シン比色法により活性剤残存量を測定し作用量との差を求め、吸着量を算出した。また菌体は水 10 ml に懸濁させ酵母エキスを加え Reader 培地 (10 ml) に接種して 30°, 18 または 42 時間静置培養し増殖度を測定した。

文 献

- 1) H. N. Glassman: Bact. Rev. 12, 105 (1948);
C. E. Dunn: "Advances in Food Research" Vol.

2, P. 144 (1949); C. A. Lawrence: "Surface Active Quarternary Ammonium Germicides" P. 113 (1950), Acad. Press Inc.; A. M. Schwartz et al.: "Surface Active Agents and Detergents" Vol. 2, P. 204 (1957), Intersci. Publ. Inc.

- 2) 青木, 岩山: 薬誌. 79, 522 (1959).
- 3) 青木, 岩山: 同上 79, 526 (1959).

パン酵母に対する陽イオン界面活性剤の 増殖阻害について (第2報)

界面活性剤の酵母菌体への吸着度と増殖阻害度との関連性

(昭和 38 年 1 月 30 日 受 理)

川崎 近 太 郎* 岡 田 幸 藏*

難 波 義 郎** 山 田 博 光**

Growth-Inhibition of Baker's Yeast by Cationic Surface-Active Agents (II) Correlation between Adsorption of Surface-Active Agents on Yeast-Cells and Growth-Inhibition of the Yeast

Chikataro KAWASAKI*, kozo OKADA*, Yoshiro NAMBA**
and Hiromitsu YAMADA**

(* School of Pharmacy, Osaka University: Toyonaka-shi;

** Research Laboratory, Nippon Oils and Fats Co., Ltd.: Amagasaki-shi)

Adsorption of germicidal quarternary ammonium salts on yeast-cells and their effects to growth of the yeast were simultaneously observed by the authors' method.

- 1) Lauryldimethyl- β -hydroxyethylammonium salts which consist of different kinds of anions, were shown to have no significant difference among the compounds both in their adsorption and growth-inhibition.
- 2) Both a) alkylidimethylbenzylammonium salts and b) alkylidimethyl- γ -chloro- β -hydroxypropylammonium salts indicated the tendency of increasing adsorption on yeast-cells in accordance with the increase of alkyl chain-length from lauryl to stearyl. Growth-inhibition of the yeast, by a) type compounds, was proved to be approximately proportional to the chain-length, whereas the growth-inhibition by b) type compounds was shown to be contrary to the chain-length.
- 3) Among 5 kinds of lauryldimethylammonium chlorides which contain benzyl or alkyl radicals, γ -chloro- β -hydroxypropyl compound was proved to be the highest both in adsorption on yeast-cells and growth-inhibition. The growth-inhibition of yeast was observed by other compounds in a descending order of benzyl, β -hydroxyethyl, methyl and β -hydroxypropyl radicals.

(Received January 30, 1963)

* 大阪大学薬学部: 豊中市刀根山6-5

** 日本油脂 K. K. 油脂研究所: 尼崎市大浜町1-56

前報¹⁾で酵母菌体に対する陽イオン界面活性剤（以下活性剤と略記）の吸着度と菌の増殖阻害度の測定法について報告したが、本法ではこの方法を用いて種々の dimethylammonium 型活性剤のパン酵母菌体に対する態度を検討し、活性剤の菌体への吸着度と菌の増殖阻害度との関連性を追究した結果を報告する。

実験の部

実験に使用した活性剤を第1表に示すが、いずれも

dimethylammonium 塩である。

I カチオン部分におけるアルキル置換基の影響

Bz および Ep 系の2種の活性剤を用いて活性剤のカチオン部分におけるアルキル置換基を変えると、菌体の増殖阻害度にどのような影響を与えるか検討した。アルキル基として lauryl (C₁₂), myristyl (C₁₄), cetyl (C₁₆) および stearyl (C₁₈) の4種類について比較したが、Bz 型活性剤では第1図のごとく各活性剤とも 10⁻²mM 添

第1表 使用した陽イオン界面活性剤の種類

種類	名 称	R ₁	R ₂	X	略 名
Bz	Alkyldimethylbenzylammonium chloride	C ₁₂ H ₂₅ , C ₁₄ H ₂₉ C ₁₆ H ₃₃ , C ₁₈ H ₃₇	CH ₂ ⌞⌟	Cl	L-Bz, M-Bz C-Bz, S-Bz
Ep ²⁾	Alkyldimethyl-γ-chloro-β-hydroxy-propylammonium chloride	C ₁₂ H ₂₅ , C ₁₄ H ₂₉ C ₁₆ H ₃₃ , C ₁₈ H ₃₇	CH ₂ CH(OH)- CH ₂ Cl	Cl	L-Ep, M-Ep C-Ep, S-Ep
Tri	Lauryltrimethylammonium chloride	C ₁₂ H ₂₅	CH ₃	Cl	L-Tri
Po ³⁾	Lauryldimethyl-β-hydroxy-propylammonium chloride	C ₁₂ H ₂₅	CH ₂ CH(OH)- CH ₃	Cl	L-Po
Eo ⁴⁾	Lauryldimethyl-β-hydroxyethylammonium salt	C ₁₂ H ₂₅	CH ₂ CH ₂ OH	F, Cl, Br, I H ₂ PO ₄ , ClO ₄ CH ₃ CO ₂ , C ₁₁ H ₂₃ CO ₂ , C ₆ H ₅ CO ₂	L-Eo-A

加時に完全に菌の増殖を抑制し、10⁻⁵mM の添加ではほとんど影響を示さなかった。10⁻⁸~10⁻⁴mM ではアルキル基の種類によって増殖抑制制度に差がみられ、抑制効果は C≒S>M>L の順で炭素数の増加とともに増大する傾向を示し、とくに M および L の 10⁻³mM 添加

時には42時間後に完全な阻害の回復がみられた。また Ep 型活性剤では第2図のごとく Bp 型でみられた現象

第1図 アルキル置換 Bz 型活性剤 (R-Bz) の菌体に対する増殖抑制制度

第2図 アルキル置換 Ep 型活性剤 (R-Ep) の菌体に対する増殖抑制制度

とはまったく逆にその増殖抑制力は $L > M \geq C > S$ の順でアルキル鎖長の短くなるにつれ増大する傾向を示した。一方これら Bz および Ep 型活性剤の菌体への吸着度は第2表および第3表のごとくで、いずれもアルキル鎖長の増加につれて菌体への吸着量も増加する傾向にあった。すなわち Bz 型化合物では菌体への吸着度と菌の増殖抑制力とはほぼ平行関係にあり、アルキル鎖

第2表 アルキル置換 Bz 型活性剤 (R-Bz) の菌体への吸着

(数値: 添加量に対する吸着量の比率,)
(すなわち吸着率, %)

種類 (R) \ 活性剤添加量 (mM)	5×10^{-4}	1×10^{-3}	1×10^{-2}
L	15	32	10
M	81	63	25
C	96	93	24
S	98	82	9

第3表 アルキル置換 Ep 型活性剤 (R-Ep) の菌体への吸着

(数値: 吸着率, %)

種類 (R) \ 活性剤添加量 (mM)	5×10^{-4}	1×10^{-3}	1×10^{-2}
L	63	69	33
M	68	73	20
C	81	87	28
S	91	95	33

長の増大につれて両者も増加したが、Ep 型化合物では逆に菌体への吸着度と菌の増殖抑制力は反比例の関係を示していることが明らかになった。

II カチオン部におけるその他の置換基の影響

L-Bz および L-Ep における benzyl, hydroxychloropropyl 基の相当部位を methyl, hydroxyethyl, hydroxypropyl 基に置き換えた同型活性剤についてそれぞれ菌の増殖抑制度と吸着度とを同様に調べたところ第3図および第4表のごとく、増殖抑制効果は $L-Ep > L-Bz > L-Eo > L-Tri > L-Po$ の順で、とくに L-Ep と L-Bz が強い効力を示した。また吸着性は $L-Ep > L-Bz > L-Tri \approx L-Po \approx L-Eo$ の順とみられ、増殖抑制力の強い L-Ep と L-Bp がやはり吸着性においても他よりすぐれており、増殖抑制度と吸着度との間にはほぼ比例関係が認められた。

III アニオン部分の影響

Eo 型活性剤についてそのアニオン部分を種々のハロゲンまたは有機酸、無機酸イオンに置き換えた9種の化合物の増殖抑制力を比較した結果は、第4図のごとくで

第3図 Lauryldimethyl 型活性剤の菌体に対する増殖抑制度

(1) ハロゲン塩

(2) 無機酸塩と有機酸塩

第4図 種々の L-Eo 型活性剤アニオン置換体 (L-Eo-A) の菌体に対する増殖抑制度

ハロゲン同族体間では全く差がなく、また種々の酸塩の同族体間でもわずかにラウリン酸塩が 10^{-2} mM 添加時のみやや抑制効果がみられる以外はどれも差がなく、一般に活性剤の菌体に対する増殖抑制効果には、そのアニオン部分はそれほど大きな影響をもたないことがわかった。なお高濃度のラウリン酸塩がやや高い増殖抑制効果を示したのはその溶解度が低く、高濃度で水に難溶となって遠沈時に菌体とともに沈殿したためと考えられ、水洗によってもこの沈殿は除去しえなかった。また

第4表 Lauryldimethyl 型活性剤の
菌体への吸着
(数値: 吸着率, %)

種 類	活性剤添加量(mM)	5×10^{-4}	1×10^{-3}
L-Ep		19~44	31~55
L-Bz		25	26
L-Tri		7	10
L-Eo		4	1
L-Po		2	14

第5表 種々の Lauryldimethyl- β -hydroxyethylammonium 塩 (L-Eo・A)
の菌体への吸着

(活性剤添加量: 1×10^{-3} mM)

アニオン (A)	吸 着 率 (%)	アニオン (A)	吸 着 率 (%)
F	4	H ₂ PO ₄	2.0
Cl	6	ClO ₄	9.6
Br	5	CH ₃ CO ₂	8.5
I	4	C ₁₂ H ₂₅ CO ₂	13.0
		C ₆ H ₅ CO ₂	4.2

これらのアニオン置換体の 10^{-3} mM 添加時の菌体への吸着度を比較した結果を第5表に示したが、相互間に大きな差がなく、さきの増殖抑制試験で得られた結果と同様の傾向を示した。

考 察

活性剤の微生物に対する静菌作用あるいは殺菌作用の機作に関する研究がこれまで多数報告されているが、そのなかで活性剤による菌体タンパク質の変性およびそれに伴う酵素系の失活^{9),10)}、浸透圧の変化による菌体内物質の漏洩^{9),11)}などによって菌体の代謝過程が阻害され、菌の正常な発育が抑制されるといった説が主要なものといえる。この際活性剤の作用部位として考えられるのは、活性剤が単に菌体の表面に留まって接触しないしは一部分吸着されて菌膜の透過性にのみ影響を与えるのか、あるいは菌体内へ透過して菌体内物質ないしは酵素系と直接結合することにより作用を現わすのか、または以上2つの作用が同時に起きているかのいずれかであろう。Salton⁹⁾は cetyltrimethylammonium chloride の各種細菌の細胞への吸着性と活性剤処理細胞からの溶出物質について詳細な研究を行ない、活性剤の吸着量は細菌の種類によってかなり異なることを認め、また活性剤がある種のタンパク質と一定条件下ではほぼ定量的に結合するという報告¹⁰⁾も行なわれている。これらの点から活性剤が菌体表面のタンパク質と結合しないしは強固に吸着して

殺菌作用を現わす可能性が強いと考え、著者らはパン酵母に一定量の活性剤を作用させて、その吸着量と増殖抑制作用との関連を追究した。実験に用いた活性剤はすべて dimethylammonium 塩であるが、これらの活性剤のアニオン部分はほとんど菌体の増殖抑制効果ならびに菌への吸着性にほとんど影響を及ぼさないのに対し、カチオン部分の置換基は強い影響を有していた。とくにアルキル置換基ではその炭素数の増加に応じて菌体への吸着性も増加したが、菌の増殖抑制力に対するアルキル置換基の効果は Bz 型活性剤と Ep 型活性剤とで相違がみられ、前者はアルキル基の炭素数の増加に伴い吸着性と同様増殖抑制力も強まるのに反し、後者では炭素数の少ないものが増殖抑制作用が強く、菌体への吸着性に反比例する結果を示し、活性剤の殺菌作用が菌体への吸着性と必ずしも平行していないことがわかる。また活性剤のアルキル置換基を lauryl 基に統一し、他のN置換基として benzyl, methyl, hydroxyethyl (または propyl), chlorohydroxypropyl 基などをいれたものでは benzyl 体 (L-Bz) と chlorohydroxypropyl 体 (L-Ep) が菌の増殖抑制力とともに吸着性もすぐれており、R-Bz 型活性剤における同様の傾向がみられた。これらの点から dimethylammonium 型活性剤のカチオン部のアルキル置換基の鎖長が菌体への吸着性と殺菌作用に重要であるが、両作用が必ずしも比例関係を示さない例があり、他のN置換基の性状も両作用の発現に強く影響しているといえる。活性剤の殺菌効力がその菌体への吸着性の外、菌体細胞の protoplasm に対する毒性の強弱によって強く左右されるものであり、置換基の有無や種類その他活性剤分子全体の構造によって、活性剤の吸着性と殺菌作用の関係は異なってくるであろう。したがって今後さらに多くの異なった種類の活性剤についても検討する必要があるが、今回の実験によって両者の関係がある程度明らかになり、活性剤の作用機序を知る上になんらかの手がかりを与えるものと思う。

総 括

前報の方法を用いて種々の dimethylammonium 型活性剤の菌体への吸着性と増殖阻害度との関係を追究した。alkyldimethylammonium 型活性剤のアニオン部分は菌の増殖抑制作用ならびに吸着性にほとんど影響をもたないのに対し、カチオン部分の2つの置換基は著明な影響を与えた。すなわち R-Bz および R-Ep 型活性剤におけるアルキル置換基の鎖長と菌への吸着性との関係はともに stearyl (C₁₈) $\approx$ cetyl (C₁₆) $>$ myristyl (C₁₄) $>$ lauryl (C₁₂) のごとくアルキル基の鎖長に比例して増大した。菌の増殖抑制作用は、R-Bz 型活性剤ではアルキル基の炭素数の増加とともに増大し、吸着度との間に比例関係がみられたが、R-Ep 型活性剤では逆にアルキル基の炭素数の少ないものが菌の増殖抑制力が大であった。この外 lauryldimethylammonium 型活性剤の菌

に対する増殖抑制力は $Ep > L-Bz > L-Eo > L-Tri > L-Po$ の順であり, 菌体に対する吸着性も $L-Ep$ および $L-Bz$ の両化合物が他より強い傾向を示した.

文 献

- 1) 川崎, 他: 食衛誌. **4**, 36 (1961).
- 2) 山本, 他: 日本化学会年会講演要旨(講演番号1310) (1962).
- 3) 山本, 他: 油化学, **11**, 464 (1962).
- 4) 山本, 他: 油化学, **11**, 369 (1962).
- 5) A. M. Schwartz et al.: "Surface Active Agents and Detergents" vol. 2, p. 204 (1957),

Intersci. Publ. Inc.

- 6) H. N. Glassman: Bact. Rev. **12**, 105 (1948).
- 7) E. F. Gale et al.: Nature **157**, 549 (1946); J. Gen. Microbiol. **1**, 77 (1947).
- 8) R. D. Hotckis: Ann. N. Y. Acad. Sci. **46**, 479 (1946); 大林: 農化. **35**, 61 (1961).
- 9) M. R. J. Salton: J. Gen. Microbiol. **5**, 391 (1951).
- 10) H. N. Glassman: Ann. N. Y. Acad. Sci. **53**, 91 (1950); Arch. Biochem. Biophys. **32**, 170 (1951).

高圧ロ紙電気泳動法による水溶性タール色素の 分析に関する研究 (第4報)

Malachite Green と Brilliant Green の相違点について

(昭和 38 年 2 月 1 日 受 理)

寺 島 敏 雄*

Studies on High-Voltage Paper-Electrophoretic Analysis of Water-Soluble Coal-Tar Dyes (IV) Identification of Malachite Green and Brilliant Green

Toshio TERASHIMA

(National Institute of Hygienic Sciences, Osaka

Branch: Hoensaka-cho, Higashi-ku, Osaka)

High-voltage paper electrophoresis was carried out for the identification of Malachite Green and Brilliant Green using 5N AcOH (10% propylene glycol sol.) as an electrolyte.

Both of them migrated towards cathode, forming green bands respectively.

In the case of Brilliant Green only, however, another green band appeared shortly after evaporation of the solvent from the paper.

As a result of my examination, the shorter migrated fraction of these two bands of Brilliant Green was proved to be singly charged ion and the longer one was doubly charged colorless salt.

The lack of this phenomenon in Malachite Green seems to be caused by the difference existing between the basicities of these two dyes.

(Received February 1, 1963)

ま え が き

Malachite Green (以下 M. G. と略す) と Brilliant Green (以下 B. G. と略す) はいずれも triarylmethane

* 国立衛生試験所 大阪支所: 大阪市東区法円坂町6

系に属する塩基性の水溶性タール色素で, 普通前者はシュウ酸塩, 後者は硫酸塩として市販され, 殺菌剤としての用途がある. また M. G. は法定外色素であるが, 以前はコンブなどの着色に使用されたこともあり, 今なお