

1980 No.2
(通卷96号)

CHEMICAL TIMES

目 次

工業分析化学随説(LXIV)(自動滴定装置について).....	東北大学名誉教授 理学博士 加藤 多喜雄.....1686
	茨城大学工学部教授 理学博士 武井 信典.....1686
味の化学話(II) —呈味物質の構造と味—	静岡大学農学部教授 農学博士 水野 卓.....1689
植物の栄養葉と孢子葉の成分研究 その1	
— Osmunda属の栄養葉と孢子葉の成分研究 —	明治薬科大学助教授 薬学博士 奥 山 徹.....1694
ケサランパサラン.....	山形大学理学部教授 理学博士 中 沢 信 午.....1697
ルシフェリン・ルシフェラーゼ発光反応による受光(1).....	東京大学医学部講師 理学博士 大 澤 一 爽.....1799
薬学の先駆者・刈米達夫(23).....	薬学博士 根 本 曾代子.....1702
編 集 後 記.....	1704

KANTO CHEMICAL CO., INC.

昭和五十五年四月一日 発行

発行者 関東化学株式会社

ケミカルタイムス編集委員会
編集責任者 山田 博

工業分析化学随説 (LXIV) (自動滴定装置について)

東北大学名誉教授 理学博士 加藤 多喜雄

茨城大学 教授 理学博士 武井 信典

滴定による分析法は操作が簡単で、特殊な装置を必要とせず、多数の試料を分析する方法として大変便利なものである。この分析法を人手に依らないで行なわせようとする自動滴定装置の製作の試みは前々から行なわれており、市販されているものもある。最近はいオン選択性電極が多数市販され、種々のイオンの活量並にその変化が容易かつ迅速に測定できるようになってきており、これに伴って、自動滴定装置も広い範囲で検討されている。より精度の高い分析結果をより短時間内に効率よく、人手に依らないで得ようとする要求が強まっていることから、こうした研究は今後も益々盛に行なわれるようになると思われる。しかし、電気、機械の知識に乏しい著者にとり、こうした装置化の研究の機構の部分はその内容を理解することは難しく、そんなことが出来るのかと感心させられるばかりということが多い。こうした装置化の研究はこうした機構の部分が肝心であることが多いと思われるが、この部分は著者の能力を越える所が多いので、そういうことが出来るものと諒解することとして、今回は自動滴定装置についての研究のいくつかを紹介することにする。

まず最初に装置内で通常の滴定操作を行なわせる方法を取り、機構に工夫をこらした札野等の研究を紹介する。札野等¹⁾はピストンを用いて標準溶液を送りこみ、滴下速度を反応系に入れた指示電極の電位変化の大きさに応じてピストンを駆動するモーターの回転を微調整することにより制御する方法をとっている。即ち、ミニコンピューターから発生させたパルスにより、1パルス当り一定角度で回転するステッピングモーターを用いてピストンを駆動し、パルス発生数を指示電極の電位変化の大きさに反比例するようにミニコンピューターにより制御する。このようにすると、当量点より離れた点では滴定に伴う電位変化は小さいので、パルス発生間隔が短かくて、標準溶液の滴下速度は大きい。当量点附近では電位変化が大きくなるのでパルス発生間隔が長くなり、滴下速度も次第に小さくなり、非常にゆっくりと滴定されることになる。滴定の終点はパルス発生間隔が最長になった点として検出され、滴定量に換算された値が自動的に記録される。この装置における1パルス当りの標準溶液滴下量は0.001~0.002mlと非常に小さく、0.1~0.5Mの強酸、強塩系の滴定精度はホールピペットによる試料採取の精度も含めて変動係数が0.03~0.05%で、手動による指示薬滴定より良い結果を与えるといわれる。この装置

は電極系の洗浄等も自動的に行なうよう組立てられているが、試料採取は別になっているようで、バッチ型の自動滴定装置ということになる。分析所要時間は示されていないので、迅速化という目的が果されるのか否かは不明であるが、指示電極に適切なものが得られればその他の反応系にも用い得るものであり、精度の高い分析値を得るに適した装置として分類出来ると思われる。

この形の装置では終点を求める方法として、滴定曲線の1次あるいは2次の微分を行う方法をとっているものもある。

このような滴定曲線全体を求めることになる方法はイオン電極の応答時間が長い場合には分析所要時間が長くなり、又、滴定曲線の変曲点と当量点が一致しないときは誤った結果を与えることになる。更に当量点附近における指示電極の電位変化が鋭くないような反応系にも適用し難い。

こうした点を避けるため、本随説 (X X X X III ~ X X X X IV) で紹介した滴定曲線の直線化を図る Gran の方法を利用した装置も考案されている。

Gran の方法²⁾は既に紹介したことであり、重複を避けるため簡単に説明すると、例えばハロゲン化物イオン X^- の Ag^+ による滴定の場合、 X^- 溶液の濃度、体積を夫々 Co , Vo とし、 Ag^+ 溶液の濃度を C , 加えた体積を V とすると、沈澱の溶解による寄与を無視すれば、滴定の過程における X^- の濃度 Cx は次式で示される。

$$Cx = \frac{CoVo}{Vo+V} - \frac{CV}{Vo+V} \quad (1)$$

当量点までに要する Ag^+ 溶液量を Ve とすれば

$$CoVo = CVe \quad (2)$$

であるから、

$$Cx = \frac{C}{Vo+V} (Ve - V) \quad (3)$$

となる。ここでイオン電極が X^- に対し応答するとすればその電位は

$$E = E^\circ - \frac{RT}{F} \ln ax = - \frac{RT}{F} \ln KCx fx \quad (4)$$

で示される。ここで E° , K は定数、 fx は滴定条件下では一定値を示すとする。

(3), (4) 式より

$$(Vo+V)e^{-EF/RT} = k(Ve-V) \quad (5)$$

が得られる。ここで k は任意の定数である。(5) 式から Ag^+ 溶液の任意の滴下量 V に対する左辺の値を V に対し

プロットすると直線が得られ、この直線がV軸と交る点は V_e を与えることになる。以上沈殿滴定法を例にとりて説明した滴定曲線の直線化についてのGranの方法は酸・塩基、酸化還元、錯化の各滴定系でも同様の結果の得られることが示されている。この方法によれば滴定の過程における数点の測定結果があればよいので分析所要時間を著しく短縮出来、変曲点と等量点の不一致は問題とならず、等量点附近における指示電極の電位変化の小さい反応系にも適用出来るので、滴定という操作により定量出来る試料の範囲が広がる。

Frazer等³⁾はコンピューターを用いた装置を作り、ハロゲン化物イオンの Ag^+ による沈殿滴定、 Cl^-Hg^{2+} , F^-Al^{3+} の錯化滴定系について、(1)滴定曲線を求めて変曲点より終点を求める方法、(2)広い範囲に亘った測定値からGranの方法により終点を求める方法、及び(3)Granの方法により最もよい結果を与える測定値の範囲を数学的处理により求めて、この範囲の値により終点を求める方法を検討している。そして(3)の方法が分析時間、精度、正確度何れの点についても最もよい結果を与えることを示している。(2)の方法がよい結果を与えないのは(4)式に含まれている指示電極により測定されるイオンの活量係数 f が一定値を示さないこと及びイオン電極の電位が全域に亘ってNernstの式に従って変化しないことによるとしている。又、当量点附近でGranのプロットが直線からずれる原因として測定電位に対する妨害イオンの影響も指摘している。Frazer等はこの外同様の方法による水中の遊離の塩素の測定装置も示している。このような方法はGranプロットがコンピューターを用いれば非常に簡単且つ短時間内に出来ることを利用したものであるが、滴定曲線の解析方法は色々考えられ、例えば弱酸の滴定系で測定される水素イオンの活量、濃度を溶液内の酸の初濃度、体積、酸解離定数、加えた塩基溶液の濃度、体積、酸陰イオンに結合している水素イオンの平均個数等を用いて表わし、測定値を用いるコンピューターにより解かせ、分析を行なう装置も示されている⁴⁾。このような扱いを更に進めて反応を伴わない滴定による定量がAriano等⁵⁾により示されている。この方法では K^+ を含む試料溶液に K^+ の標準溶液を加えてゆき、その過程における K^+ 電極の電位を測定する。 K^+ 電極の電位は

$$E = E^\circ + \frac{RT}{nF} \ln \left(\frac{CoVo + \sum CV_i}{Vo + \sum Vi} \right) \quad (6)$$

で示され、 E° , RT/nF , Co が未知の値である。これより、各過程における電位測定値 E の値を用いてこの式を解き、 Co の値を求めようとするものである。

これらの報告ではコンピューターを用いて計算により答を得る方法が詳しく述べられているが、これは著者の能力を越えた内容であるので省略する。紙と鉛筆では手に負えない計算もコンピューターを使えば簡単に行ってくれるから、このような考え方に基づく装置の適用範囲は極めて広いように思われる。

以上紹介した装置化の研究は何れもコンピューターを利用しており、装置の作動、計算等すべてがコンピューターによるcomputer-controlの装置である。この型の装置は何れもバッチ型であるが、連続的な測定を目的として、機構的な部分に工夫をこらした装置もある。

その一つとして、まずFleet等⁶⁾は一定流速で流れる試料溶液に対し、時間と共に直線的に濃度が増加あるいは減少する標準溶液を一定流速で加えてゆき、反応後の溶液中の測定イオンの活量の変化をイオン電極を用いて追跡して定量を行なう方法を示している。このような方法を用いるとイオン電極で測定される反応後の試料溶液の流れの各部分のイオンの活量は滴定曲線上の各点の活量に対応することになる。従って、標準溶液の濃度を増加させる方向をとるときは、予め設定した等量点電位に達するまでの時間を求めることにより定量を行うことが出来ることになる。直線的に濃度が高くなる標準溶液は濃度既知の溶液を一定流速で水中に送り込むと同時に得られた溶液を試料溶液に加えるため一定流速で抜いてゆく方法により得られるとしている。Fleet等はこの方法により $10^{-5} \sim 10^{-4} M$ の S^{2-} を Hg^{2+} により定量した結果を示している。このFleet等の方法とよく似た方法を採用したものにPungor等の報告がある。Pungor等⁷⁾はFleet等の方法と同じように一定流速で流れる試料溶液に対しこれと反応する試薬の質量流量が時間とともに直線的に増加するようにその溶液を加えてゆき、ある時間経過したら逆に同じ速度で質量流量が減少する溶液を加える方法を採用している。従って前半、後半における試薬の質量流量 V_R は夫々次式で示されることになる。

$$V_R = nt \quad (7)$$

$$V_R = (2t_0 - t)n \quad (8)$$

ここで t_0 は設定された折り返し点までの時間である。このようにして反応させた後の試料溶液の流れの各部分についてイオン電極等で測定される特定のイオンの活量は滴定曲線上の各点に対応する値となり、試薬を加えてゆく前半及び後半の過程で当量点に対応する点を得られる条件を設定することが出来ることになる。そこでこのとき起る反応を



とし、試料溶液の濃度を C_s 、流量を v とすると、試薬を加えてゆく前半、後半の過程での当量点に対応する時刻を t_1 , t_2 とすると

$$V_{RE} = \frac{a}{b} C_s v = nt_1 = n(2t_0 - t_2) \quad (10)$$

となる。これより

$$Q = t_2 - t_1 = 2t_0 - 2\frac{a}{bn} C_s v \quad (11)$$

が得られ、与えられた反応のもとで設定条件 t_0 , n , v が既知であれば(11)式を用い測定値 t_1 , t_2 から C_s を求めることが出来ることになる。Pungor等はこのような原理に基づき、プログラムされた電解電流により生成する Ag^+ , Br_2 による沈殿反応、酸化還元反応を利用した定量

のための装置、結果が示されている。又、酸・塩基反応系について得られた結果を Gran の方法のように直線プロット化して当量点を求める方法も示されている。

この外 Blaedel 等⁸⁾は内径 1 mm, 長さ 3.8 cm 程度の白金細管を指示電極としてこの中を試料溶液を流し、試薬溶液を加えたときの電極電位と当量点における電位の差を用いて試薬が恰度当量に加えられるように試薬添加量を制御して定量する装置を $\text{Fe}^{2+} \sim \text{Ce}^{4+}$, 金属イオン $\sim$ EDTA, 各定量系について示している。又、指示電極として滴水銀電極を用いる手法も示している。

このように自動滴定装置は色々な原理に基づいて組立てられており、どれがよいかは目標とする分析値の精度、試料等により異なるであろうし、価格も問題となる。精度の点については予め当量点における電位を決めて行なう方法よりは滴定曲線の 1 次、2 次微分を求めて終点を求める方が精度は高いという報告がある⁹⁾。1 次、2 次の微分を行なう方法の良否は別として、当量点における電位は種々の条件により変動することを考えると、当量点における電位を予め設定している Fleet 等、Pungor 等、及び Blaedel 等の方法は精度の点で問題があるように思われる。又、装置自体がかなり複雑であり、こうした点を考えると、コンピューターが利用出来る状態にあれば、装置が単純であることを考えると、Gran のプロットを利用するのが好きそうに見える。

文 献

1. 札野, 山田, 楠山, 小西; 分析化学, **25**, 606 (1976).
2. G. Gran; Analyst, **77**, 661 (1952).
3. J. W. Frazer, A. M. Kray, W. Selig, R. Lim; Anal. Chem., **47**, 869 (1975).
J. W. Frazer, W. Selig, L. P. Rigdon; Anal. Chem., **49**, 1250 (1977).
4. L. P. Rigdon, G. J. Moody, J. W. Frazer; Anal. Chem., **50**, 465 (1978).
5. L. P. Rigdon, C. L. Pomernacki, D. J. Balaban, J. W. Frazer; Anal. Chim. Acta, **112**, 397 (1979).
6. M. Wozniak, G. Nowogrocki; Talanta, **25**, 633, 643 (1978).
G. Nowogrocki, J. Canonne, M. Wozniak; Anal. Chim. Acta, **112**, 185 (1979).
7. J. M. Ariano, W. F. Gutknecht; Anal. Chem., **48**, 281 (1976).
8. B. Fleet, A. Y. W. Ho; Anal. Chem., **46**, 9 (1974).
9. G. Nagy, K. Toth, E. Pungor; Anal. Chem., **47**, 1460 (1975).
G. Nagy, Zs. Feher, K. Toth, E. Pungor; Anal. Chim. Acta, **91**, 87, 97 (1977). **100**, 181 (1978).
G. Nagy, Z. Lengyel, Zs. Feher, K. Toth, E. Pungor; Anal. Chim. Acta, **101**, 261 (1978).
G. Nagy, Zs. Feher, K. Toth, E. Pungor; Talanta, **26**, 1143 (1979).
8. W. J. Blaedel, R. H. Laessig; Anal. Chem., **36**, 1617 (1964), **37**, 333, 1255, 1650 (1965).
9. T. W. Hunter, J. T. Sinnamon, G. M. Hieftje; Anal. Chem., **49**, 497 (1975).



アミノ酸自動分析用試薬

Reagents for Amino Acid Analysis

ブリジ35	500g	n-オクタン酸	25g
くえん酸	500g	(n-カプリル酸)	
塩 酸	500g	フェノール	500g
くえん酸リチウム	500g	酢酸ナトリウム(3水和物)	500g
2-メトキシエタノール	500g	くえん酸三ナトリウム(2水和物)	500g
(メチルセロソルブ)	3 l	β -チオジグリコール	500g
			25g
ニンヒドリン	100g	塩化第一すず	25g
	25g	三塩化チタン溶液	7.5ml $\times$ 5

味の化学話 (II)

—呈味物質の構造と味—

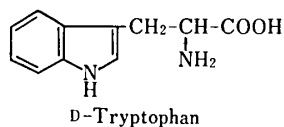
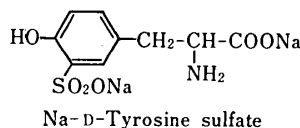
静岡大学教授 農学博士 水野卓

2. 甘い話 (前号続)

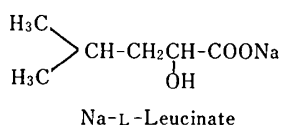
(2) 半天然甘味物質

天然物を原料として合成された甘味物質である。

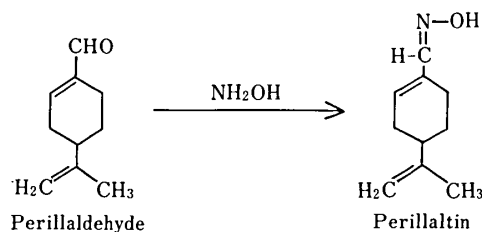
(a) アミノ酸誘導体

甘味度は Sucrose の
1.0~1.5倍

甘味度 70倍

甘味度 25倍
L-Leucine に HNO₂ を作用
させて脱アミノ化したオキ
シンの塩

(b) ペリラルチン

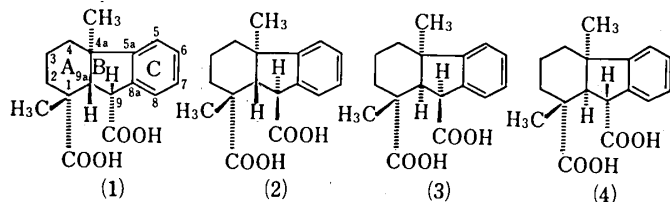


アオジソの香気成分

(Perillaldehyde のアンチオ
キシム)Sucrose の 500~2000倍の
甘味を示す。(紫蘇糖)

(c) ヘキサヒドロフルオレン誘導体

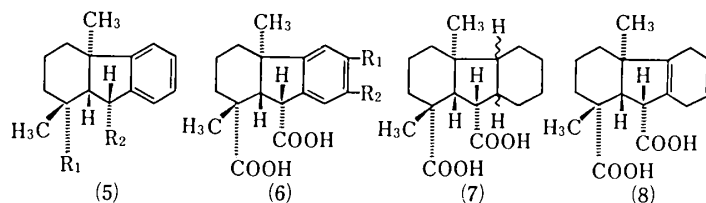
松脂ロジンの主成分アビエチン酸の骨格変換反応の途
上で、(1)が強い甘味をもつことが発見された。Sucrose
の1300~1800倍の甘味を示すが、同時にカフェインの12
~18倍の苦味を持っている。

甘味大
苦味

無味

無味

無味



$R_1=R_2=COOCH_3$ $\begin{cases} R_1=OH \text{ or } H \\ R_2=H \text{ or } OH \end{cases}$
 $R_1=R_2=CH_2OH$ $\begin{cases} R_1=OCH_3 \\ R_2=H \end{cases}$
 $\begin{cases} R_1=COOCH_3 \\ R_2=COOH \end{cases}$

甘味消失

甘味

 $\begin{cases} R_1=H \\ R_2=NO_2 \end{cases}$

無味

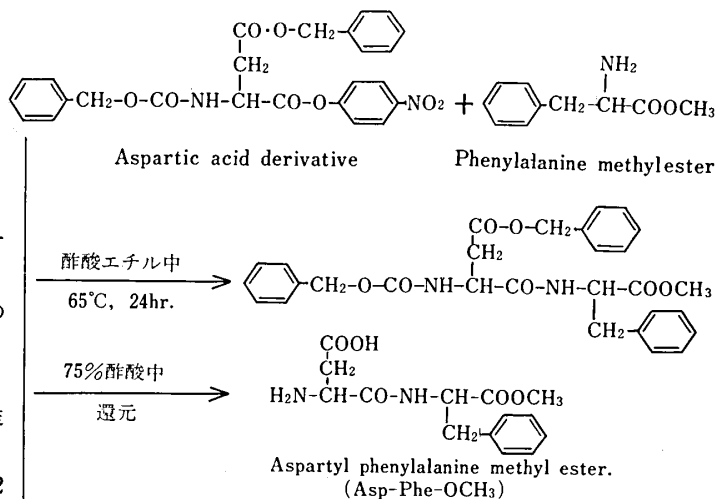
無味

甘味

以上から、この化合物が甘味を呈する必要条件は、2
個の-COOHとC環上のC 8 位にHが存在し、(1)に
示す立体配置をとることである。

(d) ジペプチド誘導体

L-アスパラギン酸を構成成分とするジペプチド誘導体が
合成され、新しい甘味料として注目されている。



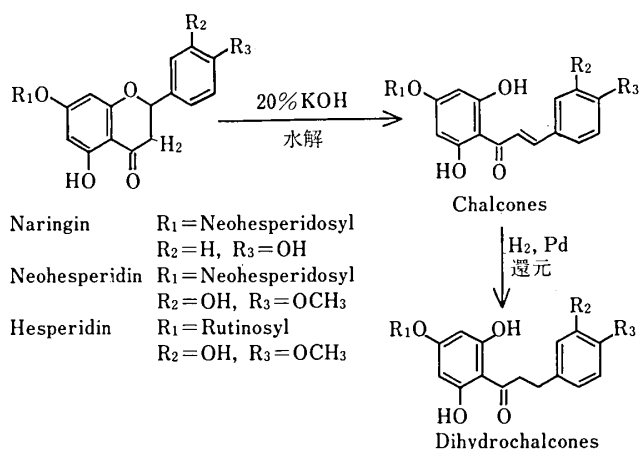
ジペプチドの甘味発現条件として (1) Aspartic acid
は必要不可欠で、その-NH₂と-COOHは遊離である
こと、(2) 構成アミノ酸はL-型であること、(3) Asp 基
に対するアミノ酸は中性アミノ酸であること、(4) エス
テル基があること、などが挙げられる。またエステル基
は分子量 (MW) の小なるほど甘味強く、ジペプチド誘
導体全体の MW が大きくなるほど甘味は弱くなるなど
の特徴が見られる。

ジペプチドの構造と甘味度

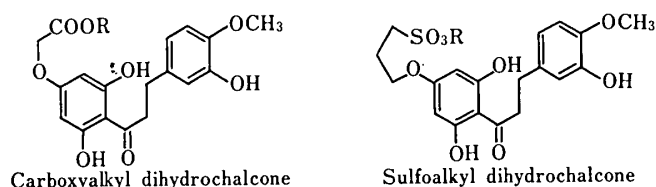
ジペプチド誘導体	甘味度 (Sucrose=1)
Asp-Phe-OCH ₃	100
Asp-Phe-OCH ₂ CH ₃	10
Asp-Phe-O(CH ₂) ₂ CH ₃	1
Asp-Phe-O(CH ₂) ₃ CH ₃	1
Asp-Phe-NH(CH ₂) ₂ OH	1
Asp-Cys-OCH ₃	1
CH ₃	
Asp-Met-OCH ₃	100
Asp-Met-OCH ₃	10
O	
Asp-Tyr-OCH ₃	10
Asp-Tyr-OCH ₂ CH ₃	10
Asp-Tyr-OCH ₃	1
CH ₃	
Asp-Tyr-OCH ₃	1
CH ₂ CH ₃	

(e) ジヒドロカルコン誘導体

柑橘類の果皮に含まれる Hesperidin, Neohesperidin, Naringin などのフラバノン配糖体(苦味)をアルカリ水解してカルコン類に変え, さらに還元して得られるジヒドロカルコン類は強い甘味を呈することが発見された。



Hesperetinから合成できる下記の糖単位を持たないジヒドロカルコン誘導体が, 化合物Bと同じ位甘く, 苦味のある後味の悪さの弱い化合物であることが判明した。

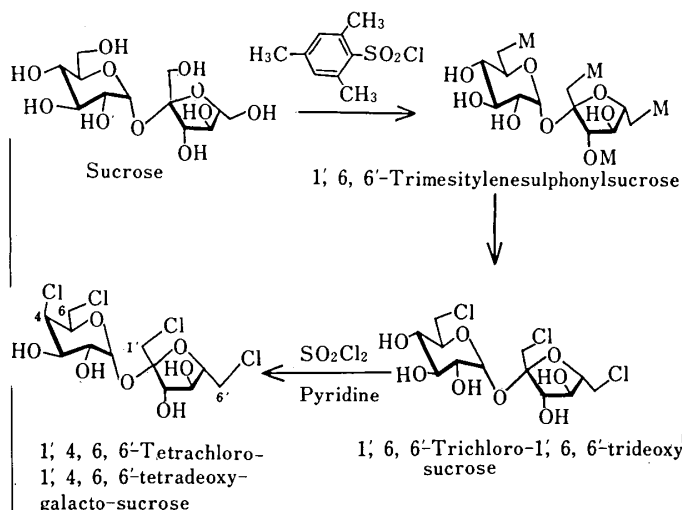


ジヒドロカルコン類の構造と甘味度

化合物	R ¹	R ²	R ³	甘味度 (Sucrose=1)
A	β -neohesperidosyl	H	OH	100
B	"	OH	OCH ₃	1,000
C	β -D-glucosyl	OH	OCH ₃	70~100
D	β -neohesperidosyl	OH	H	100
E	"	OH	OCH ₂ CH ₃	1,000
F	"	OH	O(CH ₂) ₂ CH ₃	2,000
G	"	OH	OH	0
H	"	OCH ₃	OH	0
I	"	H	H	0

(f) ショ糖のハロゲン誘導体

最近, Sucrose の部分ハロゲン化誘導体の研究から, 次のようにして半合成された 1',4,6,6'-Tetrachloro-1',4,6,6'-tetraideoxy-galacto-sucrose がサッカリン(甘味度200~700, sucrose=1)よりも甘味大で, しかも後味良好であることが報告された。(L. Hough, R. Khan, S.P. Phadnis: British Patent Applications No.616/76, 19570/76.)



甘味大
(4位の-Clが-OHになると甘味消失する)

(3) 合成甘味物質

今日までに脂肪酸, 芳香族の酸アミド, スルホンアミド, オキシム, ヒドラジド, ニトロ-, アミノ-, ハロゲン-, スルホニール化合物; トリアゾール, テトラゾール誘導体, オキサチアジン誘導体など莫大な数にのぼる甘味物質が合成された。その中から選ばれて Saccharine, Dulcine, Na-Cyclohexylsulfamate が実用に供されたが, 生理障害, 毒性, 発癌性などのため, FDA の GRAS リストから除かれ, わが国では Saccharin を除いて使用が禁止された。

化合物名	構造式	甘味度 (sacrose=1)
Soluble saccharin 溶性サッカリン		200~700
p-Methyl saccharin		200
6-Chloro saccharin		100~350
Dulcin(Sucrol) ズルチン		350~700
Na-Cyclohexyl sulfamate (Na-Cyclamate) サイクラミン酸(チクロ)		30~40 砂糖に近い 甘さ
n-Hexyl chloro- malonamide		300
syn-5-Benzyl-2- furfuraldoxime		690
anti-5-Benzyl-2- furfuraldoxime		100
2-Propoxy-5- nitroaniline		3,100~ 4,000
1-(2-Carboxyethyl)-3- (p-nitrophenyl)- urea		350

BeCl₂ や Pb(COCH₃)₂ (鉛糖) などの重金属塩は甘い。一般に、有機化合物をハロゲン化すると甘味が出現する。甘味の無い CH₄ や C₂H₂ のハロゲン化物である CHCl₃, CHBr₃, C₂H₂Cl₂, C₂H₂I₂ は甘味を呈する。いずれも毒物で、甘味料とは程遠い。

甘味と化学構造との関係の体系化は困難であるが、甘味の分子論によって甘味物質をデザインしようとする試みがある。

(4) 味覚変革物質

味覚受容器の機能を変える物質が発見され、話題になっている。

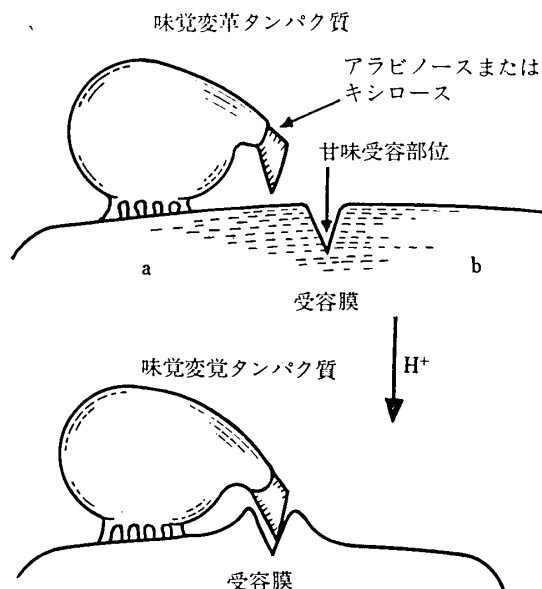
(a) ミラクリン

西アフリカ原産の植物 *Synsepalum dulcificum* の赤い実 (miracle fruit) を口に含んでから、酢っぱいも

のを味わうと非常に甘くなる。この作用は酸なら何でも有効で、その原因物質は MW 約 44,000 の塩基性蛋白質 (Miraculin) で、それ自身は無味である。

10⁻⁷ M 以上の濃度で有効で、一度口に含むとその効果は 1~3 時間持続する。0.02M-クエン酸液で誘導される甘味の強さは 0.4M-Sucrose 液の甘味に匹敵する。

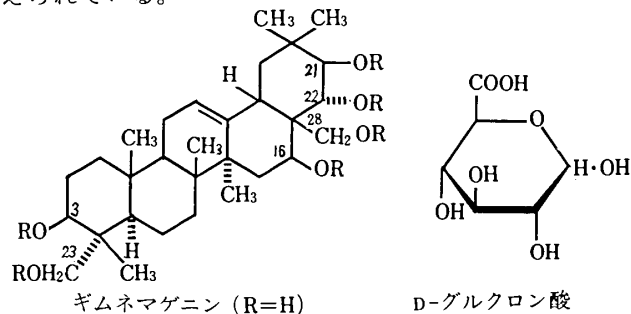
その作用機作は下図のように考えられている。



すっぱいものを甘くするタンパク質の作用機作。

(b) ギムネマ酸

インド産の植物 *Gymnema sylvestre* の葉を噛むと、ショ糖、サッカリン、サイクラミン酸、ステビオシドなどの甘味を数時間にわたって感じなくなる。その原因物質が単離結晶化され、トリテルペン配糖体 (A₁~A₄ の 4 種) でギムネマ酸 (Gymnemic acid) と名付けられた。その作用機作は不明であるが、ギムネマ酸の化学構造がグリチルリチンの化学構造と良く似ていることから、ギムネマ酸が甘味受容部位に吸着しマスクするのではないかと考えられている。

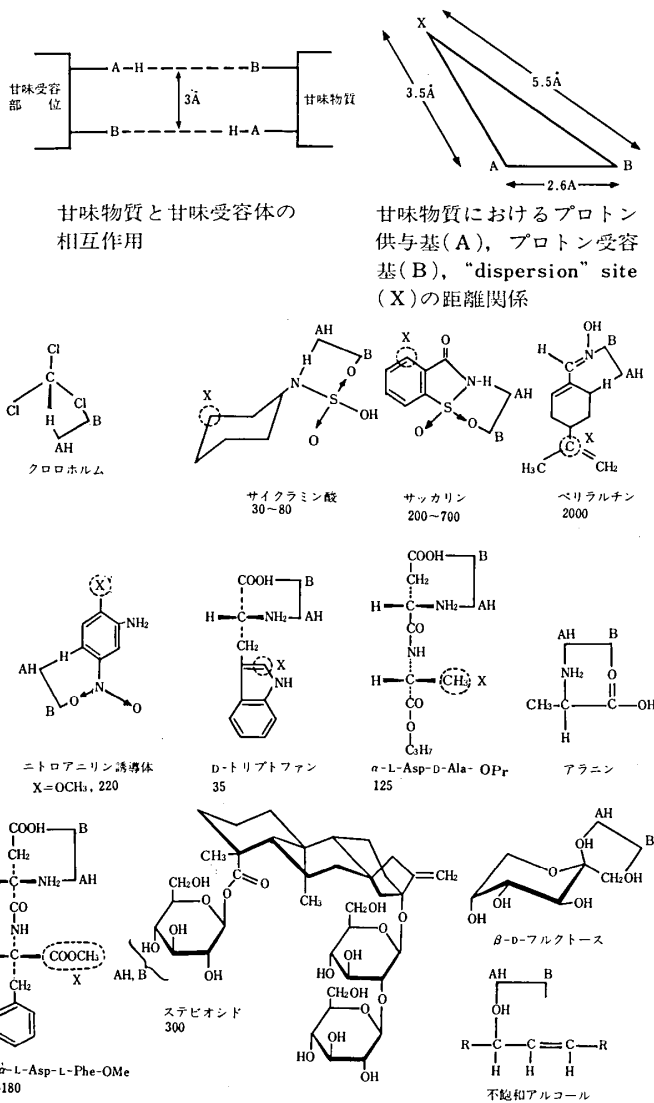


酸成分 (R)

- ギ酸 HCOOH
 - 酢酸 CH₃COOH
 - 酪酸 CH₃CH₂CH₂COOH
 - イソバレリアン酸 (CH₃)₂CHCH₂COOH
 - チグリン酸 CH₃CH=CH(CH₃)COOH
- Gymnemic acid の構成成分

(5) 甘味の分子論

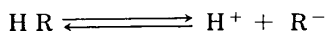
Shallenberger らは、種々の甘味物質の共通の化学構造として、甘味物質にはその分子内にプロトン供与基(AH)とプロトン受容基(B)が存在し、これらが互いに2.5~4.0 Å (平均3 Å)の距離にあることを指摘した(下図参照)。また、甘味物質を受けとめる側の甘味受容体にも同様の性質の部位(AH-B)があり、甘味物質のAH-Bと甘味受容体のAH-Bとの間に水素結合が起こることによって甘味刺激が引き起こされると考えた(下図参照)。AHとしては、-OH, >NH, -NH₂, -ArH などがあり、特別の場合には >CH もプロトン供与基になりうる。Bとしては、-O-, =O, -Cl, -C=C-, -COO など挙げられる。さらに、Deutsch らは、甘味物質にはAH-B系のほかに甘味の強さに関与する第3番目の結合部位“dispersion” site (X)があり、Xは甘味受容体の同様の部位と“dispersion” bond をつくって結合し、甘味が増強されることをアミノ酸の甘味度について指摘した。(下図右下参照)



Shallenberger らの甘味物質に関するAH-B説
数値はショ糖を1としたときの甘味力

3. 酢ばい話 酢いも甘いも知り抜く

酸味(すい味)は、解離したH⁺イオンによるもので、等規定液では解離度の大きい強酸の方が酸味大である。しかし、H⁺濃度が等しい溶液では、無機酸の方が有機酸より酸味が強い傾向がある。



有機酸ではH⁺の他に、陰イオンR⁻の影響が大きい。酸味の他に旨味(コハク酸)、甘味(グリシン)、苦味(ピクリン酸)などを伴い、有機酸の種類によっていろいろの酸味を呈する。

果物にはクエン酸(ナツミカン、ユズ、レモン、ウメ)とリンゴ酸(ビワ、ウメ)が多く、糖含量(糖:酸比)によって千差万別の風味を呈する。発酵食品として酢酸(酢)、乳酸(ヨーグルト、ケフィア、漬物)が関与しており、この他L-アスコルビン酸(果物、野菜、魚眼)、グルコン酸(干柿)、D-酒石酸(ブドウ)、コハク酸(日本酒、貝の吸物)なども独特の酸味に影響を与えている。

酸味剤とその閾値

酸	MW	閾値 (-N)
HCl 塩酸	36.5	0.0009
CH ₃ COOH 酢酸	60.1	0.0018
HOOC(CH ₂) ₂ COOH コハク酸	118.1	0.0032
CH ₃ CH(OH)COOH 乳酸	90.1	0.0016
HOOCCH(OH)CH ₂ COOH リンゴ酸	134.1	0.0016
HOOC(CHOH) ₂ COOH 酒石酸	168.1	0.0012
HOOCCH ₂ (OH)(COOH)CH ₂ COOH クエン酸	192.1	0.0023

(注) D-グルコン酸, L-アスコルビン酸, フマル酸, DL-酒石酸, 正-, ピロ-, メタ-, ポリ-リン酸およびその酸性塩なども加えて、いずれも食品添加物(酸味剤)として許可されている。

4. 塩からい話 旨い不味いも塩加減一つ

0.2~1.0M食塩溶液の呈する味を鹹味と呼ばれているが、NaCl溶液自体も濃度によって違った味を感じしめる。

NaCl と KCl 濃度による味の相異

濃度 (M)	NaCl	KCl
0.009	無味	甘い
0.01	弱い甘さ	強い甘さ
0.02	甘い	甘さと苦味
0.03	甘い	苦味
0.04	甘さを伴う塩味	苦味
0.05	塩味	苦味と塩味
0.1	塩味	苦味と塩味
0.2	純塩味	塩味、苦味、酸味
1.0	純塩味	塩味、苦味、酸味

塩類の陽イオンと陰イオンの両方が、味の質と刺激効果の双方に関与している、例えば、Na 塩でも陰イオンが異なるに従って味の質が変ってくる。一方、同じ陰イオンをもつ塩化物の系列についても、陽イオンが異なるにつれて同じようなことがいえる。

塩類の鹹味閾値

分子式	MW	閾値(中間値, M)
LiCl	42.4	0.025
NH ₄ Cl	53.5	0.004 * ³
NaCl	58.5	0.01 * ¹ , 0.03 * ²
KCl	74.6	0.017
MgCl ₂	95.23	0.015 * ³
CaCl ₂	110.99	0.01
NaF	42.00	0.005
NaBr	102.91	0.024
NaI	149.92	0.028

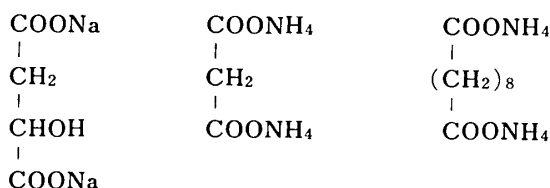
*1 感覚閾値 *2 識別閾値 *3 平均値

塩類の鹹味度(平均値)比較

陰イオン 陽イオン	Cl ⁻	I ⁻	Br ⁻	SO ₄ ²⁻	NO ₃ ⁻	HCO ₃ ⁻
NH ₄ ⁺	2.83	2.44	1.83	1.26	1.03	—
K ⁺	1.36	0.54	1.16	0.26	0.14	0.23
Ca ⁺⁺	1.23	—	—	—	—	—
Na ⁺	1.00	0.77	0.91	1.25	0.17	0.21
Li ⁺	0.44	0.57	0.79	—	0.23	—
Mg ⁺⁺	0.20	—	—	0.01	—	—

食塩代用の鹹味物質

腎臓、肝臓の疾患、結核などで食塩の摂取を禁じられた患者のために食塩に近い鹹味を呈する下記の塩類が調味料に使用されている。



Na-Malate NH₄-Malonate NH₄-Sebacilate
リンゴ酸ソーダ塩 マロン酸アンモニウム塩 セバチン酸アンモニウム塩

食塩は動物体液の常成分で、人体では常時0.66%のNaClが含まれ、その失調は重大な健康障害を起す。これはNa⁺の失調によるものである。一般に、1~5% (0.2~1.0M) のNaCl水溶液は快い鹹味を呈し、0.1%のNaClは甘味や旨味を引き立てる(旨いまずいも塩加減一つ)。有機酸の添加は、食塩の鹹味を強化する作用がある。(以下次号)

試薬は
鹿印

関東化学株式会社

本社/東京都中央区日本橋本町3-7
電話 03-279-1175 (大代表)
④表示許可工場/埼玉県草加市稲荷町2048
電話 0489-31-133 (代表)

□分析研究用試薬

超高純度試薬(UGR)
有害金属測定用試薬(PMA)
高速液体クロマトグラフ用溶媒
原子吸光分析用試薬各種(HLC-SOL)
吸収スペクトル測定用溶媒(UVIR)
イーストマンTLC用シート
アミノ酸自動分析用試薬(AAA)
カルボン酸自動分析用試薬

□合成研究用試薬

高純度有機薬品
イーストマンコダック社有機試薬

□臨床検査用試薬

臨床検査用キットおよび単純試薬
自動分析機器用調製試薬

□ファインケミカルス

中間体各種

シダ植物の栄養葉と孢子葉の成分研究 その1

—— Osmunda 属の栄養葉と孢子葉の成分研究 ——

明治薬科大学 助教授 薬学博士 奥 山 徹

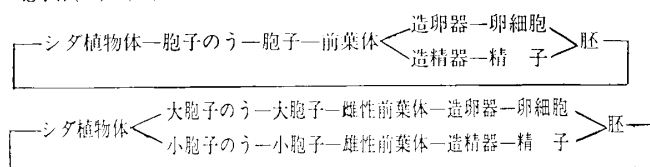
シダ植物の生活史について¹⁾

広く植物界における生活史を見ると種々の生殖法があり、そのうちで専ら無性生殖だけを行うもの (Ex. 細菌類), 専ら有性生殖だけを行うもの (Ex. 車軸藻類), あるいは同一種で異なる生殖法を共有するものもある。植物界に広く見られるものは、2種の個体があってその1つはもっぱら有性生殖を行う配偶体で、もう1つは無性生殖を行う孢子体で、この両個体が交代に現われるもので、これを世代交番 *alternation of generation* といい、有性生殖を行う時代を有性世代、無性生殖を行う時代を無性世代と言う。

なお、有性生殖を行う植物では、生殖細胞は予め減数分裂によってその染色体数を半減して単相 (n) となり、接合、または受精によってもとの複相 ($2n$) に復するので、この単相と複相の交代を核相交番 *alternation of nuclear phases* という。世代交番の行われるものでは核相交番も行われるが、有性生殖だけを行うものでは核相交番は行われるが、世代交番は行われない。高等植物でシダ植物は最も世代交番の明瞭なものであり、種子植物では生殖器官として特に花と呼ばれる特別な器官が形成される。

シダ植物の世代交番には2つのタイプがあり、核相交番と併せ表現すれば次のようになる。

孢子体 ($2n$) ($2n$) 減数分裂 (n) 配偶体 (n) (n) 配偶子 (n) 受精 ($2n$)



シダ植物の中で、普通我々の見る維管束の発達した茎葉植物体は無性世代の植物体、すなわちシダ体であり、有性世代の植物体である前葉体は簡単な体制の葉状植物体である (完全に生長したシダ体と前葉体の成分の比較検討をした研究成果については次の機会に報告の予定)

シダ植物の生殖細胞である孢子は孢子のうに包蔵されて葉に附着するものであるが、孢子のうの附着した葉を孢子葉 (実葉) *sporophyll* という。これに対し栄養作用だけを営み、孢子のうを生じない葉を栄養葉 (裸葉) *trophophyll* という。しかし多くの場合孢子のうは栄養葉に附着してそのまま孢子葉となるのでこれを栄養孢子葉 *trophosporophyll* と言う。

シダ植物の孢子のう *sporangium* 生成について

シダ植物は世界各地に広く分布しており、日本では23科、83属、約400種知られている²⁾。これらシダ植物の孢子形成を次の3種 (A, B, C) に分類できる。

A) 孢子のうは栄養葉の小葉の裏面に附く一栄養孢子葉

Psilotaceae (マツバラ科) 1属1種

* *Lycopodiaceae* (ヒカゲノカズラ科) 1属13種

* *Selaginellaceae* (トウゲシバ科) 1属10種

Isoetaceae (ミズニラ科) 1属2種

Angiopteridaceae (ヒリュウシダ科) 1属2種

Schizaceae (フサシダ科) 1属1種

Gleicheniaceae (ウラジロ科) 2属2種

Hymenophyllaceae (コケシノブ科) 7属18種

* *Pteridaceae* (イノモトソウ科) 16属53種

Davalliaceae (シノブ科) 3属3種

Cyatheaceae (ヘゴ科) 1属3種

* *Aspidiaceae* (オシダ科) 1属203種

* *Blechnaceae* (シシガシラ科) 2属6種

Asplenaceae (チャセンシダ科) 3属27種

Polypodiaceae (ウラボシ科) 10属37種

Grammitidaceae (ヒメウラボシ科) 3属3種

Vittariaceae (シシラン科) 2属5種

Marsileaceae (デンジソウ科) 1属1種

Salvinaceae (サンショウモ科) 1属1種

Azollaceae (アカウキクサ科) 1属2種

B) 孢子のう穂が1~数個小枝に付くかあるいは頂生する。

* *Lycopodiaceae* (ヒカゲノカズラ科) 1属15種

* *Selaginellaceae* (トウゲシバ科) 1属2種

* *Equisetaceae* (トクサ科) 1属1種

Botrychiaceae (ハナワラビ科) 3属9種

Ophioglossaceae (ハナヤスリ科) 2属6種

C) 栄養茎と孢子茎の別ができています。

Equisetaceae (トクサ科)

Equisetum arvense L. スギナ

E. palustre L. イヌスギナ

E. sylvaticum L. フサスギナ

E. pratense Ehrh. ヤチスギナ

E. limosum L. ミズドクサ

E. hyemale L. トクサ

E. variegatum Schlich. チシマヒメドクサ

E. scirpoides Michx. ヒメドクサ

Osmundaceae (ゼンマイ科)

Osmunda japonica Thunb. ゼンマイ

O. lancea Thunb. ヤシャゼンマイ
O. lancea Thunb. var. *latipinnula* Tagawa
 オオバヤシャゼンマイ

Osmundastrum cinnamomeum L.
 ヤマドリゼンマイ

O. claytonianum Tagawa オニゼンマイ… (栄養葉の中央から下へ数対の羽片に胞子のうが付く)。

※ Pteridaceae (イノモトソウ科)

Pteris cretica L. オオバノイノモトソウ

Plagiogyriaceae (キジノオシダ科)

Plagiogyria adnata Bedd. タカサゴキジノオ

P. japonica Nakai キジノオシダ

P. euphlebia Mett. オオキジノオ

P. matsumureana Makino ヤマソテツ

P. stenoptera Diels シマヤマソテツ

※ Aspidiaceae (オシダ科)

Motteuccia struthiopteris Todaro クサソテツ

M. orientalis Trev. イヌガンソク

Onoclea sensibilis L. var. *interrupta* Maxim.

コウヤワラビ

※ Blechnaceae (シシガシラ科)

Struthiopteris castanea Nakai ミヤマシシガシラ

S. amabilis Ching オサシグ

S. niponica Nakai シシガシラ

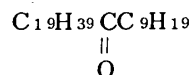
※印の科名はA), B)あるいはC)に同時に属している例である。

以上の事をまとめて見ると, A) タイプに属する例が最も多く20科69属393種, B) タイプ5科, 8属, 33種, C) タイプが6科, 8属, 25種となっており, シダ植物の胞子形成はいかに多くの場合栄養葉の裏面に付着して形成されているかがわかる。

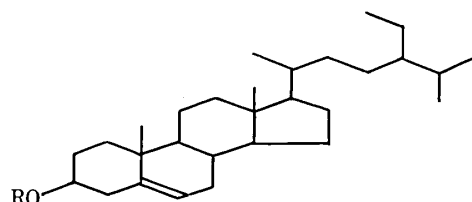
しかし, 先に述べたように世代交番が顕著な孢子一前葉体一栄養葉あるいは孢子葉と変化している中で, この各ステージに成分の変化が当然認められるであろうと考え以下の研究に着手した。

***Osmunda* 属の栄養葉と孢子葉の成分研究³⁾**

ゼンマイとヤマドリゼンマイはわが国に広く自生する宿根草であり, 昔から食用として賞味されている。これ



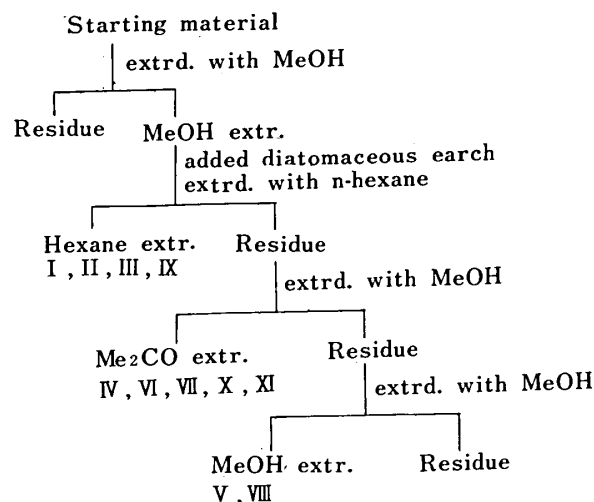
I : nonacosan-10-one



III : R=H, β -sitosterol

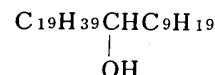
IV : R=glucose, β -sitosterol monoglucoside

ら両ゼンマイの栄養葉と孢子葉は, 春に芽を出す時期に同じように綿毛を付けており, しかもほぼ時を同じくして生長してくるにもかかわらず, 食用にしているのは栄養葉だけである。一方の孢子葉は, 地方によって“著しく苦い”, “男ゼンマイは食べられない”などと言われており, 食用には全く供されていらない。私はこのような事実に興味を持ち, 栄養葉と孢子葉の成分について比較検討を行うと共にそれぞれの原料をChartに示した方法に

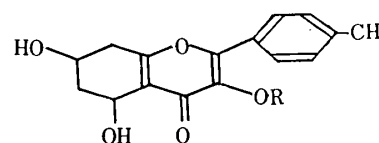


従い処理し, つぎのような化合物を単離しそれぞれの化合物の構造を明らかにすることができた。

すなわち, ゼンマイの新鮮な栄養葉 trophophyll から高級脂肪酸である nonacosan-10-one (I) と nonacosan-10-ol (II), sterol として β -sitosterol (III) と β -sitosterol monoglucoside (IV) を, ゼンマイの孢子葉 sporophyll から I, II, flavonol の astragalin (= kaempferol 3-glucoside) (VII), および4種の bisflavonoid (V) (詳細については次号で報告) を, ヤマドリゼンマイの新鮮な栄養葉から I, II, III, IV と flavonol の VII と kaempferol (VI), asiaticalin と名付けた新規 flavonol glycoside (VIII) (本化合物の詳しい構造については次号で報告), diterpene である phyllocladene (IX), lambertianic acid (X), dimethyl sciadinonate (XI) を単離した。



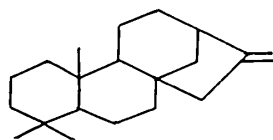
II : nonacosan-10-ol



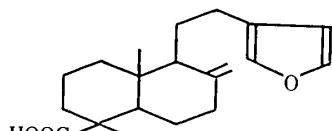
VI : R=H, kaempferol

VII : R=glucose, astragalin

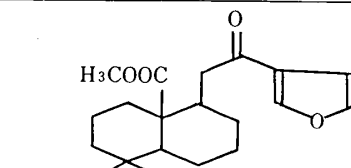
VIII : R=allose, asiaticalin



IX : phyllocladene



X : lambertianic acid



XI : dimethyl sciadinonate

ゼンマイとヤマドリゼンマイの栄養葉と胞子葉の成分をシリカゲル TLC 上で比較検討を行いその結果をつぎのようにまとめた。

Chemical Constituents of *Osmunda* spp.

Starting material		Compound										
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI
ヤマドリゼンマイ	trophophyll	++	++	++	++	—	+	++	++	++	+	+
	sporophyll	++	++	+	+	+	±	+	±	±	+	+
ゼンマイ	trophophyll	++	++	++	++	—	+	+	±	+	±	±
	sporophyll	++	++	+	+	—	±	±	—	±	±	±

このようにヤマドリゼンマイとゼンマイの栄養葉と胞子葉に共通の成分が TLC 上で認められ、さらに単離し確認できた。この中で、ヤマドリゼンマイの栄養葉から astragalin (=kaempferol 3-glucoside) と asiaticalin (=kaempferol 3-alloside) と名付けたシダ植物から始めて単離された allose を糖に持つ flavonol が同時に単離された事、bisflavonoid がゼンマイの胞子葉にだけ選択的

に存在している事実等はゼンマイ属のケモタキソノミーを論ずる上で興味ある事と思われる。

参考文献

- 1) 木村康一、木島正夫著、薬用植物学総論、広川書店
- 2) 田川基二著、原色日本羊歯植物図鑑、保育社
- 3) K. Koyama, F. Fuke(Née Sato), J. Kimura and T. Okuyama, Shoyakugaku Zasshi, 32, 126 (1978).

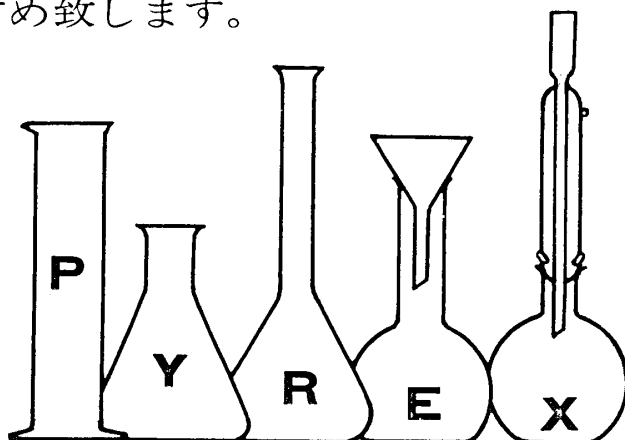
PYREX® Brand

理化医療用ガラス製品

優れた化学的耐久性と耐熱性を持った製品です。

Cica 印高純度試薬と共にご愛用下さいますよう

おすすめ致します。



ケサランパサラン

山形大学教授 理学博士 中 沢 信 午

生薬に牛黄（ごおう）というのがある。牛の胆嚢または輸胆管内に病的に生じた一種の結石で、球形または塊形、黄褐色のものが多く、苦味がある。主成分は胆汁色素ビリルビンを基本とした有機性物質で、解熱、鎮痛、強心、解毒作用があるとして、諸種の熱性疾患に用いられるという¹⁾。

ポルトガルでは古くからこれを *pedra bezoar* とよんでいた。*pedra* は「石ころ」の意味、*bezoar* は一般に牛馬の結石類のことである。この語が、のちに日本へ入来して「ヘイサラバサラ」となり、馬石記に「和漠にて鮮答といひ天竺にてヘいさらばさらといふ——」と書かれている（広辞苑）。

この語ヘイサラバサラが、近年全国的に話題をにぎわした「ケサランパサラン」の語源だ、という一説がある。この点については、私の見解を後にのべることとする。まず、ケサランパサランとはいかなるものか。

1977年の夏、新聞、雑誌、テレビなどで、ケサランパサランという不可思議なものが紹介された。動物とも植物とも見分けがつかない、この奇妙なものを野外から拾って来て、おしろい（白粉）とともに箱に入れ、大切に保存すると、それはおしろいをエサとして生育し、ついには増殖する。そして、これを持っている家には幸運をもたらすというわけである。この話、そもそもの起源は、「宮城県政だより」²⁾ に1974年に記事として出たことによる。

宮城県小牛田町の孝勝寺別院の住職佐々木友義氏は、桐の箱にいった十数個のケサランパサランを所有している。これらは、1918年の秋に、寺の本堂にとんで来たケサランパサラン2個を、当時の住職瑞要氏が拾って、いい伝えにより、おしろいとともに箱にいれ、秘蔵していたものである。今日では増殖して十数個になった、と現住職は説明している。

私はこの寺を訪れ、つぶさにこれを観察し、その破片を提供してもらい、大学へ持ち帰って、さっそく検査した。なるほど、新聞などで「わた毛型ケサランパサラン」とよんでいたように、綿毛のようで、非常に軽く、カメラを動かしただけでも移動してしまう。

このケサランパサランは、長さ約15mmの白い毛が約40本、放射状に生じ、その中心には径0.5mmくらいの輪がある。毛には光沢があり、さらに短い毛が羽状に枝分かれしている。毛の基部はやや太くて径140~200 μ m、先端は細く径45 μ mであった。毛の主軸はさらに細い細胞列が20本ほど束になったものである。また毛は縦方向に強い正の複屈折を示す。また塩化亜鉛ヨード液をかけても紫色にならないから、主成分はセルロースでないらしい。

報道関係者からこれを見せられた永野為武氏（東北大学教授）は、このケサランパサランを最初は不完全菌の一種ではないかと考えた³⁾。しかし後にはサワアザミの冠

毛と鑑定するにいたった⁴⁾。

私は、ノハラアザミ、サワアザミ、ナンブアザミなどについて冠毛を検査し、いずれも、冠毛だけみるかぎりケサランパサランと区別できないのを知った。毛の数、長さ、太さ、形、複屈折、吸湿運動など、すべての点でこれらアザミの冠毛は、小牛田の寺院に保存されているケサランパサランと同一であった。

この事実から、そのケサランパサランの正体は、採集した時の季節と場所を考えあわせて、他のアザミよりも、おそらくナンブアザミの冠毛とみるのが最も妥当である。

次にもう一つ別種のケサランパサランがある。これは宮城県気仙沼市の藤田徳雄氏（もと小学校長）の家に伝わるものである。直径約60~20mmの、動物性の毛の集合した球である。新聞では「毛玉型ケサランパサラン」とよんでいた。

所有者の藤田氏によれば、氏の祖先が文久年間に野原で拾ったもの、また後に氏の父が近くの山で拾ったものなどを、あわせて5~6個を、昭和のはじめごろまではボール箱に入れ、家宝として秘蔵していたが、現在では21個にまで増殖したという。

私はこれを見せてもらった。このケサランパサランは個体によっても毛の色が異り、白、灰、黒、褐色などである。手にとってみると、やわらかく、中心にはやや弾力のある豆粒大の「核」がある。径60mmの大きいものでも、重量はわずか800mgにすぎない。

小型の1個を拝借して研究室へ持ち帰り、顕微鏡で観察した結果、毛は哺乳動物のものであることが知られた。中軸をなして1列に細胞が連なり、それを取り巻いて1層の細胞がシリンダー状になっている。毛には大毛と小毛とがあり、大毛は長さ約30mm、太さは中央部で径70 μ m、小毛は長さ5~20mm、径15~20 μ mで、いずれも長軸方向に正の複屈折がある。毛の色は、中軸の細胞に含まれる褐色の物質による。

その後、山形県立博物館の動物学者高橋多蔵氏が、同様のケサランパサランを所有しているのを知り、1個提供してもらい、これを解剖してみた。すると、毛は乾燥した皮膚の破片中にある毛根から生えていることが知られた。また、比較のために、キツネおよびノウサギの毛をとって検査した結果、特にノウサギの毛が、完全にケサランパサランと一致した。

こうした事実から、この毛玉型ケサランパサランは、ノウサギの皮膚の小破片が乾燥して、縮み、巻いて球形になったものと考えられる。ただし、すべてのケサランパサランがノウサギの毛であるかどうか、それは何ともいえない。あるいはキツネ、イタチなどの毛に由来するものもあるかもしれない。

毛玉型ケサランパサランが、どうやって生じたか、それはおそらくこうである。春に、まだ山野が枯草におお

われている時、冬を越したばかりの野兎が、タカ、ワシなどの猛鳥におそわれ、皮膚がつまみ取られた。実は越冬したばかりの野兎の皮膚には脂肪が少く、はぎ取られやすい。その皮膚片が、乾燥した春さきの空気の中で、腐食するよりもまなく乾燥し、縮んでボール状になったのである。この推測にまちがいないと思う。

ケサランパサランの話は全国的で、京都、名古屋、長野、宮城、秋田、山形の各県に広がっている。ケサランパサランは「おしろいを食べて生育する」といわれる。生きている証拠には、ケサランパサランは増殖するといっているのである。私は実験したわけでないから、「増殖」するか否かは断定できないが、既知の生物学の知識からみて、増殖するとは考えられない。乾燥して割れたものを見て、ケサランパサランに子供が生まれたと感ちがいのたのではないだろうか。おしろいを加えて保存するというのは、おそらく防湿と防虫のためであろう。あまりに強い乾燥剤を入れるとこわれ易いし、湿気が多いとカビが生え、虫もつくので、おしろいにまぶしておくで保存によいことは確かであろう。

以上のように、ケサランパサランには動物性のものと、植物性のものとがある。そして、前者は哺乳動物の毛皮の破片に由来し、後者はアザミ類の冠毛にほかならない。

ケサランパサランの語源については「ヘイサラバサラ」に起源するとの説もあるが、私はそれよりも「毛がサラリと生えパサッとしている」その見た感じから来たものだと思う。英語に hair ball というのがある。これは羊な

どが毛を飲みこみ、不消化のまま体内で集合体となり、排出されたものである。これがケサランパサランではないかとも考えられたが、そうだとするとケサランパサランに皮膚が不消化のまま残っているはずはない。またケサランパサランの毛は不規則な集合体でなく、中心から放射状に規則的に生えている。この点も hair ball とは別である。

同様に植物の繊維が不消化のまま集合したのを英語で phytobezoar ともいうが⁵⁾、これもケサランパサランとは異なるものである。ドイツ語では hair ball を Haarballen とよび同様の説明をあたえている⁶⁾。これもケサランパサランではない。

一方、私は動物実験に使用したカイウサギの皮膚片(約 1 cm²)の、脂肪層をできるだけナイフでけずり落し、これをデシケーターにに入れて乾燥してみた。その結果、球形までにはいたらなかったが、ややケサランパサランと似たものを人工的につくることのできた⁷⁾。

引用文献

- 1) 稲垣勲ほか：生薬学，南江堂（1966）
- 2) 宮城県政だより：5月1日（50号）（1974）
- 3) 読売新聞：7月15日，31日朝刊（1977）
- 4) 永野為武：採集と飼育40巻3号，120（1978）
- 5) Webster's Third New International Dictionary of the English Language Unabridged, 1964
- 6) Meyers Konversations-Lexicon, 6. Aufl. 1905
- 7) 中沢信午：科学の実験30，298（1979）

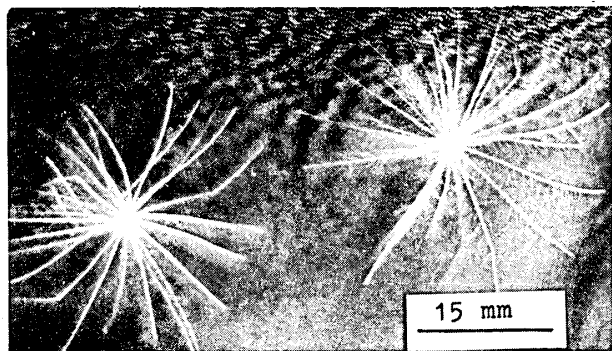


図1 植物性ケサランパサラン(小牛田孝勝寺別院所蔵)。ナンパアザミの冠毛もこれと一致する。

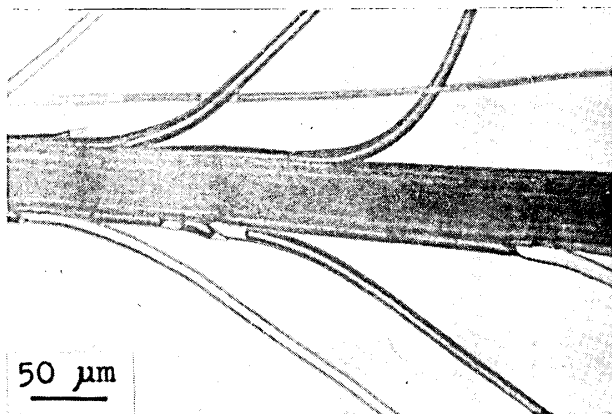


図2 ナンパアザミの冠毛の一部。図1のケサランパサランもこれと一致する。

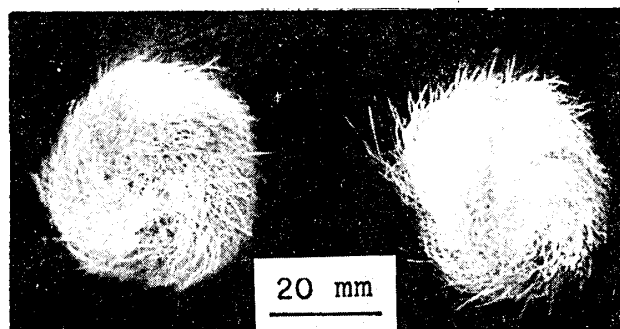


図3 動物性ケサランパサラン(藤田徳雄氏所蔵)。

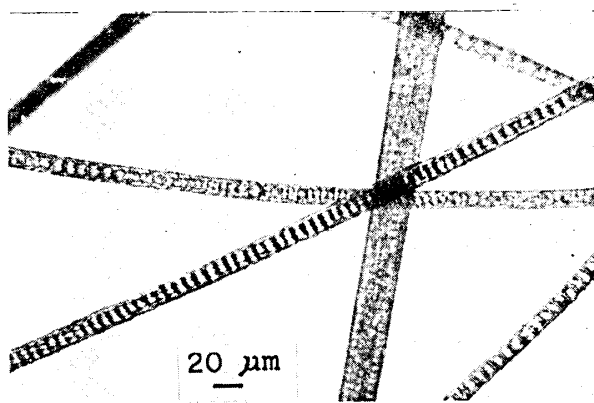


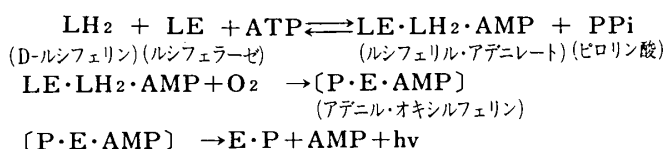
図4 ノウサギの毛の顕微鏡写真。動物性ケサランパサランもこれと一致する。

ルシフェリン・ルシフェラーゼ発光反応による受光 (I)

東京大学医学部講師 理学博士 大澤 一 爽

はじめに

ホタルでは、発光器官における神経接合部での化学伝達物質は、オクトパミンが有力視されて、その放出によりルシフェリン(LH₂)とルシフェラーゼ(LE)はATP存在下で、次のような発光反応を起すとされている^{9,10}。



この式で P-E-AMP の実体はよくわからないが、この反応におけるルシフェリン・ルシフェラーゼ系(LL)とATPの化学量論的關係に基づいて、ATP微量定量をin vitroで行う試みや、種々の分野での応用例が数多く報告されるようになった。^{9,10} この特有な発光現象を利用して効率よくATP濃度を測定する条件は、従来の研究によって、次のように要約されると思われる。^{2,10}

1. LLに蒸留水を加えて攪拌後、4℃冷室に静置、24時間後のLL上清液を使用する。
2. ATPを、10mM Hepes-Tris pH 7.4+10mM MgSO₄液に溶解し、直ちに使用する。ATP濃度は、10⁻⁹~10⁻³ mg/mlの範囲に調製する。
3. バイアルは、ポリエチレンまたは、ビニール化合物の材質を用いて、総液量は、2ml以下にする。(プラスチックはガラスよりも光を散乱させるので計数効率が高くなる¹²)
4. 発光反応測定値は、光電子増倍管出力の積分値として計測する。

発光による光電子増倍管出力パルスを計数する点では、液体シンチレーションカウンターの原理と類似しているので、それを用いても計測可能であろうとのことから、それを用いた報告もあり、われわれも初期には、液体シンチレーションカウンターを用いて実験を試みたが²⁾、その標準曲線の直線性部分が狭い範囲であり、Stanley(5)の報告にもあるように、液体シンチレーションの同時計数回路に問題点がみられたので、本実験では、発光測定専用機器を使用した。それらの問題を解決し、適確な測定法を確立するためには、LL+ATPの発光反応で生ずる光の性質を充分明らかにする必要があると考えられる¹¹。特に一分子のATP分解に伴って発生する単一光子をどのように測定するかが問題となる。試料よりの発光を単一光子の単純な計測値として処理できるか、或は、単一光子が同時に複雑に重畳され、直流的なものに変化していないかが問題となる。また、発光現象をとら

える受光系の効率と反応系の発光数の量的関係も明らかにする必要がある。前者は、生物発光の基礎的問題であり、後者は、受光機器の特性上の問題であるので、各々について、解析的な実験を必要とする。本報告では、まずLL+ATP反応で発生する単一光子の性質を観察し、その波高と濃度の関係を明らかにし、且つ、受光系のとらえる単一光子の発光と反応で生ずる光子数との関係を検討した。従って微弱光測定とATP定量法を同時に綜説した。

LL+ATP 発光反応の単一光子による光電子増倍管出力波形

LL+ATP発光反応による最も要素的(unitary)と考えられる発光単位は、単一光子と考えられる^{1,9,10}。これを、光電子増倍管(略してPMT)で受光して、電気的にオシロスコープで観察することを試みた。受光系として浜松テレビPMT-R331型を使用し、前述したLL(シグマ社製)+10⁻³mg ATP/ml溶液を加えて、図1の回路図に従って記録すると、図2の波形が観測できた。その波形は、立上り時間約2n sec、下降相は約3n secで略一定であった。即ち、波高、時間的経過の点で、略等しい出力波が記録できる。各々の波は、従って要素的な発光に基づくものと見做すことが出来る。それでは、その要素的な発光が螢の発光現象における一光子とどのように対応するかを検討する目的で次の3つの実験を行った。

第一に、PMT-R331とオシロスコープの感度、並びに時間特性のチェックが必要となる。用いたオシロスコープは、Jextronice 7904型で、その横軸は、1n sec/divが最大掃引速度であり、立上り時間は、0.6nsであった。PMTオシロスコープの総合特性を見るために、PMTに充分短いパルス光を与えて出力波形を見る必要があるが、今回は、レーザーダイオードピコセックC1308パルスの100p sec中の光源を入射させた(このレーザーダイオードピコセックC1308が、100p sec中であるかどうかを調べるのは、ストリークカメラによってチェックされている)ところ、図3Aに示すような波形が得られた。図2と図3Aの波形を比較すると時間経過がよく類似している。このことは、LL+ATP発光反応も0.1n sec中の光パルスに類似した光子を発生しているが、測定計器の特性によって図2のような波形に変形している可能性が考えられる。Stanley & Williams⁵⁾は、立上り時間約10n secのPMT出力をLL+ATP発光反応の単一光子の出力として報告しているが、この波形は、PMTの特性に依存するものであり、実際の光子波形は、PMT出力波形よ

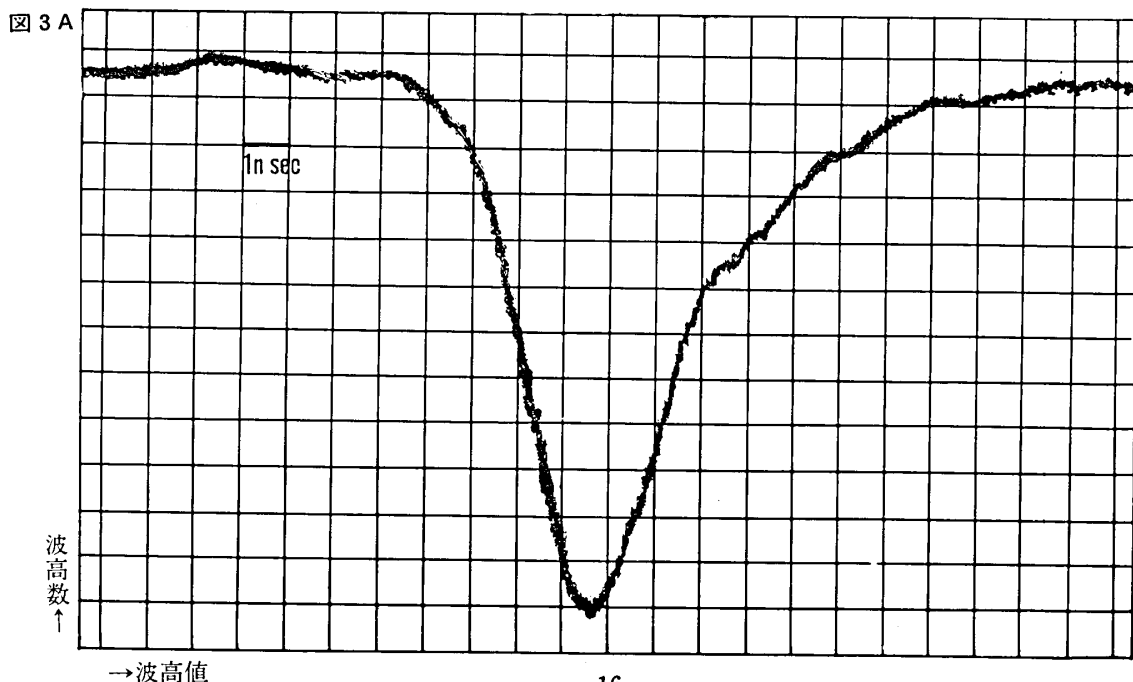
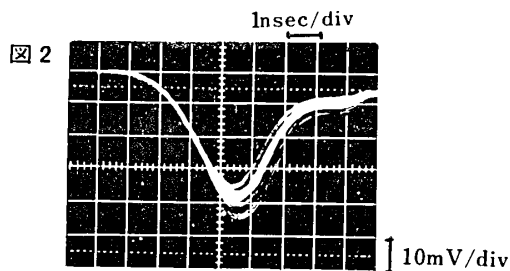
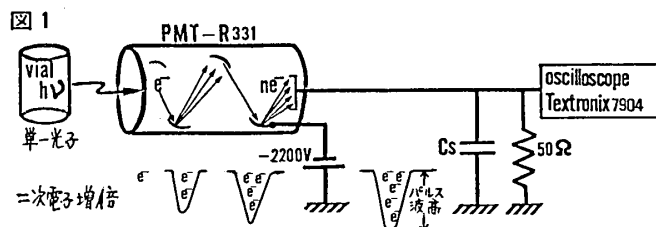
りかなり速やかな時間経過をもつものと思われる。この単一光子の発光は、LL+ATP発光反応によって生じた $h\nu$ （単一光子）と考えるが、実際 $h\nu$ は、PMT出力とは異なった時間経過を有するものであり、われわれの観察しうるものは、それが電圧に交換されたものである。従ってその電圧として得られる単一光子波形の現象を、single photon event（又はsingle photoelectron）と呼ぶのが妥当と思われる。

LL+ATP反応で生ずる単一光子は、ある一定の光エネルギーをもつことが知られている^{1, 9, 10}。そのエネルギーを測定するには、レーザー光のエネルギーと比較することによって求めることが出来る。図3Aに示した実験では、2~3eVのレーザー光を与えたが、その倍数をもつエネルギー光源のレーザー光を、PMTに、照射させると、PMTは、入射エネルギーに比例した波高値(channel number)を持つ出力を出すので、波形分布図(pulse height spectrum)を作成すると分布曲線の波高値から入射エネルギーを推定することが可能であり、波高分布図の波高数(計数値/channel)から光子数を計算することが出来る。即ち、同一のエネルギー $h\nu$ をもつ光子がPMTに入射した波形の波高分布は、図3Bであり、その約2倍の確率を有するパルス光の光子がPMTに入射して、波形を生じた時、元の光子波形の2倍の波高値をもつ分布が生ずる筈である(図3Cの2)。3倍の確率を

有するパルス光を入射させると、図3Cの3のように3倍に近似した波高値をもつ分布が生じた。このように、人為的に入射エネルギーと波高が比例する波高値の変化を横軸として示したのが図3Cである。図3Cの縦軸は波高数を示した。図3Cのように波高値のピークが横軸にシフトするような現象は、LL+ATP発光反応の波高値の実験ではみられなかった(図5)ので、LL+ATP発光反応の単一光子の波高分布は、図3Bのsingle photon eventと同一であろうと推定した。(以下次号)

文 献

- 1) 後藤俊夫・生物発光、共立出版、(1975)。
- 2) 大沢一爽、星猛、化学と生物、16, 402 (1978).
K. Ohsawa 等, Brain Res., 161, 447(1979).
- 3) S. Addanki, G.F. Sotos & P.D. Rearick, Anal. Biochem., 14, 261(1966).
- 4) G.E. Lyman & G.P.P. Devincenzo, Anal. Biochem., 21, 435 (1967).
- 5) P.S. Stanley & S.G. Williams, Anal. Biochem., 29, 381(1969).
- 6) R.A. Gohuson, G.G. Hardman, A.E. Broodus & E.W. Sutherland, Anal. Biochem., 35, 91(1970).
- 7) J.B. John, Anal. Biochem., 37, 409(1970).
- 8) 大沢一爽、検査と技術、8, 58(1980).
- 9) T. Gorus & E. Schram, Clin. Chem., 25, 512(1979).
- 10) Bioluminescence & Chemiluminescence, in Methods in enzymology 57 (1979).



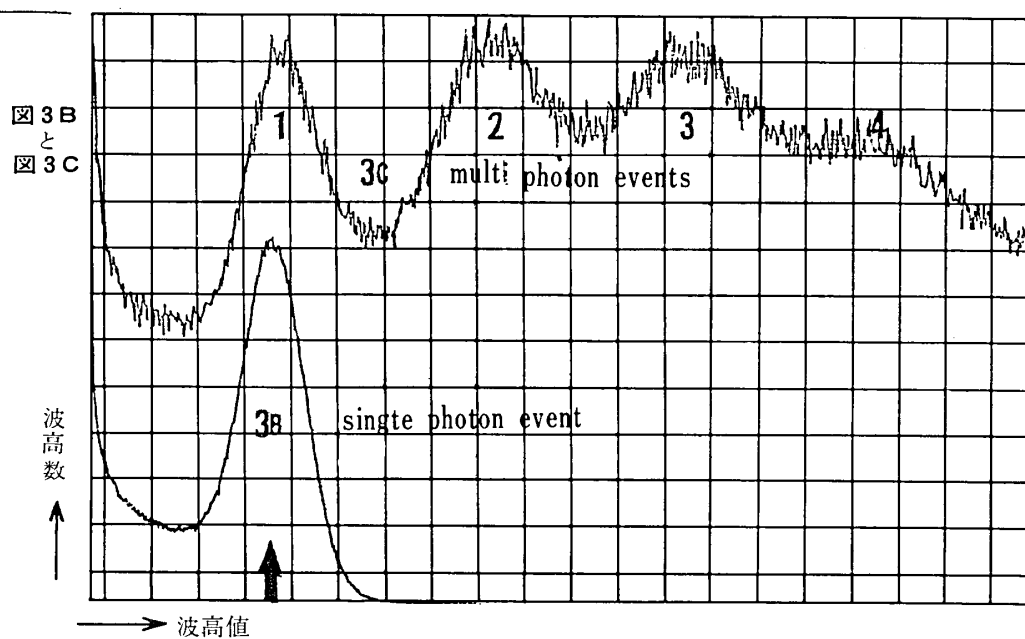
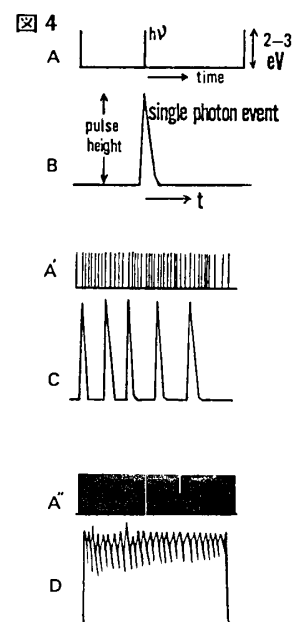
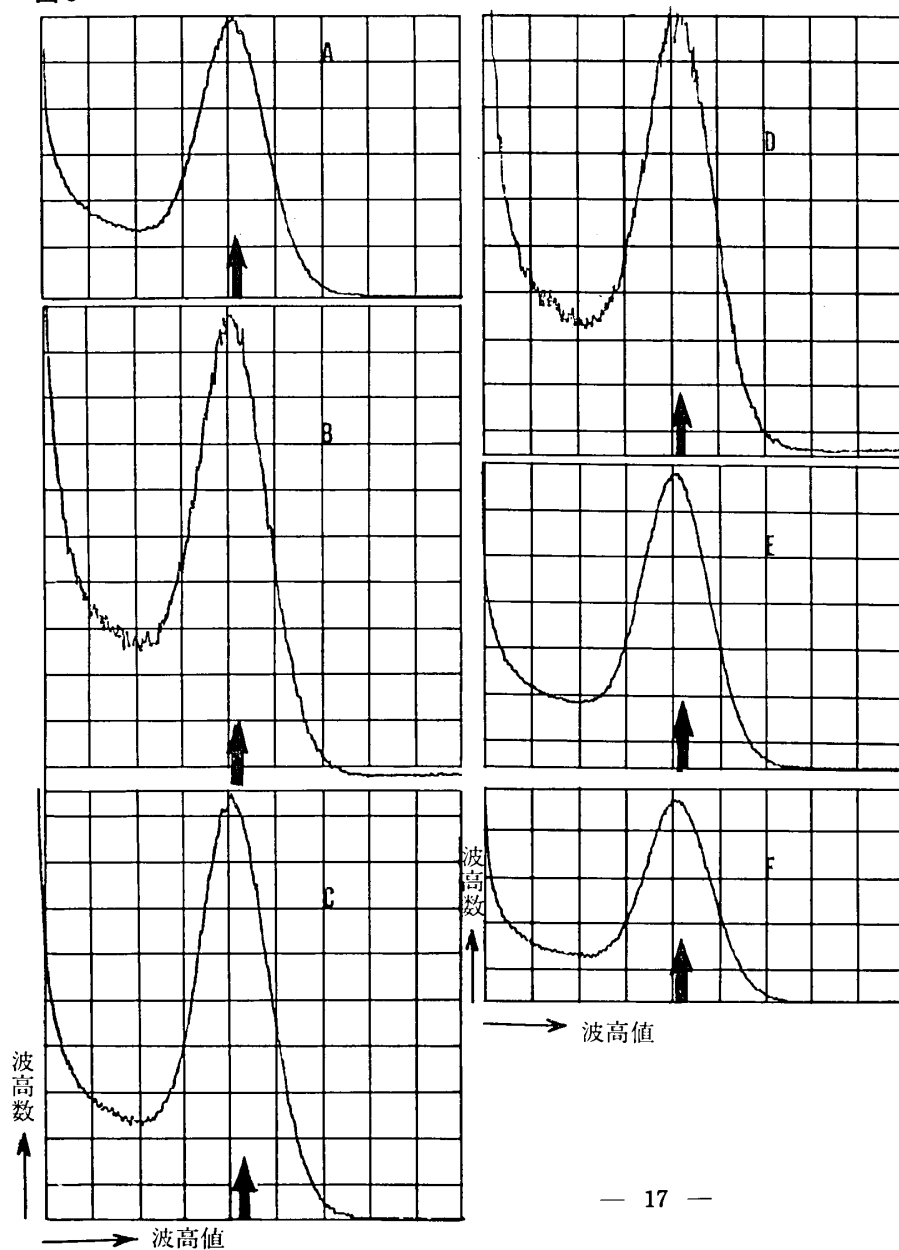


図 5





薬学の先駆者・刈米達夫 (23)

薬学博士 根本曾代子

薬用植物化学の権威

刈米達夫博士 (1893~1977) は、公務員歴48年を通して、内務技師兼衛生試験所技師、京都大学教授、国立衛生試験所長、その他多くの指導的要職を歴任し、卓越せる国際的視野と理念をもって、学術の進歩および国民保健衛生の発展に多大の貢献をされた。1955年(昭和30年)パリ大学より名誉博士の学位贈呈は、世界的業績を象徴して余りある。

京大教授時代、卒業生を送るはなむけの言葉は、「至誠を以てして、それがもし失策であったとしても、至誠無くして、まぐれ当りの成功よりは遙かに尊い」と。これは博士自身、真摯に実践躬行された人生観に外ならない。

薬学志向への道

刈米博士は明治26年(1893)8月19日、大阪市北区樋上で生まれた。父君の転勤で、明治39年4月、県立長崎中学に入学。植物担任の小野静男先生の強い感化を受けて、植物と運命をともにする動機となった。

高校進学に際し、父君の反対で植物専攻を断念して、関係の深い薬学を選んだ。中学を首席で卒業して、校長の推薦で難関の第一高等学校(旧制)に無試験で入学、三部に入った。明治44年(1911)9月、18歳であった。

それまで独り息子で両親の掌中の玉として愛育され、スポーツは危険視して禁じられたほどの虚弱児であった。それが両親の膝下を離れて荒々しい寮に入り、誘われてボート部の選手となり、強度の運動に耐えているうちに、めきめき体力が増進し、逞しい健康に恵まれた。得意の水泳は晩年まで衰えを見せなかった。

学習も怠りなく、大正3年(1914)9月、東京帝国大学薬学科の入学試験は、最高点で突破して、薬学を基礎づける化学実験に熱中した。3年に進級して、朝比奈泰彦教授から与えられた卒業論文のテーマは、ナギナタコウジュの成分の構造研究であった。難問題に粘り強く取り組み、最後に試みた冒険的反応が功を奏して一挙に解決に導き、教授からも褒められた。

大正6年7月の卒業式には、優等賞として、天皇より恩賜の銀時計を授与された。大学院に残り、フラン化合物の研究に励んだ。

薬用植物試験部長の20年の足跡

政府は第1次世界大戦の影響で、輸入に依存した薬用植物の自主栽培計画を進めた。大正7年(1918)4月、内務省衛生局医務課に、薬用植物栽培試験事務を設置す

るとともに、大学院在学中の刈米学士が主任の内務技師に抜擢された。25歳であった。

刈米技師は東京衛生試験所(現、国立衛生試験所)技師を兼務して、部下の指導に当る一方、政府の方針に従って、当時重要な塩酸モルヒネ原料のケシ栽培奨励に努めた。

任官3ヵ月目で初めて、キナ、吐根等の熱帯薬用植物栽培状況調査のため、台湾に1ヵ月滞在中、現地専門家の案内で、各地を精力的に巡察した。11月にはジャワ、セイロン島に出張して、熱帯薬用植物の種苗収集に力を注いだ。

大正10年(1921)4月、1ヵ年の予定で、欧米各国の薬用植物生産および利用状況調査の用命を帯びて、米国経由で訪欧の途に上る。米国各地の大学薬学部生薬学教室およびワシントンの農務省薬用植物園を歴訪して、薬用植物の種苗を集めた。

英国に渡り、ロンドン、パリ、スイス、イタリアを経て、ベルリン大学薬学教室主任 Thoms 教授を訪ねた。同教室に約4ヵ月席をおいて、接触還元の研究で著名な Rosenmund 助教授の指導を受けた。第1次大戦で惨敗した当時のドイツは甚だしいインフレで、マルクの為替レートが急落して、旅行者には好都合であったが、国民は窮乏に喘いでいた。

帰路マルセイユから神戸まで45日の航海中、印度洋上で暑さしのぎに甲板に急設されたプールで、刈米博士は連日游泳を楽しんだ。

大正11年4月、外遊の研修を終え、豊富な種苗を携えて帰国早々、従来の内務省所属の薬用植物栽培試験事務を、東京衛生試験所に移して、薬用植物栽培試験部を新設、刈米技師が初代部長に任命された。

刈米部長は薬用植物栽培試験部所属の薬用植物園の設営に着手し、埼玉県粕壁町(今の春日部市)の内務省附属薬園周辺の土地約6,000坪を買収して、準備態勢を進めた。

製薬部と連携を保ち、製薬原料となる品種、例えば、ケシ、ペラドンナ ヒヨス、黄連、ヤマジソ、龍胆、ジギタリス、サフラン、セネガ、ひ麻、その他種々の薬用植物の栽培試験と化学的研究の開発に全力を傾注した。

その間、大学院時代の研究をまとめて論文を提出し、大正13年7月、薬学博士の学位を授与された。

一方、当時日本領地に属した台湾、南洋諸島、樺太、朝鮮、北支等のいわゆる外地へもしばしば出張して、現地の薬用植物の生育状況および増産奨励に着々成果をあ

げた。

多忙な公務の間に、昭和3年、特許局技師（同局審査官）および昭和4年、薬剤師試験審議委員（同11年まで）の兼任を命ぜられた。

かくして内務技師・薬用植物栽培試験部長に就任以来、実績が光る20余年が経過した。

京都大学教授時代の業績

当時薬系大学は東京帝国大学薬学科のみで、医薬品の進歩に伴い、関西方面の薬学進出の要望が高まった。京都帝国大学医学部教授会で、薬学科創設の議が決定し、東大薬学科教授の協賛を得て、昭和14年4月、5講座から成る京都帝国大学薬学科が誕生した。

このとき東大薬学科教授会は人選に当って、生薬学講座担任の適任者として、顕著な業績から刈米博士推挙に意見の一致をみた。刈米博士は精魂を傾けて発展させた薬用植物栽培試験部の任務を後進に譲り、薬学教育への新しい職務への転換に踏み切った。47歳であった。

昭和15年12月、京都帝国大学薬学科生薬学講座担任初代教授として赴任し、教室の研究方向を、生薬の試験法、薬用植物成分の化学的研究を主眼とする教育方針を確立した。しかし1年後には不幸な太平洋戦争の激化に伴い、体系的な研究は中断を余儀なくされた。

その頃の所産として、植物成分研究の経費と資材が少量でも可能な微量検出法を案出して、この方面の研究分野の開発に寄与された。この方法は濾紙クロマトグラフィーに移行して、戦後も続行され、報文も40報に達した。

戦後の復興に際して、刈米教授は生薬学教室の主要研究テーマを、それまで余り人が手を着けていない松柏類の葉蠟研究に着目した。教室員が研究材料を採集して、多くの重要な知見を得た。例えば、葉蠟の母液から抽出した微細な淡黄色針状の結晶は、その本態が、それまで世界でも一例しかない二重分子フラボンであることが判明した。

この「松柏類および近縁植物の成分研究」は、停年退官されるまで、生薬学教室の主要研究テーマとして、有終の美を飾った。研究論文も内外誌へ50報を発表したが、これらは近年注目される Chematoxonomy（化学成分と系統分類の関係）の重要な参考文献となった。

これより先、占領下の昭和23年5月、GHQの指令で、日本薬学会と日本薬剤師会が合体して、日本薬剤師協会（日薬協。のち分離して旧に復す）が設立され、刈米教授に初代会長（昭和27年まで兼任）の白羽の矢が当たった。同年10月22日～25日、京都大学で刈米会長の下に日薬協創立総会および記念学術講演会が開催された。多数会員のほかGHQの要員が参加し、サムス准将の演述があるなど、異例の学会風景であった。

昭和25年7月、米国の現状視察を目的とするGHQの招きで、薬学、医学、歯学から7人が派遣された。薬学からは刈米博士が参加し、3ヵ月の予定で、関係方面を歴訪する日程が組まれた。ワシントンの米国薬剤師会その

他を訪問、前年来日した知人の Mr. Franzoni の経営する立派な drugstore を参観し、厚遇を受けた。紐育では大学薬学部、製薬会社等を歴訪して、認識を深めた。

昭和30年9月、パリ大学総長 Sarraih 博士から刈米教授のもとへ、パリ大学名誉博士 (Docteur honoris causa) 贈呈式の招待状が届いた。この学位は毎年パリ大学各学部が推薦した世界各国の学者10名に贈られる慣例になっていた。日本人でこの榮譽を受けたのは、大正14年(1925)に野口英世医学博士、昭和7年(1932)東大フランス法の杉山直次郎教授に次いで、刈米京大教授が3人目であった。

晴れの贈呈式は昭和30年(1955)11月4日、パリ大学の大講堂で、Coty 大統領以下歴々の来賓が列席して、大学総長の式辞で開会された。学部長が各受領者の業績と経歴を紹介した後、総長から名誉博士の象徴である華やかな肩章が肩に掛けられる。各自が大統領の祝福の握手を受けて儀式は終る。

その夜は総長主催の盛宴に招かれた。

翌日は刈米博士の学位授与を謝する日本大使主催の夕食会に、総長、教授らを招待した。その翌日はパリ大学薬学部講堂で、薬学アカデミー例会が開催され、刈米博士は依頼を受けて、松柏類植物研究に関する講演を行なった。

パリ大学薬学部の起原は16世紀にさかのぼるが、1820年、キニーネ発見で歴史的知名の Pelletier は本学生薬学3代目教授である。

刈米博士はパリ大学招待の2週間を、学者との交流、関係方面の視察に有意義に過ぎた。

教授時代の主な兼職は、昭和23年12月、日本学術会議会員第1期当選（以後5期38年まで）、同年、学術奨励審議会委員（30年まで）。

昭和28年5月、国立衛生試験所長併任と同時に、WHOの国際薬局方専門委員（40年まで）委嘱。同年6月末より1週間、ジュネーブで開催された国際薬局方委員会に出席、慣例となる。

昭和29年4月、日本薬学会会頭1期。同30年4月創立日本生薬学会初代会長（3年間）、同31年1月、大学設置審議会委員、同年4月創立日本公定書協会会長等を歴任。

同31年8月、在職16年の京都大学教授を63歳で停年退官と共に、国立衛生試験所長は専任となる。

国立衛生試験所発展への貢献

昭和28年、教授時代に懇請されて、国立衛生試験所長に併任されたのは、激甚な空襲による打撃から立ち直り、



フランス大統領の祝福を受ける
刈米達夫 名誉教授

復興途上に尽力した前所長の急逝によるものであった。

当時はまだ戦後の混乱の後遺症とみられる黄変米、原爆マグロ、砒素ミルク、水俣病、農薬中毒等々、国民保健衛生を脅かす重大事件が続発した。これらへの対処および医薬品、食品の試験業務も件数の増大と共に繁雑を極め、組織の強化充実は焦眉の急であった。

刈米所長は周到に本省と折衝を重ね、試験研究部門を旧に3倍する10部門に拡充する大幅な機構改革を実施に移すとともに、研究棟の増改築に着工するなどの早業であった。

時宜に適した内容の改善を図り、麻薬行政の強化に伴い麻薬部、食品添加物の安全性を期して食品添加物部、医薬品の進歩に対応して放射線化学部、生物化学部が新設された。サリドマイド禍の薬害発生に備えて毒性部の増設に次いで、動物舎が完成した。

試験研究体制の進歩を図り、毎年最新機器類の予算確保に努めるなど、国立衛生試験所発展のゆるぎない地歩が築かれた。

在職12年の最後の事業となった庁舎の本建築の落成を待たず、昭和40年12月退官して、48年の公務員生活に終

止符が打たれた。翌41年5月、勲二等旭日重光章を授与される。

所長時代の主な兼職は、中央薬事審議会会長（昭和33年より9年間）、日本食品衛生学会初代会長（34年～40年）、日本薬学会会頭（35年、36年度）、薬剤師国家試験委員長（35年～38年）等を歴任された。

昭和38年1月、ブラジル政府の招聘で、薬用植物調査に出張。38年12月末、米国Ohio州クリーブランドで開かれた米国科学振興協会に招かれ、「日本の植物化学近年の進歩」について蘊蓄を傾けた。

翌39年1月、薬用植物研究指導にタイ国出張。同年4月ホノルルで開催された農薬問題日米合同委員会に出席。43年より3年間、国連の国際麻薬統制委員を囑託された。

研究自適

公職を離れてから昭和42年より津村研究所長（51年名誉所長）として、薬用植物化学研究の後進指導と著述に専念された。

昭和52年6月20日、偉大な足跡を遺して、安らかに84歳の天寿を全うされた。

＜編集後記＞ お彼岸も過ぎて、多少うららかなになった今日この頃ですが、諸先生方、ご愛読者の皆さまにはいかが、お過ごしでございますか。今年も早、第2号を発行するに至りました。今回は久方振りに武井先生の「工業分析化学随説」を戴きました。中沢先生の「ケサランパサラン」、奥山先生の「シダ植物の栄養葉と胞子葉の成分研究その1」、大沢先生には「ルシフェリン・ルシフェラーゼ発光反応による受光」など大変興味あるお話を執筆戴きました。丹羽口先生、根本先生にはシリーズの続き

を戴きました。諸先生方のご厚情に編集担当として重ねてお礼申し上げます。一つ嬉しいお報らせがあります。

根本先生が3月13日に、薬史学上のご業績が認められ、東京大学から薬学博士の学位を授与されました。先生にとりましては勿論、われわれにとりましても誠に喜ばしいことと存じます。心からお祝い申し上げますと共に、先生の今後一層のご健勝をお願いする次第でございます。

（山田記）

関 東 化 学 株 式 会 社

本 社	〒103 東京都中央区日本橋町3丁目7番地	
	電話 03(279)1751(代)、1755(代)、1761(代)、1767(代) TELEX.2223446(CICAJ)	
草 加 工 場	日本工業規格表示許可工場 無機試薬 第6835号・有機試薬 第6836号	
	〒340 埼玉県草加市稲荷町2048番地	TEL 0489 (31) 1 3 3 1
伊勢原工場	〒259-11 神奈川県伊勢原市鈴川21番地	TEL 0463 (94) 8 5 3 1
柵原工場	〒708-15 岡山県久米郡柵原町藤原30番地	TEL 08686 (2) 0 7 1 0
大阪支店	〒541 大阪市東区瓦町3丁目1番地	TEL 06 (231) 1 6 7 2 ~ 4
札幌出張所	〒061-01 札幌市豊平区里塚314-3番地	TEL 011 (882) 1 5 1 1 ~ 4
仙台出張所	〒98-3 宮城県仙台市日の出町1丁目7番9号	TEL 0222 (94) 0 1 7 5 ~ 6
埼玉出張所	〒364 埼玉県北本市中丸3丁目82番地	TEL 0485 (92) 2 3 6 1
国分寺出張所	〒185 東京都国分寺市東元町3丁目4番19号	TEL 0423 (24) 5 3 1 1
千葉出張所	〒260 千葉県千葉市今井町2丁目14番15号	TEL 0472 (61) 1 3 0 3 ~ 4
京浜出張所	〒223 神奈川県横浜市港北区新羽町2055番地	TEL 045 (542) 0 8 0 1 ~ 3
湘南出張所	〒254 神奈川県平塚市大神2153番地	TEL 0463 (55) 2 0 5 1 ~ 3
静岡出張所	〒422 静岡県静岡市中村町393番地	TEL 0542 (81) 2 0 1 0
中京出張所	〒491 愛知県一宮市大和町妙興寺字中之町4番地	TEL 0586 (24) 1 7 2 5
九州出張所	〒804 北九州市戸畑区天神2丁目2番14号	TEL 093 (881) 3 9 6 1 ~ 2
宇都宮営業所	〒321-01 栃木県宇都宮市雀の宮4丁目737番58号	TEL 0286 (53) 3 7 2 4
広島営業所	〒730 広島県広島市南区大町1丁目7番2号	TEL 0822 (85) 6 2 2 1
筑波営業所	〒300-21 茨城県筑波郡谷田部町大字通横場2336	TEL 02975 (6) 1 4 3 8
草加分室	〒340 埼玉県草加市稲荷町2048番地	TEL 0489 (31) 3 2 9 2