

(326) (芝崎, 照井) ナイトロフラン誘導體に関する研究

況は、圖に示す通りである。citric acid, malic acid 及び其等の安門鹽を添加せるものは何れも緩衝能を増大している。而してこの程度の有機酸の添加は香味の平衡を失うことなく寧ろ改善している。清酒の pH 緩衝能が合成酒の其より大である原因としては勿論、有機酸以外のアミノ酸、無機鹽、等の影響もあるがこゝでは有機酸のみに就て簡単に述べた。

要 旨

清酒中の有機酸の定量法として、Silica gel Column Chromatography によりて溶媒の極性を増加することにより分別定量を行つた。この場合 Silica gel の調製條件によりて有機酸の溶出状況が異なる。乳酸と琥珀酸の分別は KMnO_4 法によりて乳酸を酸化した後、琥珀酸を定量した。香味液の乳酸、琥珀酸、林檎酸、枸橼酸、Pyruvic acid を検出定量した。又有機酸と緩衝能に就て実験を行い枸橼酸、林檎酸の添加は合成酒の pH 緩衝能を増加するのを認めた。

擧筆するに當り本実験の發表を許可して戴いた当社、森社長、平山副社長に感謝すると共に御指導を頂いた會社幹部の方々に深謝致します。

文 献

- 1) 大高: 合成清酒技術部會報, 10, 24 (昭和26年). 2) 川野: 本誌, 31, 438 (1953). 3) BULLEN, W. A. VARNER J. E. and BURRELL R. C.: Anal. Chem. 24, 188 (1952). 4) 佐竹一夫: クロマトグラフ, 167. 5) 山下: 理研酸酵研報, 7, 33 (昭和22年). 6) 飯田, 能勢, 高橋: 合成清酒酒造組合技術部會報, 3, 10 (昭和29). (昭和 29, 5, 31 受理)

ナイトロフラン誘導體に関する研究 ナイトロフラン誘導體の定量

芝 崎 勳・照 井 堯 造 (大阪大學工學部酸酵工學教室)

或種ナイトロフラン誘導體の食品への應用が近年活潑化し、特に最近では、鮮魚の鮮度保持に對し相當規模の應用も行われているが、之等の定量法を確立することは研究上のみならず食品衛生の見地よりも重要である。

ナイトロフラン誘導體の定量法に關しては從來カップ法に依る微生物學的方法^{1) 2)}、アルカリ呈色反應を利用する方法³⁾並びに物理的方法 (Spectrophotometry⁴⁾, Polarography⁵⁾) が報告されているが、何れも實際の試料から來る影響物質に對し特定の處置を講ずる必要がある。この報告は既往の主な定量法につき二、三の検討を行つたものである。

I. 供 試 薬 品

本實驗に供試したナイトロフラン誘導體は次表の如くである。

Abbreviation	Compounds employed	Remarks
F	5-Nitro-2-furfuralsemicarbazone	MP 240°C (decomp.), the product of Ueno Pharm. Co.
Z	5-Nitro-2-furylacrylamide	MP 226°C (decomp.), the product of Ueno Pharm. Co.

II. ナイトロフラゾンの定量

ナイトロフラン誘導體の内 F は最もよく研究せられているが、3種定量法を比較検討した結果は次の様である。

a) 微生物學的定量法

F のカップ法については、宮村¹⁾は常法に依らないで寒天層を薄くして 2.5r/ml 迄検出出来るると云い、菅沼²⁾は重層法を採用して 15 r/ml 迄定量可能であると述べている。この方法は抗菌性に對する拮抗物質やその他の影響物質を充分除去しない限り結果はあまり信頼出来ない、又感度もアルカリ呈色に依る比色法に比し可成り低い (約 1/10) ので良法とは云えない。著者等の行つた實驗條件でも大體 5r/ml が限度であつた (Fig. 1 参照)。

拮抗物質の影響については既往の報告よりも類推される事であるが、茲に興味ある 1 例を挙げると、魚體 (マダラ、イワシ等) 中の F 定量に際し、F を次項に述べる方法で醋酸エチル抽出し水轉溶減壓濃縮の後カップ法にかけた場合、不當に高い値が與えられる。F 不含の對照魚體について同様に操作したのも前と同程度の阻止圓

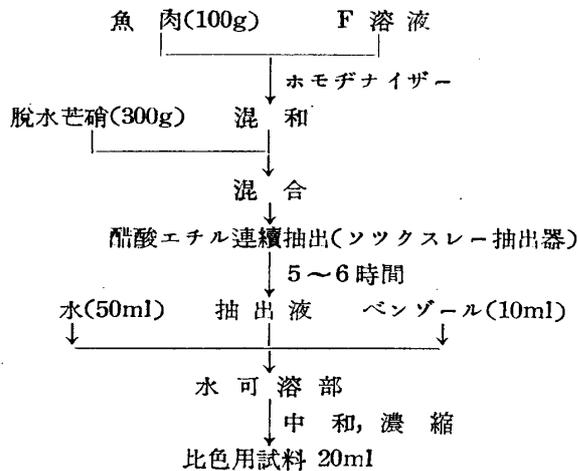
が與えられ、定量不可能となる。遊離不飽和脂肪酸等の影響が考えられる。

b) アルカリ呈色反応を利用する方法

Fのアルカリ呈色反応に依る比色定量については既に高木等³⁾が報告しているが、これも實際への應用に當つては干渉物質の影響をできるだけ取除く必要がある。著者等はこれを用いてF處理鮮魚體中の浸透度測定法を設定している⁶⁾。こゝでは其の後行つた回収實驗並びに數種の適用例を示す。

(1) 回収實驗

既報⁶⁾に準じ、その要點を表示すれば次の様である。



ベンゾールは油分の多い場合のみに使用し、水にて抽出を行う場合は加熱する。

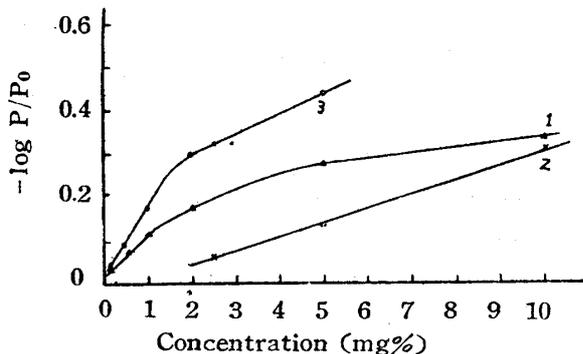


Fig. 2. Standard curves for the colorimetric determination of F and Z.

The method is based on the color reaction of nitrofurazone with alkali, originally found by Takagi.

- (1).....9 ml of F solution was added with 1 ml of N-NaOH, and the color developed was compared by means of electric tube photometer using 420 m μ filter.
- (2).....With Z-furan solution. Reaction mixture was heated for 5 minutes at 100°C for the color development.
- (3).....With F solution color was intensified by the addition of acetone (30 % in reaction mixture).

これと併行してF不含魚肉を上述と同様處理して對照とする。比色用試料は苛性ソーダ溶液を加え(最終濃度N/10となる如く)、呈色度を光電光度計にて420 m μ のフィルターを用いて測定する。對照による吸光が著しい時は、Fの蒸溜水溶液について求めた標準曲線はそのまま使用できず、對照抽出液に既知量のFを加えて検討する

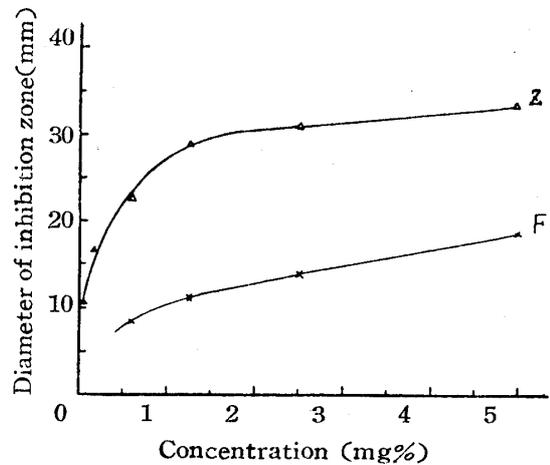
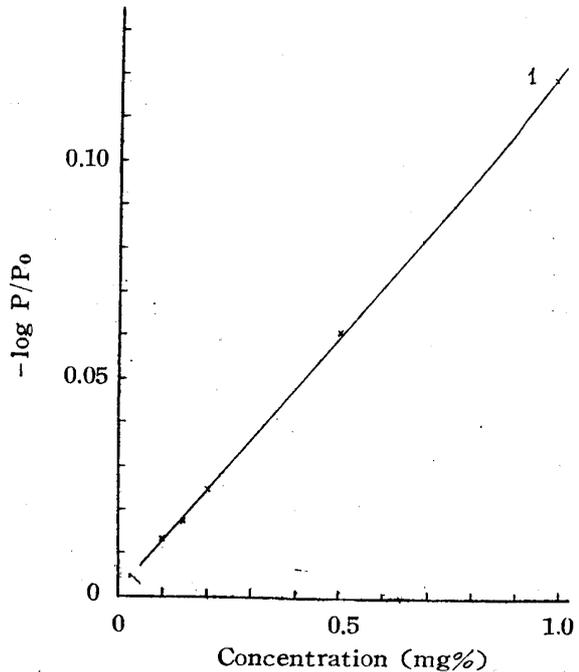


Fig. 1. Microbiological assay of nitrofurand derivatives.

A strain of *B. subtilis* was employed for the cup method. CZAPEK-DOX-agar added with 0.01~0.05% peptone was inoculated with the organism, and the diameter of inhibition zone was measured after 20 hr. incubation at 33°C.



(328)

(芝崎, 照井) ナイトロフラン誘導體に関する研究

必要がある。比色用試料にアセトンを加えると鋭敏度は大となるが、この場合にはアセトン加用標準曲線を用いる。

以上の関係を後述のZの場合と対比して表わせばFig. 2の如くである。F処理鮮魚よりの回収成績はTable 1に示す如くで、90%以上となっている。

醋酸エチルに依る抽出法の代りにスルフォサルチル酸に依る除蛋白法があるが、この場合は回収率が70%以下で前者に劣る。

実験例: 魚肉(マグロ)にF 1定量加え、ホモチナイザーにて充分混和後、約2倍量の10%スルフォサルチル酸を加え、更に混和する。固形分を遠心分離にて除き、上澄液を中和し、アルカリを添加して比色する。1回の処理で約45%回収せられ、2回の処理で約20%回収される。

次に牛乳中のFの検出定量法を上述の醋酸エチル抽出法を適用したが、F 0.25~1.0mg%添加の場合90%以上の回収率が得られた。

2) 適用例

Table 2. にはF処理鮮魚に對してこの定量法を適用した例を示した。

Table 2. Quantity of nitrofurazone absorbed by fish bodies when treated with the drug.

Fishes and treatments	Sample (g)	F concentration
Tunny, preserved for about 38~50 days in contact with ice contg. 3 mg% F.	200~400	0.04~0.06
Sea-bream, preserved for about 10 days in contact with ice contg. 3 mg% F.	100	0.07
Sardine, boiled in F-contg. brine (4mg%) and dried	100	0.10
Sardine, boiled in F-contg. brine (2mg%) and dried	100	0.06
Sardine, boiled in F-contg. brine (5mg%) and dried	50	0.08
Sardine, boiled in F-contg. brine (2mg%) and dried	50	0.07
Sardine, boiled in F-contg. brine (1.5mg%) and dried	50	0.07

以上の外、後述の如き細菌の代謝液中のFの残存量測定にも利用出来ることを認めている。(実験結果省略)

c) Polarography に依る方法

BENDER 及び PAUL 等⁴⁾は Spectrophotometry に依り生體組織中でのFの變化を測定しており、CRAMER⁵⁾は Polarography に依り *Staph. aureus* 代謝液内でのFの還元不活性化を測定している。館⁶⁾は F, furfural semicarbazone, 2-amino-5-nitro pyridine, nitrobenzol の Polarogram を比較し、MCILVAINE の緩衝液(N/10 KCl, アルコール10%含有)を用いた場合、Fの半波電位は pH 4.0で -0.242V, -1.235V; pH = 8で -0.450V, -1.500Vの2段の還元波を示している。

著者等は島津製MR-1型装置を用い、館と同一條件でFの Polarogram を描いた。即ち MCILVAINE 緩衝液(pH 6.0, N/10 KCl, 試料10mlに1%ゲラチン1滴添加)中で種々のF濃度の Polarogram は Fig. 3の如くで、ナイトロ基に起因する第1段の還元波の半波電位(0.1N 甘汞電極基準)は -0.3938V (-0.385~-0.395V)で、フルフラールに起因する第2段の還元波の半波電位は -1.295~-1.325Vを示す。Table 3. より明かか如くF濃度とナイトロ基に依る還元波々高(擴散電流)とは直線關係にある。この關係は加糖アイヨンの場合にも認められFの定量に利用出来る。

一般に被還元性有機化合物は溶液のpHに依り半波電位及び擴散電流が變化するが、MCILVAINE 緩衝液の場合、Table 4の如く第1段還元波々高はpH上昇と共に減少し、半波電位もより負に傾く。第2段波高は逆にpH上昇と共に増大し半波電位はより負となる。緩衝液濃度も一般に影響があると云われるが、F, MCILVAINE

Table 1. Recovery of added F by colorimetric method.

Fish	Sample (g)	F added (mg%)	Recovery (%)
Mackerel-pike	100	0.2	95.0
"	7.5	5.0	101.0
"	20	2.0	94.0
Sea-bream	100	1.0	87.2
"	"	0.1	64.0
Tunny	50	0.1	90.0
"	30	0.5	75.0
"	30	0.36	91.2
"	20	0.18	94.5
"	30	0.08	101.4

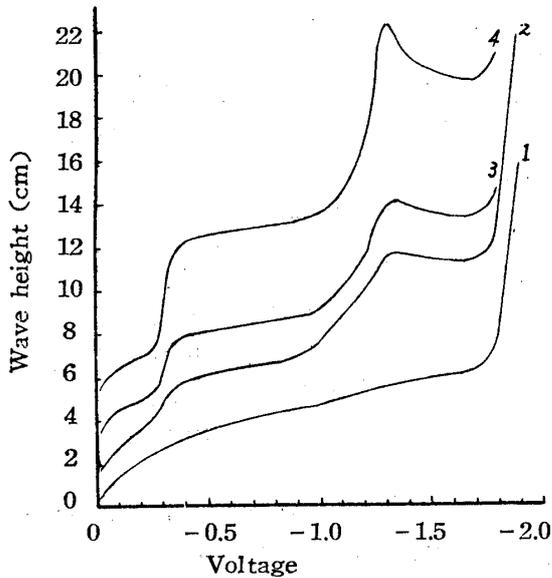


Fig. 3. Polarogram of nitrofurazone. MCILVAINE's buffer solution (pH 6.0) contg. N/10 KCl, galv. sensitivity 1/20, 9°C.
 (1).....Buffer solution alone
 (2).....Nitrofurazone, 0.5mg%
 (3)..... " 1.0 "
 (4)..... " 2.0 "

緩衝液の場合第1段の還元波々高は若干影響せられるが半波電位は次に示す様に

MC ILVAINE 緩衝液	29.0mm	-0.394V
" (2倍濃度)	26.0mm	-0.380V
" (1/2濃度)	26.0mm	-0.385V

殆んど影響を受けない。(F濃度 1 mg%, N/10 KCl, ガルバ感度 1/20)

CRAMER は *Staph. aureus* 代謝液中の F の還元を測定する際、何等豫備処理することなくその儘定量しているが、この様な場合測定時の電解質濃度或は pH を一定に保つことが困難である。依つて之等還元波々高に及ぼす条件の影響を可及的に少なくする爲、著者等は次の二、三の實驗例の如く代謝液より醋酸エチルで F を抽出した後、一定 pH の緩衝液に溶解して F 濃度を求めた。

實驗例 1: pH 7.0 の加糖ブイヨンにて *Ps. fluorescens* を 37°C, 15 時間培養し、これを F 含有加糖ブイヨンに 1/20 量接種、37°C にて静置培養する。1 定時間毎に試料をとり光電光度計 (フィルター, 600m μ) にて發育を測定し、F 濃度は代謝液一定量を 1/2 乃至等量の醋酸エチルにて 3 回抽出し、抽出液は減壓下に蒸發乾涸する。残渣を pH 6.0 の MCILVAINE 緩衝液 (N/10 となる如く KCl を添加) にて加熱溶解して一定量となし 1% ゲラチン溶液を 10 ml 當り 1 滴加え Polarogram を描く。F 濃度を Table 3 より得た標準曲線より求めると結果は Table 5 の如くなる。

實驗例 2: *Es. coli* を供試菌となし、例 1 と同一條件で處理した場合は Table 6 の如くである。

Table 3. Diffusion current and half-wave potential measured at various F-concentrations. 1.2×10^{-9} A/mm; Sensivity 1/20; pH 6.0; 9°C.

Concentration of nitrofurazone mg%	1st reduction wave			2nd reduction wave	
	Height of wave (mm)	Δi_d (μA)	$\pi_{1/2}$ (V)	Height of wave (mm)	$\pi_{1/2}$ (V)
10.0	244.0	5.856	-0.395	-	-
2.0	49.5	1.90	-0.385	78.0#	-1.325
1.0	25.0	0.600	-0.390	45.5#	-1.295
0.5	14.5	0.348	-0.395	44.0#	-1.305

These are the highest value observed.

Table 4. Effect of pH on the polarographic values of F. F 1mg%; 1.2×10^{-9} A/mm; Sensivity 1/20; 9°C.

pH	1st reduction wave			2nd reduction wave		
	Height of wave (mm)	Δi_d (μA)	$\pi_{1/2}$ (V)	Height of wave (mm)	Δi_d (μA)	$\pi_{1/2}$ (V)
2.6	34.5	0.828	-0.245	33.5	0.805	-1.115
3.8	29.5	0.708	-0.305	43.5	1.044	-1.199
5.8	28.5	0.685	-0.377	48.0	1.152	-1.296
6.4	24.0	0.576	-0.427	47.0	1.128	-1.298
7.9	23.9	0.565	-0.452	49.5	1.188	-1.272

Table 5. Reduction of F added in the culture of *Ps. fluorescens*. Sensivity 1/20, 9°C, the organism was cultivated in glucose-bouillon at 37°C.

Time (hr)	Growth (-log P/P ₀)	Sample (ml)	Final solution (ml)	Height of wave (mm)	Residual F (mg%)
0	0.1938	10	20	118.5	9.75
2 1/2	0.2441	20	20	179.0	7.30
6 1/4	0.3098	30	15	134.0#	6.81
20 1/4	1.2596	100	25	13.0	0.41##

Sensitivity 1/50

The value was corrected by standard addition method.

(330)

(芝崎, 照井) ナイトロフラン誘導體に関する研究

Table 6. Reduction of F added in the culture of *Es. coli*. Sensivity 1/20, 9°C.

Time (hr)	Growth (-log P/P ₀)	Sample (ml)	Final solution (ml)	Height of wave (mm)	Residual F (mg%)	Height of wave directly measured with broth (mm)
0	0.1397	20	20	52.0	2.05	48.0
5½	0.1612	20	20	34.0	1.65	31.0
8	0.1707	20	20	26.0	1.05	22.5
23	0.4089	100	30	10.0>	0.15>	0

尙参考迄に、平行実験に於いて、代謝液に緩衝劑 (pH 6.1) 及び KCl を加えて直接測定した波高を記載した。

以上より明かな如く、代謝液に緩衝劑及び KCl を加えた場合は還元波々高は低く現われ、且つ 0.5mg% 以下の測定が困難となる。従つて F の高濃度 (1mg% 以上) の場合は抽出法を用いないでそのまま測定可能であるが、0.5mg% 以下の低濃度の場合は抽出法に依らなければならない。

又細菌が充分發育した代謝液では抽出法に依つても Table 3 の標準曲線の波高より相當低く現われるので添加法に依り補正する必要がある。F の微生物に依る還元消失については、後述の Z と共に後報に譲る。

Ⅰ. Z フランの定量

Z の定量に關して宮村¹⁾は薄層寒天を用いたカップ法について報告しており、この場合 F に比し、より低濃度 (0.125γ/ml) の定量が可能であると云つている。著者等は F 同様三方法を検討した。

a) 微生物學的方法

F と同様の條件でカップ法に依る Z 濃度—阻止直徑の關係は Fig. 1 の如くであり、0.1mg% 程度迄定量可能である。濾紙法に依る場合も同一條件にて 0.1mg% 程度迄定量出来る。(實驗結果省略) しかし適用に當りては Z の發育阻止作用に對する混在物質の影響を充分考慮すべきである。

b) アルカリ呈色反應を利用する方法

Z のアルカリ呈色反應の鋭敏度は F に比し低く、常温では發色する迄長時間を要する。100°C、5分間加熱に依る條件では F と同様に赤色の呈色を示し (F の場合に比し呈色は安定である)、Z 濃度—吸光度は直線關係にあるが、(Fig. 2) 2.5mg% 以下では微弱である。

測定條件: フィルター、420mμ; Z 溶液 9ml + N-NaOH 1ml

c) Polarography に依る方法

Z の Polarography に關しては未だ發表をみないが、F の場合と同一條件で得られた Polarogram は Fig. 4 の如くで、ナイトロ基に起因する第 1 段の還元波とフルフラールに依る第 2 段の還元波が現われる。半波電位 (0.1 N 甘汞電極を基準とする) は前者では -0.371~-0.391V、後者では -1.186~-1.191V となる。pH 6.0 に於ける半波電位及び擴散電流の關係は Table 7 に示す如く Z 濃度は第 1 段還元波波高 (擴散電流) と直線關係にあり、これに依り Z の定量が可能である。

Table 8 は MCILVAINE 緩衝液に於て pH の變化に依る半波電位及び波高の變化を示す。即ち pH の上昇と共に第 1 段波波高及び半波電位は直線的に減少し、第 2 段波は低 pH で現われず、pH 5.0 附近より現われる。

加糖アイヨンの場合も Z 濃度—第 1 段波々高は直線關係にある。

Ps. fluorescens, *Es. coli* の代謝液中の Z の還元經過を前述 F の場合と同様にして検討した結果は Table 9, 10

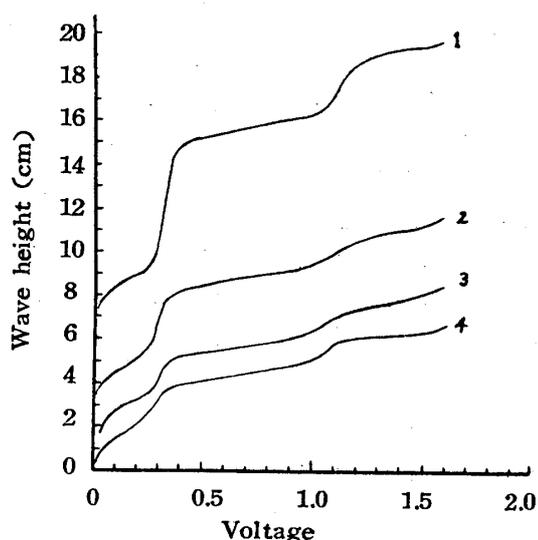


Fig. 4. Polarogram of Z-furan. MCILVAINE's buffer solution (pH 6.0) cont. N/10 KCl; galv. sensitivity 1/20; 9°C.
1: Z furan, 2.0mg%. 2: Z furan, 1.0mg%
3: Z furan, 0.5mg%. 4: Z. furan, 0.33mg%.

Table 7. Diffusion current and half-wave potential at various Z-concentration (1.2×10^{-9} A/mm; Sensitivity 1/20; pH 6.0; 9°C.

Concentration of Z furan (mg%)	1st reduction wave			2nd reduction wave	
	Height of wave (mm)	Δi_d (μ A)	$\pi_{1/2}$ (V)	Height of wave (mm)	$\pi_{1/2}$ (V)
2.0	53.0	1.274	-0.391	23.5	-1.191
1.0	28.5	0.684	-0.381	13.0	-1.186
0.5	14.5	0.348	-0.386	-	-
0.3	12.0	0.288	-0.371	-	-

Table 8. Effect of pH on polarographic values of Z. Z 2.0mg%; Sensitivity 1/20; 1.2×10^{-9} A/mm; 9°C.

pH	Height of wave (mm)	Δi_d (μ A)	$\pi_{1/2}$ (V)	Height of wave (mm)	Δi_d (μ A)	$\pi_{1/2}$ (V)
2.8	67.5	1.620	-0.249	no wave	-	-
3.8	64.0	1.535	-0.309	no wave	-	-
5.0	62.5	1.500	-0.352	27.5	0.660	-1.218
6.6	55.5	1.332	-0.402	32.5	0.780	-1.197
7.9	50.0	1.200	-0.447	33.0	0.792	-1.207

Table 9. Reduction of Z added in the culture of *Ps. fluorescens*. Conditions are analogous to Table 5.

Time (hr)	Growth (-log P/P ₀)	Sample (ml)	Final solution (ml)	Height of wave (mm)	Residual Z (mg%)
0	0.1707	20	20	97.0	3.80
5	0.1739	20	20	91.5	3.55
8	0.2161	20	20	91.0	3.50
22½	1.2596	100	20	19.0	0.13

Table 10. Reduction of Z added in the culture of *Es. coli*. Conditions are analogous to Table 5.

Time (hr)	Growth (-log P/P ₀)	Sample (ml)	Final solution (ml)	Height of wave (mm)	Residual Z (mg%)
0	0.1662	30	15	34.0	1.25
9	0.3872	100	20	8.5	0.10

と同時に対照試料(魚體)に既知量のZを加え上述と同様処理する。

Z処理魚體のZ浸透度は普通0.1mg%以下であるので、魚體試料は500g以上用いねばならない。

以上の方法にて得たZ回収実験成績並びに適用例はTable 11の様である。以上の如く魚體よりのZ回収率は60~70%であるが、回収実験値によつて補正すれば、魚體中の微量Zを大過なく定量出来る。

Table 11. (a) Recovery of added Z by polarography

Fish	Sample (g)	Z added (mg%)	Recovery (%)
Sardine (boiled and dried)	50	1.0	63.5
"	400	0.1	59.2
Sea-bream	200	0.2	70.0
Cuttlefish	300	0.1	75.0

の如くで、F同様抽出法にて測定できる。然しこの場合もpH及び影響物質の考慮が必要であり添加回収実験が望ましい。

Zにて処理せる魚體中のZ浸透度については次の如き方法を採用し、Polarographyに依り求めた。

Z処理魚體を細片となし、これに4倍量以上の95%アルコールにて浸漬後濾過し、残渣は約2倍量のアルコールにて2回抽出、洗滌する。抽出液及び洗滌液を集め、40°C以下でアルコールを減壓蒸溜し、残渣は中和した後(試料の½程度となす)、½量の醋酸エチルで3回抽出し、抽出液は減壓蒸発し、残渣を多量の熱水で3回以上抽出する。水溶液は減壓蒸発して一定容(試料の½~½)となしPolarogramを描く。この際緩衝劑としてMCILVAINEの處方を適用しpHを一定となし、更にN/10となる様にKClを加える。これ

(332)

(芝崎, 照井) ナイトロフラン誘導體に関する研究

(b) Quantity of Z absorbed by fish bodies when treated with the drug.

Fish	Treatment with drug	Z added (mg%)	Z concentration (mg%)
Cuttlefish	-	0.20	0.13
	+*	-	0.07**

* soaked in 3% brine solution containing 5mg% Z and 0.5% acetic acid.

** corrected by a factor deduced from the recovery experiments.

IV. F-Z 混合物の定量

ZはFに比しアルカリ呈色反応が鋭敏でなく、F-Z混合物のアルカリ呈色反応はZ含有量2mg%以下では殆んど影響がない。F-Z混合物のPolarogramのニトロ基の還元波々高は両者の和として表われる。例えばMCILVAINE緩衝液(pH 6.0)にN/10 KClを加えた溶液では(ガルバ感度 $\frac{1}{10}$)次の様になる。

F 2.0mg%	48.5mm
Z 1.0mg%	26.5mm
F 2mg% + Z 1mg%	75.0mm

従つて次の如くして兩者混合物の定量が出来る。即ち混合物をMCILVAINE緩衝液(pH 6.0, N/10 KCl加用)に溶解し濃度を0.5~2.0mg%となし、既述の如くPolarogramを描く。得られたナイトロ基の還元波々高よりアルカリ法で求めたF濃度相當の波高

を減じた波高よりZの濃度を知るのである。Fは混合物をF濃度0.1~2.0mg%に稀釋してアルカリ呈色反応によつて求める。

各種混合比のF-Z混合物について行つた實驗例はTable 12に示す。

これによりF對Zの比率 $1\frac{1}{4}$ ~ $\frac{1}{4}0$ の間にて、標準誤差約6%にて各々の定量が出来る。

實驗方法: 各種比率(F/Z= $1\frac{1}{4}$, $\frac{5}{4}$, $\frac{3}{4}$, $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{8}$, $\frac{1}{10}$)の混合物を調整し、これをMCILVAINEの緩衝液(N/10 KCl含有)に溶かしてPolarogramを描き、蒸留水にとかしてF濃度をアルカリ呈色法で測定する。

V. 考察及び要約

ナイトロフラン誘導體の中、現に食品添加物として取上げられているナイトロフラズン(F)並びに5-ニトロフリルアクリルアミド(Z)の定量法について、(1)微生物學的方法(2)アルカリ呈色反応を利用する方法及び(3)Polarographyを比較検討した。

何れの方法によるも不純物の影響をできるだけ除く様に前處理する必要がある。

(1)は寒天上の擴散並びに抗菌作用の點よりペニシリン等に比し、發育阻止圓の直徑が小さいので寒天層を薄くしたり、培地pHを低くしたり、或いは榮養物の少い合成培地を用いねば感度が低い。著者等は本法を魚體の醋酸エチル抽出法に依り得られたF含有溶液に適用したが、抽出液中に他の抗菌作用を示す物質が混在し、結果が不明瞭となり、且つ定量限界が(2)に比し10倍も高濃度であるので本法は適用出来ない。併し抗菌力の高いZの場合は適用可能と思われる。

(2)はFの場合既に報告した様に適當な抽出法を採用することに依り0.1mg%以下の含有量の試料にも適用出来るが發色不純物の除去が不十分な場合には當然信頼度が低下する。Zに對しては本法は殆ど適用不能である。

(3)の方法は何れもニトロ基に起因する還元波々高に依り0.3~0.5mg%迄測定可能である。この場合は電解質濃度、pH等の影響のみならず他の影響物質をも考慮し、有機溶劑による抽出法を適用すべきであり、CRAMERの行つた様な細菌代謝液其儘の適用では著しく不正確となる。

以上の諸結果を魚體、細菌代謝液等の試料への適用例と共に記載し、尙(2)(3)兩法を組合せて成るF-Z混合

Table 12. Determination of nitrofurans in F-Z mixture.

Conditions are analogous to Fig. 2 and Fig. 3.

Drug concentrations made up (mg %)		Drug concentrations found (mg %)	
F	Z	F	Z
1.0	0.1	0.94	0.09
1.0	0.5	0.96	0.19
1.0	0.5	0.96	0.47
1.0	1.0	0.98	0.99
0.5	1.0	0.50	1.05
0.2	1.0	0.22	0.97
0.1	1.0	0.12	0.98
1.0	2.0	1.00	1.97
0.25	0.5	0.26	0.51

物の定量法をも考案した。

(本研究の1部は昭和29年日本農藝化学會大會(4月1日)にて発表済)

文 献

- 1) 宮村: 日本ペニシリン學術協議會第45回研究會講演(昭和25年9月22日). 2) 菅沼: J. Antibiotics, III-13, 881 (1950). 3) 高木, 宇野: 藥學研究, 20 (2), 28 (1948). 4) PAUL, M. E., ASTIN, F. L., PAUL, M. F., and ELLS, V. R.: J. Biol. Chem., 180, 345 (1949), BENDER, R. C., and PAUL, H. E.: J. Biol. Chem., 191, 217 (1951). TAILOR, J. D., PAUL, H. F. PAUL, M. F.: J. Biol. Chem., 191, 223 (1951). 5) CRAMER, D. L.: J. Bact., 54, 119 (1947). 6) 照井等: 生産と技術, 3 (1), 31 (1951). 7) 山田: 私信. 8) 館: 藥學研究, 20 (2), 38 (1948). (昭和29, 6, 3受理)

ビタミンB₁₂含有飼料について

HESTER, A.S. and WARD, G.E.: Ind. Eng. Chem. 46, 238 (1954)

本報告はビタミンB₁₂(以下B₁₂)含有飼料製造に関する米國の現況を解説している。米國では現在10數社によりB₁₂が生産されており, B₁₂單獨の製造の場合と抗生物質の副産の場合とがある。使用菌種は放線菌, 細菌で, Sewage sludge よりのB₁₂製造も工業化試験が行われている。

Dawe's Laboratories, Inc. に於ける *Streptomyces olivaceus* を用いた B₁₂ 含有飼料製造工場操作を詳述しているが(5200ガロンタンク使用), 基本培地としては Distillers solubles 4.0%, Dextrose 0.5~1.0%, CaCO₃ 0.5%, CoCl₂·6H₂O 1.5~1.0 ppm が用いられ, Broth 中のB₁₂生産量は大體1.0~2.0mcg/mlである。醗酵終了液(固形物3%)は真空濃縮して固形物15~20%のシラップとなし, 次に2重円筒型乾燥機にて水分約5%迄乾燥する。粉碎された製品はポンドあたり B₁₂ 10~30mg 含有する外種々の栄養物(蛋白質約35%, ナイアシン, パントテン酸, ビリドキシン, チアミン, リボフラビン)を含有する。その他實驗室的な問題, 飼料の將來性についても論じている。

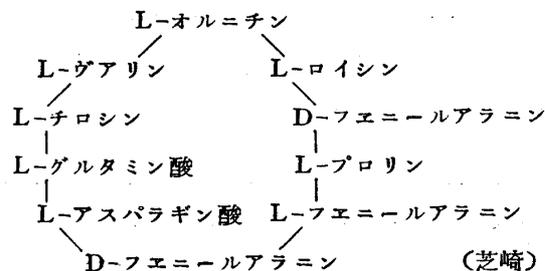
(芝崎)

Tyrocidine A の構造

PALADINT, A and CRAIG, L.C.: J.A.C.S., 76, 688 (1954)

CRAIG 等(J.A.C.S., 74, 4019 (1952))は *B. brevis* の生産する抗菌性ポリペプチド Tyrocidine の純化並にその性質を研究しているが, こゝではその中の1成分たる Tyrocidine A の構造を決定した。即ち Tyrocidine A 中のアミノ酸の配列を決定する爲に部分的加水分解を行い, 生成物を Countercurrent distribution, Ion exchange, Paper chromatography に依り区分した。各区分より多くのペプチドが単離

せられ, そのアミノ酸配列が決定され Tyrocidine A の構造式として次式が提案されている。



フラシンの動物組織のクエン酸生成の阻害

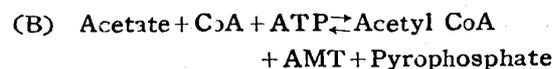
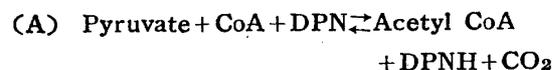
PAULE, M.F., et al: J. Biol. Chem., 206, 491 (1954)

既にフラシンは動物組織での焦性ブドウ酸の酸化反応を阻害することが認められているが, 筆者等は同じく動物組織を用い, そのクエン酸生成反応に対する影響を検討している。

無酸素的条件下で testis tissue に於けるオキサール醋酸(OAA)よりクエン酸の生成に對し種々のナイトロフラン, SH阻害劑, 抗生物質, 芳香族ナイトロ化合物の影響を比較した。その結果フラシン等のナイトロフランは0.05~0.1mg/lの低濃度で特異的に阻害し且つこの阻害作用は可逆的であることを認めた。

更にフラシン等のナイトロフランは次に示す(A)の反応を阻害するが(B)の反応並に Acetyl CoA よりスルファニルアミド或は OAA へのアセチル基轉移は阻害されないことが示された。

以上の諸結果よりフラシンは焦性ブドウ酸より Acetyl CoA の無酸素的生成に對し阻害作用を示すと結論している。



(芝崎)