

抗プソイドモナス作用を有する放線菌抗生物質の研究（第 1 報）

— 有効株の分離について —

腐敗研究所抗生物質部（指導 相磯和嘉教授）

小 久 保 早 苗

SANAE KOKUBO

（昭和 32 年 10 月 29 日受付）

抗生物質を食品の腐敗防止に用いた実験は、種々なされているが、当研究所に於ては 1948 年頃より、相磯教授により試みられ、牛乳の腐敗防止に streptomycin 型物質、streptothricin 型物質、又 flavomycin 及び streptomycin を使用して効果ある事を報告している⁽¹⁾⁽²⁾。又真銅⁽³⁾は streptomycin, penicillin, chlortetracycline, 平松⁽⁴⁾は streptomycin, flavomycin, streptothricin の抗腐敗細菌作用を報告している。最近はカナダに於て Tarr⁽⁵⁾、我が国に於ても富山⁽⁶⁾、米⁽⁷⁾等により chlortetracycline の魚介類への利用についての実験の並びに応用的研究がなされている。又腐敗細菌の抗生物質に対する感性、耐性についても多くの研究がなされている。

これ等の研究において対象となる腐敗細菌の内、最も重要なものは、*Pseudomonas* 菌属である。1953 年 Ellard m. yow⁽⁸⁾の研究によると、*Pseudomonas* に対し polymyxin は 0.5 γ /ml ~ 7.8 γ /ml ですべて完全に阻止し、neomycin は 1.9 γ /ml ~ 6.25 γ /ml で阻止し、oxytetracycline は 250 γ /ml で尚 9% 阻止されず、chloramphenicol は 250 γ /ml で 36%、chlortetracycline は同濃度で 4%、streptomycin は 30% 阻止されない耐性株があると云う。

長谷川⁽⁹⁾の報告によれば、主として魚介類から分離した *Pseudomonas* 40 株は chlortetracycline の 5 γ /ml 以下で阻止されるもの 19 株、10 γ /ml 以下のもの 28 株あり、50 γ /ml 以上の耐性株は 3 株認められた。streptomycin に対しては 100 γ /ml 以上の耐性株は 4 株あった。中村⁽¹⁰⁾によれば *Achromobacter*, *Alcaligenes* に対してもほぼ同様の結果が得られ、1955 年 Canarile⁽¹¹⁾は in vitro, in vivo で *Pseudomonas aeruginosa* に対して polymyxin B と oxytetracycline を使用し、その効果を述べている。

1957 年 Waisbren と Srelitzer⁽¹²⁾の研究によると polymyxin B は *Pseudomonas aeruginosa* に対して 3 γ /ml で 72% の阻止率を示し、阻止順は polymyxin B, oxytetracycline, chloramphenicol である。又 *Pseudomonas species* に対しては濃度 3 γ /ml で chloramphenicol が 57% で最高阻止を示し、阻止順は chloramphenicol, tetracycline, neomycin, nitrofurazone, oxytetracycline, chlortetracycline, polymyxin B, streptomycin, penicillin, の順であり、*Aerobacter aerogenes* については濃度 3 γ /ml では neomycin,

chloramphenicol, oxytetracycline, polymyxin B, chlortetracycline, tetracycline, streptomycin, nitrofurazone, penicillin の順だと述べている。

1955 年 Johnston が感性, 中等度感性, 耐性の 3 者に分けて分離した *Pseudomonas* の 16 株について報告し, 僅少の例外をのぞき, *Pseudomonas* はほとんどすべての抗生物質に耐性で感性のものは chloramphenicol 1 例, N-(5-nitro-2-furfurylidene)-1-aminohydantoin 1 例, polymyxin B 3 例のみであつたと述べている。

最近発見された novobiocin に対しても *Pseudomonas aeruginosa* に対しては 400 γ /ml 以上でなければ阻止されない。

併し低温に於て, 例えば抗生物質添加水で処理する事により, 阻止力を高める事が出来る。最近我国に於て chlortetracycline を底曳魚類の保存に 5 ppm に添加した水として使用される事が許可になつたが, 本剤が化学療法剤である点で幾多の問題が残されている。

著者は食品特に魚介類の防腐剤として, 専用に利用出来る抗生物質をさがす目的で本研究に着手したが, 先ず *Pseudomonas* を主なるねらいとして, 抗腐敗細菌作用を有する放線菌の分離に努力した。現在迄の結果を第 1 報として報告する。

実験方法並びに材料

分離方法: 分離方法は吉岡⁽¹³⁾, 荻⁽¹⁴⁾の方法による撰取的放線菌分離, 即ち土壌 0.3 g を 300 ml 滅菌蒸溜水入り坂口コルベンに入れ, 振盪培養器にかけて, 30 分後これを 2000 回転 5 分間遠心沈澱し, 1,000 倍, 10,000 倍希釈の土壌希釈液を作り, これをシャーレに取り, Glucose-asparagin agar を分注し, よく混和する。この際 Glucose-asparagin agar の中へ Fracin を 10 万倍希釈, 抗糸状菌物質 W-2 を 6 万倍希釈の割合で加え, 27°C 培養する。4 日目頃より放線菌集落が出現する。これを分離培養基 Glucose-asparagin agar に移植分離し, 27°C 72 時間後に Glucose-asparagin agar slant に純培養する。

高知県下, 熊本県阿蘇地帯の土壌より上述の方法で 700 株を分離し, 生菌抗菌像に依つて screening した。即ち Glucose-starch agar 平板の中央に放線菌を塗抹し, 27°C に培養し, 放線菌が良く発育した後, 被検菌を放線状に塗抹し, その阻止帯を計った。被検菌としては最初は, *Micrococcus pyogenes* var. *aureus* 209 p, *Micrococcus pyogenes* var. 209 p (streptomycin fast), *Escherichia coli* F₁, *Escherichia coli* F₁ (streptomycin fast), *Pseudomonas aeruginosa*, *Micobacterium* ATCC 607, *Aspergillus niger*, *Candida albicans* を用いた。*Pseudomonas aeruginosa* に対し阻止帯を示した菌株は極めて稀で僅かに 2 株を得た。即ちこの時用

いた *Pseudomonas aeruginosa* があまりに強い菌であつたのにかんがみ, 今度はより sensitive のを用いる事とした。

成田市押畑の同一土壌中より分離した 200 株については上記被検菌の外に, 当研究所に於いて分離された腐敗細菌に対して, 同様生菌抗菌像により screening を行つた。用いた被検菌を列举すれば次表の如くである。

被 検 菌	略号
<i>Pseudomonas putida</i> AHH-4	H-4
<i>Pseudomonas putida</i> AHH-6	H-6
<i>Pseudomonas jeageri</i> AHH-27	H-27
<i>Pseudomonas desmolyticum</i> AHH-33	H-33
<i>Alcaligenes metalcaligenes</i> AN-3	N-3
<i>Alcaligenes metalcaligenes</i> AN-34	N-34
<i>Achromobacter cyclolasteo</i> AN-17	N-17
<i>Achromobacter eurydice</i> AN-19	N-19
<i>Alcaligenes viscosum</i> AN-32	N-32
<i>Flavobacterium</i> 4	F1-4
<i>Flavobacterium</i> 30	F1-30

実験成績

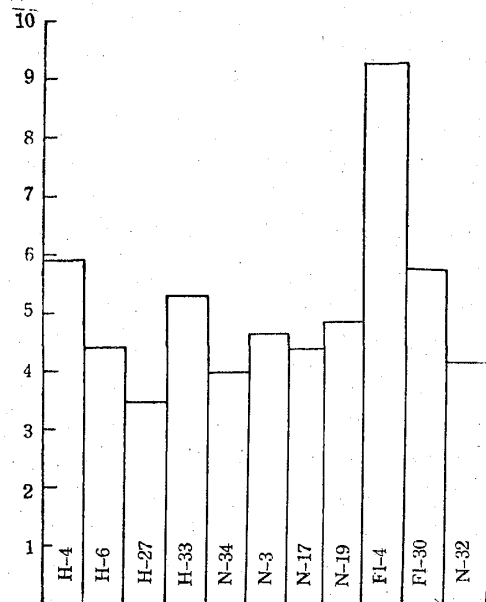
1. 有効株の選別: 第 1 表の如き腐敗細菌に阻止帯を示す 32 株を分離した。

これ等の株について阻止帯の長さの平均を示せば第 1 図, 第 2 図の如くである。F1-4 即ち *Flavobacterium* 4 では 32 株中 29 株に阻止帯を示し, 9.3 mm が最高の値であり, 一般的に放線菌産生物質に

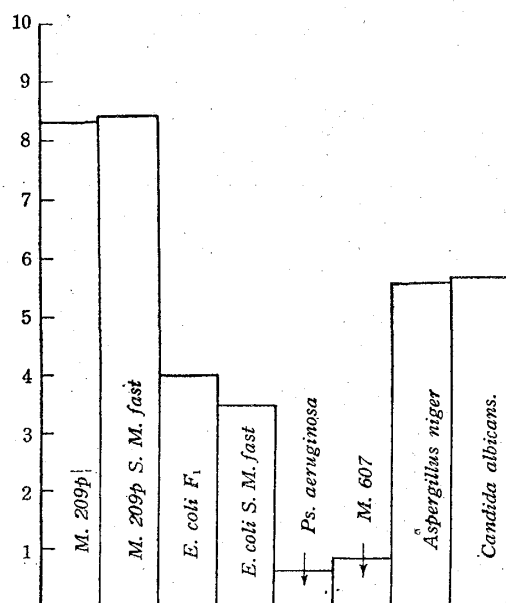
第1表 腐敗細菌に阻止帯を示した株の生菌抗菌像

	H-4	H-6	H-27	H-33	N-34	N-3	N-17	N-19	F1-4	F1-30	N-32	209 p	E. C. F ₁	Pseudo- aeru.
2472	7	3	3	14	3	7	0	0	7	7	0	13	9	5
2576	4	2	0	3	3	10	0	0	15	5	0	20	7	5
2671	12	5	0	15	2	3	5	0	8	8	9	15	5	5
2699	5	7	2	7	8	4	9	5	12	4	2	10	2	0
2742	8	1	2	9	2	9	11	6	9.5	3	16	18	14	5
2750	7	0	0	10	0	0	0	0	10	2	1	11	8	0
2757	4	4	0	2	1	5	1	4	15	2	3	10	5	0
2777	4	6	3	4	3	4	1	6	7	6	3	4	5	0
2801	9	7.5	0	6	0	12	0	8	12	0	0	9	0	0
2805	3	3	1	3	3	5	0	3	6	3	8.5	10	13	2

第1図 32株に於ける阻止帯の長さの平均



第2図 32株の阻止帯の長さの平均



最も感受性が強い事を現わしている。F1-30は28株に、H-4は30株、H-33は27株に阻止帯が現われ、株数の上からは有意の差は認められぬが阻止帯の長さの上から感受性はF1-4の次ぎに強いものと考えられる。M. 209pについては32株中31株に阻止帯を示し、その長さは8.3mmで腐敗細菌に有効株はほとんどの例に於て阻止帯を示す。E. coli F₁については32株中21株に阻止帯を示し、その長さはM. 209pの約 $\frac{1}{2}$ 程度である。Pseudomonas aeruginosa並びにMycobacterium ATCC 607に対しては明らかに低値を示し、前者には5株、後者は8株阻止帯を示したにすぎない。Aspergillus niger, Candida albicansについては前者が26株、後者が27株の阻止を示し、長さの平均は5.6mmと5.7mmである。以上の事より生菌抗菌像で抗腐敗細菌作用を有する放線菌は大部分に於てM. 209pに作用し、又E. coli F₁よりもカビ類に阻止帯を示す株が多い事を認めた。

2. 有効株の培養条件：各々32株について第2表の培地による培養条件をしらべてみた。この結果第3表の如く、No. 2472, No. 2576, No. 2742, No. 2750, No. 2757, No. 2777, No. 2801, No. 2805の8株が力価を示し、他の24株は液体培養液中に力価を示さなかつた。G. S. B. soybean meal, 生大豆培地について観察すると、soybean mealが一番力価が高く生大豆培地、G. S. B.の順であつた。No. 2472はsoybean mealで72時間40 d. u. 96時間80 d. u. 120時間80 d. u. (H-4検定), No. 2576はsoybean mealで72~120時間で160 d. u. (F1-4検定), No. 2750は同培地で72時間10 d. u. 96時間20 d. u. 120時間で10 d. u. 以下 (H-4検定), No. 2805は同培地で72時間では10 d. u. 以

第2表 培地の組成

Materials	No. 1	No. 2	No. 3
	G. S. B.	soybean m.	raw soybean
Starch	0.5%		
Glucose	0.5%		
Ext. beef	1%		
peptone	1%		
NaCl	0.3%		
Kinako		3.5%	
Ebios		0.5%	0.5%
CaCO ₃		0.35%	0.35%
MaCl ₂		0.007%	0.007%
ZnSO ₄		0.03%	0.03%
CuSO ₄		0.007%	0.007%
raw soybean			3.5%

下で96時間で20 d. u. (H-4 検定)である。

以上の3種の培地では No. 2472, No. 2576 を除いて他の株は力価が低く満足すべき結果ではないために、更に培養条件を変えて検定を試みた。即ち、G. S. A. (グルコース 0.5%, スターチ 0.5%, 肉エキス 40%, ペプトン 0.5%, NaCl 0.3%) 15ml をシャーレに流し、これに放線菌を平等に塗抹し、27°C で培養し、充分発育させた後、これを -20°C の氷室で凍結せしめ、次いで 50°C 孵卵器で融解せしめる。約1時間後取り出すと濾液が得られる。

この結果、No. 2742 は96時間、27°C 培養で160 d. u. となり同株に於いては、寒天平板培養により高濃度に得られる事が観察された。他の株に於いて

は力価の上昇が見られなかつた。

以上の実験により、No. 2472, No. 2576, は soybean meal で、No. 2742 は寒天平板培養で抗腐敗細菌作用を有する事を認めた。

3. No. 2472, No. 2576, No. 2742 の菌学的研究: 3株の培養性状については第4, 5, 6表に示した。

第4表 Characteristics of the strain No. 2472

Gelatin: Minute colonies on surface, yellowish brown growth; scant white aerial mycelium. Weak liquefaction. Scant light brown soluble pigment.

Glucose-asparagine agar: Spreading, white to brownish growth; powdery, Even Glow (45-C-15) aerial mycelium. No soluble pigment.

Plain agar: Spreading, minute colonies, brownish growth; no aerial mycelium. No soluble pigment.

Yeast-extract agar: Spreading, brownish growth; powdery, Shadow (44-B-1) aerial mycelium. No soluble pigment.

Potato plug: Consisted large colonies, dark brown growth; white to grey and to Peach beige (11-A-6) aerial mycelium. No soluble pigment.

Carrot plug: Poor growth; white aerial mycelium.

Milk: Growth in ring, colonies at bottom; no aerial mycelium. Coagulation and stron-

第3表 3種培地に於ける最高力価

Strain	No. 1		No. 2		No. 3		被 検 菌
	G. S. B.		soybean meal		raw soybean		
	d. u.	Time	d. u.	Time	d. u.	Time	
2472	20	72	80	96	20	72	H-4
2576	<10	"	160	72	<10	"	F1-4
2742	<10	"	20	96	10	"	H-4
2750	"	"	"	"	<10	"	"
2757	"	"	"	"	"	"	"
2777	"	"	"	"	10	96	"
2801	10	"	10	72	<10	72	"
2805	20	"	20	96	10	96	"

G. S. B. グルコース, スターチ, ブイヨン

soybean meal キナコ培地

raw soybean 生大豆培地

gly peptonization. Dark soluble pigment.
 Peptone water: Growth in ringing, colonies at bottom; no aerial mycelium. No soluble pigment.
 Synthetic agar: Penetrating into medium, brown growth; powdery, lavendule aerial mycelium. No soluble pigment.
 Ca-malate agar: Poor, minute colonies, whitish to brownish growth; white aerial mycelium. No soluble pigment.
 Tyrosine agar: Poor, minute colonies, white to cream colored growth; limited to white aerial mycelium. No soluble pigment.
 Starch agar: Spreading, penetrating into medium, whitish growth; powdery, Even Glow (45-C-15) aerial mycelium. No soluble pigment.
 Egg-medium: Spreading, white aerial mycelium. Soluble pigment purplish brown. Cellulose not utilize.
 Nitrate reduce to nitrite.
 Starch not hydrolyse.

第 5 表 Characteristics of the strain No. 2576

Gelatin: Large colonies on surface, brownish yellow growth. White aerial mycelium. Weak liquefaction. No soluble pigment.
 Glucose asparagine agar: Penetrating into medium, small colonies, yellow growth; powdery white to ash grey aerial mycelium. No soluble pigment.
 Plain agar: Spreading, small colonies, colorless to yellowish growth; scant white aerial mycelium. No soluble pigment.
 Yeast-extract agar: Much wrinkled, brownish yellow growth; white to ash grey aerial mycelium. No soluble pigment.
 Potato plug: No growth.
 Carrot plug: A large colony, white aerial mycelium.
 Milk.: Surface growth excellent, with white aerial mycelium. Coagulation; peptonization. No soluble pigment.
 Peptone water: Minute colonies at bottom. No soluble pigment.
 Synthetic agar: Penetrating into medium, greyish brown growth; white to grey my-

celium. Scant brownish soluble pigment.
 Tyrosine agar: Minute colonies, whitish growth, no aerial mycelium. No soluble pigment.
 Starch agar: Penetrating into medium, brownish growth, white to greyish aerial mycelium. No soluble pigment.
 Egg-medium: Spreading, colorless growth; no aerial mucelium. No soluble pigment.
 Cellulose utilize.
 Nitrate not reduce to nitrite.
 Starch hydrolyse.

第 6 表 Characteristics of the strain No. 2742.

Gelatin: Poor growth, after about a week very weak liquefaction. No soluble pigment.
 Synthetic agar: Penetrating into medium, minute colonies, yellowish growth; white cottony aerial mycelium. No soluble pigment.
 Glucose-asparagine agar: Penetrating into medium, round, elevated colonies, yellowish growth; white aerial mycelium. No soluble pigment.
 Plain agar: Penetrating into medium, elevated, round colonies, yellowish growth; no aerial mycelium. No soluble pigment.
 Yeast-extract agar: Wrinkled, musclicolored growth; later white aerial mycelium. No soluble pigment.
 Potato plug: Good growth, sulphur yellow growth; cottony white aerial mycelium. No soluble pigment.
 Carrot plug: No growth.
 Milk: Poor growth in ring round the tube. No soluble pigment.
 Peptone water: Large colonies on the bottom. No soluble pigment.
 Starch agar: Penetrating into medium, yellow to greenish growth; white to silver grey areial mycelium. No soluble pigment.
 Egg-medium: Yellowish growth, white aerial mycelium. No soluble pigment.

糖利用能について、1948 年 Pridham と Gottlieb は放線菌の糖利用能により抗菌性放線菌の群別

が可能である事を示した。即ち一定の基礎培地に種々の糖を加え、これに対する放線菌の発育程度により分類する。著者も基礎培地としては Pridham のものを使用した。即ち、 $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$ 2.64 g, K_2HPO_4 5.65 g, KH_2PO_4 2.38 g, $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 100 g, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.0064 g, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.0079 g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.0011 g, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.0015 g, Agar 30 g, Aq. dest. 1000 ml, 苛性ソーダを用いて、pH 7.0 に修正、各種糖を 1%, 有機酸塩 0.15% 加え、数回食塩水で洗滌した放線菌胞子を接種し、27°C 15 日の培養後判定した。その結果を第 7 表に示した。

第 7 表 No. 2472. No. 2576. No. 2742 株
の糖利用能

	No. 2472.	No. 2576.	No. 2742.
control.	—	—	—
starch	卅	卅	卅
inulin	±	+	—
aesculine	+	+	—
raffinose	—	—	—
mannose	卅	卅	—
saccharose	+	+	±
salicin	卅	卅	—
xylose	+	卅	—
galactose	+	卅	—
adenitol	—	—	—
arabinose	+	卅	—
sorbitol	±	+	±
glycerol	卅	卅	+
glucose	卅	卅	+
inositol	—	+	—
maltose	卅	卅	—
fructose	卅	卅	—
mannitol	+	+	—
dulcitol	—	±	—
rhamnose	—	卅	—
Na-succinate	+	—	卅
Na-citrate	±	卅	卅

No. 2472, No. 2576 は大部分の炭素源の利用が可能であるが、No. 2472 は raffinose, adenitol, inositol, dulcitol, rhamnose, Na-citrate を利用せず、No. 2576 は raffinose, adenitol, dulcitol, Na-succinate を利用しない。No. 2742 は利用する炭素源は少なく、starch, glycerol, glucose, Na-succinate, Na-citrate を利用するのみである。

4. No. 2472, No. 2576, No. 2742 物質の転溶

試験と抽出法: No. 2472 物質は *Pseudomonas H-4* に特に抗菌力のある事が判明したので、被検菌として H-4 を用いた。soybean meal にて振盪培養 96 時間で抗菌力が最高になる事を認めた。培養液は黄褐色を呈し、pH 7.6 であり菌体の発育は良好である。濾液の力価は H-4 に対し 80 d. u. である。

第 8 表 No. 2472 株. 培養濾液の転溶試験
被検菌 H-4.

	pH. 2.0	pH. 8.0
濾液	40 d. u.	80 d. u.
エーテル	40 "	80 "
酢エチ	40 "	80 "
クロロホルム	40 "	80 "
ブタノール	40 "	40 "
炭末	40 "	80 "

先ず転溶試験及び炭末吸着をしらべた。第 8 表はエーテル、酢エチ、クロロホルム、ブタノール、炭末を用い分液ロートにて充分攪拌し、転溶が終つたと推定される濾液層の力価の稀釈培率を示した。即ち pH 2.0 及び pH 8.0 に於てはすべての有機溶媒に転溶出来ない。色調も移らない。しかし炭末に吸着させると力価は移らないが、色調は良く除去され淡黄色となる。そこで力価と無関係な色素を除去する為には炭末を通過するのが適当と考えられる。転溶試験の結果、濾液そのままでは $1/100$ 量活性炭末を入れ、攪拌器にて 45 分間攪拌後、濾過する。濾液は直ちに凍結乾燥すれば淡黄色の汚い粉末となる。この粉末をメタノールに溶解し可溶部と不溶部に分ける。可溶部は減圧濃縮乾固後少量の水に溶解、再び凍結乾燥し、淡黄色の粗粉末を得る。10 mg 力価は 320 d. u. 程度で、メタノール不溶部は 20 d. u. /10mg 程度である。

No. 2576 物質の転溶試験では soybean meal で 72 時間振盪培養濾液は F1-4 に対して 160 d. u. である。

第 9 表は No. 2472 物質と同様の方法で有機溶媒にて転溶試験を行つた。その結果ブタノールに力価の $1/2$ が転溶するのみで、他の有機溶媒には転溶しない事を認めた。又炭末には大部分の有効物質が吸着されるようである。この炭末よりの溶出は pH 2.0 の 80% アセトンが 100% アセトン溶出よりも適している。同物質の抽出は上記の結果より培養濾液

第 9 表 No. 2576 株の転溶試験
被検菌 F1-4

	pH. 2.0	pH. 8.0
濾 液	160 d. u.	160 d. u.
エーテル	160 "	160 "
酢 エ チ	160 "	160 "
クロロホルム	160 "	160 "
ブタノール	80 "	80 "
炭 末	20 "	20 "

第 10 表 No. 2742 株の転溶試験
被検菌 H-4.

	pH. 2.0	pH. 8.0
濾 液	160 d. u.	160 d. u.
エーテル	160 "	160 "
酢 エ チ	160 "	160 "
クロロホルム	160 "	80 "
ブタノール	80 "	40 "
炭 末	160 "	160 "

(pH 8.0) を $1/100$ 量活性炭末に吸着させ、溶出は pH 2.0 の 80% アセトンを用い、pH 7.4 に修正後、減圧濃縮乾固、少量の水に溶解、凍結乾燥により褐色の粗粉末を得る。mg 力価は 160 d. u. 程度である。

次いで No. 2742 物質は寒天平板培養にて 96 時間培養で最高の力価を示すため、前記方法で濾液を取った。培養液の力価は 160 d. u. で上記、2 物質と同様有機溶媒で転溶した。その結果第 10 表の如く、ブタノールに対しては色調の転溶が見られ、溶媒が黄色となるが、他の溶媒には色調の変化は見られない。検定の結果、pH 8.0 でブタノールでは $1/2$ 量が転溶され、pH 2.0 のブタノールでは $3/4$ 量が転溶される。炭末吸着は No. 2472 物質と同様色調の吸着を示したが、力価は移らなかつた。No. 2742 物質の抽出法は現在実験中である。

考 察

抗プソイドモナス性抗生物質を産生する放線菌の分離法については吉岡の報告せる撰集的放線菌分離法を我が修正したものを利用したが、おゝむね満足すべき結果が得られた。

ついで分離せる放線菌の生菌抗菌像をしらべてみたが、その結果土壌放線菌中には比較的多数の抗腐敗細菌作用を有する株の存在する事がわかつた。しかし此等放線菌は培養濾液で 10 d. u. 以下のものが大部分で、抗生物質としては比較的培養抽出のむずかしいものであることがわかつた。培養条件としては此等放線菌は soybean meal 培地で No. 2472, No. 2576 がやゝ有効なる力価を示した。前記 3 種培地に培養し力価の低い No. 2742 は寒天平板培養で 160 d. u. の力価の上昇が見られた。

総 括

著者は *Pseudomonas* を主体とした好気性腐敗細菌に有効な放線菌抗生物質を得る目的で本実験を行つた。

Pseudomonas 5 株, *Alcaligenes* 3 株, *Acromobacter* 2 株, *Flavobacterium* 2 株を test organism として従来の方法で 900 株の放線菌を選別し、第一次選別として有効株 32 株を得た。これらを G. S. B. soybean meal, 生大豆培地の 3 液体培地で shaking culture により第 2 次選別を行い、8 株の有効株を得た。この内 3 株について抽出を行い粗粉末を得た。精製については目下実施中である。

終に臨み、本研究を命ぜられ、御懇篤なる御指導と御校閲の労を執られたる恩師相磯教授に衷心より拝謝し、種々御教示と御援助をいただきました新井助教授、並びに鈴木助手に感謝の意を表すると共に、教室員各位の御助力を感謝する。

文 献

- 1) 相磯和嘉：食品の新鮮度保持に関する研究経過報告 (1949)
- 2) 柳沢文徳・萩野島子：腐研報, 2, 36 (1949)
- 3) 真銅参太郎：腐研報, 4, 20 (1951)
- 4) 平松利男：腐研報, 4, 31 (1951)

- 5) **Tarr, H. L. A.:** Progress reports of the
pacific coast stations, **83**, 35 (1950)
- 6) 富山哲夫: 日本水産誌, **21**, 262 (1955)
- 7) 米康夫: 日本水産誌, **22**, 778 (1957)
- 8) **Ellard, m. yow.:** Antibiotics and Che-
motherapy, **3**, 709 (1953)
- 9) 長谷川広吉: 千葉医会誌, 投稿中
- 10) 中村喜之助: //
- 11) **Leonard, Canarile & Oshorne, Winifr-
ad:** Antibiotics annual, (1954~1955) 210
(1955)
- 12) **Waisbren, B. A. & Strelitzer, C. L.:**
Antibiotics annual (1956 ~ 1957) 648 ~ 666
(1957)
- 13) 吉岡英夫: J. Anffbiotics, **5**, 559 (1952)
- 14) 荻 君和: 腐研報, **6**, 126 (1953)
- 15) 中川圭一: モダンテラピー, **10**, 4, 1, (1957)
- 16) 梅沢浜夫: 日本臨床, **15**, 4, 677, (1957)
- 17) 小谷新太郎: 食品衛生研究, **6**, 10, 68 (1956)
-