

嫌氣性菌ニ關スル研究補遺

第1報 「ヴィタミンC剤ニヨル好氣的培養法ニ就テ (其 1)

金澤醫科大學細菌學教室(谷教授指導)

井 上 來 太

Raita Inoue

(昭和13年8月10日受附)

(本論文ノ要旨ハ昭和13年4月4日第12回聯合微生物學會ニ於テ發表シタ)

内 容 抄 錄

從來一般ニ使用セラル、嫌氣性菌ノ好氣的培養基ガ、ソノ製造操作極メテ煩雜デ、ソノ材料モ入手意ノ如クナラナイノニ鑑ミ、l-Ascorbinsäureノ強イ還元能力ヲ應用セントシテ、國產「ヴィタミン」ヲ以テ嫌氣性菌ノ好氣的培養ヲ試ミタ所、幸ニ成功シタノデ、先づ「ヴィタミン」ノ還元能力ヲ測定シ、更ニ「ブイヨン」ニ添加シタ後、滅菌操作ヲ施スモ破壊セラル、事少ク、嫌氣性菌ノ發育ヲ妨ゲルコトガ殆ンドナイノヲ

觀察シタ、然シ培養基ハ永ク貯藏スルニハ不適當デ、「ヴィタミン」ノ添加ハナルベク使用直前ニ行フベキコトヲ認メタ。次ニ5種ノ嫌氣性菌ヲ以テ「ヴィタミン」添加「ブイヨン」中ノ菌ノ發育状態ヲ觀察シタガ、ソノ發育速度ハ Tarozzi 氏肝「ブイヨン」ニ比シ大ナル差違ヲ認メズ、尙コノ好氣的培養法ニヨル菌ノ各種含水炭素分解能力試験ヲ試ミタガ、ソノ結果ハ極メテ明瞭デ從來ノ方法ニ比シ至便且正確ナモノト確信シタ。

目 次

第1章 緒 言	第5項 小 括
第2章 實驗材料及實驗方法	第2節 「ヴィタミン」ノ熱ニ對スル抵抗
第3章 實驗成績	第3節 「ヴィタミン」ノ耐久性
第1節 「ヴィタミン」ノ還元能力	第4節 液體培養基ノ價値
第1項 水道水ヲ基材トシタ場合ノ還元能力	第1項 「ブイヨン」ニヨル好氣的培養
第2項 「ブイヨン」ヲ基材トシタ場合ノ還元能 力	第2項 「ペプトン」水ニヨル好氣的培養
第3項 水道水ヲ基材トシタ場合ノ肝片ノ還元 能力	第3項 水道水ニヨル好氣的培養
第4項 「ブイヨン」ヲ基材トシタ場合ノ肝片ノ 還元能力	第5節 「ヴィタミン」添加培養基ニヨル各種含 水炭素ノ分解能力試験
	第4章 總括並考案
	第5章 結 論

第1章 緒 言

今日嫌氣性菌=關スル研究ガ非常ナ進歩ヲ遂ゲタトハ云ヘ、尙好氣性菌ノソレニ比シ甚ダ寥々タルモノデ、未知ノ領域多ク、遺憾トスル所デアル。ソノ原因ハ主トシテ嫌氣性菌ノ生活並ニ發育ガ酸素ト一定ノ關係ヲ有シ、ソノ取扱ガ極メテ困難ナコトニ歸スルモノト考ヘラレル。

此目的ニ副ハンガタメ、既ニ多クノ學者ニヨリ、種々ノ培養基並ニ培養法ガ考案セラレ、ソノ文獻モ甚ダ多ク、枚擧ニ暇ナイ有様デ、各自ソノ特徴ニ於テ價値ガナideハナイガ、完全至便ノモノハ稀デアツテ、特ニソノ好氣的培養法ニ至ツテハ、平板培養ハ固ヨリ、液體培養法スラ甚ダ不満足ノ感ガアル。

今日一般ニ最モ重寶至便ナモノトシテ使用セラレル好氣的培養基= Tarozzi 氏肝「ブイヨン」⁽¹⁾⁽²⁾、Hibler 氏腦粥⁽³⁾等ガアルガ、コレラハソノ製作ニ當リ新鮮ナ牛ノ肝臓、脳ヲ必要トシ、ソノ入手ガ意ノ如クナラズ、且煩雜ナ操作ト幾多ノ時間的不經濟ヲ免レナイ。コノ點嫌氣性菌ニ關スル研究ヲナサントスル學徒ノ等シク當惑スル所デアル。

嫌氣性菌ノ好氣的培養法ノ一トシテ、既ニ Tarozzi⁽³⁾、Adam Wrzosek⁽³⁾、Callow⁽⁴⁾、Avery a. Morgan⁽⁴⁾等ノ報告シタ植物性組織「ブイヨン」ニ添加シタ培養基ガアルガ、コレハ Tarozzi ニヨレバ動物性組織加「ブイヨン」ニ比シ、ソノ發育程度ハ遙カニ劣リ、ソノ成績モ恒定トハ言

ヘナイトイフ。

1935年佐多⁽⁵⁾⁽⁶⁾ハ Ascorbinsäure ノ還元力ヲ應用セントシテ「レドキソン」(Roche) ヲ「ブイヨン」ニ添加シ、Bac. tetani 1株 Gasbrandbacillus 2株ニツキ、發育スルコトヲ報告シ、1938年ニハ Kligler a. Guggenheim⁽⁴⁾ガ Bac. welchii ニツキ、Vitamin C 溶液ヲ「ブイヨン」並ニ半固形寒天培養基ニ添加シ好氣的培養ニ成功シタコトヲ報告シタ。併シ何レモコノ培養基ヲ使用シテ嫌氣性菌ヲ取扱フ場合、スペテノ條件ニ於テ從來最モ愛用サレテ居ル Tarozzi 氏肝「ブイヨン」ト全ク同様ニ取扱ヒ得ルヤ否ヤニ關シテハ、尙詳細ナ報告ヲシテキナイ。

又一方「レドキソン」(Roche) ソノ他ノ外國製品ハ尙高價デ、嫌氣性菌ニ關スル研究ニ使用スルニハ甚ダ不經濟デアツテ、殊ニ國家非常時ノ今日デハソノ入手スラ困難ナノヲ痛感シタ。

茲ニ於テ余ハ 1937 年以來比較的安價ナ國產「ヴィタシミン」(武田)ヲ用ヒ、Bac. welchii, Bac. tetani, Bac. parasarcophysematos, Bac. amylobacter, Bac. histolyticus ノ 5 種ノ嫌氣性菌ニツキ實驗ヲ企テ、ソノ發育ニ好適ナノヲ認メ且コノ培養基ヲ使用シテ嫌氣性菌ニ關スル詳細ナ系統的研究ヲ行ヒ、聊カ興味アル成績ヲ得タノデ、ソノ大要ヲ報告シ同學ノ士ノ参考ニ資セントスル次第デアル。

第2章 實驗材料及實驗方法

當教室保存ノ嫌氣性菌中 (Tarozzi 氏肝「ブイヨン」ニ培養シ保存シタモノ) 次ノ 5 種 (Bac. welchii⁽¹⁾, Bac. amylobacter, Bac. tetani (獨逸), Bac. parasarcophysematos (Seiboldt), Bac. histolyticus) ノ選ビ形態學的、生物學的、動物ニ對スル病原性ノ諸性狀ヲ檢シタ後、實驗ノ都度肝「ブイヨン」ニ直徑 7.0mm ノ渦巻型白金線¹白金耳ヲ接種シ、37°C 24 時間培養シタモノヲ實驗ニ供シタ。但シ、コノ際肝「ブイヨン」ハ培養基ニ還元能力ヲ可及的一定ニスルタメ、各試驗管ニ肝片

2.0gr. (6 個ニ分割) PIIf7.0 ノ肝「ブイヨン」8.0cc ツ、ヲ分注シタモノヲ使用シタ。

實驗ニ供シタ菌株ハ勿論純粹ナモノヲ用ヒタガ實驗中、念ノ爲時々コレヲ寒天平板、血液寒天平板、普通「ブイヨン」等ニ好氣的培養ヲ試ミ、ソノ發育シナイコトヲ確カメタ。(但シ Bac. amylobacter ノミハ好氣的培養ガ可能デアツタ)。

實驗成績ノ判定ハ、一定時ニ於ケル瓦斯形成度、濁濁度、菌沈澱度ヲ以テ標準トシ、時ニハ暗視野裝置又

ハ染色法ヲ以テ補足シ、更ニ寒天平板、血液寒天平板、「ブイヨン」等ニ轉培シ好氣的培養ヲ試ミ、好氣性菌ノ混入ニヨラナイコトヲ確實ニシタ。尙培養法ハ何等

空氣ヲ遮断スルコトナク、37°Cノ孵卵器内ニ置キ1日乃至30日間コレヲ觀察シタ。尙詳細ナ實驗方法ハ各條下ニ於テ記述スルコト、スル。

第3章 實驗成績

「ヴィタミン」Cニ關シテハ、1928年 Szent-Györgyi⁽¹⁾ガ初メテ Suprarenal cortex カラ C₆H₈O₆ナル分子式ヲ有スル一種ノ還元性物質ヲ分離シ、コレヲ Hexuronic acid ト命名シタガ、1932年 Tillman, Szent-Györgyi⁽²⁾ハコレガ「ヴィタミン」Cト同一ノ性質ヲ有スルコトヲ確認シ、爾來コレガ Ascorbinsäure ト稱セラル、ニ至ツタ。更ニ1933年ニハ Reichstein⁽³⁾ニヨリコレガ合成セラレ、「ヴィタミン」Cニ關スル研究ハ最近著シク發展スルニ至ツタ。

而シテコノ物質ガ還元能力ヲ有スルコトハ既ニコレラノ人々ニヨリ報告セラレタガ、余ガ實驗ニ使用シタ Ascorbinsäure ノ製劑トイハル、「ヴィタシミン」ニ關シテモ、ソノ還元能力ノ強度並ニ添加後消失ニ至ル時間的關係及ビ添加量ト還元能力ノ關係等ニツキ、ソノ詳細ヲ知ルコトハ極メテ重要ナコトデアルカラ茲ニソノ詳細ヲ觀察シ、更ニ Tarozzi 氏肝「ブイヨン」ノソレトヲ比較シタ次第デアル。尙以後ノ記載ハ同一實驗ヲ數回繰返ヘシ、最モ確實ナ成績ト思ハル、モノヲ記ルスコト、シタ。

第1節 「ヴィタシミン」ノ還元能力

第1項 水道水ヲ基材トシタ場合ノ還元能力

實驗方法 同大ノ試驗管ニ水道水 8.0cc ヶヲ取り、コレニ 1.0%「メチーレン青」水溶液 0.1cc ヶヲ附加シ、100°C 30分ノ加熱滅菌ヲ施シ冷却シタ後、第1表ノ如ク「ヴィタシミン」(2.5% Ascorbinsäure 含有ノモノ)(以下コレヲ V. ト略ス) 0.05cc, 0.1cc, 0.15cc, 0.2cc ヲ無菌的ニ添加シ、之ヲ 37°C の孵卵器内ニ靜置シ、「メチーレン青」ノ脱色度ヲ觀察シテ還元能力ノ消失時間ヲ見タ。(第1表參照)

即チ「メチーレン青」ノ脱色ニヨリソノ還元能力ヲ推測スルニ、水道水ヲ基材トシタ場合ノ V. 添加量ハ、基材 8.0cc = 對シ 0.1cc 以上ヲ必要

第1表 水道水ヲ基材トシタ場合ノ
V. ノ還元能力

V添加 時間	0.05cc	0.1cc	0.15cc	0.2cc
1°	+++	<++	<++	<++
2°	+++	<++	<++	<++
5°	+++	<++	<++	<++
10°	+++	<++	<++	<++
15°	+++	<++	<++	<++
20°	+++	<++	<++	<++
24°	+++	++	++	++
30°	+++	++	++	++
對 照	+++	++	++	++

(註) 對照ハ V. ヲ上表ノ量ヅ、水道水 8.0cc = 添加シコレヲ「アウトクラーフ」ニテ 120°C 3 時間以上加熱シ、コレニ 1.0%「メチーレン青」水溶液 0.1cc ヲ附加シタルモノヲ用ヒタ。

(<++) ハ青色ガ對照ノソレヨリヤ、薄キヲ示シ
(++) (+) ハ順次青色ノ薄クナル度ヲ示ス。

トシ、ソレ以上 0.2cc = 至ル範圍ニ於テハ、還元能力ノ強度ニ著シイ差違ヲ認メナイ。而シテソノ能力ハ以上ノ範圍ノ量ニ於テハ、何レモ V. 添加後 20 時間迄保持シ得ルノヲミタ。

第2項 「ブイヨン」ヲ基材トシタ

場合ノ還元能力

實驗方法 第1項ニ於ケル水道水ノ代リニ P117.0 ノ牛肉「ブイヨン」ヲ用ヒ、第1項ニ於ケルト全ク同一ノモノヲ作製シ、同條件ノモトニ觀察シタ。(第2表參照)

第2表ニ見ル如ク「ブイヨン」ヲ基材トシタ場合ノ V. ノ還元能力ハ、0.05cc 添加ニヨリテ現ハレ、添加量ガ 0.2cc = 至ル範圍ニ於テハ、ソノ量ニ比例シテ強ク且比較的長時間コノ能力ヲ保持スルガ、大體ニ於テハ添加後 15—24 時間迄コノ能力ノアルノヲ認メタ。

第2表 「ブイヨン」ヲ基材トシタ
場合ノV.ノ還元能力

V添加量 時間	0.05cc	0.1cc	0.15cc	0.2cc
1°	卅	卅	<卅	<卅
2°	卅	<卅	<卅	<卅
5°	卅	<卅	<卅	卅
10°	卅	<卅	卅	卅
15°	<卅	<卅	卅	卅
20°	<卅	<卅	<卅	卅
24°	卅	<卅	<卅	卅
30°	卅	卅	<卅	<卅
48°	卅	卅	<卅	<卅
72°	卅	卅	卅	卅
對 照	卅	卅	卅	卅

(註) 対照ハ「ブイヨン」ヲ基材トシコレニV.ヲ上表ノ如ク添加シ第1表ノ(註)ト同様ニ處置シタルモノヲツタ。

(卅)(<卅)(卅)(+)(+)ハ第1表ノ(註)=同ジ。

第3項 水道水ヲ基材トシタ

場合ノ肝片ノ還元能力

実験方法 同大ノ試験管ニ水道水 8.0cc^g、ヲ取り、コレニ既ニ 120°C 1 時間ノ滅菌ヲ施シタ牛ノ肝臓片

第3表 水道水ヲ基材トシタ場合ノ 肝片ノ還元能力

肝片量 時間	0.5gr	1.0gr	2.0gr	3.0gr
1°	<卅	<卅	卅	卅
2°	<卅	<卅	卅	卅
5°	<卅	卅	卅	卅
10°	<卅	卅	卅	卅
15°	<卅	卅	卅	卅
20°	<卅	卅	卅	卅
24°	<卅	卅	卅	卅
30°	<卅	卅	卅	卅
2T	<卅	卅	卅	卅
3T	<卅	<卅	卅	卅
4T	<卅	<卅	卅	卅
5T	卅	卅	卅	卅
7T	卅	卅	卅	卅
對 照	卅	卅	卅	卅

(註) 対照ハ肝片ヲ入レナイモノヲ用ヒタ。
(卅)(<卅)(卅)(+)(+)ハ第1表ノ(註)=同ジ。

0.5gr (1個), 1.0gr (2個), 2.0gr (4個), 3.0gr (6個)ヲ入レ, ソノ各ニ 1.0%「メチーレン青」水溶液 0.1cc^gヲ附加シ, 100°C 30分ノ滅菌ヲ施シタ後, 之ヲ 37°C ノ孵卵器内ニ靜置シ, 「メチーレン青」ノ色調度ヲ觀察シテ還元能力ノ消失時間ヲ見タ. (第3表参照)

即チ水道水ヲ基材トシタ場合ノ肝臓片ノ還元能力ハ, 肝片僅カ = 0.5gr ヲ入レテモ現ハレ, ソノ含有スル肝片量ニ比例シテ強度ニ出現シ, 長時間ソノ能力ヲ保持ス. 而シテ肝片 2.0gr 以上ヲ含有スルトキハ, 1週間後ニモ尙還元能力ノ全ク消失シナシノヲ見タ.

第4項 「ブイヨン」ヲ基材トシタ

場合ノ肝片ノ還元能力

実験方法 第3項ニ於ケル水道水ノ代リ = PH7.0, 牛肉「ブイヨン」ヲ用ヒ, 第3項ニ於ケル全ク同一ノモノヲ作製シ, 同ジ條件ノモトニ觀察シタ. (第4表参照)

第4表 「ブイヨン」ヲ基材トシタ

場合ノ肝片ノ還元能力

肝片量 時間	0.5gr	1.0gr	2.0gr	3.0gr
1°	<卅	<卅	卅	卅
2°	<卅	<卅	卅	卅
5°	<卅	卅	卅	卅
10°	<卅	卅	卅	卅
15°	<卅	卅	卅	卅
20°	<卅	卅	卅	卅
24°	<卅	卅	卅	卅
30°	<卅	卅	卅	卅
2T	<卅	卅	卅	卅
3T	<卅	<卅	卅	卅
4T	<卅	<卅	卅	卅
5T	卅	卅	卅	卅
7T	卅	卅	卅	卅
對 照	卅	卅	卅	卅

(註) 対照及(卅)(<卅)(卅)(+)(+)ハ第3表ノ(註)=同ジ。

即チ「ブイヨン」ヲ基材トシタ場合ノ肝片ノ還元能力ハ, 第3項ニ於ケル實驗成績ト全ク同様デ, 含有スル肝片ノ量ニ比例シテ強度ニ現ハレ, 長時間ソノ能力ヲ保持スルコト既ニ佐々木⁽⁸⁾ニヨリ發表セラレタ所ニ一致ス.

而シテコレニ於テモ 2.0gr 以上ノ肝片ヲ含有スルトキハ、ソノ還元能力ハ 1 週間後ニ至ルモ全ク消失シナイモノヲ見タ。

第5項 小 括

以上ノ實驗成績ヨリ、V.ハ明カニアル程度ノ還元能力ヲ有シ、「ブイヨン」=添加スルトキハ添加後 15—24 時間迄ソノ最大還元能力ヲ示スガ、ソノ後ハ漸次弱クナツテユク。而シテソノ添加量ハ 0.05cc ヨリ 0.2cc=至ル範囲ニ於テハ、常ニソノ量=比例シテソノ還元能力ヲ強度=出現シ、長時間ソノ能力ヲ保持スル。今コレヲ肝片ノソレニ比較スルトキハ、ソノ能力ノ強度及び持続時間ニ於テハ遙カニ劣ル様デアルガ、添加後ソノ最大還元能力ヲ示ス24時間程ノ間ニ於

テ菌ノ發育スルコトヲ考ヘレバ、V.ノ還元能力モコノ點何等支障ヲ來サナイモノト思ハレル。

第2節 「ヴィタシミン」ノ

熱ニ對スル抵抗

實驗方法 4 列ノ試驗管ニ PH7.0 ノ牛肉「ブイヨン」8.0cc ブ、ヲ取り、120°C 20 分ノ滅菌ヲ施シタル後、ソノ各列ニ第5表ノ如ク V. ヲ 0.05cc, 0.1cc, 0.3cc, 0.5cc ブ、ヲ無菌的ニ添加シ、Wasserbad 及 Autoclav ヲ使用シテ 60°C 30 分ヨリ 120° 1 時間ニ至ル 加熱ヲ施シ急速ニ冷却シタ後、コレニ嫌氣性菌ノ肝「ブイヨン」(PH7.0) 37°C 24 時間培養ノモノヲ直徑 7.0mm ノ渦巻白金耳ニテ 1 白金耳ブ、ヲ移植シ、37°C ノ孵卵器中ニテ 24 時間培養シ、ソノ結果ヲ觀察シタ。(第5表参照)

第 5 表 V. 添加「ブイヨン」ヲ加熱シタ場合ノ菌ノ發育狀態

V. 添加量	Bac. welchii				Bac. tetani				Bac. Parasarcophy-sematos			
	0.05 cc	0.1cc	0.3cc	0.5cc	0.05 cc	0.1cc	0.3cc	0.5cc	0.05 cc	0.1cc	0.3cc	0.5cc
對照	#	#	#	#	#	#	#	#	+	+	+	+
加熱 温度及時間	60°C 30'	#	#	#	#	#	#	#	+	+	+	+
	60°C 1°	#	#	#	#	#	#	#	+	+	+	+
	70°C 30'	#	#	#	#	#	#	#	+	+	+	+
	70°C 1°	#	#	#	#	#	#	#	+	+	+	+
	80°C 30'	#	#	#	#	#	#	#	+	+	+	+
	80°C 1°	#	#	#	#	#	#	#	+	+	+	+
	90°C 30'	#	#	#	#	#	#	#	+	+	+	+
	90°C 1°	#	#	#	#	#	#	#	+	+	+	+
	100°C 30'	#	#	#	#	#	#	#	+	+	+	+
	100°C 1°	#	#	#	#	#	#	#	+	+	+	+
	110°C 30'	#	#	#	#	#	#	#	+	+	+	+
	110°C 1°	#	#	#	#	#	#	#	+	+	+	+
	120°C 30'	#	#	#	#	#	#	#	+	+	+	+
	120°C 1°	#	#	#	#	#	#	#	+	+	+	+

(註) 對照ハ加熱シナイモノヲ用ヒタ。

(#)(#)(+)(-)ハ菌ノ發育程度ヲ示スモノテ「ブイヨン」ノ濁濁程度ニヨリ「ブイヨン」ヲ透シテ窓ノ様ヲ見ルトキコレノ全ク見エナイモノヲ(#)辛ジテ見得ルモノヲ(+)明瞭ニ見得ルモノヲ(+)全ク濁濁ナキモノヲ(-)トシタ。

即チ V. ヲ「ブイヨン」=添加スルトキハ 0.625 % ノ少量デモ、60°C 30 分ヨリ 120°C 1 時間ノ加熱ニヨリ、ソノ還元能力ノ減ズルコト少ク、

嫌氣性菌ノ發育ニハ何等惡影響ヲ及ボサ マルコトヲ認メタ。

換言スレバ、豫メ「ブイヨン」=V.ヲ添加シ、

一定ノ滅菌ヲ施シテ後、コレニ嫌氣性菌ノ移植ヲ行ツテモ培養上何ラ差支ナイヲ確認シタ.

以上ハ「ブイヨン」中ニ添加セラレタV.ノ熱ニ對スル抵抗力アツテ、ソノ間「ブイヨン」ガコノ抵抗力ヲ大ナラシメル何ラカノ作用ヲ營ミ居ルカトモ考ヘラレルノデ、更ニV.ソノモノノ熱ニ對スル抵抗力ヲ明カニ知ランガ爲メ、次ノ實驗ヲ企テ.

實驗方法 V.ノ「アンプルレ」ヲソノマ、Wasserbad及 Autoclav 中ニテ 100°C 30分ヨリ 120°C 1時間ノ加熱ヲ施シ、コレヲ豫メ製作滅菌シタ PH7.0 の牛肉「ブイヨン」80cc ニ對シ、0.05cc ヴ、ヲ無菌的ニ添加シタモノノ列ト、0.15cc ヴ、ヲ無菌的ニ添加シタモノノ列トヲツクリ、コレニ嫌氣性菌ヲ移植シテ 37°C の孵卵器中ニテ培養ヲ行ヒ、24時間後ソノ發育狀態ヲ觀察シタ. (第6表參照)

第6表 V.ノミヲ加熱シタ後「ブイヨン」ニ添加シタ場合ノ菌ノ發育狀態

菌種	Bac. welchii		Bac. tetani		Bac. parasercophysematis	
	V添加量	0.05 cc	0.15 cc	0.05 cc	0.15 cc	0.05 cc
100°C 30'	#	#	#	#	+	+
100°C 1°	#	#	#	#	+	+
110°C 30'	#	#	#	#	+	+
110°C 1°	#	#	+	#	-	+
120°C 30'	#	#	+	#	-	+
120°C 1°	#	#	-	#	-	+

(註) (#)(+)(+)(-)(-)ハ第5表ノ(註)ニ同ジ.

即チV.ノミヲ加熱シテ之ヲ「ブイヨン」ニ添加シタトキハ、豫メ「ブイヨン」ニV.ヲ添加シテ後、加熱シタ場合ニ比シ著シクソノ性質ガ破壊セラレ、110°C 1時間ノ加熱ニヨリ、既ニ用フル菌種ニヨツテハソノ發育ヲ妨げラレル.

併シ實際ノ場合ニ於テ V.ハ「アンプルレ」入リトシテ發賣セラレ、加熱滅菌ノ必要ナク只之ヲ無菌的ニ滅菌「ブイヨン」ニ添加シテ使用シ得ルモノデアツテ、若シV.ヲ未滅菌「ブイヨン」ニ添加シテ後、コレヲ加熱滅菌スペキ場合ガア

ルトシテモ、コノ場合ニハ既ニ上記ノ實驗ニヨリ明カナ様ニ、ソノ破壊セラレルコト少ク嫌氣性菌ノ培養上ニハ何ラ差支ガナイ.

抑々「ヴィタミン」C 即チ l-Ascorbinsäure ハ熱ニ對スル抵抗カナリ強ク、藤巻⁽⁹⁾ニヨレバ「ヴィタミン」C ハコレヲ 1 時間 100°C ニ熱スレバ、30分熱シタヨリモ一層多ク破壊セラレルガ、110°C デ 30分熱シテモ全部ハ破壊セラレズ、120°C デ 30分熱スレバ殆ンド全部破壊セラレルトイフ. 余ノ實驗ヨリミテモ大體コノ説ニ一致スルガ、然シ「ブイヨン」ニ加熱 V. ヲ 1.875% ノ割ニ添加シタ場合ニハ、120°C 1 時間ノ加熱ヲ施シタモノニテモ尙ヨク嫌氣性菌ノ培養可能ナノミタ. 憶ニ V. 中ニハ l-Ascorbinsäure 以外ニ嫌氣性菌發育ノ要約ニソフ何等カアル物質ノ存在スルカトモ考ヘラレル.

第3節 「ヴィタミン」ノ耐久性

先項ニヨリ V. ハ「ブイヨン」ニ添加シ加熱ニヨル一定ノ滅菌ヲ施シテモ、嫌氣性菌ノ培養上支障ヲ來サナイヲ認メタノデ、更ニコレガ耐久性ヲ検索シ、以テコノ培養基ノ保存ノ可否ニツキ實驗ヲ企テ.

實驗方法 試驗管ニ PH7.0 の牛肉「ブイヨン」8.0cc ヴ、ヲトリ、120°C 20分ノ滅菌ヲ施シテ後、コレニ無菌的操作ノモトニ V. 0.05cc ヲ添加シタモノ、及ビ 0.1cc ヲ添加シタモノ、及ビ 0.15cc ヲ添加シタモノヲ作製シ、コレヲ冷蔵庫、室溫暗所、室溫明所ニ貯藏シ、一定時日ノ後コレニ嫌氣性菌ノ肝「ブイヨン」培養ノモノヲ移植シ、コレヲ 37°C の孵卵器中ニ放置シテ24時間後ノ菌ノ發育狀態ヲ觀察シタ. (第7表參照)

即チ一般ニ V. ヲ「ブイヨン」ニ添加シテ後、時日ノ經過ト共ニ嫌氣性菌ノ培養ニ不適トナルコトハ認メラレルガ、ソノ加ヘル量ノ大ナル程比較的永クソノ効力ヲ保持シ、且冷蔵庫ニ貯藏シタモノニ於テ最モ永ク、室溫暗所ニ貯藏シタモノ之ニ次ギ、室溫明所ニ貯藏シタモノニ於テ最モ早クソノ効力ヲ失フノヲ認メタ. 即チV.ハ概シテ空氣中ニ永ク放置サル、トキハ著シク變化ヲ受ケルモノデアル事ハ明瞭デアツテ、尙先ノ實驗成績ヨリ明カナ様ニ、高溫ニ短時間保

性久耐ノ表第7

		Bac. welchii			Bac. tetani			Bac. parascaphyseumatis		
冷 藏 庫		暗所(室溫)			冷 藏 庫			冷 藏 庫		
0.05 cc		0.1 0.15 0.05 cc			0.1 0.15 0.05 cc			0.1 0.15 0.05 cc		
V添加量 作製後 日數		明所(室溫)			明所(室溫)			明所(室溫)		
即 坐		#			#			#		
1	日	#	#	#	#	#	#	#	#	+
2	日	#	#	#	#	#	#	#	-	-
3	日	#	#	#	#	#	#	#	-	-
5	日	#	#	#	#	#	#	#	-	-
7	日	#	#	#	#	#	#	#	-	-
10	日	+	-	-	+	-	-	-	-	-
15	日	-	-	-	+	-	-	-	-	-

今「ヴィタミン」C 即チ l-Ascorbinsäure ニツキ、ソノ文献ヲミルニ、コレガ極メテ酸化サレ易イモノデアルコトハ既ニ認メラル、所デ、特ニ溫度トノ關係ニ至ツテハ、藤巻⁽¹⁰⁾ニヨレバ食物ノ調理ニ際シコレヲ低溫ニテ長時間熱スルヨリ、高溫ニテ短時間熱スル方ガ「ヴィタミン」C ノ消失ヲヨリ多ク防止出來得ル、而シテ食品貯藏ニ際シテハ、常溫ヨリ低溫中ニ貯藏スルコトニヨリ一層「ヴィタミン」C ノ破壊サルコト少シトイフ。余ノ實驗ニ於テ、V. モコノ點一致スル所デアルガ、Zilva⁽¹¹⁾、ノ「ヴィタミン」C ガ紫外線ニヨリ影響ヲ蒙ラズトイフ説ニ反シ、V. ハ幾分惡影響ヲ受ケル様デアル。

從ツテ V. ヲ「ブイヨン」ニ添加シ、コレヲ嫌氣性菌ノ好氣的培養基トシテ使用セントスルトキハ、既ニ一定ノ滅菌ヲ施シタ「ブイヨン」ヲ作製シテ保存シ、使用ニ際シ新鮮ナル V. ヲ無菌的ニ添加スルカ、又ハ豫メ新鮮ナル V. ヲ「ブイヨン」ニ添加シタル後、一定ノ滅菌ヲ施シ直ニ使用スベキデ、V. 添加「ブイヨン」ヲ永ク貯藏スルコトハ絶対ニ避ケベキモノト思フ。

第4節 液體培養基之價值

第1項 牛肉「ブイヨン」ニ

ヨル好氣的培養

實驗方法 PH7.0ノ牛肉「ブイヨン」ヲ作製シ(8.0cc
宛入り)120°C20分ノ濾菌ヲ施シタル後、コレニV.ヲ
0.017cc, 0.033cc, 0.05cc, 0.1cc, 0.15cc ツ、無菌的ニ
添加シ、ソノ各ニ嫌氣性菌ノ肝「ブイヨン」37°C24時
間培養ノモノヲ移植シ、37°Cノ孵卵器中ニ放置シ以
テ菌ノ發育狀態ヲ觀察シタ。(第8表参照)

即チ「ブイヨン」ニ V. ヲ添加スルトキハ、ソノ量僅カ = 0.625% ノ割合ニ、換言スレバ 基材 8.0cc = 對シ V. 0.05cc ノ微量ヲ添加シテモ、嫌氣性菌ノ好氣的培養ヲ可能ナラシメ、殊ニ *Bac. welchii*, *Bac. amylobacter*, *Bac. histolyticus* 等ニ至ツテハ更ニ少量 0.2125%, 即チ 0.017cc 添加ニヨツテモヨク發育シ、ソノ發育スルニ至ル時間モ極メテ短時間デ、移植後 2 乃至 8 時間デ發育スルノヲ見タ。而シテ一般ニ V. ノ含量多量ナルニツレ、嫌氣性菌ノ發育モ早期ニ現ハレ、

タレル事ニヨツテハ著シキ變化ヲ來サナイガ、室温ニテモ永ク保タレルトキハ幾分ノ破壊ヲ免レナイ様デアル。尙日光光線ニヨリテモ多少ハ破壊セラレル様ニ思ハレル。

第8表 V.添加「ブイヨン」ニ於ケル菌ノ發育状態

菌種	V.添加量 培養時間										Bac. histolyticus									
	Bac. welchii					Bac. amylobacter					Bac. paraspasophysematos					Bac. tetani				
	0.017 cc	0.033 cc	0.05 cc	0.1 cc	0.15 cc	0.017 cc	0.033 cc	0.05 cc	0.1 cc	0.15 cc	0.017 cc	0.033 cc	0.05 cc	0.1 cc	0.15 cc	0.017 cc	0.033 cc	0.05 cc	0.1 cc	0.15 cc
1°	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2°	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3°	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4°	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5°	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6°	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7°	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8°	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
15°	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
24°	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
48°	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

(註) (甲)(乙)(丙)(丁)(+)(-)(+)ハ第5表ノ(註)ニ同ジ。

且濁濁度モ早期ニゾノ最大ヲ示ス様デアル。尙各嫌氣性菌ノ最大發育ヲ示ス時間ハ、各菌種ニヨリテ異ナリ、*Bac. amylobacter*, *Bac. paraspasophysematos*, *Bac. tetani*, *Bac. histolyticus* ハ共ニ移植後15時間、*Bac. welchii* ハ8時間デ、ゾノ最大發育ヲ出現シタ。

今コノ發育狀態ヲ肝「ブイヨン」ニ於ケルソレト比較センガタメ、余ハ更ニ次ノ實驗ヲ企テタ。

實驗方法 肝「ブイヨン」ノ「ブイヨン」ノPHハ7.0トナシ、各試驗管ニ8.0ccダム分注シ、ゾノ中ニ肝片0.5g(肝片1個), 1.0g(肝片2個), 2.0g(肝片4個), 3.0g(肝片6個)ヲ加ヘタ4種ノ培養基ヲ作り、Dampftopf中ニテ100°C 30分3回ノ滅菌ヲ施シ、ゾノ都度Helligeノ比色計ニヨリ10.0%ノ苛性曹達溶液ニテPHノ修正ヲ行ヒ、確實ニPH7.0ノモノヲ使用シタ。上記ノ培養基ニ嫌氣性菌ノ肝「ブイヨン」37°C 24時間培養ノモノヲ移植シ、37°Cノ孵卵器中ニ入レ、菌ノ發育狀態ヲ觀察シタ。(第9表參照)

即チ肝「ブイヨン」ニ於テハ、ゾノ附加肝片量ノ多少ニヨリ、且附加肝片ノ全表面積ノ大小ニヨリ、嫌氣性菌ノ發育ニ大ナル影響ヲ及ボスモノナル事ハ、既ニ佐々木⁽¹²⁾ニヨリ發表セラレタ所デアルガ、余ノ場合ニ於テモ、ゾノ發育シ始ムルニ要スル時間ハ、附加肝片ノ多量ナルモノ程短時間デ、ゾノ最大發育ヲ示ス時間ハ勿論各菌種ニヨリ不定デアルガ、*Bac. welchii*, *Bac. amylobacter*ヲ除イテハ、一般ニ15乃至24時間ニシテ最大發育ヲ示ス様デアル。

今茲ニV.添加「ブイヨン」ニ於ケル嫌氣性菌ノ發育狀態ト比較スルニ、

*Bac. welchii*ニ於テハ、ムシロV.添加「ブイヨン」ノ方ガ移植後短時間ニシテ發育シ始メ、ゾノ最大發育モ早期ニ出現シ、V.量僅カ=0.033ccニシテ附加肝片量3.0gノTarozzi氏肝「ブイヨン」ヲ凌駕スル。

*Bac. amylobacter*ニ於テハ、ゾノ最大發育狀態ハ暗視野裝置ニヨリ檢スルニ、肝「ブイヨン」ニ於ケルソレニ比シ、幾分劣ツテ居ル感ガアルガ、ゾノ發育シ始ムルニ要スル時間ハ、V.添加「ブイヨン」ノ方ガムシロ短時間デ、附加肝片量

第9表 肝「ブイヨン」ニ於ケル菌ノ發育狀態

菌種 肝片附 加物 培養時間	Bac. welchii				Bac. amylobacter				Bac. parasar- cophysematos				Bac. tetani				Bac. histolyticus			
	0.5g	1.0g	2.0g	3.0g	0.5g	1.0g	2.0g	3.0g	0.5g	1.0g	2.0g	3.0g	0.5g	1.0g	2.0g	3.0g	0.5g	1.0g	2.0g	3.0g
1°	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2°	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3°	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4°	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
5°	+	++	++	++	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+
6°	++	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7°	++	++	++	++	+	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8°	++	++	++	++	++	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
15°	++	++	++	++	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	+	+	+	+
24°	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	+	+	+
48°	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	+	+	+

(註) (++) (++) (+) (-)ハ第5表ノ(註)ニ同ジ。

3.0g ノ肝「ブイヨン」ニ劣ラナイヲ認メタ。

Bac. parasarcophysematos = 於テハ、V. 添加「ブイヨン」ノ V. 添加量ハ少クモ 0.033cc ノ要シ、ソノ最大發育狀態モ肝「ブイヨン」=比シ幾分劣リ、ソノ發育シ始ムルニ要スル時間モヤ、長時間ヲ要スルガ、V. 量 0.05cc 乃至 0.15cc ノ添加スルトキハ、附加肝片量 1.0g 乃至 3.0g ノ肝「ブイヨン」=比シ幾分劣レルヲ認メタ。

Bac. tetani = 於テハ、V. 添加「ブイヨン」ノ V. 添加量ハ少クモ 0.05cc ノ要シ、ソノ最大發育狀態並ニ發育シ始ムルニ要スル時間共ニ肝「ブイヨン」=比シ幾分劣レルヲ認メタ。

Bac. histolyticus = 於テハ、V. 添加「ブイヨン」ノ V. 添加量ハ 0.017cc ノ僅少量ニテモ發育スルガ、ソノ發育シ始ムルニ要スル時間ハ、附加肝片量 2.0g 乃至 3.0g ノ肝「ブイヨン」=比シ、幾分長時間ヲ要スル、然シ V. 添加量 0.05cc 乃至 0.15cc ノ「ブイヨン」=於テハ、附加肝片量 3.0g ノ肝「ブイヨン」=比シ餘リ劣ラナイ。

要スルニ V. 添加「ブイヨン」ハ嫌氣性菌ノ各種ニヨリ、ソノ添加スペキ V. 量ハ多少異ナルガ、大體ニ於テ牛肉「ブイヨン」8.0cc = 對シ V. 0.05cc 乃至 0.15cc ノ少量ヲ添加スルコトニヨ

リ、肝片 3.0g ノ附加シタ Tarozzi 氏肝「ブイヨン」ニ匹敵スル効果ヲ擧ゲルモノデアルコトガ判ツタ。

第2項 「ペプトン水」ニヨル好氣的培養

V. 添加牛肉「ブイヨン」ガ嫌氣性菌ノ好氣的培養基トシテ使用シ得ルコトハ、先項ノ實驗ニヨリ明カデアルガ、Lorenti⁽¹³⁾ ガ 20.0% ノ「ウイッテ」ノ「ペプトン、ブイヨン」ヲ以テ、又 Kovács⁽¹⁴⁾ ガ 10.0% ノ「ウイッテ」ノ「ペプトン、ブイヨン」= 2.0% ノ割ニ葡萄糖ヲ混ジ、又佐々木⁽¹⁵⁾ ガ 6.0% 以上ノ「ペプトン」ヲ含有セル 葡萄糖「ブイヨン」ヲ以テ、嫌氣性菌ノ發育ヲ認メタ事實ヨリ、余ハ單ナル 1.0% ノ「ペプトン水」ニ V. ノ添加シ、以テ嫌氣性菌ノ好氣的培養ヲ試ミタ。

實驗方法 120°C 20分ノ滅菌ヲ施セル PH 7.0 ノ 1.0% 「ペプトン水」8.0cc (照内「ペプトン」使用)ニ對シ、V. ノ無菌的ニ 0.05cc 添加シタモノノ一列ト、0.1cc ノ添加シタモノノ一列トヲ作製シ、コノ各ニ嫌氣性菌ノ肝「ブイヨン」37°C 24時間培養ノモノヲ移植シ、コレヲ 37°C ニテ培養試験ヲ行ヒ、菌ノ發育狀態ヲ觀察シタ。コノ際對照トシテ、V. ノ添加シナリ 1.0% ノ「ペプトン水」8.0cc = 同種ノ菌ヲ同様ニ移植シ、37°C ノ孵卵器内ニ放置シテ比較シタ。(第10表參照)

第10表 V.添加「ペプトン水」=於ケル菌ノ發育狀態

菌種	Bac. welchii			Bac. amylobacter			Bac. parasarcophysematos			Bac. tetani			Bac. histolyticus		
	V添加量 培養時間	0.05 cc	0.1 cc	Kont.	0.05 cc	0.1 cc	Kont.	0.05 cc	0.1 cc	Kont.	0.05 cc	0.1 cc	Kont.	0.05 cc	0.1 cc
24°	++	++	-	±	+	-	±	+	-	+	+	-	±	+	-
48°	++	++	-	±	+	-	±	+	-	+	+	-	±	+	-
72°	++	++	-	±	+	-	±	+	-	+	+	-	±	+	-
96°	++	++	-	±	+	-	±	+	-	+	+	-	±	+	-
120°	++	++	-	±	+	-	±	+	-	+	+	-	±	+	-

(註) (++) (+)(-)ハ第5表ノ(註)=同ジ。

即チ 1.0%ノ「ペプトン水」ニテモ、コノ 8.0cc = 對シ V. 0.1cc ノ僅少量ヲ添加スルコトニヨリ、嫌氣性菌ノ好氣的培養可能ナルコトヲ認メタ。

勿論コノ際ニハ、V. 添加牛肉「ブイヨン」ノ場合ニ比シ、ソノ發育程度ヤ、劣リ、ソノ發育シ始ムルニ要スル時間モヤ、長イガ、20乃至24時間 37°C = 培養シタモノヲ檢スルトキハ、明カニ溷濁シ、暗視野検査及染色法ニヨリ無數ノ菌體ヲ認メ得タ。

第3項 水道水ニヨル好氣的培養

先項ノ實驗ニヨリ、僅カニ 1.0%ノ「ペプトン

水」=モコレニ V. ヲ 1.25%ノ割合=添加スルコトニヨリ、嫌氣性菌ノ發育スルコトヲ認メ、茲ニ V. ガ嫌氣性菌ノ發育ニ對シ如何ニ大役ヲナスモノナルカヲ確認シタノデ、更ニ水道水ヲ基材トシテ培養可能ナルカ否カヲ確メントシ、次ノ實驗ヲ試ミタ。

實驗方法 120°C 20分ノ滅菌ヲ施セル水道水 (PH 7.0) 8.0cc =、第11表ノ如キ割合ニ V. ヲ添加シ、コレニ嫌氣性菌ノ肝「ブイヨン」37°C 24時間培養ノモノヲ移植シ、37°C ノ孵卵器中ニ放置シテ菌ノ發育スルヤ否ヤヲ觀察シタ。(第11表参照)

第11表 V. 添加水道水ニ於ケル菌ノ發育狀態

菌種	Bac. welchii				Bac. amylobacter				Bac. parasarcophysematos				Bac. tetani				Bac. histolyticus			
	V添加量 培養時間	0.05 cc	0.1 cc	0.3 cc	0.5 cc	0.05 cc	0.1 cc	0.3 cc	0.5 cc	0.05 cc	0.1 cc	0.3 cc	0.5 cc	0.05 cc	0.1 cc	0.3 cc	0.5 cc	0.05 cc	0.1 cc	0.3 cc
24°	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
48°	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
72°	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
96°	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
120°	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

即チ水道水ノミニ V. ヲ添加シタ場合ニハ、37°C 培養 5 日間ノ觀察ニ及ブモ菌ハ何レモ發育シ得ズ。換言スレバ嫌氣性菌ノ培養基トシテハ、V. ノ外ニ他ノ栄養價ヲ有スルモノノヲ基材トシテ用フベキモノナルコトヲ確メタ。

第5節 「ヴィタシミン」添加培養基ニ

ヨル各種含水炭素ノ分解能力試験

細菌ノ生物學的性狀ヲ檢スルコトハ細菌鑑別上極メテ重大ナル事デ、特ニ各種含水炭素ノ分解能力検定ハ、好氣性菌ハ言フニ及バズ、嫌氣性菌ニ於テモ必要缺クベカラザル事デアル。

古來 Th. Smith⁽¹⁶⁾⁽¹⁹⁾⁽²⁰⁾, C. O. Jensen⁽¹⁶⁾, Bahr⁽¹⁶⁾⁽²⁰⁾, Christiansen⁽¹⁶⁾, Humphreys⁽¹⁶⁾, Simonds⁽¹⁶⁾⁽²¹⁾, Paarmann⁽¹⁶⁾, Fildes⁽¹⁶⁾⁽²²⁾, Weinberg u. Sequin⁽¹⁶⁾, Torrey⁽¹⁶⁾, Hall⁽¹⁶⁾, Henry⁽¹⁶⁾⁽²³⁾, Vancher u. Guérin⁽¹⁶⁾, Berthelot⁽¹⁶⁾, 等ニヨリ, 嫌氣性菌ノ各種含水炭素分解能力試験ニツキ報告セラレタガ, 菌ノ純粹培養ヲ得ナカツタ爲ト, 糖類ノ化學的不純ナリシ爲, ソノ成績モ區々一定ノ結果ヲ得ナカツタ. ソノ後桂⁽¹⁷⁾モコレニ關シ報告シタガ, 尚系統的ノ完全ナル業績ヲ見ナイ. 1929年ニ至リ J. Zeissler⁽¹⁶⁾, L. Ratzfeld⁽¹⁶⁾等ニヨリ, 又1931年佐々木⁽¹⁸⁾ニヨリ, 夫々特殊ナ考案ノモトニ嫌氣性菌ノ各種含水炭素分解能力試験行ハレ, 殆ド完全ナル成績ガ發表セラレルニ至ツタ. 併シコレラノ方法ハ何レモ嫌氣的培養法ニヨルタメ, 標示薬ハ還元脱色セラレ, ソノ標識ヲ知ルコト甚ダ困難ナルノミナラズ, 往々ソノ結果ヲ誤認スル事がアル. 余モ亦コノ點ヲ深ク痛感シ, 兹ニ V. 添加培養基ニヨル好氣的培養法ニヨリ, コノ缺點ヲ除キ得ルカニツキ實驗ヲ企テ次第デアル.

余ハ先づ 1.0% ノ「ペプトン水」ヲ基材トシテ

實驗ヲ行ツタガ, 嫌氣性菌ノ大部分ノ種ニ於大體好結果ヲ見タ. 併シ, アル 2—3 ノ種ニ於テハソノ成績ヤ、不鮮明ナルモノガアツタノデ, コレラハ牛肉「ブイヨン」ヲ基材トシテ實驗ヲ行ヒ, 好成績ヲ得タノデ, 兹ニハ牛肉「ブイヨン」ヲ基材トセル實驗ニツキ記載スルコト、スル.

實驗方法 PH7.0 ノ普通牛肉「ブイヨン」ヲ作製シ, コレニ各種糖類ヲ 1.0% ノ割ニ混入シ, 更ニ「ラクムス液」ヲ 6.0% ノ割ニ加ヘ淡紫色トナシタルモノヲ各試驗管ニ 2.0cc ブ、分注シ, 100°C 15 分 3 回ノ間歇滅菌ヲ施シテ貯藏シ. 使用直前コノ各ニ V. ヲ無菌的 = 0.05cc ブ、添加シ, コレニ嫌氣性菌ノ肝「ブイヨン」37°C 24 時間培養ノモノヲ移植シ, 37°C = 24 時間乃至 48 時間好氣的培養ヲ行ヒ, 孵卵器ヨリ出シテ室温ニ放置シ, 約 1 週間ニ亘リコレヲ觀察シタ. コノ際實驗ニ供シタ菌株ハ, 教室保存ニヨル 10 株ノ菌, 及ビ土壤ヨリ分離シタル 5 株ノ菌ヲ使用シタ.

實驗成績 (第 12, 13 表参照)

第 12 表 V. 添加培養基ニヨル 含水炭素分解能力試験
(教室保存ノ菌株ニツキテノ實驗成績)

糖ノ種類 菌 株		Glycerin	Mannit	Isodicit	Glucose	Galactose	Lävulose	Saccharose	Lactose	Maltose	Inulin	Salicin
Bac. welchii	W ₁₁	—	—	—	+	+	+	+	+	+	—	—
	W ₆	+	—	—	+	+	+	+	+	+	—	—
	W ₃	—	—	—	+	+	+	+	+	+	—	—
Bac. amylobacter		—	+	—	+	+	+	+	+	+	—	+
Bac. putrificus tenuis		—	—	—	+	—	+	—	—	+	—	—
Bac. parasarcophy- sematos	Seiboldt	—	—	—	+	+	+	—	+	+	—	+
	T ₄	—	—	—	+	+	+	—	+	+	—	+
	69	—	—	—	+	+	+	—	+	+	—	+
Bac. tetani (獨逸)		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Bac. histolyticus		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

第13表 V. 添加培養基ニヨル 含水炭素分解能力試験
(土壤ヨリ分離シタル菌株ニツキテノ實驗成績)

糖ノ種類		Glycerin	Mannit	Isodulcit	Glucose	Galactose	Lävulose	Saccharose	Lactose	Maltose	Inulin	Salicin
菌 株												
Bac. welchii	W學	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
	W-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
	W柿	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
Bac. amylobacter	A學	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+
	A柿	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+

(註) W學, A學ハ金澤醫科大學校庭ヨリ分離セルモノ.

W-ハ能登一ノ宮ノ山地ヨリ分離セルモノ.

W柿, A柿ハ金澤市柿木畠ノ空地ヨリ分離セルモノ.

此實驗ニ於テ余ハ Bac. parasarcophysematos, ノミハ 37°C 48時間培養後, 他ハスペテ 37°C 24 時間培養後, 室溫=放置シ 2—3 日後ニソノ成績ヲ判定シタガ, 何レモソノ成績ハ極メテ鮮明デ, ソノ結果ハ Zeissler ノソレト全ク一致セルヲミタ.

即チ PH 7.0 の牛肉「ブイヨン」= 1.0% の割ニ各種糖類ヲ加ヘ, 標示薬トシテ「ラクムス液」ヲ 6.0% の割ニ加ヘタルモノニ, 更ニ V. ヲ僅カニ 2.5% の割ニ添加スルトキハ, 嫌氣性菌ノ各種含水炭素分解能力試験ハ好氣的操作ノモトニ容易ニ判定シ得, 而シテ嫌氣的培養法=於テ最モ不便ト思ハル、所謂「ラクムス液」ノ還元脱色ニヨリ惹起セラル、標識ノ不鮮明サハ, 毫モ認メラ

レナイ.

殊ニ孵卵器ヨリ出シテ 2 乃至 3 日間室温=放置シタル後, ヤ、暗所ヲ背景トシテ觀察スルトキハ, 一層色調鮮明トナリ, 判定ハ頗ル容易デアル. 尚, カクシテ作製セル 培養基ソノモノモ, 製造操作ハ極メテ簡単デ, 100°C 15分 3 回ノ間歇滅菌デハ糖ノ分解サル、コトモ少ク, 殆ンド所期ノ性質ヲ保持シ得ルモノト推察セラル.

以上スペテノ點ニ於テ, 余ノ行ヘル含水炭素分解能力試験ハ從來行ハレタ如何ナル方法ヨリモ遙カニ至便, 且正確ナル結果ヲ得ルモノト考へ, 大イニ茲ニ推奨シタキ所存デアル.

第4章 總括並考案

以上行ツタ實驗ニツキ, ソノ成績ヲ總括シ考案スレバ次ノ如クデアル.

1) V. の還元能力

V. ハアル一程度ノ還元能力ヲ有シ, 牛肉「ブイヨン」ニ添加スルトキハ, 添加後 15 乃至 24 時間迄ソノ最大還元能力ヲ示シ, ソノ後ハ漸次弱クナツテユク. 而シテソノ添加量ガ基材 8.0cc = 對シ 0.05cc ヨリ 0.2cc = 至ル範囲ニ於テハ, ソノ量ニ比例シテ強ク, 且長クソノ能力ヲ保持

スル. 而シテ肝片ノ還元能力ト比較スルニ, 常ニソノ能力ノ強度及持続時間ニ於テハ遙カニ劣ル様デアルガ, 添加後ソノ最大還元能力ヲ發揮スル 24 時間程ノ間ニ於テハ, 嫌氣性菌ノ發育上何等支障ヲ來サナイモノト思ハレル.

2) V. の熱ニ對スル抵抗力

牛肉「ブイヨン」8.0cc = 對シ, V. 0.05cc の少量ヲ添加シ, 120°C 1 時間加熱スルモ, ソノ還元能力ノ減ズルコト少ク, 嫌氣性菌ノ發育ニハ

何等悪影響ヲ與ヘナイ。併シ豫メ V.ヲ加熱シテコレヲ「ブイヨン」ニ添加スルトキハ、110°C 1時間ノ加熱ニ對シテモ、ソノ還元能力ハ著シク減ジ、嫌氣性菌ノアル種ノモノハ發育ヲ妨ガラレル。

之前者ノ場合ニ於テハ、V.ガ「ブイヨン」ニヨリ、加熱ニ對シ幾分保護セラルモノトモ考ヘラレル。

然シ何レニシテモ、V.ガ「アンプルレ」入リトシテ市場ニ販賣セラレテ居ル以上、既ニ滅菌セラレテ居ルモノデ、使用ニ當リ一定ノ滅菌ヲ施セル牛肉「ブイヨン」ニ無菌的ニ添加スルコトモ極メテ容易ナル故、之ヲ培養基トシテ使用スル上ニ於テハ、コノ問題ハ殆ンド考慮スル必要ナク、コノ點他ノ種々ノ培養基ニ比シ最モ至便且重寶ナル品ト言ヒ得。

3) V.ノ耐久性

V.ガアル一程度ノ還元能力ヲ有スル以上、一方極メテ酸化サレ易キモノナルコトハ明カデ、從ツテコレヲ空氣中ニ永ク放置スルトキハ、ソノ還元能力ハ次第ニ減退、又ハ消失スルニ至ルコトハ當然ノ事實デアル。余ノ實驗成績ヲミテモ、牛肉「ブイヨン」ニ添加後、時日ノ經過ト共ニ嫌氣性菌ノ培養ニ不適トナリ、只ソノ添加量ノ多量ナル程比較的永ク効力ヲ保持シ得、而シテ冷蔵庫ニ貯藏シタモノニ於テ最モ永ク、室溫暗所ニ貯藏シタモノニ之ニ次ギ、室溫明所ニ放置シタモノニ於テ最モ早ク、ソノ効力ヲ消失スルノミタ。從ツテ V.ハソノ性質上使用直前ニ基材ニ添加スルコトガ最モ大切ナリト考ヘラレル。

4) V.添加液體培養基ノ價値

V.ハ牛肉「ブイヨン」ハ勿論、1.0%ノ「ペプトン水」ニ添加スル場合ニモ、嫌氣性菌ノ好氣的培養可能デアツテ、ソノ添加量モ基材ニ對シ1.25%ノ僅カナ割合ニ添加スルコトニヨリ、殆ンドスペテノ嫌氣性菌ノ發育ヲミタ。而シテ之ヲ Tarozzi 氏肝「ブイヨン」ニ於ケルソレト比較

スルニ、ソノ發育シ始ムルニ要スル時間、並ニ發育程度ハ、菌種ニヨリ幾分劣ルノ感ガアルガ、暗視野裝置ニヨリ檢シテモ、ソノ一視野中ノ菌數ハ無數デ到底數ヘ得ナイ程度デアツテ、普通嫌氣性菌ノ種々ナル實驗ニ用フルニハ、ソノ點何等不便ナイト考ヘラレル。

殊ニ各種含水炭素分解能力試驗ニ至リテハ、從來行ハレタ Zeissler ノ方法ハ嫌氣的培養ナルタメ、標示藥タル「ラクムス液」ガ還元脫色セラレ、ソノ標識不明瞭トナル缺點ヲ免レナシ、之ヲ補フ目的デ佐々木⁽¹⁸⁾ノ考案ニヨル方法ガアルガ、コレハソノ培養基製造操作ガ可成煩雜デ、且コレニ於テモ嫌氣的培養ヲ必要トシ、ソノ取扱簡單ナリトハ言ヒ得ナシ、之ニ反シ、余ノ考案セル牛肉「ブイヨン」ヲ基材トシ、コレニ1.0%ノ割ニ各種糖類ヲ混入シ、標示藥トシテ「ラクムス液」ヲ6.0%ノ割ニ添加シ、2.5%ノ割ニV.ヲ添加シタモノヲ用ヒテノ好氣的培養法ハ、上記ノスペテノ不便ヨリ完全ニ免レ、シカモソノ結果ハ極メテ明瞭且正確ナルヲ認メタ。

以上種々ノ點ヨリ、從來一般ニ使用セラル、Tarozzi 氏肝「ブイヨン」ト比較スルニ、後者ハ新鮮ナル動物ノ肝臟ヲ必要トスル故、何時ニテモ、何處ニテモ、欲スル都度自由ニ得ルコトヲ得ズ。

且ソノ製造操作モ可ナリ煩雜デ、不便ナル點多々アリト信ゼラル、ニ反シ、普通牛肉「ブイヨン」ニ、單ニ「アンプルレ」入リノ V.ヲ添加スルノミノ操作デ、肝「ブイヨン」ノ代用品トシテ使用シ得ルモノトセバ、嫌氣性菌研究學徒ハ等シクコノ價值ヲ認識サル、事ト信ズル次第デアル。

余ハ更ニ V.添加固形培養基ニ關シテハ勿論、V.添加培養基ニ培養セル菌ノ性狀及動物ニ對スル Virulence の變化等ニ關シテモ實驗ヲ試ミタガ、之ニ關シテハ次ノ機會ニ一括シテ報告スル考ヘデアル。

第5章 結 論

牛肉「ブイヨン」及「ペプトン水」等ノ液體培養基ニ國產「アスコルビン酸」ノ製剤ヲ添加シ、之ヲ以テ嫌氣性菌ノ好氣的培養ヲ試ミント欲シ、種々行ツタ實驗ノ結論ハ次ノ如クデアル。

1) 従來一般ニ使用セラル、嫌氣性菌ノ好氣的培養基ハ、ソノ製造操作煩雜ナルノミナラズ、ソノ材料モ甚ダ得難イノデ、コレラノ不便ヲ一掃スル目的ヲ以テ、L-Ascorbinsäure ノ還元能力ヲ應用セントシ、普通培養基ニ國產品タル「ヴィタシミン」(2.5%)ヲ添加シテ嫌氣性菌ノ好氣的培養ニ成功シタ。

2) 「ヴィタシミン」ハ「アンプルレ」入リナル故、携帶ニ便、且入手容易デアル、而シテ滅菌濟ナルヲ以テ、既ニ滅菌ヲ施セル基礎培養基ニ無菌的ニ添加スルコトニヨリ、直ニ使用可能デアル。

「ヴィタシミン」ハ中性牛肉「ブイヨン」ニ添加後、120°C 1時間ノ加熱滅菌ヲ施シテモ、嫌氣性菌ノ培養上ニハ大ナル支障ガナイヲ認メタガ、豫メ「ヴィタシミン」ノミヲ加熱シテ後、「ブイヨン」ニ添加スルトキハ、110°C 1時間ノ加熱ヲ施シタモノヲ添加シテモ、嫌氣性菌ノアル種ノモノハ、ソノ發育ヲ妨ゲラレタ。

カクノ如ク「ヴィタシミン」ハ加熱ニヨリ、明カニソノ幾分ハ破壊セラレルモノデアルカラ、「ヴィタシミン」添加培養基ノ加熱滅菌ハナルベク避ケタ方ガヨイ。

3) 「ヴィタシミン」ハ一程度ノ還元能力ヲ有

シ、「ブイヨン」「ペプトン水」等ニ添加スルトキハ、ソノ添加量ニ比例シテ強ク、且永クソノ能力ヲ保持スルガ、最大還元能力ノ發揮時間ハ添加後24時間迄デアル。

即チ極メテ酸化サレ易イモノデアルカラ、使用直前ニ培養基ニ添加スルコトガ大切デ、「ヴィタシミン」添加培養基ノ貯藏ハ避ケキデアル。

4) 「ヴィタシミン」ハ牛肉「ブイヨン」或ハ「ペプトン水」8.0ccニ對シ、0.1cc(1.25%)ヲ添加スルコトニヨリ、殆ンドスペテノ嫌氣性菌ノ好氣的培養ヲナシ得、而シテソノ添加量ノ多量ナル程菌ノ發育ハ早期ニ現ハレル。尙牛肉「ブイヨン」中ノ菌ノ發育状態ハ、Tarozzi 氏肝「ブイヨン」ニ於ケルモノニ比シ幾分劣ツテ居ルガ、暗視野装置ニヨリ檢シテモ、一視野中ノ菌數ハ無數デ、コノ點嫌氣性菌ニ關スル實驗ニ供スルニ何等不便ハナイ。

5) 中性ノ牛肉「ブイヨン」ニ1.0%ノ割合ニ各種含水炭素ヲ混入シ、コレニ6.0%ノ割ニ「ラクムス液」ヲ、2.5%ノ割ニ「ヴィタシミン」ヲ添加セル培養基ハ、好氣的培養法ニ嫌氣性菌ノ各種含水炭素分解能力試験ヲ可能ナラシメ、ソノ成績モ極メテ明瞭且正確デ、從來行ハレタ含水炭素分解能力試験ニミラル、スペテノ不便ヲ一掃シタ。

擱筆スルニ臨ミ終始御懇篤ナル御指導ト御校閱ヲ賜ツタ谷教授ニ滿腔ノ謝意ヲ捧グ。

文 獻 後 出