽²³⁾。

Claviceps litoralis KAWATANI⁽²⁷⁾⁽⁴⁰⁾ は子囊菌類 Ascomycetes 核菌族 Pyrenomycetes 肉座菌科 Hypocreaceae に屬し、本邦の樺太・千島・北海道に自生するハマニンニクに寄生する菌類である。本州に自生するハマニンニクには寄生を認めないやうである。滿洲のハマニンニク及びテウセンテンキに對する寄生の有無に就ては詳らかでない。

III 實驗材料及び方法

1. 實驗材料

1) 麥類 接種試験に用ひた麥類は次の通りである. **

有 稈 大 麥	二條種 直頭種	<i>Hordeum distichon</i> L. var. <i>erectum</i> SCHÜBL.	H ₁ ゴールデンメロン ^(*)	(茨城縣農試)
	" 垂頭種	<i>H. distichon</i> L. var. <i>nutans</i> SCHÜBL.	H ₂ 二角シユバリエー	(東大農學部農場)
	四條種	<i>H. vulgare</i> L.	H ₃ 細 麥	(山形縣農試)
	"	"	H ₄ 大 正 麥	(東大農學部農場)
	六條種	<i>H. hexastichon</i> L.	H ₅ 六 角 二 號	(")
	"	"	H ₆ 穗 揃	(茨城縣農試)
裸 麥	二條種	<i>H. nudum</i> L.	C ₁ 品 種 名 不 詳	(東大農學部農場)
	四條種	<i>H. vulgare</i> L. var. <i>nudum</i>	C ₂ 鎌 折	(")
	"	"	C ₃ 白 稈 一 號	(福島縣農試)
	六條種	<i>H. hexastichon</i> L. var. <i>nudum</i>	C ₄ 小 鯖 二 號	(鳥取縣農試)
	"	"	C ₅ 上 州 白 稈	(茨城縣農試)
小 麥	普通小麥	<i>Triticum vulgare</i> VILL.	T ₁ 埼玉二十七號	
			T ₂ 埼玉百二十五號	
ライ 麥		<i>Secale cereale</i> L.	S ₁ 品 種 名 不 詳	(東大農學部農場)
			S ₂ "	(")
			S ₃ "	(")
燕 麥	普通種	<i>Avena sativa</i> L.	A ₁ 品 種 名 不 詳	(東大農學部農場)
	片穗種	<i>A. orientalis</i> SCHREB.	A ₂ "	(")
	裸燕麥	<i>A. nuda</i> L.	A ₃ "	(")

2) ハマニンニク 對照區として用ひたハマニンニクは昭和 16 年 9 月樺太元泊郡泊岸村新間の海岸に自生せるものを當所へ移植栽培したものである。

3) 接 種 源

(1) *C. litoralis* 分生孢子

** 大麥の分類に就ては、有稈大麥と稈麥とに大別し各々を條例及び穗形によつて分類する方法に従つた。

(*) 茨城縣立農事試驗場より分譲を受けたものである。H₁ と略記する。以下倣之。

昭和 17 年 8 月樺太新聞に於て發生したるハマニシク穂上の蜜滴 Honey dew; Honigtau (*2) を濾紙に吸収せしめ、鹽化カルシウムを入れたるガラス管中に乾燥状態となして持歸り、斯くの如き濾紙片 0.3gr を鉢を以て細切し之を滅菌食鹽水 10cc に入れ濾紙片がその原形を失ふに至る迄充分ガラス棒を以て細刮する。次いでその 1 白金耳量を SCHMIDT 寒天平板に塗抹し 25°C に於て培養する。4-7 日にして白色微細なる聚落の發生を見る。これより 1 聚落を白金線にて鈎菌し SCHMIDT 寒天斜面に移植する。斯くして 1 月に 1 回の割合にて植えつぐ。人工接種を爲すにはその 2-3 週前に 1 白金耳量を培養斜面より掻き取り新鮮なる培地に移植培養したものを用ひた。即ち寒天斜面より白金線を以て掻き取り之を滅菌井水に浮遊せしめ 1mm³ 中に分生孢子数を略々 1,000 個とならしめた。SCHMIDT 培地の組成は次の如くである。第一磷酸カリウム 0.025gr, 硫酸マグネシウム 0.025gr, 硝酸カリウム 0.025gr, 硝酸カルシウム 0.10 gr, 硝酸アモニウム 0.05gr, 葡萄糖 1.00gr, 寒天 2.00gr, 蒸溜水 100cc.

2) *C. littoralis* 子 囊 胞 子

昭和 17 年 8 月樺太新聞にて自然發生したるハマニシク麥角を 12 月下旬、植木鉢中に土を 8 分目に入れその上に砂を 3 cm の厚さに重ね、その上に麥角 (菌核) を撒布し、麥角の殆んど隠れる程度に砂中に埋没せしめる。斯くて植木鉢を建物北側の蔭地 (露地) に置き藎を以て被ひ、時々灌水して砂面の乾燥を防止しつゝ越冬せしめた。斯くて昭和 18 年 4 月 28 日子座の發生を認めた。子囊孢子浮遊液の製法は成熟せる子座球を摘み取り滅菌井水を加へて乳鉢中に搗り潰し、液 1mm³ 中に子囊孢子 300-700 個の程度とならしめた。

2: 實 驗 方 法

1) 麥類に對する *C. littoralis* の寄生性

前記の麥類は昭和 17 年 11 月上旬、昭和 18 年 11 月中旬二万分の一反ワグネルのポットに播種し 1 鉢當り 5 株として栽培した。各ポットに對して硫安 2 gr 過石 2 gr 鹽加 0.8gr を基肥として施用した。接種方法は前記分生孢子又は子囊孢子浮遊液を滅菌せる注射筒に吸引し注射針を用ひて、その先端にて子房を損傷せしめざる様注意を拂ひつゝ子房表面に直接に 1 滴量を落下せしめて接種を行つた。接種の時期は葯の裂開しつゝある時即ち授粉のおこつた直後の状態の時を選んだ。小麥・ライ麥・ハマニシクは開花の際顯著に開穎するからその時期に接種を行ひ、有稈大麥・稗麥・燕麥では穎の上部三分の一乃至四分の一を切除して接種を行ひ實驗を便ならしめた。何れも 1 穂當り 7-15 花接種を行つた。有稈大麥・稗麥の二條種は中列花のみに、四條種・六條種は側列花中列花總てに、小麥にては小穗の第 1 小花のみに、ライ麥にては小穗 2 小花の何れかに、燕麥にては小穗の第 1 小花のみに、ハマニシク

(*2) この中に *C. littoralis* 分生孢子が浮遊している。

にては節に付着する 2 小穂の内何れかの小穂の第 1 小花のみに、夫々接種を行つた。接種後はパラフィン紙にて被覆し昆虫による蜜滴分生孢子の媒介を防止した。寄生の有無は蜜滴分泌の存否及び麥角（菌核）の形成の有無により判定した。

2) 大麥（有稈大麥・稈麥）に對する *C. litoralis* の寄生性と授粉との關係

有稈大麥二條直頭種 H_1 （ゴールデンメロン）・垂頭種 H_2 （二角シュバリエー）、四條種 H_3 （細麥）、六條種 H_4 （穗摘）、稈麥二條種 C_1 （品種名不詳）、四條種 C_2 （白稈一號）、六條種 C_3 （小鯖二號）を實驗材料として開花前（授粉前）2-3 日の時期に穎の上部三分の一を切除し、ピンセットにて注意して除雄せるものに接種した。有稈大麥二條垂頭種 H_2 、稈麥二條種 C_1 ・四條種 C_2 ・六條種 C_3 は開花の際顯著に穎を開展するから豫め印をつけて置き、開花後（授粉後）1 日・2 日・3 日の各時期に穎の上部三分の一を切除して接種した。有稈大麥二條直頭種 H_1 ・四條種 H_3 ・六條種 H_4 は開花の際（授粉の際）穎の開展は顯著でない（ H_1 は全然穎の開展を認めない）から穎の上部三分の一を切除して、子房の發育狀態より判定して授粉後 2-3 日の狀態のものに接種した。然して以上何れの場合も二條種にては中列花のみに四條種・六條種に於ては、側・中列花に接種した事は 1) と同様である。接種源には分生孢子を用ひた。

3) アルカロイド定性試験

麥角アルカロイドは光線の下に於て p-dimethylaminobenzaldehyde 硫酸溶液によつて特異の青色を呈する⁽⁶⁰⁾⁽⁷²⁾。資料麥角 1-1/2 個（0.05-0.01 gr）を小試験管中に採り、1%酒石酸水溶液 0.2cc を加へ沸騰水浴中にて 5-10 分間浸出して得たる澄明なる浸液を別的小試験管に傾斜して移し、冷後之に p-dimethylaminobenzaldehyde 硫酸溶液^(*)を檢液の約倍容量を靜かに注加層積し、45°C の水浴中に 5-10 分間浸し、必要あらば水銀ランプに 10-20 分間照射し^(**)、先づ兩液層の接觸面にあらはれる青色の輪帶の有無を検し、後更に兩液層を振盪混和し生ずる青色を調べアルカロイドの存否を判定した。

第 1 表 麥類に對する *Claviceps litoralis* KAWATANI の寄生性

種類及び品種項目	接種年月日	接種源	接種花數	麥角數	寄生率	アルカロイド
					%	
二條種	H_1	18 14/v	子	240	0	—
	"	19 15/v	分	118	15	12.71
	H_2	18 15/v	子	250	0	—

(*) p-dimethylaminobenzaldehyde 0.125gr を水 35cc 硫酸 65cc の混液に冷時溶解し鹽化第二鐵溶液を加へて微に黃色を呈せしめる。氷室に保存する。

(**) 呈色反應陰性の場合にのみ應用する。

有稈大麥	四條種	"	19 17/V	分	2 2 5	23	10.22	+
		H ₃	18 11/V	子	1 8 0	0	—	
		"	19 15/V	分	1 9 9	7	3.52	+
		H ₄	18 9/V	子	2 1 5	0	—	
	六條種	"	19 13/V	分	2 5 2	11	4.37	+
		H ₅	18 11·14/V	子	2 1 5	0	—	
		"	19 15/V	分	4 9 4	26	5.26	+
		H ₆	18 12/V	子	2 0 0	0	—	
		"	19 16/V	分	5 1 0	20	3.92	+

稈 麥	二條種	C ₁	18 13/V	子	2 1 5	0	—	
		"	19 18/V	分	4 8 5	31	6.39	+
	四條種	C ₂	18 13/V	子	2 5 0	0	—	
		"	19 15/V	分	3 7 0	8	2.16	+
		C ₃	18 11/V	子	2 7 0	2	0.74	+
		"	19 13/V	分	3 9 0	8	2.05	+
	六條種	C ₄	18 7/V	子	1 7 0	1	0.59	+
		"	18 26·27/IV	分	5 8 6	13	2.22	+
		"	19 3/V	分	6 0 0	15	2.5	+
		C ₅	18 10/V	子	2 0 4	2	0.98	+
		"	18 5/V	分	5 5 0	10	1.82	+
		"	19 7/V	分	5 8 2	14	2.41	+

小 麥	T ₁	18 5/V	子	3 2 0	0	—	
	"	18 22·23/IV	分	2 3 9	0	—	
	"	19 20/V	分	5 5 0	0	—	
	T ₂	18 4/V	子	3 3 0	0	—	
	"	18 27/IV	分	5 7 0	0	—	
	"	19 20/V	分	5 0 6	0	—	
	"	19 24/V	蜜分	5 7 7	0	—	

ライ麦	{	S ₁	18 ⁵⁻⁷ /V	子	293	0	—	
		"	18 ⁸⁻¹⁵ /V	分	544	0	—	
		"	19 ¹⁷⁻²² /V	分	1,047	0	—	
		S ₂	18 ⁸⁻⁹ /V	子	350	0	—	
		"	18 ⁸⁻¹⁵ /V	分	510	0	—	
		"	19 ¹⁶⁻²² /V	分	930	0	—	
		S ₃	18 ⁷⁻⁸ /V	子	385	0	—	
		"	18 ⁷⁻⁸ /V	分	480	0	—	
		"	18 ¹⁷⁻²³ /V	分	920	0	—	
燕麦	{	A ₁	18 ¹⁴ /V	子	314	0	—	
		"	18 ¹⁴ /V	分	400	0	—	
		"	19 ²³⁻²⁴ /V	分	658	0	—	
		A ₂	18 ¹⁶ /V	子	350	0	—	
		"	18 ¹⁶ /V	分	350	0	—	
		"	19 ²⁵⁻²⁸ /V	分	750	0	—	
		A ₃	18 ¹⁷ /V	子	340	0	—	
		"	18 ¹⁷ /V	分	355	0	—	
		"	19 ²⁷⁻²⁸ /V	分	700	0	—	
ハマニシク	{		18 ⁷ /V	子	311	63	20.26	+
			18 ⁴⁻⁷ /V	分	540	146	27.04	+
			19 ¹⁵ /V	分	500	152	30.4	+

備考：子とあるは子囊胞子，分とあるは分生胞子を示す。蜜分とあるはハマニシクに發生したる蜜滴（分生胞子）を示す。

第2表 大麥（有稈大麥・稈麥）に對する *Claviceps litoralis* KAWATANIの寄生性と授粉との關係

種類及び品種項目	接種時期	接種年月日	接種源	接種花數	麥角數	寄生率	アルカロイド
有稈 二條種H ₁	開花前2-3日	19 ¹² /V	分	215	18	8.37	+
	開花當日	19 ¹⁵ /V	分	118	15	12.71	+
	開花後2-3日	19 ¹⁸ /V	分	248	18	7.26	+

大 麥	二條種H ₂	開花前 2-3 日	19 ¹⁵ /v	分	2 4 8	2 0	8.06	+
		開 花 當 日	19 ¹⁷ /v	分	2 2 5	2 3	10.22	+
		開花後 1 日	19 ¹⁸ /v	分	2 4 7	2 3	9.31	+
		開花後 2 日	19 ¹⁹ /v	分	2 4 3	2 0	8.23	+
		開花後 3 日	19 ²⁰ /v	分	2 2 7	1 7	7.49	+
	四條種H ₃	開花前 2-3 日	19 ¹² /v	分	2 3 0	5	2.17	+
		開 花 當 日	19 ¹⁵ /v	分	1 9 9	7	3.52	+
		開花後 2-3 日	19 ¹⁸ /v	分	2 3 7	5	2.11	+
	六條種H ₆	開花前 2-3 日	19 ¹³ /v	分	3 7 7	1 2	3.18	+
		開 花 當 日	19 ¹⁶ /v	分	5 1 0	2 0	3.92	+
		開花後 2-3 日	19 ¹⁸ /v	分	4 2 4	1 2	2.83	+
稗麥	二條種C ₁	開花前 2-3 日	19 ¹⁵ /v	分	4 7 3	2 6	5.50	+
		開 花 當 日	19 ¹⁸ /v	分	4 8 5	3 1	6.39	+
		開花後 1 日	19 ¹⁹ /v	分	4 9 5	3 3	6.67	+
		開花後 2 日	19 ²⁰ /v	分	4 7 5	2 9	6.11	+
		開花後 3 日	19 ²¹ /v	分	4 8 2	2 2	4.56	+
	四條種C ₃	開花前 2-3 日	19 ⁹ /v	分	4 0 0	5	1.25	+
		開 花 當 日	19 ¹³ /v	分	3 9 0	8	2.05	+
		開花後 1 日	19 ¹⁴ /v	分	4 6 7	1 0	2.14	+
		開花後 2 日	19 ¹⁵ /v	分	4 7 0	6	1.28	+
		開花後 3 日	19 ¹⁶ /v	分	4 3 7	8	1.83	+
	六條種C ₄	開花前 2-3 日	19 ²⁸ /v	分	5 2 7	9	1.71	+
		開 花 當 日	19 ³ /v	分	6 0 0	1 5	2.5	+
		開花後 1 日	19 ⁴ /v	分	5 3 7	1 5	2.79	+
		開花後 2 日	19 ⁵ /v	分	4 9 2	1 1	2.24	+
		開花後 3 日	19 ⁶ /v	分	4 8 7	9	1.85	+

IV 實驗結果及び論議

實驗結果は第 1 表・第 2 表に示す通りである。

1. 有稈大麥及び稈麥に對する *C. litoralis* の寄生性

何れの品種に對しても寄生性を有する事が解る。二條種に對しては四條種・六條種の場合よりも寄生率の高い事は注目される。而し對照區たるハマニシクに對する寄生率に比すれば著しく低率である。而して分生胞子を用ひたる場合には何れにも寄生性を示し、子囊胞子を用ひたる場合は $C_3 \cdot C_4 \cdot C_5$ にのみ寄生性を示し他には認め得なかつた。之は (1) 有稈大麥・稈麥そのもの、*C. litoralis* に對する先天的抵抗性の大であること (2) 一般に培養分生胞子を接種源となす場合は子囊胞子を用ひたる場合よりも寄生率大であること^{(*)5}によつて説明される。實驗個體數を増加すれば必ずや子囊胞子を接種源となす場合も寄生性を認め得るであらうと考へる。

發生した麥角の大きさ^{(*)6}は長徑 5.0—18.2mm, 幅徑 1.2—3.0mm, 重量 10—66mg であつた。有稈大麥・稈麥共に二條種のもは四條種・六條種のものに比し形態大である傾向が見られた。又、稈麥の麥角は有稈大麥の其れに比して形態稍々大である傾向が見られた。麥角の色彩を RIDGWAY⁽⁵⁴⁾の Color standards によりて見るに、頂部は Tileul-Buff — Pallid Brownish Drab—Pale Brownish Drab であり、中部は Light Brownish Drab —Brownish Drab—Deep Brownish Drab—Dusky Drab であり、基部は Dusky Drab—Blackish Brown (1) —Blackish Brown (2) —Blackish Brown (3) であつてハマニシクに形成されたる麥角の色彩⁽⁴⁰⁾に全く一致する。穎より挺出せる部分は穎によつて被覆されたる部分よりも一般に淡色である。

以上により *C. litoralis* は大麥 (有稈大麥・稈麥) に對し寄生性を有する事を知つた。然らば、大麥 (有稈大麥・稈麥) に對する *C. litoralis* の寄生性と授粉との關係は如何であらうか。(第 2 表參照) 有稈大麥・稈麥の各品種何れも、開花前即ち蒴裂開前 2—3 日に於て寄生可能である。形成されたる麥角は開花當日感染のものに比し概して形態小である。而して其の寄生率は開花當日感染のものに比し稍々低い。又、*C. litoralis* は授粉後に於ても寄生可能であり而して授粉後日數を経過するに従ひ寄生率を低下する傾向がある。形成されたる麥角は開花當日感染のものに比し形態に差異を認めない。ライ麥に對する *C. purpurea* の寄生性と授粉との關係に就いては學者により⁽⁹⁾⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾⁽³⁵⁾意見を異にしたが、TSCHERMAK⁽⁷⁰⁾ (1906) は授粉に關係無き事を報じ、KIRCHHOFF⁽²⁸⁾ (1929) は實驗的に其の眞なる事を證明した處であ

(*)5 著者⁽⁴⁰⁾ (1944) は既に實驗によりてこの事を明らかにした。

(*)6 發生したる麥角は 7 月上旬採收して生物學的計測を行つた。

る。著者は *C. litoralis* も亦授粉の有無に關係無く大麥（有稈大麥・稈麥）に寄生可能なる事を實證し得た譯である。

2. 小麥・ライ麥・燕麥に對する *C. litoralis* の寄生性

蜜滴の分泌は認められず、麥角の形成も無く、寄生性は全く認められない。而して何れも皆よく結實を見た。

C. purpurea は小麥・ライ麥・燕麥に寄生し麥角病を發生する事あるは緒言に述べし通りである。*C. litoralis* は有稈大麥・稈麥に寄生し得るも、小麥・ライ麥・燕麥には寄生しない。この事實は形態學的性質及び特有なるアルカロイドの含有されある事實⁽¹⁵⁾⁽¹⁶⁾と相俟つて新種とさるべき根據の一をなすものである。

有稈大麥・稈麥は樺太・北海道に於ては畑作にて何れも早生種が栽培される。而して稈麥は有稈大麥よりも遙かに多く栽培される。北海道にては有稈大麥の一部が秋播とされるのみで他は全部春播とされる。樺太に於ては氣候的條件の制約を受けて何れも春播とされる。樺太に於ける出穂期は⁽⁵⁹⁾有稈大麥にては7月中旬—7月下旬、稈麥にては7月中旬である。

一方樺太におけるハマニシクの開花期は⁽⁴⁰⁾6月下旬より7月下旬に亘る。即ち6月下旬最暖部たる西海岸南部・本斗方面より開花初り、漸次西海岸を北進し、相前後して（6月下旬—7月上旬）亞庭灣一帶、稍々遅れて東海岸南部地方開花し漸次北進して新間地方に於ける7月下旬開花を最終とする^(*)。従つて、西海岸南部・亞庭灣方面を除きては有稈大麥・稈麥の開花期と合致する期間が存在する。而してハマニシクに發生する麥角（*C. litoralis*）は多少に拘らず全島海岸のハマニシク自生地に見られる。ハマニシクは樺太に於ては非常によく繁茂し年々腐朽せる葉は厚く地表面に堆積し従つてよく濕潤状態に保たれ、ハマニシク穂を離れて落下越冬せる麥角の發芽に好都合である⁽⁴⁰⁾。而して *C. litoralis* の子囊胞子の傳播は主として風により、分生胞子の傳播は特別なる例外を除きては主として昆虫により行はれるから海岸近く栽培される有稈大麥・稈麥に對する自然寄生の可能性が存在する。著者⁽⁴⁰⁾（1944）が昭和17年樺太新間（東海岸北部）にて行ひたる實驗によれば、分生胞子による第二次感染を殆んど認め得なかつたから、特に西海岸南部・亞庭灣方面を除きたる地方にては主として子囊胞子による第一次感染の可能性が存在する。ハマニシクは *C. litoralis* に感染後6—17日にして蜜滴を發生するから西海岸南部・亞庭灣方面にては主として分生胞子による第二次感染の可能性が存在する。

(*)東海岸にて新間以北の多來加灣一帶・オホーツク海沿岸地方（國境線迄）は7月下旬開花する、西海岸中部（眞岡支廳北半・泊居支廳南半）地方は7月上旬—中旬、西海岸北部（泊居支廳北半）地方は7月中旬—下旬開花する。

(*)本論文に於ては便宜上、日本海側濱益と太平洋側襟裳岬とを劃する線の西側を北海道西南部と稱し、東側を東北部と稱する事とする。

北海道⁽⁵¹⁾に於ける有稈大麥の出穂期は春播にては 6 月下旬—7 月中旬（最盛期 7 月上旬）秋播にては 6 月上旬—6 月下旬（最盛期 6 月中旬）であり、稈麥は全部春播で其の出穂期は 6 月下旬—7 月中旬（最盛期 7 月上旬）である。一方北海道に於けるハマニシクの開花期は 5 月下旬より 7 月上旬に亘る。即ち、5 月下旬西南部^(*)の最暖地方たる渡島半島方面先づ開花し、漸次北進して 6 月中旬—下旬東北部^(*)の日本海沿岸地方及び太平洋沿岸地方開花し、東北部の根室灣一帯及びオホーツク海沿岸地方の 6 月下旬—7 月上旬開花を最終とする。従つて、東北部地方にては春播有稈大麥及び稈麥の開花期と、西南部地方にては秋播有稈大麥の其れと合致する期間があり、これ等に對しては子囊胞子による第一次感染の可能性が存在する。又、これ等の開花期はハマニシクの蜜滴發生の時期とも合致する期間があり、分生胞子による第二次感染の可能性も存在する。西南部地方に於ける春播有稈大麥及び稈麥に對しては分生胞子による第二次感染の可能性のみ認め得るに過ぎない。北海道に於けるハマニシクの麥角^(*) (*C. littoralis*) は全島海岸に亘り發生するが、西南部地方に於ける發生は東北部地方の其れに比し概して疎である。従つて西南部地方に於ける有稈大麥・稈麥の *C. littoralis* による感染の可能性は、子囊胞子による第一次感染・分生胞子による第二次感染共に東北部地方の其れより少いであらう。

C. littoralis はハマニシクの開花中（開穎中）子房に感染して發病するものなる事は著者が既に實驗證明したところである⁽⁴⁰⁾。而して有稈大麥・稈麥に對する *C. littoralis* の寄生性換言すれば有稈大麥・稈麥の *C. littoralis* に對する抵抗性は（其の先天的抵抗性を除きて）其の開花に際して開穎の數・程度・持續時間に依存するものなる事は明らかである。この事は *C. purpurea* の場合に就いて HENNING⁽²⁰⁾⁽²¹⁾⁽²²⁾ (1903–1906), FRUWIRTH⁽¹³⁾ (1906), TSCHERMAK⁽⁷⁰⁾⁽⁷¹⁾ (1906, 1909) が指摘してゐる。

大麥^(*)は種類によつてその開花の際開穎の有無及び程度に差異あるものであるが、學者によつて其の報告は必ずしも一致してゐない。即ち有稈大麥二條直頭種は殆んど開穎しない⁽¹³⁾⁽⁴⁹⁾といひ或は全く開穎しない⁽⁴⁾⁽⁴⁴⁾⁽⁶¹⁾⁽⁷³⁾といふ。有稈大麥二條垂頭種にては側列花は開穎する⁽¹³⁾⁽²²⁾⁽⁴⁴⁾⁽⁶¹⁾⁽⁷³⁾が中列花は殆んど開穎しない⁽⁴⁹⁾⁽⁷³⁾か或は稀に開穎する⁽¹³⁾⁽⁴⁴⁾⁽⁶¹⁾といふ。稈麥二條種及び稈麥四條種は開穎し⁽⁴⁾、一般に稈麥は有稈大麥に比し強く開穎する⁽⁷⁰⁾といふ。大麥四條種は中・側列花何れも開穎する⁽⁴⁾⁽¹³⁾⁽⁴⁴⁾⁽⁴⁹⁾⁽⁶¹⁾⁽⁷³⁾といふ。大麥六條種は殆んど開穎しない⁽¹³⁾か或は全く開穎しない⁽⁴⁾⁽⁴⁴⁾⁽⁴⁹⁾⁽⁷³⁾といひ、又は中列花は開穎し

(*) 9) 北海道に於けるハマニシク麥角發生狀況調査の爲、昭和 17 年 2 月當所より海岸地方に存在する主要國民學校に照會狀を發し 102 校より回答を得た。又、昭和 19 年 7 月北海道北部の發生地に就いては實地調査を行つた。それらによる總合された調査成績による。

(*) 10) 有稈大麥及び稈麥を總稱する。以下倣之。

(*) 11) 前記接種試験に用ひたる品種の外、有稈大麥各種類合計 25 品種稈麥各種類合計 22 品種を擇び、昭和 19 年觀察を行つた。これら各品種の栽培管理は前記接種試験のものと全く同様である。

ない⁽⁶¹⁾か或は稀に開穎する⁽²²⁾が側列花は開穎する⁽²²⁾⁽⁶¹⁾といはれる。

著者の観察^(*)11)によれば次の如くである。有稈大麥二條直頭種は中・側列花何れも全然開穎を認めない。有稈大麥二條垂頭種にては側列花は開穎するが中列花の開穎するものは側列花よりも少い。稈麥二條種^(*)12)は中・側列花何れも開穎するが中列花の開穎するものは側列花よりも少い。大麥四條種は一般に中・側列花何れも開穎するを認めるが品種によりては開穎殆んど無く乃至は全然開穎しないものもある。大麥六條種は側列花にては一般に開穎するを認めるが中列花にては開穎するものは極めて少いか又は全く開穎しない。而し品種によりては中・側列花何れも全然開穎しないものもある。一般に粒着の粗のもの即ち大麥二條垂頭種及び大麥四條種にては中・側列花何れも穎の開展を認める。之に對し粒着の密のもの即ち有稈大麥二條直頭種及び大麥六條種にては、前者は開穎全然認められず後者は主として側列花が開穎するがその開穎は概して微弱であり開穎數も少い。此は大麥の種類^(*)13)及び品種によつて鱗被の發育に良否のある事及び鱗被膨張による機械的作用によるも粒着密なる爲穎をして充分に開展せしめるに至らない場合のある事によつて説明される。穂部が葉鞘内にある時に授粉のおこる場合も鱗被膨張の現象は認められるのであるが、勿論この場合も穎の開展は認められない。大麥二條垂頭種及び大麥六條種にては中列花の開穎數は側列花よりも少いのは次の如く説明される。即ち中列花は同一節の側列花より發育が早く従つて未だ穂部が葉鞘内にある時授粉するもの多き爲出穂後は主として側列花が開花(開穎)する事となる。大麥の開穎は外界の條件によつても著しく左右せられる。殊に出穂期に當り冷涼なる氣候の續く時は出穂遅延し、出穂後開花(開穎)すべき花も葉鞘内にて授粉を終了する爲出穂後開花(開穎)する花は極めて少くなる。殊に六條種にては前述の如く中列花は側列花よりも發育が早いから、出穂に遅延を來す時は中列花は葉鞘内に於て閉穎の儘授粉し、従つて中列花は出穂後開穎するものなく、側列花は出穂遅延の程度に應じて常態よりも少數のものが開花(開穎)し或は條件によりては全然開穎を見ない。大麥二條垂頭種にても同様の傾向が見られる。之に反し氣溫高く空氣乾燥せる時は速かに出穂するから開穎數も多く開穎の程度も大である。以上によりて明らかなる如く、大麥の穎の開否に就いて學者によりその觀察の必ずしも一致してゐない理由は、大麥の開穎の程度(穎の開度)は品種により又花の位置により異なるけれども概して小さく、又穎の開否は品種によつても著しく異なり、開穎持續時間も短く、且外界の條件によりて其れ等が著しく左右される爲であらう。

大麥は開花に際して穎の開展持續時間一般に短く 15—40 分^(*)14)であり其後は閉穎する。

(*)12) 著者が觀察に供した稈麥二條種は一品種のみでこれは垂頭種であつた。

(*)13) 有稈大麥二條直頭種の中列花の鱗被は退化して小形となり用をなさない。側列花の鱗被は更に退化萎縮してゐる。

(*)14) 著者の觀察による。永井⁽⁴⁹⁾(1940)によれば 20—30 分といふ。

自然の狀態に於て大麥が *C. littoralis* に感染する時期は其の開穎持續中に限られる。而して穎は開展してゐても蒴の裂開しない事があり (*15), 特に大麥二條垂頭種及び大麥六條種に稀に見られるが、大麥に對する *C. littoralis* の寄生性は授粉の有無に無關係であるから斯るものに対しても感染の可能性を有するは勿論である。

以上詳論したる如く、樺太・北海道の海岸地方に栽培せられる大麥の内開穎性を有する品種は總て其の開穎の數・程度・持續時間に應じ、且つ栽培地の狀況の如何（例へば *C. littoralis* の發生するハマニンク自生地よりの距離・地勢・風向等）により種々なる程度に *C. littoralis* 麥角の自然發生する事が考へられるのである。事實、田村良修 (1941) (*16) によれば樺太西海岸恵須取地方に於て大麥に發生したる事ありといふ。伊藤 (*25) (1939) は樺太に於てハマニンクの飼料化に就いて研究し極めて優良なる野草であるとの結論を得てゐるが、尙、海岸を遠く離れたる砂質壤土の試験畑にもよく生育繁茂し (*17) 強靱なる地下莖は地下の深層に達し旱魃炎暑にも耐へるから適當なる耕作法を施す時は優良なる牧草と爲し得るであらうといふ。

斯くて若し内陸部に於て牧草として栽培せられる事となれば、其の近傍に栽培せられる大麥に對し以上所論の如き問題の發生を見るであらう。

著者は以上詳細に亘りて、*C. littoralis* が大麥に對し寄生性を有する事より、*C. littoralis* を發生するハマニンク自生地より直接其の近傍に栽培せられる大麥に對し感染の可能性の問題に就いて考察を試みたが、*C. littoralis* は他の如何なる植物に寄生性を有するや及び之に關連して栽培大麥との關係の問題に就いては尙將來の研究に俟たねばならない。

3. アルカロイド

人工栽培により有稈大麥・稈麥に形成されたる *C. littoralis* 麥角は接種源の如何に關せず何れも著明にアルカロイドを證明する。（第 1 表參照）又感染の時期及び授粉の有無に關せず何れも著明にアルカロイドを證明する。（第 2 表參照）著者の定量分析によれば此等麥角の總アルカロイド含量は 0.846—0.987 % である。之に對し人工栽培により對照區たるハマニンクに形成せられたる *C. littoralis* 麥角の其れは 0.976—1.124 % である (*18)。

熊谷 (*36) (1940), 寺田・苗村 (*67) (1941), 竹本 (*19) によれば、本邦に於て（ライ麥）麥角菌 *C. purpurea* を以て人工栽培によりライ麥に得たる麥角にはアルカロイドを證明しな

(*15) Henning (*22) (1906) も同様の事實を認めてゐる。

(*16) 田村良修 (昭和 16 年) 未發表

(*17) 著者も樺太より當所園場（埼玉縣春日部町）の試験畑（埴質壤土）に移植栽培せるものは極めてよく生育繁茂し自生地と何等異ならないのを認めた。（III 實驗材料及び方法の章參照）

(*18) 其の Mutterstamm たる昭和 17 年樺太新聞にて採收したる自然發生 *C. littoralis* 麥角の其れは 1.162 % である。

(*19) 竹本常松 富山に於て人工栽培 (昭和 12 年) によりライ麥に得られたる *C. purpurea* 麥角に就いての分析成績 未發表

いのであつて、著者も昭和 19 年産のものに就いて實驗し同様の結果を得てゐる。緒言に於て述べたる如く、本邦に於てはライ麦による *C. purpurea* 麥角人工栽培が未だ成功の域に達してゐないといふ事實は此の理由に基くものである。之に對し外國に於てライ麦に自然發生したる *C. purpurea* 麥角の總アルカロイド含量は、THOMPSON⁽⁶⁸⁾ (1930) によればスペイン・ポルトガル産 0.080—0.150% ロシヤ・ポーランド産 0.036—0.075 %であり、竹本⁽⁶⁴⁾ (65) (1944) によれば 0.114—0.300 %である。従つて、人工栽培により有稈大麥・稈麥に形成されたる *C. litoralis* 麥角の總アルカロイド含量は、自然發生により又は人工栽培によりハマニンニクに得られたる *C. litoralis* 麥角の其れに大差なく、且つ外國産ライ麦に自然發生したる *C. purpurea* 麥角の其れより著しく遙かに大である。

人工栽培による麥角問題解決の死命を制するものは結局アルカロイド含量であり、栽培大麥による解決も其の一方法と考へられるのであるから、極めて注自すべき事實といはねばならない。

V 摘 要

Claviceps purpurea (Fr.) TULASNE を病原菌とする麥角病は禾穀作物中特にライ麦の疾病として重要視されてゐる。又、ライ麦パン中に麥角の混する爲之による麥角中毒も少しとしない。一方 *C. purpurea* がライ麦に寄生して發生したる菌核は之を所謂麥角と稱し、本邦に於ても之を藥局方に收載し、古來重要な醫藥品として繁用されてゐる。而して本邦には産出なき爲ロシヤ・スペインより年々多量に輸入し來つたのであるが大東亞に於ける戰局の發展により輸入は全く杜絶の状態となつた。著者はこれが國産化を目的とし、本邦北部地方（樺太・千島・北海道）の海岸に自生するイネ科植物ハマニンニクに寄生する麥角菌を人工栽培する事により之に代替せしめんとして研究に従ふうち、此物は全然新種である事を發見して、*Claviceps litoralis* KAWATANI と命名し既に公表したところである。本論文は昭和 18 年・19 年の 2 年に亘り麥類（大麥・小麥・ライ麦・燕麥）に對する *C. litoralis* の寄生性に就いて研究し、且つ形成せられたる麥角のアルカロイド含有の有無に就き檢索を行つたもので、“ハマニンニク麥角に關する研究（第 3 報）”をなすものである。

1. *C. litoralis* は有稈大麥（二條直頭種・垂頭種、四條種、六條種）、稈麥（二條種・四條種・六條種）に對し寄生性を有する。而して小麥（普通小麥）、ライ麦、燕麥（普通種・片穗種・稈燕麥）には寄生しない。

2. 大麥（有稈大麥・稈麥）に對する寄生率は、二條種の場合は四條種・六條種の場合よりも寄生率が高い。而して大麥に對する *C. litoralis* の寄生性は對照區たるハマニンニクに對する其れに比すれば著しく小である。

3. 大麥に發生したる *C. litoralis* 麥角の大きさは長徑 5.0—18.2mm, 幅徑 1.2—3.0mm, 重

量 10-66mgである。二條種のもは四條種・六條種のものに比し形態大である傾向が見られた。又稈麥の麥角は有稈大麥の其れに比し形態稍々大である傾向が見られた。

4. 大麥に對する *C. litoralis* の寄生性は其の授粉の有無に無關係である。即ち、*C. litoralis* は開花前(授粉前)2-3日に於ても寄生性を有する。而して其の寄生率は開花當日のものに比し稍々低い。又開花後(授粉後)1日・2日・3日に於ても寄生性を有する。而して授粉後日數を経過するに従ひ寄生率を低下する傾向がある。

5. 大麥は開花に際して開穎するや否やに就いては學者により其の説區々たるものあるに鑑み、著者は之に就いて再觀察を行ひ、*C. litoralis* の寄生性との關係に就いて考察を行つた。

6. 樺太・北海道に栽培される大麥の開花期は、其地方の海岸に自生するハマニンニクの其れと相合致する期間があるから、海岸近くに栽培される大麥は其の品種及び栽培地の状況の如何によりて *C. litoralis* に感染の可能性が存在する。

7. 人工栽培により大麥に形成されたる *C. litoralis* の麥角は感染の時期及び授粉の有無に關せず著明にアルカロイドを證明する。而して人工栽培により大麥に形成せられたる *C. litoralis* 麥角の總アルカロイド含量は、自然發生により又は人工栽培によりハマニンニクに得られたる *C. litoralis* 麥角の其れに大差無く、且つ外國に於てライ麥に自然發生したる *C. purpurea* 麥角の其れより著しく遙かに大である。この事實は極めて注目すべき事である。

擱筆するに當り本研究に對し終始御指導と御激勵とを賜りたる松尾所長に對し謹謝の意を表す。又實驗中熱心に助力せられたる當所助手塚田清子・瀧川照子の兩嬢の勞を謝する次第である。

VI 引 用 文 献

1. ABRAMS, L. (1923) : An illustrated flora of the Pacific States Washington, Oregon and California. Vol. 1. p. 248.
2. ATANASOFF, D. (1920) : Ergot of grains and grasses. U. S. Dept. Agr. Bur. Pl. Ind. 127 pp. (stenciled publication)
3. BARGER, G. (1931) : Ergot and ergotism. 279 pp. London.
4. BECKER-DILLINGEN, J. (1927) : Handbuch des gesamten Pflanzenbaues. Bd. I. Handbuch des Getreidebaues. p. 344—345.
5. BEKESY, N. v. (1938) : Über parasitische Mutterkornversuche. Centralbl. Bakt. u. Par., II. Abt. 99 : 321—332.
6. — (1939) : Untersuchungen über den Alkaloidgehalt des Mutterkornes. I. Mitteilung: Über die quantitative Bestimmung der Mutterkornalkaloide in einzelnen Sclerotien. Biochem. Z. 302 : 187—197.
7. — (1940) : Untersuchungen über den Alkaloidgehalt des Mutterkornes. II. Mitteilung : Über den Alkaloidgehalt des parasitisch kultivierten Mutterkornes. Biochem. Z. 303 : 368—382.
8. DIXON, S. (1932) : The relation of food to disease. Jour. Soc. Chem. Ind. 51 : 787—795, 808—813.
9. ENGELKE, C. (1902) : Neue Beobachtungen über die Vegetationsformen des Mutterkornpilzes *Claviceps purpurea* TULASNE. Hedwigia. 41 : 221—222.
10. — (1905) : Über neue Beobachtungen über die Vegetationsformen des Mutterkornpilzes *Claviceps purpurea* TULASNE. 50—54 Jahresber. Naturhist. Ges. Hannover. p. 70—72.
11. FALCK, R. (1922) : Über die Bekämpfung und die Kultur des Mutterkorns im Roggenfelde. Pharm. Ztg. 67 Jahrg. Nos. 73—75, 77, 79.
12. FRON, M. G. (1926) : L'ergot et sa culture. Ann. Sci. Agron. Franc. et Étrang. 43 : 314—324.
13. FRUWIRTH, C. (1906) : Das Blühen der Gerste. Fühl. landw. Ztg. p. 544—545.
14. GRISEBACH, A. (1853) : "Gramineae" in Ledebour, C. F. A. Flora Rossica. IV. p. 332.
15. 橋本孝 (1944) : 麥角アルカロイドの研究 (第 1 報) はまにんにく麥角新アルカロイド

- エルゴモリン・エルゴモリニンに就て。(日本藥學會近畿特別例會學術講演要旨) 藥事科學 16 : 205.
16. — (1944) : 麥角アルカロイドの研究 (第 2 報) エルゴモリニンの構造に就て (日本藥學會近畿特別例會學術講演要旨) 藥事科學 16 : 205.
17. HECKE, L. (1921—22) : Die Kultur des Mutterkorns. Schweiz. Apoth. Ztg. 59 (1921) : 277—281, 293—296; 60 (1922) : 45—51.
18. — (1922) : Über Mutterkornkultur. Nachr. Deutsch. Landw. Ges. Oesterreich. 102 (N. F. 6) : 119—122.
19. — (1923) : Neue Erfahrungen über Mutterkornkultur. Wiener. landw. Ztg. 73 : 3.
20. HENNING, E. (1903) : Redogörelse för versamheten vid Sveriges Utsädesförenings filial vid Ultuna 1903. (Sep.-Abdr. aus dem Berichte des landw. Inst. in Ultuna. 22 pp.) Abst., Just's Bot. Jahresber. 34(1) : 103—104.
21. — (1905) : Jakttagelser öfver kornets blomning. Bot. Notiser. p. 57—68. Abst., Bot. Centralbl. 99 : 368; Just's Bot. Jahresber. 33(3) : 291.
22. — (1906) : Studier öfver kornets blomning och några i samband därmed stående företeelser. I. Orienterande iakttagelser och synpunkter. Abst., Bot. Centralbl. 104 : 190—192.
23. HITCHCOCK, A. S. (1935) : Manual of the grasses of the United States. p. 246—247, 249.
24. HONDA, M. (1930) : Monographia Poacearum Japonicarum, Bambusoideis exclusis. Jour. Fac. Sci. Tokyo Imp. Univ. Sect. III. Botany Vol. III. p. 20—21.
25. 伊藤安 (1939) : 樺太產飼料の成分並に消化率 (第 1 報) 樺太廳中央試驗所報告第 21 號 第 4 類 (畜産) 第 1 號 p. 23—26.
26. JACZEWSKI, A. v. (1913) : Übersicht der in Russland verbreiteten Pilzkrankheiten im Jahre 1911. Zeitschr. f. Pflanzenkr. 23 : 275.
27. KAWATANI, T. (1944) : *Clavicipitis* species nova parasitica ad *Elymum mollem* Trin. (ハマニンニク麥角に關する研究 (第 2 報) 衛生試驗所彙報 第 65 號; Bot. Mag. (Tokyo) : 寄稿中.
28. KIRCHHOFF, H. (1929) : Beiträge zur Biologie und Physiologie des Mutterkornpilzes. Centralbl. Bakt. u. Par., II. Abt. 77 : 310—369.
29. 北川政夫 (1939) : 滿洲國植物考 大陸科學院研究報告 第 3 卷 號外第 1 冊 p. 74—75.
30. 小林養雄 (1934) : アリュウシャン群島土人ト植物 植物研究雜誌 10 : 664—667.

31. — (1934) : Flora of the Aleutian Islands. Bul. Biogeograph. Soc. Japan 5 : 87—123.
32. KOIDZUMI, G. (1911) : Plantae Siphonogamae a N. Yokohama anno 1907 in Alaska arctica, Tschuktschore et Kamtschatka collectae. Tokyo Bot. Mag. 25 : 203—222.
33. KOMAROV, V. L. (1901) : Flora Manshuriae. I. p. 319—320.
34. 工藤祐舜 (1924) : 北樺太植物調査書 (薩哈連軍政部) p. 62, 254.
35. KÜHN, J. (1863) : Untersuchungen über die Entwicklung, das künstliche Hervorrufen und die Verhütung des Mutterkorns. cited by KIRCHBOFF⁽²⁸⁾ (1929).
36. 熊谷洋 (1940) : 水溶性並ニ非水溶性麥角 Alkaloid ノ無麻醉犬子宮運動ニ及ボス作用ノ比較研究 (第 1 報) 日本藥物學雜誌 29 : 116—118.
37. KUNTH, C. S. (1833) : Enumeratio Plantarum. I. Agrostographia synoptica sive enumeratio Graminearum. I. p. 453.
38. KURTZ, F. (1895) : Die Flora des Chilcatgebietes im südöstlichen Alaska. Engler Bot. Jahrb. 19 : 327—431.
39. — (1895) : Die Flora der Tschuktschenhalbinsel. Engler Bot. Jahrb. 19 : 432—493.
40. 松尾仁・川谷豊彦・田村良修・小幡利勝・市川忠次 (1944) : ハマニンク麥角に関する研究 (第 1 報) 衛生試験所彙報 第 65 號
41. 松岡義顯 (1942) : 滿洲產麥角に就て 大陸科學院彙報 6, 3 : 113—114.
42. MAXIMOWICZ, C. J. (1859) : Primitiae florae amurensis. p. 317.
43. MCCREA, A. (1931) : The reactions of *Claviceps purpurea* to variations of environment. Amer. Jour. Bot. 18 : 50—78.
44. 見波定治 : 實驗作物品種改良法講義 第 3 版 (1921) p. 210—217.
45. 三浦道哉 (1925) : 滿蒙植物誌 p. 34.
46. MIYABE, K. (1890) : The flora of the Kurile Islands. Mem. Boston Soc. Nat. Hist. 4 : 203—275.
47. 宮部金吾・三宅勉 (1915) : 樺太植物誌 p. 585—586.
48. 森爲三 (1922) : 朝鮮植物名彙 p. 42.
49. 永井威三郎 (1940) : 實驗作物栽培各論 上卷 禾藨類篇 p. 262.
50. NAKAI, T. (1911) : Flora Koreana. (II.) Jour. Coll. Sci. Imp. Univ. Tokyo. 31 : 376.
51. 農林省農務局編纂 (1937) : 麥類耕種要綱
52. 緒方章・大谷文昭 (1932) : 麥角人工栽培の研究 (第 2 報) 富山に於て人工栽培せる麥

- 角の効價に就て 藥學雜誌 52 : 25—45.
53. 大谷文昭 (1928) : 麥角人工栽培の研究 (第 1 報) 藥學雜誌 48 : 376—383.
54. RIDGWAY, R. (1912) : Color standards and color nomenclature.
55. ROBERTSON, J. and ASHBY, H. T. (1928) : Ergot poisoning among ryebread consumers. Brit. Med. Jour. No. 3503. p. 302—303.
56. SCHMIDT, Fr. (1868) : Reisen in Amur-Lande und auf der Insel Sachalin. Mem. Acad. Imp. Sci. Petersb. VII. Ser. 12 : 198—199.
57. SCOSSIROLI, R. (1939) : La riproduzione della *Claviceps purpurea* applicata alla coltivazione. Riv. Ital. Essenze. 21 : 442—444. Abst., Rev. Appl. Mycol. 19 : 95.
58. SEYMOUR, E. K. and Mc FARLAND, F. T. (1921) : Loss from rye ergot. Phytopath. 11 : 41, 285—289.
59. 進藤省三・渡邊保治 (1939) : 主要農作物優良品種の解説 樺太中央試験所彙報第 32 號 第 1 類 (農業) 第 12 號 p. 2—13.
60. SMITH, M. I. (1930) : A quantitative colorimetric reaction for the ergot alkaloids and its application in the chemical standardization of ergot preparations. U. S. Public Health Reports. p. 1466—1481.
61. 宗正雄 : 育種學講義 第 4 版 (1932) p. 592—593, 596.
62. STEUDEL, E. G. (1855) : Synopsis Plantarum Glumacearum. I. Synopsis Plantarum Graminearum. p. 350.
63. 菅原繁藏 (1937) : 樺太植物圖誌 第 1 卷 p. 166—167, 306.
64. 竹本常松 (1944) : 内外野生麥角の「アルカロイド」含量調査 (第 1 報) 定性試験 藥學雜誌 64 : 225—228.
65. — (1944) : 内外野生麥角の「アルカロイド」含量調査 (第 2 報) 定量試験 藥學雜誌 64 : 228—231.
66. 竹内虎夫・松岡義顯・木田正三 (1942) : 滿洲產麥角の成分研究 大陸科學院彙報 6, 3 : 183—185.
67. 寺田安一・苗村徳次郎 (1941) : 外國產麥角と樺太產麥角との比較試験 衛生試験所彙報第 56 號 p. 33—37.
68. THOMPSON, M. R. (1930) : The pharmacology of ergot with special reference to biological assay and standardization. Jour. Amer. Pharm. Assoc. 19 : 11—23, 104—117, 221—228, 436—449, 844—847.
69. 富樫浩吾 (1942) : 麥角ノ外部形態 植物學雜誌 56 : 74—81.

70. TSCHERMAK, E. (1906) : Die Blüh- und Fruchtbarkeitsverhältnisse bei Roggen und Gerste und das Auftreten von Mutterkorn. Fühl. landw. Ztg. 55 : 194–199.
71. — (1909) : Weitere Beobachtungen über die Fruchtbarkeits- und Infektionsverhältnisse der Gersten- und Roggenblüte. Deutsch. Landw. Presse. 36 : 149–150.
72. URK, H. W. van. (1929) : Een nieuwe gevoelige reactie op de moederkoornalkaloiden Ergotamine, Ergotoxine en Ergotinine en de toepassing voor het onderzoek en de colorimetrische bepaling in moederkoornpreparaten. Pharm. Weekbl. 66 : 473–481.
73. 山本健吾 (1935) : 作物交配技術 p. 14–15.

Aspergillus fumigatus の生産する 抗菌性物質に関する研究

(第 1 報)

板 官 平 山 重 勝 技 官 山 本 昌 木

Studies on the antibacterial substance
obtained from *Aspergillus fumigatus* (1)

Shigekatsu HIRAYAMA and Masaki YAMAMOTO

I 緒 言

吾々の研究室に於ては有力なる抗菌性物質を生産する糸状菌株の発見に努力しつゝあり。既に數種の注目すべき菌株を得たるも、本報には昭和 19 年 2 月 1 日和歌山縣日高郡矢田村に於て空中より得たる 1 種の *Aspergillus* (菌株番號 L7) につきて行ひたる研究結果を報告するものにして、抗菌性物質の精製、性狀等につきては後報に俟たんとす。

尙本研究は大阪衛生試験所和歌山分場及び東京衛生試験所にて行ひしものにして、終始御鞭撻を賜りし石尾前大阪衛生試験所長並に松尾東京衛生試験所長に深甚なる感謝の意を表す。

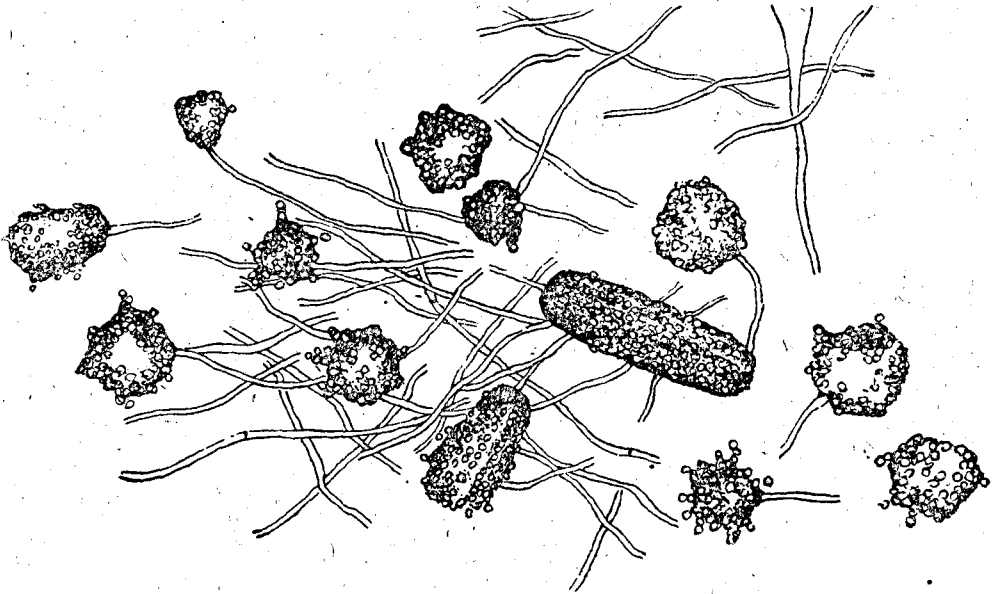
II 菌 の 形 狀

CZAPPEK 寒天上に本菌を培養するに、菌叢は絨毛狀 (velvety) を常とするも時に叢毛狀 (floccose) となることあり、表面平滑にして水滴を生ずることなし、中心部は若苗色 (Dark greenish glaucous ocean green) 乃至山鳩色 (Andover green)、周邊錆青磁 (Pale turtle green)、裏面は白茶 (Ivory buff) 乃至落葉色 (Isabella color) なり。時日の経過と共に表面千草鼠 (Artemisia green) となる。培養基は漸次黄色を加へ後赤褐紫色に變ず。CZAPPEK 培養液上の菌叢は概ね絨毛狀にして氣中菌絲の發育少きも時として叢毛狀となることあり。初め青綠色なるも陳久培養にては灰褐色を呈する。培養液の色は寒天の場合に同じく漸次黄色より橙黄色となり、最後に赤褐色に變ず。

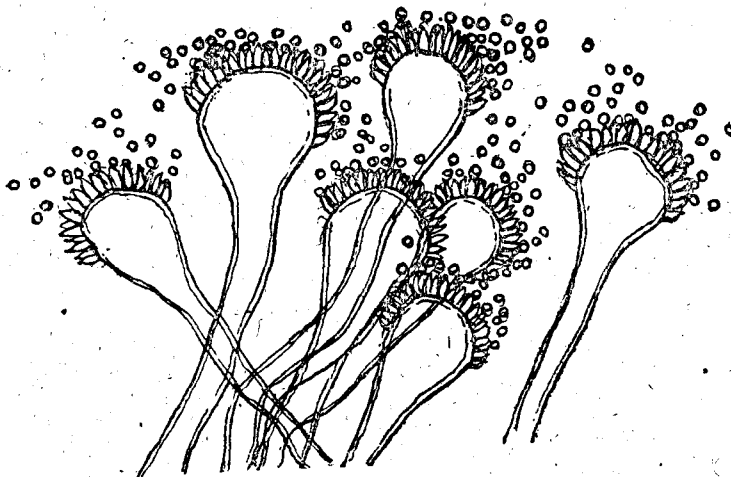
本菌の CZAPPEK 寒天上に於ける形態次の如し。a) 分生子梗は透明なるも稍青綠色を帯ぶることあり、基中菌絲より直接抽出するか、又は氣中菌絲より分枝して生じ隔膜を有するものあり。長さ $112.5-300.3 \times 2.25-7.51 \mu$ 。先端は稍膨大して項囊 (vesicle) に續く。d) 分生胞子は淡青綠色、集合する時は山鳩色乃至錆青磁色を呈す。圓形にして表面稍粗糙、疣狀突起とし

- て見ゆるものあり。内容老熟するに従ひ顆粒状を示す。大さ $0.75-3.37\mu$ 通例 $2-3\mu$ なり。
- c) 頂囊はフラスコ型にして $15.01-30.03\mu$ 上半部に梗子 (Sterigmata) を1列に生ず。
- d) 梗子は1列, $4.52-7.50 \times 2.25-3.75\mu$, 先端に分生子梗にほぼ並行に密に接着する分生胞子を鎖生す。
- e) Solid column 大さ $43.29-370.29 \times 26.29-153.91\mu$ にてほぼ圓筒形を呈す。
- f) 子囊胞子及子囊の形成は未だ観察せることなし。

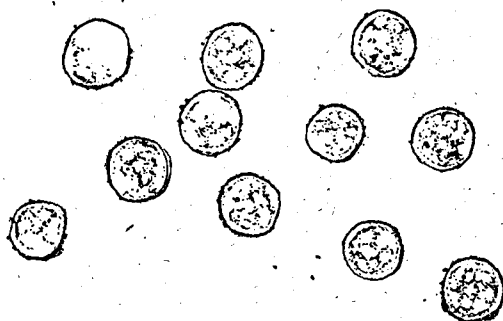
第1圖 頂部 (Solid column)



第2圖 頂 囊



第3圖 胞 子



本菌の分生胞子の集合は緑色を帯び、stalk は平滑、頂囊はフラスコ型にして圓筒形を呈せず、梗子は1列、分生胞子は略々圓形にして 4μ 以下、分生胞子の連鎖は集合して Solid column を形成する等の性質より考察して、著者等の分離せる菌は *Aspergillus fumigatus* FRESENIUS 或は *Aspergillus fumigatus*

Group のものと思せらる。(第1,2,3圖 参照)

III 抗菌性物質生産に影響する條件

1. 培養液の水素イオン濃度

CZAPPEK-DOX 氏變法培養基及び加糖ブイオン液を磷酸鹽又は鹽酸及び苛性カリにて pH 價を變じ本菌を移植、葡萄狀球菌(寺島株)に對する培養濾液の發育阻止力を稀釋法により檢定せり。

a. CZAPPEK-DOX 變法培養液 (NaNO_3 0.3 %; KCl 0.1 %; MgSO_4 0.05 %; FeSO_4 0.001 %; 葡萄糖 4 %) 20cc に對し 2 % の各種磷酸加里混液を 2 cc の割合に加へ培養液の pH 價を變じ、150cc ERLNMEYER flask に 50 cc 宛を分注して常法の如く滅菌、室溫 ($12.8 \sim 29.7^\circ\text{C}$) にて培養せり、磷酸鹽の混合割合次の如し。

	混 合 割 合 (單位cc)									
H_3PO_4 (2%)	0.2									
KH_2PO_4 (2%)	1.8	2.0	1.9	1.8	1.5	1.0	0.2			
K_2HPO_4 (2%)			0.1	0.2	0.5	1.0	1.8	0.5		
K_3PO_4 (2%)								1.5	2.0	1.5
$\text{N}/_{10}$ KOH										0.5
混合せる培養液の pH	3.2	4.6	5.0	5.5	5.9	6.4	7.0	7.5	8.0	8.5

結 果：發育阻止力を示す培養濾液の最高稀釋度を示せば第1表の如し。

本試驗結果を見るに培養液の pH はいづれの場合にも14日目には殆ど中性と成るを以て、當初の酸度が後期まで影響するかは疑問なるも、移植當時の pH が 5.0~5.3 なる場合最高の力價を示しアルカリ側は力價低き傾あり。

b. CZAPPEK-DOX 培養液を 0.1 N HCl 及び 0.1 N KOH にて酸度を變じて力價を檢せり。その結果第2表の如し。

第 1 表 CZAPEK-Dox 液を磷酸鹽にて pH を變じたる場合の抗菌力

最初の pH	第 1 回 實 験						第 2 回 實 験			
	14 日 目		18 日 目		22 日 目					
	力 價	pH	力 價	pH	力 價	pH	力 價	pH	力 價	pH
3.2	<50	7.0	50	7.0	100	6.8	<50	7.0	<50	7.0
4.6	150	6.6	150(230±)	6.8	50(100±)	6.6	150	7.3	<50	7.2
5.0	50	6.9	150(230±)	7.2	50±	7.2	150	7.2	<50	7.4
5.3	150	6.8	<230	7.1	50±	7.2				
5.6	150	6.8	50	7.1	50±	7.2	100	7.2	<50	7.2
6.0	100	7.0	<50	7.0	50±	7.0				
6.4	100	7.0	<50	7.0	50	7.4	50	7.2	<50	7.2
6.8	50	7.2	50	7.2	50±	7.4	<50	7.2	<50	7.8
8.0	<50	7.0	50±	7.3	50±	7.8				
8.5	50	7.3	150	7.2	50±	8.2				

第 2 表 CZAPEK-Dox 液を鹽酸及び苛性カリ
(0.1N) にて pH を變ぜる場合の抗菌力

當 初 の pH	14 日 目		18 日 目		22 日 目	
	力 價	pH	力 價	pH	力 價	pH
4.0	50	4.6	100(150±)	5.6	450(550±)	5.6
4.6	50	4.2	150(250±)	5.4		
5.4	50±	4.3	150	5.4		
6.0	50±	4.6	150	5.6		
6.2	50±	4.4	50	5.4		
6.5	50±	4.6	50±	5.6		
7.2	50	4.8	100	5.4		
8.0	50	5.0	50	5.4		
8.2	50±	4.8	150	5.4		

本實驗に於ては前例と異り培養液の pH は酸性に傾きたるも當初の酸度低きもの抗菌力大にして、殊に 4.6 とせるものは 22 日目に於て 450 倍の力價を示せり。

c. 加糖ブイオン培養液(蔗糖 1%)を 0.1N HCl 及び 0.1N KOH にて pH を變じ力價を検せり。第 1 回の實驗に於ては 14 日目に於て pH 價は 8 以上となり力價もすべて 50 倍に止まり、18 日目となりては 50 倍以下となれるを以て、第 2 回の實驗に於ては 10 日目に力價を検せり、結果第 3 表に示すが如し、

即ち pH 5.0 に於て顯著なる抗菌力を示し且つ CZAPEK-Dox の場合よりも生産日數を短縮せり。

第 3 表 加糖ブイオンを鹽酸及び苛性カリにてpHを變じたる場合の抗菌力

當初の pH	10 日 目		11 日 目	
	力 價	pH	力 價	pH
3.0	150	5.4	50	5.4
3.5	150	6.6	50	6.8
4.2	>450	7.8	<50	7.8
4.7	>450	8.0	50	8.0
5.0	>450	8.2	450	8.2
8.0	230	7.9	50	8.0
8.7	230	8.4	50	8.4

2. 炭素源の影響

a. 糖類：炭素源を除きたる CZAPEK-DOX 液 (NaNO_3 , 0.3%) に炭素源液を混じ 100cc 三角瓶に 50cc 宛入れ常法の如く滅菌, 室温 ($15.3 \sim 29.2^\circ\text{C}$) にて培養せり. 尚セルローズは濾紙 10 gr を 100cc の 68% 硫酸にて糊状となし蒸溜水 200cc を混じ攪拌後, 蒸溜水にて洗滌し膨潤せしめたるものなり. 葡萄狀球菌(寺島株)に對する抗菌力を檢せる結果は第 4, 5, 6 表に示すが如し.

第 4 表 炭素源を異にせる CZAPEK-DOX 培養液の抗菌力

炭 素 源	濃 度 (Mol)	第 1 回 實 驗						第 2 回 實 驗					
		10 日 目		14 日 目		20 日 目		10 日 目		14 日 目		20 日 目	
		力價	pH	力價	pH	力價	pH	力價	pH	力價	pH	力價	pH
葡 萄 糖	0.3	100	6.9	100	7.2	<50	6.8	100	6.8	100	6.8	<50	6.8
	0.1	50±	6.8	50	7.2	<50	7.4	50±	6.9	50	7.0	<50	7.2
果 種	0.3	100	7.0	230	7.3	<50	7.2	50	7.2	230	7.2	<50	7.0
	0.1	<50	7.0	100	7.3	<50	7.2	100	7.4	100	7.6	<50	7.6
ガラクトーズ	0.3	<50	6.6	<50	6.8	<50	7.3	<50	7.0	<50	6.8	<50	7.2
	0.1	<50	6.4	<50	6.7	<50	6.7	<50	7.2	<50	6.6	<50	7.0
蔗 糖	0.15	<50	6.8	100	7.2	<50	7.2	<50	6.8	<50	6.9	<50	7.1
	0.05	<50	6.9	100	7.2	<50	7.3	<50	7.2	<50	6.9	<50	7.1
麥 芽 糖	0.15	50±	6.8	100	7.3	<50	7.2	50	7.2	<50	7.0	<50	7.0
	0.05	<50	6.1	50±	7.2	<50	7.2	<50	5.9	<50	7.0	<50	7.0
乳 糖	0.15	<50	5.6	<50	5.6	<50	6.2	<50	5.6	<50	6.0	<50	5.6
	0.05	<50	5.6	<50	5.8	<50	6.2	<50	7.0	<50	7.0	<50	5.8
澱 粉	5%	<50	7.0	150	7.2	100	7.2	<50	7.0	<50	7.0	<50	7.2
	2%	<50	7.0	50±	7.2	<50	7.3	<50	7.0	150	7.0	<50	7.2
セルローズ	1%	<50	5.6	<50	5.6	<50	5.6	<50	5.8	<50	5.6	<50	5.6

第 5 表 マンノースを炭素源とせる Czapek-Dox 培養基の抗菌力

マンノース の濃度 (Mol)	第 1 回 實 験				第 2 回 實 験			
	6 日 目		10 日 目		6 日 目		10 日 目	
	力 價	pH	力 價	pH	力 價	pH	力 價	pH
0.15	50	6.8	100	7.0	50	6.7	230	7.0
0.05	50±	6.8	150	7.2	50	6.8	230	7.0

第 6 表 蔗糖, 麥芽糖, 澱粉を炭素源とせる Czapek-Dox 培養基の抗菌力

種 類	濃 度	第 1 回 實 験						第 2 回 實 験					
		10 日 目		14 日 目		10 日 目		10 日 目		14 日 目		16 日 目	
		力價	pH	力價	pH	力價	pH	力價	pH	力價	pH	力價	pH
麥 芽 糖	0.2 ^{Mol}	50±	6.2	450	6.3	150	6.0	<50	6.2	100	5.0	100	4.0
	0.1	<50	6.2	50	6.2	50	6.2	50	6.2	50±	4.6	50	5.2
	0.2	50±	6.0	100	6.2	150	6.0	50	6.2	50	5.6	50	4.0
	0.3	50	6.0	150	6.2	100	6.0	100	6.2	150	6.0	100	5.4
	0.5	<50	6.0	<50	6.2	100	6.0	<50	6.2	50	6.0	150	6.0
澱 粉	5%	50	6.2	100	6.4	150	6.0	<50	6.2	100	6.2	100	6.0
	10	<50	6.3	50	6.4	100	6.2	<50	6.4	50±	6.0	50±	6.0
	15	<50	6.2	50	6.4	<50	6.4	<50	6.2	<50	6.0	50±	6.0
	20	<50	6.2	<50	6.4	50±	6.2	<50	6.4	50±	6.2	50	6.0

以上の結果を見るにセルローズのみを炭素源とせる時は發育殆ど無く本菌によりては利用されざるものゝ如く、他の糖類にてはいづれも發育可良なり。抗菌性物質の生産に利用され難きものは乳糖及びガラクトースにして、他の單糖類、多糖類の場合には抗菌性物質を生産せり。而して本實驗の範圍にありては濃度高きもの生産力大なり。

b. 高級アルコール、炭素源としてグリセリン (0.5, 0.25 Mol) 及びマンニット (0.3, 0.15 Mol) を Czapek-Dox 液の炭素源を除きたるものに加用し、抗菌物質生産力を檢せり。グリセリン 0.5 Mol の場合には本菌は全然生育せず、抗菌力を 10 日目、14 日目、20 日目に檢せるも何れの場合にも葡萄狀球菌に對し抗菌力を示さず。

c. 有機酸：Czapek-Dox 培養液の炭素源を除きたるものに蓚酸、琥珀酸、林檎酸、酒石酸、枸橼酸、安息香酸を加用し、且苛性カリ溶液にて pH を 4.5 附近に調節して、100cc 三角瓶に 50cc 宛入れ培養を行ひ濾液につき抗菌力を檢せり。その結果は第 7 表に示すが如し。

第7表 炭素源として有機酸を用いたる C₂APEK-Dox 培養液の抗菌力

炭 素 源	濃 度 (Mol)	第 1 回 實 驗			第 2 回 實 驗		
		10日 目	14日 目	20日 目	10日 目	14日 目	20日 目
		力價 pH	力價 pH	力價 pH	力價 pH	力價 pH	力價 pH
蓼 酸	0.5	<50 5.0	50 5.2	<50 5.2	<50 5.2	100 5.2	<50 5.4
	0.25	<50 4.4	<50 5.2	<50 5.0	<50 5.2	50± 5.0	<50 5.0
琥 珀 酸	0.5	<50 5.0	<50 5.2	<50 5.2	100 4.9	230 5.6	<50 5.4
	0.25	<50 5.2	<50 5.2	<50 6.8	50± 5.2	50± 5.2	<50 6.0
林 檎 酸	0.1	<50 5.4	<50 5.6	<50 7.0	<50 5.4	<50 6.6	<50 6.2
	0.3	<50 5.4	<50 5.4	<50 5.8	<50 5.4	<50 5.5	<50 5.6
酒 石 酸	0.15	<50 6.4	<50 7.0	<50 7.1	<50 6.3	<50 6.8	<50 7.4
	0.3	100 4.4	150 4.6	50 5.0	100 4.1	100 4.6	100 5.2
枸 櫞 酸	0.15	50 5.1	50± 5.2	<50 5.4	50 4.8	230 5.2	<50 5.4
	0.4	<50 4.4	50 4.6	<50 4.6	50± 4.4	50 4.6	<50 4.4
安 息 香 酸	0.4	<50 4.4	50 4.6	<50 4.6	50± 4.4	50 4.6	<50 4.4

本實驗結果を見るに醋酸及び安息香酸を用いたる時抗菌力を示す場合あるも、本培養液にては菌の發育殆ど認められざるを以て菌が抗菌性物質を生産するものと考ふるを得す。其他の有機酸にては枸橼酸の場合最も良好にして琥珀酸之に次ぎ、林檎酸、酒石酸にては全然抗菌力を示さず。

d. 糖の濃度 : CZAPEK-Dox 培養液 (NaNO₃, 0.3%) の糖量を變化し常法の如く、葡萄狀球菌に對する發育阻止力を檢せり。その結果第 8, 9 表に示すが如し。尚表中括弧内の符號は FEHLING 液にて還元糖の定性を行へる結果にして (—) は陰性なりしを示すものなり。

第 8 表 葡萄糖濃度を種々に變じたる CZAPEK-Dox 培養液に於ける抗菌力 (1)

濃度 (%)	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	4.5
日數									

第 1 回 實驗 (14.2~21.5°C)

[illegible]

第2回實驗 (21.0~34.0°C)

[illegible]

第 3 回 実験 (10.4~34.6°C)

18 日目	50±(+)	50±(+)	50±(+)	50(+)	100(+)	100(+)	150(+)	150(+)	150(+)
22 日目	50±(+)	50±(+)	50(+)	50(+)	100(+)	100(+)	100(+)	100(+)	100(+)
24 日目	100(+)	100(+)	100(+)	50(+)	100(+)	50(+)	50(+)	50(+)	50(+)

第 9 表 葡萄糖濃度を種々に變じたる C_{ZAPEK}-Dox 培養液に於ける抗菌力 (2)

濃度 Mol	0.05	0.1	0.2	0.3	0.5	0.7	1.0
日数							

第 1 回 実験 (16.2~29°C)

10 日目	<50	50±	50±	50	230	100	<50
16 日目	<50	<50	<50	<50	<50	<50	50
18 日目	<50	<50	<50	<50	<50	<50	<50

第 2 回 実験 (15.5~27.3°C)

10 日目	<50	150	150	100	150	50	50±
16 日目	<50	50	150	150	50	50	50
18 日目	<50(-)	<50(-)	50(±)	100(+)	50±(+)	50±(+)	<50(+)

この結果を見るに未だ葡萄糖濃度と抗菌性物質發現の間に明瞭なる關係を認め難きも3~5%の濃度に於て最も力價高きものゝ如し。又培養基中に葡萄糖消失したるものにては抗菌力消失せり。

葡萄糖に代ふるに果糖を以てせる場合、その濃度と抗菌性物質の發現の消長を試験せり。試験方法は葡萄糖の場合に同じく、結果は第 10 表に示せり。

第 10 表 果糖濃度を種々に變じたる C_{ZAPEK}-Dox 培養基に於ける抗菌力

濃 度 Mol	第 1 回 実 験			第 2 回 実 験		
	10 日 目	14 日 目	20 日 目	10 日 目	14 日 目	20 日 目
	力價 pH	力價 pH	力價 pH	力價 pH	力價 pH	力價 pH
0.05	50± 6.9	<50 7.1	50 7.0	<50 7.0	<50 7.1	450 7.3
0.1	50± 7.0	50 7.2	50±7.2	<50 7.1	50 7.3	100 7.6
0.2	50± 6.9	50 7.2	100 7.0	<50 6.9	100 7.2	100 7.4
0.3	50± 6.9	100 7.1	100 7.0	<50 7.0	100 7.2	100 7.3
0.5	50± 7.0	50 7.2	100 7.0	<50 7.0	100 7.1	150 7.3
0.7	50± 7.0	50 7.1	100 6.9	<50 6.9	100 7.1	50 7.2
1.0	50± 6.8	50 7.1	50 6.8	<50 6.9	50 7.1	50 7.2

3. 窒素源の影響

a. 窒素源の種類 基本培養液として CZAPEK-Dox 液即ち蒸溜水 1 l に對し KH_2PO_4 10 gr, KCl 0.5 gr, MgSO_4 0.5 gr, FeSO_4 0.01 gr, 葡萄糖 40 gr を溶解せるものに各種窒素源

第 11 表 窒素源を異にせる CZAPEK-Dox 培養液の抗菌力

窒 素 源 の 種 類	濃 度 %	第 1 回 實 験			第 2 回 實 験		
		10日目	14日目	20日目	10日目	14日目	20日目
		力價 pH	力價 pH	力價 pH	力價 pH	力價 pH	力價 pH
硝 酸 カ リ	0.3	150 7.2	<50 7.2	<50 7.2	150 7.2	50± 7.2	<50 6.8
	0.1	100 5.6	150 4.7	<50 4.7	100 5.5	150 4.7	<50 4.7
硝 酸 ソ ー ダ	0.3	50 7.2	50 7.0	<50 7.2	150 7.2	100 7.1	50± 7.0
	0.1	100 5.8	50 4.7	<50 4.7	50 3.8	50 3.4	50± 4.7
硝 酸 石 灰	0.3	100 5.9	230 5.6	<50 5.2	50 7.0	100 5.2	50± 4.7
	0.1	50± 5.4	50 5.4	<50 5.0	50 5.4	50 5.0	50± 4.7
鹽 化 ア ン モ ン	0.3	<50 1.8	<50 1.8	<50 1.8	<50 1.5	<50 1.9	<50 1.6
	0.1	<50 2.4	<50 2.4	<50 2.5	<50 2.5	<50 2.5	<50 2.4
硫 酸 ア ン モ ン	0.3	<50 2.2	<50 2.2	<50 2.4	50± 2.2	<50 2.4	<50 1.8
	0.1	<50 2.8	<50 2.5	<50 2.5	50± 3.4	<50 3.4	<50 2.6
亜 硝 酸 カ リ	0.3	<50 7.6	50± 7.2	<50 7.2	<50 7.1	<50 7.1	50± 4.7
	0.1	50± 5.6	50 5.3	<50 7.0	<50 5.4	<50 4.7	<50 4.7
亜 硝 酸 ソ ー ダ	0.3	<50 7.0	50± 7.0	<50 7.0	<50 7.0	50± 7.2	<50 4.7
	0.1	<50 7.0	<50 7.0	<50 7.0	50± 7.0	<50 5.4	<50 4.7
ペ プ ト ン	0.3	<50 2.6	<50 2.8	<50 3.4	<50 2.5	<50 2.6	<50 2.5
	0.1	<50 4.4	<50 3.8	<50 4.2	<50 3.2	<50 4.6	<50 4.6
ア ス バ ラ ギ ン	0.3	<50 2.8	<50 3.6	<50 3.2	<50 2.8	<50 3.4	<50 2.8
	0.1	<50 2.6	<50 2.8	<50 3.4	<50 2.6	<50 2.8	<50 3.2
ア ス バ ラ ギ ン 酸 ソ ー ダ	0.3	50 6.0	<50 5.2	<50 4.6	<50 5.4	<50 5.0	<50 4.7
	0.1	<50 5.4	<50 5.4	<50 3.2	50± 3.8	50 3.8	150 4.2
蓚 酸 ア ン モ ン	0.3	<50 2.2	<50 2.4	50± 2.4	<50 2.5	<50 5.4	<50 6.7
	0.1	<50 2.6	<50 2.6	<50 2.6	<50 2.5	<50 2.6	<50 2.5

第 12 表 硝酸アンモンを窒素源とせる CZAPEK-Dox 培養液の抗菌力

硝酸アンモンの 濃 度 (%)	第 1 回 實 験		第 2 回 實 験	
	6 日 目	8 日 目	6 日 目	8 日 目
	力 價 pH	力 價 pH	力 價 pH	力 價 pH
0.3	50 3.9	<50 3.2	150 3.4	<50 3.4
0.1	100 3.7	<50 5.4	150 3.6	<50 5.4

を 0.1 及び 0.3 % の割合に溶解し、250 cc 三角瓶に 50 cc 宛分注して常法の如く培養せり。培養液の pH 値は 5.2~5.6 なり。その結果は第 11, 12 表に示すが如し。

本実験結果を見るに、硝酸塩を用いたる場合は抗菌性物質の生産行はるも、亜硝酸塩にては著しからず、アンモニウム塩を用ふれば培養液の pH 著しく低下し抗菌力を示さず、アスパラギン亦同様なり。アスパラギン酸ソーダにては第 2 回実験にて 20 日目に抗菌力を示せり。ペプトンを用いたる場合、前述の実験（加糖ブイオン）にては抗菌力大なりしも本実験にては然らず、緩衝能の不定によるものならんか。

b. 窒素源としてアンモニウム塩を用ひ炭酸石灰を添加せる場合：前記の如くアンモニウム塩を用ふれば培養液は著しく酸性化し、抗菌力も現はれざるを以て、培養液の酸度を調節せば或は抗菌力を示すかと思惟し炭酸石灰の 0.3 及び 0.1 % を培養液に入れ実験を行ひたり。その結果は第 13 表に示すが如し。

第 13 表 窒素源としてアンモニウム塩を用ひ炭酸石灰を添加せる培養液の抗菌力

窒素源 (%)	添加 せる 炭酸 石灰	最初 の pH	第 1 回 実 験						第 2 回 実 験					
			10日目		14日目		20日目		10日目		14日目		20日目	
			力價	pH	力價	pH	力價	pH	力價	pH	力價	pH	力價	pH
硫酸アン モニウム	0.3	0.3	7.6	<50 5.4	<50 5.6	<50 5.8	<50 5.0	<50 5.8	<50 5.8	<50 5.8	<50 5.8	<50 5.8	<50 5.8	<50 5.8
	0.3	0.1	6.8	<50 3.8	<50 1.8	<50 2.4	<50 3.8	<50 2.4	<50 2.4	<50 2.4	<50 2.4	<50 2.4	<50 2.4	<50 2.4
	0.1	0.3	6.8	<50 6.6	100 5.8	<50 5.6	<50 5.5	50± 5.8	<50 6.0	<50 6.0	<50 6.0	<50 6.0	<50 6.0	<50 6.0
	0.1	0.1	6.6	<50 5.2	100 5.4	50 5.8	<50 4.7	50 5.0	<50 5.6	<50 5.6	<50 5.6	<50 5.6	<50 5.6	<50 5.6
塩化アン モニウム	0.3	0.3	7.5	<50 5.8	<50 5.8	<50 5.4	<50 4.8	<50 5.6	<50 5.8	<50 5.8	<50 5.8	<50 5.8	<50 5.8	<50 5.8
	0.3	0.1	6.7	<50 4.8	<50 1.4	<50 1.4	<50 3.4	<50 1.2	<50 1.4	<50 1.4	<50 1.4	<50 1.4	<50 1.4	<50 1.4
	0.1	0.3	6.8	<50 6.6	<50 5.6	<50 5.9	<50 5.4	<50 5.8	<50 6.0	<50 6.0	<50 6.0	<50 6.0	<50 6.0	<50 6.0
	0.1	0.1	6.6	<50 5.2	<50 5.6	<50 5.6	<50 4.2	100 5.6	<50 5.4	<50 5.4	<50 5.4	<50 5.4	<50 5.4	<50 5.4
修酸アン モニウム	0.3	0.3	8.6	<50 6.8	<50 5.4	50 5.8	<50 5.2	<50 5.8	<50 6.0	<50 6.0	<50 6.0	<50 6.0	<50 6.0	<50 6.0
	0.3	0.1	7.5	<50 5.0	100 6.0	50± 5.8	<50 3.8	<50 6.0	<50 6.2	<50 6.2	<50 6.2	<50 6.2	<50 6.2	<50 6.2
	0.1	0.3	7.3	<50 6.8	<50 5.8	<50 6.0	50± 6.0	<50 5.8	<50 6.0	<50 6.0	<50 6.0	<50 6.0	<50 6.0	<50 6.0
	0.1	0.1	6.9	<50 5.4	<50 5.6	<50 5.7	<50 5.4	<50 5.8	<50 5.8	<50 5.8	<50 5.8	<50 5.8	<50 5.8	<50 5.8

この結果を見るに炭酸石灰を加用せざるものに比し抗菌作用發現するも、期待したる程の効果なきものゝ如し、尙塩化アンモニウムを 3% 用ひたる場合には炭酸石灰の 0.1% 加用にては緩衝能微弱なり。

c. 窒素源の量 Czapek-Dox 培養液（葡萄糖 4%）の窒素源を硝酸カリ、硝酸ソーダ、硝酸石灰、ペプトン、アスパラギン酸ソーダの各種濃度を以てし、常法の如く抗菌力發現作用を検せり。結果は第 14, 15, 16 表に示すが如し。

第14表 各種濃度の硝酸カリを窒素源とせる培養液の抗菌力

硝酸カリ の濃度 (%)	最初の pH	第 1 回 實 験			第 2 回 實 験		
		10日目	14日目	20日目	10日目	14日目	20日目
		力價 pH	力價 pH	力價 pH	力價 pH	力價 pH	力價 pH
0.05	5.3	<50 6.6	<50 6.6	<50 5.8	<50 6.6	<50 6.6	<50 6.0
0.1	5.3	<50 7.0	50 6.7	<50 6.0	<50 6.8	<50 6.7	<50 6.3
0.15	5.3	50 7.1	50± 7.0	<50 5.8	<50 7.0	50± 7.0	<50 6.4
0.2	5.4	<50 7.1	50 7.0	100 6.0	50± 7.1	50 7.2	100 6.6
0.25	5.4	<50 7.2	100 7.1	100 6.0	50± 7.2	100 7.0	100 6.4
0.3	5.4	<50 7.1	100 6.9	150 6.2	50 7.2	100 7.2	230 6.2

第15表 各種濃度の硝酸ソーダを窒素源とせる培養液の抗菌力

硝酸ソーダ の濃度 (%)	最初の pH	第 1 回 實 験			第 2 回 實 験		
		10日目	14日目	20日目	10日目	14日目	20日目
		力價 pH	力價 pH	力價 pH	14日目	力價 pH	力價 pH
0.05	5.3	<50 7.0	<50 6.6	<50 5.4	<50 6.7	<50 6.4	<50 6.2
0.1	5.3	<50 7.0	50 6.8	<50 6.0	<50 7.0	<50 6.8	50 6.3
0.15	5.3	<50 7.1	50 7.0	<50 5.6	<50 7.1	<50 6.8	150 6.4
0.2	5.4	<50 7.1	100 7.2	<50 5.6	<50 7.1	100 6.8	50 6.4
0.25	5.4	<50 7.2	230 (450±) 7.2	<50 6.0	50± 7.2	230 7.0	50 6.4
0.3	5.4	<50 7.2	50 7.2	<50 6.4	50 7.2	230 7.0	100 6.8

第16表 各種濃度の硝酸石灰を窒素源とせる培養液の抗菌力

硝酸石灰 の濃度 (%)	第 1 回 實 験			第 2 回 實 験		
	10日目	14日目	20日目	10日目	14日目	20日目
	力價 pH	力價 pH	力價 pH	力價 pH	力價 pH	力價 pH
0.05	<50 6.6	<50 5.6	<50 5.8	<50 6.6	<50 6.6	<50 6.2
0.1	<50 6.6	50± 5.6	50± 6.0	<50 6.6	<50 6.6	<50 6.0
0.15	<50 6.7	100 6.7	50 6.0	<50 6.7	50± 6.6	50± 6.0
0.2	50 7.2	150 6.6	230 5.8	100 7.0	150 6.8	150 6.0
0.25	50 7.2	100 6.8	50 5.8	150 7.0	230 6.8	150 6.0
0.3	50 7.4	50 7.0	50 5.8	50 7.0	150 6.9	230 6.2

本実験の結果は窒素源の濃度高きもの程抗菌性物質の生産良好にして、何れの場合にも
 0.05%の濃度にては全然抗菌力を示さず。本実験の範囲に於ては硝酸ソーダの場合は 0.25 乃至 0.3%，硝酸カリ及び硝酸石灰にては 0.2 乃至 0.3% に於て良好なる結果を示せり。尚

ペプトンを用いたものにては抗菌力を發現せず、且高濃度のものは培養液の酸度著しく高まり、前述の場合と同様の結果を示せり。又アスパラギン酸ソーダの場合には 0.2~0.3% に於てのみ 14 日目に僅かに抗菌力を示すのみなりき。

4. 酵母エキス添加の影響,

蒸溜水 100cc にエビオス 10 gr を投じ湯煮鍋中にて 3 時間煮沸後、遠心機にて沈澱を除去し、上清液を次表の割合に CZAPEK-DOX 液に混じ又は蒸溜水にて稀釋したるものにて培養を行へり。

	A	B	C	D	E	F	G	H	I
酵 母 エ キ ス	—	10	20	50	80	100	100	50	25
CZAPEK-DOX 液	100	90	80	50	20	塩 類 の み	—	—	—
蒸 溜 水	—	—	—	—	—	—	—	50	75

結果は第 17 表に示すが如し。

第 17 表 CZAPEK-DOX 液に酵母エキスを添加せる場合の抗菌力

培 地 番 號	第 1 回 實 験						第 2 回 實 験					
	10 日 目		12 日 目		14 日 目		10 日 目		12 日 目		14 日 目	
	力價	pH	力價	pH	力價	pH	力價	pH	14 日 目	力價	pH	
A	100	7.4	100	7.4	450	7.5	>450	7.4	230	7.4	>450	7.4
B	100	7.6	100	7.6	150	7.7	150	7.6	100	7.6	230	7.5
C	100	7.6	50	7.6	230	7.6	150	7.6	150	7.6	100	7.6
D	<50	7.6	50±	7.6	150	7.6	50±	7.5	50	7.6	50	7.6
E	<50	7.8	<50	7.8	<50	8.0	50±	7.8	<50	7.8	<50	8.0
F	50±	7.8	50	7.8	100	8.2	50	7.6	50	7.8	<50	8.0
G	<50	8.0	<50	8.0	<50	8.4	50	8.2	<50	8.0	<50	8.2
H	<50	7.8	<50	7.6	<50	7.8	50±	7.8	<50	7.8	<50	7.6
I	<50	7.8	<50	7.6	<50	7.6	<50	7.8	50	7.6	<50	7.7

本實驗結果を見るに酵母エキス添加によりて菌の發育は良好となるも、抗菌力は増加せず又酵母エキスに鹽類を混じたるもの又は鹽類を加用せざりし場合も抗菌力を示さざりき、この理由につきては更に研究を要するも炭素源或は素窒源の不足に起因するに非ざるか尙疑問を存す。

5. 培養容器の大きさ及び培養液の量

各種の ERLNMEYER Flask に量を變じたる CZAPEK-DOX 培養基を分注し、菌を培養して抗菌力を檢せり。結果は第 18 表に示すが如し。

第18表 培養容器及び培養液の量が抗菌力に及ぼす影響

容器の量 (cc)	培養基の量 (cc)	7 日 目		10 日 目		15 日 目		17 日 目		19 日 目	
		力價	pH	力價	pH	力價	pH	力價	pH	力價	pH
150	10	<50	6.4	<50	6.8	50±	6.8	150	6.9	150	6.9
150	25	<50	6.2	<50	6.8	<50	6.8	150	6.9	100	6.9
150	50	<50	6.2	<50	6.8	<50	6.8	150	6.9	100	6.9
250	50	<50	6.2	50	6.8	50	6.8	150	6.9	230	6.9
250	100	<50	6.2	<50	6.8	<50	6.8	230	6.9	150	6.9
500	100	<50	6.0	<50	6.8	<50	9.8	100	6.9	230	6.9
500	200	<50	6.0	<50	6.8	<50	6.8	100	6.9	50	6.9
1000	100	<50	6.0	<50	6.8	50	6.8	150	6.9	150	6.9
1000	200	<50	5.9	<50	6.8	50	6.8	50±	6.9	50	6.9
1000	300	<50	5.9	<50	6.8	<50	6.8	<50	6.9	50±	6.9

IV. 各種植物體煎汁の培養基としての利用

a 農産物 葱頭球莖, 南瓜果肉, 甘藷塊根, 馬鈴薯塊莖, 玉蜀黍種子粉の20%及10%煎汁を250cc コルベンに50cc 宛分注し常法の如く室温(6.3°~25.5°C)にて培養し, 10日目, 12日目及び14日目に抗菌力を調査せり. その結果馬鈴薯及び甘藷煎汁に於て微に抗菌力を示せるのみなりき. 又菌絲の發育も最初は良好なるも14日には Autolyse を起すものゝ如く, 培養基中の養分の僅少なりしを思はしめたり.

上記の如き結果を得たるを以て各煎汁に炭素源として葡萄糖(20%)窒素源として硝酸カリ(0.2%)を單獨又は兩者を添加して供用せり.

この結果は菌の發育も悪く殆んど抗菌力を示すものなく培養基材料としては不適當なるが如し.

d. 夏蜜柑汁液 既に述べたるが如く炭素源として枸橼酸を用ひたる場合抗菌性物質の成生を見たと, 枸橼酸工業に於て夏蜜柑汁液より枸橼酸を石灰塩として沈澱せしめたる廢液中には未だ相當量の炭素源並びに窒素源を残留するを以て, 本目的に利用し得べしとの豫想の下に本實驗を行へり. 之に用ひたる培養基は夏蜜柑の果肉を壓搾して得たる原液, その $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{10}$ 稀釋液, 及び之等に炭酸石灰を50ccに10gr混ぜるもの, 並びに原液に生石灰を投じ中和したる後煮沸して枸橼酸石灰を除きたる濾液及びその稀釋液につき, 本菌を培養し抗菌力を調査せり.

第19表 夏蜜柑汁液を培養基とせる場合の抗菌力

培 養 基	第 1 回 實 験				第 2 回 實 験			
	10日目	13日目	15日目	17日目	10日目	13日目	15日目	17日目
	力價pH	力價pH	力價pH	力價pH	力價pH	力價pH	力價pH	力價pH
原 液		150 2.6	150 2.5	450 2.5	450 2.4	100 2.5	230 2.5	100 2.5
1/2 稀 釋	150 2.5	100 2.5	150 2.5	230 2.5	230 2.4	150 2.5	150 2.5	150 2.5
1/4 稀 釋	100 2.5	50 2.5	100 2.5	150 2.5	150 2.5	50 2.5	100 2.5	100 2.5
1/10 稀 釋	50 2.5	50 2.6	50 2.5	50 2.5	100 2.6	<50 2.5	<50 2.6	100 2.5
柑 原液+炭酸石灰	<50 6.0	<50 6.0	<50 6.2	100 6.0	50 6.2	50 6.0	100 6.0	100 6.0
1/2稀釋+ "	50 6.0	50 5.8	50 6.2	150 6.0	50 6.3	150 6.0	50 6.0	100 6.0
1/10稀釋+ "	<50 6.8	50± 5.8	<50 6.2	<50 6.0	<50 6.1	50 5.8	<50 5.8	50 6.0
汁 生石灰中和濾液	<50 5.6	150 5.0	100 4.8	50 4.8	50± 5.5	100 4.7	100 4.8	100 4.8
1/2 稀 釋	50 5.2	100 5.0	50 4.8	50 4.8	50 5.3	50 4.7	100 4.8	50 4.7
1/4 稀 釋	50± 5.2	100 5.0	100 4.7	<50 4.7	50 5.2	100 4.7	50 4.7	50 4.8
1/10 稀 釋	<50 5.2	100 5.2	<50 5.0	<50 4.8	<50 5.2	50 4.8	<50 4.8	<50 5.0

本實驗結果を見るに夏蜜柑汁液及びその稀釋液を培養基とせる場合には抗菌力發現するが如く見ゆるも、その酸度極めて高きを以て酸の影響による發育阻止とも考へざるべからず、更にこの液にては菌の發育も充分ならず液中に沈下する傾向を有す。炭酸石灰を添加せるもの及び生石灰にて中和せるものありては稀釋程度の高からざるものに抗菌力を示すを以て、注目すべき要あるものとす。殊に枸橼酸工業に於ては品質良好なるものを得るため酸を完全に中和せざるを以てこの廢液を本目的に利用し得べし。

V. 培養濾液の抗菌力の耐熱性

250cc 三角瓶に 50cc 宛 CZAPEK-DOX 培養液を分注常法の如く本菌を植付け 22~23°C にて 20日培養せる濾液につき各種の熱處理を行ひてその力價を検せり。培養液の酸度は pH 7.2 なり。

a. 100°C 濕熱に對する抵抗性 培養濾液を 250cc 三角瓶に 50cc 宛入れコッホ滅菌器中にて 100°C の蒸氣に所定時間置きその抗菌力を檢せりその結果次の如し。(第20表)

第20表 100°C 濕熱に對する培養濾液の抗菌力の變化

時間(分)	0	5	10	15	20	25	30	40	50	60
實驗番號										
I	230	230	150	100	100	50	50	50	<50	<50
II	450	450±	150	150	100	50	50	50	50	<50

この結果を見るに5分間にては殆ど變化なきも、10分乃至15分にて1/3となり1時間内外にて完全に破壊するものゝ如し。

b. 煮沸に對する抵抗性 培養液を5分及び10分間煮沸しその力價を検せるに第1回實驗にては5分間にて約1/3となり、10分間にて殆ど之を失へるが第2回實驗にては5分間にて1/2となり、10分間にて1/5程度の抗菌力を存せり。

c. 60°Cに對する耐熱性 60°Cの溫湯中に浸し抗菌力の消長を見るに10分間にて1/3となり、20~30分にて1/4となれり、1時間處理にても多少の抗菌力を殘存せり。(第21表)

第21表 60°Cに於ける培養液抗菌力の消長

時間(分)	0	10	20	30	40	50	60
第1回實驗	450	150	100	100	100	50	50
第2回實驗	±450	150	±150	150	50	50	50

VI. 葡萄狀球菌以外の細菌に對する發育阻止作用

a. 大腸菌に對する試験 CZAPEK-DOX 培養液(葡萄糖 3%, 硝酸ソーダ 0.3%)にて6日培養せるものは50倍以下なるが7日目には140倍の力價を示し、9日目には再び50倍以下となれり、第2回實驗に於ては6日目に50倍、14日にて110倍、10日に至れ50倍以下となれり。即ち大腸菌に對する抗菌力は高單位に非ざるも出現し、且比較的培養の初期に現はれ又急速に消失、其後に葡萄狀球菌に對する抗菌作用最高となるを以て、兩者は別種のものと考えざるを得べきが如し。

b. 根頭癌腫病菌(*B. tumefaciens*)に對する試験 CZAPEK-DOX 培養液に培養、その濾液をにつきて力價檢せるに次の如し。

培養日數	發育阻止力
7日	>450
9	>2500
11	2700
14	<2500

即ち根頭癌腫病菌に對する抗菌力の甚だ大なることは注目すべきことなり。

XI. 摘 要

1. 空气中より黄色葡萄状球菌に対する發育阻止物質を生産する *Aspergillus* に屬する1菌株を得たり。本菌はその形態學的性狀により *Aspergillus fumigatus* に近縁のものと考へらる。
2. 抗菌性物質生産に影響する條件を試験せるに次の如き結果を得たり。
 - a. 培養基の水素イオン濃度は pH 4~5 を適當とす。
 - b. 炭素源として糖類にては葡萄糖、果糖、蔗糖、マンノース、麥芽糖良好なるも、纖維素、ガラクトース、乳糖は不良なり。グリセリン、マンニット亦不良にして、有機酸の内枸橼酸、琥珀酸は有効なるも林檎酸、酒石酸、安息香酸、蔞酸は不適當なり。
 - c. 培養基中の糖量は 3~5% を適當とす。
 - d. 窒素源として硝酸鹽適當にして酸度を極端に高からしむるものは不良なり。濃度は0.3% 以上を適當とするものゝ如し。
 - e. 酵母エキスの添加によりては抗菌物質の生産を向上し得ざりき。
3. 植物體煎汁を培養基とせるものにては抗菌力の發現微弱なり。
4. 夏蜜柑汁液及び枸橼酸製造廢液の培養基としての價值は大にして注目に値す。
5. 培養濾液は加熱に對し比較的弱く、100°C 5 分の加熱に耐ふるも 10 分乃至 15 分にて $\frac{1}{3}$ となり。50 分にては殆ど抗菌力を消失す。
6. 本菌培養の初期に於てグラム陰性菌たる大腸菌、根頭癌腫菌の發育を阻止する物質を生産す。

齒科用銀合金に就て

(銀用及鑄造用銀合金)

技 官	藤 井	正 道
技 官	榎 本	正 義
臨時職員	山 内	八 束
元 囑託	大 澤	芳 子

緒 言

金の使用制限とパラジウムの輸入杜絶による銀パラジウム合金の製造停止に據る齒科醫療上の不便は言語に絶するものがある。然るに數年來此の不便を忍びつゝある數萬の齒科醫師に對して現今迄に齒科材料製造會社が其等の研究者と共に金代用合金なる銘打つて世に出したるものは何か局限的使用價值ある鐵合金を論外に置けば依然としてニッケルクロム合金と所謂不銹銀合金のみでは無い。

著者等が昭和 17—18 年所謂金代用合金の調査に當りたる際金の使用制限とパラジウムの輸入杜絶とに依り齒科醫療上殊に健康保衛上金合金及銀パラジウム合金を指定し居りし爲め多大の支障を來し居りたる齒科界には、銅合金即眞鍮類の所謂模造金、ニッケルクロム合金及所謂不銹銀合金の三種が使用され其のうち銅合金は模造金の名の如く其の外觀美良く且つ機械的性質は金合金に類似せるも其の化學的性質に於て或は銅中毒、或は其の腐蝕による口腔内爲害作用等が懸念され非難轟々たる中に其の姿を消し現今はニッケルクロム合金及銀合金が非難されつゝも存續し使用されつゝある状態である。

著者等が當時得たる結論に於て、銀合金は齒科醫療用として腐蝕試験結果よりして其の衛生的爲害の懸念は無きも、機械的性質に於て金合金に劣り、殊に硫化し易く口腔内に於て變色し易き事、及ニッケルクロム合金に於ては腐蝕試験結果 1% 乳酸溶液に於て表面積 1cm² に付き 3 日間に 2mg 以上腐蝕されるものあり且又機械的性質に於て技工上操作困難なる點等よりして、其の齒科的使用に對して稍疑問の點を存せり。

然るに既に 6 ヶ年を経過せる今日此等所謂金代用合金中先づ銀合金に就て現在存續し販賣されあるものゝ調査を爲したるに當所に提出されたる銀合金は 9 種なり。

試 験 之 部

當所に提出されたる銀合金は 9 種にして之に就き日本齒科材料協會所定の齒科材料規格に準據し物理的及化學的諸試験を施行したる結果次の如き成績を得たり。

1. 分析試験

此等の銀合金を常法に従ひ分析したるに第 1 表に示すが如き成績を得たり。

第 1 表 市販銀合金（銀用、銀鑄兼用及鑄造用）

番 號	成 分	Ag	Zn	Cd	Sn	Mn	Cu
1		78.08	8.07	12.96	0.82	—	—
2		83.84	2.73	9.82	3.4	—	痕 跡
3		80.66	13.25	5.61	0.26	—	—
4		79.31	10.81	9.88	—	—	—
5		75.9	14.65	3.66	—	痕 跡	—
6		95.08	—	—	4.56	—	—
7		55.53	—	—	32.74	—	3.71
8		75.74	18.14	3.32	—	0.09	—
9		64.40	4.61	10.28	20.08	—	—

第 1 表に於て、1 番—3 番は銀鑄兼用に於て、7 番—9 番は鑄造専用、其他は銀用として發賣され居るものなり。

次に昭和 17 年以降戦時中市販されたる銀合金の分析結果は第 2 表に示すが如し。

第 2 表 a. 市販銀合金（銀用及銀鑄兼用）

番 號	成 分	Ag	Zn	Cd	Sn	Mn	Cu	Ni
1		93.52	0.15	—	1.90	4.30	—	—
2		90.37	6.67	—	2.85	—	—	—
3		87.34	6.44	4.15	1.56	—	8.36	—
4		87.15	2.41	7.00	0.48	—	2.60	0.20
5		86.09	3.37	6.42	0.52	—	3.50	0.06
6		85.16	14.54	—	0.25	—	—	—
7		84.52	11.19	4.14	0.12	—	—	—
8		83.24	10.66	4.70	0.80	0.20	0.40	—
9		82.15	16.08	—	0.69	1.00	—	—

10	80.00	14.69	4.25	1.04	—	—	—
11	79.10	14.25	6.10	0.38	—	—	—
12	78.98	15.29	1.55	0.47	7.70	—	—
13	78.84	14.50	6.00	0.18	—	—	—
14	77.80	7.89	13.55	0.72	—	—	—
15	69.01	15.10	3.65	0.21	12.00	—	—

第2表 b 市販銀合金（鑄造用）

番 號	成 分	Ag	Zn	Cd	Sn	Mn	Sb
1		72.82	17.92	2.70	0.16	6.20	—
2		68.0~69.5	—	7.0~7.5	24.0~24.5	—	—
3		72.00	25.12	—	0.70	—	1.80

第2表 a は銀用銀合金にして此等は殆んど鑄造も出来銀兼鑄造用として販賣されたるものなり。

第2表 b は鑄造専用として販賣されたるものなり。

るものなり。

即第1表及第2表よりして現今の銀合金は既往のものと比較して何等改良進歩された點を認め得ず、依然として銀—亜鉛、或は銀—錫の所謂裝飾用不銹銀合金の一種にして之より一步も進歩してゐるものではない。

銀の含量を増加せば機械的性質良く又融點上昇し良きも耐硫化性に乏しく口腔内に於て變色し易く、亜鉛、錫、カドミウム等の含量を増加せば口腔内の變色は稍防ぎ得るも耐蝕性乏しく機械的性質、融點等低下するの惱みを現今も各研究者及製造者等が依然悩み續けてゐるものゝ如し。

2. 浸漬試験

現今市販され當所に提出されたる9種の銀合金に就て浸漬試験を施行したるに第3表及第4表に示すが如き成績を得たり。

本表に於て1及1', 2及2', 3及3', は銀鑄兼用として販賣され居るものにして(')符號無きものは原品に就きて,(')符號を附したるものは夫々原品を鑄造し試験片を作製し試験を施行したるものなり。7, 8, 9, は鑄造専用のものにして, 4, 5, 6, は銀用なり。

但し銀合金に於ては鑄造専用にして銀用を兼ねるものは殆んど無きも、銀用は殆んど總べて鑄造用として兼用され得るものなり。

浸漬溶液の色相

7 番に於て塩酸浸漬溶液、僅微に濁濁し又硫化ソーダ浸漬溶液、微に濁濁す。

第3表 a. 浸漬試験に據る増減表

試 驗 材 料	1% 食塩溶液		0.05% 塩化 水 素 溶 液		1% 乳酸溶液		0.1% 硫化ソ ー ダ 溶 液	
	1日 間 (mg/cm ²)	3日 間 (mg/cm ²)	1日 間 (mg/cm ²)	3日 間 (mg/cm ²)	1日 間 (mg/cm ²)	3日 間 (mg/cm ²)	1日 間 (mg/cm ²)	3日 間 (mg/cm ²)
1	0	0	0	0	0	0	+0.068	+0.068
1' (1を鑄造 せるもの)	0	0	0	0	-0.090	-0.151	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	+0.067
2' (2を鑄造 せるもの)	0	0	-0.029	-0.029	-0.031	-0.031	0	0
3	0	0	0	0	0	0	+0.033	+0.066
3' (3を鑄造 せるもの)	0	0	-0.032	-0.064	-0.030	-0.030	-0.030	-0.030
4	-0.066	-0.066	-0.033	-0.033	-0.066	-0.066	0	+0.032
5	+0.032	+0.032	0	0	0	0	+0.032	+0.064
6	-0.032	-0.032	-0.063	-0.063	-0.064	-0.064	+0.229	+0.490
7	0	0	-0.043	-0.093	-0.580	-0.916	-0.291	-0.400
8	0	0	-0.064	-0.127	-0.031	-0.061	0	0
9	+0.122	+0.122	-0.641	-2.330	-1.690	-2.520	+0.060	+0.110

9 番に於て塩酸浸漬溶液、無色なれども微濁を帶ぶ。

其他は總べて各浸漬溶液、無色澄明なり。

塩酸及乳酸浸漬溶液の硫化水素水及アンモニア水に據る反應

7 番に於て

塩酸浸漬溶液に於ては反應を認めざるも乳酸浸漬溶液に於て浸漬1日後に於て硫化水素水に依り黄色を呈し、之にアンモニア水を和するに依然黄色なれども濁濁を帶ぶ。

浸漬3日後に於ては硫化水素水に依り類褐色を呈し、之にアンモニア水を和するに依然類褐色なり、但し1日後のものよりも濁濁の度弱きも著色の程度強し。

9 番に於て

塩化水素浸漬溶液に於ては浸漬1日後に於て硫化水素水に依り灰色を呈し、之にアンモニア水を和するに依然灰色なり。浸漬3日後に於ては1日後と殆ど同様なり。

乳酸浸漬溶液に於ては浸漬1日後に於て硫化水素水に依り類褐色を呈し、之にアンモニア水を和するに依然類褐色なり。浸漬3日後に於ては硫化水素水に依り暗褐色を呈し、之にアンモニア水を和するに灰褐色を呈す。

第3表b, 浸漬試験に據る浸漬面の色澤

浸漬試験 材料	1%食塩溶液	0.05%塩化 水素溶液	1%乳酸溶液	0.1%硫化 ソーダ溶液
1	變化なし	變化なし	變化なし	類褐色の錆を生ず
1' (1を鑄造 せるもの)	淡類白色の錆を生ず	僅に淡類白色の錆を生ず	殆ど變化なし	類褐色の錆を生ず
2	變化なし	變化なし	變化なし	稍濃き類褐色の錆を生ず
2' (2を鑄造 せるもの)	變化なし	殆ど變化なし	變化なし	類褐色の錆を生ず
3	變化なし	變化なし	變化なし	類褐色の錆を生ず
3' (3を鑄造 せるもの)	殆ど變化なし	殆ど變化なし	殆ど變化なし	類褐色の錆を生ず
4	殆ど變化なし	殆ど變化なし	變化なし	類褐色の錆を生ず
5	類赤褐色の錆を生ず	僅微に類白色の錆を生ず	變化なし	淡類褐色の錆を生ず
6	微に類白色の錆を生ず	微に類白色の錆を生ず(液との接界部に暗灰色の線を生ず)	僅に類白色の錆を生ず	暗黒色の錆を生ず
7	類褐色の錆を生ず	暗紫色の錆を生ず	類褐色の錆を生ず	暗黒色の錆を生ず
8	僅に類褐色の錆を生ず	變化なし	殆ど變化なし	淡類褐色(褐色斑點あり)の錆を生ず
9	灰白色斑點狀の錆を生ず	紅青色の錆を生ず	灰紫色の錆を生ず	稍暗色を帯ぶる黄色の錆を生ず

其他は總べて各浸漬溶液、殆んど變化無し。

以上の浸漬試験成績よりすれば、5番は食塩浸漬試験に於て類赤褐色の錆を生じ、又6番は塩酸浸漬試験に於て液と金屬との接界部に暗灰色の錆を生じ且硫化ソーダ試験に於て暗黒色の錆を生ずるを以て規格に適合せず。

又7番、8番、9番、の所謂鑄造専用のものは8番を除き他は殆んどすべての浸漬試験に腐蝕されるを以て規格に適合せず。

8番は第1表に於て明らかなる如く銀の含量70%以上にして7番、9番とは種類の異なるものなり。

3. 機械的性質試験

試験成績を表示せば第 3 表に示すが如し。

第 4 表 銀合金の機械的性質

機械的 試験性質 材料	抗張力 (kg/mm ²)	伸張度 (%)	硬 度 (HB)
1	26.6	30.0	—
1' (1を鑄造 せるもの)	—	—	61.8
2	21.7	35.0	—
2' (2を鑄造 せるもの)	—	—	66.3
3	25.6	31.0	—
3' (3を鑄造 せるもの)	—	—	64.4
4	20.2	26.6	—
5	25.2	15.0	—
6	25.4	18.0	—
7	—	—	160.2
8	—	—	105.9
9	—	—	122.0

本試験成績よりせば銀用銀合金 1 番—6 番は總べて金屬冠用としての規格に適合す。鑄造用銀合金に於ては銀用と兼用のもの 1 番—3 番は何れもインレー用としての規格に適合するも、銀の含有量 70% 以下の 7 番, 9 番等インレー専用と云ふべきものにありては何れもブリネル硬度 100 以上にして本規格に適合せず

結 論

本試験は銀合金が昭和 16 年以來齒科醫療上使用され現在に至る約 7 ヶ年の経過に伴ひ之が改善され、より良き補

綴材料としての價值を生じたるや否やを調査せんが爲めに著者等も希望を以て實施したるものなり。

然るに調査の結果、何等改善されたる點無く、依然として裝飾用不鏽銀より一步も出ず、著者等が昭和 17 年衛生試験所彙報第 59 號に發表せると殆んど同様の結論を得たる事は誠に残念なる事である。

臨床上銀用銀合金は技工操作、金合金の如く容易ならず且又患者に齒ブラシの使用を強調して僅かに變色の原因を轉化せんとする術も既にして効無く、口腔内に於て變色するの歎點は全く改善されてゐない。

又分析結果よりして此種の銀用銀合金の研究は研究し盡され既に止まりたるが如き感がある其故に或は此以上の性質の改善を望むのは無理なのであらう。

鑄造用銀合金に於ては殊にインレー用に於て亜鉛或は錫の含量を増加し、口腔内に於ける變色を防がむとせるものもあるも、かかる銀合金に於ては、浸漬試験に於て、硫化ソーダ以外の

試薬に対する試験成績悪く 1 % 乳酸浸漬試験に於て 1cm^2 に付き 3 日間に減量 2 mg を超ゆるものあり、然るに臨床的所感よりして、かかる銀合金が何等口腔内に於て支障を來さない點よりせば、銀の含有量 70 % 以下のインレー専用の銀合金に於ては別に規格を制定し之を規定するを要するものと思惟す。

義齒牀用アクリリックレジンに就て

技 官	藤	井	正	道
技 官	榎	本	正	義
臨時職員	山	内	八	東
元 屬 託	大	澤	芳	子

緒 言

メタ・アクリル酸メチルエステルが我國に於て齒科界に義齒牀用として應用され始めてより既に六年以上経過するであらう。昭和 17—18 年著者等が當時衛生局より送付された義齒牀用ゴム及義齒牀用アクリリックレジンを調査し之を昭和 18 年 3 月衛生試験所彙報第 61 號に發表した當時は義齒牀用ゴムが其の原料の不良化により漸次其の性質を低下せむとする傾向にあり、アクリリックレジンに義齒牀用として次第に廣く一般に使用せらるゝ傾向にあつたのである。

而して當時著者等がアクリリックレジンに對して得たる結論は次の如きものであつた。

1. 義齒牀用アクリリックレジンに機械的性質に於て抗張力は大體に於て當時の義齒牀用ゴムに等しきも硬度及耐壓力共に大にして衝撃力は稍々小なり。而して伸張度は零なり。此等の成績に據りても明白なる如く義齒牀用ゴムに比較して脆弱なり。

2. 浸漬試験に於ける吸水量の試験よりして義齒牀用アクリリックレジンの吸水量は義齒牀用ゴムの 4~5 倍なり。

3. 溫度の變化に伴ふ義齒牀用アクリリックレジンの機械的性質の變化の程度は義齒牀用ゴム以上に著しい。

即此等の試験成績中極端に性質の悪いものを除き表示すれば第 1 表及第 2 表の如くなる。

但し義齒牀用ゴムに於ては試験片作製に於ける和硫方法は齒科材料協會所定の齒科材料規格に規定せる一般試験法に従ひ試験片作製 1 日後試験を施行したるものであり、義齒牀用アクリリックレジンに於ては同協會所定の齒科材料規格第 21 號に従ひ試験を施行したるものなり。

4. 義齒牀用ゴムの諸性質は既往のものと比較して劣り且義齒牀用アクリリックレジンの諸性質は當時の義齒牀用ゴムよりより以上の缺點を有してゐる。

即以上の如き結論を得たのである。

試 験 之 部

(物理的、化學的及臨牀的)

既に 6 十年を経過せる現今依然としてアクリリックレジンが義齒牀用として使用され、セルロイド、ベークライト及醋酸ヴィニール等の合成樹脂、所謂義齒牀用ゴム代用品が慧星の如

第 1 表 既往の義齒牀用ゴム及義齒牀用

試験材料	物理的化學的 試験	抗 張 力 (kg/cm ²)	伸 張 度 (%)	耐 壓 力 (kg/cm ²)	硬 度 (H _B)
牀 用 ゴ ム ブラウン マルーン ブラック ゴールドダスト		407.3~514.4	1	687.4~832.7	13.5~15.9
牀用アクリリックレジン 填入器に據る場合		410.1~687.6	0	947.3~1279.2	20.1~25.9
手壓填入に據る場合		306.3~442.3	0	923.~1217.	21.8~25.9

第 2 表 既往の義齒牀用ゴム及義齒牀用アクリリックレジン
の温度變化に伴ふ硬度の變化

試験 材料	0°		20°~25°		30°		55°	
	H _B	ショール	H _B	ショール	H _B	ショール	H _B	ショール
牀 用 ゴ ム ブラウン マルーン ブラック ゴールドダスト	18.3~21.5	64~67	15.4~18.3	56~60	—	—	13.7~16.2	49~52
牀用アクリ リックレジン 填入器に據る 場合	21.5~25.9	60~79	—	—	18.6~22.2	56~71	14.8~17.7	43~63

く出現し何時の間にか其の姿を減し全く使用されず一時の流行に止まりたるのとは著しく相違するのは如何なる理由に基くものであろうか。

其の原因は年と共に義齒牀用アクリリックレジンが改良され其の諸性質が漸次向上し來たるが爲めであらうか。

著者等が現今市販され居る義齒牀用アクリリックレジンに就て其等の諸性質を調査せる結果第 3 表に示すが如き成績を得たのである。

試験方法は全く従前通りである。

即市販品として昭和 17—18 年の調査に於ては當所に提出されたるもの 21 種類の多きに比較し、此度提出されたるもの實に 6 種類なり。即其の種類は著しく減じたるものゝ試験の結果極端に諸性質の程度底きものゝ種類を看ざるに至りたり。

アクリリツクレジンの試験成績

衝撃力 (cmkg/cm ²)	浸 漬 試 験			直射日光に據 る 變色 試験
	吸 水 量 (mg/cm ²)	液 色	浸漬後液ニ硫酸及百分定 規過マンガン酸カリ溶液 各一滴を加へた場合	
6.5~19.4	0.10~0.15	—	—	—
~2.6~	0.54~0.81	變化なし	紅色 5 分以内に消失せず	變化なし
4.55~11.37	—	"	"	"

第 3 表 市販義齒牀用アクリリツクレジン試験成績

試験材料	物理的 科學的 試験	抗張力 (kg/cm ²)	伸張度 (%)	耐壓力 (kg/cm ²)	硬度 (HB)	浸 漬 試 験			直射日 光に據 る 變色 試験
						吸水量 (mg/cm ²)	液 色	浸漬後液に硫酸及 百分定規過マンガン 酸カリ溶液各一 滴を加へた場合	
1		56.43	0	1144.4	25.3	0.313	變化なし	紅色 5 分以内に 消失せず	變化 なし
2		623.3	0	1053.3	24.0	0.376	"	"	"
3		565.1	0	1113.0	23.7	0.386	"	"	"
4		523.8	0	1034.0	23.7	0.222	"	"	"
5		543.9	0	1022.1	22.5	0.346	"	"	"
6		586.7	0	1067.7	22.6	0.267	"	"	"

吸水量は稍改善されたるも其他の性質には殆んど變化無しと云ふべきである。

而して之が數年間の臨床的所感を總合するに、アクリリツクレジンは義齒牀用ゴムに比較して脆弱なるも印象採得を完全に施行し、陶齒配列を正確にせば咬合壓の不平等の原因による亀裂、破損等の如きは殆んど無く、温度の變化に伴ふ性質の變化も亦義齒牀用ゴムに數倍する吸水量の如きも殆んど臨床的には影響少く爲めにアクリリツクレジンは既に義齒牀用ゴムの代用品に非ずして完全なる牀用材料の一種なりと云ふべきである。

加ふるに其の外観美と技工上の操作の簡單なる點よりして義齒牀用ゴムに優るとも必して臨床的に劣るものではない。

總 括

既往の義齒牀用ゴム及現今の義齒牀用アクリリックレジンの諸性質よりして推察するに義齒牀用アクリリックレジンが伸張性に於て少くとも 1~3% の伸張度があり、脆弱性を防ぎ得たならば、義齒牀用材料としては理想的なるものに近からむ。

不正なる印象採得及陶歯配列が咬合壓に均衡を缺き牀に亀裂を生ずる事は當然にて技術の未熟に歸すべく此等を正確にせば稍脆弱なる缺點を防ぎ得るものなり。

現在の義齒牀用アクリリックレジンに於ては、ライトピンク、ダークピンク等の二、三種類に過ぎざるも義齒牀用ゴムに於ては既に、ブラウン、ダークブラウン、マルーン、ブラック、デエツトブラック、ゴールドダスト等々の外、外装用としてはライトピンク、ピンク、ダークピンク、グラニューラー等の種類があり各々其の性質を異にするものである。

斯く牀用ゴムに於て種々の性質のものが使用されてゐるにも拘らず此等が二、三種のアクリリックレジンにて置き變へられるものであらうか。或は牀用ゴムに於けると同様アクリリックレジンに於ても今後各種のものが要求されるのではあるまいか。

義齒牀用としてアクリリックレジンに既に義齒牀用ゴムの代用品では無く完全なる一牀用材料として、むしろ義齒牀用ゴムを齒科界より驅逐するものであらう。

其の外観美と技工上の操作簡單なる點は義齒牀用ゴムに比較して遙かに優秀なる事は現今の世情に於ては義齒牀用ゴムの驅逐に拍車をかけるものならむ。

次に陶歯代用としてアクリリックレジン歯用あるも機械的性質よりして臼齒には應用し得ず、前齒にのみ應用せらるゝも臨床的に既に 2~3ヶ月にて變色する傾向あり、變色の理由にはかかる種類のアクリリックレジンには牀用のものと異り多量の顔料を含有しあるものなれば顔料の性質及吸水量が問題となつて來るものである。

此等の諸點に關しては今後の研究を俟つものなり。

ビタミン B₁ の呈色試薬

技 官 小 川 俊 太 郎

著者は今回 B₁ 呈色試薬として、スルファニル酸及 P. アミノアセトフェノンに代換し得る試薬を探さうとして各種の P. アミノ化合物と B₁ の呈色反應に就き調査した。各試薬としては、局方品又は合成化学工業の原料又は中間生成體として、入手し易く且樂に純度の高いものが得られる様な化合物を選んだ。(第一表参照)

第 一 表

No.	試 薬 名	純 度	性 状	備 考
1	P. ニトラニリン	市 販 品	結 晶	
2	アミドール	"	"	
3	P. アニシデン	合成工業中間生成體	"	
4	P. フェネチデン	"	液 體	
5	鹽酸プロカイン	局 方 品	結 晶	
6	P. アミノ安息香酸エチル	"	"	
7	スルファミン	"	"	
8	アセトスルファミン	"	"	
9	ヂスルファミン	"	"	溶解性悪しく試験中止
10	スルファピリデン	醫 藥 品	"	
11	スルファメチルチアツオール	"	"	
12	P. アミノフェニル スルファヂメチルアミド	合成工業中間生成體	"	
13	P. アミノフェニル スルウアヂエチルアミド	"	"	
14	スルファニル酸	市 販 品	"	對 照
15	P. ケミノアセトフェノン	"	"	對 照
16	2.6. ズブロム P. ニトラニリン	合成工業中間生成體	"	

呈色操作はホルムアルデヒド・アゾ試験法及櫻井法(白土吸着を行ふもの及行はざるものを含む)に準據し、各試薬と對照物質(前者の方法では、スルファニル酸、後者ではパラアミノ。アセトフェノン)との分子量の比から各試薬溶液の濃度を定めることとした。

實 験

(1) 呈色試薬の撰擇 (第二表参照)

早く呈色が出現し其色が著明で時間的變化が少く且再現性があること等を條件として呈色試

第 二

		櫻井法					
No.	試薬名	B ₁ (r)	0 r (盲 驗)			100 r	
			液 の 色	イソブタ ノール	モノクロル ベンゾール	液 の 色	イソブタ ノール
1	P.ニトラニリン		淡黄色	淡黄褐色	無色	淡黄色	帯褐橙色
2	アミドール		淡黄色	淡黄褐色	無色	淡黄色	殆ど無色
3	P.アニシデン		黄色	黄色	殆ど無色	帯赤暗黄色 (濁濁)	血赤色
4	P.フェネチデン		黄色	黄色	無色	赤色暗黄色 (濁濁)	血赤色
5	鹽酸プロカイン		黄色	淡黄色	殆ど無色	橙 色	櫻實紅色
6	P.アミノ安息香酸エチル		明黄色	黄色	黄色	櫻實紅色	赤 色
7	スルファミン		明黄色	明黄色	無色	櫻實紅色	朱赤色
8	アセトスルファミン		殆ど無色	—	—	桃 赤 色	桃 色
9	ヂスルファミン		—	—	—	—	—
10	スルファピリジン		明黄色	薄 橙 色	無 色	櫻實紅色	赤 色
11	スルファメチルチアゾール		明黄色	淡黄色	無 色	櫻實紅色	橙 色
12	P. アミノフェニル スルファヂメチルアミド		淡 黄	薄い橙色	無 色	黄 色	橙 色
13	P. アミノフェニル スルファヂエチルアミド		淡 黄	薄い橙色	無 色	黄 色	橙 色
14	スルファニル酸		黄色	黄色	無 色	橙 色	橙 色
15	P. アミノ アセトフェノン		薄い赤色	薄 赤 色	薄 赤 色	赤 (濁濁)	血赤色
16	2,6. デブロム P.ニトラニリン		無 色	—	—	無 色	—

薬を撰擇すると、(i) ホルムアルデヒド・アゾ法のスルファニル酸の代りに、(5) 鹽酸プロカイン、(6) アミノ安息香酸エチル (15) P. アミノアセトフェノン等があり、又櫻井法に於けるアミノアセトフェノンに代換し得ると思はれるものとしては、(3) P. アニシデン、(4) P. フェネチデン、(5) 鹽酸プロカイン、(6) アミノ安息香酸エチル、及 (12) (13) であり、其内 (3) (4) (6) 等が比較的實用に供せさうであつた。

(a) スルファニル酸代換品としてのアミノ安息香酸エチル
アミノ安息香酸エチルの呈色は美麗な赤色で次の條件を具備する。

- (i) 本品と B₁ との呈色は 1 時間で最高と成り以後 15 時間に及ぶも殆んど變化しない。
- (ii) 本品と B₁ との呈色の $\lambda_{\max}$ は略々 500 m μ に在る。
- (iii) 本呈色は再現性を有する。

表

ホルムアルデヒド・アゾ試験法

モノクロル ベンゾール	0γ (盲 験)			100γ		
	液 の 色	イソブタ ノール	モノクロル ベンゾール	液 の 色	イソブタ ノール	モノクロル ベンゾール
無 色	黄 色	淡黄緑色	無 色	帯 緑 黄 色	淡 緑 黄 色	無 色
殆ど無色	黄 色	薄い草色	無 色	黄 色	無 色	薄 褐 色
帯紫桃色	無 色	—	—	黄 色	橙色(完全)	桃色(完全)
帯紫桃色	無 色	—	—	僅かに橙黄色	殆ど無色	殆ど無色
僅か桃色	無 色	—	—	櫻 實 紅 色	濃 桃 色	無 色
桃 色	無 色	—	—	赤 色	桃 橙 色	殆ど無色
無 色	無 色	—	—	橙 赤 色	桃 色	無 色
無 色	無 色	—	—	やや薄い橙赤色	淡 桃 色	無 色
—	—	—	—	—	—	—
僅か桃色	殆ど無色	—	—	橙 赤 色	赤 色	桃 色
無 色	淡紫桃色	僅か着色	無 色	赤 色	淡 桃 色	僅かに桃色
橙 桃 色	無 色	—	—	淡 黄 褐 色	淡 黄 褐 色	淡 黄 褐 色
橙 桃 色	無 色	—	—	薄 桃 色	桃色(完全)	桃色(完全)
無 色	無 色	—	—	赤 色	殆ど無色	殆ど無色
濃 桃 色	無 色	—	—	櫻 實 紅 色	血 赤 色	濃 桃 色
—	無 色	—	—	無 色	—	—

(iv) 本呈色を濾光板 (S₅₀) を使用しブルフリヒ光度計に依り檢した結果、本呈色にはラム
ベール・ベールの法則が適用し得る。

以上の諸點より見て本試薬はスルファニル酸の代換品として充分使用出来る。又アミノ安息

第 三 表

B ₁ (γ)	調製月日	10 月 4 日	9 月 19 日	9 月 2 日
20		E=0.139	E=0.128	E=0.136
50		E=0.344	E=0.329	E=0.335

香酸エチル溶液はスルファニル酸との分子量の比より計算し其 0.16g を局方塩酸 3cc と水 30cc に溶解して製したが相当保存出来る。(第三表参照)。

次に本試薬の呈色は同条件下に於けるスルファニル酸に依る呈色より濃い。

以上の諸點より、パラアミノ安息香酸エチル(局方品)はホルムアルデヒド・アゾ試験用試薬として極めて好適であると結論し得た。

(A) フェネチデンに據る櫻井呈色法(白土吸着を行はず)

櫻井法に據る呈色試薬の内でも最も有望なものは、フェネチデンである。

フェネチデンに據る呈色は赤紫色(溶剤はモノクロルベンゾール)で次の諸性質を具有する。

(i) 呈色は約 2 時間で最高に達し以後 15 時間に及ぶも殆ど變らない。

(ii) 呈色の $\lambda_{\max}$ は略、530m μ . に在る。

(iii) 呈色は再現性を有する。

(iv) 濾光板 (S₅₃) を使用しブルフリヒ光度計に據り檢すれば呈色にはラムベール・ベールの法則が適用し得ることが分つた。

(v) フェネチデン試薬は工業用フェネチデンを苛性カリで乾燥し減壓蒸溜 (4mm, 119°~122°C) した後、其 0.2g を局方塩酸 3cc と水 30cc. に溶解して作製する。本試薬は、冷蔵保存中にも幾分變化し(著色、沈澱)斯様な試薬を使つて、B₁ の呈色を行ふと色素のモノクロルベンゾール溶液に幾分かの黄色を認めることがある。然し黄色の僅かなときは、 $\lambda_{\max}$ の吸光係数には影響しないから心配はない。(第四表参照)。

第 四 表

製 作 月 日	11 月 14 日	10 月 25 日	10 月 10 日
E	0.252	0.247	0.248

以上の實驗成績からフェネチデンは代換試薬として使用出来るさうなので次の實驗に移つた。

(B) フェネチデンに據る櫻井呈色法(白土吸着を行ふ)

試薬、呈色操作は、(A) と全く同じ、白土は武田白土の MM 印、各 0.1g 宛使用、其の結果は常の如く呈色強度 (E) と B₁ の r 数との關係が、(A) の場合と少しく變つた他、何等不都合な點はない。

然しフェネチデンに依る B₁ の呈色はパラアミノ・アセトフェノンに比べ大分淡い(約 50%)。

然かも市販 B₁ 剤に就て兩者の定量値と比較した所第五表の如き値を得た。

即ち製劑就中、吸着劑、胚芽劑等に對し本試薬を定量に使用する爲には猶検討を要する。

第五表

試料 \ 定量法	アセトフェノン法	フェネチデン法
注射剤 I	385	385
" II	370	360
" III	300	280
" IV	90	74
酵母剤	130	130
結晶製剤	500	460
液剤	86	90
吸着剤	40	20
胚芽製剤	35	12

總括並考察

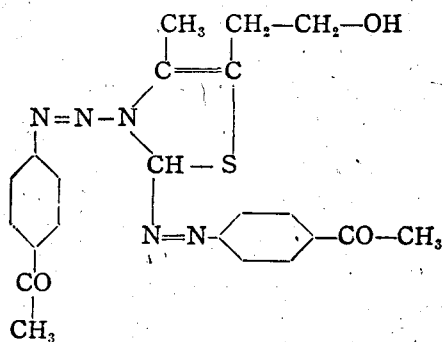
(イ) 各種パラアミノ化合物と B_1 の呈色反應を検し定量に對する應用性に就き調査した結果、パラアミノ安息香酸及パラフェネチデンを撰出し得た。

(ロ) 上の内前者はホルムアルデヒド・アゾ試験に適し、後者は、櫻井法に使用出来るが、細目に亘つては、検討を要する點もある。

(ハ) 第二表で明かな如くホル

ムアルデヒド法と櫻井法と何れを用ひるかに依り、全く違つた呈色反應を示すもの（例、パラアミノ安息香酸、フェネチデン、スルファニル酸）と殆ど同じ反應をなす試薬（アセトフェノン）とがある。兩呈色法には、各々ホルマリン及フェノールアルコールを使用する以外、ジアゾ化に若干の相違があるのみであるのに、結果が斯様に異つて來る事實は興味深い。

(ニ) 嘗て村田⁽³⁾はアセトフェノンと B_1 との呈色反應物質に次式を想像したが上記 (ハ) の成績は一定のジアゾ試薬と B_1 との反應物質には條件に依り、此の外の形のものが存在することを暗示してゐる。



(ニ) (ニ) の村田の構造式より考へアセトフェノンと B_1 に依り生ずる色素と同種の性質（従つて B_1 に特異的な）の色素を造らしめるにはアミノ基とパラの位置に酸性の殘基が残つてゐない試薬を用ふ可きであらうと推察したが、第二表の結果を觀ると此の想像は大體誤り無い様である。

本研究の費用は之を文部省科學研究費に仰いだ。又特殊な試薬を分與せられた當所板井技官に深謝する。猶研究の一部は國弘加壽子君が擔當した。

文 献

- (1) 武田長兵衛商店, 研究部年報 第 6 號, 126 頁.
- (2) 理研彙報, 第 20 輯, 第 4 號, 281 頁.
- (3) 日本化學會誌第 64 帙, 第 10 號, 1379 頁.

三塩化アンチモンに依るビタミン A の呈色反應に就いて

技 官 小 川 俊 太 郎

臨時職員 太 幡 利 一

序 言

肝油の A 含量を計る目的を以てカール・ブライス反應に據る呈色の強度を計り此の値に或係數（俗に換算係數と呼ぶ）を乗じて、該肝油 1g 中の A 量を國際單位（以後單に單位と呼ぶ）で算出する方法は、此比色定量が操作簡易な丈けに、從來から廣く利用されて來た。然るに係數は決して一定せず一例を見ても C. L. O. と單位との換算係數は其を利用する人により 300 とか 400 とか非常に區々である。

我々は、各種の原料より得られ且、分光法に依る A 含量測定値の分明した肝油を入手し得たので、或る一定の定量操作（即ち定量條件）の下に測つたカール・ブライス反應の呈色と單位との間の關係（即ち上述の換算係數の一種）を調べて見ることにした。

實 驗

(1) 試藥の作方は G. Vastagh (Arch. d. Pharmaz. 1941, Hft 2, 51) に準じ只三塩化アンチモンは一夜アドソール入りのデシケータ内で乾し之を翌日 30W/V % 溶液にして使用した。呈色法も Vastagh と同様で測光はブルフリヒ光度計 (S₆₁ 濾光板) に據り行つた。藤田（東醫事新 64 卷 891 及 900 頁）の方法とも殆ど全く同じである。光度計の読みは試藥添加後正確に 20 秒後に採る。又呈色の條件を一定する爲め 5000 單位迄の油は 1000 單位に付其 0.2g をクロロホルム 10cc に溶かす割合で檢液を作り之より高單位の油は其 1000 單位に付 0.2g をクロロホルム 14cc に溶かす割合で檢液を作り之を呈色させることとした。上記の各檢液は 1cc 中に夫々 20 乃至 14 單位の A（但分光法に據る値）を含む譯で斯様にすれば經驗上測光時 0.2 位の吸光度が得られ條件が一定すると共に測定誤差を最小にする事が出来る。例之後出の成績表中 No. 1 の眞鱈肝油は分光法に據つて豫め 1200 單位の A を含む事が判つたので其 1.0g を採り 10cc のクロロホルムに溶かし、更に 5.5 倍に稀釋して呈色せしめ其吸光度として表の如き 0.18 を得てゐる。

各種試料に據る成績は第一表の如くになつた。

(2) 我々は上記の第一表より換算係數を次の如くして算出した。

第 一 表

No.	試料名稱	採油量 (g)	溶劑 量 (cc)	稀釋 倍數	測 定 E 值	Ab.	スペクトル 法に依る P=I.U./g (全油)	換 算 係 數	スペクトル 法に依る P=I.U./g (不鹼化物)	換 算 係 數
1	眞 鱈 肝 油	1.0	10	5.5	0.18	9.9			1200	120
2	"	0.268	12	1	0.294	13.2	1350	98		
3	河 豚 肝 油	0.994	10	12	0.107	12.9			1650	128
4	眞 鱈 肝 油	0.0648	6	1	0.182	16.85	2000	120		
5	助 宗 肝 油	1.0	20	8.5	0.175	29.75			3100	104
6	"	0.125	10	1	0.42	33.6	3150	94		
7	鮫 肝 油	0.0785	20	1	0.154	39.23	4000	98		
8	"	1.0	15	13	0.206	40.17			5000	72
9	助 宗 肝 油	0.0543	10	1	0.281	51.74	4900	94		
10	眞 鱈 參 考 肝 油	0.1	40	1	0.181	72.4	6000	81		
11	"	1.0	50	8	0.169	67.6			6000	81
12	助 宗 肝 油	0.0715	25	1	0.31	108.39	7600	79		
13	"	0.057	10	3	0.21	110.52	8000	72		
14	油 カ レ イ 肝 油	0.0722	7.2	4	0.173	69.008	8500	124		
15	市 販 肝 油 ⁽¹⁾	0.069	24.2	1	0.35	122.75	10000	82		
16	AD 協會參考肝油	0.032	16	1	0.28	140	10500	74		
17	助 宗 肝 油	0.0132	15	1	0.192	218.18	15500	72		
18	C 肝 油	0.05	10	3.5	0.22	154	15800	100		
19	市 販 肝 油 ⁽²⁾	0.055	5	9	0.28	229.09	18400	84		
20	鯊 肝 油	0.1	20	12	0.152	364.8	23500	64		
21	"	0.924	19	100	0.146	300.21			23000	77
22	助 宗 肝 油	0.0245	20	3	0.154	377.14	24500	66		
23	鮭 肝 油	0.03	20	4	0.175	466.67	31000	66		64
24	眼 拔 肝 油	0.95	25	81	0.316	673.57			43000	
25	"	0.0265	20	6	0.149	674.71	46500	69		
26	鮭 肝 油	0.028	10	4	0.52	742.85	55000	74		

No.	試 科 名 稱	採油量 (g)	溶 劑 量 (cc)	稀 釋 倍 數	測 E 定 値	Ab.	スペクトル 法に依る P=I.U./g (全油)	換 算 係 數	スペクトル 法に依る P=I.U./g (不鹼化物)	換 算 係 數
27	鮭 肝 油	0.1	20	32	0.198	1267.2	75000	60		
28	"	0.026	20	16	0.091	1120	80000	72		
29	高 單 位 肝 油 ⁽¹⁾	0.032	16	10	0.289	1445	100000	69		
30	" ⁽²⁾	0.556	25	100	0.35	1573.74			100000	63
31	" ⁽³⁾	0.048	20	40	0.15	2500	195000	65		
32	眼 梔 木 肝 油	0.0275	18	25	0.262	4287.27	310000	77		

$$F = \text{換算係數} = \frac{\text{分光法に據り得たAの含量(單位/g)} \times \text{採油量}}{\text{溶劑(cc)} \times \text{稀釋倍數} \times \text{測定E値}} \dots\dots(1)$$

例之前出の眞鱈肝油なら A の單位は 1200, 採油量は 1.0 g, 溶劑量 10cc, 稀釋數が 5.5 で測定E値は 0.18 であるから上式に據り $F=120$ を得る.

總 括

上記の成績を總括すると次の如くなる.

(1) 肝油の種類(原料の魚が違ふこと)如何により F は異なる, 之は特定の肝油例之河豚, 油かれひの肝油に於て認められる現象で變則的に F の大きく成ることを云ふ. C 肝油も其一例である, 眞鱈, 助宗等の肝油と鮭肝油との間でも F の相違が有るが之は寧ろ次掲 (2) によるものであらう.

(2) 一般の肝油では ($E_{1cm}^{1\%} \times 1600$) に據り得た A 含量が低いものの F が大きく, 高いものの F が小である, 此差は 5000 單位以下に成つて急に顯著となる. 而て單位を 1000 で除した値の對數と F の對數との間には大體直線的關係が有り (但 No. 14 及 18 を除く) 其直線の方程式を最小自乘法により求めると $y = -0.107x + 20.2 \dots\dots(2)$ となる (但 x は單位を 1000 で除したものの對數, y は F の對數).

(3) 又 $Ab = \frac{\text{測定E値} \times \text{溶劑(cc)} \times \text{稀釋倍數}}{\text{採油量 (g)}} \dots\dots(3)$ を各成績より算出すると此數値と F と

の雙方の對數同志の間にも略々直線關係があり (但 No. 14 及 18 は除く) 最小自乘法により求めた方程式は $y = -0.1x + 2.12 \dots\dots(4)$ であつた (但 x は Ab の對數, y は F の對數).

(4) 實測に當り (2) に述べた如き關係が常に成立するならば各試料に付夫々適當した F が在る譯である. 此 F は次の如くして求め得る. 即ち實驗時の測定 E 値, 採油量 (g), 溶劑量

(cc) 及稀釋倍數が判れば (3) の (3) 式に従つて Ab を先づ算出し其對數と (3) の (4) 式から F の對數 (従つて F) が求められる。

(5) 實際に當つては呈色の強度 (測定 E 値) より直ちに分光法に據る A 含量 (單位 $1g$) が知り度いのであるが既に F 及其對數或は Ab と其對數が分つてゐるのであるから (2) の (2) 式又は F と Ab との相乗積から A 含量は容易に算定し得る。但其値は近似値である。

(6) 同一の試料では全油及不鹼化物に於ける F に殆ど違ひが認められない。

考 察

(1) 分光法に據る單位と C. L. O. 値との相互換算係數に關し中宮の検討したところに據れば (理研彙録 19 輯 9 號) 換算係數 $= \frac{\text{單位}}{\text{C. L. O.}}$ の値は A 含量の高い肝油程小さい。池田が多數の試料 (肝油及肝油製品) に就て一定條件の下に上記の係數を求めた結果でも 5. C. L. O. 以下の肝油では大體 420, 之以上の肝油では大體 380 が適當してゐると云ふ (最近のビタミン集談會誌に發表), 我々の成績に鑑みても此事實には誤りのないものと認められる。

(2) 然るに一方上記の係數を Carr, Lathbury, Karrer, Holmes, Mead 等の成績から求めると大體 280~350 平均 300 位に成り, 又藤田 (前出) が我々と殆んど同じ操作呈色法で求めた係數 F は大體 66 に當つてゐる。斯様に割合低い係數の出る理由は, 之等の研究者が A 含量の非常に高い肝油又は濃縮物或は少くとも 5000 單位以上の肝油を試料として係數を算出した爲めではあるまいか?

(3) F が一定しない原因としては肝油中に呈色を妨害し $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ の値を非特異的に高める妨害性物質が存在し, 且つ鹼化により除去されぬものと假定する外はない。もし斯様な物質が有るとすれば單位の低いもの程其影響が大きく顯れるため F が増大すると考へ得る。總括 (1) に於て述べた特殊肝油に於ける F の増大も同様の理由に據るものではあるまいか?

(4) F を確定する爲には原料と單位の外に試料の製造條件及新舊度をも考慮せねばならぬ。今回の實驗では後半の條件が揃つてゐないから此點更に検討したい。

本研究の費用は之を文部省科學研究費に仰いだ。又試料を分與された河合研究所並に林兼商店に對し謝意を表する。

本實驗の一部は山本就子君が擔當した。

(附)

No. 10 眞鱈肝油 (ビタミン集談會頒布) の全油及良質鱈肝油全油に付き檢液 1cc 中の $V A$ 量 (國際單位) と E との關係を求め下の如く相當廣い範圍に汎つて兩者の數値間に直線的比

例の成立つことを知つた（附表参照）。此範囲では換算係数は V A の量と無關係な譯である。然し眞鱈肝油なら 1 cc 中 20 單位, 鮭肝油では 15 單位附近が測定に最適であらう。

附 表

單位/cc	眞鱈肝油の E	鮭肝油の E
11.7	—	0.2
14.8	0.18	—
15.7	—	0.28
19.7	0.23	—
23.4	—	0.35
29.5	0.32	—
31.3	—	0.45
39.4	0.42	—
46.8	—	0.69
62.5	—	0.85

V. A の簡易比色定量法 (中間報告)

(永久比色標準液の考案)

技 官 小 川 俊 太 郎

臨時職員 太 幡 利 一

本實驗は V. A. を三塩化アンチモン・クロロホルム試薬による呈色反應を利用して定量する際に應用し得べき永久比色標準液を提供すべく企圖せられたり。

實 驗

1. 永久比色用標準液

從來發表を見たる永久比色用標準液は概ね著色性無機塩水溶液乃至有機性色素の水溶液にして次の四條件を満足し得るものたることを前提とす。

- (i) 入手容易なること
- (ii) 力價檢定の容易なること
- (iii) 液の色調が被檢液の色調と近似し居ること
- (iv) 液の呈色に保存性の有ること

上述の諸條件に鑑み、余等は先づアムモニア銅錯塩 (Tetrammine cupric sulfate ($\text{Cu}(\text{NH}_3)_4\text{SO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)) を使用することとせり。

2. $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 水溶液の調製並力價檢定法

ヨード法により力價を檢定し計算により求め得たる硫酸銅水溶液の力價を斟酌して $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ の 3 % 水溶液を正確に作製す。

3. 銅錯塩標準液の調製法

2. に於て調製せる $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 水溶液及 N/2 アムモニア水を次表の割合にて混合し銅錯塩標準液 (以下標準液と稱す) を作製す、何れも保存の爲比色筒 (後出) 内に封入す。

第 一 表

番 號	1	2	3	4	5	6	7	8
銅 液 (c.c.)	0.28	0.46	0.56	0.70	0.84	0.98	1.12	1.82
アムモニア水 (c.c.)	9.72	9.54	9.44	9.30	9.16	9.02	8.88	8.18
V. A. 相當單位/c.c.	10I.U.	15I.U.	20I.U.	25I.U.	30I.U.	35I.U.	40I.U.	65I.U.

4. コバルト液 (補色液)

標準液の呈色は被検液に比し紅色を帯ぶ、依りて比色に當りては後者の呈色に幾分の紅色を附加し比色に供さるべからず、此目的には塩化コバルト溶液 ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ を濾紙片間に挟み可及的水分を去りたる後、その 2g をとり全容を 100cc. とする、これを稀めるには局方塩酸 25cc と水 975cc との混液を使用する) を用意する、濃度次表の如し。

番 號	1	2	3	4	5	6	7
コバルト溶液 (cc)	0.5	1	2	2.5	4	5	7.0
稀 塩 酸 (cc)	9.5	9	8	7.5	6	5	3.0

同じく保存の爲比色筒内に熔閉す。

5. 水

蒸留水を比色筒内に封入す。少くも二本用意す。

6. 比 色 用 器 具

比色法による水素イオン濃度測定器に附屬せる比色用暗函及比色筒 (内徑約 1.2cm 肩迄の高さ約 9cm) を利用す (衛生試験所彙報第六十四號・小川・河内 V. B₁ の簡易比色定量法。

2頁参照) 筒は硬質硝子製にして且可及的徑の一定したるものを選ぶ。光源は太陽の散光にて可なり。

7. 標準液の V. A. 當量決定法

V. A. は AD 協會より分與せられたる参考肝油 (10500 I.U./g 當所檢定) を使用しクロロフォルムに溶解し各 1cc 中 5 I.U.~60 I.U. を含有する溶液を作りこれ等を 0.3cc 宛採取し 30% 三塩化アンチモン・クロロフォルム溶液を 3cc 加へて呈色したる色調に補色筒を重ねたる色を前記標準液と比色す。

即ち肝油溶液 0.3cc を比色筒に加へそれを参考文献所載第一圖中 (イ) に挿入し大體の豫想標準液を其左右の孔 (ロ) (ハ) に挿入す、次で (イ) 及 (ロ) (ハ) の色調を等しからしむる爲 (ニ) (ヒ) に水を入れたる筒を各々挿入し (イ) に對應する孔 (ニ) には前記 4. に於て用意したるコバルト液の何れかを入れ而る後に三塩化アンチモン・クロロフォルム液を加へ 20 秒以内に可及的速かに比色す。

斯の如き要領にて標準液筒の濃度を知るを得べく、又被検液の色調が何れの濃度の標準液色調よりも稍濃厚なるも其次の濃度の標準液の呈色より淡きや等の結果を判するを得べし。

本操作を反覆し平均値を求め以て標準の液濃度と V. A. の I. U. 値との關係を追究したるに下圖の如き關係圖を得たり。(第三表)

第 三 表

	10I.U./cc. 以下	10I.U./cc.	15I.U./cc.	20I.U./cc.	25I.U./cc.	30I.U./cc.	35I.U./cc.	40I.U./cc. 以上
實 測 値 (平均値)	色 測 薄 定 き 不 た 能 め	11 9	14, 16 14.5	19.5 20	25, 27.5 26.5	30, 31 29	35, 37.5 36.5	近 ^レ の 似 ^ミ み 値 ^ミ 得 ^レ ら る ^ミ (色 ^ミ 調 ^ミ 合 ^ミ は ^ミ ず)

上表は未完成にして未だ充分検討の餘地あるも標準液濃度と V.A.I.U. との間には 10—35 I.U./cc. 當量溶液に於ては大略直線的關係の成立し居るを見得べし (研究繼續中)

8. 實 驗 例

目下試料蒐集中なるも現在まで判明せる各種肝油 (單位別, 種類別) の實測値を示せば次表の如し. (第四表). 表中 P_1/P_2 は AD 協會參考肝油に就ての値を 1.00 とし以下本法に據る單位とスペクトル法に據る單位との比を表はす.

第 四 表

試 料 名 稱	採油量 (g)	溶劑量 (cc)	稀 釋 倍 數	比色筒 の 値	本法による $P_1=I.U./g$	スペクトル 法による $P_2=I.U./g$	P_1/P_2
AD協會 參 考 肝 油	0.032	16	1	21.0	10500	10500	1.00
助 宗 肝 油	0.022	15	1	24.0	16000	15500	1.03
鯨 肝 油	0.160	20	8	27.0	27000	23500	1.15
同上 不鹼化物	0.924	10	100	20.5	22200	23000	0.96
助 宗 肝 油	0.0245	10	3	22.2	27200	24500	1.12
鮭 肝 油	0.030	10	4	28.0	34800	31000	1.12
眼 拔 肝 油	0.0265	20	3	21.8	49500	43000	1.15
同上 不鹼化物	0.0950	25	81	25.1	50200	46500	1.07
鮭 肝 油	0.028	15	4	24.7	55000	55500	1.00
鮭 肝 油	0.100	20	28	16.7	92500	75000	1.23
鮭 肝 油	0.026	20	5	21.5	82500	80000	1.03
高 單 位 肝 油	0.032	16	10	21.5	107000	100000	1.07
同上 不鹼化物	0.556	25	200	24.5	107000	100000	1.07
高 單 位 肝 油	0.048	10	40	26.5	222000	195000	1.14
眼 梶 木 肝 油	0.0275	20	25	15.0	297000	310000	0.96

9. 備 考

(イ) 本法に於て使用するコバルト液の番號と其濃度呈色したる被檢液の濃度とには大約一定の關係ありて其狀況次の如し (第五表)。

但各番號コバルト筒を使し得る限界は其境界の部分に於て相互にかなりの重複し居るも測定結果は之により左したる影響を蒙らず。

第 五 表

V. A.U./cc 濃 度	コバルト液番號
10~15~20	① ~ ②
20~25~30	② ~ ④
30~35~40	④ ~ ⑥
40 以上	⑤ ~ ⑦

(ロ) 最適比色限界は V. A. の 15 I.U.—25 I.U. の間なり。

(ハ) 標準液の濃度を更に細分するも可なるも測定結果は上述の區分程度にて充分實用に供し得。

(ニ) 本法の測定誤差については唯今研究中なり。

本研究の費用は之を文部省科學研究費に仰けり。

黴(糸状菌)の生成する抗生物質に関する研究

その一

グラム陰性菌發育阻止物質—パトリンに就いて

技 官	八 田	貞 義
技 官	平 山	重 勝
技 官	宮 本	晴 夫
嘱 託	青 山	好 作
嘱 託	西 村	秀 夫

内容目次

I 緒 言

II 実験の部

- 1) 培 養 條 件 :
- 2) 單孢子培養による抗菌力の比較 :
- 3) 培養濾液の各種病原菌に對する發育阻止力 :
- 4) 加 熱 試 験
- 5) 耐酸耐アルカリ試験
- 6) 精 製 法
- 7) 結 晶 の 性 状

III 總 括

引用文獻

(本報告の概要は昭和 21 年 12 月傳染病研究所學術集談會に於て發表された)

I. 緒 言

細菌學の搖籃時代より、自然界に於ける微生物相互間の拮抗現象は廣く知られた事實であるが、かかる現象を利用して細菌性疾患の療法にまで進展したのは、實に近年に於ける Penicillin, Gramicidin, Tyrocidin, Streptomycin 等の成果に待つ處が多く、殊に世紀の靈藥 Penicillin の出現は、化學療法劑の未開分野の開拓に大きな刺戟をあたへた。

しかしこの Penicillin も赤痢菌、チフス菌、大腸菌、その他のサルモネラ菌屬等のグラム陰性菌には殆んど作用することがないので、吾々はグラム陰性菌により強く作用する物質を他の黴の代謝産物中に見出すべく、研究に着手した。

而してこの種の先驅的研究として、Glister¹⁾は麴黴屬より、Wiesner²⁾は *Aspergillus clavatus* より、我國では傳研梅澤³⁾は青黴より、グラム陰性及び陽性菌の兩者の發育を阻止する物質を得て發表した。吾々は昭和 21 年 5 月、偶々中野區に發生した集團中毒の推定中毒物件である小麥粉及び室内放置の蜜柑の皮より平山の分離せる青黴 (C.M.3 及び P111) と當試験所構内舊豚舎附近の土壤中より青山の分離せる黴 (P22) との三株の培養濾液は、耐熱耐酸性でチフス菌に對して大體 600 倍、これから得られた結晶物質は 16 萬~32 萬倍稀釋にて、その發育を完

全に阻止するのを認めたので、ここにその大要を報告する。

II. 実験の部

1. 培養条件：

培養温度は $23^{\circ}\text{C}\sim 24^{\circ}\text{C}$ 、培養日数は 7~10日で、培養条件は大體ペニシリンの場合と同様である。培養最終 pH は、GM 3 では $6.5\sim 5.0$ 、P111 では $5.0\sim 3.5$

と常に酸性に傾き易く GM 3 に於てはその抗菌價を高める爲には、炭素源を多量にして、窒素源を少量にする事が必要であつた。Czapek-Dox 培地に於ては、炭素源としての葡萄糖の量を 4% から 7% に増加すれば、抗菌力は上昇するが、窒素源としてのペプトンを 1% の割に加えたものでは逆に半減した。(第 1 表参照)。P111 に於ては、窒素源としては NaNO_3 の他にペプトンを 0.5% の割に加えた時に高い抗菌力が得られた。本分離

第一表 使用培地と抗菌力の關係

培地	抗菌力
Czapek-Dox	160~320倍
Czapek-Dox (Glucose 7%)	320倍以上
Czapek-Dox+照内 Pepton	80 倍

第二表 本實驗に使用した各種の培地組成

No. 1 :

NaNO_3	3.0g
K_2HPO_4	1.0
KCl	0.5
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.5
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.01
Glucose	70.0
Pepton	5.0
水	1 l.

pH 6.8

No. 3 :

NaNO_3	2.0g
Glucose	50.0
Pepton	7.0
土壤浸出液	1 l.

pH 6.1

No. 2 :

KH_2PO_4	1.5g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1.0
Glucose	50.0
Pepton	5.0
水	1 l.

pH 5.8

No. 4 :

NaNO_3	3.0g
KH_2PO_4	0.5
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.25
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.02
Lactose	30.0
Corn Steep Liquor Solides	80.0
水	1 l.

pH 6.6

株は青微の一般培養基に良く發育し、10 數種の培養基について抗菌力を比較したところ、第二表に示した培地により、比較的高い抗菌價を示すものが得られた。No. 1 は Czapek-Dox 培地の葡萄糖の量を7% に増し、ペプトンを0.5% の割に加えたもの、No. 2 は Waksman 培地の變法である。No. 3 の培地に用いられた土壤浸出液は水 1,000cc に土壤 250 g を加え、100°C 1時間熱浸せるもの、No. 4 の Corn 培地の Corn-Steep-Liquor-solides は米國產の Corn に 10 倍量の水を加え、100°C 1時間煮沸熱時ガーゼにて吸引濾過、その濾液の蒸發殘渣を8% の割に加えたものである。而して供試菌別に見た好適培地は GM3 では No. 4 の Corn 培地が、P 22 では No. 3 の土壤浸出液の培地が、P 111 では No. 1 及び No. 2 の兩培地が最高の抗菌價を示した。

2. 單孢子培養による抗菌力の比較：

次に吾々の分離した菌株について、更に優秀なる抗菌力を有する株を求めるべく、單孢子培養を試みた。即ち Lister 變法により滅菌水を試験管に 10cc 宛分注し、第一の試験管に一白金線の孢子を接種する。之を良く振盪して懸濁液を作り、この一白金耳を次の試験管に接種する如くして順次稀釋し、「ホール、グラス」に一白金耳とつて檢鏡、一個の孢子を求めて之を 24°C 濕室内に 24 時間培養後、Czapek-Dox 斜面培地に移植培養した。斯くの如くして GM3 株より得られた單孢子培養 39 株の個々について、Corn 培地及び Czapek-Dox 培地に於ける

第三表 GM3 株單孢子培養の抗菌力測定 (單孢子培養 39 株)

A. Corn 培地 (チフス菌)						B. Czapek-Dox 培地 (大腸菌 葡萄狀球菌)			
稀釋倍數	培養日數					供 試 菌	培養日數		
	5 日目	7 日目	9 日目	12 日目	15 日目	大 腸 菌	7 日目	10 日目	葡 萄 狀 球 菌
320 倍 以上	0 %	25%	30%	24%	0%				
160 倍	23%	48%	46%	42%	10%	200 倍以上	40%	0%	0%
80 倍	26%	20%	13%	18%	34%	140 倍	23%	10%	14%
40 倍	13%	7%	8%	11%	30%	110 倍	7%	10%	28%
20 倍	8%	0%	3%	5%	13%	80 倍	7%	12%	12%
20 倍 以下	30%	0%	0%	0%	13%	80 倍以下	23%	68%	46%

C. Corn 培地 (チフス菌)

培養第 7 日目以前にて最高を示すもの………23%
 培養第 9 日目前後で最高を示すもの………46%
 培養第 12 日目前後にて最高を示すもの………31%

チフス菌及び大腸菌、葡萄狀球菌に對する抗菌力を比較検討した。(第三表及び第四表参照)。

Corn 培地では7日~12日で, Czapek-Dox 培地では7日前後で最高に達し, 且つ各株によつて抗菌價の高低, 抗菌力發現の時期, 持續期間, 培地の pH 等に相當の差違が見られた。例えば第四表の第17號株の如く殆んど抗菌價を示さないもの, 第2號株の7日 320 倍最高で

第四表 Corn 培地に於ける單孢子 (39株) の抗菌力比較

培養日數		5日目	7日目	9日目	12日目	15日目
菌株番號	pH					
17	6.5	0	40	40	0	0
1	5.3	0	80	80	160	80
21	6.4	0	80	160	160	20
49	6.6	0	80	160	160	160
45	5.4	0	80	160	640	40
41	5.7	0	160	80	40	20
46	5.3	0	160	160	160	40
39	5.3	0	160	160	320	40
47	6.6	0	160	160	320	160
15	6.5	0	160	320	80	20
2	5.4	0	320	80	80	80
14	6.2	0	320	160	80	0
42	5.2	0	320	640	320	40
24	5.7	20	80	20	0	0
4	5.3	20	160	160	320	80
7	5.4	20	320	160	160	80
38	6.5	40	40	40	40	20
40	6.4	40	40	40	40	80
19	5.8	40	80	80	80	0
30	5.2	40	160	160	160	40

培養日數		5日目	7日目	9日目	12日目	15日目
菌株番號	pH					
6	5.4	40	160	320	320	80
8	5.0	80	80	160	160	40
22	5.3	80	160	160	80	80
43	5.3	80	160	160	160	160
37	5.3	80	160	160	320	40
9	5.3	80	160	320	160	40
16	5.2	80	160	320	160	80
44	5.2	80	160	320	160	80
5	5.1	80	160	640	160	40
3	5.3	80	320	320	160	80
12	5.2	160	160	80	80	80
20	5.4	160	160	160	40	0
36	5.1	160	160	160	160	40
28	5.2	160	160	160	320	160
10	6.6	160	160	320	160	40
34	5.7	160	320	160	80	40
25	5.2	160	320	320	160	80
18	5.3	160	320	320	320	20
32	5.2	160	320	320	320	40

直ぐ減少するもの, 第42號株の7日 320 倍, 9日 640 倍, 12日 320 倍で, 9日に最頂の山型を作るもの, 第40號株の如く 15日にて漸く抗菌力の上昇するもの, 第28號株の5日から15日迄持續するもの等, 上記の如くなされた單孢子培養株の抗菌力には, かなりの相違のある事が認められた。

各菌株の pH と抗菌力との關係を見るに, 最終 pH が酸性に傾いたもの程, 抗菌力が大である。例えば pH 5.4 以下にて最高 640 倍以上の抗菌力を示したものは, いづれもこの範圍内にある。320 倍のものは 19 株中 14 株で 74 %, 160 倍は 12 株中 9 株で 75 %, 80 倍以下のものは皆無であつた。以上より pH の下降と抗菌力の上昇との間には, 重大なる關係のある事が推察される (第五表参照)。

3. 培養濾液の各種病原菌に対する發育阻止力：

GM3 の單孢子培養第 42 號株の培養濾液の各種病原菌に対する發育阻止力は、時により多少の動搖は見られるが、第六表に示す如く、チフス菌には 600 倍、パラチフス A 菌には 500

第 五 表
pH 5.4 以下の抗菌力

抗菌力	總株數	pH 5.4 以下の株數	比 率
640倍	3株	3	100%
320	19 "	14	74
160	12 "	9	75
80	3 "	0	0
80倍以下	2 "	0	0

倍、志賀赤痢菌、鼠チフス菌及び大腸菌には 400 倍、パラチフス B 菌及びゲルトネル菌には 200 倍、葡萄狀球菌（寺島株）には 100 倍の稀釋にて、之等の發育を完全に阻止した。

4. 加熱試験：

培養濾液（pH 6.4~5.4）を 60°C 30 分、100°C 1 時間、100°C 2 時間 100°C 4 時間とそれぞれ加熱して、チフス菌に対する抗菌力の影響を

見た。即ち 100°C 1 時間では何等減弱することなく、完全にその抗菌力は保持され、100°C 2 時間以上にてやゝ破壊されるのを認めた（第七表参照）。

第 六 表 培養濾液の各種病原菌に対する發育阻止力

供試菌	稀釋倍數	100倍	200倍	300倍	400倍	500倍	600倍	1000倍	對 照
志 賀 菌(三好)	—	—	—	—	—	+	+	+	+
チ フ ス 菌(S.57)	—	—	—	—	—	—	—	+	+
パラチフス A 菌(S.1)	—	—	—	—	—	—	+	+	+
パラチフス B 菌(S.4)	—	—	+	+	+	+	+	+	+
鼠チフス菌 (S.9)	—	—	—	—	—	+	+	+	+
豚コレラ菌(S.34)	—	—	+	+	+	+	+	+	+
ゲルトネル菌(S.64)	—	—	+	+	+	+	+	+	+
大 腸 菌	—	—	—	—	—	+	+	+	+
葡萄狀球菌(寺島)	—	+	+	+	+	+	+	+	+
綠 膿 菌	+	+	+	+	+	+	+	+	+

表 註：+ 發育せるもの — 完全に發育阻止されたもの

5. 耐酸耐アルカリ試験：

培養濾液を鹽酸及び苛性ソーダで pH 2, 3, 4, 8, 8.5, 9, 9.5, 10 に修正、37°C に 24 時間放置せる後の抗菌力は、pH 2, 3, 4 の酸性側に於ては安定、pH 8~8.5 に於て破壊し始め、pH 10 では全くその抗菌力は消失した。（第八表参照）。

6. 精 製 法：

第七表 加熱試験

加熱溫度及び時間		チフス菌に對する抗菌力
無處置	pH 6.4~5.4	320倍
60°C	30 分	320倍
100°C	1 時間	320倍
100°C	2 時間	160~320倍
100°C	4 時間	160倍

熱及び酸に安定なる上記の性質より、次の如き過程を経て抽出精製した（第九表参照）。

培養濾液を 70°C にて原液の $\frac{1}{30}$ 容に減壓濃縮し、次で之をエーテル或は無水アルコールに抽出後、エーテル（又は無水アルコール）を溜去、再びアセトンに浸出、アセトンを溜去すれば鉛状物質を得る。之を無水エーテルに溶解しエーテルを溜去すれば粗結晶を得る。次でベンツオールにて再結晶をなすか、或は上記の方法とは別に培養濾液の減壓濃縮後、エーテルにて

第 八 表
耐アルカリ耐酸性試験

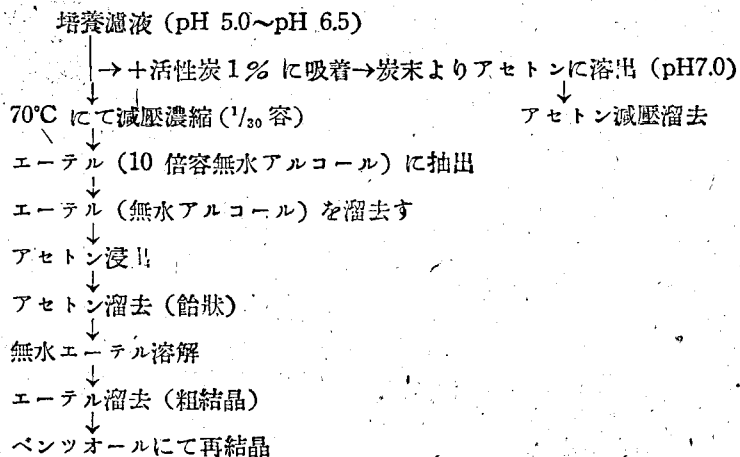
pH	チフス菌に対する抗菌力
無修正 (pH 6.2~5.6)	320
2	320
3	320
4	320
5	160~320
8.5	160
9	40
9.5	40
10	0

連続抽出を行い、エーテルを溜去して簡単に鉛状或は粗結晶を得る。又培養濾液を 1% 活性炭に吸着せしめて、アセトンに溶出しても得られる。

7. 結晶の性状：

得られた結晶物質は無色板状様で融點 109°C~111°C、アセトン、アルコール、エーテル、クロロホルム及び水に良く溶解し、ベンツオールには加温すれば溶解する。

第 九 表 精 製 法



その毒性は體重 10 g マウスに對し最少致死量は、皮下腹腔共に 0.4 mg である。

結晶の各種病原菌に對する抗菌力は、志賀菌、チフス菌は 16 萬~32 萬、パラチフス A 菌、豚コレラ菌、鼠チフス菌、ゲルトネル菌、大腸菌、赤痢菌、變形菌、靈菌、葡萄狀球菌 (F.D.A. 209 株) は 16 萬倍、パラチフス B 菌、葡萄狀球菌 (寺島株) は 8 萬倍、綠膿菌は 1 萬倍で、その發育を完全に阻止した (第十表参照)。

又本結晶を 12 日、20 日、70 日、115 日と室温に放置してチフス菌に對する抗菌力を檢らべた

ところ、12日、20日では16萬倍で、何等の減少を見ない。70日では半減して8萬倍、115日でもやはり8萬倍といふ可なり安定した物質であることを知つた。

結晶を生理食鹽水に千倍、二千倍、四千倍、……と稀釋して、試験管内で試みた各稀釋液の家兎血液に對する溶血現象はいづれも陰性であつた。

第 十 表 結晶の各種病原菌に對する發育阻止力比較

稀釋倍数 供試菌	1 万	2 万	4 万	8 万	16 万	32 万	64 万	對 照
志 賀 菌 (三好)	—	—	—	—	—	±	+	+
チ フ ス 菌 (S.75)	—	—	—	—	—	(+)	+	+
パラチフス A 菌 (S.1)	—	—	—	—	—	+	+	+
パラチフス B 菌 (S.4)	—	—	—	—	±	+	+	+
鼠 チ フ ス 菌 (S.9)	—	—	—	—	—	+	+	+
豚 コ レ ラ 菌 (S.34)	—	—	—	—	—	+	+	+
ゲルトネル菌 (S.64)	—	—	—	—	—	+	+	+
大 腸 菌	—	—	—	—	—	+	+	+
葡萄狀球菌 (寺島)	—	—	—	—	+	+	+	+
葡萄狀球菌 (F.D.4)	—	—	—	—	—	+	+	+
緑 膿 菌	—	±	+	+	+	+	+	+
プロテウス菌 (OX19)	—	—	—	—	—	+	+	+
靈 菌 (京大)	—	—	—	—	—	+	+	+

表 註：+……發育せるもの

±……幾分發育せると思はれるもの

—……完全に發育阻止されしもの

第 十 一 表

結晶の pH 試験成績

(單位(萬)對照のチフス菌(S.57)に)
對する抗菌力は16萬倍

pH 時間	2	3	4	7	8	9	10
0 時	16	16	16	0	2	2	2
3 時	16	16	8	0	2	2	2
6 時	16	16	16	0	2	2	2
12 時	4	4	4	0	2	2	2
24 時	4	4	4	0	2	2	2

次で結晶を pH 2, 3, 4, 7, 8, 9, 10

の各種緩衝液に加え、即時、3 時間後、

6 時間後、13 時間後及び24時間後につ

き各々その抗菌力を測ると、pH 2, 3, 4

では12時間後に半減し、pH 8, 9, 10 で

は即時に $\frac{1}{8}$ に減じて、アルカリ側に於

て非常に不安定であつた(第十一表参照)。

次に各 pH 溶液についてその耐熱性を

檢した(第十二表参照)。

即ち pH 2, 3, 4, 7 では 100°C 2 時間の加熱で $\frac{1}{4}$ に減じ、pH 8 では 60°C 30 分で $\frac{1}{4}$ 、更に 100°C 30 分 では $\frac{1}{8}$ に減じた。pH 9, 10 では 60°C 30 分 で $\frac{1}{8}$ に低下して、pH 及び耐熱性試験に於て濾液の場合と可なり異なる結果が得られたが、これは結晶にあつては、pH

第十二表

結晶の耐熱、耐 pH 試験成績

(単位 (萬), 対照チフス菌 (S. 57) に対する抗菌力は 16 萬倍)

作用時間 pH	60°C 30分	60°C 60分	60°C 120分	100°C 30分	100°C 60分	100°C 120分
2	16(萬)	16	16	16	16	4
3	16	16	16	16	16	4
4	16	16	16	16	16	4
7	16	16	16	16	16	4
8	4	4	4	2	2	2
9	2	2	2	2	2	2
10	2	2	2	2	2	2

修正用に緩衝液が用ひられたることの他に、濾液には何か耐 pH 及び耐熱性の因子が存在するによるものと思はれる。

鼠チフス菌或はゲルトネル菌を用いて、マウスに対する本物質の感染防禦實驗を試みたが、毒性と刺戟性の強いことも原因して充分なる検討は未だ終了してゐない。

III. 總 括

1) 熱及び酸に對して比較的安定で、グラム陰性菌に強く作用する抗生物質の存在を三株の微培養濾液中に認め、それを精製して無色板狀様の結晶をとり出した。

2) 本結晶はチフス菌、大腸菌、志賀赤痢菌等のグラム陰性菌を、16~32 萬倍稀釋にて完全に阻止し、グラム陽性菌に對しては之よりも作用が弱く、毒性は 10 g マウスに對し皮下腹腔共に 0.4 mg であつた。

3) 本結晶は融點、抗菌力、毒性その他の諸性狀より、Reistrick⁵⁾ の Patulin, Waksman⁶⁾ 等の Clavatin, Chain⁷⁾ 等の Claviformin 或は先に傳研³⁾ 澤の得た Patulin 様物質に一致するものと信ずる。

4) GM 3, P 22, P 111 の三菌株より得た結晶は、混融試驗を行ふも融點の下降を見ず、他の諸性狀より見るも全く同一物質と思われる。

5) 青黴 (GM 3) の單孢子培養による抗菌力の相違は、通常一株と思はれる黴の抗菌力の動搖に大なる關係があるものと推定される。吾々は單孢子培養により得た優秀株では本實驗に於て毎回一定の高い抗菌價のものが得られた。

6) 單孢子培養に於て、最終 pH 低きもの程抗菌力の上昇を示した。

7) 動物に於ける感染防禦試驗は本物質の毒性と刺戟性の強いために未だ充分なる検討を終

了しておらない。

8) 尙ほ吾々は他にグラム陰性菌に強く作用する數種の菌株を分離しているが、いづれも培養濾液は常に酸性に傾き、比較的耐熱耐酸性で、毒性強く同一の性状を有している。故に一般に分離されるグラム陰性菌發育阻止作用の有する菌の大部分は Patulin 様物質を生産するものと思われる。

なお本研究費は、風土病研究特別委員會・傳染性腸疾患科會の援助に俟つ所が多い。ここに記して謝意を表する。

引 用 文 献

- 1) Glistler, G. A.,: Nature 148, 470, (1941)
- 2) Kiese, M.: Klin, Woch. 22, 505 (岩波科學 昭和十九年七月號より引用)
- 3) 梅澤濱夫: 日本醫事新報 1179, 68 (昭和21年)
- 4) 瀧元清透, 中田覺五郎: 微生物學及植物病理學實驗法. 第4版. (昭和17年)
- 5) Reistrick, H., Birkinshaw, J. H. Michael, S. E. Gye, W. E. & Hopkins, W. A.: Lancet 2, 625 (1943)
- 6) Waksman, S. A., Horning, E. S. Spencer E. L.: Science 96. 202 (1942)
- 7) Chain, E, Florey, H. W. & Jennings. M. A.: Brit. J. Exp. Path. 23. 202 (1942)

黴(糸状菌)の生成する抗生物質に関する研究

その二

黴の振盪培養法に関する基礎的研究

技	官	八	田	貞	義
技	官	宮	本	晴	夫
嘱	託	青	山	好	作
副	手	宇	都	宮	久

内容 目次:

I 緒 言

II 実験方法

- | | |
|------------|----------|
| 1. 使用菌株 | 5. 接種培養法 |
| 2. 使用培地 | 6. 培養温度 |
| 3. 振盪方法 | 7. 通気量 |
| 4. 培養容器と液量 | 8. 抗菌力測定 |

III 実験成績

1. 各菌株の抗菌力比較
2. 各菌株の發育状況
3. Q 176 株の各種培地に於ける抗菌力比較
4. アミノ酸添加による抗菌價の上昇
5. 通気培養と抗菌價

IV 總 括

(本報告の概要は昭和 22 年 5 月傳染病研究所學術集談會に於て發表された)

I 緒 言

ペニシリンの大量生産の鍵は實に Submerged Fermentation にあるが、吾國に於ては未だこの域の研究は殆んど緒についたばかりであつて、何等見るべき成果も挙げられていない現状にあるので、吾々は先づ振盪培養に適する菌株を決定し、次にその培養基を選択し、以て工業的生産の基礎に供せんとして、この研究を始めた。

II 実験方法

1) 使用菌株:—

ペニシリン生産株としては、J. W. Foster より分譲を受けた米國產の *Penicillium chrysogenum* Q 176 (Wisconsin), 1978 B₂, 1249 B₂₁, 及び日本の P 233 (長尾研究所分離) P C. (名大生物學教室分離) を、パトリン産生株としては、先に吾々の分離した GM3 及び P

111 を使用した。Q176 は米國に於ける深部培養の工業的生産に、 B_2 及び B_{21} は主として表面培養に現在使用されてゐる最優秀の菌株である。P 233 は日本に於けるペニシリン製造株として主に用ひられているもの、P C は日本産菌株中最優秀株の一つとして最近注目せられるに至つたものである。

2) 使用培地：—

主として Czapek-Dox 培地 (NaNO_3 3g, K_2HPO_4 1g, KCl 0.5g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01g, Glucose 30g, 水 1.000cc; pH6.4) を用いた。

3) 振盪方法：—

前後振幅約 5cm の往復運動をなす振盪機を使用した。回轉數は電壓の變動によつて多少の動搖は免れ得なかつた。1 分間約 170 回轉及び 80 回轉に調節せる場合、後者では發育遅く菌體が塊狀或は絮狀となつて抗菌力の上昇を見なかつたので、實驗は前者によつた。振盪方法は、培養期間中終日振盪するものと、1 日 12 時間宛連續振盪後、12 時間は靜置する所謂振盪靜置の併用培養法とを採つた。しかし後者の場合には、靜置時に於て、表面に發育し始め、振盪培養によつて菌蓋が破壊され、正常の發育とは認め難い状態となるので、本實驗に於ては、採用しないこととした。

4) 培養容器と液量：—

内容 1.5 l. 入, 1 l. 入, 500cc 入 300cc 入 平底コルベンの各々に培養液 300cc, 200cc, 100cc 80cc 宛注射し大體コルベン容量の $\frac{1}{3}$ 量となる如き培養液を用いたが、發育状態、抗菌性物質の生産等については、300~500cc コルベンが最適であつたので、以下實驗には、全部 300cc コルベンに培養液 80cc 宛注射されたものに就いて行つた。又振盪中培養液が、綿栓に附着して空氣の流通をさまたけたり、雜菌の混入を來したりするので、コルベンは出来るだけ長頸のものを用了。

5) 接種培養法：—

培養液中に於ける抗生物質の迅速確實なる生成には、接種する孢子の數が重要であるから、特に Roux のコルベンに Czapek-Dox 斜面寒天培地を作り、之に菌株を接種し約一週間 22°C に培養後 20cc の Czapek-Dox 液體培地を加えて孢子を浮遊せしめ、各コルベンに之の 1.5cc 宛を接種した。

6) 培養溫度：—

22°C ~ 23°C に調節した恒溫室内で培養を行つた。

7) 通氣量：—

振盪培養に於ては、通氣量が重大なる關係を有する。吾々の使用した綿栓は、強く握れば、失くなる程度に非常に弛くして、振盪中綿栓が培養液中に落下しないやうにガーゼで包んで、コ

ルベンの口に固定し、且つ 1 日 2 回 2~3 分間綿栓を取つて、管内空気を置換した。又綿栓の代りに、パラフィン紙、硫酸紙、ゴム栓等を用いたが、通気量の過不足、雑菌の混入等の危険を招くので、採用しなかつた。

8) 抗菌力測定 :—

本測定には Dilution method (稀釋法) により葡萄狀球菌は、寺島株を用いた。抗菌價は、倍數稀釋數を 5 で除して、オックスフォード單位とした。

9) pH の測定 :—

東洋 pH 試験紙による簡便法に據つた。

III 實 驗 成 績

1) 各菌株の抗菌力比較 :—

各菌株の Czapek-Dox 培地に於ける抗菌力は、第 1 表の通りで、Q 176 は抜群の成績を

第 1 表 供 試 菌 株 抗 菌 力 比 較
(於 Czapek-Dox 培地)

菌 株	抗 菌 力	同到着日數	pH
PC	20單位以下	—	—
233	80 "	5 日	7.8
B ₂	160 "	5	7.3
B ₂₁	40 "	4	8.0
Q 176	800 "	5	8.4
P 111	0	—	3.6
G M 3	0	—	—

示し、B₂、P 233 は之に次ぎ、B₂₁、PC は振盪培養に適さなかつた。次に pH は、いづれも抗菌力の上昇と共に上昇し、pH の早く上つたもの程、抗菌力發現に至る迄の期間も短かつた。P 233 と B₂ とは、培養 5 日で最高に達したが、7~8 日となお抗菌力を維持して比較的安定であつた。

2) 各菌株の發育状況 :—

P 233 : 培養 2 日では小さいころした感じのする Pellet が澤

山に發育するも、色素、粘性を認めず、3 日では稍綠色を帯びた黄色色素を出し、4 日では黄色色素の分泌が多く、圓形のきれいな比較的小さい Pellet を作つたが、最後迄液は粘性を帯びなかつた。

B₂ : 色素は殆んど現れず、粘性も無く、比較的大きな Pellet が大多數で、その間に細い、小さい或は絮狀の種々多形の菌塊を認め、液中の 2/3 程度を占めるに至つた。

P C : 發育悪く色素を產生せず、又粘性も無く極く小さい點狀の Pellet 様の如きものを少量認め得たに過ぎなかつた。

P 111 : 培養 1 日では Pellet は僅かに產生するのみであるが、2 日目になると、大小球形

の Pellet 産生は、著しくなり、培地も稍々白濁し、僅かに粘稠性を帯び、3 日目では Pellet は溶液の $\frac{2}{3}$ を占めるに至つた。

3) Q 176 株の各種培地に於ける抗菌力比較：—

以上より現在米國に於て、深部培養に使用されているところの、

第 2 表 本實驗に使用した各種の培養基組成

No.1 :	No.2 :	No.3 :
Lactose 20.0g	NaNO ₃ 3.0g	NaNO ₃ 1.6g
MgSO ₄ ·7H ₂ O 0.25	KH ₂ PO ₄ 1.0	KH ₂ PO ₄ 2.6
KH ₂ PO ₄ 0.5	MgSO ₄ ·7H ₂ O 0.5	MgSO ₄ ·7H ₂ O 0.25
NaNO ₃ 3.0	KCl 0.5	ZnSO ₄ ·7H ₂ O 0.04
ZnSO ₄ ·7H ₂ O 0.01	FeSO ₄ ·7H ₂ O 0.01	Glucose 40.0
Cornsteep Liquor Solides 25.0	Glucose 40.0	Water 1000.0c.c.
Water 1000.0c.c.	Pepton (照内) 10.0	
<u>pH 6.2</u>	Water 1000.0c.c.	<u>pH 5.8</u>
	<u>pH 6.2</u>	
No.4 :	No.5 :	
NaNO ₃ 1.6g	Lactose 30.0g	
KH ₂ PO ₄ 2.6	Glucose 5.0	
MgSO ₄ ·7H ₂ O 0.25	Glacial acetic acid 6.0	
ZnSO ₄ ·7H ₂ O 0.04	NH ₄ NO ₃ 5.0	
Glucose 40.0	KH ₂ PO ₄ 2.0	
Water 1000.0c.c.	MgSO ₄ ·7H ₂ O 0.5	
	FeSO ₄ ·7H ₂ O 0.2	
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O 0.02	
	CuSO ₄ ·5H ₂ O 0.005	
	Water 1000.0c.c.	
<u>pH 5.8</u>	<u>pH 6.1</u>	

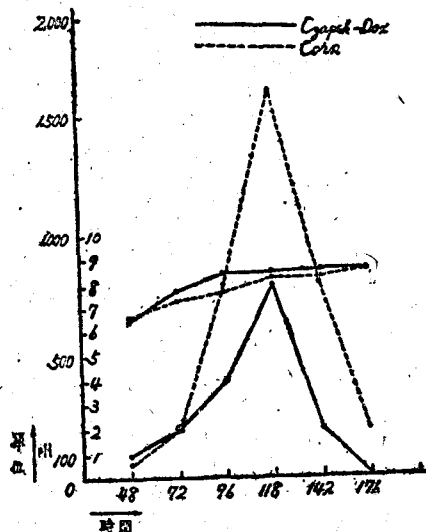
Q 176 株は他の供試菌株に比し、特に優れているのを確認し得たので、次の實驗として、この菌株が如何なる培地に於て、ペニシリンの産生を増強せしめ得るかを、第 2 表に示した培地について比較検討した。No.1 の培地は、米國で大量生産用として、現在盛んに使用されている Cornsteep Liquor を用いたものであり、No.2 は Czapek-Dox 培地に照内ペプトンを 1% の割に加えた變法培地である。No.3 及び No.4 の培地は、炭素源と窒素源との關係を考慮に

入れ、重金陽イオンとしての鉄の代りに亜鉛を使用した培地である。No.5 の氷醋酸の培地は、タンク培養に用いられる最適の合成培地として最近報ぜられたものである。

第 3 表 Corn 培地及 Czapek-Dox 培地

時間		48	72	96	118	142	176
Corn	単位	60	200	800	1,600	800	200
	pH	6.7	7.4	7.8	8.2	8.2	8.6
Czapek-Dox	単位	100	200	400	800	200	0
	pH	6.6	7.8	8.4	8.4	8.6	8.6

第 4 表 Corn 培地及 Czapek-Dox 培地に於ける pH と単位との関係



実験成績は No. 1 培地では、1,600 単位、No. 2 の培地では 800 単位、No. 3 の培地では、100 単位以下、No. 4 及 No. 5 の培地では 200 単位であつた。高い抗菌價の得られた Corn 及 Czapek-Dox 變法培地に於ける抗菌力の消長を表で示すと第 3 及 4 表の通りである。Corn 培地では 118 時間目に pH 8.2 で 1,600 単位という實に驚くべき高単位を示し、176 時間目には Czapek-Dox 變法培地では、すでに抗菌力の失くなつてゐるのに未だ 200 単位を保持していた。

4) アミノ酸添加による抗菌價の上昇：—

吾々は Q 176 株を Cornsteep Liquor 培地に接種する事により、高単位のペニシリンを生産せしめ得たが、更にペニシリン生産促進物質の有無に就き、4 種のアミノ酸を 0.025% の割合に添加し、培地の始起 pH 6.6 としてその影響をみた。

第 5 表

時 間		63	86	102	118	134
培 地	pH	7.0	7.6	8.0	8.2	8.0
	単位	100	400	400	200	200
Czapek-Dox+Cystin (0.025%)	pH	6.9	6.9	8.4	8.0	8.0
	単位	40	400	400	200	<100
Czapek-Dox+Leucin (0.025%)	pH	7.2	7.7	8.2	8.3	8.0
	単位	100	400	400	400	100
Czapek-Dox+Tryptophan (0.025%)	pH	7.0	7.2	8.0	8.2	8.0
	単位	200	400	800	200	200
Czapek-Dox+Asparagin (0.025%)	pH	7.1	7.2	8.0	7.8	7.8
	単位	400	800	800	200	100

結果は第 5 表の通りで、Cystin, Leucin を加えた場合では殆んど變りなく、Tryptophan に於ては 102 時間目 400 單位の時もあり、800 單位を示す時もあるが、明かにペニシリンの産生を増強せしめ得るとは言い得ない。Asparagin の場合に於ては、86 時間及び 102 時間とに 800 單位を示して、その抗菌力を促進せしめるものと思われる。

5) 通氣培養と抗菌價：—

實驗室内に於ける振盪培養の基礎實驗としては、一應上記の實驗よりその目的を達し得たが通氣量の問題として、Air-Compressor で陽壓の下に、滅菌綿を通した無菌的な空気を 1 分間液量の 8 倍量を送入しながら培養する方法及び通氣と同時に振盪する方法をも試みたが、振盪培養に比すると遙かに低い抗菌價しか得られなかつた。

IV 總 括

- 1) 振盪回数 170 回、振幅 5 cm の振盪培養に於ては、菌株は Q176、培地は Cornsteep Liquor 培地を用いた場合に、非常に高い抗菌價のものが得られた。
- 2) 通氣培養及通氣兼振盪培養では所期の目的を達し得なかつた。
- 3) 通氣の爲の綿栓の固さ程度、培養温度の一定は特に留意さるべきであり、又 Q 176 菌株は、常に單孢子培養によつて優秀株のみを選択保存する事が必要であつた。
- 4) 0.025% の割に Asparagin の添加は抗菌力を上昇せしめた。

引 用 文 献

- 1) Koffler, H. Emerson, R. L. Perlman, D. & Burris, R. H. : J. Bact, 50, 517 (1945)
- 2) Koffler, H. Knight, S. G. Emerson, R. L. & Burris, R. H. : J. Bact. 50, 549 (1945)
- 3) Foster J. W. McDaniel, L. E. Woodruff, H. B. & Stokes, J. L. : J. Bact, 50, 365 (1945)
- 4) Stefaniak, J. J., Gailey, F. B. Brown, C. S. & Johnson, M. J. : Ind, Eng. Chem. 38, 666 (1946)
- 5) Stone, R. W. & Farrell, M. A., : Science 104, 445 (1946)

放線状菌の產生する抗生物質に関する研究

第 一 報

技 官 宮 本 晴 夫
 囑 託 青 山 好 作
 副 手 宇 都 宮 則 久
 副 手 丹 治 園 枝

内容目次

- I. 緒 言
- II. 實 験 の 部
 1. 分離方法
 - (イ). A法. (ロ). B法. (ハ). C法.
 2. 分離菌の形態及び生物學的性状.
 - A. 分離菌 No.20 及び No.22 株について
 - B. 分離菌 No.14 株について.
 3. 抗生物質(培養濾液)に関する成績.
 - A. No.20 株及び No.22 株の場合.
 - イ. 抗菌力の消長と pH の移動.
 - ロ. 各種病原菌に對する發育阻止作用.
 - ハ. 熱及び酸に對する耐性試験.
 - i 抗チフス性物質に對する試験.
 - ii 抗黃色葡萄狀球菌(寺島株)性物質に對する試験.
 - ニ. 毒性に関する試験.
 - ホ. 細菌濾過器による影響.
 - B. No.14 株の場合.
 - イ. 抗菌力の消長と pH の移動.
 - ロ. 熱. 酸及びアルカリに對する耐性試験.
 - ハ. 細 濾過器による影響.
- III. 總 括

I. 緒 言

抗生物質を形成する放線状菌の存在は古くより觀察されていたが、近年に至り Lieske 並に Krassilnikow により Actinomycetin⁽¹⁾, Waksman 及その協同研究者により Actinomycin⁽²⁾, Streptothricin⁽³⁾, 更に Streptomycin⁽⁴⁾, なる有効なる物質が分離せられるに至つた。吾々も亦放線状菌代謝産物の醫藥的應用を目的として、抗生物質產生菌の分離をなすべく研究を開始し、グラム陽性菌並にグラム陰性菌の兩者に強く作用する抗生物質の產生する菌株を分離し得たので、こゝにその大要を報告する。本篇にて取扱ふ供試菌は No.20 及び No.22 の 2 菌株(大阪海岸地より分離せるもの)と No.14 の 1 菌株(井之頭公園附近の森林中より分離せる

もの)との三菌株である。

II 実験の部

I 分離方法

全國諸地方より採集した土壤を生理食鹽水を以つて 10 倍稀釋し、15 分間良く振盪したる後、此の土壤水を、Pepton 加 Czapeck-Dox 變法培地 (NaNO_3 3.0g, KH_2PO_4 1.0g, KCl 0.5g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01g, Glucose 30.0g, Pepton 10.0g, Agar 30.0g, Water 1.000cc pH 7.0), Glycerin 加培地 (Cz-Dox 培地中に炭素源として Glucose の代りに Glycerin を用いた), Waksman 培地 (KH_2PO_4 1.0g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5g, Glucose 10.0g, Pepton 5.0g, Agar 30.0g, Water 1.000cc pH 7.0) 及び普通寒天培地に次に示す様な方法にて塗抹培養した、

(1) A 法.

黄色葡萄状球菌(寺島株)及びチフス菌の 24 時間ブイヨン培養液を別々に Waksman 培地及び普通寒天平板に塗抹。或は菌液と寒天とを混釋培養せる平板上に、一白金耳量の稀釋土壤水を塗抹して、27°C 及び 37°C に 3~10 日間培養した。斯くして發育せる放線状菌の周縁に阻止帶の認められるものを分離した。

(2) B 法.

土壤水に豫め黄色葡萄状球菌(寺島)及びチフス菌の 24 時間ブイヨン培養液を等量に加え充分混和せる後 Waksman 及び普通寒天培地で、培地 10 分に菌浮游土壤水 1 分の割合に平板混釋を行い、27°C 及び 37°C に 3~10 日間培養して、發育せる放線状菌の周縁に阻止帶の認められるものを分離した。

(3) C 法.

上記の各寒天培地の平板に土壤水一白金耳量を塗抹し、22°C, 27°C, 37°C にて 5~15 日間培養後發育せる全放線状菌を分離した。

以上の如き方法で分離し得た菌種を Cz-Dox (Czapek-Dox の略字、以下これに従う) 液體培地に培養し、(27°C), その抗菌力の有無は、5 日、7 日及び 10 日毎に培養液の一定量を採り、濾紙法による簡便法にて檢した。即ち pH 8.0, 7.0, 6.0 に反應を修正した普通寒天平板上一面に黄色葡萄状球菌(寺島株)及びチフス菌の 24 時間ブイヨン培養液を流し、37°C の孵卵器内で約 30 分間乾燥せしめてから、直徑 1.5 cm の滅菌圓形濾紙に培養液を浸してその上に載せ、37°C 24 時間培養後、濾紙周邊の阻止帶の有無及び大小を測定して、有効株を選択分離した。吾々は當初 A 及び B 法を以つてする分離法に據つたが C 法に比して、有効株の分離法としては稍々劣るのを知つたので主に C 法に據つた。抗菌力檢定法としての濾紙法の實施は一時に大量檢定し得る事及び術式の簡易なことよりして稀釋法に優るものと思われる。檢定用

寒天培地としてはpH 8.0, 7.0, 6.0, に修正したものを用いたところ pH 6.0 では阻止帯は著しく小さく現われ, pH 8.0, 7.0 では大差は認められなかつたので, 培地 pH は 7.4 に修正したものを用了。

2 分離菌の形態及び生物學的性狀

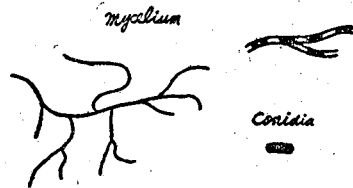
A. 分離菌 No. 20 及び No. 22 株について.

分離菌の分類學上に於ける位置決定には, Waksman⁽⁵⁾ 及び Bergey⁽⁶⁾ 等の分類法並に齋藤⁽⁷⁾ の著書に據つた。

形態：氣菌枝 (Luftmycelium) は長く伸び纖維狀の分枝を有し, 且螺旋狀で, Conidia は $1.1 \times 3.4 \mu$ で圓筒狀 (兩端鈍圓桿菌様) をなす。

生物學的性狀：

1). 合成培地 [Czapek-Dox 培地]：氣菌枝は白色 第一圖 No. 20 及び 22 株形態で集落は圓形で寒天層に喰込み, 平板裏面より見ると青味 (屢々赤味を有するものもある) を帶び, 特に寒天層に深く喰込んだものは濃青色を呈した。且つ集落の表面には多數の皺が見られる。



2). ゲラチン培地：集落は表面に圓形に發育し, クリーム色を呈しゲラチンを液化する。

3). 澱粉培地：表面に良好に發育し, 澱粉を加水分解する。

4). 葡萄糖寒天培地：集落は初めクリーム様の色を呈し, 日が経つにつれ, 白色となる。發育は良好である。

5). Plain 寒天培地：微小の集落が寒天表面に發育する。

6). 葡萄糖ブイヨン培地：液面は淡灰褐色で多數の皺を有する集落を形成し, 發育は良好, 液内には雲絮狀に發育する。

7). リトマス牛乳培地：當初は灰褐色であるが, 日數の經過と共に, 帯紅淡紫色の Ring を生じ, 培地がアルカリ性に傾くにつれ, 牛乳は凝固し (pH 6.3 より 6.5 となる), 且ペプトン化し液は透明となつた。

8). 馬鈴薯培地：帶黄色の皺を有する集落が培地一面に發育する。

9). 亞硝酸產生：Cz-Dox 液體培地に培養 3 日及び 5 日後のものにつき m-Phenylendiamin 試薬を用い檢した。3 日では極く僅かであるが, 5 日目になると著明に亞硝酸の產生が認められた。

10). 血液寒天：良く發育し血液を溶血する。 ($3.0 \times 2.0 \text{ cm}$)。

11). Ca-Citrate 寒天培地：集落は一般に中央部凸隆し, 扁平なる圓形を呈し, 氣菌枝は白

色をなす。

12). 本株は好氣性で合成培地には青色或は帯紅紫色の溶解性の色素を產生する。

以上の成績を総合すると、No. 20 と 22 株は同一種のもので、*Actinomyces-violaceus* に一致する事が知られる。(第一圖参照)。

第二圖 No. 14 株形態



B. 分離菌 No. 14 株について

No. 14 株は培養條件、生物學的性狀、形態等 No. 20 及び No. 22 株と分類學上その性質を異にする。

形態：氣菌枝は長方形の連鎖で長く伸び、小數の分枝を有す。Conidia は $1 \times 1.4 \mu$ にて球桿菌様の形態をなす。

生物學的性狀。

1. 合成培地：好氣性で寒天層に喰込んで發育する。集落は中央部凸隆せる圓形で氣菌枝は白色で、其の上に水滴を生ず。裏面は桃色或は淡澄紫色をなし、溶解性色素は多くの場合生ずるも、時には全く生じない事もある。
2. グラチン培地：表面に發育し、徐々に液化する。
3. 澱粉培地：集落は中央凸隆し圓形で、蠟様の光澤を有し、氣菌枝は白色で澱粉を加水分解する。
4. 葡萄糖寒天培地：良好に發育し灰白色の氣菌枝を生ずる。
5. Plain 寒天培地：發育不良で僅に微小の集落の發育を認めるのみである。
6. 葡萄糖ブイヨン培地：液面に圓形に發育し、淡灰褐色の氣菌枝を有し、發育良好で液中にも中等度に發育する。
7. リトマス牛乳：帯紅紫色の Ring を有し牛乳を凝固する、ペプトン化は遅く pH の移動は見られない。
8. 馬鈴薯培地：灰褐色の溶解性の色素を產生し、氣菌枝は灰白色を呈する。
9. 亞硝酸產生：Cz-Dox 液體培地にて培養 3 日及び 5 日に、m-Phenylendiamin 試薬にて亞硝酸に還元せられるを見た。
10. 血液寒天：血液を溶血す。(1.4×1.0 cm.),
11. Ca-Citrate 寒天：Actinomyces の定型的發育をなさず、發育は不良で氣菌枝は灰白色を爲す。

以上の所見より、*Actinomyces griseolus* に一致するものとする。(第二圖参照)。

3. 抗生物質(培養濾液)に関する成績。

此等の菌株は Cz-Dox 變法培地に良く發育し抗生物質を形成する。炭素源としては葡萄糖乳脂の他に「デキストリン」、「グリセリン」、或は澱粉を用いても、良く產生せられ、特に「デキストリン」が良好である。發育溫度としては 37°C が最も良いが、抗生物質の生成には 27°C

〜28℃の方が適する。菌體が液内に沈下して發育せる時は液面に發育したものに比し、著しく抗菌力の低下するのが見られ、また培地の始起 pH は「アルカリ」性よりむしろ弱酸性及び中性の場合の方が適切であつた。

A. No. 20 及び No. 22 株の場合

1. 抗菌力の消長と pH の移動。

黄色葡萄狀球菌（寺島株）及びチフス菌を以つてせる成績は 第一・二表及び第三・四表に示した。

第 1 表

(No. 20 株抗菌力)

培養日数	3	4	6	8
pH	6.6	8.0	8.8	8.8
抗菌力 葡萄狀球菌	3,200 倍	6,400	1,600	400
チフス菌	320	80	80	0

第 3 表

(No. 22 株抗菌力)

培養日数	3	4	6	8
pH	6.9	8.0	8.6	8.6
抗菌力 葡萄狀球菌	3,200 倍	25,600	1,600	640
チフス菌	320	160	320	80

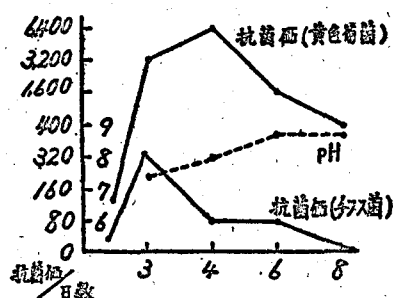
No. 20 株の抗菌力は、黄色葡萄狀球菌（寺島株）に對して培養 4 日 6,400 倍を最高として、

3 日 3,200 倍、6 日 1,600 倍と半圓の「カーブ」を畫き、チフス菌に對しては、3 日で最高の 160 倍に達し、4〜6 日で 80 倍へと下降し、日を経るにつれ、全く消失するに至る。pH の關係は最初 6.6 のものが 4 日目には pH 8.0、6 日には pH 8.8 となり、pH は抗菌力の上昇と平行した。

No. 22 株は寺島株に對し 4〜6 日で最高の 25,600 倍を示すも、チフス菌では、3 日 320 倍

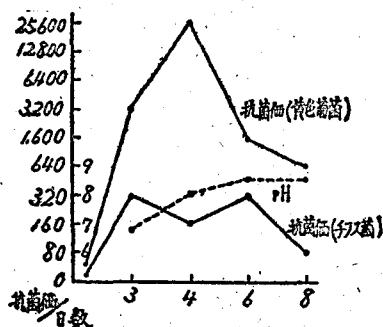
第 2 表

No. 20 株抗菌力消長



第 4 表

No. 22 株抗菌力消長



より 4 日 160 倍に一時減少し、6 日再び上昇する。チフス菌に對し最高の抗菌價に達した培養日に於て、寺島株は 3,200 倍で尙ほ上昇の途上にあり、寺島株の最高に達した 4 日では、チフス菌は逆に下降し、6 日で兩者に對してそれぞれの最高の抗菌價に達した、pH は抗菌力の上昇と共にアルカリ性となり最終 pH は 8.6 を示した。

以上より No. 20 と 22 株を比較すると、寺島株に對しては、いづれも 4~6 日を最高として下降する。チフス菌に對しては No. 22 株は一時最高に達し、次で減少再び最高へと波形を畫くも、No. 20 株は培養 3 日で最高に達して、再び昇降するが如き關係は見られない。pH はいづれも抗菌力上昇と共にアルカリ性を示した。而して黄色葡萄狀球菌及びチフス菌に對する、抗菌力發現の時期が異なることから觀て、その抗生物質としては Gram 陽性及び陰性菌の兩者に作用する二種の物質が混在するものと思われる。

(d). 各種病原菌に對する發育阻止作用。

No. 22 株の培養濾液につき行える成績は第五表に示す如く、黄色葡萄狀球菌（寺島株）に對する最高は 3,200 倍（今迄の最高 25,600 倍）、同じく Heatley 株には 1,000 倍を示した。パラチフス A 菌、變形菌には 400 倍、チフス菌には 200 倍（今迄の最高 320 倍）で、パラチフス B 菌、緑膿菌、志賀赤痢菌等に對しても同様に、大腸菌には最低の 50 倍であつた。

第 五 表

No. 22 株濾液の各種病原菌に對する抗菌力

稀釋倍数	50倍	100	200	400	800	1,000	2,000	3,200	對照
葡萄狀球菌（寺島株）	—	—	—	—	—	—	—	—	+
〃 〃 （Heatley株）	—	—	—	—	—	—	+	+	+
パラチフス A 菌	—	—	—	—	+	+	+	+	+
パラチフス B 菌	—	—	—	+	+	+	+	+	+
鼠 チ フ ス 菌	—	—	+	+	+	+	+	+	+
豚 コ レ ラ 菌	—	—	+	+	+	+	+	+	+
チ フ ス 菌	—	—	—	+	+	+	+	+	+
ゲルトネル菌	—	—	—	+	+	+	+	+	+
赤 痢 菌（志賀）	—	—	—	+	+	+	+	+	+
〃 〃 （駒込B _{III} ）	—	—	+	+	+	+	+	+	+
大 腸 菌	—	+	+	+	+	+	+	+	+
抗 酸 性 菌	—	—	+	+	+	+	+	+	+

變形菌 (0x19)	-	-	-	-	+	+	+	+	+
緑膿菌	-	-	-	+	+	+	+	+	+

(c). 熱及び酸に対する耐性試験.

チフス菌及び黄色葡萄状球菌 (寺島株) を用い, No. 22 株の培養濾液に就き実験を行つた.

i. 抗チフス性物質に対する試験.

培養濾液を pH 2.0, 3.0, 4.0 の Buffer 液を以つて稀釋し, 1, 3, 6, 8 時間後にチフス菌に対する抗菌力を測定して, 耐酸性を判定した. 同じく pH 2.0, 3.0, 4.0 に於て 70°C, 30 分 70°C 60 分, 100°C 30 分, 100°C 60 分加熱し, 耐熱性の有無を検した. (第六表参照).

第六表

No. 20 株, 抗チフス性物質の耐酸, 耐熱試験

分類	耐酸性試験				耐熱性試験				對照
作用時間 pH	1	3	6	8	70°C 30 分	70°C 60 分	100°C 30 分	100°C 60 分	
2	80 ^倍	80	80	20	80	80	80	80	320
3	80	80	80	20	80	80	80	80	
4	80	80	80	40	80	80	80	80	

耐酸試験では pH 2.0, 3.0, 4.0 共に 1~6 時間迄は當初の抗菌力の $\frac{1}{4}$ に減弱し, 8 時間では pH 2.0, 3.0 で $\frac{1}{16}$ に, pH 4.0 で $\frac{1}{8}$ にそれぞれ減少した. 耐熱試験では 70°C 30 分も 100°C 60 分でも, いづれも $\frac{1}{4}$ に減弱した. 従つて本物質は酸及熱によつて不活性化される可なり不安定なる物質であると思われる.

ii. 抗葡萄状球菌 (寺島株) 性物質に対する試験.

耐酸性は pH 3.0, 4.0, 5.0 の Buffer 液を以つて所要濃度に稀釋し, 黄色葡萄状球菌に対する抗菌性を 1 及び 6 時間後に判定した. 耐熱性は培養濾液をそのまま 60°C 30 分及び 100°C 15 分加熱して, 抗生物質の不活性化を検した (第七表参照).

寺島株に対しては, pH 5.0 で 1 時間作用さ

第七表 No. 22 株 耐酸, 耐熱試験

耐酸試驗	pH	3	4	5	對照
	作用時間				12,800
	1	3,200	3,200	3,200	
6	3,200	3,200	3,200		
耐熱試驗	60°C 30'	1,600			
	100°C 30'	800			

せたものは $\frac{1}{2}$ に、他はいづれも $\frac{1}{4}$ に減じた。加熱に對しては 60°C 30 分に $\frac{1}{8}$ に、 100°C 15 分にては $\frac{1}{16}$ に減じ、抗菌性の著しく破壊せられるのを知つた。

抗生物質の耐酸、耐熱性を寺島株とチフス菌との場合について比較すると、耐酸性では pH 3.0, 4.0 に於て抗菌力が兩者共に $\frac{1}{4}$ に減ずる。耐熱性の點ではチフス菌に對する物質は、一定度以下は温度の高低、時間の長短に左右されないのに、寺島株に對する物質は、加熱度、時間の延長につれて著しく破壊され、前者の物質は後者に比して、耐熱性であつた。

(=) 毒性に関する試験。

所有マウスの關係上次の小實驗成績に止めたが、體重約 20g のマウス各 3 匹宛に培養濾液 1.0, 0.5, 0.25, 0.1 c.c. 宛腹腔内注射し、十數日間觀察したが、何等の反應も認めなかつた。

(=) 細菌濾過器による影響。

Chamberland, Berkefeld 及び Seitz の細菌濾過器を用いて、濾液の濾過試験を行つた。Chamberland, Berkefeld によりその抗生物質は全く吸着され、Seitz ではその抗菌作用は $\frac{1}{10}$ に減弱し、大部分は吸着された。

B. No. 14 株の場合。

No. 14 株は炭素源として乳糖、「デキストリン」、蔗糖、澱粉等を用いたる場合に抗生物質の産生は良好で、發育温度も 37°C より 27°C に於て良く、又接種菌量、液面の菌蓋發育狀態及び培地の pH 等は抗菌力發現に著しく影響し、培地 pH が著しくアルカリ側に傾いた場合に最高抗菌價を示した。

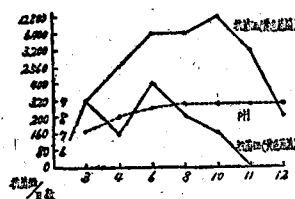
(i). 抗菌力の消長と pH の移動。

黄色葡萄状球菌(寺島株)及びチフス菌に對する成績は、第八・九表に示す如く、黄色葡萄状

第 八 表
No. 14 株抗菌力一覽表

培日	養數	3	4	6	8	10	11	12
pH		7.3	8.0	8.7	8.8	8.8	8.8	8.8
抗菌力	葡萄状球菌	3,200	25,600	6,400	6,400	12,800	3,200	200
	チフス菌	320	160	400	200	160	0	0

第 九 表
No. 14 株抗菌力消長



球菌(寺島株)に對し 6~8 日で 6,400 倍を示し、10 日にて最高の 12,800 倍に達し以下急速に下降する。チフス菌に對しては 3 日にて最高の 320 倍に達し、4 日一時減するも、6 日目再び 400 倍に上昇し、8~10 日にて 160 倍に下降、培養 11 日に至り全く消失した。即ち寺島株に對しては 10 日を最頂とした山型を作り、チフス菌に對しては 3 日及び 6 日を頂點とした波形の「カーブ」を示す。pH は抗菌力の上昇と平行してアルカリ側に傾き、pH の最高時と寺島株に對する抗菌力の最高とは一致する。濾液中には No. 22 株の如く異なる二種物質が

混在しチフス菌に對するものは急速に消失した。

(d). 熱、酸及びアルカリに對する耐性試験。

培養濾液を pH 2.0, 3.0, 4.0, 8.0 の Buffer 液を以つて所要濃度に稀釋し、耐酸、耐アルカリ性を黃色葡萄狀球菌（寺島株）を供試菌として 1, 3, 6, 9, 24 時間の 5 回にわたつて測定した。又 pH 2.0, 3.0, 4.0 に於ても 60°C 30 分, 60°C 60 分, 100°C 15 分, 100°C 30 分間加熱して、耐熱性の有無を検した（第十・十一表參照）。

第 十 表

No. 14 株, の耐酸試験成績

作用時間 pH	1	3	6	9	24	對照
2	800	400	400	400	400	3,200
3	400	400	400	400	400	
4	400	400	400	400	200	
8	800	800	400	400	100	

第 十 一 表

No. 14 株, の耐熱試験成績

作用温度及時間	稀釋倍數	對照
60°C	30(分)	800 (倍)
	60	800
100°C	15	800
	30	±400

No. 14 株の抗生物質は、pH 2.0, 3.0, 4.0 にては pH 2.0 の 1 時間を除き、他はいづれも $\frac{1}{8}$ に減少した、pH 8.0 にては 3 時間迄は稍々安定であるが、6 時間にては $\frac{1}{8}$ 、24 時間にては $\frac{1}{32}$ と著しく破壊された。一方 60°C 30 分, 60 分 及び 100°C 15 分と加熱せるものは、 $\frac{1}{4}$ に減じたが、100°C 30 分になると完全に破壊される。以上より抗生物質は短時間のアルカリには比較的安定であるが、長時間に亘る時は酸性に比し著しく不活性化され、又加熱により急速に破壊される。

(e). 細菌濾過器による影響

Chamberland L₂, L₃ 細菌濾過器を用い、培養濾液の濾過試験を試みたところ抗生物質は全く吸着せられた。

III 總 括

1), 土壤中よりグラム陽性及陰性の兩菌種に強く作用する、放線狀菌 No. 20, 22 及び No. 14 の三株を分離した。而して No. 20 及び 22 株の兩菌株はその形態及び生物學的性狀より同一種にして *Actinomyces violaceus* に屬し、No. 14 株は *Actinomyces griseolus* に屬するものである。

- 2). 本分離株はいづれもアルカリ側に於てグラム陰陽性菌に著しく作用し、兩者に對する抗菌作用より觀て、その代謝産物中には少くとも二種以上の物質が混在するを思ひしめる。
 - 3). 熱及び酸により比較的容易に不活性化せられ、抗菌價は減少する。
 - 4). 抗生物質は細菌濾過器により全く或は大部分吸着せられ、その毒性は僅少である。
 - 5). 有効菌株の探求には、分離せられた各放線状菌株の液體培養につき濾紙法を以つてする簡便法が最もよいと思われる。檢定用普通寒天培地の pH, 濃度, 濾紙の大きさと培養液の量, 培養時間等を常に一定すれば濾紙周邊の阻止帶のそれは、稀釋法による抗菌力と大體平行するものである。
 - 6). 合成培地に繼代培養すると、時々不明の原因により抗菌力は急に低下したが、土壤或は馬鈴薯を數代通過せしめることによつて復活し得た。
- 終りに臨み終始懇篤なる御指導と御校閲を戴いた恩師細菌部長八田博士に深謝する。

引用文献

1. Kriss : Microbiol. 9 32 (1940)
2. Waksman. S. A, Woodruff, H. B. : J. Bact. 40, 581 (1940)
3. Waksman. S. A, Woodruff, H. B. : Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 49, 207 (1942)
4. Waksman. S. A, Schatz, Bugie. : Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 55, 66 (1944)
5. Waksman. S. A, : Principles of Soil Microbiology II. ed. (1932)
6. Bergey's et al : Manual of Determinative Bacteriology VII. ed. (1932)
7. 齋藤賢道 : 醗酵菌類檢索便覽 第 5 版 (昭和 18 年)

放線状菌の産生する抗生物質に関する研究

第 二 報

技 官 藤 本 進
助 手 中 野 愛 子

内 容 目 次

- I 分離菌の形態並に生物學的性狀
- II 培地組成と抗菌價
- III 精 製 法
- IV 各種の病原菌に對する抗菌力
- V 酸, アルカリ及び熱に對する耐性
- VI 毒 性
- VII 溶 血 性
- VIII 總 括

(本報告の概要は昭和 22 年 4 月傳染病研究所學術集談會に於て發表された)

吾々は熱海錦ヶ浦附近に於て採取した pH 6.0 の土壤中より數種の放線状菌を分離, 此の中に抗生物質を産生するものを認めたので, 此處に報告する。

I. 分離菌の形態並に生物學的性狀

分離せる放線状菌の性狀は第一表の如く, 分枝せる菌絲から成立する單一菌絲體で, 菌絲は

第 一 表
分 離 菌 の 諸 性 狀

檢鏡 性狀	分枝細長菌絲		直 徑	0.7~0.9 μ	1.0 μ 長徑 1.5 μ の卵圓 形を呈している。
	胞子卵圓形		直 徑	1.0/1.5 μ	
生 物 學 的 養 性 狀	培 地 名	培 養 性 狀			諸種培地に於ける性
	ゲラチン培地	灰 色 表 面 繁 殖			狀としては、ゲラチン
	合 成 培 地	無 色 空 中 菌 絲 白 色			高層に穿刺した場合に
	澱 粉 培 地	透 明 小 集 落			は、表面に灰色の集落
	葡萄糖寒天	限局性の白色集落 空中菌絲は帶淡褐色			として繁殖し、ゲラチ
	普通寒天	稠密な襲を有す薄膜			ン水解は殆ど見られな
	葡萄糖肉汁	淡褐色沈澱及小浮游片			い、Lipman及びBrawn
	牛 乳 培 地	褐色環漸次凝固ペプトン化弱濁			の合成培地にては無色
	馬鈴薯培地	黃色襲を有す灰白色空中菌絲 褐色色素產生			又は少しく空色を帯び
		水溶性褐色色素を產生し、 澱粉分解作用を有す。 好氣性にして 至適溫度……27°Cなり。			た集落として發育し、 空 中 菌 絲 は 白 色 を 呈

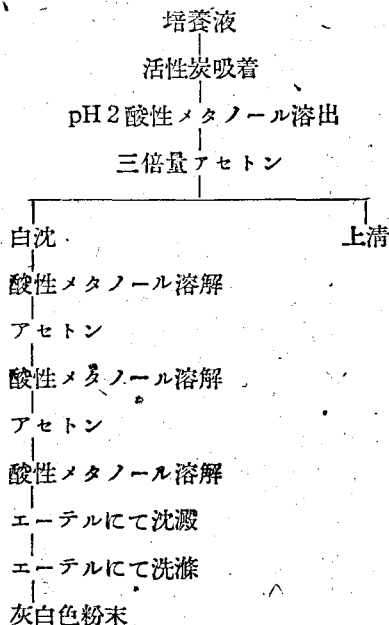
す。澱粉培地上では、透明な小集落として發育する。葡萄糖寒天培地には培地中に喰い込んだ限局性の集落を形成し、空中菌絲は淡褐色を帶び白色粉末様の感を與える。普通寒天培地にては稠密なチリメン様の襞と中央より放線狀の襞のある薄い膜の如き發育をする。葡萄糖ブイヨン中にては、淡褐色の一見絮狀沈澱と小浮游片が見られる。牛乳培地では、褐色環を現わし、牛乳を徐々に凝固次でペプトン化し、培地の反應は弱アルカリ性となる。馬鈴薯培地にては、集落は隆起し黃色を呈し襞を有して居り、空中菌絲は灰白色で培地に水溶性の褐色色素を產生する。澱粉分解作用を有し、好氣性で至適溫度は 27°C である。

II. 培地組成と抗菌價

本抗生物質を產生せしめるために用いた培地は澱粉培地で、その組成は、溶性澱粉 10 g, ペプトン 5g, 第二磷酸加里 2g, 食鹽 2g, 硫酸マグネシウム 0.05g, 硫酸鐵 0.01g, 蒸溜水 1000cc pH 5.8 としたものである。之に大量の菌株を接種し、 27°C に培養すると、この培養液の抗菌力は 3 日乃至 6 日で葡萄狀球菌（寺島株）に對し、1,600 倍～3,200 倍の抗菌價に達する。此の培養の水素イオン濃度の移動は少しも見られない。又培養液には褐色色素を產生するが、之は抗菌力に對して何等の關係も有しない。即ち產生色素の濃淡により抗菌力の強弱が左右される事はないのである。

第 2 表

精 製 法



III. 精 製 法

本分離菌の產出する抗生物質の收得には第 2 表の如き精製法に依つた。即ち培養濾液に 2 % の割に活性炭を加え充分に振盪して、抗生物質を吸着せしめたる後、pH 2 の酸性メタノールにて數回溶出する。次に之に 3 倍量の「アセトン」を注加すると、白色沈澱が得られる。之を再び酸性メタノールにて溶解、「アセトン」にて沈澱させる操作を繰返し、最後に「メタノール」に「エーテル」を加へて得られた白色沈澱を「エーテル」にて洗滌して灰白色の粉末を得た。

IV. 各種の病原菌に對する抗菌力

本精製物質の抗菌力は第 3 表に示した。即ちグラム陽性菌には比較的抗菌價高く、葡萄狀球菌（寺島株）に對しては 900 萬倍、田村株には 25 萬倍、F-D-A 209P

第 3 表

(稀釋倍數萬)																				
菌 株		2	4	8	12	16	25	32	50	100	150	200	300	400	500	600	700	800	900	1000
葡萄球菌	寺島	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	田村	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	F.D.A.209P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Heatley	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
溶血性連鎖狀球菌		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
肺炎菌		-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
インフルエンザ菌		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
淋菌		-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
大腸菌		-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
チフス菌		-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
パラチフスA菌		-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
パラチフスB菌		-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ゲルトネル腸炎菌		-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
鼠チフス菌		-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
コレラ菌		-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
赤痢菌	志賀	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	駒込BIII	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	緑膿菌	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

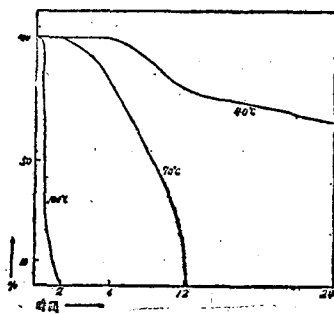
株及び Heatley 株に對しては、100 萬倍迄發育を阻止した。又連鎖球菌には 500 萬倍、肺炎菌には僅かに 2 萬倍の濃度にて作用した。グラム陰性菌にはインフルエンザ桿菌の 500 萬倍、パラチフス A 菌及び淋菌は 50 萬倍、大腸菌、チフス菌、パラチフス B 菌、ゲルトネル腸炎菌、志賀赤痢菌、鼠チフス菌、コレラ菌は 12 萬倍、駒込 BIII 赤痢菌、緑膿菌には各々 4 萬倍であつた。

V. アルカリ及び熱に對する耐性

次に本粉末が水素イオン濃度の差に依つて、如何に影響されるかを見る爲、pH 2 より pH 10 迄の緩衝液を用いて、一萬倍濃度のものを調製し、室溫に於て觀察した、その結果は 60~72 時間の間に於て、その水素イオン濃度に關係なく急激に破壊される。

加熱作用が本抗生物質に如何に影響する（第四表参照）かを知るため、蒸留水で一萬倍稀釋せるものについて恒溫槽中にて實驗を行つた。100°C にては 10 分迄變化なく、30 分にて破壊を始め、2 時間にて完全に抗菌力は消失した。70°C にては 2 時間にて抗菌力の低下を來し始め、12 時間にて完全に消失した。40°C にては 6 時間にて分解を始め、漸次分解しつつ 72 時間以上を経て分解した。

耐熱試験 第4表



毒性は體重 10~12 瓦のマウスを用い、腹腔内注射によりその致死量を定めた。その結果は本物質の 1.0 mg 投與にて 48~72 時間にて斃死した。

VII. 試験管内溶血現象

家兎赤血球に對する試験管内溶血現象は認められなかつた。

VIII. 總 括

- 1) グラム陽性菌(特に葡萄狀球菌)に對し比較的高い抗菌作用を示す放線狀菌を分離、その抗生物質を精製して灰白色の粉末を得た。
- 2) 本粉末は葡萄狀球菌に對して 100萬~900萬倍、連鎖狀球菌に對しては 500萬倍稀釋にて、その發育を完全に阻止した。グラム陰性菌に對しては之よりも作用が弱く、12 萬倍以下に於て作用した。
- 3) 毒性は體重 10 瓦マウス腹腔内 1.0 mg 投與により、致死せしめた。

終りに臨み終始御懇切なる御指導と御校閲を賜つた八田部長に深甚の謝意を表する。

引 用 文 献

- 1) Waksman. S. A, & Woodruff H. B. : J. Bact. 40, 581 (1940)
- 2) Kiese, M. : Klin. Woch., 22, 505 (1943)-(岩波科學. 昭和 19 年 7 月號より引用)
- 3) Waksman. S. A, & Woodruff. H. B. : Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 49; 207(1942).
- 4) Waksman, S. A, : J. Bact. 46, 299 (1943)
- 5) 梅澤濱夫. 早野正巳. 竹内富雄 : 昭和 21 年 8 月傳染病研究所學術集談會發表

放線状菌の産生する抗生物質に関する研究

第 三 報

抗生物質の産生に及ぼす炭素源の影響

技 官、宮 本 晴 夫
 嘱 託 青 山 好 作
 副 手 丹 治 園 枝

内 容 目 次

I	緒 言
II	實 験 方 法
III	實 験 成 績
	第1例 供試菌 No.14 株
	第2例 供試菌 No.22 株
IV	考 察 及 び 總 括
	引用文献

I 緒 言

吾々は先に *Actinomyces violaceus* 及び *Actinomyces griseolus* の二株の放線状菌について報告したが、この物質は、グラム陰性菌及び陽性菌の兩菌種に強く作用して毒性少く、その醫藥的價值大なるものの如くである。従つて之が大量生産の爲には入手し易い安價な培地を選定して最も多量にその抗生物質を生産するにある事は、論を俟たないところである。

米國がペニシリンの工業的生産に於て飛躍的な成功を収め得たのは、炭素源に Lactose を使用する變法 Czapek-Dox 培地に、添加物として玉蜀黍よりコーンスターチを製造した際の廢液を即ち Corn Steep Liquor を加えた培地の使用にほかならないのである。吾々はかゝる見地より、以上二株の放線状菌について、先ず種々の炭素源を 1 %, 2 %, 及び 4 % の割に用いた場合の優劣を比較し、次に甘藷、高粱及び玉蜀黍の農産物を使用した培地についても實驗を試みて、一應満足すべき結論を得たので、此處にその概要を報告する。

II 實 験 方 法

(1) 供試菌株は吾々の分離した *Actinomyces griseolus* に屬する No 14 株及び *Actinomyces violaceus* に屬する No.22 株の二株である。

(2) 供試培地は Czapek-Dox 培地の變法で、 NaNO_3 3.0g, KH_2PO_4 1.0g, KCl 0.5g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01g, Pepton (照内) 10.0g, 水 1,000cc を基礎培地と

して、之に炭素源を 1 %, 2 % 及び 4 % の割に加えた。即ち單糖類として Glucose 1 %, 2 %, 4 %, Mannose 2 %, Xylose 2 %, Rhamnose 2 %, 二糖類として Saccharose 1 %, 2 %, 4 %, Lactose 1 %, 2 %, 4 %, Maltose 2 %, 多糖類としては Starch 1 %, 2 %, 4 %, Inulin 1 %, 2 %, 4 %, Dextrin 1 %, 2 %, 4 %, アルコール類としては Glycelin 1 %, 2 %, 4 %, Methylalcohol 2 %, Ethylalcohol 2 %, 炭産物としては玉蜀黍, 高粱, 甘藷等を用いた。

Corn 培地は米國産 Corn 粉末をその儘炭素源として上記の基礎培地に 1 %, 2 %, 4 % の割合に加えた。Corn Steep Liquor 培地は, Corn に 20 倍量の水を加えて, コッホ釜で 100°C 1 時間熱浸し, 熱時吸引濾過してその濾液を上記の基礎培地に 1 %, 2 %, 4 % の割に加えたものである。

高粱及びその浸出液の培地は, Corn と全く同様の方法で作った。

甘藷汁は甘藷を破碎してガーゼで搾り, その搾汁を更に遠心して得たもので, その含有全糖を 2 % になるやうに稀釋したものである。甘藷汁をその儘用いたもの他に之に Pepton(照内) を 1 % に加えたもの及び Czapek-Dox の無機塩を加えた培地とを用いた。

(3) 培養容器は各種糖類の不足より, 止むを得ず大試験管を用い之に 10cc 宛培養液を分注して傾斜培養を試みた。

(4) 培養液は 100°C 30 分 3 回間歇滅菌を行つた。

(5) 接種方法は, 豫め Pepton 加 Czapek-Dox 培地に培養發育せしめた No. 14 株及び No. 22 株の一金耳量宛を上記供試培養液の各々の表面に浮遊せしめた。

(6) 効力の検定は倍數稀釋法により, 黃色葡萄狀球菌(寺島株)に對する 24 時間目發育阻止力を以つてあらわした。

III 實 驗 成 績

第一例 供試菌 No. 14 株

抗菌力及び pH の消長は第 1 表に, 最高抗菌力は第 3 表に示した。

(1) 單糖類としては Glucose が最適で 1 %, 2 %, 及び 4 % 間の量的差違は認められず, その順位は Glucose > Rhamnose > Mannose > Xylose であつた。

(2) 二糖類の Lactose, Saccharose に於ては, 本菌株はいづれも培養 6 日目で 32,000 倍の最高の抗菌價を示した。殊に Lactose は培養 15 日に至るも, 1 % では 16,000 倍, 2 % では 4,000 倍, 4 % では 2,000 倍 となおその力價を保持し, 本菌株に對する最適なる炭素源と信ぜられる。即ち Lactose > Saccharose > Maltose の順で抗菌價の高低が見られた。

(3) 多糖類の Inulin, Dextrin 及び Starch はいづれも 4~6 日の短期間でその抗菌力は

最高に達し、Inulin は 32,000 倍、Dextrin 12,800 倍、Starch 16,000 倍を示した。しかし、抗菌力の下降は比較的早い様である。抗菌價より見た順位は、Inulin>Starch>Dextrin である。

(4) Alcohol 類としては、Methylalcohol 及び Ethylalcohol には見るべき成果を得なかつたが、Glycerin では 5 日で、既に 3,200 倍～6,400 倍の抗菌力を發揮し、15 日に至つて 6,400 倍～12,800 倍と最高を示し、その持続期間も長く且つ Glucose よりも高い抗菌價のものが得られた。抗菌價の順位は Glycerin>Methylalcohol>Ethylalcohol である。

(5) 農産物としての Corn、高粱及び甘藷の利用では、可なり高い抗菌價のものが得られ、一應満足すべき結果を得たが、いづれもその持続期間は短かつた。即ち Corn に於ては浸出液よりも粉末をその儘培地に加えた方がよく、粉末では最高 6,400 倍で Glucose と大差なく、4 日培養で、3,200 倍～6,400 倍のものが 12 日後には 1,600 倍～400 倍に減じ、浸出液の方でも 5 日培養が最高で 1,600 倍であるが 12 日ではその大半を消失した。

高粱培地では 4 日培養 12,800 倍～3,200 倍で Lactose, Inulin 等に次ぐ優秀性を示し、浸出液は粉末より劣るが 3,200 倍～6,400 倍で Corn、甘藷のいづれよりも優つておつた。

甘藷汁及び之に Pepton を 1% に加えた培地では、いづれも 100 倍以下で、抗菌力は出なかつたが、Czapek-Dox 培地の無機塩を加えた培地では、1,600 倍の力價を示した。

第 2 例 供試菌 No 22 株

抗菌力及び pH の消長は第 2 表に、最高抗菌力は第 4 表に示した。

(1) 單糖類としては、No 14 株と同様 Glucose が最適であつて、12,800 倍～32,000 倍で 7～10 日を最頂としその前後には大した力價を示さず。No 14 株に比しその期間が著しく短かつた。力價の順位は Glucose>Mannose>Rhamnose>Xylose である。

(2) 二糖類では Lactose は 7～10 日、Saccharose は 4～7 日にて 6,400 倍～16,000 倍を示し、No 14 株に於ては Lactose が最優秀の炭素源であつたのが、本菌株に於ては Glucose に劣る結果となり、その関係は逆になつてゐる。

(3) 多糖類では Starch が最優秀で 16,000 倍～32,000 倍、Dextrin 之に次ぎ 6,400 倍～12,800 倍、Inulin は最高 3,200 倍であつて、その順位は Starch>Dextrin>Inulin である。

(4) Alcohol 類としてはやはり Glycerin が最適で、16,000 倍～32,000 倍の高力價を示して、本菌株には Glucose, Starch と共に最優秀炭素源である。その抗菌價の順位は Glycerin>Methylalcohol>Ethylalcohol である。

(5) Corn では 800 倍～1,600 倍、Corn 浸出液では 3,200 倍～6,400 倍、高粱 4% では 6,400 倍、高粱浸出液では 12,800 倍の高力價を示したが、甘藷汁をその儘用いた培地及び Pepton を 1% の割に加えた培地ではいづれも 100 倍以下で、之に Czapek-Dox 培地の無機塩を加えたものでは 800 倍であつた。

No. 14 株

第 1

各種炭素源に於ける抗菌力一覽表

各種糖類	培養日數	4 日	5 日	6 日	11 日
Glucose	1 %		5.8 × 800	5.8 × 800	5.8 × 1,600
	2 %		5.6 0	5.6 0	5.6 × 800
	4 %		5.6 0	5.6 0	5.8 × 800
Lactose	1 %		8.0 × 6,400	8.0 × 32,000	8.0 × 12,800
	2 %		8.0 × 6,400	8.0 × 32,000	8.2 × 12,800
	4 %		7.8 × 6,400	7.8 × 32,000	7.8 × 3,200
Saccharose	1 %		8.0 × 6,400	8.0 × 32,000	8.2 × 4,000
	2 %		7.8 × 3,200	7.9 × 16,000	8.0 × 4,000
	4 %		7.8 × 6,400	7.8 × 32,000	7.9 × 4,000
Inulin	1 %		8.2 × 6,400	8.2 × 32,000	8.2 × 200
	2 %		7.8 × 6,400	8.0 × 1,600	8.2 × 400
	4 %		8.0 × 6,400	8.0 × 32,000	8.0 × 6,400
Starch	1 %		7.5 × 6,400	7.8 × 16,000	7.8 × 4,000
	2 %		7.3 × 6,400	7.7 × 8,000	7.8 × 4,000
	4 %		7.3 × 1,600	7.6 × 8,000	7.9 × 2,000
Dextrin	1 %	8.0 × 12,800		8.0 × 800	8.4 × 800
	2 %	7.8 × 6,400		7.8 × 1,600	8.0 × 3,200

表

(註、上段はpH 下段は抗菌力)

12 日	14 日	15 日	17 日	19 日	26 日
	7.0 ×1,600	7.6 ×6,400		8.0 ×3,200	8.0 ×3,200
	5.8 ×1,600	7.6 ×3,200		7.8 ×3,200	7.9 ×1,600
	7.0 ×800	7.5 ×3,200		8.0 ×1,600	8.0 ×800
	7.9 ×12,800	8.0 ×16,000		8.0 ×1,600	8.0 ×800
	8.2 ×12,800	8.2 ×4,000		8.0 ×400	8.4 ×200
	7.8 ×1,600	8.2 ×2,000		8.6 ×400	8.8 ×100
	8.2 ×2,000			8.4 ×50	8.4 0
	8.2 ×4,000			8.4 ×100	8.4 0
	8.2 ×2,000			8.6 ×800	8.6 ×200
	8.0 ×200			8.0 ×400	8.4 ×400
	8.0 ×200			8.2 ×50	8.4 0
	8.0 ×6,400			8.2 ×1,600	8.4 ×1,600
	8.1 ×1,600			8.4 ×200	8.6 ×200
	8.2 ×800			8.6 ×400	8.6 ×200
	8.2 ×800			8.4 ×400	8.6 ×200
	8.4 ×200			8.4 ×200	
	8.3 ×800			8.4 ×200	

No. 14 株

第 1

各種炭素源に於ける抗菌力一覧表

各種糖類	培養日数	4 日	5 日	6 日	11 日
	4 %	7.6 × 6,400		8.0 × 1,600	8.0 × 1,600
Corn	1 %	7.8 × 3,200		7.8 × 1,600	
	2 %	8.0 × 6,400		8.0 × 1,600	
	4 %	8.0 × 6,400		8.0 × 1,600	
Corn 浸出液	1 %	7.9 × 800		8.0 × 1,600	
	2 %	8.0 × 800		8.0 × 1,600	
	4 %	8.0 × 1,600		8.0 × 800	
コーリヤン	1 %	8.2 × 6,400		8.0 × 3,200	
	2 %	8.0 × 12,800		8.2 × 1,600	
	4 %	8.0 × 3,200		8.0 × 1,600	
コーリヤン浸出液	1 %	7.8 × 6,400		8.0 × 800	
	2 %	7.8 × 3,200		8.0 × 6,400	
	4 %	7.8 × 3,200		8.0 × 6,400	
Glycerin	1 %		7.5 × 3,200		7.7 × 3,200
	2 %		7.4 × 6,400		7.4 × 6,400
	4 %		7.8 × 6,400		7.8 × 3,200

表 (續 き)

(註、上段はpH 下段は抗菌力)

12 日	14 日	15 日	17 日	19 日	26 日
	8.2 ×800			8.5 ×200	
8.2 ×400			8.2 ×200		
8.2 ×800			8.4 ×100		
8.0 ×1,600			8.4 0		
8.2 ×800			8.3 ×400		
8.2 ×400			8.0 ×200		
8.2 ×800			8.2 0		
8.2 ×1,600			8.2 ×50		
8.2 ×800			8.2 ×200		
8.2 ×1,600			8.2 0		
8.4 ×800			8.0 ×50		
8.6 ×800			8.2 ×100		
8.6 ×1,600			8.2 0		
		7.8 ×12,800		7.9 ×800	8.2 ×200
		7.5 ×12,800		7.9 ×1,600	8.1 ×800
		7.7 ×6,400		8.0 ×1,600	8.2 ×1,600

No 22 株

第

各種炭素源に於ける抗菌力一覽表

各種糖類	培養日数	3 日	4 日	6 日	7 日
Glucose	1 %	7.0 ×50			7.0 ×6,400
	2 %	6.8 ×50	×800		7.0 ×6,400
	4 %	7.1 ×100			7.3 ×12,800
Lactose	1 %	7.4 ×800	×800		8.0 ×6,400
	2 %	7.4 ×800	×1,600		7.8 ×3,200
	4 %	7.6 ×1,600	×1,600		7.8 ×6,400
Saccharose	1 %	7.8 ×3,200	7.8		8.0 ×8,000
	2 %	7.8 ×1,600	7.8		8.0 ×16,000
	4 %	7.8 ×6,400	8.0 ×12,800		8.0 ×16,000
Inulin	1 %	7.8 ×200	×800		8.2 ×3,200
	2 %	7.8 ×50	×400		8.2 ×3,200
	4 %	7.6 ×50			8.2 ×800
Starch	1 %	7.0 ×50			7.8 ×6,400
	2 %	7.0 ×50			7.8 ×12,800
	4 %	7.0 ×50			7.6 ×12,800
Dextrin	1 %		7.8 ×12,800	8.0 ×3,200	
	2 %		7.8 ×6,400	8.0 ×3,200	

表

(註、上段はpH 下段は抗菌力)

8 日	10 日	11 日	15 日	17 日	22 日
	7.6 ×32,000		8.2 × 800		8.4 0
	7.5 ×16,000		8.2 × 400		8.4 × 50
	7.6 ×16,000		8.2 × 400		8.5 × 50
	8.0 ×2,000		8.2 × 800		8.4 0
	8.0 ×16,000		8.1 × 800		8.4 × 200
	8.0 ×16,000		8.0 × 800		8.6 × 50
	8.0 ×2,000		8.0 × 200		
	8.0 ×2,000		8.0 × 100		
	8.0 ×4,000		8.0 0		8.2 0
	8.2 ×100	8.2 0			
	8.2 ×100	8.4 0			
	8.4 0	8.6 0			
	8.0 ×16,000			8.2 × 400	8.6 × 100
7.8 ×32,000	8.0 ×8,000			8.2 × 200	8.5 × 50
7.8 ×32,000	8.0 ×8,000			8.2 × 400	8.8 × 100
8.0 ×800		8.2 × 400		0	
8.0 ×1,600		8.0 ×1,600		× 100	

No 22.株

第 2

各種炭素源に於ける抗菌力一覽表

各種糖類	培養日數	3 日	4 日	6 日	7 日
	4 %		7.2 × 3,200	7.4 × 3,200	
Corn	1 %		7.6 × 800	7.8 × 800	
	2 %		7.8 × 200	8.0 × 200	
	4 %		7.6 × 200	8.0 × 200	
Corn 浸出液	1 %		8.0 × 6,400	8.0 × 800	
	2 %		8.0 × 3,200	8.2 × 800	
	4 %		8.0 × 3,200	8.0 × 800	
コーリヤン	1 %		7.4 0	8.0 × 1,600	
	2 %		8.0 × 1,600	8.2 × 400	
	4 %		8.0 × 6,400	8.2 × 200	
コーリヤン 浸出液	1 %		8.0 × 400	8.0 × 200	
	2 %		7.6 × 1,600	8.0 × 16,000	
	4 %		8.2 × 12,800	8.0 × 200	
Glycerin	1 %	7.6 × 50			7.8 × 12,800
	2 %	7.8 × 50			7.6 × 16,000
	4 %	7.8 × 50			7.5 × 12,800

表 (續 き)

(註、上段は pH 下段は抗菌力)

8 日	10 日	11 日	15 日	17 日	22 日
7.7 ×6,400		8.0 >×3,200		× 200	
8.0 ×1,600		8.4 × 800		8.2 × 50	
8.2 × 800		8.4 ×1,600		8.2 0	
8.2 × 800		8.4 × 800		8.2 × 50	
8.2 × 800		8.4 × 800		8.2 0	
8.2 × 400		8.6 × 400		8.4 0	
8.2 × 400		8.4 × 400		8.2 0	
8.0 × 800		8.2 × 800		× 100	
8.2 × 400		8.4 × 400		× 50	
8.2 × 400		8.0 × 400		× 50	
8.2 0	8.6				
8.2 0	8.4				
8.2 0	8.4				
8.1 ×32,000	8.2 ×4,000			8.3 × 200	8.6 0
7.9 ×16,000	8.1 ×4,000			8.2 ×1,600	8.4 × 100
7.8 ×16,000	8.0 ×2,000			8.2 ×1,600	8.5 × 100

第 3 表

No 14株

最高抗菌力表

		最高抗菌力	日數	pH			最高抗菌力	日數	pH	
Glucose	1 %	6,400 ^倍	15	7.6		2 %	12,800	15	7.5	
	2 %	3,200	15	7.6		4 %	6,400	15	7.7	
	4 %	3,200	15	7.5	Methyl- alcohol	2 %	3,200	5	8.0	
Mannose	2 %	800	5	7.7						
Xylose	2 %	200	5	7.1	Aethyl- alcohol	2 %	1,600	5	7.9	
Rhamnose	2 %	32,00	5	7.7	Corn	1 %	3,200	4	7.8	
Saccharose	1 %	32,000	6	8.0		2 %	6,400	4	8.0	
	2 %	16,000	6	7.9		4 %	6,400	4	8.0	
	4 %	32,000	6	7.8	Corn 浸出液	1 %	1,600	6	8.0	
Lactose	1 %	32,000	6	8.0			2 %	1,600	6	8.0
	2 %	32,000	6	8.0			4 %	1,600	4	8.0
	4 %	32,000	6	7.8	コーリヤン	1 %	6,400	4	8.0	
Maltose	2 %	3,200	5	8.0			2 %	12,800	4	8.0
Starch	1 %	16,000	6	7.8		4 %	3,200	4	8.0	
	2 %	8,000	6	7.7	コーリヤン 浸出液	1 %	6,400	4	7.8	
	4 %	8,000	6	7.6			2 %	6,400	6	8.0
Inulin	1 %	32,000	6	8.2			4 %	6,400	6	8.0
	2 %	16,000	6	8.0	甘藷汁 + Czapek-Dox 培地		1,600	9	7.6	
	4 %	32,000	6	8.0						
Dextrin	1 %	12,800	4	8.0		甘藷汁 + 1 % Pepton	<100			
	2 %	6,400	4	7.8						
	4 %	6,400	4	7.6						
Glycerin	1 %	12,800	15	7.8	甘藷汁	<100				

第 4 表

No 22 株

最高抗菌力表

	最高抗菌力	日数	pH		最高抗菌力	日数	pH
Glucose 1 %	32,000倍	10	7.6	2 %	16,000	7	7.6
2 %	16,000	10	7.5	4 %	16,000	8	7.8
4 %	16,000	10	7.6	Methyl-alcohol 2 %	800	5	8.0
Mannose 2 %	1,600	5	7.7	Aethyl-alcohol 2 %	400	5	8.0
Xylose 2 %	<100			Corn 1 %	1,600	8	8.0
Rhamnose 2 %	800	5	7.6	2 %	1,600	11	8.4
Saccharose 1 %	8,000	7	8.0	4 %	800	8	8.2
2 %	16,000	7	8.0	Corn 浸出液 1 %	6,400	4	8.0
4 %	12,800	4	8.0	2 %	3,200	4	8.0
Lactose 1 %	6,400	7	8.0	4 %	3,200	4	8.0
2 %	16,000	10	8.0	コーリヤン 1 %	1,600	6	8.0
4 %	16,000	10	8.0	2 %	1,600	4	8.0
Maltose 2 %	3,200	5	7.9	4 %	6,400	4	8.0
Starch 1 %	16,000	10	8.0	コーリヤン 浸出液 1 %	400	4	8.0
2 %	32,800	8	7.8	2 %	1,600	4	8.0
4 %	32,800	8	7.8	4 %	12,800	4	7.6
Inulin 1 %	3,200	7	8.2	甘露汁 + Czapek-Dox	800	9	7.5
2 %	3,200	7	8.2	甘露汁 + 1 % Pepton	<100		
4 %	800	7	8.2	甘露汁	<100		
Dextrin 1 %	12,800	4	7.8				
2 %	6,400	4	7.8				
4 %	6,400	8	7.7				
Glycerin 1 %	32,000	8	8.1				

IV 考察及び總括

(1) No. 14 株及び No. 22 株の二種の放線状菌を用いて、炭素源を異にする種々の培地に培養して抗菌力を検討したところ、炭素源の種類によつて相當の差違を認めたけれども、同一炭素源の 1 %, 2 %, 及び 4 % の量的關係には殆んど相違がなかつた。

(2) No. 14 株では Lactose, Saccharose 及び Inulin の培地が 32,000 倍で最高力價を示し、殊に Lactose 培地に於ては培養 5 日から 15 日迄高價を維持し、その安定性からも最適の炭素源なるを知つた。Saccharose, Inulin は安定性からは Lactose に稍劣るも之に次ぐ優秀なものである。

Glycerin は最高 12,800 倍でその抗菌價はやゝ劣るも Lactose 同様安定で 5 日より 15 日迄高力價を維持するから、大量培養には Saccharose, Inulin 二者よりも優るものと思われる。又 Glucose ではあまり良い成績は得られなかつたが、Glycerin 同様可なり長期間抗菌力を保持し、而も抽出精製にも便であるから工業生産用に適する菌株と思われる。

(3) No. 22 株では Glucose, Starch, 及び Glycerin の培地が最適であつて最高 32,000 倍を示しているが、No. 14 株に比べるといづれも 7 日~10 日の間が最頂であつて比較的抗菌力の持続の短いものであるを知つた。Lactose, Saccharose 及び Dextrin が之に次ぎ 6,400 倍~1,600 倍を示した。

(4) 農産物としての Corn, 高粱及び甘藷の中、前二者は工業的大量生産用として充分使用出來得るものであると信ずる。例えば No. 14 株に於ては Corn 及び高粱は Glucose よりも却つて高い抗菌價を示し、又 No. 22 株に於ても Corn 浸出液は 6,400 倍、高粱浸出液は 12,800 倍と Lactose, Saccharose と略同等の力價を現わすので、兩菌株の工業用生産としての炭素源はかかる農産物の利用に充分の期待がかけられる。

(5) 甘藷汁その儘或は之に Pepton を 1 % の割に加えた培地では殆んど力價をあらわさず、之に Czapek-Dox 培地の無機塩を加えたもので、始めて No. 14 株は 1,600 倍、No. 22 株は 800 倍の抗菌價を示し、いづれも抗生物質の産出には、かかる無機塩を必要としている。

(6) pH の上昇と共に抗菌力も上昇し、pH と抗菌力とは殆んど常に一致して、吾々は毎回先ず pH を測定してその抗菌價を大體推定し得た。

(7) pH 7.5 以下で最高を示した場合は全く無く、殆んど全部が 7.5~8.0 の間であつた。

(8) 抗菌力は最高時に達したる後下降するも、pH は最後迄下らなかつた。

終りに臨み終始御懇切なる御指導と御校閲を載いた恩師細菌部部长八田博士に深謝する。

文 献

- (1) Foster, J. W. Woodruff, H. B. & McDaniel, L. E. : J. Bact. 51, 465~478(1946)
- (2) Meyer, A. J. & Coghill, R. D.: J. Bact. 51, 57~78 (1946)
- (3) Foster, J. W. : Three Day's Symposium on Penicillin Production
J. Penicillin I (1) Separate issue
- (4) 宮本晴夫, 青山好作, 宇都宮則久, 丹治園枝 : 放線状菌の產生する抗生物質に関する研究 (第一報) 衛生試験所彙報 (第 66 號) 前掲論文, 181 頁, (昭和 23 年)

新制腸チフスパラチフス混合ワクチン 注射に對する一觀察

技 官 乗 木 秀 夫

内 容 目 次

- I 緒 言 の 部
- II 實 験 の 部
 - i 被檢者について
 - ii 反應の記録法並に注射方法
 - iii 新制ワクチンの皮下注射による反應
 - iv 新制ワクチンの皮内注射による反應
 - v 從來の國內制定ワクチンの皮下注射による反應
- III 小 括
- 参 考 文 獻

I. 緒 言 の 部

腸チフス性疾患に對し、ワクチン注射が、豫防上重要な役割を演じ居る事は、衆知の事實である。さればこそ、進駐軍當局は、その改良に、製造に、絶大の援助を與えられているのである。最近渉外局よりの、發表によれば充分なる量の新制ワクチンの製造が了り、豫防注射の實施に移されつゝあるのは、國民の一員として、喜びに堪えない所である。

(1) 1886年 Beumer 及び Peiper 等が、腸チフス生菌を接種しこれに堪えた鼠は、一定時日の後再び其の致死量の數倍を接種するも、斃死しないことを知り、これを人體に應用すれば、腸チフス性疾患の豫防に資する事が出来るであろうと提言してより、この方面に關する研究は注目されるに至つた、1892年には 60°C 30 分加熱殺菌された腸チフス菌を接種することによつて、確實に免疫性を附與し得たとする研究發表がなされその中には、Brieger, Wassermann u. Kitazato の 名を見る事が出来る。爾來、この豫防法としてのワクチンは、製造法、實施法等に種々の研究改良が加えられ、我が國でも、それ獨特の方法が維持されて來たのであるが、なお國民疫病としての腸チフスの防遏が出来ず、國民殊に青壯年間に猛威をたくましくしていると言うのが現状である。

本年度に入つて、米國より、優秀なるワクチン製造用の菌株が授與されると共に、その製法に於ても、施行法に於ても、相當に變改された基準法が制定せられるに至つた、よつてこの新制ワクチンの注射施行時に於ける反應の存否多少を觀察すべく考えて、以下に報告するような成績を得たので茲に參考に供する次第である。

新制ワクチンについては、Biological Products (Luis Gersheneld. 1939) の P. 118 及び Immunization to Typhoid Fever なる軍醫學校 1941 年版に詳細に記されてある。それによると、米國軍醫學校は、現在我國にも分與し使用されている No. 58 株 (Eberthella typhi 58) は、1936 年 10 月 12 日以来使用されているとのことである。その出所は、1934 年 9 月パナマ運河の The Board of Health Laboratory の所長、Dr. L. B. Bates が、1913 年腸チフスに罹つたパナマ地方の一保菌者から分離されたもので、その毒力は、ムチンを使用して、10, 100, 1,000 の生菌腹腔内注射にて、72 時間以内に、16~18 g の白ネズミ (スイス系) 又は大黒ネズミ (C-57 種) を斃し得ると記されている。因に新制ワクチン中の菌量は、1 cc 中、チフス菌 0.7 mg, パラチフス A 菌 0.2 mg, パラチフス B 菌 0.2 mg 計 1.1 mg に含有されている。この菌量は、從來の國內制定のワクチン菌量 0.45 mg/cc に比較する時、約 3 倍量近くの菌量となり、非常な改革と言えよう。

II. 實 験 の 部

i. 被檢者について

被檢者は、約 5,000 名で、新潟縣中頸城郡下の小學校及び初等中學校男女學童が主で、これに一般人若干名も含まれている。これ等の人々は、終始喜んで實驗の對象となつて援助された。此處に記るして深く感謝する。

ii 反應の記録法並に注射方法

反應の記録法は、第一表の如くで、臨機的な便宜上の記載法によつた。注射方法は規定の方法を忠實に實行した。一方對照としては、從來の我國の標準ワクチンを二回注射法により實施した

第 一 表

		強 度	中 等 度	弱 度	なし
局 所 反 應	腫 脹	四 横 指 以 上	二 横 指 以 上	二 横 指 以 下	なし
	發 赤	"	"	"	"
	壓 痛	觸 れ て も 痛 い	壓 す れ ば 痛 い	強 く 壓 す る 痛 い	"
	自 發 痛	動 か さ な く て も 痛 い	動 か す と 痛 い	強 く 動 か す と 痛 い	"
全 身 反 應	發 熱	熱 が 出 て 出 ら れ な い 程	熱 が あ る	熱 が あ る 様 だ	"
	惡 寒	寒 く て ぞ く ぞ く す る	寒 い	寒 い 様 だ	"
	關 節 痛	節 々 が 痛 く て 抜 け る 様	節 々 が 痛 い	何 と な く 痛 い 様 だ	"
	全身倦怠	逆 も 體 が だ る い	體 が だ る い	體 が だ る い 様 だ	"
	頭 痛	頭 が づ き づ き 痛 む	頭 が 痛 い	頭 が 痛 い 様 だ	"

iii 新制ワクチン皮下注射による反應

結果は第二表の如くで、反應は相當に強い。本注射は、全施行者対象全部に漏れなく施行した。このような強い反應は或は培地組成に原因するのではないかと考えて原方法に従い、馬肉汁をさけて牛肉汁を用いた培地で製造したワクチンを使用して見たがその間の相違は何等認められなかつた。

第 二 表
(%)

24 時 間 目											48 時 間 目										
局 所					全 身					局 所				全 身							
腫 脹	發 赤	壓 痛	自 發 痛	發 熱	惡 寒	關 節 痛	全 身 倦 怠	頭 痛	腫 脹	發 赤	壓 痛	自 發 痛	發 熱	惡 寒	關 節 痛	全 身 倦 怠	頭 痛				
第一回	強	50	67	47	16	9	10	8	11	13	27	35	7	1	<1	1	<1	<1	1		
	中	25	22	32	44	23	16	10	20	22	17	16	25	9	4	3	1	2	3		
	弱	13	10	19	25	39	28	16	26	25	17	16	36	29	14	3	6	6	8		
	ナシ	12	11	2	15	29	46	66	43	40	39	33	32	61	82	93	93	92	88		
人員		3,121 名																			
第二回	強	53	62	43	26	11	10	8	10	14	29	20	14	3	<1	1	1	<1	1		
	中	30	28	29	38	22	20	11	15	23	20	41	20	15	9	5	5	4	6		
	弱	14	7	24	25	27	14	18	16	20	20	13	31	31	12	10	8	9	15		
	ナシ	3	3	4	11	40	56	63	59	43	31	26	35	51	79	84	86	87	78		
人員		3,011 名																			
第三回	強	38	44	25	10	6	4	4	4	7	12	11	5	1	<1	—	<1	—	1		
	中	34	28	36	31	19	9	11	12	15	18	19	19	6	4	2	4	<1	4		
	弱	18	20	25	29	21	14	13	4	15	20	28	28	19	13	7	6	10	10		
	ナシ	10	8	14	30	54	73	72	70	63	50	48	48	74	83	91	90	90	85		
人員		3,008 名																			

iv 新制ワクチンの皮内注射による反應

更に、但書きとして記載されている 0.1cc 三回の皮内注射による反應について検討した成績は第三表の如くである。それによると、非常に反應が少く、更に第四表に示す如く、ツベルクリン反應三ヶ月以内の陽轉者 4 名、筋骨薄弱者 14 名、及び何らかの身體異常を訴えているもの 2 名、計 20 名の所謂特種兒童と見做すべきものに於ける反應でも、非常に反應は弱く現われた。

次に、新制ワクチンを食鹽水で、從來の標準菌量 0.45mg/cc に稀釋し使用して見たが、この反應は從來のものと、著しい差は認められず、強いて求めれば、幾分弱いかと思はれる程度であつた。

(%)

第 四 表

(%)

24 時 間 目										48 時 間 目									
局 所				全 身						局 所				全 身					
腫 脹	發 赤	壓 痛	自 發 痛	發 熱	惡 寒	關 節 痛	全 倦 身 怠	頭 痛	腫 脹	發 赤	壓 痛	自 發 痛	發 熱	惡 寒	關 節 痛	全 倦 身 怠	頭 痛		
第一回	強	5	5	5	—	—	—	—	5	5	5	—	—	—	—	—	—		
	中	55	70	35	5	5	—	5	45	50	30	5	—	—	—	—	—		
	弱	25	10	30	10	30	10	—	15	25	30	5	10	5	5	—	5		
	ナシ	15	15	30	80	65	85	100	90	35	20	35	90	90	95	95	100	95	
人 員	20 名																		

第二回	強	10	5	10	—	—	—	—	—	—	10	5	—	—	—	—	—	—	
	中	60	40	35	5	5	5	5	5	5	25	35	20	—	—	—	—	—	
	弱	25	40	35	5	20	20	10	10	10	20	50	35	10	5	—	5	5	
	ナシ	5	15	25	90	75	75	85	85	85	45	10	45	90	95	100	95	95	100
人 員		20 名																	
第三回	強	5	5	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	中	30	10	15	5	5	—	—	—	—	15	20	—	—	—	—	—	—	
	弱	30	40	50	10	5	10	5	—	—	15	20	20	5	—	—	—	—	
	ナシ	35	45	30	85	90	90	95	100	100	70	60	80	95	100	100	100	100	100
人 員		20 名																	

Ⅴ 従來の國內制定ワクチンの皮下注射による反應

従來實施されていた腸チフスパラチフス混合ワクチン注射による結果は第五表の通りで、この表で、今迄の反應の全貌を知ることが出來よう。今中等度以上を、“反應があつた”とするならば、局所で 20~40% 以上、全身で 10~25% 以上と云う事になる。

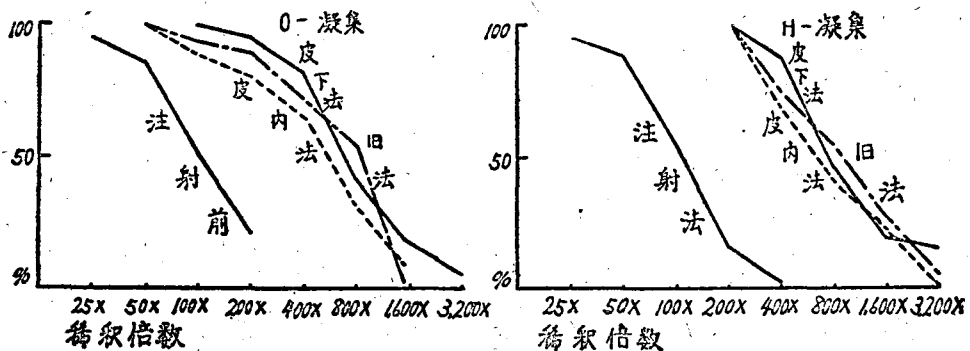
第 五 表

(%)

		24 時 間 目									48 時 間 目								
		局 所				全 身					局 所				全 身				
		腫 脹	發 赤	壓 痛	自 發 痛	發 熱	惡 寒	關 節 痛	全 倦 身 怠	頭 痛	腫 脹	發 赤	壓 痛	自 發 痛	發 熱	惡 寒	關 節 痛	全 倦 身 怠	頭 痛
第一回	強	10	8	15	6	2	<1	<1	<1	<1	<1	<1	3	—	—	—	—	—	—
	中	15	7	25	8	13	1	1	15	7	13	10	24	3	—	—	—	2	<1
	弱	32	45	40	12	15	3	2	10	11	27	31	32	5	2	<1	1	5	<1
	ナシ	43	40	20	74	70	96	97	75	82	60	59	41	92	98	100	99	93	100
人 員		357 名																	
第二回	強	21	31	26	10	3	1	1	2	2	1	2	5	1	1	<1	<1	<1	<1
	中	21	25	32	11	20	2	<1	21	7	18	22	30	8	2	<1	<1	<1	<1
	弱	18	21	20	15	15	4	5	10	8	30	21	34	7	2	1	—	3	1
	ナシ	40	23	22	64	62	93	94	67	83	51	55	31	84	95	99	100	97	99
人 員		343 名																	

以上のワクチン注射の效果に對しては、目下主に血清學的立場より精査中であるが、實驗結果の一部として、2 週間後の、チフス菌に對する凝集價の成績を第六表に示して置いた。

第六表 (累積圖表)



III. 小 括

反應の面より、新制腸チフスバラチフス混合ワクチン注射の一端を眺めて見た。

本ワクチン注射の効果は、今後の腸チフス患者發生狀況の如何にあるのであるが、その第一歩たる實施にあたつて、その反應が、以上のように現れたる事を知つて戴き度い。

以下要約すると、

1. 新制ワクチン注射 (菌量 1.1mg/cc 三回、皮下法) による反應は、局所全身共、從來の 2~3 倍に及ぶ反應を示した。
2. 0.1cc 三回皮内注射は、ツベルクリン反應陽轉者、虛弱兒童等に對しても、大なる反應を示さなかつた。
3. 舊標準ワクチン注射 (菌量 0.45 mg/cc 二回皮下法) による反應は、局所で 20~40%、全身で 10~25% であつた。

尙、その血清凝集價より見た。免疫効果は、精査中である。

本研究は、豫防衛生研究所第二細菌部、並に、本細菌部との合同研究たる、“腸チフスワクチンに関する研究”の一部をなすもので、本報告の概要は第一回公衆衛生學會に於て發表された終りにのぞみ、終始御懇切なる御指導と御校閲をいただいた當細菌部長八田博士に深謝すると共に本研究に對し、種々御援助を受けた豫防衛生研究所小島副所長、同柳澤結核部長初め、第二細菌部諸氏、結核研究所諸氏、及び當細菌部同僚諸兄に深謝する。

参 考 文 献

- 1) Beumer u. Peiper; Zeitschrift f, Hyg. Bd. 2. 121 (1887)
- 2) Brieger, Wassermann u. Kitazato; Ebenda Bd. 12. 1061 (1892)

二、三色素の水に於ける殺菌作用に及ぼす アンモニア前處置の影響

題 託 齋 藤 功
研 究 生 高 橋 信 將

内 容 目 次

- 第一. 緒言並實驗方針
- 第二. 實驗方法
- 第三. 實驗成績
 - (A) Methylviolett の成績. 附. Chrysoidin の成績
 - (B) 酸性フクシン (Säurefuchsin) の成績
- 第四. 總括並結論
- 引 用 文 獻

(本報告の内容は厚生科學研究會第 4 回總會に於て昭和 22 年 11 月 29 日發表せられた。)

第一 緒言並實驗方針

本實驗は水に於ける色素の殺菌作用に及ぼすアンモニア前處置の影響を観察せんとしたものであるが、その端緒となつたものは先回の著者のアンモニア塩素法の作用機轉に関する研究⁽¹⁾である。著者は今回の實驗によつて、塩素以外の殺菌劑に對するアンモニア前處置の影響を検討し、同時に前述の研究⁽¹⁾によつて得たるアンモニア前處置に對する著者の見解が斯かる場合にも擴大適用し得るか否かを検討せんとしたものである。よつて本實驗に對して採られた實驗方針を具體的に述べる爲にはアンモニア塩素法の作用機轉、特にその殺菌機轉に對する著者の見解を一應説明して置く必要がある、よつて以下に之を略述する。

アンモニア塩素法は既に米國其他に於て廣く實施せられて居るが、本法の殺菌機轉の不明瞭は本法實施規準の制定を困難ならしめて居る。著者は本法の殺菌作用を實驗的理論的に研究⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾して、次の如く結論した。

“アンモニア塩素法 (アンモニア前處置法)” = “{(アンモニア前處置) + (鹽素消毒)}法”

上式は著者の、アンモニア・塩素法の殺菌作用は主として鹽素自身の殺菌力によるが、アンモニア前處置は又獨自の重要な意義を有し、この兩作用が相合して殺菌作用を形成するとの意圖を表はした積りである。但し本法の化學的部門の解釋に於ては、化學的に比較的活潑なるアンモニアの存在による檢水中の含有物と鹽素とが結合し難くなること (アンモニア前處置によ

りChloro-Phenolの形成が阻止せられること⁽²⁾⁽⁴⁾はこの好適證である)が重視せらるべきである。而してアンモニア前處置の意義を著者は次の如く解釋する。

著者の實驗⁽¹⁾の示す所によれば、一般アミノ酸の細菌保護作用は、そのアミノ酸含有水のpHが當該アミノ酸の等電點pHと一致する時は殆ど認められず、等電點pHと離隔するに伴い(檢水中の分散アミノ酸微粒子は陰性荷電を増す)菌保護作用が發現し、漸次強力となる。而してかかる檢水の殺菌はアンモニア前處置により著明に良好となる。然るにアルギニン含有水(陽性帶電のアルギニン微粒子分散)に於ては、アンモニア前處置は殺菌を何等良好ならしめないのみか寧ろ多少不良の影響を與える。次にアンモニア自身は鹽素の殺菌力を明らかに減弱せしめる。斯くアンモニア前處置は菌保護物質微粒子が陰性帶電の時は有効であるが、陽性帶電の時は無効である。

顧つてアンモニア前處置を理論的に考察すると、檢水中の蛋白系物質分散微粒子は表面活動性によつて菌體周圍に集合し、緻密なる包圍粒子層を形成することが推定せられる。アンモニアが投入されれば、アンモニアもその表面活動性によつて菌體表面に集つて來て既成の蛋白系物質微粒子による包圍粒子層と接觸するが、アンモニアの伴ふ陽性帶電の NH_4^+ は先在微粒子が陰性帶電のものであれば相結合するため各所に帶電量僅少で菌體とも吸着し易い粒子の集塊を作り、アンモニアの有する蛋白溶解性をも相俟つて包圍粒子層は間隙多き不完全のものとなり、直接、間接に鹽素の菌體との接觸を容易ならしめる。之がアンモニア前處置の有効なる所以である。アルギニンの如き陽性帶電の微粒子の際は NH_4^+ の以上の如き作用は期待されない。斯く理論的にも著者の得たる實驗結果より以上の如く論證し得るのである。從つて實驗並に理論上著者はアンモニア前處置の意義を上述の如き、電氣的、物理化學的のものと解釋し、 NH_4^+ の意義を重視する。斯かる解釋に基いて考察すれば、アンモニア前處置は水溶液中で表面活動性があり、陽性に帶電する如き殺菌劑(例えば鹽基性色素)に對しては余り効果なく、この反對の性質を有する如き殺菌劑(例えば鹽素の如き)に對しては特に有効である筈となる。尙又アンモニア前處置の効果は要するに絶對的なものではないから、殺菌力の余り弱い殺菌劑であれば、アンモニア前處置の効果もよく表はれない筈である。

今回の小實驗は、これ等の點を考慮して鹽素以外の殺菌劑を用いて觀察した。供試殺菌劑としては、アンモニアと化合して新物質を生成する如きものを避けたので仲々適當なものが見出されず取敢えず二、三の色素即ちMethylviolet、酸性フクシン及びChrysoidinを選んだ。

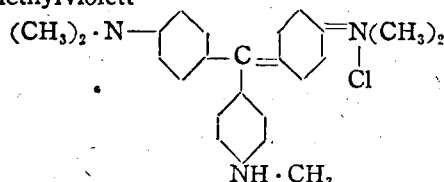
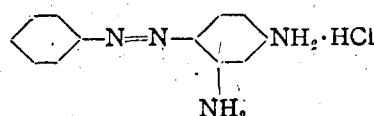
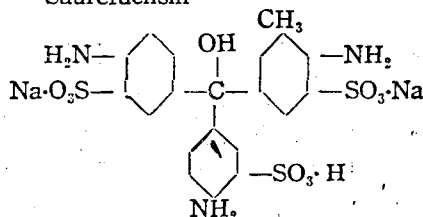
Methylviolet及びChrysoidinは何れも鹽基性色素で、殺菌力は前者は相當強力で、後者は前者より弱いと豫想され、酸性フクシンは酸性色素で殺菌力は弱いと思はれるが、三種の色素は何れもアミノ基を有し表面活動性を有するものと推定せられる。

(本實驗は資材、設備其他萬事不如意の困難な事情の下に行はれ、小規模且つ不完全を免れな

い、殊に今回突如進駐軍命令により立退を餘儀なくされ研究續行も困難な事情となつたので、取敢えず今までに知り得た實驗結果の概要を取まとめて報告する次第である。）

第二 實 驗 方 法

(1) 供試された色素は Methylviolett(Merck), Chrysoidin(Grübler), 酸性フクシン (Säurefuchsin Grübler) の三種である。之等の化學構造式を示せば下の如きものとなる。(5)(6)

Methylviolett⁽⁶⁾Chrysoidin⁽⁵⁾Säurefuchsin⁽⁶⁾

(2) 供試されたアンモニアは局方アンモニア水で、實驗に際して適宜に稀釋水して用いた。

(3) 供試水は基體として蒸溜水乃至水道水を用い、その 1l. を 1l. 容量の平底コルベンに採り滅菌せるものに、實驗直前供試物質及び供試菌の所要量を投入し、且つ pH を所要の如く修正せるものである。なお比較對照實驗には單純なる蒸溜水乃至水道水を用いた。

(4) 殺菌劑投入後の檢水中に於ける菌の消長を知る爲、一定時間毎に檢水中より 1cc 宛を取出し、寒天平板培養に付し、37°C, 48 時間後の發生集落數を以て生殘菌數とした。

(5) アンモニアの投入は一般に殺菌劑投入の 15~20 秒前としたが、都合によつては最長 20 分以内とし必ずしも毎回同一でなかつた。但し同一實驗に於ける各檢體の投入間隔は同一とした。

(6) 供試細菌としては E. coli 及び有芽胞菌の B. megatherium を用い、投入菌量は 0.1 mg とした。

(7) 供試有機物としては一般にアスパラギンを用いたが、アスパラギン酸を併用したことがある。

(8) 供試水の pH は比色計にて測定し、一般に pH 8.0 前後とした。之はアンモニア前處置の意義と効果はアルカリ性のアミノ酸含有水に於て最もよく認められるからである。但し對照

乃至特殊の目的がある場合は中性乃至弱酸性としたこともある。pH の修正には鹽酸及苛性ソーダの稀薄水溶液を用いた。

(9) 水温は常に 20°C とした。

第三 實 驗 成 績

(A) Methylviolet の成績, 附 Chrysoidin の成績.

一般に供試細菌は *E. coli*, 供試水は pH を 8.0 前後に修正したアスパラギン 10 p.p.m. 含有水を用いた。

(1) Methylviolet 300 p.p.m. 投入の場合

斯かる投入量にては pH, 基體の如何に拘わらず殺菌は 10 分以内に完了する (第 1 表参照)

第 1 表アスパラギン 10 p.p.m. 含有水殺菌試験

供 試 菌	E. coli							
	蒸 溜 水				水 道 水			
處 置 前 pH	8.2		6.5		8.2		6.5	
檢 體 番 號	1	2(對照)	3	4(對照)	5	6(對照)	7	8(對照)
Methylviolet 投入量 (p.p.m)	300	0	300	0	300	0	300	0
殺 菌 劑 投 入 後 の 狀 態	經 過 時 間	生 殘 菌 數						
	10 分	0		0		0		0
	30 分	0		0		0		0
	1 時間	0	∞	0	∞	0	∞	0
	2 時間	0	∞	0	∞	0	∞	0
	24 時間	0	∞	0	∞	0	∞	0

註 : ∞ は 1000 ケ以上の菌數なるを示す。以下の諸表も同様である。

(2) Methylviolet 及 Chrysoidin 50 p.p.m. 投入の場合

Methylviolet に於ては 300 p.p.m. 投入の場合と同様基體の如何に拘わらず何れも 10 分以内に殺菌されるが, アンモニア前處置を施せる蒸溜水の場合のみは殺菌に 30 分を要し, 他に比し稍々殺菌不良なることが注目される。

一方 Chrysoidin はアンモニア前處置の有無乃至基體の如何に拘わらず斯かる投入量によつては有効なる殺菌を行い得ず, 多少の菌發育遅延を認めるのみである。尙若干注意を惹くのは檢體 No.3 の如く殺菌劑投入後の時間経過と共に一度出現した菌發育遅延作用が再び不顯著となる例のあることで, 菌の復活現象發現の可能性を示唆するが如くである (第 2 表参照)。

第2表 アスパラギン 10 p.p.m. 含有水殺菌試験

供試菌	E. coli											
處置前 pH	7.8											
基 體	蒸 溜 水						水 道 水					
Methylviolett 投入量 (p.p.m.)	50	0	0	0	0	0	50	0	0	0	0	0
Chrysoidin 投入量 (p.p.m.)	0	50	0	0	0	0	0	50	0	0	0	0
アンモニア投入量 (p.p.m.)	0	3	0	3	0	3	0	3	0	3	0	3
検 體 番 號	1	2	3	4	5 (對照)	6 (對照)	7	8	9	10	11 (對照)	12 (對照)
殺菌劑投入後の状態	経過時間	生 残 菌 數										
	10 分	0	2	∞	∞			0	0	∞	∞	
	30 分	0	0	∞	∞			0	0	∞	∞	
	1 時間	0	0	+∞	∞	∞	∞	0	0	∞	∞	∞
	2 時間	0	0	+∞	∞	∞	∞	0	0	∞	∞	∞
	3時間30分			∞	∞	∞	∞			∞	∞	∞
	24 時間			∞	+∞	∞	∞			∞	+∞	∞

註：表中生残菌數に+を附したものは 48 時間培養の發生集落數が 24 時間培養時のそれよりも相當増加したものを示す。

(3) Methylviolett 40 p.p.m. 以下を投入せる場合。

a) 20~0.7 p.p.m. を投じたる場合：斯かる場合には短時間内の殺菌完了を望み得ない。

又アンモニア併用の有無、基體の如何も多く多くの差異を齎さないが、殺菌作用は幾分色素單獨の方が優つて居るようである (第3表参照)。

第3表 アスパラギン 10 p.p.m. 含有水殺菌試験

供試菌	E. coli											
處置前 pH	8.1											
基 體	蒸 溜 水								水 道 水			
アンモニア 投入量(p.p.m.)	3				0				0			
Methylviolett 投入量 (p.p.m.)	20	10	3	0.7	20	10	3	0.7	10	3	0.7	0.7
殺菌劑投入後の状態	経過時間	生 残 菌 數										
	20 分	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	50 分	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	1時間30分	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	2時間30分	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	24 時間	3	∞	∞	∞	0	+∞	∞	∞	+∞	∞	∞

b) Methylviolett 40~5 p.p.m. 投入の場合

この實驗に於ては處置前 pH がやや高く 8.5 であつた爲、殺菌は比較的不良であつた。殺菌剤投入後 3 時間迄はアンモニア前處置の有無による結果の差異は見られなかつたが、殺菌剤投入後 24 時間に至ると可成の差異が見られる。即ちアンモニア前處置を施せるものが、色素單獨の場合よりも發育阻止作用、殺菌作用何れも多少共顯著であり、就中發育阻止作用が強く 40 p.p.m. 及 30 p.p.m. の Methylviolett の投入されたものは 24 時間培養にては集落の發見が見られない (第 4 表参照)。

第 4 表 アスバラギン 10 p.p.m. 含有蒸溜水殺菌試驗

供 試 菌		E. coli										
處 置 前 pH		8.5										
アンモニア投入量 (p.p.m.)		3					0					
Methylviolett 投入量 (p.p.m.)		40	30	20	10	5	40	30	20	10	5	(照對)
殺菌剤投入後の状態	經 過 時 間	生 殘 菌 數										
	10 分	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	
	30 分	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	
	1 時間	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	2 時間	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	3 時間	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	24 時間											
	a) 24 時間培養所見集落數	0	0	+	+	∞	+	+	+	++	∞	∞
	集落發育状態	0	0	+	++	+++	+	+	+	+++	+++	+++
	b) 48 時間培養所見	70	29	∞	∞	∞	1020	1208	∞	∞	∞	∞

(4) 投入アンモニア量を増加せる場合 (Methylviolett 70~40 p.p.m. 投入の場合)。

今迄の實驗は鹽素消毒の場合の一般アミノ酸 10 p.p.m. 含有水の場合の經驗に徴し、アンモニア投入量は 3 p.p.m. とした。斯かる投入量によつてアンモニア前處置の目的を達するに充分と信じたからである。本實驗に於てはアンモニア量を Methylviolett 量の半量前後迄、即ち 30 p.p.m. に増量してみた。この場合 pH は處置後上昇して 96 時間後と雖もなお 9.0 以上の値を持続する。然しながら殺菌所要時間は、蒸溜水を基體とするものにあつては、Methylviolett 單獨の場合は何れも 4 時間、アンモニア併用の際も 70 p.p.m. 投入の場合は同じく 4 時間であつて、アンモニアの有無により大差を生じないことは從來の成績と同じである。アンモニア及び pH そのものゝ殺菌剤の作用に及ぼす影響の餘り大でないことをアンモニア鹽素法の場合と同様此處にも再確認出来る。然しながら今回の實驗に於て顯著に現はれた特異的事象は菌の復活現象であつて、鹽素消毒の場合に大腸菌の復活現象が全く見られないのと著しい

対象をなして居る。蒸留水を基體とする検水に於ては、菌の復活は Methylviolett 單獨の場合には全く見られず、アンモニア併用の場合に見られ、菌の發育並びに集落形成の遅延が顯著であつた。

本回の實驗に於ける第二の特異的事象は、基體の相違による殺菌狀況の差異である。即ち蒸留水を基體とする検水に於て Methylviolett 單獨投入の場合は殺菌は 4 時間にして完了し菌の復活が認められない。然るに水道水に Methylviolett を單獨に投入する場合には、僅か 1 時間後に生殘菌數零となるに拘わらず、20 時間後には俄然菌が再び出現し、48 時間後も尙菌數減少の微無く、96 時間後漸く再び菌を證明しなくなる。著者は先回アミノ酸含有水の鹽素による殺菌成績に對し基體の相違が豫想以上の大影響を與える事を發見して、水の殺菌試驗上蒸留水と水道水とを區別するの必要を始めて指摘したが、⁽¹⁾ 此處に色素によるアスパラギン含有水の殺菌の際にも蒸留水、水道水の相違の無視すべからざる事實を再確認し得た。實驗成績及び供試水道水の水質は夫れ夫れ第 5. 6 表の如くである。

第 5 表 アスパラギン 10 p.p.m. 含有水殺菌試験

供 試 菌			E. coli								
處 置 前 pH			8.2								
基 體			蒸 溜 水			水 道 水					
アンモニア投入量(p.p.m.)			0			30			0		
Methylviolett 投入量 (p.p.m.)			70	50	40	70	50	40	50	40	0(對照)
殺 菌 劑 投 入 後 の 狀 態	經 過 時 間		生 殘 菌 數								
	15 分		∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	
	30 分		∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	
	1 時間		∞	∞	∞	∞	∞	∞	0	0	∞
	2 時間		∞	∞	∞	0	0	0	0	0	
	3 時間		∞	∞	∞	348(0)	∞(0)	920(3)	0	0	∞
	4 時間		0	0	0	0	252(0)	275(0)			
	20 時間		0	0	0	0	0	0	∞	∞	∞
	48 時間		0	0	0	0	0	0	∞	∞	
	96 時間		0	0	0	0	0	0	0	0	
	144 時間		0	0	0	0	0	0	0	0	

註：生殘菌數は寒天平板血温 48 時間培養後の發生集落數を普通算用數字にて示し、同じく 24 時間の夫れは(算用數字)を以て示した。

例えば 348 (0) とあるは、48 時間培養による發生集落數が 348 個、24 時間培養の發生集落數は皆無であつたことを示す。以下の諸表も本表に準ずる。

第 6 表 供試水道水の水質試験成績

(3 月 23 日採取)

供試された水道水は世田ヶ谷區用賀町 厚生省衛生試験所の水道水を先づ溶存塩素を
驅逐する爲數十分間煮沸してから 100°C, 30 分宛 3 回煮沸滅菌したものである。

濁度 0	pH.....7.6	硝酸性窒素.....不検出	総硬度.....2.42
色度 0	アルカリ度...34	亜硝酸性窒素.....不検出	蒸發残渣...98
臭味, 異臭味ナシ	塩素イオン...10.64	アンモニア性窒素.....不検出	銅及鉛...不検出
反應...微弱アルカリ性	硫酸イオン...痕跡	過マンガン酸カリ消費量...0.16	遊離塩素.....零

附記 : 本水道水は砒系の水道で, 水質は検査日が違つても殆ど大差ない。

(5) アンモニア前処置水と等しい pH 値の検水とに於ける殺菌状況。

アンモニア前処置を施せる検水の pH は, 對照たる Methylviolett 單獨處置水の pH よりも當然相當高くなることは免れない。この點に於て兩者の實驗的條件には差異があることになるので, この兩者の pH 値を同一に修正した。即ち苛性ソーダにより供試水の pH を修正してアンモニア前處置水の pH 値と等しくし, 之等に Methylviolett を投じてその殺菌状況を比較觀察した。成績は第 7 表の如くであるが, 大體に於て殺菌状況は何れも略同様である。たゞ Methylviolett 30 p.p.m. 單獨投入の水道水を基體とする検水に於て, 24 時間後に於てもなお菌が認められるが, これが生殘菌であるか或は菌の復活現象によるものであるかは, この間の實驗を省略したので明らかでない (第 7 表参照)。

第 7 表 アスパラギン 10 p.p.m. 含有水殺菌試験

供 試 菌		E. coli				
アンモニア投入前のpH		8.0 に修正				
アンモニア投入後のpH		9.2				
基 體		蒸 溜 水		水 道 水		
アンモニア投入量 (p.p.m.)		3		0	0	
Methylviolett 投入量 (p.p.m.)		60	30	60	60	30
殺菌劑投入後の状態	經過時間	生 殘 菌 數				
	15分	∞	∞	∞	∞	∞
	30分	∞	∞	∞	∞	∞
	1時間	∞	∞	∞	∞	∞
	2時間	∞	∞	∞	∞	∞
	3時間	∞	∞	∞	∞	∞
	24時間	0	0	0	0	12

(6) 蒸溜水乃至水道水に於ける Methylviolett の殺菌作用.

此處ではアスパラギンを含有しない單純な滅菌蒸溜水乃至水道水に於ける Methylviolett の殺菌作用を検討した. 供試菌としては從來の *E. coli* の外, 對色素感受性の強い有芽胞菌の 1 種 *B. megatherium* を用いた. 成績は第 8 表に示した.

第 8 表 滅菌水に於ける Methylviolett の殺菌作用

處置前 pH		8.2							
供試菌		<i>E. coli</i>				<i>B. megatherium</i>			
基體		蒸溜水		水道水		蒸溜水		水道水	
Methylviolett 投入量 (p.p.m.)		20	10	5	10	20	10	5	10
殺菌劑 投入後 の 状態	經過時間	生 残 菌 數							
	1.0 分	∞	∞	∞	∞	12 (1)	6 (0)	62 (9)	2 (0)
	3.0 分	∞	∞	∞	∞	2	0	90 (72)	1 (0)
	1 時間	∞	∞	∞	∞	0	0	178 (172)	1 (0)
	2 時間	∞	∞	∞	∞	0	32 (0)	152 (0)	0
	3 時時	∞	∞	∞	∞	0	44 (1)	140 (0)	0
	2.4 時間 pH	7.2	7.2	7.2	7.2	7.8	7.0	7.0	7.5
細菌數		0	0	0	0	0	0	0	0

上表より明らかなる如く *E. coli* は *B. megatherium* よりも Methylviolett に對する感受性が遙に小である. 同時に第 3 表の成績と本表の成績とを比較してみると, アスパラギンの細菌保護作用は Methylviolett に對しては餘り顯著でない事が分る.

B. megatherium の場合には菌發育阻止作用及び菌復活現象が顯著である. 水道水と蒸溜水との成績を比較すると大腸菌の場合は差異が見られないが, *B. megatherium* の場合は水道水の方が蒸溜水より殺菌の進行良好で, 且つ菌の復活が見られない點など相當顯著な差異がある. 又殺菌劑投入後の pH の低下が, 水道水は蒸溜水に比し少いことは鹽素消毒の際にも觀られたが, 此の場合にも確認せられた.

(B) 酸性フクシンの成績.

酸性色素の一例として酸性フクシンを實驗に供したが, 本色素の殺菌力の薄弱なることは既に河合⁽⁶⁾, も報告した所である. 實驗成績は以下第 9. 10. 11 表に示す如くで, 本色素の殺菌力は極めて微弱で殆ど認められない. 又アンモニアの併用も認むるに足る効果を挙げ得なかつた. 即ち 3~6.5g の酸性フクシンをアスパラギン 5 p.p.m. 含有水 1 l. 中に投入して (0.3~0.65%) 漸く若干の菌發育阻止作用を認め得たに過ぎない. 本實驗に於ける供試菌は *B. megatherium* である.

第 9 表 アミノ酸 15 p.p.m.
(アスパラギン 10 p.p.m. アスパラギン酸 5 p.p.m.)
含有蒸溜水殺菌試験

酸性フクシン 投入前の pH		7.3					
酸性フクシン 投入量(p.p.m.)		50	20	5	50	20	5
アンモニア 投入量(p.p.m.)		1.5	1.5	1.5	0	0	0
殺菌劑 投入後 の状態	経過時間	生 残 菌 數					
	11分	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	30分	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	1時間	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	2時間	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	pH	7.3	7.3	7.0	6.8	7.4	7.4
	細菌數	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	3時間	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	24時間	∞	∞	∞	∞	∞	∞

註：供試水の pH は、表示の如く 7.3 としたが、之は供試水に豫定量のアンモニアを投入した結果の pH 値であつて、アンモニアを投入しない検體の pH は苛性ソーダ水にて修正して 7.3 とし、之に酸性フクシンを投入した。

第 10 表 アスパラギン 10 p.p.m. 含有水殺菌試験

處 置 前 pH		8.2					
基 體		蒸 溜 水			水 道 水		
アンモニア 投入量(p.p.m.)		3			0		
酸性フクシン 投入量(p.p.m.)		400	200	400	200	400	200
殺菌劑 投入後 の状態	経過時間	生 残 菌 數					
	30分	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	1時間	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	2時間	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	3時間	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	4時間	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	24時間	∞	∞	∞	∞	∞	∞

第 11 表 アスバラギン 5 p.p.m. 含有蒸留水殺菌試験

酸性フクシン 投入前の pH		7.4		8.5					
アンモニア 投入量		0		1.5 p.p.m.			0		
酸性フクシン 投入量		1 g	3 g	1 g	3 g	6.5 g	1 g	3 g	6.5 g
殺菌剤投入後の状態	経過時間	生 残 菌 数							
	15 分	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	30 分	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	1 時間	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	2 時間	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	3 時間	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	3 時間30 分	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	5 時間	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
	7 時間				∞	∞		∞	∞

註：1) 本実験の検水の pH は、先づ供試水の pH を總て pH 7.4 に修正した後で、その中の 3 個の検水に 1.5 p.p.m. のアンモニアを投入しとて、その pH 値は 8.5 となつたので、他の 3 個の検水の pH も苛性ソーダを以て 8.5 に修正した。その上で之等の検水にそれぞれ豫定量の酸性フクシンを投入した。

2) 3 乃至 6.5 g 投入の際に始めて多少の菌發育阻止作用が發現し、24 時間培養時の寒天平板の發生集落數及び各集落の大きさは、48 時間培養時の夫れに比し、何れも若干少く、且つ小であつた。

第四 總括並に結論

以上の成績を綜合し 結論を求むれば。

1) Methylviolet は 40~50 p.p.m. の投入量にて、大腸菌を供試菌とする pH 7.8~8.5 のアスバラギン 10 p.p.m. 含有水に對し有効なる殺菌作用を發揮する。而してアスバラギンの細菌保護作用は Methylviolet の際は鹽素消毒の場合と異り餘り顯著でない。

2) アンモニア前處理は Methylviolet の殺菌作用を多少劣弱ならしめるようであるが、之もとりたてゝ云うほどの影響はない。

3) Methylviolet は大腸菌に對するよりも有芽胞菌 *B. megatherium* に對して殺菌効果が大である。

4) Methylviolet による水の殺菌試験に於ては大腸菌、*B. megatherium* の何れに於ても、菌の復活現象が見られた。

5) 基體が蒸留水なるか水道水なるかによつて Methylviolet による水の殺菌狀況はかなり、相違する。

6) Chrysoidin の水に於ける殺菌力は Methylviolet に比すれば劣弱である。

7) 酸性フクシンには殺菌力の見るべきもなく、アンモニア前處置も殆ど無効である。

8) 以上の諸色素の細菌に對する作用を観るに、發育阻止並に殺菌の兩作用を認め得るが、兩作用ともアンモニア前處置の有無によつて多くの影響を受けることがない。

9) 以上の成績は水中に溶解分散するとき陽性に帶電し且つ表面活動性を有するような殺菌劑（以上の二點に於てはアンモニアも同様である）又は殺菌力微弱な殺菌劑に對しては、アンモニア前處置は多くの意義乃至必要性を持たないことを示すものであつて、アンモニア・鹽素法に於けるアンモニア前處置の主なる意義を、水中に於けるアンモニアの電氣的、物理化學的の動きに求めた著者の見解より歸納せられる所と一致する。

終りに臨み本實驗に種々有難き御指導並に本論文の御校閲と御援助を賜はつた 恩師細菌部長八田貞義博士並に細菌部員各位に深謝する。

引用文献

- (1) 齊藤功：厚生科學（要約），第 5 卷，第 2 號，3 頁（昭和 22 年）
- (2) 八田貞義，齊藤功，藤本進，中野愛子：厚生科學（要約），第 5 卷，第 2 號，2 頁（昭和 22 年）
- (3) 八田貞義，岩戸武雄，齊藤功，藤本進：厚生科學（要約），第 5 卷，第 2 號，1 頁（昭和 22 年）
- (4) Koschkin, M. L. : Z. Hyg, Bd. 116. S. 86. (1934).
- (5) 後藤格次：生物有機化學，404 頁。（昭和 5 年）
- (6) 河合直次：衛生學傳染病學雜誌，第 22 卷，89 頁。（大正 15 年）

Bulletin
of
The Government Hygienic Laboratories
Abstracts from Original papers

Leaf spot disease of *Stephania cephalantha* HAYATA
by Shigekatsu HIRAYAMA and Masaki YAMAMOTO

SUMMARY

The present paper deals with the results of the writers' investigations of the leaf spot disease of *Stephania cephalantha* HAYATA. The writers observed serious diseased leaves of that plant cultivated in Kasukabe, Saitama and Wakayama Pref. By detailed morphological, physiological and pathological studies the causal organism was identified as *Phyllosticta stephaniae* SAWADA.

The pycnidia of a strain isolated from the leaves of *Stephania cephalantha* in Kasukabe are $51.6-148\mu$ in size. The pycnospores of the present fungus are $1.99-5.00 \times 0.33-4.29\mu$ in size. Pycnidia formation was observed on carrot decoction agar, orange decoction agar malt agar, WAKSMAN's medium and CZAPECK's medium.

Its pathogenicity was proved by inoculation tests with spraying to the leaves of *Stephania cephalantha* but it was very doubtful to *S. tetrandra*.

The relation of temperature to the mycelial growth was determined by growing the mycelium on poured plates of WAKSMAN's medium at different temperatures. It was found that the most vigorous growth was at 24°C . and the highest limit for the growth was 32°C . There was no growth at 36°C .

Using WAKSMAN's medium, the relation of pH value of the culture media to the mycelial growth was studied. The results show that the optimum hydrogen-ion concentration for the present fungus was pH 5.0-6.0, but they were grew slightly in pH 3.0 and fairly well in pH 9.0.

Using sterilized distilled water and WAKSMAN's medium the relation of the temperature to the spore germination was tested. The percentage of germination of the fungus present was highest at 24°C .

Studies on the bacterial leaf spot of Jimson weed, (*Datura* spp). I

by Masaki YAMAMOTO

SUMMARY

The author observed a bacterial disease of Jimson weed, (*Datura* spp.) last summer in Kasukabe, Saitama Pref., and studies on its pathogen were undertaken.

The disease is very destructive in summer. When the plants are attacked, the diseased spots may appear on leaves and finally turn yellow resulting in early defoliation. The lesions usually appear at first as water-soaked. They are round, elliptic or irregular, and transparent, white or pale brown spots, frequently having a rather dark brown margin.

By microscopic observation many bacteria were found in the diseased tissues and pure cultures were easily obtained.

Description of the present bacterium is as follows: The pathogen is motile, possessing one to three polar flagella. It is short and rod-shaped with rounded ends, occurring singularly or in pairs. No spores nor capsules have been observed.

The cells measure 1.3 to 2.2 by 0.3 to 0.7 μ on beef extract agar. They are readily stained with carbol fuchsin, gentian violet and methylen blue. The organism is Gram negative, is not acid-fast, and is aerobic. The colonies on beef extract agar are white to pale yellowish, circular, smooth, flat or raised with regular margin. Gelatin is liquified in napiform, milk cleared after coagulation and litmas becomes red in milk. It grows well in USCHINSKY's solution but poorly in COHN's solution. Nitrates are reduced to nitrite. Ammonia, hydrogen sulphide and indol are produced. Dextrose, sucrose and glycerin are fermented with the production of gas, however lactose is not fermented.

The organism is resistant to NaCl by 8%, but they cannot develop below pH 3.0. The organism has diastase, invertase, lactase, maltase, pepsin and pectinase.

The optimum temperature for their growth is about 32°C, and the organism dies in ten minutes at their thermal point which is approximately 55°C.

The group number of this organism is Bact. 211.1211011.

The organism is pathogenic to the leaves of Jimson weed (*Datura* spp.) and tomato.

Some Experiments on The Cultivation of Datura-Alba.

by Yosimi HIRAMA.

SUMMARY

The autor has now been engaged in an investigation about the relation between the plantation and the crops of datura, and some results will briefly be reported here.

1. The influence over the germination by the depth of covered earth.

According to the experiment on the depth (0-10cm.) of covered earth on sandy loam soil, the most suitable depth for germination is 1.5-2.0cm.

2. A comparison between the crop by direct seeding and that by transplantation.

The crops of transplantation are estimated to have an increase of 20 % in leaves, and 25 % in seeds against that of seeding, and so the author is inclined to conclude that the method of transplantation should be adopted if possible.

3. The relation between the methods of plantation and their crops. Ridge-plantation always gets an increment of 35 % in leaves, and of 40 % in seeds, against an ordinary plantation. The former, therefore, is thought to be much better, and it may be more suitably adopted when taking advantage of a vacant ground, or when still unexperimented person wishes to start a plantation.

4. The influence of germ picking over the crops of leaves and seeds.

The crop of leaves on pinching section shows an increase of 54 % against the crop obtainable from a non-pinching one, but on the contrary, the crop of seeds shows a decrease. There is no great difference between the two methods as to the total sum of crops after all.

Biological studies on the poisonous wheat flour (1)

Shigekatsu HIRAYAMA and Masaki YAMAMOTO

SUMMARY

During the period from September to November in 1946, several cases of food poisoning occurred in a section of Tokyo and its cause was suspected of being the wheat flour distributed in that district. We examined microscopically samples of the wheat flour and could not prove any contaminant in them. Then we tried to isolate the causal microorganism from them. By isolation experiments of the wheat flour and of the rest of the wheat grains, we isolated some strains of *Fusarium* from them, however we could not find any *Fusarium* spp. from non-poisonous wheat flour.

The cultural characteristics of these *Fusaria* were investigated, but it is not yet determined that they belong to *Gibberella saubinetii*.

As a result of our experiments it is considered that intimate relationship might exist between the food poisoning and the *Fusarium* infested wheat grain.

On the Infectivity (Parasitism) of *Claviceps litoralis* KAWATANI

on Barley, Wheat, Rye, and Oats

Studies on the Ergot Fungus of American

Dunegrass (*Elymus mollis* TRIN.) III

by Toyohiko KAWATANI

Résumé

Ergot of cereal crops especially of rye, the pathogene of which is *Claviceps purpurea* (FR.) TULASNE, is considered to be a disease of great importance. Infected rye crops mingled into flour are, moreover, a menace to rye-bread consumers, being capable of producing a disease known as ergotism. On the other hand, the ergot or sclerotia of *C. purpurea* collected from rye crops are a well-known drug called "Secale cornutum," which is listed also in the Japanese Pharmacopoeia and has long been used in medicine of outstanding importance. There has, however, been no production of the rye ergot of commerce in Japan. Therefore, a great amount of it had been imported from Russia and Spain, until the importation was stopped in 1941 because of the second World War. In recent times, a number of tests to cultivate artificially the rye ergot (*C. purpurea*) on rye plants in the field (namely, the artificial or parasitic cultivation of the rye ergot) have been made in Japan, but these can not be said a success, so far as the content of alkaloid is concerned. The author, aiming at the self-sufficiency with the home-grown ergot in Japan, has been studying for years on the ergot fungus parasitic on the poaceous plant of American Dunegrass (*Elymus mollis* TRIN.) which wildly grows in abundance on the seashores of the northern part of Japan (namely, Japanese Saghalien viz. Saghalien 50° N. L. southward, the Kurile Islands, and Hokkaido), as a substitute for the rye ergot "Secale cornutum" in the Japanese Pharmacopoeia. And he, in the course of study, had found this fungus to be a new species and published a report on it recently, in which it was described as *Claviceps litoralis* KAWATANI. The present paper herein reported is the results of studies on the infectivity (parasitism) of *Claviceps litoralis* KAWATANI on barley, wheat, rye, and oats, experiments of which were made by use of

ascospores and conidial culture of this fungus in 1943 and 1944, and, at the same time on the content of alkaloid of the ergot of this fungus developed on barley in this way. This paper is the third part of the "Studies on the Ergot Fungus of American Dunegrass (*Elymus mollis* TRIN.)."

The results are briefly summarized as follows:

1. The infectivity of *C. litoralis* is recognized on ordinary barley (two-rowed, both the erectum (*Hordeum distichon* L. var. *erectum* SCHÜBL.) and the nutans (*H. distichon* L. var. *nutans* SCHÜBL.), four-rowed (*H. vulgare* L.), and six-rowed varieties (*H. hexastichon* L.) and hull-less barley (two-rowed (*H. nudum* L.), four-rowed (*H. vulgare* L. var. *nudum*), and six-rowed varieties (*H. hexastichon* L. var. *nudum*)). On the contrary, there is no infectivity of this fungus on wheat (common wheat (*Triticum vulgare* VILL.)), rye (*Secale cereale* L.), and oats (common oats (*Avena sativa* L.), sided oats (*A. orientalis* SCHREB.), and hull-less oats (*A. nuda* L.)).

2. The percentage of the infectivity of *C. litoralis* on two-rowed barley (comprising both ordinary barley and hull-less barley) is higher than that on four-rowed and six-rowed barley. The percentage of the infectivity of *C. litoralis* on barley (comprising both ordinary barley and hull-less barley) is much lower than that on American Dunegrass.

3. The size of the ergot of *C. litoralis* developed on barley was 5.0–18.2 mm in length, 1.2–3.0 mm in width, and 10–66 mg in weight. The size of the ergot developed on two-rowed barley showed a tendency to be larger than that developed on four-rowed and six-rowed barley. Moreover, the size of the ergot developed on hull-less barley showed a tendency to be somewhat larger than that developed on ordinary barley.

4. The infectivity of *C. litoralis* on barley is independent of pollination of the host plant. That is, the infection with *C. litoralis* on barley occurs also at the stage of two to three days before anthesis (pollination), and the percentage of the infectivity is somewhat lower than that in the control (in which the infection occurs at the stage of anthesis). The size of the ergot in this case was generally smaller than that in the control. On the other hand, the infection with *C. litoralis* on barley occurs also at the stage of one, two, and three days

after anthesis (pollination), and, the later is the time of infection after anthesis, the lower the percentage of the infectivity shows a tendency to be. The size of the ergot in these cases showed no difference from that in the control.

5. Because many investigators are not always of the same opinion concerning the problem whether barley opens its glumes at the time of anthesis or not, the author has re-observed this phenomenon precisely, and has discussed the relation between the resistance of barley to *C. litoralis* and the opening of its glumes.

6. The blossoming season of barley cultivated in Japanese Saghalien and Hokkaido, where hull-less barley is much more extensively cultivated than ordinary barley, coincides partially or totally with that of American Dunegrass, the latter growing naturally and abundantly on the seashores in these districts. Therefore, the barley cultivated along the seashores in the vicinity of American Dunegrass in these districts has a probability of infection with *C. litoralis*, according to varieties of barley and environmental circumstances.

7. The ergot of *C. litoralis* artificially cultivated on barley has proved to contain a conspicuous amount of alkaloids, independent of pollination of the host plant and the time of infection. The amount of total alkaloids of the ergot of *C. litoralis* artificially cultivated on barley (0.846–0.987 %) shows no great difference as compared with that of *C. litoralis* both artificially cultivated and naturally grown on American Dunegrass (0.976–1.124 %, 1.162 % respectively), and is far greater than that of *C. purpurea* naturally grown on rye in foreign countries. This fact is a very noticeable point in the artificial cultivation of the ergot.

December 23, 1944.

Experimental Farm for the Cultivation of

Medicinal Plants: Kasukabe-Machi, Saitama-Ken.

Government Hygienic Laboratory, Tokyo.

Studies on the antibacterial substance
obtained from *Aspergillus fumigatus* (I)
Shigekatsu HIRAYAMA and Masaki YAMAMOTO

SUMMARY

1. A species of *Aspergillus* which produces antibacterial substance was isolated from air. The present fungus is similar to *Asp. fumigatus* in its morphological characteristics.
2. The factors which affect the production of antibiotics against *Staphylococcus aureus* are as follows:
 - a. The optimum pH value is 4-5.
 - b. The good carbon sources are glucose, fructose, sucrose, mannose, maltose, citric and succinic acids, and those of lesser importance are galactose, lactose, cellulose, malic, tartaric, benzoic and oxalic acids.
 - c. The optimum concentration of carbon source is 3-5 per cent.
 - d. As a nitrogen source, nitrate is most suitable. The nitrogen sources which acidify the medium extremely during the fermentation are inadequate. The optimum concentration of nitrate is higher than 3 per cent.
 - e. The addition of yeast extract does not promote antibacterial activity.
3. The water extract of various plant products is not suitable.
4. The juice of citrus fruit and the waste sap produced during the manufacturing of citric acid are valuable for the present purpose.
5. The antibiotic substance in the culture filtrate is comparatively thermolabile.
6. The biostatic substance for Gram-negative bacteria (*E. coli* and *Bact. tumefaciens*) is produced in the earlier stage of the present fungus culture.

Color reaction of vitamin B₁

by Shuntaro OGAWA

Among many chemical compounds P-amino benzoic acid ethyl ester and P-phenetidine have been found to react as the diazotizing reagents substituted in place of the so-called Prebluda-Mc' Collum reagent.

Conditions of pigment formation, physical and chemical properties of the pigments, their applicability to vitamin B₁ determination etc, have been discussed.

Conversion factor of the Carr-Price reaction

by Shuntaro OGAWA Toshikazu TABATA

By the study of conversion factor between Carr-Price reaction and international unitages determined by spectrophotometric method ($E_{1cm}^{1\%} 328m\mu \times 1600$) with various fish liver oils, there found a functional relation between them. Empirical formulae and figures have been established for practical purpose.

A rapid and simple vitamin A determination

by Shuntaro OGAWA Toshikazu TABATA

Device of permanent color standard solution available for the colorimetric determination of Vitamin A in fish liver oils, which consisted of the solution of Cupric-Ammonium-sulfate and Cobaltous chloride.

Adequate comparison has been made with this standard and blue color obtained from 15~25 international units of vitamin A by Carr-Price reaction.

Limit of the error of this method was within 15%.

昭和二十三年 十 月二十五日 印 刷

昭和二十三年十一月 一 日 發 行

著 作 者

厚生省東京衛生試験所

横濱市戸塚區小菅ヶ谷町

印 刷 者

和 田 直 輔

横濱市戸塚區小菅ヶ谷町

印 刷 所

農業科學研究所印刷部