

No. 69.

Dec. 1951

BULLETIN
OF THE NATIONAL
HYGIENIC LABORATORY

Yoga, Setagayaku, Tokyo, Japan.

衛生試験所報告

第六十九號

昭和二十六年十二月

國立衛生試驗所

東京都世田谷区玉川用賀町

衛試

Bull. Hyg. Lab.

投 稿 規 定

1. 本「報告」には当所員（共著者はこの限りでない）の研究報告の原著，他の刊行物に掲載した原著の抄録その他を収載する。

2. 原稿は当所所定の原稿用紙（編輯者又は在庫係の手許にある）に平かな交り横書（外国語系の言葉は片かな）で明確にかき，表紙を付けず上部を綴ぢ，ページ番号を記入する。記述はつとめて簡潔を旨とし，当分所定の原稿用紙 30 枚（刷上り約 7 頁）以内とする。その他に欧文抄録及びその和文原稿を添付すること（本文の原稿とは離して別紙に書く）原稿の長すぎる時は著者と打合せの上適宜短縮又は分載する。

欧文は出来るだけタイプライターで認め，やむを得ない場合は「活字体」で書くこと。

文章はなるべく平易に当用漢字，新かなづかいを用いる。薬品名，化学用語は出来るだけ薬局方，新制化学用語集（文部省監修）によること。

3. 標題その他の形式を次のようにする。

市販ビタミンA製剤試験成績

小川俊太郎，太幡利一，国東寿夫

A Survey of the Commercial Vitamin A Preparations

Shuntaro OGAWA, Toshikazu TABATA and Toshio KUNITO

（即ち タイトルの語は定冠詞，前置詞，接続詞を除き大文字で書き始め，姓はスモールキャピタルで書く）

本 文

SUMMARY（及びその和文原稿）

4. 図，表，構造式等は白厚紙に墨書（青インクは不可）する事。大きさは収載図版の 1~2 倍大とし説明のための文字は鉛筆で書く，説明には第 8 図，V 式の如く通し番号を用い，説明には必ず欧文を付ける事（欧文のみでもよい）。各の裏面に題名，著者名，挿入箇所を記入し，袋に入れて提出し，本文には図表の入る位置だけを示す。

5. 表の数値に対する単位は説明語の後にカッコに入れて記入する。数の単位は 3 桁法によりコンマを以て区切り小数点はピリオドを用いる。

6. 引用文献は文章中に肩文字を用い ¹⁾ のように番号を付し，報文の終りに一括する。

引用文献は次のように書く。

5. Itai, T., Kuwahara, S. and Kashima, T.: J. Am. Chem. Soc., 50, 11~20 (1951).

雑誌の略号は形容詞などもキャピタルで書く。連名のときは最後の著者の前に and を入れる。巻数はゴチックとし，年号は最後に入れる。その巻の号数が入りたいときは 50 (1), 11~20 のようにする。若し巻数がなくて年号で代用するときは年号の数字をゴチックにする。

同じ番号の下に文献 2 種以上を記すときは；（セミコロン）で区切る。

7. 略字は次の規定に従うこと。

キログラム	kg	立方センチメートル	cc
グラム	g	時	hr
ミリグラム	mg	分	min
ガンマ	γ	秒	sec
メートル	m	摂氏温度	25°
センチメートル	cm	融点	mp, Fp
ミリメートル	mm	沸点	bp, Kp
マイクロン	μ	分解点	dp, Zp
オングストローム	Å	比重	d
カロリー	cal	規定液	n-, n/100-
キログラムカロリー	Cal	屈折率	n
リットル	L	旋光度	α
平方センチメートル	cm ²	水素イオン濃度	pH

上の場合 略字符は全部省略すること

目 次

ビタミンE定量法の改良	小川俊太郎, 太幡利一	1
Rutin の定量に就いて (第一報) Rutin の簡易比色定量法私案(予報)	市川重春, 鈴木繁	10
Rutin の定量に就いて (第二報) Rutin の簡易比色定量法私案(続報)並 Rutin の新定量私案	市川重春, 鈴木繁	17
法防疫用除虫菊乳剤の試験規格及びこれに関する註解と実験成績	山口孝長, 沢元夫, 安部壮平	21
硝子容器に就いて	藤井正道, 畑部隆	30
ズルチン中パラフェネチジン検出法の検討	福沢富美	36
醬油中ロダン酢酸エチルエステルを検出法	大岡増二郎, 藤井清次, 福沢富美	41
飲食物中防腐剤及び人工甘味料の検出に対するペーパークロマトグラフィの応用に関する研究	鹿間嘉久蔵, 大熊誠一	48
避妊薬の殺精子力についての実験的研究 (II) 避妊薬の基剤について考察	功刀博	56
避妊薬の殺精子力についての実験的研究 (III) 妊薬の力価測定法に関する検討	功刀博	58
ケンゴ子の生薬学的検討	長沢元夫	61
青酸カリ中毒の組織学的研究	池田良雄	76
有機ロダン化合物の毒物学的研究	横井泰生	94 96
浜名湖産貝類の毒成分に関する研究 (第一報)	八田貞義, 板井孝信, 宮本晴夫	107 109
ニトロフラゾールの抗菌作用についての研究	八田貞義, 青山好作, 丹治屋枝	111 118
フラン誘導体のレプトスピラに対する作用について (試験管内の抗菌価)	山地幸雄	118 120
イオン交換樹脂の発熱物質産生菌に対する抗菌作用並にその作用本態について	八田貞義, 青山好作, 林長男, 中島富子	124 126
除虫菊 (シロバナムシヨケギク) の開花と結実について	木下孝三	130 132
チョウセンアサガオの葉枯性細菌病に関する研究 (第3報) 病原細菌の薬剤に対する抵抗性について	山本昌木	136 138
ハトムギの葉枯病に関する研究	平山重勝, 山本昌木	147 149
薬用植物の土壌肥料的調査 (第3報) 除虫菊ミヨモギに就いて	永田武雄	156 158
<i>Claviceps litoralis</i> KAWATANI による麦角の寄生的栽培に関する研究 (其の3)	川谷豊彦	165
抄 録		223

C o n t e n t s

S. Ogawa and T. Tabata : Some Improvements on the Determination of Vitamin E.	1
S. Ichikawa and S. Suzuki : On the Determination of Rutin (1)	
A Simple Colorimetric Determination of Rutin (Predication)	10
S. Ichikawa and S. Suzuki : On the Determination of Rutin (2)	
A Simple Colorimetric Determination Method of Rutin (Supplement)	
and a New Determination Method of Rutin.	17
K. Yamaguchi, M. Nagasawa and S. Abe : Requirement of the Pyrethrum	
Emulsion for Epidemic Prevension with Commentary and Experimental Data.	21
M. Fujii and T. Horibe : Studies on the Glass Containers.	30
H. Hukuzawa : On the Detection of <i>p</i> -Phenetidine as an Impurity in Dulcin Preperation.	36
M. Ōoka, S. Fujii and H. Hukuzawa : Detection of Thiocyno Acetic Acid Ethyl Ester in Soy-Sauce. ...	41
K. Shikama and S. Ōkuma : Studies on the Detection of Preservatives and	
Artificial Sweetners in Food by Method of Paper Chromatography (1).	48
H. Kunugi : Experimental Studies on Spermicidal Effect of Contraceptives (II).	
Studies on Contraceptive Base.	56
H. Kunugi : Experimental Studies on Spermicidal Effect of Contraceptives (III).	
Studies on Measurement of Spermicidal Power of Contraceptives.	58
M. Nagasawa : Pharmacognosical Studies on <i>Pharbitis</i> seed, "Ch'ien-niutzu".	61
Y. Ikeda : Histological Studies of Potassium Chloride Poisoning.	76
Y. Yokoi : Pharmacological Studies of Some Organic Thiocyanates.	96
S. Hatta, T. Itai and H. Miyamoto : Studies on Lake Hamana Oyster and	
Other Shellfish for Poisonous Substances.	109
S. Hatta, K. Aoyama and S. Tanji : Experimental Studies on the Antibacterial	
Action of Nitrofurazone-derivatives.	113
Y. Yamazi : On the Action of Nitrofurane Derivatives against <i>Leptospira</i>	120
S. Hatta, K. Aoyama, S. Tanji, N. Hayashi and T. Nakajima : The Nature of	
Anti-bacterial Action of Ion-exchange Resin against the Pyrogen-producing Bacteria.	126
K. Kinoshita : Studies on the Flowering Phenomena and the Fructification	
of Insect Flowers.	132
M. Yamamoto : Studies on the Bacterial Leaf Spot of Jimson Weed (<i>Datura</i> spp.) (III).	
On the Resistance of the Causal Bacteria to Various Chemicals.	138.
S. Hirayama and M. Yamamoto : Studies on the Leaf Blast of Job's tears	157
T. Nagata : Studies on the Soil and Mannure of Medicinal Plants (Part III)	
Insect flower and "Mibuyomogi", a Santonic Plant.	158
T. Kawatani : Studies on the Parasitic Cultivation of Ergot with <i>Claviceps litoralis</i> KAWATANI (3)	165
Abstracts	223.

ビタミンE定量法の改良

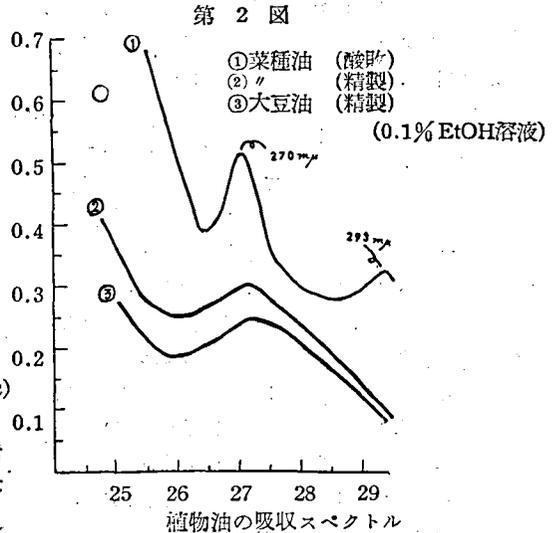
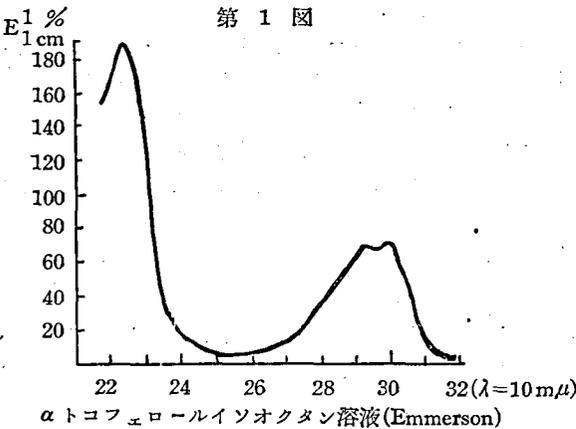
小川俊太郎 太幡利一

Some Improvements on the Determination of Vitamin E.

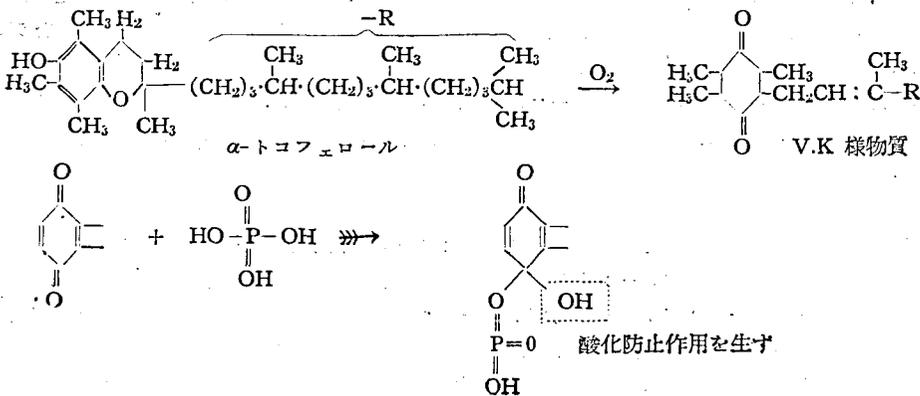
Shuntarō OGAWA and Toshikazu TABATA

著者等は従来のビタミンE定量法を種々検討し若干の改良すべき点を認めたので、その改良法を示すと共に著者等の考案した定量法の実用性に就いて報告する。

1. ビタミンEの吸収スペクトルについて Eのアルコール溶液に於ける極大波長は289m μ にある⁶⁾。吸光係数の極めて小さい物質であるので、純粋か又は相当濃度の高い物質に於ては測定し得るが、植物油中にはE以外にステリン、植物色素、カロチン及びE酸化物等が混在し、特にE酸化物は270m μ 附近で比較的大きな吸光係数を示すヒノン様の物質である為、298m μ の測定値の見かけの値を高くし非常に不整な吸収曲線を与える。



第2図に示す如く植物油の酸敗の程度により270m μ 附近の吸収は増大し、又ラードの如くEを破壊する物質の存在する油脂中にも270m μ の吸収を著しく認めるので、これがヒノン性物質である事を確認する為次に実験を試みた。即ちこれ等の油分に燐酸0.04%程度を添加してビタミンA酸化防止能力試験⁷⁾を行つた結果明らかにヒノン特有の防止能力が現れる事を知つた。又この物質が油脂の酸化を人工的に行つた場合も同じく吸収スペクトル上に現れ、分子蒸溜によつて130~150°C附近に溜出の極大部分が存在する事も認めたので恐らく次の如き型を取るものと考えられる^{7,8)}。



EはビタミンAよりは安定であるが、やはり酸素及紫外線による分解を受け易いのですべて試料は不活性ガス気流中で取扱う。即ち酸化により吸収スペクトルに大きな影響を及ぼす。

2. $\alpha\cdot\alpha'$ -Dipyridyl による呈色反応 (Emmerie-Engel 法)¹³⁾ ビタミンEによつて塩化第2鉄が還元し、第1鉄イオンが生じ、これを、 $\alpha\cdot\alpha'$ -Dipyridyl によつて比色定量出来る。(o-Phenanthrolin も亦 $\alpha\cdot\alpha'$ -Dipyridyl 同様な調の化合物を生ずる) 本法は迅速で且塩化金による電圧滴定法¹⁴⁾に比し簡単に極く少量のEの定量も可能である。o-Phenanthrolin は第1鉄イオンとDipyridyl で生ずる赤色よりは濃い色を生ずるがこの色の濃度は第1鉄イオンとEの濃度に正確には比例しないから、Dipyridyl が選ばれた。塩化鉄のEによる還元は $\alpha\cdot\alpha'$ -Dipyridyl · EtOH 溶液の存在の爲迅速且完全に行われる。即ち塩化第2鉄の還元によつて生ずる第1鉄イオンは直ちに $\alpha\cdot\alpha'$ -Dipyridyl と結合して安定な色素となる。

カロチンは、塩化鉄によつて無色の化合物に酸化されるがDipyridyl が存在しなければ不完全な酸化を受ける。Dipyridyl の存在に於てEの1molは塩化第1鉄2molと反応する。

天然品の場合は油分を鹼化処理することなしに行ふ事が出来るが、不鹼化物に就て測定した方がよい。それは天然油脂の色素がカロチンの定量を妨害する為で特に大豆油、菜種油、大麦胚子油、小麦胚子油、糠油等色が濃いものは鹼化処理した後にカロチン量を測定し表よりカロチンの盲還元分を補正する。

反応はエタノール溶液で行われるが、この際20%までのベンゾール、石油エーテル、ベンゼンの存在は比色に影響しないが、水、エーテル、クロロホルムの存在はそれが2~3%であつても比色を妨害する。

比色の最低限はEの0.01mg、最適限界は0.1~0.4mgのEがあるときである。

試薬 精製純エタノール：局方純アルコールを塩化カルシウム管を附した還元冷却器付コルベン中に苛性カリ(2.5/100量)と共に水浴上で8時間煮沸し然る後に粒状又は線状金属アルミニウムを添加して発生する水素気流中で分溜し初溜(10%)及後溜(10%)を除去する。

過クロール鉄溶液：無水結晶性過クロール鉄を各々0.1g宛乾燥器中で小アンプルに封入し用に臨んで1アンプルを精製純エタノール50ccに溶解する。

(註：毎日新製し、溶液は湿気を断つて保存する。)

$\alpha\cdot\alpha'$ -Dipyridyl 溶液：0.1g宛をアンプル中に封入し用に臨んで精製純エタノール20cc中に溶解する。濃厚溶液(5%)として保存する場合1ヶ月間は安定である。

鹼化用10N. 苛性カリ溶液：苛性カリ60gを秤取して水を加えて全容を100ccとする。この液2ccを純メタノール8ccで稀釈し2Nメタノール性カリ溶液として使用する。

鹼化用メタノール：純メタノールを使用する。

鹼化用エーテル：局方エーテルを5%硫酸第1鉄で洗滌し洗液がロダンカリ溶液を赤変しなくなるまで水洗して脱水芒硝で脱水蒸溜して保存する。

クロマト用アルミナ：硝酸(d=1.4)に金属アルミニウムを加え、徐々に加熱濾過し、3N·Al(NO₃)₃となるまで水で稀釈してこれに約20%苛性ソーダ溶液を加えてpH7.0で水酸化アルミニウムを沈澱させる。これを温湯で数回洗滌し、初め100°Cで次に電気炉で400°C4時間焼成する。然る後に蒸留水を入れ攪拌し暫時静置し乳濁液を傾瀉し又蒸留水を加えて同様に繰返すこと数回して更に電気炉400°Cで1時間煅焼したものをデンケーター中に保存する。

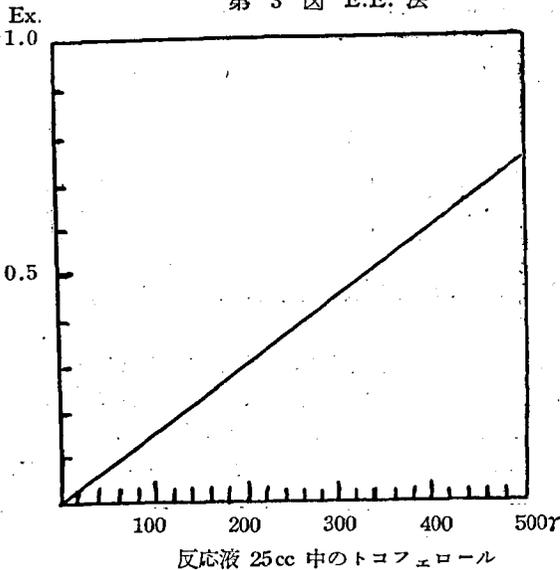
クロマト用石油エーテル：日本石油製石油エーテルを再蒸溜して使用する。

クロマト用ベンゾール：市販ベンゾールを濃硫酸で2回洗滌し、水洗、塩化カルシウムで脱水蒸溜し初溜10%を除去する。

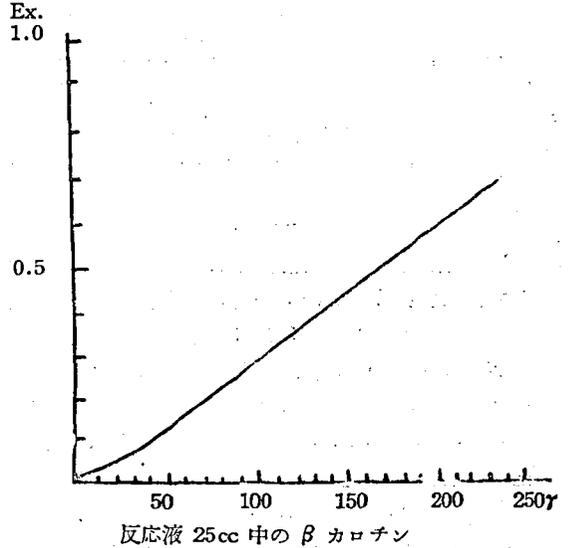
植物油及分子蒸溜各溜分中のEの定量法 油の鹼化：1g中E2mg以上を含有する油は鹼化の必要を認めない。5gの油を10ccの2Nメタノール性カリ溶液で窒素気流中に10分間煮沸し、15ccのメタノール及び40ccの水を加え、各50ccのエーテルで3回抽出する。エーテル溶液はゆるやかに2回水洗し、N/2苛性カリ液で洗滌し、石鹼分を除去し洗液が中性を呈するまで水洗を繰返す。抽出液は薄い(1~2cm)塩化カルシウム層を通過させて、水浴上に乾燥炭酸ガス気流中で蒸発させた後、純エタノールで適量に稀釈する。

呈色及び測光：上に得た溶液 1cc (V.E 0.1~0.4mg 含有) を 25cc メスシリンダー中にメスピベットで秤取しこれに 0.2% 塩化第 2 鉄溶液を加え混合した後、0.5% $\alpha\text{-}\alpha'$ -Dipyridyl 溶液を加えて 0.2% 塩化第 2 鉄溶液を使用し全容を 25cc とする。(註・この時純エタノールを使用するとその中にアルデヒド又は水分が混在するため呈色は著しく減ずる事がある) こゝに呈色する Fe-Dipyridyl の赤色を 15 分後にブルフリッヒ光度計で S50 フィルター、液層 1cm で測定する。[註・湿度が高い時は呈色液が濁る事があるが、濾紙で濾過すると濾紙中に吸着されてしまうから硝子漏斗を使用しなければならない] 塩化第 2 鉄液と $\alpha\text{-}\alpha'$ -Dipyridyl で対照液を作り光度計の他の側に入れる。第 3 図は E の標準曲線である。

第 3 図 E.E. 法



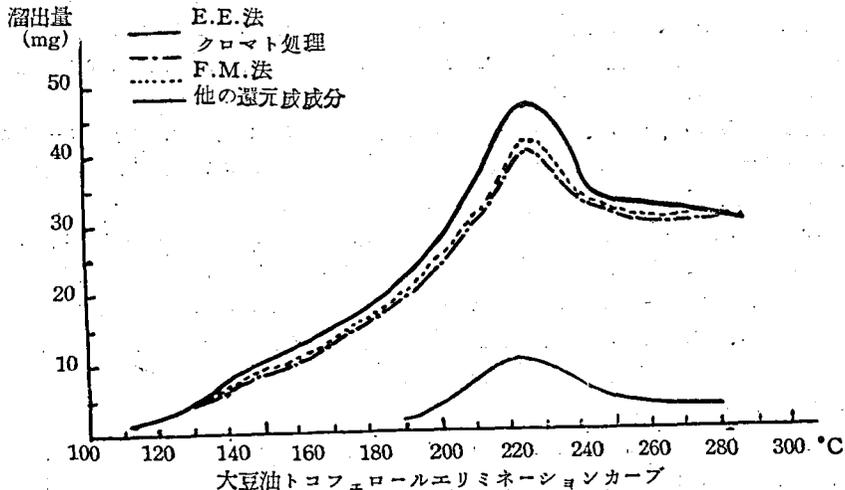
第 4 図



吸着操作：以上の如く操作して定量した場合カロチンも亦塩化第 2 鉄と反応するので濃厚に存在する場合はカロチン量を測定して第 4 図よりカロチンによる盲呈色を減じなければならないというが著者等の実験した結果より考察すればカロチンを除去してもまだ Furter-Meyer 法 (後出) より高い値を示すので Emmerie-Engel 等の使用した Floridin-XS-Erde の代りに合成アルミナ (試薬の項参照) を用いて混在する還元性物質を除去する事を得た。

以下の如く操作して還元性物質を除いた後の測定値は Furter-Meyer 法によく一致した。

第 5 図



即ち吸着管は内径 0.7cm 長さ 20cm で石油エーテルを飽和させたアルミナ (吸着層 5cm) を入れ不純化物の石油エーテル溶液を上から加えて吸着を行う。吸引瓶は水流ポンプで吸引し石油エーテルが1分間 25~30 滴 (約 1cc) となる様に調節する。石油エーテル溶液を上から加え更に石油エーテルで数回流下させてもカロチン及び澱物色素類は殆んど下降しない。故に E は吸着されることなしに石油エーテル溶液層に来る。

かくして得た石油エーテル溶液を水浴上で乾燥炭酸ガス気流中に蒸発させた後純エタノールに溶かし常法に従い呈色させる。

上記の吸着操作を用いて大豆油の分子蒸留々分及び米糠、大豆並びに綿実油中に E と共存する還元性物質を分離したところ第 5 図及び第 1 表に示す如き成績を得た。但し菜種や椿の油中には存在しない。

第 1 表

油名	方法	従来の方法	吸着を行う方法
糠の全油		1.2 mg/g	0.7 mg/g
大豆の全油		0.7 "	0.19 "
綿実油の不純化物		0.91 "	0.67 "

3. 硝酸々化による呈色反応 (Furter-Meyer 法)¹⁾ ビタミン E は熱時濃硝酸によつて酸化されて比較的安定な橙黄色 (λ_{max} , ca 470m μ) の色素を生ずる。

Furter 等はこの色素が E が硝酸により酸化分解される中間物 Tocopheryl-quinon と硝酸との Oxonium 塩様の化合物であるという。本法の特色は E に撰抗的に反応し、E 酸化物や共存する物質の多くは黄色となり、 β カロチンも硝酸によつて淡黄色となるので良質な単色フィルターを使用すれば測定妨害は来さない。

Emmerie-Engel 法は一定濃度の塩化第 2 鉄の黄色の存在のためデュボスクの比色計を使用する事が出来ないが、本法では標準色としてはメナディオオン (ビタミン K3) の再結晶したもの (純度 99% 以上) をアルカリ処理して生ずる呈色を利用し比色出来る。

試薬 0.1% 純メナディオオン・エタノール溶液 65% 純硝酸: 試薬用一級品
N/2 エタノール性カリ溶液: Emmerie-Engel 法参照 精製純エタノール: 同左
純アセトン(無水): 試薬用一級アセトンを塩化カルシウムで脱水し再蒸留する。

試料の呈色 検油 0.6g 以下(ビタミン E 0.3mg 以上を含有する)を内容 25~50cc の共栓検化コルベンにとり、純エタノール 5cc を加えて 5 分間水浴上に加温しつつ充分に振盪し溶解する。温時純硝酸 1cc を加え再び振盪しつつ 5 分間沸騰させて放冷する。油の析出した上清のアルコール溶液を 10cc メスシリンダー中に濾過し [註: 完全に冷時に行わないと濾液が乳状に白濁する。2. 濾液が白濁した場合は濾過を繰返す。濾紙は定置濾紙の比較的目の細かいものを出来るだけ小さくして使用する] エタノールを加えて全容を 6cc とする。油分は同一濾紙を用い他の 10cc メスシリンダー中に容器を熱アセトン 1cc で 3 回洗い込み全容を 6cc とする。この際冷アセトンを使用すると油分の塊は溶解しない。

測定は反応を始めてから 15 分~20 分後が安定であるから、ブルフリッヒ光度計、フィルター S 47 を使用し、吸光度を求め、エタノール溶液、アセトン溶液の E 値を和し第 6 図よりビタミン E 量を換算する。

デュボスクの比色計を使用して測定する場合はメナディオオンの純度の判明してあるものを精密に秤取し、エタノール溶液として 1cc 中 1mg 純メナディオオンを含有する様に作る。この 1cc を N/2 エタノール性カリ液 21cc でアセチルコルベン中で 2 分間水浴上に煮沸させて呈色せしめた液を第 6 図、第 7 図より試験液と比較して換算し得る。この標準呈色液とトコフェリールキノンの硝酸オキソニウムとの吸収スペクトルを比較すると、第 8 図の如く殆んど一致するので比色が容易であるが、470m μ 附近に Max を有するフィルターを自製 [このフィルターはローズベンガル又はエリスロシンとマラカイトグリーンを適当な割合にとかした液をゼラチン硝子上に染色して作る] して比色計の対眼レンズにつければ更に正確に行える。

4. E-E 法及び F-M 法の測定値の比較 著者等の吸着操作を加えた Emmerie-Engel 法及び Furter-Meyer 法の測定値は第 5 図に示す如く分子蒸留して濃縮されたものについては、非常によく一致するが、原料油に就ては、

全油の場合も不飽和物の場合もその差が著しい。E・E法の方が低い値を示す事が多い(第2表)。

この原因は不明であるが、Emmerie等もEの酸化物中に硝酸で酸化され赤色を呈するものがあるといっている。

次に著者等が植物油の解析蒸溜々分に就て両法により行つたEの定量成績を掲げる。表中測定値の1つしかないものは両法による値の一致した場合である(第3表~第7表)。

第2表

試料名		方法	
		F. M. 法	E. E. 法
糠油	全油	0.91 mg/g	0.70 mg/g
	不飽和物	1.03 "	0.50 "
大麦胚子油	全油	0.93 "	0.65 "
	不飽和物	0.97 "	0.42 "
大豆油	全油	0.30 "	0.19 "
	不飽和物	0.33 "	0.09 "

第3表 大麦胚子油の分子蒸溜(原油 1kg 東芝)

Fr	蒸溜温度°C	収量		ビタミンE収量			酸度	酸化数	ヨード数
		g	%	mg/g	総mg	%			
1~2	~110	21.5	2.15	0.07	1.50	0.1	198	199	92
3	~120	20.5	2.05	0.02	5.53	0.3	191	190	91
4	~130	31.7	3.17	0.39	12.00	0.8	185	198	94
5	~140	44.5	4.45	0.28	13.50	0.9	167	199	100
6	~150	77.7	7.77	0.34	19.51	1.3	157	190	115
7	~160	87.4	8.74	0.37	28.50	1.9	87.5	189	117
8	~170	86.2	8.62	0.43	34.48	2.3	60.3	182	118
9	~180	53.6	5.36	0.86	44.00	2.9	35.1	176	119
10	~190	38.6	3.86	1.34	51.10	3.4	16.3	173	119
11	~200	20.6	2.06	3.60	70.30	4.7	10.2	170	113
12	~210	11.0	1.10	10.20	112.40	7.5	9.7	158	110
13	~220	7.1	0.71	22.70	159.00	10.6	9.2	130	109
14	~240	8.7	0.87	53.33	465.00	31.0	8.4	135	108
15	~260	14.1	1.41	24.60	332.80	22.2	4.4	179	107
16	~280	18.4	1.84	8.33	151.40	10.1	4.1	187	103
17~18	~320	122.2	12.22	0.00	0.20	0.0	2.2	186	101
Res	—	336.2	33.62	0.00	0.00	0.0	0.3	190	107

第4表 大豆油の分子蒸溜 {原油 272 g (C.Y.O. 54 g) 326 g・工大}

Fr.	溜出温度 °C	溜出量 (g) (%)		色	E・E法総量	F・M法総量	E/F± (%)
1	100~110	3.3	1.1	白 固	3.46	3.26	+6.0
2	120~130	5.5	1.7	微 黄	4.24	4.13	+3.0
3	140~150	6.6	2.1	〃	10.23	9.90	+3.0
4	160~170	5.0	1.5	〃	14.60	14.00	+3.0
5	180~190	4.5	1.4	〃	19.80	18.68	+6.5
6	200~210	4.6	1.4	黄	31.70	30.10	+5.5
7	220~230	4.7	1.5	橙 黄	46.50	42.30	+9.5
8	240~250	5.1	1.6	橙	34.80	32.40	+7.0
9	260~270	6.3	1.9	淡 橙	32.90	31.50	+4.6
10	280~290	10.8	3.3	淡橙黄	30.30	30.20	+1.5
総 計		56.4	17.5	—	223.9	216.5	—

第5表 菜種油の分子蒸溜 (原油 650 g 東芝)

Fr.	溜出温度(°C)	溜出量 (g)	%	サイクル回数	E・E法 mg/g	F・M法 mg/g
1	180	3.02	0.46	1	22.01	21.64
2	240	3.24	0.50	1	30.70	30.54
3	270	48.45	7.45	3	8.50	8.35
4	〃	36.40	5.60	1	1.20	1.25

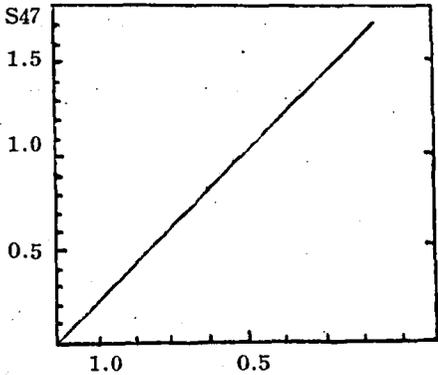
第6表 米糠油の分子蒸溜 (原油 1kg 酸度 34.79, 鹼化数 184.7, ヨード数 102.9 東芝)

Fr	溜出温度 (°C)	溜出量 (%)	酸 度	鹼 化 数	ヨード数	E・E法 mg/g	F・M法 mg/g
1	130	1.87	168.4	197.9	96.9	0.30	0.00
2	140	9.24	184.9	198.7	100.7	1.30	1.0
3	150	4.13	177.7	191.6	111.6	4.10	3.6
4	190	2.04	136.7	160.6	119.8	11.20	10.99
5	280	2.22	49.85	138.9	111.6	21.00	19.40
6	295	7.87	8.11	172.1	103.4	2.35	2.15
7	305	8.95	3.98	180.3	102.9	0.60	0.50
8	315	7.33	3.66	181.2	102.7	0.00	0.00
9	325	9.24	2.61	183.5	102.3	—	—
10	330	24.00	2.03	186.9	102.6	—	—

第7表 菜種油の分子蒸留 (原油 1 kg 東芝)

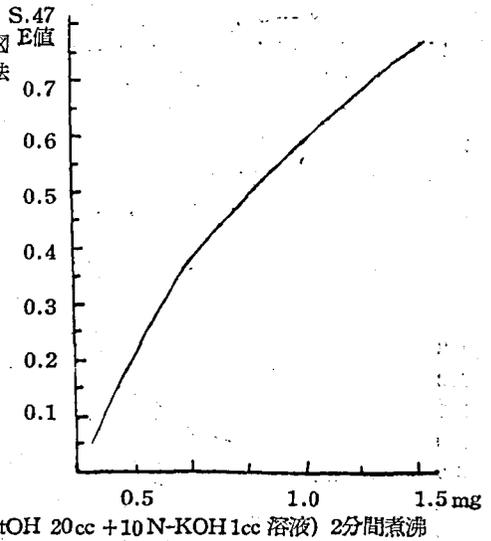
Fr	溜出温度 °C	収量 (g)	(%)	E・E・法(総mg)	F・M・法(総mg)
1	160	11.9	1.19	0.70	0.60
2	180	3.8	0.38	3.43	3.42
3	200	4.1	0.41	5.70	5.74
4	220	4.5	0.45	56.35	56.30
5	240	1.2	0.12	32.30	32.20
6	260	3.6	0.36	36.53	36.00
7	280	7.6	0.76	16.13	15.96
8	300	12.6	1.22	12.26	12.20
9	320	30.6	3.06	0	0
10	320	45.1	4.51	0	0
11	320	重量測らず	—	0	0

第6図 F. M. 法



反応液 1cc 中のトコフェロール mg 数

第7図 E値 F. M. 法



K₃(EtOH 20cc + 10N-KOH 1cc 溶液) 2分間煮沸

5. ビタミン A に対する酸化防止能を利用する E の定量法 E, 天然油中の自然防酸化成分及びヒドロキノン等合成防酸化剤の一定量が一定量の A に対する防酸化能は常温に於ける限り全く同程度であつて区別し難いが 80° 以上の高温, 並びに高湿の条件下にあつては, E を除く他の防酸化剤は著しく失効する. 例えば第 8 表に示す如くに, 高温であればたとえ乾燥気中であつてもすでに幾分 E が他のものに優る成績が現われ, 之に湿度の影響が加わると, 第 9 表に見る様に E 以外のものの効力は著減してしまう. この場合一定量の A に対する E の防酸化能は一定の範囲内に於て添加 E 量に比例し, E を添加した試料と添加せぬ試料の内に於けるビタミン A の完全酸化に至る迄の時間 (1 時間単位) を以て表わすことが出来る. 一例を示すと第 9 図の如き曲線を得る. 本図に於て縦軸は試料中の A に対する E の量比 (mg 単位), 横軸は A の完全酸化に至る迄の時間で, 量比と酸化時間が正比例するのは一定の至適限界に於てである. 但し, この曲線には再現性がないので, 定量の都度含量既知の E 標準液を保つて計量曲線を描かねばならない.

第 8 表 (乾燥気中)

試料名	試料の VE 含量 (mg/g)	添加量 E 量として	酸化防止能力	
			40°C 恒温器中	80°C 恒温器中
菜種油	20.0	1 mg	7.3	10.4
大豆油	19.2	"	6.2	7.8
米糠油	19.4	"	6.0	7.0
大麦胚子油 (1)	50.0	"	5.1	6.8
大麦胚子油 (2)	23.0	"	4.4	6.0
ハイドロキノン 添加	—	ハイドロキノン 0.2 mg	6.9	2.1
対照液	—	0	1.0	1.0

第 9 表 (湿潤気中) (E 添加量第 8 表に同じ)

種類	40°C 恒温器		80°C 恒温器	
	湿度 20%	全 100%	湿度 0%	全 100%
菜種油	7.3	7.2	10.4	10.0
対照	1.0	1.0	1.0	1.0
ハイドロキノン (添加) (0.2mg)	6.9	4.1	2.1	1.0

試薬及主要なる器具 精溜ベンゾール: Emmerie-Engel 法参照.

三塩化アンチモン試薬: 三塩化アンチモン 30 g をクロロフォルム 100 cc 中に溶解する.

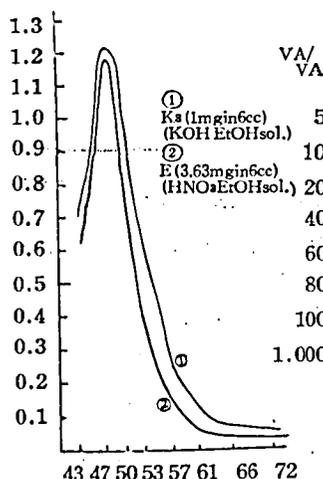
ビタミン A 油: 1~3 万 I.U. の肝油の新しい分子蒸留し 230°C 前後の溜分か、又は同上肝油を檢化処理して得た不檢化物を使用する.

濾紙片: 東洋濾紙 No.2 又はそれと同質の濾紙を巾 10~15 cm 長さ 50 cm 内外の帯状に断り、縦を 30 等分し横は 6~9 等分して、使用する。(第 10 図)

注射筒: 1~2 cc の比較的容量目盛の正確なツベルクリン用注射筒を使用する.

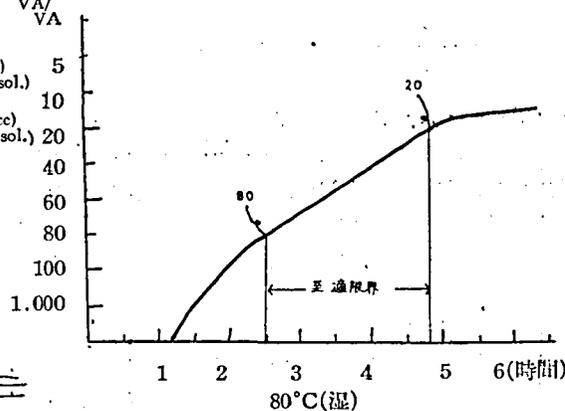
恒温器: 温度調節器を有する内容 30×30×30 cm 程度の電熱乾燥器又は孵卵器.

第 8 図



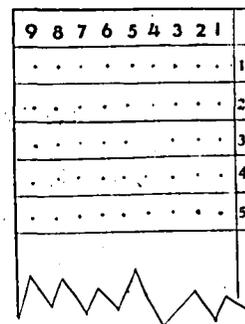
第 9 図

トコフェロールのビタミンA酸化防止能力と濃度との関係



第 10 図

ビタミン E 酸化防止能力試験用濾紙



上の No. は試料の種類及び濃度
右の No. は単位時間を記入する
右の No. 毎に切断してカルブライス反応を行ふ.

試料及び標準液の調製: 試料及標準ビタミン E のベンゾール稀釈液 (1 cc 中ビタミン E 0.1 mg 以上含有) をビタミン A I.U. 100,000 の中に油分に相当する $\frac{\text{純 V.E mg} \times 100}{\text{純 V.A mg}}$ が各々 0.5, 1.0, 2.0 即ち、標準ビタミン E は

0.15 mg, 0.3 mg, 0.6 mg となる様にピベットを用いて添加し、ベンゾールを加へて全容 10 cc とする。故に、このベンゾール溶液 1 cc 中にはビタミン A が 10,000 I.U. 含有されてゐる。

別に試料を添加せず同量のビタミン A をベンゾール 10 cc に稀釈した液を対照液として使用する。

測定：上に調製した対照液、試料及び標準液を各々注射筒にとり、第 10 図に示す様に、各検体毎に夫々縦に一列に同容量を滴下し、濾紙上に展ろげる。先づ 40°C 乾燥恒温器中に保存し、各々一定時間 (30~1 時間) 毎に一片宛を切断し、三塩化アンチモン試薬を点滴して、その呈色の紫変及赤変する時間を求める。〔註：安定剤の種類によつては赤変する点が求めにくい場合が多いので、紫変する点も考慮に入れた。例へば紫変から赤変までの時間は 30 分から数時間に及ぶ〕この両者の平均をとり酸化防止時間とする。

第 8 表の数値は還元性物質 0 の場合の時間を 1.0 とした場合の各油脂中に含まれる酸化防止成分の酸化防止時間比である。

同時に同条件で行つた標準ビタミン E の示す酸化防止時間より、第 9 図の如き曲線を描き、これと対照して検体の示した酸化防止時間よりその中のビタミン E 量を知ることが出来る。

同様にして 80°C 恒温器 (高湿) 中に保存し各々一定時間 (15 分) 毎に、以下同様操作を行つてその酸化防止時間を求め、ビタミン E 量に換算する (第 8 表)。

この両者の測定値の差が油脂に含まれる E 以外の還元性物質によるものである。

即ち第 10 表は不飽化油について Emmerie-Engel 法、Furter-Meyer 法と本法との比較値である。

第 10 表

種 類	E・E・法	F・M・法	本法 40°C 恒温器中 (乾)	80°C 恒温器中 (湿)
菜 種 油 溜 分	20.5 mg	20.0 mg	20.7 mg	19.5 mg
大 豆 油 溜 分	21.5 mg	19.2 mg	22.0 mg	18.7 mg
ビタミン E 不含精製大豆油+ハイドロキノロン	20.3 mg	0.0 mg	21.0 mg	0.0 mg

結 論

(1) Emmerie-Engel 法では

a) 呈色液の稀釈に純エタノールを使用するとアルデヒド、水分其の他の原因から呈色度が著しく減退するので pH の影響と考へ〔註：Fe Dipyridyl の呈色は適当な酸濃度 (0.2 n 以下) に於て安定である〕0.2% 塩化第 2 鉄エタノール溶液を稀釈剤とした所この事故を除去し得た。

b) 湿度の高い時期には液が濁るので全く無水の状態で処理を行い、この事故も防止し得た。

c) カロチンによる影響よりも還元性物質による誤差の方が大であるのでこれを除去する為アルミナ吸着を行い、所期の結果を得た。〔註：Emmerie 等が Floridin-XS-Erde で除去しようと試みたのはビタミン A 及カロチノイドである〕。

(2) Furter-Meyer 法では

a) ビタミン K を用いるデュボスク比色計用標準呈色液を考案した。

(3) 酸化防止能を利用する新定量法を提案した。(1) 及び (2) の改良法と本法との間に誤差を余り認めないのでこの新定量法は充分に使用し得ると確信する。(昭和 26 年 5 月)

以上の実験に当り、試料の一部を提供された大木製菓及び林兼水産工業、解折蒸溜に当られた東芝鶴見研究所中島、小林両氏及東京工大桜井氏等の御協力に対し感謝する。

本研究の一部は文部省科学研究費に仰ぎこの結果の一部は脂溶性ビタミン委員会及分子蒸溜同好会 (昭和 25 年) の席上発表した。

文 献

- 1) F. Gstirner : Chemisch-Physikalische Vitamin-Bestimmungs-methoden.
- 2) P. Karrer : Helv. Chim. acta 21, 939, 1161 (1938) (Potentiometrie).
- 3) A. Emmerie. Ch. Engel : Rec. trav. chim. Pays-Bas 57, 1351 (1938); 58, 283 (1939).

- 4) M. Furter. R. Meyer: Helv. chim. acta 22, 240 (1939).
- 5) Morton: Study of the Absorption Spectra Vitamins, Hormons and Co-enzyme.
- 6) Chalkins: J.A.C.S. 69 384 (Quinone).
- 7) 三友義雄: ビタミンと治療. p. 250 (V.E 酸化物).
- 8) 有機化学の進歩第二輯 p. 229. (V.E の酸化物)

Some Improvements on the Determination of Vitamin E.

Toshikazu TABATA and Shuntaro OGAWA

Chemical determinations of Vitamin E by the method of Emmerie-Engel's and Furter-Meyer's were critically examined and the following improvements are found:

1. For Emmerie-Engel's method.
 - a) If 0.2% FeCl₃ solution was used for dilution of colorimetric solution instead of absolute alcohol, unconditioned clouding or color-fading can be avoided.
 - b) Treatments absolutely free from moisture must be necessary for accurate determination under highly humid climate.
 - c) Alumina-adsorption technic is indispensable for quantitative separation of non-specific reducing substances including carotenes.
2. For Furter-Meyer's method.

Vitamin K (Menadiol) is available for colorimetric standard substance.
3. A new assay method using antioxygenic property of vitamin E was proposed. Comparative test with Emmerie-Engel's or Furter-Meyer's method proved that this is specific for vitamin E, rapid, inexpensive and sufficiently accurate.

Rutin の定量に就いて (第一報)

Rutin の簡易比色定量法私案 (予報)

市川重春 鈴木繁

On the Determination of Rutin⁽¹⁾ A Simple Colorimetric Determination of Rutin (Prediction)

Shigeharu ICHIKAWA and Shigechi SUZUKI

吾々は Rutin の製造試験を施行中、其の原料、浸出液、浸出残渣等につき含有する Rutin の概量を定量する必要を痛感して本実験を行った。

Rutin の簡易な定量法として先ず考えられるものは呈色反応を利用する比色法であるが、Rutin の定量に応用し得る呈色反応には Willstätter¹⁾ の塩酸とマグネシウム (アルコール溶液) による還元或は Noack²⁾ の塩酸と亜鉛 (アミールアルコール溶液) による還元がある。此等の反応により Rutin は赤色を呈するが、之と同一色調を呈するものは Quercetin 及び其の配糖体等少数の Polyoxyflavon 類に限られて居る。Willstätter の反応を応用して、柴田桂太氏³⁾ は多数植物の花と葉に存在する Flavone 類の含量を、又長谷川浩氏⁴⁾ は煙草葉中の Rutin の含量を比色法により概測して居る。何れも水溶液或はアルコール溶液で少量の水銀の添加の下に還元を行つて居るが、本法は呈色の感度は比較的鈍く*)、従つて多少濃厚な着色溶液を使用すると、又反応が強烈に行はれるので、誤差を大にする欠点がある。

吾々は微量の Rutin を含有する水溶液に付き塩酸と亜鉛粉末を用いて還元を行つた所 1:500,000 の感度で呈色

*) Willstätter 法の感度は Rutin の溶液につき吾々が行つた結果では水溶液で 1:50,000 アルコール溶液で 1:20,000 程度である。

する事を知り、更に又微量の塩化第二鉄の添加により反応を比較的均等に行わせて実験誤差を最小限に止め得る事を知つたので、次に述べる実験を行つた後、後記の様な比色定量法を案出した。此の私案法により数回の定量試験を行つた結果、一応実用的価値のあるものと認めたので、茲に報告する次第である。

第 1 章 私案法 実験

I. 実験 誤 差

(a) 塩化第二鉄を添加しない場合：一蒸溜水 100 cc に Rutin 5.0 mg を加へ加温して溶解した後冷却して得た溶液（以下 (R) と称する）10 cc 宛を数本の同一内径の試験管に採り、20% 塩酸 1 cc 及び亜鉛末 0.20 g（略々対応量）を加へ水中 40~45° に加温して反応させて、其の呈色状況を観察したが、試験管により或るものは急速に呈色した後漸次に褪色し、或るものは呈色が極めて緩慢で僅かに着色し、又或るものは順調に増色する等、区々の現象が見られて同一色度の呈色液を得ることが困難であつた。

(b) 塩化第二鉄を添加する場合：一(a)の実験で得られる呈色の遅い液に反応の初期に 1% 塩化第二鉄溶液 1 滴を添加すると急速に増色して、他の順調に増色して居る溶液に数分内に追付く事が見られたので、次に 1% 塩化第二鉄溶液を添加した場合の実験誤差を調べて見た。

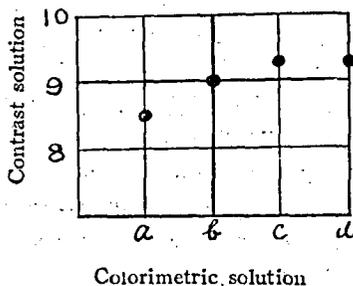
第一表(後述)記載の溶液 No.8, 9, 10 を作り各溶液 10 cc 宛を夫々同一内径の試験管 4 本づつ計 12 本に採り各溶液に 20% 塩酸 1 cc、亜鉛末 0.20 g 及び 1% 塩化第二鉄溶液 1 滴宛を加え水中 40~42°C に 20 分間加温した後、No.8 及び 10 の呈色液を試験管底部の亜鉛と分離する為傾瀉して番号別に合併し、又 No.9 は各試験管より 5 cc 宛呈色液を採取して夫々 a, b, c, d の 4 本の比色用試験管に入れ、残液は傾瀉合併した。合併液 No.8, 9, 10 を他の比色管に採つて対照液とし、pH 比色用暗箱を用いて予め採取した No.9 の 4 本と比色して第 1 図に示す成績を得た。(猶 No.8 及び 10 の同量を混和して得た液を No.9 の対照液と比色したが、識別出来る程の差異はなかつた。)此の成績によれば反応は大体均等に進行した事が認められ、含有 Rutin の 95~105% を検出出来る。即ち誤差は $\pm 5\%$ 程度である。(此の実験で塩化第二鉄が呈色を調整する作用を有することを認めたが、其の理由の究明は行わなかつた。)

II. 反 應 温 度

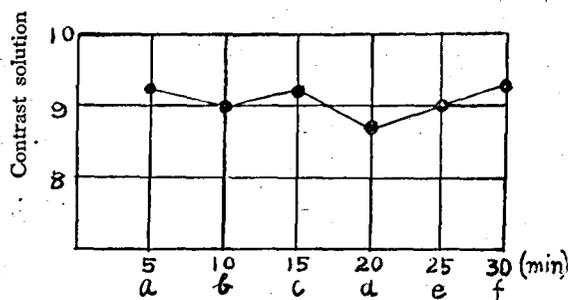
(a) 10°C：一(R) 10 cc 宛を数本の同一内径の試験管に採り、20% 塩酸 1 cc、亜鉛末 0.20 g 及び 1% 塩化第二鉄溶液 1 滴宛を加えて 10°C 前後で反応させて、10 分間経過毎に 1 本ずつ試験管内容を比色管に傾瀉して前後の呈色液を比色した。増色は極めて緩慢で最高色度に達する迄に約 1 時間を要した。

(b) 40~42°C：一第一表に記載の溶液 No.8, 9, 10 を作り、No.8 及び 10 は各液 10 cc 宛を同一内径の試験管 2 本づつ計 4 本に入れ、No.9 は 10 cc 宛を 8 本の試験管に入れ、各試薬を加えて水中 40~42°C に保つて反応させた。No.8 及び 10 の全部と No.9 の 2 本は 20 分間経過後に傾瀉して亜鉛と分離し番号別に合併して対照液とし、No.9 の他の 6 本は 5 分間経過毎に 1 本宛内容を比色管に傾瀉して採り順次に呈色液 a, b, c, d, e, f を得、

第 1 図
Diagram 1



第 2 図
Diagram 2



此等を対照液と比色して第 2 図に示す成績を得た。此の成績によれば 5 分間後には既に最高色度に達し、以後 30 分間経過後迄反応誤差以上の変化は見られなかつた。尙同一番号の溶液を 2 本宛採つて反応を行うのは誤差をできる

だけ少くする為である。他の実験の場合も同様である。

(c) 90~92°C:-(b)と同様な実験を水浴中で90~92°Cに保つて行つた。反応は急速に進み3~4分経過後に最高色度に達し、以後漸次に褪色して40分間後には全く脱色した。

III. 呈色液の稀釋度と色度との關係

次に述べる実験を行い、(R)の呈色液を稀釋して得られる溶液の色度が(R)を同じ割合に稀釋した後、呈色させて得られる溶液の色度に一致するか否かを調べた。

同一内径の試験管に第一表に示す割合に(R)と蒸溜水とを混和してNo.1~10の溶液を2組作り(No.10は4本各液に20%塩酸1cc、亜鉛末0.20g、1%塩化第二鉄溶液1滴を加え水浴中40°~42°に20分間加温した後得た呈色液を傾瀉して番号別に合併してNo.1~No.9を対照用とし又試験管数本に蒸溜水10cc宛を採り、各試薬を加へて加温した後傾瀉して得た液を作り、No.10の稀釋用に供した。

この液を用い第二表に示す割合にNo.10の呈色液を稀釋して9種の稀釋液を作り、pH比色用暗箱を用いて同一番号の対照液と比色し、第三圖に示す關係曲線を得た。

Table 1

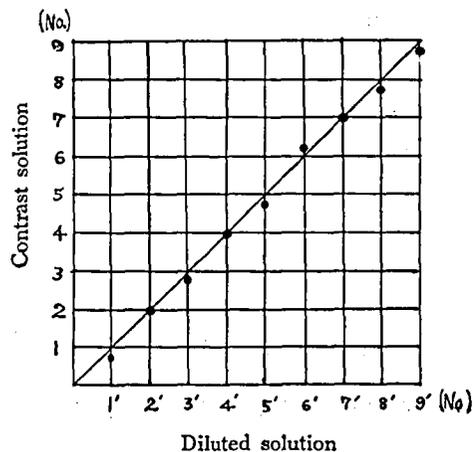
Contrast solution No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
(R) (cc)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Distilled water (cc)	9	9	7	6	5	4	3	2	1	0

Table 2

Diluted solution No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
No.10 (cc)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Distilled water (cc)	9	8	7	6	5	4	3	2	1

之によれば(R)の呈色後に稀釋して得た溶液の色度と(R)を同じ割合に稀釋した後呈色させて得た溶液の色度とは一致する事を知る。従つて比色定量の場合標準液としてNo.1~10の様な溶液を作りこれを呈色させる代りに、No.10のような濃厚溶液を作りこれを呈色させた後稀釋して得た溶液を標準液としても差支えない訳である。なおNo.1~9の各対照液およびNo.10の呈色液を上記のように処理した蒸溜水で稀釋して得た各稀釋液No.1'~9'とは1時間経過後でも其の色調及び色度に殆ど変化を認めなかつたが、同様な実験を蒸溜水、一度沸騰後冷却した蒸溜水或は0.5%塩酸を用いて稀釋して行つた處、稀釋直後では同一番号の対照液とほぼ等しい色度を示すが、数分間後には何れも色度が徐々に増大する事を認めた。

Diagram 3



IV. 感度

(R)を蒸溜水で種々の割合に稀釋して作つた溶液を10cc宛試験管に採り、水浴中40~42°に20分間加温して反応させたところ、[(R) 0.4cc+水 9.6cc]の溶液で呈色を認め、[(R) 0.2cc+水 9.8cc]の溶液では呈色を認めることができなかつた。即ち感度は大約1:500,000である。

V. 呈色液に対する還元剤の作用

呈色液にHydrosulfiteを少量加えると常温で直ちに脱色するが、暫時の後徐々に復色する。亜硫酸ソーダでは脱色しない。又塩化第一錫の塩酸溶液1滴を加えると、赤色は徐々に美麗な紫赤色に変わる。

VI. 蕎麥葉水浸液における還元反応

蕎麥葉に熱湯を加え煮沸し濾過して得た濃褐色透明濾液に蒸溜水を加え稀釋して調製した微淡黄色の水溶液を10ccづ

つ同一内径の試験管数本に採り、II, (b) と同様な操作を行い色度を検した。此の場合溶液は一旦殆ど脱色した後徐々に呈色し始めた。10 分間経過後に最高色度に達し、以後 30 分間後迄略々同色度を保持して、実験誤差以上の変化を認めなかつた。

上記の I~VI の諸実験により明かにされた事実を要約すれば次の如くである。

- (1) 塩化第二鉄の添加により実験誤差を±5%前後にすることができる。
- (2) 10° 前後では最高色度に達する迄に 1 時間以上を要し、又 90~92° では 3~4 分間後に最高色度に達するが、其後漸次に褪色する為最高色度を捕えることが困難である。40~42° では純 Rutin の水溶液では 5 分間後に、蕎麦葉浸出液では 10 分間後に最高色度に達し、30 分間経過後迄色度は変化がない。
- (3) Rutin の稀薄溶液を還元して作った呈色液を、一度亜鉛と塩酸で処理した蒸留水で希釈して得た溶液の色度は、元の稀薄溶液を同じ割合に希釈した後還元して得た溶液の色度に略々一致する。従つて既知濃度の呈色液を希釈して比色用の標準液としても差支えない。
- (4) 感度は大約 1:500,000 である。
- (5) 呈色液は Hydrosulfite により直ちに脱色する。
- (6) 蕎麦葉の稀薄水浸液は此の還元により一旦殆ど脱色した後徐々に呈色する。又着色して居てもごく僅かであつて比色の障碍にならぬ場合が多い。

以上 (1)~(6)、の実験事実を基礎として次の簡易比色定量法を案出した。

第 2 章 私案比色定量法

I. 標準原液：一純ルチンの結晶 5.0 mg を蒸留水 100 cc に溶解した溶液で本液 1 cc は $C_{27}H_{30}O_{16}+3H_2O$ 0.05 mg に該当する。

II. 標準液：一同一内径 の試験管に(第 3 表)に示す割合で原液及び蒸留水を混和した液。

Table 3

Standard solution	0.5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Stock solution (cc)	0.5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Distilled water (cc)	9.5	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0

(又は原液 10 cc を入れた試験管 4 本及び蒸留水 10 cc を入れた試験管 4 本を用意し、此等の液に付いて V. に記載の反応を行い、亜鉛と分離して得た呈色原液と蒸留水とで第 3 表と同様の割合で呈色標準液を作る。)

III. 検液の調製法：一次に例示する。

第一例 試料乾燥蕎麦葉。蒸留水 200 cc をコルベンに入れ沈降炭酸石灰 0.1 g を加え、空気冷却器を付けて加熱し沸騰するに至り、試料粗末 10.0 g を加え更に加熱して時々攪揺しつつ 30 分間煮沸した後、直ちに乾燥濾紙で濾過する。透明な濾液の 1 cc を温時 Rutin の析出せぬ内に採取し蒸留水を加えて 50 cc とし、其の 10 cc を同一内径の試験管に採つて検液とする (10 cc は乾燥葉 10 mg に該当する。)

第 2 例 試料蕎麦葉浸出液。透明な浸出液 1 cc を採取し蒸留水を加えて 100 cc となし、其の 10 cc を試験管に採つて検液とする。

IV. 試薬：—(a) 20% 塩酸 (b) 亜鉛末 (c) 1% 塩化第二鉄溶液

V. 反応：—各標準液及び検液 10 cc に 20% 塩酸 1 cc、亜鉛末 0.20 g 及び 1% 塩化第二鉄溶液 1 滴宛を加え、水浴中 40~45° に 20 分間加温した後、各呈色標準液及び検液を比色管に傾瀉して採り、未反応の亜鉛と分離する。

VI. 比色方法：—pH 比色用暗箱を用いて比色する。検液の色度が例へば No.1 と No.2 の中間にある時は、No.1 と No.5 及び検液と蒸留水とが夫々重なるように比色用暗箱に挿入して比色する。又検液が多少着色又は濁濁して比色の障碍となる時は、別に検液 10 cc を試験管に採り、各試薬を加えて呈色させた後亜鉛と分離し少量の Hydrosulfite を添加して脱色し、ここに得た脱色液と標準液及び検液と蒸留水とが夫々重なるように暗箱に挿入して比色する。

VII. 計算法：第一例の場合検液の色度が No.5 に一致するとすれば、試料中の Rutin の含量は次の通りである。

$$\frac{5(\text{cc}) \times 0.05(\text{mg}) \times 100}{10(\text{mg})} = 2.5\%$$

第二例の場合検液の色度が No.5+No.0.5 に一致するとすれば、試料 1cc 中の Rutin の含量は $[5(\text{cc})+0.5(\text{cc})] \times 0.05(\text{mg}) \times 10 = 2.75 \text{ mg}$ である。

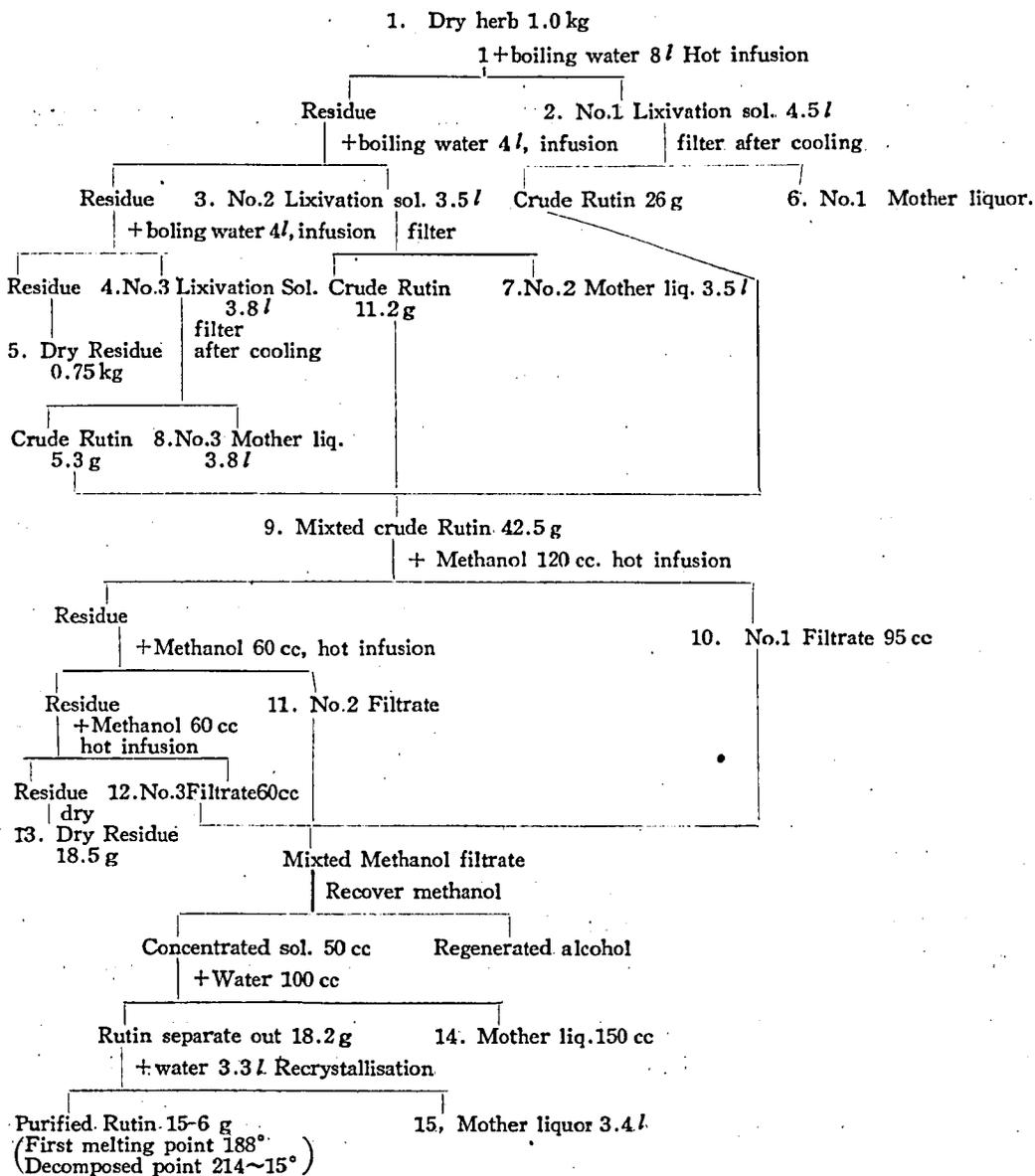
附 記

- (1) 試験管は全てできるだけ同一内径のものを使用する。
- (2) Hydrosulfite で脱色した検液は数分間後に白濁を生ずるから、脱色後直ちに比色補助用に供する。

第 3 章 私案定量法実験例

Diagram 4

[第一例]



前(第四図)の如く乾燥蕎麦葉を熱湯浸出法によつて浸出し、得た粗製ルチンをメタノール、次に蒸留水より再結晶して精製品を取得するに至る迄の各浸出液、浸出残渣、母液等に付き、前記定量法により其のルチン含量を比色定量した。成績は第四表に示す通りである。

仕込原料は秋蕎麦の秋期栽培品を開花期に刈取り、直ちに茎と分離し 100° で乾燥したものである。

尙第四図中で品名の頭に記した算用数字は第四表の試料番号である。

Table 4

No.	Sample			Diluted solution cc	Standard Sol No.	Rutin contents in Sample 10cc	Rutin contents in Total Rutin	ibid w/w or w/v %
	Name	Total weighted	yield					
1	Dry Buckwheat herb	1000g	10.0g	200×50	4	0.20mg	20.0 g	2.00
2	No.1 Infusion Liq.	4500cc	1.0cc	100	5	0.25	11.25	0.25
3	No.2 "	3500cc	1.0cc	50	5	0.25	4.375	0.125
4	No.3 "	3800cc	1.0cc	30	3+0.5	0.175	1.995	0.053
5	Dry Residue	750g	10.0g	200×10	2+0.5	0.125	1.875	0.25
6	No.1 Mother Liq.	4500cc	1.0cc	10	2	0.10	0.45	0.01
7	No.3 "	3500cc	110cc	10	1+0.5	0.075	0.263	0.0075
8	No.4 "	3800cc	1.0cc	10	2	0.10	0.38	0.01
9	Mixed crud Rutin	42.5g	10.0mg	100	8	0.40	17.0	40.0
10	No.1 Filtrate	95cc	0.5cc	50×50	5	0.25	11.875	12.5
11	No. 2 "	60cc	0.5cc	20×50	4+0.5	0.225	2.7	4.5
12	No. 3 "	60cc	0.5cc	200	6	0.30	0.72	1.2
13	Dry Residue	18.5g	1.0 g	40×20	3+0.5	0.175	0.259	1.4
14	Mother Liq.	150cc	1.0cc	100	3	0.15	0.225	0.15
15	"	3400cc	1.0cc	10	2	0.10	0.34	0.01

【第二例】

二三の蕎麦葉につき、其のルチン含量を比色定量した成績と実際のルチン収得率とを示せば次(第五表)の如くである。

Table 5

No.	Sample	summary	Weighting quantity	Quantity of diluted sol.	Standard sol. No.	Rutin content in Sample sol	Content in Sample	Purified Rutin yield
1	Dry herb	Autumn buckwheat, culture in Autumn season, collecting in blossom dry at once 100°	10.0	200×50	5	0.25 mg	2.50 %	1.8 %
2	"	Autumn buckwheat, culture in Autumn blossom and season, dry at once 100°	"	"	3+0.5	0.175	1.75	1.2
3	Fall herb	Autumn buckwheat after cutting threshing, sifting Dry on the sunlight	"	200×25	4+0.5	0.225	1.13	0.6
4	"	Autumn buckwheat, cutting threshing after several days, sifting. dry on the sunlight	"	"	2	0.100	0.50	0.3

第一例及び第二例について、各試料中の Rutin 検出量、実際の製造取得量等を比較対照すれば、本定量法の実用的価値の充分な事がうかがわれる。

第 4 章 私案定量法実施の際の注意事項

1. 検液がアルコールなどの有機溶剤を含有する場合は、標準液も有機溶剤を同一程度に含有するように調製する必要がある。
2. Rutin は遊離塩素、鉄塩等によつて分解されるから、標準液及び検液の調製にはすべて蒸留水程度の消浄水を使用し、又試薬の 20% 塩酸も局方塩酸より調製すべきである。
3. 最適比色限界は Rutin の濃度 1:50,000~20,000(標準液 No.4~10) の間である。
4. 呈色液の色調はボンソー R の色調に酷似する。

結 論

本比色定量法私案は其の基礎とする還元反応が Rutin 特有のものではなく、蕎麦葉中に Rutin と共に多少存在すると考へられる Quercetin も同一反応を呈するが、Rutin の含量の概数を測定して製造上の目安とするには充分実用的価値がある。(昭和 25 年 1 月)

引用文献

- 1) Willstätter, R. u. H. Mallison: Sitzungsber. Kgl. Preusz. Akad. Wiss. Berlin 1914, 775.
- 2) Noack, K.: Ztschr. f. Botanik 14, 7 (1922).
- 3) 柴田桂太, 岸田松若: 植物学雑誌 29, 301~308 (大正四年).
- 4) 長谷川浩: 日本農芸化学会誌 7, 1036~1049 (1931).

On the Determination of Rutin (1)

A Simple Colorimetric Determination of Rutin (Predication)

Shigeharu ICHIKAWA and Shigeshi SUZUKI

We adopted a colorimetric determination, which was utilized for the color reaction of rutin, because we had to make a rough estimation of rutin in its preparation. We traced Willstätter's method and Noack's method, and found that both methods were not very sensitive in dilute solution, therefore, we had to determine by using conc. solution.

We confirmed that if we reduced a solution containing slightly little rutin by using HCl and Zn powder. We could detect it in 1:500,000 solution, and by addition of FeCl₃, the reaction was carried out equal comparatively.

Therefore we recognized a simple colorimetric determination of rutin as follows:

Transfer each 10cc of standard and sample solution in a test tube and add 20% hydrochloric acid 1cc, zinc powder 0.2g and a drop of 1% ferric chloride solution to it and heat to 40~42° in the steam bath of which temperature is kept between 40~45°. Then, by comparing the sample solution with rutin solution, the quantity of rutin may be calculated.

As the results of many experimental tests by above method the following conclusion was obtained.

A simple colorimetric determination method was deemed as practically worthy method for the determination of rutin.

Rutin の 定 量 に 就 いて (第二報)

Rutin の 簡 易 比 色 定 量 法 私 案 (続 報) 並 び Rutin の 新 定 量 私 案 法

市 川 重 春 鈴 木 繁

On the Determination of Rutin (II)

A Simple Colorimetric Determination Method of Rutin (Supplement)

and a new Determination Method of Rutin

Sigeharu ICHIKAWA and Shigeshi SUZUKI

吾々はソバ属植物から Rutin の製造試験に際し其の原料、浸出液、浸出残渣等の製造各工程に於ける Rutin の量を定量する必要を痛感し、Rutin の定量法として考えられる諸法—(1) スペクトル分析法；(2) 加水分解成績体である Quercetin を分離定量する法；(3) 硼酸の共存下に螢光を測定する法；(4) 呈色反応を利用する比色試験法—の中 Rutin の簡易な定量法として呈色反応を利用する比色法を採用し、微量の Rutin を含有する水溶液につき塩酸と亜鉛末を用いて還元を行つた処 1:500,000 の鋭敏度で呈色することを知り、更に又微量の塩化第二鉄を添加することにより反応を比較的均等に進行させて実験誤差を最少限に止め得ることを認めたので予報として Rutin の簡易比色定量法私案¹⁾を発表した。

然しこの簡易比色定量法私案の基礎となる還元反応に依る呈色は Rutin 特有のものでなく製造工程中に Rutin が分解して生ずる Quercetin も亦同一の反応を呈し、これと混同する虞があるのでこの疑問を解決せんと欲し先づ Rutin と Quercetin を検体として次の方法で各種試薬に対する呈色反応を行いその鋭敏度を比較試験したところ第 1 表の成績を得た。

I. Rutin と Quercetin の 呈 色 反 応 鋭 敏 度 比 較 試 験

(1) Rutin 及び Quercetin の水溶液各 10 cc づつを試験管に取り、20% HCl 1 cc 及び Zn 末 0.2 g を加え、更に 1% FeCl₃ 溶液 1 滴を添加して 40~50° の水浴中で加温しその呈色度を比較する。

(2) Rutin 及び Quercetin のアルコール溶液 10 cc づつを試験管に取り、20% HCl 1 cc 及び Mg 末少量を加えて 40~50° に加温するときの呈色度を比較する。

(3) Rutin 及び Quercetin のアルコール溶液 10 cc づつを試験管に取り、酢酸(30%)又は氷酢酸 1 cc 及び Mg 末少量を加えて 40~50° の水浴中で加温しその呈色度を比較する。

(4) Rutin 及び Quercetin の水溶液 (0.5 mg%) 10 cc づつを試験管に取り 1% 明礬溶液 1 滴を加える時は両者とも黄色を呈す。この色調は 0.01% クロム酸カリ溶液の色調に概ね等しい。

※) 刈米・橋本両氏は 0.5 mg% の Rutin が、0.75% 酢酸アルミニウム溶液(pH 3.74) 中で示す黄色の色調及び濃度は 0.0506% クロム酸カリ溶液に概ね等しく、これらの濃度附近では比色定量可能であることを確めた。

第 1 表の比較試験成績表について検討するに Rutin の呈色反応は Zn 末で還元する方が Mg 末で還元するよりも鋭敏であるが、Quercetin は Zn 末より Mg 末の方が鋭敏度が大きい。たとえば Rutin と Quercetin の 1:20,000 の溶液に於て Zn 還元では Rutin は迅速に桜実色となるが Quercetin はもはや呈色しない。又 Mg 還元では Quercetin は迅速に赤色を呈するが、Rutin は徐々に桃色になる此反応は両者の区別に役立つ((1) 及び(2)参照)。

Rutin 及び Quercetin の 1:200 の溶液に於て氷酢酸 1 cc を使用し Mg 末で還元するときには Rutin は桃紅色となるが Quercetin は依然綠色を呈し両者の区別は明瞭である((3) 参照)。

Rutin 及び Quercetin の 0.5 mg% 溶液は両者とも KAl(SO₄)₂ 及び酢酸アルミニウム溶液に依り黄色を呈し比色定量に使用出来るが両者とも同一色調で区別は出来ない((4)及び参照)。

然るに FeCl₃ 添加の下に Zn 末で還元する簡易比色定量法私案では 5 mg% の濃度で Quercetin は已に呈色しないが Rutin は迅速に桜実色になり、0.2 mg% の濃度に稀釈しても、尙桜実色に呈色するから、5 mg% 以下の濃度で本私案法を行うときは Quercetin と Rutin と混同しないことを確認した。

Table 1

Result table of relative test in sensibility of color reaction for Rutin and Quercetin

Reagent Sample	(1) Zn+HCl+FeCl ₃		(2) Mg+HCl		(3) Mg+CH ₃ COOH		(4) KAl(SO ₄) ₂ ·12H ₂ O		Al(OH) [*] (CH ₃ CO ₂) ₂	
	R	Q	R	Q	R	Q	R	Q	R	Q
1 : 200 (50 mg %)	cherry +	cherry +	pink +	red +	green (Pink) +	green +	yellow +	yellow +	yellow +	yellow +
1 : 20000 (5 mg %)	cherry (rapid) +	-	pink (slow) +	red (rapid) +	+	+	yellow +	yellow +	yellow +	yellow +
1 : 200000 (0.5 mg %)	+	-	-	-	-	-	yellow +	yellow +	yellow +	yellow +
1 : 500000 (0.2 mg %)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

II. Rutin の新定量法私案に就いて

I の試験の結果簡易比色定量法私案¹⁾は純粋の Rutin と Quercetin の場合については理想的であることを確認したが、天然物中の Rutin を定量する際には検体の種類によりは往々その含有する色素などの影響を受けその結果が、不確実になる場合があるのを認めたので、此欠点を除去するため更に種々の研究の結果 Rutin がアミルアルコールに易溶性であるのを利用して Rutin 含有の水溶液からアミルアルコールに転溶せしめ、アミルアルコール溶液から更にアルカリ溶液に移行せしめてから酸で中和し Rutin を結晶析出せしめて秤量する重量法に依り Rutin を定量せんと試み稍々満足できる結果を得ることを認めたのでその試験成績に就き報告する。

a) 精製 Rutin を検体とする新定量法私案の試験

自製の精製 Rutin²⁾40 mg^{*)} ルチン含有量 2% のソバ葉 2g に相当する。本品を精確に秤取し内容 150 cc の分液漏斗中で水 40 cc に溶解し、アミルアルコール 40cc を注加し振盪し静置後分液し、アミルアルコール層は第二の分液漏斗に分取し、水液層は更にアミルアルコール 40 cc 宛 2 回振盪し同様に処理して、アミルアルコール層は第二の分液漏斗中に合併する。

次にアミルアルコール合併液に 0.5% 炭酸ソーダ溶液 20 cc を注加して振盪し静置して液層分離後水液層を内容 100 cc の共栓三角フラスコ中にできるだけ完全に分取する。

分取した水液分は塩酸で弱酸性(pH 5.0 前後)に調整し氷室に放置する(約 1 時間)と結晶を析出し始めるから数時間放置後に析出物を濾集して水洗する(洗液にクロールの反応のなくなる迄)。

水洗終了せる結晶は濾紙と共に 70° 以下で乾燥し 1 日間室内に放置後結晶を濾紙から分離し(容易に剝離する)で秤量する。(結晶取得量 32.8 mg)。

ここに得たる重量に母液中に溶存する Rutin 2.6 mg^{*)}を補正值として加算する。

※) Rutin の水に対する溶解度 0.013% として計算した母液 20 cc 中に溶存する推定量である。

b) 新定量法私案に依る各種検体の Rutin 定量試験検体

- A. 早生蕎麥乾燥葉(埼玉県久喜産採集後直ちに日乾したもの)
- B. 秋蕎麥乾燥葉(千葉県佐倉産開花終期採集熟風通風乾燥してから種実を篩別したもの)
- C. 秋蕎麥脱落葉(千葉県佐倉産種実収穫後の脱落葉)
- D. 秋蕎麥脱落葉(川崎市溝口産種実収穫後の脱落葉)

操作法:

検体 5g を内容 300 cc のマイエルフラスコに秤取し、水 100 cc を注加し、冷却器を附して 30 分間煮沸抽出し熱時過する。濾液の 40cc(= 検体 2g) を内容 150 cc の分液漏斗にとり、アミルアルコール 40 cc づつで a) に記述したと同様に処理し*結晶析出する Rutin を濾集**し秤量する。

※) 検体の種類に依りてはアミルアルコールで転溶の際強く振盪するときは頑固な乳化状となつて分離困難となるから転溶操作は軽く揺動する程度に注意して行う必要がある。

※※) Rutin の氷室に放置して析出し始むるに要する時間は、A 約 2 時間、B 約 3 時間、C 及び D は 1~2 日を要した。依つて A, B は 1 日放置後、C, D は 3 日後に結晶を濾集した。

ここに秤量して得た Rutin の量に母液中に溶存する推定補正值 2.6 mg を加算したものを 50 倍すれば検体中の Rutin % を得る。

かくして得たる Rutin の取得率並其純度を表示すると第 2 表となる。

第 2 表 新定量法私案に依る各種検体の定量試験成績並其純度表

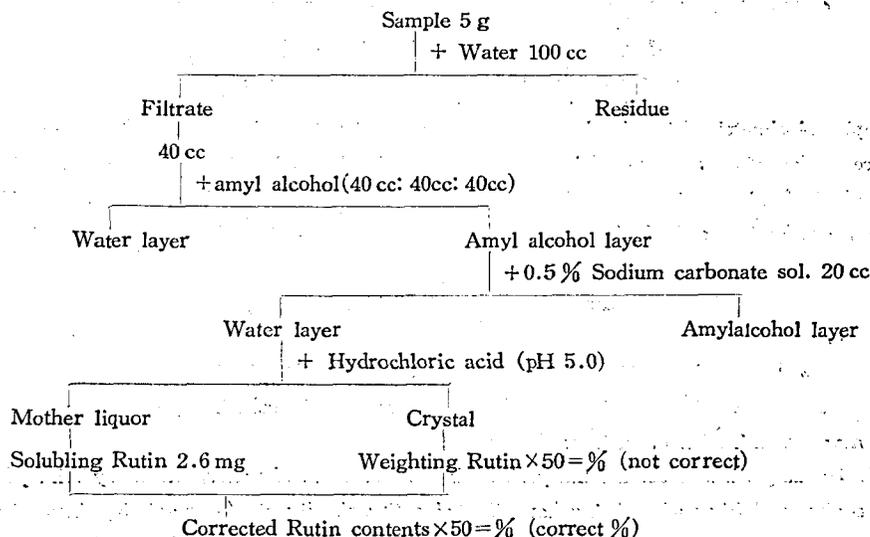
検 体	新定量法私案に依り検出した Rutin						
	検出量 (mg)	%	補正検出量 (mg)	%	収縮点	始融点	分解点
A	43.2	2.16	45.8	2.29	172°	185°	214°
B	24.0	1.20	26.6	1.33	168°	185°	212°
C	8.0	0.40	10.6	0.53	170°	185°	212°
D	6.0	0.30	8.6	0.43	167°	185°	212°
S	32.8	82.00	35.4	88.5	177°	186°	214°

註：S は精製 Rutin 40 mg を秤取した実験値。

第 2 表を検討するに新定量法私案に依り結晶析出せしめて取得する Rutin の純度は各種検体とも略同一であるからここに検出した % を比較してその検体の良否を決定しても差支えないものとする。

今便宜上前記私案法を要約表示することにする：

Diagram of Operation by the New Determination Method



結 論

1. 予報として発表した Rutin の簡易比色定量法私案は Quercetin と混同しないか否かを決定するため、Rutin と Quercetin の呈色反応の差異並その鋭敏度を比較試験した結果水酢酸と Mg 末で還元する方法は桃紅色と緑色の差により両者を完全に識別出来る、又塩酸と Mg 末の還元法では桃色と赤色の差によるかむしろその呈色速度の差により区別出来る、更に塩酸と Zn 末の還元法で FeCl₃ を添加する簡易比色定量法私案に依ると両者の呈色は同色調で区別し難いが、その呈色鋭敏度の差により完全に識別出来ることを認めた。その他の呈色反応は同一色調を呈するから両者の区別は出来ない。

2. Rutin の簡易比色定量法私案は Quercetin の共存する場合でも 5 mg % 溶液で試験するならば Quercetin の

呈色反応は陰性であるし、Rutin は 0.2 mg % の濃度に稀釈しても呈色する故本法は実用的価値ある比色定量法として推奨出来る。

3. 簡易比色定量法私案は検体の種類に依り往々その含有色素等の影響で比色の不確実になることを認めたので、アミルアルコールに Rutin を転溶せしめてこれらの障害物と分離したる後アミルアルコールより更にアルカリ溶液に移行せしめてから酸で中和し Rutin を結晶析出せしむる Rutin の新定量法私案を提案した。

4. 新定量法私案に依り結晶析出せしめて取得する Rutin の純度は各種検体とも略同一であるから茲に検出した含量を比較してその検体の良否を決定しても差支えないものとする。

5. 新定量法私案に依る定量法に於ても検体の純度の差に依り Rutin の結晶析出し始むるに要する時間は区々(氷室に放置してから 1 時間乃至 48 時間)であつて、天然物の検体でも 2 時間で析出し始むるものもあるが Rutin の含量少い検体では 2 日もかゝるのを認めた。

Rutin の製造原料として使用する価値あるソバ植物(乾燥物)は少くとも 1% 以上でなくては採算が取れぬ故、本私案法を容易に実施出来る様な天然物検体が Rutin の製造原料として適当であつて、数日放置しても Rutin の結晶の析出を見ないような検体はもはや Rutin 製造原料としては価値のないものと認めて差支えないものと思われる。

6. 新定量法私案によれば実際に Rutin として秤量出来るので定量値と実際製造の際の取得量の差は少く、Rutin 製造原料の仕入などの場合には本法によれば予想取得量の誤算が最少限に止め得られる。(昭和 25 年 3 月)

引用文献

- 1) 著者：衛生試験所製造実験全集第 11 巻 103~113(昭和 25 年)・本誌第 1 報。
- 2) 著者：衛生試験所報告第六十八号 109 頁(昭和 24 年)

On the Determination of Rutin (II)

A Simple Colorimetric Determination Method of Rutin (Supplement)

and a New Determination Method of Rutin.

Shigeharu ICHIKAWA and Shigeshi SUZUKI

A simple colorimetric determination of rutin may report rutin and also quercetin. So we compared with the difference of the color reaction and its sensitiveness to be detected rutin and quercetin, and found that a reduction method of using acetic acid and Magnesium powder discriminated between rutin (pink) and quercetin (green), a reduction method of using HCl and Zn powder discriminate by its coloring speed and a reduction method of using HCl and Zn powder and addition of FeCl₃ (a simple colorimetric determination) by its sensitiveness. - If a determination is carried by use of 5 mg % solution, quercetin is not reported, but rutin is detected even in 0.2 mg % solution.

We recognized a simple colorimetric determination of rutin (Prediction) as a practical useful method. But this colorimetric determination is unsuitable for some sample containing other pigments etc. So we proposed a new determination of rutin as follows :

Weigh 5 g sample into 300cc Erlenmeyer's flask and add 100cc of water, extract by boiling for 30 minutes with reflux cooler, and filter while being hot. Transfer 40cc the filtrate (=sample 2g) into 150cc separating funnel and extract with 40cc portions of amylalcohol by shaking three times and allow the layers to separating funnel.

Take the amylalcohol layer into another separating funnel. Then add 20cc of 0.5% sodium carbonate solution to combined amylalcohol and shake, allow layers to separate, and isolate aqueous solution as clean as possible into 100cc Erlenmeyer's flask.

Adjust the separated aqueous fraction to weak acidity (pH 5.0) with hydrochloric acid and keep it in an ice chest for producing rutin crystal. Deposited rutin crystal is filtered with a filter paper, and wash with water until Cl ion reaction is not recognized. Dry washes rutin crystal under 70° on a filter paper for one day at the room temperature and isolate the crystal from the filter paper and weigh it.

Calculate the rutin percentage (X) of the sample by the following formula. X is the percentage of Rutin in the sample and R is weighed mg add plus 2.6 mg and multiply its number by 50.

$$X = \left(R + 2.6 \text{ mg} \right) \times \frac{100}{2}$$

防疫用除虫菊乳剤の試験規格及びこれに関する註解と実験成績

山口一孝, 長澤元夫, 安部壮平

Requirement of the Pyrethrum Emulsion for Epidemic Prevention with Commentary and Experimental Data.

Kazutaka YAMAGUCHI, Motoo NAGASAWA and Sohei ABE

1. 防疫用除虫菊乳剤の検定状況

防疫用除虫菊乳剤の検定については昭和 24 年度は薬発第 317 号によつて生産県の薬事監視員が収去した検体を国立衛生試験所で検定したが検体件数は約 60 件で全生産ロットの 10% に充たなかつた。昭和 25 年度においては全国的な規模で全ロット検定を行い、不良品を駆除する計画が厚生省薬務局監視課を中心として進められたが、この第 1 段階は監視課、国立衛生試験所及び防疫用除虫菊乳剤懇話会が技術的談合を行い、基礎実験データを提供した結果に基づいて検定規格を設定した事であり、第 2 段階は昭和 25 年 2 月の薬事並びに食品衛生検査技術打合せ及び同年 3 月の防疫用除虫菊乳剤検定に関する打合せならびに技術講習会で主として生産担当県衛生技術官に対しこれが検定に関する事務打合せ及び実地的な技術講習を行つた。その結果昭和 25 年度では薬発第 132 号に従つて全生産ロットの検定を実施することが出来た。防疫用除虫菊乳剤の製造業者の存在する地方は北海道、大阪、和歌山、広島、兵庫、愛知、岡山、神奈川の 8 道府県であるが、これら所在の衛生研究所で担当全ロットについて検定を行つている。なお国立衛生試験所和歌山分場では和歌山県生産ロットを同県衛生研究所と分担している。

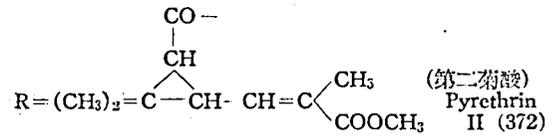
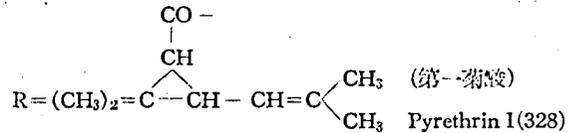
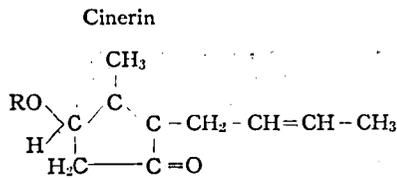
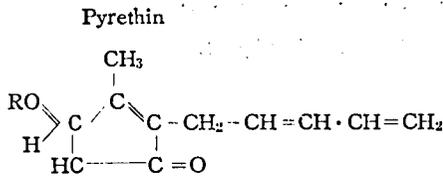
国立衛生試験所生薬試験部では各検査機関から検査成績をそえて送付された 5 個宛の検体について再試験を行い全検定を技術的に監査指導する立場をとつているが、本年度の当所における試験も大体終了したのでここに、厚生省で決定された本剤の規格とその設定の基礎として行つた実験成績及び気の付いた注意事項等を報告し、あわせて当所において両年度に行つた試験成績に関して報告する。

本剤の検定規格に関しては上述の経過に従つて一応の確立を見たのであるが、乾花エキスの場合と異り、乳剤の場合は原料である石ケンロート油、軽油等に含有される夾雑物に基因する誤差の除去について、さらに慎重でなければならぬ。この点に関しては引續いて基礎研究を行い、より完全な検定法を確立することが必要と思われる。なお防疫用除虫菊乳剤懇話会技術委員会としても私たちと別個に基礎実験を行つた結果本案の現段階における妥当性を認めている。

2. 規格試験法の概要

本規格は除虫菊の有効成分を Pyrethrin I 及び II の混合物として考えられたもので最近発見された Cinerin I 及び II は考慮されていない。しかしいずれも第一菊酸又は第二菊酸のエステルであつて、単に Cyclopentene 核の 2 位の側鎖で $-CH_2-$ 1 個の差違を有するに過ぎず、分子量比も Ci I : Py I = 0.964, Ci II : Py II = 0.967 の如くであるので実際問題として支障はないものと考えられる。

Pyrethrin は Pyrethrolone と第一又は第二菊酸のエステルであるがケン化された Component は殺虫性を示さない。規格試験法は除虫菊花又はそのエキス定量法である Tatterfield の酸法¹⁾ を原法として若園博士が改良した若園法に概ね準拠している²⁾。



R=第一-菊酸 Cinerin I (316)

R=第二-菊酸 Cinerin II (360)

Pyrethrin をアルコール性水酸化ナトリウムと加熱するとケン化され Pyrethrolone と菊酸とになるが、これに塩化バリウム及び酸性白土を加え高級脂肪酸其他の夾雑物を沈澱除去し、硫酸酸性となし水蒸気蒸留すると第一-菊酸は溜出するが第二-菊酸は残留する、各々をベンゼン又はエーテルを用い、抽出した後 N/50 水酸化ナトリウムで滴定し、相当値から Pyrethrin(以下 Py) I 及び Py II を算出し、その和を以て Py 値とする。この際初めから夾雑する揮発性酸及び分解して既に生じていた第一-菊酸を除く目的でケン化前にあらかじめ水蒸気を通じてこれらを駆除する。

3. 規格

厚生省で決定された本剤の規格及び試験法は次の通りである。なお使用する材料の規格、製法、試験法に関しては註記番号を付し、これらは一括して後に記す。

(1) 防変用除虫菊乳剤は

2% ピレトリン含有除虫菊エキス	3.42 リットル (註 1)
燈油又は軽油	22.60 リットル (註 2)
水	11.30 リットル
硫酸化油	650 グラム (註 3)
石ケン末	650 グラム (註 3)

を取り十分にかきまぜ乳化して製造したもので全容は約 38.5 リットルである。(註 4)

本品 100 cc のピレトリン含有量は 140 mg 以上である。(註 5)

(2) 本品はやや粘濁性を有する白色又は淡褐色の乳化液である。水層が分離しているものもあるが、これは攪拌振盪すれば乳化液となり長時間其の状態を保たなければならない。

(3) 本品 1 容を水 30 容中に注加し軽く振盪するときは直ちに拮散混和して細微均等な乳化液にならなければならない。本品の比重は約 0.9 である。

(4) 本品 100 cc を 200 cc 共栓メスシリンダに取り、硫酸(20%) 100 cc を混和してときどき振盪しつつ 2 時間 40~60° に保ちさらに一夜常温に静置した際分離してくる油分は 67 cc 以上でなければならない。(註 6)

(5) 右により分離した油分 50 cc を取り、水 50 cc を加えて後稀硫酸にて微酸性となしなるべく速かに水蒸気蒸溜に付し、溜液の一部をとりメチルレッドを赤変しなくなるまで行う(溜液約 400 cc) (註 7.8) 冷却後残溜液より油分を分取し、これに酒精ソーダ液 30 cc を加えて還流冷却器を付し水浴上で 2 時間加熱する(註 9)

放冷後これを静かに分液漏斗に移し下層の赤褐色のアルカリ液を分取し、水 10 cc を以て 2 回漏斗の器壁及び脚部を洗いさらに水 200 cc にて石油層を洗滌し、さらに又これを苛性ソーダ液(1%) 50 cc で 2 回洗滌する。(註 10) 全アルカリ液及び洗滌液(この際少量の石油が混入しても差支えない)を蒸発皿で 150 cc になるまで濃縮し、250 cc メスフラスコに洗い込み酸性白土 1g、塩化バリウム液(10%) 30 cc を加えて後水で正確に 250 cc とす。(註 11)

これを一夜放置した後濾別し、濾液 200 cc を取り、硫酸(20%) 10 cc を加えて水蒸気蒸溜を行い約 250 cc を溜出せしめる。(註 13)

溜出液は分液漏斗に移しベンゼン 50 cc を加えて約 2 分間はよく振盪して分液する(この際生ずる潤濁は少量の食塩を加えると直ちに消失する。)(註 14)

水層はさらにベンゾール 50 cc で振盪分液し各ベンゾール溶液は別々の小型分液漏斗に移し、順次水 10 cc で洗滌しさらに水 10 cc を以つて順次洗滌を反覆し全ベンゾール溶液を 1 個の分液漏斗に集め 10 cc の N/50 苛性ソーダ液とあらかじめフェノールフタレイン溶液 1 滴を加えて中和した水 5 cc を加え約分間激しく振盪し暫時静置後分液せず直ちに N/50 硫酸液で逆滴定し消費された N/50 苛性ソーダ液の量からピレトリン I の量を求める、N/50 苛性ソーダ液 1 cc はピレトリン I の 6.56 mg に相当する。100 cc 中のピレトリン I の含有量(mg)は次式による(註 16)

$$6.56 \times (10 - N/50 \text{ 硫酸液消費量}) \times \frac{250}{200} \times \frac{(4) \text{ の石油量}}{50}$$

前記水蒸気蒸溜における残留液は冷却後圧濾(吸引濾過)し、容器及び裏質濾紙を水にて十分洗滌して洗滌水は濾液に合してこれを食塩飽和後分液漏斗に移し、エーテル 50 cc 宛で 3 回振盪分液し、各エーテル溶液は 3 個の小型分液漏斗に移し、水 10 cc 宛で 2 回順次に洗滌する。(註 15)

全エーテル溶液をフラスコに移し、エーテルを溜去して 100° 乾燥器中で 10 分間乾燥する。これに中性アルコール 2 cc を加え、残留物を溶解後中性水 200 cc を加えて一旦沸騰させ放冷する。しかる後フェノールフタレイン溶液 1 滴を指示薬とし、N/50 苛性ソーダ液で滴定して、その滴定数からピレトリン II の値を求める。N/50 苛性ソーダ 1 cc はピレトリン II の 3.72 mg に相当する。100 cc 中のピレトリン II の含有量(mg)は次式による。(註 16)

$$3.72 \times N/50 \text{ 苛性ソーダ液消費量} \times \frac{250}{200} \times \frac{(4) \text{ の石油量}}{50}$$

100 cc 中のピレトリンの含有量はピレトリン I, II の和である。

試 薬

- (1) ベンゾール、化学用ベンゾールを苛性ソーダ液(1%)で 2 回反覆振盪後水洗して塩化石灰で脱水、蒸留したもの(石油エーテル、ベンゾールの代りに沸点 50~80° の石油エーテルを同様アルカリ処理したものを使用しても良い。)
- (2) 苛性ソーダ 日本薬局方苛性ソーダ 10 g を蒸留水 10 cc に溶解し日本薬局方アルコールで 50 cc に稀釈したもの、この際不溶の炭酸塩を生ずる時は濾別する。
- (3) エーテル 日本薬局方エーテルを苛性ソーダ液(1%)で振盪洗滌後脱水再留したもの。
- (4) 食塩、酸性白土 何れも日本薬局方のも。
- (5) フェノールフタレイン溶液 日本薬局方フェノールフタレイン 1 分を日本薬局方稀アルコール 97 分に溶解した無色の液である。

4. 規格に関する註解と実験成績

(註 1) 使用するピレトリンエキスはその都度定量を行わなければならない。このためには若藪氏の方法²⁾すなわちベンゾール抽出物又はエキスを 1% 苛性ソーダ処理し、酸性物質を除去したのち定量するのが良い。われわれが 2% ピレトリンエキスと表示してある某製品(検定後の経過時日不明)を定置したところ次の成績を得た。

Table 1. Assay of Pyrethrum Extract by Wakazono's Method.

Sample (cc)	Chrysanthemumic acid I		Chrysanthemumic acid II		Pyrethrins (mg)
	N/50 NaOH (cc)	Pyrethrin I (mg)	N/50 NaOH (cc)	Pyrethrin II (mg)	
10	7.30	59.9	13.06	61.2	121.1
10	6.90	56.6	14.35	66.7	123.3
Average					122.2

このエキスを用いて規定処方通りに調製された試製乳剤 100 cc 中に含有されるエキス量は $100 \times \frac{3.42}{38.5} = 8.9 \text{ cc}$ 故予想されるピレトリン含量は $8.9 \times \frac{122.2}{10} = 108.8 \text{ mg}$ 実験にこのエキスを用いて調製した乳剤のピレトリン含量を

定量したところ次の成績を得た。

Table 2. Assay of prepared pyrethrum Emulsion. (Prepared by standard receipt with 1.22% Pyrethrum Extract).

First distillate		Chrysanthemumic acid I		Oil (cc)	Chrysanthemumic acid II		Pyrethrins (mg)
Distillate (cc)	N/50 NaOH (cc)	N/50 NaOH (cc)	Py. I (mg)		N/50 NaOH (cc)	Py. II (mg)	
30	0.44	6.15	67.6	67	12.48	77.8	145.4
400	6.10	5.85	64.3	67	11.06	68.9	133.2

ところで後述(註 5)のエキスを含有しない乳剤について Blank test を行つた結果の見掛け上のピレトリン含量の平均値(初溜 400 cc での)は 24.4 mg であるがエキス定量の結果から予想される試製乳剤 100 cc 中のピレトリン量 108.8 mg にこの値を加えると 133.4 mg となり大体第 2 表の結果と一致する。

(註 2) 燈油又は軽油には往々揮発性酸性物質を含有するを以て注意を要する。このようなものを用いて製した乳剤を検定する場合前蒸留を徹底的に行わないとピレトリン I 値を過大に評価するおそれがある。1 例として某社に割当てられた軽油 67 cc を水蒸気蒸留するとき溜液に来る揮発酸の量は次表の如くであつた。なお溜液のアルカリ消費数に相当する Py I と実際に誤差として影響して来る値との関係については註 7 を参照されたい。

第 3 表、原料燈油の水蒸気蒸留によつて捕えられる揮発酸の量(註 3) 原料に用いる硫酸化油(ロート油)及び石ケン末は商工省規格(物価見込第 938 号)に適合するものでなければならない。すなわち

Table 3. Volatile acid driven from Mineral oil by Vapor distillation, which used as Material in Emulsion.

Distillate (cc)	N/50 NaOH consumed (cc)	Corresponding Py. I (mg)
30	0.36	2.4
400	5.73	24.5

ロート油：水分 50.0% 以下，総脂肪 40.0% 以上，結合硫酸(SO₃として)3.8% 以上，中性，外観は常温で透明又は半透明の油状，水に溶解した状態は透明又は半透明。

石ケン末(第一号工業用粉末石ケン)：乾燥物質の正味重量に対し，石ケン分 92% 以上，中性脂肪及不ケン化物 1.0% 以下，アルコール不溶物 3.0% 以下，水不溶物 3.0% 以下。

(註 4) 乳剤製造の概要はまず水とロート油を所定の割合に混じ，60° に加温しながら攪拌混合する(1 分間 80 回転)，加温をやめ，攪拌を継続しつつ全量の 80% の軽油を添加して行く。加え終つたなら残余の 20% の軽油にエキスの必要量をとかしたものを攪拌下に添加する。後でホモジナイザーにかけて乳化を完了するこのようにして 400 ガロンを 3~4 時間で処理し終る。D.D.T 乳剤を製する場合の各種乳化剤の乳化成績等に関しては H.A. Geer の詳細な報告がある³⁾。

Table 4. Blanktest of Emulsion which include no Pyrethrum Extract.

First distillate		Chrysanthemumic acid I		Oil (cc)	Chrysanthemumic acid II		Pyrethrins (mg)
Distillate (cc)	N/50 NaOH (cc)	N/50 NaOH (cc)	Py. I (mg)		N/50 NaOH (cc)	Py. II (mg)	
30	0.20	1.12	1.23	67	2.00	12.5	24.8
30	0.18	1.81	19.9	67	1.51	9.4	29.3
400	—	0.89	9.8	67	1.37	8.5	18.3
400	3.12	9.29	12.2	67	1.61	10.0	22.2

(註 5) 検定を実施する際出来得る限り供用された諸原料を入手し、これらを以てピレトリンエキスを加えない乳剤を製したのについて Blank-test を行うのが望ましい。次にわれわれが行つた Blank-test の結果を示す。この結果前蒸留を 400 cc 行つてもなお 20 mg 前迄の Pyrethrin に相当する誤差が除かれない事を認めざるを得ない。この誤差を除去し真の Pyrethrin 値のみを定量する方法が理想であるが、この為にはさらに根本的に定量法自体を吟味する必要がある様に思われる。第 4 表、ピレトリンエキスを加えない乳剤の Blank-test。

(註 6) 恒温槽を使用すれば一番良いが、設備のない時はバケツ等に温水を満して行つ。折出した油層の色は製品によつて異り、ある物は褐色(くらいきあか〜はいきあか)であるが池の物は灰黄色(はいき)〜暗黄緑色(くらいきみどり)である。但し色調の差と有効成分の間には直接関係はない様に思われる。

(註 7) 前水蒸気蒸留は検体に混有する揮発性脂肪酸、エステル類及び分解によつて生じた第一菊酸等を除去するため行つたものである。これらを除去しないとピレトリン I 値を過大に評価する誤差の原因となるおそれがある。乳剤の場合もピレトリンエキスの定量の場合同様に苛性ソーダ液による脱酸処理が適用されると都合がよいのであるが、この場合は石ケン、ロート油等のため乳化を起し、油層の分離が不可能となるので適用出来ない。この水蒸気蒸留は最初の案では溜液 30 cc を得るに止めていたが、その後協議の結果現行のように改められた。

両法についてわれわれが比較した成績は次の通りである。

Table 5. The Influence of first Distillation to the Value of Pyrethrins.

Sample No.	Distillate (cc)	N/50 NaOH (cc)	Corresponding Py. I (mg)	Chrysanthemumic acid I		Oil (cc)	Chrysanthemumic acid II		Pyrethrins (mg)
				N/10 NaOH (cc)	Py. I (mg)		N/50 NaOH (cc)	Py. II (mg)	
16	30	0.39	2.6	7.00	78.1	68	14.25	90.1	168.2
16	400	6.56	43.7	5.96	66.5	68	13.62	86.1	152.6
8	30	1.56	10.1	9.05	105.4	71	11.00	72.6	178.0
8	30	—	—	9.28	103.1	71	10.74	70.9	179.0
8	400	12.93	84.6	6.07	70.7	71	11.53	76.2	146.9
8	400	—	—	6.07	71.7	72	9.75	65.3	137.0

即ち 16 検本では前水蒸気蒸留の溜出量の差による溜液の N/50 苛性ソーダ消費量の差は 6.16 cc であるが 8 検本の場合は 11.37 cc の差を示す。しかしして溜出量の差によるピレトリン定量値の差は 16 検本では 15.4 mg あるのに対し、8 検本の場合は 35.2 mg である。さらに多くの実験を行わなければ確定的なことは言えないが、この例から見ると検体の種類によつて含有する揮発酸量、引いては前水蒸気蒸留の程度(30 cc 又は 400 cc)によるピレトリン定量値の開きに関して、程度の差がある事が予想される。なお前述(註 5)の Blank-test の成績では初溜 30 cc と 400 cc で N/50 苛性ソーダ液消費量には著差を認めるも見掛け上のピレトリン定量値には予想された程のそれを認めない。この理由は、それ以後の操作のどこかで揮発性酸が除かれているものと考えられる。なお若園氏¹⁾によれば第一菊酸の約 1/2 量に相当する酢酸を加えた検体について同様な方法で定量を行つた結果、酢酸は第一菊酸の定量値に対し何等の影響をも示さない。

ここで乳剤の Blank-test に現われる誤差の原因としては揮発性、不揮発性酸が乳剤中では不揮発性エステル(例えば Glyceride)の形となつていることも予想される。前水蒸気蒸留を充分に行おうとする場合考えねばならないことはピレトリンの熱による分解である。われわれはこの程度を知るためにピレトリンエキスについて前水蒸気蒸留の時間(その間の溜出量)とピレトリンの分解程度との関係をたしかめた。対照としては前水蒸気蒸留を行わず、1% 苛性ソーダで脱酸処理したエキスを常法で定量する。

つぎに同一エキスを 5~40 分の一定時間を限つて水蒸気蒸留に附した後、速かに水温まで冷却させ 1% 苛性ソーダで脱酸処理を行つた後、常法でピレトリン値を定量した結果は第 6 表の通りであつた。

この成績によると溜液 400 cc を得るに要する 30 分間の水蒸気蒸留によつてピレトリン I はその 8.4% を減少するがピレトリン II の分解は認められない。(若干の増量を示すものは実験誤差と思う)。その結果ピレトリン総量としては約 3.5% (規格量 170 mg として約 6 mg) の減少を示す。

以上の実験結果からみても前蒸留はなるべく速かに(すくなくとも溜液 400 cc を 30 分前後で出すように)行つた

Table 6. Decomposition of Pyrethrum Extract by Vapor distillation.

No.	Time (m)	Distillate (cc)	Chrysanthemumic acid I		Chrysanthemumic acid II		Pyrethrins (mg)
			N/50 NaOH (cc)	Py. I (mg)	N/50NaOH (cc)	Py. II (mg)	
Control	0	0	15.06	123.5	17.05	94.1	217.6
I	5	55	14.00	114.8	17.35	95.8	210.6
II	10	133	13.84	114.5	17.45	96.3	209.8
III	20	280	13.84	114.5	17.85	98.5	213.0
IV	30	435	13.79	113.1	17.55	96.9	210.0
V	40	520	13.41	110.0	17.20	94.9	204.9

がよい。そのためには水蒸気をかなり烈しく導入する必要があるが、このとき冷却を完全に行わないと揮発酸を散逸させるおそれがある。われわれは冷却を完全に行うため長さ 50 cm のリービヒ冷却器と蛇管冷却器を連結させている。

(註 8) 水蒸気蒸溜装置はケン化後の後蒸溜でそのまま適用出来るのであらかじめ組立てて置くのが望ましい。蒸溜フラスコはガラス製磨合せで泡末防止装置を附したものが良い。

(註 9) ケン化に使用する酒精ソーダは必ず局方アルコール(90%)を以て調製しなければならない。もし 98% 程度の無水アルコールを用いて調製したものをを用いるとケン化後油層と水層の分離困難となる。また苛性ソーダは純品を用いないと保存中着色する。

(註 10) 洗滌の順序はこの通りに行わないと乳化を起し分離困難となることがある。下層アルカリ液及び洗液をビーカーに集めて濃縮する。規格には分液の際多少の油分が混在しても良いと書いてあるが、これは後に塩化バリウムを加えた際バリウム塩と油分が混つて汚くなるので油分は出来るだけ分離した方がよい。

(註 11) 難溶性の高級脂肪酸バリウム塩を析出させる。この物や若干の夾雑物を吸着し、濾過しやすくするために酸性白土を加える。両菊酸のバリウム塩は水溶性であるが、他の混入酸中 Lauric acid $C_{11}H_{23}COOH$ 以上の高級脂肪酸のバリウム塩はいずれも水に難容または全く不溶で、バリタ処理によつて除去されることは明かにされている。ピレトリンエキス定量の場合においてはバリタ処理で除去されない両菊酸及び Capric acid 以下の酸の総量のうち C_{12} ~ 10_{10} の酸量はわずかに 2% でほとんど定量に影響を与えないとされているが乳剤については報告なく、前述の実験成績からみてもより慎重に考えねばならない。

(註) ピレトリン含量は計算式において $\frac{250}{200}$ を乗じて補正する。

(註 13) 250 cc を約 17 分間で溜出せしめるのがよい。このためには冷却を完全にすると共に蒸溜フラスコも加熱してやる必要がある。

若槻氏は水蒸気蒸溜によつて第一菊酸の 98% 以上が溜出されるがその約 60% は最初の 50 cc の溜液中に含有される故、蒸溜当初の溜出速度は特に慎重に行い、また蒸溜フラスコ中に残溜する液量も第一菊酸を完全に溜出せしめるためには、なるべく少量とすべきで普通 50 cc 以下となるように注意することを指摘している。われわれはこの操作における蒸溜速度と必要溜液量の関係をたしかめるため、脱酸処理したピレトリンエキスを規格方法に従つてケン化及びその後の操作を行つた後、水蒸気蒸溜を行つて溜液 50 cc 及び 100 cc 毎に溜出時間とそれらの N/50 苛性ソーダ液消費量とをしらべた結果は次表の如くであつた。

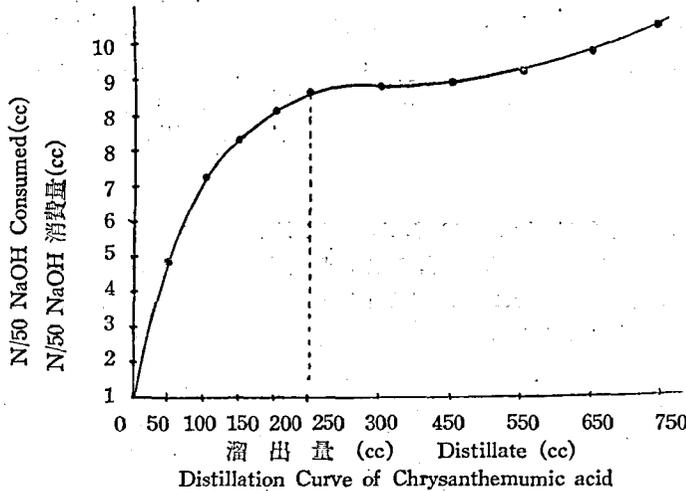
Table 7. Distilling Condition of Chrysanthemumic acid I.

(Total volum of liquor before distillation was 200 cc; used regular apparatus; heated the distilling flask.)

Distillate No.	I	II	III	IV	V	VI	VII	II	IX	X	Total
Distillate (cc)	50	50	50	50	50 (250)	100	100	100	100	100	750.
Time for distillation (m,s)	3.20	3.20	3.10	3.10	3.10 (16.20)	6.00	5.40	5.20	4.20	4.10	43.50
N/50 NaOH Consumed(cc)	3.86	2.40 (6.26)	1.00 (7.26)	0.94 (8.20)	0.53 (8.73)	0.10 (8.83)	0.11 (8.94)	0.28 (9.22)	0.52 (9.74)	0.62 (10.36)	10.36
Corresponding Py. I (mg)	31.7	20.5	8.2	7.7	4.3	0.8	0.9	2.3	4.3	5.1	85.8

この結果をグラフに表すと次のようになる。

第1図 第一菊酸の溜出曲線



この成績からわかることは 250 cc までの酸の溜出状態はきれいな二次曲線によつて示され 350 cc で一応、酸の溜出は完了し、250 cc ではその約 99 % が溜出している。500 cc まではほとんど酸の溜出がみられないのにそれ以上蒸溜を継続するときは極めて徐々ながら再び酸の溜出量が増加することが認められるが、これは第二菊酸その他の別個の因子によるものと想像されるので所要時間 15~20 分という条件で溜液量 250 cc という規定はまず適当と判断されるが、初期の溜出速度が遅い場合には溜液量 250 cc ではなお不十分のおそれがあるので、常に溜液 300 cc を得るまで蒸溜を行うのが良いと思はれる。

ただしこの条件で残留液を 50 cc にすることは困難であつた。

(註 14) ベンゾールと振盪する際、いままでの経験によるとほとんどが白濁して分離が困難となるから振盪前に食塩を少量加えておくが良い。

(註 15) 第一回の 50 cc のエーテル抽出液を水洗する場合、始めからあまり烈しく振盪すると粘稠性となつて、水とエーテルの分離が困難となる。もしこのような状態となつた時には 2 回目のエーテル液を一緒に行えば分離出来る。

(註 16) ビレトリン I 及び II の計算はこの表から算出すれば便利である。油量に相当するビレトリン量 N/50 に NaOH の消費量を乗ずれば求むるものが得られる。

ビレトリン量 油量	ビレトリン I	ビレトリン II	ビレトリン量 油量	ビレトリン I	ビレトリン II
62	10.17	5.77	72	11.81	6.70
63	10.33	5.86	73	11.97	6.79
64	10.50	5.95	74	12.14	6.88
65	10.66	6.05	75	12.30	6.98
66	10.82	6.14	76	12.46	7.07
67	10.99	6.23	77	12.63	7.16
68	11.15	6.32	78	12.79	7.25
69	11.32	6.42	79	12.96	7.35
70	11.48	6.51	80	13.12	7.44
71	11.64	6.60			

最後に昭和 24 年, 25 年度の当所に於ける試験成績を報告すると, 昭和 25 年度の検定件数 27 件中不適は 1 件もない. この成績は前年度の検定数 48 件中適 28 件, 不適 20 件の成績と較べると格段の進歩を示しているが, これは原料資材が良質となつた事も大きな原因であるが, 検定が全国的に実施された事が動機となつて製造業者の不合格品絶滅の自発的意欲の現れと考えられ誠に喜びに耐えない. なお本剤の全国生産量は 24 年度 8,686 ドラム, 25 年度 8,275 ドラムであつた. 本試験研究並びに規格設定に當つて終始御指導御後援いただいた京都大学農学部武居研究室高野武之助博士並びに長岡駆虫剤製造株式会社若園潔博士に深く感謝すると共に, この検定を企画された厚生省薬務局監視課技官各位並びに実施を担当された各衛生研究所技師各位に敬意を表する.

文 献

- 1) Tatterfield F, Hobson R.P, Giningham C.T: J. Agr. Sci 19 266(1929)
- 2) 武居, 若園: 農化 16 399(1940): 若園, 平岡, 武居: 農化 18 766(1942).
- 3) Geer: Natural Research Consel Insect Control Comitee Report. No 185, Nov 1946.
- 4) 武居, 大野, 中島: 農化 16 389(1940).

Requirement of the Pyrethrum Emulsion for Epidemic Prevension with Commentary and Experimental Data.

Kazutaka YAMAGUCHI, Motoo NAGASAWA, Sôhei ABE

A. The requirement and assay standard of the pyrethrum emulsion for epidemic prevension was created in 1949, we cooperated this task with civil experts.

B. Ths Standard was offered to G.H.Q. from the Welfare Ministry.

C. We offered commentary and experimental data about this requirement and promoted the propagation of technique to executive engineers.

D. In 1949 we found 20 no good samples in 48 samples as the result of inspection, but in 1950 we could not find any bad sample in 27 samples.

B. The Requirment of the Pyrethrum Emulsion for Epidemic Prevention.

- 1) The pyrethrum Emulsion is manufactured by mixing and emulsifying the following drugs:

Pyrethrum extract including	
2% pyrethrin	3.42 Liter
Kerosene or Gas oil	22.60 "
Water	11.30 "
Sulfonated oil	650 Gram
Soap powder	650 "

From the above quantity about 39.5 Liter of product is manufactured.

100 cc. of this product should contain more than 140 mg. of pyrethrin.

- 2) This emulsion occures as a white or a slight brown solution and is rather viciid.

Though sometimes it separates a liquid layer, it should make an emulsion keeping its state for a long time, when it is stirred.

- 3) When, 1 part of the product is poured into 30 parts of water, they should be mixed rapidly each other and should make a fine uniform emulsion in which a lot of drop floating oil or any other impurities should not be seen.

The gravity of the product is about 0.9.

- 4) More than 67 cc. of oil part should be got when place 100 cc. of the emulsion in separating funnel of 200 cc., add 100 cc. of sulfuric acid (20%), allow the mixture to stand at 40-60°C for 2 hours with occasional shaking, and further, allow to stand at ordinary temperature over night.

5) The quantitative analysis of pyrethrin is carried on as follows :

Place 50 cc. of the oil part (Art. 4) and 50 cc. of water in a flask and without delay, make steam distillation for the mixture until the distilled solution no longer changes methylred into red (when all distillate reach about 400 cc.) and from the rest solution remaining on the distillation, separate the oil part, transfer this part to a distillation flask fitted with a reflex condenser, add 30 cc. of alcoholic sodium hydroxide solution and heat on the water bath for 2 hours.

After cooling at the ordinary temperature, transfer the mixture quietly to a separating funnel, separate the redish brown alkaline solution, the lower layer and wash quietly the wall and foot of the funnel with 10 cc. of water twice, then wash the Kerosene layer, firstly, with 20 cc. of water, secondly with 50 cc. of sodium hydroxide solution (1%) twice.

Gather all alkaline solution and the washings (it does not matter that there is a little Kerosene in it), transfer to a porcelain basin and evaporate until the quantity of the solution become about 150 cc. and then add 1 g. of Japanese acid clay (Note : as an absorbent for impurities) and 30 cc. of 10 % barium chloride solution (Note : as an absorbent for fatty acid and so forth) and make the solution to 250 cc. correctly with water.

Allow this solution to stand once, filtrate, and place 200 cc. of this filtrate in the flask, add 10cc. of sulfuric acid (20%) and distill with steam till the distillate reaches 250cc. (A) (Note : It is agreeable way to get about 250cc. of distillate in 25 minutes since begin distillation). Transfer the distillate to a separating funnel, add 50cc. of benzene, shake strongly for two minutes and separate each water and benzene layer (Note: a little turbidity which arise in this case disappears at once when a little sodium chloride is added). Shake the water layer with 50 cc. of benzene and separate benzene layer.

Transfer each benzene solution to small separating funnels respectively, wash each of them with 10 cc. of water by turns and repeat washing again with further 10 cc. of water. Then, gather all benzene solution in a separating funnel, add 5 cc. of N/50 sodium hydroxide solution and 5 cc. water neutralized previously with one drop of phenol-phthalein, shake strongly for about 2 minutes, allow to stand for a while, and titrate (back titration) the mixture directly without separation, with N/50 sulfuric acid, and get the quantity from the N/50 sodium hydroxide solution consumed.

1 cc. of N/50 sodium hydroxide solution is equivalent to 6.56 mg. of pyrethrin I.

The quantity of pyrethrin I in 100cc. is calculated by following formula :

$$6.56 \times (N/50 \text{ sulfuric acid consumed}) \times 250/200 \times \text{Qty. of Kerosene}/50$$

The quantity of pyrethrin II included in the rest solution remaining on distillation (A) is calculated as follows :

After cooling the rest solution, filtrate at reduced pressure and wash sufficiently containers and hardened filter paper with water ; add the washings to the filtrate and after saturating this solution with sodium chloride, transfer to a separating funnel, add 50cc. of ether, shake and separate, repeating shaking and separate twice more with 50 cc. of ether respectively. Transfer each ether solution into small three separating funnels and wash each of them twice with 10 cc. of water by turns. Then, transfer all ether solution to a flask and after distilling ether off, dry sufficiently in an exsiccator at 100°C. for ten minutes. Add 2 cc. of neutral alcohol to the dried residue to dissolve them, and 20 cc. of water, boil once and allow to stand to cool. Add one drop of phenolphthalein as the indicator, titrate the solution with N/50 sodium hydroxide solution and get the quantity of pyrethrin II from the consumed drops.

1 cc. of N/50 sodium hydroxide is equivalent to 3.72 mg. of pyrethrin II.

The quantity of pyrethrin II in 100 cc. is calculated by the following formula :

$$3.72 \times N/50 \text{ sodium hydroxide solution} \times 250/200 \times \text{Qty. of Kerosene}/50$$

Total qty. of pyrethrin in 100 cc. is as follows :

Qty. of pyrethrin I + Qty. of pyrethrin II

Reagents :

- 1) Benzene : Shake benzene for chemical use with sodium hydroxide solution (1%) twice, wash with water and after dehydration with calcium chloride, distill it.
(Petroleum ether) : Instead of benzene, petroleum ether (B.P. 50-80°C) may be used after it is treated with sodium hydroxide as in the same way as mentioned above.
- 2) Alcoholic sodium hydroxide : Dissolve 10 gr. of J.P. sodium hydroxide in 10cc. of distilled water and dilute it with J.P. alcohol to 500cc. when insoluble carbonate appears, it is filtrated.
- 3) Ether : Shake and wash J.P. ether with sodium hydroxide solution (1%) and distill after dehydration.
- 4) Sodium chloride, Japanese acid clay : Use those provided in J.P.
- 5) Phenolphthalein : Colourless solution made by dissolving one part of J. P. phenolphthalein into 99 parts of J.P. alcohol.

硝子容器について

藤井正道 ・ 堀部 隆

Studies on the Glass Containers.

Masamichi FUJII and Takashi HORIBE

緒 言

著者らけ本誌前号において、注射剤用硝子容器について米局(第13版)日局(第5改正)及著者らの測定せる案等の方法によりアルカリ溶出度試験及び耐寒耐熱試験を施行し得たる結果を報告した。

然るに其後、米局に在つては前記第13版は改正され第14版(1949)となり又日局においても第6改正(23年3月)となり、何れにおいても硝子容器に対する試験方法は全面的に改正されるに至つたのである。

それ故に著者らも此等改正された試験方法により昨年春以来全国的に収去された注射剤用硝子容器即ちアンブール726種(大型アンブール13種)、瓶38種並に依頼による減圧式輸血瓶及プラズマ瓶につき試験を施行し得たる成績を併せて報告し大方の参考に供せんとする次第である。

試 験 之 部

I.—日本薬局方(第6改正)による注射剤用硝子容器のアルカリ溶出度試験

日局第6改正における注射剤用硝子容器に対する試験方法は、大略次の通りである。

洗滌せる容器を粉碎し篩過し4号篩を篩過し、5号篩を篩過せざる粉末につきこれを蒸留水及アルコールにて洗滌し乾燥した後、之より5gを秤取し、200ccの三角フラスコ中に入れ、蒸留水50ccを加え、沸騰水浴中にて2時間加熱後硝子粉末より溶出せるアルカリをメチルレッドを指示薬として、N/50硫酸で滴定する。

盲検補正を行い、N/50硫酸の消費量は容器の種類により次の量以下でなければならない。

- | | |
|--------------------------------|-------|
| A—熔封できる内容量 10cc 未満の容器 | 0.3cc |
| B—熔封できる内容量 10cc 以上 100cc 未満の容器 | 0.4cc |
| C—熔封できる内容量 100cc 以上の容器 | 0.6cc |
| D—熔封できない容器(容器として用いる注射筒を含む) | 2cc |

即ち日局(第6改正)においては第5改正における、容器中に試薬を封入し施行する試験方法、即ちいわゆる容器試験は(第6改正)においては無く、たゞ粉末法により、かつ容器の大きさ別に、アルカリ溶出度の許容量を違へた判決方法を採用している。

即ち判定方法を除き本試験方法は詳細にわたつては多少の相違はあるが、その骨子は米局におけるI型試験方法に類似したものである。しかして其の試験成績は第1表の如し。

Table I. Testing results (Conform to J.P. No.5)

Alkali Solubility Sample	<0.1cc	0.1~ 0.2cc	0.2 0.3cc	0.3~ 0.4cc	0.4~ 0.5cc	0.5~ 0.6cc	0.6~ 1.0cc	1.0~ 2.0cc	2.0~ 4.0cc
(cc)									
0.5	1(6%)	16(94%)	—	—	—	—	—	—	—
1.	14(8%)	141(79%)	18(10%)	3(15%) (Bad)	—	2(1%) (Bad)	—	1(0.5%) (Bad)	—
2.	10(7.9%)	88(69.4%)	23(8%)	1(6.8%) (Bad)	2(1.6%) (Bad)	1(0.8%) (Bad)	—	2(1.6%) (Bad)	—
2.5~3	1(.3%)	10(83.4%)	1(8.3%)	—	—	—	—	—	—
4~5	8(8.7%)	60(57.4%)	26(5%)	7(6.7%) (Bad)	1(1%) (Bad)	1(1%) (Bad)	—	—	1(1%) (Bad)
10	1(2.8%)	24(64.8%)	5(13.5%)	5(13.5%)	2(6.4%) (Bad)	—	—	—	—
20	13(6.9%)	101(53.2%)	53(27.9%)	16(8.4%)	6(3.2%) (Bad)	—	—	—	1(0.5%) (Bad)
50	—	6(30%)	9(45%)	5(25%)	—	—	—	—	—
100	—	7(43.8%)	4(25%)	1(6.2%)	4(25%)	—	—	—	—
200~300	—	3(30%)	2(20%)	3(30%)	1(10%)	1(10%)	—	—	—
500	—	10(43.5%)	6(26.1%)	5(21.7%)	2(8.7)	—	—	—	—

II. 大型アンブールの日局(第5及第6改正)及米局(第13版)によるアルカリ溶出度試験。

第2表中の大型アンブールにつき更に日局、米局及前号記載の著者らの漸定せる案中A型試験等の諸試験を施行した結果第2表に示す如き成績を得た。

Table II. Testing results of large ampoules

No.	Volume (cc)	J.P.(No.5)	J.P.(No.6) (cc)	U. S. P.			Our method	
				I <0.6cc	II <0.5cc	III <5cc	A <0.6cc	B <5cc
56	500	Good	0.220	0.513	—	2.50	0.404	0.12
115	500	"	0.262	0.441	—	1.67	0.340	0.25
137	50	"	0.386	0.441(Bad)	0.554(Bad)	8.10(Bad)	—	—
149	100	"	0.198	0.562	0.110	5.82(Bad)	—	—
150	100	"	0.160	0.302	0	1.60	0.294	—
160	100	"	0.318	1.138(Bad)	0.401	—	0.78(Bad)	—
161	300	"	0.460	1.206(Bad)	0	2.05	0.68(Bad)	0.26
162	500	"	0.390	1.182(Bad)	—	1.30	0.568	0.84
180	500	"	0.294	0.76(Bad)	—	1.43	0.406	0.77
181	300	"	0.282	0.80(Bad)	—	1.65	0.411	0.75
182	100	"	0.192	0.433	0.08	2.20	0.370	—
183	50	"	0.337	—	0.316	0.98	0.560	0.85
756	50	"	0.256	0.60	—	2.54	0.380	1.25

即ち日局の試験法に拠ると第5改正及第6改正の何れの方法によるも全部試験に適合する。

然るに米局第 13 版に拠れば I 型試験に於て No.137, No.160, No.161, No.162, No.180, No.181 等が試験に適合せず, その他の試験にはいずれも適合する. 又著者らの漸定案に拠れば, 米局に拠る試験成績とは並行し, A 型試験において No.160 及 No. 161 が試験に適合せず, その他の試験にはいずれも適合する.

III-ペニシリン用硝子瓶のアルカリ溶出度試験

市販ペニシリン及ストレプトマイシン用硝子瓶につき日局 (第 5 改正及第 6 改正), 米局 (第 13 版) 及著者らの漸定案に拠り試験を施行したるに第 3 表に示す如き成績を得た. なお参考のため一外国製ストレプトマイシン用瓶につき同様の試験を施行した.

Table III. Testing results of bottles for penicilline and streptomycin

No.	J.P. (No. 5)	J.P. (No.6) <2.0cc	U. S. P.			Our method <0.6cc
			I <0.6cc	II <0.5cc	III <5cc	
3	Yellow 1 Pink 2 (Bad) Red 1	0.152	0.725 (Bad)	0.11	—	—
9	Red 3	0.500	1.222 (Bad)	0	5.51 (Bad)	0.836 (Bad)
11	Yellow 1 (Bad) Red 1	2.103 (Bad)	>8 (Bad)	0.63 (Bad)	6.58 (Bad)	3.60 (Bad)
31	Yellow 2 (Bad)	1.752	5.655 (Bad)	0.745 (Bad)	4.38	2.69 (Bad)
35	Red 2	0.156	—	0.101	1.03	0.224
77	Red 2	2.198 (Bad)	7.105 (Bad)	3.43 (Bad)	5.89 (Bad)	3.89 (Bad)
209	Pink 1 Red 2	2.838 (Bad)	7.744 (Bad)	2.38 (Bad)	7.21 (Bad)	4.09 (Bad)
217	Yellow 1 (Bad) Pink 1	2.234 (Bad)	3.77 (Bad)	2.39 (Bad)	6.20 (Bad)	3.34 (Bad)
220	Yellow 1 (Bad)	0.520	1.328 (Bad)	0.965 (Bad)	5.66 (Bad)	0.828 (Bad)
221	Yellow 2 (Bad)	3.052 (Bad)	6.18 (Bad)	2.15 (Bad)	7.01 (Bad)	3.564 (Bad)
246	Yellow 2 (Bad)	2.764 (Bad)	6.71 (Bad)	2.49 (Bad)	6.91 (Bad)	3.92 (Bad)
247	Red 2	0.462	1.16 (Bad)	0.40	5.85 (Bad)	0.86 (Bad)
329	Red 1 Pink 2	0.624	1.33 (Bad)	—	6.70 (Bad)	0.96 (Bad)
363	Red 2	0.593	1.50 (Bad)	—	6.50 (Bad)	0.98 (Bad)
409	Red 2	—	6.02 (Bad)	(Bad)	7.45 (Bad)	3.22 (Bad)
453	Pink 2 (Bad) Yellow 2	0.733	2.13 (Bad)	1.22 (Bad)	5.01 (Bad)	1.84 (Bad)
454	Pink 2	0.846	2.59 (Bad)	1.01 (Bad)	—	1.76 (Bad)
460	Yellow 2 (Bad)	2.430 (Bad)	6.70 (Bad)	2.12 (Bad)	—	—
523	Pink 2 (Bad) Yellow 2	2.548 (Bad)	8.00 (Bad)	4.07 (Bad)	8.25 (Bad)	4.22 (Bad)
541	Red 2	0.540	1.618 (Bad)	1.40 (Bad)	5.65 (Bad)	0.94 (Bad)
542	Red 2	0.540	1.68 (Bad)	1.34 (Bad)	5.55 (Bad)	0.98 (Bad)
710	Red 2	2.676 (Bad)	8.99 (Bad)	1.29 (Bad)	8.31 (Bad)	4.36 (Bad)
712	Pink 2 (Bad) Yellow 2	0.572	1.268 (Bad)	—	—	0.744 (Bad)
719	Yellow 2 (Bad)	3.118 (Bad)	7.776 (Bad)	—	9.58 (Bad)	5.08a (Bad)
720	Yellow 2 (Bad)	0.590	1.832 (Bad)	—	2.30	—
728	Pink 2 (Bad) Yellow 2	2.723 (Bad)	7.212 (Bad)	3.12 (Bad)	8.08 (Bad)	5.256 (Bad)
729	Red 2	0.492	1.482 (Bad)	—	7.25 (Bad)	0.732 (Bad)

No.	J.P. (No.5)	J.P. (No.6) <2.0cc	U. S. P.			Our method <0.6cc
			I <0.6cc	II <0.5cc	III <5cc	
749	Red 2	0.263	0.72 (Bad)	0.158	2.54	0.434
752	Red 2	2.582(Bad)	8.295(Bad)	0.934(Bda)	7.15 (Bad)	3.88 (Bad)
767	Red 2	1.152	3.62 (Bad)	0.442	4.68	1.664(Bad)
768	Red 2	1.672	6.39 (Bad)	1.34 (Bad)	4.10	3.12 (Bad)
769	Yellow 2 (Bad)	25843(Bad)	6.33 (Bad)	1.71 (Bad)	8.10 (Bad)	4.68 (Bad)
792	Red 2	—	1.552(Bad)	0.41	5.19 (Bad)	0.93 (Bad)
793	Red 2	0.520	1.085(Bad)	0.44	4.33	0.98 (Bad)
807	Yellow 2 (Bad)	1.820	5.032(Bad)	1.86 (Bad)	5.65 (Bad)	3.234(Bad)
813	Yellow 2 (Bad)	2.936(Bad)	8.127(Bad)	—	9.74 (Bad)	1.18 (Bad)
817	Pink 2 Yellow 2 (Bad)	0.590	1.412(Bad)	—	—	0.918(Bad)
T	—	3.042(Bad)	9.14 (Bad)	1.515(Bad)	6.68 (Bad)	—
×	—	2.119(Bad)	4.425(Bad)	0.109	2.75	—

本試験成績においては、日局第 5 改正に拠れば、No.3, No.11, No.31, No.217, No.221, No.246 No.453, No.460, No.523, No.712, No.719, No.720, No.728, No.769, No.807, No.813, No.817 等の 17 種が試験に適合しない。

日局第 6 改正に拠れば、No.11, No.31, No.77, No.209, No.217, No.221, No.246, No.460, No.523, No.710 No.728, No.752, No.76, No.768, No.769, No.702, No.719, No.807, No.813 等の 19 種が試験に適合しない。

著者らの漸定案に拠れば、A 型試験において、No.35 及 No.749, のみが試験に適合し其他は全部適合しない。

米局第 13 版に拠れば此等の瓶に対しては I 型試験に適合する事が要求されているのであるが、この I 型試験において全品が適合しない。なお II 型及 III 型試験を施行した結果は、II 型試験において No.3, No.9, No.35, No.247, No.363, No.749, No.792, No.793 等の 8 種が適合しその他は適合しない。

III 型試験においては、No.31, No.35, No.720, No.749, No.767, No.768, No.793 等の 7 種が適合し其他は適合しない。

又一外国製ストレプトマイシン用瓶は日局第 6 改正及米局第 13 版の I 型試験において何れも適合しない。但し米局第 13 版の II 型及 III 型試験には何れも適合する。

IV—米国薬局方第 14 版による注射剤用硝子容器のアルカリ溶出度試験

試験

注射剤用硝子容器は第 14 版においては第 13 版同様型式は I, II, III, IV と 4 つの型に分類され、そのうち I 型に属するものは、あらゆる注射剤に対して使用され得るものであり、II 番以下は夫々注射剤の性質に応じて區別して使用されるものである。即ち分類方法は稍々類似しているのであるが、試験方法は全く異り、粉末法 (Powdered Method)、耐水試験 (Water Attack)、耐酸試験 (Acid Attack) の 3 方法に別けられてゐる。

而して I 型は粉末法によりアルカリ溶出度を試験し、アルカリ溶出度 1.0cc 以下でなくてはならない。

型 II は耐水試験及耐酸試験の 2 種の試験法が規定され、勿論之は注射剤の pH によつてその何れかの試験を施行する如く規定されてゐるのであるが、前者はアルカリ溶出度 0.7cc 以下後者は同様に 0.7cc 以下でなくてはならない。

型 III 及型 IV も型 II と同様、耐水試験及耐酸試験の 2 種の試験法が規定され其等の要求は次の如く定められている。

粉末法 (Powdered Method) ;—

洗滌乾燥せる試料を粉碎し、40 番篩を篩過し 50 番篩の篩上の粉末をアセトンにて洗滌したるもの 10g を秤取し、硬質硝子製三角フラスコに入れ蒸留水 50 cc を加え、加圧釜に入れて、100°C より 1 分間に 1° の割合で温度を上昇せしめ 121° に達してより 30 分間加熱した後、1 分間に 0.5° の割合で冷却し、常圧に至らしめ、釜より

フラスコを取出し、溶出せるアルカリをメチルレッドを指示薬として 0.02 N 硫酸で滴定する。盲検補正を行う。

Type	I	II	III	IV
Method				
Powdered Method	<1.0 cc	—	—	—
Water Attack	—	<0.7 cc	<5.0 cc	<0.2 cc
Acid Attack	—	<0.7 cc	<2.0 cc	<0.2 cc

耐水試験 (Water Attack 121°)

再蒸溜水にて 2 回洗滌せる容器に 9 分目、再蒸溜水を填充し、錫箔にて蓋を施し、加圧釜に容れ加熱し、100° に達してより 10 分間其温度を保持し、其後 1 分間 1° の割合で温度を上昇せしめ 121° に達してより 1 時間保持せる後、1 分間 0.5° の割合にて冷却し、38-46 分間にて常圧とし、釜より取出し各容器より正確に填充液を 100cc 宛採り、メチルレッドを指示薬として 0.02 N 硫酸で滴定する。盲検補正を行い 0.02 N 硫酸の消費量を算出す。

耐酸試験 (Acid Attack 121°)

再蒸溜水及アセトンにて 2 回洗滌せる容器に 9 分目浸出液を填充し、錫箔にて蓋を施す。若し試験する瓶が内容液 100 cc を中和するに 0.02 N 硫酸の 0.8 cc の当量以上要する時は浸出液として 0.0005 N 硫酸を使用し、その他の場合は 0.0002 N 硫酸を使用する。之を加圧釜に入れ、加熱し 100° に達せしめその儘 10 分間保持し、その後 1 分間 1° の割合にて温度を上昇せしめ、121° に達して 1 時間保持せる後、1 分間 0.5° の割合にて冷却し、38-46 分間にて常圧とし、釜より取出し、各容器より正確に填充液を 100 cc 宛採り、メチルレッドを指示薬として 0.02 N 苛性ソーダ溶液にて滴定し次式により 0.02 N の酸の cc として滴定の結果を記録する。

$$V - 0.98B$$

但し V：浸出液 100 cc に対応する 0.02 N 苛性ソーダ溶液の量(cc)。

B：容器中の溶液 100 cc の滴定に要する 0.02 N 苛性ソーダ溶液の量(cc)。

上記の如き米国薬局方第 14 版所載の注射剤用硝子容器試験法に準拠減圧式輸血瓶及プラズマ瓶に対し試験を施行したるに第 4 表に示す如き成績を得た。

Table IV Testing results of alkali solubility for vacuum blood and plasma bottles (Conform to U.S.P. No.14)

Method	Powdered Method (cc)	Water Attack (cc)	Acid Attack (cc)
Sample			
Bottle. Vacuum. Blood			
G 250 cc	0.78	0.176	—
H 250 cc	0.42	0.200	0.15
Ix-6 250 cc	—	0.214	—
Ix-5 250 cc	—	0.133	—
Ix-6 250 cc	—	0.070	—
Ix-5 250 cc	—	0.173	—
Ix-5 250 cc	—	0.230	—
Plasm Bottle			
J 400 cc	0.59	0.260	0.07
K 400 cc	0.733	0.128	—

なお減圧式輸血瓶及プラズマ瓶につき米国薬局方(第 13 版)によるアルカリ溶出度試験をも施行したるに第 5 表

及第 6 表に示す如き成績を得た。

Table V Testing results of alkali solubility for vacuum blood bottles (Conform to U.S.P. No. 13)

Method Sample	Type I <0.6 cc	Type II <0.5 cc	Type III <5.0 cc
A	0.539	0	2.60
B	0.507	0	1.25
C	0.480	0	2.67
D	0.544	0.005	1.04
F	0.840 (Bad)	0.44	1.90
F	0.812 (Bad)	0.04	1.80
G	1.522 (Bad)	—	—
Bottle (Ordinary)	1.92 (Bad)	0.276	—

Table. VI. Testing results of alkali solubility for vacuum blood and plasm bottles (Conform to U.S.P. No.13, No.14 and J.P. No.6)

Method Sample	U. S. P. (No. 14)			U.S.P.(No.13) Type I	J.P. (No.)
	Powdered Method	Water Attack	Acid Attack		
Plasm Bottle. L	1.15 (Bad)	0.08	0.04	0.705 (Bad)	0.252
M	0.62	0.11	0.05	0.402	0.312
N (400 cc)	0.582	0.255	0.07	0.337	—
Bottle Vacuum. Blood O (250cc)	0.921	0.205	0.14	0.572	—

なお我国においては減圧式輸血瓶に対するアルカリ溶出度については米局(第 14 版)におけるII型の試験中耐水試験により試験を施行するが如く規定している。然るに米局においてはこの目的の爲めには型I或は型Vの規定に適合するものでなくてはならない事が定められているのである。

第 4 表に拠れば J において粉末法によれば型Iに適合するものも耐水試験においては型IVに対しては不適合となる場合が示される。又第 6 表においては L は粉末法によれば型Iに不適合なるにも拘らず、耐水、耐酸試験においては優秀の成績で型IVに適合する。

結 論

注射剤用硝子容器に対するアルカリ溶出度試験に対しては日本薬局方においては昭和 26 年 3 月第 6 改正において全面的に改正され、米国薬局方における型 I の試験の如く、粉末法が採用された。しかして容器の容量、種類によりアルカリ溶出量の限度を違えて規定される事となつた。

それ故に米局第 13 版に類似した著者らの漸定案はここに全くその必要を認めなくなつたのである。しかし著者らは尙お希望を棄て、はいない第 6 改正に於ける規定は試験方法においては全く同意し得るも、それに規定されたアルカリ溶出量の限度には只機械的に線を引き過ぎる感のある事である。此の点、米局におけるが如く注射剤の種類により用途別にアルカリ溶出量の限度を規定せば、そこにはじめて薬学的意義を生ずるものであつて、かゝる第 6 改正に示されたが如き規定は全く硝子容器製造業者に対する工業規格に属すべく、日本薬局方に記載すべき意義からは遊離しているかに見えないであろうか。

又米国薬局方においては型 I のみか粉末試験により其他の型II型III及型IVはすべて所謂容器試験である。かゝる容器試験が試験する上において不安定なる事はすでに前号に記載せり。

次に減圧式輸血瓶に関しては国産品にあつても米局の型 I 試験に適合するもの多く米局(第 14 版)に規定せる如く規格を上げる事が望ましい。

著者らは今後なお硝子容器に対する研究に不断的努力をなさんとするものである。

Research on the Glass Container
Masamichi FUJII and Takashi HORIBE

In the preceding memoir, we reported the assay result of glass containers for injections. Now, we offer the second report of the assay result of them.

ズルチン中パラフェネチジン検出法の検討

福 澤 富 美

On the Detection of P-phenetidine as an Impurity in Dulcin Preparation

Humi HUKUZAWA

昭和 23 年 10 月以来食品衛生法第 14 条による合成甘味料の製品検査が施行されているが、その検査規準である食品衛生試験法(第五改正日本薬局方も同じ)のズルチン試験項目の内夾雑物パラフェネチジンの検出法(「本品のアルコール溶液(1+29)3cc に水 3cc ヨード溶液 3 滴を加えて熱するとき赤色を呈してはならない」)は、パラフェネチジンの夾雑によつて起る呈色状態が、ヨード溶液の黄色のために妨げられ、その判定は困難である。そこでパラフェネチジンの溶液について、試薬ヨード溶液の量を 3 滴用いた場合と、1 滴に減じた場合とを比較試験したところ、その呈色状態はその溶液の濃度によつて各々異なつて現われ、かつ色の発現する時間にも遅速のある点等明らかに知ることができた。そこで更に検査開始以来昨 24 年 9 月に至る間に提出された約 1600 の検体及び少数の依頼試験検体を合格及び不合格別に各々ヨード溶液の添加量を規定量(3 滴)とした場合と添加量を減じた場合(1 滴)との呈色の状態を時間的に比較観察した。その結果(第二表及び第三表)現行の規定では明瞭に検出し得ない量のパラフェネチジンでも後者の方法をとるときは、容易にこれを検出することができかつその検出度は製品の色、アルコールに対する溶状等の判定基準とも略一致しているので、現行法の試薬ヨード溶液の添加量は、これを後者の如く減ずる方が妥当と考えられたので、こゝにその試験成績を報告する。

試 験 成 績

I. パラフェネチジン溶液についての呈色試験

試験実施法：パラフェネチジンを水及アルコール同容混液に溶解し第一表に示すような各種濃度の溶液をつくり、各々 6cc 宛を 2 本の試験管に採り、一方にはヨード溶液 1 滴を、他方には 3 滴を加え、常温に放置した場合及び沸騰水浴中に加熱した場合の呈色状態を観察した。

第一表の試験において、ヨード溶液 3 滴を用いた場合は、パラフェネチジンの濃度 1/1,000 から 1/30,000 溶液の間において、時間の差はあるが、一様に褐色を呈し、1/40,000 から 1/50,000 溶液においては、その紅色はヨード溶液の黄色に妨げられ、類紅色の呈色反応を認めることはできない。然しヨード溶液 1 滴を用いた場合は、1/1,000 から 1/2,000 溶液においては、水浴中に加熱しなくても直ちに紅色から帯褐紅色を現わし、1/10,000 溶液においては、水浴中に 15 秒加熱するとき淡紫紅色を呈し、1/20,000 溶液にあつては 20 秒で紅色調を現わす。1/30,000 から 1/40,000 溶液では水浴中に 1 分間加熱することによつて、初めて淡紫紅色を現わし、2 分後にはその色調はやゝ濃厚となる。1/50,000 溶液は 1 分後に微に紅色を現わして淡黄褐色となり 2 分後には淡橙色となる。1/60,000 から 1/100,000 溶液にあつては 2 分後に初めて淡黄褐色となるだけで類紅色の反応は現われない。1/100,000 溶液も 5 分間加熱を継続するときには微かに紅色を現わす。以上のようにヨード溶液 1 滴を用いて試験を行なうときは、濃度による呈色の差が極めて識別し易い。

更に上記各濃度のパラフェネチジンの溶液を用いて、純ズルチンの規定量を溶解して、同様試験を行つてみたが、

Table I NOTE ① Shows the addition of 1 drop of N/10-I ③ 3 drops

Dilution of P-Phenetidin solution	Color of solution	Color reaction after 15 seconds at ordinary temp.	Color reaction after 20 seconds at ordinary temp.	Color reaction after 15 seconds in boiling water bath	Color reaction after 20 seconds in boiling water bath	Color reaction after 1 minutes in boiling water bath	Color reaction after 2 minutes in boiling water bath	Color Change after 10~15 minutes more out of the water bath
1/1.000	Very slightly yellow	⑤ Red ③ Reddish brown	① Brownish red ③ Reddish brown					
1/2.000	Almost Colorless	① Red ③ Brown	① Brownish red ③ Brown					
1/10.000	Colorless	—	① — ③ —	① Pale violet red ③ Brown	① Pale violet red ③ Brown	① A little stronger than that of the left ③ Brown	① Red ③ Brown	
1/20.000	Colorless	—	—	① Pale violet red ③ Brown	① Pale violet red ③ Brown	① A little stronger than that of the left ③ Brown	① Red ③ Brown	
1/30.000	Colorless	—	—	—	—	① Pale violet red ③ Pale brown	① A little stronger than that of the left ③ Pale brown	① Pale red ③ Pale brown
1/40.000	Colorless	—	—	—	—	① Slightly violet red ③ Interfered by the yellow color of iodine	① Pale violet red ③ The same as left	① Pale red ③ The same as left
1/50.000	Colorless	—	—	—	—	① Pale yellowish brown ③ Interfered by the yellow color of iodine	① Pale orange ③ The same as left	① Slightly red ③ The same as left
1/60.000	Colorless	—	—	—	—	① Slightly yellowish brown ③ Interfered by the yellow color of iodine	① Pale yellowish brown ③ The same as left	① Slightly red ③ The same as left
1/70.000	Colorless	—	—	—	—	—	—	—
1/80.000	Colorless	—	—	—	—	—	—	—
1/100.000	Colorless	—	—	—	—	—	—	—

Table II. (P-Phenetidin detection from Dulcin samples not passed)

No. Sample	Color	Color and turbidity of alcohol solution	Test items not passed	Color reaction after 1 minutes in boiling water bath	Color reaction after 2minutes in boiling water bath	Color Change after 10~15 minutes more out of the water bath	Color change after 1 hour more out of the water bath
1	Dirty pale pink	Slightly pink A little turbid	Color and turbidity of alcohol solution, Readily carbonizable substances	① Slightly red ② Interfered by the yellow color of iodine	① Pale red ③ The same as left	① Pale reddish brown ③ Slightly reddish yellow	① Pale reddish brown ③ The same as left
2	Dirty pale pink	A little turbid	Color and turbidity of alcohol solution, Melting point	① Slightly red ② Interfered by the yellow color of iodine	① Pale red ③ The same as left	① Pale red ③ The same as left	① Pale violet red ③ The same as left
3	Dirty pale pink	Pale brown A little turbid	Color and turbidity of alcohol solution Color, Melting point	① Slightly red ② Brown	① Pale red ③ Brown	① Pale red ③ Brown	① Pale red ③ Brown
4	Slightly pink	A little turbid	Color and turbidity of alcohol solution Color, Melting point	① Slightly red ② Interfered by the yellow color of iodine	① Pale red ③ The same as left	① Pale red ③ yellowish brown	① Pale red ③ yellowish brown
5	Pale pink	Slightly pink	Color	① Slightly red ② Interfered by the yellow color of iodine	① Pale red ③ The same as left	① red ③ Brown	① red ③ Brown
6	Dirty pale pink	Pale brown	Color Readily carbonizable substances	① Pale red ③ Pale brown	① Pale red ③ Pale brown	① Pale red ③ Pale brown	① Slightly red ③ Pale brown
7	Dirty pink	Slightly pink A little turbid	Color	① Slightly red ② Interfered by the yellow color of iodine	① Pale red ③ The same as left	① Pale red ③ The same as left	① Pale red ③ The same as left
8	Dirty pale pink	Slightly yellow	Color Readily carbonizable substances	① Slightly red ② Interfered by the yellow color of iodine	① Pale red ③ The same as left	① Pale red ③ The same as left	① Pale red ③ The same as left
※9	Dirty pale pink	Slightly yellow green	Color and turbidity of alcohol solution Color, Melting point	① Reddish brown ③ Brown	① Reddish brown ③ Brown	① Brownish red ③ Brown	① Brownish red ③ Brown
10	Dirty white	Slightly yellow	Color and turbidity of alcohol solution Color, Melting point	① Pale yellowish brown ② Interfered by the yellow color of iodine	② Slightly red ③ The same as left	① Slightly red ③ The same as left	① Slightly red ③ The same as left
11	Dirty yellowish white	Slightly yellow A little turbid	Color and turbidity of alcohol solution Color, Readily carbonizable substances	① Pale yellowish brown ② Interfered by the yellow color of iodine	① Pale yellowish brown ③ The same as left	① Slightly red ③ The same as left	① Slightly red ③ The same as left

Table III. (P-Phenetidin detection from dulcin samples passed)

No. Sample	Color	Color and turbidity of alcohol solution	Color reaction after 1 minutes in boiling water bath	Color reaction after 2 minutes in boiling water bath	Color Change after 10~15 minutes more out of the water bath	Color Change after 1 hour more out of the water bath
1	White	Colorless	① Pale yellowish brown ② Interfered by the yellow color of iodine	① Pale yellowish brown ③ The same as left	① Slightly red ③ The same as left	① Pale red ③ The same as left
2	White	Colorless	① Pale yellowish brown ③ Interfered by the yellow color of iodine	① Pale yellowish brown ③ The same as left	① Slightly red ③ The same as left	① Slightly red ③ The same as left
3	White	Colorless	① Pale yellowish brown ③ Interfered by the yellow color of iodine	① Pale yellowish brown ③ The same as left	① Slightly red ③ The same as left	① Slightly red ③ The same as left
4	White	Colorless	① Pale yellowish brown ③ Interfered by the yellow color of iodine	① Pale yellowish brown ③ The same as left	① Slightly violet red ③ The same as left	① Slightly violet red ③ The same as left
5	White	Colorless	① Pale yellowish brown ③ Interfered by the yellow color of iodine	① Slightly orange ③ The same as left	① Slightly red ③ The same as left	① Pale red ③ The same as left
6	White	Colorless	① hardly change ③ hardly change	① The same as left ③ The same as left	① Pale yellowish brown ③ The same as left	① Slightly red ③ The same as left
7	White	Colorless	① hardly change ③ hardly change	① Slightly yellowish brown ③ The same as left	① Slightly yellowish brown ③ The same as left	① Pale red ③ The same as left
8	White	Colorless	① hardly change ③ hardly change	① The same as left ③ The same as left	① Pale yellowish brown ③ The same as left	① Pale yellowish brown ③ The same as left

その呈色の状態は第一表におけると同様の結果を示した。

II 不合格検体についてのパラフェネチジン呈色試験

試験実施法 1 検体 0.2g を試験管にとりアルコール 6cc を加えて溶解し、この溶液を二等分して、各々水 3cc をもつて稀釈し、一方にはヨード溶液 1 滴を他方には 3 滴を加え、沸騰水浴中に加熱し、1 分後及び 2 分後にその呈色の度を観察し、更に浴外にこれを放置して、15 分後及び 1 時間後にその呈色の変化を観察した。

第二表の試験に用いた検体は、外観、臭気、溶状、熔ゆう点、有機性夾雑物等の何れかの条項において、不合格となつたもので、上記試験法のヨード溶液 3 滴を 1 滴に減じ沸騰水浴中に 1 分間振りながら加熱するときは、直ちに類紅色を現すもの及び淡黄褐色となるもの等で微に紅色のものも 2 分後には明らかに淡紅色となる。更にこれを浴外に放置するときは 10 乃至 15 分で紫紅色乃至帯褐紅色に変化する。然しヨード溶液 3 滴を用いた場合は、ヨード溶液による黄色が幾分赤色を帯びた程度で、1 滴の場合におけるように色の識別は容易でない。

III 合格検体についてのパラフェネチジン呈色試験

試験実施法： 不合格検体におけると同様の方法で行つた結果第三表のような成績を得た。

第三表に示したようにヨード溶液 1 滴を用いた場合は 1 分後にはすべて、類紅色は現われず淡黄褐色を呈すか、或は殆ど変化がない。2 分後においても 1 分後と同様或は後に淡黄褐色にとどまる。更に浴外に放置するときは 10 乃至 15 分の後に微紅色乃至淡黄褐色で 1 時間後には大部分は微紅色乃至淡紅色となる。

又これら 2 分後に紅色の現われぬものも 3 分間沸騰水浴中に加熱するときは、微に紅色を現わし、10 乃至 15 分後には微紅色から淡紅色となり、ほとんど変化のなかつたものも 3 分間水浴中に加熱するときは、微に淡黄褐色となり、1 時間後には淡紅色となる。

結 語

以上の実験によると、不合格となつた検体はパラフェネチジンの試験において、ヨード溶液 1 滴により沸騰水浴中に加熱するときは、2 分後に紅色乃至類紅色となり第一表に示すように 1/30,000 溶液から 1/40,000 溶液の間に於けると等しい呈色の状態を現し、※標の検体にあつては 30 秒以内で紅色を現わし、第一表によると 1/20,000 溶液に近い様な結果になる。不合格検体の大部分は太い横線より上の濃度即ち 1/40,000 溶液以上の濃度におけると等しい呈色状態を現わし、合格検体の全部及不合格検体の一部のものは太い横線以下の濃度における呈色状態に等しい反応を現わしていることが判かる。しかしヨード溶液 3 滴を用いた場合はヨード溶液の黄色の為に幾分赤色を帯びるか、或は褐色をおびる状態でのその判別は明らかでない。

そこでパラフェネチジンの検出法を次のように改めた方がよいように考える。「本品のアルコール溶液(1+29)3cc に水 3cc ヨード溶液 1 滴を加え沸騰水浴中に振りまぜながら加熱するとき 2 分以内に紅色或は類紅色を現わしてはならない。」

(昭和 25 年 3 月)

On the Detection of P-phenetidine as an Impurity in Dulcin Preparation

(Humi HUKUZAWA)

I studied about the method of detection of p-phenetidine as an impurity in dulcin preparation, and found that the iodine solution to be added to the alcoholic solution of dulcin for the detection of p-phenetidine, is most sensitive in 1/3 of the quantity prescribed in the food law.

醬油中ロダン酢酸エチルエステルの検出法

大岡増二郎 藤井清次 福澤富美

Detection of Thiocyno Acetic Acid Ethyl Ester in Soy-Sauce.

Masuziro ÔOKA, Seiji FUJII and Humi HUKUZAWA

緒 言

食品衛生法(施行規則)によると、ロダン酢酸エチルエステル(以下 T.A.E. と記す)は食品添加剤中合成保存料として醬油中に 1/50,000 迄使用を許可されているが、その検出法及び定量法については未だ発表されたものがない。

T.A.E は水溶液中では比較的不安定なため精密にこれを定量することは困難と考えられるので、当面の問題として著者等は醬油中 T.A.E の含量を概測する方法を見出すことを目的とし、次のような実験を行った。その結果食品衛生法に定められた使用許可量 1/50,000 を限界として、この限度以上のものと以下のものとを区別し得る検出方法を見出し得たので、ここにこれを報告する。

実験の部

(I) ロダン酢酸エチルエステルの分解試験

T.A.E 自体には特有の反応が未だ知られていないので、T.A.E の限度試験法としてその分解によつて生成する SCN' 、 S'' 又は CN' の検出法を利用するのが最も適当であると考えられたので、次の如く T.A.E の分解試験を行った。

1% T.A.E 水溶液 10 cc に 15% 水酸化カリウム液 4 cc を加え 1~2 分間加熱した液について、ベルリン青反応、ベンジデン反応、ブランスウィック反応¹⁾、ニトロプルシッドソーダ溶液による呈色反応、メチレン青生成反応及び硫化鉛反応等を試みた結果これらの反応はすべて陽性を示し明かに CN' 及び S'' が化生したことを認めた。此の場合アルカリの添加量が少ないときは液が酸性となつて分解が不充分となり、且つシアン化水素及び硫化水素は逸散するものと考えられる。なお SCN' は検出することができなかつた。

T.A.E の水溶液を放置するとき T.A.E の分解による CN' 及び S'' の生成量は温度及び時間によつて必ずしも一定ではないが、時日の経過とともに CN' の反応は次第に微弱となり 1 ヶ年近く放置した水溶液は 1/100 含有溶液でもベルリン青反応によつては、これを検出することが出来なかつた。

然しこの場合 S'' の反応は時日の経過と殆んど関係なく常に陽性を示した。この事実は生成した CN' は酸性溶液から次第に減少していくに反し S'' のみは溶液内に残存するためであると考えられる。

次に時間の経過による T.A.E の分解状態を知る為、調製後それぞれ時日を異にする T.A.E 水溶液について CN' 及び S'' の検出可能の濃度の差を観察した。その結果を表に示すと次の通りである。

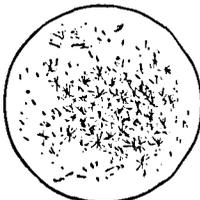
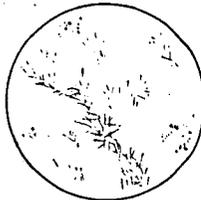
第一表中 A 反応(ベルリン青生成反応)は、検液約 5 cc を用い、15% 水酸化カリウム液 0.3~0.5 cc を加え煮沸し 10% 硫酸鉄液 2~3 滴を滴加し加熱後塩酸々性として、その呈色状態を検した。第一表に於て明らかなように A 反応によると、新製液では 1/3,500 までこれを検出し得るが、含量がそれ以下の場合には検出不可能となり法定許容限界量 1/50,000 の程度の微量を検出するには適当でない。B 反応(ブランスウィック反応)はアルカリ分解液約 3 cc を硝子円筒にとりこれに 6% 過マンガン酸カリウム液 2 滴、8% 酢酸液 5 cc を加え、ブランスウィック試薬(調製法後出) 1 滴を下面に滴下したオブジェクトグラスを以て被ひ、15~20 分後に鏡検し、ここに析出する針晶の有無を検した(拡大度 300 倍)。この B 反応では新製液は 1/30,000 までこれを検出することが出来るが、時日を經過して分解したものは 1/4,000 までしか検出出来ない。

上記表中 C 反応(ニトロプルシッドソーダ溶液による反応)はアルカリ分解液約 5 cc を用いこれに 1% ニトロプルシッドソーダ溶液 1~2 滴を滴加しその呈色状態を観察し、D 反応(メチレン青生成反応)はアルカリ分解液約 5 cc に 30% 塩酸 7~8 滴を滴加した強酸性液に塩酸ジメチルパラフェニレンジアミン 1 小粒を溶かし、10% 塩化第

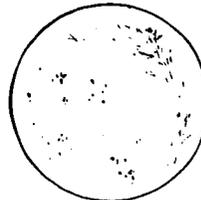
TABLE I.

Reaction		(A) Berliner blue reaction of CN' formed by alkali decomposition of T.A.E.			
Dilution		Duration of stock of T.A.E solution			
		0	15 days	5 months	1 year
1/500	(+) Blue	(+) blue	(+) Blue	(-)	
1/700	(+) Blue	(+) Pale alue	(+) Pale blu		
1/800	(+) Blue	(+) Slightly blue	(+) Sligety green blue		
1/1,000	(+) Blue	(+) Slightly green blue	(-)		
1/2,000	(+) Pale blue	(-)			
1/3,000	(+) Slightly blue				
1/3,500	(+) Slightly blue				
1/4,000	(-)				
1/5,000					
1/8,000					
1/10,000					
1/20,000					
1/30,000					
1/35,000					
1/40,000					

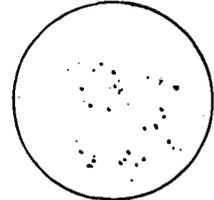
Reaction		(B) Brunswik reaction of CN' formed by alkali decomposition of T.A.E.			
Dilution		Duration of stock of T.A.E solution			
		0	15 day	5 months	1 year
1/500	(+)	(+)	(+)	(+)	
1/700	(+)	(+)	(+)	(+)	
1/800	(+)	(+)	(+)	(+)	
1/1,000	(+)	(+)	(+)	(+) Fine needles	
1/2,000	(+)	(+)	(+)	(+) Fine needle	
1/3,000	(+)	(+)	(+)	(+) Fine needles	
1/3,500	(+)	(+)	(+)	(+) Fine needles	
1/4,000	(+)	(+)	(+)	(+) Fine needles in part	
1/5,000	(+)	(+) Fine needles	(+) Fine needles	(-)	
1/8,000	(+)	(+) Fine needles	(+) Fine needles		
1/10,000	(+) Many fine needles in whole part (FIG.1)	(+) Fine needles in part	(+) Fien needles in part		
1/20,000	(+) Many fine needles (FIG.1)	(-)	(-)		
1/30,000	(+) Fine needles (FIG.2.)				
1/35,000	(+) Fine needles in part (FIG.3)				
1/40,000	(-)				

 $\text{CH}_2\text{SCNCO}_2\text{C}_2\text{H}_5$ 溶液
FIG. 1. $1/10,000$ 
 (+) Many fine needles
in whole part
FIG. 2. $1/30,000$ 

(+) Fine neeales

FIG. 3. $1/35,000$ 

(+) Fine needles in part

FIG. 4. $1/40,000$ 

(-)

TABLE II.

Reaction Dilution		(C) Nitroprusside reaction of S'' formed by alkali decomposition of T.A.E			
		Duration of stock of T.A.E solution.			
		0	15 days	5 months	1 year
1/10,000	(+) Violet red	(+) Violet red	(+) Violet red	(+) Violet red	
1/50,000	(+) Violet red	(+) Violet red	(+) Violet red	(+) Violet red	
1/80,000	(+) Violet red	(+) Violet red	(+) Violet red	(+) Violet red	
1/100,000	(+) Violet red	(+) Violet red	(+) Pale pink	(+) Pale pink	
1/200,000	(+) Pale violet red	(+) Pale violet red	(+) Slightly pink	(+) Slightly pink	
1/300,000	(+) Pale violet red	(+) Pale violet red	(+) Slightly pink	(+) Slightly pink	
1/400,000	(+) Pale pink	(+) Pale pink			
1/500,000	(+) Slightly pink	(+) Slightly pink			
Reaction Dilution		(D) Methylene blue reaction of S'' formed by alkali decomposition of T.A.E			
		Duration of stock of T.A.E solution			
		0	15 days	5 months	1 year
1/10,000	(+) Blue	(+) Blue	(+) Blue	(+) Blue	
1/50,000	(+) Blue	(+) Blue	(+) Blue	(+) Blue	
1/80,000	(+) Blue	(+) Blue	(+) Pale blue	(+) Pale blue	
1/100,000	(+) Blue	(+) Pale blue	(+) Slightly blue	(+) Slightly blue	
1/200,000	(+) Blue	(+) Pale blue	(+) Very slightly blue	(-) Very slightly blue	
1/300,000	(+) Pale blue	(+) Pale blue	(-)	(-)	
1/400,000	(+) Slightly blue	(+) Slightly blue			
1/500,000	(-)	(-)			
Reaction Dilution		(E) Lead acetate reaction of S'' formed by alkali decomposition of T.A.E			
		Duration of stock of T.A.E solution			
		0	15 days	5 months	1 year
1/10,000	(+) Dark brown	(+) Dark brown	(+) Dark brown	(+) Dark brown	
1/50,000	(+) Dark brown	(+) Dark brown	(+) Dark brown	(+) Dark brown	
1/80,000	(+) Dark brown	(+) Dark brown	(+) Dark brown	(+) Dark brown	
1/100,000	(+) Dark brown	(+) Dark brown	(-)	(-)	
1/200,000	(+) Dark brown	(+) Dark brown			
1/300,000	(+) Dark brown	(-)			
1/400,000	(-)				
1/500,000					

二鉄液 1~2 滴を加えよく振りまぜ、これにアミルアルコール約 1cc を加え、再び強く振りまぜ、暫く静置しアミルアルコール層の呈色状態を観察した。E 反応(酢酸鉛紙による反応)はアルカリ分解液約 5cc に 10% 硫酸約 5cc を加えて酸性とし酢酸鉛液で湿した濾紙を以て被い水浴上に 10 分間放置しその呈色状態を観察した。

は文献²⁾によれば T.A.E の水溶液を永く放置した場合に T.A.E が分解してチオグリコール酸を生成するのではないかと想像されるので約 1 ケ年を経過した 1% T.A.E 水溶液 (この液は CN' の反応陰性) につき塩化第二鉄反応³⁾を試みた結果明瞭にチオグリコール酸を検出し得た。同じ液につき酢酸鉄反応を試み同様にその存在を証明し得た。

チオグリコール酸も上記のようなアルカリ分解を行うときは T.A.E と同様 S'' を生成する故第二表の約 1 ケ年経過後の検体についての成績は未分解の T.A.E と T.A.E の分解によつて生成したチオグリコール酸の両者から化成した S'' の反応であつて、第二表によれば長時日経過したものでも T.A.E 1/100,000 まで検出可能である。

次に分解によつて生ずるチオグリコール酸の検出限度を試験するため約 1 ケ年を経過した T.A.E の水溶液を用いチオグリコール酸の検出に最も鋭敏な塩化第二鉄反応を行つた。

その結果は次の通りである。

TABLE III.

Dilution	FeCl ₃ -reaction of thioglycolic acid formed by decomposition of T.A.E solution.		
	Duration of stock of T.A.E solution.		
	15 days	5 months	1 year
1/100	(-)	(±) Slightly Durk red	(+) Durk red
1/300	(-)	(-)	(+) Durk red
1/600	(-)	(-)	(+) Durk red
1/700	(-)	(-)	(+) Durk red
1/800	(-)	(-)	(±) Slightly durk red
1/1,000	(-)	(-)	(-)

この反応によれば、長時日を経過してチオグリコール酸の含量比較的多いと思はれる T.A.E の水溶液に於てもこれを検出する濃度は 1/700 で、それ以下の濃度では直接これを検出することは困難であり、約 3 ヶ月を経過した水溶液は液性は酸性反応を呈しているがこれを検出することは出来なかつた。T.A.E の分解によつて生ずるチオグリコール酸の濃度が極めて小であるときは塩化第二鉄反応によつて直接これを検出することは困難である。

(II) 醬油中よりロダン酢酸エチルエステルの抽出法

T.A.E は上記のように時日の経過と共に分解して、チオグリコール酸、酢酸等の酸性物質を生成し、T.A.E そのものの含量は次第に減少する。T.A.E は中性又は酸性の水溶液からエーテルに移行し、チオグリコール酸は強酸性でエーテルに転溶するが中性ではエーテルに移行し難い。よつて著者等は T.A.E 及びチオグリコール酸の何れの場合にも適用し得る。抽出法として検液を強酸性として、エーテルに移行させる方が最も適當であることを認めた。なおエーテル抽出物はアルカリ分解を行つた後 S'' 及び CN' の反応を試みれば時日を経過し T.A.E が分解したと考えられる。醬油についても容易にこれを検出することが出来る。

次に中性抽出(酸を添加しない場合の抽出を云う)に於て、時日の経過と検出限度(濃度)との関係を知る為次の実験を行つた。即ち各種の濃度の T.A.E を含む醬油 50 cc を取り、毎回 50 cc のエーテルを用い 3 回抽出を行い、エーテル層を集め 3% 水酸化カリウム液 5 cc を加え振りませ水液を分けて別の容器に貯え、エーテル液は蒸溜し残留物に先の水液を加え全量を約 8 cc とする。この液を煮沸後冷却し三分して (I) (ニトロプルシッドソーダ溶液による反応)、(II) (メチレン青生成反応)、及び (III) (ブランスウィック反応) の反応を行つた。その成績を示すと次の通りである。

第四表に明らかな如く醬油 50 cc を用いた場合、T.A.E の濃度 1/20,000 以下のときは、中性抽出ではこれを検出することが出来ないが、酸性抽出を行えば (I) (II) の呈色反応に依つて 1/30,000 まで証明することが出来る。但し 1/40,000 以下では検出不可能である。

そこで更に醬油の使用量を 100 cc に増加して同様の方法を行つた結果第五表のように 1/40,000 と 1/50,000 と

TABLE IV

T.A.E concentration in Soy-sauce		1/1,000		1/2,000		1/5,000		1/10,000		
Duration of stock of Soy-sauce containing T.A.E		10 months	7months	10months	7months	10months	7months	10 months		
Extraction from neutral solution	(I) Reaction	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)		
	(II) Reaction	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)		
	(III) Reaction	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)		
Extraction from acid solution	(I) Reaction	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)		
	(II) Reaction	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)		
	(III) Reaction	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)		
T.A.E concentration in Soy-sauce		1/20,000			1/30,000			1/40,000		
Duration of stock of Soy-sauce containing T.A.E		0	3 days	10 months	0	3 days	1 month	0	3 days	1 month
Extraction from neutral solution	(I) Reaction	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)
	(II) Reaction	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)
	(III) Reaction	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)
Extraction from acid solution	(I) Reaction	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)
	(II) Reaction	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)
	(III) Reaction	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)

を区別しうることが出来た。

即ち、酸性抽出で醤油中 T.A.E を 1/40,000 まで検出し得た。しかし長時日を経過した醤油で酸性抽出を行ったものについても CN⁻ の反応は 1/30,000 以下の場合は検出不可能であった。酸性抽出を行う場合、ニトロプルシッドソーダ液による呈色反応は 1 ヶ月経過した T.A.E 濃度 1/40,000 醤油でも明かに紫紅色を呈するが、同濃度の 7 ヶ月を経過したものはその紅色稍々薄く直ちに消失する。メチレン青生成反応では 1 ヶ月を経過した 1/40,000 醤油に於てはアミルアルコール層は明らかに青色を現すが 7 ヶ月を経過したものは稍々緑色を帯びた淡青色を現わす。食品衛生法による使用許可量 1/50,000 以下の濃度のものはこの方法に従えば (I)、(II) 及び (III) の反応はことごとく陰性である。

著者等は酸性抽出を行うにあたり添加する酸は磷酸が最も適當であることを認めた。よつて磷酸の最適添加量を見出す為次の実験を試みた。即ち T.A.E を混合後 1 ヶ月及び 7 ヶ月を経過した T.A.E 濃度 1/40,000、1/50,000 の醤油各々 100 cc を用いて磷酸の添加量をそれぞれ 0.5、1、2、3 cc に変え酸性の強弱が検出限界に及ばず影響を観察した。その結果を第六表に示す。

TABLE V

T.A.E Concentration in Soy-sauce		1/30,000			1/40,000			1/500,00		
Duration of stock of Soy-sauce containing T.A.E		3 days	1 month	7 months	3 days	1 month	7 months	0	4 days	7 months
Extraction from neutral solution	(I) Reaction	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)
	(II) Reaction	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)
	(III) Reaction	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)
Extraction from acid solution	(I) Reaction	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)
	(II) Reaction	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)
	(III) Reaction	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)

TABLE VI (The condition of transfer of T.A.E from soy-sauce layer to ether) layer according to the quantity added of phosphoric acid

Soy-sauce containing T.A.E 100cc 1 month stocked					Soy-sauce containing T.A.E 100cc 7 months stocked			
Dilution of T.A.E	Phosphoric acid added	(I) Reaction	(II) Reaction	(III) Reaction	Phosphoric acid added	(I) Reaction	(II) Reaction	(III) Reaction
1/40,000	0.5 cc	(-)	(-)	(-)	0.5 cc	(-)	(-)	(-)
1/40,000	1.0	(-)	(-)	(-)	1.0	(-)	(-)	(-)
1/40,000	2.0	Pale blue (+)	(+)	(-)	2.0	(±)	(+)	(-)
1/40,000	3.0	A little stronger (+)	(+)	(-)	3.0	(±)	(+)	(-)
1/50,000	0.5		(-)	(-)	0.5	(-)	(-)	(-)
1/50,000	1.0		(-)	(-)	1.0	(-)	(-)	(-)
1/50,000	2.0		(±)	(-)	2.0	(-)	(-)	(-)
1/50,000	3.0	(-)	(±)	(-)	3.0	(-)	(-)	(-)

TABLE VII

Reaction	(I)	(II)	(III)
Soy-sauce			
Kikkoman	(-)	(-)	(-)
Yamasa	(-)	(-)	(-)
Soy-sauce by quick fermentation	(-)	(-)	(-)

即ち磷酸添加量 0.5~1 cc の場合は何れも反応陰性であるが 2~3 cc を加えることにより 1 ヶ月経過のものは、(I), (II), 及び (III) の反応すべて陽性を示し、7 ヶ月経過のものでも (I), (II) の反応は明かに陽性を示しこれによつて T.A.E を検出することが出来た。従つて磷酸の使用量は醤油 100 cc に対し 2 cc を用いるのが最もよいと考えられる。

次に限度試験の反応として (I), (II) 及び (III) の反応を採用するにあたり対照として T.A.E を含まない数種の醤油に就いて同様の方法で試験を行つた。その結果第七表の如く何れの場合も類似反応を認めなかつた。

又これら (I)(II) 及び (III) の反応は醬油中芥子油を混有している場合類似反応を呈するが、此の場合はエーテルを蒸溜し去つた残留物が芥子油特有の刺激性臭気或は蒜様臭気を発するので T.A.B と明らかに区別することが出来る。

結 論

以上の実験を綜合し、著者は次に T.A.E の限度試験法私案を提出する。

醬油 100 cc を取り磷酸 (S.G. 1.75) 2 cc 及びエーテル 100 cc を加えてよく振りまぜ、静置し二液層に分離した後エーテル層を分取しこれに更に 100 cc のエーテルを加えてよく振りまぜ静置し澄明となつたエーテル層を分取する。

前記の醬油は毎回エーテル 70 cc 宛を用いて 2 回抽出し、これらのエーテル層を合し全エーテル層に 5% 水酸化カリウム液 6 cc を加え、よく振りまぜた後、アルカリ性液を分取して別の容器に貯えエーテル液は低温で蒸溜し去り、残留物に先のアルカリ性液を加え全容を 8 cc とする。

此の場合液はアルカリ性を呈していなければならない。

この液を煮沸後冷却し三分して次の (I)(II) 及び (III) の反応を行う。

(I) ニトロプルシッドソーダ溶液に依る反応

検液に 1% ニトロプルシッドソーダ溶液 1~2 滴を滴加するとき紅色或は紫紅色を現わしてはならない。

(II) メチレン青生成反応

検液に 30% 塩酸 7~8 滴を加え、これに塩酸ジメチルパラフェニレンジアミン 1 小粒を加えて溶かし、10% 塩化第二鉄液 1~2 滴を加えよく振りまぜた後、これにアミルアルコール約 1 cc を加え更に振りまぜ暫く静置するときアミルアルコール層が青色或は帯緑青色を呈してはならない。尙この際アミルアルコール層が緑色を呈するときは更に次の如く行う。即ち此の二液層にエーテル 5 cc を加えよく振りまぜ上層を去り、下層の水液にアミルアルコール 1 cc を加えて振りまぜ、静置するとき青色を現わしてはならない。

(III) ブランズウィック法に依るシアン化銀生成反応

検液を容量 10 cc の硝子小円筒に取り 6% 過マンガン酸カリウム液 2 滴及 8% 硝酸液 5 cc を加え、下面をブランズウィック試薬 1 滴を滴下したオブジェクトグラスで被い、常温で 15~20 分放置した後前記試薬の部分を鏡檢(300 倍)するとき微細の針状結晶を認めてはならない。

ブランズウィック試薬の調製法：10% 硝酸銀溶液 5 cc, 硝酸 (S.G. 1.4) 5 cc, メチレン青稀薄溶液 40 cc を混合し褐色瓶に入れ暗所に保存する。

本研究費は文部省試験研究費によつたものであります。又資料を提供された野田醬油株式会社に謝意を表します。

尙此の検出法は昭和 26 年 3 月発行予定の「衛生検査指針」に採用される予定。

引 用 文 献

1) Rosenthaler, Toxikologische Mikroanalyse. P. 159, 1935.

2) Ber 10 1349 (1877)

3) Ber 12 1391 (1879)

(昭和 25 年 10 月)

Detection of Thiocyno Acetic Acid Ethyl Ester in Soy-Sauce.

Masujiro ÔOKA, Seiji FUJII and Humi HUKUZAWA.

The method for detection of thiocyno acetic acid ethyl ester (T.A.E) in Soy-Sauce has been described. The method adapted gives satisfactory results in concentration above 0.02 g of T.A.E. in liter of Soy-Sauce. T.A.E. is extracted with ether from Soy-Sauce, to which is added phosphoric acid before extraction, and the ethereal extract is shaken with 5% potassium hydroxide solution. The 5% potassium hydroxide solution is added to a residue, which is obtained by distilling the ethereal extract. The alkaline aqueous solution is heated to boiling, cooled and then divided into three portions. On these portions, (1) sodium nitroprusside test, (2) methylene blue test and (3) Brunswick test (microchemical test) are carried out. In each test, (1)

a red or violet-red color is produced, (2) a blue color, and (3) fine needles (under a microscope) if T.A.E. is present in soy sauce.

飲食物中防腐剤及び人工甘味料の検出に対する ペーパークロマトグラフィーの応用に関する研究 (第一報)

鹿間 嘉久藏 大熊 誠一

Studies on the Detection of Preservatives and Artificial Sweeteners in Food by
Method of Paper Chromatography. (I).

Kakuzō SHIKAMA and Seiichi ÔKUMA

I. 緒言

現在飲食物の防腐剤及び人工甘味料として従来より知られてゐる主なるものは、フォルムアルデヒド、グリセリン、エチレングリコール、ヘキサメチレンテトラミン、カプリン酸及びその誘導体、ロダン醋酸エステル類、アリアル及びフェニール芥子油、フルアクリル酸、ニトロフラゾン、安息香酸及其の塩類、パラオキシ安息香酸及其のエステル類、サルチル酸及其の塩類、ヅルチン、パラニトロオルトトルイジン、パラニトロオルトフェネチデン、グルチン、ペリラルチン、サッカリン、ベーターナフトール、グリチルリチン、フィロヅルチン等の有機物及び、硝酸、亜硝酸、亜硫酸、次亜硫酸、硼酸、及び其れ等の塩類、昇汞ならびに弗化物等の無機物である。

我々はこれ等の添加剤が、ペーパークロマトグラフィーによつて簡単に検出できれば、食品衛生取締上被益する所が多大であると思ひ、この試験の成立可能性につき若干の検討を企てた。

なお今回はこれ等の全ての物質についてではなく、芳香族化合物中下記の物質についてこれを行なうこととした。即ち、安息香酸、パラオキシ安息香酸ブチルエステル、サルチル酸、ベーターナフトール、サッカリン、ヅルチン、パラニトロオルトトルイジン及びパラニトロオルトフェネチデンである。

然して、フェノール性物質のペーパークロマトグラフィーによる検出法の研究が Evans R, Parr 及び Evans W¹⁾ によつてなされ、有機酸類の検出が Lugg 及び Overell²⁾ ならびに佐竹³⁾ によつてなされてゐるが、上記の添加剤が一連の関連性を以てペーパークロマトグラフィーにより簡単に検出され得るといふ報告は聞かない。

然しながら、これ等の物質はその性質及び構造が相当に非類似的であるが故に、一枚の濾紙上において、同一呈色試剤により簡単に検出することは極めて困難である、これについては、単に化学的方法のみならず、物理的乃至物理化学的方法を導入することが望ましいことであろう。

我々は現在の段階においては、可能な限り小数の濾紙と呈色試剤により、これを行なうべく努力し、少なくとも予備試験の方法としては一応満足すべき結果を得た。

II. 対象物、装置、及操作法

1. 対象物

ここに試験の対象として選んだ物質は次の8種である。Benzoic acid, Butyl-p-hydroxy-benzoate, Salicylic acid, β-Naphthol, Saccharine, Dulcin, P-nitro-o-toluidine, P-nitro-o-phenetidine.

2. 操作法

ここでは一次元上昇法を採用した。この方法は最も簡単かつ容易に行えるからである。

3. 装置及び器材

濾紙は東洋濾紙クロマト用(最近 No. 50 と称す)を用い、

巾 2 cm, 長さ 35 cm に、濾紙の繊維にそつて切断し、平滑な方の面を使用した。展開用円筒は第 1 図の如きもので、晋在⁹⁾の装置に若干の改良を加えたものである、即ち下部の濾紙固着部を可動性にして、溶媒滲透による濾紙のたるみを防いだ。

III. 基礎実験

1. 試験方針

基礎実験としては、まず純粋な上記の対象物及びその混合物につき、濾紙上の呈色反応、及び展開分離につき検討を行なうこととした。なお実際に飲食物より抽出する場合は、普通の人工甘味料及び防腐剤の抽出法によるのであるから、酸性エーテルにより抽出される群と、アルカリ性エーテルにより抽出される群との二群に別たなければならない。前者には、Benzoic acid, Butyl-P-hydroxy-benzoate, Salicylic acid, β -Naphthol, 及び Saccharine があり、後者には、Dulcin, P-nitro-o-toluidine, P-nitro-o-phenetidine がある。従つて我々は、対象物を上記の二群に別ち、別々の濾紙を用いて分離を行なう方針の下に検討を進めることとした。

2. 酸性物質の試験

(A) 濾紙上の呈色反応

Evans¹⁾等はフェノール性物質の検出に対して、パウリー試薬を使用している。又、Lugg 及び Overell²⁾ 並に佐竹³⁾は有機酸の呈色試剤として pH 指示薬 (B. T. B) を使用している。我々は一応これを追試したが、パウリー試薬の場合は我々の実験によれば、あまり満足な成績は得られず、又 Benzoic acid や Saccharine に応用することができない。pH 指示薬の場合は、一応全ての物質が陽性を示すが、これは結局は水素イオンのありかを追及するのであつて、以下に述べる展開の段階において、第 2 図に示す如く、濾紙上において、イオンの分離をきたし応用することが出来なかつた。勿論、Lugg, 及び Overell, 並に佐竹等の溶媒を使用すれば、満足な結果を得るかも知れないが、Rf 値のみによつて決定することの不確実性を考慮し、各種の有機酸を含有すると思われる飲食物について行なう場合は、あまり感心した方法とはいえない。従つて我々は、ここに、次の反応を応用することとした。

(イ) Salicylic acid, …… 過クロール鉄反応、即ち 0.5% FeCl_3 を噴霧する、莖紫色に呈色する。

(ロ) Benzoic acid 及び Saccharine …… 0.5% FeCl_3 を噴霧して加温(電熱器を用いる)し、ほとんど乾燥し、2% H_2O_2 を噴霧して再び加温し、ほとんど乾燥し、透視光線で観察する。Benzoic acid は褐色乃至褐紫色に呈色し、Saccharin は青紫色に呈色する。

(ハ) β -Naphthol 及び Butyl-p-hydroxy-benzoate …… ミロン試薬を噴霧する。 β -Naphthol は直ちに黄色を呈する。次に熱水蒸気に約 5 分間あてれば、Butyl-p-hydroxy-benzoate は紅色を呈する。

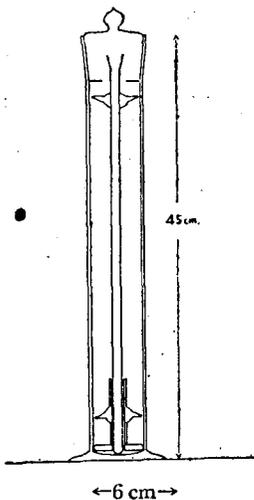
以上の呈色反応は錯綜して、一枚の濾紙上では使用不可能のようであるが、後述の展開方式を用いると、上部に(ロ)及(イ)、下部に(ハ)と別れるので、不都合を生じない。

なお(ロ)の反応方式は、あまり鋭敏ではないが新しい試みである。

これは、Jonescu⁵⁾が Benzoic acid の検出法として提出した反応を参考として、濾紙上に応用したものであつて、Jonescu 法は次の如きものである。即ち、遊離の Benzoic acid (約 1 mg) を含む溶液に 0.4% H_2O_2 を 3~5 滴加え、水浴中に 5 分間加温し、冷後 1~3 滴の 1% FeCl_3 を滴下すれば、化成された Salicylic acid によつて紫色を呈する。Fleury⁶⁾は最初に 1% FeCl_3 を滴下し、次に 0.3% H_2O_2 を滴下し、後 3% FeSO_4 を滴下して紫色を呈させている。我々は上述の如く、濾紙上においては、Fleury の順序を採用したが、 FeSO_4 溶液は、さしたる効果を示さなかつたので簡単な為省略した。

尙これ等の反応機構は、つまびらかではないが、フェノール性水酸基を有する化合物を化成することは明らかであろう。然して、Saccharine にこの反応を応用したことは、我々の知る限りではまったく新しい試みである。

Fig 1



第2図の説明

何れも $\frac{16}{100}$ 縮尺図であり、呈色試剤、色調、溶媒等は第1表の如くである。

TABLE 1 (Explanation of Fig 2, Scale 16-100)

Substances	Colour agents	Colours	Mobile fluid	Development time	Room temperatures
(A) Benzoic acid	Brom-Thymol-Brown	Yellow	water	5.h.	12.2~13.2°C
(B) Benzoic acid	FeCl ₃ H ₂ O ₂	Brownish Violet	water	5.h.	12~13.5°C
(C) Salicylic acid	Brom-Thymol-Brown	Yellow	water	5.h.	12.4~14°C
(D) Salicylic acid	FeCl ₃ , H ₂ O ₂	Violet	water	5.h.	12.~13°C

O.....Original point.

L.....Line of Mobile fluid's surface at beginning of development.

T.L.....Top line of Mobile fluid ascended.

Fig. 2

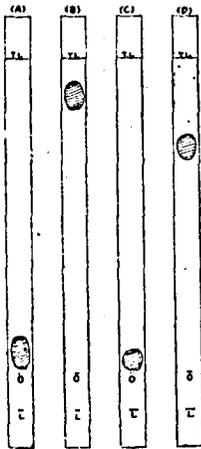


Fig. 3

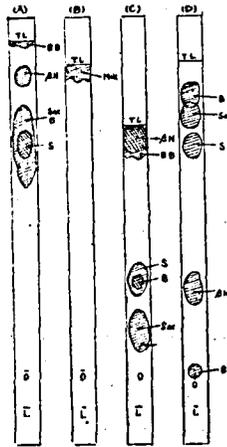
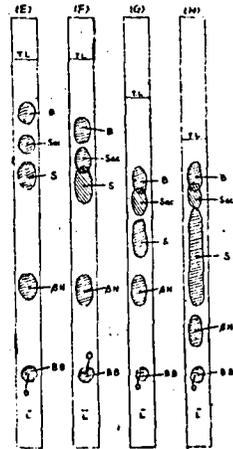


Fig. 3



(B) 展開分離

Evans¹⁾等はピリヂン、ノルマルブタノール混液を飽和食塩水(2)と振盪した有機層を使用しているのに、一応追試したが、その結果は第3図(A)の如くで Saccharin, Benzoic acid, Salicylic acid の分離が不可能である。単に n-Butanol を使用した場合は、(B)の如く物質は全て溶媒前線に上昇して、分離は全然不可能であつた。Michael Lederer²⁾ はアンモニア性ブタノールで o,m,p-Amino-Benzoic acid, o,m p-hydroxy benzoic acid 及び若干のフェノール類について分離を行つた報告をしているが、我々は、アンモニア性ノルマルブタノール (28% NH₄OH 5cc 及び水 95cc よりなるアンモニア水 100cc を 100g の n-Butanol と強く振盪し放置後上層をとる [10°C]) を使用した場合は、第3図(C)の如くであつて、展開時間に長時間を要し(10h) β-Naphthol と Butyl-p-Hydroxy benzoate, 及び Salicylic acid と Benzoic acid の分離が不確実であつた。

次に単に水を使用した場合、1% NaCl 水溶液を使用した場合、3% NaCl 水溶液を使用した場合、10% NaCl 水溶液を使用した場合、及び 10% NaCl 水溶液に n-Butanol を飽和して使用した場合は、それぞれ第3図(D)乃至(H)の如くである。これによれば 1% NaCl を使用した場合が最もよい結果を示している。従つて我々はこれを採用することとした。

第3図の説明

何れも $\frac{16}{100}$ 縮尺図であり各々一実験例を示す。呈色のかさなつたものは、別々の濾紙で行つたものを便宜上一つの図に表現したものである。

図中の符号、物質名、呈色の色調は第 2 表の如く、展開溶媒、展開時間、気温等は第 3 表の如くである。

TABLE 2 (Explanation of FIG. 3, Scale 16-100)

Marks	Substances	Colours	Colour agents
B.	Benzoic acid	Bronwn.	FeCl ₃ , H ₂ O ₂
Sac.	Saccharine	Bluish Violet	FeCl ₃ , H ₂ O ₂
S.	Salicylic acid	Violet	FeCl ₃
β.N	β-Naphthol	Yellow	Millon's reagent.
B.B.	Butyl-p-Hydroxy-benzoate	Orange	Millon's reagent.

TABLE 3. (Explanation of FIG. 3 Scale, 16-100)

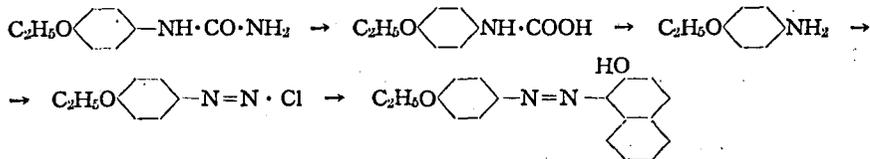
	Mobile fluids	Development times	Room temperatures
(A)	Pyridine+n-Butanol	15h.	10~11°C
(B)	n-Butanol	15h.	12~13.3°C
(C)	Ammonia, n-Butanol	10h.	11~12°C
(D)	water	5 h.	11~12.5°C
(E)	1% NaCl	5 h.	18~18.5°C
(F)	3% NaCl	5 h.	17~18°C
(G)	10% NaCl	5 h.	17~17.7°C
(H)	10% NaCl+Butanol	5 h.	17~17.5°C

3. アルカリ性物質の試験

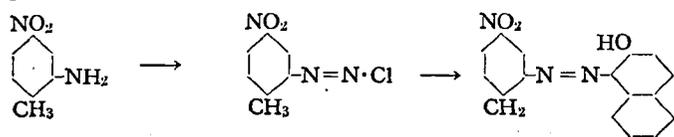
(A) 濾紙上の呈色反応

P-nitro-o-toluidine, P-nitro-o-phenetidine 及び Dulcin の検出反応としては、我々は濾紙上において、比較的簡単に行える反応として、次のものを採用した。即ち、以上の 3 物質は何れも NH₂ 基をもっていることに着目し、これを Diazo 化して β-Naphthol と結合せしめ、Azo 色素を化成させる反応である。この反応過程を推定すれば次の如くであろう。

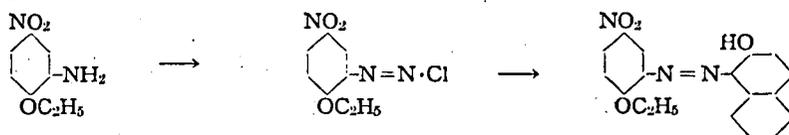
Dulcin



p-nitio-o-toluidine



p-nitro-o-phenetidine



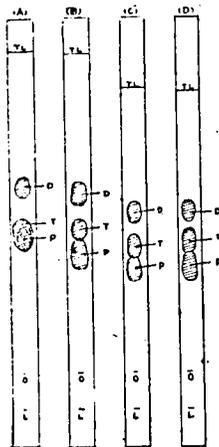
即ち次の如き方法による。

まず 3% NaNO_2 を噴霧し、次に 10% HCl を噴霧した後 1~2 分間微温をあたえ(電熱器を使用する)ついで、ベターナフトール、ナトロン溶液(β -Naphthol 0.1 g を 10% NaOH 35 cc に溶解して製する)を噴霧する、これによれば Dulcin は黄色~橙黄色、p-nitro-o-toluidine は赤色、p-nitro-o-phenetidine は紅色を呈する。

(B) 展開分離

水を使用した場合、第 4 図(A) の如き結果を得た。p-nitro-o-toluidine と p-nitro-o-phenetidine とは呈色の色調が若干異なるとはいへ、完全な分離がでなかつた。1% NaCl 、3% NaCl 、10% NaCl に Butanol を飽和させたものについての結果は、それぞれ、第 4 図、(B)(C)(D) の如くで、水の場合に比較し、p-nitro-o-toluidine と p-nitro-o-phenetidine の分離を明確に認めることができた。この三者は、分離の度合については特に差異がないから 1% NaCl を用いることとする。

Fig. 4



第 4 図 の説明

第 3 図 と同様である。

図中の符号、物質名、呈色の色調は第 4 表の如く、展開溶媒、展開時間、気温は第 5 表の如くである。

4. 総括

以上述べたつた基礎実験の結果を総括し、ここに提出する Paper chromatography の試験法、それによる各物質の R_f 値、及び、この方法の感度を述べれば次の如くである。

(A) 試験法

(イ) 酸性物質

TABLE 4 (Explanation of FIG. 4, Scale 16-100)

Marks	Substances	Colours	Colour agents
D.	Dulcin	Yellow	NaNO_2 , β -Naphthol
T.	p-nitro-o-toluidine	Red	Do.
P.	p-nitro-o-phenetidine	Orange	Do.

TABLE 5 (Explanation of FIG. 4, Scale 16-100)

	Mobile fluids	Development times	Room temperatures
(A)	Water	5. h.	12~13°C
(B)	1% NaCl	5. h.	18~18.2°C
(C)	10% NaCl	10. h.	17.5~18°C
(D)	10% NaCl + n-Butanol.	10. h.	17.2~17.8°C

長さ 35 cm. 巾 2 cm に切截した東洋濾紙クロマト用の下端より 6 cm の位置に、検液(アルコール 溶液)を毛細管を用ひてスポットし乾燥する。スポットの直径は 1 cm が適当である。之を 1% NaCl を入れた 展開用円筒中に懸垂し、濾紙の下端より 3 cm の所に液面がくるようにする。5 時間の後、濾紙に上昇した溶媒の前線を標識し、室温に乾燥する。次に、原点と溶媒前線の間より上部に 0.5% FeCl₃ を噴霧する。Salicylic acid があれば R.f. 約 0.6 の部位に堇紫色を呈する。次にこの呈色部位より上部を加温し(電熱器を用いる)。ほとんど乾燥し、2% H₂O₂ を噴霧し、なお加温し、再びほとんど乾燥する。Benzoic acid があれば、R.f. 約 0.8 の部位に褐色乃至褐紫色を呈し、Saccharin があれば R.f. 約 0.7 の部位に青紫色を呈する。次に中間より下部にミロン試薬を噴霧する。β-Naphthol があれば、R.f. 2~3 の部位に直ちに黄色を呈する。尙原点を熱水蒸気に約 5 分間あてたとき、Butyl-p-Hydrony benzoate があれば、原点が紅色を呈する。(尙色調稀薄なときは、透視光線を以て観察する。濾紙はあらかじめ室温に於て、水蒸気を飽和させておく)。

(ロ) アルカリ性物質

(イ) において述べたと同様に展開し、乾燥し、3% NaNO₂ を噴霧し、次に 10% HCl を噴霧し、1~2 分間微温をあたえ(電熱器を用ひる)ペーターナフトール、ナトロン溶液(β-Naphthol 0.1g を 10% NaOH 35 cc に溶解して製する)を噴霧する。Dulcin があれば、R.f. 5~6 の部位に黄色~橙黄色を呈し、p-nitro-o-toluidine があれば、R.f. 4~5 の部位に赤色を呈し、p-nitro-o-phenetidine があれば、R.f. 4~5 の部位に紅色を呈する。

(B) R.f. 値及び感度

この方法による各物質の R.f. 値及びこの方法の感度は、第 6 表に示す如くである。

TABLE 6

Substances	Mobile fluids	Colour agents	Colours	R.f.(R. temp.)	Sensitivity.
Benzoic acid	1% NaCl	FeCl ₃ , H ₂ O ₂	Brown	0.82(17.8~18.2°C)	488 γ
Salicylic acid	do.	FeCl ₃	Violet	0.63(do.)	4 γ
Butyl-p-hydroxybenzoate	do.	Millon's reagent	Orange	0. (do.)	235 γ
β-Naphthol	do.	do.	Yellow	0.27(do.)	6 γ
Saccharine	do.	FeCl ₃ , H ₂ O ₂	Bluish Violet	0.73(do.)	475 γ
Dulcin	do.	NaNO ₂ , β-Naphthl	Yellow	0.58(17.3~18.2°C)	16 γ
p-nitro-o-toluidine	do.	do.	Red	0.46(do.)	9 γ
p-nitro-o-phenetidine	do.	do.	Orange	0.38(do.)	6 γ

Sensitivity means the minimum quantity of the substance to be recognised by the method.

IV. 飲食物に對する應用

上述の基礎実験の結果を飲食物に応用した場合に果して満足な結果をあたえるかどうかは、最も注目すべきことである。この場合は各物質の抽出操作が重大な関聯性を示すのであつて、これに適合した最も合理的抽出操作の研究が必要課題となる。この抽出操作の詳細な研究に関しては、これを他日に譲り、基礎実験の頭初に於て仮りに定めた抽出操作により実験を行ない、一実験例として、略満足すべき結果を得た。

1. 検 体

ニンジン、ゴボウ、タケノコ、レンコン、アブラアゲ、シイタケ、シヨウガ、カンピョウ、砂糖、酢、塩、味の素を含有する(量的関係は不詳)五目の素罐詰の液汗 25 g, 及びサバ罐詰液汗 25 g の混液に、第 8 表に示す量の各添加剤を加えたものを検体とした。なお添加剤を全然加えないものを対象試験の検体とした。

2. 抽 出 法

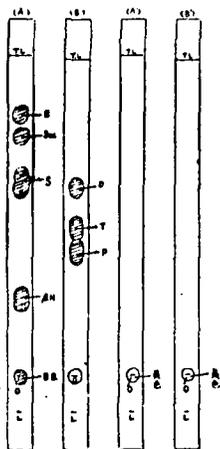
検体を濾過し、濾液に 10% HCl 約 5 cc を加えて明らかに酸性となし、Ether 20 cc で 3 回抽出し、エーテル液

TABLE 7.

Substances	Amounts added.
Benzoic acid	10 mg
Butyl-p-hydroxy-benzoate	10 mg
Salicylic acid	1 mg
β -Naphthol	1 mg
Saccharine	10 mg
Dulcin	5 mg
p-nitro-o-toluidine	1 mg
p-nitro-o-phenetidine	1 mg

The amounts of the substances of the table 7 are added to 50g of the mixture of the juices of Ninjin, Gobô, Takenoko, Renkon, Aburage, Shiitake, Shôga, Kanpyô, Sugar, Su, Salt, Ajinomoto, and Salmon, and the test's results are showed on the Fig.5 and the table 8.

Fig. 5



第 5 図の説明

縮尺、図中の符号等は、第 3 図及び第 4 図と同様である。Rf 値及び気温は第 8 表に示す如くである。

V. 結 語

上記の諸実験の成績より、我々がここにオリジナルとして述べ得ることを要約すれば、次の如くである。

(1) 飲食物の防腐剤又は人工甘味料として使用される安息香酸、パラオキシン安息香酸ブチルエステル、サルチル酸、ペーダーナフトール、サッカリン、ズルチン、パラニトロオルトトルイジン、パラニトロオルトフェネチジンのペーパークロマトグラフィーによる簡単な検出法の一案を提出した。

を合し、5cc の水で 1 回洗浄し、Ether をなるべく自然に揮発させる。残留物を約 1cc の 98% Alkohol に微温をあたえて溶解し、濾過し、0.5cc の 98% Alkohol で 1 回洗浄し、濾液洗液を合する。これを A 液とする(対象試験のそれは A' 液とする)。

次にエーテル抽出を行つた水層をとり、10% NaOH を以て、明らかにアルカリ性となし、(過剰のアルカリはできるだけさけることが望ましい) Ether 20 cc を以て 3 回抽出し、エーテル液を合し、5cc の水で 1 回洗浄し、Ether をなるべく自然に揮発させる。残留物を約 1cc の 98% Alkohol に微温をあたえて溶解し、濾過する。約 0.5cc の 98% Alkohol で洗浄し、濾液洗液を合する。これを B 液とする(対象試験のそれは B' 液とする)。

3. 展開及び呈色法、並に実験結果。

A 液、A' 液、B 液、B' 液を、それぞれ別々の濾紙に基礎実験の項で述べた如く、各約 0.5 cc をスポットし、(この場合、微温をあたえて、アルコール分を揮発させながら、逐次スポットし、スポットの直径は、約 1 cm とした)。1% NaCl を用いて、5 時間展開し、乾燥し、呈色した。その呈色図及び Rf 値は、第 5 図及び第 9 表に示す如くである。

TABLE 8.

Substances	R.f. (R. temp)
Benzoic acid	0.80 (17.7~18.3. C)
Salicylic acid	0.60 (do.)
Butyl-p-hydroxy-benzoate	0. (do.)
β -Naphthol	0.24 (do.)
Saccharin	0.75 (do.)
Dulcin	0.59 (do.)
p-nitro-o-toluidine	0.46 (do.)
p-nitro-o-phenetidine	0,39 (do.)

(2) 上記の諸物質の濾紙上の呈色反応, 殊にサッカリンのそれにつき, 新しい試みを行つた。

然しながら, 次の諸点につき尙満足出来ない面がある。

(1) ここに検出し得る物質は, 防腐剤又は人工甘味料の一部であつて, 全てではない。

(2) 飲食物に対する応用実験. 特に抽出操作の研究が不足してゐる。

(3) 類似諸物質との関係が明らかでない。

(4) ここに用ひた操作, 特に呈色法は, ペーパークロマトグラフィとしては, 複雑であり, 感度の低いものがある。(安息香酸, サッカリン, パラオキシ安息香酸)

(5) 展開溶媒並濾紙の研究が不足している。

(6) 一般に実験例が不足し, 従つて Rf を確実に主張することができない。

とまれ, 現在の段階においては, 本報告に於て提出した方法は, 研究的に予試験として用いることはよいが, 実際の取締試験に採用することは勿論尙早であるが故に, 我々は上記の諸点に就き, 実際検査にあつて, 随時検討を進めるつもりである。これ本報告を以て第一報とした所以である。

尙本報告は, 厚生省食品衛生課, 尾崎課長, 金原技官両先生の格別の御配慮を賜つたものであることを記し, 謹んで深謝の意を表す。又, 生化学試験部 川城部長の御校閲を賜つた。記して同先生に謹謝の意を表す。

文 献

- 1) Evans R.A., Parr W.H. and Evans W.C.; Nature, 164, 674, 1949.
- 2) Lugg. and Overell.; Nature, 160, 87, 1947.
- 3) 佐竹.; 化学の領域 8 (4) 32, 1950.
- 4) 晋在.; 化学の領域 8 (4) 25, 1950.
- 5) A. Jonescu., Journ. Pharm. et chem.; 29, (6) 523, 1909.
- 6) Fleury.; Chem. Zent. 1 76, 1944.
- 7) Michael Lederer., Australian J. Sci., 11, 208, 1949.

Studies on the Detection of Preservatives and Artificial Sweetners in Food by Method of Paper Chromatography (1)

Kakuzo SHIKAMA and Seiichi OKUMA

We have indicated an idea of the method of paper chromatography as preliminary test to detect the preservatives and artificial sweetners mixed in food, which are benzoic acid, salicylic acid, butyl-p-hydroxybenzoate, β -naphthol, saccharine, dulcin, p-nitro-o-toluidine, and p-nitro-o-phenetidine, according to the results of our studies. We have divided those substances into acid and alkali groups, and acid group was extracted with acid ether, alkali group with alkali ether.

In the former, Benzoic acid, salicylic acid, butyl-p-hydroxybenzoate, β -naphthol and saccharine are contained and in the later, dulcin, p-nitro-o-toluidine and p-nitro-o-phenetidine, are contained.

Our method involved the use of No.50 Tokyo-filter-paper developed one-dimensionally by the method of capillary ascent. The mobile fluid being most satisfactory was the 1% NaCl solution. For the color agents, we used FeCl_3 , H_2O_2 for benzoic acid and saccharine, FeCl_3 for salicylic acid, Millon's reagent for β -naphthol and Butyl-p-hydroxybenzoate, NaNO_2 and β -naphthol for dulcin, p-nitro-o-toluidine and p-nitro-o-phenetidine.

The method of FeCl_3 , H_2O_2 is a new idea as the detective method of saccharine, that is, 0.5% FeCl_3 is sprayed and almost dried by slightly heating and followed by spraying with 2% H_2O_2 and again almost dried, then saccharine shows bluish violet.

Rf values of those substances by the method mentioned above at almost 18° are follows. Benzoic acid 0.82, salicylic acid 0.63, butyl-p-hydroxy benzoate o, β -naphthol 0.27, saccharine 0.73, dulcin 0.58, p-nitro-o-toluidine 0.46, p-nitro-o-phenetidine 0.38.

避妊薬の殺精子力についての実験的研究 [II]

避妊薬の基剤についての考察

功 刀 博

Experimental Studies on Spermicidal Effect of Contraceptives (II)

Studies on Contraceptive Base

Hiroshi KUNUGI

I) ま え が き

避妊薬の殺精子力については、主剤がその主なる働きを演ずることは勿論であるが、なおこれに附随して避妊薬の基剤も相当その殺精子力に影響することは、すでに第一報¹⁾においても指摘したところである。すなわちゼリーの粘度とか、錠剤の CO₂ 発泡性或はその賦形剤によつて、かなり人精子の生活力は影響されるものと考えられるので、まずこれら諸因子の人精子に対する影響をさぐるべく、人精子及びゾウリムシを用い、避妊薬の基剤を種々にした場合の 2, 3 について実験的検討を試みた。

II) ゼリー基剤の人精子に及ぼす影響

ゼリーの粘度を対象において実験を行つた。粘度測定法は蒸留水で 2 倍に稀釈したゼリーを用い、その器具及び方法は避妊薬検定基準案に従つた。用いたゼリーは、それぞれ粘度及び成分を異にした 4 種類のもので、その処方は次の通りである。

- A ゼリー：比粘度 210 フノリ 6%，寒天 0.5%，グリセリン 5%
 B ゼリー：比粘度 75 フノリ 4%，アルギン酸ソーダ 4.5%，リセリン 3%
 C ゼリー：比粘度 110 フノリ 5%，C.M.C. 2.5%，グリセリン 5%
 D ゼリー：比粘度 90 処方不明

註 C.M.C. はカルボキシルメチルセルロースの略

実験の方法は避妊薬検定基準案の殺精子試験法によつた。その結果は第一表の通りで、粘度により精子の活動はあ

TABLE 1.

		Phthalate The : 9 min				
	μ	10 min	20 min	30 min	60 min	120 min
A Jelly	190	II	II→I	I	I	0
B Jelly	75	III→II	II	II→I	II→I	I
C Jelly	110	III→II	II	I	I	I
D Jelly	90	III	III	III	II	II

Sign of Mobilty of Paramecium {
 • III Active
 • II Rather Active
 • I Slow
 • 0 Immobile

る程度抑制されると考えられる。大体の傾向は粘度に平行して精子の運動も不活潑になるようである。

A ゼリーでは 2 時間後には全く不動となつた。参考迄に精子はスライドガラス上では 4-5 時間位、すなわち乾燥しきる迄は活動力を失わない。更に比粘度においては基準案によれば、200 以上が可となつてゐることを附記する。

III) CO₂ 発泡の人精子及びゾウリムシに及ぼす影響

CO₂ 発泡力が如何に作用するかについては、BAKER²⁾ 等が実験しているが、こゝでは酒石酸及び重曹を蒸留水に

溶かして、一夜孵卵器(37°C)内に放置して実験に供した。

一夜放置した溶液も振盪してみれば多少発泡するのは、なお遊離の CO₂ があるためと考えられる。

実験の成績には殺精子時間及びゾウリムシ滅殺時間を測定したものを示した。結果は第二表の通りである。

TABLE 2

Phthalate Time : 8 min

Tartaric Acid+Sodium Bicarbonate Concentration (%)	PH 5.4 0.5	PH 5.3 1	PH 5.2 2	PH 4.4 4	PH 4.7 8
Spermicidal Time (min)	<30	>30	>30	>30	>30
Paramecidal Time 50× (min)	<30	>30	>30	27	15
Paramecidal Time 5 × (min)	<30	12	9.5	5	3.5

表よりわかることは、一夜放置した CO₂ 含有溶液でも、かなり人精子及びゾウリムシの活動に影響を与えることである、特に人精子の場合は、8% 溶液まで 30 分以上にわたり活動性を示すものが少数に見られたが、精子の大多数すなわち 90% 以上はほとんど不動になっていた。

IV) 錠剤の基剤の人精子及びゾウリムシに及ぼす影響

錠剤の発泡拡散試験等については那須³⁾等の報告があるが、こゝでは主剤のみを除いた基剤だけの錠剤について実験を行った。

実験方法としては基準案に従ひ、食塩水 5 倍稀釈で一夜放置したものを実験に供した。この場合発泡直後すなわち溶かした直後のものと、一夜放置したものとに分けて行つた。結果は前者は第三表(1)、後者は第三表(2)に示した。

TABLE 3. (1)-(2)

Phthalate Time : 6 min

Phthalate Time : 7.5 min

Time(min)	1		3		Time(min)	2		5		10		12	
	I	0	0	I		II	I	I→0	0				
Base of Tablet	I	0	0	I	Base of Tablet	II	I	I→0	0				

表でみると基剤のみでも相当に殺精子力のあることがわかる。発泡直後のものは 3 分で完全不動となり、一夜放置したのもでも 12 分後には完全不動になつたのは注目される。

第二表と第三表に示した成績から基剤中の発泡以外の成分及び賦形剤によつても、精子の生活力は多少影響されることがわかる。なお本実験環境におけるこの程度の pH では、殺精子力に余り著明な影響をしたものと思ふ必要はないと思う。

一方ゾウリムシを用い、大体発泡後 4 時間位経たものについて行つた成績は第三表(3)に示した。表よりわかるよ

TABLE 3 (3)

Time(min)	1	2	3	3.5	5	10	20	30	40	50	70	80
Paramecidal Time 50×	III	II	II	II	II	II	II→I	II→I	II→I	II→I	I	I→0
Paramecidal Time 5×	II	I	I→0	0								

A Sign of Mobility of Paramecium

- III Active
- II Rather Active
- I Slow
- 0 Immobile

うにゾウリムシは錠剤の 50 倍稀釈で行つた場合は、約 1 時間運動を保つていたが、5 倍稀釈では数分にて不動になつた。これは基剤中の成分についても考える必要があるが、CO₂ 発泡がゾウリムシに作用して運動を不活潑にするものと考えられる。

V) むすび

- 1) ゼリー基剤の粘度は精子運動に対して、或る程度の抑制作用を示す。120 分位で不動になる場合があるので、粘度を考慮に入れて主剤の殺精子力を判断する必要がある。
 - 2) 錠剤の基剤はそれぞれの避妊薬によりその成分及び含量を異にしているが、CO₂ 発泡力が精子に対して、可成り抑制作用を示すとみてよい。しかし同じ発泡力にしても、水溶液中の発泡と錠剤からの発泡とは、だいぶその趣を異にしている。すなはち錠剤中には他の種々の賦形剤が入つている点で、これらの賦形剤もある程度精子の運動を抑制するものとみられる。この点錠剤では発泡は勿論、更に基剤個々についても一応検討してみる必要がある。
- 終りに御指導と御校閲を賜つた恩師八田貞義博士及び御助力をいただいた桑原章吾博士、寺山宏博士に謝意を表しますと共に、供試材料の調製に協力された山之内、日本衛材、三共各製薬会社の研究部の方々に対し感謝の意を表する次第である。

- 1) 八田、桑原、功刀他：避妊薬の殺精子力についての実験的研究 [1]、第 4 回日本公衆衛生学会口演。
- 2) Baker, J.R. : J. Hrg., 31, 189, 1931.
- 3) 那須、中井：総合医学, 6(20), 1950.

Experimental Studies on Spermicidal Effect of Contraceptives (II)

Studies on Contraceptive Base.

Hiroshi KUNUGI

The contraceptive base itself shows moderate influence for spermicidal effect.

In this report, the effect of bubble-forming material or the vehicle of contraceptives on spermicidal and paramedicidal power is investigated.

1. Viscosity of jelly-base shows some controllable action against the sperm mobility.
2. The bubble-forming material shows fairly controllable action against human spermatozoa.

But, due to the various elements in a tablet, a different appearance is shown between the bubble-forming effect and elements of tablets.

避妊薬の殺精子力についての実験的研究 [III]

避妊薬の力価測定法に関する検討

功 刀 博

Experimental Studies on Spermicidal Effect of Contraceptives (III)

Studies on Measurement of Spermicidal Power of Contraceptives

Hiroshi KUNUGI

第一報¹⁾において述べた人精子に代るゾウリムシ法とは別に、細菌に対する避妊薬主剤の抗菌力をみることにより殺精子試験の代用法となしうかどうかを検討することにした。

避妊薬の検定法としては、検定基準案の他に、水野²⁾等の提唱する拡散度をもつてするもの、或は原³⁾等の簡易検定法として絹糸草を用いる方法などがある。私はペニシリンの定量法である重層法を用いて、避妊薬の抗菌価を測定

し、その殺精子力を推定する方法をとつてみた。

1. 避妊薬の抗菌価測定法

避妊薬の抗菌価測定法としては、川上⁴⁾の処方に従がい重層法を採用し、阻止帯の長さを測定して、その抗菌価をよみとることとした。山地、功刀⁶⁾等がグアナフラシン定量に此の法を用いたことから応用してみたのである。

まず 0.1% 醋酸フェニール水銀(以下 M と略す)水溶液を倍数希釈して、川上の培地に重層後直ちにフラン器に入れて、18 時間後にその成績を判定することにした。使用した菌種は葡萄球菌 (F.D.A. 209 P) で 24 時間ブイヨン培養のものを用いた。試験管は 8.0×110 mm の小試験管である。

増山⁷⁾の公式 $y(x) = G(1 - e^{-\gamma(x-a)})$ を満足するか否かについて一応検討してみるために、定差図を画くとほとんど直線に近くなる。すなわち重層法は M 検定に適した方法と考えられる。

以上のように細菌に対する効果、すなわち抗菌力を測定する方法は、相当細かい有効濃度の解析をすることができるので、殺精子試験、パラメシウム滅殺試験のような各種の物理的要因に影響されることのない正確な数値をつかむことのできる便がある。

なお殺精子時間とゾウリムシ滅殺時間及び抗菌力とを相互比較したものは第一表及第二表に示した。第二表からわ

TABLE 1

Concentration of Mercetate %	0.1	0.05	0.025	0.0125	0.0062	0.0031	0.0015	0.00075
Length of Inhibited Zone cm	1.90	1.80	1.75	1.68	1.55	1.42	1.25	1.17
Spermicidal Time minutes	<1	<1	<1	<1	<1	≦1	2.5	>30
Paramecidal Time minutes	<1	<1	<1	<1	1	2	4.5	9.5

TABLE 2

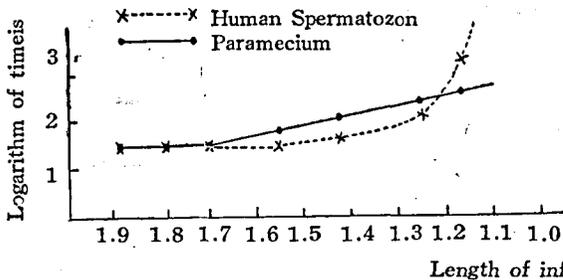
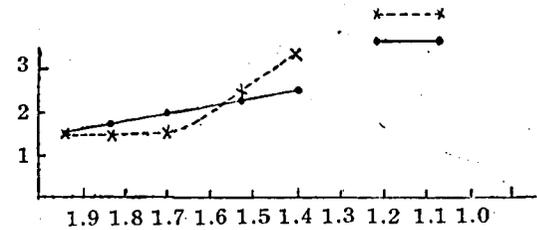


TABLE 3



かるように、ゾウリムシ滅殺時間は抗菌力に平行した傾向をとっているが、殺精子時間はある抗菌価の範囲においてのみ平行的な関係にあることが認められた。これも殺精子試験にともなう物理的要因によるものと考えられる。因みに M 含有のゼリーにつき倍数希釈を行つて、阻止帯の長さ、殺精子時間及びゾウリムシ滅殺時間との比較を試みてみると第三表のようになる。

TABLE 4

Diluents	0.85% Saline Solution	Buffered Glucose Saline Solution	5% Dextrose Solution	Egg-White	Aqua Destillata
Length of inhibited zone cm	1.90	1.75	1.73	0.17	1.91

第二表と第三表における人精子の曲線に多少異なるものがあるのは、ゼリーの粘度に関係しているためで、これは第二報に報告したところである。

2. 数種稀釋媒液における抗菌力の相違

避妊薬の稀釋媒液を異にする殺精子試験については第一報において述べた。すなわち生理食塩水、B.G.S.、5%ブドウ糖液、卵白がそれである。こゝでは前に述べた重層法にて抗菌力成績から比較検討してみることにした。

実験に供したゼリーはM含有のもので、その結果は第四表の通りである。表よりわかるように、阻止帯の長さを見ると、食塩水>B.G.S.>ブドウ糖液>卵白の順に長くなっている。いゝかえればこの順に殺精子時間が短くなるわけで、第一報における殺精子時間と発育阻止帯の長さとは平行してゐる。また食塩水と蒸留水稀釋とではほとんどその抗菌力に差のないことがわかる。

3. Cl イオンの M に及ぼす影響について

Cl イオンが M に如何に影響するか、すなわち Cl イオンが抗菌力を低下させるか否かを一応検討してみるために、0.5%、0.85%、1%、2%、4%、8%、の食塩水を作り、これに 0.1% M 溶液と、M 含有ゼリーとを 5 倍稀釋して、その抗菌力を比較してみた。その結果は第五表の通りである。表よりわかるように、M 溶液では 2%、

TABLE 5

Concentration of NaCl %	0.5	0.85	1	2	3	4	Control 0.1% Mercetac
Length of inhibited Zone (cm) 0.1% Mercetate	1.15	1.20	1.28	1.33	1.30	1.30	1.64
Length of Inhibited Zone (cm) A jelly Including Mercetate	1.53	1.55	1.57	1.50	1.50	1.50	1.64

M 含有ゼリーでは 1% のところが最高値であるが、Cl イオンが大量あつても必ずしも抗菌力は低下してないことがわかる。又 M 溶液は M 含有ゼリーよりも食塩水にとかした場合は、抗菌力は低くなっている。この事実からゼリーは Cl イオンと結合しにくいことがわかる。因みに実験は Cl イオンにより洗滌する白色のフェニールマーキュリッククロライドを除いた上清液にて抗菌力を検したものである。

4. むすび

1) 重層法による阻止帯の長さをよむことにより、避妊薬の殺精子時間を大体検討しうるものと思われる。特に殺精子時間を検定する場合及びその主剤含有量を定量する場合に参考になるものと考えられる。

2) 抗菌力とゾウリムシ滅殺時間とが、比較的平行関係に現われることは、細菌とゾウリムシは避妊薬に対して、同じような態度及び性質をもっているものと考えられる。

3) 数種避妊薬の稀釋媒液を用いて行つた殺精子時間と抗菌力とが平行的な結果を示したことは、抗菌力によつても殺精子時間を判定しうるものと思われる。

4) 避妊薬稀釋液としての Cl イオンの影響は、さほど著明でない。これはゼリーの賦形剤が Cl イオンとの結合を防ぐためかと考える。したがつて稀釋液として生理食塩水を用いることは、試験成績にそれ程影響を与えるものとは考えられない。本実験に用いた M は山之内製薬会社製のものである。

終りに御指導と御校閲を賜つた医師八田貞義博士及び種々御助力を戴いた桑原幸吾博士に謝意を表する次第である。

引用文献

- 1) 八田, 桑原, 功刀他: 第 4 回公衆衛生学会口演.
- 2) 水野: 日本衛生学雑誌, 5 (1), 21~22, 1950.
- 3) 原: 月刊シオノギ, 5 (5), 4-5, 1950.
- 4) 鳥居, 川上, 小島: ペニシリン, 1 (7), 281-291, 1947.
- 5) 川上: ペニシリン, 1 (7), 445-457, 1948.
- 6) 山地, 功刀: 東京医事新誌, 67 (10), 36-38, 1950.
- 7) 増山: 科学, 17, 158-163, 1947.

Experimental Studies on Spermicidal Effect of Contraceptives (III)

Studies on Measurement of Spermicidal Power of Contraceptives

Hiroshi KUNUGI

I have measured the antibacterial effect of contraceptives by a superposition method as penicillin assay and estimated thereafter spermicidal effect of those drugs.

From several experiments, the conclusions stated below are obtained:

1. It seems that the spermicidal power of contraceptives is estimated by reading the length of growth-inhibiting zone in superposition method.
2. It appeared that the antibacterial effect runs comparatively parallel with the paramecidial time.
In this point, the bacteria and paramecium seem to have similar attitude and character for contraceptives.
3. The influence of Cl ion as the diluents of contraceptives is not so much prominently.

ケンゴ子の生薬学的研究

長澤元夫

Pharmacognosical Studies on *Pharbitis* seed, "Ch'ien-niu-tzu"

Motoo NAGASAWA

この研究は山岸晃先生の御指導によつてなされたものであり、ここに先生に対しついで感謝の意を表します。なおこの研究は高橋源三氏が大部分なされていたものであるが、完成することなく氏は 1942 年になくなられた。長澤はこの仕事をひきつぎ誤りを訂正し不十分な点をつけ加えて一応完成させた。記述についても遺稿のおもかげはなくなつていたので本文では「われわれ」という表現をとつた。

総論

アサガオ *Pharbitis Nil* Choisy の種子(ケンゴ子)は昔から東洋ではシュン下剤としてよく使われている生薬である。それは種皮の色により黒ケンゴ子と白ケンゴ子とにわけられているが、それと花の色との関係が問題になつてゐた。李時珍は本草綱目の 18 卷上(1591 年)において、黒色種子を生ずる植物を『黒丑』Hei-ch'ou、白色種子を生ずるものを『白丑』Pai-ch'ou とし、異種のものとして詳述し、その花はどれも有色であることをのべている。したがつて松岡恕庵が『牽牛子和名アサガオ、黒白の二種あり。実白きものに花碧色なるあり』(用藥須知、1726 年)と書いているのは李時珍の『白者……其花小于黒牽牛花淺碧帶紅色』によつたものと思われる下註。この誤りに気付いたのは 18 世紀後期以後であらう。小野蘭山(本草綱目啓蒙 1803 年及び救荒本草紀聞)、呉其濬(植物名実図考 1848 年)らは李時珍のいう『白丑』はハリアサガオ(丁香茄苗) *Calonyction muricatum* Don であるとし、また小野蘭山は『花青碧色ノモノヲ黒丑ト云マタ黒牽牛トモイフ、又白色ノモノヲ白丑ト云マタ白牽牛ト云ナリ』と訂正した。現在はこのように使われているが、最近の遺伝学的研究によると、白色種子からはかならず白花を生ずるが白花からは黒白 2 種の種子を生じ、また有色種子からは有色花と白色花を生ずるが有色花からは黒色種子だけを生ずるといふ²⁾とす

下註)『松岡恕庵は実の白きものにも花の碧なるものありと説かれております。私は京城において求めたる白丑について数年にわたり実験しましたが、つねに白花を開きました。恕庵の捕えたところの白丑は雑種であつたらうと考えられます』と石戸谷³⁾は書いているが、これは文献を歴史的にとりあつかわなかつたことから生じた誤りであるかあるいは中間の色調をもつ種子に対する判断の誤りである。このことは遺伝学的にも研究されていることを本文に書いておいた。

れば従来のように黒ケンゴ子と白ケンゴ子は種皮の色によつてだけ区別されるものでありかならずしも花の色によつて区別されるものではないことがわかる。しかしわれわれはヒルムのマクラ (Hilum bolster) の構造に相違のあることを発見した。また白色種子は一般にほとんど毛はなく、宮澤³¹によると種皮の白色なことで毛の減少することは完全なリンケージ関係にあるという。しかし未熟なものには毛の多いものも認められるので、このように断定することは危険である。

1942年に沈鶴鎮 (Shim Hack-chin) 氏から提供された朝鮮ソウルの市場品『真黒丑』Chên-hei-ch'ou, は偶然にも千葉県成田山菜草園で『四川産ケンゴ子』と称して栽培していたものと比較解剖して同一であることを確かめることができた。そして後者のサク葉標本は東大理学部植物学教室の木村陽二郎氏によりモウコアサガオ *Ipomoea sibirica* Persoon と決定されたが、この植物は東部ペリヤ、北東モウコ、華北、東北 (満洲) に分布している³²から、恐らく華北および東北においても同様の目的で使用されているのではないかと想像される。この他市場には時にマルバアサガオの種子も『ケンゴ子』として販売されている。なおハマヒルガオは国内いたる処の海岸に繁茂し、結実率も高いため実用上とくに注目に値するものと考えられる。

したがつてわれわれは類似種子との弁別点の発見を目的として、十数種のヒルガオ科 (Convolvulaceae) 植物種子について研究を進め、一般に外形、大きさ、重量の点でもかなり正確に区別することができるが、解剖学的には表皮細胞および子殻第二層の細胞の形状、ことにその表面視において著しい形状の相違を見出した。また二三の種においては子葉と隔壁の形状および内容物によつてもこれを区別することができるが、ヒルムのマクラにおける構造の相違はきわめて有力な属 (Genus) の区別点であることがわかった。これらを明かにすることができたので満洲市場品のなかに、ある種のゴククライキアカの色素で白色種子をクロに染めて『黒丑』として販売していたものがあつたが、組織をしらべてそれが白ケンゴ子であることを証明することができた。

以下総論においては発生学的なことを加味してヒルガオ科植物種子一般について、およびそのなかの主要な相違点について述べ、各論においてはケンゴ子を基準として形状および構造を詳細に述べ、ほかの種についてはただその相違点だけをあげるにとどめる。

われわれが実験に用いた材料を属によつてわけると

- Pharbitis*……………アサガオ (黒白 2 種), マルバアサガオ。
Quamoclit……………ルコウソウ, マルバルコウ, ハゴロモルコウ。
Calystegia……………ヒルガオ, コヒルガオ, ハマヒルガオ。
Calonyction……………ヨルガオ (黒白 2 種), ハリアサガオ*。
Ipomoea……………モウコアサガオ, サツマイモ*, グンバイヒルガオ*。

(* 印のものは不完全な観察にとどまっているので、各論でははぶいた。)

以上 5 属 13 種の種子であり、発生学的研究の必要上その可能なものについては自ら栽培にあつたが、野生品においてもツボミ、花、未熟果実、完熟果実等各発生過程の資料をできるだけ広範囲に集めた。材料入手に尽力せられた津村研究所長佐々木一郎氏、サク葉鑑定の方をおしまれなかつた木村陽二郎氏に対しこの機会に深い感謝の意を表わすものである。なお色の記載は標準色名法³³によつた。

ヒルガオ科植物はすべて倒生胚珠であり、その珠孔は下方をむく。球形ないし楕円体形の果実は 2~4 室からなり各 2 個の種子を蔵するが、完熟するのはその半数あるいはそれ以下である。したがつて 1 個の種子は一般に球を縦に 6~4 割した形であるが時には球形に近いものもある。腹面の稜線すなわち縫線 (Raphe) の下方の陥没した他とは異つた色を呈する個所はヒルムで、合点 (Chalaza) は種子の上端に相当する。ヒルムの下方に左右 2 個の隆起があり、その間の小孔は珠孔である。

種子の大きさを重量順に比較すると

	Japanese Name	Weight of 100 seeds (g)	Height (mm)	Width and thickness (mm)
<i>Calonyction aculeatum</i> . (white seed)	Yorugao	24.3	10-11	7-8
<i>Ipomoea pes-caprae</i> .	Gunbai-hirugao	18.5	6-8	5-6

<i>Calonyction aculeatum</i> (black seed)	Yorugao	16.6	9-10	5-6
<i>Calonyction muricatum.</i>	Hari-asagao	14.0	9	5-7
<i>Calystegia Soldanella.</i>	Hama-hirugao	5.2	6-7	4-5
<i>Pharbitis Nil.</i> (black seed)	Asagao	4.8	6-7	4-5
<i>Pharbitis Nil.</i> (white seed)	Asagao	4.2	5.5-6.0	4-5
<i>Ipomoea Batatas.</i>	Satumaïmo	3.4	4-6	3
<i>Quamoclit cardinalis.</i>	Hagoromo-rukô	3.2	5.5-6.0	2.0-2.5
<i>Ipomoea sibirica.</i>	Môko-asagao	3.2	5.5	2.5-3.0
<i>Pharbitis purpurea.</i>	Maruba-asagao	2.7	4.5-5.0	2.5-3.0
<i>Calystegia japonica.</i>	Hirugao	2.6	5	3-4
<i>Calystegia hederacea.</i>	Ko-hirugao	2.0	4	2.5-3.0
<i>Quamoclit angulata.</i>	Maruba-rukô	1.5	3.5-4.0	2.0-2.5
<i>Quamoclit vulgaris.</i>	Rukôsô	1.4	4.5-5.0	2.0-2.5

珠皮は1枚で、それから発生する子殻は4層に区別される。すなわち第一層は表皮細胞、第二層、第三層は柵状層及び第四層は類廃した營養層である(下註1) 珠皮の4列目から内側の細胞は營養層となる。

表面に薄いクチャラを被る薄膜性の表皮細胞は一般に毛筆状の毛を有するが、*Calystegia* はこれを欠き、モウコアサガオでは鬚状毛が著しい特徴となつている。有色種子ではゴククライキアカの内容物 Phlobaphene を藏する。

やや厚膜化した小細胞からなる子殻第二層の細胞はすべてコルク化しているが、ヒルガオ、モウコアサガオでは木化反応も呈する。表面視すると *Calystegia* とモウコアサガオでは娘細胞に分裂したように見えるのが特徴となつている。黒ケンゴ子、マルバアサガオ、モウコアサガオではクライキアカの内容物を藏する。

子殻第三層は円柱状の細胞及びこれに続く2~4層の方形の細胞からなり、いずれの膜壁も著しく厚化し、円柱状細胞には1条の光輝線、またモウコアサガオを除く *Ipomoea* には2条の光輝線が存在する。

營養層は元来大形の球形細胞からなり、澱粉粒で充満しているが、種子の成熟するに従い、圧迫され同時に内容物を減じ、ついには類廃した細胞膜だけからなる層となる。

ヒルム附近ではマクラが発達しているために構造は甚雑である。一般に6層からなり(下註2) 第一~三層は珠皮の表皮細胞から発生したように思われ、その第二層は触手細胞からなり、細胞間隙に富むためわれわれはこれを海綿状組織とよぶこととし(*Calystegia* は例外)、第三層は円柱状の細胞からなるためにこれを外柵状組織とよぶこととした。第四層は子殻第二層に相当するもので、*Calystegia*, *Ipomoea* (サツマイモ)、*Pharbitis* (白ケンゴ子) では1層の細胞であるが、他のものでは分裂して2~3層の細胞からなる。第五層は柵状層で、子殻第三層に相当し、マクラ以外の部分と同様である。第六層にあたるマクラ直下の營養層は触手細胞からなり、成熟後もおしつぶされることなく糊化澱粉を充満しキシミノキアカを呈している。*Pharbitis* (ことにアサガオ)、*Calonyction* ではここに修酸カルシウムの集晶が見出される。

珠心は初期に消失し(したがって外胚乳は存在しない)、珠皮の内側の表皮細胞を被るクチャラも早期に消失するが、内胚乳に由来する新生クチャラ(下註3) により、胚乳は子殻と区別できる。内胚乳の最外層の細胞の細胞壁はかな

下註1) このわけ方は吉井⁶⁾に従つた。吉井は Epidermis, Pigmentzelle (Zweitezelle), Palisadenzelle, Nährschicht にわけた。Netolitzky⁷⁾は Epidermis, Palisaden 1, Palisaden 2, Nährschicht にわけた。

下註2) 吉井⁶⁾は Epidermiszellen mit Papillen, Verdickte Epidermiszelle, Pigmentzelle, Palisadenzelle, Parenchymzelle の5つにわけた。われわれはこの Epidermiszelle mit Papillen を表皮細胞と海綿状組織とにわけた。

り厚化し不定形アリュールン (Aleuron) を蔵するからこれをアリュールン層^{下註}とよぶこととした。内胚乳は粘液化し、そのなかに胚をうずめている。胚の色ははじめキミドリであるが成熟して乾燥するころには色を失い、ゴクウスイキアカとなる。胚を構成する細胞は 4~7 個のアリュールンでみだされ、また種および属により修酸カルシウムの集晶の有無あるいは多少の相違を示す。胚軸は種子の中央から下端まで背面の子殻にそつて走るやや曲つた太い根棒状のもので、その末端は珠孔附近に達する。その横断面は円形。2 枚の子葉は表面を内にして重なり、はじめ胚軸を左右から包むようにたれさがり、次で上方にまがつている。子葉が充分發育するものでは子殻の圧迫をうけて著しく屈曲し、横断面ではヘビのようにくねつている。しかしハマヒルガオでは子葉の發育が悪く、子殻の圧迫をうけないから子葉は屈曲しない。したがつて乾燥による内胚乳の収縮後は胚の周囲に大きな空室を生ずる。

(Fig. 1 により A-2,3,4 は F-2,3,4 の複雑になつたものにすぎないことがわかる。)

子葉を縦に二分している隔壁は 2 枚のアリュールン層にはさまれた子殻の營養層からなる。しかしハマヒルガオでは隔壁は明かでない。

子葉の断面の中央からやや表面よりに無色透明な樹脂様物質を包蔵する大きな離生分泌室が点々と存在する。

ただしゲンバイヒルガオだけはこれがない。Pharbitis(ことにアサガオ)、Quamoclit, Ipomoea(サツマイモ)の子葉組織中には修酸カルシウムの集晶が存在するが、Calystegia, Calonyction, Ipomoea(サツマイモを除く)には存在しない。

Procambium は胚軸では圈輪をなして通走し子葉の横断面ではほぼ一定の間隔をおいてその分枝の切口が認められる。

ヒルムの裂け目から種子の子殻中にはいる導管の束は直ちに二分し、一は縫線を通り合点をすぎ種子の背面中央を通走し胚軸の先端近くまで達している。一は隔壁の中を 3~6 束に分れて走り種子の上部で前者と合する。前者を縫線導管の主幹^{下註}後者をその分枝とよぶことにする。ヨルガオの分枝は網状。また導管はすべてラセン紋。

下註 1) Nitolitzky⁷⁾ の neugebildete Kutikula (s. 275) の訳

2) 吉井⁸⁾ の Eiweiss schicht に相当する。

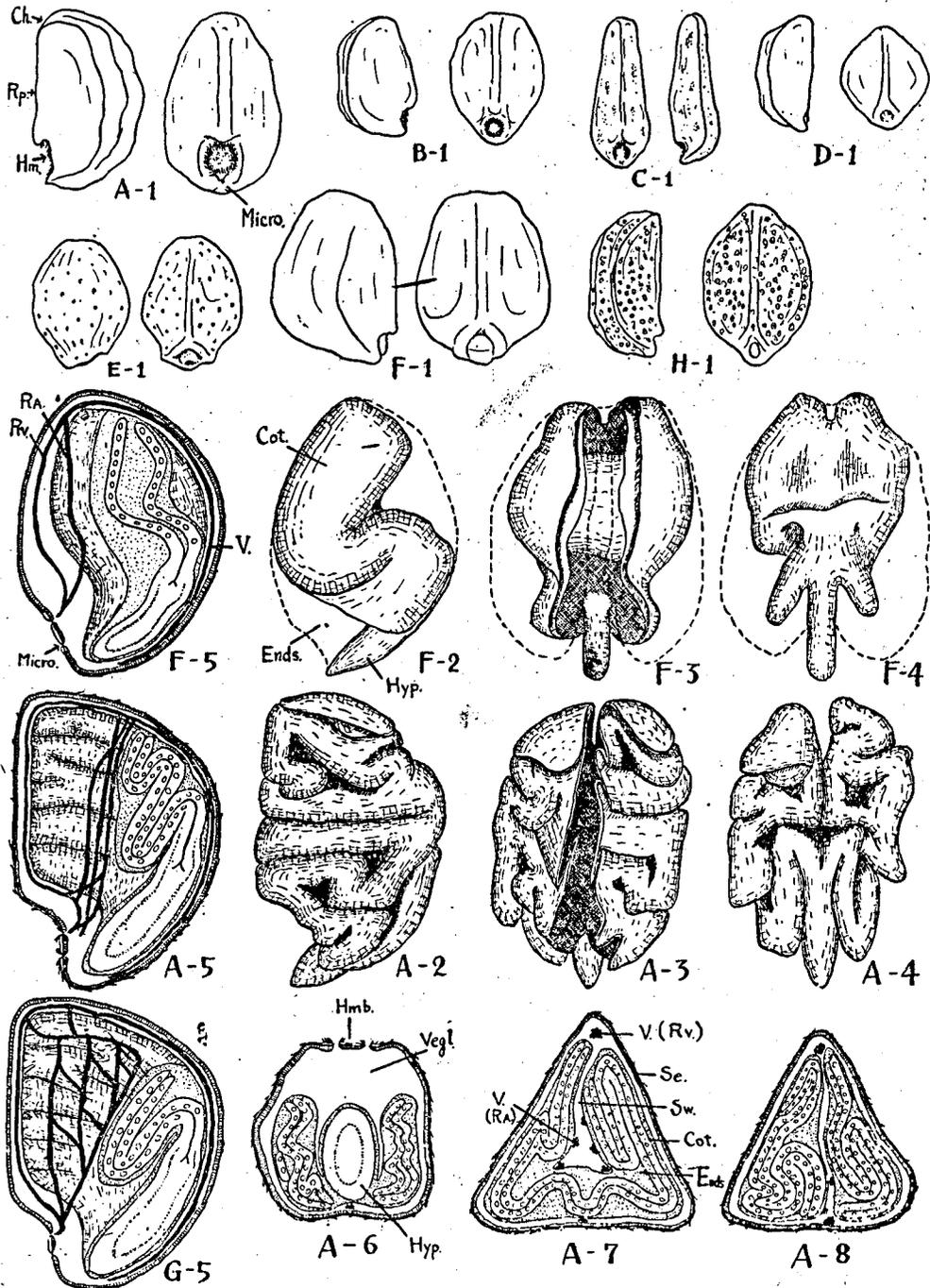
Ebert⁸⁾ はこれを「ショウガ科 (Elettaria) の子殻にある著しく厚化した石核細胞の形を思い出させる。異るところはただ硅酸体がなく、それゆえにその細胞膜は木化していない点である」としているが、クテクラの存在する位置により、アリュールン層は子葉に属していないことがわかるし、形態も全く異つている。

下註) Netolitzky の Hauptstamme と Ast の訳。吉井はこれを Aussenbündel と Innenbündel とにしている。

略字解

Al	(aleuron grain)	アリュールン	All	(aleuron layer)	アリュールン層
Cut	(cuticle)	クテクラ	Cn	(new produced cuticle)	新生クテクラ
Ch	(chalaza)	カラザ	Cot	(cotyledon)	子葉
Ep	(epidermis)	表皮	Ends	(endosperm)	内胚乳
Gs	(ground substance)	基礎物質	Gt	(ground tissue)	実体組織
Ha	(hair)	毛	Hm	(hilum)	ヒルム
Hmb	(hilum bolster)	ヒルムのマクラ	Hyp	(hypocotyl)	胚軸
Kr	(crystal)	結晶	Lig	(light zone)	光輝線
L ₂	(second layer of seed coat)	子殻の第二層	L ₃	(third layer of seed coat, palisade layer)	子殻の第三層(柵状層)
Micro	(micropyl)	珠孔	Oveg	(obliterated vegetable layer)	
Ol	(oil drop)	油滴			類廃した營養層
Proc	(procambium)	プロカンビウム	Pal	(palisade tissue)	外柵状組織
Prot	(protein crystal)	タンパク仮晶体	Rp	(raphe)	縫線
Res	(resinous substance)	樹脂様物質	Ra	(branch of raphe vessel)	縫線導管の分枝
Rv	(stem-vessel in raphe)	縫線導管の主幹	Sec	(secretory cavity)	分泌室
Se	(seed coat)	子殻	Sw	(septum)	隔壁
Sp	(spongy tissue)	海绵状組織	Vegl	(vegetable layer)	營養層
V	(vessel bundel)	導管束			

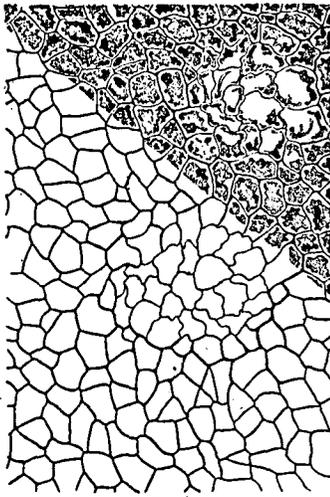
Fig. 1.



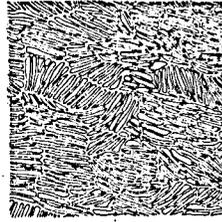
- A. *Pharbitis Nil* Choisy.....(Asagao)
- B. *Pharbitis purpurea* (L.) Voigt.....(Maruba-asagao)
- C. *Quamoclit vulgaris* Choisy.....(Rukó-sô)
- C. *Quamoclit angulata* Eojer.....(Maruba-rukô)
- E. *Calystegia japonica* Choisy.....(Hirugao)
- F. *Calystegia Soldanella* Roemer et Schultes.....(Hama-hirugao)
- G. *Calonyction aculeatum* (L.) House.....(Yorugao)
- H. *Ipomoea sibirica* Persoon.....(Môko-asagao)

- 1. Outside view of seed.
- 2. Side view of perfect matured embryo.
- 3. Inside view of perfect matured embryo.
- 4. Back side view of perfect matured embryo.
- 5. Vertical section of seed.
- 6. Horizontal section of under part of seed.
- 7. Horizontal section of central part of seed.
- 8. Horizontal section of upper part of seed.

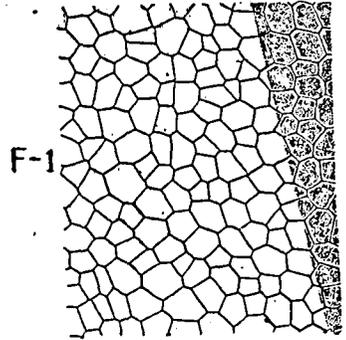
Fig. 2.



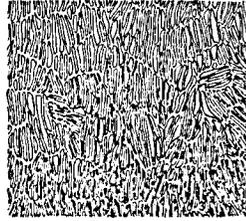
E-1



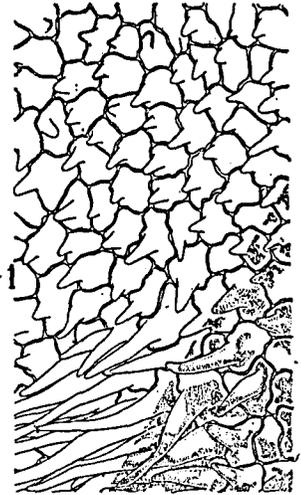
F-2



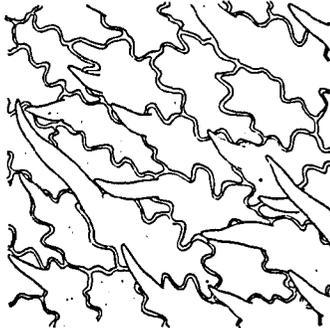
F-1



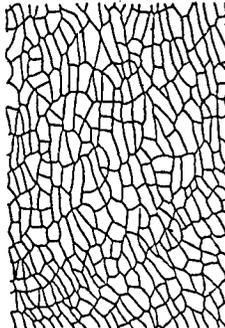
E-2



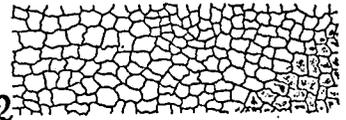
C-1



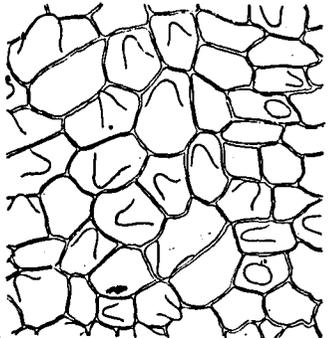
A-1



A-2



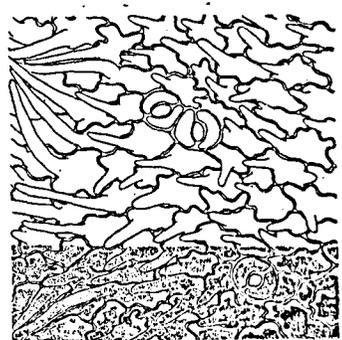
D-2



B-1



B-2



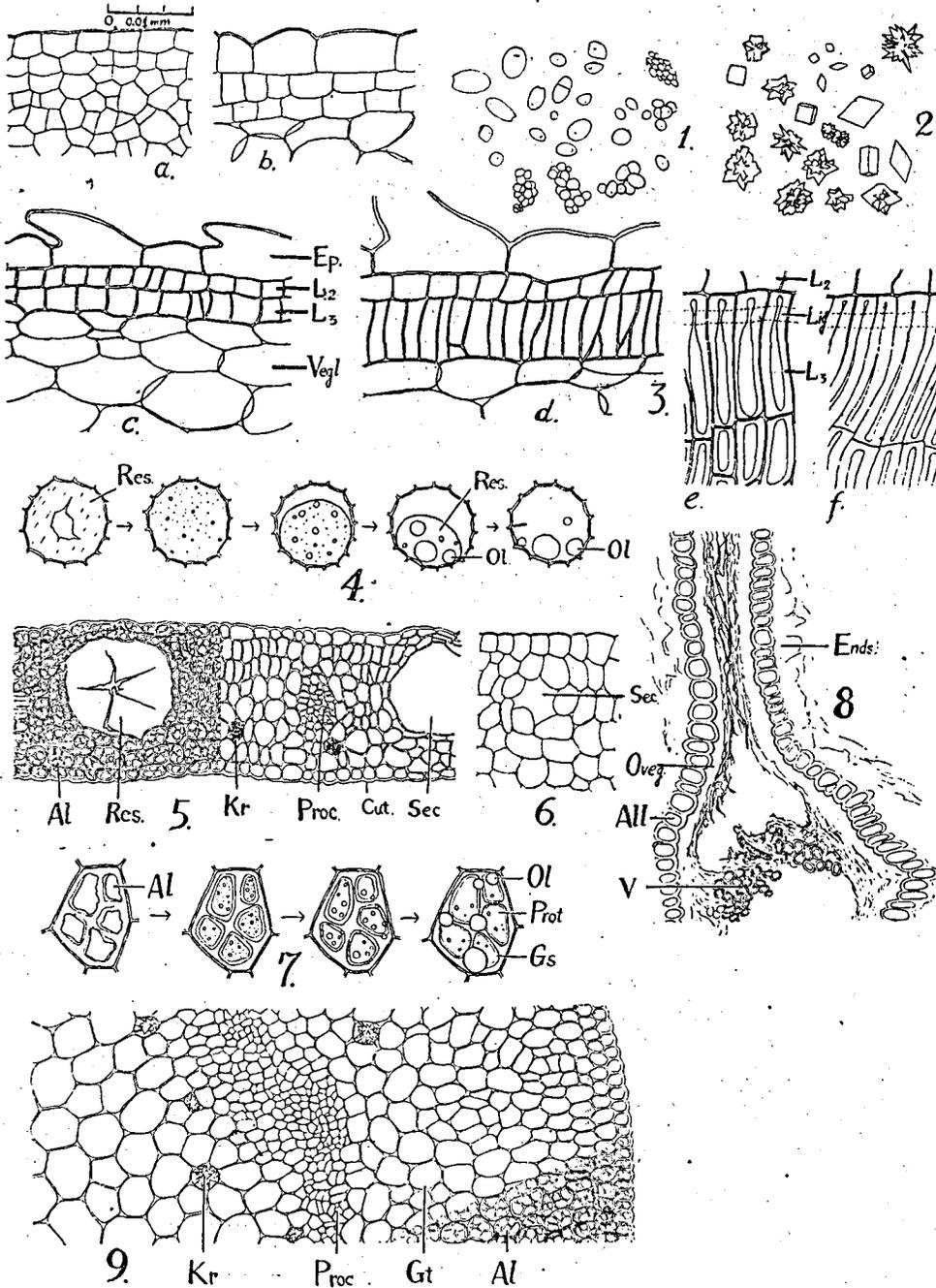
D-1

Explanation (A,B,—, H) — equal to Fig. 1.

1. Epidermis cell.

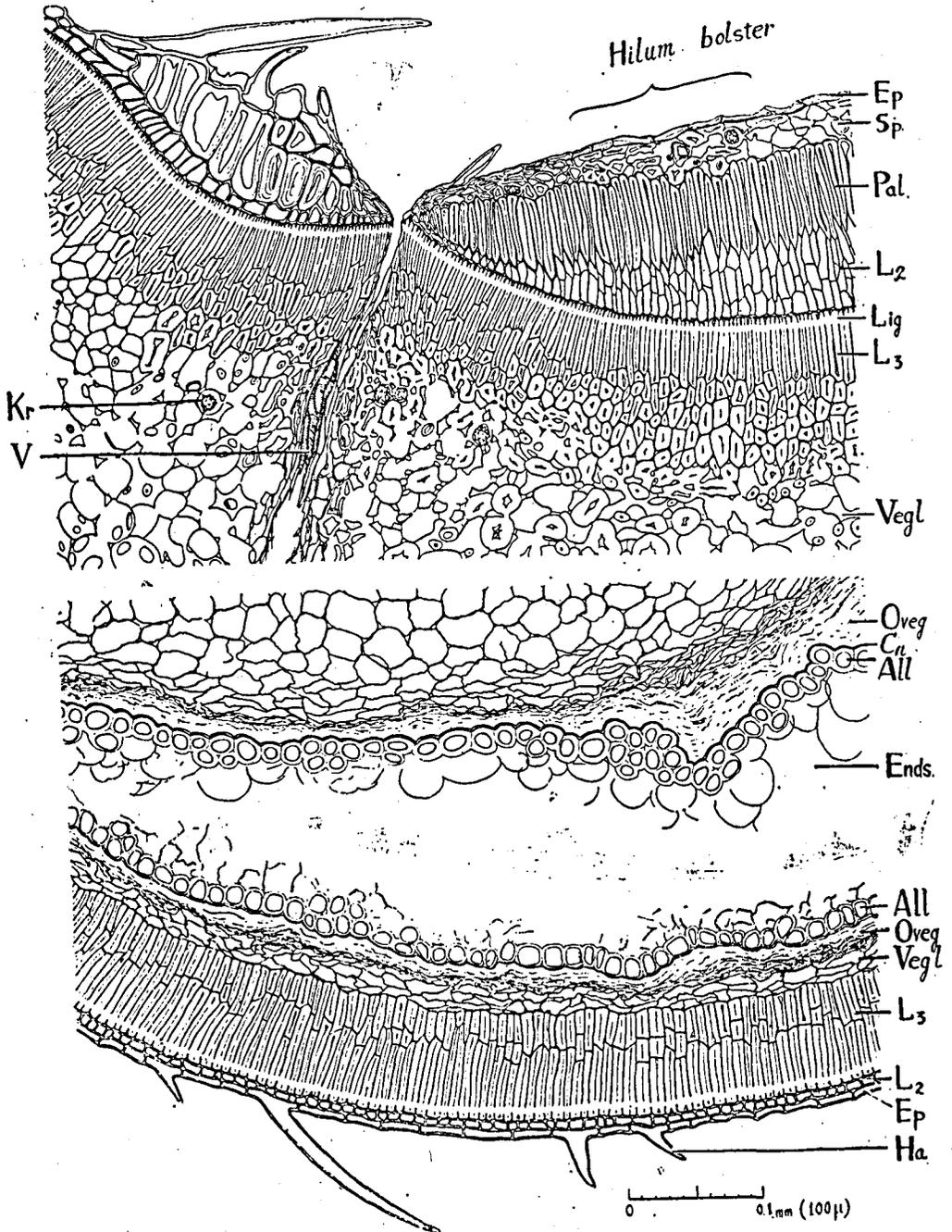
2. Second layer cell of seed coat.

Fig. 3. Anatomy of Pharbitis seed.



1. Starch grain. 2. Crystal of calcium oxalate, (clustered crystal and board crystal, which is discovered rarely in vegetable layer). 3. Development of seed coat. (measure : fit only for No. 3)
4. Microscopical change of resinous substance in secretory cavity of cotyledon. (for medium : use glycerin and gradually add water). 5. Section of cotyledon. 6. Development of secretory cavity...schizogenus. 8. Microscopical change of aleuron grain. (medium, same as No. 4).
9. Horizontal section of septum. 9. Horizontal section of hypocotyl.

Fig. 4. Vertical section of black Pharbitis seed.



(Embryo is omitted. All figures of hilum bolster section can be equally measured.)

各 論

1. 黒ケンゴ子(Pharbitis Nil Choisy)

材料——東大薬学科生薬学教室所蔵の市販品、京大生薬学教室木島正夫氏の提供された上海市場品、東京都内各地の庭園で栽培されているアサガオの黒色種子、および府立園芸学校で栽培していた園芸品種の黒色種子。

形状——球を6~3割した三稜形をなし、乾燥により背面には縦にあらしわを生じ、腹面は著しくデコボコになつているが大抵は非常にくぼんでいる。種皮はゴククライキアカ~アカミノクロを呈し、市場品には往々クライハイキアカのものもある。

構造及び内容物——横断面をルーペで観察すると(Fig. 1A) 子殻の外層はゴククライキアカを呈し、内層の色はシロで放射方向にクシの歯のような微細な紋理が認められる。縫線から背面にかけてカーテン状にアカライハイキアカの薄い隔壁が走り種子を2室にわけるように存在しているために、種子上半部(A-8)の子葉はこれにより2分されているが、中央部(A-7)では胚軸にさえぎられて隔壁は背面まで達していない。下半部(A-6)では再び背面に達しているが胚軸があるために3室にわかれている。この部分ではヒルムのマクラと胚軸の間にハイキアカの栄養層が特に広く存在している。

ゴクウスイキアカを呈している子葉は2条に不規則にくわつてあらわれ、小暗点(分泌室)が点々と連つている。組織を鏡検すると(Fig. 4)一般に子殻の第一層(表皮)は切線方向に伸長した一層の方形の細胞からなり、所々に毛筆状の毛を生じている。毛は大抵伏しており、長さは10~250 μ であるが多くは50~150 μ である。ヒルム附近の毛は最も長く200 μ をこえるものがある。表皮細胞は外面の膜壁だけがわずかに厚化し、その表面はきわめて薄いクチクラ層でおおわれている。表皮をはいで表面視すると(Fig. 2, A-1)側壁は著しく波状に屈曲したやや伸長した細胞からなつている。表皮細胞は一部水に溶解するゴククライキアカの Phlobaphene を内容物として蔵しているために過クロール鉄によりクライアオミドリに、ヴァニリン塩酸によりアカミノキアカに染まる。

子殻の第二層はやや切線方向に伸長した細胞と方形の細胞からなり、膜壁は薄く、ゴクウスイキを呈しその初生膜層だけがやや強いコルク化反応を示す。表面視すると(Fig. 2, A-2)数個あて並列した狭長な細胞とほとんど等径性の細胞からなる。内容物はほとんど認めることができないが時にゴクウスイキの原形質様物質が存在する。

子殻の第三層(柵状層)は円柱状細胞とこれに続く方形の2~3層の細胞からなり、膜壁はいずれも著しく厚化しているが、セルローズ反応を呈する。すなわち塩化亜鉛ヨード溶液でムラサキ、ヨード硫酸液でアオ、偏光では多色性を呈する。円柱状細胞は光線を著しく屈折する一条の光輝線を有し、この部分はセルローズの呈色反応をあらわすかどうかよくわからない(下註)この細胞では光輝線の部分がはじめに厚化するが生薬では内腔が認められない程度に厚化している。しかし内腔の両端は明瞭に残つている(Fig. 3, 3)。子殻第三層の厚さは70~90 μ 。

子殻の栄養層は全く類殖して弱い木化反応を呈する。有形の内容物は全く存在しない。新生クチクラ附近はキを呈し、細胞の面影を認めることができないまでに圧迫されている。緑熟種子では澱粉粒を充満し、その粒の大きさは3~25 μ 、大抵は10 μ 前後で円形~多角形、またヒルムは偏心性、層は一層だけ認められる。この澱粉粒はごく一部丸く欠けているのが特長である。複合澱粉粒も時に認められる。また集晶も存在するがその大きさは15~25 μ 。

次はヒルムのマクラの部分であるが、この表皮は切線方向に伸長した方形の細胞からなり、ヒルムの裂け目の両側の3~5個の表皮細胞はきわめて長い毛をもつている。細胞間にすきまの多い海綿状組織は1~2層の触手細胞からなり、表皮細胞と共にクライキアカの塊状内容物を蔵する。外柵状組織は1層の円柱状細胞からなり、その膜壁は著しく厚化している。子殻の第二層は3~4層のやや放射方向に伸長し膜壁の著しく厚化した細胞からなる。子殻の第三層はマクラ以外の部分と同様である。ヒルムの裂け目のマクラの反対側の表皮直下の細胞は4~6個間だけが著しく厚化した膜壁をもち、他はより薄膜性の大形の細胞からなる。マクラ直下の栄養層はゴクウスイキを呈している糊化澱粉を充満した触手細胞からなり、時に修酸カルシウムの集晶が存在する。

新生クチクラを外側に形成するアリュエロン層はやや膜壁の厚化した、不定形のアリュエロンを蔵する1~3層の細胞からなる。マクラ直下のそれは最も厚く数層の細胞からなる。内胚乳の組織はアリュエロン層に続く1~2層の

下註) 光輝線の部分はセルローズ反応を呈すると多くの研究者は記述しているが、この部分は著しく光線を屈折するのでこれまでのような方法では確実な証明にはならない。

柔細胞の膜壁のザンガイ以外はすべて粘液化し、一様に透明な物質になつている。

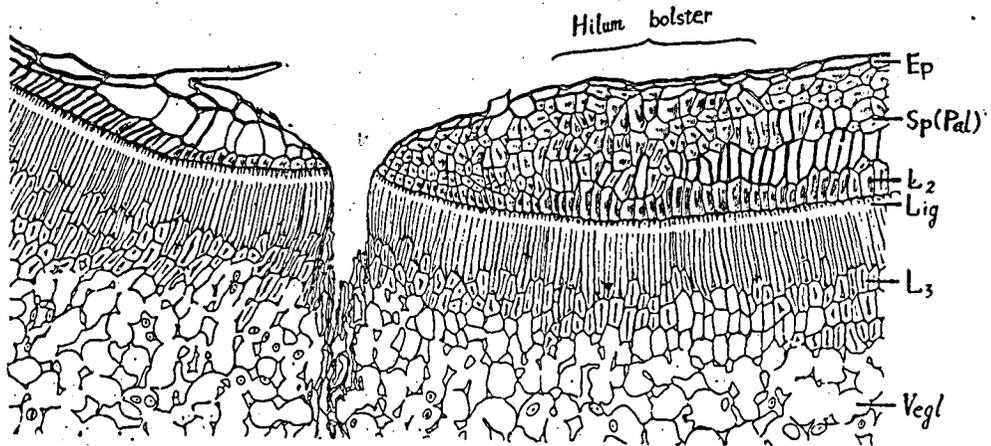
胚軸の横断面(Fig. 3,9)はほぼ円形を呈し、その表面はごく薄いクチクラでおおわれ、表皮はやや半径方向に伸長した球形の細胞からなつている。実体組織は等径性の細胞からなり、中心に向つて次第に大きくなつている。周縁と中心とのほぼ等距離の所に胚軸の方向に伸長した狭小な細胞からなる Procambium の円輪が存在する。胚軸を構成する細胞の内容物は各細胞に4~7個のアリューロンを蔵するほかに、修酸カルシウムの集品もかなり多く存在する。子葉の断面(Fig.3,5)は薄いクチクラでおおわれた方形~円形の表皮細胞の直下に2層の長方形の細胞が整然とならび、その下に不規則に等径性の細胞が続き、将来柵状組織と海绵状組織になることを暗示している。中央には所々に Procambium があり、また中央よりやや表面よりに大きな離生分泌室があり、その室壁はコルク化反応を呈し無色透明な樹脂様物質は室壁に沿つて存在し、中央はうつろになつているか、あるいは充満しているが乾燥のために割目が認められる。この樹脂様物質は水に直ちに膨潤し、次第に油滴を分離し、それ自身は徐々に水に溶解する。(Fig. 3,4)。またアルコールには直ちに溶解する。子葉を構成する細胞は4~10個のアリューロン及び時に修酸カルシウムの集品を蔵する。アリューロンは基礎物質とタンパク仮晶体からなり、水を吸収すれば脂肪油は不定形の仮晶体から徐々に分離してくる。(Fig. 3,7)。保井⁹⁾の指摘したように、脂肪油は遊離して存在するのではないことを確認した。

2. 白ケンゴ子 (Pharbitis Nil Choisy)

材料—東大生薬学教室所蔵の市販品、東京薬科大学において約4年間栽培した。白色花白色種子、木島正夫氏の寄贈による上海市場品、および満洲市場品。

形状—黒ケンゴ子と同形であるが、それよりやや小さく、種皮の色はクライハイキアカ~ハイキアカ~アカルイハイキアカ。毛は一般にきわめて少く、しかも短い。しかしヒルムのマクラの周縁には有色内容物をもたない短い長い毛が寄生している。

Fig. 5. Vertical section of white Pharbitis seed.



構造および内容物—黒ケンゴ子と異なるところは表皮細胞に有色内容物を欠くことと、ヒルムのマクラの構成が明かに相異していることだけである。(Fig. 5)。すなわち海绵状組織と外柵状組織との区別は認められず、一様に多角形~やや稜柱状の著しく厚膜化した数層の石がき状にならな細胞からなり、この膜壁は木化反応もセルローズ反応も呈しない。また所々に、ことに子葉の第二層に隣接して、薄膜性の稜柱状細胞を交え、この膜壁は強くコルク化反応を呈する。子葉の第二層は一層のきわめて膜壁の厚化した細胞からなり、内腔は点あるいは線状である。厚化していてもメチレン・ブルーにより染色されるだけで、塩化亜鉛¹⁰⁾、塩酸フロログルチンおよびスダンIIIによつては全く染色されない。ヒルムの裂け目の外側でも同様である。そしてこの部分の外柵状層の細胞は黒ケンゴ子のように石核細胞様に著しく厚膜化することはまれである。

3. マルバアサガオ (Pharbitis purpurea (L.) Voigt.)

材料—佐々木一郎氏が太田区調布鶴ノ木において栽培しておられた淡紅色花黒実品、並びに故藤田直市教授が東

大薬草園で栽培せられた淡紫色花黒実品と白色花白実品。

形状——アサガオに似ているが、それよりかなり小さく、両端は多少円味をおび、色はゴククライキアカ〜アカルイハイキアカの広い範囲にわたっている。微小な毛を密生し、光沢はない。

構造および内容物——種皮の色による構造の差はみられない。黒ケンゴ子と異なる点は、表皮の毛は短く(10~15 μ)その多くは乳頭状。表皮を表面視すると(Fig.2, B)各細胞は円形~方形~長方形で、その側壁は屈曲していない。子殻の第二層は断面ではやや細長い長方形の細胞からなり、所々に方形~短方形の細胞を交えている。膜壁はかすかにキを呈し、強くコルク化反応を示す。またしばしば半径性の膜壁は弱い木化反応を呈する。表面視では細長い長方形の細胞が、その多くは整然と並列している。そして表皮細胞と共にクライキアカの内容物を臍している。

子殻の第三層はうすく、アサガオの2/3前後(約55 μ)。子葉には集晶はきわめて少い。

4. ルコウソウ (*Quamoclit vulgaris* Choisy.)

材料——都内の草花種子店から買ったもの。および東京薬大薬草園で栽培していたもの。

形状——長倒卵を三分の一割した形が普通であるが、根棒状のものもある。種皮の色はゴククライキアカ~クライキアカで、その地の上に多くの色のうすいアカルイハイキアカの斑点が散在していて、ちょうど粉をかぶつているように見える。

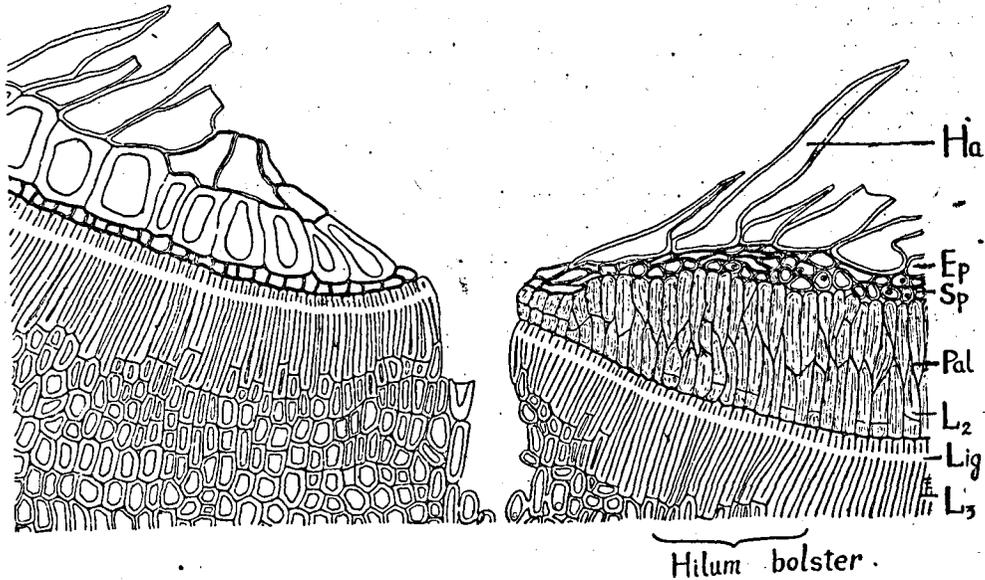
構造および内容物——黒ケンゴ子とほとんど同様であるが、表皮細胞の毛は高さ10~200 μ で、短い乳頭状突起様のものが多く、それらが集つて群を形成しているので、一見斑点のように見える。子殻の第二層は表面視では方形の小細胞からなる。(Fig. 2,C)。栄養層に結晶は存在しないが、子葉中には若干認められる。ヒルムのマクラの表皮細胞はすべて長い毛を有する。これは *Quamoclit* 属に共通した現象で、他の属と区別できる明瞭な特徴である。

5. マルバルコウ (*Quamoclit angulata* Bojer)

材料——太田区調布鶏ノ木における佐々木一郎氏の栽培品。

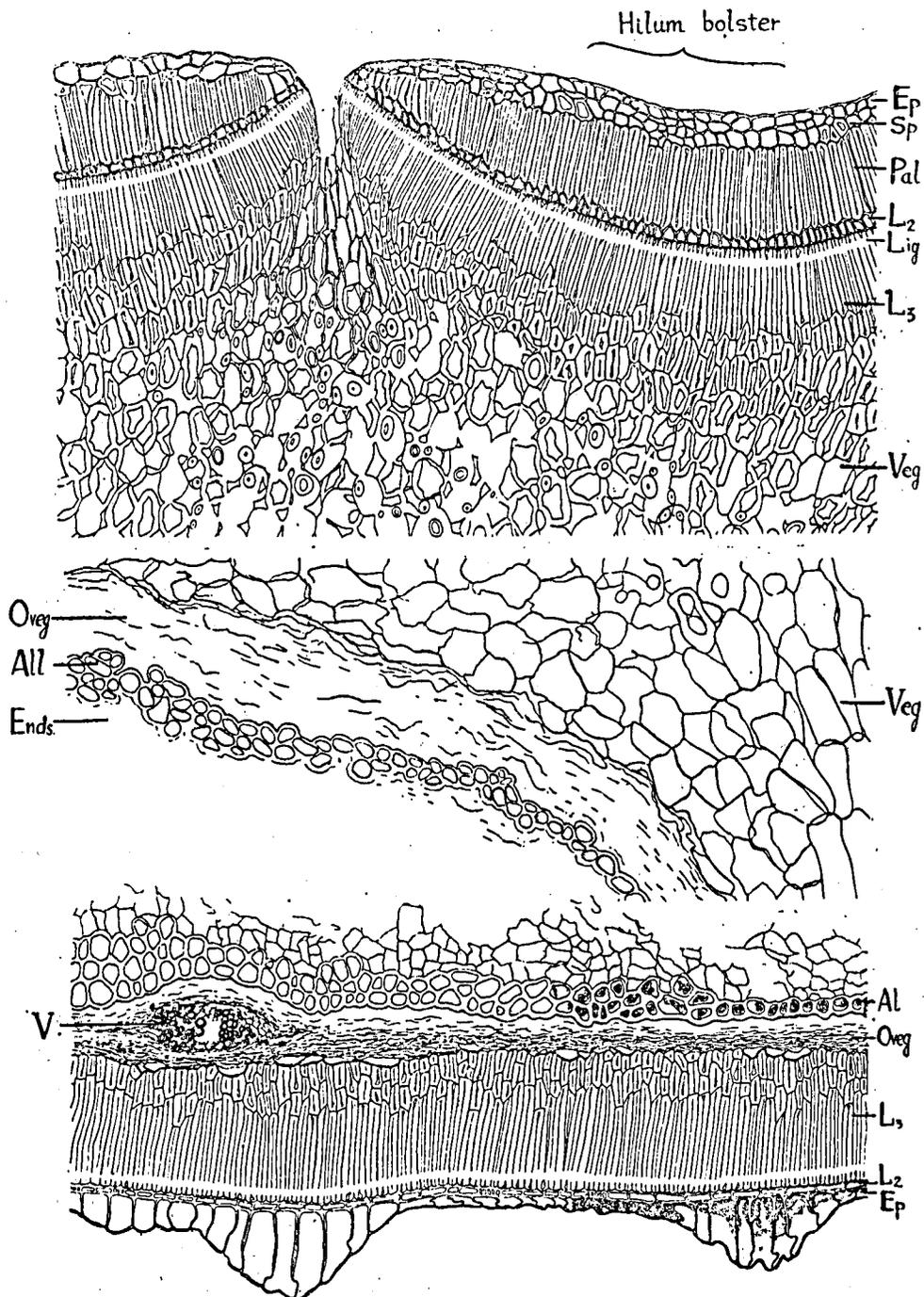
形状——黒ケンゴ子よりはるかに小さく、また上下から圧迫されたような形。種皮の色はゴククライキアカで毛を密生する。

Fig. 6. Vertical section of *Quamoclit* seed.
(*Q. angulata* Bojer...Maruba-rukô)



構造および内容物(Fig. 6, Fig. 2,D)——ルコウソウと全く同一である。異なるところはただ毛が一樣に分布し、ルコウソウの如く群を形成しないことである。毛も一般にルコウソウより長い。またヒルムのマクラの海綿状組織は同属の他のものにくらべて明かでなく、触手は明瞭には認められない。

Fig. 7 Vertical section of *Calystegia* seed. (*C. japonica* Choisy.....Hirugao).
 (The back side of seed coat, show horizontal section to see vessel bundle.)



6. ハゴロモルコウ, モミジルコウ (*Quamoclit cardinalis* X.)

材料——小石川植物園および東京薬大における栽培品。

形状——形はマルバルコウと全く同じであるが、種皮の色はクロ〜ゴククライキアカで、表面は粗く、毛の集団による斑点は肉眼でも認められる。この点はルコウソウに似ている。

構造及び内容物——マルバルコウと全く同じ。

7. ヒルガオ (*Calystegia japonica* Choisy)

材料——東大構内、武蔵小金井、手塚海岸および稲田登戸での採集品。

形状——ダルマをさかさにしたような形。すなわち側面の稜はアサガオほど鋭くなく、しばしばそれは認められない。全形は円味をおびるもの多く、種子の下端は斜に切取られたような底面をもち、その背面と両側面は隆起していて、そのくぼみに D 字形のウスイキアカのヒルムのマクラが存在する。種皮の色はクロあるいはクライハイキアカ〜クライハイアカで、光沢はなく、ややサメハダ状を呈している。

構造および内容物 (Fig.7, Fig.2, E)——子葉はちぢまることなくほとんど胚乳の部分一杯に発育するため、種子の横断面ではつねに子葉は子殻と平行している。

子殻の表皮は断面では、著しく放射方向に伸長した細胞群と、ほぼ等径性の細胞群とが交互に存在している。すなわち表皮の表面が週期的に外方に突出しているため、ルーペでは種皮はイボ状にみえる。隆起した細胞群の高さは約 54 μ で、その底面と側面の細胞壁はわずかに厚化し、ウスイキを呈し、弱い木化反応をあらわす。一般の等径性の細胞の高さは約 14 μ で、その底面の膜壁は木化し、上面の膜壁は外方にふくれているが、薄膜性のため乾燥によりしばしば逆にくぼんでいる。毛は全く存在せず、また表皮細胞だけがクライキアカの塊状の内容物を有する。表面視すると表皮細胞は多角形で、その側面の薄膜性膜壁は波状に屈曲することはない。隆起細胞群の膜壁はきわめて薄くまた種々不規則な形を呈している。

子殻の第二層は断面では方形および切線方向に伸長した細胞からなり、表面視では各細胞は著しく狭長で、それらは規則正しく群をなして並び、一見娘細胞に分裂したかのようである。これらの細胞は一般に種子の長軸の方向に並んでいるが、時にこれと直角の方向に並ぶ一群も存在する。その膜壁はウスイキを呈し、やや厚化し、またコルク化および強い木化反応を呈する。黒ケンゴ子と異り、有色内容物を欠く。

ヒルムのマクラの構造は特長がある。すなわち表皮細胞は毛を欠き、海綿状組織は触手を欠く方形〜円形の細胞からなり、その膜壁はしばしば厚化し、時に内腔は点状となる。子殻の第二層は一層の細胞からなり、マクラ以外のところと同一の形態をもち、この点は *Calystegia* 属の著しい特長となる。

以上の他はアサガオと同様であるが、結晶は營養層にも胚にも存在しない。

8. コヒルガオ (*Calystegia hederacea* Wallich)

材料——東大構内と武蔵小金井での採集品。

形状——形はヒルガオに似ているが、それよりもさらに小さい。種皮の色はヒルガオと同じ。

構造および内容物——ヒルガオと全く同じである。

9. ハマヒルガオ (*Calystegia Soldanella* Roemer et Schultes)

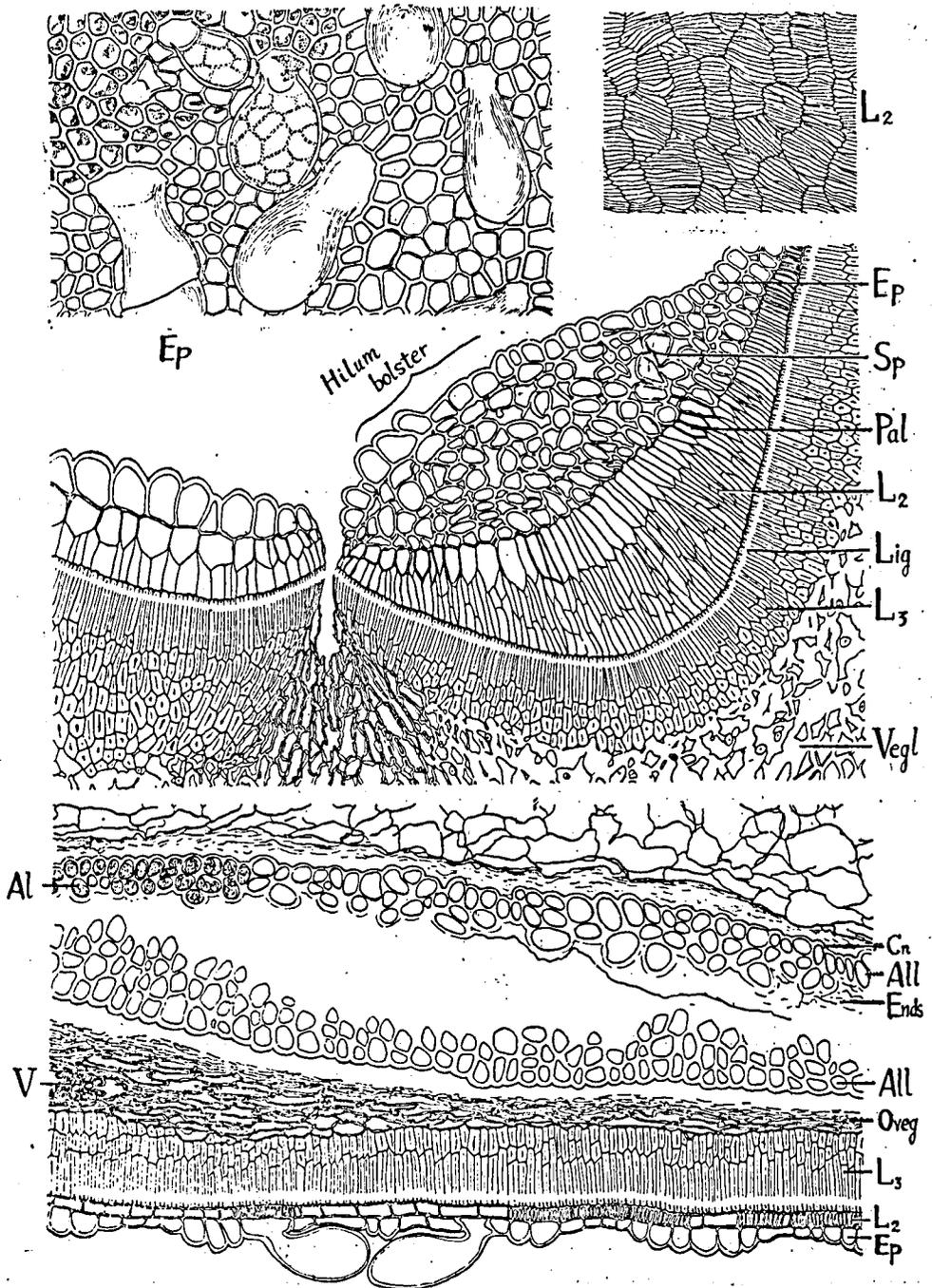
材料——千葉県北条海岸(多木節子氏)、和泉国石津川海岸(木島正夫氏)、井ノ瀬海岸(木村康一氏)、平塚海岸、久里浜および江ノ島海岸での採集品。

形状——形はヒルガオに似ているが、大きさは黒ケンゴ子よりわずかに大きい。ヒルムのマクラの色はウスイキアカで、クロい種皮からきわだつている。

構造および内容物 (Fig.1-F, Fig.2-F)——胚の発育は悪く、内胚乳の部分に充すことはない。したがって乾燥のために内胚乳が著しく収縮したあとに胚との間に大きなうつろな部分が生ずる。この極端な現象はハマヒルガオにだけ見られる。子葉は周囲からの圧迫が全くないために原形を保っている。それゆえ隔壁は顕著ではなく縫線導管の主幹とその分枝とは接近かつ平行して走っている。

組織の構造はヒルガオに似ているが、表皮と子殻の第二層が異つている。すなわち表皮の断面はわずかに放射方向に長い長方形の細胞からなり、薄膜性でその側壁はかすかに屈曲している。各細胞の高さは一定して波状を呈しない。表面視では側壁は直線をなしている。

Fig. 8 Anatomy of Ipomoea seed. (*I. sibirica* Persoon ·· Moko-asagao)
 (Over-views of epidermis and second layer of seed coat, and the vertical section of seed.)



子殻の第二層は表面視ではヒルガオに似ているが、配列方向がやや不規則である。

10. ヨルガオ, ヌウガオ, ヤカイソウ (*Calonyction aculeatum* (L.) House)

材料——都内草花種子店で買ったもの、および東京薬大で栽培していたもの。

形状——形はアサガオに似ているが、常に正しく四分の一分割球で、大きさはアサガオよりはるかに大きい。種皮の色はクライキアカ〜ゴククライキアカ、あるいはまだらにゴククライキアカとアカルイハイキアカが混じっているが後者では稜線はつねにアカルイハイキアカで、全体に光沢がある。ヒルムのマクラの色は前者はゴクスイキで後者はクライハイキアカ。両者とも種子すなわち子殻はきわめて硬い。

構造および内容物 (Fig. 1-G)——黒ケソゴ子に似ているがすべて大形である。例えば子殻の第三層は 130~150 μ であるために種子が非常に硬い。また子殻の第一層と第二層は脱落し、第三層(柵状層)が最外層となっているために種皮は光沢をもっている。有色内容物は表皮細胞にだけ存在し、種子の色による構造の相違は認められない。ただし種子の色が何に基因しているかは、わからない。特長としては縫線導管の分枝が網状であること。

11. モウコアサガオ (*Ipomoea sibirica* Persoon)

材料——総論を見よ。

形状——形はアサガオに似て、それよりやや小さく、種皮の色はゴククライキアカ。アカルイハイキアカの囊状毛を密布しているので、種皮はサメハダ様にみえる。

毛が密生しているために、種皮はかくされて、あたかも種皮の色がアカルイハイキアカのようにみえる。

構造および内容物 (Fig. 8)——表皮を表面視すると直径 20~30 μ の等径性細胞と、所々に存在する直径 50~70 μ の大きさの等径性細胞からなり、後者は常に高さ 100~130 μ の膜壁のやや厚化した囊状毛を有している。囊状毛は概して単細胞性であるが、しばしば二細胞性のもも存在する。表皮細胞と囊状毛はクライキアカの内容物を蔵している。

子殻の第二層は断面では切線方向に伸長した細胞と、きわめて短い細胞からなる。表面視では各細胞は長方形で、その長い辺に沿って数個の狭長な娘細胞に分裂している。コルク化および木化反応は示さない。ゴククライキアカの塊状内容物を蔵している。

柵状層は薄く、40~55 μ 。

ヒルムのマクラの構造は著しい特長をもっている。それは縦断面ではきわめて幅狭く、中央は著しく隆起している。表皮細胞は円形で毛を欠き、海绵状組織は最も厚いところで約 10 層のクライキアカの内容物をもつ円形の細胞あるいは触手細胞からなる。外柵状組織は 1 層の薄膜性細胞からなる。子殻の第二層はマクラの両端では 1 層であるが、中央では 2~3 層の放射方向に狭長な薄膜性細胞からなる。そのほか、子葉中に結晶の存在しないこと以外はアサガオと異なる。

引用文献

- 1) 石戸谷 勉：北支那の薬草, p.48, 1934.
- 2) 萩原 時雄：アサガオの種子色の遺伝生理学的研究；遺伝学雑誌, 7, 1931.
- 3) 宮沢 文吾：アサガオにおける種子の色の遺伝研究；遺伝学雑誌, 2, 1923.
(註——萩原と宮沢は種子の色を「白, 褐, 黒」の三つにわけてその遺伝関係を論じている.)
- 4) 北川 政夫：満洲国植物考, 1939, (大陸科学院研究報告).
- 5) 村上静男, 山口一孝, 下村 孟：標準色名法と生薬資料の色名記載；化学の領域, Vol. 4, No. 5, p. 236, 1949.
- 6) 吉井 義次：Über die Reifungsvorgänge des Pharbitis-Samens mit besonderer Rücksicht auf die Keimungsfähigkeit des unreifen Samens；Jour. of the Faculty of Science, Imperi. Univ. of Tokyo, Sec. III. Botany, Vol. 1, Part 1, Dec. 15. 1925. (東京帝国大学理学部紀要).
- 7) Netolitzky, F.: Anatomie der Angiospermen-Samen；Handbuch der Pflanzenanatomie (K. Linsbauer), Band X, 1926.
- 8) Ebert, F: Beiträge zur Kenntnis des chinesischen Arzneischatzes. (Früchte und Samen), 1907, s. 82.
- 9) 保井コノ：蓖麻子の蛋脂粒の構造, 発生及び発生と核との関係に就て；採集と飼育, Vol.8, No.3,4,5 合併

号 1946. 1.

Pharmacognosical Studies on *Pharbitis* seed, "Ch'ien-niu-tzu".

Motoo NAGASAWA

1. The author has made clear the anatomical structures of *Pharbitis* seed.
2. There are two kinds of *Pharbitis* seeds in market, "Hei-ch'ou" (black) and "Pai-ch'ou" (white), and their distinction can only be made as hitherto by colors of seed coat. But the author has found out that there is a difference in the structure of hilum bolster, and made clear that the color of seed coat can not always be paralleled to the color of flowers by tracing the genetic achievements and then adjusted the disorder on the literature.
3. The author has finally decided that "Chên-hei-ch'ou", the market wares in Seoul, Korea, is the seed of *Ipomoea sibirica* Persoon, distributed in east Siberia, northeast Mongolia, Manchuria and Hoapei.
4. The author has found out that the seeds of *Convolvulaceae* might be distinguished pretty precisely in shape, size and weight, but in the eye of anatomy there are plain differences in the shapes of epidermis cells and of the second layers cells, especially in their outside views, and the differences in the structures of hilum bolster can be the very effective distinction of the genus.

青酸カリ中毒の組織学的研究

附 慢性中毒における糸粒体の変化及び青酸カリの習慣作用について

枝官 池田良雄

Histological Studies of the Potassium Cyanide Poisoning

Yoshio IKEDA

言

青酸カリの生体に及ぼす影響の中でその薬理学的、生化学的方面に関しては多くの研究があり、形態学的方面に関しては該毒物によつて起る劇的な痙攣、呼吸麻痺等のために中枢神経系統における変化についてはかなり詳細な研究を見るが、胸腹部諸臓器の形態変化に対する追求が存外少ないので、この問題をとりあげ人間についての急性中毒死の場合と実験動物について急性及慢性中毒の組織学的変化を詳しく追求すると共に、慢性中毒においては肝臓及び腎臓の糸粒体の変化及び青酸カリの習慣作用、蓄積作用の問題をも併せ検討した。

第一編 急性青酸カリ中毒

[I] 人間における中毒例について

材料：昭和22年1月より同年9月までの間において青酸カリによる自殺者について東京大学医学部病理学教室で行われた行政解剖の中より10例を選んでその組織学的変化を調べた。固定は10%フォルマリン水、パラフィン包埋の後ヘマトキシリン・エオジン重染色による。本例は何れも胃内容について化学的に青酸が証明されたものばかりである。

肉眼的並に顕微鏡的所見

(1) 肉眼的所見

(イ) 臓器重量(第一表)

Table 1. Organs Weight of Human Suicides by KCN

	Age. Sex	Body weight	Post mortem	Heart	Lung		Liver	Kidney		Spleen
					L	R		L	R	
No. 1	37 ♂	61 kg	6 h	400 g	440	480	1,680	160	130	100
No. 2	17 ♀	46	6	250	250	230	1,180	120	130	130
No. 3	28 ♀	47	10	260	300	330	1,400	110	120	120
No. 4	31 ♂	45	10	300	640	430	1,600	110	110	400
No. 5	20 ♀	49	12	200	200	200	1,200	120	120	120
No. 6	28 ♀	57	15	310	290	360	1,310	150	140	110
No. 7	19 ♀	48	15	230	460	460	1,040	130	130	100
No. 8	25 ♂	60	16	300	550	630	1,800	120	120	180
No. 9	16 ♂		19	220	300	280	1,200	120	110	90
No.10	46 ♂	40	21	280	300	420	1,300	180	100	200

一般に各臓器の増量をみるが、No. 1, No. 4, No. 6, No. 8 において強い。

(ロ) 鬱血：胸腹部諸臓器は何れも鬱血を認め、肺臓、腎臓、脾臓は殊に強く次で肝臓、消化管である。

(ハ) 出血：No. 1, No. 7, No. 9, No. 10 の心外膜に数個の溢血点がある。肺臓では No. 5 の右葉肋膜下、No. 7 左葉葉間部及び肋膜下、No. 9 左葉肋膜下に数個の小出血点がある。腎臓では No. 1 の腎盂に数個の溢血点があり消化管では No. 5, No. 6 の胃噴門部及び No. 5 の食道下端の小出血点、No. 2 の小腸全般にわたる小出血点を認める。

(ニ) 消化管の局所作用による変化

No. 5 の胃噴門部に糜爛及壊死があり、No. 10 では矢張噴門部に高度の充血があつてやゝ浮腫状である。

(ホ) 肺水腫：No.1, No.4, No.7, No.8 では肺臓に軽度の水腫を認める。

(ヘ) 濁濁及び腫張：ほとんど何れの例においても肝臓は軽度の濁濁を示し No.1, No.3, No.4, No.8 では同時に腫張を見る。No.1 及び No.10 の心筋がやゝ濁濁し、腎臓では No.1, No.5, No.6, No.7 のものが濁濁腫張を示している。

(2) 顕微鏡的所見

肝臓：No.1, No.5, No.6, No.8 においては毛細管の拡充がかなり著明である。肝細胞は一般に軽度の濁濁を示し No.1, No.4, No.8 では濁濁腫張が目立っている。No.6 では微細な空泡を所々に認める。細胞核に関しては No. 2, No.9 のものは水泡性であり、No.8 ではや濃縮性で不正形のものが多い。No.1, No.3, No.5 の肝細胞内にヘモジデリン色素の沈着を見る。No.8 の一個所に小出血点を見る。

クップエル氏星細胞は別に異常を示さない。No.6 は自家融解や進み No.10 では強い。

腎臓：一般に鬱血が強く殊に No.1, No.2, No.4, No.5, No.8 において著るしく、これ等のものは糸球体階係は充血のために腫れている。No.4 ではバウマン氏嚢内腔に稀ではあるが赤血球が出ているものもある。No.1, No.2 No.4, No.5 では細尿管の一部は濁濁腫張を起している。No.2, No.3, No.6, No.7, No.9, No.10 は自家融解進み No.7, No.10 では強度である。

脾臓：何れの例においても脾臓の鬱血が目立ち、脾臓細胞内にヘモジデリン色素が沈着している。No.1, No.2, No.7 に小出血を見る。No.4, No.8 では淋巴濾胞内の胚中枢が明瞭である。No.10 は自家融解が強い。

肺臓：何れの例でも鬱血が著明で且肺胞内に水腫を見る。No.7 では肺胞内出血を、又 No.9 の間質にヘモジデリン色素の沈着を見る。

心臓：一般に軽い毛細管拡充を認め No.1 No.7, No.9 の心筋はやゝ潤濁し No.3, No.6, No.10 は自家融解が強い。

消化器：胃は一般に粘膜固有層及び粘膜下層の毛細管拡充が目立ち一部のものに粘膜表層近くに小出血を見る。粘膜下層は一般に鬆粗 (locker) でやゝ浮腫状である。上皮細胞は何れも自家融解進み No.1, No.10 に強い。腸管も同様で毛細管拡充が目立ち上皮細胞の自家融解が強い。

その他の臓器：脾臓は毛細管拡充以外著変はない。No.5~No.10 は自家融解が強い。副腎は No.1, No.4, No.8 に於て皮質網状層の毛細管拡充が強く、髓質はどの例でも自家融解が強くて新鮮状態に見る様な腺様構造を見ない。

総括及び考察

(i) 以上の所見を総括すると臓器重畳については何れも増加して居り、特に増加の強いものもあるが、顕微鏡所見より見て何れも鬱血によるものである事が明らかである。一般に胸腹部諸臓器に鬱血を認め殊に肺臓、腎臓、脾臓に強い。出血性徴候としては心外膜、肺臓、消化管、脾臓、腎臓等に肉眼的或は顕微鏡的に溢血乃至小出血がある。脾臓、肺臓にヘモジリン色素の沈着があり赤血球破壊を物語るものである。肝細胞は一般に潤濁し又一部のものに腫脹を見る。一例ではあるが空泡を見るものもある。腎臓では糸絨体に出血しているものが稀にあり、細尿管上皮は一部のものにおいて潤濁腫脹を見る。肺臓では鬱血の外肺胞内出血、水腫を、又心臓では一部心筋の潤濁を認める。消化管では一例ではあるが胃噴門部に糜爛を認め一般的に粘膜固有層及び粘膜下層の充血及び軽度の浮腫を見る。

(ii) 人間の胃酸カリ中毒の組織変化に関する文献を見るに藤田⁹⁾は嚥下後 5, 6 分で死亡し死後 34 時間を経過している 2 例の剖検例において肺臓、腎臓、脾臓の強い鬱血及び出血、食道、胃噴門部粘膜の壊死、肝臓の軽度の脂肪浸潤、腎臓糸絨体の出血、細尿管の高度の潤濁腫脹を見、又岡崎⁷⁾は矢張り剖検例において肺臓、腎臓、脾臓、消化管の鬱血並に出血の外に心筋細胞の核の溶解、潤濁腫脹、横紋消失、空泡形成、断裂、肺水腫、肝臓の強度の潤濁腫脹、腎臓の細尿管の潤濁腫脹、及び上皮の剝離、胃粘膜表面の凝固壊死を報告している。

(iii) 本例においても肝臓の潤濁及び腫脹、空泡形成、腎臓細尿管の潤濁腫脹、心筋の潤濁等実質性臓器の変性が一部のものにおいて観察せられ、又上記の様に文献の上でもこの様な記載を見るのであるが胃酸カリ中毒の様に非常に短時間に死亡する様な場合に果して実質性臓器の強い変性が見得るかどうかが問題で、こゝに深く留意しなければならないのは所謂死後における自家融解 (Autolyse) による影響である。すなわち自家融解のみでも細胞の潤濁腫脹核の濃縮、色素融解、空泡形成、細尿管上皮の剝離等が起り得るからである。本例では何れも死後 6 時間以上を経過しており、藤田の例では 34 時間、又岡崎の例では死後時間の記載はないが自殺者を解剖する場合死体検案、運搬等の関係で 5, 6 時間以内に解剖する事はほとんど不可能なので死後かなりの時間が経過しているものと考えられ、従つていづれも自家融解の影響が多分にあるものと考えねばならない。すなわち実質性臓器の変性に関しては自家融解による影響を除去し得る動物実験の結果と併せて論じなければならない。

(iv) 本例において副腎、脾臓、腎臓、消化管粘膜上皮の自家融解が強い事を見たが、胃酸カリの自家融解に与える影響について Staemmler⁸⁾ は夏季胃酸カリで自殺した一例について報告し、死後 4 日間経過し且温度高い時候に拘わらずほとんど腐敗現象を見ず、胃粘膜では死後変化が全然なく核染色も良好で表層も良く保存されている。胃粘膜の白血球オキシダーゼ反応を検査した所胃酸カリが直接浸透したと思われる表層に於てはオキシダーゼ反応は完全に陰性 (すなわち酵素作用が阻絶されている) であるが深層になるにつれて陽性なものが多くなつていと述べている。Staemmler は他の臓器の死後変化にはふれず、唯胃粘膜についてのみであるが、著者の例では何れも胃粘膜はかなりの死後変化を起している。一般に消化管粘膜は自家融解が比較的早いといわれ、勿論酵素も非常に大きな要素であろうが消化管内に残存する食物残渣、腸内細菌の状態も大きな要素であり Staemmler の例は恐らく胃内に食物残渣がほとんどなく且無菌的な状態において胃酸カリを大量嚥下したものである。胃粘膜以外の諸臓器の死後変化のかなり進んでいる事からみても Staemmler のいうが如く胃酸カリは勿論酵素阻止作用を持つことは一般的に認められる事であるが生体の自家融解を阻止するという事は肯定できない。

【II】急性胃酸カリ中毒の実験的研究

実験方法

体重 100 g 前後の健康ラット 7 匹に 0.3% 胃酸カリ液を体重 100 g につき 1 cc (すなわち pro kg 30 mg) を経口投与した。動物は何れも 5~26 分以内に死亡し直ちに解剖して 20% フォルマリン水にて固定、バラフィン包埋

し、ヘマトキシリン・エオジン重染色及びアザン染色を施した。なお別に肝臓の一部はアルコールで固定してベスト氏カルミン染色によりグリコーゲンを検し、右側副腎はルゴール氏固定液に入れてその髄質のクローム反応を調べた。

実験成績

動物は何れも 5~26 分以内に死亡している。薬液注入後 1~3 分後より不穏状、呼吸促迫、歩行困難、四肢の震顫を起し横倒れとなつて再起不能、次で四肢或は全身の痙縮 (Zuckung) 或は強直性痙攣 (tonischer Krampf) 又は拮抗性痙攣を起し、呼吸が痙攣様になり角膜反射全く消失し遂に呼吸が停止する。呼吸停止後約 1 分程して心搏動全く停止する。

(1) 肉眼的所見

(イ) 臓器重量

Table 2. Organs Weight of Rats died after peroral administration of KCN 30 mg/kg.

	Body weight (g)	Time till Death	Heart	Lung	Liver	Kidney	Spleen
No. 1	84	6 m.	0.5g/0.6%	0.6/0.72	5.1/6.09	1.0/1.19	0.5/0.6
No. 2	90	10	0.45/0.44	0.9/1.0	4.8/5.3	0.8/0.89	0.7/0.78
No. 3	88	15	0.5/0.57	0.8/0.91	5.3/6.02	1.0/1.14	0.3/0.34
No. 4	83	5	0.5/0.6	0.8/0.96	4.6/5.6	1.0/1.21	0.7/0.85
No. 5	100	26	0.5/0.5	0.6/0.6	5.7/5.7	1.0/1.0	0.2/0.2
No. 6	116	10	0.7/0.6	0.8/0.69	5.9/5.1	1.2/1.04	0.5/0.43
No. 7	120	11	0.7/0.58	0.9/0.75	6.2/5.17	1.2/1.0	0.6/0.5

Remarks. Weight of lung and kidney is the summary of right and left one. Lower column shows the percentage of the organ to body weight. This is applied in the following tables.

今臓器重量を比較考量するために健康ラット 20 匹について各臓の体重に対する百分率の平均値を求めた所第三表の如くである。

Table 3. Percentage of Organs Weight to Body Weight by normal Rats. (Average of 20)

Heart	Lung	Liver	Kidney	Spleen
0.54 %	0.7 %	4.63 %	0.97 %	0.37 %

第二表を第三表と比較してみると心臓及び肺臓は軽度増加しているが平均より少なるものもある。肝臓、腎臓は何れも増量している。脾臓は小さいものもあるがかなり大なるものもある。(No.1, No.2, No.4)。

(ロ) 心臓は強く拡張期性停止を示し、肝臓、腎臓、脾臓、肺臓に鬱血が著明である。一般に出血性徴候は認め難いが No.6 の左副腎に出血が見られる。肝臓は No.6, No.7 ではやゝ濁濁腫張がある様である。なお肝臓には寄生虫嚢腫があつて No.1 では扁豆大のもの一個、黍粒大のもの一個 No.2 では 3 個 No.4 では一個 No.6 では 2 個夫々扁豆大のものがある。消化管では著変を認めないが、No.3, No.5, No.7 の胃粘膜がやゝ充血している。

(2) 顕微鏡的所見

肝臓：一般に毛細管の拡充を認めるが、No.2, No.4, No.6 では軽い。出血は認めない。一般に肝細胞は明るくて wabig (蜂窩状) な構造をなして変化少ないが、No.6 では瀰満性に、又 No.7 では小葉周辺部が軽度の濁濁腫張を示す。核は No.2, No.4, No.6 ではやゝ水泡性である。クップエル氏星細胞は変化なくグリコーゲンは No.2, No.6 を除いて何れも多い。その存在性は一定しないで No.1, No.7 では中心部、No.3 では中間部及び周辺部に、No.4

No.5 では瀰漫性にある。No.2, No.6 では少く所々の細胞に散在性に少量存在するにすぎない。

腎臓：一般に鬱血が著明で糸絨体絡係は充血のために腫れているものが多い。No.1, No.7 では稀ではあるがパウマン氏囊内腔に赤血球が出ているものがある。細尿管の変化は一般に少ないが、No.4 では上皮の染色が悪く、核は軽度の色素融解と核膜過色症 (Kernwandhyperchromatose) を起している。No.5 では所々に微細な空泡を認め、洞管部の核は色素融解を起している。又時々蛋白様物質 (Plasmamasse) が管腔の中につまづいている。No.6 では上皮細胞はやゝ濁濁している。

脾臓：一般に脾髄に鬱血を認め No.2, No.4 において強い、何れの例においても少量ながら脾髄細胞内にヘモジデリン色素を見る。リンパ濾胞には異常がない。

肺臓：どの例でも鬱血と所々の血管内に血漿停止 (Plasmastase) を見る。No.2, No.3, No.5, No.6, No.7 では所々に小出血があり、No.2, No.3 では血管周囲に又 No.2 では肺泡内に水腫が認められる。

心臓：心筋細胞の核の周囲に明点 (heller Hof) があり、この部分は微細な顆粒が集つていて横紋が見えない。夫が比較的明瞭に空泡として見える所と瀰漫性に横紋が乱れて顆粒になつている所とがある。以上の変化は何れの例にもあるが No.1, No.7 を除いては軽度である。

消化管：一般に変化少ない。胃では No.5, No.6 は変化なく他例では粘膜下層に軽度の毛細管拡充を又腸では No.3, No.5 に於て同様な毛細管拡充をみるのみで、出血、浮腫、腐爛等は見ない。

其の他の臓器：肝臓は毛細管拡充あるのみで何れもチモゲン顆粒が多くランゲルハンス氏島には異常がない副腎では No.5 の鬱血、No.7 の皮質の瀰漫性出血以外に変化はない。すなわち何れも皮質リポイドは充分存在し髄質のクローム反応も良く保存されている。その他唾液腺、胸腺には異常は認められない。

総括及び考案

(i) 以上の所見を総括すると各臓器の重量は一般に増加しているものが多いがこれは肉眼的及び顕微鏡的所見により鬱血による事が明である。出血は肉眼的には副腎に一例みるのみで一般に認め難く顕微鏡的には肺臓、腎臓糸絨体に軽度のものをみる肝細胞は一般にグリコゲンが充分保存されているものが多く変化は少ない。2例において濁濁腫脹、核の色素融解を見る。空泡変性、脂肪変性は無い。腎臓では2例に於て糸絨体出血、又細尿管では上皮細胞の染色不良、軽度の色素融解、核膜過色症、空泡形成等認めるものもあるも大多数は尋常なものが多い。脾臓では鬱血の外ヘモジデリン色素の軽度の沈着、肺臓では鬱血、血漿停止、外出血、肺水腫、心臓では心筋核周囲の軽度の空泡化、横紋不鮮明を認める。消化管では粘膜下層に軽度の毛細管拡充あるも出血、壊死、浮腫、強度の充血等はなく、一般鬱血現象の一部であつて局所刺激によるものとは思はれない。其の他の臓器としては副腎皮質に瀰漫性の出血一例みるのみで、唾液腺、胸腺等には変化を見ない。

(ii) 以上ラットにおける所見を人間の場合と比較するとラットでは人間の場合程出血性微候が明瞭でなく又赤血球破壊によるヘモジデリン色素沈着も軽い。消化管においても一般鬱血現象の一部として粘膜下層の毛細管拡充を見るのみで青酸カリの局所作用を思はしめるものはない。

これは一つに量的関係によるもので本実験における様に 0.3% 程度では局所作用のない事を示す。既に成書にも記載されている様に⁹⁾ 青酸カリは 2-3% の濃度で始めて兎の角膜の充血を起し得。又腐爛を起し得るのは非常に高濃度か或は水分を含まない青酸そのものを適用した場合である。人間の自殺例においては大量を高濃度において飲む場合が多いので、著者の例及び藤田、岡崎の例においても食道、胃粘膜の腐爛、壊死、強度の充血等を見るものがあったが、何れも食道或は胃の噴門部であつて胃体、幽門部にはこれを見ない。即ち直接高濃度で接する部分のみで、一旦胃内容物が稀釈された場合は作用を示さない。すなわち青酸カリは局所作用を持つもかなり弱いものである。

(iii) 実質性臓器の変性についてであるが自家融解の影響を除去した実験動物ラットに於ても肝臓の濁濁腫脹、核色素融解、腎臓細尿管上皮細胞の染色不良、核色素融解、空泡形成、心筋核周囲の軽度の空泡化、横紋不鮮明を見たが頻度少く一般に軽度である。以上の事より、勿論人間及びラットの青酸加里に対する感受性に相違のある事は当然であろうが、一般的に言つて短時間に死亡した急性青酸カリ中毒において実質性臓器の顕微鏡下に捕へ得る変性像は少ないといふのが本当ではないであらうか。すなわち機能的にこれ等の臓器の作用がかなり侵害されたとしても形態学的に変性像を示すには死亡があまりにも早いという可きであらう。勿論死亡が永びいた場合にかんがりの変性像を見得るであろう事は想像に難くなく、A. Meyer¹⁾ が犬における青酸カリ中毒の脳の変化についての研究で死亡時間

の早いものはほとんど変化なく、遅延した死亡例(非常に稀)において脳神経細胞にかなり強度の変性像を見たが胸腹部臓器についても同じ事が推察できるであろう。

第二編 慢性青酸カリ中毒の実験的研究

緒言

前編において青酸カリ一回服用による急性中毒死の場合について人間及び実験動物ラットの組織学的変化を検索し鬱血、出血、ヘモジデリン色素沈着等の外、実質性臓器、肝臓、腎臓、心臓等に変性の起り得る事を見たが、然しこれ等の変性は必発の徴候ではなく且又強度のものではない事を知った。本編においては実験動物に青酸カリの致死量以下の量を毎日連続投与した場合如何なる変化が起り得るかを追求せんとした。青酸カリは衆知の如くこれで死亡する場合は劇烈な症状の下に短時間の間に死亡するが、死に至らない場合はその解毒、回復も又極めて早く、燐やアサリ中毒の如く徐々に肝機能障害を起して死亡するという様な事はないので連続投与する場合に少量ではほとんど変化を与えないであろうと予想して比較的少量の致死量の1/2及び1/4量を短期(20日間)連続投与する実験を行い、次に長期(3ヶ月)連続投与の実験では致死量の1/4量より始めて漸次増量し、形態学的変化と共に青酸カリの蓄積作用蓄積作用の問題をも併せ検討した。

(I) 短斯(20日間)連続投与の場合

実験方法

(イ) 先づ投与する量を定めるために100g前後の健康ラットについて青酸カリの致死量を調べた。第三表の通りである。

Table 4. Lethal Dose of KCN
(Rat)

mg/kg	alive	died
5	10	0
7.5	10	0
10.0	9	1
12.5	7	3
15.0	5	5
20.0	3	7
25.0	2	8
30.0	0	10
Remarks. peroral administration		

本表に見られる成績から10%致死量を10mgとしこの量の1/2及び1/4をとりすなわち5mg及び2.5mgを連続投与する事にした。

(ロ) 100g前後のラット20匹を選びこれを3群に分つて第1群7匹、第2群7匹、第3群6匹とした。第1群には青酸カリ0.1%体重100g当り0.5cc(体重kg当り5mg)、第2群には0.05%体重100g当り0.5cc(体重kg当り2.5mg)を経口ゾンデで連続20日間経口投与した。第3群は対照である。途中で死亡したものは直ちに解剖し、又20日目において生存せるものは頭部打撲によつて殺し解剖した。臓器はツエッケル・フホルモール液で固定し、ヘマトキシリン・エオジン重染色、アザン染色を施して一般組織検査にあてると共に肝臓の一部はアルコール固定後ベスト氏カルミン染色によるグリコーゲン検出、又フォルマリン固定より氷結切片のズダンⅢによる脂肪染色を施し、又脾臓につい

ては銀染色をも施した。

実験成績

第1群(5mg)の中、3日目、6日目、7日目に夫々1匹づつ注入後2~3分後より痙攣を起して死んでいる。

第1群のその他のもの及び第2群全部は最後まで生存している。生き残つたものは体重増加正常で何等の症状も無く対照と変りがない。解剖したのは、死亡した3匹、第1群の生き残つた4匹の中3匹、第2群の中4匹である。

(1) 肉眼的所見

(イ) 臓器重量(第五表)

第三表に見た正常ラットのものと比較してみると肺臓はNo.1を除いて何れも増量し、肝臓は死亡した3例(No.1-No.3)は何れも増加しているが他は変化なく、腎臓はNo.3や、大きく、脾臓は生存せるもの何れも増量がか

り大きい。

Table 5. Organs Weight of Rats (Continuous Administration of KCN for 20 Days)

	Quantity of KCN	Days of Administration	Body Weight	Heart	Lung	Liver	Kidney	Spleen
No. 1	5.0mg/kg	3 (died)	106 g	0.5g/0.47%	0.6/0.57	5.8/5.47	1.0/0.94	0.5/0.47
No. 2	"	6 (")	97	0.6/0.62	1.6/1.65	6.1/6.29	1.0/1.03	0.4/0.24
No. 3	"	7 (")	81	0.6/0.74	1.6/1.97	4.7/5.8	1.0/1.24	0.4/0.31
No. 4	"	20 (alive)	134	0.7/0.52	1.5/1.12	6.2/4.62	1.2/0.89	0.7/0.52
No. 5	"	20 (")	127	0.8/0.63	1.1/0.87	5.4/4.25	1.2/0.94	0.9/0.71
No. 6	"	20 (")	140	0.6/0.43	1.4/1.0	5.8/4.12	1.4/1.0	0.9/0.64
No. 7	2.5	20 (")	132	0.7/0.53	1.3/0.98	6.4/4.85	1.2/0.91	1.0/0.76
No. 8	"	20 (")	114	0.7/0.62	1.3/1.14	5.2/4.86	1.2/1.05	1.0/0.88
No. 9	"	20 (")	140	0.7/0.5	1.3/0.93	5.9/4.22	1.2/0.86	1.0/0.72
No. 10	"	20 (")	153	0.8/0.52	1.4/0.92	6.0/3.92	1.4/0.92	0.8/0.52

(ロ) 記述に便なるため途中で死亡した No.1, No.2, No.3 を A 群, 5mg 投与で生存している No.4, No.5, No.6 を B 群, 2.5mg 投与の No.7, No.8, No.9, No.10 を C 群とすれば, A 群のものは何れも肺臓, 肝臓, 腎臓の鬱血が著明である。B, C 群では肺臓に鬱血を見るのみである。A 群の肝臓は暗赤色を帯びると共に濁濁腫脹を示している。B, C 群の脾臓は一般に大きく色は暗赤色で血量多く淋巴濾胞は沢山あつて明瞭である。No.8 の肝臓に扁豆大の寄生虫嚢腫一個あり。肉眼的に何れも出血を見ず又消化管における糜爛, 壊死, 浮腫等も見ない。

(2) 顕微鏡的所見

A 群

肝臓: No.1 では毛細管拡充が強い。肝細胞は細葉中心部が萎縮しているが周辺部では濁濁腫脹を示す。核の周囲に明瞭な筋所に見られ, 核は大小不同で, 輪廓不正なものあり, 濃縮性のものがあると同時に色素融解の強いものもある。核仁は一般に不明瞭である。アザン染色で見ると原形質は一般に青紫色で青味の勝つたものより紫色の強いものに至る様々な移行があり, 一部静脈枝の周囲では桃色の勝つた所もある。核は一般に 2 種類あつて一は瀰漫性に薄桃色にそまり赤い核仁が 1~4 個で, 他は瀰漫性に青くそまり核仁の見えるものもあるが見えないものもある。

上記核周囲に明瞭を有する細胞の核は青い。又細胞の原形質内に所々青くそまる滴状物質(Tropfen)がある。クッペル氏星細胞はやゝ肥大している。

グリコーゲンは全然無く, 脂肪は現出していない。No.2, No.3 も大体同様であるが No.2 では鬱血及び細葉周辺部の濁濁腫脹は軽いがこの例では細胞内に微細な空泡を見るものが多い。No.3 では核の濃縮よりむしろ色素融解, 核膜過色症が支配している。アザン染色による核の青色は見ない。

腎臓: 軽度の鬱血があり, パウマン氏嚢内腔に赤血球が出ている所がある。細尿管は管腔が狭く, 所々濁濁腫脹を示している。No.2 では糸球体蒂係はむしろ貧血していて, 細尿管腔狭く尿管部の上皮が所々脱落している。皮質の間質血管周囲に血漿漏出の部分を見る。No.3 では細尿管の濁濁腫脹は見ない。

脾臓: 一般に淋巴濾胞は小さくて数も減少している。脾髄も一般に鬆粗で細胞数が少く, 所々の細網細胞に赤血球貪食(Erythrophagie)を見る。すなわち一般に萎縮していて No.2 が強い。

肺臓: 鬱血が強いのみである。No.2 では Pseudotuberkel を稀に見る。

心臓: 著変を認めない。

消化管: 胃において No.2, No.3 の粘膜上皮細胞は一般に萎縮している。No.3 は軽い。

其の他の臓器: 副腎は No.1 では皮質のリポイドはほとんど消失しており, 束状層の細胞は強く濁濁腫脹を起し

ている。髄質細胞のクローム反応陽性のは減少して且所々に原形質内に空泡を見る。No.2 では濁濁腫張は強くないが網状層に血漿停止 (Plasmastase) があり, No.3 では皮質の軽度の濁濁腫張, 髄質クローム反応減弱と共に細胞は萎縮して空泡形成が強い。

淋巴腺(頸部)も一般に細胞要素が減少している。唾液腺(顎下腺), 胸腺には異常を認めない。

B 群

肝臓: 鬱血, 出血等は見ない。一般に肝細胞原形質は均等にそまり好塩基性が強い。No.4 ではやゝ濁濁し, No.6 では細胞索が一般に萎縮している。核には異常が無い。

腎臓: 糸球体階係には一般に貧血性のもが多く又階係の核もやゝ減少している様であるが然し大小はあまり小さくない。細尿管は全体としてかなり萎縮して上皮細胞は背が低くて管腔が広い。No.4 では主部の細胞に空泡が見られる。No.5, No.6 では細尿管内腔は互に接して非常に狭いものもある。

脾臓: 病的変化は見ないが, 淋巴濾胞及び胚中核は多くて大きい。且濾胞周囲層 (perifollikuläre Zone) も明瞭である。脾髄は血量が多い。

肺臓: 鬱血を見るのみで著変はない。

心臓: 異常なし。

消化管: 胃では No.4, 小腸では No.5, No.6 の上皮細胞がやゝ萎縮している。

其の他の臓器: 副腎では何れの例においても皮質のリポイド量多く, 髄質はかなり大きくて血管拡張, 血漿停止を見る。髄質細胞はクローム反応強度で且所々微細な空泡を見るが之はクローム反応の強い暗細胞に存在する。アザン染色で見ると髄質細胞の染色は非常に多様で, 淡青, 淡紫, 黄色, 土色等様々である。核は淡青乃至濃青のものばかりである。

其の他淋巴腺, 唾液腺, 胸腺では異常を認めない。

C 群

肝臓: 一般に肝細胞の変化少く, No.7 の核がやゝ水泡性であり No.10 では肝細胞索軽度に萎縮性である。No.8 では稀に有絲核分裂像を見る。グリコーゲン是一般に多く No.7, No.9 は瀰漫性に, No.8 では中心部及び周辺部に多い。No.10 はあまり多くない。脂肪は見ない。

腎臓: 糸球体には変化をみない。細尿管は No.7 では所々に微細な空泡を見, No.9 では主部が部分的に軽度の濁濁腫張を示す。No.10 では細尿管は一般にやゝ萎縮している。

脾臓: B 群のものと大体同様である。

肺臓: 鬱血を見るのみで著変はない。No.8 ではたまに Pseudotuberkel を見る。

心臓: 異常なし

消化管: 異常なし

其の他の臓器: 副腎では何れも皮質のリポイド量多く髄質は一般に大きくて明細胞が多くクローム反応中等度で細胞の変化は少ないが No.9 に軽度の空泡形成を見る。B 群で見た様なアザン染色による多染性は認められない。

総括及び考案

致死量の半分すなわち体重 kg 当り 5mg 連続投与したものは 7 匹中 3 匹途中で死に, 4 匹生存, 致死量の 1/4 即ち 2.5mg 投与のものは全部生存した。

(i) A 群(5mg 投与で死亡したもの)では肝臓, 腎臓, 肺臓等に鬱血を見るも出血は腎糸球体に稀にあるのみである。肝臓では濁濁腫張が見られると共に細葉中心部は萎縮の傾向があり, 又原形質内に空泡形成がある。核濃縮, 色素融解, 核膜過色症を見る。アザン染色による原形質及び核の多染性は特異である。グリコーゲン消失するも脂肪化はない。腎臓は鬱血の外にバウマン氏囊内腔への軽度の出血, 細尿管の濁濁腫張, 上皮の剝離があり, 脾臓は萎縮が認められる。ヘモジデリン色素沈着はほとんど無い。肺臓, 心臓は鬱血以外著変なく, 消化管では胃, 小腸の粘膜上皮細胞が萎縮している。出血, 壊死等は見ない。副腎の変性かなり強く皮質のリポイド減少, 束状層の濁濁腫張 髄質細胞のクローム反応減弱, 萎縮, 空泡形成等を見る。淋巴腺(頸部)も一般に細胞要素が減少して萎縮が認められるが唾液腺, 胸腺には異常がない。すなわちこの群では肝臓, 腎臓, 副腎の変性かなり強くと共に一方では肝細胞副腎細胞の一部, 脾臓, 淋巴腺, 消化管粘膜上皮細胞の萎縮を見るのが特徴であり, 出血性徴候ほとんど無く,

ヘモジリン色素も見ない。肺臓、心臓、は鬱血以外に変化はない。

(ii) B 群(5mg 投与生存せるもの)では肉眼的に著変なく、唯脾臓が何れも大きくなっているのが目につく。肝臓では鬱血、出血等なく、1 例濁濁腫脹、1 例萎縮を見るも何れも軽度である。核には変化が無く又アザン染色による多染色はない。腎臓では糸絨体蒂係はむしろ貧血性のものが多く核もやゝ減少している。細尿管は一般に萎縮の傾向があり主部上皮細胞に微細な空泡を認めるものあり。濁濁腫脹はない。脾臓は血量が多いと共に淋巴細胞良く発達し、胚中核も非常に明瞭である。肺臓は軽度の鬱血のみで著変なく心臓にも変化はない。消化管では胃粘膜上皮細胞がやゝ萎縮を示す。副腎では皮質リポイド量多く濁濁腫脹はない。髄質はかなり大きくて血管拡張強く、血漿停止あり。クローム反応強度で所々空泡があり、アザン染色ではその原形質が非常に多染性であると共に核が青染する。脾臓、唾液腺、胸腺、淋巴腺には異常がない。すなわちこの群で目につく事は腎臓細尿管、肝細胞、胃腸粘膜上皮細胞の萎縮があるが一般に変性像少く肝臓において、一例軽度のものを見るのみ、脾臓の大きくなっているのは血量によると共に、又淋巴組織の発達も之に与るものと考へられる。副腎髄質細胞のアザン染色による多染性も興味ある事実である。

(iii) C 群(2.5mg 投与のもの)では肝臓は一般に変化少く肝細胞索の軽度の萎縮、軽度の色素融解を一部のものにのみ。グリコーゲン多く、脂肪は見ない。又アザン染色に依る多染性もみない。腎臓では一部のものに細尿管上皮細胞の空泡、濁濁腫脹、萎縮を見るものもあるも一般に軽度である。脾臓は B 群のものと同様であり、肺臓では軽度の鬱血を見るのみ、心臓、消化管、副腎、脾臓、唾液腺、胸腺、淋巴腺には異常がない。

(iv) A 群で見た肝細胞のアザン染色による核の青染は K. Helmke¹⁰⁾によれば常に肝細胞の暗細胞に見られこれを細胞虚脱(Zellkollaps)の状態にあるとし、尿毒症、妊娠、慢性黄疸等に見られ、又一般に肝細胞に対して常に荷重を負はしめている様な病的状態において起ると述べている。

(v) 脾臓は A 群では萎縮しているが B, C 群ではむしろ増大していて、之は脾臓の血量によるのみならず又淋巴組織の増大もその一因と認められ、一名反応中枢(Reaktions-zentrum)といはれる胚中核が多且大なる事は絶えざる刺激に対する反応であると解釈可きである。鳩における慢性青酸カリ中毒において N. Messerle¹¹⁾ が矢張脾臓の増大を記載している。

(vi) B 群で見た副腎髄質細胞の多染性に関しては、暗細胞に空泡がかなり現はれているので一見この臓器の変性像とも思はれるが然し副腎の一般中毒現象、及び A 群で見た該臓器の変性像を考へれば、この場合皮質リポイド量が多い事、髄質が大きくてそのクローム反応の強い事等より推してむしろ細胞の機能的な相連によりアザン染色法の各色素のとり方が異り、且又クローム反応による細胞の着色の影響にもよるものと考へられる。又原形質内に空泡を見るのであるが之を空泡変性といつて良いかどうかは問題で、この空泡は主としてクローム反応の強い細胞に見られるのでこれをアドレナリンを分泌した後の空泡と見るのが妥当ではないかと思う。

(vii) 澁谷¹²⁾は兎に致死量の 1/5 量を隔日に 10 回静脈注射したのものについての組織変化を調べ、全身臓器に高度のヘモジリン色素の沈着、肝臓の水腫状腫脹、軽度の空泡、変性腎臓糸絨体内出血、細尿管上皮にヘモジリン色素沈着、心筋の濁濁腫脹、硝子様変性、副腎皮質の萎縮、髄質細胞の変性を見、又脾臓、淋巴腺では荒廃像と増殖像の両者を見ると述べている。

著者のラットにおける実験ではほとんどヘモジリン色素の沈着を見ず、又前編の急性中毒の実験においてもラットは人間の場合よりもヘモジリン沈着が軽度であつたがこれはラット赤血球の抵抗強き事を示すものである。

[II] 長期 (3 ヶ月) 連続投与の場合

実験方法

(イ) 動物は 50~70g 位のラット 50 匹を購入し、直ちに一匹づつ分離して 1 ヶ月飼育し發育状況の良いもののみ 30 匹を選んで実験に供した。飼育は金あみのラット籠を使用し、開始したのが八月中旬の暑い時候なので風通しの良い北向の涼しい部屋に置き、十一月頃の寒くなる時期には南側の日当りの良い部屋に移し、ラット籠の中に藁を敷かないでその代りに籠の上からムシロをかぶせて保温に留意した。籠は最初隔日に掃除したが途中一寸發育状況が低下したので以後毎日励行する事にした。飼料は破碎トウモロコシ 25g を主食とし副食は野菜(キャベツ或は人参) 20g、隔日に煮干一寸位のもの一個及びビタミン B 末茶匙一杯を与へた。体重の増加するにつれて量を増加していつた。動物は 50 匹を実験群とし、10 匹を対照群として、実験群に対して最初体重 kg 当り 2.5mg より始め

17日間投与、次で5mg 18日間、6.25mg 10日間与へ、此処で20匹の中10匹をこの量に据置き、他の10匹にはそれより4~6日毎に7.5mg, 8.75mg, 10mg, 11.25mg, 12.5mg, 13.75mgと増量していった。薬液投与方法は前実験と同じくラッテ用経口ゾンデを用いて直接胃内に注入した。投与青酸カリ液は体重100gにつき常に0.5ccとしその濃度をあげる事によつて増量した。

(ロ) 組織検査

増量的に青酸カリを与えた群は途中全部死んだので死後直ちに解剖に附し、又6.25mgで据置いた群は最後迄生存しているのであるがその中2匹は実験当初より計算して66日目に、又5匹は84~90日の間に頭部打撲によつて殺し、又残りの2匹はこゝで薬液投与を中止して2週間飼育の後殺して解剖した。臓器は20%フォルマリン水にて固定、ヘマトキシリン・エオジン重染色及びアザン染色の一般検査と共に肝臓のグリコーゲン検査、肝臓、腎臓、心臓の脂肪検査をしたのは前実験と大体同様であるが、この実験では特に全例について肝臓及び腎臓の糸粒体染色を施したのでその方法を述べる。肝臓及び腎臓の小片(1×2×2mm)を切りとり20%中性フォルマリンで3日間固定、次で3%重クロム酸カリ液の中に7日間浸し一日水洗、次で一日の中に脱水、パラフィン包埋を終へる。染色はAltman-Kull氏染色法を改良したMillovidov氏の変法⁵⁾を用ひた。この染色を一寸紹介すると、

(i) 固定 ルゴー氏液

(ii) 20%酸性フクシン液(10%のアニン水にとかず)で結核菌染色の時の様に加温染色する事5分。

(iii) 上液をあてゝ蒸留水で一寸水洗。

(iv) 70%アルコールに0.5%の割合でとかしたアウランチア液で分別する。この際顕微鏡下で糸粒体が明瞭に際立つて来る事を見極め、

(v) 蒸留水で一寸水洗して2%タンニン水(温過する)に20分入れ、

(vi) 水洗して0.5%メチル緑(又はトルイデン青)水溶液で5~10分そめ、

(vii) 脱水、バルサム封入。

この方法は糸粒体染色法として非常に優秀な方法で、その出来上りはAltmann-Kull氏法と大体同様で美麗な標本を得る。その長所は染色が非常に容易である事と保存がかなり良く利く事である。Altmann-Kull氏原法では予め酸性フクシン及びトルイデン青で重染した後アウランチアアルコールで分別するためこの時の分別の度合が非常に難しい。然るにMillovidov氏法では酸性フクシンで過染した糸粒体のみを分別するので非常に容易である。且この方法のもつもう一つの意味はタンニンを通す事であるが、これは媒染の意味を持つと共に標本の保存を良くすると言つてゐる。Altmann-Kull氏法では普通2~3週間で褪色するといはれるがこの方法ではかなり長く保存出来、著者の標本では優に半年を経過しても糸粒体の姿をはつきり認め得るものがある。然し緑色が多少褪色する事は免れ得ない實際的に原形質基質の染色態度を左程問題としないで糸粒体のみを主目的とする場合にはアウランチアの意味はほとんどないので著者はアウランチアアルコールの代りに単に70%アルコールで分別したが、この場合切片にアウランチアの色が着かないので分別がより容易であり、馴れると大体の色調(薄赤)で判断がつき一々顕微鏡をのぞかなくても旨くゆき、又アウランチアを使はないので原形質は常に薄緑にそまつて奇麗である。又封入にはバルサムよりも顕微鏡用ツエーデル油を使ふ方が保存に良い様に思えるので常にツエーデル油を使用した。

Millovidov氏原法では固定はルゴー氏液となつてゐるが、著者の経験ではルゴー氏液は勿論良いが、その外にツエンケル・フォルモール、中性フォルマリンの何れも良く、染め上りに特別の相違を認め難いので20%中性フォルマリンを使用する事にした。

又ブアン固定液(但し糸粒体は氷醋酸に溶解するので氷醋酸を除く)で固定したものについてもこの方法で染色してみたが、矢張結果は非常に良好の様であるが、現在研究中なのではつきりした事はいえないが、若しこれが確実に良い結果を収め得れば、ブアン氏固定液(但氷醋酸を除く)1日、水洗1日、脱水、包埋1日、染色1時間で非常に迅速な糸粒体染色法が得られる事になる。但しこの固定では従来の氏の鉄ヘマトキシリン法では旨くゆかない。

実験成績

(1) 体重増加状態について。(第六表及び第一図)

別表第六表及び第一図は体重増加状態を示し、図の点線は実験群実線は対照群の体重の平均値を時日と共に図示したもので横線は日数、縦線は平均体重をグラムで表わす。実験群は体重kg当り2.5mg 17日間連続投与しても対

Table 6. Body Weight of Rats (Continuous Administration of KCN for 3 Months)
(I) Control Group

Day	1	8	13	17	21	25	28	32	35	41
Body Weight. Average of 10 Rats	85.4	87	94.4	98.1	93.9	93.1	94.0	115.1	117.8	121.8

43	49	51	53	56	60	64	70	74	78	84
129.3	128.1	138.1	142	142.3	146.2	150.5	152	155.3	159.9	160.7

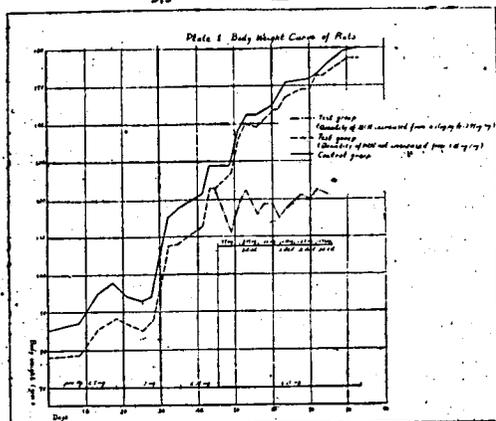
(II) Test Group

Day	1	8	13	17	21	25	28	32	35	
Quantity of KCN (mg/kg)	2.5				5					
Body Weight. Average of 20 Rats. (g)	77.9	78.2	85.8	88.0	86.4	85.0	88.0	108.0	108.1	

41	43	45	Divided into 2 Group	Day	49	51	53	56	58	60	
6.25				Group II	Quantity	6.25					
				Group II	Average of 9 Rats	127.0	136.0	139.8	138.4	141.2	144.4
113.3	122.8	122.9		Group I	Quantity	7.5		8.75		10	
			Group I	verage of 10 Rats	111.6	118.8	122.4	115.1	118.4	118.6	

62	64	66	68	70	72	74	80	84
6.25								
144.3	146.7	146.7	149.2	149.5	153.5	153.0	157.9	157.6
10	11.25		12.5			13.75		
115.1	117.7	121.9	120.3	120.0	122.6	121		

第 1 図



照群と比較して変化をみない。2.5mg を 5mg に増量しても変化はなく、動物は元気で異常を認めない。5mg 投与し初めてより数日間体重増加が思わしくないがこれは対照にも見られるので野菜を一日 20g より 25g に増量し、掃除を毎日励行すると体重増加が急に良くなったので薬液の影響とは思われない。5mg 18 日間投与後 6.25mg に増量しても曲線に異常がない。実験当初より計算して 22 日目 5mg 投与中一匹死んでいるが之は夜中死んだもので解剖、組織検査の結果広汎な肺炎によるもので薬物の影響によるものとは思われない。さて 6.25mg 10 日間投与後実験群 19 匹を 2 群にわけ第 1 群 (10 匹) はこれ以後 4~6 日目毎に 7.5 mg, 8.75 mg, 10 mg, 11.25 mg, 12.5

mg, 13.75 mg と増量してゆき第 2 群 (9 匹) はそのまま 6.25 mg に据置いた事はすでに実験方法で述べた通りであるが、第 1 群では 7.5 mg で死ぬものなく、8.75 mg では第 1 日目に 1 匹、第 4 日目に 2 匹死亡し、10 mg では死亡なし。11.25 mg では第 1 日目に 1 匹、第 2 日目に 1 匹、12.5 mg では第 2 日目に 1 匹、第 5 日目に 1 匹、13.75 mg では第 1 日目に 2 匹、第 4 日目に 1 匹死亡し結局これで全部死んでいる。この期間の状態は図中点線より分離した茶線で示してある。すなわち全体として体重増加なくデグザグな線を描いている。第 2 群の 6.25 mg の量に据置いたものは一時対照群よりやゝ増加が良い様に思われるがその後対照曲線と平行しているの为先づ変化ないものとみて良い。動物の症状を通覧するに最初の 2.5 mg 投与の場合全然異常なく、5 mg になると始めの 2, 3 日は薬液注入後 5, 6 分間程横になつて動かさず呼吸やゝ促迫しているが、その後は日数の経過するにつれて全然反応を示さなくなる。6.25 mg に増量した場合も同様である。8.75 mg 以上で死亡する場合は注入後 20 分乃至 1 時間位で、この場合注入後 2, 3 分してから横倒れとなり動かなくなつて全身の震顫或は時に攀縮 (Zuckung) を起すが急性中毒の時に劇的な痙攣を起す事は少ない。

(2) 肉眼的及び顕微鏡的所見

肉眼的所見

(イ) 臓器重量 (第七表)

第七表に見る様に第 1 群では心臓、肺臓、肝臓、腎臓は一般に重量増加し、肺臓では No.1, No.5, No.9 の増加が目立ち、肝臓の重量増加が著明で殊に No.7 では甚しい。脾臓は No.5, No.6, No.8 を除き一般に減少の傾向がある。第 2 群では一般に変動が少く No.12 の肺臓、No.11 の肝臓、腎臓が増加し、脾臓は一般に No.11 を除いてやゝ減少の傾向がある。

(ロ) 第 1 群では肺臓何れも鬱血があり No.1, No.5, No.9 が強い。肝臓は濁濁腫張している。鬱血を見るが No.1 を除いて強いものではない。No.7 では寄生虫嚢腫が非常に沢山あつて黍粒大乃至扁豆大のものが 20 個程ある。そのために肝臓重量が非常に増大している。なお No.3 では扁豆大のもの 3 個 No.10 では黍粒大のもの 1 個ある。腎臓も鬱血見られ No.5, No.7 が強い。脾臓は外見上著変がない。一般に出血は認められず、消化管では糜爛壊死等見ない。

第 2 群では一般に認め得可き変化少く、No.12 の肺臓右中葉全般に出血と見られる濃褐色斑があるのみである。

顕微鏡的所見

(i) 第 1 群 (No.1-No.10) 肝臓；一般に鬱血を見るが強いものではない。No.4 ではむしろ貧血性である。No.1, No.5 では肝細胞索はかなり萎縮しているが No.2, No.3, No.4, No.6, No.8, No.9, No.10 では濁濁腫張が見られ No.6, No.8 において強い。何れの例においても共通してみられる現象は肝細胞原形質内に程度の差はあつてもかなり沢山の空泡が見られ非常に微細なものより大は赤血球の大きさに近いもの迄様々あり、一般に瀰漫性に見られ特に小葉中心部とが周辺部とかいふ様な局在性がないが、時には所々に空泡を沢山持った細胞が群をなして集つている所がある。脂肪染色では何れも脂肪がかなり沢山現れていて上記の微細な空泡は脂肪であるが大きな空泡は脂肪

Table 7. Organs Weight of Rats. (Continuous Administration of KCN for 3 Months)

Group			Number of Animal	Body Weight	Heart	Lung	Liver	Kidney	Spleen
Group I (Increased from 6.25 mg/kg)	died	at 8.5 mg/kg	No. 1	133 g	0.8g/0.6%	2.6/1.95	8.2/6.17	1.6/1.13	0.4/0.3
	"	"	No. 2	119	0.7/0.59	0.9/0.75	6.4/5.91	1.4/1.18	0.3/0.25
	"	"	No. 3	137.5	0.8/0.58	1.4/1.02	7.5/5.46	1.5/1.09	0.4/0.29
	"	11.25	No. 4	130.5	0.7/0.54	1.0/0.77	7.7/5.91	1.5/1.12	0.35/0.27
	"	"	No. 5	100.5	0.7/0.67	1.25/1.24	5.8/5.76	1.25/1.24	0.5/0.5
	"	12.5	No. 6	130.5	0.85/0.65	1.45/1.11	8.6/6.6	1.4/1.07	0.65/0.5
	"	"	No. 7	110	0.7/0.64	1.0/0.91	10.2/9.29	1.4/1.27	0.3/0.27
	"	13.75	No. 8	151	1.0/0.66	1.6/1.06	9.5/6.28	1.7/1.3	0.7/0.46
	"	"	No. 9	107.5	0.6/0.63	1.2/1.12	5.9/5.48	1.4/1.3	0.3/0.28
	"	"	No.10	121	0.8/0.66	0.9/0.74	7.7/6.36	1.4/1.16	0.25/0.21
Group II (Not increased from 6.25 mg/kg)	alive	autopsied on 66th Day	No. 11	146.5	0.7/0.48	1.1/0.75	8.5/5.81	1.9/1.29	0.6/0.41
	"	"	No. 12	157	0.7/0.45	2.9/1.85	6.5/4.14	1.5/0.96	0.4/0.25
	"	84th Day	No. 13	170	0.7/0.41	1.0/0.59	7.5/4.17	1.7/1.0	0.55/0.32
	"	"	No. 14	158	0.9/0.57	1.3/0.82	6.3/3.99	1.6/1.01	0.4/0.25
	"	86th Day	No. 15	156.5	0.7/0.45	1.1/0.7	7.5/4.81	1.7/1.07	0.55/0.35
	"	90th Day	No. 16	155	0.9/0.58	1.3/0.84	6.3/4.07	1.6/1.03	0.4/0.26
	"	"	No. 17	139	0.8/0.58	1.4/1.01	5.4/3.9	1.4/1.01	0.4/0.29

としてそのままのまゝ空泡として存在する。又グリオゲン染色では全然グリオゲンが肝細胞に存在しない。従つて肝細胞は何れの例でも脂肪変性及び空泡変性の両方認められる事になる。肝細胞の壊死は唯 No.5 において極く小さい壊死巣を時々見るのみである。No.8 では所々の原形質内に赤い滴状物質が見られ、赤血球大或はそれ以上のものもあるが色は赤血球よりもつと明るい色をしている。この滴状物質によつて核が圧迫され且この細胞の境界が不明瞭である。このものは後に述べるが如く Millovidov 氏染色によつて酸性フクシンの色を強くつていて恐らくミトコンドリアの変化したものである。

核は程度の差があつてもどの例でも大小不同、核濃縮を認めかなり変形したものもある。その外に色素融解は No. 3, No. 5, No.7, No.10 に; 又核膜過色症は No.1, No.2 に、核崩壊は No.1 に見られる。一般に Dissé の間隙は非常に狭い。クッセル氏星細胞はやせている。特殊増殖現象は見ない。

腎臓：一般に鬱血があり No.2 の皮質と髄質の境に一個所小出血をみる。糸球体腎係も No.6, No.8, No.9, No.10 ではかなりの充血があるが No.1, No.2, No.3 ではむしろ赤血球が少ない。然し腎係の核が多いとか少ないとかいふ様な事はない。No.8 のパウマン氏嚢内腔に無形(amorph)の物質が出て一部腎係が覆と癒着している所がある。細尿管は No.1, No.2, No.5 では全体としてやゝ萎縮性であり、その他の例でも部分的に萎縮して上皮細胞の背が低く管腔が広がつてゐる。殊に潤管部に於て著しい。どの例でも部分的ではあるが主として主部、一部には潤管部の上皮細胞がこわれて管腔の中に細胞破砕片としてつまつてゐるのが目につく。又主部に於て No.1, No.3, No.4, No.5, No.6, No.7, No.10 の所々に細胞基底部に微細な空泡を認める。尙 No.7 の主部の一部は潤管腫脹を示す。No.2, No.3, No.4, No.5 の集合管腔内に所々石灰が沈着している。

脾臓：No.5, No.6, No.8 では軽度の鬱血を認める。淋巴濾泡は一般に萎縮があり、No.2, No.7 では軽度、No.

3, No.4, No.8, No.10 では中等度, No.5, No.9 ではかなり強く, No.1 は最も強い。No.1 では淋巴瀰泡は少くて小さい。且脾臓は鬆粗で細胞が著しく減少している。

肺臓：一般に鬱血は明瞭であるが No.2, No.4, No.10 では比較的軽度である。No.2, No.3, No.5, No.6 では血漿停止があり, 肺泡内出血は No.1, No.8 に見る。No.1, No.2, No.3, No.4, No.5, No.6, No.9 では肺泡内水腫を, 又 No.4, No.6, No.9 では所々血管周囲の浮腫も認められる。どの例でも気管枝粘膜の上皮細胞がかなり萎縮していて原形質が狭く, 凝縮しており核は 2 段になつていて腔内にむいた方は三角形で基底に存するものは卵円形である。粘液を分泌する杯細胞はほとんど見へない。No.9 では肺泡隔壁が増殖して大円形細胞が増し間質肺炎の像が認められる。

心臓：どの例でも一般に筋繊維が細くなつて萎縮している。No.7 では萎縮が少ない。No.1, No.10 では小出血がある。No.1, No.5, No.7, No.9 では所々横紋が不鮮明になつて顆粒変性を起している。No.1, No.8 では微細な空泡を見る所がある。消耗色素はない。又脂肪も見ない。

消化管：胃粘膜上皮細胞は何れもかなりの萎縮を認め細胞は小さく腺管が狭い。鬱血, 糜爛等は見ない。

其の他の臓器：副腎では一般に束状層の真中辺より内部に向つて鬱血が見られ網状層はやゝ萎縮している。髓質は血管が強く拡張している。髓質細胞は一般に明細胞が多い。No.1, No.4 では網状層の髓質に近接した所に一部リポイドが消失して細胞が濁濁腫張し核の不整形, 濃縮の強い部分がある。一般に皮質では網状層のリポイドが減少している。脾臓, 唾液腺, 胸腺には異常なく, 淋巴腺も No.1 において非常に鬆粗で細胞要素が減少しているがその他の例では異常がない。

(ii) 第 2 群 (No.11—No.17)

肝臓：この群のものは前群に較べて一般に変化が弱い。鬱血は一般に認められないが唯 No.15 において細葉中心部に毛細管拡張をみるのみである。空泡の存するのは No.12 のみであつて他例では無く, 又脂肪は何れの例においても現れていない。この群の共通する所は暗細胞が多くなつている事で散在性に或は群をなして存在している。この様な暗細胞は概ね濁濁している。核は矢張, 核濃縮, 色素融解を示すが一般に濃縮性のものが多い。Dissé の間隙は狭く星細胞はやゝ瘠せている。グリコーゲンは存在するも散在性にあつて少量である。

腎臓：鬱血はなく, 糸球体はほとんど変化がないが唯 No.14 のバウマン氏嚢内腔に蛋白質塊が稀に見られる。細尿管は主部の刷毛縁は不明瞭になつているが, 上皮細胞のこわれているものが少く No.13 の潤滑部に一部見るのみである。No.11 の主部上皮細胞の核は大小不同である。空泡もなく又石灰沈着もない。

脾臓：No.13, No.14, No.15, No.16 は軽度の鬱血と淋巴瀰泡の軽度の萎縮を示し No.17 では中等度の萎縮を示す。

肺臓：No.12, No.13, No.16, No.17 では鬱血と所々に小出血を見る。No.12 において強い。その外に前群と同じく気管枝粘膜上皮細胞の萎縮が認められる。

心臓：No.16 変化なし。その他の例では筋繊維の軽度の萎縮をみる。No.13, No.14, No.17 では筋細胞核の周囲に微細な空泡を所々に見るもあまり多くない。消耗色素はない。

消化管：前群と同じくどの例でも胃粘膜上皮細胞のかなりの萎縮を認める。鬱血, 出血, 糜爛等はない。

其の他の臓器：副腎では一般に皮質のリポイド量が多く髓質は大きくて細胞は暗細胞が多く, 好塩基性が強い。脾臓, 唾液腺, 胸腺, 淋巴腺には異常を認めない。

(iii) 投薬中止して 2 週間飼育した 2 匹。

この例では肝臓, 腎臓には変化なく, 心筋繊維, 気管枝粘膜及び胃粘膜の上皮細胞に極く軽度の萎縮をみるのみである。

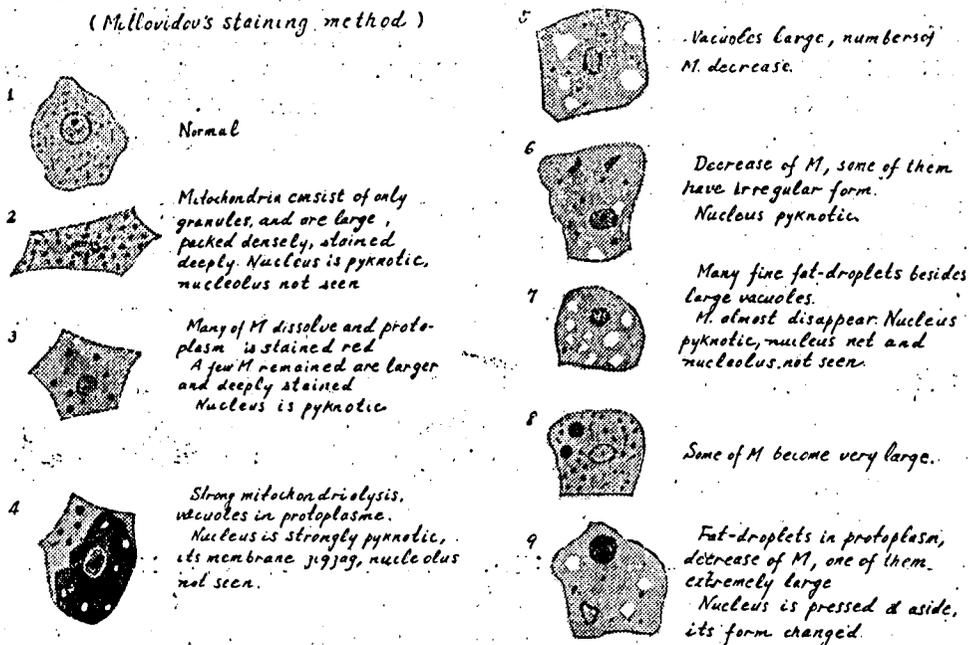
(3) 糸粒体の変化について(第 2 図参照)。

第 1 群

肝臓：多くの肝細胞において糸粒体はほとんど顆粒ばかりで桿状のものは非常に減少している(糸粒体の顆粒化)。そして顆粒がやゝ大きくなって濃染しきつしりと詰つているものがある(図の 2)。一般に顆粒が強度に大きくなつたものは見ないが, 唯 No.8 においてヘマトキシリン・エオジン染色で見た様に非常に大きな球状の滴状物質が存在するがこの物は酸性フクシンの色を強くとつているので糸粒体の滴状変性とみたい。(図の 8, 9)。それから数は多くな

第 2 図

Plate 2 Mitochondria of liver cells
(Mollovidov's staining method)



いが所々に暗細胞があつてこのものには顆粒が溶けて原形質が瀰漫性に赤くそまり(液状化)その中に僅に顆粒らしきものが見えるものや又全然見えないものがある(図の 3,4)。空泡或は脂肪の沢山存在する様な細胞では絲粒体が非常に減少して全く消失しているものもある。殊に脂肪滴の多く存在する細胞では少ない(図の 5,6,7)。以上の様に液状化、顆粒の減少度の強い細胞では核の変化も強く核が濃縮して核材不明瞭、核仁も見へず、染色性が變つて土色乃至黄色の色調を帯びるものがある。絲粒体の配置については特に取立てゝいふ可きものはないが空泡乃至脂肪の多い細胞ではその周囲に集合する傾向がある。

腎臓：正常な桿子構造(Stäbchenstruktur)を持つた細尿管もあるが多くは桿状のものが顆粒化を起し、殊に主部及び潤管部上皮細胞の剝離の起つている所では絲粒体の配列も不規則になつて顆粒化が強く且その数も減少して場所によつては全然消失している所もある。顆粒がやゝ大きくなつたものも時たまあるが滴状変性とも云ふべき大きさのものは見られない。

第 2 群

肝臓：この群ではヘマトキシリン・エオジン染色で見た様に暗細胞が多かつたが、絲粒体染色によつて明細胞と暗細胞の區別をより明瞭に識別し得る。明細胞はその絲粒体ほとんど正常で微細な顆粒にまじつて細い桿状のものがかなり存在している。然るに暗細胞は何れも上に述べた様に顆粒化と共に溶解を起して原形質が瀰漫性に赤染しているものが多くたとへ溶解してゐなく共濃染してやゝ大きな顆粒がぎつしりとつまり全体として濃い、暗い色調である。この群では一般に絲粒体の減少は見られず唯濃縮或は溶解あるのみである。

腎臓：絲粒体は一般に奇麗で所々軽度の顆粒化を起している程度である。

總括及び考案

(1) 致死量の 1/4 即ち体重 kg 当りより始めて 6.25 mg 迄増量しても体重増加に何等影響なく、又引続き 6.25 mg を連続投与しても異常はない。6.25 mg より増量してゆけば体重曲線はヂグヂグを画いて全体として増加を示さず、13.75 mg の量迄において全部死亡する。これを第三表の一回投与による致死量と比較すると、少量より始めて増量的に投与していつても決して本来の致死量を越へる事は出来なかつた。むしろ致死量近くにおいて蓄積作用ある様に見られるが例数が少いので確実にはいえない。

所が一方、前実験の短期連続投与で最初から 5 mg 投与したものは七匹中 3 匹死んでいるが本実験の如く 2.5 mg より始めた場合には 5 mg で全然死ぬもなく発育状態も対照と変わらないといふ事、及び 2.5 mg より 5 mg へ、5 mg より 6.25 mg へと増量した場合の動物の症状は増量後 2, 3 日間は投与直後反応を示すがそれ以後においては反応を現わさなくなる。以上の点より動物は或程度耐性を獲得し得るといふ事が出来る。すなわち青酸カリは経口投与の場合ラットに対して大体致死量の半分位の量においては習慣作用を持つものと見る事が出来る。致死量近くでは習慣作用の傾向全くない。古来青酸カリの習慣作用、蓄積作用に関しては種々論議があり、或る学者は習慣作用があるといひ、他の学者は蓄積作用があるといふ。例へば Nunneley¹⁴⁾は猫を毎日劇的な痙攣を起し得る様な濃度の青酸ガス内に置いた所、7 回目の中毒の後数時間半昏睡状態に陥り 12 時間後に回復、次で 5 日間中止後再び吸入、次で 24 時間目、12 時間目、7 時間目に繰返したが反復するにつれて症状は遅く現れ且前よりは劇烈ではない、よつて或る程度の耐性を獲得したものとし、又 Lyon は海膽の胎児における実験で青酸の弱濃度に保たれた胎児は海水で培養された胎児より青酸に対して 2~3 倍濃度の強い青酸溶液の中においても生存し得ると述べ又 Koritschoner¹⁵⁾は或る結核患者に隔日に 2 時間 1 立方米に付 2 cc 迄の青酸を含む空気を吸入せしめた所が患者は青酸に対して急速に耐性を獲得したと述べている。

一方 Coullon¹⁷⁾は 5 日間連続投与の犬において食欲減退、睡眠障害を起し、その犬はやゝ大なる量で容易に殺し得た。Schlegel¹⁸⁾は毎日或は隔日に数週間にわたり増量的に青酸カリを与へた所兎は体重減少を示して兎の本来の致死量で死んだ。又 J. Collin, Marthland¹⁹⁾は 2mg KCN を隔日に兎に静脈注射したが 10-16 日後に後肢の麻痺を起して死んだ。すなわちこれらの学者は青酸カリの蓄積作用を論じているのである。これらは何れも量の問題であり、本実験によつて示された所では或る量(経口投与の場合ラットでは致死量の約半分)では耐性を獲得し得るが致死量近くにおいては全くこの事無く寧ろ蓄積作用の可能性も考えられる。

(2) 組織変化

(i) 第 1 群(No.1~No.10)

肺臓、肝臓、腎臓に鬱血を見るが左程強いものではない。肝臓の重量は一般に大であるが脾臓は一部のものを除き一般に小さい。肉眼的には出血を見ない。肝臓は一般に濁濁腫張が強いが肝細胞索の萎縮を示しているものもある。何れの例においても空泡及び脂肪変性が著明に認められる。脂肪は微細な滴が細胞中に群をなしていても決して大なる滴とはならない。1 例において極く小さい壊死を所々に見る。核の変化も強く、大小不同、変形、核濃縮、色素融解核膜過色症、核崩壊等を認め何れもグリコーゲンは消失している。腎臓は一般に鬱血を認めるが糸球体はむしろ貧血性で細尿管は一般に萎縮の傾向あり、上皮細胞の脱落があつて管腔内に細胞破砕片としてつまつているのが目につく。空泡形成、濁濁腫張をみるものもあるが強度ではない。集合管に石灰沈着しているものもある。脾臓は淋巴濾胞及び脾髄の萎縮が目立つ。肺臓は鬱血の外に出血、血漿停止、肺胞内及び血管周囲の浮腫を認め何れの例でも気管枝粘膜上皮細胞の萎縮を見るのが特徴である。心臓では筋繊維の萎縮、横紋不鮮明、空泡形成をみるものあり、消化管では胃粘膜上皮細胞の萎縮あるも出血、糜爛なく、副腎では鬱血、皮質網状層の萎縮があり部分的にリポイドが消失して濁濁腫張を起している所がある。髄質細胞は明細胞が多くクローム反応減弱しているもの様である。脾臓、唾液腺胸腺に異常なく、淋巴腺も 1 例萎縮しているのみで一般に変化はない。以上第 1 群の特徴は肝臓、腎臓、心筋の変性が強いと共に一方では脾臓、胃粘膜及び気管枝粘膜上皮細胞、肝細胞、腎臓細尿管に萎縮が認められる事である。

(ii) 第 2 群(No.11~No.17)

この群では一般に変化が弱く肝臓では脂肪は全然認められない。1 例(66 日目に殺したもの)にのみ空泡を見るもその他の例ではない。脂肪変性はない。この群で目立つ事は濁濁腫張を起すと共に暗細胞が多くなつている事である。この細胞は散在性に或は群をなして存在している。核の変化は認められるが前群に較べてかなり弱い。グリコーゲンは存在するが非常に少ない。腎臓は一部のものに細尿管刷毛縁の不明瞭、上皮細胞の脱落あるも非常に軽い。脾臓は一般に軽度の淋巴濾胞萎縮があり、肺臓では鬱血、出血、気管枝粘膜上皮細胞の萎縮、心臓では筋繊維の軽度の萎縮空泡を見る。消化管では胃粘膜上皮細胞の萎縮があり、副腎、脾臓、唾液腺、胸腺、淋巴腺には異常を認めない。すなわちこの群の特徴は肝臓は正常細胞が多いが又暗細胞が増加している事、気管枝粘膜及び胃粘膜上皮細胞の萎縮があつて前群と同じ位であり、脾臓淋巴濾胞、心筋繊維の萎縮は軽い。肝臓及び腎臓の変性は軽度である。

(iii)

以上両群に共通する所見は気管枝粘膜及び胃粘膜上皮細胞、脾臓淋巴濾胞、心筋繊維の萎縮であり、全部死亡した

第 1 群に肝臓、腎臓、副腎、心臓等に变性像の強い事は当然であろうが、かなり大量を連続投与している第 2 群に於て肝臓、腎臓、心臓等が存外少ないのである。然して第 2 群の 66 日目に検査したものと 90 日近くで検査したものと較べても 60 日近くのものの方が変化が重いと云ふ事もない。そして又投薬中止後 2 週間で殺したものは気管枝粘膜及び胃粘膜の上皮細胞に軽度の萎縮が残っている以外変化がないので第 2 群で見た臓器の変化は可逆的である、すなわち原因が去れば容易に恢復し得るものであるといひ得る。

(iv) 胃酸カリは胃より吸収され(症状発現の迅速である因)一部は肺臓から排泄される(中毒者の呼気の胃酸臭)亦は一般に認められる所であり、長期連続投与で胃及び気管枝粘膜上皮細胞の萎縮の強い事もこれと密切な関係があるろう。

(3) 糸粒体の変化

(i) 肝臓では第 1 群のものは一般に顆粒化が強く、又数が減少していて殊に細胞の脂肪化の強いものでは非常に減少し全く消失しているものもある。1 例著明な滴状変性を示している。第 2 群では一般にヘマトキシリン・エオジン染色の像に相応して明細胞、暗細胞の区別がはつきりとし、明細胞は正常糸粒体の像を示すが暗細胞は顆粒がとけて液状化しているか或はとける過程にあり、或は又少くともやゝ大きくなつた濃染性の顆粒が密集しているものが多い。すなわちヘマトキシリン・エオジン染色で所謂暗細胞といはれるものの本態は形態学的には糸粒体の変化(溶解 Chondriolyse 乃至顆粒化 Granulation)である事は疑の無い事実で、この事は他の中毒例においても屢々著者の経験する所である。

腎臓では第 1 群において糸粒体の顆粒化と消失を見る。

(ii) 一般に糸粒体の病的変化に関して色々の分類があるが實際的に最も妥当なものとして Cowdry²⁰⁾(1926) の分類をとりたい。すなわち

- (a) 顆粒化
- (b) 液状化
- (c) 滴状変性
- (d) 塊状凝集
- (e) 顆粒の減少
- (f) 細胞膜直下、核周囲への集合。

本実験においても顆粒化、液状化、滴状変性、顆粒の減少は著明に見られ、軽度であるが塊状凝集、空泡周囲への集合を認める。

結 論

胃酸カリの生体に及ぼす影響の中人体についての、中毒死の場合と実験動物ラットについての経口投与による急性及び慢性中毒の組織学的変化を詳しく追求すると共に慢性中毒においては肝臓及び腎臓の糸粒体の変化及び胃酸カリの習慣作用、蓄積作用の問題をも併せ検討した。

(1) 人体及びラットについての急性胃酸カリ中毒。

(a) 人体においては一般に肺臓、腎臓、脾臓、肝臓の強い鬱血と共に、肝臓、腎臓の変性を認めた。出血性徴候としては心外膜、肺臓、消化管、脾臓、腎臓等に肉眼的或は顕微鏡的に出血、小出血がある。肺臓、脾臓にヘモジデリン色素の沈着を見る。ラットについての実験においては人体の場合と比較すると出血性徴候が明瞭でなく又ヘモジデリン色素の沈着も軽い。實質性臓器について見ると自家融解の影響を除いた実験動物ラットにおいても肝臓の洞洞腫脹、核色素融解、腎細尿管上皮細胞の染色不良、核色素融解空泡形成心筋核周囲の軽度の空泡化横紋不鮮明を見たが頻度少く一般に軽度である。

(b) 消化管粘膜は人体においては食道或は胃の贛門部に糜爛、壊死を認めたがラットではこの事がない。これは適用濃度の差異によるものである。

(c) 胃酸カリは人体の死後自家融解の進行を阻止し得ない事を認めた。

(2) ラットについての慢性中毒

(a) 連続投与による慢性中毒では一般に鬱血、出血、ヘモジデリン色素沈着は急性の場合に比して著明ではない。脾臓、気管枝及び胃粘膜上皮細胞、肝細胞、腎臓細尿管の萎縮が基調をなし、中毒致死した例においてのみ肝臓、腎

臓副腎等に著明な変性を起し肝臓において最も著明である。すなわち肝臓では溜濁腫脹があると共に細葉中心部に萎縮の傾向があり又原形質内に空泡形成がある。核濃縮、色素融解、核膜過色症を見る。又アザン染色による原形質及び核の多染色性は特異である。グリコーゲンは消失する。

(b) 脂肪化は一般に起り難いが長期且つ増量的に連続投与して致死量近くで死亡したのものにおいてのみ肝臓の瀰漫的な脂肪化を見且つ脂肪滴は非常に微細なのが特徴である。

(c) 脾臓は長期連続投与では萎縮するも一時増大する時期がある様である。

(d) 慢性中毒における肝臓糸粒体の変化は著明で顆粒化、液状化、滴状変性、顆粒の減少等見るも滴状変性は一般に起り難い。

(e) 肝細胞軽度の変化として現はれる暗細胞の本態は形態学的には糸粒体の変化である事を証明した。

(f) 糸粒体染色としては Millovidov 氏法は手技が容易で結果が良く非常に優秀な方法である。

(3) 急性及び慢性中毒を通じて脾臓、唾液腺、胸腺には変化を認めなかつた。

(4) 青酸カリの習慣作用或は蓄積作用については従来実験者により相反した成績が発表されていたが著者の実験の結果は比較的少量の経口投与は習慣作用のある事を示し、大量すなわち致死量近くではこの作用全く欠如する事を示した。

(稿を終えるに臨み終始御懇篤な御指導と御校閲を賜つた 恩師東大医学部薬理学教室小林教授、同病理学教室岡教授、三宅教授に謹んで感謝申上げる。又常々暖い御配慮を賜る所長近藤龍博士、標本作製に御援助を戴いた菊池健三、磯野千多、松永キヨの諸氏に衷心感謝の意を表する。)

文 献

- 1) A. Meyer, : Ztsch. f. d. ges. Neurol. u. Psychiat., 143, 1933.
- 2) 坂上 肇 : 長崎医学会雑誌, 19 卷 1 号 昭和 16 年.
- 3) 同 . . . : 九州医学会雑誌, 39 回 昭和 14 年 10 月.
- 4) 山極三郎 : 実験医学雑誌, 35 回 4 号 昭和 16 年.
- 5) A. Ferraro : Psychiatric Quart., 7, 1933.
- 6) 藤田雅一 : 日本医科大学雑誌, 9 卷 5 号 昭和 13 年.
- 7) 岡崎光久 : 日本医事新報 No.735 昭和 11 年.
- 8) Staemmler, : Klin. Wchschr., 11 Dec. 17 1932.
- 9) Heffter. : Handbuch. d. exp. Pharmahol., Band I
- 10) K. Helmke, . . Virchow's Archiv, . 304, 1939.
- 11) N. Messerle. : Virchow's Archiv, 262, 1926.
- 12) 澁谷 巍 : 臨床月報 231 昭和 5 年
- 13) Miloooidov, : Arch. d'anatom. microscop., 24, 1928
- 14) T. Nunneley, : Transact. Prov. Med. Surg. Assoc., 15, 1) 1847.
- 15) E. P. Lyon, : Am. Jour of Physiol., 7, 1902.
- 16) Koritschoner, : Wiener Klin. Wochenschr., 4, 48, (1891).
- 17) J.A. Coullon, : Handbuch d. exp. Pharmakol., Band I
- 18) G. Schlegel, : " "
- 19) J. Collins and H.S Marthand, : Jour. of Nervous and Mental Diseases, 35, 417(1908).
- 20) Cowdry, : Arch. path., 237, 1926.

Histological Studies of Potassium Cyanide Poisoning

Yoshio IKEDA

The author studied in detail the histological changes of various organs in case of the human suicide and experimental acute and chronic KCN poisoning of rats.

In case of chronic poisoning, the changes of mitochondria of the liver and the kidney and whether KCN has the habituation action or not were examined. The summary is as follows :

1) Acute poisoning of human bodies and rats.

(a) Besides the vascular symptoms such as the strong congestion and haemorrhage in the thoracic and abdominal organs, the degeneration of the liver, the kidney and the heart can be observed. But this degeneration is not so strong and essential.

(b) In human bodies the erosion or necrosis of the oesophagus or the cardiac part of stomach is observed, but not in rats. This is due to only the concentration of the administered KCN.

(c) KCN can not inhibit the progression of the autolysis post mortem of human bodies.

2) Chronic poisoning of rats.

(a) In case of chronic poisoning by continuous administration of KCN, the vascular symptoms such as congestion, haemorrhage are not evident, but the atrophy of the spleen, the epithelial cells of the bronchus and the stomach, the liver cells and the epithelium of the kidney is essential. Only the animals died by poisoning show manifest degeneration of the liver, the kidney, the heart and the suprarenal body, and most evident in the liver.

(b) Generally, the fatty degeneration of the liver hardly occurs, but this can be markedly observed only in the animals which died in case the dose administered reached near the lethal dose by continuous administration for a long time and by increasing of the quantity of KCN. In this case, it is particular that this fatty droplets are very fine.

(c) The changes of mitochondria of the liver cells by chronic poisoning are evident. Granulation, mitochondriolysis, droplet-degeneration, and marked decrease of mitochondria are observed.

(d) It was showed that the dark cells which generally appear as slight pathological changes of liver cells were due to the changes of mitochondria.

(e) Mollovidov's staining method is a very excellent one for the staining of mitochondria.

3) Through both acute and chronic poisoning, changes of the pancreas, the salivary gland and the thymus were not observed. 4) Author experiments showed that KCN had the habituation action at the smaller dose, but this action was not observed at the larger dose, namely near at the lethal dose.

有機ロダン化合物の毒物学的研究

横井 泰生

Pharmacological Studies of Some Organic Thiocyanates

Yasuo Yokoi

—目—

緒言
実験材料
実験方法並に実験成績

I 症状と毒性

II 呼吸運動と血圧変動

III カス代謝

—次—

IV 解毒

V 有機ロダン化合物の分解

(附) 無機ロダン化合物及び硫化水素

総括並に考察

結論

引用文献

[緒 言]

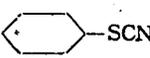
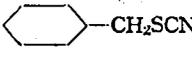
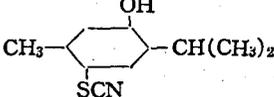
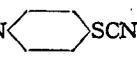
有機ロダン化合物に関する動物実験は森木¹⁾(1936)の如き例外もあるが、Traubmann²⁾(1930), von Oettingen et al³⁾(1936), Cameron et al⁴⁾(1939), 大橋及び君塚⁵⁾(1947)何れも急激な症状と比較的はげしい毒力とを報告している。これは一般に知られている無機ロダン化合物の性質からは想像もつかぬ所である。KSCN は洗滌剤或は血圧降下剤として臨床的に用いられるが、SCN のコロイドに対する作用は沃度に類似するといわれる⁶⁾。

Traubmann²⁾は、SCN が化学的に Cl, Br, J などハロゲンと近縁関係にあり Pseudohalogen などと呼ばれる所から、ロダンメチル CH_3SCN , ロダンエチル $\text{C}_2\text{H}_5\text{SCN}$, ロダンプロピール $\text{C}_3\text{H}_7\text{SCN}$ などのロダンアルキルの薬理作用としてクロルエチル $\text{C}_2\text{H}_5\text{Cl}$ に見るような麻酔作用を予想したが、実験結果は予想に反して呼吸興奮と脳幹性痙攣その他を認めた。更に芳香族ロダン化合物たるロダンベンゼン $\text{C}_6\text{H}_5\text{SCN}$, ロダンアニリン $\text{NH}_2\cdot\text{C}_6\text{H}_4\cdot\text{SCN}$ もロダンアルキル同様の作用を示した。結局、彼ら是有機ロダン化合物の薬理作用は独特のものであると結論している。

von Oettingen et al³⁾は低級ロダンアルキルが延髄を刺激し、次いで麻痺せしめること、急性中毒死後内臓にひどい充血、出血、浮腫があること、またロダンメチルとロダンエチルは皮下注射時呼吸興奮と血圧上昇とが相伴うこと、更に *in vitro* でこれらは肝臓細片と 48 時間作用後 AgNO_3 消費物質を生ぜしめることを発見して、ロダンメチルやロダンエチルなどが体内で青酸を遊離する可能性あることを示唆した。

有機ロダン化合物の薬理作用について文献の示す所では森木¹⁾の如く無機ロダン化合物と区別しないか、Traubmann²⁾の如く独特の作用と考えて薬理學上新しい地位を設けるか、或は von Oettingen et al³⁾の示唆する如く青酸作用とするか何れかである。然し何れとしても今日迄の成績は尙不充分であると考えられる。

TABLE I Organic Thiocyanates

Chemical Name (Japanese)	Chemical Structure	Description
Ethyl thiocyanate (ロダンエチル)	$\text{C}_2\text{H}_5\cdot\text{SCN}$	liquid, irritative odour, brown, boiling point $141\sim 142^\circ$ (738 mmHg) water-solubility approximately 1/400
Ethyl thiocanoacetate (ロダン酢酸エチル)	$\text{CH}_3\cdot\text{COOC}_2\text{H}_5$ SCN	liquid, irritative odour, faintly yellow, boiling point $117\sim 119^\circ$ (10 mmHg) water-solubility about 1/85
Phenyl thiocyanate (ロダンベンゼン)	 -SCN	liquid, irritative odour, yellow, boiling point 232° water-solubility approximately 1/1,500
Benzyl thiocyanate (ロダンベンゼール)	 - CH_2SCN	crystals, almost colourless melting point 53° water-solubility $< 1/50,000$
Thymol thiocyanate (ロダンチモール)		crystals, white melting point 105° water-solubility $< 1/50,000$
P-thiocyanato-dimethyl-aniline (パラロダンジメチルアニリン)	$(\text{CH}_3)_2\text{N}$  -SCN	crystals, white melting point 74° water-solubility $< 1/50,000$

[実験材料]

出来るだけ多方面の有機ロダン化合物を用いる主旨であつたが、実際に使用し得たのは第 1 表に示す所の 6 種類である。ロダン酢酸エチルは食品衛生法規格の品であり、他の 5 種は国立衛生試験所板井孝信薬學博士の作製したものである。

[実験方法並に実験成績]

ロダン酢酸エチルは 1% 程度水に溶解するが、他の 5 種の有機ロダン化合物は極めて水に難溶性であるため溶媒

としては一般に局方オレフ油や 50% エチレンジグリコールモノエチルエーテルを用いた。

I 症状と毒性

(中毒症状) 有機ロダニ化合物の中毒症状は呼吸興奮と痙攣とが顕著で全身麻痺が引続き結局は呼吸麻痺で斃れる。ロダニ醋酸エチルと KCN はマウスについて皮下、腹腔と各々数百疋について試みた所、各個体の症状は必ずしも一定せず細部に互れば極めて多様であるが、これを KCN 群とロダニ醋酸エチル群として比較するとき、両者の症状は全く変りない。家兎及び鳩についても両者の症状を詳細に比較し合つたが同様であつた。他の有機ロダニ化合物も大体は同様であるが、マウス皮下注射で中には痙攣等の症状が胃酸に比して激しくない場合がある。溶媒として局方オレフ油を用いてもマウスで腹腔内注射を行つると症状は充分顕著であつた。

有機ロダニ化合物の SCN をハロゲンにて置換すると、一般には胃酸症状を呈しない。モノクロル醋酸エチルは例外であつて胃酸に似た中毒症状であるがロダニ醋酸エチルとは用量に相当の開きがある。クロルベンゼン、ブロムベンゼン、ヨードベンゼンは何れも胃酸症状のロダニベンゼンとは全く異り石炭酸中毒症状⁸⁾を呈する。クロールチモールはロダニチモールとは異りチモール同機⁹⁾の中毒症状である。またヨードエチルの症状はアルコールエーテル系の麻酔作用であつて、胃酸症状を呈するロダニエチルとは明白に異なる。

(毒性) 動物の種類と投与法によつては有機ロダニ化合物の胃酸に対するモル致死量比は割合に 1 に近いが、マウス皮下注射では 7 とか 9 とかになるものもある。

尚お、有機ロダニ化合物の SCN をハロゲンにて置換した場合、即ち有機ハロゲン化合物ではそのものの物理的性質も対応する有機ロダニ化合物と相似て居り、溶媒も共通であるに拘わらずモル致死量は遙かに大である。

TABLE II LD₅₀ of Organic Thiocyanates, in Contrast with Other Chemicals
mg per kg & molecular ratio (HCN=1)

Chemicals	Mouse						Rabbit		Pigeon			
	Subcutaneous		intraperitoneal		intravenous		per os		intramuscular			
	mg/kg	HCN=1	mg/kg	HCN=1	mg/kg	HCN=1	mg/kg	HCN=1	mg/kg	HCN=1		
Potassium cyanide	7.1	1	6.3	1	2.6	1	10	1	4	1	4	1
Ethyl thiocyanacetate	39.1	2.5	18.3	1.3	6	1.1	52	2.5	10	1	20	2
Phenyl thiocyanate	80	5	20	1.5	6.7	1.2	80	4			25	3
Benzyl thiocyanate	100	5	30	1.9								
Thymol thiocyanate	200	9	60	3								
p-thiocyano-dimethylaniline	150	7	55	3.8								
Ethyl thiocyanate	70	7	10	1.2	20	5.7						

Ethyl monochloroacetate	250	18
Phenyl bromide	2000	120
Thymol chloride	750	36
Ethyl iodide	1000	36

Sodium thiocyanate	500	55	500	64
Sodium sulfide	200	22	100	13

$$\frac{\text{CH}_2\text{ClCOOC}_2\text{H}_5}{\text{CH}_2(\text{SCN})\text{COOC}_2\text{H}_5} = \frac{18}{2.5} = 7.2$$

$$\frac{\text{C}_2\text{H}_5\text{I}}{\text{C}_2\text{H}_5\text{SCN}} = \frac{36}{7} = 5.14$$

$$\frac{\text{C}_6\text{H}_5\text{Br}}{\text{C}_6\text{H}_5\text{SCN}} = \frac{120}{5} = 24$$

$$\frac{\text{Thymol chloride}}{\text{Thymol thiocyanate}} = \frac{36}{9} = 4$$

(致死時間) 胃酸塩と有機ロダニ化合物のあるものはモル致死量が極めて接近することは第 2 表に示した通りであるが、致死時間から見ても同様の関係が成立することは第 3 表から明らかである。これには半数致死量投与時の斃

死マウス平均死亡時間を示した。

TABLE III TIME Required to Kill Mice in LD₅₀
(indicating averaged value of the dead)

Chemicals	intraperitoneally	intravenously
Potassium cyanide	32 m	3 m
Ethyl thiocyanacetate	18 m	2 m 30 s
Ethyl thiocyanate	1 h	1 h 15 m
Phenyl thiocyanate	45 m	3 m
Benzyl thiocyanate	45 m	
Thymol thiocyanate	1 h	
p-thiocyano-dimethyl-aniline	2 h	

II 呼吸運動と血圧変動

2 kg 前後のウレタン麻醉家兎を用いて呼吸運動と血圧変動に対する有機ロダン化合物及び NaCN の静脈内注射による影響を観察した。呼吸運動は気管カニューレを介し Marey 氏タンブールを用い、血圧は一側の頸動脈血圧を水銀マンメーターを用いて煤紙上に記録せしめる。ロダン醋酸エチルは水溶液、他の 5 種の有機ロダン化合物は 50% エチレングリコールモノエチルエーテルに溶かした上で静脈内注射をした。NaCN と有機ロダン化合物の呼吸、血圧に及ぼす影響は大体同様で之は第 1 図に示す如くである。

FIG 1-a Change of Respiration
(phenyl thiocyanate)

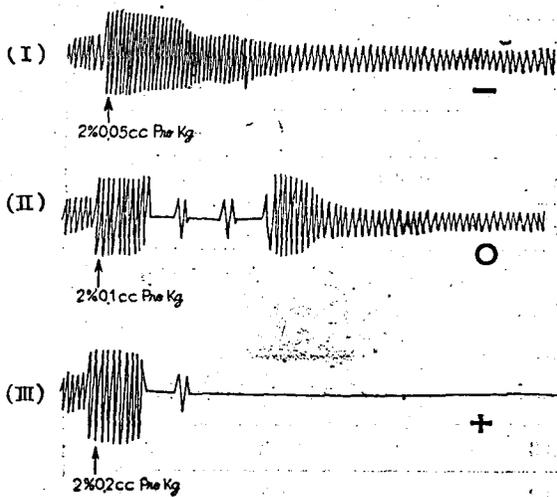
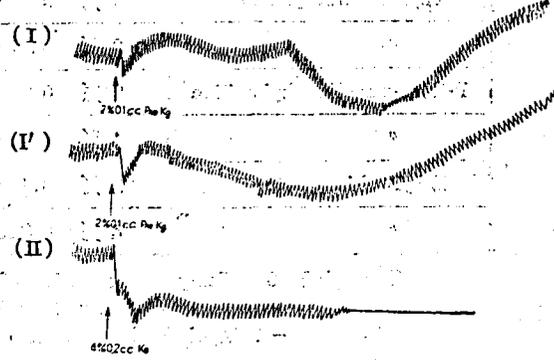


FIG 1-b Change of blood Pressure
(phenyl thiocyanate)



呼吸変化は少量では一時的呼吸興奮を見るのみ、やゝ増量すると呼吸興奮の後に呼吸減弱がある。更に増量してその程度が甚しくなると一時(数分間)呼吸は全く停止し(尤もその間に三三回の呼吸運動を伴うことはあるが)、次いで平常より大きな呼吸が暫く続いてから普通の大きさの呼吸に戻る。大量なれば呼吸興奮に続く呼吸停止は永続する。

血圧に及ぼす変化は比較的複雑である。少量の場合は呼吸興奮期に一致して第一次血圧上昇があり、次いで注射前の高さよりも下降してから第二次血圧上昇期に移行する。中には注射直後第一次血圧上昇に先立つて血圧が一時下降し第一次血圧上昇の著明でないものがある。大量のときは急激に血圧が下降しそのまま回復せず更に徐々に降下し遂に搏動が止まる。

而して呼吸麻痺の方が心搏動停止に先立つて現われる。

各種有機ロダン化合物を呼吸に対する作用の強度によつて分類するため呼吸の一時的停止を零、之よりも弱い変化を負、強い変化を正ときめる。個々の実験成績は第4表に収めた。零効果——即ち呼吸の一時的停止を来す量を青酸及び有機ロダン化合物について定めると、表に見る通り大体ロダン醋酸エチル、ロダンベンゼン、ロダンベンヂール、ロダンチモールは何れも NaCN と同じく静脈内注射で pro kg 0.02 ミリモルで、ロダンエチルは 0.04 ミリモル見当である。

TABLE IV Effect on Respiration of Rabbit by Cyanide and Organic Thiocyanate

Intravenous Injection		Body Weight of Rabbit	Change of Respiration
Chemicals	Dose		
Sodium cyanide	1 % 0.2 cc	2240 g	0
"	0.25% 0.5 cc	2160 g	0
Ethyl thiocanoacetate	1 % 0.4 cc	2190 g	-
"	1 % 0.4 cc	2530 g	0
Phenyl thiocyanate	2 % 0.1 cc	2200 g	-
"	2 % 0.2 cc	2200 g	0
"	2 % 0.2 cc	2450 g	0
Benzyl thiocyanate	2 % 0.3 cc	2650 g	-
"	2 % 0.3 cc	2650 g	+
Thymol thiocyanate	2 % 0.4 cc	1960 g	-
"	2 % 0.5 cc	1960 g	+
P-thiocyano-dimethyl-aniline	2 % 0.3 cc		-
"	4 % 0.4 cc		-
Ethyl thiocyanate	2 % 0.4 cc	2500 g	0
"	4 % 0.3 cc	2500 g	0

[Remarks] 0: Temporary cessation of respiratory movement for a few minutes
 +: Stronger Change than 0
 -: Weaker Change than 0

Chemicals	Injected Dose	mM per kg	Molecular Ratio (HCN=1)
Sodium cyanide		0.02	1
Ethyl thiocanoacetate		0.02	1
Phenyl thiocyanate		0.02	1
Benzyl thiocyanate		0.02	1
Thymol thiocyanate		0.02	1
Ethyl thiocyanate		0.04	2

以上で有機ロダン化合物の呼吸、血圧に対する影響は定性的に青酸と同じであるばかりでなく、呼吸に対しては定

量的にも大体同じであることを知つた。

ロダニ醋酸エチルに対しモノクロル醋酸エチル、ロダニベンゼンに対しモノクロルベンゼン、ロダニチモールに対しクロルチモールを同一家兎に与えた所が有機ハロゲン化合物の方はせいぜい注射直後の一時的血圧下降のみで呼吸に対しては無影響と見做される。それと同じ量の有機ロダニ化合物の方は呼吸、血圧に対して著明な作用のあることは上述の如くである。

III ガス代謝

有機ロダニ化合物につき青酸と平行して呼吸ガスに及ぼす影響を研究した。実験動物としては家兎を用い比較的深いウレタン麻醉の下で気管切開を行い、T字型呼吸弁の無弁端を挿入して之を通じて動物の呼吸を行わせ、外気は吸気弁を介して吸入、呼気は呼気弁を介して呼出せしめ(大体労働生理学に用いるガスマスクと同様の機構)呼気は内容約10'のDouglass' bagに10分間毎に分割採取し、捕集ガス量はガスメーターにより測定し、その組成百分率は労研式小型ガス分析器¹⁹⁾(修飾 Haldane 型)により測定、以上2組の値から各10分間に兎が摂取した酸素量と排泄した炭酸ガス量とを算出する。

TABLE V-a Volume of Expired Air in Gas-Analysis Experiment
(reference-table to Table V-b)

Rabbit No.	Time	Volume of Expired Air per minute (cc)					
		-10'~0'	0'~10'	10'~20'	20'~30'	30'~40'	40'~50'
1		268	429	314	424	436	
2		416	543	459	468	664	
3		522	672	696	447	679	
4		509	780	841	506	564	
5		449	835	524	660	707	
6		747	960	400	423	766	
7		644	832	311	164	613	715
8		972	935	715	998	366	
9		584	620	735	621	666	1103
10		500	701	616*	624		582
11		609	873	541	623	868	1123
12		593	862	244	236	505	900
13		427	772	815	1042	577	464
14		407	623	519	640	640	584
15		569	674	1070*	886	396	518
16		644	761	445	771	702	630
17		533	861*	780	677	610	697
18		463	612	646	704	720	771
19		494	525	495	493	493	
20		645	714	628	665	665	
21		720	751	827	824	844	

(Remarks) (1) * cramps (2) 0' the time of subcutaneous injection

TABLE V-b
Volume of O₂-Consumption and CO₂-Output of Rabbit Intoxicated by KCN and Organic Thiocyanates

Chemicals	Rabbit No.	Injected Dose mg/kg	Volume of O ₂ -Consumption per minute (cc) [" CO ₂ -Output " (cc)]					
			-10'~0'	0~10'	10'~20'	20'~30'	30'~40'	40'~50'
Potassium cyanide	12	4.6	15.5 [11.3]	13.5 [14.1]	2.8 [2.3]	6.1 [5.5]	8.4 [18.7]	13.4 [13.9]
"	13	4.75	13.2 [10.9]	8.2 [12.4]	6.5 [8.5]	13.8 [20.1]	14.4 [12.2]	12.8 [9.8]
"	15	4.65	17.3 [13.8]	18.4 [15.7]	14.1 [18.0]	3.3 [6.6]	3.5 [4.8]	6.8 [9.6]
"	16	4.65	17.9 [17.2]	21.0 [20.4]	9.1 [9.81]	15.7 [17.0]	15.6 [16.0]	17.2 [15.6]
"	17	4.88	19.8 [14.9]	24.5 [23.5]	8.8 [10.8]	9.0 [10.8]	11.0 [12.5]	11.8 [13.0]
Ethyl thiocyno- acetate	1	10.39	12.7 [11.1]	13.0 [16.0]	3.3 [5.6]	10.0 [13.5]	10.3 [16.3]	
"	2	10.18	16.3 [14.8]	6.2 [12.3]	5.7 [10.4]	7.2 [11.9]	6.4 [10.0]	
"	11	10.8	19.0 [16.7]	17.7 [18.3]	5.6 [7.4]	7.6 [10.6]	13.5 [19.3]	16.6 [23.0]
"	18	9.2	15.7 [13.8]	16.7 [17.1]	14.1 [15.7]	15.4 [16.5]	16.4 [16.9]	20.5 [18.7]
Benzyl thiocyanate	5	11.5	12.1 [10.9]	7.5 [11.3]	4.3 [3.3]	11.3 [8.6]	12.7 [14.1]	
"	14	10.6	12.3 [10.7]	11.4 [10.1]	10.9 [9.7]	10.0 [13.3]	7.6 [5.7]	11.8 [12.0]
Phenyl thiocyanate	3	9.12	19.0 [13.2]	18.4 [15.7]	8.9 [11.2]	3.3 [4.9]	6.8 [8.5]	
"	4	9.12	19.4 [13.2]	19.7 [20.2]	5.3 [9.6]	5.5 [6.7]	12.1 [9.2]	
"	8	14.5	18.3 [13.1]	21.2 [14.2]	12.3 [9.7]	12.8 [11.7]	4.4 [3.7]	
"	9	15.4	14.4 [10.8]	13.7 [11.5]	8.8 [12.3]	5.3 [6.2]	5.6 [7.7]	12.2 [18.6]
"	10	10.0	14.4 [12.5]	16.6 [20.7]	8.1 [11.9]	6.6 [11.3]		9.7 [10.1]
Ethyl thiocyanate	6	16.6	15.65 [10.9]	14.0 [11.3]	3.1 [3.3]	8.4 [8.6]	10.4 [14.1]	
"	7		14.4 [10.4]	11.5 [14.2]	3.0 [3.7]	1.1 [2.2]	6.9 [12.5]	7.8 [12.8]
Phenyl thiocyanate	19	9.3	16.1 [10.3]	15.7 [10.6]	15.3 [11.2]	14.4 [11.2]	15.8 [12.1]	
Benzyl thiocyanate	20	12.3	19.1 [15.2]	19.2 [14.2]	19.7 [14.8]	20.8 [15.6]	20.2 [15.1]	
Ethyl thiocyanate	21	12.5	15.6 [11.0]	15.3 [12.5]	15.3 [12.7]	15.0 [11.9]	12.4 [10.7]	

実験結果は第 5 表 (a) 及び (b) に示されている。

(b) に示したような注射量(皮下)では酸素消費量が注射後 10 分乃至 20 分で急激に減少し(炭酸ガス排泄の減少も之に伴い) 40 分乃至 50 分後に中毒回復と共に酸素消費量もともに戻る。酸素摂取減少時に呼吸運動は減少しないのみか、ますます旺んで過呼吸の状態にあり、時に痙攣すら起きている。この点については (a) の呼気量を比較参照せられたい。呼気量の増大するにも拘わらず酸素摂取量の減少する模様は第 2 図の (a) 毎分平均呼気量のグラフと (b) 毎分平均酸素消費量のグラフを比較対照することにより端的に伺われる。以上のような顕著な現象を惹起せしめた薬物の用量は青酸カリ、ロダン醋酸エチル、ロダンベンゼールでは共に 0.07 ミリモル (pro kg), ロダンベンゼンでは 0.07~0.11 ミリモルとなり、ロダンエチルは青酸カリの倍量でも不足で 3 倍近くの 0.19 ミリモルであつた。

FIG 2-a Volume of Expired Air per minute

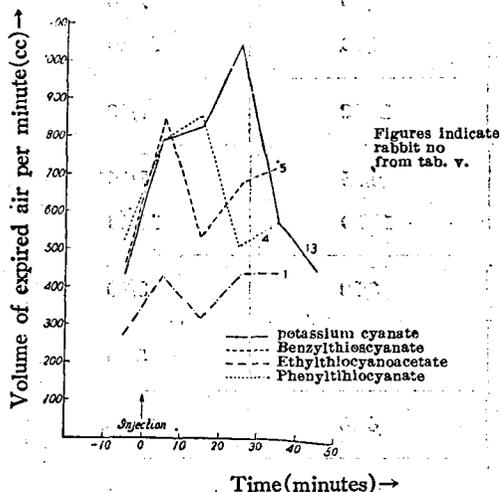
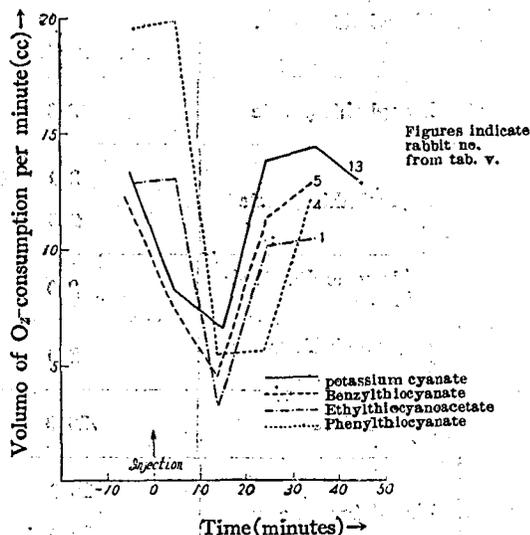


FIG 2-b Volume of Oxygen Consumption per minute



中毒の極く初期(短時間)は不穏、呼吸亢進等があつて酸素消費量が幾分増大することはあるけれども、引続き過呼吸が起き時として痙攣を伴つたりしても単位時間内の酸素消費量は注射前よりも著明に減少し、それに伴い炭酸ガス排泄量も減少していることは、青酸に関しては別の実験方法によつて既に Geppert⁹⁾によつて実証せられ周知の事柄であるが、茲に私は青酸のみならず有機ロダン化合物についても青酸に比較的近い用量で同様の作用あることを示し得た。

IV 解毒

青酸解毒剤としては比較的多くのものが知られている。Chen, Rose & Crows¹⁰⁾, Hanzlik & Richardson¹¹⁾の実証した所でも methylene blue, toluidine blue, sodium thiosulfate, sodium tetrathionate, amyl nitrite, sodium nitrite 等の多数であるが、解毒機序に従つて大別すると第一に硫黄化合物で体内にて CN を SCN に変換せしめるに役立つもの、第二に CN を cyanmethemoglobin として解毒せしめるに都合よきよう hemoglobin を methemoglobin とするもの、以上の 2 種類となる。効力並に入手の便宜を考慮した結果、前者からはチオ硫酸ソーダ、後者からは亜硝酸ソーダを選び、これらのものが有機ロダン化合物に対して解毒作用ありや否やを検討した。

(i) チオ硫酸ソーダ

R. Hunt¹²⁾の方法に従い、10%Na₂S₂O₃をマウス 1 頭につき腹側皮下に 0.5cc ずつ注射しおき、10 分後に一定量の有機ロダン化合物を背部に皮下注射し死亡率を低下せしめるか否かを検討した。第 6 表(a)の如くロダン醋酸エチル、ロダンエチル、ロダンベンゼン中毒では推計学上著しく有意の差として、ロダンベンゼール及びバラロダンデメチルアニリン中毒では有意の差としてチオ硫酸ソーダの効果を認める。ロダンチモールではチオ硫酸ソーダに依

TABLE VI-a Effect of Sodium Thiosulfate on Mortality of Mice Intoxicated by Chemicals Including Organic Thiocyanates

Chemicals	Injected dose(mg/10g)	Mortality (no. of dead/no. of total)	
		Non-Na ₂ S ₂ O ₃ -Group	Na ₂ S ₂ O ₃ -Group
Ethyl thiocanoacetate	0.4	LD 50	
	0.8		2/40
Ethyl thiocyanate	1.0	8/10	1/10
Phenyl thiocyanate	1.0	16/20	2/10
	2.0	9/10	10/10
Benzyl thiocyanate	2.0	12/12	7/12
Thymol thiocyanate	2.0	9/15	7/15
	2.5	10/10	10/10
p-thiocyano-dimethyl-aniline	2.0	8/10	3/10
Ethylmonochloroacetate	2.0	0/10	8/10
Ethyl iodide	10.0	4/10	1/10
Phenyl bromide	10.0	0/20	6/20
	20.0	4/10	5/10
Thymol chloride	5.0	0/10	9/10
	10.0	9/10	10/10
Sodium thiocyanate	2.0	1/12	1/12
	4.0	0/12	3/6
	6.0	9/10	10/10
Sodium sulfide	1.5	0/10	3/10
	2.0	4/10	9/10

つて死亡時間を延長されるに過ぎない。

然るに一般にこれら有機ロダン化合物の SCN をハロゲンにて置換すると、チオ硫酸ソーダ処理は却つて死亡率を高めることが示される。

(ii) 亜硝酸ソーダ

Sollmann & Hanzlik¹⁵⁾ に従い、1% NaNO₂ 水溶液を体重 1 kg 当り 2cc の割合に静脈内注射し、それと同時に乃至は前後して有機ロダン化合物を筋肉内に注射するに、結果は第 6 表 (b) の如くロダン醋酸エチルにもロダンベン

ゼンにも解毒的に働き死亡率を低める。

TABLE VI-b Effect of Sodium Nitrite on Mortality of Pigeons Intoxicated by Organic Thiocyanates

Chemicals	Injected dose(mg/kg)	Mortality (no. of dead/no. of total)	
		non-NaNO ₂ -group	NaNO ₂ group
Ethyl thiocanoacetate	10	0/1	
	20	1/2	
	30	4/4	0/4
Phenyl thiocyanate	20	0/1	1/2
	25	4/4	1/4
	30	1/1	

TABLE VII Decomposition of Organic and Inorganic Thiocyanates (in vitro, 38°C, stirred)

	Rabbit blood	Tyrode's Solution	Aqua dest.	Schönbein's reaction	Prussianblue reaction	AgNO ₃ reaction
Ethyl thiocanoacetate 0.1cc	65 g	100cc	—	††	††	††
	—	100cc	—	+	††	+
	—	—	100cc	-	-	-
Ethyl thiocyanate 0.5 cc	70 g	100 cc	—	††	+	††
	—	100 cc	—	+	+	+
	—	—	100 cc	-	-	-
Phenyl thiocyanate 0.5 cc	45 g	100 cc	—	††	+	††
	—	100 cc	—	+	-	+
	—	—	100 cc	-	-	(faint)
Benzyl thiocyanate 0.5 g	68 g	100 cc	—	††	+	+
	—	100 cc	—	+	-	+
	—	—	100 cc	-	-	(faint)
Thymol thiocyanate 0.5 g	95 g	100 cc	—	††	+	+
	—	100 cc	—	-	-	-
	—	—	100 cc	-	-	-
P-thiocyanodimethyl-aniline 0.5 g	109g	100 cc	—	+	-	+
	—	100 cc	—	-	-	(faint)
	—	—	100 cc	-	-	-
Sodium thiocyanate 0.5 g	56 g	100 cc	—	-	-	-
	—	100 cc	—	-	-	-
	—	—	100 cc	-	-	-

V. 有機ロダン化合物の分解

ラッテ臓器細片約 10g(数分)とロダン醋酸エチル 0.5g を *in vitro* で 38° 前後に 30 分間おき、之を CO₂ 気流中蒸溜に対し溜液について胃酸特有といわれるベルリン青反応を試みるに肝、肺、脳、血液は何れも陽性で、腎及び対照(附加臓器なし)では共に陰性であった。

ベルリン青陽性の結果を得た諸臓器の共通成分たる血液 50g 前後(家兔)と今度は諸種有機ロダン化合物との反応をみた。38°C に 1 時間充分攪拌(モーターによる)させる。発泡を避けるため 0.2~0.4g 程度の cetyl alcohol を加えた上、C₂O 気流中 50°~60° で蒸溜し、周囲から氷にて冷却した蒸溜水にて受ける。その結果は第 7 表に示す通りで、ベルリン青反応はパラロダンヂメチルアニリンを除き何れも陽性となり、他の青酸反応 Schönbein 反応、

TABLE VIII Decomposition Rate of Organic and Inorganic Thiocyanates (38°, 1 hour)

Chemicals 0.02~0.03g	Blood(rabbit) 40~80 g	Tyrode's solution	Aqua dest.
Ethyl thiocanoacetate	77.1%	18.1%	8.2 %
Ethyl thiocyanate	28.6%	2.1%	1.3 %
Phenyl thiocyanate	31.0%	5.9%	3.3 %
Benzyl thiocyanate	30.4%	3.4%	3.6 %
Thymol thiocyanate	9.3%	0	0
p-thiocyano-dimethyl-aniline	0	0	0
Sodium thiocyanate	0	0	0

AgNO₃ 反応は何れの場合も陽性であった。対照のためこれら有機ロダン化合物自体について試みた所が、これら 3 種の青酸反応は何れも陰性であり、NaSCN は血液と作用させても矢張り陰性であった。有機ロダン化合物は血液の代りに Tyrode 液を用いても陽性となる場合もあつた。(第 7 表参照)

今、有機ロダン化合物 1 分子は青酸 1 分子を遊離するものと仮定して、0.02~0.03g を動物血液(兎、モルモット、ラッテ) 50g 程度と充分攪拌しつゝ、38° に 1 時間おき、遊離ガスによる AgNO₃ 消費量を定量(NH₄SCN により逆測)するとロダン醋酸エチルはその分解率約 80%、ロダンエチル、ロダンベンゼン、ロダンベンヂールは何れも 30% 程度、ロダンチモールは大体 10% である。血液の働きを取除いた測定操作自体に基づき薬物の分解率は何れの有機ロダン化合物でも血液を用いた場合の 1/10 程度に止まることは第 8 表の示す通りである。

尙お定置実験にあたり血液を使う場合 AgNO₃ 溶液に黒色微粒を微かに生ずることがあり、またロダン醋酸エチルに限り醋酸踏紙を褐色に着色せしめたことにより、有機ロダン化合物は青酸のほか硫化水素(?)を出すのではないかと考えられる。然し硫化ソーダの実験では以上の操作により 95% 以上は分解されてしまうから、仮令そのようなことがあつても以上の定置操作には影響はないと思う。又、NaCN は以上の操作により分解されても 20~30% 程度である。

(附) NaSCN 及び Na₂S

(NaSCN) 市販品は非常に湿気を帯びているばかりでなく極めて不純でもあるので再結晶した上で用いた。

青酸や有機ロダン化合物に比すれば症状の発現は遅く強直性麻痺の様相があり運動は極めて不恰好で遅鈍、音響刺激等ではますます硬ばつて来る。マウスに対する毒性も第 2 表に見る如く皮下及び腹腔内注射で LD₅₀ は共に約 50 mg pro 10g で青酸に対するモル致死量比は夫々 55 及び 64 であつて、一般に考えられている通り可なり無害であり、チオ硫酸ソーダ処理は解毒的に働かないのみか、却て有害である点でも青酸とは異なる(第 6 表参照)。

膵所¹⁰⁾の犬での研究では NaCN と Na₂S とは呼吸、血圧に対して相似た変化を与えるに対し、両者を組合わせた形の NaSCN は全く異りほとんど無害で 10~50 mg pro kg(静注)を用いてはじめて作用がある。それも最初に血圧は下降し後に上昇するが、呼吸は血圧下降時に僅かに増大し、血圧上昇時に軽い抑制があり、NaSCN が NaCN や Na₂S と異なることは明白であるという。

(Na₂S) 硫化水素中毒の外見的症狀は極めて青酸に類似する¹¹⁾のみならず呼吸、血圧に対する影響も青酸と同様性

質である。然し第 2 表に示す如く毒力は青酸に対してモル致死量比が皮下 22, 腹腔内 13 で問題でなく、またチオ硫酸ソーダ処理は硫化水素中毒には有害であること(第 6 表)を考慮すれば、若し有機ロダン化合物が生体内で HCN と H₂S の両方を放つとしても、有機ロダン化合物の毒作用は青酸に帰しても事実上差支ない。

[總括及び考察]

薬理学や毒物学の立場から見て、これら有機ロダン化合物は次のように青酸と近似した性質を持つている。

- (1) 有機ロダン化合物の外見的中毒症状は青酸と酷似するばかりでなく、モル致死量は著しく近接するものがある上、一般的に言つて死亡するまでの時間に大差はない。
- (2) 呼吸に対する影響を血圧変動と共に検討してみても有機ロダン化合物は青酸と同一性質であるのみならず、数量的に考えても一時的呼吸停止を来す量が青酸と同一モル数であるのがかなりある。
- (3) 症状の上では興奮期であつても動物体の酸素消費量は著しく減少し、炭酸ガス排泄量も之に伴うという青酸の顕著な性質を有機ロダン化合物も矢張り持つている。而して量的にもモルで表わすと可なり青酸に近いものがある。
- (4) 青酸解毒剤として知られているチオ硫酸ソーダや亜硝酸ソーダは共に有機ロダン化合物に対して解毒作用を有する。

無機ロダン化合物や有機ハロゲン化合物に対しては動物体が之とは異つた反応を示すことは既に述べた通りである。尙お著者は *in vitro* で血液を有機ロダン化合物と作用せしめた。するとベルリン青等の青酸反応を呈する物質を生ぜしめることから、此の際有機ロダン化合物は青酸に分解するものと判断される。而して、その分解される割合も決して極めて僅かでないことを証明した。

既に Reid Hunt⁷⁾ は多数のニトリル (RCN) の作用は青酸作用に帰すべきものと考えたが著者の以上の実験成績よりして有機ロダン化合物の毒作用は青酸作用であり、これはこれら化合物が体内に於て青酸を遊離するためであると見做し得る。しかしその遊離の速度には差異が見出される。有機ロダン化合物が生体内分解を遂げるとき青酸と同時に硫化水素を発生するかも知れないが、後者は前者の強烈な作用に比して實際上問題とはならないことが解つた。

関根⁸⁾ はロダン醋酸エチルそれ自体がチトクローム系呼吸酵素を犯すことを指摘している。

尙お、平出¹³⁾ がチオ硫酸ソーダは有機ハロゲン化合物に対し解毒作用ありとしていることは著者の実験成績、第 6 表 (a) とは相反するが、彼の実験成績¹⁴⁾ でチオ硫酸ソーダにより実際に死亡率低下を来したのは As や CN を含む場合に限つていることを指摘したい。

結 論

ロダン醋酸エチル、ロダンエチル、ロダンベンゼン、ロダンベンゼン、ロダンチモール及びパラロダンヂメチルアエリルの 6 種の有機ロダン化合物を薬理学並に毒物学の立場から研究した。これら有機ロダン化合物は外見症状はもとより中毒時の呼吸運動、血圧変動、酸素消費量更には解毒に関して青酸同様の性質をもつているばかりでなく、数量的(モル)にも可なり青酸に近接した働きをもつている。而して *in vitro* で血液等と作用した結果、青酸反応陽性となるのみならず、分解率も決して僅少に止まらないことを示した。

以上の観点から有機ロダン化合物の毒物作用は体内に於ける青酸遊離によるのであると考える。

終りに臨み、終始御懇篤なる御指導を賜り且つ御校閲の労を執られた恩師東京大学医学部薬理学教室小林教授に対して衷心より感謝の意を表する。尙お実験材料を製造下された国立衛生試験所板井薬学博士に深謝する。

引 用 文 献

- 1) 森木博太郎：日本薬物学雑誌，22 卷，157 頁（昭 11）
- 2) G. Traubmann：Arch. f. exp. Path. u. Pharmacol. 150, 257 (1930)
- 3) W. F. von Oettingen； W. C. Huper & W. Deichmann-Gruebler：J. Industr. Hyg. 18, 311 (1936)
- 4) G. R. Cameron； C. R. Doningen & A. W. McKenny Hughes：J. Path. & Bact. 49, 304 (1939)
- 5) 大橋茂，君塚通雄：醤油の防黴剤ロダン醋酸エチルエステルへの衛生上の害否に関する調査報告(昭 22 未印刷)
- 6) T. Sollman：A Manual of Pharmacology VI Edition p. 987
- 7) R. Hunt：Heffters Handbuch I. Bd. s. 812.

- 8) 小林芳人：藥理学実習講義 5 版 p. 19 (南江堂)
- 9) J. Geppert : Zeitschr. f. kl. Med. 15, 208,307 (1888)
- 10) Chen, Rose & Crows : Am. J.M. Sc. 188, 767 (1934)
- 11) Hanzlik & Richardson : J.A.M.A. 102, 1740 (1934)
- 12) R. Hunt : Arch. inter. de pharmacodyn. et de thérap 12, 449 (1904)
- 13) 平出順吉郎：厚生科学, 6 卷 1-2 号
- 14) 平出順吉郎, 安井義之：医学總攬 1 卷, 6 号 (昭 20)
- 15) Sollmann & Hanzlik : Fundamentals of Experimental Pharmacology (1939) p. 198
- 16) 膳所正大：日本薬物学雑誌 33 卷 201 頁 (昭 16)
- 17) J. Pohl : Heffters Handbuch III. Bd. S. 433
- 18) 関根隆光：日本生化学会関東部会 (昭 23, 9 未印刷)
- 19) 沼尻幸吉：労働科学 23 卷 4 号

Pharmacological Studies of Some Organic Thiocyanates

YASUO YOKOI

Department of Pharmacology, Faculty of Medicine University of Tokyo and
National Hygienic Laboratory (of Japan.)

Six organic thiocyanates, ethyl-, phenyl-, benzyl-, thymol-thiocyanate, ethylthiocyanoacetate, and para-thiocyanodimethylaniline were studied with regard to their pharmacological and toxicological actions. The toxic symptoms of organic thiocyanates which were observed in animals bore a great likeness with those of cyanides. The LD_{50} of cyanides and some of the organic thiocyanates were almost equimolecular, especially when administered intraperitoneally, and also there was no wide difference between them in the time required to kill the animals. The kymographic tracings of respiratory movement and blood pressure under the intravenous administration of most of these organic thiocyanates were almost alike to those of the cyanides: they caused temporary cessation of respiratory movement with 0.02 mM per kilogram. When some organic thiocyanates administered subcutaneously, the oxygen consumption of rabbits showed marked decrease even in the stage of convulsions. This phenomenon occurred similarly with KCN, the dosage of which was 0.07 mM per kilogram and coincided with the calculated number of three kinds of these organic compounds.

Antidotes for cyanide poisoning, sodium thiosulfate and sodium nitrite protected successfully mice and pigeons from death in spite of the lethal doses of organic thiocyanates. Furthermore, it was identified chemically by prussianblue-, Schönbein's and $AgNO_3$ -reaction, that hydrocyanic acid was liberated to some extent from all the organic thiocyanates except para-thiocyanodimethylaniline, when 0.1-0.5 Gm of these compounds were mixed with 50 Gm of animal blood diluted with Tyrode's solution and stirred for one hour at 37°C. The results obtained here have led me to the assumption that there must be the liberation of hydrocyanic acid from organic thiocyanates in the body, to which the toxic actions of those compounds should be attributed.

浜名湖産貝類の毒成分に関する研究(第 1 報)

八田貞義, 板井孝信, 宮本晴夫

Studies on Lake Hamana Oyster and other Shellfish for Poisonous Substances.

Sadayoshi HATTA, Takanobu ITAI, and Haruo MIYAMOTO

I. ま え が き

昭和 24 年 3 月下旬に静岡県の浜名湖畔の舞阪町と新居町にアサリ及びカキ中毒事件が発生した。静岡県当局の報告によるとアサリ中毒患者は舞阪町に 60 名(内死亡者 2 名), 篠原村 2 名(内死亡者 1 名), 新居町 5 名(内死亡者 1 名) 計 67 名であつて, その中 4 名は死亡した。カキ中毒患者は新居町の 36 名で, その中 3 名の死亡者を出した。

当地方は昭和 17 年 3 月下旬にアサリの集団食中毒によつて総数 334 名の患者と 114 名の死亡者を, 翌 18 年 3 月新居町に 18 名のカキ中毒患者と 6 名の死亡者を出す惨事を惹起して居る。当時当試験所の松尾, 秋葉, 服部等の諸氏によりその本態についての詳細な研究が行われ, 又著者の 1 人八田も伝染病研究所に於てこの事件の細菌学的方面の研究に専念したが, まだ中毒物質の本態については緒論にも到達しなかつた。

今回 3 度目の中毒事件が発生するや, 著者等は現場に急行してその発生状況や臨床所見, 気候, 環境等の調査を行い, 更にアサリ及びカキを採取して持帰りその毒性物質の本態について研究を開始した。本年も亦貝類が毒性を呈する事を知り, 現地では貝類を採集して帰り其毒力を測定した。此研究に就ては厚生省に貝類中毒対策委員会(委員長秋葉朝一郎東大教授)が設けられ, 各方面の委員を集めて研究中であり著者等もその一員になつている。

II. 臨 床 所 見

現場の調査に関しては浜松保健所長館野²⁾ 静岡県薬務課長佐野³⁾等の詳細な報告があるから, 吾々の今後の研究上必要となつて来る臨床所見の要点だけを簡潔に述べると, 食物摂取後発病までは 12 時間を最短とし概ね 24~48 時間で中には 1 週間後になつて発病するものもある。初期症状としては悪感, 頭痛, 頭重, 全身倦怠, 悪心, 嘔吐, 風邪気味, 食欲不振, 等を訴えるが, 何といつても必発症状は皮膚出血であつて軽症の場合にはこれが唯一の症状である場合もある。ついで歯齦出血, 創血, 肝腫脹, 肝疼痛を認め, 重症例では出血性素質が強くなり, 注射部位, 摩擦部位に溢血, 出血が起り, 血便, 粘膜出血, 吐血等を呈するようになる。

治療法としては安静を保ち, ブドウ糖, 果糖, 食塩水の注射, 輸血等の一般的対症療法によるほか, ビタミン C, K, P の大量投与が著効のあつたという事実は注目すべき興味あることと思われた。

III. 貝類の毒力測定及抽出実験

(1) 昭和 24 年 3 月 21 日採集の貝類の殻及び足部を除去し, 内臓部分を乳鉢ですりつぶし, 約 2 倍のメタノールを加えて 1 時間 60° の水浴中で温浸後吸引濾過し約 100cc のメタノールで洗滌し, 浸液, 洗液を合して 60° の水浴中で減圧乾燥したものを蒸留水で稀釈して検液とした。

貝種類	採集地	肝重量 (g)	メタノール (cc)	検液 (cc)	致死量	
					(cc)	(mg)
あ さ り	八 兵 衛 瀬	195	390	280	0.1	70
"	大 瀬 西 南	171	—	—	—	—
"	第三鉄橋梁瀬	257	714	50	0.1	541
か き	鉄 橋	231	460	32	0.1	72
"	三 号	270	540	40	0.01	67
"	塩 田	269	538	43	0.1	626
"	造 船	283	566	50	0.01	56

(2) 昭和 24 年 4 月 2 日採集のアサリを 4 月 8 日、肝のみを分離し約 3~4 倍量のメタノールを加え 1 時間温浸後吸引濾過し抽出したメタノールと等容のメタノールで洗滌後減圧、又は常圧に空気を吹きつけ乍ら、乾燥後減圧除湿器中に 1 夜放置して秤量し肝 1g が 1 cc になるように蒸留水で稀釈して検液とした。

採集地	重肝量 (g)	メタノール (cc)	シロップ (g)	検液 (cc)	致死量	
					(cc)	(mg)
塩田	2.0	5.0	0.27	2.0	毒性なし	
いかり瀬	3.0	10.0	0.52	3.0	0.1	100
八兵衛瀬	2.5	12.0	0.32	2.5	0.1	100

(3) 昭和 24 年 4 月 2 日採集カキの毒成分抽出：— 採集後現地で剥身とし輸送し 4 月 5 日缺で外皮と共に肝を切り取り、略等容のメタノールを加えて常温に貯蔵し漸次処理した。

肝固形部は肉挽器で細磨し液と合し肝 g 数の 5 倍 cc 数メタノールを加えて 1 時間煮沸還流し、冷後吸引濾過し約 500~1,000 cc のメタノールで洗滌する。此処に得た溶液を数部に分ち大部分のメタノールを沸騰水浴中に加温溜去し(1 回の所要時間約 40 分)後減圧濃縮後エーテルと振盪抽出し(大体 4~5 回で殆ど着色しなくなる)水溶液を 60° の浴で減圧乾燥し 1 夜以上減圧除湿器中に放置後秤量した。之を蒸留水で稀釈し吸引濾過して検液とした。この検液は一般に赤褐色透明の液である。アンプルにつめ滅菌して貯蔵した。

エーテル抽出液は焼芒硝で乾燥後エーテルを溜去し秤量した。

No.	採集地	肝重量	メタノール (cc)	エーテル抽出物 (g)	水抽出物 (g)	検液 (cc)	水抽出物の致死量	
							(cc)	(mg)
1	いかり瀬西	全肉	5,000	9.6	57.5	200	0.1	28
2	"	7,100g 以上の	2,250	9.2	68.5	200	0.1	27.9
3	"	肝	3,000	11.0	78.0	200	0.1	39.0
4	"	(目力不明)	7,000	29.9	119.0	200	0.1	60

No.	採集地	肝重量 (g)	メタノール (cc)	エーテル抽出物 (g)	水抽出物 (g)	検液 (cc)	致死量		
							(cc)	肝(mg)	水抽出物 (mg)
5	新場	560	3,250	—	66	220	0.1	255	30
6	"	750	2,800	—	65.5	200	0.1	375	32
7	"	555	2,750	—	69	200	0.02	278	7

以上の検体を原液として、これから種々の濃度の稀釈液を作りマウスの腹腔内に注射した。(稀釈には生理食塩水を用い注射前 60°30 分間蒸気殺菌を行った)。

特異性毒含有抽出物液を注射されたマウスは注射後短時間内に興奮、痙攣、四肢麻痺等の症状を呈せず、大体注射後 1~2 日後から斃死し始め 1 週間以内に大多数が斃死するから、この毒素の本体は神経毒ではなく臓器毒であることが推定出来る。この成績を示すと次の如くなる。

体重 13g 前後のマウスに対する最小致死量は腹腔内注射により 0.01~0.1 cc であり肝重量で示せば大体 56~100 mg の間である。いかり瀬のアサリ及びカキ、八兵衛瀬のアサリ、新場のカキはこの程度の量で 2~3 日後に斃死したが、塩田のアサリは 0.3 cc の投与で全部生存した。之は肝 mg 数に換算して見ればなおつきりする。

斃死したマウスは肉眼的にはすべて典型的な肝の黄変と点状出血を認めた。この他に皮下出血、肺の充血及び小腸の出血点及び暗黒色の血液の存在等を認めたものもあつた。(病理組織の標本は、伝染病研究所 草野技官、当所池田技官によつて作成されたので別途報告される筈である)。マウスの剖屍、斃死までの日数、毒物の有機溶媒に対する態度等よりして今回の毒物は昭和 17, 18 年の中毒事件のそれと同一物質なりと推定されるが、比較的毒力が低下しているものゝ如く(昭和 17 年の最小致死量は 0.025 cc)又今回はアサリよりカキの方が強いように思われた。

なおエーテル抽出物には全然中毒物質を認めなかつた。

{ 秋葉、服部両氏の指摘しているように肝又は貝の体組織には水分等多く肝としての毒力を表わす場合充分の注意が肝要である。 }

(4) 昭和 25 年 3 月 17 日いかり瀬西のアサリ及びカキを採集、剥身とし加熱して固化せしめて肝を分離し低温乾燥後滅菌除湿器中に貯えた。之をメタノールで前述のように抽出し検液を作つて 10g のマウスに対して試験した。その結果最小致死量はアサリは肝 50mg まで 90~120 時間に死亡し肉眼的に肝の黄変著明であり、25mg の場合は死亡したが病変は明かではなかつた。他方カキは肝 25mg まで 90~120 時間で死亡、何れも肝の黄変が著明でカキの方が毒力が強かつた。

其外症状として不活潑、食欲不振、後肢の麻痺を起したものがある。

病理学的検査は池田技官に依頼し標本も作成中である。大体を述べれば肝細胞の膨化、核の Pyknose, Nekrose があり所により脂肪変性が見られた。然し一般に昨年ものものに比し軽微で急性萎縮に至っていない。

IV. コロヂオン膜による透析

(a) 新場カキ抽出液 (前表 No.5, 毒力 0.1cc, 水抽出物 30mg に相当) を滅菌アンプル中より 5cc を取り、コロヂオン膜袋 (局方コロヂオン液より自製) に入れ常温 (15~20°) 外液 35cc の蒸溜水に浸し透析する。1 日毎に水を変えるとして初めは赤褐色物質を透析して 3~4 回で殆ど無色となる。終頃袋の内外に糸状のかびを生じた。内外液を別々に吸引し過後 55° の浴で滅菌乾燥する。外液より赤褐色結状物質 1.45g を蒸溜水に溶かし 4.0cc とし、内液より褐色樹脂様物質 0.01g を得蒸溜水に溶かして 1.5cc とし検体とした。

前述と同様のマウスの動物試験を行い、外液の部分に毒性を認め、内液には毒性が認められないようであつた (0.2cc 宛注射)。注射時に於ては興奮、痙攣、四肢麻痺等の神経症状は何等認められず、注射当日に斃死した 3 匹中 1 匹は何等特異症状を呈しなかつたが、後の 2 匹に肝変化を認め、1 匹は褐色を、1 匹は点状出血をあらわした。然しこれらは従来 2~3 日後に斃死したマウス程には著明ではなかつた。1 日後 30 倍稀釈液注射のマウスも全部斃死し、肝黄変、点状出血の典型的な所見をあらわし、皮下出血、肺充血、肺出血も認められた (病理標本は池田技官に依頼)。

結局外液の結状物質の最小致死量は 2.7mg である。

(b) 同じ抽出液 25cc を予め滅菌したメスシリンダー、容器を用いて同上のように透析する。液面にはキシロールを 1cm 以上加えて置く。この事により実験終了までカビは発生しなかつた。

この外液より 7.5g の赤褐色結状物質を得、蒸溜水で 22cc とし検液とした。10 倍稀釈液 0.2cc の注射が最小致死量であつたから結状物質 6.8mg に相当する。この動物試験でも特異症状を現して斃死した。此回も内液には毒性が認められなかつた。

内液の毒性を確めるべく更にコロヂオン膜に入れ外液に絶えず水道水を注加しつゝ 1 週間透析して見たが此際にも全く毒がなかつたので毒性物質は全部透析されるものと考えた。

この (a) (b) に於ける最小致死量 2.7mg, 6.8mg の差はカビの発生によるか又は時日の経過によるかは未だ確めていない。

(c) 特に毒成分の透析速度

No.6 のかき肝抽出液 20cc をコロヂオン膜に入れ、予め滅菌した容器、Xylol を用い透析する。外液は約 150cc で毎日取換え滅菌 60° で濃縮乾燥する。第 1 回乾燥残渣 5.7g を 15cc の水溶液とし 0.2cc をマウスの腹腔内に注射する。最小致死量 7.6mg, 第 2 回乾燥残渣 1.4g を 5cc とする。最小致死量 28mg, 第 3 回 10 日後外液をとり 0.5g の残渣、更に 5 日後外液より 0.1g の物質を得た。之を合して 2.5cc の液とする。最小致死量 24mg で有毒物質は早く透析されることを知つた。この時の内液でもマウスは死亡せず。

V. クロマトグラフによる分離

No.5 抽出液をコロヂオン膜による透析に付しその外液を濃縮滅菌したもの (蒸発残渣 2.4mg が最小致死量) 3.0cc を 10cc の蒸溜水で稀釈しアルカリで pH 5.2 とする。この液を活性アルミナ柱 ($\phi=1$ cm, $l=16$ cm. 予め pH 5.2 の水で濡らす) を常圧で流下させると最上部約 4cm は黒褐色に着色、落下液は淡黄色である。更に 4 倍容の水で展開する。落下液、展開の時の落下液、アルミナ柱の無色部に水を加えバレット水で pH 9.2~9.6 として抽出

し硫酸で中和し過した液を濃縮したものは無毒、アルミナの着色部をとりバレット及び流液で処理して取出した液を減圧濃縮した残渣は 0.05 g 以下で 1.5 cc の水溶液とし動物試験した。最小致死量 0.22 mg.

クロマトグラムの黒褐色部分は僅かに脱色されるのみで大部分は残っている。

この分離操作に於て硫酸バリウムに有毒物質が吸着されることがわかつたので(後述)アルミナより有毒物質をはなす為にピリジン、アンモニア水を用いて見た。後者の場合がよいようである。

VI. 吸着による損失について

アサリ毒は pH 9 位のアルカリに常温で余り長くない時間放置された場合殆ど破壊されないことは秋葉、服部両氏の指摘された所である。然るに上記クロマトグラフに用いた抽出液と同一物(蒸発残渣の最小致死量 2.4 mg) 1cc を蒸留水約 30 cc で稀釈し飽和バレット水約 2.0 cc を加え pH>9.6 とすれば色淡く濁る。1 時間以内に 20% 硫酸で pH 7.0 とし硫酸バリウムを濾去すると液は初めの赤褐色から黄褐色になる。之を減圧濃縮し 1.2 cc として動物試験に付した。蒸発残渣 35.6 mg が最小致死量。

又検液は同上のものを 0.9 cc を水 24 cc で稀釈(pH 4.2)珪藻土 0.5 g を加え時々振盪し約 1 時間放置後濾過水洗し減圧濃縮して 0.9 cc とする。此最小致死量(蒸発残渣として) 7.1 mg.

これらの実験より見ると有毒物質は吸着され易いものである。ゆえに服部氏が重金属塩を経て精製すると無毒化されると報告されている事は吸着による損失を考えに入れなければいけないような気がする。

VII. 結 論

(1) 昭和 24, 25 年 3 月に採集した浜名湖いかり瀬西, 新場, 八兵衛瀬のアサリ, カキは有毒化して居り, その毒物質は昭和 17, 18 年春に起つた中毒事件の原因となつた毒物質と同じものと認められる。然しその毒力は幾分弱いようである。

(2) カキよりメタノールで毒物質を抽出し, エーテルに溶けるものを除去し, 水溶液として滅菌貯蔵したものにつき分離を行つた。毒物質はコロジオン膜を全部透析し, 且透析は容易である。

(3) アルミナ層によるクロマトグラフでは pH=5.2 で上層に吸着され, アルカリ性ではなれる。之で毒力は 0.22 mg(マウスの最小致死量)までになつた。毒物質は吸着され易いものである。

此研究は尙続行中である。此先は他日報告の心組である。(昭和 25 年 10 月)

Studies on Lake Hamana Oyster and other Shellfish for Poisonous Substances.

Sadayoshi HATTA, Takanobu ITAI, and Haruo MIYAMOTO

In the latter part of March 1949 poisoning by pullet and oyster has broken out in Maisaka and Arai-machi on the Hamana lakeside. The number of patients by pullet were 60 in Maisaka-machi (2 cases dead), 2 in Shinohara-mura (1 case dead) and 5 in Arai-machi (1 case dead), 67 in total (4 cases dead), patients by oyster were 36 in Arai-machi (3 cases dead). In this district 334 cases of pullet poisoning occurred in the latter part of March 1942, and in the same month 1943 18 cases of oyster poisoning broke out.

Against these 3 successive accidents a counter-plan committee was set up in the Ministry of Welfare (the chairman Tomoichirō Akiba, prof. of Tokyo Univ.), and the authors have taken up as the members of the committee the study of the nature of their toxicities.

This toxin is detected in the liver of pullet and oyster, soluble in water and methanol, heat-stable, and causes hemorrhagy, dystrophy and fatty degeneration of liver, the M.L.D. against mice (10 g in weight) about 50-100 mg of liver of pullet or oyster.

The toxin passes through collodion-membrane, adsorbed in the upper part by alumina-chromatograph, as the results of these the toxin concentrated to 0.22 mg M.L.D.

These investigations are now still in progress.

ニトロフラゾンの抗菌作用についての研究

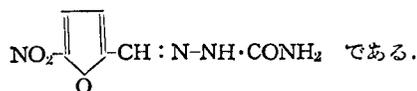
八田貞義 青山好作 丹治園枝

Experimental Studies on the Antibacterial Action of Nitrofurazone-derivatives.

Sadayoshi HATTA Kosaku AOYAMA Sonoe TANJI

I. ま え が き

1941年米国のEaton研究所のDodd及Stillman¹⁻³⁾は多数のフラン誘導体について研究を行い、グラム陽性菌及び陰性菌の両菌、特に後者に顕著な効力を有し比較的毒性の少ない数種の化合物を発見した。その一化合物はニトロフラゾン即ち5-nitro-2-furfuraldehyde-Semicarbazone⁴⁻⁷⁾(Furacin)



著者等はこの国内生産品である「フラスキ」について2,3の実験を行つたので報告する。

II. 試験管内抗菌力試験⁹⁾

1. 合成培地に於ける抗菌力

鼠チフス菌(S 9), 赤痢菌(KB III), 大腸菌(Coli communis), 黄色ブドウ球菌(FDA 209 P), 結核菌(Frankfurt) トリコフィトン(Try. purpureum, Try. gypseum) に対して次の組成の合成培地を用いた。

Composition of Synthetic Media

S. typhi murium (S. 9)		S. dysenteriae (KBIII)		E. coli communis	
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.5 g	Asparagine	0.05 g	KH ₂ PO ₄	0.5 g
NaCl	0.05	Tryptophane	0.05	NH ₄ Cl	0.05
K ₂ HPO ₄	0.2	Cystine	0.01	(NH ₄) ₂ SO ₄	0.05
Dextrose	0.1	K ₂ HPO ₄	0.1	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.001
Distilled water 100cc, pH 7.0		Mg SO ₄ ·7H ₂ O	0.01	FeSO ₄ ·7H ₂ O	0.001
		NaCl	0.5	Dextrose	0.1
		Dextrose	0.1	Distilled water 100cc pH 7.0	
		Nicotinic acid	10 ⁻⁴ M		
		Distilled water 100 cc, pH7.0			
S. aureus (F.D.A 209 P)		M. tuberculosis, Typus humanus (Frankfurt)		Trycophyton	
Casamino acid	1.0g	Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O	3.0g	Asparagine	1.0 g
Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O	2.5	KH ₂ PO ₄	4.0	K ₂ HPO ₄	0.5
KH ₂ PO ₄	0.35	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.6	KH ₂ PO ₄	0.5
Tryptophane	0.02	Sod. citrat	2.5	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.25
Cystine	0.05	Asparagine	5.0	Dextrose	40.0
Dextrose	1.0	Glycerin	20.0	Distilled water 1000cc pH6.0	
Nicotinic acid	10 ⁻⁴ M	Distilled water	1000.cc		
Vitamin B ₂	10 ⁻⁴ M	Serum	10% pH 7.0		
Distilled water 1000cc pH7.2					

培地の液性はすべて pH7.2 に修正し検体の所要濃度液を加えて 1,2,4,6,8,10 万倍液……を調製し、これを 10cc 宛試験管に分注した。次でこれへ前段記載の各培地にそれぞれ三代以上継代培養した供試菌（トリコフィトンを除く。また結核菌は 7 日間培養）を更に生理食塩水で 1 万倍に稀釈（結核菌は 10 倍稀釈）したものを 0.1 cc 宛移植した。トリコフィトンは Cz-Dox 斜面寒天培地に培養したものの一白金耳量をもつて移植菌量とした。培養温度は 37°C。観察時間は 168 時間とした。なお 24 時間目に完全増殖阻止の試験管より一白金耳量を普通培地に移植培養し、菌の増殖を認めない最低濃度を以て殺菌濃度とした。成績は第 1 表に示した。

Table 1. Anti-bacterial power in synthetic media.

Strains.	Bacteriostatic.	Bactericidal.
<i>S. typhi</i> murium. (S.9)	1 : 300,000	1 : 300,000
<i>S. dysenteriae</i> . (KBIII)	1 : 300,000	1 : 300,000
<i>S. aureus</i> . (FDA 209P)	1 : 300,000	1 : 300,000
<i>E. coli</i> communis.	1 : 500,000	1 : 500,000
<i>M. tuberculosis</i> Typus humanus. Frankfurt.	<1 : 5,000	
<i>M. tuberculosis</i> Typus gallinaceus. Flaming	<1 : 5,000	
<i>Try. purpureum</i> .	<1 : 5,000	
<i>Try. gypseum</i> .	<1 : 5,00	

Table 2. Antibacterial power in broth.

Strains.		Bacteriostatic	Bactericidal	
Aerobes	Gram negative	<i>S. paratyphi</i> A (S.1)	1 : 60,000	1 : 40,000
		<i>S. paratyphi</i> B (Java)	1 : 40,000	1 : 20,000
		<i>S. typhi</i> (S.58)	1 : 40,000	1 : 20,000
		<i>S. typhi</i> murium (S.9)	1 : 30,000	1 : 30,000
		<i>S. enteritidis</i> (S.64)	1 : 40,000	
		<i>S. dysenteriae</i> (Shiga)	1 : 20,000	1 : 20,000
		" " (KBIII)	1 : 80,000	1 : 80,000
		" " (Mita)	1 : 40,000	
		<i>E. coli</i> communis.	1 : 40,000	1 : 20,000
	<i>Aerobacter aerogenes</i> .	1 : 10,000	1 : 10,000	
	Gram positive	<i>S. aureus</i> . (FDA 209P)	1 : 40,000	1 : 20,000
		" " (Terashima)	1 : 40,000	1 : 20,000
		<i>M. tetragenus</i> (G.4)	1 : 40,000	
		<i>B. subtilis</i> (G.66)	1 : 200,000	
		<i>Pneumococcus</i> Type I.	1 : 200,000	

4. 血液血清の抗菌力に及ぼす影響

フラスキンについて血液及び血清との拮抗を大腸菌を供試菌として合成培地について行つた。即ち合成培地に血液又は血清を各 2% 或は 10% 濃度となるように加えておき、之に所定量の菌量を移植して培養観察した。72 時間判定時の成績は第 4 表に示した。

5. パラアミノ安息香酸との拮抗

フラスキンとパラアミノ安息香酸との拮抗を大腸菌を供試菌とし合成培地について行つた。即ち菌の増殖を阻止するフラスキンの最高稀釈濃度液にパラアミノ安息香酸を 10^{-3} モル $\sim 10^{-8}$ モル濃度となるように加えて行つた。この成績は第 5 表に示す如くフラスキンの抗菌力はパラアミノ安息香酸によつて拮抗されない事を知つた。

Table 5 Antagonistic effect to PABA

Furaskin dilution ($\times 10^4$)	Mol concentration						Contrast
	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	
30	-	-	-	-	-	-	-
40	-	-	-	-	-	-	-
50	-	-	-	-	-	-	-
60	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

6. カップ法による浸透抗菌力

1) 血液血清に依る影響

普通寒天培地(血液又は血清を 10% の割合に加えたもの或は加えないもの) 20 cc. をシャーレに注いで固め、次いでその上に予め普通寒天培地(血液又は血清を 10% の割合に加えたもの、或は加えないもの) 50 cc に黄色葡萄球菌(FDA 209P) 18 時間ブイヨン培養液 0.5 cc を混和してつくつた、菌含有寒天培地の 4 cc を注加重層して凝固させ、この寒天上に更にペニシリン検定用のカップを直立させ、カップ中にフラスキンの所定濃度液を注加して完了し、37°C 24 時間培養して浸透抗菌力を検した(第 6 表参照)。

培地に 10% の割合に血液又は血清を加えても菌発育阻止帯直径は加えない場合と比較して実験値に大差を認めなかつた。

Table 6 Permeative antibacterial power

Dilution	Blood	Serum	Contrast
1.000	28 mm	17 mm	17 mm
5.000	19	19	20
10.000	16	9	16
20.000	±	±	±
40.000	+	+	+

Table 7 Effect by the pH

pH	Blood	Serum	Contrast
6.0	18 mm	17 mm	17 mm
7.0	17	17	18
8.0	17	16	18
9.0	15	16	16

Note (+) Bacterial growth until round of cup
(±) no bacterial growth the only round of cup

2) pH による影響

フラスキン 0.02% 液の pH 値による影響を大腸菌 (Coli. communis) について 2% 寒天加合成培地の pH 値を 6.0, 7.0, 8.0, 9.0 に修正したものを各 pH 値の培地に血液血清を 10% の割合に加えたものと加えないものについて試験した。これが術式は I の場合と同じである。

即ち実験を行える pH 域では浸透抗菌力に顕著な変化を与えず又各 pH 域に血液又は血清を 10% の割合に加え

でも浸透抗菌力の減退はみられなかつた。

7. 光線に依る影響

フラスキンの 0.02% 液を褐色瓶及び無色瓶に入れて日光にさらし一定時間毎にこれより一定量をとつて普通ブイオンで倍數稀釈し、これに大腸菌の 18 時間ブイオン培養の白金耳量を移植培養して力価を検した。第 8 表に示す如く褐色瓶中のフラスキンは光線の作用 24 時間にて初めの力価の 1/2 に低下し、無色瓶中のフラスキン液は日光光線の 24 時間作用で初めの力価の 1/6 に 168 時間では 1/12 に低下した。

Table 8 Effect by the ray

Experimental bottle	Experimental-times					
	1	3	5	24	120	168
Amber colored bottle	6×10^4	6×10^4	6×10^4	3×10^4	3×10^4	3×10^4
Bottle	6×10^4	6×10^4	6×10^4	1×10^4	1×10^4	0.5×10^4
Contrast	6×10^4	6×10^4	6×10^4	6×10^4	6×10^4	6×10^4

8. 熱による影響

フラスキンの 0.02% を 100° に 30 分、1.5 時間、3 時間と各別に作用させて検体とし、これに前項記載の如き方法にて大腸菌を供試菌として試験を行つた。実験の結果は 100° 3 時間の加熱に及ぶもその抗菌性は安定であつた。

9. 耐酸耐アルカリ試験

フラスキンを pH 3.0, 4.0, 5.0, 8.0, 10.0, 11.0 の各緩衝液をもつて所定濃度に溶解稀釈し 37°C の孵卵器内で 1, 3, 5, 24 時間及び 92 時間と各種の時間に作用させたものにつき抗菌価の測定を行つた。第 9 表に示す如く作用時間までは酸及アルカリに対して安定であるが作用 24 時間に及ぶと pH 4.0 以下の酸性側及び pH 10.0 以上のアルカリ側に於て抗菌価は半減した。

Table 9. Effect by the acid and alkali

Action of times	pH					
	3.0	4.0	5.0	8.0	10.0	11.0
1	6×10^4					
3	6×10^4					
5	6×10^4					
24	3×10^4	3×10^4	3×10^4	6×10^4	3×10^4	3×10^4
96	3×10^4	3×10^4	6×10^4	6×10^4	3×10^4	3×10^4

10. フラスキンを撒布剤とした場合の抗菌力

1) 混釈抗菌力試験

B.T.B. ドリガルスキー寒天培地を第一管の中試験管には 20 cc. 以下の試験管には 10 cc 宛分注したものを 50° 附近の水浴槽中に保つて寒天培地の凝固を防ぎこの全管に大腸菌 (Coli communis) の 24 時間ブイオン培養液ビベット一滴量を加え、更に第一管に検体一瓦を加え、(結晶に換算して一万倍稀釈濃度) で充分混和した後この 10 cc を次の試験管に送り、以下同様の操作をとつて倍數稀釈を行つた。次で稀釈終了したものをから順次に氷水中にて直立凝固せしめた後、37° で 48 時間培養して抗菌力を検した。菌が発育した場合は培地は黄変し、且つガスにより亀裂を生じた。第 10 表に示す如く 0.1% の検体は時間では 80,000 倍 48 時間では 20,000 倍にて大腸菌の増殖を阻止した。対照としての基礎剤(タルク)には増殖の阻止力は全くみられない。

2) 浸透抗菌力試験

普通寒天培地 20 cc をシャーレに注いで固め、次いでその上に普通寒天培地 50 cc に 18 時間ブイオン培養菌 0.5

Table 10 Antibacterial power by the mixture

Incubation (hrs.)	Dilution × 10 ⁴					Contrast	
	1	2	4	8	16	Talc no ad-ded Fraskin	Midium
24	-	-	-	-	≡	≡	≡
48	-	-	≡	≡	≡		

cc を混和したもの、5 cc を注いで重層凝固させて試験用培地とした。この寒天面上に予め滅菌生理食塩水にて浸潤せしめた、直径約 1.1 cm の円形濾紙の片面に検体をなるべく平等に附着せしめてからこの反対面を寒天面と密着させて 37° に 48 時間培養して浸透抗菌力の有無を検した。

第 11 表に示す如く黄色葡萄球菌(寺島)では 2.5 cm 大腸菌 (Coli communis) では 2.1 cm 変形菌では 1.3 cm の完全菌増殖阻止帯が認められた。¹⁰⁻¹¹⁾ 対照として用いた基礎剤では濾紙周辺にまで菌の発育するのを認めた。

11. 審性試験及び病理所見

1. 毒性試験

試験方法は体重 10 瓦のマウスに対しアラビヤゴム液に混和せしめたフラスキンを胃ゾンデを以て胃内に投与した。試験成績は 12 表に示す如く体重約 10 瓦のマウスに対する経口投与方法による最小致死量は 5 mg 以下最大耐量は 4 mg である。

2. 病理所見

完全致死量(10 mg)投与にて斃死したマウスの病理学的所見は一般所見としては循環障害と変性性変化とである。

之を主要病変臓器別にみると肝臓及腎臓の上皮細胞の顆粒状滴状変性、空泡性変性及び脂肪変性である。又肝臓グリソン氏皮鞘には円形細胞浸潤を中等度に認めるものがある。なお肺臓に軽度ながら出血のみられるものがあつた。

12. 感染防禦実験

1) 鼠チフス菌に対する感染防禦実験

体重約 15 瓦前後のマウス十四を一群とせるものに鼠チフス菌(最小致死量は 2 × 10⁻³)に 2 M.L.D. を腹腔内に接種感染せしめ、之にフラスキンを一回に 0.5mg 宛午前と午後との二回 5 日間腹腔内注射した(第十三表参照)

対照に比較すると八日間の死期延長がみられ、その他に二匹が十日間以上生存した。

2) 肺炎双球菌 I 型に対する感染防禦実験

体重約 15 瓦前後のマウス 10 匹を一群とせるものに肺

Table 11. Permeative antibacterial power.

Strains	Erxperiment	Contrast
S. aureus. (Terashima)	2.5(cm)	+
E. Coli communis	2.1	+
B. Proteus vul-garis (O×19)	1.3	+

Table 12. Test of Toxicity for the mice.

Observati-onally day.	Given Dose.				
	3.0 (mg)	4.0	5.0	8.0	10.0
1	0	0	4	5	8
2	0	0	0	0	2
3	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0
death mice total	0/10	0/10	4/10	5/10	10/10
given mice total					

Table 13 Protection test against bacterial infection

Strains	Difference	Prolongation of weath time									
S. typhi murium (S9)	Experiment	2	2	2	7	7	9	9	10	○	○
	Contrast	1	1	1	1	1	2				
D. pneumoniae (Type I)	Experiment	1	1	1	1	1	2	2	3	3	4
	Experiment※	2	2	2	3	3	3	3			
	Contrast	1	1	2	2	2					

Total : ※ Injected swift after infection ● Death ○ Live

炎双球菌 I 型(最小致死量は 10^{10})の 1,000 M.L.D を腹腔内に接種感染せしめた後検体を 前回同様の方法で腹腔内注射を行った。このほか、菌接種後直ちに検体 0.5 mg を腹腔内注射、以後 1 日 2 回 5 日間腹腔内注射する方法をとつた。

検体は肺炎双球菌感染マウスの死期を対照に比し 2 日間延長させた。

む す び

ニトロフラゾン(邦製フラスキン)について各種細菌に対する抗菌力を検した結果、グラム陽性及び陰性菌に対し大部分は万単位の抗菌価を示し、この作用は阻止的よりもむしろ殺菌的であつた。フラスキンは菌数、血液、血清、P.A.B.A. 加熱等によつて力価は比較的影響されないが、光線或は酸及びアルカリには余り安定性を示さなかつた。この薬剤の体重 10 g マウスに対する経口投与に依る最少致死量は 5 mg であつた。

引 用 文 献

- 1) Dodd, M.C., & Stillman, W.B., J. Pharmacol. Exp. Therap., 82. 11, 1944.
- 2) Cramer, D. L., Dodd, M. C., J. Bact., 51. 293, 1945.
- 3) Cramer, D.L., J. Bact., 54. 2, 1947.
- 4) 西海枝: 薬学研究, 2. 20, 1948.
- 5) 本郷: 抗菌性物質研究 1. 2, 1947.
- 6) 柴田: 薬学研究 2. 20, 1948.
- 7) 柴田, : 抗菌性物質 1. 4, 1947.
- 8) 柴田, 宇野: 抗菌性物質 2. 2, 1948.
- 9) 八田, 青山, 丹治: 東京医事新誌 66.(9), 8, 1949.
- 10) 八田, 青山, 丹治, 春田 総合医学 7.(12) 25, 1950.
- 11) 八田, 青山: 総合医学 8.(4) 7, 1951.

Experimental Studies on the Antibacterial Action of Nitrofurazone-derivatives.

Sadayoshi HATTA Kosaku AOYAMA SONOE TANJI

1. The anti-bacterial action of Nitrofurazone was investigated in vitro and in vivo.
2. In general it showed considerable antibacterial action, and his action was thought to be rather bactericidal than bacteriostatic.
3. Its antibacterial power was not influenced by the size of inocula, addition of serum or P.A.B.A. and heating, but it did not show good stability against rays, acids and alkali.
- 4) The M.L.D. for mice of 10 gr in weight per os was 5 mg.

フラン誘導体のレプトスピラに対する作用について

(試験管内の抗菌価)*

山地 幸雄

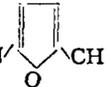
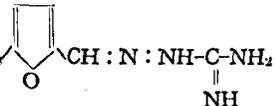
On the Action of Nitrofurans against Leptospira

Yukio YAMAZI

I. ま え が き

1914年ワイル氏病の病原が発見されて以来、ワイル氏病及び秋変の治療法に関しては大きな努力が払われて来ている。稲田によつて始められた免疫血清療法¹⁾は広く行われているが、免疫学的に異なる数種のレプトスピラが存在すること²⁾及び過敏症或は血清病に関する考慮などからこの治療法に対する欠点が挙げられる。レプトスピラ症の化学療法としては、稲田はサルバルサンを用い、Uhlenhuth³⁾、守口⁴⁾等は砒剤を試みているが、これらは血清療法に比し効果の低いものとされている。田中⁵⁾は種々の殺菌剤について、久保⁶⁾はスルファミン系化合物につき *in vitro* 及び *in vivo* の実験を行い、延島⁷⁾高田⁸⁾はトリバフラビン及びリパノールによる治効例を挙げているが、いずれも無効であるか、或は一般には使用されていない。

1944年 Alston⁹⁾等はペニシリンのレプトスピラに対する試験管内及び実験的感染モルモットに対する効果について報じ、Hart¹⁰⁾、Bulmer¹¹⁾、Cross¹²⁾はレプトスピラ症の治療にペニシリンを応用して著効を収めている。わが国においても北岡等¹³⁾⁻¹⁵⁾はペニシリンのレプトスピラ症の化学療法剤としての価値を詳細に検討し、レプトスピラがペニシリンに対し感受性のある微生物に属し、且つワイル氏病感染モルモットはペニシリンにより治療され得る事を証した。

1944年 Dodd 等¹⁶⁾により報告された 5-Nitro-2 furfuraldehyde semicarbazone—フラシン、CH: N: NH·CO-NH₂ 及び 1947年 Stillman 等¹⁷⁾により合成された 5-Nitro-2 furfurylidene aminoguanidine—グアノフラシン、CH: N: NH-C-NH₂ は現在わが国の医界にも提供され、多方面よりの研究がなされ、

臨床的にも使用されている。これは *in vitro* においてグラム陰陽両性菌に対し抗菌作用があり、毒性刺激性も少ないからはじめ創傷感染、皮膚疾患に應用され¹⁸⁾¹⁹⁾、又 Cramer 等⁽¹⁹⁻²⁰⁾によりブドウ球菌に対する作用型式が報告されている。

わが国に於ても早石等²¹⁾、八田教授等²²⁻²⁴⁾、三浦等²⁵⁾、宮本等²⁶⁻²⁸⁾、越沼等²⁹⁾、寺山等³⁰⁾、春日³¹⁾、はその抗菌作用及び作用機作について報告し、その投与時の体液内濃度については柴田等³²⁾、春日³³⁾、山地等³⁴⁾の報告があり、毒性については八田教授等³⁵⁾が病理学的に調査している。其の他岩崎³⁶⁾は牛痘ウイルスに対する作用について、依田³⁷⁾はインフルエンザ菌に対する作用について、又柳沢等³⁸⁾は抗酸性菌に対する作用について述べている。臨床的使用報告としては長洲³⁹⁾、菊池⁴⁰⁾、中沢等⁴¹⁾のそれがある。

私はこの新しい化学療法剤のレプトスピラに対する作用を検討したので、その大要を報告する。

II. 実験方法

I 使用した薬剤—日本製薬会社製のフラシン(モノフラシン)及び高山化学工業会社製のグアノフラシン塩酸塩

並びに乳酸塩、及び上野製薬工業会社製の Z-フラン、5-Nitro-2 furfural acrylic amide、CH: CH·CO-NH₂ を使用した。フラシンは熱に対して安定で分解点は 240° 前後であり、煮沸消毒によつて変化せず、4,200 倍の水に飽和する。グアノフラシンは 248° において分解熔融し、冷水に 100 倍で溶解し、宮本等²⁶⁾の実験によると

* この論文の要旨ならびに *in vivo* の作用は、第 21 回日本衛生学会(昭.26)において口演された。

中性溶液中で 100° 2 時間加熱しても抗菌性の減することはない。Z-フランは分解点 226° で 2,000 倍の水に溶解し、熱には安定である。私はこれらのブイオン溶液を 30 時間 37° においたけれども抗菌力の減少を認めなかつた。

II 使用菌株——国立予防衛生研究所より分与された *Leptospira icterohaemorrhagiae*, *L. hebdomadis* A, *L. hebdomadis*, *L. australis* の家兎血清加コルトフ氏培地累代培養株を使用した

III 培養——中試験管(1.5×14 cm)に、所要の濃度に薬剤を溶解したコルトフ氏培地 4 cc を分注し、間歇減菌後新鮮家兎血清 0.5 cc を入れ、これに 10% 家兎血清加コルトフ培地に 33° 4 日培養し、20° 前後に 3 日放置したレプトスピラ培養液 0.5 cc を加えて合計 5 cc とした。なお培養 24 時間後及び 48 時間後に薬剤を加える場合には中試験管にコルトフ氏培地 3.5 cc 新鮮家兎血清 0.5 cc を入れ、上と同じくレプトスピラ液 0.5 cc を移植し、24 時間及び 48 時間 33° に培養した後、所要濃度に薬剤を含有するコルトフ氏培地 0.5 cc を加えた。対照にはコルトフ氏培地 0.5 cc を加えた。これは移植後 24, 48 時間を経過した対数期のレプトスピラに対する作用を検討するために行つたのである。

IV 観察——レプトスピラの発育増殖の判定は、培養液の暗視野顕微鏡検査(対眼 Leitz 1, 対物 1/12)を行い、10 視野において認められるレプトスピラ数を算定し、1 視野の平均レプトスピラ数を記録した。この際オブジェクトガラス上にのせるレプトスピラ液の量ならびに、デッキガラスの大きさを一定としたことはいうまでもない。

III 実験成績

I 対照試験管におけるレプトスピラの発育——10% 家兎血清加コルトフ培地に、1 視野に約 30 匹のレプトスピラを認めるコルトフ培地培養液を 1/10 量加え、4 日間 33° におき、次いで 20°C 前後に放置すると、24 時間後から発育がはじまり 4~5 日で最高に達する。

II 各株に対する各々の薬剤の抗菌作用(第 1 表, 第 1-3 図)

フランシンは *L. hebdomadis* A に対し 3 mg%, 他の株に対しては 10 mg%, グアノフランシン, Z フランはいずれの株に対しても夫々 3 mg%, 10 mg% の濃度でレプトスピラの発育を阻止し、14 日後の培養液中にはレプトスピラは上記の観察方法によつては全く認められなかつた。

そして試験された薬剤はいずれもその濃度により、(1) 1 日でレプトスピラを 1 匹以下とする。(2) 5-7 日間で 1 匹以下に減少させる、(3) 減少させはしないが 7-14 日後のレプトスピラ数が対照の約半分である、(4) 対照と大差がない。という段階的の作用を有することが認められた。

Table 1. Minimum concentration giving complete inhibition in mg%

Test organisms	Furacin	Guanofuracin-HCl	Guanofuracin- -CH ₂ CHOH· CO ₂ H	Z-furan
<i>L. icterohaemorrhagiae</i> .	10	3	3	10
<i>L. hebdomadis</i> A	3	3	3	10
<i>L. hebdomadis</i>	10	3	3	10
<i>L. australis</i>	10	3	3	10
Mol. concentration of 10 mg%	5.50×10^{-4}	4.30×10^{-4}	3.50×10^{-4}	5.44×10^{-4}

III レプトスピラの発育の異つた時期に対する作用、

L. icterohaemorrhagiae を用い、コルトフ培地に移植後 24, 48 時間を経過したレプトスピラに対する作用を知るために夫々の時期に薬剤を加えた。

フランシンの作用(第 1 図)

移植 24, 48 時間後に 3 mg% に薬剤を加えると、7 日後のレプトスピラ数は、移植時に既に同じ濃度にフランシンが存在していた場合と大差がなく、不完全な発育阻止がみられた。

グアノフランシン塩酸塩の作用(第 2 図)

移植 24, 48 時間後に 1 mg% に薬剤が加えられると、移植時より薬剤が存在していた場合と異り、レプトスピラは

一度1視野20匹前後に迄増殖し、14日後になると増殖時より薬剤が存在していた場合と大差ない匹数に減少した。又3mg%では移植直後或は移植24時間後のレプトスピラは薬剤が添加されると次第に減少して夫々、5,7日後に消失或は1視野に1匹程度となつたが移植48時間後のレプトスピラは直ちには減少せず、7日後頃より次第に減少して14日後に観察すると1匹程度となつていた。そして移植24,48時間後のレプトスピラを7日後に消失させる薬剤の濃度は夫々移植直後のレプトスピラに対するその3倍及び9倍前後であつた。

グアノフランシ乳酸塩の作用 (第3図)

塩酸塩の場合と大体同様の結果が得られた。

Fig. 1 (A) Effect of Furacin against Leptospira immediately after the inoculation

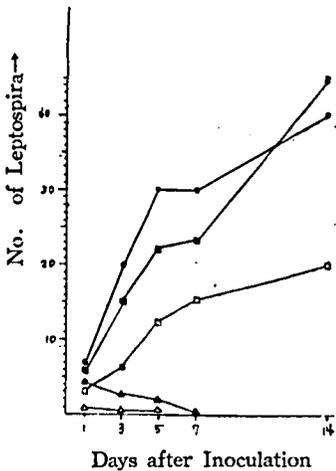


Fig. 1 (C) Effect of Furacin against Leptospira 48 hours after the inoculation

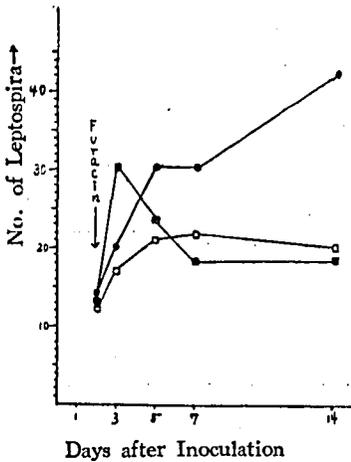


Fig. 1 (B) Effect of Furacin against Leptospira 24 hours after the inoculation

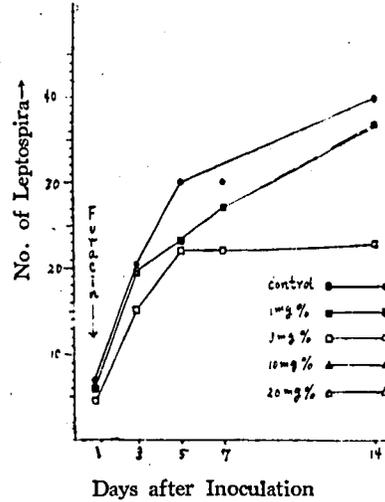
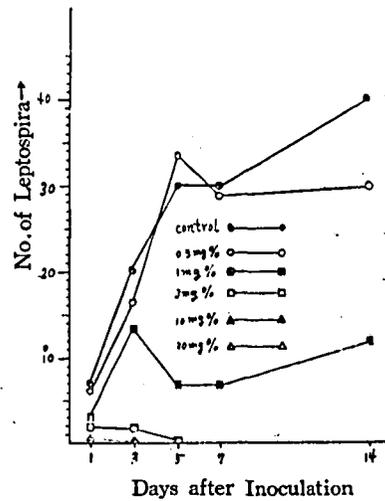


Fig. 2 (A) Effect of Gounofaration HCl against Leptospira, 24 hours after the inoculation



IV. む す び

フラシ、グアノフランシ、Z-フランの、レプトスピラに対する発育阻止濃度は3~10mg%であり、又その順序はグアノフランシ>フラシ=Z-フランの順であつた。これまでの研究者の得た成績によると、これらフラン誘導

Fig. 2 (B) Effect of Guanofuracin-HCl against Leptospira, 24 hours after the Inoculation

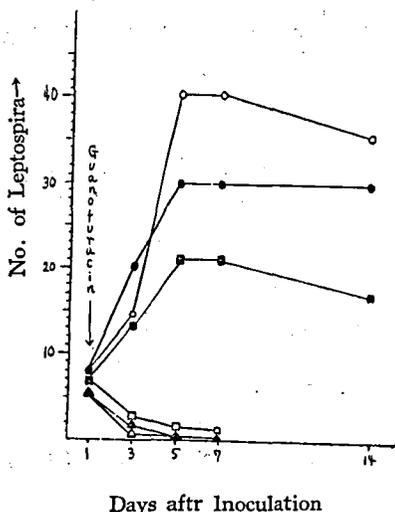


Fig. 2 (C) Effect of Guanofuracin against Leptospira 48 hours after the Inoculation

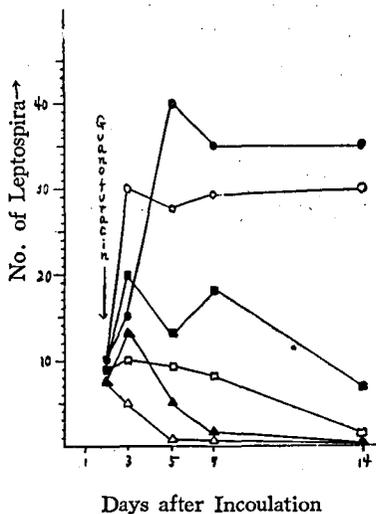


Fig. 3 (A) Effect of Guanofuracin CH₃CHO₂CO₂H against Leptospira Immediately after the Inoculation

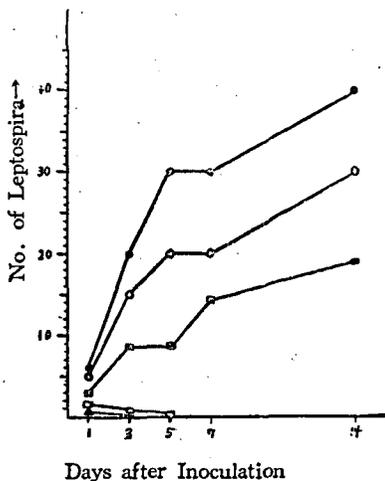


Fig. 3 (B) Effect of Guanofuracin CH₃CHO₂CO₂H against Leptospira 24 hours after the Inoculation

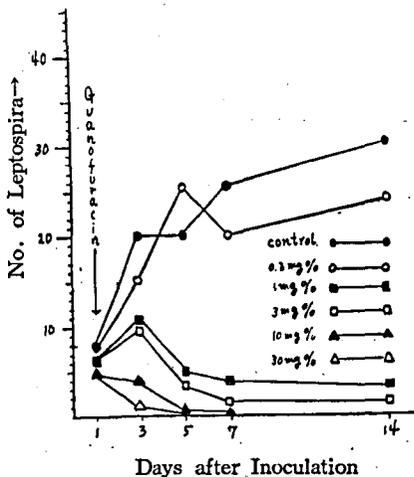


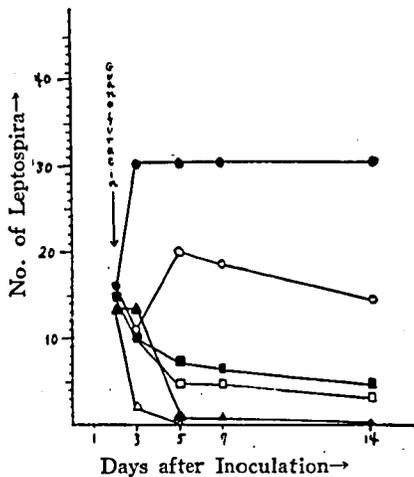
Table 2.

Minimum concentration of Guanofuracin giving complete inhibition of *L. icterohaemorrhagiae*, when added into the Korthoff's medium immediately after the inoculation, 24, and 48 hours after the inoculation

	immediately after the Inoculation	24 hours after the Inoculation	48 hours after the Inoculation
Guanofuracin-HCl	3 mg%	10 mg%	30 mg %
Guanofuracin-CH ₃ CHOH-CO ₂ H	3 mg %	10 mg %	≠30 mg %

体の細菌に対する発育阻止濃度は、大体 1~10mg% の間であり、抗酸細菌、緑膿菌、嫌気性菌に於てはこれよりも高い濃度を必要とするとされ、八田教授等の報告²⁹⁾によればブドウ球菌、大腸菌に対する抗菌力は大体 Z フラン > フラシリン > グアノフラシリンの順である。従てレプトスピラのこれらフラン誘導体に対する感受性は一般の細菌のうちやゝ感受性の低いものと同種類であり、又その順序は細菌の場合と異り、グアノフラシリンが最も抗菌力が強いことが知られたのである。

Fig 2 (C) Effect of Guanofuracin $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{CO}_2\text{H}$ against *Leptospira* 48 hours after the Inoculation



フラシリン、グアノフラシリンは低濃度においては誘導期を延長し、高濃度においては定常期の抑制、或は更に殺菌的に働くとして^{29,30)}が、この実験におけるレプトスピラの場合にも大体同様の事実が認められた。

この実験において、移植 24, 48 時間後のレプトスピラは、移植直後のレプトスピラを 7 日後に消失させる濃度の夫々 3 倍、9 倍の濃度のグアノフラシリンにより、7 日後には消失するか或は非常に少数となることが知られた。(第 2 表) 北岡氏等の実験¹³⁻¹⁵⁾によると、移植 24, 48 時間後のレプトスピラの発育を阻止するためには、夫々移植直後のレプトスピラの発育を阻止するペニシリンの 20 倍、400 倍以上の濃度を要する。この事は夫々の薬剤の試験管内における消長残存性とも関係があるのであろうが、グアノフラシリンのレプトスピラに対する作用機転にはペニシリンのそれとは異なるものがあることを示すものであろう。

フラシリン及びグアノフラシリンはその内服或は静注により血中濃度は前述のレプトスピラの発育阻止濃度には至らな

いが、その場合の尿中濃度はレプトスピラの発育阻止濃度以上となる³²⁻³⁴⁾。従て本剤のレプトスピラ症の治療効果の決定は動物実験及び臨床実験によらなければならないが、患者の尿中へのレプトスピラ排泄という危険な現象は軽減されるであろう。なお *in vivo* におけるレプトスピラに対する作用及び耐性株等の詳細については現在検討中である。

終りに臨み御指導を与えられた恩師八田教授、御助言を与えられた桑原、宮本両博士に深謝する。

文 献

- 1) 稲田：東京医事新誌 1918：896-896, 大 4.
- 2) 北岡：日本医学 3417：4-12, 昭 22.
- 3) Uhlenhuth & Seiffert：M.K. 24：584-485, 1928.
- 4) 守口：実験医学 17：182-208, 昭 8.
- 5) 田中：日本伝染病学会雑誌 7：847-856, 昭 8.
- 6) 久保：日本伝染病学会雑誌 16：123-131, 昭 16.
- 7) 延島：実験医報 23：310-311, 昭 11.
- 8) 高田：実験医報 24：1148-1148, 昭 12.
- 9) Alston, J. M. & J. C. Broom：Brit. Med. J. 2：718-719, 1944.
- 10) Hart, V.L.：Brit. Med. J. 2：720-722, 1944.
- 11) Bulmer, E.：Brit. Med. J. 1：113-114, 1945.
- 12) Cross, R. M.：Lancet 248：211-212, 1945.
- 13) 北岡, 庄司, 井上：第 23 回日本伝染病学会口演 昭 24.
- 14) 庄司：J. Antibio. III：139-146, 1950.
- 15) 庄司：J. Antibio. III：704-709, 1950.
- 16) Dodd, M. C. & Stillman, W. B.：J. Pharm. & Exp. Therap. 82：11-18, 1944.

- 17) Stillman, W. B. & Scott, A. B. : Chem. Abstr. 41 : 2488, 1947.
- 18) Dowling, T. G., Hanson, M. C. & Lamb, M. : J.A.M.A. 133 : 299-306, 1947.
- 19) Cramer, D. L. & Dodd, M. C. : J. Bact. 51 : 293-303, 1946.
- 20) Cramer, D. L. : J. Bact. 54 : 119-125, 1947.
- 21) 早石, 須田 : J. Antibio. II : 632-632, 1949.
- 22) 八田, 青山, 丹治 : 東京医事新誌 66 : (9) 8-10, 昭 24.
- 23) 八田, 青山, 丹治 : 実験治療 251 : 24-26, 昭 25.
- 24) 八田, 青山, 丹治, 中島 : 東京医事新誌 67 : (7) 16-18, 昭 25.
- 25) 三浦, 湯本, 阪東, 池田, 田畑 : 富山化学研究報告 : 1-20, 昭 24.
- 26) 宮本, 越沼, 柳町, 大沢 : 東京医事新誌 66 : (12) 16-18, 昭 24.
- 27) 宮本, 柳町, 越沼, 大谷 : 衛生試験所報告 67 : 177-182, 昭 25.
- 28) 宮本, 依田, 中尾, 柳町, 越沼 : 日本衛生学会雑誌 4 : (4) 14-18, 昭 28.
- 29) 越沼, 大谷, 柳町, 宮本, 桑原 : 東京医事新誌 67 : (2) 14-16, 昭 25.
- 30) 寺山, 宮本, 越沼, 細田 : 衛生試験所報告 67 : 177-182, 昭 25.
- 31) 春日 : 日本医科大学雑誌 17 : 534-540, 昭 25.
- 32) 柴田, 宇野 : J. Antibio. II : 629-630, 1947.
- 33) 春日 : 日本医科大学雑誌 17 : 490-499, 昭 25.
- 34) 山地, 功刀 : 東京医事新誌 67 : (10) 36-38, 昭 25.
- 35) 八田, 青山, 丹治, 春田 : 総合医学 7 : 575-578, 昭 25.
- 36) 岩崎 : J. Antio. III : 341-341, 1950.
- 37) 依田 : 日本医科大学雑誌 17 : 485-489, 昭 25.
- 38) 柳沢, 中村 : 総合医学 7 : 485-489, 昭 25.
- 39) 長洲 : 総合医学 6 : 563-566, 昭 24.
- 40) 菊池 : 総合医学 6 : 686-689, 昭 24.
- 41) 中沢, 塩入, 岡 : J. Antibio III : 663-667, 1950.

On the Action of Nitrofurane Derivatives against *Leptospira*

Yukio YAMAZI

The effect of Furacin(5-Nitro-2-furfuraldehyde semicarbazone), Guanofuracin (5-Nitro-2-furfuryliden aminoguanidine) and Z-Furan(5-Nitro-2-furfural acrylic amide) against the growth of *Leptospira icterohaemorrhagiae*, *L. hebdomadis* A, *L. hebdomadis* and *L. australis* in the Corthoff's medium was tested.

These *Leptospira* strains were almost equally susceptible to the nitrofurane derivatives. The nitrofurane derivatives showed almost the same effect against *Leptospira* and bacteria, and the antimicrobial types of the drugs to these microorganisms were similar.

It has been pointed out that the action of guanofuracin against *Leptospira* in vitro is more powerful in the early stage or immediately after the cultivation, but the concentration of guanofuracin, which was required to inhibit the growth of *Leptospira* in the later stage of growth, was not so higher than the concentration which was required to inhibit the growth of *Leptospira* in the early stage, as in the penicillin, according to the experiments of Kitaoka et al. It was assumed that the antimicrobial types of guanofuracin to *Leptospira* would be different from that of penicillin.

イオン交換樹脂の発熱性物質産生菌に対する抗菌作用 並にその作用本態について

八田貞義 青山好作 丹治園枝 林 長男 中島富子

The Nature of Anti-bacterial Action of Ion-exchange Resin against the
Pyrogen-producing Bacteria.

Sadayoshi HATTA Kōsaku AOYAMA Sonoe TANJI Nagao HAYASHI and Tomiko NAKAJIMA

I. ま え が き

1935年 Adams & Holmes¹⁾が多価フェノールとフォルムアルデヒドの縮合体は陽イオンを、芳香族アミン、フォルムアルデヒド縮合物は陰イオンを吸着することを発見してから Barrell²⁾, Griessbach³⁾, Myers⁴⁾, Walton⁵⁾等の基礎的研究によつて今日 20 数種のイオン交換樹脂の合成を見るに至つた。

この樹脂の示す高度なイオン交換能力、迅速かつ均等な反応、卓越せる安定度簡単な装置及び再生可能等の有利なる諸点は今日なおその応用範囲を益々拡大している。

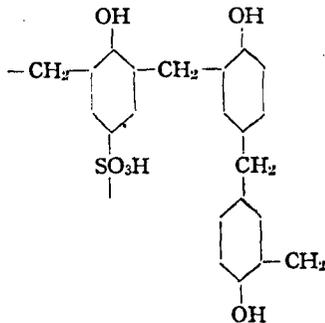
特に医薬学方面⁶⁾では胃潰瘍患者にある種の陰イオン樹脂を投与することが試みられ、或は乳児用ミルクの Ca イオンの除去、粗製ブドウ糖液の精製等にも用いられている。

著者等はこれを脈管内注射時に偶発する悪寒、発熱等の副作用発現物質いわゆる発熱性物質の除去剤として用い、極めて良好な結果をおさめ得た⁷⁾。次いでこのイオン交換樹脂を発熱性物質の除去剤或はブドウ糖注射液の精製に應用した場合、この溶液中に混在する微生物特に発熱性物質産生菌株に対して如何なる抗菌力を示すか、あればその作用本態をも知るべく次の二、三の試験を試みた。

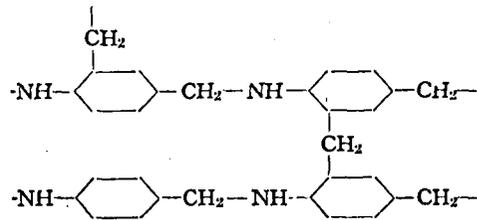
樹脂の細菌に対する作用としては Adams はレゾルチノール、フォルムアルデヒド樹脂が大腸菌を殺菌することを報告しその際、この作用は未縮合のレゾルチノール及びフォルムアルデヒドの介在或は食塩の分解溶出物等によるものではなくて樹脂そのもの作用によるものと記載している。五井⁸⁾はフェノールスルホン、フォルムアルデヒド樹脂は塩類含有溶液中で殺菌作用を有し、この本態は樹脂の吸着作用によるものではなくて、菌浮游液の pH 降下によるものと報じている。

II. 実験の材料及び方法

供試イオン交換樹脂は陽イオン交換樹脂としてフェノールスルホン酸樹脂を



陰イオン交換樹脂としてはメタフェニレンジアミン樹脂



を用いた。いずれも三変化成の製品である。

実験につかつた菌種は 実験の特殊性より大部分はブドウ糖のみの単味の培地に發育良好な菌株を選んだ(第1表参照)。

実験に使用した培地は実験の種類により蒸溜水、5%ブドウ糖液及び0.85%生理食塩水加5%ブドウ糖液を用いた。なお樹脂は1日1回80°30分、2日間間歇滅菌を行つて実験に供した。供試菌は18~24時間ブイヨン培液

Table 1 Ion exchangeresin and growth of bacteria

Times of action in hrs.		1											
		Strains		Micrococcus sp (G.10)		B. subtilis (G.66)		M. tetragenes (G.4)		B. coli		S. aureus (F.D.A.209P)	
		Difference	pH	Count of bacteria	pH	Count of bacteria	pH	Count of bacteria	pH	Count of bacteria	pH	Count of bacteria	
Positive ion exchange resin	2%	5.4	94×10 ³	5.6	202×10	5.6	342×10 ¹	3.8	0	3.8	0		
	10%	4.5	84×10	4.9	195×10	4.8	0	3.0	0	3.0	0		
	50%	3.4	0	4.1	95×10 ¹	4.0	0	2.6	0	2.6	0		
Negative ion exchange resin	2%	6.2	57×10 ⁵	6.2	86×10 ³	6.3	293×10 ⁴	5.9	318×10 ⁵	5.9	260×10		
	10%	7.4	50×10 ⁵	6.7	43×10 ³	6.5	286×10 ⁴	7.4	96×10 ⁵	7.4	280×10		
	50%	7.6	61×10 ⁵	7.1	93×10 ³	7.1	274×10 ⁴	8.3	56×10 ⁵	8.3	256×10		
Contrast		6.2	78×10 ⁵	6.2	94×10 ³	6.2	311×10 ⁴	5.1	446×10 ⁵	5.6	264×10		
Times of action in hrs.		5											
		Strains		Micrococcus sp (G.10)		S. subtilis (G.66)		M. tetragenes (G.4)		B. coli		S. aureus (F.D.A.209P)	
		Difference	pH	Count of bacteria	pH	Count of bacteria	pH	Count of bacteria	pH	Count of bacteria	pH	Count of bacteria	
Positive ion exchange resin	2%	5.4	0	5.3	110×10	5.3	0	3.8	0	3.8	0		
	10%	4.3	0	4.7	129	4.7	0	3.0	0	3.2	0		
	50%	3.2	0	7.7	77	3.7	0	2.6	0	2.7	0		
Negative ion exchange resin	2%	6.4	99×10 ⁴	6.5	168×10 ²	6.5	191×10 ⁴	5.9	362×10 ⁶	5.8	13×10		
	10%	7.5	94×10 ⁴	7.0	285×10 ²	7.0	114×10 ⁴	7.4	294×10 ⁶	7.5	5×10		
	50%	7.7	76×10 ⁴	7.5	168×10 ³	7.5	98×10 ⁴	8.3	230×10 ⁶	8.5	8		
Contrast		6.1	310×10 ⁴	6.0	168×10 ³	6.0	235×10 ⁴	5.0	443×10 ⁶	5.5	109×10		
Times of action in hrs.		24											
		Strains		Micrococcus sp (G10)		S. subtilis (G 4)		M. tetragenes (G 4)		B. coli		S. aureus (F.D.A.209P)	
		Difference	pH	Count of bacteria	pH	Count of bacteria	pH	Count of bacteria	pH	Count of bacteria	pH	Count of bacteria	
Positive ion exchange resin	2%	4.8	0	5.0	160×10 ¹	5.0	0	3.6	0	3.6	0		
	10%	4.0	0	4.5	170	4.5	0	2.6	0	2.6	0		
	50%	3.0	0	3.5	130	3.5	0	1.4	0	1.4	0		
Negative ion exchange resin	2%	6.6	244×10 ⁴	6.6	135×10 ⁴	6.6	135×10 ⁴	6.6	470×10 ⁶	6.6	0		
	10%	7.8	84×10 ⁴	7.3	108×10 ⁴	7.4	124×10 ⁴	7.8	405×10 ⁶	7.9	0		
	50%	8.1	48×10 ⁴	7.7	92×10 ⁴	7.7	87×10 ⁴	8.5	267×10 ⁶	9.6	0		
Contrast		6.0	230×10 ⁴	6.0	144×10 ⁴	6.6	215×10 ⁴	5.0	155×10 ⁴	5.5	0		

Note : 1. On account of the limited space of the table, a part of the result of the experiment was omitted.

2. As regard to the mediums, 5% dextrose added saline solution were used for B. coli and Staph. aureus and dextrose solution for other bacteria.

菌を生理食塩水で稀釈し、その一定量を移植した。糸状菌の際は Czapeck-Dox 斜面寒天 7 日間培養の菌を滅菌生理食塩水 1cc につき 1 白金耳量の割合に浮游した菌液を作りこれの一定量を移植した(移植菌量は各項目ごとに記載した.)。

樹脂の菌増殖に及ぼす影響を検する方法としては一定量の菌を移植後、これを 37° の孵卵器内に納め実験時間中時々これを振盪混和させた。即ち菌移植 2 分後 1 回採取、以後は 1 時間、3 時間、5 時間及び 24 時間目(糸状菌の場合は 24 時間以後は隔日で 10 日目迄)に試料を採取した。試料は生理食塩水をもつて所要濃度に稀釈し、この 1cc を普通寒天(糸状菌は Cz-Dox 寒天)と共にシャーレに流し込み、37°、48 時間(糸状菌は 7 日間)培養後発育した全生菌数を算定した。

一方短時間内の殺菌力試験の術式としては日本公衆保健協会雑誌法(小島・申込法)に準拠し、該樹脂の 5 分、10 分、15 分及び 30 分作用時の殺菌力を検した。

III 實 験 成 績

a. イオン交換樹脂と菌増殖能

供試培地として 5% ブドウ糖液を用いた。培地の pH は作用時間の経過に伴つて幾分変化した。即ち陽イオン交換樹脂の場合には酸性側に動き、1 乃至 5 時間作用時の pH は対照の pH 6.0~5.0 に比較すると 2% 添加では pH 5.3~5.0、10% では pH 4.7~4.3、50% 添加では pH 3.7~3.2 となつた(0.85% 生理食塩水加 5% ブドウ糖液を用いると塩類含有のため pH の下降は顕著で樹脂 50% 添加で 24 時間後には pH 1.4 となつた.)

陰イオン交換樹脂の場合には液性はアルカリ側に傾き 2% 添加では pH 6.2~6.5、10% では 6.7~7.5、50% 添加で pH 7.1~7.7 となつた。かゝる状態の液性及び樹脂量に於ける供試菌の増殖に及ぼす影響をみると、陽イオン交換樹脂は、菌種或は菌量によつて幾分の相違はあるが、概して短時間内に殺菌した。一般的には樹脂の添加量に比例し、また作用時間に平行して菌数は減少した、例外として枯草菌に対し 50% 添加で 24 時間作用後でも生菌の存在がみられたほかは、大部分の菌に対して 1 乃至 5 時間の作用で殺菌を完了した。作用時間の経過とともに培地の pH は徐々に動くので、この液性の変化による殺菌作用因子の介在もこの場合軽視してはなるまい。

特に黄色ブドウ球菌は培地に樹脂を添加しなくとも顕著な菌数の減少が見られ 24 時間後には全く死滅した(自然浄化)。

そこで培地の液性がさほど変わらず、且つ菌発育に及ぼす介在因子もさほどに複雑とならない作用 1 時間の成績から判定すると、大腸菌、黄色ブドウ球菌、四聯球菌は(四聯球菌が 20% 添加の場合若干の生菌がみられたほかは)、2% 以上の添加により完全に殺菌された。マイクロコッカスでは 50% 添加で 0、10% では約 1/9000、2% では 1/1000 と顕著な減少を示した、枯草菌に対しては強力な作用は見られず 50% 添加で 24 時間作用後なおも生菌を認めた。

陽イオン交換樹脂は殺菌力を示すがその作用は添加量に比例して増減した。

陰イオン交換樹脂は対照に比すると添加量に比例して菌数に若干の減少がみられるが、これは樹脂に対する菌の単なる吸着等の為に生ずる現象で殺菌性に基くものとは考えられず、陰イオン交換樹脂には菌に対する抗菌性はないものとするのが妥当と思われる(第 1 表参照)。

糸状菌に対しても細菌の場合と類似した成績を示し樹脂添加量が 2% の場合には菌の発育を認めた。これは初め 24 時間作用時には対照の 1/2 に減少したが、以後増加し 10 日後では対照にほぼ近似した数値を示した(第 2 表参照)。

6. イオン交換樹脂の殺菌力

その成績は第 3 表に示す様に殺菌力は菌種により著しく状態を異にするが、これは一般の殺菌剤のような菌に対する顕著な特異性は見られなかつた。菌によつては樹脂量により殺菌時間が短縮された。

すなわち陽イオン交換樹脂は強度の殺菌性を有するがすべての細菌を短時間内で殺菌するというわけにはいかなかつた。

IV. イオン交換樹脂の殺菌する作用機轉

菌種による陽イオン交換樹脂の強力な殺菌作用機轉については、樹脂末縮合物の介在、樹脂吸着、液性の変化にとりもなり殺菌等が指摘される。われわれはこの作用本態についての究明方法として 5% ブドウ糖液中に樹脂を 30%

Table 2. Ion exchange resin and growth of filamentous fungi

Time of action in hrs.		1				5				24			
		Strains		Macrosporium sp.(G.H.12)	Penicillium sp.(G.H.6)	Macrosporium sp.(G.H.12)	Penicillium sp.(G.H.6)	Macrosporium sp.(G.H.6)	Penicillium sp.(G.H.6)	Macrosporium sp.(G.H.6)	Penicillium sp.(G.H.6)		
Difference	pH	Count of fungi		Count of fungi		Count of fungi		Count of fungi		Count of fungi			
		Positive ion exchange resin	2%	5.5	19×10 ²	5.5	72×10 ²	4.7	21×10 ²	4.8	93×10 ²	4.3	15×10 ²
	10%	5.5	0	5.4	0	4.7	0	4.7	0	4.4	0	4.1	0
	50%	5.5	0	5.5	0	4.5	0	4.1	0	4.1	0	4.1	0
Negative ion exchange resin	2%	5.5	24×10 ²	5.5	267×10 ²	5.9	16×10 ²	5.7	34×10 ²	5.9	27×10 ²	6.0	220×10 ²
	10%	5.5	37×10 ²	5.5	270×10 ²	6.1	14×10 ²	5.9	71×10 ²	6.1	17×10 ²	6.2	180×10 ²
	50%	5.5	15×10 ²	5.5	287×10 ²	6.4	6×10 ²	6.0	31×10 ²	6.4	5×10 ²	6.5	169×10 ²
Contrast		5.6	26×10 ²	5.5	292×10 ²	5.5	24×10 ²	5.5	260×10 ²	5.6	24×10 ²	5.5	184×10 ²
Time of action in hrs.		72				120				240			
		Strains		Macrosporium sp.(G.H.12)	Penicillium sp.(G.H.6)								
Difference	pH	Count of fungi		Count of fungi		Count of fungi		Count of fungi		Count of fungi			
		Positive ion exchange resin	2%	4.2	18×10 ²	4.2	83±10 ²	4.2	91×10 ²	4.2	140×10 ²	4.2	210×10 ²
	10%	3.6	0	4.0	0	3.6	0	3.4	0	3.6	0	3.4	0
	50%	3.1	0	3.5	0	3.1	0	3.1	0	3.1	0	3.1	0
Negative ion exchange resin	2%	6.2	31×10 ²	6.1	218×10 ²	6.2	45×10 ²	6.1	221×10 ²	6.2	265×10 ²	6.1	421×10 ²
	10%	6.4	22×10 ²	6.4	193×10 ²	6.4	39×10 ²	6.4	219×10 ²	6.4	255×10 ²	6.4	428×10 ²
	50%	6.8	19×10 ²	6.6	171×10 ²	6.8	29×10 ²	6.6	211×10 ²	6.8	261×10 ²	6.6	409×10 ²
Contrast		5.6	35×10 ²	5.5	188×10 ²	5.6	51×10 ²	5.5	234×10 ²	5.6	270×10 ²	5.5	423×10 ²

Table 3. Bactericidal test (Positive ion exchange resin)

Strains	Dose of bacteria	Dose of resin	Time of action			
			5	10	15	30
B. coli	14.2×10 ⁴	+50%	+	+	-	-
		+10%	+	+	+	-
		+2%	+	+	+	#
S. typhi (S, 58)	21.2×10 ⁴	+50%	+	+	-	-
		+10%	+	+	+	-
		+2%	+	+	+	+
S. dysenteriae (KBIII)	26.0×10 ⁴	+50%	+	-	-	-
		+10%	+	+	-	-
		+2%	+	+	+	+

B. prodigiosum	27.5×10 ⁴	+50%	+	+	-	-
		+10%	+	+	+	+
		+2%	+	+	+	+
B. subtilis (G.66)	25.9×10 ⁴	+50%	+	+	+	+
		+10%	+	+	+	+
		+2%	+	+	+	+
S. aureus(F.D.A.209P)	10.8×10 ⁴	+50%	+	+	+	-
		+10%	+	+	+	-
		+2%	+	+	+	+
Micrococcus sp.(G.10)	31.2×10 ⁴	+50%	+	+	+	+
		+10%	+	+	+	+
		+2%	+	+	+	+
M. tetragenens (G. 4)	18.3×10 ⁴	+50%	+	+	-	-
		+10%	+	+	+	-
		+2%	+	+	+	+
S. paratyphi A (S1)	23.2×10 ⁴	+50%	+	+	-	-
		+10%	+	+	+	-
		+2%	+	+	+	+

Note (+) Bacteria growth (-) Bacteria no growth

Table. 4. The adsorption activity ion exchange resin against various species bacteria

Drug	Me- thod	Time of action											
		10			20			30			60		
		M.tetra- genes	B. coli	S.aureus	M.tetra- genes	B. coli	S.aureus	M.tet- ragenens	B.coli	S. au- reus	M.tet- ragenens	B.coli	S. au- reus
phenol (×90)	Plate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Breed	514×10 ³	67×10 ³	91×10 ³	470×10 ³	58×10 ³	72×10 ³	460×10 ³	85×10 ²	68×10 ³	492×10 ³	82×10 ³	71×10 ³
Positive ion exch- ange re- sin(30%)	Plats	0	87×10 ²	516	0	62×10 ²	118	0	39×10 ²	53	0	477	0
	Breed	0	12×10 ³	14×10 ³	0	10×10 ³	11×10 ³	0	10×10 ³	71×10 ³	0	4×10 ³	3×10 ³
Contrast	Plate	790×10 ³	134×10 ³	267×10 ³	730×10 ³	117×10 ³	258×10 ³	710×10 ³	106×10 ³	240×10 ³	690×10 ³	93×10 ³	256×10 ³
	Breed	526×10 ³	45×10 ³	111×10 ³	514×10 ³	53×10 ³	90×10 ³	304×10 ³	78×10 ³	87×10 ³	191×10 ³	73×10 ³	101×10 ³
	resin solution	610×10 ³	113×10 ³	251×10 ³	608×10 ³	101×10 ³	246×10 ³	594×10 ³	97×10 ³	236×10 ³	591×10 ³	89×10 ³	228×10 ³

に加えこれに供試菌(四聯球菌, 大腸菌, 黄色ブドウ球菌)の一定量を加えた後 10 分, 20 分, 30 分及び 60 分後に試料を採取して Plate 法により生菌数を, Breed 法によつて総菌数を算定した. 対照として 5% ブドウ糖液及び 5% ブドウ糖に 30% の割合に樹脂を加え 24 時間放置後樹脂を取除いた 5% ブドウ糖液を用い, 樹脂の対照として 90 倍のフェノール溶液を用いた.

その成績は第4表に示した。

この成績から推定すると陽イオン交換樹脂の殺菌力は樹脂末縮合物によるものではなくて大部分は樹脂の吸着による作用が主で、これに培地の液性も幾分影響するようである。

む す び

イオン交換樹脂を発熱性物質の吸着剤として或は注射用ブドウ糖液の精製に用いた場合溶液中に混在する微生物、就中発熱性物質産生菌に及ぼす影響について調べた。

陰イオン交換樹脂には抗菌作用を認めないが、陽イオン交換樹脂は抗菌作用を有し、この殺菌力も樹脂量に比例して増加した。この作用本態は樹脂末縮合物によるものではなく、樹脂吸着及び培地液性による如く思われた。この詳細は今後も精査する。

イオン交換樹脂層をもつて操作するとブドウ糖等の溶液中に混在する微生物の大部分を除去する事が出来るが使用後の樹脂取扱に不注意であつてはならない。というのは夏期に於ては操作後に適当な処置を施さないと、陰イオン交換樹脂に於て菌は増殖し発熱性物質産生等の悪影響を招来することになるからである。

引用文献

- 1) Adams, B. A., Holmes, E. L., J. Soc. Chem. Ind., 54, 1, 1935.
- 2) Barrell, H., Ind. Eng. Chem., 30, 358, 1938.
- 3) Griessbach, R., Angew. Chem., 30, 215, 1939.
- 4) Myers, F. J., Ind. Eng. Chem., 35, 858, 1943.
- 5) Walton, H. F., J. Chem. Education., 23, 454, 1946.
- 6) 井本: 合成樹脂化学. 1948.
- 7) 八田・青山・丹治: 最新医学., 41, 44, 1948.
- 8) 五井: 未報告(私信による).

The Nature of Antibacterial Action of Ion-exchange Resin against the Pyrogen-producing Bacteria.

Sadayoshi HATTA, Kōsaku AOYAMA, Sonoe TANJI,
Nagao HAYASHI and Tomiko NAKAJIMA

The negative ion exchange resin had no antibacterial action, on the other hand, the positive ion exchange resin had it, which increased in proportion to the quantity of the resin.

The action by itself seemed to come from attraction of resin and the characters of the liquid in the medium, but not come from the condensed powdered resin.

除虫菊(シロバナムシヨケギク)の開花と結実について

木下孝三

Studies on the Flowering Phenomena and the Fructification of Insect Flowers,
(*Chrysanthemum Cinerariaefolium* Bocc.)

Kozo KINOSHITA

除虫菊が殺虫剤として効力を認められ人類に利用されるようになったのは可ない古い時代からであるが、これを作物として栽培するようになったのは比較的新しい時代であり、いまだ200年を出ていない。更に作物として改良を試みられるようになったのは全く近年の事である。この間品種改良の根本である開花に関して調査されたものはきわめて少く全く不明の事案が多い現状である。

著者が薬用植物園和歌山分場で1948-1949年に行つた成績を述べて参考に供したい。

1. 除虫菊花器の形態

除虫菊の花器は他の菊科植物と同様頭状花をなし、舌状花と管状花の2種の異なつた形態の小花が多数こん棒状の花軸の上に着生し、総苞が外部よりこれらを包んでいる。舌状花は花軸の最外側に位置し、白色舌状の花冠と雌蕊よりなり、雄蕊は退化して欠除している不完全花である。管状花は先端が五裂に分れた筒状黄色の花冠と雌蕊1、雄蕊5よりなり、雌蕊の柱頭は二つに分枝している。雄蕊は聚藥雄蕊で花糸は5本ともゆ合し、子房は両者とも最底部に位置している。(第1図)

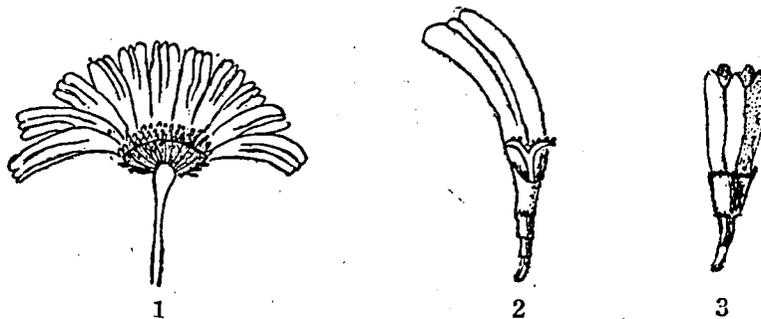


Fig 1. Flowers of insect flower

1. 頭状花断面 (Longitudinal section of the capitulate flower)
2. 舌状花 (Ligulate flower)
3. 管状花 (Tubular flower)

Table 1. The variation in the number of ligular and tubular flowers in a capitulate flower

Number of ligulate flower	13 14 15 16 17 48 19 20 21 22 23 24 25 26	Total	Average
Frequency	1 1 2 3 3 21 25 79 56 54 28 15 2 0	300	20.2±0.07
Number of tubular flower	180 190 200 210 220 230 240 250 260 270 280 290 300 310	Total	Average
Frequency	0 2 3 5 25 48 31 55 62 37 21 8 2 1	300	250.9±8.13

1 頭状花内における舌状花、管状花の数は系統によつて異なるが、同一系統内においても相当の変異を示している。しかして現在栽培されてゐる除虫菊品種は育種学的に見て各種の系統が混在交雑しているのでその変異の幅はますます広がつて来るようである。今同一系統内で調査した一例を示すと第 1 表の通りで舌状花 18~24、管状花は 200~300 位である。

2. 開花習性

除虫菊は多年性の植物であり、種子を播種した場合、その年は苗の時代であつて開花しない。翌年はまれに不時開花を見るものもあるが、これは変態的であつて、この年も開花しないのが常態である。翌々年すなわち播種後 3 年目にして始めて本格的な開花を見る。その後植物体の枯死するまで通常 5~6 年間は年々開花を続けて行く。はなはだしい場合は 14~15 年に及ぶ事がある。

管状花の開花は次の順序に区分する事が出来る。(第 2 図)

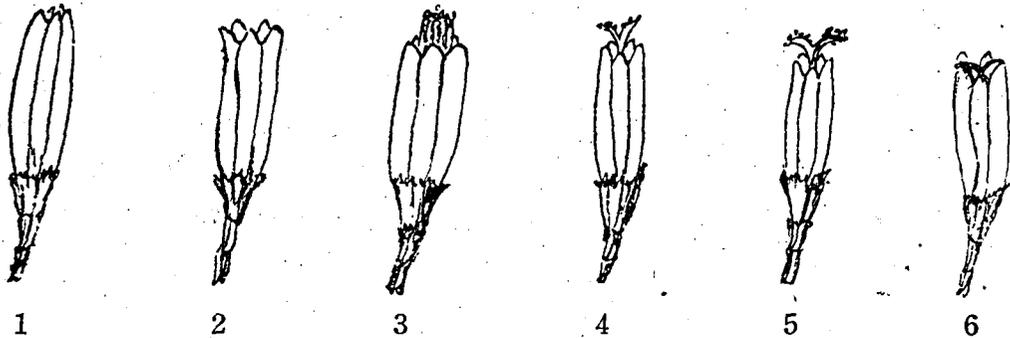


Fig. 2. Flowering progress of the tubular flower of insect flower

1. 蕾 (Bud)
2. 花冠頂部裂開 (The tip of the corolla is opening.)
3. 花粉放出最盛期 (Maximum period of pollen-discharge.)
4. 雌蕊抽出期 (The period when the pistil is appearing through the corolla.)
5. 雌蕊成熟期 (The maturation period of the pistil.)
6. 雌蕊収縮期 (The contraction period of the pistil.)

この各時期の時間的進行を見るに、花冠裂開より雌蕊抽出まで約 1~4 時間を要し、抽出した雌蕊は既に柱頭に花粉を附着している。次に柱頭が 2 に分枝して成熟の状態を示すまで約 16~20 時間を要する。次に柱頭が収縮し、ついに花冠内にひっこみ外部から見られなくなる。この間自然状態では翌日すなわち 24~36 時間で終る。人為的に授精を行わしめない場合、柱頭は 3~4 日間成熟の状態を保持している。丹羽氏(1930)は日本菊について観察し、管状花裂開より雌蕊抽出まで 2~6 時間、これより柱頭分枝まで 2~3 日を要すると報告している。安孫子氏(1937)は除虫菊についてやや時間的の差があるが同様のことを報告している。

1 日中における開花時刻は天候により異なるが、午前 7 時には既に開花を始め、午後 6 時まで継続する。最盛期は午前 8~11 時の間である。午後に至つては開花数は非常に少なくなつて来る。曇天の日は開花数は少いが開花の頻度分布は幅広がつて来る。1948 年晴天と曇天の日を選んで調査したのを示すと次の通りである。(第 2 表)

3. 結実について

除虫菊の結実普通他花授精によつて行われている。この授精には昆虫類が媒介に役立っているようであるが、その種類は明かでない。授精の生理的、機械的の詳しい報告は今日の所なく、今後の研究に待つことが多い。その総性はきわめて低く、自然状態においては 40~50% 程度である。まず概括的に自花不稔の程度を知ろうとして 1947 年頭状花にパラフィン紙をもつて袋掛けし他頭状花からの花粉の飛来を防ぎ、その結実歩合を調査した。(第 3 表)

以上の結果によるとある程度結実する系統が存在することも考えられるが、これは後に述べる授粉試験によつて明かな如く、同頭状花内他管状花授粉の起ることも当然考えられ、厳密な意味の自花授粉による結実ではない。この事は広島農試の試験によつても認められている。しかし大体において自花授粉では結実しない事は明らかである。

Table 2. The progress of efflorescence of tubular flowers, pollen-discharge, and maturation of pistils in a day

Date		A.M.						P.M.							Total	
		6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6		7
May 25, 1950 (Fine)	Number of flowers in efflorescence	0	82	92	191	157	110	59	33	12	11	2	0	0	0	749
	Do. percentage	0.0	10.9	12.3	25.5	21.0	14.7	7.9	4.4	1.6	1.5	0.3	0.0	0.0	0.0	100.0
	Number of flowers in full pollen-discharge	0	0	0	5	82	158	210	118	72	34	12	5	3	3	702
	Do. percentage	0.0	0.0	0.0	0.7	11.7	22.5	29.9	16.8	10.3	4.8	1.7	0.7	0.4	0.4	100.0
	Number of pistils matured		95	120	165	221	110	75	53	41	18	10	7	3		918
	Do. percentage		10.3	13.1	18.0	24.1	12.0	8.2	5.8	4.5	2.0	1.1	0.8	0.3		100.0
May 28, 1950 (Cloudy)	Number of flowers in efflorescence	0	13	25	55	70	76	78	32	29	28	15	12	3	0	446
	Do. percentage	0.0	2.9	5.6	12.3	15.7	17.0	17.5	7.2	6.5	6.3	3.4	2.7	0.7	0.0	100.0
	Number of flowers in full pollen-discharge	0	0	2	8	20	75	84	92	84	52	33	11	8	9	473
	Do. percentage	0.0	0.0	0.4	1.7	4.2	15.8	17.8	19.5	17.8	11.0	7.0	2.3	1.7	1.9	100.0
	Number of pistils matured		32	50	63	75	92	110	88	75	31	25	18	16		675
	Do. percentage		4.7	7.4	9.3	11.1	13.6	16.3	13.0	11.1	4.6	3.7	2.7	2.4		100.0

Table 3. The effect of self-pollination on the fructification of insect flower

Percentage of fructification	Numbers of strains fructified	Ditto, percentage
0.0	289	96.3
0.0—20.0	3	1.0
20.0—50.0	5	1.6
above 50.0	3	1.0
Total	300	100.0

Table 4. The effect of castration on the fructification of insect flower

Methods of castration	Number of flowers pollinated	Number of flowers fructified	Ditto, percentage
Direct method	25	9	36.0
Washing method	475	117	37.2
Control, not treated	520	192	37.1

次に異なる授粉の組合せによつての結実程度を知るために授粉の試験を行った。除雄の方法としては何等特別の操作も加えなかつたが、菊科植物の除雄法としては次の3法が考えられる。

1. 直接法 管状花が未だ裂開しない前に人為的にピンセットで花冠の先端を開き内部の雄蕊を除去する。
2. 水洗法 管状花が開花し、雌蕊が花粉を附着して抽出して来る時、スボイドにて花粉を洗い落とし柱頭の乾燥するのを待つて授粉する。下斗米氏(1930)は野菊に就いて、安孫子氏(1937)は除虫菊についてこの方法を用いている。

Table 5. The effect of the pollination methods on the fructification of insect flower.

1. Self-crossing and crossing between different flowers

Mode of crossing	Tubular flowers				Capitate flowers				Per one capitate flower	
	Number of flowers crossed	Number of flowers fructified	Fructification percentage	Relative number	Number of flowers crossed	Number of flowers fructified	Fructification Percentage	Relative number	Pollinated tubular flowers	Fructified tubular flowers
Self-pollination	90	0	0.0	0.0	90	0	0.0	0.0	1	0.0
Cross between different flowers in the same capitate flower	1491	6	0.4	0.9	18	3	16.6	16.6	83	0.3
(1948) Cross between different flowers in a plant	1218	175	14.3	33.8	19	12	63.1	63.1	64	9.2
Cross between different plants	1244	287	23.0	54.3	20	19	95.0	95.0	62	14.3
Natural cross	1808	765	42.3	100.0	20	20	100.0	100.0	90	38.2
Self-pollination	50	0	0.0	0.0	50	0	0.0	0.0	1	0.0
Cross between different flowers in the same capitate flower	1303	12	0.9	1.6	25	4	16.0	16.3	52	0.4
(1949) Cross between different flowers in a plant	1198	214	17.8	32.3	24	18	75.0	76.5	50	8.9
Cross between different plants	1249	369	29.4	53.5	24	22	91.6	93.4	52	15.3
Natural cross	3252	1788	54.9	100.0	50	49	98.0	100.0	65	35.7

2. Crossing between the flowers of different plants propagated from a single mother plant

Cross between different plants of the same origin	522	110	21.0	46.6	10	9	90.0	90.0	52	11.0
(1948) Cross between different flowers in a plant	695	127	18.2	40.4	12	10	83.3	83.3	58	10.5
Cross between different plants (different origin)	662	199	30.0	66.6	10	9	90.0	90.0	66	19.9
Natural cross	1244	561	45.0	100.0	15	15	100.0	100.0	83	37.4
Cross between different plants of the same origin	663	127	19.1	44.1	12	10	83.3	89.2	55	10.5
(1949) Cross between different flowers in a plant	886	149	16.8	38.7	15	13	86.6	92.8	59	9.9
Cross between different plants (different origin)	723	285	39.4	90.9	15	14	93.3	100.0	48	19.0
Natural cross	1054	456	43.3	100.0	15	14	93.3	100.0	77	30.4

(continued)

3. Pollination on ligulate flowers.

Mode of crossing	Ligulate flowers				Capitate flowers				Per one capitate flower	
	Number of flowers crossed	Number of flowers fructified	Percentage of fructification	Relative number	Number of flowers crossed	Number of flowers fructified	Percentage of fructification	Relative number	Pollinated ligulate flowers	Fructified tubular flowers
Pollinated with pollens of different plants	175	66	37.7	81.9	15	15	100.0	100.0	13	4.4
(1949) Natural cross	214	111	46.0	100.0	15	15	100.0	100.0	16	7.4

3. 無操作 何等特別の操作を加えず、そのまま目的の花粉を授粉する。丹羽氏(1930)は日本菊に就いてこの方法を用いている。

これら 3 法いずれを用いても自花授粉の憂が少いならば、その結実歩合には差がない訳である。これを実験的に確かめるために実験を試みたが第 4 表に示すようにほとんど差異が認められなかつた。

これによつて水洗法によるも、無操作によるも、自花授精の起り得る憂はなく、仮にあつたとしてもきわめてきん少であると考えられる。この事は次の授粉試験の結果を見ても明らかである。

授粉試験に供した材料はなるべく主梗に着生した頭状花を用い、外側 2~3 列の管状花を利用し、他は人為的に除去した。花粉は花粉放出最盛期のものを用いた。

試験の組合せは

1. 自管状花授粉 同一管状花内に於て自己の柱頭に自己の花粉を授粉する。
2. 同頭状花、他管状花授粉 同一頭状花内で異なる管状花の組合せで授粉する。
3. 同株、他頭状花授粉 同一株内の異なる頭状花で授粉する。
4. 異株、他花授粉 株を異にして授粉する。

以上 4 種であつて、その外に同一株を株分けし、無性的に増殖したものの相互間の結実歩合、並びに舌状花の結実性についても調査した(第 5 表)。

以上によると自管状花授粉では結実歩合 0% であつて完全な不稔性を示している。異株他花授粉の場合は 23~39% の結実歩合を示し、これは標準とした自然授粉の場合より約 15% 低率である。しかし 2 ヶ年を通じ数値に若干の差があるけれど、自管状花授粉、同頭状花他管状花授粉、同株他頭状花授粉、異株他花授粉と結実歩合は上昇している。すなわち花粉と柱頭との近親関係が遠くなるほど授精率が高くなつて行く傾向が認められる。しかし近親程度の最も遠い異株他花授粉の場合でも自然授粉のそれに比して授精率は低下している。これは人工授粉の際何等かの障害を与えたのではないかと考えられる。

同一個体を分株して増殖した分割株相互間の授粉は同種他花授粉の場合より結実歩合は稍々高い結果を得た。

舌状花の結実歩合は異株他花授粉の場合管状花のそれより稍高い率を示している。舌状花の柱頭も管状花と同様の授精能力のあることを示している。

除虫菊の結実性は自然授粉の場合でも 50% 前後であつて、約 50% の不稔粒があり、その稔性は完全ではない。

一般に植物の不稔性については多くの研究者によつて研究され、性的欠陥によるのではなく、雌雄両性器管とも完全な生殖作用を営むにかゝらず、自花授精しないのを自花不和合性と称している。この原因については今日一般的に自花不和合性の植物に自花授粉を行うと花粉の発芽又は発芽後の花粉管の伸長を抑制する物質が柱頭及び花柱に出来て、花粉管の伸長を阻害し授精を不能ならしめるものと信ぜられている。除虫菊の場合舌状花の自花不稔は雄蕊を欠く形態的不稔であるが、管状花の場合はこの如き機構がその原因でないかと推察される。尙又除虫菊の栽培されている現状は前にも述べた如く、各種の系統が雑然と相混在しているので、これらある特定の系統間においてのみ授精する不稔群の存在も推察されるのである。共に今後の研究に待つことが多大である。

摘 要

1. 除虫菊の花器について形態的観察、管状花開花各期の相互関係及び結実性につき、実験的研究を行つた。
2. 管状花の開花時刻はその日の天候により異なるが、午前 7 時より始まり、午後 4 時まで持続する。最盛期は午前 8 時より午前 11 時までである。
3. 花粉の放出は開花後 1~2 時間であり、雌蕊の柱頭が分枝し、授精可能の状態を示すのは、開花後 16~20 時間である。この状態は授精を行わしめないと 3~4 日間持続する。
4. 頭状花に袋掛けを行うと殆んど結実しないが、或る程度結実する系統も存在する。
5. 除雄方法による結実の差異は認められない。
6. 管状花の自花授粉は完全な不稔であり、他花授粉の場合は花粉と雌蕊の遺伝的近親程度の遠くなる程結実性が高くなつている。しかし最大の場合でも約 50% の不稔性が存在する。
7. 同一個体を分株して授精した場合、分株しない場合に比し、幾分結実性が高いようである。
8. 舌状花は雄性器官を欠き、自花授粉は出来ないが他花授粉の場合は管状花と同程度の結実性を示す。

文 献

1. 丹羽 鼎三：日本學術協会報 6：479—487, 1930.
2. 安孫子孝一：北大卒業論文 1936.
3. 広島農試 広島農試成績 1938.
4. 下斗米直昌：菊の生態と細胞遺伝 1935.
5. 志佐 誠：植物の不稔性 1934.
6. 戸荊義次, 河原卯太郎：育種研究 1：83—101 1944.

Studies on the Flowering Phenomena and the Fructification of Insect Flowers, (*Chrysanthemum cinerariaefolium* Bocc.)

Kozo KINOSHITA

1. Studies on the morphology of capitate flowers, flowering progress, and the fructification by artificial pollination were made on insect flowers.
2. The efflorescence of the tubular flowers was seen from about 7 A.M. to 4 P.M., although most of them bloomed out from 8 A.M. to 11 A.M.
3. Pollen-discharge occurred 1-2 hours later from efflorescence. After 16-20 hours from efflorescence, the maturity of pistil was completed, when the stigma became ramose. When they were not pollinated, this condition continued for 3-4 days.
4. When capitate flowers were covered with paraffin paper sacks, most of all the strains showed no fructification, although lower fructification was recognized in a few strains.
5. Fertilization was not effected by castration treatments.
6. By self-pollination, this plant was not fertilized. In the case of cross-pollination, it was recognized that as the genetical relationship between the parent plants was slighter, the degree of the fructification became higher. But even in a maximum case only 50 per cent fructification was observed.
7. The degree of fructification by the cross-pollination between the parents which had been propagated vegetatively from the same individual, was somewhat prior to the fructification by crossing between the flowers of plants.
8. As the male organs were deficient in the ligulate flowers, their self-pollination was impossible, but when the ligulate flowers were pollinated with the pollens from the other one, the fructification was recognized as well as in tubular flowers.

チヨウセンアサガオの葉枯性細菌病に関する研究(第 3 報)^{*}
病原細菌の薬剤に對する抵抗性に就て

山 本 昌 木

Studies on the Bacterial Leaf Spot of Jimson Weed (*Datura* spp.) (III)

On the Resistance of the Causal Bacteria to Various Chemicals

Masaki YAMAMOTO

緒 言

著者は前報に於て、チヨウセンアサガオ葉枯性細菌病に就てその病徴、病原性、病原細菌の細菌学的、生理学的性質に就ての観察並びに実験の結果から本細菌を新種と認め、*Phytomonas Hemmianus* YAMAMOTO と命名した²⁴⁾²⁵⁾ 本論文に於ては、本細菌の各種薬剤に對する抵抗性に關する実験結果に就て述べる。本研究は事情により中止したので、一応現在迄の結果を取纏めて報告する。

本研究の遂行に當り、種々御便宜を図られ又激励された前所長松尾仁博士、終始御懇篤な御指導を賜つた平山重勝植物部長に對し深甚な敬意と謝意とを表す。又実験を援助された大坂他家子、古藤カヨ両女史に深く感謝する。

實 験 方 法

本実験に於ては検体の殺菌力を見るために小島・中込氏法⁷⁾を採用した。即ち培養基肉エキス 50 gr, ペプトン 10 gr 食塩 5.0 gr を蒸留水 1 L 中に煮沸溶解し、水酸化ナトリウム溶液で pH 6.8 に修正し再び煮沸した後過し、之を 10 cc 宛試験管に分注加圧滅菌し、供試菌の前培養及び後培養に使用した。寒天斜面培地に培養した *Phytomonas Hemmianus* YAMAMOTO を前記ブイヨンに移し、1 日 1 回連続 3 回 28°C で継代培養を行つて菌の生活力を一定にしたものの 24 時間培養を供試菌とした。可検液は滅菌蒸留水で任意の濃度に稀釈し、各 10 cc に対し菌ブイヨン培養液を駒込ピペットで注入し 30°C (±0.5°C 以下)の恒温槽中によく振盪して 5~30 分間作用せしめ、1 白金耳量宛をとりブイヨンに移植、28°C に 24 時間後培養を行いその發育を調査した。尚作用時間 10 分間で確実に殺菌する可検薬剤の最大稀釈倍数と石炭酸のそれとの比(石炭酸係数 P.C.)を求め比較の便とした。各実験は 2~3 回繰返して行われた。

實 験 結 果

I. 重金屬化合物

水銀化合物では、昇汞(武田製品)、マーセダート(太陽製薬製品)¹⁾¹⁸⁾マーキュロクロム(第一製薬製品)、メルクロン(三共製品)、ウスブルン(特殊製薬製品)等に就いて試験を行い、夫々 P.C. >80.0, 40.0, 0.5, <0.5 及び <0.9 を得た。銀化合物では、硝酸銀、プロテイン銀(中村滝製品)、コロイド銀(第一製薬製品)に就いて試験を行い、夫々 P.C. <0.9, <0.9, <0.1 を得た。銅化合物では塩化銅(国産化学薬品製品)、醋酸銅、硝酸銅(武田製品)、硫酸銅(金田製品)、王銅(主成分塩基性塩化銅)、クボイド(主成分硫酸銅、三共製品)に就いて試験を行い夫々 P.C. 1.0, <9.0, <0.5, <1.4, <0.5 及び <0.5 を得た。鉄化合物では第二塩化鉄並に第二硫酸鉄に就いて試験を行い夫々 P.C. 1.0 及び 4.0 を得た。鉛化合物では、次醋酸鉛及び醋酸鉛に就いて試験を行い、P.C. 2.0 及び <0.1 を得た。

II. 酸

無機酸としては硫酸、脂肪酸としては蟻酸、醋酸に就いて試験し、夫々 P.C. 1.6 及び 1.6 を得た。両者共 24 時間後に細菌浮游液の沈澱を認めなかつた。醋酸にハロゲンを導入したモノクロル醋酸、トリクロル醋酸は夫々 P.C.

^{*} 邦産薬用植物病害に関する研究 第 6 報

Table 1. Bactericidal action of mono-, di- and tri-basic organic acids

Acids		Lactic Acid, P.C.=0.8							Oxalic acid, P.C.=8.0						
Concentration (%)		0	2	1	0.5	0.1	0.05	0.01	0	2	1	0.1	0.01	0.001	0.0001
Initial pH		-	2.19	2.30	2.50	2.85	3.06	3.44							
pH after 24 hrs.		-	2.39	2.52	2.76	3.44	3.93	5.61							
Treatment	5 min.	†	-	†	†	†	†	†	-	-	-	-	+	+	+
	10 "	†	-	-	†	†	†	†	-	-	-	-	+	+	+
	15 "	†	-	-	†	†	†	†	-	-	-	-	+	+	+
	after 24 hrs.	†	-	-	+	+	+	†							
Deposit after 24 hrs.		-	-	-	+	+	+	+							
Acids		Succinic acid, P.C.=0.8							Tartaric acid, P.C.=1.0						
Concentration (%)		0	2	1	0.5	0.1	0.05	0.01	0	2	1	0.5	0.1	0.05	0.01
Initial pH		-	2.42	2.57	2.70	3.05	3.23	3.62	-	1.97	2.07	2.27	2.61	2.82	3.30
pH after 24 hrs		-	1.52	1.63	1.73	2.35	2.77	4.26	-	2.11	2.29	2.43	3.18	3.68	6.41
Treatment	5 min	†	-	±	+	†	†	†	†	-	-	-	†	†	†
	10 "	†	-	-	±	†	†	†	†	-	-	-	†	†	†
	15 "	†	-	-	-	+	†	†	†	-	-	-	†	†	†
	After 24 hrs	†	-	-	-	+	†	†	†	-	-	-	-	±	†
Deposit after 24 hrs		-	-	-	†	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-
Acid		Citric acid, P.C.=0.8													
Concentration (%)		0	2	1	0.5	0.1	0.05	0.01							
Initial pH		-	2.04	2.18	2.35	2.74	2.94	3.49							
pH after 24 hrs		-	2.18	2.42	2.59	3.43	4.17	6.25							
Treatment	5 min	†	-	-	†	†	†	†							
	10 "	†	-	-	+	†	†	†							
	15 "	†	-	-	+	†	†	†							
	After 24 hrs	†	-	-	-	-	±	†							
Deposit after 24 hrs		-	-	-	+	†	†	-							

8.0 及び 1.6 を示し、モノクロル酢酸は酢酸に比べて殺菌力が増加した。一塩基酸では乳酸、二塩基酸では琥珀酸、酒石酸、三塩基酸で枸橼酸を用いて試験を行つた。何れのものも pH 2.35~3.43 の間で 24 時間後に沈澱を生じ、之より酸性側で殺菌効果を示した。実験結果は第 1 表に示す通りである。尙この pH は Erythrosin 及び Methyl violet 又は陽性石鹼を用いて測定した当細菌の等電点と略々一致する。尙水素イオン濃度はキンヒドロン電極を用いて電気的に測定した。

等電点の測定は次の如くである。即ち当細菌の 24 時間培養をスライドガラスに塗抹乾燥し、無水アルコールで 30 分間固定し、0.1 N 塩酸及び塩化加里飽和溶液で pH を種々に変じた緩衝液に 30 分間浸した後 1/200 M Erythrosin に 4 分、1/200 M Methyl violet に 30 秒間染色した²⁵⁾。Methyl violet は比較的染色性が強く何れも淡色に染つてはいるが、各々 pH 3.11, 3.08, 2.87 以上で特に強く染色された。Erythrosin は各々 3.21, 2.04, 2.77 以下でもよく染色された。等電点は pH 2.77~2.87 附近にあるらしい。これは次のようにして陽性石鹼で測定⁴⁾した結果と略一致する。

Table 2. Differential staining of *Ph. Hemmianus* by methylviolet and erythrosin

I	pH	0.43	0.81	1.00	1.11	1.49	1.70	1.73	1.80	2.21	3.11	3.22
	Methylviolet	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	+
Erythrosin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-

II	pH	1.21	1.49	1.59	2.04	3.08	3.29	3.48
	Methylviolet	±	±	±	±	+	+	+
Erythrosin	+	+	+	+	-	-	-	

III	pH	1.97	2.14	2.35	2.42	2.54	2.77	2.87	3.11	4.47
	Methylviolet	±	±	±	±	±	±	+	+	+
Erythrosin	+	+	+	+	+	+	-	-	-	

即ち 0.2 宛の間隔に pH を調節した McIlvaine の緩衝液に 1% の陽性石鹼を加え、1 cc に対し 10 mg の濃度になるように細菌浮遊液を添加した。尙対照としてヘモグロビンを使用した。当細菌では pH 3.0 より、ヘモグロビンでは pH 6.8 より濁濁を認めた。以上の結果より当細菌の等電点は pH 2.8~3.0 附近にあるようである。

Table 3. I.E.P. of *Ph. Hemmianus* determined by invertsoap

Present	pH	2.0	2.2	2.4	2.6	2.8	3.0	3.2	3.4	3.6	3.8	4.0
bacteria	Turbidity	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
Haemo-	pH	6.2	6.4	6.6	6.8	7.0	7.2	7.4	7.6	7.8		
globin	Turbidity	-	-	-	+	+	+	+	+	+		

III. アルカリ

水酸化カリウムに就いて殺菌試験を行い P.C.=1.6 を得た。

IV. ハロゲン

ブロムカリウム、ルゴール液、ハロミン(第一製薬製品, Natrium-p-toluol sulfochlorid)に就いて試験を行い夫々 P.C. 13.2, 1.4, <0.1 を得た。

V. 脂肪酸化合物

アルコール類ではメチルアルコール, エチルアルコール, ブチルアルコールに就き夫々 P.C. 0.08~0.1, 0.08~0.1, 0.1 を得た。

メチルアルコール, エチルアルコールに比べて炭素数を増加したブチルアルコールでは殺菌力が増加した。ホルムアルデハイドは P.C.>80.0 で相当著しい殺菌効果を示す。

VI. 酸化剤

過マンガン酸カリウムでは P.C.=0.9 を得た。

VII. 芳香族化合物 (スルファミン, スルファチアゾールを除く)

モノオキシベンゾール中石炭酸(第一製薬製品), クレゾール, キシレノールに就いての実験結果は夫々 P.C. 1.0, 1.6, 6.0 で, フェノールの核水素原子のメチル基置換数につれて殺菌力が増大した。一価フェノール誘導体のピクリン酸, 高級一価フェノールのチモールでは夫々 P.C. 1.6, 12.0 を示した。デオキシベンゾールではオルトの位置に水酸基の入ったバイロカタキンに就いては試験しなかつたが, メタ位のレゾルシンとパラ位のヒドロキノンの殺菌試験の結果は夫々 P.C.<0.8, 0.8 でヒドロキノンの方が効果があつた。又バイロカタキンにメトキシ基を置換したグワヤコールはあまり殺菌効果が無かつたが(P.C.<0.8), レゾルシンのアルキルエステルであるヘキシルレゾルシンは著しい効力を示した(P.C.=80.0)。トリオキシベンゾールの焦性没食子酸(大日本製薬製品)は実験の範囲内では殺菌効果を認めなかつた。芳香族酸中安息香酸(メルク製品)は殺菌効果が無かつたが, 水酸基を導入したサリチル酸(P.C.=8.0), 更にアルキルエステルとしたパラオキシ安息香酸は殺菌力が強まつた(P.C.=40.0) タンニン及びフェニル醋酸は実験の範囲内では全く殺菌作用を認めなかつた。

VII. 異性環状化合物

フラン誘導体のニトロフラゾン¹³⁾²²⁾は P.C.<40.0 窒素環誘導体のキノヨゼンは P.C.<0.1 であつた。

VIII. 色素

トリフェニルメタンのメチルヴァイオレットは P.C.=16.0, フクシンは P.C.<8.0, メチレン青は P.C.=16.0 であつた。アクリジン色素中アクリフラビン(P.C.=4.0)よりもアクリノールの方が殺菌力は強かつたが(P.C.=8.0), スルフォン基を導入したスルファリバノールは後者よりも幾分効果が落ちるようであつた(P.C.=8.0)。

IX. 硫黄及び硫黄誘導体

コロイド硫黄(三共製品, ソイド一号)は全く殺菌作用を示さなかつた。スルファミン(東京田辺製品)及びスルファチアゾールは何れも殺菌作用が無かつたが, ブイオン中では発育阻止作用を有し, この作用はスルファチアゾールの方が強かつた。実験結果は第 4, 5 表の如くである。

Table 4. Bactericidal and bacteriostatic action of sulfamine (P.C.=<0.9)

Exp. No.	Concentration(%)	I							II						
		0	1	0.8	0.6	0.4	0.2	0.1	0	1	0.8	0.6	0.4	0.2	0.1
Bactericidal action	5 min	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	10 "	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	15 "	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	20 "	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	25 "	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	30 "	++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Bacteriostatic action	24 hrs	++	-	-	-	±	+	+	++	-	-	-	±	+	+
	48 "	++	-	-	-	+	+	+	++	-	-	-	+	+	+
	72 "	++	-	-	-	+	++	++	++	-	-	-	+	++	++

Table 5. Bactericidal and bacteriostatic action of sulfathiazol

(P.C.=<0.9)

Exp. No.		I							II						
Concentration(%)		0	1	0.8	0.6	0.4	0.2	0.1	0	1	0.8	0.6	0.4	0.2	0.1
Treatment															
Bactericidal action	5 min	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	10 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	15 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	20 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	30 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	35 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Bacteriostatic action	24 hrs	+	-	-	-	-	-	±	+	-	-	-	-	-	±
	48 "	+	-	-	-	-	-	±	+	-	-	-	-	-	±
	72 "	+	-	-	-	-	-	±	+	-	-	-	-	-	±

スルファミン及びスルファチアゾールを 1~0.01% の割合に含むブイオン中に 0.06% の割合で尿素を添加し、1 白金耳量宛細菌を移植し 24, 48, 96, 120 時間後にその発育を調査したが、第 6 表に示す如く尿素を添加したもののほうが細菌発育阻止作用は強かつた。

ブイオン中では蛋白質の誤差があるので、合成培地のウシンスキー氏液(蒸溜水 1000cc, 食塩 5g, 塩化カルシウム 0.1g, 硫酸マグネシウム 0.2g, 磷酸二加里 1g, アスパラギン 3.4g, 乳酸アンモニウム 10g)を用いてスルファミンと尿素及びチオ尿素との協同作用を試験したが第 7, 8 表の如く阻止作用は高められた。

スミス氏処方ウシンスキー氏液(蒸溜水 1000cc, 食塩 5g, 塩化カルシウム 0.3g, 磷酸二カリウム 2g, アスパラギン酸ソーダ 3g, 乳酸アンモニウム 6g)を用い、スルファミン、スルファチアゾールと尿素及びチオ尿素との協同作用を試験したが第 9 表のような結果になつた。

この協同作用と各種ビタミン類との関係を明にする目的で、先づコーン氏液(蒸溜水 1000cc, 磷酸一カリウム 5g, 硫酸マグネシウム 5g, 酒石酸アンモニウム 10g, 塩化カリウム 0.5g)を用い、二三のビタミン類の当細菌に及ぼす作用を試験したが、第 10 表の如く、ビタミン B₆ 及びベタインドール醋酸は濃度の増加と共に発育が良くなつたが、ニコチン酸及びパラアミノ安息香酸は実験の範囲内では濃度の増加と共に発育が阻止された。

スミス氏処方ウシンスキー氏液を用いてスルファチアゾールとチオ尿素との協同作用に及ぼす各種ビタミン類の影響を調査したが、その結果は第 11 表の如く、スルファチアゾールと尿素及びチオ尿素との協同作用は、ビタミン B₁ 及び B₆ の添加に依つて減少したが、この現象はビタミン B₂, ビタミン C, パラアミノ安息香酸, ベタインドール醋酸では認められなかつた。

X. チアン及びロタン化合物

青酸カリは P.C.=0.9 を示したが、ロタンカリウム及びロタンナトリウムは全く殺菌作用を認めなかつた。ロタン醋酸エチルエステル²⁾³⁾ は全く殺菌作用が無かつた。発育阻止作用は僅かに有する。(10⁻¹)

XI. 高分子化合物

陽性石鹼⁸⁾ はかなり効果があるようであるが試料に依りかなりの相違がある。(P.C.=80.0, <1.6) 陽性石鹼に細菌浮游液を加えると、初めは濃度の高い方が濁濁が劇しいが、時間の経過と共に濃度の高い方がむしろ透明となる。検鏡すると、陽性石鹼を加える事に依つて細菌菌体は膨潤し、外部から落けて遂に崩壊して下りようである。(第 1 図)

マクラミン(Trimethyl-chitosamine-iodide) は殺菌作用も発育阻止作用も無かつたが、ウシンスキー氏液中では極く僅かに阻止作用を認めた(10⁻¹)。

Table 10. Effects of vitamins on the growth of *Ph. Hemmianus* in Cohn's solution.

Observation	After 24 hours				After 48 hours			
	0	1	0.5	0.1	0	1	0.5	0.1
Vitamin B ₆	+	++	++	+	+	++	++	+
Nicotinic acid	+	-	+	+	+	-	+	+
β -indolacetic acid	+	++	+	+	+	++	++	++
<i>p</i> -aminobenzoic acid	+	-	-	+	+	-	-	+

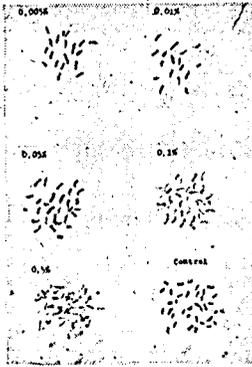
Table 11. Effects of Vitamins on the synergism between sulfathiazol and urea

Observation	Treatment	After 24 hours				After 48 hours				After 72 hours			
		Control*	Sulfa-thiazol	Sulfa-thiazol + urea	Urea	Control	Sulfa-thiazol	Sulfa-thiazol + urea	Urea	Control	Sulfa-thiazol	Sulfa-thiazol + Urea	Urea
Vitamin B ₁	0	++	±	-	-	+++	±	-	-	+++	+	±	-
	0.1 mg	+++	+	±	-	+++	+	±	-	+++	++	+	-
	0.5 mg	+++	+	±	-	+++	+	±	-	+++	++	+	-
	1.0 mg	+++	+	±	-	+++	+	±	-	+++	++	+	-
Vitamin B ₂	0	+++	+	±	-	+++	+	±	-	+++	+	±	-
	0.05 mg	+++	+	±	-	+++	+	±	-	+++	+	±	-
	1.0 mg	+++	+	±	-	+++	+	±	-	+++	+	±	-
Vitamin B ₃	0	+++	±	-	-	+++	±	-	-	+++	+	±	-
	0.1 mg	+++	±	±	-	+++	±	±	-	+++	+	+	-
	0.5 mg	+++	+	±	-	+++	±	±	-	+++	+	+	-
	1.0 mg	+++	+	+	-	+++	±	±	-	+++	+	+	-
Vitamin C	0	++	±	-	-	+++	±	-	-	+++	±	-	-
	0.05 mg	+++	±	±	-	+++	±	±	-	+++	±	±	-
	0.5 mg	+++	±	±	-	+++	±	±	-	+++	±	±	-
	2.5 mg	+++	±	±	-	+++	±	±	-	+++	±	±	-
	5.0 mg	+++	±	±	-	+++	±	±	-	+++	±	±	-
<i>p</i> -amino-benzoic acid	0	+++	++	±	±	+++	++	±	-	+++	+++	-	-
	0.1 mg	+++	+	-	-	+++	++	-	-	+++	+++	-	-
	0.5 mg	±	±	-	-	±	±	-	-	±	±	-	-
	1.0 mg	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
β -indol-acetic acid	0	+++	+	±	-	+++	+	±	-	+++	+	±	-
	0.1 mg	+++	+	±	±	+++	+	±	±	+++	+	±	±
	0.5 mg	+++	+	±	±	+++	++	±	±	+++	++	±	±
	1.0 mg	+++	+	±	±	+++	++	±	±	+++	++	±	±
Nicotinic acid	0	+++	+	-	-	+++	++	-	-	+++	+	-	-
	0.1 mg	+++	+	-	-	+++	±	-	-	+++	±	-	-
	0.5 mg	+	-	-	-	++	-	-	-	++	-	-	-
	1.0 mg	±	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-

考 察

水銀の殺菌作用は水溶液で遊離状態にある水銀イオンの凝固作用に基くもので蛋白質の溶液に昇汞水を加えると昇汞の水銀イオンは直ちに蛋白質に作用し、其の組成のカルボキシル基、アミド基又はアミド又は水酸基等に含有せられる水素原子と置換して蛋白質を変質させ、全く水に不溶性の蛋白化汞となるもので、先づ昇汞は細菌外圍の原形質に作用し、長く放置すれば内部の生活力を有する原形質も遂に窒息死するに至るといわれる。マーセタートは昇汞よりも殺菌力低く、マーキュロクロムは更に低かつた。之は水銀イオンを遊離しないといわれる。メルクロン及びウス

ブルンは殺菌力が低い、水銀化合物以外のものの混入が考えられる。一般に有機水銀化合物は昇汞に比して劣るようである。



1 図 陽性石鹼による細菌体崩壊作用

Fig. 1 Degeneration of the bacteria treated by invert soap

メチルパライソプロピルフェノールのチモールは相当高い殺菌効果を示すが、アルキル基を導入すれば殺菌力は高まるようである。

アクリジン色素中、アクリノールの方がアクリフラビンより効力があつたが、スルフォン基を導入したスルファリパノールは効果が低下した。

スルファミン及びスルファチアゾールに尿素又はチオ尿素を添加すると、細菌発育阻止力が高められる事は既に TENENBERG, TSUCHIYA, CLARK 及び STRAKOSCH¹⁰⁾, TSUCHIYA, TENNENBERG 及び STRAKOSCH²¹⁾, KIRBY⁶⁾, JOHNSON⁵⁾, SUNG 及び HELMHOLZ¹⁵⁾ SEVAG, SHELBURNE 及び MUDD¹⁴⁾¹⁵⁾, LEE, EPSTEIN 及び FOLEY⁹⁾, MC CLINTOCK 及び GODALE¹²⁾, 宮本¹⁰⁾¹¹⁾ 等に依り研究された所であるが本細菌に就いても同様の事が言える。SEVAG, SHELBURNE 及び MUDD に依れば、スルファチアゾールは *Staphylococcus aureus* のカルボキシラーゼの作用を阻止し、1分子のコカルボキシラーゼは215分子のスルファチアゾールの阻止作用を妨げるという。又 MC CLINTOCK 及び GODALE¹²⁾ に依れば、尿素はスルファミンの細菌発育阻止作用を助けるのみならず、Albumen 及びその分解物との化学的結合からスルフォンアミドを放ち、又パラアミノ安息香酸による不活性化から守り、尿素によつてスルファミンの運搬は大いに助けられるという。著者の実験に於て、ビタミン B₁ はスルファチアゾール単独の場合もチオ尿素を添加した時も発育阻止を弱める力を持つているが、チオ尿素単独ではこの作用は認められなかつた。チオ尿素を並用した時よりもスルファチアゾール単独の方が阻止作用を弱める力が強いので、スルファチアゾールのスルファミンの部分にビタミン B₁ のピリミジンの部分と置換されるのではあるまいか、ビタミン B₆ を添加した場合は、スルファチアゾール単用の場合もチオ尿素を並用した場合も同程度に発育阻止を弱めた。

その機構は不明であるが、ビタミン B₁ の場合とは恐らく異つたものであらう。ロダン醋酸エナルエステルは醬油に著しい防黴作用があるが³⁾ 当細菌には殺菌作用が無かつた。

以上述べた所から次の事が言えるようである。1) 水酸基を導入すると殺菌力を増すが2個以上入ると殺菌力が落ちる。2) アルキル基を導入すると殺菌力が増強する。3) ハロゲンを導入すると殺菌効果が増加するが、置換ハロゲン原子数が多い程殺菌力が強まるとはいえない。4) スルフォン基を導入すると殺菌力は弱まる。

摘 要

1. 本論文に於ては、チオウセンアサガオ葉枯性細菌病菌 *Phytomonas Hemmianus* YAMAMOTO の各種薬剤に対する抵抗力に就ての実験結果を報告する。

2. 殺菌力の検定は浮游法に従つた。

3. 重金属化合物中、水銀化合物では昇汞>マーセタート>マーキョログロム>メルクロン>ウスブルンの順に殺菌力が落ちた。銀化合物では硝酸銀>プロテイン銀>コロイド銀の順に、銅化合物では塩化銅>酢酸銅>硝酸銅>王

銅>クボイドの順に殺菌力が弱まった。鉄化合物では硫酸第二鉄>塩化第二鉄、鉛化合物では次醋酸鉛>醋酸鉛の結果であつた。

3. 酸では蓆酸>硫酸>蟻酸、酒石酸>琥珀酸>枸橼酸>醋酸の順に殺菌力を示し、24時間後に酒石酸、琥珀酸、枸橼酸等の二、三塩基酸に於ては、最初の薬液の pH 2.35~3.43 の間に沈澱を生じ、之より酸性側で殺菌効果を示した。尙この点はエリスロシン及びメチルヴァイオレット又は陽性石鹼を用いて測定した当細菌の等電点と略々一致する。醋酸にハロゲンを導入したモノクロル醋酸は効果が高まつた。

4. ハロゲンではハロミン>ルゴール液>ブロムカリの順に殺菌力が落ちた。

5. 脂肪族化合物中メチル、エチルアルコールよりも炭素数を増加したブチルアルコールの方が殺菌力が強かつた。ホルムアルデヒドは相当著しい殺菌効果を示す。

6. 芳香族化合物中、モノオキシベンゾールでは石炭酸<クレゾール<キシレノールとフェノールの核水素原子のメチル基置換数につれて殺菌力が増大した。ニトロ基を導入した一価フェノール誘導体のピクリン酸はクレゾールと略々同じ効果を示したが、高級一価フェノールのナモールは相当著しい効果があつた。デオキシベンゾール誘導体ではパラ位に水酸基の入つた hidroキノンの方がパラ位のレゾルシンより効果があり、レゾルシンのアルキルエステルのヘキシルレゾルシンは著しい殺菌力を示した。トリオキシベンゾールの焦性没食子酸は全く効果が無かつた。

7. 芳香族酸中、安息香酸は効果が無かつたが、水酸基を導入したサリチル酸、アルキルエステルとしたパラオキシ安息香酸ブチルは効果があらわれた。フェニル醋酸及びタンニンは全く効果が無かつた。

8. アクリヂン色素ではアクリフラビンよりアクリノールの方が勝れ、スルホン基を導入したスルファリパノールは稍効果が落ちた。

9. 硫黄及び硫黄誘導体では、コロイド硫黄、スルファミン、スルファチアゾール共に殺菌作用は認められなかつたが、スルファミン、スルファチアゾール共に発育阻止作用を有し、スルファチアゾールの細菌発育阻止作用はスルファミンのそれよりも勝つていた。スルファミン及びスルファチアゾールに尿素及びチオ尿素を添加したものは発育阻止作用が増強された。ビタミン B₁ 及びビタミン B₆ はこの阻止作用を弱める働きがあつたが、ビタミン B₂、ビタミン C、パラアミノ安息香酸、ベタインドール醋酸及びニコチン酸ではかゝる事は認められなかつた。

10. 高分子化合物では陽性石鹼はかなり殺菌効果を示したがマクラミンは効果を認めなかつた。

11. 其他若干の薬剤に就き試験した結果を述べた。

稿を終るに当り、山口博士、寺山博士夫妻其他実験材料を恵与された諸氏に深く感謝する。

引用文献

- 1) 秋葉朝一郎、風間美佐雄：有機水銀化合物の合成並に其殺菌力試験(第四報)殺菌力試験の部。衛試 51:70-111, 昭 13. (1938).
- 2) 藤川福二郎：有機性防腐剤に就て。有機合成化学協会誌 5:10-13, 昭 23. (1948).
- 3) 平山重勝、山本昌木：ロダン醋酸エチルエステルの醬油防黴試験報告。衛試 68:27-36, 昭 26(1951).
- 4) JOFFE, W. G.: A simple method for the approximate estimation of the isoelectric point of soluble proteins. J. Biol. Chem., 148(1): 185-186, 1943.
- 5) JONSON, F. H.: An analysis of the antagonists and synergistic action of acetone, ethylalcohol, butylalcohol, chloroform, ether and urethane on sulfonamide inhibition. J. Bact., 16(1): 1100, 1943.
- 6) KIRBY, W. M. M.: In vitro action of urea-sulfonamide mixture. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 53(3): 109-111, 1943.
- 7) 小島三郎、中込直：消毒剤の標準検定法。日本公衆保健協会雑誌, 6: 450-453, 昭 5(1930).
- 8) KUHN, R. u. a.: Über Invertseife. I-V. Ber., 13(73): 1080-1091, 1940.
- 9) LEE, S. W., EPSTEIN, J. A. & Foley, E. G.: Synergistic action of thiourea and guanidine with sulfathiazol. Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 51(1): 105-107. 1943.
- 10) 宮本晴夫：尿素及びその誘導体とスルフォニアミド剤との協同作用並にその機作に関する研究。化学とホルモン, 1(1): 267-271, 昭 23(1948).

- 11) 宮本晴夫：スルホンアミド剤と尿素との併用効果についての動物実験。最新医学 4 (3) : 1-3, 昭 24 (1947).
- 12) MCCINTOCK, L. A. & GODALE, R. H. : Studies of the improvement of wound therapy by the use of synergistic mixture of antibacterial substance. U.S. Naval Med. Bull., 4 : 1057-1064, 1943. (Ref. in Biol. Abst., 19(1) : 1189, 1944.)
- 13) 西海枝東雄：抗菌性フラン誘導体に就て。有機合成化学協会誌, 6(10, 11, 12). 1949.
- 14) SEVAG, M. G., SHELBUNE, M. & MUDD, S. : Studies of the action by sulfonamides on the respiration and growth of bacteria. A. Factors controlling the inhibition of sulfonamides of carboxylases. I. Antagonism between carboxylase and sulfathiazol. J. Bact., 49(1) : 65-70, 1945.
- 15) SEVAG, M. G., SHELBUNE, M., MUDD, S. : Studies on the action by sulfonamides on the respiration and growth of bacteria. A. Factors controlling the inhibition of sulfonamides of carboxylases II. Antagonism between *p*-aminobenzoic acid and sulfathiazol. J. Bact. 49(1) : 71-77, 1945.
- 16) SUNG, C. & HELMHOLZ, H. E. : Variation of action of sulfathiazole on *Escherichia coli* and *Staphylococcus fecalis* on changes in the pH of the urine. Proc. Stoff. Meet. Mays Clinic., 19 : 577-581, 1944. (Ref. in Biol. Abst., 19(7) : 13418, 1945.)
- 17) SUTER, C. M. : Relation between the structure and bactericidal properties of phenols. Chem. Rev., 29 (2) : 269-299, 1941.
- 18) 田中稔, 京田登：有機水銀化合物の合成並に其の殺菌力試験。第 2 報, フェニル水銀アセタート及びフェニル水銀ラクタートの製法。衛試 46 : 205-211, 昭 13 (1938).
- 19) TENNENBERG, D. J., TSUCHIYA, M. M., CLARK, W. G. & STRAKOSCH, F. A. : In vitro effect of sulfonamides plus urea on *Escherichia coli* in presence of para-amino benzoic acid. Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 5(2) : 247-249, 1942.
- 20) 寺山宏, 寺山あみ, 八田貞義, 桑原章吾, 宮本晴夫, 青山好作, 宇都宮則久, 丹治園枝：キチン質を材料とする抗菌性物質(マクラミン)に就ての研究(共 1)一般性状及び各種好気性菌に対する抗菌作用に就て。基礎と臨床 2(1) : 10-14, 昭 23 (1948).
- 21) TENNENBERG, D. J. & STRAKOSCH, E. H. : In vitro effect of urea sulfathiazol combination in sulfathiazol resistant staphylococci. Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 5(3) : 245-247, 1942. (Ref. in Biol. Abst. 17 (5) 1943.)
- 22) 津田恭介：最近の合成薬品について。有機合成化学協会誌 6(10,11,12) 1949.
- 23) 山羽茂兵：植物遊離細胞の等電点に就て。植物及動物 3 (1) : 15-24, 1925.
- 24) 山本昌木：テウセンアサガホの葉枯性細菌病(第 1 報) 衛試 66 : 62-71, 昭 23 (1948)
- 25) 山本昌木：テウセンアサガホの葉枯性細菌病に関する研究(第 2 報)。分類学的考察。衛試 67 : 79-285, 昭 25(1950).

Studies on the Bacterial Leaf Spot of Jimson Weed (*Datura* spp.) (III)

On the Resistance of the Causal Bacteria to Various Chemicals

Masaki YAMAMOTO

The present paper deals with the results of the investigations concerning the resistance of the causal organism of leaf spot of Jimson weed (*Phytonnas Hemmianus* YAMAMOTO) to various chemicals. The writer used phenol coefficient as bactericidal standard.

a. Heavy metals

In mercury compounds, mercuric chloride > Mercetat > Mercuron > Uspulun ; in silve compounds, silver nitrate > protein silver > colloid silver ; in copper compounds, copper chloride > copper acetate > copper

sulfate> Ôdo and Cupoid; in lead compounds, lead subacetate> lead acetate.

b. Acids and fatty compounds

Inorganic and fatty acids did not precipitate the bacterial suspension in any concentration after 24 hours, but in mono-, di- and tribasic acids the precipitation occurred about around the isoelectric point of the organism and the bactericidal effect was observed in acid-side from I.E.P. Monochlor-acetic acid, raised the bactericidal effect than acetic acid. Butylalcohol is more effective than methyl or ethyl alcohol. Formaldehyde had remarkable effect.

c. Aromatic compounds

In monooxybenzene, the activity was raised by the number of substituted CH₃ group as phenol< cresol< xylenol. Picric acid, introduced nitrogen group, had the same power as cresol. Thymol, higher univalent phenol, and *p*-oxybenzoic acid butylester had remarkable effect.

d. Sulfur and sulfon derivatives

Colloidal sulfur, sulfamin and sulfathiazol had no bactericidal effect, but sulfamin and sulfathiazol had bacteriostatic activity. This activity was raised by the addition of urea and thiourea, nevertheless this effect was decreased by Vitamin B₁ and V.B₆, but no decrease was proved by Vitamin B₂, V. C, *p*-aminobenzoic acid, β -indol acetic acid and nicotinic acid.

e. Cyanate and rhodan compounds

Potassium cyanate showed phenol coefficient of 0.9. Potassium rhodanate, sodium rhodanate had no effect. 1 per cent solution of rhodan acetic acid had bacteriostatic action but no bactericidal action.

f. Higher molecular compounds

Invertsoap showed fairly good activity but macramin had no effect.

g. Other compounds

In halogen, halomin>Lugor liquid>potassium bromide. In heterocyclic compound, nitrofurazone and chinoxodin had no bactericidal effect. Among dyes, methyl violet, methylene blue showed remarkable effect but fuchsin had low effect. In acridin dyes, acriflavin< sulfarivanol< acrinol.

ハトムギの葉枯病に関する研究*

平山重勝 山本昌木

Studies on the Leaf Blast of Job's tears (*Coix* spp.)

Shigekatsu HIRAYAMA and Masaki YAMAMOTO

昭和 21 年 10 月、当植物部柏壁圃場若林技官は、ハトムギの枯死した茎葉を持参し、小官等によるその調査を委嘱せられた。検鏡の結果、一種の *Helminthosporium* 属菌に基づく病害である事が判明した。10 月 31 日被害葉病斑から病原菌の分離を行い、本病菌の形態学的生理学的並びに病理学的研究を行いつゝあるが、現在迄に得られた結果を次に大要述べたいと思う。尙本研究の遂行に当り、御支援を賜つた前所長松尾仁博士、並びに現所長近藤龍博士に深甚なる感謝を捧げる。又実験を援助された湯川良夫氏、大坂他家子、古藤カヨ両嬢に謝意を表す。

【病徴】 葉身、葉鞘及び穎が侵される。初め 0.1~1mm の楕円形黄褐色又は褐色の病斑を生じ、内部は稍々灰色、時に透明な感がある。病斑は其後次第に拡大して、紡錘形~不正楕円形を呈するに至るが、病患部附近は変色枯

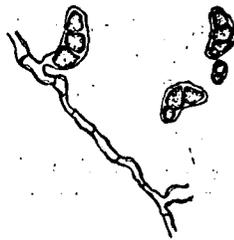
* 邦産薬用植物病害に関する研究第 4 報 本研究は文部省科学研究費を以て行つたものの一部であり援助に対し謝意を表す。

死するに至る。時には稲の白葉枯病のような病状を呈する事もある。枯死部分には、黒色の分生胞子の形成を認める。

【病原菌の形態】 1. 擔子梗：被害葉の枯死した部分に形成せられ、1~6本叢生、基部には1~2個の球形膨大した細胞を有する。擔子梗は直形にして、分生胞子を形成する迄は、殆ど屈曲を有しない。

2. 分生胞子：長楕円形乃至短紡錘形で、一方に彎曲する事が多い。両端略々鈍円で Dark olive 色。寄生植物上より採集した胞子 200 個に就ての測定結果は、次に示すように 15.1-51.5×9.1-18.2μ, 2~7 の隔膜を有するが、27.3-51.5×12.1-13.5μ, 3~4 箇の隔膜を有するものが最も多い。

長径(μ)	15.1-51.5	平均値	32.5±0.50	標準偏差	±4.96
短径(μ)	9.1-18.2		13.6±0.12		±1.19
隔膜數	2-7				



第1図 ハトムギ葉枯病菌
乾杏煎汁寒天28°C 10日間培養 300×
Helminthosporium coicis Nishikado
Apricot extract agar, 28°C 10 day's culture



第2図 ハトムギ葉枯病菌をハトムギに接種したもの
左接種区 右標準区
Result of inoculation experiment
Left: Inoculated, Right: Control

隔膜部に於て僅かに縊れている事がある。

WAKSMAN 寒天培養基上 28°C で 2 週間培養し、形成せられた胞子 200 個に就て測定した結果は次のようである。長さ 16.5~43.9μ, 平均 29.7±4.6μ 標準偏差 0.96μ, 幅 7.7~20.9μ, 平均 12.5±0.74μ 標準偏差 ±1.54μ, 隔膜數 1~4, 平均 3.3±0.7。

【病原性】 WAKSMAN 寒天培養基上に本菌を植付け、28°C に 2 週間培養したものから、ガーゼで菌絲を濾過し、分生胞子の滅菌水懸濁液を作り噴霧器で予め適當の大きさに生育させた寄主に、接種試験を行った。接種後 24 時間温室に保つてから、温室内に放置し、発病及び病勢進展の経過を観察した。

A. 禾本科植物の莖葉に対する病原性 (昭和 22 年及び 23 年夏に之を行った)

a. ハトムギ及びジュズダマに対する接種試験(第 1 表)

第 1 表 ハトムギ葉枯病菌のハトムギ及びジュズダマに対する接種試験

	寄主	ハトムギ	ジュズダマ
第 1 回接種試験	8 月 26 日	上部の葉に細長い水浸状病斑	水浸状紡錘形病斑又は褐色化した小斑点が僅かに見える。
	8 月 28 日	上部の葉に楕円形水浸状病斑を多く見る 葉の中部に特に多い。	上部の葉に紡錘形又は細長い水浸状の病斑を見、その中央部が茶褐色に変化するもの多く、病斑は葉の中部より少し基部によつた方に多い。
	8 月 30 日	頂部より 3~4 葉迄多く病斑を見る。ジュズダマに比し葉の中部より葉鞘近くに細長い水浸状病斑を見、所々中央部褐色化する。	病斑は 2~3 個連続する。下部の葉は上部程病斑はあらわれない。

	9月6日	葉の先は帯黒褐色となり、枯葉は何れも下垂し、病斑は葉の基部近く迄紡錘形となる。帯橙褐色を呈し、2-3個連続する	下部の葉も病斑は相当あらわれ、縦に連なり、褐色を呈し、周囲は黄化する。
第II回接種試験 (8月30日接種)	9月2日	楕円～紡錘状の水浸状病斑、上部の葉に多い	淡黄色水浸状病斑を生ずる。
	9月9日	楕円形水浸状病斑を多く生ずる。葉身中部より基部にかけて病斑数は多い。	病斑は葉身中部よりハトムギに比してむしろ先端に多く見られる。病斑中央部褐変。
	9月14日	病斑多数融合し、葉身は病斑の部分より折れ曲り、汚褐色となる。	病斑多数融合し、不規則な円形を呈するが、折れ曲る事なく、病勢の進展はハトムギに比較して遅い感がある。

b. イネ及び禾本科雑草に対する接種試験

昭和23年7月20日及び7月28日、イネ、ナガハグサ、スサメノカタビラ、カニツリグサ、カモジグサに対し、接種試験を行つたが、2週間後でも病斑の形成を見なかつた。

8月1日及び8月10日、イネ、エノコログサ、カヤツリグサ、ノビエ、メヒジハ、アキメヒジハ、チヂミザサに対し接種試験を行つたが、3週間後でも病斑の形成は認められなかつた。

8月30日イネ、カゼグサ、キンエノコロに接種試験を行い、2週間後観察を行つたが、全然変化は無かつた。

B. トウガラシ果実に対する実験

昭和23年9月2日及び9月27日、無傷又は有傷(滅菌した針又は三角刀使用)接種を行い、2週間後に観察したが接種区及び標準区共、全然変化を認めなかつた。

C. ハトムギ根際に対する接種試験(立枯)

予め昭和22年8月29日に播種を行つたハトムギ幼苗に同年9月4日及び7日、15×10—視野14胞子濃度の懸濁液を作り、常法に従い根際に接種を行つた。立枯状況の調査を行つたが、その結果は次表の如くである。

第2表 ハトムギ葉枯病菌のハトムギ幼苗に対する病原性
Pathogenicity of the present fungus on the seedlings of Job's tears

	有傷 Wounded			無傷 Not wounded		
	調査個体数 Number of inoculated plants	枯死個体数 Died	枯死率 Percentage	調査個体数 Number of inoculated plants	枯死個体数 Died	枯死率 Percentage
第I回実験* 1st Exp.	14日目 100	18	18.0%	100	11	11.0%
	19日目 100	36	36.0	100	17	17.0
	25日目 100	45	45.0	100	17	17.0
第II回実験** 2nd Exp.	14日目 50	6	12.0	50	3	6.0
	21日目 50	13	26.0	50	8	16.0

N.B. * 接種後調査迄の温度は 24°~25°

** 接種後調査迄の温度 23°~25°

上表によつて見られるように、葉枯病菌によつてハトムギ幼苗が、立枯症状を呈する事は、略々明らかであるが、ハトムギ種子中に本菌が潜入するかどうか、又その病原性を明らかにする目的で、種子から菌の分離試験を行つた。ハトムギ種子は、前年度粕壁分場にて収穫したものを、1000倍昇汞水にて1,2,5分間、表面殺菌を行い、ペトリ皿に流し込んだ乾杏寒天、普通寒天(pH 5.8)、WAKSMAN寒天(pH 4.6)培養基上に播種し、3日後に調査を行つた。実験は各々5回繰返し、各回30粒播種したペトリ皿5枚宛を用いた。実験結果を見るに、ハトムギ種子中から *Helminthosporium*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Phoma*, *Rhizopus*, *Coniothyrium* 等多数の属の菌を

分離する事が出来た。

これらの内 *Helminthosporium* 属菌は圧倒的に大きな率を占める事がわかつた。

これら種子中より分離した菌の病原性を確める為、8月14日約10cmの草丈に育てたハトムギ苗の根際に接種しその立枯試験を行った。8月29日及び9月18日調査の結果は次表の如くである。

第3表 ハトムギ種子より分離した糸状菌のハトムギ幼苗に対する病原性
Pathogenicity of the fungi isolated from the seeds of Job's tears on the seedlings

		供試苗数 Seedlings inoculated	発病苗数 Diseased	発病率(%) Percentage
8月29日	<i>Helminthosporium</i> sp.	400	25	6.25
	<i>Fusarium</i> sp.	300	4	1.33
	<i>Alternaria</i> sp.	400	0	0
9月18日	<i>Helminthosporium</i> sp.	400	60	15.00
	<i>Fusarium</i> sp.	300	5	1.67
	<i>Alternaria</i> sp.	400	0	0

本実験は一回しか行わなかつたがハトムギ種子中の *Helminthosporium* 菌及び *Fusarium* 菌が病原性を有する事は察知出来る。

尚枯れたハトムギの茎葉を検査すると相当数の本菌分生胞子を検索する事が出来た。

Helminthosporium 菌の分離試験は表面消毒した種子について行つたものであるから実際にはハトムギ種子の表面に附着してゐるものが実に多数あるものと思われる。

以上の実験と照し合わせて見て本菌分生胞子はハトムギ葉枯病被害茎葉、又は種子に附着し或は種子内で菌糸の状態で越冬し、翌年本病発生の原因となるものと思われる。

【分類學的考察】 1809年LINK⁹⁾は黒色線菌科に属する糸状菌中擔子梗強剛で稀に分岐し、暗色、多くは表面に生じ、分生胞子は紡錘形、棍棒状乃至円筒形で多くの隔膜を有し暗色強固且つ平滑な菌を一括し之に *Helminthosporium* なる属名を与えた。然るに1880年SACCARDO⁷⁾は *Brachysporium* なる新属を創設し *Helminthosporium* 属に類似するが特に短い分生胞子を有する菌類を之に録入せしめた。即ち擔子梗は強固で稀に分岐し暗色を呈し多くは表面に生じ、分生胞子は卵形又は西洋梨形で2乃至多数の隔膜を有し暗色である。又同氏は短い分生胞子を有する *Helminthosporium* 属菌と *Brachysporium* 属菌とは區別困難であると記してゐる。1910年LINDAU⁹⁾は分生胞子が長楕円形又は西洋梨形であつて長径が短径の2倍以下、隔膜数の少いものを *Brachysporium* と認めた。

Coix 属に寄生する *Helminthosporium* 属菌に就ては、西門博士のジュズダマ葉枯病菌 *Helminthosporium coicis* NISHIKADO がある⁹⁾。又広江博士¹²⁾¹³⁾に依れば、稲苗上の *Brachysporium* 属菌な分生胞子の形態より之を3種類に類別し得るとされ、その何れもがハトムギに寄生する事を報じて居られる。氏の第1号菌とは3箇の隔膜を有し僅かに彎曲し、長径は短径の2倍以上のもの、第3号菌は卵形或は甚だしく彎曲して三角形に近い西洋梨形をし3箇の隔膜を有し長径は短径の2倍又はそれ以下のもの、第4号菌は紡錘形を呈し3~4箇の隔膜を有するものである。著者等の分離した菌は氏の第1号菌又は第3号菌に近いものと考えられるが氏はハトムギを侵す場合夫々ハトムギ葉枯病なる名称をつけて居られる。氏は第1号菌を *Brachysporium Tomato* (ELL. et BARTH) HIROE et WATANABE と同定された。このものは概ね3箇の隔膜を有し、両端の細胞は著しく淡色であり、イネ、ノビエ、メヒジワ等を侵すに反し著者等の菌は之等の植物に対し病原性を有しない。又同氏は第4号菌を *Brachysporium senegalense* SPEGAZZINI と同定された。本菌とは大きさに於て比較的似ているが、1~4の隔膜を有するに対し本菌は3~7の隔膜を有し、両端の細胞はさほど淡色でもない。又これはイネ、ノビエ、メヒジワ等に病原性を有する

が本菌の接種試験の結果は何れも陰性に終っているので異なるものと思われる。

今西門博士のジュズダマ葉枯病菌、広江博士のハトムギ葉枯病菌 2 種並に本菌の寄主上の分生胞子の大きさを掲げれば次のようである。

第 4 表 ジュズダマ葉枯病菌・ハトムギ葉枯病菌(3 種)の比較

Comparison of spore-size among *Helminthosporium* and *Brachysporium* parasitic on *Coix* spp.

		西 門 菌 Nishikado's	広江菌(第1号菌) Hiroe's(No.1)	広江菌(第4号菌) Hiroe's(No.4)	本 菌 Present fungus
長 径 Length	範 囲 Range	30-70 μ	22.5-27.5	7.50-37.50	15.1-51.5
	平 均 値 Mean	47.13 \pm 0.22	24.60 \pm 0.35	32.00 \pm 0.98	32.5 \pm 0.50
	標 準 偏 差 S.D.	6.94 \pm 0.16	2.45 \pm 0.25	6.93 \pm 0.70	4.96
短 径 Width	範 囲 Range	11.5-21.7	10.00-12.50	7.50-15.00	9.1-18.2
	平 均 値 Mean	16.68 \pm 0.04	10.25 \pm 0.19	11.95 \pm 0.29	13.6 \pm 0.12
	標 準 偏 差 S.D.	1.67 \pm 0.03	1.34 \pm 0.13	2.08 \pm 0.21	1.19
隔 膜 Septum	範 囲 Range	2-7	1-4	1-4	2-7
	平 均 値 Mean	4.20 \pm 0.02			
	標 準 偏 差 S.D.	0.71 \pm 0.02			

本菌と西門博士の *Helminthosporium* 菌と比較すると大きさは相当小さい感があるが、隔膜数或は病原菌分生胞子の記載に於て略々一致するものようである。西門博士はハトムギ其の他の禾本科植物に対する接種試験は行つて居られないようであるが、一応著者等は本菌を *Helminthosporium coicis* NISHIKADO と同定したいと思う。

【培養基上の性質】 ジャガイモ煎汁寒天、ニンジン煎汁寒天、ミカン皮煎汁寒天、タマネギ煎汁寒天、普通肉汁寒天、麦芽煎汁寒天、ワックスマン 寒天、チャベック 寒天、イネ藁、枝豆、ウシンスキー氏液、コーン氏液に本菌の植付を行い、28°C にて培養し 7 日及び 20 日後その発育状態を調査した。調査結果は次表に示す如くである。

第 5 表 ハトムギ葉枯病菌培養基上の性質

Cultural Characteristics (色彩の記載は Ostwald 氏法による)

Date	Medium	Growth	Colony appearance	Color of colony (center)	Color of colony (margin)	Aerial mycelia	Color of medium
7 日 目 Seventh day	Potato agar	卍	Velvety	08NL, 98PI*	08NL, 98PI*	+	97 PI*
	Carrot agar	卍	Velvety	96PN	96PN	+	96 PN
	Orange peel agar	卍	Velvety	97PI	97PI	卍	97 PI
	Onion agar	卍	Velvety	97PI	97PI	卍	97 PI
	Nutrient agar	卍	Velvety	17PK	40PN, 17PK	-	15 NH
	Malt agar	卍	Cottony	10BB	10BB	卍	15 NH
	Waksman's medium	卍	Cottony	94CA	d	卍	98 PI
	Czapek's medium	卍	Cottony	c	d	+	97 PI
	Rice straw	±	殆ど発育せず			±	
	Soy bean pods	+	Cottony	96IH		+	
Uischinsky's Medium	液面にも液中にも発育可成良好、表面 Velvety 胞子の形成も認められる。 (Good growth both on the liquid surface and in the liquid. Velvety, spores formed)						
Cohn's medium	液中液面共に発育する。胞子の形成は殆ど認められない。 (Good growth both on the liquid surface and in the liquid, spores rare)						

Continued

20 日 間 の 培 養	Potato agar	卍	Velvety	98 PI	98 PI	卍	98 PI	
	Carrot agar	卍	Velvety	98 PI	98 PI	+	98 PI	
	Orange peel agar	卍	Velvety	98 PI	98 PI	+	98 PI	
	Onion agar	卍	Velvety	96 PN	96 PN	-	96 PN	
	Nutrient agar	卍	Velvety	08 NL	08 ML	-	08 NL	
	Malt agar	卍	Floccose	97 GD	98 PI	卍	08 NL	
	Waksman's Medium	卍	Floccose	d	98 PI	卍	02 LE 00 NA	
	Czapek's medium	卍	Floccose	d	96 PN	卍	98 RI	
	Rice Straw	卍	96 PN 分生孢子一面に形成 (Spores abundantly formed)					
	Soy bean pods	卍	96 PN 分生孢子一面に形成 (Ditto)					
	Uishinsky's Medium	液面液中共に發育良好であるが Autolysе を一部では起している。 (Good growth, autolysis is partly observed)						
	Cohn's medium	液中發育あまり良好でない。 (Growth in the liquid is inferior to the surface)						

N.B. * Description of color is followed to the OSTWALD's System

【菌叢の發育に及ぼす温度の影響】 予め 28°C に 1 週間發育させた WAKSMAN 寒天平板培養より直径 3mm に切取つたものを WAKSMAN 寒天培地上に植付け、室温 (11-14, 8-12, 4-10°C) 16, 20, 24, 28, 32, 36°C 各温度の定温器に納め、7 日後にその發育状態を調査したが、実験結果は次表に示す通りである。

第 6 表 ハトムギ葉枯病菌の發育に及ぼす温度の影響

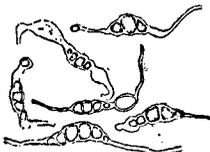
Effect of the temperature on the mycelial growth of *Helminthosporium coicis* (Colony diam. after 7 days)

Temperature (C°)	室 温 Room temperature	16°	20°	24°	28°	32°	36°
第 I 回	15.8 mm ※ (11-14°C)	22.6 mm	42.4 mm	61.6 mm	74.9 mm	27.8 mm	3.0 mm
第 II 回	15.5 mm (8-12°C)	26.9 mm	48.4 mm	51.6 mm	79.8 mm	22.8 mm	3.0 mm
第 III 回	3.0 mm (4-10°C)	25.5 mm	47.5 mm	56.9 mm	74.0 mm	19.0 mm	3.0 mm
總平均 Average	—	25.5 mm	46.1 mm	56.7 mm	76.2 mm	23.2 mm	3.0 mm

※ 各回各温度共ペトリ皿 5 枚を用い、直径を縦横十字に測定し平均した数値の 5 枚の總平均値である。

【分生孢子の發芽に及ぼす温度の影響】 WAKSMAN 寒天培養基上に 2 週間培養し、得た分生孢子懸濁液をペトリ皿上に薄く固らせた WAKSMAN 寒天上に播種、各種温度の定温器に 24 時間納め Gentian violet 又は Methyleneblue 2% 水溶液で染色しその發芽歩合を檢鏡した。

実験結果は第 7 表に示す如くであるが、之を見ると本菌は望温より、36°C 迄極めてよく發芽するが時に 20~32°C の時に於ては殆ど 100% に近い發芽率を示す。36°C に於ては發芽率は稍々落ちるが第 3 図に示す如く厚膜孢子の形成が極めて多数であつた。



第 3 図 36°C に於けるハトムギ葉枯病菌分生孢子の發芽
The germination of the conidia of *Helminthosporium coicis* at 36°C

【菌叢の發育と水素イオン濃度との關係】 N/10 HCl 及び N/10 KOH を用いて水素イオン濃度を種々に変じた WAKSMAN 培養基を直径 9 cm のペトリ皿に分注し中央に 28°C に 1 週間の WAKSMAN 培養基の前培養から径 3 mm に切り取つたものを植付け、28°C の定温器

第7表 ハトムギ葉枯病菌分生孢子発芽に及ぼす温度の影響

Effect of the temperature on the Germination of the conidia of *Helminthosporium coicis*

Exp.		室温 (7-14.5°)	16°	20°	24°	28°	32°	36°
第 I 回	測定全孢子数 Spores observed	693	575	572	264	500	229	265
	発芽孢子数 Spores germinated	490	560	528	264	500	228	238
	発芽率 Percentage of germinated spores (%)	70.7	97.4	99.2	100.0	100.0	99.5	89.9
第 II 回	測定全孢子数 Spores observed	500	500	500	500	500	500	500
	発芽孢子数 Spores germinated	425	475	497	493	498	496	335
	発芽率 Percentage of germinated spores (%)	85.0	95.0	99.4	98.6	99.6	99.2	67.0
第 III 回	測定全孢子数 Spores observed	500	500	500	500	500	500	500
	発芽孢子数 Spores germinated	297	475	494	494	498	499	496
	発芽率 Percentage of germinated spores (%)	59.4	95.0	98.8	98.8	99.6	99.8	99.2
第 IV 回	測定全孢子数 Spores observed	500	500	500	500	500	500	500
	発芽孢子数 Spores germinated	335	488	492	500	497	498	495
	発芽率 Percentage of germinated spores (%)	67.0	97.6	98.4	100.0	99.4	99.6	99.0
総平均 Total Average	測定全孢子数 Spores observed		2075	2072	1764	2000	1729	1765
	発芽孢子数 Spores germinated		1998	2011	1751	1993	1721	1564
	発芽率 Percentage of germinated spores (%)		96.3	97.1	99.3	99.7	99.5	88.6

に納め一週間後に取り出し、その直径を縦横に測定し、その平均を算出した。各区一回の実験は5枚宛ペトリ皿を使用した。実験結果は次表の通りである。本菌は pH 3 より pH 9 に至る迄よく発育し、pH 7 附近に於て発育最も良好なようである。又本菌は酸性側にも相当耐え得るものようであつて、pH 3 に於ても相当の発育を示した。

第8表 ハトムギ葉枯病菌菌叢発育に及ぼす水素イオン濃度の影響

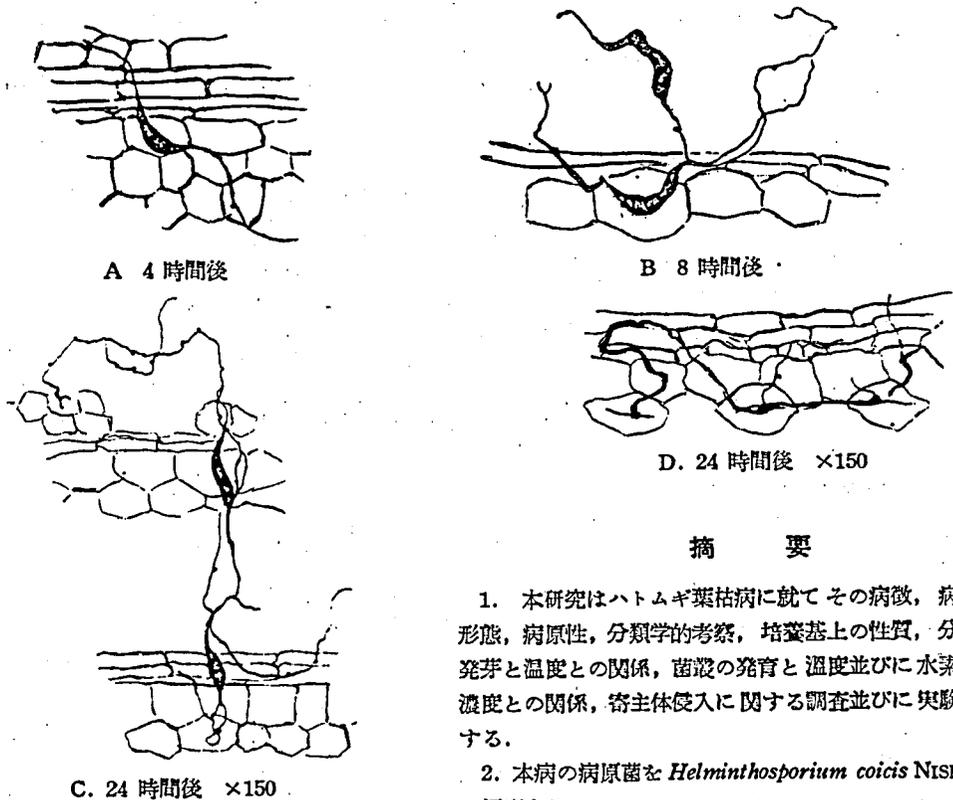
Effect of hydrogen-ion concentration on the growth of *Helminthosporium coicis* (colony diam. after 7 days)

pH	3	4	5	6	7	8	9
実験別							
第 I 回	27.3 mm	45.0 mm	66.8 mm	71.6 mm	78.8 mm	66.3 mm	70.0 mm
第 II 回	28.0 mm	46.4 mm	69.6 mm	76.8 mm	79.0 mm	70.4 mm	66.2 mm
第 III 回	30.4 mm	47.5 mm	62.0 mm	70.4 mm	73.9 mm	62.2 mm	60.3 mm
Average	28.6 mm	46.3 mm	66.5 mm	72.9 mm	77.2 mm	66.3 mm	65.5 mm

【病原菌の寄主体への侵入】本菌の WAKSMAN 寒天上 28°C に 1 週培養し滅菌水で孢子懸濁液を作りガーゼで菌糸を濾過したものをシャーレに注ぎ、之にハトムギ生葉を約 5 cm の長さに切つたものを浮べ 28°C の定温器に納め、4, 8, 24 時間後に取出し、アルコールで固定すると同時に葉緑素を溶出し水洗後 Gentian violet 1% 水溶液で染色し寄主体への侵入状況を観察した。

分生孢子は発芽管を出し之は粘液鞘で包まれる。発芽管はハトムギの葉に接触すると附着器 (Appressoria) を形成する。附着器から微細な穿入糸を出して寄主体に侵入するようであるが、表面観察だけしか行わなかつたので判然としない。第7図Dの如く気孔から侵入するものもあるが大部分は角皮侵入を行うものゝようである。

第7図 ハトムギ葉枯病菌の寄主体侵入
Penetration of the present fungus to the host cells:
A. after 4 hours, B. after 8 hours, C and D after 24 hours



摘 要

1. 本研究はハトムギ葉枯病に就てその病徴、病原菌の形態、病原性、分類学的考察、培養基上の性質、分生孢子発芽と温度との関係、菌叢の発育と温度並びに水素イオン濃度との関係、寄主体侵入に関する調査並びに実験を包括する。
2. 本病の病原菌を *Helminthosporium coicis* NISHIKADO と同定する。
3. 接種試験の結果、ハトムギ、ジュズダマの莖葉に病原性を有するが、イネ其の他の禾本科植物に対する病原性は判然としない。又本菌はハトムギに立枯症状を起させる事も可能である。
4. 本病菌は相当多数枯れたハトムギの莖葉、ハトムギ種子の表面に附着又は内部に潜入して翌春接種源となる。
5. 本菌は室温より 32°C 以上でも発育するが、その発育適温は 28°C である。36°C では全く発育しない。
6. 本菌分生孢子は 16°C より 36°C 迄よく発芽するが 20°C~32°C の時では殆ど 100% に近い発芽率を有する。36°C では発芽率は稍落ち厚膜孢子を作るものが多い。
7. 本菌は pH 3 より pH 9 迄よく発育し、pH 7 附近が発育最も良好である。
8. 本菌は発芽後附着器を寄主体上に形成し侵入する。気孔より侵入するものもあるが角皮侵入するものが多いようである。

文 献

- 1) 広江 勇：ブラキスポリウム属菌による植物の疾病(IV)禾本科植物の葉枯病(新称)に就て (1) 第 1 号 菌群の研究。日本植病会報 5:121-144, 1935.
- 2) 広江 勇：ブラキスポリウム属菌による植物の疾病(V) 禾本科並に莎草科植物の葉枯病(新称)に就て (2) 第 3 号 菌群の研究。鳥取農学 5:175-188, 1935.
- 3) 広江 勇：ブラキスポリウム属菌による植物の疾病(VI) 禾本科並に莎草科植物の葉枯病(新称)に就て (3) 第 4 号 菌の研究。日本植病会報 5:318-335, 1930.
- 4) LINDAU, G.: Rabenhorst's Kryptogamenflora. Aufl. II. 1(9):33, 1910.
- 5) LINK, H. P.: Observationes in Ordines, plantarum naturales, Dissertaio I, complectens Anandrarum ordines Epiphyas, Mucedines, Gastromycetes et Fungos. Maz. d. Ges. naturf. Frende, Berlin, 3:3-42, 1809. (広江論文参照.)
- 6) 西門義一：日本産禾本科植物の『ヘルミントスポリウム』病に関する研究。大原農業研究所特別報告第 4 号：1-378, 1928.
- 7) SACCARDO, P. A.: Conspcetus generum fungorum Italiae inferiorum. nempe ad Sphaeropsidales, Melanconiales et Hyphomycetes pertinentium, systemate aporologico dispoitorum. Michelia, 2:1-38, 1880. (広江論文参照)
- 8) SACCARDO, P. A.: Sylloge Fungorum, omnium, hucusque cognitorum 25:4, 835, 1931. (広江論文参照.)

Studies on the Leaf Blast of Job's tears
Shigekatsu HIRAYAMA and Masaki YAMAMOTO

It was in summer of 1946 that the writers' attention was drawn to the occurrence of leaf blast of Job's tears at the experimental farm of this laboratory in Saitama Pref. The disease appears as circular fusiform or irregular lesion on leaf blade, leaf sheath and glumes. The lesion is first brown or yellowish brown in color, the central portion turning into white or greyish.

In the present paper the morphology as well as the cultural characters of the causal fungus has been decided.

Conidiophores emerging after the death of the affected tissues, through the stomata or the epidermal cells. Conidia are dark brown or dark olive, short fusiform or irregular ovoid, curved to one side, 3-7 septate, $27.3-51.5 \times 9.1-18.2 \mu$ in size.

The relation of temperature to the growth of the causal fungus was studied by growing it on WAKSMAN's medium at different temperature. The optimum temperature for the growth of the causal fungus seems to be at approximately 28°C.

The relation of temperature to the germination of the conidia of the present fungus was then investigated by sowing the conidia on the WAKSMAN's agar and stained by gentian violet or methylene blue. The percentage of germination was highest from 20°C to 32°C, while the chlamydospore formation of the conidia was observed at 36°C.

Using the WAKSMAN's medium the relation of pH value of the culture media to the mycelial growth of this fungus was tested. The optimum hydrogen-ion concentration for the growth of the fungus was at pH 7.0 and the slightly grow at pH 3.0 and fairly well in pH 9.0.

According to the writers' inoculation experiments, the pathogenicity to Job's tears (*Coix Lacryma-Jobi* L. var. *frumentacea* Mak.) and *C. lacryma-jobi* L. was ascertained. The present fungus can also attack the seedling of Job's tears and may cause its damping off.

The causal fungus forms appressoria on the host plant and penetrate through cuticle and stomata.

From taxonomical studies the writers would like to identify the present fungus as *Helminthosporium coicis* NISHIKADO.

薬用植物の土壤肥料的調査(第3報)

除虫菊・ミブヨモギに就て

永田武雄

Studies on the Soil and Manure of Medicinal Plants (Part III)

Insect flower and "Mibuyomogi", a santonic plant.

Takeo NAGATA

除虫菊にはベルシヤ種(赤色種)とダルマンヤ種(白花種)とがあり、前者は一般に草質強健であるが、着花数が少なく且つ殺虫力が弱い故主として本邦では観賞用にのみ栽培される。除虫菊花は頭状花を採集し乾燥したもので、其の粉末を殺虫粉と称し、共に本邦の重要輸出品である。殺虫成分はピレトリン(Pyrethrin I $C_{12}H_{20}O_3$, Pyrethrin II $C_{22}H_{30}O_6$)で含量は約0.3%程度である。

一般に温暖で稍乾燥する地方が適し殊に開花収穫期の前後に雨量の少ない事が必要である。排水が良く且つ適度の保水力を有する地に好適し、土性は壤土が良く又地力は一般に肥沃に過ぐるよりは寧ろ稍瘠地に適当に肥料を施して栽培する方が良いと云われる¹⁾。

肥料は苗圃時代には処により施さない事もあるが、魚肥、菜種油粕、人糞尿を基肥に施す様である¹⁾。本圃の3要素標準施肥量は土地により異なるが、その例を示すと次の様である²⁾。

Table I. Standard manuring for the cultivation of insect flower in Japan

Locality	Weight of three elements per 10 ares (Unit "Kan")*		
	Nitrogen	Phosphorous	Potassium
Okayama	3.800	1.360	2.240
Hiroshima	3.040	2.045	3.180
Wakayama	2.454	1.425	1.550
"	3.277	1.305	1.550
Hokkaido	3.00	2.20	2.00

* "Kan" is equivalent to 3.756 kg

又除虫菊種子の発芽は一般に不良であるが、磷酸の施肥量を増すと有効であると云われる。春植も秋植も2~3回に分けるのが普通である。

除虫菊に就ての主な文献は以上の通りであるが、ミブヨモギは比較的新しい作物で、試験成績も少いが目にとまつた2~3の報告を以下に紹介する。

ミブヨモギは草丈1m内外に達し、宿根性で全草にサントニン(Santonin)0.3%内外を含有する。一般に砂質壤土、摺質砂土で耕土深く、排水良好で有機質の多い土地に適し、火山灰系統の軽鬆土にも栽培出来る。肥料は苗の時代は稀薄な人糞尿、硫酸などを施す程度であるが、本圃では堆肥、硫酸アンモニア、大豆粕、過磷酸石灰、硫酸加里等を施し、3要素量として其の1例を示すと次の通りである³⁾。窒素は反当2.55貫、磷酸2.47貫、加里2.69貫程度で、堆肥の全部と硫酸アンモニア以外の金肥は定植の時その過半を施し、残部は追肥として春から収穫まで2~3回に分ける。又窒素の肥効は相当顕著であるから地味中以下の所は前記数字の2倍以上施してよいといわれ加里肥料の不足は木灰を以て必ず所要量を補足すべきであると云う⁴⁾。

筆者も之等作物に就て土壤肥料的立場から若干の試験を行った。本試験も1年乃至2年の成績であり勿論完結したものでないが、一応取纏めて第3報とする次第である。

供試土の地力

本試験に使用した土壌は衛生試験所構内の表土で第1報¹²⁾及び第3報¹³⁾に述べた通り、窒素及び磷酸の有効成分量が顕著に不足したものである。今水稲と大麦の3要素試験の成績を示すと次の通りである。

Table II. The fertility of the soil used, shown by the relative yield of rice and barley, compared with that of the average value of Japanese soil

Treatment		O	K-P	N-K	N-P	N-P-K
Rice	Average of Japan	52.4	54.4	88.3	91.1	100.0
	Examined soil	10.7	16.5	5.7	79.8	100.0
Barley	Average of Japan	25.7	23.2	58.1	81.0	100.0
	Examined soil	0.1	4.6	0	91.6	100.0

I. 除虫菊(Insect flower. *Chrysanthemum cinerariaefolium* Bocc.)

和歌山分場よりとりよせた白花種を用いて既報と同様に慣行法によつて肥料3要素試験を行った。

(1) 栽培試験の要領

常法により無肥料区、無窒素区、無磷酸区、無加里区、完全区を設け1区3連制として、1鉢に1株草丈15cm、重量35.6g程度の均一な苗を11月25日移植し、ガラス室内で栽培した。

(2) 生育経過

移植後、前半期の生育は殆んど区間の差異は見られなかつたが後半期は完全区、無加里区の草体の生育が良く、5日6日頃より摘花期に入り同27日に収穫を完了した。

摘花はピレトリンの含量の最も多いとされている⁶⁾管状花の5~6分開いた時、毎日手摘した。其の取まとめた成績は第III表の通りである。

Table III. Effect of fertilizers on the harvesting period of Insect flower

Treatment	O		K-P		N-K		N-P		N-P-K	
	Date	After plantation								
Beginning	May 7	Days 163	May 9	Days 165	May 9	Days 165	May 6	Days 162	May 6	Days 162
Final	26	182	27	183	27	183	23	179	23	179
Mode	15	171	17	173	25	171	11	167	13	169

※ 収穫中心日は算術平均でなく、散布の中心日で示した。

即ち本試験からすると収穫適期は大体5月中旬であり、区間に大きな差はないが、窒素、磷酸の不足は数日間収穫期が遅れる様である。要するに適量な肥料要素の施用は収穫期を多少早める上に効果があるようである。

(3) 収穫成績

上記の通りに収穫した花の数及びこの風乾物重量と5月27日即ち移植後183日目に収穫した茎葉部、根部の風乾物重量は第IV表の通りである。猶指数は完全区を100.0とした場合であり、各株当りの平均数字で示した。

Table IV. Effect of fertilizers on the yield of Insect flower

Treatment		O	K-P	N-K	N-P	N-P-K
Number of flowers	Number harvested	17.5	17.0	15.5	23.5	23.5
	Ratio	74.5	72.3	65.9	100.0	100.0

Weight of flowers	Dry weight (gr)	3.15	3.28	2.23	3.90	4.08
	Ratio	77.2	80.4	57.1	95.6	100.0
Weight of leaves and stems	Dry weight (gr)	14.3	17.3	21.4	22.9	22.8
	Ratio	62.7	75.9	93.9	100.4	100.0
Weight of roots	Dry weight (gr)	9.1	7.4	9.6	11.4	12.2
	Ratio	74.6	60.7	74.8	93.4	100.0

上表中主要な花の風乾物重量指数を見ると完全肥料区に対し無加里区は大差ないが無磷酸区、無窒素区は収量指数が明らかに低い。即ち本供試土壌では、除虫菊の3要素要求順位は磷酸、窒素、加里である。収穫花の数は上記重量と同様な傾向であるが、莖葉部と根部は窒素、磷酸、加里の順位であり、磷酸は花の収量をあげる上に一番重要な要素であるが、莖葉部等の生産には左程重要な関係はない様である。

この花の収量指数を前掲の水稻、大麦の指数と比較すると無加里区は大差ないが無窒素区と無磷酸区は遙に大きい数字で、水稻に比し無窒素区で約5倍、無磷酸区で約10倍である。換言すれば少くも本圃の肥料は水稻に比べ遙に少なくてすむ作物と云い得る。北海道で肥沃な開墾地には定植後1~2年間は概ね無肥料で、第4年目以降のものにのみ施肥する由であるが、この間の事情を物語るものと思う。又本成績を各地²⁾で行われた成績と比較して見ると第V表の如くである。

Table V. Comparative data showing the effect of fertilizers on the yield of Insect flower.

Locality	O	K-P	N-K	K-P	N-P-K
National Hygienic Lab.	72.2	80.4	57.1	95.6	100.0
Okayama Agr. Exp. Sta.	61.1	63.9	103.6	104.5	100.0
Hiroshima Agr. Exp. Sta.	51.2	56.9	94.0	85.2	100.0
Wakayama Agr. Exp. Sta.	31.7	44.6	81.9	93.9	100.0

即ち試験地により一様な数字を示して居らぬが、苗圃期間が可成長く且つ本圃に於ても数ヶ年栽培されることがあるから、系統的な試験を要することは申す迄もない。次に収穫した乾花に就て薬効成分ピレトリンの定量を試みた。乾花の重量が普通分析所要量より少なかつたので簡易化して単に石油エーテルに浸出された量に0.257を乗じてピレトリンの量とみなした。其の結果は第VI表の通りである。又和歌山農試²⁾で行われた成績をも附記した。

Table VI. Effect of the fertilizer on the average content of pyrethrin in dried flower (mg)

	O	P-K	N-K	N-P	N-P-K
Wakayama Agr. Exp. Sta.	1.44	1.36	1.16	1.12	1.28
National Hyg. Lab.	1.56	2.05	1.88	2.00	2.06

即ち以上の様に定量したピレトリンの含量は無磷酸区、無肥料区のみが稍少く、他は殆んど差がない。和歌山農試の成績は無加里区のピレトリン量が少く加里の必要性が強調されているが、本実験では以上の様に磷酸による影響が著しい事からすると、土壌によつて之等の影響要素は変つて来るものと思われる。又和歌山農試の成績も当所の成績も肥料要素の及ぼすピレトリン含量の変化は第III表の乾花収量に及ぼす影響に比し、遙に低い数字であるから、肥料要素の不足は収量の場合程薬効成分には大きな影響はないと思う。

(4) 除虫菊 3 要素試験成績要約

本圃に移植第1年目の除虫菊に就て慣行法によつて肥料の3要素ポット試験を衛生試験所構内表土を用いて行つた。

本実験成績によると窒素、磷酸の不足は花の収穫適期が完全肥料に較べ数日間遅れる。乾花の収量は磷酸、窒素の不足に影響されたが、水稻、大麦に比べ明かに其の影響度は少ないので、一般に肥料を多く要しない作物と見てよい。又磷酸の不足は乾花中のピレトリン含量を低下せしめる様であるが、其の影響は収量の場合程著しくない。猶本作物は宿根性で本圃に於ても数年経続栽培されることがあるので肥料試験も更に系統的に行ふ必要がある。

II. ミブヨモギ (*Artemisia monogyna* Waldst et Kit)

ミブヨモギの昭和25年の植付計画は北海道1,250、青森50、岩手180、長野20町歩計1,500町歩となつて居り、更に北海道に於ては今秋2,000町歩の植付が報ぜられて居り所謂新興作物であるが、其の割合に試験成績が前記の如く少い。筆者も僅か2ヶ年間の試験研究であり、未だまとまつた成績として報告し得る段階に達していないが、一応試験経過を紹介する意味で報告したいと思ふ。

(I) 3要素試験

前掲構内表土を供試し2万分の1ワグナーポットを使用し、慣行法(各要素ポット当り1g、炭酸石灰10gを基肥として施す)によつてポット試験を行つた。

(1) 栽培試験の要領

1区3連制とし、春日部試験地より取寄せた種子を4月30日に播種した。5月3日発芽揃いし、同19日に間引して鉢当4本立とした。ガラス室内で栽培し、10月27日に収穫した。収穫は地際にて刈取り地下部は其の儘放置し、後12月2日にポットを水洗し各区毎に均一な根を選び、別に前回と同様に調製した3要素試験用ポットに移植した。今回の試験ではポット当り2株位とし、前回同様3連制で行つた。収穫は8月24日注意してポットを水洗し根部と共に風乾し収量調査を行つた。

本試験は上記の様に2回に亘つて行つたので、播種した1年目のものを第1回の成績とし、其れ等の株を移植した2年目の分を第2回の成績と区別する事にする。

(2) 収穫成績

上記の通り収穫後よく風乾した収穫物の第1回目の収量成績は第Ⅶ表の通りである。

Table VII. Effects of fertilizers on the yield of "Mibuyomogi" per one Wagner's pot (1st Exp.)

Treatment	Number of bloomed individuals	Percentage of bloomed individuals	Height (cm)	Diameter of stems (cm)	Dry weight (g)				
					Leaves and branches	Leaves died	Stem	Whole-plants	Relative yield
O	0	0	15.6	0.21	0.73	0.48	0.35	1.56	13.5
P-K	0.33	8	24.0	0.21	2.10	1.86	1.41	5.37	46.4
N-K	0.67	16	22.9	0.18	2.45	1.15	0.79	4.79	37.0
N-P	1.00	25	31.3	0.26	4.72	2.81	2.73	10.26	88.6
N-P-K	1.67	42	44.6	0.26	3.34	2.88	4.36	11.58	100.0

本成績から見ると播種1年目の開花率は完全区が最も高いが猶4割余りであり、無窒素区、無磷酸区に低い。全草収量指数を見るに無磷酸区の減収最も大で完全区の約4割、無窒素区は約5割弱という数字である。

第2回目の収穫成績は第Ⅷ表の通りである。

第Ⅷ表の第1回目の試験の残株を移植した場合の収量成績も第1回目の成績と略々同様な傾向を認めるが主要点を述べると次の通りである。

(イ) 開花株数率は1回目と較べ稍増加する。無磷酸区は全然花蕾を結ばず、又完全区は無窒素区より開花株数率が低いから、窒素の充分な施用は花蕾の収量は多くなるが、開花率は低下する様である。

(ロ) 無加里区と完全区の第2回目の地上部収量は第1回目より6割乃至倍以上の増収であるが、無窒素区と無磷酸区は前者が約8割、後者が約半減余りの減収となつている。又第1回目の各区の地上部の収量指数に対して

第 2 回目の各区の収量指数の割合を見ると第 IX 表のようになる。

Table VIII. Effects of fertilizers on the yield of "Mibuyomogi" per one Wagner's pot (2nd Exp.)

Treatment	Height (cm)	Percentage of bloomed individuals	Leaves (gr)			Flowers and buds		Stems	Terrestrial part		Roots (g)
			Healthy Leaves	Leaves died	Total	Weight (g)	Index number		Weight (g)	index	
O	17.0	17	0.7	0.3	1.0	0.03	6.1	0.4	1.5	6.0	0.7
P-K	46.0	67	1.8	0.7	2.5	0.13	32.7	1.9	4.5	18.9	2.5
N-K	18.0	0	1.4	0.1	1.5	0	0	0.5	2.0	8.3	1.9
N-P	45.7	83	7.1	3.3	10.4	0.45	91.8	5.4	16.3	67.7	8.1
N-P-K	48.0	50	11.9	3.9	15.8	0.49	100.0	7.7	24.0	100.0	17.6

Table IX. Effects of fertilizers on the relative yield of Insect flower

Treatments	O	K-P	N-K	N-P	N-P-K
Experiment					
1 st Experiment	13.5	46.4	37.0	88.6	100.0
2 nd Experiment	6.0	18.9	8.3	67.7	100.0
Ratio of 2 nd Exp. to 1st Exp.	0.44	0.41	0.22	0.76	1.00

即ち各要素の欠除区に栽培育成された残株を用い更にその要素欠除区で栽培する時は各要素共に完全肥料区の場合に較べ減収となるが、その割合は本試験では磷酸最も著しく、次いで窒素、加里の順位であった。

即ち供試土の如き磷酸、窒素の不足する所に育成された株の根部は之等成分の吸収機能も亦劣る様である。水稻の場合にも「苗半作」といわれるが、斯様な養分不足土には形態にも養分的にも完全な株苗を栽植する事が重要であることを示す成績として興味深い。

(II) 要素吸収量

春日部圃場で栽培された山科 2 号種を 9 月中旬収穫し風乾後常法によつて全窒素及び無機成分を定量した其結果は第 X 表及び第 II 表の通りである。

Table X. Analytical data of water, nitrogen and ash of air dried "Mibuyomogi"

Item		Dry weight (g)	Percentage of dried matter	Water in air dried matter (%)	Nitrogen in air dried matter (%)	Ash (%)
plant part						
Roots		-	-	10.87	2.25	8.91
Terrestrial part	Stems	84.5	53.4	13.48	1.94	10.28
	Leaves	52.0	32.9	12.78	3.66	23.17
	Buds	21.8	13.7	8.61	3.87	14.18

上表からすると茎部重量が地上部の過半をしめ、残りは葉と花蕾であり、乾物中の無機成分は根部に比し地上部特に葉部に多い。成分中加里、窒素、石灰、磷酸の吸収量が多い。

Tble IX. Analytical data of mineral matter in dry matter of "Mibuyomogi"(percentage)

Ingredient		Insoluble minerals	Soluble SiO ₂	Fe ₂ O ₃	P ₂ O ₅	MnO	CaO	MgO	SO ₃	K ₂ O	Na ₂ O
Plant part											
Roots		1.92	0.05	0.43	0.89	0.18	0.70	0.16	1.09	2.14	0.62
Terrestrial part	Stems	3.02	0.05	0.19	0.92	0.04	0.64	0.08	0.53	2.73	0.71
	Leaves	11.30	0.03	1.01	1.01	0.62	2.18	1.23	0.80	3.33	1.34
	Buds	3.51	0.05	0.40	1.38	0.11	2.72	1.61	1.04	2.58	1.13
	Average	5.81	0.04	0.52	1.02	0.24	1.44	0.64	0.69	2.91	0.98

今地上部の風乾物重量を反当とし反当 200 kg とし、要素吸収量を他の主要作物⁷⁾ とし比較すれば第 XII 表の様になる。

Table XII. The weight of fertilizers absorbed by some crops in 10 are area(unit "Kan")

要素	Nitogen	Phosphorous	Potassium	Calcium
Crops and their yields				
"Mibuyomogi" (200 kg)	1.29	0.54	1.35	0.67
Rice (Ca. 10 bushels)	2.00	0.68	1.30	0.38
Barley (Ca. 7.5 buschels)	1.26	0.42	1.36	2.40
Potato (Ca. 1125 kg)	1.56	0.42	2.35	0.72

米、大麦、甘藷の吸収量は草体部も含めた量である。ミブヨモギの反当 200 kg は、過大な数字の様であるが茎部を含んだ数字である。

主要作物に較べ大きな差はなく、石灰を除き大麦に近い数字である。サントニンの製造は主として茎部を除いた葉と花蕾部であるから、製造後の残渣は恐らく 3% 程度の加里分を含み、加里肥料資源として利用の道があらう。

(III) 栽培の好適反應

栽培の好適反應を水耕試験と根部汁液の緩衝作用から推定した。其の結果は以下の通りである。

(1) 水耕試験

春日井氏蔬菜用培養液⁸⁾ を使用し、苛性曹達又は塩酸を以て培養液の pH を調節し、pH 4,5,6,7,8 区を設け、2 万分の 1 ポットを用い所謂澱耕法により、4 月 10 日均一な草丈 7 cm. 程度のミブヨモギの苗をポット当り 2 本宛栽植して 2 連制で水耕栽培した。試験開始当初は濃度半減液を用い、6 月中旬から普通の濃度にうつし又週 1 回液は更新した。

pH 7,8 区の根部は白色健全で草体の生育も順調であり、特に pH 8 区は花蕾を結び土壤栽培のものと大差なかつた。pH 4,5 区は發育遅々とし又根部は鉄錆色に着色し不良であつた。9 月 5 日を以て試験を打切つたが、其の時の収穫成績は第 XII 表の通りである。

本成績から見るとミブヨモギの生育は中性から微アルカリ性が好適であり、明酸性は明かに不良である。勿論本結果を以て直ちに土壤栽培の場合に当はめる事は出来ず、筆者も更に試験を継続する考えであるが、ロシアの原産地一帯は所謂塩分土(Saline Soil)に属する由であるから、矢張り中性から微塩基性が好適の様に思はれる。本邦栽培地は北海道、青森、岩手等が多いが、恐らく可成強い酸性土も少なくないと思像される。若し本成績の傾向が正しいとすれば石灰の施用等により酸度の矯正が必要である。

Table XIII. Effects of reaction of culture solution on the yield of "Mibuyomogi"

pH	4	5	6	7	8
Hight of the plants (cm)	10.8	12.6	15.4	18.5	23.0
Length of the roots (cm)	13.5	14.7	15.1	15.3	21.1
Average weight of individual plant (g)	0.96	1.24	3.21	8.14	10.25
Ditto (Ratio) 同上指数*	9.4	12.1	31.3	79.4	100.0

※ 指数は pH 8 区を 100 とした場合の重量指数

(2) 根部汁液の緩衝係数

筆者は(1)に 14 種の植物根部汁液の緩衝作用を測定して、其の植物の対反応性と一連の関係がありそうだと予報した。即ち SMALL 氏¹⁰⁾の云ふ成績とは多少趣を異にし、pH 6~7 附近の緩衝能の大きな植物は概してアルカリに対する抵抗性が強く、中性乃至微塩基性を好む植物で反対にこの値の小さなものはアルカリに対する抵抗性が弱く、酸性側を好む植物である傾向を認め、前者にドクダミ、ホウレンソウ後者に水稻、ハトムギ等を例示した。

実験は根部を乳鉢ですりつぶし晒木綿を用い加圧搾汁したものを遠心分離器にかけ、上澄液を更に濾過した汁液 5 cc に N/10 の H₂SO₄ と NaOH を半マイクロピペットより 0.05~0.10 cc 宛滴下しこれに就てケンヒドロソ電極により pH を測定する。この値より titration curve を引きこれより Van SLYKE 氏法¹¹⁾により既報の如く緩衝係数を算出した。

今ミブヨモギと前記植物の結果を示せば第 XIV 表、第 1 図の様になる。

Table XIV. Buffer coefficients from some species of the root sap of plants

pH	3.0~3.5	3.5~4.0	4.0~4.5	4.5~5.0	5.0~5.5	5.5~6.0	6.0~6.5	6.5~7.0	7.0~7.5	7.5~8.0
Plant species										
Coix Lacyma-Jobi var. frumentacea	0.0244	0.0088	0.0064	0.0072	0.0056	0.0060	0.0032	0.0024	0.0040	0.0052
Oryza sativa	0.0028		0.0010		0.0007		0.0005		0.0006	
Spinacia oleacea	0.0404	0.0360	0.0300	0.0188	0.0132	0.0096	0.0088	0.0122	0.0092	0.0116
Houttuynia cordata	0.0420	0.0408	0.0288	0.0248	0.0156	0.0136	0.0108	0.0112	0.0116	0.0124
"Mibuyomogi" Root	—	0.0175	0.0175	0.0125	0.0120	0.0095	0.0164	0.0220	0.0196	0.0184
Ditto-stem and leaf	—	0.1536	0.1144	0.0688	0.0576	0.0472	0.0476	0.0680	0.0568	0.0496

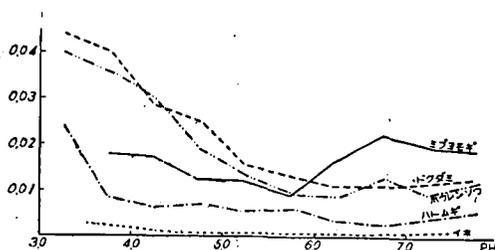


Fig 1. Curves of buffer coefficient of root juice of some species of plants

之等の成績からするとミブヨモギの根部汁液の緩衝係数は酸性側では左程高くないが、中性、アルカリ性側は却つて高くなり、筆者が今迄取扱つたうち一番高かつたドクダミよりも更に高い結果である。ミブヨモギの茎葉部は表に示す様に酸性側にも塩基性側にも強い緩衝能を持つてゐる。上記の水耕試験並びに本成績からミブヨモギは耐塩基性植物で其の好適反応は中性乃至微塩基性であると推察される。

(IV) ミブヨモギ試験成績要約

春期播種, 秋期収穫の第 1 回目とその残株を秋期植付け翌年の秋期収穫した第 2 回目の肥料 3 要素試験の結果からすると本供試土では磷酸を最も多く要し, 次いで窒素, 加里の順位であつた, 筆者等が今迄行つた各種薬用植物の完全肥料区を 100.0 とした場合の各区の収量を指数で示すと第 XV 表の様になる。

Table XV. Effects of fertilizers on the relative yield of some species of crops.

Treatment Crops	O	P-K	N-K	N-K	N-P-K
Rice(Average value in Japan)	52.4	54.4	88.3	91.1	100.0
" (National Hyg. Lab.)	10.7	16.5	5.7	79.8	100.0
Barley(Average value in Japan)	25.7	23.2	58.1	81.0	100.0
" (Nat. Hyg. Lab.)	0.1	4.6	0	91.6	100.0
Wormseed	0.3	21.9	0.1	85.9	100.0
Morning glory (Seeds)	24.4	34.0	54.5	86.6	100.0
Safflower (Flowers)	14.3	53.9	9.5	90.5	100.0
Saffron (Bulbs)	91.1	88.1	114.1	82.1	100.0
Autumn crocus (Bulbs)	79.9	82.4	110.1	99.4	100.0
'Mibuyomogi' (1st year)	13.5	46.4	37.0	88.6	100.0
"Ditto"(2 nd year)	6.0	18.9	8.3	67.7	100.0
Insect flower	77.2	80.4	57.1	95.6	100.0

となり本供試土では加里は大差なく 80~90 であるから除き, 窒素と磷酸に就て指数の小さなもの(要求性の強いもの)から列記すると次の様になる。

窒素: 大麦, 水稻, ミブヨモギ(第 2 回目), アメリカアリタソウ, 朝顔, ミブヨモギ(第 1 回目), ペニバナ, 除虫菊, コルヒクム, サフラン。

磷酸: 大麦, アメリカアリタソウ, 水稻, ミブヨモギ(第 2 回目), ペニバナ, ミブヨモギ(第 1 回目), 朝顔, 除虫菊, コルヒクム, サフラン。

このうちサフランとコルヒクムは試験に用いる球根の大きさに正の相関が認められ, 除虫菊も苗時代の肥培管理に可成強く左右されると思う。ミブヨモギも苗(株)の性質が影響し, 播種時の収量よりも株植したものは約倍程度の収量が得られるのが, 普通であるが, 養分欠乏土で育成された株では播種時よりも却つて減収する。

ミブヨモギの無機要素の吸収量は主要農作物と大差なく大麦に近い値である。又加里の吸収量が多くサントニン製造後の残渣は加里肥料として利用出来よう。

ミブヨモギの生育好適反応は中性乃至微塩基性である様である。

薬効成分の定量は分析試料不足のため上記の各植物に就ては行えず, ミブヨモギのサントニンの定量も亦同様であるが, これに就ては東大薬学科柴田教室に於て検討されてゐる。参考のために筆者の所で分析し得た 2~3 の植物の例を示すと第 XVI 表の通りである。

Table XVI. Effects of fertilizers on the constituents of some medicinal plants (%)

Treatment Constituent	O	P-K	N-K	N-P	N-P-K
Morning glory (Seeds), Fatty oil	13.85	13.99	14.42	14.05	14.01
ditto, Pharbitin	2.19	2.24	2.44	2.42	2.38
Wormseed, Chenopodium oil	—	1.65	—	0.93	0.74
Safflower*, Safflor yellow	60.5	47.1	27.3	101.9	100.0
ditto, Carthamin	76.2	101.3	35.5	113.0	100.0
Insect flower, Pyrethrin **	1.56	2.05	1.88	2.00	2.06

* Relative value

** Petroleum ether extract $\times 0.257$

植物によつて異なるが、栽培地の肥料養分によつて可成の差異が見られる。サントニンの含量はミブヨモギの花蕾の部に多いから無磷酸区の如き花蕾の少ないものはサントニンの含量も少いだらうと思う。

終りに臨み本試験施行に當つて終始御指導御鞭撻下さつた平山博士、試験に手を煩はした岡島、湯川両君に其の勞を謝する次第である。又研究費の一部は文部省科学研究費によつた。

文 献

- 1) 刈米, 若林: 薬用植物栽培法. 35~52, 1934.
- 2) 松木: 総合肥科学 678~682, 1939
- 3) 日本新薬株式会社: ミブヨモギ栽培要項 12. 1939
- 4) " " " 13.
- 5) 東大農学部遊離窒素利用研究室: 日本内地に於ける作物養分天然供給力に関する研究 1927
- 6) 武居, 今井: 農業及園芸, 7. 6, 1932
- 7) 松木: 総合肥科学 383~384, 1939
- 8) 春日井: 日本土壤肥料誌 13. 669, 1939
- 9) 永田: " 20. 39, 1949
- 10) SMALL, J. and JACKSON, T.: Jour. Agr. Sci. 38. 343, 1948
" " : Plant Physiology. 24, 75, 1949
- 11) Van SLYKE, D.D.: Jour. Biol. Chem. 52. 525, 1922
- 12) 永田, 岡島: 衛生試験所彙報 67, 36, 1950
- 13) 永田, 岡島: " 68. 144, 1951

Studies on the Soil and Manure of Medicinal Plants. (Part III)

Insect flower and "Mibuyomogi", a santonic plant

Takeo NAGATA

Fertilizer experiments of the 3 essential nutrients in insect flower (*Chrysanthemum cinerariaefolium* Bocc.) and "Mibuyomogi" (*Artemisia monogyna* Waldst et Kit) were carried out on the surface soil of National Hygienic Laboratory.

The results are summarized as follows:

Plot		O	P-K	N-K	N-P	N-P-K
Insect flower	Yield of flower*	77.2	80.4	57.1	95.6	100.0
	Pyrethrin in flowers(%)	1.56	2.05	1.88	2.00	2.06
Artemisia monogyna	Yield of total I**	13.5	46.4	37.0	88.6	100.0
	grass* *** II	6.0	18.9	8.3	67.7	100.0

* Yield indices when the complete plot is taken as 100.0.

** I: the first year, grown from seed.

*** II: the second year, grown from stock of the first year.

The suitable reaction for *Artemisia monogyna* seems to be in neutral or alkaline side.

Claviceps litoralis KAWATANI による麥角の 寄生的栽培に関する研究(其の3)

川 谷 豊 彦

Toyohiko KAWATANI : Studies on the parasitic cultivation of ergot with
Claviceps litoralis KAWATANI (III) (With English résumé, pp. 217-221)

目 次

第 4 章 ハマニソクを寄主とする <i>Cl. litoralis</i> 麥角の寄生的栽培.....	166
第 1 節 接種源の造成	166
第 2 節 接種法の種類	168
第 3 節 接種時期と寄生率	169
第 4 節 接種時期と発生麥角重量	172
第 5 節 接種源としての胞子の密度	172
第 6 節 胞子浮遊液の酸性度	173
第 7 節 養分等添加せる胞子浮遊液	174
第 8 節 貯蔵分生胞子を接種源とする場合	176
第 9 節 菌核を接種源とする場合	177
第 10 節 樺太(新聞)における寄生的栽培実験	178
第 11 節 寄生的栽培麥角の形態と薬理作用並に有効成分含量	178
第 5 章 麥類を寄主とする <i>Cl. litoralis</i> 麥角の寄生的栽培.....	179
第 1 節 麥類に対する <i>Cl. litoralis</i> の寄生性とその寄生的栽培.....	179
第 2 節 自然状態に於て大麥(有稈大麥・稈麥)に対する <i>Cl. litoralis</i> の寄生性	188
第 3 節 大麥(有稈大麥・稈麥)に寄生的栽培されたる <i>Cl. litoralis</i> 麥角の有効成分含量	194
第 6 章 麥類を寄主とする <i>Cl. purpurea</i> 麥角の寄生的栽培.....	195
第 1 節 麥類に対する <i>Cl. purpurea</i> の寄生性とその寄生的栽培	196

第2節 大麥(有稈大麥・稈麥)・小麥・ライ麥に寄生的栽培されたる <i>Cl. purpurea</i> 麥角の有効成分含量	199
第7章 結論	200
第8章 摘要	201
引用文献	208
英文摘要 (English résumé)	217

第4章 ハマニソニクを寄主とする *Cl. litoralis* 麥角の寄生的栽培

ライ麥を寄主とするライ麥麥角菌(*Cl. purpurea*)の寄生的栽培にはHECKE⁽⁹⁴⁾⁽⁹⁵⁾⁽⁹⁶⁾(1921-23), TSCHERMAK⁽¹⁸⁹⁾⁽¹⁹³⁾(1921, 22), FALCK⁽⁴⁴⁾(1922), FRON⁽⁶⁹⁾(1926), 大谷⁽¹³⁶⁾(1928), KIRCHHOFF⁽⁸⁰⁾(1929), MC CREA⁽¹⁰⁷⁾(1931), BÉKÉSY⁽²¹⁾(1938), SCOSSIROLI⁽¹⁴⁹⁾(1939)等の研究があることは既に述べたところである。HECKEは培養分生孢子又は蜜滴分生孢子を, TSCHERMAKの刺戟を加へて人工開花せしめた花穂に噴霧器によりて毎日1回, もはや花の開かざるに至る迄(6回)接種し, 1花穂当り一乃至十数個の麥角を発生せしめた。(1a当り2,840gを得た)。大谷は蜜滴分生孢子のみを用ひた。

KIRCHHOFFは子囊孢子及び蜜滴分生孢子を用ひ人工接種による麥角菌に対するライ麥抵抗性品種比較試験(16品種)を行つた。接種は毎日1回19日間, 開花前のライ麥にTSCHERMAKの刺戟を与へ一斉に開花せしめたものに就て行つてゐる。100小花当りの麥角数即ち寄生率は普通0.7-0.9%, 最も高いものでも1.30%であつたと言ふ。

MC CREAはライ麥, 燕麥に培養分生孢子を以て大規模な接種試験を行つたのであるが, 氣候の悪条件の爲満足なる結果を得る事が出来なかつた。

著者はハマニソニクを寄主とする *Cl. litoralis* の寄生的栽培につき, 接種源の造成, 接種法の種類, 接種時期の選択(接種時期と寄生率, 接種時期と発生麥角重量), 接種源としての孢子の密度, 孢子浮遊液の酸性度, 養分等添加せる孢子浮遊液, 貯蔵分生孢子を接種源とした場合, 菌核を接種源とした場合等の各項について詳細なる実験研究を行ふと共に, 寄生的栽培麥角の含有アルカロイドの定量試験を行つた。実験は昭和17, 18, 19(1942, 43, 44)の3箇年に亘り, 樺太(新聞), 青森県(百石), 秋田県(船越), 及び当所圃場(埼玉県春日部町)に於て行はれたもので, 全試験区の試験方法及び試験成績は別表I(1, 2), II(1, 2)の通りである。

第1節 接種源の造成

A 子囊孢子

第2章第1節IIIに於て述べた如く, 菌核を低温処理し発芽を促進したものをを用ひた。

1. 昭和17年百石の実験に於ては, 樺太産ハマニソニク麥角(昭和16年8月採集)をデシケーター中に保存し置き, 3月26日取り出し, 予め2時間浸水して膨潤せしめた後よく水をきり低温恒温器(-4-4°)に12日間平均-1.8°に保ち4月6日取り出して室温に戻し4月10日に置床した。床は植木鉢を用ひ之に土を8分目に入れその上に砂を3cmの厚さに重ねその上に前記の菌核を撒布し, 菌核の殆ど隠れる程度に砂を以て覆ひ鎮圧する。かくて時々灌水し砂表面の乾燥するを防ぎ, 日光の直射しない室内にて管理した。5月12日子座の発生開始を認めた。かくて6月4日実験終了の時発芽率は32.23%であつた。この時は子座は既に稍々乾燥して萎縮せるものが大部分を占めてゐた。

2. 昭和17年新聞に於ける実験に用ひしものは樺太中央試験所より寄贈を受けたもので, 昭和16年8月樺太産ハマニソニク麥角を初冬の頃屋外に木框を設けその内に撒布し, 粟を以て掩ひとし越冬せしめたものである。

3. 昭和18年船越に於ける実験に用ひしものは, 市販の樺太産ハマニソニク麥角を昭和17年百石に於ける実験と全く同様にして2月24日予め水道水中に室温にて2時間浸漬した後よく水をきり低温恒温器(-8.5-3.5°)中に75日間平均-5.4°に保ち4月20日取り出し室温に戻し4月25日置床した。ハマニソニク自生地の砂を用ひた外置床及び管理の方法は百石に於けるものと全く同様である。5月15日子座の発生開始を認めた。5月31日発芽率を検した時0.5%にして其の後引続き7月4日迄観察したのであるが其の後の発芽は全然認むるを得なかつた。斯く発芽率の極めて不良であつた事は処理した麥角に於ける。

子囊孢子浮遊液の製法は, 成熟した子座の小頭をピンセットにて一つ一つ丁寧に摘み取り乳鉢に入れてよく摺り潰

し井水に浮遊せしめて所定の孢子密度とするのである。孢子の数の計算にはトーマー血球計算器を用いた。浮遊液としては百石に於ては井水(PH 6.2), 船越に於ては煮沸井水(PH 6.8), 新聞に於ては蒸溜水(PH 6.2)を用いた。子囊孢子浮遊液は淡赤褐色に着色する。

B 分生孢子

蜜滴中の分生孢子, 人工培養の分生孢子, 貯蔵分生孢子の 3 つの場合がある。

I 蜜滴中の分生孢子

蜜滴発生せるハマニシク花穂を切り取りて適量の蒸溜水又は井水に激しく振盪し分生孢子を浮遊せしめ所定の孢子密度とする。この方法によらんとすれば、ハマニシクの出穂早き地方のものを採り前節に述べた方法によつて子囊孢子を以て接種し発生する蜜滴を用ふるか又は自然に発生するものを採集するか何れかである。著者が昭和 17 年 7 月 8 日樺太新聞(東海岸)に於ける蜜滴分生孢子による接種に用いた蜜滴は西海岸の気主に於て得たものである。既述(第 3 章第 2 節II)の如く西海岸気主のハマニシクは東海岸北部地方のそれより約 1 ヶ月早く開花するから、6 月 24 日より 6 月 28 日迄 5 日間子囊孢子によりて接種し、蜜滴発生した花穂を 7 月 15 日に採集して新聞(東海岸)に運び、7 月 19 日より蜜滴分生孢子による接種を行つたのである。

分生孢子浮遊液は稍々白濁を呈するが概ね透明である。

II 培養分生孢子

昭和 17 年 8 月樺太新聞に於て蜜滴を濾紙に吸収せしめてデシケーター中に保存してゐたものを実験材料に用いた。即ち斯くの如き濾紙片 0.3g を鉢を以て細切し、之を滅菌食塩水 10 cc に入れ、濾紙片がその原形を失ふに至る迄充分硝子棒にて細割する。次いでその 1 白金耳量を SCHMIDT 寒天平板に塗抹し、25° にて培養する。4-7 日にして白色微細なる麥角菌聚落の発生を見る。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。人工接種を行ふにはその 2-3 週前に 1 白金耳量を培養斜面よりかき取り新鮮なる培地に移植培養したものを用いた。即ち寒天斜面より菌苔を白金線を以てかき取り之を滅菌水に浮遊せしめて所定の分生孢子密度となして使用する。

麥芽汁寒天及び CZAPEK 培養基にも良好な発育を示した。

SCHMIDT 培養基の組成は次の如し。

第一磷酸カリウム	0.025 g	硫酸マグネシウム	0.025
硝酸カリウム	0.025	硝酸カルシウム	0.100
硝酸アンモニウム	0.050	葡萄糖	1.000
寒 天	2.000	水	100

III 貯蔵分生孢子

発生した蜜滴を清潔なる濾紙片に丁寧に吸収せしむるか或は濾紙片に丁寧になすりつけ、これをデシケーター中に乾燥状態に保存して置き必要に応じて取り出し使用する方である。著者は昭和 17 年 8 月樺太新聞に於て蜜滴を上記述べた方法により濾紙片に附着せしめ室温においてデシケーター中に乾燥状態に保存して置いたものを翌昭和 18 年 5 月船越、翌々昭和 19 年 5 月春日部に於ける実験に供した。即ち蜜滴を附着せる濾紙片(1 cm²)を乳鉢中に入れ斯の如き 1 紙片に対し煮沸井水(PH 6.8) 1 cc の割合に加へて紙片を攪拌破砕し、ガーゼにて濾過したものを使用するのである。試験区番号 船 25 区

C 菌 核

菌核そのものを接種源とする方法で次の如く分類し得る。

1. 低温処理を施した菌核を撒布する方法

本節 A 3 に於て述べた如く昭和 18 年船越に於ける接種試験の爲準備した 75 日間低温処理を施した菌核の一部を 4 月 25 日次の如き密度で撒布した。1 区面積は何れも 20 坪である(昭和 18 年船越に於て実験を行つた)。

1g 区 1 坪当り低温処理前の重量にて 1g を撒布した。

2g 区 ” ” 2g ”

5g 区 ” ” 5g ”

4 月 25 日ハマニシクは 7-8 葉を展開してゐた。

2. 発芽しつつある菌核を撒布する方法

本節 A 3 に述べた菌核の発芽中のものを昭和 18 年 5 月 27 日乾燥時重量 30 g を 15 坪(5 間×3 間)の区割内のハマニソク(開花 3 日前)に撒布した。この時発芽率は 0.5% 程度であつた。(本節 A 参照) 試験区番号船 2 区

3. 将に発芽せんとする菌核を破碎し浮遊液となす方法

将に発芽せんとして小疣状の子座の原基の状態のものをつけた菌核 4 を採りこれら小疣状の子座をピンセットにて丁寧に除去し 20 cc の煮沸井水(PH 6.8)と共に乳鉢中にて破碎し浮遊液となし昭和 18 年 5 月 29 日注入法によつて接種した。試験区番号 船 23 区

4. 子座を取除きたる菌核を破碎して浮遊液となす方法

本節 A 1 に述べた如く 12 日間低温処理によつて発芽した菌核より成熟した子座を柄部の基部より丁寧に摘み去つたものを乳鉢中にて破碎し斯くの如き菌核 1 個に対し井水 (PH 6.2) 5 cc の割合となして浮遊液とした。昭和 17 年 6 月 1 日 2 日浸漬法によつて接種した。試験区番号 百 63 区, 百 72 区

5. 処理置床せるも発芽せざる菌核を破碎し浮遊液となす方法

本節 A 1 に述べた如く 12 日間低温処理し置床管理したが発芽しない且つ腐敗してゐない菌核を乳鉢中にて破碎し、斯の如き菌核 1 個に対し井水(PH 6.2) 5 cc の割合となし浮遊液とした。昭和 17 年 6 月 1 日 2 日浸漬法によりて接種した。試験区番号 百 62 区, 百 73 区

6. 菌核を破碎し浮遊液となす方法

以上述べた方法は皆、処理置床した菌核を用ふ場合であるが、茲に述べる方法はデシケーター中に乾燥状態に保存して置いた菌核そのものを用ふ方法である。昭和 16 年 8 月採集の樺太産ハマニソク 麥角をデシケーター中に保存して置いたものを昭和 17 年 6 月 1 日取り出し、乳鉢に入れ破碎し井水(PH 6.2)、SCHMIDT 液等に浮遊液となし或は更にヘテロキシン、葡萄糖を加へ接種液とする。(第 4 章第 9 節参照) 何れも昭和 17 年 6 月 1 日浸漬法により接種した。

百 48 区	菌核 1:	井水 5 cc	井水
" 49 区	菌核 1:	液 2.5 cc	5%葡萄糖水溶液
" 50 区	菌核 1:	液 5 cc	"
" 51 区	菌核 1:	液 10 cc	"
" 54 区	菌核 1:	液 5 cc	SCHMIDT 液
" 55 区	菌核 1:	液 5 cc	SCHMIDT 液 加 0.02% ヘテロキシン
" 56 区	菌核 1:	液 5 cc	SCHMIDT 液 加 0.01% ヘテロキシン
" 57 区	菌核 1:	液 5 cc	SCHMIDT 液 加 0.002% ヘテロキシン
" 58 区	菌核 1:	液 5 cc	0.02% ヘテロキシン水溶液
" 59 区	菌核 1:	液 5 cc	0.01% "
" 60 区	菌核 1:	液 5 cc	0.002% "

SCHMIDT 液の組成は次の如くである。

第一磷酸カリウム	0.025 g	硫酸マグネシウム	0.025
硝酸カリウム	0.025	硝酸カルシウム	0.100
硝酸アンモニウム	0.050	葡萄糖	2.000
水	100		

7. 皮部を除きたる菌核を破碎し浮遊液となす方法

6 に述べた菌核の皮部を丁寧に除去去つたものを乳鉢中にて破碎し浮遊液とする。斯の如き菌核 1 個に井水(PH 6.2) 5 cc の割合とする。昭和 17 年 6 月 1 日浸漬法により接種した。試験区番号 百 61 区

第 2 節 接種法の種類

接種法としては 1. 注入法, 2. 浸漬法, 3. 塗抹法, 4. 噴霧法, 5. 撒布法の 5 種が考へられる。其の要領は次の如くである。

1. 注入法 接種液をハマニソク 穎花内部の空間に丁寧に注入する方法である。その為注射器に接種液を吸入し、注射針の先端にて子房を傷つけぬよう注意しつつ注射筒より 1 滴量を穎花内の空間に排出し子房を潤す。余り

に圧出強きに過ぐれば一時に多量の接種液を排出し為し水滴は穎花内の空間に留る事なく、子房を潤す事は無いからよく注意する必要がある。尙接種液は使用前にガーゼにて瀧し注射針をよく通過する様にする。

(a) 10 小花注入 穂の第 10 節左小穂第 1 小花より順次に第 11, 12, 13, ……………, 19 節迄左小穂第 1 小花にのみ 10 小花づつ注入 試験区番号 船 34 区

(b) 5 小花注入 同様にして第 10, 11, ……………, 14 節の左小穂第 1 小花にのみ 5 小花づつ注入 試験区番号 船 33 区

(c) 2 小花注入 同様にして第 10, 11 節の左小穂第 1 小花にのみ 2 小花づつ注入 試験区番号 船 32 区

(a), (b), (c) 何れも第 1 小花盛花期に第 1 小花に培養分生胞子を以て注入した。

2. 浸漬法 接種液 150—200 cc を円筒状ガラス管に充し之を一方の手にて支へハマニソニク穂の下部の所を他方の手にて持ち折れない様注意しつつ少しく曲げて円筒中の接種液中に穂部を浸漬し、注意して手早く円筒を振盪し穂部を均等に潤はさしめる様にする。著者は直径 4 cm, 長径 35 cm の円筒を試製しこの目的に用いた。接種源には子囊胞子及び培養分生胞子を用いた。ハマニソニクは第 1 小花盛花期、第 3 小花盛花期に接種し、TSCHERMAK の刺戟を加へたものと然らざるものとに分つた。試験区番号 船 5, 6, 8, 9, 46, 47, 49, 50 区

3. 塗沫法 接種液を小筆に充分含ませ開花中の穎花の子房に塗沫する方法である。この際注意して柱頭を傷けない様丁寧に於て接種液を充分子房に附着せしめる。接種源は培養分生胞子とし、第 1 小花盛花期に TSCHERMAK の刺戟を加へ 1 穂当り 5 小花(注入法 b に倣ふ)塗沫接種した。試験区番号 船 37 区

4. 噴霧法 接種液を噴霧器に充し細沫となし接種する。著者はゴム二連球式の容量 500 cc の噴霧器を用いた。接種源には培養分生胞子を用ひ、第 1 小花盛花期に TSCHERMAK の刺戟を与へて接種した。試験区番号 船 36 区

5. 撒布法 本章第 1 節 C 2 に述べた如く、発芽中の菌核を昭和 18 年 5 月 27 日乾燥時重量にて 30 g を 5 間×3 間の区割内のハマニソニク(開花 3 日前)に撒布した。この時の発芽率は 0.5% 程度であつた。試験区番号 船 2 区 (尙菌核そのものを撒布する場合に就ては本章第 1 節 C 及び第 9 節参照)

実験成績

寄生率に就て見るに注入法最もよく 40% 以上である。1 小穂につき 2 小花, 5 小花, 10 小花各注入区を比較するに、2 小花注入の場合は大麥角発生最も多く、100 小花当り発生大麥角重量も多く、大麥角平均 1 個体重量も大である。1 穂の接種小花数少き程、発生大麥角の重量は重き傾向が認められる。噴霧法(船 36 区)は寄生率に就ては浸漬法と同程度である。分生胞子を接種源としてみるに拘らず大麥角 1 個体重量は大である。これは大麥角の発生が多い事に基づくもので、注意すべき点である。

塗沫法(船 37 区)は寄生率に就ては注入法に次いで高いが、大麥角発生率、100 小花当り発生大麥角重量に於て浸漬法(船 5, 6, 8, 9, 46, 47, 49, 50 区)に匹敵し得るに過ぎない。大麥角平均 1 個体重量は最も軽い。

浸漬法にては寄生率は 1—5% の程度であり、接種時期、TSCHERMAK の刺戟の有無、接種源として用ひた胞子の種類によりて相違する。大麥角発生率、100 小花当り発生大麥角重量も同様に以上の条件により相違する。この問題に就ては第 3 節以下に於て論議する。

KIRCHHOFF (1929) がライ麦 16 品種につき、品種によるライ麦大麥角菌に対する抵抗力を知らんとし噴霧法により開花期間中 19 日間毎日 TSCHERMAK の刺戟を与へて接種し、寄生率は 0.47—1.30% 普通 0.7—0.9% を得たのに比較すれば、ハマニソニク大麥角菌による噴霧法(船 36 区)の方顯著なるを知る。

撒布法(船 2 区)によつて寄生を認むるを得なかつた。然し乍ら撒布量、撒布時期を考慮すれば撒布場所の状況の如何により寄生せしめ得べしと信じ將來の研究に俟たんとす。

接種操作の労力の点よりすれば噴霧法最も優れ浸漬法之に次ぎ、注入法・塗沫法は労力を多く要する。然しながら注入法によれば寄生率最も高き特長を有してゐる。

第 3 節 接種時期と寄生率

ハマニソニクの開花に就ては第 3 章第 2 節に於て詳述した如くである。著者は接種時期と寄生との関係を究めんとして次の各時期に接種を行つた。昭和 18 年 5 月船越に於て実験を行つたものである。

1. 開花前 2 日 子囊胞子を用ひ浸漬法により接種した。

2. 第 1 小花盛花期

第46表 接種法の種類

試験区番号	試験方法概要			試験成績						
	接種法の種類	接種源	接種月日	寄生率	大麥角発生率	小麥角発生率	麥角平均1個体重量	100小花当り発生大麥角重量	100小花当り発生小麥角重量	100小花当り発生大麥角重量
船 5	浸漬法 [*] (第1小花無刺戟)	子囊胞子 470/1mm ³	18-28/V	1.52	0.36	1.16	21.32	32.24	17.79	14.45
" 6	" (第1小花刺戟)	"	"	2.24	1.14	1.10	22.05	49.44	34.66	14.78
" 8	" (第1小花無刺戟)	**分生胞子 1120/1mm ³	"	2.40	0.06	2.34	9.01	21.65	3.09	18.55
" 9	" (第1小花刺戟)	"	"	3.65	0.04	3.61	9.08	33.15	1.57	31.57
" 46	" (第3小花無刺戟)	子囊胞子 470/1mm ³	18-31/V	2.89	1.21	1.67	18.48	53.36	36.62	16.74
" 47	" (第3小花刺戟)	"	"	3.62	1.01	2.61	18.71	67.83	29.87	37.97
" 49	" (第3小花無刺戟)	分生胞子 1000/1mm ³	"	5.61	0.64	4.97	10.41	58.48	15.27	43.20
" 50	" (第3小花刺戟)	"	"	5.88	0.35	5.53	11.86	69.68	9.95	59.73
" 36	噴霧法(第1小花刺戟)	分生胞子 1160/1mm ³	18-29/V	1.83	0.64	1.19	21.51	39.02	28.42	10.60
" 32	注入法(第1小花2小花刺戟)	"	18-28/V	44.14	8.51	35.63	9.67	427.12	106.38	320.74
" 33	" " 5小花	"	"	40	0	40	8.75	350	0	350
" 34	" " 10小花	"	"	49.5	1	48.5	6.57	325	25	300
" 37	塗抹法(第1小花刺戟)	"	"	16.49	1.03	15.46	4.69	77.31	25.77	51.54
" 2	撒布法	菌核	18-27/V	0	—	—	—	—	—	—

* 第1(3)小花とあるは第1(3)小花盛花期接種なる事を示す。以下同じ。

** 分生胞子は培養分生胞子を用いた。以下同じ。

3. 第3小花盛花期

然して第1小花盛花期及び第3小花盛花期に接種の際は、接種源、接種法を異にする区及び接種前ハマニシクの花穂に TSCHERMAK の刺戟を与へし区、然らざる区の別を設けた。表示すれば次の如くなる。

- (1) 接種源 子囊胞子
分生胞子 第1節Bに於て述べた培養分生胞子である。
- (2) 接種法 注入法 第1(3)小花盛花期に第1(3)小花に接種する。
浸漬法
- (3) TSCHERMAK の刺戟
刺戟
無刺戟

試験成績は第47表の如くである。

開花前2日に子囊胞子にて浸漬法により接種したが寄生は無い。昭和17年新間に於ける実験にては開花前日に蜜流分生胞子にて浸漬法により接種したのであるが同様に寄生を認めるを得なかつた。第2章第3節に述べた実験と併せ考察する時はハマニシク麥角菌の寄生はハマニシクの開花中に限りおこるものなる事を知るのである。

第1小花盛花期及び第3小花盛花期の各々に於ける TSCHERMAK の刺戟の寄生率に及ぼした影響を浸漬法によつて接種した場合に就て見るに概してその影響は顕著である。即ち TSCHERMAK の刺戟によりて人為的に開花数を

第 47 表 接種時期と寄生率

試験区番号	試験方法概要			試験成績						
	開花時期	接種源	接種月日	寄生率	大麥角 発生率	小麥角 発生率	麥角平均 1 個体重 量	100 小花 当發生麥 角重量	100 小花 当發生大 麥角重量	100 小花 当發生小 麥角重量
				%	%	%	mg	mg	mg	mg
船 1	開花前 2 日	子囊孢子 360/1mm ³	18-27/V	0	—	—	—	—	—	—
" 5	第 1 小花(無刺戟) 盛花期(浸)	子囊孢子 470/1mm ³	18-28/V	1.52	0.36	1.16	21.32	32.24	17.79	14.45
" 6	" (刺戟) 浸)	"	"	2.24	1.14	1.10	22.05	49.44	34.66	14.78
" 7	" (刺戟) 注)	"	"	33.67	18.13	15.54	23.85	803.10	699.48	103.62
" 8	" (無刺戟) 浸)	分生孢子 1120/1mm ³	"	2.40	0.06	2.34	9.01	21.65	3.09	18.55
" 9	" (刺戟) 浸)	"	"	3.65	0.04	3.61	9.08	33.15	1.57	31.57
" 34	" (刺戟) 注)	分生孢子 1160/1mm ³	"	49.5	1	48.5	6.57	325	25	300
" 46	第 3 小花(無刺戟) 盛花期(浸)	子囊孢子 470/1mm ³	18-31/V	2.89	1.21	1.67	18.48	53.36	36.62	16.74
" 47	" (刺戟) 浸)	"	"	3.62	1.01	2.61	18.71	67.83	29.87	37.97
" 48	" (刺戟) 注)	"	"	16.49	7.45	9.04	19.52	321.81	234.04	87.77
" 49	" (無刺戟) 浸)	分生孢子 1000/1mm ³	"	5.61	0.64	4.97	10.41	58.48	15.27	43.20
" 50	" (刺戟) 浸)	"	"	5.88	0.35	5.53	11.86	69.68	9.95	59.73
" 51	" (刺戟) 注)	"	"	20	1.08	18.92	10.81	216.22	27.03	189.19

増加し寄生を増加したわけである。

接種源として用いた孢子の種類と寄生率との関係を見るに TSCHERMAK の刺戟を与へた場合も、然らざる場合も浸漬法による場合も注入法による場合も総べて培養分生孢子による場合の方、子囊孢子による場合よりも寄生率が高い。これは KIRCHHOFF⁽⁸⁶⁾(1929)のライ麥麥角菌 *Cl. purpurea* をライ麥に接種した成績と異なる処である。KIRCHHOFF はライ麥に子囊孢子、分生孢子、培養分生孢子を用ひて接種試験を行ひ、培養分生孢子により接種した時の寄生率は前 2 者に著しく劣る事を報じてある。

接種時期(開花期)と寄生率との関係を注入法によつた場合に就て見るに、第 1 小花盛花期(第 1 小花)の寄生率は 49.5%(分生孢子)、33.67%(子囊孢子)に対し第 3 小花盛花期(第 3 小花)の其れは 20%(分生孢子)、16.49%(子囊孢子)にして、明らかに第 1 小花盛花期(第 1 小花)の方が寄生率が高い。自然寄生の場合に於ては第 1 小花の寄生率は第 3 小花の其れより著しく高い事は既に著者の観察したところである。(第 2 章 第 2 節、第 3 節参照)

浸漬法による場合は第 3 小花盛花期接種の寄生率の方が第 1 小花盛花期の其れより高い事を示してある。但し浸漬法による場合の寄生率とは寄生によりて発生した麥角(大麥角小麥角を共に含む)総数の総小花数に対する百分率であり、接種時に開花してゐた総小花数に対する百分率即ち接種の行はれた総小花数に対する百分率を示すものではない。之に対し注入法による場合は正確に第 1 小花(第 3 小花)に接種しその総数に対し発生した麥角の百分率を以て示すのであるから其の寄生率なりと言ひ得るのである。本実験を行つた時は、第 1 小花盛花期(5 月 28 日)より第 3 小花盛花期の前日(5 月 30 日)迄曇天にして比較的低温であつたが、5 月 31 日は快晴にして急激に高温となつた為ハマニシクは開花に異変を来し通常よりも一斉に且つ多数開花するを認めたのである。即ち既に温度の変化が刺戟となつて開花した為に TSCHERMAK の人工的刺戟に應ずることが極めて少かつた為と解される。以上によつて浸漬法による場合も斯る意味に於ける其の寄生率は第 1 小花盛花期(第 1 小花)の方、第 3 小花盛花期(第 3 小花)より高いものと史料せられる。

第4節 接種時節と發生麥角重量

TSCHERMAK の刺戟と發生麥角重量との関係を浸漬法の場合に就て見るに、刺戟した場合は無刺戟の場合よりも發生が多い。第1小花盛花期は特にこの傾向が著しく、此は刺戟により開花数増加し従つて寄生の増加した為である。刺戟した場合は無刺戟の場合に比し、小麥角の發生多き傾向が認められる。

接種源として用ひた胞子の種類と發生麥角重量との関係を見るに、子囊胞子による場合の方、培養分生胞子による場合よりも發生が多い。第1小花盛花期の場合、子囊胞子にて注入法による場合の100小花当り發生麥角重量は803.10mg に対し培養分生胞子の其れは325mg であり、第3小花盛花期の場合には子囊胞子による場合321.81mg に対し培養分生胞子の其れは216.22mg であつて明らかに子囊胞子による場合の方が發生が多い。浸漬法により刺戟を加へて接種した場合も、無刺戟にて接種した場合も、概して子囊胞子による場合の方發生多き傾向がある。

100小花当り發生大麥角重量は第1小花盛花期(第1小花)に子囊胞子にて注入法によつた場合699.48mg に対し培養分生胞子の場合の其れは25mg であり、第3小花盛花期(第3小花)接種の場合には子囊胞子の時234.04mg に対し培養分生胞子の其れは27.03mg であつて、子囊胞子による時は大麥角多く、培養分生胞子による時は大麥角は少い。麥角平均1個体重量は子囊胞子による場合の方、培養分生胞子による場合よりも大である。これは培養分生胞子による時は小麥角を多く發生したが為である。

100小花当り發生小麥角重量は第1小花盛花期(第1小花)、子囊胞子にて注入法による場合103.62mg に対し培養分生胞子の其れは300mg であり、第3小花盛花期(第3小花)の場合子囊胞子の時87.77mg に対し培養分生胞子の其れは189.19mg であつて、培養分生胞子による時は小麥角の發生が著しい。浸漬法による場合も皆、同様の傾向を認める事が出来る。

接種時期(開花期)と發生麥角重量との関係を見るに、子囊胞子によつて注入法により第1小花盛花期(第1小花)に接種した場合803.10mg に対し同様に第3小花盛花期(第3小花)に接種した場合は321.81mg であり、培養分生胞子により第1小花盛花期(第1小花)に接種の場合は325mg に対し同様に第3小花盛花期(第3小花)に接種の場合は216.22mg であつて、第1小花盛花期(第1小花)は第3小花盛花期(第3小花)よりも麥角發生重量が多い。この事実は寄生的栽培をなすに當つて重要な意義を有するものである。

浸漬法による場合は、第3小花盛花期の方、第1小花盛花期より100小花当り發生麥角重量多きを示してゐる。蓋し前節に於て述べた寄生率の場合と同様に、注入法の場合は其の100小花当り發生麥角重量を意味するのであるが浸漬法の場合は異なる。浸漬法による場合も斯る意味に於ける其の100小花当り發生麥角重量は第1小花盛花期(第1小花)の方、第3小花盛花期(第3小花)の其れより大なるものと思料せられる。

昭和19年5月春日部に於て行つた実験(培養分生胞子を以て注入法による)も全く同様の傾向を認める事が出来た。即ち第1小花盛花期(第1小花)に接種(19-15/V 接種, 胞子密度800/1mm³)のものは、寄生率30.4%, 麥角平均1個体重量16.11mg, 100小花当り發生麥角重量は489.84mg であつたのに対し、第3小花盛花期(第3小花)に接種(19-22/V 接種, 胞子密度1000/1mm³)のものは夫々8.77%, 8.56mg, 75.5mg であつた。

第5節 接種源としての胞子の密度

分生胞子と子囊胞子の2つの場合がある。

1. 分生胞子 培養分生胞子を用ひ、第1小花盛花期に予めTSCHERMAK の刺戟を加へた後、第1小花に注入法により接種した。本実験は昭和18年5月船越に於て行つたものである。

胞子の密度は下の如くである。

1.16/1mm³, 11.6/1mm³, 116/1mm³, 1160/1mm³

2. 子囊胞子

子座を乳鉢中にて破碎し井水又はSCHMIDT液に浮遊液となし浸漬法によつて接種した。ハマニソクは概ね第3小花盛花期であつた。本実験は昭和17年5月百石に於て行つた。

胞子密度は下の如くである。

1 子座/1.0cc 井水 子囊胞子数 500/1mm³
 1 子座/2.0cc SCHMIDT液 200/1mm³
 1 子座/1.0cc " 400/1mm³

2 子座/1.0 cc SCHMIDT 液 600/1 mm³
 3 子座/1.0 cc " 750/1 mm³ 実験成績は第 48 表の如くである。

第 48 表 接種源としての胞子の密度

試験区番号	試験方法概要			試験成績						
	胞子数	接種法	接種月日	寄生率	大麥角発生率	小麥角発生率	麥角平均 1 個体重	100 小花当り 麥角重量	100 小花当り 大麥角重量	100 小花当り 小麥角重量
				%	%	%	mg	mg	mg	mg
船 42	1.16分/1mm ³	刺戟(注)	18-29/V	0						
" 43	11.6 "	"	"	1.11	0	1.11	5.00	5.55	0	5.55
" 44	116 "	"	"	13	1.5	11.5	15.38	200	50	150
" 45	1160 "	"	"	8.54	0.50	8.04	8.82	75.37	25.12	50.25
百 9	1 子座/1.0cc水	刺戟(浸)	17-29/V	0.89	0.13	0.76	10.71	8.57	3.70	4.87
" 37	/2.0ccS*液	"	17-31/V	0.39	0.12	0.27	11.21	3.41	2.37	1.03
" 38	/1.0 "	"	"	0.83	0.54	0.29	25.40	19.28	17.87	1.41
" 39	2 子座/1.0 "	"	"	0.38	0.15	0.23	14.36	5.46	3.51	1.95
" 40	3 子座/1.0 "	"	"	1.28	0.27	1.01	12.52	15.00	6.44	8.56

* SCHMIDT 液

実験結果

分生胞子の場合には 1mm³ 中に 1.16個の場合には寄生なく、1mm³ 中 11.6 個以上には何れも寄生を認める。然して 1mm³ 中 116 個以上の場合には寄生率高く大麥角の発生を認めるのであるが、1mm³ 中 11.6 個にては小麥角の発生のみ止つた。BÉKÉSY⁽²¹⁾(1938)はライ麥による *Cl. purpurea* の寄生的栽培に於て 1mm³ 中の分生胞子数が 1,000 以下は非常に危険である事を指摘してゐる(実験的根拠は明示してゐない)のであるが、*Cl. litoralis* の場合は 116 個以上に於て接種可能であることがわかる。子囊胞子の場合には本実験に取扱つた範囲内に於ては何れも寄生があり、優劣を論じ難い。

著者は子座 1 個を破砕し井水(PH 6.2) 12.5cc の割合にて浮遊液となし、第 1 小花盛花期ハマニソクに予め TSCHERMAK の刺戟を加へた後 30 穂に浸漬法によつて接種(昭和 17 年 5 月 28 日、於百石)したが、6 月 10 日より 6 月 17 日迄の観察によつて蜜滴発生穂 9 を数へたのであるが 7 月 5 日収穫の時、接種 30 穂の内 28 穂は附近の住人に刈り取られ 2 穂のみが残つてゐた。この 2 穂に大麥角 7 個、小麥角 9 個の発生を認めた。以上の様な実験の故障の爲正確な調査は不可能であつたが、1 子座に対し水 12.5 cc (子囊胞子は接種液 1mm³ 中に 30-60 個程度) にも寄生可能である事を知り得たのである。

著者は人工接種をなすに当り分生胞子の場合には 1mm³ 中に 1,000 個、子囊胞子の場合には子座 1 個に対し液 1 cc の割合(1mm³ 中子囊胞子 300-600 個程度)を標準として実験を行つた。

第 6 節 胞子浮遊液の酸性度

接種後の酸性度を 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 8.5 の 6 種とし、各々は琥珀酸及び琥珀酸ソーダにて緩衝液となし之に子囊胞子又は培養分生胞子を浮遊せしめて接種実験を行つた。第 1 小花盛花期予め TSCHERMAK の刺戟を加へた後、第 1 小花に注入法によつて接種した。実験は昭和 18 年 5 月船越にて行つた。試験成績は第 49 表の通りである。

実験結果

子囊胞子による場合に就て見るに、PH 4.0 より PH 8.5 迄何れも寄生がある。然して酸性の強い方寄生率の高い傾向が認められ、PH 5.0 に於て寄生率は最も高い。

大麥角の発生率に就て見るに、子囊胞子による各区は何れも発生があり、PH 5.0 に於て最も発生が多い。培養分生胞子による場合は PH 5.0 のみに於て発生を見たに過ぎない。

第 2 章第 1 節 I 蜜滴の項にて述べた如く、蜜滴分泌初期の PH は 4.2-4.4 であり、漸次 PH 値増加し麥角体の漸く認められる頃に至れば PH 5.0-5.2 を示す事実と併せ考へる時興味深いものがある。

第49表 孢子浮遊液の酸性度

試験区番号	試験方法概要			試験成績						
	PH値	接種源	接種月日	寄生率	大麥角発生率	小麥角発生率	麥角平均1個体重量	100小花当り発生麥角重量	100小花当り発生大麥角重量	100小花当り発生小麥角重量
船11	4.0	子囊孢子470/1mm ³	18-28/V	% 5.52	% 4.02	% 1.50	mg 9.09	mg 50.25	mg 25.12	mg 25.12
"12	5.0	"	"	10.60	8.59	2.01	35.71	378.78	328.28	50.50
"13	6.0	"	"	3.57	0.50	3.07	11.43	41.02	15.38	25.64
"14	7.0	"	"	1.51	0.50	1.01	20.00	30.45	25.38	5.07
"15	8.0	"	"	2.57	1.54	1.03	20.00	51.54	36.08	15.46
"16	8.5	"	"	2.00	1.00	1.00	20.00	40.20	25.12	15.07
"17	4.0	分生孢子1120/1mm ³	"	19.09	0	19.09	9.21	175.87	0	175.87
"18	5.0	"	"	20.52	0.52	20.00	8.72	178.94	21.05	157.89
"19	6.0	"	"	17.46	0	17.46	6.06	105.82	0	105.82
"20	7.0	"	"	6.03	0	6.03	8.33	50.25	0	50.25
"21	8.0	"	"	2.64	0	2.64	8.00	21.12	0	21.12
"22	8.5	"	"	2.04	0	2.04	10.00	20.40	0	20.40
百9	6.2	子囊孢子500/1mm ³	17-29/V	0.89	0.13	0.76	10.71	8.57	3.70	4.87
"35	"	" 350/1mm ³	17-30/V	0.42	0.12	0.30	8.95	3.72	2.45	1.27
"47	"	" 400/1mm ³	17-31/V	1.31	0.58	0.73	18.27	23.89	19.32	4.57
"70	"	" 660/1mm ³	17-2/VI	0.13	0.03	0.10	15.20	1.45	0.82	0.63
"5	8.0	" 500/1mm ³	17-28/V	1.35	0.74	0.61	17.47	22.56	18.07	4.49
"10	12.2	" "	17-29/V	0.02	0	0.02	—	—	0	—
"6	12.7	" "	"	0	—	—	—	—	—	—

註 PH値の測定は百6,10区は水素電極法による12°Cの値なり。

其他は比色試験法による(使用色素液は船11,17区はB.P.B., 船12,18区はB.C.G., 船13,14,19,20区はB.T.B., 船15,16,21,22区はT.B., 百9,35,47,70区はB.C.P., 百5区はC.R.なり。但し百9,35,47,70区のみは東洋濾紙試験紙を使用せり。

同じ酸性度の場合には、培養分生孢子による場合は子囊孢子による場合よりも寄生率は高いけれども、大麥角の発生殆ど無く、小麥角の発生を主とする。

100小花当り発生麥角重量は、寄生率の傾向と概ね平行的であつて、子囊孢子・培養分生孢子による場合共にPH5.0に於て発生が最も多い。然して子囊孢子によるPH5.0の場合には全試験区中に於て100小花当り発生麥角重量最も多く、麥角平均1個体重量も最も重い。

尙、昭和17年5月百石に於ける実験にて、農業用カゼイン石灰(カゼイン20-25%、消石灰75-80%の混合物)を用ひて子囊孢子浮遊液を種々なる程度にアルカリ性となし第1小花盛花期に浸漬法によつて接種した。

百10区 カゼイン石灰 0.1% 加用 PH 12.2,
百6区 " 0.5% 加用 PH 12.7

百10区(PH 12.2)に於て0.02%の寄生を見たが、百6区(PH 12.7)には認められない。即ちカゼイン石灰0.1%液(PH 12.2)はその限界度と認められる。

百5区(PH 8.0)の寄生率は1.35%にして、PH 6.2のものに対する差異は殆ど認められない。

第7節 養分等添加せる孢子浮遊液

実験方法下の如くである。

1. 蔗糖水溶液	2%,	5%,	10%
2. 葡萄糖水溶液	2%,	5%,	10%
3. 果糖水溶液	2%,	5%,	10%

4. SCHMIDT 液

5. 植物ホルモン β -indole acetic acid のカリウム塩 (三共製品ヘテロキシン) 0.02% (5,000 倍溶液), 0.01% (10,000 倍溶液), 0.002% (50,000 倍溶液)

植物ホルモンの植物成長に及ぼす異状作用の一として花器肥大の現象が認められる。又、植物ホルモンは或種の糸状菌にもその存在を知られ、NIELS-NIELSON (1930,32) はクモノスカビ属より Rhizopin なる物質を分離し、此の物はオーキシンに類似する性質を有し、クロカビの原形質を増量せしめる性質があると言ふ。著者は市販のヘテロキシンを用ひ、麥角菌寄生に及ぼす影響を検索せんとした。

6. SCHMIDT 液にヘテロキシン添加の場合

SCHMIDT 液にヘテロキシン 0.02%, 0.01%, 0.002% の割合に夫々添加した。

7. 5% 葡萄糖水溶液にヘテロキシン添加の場合

5% 葡萄糖水溶液にヘテロキシン 0.02%, 0.01%, 0.002% の割合に夫々添加した。

第 50 表 養分等添加せる孢子浮遊液

試験区番号	試験方法概要			試験成績							
	添加養分の種類	接種源	接種月日	寄生率	大麥角発生率	小麥角発生率	麥角平均100個体重	小花当り100個重	小花当り100個重	小花当り100個重	小花当り100個重
		子座 cc		%	%	%	mg	mg	mg	mg	mg
百 9	井水	1:1	17-29/V	0.89	0.13	0.76	10.71	8.57	3.70	4.87	
" 35	"	1:1	17-30/V	0.42	0.12	0.30	8.95	3.72	2.45	1.27	
" 47	"	1:1	17-31/V	1.31	0.58	0.73	18.27	23.89	19.32	4.57	
" 70	"	1:1	17-2/VI	0.13	0.03	0.10	15.20	1.45	0.82	0.63	
" 26	2% 蔗糖水溶液	1:1	17-30/V	0.51	0.04	0.47	7.00	3.43	1.02	2.41	
" 27	5% "	1:1	"	0.11	0.05	0.06	15.20	1.38	1.14	0.24	
" 28	10% "	1:1	"	0.08	0.01	0.07	12.00	0.96	0.30	0.66	
" 29	2% 葡萄糖水溶液	1:1	"	0.12	0	0.12	7.14	0.87	0	0.87	
" 30	5% "	1:1	"	0.38	0.03	0.35	8.43	2.92	0.52	2.40	
" 31	10% "	1:1	"	0.62	0.18	0.44	8.75	5.38	2.53	2.85	
" 32	2% 果糖水溶液	1:1	"	0.67	0.33	0.34	18.78	9.75	8.05	1.69	
" 33	5% "	1:1	"	0.02	0	0.02	—	—	0	—	
" 34	10% "	1:1	"	0.19	0.07	0.12	13.91	2.59	1.59	1.00	
" 37	シュミット液	1:2	17-31/V	0.39	0.12	0.27	11.21	3.41	2.37	1.04	
" 38	"	1:1	"	0.81	0.55	0.26	25.40	19.28	17.87	1.41	
" 39	"	2:1	"	0.38	0.15	0.23	14.36	5.46	3.51	1.95	
" 40	"	3:1	"	1.28	0.27	1.01	12.52	15.00	6.44	8.56	
" 11	0.02% ヘテロキシン水溶液	1:1	17-29/V	0.13	0	0.13	—	—	—	—	
" 16	0.01% "	1:1	"	0	—	—	—	—	—	—	
" 21	0.002% "	1:1	"	0.14	0	0.14	9.00	1.23	0	1.23	
" 15	シュミット液加 0.02% ヘテロキシン	1:1	"	0	—	—	—	—	—	—	
" 20	シュミット液加 0.01% ヘテロキシン	1:1	"	0	—	—	—	—	—	—	
" 25	シュミット液加 0.002% ヘテロキシン	1:1	"	0.03	0	0.03	12.00	0.16	0	0.16	
" 13	5% 葡萄糖水溶液加 0.02% ヘテロキシン	1:1	"	0.87	0.57	0.30	17.06	14.78	11.14	3.63	
" 18	5% 葡萄糖水溶液加 0.01% ヘテロキシン	1:1	"	0	—	—	—	—	—	—	
" 23	5% 葡萄糖水溶液加 0.002% ヘテロキシン	1:1	"	0.04	0	0.04	14.00	0.25	0	0.25	

以上の水溶液 1cc に対し子座 1 個の割合にて子嚢孢子浮遊液となし浸漬法によつて、ハマニソニクの第 1 小花盛花期(5 月 29 日, 30 日)及び第 3 小花盛花期(5 月 31 日)に接種した。本実験は昭和 17 年百石に於て行つたものである。百 9 区, 百 35 区, 百 47 区の各區は標準區である。実験成績は第 50 表の通りである。

実験結果

寄生率に就て見るに、蔗糖・葡萄糖・果糖の各濃度の全区を通じて標準區(百 35 区)に優るは蔗糖 2% 区, 果糖 2% 区, 葡萄糖 10% 区の 3 区のみである。実験成績は第 50 表の通りである。

SCHMIDT 液は良好なる培養液であるが、人工接種に用ふる浮遊液としては標準區(百 47 区)に稍々劣る。然しながら、実験の都合にて、人工接種液の儘一定日数保存の必要ある場合に意義を有するであらう。植物ホルモン(ヘテロキシン)の効果は認むるを得なかつた。5% 葡萄糖水溶液に 0.02% の割合にヘテロキシンを加用せる区(百 13 区)が標準區(百 9 区)に匹敵し得るに過ぎない。

第 8 節 貯蔵分生孢子を接種源とする場合

Cl. purpurea の場合に就て BONORDEN⁽³⁰⁾(1858)は乾燥したばかりの蜜滴は尙発芽しうる分生孢子を含んでゐる

第 51 表 菌核共の他の接種源

試験区番号	試験方法概要			試験成績						
	接種源	接種法	接種月日	寄生率	大麥角発生率	小麥角発生率	麥角平均 100 個体重り量	小花当 100 発生り麥角重量	小花当 100 発生り大麥角重量	小花当 100 発生り小麥角重量
				%	%	%	mg	mg	gm	mg
船 25	貯蔵分生孢子	刺戟注入	18-29/V	2.10	1.05	1.05	32.50	68.42	42.10	26.31
" 23	菌核	"	"	0	—	—	—	—	—	—
百 70	子座 1: 井水 1cc	刺戟浸	17-2/VI	0.13	0	0.13	15.20	1.45	0.82	0.63
" 72	(子座を除去せる菌核) 1: (井水) 5cc	"	"	0	—	—	—	—	—	—
" 73	未発芽菌核 1: 井水 5cc	"	"	0	—	—	—	—	—	—
" 48	菌核 1: 井水 5cc	"	17-1/VI	0	—	—	—	—	—	—
" 49	菌核(5% 葡萄糖) 2.5: (糖水溶液) 1cc	"	"	0	—	—	—	—	—	—
" 50	" : (") 5cc	"	"	0	—	—	—	—	—	—
" 51	" : (") 10cc	"	"	0	—	—	—	—	—	—
" 54	" : シュミット液 5cc	"	"	0	—	—	—	—	—	—
" 55	" : (シュミット液加 0.02% ヘテロキシン) 5cc	"	"	0	—	—	—	—	—	—
" 56	" : (0.01%) 5cc	"	"	0	—	—	—	—	—	—
" 57	" : (0.002%) 5cc	"	"	0	—	—	—	—	—	—
" 58	" : (0.02% ヘテロキシン水溶液) 5cc	"	"	0	—	—	—	—	—	—
" 59	" : (0.01%) 5cc	"	"	0	—	—	—	—	—	—
" 60	" : (0.002%) 5cc	"	"	0	—	—	—	—	—	—
" 61	(皮部を除去せる菌核) 1: (井水) 5cc	"	"	0	—	—	—	—	—	—
" 62	未発芽菌核 1: 井水 5cc	"	"	0	—	—	—	—	—	—
" 63	(子座を除去せる菌核) 1: (井水) 5cc	"	"	0	—	—	—	—	—	—

と言ふ事を見出し、STÄGER⁽¹⁰⁷⁾(1912)は越冬せる“Sphacelia-Mützchen”の分生胞子は(10ヶ月後も尙)発芽力従つて寄生性を有する事を実験的に証明した。然し BÉKÉSY⁽²¹⁾(1938)はかかる分生胞子は乾燥せる空気中では4ヶ月で既に発芽力を失ふから冷涼で適湿の空気中に於てのみ越冬せしめ得ると言ふ。

著者の実験によれば、貯蔵分生胞子(本章第1節BⅢ参照)を以て浮遊液となし接種し2.10%の寄生を認め得た。(第51表)尙、同一貯蔵分生胞子を以て貯蔵翌々年目昭和19年5月22日春日部に於て第3小花盛花期第3小花463小花に注入法により接種し小麥角のみ5個(寄生率1.08%)の発生を認め得た。(培養分生胞子を以て同一時期に接種を行ひしものゝ寄生率は8.77%であつた。本章第4節参照)斯くて分生胞子は室温に於て乾燥状態に保存のものは少くも2ヶ年生命を保つ事を知り得た。

甲地に於て採集した蜜滴を清潔な濾紙片に吸収せしめ、乾燥状態に保存して置けば、開花時期を異にする乙地に於て同一年にこれを接種源として用ふる事は勿論、翌年・翌々年目の開花時期に任意の地に於て接種源として用ひ得る理である。

第9節 菌核を接種源とする場合

接種液の製法に就ては、本章第1節Cに於て詳細に述べた処である。茲には其の実験結果のみを述べる。(第51表)。

1. 低温処理を施した菌核を撒布する方法

1g区、2g区、5g区 何れも麥角の発生を認め得なかつた。4月25日撒布してよりハマニシク開花の5月下旬迄撒布した麥角の内大部分のものは埋没せられずして砂表面に在るを認め得たのであるが、砂の乾燥せる為発芽し得なかつたものと考へられる。尙、実験に用ひた麥角そのものも陳旧の疑があつて、発芽力の少かつたものである。

本州のハマニシク自生地は一般に砂浜にして砂はよく乾燥して居り、地方によつては強き潮風によつて砂を移動し埋没し去る惧れがあつて、斯の如き地に於てはこの方法を取るも効果はないと思はれる。樺太海岸等の如く、ハマニシク莖葉の腐朽したものが堆積し且つ湿潤状態にあつて、強き潮風によるも麥角の埋没せられる惧れのない地に於てはこの方法を用ひる事を得るものと考へられる。

2. 発芽しつつある菌核を撒布する方法 船2区

麥角発生を認め得なかつた。此は前述の如き自生地の状況によるものと思はれる。又菌核の発芽率僅少であつた事にもよるであらう。第2節に述べた如くこの方法も自生地の状況によつては好成績を挙げ得るものと考へられる。

3. 將に発芽せんとする菌核を破碎し浮遊液となす方法 船23区

寄生を認め得なかつた。

4. 子座を取除きたる菌核を破碎し浮遊液となす方法 百63区、百72区

寄生を認め得なかつた。

5. 処理置床せるも発芽せざる菌核を破碎し浮遊液となす方法 百62区、百73区

麥角の発生は認め得なかつたが百73区内1穗に蜜滴発生を認め得た。(著者は検鏡し分生胞子の存在を確めた。)処理置床せるも発芽しない菌核にして腐敗してゐないものは生命あるを知る。

6. 菌核を破碎し浮遊液となす方法 百48区-51区、54区-60区

浮遊液中に種々の養分を加へたるもの等を試みたが何れも寄生を認め得なかつた。

7. 皮部を除きたる菌核を破碎し浮遊液となす方法 百61区

寄生を認め得なかつた。

著者のハマニシクに就ての実験は、菌核は接種源として用ひた場合寄生し得ると言ふに留まり、子囊胞子及び分生胞子を接種源とする場合に比し著しく劣る事を認めた。

菌核を接種源として用ふる事に就ては GIBELLI⁽⁶⁴⁾(1877) 唱へ Mc FARLAND⁽¹⁰⁸⁾, KIRCHHOFF⁽⁸⁰⁾(1929) はライ麥に就て実験に成功してゐるのであるが、KIRCHHOFF も菌核にても寄生可能と言ふのみにして、分生胞子及び子囊胞子に比し著しく劣る事を報じてゐる。

菌核を撒布する方法の内(1)低温処理を施したる菌核を撒布する場合、(2)発芽しつつある菌核を撒布する場合の2者は自生地の状況によりては好成績を挙げ得るであらうと信ずる。

第 10 節 種木(新聞)における寄生的栽培実験

著者は昭和 17 年 7 月—8 月、*Cl. littoralis* 麥角自然発生著しき樺太(新聞)に於て、子囊孢子(本章第 1 節 A 2 参照)及び蜜滴分生孢子(本章第 1 節 B I 参照)を用ひて、接種時期の選択、接種時刻、孢子浮遊液の酸性度(PH 5.0, 5.4, 5.8, 6.2, 6.6, 7.0, 7.4, 7.8, 8.2, 8.6 の緩衝液)、糞分等添加せる孢子浮遊液(ヘテロキシン、蔗糖、葡萄糖、果糖等糖類の添加)等の問題に因して、総試験区数 83 区総試験穂数 2,776 に及ぶ詳細なる実験を試みた。接種方法は主として浸漬法を採用した。

然しながら、新聞に於ては、麥角の自然発生著しく、然も場所によりて麥角発生の変異著しく、所期の成績を挙げ得なかつた。即ち人工接種の処理を行ふも自然発生にカバーされて、処理の影響を見得なかつたばかりで無く、寧ろ人工接種を施した区は接種を行はざる区(対照区)に比して却つて寄生率の劣る場合さえ認められたのである。但し PH 5.0, 5.4, 5.8, 6.2 の 4 区(蜜滴分生孢子により昭和 17 年 7 月 21 日浸漬法により第 1 小花盛花期のもの各々 25 穂に接種)は寄生率夫々 17.05%, 18.42%, 20.22%, 18.91% であり、対照区たる自然発生区(無接種区)では 11.02% であつた。浸漬法により約 20% の寄生率を挙げ得るは正に驚異に値する。

結論として、樺太の如きハマニシク麥角の自然発生著しき地に於て、自生のハマニシクを寄主とする寄生的栽培は、接種液の PH が最重要のファクターであつて、最適の PH の接種液を以て寄生的栽培する時自然発生の場合の寄生率より更に高率に於て麥角を発生せしめ得る事を知つた。

第 11 節 寄生的栽培麥角の形態と薬理作用並に有効成分含量

I 寄生的栽培麥角の形態

著者が百石(子囊孢子使用)、船越(子囊孢子、培養分生孢子使用)及び春日部(培養分生孢子使用)に於て人工接種を行ひ発生せしめた麥角の大きさ・重量は第 52 表の如くである。対照として新聞に於ける自然発生せる麥角の其れを示した。

第 52 表 寄生的栽培により発生した麥角の形態

			長 径	幅 径	重 量	測定数
			mm	mm	mg	
新聞	自然発生	—	7.40±0.079	1.85±0.013	17.28±0.416	500
百石	寄生的栽培	子囊孢子	7.33±0.085	1.80±0.014	15.46±0.400	500
船越	”	子囊孢子	7.40±0.076	1.93±0.013	18.57±0.445	500
”	”	分生孢子	6.35±0.074	1.63±0.009	11.73±0.258	500
春日部	”	分生孢子	10.19±0.235	1.76±0.036	16.11±1.000	152

子囊孢子にて接種せるものは百石及び船越の場合共に、長径・幅径・重量に於て自然発生のものに比し差異を認めない。培養分生孢子(船越)にて接種せるものは、長径・幅径・重量に於て自然発生のものに比し遜色を認める。これは培養分生孢子にて接種したものは小麥角を多数発生したが為である。然るに春日部に於て培養分生孢子にて接種せるものは、菌核の發育よく自然発生のものに遜色無い結果を示した。これは菌核の肥大生育中氣候的条件特に温度の温暖なりしによるものゝ如く考へられる。

人工接種によりて発生したる大麥角の大きさ・重量に就ては子囊孢子にて接種するも、培養分生孢子にて接種するも自然発生のものに比し遜色を認めない。即ち第 53 表の如くである。

寄生的栽培麥角の色彩は自然発生麥角のものと同様である。

II 寄生的栽培麥角の薬理作用並に有効成分含量

昭和 17 年百石及び昭和 18 年船越に於て寄生的栽培によつて発生せしめた麥角を検体として当所薬理試験室に於て寺田技師及び苗村囑託により行はれた試験成績に付同技師の報告によれば大体に次の如くである。“薬理試験に供したる麥角は少量なりし為充分なる実験を行ひ得ざりしにより確実なる結果を表示し難きも、両検体共に Cornutin 反応は陰性なりしも鶏冠反応は弱陽性を示せり。依つて人工接種麥角に就ても其の臨床的応用に対する将来性を予想せらるゝも其の詳細に就ては尙今後の研究に俟つ”と。右結果は KELLER-FROMME の cornutin 反応陰性なる点に於

第 53 表 寄生的栽培により発生した大麥角の形態

			長 径	幅 径	重 量	測 定 数
新 間	自然発生	—	mm 9.61±0.117	mm 2.22±0.017	mg 27.92±0.816	200
	百 石 船 越 ” 春日部	寄生的栽培	子嚢胞子	9.57±0.102	2.15±0.021	26.21±0.826
”		子嚢胞子	9.69±0.125	2.46±0.019	32.37±0.970	200
”		分生胞子	12.09±0.191	2.19±0.023	34.23±1.320	200
”		分生胞子	12.15±0.303	2.12±0.045	23.59±1.460	90

て自然発生麥角とその性質を異にする結果となるが、著者はこの事実を詳細に検討した結果、その由つて来る所以は一方において、調査の都合上麥角をハマニソク穂上に着生せしめたる儘自然乾燥せしめた為長期に亘る乾燥不充分等の保存方法の欠陥(その為大多数がアラカビ類に冒された事)に基くものであり、他方においては、分析用検体が量的に不充分であつた事に基くものであると考へるに至つた。

因つて次年(昭和 19 年以降、一部は昭和 18 年)より、保存方法に注意すると共に、微量定量の可能な *p-dimethylaminobenzaldehyde による比色定量法を採用して、化学的に有効成分含量の定量を行つた。其の結果によれば(第 54 表)、昭和 19 年春日部に於て培養分生胞子によりて寄生的栽培したる麥角の総アルカロイド含量は 0.976—1.124% であり、新間に於ける自然発生麥角(1.162%)に比して大差を認めない事がわかつた。尙、昭和 18 年春日部に於ける実験によれば、子嚢胞子により接種したる場合(1.084%)も、培養分生胞子による場合(1.067%)も発生したる麥角の総アルカロイド含量に差異を認めない。

以上の実験によりて明らかなる如く、ハマニソクを寄主とする *Cl. litoralis* の寄生的栽培は可能である。

第 5 章 麥類を寄主とする *Cl. litoralis* 麥角の寄生的栽培

第 4 章に於いて、ハマニソクを寄主とする場合の *Cl. litoralis* 麥角の寄生的栽培に関して詳細な実験研究を行ひ、その可能な事を結論した。然して、ハマニソクの開花は、前述の如く、一日中絶えず連続して開花するに非ずして、或時刻に衝動的に全群落一斉に開花する傾向があり、しかも、實際の寄生的栽培に於ては、第 1 小花盛花期を損ばなくてはならないから実施上かなりの不便がある。

本章に於ては斯る見地から、*Cl. litoralis* を作物によつて寄生的栽培する可能性を検索する目的を以て、麥類(有稔大麥・稗麥・小麥・ライ麥・燕麥)に対する *Cl. litoralis* の寄生性を調べ、且つ自然状態に於て *Cl. litoralis* が麥類に感染する可能性に関して論議を行つたものである。

実験は昭和 17 年より昭和 22 年迄(1942—1947) の 6 ケ年に亘り、当所圃場(埼玉県春日部町)に於て行つたものである。

尙本章に記述の要は既に昭和 19 年 12 月 23 日日本作物学会第 65 回講演会に於て、“麥類に対する *Cl. litoralis* KAWATANI の寄生性に就て”(ハマニソク麥角に関する研究(第 3 報))と題して講演により発表された⁽⁶¹⁾。

第 1 節 麥類に對する *Cl. litoralis* の寄生性とその寄生的栽培

I 実験材料及び方法

1. 麥類 接種試験に用ひた麥類は次の通りである**。

有稔大麥 二条種 直頭種 *Hordeum distichon* L. var. *erectum* SCHÜBL. H₁ ゴールデンメロン (茨城県農試)***

* KELLER-FROMME 檢定法(定量法)を行ふには乾燥麥角粉末 25g を要し、理想的には 100g を要する。(獨乙薬局方の GADAMER & NEUHOFF 檢定法)[BARGER(17)(1931): Ergot and ergotism, p. 189-194]. p-dimethylaminobenzaldehyde による比色法による時は定性的には麥角 1—1/2 個 [0.05-0.01g], 定量的に 0.1g にて分析を行ひ得る。

** 大麥の分類に就ては、有稔大麥と稗麥とに大別し各々を條列及び種形によつて分類する方法に従つた。

*** 茨城県立農事試験場より分譲を受けたものである。H₁ と略記する。以下倣之。

別表 I-1 試験方法一覽 (其の一)

試験区 番号	試験方法				接種月日		
	接種方法	接種時期	接種源	接種液			
百 5	刺戟浸漬	第1小花 盛花期	子座 1:水 5cc	PH 8.0	17-28/V		
" 6			" 1:液 5cc	PH 12.7	"		
" 9			子座 1:水 1cc	井 水	17-29/V		
" 10			" 1:液 1cc	PH 12.2	"		
" 11			子座 1:液 1cc	0.02%ヘテロキシソ水溶液	"		
" 13			"	" : "	5%葡萄糖水溶液加0.02%ヘテロキシソ		
" 15			"	" : "	シュミット液 "		
" 16			"	" : "	0.01%ヘテロキシソ水溶液		
" 18			"	" : "	5%葡萄糖水溶液加0.01%ヘテロキシソ		
" 20			"	" : "	シュミット液 "		
" 21			"	" : "	0.002%ヘテロキシソ水溶液		
" 23			"	" : "	5%葡萄糖水溶液加0.002%ヘテロキシソ		
" 25			"	" : "	シュミット液 "		
" 26			"	" : "	2%蔗糖水溶液		
" 27			"	" : "	5% "		
" 28			"	" : "	10% "		
" 29			"	" : "	2%葡萄糖水溶液		
" 30			"	" : "	5% "		
" 31			"	" : "	10% "		
" 32			"	" : "	2%果糖水溶液		
" 33			"	" : "	5% "		
" 34			"	" : "	10% "		
" 35			"	" : "	井 水		
" 37			刺戟浸漬	第3小花 盛花期	子座 1: S液 2cc	シュミット液	17-31/V
" 38					" 1: " 1cc	" "	"
" 39					" 2: " 1cc	" "	"
" 40					" 3: " 1cc	" "	"
" 47					" 1:水 1cc	井 水	"
" 48					菌核 1:水 5cc	" "	17-1/VI
" 49					" :液 2.5cc	5%葡萄糖水溶液	"
" 50					" : " 5cc	" "	"
" 51					" : " 10cc	" "	"
" 54					" : S液 5cc	シュミット液	"
" 55			" :液 5cc	シュミット液加0.02%ヘテロキシソ	"		
" 56			" : "	" 加0.01%ヘテロキシソ	"		
" 57	" : "	" 加0.002%ヘテロキシソ	"				
" 58	" : "	0.02%ヘテロキシソ水溶液	"				
" 59	" : "	0.01% "	"				
" 60	" : "	0.002% "	"				
" 61	"	皮部を除去せる菌核 1:水 5cc	井 水	"			
" 62	"	未発芽菌核1:水5cc	" "	"			
" 63	"	子座を除去せる菌核 1:水 5cc	" "	"			
" 70	"	子座 1:水 1cc	" "	17-2/VI			
" 72	"	子座を除去せる菌核 1:水 5cc	" "	"			
" 73	"	未発芽菌核1:水5cc	" "	"			

* SCHMIDT 液

別表 I-2 試験方法一覽 (其の二)

試験区 番 号	試 験 方 法				接種月日
	接種方法	接種時期	接種源	接種液	
船 1	刺戟浸漬	開花前2日	子囊孢子360/1mm ³	煮沸井水 PH 6.8	18-27/V
" 2	撒布	開花前3日	菌核	" "	" "
" 5	無刺戟浸漬	第1小花盛花期	子囊孢子470/1mm ³	煮沸井水 PH 6.8	18-28/V
" 6	刺戟浸漬	第1小花盛花期	" "	" "	" "
" 7	刺戟注入	第1小花盛花期	" "	" "	" "
" 8	無刺戟浸漬	第1小花盛花期	培養分生孢子 1120/1mm ³	煮沸井水 PH 6.8	" "
" 9	刺戟浸漬	第1小花盛花期	" "	" "	" "
" 11	刺戟注入	第1小花盛花期	子囊孢子470/1mm ³	緩衝液 PH 4.0	" "
" 12	"	"	"	" PH 5.0	" "
" 13	"	"	"	" PH 6.0	" "
" 14	"	"	"	" PH 7.0	" "
" 15	"	"	"	" PH 8.0	" "
" 16	"	"	"	" PH 8.5	" "
" 17	刺戟注入	第1小花盛花期	培養分生孢子 1120/1mm ³	" PH 4.0	" "
" 18	"	"	"	" PH 5.0	" "
" 19	"	"	"	" PH 6.0	" "
" 20	"	"	"	" PH 7.0	" "
" 21	"	"	"	" PH 8.0	" "
" 22	"	"	"	" PH 8.5	" "
" 23	刺戟注入	第1小花盛花期	菌核	煮沸井水 PH 6.8	18-29/V
" 25	刺戟注入	第1小花盛花期	貯藏分生孢子	" "	" "
" 32	刺戟注入(2小花)	第1小花盛花期	培養分生孢子 1160/1mm ³	煮沸井水 PH 6.8	18-28/V
" 33	刺戟注入(5小花)	第1小花盛花期	" "	" "	" "
" 34	刺戟注入(10小花)	第1小花盛花期	" "	" "	" "
" 36	刺戟噴霧	第1小花盛花期	" "	" "	18-29/V
" 37	刺戟塗抹	第1小花盛花期	" "	" "	18-28/V
" 42	刺戟注入	第1小花盛花期	培養分生孢子 1.16/1mm ³	煮沸井水 PH 6.8	18-29/V
" 43	"	"	" 11.6/1mm ³	" "	" "
" 44	"	"	" 116/1mm ³	" "	" "
" 45	"	"	" 1160/1mm ³	" "	" "
" 46	無刺戟浸漬	第3小花盛花期	子囊孢子470/1mm ³	煮沸井水 PH 6.8	18-31/V
" 47	刺戟浸漬	"	"	" "	" "
" 48	刺戟注入	"	"	" "	" "
" 49	無刺戟浸漬	第3小花盛花期	培養分生孢子 1000/1mm ³	煮沸井水 PH 6.8	18-31/V
" 50	刺戟浸漬	"	"	" "	" "
" 51	刺戟注入	"	"	" "	" "

別表 II-1 試験成績一覽 (其の一)

試験区番号	試験穂		麥角發生穂				
	総本数	総小花数	本数	大麥角		小麥角	
				総個数	総重量 mg	総個数	総重量 mg
百 5	29	3483	16 (5)*	26	629.5	21 (19)**	(156.5)
" 6	38		0	0	—	0	—
" 9	37	6743	18 (1)	9	250.0	51 (45)	(328.5)
" 10	34	6571	1 (0)	0	—	1 (0)	(—)
" 11	35	1571	1 (0)	0	—	2 (0)	(—)
" 13	36	2077	9 (1)	12	231.5	6	75.5
" 15	38		0	0	—	0	—
" 16	29		0	0	—	0	—
" 18	33		0	0	—	0	—
" 20	38		0	0	—	0	—
" 21	32	5112	7 (0)	0	—	7	63.0
" 23	33	5468	2 (0)	0	—	2 (1)	(14.0)
" 25	39	7348	2 (0)	0	—	2 (1)	(12.0)
" 26	23	4693	11 (1)	2	48.0	22 (21)	(113.0)
" 27	30	5483	5 (3)	3	63.0	3 (2)	(13.0)
" 28	30	6242	4 (2)	1	19.0	4	41.0
" 29	30	5748	4 (0)	0	—	7	50.0
" 30	32	6070	15 (2)	2	31.5	21 (19)	(145.5)
" 31	30	5520	16 (10)	10	140.0	24	157.5
" 32	30	5199	20 (4)	17	419.0	18 (10)	(88.0)
" 33	30	5182	1 (0)	0	—	1 (0)	(—)
" 34	34	5896	8 (4)	4	94.0	7	59.0
" 35	32	4802	3 (1)	6	118.0	14	61.0
" 37	31	5579	6 (5)	7	132.5	15 (10)	(58.0)
" 38	29	5662	16 (6)	31	1012.0	15 (12)	(80.0)
" 39	31	5782	9 (1)	9	203.0	13	113.0
" 40	31	5091	22 (1)	14	328.0	51 (47)	(436.0)
" 47	28	4283	22 (11)	25	827.0	31	196.0
" 48	30		0	0	—	0	—
" 49	29		0	0	—	0	—
" 50	32		0	0	—	0	—
" 51	30		0	0	—	0	—
" 54	30		0	0	—	0	—
" 55	35		0	0	—	0	—
" 56	35		0	0	—	0	—
" 57	20		0	0	—	0	—
" 58	28		0	0	—	0	—
" 59	28		0	0	—	0	—
" 60	29		0	0	—	0	—
" 61	29		0	0	—	0	—
" 62	29		0	0	—	0	—
" 63	33		0	0	—	0	—
" 70	32	5219	3 (2)	2	43.0	5 (3)	(33.0)
" 72	31		0	0	—	0	—
" 73	30		0	0	—	0	—

* 大麥角發生本数を示す。以下倣之。

** 測定個数及び測定重量を示す。以下倣之。

別表 II-2 試験成績一覽 (其の二)

試験区番号	試験穂		麥角發生穂				
	総本数	総小花数	本数	大麥角		小麥角	
				総個数	総重量 mg	総個数	総重量 mg
船 1	43	7546	0	0	—	0	—
” 2	250		0	0	—	0	—
” 5	49	8993	45 (22)*	32	1600	104	1300
” 6	50	9808	48 (36)	112	3400	108	1450
” 7	20	193	17 (16)	35	1350	30	200
” 8	50	9699	45 (4)	6	300	227	1800
” 9	49	9502	49 (4)	4	150	343	3000
” 11	20	199	8 (6)	8	50	3	50
” 12	20	198	13 (11)	17	650	4	100
” 13	20	195	6 (1)	1	30	6	50
” 14	20	197	2 (1)	1	50	2	10
” 15	20	194	5 (3)	3	70	2	30
” 16	20	199	4 (2)	2	50	2	30
” 17	20	199	15 (0)	0	—	38	350
” 18	19	190	14 (1)	1	40	38	300
” 19	19	189	15 (0)	0	—	33	200
” 20	20	199	8 (0)	0	—	12	100
” 21	19	189	5 (0)	0	—	5	40
” 22	20	196	4 (0)	0	—	4	40
” 23	19	190	0	0	—	0	—
” 25	19	190	4 (2)	2	80	2	50
” 32	95	188	61 (14)	16	200	67	603
” 33	40	200	38 (0)	0	—	80	700
” 34	20	200	19 (2)	2	50	97	600
” 36	99	19348	77 (49)	123(121)**	(5500)	230	2050
” 37	20	194	16 (1)	2	50	30	100
” 42	20	200	0	0	—	0	—
” 43	18	180	4 (0)	0	—	2	10
” 44	20	200	12 (3)	3	100	23	300
” 45	20	199	11 (1)	1	50	16	100
” 46	47	9558	46 (40)	116	3500	160	1600
” 47	48	9877	46 (34)	100	2950	258	3750
” 48	19	188	19 (14)	14	440	17	165
” 49	50	9490	41 (17)	61	1450	472	4100
” 50	50	10045	47 (13)	35	1000	555	6000
” 51	19	185	13 (2)	2	50	35	350

* 大麥角發生本数を示す。以下概之。

** 測定個数及び測定重量を示す。

		垂頭種	<i>H. distichon</i> L. var. <i>nutans</i> SCHÜBL.		
	四条種	<i>H. vulgare</i> L.	H ₂ 二角シュバリエー	(東大農学部農場)	
			H ₃ 細 麥	(山形県農試)	
			H ₄ 大 正 麥	(東大農学部農場)	
	六条種	<i>H. hexastichon</i> L.	H ₅ 六角二号	(")	
			H ₆ 穂 揃	(茨城県農試)	
稈 麥	二条種	<i>H. nudum</i> L.	C ₁ 品種名不詳	(東大農学部農場)	
	四条種	<i>H. vulgare</i> L. var. <i>nudum</i>	C ₂ 鎌 折	(")	
			C ₃ 白 稈 一 号	(福島県農試)	
	六条種	<i>H. hexastichon</i> L. var. <i>nudum</i>	C ₄ 小 罎 二 号	(鳥取県農試)	
			C ₅ 上 州 白 稈	(茨城県農試)	
小 麥	普通小麥	<i>Triticum vulgare</i> VILL.	T ₁ 埼玉二十七号		
			T ₂ 埼玉百二十五号		
ライ 麥		<i>Secale cereale</i> L.	S ₁ 品種名不詳	(東大農学部農場)	
			S ₂ " "	(")	
			S ₃ " "	(")	
燕 麥	普通種	<i>Avena sativa</i> L.	A ₁ 品種名不詳	(東大農学部農場)	
	片穂種	<i>A. orientalis</i> SCHREB.	A ₂ 品種名不詳	(")	
	稈燕麥	<i>A. nuda</i> L.	A ₃ 品種名不詳	(")	

2. ハマニシニク 対照区として用ひたハマニシニクは昭和 16 年 9 月樺太元泊郡沿岸村新聞の海岸に自生せるものを当所へ移植栽培したものである。

3. 接種源

(1) *Cl. litoralis* 分生孢子 SCHIMDT 寒天培養基に人工培養せるものである。人工接種をなすにはその 2-3 週前に 1 白金耳皿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。即ち寒天斜面より菌苔を白金線を以て掻き取り之を滅菌井水に浮遊せしめて 1mm³ 中の分生孢子数を略々 1,000 個とならしめた。蜜滴分生孢子を使用するときは、蜜滴を滅菌井水にて稀釈して 1mm³ 中の分生孢子数を略々 1,000 個とならしめた。

(2) *Cl. litoralis* 子嚢孢子 昭和 17 年 8 月樺太新聞にて自然発生したるハマニシニク麥角を 12 月下旬、植木鉢中に土を 8 分目に入れその上に砂を 3cm 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陰地(露地)に置き藎を以て被ひ、時々澀水して砂面の乾燥するを防止しつゝ越冬せしめた。斯くて昭和 18 年 4 月 28 日子座の発生を認めた。子嚢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て摺り潰し、液 1mm³ 中に子嚢孢子 300-700 個の程度とならしめた。

4. 実験方法

(1) 麥類に対する *Cl. litoralis* 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 鉢当り 5 株として栽培した。各ポットに対して硫酸 2g、過石 2g、塩加 0.8g を基肥として施用した。接種方法は前記培養分生孢子又は子嚢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払ひつゝ子房表面に 1 滴量を落下せしめて接種を行つた。接種の時期は藎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択んだ。小麥・ライ麥・ハマニシニクは開花の際顕著に開穎するからその時期に接種を行ひ、有稈大麥・稈麥・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実験を便ならしめた。何れも 1 穂当り 7-15 花接種を行つた。有稈大麥・稈麥の二条種は中列花のみに、四条種・六条種は側列花・中列花の総てに、小麥にては小穂の第 1 小花のみに、ライ麥にては小穂 2 小花の内何れかに、燕麥にては小穂の第 1 小花のみに、ハマニシニクに

ては節に附着する 2 小穂の内何れかの小穂の第 1 小花又は第 3 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胞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)に対する *Cl. litoralis* の寄生性と授粉との関係

有稈大麥二条直頭種 H₁ (ゴールドンメロン)・垂頭種 H₂ (二角シュバリエー)、四条種 H₃ (細麥)、六条種 H₆ (穂摘)、稈麥二条種 C₁ (品種名不詳)、四条種 C₃ (白稈一号)、六条種 C₄ (小鱗二号) を実験材料として開花前(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。有稈大麥二条垂頭種 H₂、稈麥二条種 C₁・四条種 C₃・六条種 C₄ は開花の際顯著に穎を開展するから予め印をつけて置き、開花後 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。有稈大麥二条直頭種 H₁・四条種 H₃・六条種 H₆ は開花の際(授粉の際)穎の開展は顯著でない(H₁ 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、花器の發育状態より判定して授粉後 2-3 日の状態のものに接種した。然して以上何れの場合も大麥二条種にては中列花のみに四条種・六条種にては側・中列花に接種した事は(1)と同様である。接種源には培養分生胞子を用ひた。

第 54 表 麥類に対する *Cl. litoralis* の寄生性

種類及び品種項目		接種年月日	接種源	接種花数	麥角数	寄生率	総アルカロイド含量	
有稈大麥	二条種	H ₁	18- 14/V	子 分 子 分	240	0	— % 12.71 — 10.22	0.972
		"	19- 15/V		118	15		
		H ₂	18- 15/V		250	0		
		"	19- 17/V		225	23		
	四条種	H ₃	18- 11/V	子 分 子 分	180	0	— 3.52 — 4.37	+ 0.982
		"	19- 15/V		199	7		
		H ₄	18- 9/V		215	0		
		"	19- 13/V		252	11		
	六条種	H ₅	18-11,14/V	子 分 子 分	215	0	— 5.26 — 3.92	0.958 0.975
		"	19- 15/V		494	26		
		H ₆	18- 12/V		200	0		
		"	19- 16/V		510	20		
稈麥	二条種	C ₁	18- 13/V	子 分	215	0	— 6.39	0.975
		"	19- 18/V		485	31		
	四条種	C ₂	18- 13/V	子 分 子 分	250	0	— 2.16 0.74 2.05	0.846 + 0.943
		"	19- 15/V		370	8		
		C ₃	18- 11/V		270	2		
		"	19- 13/V		390	8		
	六条種	C ₄	18- 7/V	子 分 分 子 分 分	170	1	0.59 2.22 2.5 0.98 1.82 2.41	+ 0.950 0.962 + 0.962 0.972
		"	18-26-27/IV		586	13		
		"	19- 3/V		600	15		
		C ₅	18- 10/V		204	2		
"		18- 5/V	550		10			
"		19- 7/V	582		4			
小麥	T ₁	18- 5/V	子 分 分 子 分 分	320	0	— — — — — —		
	"	18-22-23/IV		239	0			
	"	19- 20/V		550	0			
	T ₂	18- 4/V		330	0			
	"	18- 27/IV		570	0			
	"	19- 20/V		506	0			
ライ麥	S ₁	18-5-7/V	子 分 分 子 分 分	293	0	— — — — — —		
	"	18-8-15/V		544	0			
	"	19-17-22/V		1,047	0			
	S ₂	18-8-9/V		350	0			
	"	18-8-15/V		510	0			
	"	19-16-22/V		930	0			

種類及び品種項目		接種年月日	接種源	接種花数	麥角数	寄生率	総アルカロイド含量
燕 麥	S ₃	18-7-8/V	子 分 分	385	0	—	
	”	18-7-8/V		480	0	—	
	”	19-17-23/V		920	0	—	
	A ₁	18-14/V	子 分 分 子 分 分 子 分 分	314	0	—	
	”	18-14/V		400	0	—	
	”	19-23-24/V		658	0	—	
A ₂	18-16/V	350		0	—		
”	18-16/V	350		0	—		
”	19-25-26/V	750		0	—		
”	18-17/V	340	0	—			
”	18-17/V	355	0	—			
”	19-27-28/V	700	0	—			
ハイニソニク		18-7/V	子 分 分 分	311	63	20.26	1.084
		18-4-7/V		540	146	27.04	1.067
		19-15/V*		500	152	30.4	1.124
		19-22/V**		285	25	8.77	0.976

備考：- 子とあるは子実孢子、分とあるは培養分生孢子を示す、笠分とあるは笠筒（分生孢子）を示す。
 + とあるは定性反應陽性なるを示す。
 * 第1小花盛花期 ** 第3小花盛花期

第55表 大麥(有稈大麥・稈麥)に対する *Cl. litoralis* の寄生性と授粉との関係

種類及び品種項目		接種時期	接種年月日	接種源	接種花数	麥角数	寄生率	総アルカロイド含量	
有 稈 大 麥	二 条 種	H ₁	開花前 2-3 日	19-12/V	分	215	18	8.37	0.945
			開 花 当 日	19-15/V	分	118	15	12.71	0.972
			開花後 2-3 日	19-18/V	分	248	18	7.26	0.972
		H ₂	開花前 2-3 日	19-15/V	分	248	20	8.06	0.956
			開 花 当 日	19-17/V	分	225	23	10.22	0.987
			開花後 1 日	19-18/V	分	247	23	9.31	0.987
	開花後 2 日		19-19/V	分	243	20	8.23	0.980	
	開花後 3 日		19-20/V	分	227	17	7.49	0.987	
	開花後 3 日		19-20/V	分	227	17	7.49	0.987	
	四 条 種	H ₃	開花前 2-3 日	19-12/V	分	230	5	2.17	+
			開 花 当 日	19-15/V	分	199	7	3.52	+
			開花後 2-3 日	19-18/V	分	237	5	2.11	+
六 条 種		H ₆	開花前 2-3 日	19-13/V	分	377	12	3.18	0.975
			開 花 当 日	19-16/V	分	510	20	3.92	0.975
			開花後 2-3 日	19-18/V	分	424	12	2.83	0.975
稈 麥	二 条 種	C ₁	開花前 2-3 日	19-15/V	分	473	26	5.50	0.965
			開 花 当 日	19-18/V	分	485	31	6.39	0.975
			開花後 1 日	19-19/V	分	495	33	6.67	0.980
			開花後 2 日	19-20/V	分	475	29	6.11	0.975
			開花後 3 日	19-21/V	分	482	22	4.56	0.940
			開花後 3 日	19-21/V	分	482	22	4.56	0.940
	四 条 種	C ₃	開花前 2-3 日	19-9/V	分	400	5	1.25	+
			開 花 当 日	19-13/V	分	390	8	2.05	0.943
			開花後 1 日	19-14/V	分	467	10	2.14	0.960
			開花後 2 日	19-15/V	分	470	6	1.28	+
			開花後 3 日	19-16/V	分	437	8	1.83	0.925
			開花後 3 日	19-16/V	分	437	8	1.83	0.925
六 条 種	C ₄	開花前 2-3 日	19-28/IV	分	527	9	1.71	0.930	
		開 花 当 日	19-3/V	分	600	15	2.5	0.962	
		開花後 1 日	19-4/V	分	537	15	2.79	0.957	
		開花後 2 日	19-5/V	分	492	11	2.24	0.957	
		開花後 3 日	19-6/V	分	487	9	1.85	0.920	
		開花後 3 日	19-6/V	分	487	9	1.85	0.920	

II 有稈大麥及び稗麥に対する *Cl. litoralis* の寄生性 (第 54 表)

何れの品種に対しても寄生性を有する事が解る。二条種に対しては四条種・六条種の場合よりも寄生率の高い事は注目される。然し対照区たるハマニソニクに対する寄生率に比すれば著しく低率である。然して分生孢子を用ひたる場合には何れにも寄生性を示し、子嚢孢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・稗麥そのものの *Cl. litoralis* に対する先天的抵抗性の大であること、(2) 一般に培養分生孢子を接種源となす場合は子嚢孢子を用ひたる場合よりも寄生率大であること(第 4 章第 3 節参照)によつて説明される。実験個体数を増加すれば必ずや子嚢孢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。

発生した麥角の大きさ*は長径 5.0-18.2 mm, 幅径 1.2-3.0 mm, 重量 10-66 mg であつた。

有稈大麥・稗麥共に二条種のもは四条種・六条種のものに比し形態大である傾向が見られた。又、稗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⁽¹⁴¹⁾ 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⁾ であつてハマニソニクに形成されたる麥角の色彩(第 2 章第 1 節II)に全く一致する。穎より挺出せる部分は穎により被覆されたる部分よりも一般に淡色である。

III 大麥(有稈大麥・稗麥)に対する *Cl. litoralis* の寄生性と授粉との関係

以上より *Cl. litoralis* は大麥(有稈大麥・稗麥)に対し寄生性を有する事を知つた。然らば、大麥(有稈大麥・稗麥)に対する *Cl. litoralis* の寄生性と授粉との関係は如何であらうか。(第 55 表) 有稈大麥・稗麥の各品種何れも、開花前即ち蒴薹開前 2-3 日に於て寄生可能である。形成されたる麥角は開花当日感染のものに比し概して形態小である。然して其の寄生率は開花当日感染のものに比し稍々低い。又、*Cl. litoralis* は授粉後に於ても寄生可能であり然して授粉後日数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当日感染のものに比し形態に差異を認めない。ライ麥に対する *Cl. purpurea* の寄生性と授粉との関係に就ては学者により⁽⁴¹⁾⁽⁴²⁾⁽⁴⁴⁾⁽⁹⁸⁾ 意見を異にしたが、TSCHERMAK⁽¹⁸⁶⁾(1906)は授粉に関係無き事を報じ、KIRCHHOFF⁽⁶⁰⁾(1929)は実験的に其の真なる事を証明した処である。著者は *Cl. litoralis* も亦授粉の有無に関係無く大麥(有稈大麥・稗麥)に寄生可能なる事を実証し得た訳である。

IV 小麥・ライ麥・燕麥に対する *Cl. 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。然して何れも皆よく結実を見た。

Cl. purpurea は小麥・ライ麥・燕麥に寄生し麥角病を発生する事あるは第 1 章に述べし通りである。*Cl. litoralis* は有稈大麥・稗麥に寄生し得るも、小麥・ライ麥・燕麥には寄生しない**。この事実は形態学的性質(第 2 章第 1 節参照)及び特有なるアルカロイドの含有されある事⁽⁵⁰⁾⁽⁶⁰⁾⁽⁶¹⁾と相俟つて新種とさるべき根拠の一をなすものである。

V 大麥***の開花の際における開穎性と寄生的栽培

Cl. litoralis はハマニソニクの開花中(開穎中)子房に感染して発病するものなる事は著者が既に実験証明(第 2 章第 3 節、第 4 章第 3 節)したところであつて、大麥を寄主として寄生的栽培をなすに當つて開花の際における大麥の開穎性は最重要の問題である。即ち有稈大麥・稗麥に対する *Cl. litoralis* の寄生の程度は其の開花に際して開穎の数・程度・持続時間に依存するものなる事は明らかである。この事は *Cl. purpurea* の場合に就て HENNING⁽⁶⁷⁾⁽⁶⁸⁾⁽⁶⁹⁾(1903-06), FRUWIRTH⁽⁶⁰⁾(1906), TSCHERMAK⁽¹⁸⁶⁾⁽¹⁸⁷⁾(1906, 09)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、学者により其の報告は必ずしも一致してゐない。即ち有稈大麥二条直頭種は殆ど開穎しない⁽⁷⁰⁾⁽¹³³⁾といひ或は全く開穎しない⁽²⁴⁾⁽¹²²⁾⁽¹⁵⁸⁾⁽²⁰²⁾といふ。有稈大麥二条垂頭種にては側列花は開穎する⁽⁶⁰⁾⁽⁶⁹⁾⁽¹²²⁾⁽¹⁵⁸⁾⁽²⁰²⁾が中列花は殆ど開穎しない⁽¹³⁰⁾⁽²⁰²⁾か或は稀に開穎する⁽⁷⁰⁾⁽¹²²⁾⁽¹⁵⁸⁾といふ。稗麥二条種及び稗麥四条種は開穎し⁽²⁰⁾、一般に稗麥は有稈大麥に比し強く開穎する⁽¹⁸⁶⁾といふ。大麥****四条種は中・側列花何れも開穎する⁽⁶⁰⁾⁽⁶⁹⁾⁽¹²²⁾⁽¹³⁰⁾⁽¹⁵⁸⁾⁽²⁰²⁾といふ。大麥六条種は殆ど開穎しない⁽⁶⁰⁾か或は全く開穎しない⁽²⁰⁾⁽¹²²⁾⁽¹³⁰⁾⁽²⁰²⁾といひ、又は中列花は開穎しない⁽¹⁵⁸⁾か或は稀に開穎する⁽⁶⁰⁾が側列花は開穎する⁽⁶⁹⁾⁽¹⁵⁸⁾といはれる。

* 発生したる麥角は 7 月上旬採集して生物學的計測を行つた。
** 本質編譯後、木本⁽⁸⁴⁾(1943)も同様の發表を行つてゐる事を知つた。
*** 有稈大麥及び稗麥を總稱する。以下倣之。
**** 有稈大麥及び燕麥を總稱する。以下倣之。

著者の観察(昭和17年—昭和22年)(第56表, 第57表参照)によれば次の如くである。有稈大麥二条直頭種は中・側列花何れも全然開穎を認めない。有稈大麥二条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少い。稷麥二条種*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。大麥四条種は一般に中・側列花何れも開穎するを認めるが品種によりては開穎始ど無く乃至は全然開穎しないものもある。大麥六条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。然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条垂頭種及び大麥四条種にては中・側列花何れも穎の開展を認める。之に対し粒着の密のもの即ち有稈大麥二条直頭種及び大麥六条種にては、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数も少い。(大麥六条種にては、品種により稀に開穎良く開穎数の多いものもある。第56表, 第57表参照) 此は大麥の種類**及び品種によつて鱗被の発育に良否のあること及び鱗被膨脹による機械的作用によるも粒着密なる為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脹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。大麥二条垂頭種及び大麥六条種にては中列花の開穎数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発育が早く従つて穂部が葉鞘内にある時授粉するもの多き為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条件によつても著しく左右せられる。殊に出穂期に当り冷涼なる氣候の続く時は出穂遅延し、出穂後開花(開穎)すべき花も葉鞘内にて授粉を終了する為出穂後開花(開穎)する花は極めて少くなる。殊に六条種にては前述の如く中列花は側列花よりも発育が早いから出穂に遅延を来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応じて常態よりも少数のものが開花(開穎)し或は条件によりては全然開穎を見ない。大麥二条垂頭種にては同様の傾向が見られる。之に反し気温高く空気が乾燥せる時は速かに出穂するから開穎数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て学者によりその観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、開穎持続時間も短く、且つ外界の条件によりて其れ等が著しく左右される為であらう。大麥は開花に際して穎の開展持続時間一般に短く、15-40分***でありその後は閉穎する。自然の状態に於て大麥が *Cl. litoralis* に感染する時期は其の開穎持続中に限られる。然して穎は開展してゐても葯の裂開しない事があり****、特に大麥二条垂頭種及び大麥六条種に稀に見られるが、大麥に対する *Cl. litoralis* の寄生性は授粉の有無に無関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。

著者が昭和20年より22年に亘り、全国より主要なる有稈大麥(昭和20年67品種, 昭和21年64品種)・稷麥(昭和20年48品種, 昭和21年64品種)の品種を蒐集し、それらに就て主として寄生的栽培をなすに就き関係ある重要性状即ち穂形・穂の直垂の別・芒長・開穎の良否多少・開穎期間・稈長・穂長・倒伏性を観察調査したる結果は第56表, 第57表の通りである。

第2節 自然状態に於て大麥に対する *Cl. litoralis* の寄生性

有稈大麥・稷麥は樺太・北海道に於ては畑作にて何れも早生種が栽培される。然して稷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。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⁽¹²³⁾有稈大麥にては7月中旬—7月下旬、稷麥にては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6月下旬より7月下旬に亘る。(第3章第2節参照) 即ち6月下旬最暖部たる西海岸南部・本斗方面より開花始まり、漸次西海岸を北進し、相前後して(6月下旬—7月上旬)亞庭灣一帯、稍々遅れて東海岸南部地方開花し漸次北進して新聞地方に於ける7月下旬開花を最終とする。東海岸にて新聞以北の多来加灣一帯・オホーツク海沿岸地方(旧国境線迄)は7月下旬開花する。西海岸中部(旧真岡支庁北半・旧泊居支庁南半)地方は7月上旬—中旬、西海岸北部(旧泊居支庁北半)地方は7月中旬—下旬開花する。従つて、西海岸南部・亞庭灣方面を除

* 著者が観察に供した稷麥二條種は一品種のみでこれは垂頭種であつた。

** 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。

*** 著者の観察による。永井⁽¹²⁰⁾(1940)によれば20—30分といふ。

**** HENNING⁽⁶⁹⁾(1906)も同様の事實を認めてゐる。

第 56 表 有稈大麥の開穎性等開花の特性

品 種 名	産 地	穂 形	芒 長	開 穎 期 間	開穎の良 否・多少	稈 長	穂 長	倒伏性
会津 2 号	青森	6 直	長 芒	6/V-12/V, 9/V-14/V	少	長 稈	中 穂	易
メッシュアリ -2 号	岩手	4 垂	長 芒	29/IV-4/V, 13/V-19/V	少	長 稈	長 穂	易
岩手大麥 1 号	"	4 垂	長 芒	9/V-15/V, 8/V-17/V	良 多	長 稈	中 穂	易
陸羽 1 号	"	4 垂	長 芒	— 8/V-17/V	良 多	長 稈	長 穂	易
関 取	"	密6直	中 芒	— 11/V-19/V	極 少	中 稈	短 穂	難
宮城 12 号	宮城	密6直	中 芒	3/V-9/V, 開穎セズ	極 少	中 稈	短 穂	
宮城 13 号	"	6 直	長 芒	3・4・9/V, 開穎セズ	極 少	長 稈	長 穂	易
宮城六角23号	"	6 直	長 芒	3/V-4/V, 開穎セズ	極 少	長 稈	長 穂	易
畿内雑 25 号	"	4 垂	長 芒	26/IV-4/V, 30/IV-6/V	良 少	長 稈	長 穂	稍 易
倍取 18 号	"	密6直	中 芒	開穎セズ, 開穎セズ		短 稈	短 穂	難
腰巻 23 号	"	6 直	中 芒	開穎セズ, 開穎セズ		中 稈	中 穂	稍 難
東山 1 号	"	密6直	短 芒	開穎セズ, 開穎セズ		短 稈	短 穂	
宮城 123 号	"	6 直	中 芒	2/V-9/V —	少	長 稈	長 穂	
半坊主	山形	6 直	中列中芒 側列短芒	— 8/V-16/V	少	長 稈	長 穂	稍 難
細 麥	"	4 垂	長 芒	— 8/V-16/V	良 多	長 稈	長 穂	
三 月	"	4 垂	長 芒	— 1/V-10/V	良 多	長 稈	長 穂	易
水 府	茨城	密6直	中 芒	1/V-3/V, 8/V-10/V	極 少	短 稈	短 穂	
穂揃茨1号	"	6 直	長 芒	6/V-7/V, 開穎セズ	極 少	長 稈	中 穂	易
竹林茨2号	"	密6直	中 芒	1/V-4/V, 8/V-11/V	極 少	短 稈	短 穂	難
ゴールドンメ ロン	"	2 直	長 芒	— 開穎セズ		長 稈	長 穂	易
ゴールドンメ ロン畿内1号	"	2 直	長 芒	開穎セズ —		長 稈	長 穂	稍 易
虎ノ尾 1 号	栃木	密6直	短 芒	— 11/V-15/V	極 少	中 稈	中 穂	難
坊主 1 号	"	密6直	無 芒	— 1/V-6/V	極 少	中 稈	短 穂	難
備前早生5号	群馬	6 直	短 芒	— 8/V-10/V	少	中 稈	長 穂	易
白 麥 6 号	"	密6直	長 芒	— 8/V-10/V	極 少	長 稈	短 穂	易
五畝四石埼1号	埼玉	6 直	中 芒	開穎セズ, 開穎セズ		長 稈	長 穂	
ゴールドンメ ロン埼 1 号	"	2 直	長 芒	開穎セズ —		長 稈	長 穂	
虎ノ尾埼1号	"	密6直	短 芒	8/V-9/V —	極 少	中 稈	中 穂	難
備前早生埼4号	"	6 直	短 芒	11/V-13/V —	少	長 稈	中 穂	
関取埼1号	"	密6直	中 芒	29/IV-4/V —	極 少	短 稈	短 穂	難
三 徳	千葉	6 直	中 芒	— 2/V-8/V	良 多	中 稈	中 穂	
穂 揃	"	6 直	長 芒	— 9/V-13/V	少	長 稈	中 穂	
岡 山	東京	密6直	短 芒	29/IV-4/V, 5/V-8/V	極 少	短 稈	短 穂	難

品 種 名	産 地	穂 形	芒 長	開 穎 期 間	開穎の良否・多少	稈 長	穂 長	倒伏性
金 玉	東 京	密6直	中 芒	8/V-9/V, 10/V-12/V	極 少	中 程	短 穂	難
四 国	"	6 直	中 芒	開穎セズ, 開穎セズ		長 程	中 穂	
早生美渡	神奈川	4 直	中 芒	30/IV-4/V, 1/V-10/V	良 多	中 程	長 穂	
鎌 倉	"	6 直	短 芒	29/IV-30/IV, 開穎セズ	極 少	中 程	中 穂	
竹 林	"	密6直	短 芒	30/IV-4/V ---	極 少	短 程	短 穂	難
大麥新1号	新 潟	4 垂	長 芒	26/IV-30/IV, 開穎セズ	極 少	中 程	長 穂	
六 角 1 号	"	6 稍垂	長 芒	9/V, 13/V-18/V	少	長 程	長 穂	稍 易
長 岡	"	密6直	中 芒	開穎セズ ---		長 程	短 穂	
善 光 寺	"	6 直	短 芒	9・14・15/V ---	極 少	長 程	長 穂	稍 易
白 麥	富 山	6 直	長 芒	3/V-9/V, 9/V-12/V	少	長 程	中 穂	稍 易
関 取	"	密6直	中 芒	29/IV-4/V ---	極 少	短 程	短 穂	難
大 正 麥	"	4 垂	長 芒	--- 4/V-9/V	良 多	短 程	長 穂	
丸 高 六 角	福 井	6 垂	長 芒	3/V-6/V ---	少	長 程	中 穂	
大六角 22 号	山 梨	密6直	長 芒	29/IV-4/V, 6/V-10/V	極 少	中 程	短 穂	
水晶関取305号	"	密6直	短 芒	29/IV-4/V, 5/V-9/V	極 少	中 程	短 穂	難
半坊主 25 号	"	6 直	中列中芒 側列無芒	2/V-6/V ---	少	長 程	中 穂	
備前早生36号	"	6 直	短 芒	3/V-6/V ---	少	長 程	中 穂	
虎 ノ 尾	"	密6直	短 芒	8/V-9/V ---	極 少	中 程	中 穂	難
白大麥 79 号	岐 阜	6 直	中 芒	--- 開穎セズ		長 程	中 穂	易
九升坊 49 号	"	6 直	中 芒	--- 11/V-17/V	少	長 程	中 穂	易
谷 風 105 号	"	密6直	中 芒	--- 4/V-10/V	極 少	短 程	短 穂	難
鯉 田 三 德	静 岡	6 直	中 芒	29/IV-4/V, 8/V-11/V	少	中 程	中 穂	難
畿内関取 2 号	"	密6直	中 芒	2/V-4/V ---	極 少	短 程	短 穂	難
白六角第1号	"	6 直	長 芒	29/IV-3/V, 8/V-14/V	少	長 程	中 穂	
黒 麥 148 号	"	4 直	中 芒	26/IV-28/IV, 開穎セズ	極 少	中 程	長 穂	
魁	愛 知	4 直	中 芒	26/IV-3/V, 29/IV-4/V	少	短 程	中 穂	
横 綱	"	6 直	短 芒	1/V-4/V ---	少	短 程	中 穂	
白 熊	"	6 直	中 芒	2/V-6/V ---	少	中 程	中 穂	
谷 風 2 号	"	密6直	中 芒	8/V-9/V ---	極 少	中 程	短 穂	
珍 子	三 重	6 直	中 芒	29/IV-2/V ---	少	短 程	中 穂	
倍 取 10 号	"	密6直	中 芒	3/V-4/V ---	極 少	短 程	中 穂	
珍 子 9 号	滋 賀	密6直	短 芒	--- 8/V-11/V	極 少	短 程	短 穂	
坊主大麥 1 号	京 都	粗6直	無 芒	28/IV-4/V, 1/V-6/V	良 多	中 程	長 穂	
白大麥 1 号	"	6 直	中 芒	3/V-7/V ---	少	長 程	中 穂	稍 易

品 種 名	産 地	穂 形	芒 長	開 穎 期 間	開穎の良否・多少	稈 長	穂 長	倒伏性
倍取1号	京 都	密6直	中 芒	2/V-4/V	—	極 少	短 穂	難
大六角1号	”	6 直	中 芒	29/IV-6/V	—	少	中 穂	
畿内交野	大 阪	密6直	中 芒	—	4/V-8/V	少	短 穂	
八 石	兵 庫	密6直	中 芒	—	開穎セズ		長 穂	稍 易
島根大麥1号	島 根	6 稍垂	長 芒	6/V-10/V, 13/V-17/V		少	長 穂	易
半 稈 2号	”	密6直	中 芒	開穎セズ, 開穎セズ			長 穂	易
早木曾 2号	”	4 直	中列中芒 側列短芒	27/IV-4/V, 1/V-8/V		少	長 穂	
在来短芒	岡 山	密6直	中 芒	—	2/V-8/V	少	短 穂	難
神 堂	”	6 直	無 芒	—	8/V-11/V	少	短 穂	
倍取11号	広 島	密6直	中 芒	3/V-4/V	—	極 少	中 穂	
辨慶3号	山 口	密6直	中 芒	開穎セズ, 開穎セズ			中 穂	難
改良ゴールデンメロン	”	2 直	長 芒	—	開穎セズ		長 穂	
大 穀	長 崎	6 直	長 芒	29/IV-4/V, 5/V-10/V		少	長 穂	
改良大麥	大 分	6 直	中 芒	—	4/V-10/V	良 多	中 穂	
露 17号	農林省農 試	4 垂	長 芒	9/V-14/V, 18/V-23/V		良 多	長 穂	易
大麥2条21号	”	2 垂	長 芒	3/V-14/V, 15/V-23/V		良 多	長 穂	易
独 73号	”	2 垂	長 芒	7/V-14/V, 15/V-24/V		良 多	長 穂	易

備考:-I 調査成績

1. 穂形は粒着の粗密・條列・直頭・垂頭の別を示す。
2. 芒長は 5 cm 未満ものを短芒, 5 cm-9 cm を中芒, 9 cm 以上のものを長芒とした。
3. 開穎期間の欄にて左は [昭和 20-]21 年の成績, 右は [昭和 21-]22 年の成績を示す。
4. 開穎の良否は開穎角度凡そ 20° 以上のものを良とした。開穎の多少は穂小花数の凡そ 2/3 以上開穎のものを多, 2/3 以下のものを少, 1/3 以下のものを極少とした。
5. 稈長は 85 cm 未満ものを短稈, 85-95 cm を中稈, 95 cm 以上のものを長稈とした。
6. 穂長は 4.4 cm 未満ものを短穂, 4.4-5.5 cm を中穂, 5.5 cm 以上のものを長穂とした。

II 耕種法

1. 播種期 昭和 [20-]21 年度 昭和 20 年 11 月 17 日
昭和 [21-]22 年度 昭和 21 年 11 月 14 日
2. 條 間 4 尺 有稈大麥は 1 品種各々畦長 5 m
稈麥は ” 10 m
3. 施肥量 畦長 10 m につき 堆肥 909 匁, 硫酸 45.5 匁, 過石 45.5 匁
4. 手 入 麥 踏 5 回
中 耕 4 回
追肥は行はず。

第57表 稈麥の開穎性等開花の特性

品 種 名	産 地	穂 形	芒 長	開 穎 期 間	開穎の良否・多少	稈 長	穂 長	倒伏性
会津稈 3号	青森	6直	中芒	6/V-14/V, 11/V-20/V	少	長程	長穂	
陸羽 1号	岩手	6直	長芒	5/V-9/V, 13/V-17/V	少	長程	長穂	
白環 1号	福島	4垂	長芒	— 4/V-10/V	良多	長程	長穂	
上州白稈	茨城	密6直	中芒	29/IV-4/V, 10/V-15/V	極少	短程	短穂	難
紅梅 1号	埼玉	6直	中芒	開穎セズ, 開穎セズ		中程	長穂	
屋根 44号	岐阜	6直	中芒	— 開穎セズ		中程	長穂	
白珍子	"	密6直	中芒	— 8/V-11/V	極少	短程	短穂	
三保稈	静岡	6直	中芒	2/V-10/V, 5/V-10/V	少	中程	中穂	
コピンカダギ	"	6直	中芒	2/V-7/V —	少	長程	中穂	難
白梅	愛知	6直	中芒	29/IV-4/V, 6/V-11/V	少	短程	中穂	難
一早生	"	6直	中芒	— 26/IV-1/V	良多	中程	中穂	
太白	三重	6直	中芒	29/IV-4/V, 13/V-20/V	少	中程	長穂	
大阪 6号	"	6直	中芒	3/V-15/V, 13/V-20/V	少	中程	長穂	
白朧 6号	"	6直	中芒	29/IV-6/V, 8/V-14/V	少	中程	長穂	
白珍子 2号	"	6直	中芒	29/IV-4/V —	少	中程	長穂	
コピンカダギ 36号	"	6直	中芒	30/IV-4/V —	少	中程	長穂	
早生稈 6号	滋賀	密6直	中芒	— 1/V-10/V	少	中程	中穂	稍易
小首 1号	京都	密6直	中芒	29/IV-4/V, 5/V-16/V	少	中程	中穂	難
屋根稈 1号	"	6直	中芒	29/IV-10/V, 8/V-16/V	少	中程	長穂	難
畿内共進会 2号	大阪	6直	短芒	— 6/V-12/V	少	短程	長穂	難
大阪奴 52号	"	密6直	短芒	— 8/V-12/V	極少	短程	短穂	難
新神力 1号	兵庫	6直	中芒	— 7/V-12/V	少	中程	長穂	難
新淡路	"	6直	中芒	— 8/V-12/V	少	中程	長穂	難
赤神力	"	6直	中芒	— 5/V-10/V	少	中程	長穂	難
白米 1号	奈良	6直	中芒	29/IV-4/V, 5/V-11/V	少	短程	長穂	難
大和稈	"	6直	中芒	29/IV-4/V, 5/V-10/V	少	中程	長穂	
神力 麥	和歌山	6直	中芒	27/IV-4/V, 8/V-16/V	少	中程	長穂	
コピンカダギ 4号	島根	6直	中芒	6/V-14/V —	少	長程	中穂	
欠 笹	岡山	密6直	中列中芒 側列短芒	— 8/V-12/V	少	中程	中穂	稍易
白 ト ウ	"	密6直	短芒	— 開穎セズ		短程	短穂	難
湿気不知	広島	6直	中芒	2/V-7/V, 開穎セズ	極少	短程	長穂	
紅梅 10号	"	6直	中芒	27/IV-10/V —	少	長程	長穂	
兵庫稈	山口	6直	中芒	29/IV-5/V, 6/V-10/V	少	長程	長穂	

品 種 名	産 地	穂 形	芒 長	開 穎 期 間	開穎の良 否・多少	稈 長	穂 長	倒伏性
御堀稈 1号	山 口	6直 (稍垂)	長 芒	24/IV-2/V, 26/IV-4/V	良特多	長 稈	長 穂	稍 易
長 崎 稈	"	6直	中 芒	1/V-3/V, 8/V-10/V	少	長 稈	長 穂	
小珍子 4号	"	6直	中 芒	30/IV-4/V, 8/V-10/V	極 少	中 稈	中 穂	難
白 麥 8号	"	6直	中 芒	27/IV-4/V, 4/V-11/V	少	短 稈	中 穂	難
コピンカタギ 1号	"	6直	中 芒	29/IV-4/V	少	中 稈	中 穂	難
香川稈 5号	徳 島	6直	中 芒	— 5/V-11/V	少	短 稈	長 穂	
珍 好 83号	"	密6直	中 芒	— 開穎セズ		短 稈	短 穂	難
珍 好 1号	"	密6直	中 芒	— 8/V-11/V	極 少	短 稈	短 穂	難
香川稈 1号	香 川	6直	中 芒	— 8/V-13/V	少	短 稈	中 穂	
三 保 珍 子	"	密6直	中 芒	— 開穎セズ		短 稈	短 穂	
早 生 珍 子	"	6直	中 芒	— 29/IV-2/V	少	中 稈	中 穂	
改良坊主麥	愛 媛	6直	短 芒	27/IV-4/V, 8/V-11/V	少	中 稈	長 穂	
愛媛稈 1号	"	6直	中 芒	27/IV-4/V, 6/V-10/V	少	短 稈	中 穂	
愛媛稈 2号	"	6直	中 芒	26/IV-3/V, 2/V-10/V	少	中 稈	長 穂	
屋根稈 3号	"	6直	中 芒	29/IV-4/V	少	中 稈	長 穂	
鹿児島早生	高 知	4稍垂	中 芒	— 開穎セズ		中 稈	長 穂	
竹 下	福 岡	粗6直	中 芒	29/IV-3/V, 5/V-14/V	少	中 稈	長 穂	
神 力 稈	"	密6直	中 芒	29/IV-4/V, 8/V-12/V	極 少	短 稈	短 穂	
栄 城 稈	佐 賀	6直	中 芒	— 5/V-14/V	少	短 稈	長 穂	
島 原 稈	長 崎	6直	短 芒	2・3・10/V, 開穎セズ	極 少	短 稈	中 穂	
御 厨	"	6直	短 芒	1/V-4/V, 7/V-10/V	少	中 稈	長 穂	
御 島	"	6直	中 芒	28/IV-4/V, 7/V-10/V	少	中 稈	中 穂	
島 原	熊 本	密6直	短 芒	1/V・3/V, 開穎セズ	極 少	中 稈	短 穂	難
改 良 白 稈	"	6直	中 芒	27/IV-2/V, 4/V-10/V	良特多	長 稈	中 穂	
二 号 熊 島	"	密6直	中 芒	28/IV-2/V, 開穎セズ	極 少	短 稈	短 穂	難
早 生 稈	"	6直	中 芒	23/IV-1/V, 24/IV-28/IV	少	中 稈	長 穂	
膝 八 5号	大 分	密6直	中 芒	— 2/V-8/V	極 少	短 稈	短 穂	難
三 月 稈	宮 崎	密6直	中 芒	23/IV-1/V, 30/IV-4/V	極 少	長 稈	短 穂	稍 易
佐賀大粒2号	"	4垂	長 芒	29/IV-4/V, 8/V-12/V	多	長 稈	長 穂	易
小 鱈 1号	"	密6直	長 芒	29/IV-4/V, 8/V-10/V	少	長 稈	中 穂	稍 難
鎌 折 1号	鹿 児 島	4垂	長 芒	— 1/V-8/V	良 多	長 稈	長 穂	易
鹿 児 島 稈	"	6稍垂	中 芒	— 30/IV-5/V	少	短 稈	長 穂	
改 良 膝 八	"	密6直	中 芒	— 6/V-11/V	極 少	短 稈	短 穂	難

備考：- 測定方法、計測法共に有粒大麦の場合と同様である。

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。然してハマニソクに發生する麥角(*Cl. litoralis*)は多少に拘らず全島海岸のハマニソク自生地に見られる。ハマニソ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、ハマニソク穂を離れ落下せる麥角の越冬芽芽に好都合である。然して *Cl. litoralis* の子嚢胞子の伝播は主として風により、分生胞子の伝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に栽培される有稈大麥・稈麥に対する自然寄生の可能性が存在する。著者が昭和17年樺太新聞(東海岸北部)にて行ひたる実験によれば分生胞子による第二次感染を殆ど認め得なかつたから、特に西海岸南部・亜庭湾方面を除きたる地方にては主として子嚢胞子による第一次感染の可能性が存在する。ハマニソクは *Cl. 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・亜庭湾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。

北海道⁽¹³⁾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ソクの開花期は 5 月下旬より 7 月上旬に亘る。即ち 5 月下旬西南部(備試68:157参照)の最暖地方たる渡島方面先づ開花し、漸次北進して 6 月中旬一下旬東北部(備試68:157参照)の日本海沿岸地方及び太平洋沿岸地方開花し、東北部の根室湾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共れと合致する期間があり、これ等に対しては子嚢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ソ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対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ソク麥角(*Cl. litoralis*)*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共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 *Cl. litoralis* による感染の可能性は、子嚢胞子による第一次感染・分生胞子による第二次感染共に、東北部地方の共れより少いであらう。

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数・程度・持続時間に応じ、且つ栽培地の状況の如何(例へば *Cl. litoralis* の發生するハマニソク自生地よりの距離・地勢・風向等)により種々なる程度に *Cl. litoralis* 麥角の自然發生する事が考へられるのである。事実、田村(1941)**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⁽⁷⁾(1939)は樺太に於てハマニソクの飼料化に就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強靱なる地下茎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対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、*Cl. litoralis* が大麥に対し寄生性を有する事より、*Cl. litoralis* 麥角を發生するハマニソク自生地より直接其の近傍に栽培せられる大麥に対し感染の可能性の問題に就て考察を試みたが、*Cl. litoralis* が他の如何なる植物に寄生性を有するや及び之に関連し栽培大麥との関係の問題に就ては尙將來の研究に俟たねばならない。

第 3 節 大麥(有稈大麥・稈麥)に寄生的栽培されたる *Cl. litoralis* 麥角の有効成分含量

I 実験方法

先づアルカロイドの有無について定性試験を行ひ、次いで定量を行つた。

1. アルカロイド定性試験

麥角アルカロイドは光線の存在の下に於て p-dimethylaminobenzaldehyde 硫酸溶液によつて特異の青色を呈する⁽¹³⁵⁾⁽¹⁰²⁾。資料麥角 1-1/2 個(0.05-0.01 g)を小試験管中に採り、1% 酒石酸水溶液 0.2 cc を加へ沸騰水中にて 5-10 分間浸出して得たる澄明なる浸液を別の小試験管に傾斜して移し、冷後之に p-dimethylaminobenzaldehyde 硫酸溶液***を検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

* 北海道に於けるハマニソク麥角發生状況調査の爲、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、昭和 21 年 7 月北海道北部の發生地に就ては實地調査を行つた。それらによる総合された調査成績による。

** 有稈大麥なりや稈麥なりやは不明。田村良修(昭和 16 年)未發表。尙本實驗終了後入手した文獻によれば、樺太にては樺太に發生すると言ふ⁽⁸⁴⁾。

*** p-dimethylaminobenzaldehyde 0.125g 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黄色を呈せしめる。水室に保存する。

一20分間照射し*、先づ両液層の接触面にはあらはれる青色の輪帯の有無を検し、後更に両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。

2. 総アルカロイド含量定量試験

麥角アルカロイドの定量法は數種あるが、p-dimethylaminobenzaldehyde 硫酸溶液を以てする比色定量法は現今広く用ひられてゐる。即ち一定量の粉末麥角を予め石油エーテルを以て脱脂し、後アルカリ性となしアルカロイドを遊離せしめ、エーテルを用ひて之を抽出し、エーテル抽出液中のアルカロイドを酒石酸水溶液に転溶せしめ、之に p-dimethylaminobenzaldehyde 硫酸溶液を加へて生ずる青色をエルゴトキシン(ergotaxine) 標準液より生ずる青色と比色定量する。この目的には資料麥角を少くも 10g を要する。近時 BÉKÉSY⁽²³⁾(1939)の微量定量法があるが、上記方法を少量化したものに過ぎない。竹本⁽¹⁷⁾(1944)は 0.1g を脱脂することなく直接 1% 酒石酸水溶液 5-10cc を用ひて水浴中に温浸し、この浸液に直ちに p-dimethylaminobenzaldehyde 硫酸溶液を加へて生ずる青色をエルゴトキシン標準液により生ずる青色と比色し、その結果に於て上述の定量方法と何等差異を認めてゐないので、著者は竹本の方法を採用して麥角総アルカロイドの定量試験を行つた。定量は昭和 19 年 12 月下旬之を行つた。

即ち、粉末麥角 0.1g を正確に秤取し、内径 1.5 cm、長さ 17.5 cm の試験管にて 1% 酒石酸水溶液 10cc と混じ、静かに沸騰する水浴中にて 10 分間浸出し、冷後直径 5.5 cm の円形濾紙を用ひて濾過し、殆ど無色或は極微に黄褐色を呈する浸液を得、本浸液 1cc に予め調製せる 0.125% p-dimethylaminobenzaldehyde 硫酸溶液 2cc を加へてよく混和し、45°C 10 分間放置後同様にしてエルゴトキシン標準液** により生ずる青色を Duboscq 型比色定量装置を用ひて比色定量する。

II 実験結果

寄生的栽培により有稈大麥・稗麥に形成されたる *Cl. litoralis* 麥角は接種源の如何に関せず何れも著明にアルカロイドを証明する。(第 54 表参照) 又、感染の時期及び授粉の有無に関せず何れも著明にアルカロイドを証明する。(第 55 表参照) 著者の定量分析によれば此等麥角の総アルカロイド含量は 0.846-0.987% である。之に対し寄生的栽培により対照区たるハマニソクに形成せられたる *Cl. litoralis* 麥角の其れは 0.976-1.124% である***。

熊谷⁽⁹⁾(1940)、寺田・苗村⁽¹⁰⁾(1941)、竹本**** によれば、本邦に於てライ麥麥角菌 *Cl. purpurea* を以て寄生的栽培によりライ麥に得たる麥角にはアルカロイドを証明しないのであつて、著者も昭和 19 年度産のものに就て実験し同様の結果を得てゐる。(後述第 6 章第 2 節) 第 1 章第 2 節に於て述べたる如く、本邦に於てはライ麥によるライ麥麥角菌 *Cl. purpurea* の寄生的栽培が未だ成功の域に達してゐないといふ事實はこの理由に基くものである。之に対し外国に於てライ麥に自然発生したる *Cl. purpurea* 麥角の総アルカロイド含量は、THOMPSON⁽¹⁸⁾(1930)によればスペイン・ポルトガル産 0.080-0.150% ロシア・ポーランド産 0.036-0.075% であり、竹本⁽¹⁷⁾(1944)によれば 0.114-0.300% である。従つて、寄生的栽培により有稈大麥・稗麥に形成されたる *Cl. litoralis* 麥角の総アルカロイド含量は、自然発生により又は寄生的栽培によりハマニソクに得られたる *Cl. litoralis* 麥角の其れに大差無く、且つ外国産ライ麥に自然発生したる *Cl. purpurea* 麥角の其れより著しく遙かに大である。

寄生的栽培による麥角問題の致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(有稈大麥・稗麥)による解決も其の一方法と考へられるのであるから、極めて注目すべき事実と言はねばならない。要するに、大麥を寄主とする *Cl. litoralis* 麥角の寄生的栽培は可能である。

第 6 章 麥類を寄主とする *Cl. purpurea* 麥角の寄生的栽培

従来、海外で行はれたる麥角の寄生的栽培は總べてライ麥を寄主とするところのライ麥麥角菌 *Cl. purpurea* の寄生的栽培である事は既に緒論(第 1 章第 2 節)に於て述べた處である。又本邦に於ても、ライ麥を寄主とするライ麥麥角菌 *Cl. purpurea* の寄生的栽培は行はれた事はあるが成功してゐない事も既に述べた。因つて著者は広く麥類に対する *Cl. purpurea* (ライ麥麥角菌) の寄生性を検討し、アルカロイド含量を調べて寄生的栽培の可否を再検討するの必要に迫られた。

* 呈色反應陰性の場合にのみ應用する。

** エルゴトキシン硫酸鹽($C_{32}H_{44}O_6N_5 \cdot H_3PO_4 \cdot H_2O$) 12mg を 1% 酒石酸水溶液 100cc に溶解する。本溶液はエルゴトキシン 0.01% に相當する。

*** 其の Mutterstamm たる昭和 17 年樺太新聞にて採集したる自然発生 *Cl. litoralis* 麥角の其れは 1.162% である。

**** 竹本常松：富山に於て寄生的栽培(昭和 12 年)によりライ麥に得られたる *Cl. purpurea* 麥角に就ての分析成績。未發表。

ライ麦に麥角 (*Cl. purpurea*) の発生はライ麦の栽培分布に一致して殆ど世界各国に発生を見るけれども、本邦に於ては出田⁽⁷⁵⁾(1911)によれば明治 38 年(1905)に長野県下のライ麦に夥しく発生を見たる他、今日殆ど其の発生を認めない。朝鮮にては、中田・麗元⁽¹³³⁾(1928)は朝鮮作物病害目録に麥類の麥角病 (*Cl. purpurea*) として報告してゐるが麥の種類を明示してゐない。満洲産ライ麦麥角に就ては康徳 5 年(1938)松岡により発見された⁽⁷⁷⁾⁽¹¹⁵⁾⁽¹¹⁶⁾⁽¹⁷³⁾。

大麦にも *Cl. purpurea* 麥角の発生があり、主として歐洲⁽¹³⁾⁽¹⁵⁾⁽³⁷⁾⁽³⁸⁾⁽³⁵⁾⁽⁷⁰⁾・米國⁽²⁾⁽⁵⁾⁽⁵⁸⁾⁽¹¹⁰⁾⁽¹⁰⁶⁾から報告されて居り、稀に大発生して集団中毒*を惹起したことはあるけれども、発生はライ麦に比すれば少く、左程重要視されてゐない。大麦**に発生する麥角 (*Cl. purpurea*) に就いて、大麦の分類に依り詳細に見るに、有稈大麦二条種⁽²⁸⁾⁽³³⁾⁽¹¹²⁾⁽¹⁴⁴⁾⁽¹⁵⁷⁾⁽¹⁹⁹⁾、四条種⁽¹⁾⁽¹⁴⁾⁽²⁸⁾⁽³³⁾⁽⁵⁷⁾⁽¹⁴⁴⁾⁽¹⁵⁰⁾⁽¹⁹⁷⁾、六条種⁽¹⁵⁾⁽⁴²⁾、稈麥二条種⁽¹⁸⁾⁽¹⁴⁴⁾には知られてゐるが、稈麥四条種及び六条種には未だ報告がない。これは歐米では稈麥はあまり栽培されない事にもよるであらう。本邦に於ては、日本菌類目録第 3 版⁽¹⁵⁴⁾(1927)・日本隠花植物図鑑⁽⁹¹⁾(1939)に大麦に発生ある事を述べしのみで、明確に発生したる事を報じた文献を未だ知らない。標本に於ては、大麦に発生せし事あるは第 5 章第 2 節に於て既に述べた***。以上の理由により、著者は有稈大麦・稈麥に対するライ麦麥角菌 *Cl. purpurea* の寄生性を実験した。

小麦にも麥角 (*Cl. purpurea*) の発生があり、主として歐洲⁽¹⁵⁾⁽³⁴⁾⁽³⁸⁾⁽⁴⁰⁾⁽¹¹²⁾⁽¹²⁸⁾⁽¹⁴⁰⁾⁽¹⁴⁸⁾・米國⁽²⁾⁽⁵²⁾⁽¹¹⁰⁾⁽¹⁵⁰⁾、瀛洲⁽²⁰⁾⁽³⁵⁾⁽¹⁰⁰⁾から報告されて居り、発生はライ麦に比すれば余程少く、大麦と同様あまり重要視されない。CARBONNEAUX LE PERDRIÉL(1862)****GRANDCLÉMENT(1863)****によれば小麦の麥角はライ麦の其れより医学的に有効であるといふ。

小麦の麥角に就て更に詳細に見れば次の如くである。 *Triticum dicoccum*⁽⁸⁷⁾⁽¹⁰⁷⁾、*T. durum*⁽⁹⁷⁾⁽¹⁰⁶⁾、*T. monococcum*⁽⁸⁷⁾⁽¹⁰⁴⁾⁽¹⁴⁴⁾、*T. Spelta*⁽²⁷⁾⁽⁵¹⁾⁽⁸⁷⁾⁽⁹⁷⁾、*T. turgidum*⁽⁹⁷⁾⁽¹⁵⁰⁾、*T. vulgare*⁽¹⁾⁽¹⁷⁾⁽²⁸⁾⁽³³⁾⁽⁹⁷⁾⁽¹³⁷⁾⁽¹⁴⁴⁾⁽¹⁵⁰⁾⁽¹⁹⁷⁾ に麥角の発生が報告せられてゐる。本邦に於ては小麦に於ける発生は極めて稀で、明日山*****の昭和15年10月14日岩手県農事試験場に於ける川村よりの聴取によれば、同県下小山田村に於て小麦の seed sample に麥角混入を見し事ありと言ふ。日本隠花植物図鑑⁽⁹¹⁾(1939)に小麦に発生ある事を述べしのみで、明確に小麦に発生したる事を報ずる文献は未だ之を見ない。小麦の麥角は満洲に於ても発見されてゐる⁽⁷⁷⁾⁽¹¹⁰⁾。

燕麥の麥角は極めて稀で、BARGER*****、FRANK⁽⁴⁷⁾(1880)、KIRCHNER⁽⁸⁷⁾(1890)、ZOPF⁽²⁰⁷⁾(1890)が記載してゐる。其後米國⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁰⁾⁽¹⁵⁵⁾⁽¹⁹⁰⁾・アルゼリア⁽¹⁹⁾⁽³⁹⁾⁽⁴⁰⁾⁽¹⁷⁷⁾⁽¹⁷⁸⁾・デンマーク⁽³¹⁾に於て発見されてゐる。燕麥を寄主として寄生的栽培された一例があるが失敗に終つてゐる⁽¹⁰¹⁾。TANRET⁽¹⁷⁹⁾(1923)、FRON⁽⁴⁹⁾(1926)は燕麥の麥角は ergotinine の含量が高い事を指摘してゐる。尚、片穂種・稈燕麥に麥角発生の報告は世界何れの国よりも未だなされてゐない。

本章は、ライ麦麥角菌 *Cl. purpurea* を以てこれら麥類(有稈大麦・稈麥・小麦・ライ麦・燕麥)に接種し、麥類に対する *Cl. purpurea* の寄生性に就て実験研究を行ひ、且つ形成せられたる麥角に就てアルカロイド含量を検査し、寄生的栽培の可否に就き検討を行つたものである。

実験は昭和 19 年 11 月より昭和 20 年 10 月迄当所圃場(埼玉県春日部町)に於て行つたものである。

尙本章に記述の要は既に昭和 20 年 10 月 20 日日本作物学会第 69 回講演会に於て、“麥類に対する *Cl. purpurea* (Fr.) TULASNE の寄生性に就て”(ハマニシク麥角に関する研究(第 4 報))と題して講演により発表された。

第 1 節 麥類に對する *Cl. purpurea* の寄生性と其の寄生的栽培

I 実験材料

1. 麥類 接種試験に用ひた麥類は次の通りである。

有稈大麦	二条種	直頭種	<i>Hordeum distichon</i> L. var. <i>erectum</i> SCHÜBL.		
				H ₁	ゴールドンメロン
		垂頭種	<i>H. distichon</i> L. var. <i>nutans</i> SCHÜBL.	H ₂	二角シユバリエー
	四条種		<i>H. vulgare</i> L.	H ₃	細麥, H ₄ 大正麥
	六条種		<i>H. hexastichon</i> L.	H ₅	六角二号, H ₆ 穂揃

* BARGER⁽¹⁷⁾(1931) : Ergot and ergotism, p. 79.

** 有稈大麦及び稈麥を總稱する。

*** 又、標本に於ては燕麥に発生するといふ⁽⁸¹⁾。第 5 章第 2 節 194 頁参照。

**** BARGER⁽¹⁷⁾(1931) : Ergot and ergotism, p. 54, 207. ***** 同前, p. 207.

***** 明日山秀文(1945)よりの私伝。

***** BARGER⁽¹⁷⁾(1931) : Ergot and ergotism, p. 79. 18 世紀スウェーデンに發生せし一例。

稗 麥	二条種	<i>H. nudum</i> L.	C ₁	品種名不詳		
	四条種	<i>H. vulgare</i> L. var. <i>nudum</i>	C ₂	鎌折,		
			C ₃	白稗一号		
六条種	<i>H. hexastichon</i> L. var. <i>nudum</i>	C ₄	小鯖二号,	C ₅	上州白稗	
小 麥	普通小麥	<i>Triticum vulgare</i> VILL.	T ₁	新中長(兵庫県農試),	T ₂	岐阜小麥一号
			T ₃	農林三〇号,	T ₄	三州小竹
ライ麥		<i>Secale cereale</i> L.	S ₁	ベトクセル(農林省農試)		
			S ₂	品種名不詳		
燕 麥	普通種	<i>Avena sativa</i> L.	A ₁	ヴィクトリー(農林省農試)		
			A ₂	品種名不詳		
	片穂種	<i>A. orientalis</i> SCHREB.	A ₃	品種名不詳		
	稗燕麥	<i>A. nuda</i> L.	A ₄	品種名不詳,	A ₅	洋麥二号(農林省農試)

2. ハマニソノク 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当所へ移植栽培したものである。

3. 接種源

Cl. purpurea は満洲産ライ麥に発生せるもので、盛岡農林専門学校富樫浩吾博士* より分譲を受けたものである。

Cl. purpurea 分生胞子は SCHMIDT 寒天培養基に人工培養せるものである。1 月に 1 回の割合にて植えつぐ。人工接種をなすには、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せるものを用いた。即ち寒天斜面より菌苔を白金線を以て掻き取り滅菌井水に浮遊せしめて 1mm³ 中に分生胞子数を略々 1,000 個とならしめた。尚蜜滴を同様にして滅菌井水にて稀釈して分生胞子を浮遊せしめ前記の密度となしたるものをも使用した。

II 実験方法

1. 麥類に対する *Cl. purpurea* の寄生性

前記の麥類は昭和 19 年 12 月上旬二万分の一反ワグネルのポットに播種し 1 鉢当たり 5 株として栽培した。各ポットに対して硫安 2g, 過石 2g, 塩加 0.8g を基肥として使用した。

接種の方法並に時期は第 5 章 *Cl. litoralis* の場合と全く同様である。接種後はパラフィン紙にて被覆し昆虫による蜜滴分生胞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)形成の有無により判定した。

2. 麥類に対する *Cl. purpurea* の寄生性と授粉との関係

有稈大麥二条直頭種 H₁(ゴールドンメロン)・垂頭種 H₂(二角シュバリエー), 四条種 H₃(細麥), 六条種 H₄(穂揃) 稗麥二条種 C₁(品種名不詳), 四条種 C₂(白稗一号), 六条種 C₃(小鯖二号), 小麥 T₁(新中長), ライ麥 S₁(ベトクセル), 燕麥普通種 A₁(ヴィクトリー)・片穂種 A₂(品種名不詳)・稗燕麥 A₃(洋麥二号)を実験材料として開花前(授粉前) 2-3 日の時期に穎の上部三分の一を切除して、ピンセットにて注意して除離せるものに接種した。有稈大麥二条垂頭種 H₂, 稗麥二条種 C₁・四条種 C₂・六条種 C₃, 小麥 T₁, ライ麥 S₁, 燕麥普通種 A₁・片穂種 A₂・稗燕麥 A₃ は開花の際顕著に穎を開展するから予め印をつけて置き, 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。有稈大麥二条直頭種 H₁・四条種 H₃・六条種 H₄ は開花の際穎の開展は顕著でない(H₁ 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花器の發育状態より判定して授粉後 2-3 日の状態のものに接種した。然して以上何れの場合も, 大麥二条種にては中列花のみに四条種・六条種にては側・中列花に, 小麥・燕麥は小穂の第 1 小花のみに, ライ麥にては 1 小穂 2 小花の内何れかに接種した。接種源には培養分生胞子を用いた。

* 松岡義雄によつて昭和 17 年 8 月 20 日ライ麥より採集した菌核より富樫が分離したものである。

第 58 表 麥類に対する *Cl. purpurea* の寄生性

種類及び品種項目			接種年月日	接種源	接種花数	麥角数	寄生率	総アルカロイド含量
有稈大麥	二条種	H ₁	20- 26/V	分	198	153	77.27	0
		"	20- 2/V	蜜分	187	141	75.40	0
		H ₂	20- 23/V	分	204	151	74.02	0
		"	20- 2/V	蜜分	195	140	71.80	0
	四条種	H ₃	20- 23/V	分	210	124	59.05	0
		"	20- 3/V	蜜分	198	125	63.13	0
		H ₄	20- 3/V	分	204	124	60.78	0
		"	20- 4/V	蜜分	212	123	57.75	0
	六条種	H ₅	20- 5/V	分	196	117	59.69	0
		"	20- 1/V	蜜分	192	120	62.5	0
		H ₆	20- 27/V	分	187	113	60.43	0
		"	20- 27/V	蜜分	199	128	64.32	0
稗麥	二条種	C ₁	20- 28/V	分	197	148	75.13	0
		"	20- 4/V	蜜分	188	139	73.94	0
	四条種	C ₂	20- 29/V	分	192	112	57.44	0
		"	20- 4/V	蜜分	195	121	62.05	0
		C ₃	20- 25/V	分	189	121	64.02	0
		"	20- 5/V	蜜分	195	119	61.03	0
	六条種	C ₄	20- 18/V	分	187	116	62.03	0
		C ₅	20- 20/V	分	188	110	58.51	0
小麥	T ₁	20- 19/V	分	194	45	23.20	0	
	T ₂	20- 22/V	分	253	52	20.55	0	
	T ₃	20- 22/V	分	214	51	23.83	0	
	T ₄	20- 19/V	分	228	51	22.37	0	
ライ麥	S ₁	20- 5-6/V	分	292	254	86.99	0	
	"	20- 5-6/V	蜜分	289	242	83.74	0	
	S ₂	20- 3/V	分	297	248	83.50	0	
	"	20- 5-6/V	蜜分	293	237	80.89	0	
燕麥	A ₁	20- 5/V	分	700	0	—	0	
	"	20-11-12/V	蜜分	750	0	—	0	
	A ₂	20- 5/V	分	700	0	—	0	
	"	20-11-12/V	蜜分	750	0	—	0	
	A ₃	20- 6/V	分	700	0	—	0	
	"	20-8-9/V	蜜分	750	0	—	0	
	A ₄	20-9-10/V	分	685	0	—	0	
	"	20-9-10/V	蜜分	735	0	—	0	
A ₅	20- 13/V	分	700	0	—	0		
"	20-8-9/V	蜜分	740	0	—	0		
ハマニシク			20-10/V*	分	704	228	32.39	0

備考：一分とあるは培養分生胞子，蜜分とあるは空潤分生胞子を示す。*第 1 小花盛花期

III 実験結果

実験結果は第 58 表の通りである。

大麥(有稈大麥・稗麥)・小麥・ライ麥に何れも寄生を認める。ライ麥に寄生の認めらるゝは当然である。大麥の寄生率はライ麥に比し稍々低い。小麥の寄生率はライ麥のそれに比すれば著しく低い。大麥・小麥の麥角病がライ麥に比して発生少く重要視されない理由は、上に示した如く *Cl. purpurea* に対する先天的抵抗性そのものゝ大なる事と開花習性によるものと思はれる。即ちライ麥の開穎時間が 57.4-73.5 分* であるに対して、小麥のそれは 20 分**

* 永井成三郎(190)(1940)：實驗作物栽培各論 上巻 不穀類篇 p.294.

** PERCIVAL, J. (1921) : The wheat plant. p. 124, 129.

であり大麥のそれは著者によれば 15-40 分であり、ライ麥に比して短いのである。

寄生率に於て、培養分生胞子と蜜滴分生胞子の差異は認められない。

有稈大麥・稈麥に於て、*Cl. litoralis* に於けると同じく二条種は四条種・六条種より寄生率大である事は注目される。先に述べたる如く、稈麥の四条種・六条種に *Cl. purpurea* 麥角の発生は未だ報告されてゐないのであるが、これらに対して有稈大麥に対すると略々同程度の寄生性を有してゐる事が証明されたわけで、STÄGER⁽¹⁶⁰⁾⁽¹⁶¹⁾(1900,03)は p_1 form* (ライ麥を冒す *Cl. purpurea* の typical form) は大麥 (Gerste) を、BUCHOLTZ⁽³³⁾(1904) は有稈大麥四条種 (*H. vulgare*) を冒すことを言つてゐるが、著者は之を確認するものである。有稈大麥・稈麥共に二条種の麥角は四条種・六条種の麥角より形態大である傾向が見られた。

小麥に対する寄生率は大麥・ライ麥に比すれば余程低い。*Cl. purpurea* に対する先天的抵抗性大なる事を示すものである。McFARLAND⁽¹⁰⁸⁾(1921), STÄGER⁽¹⁶⁰⁾(1923)により小麥は p_1 form により冒される事を報じてゐるが、著者も之を確認したわけである。麥角の大きさは重量に於てライ麥の其れに匹敵するが、長さに比較して幅及び厚みが大である傾向が認められた。

有稈大麥・稈麥・小麥・ハマニソクに生じた麥角の色彩は RIDGWAY⁽¹⁴¹⁾の Color standards によれば、Light Vinaceous-Drab—Vinaceous-Drab—Dark Vinaceous-Drab—Dark Grayish Brown—Blackish Brown(2) であり、ライ麥のもの(自然発生及び寄生的栽培麥角)と同一色彩である。

燕麥には何れにも寄生を認めない。従来燕麥の麥角に就ては、ANDERSON et al.⁽¹⁴⁴⁾(1926), DORPH-PETERSEN⁽³⁷⁾(1929), DUCCELLIER⁽³⁹⁾⁽⁴⁰⁾(1922, 23), KIRCHNER⁽⁸⁷⁾(1890, 1923), SEYMOUR⁽¹⁵⁰⁾(1929), TANRET⁽¹⁷⁹⁾(1923), WARBURTON⁽¹⁶⁵⁾(1911), WENIGER⁽¹⁹⁶⁾(1923)は *Cl. purpurea* として取扱つてゐる。著者の研究⁽⁸³⁾によれば、*Cl. purpurea* は総合種と見るべきであつて、燕麥の場合は *Cl. purpurea* の他の biological form をなすべきであるか或は別種(新種)をなすべきものであるかは検討を要すべき事項であると考へる**。

ハマニソクに対しても寄生性を有する。*Cl. litoralis* は小麥・ライ麥・燕麥に寄生しない事は既に述べた。ハマニソクは *Cl. litoralis*, *Cl. purpurea* 両者の寄生を受ける事は注目される。

以上によりライ麥麥角菌 *Cl. purpurea* は、有稈大麥・稈麥・小麥・ライ麥に寄生性を有する事を知つた。然らばこれら麥類に対する *Cl. purpurea* の寄生性と授粉との関係は如何であらうか。著者の実験によれば、何れに対しても寄生性と授粉とは無関係であつて、授粉前及び授粉後に於て寄生可能である。然して何れも正常なる形態の麥角である。

第 2 節 大麥(有稈大麥・稈麥)・小麥・ライ麥に寄生的栽培されたる *Cl. purpurea* 麥角の有効成分含量

I 実験方法

定性方法・定量方法共に第 5 章第 3 節のものと同様である。

II 実験結果 (第 58 表)

寄生的栽培により有稈大麥・稈麥・小麥・ライ麥に形成されたる *Cl. purpurea* 麥角は接種源の如何に関せず何れもアルカロイドを証明しない。能ふる限り検体量を大量となして定量分析を行ひ、アルカロイドを含有しない事を確認した。又感染の時期及び授粉の有無に関せずアルカロイドを含有しない。尙此の *Cl. purpurea* 菌株を以て前年(昭和 19 年)ライ麥に寄生的栽培して得たる麥角*** より子座を発生せしめて、この子嚢胞子にてライ麥に接種して得られた麥角にもアルカロイドを証明し得なかつた。

ハマニソクに寄生的栽培したる *Cl. purpurea* 麥角にもアルカロイドを含有しない。*Cl. litoralis* を以て寄生的栽培せるものは、ハマニソクを寄主とする場合には 0.976—1.124%, 大麥(有稈大麥・稈麥)の其れには 0.846—0.987% の総アルカロイドが含有されて居り、之に対し *Cl. purpurea* を以て寄生的栽培したるものはハマニソクは勿論他の何れにもアルカロイドを含有しない。この事實は麥角菌のアルカロイド含有性は菌の種類及び菌株に特有のものであり、然して寄主の如何に関係なく遺伝的に継承される事を示すものである。

* 著者の研究によれば p_1 form は 29 種の寄主植物を冒す。

** DUCCELLIER⁽³⁹⁾(1922)によれば、アルゼリアでは (*Claviceps*) に目された燕麥が小麥 (hard wheat) 類の中にあつた場合があるに拘らず、小麥には麥角は未だ知られてゐないといふ。

*** 昭和 19 年(1944) 実験。この麥角にアルカロイドは含有されてゐなかつた。

熊谷⁽⁹⁹⁾(1940), 寺田・苗村⁽¹⁸⁰⁾(1941), 竹本(第5章第3節参照)も本邦に於てライ麦麥角菌 *Cl. purpurea* を以て寄生的栽培によりライ麦に得たる麥角にはアルカロイドを含有しない事を認めてゐる。嘗て大谷⁽¹³⁶⁾(1928)はライ麦麥角菌(瑞西産及びシベリア産)を用ひてライ麦に“人工栽培”し麥角を発生させる事には成功したが、化学的にはアルカロイドは陽性なるも含量少く(但し含量は明記してゐない)生理的には殆ど其の反応を認めなかつた⁽¹³⁵⁾。又某社農場に於ける寄生的栽培ライ麦麥角(昭和17年)もアルカロイド反応陰性であつた。嶋田*もライ麦麥角菌(歐洲産及び滿洲産を“人工接種”して得たる麥角が p-dimethylaminobenzaldehyde による呈色反応陰性の成績を得てゐる。外国に於てライ麦に自然発生したる *Cl. purpurea* 麥角の総アルカロイド含量は, THOMPSON⁽¹⁸¹⁾(1930)によればスペイン・ポルトガル産 0.080-0.150% ロシア・ポーランド産 0.036-0.075% であり, 竹本⁽¹⁷⁵⁾(1944)によれば 0.114-0.300%, BÉKÉSY⁽²²⁾(1939)によれば 0.025-0.4% であり, 同じライ麦發生の *Cl. purpurea* 麥角にても産地によりアルカロイドの種類及び含量を異にしてゐる⁽¹⁸⁰⁾。

竹内・松岡・木田⁽¹⁷⁰⁾(1942)によれば, 滿洲産自然發生ライ麦麥角には 0.0534% のアルカロイドが含有されてゐるとの事であるが, BÉKÉSY⁽²²⁾(1939)が個々の麥角につき定量したる成績によればアルカロイドの含有されない麥角が多数にあると言はれて居り, 著者の用ひた滿洲産ライ麦麥角菌 *Cl. purpurea* 菌株の(分離前の)自然發生当時の菌株のアルカロイド含量は不明であるが, 恐らくアルカロイドは含有されてゐなかつたのではないかと考へられる。前述の如く, 本邦に於てライ麦を寄主とするライ麦麥角菌 *Cl. purpurea* の寄生的栽培は何れも成功してゐないのであつて, 使用菌株の分離前(菌株)のアルカロイド含量に就ては何れも調べられてゐない。以上の如くであるから, ライ麦麥角菌 *Cl. purpurea* の寄生的栽培をなすには, 特に, 接種に使用する菌株の分離前(菌株)の original のアルカロイド含量を定量して, 高含量のものを使用すべきである。

第7章 結 論

以上詳細にわたつて実験を進めて来たが、之を要約すれば次の如くである。

Cl. litoralis 麥角の有効成分含量は最も優れ、極めて優秀なる麥角である。樺太に於て自然發生せる *Cl. litoralis* 麥角(総アルカロイド含量 1.162%)より分離しこの菌株の培養分生胞子を以てハマニソクに寄生的栽培したる麥角の総アルカロイド含量は 0.976-1.124% であり、自然發生のものに比し大差を認めない。又子嚢胞子によりて寄生的栽培したる場合(1.084%)も、培養分生胞子による場合(1.067%)も發生したる麥角の総アルカロイド含量に差異を認めない。*Cl. litoralis* は大麥(有稔大麥・稗麥)に対しても寄生性を有して居り、寄生的栽培により大麥に形成されたる *Cl. litoralis* 麥角は、感染の時期、授粉の有無、及び接種源(子嚢胞子・培養分生胞子)の如何に関せず著明にアルカロイドを含有してゐる。即ち前記の菌株を以て大麥に寄生的栽培したる *Cl. litoralis* 麥角の総アルカロイド含量は 0.846-0.987% であり、ハマニソクに自然發生した場合及びハマニソクに寄生的栽培したる *Cl. litoralis* 麥角の其れと大差を認めない。この事実は *Cl. litoralis* の有効成分生成能力は、少くとも original の寄主植物たるハマニソク、及び大麥を寄主植物とする限り自然發生・人工接種の如何に関係なく遺伝的であり、然してこの菌株の有効成分生成上に及ぼす氣候風土等外的条件の影響は極めて小であり單に量的の小変異を与へるに過ぎない事を示すものである。之を要するにハマニソク又は大麥(有稔大麥・稗麥)を寄主として *Cl. litoralis* 麥角の寄生的栽培は可能である。寄生的栽培に當つては使用菌株は分離前(菌株)の original の有効成分含量を定量して高含量のものを使用するようにすべきである。

ハマニソクを寄主とする寄生的栽培は、必ず其の第1小花盛花期に接種を行はねばならない。接種源には子嚢胞子又は培養分生胞子を用ひて胞子浮遊液となし、接種液は最適酸性度(PH 5.0)とする。胞子密度は子嚢胞子の場合子座1個に対し液 1cc の割合(接種液 1mm³ 中 300-600 個)、培養分生胞子の場合には接種液 1mm³ 中 1,000 個を標準とする。尚蜜滴分生胞子を接種源となす事も出来る。接種法には浸漬法又は噴霧法がよい。*Cl. litoralis* 麥角の自然發生著しき地に於ける自生のハマニソクを寄主とする寄生的栽培は、接種液の酸性度が最重要の factor であつて、最適酸性度の接種液を以て寄生的栽培する時は自然發生の場合の寄生率より更に高率に於て麥角を発生せしめ得る。勿論 *Cl. litoralis* 麥角の發生無き処女地に於ける自生のハマニソクを寄主として寄生的栽培する事も可能である。

* 嶋田玄彌: ツルヨシ、セイコノヨシ類麥角に就て(麥角及類麥角の人工栽培の研究 第1報) 昭和18年4月8日(1943)日本薬学会総会講演。
嶋田玄彌: 麥角及類麥角人工栽培の研究(第2報) 昭和21年4月27日(1946) 日本薬学会近畿同会講演。

ハマニソクは本邦に於ては、日本海側では鳥取県大谷地方以北太平洋側では千葉県長生郡(九十九里浜南白亀川)以北に自生があり、特に東北地方(青森・岩手・秋田の諸県)方面及び北海道には莫大な自生がある。然しながら海滨植物である為自生は面積ではなくして線であり、又寄生的栽培をなすとするも海岸は潮風強くして麥角の落下し易い等の不便があり且つ其の開花習性よりするも実際にはハマニソクの栽培そのものが考へられなくてはならない。伊藤(76)(1939)は樺太に於て、ハマニソクの飼料化に就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し強靱なる地下茎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なし得るであらうと言つてゐる。著者が樺太より当所圃場(埼玉県春日部町)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樺太自生地のものと同等異ならないのを認めた。又稔実もよく播種法、株分法によりて栽培容易である事も認められた。加ふるに、温暖なる気候は麥角(菌核)の肥大発育に好適であるから寄生的栽培は寧ろ労力の得られ易き温暖地に於て、栽培ハマニソクを寄主として行ふを得策とするであらう。

大麥(有稈大麥・稈麥)を寄主とする *Cl. litoralis* 麥角の寄生的栽培も可能である。但し品種によりて其の開穎性は著しく異なるから、開穎角度大であり開穎数多く且つ開穎期間長く倒伏し難い品種を択ぶべきである。著者はこれらの開穎性等開花の特性に関して詳細なる観察を行つた。

著者が満洲産ライ麥麥角菌 *Cl. purpurea* を以つて大麥(有稈大麥・稈麥)・小麥・ライ麥に寄生的栽培したる麥角には、接種源の種類、感染の時期及び授粉の有無に因せずアルカロイドの含有を認め得なかつた。(この菌株の original の有効成分含量は不明である。)従来本邦に於て行はれたライ麥を寄主とするライ麥麥角菌 *Cl. purpurea* の寄生的栽培は何れも成功してゐないのであつて、その使用菌株の分離前(菌核)の original の有効成分含量に就ては何れも調べられてゐない。自然発生のライ麥麥角(*Cl. purpurea*)の総アルカロイド含量は、ハマニソク麥角(*Cl. litoralis*)に比して極めて少く、しかも個々の麥角に就てはアルカロイドを含有してゐないものが多数にあると言はれてゐるから、ライ麥麥角菌 *Cl. purpurea* の寄生的栽培をなすには特に、使用菌株の分離前(菌核)の original の有効成分含量を定量し其の含有を確認して、能ふる限り高含量のものを無性繁殖して使用せねばならない。

ライ麥はハマニソクに次いで開穎時間長く且つ開穎角度も大であり寄生的栽培をなすには極めて有利な作物であるから、ライ麥に寄生性を有するライ麥麥角菌以外の *Cl. purpurea* の biological form 又は species を見出す方向に研究を進める事は意義がある。勿論有効成分含量高き事を以て第一条件とせねばならない。

第 8 章 摘 要

I 結 論

麥角病は、一方に於て麥類特にライ麥の重要疾病であつて禾穀生産上食物衛生上重要視されてゐるが、他方に於ては麥角は重要な医薬品である。

1. 麥角の医薬品としての重要性

日本薬局方に記載されてゐる麥角(*Claviceps purpurea* (Fr.) TULASNE) はライ麥に発生せるものであつて、本邦には産出なき為従来多量に輸入し來つた処である。然るに今次第 2 次世界大戦突入によつて輸入は杜絶し、従つて国内生産の必要に迫られた。

2. 研究史

これが解決の方法として人工培養及び寄生的栽培による 2 方法が考へられるのであり、著者はこれらについて先人の研究の跡を回顧した。

3. 本研究の端緒及び其の経過

本邦に自生あるイネ科植物ハマニソクに自然発生する麥角(*Cl. litoralis* KAWATANI)はライ麥麥角に比し大きさ・重量に於て若干の遜色はあるが、薬理学的作用並に有効成分含量に於ては遙かに優るものがあり、採集も亦極めて容易である。依つて著者は *Cl. litoralis* (ハマニソク麥角菌)の寄生的栽培により生産したる麥角を以て、従来輸入の麥角に代替せしめん事を企図して本研究を行つたものである。

II ハマニソク麥角菌 *Claviceps litoralis* KAWATANI

ハマニソクに麥角の発生する事あるは古くより知られ *Cl. purpurea* に由るものとして取扱はれ來つた。著者は本邦産ハマニソクに寄生する麥角菌に就て精査したる結果、形態学的性質(子嚢孢子・分生孢子の大きさ、菌核の色彩・形態)並に寄生的性質によりて之を新種となすを適当と認めて、*Cl. litoralis* KAWATANI と命名した(1944)。

1. ハマニソク麥角菌(*Cl. litoralis*)の形態

(1) 蜜滴(Honey dew ; Honigtau)の性状について詳細なる観察を行つた。蜜滴は昼間も夜間も分泌されるが夜間の方が分泌著しい。従つて蜜滴を最もよく認め得る時刻は午前6時-8時の頃である。分泌旺盛で、大きく滴状をなして分泌する小花には概して大きい麥角を形成する傾向を認める。

(2) 蜜滴中に蔗糖・葡萄糖・果糖・麦芽糖の存在を認めた。

(3) 蜜滴分泌の認められし初期に於ては、PH 4.2-4.4を示すが、漸次PH値増加し麥角体の漸く認めらるゝ頃に至れば5.0-5.2を示す。麥角の形成後に認められる蜜滴(分泌後期に認めらるゝ蜜滴)のPHは5.4-5.8であつた。

(4) 蜜滴分泌の認められし初期に於ては1mm³中の分生孢子数は200,000-2,000,000個であるが、漸次増加し、1-5日にして1,000,000-5,300,000個程度となり其の後は漸次減少する。麥角形成後に認められる蜜滴中には非常に少く、10,000-100,000個程度であり、糖分も少く、分生孢子には屢々発芽せるものがあつた。

(5) 蜜滴の分泌持続日数、接種後蜜滴を分泌するに至る迄の日数に就き、樺太(新聞)・青森(百石)・当所圃場(埼玉県春日部町)に於て詳細なる観察を行つた。

(i) 分泌持続日数は春日部に於ける成績によれば、1-19日、6日持続のもの最も多く(モード)、平均6.38±0.232日であつた。暖地にては概して分泌持続日数の長い傾向が認められる。

(ii) 接種後蜜滴を分泌するに至る迄の日数は春日部に於ける成績によれば、8-20日、10日のもの最も多く(モード)、平均11.26±0.129日であつた。

(6) 蜜滴分泌を經過して麥角を形成するを普通とするが、必ずしもさうでない場合がある。

(7) 分生孢子は無色、卵楕円形なるを普通とし、長さ3.1-18.5μ、幅2.3-7.1μである。内部に小油滴を含む。然して屢々大油滴を両極性に有してゐる。分生孢子の大きさは蜜滴の濃度によりかなりの伸縮がある。

(8) 接種後麥角(菌核)の発生するに至る迄の日数は、春日部に於ける成績によれば、16-28日、18日のもの最も多く(モード)、平均19.45±0.187日であつた。然して麥角の成熟には接種後30-40日を要する。自然発生の麥角の成熟時期は(ハマニソクの開花期に従ひ)、北海道にては6月下旬-7月下旬、樺太にては7月下旬-8月下旬の頃である。

(9) 成熟したる樺太産自然発生麥角の大きさの平均値は次の如くである。長径7.40±0.079mm、幅径1.85±0.013mm、重量17.28±0.416mg。

(10) 麥角(菌核)は大型、円筒形にして細長く丸味を帯び多少彎曲することあり、一般に頂端に向つて漸細し又は尖頭をなし、基端は丸味を帯びるを普通とする。表面は平滑であり、横裂は一般に存在せず、縦溝は普通之を欠くか又は極めて浅い。表面の色彩は褐紫色又は黒褐色を呈し特有なる色彩を呈してゐる。内部は淡赤褐色の皮部と帯淡紫白色の髓部とを區別し得る。麥角表面の平滑・粗糙といふ性質はSphacelia期に産成された分生孢子の残存附着の問題と相関がある。*Cl. litoralis* 麥角表面の平滑美麗なる事は本菌の分生孢子産成の能力が他種に比し劣る事に基くものである。

(11) 予め水にて膨潤せしめたる麥角は低温処理によりて発芽率を増加する。

ハマニソク麥角の生命は1年である。麥角の発芽を効果的に行ふには置床前表面消毒を行つて雑菌の発生をなくする方法をとらねばならない。

(12) 子座球は初め藍色乃至淡黄褐色であるが、後次第に肉色又は赤褐色となり遂に褐紫色又は暗紫色となる。子嚢は子座球の全面に埋没する。子嚢は細長く円筒状をなし中に8個の子嚢孢子を藏する。子嚢孢子は極めて細長く糸状をなし、無色にして単胞、長さ65-140μ、幅0.4-1.2μである。

2. ハマニソク麥角菌(*Cl. litoralis*)の生態

ハマニソクに麥角自然発生多きは北海道北部・樺太にして、樺太にては各地より蒐集し得る状態である。樺太(新

問)に於ては 1 時間当り 7—33 g を採集する事が可能であつたから發生多き地方にては 1 日採集量として 100—500 g を挙げ得るものと考へられる。

(1) 一般に冬期厳寒にして、開花期湿润であり日照少き時麥角發生が著しい。又、ハマニシク群落地の地表面の乾燥せるよりは湿润なる時發生が著しい。これらの条件は麥角の発芽を容易ならしめ孢子の伝播に好適である。

(2) 樺太に於ては、ハマニシク麥角の發生は著明であるが、本邦本州には稀である。これは、樺太のハマニシク自生地に於てはハマニシクは非常によく繁茂し年々腐朽したる葉は厚く地表面に堆積し砂表面を露出する事少く、よく湿润状態に保たれる。之に反し本州のハマニシク自生せる海岸は一般に砂浜をなし砂表面を露出して砂は乾燥して居り、強き潮風によりて砂を移動し、若し麥角發生ありと仮定するも、ハマニシク穂を離れて砂上に落下したる菌核を埋没し去りて寄生を完する事が無い。樺太は冬期寒さ厳しく、春期・夏期は本邦本州に比し湿度高く、日照少く、麥角發生に好適してゐる。

(3) 樺太(新聞)に於ける *Cl. litoralis* 麥角の寄生状況につき詳細なる調査を行つた結果は次の如くである。

(i) 發生多き地方にては 90% 以上のハマニシク個体に麥角發生がある。然して發生多き地方にてもハマニシク自生地一面に一様に發生する事無く、場所により疎密がある。

(ii) 1 穂当り發生の麥角個数は 1—96 にして、1—10 個發生のものが殆ど半数を占めてゐる。1 穂当り發生の大麥角個数は 1—37 にして、1—5 個發生のものが殆ど半数を占めてゐる。

(iii) 穂の部位別の寄生率は、穂の中部 1/3 が最も高い傾向が見られ、上部 1/3 と下部 1/3 との間には差異を認めない。

(iv) 發生麥角総個数の内、大麥角(長径 7mm, 幅径 1.5mm 以上のもの)は小麥角(長径 7mm, 幅径 1.5mm 未満のもの)より發生稍々少し(大麥角を 100 とすれば小麥角は 100—140 程度である)。

(v) 麥角は第 1 小花に發生する事最も多く、小穂先端の小花に至るに従ひ漸減する。

大麥角の發生に就ても麥角の場合と同様であるが、第 1 小花に發生する事時に多く大麥角の過半は第 1 小花に發生する。小麥角は第 1 第 2 第 3 小花に何れも發生多く、就中第 2 小花に最も多く發生する。

(vi) 大麥角の平均 1 個体重量は、第 1 小花のもの最も重く、小穂先端の小花に至るに従ひ漸減する。

(vii) 着花位置による 100 小花当り發生の大麥角重量は第 1 小花のもの最も多く、小穂先端の小花に至るに従ひ漸減する。

(viii) 發生麥角総重量の内、大麥角の占むる割合は 70—80% である。

(ix) 着花位置による寄生率は第 1 小花最も高く、小穂先端の小花に至るに従ひ漸減する。

(x) 着花位置による大麥角發生率は第 1 小花最も高く、小穂先端の小花に至るに従ひ漸減する。

(xi) 着花位置による小麥角發生率は第 1 第 2 第 3 小花のもの何れも高く、就中第 2 小花のものが最も高い。

3. ハマニシク麥角菌 (*Cl. litoralis*) の寄生時期

昭和 17 年(1942) 7 月—8 月、樺太(新聞)に於て行つた実験である。

(1) 寄生はハマニシクの開花期間中に起る。

(2) 寄生は第 1 小花盛花期に於て過半数が起り、以後開花の進行と共に(寄生の機会の長くなるに応じて)寄生は増加する。

(3) 發生麥角重量は、開花の進行と共に(寄生の機会の長くなるに応じて)増加する傾向が認められるけれどもその増加率は少く、第 1 小花盛花期にのみ寄生の機会ありて發生せる麥角重量と、開花全期間を通じて寄生の機会ありしものとの差は僅少である。

(4) 大麥角發生率に就ても(3)と同様であり、開花の進行と共に寄生の機会の長いもの程増加する傾向が認められるのであるが、第 1 小花盛花期にのみ寄生の機会ありしものと、全開花期間を通じて寄生の機会ありしものとの差は僅少である。

(5) 第 1 小花盛花期にのみ寄生の機会ありしものは、全開花期間を通じて寄生の機会ありしものに比し(一般に寄生の機会が開花の初期に限られて短きもの程)。

(i) 發生総麥角数(重量)の内大麥角数(重量)の占める割合が大となる。

(ii) 麥角平均 1 個体重量及び大麥角平均 1 個体重量が大である。特に第 1 小花に發生する大麥角のみに就て

の平均 1 個体重量が大きい。

(iii) 100 小花当り発生大麥角重量が多い、特に第 1 小花のみに就ての 100 小花当りの発生大麥角重量が多い。

(iv) 第 1 小花の大麥角発生率が高い。

(6) 第 1 小花盛花期にのみ寄生の機会ありしものも、全開花期間を通じて寄生の機会ありしものも (寄生の機会の長短に関係なく)。

(i) 第 1 小花に麥角発生個数(重量)最も多く、小穂先端の小花に至るに従ひ漸減する。

大麥角の場合も同様である。

(ii) 第 1 小花の大麥角平均 1 個体重量最も大にして小穂先端の小花に至るに従ひ漸減する。

(iii) 第 1 小花の寄生率最も高く、小穂先端の小花に至るに従ひ漸減する。

大麥角発生率に就ても同様である。

4. ハマニソニク麥角菌 (*Cl. littoralis*) 胞子の伝播

(1) 子嚢胞子の伝播は風による伝播が主たるものと考へられる。

(2) 樺太(新聞)、青森(百石)に於ける観察によれば、分生胞子による自然寄生は殆ど認められない。

III ハマニソニク *Elymus mollis* TRIN.

1. 一般性状

(1) ハマニソニクはイネ科に属する多年生草本であつて、樺太、千島、北海道、本州に於ては青森・岩手・秋田の諸県に特に多く、南に行くに従ひ少くなる。然して太平洋側に於ては千葉県長生郡(九十九里浜南白亀川以北)、日本海側では鳥取県大谷地方がその南限と考へられる。

(2) 一般に海岸砂地に大群落を形成する事多く、海岸線に近き河口・湿润地にも生ずる。10m² 内の出穂数は 35—100 本である。然して同一群落内に於ては海岸線に偏りて密生する傾向がある。自生は一般に海岸線より 30m を限度とし内陸には自生を見ない。

(3) ハマニソニクの形態に関する詳細なる研究を行つた。

2. 開花

(1) 1 穂の開花期間は 7—12 日にして、花穂の中央部より稍々上部の節の第 1 小花より開花し初め、次第に上下の節の第 1 小花に及ぶ。各節の第 1 小花の過半を開花して第 1 小花盛花期たらんとする頃第 2 小花開花し始め、以下第 3 小花、第 4 小花、… の順に開花し、花穂の上部及び下部の節の小穂最先端の小花を以て花穂全小花の開花を終る。

(2) 1 穂の開花を日別に見れば、第 1・第 2 小花を主として開花する日及び第 2・第 3 小花を主として開花する日が特に顕著である。

(3) 開花は概ね午前 9 時より午後 6 時迄にして、開花最も多きは午前 11 時より午後 2 時迄である。夜間は開花しない。

(4) 1 小花の開花時間は 120—240 分にして 150—210 分を普通とする。開花は 1 回限りである。開穎角度は 20—35°、平均 23.25° である。

(5) 花穂に人工刺戟を加へる時は開花期に近き小花を人為的に開花せしめる事が出来る。人為的に開花せしめ得るは午前 8 時—午後 6 時 30 分頃迄にして、最も鋭敏なるは午前 10 時—午後 3 時の頃である。

(6) 群落としての開花時期は東北地方(青森・岩手・秋田)方面にては 5 月下旬である。樺太にては 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・本斗方面より開花始り西海岸を北進し、(6 月下旬—7 月上旬) 巫庭湾一帯、稍々遅れて東海岸地方開花し、漸次北進して新聞の 7 月下旬開花を最も遅しとする。東海岸にて新聞以北の多来加湾一帯・オホーツク海沿岸地方(旧国境線迄)は 7 月下旬開花し、西海岸中部(旧支庁北半・旧泊居支庁南半)地方は 7 月上旬—中旬、西海岸北部(旧泊居支庁北半地方)は 7 月中旬—下旬開花する。

北海道にては 5 月下旬より 7 月上旬に亘る。即ち 5 月下旬最暖部たる西南部(日本海側浜益と太平洋側襟裳岬とを劃する線の西側を西南部と言ひその東側を東北部と称する)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、東北部の根室湾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。尙樺太(新聞)より当所圃場(埼玉県春日部町)に移植栽培したものは 4 月下旬—

5 月上旬開花する。

(7) 1 群落の開花期間は 14-23 日である。群落の開花にても、多数開花ある日、極く少数の開花ある日乃至全然開花無き日の存在する事個体観察に於ける場合と同様である。

(8) 1 群落の開花は気象的条件に支配される事多く、晴天にして日照あり気温高き日には多数の開花あるも、曇天にして日照無く気温低き日は開花は少きか又は開花しない。

(9) 1 群落の開花は、開花多き日と雖も 1 日中絶えず連続して開花するに非ずして、或時刻に 1 群落一斉に開花する傾向がある。気象的条件の変化が衝撃をなすものと考へられる。

3. 稔 実

(1) 稔実率は自生地的位置・環境により著しく異なる。着花位置による稔実率は第 1 小花最も高く、小穂先端の小花に至るに従ひ漸減する。

(2) 着花位置による小花数比率・穎果数比率は第 1 小花最も高く、小穂先端の小花に至るに従ひ漸減する。

(3) *Cl. litoralis* の寄生ある場合にても、第 1 小花に小花数・穎果数最も多く稔実亦最も良好にして、小穂先端の小花に至るに従ひ漸減する。

(4) *Cl. litoralis* の寄生によりて稔実率を低下し不稔実率を増加する。

(5) *Cl. litoralis* 寄生によりて種子量を減ずる。

IV ハマニクを寄主とする *Cl. litoralis* 麥角の寄生的栽培

1. 接種源の造成

子嚢胞子、分生胞子(蜜滴分生胞子・培養分生胞子・貯蔵分生胞子)、及び菌核を接種源とする 3 方法がある。

(1) 子嚢胞子

菌核を低温処理して人工発芽せしめたる子座の頭部を乳鉢中に井水を加えて破碎し子嚢胞子を浮遊せしめ所定の孢子密度とする。

(2) 分生胞子

(i) 蜜滴分生胞子

蜜滴発生せるハマニク花穂を切り取り蒸留水(又は井水)中にて激しく振盪し分生胞子を浮遊せしめ所定の孢子密度とする。この為に開花早き地方に於て蜜滴を採集するか又は人工接種によりて発生せる蜜滴を使用するのである。

(ii) 培養分生胞子

SCHMIDT 寒天培養基に培養したるものを用ふ。

(iii) 貯蔵分生胞子

前年(昭和 17 年 8 月)発生せる蜜滴を濾紙に吸取せしめ乾燥状態に保存し置き、翌年(昭和 18 年 5 月)及び翌々年(昭和 19 年 5 月)取出して、この濾紙片を乳鉢中に井水を加えて攪拌破碎して分生胞子の浮遊液とする。

(3) 菌 核

(i) 低温処理を施したる菌核そのものを撒布する。

(ii) 発芽しつつある菌核を撒布する。

(iii) 將に発芽せんとする菌核を破碎し浮遊液とする。

(iv) 子座を取除きたる菌核を破碎し浮遊液とする。

(v) 処理置床せるも発芽せざる菌核を破碎し浮遊液とする。

(vi) 菌核を破碎し浮遊液となし之に糖類・ヘテロキシン等を添加する。

(vii) 皮部を除きたる菌核を破碎し浮遊液とする。

2. 接種法の種類

(1) 注入法・浸漬法・塗抹法・噴霧法・撒布法により、第 1 小花盛花期に接種し各々を比較した。

(2) 注入法 接種液を穎花内部の空間に丁寧に注入する。この目的に注射器を使用した。

(3) 浸漬法 接種液 150-200 cc を円筒状ガラス管に充しこの中に花穂を浸漬する。この目的に直径 4 cm 長径 35 cm の円筒状ガラス管を使用した。

- (4) 塗抹法 接種液を小筆に含ませ注意して子房に塗抹する。
- (5) 噴霧法 接種液を噴霧器によりて細沫となし接種する。
- (6) 撒布法 発芽中の菌核を地面に撒布する(IV 1(3)(ii) 参照)。

実 験 結 果

- (1) 寄生率は注入法最も高く塗抹法之に次ぐ。注入小花数少きもの程大麥角発生率高く、100 小花当り 発生麥角重量多く、麥角平均 1 個体重量大である。
- (2) 噴霧法・浸漬法は略々同程度の寄生率を示した。
- (3) 撒布法により寄生を認め得なかつた。
- (4) 接種操作の労力の点より見れば、噴霧法最も優れ、浸漬法之に次ぐ。両者は実用に供し得る方法である。注入法・塗抹法は労力を多く要する。

3. 接種時期と寄生率

接種時期と寄生との関係を究めんとして、開花前(2 日)・第 1 小花盛花期・第 3 小花盛花期に接種源(子囊孢子・培養分生孢子)、接種予措(TSCHERMAK の刺戟)、接種法(注入・浸漬)を異にして接種した。

- (1) 開花前(2 日)に接種するも寄生無し(浸漬法)。
- (2) 第 1 小花盛花期(第 1 小花)の寄生率は第 3 小花盛花期(第 3 小花)の其れよりも高い。
- (3) 分生孢子を接種源とする方、子囊孢子的場合より寄生率が高い。
- (4) TSCHERMAK の刺戟によりて人為的に開花数を増加せしめ得べき時は之によりて寄生率を増加せしめ得る(浸漬法)。

4. 接種時期と発生麥角重量

- (1) 子囊孢子を接種源とする方、分生孢子的場合よりも発生麥角重量が多い。
- (2) 子囊孢子を接種源とする方、分生孢子的場合よりも大麥角の発生が多い。
- (3) 分生孢子を接種源とする方、子囊孢子的場合よりも小麥角の発生が多い。
- (4) TSCHERMAK の刺戟によりて人為的に開花数を増加せしめ得べき時は之によりて発生麥角重量を増加する(浸漬法)。
- (5) 第 1 小花盛花期(第 1 小花)の 100 小花当り発生麥角重量は第 3 小花盛花期(第 3 小花)の其れよりも大である。

5. 接種源としての孢子の密度

- (1) 分生孢子にては 1mm^3 中 11.6 個以上に於て寄生を認め、116 個以上に於て大麥角の発生を認めた。 1mm^3 中 11.6 個にては小麥角の発生のみについた。
- (2) 著者は寄生的栽培をなすに当り分生孢子的場合にては接種液 1mm^3 中 1,000 個、子囊孢子的場合にては子座 1 個に対し液 1 cc の割合(接種液 1mm^3 中に 300-600 個)を標準とした。

6. 孢子浮遊液の酸性度

- (1) PH 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 8.5 の緩衝液中に孢子(子囊孢子・培養分生孢子)を浮遊せしめ接種を行つた。
- (2) 子囊孢子・分生孢子共に PH 4.0-8.5 迄何れも寄生がある。然して酸性強き方寄生率の高い傾向が認められ、PH 5.0 に於て寄生率が最も高い。
- (3) 大麥角は、子囊孢子的場合にては PH 4.0-8.5 迄何れも発生があり、PH 5.0 に於て最も発生が多い。分生孢子的場合は PH 5.0 のみに発生を見たるに過ぎない。
- (4) 同酸性度の場合に於ては分生孢子的場合の方、子囊孢子よりも寄生率は高いけれども、大麥角の発生殆ど無く、小麥角の発生を主とする。
- (5) 発生麥角重量は寄生率の傾向と概ね平行し PH 5.0 に於て最も多い。
- (6) 子囊孢子によれる PH 5.0 の場合は全試験区を通じて発生重量最も多く、麥角平均 1 個体重量最も大である。
- (7) II 1(3) に述べた如く、自然発生の場合蜜滴分泌初期の PH は 4.2-4.4 であり、漸次 PH 値増加し麥角体の漸く認めらるゝ頃に至れば PH 5.0-5.2 を示す事実と併せ考ふる時興味深いものがある。

7. 養分等添加せる孢子浮遊液

(1) 糖類添加の寄生率に及ぼす影響は明瞭を欠く。

(2) ヘテロキシンの効果は認められない。

8. 貯蔵分生胞子を接種源とする場合

貯蔵分生胞子は接種源として用ひ得る。蜜滴分生胞子は室温に於て乾燥状態にては、翌々年目のハマニソクの開花時期迄少くも 2 回越冬せしめ得る。

9. 菌核を接種源とする場合(IV 1(3)参照)

(1) 菌核を接種源として用ふるも寄生を認めない。処理置床せるも発芽せざる菌核を用ひたる場合蜜滴発生態 1 を認めたのみである。

(2) 菌核を撒布する方法の内、(i) 低温処理を施したる菌核を撒布する方法、(ii) 発芽しつつある菌核を撒布する方法の 2 者は自生地の状況によりては用ひて好成绩を挙げ得るであらう。

10. 樺太(新聞)に於ける寄生的栽培実験

Cl. litoralis 麥角の自然発生著しき地に於て自生のハマニソクを寄主とする寄生的栽培は、接種液の PH が最重要の factor であつて、最適の PH の接種液を以て寄生的栽培する時は自然発生の場合の寄生率より更に高率に於て麥角を発生せしめ得る。

11. 寄生的栽培麥角の形態と薬理作用並に有効成分含量

(1) 子嚢胞子にて接種したるものは、青森(百石)及び秋田(船越)の場合共に、長径・幅径・重量に於て自然発生のものに比し差異を認めない。培養分生胞子(船越の場合)にて接種したるものは自然発生のものに比し形態小である。然るに当所圃場にて培養分生胞子にて接種したるものは、菌核の発育よく自然発生のものに比し遜色ない結果を示した。これは菌核の肥大生長期間中気候の条件特に温度の温暖なりしによるものと、如く考へられる。

(2) 寄生的栽培により発生したる大麥角に就ては、接種源として用ひたる胞子の種類の如何に拘らず、自然発生のものに比し遜色は無い。

(3) 樺太(新聞)に於ける自然発生麥角(総アルカロイド含量 1.162%) より分離しこの菌株の培養分生胞子を以てハマニソクに寄生的栽培したる麥角の総アルカロイド含量は 0.976-1.124% であつて、自然発生のものに比し大差を認めない。又、子嚢胞子によりて寄生的栽培したる場合(1.084%) も、培養分生胞子による場合(1.067%) も発生したる麥角の総アルカロイド含量に差異を認めない。

(4) ハマニソクを寄主とする *Cl. litoralis* 麥角の寄生的栽培は可能である。

V. 麥類を寄主とする *Cl. litoralis* 麥角の寄生的栽培

1. 麥類に対する *Cl. litoralis* の寄生性と其の寄生的栽培

(1) *Cl. litoralis* は有稈大麥(二条直頭種・垂頭種、四条種、六条種)、稗麥(二条種、四条種、六条種)に対して寄生性を有する。然して小麥(普通小麥)、ライ麥、燕麥(普通種、片穂種、稗燕麥)には寄生しない。

(2) 大麥(有稈大麥・稗麥)に対する寄生率は、二条種の場合は四条種・六条種の場合よりも寄生率が高い。然して大麥に対する *Cl. litoralis* の寄生性は対照区たるハマニソクに対する其れに比すれば著しく小である。

(3) 大麥に発生したる *Cl. litoralis* 麥角の大きさは長径 5.0-18.2mm、幅径 1.2-3.0mm、重量 10-66mg である。二条種のもは四条種・六条種のものに比し形態大である傾向が見られる。又稗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る。

(4) 大麥に対する *Cl. litoralis* の寄生性は其の授粉の有無に無関係である。即ち、*Cl. litoralis* は開花前(授粉前) 2-3 日に於ても寄生性を有する。然して其の寄生率は開花当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。然して授粉後日数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ては学者により其の説区々たるものあるに鑑み、著者は之に就て再観察を行ひ、大麥の開花の際に於ける開穎性と寄生的栽培との関係に就て考察を行つた。

2. 自然状態に於て大麥(有稈大麥・稗麥)に対する *Cl. litoralis* の寄生性

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ソ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 *Cl. litoralis* に感染の可能性が存在する。

3. 大麥(有稈大麥・稗麥)に寄生的栽培されたる *Cl. litoralis* 麥角の有効成分含量

(1) 寄生的栽培により大麥に形成されたる *Cl. litoralis* 麥角は感染の時期及び授粉の有無に関せず著明にアルカロイドを証明する。又接種源の如何に関せず著明にアルカロイドを証明する。然して寄生的栽培により大麥に形成せられたる *Cl. litoralis* 麥角の総アルカロイド含量(0.846-0.987%)は、自然発生(1.162%)により又は寄生的栽培(0.976-1.124%)によりハマニソクに得られたる *Cl. litoralis* 麥角の其れに大差無く、且つ外国に於てライ麥に自然発生したる *Cl. purpurea* 麥角の其れ(0.036-0.150%)より著しく遙かに大である。

(2) 大麥を寄主とする *Cl. litoralis* 麥角の寄生的栽培は可能である。

VI 麥類を寄主とする *Cl. purpurea* 麥角の寄生的栽培

実験に用ひた *Cl. purpurea* は満洲産ライ麥に自然発生したのものより分離したものである。

1. 麥類に対する *Cl. purpurea* の寄生性と其の寄生的栽培

(1) *Cl. purpurea* は大麥(有稈大麥・稈麥), 小麥(普通小麥), ライ麥に対し寄生性を有する。燕麥には寄生しない。

(2) *Cl. purpurea* は有稈大麥(二条直頭種・垂頭種, 四条種, 六条種)に対し寄生性を有する。稈麥にても二条種, 四条種, 六条種に対し寄生性を有する事は著者により初めて実験的に証明された。

(3) 大麥(有稈大麥・稈麥)に対する寄生率は、二条種の場合は四条種・六条種の場合よりも寄生率が高く、発生麥角も大である傾向がある。

(4) 小麥に対する寄生率はライ麥・大麥に比すれば著しく小である。小麥に発生したる麥角は重量に於てライ麥の其れに匹敵するが、長さにして幅・厚みが大である傾向がある。

(5) *Cl. purpurea* は燕麥(普通種・片穂種・稈燕麥)には寄生しない。従来より燕麥の麥角は *Cl. purpurea* として扱はれてゐるが、*Cl. purpurea* の他の biological form をなすべきか或は別種(新種)をなすべきものであるかは検討を要する事項である。

(6) 大麥・小麥・ライ麥に対する *Cl. purpurea* の寄生性は其の授粉の有無に無関係である。即ち *Cl. purpurea* は授粉前 2-3 日に於ても、授粉後 1 日・2 日・3 日に於ても寄生性を有する。然して何れも正常なる形態の麥角である。

2. 大麥(有稈大麥・稈麥), 小麥, ライ麥に寄生的栽培されたる *Cl. purpurea* 麥角の有効成分含量

(1) 寄生的栽培により大麥・小麥・ライ麥に形成されたる *Cl. purpurea* 麥角は接種源の如何に関せず何れもアルカロイドの含有を認めなかつた。又、感染の時期及び授粉の有無に関せずアルカロイドの含有を認め得なかつた。

(2) *Cl. purpurea* の寄生的栽培をなすには、特に、使用菌株の分離前(菌核)の original のアルカロイド含量を定量して、高含量のものを無性繁殖して使用するべきである。

VII 結 論

Cl. litoralis 麥角の寄生的栽培は可能である。

終りに臨み本研究に対し終始御指導と御激励を賜りたる松尾所長に衷心より拝謝する。

昭和 22 年 10 月 16 日

厚生省東京衛生試験所 薬用植物栽培試験場

引用文献

- 1) ANONYMOUS (1870): Schlesische Gesellschaft für Vaterländische Cultur. Botanische Section. Sitzung vom 2. December 1869. Hedwigia 9: 7-10.
- 2) ANONYMOUS (1935): Phytopathological work by N. Dakota Sta. North Dakota Sta. Bull. No. 286. pp. 35-38. (Exp. Sta. Rec. 75: 497.)
- 3) 阿部又三 (1944): 麥角菌に関する研究(第 1 報の 1)形態学的研究(其の 1)分生胞子の大きさに就て(I) 日農化誌 20: 275-282.
- 4) ——— (1944): 同上 (第 1 報の 2)形態学的研究(其の 1)分生胞子の大きさに就て(II) 日農化誌 20: 353-358.
- 5) ——— (1944): 同上 (第 1 報の 3)形態学的研究(其の 1)分生胞子の大きさに就て(III) 日農化誌 20: 405-410.
- 6) ——— (1944): 同上 (第 2 報) 形態学的研究(其の 2)分生胞子形成能に就て 日農化誌 20: 513-

521.

- 7) ——— (1946) : 同上 (第 5 報) 形態学的研究(其の 5) 分類学的考察 日農化誌 21 : 9.
- 8) ——— (1946) : 同上 (第 6 報) 生理学的研究(其の 1) 一般的性質に就て 日農化誌 21 : 9-10.
- 9) ——— (1946) : 同上 (第 7 報) 生理学的研究(其の 2) 糖代謝生産物に就て 日農化誌 21 : 10.
- 10) ——— (1946) : 同上 (第 8 報) 生理学的研究(其の 3) 麥角有効成分の生成に就て 日農化誌 21 : 29.
- 11) ABRAMS, L. (1923) : An illustrated flora of the Pacific States Washigton, Oregon and California. I. p. 248.
- 12) ADERHOLD, R. (1905) : Zur Biologie und Bekämpfung des Mutterkorns. Arb. a. d. biol. Abt. f. Land. u. Forstwirtschaft a. Kais. Ges.-Amt. 5 : 31.
- 13) AINWORTH, G. C. (1937) : The plant diseases of Great Britain. pp. 1-38.
- 14) ANDERSON, P. J. et al. (1926) : Check list of diseases of economic plants in the United States. U.S.D. A. Dept. Bull. No. 1366. 111 pp.
- 15) ANERUD, K. (1939) : Mjöldryga och ergotism. Landtmannen, Uppsala. 23 : 1185-1188. (Rev. Appl. Mycol. 19 : 272-273.)
- 16) ATANASOFF, D. (1920) : Ergot of grains and grasses. U.S.D.A. Bur. Pl. Ind. 127 pp. (stenciled publication)
- 17) BARGER, G. (1931) : Ergot and ergotism. 279 pp.
- 18) BARNAS, B. (1909) : Gibt es einen Unterschied zwischen die Mutterkornkrankheit-*Claviceps purpurea* der wild vorkommenden und der kultivierten Gramineen. Math. u. Naturw. Ber. Ungarn. 24 : 377. (Exp. Sta. Rec. 23 : 741.)
- 19) BASTIDE et al. (1907) : Report of the commission for studying the amount of ergot to be permitted in oats. Bull. Off. Gouv't. Gén. Algérie. No. 13. Supp. pp. 176-258. (Exp. Sta. Rec. 19 : 480.)
- 20) BECKER-DILLINGEN, J. (1927) : Handbuch des gesamten Pflanzenbaues. I. Handbuch des Getreidebaues. pp. 344-345.
- 21) BÉKÉSY, N. v. (1938) : Über parasitische Mutterkornversuche. Centralbl. Bakt., Par. u. Infekt. II Abt. 99 : 321-332.
- 22) ——— (1939) : [The content of active matter in cultivated ergot.] Math. naturw. Anz. ungar. Akad. Wiss. 58 : 722-729. (Chem. Abst. 34 II : 4525².)
- 23) ——— (1939) : Untersuchungen über den Alkaloidgehalt des Mutterkornes. I. Mitteilung : Über die quantitative Bestimmung der Mutterkornalkaloide in einzelnen Sclerotien. Biochem. Z. 302 : 187-197.
- 24) ——— (1940) : Untersuchungen über den Alkaloidgehalt des Mutterkornes. II. Mitteilung : Über den Alkaloidgehalt des parasitisch kultivierten Mutterkornes. Biochem. Z. 303 : 368-382.
- 25) BELZUNG, E. F. (1889) : Recherches sur l'ergot de seigle. Jour. de Pharm. et de Chim. 21 : 283-285.
- 26) BIRMINGHAM, W. A. (1921) : *Claviceps* sp., Ascomycètes signalé sur plusieurs Graminées en Australie. Bull. R. Agr. Malad. Plant. 12 : 1287-1288. (Centralbl. Bakt., Par. u. Infekt. II. Abt. 62 : 491.)
- 27) BLAS, L. é Ibiza. (1912) : Notas micológicas ; colección de datos referentes à los hongos de España. Mem. Réal. Soc. Española. Hist. Nat. Madrid. pp. 287-341. (quoted from BARGER⁽¹⁷⁾)
- 28) BONDARZEW, A. S. & BUCHOLTZ, F. (1903) : Die Pilzparasiten des Sommers 1902 in der Umgebung von Riga. Zeitschr. f. Pflanzenkr. 13 : 217-220.
- 29) BONNS, W. W. (1922) : A preliminary study of *Claviceps purpurea* in culture. Amer. Jour. Bot. 9 : 339-353.
- 30) BONORDEN, D. (1858) : Beobachtungen über die Bildung von *Spermoedia clavus* (*Secale cornutum*). Bot. Ztg. 16 : 97-99.
- 31) BREFELD, O. (1881-1908) : Untersuchung aus dem Gesamtgebiete der Mykologie. Heft IV (1881),

- Heft VIII(1889), Heft X (1891), Heft XIV (1908).
- 32) BROOKS, F. T. (1928) : Plant diseases. pp. 167—168.
 - 33) BUCHOLTZ, F. (1904) : Bemerkungen über das Vorkommen des Mutterkornes in den Ostseeprovinzen Russlands. Korrespondenzbl. d. Naturforscher-Ver. z. Riga. 47 : 57—64. (Just's Bot. Jahresber. 32(1) : 8—9.)
 - 34) CHIFFLOT, J. (1918) : Sur le presence de l'ergot de seigle sur le blé dit du Manitoba. Bull. Soc. Mycol. France. 34 : 192—194.
 - 35) DARNELL-SMITH, G. P. & MACKINNON, E. (1915) : Fungus diseases of wheat. Dept. Agr. N. S. Wales. Farmers Bull. No. 102. pp. 3—31. (Exp. Sta. Rec. 34 : 845.)
 - 36) DIXON, S. (1932) : The relation of food to disease. Jour. Soc. Chem. Ind. 51 : 787—795; 808—813.
 - 37) DORPH-PETERSEN, K. (1929) : Beretning fra Statsfrokotrollen for det 58 Arbejdsaar fra 1 Juli 1928 til 30 Juni 1929. Tidsskr. for Planteavl. 35 : 809—854. (Rev. Appl. Mycol. 9 : 287—288.)
 - 38) DUC, L. (1922) : L'ergot du blé dans l'Ain. Jour. Agr. Prat. 86 : 360—361. (Rev. Appl. Mycol. 2 : 160.)
 - 39) DUCCELLIER, L. (1922) : L'ergot de l'avoine. Bull. Soc. Hist. Nat. Afrique du Nord. 13 : 98—99. (Rev. Appl. Mycol. 1 : 423.)
 - 40) ——— (1923) : L'ergot de l'avoine en Algérie. Bull. Soc. Nat. Hist. Afrique du Nord. 14 : 290—293. (Rev. Appl. Mycol. 3 : 207.)
 - 41) ENGELKE, C. (1902) : Neue Beobachtungen über die Vegetationsformen des Mutterkornpilzes *Claviceps purpurea* TULASNE. Hedwigia 41 : 221—222.
 - 42) ——— (1905) : Über neue Beobachtungen über die Vegetationsformen des Mutterkornpilzes *Claviceps purpurea* TULASNE. 50—54 Jahresber. Naturhist. Ges. Hannover. pp. 70—72.
 - 43) FALCK, R. (1911) : Über die Luftinfektion des Mutterkorns (*Claviceps purpurea*, TUL.) und die Verbreitung pflanzlicher Infektionskrankheiten durch Temperaturströmungen. Zeitschr. f. Forst. u. Jagdw. 43 : 202—227.
 - 44) ——— (1922) : Über die Bekämpfung und die Kultur des Mutterkorns im Roggenfelde. Pharm. Ztg. 67 : 777—779, 786—787, 801—802, 825—826, 850—851.
 - 45) FARLOW, W. G. & SEYMOUR, A. B. (1888—91) : A provisional host-index of the fungi of the United States. 219 pp.
 - 46) FERRARIS, T. & GABOTTO, L. (1927) : Malattie del grano. VIII Grano sprone. Boll. Fitopat. e Ent. Agraria. Min. Econ. Naz. 3, 31 pp. (Rev. Appl. Mycol. 8 : 432.)
 - 47) FRANK, A. B. (1880) : Die Krankheiten der Pflanzen. pp. 639—647.
 - 48) ——— (1897) : Kampfbuch gegen die Schädlinge unserer Feldfrüchte. pp. 68—72.
 - 49) FRON, M. G. (1926) : L'ergot et sa culture. Ann. Sci. Agron. Franc. et Étrang. 43 : 314—324.
 - 50) FRUWIRTH, C. (1906) : Das Blühen der Gerste. Fühl. landw. Ztg. 55 : 544—545. (Just's Bot. Jahresber. 35(1) : 190—191.)
 - 51) GALAMA, S. G. (1834) : Verhandeling over het moederkoorn, deszelfs hoedanigheden, oorzaken, ware aard, uitwerkselen op dieren en op het menschelyk ligchaam in den gezonden toestand, alsmede deszelfs werkingen als genesmiddel. 219 pp. (quoted from BARGER⁽¹⁷⁾)
 - 52) GARMAN, H. (1914) : Some Kentucky weeds and poisonous plants. Kentucky Sta. Bull. No. 183. pp. 255—339.
 - 53) GARRIGUES, A. (1921) : Les plantes en médecine : le seigle et l'ergot. 254 pp. (Exp. Sta. Rec. 46 : 322.)
 - 54) GIBELLI, G. (1877) : Studii sulla moltiplicazione artificiale della cryptogame parassiti dei cereali. Atti. d. R. Accad. d. Scienze, Lettere ed Arti in Modena. 17 : 19. (quoted rom KIRCHHOFF⁽⁸¹⁾)

- 55) GRAM, E., JØRGENSEN, C. A. & ROSTRUP S. (1928): Oversigt over sygdomme hos landbrugets og havebrugets kulturplanter i 1927. Tidsskr. for Planteavl. 34: 778-836. (Rev. Appl. Mycol. 8: 151.)
- 56) GRANEL, M. (1883): L'ergot, la rouille et la carie de céréales. Thèse pour l'agrégation. 83 pp. (quoted from BARGER⁽¹⁷⁾)
- 57) GRISEBACH, A. (1853) "Gramineae" in LEDEBOUR Flora Rossica IV. p. 332.
- 58) GÜSSOW, H. T. (1914): Triseptate spores in *Claviceps*. Phytopath. 4: 386.
- 59) 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(昭和 19 年第 64 回日本薬学会総会学術講演会代催)日本薬学会近畿特別例会学術講演要旨(薬事科学 16: 205.)
- 60) ——— (1944): 同上. (第 2 報) エルゴモリニンの構造に就て(同上)日本薬学会近畿特別例会学術講演要旨(薬事科学 16: 205.)
- 60) ——— (1946): 麥角アルカロイドの研究(第 1 報) はまにんにく麥角含有新アルカロイド Ergomollin, Ergomollinin に就て 薬雑 甲号 66: 22-23.
- 62) 橋本 亮(1941): 薬学大全書 II 薬用植物学 pp. 270-271.
- 63) HEALD, F. D. : Manual of plant diseases. 1st. ed. 1926, 2nd. ed. 1933. pp. 592-603.
- 64) HECKE, L. (1921-22): Die Kultur des Mutterkorns. Schweiz. Apoth. Ztg. 59(1921): 277-281, 293-296; 60(1922): 45-51.
- 65) ——— (1922): Über Mutterkornkultur. Nachr. Deutsch. Landw. Ges. Oesterreich. 102 (N. F. 6): 119-122.
- 66) ——— (1923): Neue Erfahrungen über Mutterkornkultur. Wiener landw. Ztg. 73: 3.(Bot. Abst. 13: 57, No. 387.)
- 67) HENNING, E. (1903): Redogörelse för versamheten vid Sveriges Utsädesförenings filial vid Ultuna 1903. (Sep.-Abdr. aus dem Berichte des landw. Inst. in Ultuna, 1903. 22 pp.) Just's Bot. Jahresber. 33 (2): 230; 34(1): 103-104.
- 68) ——— (1905): Jakttagelser öfver kornets blomning. Bot. Notiser pp. 57-68. (Bot. Centralbl. 99: 368; Just's Bot. Jahresber. 33(3): 291.)
- 69) ——— (1906): Studier öfver kornets blomning och några i samband dermed staende företeelser. I. Orienterande iakttagelser och synpunkter. Meddelande från Ultuna Landbrukinst., Upsala, No. 1. 45 pp. (Bot. Centralbl. 104: 190-192.)
- 70) ——— (1922): Avdelning för landbruks botanik. (Rev. Appl. Mycol. 1: 417-418.)
- 71) HENRY, T. A. (1939): The plant alkaloids. 3rd. ed. 689 pp.
- 72) 平塚直秀, 小谷英二 (1930): 北海道, 樺太及ピク列島ニ於テ採集サレタル麥角菌ニ就テ 鳥取農学会報 2: 57-60.
- 73) HITCHCOCK, A. S. (1935): Manual of the grasses of the United States. pp. 246-247, 249.
- 74) HONDA, M. (1930): Monographia Poacearum Japonicarum, Bambusoideis exclusis. Jour. Fac. Sci. Tokyo Imp. Univ. Sect. III. Botany 3: 1-484.
- 75) 出田 新(1911): 増訂日本植物病理学 上巻 pp. 242-245.
- 76) 伊藤 安(1939): 樺太産飼料の成分並に消化率(第 1 報)樺太庁中央試験所報告 第 21 号第 4 類(畜産)第 1 号 pp. 23-26.
- 77) 岩垂 悟, 佐々木三男, 内藤中入(1943): 満洲国農作物病害目録 農事試験場報告第 45 号 223 pp.
- 78) JACZEWSKI, A. (1913): Übersicht der in Russland verbreiteten Pilzkrankheiten im Jahre 1911. Zeitschr. f. Pflanzenkr. 23: 275.
- 79) JARETZKY, R. (1935): Alkaloidgehalt und Wirksamkeit saprophytischer Mutterkornkulturen. Arch. Pharm. Berl. 273: 347-357.

- 80) KAWATANI, T. (川谷豊彦)(1944) : *Clavicipitis species nova parasitica ad Elymus mollem* TRIN. 衛薬 65 : 81-83; 植雑 59 (1946) : 90-91. [ハマニソニクに寄生する一新麥角菌 (ハマニソニク麥角に関する研究 第2報)]
- 81) ——— (1944) : 麥類に対する *Claviceps litoralis* KAWATANI の寄生性に就て ハマニソニク麥角に関する研究(第3報) 日本作物学会第65回講演会に於て発表(昭和19年12月23日)
- 82) ——— (1945) : 麥類に対する *Claviceps purpurea* (FR.) TULASNE の寄生性に就て ハマニソニク麥角に関する研究(第4報) 日本作物学会第69回講演会に於て発表(昭和20年10月20日)
- 83) ——— (1947) : 麥角菌 *Claviceps* の寄生植物 未発表
- 84) 木本氏幹(1943) : 樺太の麥角に就て 昭和18年3月第2回研究発表講演会別刷(樺太庁中央試験所) pp. 16-19.
- 85) ——— (1943) : ハマニソニク *Elymus mollis* TRIN. の開花調査. 札幌農林学会報 36 : 30-45.
- 86) KIRCHHOFF, H. (1929) : Beiträge zur Biologie und Physiologie des Mutterkornpilzes. Centralbl. Bakt., Par. u. Infekt. II Abt. 77 : 310-369.
- 87) KIRCHNER, O. v. : Die Krankheiten und Beschädigungen unserer landwirtschaftlichen Kulturpflanzen. I. Aufl. 1890. 637 pp. ; III. Aufl. 1923. 679 pp.
- 88) 北川政夫 (1939) : 満洲国植物考 大陸科学院研究報告 第3巻号外第1冊 pp. 74-75.
- 89) 小林義雄 (1934) : アリュースシャン群島土人ト植物 植研雑 10 : 664-667.
- 90) ——— (1934) : Flora of the Aleutian Islands. Bull. Biogeograph. Soc. Japan. 5 : 87-123.
- 91) ——— (1939) : バクカクキン (朝比奈泰彦 : 日本隠花植物図鑑) pp. 246-247.
- 92) KOIDZUMI, G. (1911) : Plantae Siphonogamae a N. Yokohama anno 1907 in Alaska arctica, Tschuktschore et Kamtschatka collectae. Tokyo Bot. Mag. 25 : 203-222.
- 93) KOMAROV, V. L. (1901) : Flora Manshuria. I. pp. 319-320.
- 94) KREBS, J. (1936) : Untersuchungen über den Pilz des Mutterkorns *Claviceps purpurea* TUL. Ber. Schweiz. bot. Ges. 15 : 71-165.
- 95) KREITMAIR, H. & KÜSSNER, W. (1931) : Über den Alkaloidgehalt von *Claviceps purpurea* bei Kultivierung auf künstlichem Nährboden. Biochem. Z. 239 : 189-192.
- 96) 工藤祐舜 (1924) : 北樺太植物調査書 露哈彙軍政部 295 pp. (pp. 62, 254.)
- 97) KÜHN, J. (1856) : Über die Entwicklung der *Claviceps* aus ihren Sclerotien. Hedwigia 1 : 109-111.
- 98) ——— (1863) : Untersuchungen über die Entwicklung, das künstliche Hervorrufen und die Verhütung des Mutterkorns. (quoted from KIRCHHOFF⁽⁶⁹⁾)
- 99) 熊谷 洋 (1940) : 水溶性並=非水溶性麥角 Alkaloid ノ無麻酔犬子宮運動=及ボス作用ノ比較研究(第1報) 日本薬物学雑誌 29 : 116-118.
- 100) KUNTH, C. S. (1833) : "Agrostographia synoptica sive enumeratio Graminearum I" in Enumeratio Plantarum I. p. 453.
- 101) KURTZ, F. (1895) : Die Flora des Chilcatgebietes im südöstlichen Alaska. Engler Bot. Jahrb. 19 : 327-431.
- 102) ——— (1895) : Die Flora der Tschuktschenhalbinsel. Engler Bot. Jahrb. 19 : 432-493.
- 103) LEACH, J. G. (1940) : Insect transmission of plant diseases. pp. 213-217.
- 104) LIND, J. (1913) : Danish fungi as represented in the Herbarium of E. Rostrup. (quoted from BARGAR⁽¹⁷⁾)
- 105) LUTZ, L. (1904) : Notes mycologiques. Sur l'ergot du *Psamma arenaria*. Bull. Soc. Mycol. France 20 : 211-213.
- 106) Mc ALPINE, D. (1894) : Report on rust in wheat experiments, 1892-93. Dept. Agr. Victoria pp. 36-38.
- 107) Mc CREA, A. (1931) : The reactions of *Claviceps purpurea* to variations in environment. Amer. Jour. Bot. 18 : 50-78.

- 108) MCFARLAND, F. T. (1921) : Infection experiments with *Claviceps*. *Phytopath.* 11 : 41-42.
- 109) ——— (1922) : Factors affecting the germination of the sclerotia of *Claviceps* (ergot of rye). *Science* 56 : 85.
- 110) MAINS, E. B. (1924) : Observations concerning the disease susceptibility of cereals and wild grasses. *Proc. Indiana Acad. Sci.* 34 : 289-295. (Rev. *Appl. Mycol.* 5 : 217-218.)
- 111) 牧野富太郎, 與世里盛春 (1932) : 千葉県植物 77 pp.
- 112) MASSEE, G. (1886) : British Pyrenomycetes. (A preliminary list of known species.) *Grevillea* 15 : 1-9.
- 113) ——— (1899) : A text-book of plant diseases caused by cryptogamic parasites. pp. 122-125.
- 114) 松尾仁, 川谷豊彦, 田村良修, 小幡利勝, 市川忠次(1944) : ハマニシク麥角に関する研究(第1報) 衛農 65 : 1-80.
- 115) 松岡義顕 (1940) : 満洲産麥角に就て 大陸科学院彙報 4 : 957-966.
- 116) ——— (1942) : 満洲産麥角に就て 大陸科学院彙報 6 : 327-328.
- 117) ——— (1943) : 満洲産麥角の人工栽培に就て 大陸科学院彙報 7 : 62-64.
- 118) MAXIMOWICZ, C. J. (1859) : Primitiae florae amurensis. p. 317.
- 119) MERCIER, L. (1911) : Sur le rôle des insectes comme agents de propagation de l'ergot des graminées. *Compt. Rend. Soc. Biol.* 70 : 300-302.
- 120) MEYEN, F. J. F. (1841) : Pflanzenpathologie. 340 pp. (p. 192.)
- 121) MEYER, B. (1888) : Untersuchungen über die Entwicklung einiger parasitischer Pilze bei saprophytischer Ernährung, die künstliche Kultur der *Sphacelia* Sporen und das Vorkommen und die Keimdauer derselben in der Natur. *Landw. Jahrb.* 17 : 915-945.
- 122) 見波定治 : 実験作物品種改良法講義 第3版 1921. 444 pp.(初版 1916)
- 123) 三浦道哉 (1925) : 満蒙植物誌 p. 34.
- 124) MIYABE, K. (1890) : The flora of the Kurile Islands. *Mem. Boston Soc. Nat. Hist.* 4 : 203-275.
- 125) 宮部金吾, 三宅勉 (1907) : 樺太植物調査概報 p. 45.
- 126) 宮部金吾, 三宅勉 (1915) : 樺太植物誌 pp. 585-586.
- 127) MÖLLER, J. (1895) : Gutachten in der Mutterkornfrage. *Zeitschr. f. Nahrungsmittelunters., Hygiene und Warenkunde.* pp. 155-158. (quoted from ATANASOFF⁽¹⁰⁾)
- 128) MONICAULT, P. de (1922) : L'ergot du blé. *Jour. Agr. Prat.* 86 : 169.
- 129) 森為三 (1922) : 朝鮮植物名彙 p. 42.
- 130) 永井威三郎 (1940) : 実験作物栽培各論 上巻 禾穀類篇 540 pp.
- 131) NAKAI, T. (1911) : Flora Koreana. II. *Jour. Coll. Sci. Tokyo Imp. Univ.* 31 : 376.
- 132) 中田覚五郎 : 作物病害図編 第1版 1934. 603 pp. 増訂再版 1937. 625 pp.
- 133) 中田覚五郎, 瀧元清透(1628) : 朝鮮作物病害目録 勸業模範場研究報告 第15号 p. 10.
- 134) 農林省農務局編纂 : 麥類耕種要綱 昭和12年(1937)
- 135) 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価に就て 藥雜 52 : 25-45.
- 136) 大谷文昭(1928) : 麥角人工栽培の研究(第1報) 藥雜 48 : 376-383.
- 137) OUDEMANS, C. A. J. A. (1919-24) : Enumeratio systematica fungorum. I-V.
- 138) PAPE, H. (1928) : Das Mutterkorn und seine Bekämpfung. *Illus. Landw. Zeit.* 47 : 474-475. (Rev. *Appl. Mycol.* 8 : 98.)
- 139) PETCH, T. (1937) : More about *Claviceps*. *Naturalist* pp. 25-28. ((Rev. *Appl. Mycol.* 17 : 104.)
- 140) PONSARD, J. (1928) : [Ergot on wheat.] *Jour. Agr. Prat.* n. ser. 49 : 413-414. (Exp. Sta. Rec. 63 : 247.)
- 141) RIDGWAY, R. (1912) : Color standards and color nomenclature.
- 142) ROBERTSON, J. & ASHBY, H. T. (1928) : Ergot poisoning among rye bread consumers. *Brit. Med.*

- Jour. No. 3503. pp. 302-303.
- 143) ROSTOWZEW, S. J. (1902) : [Beiträge zur Keimung des Mutterkorns *C. purpurea* TUL. und *C. microcephala* WALLR.] Jour. Moscow Agr. Coll. 3 : 1-16. (Bot. Centralbl. 90 : 705-706.)
- 144) ROSTRUP, E. (1902) : Plantepatologi. pp. 503-509.
- 145) SACCARDO, P.A. (1882-1931) : Sylloge fungorum. I-XXV.
- 146) SAMPSON, K. (1920) : Incidence of diseases on the cereal plats. Welsh Plant Breeding Sta., Aberystwyth. [Bull.] Ser. C. No. 1. pp. 50-51. (Exp. Sta. Rec. 46 : 239.)
- 147) SCHMIDT, Fr. (1868) : Reisen in Amur-Lande und auf der Insel Sachalin. Mem. Acad. Sci. Petersb. VII. Ser. 12 : 198-199.
- 148) SCHWEIZER, Gg. (1941) : Über die Kultur von *Claviceps purpurea* (TUL.) auf kaltsterilisierten Nährböden. Phytopath. Zeitschr. 13 : 317-350.
- 149) SCOSSIROLI, R. (1939) : La riproduzione della *Claviceps purpurea* applicata alla coltivazione. Riv. ital. Essenze 21 : 442-444. (Rev. Appl. Mycol. 19 : 95.)
- 150) SEYMOUR, A.B. (1929) : Host index of the fungi of North America. 732 pp. (pp.81-159, 165-168.)
- 151) SEYMOUR, E.K. & MCFARLAND, F. T. (1921) : Loss from rye ergot. Phytopath. 11 : 41, 285-289.
- 152) 嶋田玄綱 (1939) : 京都附近に産する一麥角に就て 野外博物 1 : 57-65.
- 153) 進藤省三, 渡辺保治 (1939) : 主要作物優良品種の解説 樺太中央試験所彙報 第32号 第1類(農業) 第12号 36 pp.
- 154) 白井光太郎, 原根祐 (1927) : 日本菌類目録 第3版 p. 85.
- 155) 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. pp. 1466-1481.
- 156) SMITH, S. & TIMMIS, G.M. (1930-31) : The alkaloids of ergot. Part. I. Jour. Chem. Soc. 1930. pp. 1390-1395 ; Part II. 1931. p. 1888.
- 157) SMITH, W. G. (1884) : Diseases of field and garden crops. pp. 214-238.
- 158) 宗 正雄 (1932) : 育種学講義 第4版 pp. 592-593, 596.
- 159) SORAUER, P. : Handbuch des Pflanzenkrankheiten. I. Aufl. 1874. pp. 361-372 ; V. Aufl. Bd. II. 1928. pp. 577-583.
- 160) STÄGER, R. (1900) : Vorläufige Mitteilungen über Impfversuche mit Gramineen-bewohnenden *Claviceps*-Arten. Bot. Centralbl. 83 : 145.
- 161) ——— (1903) : Infektionsversuche mit Gramineen-bewohnenden *Claviceps*-Arten. Bot. Ztg. 61 : 111-158.
- 162) ——— (1905) : Weitere Beiträge zur Biologie des Mutterkorns. Centralbl. Bakt., Par. u. Infekt. II Abt. 14 : 25-32.
- 163) ——— (1907) : Neuer Beitrag zur Biologie des Mutterkorns. Centralbl. Bakt., Par. u. Infekt. II Abt. 17 : 773-784.
- 164) ——— (1908) : Zur Biologie des Mutterkorns. Centralbl. Bakt., Par. Infekt. II Abt. 20 : 272-279.
- 165) ——— (1908) : Beweise für die Entwicklungstheorie aus dem Bereich der parasitischen Pilze. Natur. u. Offenbar. 54 : 32-39.
- 166) ——— (1910) : Neue Beobachtung über das Mutterkorn. Centralbl. Bakt., Par. u. Infekt. II Abt. 27 : 67-73.
- 167) ——— (1912) : Infektionsversuche mit überwinterter *Claviceps*-Conidien. Mycol. Centralbl. 1 : 198-201.
- 168) ——— (1922) : Beitrag zur Verbreitungsbiologie der *Claviceps*-Sklerotien. Centralbl. Bakt., Par. u. Infekt. II Abt. 56 : 329-339.

- 169) ——— (1923) : Impfversuche mit dem Mutterkorn des Weizens. Mitt. Naturf. Ges. Bern, 1922. pp. 11—20. (Bot. Abst. 13 : 282. No. 1911.)
- 170) STEUDEL, E. G. (1855) : Synopsis Plantarum Glumacearum. I. Synopsis Plantarum Graminearum. p. 350.
- 171) STEVENS, F.L. (1913) : The fungi which cause plant diseases. pp. 211—213.
- 172) 菅原繁藏 (1937) : 樺太植物図誌 I pp. 166—167, 306.
- 173) 杉本重行, 松岡義顕 (1941) : 満洲産麥角に就て 月刊臨牀大陸 第 19 号
- 174) 竹本常松 (1944) : 内外野生麥角の「アルカロイド」含有調査(第 1 報) 定性試験 薬雜 64 : 225—228.
- 175) ——— (1944) : 同上(第 2 報) 定量試験 薬雜 64 : 228—231.
- 176) 竹内屈夫, 松岡義顕, 木田正三 (1942) : 満洲産麥角の成分研究 大陸科学院彙報 6 : 397—399.
- 177) TANRET, G. (1922) : L'ergot d'avoine et l'ergot de diss. Bull. Agr. Algérie Tunisie-Maroc, II Ser. 28 : 108—109. (Rev. Appl. Mycol. 1 : 423.)
- 178) ——— (1922) : Sur quelques principes chimiques contenus dans l'ergot de diss et dans l'ergot d'avoine. Bull. Soc. Chim. 31 : 444—448.
- 179) ——— (1923) : Recherches sur l'ergot de diss et l'ergot d'avoine. Bull. Sci. Pharm. 29 : 169—175.
- 180) 寺田安一, 苗村徳次郎 (1941) : 外国産麥角と樺太産麥角との比較試験 衛彙 56 : 33—37.
- 181) THOMPSON, M.R. (1929—30) : The pharmacology of ergot with particular respect to biological assay and stadardization. Jour. Amer. Pharm. Assoc. 18 (1929) : 1106—1124 ; 19 (1930) : 11—23, 104—117, 221—228, 436—449, 844—847.
- 182) 富樫浩吾 (1942) : 麥角ノ外部形態 植雜 56 : 74—81.
- 183) 徳永芳雄 (1934) : 日本産麥角菌ノ研究 日本植物病理学会報 4 : 113—114.
- 184) TSCHERMAK, E. (1904) : Über künstliche Auslösung des Blühens beim Roggen. Ber. Deutsch. Bot. Ges. 22 : 445—449.
- 185) ——— (1904) : Die Roggenblüte künstlich auslösbar. Deutsch. Landw. Presse. p. 719.
- 186) ——— (1906) : Die Blüh- und Fruchtbarkeitsverhältnisse bei Roggen und Gerste und das Auftreten von Mutterkorn. Fühl. landw. Ztg. 55 : 194—199.
- 187) ——— (1909) : Weitere Beobachtungen über die Fruchtbarkeits- und Infektionsverhältnisse der Gersten und Roggenblüte. Deutsch. Landw. Presse. 36 : 149—150.
- 188) ——— (1921) : Beiträge zur Vervollkommnung der Technik der Bastardierungszüchtung der vier Hauptgetreidearten. Zeitschr. f. Pflanzenzücht. 8 : 1—13.
- 189) ——— (1921) : Massnahmen grösserer Mengen von Mutterkorn. Mitt. d. landw. Ges. 36 : 184—185.
- 190) ——— (1922) : Zur künstliche Gewinnung von Mutterkorn. Deutsch. Landw. Presse. 49 : 175.
- 191) TULASNE, L. R. (1853) : Memoire sur l'ergot des glumacées. Ann. Sci. Nat. Part. bot. III Ser. 20 : 5—56.
- 192) 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.
- 193) VLADIMIRSKY, S. V. (1939) : [Geographical distribution and zones of injurious influence of ergot on rye in the U.S.S.R.] Sovetsk. Bot. pp. 77—87. (Rev. Appl. Mycol. 19 : 209—210.)
- 194) VOGLINO, D. P. (1905) : Patologia vegetale. pp. 167—169.
- 195) WARBURTON, C.W. (1911) : Ergot on oats. Bot. Gaz. 51 : 64.
- 196) WENIGER, W. (1923) : Diseases of grain and forage crops in North Dakota. N. Dakota Agr. Exp. Sta. Bull. No. 166. 92 pp.
- 197) ——— (1924) : Ergot and its control. N. Dakota Agr. Exp. Sta. Bull. No. 176. 23 pp.

- 198) WHETZEL, H. H. & REDDICK, D. (1911) : A method of developing *Claviceps*. *Phytopath.* 1 : 50-52.
- 199) WILSON A.S. (1875-76) : Observations and experiments on ergot. *Gardeners' Chronicles.* 4(1875) : 774-775, 807-808 ; *Pharm. Jour.* iii 6(1876) : 525-526, 545-546, 564-565. (quoted from BARGER⁽¹⁷⁾)
- 200) WINTER, G. (1887) : [L. RABENHORST] *Kryptogamen-Flora von Deutschland, Oesterreich und der Schweiz.* I. pp. 146-147.
- 201) WITTE, H. (1940) : Redogörelse för versamheten vid Statens centrala frökontrollanstalt under tiden 1/7 1938-30/6 1939. *Medd. Frökontrollanst. Stockh.* pp. 3-62. (*Rev. Appl. Mycol.* 19 : 691.)
- 202) 山本健吾 (1935) : 作物交配技術 pp. 14-15.
- 203) 山本一海 (1930) : 満洲植物目録 p. 28.
- 204) 安田 篤 (1914) : 菌類雑記 (30) 植雑 28 : 324-326.
- 205) 吉川 渡 (1938) : 麥角は必需品なりや 産科と婦人科 6 : 70-73.
- 206) ZIMMERMANN, A. (1906) : Ergänzende Versuche zur Feststellung der Keimfähigkeit älterer Sklerotien von *Claviceps purpurea*. *Zeitschr. f. Pflanzenkr.* 16 : 129-131.
- 207) ZOPF, W. (1890) : *Die Pilze.* pp. 459-461.

1941年以降 1946年迄の外国文献

- 208) ANONYMOUS (1945) : Ergot production in tropical plains of Bengal. *Sci. and Cult.* 11 : 142. (*Biol. Abst.* 20 : 628. No. 5678.)
- 209) HECHT, W. (1941) : Method of treating plants to produce artificial or abnormal growth. U.S. Patent 2,261,368.
- 210) HYNES, H. J. (1941) : Artificial production of the ergot. *Agr. Gaz. New South Wales.* 52 : 571-573, 581. (*Agr. Index* 9 : 640.)
- 211) LEWIS, R.W. (1943) : A method for developing an epiphytotic of ergot. *Phytopath.* 33 : 1116.
- 212) ——— (1945) : The field inoculation of rye with *Claviceps purpurea*. *Phytopath.* 35 : 353-360.
- 213) MUKERJI, B. & BOSE, A.B. (1942) : Medicinal importance of ergot and need for its cultivation in India. *Sci. and Cult.* 8 : 267-272. (*Biol. Abst.* 17 : 2422. No. 25096.)
- 214) NEILL, J.C. (1941) : Ergot. *New Zealand Jour. Sci and Tech.* 23 : 130A-137A.
- 215) SAHA, J. C. & BHATTACHARJEE, S. K. (1945) : Artificial production of ergot in the tropical plains of Bengal. *Nature [London]* 156 : 363-364. (*Biol. Abst.* 20 : 435. No. 3861.)
- 216) SCHWARTING, A.E. (1943) : A study of domestic ergot of wheat and rye. *Ohio State Univ. Absts. Doctorial Diss.* 43 : 151-158. (*Biol. Abst.* 19 : 1248. No. 11504.)
- 217) THOMAS, K. M. & RAMAKRISHNAN, T.S. (1942) : Experiments on ergot production in Madras. *Madras Agr. Jour.* 30 : 411-416.

Studies on the parasitic cultivation of ergot with *Claviceps litoralis* KAWATANI*

by Toyohiko KAWATANI

Résumé

Ergot or sclerotia parasitic on rye are a well-known drug, which has been used in medicine of outstanding importance. There has, however, been no production of the rye ergot of commerce in Japan. The demand for it, therefore, has been met with the importation from foreign countries. The author has paid special attention to the fact that the ergot sclerotia parasitic on American Dunegrass (*Elymus mollis* TRIN.) contain a great amount of physiologically active principles, and has made fundamental studies on its parasitic cultivation in order to substitute it for the rye ergot. The present paper herein reported is the results of studies on the morphology, physiology, and ecology of the ergot fungus parasitic on American Dunegrass (*Claviceps litoralis* KAWATANI), ecology of American Dunegrass, and the parasitic cultivation with this ergot fungus by using this grass and barley, etc. as its hosts. The principal parts of the paper consist of six chapters.

I. Introduction

Importance of ergot, historical review, origin of the studies, and outline of them are described in detail.

II. *Claviceps litoralis* KAWATANI (Ergot fungus parasitic on American Dunegrass)

1. On the spikes of American Dunegrass which were artificially inoculated, the time of secretion of honey dew, constituents contained in honey dew, the degree of acidity (PH value) of honey dew, density of conidia in honey dew, and the morphology of conidia are investigated in detail. Secretion of honey dew, as a rule, begins about 10 days after infection and continues for 2-9 days, and is very much abundant especially in the night-time or in a humid atmosphere. It has been shown for the first time that sucrose, maltose, glucose, and fructose are contained in honey dew, and that the content of sugar shows a tendency to be the maximum when it is secreted most abundantly and to be proportionate to the density of conidia in honey dew.

At the early stage of secretion the PH value was 4.2-4.4, and afterwards became gradually higher: at the earlier stage of formation of the ergot body, 5.0-5.2; at the later stage, 5.4-5.8.

The number of conidia (per mm³) in honey dew became the maximum 1-5 days after the beginning of its secretion, in which case the number amounted to 1,000,000-5,300,000; and afterwards, the number gradually decreased. It has been shown that the dimensions of conidia are, generally, 6.80-9.37×3.39-4.19 μ , and vary with the density of conidia in honey dew.

2. Morphological studies on the sclerotia of *Cl. litoralis* and its developing process have been made precisely. And it is shown that, the sclerotia of *Cl. litoralis* are obviously distinguishable from those of *Secale cereale* L. (rye), *Agropyron semicostatum* NEES, and *A. ciliare* FRANCH. by the colour and external characters. It has also been recognized that the ergot or sclerotia of *Cl. litoralis* become mature 30-40 days after inoculation; its germination is promoted by the treatment at low temperatures; the ergot is viable for only a year, and its germination in the next spring is severely impaired if attacked with *Penicillium*.

3. Stromata, perithecia, asci, and ascospores of *Cl. litoralis* have been precisely examined, and its ascospores have proved obviously distinguishable from those of *S. cereale* and *A. semicostatum*. The latter fact together with the external characters of the ergot is a foundation to describe it as the species of *Cl. litoralis*.

* Original paper is written in Japanese: EISEISHIKENSHO HÔKOKU (Bulletin of the National Hygienic Laboratory), (I), No. 67 (Mar.1950), pp. 219-260; (II), No. 68 (Dec.1950), pp. 150-160; (III), No. 69, pp.165-216.

4. Natural appearance of the ergot of *Cl. litoralis* occurs abundantly in northern Hokkaido, the Kurile Islands, and Saghalien, in which (Saghalien) it was in a situation that 7–33 g of the ergot per man and per hour was collectable. And, it has been noted that abundant appearance of the ergot in these districts is attributed to the very severe cold winter, little sunshine and the humid atmosphere in the blossoming season, and the very luxuriant growth of American Dunegrass.

According to the investigations made at two representative locations in Saghalien, the percentage of infected spikes was 96.72 and 88.48%; the percentage of infected florets (viz., the percentage of the infectivity) was 8.47 and 4.31% respectively; the number of ergots per spike was mostly 1–10, the largest amounting to 96. On the percentage of the infectivity, the middle one-third of a spike is the highest; the first (viz., the lowest or the most basal) floret of a spikelet is the highest, and apical (upper) florets are gradually decreasing going from base to apex. The larger-sized ergots (greater than 7 mm in length and 1.5 mm in width) appear mostly in the first florets, whereas the smaller-sized ergots (smaller than 7 mm in length and 1.5 mm in width) appear mostly in the second florets. On the average weight of single ergots, it has been recognized that, the first floret is the heaviest, and the apical florets are gradually lighter going from base to apex.

5. On the time of infection with *Cl. litoralis*, the author has made some experiments of intercepting from natural infection by covering paraffined paper at various blossoming stages of the grass, and has recognized that a greater part of infection occur at the full-bloom stage of the first floret. And he has also recognized that, under natural circumstances a greater part of infection are attributed to that from ascospores, whereas little infection is attributed to that from conidia in honey dew viz., to the secondary infection of conidia.

III. American Dunegrass (*Elymus mollis* TRIN.)

Precise investigations on the morphology, ecology, distribution, and associations of this grass, especially exact observations on its blossoming which is closely related to the parasitic cultivation, have been made.

1. Blossoming period of a spike is generally 7–12 days. On the blossoming of a spike, the first florets of somewhat upper nodes of the middle part are the earliest; the first ones of the neighboring nodes follow the foregoing; the second ones follow at the full-bloom stage of the first ones, when most of the first ones are blossoming; the third ones, the fourth ones, etc. follow in this order in the same way; the most apical ones of the uppermost and the lowest nodes are the latest.

2. During the blossoming period, in general, 3–4 maxima of the number of blossoming florets are recognized; the time when blossoming occurs most numerously is mostly between 11 a. m. and 2 p. m.; duration of opening of the glumes is mostly 150–210 min.; blossoming can be promoted by manipulation of the spike with friction, etc. in the daytime.

3. The blossoming time of natural associations, varying with districts, continues from the third ten-days of May in the northern part of Tohoku district to the third ten-days of July in Saghalien. Blossoming period of an association is mostly 14–23 days, and is liable to be influenced by the weather; in rainy or cloudy and cold weather it occurs very little, whereas in fine and warm weather it simultaneously occurs very much numerously; it does not occur continuously all day long, but at some time it tends to occur suddenly and simultaneously. Minute variations of meteorological conditions seem to act as an impetus to blossoming.

4. In the spikes infected with *Cl. litoralis*, the percentage of setting grains and the weight of ripe grains are lowered in proportion to the extent of infection.

IV. Parasitic cultivation of ergot with *Cl. litoralis* by using American Dunegrass as its host

Since Hecke's works on the parasitic cultivation of ergot (with *Cl. purpurea*) by using rye as its host, a number of investigations of the same kind have been published, but there has been none (with *Cl. litoralis*)

by using American Dunegrass. The author has used ascospores, conidia, and sclerotia as inoculum, and has tried to inoculate artificially by methods of injection, immersion, smearing, spraying, and scattering.

1. From the standpoint of the percentage of the infectivity, that of injection method is the highest, reaching over 40%, and that of smearing method follows the foregoing; that of both immersion and spraying method is below 5%. But, from the standpoint of labour of inoculation, spraying method is the best, and immersion method follows the former.

2. On the time of infection, it has been observed that, it occurs only at the time of anthesis and especially it occurs very abundantly at the full-bloom stage of the first florets; on the inoculum used, it tends to grow smaller-sized ergots and to show higher percentage of the infectivity when the suspension of conidia is used, whereas it tends to grow larger-sized ergots and to show lower percentage of the infectivity when ascospores used.

3. Further, the most pertinent condition of the conidial density and the degree of acidity (PH value) of spore suspensions and the preserving method of conidia have been studied. Conidia in honey dew are viable at least for two years if preserved in dry condition. Ergot-scattering method has proved less successful, and compared very unfavorably with spore-spraying method.

4. According to an example of field inoculation by immersion method made in Saghalien, where natural ergot of *Cl. litoralis* grows very much abundantly, infection was much increased by use of conidial suspension of honey dew at the PH value of 5.0–6.2, its percentage of the infectivity reaching an extent of about 17–20%, whereas that of the controlled plot left under natural conditions was about 11%.

5. The amount of total alkaloids of the ergot of *Cl. litoralis* artificially cultivated on American Dunegrass (0.976–1.124%) has shown no difference as compared with that of *Cl. litoralis* naturally grown on this grass (1.162%). And it has proved independent of the kind of inoculum used, viz., ascospores or conidia: by ascospores, 1.084%; by conidia, 1.067%.

V. Parasitic cultivation of ergot with *Cl. litoralis* by using barley, etc. as its hosts

The author has studied on the possibility of parasitic cultivation with *Cl. litoralis* by use of grain crops as its hosts.

1. The infectivity of *Cl. 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 (*S. 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 *Cl. 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 *Cl. 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 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 *Cl. litoralis* on barley is independent of pollination of the host plant. That is, the infection with *Cl. litoralis* on barley occurs also at the stage of 2–3 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 *Cl. litoralis* on barley occurs also at the stage of 1, 2, and 3 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 reobserved this phenomenon precisely using 84 lines of ordinary barley and 66 lines of hull-less barley, and has discussed the relation between the resistance of barley to *Cl. litoralis* and the opening of its glumes, with special reference to the parasitic cultivation. The phenomenon of opening of the glumes of barley varies with varieties, lines, situation of florets, and environmental circumstances. The period of its duration is generally 15–40 min., in which only, natural infection may occur.

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 *Cl. litoralis* according to varieties of barley and environmental circumstances.

7. The ergot of *Cl. 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 *Cl. litoralis* artificially cultivated on barley (0.846–0.987%) shows no great difference as compared with that of *Cl. litoralis* artificially cultivated on American Dunegrass (0.976–1.124%), and is far greater than that of *Cl. purpurea* naturally grown on rye in foreign countries.

VI. Parasitic cultivation of ergot with *Cl. purpurea* by using barley, wheat, and rye as its hosts

With reference to the parasitic cultivation of ergot, in general, *Cl. purpurea*, the rye ergot has hitherto been used. In order to compare with that of *Cl. litoralis* the author has made some experiments by using conidial suspension of *Cl. purpurea*, the rye ergot, collected from Manchuria.

1. The infectivity of *Cl. purpurea* is recognized on ordinary barley [two-rowed, both the erectum and the nutans, four-rowed, and six-rowed varieties], hull-less barley [two-rowed, four-rowed, and six-rowed varieties], wheat [common wheat], and rye.

2. It has been shown experimentally for the first time that the infectivity of *Cl. purpurea* is recognized on four-rowed and six-rowed hull-less barley.

3. The percentage of the infectivity of *Cl. purpurea* on rye is the highest, and that on barley comes next. And the percentage of the infectivity of *Cl. purpurea* on two-rowed barley is, however, higher than that on four-rowed and six-rowed barley. 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.

4. The percentage of the infectivity of *Cl. purpurea* on wheat and American Dunegrass is much lower as compared with that on rye and barley.

5. There is no infectivity of *Cl. purpurea* on oats [common oats, sided oats, and hull-less oats]. The ergot fungus parasitic on oats has been dealt with as *Cl. purpurea*. Hence further studies have to be made concerning the problem whether this fungus may be an independent biological race of *Cl. purpurea* or a new species of *Claviceps*.

6. The infectivity of *Cl. purpurea* on barley, wheat, and rye is independent of pollination of the host plants. The infection with *Cl. purpurea* on them occurs also at the stage of 2–3 days before anthesis (pollination), and at the stage of 1, 2, and 3 days after anthesis (pollination).

7. The ergot of *Cl. purpurea* artificially cultivated on barley, wheat, and rye contained no alkaloids, independent of pollination, the kind of spores used, and the time of infection. The author interprets that this is because the strain used in these experiments is that which contains no alkaloids.

In conclusion, for the purpose of the parasitic cultivation of ergot, strains of higher alkaloidal content must be selected and asexually propagated. It is attained, previously to the isolation, by assaying quantitatively individual sclerotia on the alkaloidal content. The extent of alkaloidal content rests, however, primarily on a hereditary basis.

October 16, 1947

Experimental Farm for the Cultivation of Medicinal Plants

(attached to the National Hygienic Laboratory)

No. 30, Kasukabe-Machi, Saitama-Ken, Japan

抄 録

化学療法剤の化学構造と臓器親和性並に毒性との関連, (第1報)「ニトロフラゾン」の急性・慢性中毒症の病理学的観察

八田貞義, 青山好作 総合医学: 148, 157~160, 1951.

化学構造と抗菌スペクトルに興味のある「ニトロフラゾン」について, 毒性と臓器親和性との関係を主として病理組織学的に追究した. その結果「ニトロフラゾン」は供試動物(家兎・ラット・マウス)により病理学的にみた毒性に幾分の差異がみられたが, 致死量(Pro kg 0.5g)の10分の1量以上では長期連続投与により慢性中毒が実質細胞の変性或は循環障害となつてあらわれ, 特に肝臓に著明である. しかし肝臓に対する毒性は比較的大量を投与した場合にだけ認められ, 致死量の10分の1量以下の場合には病理学的にも著変を認めない. たゞし60日間投与に及ぶと致死量の25分の1量以下, 100分の1量投与に至るまで, 特異的に腎臓に変性壊死性障害が観察されるようになり, 更に90日間に至ると500分の1量投与でも軽微な病変がみられるようになった.

即ち「ニトロフラゾン」は, 長期投与により蓄積作用を現わし慢性中毒症を発現した. このことは急性中毒死のみの観察では全く予想もされないことである.

食品の新鮮保持に関する研究 [1]

飲食添加剤としての「ニトロフラゾン」の価値

荻生三雄, 本多義夫, 長澤弘明, 山田寛司

青山好作, 丹治園枝, 林 長男.

日本医科大学雑誌: 18(3), 6~11, 1951

「ニトロフラゾン」を冷菓子或は生菓子類の防腐の目的に応用した場合の価値を. *In vitro* 或は直接食品に添加して実験的に考察を加えた.

「ニトロフラゾン」の殺菌力と各種スルフォンアミド剤との併用時に於ける殺菌効果について

八田貞義, 青山好作, 丹治園枝 実験治療: 251, 24~26, 1950.

「ニトロフラゾン」の殺菌性という問題について2, 3の検討を加え, N.Fは菌に対し低濃度では発育阻止的に高濃度では殺菌的に作用するが, このものが常温で溶解する濃度で常温で作用させた時は殺菌完了までにかなりの時間(18~24時間)を要した. これに作用温度条件を附加させると, 作用温度の上昇とともに殺菌率は増大した. 更に各種スルフォンアミド剤との併用時の殺菌効果並に協同現象について論じた.

化学療法剤 Gantrosan の試験管内抗菌作用並に生体内濃度

八田貞義, 青山好作, 丹治園枝, 中島富子, 林 長男, 小澤茂子, 中井 毅
山本一朗, 長澤弘明. 生體の科学: 2(3), 114~118, 1950.

4-Dimethyl-5-sulfanilamido-isoxazole の抗菌作用, 作用型及び拮抗物質に対する態度, 並に生体内(血中は尿中)濃度等について究明し, この薬剤の臨床応用を論じた.

2537 Å 波長紫外線 (Sterilamp) についての細菌学的基礎研究

八田貞義, 青山好作, 丹治園枝, 中島富子, 荻生三雄
本多義夫. 東京医事新誌: 67(9), 29~32, 1950,

2537Å 波長紫外線 (Sterilamp) を用い, これに対する細菌の感受性, 紫外線による医薬品及び室内の殺菌並に殺菌, 作用機作等について解析を加えた.

(Chenopodium) 属植物の染色体数 1. アリタソウ, アメリカアリタソウ及び二三近縁種の染色体数
 川谷豊彦, 大野忠郎. 遺傳雜: 25 (5-6), 177-180, 1950.

アリタソウ (*Chenopodium ambrosioides* L.) の染色体数については Kjellmark (1934) が $2n=36$ と報告しているのみで, アメリカアリタソウ (*Ch. ambrosioides* L. var. *anthelminticum* A. Gray) については未だ報告されたものがない. 著者等は 1948 年に前記両植物の染色体数を決定し, さらに 1949 年には形態学的研究を行い, 尙これに関連して若干の *Chenopodium* 属植物の染色体数観察を行った. その結果, 1. アリタソウの染色体数は $n=8, 16, 24$, アメリカアリタソウは $n=32$ なることが初めて著者等によつて決定された. 2. アリタソウ及アメリカアリタソウの染色体数は 8 を基数とする倍数性を示し, 染色体数を異にする各々のものは夫々明瞭な形態的特徴をもつ. 3. 1949 年次の *Chenopodium* 属植物の染色体数を決定した. 即ち, *Ch. ambrosioides* L. var. *fruticosum* 及び *Ch. Botrys* L., は $n=8$, *Ch. album* L. var. *centrorubrum* Makino (アカザ), *Ch. Quinoa* L., *Ch. Bonus-Henricus* L., *Ch. giganteum* Don は $n=16$ であつていづれも 8 を基数とすることが新しく初めて決定された.

ヒアルロニダーゼの酵素化学的研究 (第 1 報) ——ヒアルロン酸の新精製法——

寺山 宏, 山羽 力. 日化・72 (7), 653. 昭和 26,

キトザンは pH 6 より酸性側では正解離高分子イオンとして存在し, ヒアルロン酸と難溶性の沈澱を形成 (一種のムチンクロット) するが, pH 6.5~7.0 よりアルカリ性では不溶性となる. これを利用し臍帯抽出液に pH 5.5 でキトザンを加え生じた沈澱を弱アルカリ性で溶出するとヒアルロン酸のみが抽出される.

此の方法で純度の高いヒアルロン酸を得ることが出来た.

「カタラーゼ」-「高分子電解質」複合系の酵素作用の研究 (第 4 報) ——該複合系に及ぼす温度処理の影響について

寺山 宏, 山羽 力, 草間慶一. 日化: 72 (3), 331, 昭和 26.

一般に P. V. S. K. やマクラミンの如き高分子電解質と結合したカタラーゼは, 加熱処理 (50°, 30分加熱) に依つて, 単独酵素の熱不活性化よりも大なる熱不活性を示すことが明らかとなつた. これは加熱処理によつて両者の結合が更に強固になつた為, その阻害的影響が増大したのではないかとと思われる.

グァノフラシンの吸収及び排泄に就て

山地幸雄, 功刀 博, 東京医誌: 67 (10), 36~38, 昭 25.

グァノフラシンを経口投与及び静注し, その血中濃度並びに尿中濃度を測定した. 尿中濃度は大腸菌・ブドウ球菌の発育を試験管内で阻止するに足る濃度に至つたが, 血中濃度はその濃度には至らなかつた. グァノフラシンの尿中排泄は経口投与後 1~2 時間後迄が最高であつた.