

# 孵化鶏卵各液体部分の pH の推移について

金沢大学医学部微生物学教室(主任 谷教授)

川 崎 浩

*Hiroshi Kawasaki*

林 保

*Tamotsu Hayashi*

大久保 伊 昭

*Tadaaki Ohkubo*

(昭和30年1月5日受附)

## 第1章 緒 言

鶏卵は微生物に対して一種の培養基と見做すことが出来るという考えは、既に1888年 Hüppe<sup>1)</sup>が無精鶏卵に *vibrio comma* を接種したことに始まる。その後孵化鶏卵が微生物の研究に応用されるようになったが、1933年 Goodpastur<sup>2)</sup>及びその協力者達によつて伝染性疾患の実験的研究が可能であると強調されるに及び孵化鶏卵の認識が深められるようになった。今日、孵化鶏卵が人類及び動物に病原性ある殆んどすべての *virus*, *rickettsia* 及び *bacteria* の増殖に有効な環境的要素を有していることが認められ、人工培養の困難な或る種病原体の分離継株、診断用抗原、*vaccine* の製造、更に治療学的研究等の多方面にわたつて孵化鶏卵が応用されている

現状にある。

所が諸種の感染性病原体の増殖に好影響を与えている孵化鶏卵中の種々の因子については余り知られていない。例えば孵化鶏卵内各部位の重要環境要素としての pH に関しては Aggazzotti<sup>3)</sup> (1913), Gueylard & Portier<sup>4)</sup> (1925), Friedheim<sup>5)</sup> (1929), 川喜田<sup>6)</sup> (1938) 等の部分的研究に止まつている。私達は孵化鶏卵内の pH に関して系統的に究明せんと考え、正常孵化鶏卵各液体部について孵化日数を追つて検討し、更に温度条件の変更、1~2の病原体接種を行つた場合の各部位 pH の推移を調べていささか知見を得たのでここに報告する。

## 第2章 pH 測定法の比較

先ず pH 測定法に関して、最近培養基の作製にあたり、稍々もすると発育の悪い培養基に出合う場合がある。その原因が pH 測定法の誤差によるのではないかと思われるので、孵化鶏卵の pH を測定する前に pH 測定法を比較した。pH 測定法には種々なる方法がのべられているが、一般的に細菌学において使用されている方法に加えて、正確度の高い電位差測定法をあわ

せて使用した。即ち東洋 pH 試験紙法、Michaelis 氏法、Hellige comparator 法、キンヒドロ電極法、水素瓦斯電極法の5法について比較検討した。

### 第1節 実験材料並びに方法

#### 第1項 規 準 溶 液

規準溶液は緩衝能力のよい、無色かつ安易に作製出来るものとして、Sørensen 氏の 磷酸緩衝液を使用し

第 1 表 東洋 pH 試験紙法の成績

種類	発売 年度	理 論										pH 値			誤差平均	絶対誤 差平均	誤差範囲	誤差範 圍係數
		理 論										pH 値						
		5.8	6.0	6.2	6.4	6.6	6.8	7.0	7.2	7.4	7.6	7.8	8.0	8.3				
C.	1938	5.8	6.0	6.2	6.4	6.6	6.8	7.0	7.2	7.4	7.6	7.8	8.0	8.3	0.000	0.000	0.0~0.0	0.0/5
P.	1948	5.9	6.0	6.3	6.5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+0.075	0.075	0.0~+0.1	0.1/4
R.	計	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+0.033	0.033	0.0~+0.1	0.1/9
M.	1938	5.8	6.0	6.2	6.4	6.6	6.8	7.0	7.2	7.4	7.6	7.8	8.0	8.3	0.000	0.000	0.0~0.0	0.0/7
R.	1950	5.7	6.0	6.2	6.4	6.6	6.8	7.0	7.2	7.4	7.6	7.8	8.0	8.3	-0.014	0.014	-0.1~0.0	0.1/7
R.	計	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	-0.007	0.007	-0.1~0.0	0.1/14
B.	1938	—	—	6.2	6.4	6.6	6.8	7.0	7.2	7.4	7.6	7.8	8.0	8.3	0.000	0.000	0.0~0.0	0.0/9
T.	1948	—	—	6.1	6.4	6.6	6.9	7.1	7.4	7.7	7.8	—	—	—	+0.100	0.125	-0.1~+0.3	0.4/8
B.	1950	6.2	6.3	6.4	6.6	6.8	7.2	7.6	7.8	—	—	—	—	—	+0.363	0.363	+0.2~+0.6	0.4/8
B.	計	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+0.143	0.156	-0.1~+0.6	0.7/25
*	1948	5.6	5.9	6.1	6.3	6.5	6.8	7.0	7.3	7.5	7.8	8.0	—	—	0.000	0.109	-0.2~+0.2	0.4/11
P.	1838	—	—	—	—	6.6	6.8	7.0	7.2	7.4	7.6	7.8	8.0	8.3	0.000	0.000	0.0~0.0	0.0/8
P.	1948	—	—	—	6.8	7.1	7.3	7.5	7.7	7.8	7.9	8.1	8.2	8.5	+0.400	0.400	+0.2~+0.5	0.3/9
R.	1950	—	—	—	—	—	6.6	6.8	7.1	7.4	7.5	7.7	7.9	8.1	-0.125	0.125	-0.2~0.0	0.2/8
R.	計	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+0.104	0.184	-0.2~+0.5	0.7/25
C.	1938	—	—	—	—	—	7.2	7.3	7.4	7.4	7.6	7.8	8.0	8.3	0.000	0.000	0.0~0.0	0.0/6
C.	1948	—	—	—	—	—	7.2	7.3	7.4	7.5	7.7	7.8	8.0	8.2	+0.125	0.150	-0.1~+0.4	0.5/8
R.	1950	—	—	—	—	—	7.2	7.4	7.6	7.6	7.8	8.0	8.1	8.3	+0.142	0.142	0.0~+0.2	0.2/7
R.	計	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+0.100	0.110	-0.1~+0.4	0.5/21
年	1938	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.000	0.000	0.0~0.0	0.0/35
度	1948	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+0.143	0.183	-0.2~+0.5	0.7/40
別	1950	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+0.097	0.170	-0.2~+0.6	0.8/30
別	計	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+0.082	0.118	-0.2~+0.6	0.8/105

\* M.R. &amp; B.T.B.

た。pH 5.8~8.3 にいたる間において実験を行なつた。その製法については成書<sup>7) 8)</sup>を参考とした。

第2項 東洋 pH

試験紙法

試験紙は 1938 年度発売の Chlor-phenol-red (以後 C.P.R. と略記す), Methyl-red (以後 M.R. と略記す), Bromethymole-blue (以後 B.T.B. と略記す), Phenol-red (以後 P.R. と略記す), Cresol-red (以後 C.R. と略記す), 1948 年度発売の C.P.R., B.T.B., P.R., C.R., M.R. & B.T.B., 及び 1950 年度発売の M.R., B.T.B., P.R., C.R. を使用した。

実験方法は小型時計皿に試験紙をとり、規準溶液を 1 滴滴下し、30秒後、同年度発売台紙につき行なつた。測定はすべて風間室温にて行ない、5 回の測定値の平均をその値とした。

第3項 Michaelis 氏法及び Hellige-comparator 法

試薬は新しく作製せる 0.1% p-nitrophenol 水溶液及び 0.3% m-nitrophenol 水溶液を使用した。Michaelis 氏法に使用した耐久性比色標準管は教室所有の I 号, II 号, IV 号, V 号各 set につき行なつた。又 Hellige comparator は教室所有の F. Hellige & CO. 製のものをを使用した。

術式は原法に従い、測定はすべて風間室温にて行ない、5 回の測定値の平均をその値とした。

第 2 表 Michaelis 氏法の成績

Set 別	試薬種類	論 理								pH 値								誤差平均	絶対誤差平均	誤差範囲	誤差範囲係数				
		5.8	6.0	6.2	6.4	6.6	6.8	7.0	7.2	7.4	7.6	7.8	8.0	8.3	5.8	6.0	6.2					6.4	6.6	6.8	7.0
I 号	M.N.P.	-	-	-	-	-	7.0	7.1	7.3	7.5	7.7	7.9	8.3	0.088	0.088	0.0~+0.2	0.2/8								
	P.N.P.	6.0	6.2	6.3	6.5	6.7	6.9	7.1	-	-	-	-	8.0	+ 0.126	+0.1~+0.2	0.1/7									
	計	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+ 0.107	0.0~+0.2	0.2/15									
II 号	M.N.P.	-	-	-	-	-	7.0	7.1	7.3	7.5	7.6	7.8	8.3	0.063	0.063	0.0~+0.2	0.2/8								
	P.N.P.	6.0	6.2	6.4	6.5	6.7	6.9	7.1	-	-	-	-	8.0	+ 0.143	+0.1~+0.2	0.1/7									
	計	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+ 0.100	0.0~+0.2	0.2/15									
IV 号	M.N.P.	-	-	-	-	-	6.8	7.1	7.3	7.4	7.7	7.8	8.3	0.038	0.038	0.0~+0.1	0.1/8								
	P.N.P.	6.0	6.2	6.4	6.6	-	-	-	-	-	-	-	8.0	+ 0.200	+0.2~+0.2	0.0/4									
	計	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+ 0.092	0.0~+0.2	0.2/12									
V 号	M.N.P.	-	-	-	-	-	7.0	7.1	7.3	7.5	7.6	7.8	8.3	0.063	0.063	0.0~+0.2	0.2/8								
	P.N.P.	6.1	6.3	6.5	6.6	6.8	6.9	7.1	-	-	-	-	8.0	+ 0.214	+0.1~+0.3	0.2/7									
	計	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+ 0.133	0.0~+0.3	0.3/15									
試薬別	M.N.P.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+ 0.063	0.063	0.0~+0.2	0.2/32								
	P.N.P.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+ 0.168	+0.1~+0.3	0.2/25									
総 計		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+ 0.109	0.109	0.0~+0.3	0.3/57								

P.N.P. .... Para-Nitrophenol      M.N.P. .... Meta-Nitrophenol

**第4項 キンヒドロロン電極法**

キンヒドロロン電極法は一般に軽便なる電極法によるpH測定法なるため使用した。

単極電池は Veibel<sup>10)</sup> 氏の電池を使用した。毎回使用前にこれを作製した。キンヒドロロンは Biilmann<sup>11)</sup> 氏の法により自家合成したものを使用した。白金電極は 1cm<sup>2</sup> の白金板を使用し、水銀タッチとした。電位差計は教室所有の英弘商会製のものを使用した。

測定は屋間室温にて行ない、温度補正をなし、5回の測定値の平均をその値とした。

**第5項 水素瓦斯電極法**

一般に pH 測定法中水素瓦斯電極法は最も正確なる方法であるので、私も基準的な pH 測定法として水素瓦斯電極法を使用した。

単極電池として飽和甘汞電池を、水素瓦斯はキップ装置により作れるものを、電極は白金線に白金黒をつけたるものを使用し、水銀タッチとした。電位差計はキンヒドロロン電極法に使用せるものを共用した。

測定は屋間室温にて行ない、温度補正及び気圧補正を行なつた。5回の測定値の平均をその値とした。

**第2節 実験成績**

実験成績の比較にあたり、誤差の比較は次の数値により行つた。実測値より理論値を引いたものを誤差とし、誤差の算術平均を誤差平均とし、誤差の絶対数の平均を絶対誤差平均とし、最大誤差と最小誤差の範囲を誤差範囲とし、誤差範囲を実測回数で割つたものを誤差範囲係数とした。すべての数値は零に近い程正確である。

**第1項 東洋 pH 試験紙法の成績**

東洋 pH 試験紙法による実験成績は第1表に示す通りである。全体としては誤差平均 +0.082, 絶対誤差平均 0.118, 誤差範囲 -0.2~+0.6, 誤差範囲係数 0.8/105, であつた。

これを全般的に見るに正確度の点にて、種類別では M.R. がもつとも正確であり、次いで C.P.R., M.R. & B.T.B., C.R., P.R., B.T.B. の順に正確度が下り、年度別では1938年度製は全く正確であり、次いで1948年度製、1950年度製の順に正確度が下つた。

特に M.R. & B.T.B. は測定範囲も広く、且つ正確度も中位にあるので実用面が広いと考えられる。

**第2項 Michaelis 氏法の成績**

Michaelis 氏法による実験成績は第2表に示す通りであつた。全体としては誤差平均 +0.109, 絶対誤差平均 0.109, 誤差範囲 0~+0.3, 誤差範囲係数 0.3/57 であつた。

以上を正確度より見ると、Para-nitrophenol は I 号, II 号, IV 号, V 号の順に正確度が下り、Meta-nitrophenol では IV 号, II 号, V 号, I 号の順に正確度が下り、全体としては IV 号, II 号, I 号, V 号の順であつた。

**第3項 Hellige comparator 法の成績**

Hellige comparator 法による実験成績は第3表に示す通りであつた。全体としては誤差平均 +0.107, 絶対誤差平均 0.160, 誤差範囲 +0.3~-0.3, 誤差範囲係数 0.6/15 であつた。

第 3 表 Hellige comparator の成績

試薬種類	理論 pH 値													誤差平均	絶対誤差平均	誤差範囲	誤差範囲係数
	5.8	6.0	6.2	6.4	6.6	6.8	7.0	7.2	7.4	7.6	7.8	8.0	8.3				
M.N.P.	-	-	-	-	-	7.0	7.2	7.3	7.4	7.6	7.8	7.9	8.0	+ 0.025	0.125	-0.3~+0.2	0.5/ 8
P.N.P.	6.1	6.3	6.5	6.6	6.8	6.9	7.0	-	-	-	-	-	-	+ 0.171	0.171	0.0~+0.3	0.3/ 7
計	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+ 0.107	0.160	-0.3~+0.3	0.6/15

M.N.P. .... Meta-Nitrophenol

P.N.P. .... Para-Nitrophenol

**第4項 キンヒドロロン電極法の成績**

キンヒドロロン電極法による実験成績は第4表

に示す如くである。全体としてこれを見るに誤差平均 -0.0158, 絶対誤差平均 0.0316, 誤差

範囲  $-0.099 \sim +0.038$ , 誤差範囲係数  $0.137/60$  であつた。

第 4 表 キンヒドロソ電極法の成績

理論 pH 値	実 測 pH 値						誤差平均	絶対誤 差平均	誤 差 範 囲	誤差範 圍係数
	測 定 回 数					平均値				
	1	2	3	4	5					
5.288	5.280	5.286	5.280	5.286	5.280	5.282	-0.0056	0.0056	-0.008~-0.002	0.006/ 5
5.589	5.573	5.580	5.573	5.575	5.580	5.576	-0.0128	0.0128	-0.016~-0.009	0.007/ 5
5.906	5.833	5.833	5.830	5.830	5.833	5.832	-0.0742	0.0742	-0.076~-0.073	0.003/ 5
6.239	6.195	6.201	6.195	6.201	6.201	6.198	-0.0404	0.0404	-0.044~-0.038	0.006/ 5
6.468	6.452	6.456	6.450	6.452	6.450	6.452	-0.0160	0.0160	-0.018~-0.012	0.006/ 5
6.643	6.628	6.628	6.622	6.624	6.628	6.626	-0.0170	0.0170	-0.021~-0.015	0.006/ 5
6.813	6.790	6.794	6.790	6.794	6.792	6.792	-0.0210	0.0210	-0.023~-0.019	0.004/ 5
6.979	6.986	6.986	6.987	6.980	6.980	6.982	+0.0030	0.0034	-0.001~+0.008	0.009/ 5
7.168	7.204	7.200	7.204	7.206	7.204	7.204	+0.0356	0.0356	+0.032~+0.038	0.006/ 5
7.381	7.400	7.405	7.402	7.408	7.408	7.405	+0.0236	0.0236	+0.019~+0.027	0.008/ 5
7.731	7.763	7.763	7.768	7.763	7.763	7.764	+0.0330	0.0330	+0.032~+0.037	0.005/ 5
8.043	7.944	7.948	7.944	7.946	7.946	7.946	-0.0974	0.0974	-0.099~-0.095	0.004/ 5
総 計	—	—	—	—	—	—	-0.0158	0.0316	-0.099~+0.038	0.137/60

これを見るに pH 8.0 以上になるとその測定誤差は著しく増大し、測定の数値を失することが多い。それ故 pH 8.0 以下にては非常に良好なる結果を得るも、pH 8.0 以上では実験誤差の基となることが考えられる。

第 5 項 水素瓦斯電極法の成績

水素瓦斯電極法による実験成績は第 5 表に示す如くである。これを見るに、誤差平均  $-0.0003$ 、絶対誤差平均  $0.00167$ 、誤差範囲  $-0.004 \sim +0.004$ 、誤差範囲係数  $0.008/60$ 、であつた。

第 5 表 水素瓦斯電極法の成績

理論 pH 値	実 測 pH 値						誤差平均	絶対誤 差平均	誤 差 範 囲	誤差範 圍係数
	測 定 回 数					平均値				
	1	2	3	4	5					
5.288	5.288	5.286	5.290	5.286	5.290	5.2880	0.0000	0.0016	-0.002~+0.002	0.004/ 5
5.589	5.591	5.587	5.591	5.592	5.589	5.5896	+0.0006	0.0022	-0.002~+0.003	0.005/ 5
5.906	5.906	5.904	5.906	5.904	5.904	5.9048	-0.0012	0.0012	-0.002~ 0.000	0.002/ 5
6.239	6.237	6.237	6.240	6.241	6.240	6.2390	0.0000	0.0016	-0.002~+0.002	0.004/ 5
6.468	6.466	6.466	6.464	6.467	6.464	6.4654	-0.0026	0.0026	-0.004~-0.001	0.003/ 5
6.643	6.640	6.644	6.643	6.642	6.640	6.6418	-0.0012	0.0016	-0.004~+0.001	0.005/ 5
6.813	6.815	6.817	6.814	6.815	6.814	6.8150	+0.0020	0.0020	+0.001~+0.004	0.003/ 5
6.979	6.980	6.982	6.979	6.979	6.981	6.9802	+0.0012	0.0012	0.000~+0.003	0.003/ 5
7.168	7.167	7.167	7.167	7.165	7.168	6.1668	-0.0012	0.0012	-0.003~ 0.000	0.003/ 5
7.381	7.382	7.384	7.384	7.382	7.382	7.3828	+0.0018	0.0018	+0.001~+0.003	0.002/ 5
7.731	7.730	7.729	7.728	7.730	7.728	7.7290	-0.0020	0.0020	-0.003~-0.001	0.002/ 5
8.043	8.041	8.043	8.041	8.043	8.041	8.0418	-0.0012	0.0012	-0.002~ 0.000	0.002/ 5
総 計	—	—	—	—	—	—	-0.0003	0.0017	-0.004~+0.004	0.008/60

以上の成績は標準測定法として全く誤差がないといつてよい程の成績であつた。

### 第3節 小 括

第2節第1項より第5項迄の成績を総括する

と第6表の如くなる。

これを誤差平均より正確度を見るに、水素瓦斯電極法、キンヒドロソ電極法、東洋 pH 試験紙法、Hellige comparator 法、Michaelis 氏法の

第6表 pH 測定法誤差の比較

測定法種類		誤 差	誤差平均	絶対誤差平均	誤差範囲	誤差範囲係数
東洋 pH 試験 紙法	試 験 紙 別	C.P.R.	+ 0.033	0.033	0 ~ +0.1	0.1 / 9
		M.R.	- 0.007	0.007	-0.1 ~ 0	0.1 / 14
		B.T.B.	+ 0.148	0.156	-0.1 ~ +0.6	0.7 / 25
		M.R. & B.T.B.	0	0.109	-0.2 ~ +0.2	0.4 / 11
		P.R.	+ 0.104	0.184	-0.2 ~ +0.5	0.7 / 25
		C.R.	+ 0.100	0.110	-0.1 ~ +0.4	0.5 / 21
	年 度 別	1938年度製	0	0	0	0 / 35
		1948年度製	+ 0.143	0.183	-0.2 ~ +0.5	0.7 / 40
		1950年度製	+ 0.097	0.176	-0.2 ~ +0.6	0.8 / 30
総 計			+ 0.082	0.118	-0.2 ~ +0.6	0.8 / 105
Michaelis 氏法	P.N.P.	+ 0.168	0.168	+0.1 ~ +0.3	0.2 / 25	
	M.N.P.	+ 0.063	0.063	+0 ~ +0.2	0.2 / 32	
	総 計	+ 0.109	0.109	0 ~ +0.3	0.3 / 57	
Hellige Comparator 法	P.N.P.	+ 0.171	0.171	0 ~ +0.3	0.3 / 7	
	M.N.P.	+ 0.025	0.125	-0.3 ~ +0.2	0.5 / 8	
	総 計	+ 0.107	0.160	-0.3 ~ +0.3	0.6 / 15	
キンヒドロソ電極法			- 0.0158	0.0316	-0.099 ~ +0.038	0.137 / 60
水素ガス電極法			- 0.00030	0.00167	-0.004 ~ +0.004	0.008 / 60

順となる。絶対誤差平均より正確度を見るに、水素瓦斯電極法、キンヒドロソ電極法、Michaelis 氏法、東洋 pH 試験紙法、Hellige comparator 法の順に、誤差範囲及び誤差範囲係数より正確度を見るに水素瓦斯電極法、キンヒドロソ電極法、Michaelis 氏法、Hellige comparator 法、東洋 pH 試験紙法の順になる。

これを全般的に見るに、水素瓦斯電極法は他のあらゆる測定法に比べ桁外れに正確であり、その誤差範囲も  $\pm 0.004$  であつた。キンヒドロソ電極法は電極法として比色法に比較して正確ではあるが、正確度の点にて水素瓦斯電極法に

比して稍々劣るも、簡便に測定出来る点非常に価値ある測定法である。Michaelis 氏法、Hellige comparator 法、東洋 pH 試験紙法は略々似た正確度であるが、東洋 pH 試験紙法の内1938年度製は正確であるが、1948年度製及び1950年度製は非常に正確度が劣つている。特に B.T.B., P.R. 等は誤差範囲が 0.7 もあるので大きな誤差の基となり得る。又 M.R. & B.T.B. はその測定範囲が pH 5.0~8.0 に到る広範囲であり、その誤差も中等度である点、実用面において非常に良き簡便なる方法と考える。

### 第3章 正常及び感染孵化鶏卵の pH の推移に関する研究

#### 第1節 実験材料及び方法

##### 第1項 実験材料

鶏卵は教室にて飼育せる白色レングホンの受精卵を使用した。測定材料は孵化鶏卵の液体部分とし、清浄滅菌注射器にて別個に採取せる生存卵の羊水、尿液、卵黄、卵白を使用した。

感染には普通大腸菌 *Escherichia coli* (学生株)、黄色ブドウ球菌 *Micrococcus pyogenus var. aureus* (寺島株) の2株を使用した。

##### 第2項 pH 測定法

pH の測定は前章の実験より簡便で、精度の高いキノヒドロソ電極法を使用した。測定はすべて室温にて行ない、温度補正をなし、5回の測定値の平均をその値とした。但しこの測定法は蛋白誤差があるため pH 試験紙法を参考として用いた。

##### 第3項 一般の実験法

孵化は 39°C にて横位孵卵を行ない、1日1回放冷回転を行なつた。

pH の測定はすべて生存卵5個の材料につき行ない、5個の算術平均をその値とした。

孵化鶏卵に菌を接種するには二口法により、尿膜腔内に 0.2ml の菌液を接種し、その後24, 48, 72時間培養後に pH の測定を行なつた。

その他細部の実験方法はその都度各条項にてのべることとする。

#### 第2節 実験成績

##### 第1項 39°C にて孵化せる正常

##### 孵化鶏卵の pH の推移

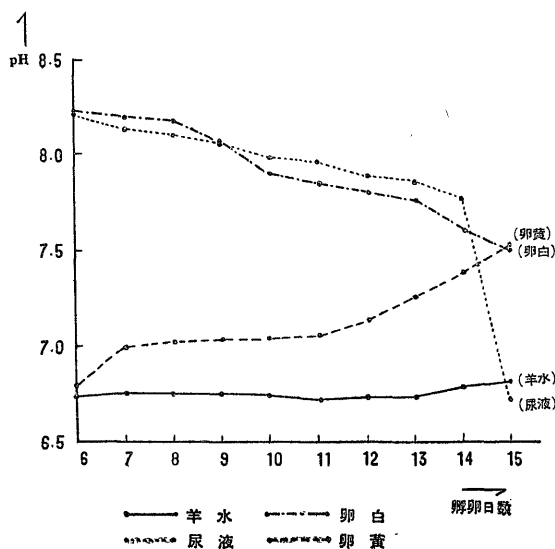
受精鶏卵を 39°C に孵卵し6日より15日に到る間に、各液体部分について各5例の pH を測定した。その成績は第7表及び第1図に示す如くである。

即ち羊水は6日卵にて pH 6.74 にて15日に到る間ほとんど変化なく、略々 pH 6.75 である。尿液は6日卵にては pH 8.19 で次第に下降して14日卵にては pH 7.76 となり、15日卵では急激に下降して pH 6.71 となつた。卵黄は6日卵にて pH 6.81 で8日卵にて pH 7.03 と僅かに上昇し、11日卵に到る間ほとんど変化なく、12日卵より又急角度に上昇し、15日

第7表 正常孵化鶏卵の pH (39°C にて孵卵)

孵化日数	羊 水	尿 液	卵 黄	卵 白
6	6.74	8.19	6.81	8.23
7	6.75	8.16	7.00	8.21
8	6.75	8.09	7.03	8.18
9	6.75	8.05	7.04	8.06
10	6.74	7.97	7.04	7.89
11	6.72	7.95	7.05	7.86
12	6.73	7.87	7.13	7.81
13	6.73	7.84	7.26	7.76
14	6.79	7.76	7.38	7.60
15	6.81	6.71	7.52	7.51
絶対誤差平均	0.07	0.06	0.10	0.07

第1図 正常孵化鶏卵の pH (39°C にて孵卵)



卵にては pH 7.52 となつた。卵白は6日卵にては pH 8.23 にて次第に下降し、15日卵では pH 7.51 となつた。

##### 第2項 39°C にて10日間孵卵後

35°C に温度を変えた正常孵

化鶏卵の pH の推移

受精鶏卵を 39°C にて10日間孵卵後、35°C

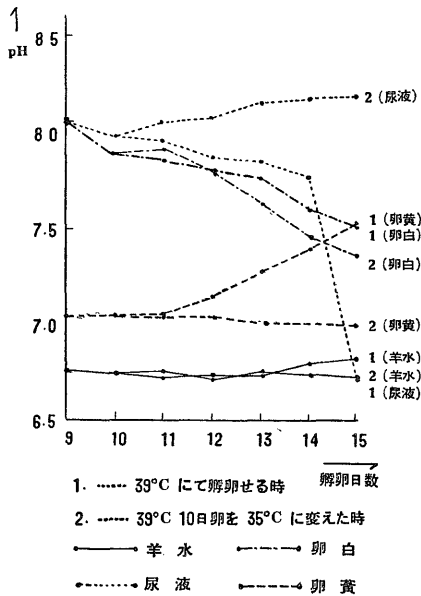
の孵卵器に移し変え、引続き11日目より15日目に到る間、各液体部分について各5例のpHを

測定した。その成績は第8表及び第2図に示す如くである。

第8表 正常孵化鶏卵のpH (温度を変えた時)

液体部分 温度 孵化日数	羊 水		尿 液		卵 黄		卵 白	
	39°C	35°C	39°C	35°C	39°C	35°C	39°C	35°C
10	6.74	—	7.97	—	7.04	—	7.89	—
11	6.72	6.75	7.95	8.05	7.05	7.04	7.86	7.91
12	6.73	6.72	7.87	8.07	7.13	7.04	7.81	7.80
13	6.73	6.74	7.84	8.15	7.26	7.00	7.76	7.63
14	6.79	6.73	7.76	8.17	7.38	7.00	7.60	7.46
15	6.81	6.72	6.71	8.18	7.52	6.99	7.51	7.36
絶対誤差平均	0.083	0.032	0.054	0.124	0.099	0.084	0.069	0.122

第2図 正常孵化鶏卵のpH  
(温度を変えた時)



即ち羊水はやはり温度を変えない時と同様にpH 6.75である。尿液は10日卵でpH 7.97であり、それ以後かえつて上昇して、15日卵にてpH 8.18となる。卵黄は尿液の場合と反対に10日卵にてpH 7.04であったものが、僅かに下降して15日卵にてpH 6.99となる。卵白は

10日卵にてpH 7.89であったものがやはり温度を変えないものと同様下降を続け、15日卵にてpH 7.36となる。

### 第3項 Micrococcus pyogenes var. aureus (寺島株) 感染孵化鶏卵のpHの推移

受精卵を10日間39°Cにて孵卵せる10日卵の尿膜腔内に二口法により、Micrococcus pyogenes var. aureus (寺島株)のブイヨン24時間培養の $10^{-8}$ 稀釈0.2mlを接種し、これを35°Cにて培養し、24, 48, 72時間目の生存卵につき、各液体部のpHを測定した。但し72時間目は全卵死亡せるため測定を行うことが出来なかつた。

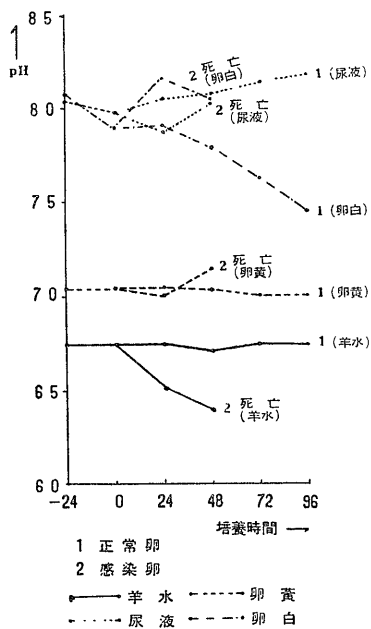
その成績は第9表及び第3図に示す如くであった。即ち羊水は非感染卵ではpH 6.75で変化しないが、感染卵では著明に下降し、24時間目にpH 6.52、48時間目にpH 6.40となつた。尿液は非感染卵ではpH 7.95よりpH 8.05へと僅かに上昇するに、感染卵では24時間目にpH 7.88と一応下降し、後pH 8.05と上昇するも顕著なる差を見ることが出来なかつた。卵黄は非感染卵ではpH 7.04で変化がないが、感染卵では24時間目でpH 7.01と僅かに下降後、48時間目でpH 7.04と上昇する。卵白は非感染卵ではpH 7.89からpH 7.80に僅か



第9表 感染孵化鶏卵の pH

培養時間			0	24	48	72	絶対誤差平均
正常卵	羊水	水	6.75	6.75	6.72	6.74	0.032
	尿液	液	7.97	8.05	8.07	8.15	0.082
	卵黄	卵	7.04	7.04	7.04	7.00	0.099
	卵白	卵	7.89	7.91	7.80	7.63	0.177
ブドウ球菌感染卵	羊水	水	6.75	6.52	6.40	死亡	0.058
	尿液	液	7.97	7.88	8.05	死亡	0.067
	卵黄	卵	7.04	7.01	7.14	死亡	0.117
	卵白	卵	7.89	8.16	8.05	死亡	0.075
大腸菌感染卵	羊水	水	6.75	6.55	6.38	死亡	0.039
	尿液	液	7.97	7.67	7.77	死亡	0.077
	卵黄	卵	7.04	6.90	7.12	死亡	0.132
	卵白	卵	7.89	7.78	7.71	死亡	0.067

第3図 感染孵化鶏卵の PH (M. pyo. var. aureus 接種)



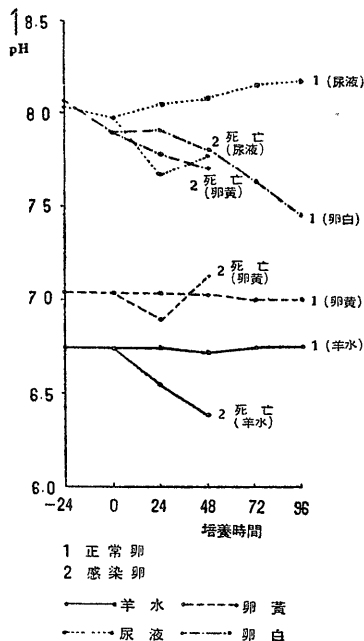
に下降するも 感染卵では 24 時間目に pH 8.16 と上昇し後 48 時間目に pH 8.05 と僅かに下降する。以上を見ると羊水において著明なる変化が見られるのみで、他の部分は実験例数も少ないため有意義であるかどうかは不明である。

第4項 Escherichia coli (学生)

感染孵化鶏卵の pH の推移

Escherichia coli (学生) の 24 時間 ブイヨン培養の  $10^{-6}$  稀釈 0.2ml を前項同様に接種し、前項同様の測定を行つた。72 時間目は前項同様全卵死亡せるため測定は出来なかつた。

第4図 感染孵化鶏卵の pH (E. coli 接種)



その成績は第9表及び第4図に示す通りであつた。即ち羊水はブドウ球菌接種と同様著明に下降し、24時間目に pH 6.60、48時間目に pH 6.40 となつた。尿液は24時間目に pH 7.67 と下降し後48時間目に pH 7.77 と僅かに上昇する。卵黄はブドウ球菌接種と同様に24時間で pH 6.90 と稍々下降後 pH 7.12 と上昇する。卵白は非感染卵に比し稍々著明に下降し48時間間で pH 7.71 となる。

以上を見ると羊水における変化、及び尿液、卵白における変化は稍々著明なる変化であり、卵白の変化はブドウ球菌感染卵と異なつた変化であるように思われるも実験例数が少なく意義ある変化とは思われない。

### 第3節 考 案

39°Cにて孵卵せる正常孵化鶏卵, 39°Cより35°Cに孵化温度を変えた正常孵化鶏卵, 及びブドウ球菌及び大腸菌にて感染せる孵化鶏卵のpHの推移を観察した。一般に多くの研究者が観察しているのは39°Cにて孵化せる正常卵のみであり, 孵卵温度を変化せる正常孵化鶏卵, 及び感染孵化鶏卵については全く文献を見ない。その変化をまとめると次の如くなる。

#### 1) 39°Cにて孵卵せる正常孵化鶏卵

a) 羊水 羊水は一般に変化が少なく pH 6.74 の弱酸性である。これは羊水中に胎児が生存している関係上その変化を少なくする必要からと考えられる。このpHが胎児の生活に最も適したpHと考えられる。それ故分離直後のvirusの培養に羊膜腔内が使用されるのはもつとものことであろう。

b) 尿液 6日卵でpH 8.19で次第に下降して酸性にかたむく。これは主として尿酸の蓄積によるものである<sup>(2)(13)</sup>。特に15日卵にて尿酸の蓄積多く, ために急激に下降して酸性となる。このように尿液が酸性にかたむくことは多くの研究者<sup>(4)(14)</sup>も観察しているが, その値はかならずしも一定していない。これはそのsampleの取り方及び例数の多少及び実験方法の差等に帰せられる。

c) 卵黄 6日卵でpH 6.81で以後pH 7.00ぐらいにとどまり, 11日卵より又アルカリ性にかたむく。このことは既に Aggozzotti<sup>(1)</sup>及び Gueylard<sup>(4)</sup>等により観察されているが, その

値はいささか差がある。これは例数が非常に少ないためであり, 観察回数も少ないのでその値の差は個体差と見るべきである。アルカリ性への転移は種々の有機酸, アミノ酸等の酸性物質が栄養素として吸収されるために起るものと考えられる。

d) 卵白 一般にアルカリ性側にあり, このことは未受精卵にも見られる点より考えて孵化によるものではないと考えられる。

#### 2) 低温に変えた場合

温度を低温に変えた場合一般にpHの変化は少なくなる。このことは代謝が弱くなるためと考えられる。尿液ではかえつて僅かにアルカリ性に変化する。一般に微生物接種後低温に変えるのは各微生物の至適温度とする外にpHの変化も少なくなつて都合がよいためであろう。

#### 3) 接種卵

接種卵は実験例数も少なく又48時間以後の測定は困難なるためその意義は不明であるがブドウ球菌, 大腸菌感染にさいし羊水中にふくまれる糖類その他を菌が分解して酸性になる。このため胎児の死亡を早めると考えられる。又急性感染のさいブドウ球菌及び大腸菌感染でも孵化鶏卵内のpHの変化は同一である如く思われる。

一般に接種卵に10~12日卵を使用し, この時に35°Cの低温に変える方法は尿膜腔内接種においては理想的なpHの環境であろうと考えられ, 従来接種法の良き裏づけと考えられる。

## 第4章 結 論

孵化鶏卵の各液体部分(尿液, 羊水, 卵黄, 卵白)についてpHの推移を観察した。

I. pHの測定法5法を比較したるに, 水素ガス電極法が最も正しく, キンヒドロソ電極法, Michaelis氏法, Hellige comparator法の順に悪くなり, 東洋試験紙法が最も不正確であつた。

II. キンヒドロソ電極法により, 卵の各液体部分のpHを測定した。

a) 39°Cにて孵卵し, 6~15日卵につき測定したものは, 尿液, 卵白は酸性にかたむき, 卵黄はアルカリ性に変化し, 羊水は殆んど変化がなかつた。

b) 39°Cにて10日間孵卵後, 35°Cに移し,

引続き 11~15 日卵につき pH を測定したものは、尿液、羊水、卵黄は変化少なく、卵白はやはり酸性にかたむいた。

c) *Micrococcus pyoges* var. *aureus* (寺島) を接種し、その後 24 及び 48 各時間において測定したもので、尿液は初め酸性に、後アルカリ性に、羊水は初めより酸性に、卵黄は著変なく卵白は初めよりアルカリ性にかたむいた。

d) *Escherichia coli* (学生) を接種し、その後 24 及び 48 各時間において測定したもので、尿液は初め酸性、後稍アルカリ性に、羊水は初めより酸性に、卵黄は酸性後アルカリ性に變化し、卵白は初めより酸性にかたむいた。

稿を終るにのぞみ御指導御校閲して下さつた恩師谷教授に深謝致します。

## 文 献

- 1) Hüppe, F. : Fortschr. Med., 3 : 619 (1885).
- 2) Goodpasture, E. W. : South. Med. J., 26 : 418 (1933) [Rivers, T. M. : Viral and Rickettsial Infektion of Man (Second Printing), 97, (1948), Phiradelphia, U. S. A.]
- 3) Aggazzotti : [Needham, J. : Chemical Embryology, (1931), London].
- 4) Gueylard, M. F. et Portier, M. P. : C. r. Acad. Scie., 180 : 1962 (1925).
- 5) Friedheim, E. A. : C. r. Soc. Biol., 101 : 1039 (1924).
- 6) 川喜田愛郎 : 実験医学雑誌, 23 : 1270 (1939, 昭14).
- 7)

- 吉村寿人 : pH の理論と測定法, (昭16, 1941), 丸善, 東京.
- 8) 水谷通治 : 水素イオン濃度測定法標示薬法の部, (大14, 1925), 丸善, 東京.
- 9) 竹内松次郎 : 近世細菌学及免疫学前編, (増訂5版), 127, (昭4, 1929), 金原, 東京.
- 10) Veibel : J. Chem. Soc., 123 : 2203 (1923).
- 11) Biilmann : Bull. Soc. Chim. France., 41 : 213 (1927).
- 12) Needham, J. : Chemical Embryology, (1931), London.
- 13) Patten, B. M. : The Early Embryology of the Chick, (3rd. ed.), (1929), Phiradelphia, U. S. A.