

芥子油の殺卵作用に関する研究

(2) 尿の貯溜と芥子油の殺卵作用

国 井 喜 章

関東東山農業試験場線虫研究室 国立予防衛生研究所寄生虫部

(昭和 33 年 2 月 24 日受領)

緒 言

第1報で述べたごとく、芥子油の殺卵作用は尿尿中の蛔虫卵に対しては著しく低減する。これは、尿尿の腐熟によつて ammonia が発生し、これにともなつて pH が上昇するため、芥子油の殺卵作用が阻害されるものと思われる。

しかし、尿の ammonia 量あるいは pH の変化と殺卵作用の関係についての研究はほとんどみられない。

そこで、尿を貯溜した場合の ammonia と pH の変化を測定し、この変化が芥子油の殺卵作用におよぼす影響について検討した。

尿の貯溜による ammonia および pH の変化

芥子油の殺卵作用が尿尿中で著しく低下することは、尿の貯溜によつて ammonia および pH が上昇するためと思われる。それでは、尿の ammonia および pH の上昇は、尿の貯溜とどのような関係にあるかということについて検討を行った。

実験方法：250ml 広口ビンに 200ml の新鮮尿(36歳男子)をとり、一方にはコルク栓をほどこし、他方は開放のまま、直射日光のあたらない室内に保存した。

ammonia の測定は Kjeldahl 氏法によつて 1 週間毎に行い、pH は東洋濾紙の pH 試験紙により毎日一定時間に測定した。また pH 測定と同時に室温の測定も毎日行った。

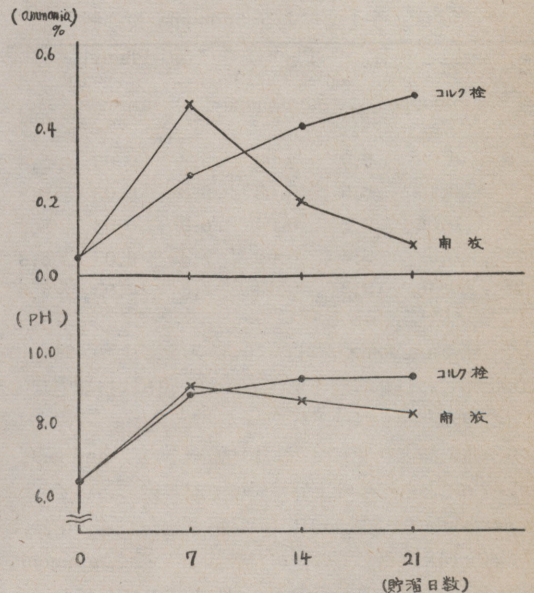
実験結果：第1表、第1図は、尿の貯溜日数と ammonia および pH の変化を、容器にコルク栓をしたもの

と、開放のものとを比較して示したものである。

コルク栓をほどこしたものでは、貯溜日数が増加すると尿の ammonia は上昇して、0.05%から 7日目には 0.26%、14日で0.40%、21日で0.48%となつた。また pH は、最初 6.4のものが7日目に 8.8、14日で 9.2以後は平行であつた。

第1表 尿の貯溜と ammonia および pH の変化

貯溜日数	室温 (C)	コルク栓		開 放	
		ammonia (%)	pH	ammonia (%)	pH
0	32	0.05	6.4	0.05	6.4
7	30	0.26	8.8	0.46	9.0
14	29	0.40	9.2	0.20	8.6
21	26	0.48	9.2	0.08	8.2



第1図 尿の貯溜と Ammonia および pH の変化

YOSHIKI KUNII: Studies on the ovicidal effect of mustard oil. (2) On the relationship between the stored urine and the ovicidal effect (Laboratory of Nematology, Kanto-Tosan Agricultural Experiment Station, Chiba Prefecture, and the National Institute of Health, Tokyo)

ところが開放のものでは、ammonia の上昇は早く、7日で0.46%でコルク栓をしたものの21日目ぐらいにあたり、14日では0.20%、21日で0.08%と急激に降下した。pHは6.4から7日で9.0に達し、それ以後漸次降下して21日目には8.2となった。

このことより、尿の ammonia および pH は、貯溜する容器に栓があるか、ないかによつて、その変化が著しく異つてくるのがわかつた。これは窒素肥料として尿を使用するためには、それを貯溜するときにはかならず肥料溜にふたをしておかなければならないということを示している。

芥子油による ammonia の抑制

前記の実験において、尿の貯溜による ammonia および pH の変化をみたのであるが、つぎに、そのような変化に対して芥子油が如何なる作用をもつているかについて検討した。すなわち、新鮮尿に芥子油を加えて貯溜した場合の ammonia と pH の変化をみた。

実験方法：250ml 広口ビン3本に200ml の新鮮尿をとり、Phenyl 芥子油をそれぞれ 10^3 倍、 10^4 倍になるように滴下し、他の1つを対照とした。これらにコルク栓をほどこして室内に保存した。

測定は前回同様に行つた。

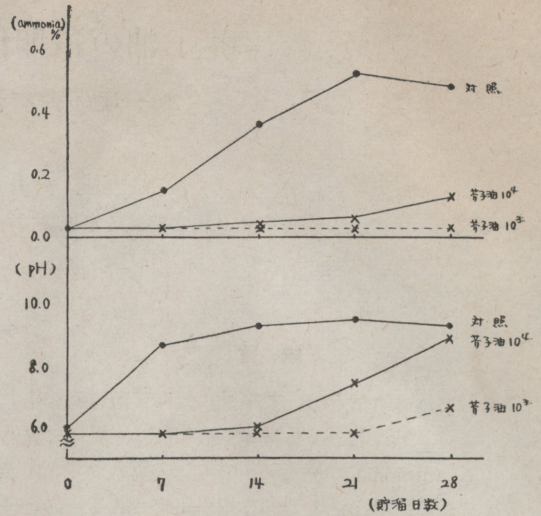
実験結果：第2表、第2図に示す通り、対照の尿は前

第2表 芥子油による ammonia の抑制

貯溜 日数	対 照		Phenyl 芥子油 10^4		Phenyl 芥子油 10^3	
	ammonia (%)	pH	ammonia (%)	pH	ammonia (%)	pH
0	0.03	6.0	0.03	5.8	0.03	5.8
7	0.15	8.6	0.03	5.8	0.03	5.8
14	0.36	9.2	0.04	6.0	0.03	5.8
21	0.52	9.4	0.06	7.4	0.03	5.8
28	0.48	9.2	0.13	8.8	0.03	6.6

回と同様、ammonia が21日に0.52%まで上昇、28日には0.48%でわづかに降下した。また、pHは14日では最高の9.2となり以後平行をつづけた。

芥子油を加えたものでは、 10^4 倍のものは ammonia および pH ともにその上昇が緩慢で28日後においてやつと ammonia 0.13%、pH 8.8に達した。そして 10^3 倍の芥子油を加えたものでは、28日後においても ammonia はまったく上昇することなく、pH が6.6でわづかに上昇したのみであつた。



第2図 芥子油による ammonia の抑制

以上、尿の ammonia および pH の変化におよぼす芥子油の影響を検討したのであるが、新鮮尿 (ammonia 0.03%、pH 6.0) に芥子油を加えて貯溜した場合には、尿の ammonia および pH の上昇はかなり強く抑制されることがわかつた。これは芥子油が尿中 urease の作用を阻止しているため、尿素の分解が行われないからであろうと考えられる。

そこで、芥子油の殺卵作用は尿の存在によつて著しく低下するのであるが、今回の実験によれば、新鮮尿にあらかじめ芥子油を加えておくことによつて、芥子油の殺卵効果を高めることが出来るものと考え、この点を追究した。

尿の貯溜と芥子油の殺卵作用

芥子油は尿尿中において蛔虫卵に対する殺卵効果が著しく低下する。これは尿尿、とくに尿の ammonia および pH の上昇が、芥子油の殺卵作用を阻止した結果と考えられる。しかし、尿は新鮮な場合には中性よりいくぶん酸性側にあり、夏季の比較的高い気温でも、栓をしておくと、それほど急速に ammonia が生成されるわけではないらしい。しかも、芥子油には尿の ammonia および pH の上昇をある程度、おさえる力があるように考えられる。以上のような事実から、芥子油の殺卵作用が尿の貯溜によつてどのように変化するかについて検討した。

実験方法：100ml 円筒ビンに60ml づつの新鮮尿をと

り、コルク栓をして実験室内に保存した。そして毎日 pH を測定し、任意な pH に達したのから、Kjeldahl 氏法によつて ammonia を測定した。この ammonia 測定を行つた尿に芥子油(10⁴倍)と蛔虫卵を加え、28℃恒温器内で7日間処理した。処理後、再び尿の ammonia および pH を測定して、処理蛔虫卵を十分に水洗したのち培養に移した。尿の pH は 6.0, 6.8, 7.4, 8.2, 8.4, 9.0, 9.2 の 7 段階をとつた。

実験結果：第 3 表, 第 3 図に示すごとく、尿の pH が

つた。

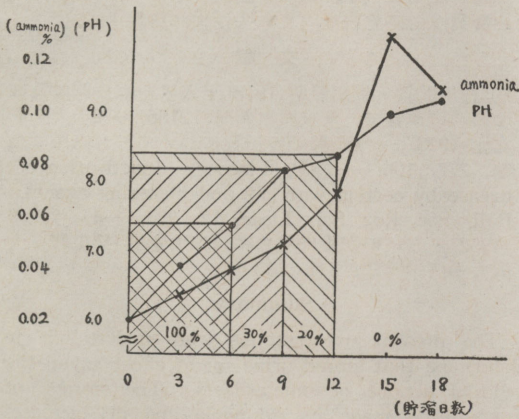
そこで、新鮮尿をただちに 10⁴ 倍濃度の芥子油で処理して貯溜し、ammonia の発生、pH の上昇を抑制しておいてから、これに再び 10⁴ 倍濃度の芥子油を加えてその殺卵作用を検討した。

第 4 表に示す通り、第 1 回の芥子油処理では、貯溜日数が 0 のとき殺卵率が 100% であり、3 日では 50%、6 日以上になるとまったく作用が認められなかつた。

ところが、第 2 回処理を行つた場合には、貯溜日数が

第 3 表 尿の貯溜と芥子油の殺卵作用

貯溜日数	処 理 前		処 理 後		発 育 状 態 (%)					殺卵率 (%)
	ammonia (%)	pH	ammonia (%)	pH	単細胞期	多細胞期	桑椹期	蛻蚪期	仔虫期	
0	0.02	6.0	0.03	6.0	100	0	0	0	0	100
3	0.03	6.8	0.04	7.2	100	0	0	0	0	100
6	0.04	7.4	0.05	7.8	100	0	0	0	0	100
9	0.05	8.2	0.05	8.2	30	0	0	0	70	30
12	0.07	8.4	0.07	8.6	10	3	2	5	80	20
15	0.13	9.0	0.19	9.2	0	0	0	0	100	0
18	0.11	9.2	0.14	9.2	0	0	0	0	100	0



第 3 図 尿の貯溜と芥子油の殺卵作用

6.0, 6.8, 7.4 の場合には、芥子油の 10⁴ 倍濃度のものは 100% の殺卵率があつた。しかし、尿の pH が 8.2 ではその殺卵率は 30% に低下し、pH 9.0 以上ではまったく殺卵作用が認められなかつた。

すなわち、芥子油の 10⁴ 倍濃度のものは、新鮮尿または尿の貯溜期間が短かく、pH が中性附近にある場合には、水中接触の場合とほとんど同様に、100% の殺卵率が認められるが、尿の pH がアルカリ側にまで上昇してくると、その殺卵作用はほとんどなくなることがわか

第 4 表 芥子油処理尿の殺卵作用

処理回数	貯溜日数	処 理 前		処 理 後		殺卵率 (%)
		ammonia (%)	pH	ammonia (%)	pH	
1 回	0	0.03	6.0	0.03	6.0	100
	3	0.03	6.0	0.03	6.0	50
	6	0.03	6.0	0.03	6.0	0
	9	0.03	6.0	0.04	6.2	0
	15	0.04	6.0	0.05	6.8	0
2 回	0	0.03	6.0	0.03	6.0	100
	3	0.03	6.0	0.03	6.0	100
	6	0.03	6.0	0.03	6.0	100
	9	0.03	6.0	0.03	6.0	100
	15	0.04	6.0	0.05	6.0	100
2 回	18	0.04	6.2	0.05	6.0	100
	24	0.05	6.8	0.06	7.4	0
	24	0.05	6.8	0.06	7.8	0
	24	0.05	6.8	0.05	6.8	100

24 日になつてもなお 100% の殺卵率を示している。

以上のように、最初の処理で ammonia の発生、pH の上昇を抑制し、2 回目の処理を行えば、完全な殺卵作用を期待出来るものと考えられる。

したがつて、芥子油を便溜あるいは肥料溜内に使用するさいには、屎尿が新鮮なうちにあらかじめ芥子油を入

れておき、一定期間ののち再び芥子油を加えるようにすれば、尿管中の蛔虫卵も完全に殺滅することが出来るのではないかと思われる。

考察

尿中 ammonia：新鮮尿の ammonia 濃度は 0.02~0.05% 程度であり、この尿の pH は 6.0~6.4 位で酸性側にあるのが普通である。そして尿が貯溜されて、次第に腐熟しはじめると、urease の作用によつて尿中 ammonia が発生し、pH も漸次上昇するわけである。

尿の ammonia 発生においては、温度条件に負うところが大きく、この ammonia 発生のために必要な urease の作用は、50°C 前後が適温で、温度の低下とともに作用が弱まってくる。この urease が作用するための温度の限界については、後の実験にまたなければならぬが、20°C あるいは 15°C 以下ではほとんど作用せず、したがつて、尿中 ammonia は発生しないのではないかと考える。

さらに、尿中 ammonia の発生に影響をあたえる条件として空気との接触をあげることが出来る。

これは、尿を貯溜する時に容器に栓をした場合としない場合では、その ammonia の発生量に著しい差異があり、栓をしない場合は ammonia が急速に発生し、その減少も早くなるということがわかつた。

また、容器の大きさと、それに入れた尿の量との関係についても、上記同様の結果が得られ、大きな容器に少しの尿を入れて貯溜した時には、ammonia 発生が早いようである。

この点について大場 (1923) は、これが尿の殺卵作用にも影響するとのべている。

尿中 ammonia の抑制：芥子油が尿中 ammonia の発生を抑制するということは、尿中 urease の作用を不活性化するためである。芥子油の 10⁴ 倍あるいは 10³ 倍の濃度では、urease を完全に破壊するわけではなく、ある期間中その作用を不活性化しているの、芥子油が揮発して効力が衰えてくると urease は再び作用をはじめ、ammonia の発生をみる。

貯溜尿中の殺卵作用：芥子油の殺卵作用は、尿の貯溜日数が短い場合、すなわち、尿の pH が酸性または中性にあるときは、水中接触とほとんど同様の殺卵作用を示している。しかし、尿がアルカリ性になると（これは貯溜後約 7 日）芥子油の殺卵作用は低下する。

これは緩衝液中における結果とほぼ一致するようである。

そこで、新鮮尿に芥子油 (10⁴ 倍濃度) を加えて貯溜すると、尿中 ammonia が発生しないので、一定期間中は尿の pH が新鮮尿のときのまま酸性側にとどまってい

る。しかし、この芥子油処理尿には殺卵作用がない。

新鮮尿にあらかじめ 10⁴ 倍濃度の芥子油を加えておきさらに同濃度の芥子油を加えた場合には、殺卵作用は再現される。

要約

尿を貯溜して ammonia の量と pH の変化を測定し、この変化が芥子油の殺卵作用におよぼす影響について実験を行った。

1) 新鮮尿は貯溜によつて ammonia および pH が漸次上昇し、3 週間後には ammonia が 0.5% 前後、pH が 9.2 ぐらいになる。しかし貯溜条件 (温度、容器、量) によつて ammonia および pH の変化は異なる。

2) 尿の貯溜にさいして芥子油を加えておくと、ammonia および pH の上昇がかなり抑制される。これは芥子油によつて urease が不活性化するためであろう。

3) 尿が貯溜されて、その pH がアルカリ側になると芥子油の殺卵作用は低減する。しかし、新鮮尿にあらかじめ芥子油を加え、一定期間後さらに芥子油を加えるとこの低減はみられない。

稿を終るにあたり、御指導と御校閲を賜つた農業技術研究所川上行蔵博士、予防衛生研究所小宮義孝博士に深く感謝の意を表す。また、実験にあつて御援助を願つた農業技術研究所池内まき子技官に感謝する。

文献

- 1) 皆川弘毅・皆川静明 (1918) : 人尿の蛔虫卵に及ぼす影響について、東京医事新誌, 2136. —2) 大場辰之允 (1923) : 蛔虫卵子の抵抗について、台湾医学会誌, 277, 106. —3) P. Fischer: Inactivation of urease by certain war gas and blistering agents. Bull. Soc. Rog. Sci. Liege, 12, 235. —4) 山竹治 (1952) : 人尿の蛔虫卵发育に及ぼす影響 (第 1 報), 大阪大学医学雑誌, 5 (1), 15-27.

Summary

The present investigations were undertaken to determine that stored urine might effect upon the ovidical actions of mustard oil. The storage of fresh urine made its ammonia and pH increase.

We can see variations by the stored conditions (e. g. temperature, vessel, quantity), however, ammonia of urine became about 0.5% and pH is up to 9.2 after three weeks.

The increase of ammonia and pH of stored urine are considerably checked by adding of mustard oil to urine.

This may be that mustard oil inactivate urease of urine.

The ovidical actions of mustard oil were decreased as urine' pH rising up.

The ovidical action can not be decreased by adding of mustard oil after a period of time to the preapplied urine by mustard oil.