肝臓の造血成分に関する研究—Ⅶ.

アオウキクサに対する數種造血成分の生長促進効果*

米 康 夫・富山 哲 夫

(九州大学農学部水産化学教室)

Studies on Anianaemic Ingredients of the Liver—VII
The Growth-Promoting Effect of Several Antianaemic
Substances upon *Lemna paucicostata* HEGELM.

Yasuo YONE and Tetuo TOMIYAMA

This paper deals with experiments which relate purified liver extracts to vitamin B₁₂ and folic acid with regards to the effectiveness in promoting growth of *Lemna paucicostata*. The results obtained can be summarized as follows:

1. Vitamin B₁₂ was effective at 0.02 mg level per litre of New Jersey culture media whereas folic acid ineffective at 20 mg level per litre (Table 4, and Figs. 2 and 5).
2. The growth-promoting effect increased with repeating the adsorption of the whale-liver extract by the activated charcoal followed by the elution with a dilute alkaline solution (Table 2, and Figs. 1 and 2).
3. A concentrate obtained by repeating twice the adsorption and the elution was effective over levels higher than 0.4 mg per litre. The higher was the concentration, the greater the effect within range of concentrations studied (Table 3, and Figs. 3 and 4).
4. Based on the content of vitamin B₁₂ and folic acid in liver and yields of the purified fraction, B₁₂ and folic acid from the liver, it was postulated that the active ingredient of the fraction seems to be neither B₁₂ nor folic acid, but presumably be an unidentified vitamin.

緒 言

第6報に於て肝抽出物中にはアオウキクサの生長を促進する物質が含まれ、しかも有効物質は微酸性で活性炭に吸着されることを確認した。¹⁾ 恐らくこの肝中の生長促進物質は抗貧血物質と同一又は類似のものであるかと推察される。他方著者等は肝中の抗貧血物質を微酸性で活性炭による吸着を繰り返すことによつて濃縮し得た。²⁾ これらの結果から植物生長促進物質もまた活性炭吸着を繰り返すことによつて濃縮できると推察される。依て本研究に於ては肝抽出物を活性炭によつて1回、2回及び6回吸着して得た各吸着物の生長促進効果を試験した。また活性炭吸着2回のものについて効果の量的差異を明かにした。他方最近肝臓から分離された抗貧血成分であるビタミン B₁₂ 及び葉酸についてもアオウキクサの生長促進効果を試験し、活性炭吸着物の効果と対比した。

実験結果及び考察

1. 植物生長促進物質の濃縮

1952年2月19日受理

* 昭和25年10月、長崎に於ける日本水産学会九州支部大会にて発表、九州大学農学部水産学教室業績

Fig. 1 Rate of growth of the plant with supplement of liver extract and adsorbed fraction.

Curves on the left side represent growth on 2 mg/L level; those on the right side represent growth on 0.4 mg/L level. The control, ○; liver extract, L_0 , ●; adsorbed fraction, L_1 , ⊕; adsorbed fraction L_3 , ⊙; adsorbed fraction, L_6 , ●.

Fig. 2 Showing relative effectiveness of the liver concentrates, vitamin B_{12} and folic acid. C shows a control without supplement; F, folic acid (20 mg per L.); B_{12} , vitamin B_{12} (0.02 mg per L.); L_0 , whale-liver extract; L_1 , L_2 and L_6 , liver extract purified by once, twice and sixth adsorption, respectively. $L_0 \sim L_6$ shown in upper position were all supplemented at 2 mg level per L. and those shown in lower position, at 0.4 mg per L.

つ活性炭吸着を繰返すにしたがつてその効果が増大した。従つて肝臓中のアオウキクサの生長促進物質は抗貧血成分と同様に活性炭吸着をくりかえすことによつて濃縮されることが明かとなった。

Table 1. The analytical data of the samples.

	L_0	L_1	L_2	L_6
Dry matter (%)	74.9	71.2	61.3	39.5
Total-N in wet matter (%)	9.8	6.3	4.1	0.7
Ash in wet matter (%)	7.9	21.8	21.9	22.1
NaCl in wet matter (%)	4.0	13.2	14.1	14.8

Table 2 The effectiveness of the fraction adsorbed by activated charcoal
(Date on experiment: Oct. 28~Nov. 17, 1950).

Kinds of supplements	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	L_0	L_1	L_2	L_6	L_0	L_1	L_2	L_6
mg Dry matter added per L.	1.2	2.0	2.0	2.0	2.0	0.4	0.4	0.4	0.4
Added amt. as per cent of T-N	0.17	0.17	0.12	0.09	0.024	0.035	0.024	0.018	0.004
Increase in number of leaf	7 8	8 9	10 8	11 10	18 14	6 8	8 7	9 7	12 12
mg Dry leaf at end of exp.	2.2 2.6	2.9 3.1	3.2 2.9	3.7 3.5	5.5 5.1	2.2 2.6	2.8 2.5	2.9 2.6	3.7 3.6

Table 3. The effectiveness of the fraction adsorbed by activated charcoal
(Date on experiment: Oct. 28~Nov. 17, 1950).

mg Dry matter per l.	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1.2		4		2		0.4		0.2	
Increase in number of leaf	7	8	14	10	13	9	10	11	4	8
mg Dry leaf at end of exp.	2.2	2.6	4.9	4.8	4.3	3.2	2.9	3.3	2.1	2.3

Table 4. The effectiveness of vitamin B_{12} and folic acid. (Date on experiment: Oct. 28~Nov. 17, 1950).

Kinds of supplements	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	V· B_{12}	Folic acid
mg Dry matter per L.	1.2	0.02	20.0
Increase in number of leaf	7 8	18 14	8 8
mg Dry leaf at end of exp.	2.2 2.6	5.2 4.9	2.6 2.5

ので、本実験に於ては改変 N.J. 液 1L に活性炭吸着物 L_2 を乾燥物として 4mg, 2mg, 0.4mg, 0.2mg を添加して比較した。実験の結果は Table 3 及び Figs. 3 及び 4 に示すように 0.2mg では殆ど効果は認められなかつたが、0.4mg 以上では対照に比して著しい効果を示し、且つ本実験の範囲では添量加を増すにしたがつて生長促進効果は増大した。

2. ビタミン B_{12} 及び葉酸の効果

Fig. 3 Rate of growth of the plant with supplement of adsorbed fraction.

The control, ○; 0.2 mg/L, adsorbed fraction, ⊕; 0.4 mg/L, ●; 2 mg/L, ●; 4 mg/L, ●.

アオウキサの生長に及ぼす活性炭吸着物の量的な効果を知ることは植物生長促進物質を精製分離する上に必要である

Fig. 4 Showing effectiveness of liver concentrate, L_2 at varying levels. Figures given are number of mg supplemented to one litre of the culture medium. C shows a control without supplement.

Fig. 5 Rate of growth of the plant with supplement of vitamin B_{12} and folic acid.

The control, ○; 0.02 mg/l. vitamin B_{12} , ●; 20 mg/l. folic acid, ■; 0.4 mg/l. adsorbed fraction L_6 , ▲; 2 mg/l. adsorbed fraction L_6 , △.

試験区には水耕液 1L に市販のビタミン B_{12} (フレスミン) 0.02 mg 及び葉酸 (フォリアミン) 20 mg を添加し、無添加の対照区と比較した。実験の結果は Table 4, Figs. 2 及び 5 に示すようにビタミン B_{12} は 0.02 mg で著るしい効果を示したが、葉酸は本実験に用いた量 20 mg では対照と差が認められなかつた、然し乍ら葉酸については唯一回の実験であるし、又単一量についてのみ行つた実験であるから、全く効果がないかは将来の研究で決定したい。なお本実験は 1) 項の実験と同時に行つたので、1) 項に記載した活性炭吸着物 L_6 の 2 mg 及び 0.4 mg 添加量の成績と比較すると、ビタミン B_{12} 0.02 mg の効果は L_6 の 2 mg (無灰物として 0.88 mg) 及び 0.4 mg (無灰物として 0.176 mg) の効果の中間に相当する。しかるに L_6 の 2 mg は新鮮肝臓 4.5 g より得られたものであるから、 B_{12} 及び葉酸が完全に活性炭に吸着され、また稀アルカリ液で溶出されたと仮定して、THOMPSON 氏等³⁾ 或は LEWIS 氏等⁴⁾ による牛肝の B_{12} 定量値 (0.016 mg%) 及び REYNIERS 氏等⁵⁾ による鶏肝の葉酸定量値 (平均 0.20 mg %) から換算すると、 B_{12} は 7.2×10^{-4} mg、葉酸は 9.0×10^{-3} mg が L_6 の 2 mg 中に含まれる計算になる。他方、最近著者等の活性炭吸着法及び溶出法につき吟味した結果によると、 B_{12} は活性炭吸着後に稀アルカリ液で溶出した場合には僅かに 3% 程度しか回収できないし、葉酸も 11% 回収されるに過ぎないことを確認した⁶⁾。之等の回収率の補正を行えば、 L_6 の 2 mg 中には B_{12} の 2.2×10^{-5} mg 及び葉酸の 9.9×10^{-4} mg 以下の痕跡を含むに過ぎないことになる。依て活性炭吸着物の植物生長促進作用は未知の抗貧血物質の作用と考えざるをえない。純粹に分離した新抗貧血物質のアオウキサ成長促進効果については、最近確認したので近く報告する予定である。

総 括

- 1) ビタミン B_{12} は水耕液 1L に対し 0.02 mg で顕著なアオウキサ生長促進効果を示したが、葉酸は水耕液 1L に対し 20 mg では効果を示さなかつた。
- 2) ナガスクジラ肝臓中のアオウキサ生長促進物質は活性炭による吸着と稀アルカリ水溶液による溶出とを繰り返すに従つて濃縮される。
- 3) 肝抽出物の活性炭二回吸着物は水耕液 1L に対し 0.4 mg (無灰物として 0.26 mg) 以上で効果を示し且つ本実験の範囲では添加量を増すにしたがつて生長促進効果が増大した。

3), 4) THOMPSON 氏等は microbial assay により、LEWIS 氏等は Ratassay によつて、新鮮牛肝の P_{12} を定量した結果は、乾物 100 g 当りそれぞれ 47 r 及び 50 r であつた。

4) 肝よりの活性炭吸着物の収量, 肝の P_{12} 及び葉酸含量, 及び B_{12} 並に葉酸の吸着率と溶出率とから活性炭吸着物中の B_{12} 及び葉酸量を計算すると, 吸着物のアオウキクサ成長効果は B_{12} 及び葉酸の効果ではなく, 未知ビタミンの効果と推定される。

終りに, 研究材料を提供された日本水産株式会社及び吉富製薬株式会社, 並に培養試験に助力された吉田武君に感謝の意を表する。なお本研究は昭和 25 年度科学研究費で支弁した。

文 献

1. 米康夫, 富山哲夫: 日水会誌. **18**, 659 (1953).
2. 富山哲夫, 米康夫, 堀口吉重: 昭和 23 年 11 月福岡に於ける栄養食糧学会九州支部例会にて発表.
3. THOMPSON, H. T., DIETRICH, L. S. and ELVEHJEM, C. A.: *J. Biol. Chem.*, **184**, 175 (1950).
4. LEWIS, U. J., REGISTER, U. D., THOMPSON, H. T. and ELVEHJEM, C. A.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **72**, 479 (1949).
5. REYNIERS, J. A., TREXLER, P. C., ERVIN, R. F., WAGNER, M., GORDON, H. A., LUCKAY, T. D., BROWN, R. A., MANNING, G. J. and CAMPBELL, C. J.: *J. Nutrition*, **41**, 31 (1950).
6. 富山哲夫, 米康夫, 広渡一之: 昭和 26 年 11 月, 福岡に於ける日本水産学会九州支部大会にて発表.