intermediary metabolism of the vegetables.

2) In the present paper, further distribution of vitamin B₁-decomposing enzyme, thiaminase, was studied. The results of the experiments with 50 γ vitamin B₁ are as shown in Table 1~3. Several experiments were repeated by treating the raw material in boiling water at pH 5~8 for 2 mins., and it was confirmed that the activities in edible vegetables may be extremely diminished in the ordinary case.

海藻成分の抗菌性について (第 3 報)

斎藤 要, 鮫島宗雄 (鹿児島大学水産学部)

昭和 30 年 2 月 12 日 受理

Studies on the Antibiotic Action of Algae Extracts. Part 3.

By Kaname SAITŌ and Muneo SAMESHIMA (Faculty of Fisheries, University of Kagoshima)

海藻成分の抗菌性に関する研究としては、白浜⁽¹⁾が褐藻類に含まれる色素 Phycophaein は好氣的黴類の発育を促進するが、嫌氣的黴類に対してはその発育を抑制すると発表している。最近 (1953 年) MAUTNER 等⁽²⁾ は紅藻類フジマツモのエーテル抽出物が数種の細菌に対し弱い抗菌性を有することを認め、その効力は同抽出物中に含まれる極めて不安定なブロムフェノールによるものであろうと推察している。著者の 1 人⁽³⁾は先に紅藻類イソムラサキより 1 種の安定な結晶性ブロムフェノールを分離し、その性質並びに薬理作用について報告したが、その際各種海藻のアルコール抽出物の FeCl₃ 反応を検討した結果、イソムラサキ及びモロイトグサでは顕著な青緑色を呈するのに対し、フジマツモの抽出物は単に褐色を呈するのみであることを確認している。MAUTNER 等が推定するブロムフェノールは未だ単離されていない故その性質は全く不明であるが、前述の呈色反応並びに安定度の相異より考え、著者等がイソムラサキより分離したブロムフェノールとは異なるようにも思われる。かような見地より著者等の分離したブロムフェノール及び各種海藻のアルコール可溶性区分の抗菌性について再検討し、更にワカメ、コンブの如き食用海藻の水溶性区分にも予想外の抗菌性を認めたのでこれらの結果について報告する。

実 験 の 部

供試海藻： 試料に供した海藻は 1953 年 7 月から 12 月にわたり採集したものである。

ア ナ ア オ サ	<i>Ulva pertusa</i>	鹿児島産	フジマツモ	<i>Rhodomela larix</i>	北海道産
ヒ ト エ グ サ	<i>Monostroma</i> sp.	"	カイニンソウ	<i>Digenea simplex</i>	鹿児島産
ミツイシコンブ	<i>Laminaria angustata</i>	北海道産	イソムラサキ	<i>Symphyocladia gracilis</i>	北海道産
ワ カ メ	<i>Undaria pinnatifida</i>	"	モロイトグサ	<i>Polysiphonia morrowi</i>	"

供 試 細 菌：

<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Micrococcus pyogenes</i> var. <i>aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Bacillus mesentericus</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	

Fig. 1. Fractionation of samples.

供試区分： 各海藻成分の抽出法の大要を示すと Fig. 1 の如くである。各海藻より各 Frac. I 及び Frac. II. を分離し、イソムラサキよりは更に FeCl₃ 反応の顕著な黒褐色樹脂状物質及び結晶性ブロムフェノールを分離し抗菌性を検討した。海藻中には特異的に I 及び Br を多く含む種類があり、これらの元素は抗菌性と密接な関係があるとも考えられるので、参考までに供試海藻中の含量、FeCl₃ 反応並びに供試区分を示すと Table 1 の如くである。

A. 水溶性区分 (Frac. I の抗菌性)

俗に昆布巻或は昆布より作つた調味料が腐敗し難いと言われているが、先ず Frac. I について液体培地稀釈法を試みた。即ち 1% ペプトン水を培地とし各試料共

Table 1. Yield of Each Fractions and Contents of I and Br in Samples. (g/100 g of dry matter)

Samples	Yield		FeCl ₃ react.	I	Br
	Frac. I	Frac. II			
<i>Ulva pertusa</i>	8.1 (60.4)	1.5	—	0.00	0.02
<i>Monostroma</i> sp.	10.0 (44.4)	1.5	—	0.00	0.02
<i>Lamminaria angustata</i>	8.1 (49.1)	1.5	—	0.34	0.11
<i>Undaria pinnatifida</i>	11.9 (54.1)	1.4	± B	0.12	0.09
<i>Rhodomela larix</i>	10.6 (60.0)	1.0	—	0.02	3.14
<i>Digenea simplex</i>	10.4 (65.0)	0.4	± B	0.01	0.24
<i>Symphocladia gracilis</i>	10.6 (59.3)	1.1	+ G B	0.03	4.57
Resinous phenolic substance		0.6	+ G B	0.00	21.4
Crystal " " " "		0.08	+ G B	0.00	35.2

() : % of ash in Frac. 1 B Brown, GB : Greenish blue

Table 2. Inhibitory Activity of Frac. I. (Dilution method)

Samples	Conc.	<i>B. subtilis</i>		<i>E. coli</i>	
		24hr.	48	24	48
<i>Ulva pertusa</i>	1/ 200	—	+	—	—
	1/ 400	+	+	+	+
<i>Monostroma</i> sp.	1/ 200	+	+	+	+
	1/ 400	+	+	+	+
<i>Lamminaria angustata</i>	1/ 200	—	—	—	—
	1/ 400	—	+	—	±
	1/1,000	+	+	—	+
<i>Undaria pinnatifida</i>	1/ 200	±	+	—	+
	1/ 400	+	+	+	+
	1/1,000	+	+	—	+
<i>Rhodomela larix</i>	1/ 200	—	—	—	—
	1/ 400	—	+	—	±
	1/1,000	+	+	—	+
<i>Digenea simplex</i>	1/ 200	+	+	+	+
	1/ 400	+	+	+	+
Inorg. frac.	1/ 50	+	+	+	+
K I	1/1,000	±	+	+	+
	1/2,000	+	+	+	+
K Br	1/1,000	+	+	+	+

Table 3. Inhibition Zone of Frac. I. (Paper disk method, Dia: mm)

Samples	<i>B. subtilis</i>	<i>B. mesent.</i>	<i>M. aureus</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>E. coli</i>
<i>Ulva pertusa</i>	12	11	23	18	15
<i>Monostroma</i> sp.	10	10	15	11	—
<i>Lamminaria angustata</i>	16.5	15.5	27	21	15
<i>Undaria pinnatifida</i>	21	17	27	22	18
<i>Rhodomela larix</i>	18	15	29	25	19.5
<i>Digenea simplex</i>	10	10	17	11	—

Fig. 2. Inhibition zone of Frac. I by paper chromatography

れる。

P. 水不溶性区分 (Frac. II) の抗菌性

水不溶性区分 (Frac. II) についても A. と同様ペプトン水使用による液体培地稀釈法で抗菌性を観察した。この区分は葉緑素その他の樹脂状物質を多量に含み、培地中に完全に溶解させることは困難で幾分懸濁させた状態で行った。48 時間培養後対照とよく比較した結果は Table 4 の如くである。抗菌性はイソムラサキの区分に

一定濃度になるよう添加し、各に供試細菌を 1 白金耳ずつ接種し、36° で 24~48 時間培養し細菌の発育状況を観察した結果は Table 2 の如くである。

一方同一試料の 5% 水溶液を使用し、紙円板法による細菌発育阻止帯の直径を測定した結果は Table 3 の如くである。即ち稀釈法ではヒトエグサ、カイニンソウに比べコンブ、フジマツモの水溶性区分には明らかに抗菌性が認められ、特に *E. coli* に対しては、1/1,000 濃度で 24 時間後にも尚発育阻止作用を示す予想外の結果を得た。又紙円板法でもワカメ、コンブ、フジマツモに比較的強い抗菌性が認められ、液体培地に於ける観察と同様な結果である。細菌の種類に対しては、*M. aureus*, *P. vulgaris*, *E. coli*, *B. subtilis*, *B. mesentericus* の順に発育を抑制した。この区分には Table 1 に示す如く 50% 前後の無機物を含むが、この無機物区分は 1/50 濃度でも細菌の発育を阻がないことを確認している。尚コンブ、フジマツモは各 I 及び Br を多く含む種類であるが、両者の供試区分の遊離 I 及び Br の検出反応は陰性であつた。又対

照として KI 及び KBr の細菌発育阻止作用を検討した結果も、これらが水溶性区分の示す抗菌性の本態と思われる程強力なものではなかつた。

ペーパクロマトグラフ法により、この水溶性区分をブタノール：醋酸：水=4：1：1 で展開させ、濾紙を紙円板法は準じて寒天培地上に添布し *B. subtilis* 及び *B. mesentericus* の抗菌像の R_F 値を検討した結果は Fig. 2 の如く R_F 0.35 附近に最も大きな像が認めら

Table 4. Inhibitory Activity of Frac. II (Dilution method)

Samples	Conc.	<i>subtilis</i> B.	<i>mesent.</i> B.	<i>vulgaris</i> P.
<i>Ulva pertusa</i>	1/ 200	+	+	±
	1/2,000	++	+	+
<i>Monostroma</i> sp.	1/ 200	+	++	±
	1/2,000	++	++	+
<i>Lamminaria angustata</i>	1/ 200	-	-	-
	1/2,000	-	+	-
<i>Undaria pinnatifida</i>	1/ 200	-	-	±
	1/2,000	-	+	+
<i>Rhodomela larix</i>	1/ 200	-	-	-
	1/2,000	-	+	±
<i>Digenea simplex</i>	1/ 200	+	+	±
	1/2,000	+	+	+
<i>Symphyocladia gracilis</i>	1/ 200	-	-	-
	1/2,000	-	-	±

Table 5. Antibiotic Activity of Phenolic Substance in *Symphyocladia gracilis* (Dilution method in liquid medium)

Bacteria	Culture hours	Cont.	1/10 ⁵	1/2×10 ⁴	1/10 ⁴	1/2×10 ³	1/10 ³	1/2×10 ²
<i>B. subtilis</i>	24	++	+	±	-	-	-	-
	48	++	+	+	+	-	-	-
<i>B. mesentericus</i>	24	++	±	-	-	-	-	-
	48	++	+	-	-	-	-	-
<i>M. aureus</i>	24	++	+	+	-	-	-	-
	48	++	+	+	+	-	-	-
<i>P. vulgaris</i>	24	++	+	+	+	±	-	-
	48	++	+	+	+	+	+	-
<i>E. coli</i>	24	++	+	+	+	+	-	-
	48	++	+	+	+	+	+	-

に対する作用は比較的弱い結果を得た。MAUTNER 等はブロムフェノールを含むと推定するフジマツモのエーテル抽出物の抗菌性を、円筒平板法により検定している故、抗菌性の強弱を直接比較出来ないが、氏等自身抗菌性は弱く、しかもその抗菌性は極めて不安定で 70° で 1 時間以内に破壊されると述べているが、著者の分離したブロムフェノールは安定で抗菌性も強く、氏等の推定する物質とは異なるものと考えられる。

要 約

コンブ、ワカメの如き食用海藻並びにフジマツモの水溶性区分が、*E. coli* 等の細菌に対しペプトン水中 1/1,000 濃度で予想外の発育阻止作用を示す結果を得た。これらの海藻は I 或いは Br を多く含む種類であるが、水溶性区分中の抗菌性は無機物には弱く、又この水溶性区分をブタノール：醋酸：水=4：1：1 で展開すると R_F 0.35 附近に抗菌像が認められた。一方水不溶性区分も *B. subtilis*, *B. mesentericus* に対し発育阻止作用があり、特にイソムラサキの該当区分が強かった。

イソムラサキより分離したブロムフェノール区分 (Fig. 1 参照) は *B. mesentericus* に対しペプトン水中 1/10 万で抑制作用を示し、本物質は MAUTNER 等がフジマツモに存在すると推察している物質よりも抗菌性が強く、且つ安定な物質であると考えられる。

終りに臨み本実験に御指導を賜った北海道大学農学部中村幸彦教授、元本学吉村貞彦教授に感謝の意を表する。

- (1) 白浜 潔：札幌農学会報，35，65(1942)。
- (2) MAUTNER H. G., GARDNER G. M., and PRATT R.: *J. Am. Pharm. Assoc.*, 42, 294 (1953)。
- (3) 中村幸彦，斎藤 要：日化誌，72，992，(1951)。
- (4) 梅沢純夫：抗菌性物質 (1954) 培風館。

Summary

80% MeOH extracts, which were obtained from *Lamminaria angustata*, *Undaria pinnatifida* and *Rhodomela larix*, showed inhibitory activity against several species of bacteria,

The water soluble fraction had a inhibitory power on the growth of *M. aureus* and *E. coli* at the dilution of 1/1,000 in a liquid medium; on the other hand, the water insoluble fraction was effective on *B. subtilis* and *B. mesentericus*.

最も強く現れ、次いでフジマツモ、コンブを上げることが出来る。又供試細菌は *P. vulgaris* よりも *B. subtilis*, *B. mesentericus* の方が強く抑えられた。

C. ブロムフェノールの抗菌性.

Fig. 1 に示す操作によりイソムラサキから分離したブロムフェノールの抗菌性を、上記と同様ペプトン水使用による液体培地稀釈法により実験した。このブロムフェノールは中性又は酸性の水には極めて難溶であるが、稀 Na_2CO_3 水溶液には易溶であり、これを稀 HCl で pH 7.0 に移した場合使用に当り何等の支障も無かつた。この結果は Table 5 の如く *B. mesentericus* は 24 時間後に於て 1/10 万の濃度でその発育を抑制されているが、*P. vulgaris*, *E. coli*

And then, a brom phenolic substance, which was isolated from *Symphyocladia gracilis*, inhibited the growth of *B. mesentericus* strongly at the dilution of 1/100,000 in a liquid medium.

食 品 の 防 黴 に 関 す る 研 究 (第 4 報) Polarograph による食品中の Vitamin K₃ の定量

今 井 寛, 岡 智 (広島県食品工業試験場)

昭和 30 年 2 月 15 日 受 理

Studies on the Mold Prevention of Food Products. Part 4. Polarographic
Determination of Vitamin K₃ in Food Products

By Hiroshi IMAI, and Satoru OKA (Food Industrial
Experiment Station, Hiroshima Prefecture)

緒 言

食品用防黴剤としての vitamin K₃ (2-methylnaphthoquinone 以下 V.K₃ と略記する) は, 現在知られているこの種のもののうちでは, 最も抗菌力の強いものの一つであるが^(1,2,3,4,5) これは光の照射に対して不安定であり, 多量の場合は基質を黄色に着色し, 且つ刺激味を与え, 更に水に難溶性で取扱いが不便である等の理由からその利用は進んでいない. 併しながら naphthoquinone 類の抗菌力は pH による変動が少く⁽⁶⁾, とくに低酸食品には適切な使用により有効な効果を期待出来るものである. この有効な使用法の検討のためには, 製造工程中及び貯蔵中の食品内に於ける防黴剤として添加した V.K₃ の安定度及びその難溶性に基づく分布の不均一度等の検討, 換言すれば添加した V.K₃ の量的な追跡が必要である.

従来 V.K₃ の定量法としては, SCUDI 等⁽⁷⁾ による cysteine とアルカリによる発色を用いる方法の他に種種の比色法^(8,9,10) が報告されているが, ポーラログラフによる定量はこれを見ない. 唯 V.K₁ については HER-SHBELG 等⁽¹¹⁾ の報告がある.

著者等はポーラログラフによる食品中の V.K₃ の定量を試み検討の結果定量が可能であることを認めた.

実 験 の 部

I. V.K₃ の Polarograph Fig. 1 に示した如く, pH 7.0 に緩衝された 0.1 N KCl, 20% イソプロパノール水溶液中の V.K₃ は -0.25 volt vs. S.C.E. に半波電位を示す還元波を与える. 波形解析によつて RT/nF の値を求めると 0.037 となり, $n=1.6$ が得られるが, これは理論値 $n=2$ よりはやや低い値である. 併しながら波形は対称形を示し, 又 Fig. 2 に示す如

Fig. 1. Polarogram of $5 \times 10^{-4} M$ Vitamin K₃ in Buffered Solution (pH 7.0) containing 0.1 N Potassium Chloride and 20% Isopropanol (Sensitivity of Galvanometer 1/10)

Fig. 2. Relation between pH and Half Wave Potential of Polarogram of Vitamin K₃