

緒 言

本號は衛生事項に關する化學的、細菌學的並生物學的的研究及調査成績を收録したるものなり

昭和七年三月

目次

		衣	笠	豊	頁		
1.	牛酪試験成績報告	外	七	名	1		
2.	牛乳の滅菌温度と貯藏時間の経過による 變敗試験成績報告	衣服	笠部	安勝	豐藏治	27	
3.	バラオキシ安息香酸の検出法に就て	衣坪	笠井	祿久	豐平雄	41	
4.	メチウム水素イオン濃度と菌抵抗力との關係 消毒力検定浮游法に於ける條件の吟味	秋林	葉朝	一倉	一郎	53	
5.	大腸菌ウレアーゼに関する研究	秋風	葉間	朝美	一佐	郎雄	75
6.	東京市上水の水素イオン濃度に就て(第二報)	勝岡	田部	政	泰藏	87	
7.	Vitamin 標準試験方法(第一報)	山萬	本年	允文	秋雄	93	
8.	石炭酸樹脂製飲食用器具試験成績報告	衣服	笠部	安	豐藏恒	169	
9.	魚肉類のフォルムアルデヒド反應に関する 試験成績報告(第二報)	衣服	笠部	安	豐藏恒	177	
10.	火酒試験成績報告(第一報)	衣坪	笠井	祿二	豐平名	201	
11.	火酒試験成績報告(第二報)	衣坪	笠井	祿正	豐平夫	223	
12.	食肉腐敗鑑識法の研究(第一報)	衣服	笠部	安	豐藏宏	233	

衛生試験所彙報

第三十九號

牛酪試験成績報告

技 師 衣 笠 豊	助 手 柳 喜 久 雄
技 手 坪 井 祿 平	助 手 岩 元 恒
技 手 服 部 安 藏	助 手 須 藤 宏
技 手 秋 山 勝 治	助 手 神 谷 正 夫

内 容 目 次

一. 緒 言
二. 試 験 材 料
三. 試 験 法
四. 判 定 標 準
五. 試 験 成 績

甲. 普通成分及異性色素
乙. 牛酪脂肪
六. 考 察 及 結 論
七. 總 括
文 獻

一. 緒 言

牛酪は他の食用油脂類に比し消化し易く且つビタミンA及Dを含有し歐米人は古來より之を愛食し日常缺く可らざる主要食糧品の一をなす。然るに天然の牛酪は比較的高價なるを以て其代用品として人造牛酪（マルガリン）の製出を來たし民衆食品として主要の位置を占むるに至れり。本邦に於ても歐風生活洋食の流行に伴ひ牛酪の需要漸次増加し其當初は専ら之を輸入に仰ぎしも次第に國産品の製出を見るに至り近時乳業の勃興と共に其製産額も著しく増加を來たせり。今最近十餘年間に於ける牛酪及び人造バター之の輸入並國産數量及價格を示せば次の如し。

第 一 表

牛酪及人造牛酪の國産統計表 (農林省の統計に據る)

年 次	バ タ ー		人 造 バ タ ー	
	數 量 斤	價 格 圓	數 量 斤	價 格 圓
大 正 7 年	985,438	1,030,190	567,770	224,374
同 8 年	909,553	1,150,917	686,220	372,718
同 9 年	818,440	1,051,419	686,590	353,519
同 1 0 年	866,501	1,126,570	767,560	332,154
同 1 1 年	910,786	1,157,452	654,453	255,652
同 1 2 年	994,853	1,173,423	289,217	141,225
同 1 3 年	1,387,011	1,607,232	547,019	271,345
同 1 4 年	1,417,457	1,702,333	500,787	153,477
昭 和 元 年	1,633,834	1,847,035	1,030,073	345,733
同 2 年	2,370,122	2,772,311	873,681	375,854
同 3 年	2,374,331	2,618,397	891,435	302,044

第 二 表

牛酪の輸入統計表 (商工省の統計に據る)

年 次	數 量 斤	價 額 圓
大 正 7 年	×6,132	6,181
同 8 年	×25,901	35,178
同 9 年	×303,455	415,615
同 1 0 年	×203,191	249,561
同 1 1 年	×532,033	572,816
同 1 2 年	×526,671	692,837
同 1 3 年	×647,074	766,285
同 1 4 年	×315,908	400,455
昭 和 元 年	×701,420	792,952
同 2 年	543,552	617,302
同 3 年	325,975	336,974

備 考 ×印は人造バターを含む

前記兩表を對照すれば牛酪の國産額は逐次遞増の趨勢を示し之に反し輸入額は最近漸次減少の傾向を現はせるを認むべし。

牛酪は其製法及貯藏法等宜しきを得ざるときは變敗し易く殊に湿度高き本邦に於ては一層變敗し易きを以て最も注意を要す。而して人造牛酪は乳脂以外の動植物性油脂

を以て製造し通例ビタミンを缺除せるを以て牛酪に比し其栄養價の劣れるは勿論なりと雖も其價格遙かに低廉なるを以て往々之を以て天然品と偽稱し又は之を牛酪中に偽和し或は牛酪中に他の食用動植物油脂を混和する等の不正の手段を講じて暴利を貪るものなきにあらざり更に病牛の乳汁又は變敗乳を原料とせるもの或は製造上若くは取扱上の缺陷によりて變質變敗せるものを販賣するものあらんか公衆の保健衛生上に及ぼす影響亦些少なりとせず。茲に於て小官等は曩きに衛生局長より市販牛酪に就き水分、脂肪及食鹽の含量並に異性脂肪及人工著色料の有無調査方照會ありたるを以て之を機とし之等試験項目の外爾余の各成分及往々防腐劑として使用せらるゝ礬酸に就き試験し以て市販牛酪の品質一般を知悉せんことを期したり。以下順次其成績を報告すべし。

二. 試験材料

衛生局に於て各府縣より蒐集せられたる牛酪は内國品54種外國産8種及内外不明品3種にして合計95點を算す。其内譯次の如し。

各檢體は衛生局より廻送せらるるや乾燥又は濕潤等外界の影響を可及的少からしめんが爲め直ちに之を其儘硝子器中に密閉し更に冷蔵庫中に納め以て變質なき様努めた

第三表
(A) 内國製品

檢體番號	檢體容器面記載名稱	收去官廳の記載名	容器	重量(g)	製造元又は發賣元	製造年月日 昭和四年	收去縣別	收去先又は收去者
1	クローバー印食卓バター	クローバー印バター	厚紙包	300	北海道札幌市 〇〇〇乳製品株式会社	不 明	東京	東京府下多摩郡澁橋町角 管200 淺野秋藏
2	"	食卓バター	"	225	"	"	愛知	名古屋市中區東洋町5丁目 4 保々卓彌
3	"	クローバー印食卓バター	"	"	"	"	京都	四條西洞院西入 嘉田平三郎
4	"	"	"	"	"	"	"	建仁寺四條下 岡本雄三
5	"	クローバー印食卓バター	"	450	"	11月19日	北海道	木古内警察署
6	クローバー印北海道バター	クローバー印北海道バター	木製箱	225	"	11月17日	"	札幌警察署
7	北海道バター 雪印	北海道バター	厚紙包	"	北海道札幌市 〇〇〇クリーム株式会社	不 明	愛知	名古屋市中區御器所町北山 前35 番 湯澤作
8	"	北海道バター	"	"	北海道 00市製酪販賣組合聯合會	11月18日	北海道	札幌警察署
9	"	北海道バター	"	"	"	不 明	京都	下鴨宮崎町 若城徳次郎
10	"	"	罐入	"	"	"	"	清水4丁目 加茂田新三
11	"	雪印北海道バター	厚紙包	"	"	"	東京	赤坂區溜池4 仁木島商店

を以て製造し通例ビタミンを缺除せるを以て牛酪に比し其栄養價の劣れるは勿論なりと雖も其價格遙かに低廉なるを以て往々之を以て天然品と偽稱し又は之を牛酪中に偽和し或は牛酪中に他の食用動植物油脂を混和する等の不正の手段を講じて暴利を貪るものなきにあらず更に病牛の乳汁又は變敗乳を原料とせるもの或は製造上若くは取扱上の缺陷によりて變質變敗せるものを販賣するものあらんか公衆の保健衛生上に及ぼす影響亦些少なりとせず。茲に於て小官等は曩きに衛生局長より市販牛酪に就き水分、脂肪及食鹽の含量並に異性脂肪及人工著色料の有無調査方照會ありたるを以て之を機とし之等試験項目の外爾余の各成分及往々防腐劑として使用せらるゝ硼酸に就き試験し以て市販牛酪の品質一般を知悉せんことを期したり。以下順次其成績を報告すべし。

二. 試 験 材 料

衛生局に於て各府縣より蒐集せられたる牛酪は内國品54種外國産8種及内外不明品3種にして合計95點を算す。其内譯次の如し。

各檢體は衛生局より廻送せらるるや乾燥又は濕潤等外界の影響を可及的少からしめんが爲め直ちに之を其儘硝子器中に密閉し更に冷蔵庫中に納め以て變質なき様努めたり。

第 三 表
(A) 内 國 製 品

檢體 番號	檢體容器面 記載名稱	收去官廳 の記載名	容器	重量 (g)	製造元又は發賣元	製造年月日 昭和四年	收去 縣別	收去先又は收去者
1	クローバー印 食卓バター	クローバー印 バター	厚紙包	300	北海道札幌市 〇〇〇乳製品株式会社	不 明	東 京	東京府下豊多摩郡徒橋町角 管200 淺野秋藏
2	"	食卓バター	"	225	"	"	愛 知	名古屋市中区東洋町5丁目 4 保々卓彌
3	"	クローバー 食卓バター	"	"	"	"	京 都	四條西洞院西入 嘉田平三郎
4	"	"	"	"	"	"	"	建仁寺四條下ル 岡本雄三
5	"	クローバー印 食卓バター	"	450	"	11月19日	北海道	木古内警察署
6	クローバー印 北海道バター	クローバー印 北海道バター	木製箱	225	"	11月17日	"	札幌警察署
7	雪印 北海道バター	北海道バター	厚紙包	"	北海道札幌市 〇〇〇クリーム株式会社	不 明	愛 知	名古屋市中区御器所町北山 前35 番 湯 作
8	"	雪印 北海道バター	"	"	北海道 00市製酪販賣組合聯合會	11月18日	北海道	札幌警察署
9	"	北海道バター	"	"	"	不 明	京 都	下鴨宮崎町 若城徳次郎
10	"	"	罐 入	"	"	"	"	清水4丁目 加茂田新三
11	"	雪印 北海道バター	厚紙包	"	"	"	東 京	赤坂區溜池町4 仁木島商店

12	北海道 雪印バター	雪印バター	罐入	431	北海道 00市製酪販賣組合聯合會	不	明愛知	名古屋市東區榮町4丁目5 株會社明治屋支店
13	北海道 ナショナル印 バター	ナショナル印 バター	厚紙包	225	"	11月18日	北海道	札幌警察署
14	北海道 食卓用家庭向 北海道生バター	北海道バター	木製箱	"	"	不	明京都	寺町姉小路下ル 大橋嘉三郎
15	バター	ナシ	罐入	"	北海道 〇田牧場	"	東京	芝區田村町1 櫻井源喜知
16	星三印バター	星三印バター	木製箱	450	北海道 帯廣〇田牧場	"	北海道	帯廣警察署
17	食用バター	食用バター	厚紙包	430	北海道 道廳種畜場	"	愛知	名古屋市西區御幸本町9丁 久保田英吉
18	楓印バター	楓印バター	木製箱	450	北海道 〇〇深乳株式會社 (札幌工場)	11月19日	北海道	稚内警察署
19	星印バター	星印バター	"	225	"	11月17日	"	札幌警察署
20	極東バター	極東バター	"	"	"	"	"	"
21	"	"	"	"	(三島工場)	11月11日	静岡	製造元
22	金線印バター	金線印バター	"	"	(札幌工場)	"	北海道	札幌警察署
23	金鶏バター	金鶏バター	"	"	"	"	"	"
24	北海道バター	ナシ	"	300	"	10月	中東京	荏原郡大崎町谷山145 小川晋
25	バター	バター	"	225	"	不	明京都	四條高倉大丸
26	森永バター	森永バター	罐入	"	〇〇煉乳株式會社	11月10日	静岡	製造元
27	"	"	"	"	(三島工場)	"	"	"
28	バター	バター	木製箱	450	(空知工場)	11月15日	北海道	瀧川警察署
29	明治無鹽 バター	明治無鹽 バター	厚紙包	225	〇〇製菓株式會社 (清水工場)	11月18日	"	新得警察署
30	明治含鹽 バター	明治含鹽 バター	"	"	"	11月14日	"	旭川警察署
31	明治バター	含鹽バター	"	450	"	11月17日	"	"
32	"	バター	"	225	(勝山工場)	11月12日	千葉	一
33	バター	"	罐入	437	(主基煉乳工場) 千葉縣安房郡南三原村 海工場	11月5日	"	一
34	加鹽バター	加鹽バター	"	280	同縣同郡岩井町 〇〇製菓岩井工場	11月13日	"	一
35	無鹽バター	無鹽バター	木製箱	450	東京府豊多摩郡澁橋町角 管200〇野〇藏	11月12日	"	一
36	バター	ナシ	"	300	東京府大島野増村	10月2日	東京	製造元
37	旗矢印 特製バター	旗矢印バター	"	431	東京市京橋區築地1丁目7 〇谷	10月中	"	荏原郡大崎町谷山145 小川晋
38	大島バター	大島バター	"	450	東京市日本橋區龜島町 〇彦	不	明愛知	名古屋市東區富澤町4丁目 梅澤商店
39	バター	バター	硝子壺	"	京都市淨福寺上長者町 〇〇牛乳蓄産組合	"	京都	名古屋市東區南大津町3丁目 目8 株式會社松坂屋
40	ゼルシーバター	A Bバター ゼルシーバター	罐入	180	大阪市北區中崎町54 〇〇製酪株式會社	"	愛知	新町鞍馬口上ル 岩崎仁三郎 名古屋市東區上前津町666 坂島製パン株式會社
41	"	ゼルシーバター	"	65	〇エービー商會	"	京都	小山上總町 中島イト
42	"	"	"	"	"	"	"	北白川下池田町 西浦庄之助
43	"	"	"	"	"	"	"	北白川久保田 川村丈太郎
44	子安バター	子安バター	木製箱	400	横濱市神奈川區西寺尾町 〇山〇	11月16日	神奈川	製造元
45	ゴールデラ イオンバター	ゴールデラ イオンバター	罐入	160	横濱市 イリエンタルCOキング商會	不	明愛知	名古屋市東區御器所町北山 市場 伊藤直吉

46	シルバーライオンバター	シルバーライオンエキストラクリームバター	罐入	80	"	"	京 都	田中門前町	宮下タイ
47	"	"	"	"	"	"	"	河原五條下	山田武次郎
48	"	"	"	"	"	"	"	紫野雲林院町	瀧野龜太郎
49	バター	バター	硝子壺	200	兵庫縣津那多賀村○ 種牛利用購買販賣組合	11月4日	兵 庫		—
50	無色バター	無色バター	"	192	神戸市多聞通2丁目31 ○谷	10月10日	"		—
51	バター	バター	"	374	兵庫縣磨那高岡村 ○食料品株式会社	11月8日	"		—
52	フレッシュバター	フレッシュバター	"	200	兵庫縣種畜場	"	"		—
53	花印バター	花印バター	罐入	225	兵庫縣三原郡廣田村 ○煉乳株式会社	11月4日	"		—
54	バター	バター	硝子壺	"	神戸市中山手通1丁目25 /91 ○定○五郎	不 明	"		—
55	鹽入バター	鹽入バター	"	250	"	"	"		—
56	バター	不詳	木製箱	450	名古屋市中區呼続町淺間 1 ○田 牧 場	"	愛 知	名古屋市中區御器所町映間 中18 山本喜市	
57	特製バター	特製バター	硝子壺	390	名古屋市中區御器所町外 田31 ○製乳株式会社	"	"	名古屋市中區御器所町外田 31 疋田儀助	
58	純良バター	純良バター	木製箱	225	岡崎市美合町和合並松1 ○木 ○一 郎	"	"	製 造 元	
59	三島バター	三島バター	"	"	静岡縣 00畜産販賣購買利用組合	11月10日	靜 岡		"
60	バター	バター	罐入	"	同縣加茂郡稻取町 ○口 次 郎	11 月 中	"		"
61	"	"	"	178	同縣加茂郡朝日村 ○屋 ○次 郎	11月12日	"		"
62	"	"	厚紙包	225	同縣加茂郡稻梓村 ○屋 ○治	11月10日	"		"
63	"	"	木製箱	232	同縣志太郡青島町 ○煉乳株式会社	11月12日	"		"
64	生バター	生バター	罐入	205	同縣磐田郡於保村 ○田 ○次 郎	"	"		"
65	フジクリーム バター	クレマリー バター	木製箱	247	同縣富士郡富士町 ○酪貨株式会社	不 明	愛 知	名古屋市中區岩井町14 今泉勝之助	
66	七塚バター	七塚バター	"	260	廣島縣比婆郡 七塚原種畜分場	"	廣 島		—
67	フレッシュ バター	フレッシュ バター	"	242	岡山市國富311 ○林 ○ 子	11月18日	岡 山		—
68	飛行機印 純良バター	記名ナシ	硝子壺	450	石川縣西○津牧場	不 明	石 川		—
69	エビスバター	"	厚紙包	"	同 縣 ○製乳株式会社	"	"		—
70	純良バター	純良バター	硝子壺	375	岩手縣 ○岩井農場	"	愛 知	名古屋市中區榮町4丁目5 番地 株式会社明治屋支店	
71	千代田バター	千代田バター	罐入	65	○○○バター製造所	"	京 都	今熊野池田町三野盛一郎	
72	"	"	"	"	"	"	"	田中門前町 清水秀太郎	

(B) 外 國 製 品

検 査 番 號	檢 査 容 器 面 記 載 名 稱	收 去 官 廳 の 記 載 名 稱	包 裝	重 量 (g)	製 造 元 又 は 發 賣 元	製 造 年 月 日 昭 和 四 年	收 去 縣 別	收 去 先
73	ハンダー ツ バター	ハ ー デ ン バ ツ ト バ ン ス ー ク	厚紙包	225	カナダカルカリー某商會	不 明	東 京	京橋區築地1ノ17 矢 谷 商店
74	"	バ ー タ ン ス ー ク	"	450	"	"	神 奈 川	横濱市中區山下町66 ギフス 商會
75	シヤム ロツク バ	シヤム ロツク バ	"	"	カナダアルバーター某會 社	"	"	横濱市中區北仲通3ノ37 浦 井 治 三 郎
76	"	シヤン ロツク バ	"	"	不 明	"	京 都	祇園南側576 橋 詰 武 雄

77	ウッドランド バター	ウッドランド バター	厚紙包	300	カナダ	不	明	東	京	京橋區築地1ノ17 矢谷商店
78	バター	バター	木製箱	225	カナダ	某會社	"	"	"	芝區田村町1 櫻井源喜知
79	フラザーバ ター	Fraser Vall er Butter	厚紙包	230	フラザーバ ター	某ミルク製造會社	"	兵	庫	神戸市西出町 石光商會
80	ビーヤレス バター	ビーヤレス バター	"	460	某クリーム	商會	"	神	奈	川 横濱市中區本町1ノ2 磯野長藏
81	ゴールデン ステートバ ター	Golden state Butter	罐入	250	某ミルク	商會	"	兵	庫	神戸市元町2丁目230 明治屋神戸支店
82	"	ゴールデン ステート	"	"	ニューヨーク	ゼネラルオ フィス	"	京	都	五條橋東 生島五郎
83	"	"	"	"	"	"	"	"	"	小山花ノ木町 瀬戸庫一
84	エーコン バター	エーコン バター	厚紙包	450	ニュージー ランド	"	"	東	京	豊多摩郡淀橋町角管200 浅野秋藏
85	"	Newgenland Butter	"	230	"	"	"	兵	庫	神戸市浪花町8 ウイルキンソン商會
86	"	アコンバ ター	"	450	"	"	"	"	神	奈 川 横濱市中區元町5ノ182 高宮忠二郎
87	"	アコン	罐入	250	"	"	"	"	京	都 五條大橋東 中野忠八

(C) 内外不明品

検 査 番 号	検 査 器 容 器 名 稱	面 積 名 稱	官 廳 の 記 載 名 稱	包 装	重 量 (g)	製 造 元 と 稱 せ る 處	製 造 年 月 日	取 去 縣 別	收 去 先			
88	日蝕バ ター	日蝕バ ター	罐入	225	瑞西	エクレッツ	不	明	京 都	三條河原町西入 大家周三		
89	"	"	"	"	"	"	"	"	"	田中大塚町 石河道之助		
90	ベリカ ン	ベリカ ン	"	65	丁	抹	某	商	會	大宮七條 村瀬トク		
91	"	"	"	"	"	"	"	"	"	三條應天門東入 夏川浅次郎		
92	"	"	"	"	"	"	"	"	"	松原大和 大路東入 木津川千吉		
93	"	"	"	"	"	"	"	"	"	上球敷屋東 洞院 下地半次郎		
94	クラウ ン	クラウ ン	"	225	丁	抹	コー	ベン	ハー	ゲン 某 カン	パ ニ ー	五條大橋東 中野忠八

前記検體に就き蒐集府縣別、容器の種類及内外製品別に分類せる一覽表を示せば次の如し。

第 四 表

府 縣 別	製 品 種 類			蒐 集 箇 數			容 器 の 種 類											
	内 國 製	外 國 製	内 外 不 明	内 國 製	外 國 製	内 外 不 明	紙 器			木 製 箱			フ リ キ 罐 詰			硝 子 壺		
	内 國 製	外 國 製	内 外 不 明	内 國 製	外 國 製	内 外 不 明	内 國 製	外 國 製	内 外 不 明	内 國 製	外 國 製	内 外 不 明	内 國 製	外 國 製	内 外 不 明	内 國 製	外 國 製	内 外 不 明
北 海 道	14	0	0	14	0	0	5	0	0	9	0	0	0	0	0	0	0	0
東 京	6	4	0	6	4	0	2	3	0	3	1	0	1	0	0	0	0	0
京 都	8	3	3	15	4	7	3	1	0	2	0	0	9	3	7	1	0	0
神 奈 川	1	4	0	1	4	0	0	4	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
兵 庫	7	3	0	7	3	0	0	2	0	0	0	0	1	1	0	6	0	0
千 葉	3	0	0	4	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0

愛知	13	0	0	13	0	0	3	0	0	5	0	0	3	0	0	2	0	0
静岡	8	0	0	9	0	0	1	0	0	3	0	0	5	0	0	0	0	0
石川	2	0	0	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
岡山	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
広島	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
合計	54	8	3	73	15	7	17	10	0	25	1	0	21	4	7	10	0	0

三. 試験方法

主としてキューニッヒ氏飲食物試験法⁽¹⁾に準據せり。即ち先づ檢體に就き色澤及其他の外觀的性狀並に臭味等を檢し次に熔融及泡起状態試験を施し然る後ブル氏⁽²⁾に従ひ可及的多量の檢體を廣口栓硝子瓶に容れ微温を與へて檢體を融解せしめ屢冷却しつゝ振盪して凝固せしめ之に就き普通成分、酸度、防腐劑及異性色素の試験を行ひ更に後に述ぶる方法に従ひ調製せる脂肪に就き異性脂肪の鑑識を施せり。其試験方法次の如し。

- 一. 酸度の檢定 檢體 5g を取り常法に従ひ10分定規アルカリ液を以て滴定せり。
- 二. 水分の定量 檢體 1~3g を白金皿に取り浮石末を添加し 105° に乾燥し秤定せり。
- 三. カゼイン、乳糖、礦物質及クロールの定量 檢體 5~10g を取り常法に従ひアルコール及エーテルを以て處理して無水非脂肪性物質總量を測定し次に之を灰化して礦物質を定量し更に之につきクロール分を10分定規硝酸銀液を用ひて滴定して食鹽量を算出し別に檢體 5~10g を取り前記と同様にアルコール及エーテルを以て處理し其不溶殘渣をキールダール法に従ひ分解して窒素を定量し之に 6.37 を乘じてカゼイン量を檢定せり。

前記無水非脂肪性物質よりカゼイン及灰分量を減じたる差を以て乳糖量となせり

- 四. 脂肪定量 檢體 5g をホフマイステル硝子皿に取り精製硅砂を混じて乾燥したる後ソクスレット脂肪浸出器を用ひ無水エーテルを以て浸出測定せり。
- 五. 硼酸の鑑識 檢體 50g を取りキューニッヒ氏に従ひ鹽酸々性の温湯と共に振盪浸出し茲に得たる水液に就きクルクマ反應を檢せり。

六. 異性色素の鑑識 各檢體共に少量にして不混和性溶劑による正規の分離鑑識法を施行し得ざりしを以て次の如きコーネリソン氏⁽³⁾の水醋酸抽出試験を行ひて之を鑑識せり。

檢體 20g を秤取し重湯煎上に蒸發乾燥し可及的透明の部分を分液漏斗に傾瀉し之に氷醋酸40ccを加へ強く振盪したる後靜置するときはテール色素存在に於ては氷醋酸層多くは赤色を帯ぶ。次に其氷醋酸浸液 5cc 宛を三本の試験管に分取し其一に強硝酸數滴を添加し他の一に硫酸を添加し第三の管には第二管の如く硫酸添加の後更に稍多量のエーテルを加へて透明液となし斯くして各試験管内容液の呈する色相を夫々規定の對照表と比較して鑑識を施せり。

七. 異種脂肪の鑑識 各檢體約 100g をベッヘルに取り50~60°の温を與へて熔融せしめ次に之を遠心分離器に裝して水分及其他の非脂肪分を完全に分離せしめ透明の脂肪液層を吸取し硝子棒を以て攪拌しつゝ均等に凝固せしめ之に就き次の試験を施せり。但し熔融及泡起状態試験に於ては原檢體に就き直接試験せり。

從來牛酪の試験に對し其脂肪調製は保温濾過法に據るを常とするも本法は脂肪分を完全に分取するには稍長時間を要する嫌あり本試験の如き多數の檢體を處理するに當りては不便甚しきを以て前記の如き遠心分離法を採用したるに短時間にして脂肪分離し其成績極めて良好なるを認めしめたり。即ち兩法の比較試験成績を示せば次の如し。

第 五 表

檢體番號	脂肪分離法	熔融状態	屈折計數	鹼化數	ライヘルト マイスル數	ポレンスケ數
1	遠心器法	透 明	43.8	227	27.5	2.4
	濾過法	同 上	43.8	227	27.5	2.4
2	遠心器法	透 明	43.6	228	31.2	2.9
	濾過法	同 上	43.6	223	31.2	2.9
3	遠心器法	殆 透 明	42.9	227	29.5	2.6
	濾過法	透 明	42.9	227	29.3	2.6
4	遠心器法	透 明	42.7	231	29.7	3.0
	濾過法	殆 透 明	42.7	230	29.3	2.8

(イ) 熔融状態の検査 檢體約 10g を小ベッヘルに取り 50~60°を保てる水蒸氣乾燥箱に納め以て其熔融状態を検せり。

(ロ) 泡起状態の検査(匙法) 檢體約 1g を金屬製匙に容れ小火焰を用ひ之を加熱し其際に於ける泡起状態を検せり。

(ハ) 屈折計數檢定 調製脂肪を熔融せしめツェイス牛酪屈折計を用ひ 40°に於て

検定せり。

(ニ) 鹼化數検定 調製脂肪 1~2g を取り常法に従ひ検定せり。

(ホ) ライヘルトマイスル及ポレンスケ數検定 調製脂肪 5g を取りポレンスケ數検定用蒸餾装置を用ひて検定せり。

ポレンスケ⁽⁴⁾數検定に對しては同氏所定の條項を嚴守し且つアルノルド⁽⁵⁾氏の實驗注意事項を參考とすべきは勿論なりと雖も次の 3 項は特に最も注意すべき點なりとす即ち(1) 蒸餾時間 (19~21分) を確守すること (2) 特に精製せる浮石粗末を使用すること (3) 蒸餾用球付曲管の内徑を正確に 1cm とすこと是れなり。

(ヘ) ユッケナック差數 ライヘルトマイスル數と鹼化數より 200 を減したるものとの差を以てユッケナック差數となす。

(ト) ファルンスタイネル數 次の算式によりて算定す。

$$\text{鹼化數} - \frac{\text{ライヘルトマイスル數} \times 5.6}{5} = \text{鹼化數} - \text{ライヘルトマイスル數} \times 1.12$$

前記各項の試験に於て異種脂肪含有の疑を認めたるときは進んでフィトステリン等の試験を行ひ以て之を確證するを常則とするも後述の理由により之を省略せり。

四. 判定標準

牛酪の品質及製造等の判定標準は既に一般成書に掲載あり茲に之を再録するは冗長の嫌ありと雖も異種脂肪混入の判定に對しては學者によりて多少見解を異にせる處あるを以て小官等の採用せる判定標準を掲げ以て其根據を明にせんとす。即ち小官等は主としてキョーニッヒ⁽¹⁾氏飲食物化學並獨逸衛生局發行飲食物検査法草案第二冊 (食用油脂類 1912 年出版)⁽⁶⁾ に記載の判定標準に據れり次に之を列擧すべし。

一. 牛酪は 80% 以上の脂肪を含有せざる可らず且つ無鹽品に在りては 18% 加鹽品に在りては 16% 以上の水分を含有す可らず。食鹽は 2% 以内たるべし (獨逸法令)。

二. 臊敗, 酸性臊敗, 酸敗, 牛脂狀, 油狀, 黴臭, 黴化, 苦味等忌むべき臭味を有するものは變敗品として擯斥すべきものとす。酸度は純良なる牛酪に在りては 5 度以下なり。一般に 8 度を超過すべからず。

三. 食鹽の外化學的防腐劑を含有す可らず。有害性色素を以て着色す可らず。

四. 異性脂肪を混有す可らず。而して牛酪脂肪中異種脂肪の検査は甚困難なる問題

にして之れが鑑識の方法も亦多數提出せられたりと雖も而も巧に且つ中等度に贋造せる所謂混成牛酪に至りては確實に其贋造を證明すること難し。又従つて之れが調査を施行するに當りては多くの試料、時間及勞力を以てするにあらざれば到底満足なる結果を得ること能はざるべし。殊に今回の試験の如く牛酪の種類極めて夥多なる場合に於ては愈々然りとす。茲に於て小官等は本試験を施行するに當りては其方法最も簡單にして試料、時間及勞力を可及的節約し得ると共に其所得最も大にして所期の目的を可及的充分に達成し得る事を主眼とせざる可らず。而して此目的に添はんが爲めには結局キョーニヒ氏の方法に據るを最も適當なりと認めたるを以て略之に準據して次の數項に就て試験を施せり。

(イ) 熔融状態 純良なる牛酪に在りては全く或は殆ど透明なる油狀の脂肪層と水分其他の白色の非脂肪性物質とに分離す。陳舊の牛酪は時として油層少しく濁濁することあり。マルガリンは不透明強濁の脂肪層と僅微の沈澱物とを生ず。混成牛酪は混合したるマルガリンの量により脂肪層の濁度に強弱あり複製牛酪及敗油性牛酪も亦濁せる脂肪層を生ず。

(ロ) 泡起状態 眞正牛酪は本試験に於て強く泡起し複製牛酪は殆ど泡立つことなく寧ろ水を含める脂肪の如く衝突逆散す。オレオマルガリンも亦同様なり。

(ハ) 正常牛酪脂肪の有する定數は次の如し(主として獨逸衛生局發行食用油脂類検査法に據る)。

屈折計數	39.4~46.0 (40°に於て)	鹼化數	219~233
ライヘルトマイスル數	24~34	ボレンスケ數	1.5~3.5
エケナック差數	-4~+4	ファルンスタイネル數	193.0~200.0

屈折計數はパウヘルト^の氏に従へば40°に於て40.5~44.4にしてマルガリン其他の脂肪の屈折計數は次の如し。

マルガリン50.3~58.2, オレオマルガリン48.6~49.2, 牛酪49.0, 豚脂50.0~51.2, 羊脂45.0~46.0, 馬脂51.0~55.2, コーコスバター33.5~35.5, カ、オバター46.0~46.5

前記牛酪脂肪の定數は大體の標準にして幾多の實驗報告によれば屈折計數鹼化數及ライヘルトマイスル數等も種々の原因即ち乳牛の種類, 産地, 飼料搾乳の時期, 放牧

と舍飼の相違竝に牛酪の製法等により比較的廣き範圍に亘りて變動することを認むると共に近時牛酪賈造巧妙となり異種脂肪中前記定數高きものと低きものを適度の割合に牛酪中に混入し以て成るべく是等定數の標準範圍内にあらしむるものあり。故に假令定數の標準範圍内にあるものと雖も直ちに純品と認め難く又限界外にあるも之を以て直ちに不純品と斷定し難き場合あり。従つて之れが判定に當りては前記の標準を採用すべきも其試験成績を互によく對照し以て綜合判定を施すを要す。而して前記の試験項目に於ける成績不良なるもの即ち異種脂肪混入の疑ありとせるものに就てはキョーニヒ氏は先づ植物性脂肪又は油類の検査を施し尙ほ其成績陰性なる場合には更に動物性脂肪の鑑識を行ふものとせり。然れども之等の試験たるや其方法甚複雑多煩にして多くの試料と時日とを要し本調査の場合の如き状態に於ては到底満足に施行し能はざるや勿論なりとす。故に本調査に於ては前記數項の試験成績に徴し極めて概略的に牛酪脂肪の純度を決定するを以て目的とする程度に止むる事とせり。但し椰子脂に關してはライヘルトマイスル數と共に容易にポレンスケ數を検定し得るを以て同時に之を検定し以て判定の一助たらしめたり。又胡麻油及綿實油は簡單なる呈色反應により容易に鑑識し得るを以て成績不良品に就てのみ之を検したり。其他一般植物油に對する種々の呈色反應ありと雖も何れも信賴するに足るべき結果を與へざりしを以て之を施行せざりき。

今參考の爲め食用動植物油脂の屈折計數、鹼化數、ライヘルトマイスル數等を列擧すれば次の如し（獨逸衛生局發表食用油脂類検査法に據る）

第 六 表

脂肪の種類	屈折計數	鹼化數	ライヘルトマイスル數	ポレンスケ數
牛 酪	39.4~46.0	219~233	24~34	1.5~3.5
オレオマルガリン	47.5~49.5	193~198	0.1~0.7	
豚脂シユマルツ	48.5~52.0	193~198	0.3~0.9	
牛 脂	46.0~48.5	193~198	0.1~0.6	
羊 脂	46.0~48.5	192~198	0.1~1.2	
鷓鴣脂シユマルツ	50.0~54.0	184~198	0.2~1.0	
オリーブ油	59.3~63.6 (25°)	187~193	0.3~1.5	
落花生油	62.6~67.5 (25°)	187~189	0.5~1.6	
胡 麻 油	66.2~69.2 (25°)	187~193	0.2~0.5	

罌粟油	71.0~74.5 (25°)	189~198		
綿實油	65.0~69.4 (25°)	191~198	0.4~0.6	
菜種油	58.5~59.2	168~179	0.2~0.7	
亞麻仁油	81~87.5 (25°)	187~195		
椰子脂	33.5~36.3	254~262	6~8.5	16.8~18.2
棕櫚脂	36~39	242~252	4~7	8.5~11

五. 試験成績

本試験に當り本邦産標準牛酪の品質を知悉する必要を認めたるを以て農林省畜産試験場製純良バターを入手し之に就き各檢體と同様に試験し以て品質及其他の判定に資せり。今上記試験法に従ひ試験せる成績を示せば次の如し。

甲. 普通成分及異性色素試験成績

第七表

(A) 内國製品

檢體番號	名稱	外觀	臭味	酸度	異性色素	一般成分						
						水分	脂肪	蛋白質	乳糖	礦物質	食鹽	合計
畜産試験場製純良バター	黄. 緻密	良	1.73	檢出せず	11.59	85.67	0.48	0.65	1.49	1.40	99.88	
1 食卓用バター	淡黄. 稍緻密	"	2.71	"	12.55	85.12	0.35	0.51	1.31	1.22	99.84	
2 "	"	"	3.20	"	12.28	85.31	0.35	0.54	1.40	1.37	99.83	
3 "	"	"	2.49	"	12.79	84.64	0.31	0.46	1.53	1.43	99.73	
4 "	"	"	2.34	"	14.20	83.14	0.32	0.43	1.71	1.64	99.80	
5 "	"	"	2.56	"	11.34	86.00	0.50	0.45	0.92	0.83	99.21	
6 クロバー印北海道バター	"	鹹味弱	2.38	"	14.82	82.18	0.30	0.33	2.10	2.04	99.78	
7 北海道雪印バター	黄. 稍緻密	"	2.58	"	13.50	84.06	0.30	0.43	1.46	1.37	99.75	
8 "	"	"	3.27	"	13.73	83.80	0.31	0.47	1.44	1.36	99.75	
9 "	"	"	3.41	"	13.21	83.86	0.45	0.93	1.18	1.40	99.93	
10 "	"	"	3.15	"	11.03	86.77	0.35	0.46	1.12	1.01	99.73	
11 "	"	"	3.36	"	12.31	85.16	0.45	0.56	1.47	1.40	99.95	
12 北海道雪印バター	淡黄. 緻密	"	2.54	"	13.26	83.91	0.53	0.86	1.4	1.32	99.96	
13 ナショナル印北海道バター	黄. 緻密	"	3.42	"	14.13	83.31	0.46	0.45	1.3	1.21	99.95	
14 食卓用家庭向北海道生バター	淡黄. 緻密	"	3.50	"	9.84	88.04	0.44	0.37	1.29	1.20	99.98	
15 バター	"	不 (陳敗性臭)	4.11	"	13.45	83.54	0.44	0.33	1.25	1.10	99.06	
16 星三印バター	帶黄白. 緻密	良	1.75	"	13.66	83.65	0.30	0.51	1.26	1.18	99.38	

17	食用バター	淡黄、緻密	良	2.20	検出せず	12.47	84.05	0.31	0.30	2.00	1.94	99.13
18	楓印バター	黄、稍結晶性、稍柔軟	"	4.11	"	8.74	89.58	0.35	0.30	1.01	0.91	99.98
19	星印バター	淡黄、稍緻密	"	2.25	"	12.65	85.27	0.40	0.40	1.22	1.15	99.94
20	極東バター	"	"	2.50	"	13.77	83.35	0.38	0.42	2.03	1.97	99.95
21	"	"	"	2.43	"	8.54	89.12	0.30	0.57	1.41	1.31	99.94
22	金線印バター	"	"	2.22	"	13.25	84.33	0.39	0.52	1.44	1.36	99.98
23	金鷄バター	淡黄、緻密	"	2.23	"	13.48	84.30	0.37	0.39	1.44	1.35	99.98
24	北海道製バター	淡黄、稍緻密	"	3.75	"	10.73	85.74	0.48	0.60	1.71	1.62	99.26
25	バター	黄、緻密	"	3.26	タール色有素含有	12.93	85.20	0.33	0.31	1.16	1.60	99.96
26	森永バター	帯黄白、緻密、切斷面に水滴多し	"	3.38	検出せず	14.40	81.57	0.40	0.75	2.55	2.50	99.67
27	"	淡黄、緻密	"	2.57	"	14.03	84.04	0.35	0.44	1.03	0.90	99.92
28	バター	黄、緻密	良	3.50	"	13.76	85.09	0.39	0.55	0.09	0	99.79
29	明治無鹽バター	黄、紫微色、緻密	鹹味なし、良	4.00	"	12.35	86.39	0.47	0.60	0.06	0	99.87
30	明治含鹽バター	淡黄、緻密	鹹味弱、良	3.11	"	11.10	87.32	0.38	0.49	0.63	0.55	99.12
31	明治バター	黄、緻密	鹹味弱、良	3.34	"	11.14	86.05	0.59	0.74	0.72	0.65	99.54
32	"	淡黄、緻密	鹹味弱、良	4.77	タール色有素含有	12.91	84.77	0.29	0.57	1.44	1.40	99.98
33	バター	淡黄、稍緻密	良	3.20	検出せず	13.46	83.54	0.34	0.43	2.17	2.11	99.94
34	加鹽バター	黄、稍緻密	良	3.75	"	13.85	84.19	0.30	0.90	0.52	0.46	99.76
35	無鹽バター	帯黄白、稍緻密	鹹味弱、良	1.84	"	13.92	85.10	0.34	0.48	0.03	0	99.87
36	バター	黄、稍緻密	鹹味弱、良	4.52	"	11.92	86.60	0.44	0.33	0.51	0.45	99.55
37	旗矢印特製バター	淡黄、緻密、褐色微を生成す	鹹味弱、良	4.50	"	11.90	86.14	0.50	0.63	0.79	0.70	99.96
38	大鳥バター	淡紫微色の微を生成す	"	4.02	"	13.61	84.23	0.32	0.30	1.45	1.42	99.96
39	バター	淡黄柔軟稍結晶性	不	5.40	"	11.66	86.60	0.43	0.48	0.76	0.69	99.93
40	ゼーゼルバター	"	良	2.44	タール色有素含有	10.10	86.44	0.42	0.29	2.43	2.49	99.73
41	"	"	稍不良	4.35	"	13.87	83.00	0.30	0.51	2.62	1.87	99.70
42	"	"	"	-	-	-	-	-	-	-	-	-
43	"	"	"	-	-	-	-	-	-	-	-	-
44	子安バター	帯黄白、緻密	良	3.54	検出せず	12.82	84.33	0.48	0.57	1.63	1.50	99.88
45	ゴールデンライオンバター	帯黄白、結晶性	不	8.23	"	14.74	81.95	0.21	0.08	2.91	2.53	99.89
46	シルバンライオンバター	淡黄、結晶性	"	-	"	-	-	-	-	-	-	-
47	"	"	"	-	"	-	-	-	-	-	-	-
48	"	"	"	3.18	"	12.31	85.27	0.06	0.23	2.06	1.95	99.93
49	バター	帯黄白、稍緻密	良	1.48	"	9.01	88.25	0.48	0.45	1.73	1.64	99.97
50	無色バター	類白色、稍緻密	"	2.81	"	8.40	88.55	0.31	0.91	1.73	1.64	99.90
51	バター	黄、稍緻密	"	2.50	タール色有素含有	16.50	81.16	0.40	0.35	1.01	0.94	99.42

52	フレツシユ バ タ	黄. 稍 緻 密	稍 不 良 (稍エステル)	5.70	検出せず	7.11	88.55	0.41	0.72	3.16	2.98	99.95
53	花印バタ	淡黄. 稍 緻 密	良	2.69	"	10.73	86.15	0.60	0.33	2.10	1.99	99.91
54	バ タ	"	"	2.54	"	11.18	85.30	0.38	0.37	2.48	2.40	99.71
55	鹽入バタ	帶黄白. 稍 緻 密 紫色微生 切斷面に水滴多し	稍 不 良 (稍エステル)	4.86	"	15.24	83.44	0.32	0.88	0.10	0	99.98
56	バ タ	黄. 柔 軟	稍 不 良 (稍腺敗臭)	1.16	タール色 素含有	10.33	87.80	0	0.16	1.61	1.59	99.90
57	特製バタ	帶黄白. 稍 緻 密	良	1.99	検出せず	14.45	83.83	0.58	0.90	0.03	0	99.84
58	純良バタ	淡黄. 稍 緻 密	"	2.54	"	11.69	85.73	0.51	0.41	1.33	1.30	99.72
59	三島バタ	"	"	2.65	"	10.59	87.11	0.39	0.49	1.32	1.25	99.90
60	バ タ	"	"	2.73	"	11.09	87.10	0.36	0.45	0.78	0.73	99.78
61	"	"	稍 不 良 (稍腺敗性臭)	4.41	"	12.83	84.25	0.45	0.30	1.98	1.80	99.86
62	"	帶黄白. 稍 結 晶 性	鹹 味 弱 良	3.28	"	6.89	90.86	0.57	0.90	0.51	0.40	99.64
63	"	帶黄白. 稍 緻 密	良	3.12	"	12.29	85.48	0.38	0.91	0.52	0.41	99.58
64	生バタ	淡黄. 緻 密	鹹 味 弱 良	4.10	"	13.80	85.44	0.29	0.40	0.05	0	99.98
65	フジクリ リーバタ	帶黄白. 稍 結 晶 性	稍 不 良 (腺敗性臭)	2.30	"	20.34	76.79	0.50	0.46	1.53	1.50	99.65
66	七塚バタ	黄. 緻 密	鹹 味 弱 良	2.96	"	63.6	91.20	0.30	0.85	0.80	0.74	99.51
67	フレツシユ 飛行機印	淡黄. 稍 緻 密 切斷面に水滴多し	良	3.60	"	13.50	83.14	0.27	0.52	2.53	2.47	99.93
68	純良バタ	淡黄. 稍 緻 密	"	1.98	"	11.62	85.65	0.53	0.83	1.31	1.22	99.94
69	エビスバタ	淡黄. 稍 緻 密 切斷面に水滴あり	"	2.97	"	10.40	87.10	0.32	0.82	1.33	1.28	99.97
70	純良バタ	帶黄白. 緻 密	"	1.63	"	12.20	84.92	0.51	0.39	1.90	1.81	99.92
71	千代田バタ	淡黄. 結 晶 性	不 良 (異臭)	2.56	—	33.08	62.51	0.07	0.43	3.25	3.10	99.34
72	"	"	"	—	タール色 素含有	—	—	—	—	—	—	—
	最	大	量	8.23	—	33.08	91.20	0.89	0.91	3.25	3.10	—
	最	小	量	1.16	—	6.36	62.50	0	0.08	0.03	0	—
	平	均	量	3.20	—	12.63	84.84	0.38	0.52	1.39	1.29	—

(B) 外國製品

檢 體 番 號	名 稱	外 觀	臭 味	酸 度	異 性 色 素	一 般 成 分						
						水 分	脂 肪	蛋 白 質	乳 糖	鐵 物 質	食 鹽	合 計
73	ハンヂー バ タ	淡黄. 緻 密	良	1.16	検出せず	14.31	82.73	0.35	0.56	2.05	1.97	99.90
74	"	"	"	3.85	タール色 素含有	15.06	82.01	0.33	0.59	1.89	1.83	99.88
75	シャム バ タ	"	"	2.60	検出せず	14.40	82.50	0.33	0.62	2.08	1.98	99.93
76	"	"	"	1.14	"	14.28	82.45	0.40	0.84	2.00	1.90	99.97
77	ウツド バ タ	帶黄白. 緻 密 切斷面に水滴あり	"	2.41	"	13.73	82.29	0.42	0.70	2.55	2.35	99.69
78	バ タ	淡黄. 稍 緻 密	"	3.01	"	15.23	81.53	0.53	0.45	2.05	1.90	99.82

79	フラザー バター	黄、緻密 淡黄、緻密	良	2.99	タール色 素含有	11.47	85.75	0.50	0.78	1.25	1.12	99.75
80	ビーヤ バター	淡黄、緻密 切断面に水滴多し	"	3.23	検出せず	14.13	83.43	0.36	0.22	1.78	1.72	99.92
81	ゴール バター	淡黄、結晶性	"	2.14	"	15.12	81.22	0.47	0.42	2.72	2.62	99.95
82	"	"	"	2.26	"	15.83	79.83	0.39	0.69	3.08	2.96	99.87
83	"	"	"	2.12	—	15.55	81.09	0.40	0.57	2.29	2.29	99.90
44	エーコン バター	黄、緻密	"	3.31	検出せず	14.07	83.05	0.51	0.45	1.80	1.75	99.83
85	"	"	"	3.20	"	13.55	83.52	0.50	0.35	1.74	1.62	99.66
86	"	"	"	1.32	"	15.11	82.40	0.40	0.30	1.76	1.65	99.97
87	"	"	"	3.35	"	14.94	81.87	0.50	0.46	1.94	1.88	99.71
	最	大	量	3.85	—	15.88	85.75	0.53	0.84	3.08	2.96	—
	最	小	量	1.14	—	11.47	79.83	0.33	0.22	1.25	1.12	—
	平	均	量	2.54	—	14.46	82.38	0.43	0.53	2.06	1.96	—

(C) 内 外 不 明 品

検 體 番 號	名 稱	外 觀	臭 味	酸 度	異 性 色 素	一 般 成 分						
						水 分	脂 肪	蛋 白 質	乳 糖	礦 物 質	食 鹽	合 計
88	日 蝕 バ タ ー	帶黄白、結晶性	不 良 (腥敗性臭)	5.10	検出せず	13.18	82.76	0.52	0.65	2.14	2.05	99.25
89	"	"	"	6.80	"	14.10	83.33	0.42	0.59	1.47	1.36	99.91
90	ベリカン バター	帶黄白、柔軟性	不 良 (異 臭)	—	"	—	—	—	—	—	—	—
91	"	"	"	3.55	—	15.02	83.24	0.04	0.19	1.31	1.23	99.80
92	"	"	"	3.95	—	13.33	84.42	0.05	0.20	1.37	1.30	99.37
93	"	"	"	—	検出せず	—	—	—	—	—	—	—
94	クラウン バター	黄、結晶性	不 良 (酸 敗 臭)	12.21	"	14.23	81.02	0.77	0.49	2.64	2.54	99.20

備 考 硼酸は各検體共に之を検出せざりしを以て便宜上掲載を省略せり

乙. 牛 酪 脂 肪 試 験 成 績

第 八 表

(A) 内 國 製 品

番 號	名 稱	熔 融 の 状 態	匙 法	屈 折 計 数	鹼 化 数	ライヘル トマイス ル 数	ボレンス ケ ー 数	ユツケナ ツク 差 数	フアル ン ス タ イ ネ ル 数
番 外	畜産試験場製 純良バター	澄 明	良	42.3	229.5	30.0	3.0	+0.5	195.9
1	クロン 食卓バター	少しく潤濁す	"	42.8	229.0	27.0	3.0	-2.0	198.7
2	"	殆ど澄明	"	43.6	229.5	31.5	2.1	+2.0	194.2

3	クローバー印 食卓バター	微濁	良	44.8	225.0	26.3	2.1	+1.3	195.6
4	"	澄明	"	43.8	228.0	27.3	2.0	-0.7	197.4
5	"	"	"	42.9	229.0	26.3	2.7	-2.7	193.6
6	クローバー印 北海道バター	"	"	42.7	229.1	27.7	2.8	-1.4	198.1
7	雪印 北海道バター	"	"	43.5	226.2	28.5	2.3	+2.3	194.3
8	"	"	"	43.9	226.4	23.7	2.0	+2.3	194.2
9	"	"	"	43.4	226.7	27.8	2.4	+1.1	195.5
10	"	"	稍不良	44.0	223.5	26.8	1.7	+3.3	203.7
11	"	"	良	43.7	225.0	23.2	2.1	+3.3	193.4
12	北海道 雪印バター	"	稍不良	43.5	230.6	28.6	2.4	-2.0	198.7
13	ナショナル印 北海道バター	"	良	42.9	226.1	26.4	3.5	+0.3	196.5
14	食卓用家庭向 北海道生バター	殆ど澄明	稍不良	43.8	227.0	29.4	2.3	+2.4	194.1
15	バター	澄明	良	44.1	224.3	26.4	2.0	+2.1	194.7
16	星三印バター	"	"	43.4	229.0	26.8	2.6	-2.2	199.0
17	食用バター	"	"	43.6	228.4	27.7	2.7	-0.7	197.4
18	楓印バター	"	"	45.5	220.3	25.7	2.1	+5.4	191.5
19	星印バター	"	"	42.3	231.5	23.1	3.0	-3.4	200.0
20	極東バター	"	"	42.2	230.5	27.6	2.3	-2.9	199.6
21	"	殆ど明	"	43.0	227.4	28.7	3.3	+1.3	195.6
22	金線印バター	澄明	"	42.3	232.0	28.1	3.0	-3.9	203.5
23	金鵝バター	"	"	42.4	229.9	27.5	3.5	-2.4	198.2
24	北海道バター	"	"	42.3	變敗せるため試験を施行することを得ず				
25	バター	"	"	44.2	225.0	26.4	2.1	+1.4	195.4
26	森永バター	"	"	42.0	226.6	29.0	3.0	+2.4	194.1
27	"	"	"	42.2	228.6	27.8	2.7	-0.8	197.5
28	バター	"	"	42.3	230.7	27.0	3.2	-3.7	200.5
29	明治無鹽バター	"	"	43.0	228.8	26.5	2.5	-2.3	199.1
30	明治含鹽バター	"	"	42.7	229.0	26.0	2.5	-3.0	199.0
31	明治バター	"	"	43.1	223.9	23.4	2.9	-0.5	197.1
32	"	"	"	43.5	226.0	27.7	3.1	+1.4	194.9
33	バター	"	"	42.6	227.8	26.8	2.9	-1.0	197.6
34	加鹽バター	殆ど澄明	"	42.8	225.7	28.1	4.0	+2.4	194.2
35	無鹽バター	澄明	"	43.2	223.5	27.0	2.7	+3.5	193.3
36	バター	"	"	43.1	230.5	32.0	2.8	+2.0	194.7
37	旗矢印 特製バター	"	少しく不良	43.6	227.8	27.0	2.1	-0.8	197.5

33	大 島 バ タ ー	澄	明	少しく不良	43.7	225.0	25.5	1.8	+0.5	196.4
39	バ タ ー	微		"	44.0	218.2	21.3	2.4	+3.1	194.3
40	ゼー.エー.ビー ゼルシーバター	"		良	43.2	224.0	19.3	3.9	-4.7	202.4
41	"	—		—	—	—	—	—	—	—
42	"	殆ど	澄 明	良	43.0	225.7	21.6	2.4	-4.1	201.5
43	"	—		—	—	—	—	—	—	—
44	子 安 バ タ ー	微	濁	良	43.9	223.0	26.5	2.7	-1.5	198.3
45	ゴールデンライ オンバター	強	濁	少しく不良	40.5	239.7	15.5	6.5	-15.2	213.3
46	シール オンバター	"		不 良	48.5	209.0	10.5	2.6	+1.5	197.2
47	"	"		"	46.3	211.5	10.5	2.0	-1.0	199.7
48	"	—		—	—	—	—	—	—	—
49	バ タ ー	澄	明	良	43.0	226.3	26.4	2.4	+0.1	196.7
50	無 色 バ タ ー	殆ど	明	"	45.4	219.0	23.5	1.7	+4.5	192.7
51	バ タ ー	澄	明	"	42.1	220.3	27.5	2.1	+6.7	190.9
52	フ レ ッ シ ュ バ タ ー	"		"	43.6	變敗せるため試験を施行することを得ず				
53	花 印 バ タ ー	"		"	43.7	227.8	27.5	2.5	-0.3	137.9
54	バ タ ー	"		"	43.9	227.6	27.3	2.3	-0.2	157.9
55	鹽 入 バ タ ー	"		"	43.6	225.7	23.1	2.0	+2.4	204.2
56	バ タ ー	強	濁	不 良	54.5	193.5	1.3	1.9	+7.8	192.0
57	特 製 バ タ ー	澄	明	良	41.8	225.0	25.2	2.4	+0.2	196.3
58	純 良 バ タ ー	"		"	43.6	223.4	27.7	2.7	-0.7	197.4
59	三 島 バ タ ー	"		"	42.4	227.8	29.4	3.0	+1.6	194.9
60	バ タ ー	"		"	43.0	227.3	23.7	3.0	+1.4	195.1
61	"	"		"	42.8	227.6	29.8	3.1	+2.2	194.2
62	"	"		"	44.7	215.2	22.5	2.9	+7.3	190.0
63	"	"		"	43.3	222.6	23.1	2.2	+5.5	191.1
64	生 バ タ ー	"		少しく不良	43.9	229.4	29.3	2.7	-0.1	186.6
65	フジクリーム バター	濁		良	45.0	218.0	23.5	1.4	+5.5	191.7
66	七 塚 バ タ ー	澄	明	"	43.9	227.4	29.5	2.7	+2.1	194.4
67	フ レ ッ シ ュ バ タ ー	"		"	44.1	224.6	24.6	2.6	0	197.9
68	飛行機印 純良バター	"		少しく不良	44.6	222.5	25.0	1.5	+2.5	194.5
69	エビスバター	"		良	44.5	222.7	26.3	2.1	+3.6	193.3
70	純 良 バ タ ー	"		"	43.1	227.0	23.2	3.1	+1.2	195.4
71	千代田バター	殆ど	澄 明	"	44.7	221.7	22.4	3.7	+0.7	196.6
72	"	—		—	—	—	—	—	—	—

最	大	量	545	232.0	32.0	1.4	+7.8	213.3
最	小	量	405	283.5	1.3	6.5	-15.3	190.0
平	均	量	44.2	228.8	26.4	2.7	—	199.6

(B) 外国製品

番號	名 稱	熔融の状態	匙 法	屈 折 計 數	鹼化數	ライヘル トマイス ル數	ポ ス レ ン 數	ユッケナ ツク差數	フアル ン ス タ イ ネ ル 數
73	ハンヂーパツ ター	微 濁	良	43.8	227.5	27.5	2.5	0	196.7
74	"	殆ど澄明	"	43.8	227.5	28.4	2.1	+0.9	195.7
75	シャムロッ ク	澄 明	"	44.2	223.3	23.1	2.5	-0.7	197.3
76	"	"	"	43.6	223.8	27.4	2.1	+0.6	196.1
77	ウツドラ ン	微 濁	"	42.9	229.2	27.6	2.5	-1.6	198.3
78	バ タ	"	"	43.8	223.5	27.0	2.6	-1.5	198.3
79	フラザーパ レ	澄 明	"	43.3	227.1	26.5	2.3	-0.6	197.4
80	バビアー タ	"	"	43.5	229.2	23.9	2.9	-0.3	196.8
81	ゴートル デン	微 濁	少しく不良	42.5	231.5	23.6	3.0	-2.9	199.0
82	"	澄 明	"	42.6	230.0	27.5	2.3	-2.5	199.2
83	"	"	"	42.5	230.8	23.0	2.9	-2.8	199.4
84	エーコン パター	少しく濁濁	良	43.9	227.5	31.0	3.1	+3.5	193.5
85	"	"	少しく不良	44.1	226.0	23.5	2.3	+2.5	194.1
86	"	"	"	43.9	228.2	31.2	3.2	+3.0	193.3
87	"	"	"	44.4	225.1	26.2	2.3	+1.1	195.7
	最	大	量	44.4	231.5	31.2	3.2	+3.5	199.4
	最	小	量	42.5	225.1	26.2	2.1	-2.9	193.3
	平	均	量	43.6	228.3	28.2	2.6	—	196.7

(C) 内外不明品

番號	名 稱	熔融の状態	匙 法	屈 折 計 數	鹼化數	ライヘル トマイス ル數	ポ ス レ ン 數	ユッケナ ツク差數	フアル ン ス タ イ ネ ル 數
88	日蝕パ ター	殆ど澄明	不 良	43.1	227.0	26.2	2.4	-0.3	197.5
89	"	"	"	43.0	227.4	26.5	2.7	-0.9	197.7
90	ベリカン 印	強 濁	"	47.3	213.0	14.1	4.7	+1.1	197.2
91	"	—	—	—	—	—	—	—	—
92	"	—	—	—	—	—	—	—	—
93	"	強 濁	不 良	46.7	225.0	8.7	3.1	-16.3	215.2
94	クラウン パター	微 濁	良	42.6	230.0	29.6	3.3	-0.4	193.3

六. 考察及結論

前記各試験項目の成績に就き考察し次で総合的判定を下せば次の如し。

一. 外観 牛酪は其製造當初は却つて光澤なく3,4ヶ月以上経過するに従ひ之を生ずるに至ると云ふ畜産試験場製品も亦實に同様の關係を示せり。然るに各檢體は何れも相當の時日之を貯藏せしを以て此光澤の如何によりて其新陳を鑑識すること能はざりしは又止むを得ざる所なりき。而して檢體第18, 39~43, 45~48, 62, 65, 71~72(以上内國品), 81~83(外國品), 88~89及94號(不明品)の20箇は何れも結晶性を呈し其内罐詰品16箇, 硝子壺入1箇, 厚紙入1箇, 木箱入2箇にして之等製品中罐詰品の外は製造の際少くとも一度熔融せしめたる疑あるものと認むべく罐詰品は熔融製品を詰めたるか或は貯藏の際高氣温によりて自然に熔融せしものなるべし。而して此等結晶性製品の内第39~43, 45~48, 62及65號は脂肪試験の結果異種脂肪含有の疑を示すことは液狀脂肪混入による結果を暗示するに足るべく甚だしく柔軟なるものも亦同様の關係を示せり。即ち檢體第39~43, 56號(以上内國品), 90~93號(不明品)の如し。尚ほ第81~83及88~89號は泡起狀態試験に於ても亦複製牛酪の疑を示せり。次に檢體第26, 55, 67, 69, 77及80號の6箇は其切斷面に水滴を認めたり之れ其製造に際し捏合等不充分なりしを示すものと云ふを得べし。第29, 37~38及55號の4箇は既に黴を發生せり。

二. 臭味及酸度 檢體第15, 29, 32, 36~39, 41~43, 45~48, 52, 55~56, 61, 65, 71~72號(以上内國品), 88~94號(不明品)の23箇は何れも異常の臭氣を有し味亦良好ならず其酸度も多くは之と平行して4度以上を示し第39, 52, 及88號は5~6度, 第89號は6.8度, 第45號は8.2度, 第94號は12.2度に及べり。

三. 水分 無鹽バターと認むべき6箇の檢體は其水分12.35~15.24%にして10%未滿のもの8箇を算し獨逸法令による加鹽バターの含水限界量(16%)を超過するもの3箇(第51, 65及71號)を認む殊に第71號の如きは30%の多きに及べり本品は此點に於ても不良品たるは論を俟たず。

四. 脂肪量 脂肪含量80%未滿のものは内國製品2種(第65及71號)外國製品1種(第80號)にして其他は何れも80%以上なるを以て一見甚だ良好の成績を示せるが如

しと雖も其脂肪たるや果して牛乳脂肪のみなるや否やを考慮せざる可らざるを以て直ちに是非を論じ難きは言を俟たず。

五. 蛋白質及乳糖量 之を従來の試験成績に比較するときは概して稍少量の傾向あるを認む之れ或は牛酪製造上の進歩によるものと云ふべきか。然れども兩者共に或は其一の含量餘りに僅微なるものは却つて往々異種脂肪混和によることあるを以て注意を要すべき點なりとす。即ち檢體第45, 56及71號の如きは何れも異種脂肪鑑識試験成績に徴しマルガリン又は偽和質造の疑を有せしむ。

六. 礦物質及食鹽 灰分の含量は食鹽の含量に従ひ異なるは當然なりと云ふべし。食鹽含量2%を超過せるものは第6, 26, 33, 40, 45, 52, 54, 71號(以上内國品), 77, 81~83號(外國品), 88及94號(不明品)の15箇に及べり。

七. 防腐劑 檢體量及其他の關係によりて専ら硼酸のみを試験せしに之を含有するもの一も發見せざりき。

八. 異性色素 テール色素含有を認めたるものは第24, 32, 40~41, 51, 56, 72, 號(以上内國品), 74及79號(外國品)の9箇なり。而して之れが試験成績によれば檢出せる色素の多くはバクエロー及エロー AB の2種にして是を單獨に又は混合して使用せるものゝ如きも前述の如く正規の分離法を施し得ざりしを以て前記成績表中には單にテール色素の存否のみを掲記せり。

九. 異種脂肪 先づ理學的試験即ち熔融狀態, 泡起狀態及屈折計數の成績に就きて看るに

(イ) 熔融狀態に於て不良を示せるものは第45~47, 56, 65號(以上内國品), 90及93號(不明品)の7箇にして其他第1及84~87號の5箇も亦少しく不良を示せり次に

(ロ) 泡起試験に於ては第46~47, 56, 88~90 及93號の7箇不良にして其他第10, 12, 14, 37~39, 45, 64, 68號(内國品), 81~83, 85~87號(外國品)も亦稍不良に傾けり。

(ハ) 屈折計數に於て前記獨逸衛生局發表の標準限度外にあるものは檢體第46~47, 56, 90及93號の5箇にして異種脂肪混在の疑顯著なり。パウメルト⁽⁷⁾氏の標準に従へば第18, 50及65號も亦稍其疑あり而して第50及65號は之を他の理化學的試験の成績と對

照するに多くは不良を示し善く一致するを認むべく之より觀れば同氏の標準は嚴酷に失するものと稱し難きが如し。

以上屈折計數に於て不純を示せる各檢體は何れも標準最高限度を超過せるを以て此點よりすれば椰子脂夾雜の徵候を認め難きも第93號の如きは化學的試験に於て其疑濃厚にして甚だしき矛盾を來せり其原因奈邊にあるや全く不明なり。斯くして物理的試験に於て何れも不良を示せるものは第46~47, 56, 90及93號の5箇なりとす。

次に脂肪の化學的試験成績に就きて考察すれば次の如し。

(ニ) 鹼化數に於ては第46及56號は210未滿にして異種脂肪含有の徵最も著しく第47, 62及90號も亦其疑を存せしむべし第39及65號は僅かに限度に達せず。

(ホ) ライヘルトマイスル數は第40, 45~47, 56, 90及93號の7箇共に20.0未滿を示し異種脂肪混在の徵と認むべし第39, 42, 62及71號も亦稍其疑を懐かしむるに足るべく第50及65號も亦標準數値に達せず。

(ヘ) ポレンスケ數は椰子脂に在りては16.8~18.2(棕櫚脂は8.5~11)を示す從つて之等の油脂を夾雜せる牛酪の本定數は著しく上昇すべし。即ち之を本試験の成績に徵するに檢體第45號は6.5を示し之等植物油混在の疑最も濃厚にして第90及34號之に次がり第71號は只僅に限度を超過せるのみ。

(ト) ユッケナック差數は純粹牛酪に在りては殆ど零に近く其限度は前記の如く+4より-4の範圍に在り然るに椰子脂の同差數は-40~-60なるを以て該油にして稍多量夾雜せんか此差數は著しき負値を示すべきなり依て之を本試験の成績に就て看るに檢體第45及93號は共に-15以上なるを以て椰子脂混入の疑を存すべく第18, 51, 56, 62~63及65號も亦+5.4以上を示し異種脂肪夾雜の疑あり第40及42號は共に負値に於て少しく限度外に在り。

(チ) フェルンスタイネル數は純良牛酪に在りては既記の如くなるも時として190~205の間を升降することあり然れども椰子脂に在りては約250を示し兩者の差大なるを以て本定數に於て標準限度を超過すること比較的大なるものは椰子脂混在の疑と認むべきなり依て之を本試験成績に就きて看るに檢體第45及93號は共に本定數213以上なるを以て椰子脂含有の疑あるものと認むるに足るべく第10, 40, 42及55號は只僅に

限度を超過せるのみなるを以て是非を論し難し。

前記の如く脂肪の理化學的試験に於て判定標準の限度外にあるものは合計26種35箇にして其内單に熔融試験又は匙法に於てのみ不良のもの即ち第1, 84 及 10, 12, 14, 37, 38, 64, 68, 81~83, 88~89號並に兩試験のみ不良のもの即ち第85~87號の如きは他の化學的試験の成績適合範囲内にあるを以て右の結果のみにより直ちに不純品と斷定することを得ざるべく又第10, 18, 34號の如く單に一脂肪定數のみ不適のものは之れ又例外の成績を興へたるものとして直ちに之を不純品と見做すは當を得たるものにあらず。然れども第50及71號の如き本試験中の最も重要なりとする定數に抵觸し且つ爾餘の各試験に於ても殆ど其限度に近き成績を有するものは假令其成績中只1~2項のみ不良なりと雖之を例外品として直ちに看過し能はざるべし。其他成績最も不良にして3項目以上の不適を示すものは異種脂肪を含有し又は之を含有するの疑あるものと認むるを得べきを以て之に屬すべきもの8種11箇に對し更に其不良程度を觀察し之れが等差を判定する事とせり即ち次の如し。

- 甲. 異種脂肪含有の疑あるもの……………第39, 40, 42, 62, 65號(4種)
- 乙. 異種脂肪を多量に含有するものと認むるもの…第45, 46, 47, 90, 93號(3種)
- 丙. マルガリンのみと認むるもの……………第56號(1種)

其他第94號の如き前記脂肪試験の範囲に於ては抵觸すべき點を發見し得ざりしと雖も之れが試験に際し種々の點に於て疑惑の感を深からしめたり。而して之等11種14箇の檢體中第50號を除きては何れも爾餘の品質試験に於ても亦不良の成績を示せり。

檢體第41及43號は第40及42號と、第48號は第47號と、第72號は第71號と又第91及92號は第90及93號と夫々同一種に屬し試料の關係上之を品質試験に供用し脂肪試験は之を省略せしを以て其成績全く不明なるも或は前記の檢體と同様なるにあらざるかを想像せしむ。

上記の脂肪試験たるや判定標準の項に於て述べたるが如く本來豫試験的のものに過ぎざるを以て之が斷然たる決定を下さんには第二段の實證的検査即ち動植物油脂等の證明を行はざる可らず。然れども既述の如く之れが實證法たる醋酸フイトステリン法の如きは多量の試料と長時間とを要するを以て之等の條件を缺除せる今次の試験に於

ては到底不可能の問題たるべきが故に小官等は其手續比較的簡單にして少量の檢體を以て迅速に施行し得べき2,3植物油の呈色反應を試み以て疑惑の點を審にせんことを期したり。即ち前記8種11箇竝に第71及94號の如き不審品に就き胡麻油（ボーゼン反應, ソルチエン反應), 綿實油（ハルフェン反應), 落花生油（ホルデ氏法）及菜種油（ホルデ氏法）の鑑識を行ひたるに胡麻油は各檢體全部陰性を示し綿實油は第91及93號に於て著明の反應を呈し第71, 72及94號も亦稍著明に反應せり。落花生油の試験は之を含有せざる純牛酪に在りても亦類似反應を呈し其識別困難にして判明せざりき菜種油は何れも疑はしき反應を呈するものを認めざりき。

以上の外植物油一般の呈色反應たるベリール反應及ウェルマン反應等を試験せんとしたるも純牛酪と植物油混和のものとの區別判明せざりしを以て之を省略せり。尙ほ椰子脂は前述の如くポレンスケ數, ユッケナック差數及ファルンスタイネル數によりて共存するや否やを察知せしむるを以て其他の試験は之を施行せざりき斯くして各檢體の脂肪の理化學的試験の成績を通覽すれば第45及93號は椰子脂混入の疑を懐かしむるに充分なるも其他の檢體にして不良の成績を示せるものは只異種脂肪含有の徴候を認めしむるに足るのみなり。

敍上脂肪試験に於て不純品として指摘せる11種14箇以外の檢體中爾他の品質試験に於て不良を示せるものは第6, 18, 25, 26, 29, 32~34, 36~38, 41, 43, 48, 51, 52, 54, 55, 67, 69, 72, 74, 77, 79~83, 88, 89, 91及92號の27種32箇にして之等の内第41, 43, 48, 72, 91及92號の4種6箇は脂肪試験を缺除せるものにして前述の理由により其脂肪分不純と見做して之を控除するときは23種26箇の不良品を認むべし。

上記各試験に於て不良乃至不適と認めたるものに就き試験項目及檢體種類及箇數等を表示すれば次の如し:

第九表

不適項目	内國製品				外國製品				内外不明品			
	試験せる種類	試験せる検體筒數	不良検體種類	不良検體筒數	試験せる種類	試験せる検體筒數	不良検體種類	不良検體筒數	試験せる種類	試験せる検體筒數	不良検體種類	不良検體筒數
外觀	54	72	16	22	8	15	3	5	3	7	3	7
結晶性を帯べるもの	54	72	8	14	8	15	1	3	3	7	2	3
切断面に水滴を生ぜるもの	54	72	4	4	8	15	2	2	3	7	0	0
微を生ぜるもの	54	72	4	4	8	15	0	0	3	7	0	0
柔軟に過ぎるもの	54	72	4	7	8	15	0	0	3	7	1	4
臭味	54	72	16	21	8	15	0	0	3	7	3	7
酸度 (5.0以上のもの)	54	67	3	3	8	15	0	0	3	5	2	3
酸度 (8.0以上のもの)	54	67	1	1	8	15	0	0	3	5	1	1
水分	54	67	3	3	8	15	0	0	3	5	0	0
脂肪	54	67	2	2	8	15	1	1	3	5	0	0
鹽	54	67	9	9	8	15	2	4	3	5	2	2
蛋白質量 (0.1%未満のもの)	54	67	3	3	8	15	0	0	3	5	1	2
乳糖 (0.1%未満のもの)	54	67	1	1	8	15	0	0	3	5	0	0
テール色素	54	69	6	7	8	15	2	2	3	5	0	0
熔融状態	54	68	5	6	8	15	1	4	3	5	1	2
泡起状態	54	68	11	12	8	15	2	6	3	5	1	2
屈折計數	54	68	2	3	8	15	0	0	3	5	1	2
鹼化數	54	68	5	6	8	15	0	0	3	5	1	1
ライヘルト數	54	63	11	13	8	15	0	0	3	5	1	2
マイスルケ數	54	63	10	10	8	15	1	2	3	5	2	3
ポレンスケ數	54	63	10	10	8	15	1	2	3	5	2	3
ユッケナック差數	54	63	9	10	8	15	0	0	3	5	1	1
ファルネルス數	54	63	3	4	8	15	0	0	3	5	1	1

之を要するに檢體中内國製品は外國製品に比し劣惡品乃至質造品多きを認めざるを得ず不明品は其製造元として外國名を冠するも甚だ怪むべき點あり恐らく内國製品なるべきを思考せしむ而して之を内國品中に加算するときは益々不良品を増加するのみなり。

七. 總 括

上記試験成績並考察に基き衛生局より照會に係る調査項目に關し之を總括すること次の如し。

一. 衛生局に於て蒐集せる牛酪65種94箇中異種脂肪を含有し又は含有の疑あるものと認めたるものは11種 (16.9%) 14箇 (14.9%) にして之等の内に於けるものと同一種検體にして試験し得ざるものも亦同様に不純品と見做すときは合計20箇 (21.2%) に達す.

二. 前記不適品は何れも内地製品又は内外不明品にして外國製品中一も之を認めず即ち内國品54種72箇中9種 (16.7%) 11箇 (15.3%) 不明品 3種 7箇中 2種 (66.7%) 3箇 (42.9%) にして前記の如く未檢の同一種検體を不純品と假定するときは内國品15箇 (20.8%) 不明品 5箇 (71.4%) に達す.

三. 脂肪試験にて適品と認むべきものにして爾他の試験に於て不良又は不適品と認定すべきものは内國製品20種 (37.0%) 21箇 (29.2%) 外國製品 5種 (75.0%) 7箇 (46.7%) 不明品 2種 (66.7%) 4箇 (57.1%) にして合計27種 (41.5%) 32箇 (34.0%) に達せり而して之等の内第一項に述べたるが如く脂肪不純品と假定せるものを控除するときは内國品17種 (31.5%) 17箇 (23.6%) 不明品 1種 (33.3%) 2箇 (23.6%) 合計 23種 (35.4%) 26箇 (27.6%) を算す.

四. 右の内脂肪量80%未滿のものは内國製品54種67箇中 2種 (3.7%) 2箇 (3.0%) 外國製品 8種15箇中 1種 (12.5%) 1箇 (6.7%) 合計65種87箇中 3種 (4.6%) 3箇 (3.4%) を算す. 水分16%以上のものは内國製品 3種 (5.6%) 3箇 (4.5%) にして之を試験せる總檢體に對する割合に換算すれば種類に於て 4.6%箇數に於て 3.4%に該當す.

食鹽含量 2%を超過せるものは内國製品 9種 (16.7%) 9箇 (13.4%) 外國製品 2種 (25.0%) 4箇 (26.7%) 内外不明品 3種 5箇中 2種 (66.7%) 2箇 (40.0%) 合計13種 (20.0%) 15箇 (17.2%) なり. テール色素含有のものは内國製品54種69箇中 6種 (11.1%) 7箇 (10.1%) 外國製品 8種14箇中 2種 (25.0%) 2箇 (14.3%) 合計65種88箇中 8種 (12.3%) 9箇 (10.2%) に及べり.

引用文獻

- (1) J. König, Chemie d. menschl. Nahrungs- u. Genussmittel, III B. 2 Teil, 1914.
- (2) A. Burr, Ztschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genussmittel 10, 286, 1905.
- (3) R. W. Cornelson, J. Amer. chem. Soc. 30, 1478, 1908.

-
- (4) E. polenske, Arbeit. aus d. Kaiserl. Gesundheitsamt, 20, 548, 1904.
 - (5) W. Arno'd, Ztschr. f. Unters. d. Nahrungs-u. Genussmitte', 23, 389, 1912.
 - (6) Kaiserl. gesundheitsamt, Entwürfe Z. Festbestimmungen über Lebensmittel, Heft 2, 1912.
 - (7) G. Baumert, Ztschr. f. Unters. f. Nahrungs-u. Genussmitte', 9, 134, 1905.

昭和五年十月

牛乳の滅菌温度と貯藏時間の経過 による變敗試験成績報告

技 師 衣 笠 豊
技 手 服 部 安 藏
技 手 秋 山 勝 治

一. 緒 言

市販牛乳をして公衆衛生上最も安全ならしむる爲には乳牛の疾病に由來する病原菌及毒素、搾乳及容器による汚染、飲用に供せらるゝ迄の變敗並に加熱滅菌等の操作により乳質の受くる影響等各方面より考慮して之れが萬全を期せざる可らず、従つて理想的の牛乳は健全なる乳牛より完全に衛生的條件に適合せる處理法に依りて搾取せる、生乳を可及的短時間内に飲用するにあり、然れども斯の如き方法は乳價を著しく騰貴せしめ歐米諸國に於てすら普遍的に行はれず況んや我國の如き實狀に於ては廣く之を應用し得べきにあらず、結局可及的乳質に影響少き温度に於て加熱滅菌し而かも人體に對して有害なる病原菌を完全に殺滅し且つ飲用に供せらるゝ迄の期間中に於て變敗せざる様冷蔵せざるべからず、而して乳汁本來の成分を比較的毀損することなく而かも病原菌を完全に殺滅し得べき最も適當なる滅菌温度に對し歐米各國の學者によりて種々研究せられたる結果攝氏63° に於て30分間加熱するを以て理想に近きものとせられたるが如し、即ち本法は低温滅菌法中ホルダー法として歐米諸國に於て一般に應用せらるゝ所なり、然れども本滅菌法に在りては乳汁をして無菌状態たらしむるものに非らず單に怖るべき病原菌等に對し實際的に安全性を賦與するものとせられ且つ生乳に比し比較的長期の保存力を有せしむるに止まり之を冷蔵するにあらざれば其品質の絶對的安全を期する能はず、故に之を我國に應用せんか本邦の如き夏季比較的長きに亘り且つ一般家庭に冷蔵装置を備ふるもの少き現狀に於ては往々にして需用者の不注意により變敗乳を飲用し下痢其他の不測の疾病を醸し低温滅菌乳に對し總體的不信

訴ふるの聲あるは屢耳にする所なり斯くして低温滅菌法の勵行は却つて消費者に不安の念を興ふるが如きことあらんか保健衛生上等閑に附すべきにあらず。

從來我國に於ける市乳の滅菌は専ら高温滅菌法に依つて施行せられたるものにして滅菌後常温に於て貯藏するを常とし而かも變敗に對し比較的 safety を期せられたるものなるも近時歐米諸國の制度に倣ひ低温滅菌法を採用するもの多きを見るに至れり然れども本邦の風土、牛乳營業者と消費者との關係、一般人の衛生的觀念、個人の經濟的關係等歐米諸國の夫れと著しく相違せるものあるを以つて他國に於て完全なる成果を擧げつゝある低温滅菌乳の制度と雖も之を其儘直接我國に移し以て圓滿に遂行し得べきや否や大いに考慮を要する問題なりとす。況んや63° 30分間加熱滅菌法によりては結核菌は之を完全に絶滅せしめ得ずとの學說ありて本問題は未だ全く解決せらるゝに至らざる現状に在りては低温滅菌法施行に際し細心の注意を拂ひ以て萬過誤なきを期するにあらざれば國民の保健上一大缺陷を招來せずとも限らざるべし。

牛乳を嬰兒、幼兒又は病弱者に對し唯一の食餌として攝取せしむる場合には細菌學的安全を期すべきは勿論可及的牛乳本來の素質を完備せるものを供給するを要すべく之に對しては前記理想的生乳最も之に適し次で特に結核菌及他の病原菌に對し安全なる新鮮の衛生的低温滅菌乳を推奨すべきなり。然るに斯の如き牛乳は必然的に乳價を昂騰せしむるに至るは亦止むを得ざる所なり而して牛乳中のビタミンC及酵素類等加熱によりて容易に破壊せらるべき成分は之を牛乳以外の飲食物の攝取によりて補給し得べき状態にありて牛乳を單に消化し易き栄養品として飲用するが如き場合に當りては必ずしも前記の如き高價なる生乳又は低温滅菌乳を要せざるべく寧ろ専ら細菌學的安全なる低廉の高温滅菌乳を以て足れりとすべし。斯く論じ來るときは市乳は從來の如き劃一主義よりは少くとも嬰兒及小兒用と一般用との2種類に區別するを優りとせざるを得ず茲に於て歐米先進國にては夙に市乳に等級制を採用せる所以を首肯するに足るべし。

前述の如く低温滅菌乳は滅菌後更に之を冷蔵せざれば變敗し易く殊に夏季に於て一層甚だしきを以て各都市に於て低温滅菌法を制定するに當りても盛夏の期間は特に高温滅菌法を許容するの止むなきを得ざる場合を生ずべく殊に小都市及農村等に於ては

95	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—	2
83~100	—	—	—	1	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	3
100	—	—	1	—	1	—	—	1	—	1	—	—	—	—	1	—	—	—	—	5
120	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	—	—	—	3

備考 本表は3府43縣に亘る調査成績にして各欄に於ける数字は當該加熱溫度及時間を採用せる府縣數を示す

前表を通覽するに80° 30分加熱法を採用せるもの最も多く85° 及90° 30分加熱之に次ぎ70° 未滿のもの10,70° 以上80° 未滿のもの28,80° 以上90° 未滿のもの54,90° 以上95° 未滿のもの21,95° 以上のもの10個所を算せり。今之等種々の溫度に於て種々の時間を以て加熱せる市乳にして加熱後冷却することなく常溫に放置する場合殊に夏季に於て幾何の保存性を有するや又結核菌及大腸菌の殺滅を完全ならしめんが爲め80° 以上に於て30分以上の加熱を要すとせば本邦の風土氣候等に最も適合せる加熱度及時間に関する調査研究は牛乳衛生上最も緊要なる事項の一に屬するものと信せしめたるを以て其第一歩として客年7,8月の酷暑の時期を選び先づ70° に於て30分及1時間竝に80°, 90° 及100° にて各5分, 10分, 20分及30分間滅菌せる牛乳と63° にて30分及1時間滅菌せる牛乳とを滅菌後冷却することなく滅菌直後竝に5時間及10時間室溫に放置せる後之に就き酸度, アルコホル試験, レヅクターゼ及細菌數の變化を検し以て滅菌溫度と時間の経過に由る乳汁變敗の程度を試験したるに次の成績を得たり依て茲に之を報告す。

内務省池田技師も亦客年六月本問題に關聯せる研究を遂行し之れが成績を日本公衆保健協會雜誌第6卷第10號にて發表せり即ち同氏は壘裝したる牛乳をコッホ蒸氣消毒器を用ひ85°, 90° 及95° にて夫々10分, 20分及30分間加熱滅菌を行ひ冷却することなく12時間及17時間経過したる後之等檢乳の細菌數(ブリード法), 酸度及アルコホル反應を検したる結果暑氣劇しき地方に在りては販賣用牛乳は少くとも95° にて20分間壘裝加熱滅菌を行ふを以て公衆衛生上安全なる方法なりと報告せり。

二. 供試乳の採取, 加熱滅菌及貯藏法

1. 供試乳の採取

第1回試験に供用せる牛乳は昭和五年七月三十一日午前4時府下西新井和田牧場に於てホルスタイン種乳牛より搾取せる混合乳にして冷却器を用ひて 22° に冷却したる後同牧場使用の鉄力製運搬罐に容れ可及的迅速に試験室に運搬せり。搾取時より加熱に至るまで約2時間を経過せり。

第2回試験に供用せる牛乳は昭和五年八月十三日午前4時第1回試験と同様に和田牧場より採取せるものにして採取方法及び運搬等の條件は第1回試験と全く同一なり

2. 加熱方法

供試生乳を豫め滅菌せる1合入市乳壺に満盛し之に検温器を挿入して所定の温度及時間加熱し之を滅菌直後の試験に供用し貯藏試験に供用するものは前記検温器の代りに豫め滅菌せる王冠コルク(内側經木)を以て密栓し滅菌直後の試験に供せるものと同時に加熱し 63° 、 70° 、 80° 及 90° を保てる恆温槽竝に 100° の蒸氣滅菌器を使用し所要時間加熱せり。但し所要温度に保てる恆温槽中に同時に數本の供試乳を挿入するときは、浴温著しく降下し供試乳の温度を所要の温度迄上昇せしむるに甚しき長時間を要するを以て最初恆温槽内の温度を所要の温度より約 10° 高からしめ置くときは供試乳の挿入後約10~15分にして目的の温度に達するに依り浴温を調節し一定の温度にて一定時間正確に加熱せり。

100° 加熱乳は蒸氣滅菌器中に於て加熱し 100° に達してより一定時間滅菌を施したる後之を中止し約10分間放置の後滅菌器中より取り出せり。

前記の方法に依り 63° 竝 70° にて30分及1時間、 80° 、 90° 竝 100° にて5分、10分、20分及30分間夫々加熱したる供試乳に就き1は加熱直後他は5時間及10時間室内に滅菌後冷却することなく放置したる後試験せり。而して其の際室温は第1次試験に於ては 27.5° ~ 29.0° 第2次試験に於ては 28.5° ~ 29.5° を示せり。

三. 試験方法

今次の試験に於ては酸度、アルコール、レゾクターゼ及細菌學的試験を施行し以て牛乳の變質判定の参考に資せり。

今小官等の施行せる試験方法を示せば次の如し。

(イ) 酸度 ソクスレット及ヘンケル兩氏法に従ひ檢乳50ccに就き檢定せり。

- (ロ) **アルコール注加試験** ワルク氏法に準據し檢乳10cc に68容量%アルコール10cc を加へ凝固するや否やを検せり。
- (ハ) **レゾクターゼ試験** 米國牛乳標準試験法に準據し檢乳10cc にメチレン青溶液乾燥メチレン青 1.1g を水 500cc に溶解せるもの 1cc を取り水 39cc を加へて稀釋せるもの 1cc を混加し 37° の温湯中にて脱色時間を觀測せり。
- (ニ) **細菌學的試験** 米國協定法に従ひ平板培養を行ひ其聚落數を算定し各檢乳 1cc 中の聚落數を計上せり。

四. 加熱後冷却せざる牛乳の室温貯藏に際し時間の経過と乳温下降の關係

今加熱牛乳を冷却せずして室温に放置するときは加熱温度に依りて夫々一定時間尚ほ餘熱を持続す。而して餘熱尚ほ高温にある時は明かに腐敗菌の繁殖を防止し得べきにより加熱温度と放冷時間の経過による乳温下降の關係は加熱牛乳の保存上重大なる關係を有すべし。

小官等はこの關係を究明せんがため 100°, 90°, 80°, 70° 及 63° に夫々加熱せる牛乳を各放置時間の経過に於ける乳温下降の状態を試験せるに次の成績を得たり。

第 二 表

加熱温度 経過時間	100°	90°	80°	70°	63°
5分	95.0	84.0	75.0	65.0	59.0
10分	90.0	77.0	65.0	60.0	54.0
20分	77.0	68.0	64.0	55.0	50.0
30分	70.0	60.0	57.0	50.0	43.0
40分	62.0	55.0	53.0	43.0	41.0
50分	57.0	50.0	49.0	41.0	37.0
1時間	53.0	45.0	39.0	37.0	35.0
2時間	40.0	38.0	34.0	33.0	33.0
3時間	33.0	33.0	32.0	31.0	30.0
4時間	31.0	31.0	30.0	31.0	29.0

前表を見るに室温 29° に於ては 100° 及 90° の加熱乳は加熱後約 2 時間を経過するも 40° 前後の温度を保ち 80° 及 70° 加熱乳は 50 分, 63° 加熱乳は 40 分間は孰れも 40°

以上の餘熱を保持し室温と同一温度に達するには4~5時間を要することを認めたり。

五. 試験成績

前記検乳に就き施行せる試験成績次の如し。

第1次試験

第三表

試験項目	加熱温度及時間	加熱後の経過時間			
		加熱直後	5時間	10時間	
酸 度	63° 30分	6.9	6.9	7.1	
	63° 1時間	"	"	"	
	70° 30分	"	"	"	
	70° 1時間	"	"	"	
	80° 5分	"	"	"	
	80° 10分	"	"	"	
	80° 20分	"	"	"	
	80° 30分	"	"	"	
	90° 5分	"	"	"	
	90° 10分	"	"	"	
	90° 20分	"	"	"	
	90° 30分	"	"	"	
	100° 5分	"	"	7.0	
	100° 10分	"	"	"	
	100° 20分	"	"	6.9	
	100° 30分	"	"	"	
	生乳(搾乳後1時間経過) 加熱直前のもの	"	"	8.1	
	アルコール試験	10時間貯藏生乳(搾乳後12時間経過)のみ陽性を呈し其他は孰れも陰性の成績を示せり			
		63° 30分	3時間以上	3時間以上	3時間以上
63° 1時間		"	"	"	
70° 30分		"	"	50分	
70° 1時間		"	"	"	
80° 5分		"	"	"	
80° 10分		"	"	"	

レツクターゼ試験	80° 20分	3時間以上	3時間以上	50分
	80° 30分	"	"	"
	90° 5分	"	"	1時間
	90° 10分	"	"	"
	90° 20分	"	"	1時間20分
	90° 30分	"	"	1時間40分
	100° 5分	"	"	3時間以上
	100° 10分	"	"	"
	100° 20分	"	"	"
	100° 30分	"	"	"
	生乳(搾乳後2時間経過) 加熱直前のもの	"	"	12分
	63° 30分	34,195	236,720	5,480,000
	63° 1時間	10,713	51,800	5,170,000
70° 30分	335	3,366	4,536,000	
70° 1時間	40	2,404	5,000,000	
80° 5分	10	2,720	6,832,000	
80° 10分	"	2,650	6,714,000	
80° 20分	"	2,220	6,230,000	
80° 30分	"	1,589	5,986,600	
細菌試験	90° 5分	—	370	5,430,000
	90° 10分	—	355	5,300,000
	90° 20分	—	378	4,570,000
	90° 30分	—	220	4,360,000
	100° 5分	—	—	503,000
	100° 10分	—	—	454,636
	100° 20分	—	—	600
	100° 30分	—	—	500
	生乳(搾乳後2時間経過) 加熱直前のもの	259,600	3,852,800	無 数

第2次試験成績

第 四 表

試験項目	加熱温度及時間	加熱後の経過時間		
		加熱直後	5時間	10時間
酸 度	63° 30分	6.7	6.7	6.9
	63° 1時間	"	"	"
	70° 30分	"	"	"
	70° 1時間	"	"	"
	80° 5分	"	"	"
	80° 10分	"	"	"
	80° 20分	"	"	"
	80° 30分	"	"	"
	90° 5分	"	"	"
	90° 10分	"	"	"
	90° 20分	"	"	"
	90° 30分	"	"	"
	100° 5分	"	"	6.8
	100° 10分	"	"	"
	100° 20分	"	"	6.7
	100° 30分	"	"	"
	アルコール試験	生乳(搾乳後2時間経過) 加熱直前のもの	"	6.9
加熱乳及生乳共に孰れも陰性の 成績を示せり				
レクタターゼ試験	63° 30分	3時間以上	3時間以上	2時間
	63° 1時間	"	"	"
	70° 30分	"	"	50分
	70° 1時間	"	"	"
	80° 5分	"	"	40分
	80° 10分	"	"	"
	80° 20分	"	"	55分
	80° 30分	"	"	1時間10分
	90° 5分	"	"	55分
	90° 10分	"	"	1時間10分
	90° 20分	"	"	"
	90° 30分	"	"	1時間30分
	100° 5分	"	"	3時間以上
	100° 10分	"	"	"

細 菌 試 験	100° 20分	3時間以上	3時間以上	3時間以上
	100° 30分	"	"	"
	生乳(搾乳後2時間経過) 加熱直前のもの)	"	"	35分
	63° 30分	20,000	268,000	5,738,000
	63° 1時間	10,000	54,000	5,713,300
	70° 30分	750	6,500	6,521,300
	70° 1時間	500	4,950	9,513,330
	80° 5分	100	3,060	16,999,000
	80° 10分	100	2,000	12,420,000
	80° 20分	100	1,600	8,680,666
	80° 30分	50	1,500	3,189,066
	90° 5分	—	1,000	4,276,660
	90° 10分	—	1,000	3,220,000
	90° 20分	—	1,000	3,198,660
	90° 30分	—	100	2,600,666
	100° 5分	—	—	458,666
	100° 10分	—	—	143,566
	100° 20分	—	—	700
	100° 30分	—	—	100
	生乳(搾乳後2時間経過) 加熱直前のもの)	158,350	2,095,500	無 数

六 結 論

前記試験成績を通覧し酸度、アルコール試験、レゾクターゼ及細菌試験に就き結論すること次の如し。

酸度. 酸度は第1次試験及第2次試験成績共殆ど同一關係を示し63°, 70°, 80°, 90°及100°加熱乳は貯藏5時間以内に於ては孰れも其酸度變化なく10時間経過後に於ては100°20分及30分加熱乳以外のものは僅に0.1°~0.2°の増加を示せり. 又生乳は第1次試験にては搾乳後2時間経過のものは酸度6.9を示し5時間後には7.1となり. 更に10時間後には8.1に増加せるに對し第2次試験に供せる生乳は搾乳後2時間経過には6.7を示し5時間後には6.9となり10時間後には7.7を示し第1次試験の場合に比し試験當時の室温却つて高きに拘はらず著しく良好なる成績を示せるは第1次試験に於ては試験室内に搬入せる生乳を其儘滅菌市乳場に満盛し王冠コルクを施し室温に放置せるも第2次

試験にては第1次試験の場合と同様に壘装後約30分間氷水中にて冷却したる後室温に放置せるに起因するものなるべし。

アルコール試験. アルコール試験にては第1次及第2次試験成績共に第1次試験に於ける生乳以外のものは貯蔵10時間以内にては孰れも陰性を示せり、而して第2次試験に於ける生乳の陰性の成績を示せるは前記酸度の試験に於て述べたると同一理由によるものなるべし。

レックターゼ試験. レックターゼ試験に於ては各温度の加熱乳及生乳は第1次及第2次兩試験の場合共に貯蔵5時間(搾乳後7時間)以内に於てはメチレンブラウの脱色に3時間以上を要し貯蔵10時間(搾乳後12時間)に及ぶものは第1次及第2次試験成績共に殆ど同一結果を示し63°にて30分及1時間加熱せるものは2時間~3時間の脱色時間を要せるに對し70°にて30分又は1時間、80°にて5分、10分、20分及30分間加熱せるものは却つてメチレンブラウの脱色時間を短縮し40分~1時間10分にて脱色し90°加熱乳も亦殆ど同様にして30分間加熱せるもの、み1時間半~1時間40分を要せり。然るに100°滅菌乳は5分、10分、20分及30分加熱せるもの共に孰れも3時間以上の脱色時間を要し極めて良好なる成績を示せり。又第1次試験に於ける生乳の脱色時間の第1次試験の夫れに比して約3倍に延長せるは既に酸度の試験に於て述べたるが如く壘装後冷却せるに基因するものなるべし。

前記試験成績中63°にて30分及1時間加熱せるものは爾他70°、80°及90°に於て各時間加熱せるものに比して遙に優良なる成績を示せるは一見極めて奇異の現象なるが如し之れ蓋し63°加熱の場合には死滅せざる抗還元性菌の作用によりてメチレンブラウの脱色時間を延長し70°~90°の加熱に於ては此の抗還元性菌の死滅を來して還元作用旺盛となり従つて脱色時間を著しく短縮するものならんか。

細菌試験. 細菌學的試験成績を見るに細菌増殖の割合は第1次及第2次試験成績共に殆ど同一關係を示し各温度に於ける加熱直後の状態は63°30分及1時間加熱乳に在りては生乳に比し細菌數著しく少きも尙ほ多數の細菌の存在を示し70°及80°等加熱温度の上昇並加熱時間の延長に伴ひて菌數を減じ90°5分以上にては全く無菌状態を示せり。次に各滅菌乳を5時間貯蔵せる場合の成績を見るに大約加熱直後に存在する細菌

數に比例して其の増加を示し90°5分~30分加熱乳中にも亦少許の細菌の増殖を來せるも100°5分以上の加熱乳は尙ほ依然として無菌状態を示せり。更に貯藏10時間後に於ける状態を見るに加熱直後及5時間經過後に於けるものと全く別箇の關係を呈せり。即ち63°30分及1時間加熱乳は菌數約500萬程度にして70°30分及1時間加熱乳も亦之に近似せる菌數を示すも80°5分、10分及20分加熱乳に在りては却つて前者に比して菌數の増大を來し第1次試験に於ては600萬程度にして第2次試験にては800萬~1600萬を算せり。又80°30分、90°5分、10分、20分及30分加熱乳は漸次菌數を減少し約200萬~500萬程度を示し100°加熱乳も亦10時間貯藏に及ぶときは少數の細菌の發育を認むるに至る。即ち5分並10分加熱乳は約10萬~40萬程度なるも20分及30分加熱乳は菌數極めて僅少にして約100~700を數ふるに過ぎざりき。

今前記成績中の菌數を米國紐育市に於て實施せらるゝパストール滅菌乳中に於ける細菌數の許容限度即ち1等乳(嬰兒小兒用)は滅菌後3萬、2等乳(大人用)は10萬、3等乳(料理又は製造用)は30萬を限度とする規定に對照すれば滅菌直後に於ては孰れも之を1等乳の資格を有するも貯藏5時間後に於ては63°30分加熱乳は既に2等乳たるの菌數限界量を超過し63°1時間加熱乳は僅に2等乳に屬し其他は1等乳に準ずべきも貯藏10時間後に至れば多くは等外品と認むべきものにして僅に100°20分並に30分加熱乳のみ1等乳たるの價値を認め得るに過ぎず。

以上の試験成績に徴すれば63°に於て30分~1時間程度の低温滅菌を施せる牛乳を盛夏の時期に加熱後冷却することなく貯藏することは甚だしく危険にして加熱後10時間經過に於ては著しき菌數の増加を來たし70°加熱の場合は勿論80°又は90°に於て30分間加熱するも尙ほ著しき効果を認め難く殊に80°5分~20分間加熱乳に在りては10時間經過後に至れば63°加熱乳に比し却つて菌數の増加を示すが如き一見矛盾の現象を呈せり。斯の如きを以て牛乳を滅菌後冷却することなく盛夏の際に於ても尙ほ細菌學的最も安全を期せんが爲めには牛乳を壺裝後100°に於て20分以上の加熱を必要とするものなることを認め得べし。此點は前記池田氏の實驗報告に於ける結論と略々一致するところなり。

七. 總 括

前記試験成績に基き之を總括すること次の如し。

(1) 牛乳を市乳壺に滿盛し之を加熱後冷却することなく29°の室温に放置するときは90°以上の加熱乳は約2時間、90°未滿70°以上の加熱乳は約50分、63°の加熱乳は約40分間は孰れも40°以上の餘熱を保持し室温と同一温度に達する迄には4—5時間を要することを認めたり

(2) 63°及70°にて30分並1時間、80°、90°及100°にて5分、10分、20分及30分間加熱せる牛乳に就き加熱直後並に5時間及10時間29°の室温に放置の後酸度、アルコール試験、レゾクターゼ試験及細菌學的試験を施行せる結果酸度は貯藏5時間以内にては全く變化なきも10時間經過後に於ては100°にて20分及30分間加熱せるもの以外は0.1—0.2°の増加を來しアルコール試験に於ては加熱乳は室温貯藏10時間に及ぶも何れも全く陰性を示せり。次にレゾクターゼ試験に在りては加熱乳は孰れも貯藏5時間に於てはメチレンプラウの脱色に3時間以上を要せしも貯藏10時間に及ぶときは各加熱温度によりて差異を生じ100°加熱乳は貯藏5時間の場合と同様に依然として良好の成績を示せるも其他は何れも脱色時間短縮し殊に70°、80°及90°等の高温に加熱せるものの63°加熱乳に比し却つて脱色時間を短縮し一見奇異の現象を呈せり。而して其原因に對しては抗還元性菌の作用の有無及程度の如何に依るものなることを推定せり又細菌學的試験に於ては加熱直後には孰れも無菌状態を示すも貯藏5時間後には100°5分以上の加熱乳に於てのみ無菌にして貯藏10時間後に於ては孰れも細菌の増殖を來し殊に80°前後に於て加熱せるものは聚落數最も多く100°にて20分又は30分間滅菌せるものは最も少數の聚落數を示せり。

(3) 前記の試験成績に徴し盛夏の時期に於て市乳を滅菌後冷却することなく室温に放置の場合10時間程度迄安全に保たしめんがためには壺裝生乳を100°にて20分又は30分間加熱滅菌するを必要とするものなることを認めたり。

前記實驗中細菌に關するものは元技手川端勇男之を擔當せり。

昭和六年一月

パラオキシ安息香酸の検出法に就て

技 師 衣 笠 豊

技 手 坪 井 祿 平

助 手 柳 喜 久 雄

内 容 目 次

<p>緒 言</p> <p>一. 試験の範囲</p> <p>二. 反 應</p> <p>三. 清酒及醬油中パラオキシ安息香酸の試験</p>	<p>1. 試験方法</p> <p>2. 試験成績</p> <p>四. 總 括</p> <p>引用文獻</p>
---	---

緒 言

輒近飲食物の防腐劑としてパラオキシ安息香酸のエステル特にメチール、エチール、及プロピールエステル竝此等のナトリウム化合物を使用するに至れり。而して之等は屢一種若くは數種混合して使用せられ又種々の名稱を以て販賣せられつゝあり。例へば獨逸伯林シエーネベルヒ、アイ、ペンネル、アー、ゲー商會製造のニバーギンは28.3%の遊離エステル45.8%のエステルのナトリウム化合物及6.8%のパラオキシ安息香酸ナトリウムの混合物よりなるが如し。

パラオキシ安息香酸エステルの防腐効力は最少限度1萬分の5以上の含有を要すと云ふを以てサリチール酸(オルトオキシ安息香酸)の1萬分の2なるに比し其防腐作用稍々劣るものと云はざるを得ず。最近(1929年)獨逸伯林大學藥學科教授ザバリチユカ氏⁽¹⁾はハンブルグに開催せられたる獨逸藥學會に於て次の如く發表せり。即パラオキシ安息香酸エステルの細菌に對する毒力は其エステル中アルキール基の高級となるに従ひ増大すれども高等生物殊に人畜に對しては之に反して次第に弱き作用を呈するものの如し。本說に従へばプロピールエステルは防腐劑としてメチール及エチールエステルよりも優良なるものと認め得べし。

一. 試験の範圍

曩にワイス氏⁽²⁾は防腐劑たるパラオキシ安息香酸エステル⁽¹⁾の試験法として個々のアルキール基をも分離證明すべき稍々詳細なる方法を發表せり。然れども該方法たるや單に藥品検査的のものにして飲食物中より抽出し得たる場合の如く微量の物質をも證明せんとするには未だ以て充分なりと認め難し。茲に於て小官等は本品に對し特異且つ鋭敏なる反應を索め斯の如き場合の不便を補はんが爲めに之が檢出法を考究せり。然るに前記の如く飲食物の防腐劑として使用せらるるパラオキシ安息香酸エステルは多くはメチール、エチール及プロピールエステル並に此等のナトリウム化合物等の混合物より成れるものにして随つて之を複雑なる成分を有する飲食物中より個々のエステルとして分離檢出せんとするが如きは極めて煩雜なる問題に屬するを以て本試験に於ては單に其主體たるパラオキシ安息香酸の證明に止め之が如何なるエステルよりなるものなりや等の證明は他日の研究に譲れり。

二. 反 應

パラオキシ安息香酸の反應を検するには後記の如き方法に従ひ飲食物中より抽出せる該エステルをアルカリを以て鹼化し遊離せしめたるパラオキシ安息香酸を精製して行ふにあり。而してパラオキシ安息香酸の反應に關しては文獻中前記ワイス氏の試験法の他に良法を認めず。即ち只ミロン氏試薬に對し明かに赤色を呈し又レイ及エルレル氏⁽³⁾は銅鹽により水及アルコールに難溶性の鹽を生ずる事を認めたるに過ぎず。茲に於て小官等は本酸に特異にして且つ鋭敏なる反應を得ん事を期し次の諸反應を試みたり。之れパラオキシ安息香酸は一つのフェノール酸なるを以て安息香酸、サリチール酸及一般フェノール類によりて生起する反應を之に應用するときは等しく相當の反應を呈すべき事を期待したるが故なり。

1. ミロンリントナー氏反應

2. ジョリッセンクレット氏反應

3. ジャーマングロッセ氏反應

4. マンデリン氏反應

5. コーベルト氏反應

- 6. セルフ氏反應
- 7. ジョネスキュー氏反應⁽³⁾
- 8. フリューリー氏反應⁽⁴⁾
- 9. デニゼー氏反應⁽⁵⁾
- 10. バツマン及グロックスフェルド氏反應⁽⁶⁾

其他ハルフェン氏反應, エルトマン試薬, モリブデン硫酸等の一般アルカロイド試薬に對する反應等をも試験せり。

前記諸反應の實施方法を示せば次の如し。

1. ミロンリントナー氏反應

檢液 0.5cc を小試験管に取り 10% 硝酸水銀溶液 5~6 滴を添加し 2 分間沸騰重騰煎上にて温め後完全に冷却し 1% 硫酸 1~2 滴 (試薬の過剰を避くべし) 及 1% 亞硝酸ソーダ溶液 5~6 滴を加へ再度加温し其呈色を觀察す。若しフェノール基を有する物質存するときは桃紅色を呈す。

注意 (1) 本試薬は常に新製品を用ゆべし。

(2) 初めの加温の際完全に冷却せしめたる後稀硫酸を添加するにあらざれば反應甚しく不鋭敏に陥るべし。

(3) 10% 硝酸水銀溶液を製するには硝酸水銀 10g を 90cc の水に溶解し加熱し之に純硝酸 (比重 1.4) を添加し硝子棒を以て鹽基性鹽類を善く破碎して完全に溶解せしめ冷後水を加へて 100cc とすべし。鋭敏度 50 萬分の 1 なり。

(4) 10% 硝酸水銀溶液滴加量は原報によれば 1~2 滴とあるも小官等の實驗の結果によれば本試験に於ては若干多量即 5~6 滴を加ふるを可とす。0.01% (1 萬分の 1) パラオキシ安息香酸の水溶液 0.5cc に對し滴加せし本試薬の滴數並其結果を示せば次の如し。

第一表

試薬	原報滴數	多量の硝酸水銀溶液滴加	多量の硫酸滴加	多量の亞硝酸ソーダ溶液滴加
10% 硝酸水銀溶液	2 滴	5 滴	2 滴	2 滴
1% 硫酸	2 滴	2 滴	5 滴	2 滴
1% 亞硝酸曹達溶液	5 滴	5 滴	5 滴	10 滴
結果	不良	良	不良	不良

以上の如く硝酸水銀溶液を稍々多量に滴加する場合反應最も鋭敏なるを認むべし。

第2 ジョリッセンクレット氏反應より第6 セルフ氏反應に至る5 反應に關しては本衛生試験所彙報第 36 號 (47~52頁) に詳載しあるを以つて此處には之を省略す。

7. ジョネスキュー氏反應

檢液 1cc に 1.28% 過クロール鐵溶液及び 0.3% 過酸化水素溶液各 1 滴を加へ加温す。本反應は主として安息香酸の檢出に應用せらる。

8. フリュリー氏反應

前記ジョネスキュー氏反應を改良せしものにして過クロール鐵溶液及び過酸化水素溶液の外に硫酸亞酸化鐵を加へ反應を鋭敏ならしめたるものなり即ち試験法次の如し。

檢液 1cc に 1.28% 過クロール鐵溶液及び過酸化水素液を猶ほ 10 倍に稀薄せしものと及び 3% 硫酸亞酸化鐵溶液を各 3 滴宛加ふ。

9. デニゼー氏反應

檢液 1cc に 20 容量% 醋酸、1% 過クロール鐵溶液及び過酸化水素溶液 (1 容量%) 各 1 滴を混和し 15 秒間加温す。本反應も亦安息香酸の檢出に應用せらる。

10. バウマン及びグロックスフェルド氏反應

檢液 1cc にナトロン滴液を加へてアルカリ性となし蒸發乾涸せしめたる後硝酸カリ含有の濃硫酸 (10g を 100cc 中に溶解せるもの) 1cc を加へ 20 分間沸騰水浴中に加熱し冷後水 2cc を以て稀釋し更に冷却したる後鹽酸ヒドロキシルアミン溶液 (2g を 100cc の水に溶解) 2cc, 15% アムモニア水 10cc を加へてアルカリ性となし振盪し次に 60 度に於て 5 分間保ちたる後冷却す。

エルトマン試藥、モリブデン硫酸反應等一般アルカロイドの反應の試験方法はこれを省略す。

前記諸種の反應に對し 0.1% パラオキシ安息香酸水溶液 1cc (0.001g 含有) を用ひその呈色を試験せるに其の成績次表の如し。

第二表

試薬	反応溶液 (各1cc)		バラオキシ安息香酸		サルチール酸		安息香酸		盲験	
			(0.001g含有)		(0.001g含有)		(0.001g含有)			
ミロン試薬	淡	薔薇	淡	紅	淡	紅	無	色	無	色
0.05%過クロール鐵液		黄		綠	濃	紫	微	黄	無	色
ジョリッセンクレット氏反應	(加熱前)	淡	綠	淡	綠	淡	綠	淡	綠	淡
	(加熱後)	淡	綠	鮮	血	淡	綠	淡	綠	淡
シャーマングロックス氏改良法	(加熱前)	無	色	淡	赤	無	色	無	色	無
	(加熱後)	黄	(帶綠)	黄	褐	無	色	無	色	無
	(1分後)	帶	綠	鮮	赤	無	色	無	色	無
	(5分後)	黄	綠	赤	褐	無	色	無	色	無
	(10分後)	帶	黄	褐	褐	無	色	無	色	無
	(15分後)	黄	(帶綠)	黄	褐	無	色	無	色	無
マンデリン氏反應	無	色	(微綠)	淡	青	無	色	無	色	無
				熱後	靛	無	色	無	色	無
コーベルト氏反應	1滴加へしとき	暫時の白濁	後微に白濁	微	薔薇紅	無	色	無	色	無
	2滴	暫時の白濁	後微に白濁	微	薔薇紅	無	色	無	色	無
	3滴	暫時の白濁	後白濁	薔薇	紅	無	色	無	色	無
	5滴	前者より強濁	後強濁	薔薇	紅	無	色	無	色	無
	熱後	褐	濁	赤	褐	微	微	微	微	微
セルフ氏反應	1滴加へしとき	微	黄	赤	橙	微	黄	微	黄	黄
	2滴	微	綠黄	赤	橙	微	黄	微	黄	黄
	3滴	淡	綠	赤	橙	微	黄	微	黄	黄
	5滴	淡	綠		橙		黄		黄	
	7滴	綠			橙		黄		黄	
	20分後	淡	綠	橙	黄	淡	黄	綠	淡	綠
	1時間後	淡	黃綠	橙	黄	淡	淡	綠	淡	綠
	數時間後	黄	綠	橙	黄	淡	淡	青	淡	青
ジョネスキュー氏反應		帶	黃綠	紫	紫		紫		無	色
フリーリー氏反應		濃	黄	黄	紫		紫		無	色
デニゼー氏反應		黄	色	無	紫		紫		無	色
エルドマン試薬		無	色	無	色		無		無	色
モリブデン硫酸		無	色	無	色		無		無	色
濃硫酸		無	色	無	色		無		無	色
濃硝酸	(熱後)	黄		黄			無		無	色

以上の試験成績に徴すれば前記諸種試薬中バラオキシ安息香酸と他のサルチール酸及び安息香酸と鑑別し得べき反應を呈するものはセルフ氏反應、フリーリー氏反應、コーベルト氏反應及びデニゼー氏反應にして爾他の反應は殆ど全く其用に堪へず。而して

之等4反應中セルフ及フリュリー2反應は1萬分の1乃至2萬分の1の鋭敏度を有するもコーペルト及びデニゼー兩反應は僅かに1000分の1程度に過ぎず。故に小官等は専らセルフ及びフリュリーの兩反應に就いて種々實驗を重ねたる結果終に次の如きバラオキシ安息香酸に對し極めて鋭敏なる反應を發見し得たり。

(1) フリュリー氏反應の改良法

檢液 0.5cc を小試験管に取り之に3%硫酸亞酸化鐵溶液及び0.2%過酸化水素溶液各1滴を添加するときはバラオキシ安息香酸存在に於いては美麗なる濃オリーブ綠色を呈す。此場合サリチール酸は紫色、安息香酸は帶紫褐色を呈す。鋭敏度0.5mgの含有量まで検出し得べし。

(2) セルフ氏反應の改良法

檢液 0.5cc を小時計皿に取り少量のナトロン滴液を以つて弱アルカリ性となし重盪煎上に蒸發乾涸せしめ之にフォルマリン硫酸(硫酸1cc中にフォルマリン1滴を添加せしもの)1~2滴を加へ小硝子棒を以つて攪拌しつゝ、0.5%グァナデン硫酸を1滴宛數滴加ふるときはバラオキシ安息香酸存在に於いては初め綠色の波紋を生じ終に溶液綠色を呈するに至る。サリチール酸は實際赤橙色を呈し安息香酸は殆ど呈色せず。本反應は前記フリュリー氏反應の改良法に比し稍々不鋭敏なり。

(3) 鐵明礬反應

前記フリュリー氏反應の改良法に於ける硫酸亞酸化鐵の代りに2%硫酸々化鐵アムモニウム(鐵明礬)溶液を用ふるも同様にオリーブ綠色を呈す。

以上の3反應は主としてバラオキシ安息香酸と安息香酸及サリチール酸との鑑別に就て試験したるものなれども尙爾餘のフェノール類及防腐劑等に由りても類似の反應を呈し爲めに過誤に陥る事なきやを慮り之等十數種の物質に就き試験を施行したるに其成績次の如し。

第 三 表

試 薬 檢體種類	フリュリー改良法		セルフ改良法		鐵 明 礬 法	
	2千分の1 溶液	1萬分の1 溶液	2千分の1 溶液	1萬分の1 溶液	2千分の1 溶液	1萬分の1 溶液
B. ナフトール	帶綠汚褐	淡暗綠褐	汚 黑 褐	黃 褐	淡 褐 濁	淡 黃

α ナフトール	汚 暗 褐	淡 暗 褐	汚 黒 褐	黄 褐	褐 紫 濁	淡 紫 褐
β ナフトール	汚 暗 褐	淡 暗 褐	汚 黄 褐	黄 褐	紫 暗 濁	淡 紫 褐
フロ、グルチン	橙 褐	黄 褐	黄 褐	黄 褐	赤 濁	黄 濁
ピロガロール	暗 褐	暗 褐	緑 褐	黄 褐	暗 濁	淡 濁
石炭酸	微 黄	微 黄	淡 青	黄 青	無 色	無 色
桂皮酸	黄 濁	淡 黄	帯 緑	黄 褐	黄 沈	微 濁
ツニリン	オリーブ緑	オリーブ緑	黄 褐	黄 褐	汚 濁	淡 濁
チモール	淡 黄	微 黄	黒 赤	黒 赤	淡 黄	微 濁
フルアクリール酸	微 黄	微 黄	淡 黄	淡 黄	黄 濁	黄 濁
サリチール酸	濃 紫	淡 紫	赤 黄	赤 黄	紫 濁	淡 紫
安息香酸	淡 紫	微 紫	淡 黄	淡 黄	微 黄	微 濁
パラオキシ安息香酸	濃オリーブ緑	オリーブ緑	緑	緑	濃オリーブ緑	オリーブ緑

前表によつて明かなるが如く該3反應はパラオキシ安息香酸と前記爾他の物質と明瞭に區別し得るものにして之を實用に供するも些の過誤をも生ずるの虞れなきものと認むる事を得べし。

前述の如くミロンリントナー氏反應はパラオキシ安息香酸の特有反應にあらずと雖も極めて鋭敏なる反應なるを以て之が存否の豫試験として最も適合すべし。依て更に前記諸物質に對する本反應の経過状態を試験したるに次の成績を得たり。

第 四 表

試 薬	檢體各 1 cc	硝酸水銀を加へしとき	加 熱 後	1%硫酸を加へしとき	亞硝酸曹達を加へしとき	終 末 の 反 應
β ナフトール	2 千分の 1 溶液	微 黄	汚 黄 濁	橙 黄 濁	橙 黄 濁	橙 黄 濁
	1 萬分の 1 溶液	無 色	微 黄 濁	微 黄 濁	帶 褐 濁	帶 褐 濁
α ナフトール	2 千分の 1 溶液	黄 褐	黄 褐 濁	黄 褐 濁	黄 褐 濁	煉瓦様赤色沈澱
	1 萬分の 1 溶液	無 色	淡 黄 濁	淡 黄 濁	淡 黄 濁	煉瓦様赤色沈澱
ヒドロヒノン	2 千分の 1 溶液	無 色	淡 黄 濁	淡 黄 濁	淡 黄 濁	淡 黄 濁
	1 萬分の 1 溶液	無 色	無 色	無 色	無 色	無 色
フロ、グルチン	2 千分の 1 溶液	蛋 白 濁	蛋 白 濁	蛋 白 濁	蛋 白 濁	蛋 白 濁
	1 萬分の 1 溶液	蛋 白 濁	蛋 白 濁	蛋 白 濁	蛋 白 濁	蛋 白 濁
ピロガロール	2 千分の 1 溶液	褐 濁	褐 濁	褐 濁	褐 濁	褐 濁
	1 萬分の 1 溶液	無 色	褐 濁	褐 濁	褐 濁	褐 濁
石炭酸	2 千分の 1 溶液	帶 黄 白 濁	黄 濁	黄 濁	黄 濁	黄 濁
	1 萬分の 1 溶液	白 濁	白 濁	黄 濁	黄 濁	黄 濁
桂皮酸	2 千分の 1 溶液	無 色	無 色	無 色	無 色	無 色
	1 萬分の 1 溶液	無 色	無 色	無 色	無 色	無 色
フルアクリール酸	2 千分の 1 溶液	白 濁	白 濁	白 濁	白 濁	白 濁
	1 萬分の 1 溶液	無 色	白 濁	白 濁	白 濁	白 濁
ツニリン	2 千分の 1 溶液	微 紅	微 紅 白 濁	赤 濁	紫 濁	紫 濁
	1 萬分の 1 溶液	微 紅	微 紅 白 濁	赤 濁	紫 濁	紫 濁

チモール	2 千分の1 溶液	無	色	白	濁	白	濁	汚	紫	淡	褐	沈	澱		
	1 萬分の1 溶液	無	色	白	濁	白	濁	淡	赤	紫	淡	褐	沈	澱	
サリチール酸	2 千分の1 溶液	僅	微	紅	淡	紅	白	濁	淡	紅	薔	薇	紅		
	1 萬分の1 溶液	無	色	微	黃	微	黃	微	黃	淡			紅		
安息香酸	2 千分の1 溶液	無	色	無	色	無	色	無	色	無			色		
	1 萬分の1 溶液	無	色	無	色	無	色	無	色	無			色		
パラオキシ安息香酸	2 千分の1 溶液	僅	微	紅	微	紅	白	濁	微	紅	白	濁	薔	薇	紅
	1 萬分の1 溶液	無	色	微	紅	微	紅	微	紅	淡			紅		

斯くの如くパラオキシ安息香酸は鋭敏なるミロンリントナー氏反應を呈し且つ特異なる前記三反應を呈するものなるを以て之が檢定に當りては先づミロンリントナー氏反應を検し若し陽性の反應を呈したるときは更に小官等の改良せるフリューリー氏反應及セルフ氏反應竝に鐵明礬反應を試験し其存否を判定すべきなり。

三. 清酒及醬油中パラオキシ安息香酸の試験

清酒及醬油に就き試験せる方法及成績次の如し。

1. 試験方法

甲. 清 酒

清酒 50cc を取り 5% ナトロン滴液を以て弱アルカリ性とし重盪煎上に蒸發して約半容量となしたる後之を分液漏斗に移し 20% 硫酸 5cc を加へて酸性となしエーテル 50cc を以て 10 分時間振盪したる後水液を去りエーテル液を 3 回各 5cc 宛の水を以て洗滌し次に 10% ナトロン滴液 5cc を加へて振盪し其アルカリ性水液を小コルベんに洗入し還流冷却器を附し 1 時間半乃至 2 時間煮沸して鹼化せしめ冷後鹼化液を小分液漏斗に移し 20% 硫酸 5cc 及エーテル 30cc を加へて振盪し少時静置の後水液を去りエーテル液を各 5cc の水を以つて 3 回洗滌したる後之を小ヘッヘルに取り微温を與へてエーテル分を徐々に蒸發せしめ残渣に少量の二硫化炭素を加へて 2~3 回浸出し其不溶殘留物を 2cc の熱湯に溶解し之を 4 分し其 1 分に付きミロンリントナー氏反應を試み陽性なるときは殘餘の溶液に就き順次にフリューリー改良法、セルフ改良法及鐵明礬法の三反應を検すべし。

乙. 醬 油

醬油 50cc を取り 10% ナトロン滴液を加へて弱アルカリ性となしたる後 15% 黄色血滴鹽溶液及 30% 硫酸亞鉛溶液各 5cc を加へ生起せる沈澱(蛋白質等を含む)を

濾過し濾液を分液漏斗に移し 20%硫酸 5cc 及エーテル約 60cc を加へ 10 分間振盪しエーテル液を分取し各 5cc の水にて 3 回洗滌したる後 10% ナトリウム液 5cc を加へて振盪しアルカリ性水液を小コルベンに移し還流冷却器を附し 1 時間半乃至 2 時間煮沸して鹼化せしめ鹼化液に 5%硫酸を加へて弱酸性となし少量の獸炭を加へて暫時煮沸したる後濾過し濾液を分液漏斗に移し 20% 硫酸 5cc を追加し以下清酒の場合に於ける如く處理してバラオキシ安息香酸の反應を検すべし。

2. 試験成績

バラオキシ安息香酸メチールエステル (大阪武田薬品會社製品) エチールエステル (獨逸カールバム會社製品) 及ニパーギン (獨逸伯林アーゲー商會製品) を夫々 1 萬分の 5, 1 萬分の 1, 2 萬分の 1, 3 萬分の 1 (醬油のみ), 5 萬分の 1, 10 萬分の 1 及 20 萬分の 1 (清酒のみ) の割合に大藏省醸造試験所製造にかゝる防腐劑不含の清酒 (飛鳥山) 及び印醬油中に混和し之を検體とし前記の試験方法を應用して試験を行ひたるに次の如き成績を得たり。即ち清酒に於いてはメチールエステル, エチールエステル及ニパーギン共に檢體中 5 萬分の 1 の含有量 (0.002%) に至るまで明らかに檢出することを得。醬油に於いてはメチールエステル, エチールエステル及ニパーギン共に檢體中 3 萬分の 1 の含有量 (0.0003%強) まで檢出することを得たり。

斯の如く醬油の場合に於ける呈色反應清酒より稍々不鋭敏なるは醬油は清酒に比しエキス分に富み蛋白質樹脂等多量の夾雜物を含有するを以つてバラオキシ安息香酸の抽出竝精製困難なるに基因するものなるべし。

第五表

甲. 清 酒

反應の種類	エステルの種類	バラオキシ安息香酸エステル混和の割合					
		1萬分の5	1萬分の1	2萬分の1	5萬分の1	10萬分の1	20萬分の1
ミロンリントナー法	メチールエステル	+	+	+	+	+	±
	エチールエステル	+	+	+	+	±	±
	ニパーギン	+	+	+	+	±	±
セルフ改良法	メチールエステル	+	+	+	+	±	-

フリーリー-改良法	エチルエステル	+	+	+	+	±	-
	ニバールギン	+	+	+	+	±	-
	メチルエステル	+	+	+	+	+	±
鐵明礬法	エチルエステル	+	+	+	+	+	±
	ニバールギン	+	+	+	+	±	±
	メチルエステル	+	+	+	+	±	±
	エチルエステル	+	+	+	+	±	±
	ニバールギン	+	+	+	+	±	±

乙. 醬 油

反應の種類	エステルの種類	パラオキシ安息香酸エステル混和の割合					
		1萬分の5	1萬分の1	2萬分の1	3萬分の1	5萬分の1	10萬分の1
ミロンリントナー法	メチルエステル	+	+	+	+	±	-
	エチルエステル	+	+	+	+	-	-
	ニバールギン	+	+	+	+	-	-
セルフ改良法	メチルエステル	+	+	+	+	-	-
	エチルエステル	+	+	+	+	-	-
	ニバールギン	+	+	+	+	-	-
フリーリー-改良法	メチルエステル	+	+	+	+	±	-
	エチルエステル	+	+	+	+	±	-
	ニバールギン	+	+	+	+	-	-
鐵明礬法	メチルエステル	+	+	+	+	±	-
	エチルエステル	+	+	+	+	-	-
	ニバールギン	+	+	+	+	-	-

以上の成績により清酒に在りては5萬分の1量又醬油に在りては3萬分の1量までのパラオキシ安息香酸エステルを検出し得べし。然してパラオキシ安息香酸エステルの飲食物に對する防腐効力量を1萬分の5以上なりとすれば之を防腐の目的に飲食物中に混入せる場合前記の試験方法を以て明らかに之を検出し得べきを確信す。

プロピールエステル及其他に對しては供試品を入手し得ざりし爲め之が試験を施行せざりしも前記の方法を適用すれば同様に之を検出し得べきを思考す。

四. 總 括

前記試験成績に従ひ之を總括すること次の如し。

1. パラオキシ安息香酸はセルフ氏並フリユリー氏試薬により稍特異の反應を呈することを認めたり。
2. 前記兩反應を改良し且つ新たに發見せる鐵明礬反應を應用し以てパラオキシ安息香酸の檢出方法を案出せり。
3. 飲食物殊に清酒及醬油中に混入のパラオキシ安息香酸エステルに對し之が抽出法並に前記檢出反應應用に於ける鑑識法を考案せり。
4. 前記鑑識法を應用するときは清酒に在りては5萬分の1醬油に在りては3萬分の1含有量までパラオキシ安息香酸エステルを檢出し得べし。

引用文獻

- (1) Th Subalitschka Arch. Pharm, u. Ber. Dtsch. Pharm. Ges. 1929, 90, 267.
- (2) E. Weisz, Ztschr. f. Unters. Lebensm. 1930, 59, 472.
- (3) M. A. Jonescu, J. Pharm. Chim, 1909 [VI], 29, 523.
- (4) Fleury, J. Pharm. Chim, 1913 [VII], 8, 460.
- (5) Deniges, Bull. soc. Pharm. de Bord, 1911; 249, Pharm J., 1911, 87, 201.
- (6) Baumann and Grossfeld, Ztsch. Nahr. u. Genussm. 1915, 29, 197.

昭和六年一月

メヂウム水素イオン濃度と菌抵抗力との關係 消毒力檢定浮游法に於ける條件の吟味

技 師 秋 葉 朝 一 郎

囑 托 林 倉 一

助 手 米 野 英 彦

緒 言

こゝに鹽酸若くは苛性曹達の如き強酸性或は強アルカリ性の化合物ありとし其消毒力を檢定し相當の消毒力を認めたりとするも此を消毒劑と認定する事能はず。何となれば此等の消毒力は其水素イオン濃度に基くものなれば實際の使用に際しては緩衝作用の強き被消毒物によつて中和せられ以て其消毒力が著く減弱せらるべければなり。故に消毒劑の効力の本態は其酸度アルカリ度とは全く別個の化學作用に存せざるべからざるは明なり。従つて消毒劑の檢定に當つては化學作用に基く本質的効力と PH に基く隨伴的効力とを區別し隨伴的要素を減却せる條件に於て檢定し消毒力を測定するを至當とす。其ためにはメヂウムの水素イオン濃度の菌體の抵抗力に及ぼす影響を實驗によつて知悉するを先行條件とす。即菌體の抵抗力より見たる至適 PH 帶と不適 PH 帶とを明確ならしむるの要あり。若し可檢劑の一定稀釋液が不適 PH 帶にある場合には緩衝液を用ひて至適 PH 帶に補正して檢定すれば實際使用の際には望み得ざる隨伴的要素を破却し以て本質的消毒力を測定する事を得べし。

余等は以上の見地に基きてメヂウムの PH と菌體の抵抗力との關係を實驗し浮游法による消毒力檢定の際に於ける吟味すべき條件の一として提唱せんとす。

實 驗 方 法

菌體の抵抗力を檢討するに物理的方法と化學的方法とあり。余等は物理的方法として加熱法を使用せり。加熱作用は溶媒によりて變化せられざるを以て菌體の抵抗力を

知るに最信憑し得るものなり。されども薬品の作用による如く精細に実験し得ざる憾あり。

殺菌作用を有する化合物を用ふる化学的方法にあつては使用薬品が緩衝液中にて化学的變化をなさざる事及薬品の混和によつてメヂウムの PH に著き變動を興へざるものならざるべからず。しかれどもかゝる完全無缺なる薬品を得る事は至難なるを以て余等はかゝる變化の輕微なりと思考せらるゝと且常時使用せらるゝとに鑑み石炭酸及フォルマリン水とを使用せり。石炭酸は酸性メヂウム中にては H^+ の解離が抑制せられて $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_2$ の分子が増加し消毒作用増強すべしとも考へらるれども其解離度は本來輕度なるを以て看却するも大過なかるべし。又アルカリ性メヂウム中にてはフェノールナトリウムを化成し消毒力減弱する筈なれども其低下も亦輕微なるべきは後述の実験によりて證明する事を得。

フォルマリン水は比較的安定ならんかと考へらるゝもアルカリ性メヂウム中にては蟻酸曹達の生成を保し難し。

こゝに於て余等は加熱法の溶媒の影響を被らざる性質と化学法の精細に実験しうる性質とを併用し兩法によりて得たる結果を綜合觀察して歸結を得んとせり。

Clark & Labs の處方に従ふて、PH 4 ~ PH 10 に至る間の標準緩衝液を作り此 10 倍稀釋液を以て消毒劑の溶媒とす。

フォルマリン水は微弱酸性なるも緩衝力なきを以て 10 倍稀釋緩衝液を以て任意 PH の稀釋液を得るも石炭酸はアルカリ性メヂウム中にては解離度増加し H^+ を游離するを以て標準緩衝液を以てしても PH 8 以上にては PH を變化せしむるために PH 8.2, 9.4 等の標準緩衝液にて石炭酸を稀釋して PH 8 或は PH 9 に近似の石炭酸稀釋液を得るやう實驗的に調製せり。

菌種は消毒力檢定依頼試験に於て多く用ひらるゝ、チフス菌、大腸菌、黄色葡萄球菌、肺炎双球菌、淋菌を使用せり。

消毒力檢定術式は George F. Reddish の法に準ず。

第一項 チフス菌に関する實驗

使用せる菌種は定型的なるものにして George F. Reddish の提唱せる條件に適合する抵抗を有するものとす。使用培地は PH 6.8 の普通ブイヨンとす。實驗を反覆す

るに當つて如何に用意周到を旨とするも成績必しも一致せず多少の動搖を免れざるは生物學的試験に於てはやむを得ざる事にして消毒力試験を施行せる人は誰人にも容易に首肯せらるゝ所なるべし。従つて余等の得たる成績によつて畫ける曲線は常に反覆せる成績の全般の觀察によつて歸納せるものなり。第一乃至六表、圖一參照

第一表 石炭酸に對するチフス菌 (A) の抵抗力

	作用時間 (分)	稀釋 倍數	130	140	150	160	170	180	190	200	210	220
		80	90	100	110	120	130	140	150	160	170	
PH 4	5	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
PH 5	5	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
PH 6	5	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
PH 7	5	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
PH 8	5	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
PH 9	5	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+

第二表 石炭酸に對するチフス菌(B)の抵抗力

	作用時間 (分)	稀釋 倍數									
		130	140	150	160	170	180	190	200	210	220
PH 4	5	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
		80	90	100	110	120	130	140	150	160	170
PH 5	5	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	15	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
PH 6	5	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
PH 7	5	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
PH 8	5	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
PH 9	5	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+

PH 9	15	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	5	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
PH10	5	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+

第五表 フォルマリンに對するチフス菌の抵抗力一覽表

時間(分) \ PH	4	5	6	7	8	9	10
5	90	40	30	20	20	25	30
10	120	60	50	30	25	30	40
15	140	80	70	40	30	50	50

數字は最高有効稀釋倍數を示す

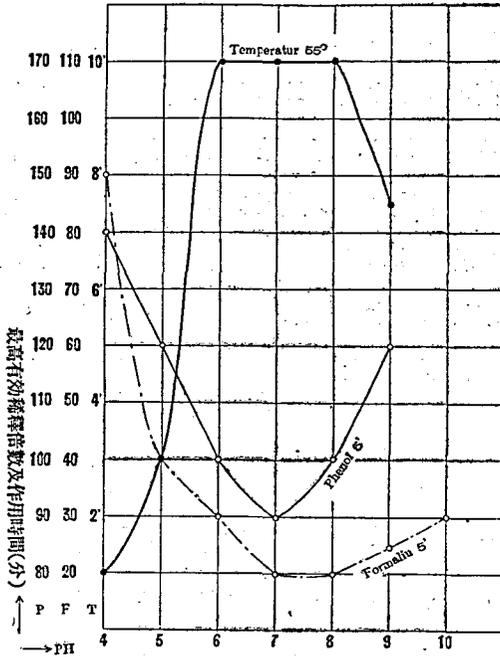
第六表 加熱に對するチフス菌の抵抗力 溫度 55°

作用時間(分) \ PH	4	5	6	7	8	9
1.0	-	+	+	+	+	+
2.0	-	+	+	+	+	+
2.5	-	-	+	+	+	+
5.0	-	-	+	+	+	+
7.5	-	-	+	+	+	-
10.0	-	-	-	-	-	-

成 績 綜 括

石炭酸に對するチフス菌の抵抗力はPH7に於て最も強く酸及アルカリに移動するに従つて減弱しPH5及PH9に至つて相當に著明にPH4に於ては強度に減弱す。併し乍らPH6~8の間に於ては抵抗力の差僅少に過ぎざるを以て抵抗力略等しと云ふを得べし。且此事實は、55°の水中に於ける抵抗力試験(生存時間)の結果と一致す。即全

Fig. 1 チフス菌の抵抗力



く物理的作用にして操作中効力の變化減弱を度外視し得る加熱試験の成績によるも PH 6~8 に於ては抵抗力同一にして PH 9 にて些か減弱し PH 5 に於て相當著明に PH 4 に至つて極度に抵抗減弱す。フォルマリンに對する抵抗力は PH 4、5 に於て弱き事は加熱抵抗及石炭酸抵抗と同一なれども此場合には PH 8 に於て抵抗最も強く PH 7, 8, 9 にては略同等なり。即石炭酸及熱に對しては PH 9 にては抵抗減弱するに拘らずフォルマリンに對してはさして減弱せず。此事實はチフス菌の抵抗力がフォルマリンに對してはアル

カリ側に於て強きがためなるか或はフォルマリンの効力がアルカリ性溶媒中にて減弱するがために基因するか不明なり。然れども後述の實驗に於ても認めらるゝが如く菌體の抵抗がメヂウムの水素イオン濃度によりて被る影響は殺菌性に作用する要因の物理的乃至化學的性状によりて幾分變異するものなり。従つて此場合においてもかかる抵抗の變異と解釋するを得れども又フォルマリンがアルカリ性溶媒中にて蟻酸曹達に一部化成せる爲に非るやとも考へらる。

石炭酸もアルカリ性溶媒中にては石炭酸曹達となり消毒力減弱する事實は夙に Koch によりて示されたる所にして従つてアルカリ側に於ては石炭酸の効力は指示量よりも弱き筈なれどもしかも實驗の結果によれば消毒力はアルカリ側に行くに従つて増強する事より見れば菌體の抵抗はアルカリ度増加するに従つて可成迅速に減弱するものと云ふを得べし。黒田氏は石炭酸の効力が酸性メヂウム中にて強大となるを認め且石炭酸の菌體に對する分配率(Verteilungs-koeffizient)が酸性側に於て中性メヂウム中に於けるよりも少しく増大するを認識して石炭酸の殺菌力の酸性メヂウム中に於て増強する原因の一部は之に基因するものならんと述べたるも余等の實驗に於て石炭酸、

加熱及フォルマリン試験の結果を綜合考察すれば以上の事實は菌體の抵抗の減弱に原因の大部分を歸すべきものと思ふ。

以上3種の實驗結果より歸納してチフス菌の抵抗力は PH 6, 7, 8 の間に於て略等く此より兩側に移行するに従ひ迅速に減弱する事を知る。即此結果より考へチフス菌に對する消毒力の實驗は可檢劑を稀釋せるもの水素イオン濃度が PH 6 ~ 8 の間にあるものみに就て効力を檢定するを至當とし若し PH 4 或は 10 等のものに就て効力を檢定せるとせば其得たる効力の中には本來目的とする化學的効力以外に其効力を助長する物理的效果（實地使用の際には期待し得ざる）を包含するものにして合理的効力標示とは云ふ事を得ず。

第二項 大腸菌に関する實驗

當試驗所保存定型的菌株を用ひ培地は PH 6.8 の普通ブイオンを使用す。第七乃至十表。圖二參照

大腸菌の石炭酸に對する抵抗力は PH 6 ~ 9 に於ては略等く PH 5 ~ 4 に至りて輕度に減弱す。即大腸菌の石炭酸に對する抵抗力はメヂウムの水素イオン濃度によりてさして變化せざるものなり。

大腸菌の熱に對する抵抗力は PH 6 ~ 8 に於て等く PH 9, 5, 4 にありては著明に減弱す。

この兩者の成績を比較して注意せらるゝ事は熱に對する大腸菌の抵抗は PH 9 のメヂウム中には PH 7 に於けるよりも減弱せるに拘らず石炭酸に對する抵抗力は然らざる事なり。此一致せざる結果は何によりて來るかを考ふるに石炭酸がアルカリ性液中にて一部が効力を欠く石炭酸曹達に化成せる事も考へ得らるれども此はチフス菌に於ける場合より推論して主として菌體の抵抗が減弱せざるによるものとせざるべからず。即菌體の抵抗に及ぼす水素イオン濃度の影響は作用する要因の性狀によりて多少異なる事を知る。兩種の實驗成績より歸納すれば大腸菌の抵抗力は PH 6 ~ 8 の間に於て等し。

PH 4	5	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
PH 5	5	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
PH 6	5	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
PH 7	5	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
PH 8	5	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
PH 9	5	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+

第九表 石炭酸に對する大腸菌の抵抗力一覽表

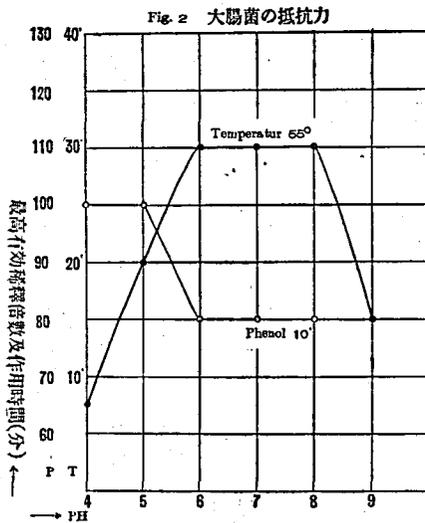
PH	作用時間 (分)		5		10		15	
	菌株		A	B	A	B	A	B
4.0			90	90	100	100	110	100
5.0			90	90	100	100	100	100
6.0			80	80	80	80	80	80
7.0			70	80	80	80	80	90
8.0			70	70	80	70	80	80

9.0 | 7.0 | 7.0 | 8.0 | 8.0 | 9.0 | 8.0

数字は最高有効稀釋倍数を示す

第十表 加熱に對する大腸菌の抵抗力 溫度55°

PH	4	5	6	7	8	9
作用時間(分)						
5.0	+	+	+	+	+	+
7.5	-	+	+	+	+	+
10.0	-	+	+	+	+	+
15.0	-	+	+	+	+	-
20.0	-	-	+	±	±	-
30.0	-	-	-	-	-	-



第三項 黄色葡萄狀球菌に關する實驗

抵抗力は George F. Reddish の提唱に準ずる定型的黄色葡萄狀球菌を用ひ培地は PH 6.8 の普通ブイオンを使用す。

表第十一乃至十四、圖三參照。葡萄狀球菌の石炭酸に對する抵抗力は PH 6, 7, 8, 9 に於て同等にして PH 5 にて著しく減弱す。

熱に對する抵抗力は PH 6~8 の間にありては等しく PH 9 に至りて輕度に PH 5~4 にては相當強く減弱す。要之に葡萄狀球菌の抵抗力は

PH 6~8 の間にありては等しきものと認む。

第十一表 石炭酸に對する黄色葡萄狀球菌(A)の抵抗力

PH	作用時間(分)	稀釋倍数									
		60	70	80	90	100	110	120	130	140	150
PH 4	5	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	10	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+

PH 5	15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
	5	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
PH 6	5	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
PH 7	5	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
PH 8	5	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
PH 9	5	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+

第十二表 石炭酸に對する黄色葡萄狀球菌(B)の抵抗力

	作用時間 (分)	稀釋 倍數									
		80	90	100	110	120	130	140	150	160	170
PH 4	5	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	10	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
PH 5	5	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+

PH 6	15	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	5	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
PH 7	5	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
PH 8	5	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
PH 9	5	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+

第十三表 石炭酸に對する黄色葡萄狀球菌の抵抗力一覽表

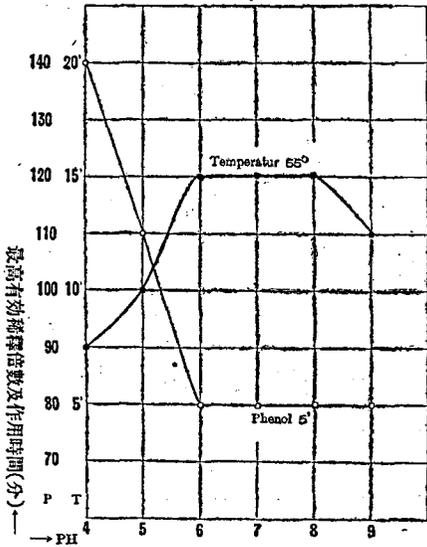
PH	作用時間 (分) 菌株	5		10		15	
		A	B	A	B	A	B
4.0		110	140	120	150	130	160
5.0		90	100	110	110	120	110
6.0		80	80	90	100	100	100
7.0		70	80	80	100	90	100
8.0		80	80	90	100	90	100
9.0		80	80	90	100	90	100

數字は最高有効稀釋倍數を示す

第十四表 加熱に對する葡萄狀球菌の抵抗力 温度 55°

PH	4	5	6	7	8	9
作用時間(分)						
2.5	+	+	+	+	+	+
5.0	+	+	+	+	+	+
7.5	-	±	+	+	+	+
10.0	-	-	+	+	+	+
12.5	-	-	+	+	+	-
15.0	-	-	-	-	-	-

Fig. 3 葡萄狀球菌の抵抗力



第四項 肺炎双球菌に關する實驗

肺炎双球菌は第 I 及 II 型各壹株を用ひ使用培地は PH 7.6 ~ 7.8 の 2% 葡萄糖加ブイヨンとす。表第十五乃至十八、圖四參照

肺炎双球菌はチフス菌、大腸菌、葡萄狀球菌に比して熱及石炭酸に對する抵抗著しく強し。石炭酸に對する抵抗は PH 7 に於て最も強けれども PH 5 ~ 9 の間にありては略ぼ等しく PH 4 にても僅に減弱するに過ぎず。熱に對する抵抗も略ぼ同様なり。即兩者の成績より歸納すれば肺炎双球菌は PH 7 に於て最も抵抗力強く

PH 6 ~ 8 の間にありては略ぼ等しき抵抗力を有するものなり。

第十五表 石炭酸に對する肺炎双球菌(I型)の抵抗力

作用時間(分)	稀釋倍數	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120
		PH 4	5	-	-	-	-	-	+	+	+
	10	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	15	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+

PH 5	5	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
PH 6	5	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
PH 7	5	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
PH 8	5	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
PH 9	5	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+

第十六表 石炭酸に對する肺炎双球菌(II型)の抵抗力

	作用時間(分)	稀釋倍數									
		30	40	50	60	70	80	90	100	110	120
PH 4	5	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	10	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	15	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
PH 5	5	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
II 6	5	-	-	-	-	+	+	+	+	+	

PH 7	10	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	5	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
PH 8	5	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
PH 9	5	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+

第十七表 石炭酸に對する肺炎双球菌の抵抗力一覽表

PH	作用時間 (分)	5		10		15	
		I 型	II 型	I 型	II 型	I 型	II 型
4.0		70	80	80	90	80	90
5.0		50	70	60	70	60	80
6.0		50	60	60	70	60	70
7.0		50	60	50	70	50	70
8.0		50	60	50	70	60	70
9.0		50	60	60	70	60	70

数字は最高有効稀釋倍數を示す

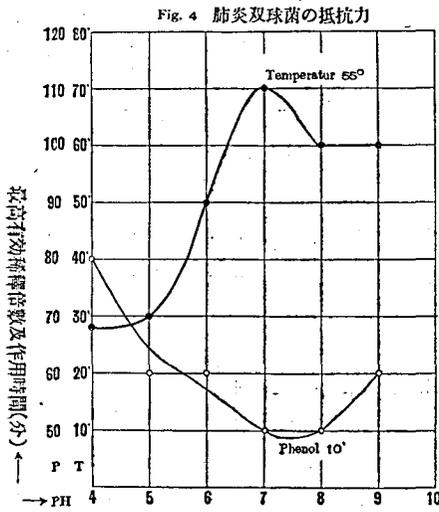
第十八表 加熱に對する肺炎双球菌の抵抗力 温度 55

作用時間(分)	PH	4	5	6	7	8	9
		10	+	+	+	+	+
20	+	+	+	+	+	+	
25	+	+	+	+	+	+	
28	-	+	+	+	+	+	

30	-	-	+	+	+	+
40	-	-	+	+	+	+
50	-	-	-	+	+	+
60	-	-	-	+	±	±
70	-	-	-	-	-	-
80	-	-	-	-	-	-

第五項 淋菌に関する實驗

本試驗所保存定型的菌株2種を用ひ培地は PH 7.3 に修正せる マルタン氏培養基とす。表第十九乃至二十二圖五參照。石炭酸に對する淋菌の抵抗力は PH 4 に於ては著しく減弱するも PH 5~9 の間に於ては略ぼ等し。又熱に對する抵抗力は PH 7, 8, 9 に於て強く特に PH 8 を至適とす。PH 6 にて著しく減弱し PH 5 及 4 にては極度に減弱す。即淋菌のメヂウムの PH によりてうくる影響は熱と石



炭酸の間に著明なる差あり(圖五參照)

第十九表 石炭酸に對する淋菌(A)の抵抗力

作用時間(分)	稀釋倍数	PH										
		4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	
PH 4	5	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
PH 5	80	90	100	110	120	130	140	150	160	170		
	5	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	15	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+

PH 6	5	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
PH 7	5	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
PH 8	5	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
PH 9	5	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+

第二十表 石炭酸に對する淋菌(B)の抵抗力

作用時間 (分)	稀釋 倍數	160	170	180	190	200	210	220	230	240	250
	PH 4	5	-	+	+	+	+	+	+	+	+
10		-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
15		-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
PH 5	5	80	90	100	110	120	130	140	150	160	170
	10	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	15	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
PH 6	5	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
PH 7	5	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+

PH 8	10	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	5	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
PH 9	5	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	10	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	15	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+

第二十一表 石炭酸に對する淋菌の抵抗力一覽表

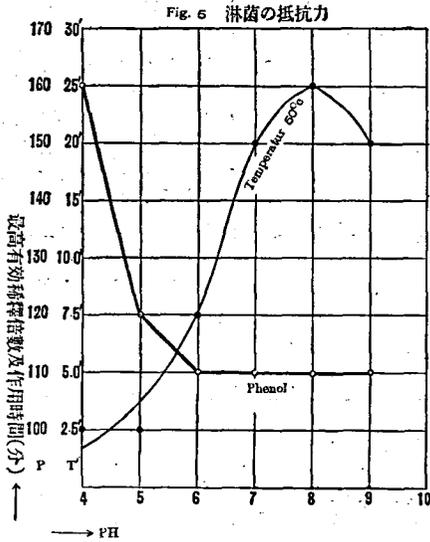
PH	作用時間 (分) 菌株	5		10		15	
		A	B	A	B	A	B
4.0		180	160	210	200	230	210
5.0		130	120	140	130	150	120
6.0		120	110	120	110	130	120
7.0		100	110	110	110	120	120
8.0		100	110	110	120	130	130
9.0		110	110	120	120	140	130

數字は最高有効稀釋倍數を示す

第二十二表 加熱に對する淋菌の抵抗力 溫度 50°

作用時間(分)	PH						
	4	5	6	7	8	9	
2.5	-	-	+	+	+	+	
5.0	-	-	+	+	+	+	
7.5	-	-	-	+	+	+	
10.0	-	-	-	+	+	+	
15.0	-	-	-	+	+	+	
20.0	-	-	-	-	+	-	
25.0	-	-	-	-	-	-	

總 括



各項に於て述べし如くチフス菌, 大腸菌, 葡萄狀球菌, 淋菌, 肺炎双球菌は一般にメチウムの水素イオン濃度PH7に於て抵抗力最も強し. 由つて今PH7に於ける場合の石炭酸に對する抵抗力即最高有効稀釋倍數を標準(0)とし此と各PHに於ける抵抗力即最高有効稀釋倍數との差を算出し表示すれば第二十三表の如し. 次に此表に基きて曲線を求むれば圖六を得. 但此際には僅かの稀釋度の差即 1:80と 1:90との間の差 1:10の如きは實驗操作によ

りて常に動搖するものなれば0~10は横軸上にとれり.

此によりPHの異同に基く抵抗力減弱の程度を明瞭に觀る事を得べし.

第二十三表 PH7と各PH間の抵抗力(消毒力)の差(石炭酸)

PH	4	5	6	7	8	9
菌種						
チフス菌	60	40	10	0	10	20
大腸菌	20	20	0	0	0	0
葡萄狀菌	60	30	0	0	0	0
肺炎双球菌	30	10	10	0	0	0
淋菌	50	10	0	0	0	0

數字は稀釋倍數の差を示す

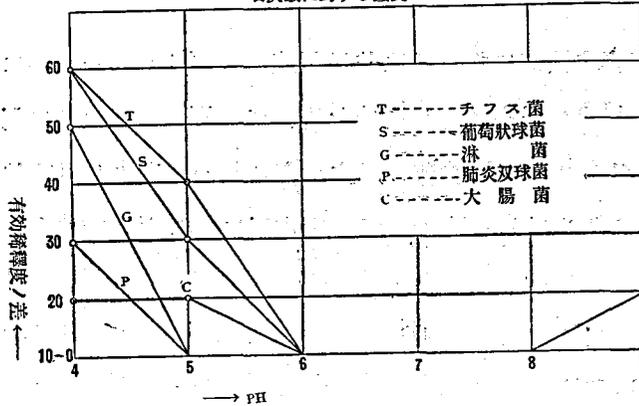
即石炭酸に對し

(1) チフス菌は PH6~8に於ては同等の抵抗力を有し兩側に向つて抵抗の著しき減弱を示す.

(2) 大腸菌は PH6~9の間に於て略ぼ等しき抵抗力を有し PH5~4に至れば輕度の減弱を示す. 即PHの抵抗力に及ぼす影響少し.

(3) 葡萄狀球菌も PH6~9に於て同等の抵抗力を有し PH5~4に至れば著し

Fig. 6 石炭酸に対する抵抗のPHに基く差異曲線



き減弱を示す。

(4) 肺炎双球菌は PH 5~9 に於て略ぼ同等の抵抗力を有し PH 4 に至れば軽度の減弱を示す。即 PH の抵抗力に及ぼす影響少し。

(5) 淋菌は PH 5~9

に於て略ぼ等しき抵抗力を有し PH 4 にて著しき減弱を示す。

次に加熱に対する抵抗を總括すれば

(1) チフス菌の抵抗力は PH 6~8 の間に於て略ぼ同等にして強く PH 9 にて軽度に PH 5~4 にて著しく減弱す。

(2) 大腸菌の抵抗力は PH 6~8 に於て強く且等しく兩側に移行すに従ひ減弱す。

(3) 葡萄状球菌の抵抗力は PH 6~8 に於て強く且略ぼ等しく兩側に移行すに従ひ減弱す。

(4) 肺炎双球菌の抵抗力は PH 7 に於て最も強く此よりアルカリ性側には軽度に酸性側には著しく減弱す。

(5) 淋菌の抵抗力は PH 8 に於て最も強く PH 7~9 の間に於て略ぼ等しく PH 6~4 にては著しく減弱す。

結 論

以上の成績を綜合觀察して結論する事次の如し

(1) 細菌は其浮游するメヂウムの PH によつて抵抗力に差を示す。換言すればメヂウムの水素イオン濃度は細菌の抵抗力に影響する一要因たり。

(2) 此抵抗力の差は菌體に作用する殺菌性要因の物理的或は化學的性狀によりて幾分の相違はあれども略同一の傾向を示す即 PH 7 にありて菌體の抵抗最も強く PH 6~8 にありては PH 7 に於けると大差なく此範圍より遠ざかるに従ひ菌體の抵

抗漸次減弱す。

此事實より推論して薬品の消毒力検定に當つては其稀釋液の PH6~8 のものに就て検定するを至當とし此範圍を超ゆる場合には緩衝液を用ひて PH6~8 の間に調節するを要すと思ふ。かくする事によりて可檢劑の示す水素イオン濃度に基く隨伴的消毒效力(實際使用の際に期待し得ざる)を除去して化學作用による本質的效力のみを検定し得べし。

文 獻

Kuroda: Biochem. Zeitschrift Bd. 169, 1926.

Frei: Zeit. für Hygiene. Bd. 75, 1913.

Seligman: Zent-bl. für Bakt. 1 Abt. Referate. Bd. 74, 1923.

George F. Reddish: The newer knowledge of modern bacteriology and immunology.

安東洪次: 比色的水素イオン濃度測定法及其實際的應用

昭和六年八月

大腸菌ウレアーゼに関する研究

技 師 秋 葉 朝 一 郎
嘱 託 風 間 美 佐 雄

緒 言

尿素を加水分解せしむる酵素をウレアーゼと定義す。



尿を放置する際に起る尿酸酵の本態に就きては Proust, Sherman, Liebig, Pasteur の氏等相次で研究せる結果尿酸酵の起る際には尿中に必微生物存在し其の有する酵素即ウレアーゼの作用によりて尿酸酵行はるゝ事闡明せられかくして細菌ウレアーゼがウレアーゼ発見の嚆矢となれり。

而して自然界に於ける窒素循環機轉中主要の役割をなす尿素分解作用は主として土壤細菌の營爲する所なれども大腸菌も亦此作用を有すべきは自然界に廣汎なる活動範圍を有するの點より容易に想像せらるゝ所なり。余等廣く文獻を涉獵したるも大腸菌のウレアーゼに就て廣く實驗せる報告を見ず之余等の大腸菌の生理を闡明せんために本實驗を企てたる理由の一なり。又大腸菌がウレアーゼを有する事實は一面其病原性との關係を考慮するの要あるを暗示するものにして此余等の大腸菌ウレアーゼ研究の第二の理由なり。蓋し植物性ウレアーゼ(大豆ウレアーゼ)を動物に注射するに動物は體內に於て發生せしめらるゝ炭酸アムモニアの爲に定型的アムモニア中毒症狀を呈して斃死すと云ふ報告あり。然りとせば腸内に常住するのみに非して時に血行中に移行し或は泌尿器系、膽囊等に浸入する大腸菌がウレアーゼを有する場合には其産出する毒素による毒性以外にウレアーゼの作用に基因する毒性をも併有するなるべしと思惟せられ従つて大腸菌の病原性を論ずる上にもウレアーゼの作用を明確ならしむる必要あるを思はしむるが故なり。

實 驗 材 料

健康者の糞便より分離せる大腸菌及腎盂炎膀胱炎患者の尿より分離せる所謂病原性大腸菌並に昆蟲鳥獸下水等より分離せる大腸菌合計貳百數十株を用ひたり。

實 験 方 法

ブイヨンに直接尿素を2%の割合に加へたるものに菌を移植して37°に48時間培養して後フェノールフタラインを滴下する方法或は菌ブイヨン培養1ccを2%尿素水10ccに加へて37°に24時間放置せる後に指示薬を加ふる方法何れを用ふるも可なり。ウレアーゼ存在すれば炭酸アムモンの生成によりて液はアルカリ性となり其程度に従つてフェノールフタラインを加ふる事により種々の濃度の赤色を呈す。指示薬としてネスレル試薬を用ふべしと唱ふる人あれどもブイヨン自身も亦反應するを以て敏感に過ぎて用ふべからず。尿素は加熱滅菌に際し耐熱不安定なるを以て常に濾過滅菌によるものとす。

第一項 尿素分解菌株の檢定

Mc. Conkey 氏の分類表に従つて大腸菌株を分類し其各群に就て尿素分解力を反覆測定せり。成績は數例乃至拾數例を以て各群を代表せしむ。

A). <i>B. coli communis</i>	1	2	3
G7c	+	+	-
G16a	±	±	-
G9a	+	+	-
F11II	++	-	-
Cyst1	-	-	+
Cyst6	-	-	+
F9A	+++	+++	+++
F11	++	++	+
21a	+	+	+
P22	+	+	-
G2	++	++	-
G17a	+	+	±
G1)c	-	+	-
G23	-	-	-
以下 25 株			
B). <i>B. coli communior</i>	1	2	3

G13b	+	-	-
16b	+	-	-
G8a	+	-	+
G10a	+	±	+
G11e	-	-	-
以下 37 株			
C). <i>B. acidilactici</i>	1	2	3
F18a	-	-	-
I36a	-	-	-
I23a	-	-	-
G13a	-	-	-
G15a	-	-	-
G20c	-	-	-
G18a	-	-	-
1a	-	-	-
5a	-	-	-
6a	-	-	-
8a	-	-	-
P26a	-	-	-
D). <i>B. grūnthal</i>	1	2	3
P34e	+	-	+
G9e	+	-	-
G20a	++	-	+
P31b	+	++	+
F27b	-	+	-
F32a	-	-	-
以下 18 株			
E). <i>B. lactis aerogenes</i>	1	2	3
G6a	++	++	-
G5b	++	++	+
P30d	++	-	-
P35d	+	-	+
P33d	+	-	+
SE1	-	-	-
F). <i>B. oxytocus Permiosus</i>	1	2	3
5e	++	++	++

11e	++	++	++
47d	++	++	++
45	-	-	-
G). <i>B. cloacae</i>	1	2	3
Gd	+	+	+
G5e	-	-	-
11e	++	++	++
H). <i>B. coscoroba</i> .	1	2	3
G25c	++	+	+
P10a	++	-	-
G11d	-	-	+++
G11a	++	-	-
G28	-	-	-
以下 13 株	-	-	-
菌 属 名	全 株 数	分 解 株 数	%
A). <i>B. coli communis</i>	38	13	34
B). <i>B. coli communior</i>	42	4	10
C). <i>B. acidilactici</i>	12	1	8
D). <i>B. lactis aerogenes</i>	6	5	
E). <i>B. grunthal</i>	24	5	20
F). <i>B. cloacae</i>	3	2	
G). <i>B. coscoroba</i>	18	4	
H). <i>B. oxytocus permiosus</i>	4	3	

以上表示せる実験成績を考察するに

(1) 一般に大腸菌の尿素分解力は微弱にして *B. proteus*, *Staphylococcus pyogenes*, *B. urae* 等の諸菌に比すべくもあらず。且他の含水炭素分解力の如く強く且安定なるものには非して諸種の外圍の條件によりて影響せらるゝものゝ如く 3 回実験の反覆に於ても分解度の強弱恒ならざるのみならず第 1 回に陽性なりしものが第 2 回第 3 回に陰性なるものあり又 1 回 2 回に陰性にして第 3 回に陽性となるものありて大腸菌の尿素分解力は薄弱にして不安定なる事を識る。就中 *B. coli communis*, *B. coli communior* に於て然り。

(2) 尿素分解力は各群に亘つて不定に現れ一定群の特徴をなすものに非ず。

(3) 分解菌株率を各菌群に就て見るに *B. lactis aerogenes*, *B. cloacae*, *B. oxytocus permiosus* 等 nonfecal-coli 屬に於て陽性率高く分解力も安定且強度にして *B. coli communior*, *B. acidi lactici*, *B. grūnthal* 等の fecal-coli 屬には其陽性率低く又分解力も弱く不安定なり。

第二項 尿素分解菌株の血清學的研究

大腸菌屬を血清學的に分類せんと企てたる人々の業績を見るに或は菌株特異性 (Stammspezifisch) なりと云ひ或は若干の菌群に分ち得べしとなして一致せざるは周知する所なり。かくの如く混沌たる大腸菌屬なるが故に元來尿素分解力は輕微不安定なるもウレアーゼは定型的内酵素にして菌原型質と膠着難離性なるが故に尿素分解性菌株は或は血清學的に一定菌群をなすものに非ずやと考へ凝集反應, 沈降反應によりて相互間の關係を検せり。

尿素分解力の強き菌株 *B. coli communis*(G₂, P₉A) *B. lactis aerogenes*(G₅b) の三菌株を撰びて夫々に該當する家兔免疫血清を作れり。

A) 凝集反應 第一, 二, 三表參照

G₂, P₉A, G₅b 家兔免疫血清と *B. coli communis* 中ウレアーゼ作用陽性なるもの 5 株陰性なるもの 5 株竝に *B. lactis aerogenes* 數株との間の凝集反應を行へり。

第一表 G₂家兔免疫血清

菌株	血清稀釋 ウレアーゼ	100	200	400	800	1600	3200	6400	12800	對照
		G2 +	+++	+++	+++	+	+	+	+	-
P9A ++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
P22 +	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
F37b +	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
G17a +	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
B22b -	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
12a -	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
G19c -	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
G4a -	++	+	+	+	+	+	-	-	-	
G8c -	+	+	+	-	-	-	-	-	-	

B. coli communis

G12a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	B. coli communior
3a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
P16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
G23b	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
F6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

第二表 P₉A 家兔免疫血清

血清稀釋 菌株 クレアージ	20	50	100	200	400	800	1600	3200	對照	
P9A +	++	++	++	++	+	+	+	-	-	B. coli communis
P22 +	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
P37b +	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
G2 +	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
G17a +	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
B22b -	+	+	+	-	-	-	-	-	-	B. coli communis
12a -	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
G19c -	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
G4a -	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
G8c -	±	±	-	-	-	-	-	-	-	

第三表 G5b 家兔免疫血清

血清稀釋 菌株 クレアージ	100	200	400	800	1600	3200	6400	對照	
G5b +	++	++	++	+	+	+	+	-	P. lactis aerogenes
G6a +	++	++	+	+	-	-	-	-	
P301 -	++	++	+	+	+	+	+	-	
F35d +	++	+	+	+	-	-	-	-	
P36d +	++	++	++	+	+	+	+	-	
F26a +	+	-	-	-	-	-	-	-	B. acidi lactici
P33a +	-	-	-	-	-	-	-	-	
P9A +	-	-	-	-	-	-	-	-	B. coli communis
B22 -	+	+	-	-	-	-	-	-	
P6 -	-	-	-	-	-	-	-	-	B. coli communior
G10c ±	+	+	+	-	-	-	-	-	

B) 沈降反應. 第四, 五表參照

家兔免疫血清は凝集反應に使用せるものと同じく沈降元は各菌株のブイヨン培養37°に二週間を経たるもの、遠心沈澱上清液なり。

第四表 G5b 免疫血清

菌株	血精稀釋 ウレアーゼ	原液	10	20	50	100	200	400	800	對照	
		G5b	+	+	+	+	+	+	+	-	
G6a	+	+	+	-	-	-	-	-	-		
F301	-	-	-	+	+	-	-	-	-		
P351	+	-	-	-	-	-	-	-	-		
P36d	+	+	+	-	-	-	-	-	-		
P26a	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	B. acidilactici
P36a	+	+	-	-	-	-	-	-	-		
P9a	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	B. coli communis
B22	-	+	+	-	-	-	-	-	-		
P6	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	B. coli communior
G10e	±	-	-	-	-	-	-	-	-		

第五表 P9A 免疫血清

菌株	血精稀釋 ウレアーゼ	原液	10	20	50	100	200	400	800	對照	
		P9A	+	+	+	+	+	+	+	-	
F22	+	-	-	-	-	-	-	-	-		
P37b	+	+	-	-	-	-	-	-	-		
G2	+	+	-	-	-	-	-	-	-		
G17a	+	+	-	-	-	-	-	-	-		
B22b	-	±	-	-	-	-	-	-	-		
G19e	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
12a	-	+	-	-	-	-	-	-	-		
G4a	-	+	-	-	-	-	-	-	-		
G8c	-	+	-	-	-	-	-	-	-		

以上の實驗成績によつてウレアーゼは大腸菌屬中特殊の菌群に特有なるものに非ずして血清學的分類の標識として何等の價値なき事を知れり。

第三項 腎盂炎膀胱炎患者尿より分離せる大腸菌の尿素分解力

臨床的に大腸菌性腎盂炎、膀胱炎と診斷されたる亞急性若くは慢性患者尿より約三十種のグラム陰性無芽胞中等大桿菌を分離せり。此種桿菌中には大腸菌ならざるもの可成に多く確實に大腸菌屬と決定し得たるものは *B. coli communis* 2株 *B. coli communior* 10種及 *B. coscoroba* 2株の14株なり。此大腸菌によりて惹起せられたる腎盂炎、膀胱炎患者の尿はカテーテル使用採取直後に於て殆全數酸性反應を呈しアルカリ性なりしもの數種に過ぎず。而して全株に就き尿素分解力を見たるに只一種すらも陽性なるものなし。勿論アルカリ性尿より分離せる菌株に於ても然り。

余は腸管より分離せる大腸菌株二百數十株に就きて尿素分解力を檢し陽性菌株僅少なると其微力なるとを見て此等は腸管内に生存するために營養物攝取に何等尿素分解酵素の力に俟つの要なきが故に尿素分解酵素産出の能力を有しつゝも其機能發現せざるものならんと思惟し若し大腸菌屬が泌尿器管中に移行するに至らば窒素の攝取は主として尿中の有機主成分たる尿素若くは尿酸鹽よりなさざるべからざるが故に適應現象として尿素酵素産出するに至るべしとの豫想の下に尿中に幾世代かを重ねたる亞急性或は慢性膀胱炎患者尿より分離せる大腸菌株に就き試験したる結果は上記の如く案に相違し全菌株悉陰性なる成績を得たり。此事實より見ても大腸菌による泌尿器系の疾患は大腸菌毒素の作用によるものにして先に唱へられしが如く尿素の加水分解産物たる炭酸アムモンの毒性に基因するものに非ざる事を想像しうべし。但尿素酵素産出せらるる場合には炭酸アムモンの協毒作用によりて毒性甚しかるべきは想像せらるゝ處なれども果して何れの程度の毒性補助作用あるやは多數の觀察を俟ちて後始めて論斷すべきものなり。

第四項 尿素加ブイオン竝に尿中培養のウレアーゼ産出に及ぼす影響

細菌は其養素に對し適應性を示す。例之ば澱粉加培養基上に培養を重ねる時菌はアミラーゼを産出し澱粉を攝取する性狀を有するに至るも此菌を再び澱粉を含まざるゲラチン培養基上に移植すればアミラーゼ形成能力再消失するが如し。余等は、大腸菌の

ウレアーゼ産出餘りに微弱なるが故に此を尿素加ブイオン若くは尿中に數世代數十日歴代培養を行ふならば適應現象によりウレアーゼ産出多量なる菌株を得べしと想像して次の實驗を試みたり。

2%尿素加普通ブイオン及健康人尿を用ひ一週間の間隔を置いて歴代移植培養せり。

第六表 2%尿素ブイオン歴代培養

回数 菌株	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
I22	-	-	±	±	+	+	+	+
G2	-	-	-	-	-	-	+	+
I22b	-	-	±	-	-	-	+	+
12a	-	-	-	-	-	-	-	-
F6	-	-	-	-	-	-	-	-
3a	-	-	-	-	-	-	-	-
P261	+	+	+	+	+	+	+	+
5a	-	-	-	-	-	-	-	-
6a	-	-	±	±	±	+	+	+
G9e	-	-	-	-	-	+	+	+
17b	-	-	-	-	-	-	-	-
G6a	-	-	-	-	-	-	-	-

第七表 尿中歴代培養

回数 菌株	I	II	III	IV	V	VI	VII
P9A	+	+	+	+	+	+	+
P22	-	-	-	-	+	+	+
G2	-	-	-	-	-	-	+
B22b	-	-	-	-	-	+	+
12a	-	-	-	-	-	-	-
F6	-	-	-	-	-	-	-
3a	-	-	-	-	-	±	±
5a	-	-	-	-	-	-	-
6a	-	-	-	-	-	-	±
G9e	-	-	-	-	-	+	+
17b	-	-	-	-	-	-	-

第六、七表に示す如く歴代培養する事四代月餘に及べば微量なれどもウレアーゼの存在を證明し得るに至る。尿素加ブイオン中に於ては尿中に比して早く且多量に産出するは營養素の多きによるものなるべし。併し乍らかく長日培養するも尙微力なる事實より見て腎盂炎、膀胱炎の病理に就てはウレアーゼの作用は度外視し得べきものと信ず。

第五項 尿素分解性と毒力

Carnot, Gérard & Moissonier⁽⁴⁾氏は大豆ウレアーゼ(Sojaurease)を犬の静脈内及皮下に注射して其動物に對する毒性を實驗せり。氏等の報告によれば注射せられたる犬は定型的アムモニア中毒の症狀を起して斃死するに至り注射量大量となるに従ひ致死時間短縮す。而て肝臓に於けるアムモニアの蓄積と血中尿素の完全に消失する事實より見て其死はウレアーゼの作用により血液中の尿素分解せられてアムモニア成生するに起因すと論ぜり。Alfred Lublin⁽⁵⁾氏は家兎及マウスに就て實驗し静脈内にウレアーゼを注射すれば動物は直に斃死すれども決してアムモニア中毒の症狀は呈せず。其死因は血球栓塞によるものにしてウレアーゼ溶液の血球凝集性が其死因をなすものなるべしと論じ皮下注射に於ては非常に大量に非んば動物を斃す事能はずと報告せり

余等はウレアーゼ産出性大腸菌竝に非産出性大腸菌數株を撰び其一定量をマウスの皮下竝に腹腔内に注射して兩者の毒力を比較せるにウレアーゼ産出菌株が毒力強しと云ふ事實を認めず。次に或菌株を尿素含有培養基に歴代培養してウレアーゼを産出するに至りし時原菌株と此變性菌株とをマウスの皮下或は腹腔に注射せるに毒力更に高まらず。即大腸菌の有する程度の僅少なるウレアーゼは菌本來の毒力の上に何等の補助作用なきを知る。

結 論

- (1)大腸菌屬の尿素分解力(ウレアーゼ)は一般に微弱不安定にして菌型分類上の標識となす事能はず。non-fecal coli 屬は fecal coli 屬よりも尿素分解力強く且分解菌株數多し。
- (2)菌ウレアーゼは定型的内酵素にして菌原形質と分離し難きものなるを以てウレアーゼ産出菌株は血清學的に一菌群をなすものに非ずやと考へ當該免疫血清を作り

て凝集反應、沈降反應を試みたるも何等注意すべき結果を得ず。

- (3) 亞急性、慢性腎盂炎膀胱炎患者尿より分離せる大腸菌14株中ウレアーゼを産出するもの皆無にして以て大腸菌の尿素分解力(ウレアーゼ)は大腸菌の病原性に無關係なる事を知る。
- (4) 尿素加ブイオン竝に尿中に數代月餘に亘りて連續移植すればウレアーゼ作用陰性なりしものも極めて微弱乍陽性となるに至り適應現象の發露を認むる事を得。
- (5) マウスに對する毒性實驗に依つて大腸菌ウレアーゼは菌本來の毒力の上に補助的毒作用を有するものと認められず。

主要文獻

- (1) Carl Oppenheimer: Die Fermente. S. 782, 1925.
- (2) Alfred Lublin: Archiv f. exp. Patholog. & Pharmak. S. 280, Band 92, 1922.
Über eine besondere Wirkung der Ureasefermente auf tierischen Organismus.
- (3) 足立: 福岡醫科大學雜誌第15卷大正15年
大腸菌屬=就テ
- (4) Carnot, Gérard & Moissonier: Annales de l'Inst. Past. Pl. 1921

昭和六年五月

東京市上水の水素イオン濃度に就て (第二報)

囑 託 勝 田 泰

助 手 岡 部 政 藏

余等は曩に浄水の水素イオン濃度の精密なる測定を試み之が瓦斯電池法に依る標準値を決定せると共に各種比色法に依る測定値の誤差を定め併せて其誤差の生ずる原因を明にせしが(本彙報第36號参照)其後昭和五年七月より六年六月に亘り淀橋浄水場に於て浄水、源水並に沈澄池、濾過池等の諸水の水素イオン濃度の臨地測定を試みたるを以て其成績を報告せんとす。

測 定 方 法

1. 測定器. 使用に供せしはミハエリス氏水素イオン濃度測定器(特殊型)にして本器は同氏が上水、井水、河水、海水等の如く中性附近の緩衝作用に乏き液の測定に際し標示薬添加に依る誤差を可及的に僅少ならしむる目的を以て考案せる特殊目的用の測定器にして且緩衝液を要せず装置極めて簡單なるを以て臨地試験用として最適なりとす。測定法の原理は同氏の緩衝劑標準液を用ひざる測定法と全く同様にして特徴とする處は極めて稀釋せる標示薬を最少限度に添加して得たる微に着色せる檢水の厚き液層を透視して比色を行ふ點にあり。高さ25cm 内容約44~45ccの無色硬質硝子製試験管6本に順次0.25, 0.29, 0.33, 0.38, 0.45, 0.50 cc宛のメタニトロフェノール標示薬原液(0.3gを蒸溜水100ccに溶解せるもの)の10倍稀釋液を入れ次で約N/50の苛性曹達溶液40cc宛を添加す。別に用意し置きたる全く同型の試験管2本の内の一方に檢水40ccを採り之に上記6種の標準液の色調の何れかに略ぼ類似する程度にメタニトロフェノール液を加へ(上水に於ては該液の約1~3ccを要す)静かに他の試験管に移して混合し2, 3分間放置せる後白色エナメルを以て塗りたる試験管臺の中央に檢液を兩側に標準液を挿入し該試験管の下に白色板或は乳色硝子を斜に置き上より之に向ひて透視す。

凡そ溶液中のメタニトロフェノールは該液の水素イオン濃度大に過ぐれば(pH=6.5

以下) 全然解離せず(解離せざる分子型のメタニトロフェノールは無色なり)小に過ぐれば(pH=9.0以上)悉く解離し(解離してイオンの型を採れるメタニトロフェノールは黄色を呈す)その中間(pH=6.5~9.0)に於ては解離せるものとせざるものとの兩者共存し其割合は水素イオン濃度の大小に依りて定まる. 換言すれば該色素溶液はpH=6.5以下及pH=9.0以上に於ては如何にpH變化するとも色調には何等變りなくpH=6.5~9.0の範圍にてはpHの變化に連れて濃淡種々の色調を呈す可し. 今例へば標示薬3ccを和したる檢水の色調が上記6種のアルカリ性標準液(pH=9.0以上なるため液中の標示薬は悉く解離し黄色のイオン型をとる)中0.45ccの標示薬を入れたるものと同一なりとすれば檢水に加へたるメタニトロフェノール中 $\frac{0.45}{3} \times 100\%$ は解離して黄色を呈し $(1 - \frac{0.45}{3}) \times 100\%$ は解離せずして無色なるを知る. $\frac{0.45}{3}$ は所謂呈色度(Farbgrad)と呼ばれ通常Fを以て示さる. 然る時は次式に依り該檢水のpHを算出するを得可し.

$$\text{pH} = \text{PK} + \varphi + \text{S} + \delta$$

但し $\text{PK} = -\log \text{K}$ Kは測定温度に於ける標示薬の解離恒數なり. 各温度に於けるメタニトロフェノールのPKは次の如し.

温度	PK	温度	PK
0°	8.47	18°	8.33
5°	8.43	20°	8.31
10°	8.39	25°	8.27
15°	8.35	30°	8.22

φ は檢水の温度に因る誤差の補正項にしてその値次の如し.

5°	10°	15°	17.5°	20°	25°	30°
+0.10	+0.06	+0.02	±0	-0.02	-0.06	-0.11

Sは鹽類誤差に對する補正項にして上水に於ては常に0なり.

$$\delta = \log \frac{F}{1-F} \quad F \text{は呈色度なり.}$$

尙 δ はFより算出するの必要なくミハエリス氏の作圖に係るF及 δ 間の圖表より直ちに求め得る便あり.

2. 検水の採酌. 淀橋浄水場に於ては玉川上水路より流入せる源水は先づ四箇の沈澄池(1箇の面積6,800坪. 深20尺. 容量462,770石)に導かれ更に之より給水渠に引出されて24箇の濾過池(各面積1,200坪. 深9尺)に送らる. 而して濾過されたる上水は三條の浄水暗渠に流出して浄水池(面積2,530坪. 深12尺. 容量154,256石. 表面に覆蓋の設けあり)及本郷線竝芝線の兩溜井に流入す. 余等は毎月1, 2回隨時出張し通例次の六ヶ所即

玉川上水路大開渠四號附近(源水)

沈澄池三號引出口

濾過池乙三號

芝井(浄水)

本郷井(浄水)

浄水池引出口(浄水)

に於て水深1尺乃至2尺の處より採酌せる検水に就き直ちに測定を行ひたり. 但し沈澄池三號或は濾過池乙三號等に於て工事中なる時は隣接の貯水池にて採酌せり.

試 験 成 績

上記の方法に據り測定せし結果は次の如し.

東京市上水の水素イオン濃度淀橋浄水場臨地測定試験成績

但しミハエリス氏特殊型水素イオン濃度測定器に依る測定値なりとす.

採酌時日	採酌場所	大開渠4號附近(源水)	沈澄池引出口	濾過池	芝井(浄水)	本郷井(浄水)	浄水池引出口(浄水)	浄水の平均
年 月 日	水 温	26.0	28.0	27.9	27.0	27.0	27.0	27.0
	pH	7.76	7.63	7.57	7.49	7.49	7.49	7.49
" 8.15	水 温	25.0	28.5	28.8	26.8	26.8	26.8	26.8
	pH	7.80	7.54	7.49	7.45*	7.45	7.42*	7.44
" 9. 1	水 温	24.8	27.0	27.5	26.0	26.0	26.0	26.0
	pH	7.95	7.68	7.62	7.41*	7.41*	7.41*	7.41
" 10. 1	水 温	21.5	21.0	21.0	20.4	20.4	20.5	20.4
	pH	7.84	7.51	7.51	7.45*	7.48	7.48	7.47
5.11. 5	水 温	15.2	15.0	14.6	14.0	14.0	15.3	14.4
	pH	7.87	7.70	7.66	7.61	7.68	7.66	7.65
" 11.17	水 温	13.0	12.7	12.5	12.3	12.3	13.0	12.5
	pH	7.75	7.62	7.63	7.62	7.62	7.61	7.62
" 12. 1	水 温	12.0	9.7	9.7	9.3	9.3	9.5	9.4
	pH	7.75	7.67	7.63	7.64	7.64	7.64	7.64
" 12.15	水 温	8.0	8.0	7.5	7.0	7.2	8.0	7.4
	pH	7.78	7.66	7.67	7.63	7.64	7.66	7.64

6. 1. 7	水 温 pH	5.7 7.77	5.3 7.71	5.3 7.71	5.0 7.70	5.0 7.71	5.7 7.69	5.2 7.70
" 1.18	水 温 pH	4.8 7.78	4.7 7.63	4.3 7.69	4.0 7.68	4.0 7.69	4.0 7.69	4.0 7.69
" 2.18	水 温 pH	3.5 7.68	2.4 7.70	3.0 7.64	2.6 7.69	2.7 7.70	3.2 7.62	2.8 7.67
" 2.28	水 温 pH	4.0 7.80	4.0 7.72	4.0 7.72	4.2 7.64	4.2 7.65	4.7 7.64	4.4 7.64
" 3.15	水 温 pH	10.0 7.92	9.3 7.80	9.7 7.78	9.6 7.71	9.6 7.71	9.6 7.67	9.5 7.70
" 3.29	水 温 pH	10.0 7.79	10.0 7.73	10.0 7.70	9.0 7.67	9.0 7.67	10.0 7.63	9.3 7.66
" 4.16	水 温 pH	18.3 7.91	17.3 7.92	17.7 7.82	16.6 7.59	16.5 7.57	16.2 7.57	16.4 7.58
" 4.3)	水 温 pH	16.8 7.95	15.5 7.77	15.3 7.69	15.3 7.53	15.5 7.53	14.8 7.59	15.2 7.58
" 5.28	水 温 pH	19.5 7.51?	18.8 7.81	19.5 7.67	19.0 7.59	19.0 7.59	18.5 7.60	18.8 7.59
" 6.15	水 温 pH	20.1 7.81	21.1 7.77	21.2 7.63	21.0 7.54	21.0 7.55	21.6 7.55	21.2 7.55
" 6.29	水 温 pH	22.4 7.81	23.8 7.96?	23.4 8.09?	22.4 7.58	22.3 7.58	22.2 7.53	22.3 7.58
" 7.16	水 温 pH	20.3 7.84	21.2 7.82	21.0 7.67	20.5 7.61	20.5 7.61	20.5 7.61	20.5 7.61
平 均	水 温 pH	15.0 7.82	15.0 7.71	15.0 7.65	15.0 7.60	15.0 7.50	15.0 7.60	15.0 7.60

註 * 印を付せるは懸素消毒施行中のものとす。

? 印を付せるは pH 値の異例なるものとす。就中源水の pH=7.51 は検水の潤濁甚だしかりしが故に色調の観測を誤りし疑あり。

曩に(第一報参照)余等は浄水の pH を瓦斯電池法に依りて精密に測定せしにミハエリス氏法に據る pH 値に尙多少の誤差あるを認めたるを以て之に對し補正を行ふ處ありしが該補正項は浄水とは水質を異にする源水、沈澄池並瀘過池の諸水に適用し得可からざるや言を俟たず。加ふるに之等の諸水の pH は採酌後時を経るに隨ひ漸次變化するが故に電池法にて補正值を求むるに由なきは炳なり。(例へばミハエリス氏法による pH=7.84 の源水を一夜放置せしに pH=7.47 となれり) されば以下臨地測定の結果より推して直ちに謂ひ得ることのみを述べん。

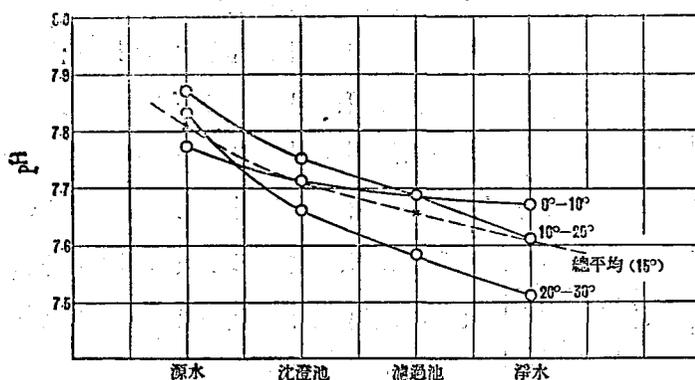
先づ pH と水温との關係は次の如き結果を示し

温度 \ pH	源水	沈 澄 池	濾 過 池	浄 水
0°~10°	7.77	7.71	7.69	7.67
10°~20°	7.87	7.75	7.69	7.61
20°~30°	7.83	7.66	7.58	7.51

註 本表は同日に測定せる諸水の pH 値を温度の高低に依りて 3 種に分類し各に付き平均値を採れるものにして大體 0°~10° は 12, 1, 2, 3 月, 10°~20° は 4, 5, 10, 11 月, 20°~30° は 6, 7, 8, 9 月に於ける水温なりとす。

之を圖示すれば第一圖の如し。

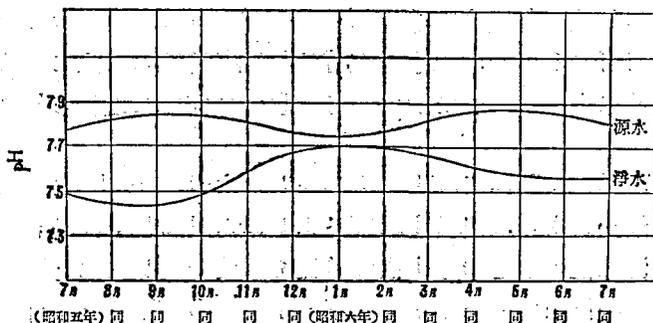
〔第一圖〕



以上の成績に據れば上水の pH 價は浄水過程の進むに随ひて常に漸次減少す。之游離炭酸の増加竝にアルカリ性無機鹽類の沈降等に基くものと思考せらる而して其減少率は 0°~

10° に於て極小なり換言すれば源水と浄水の pH は冬季寒冷の候に於て其差最も小なり。第二圖は即ち四季に於る源水及浄水の pH を連ねたる線圖にして冬期に於て特に兩者の接近せる状を示せるものなり。尙一般に之等諸水の pH には季節に依り水温に依り多少の増減あり。然れ共第三圖に明なる如く温度と共に規則正しく變化するは浄水のみにして他は稍複雑なる變化をなす。檢水の温度と pH との關係を検するに當りては温度が水の解離度に及ぼす影響とアルカリ性無機鹽類の溶解度竝に解離度に

〔第二圖〕

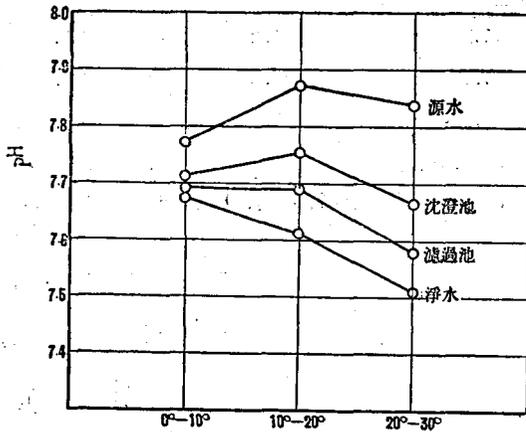


及ぼす影響の二者を考慮せざるべからず。温度の上昇に随ひて水そのものの解離度の増加に依り pH は小ならんとしアルカリ性無機鹽類 (主に重

炭酸カルシウム) の溶解並解離度の増加及游離炭酸の溶解度の減少等に基く水質の變

化に依り pH は大ならんとす. 然るに浄水の pH は水溫に反比例せるを以て之が變化は

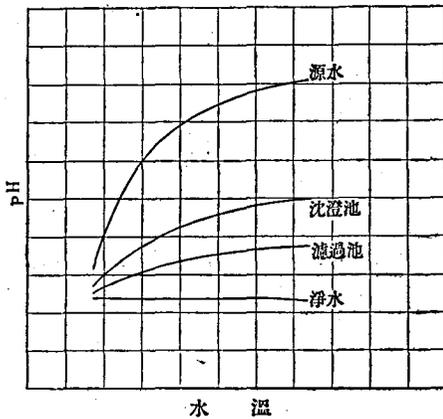
〔第三圖〕



専ら前者即ち水の解離度の變化のみに基くものと見做し得可く従てその水質は四季を通じて略ぼ一定なるものと思考せらる. 源水の pH が 0°~10°のものより 10°~20°のものに至る迄溫度の上昇とともに稍顯著に増加するは後者即ち水質の變化に起因する影響比較的大なるに因るものなる可し. 今試みに水の解離度の變化による pH の變化を除き

單に水質如何による之が變化を考ふれば大體第四圖の如き圖線にて示し得んか.

〔第四圖〕



冬期に於て源水の水質の浄水のそれに近きは古來寒の水の賞味せられたることと對照すれば興味ある可く亦源水と沈澄池の水との水質の差が四季を通じて他より顯著なるは浄水過程に於て沈澄作用の極めて重要なるを示すものと觀るを得可し. 現に各國の上水道には往々にして濾過池を有せずして沈澄池のみを備くる所ありと謂ふ.

總 括

浄水の pH 價は水溫に反比例して多少の變化あるも之水の解離度に及ぼす溫度の影響に基くものにして水質の相違に起因するものに非らず. されば浄水の水質は四季を通じて略ぼ一定なりと見て可なる可し. 源水, 沈澄池並濾過池等の諸水の pH 價の規則正しく水溫に比例せざるは上述の水の解離度の影響以外に尙水質變化の伴ふが爲なるものと思考せらる.

上水の pH 價は浄水過程の進むに隨ひて漸次減少し而して水溫 0°乃至 10°の間に於て源水と浄水の pH 價の差は最小となる. 換言すれば冬季寒冷の候に於ては兩者の水質は極めて接近す. 亦源水と沈澄池の水との pH 價の差従て水質の差が四季を通じて他より顯著なるは浄水操作上沈澄作用の極めて重大なるを示すものと觀るを得可し.

昭和七年三月

Vitamin 標準試験方法 (第一報)

囑 託 山 本 允 秋

助 手 萬 年 文 雄

内 容 目 次

第一章 緒言	Vitamin A 缺乏症状
第二章 Vitamin 試験に要する準備	Vitamin A 定量方法(比色法)
試験動物	米薬局方に依る Vitamin A 定量法
白鼠に就きて	Vitamin A 標準試験方法
試験動物の準備	實驗例—肝油・牛酪・トマト・菠薐
設備	第五章 Vitamin B 試験方法
√ 基礎飼料に就きて	Vitamin B の種類
√ 基礎飼料に用ひらるる各成分の研究	白鼠の排泄物攝取に就きて
カゼイン,カゼインと肉蛋白,酵母,澱粉	白鼠の體內に於ける Vitamin B の貯藏
√ 飼料の精製	試験方針
精製装置,カゼインの精製, Vitamin B	動物の性及び最初の體重の及ぼす影響
試験用, Vitamin A 試験用, 澱粉の精製	Vitamin B 試験の妨害となる Refection.
オレーフ油,酵母,牛酪の精製,定量分析	Vitamin B 缺乏基礎飼料
第三章 Vitamin 試験方法	檢體給與方法
試験方法の二種類	鳩を用ふる試験
檢體の與へ方	Vitamin B 標準試験方法
試験動物の數及び其の死亡率	實驗例—麥酒酵母・トマト・菠薐・米胚芽
Vitamin 含有量の判定	第六章 Vitamin C 試験方法
第四章 Vitamin A 試験方法	試験動物
白鼠の體內に於ける Vitamin A の貯藏	Vitamin C 缺乏基礎飼料
試験方針	試験開始前の注意
Vitamin A 試験の難點	試験動物の數
授乳期中の飼料及貯藏 Vitamin A の消費日數	試験方針
試験動物の大きさ及び雌雄に就きて	試験期間
Vitamin A 缺乏基礎飼料	試験結果の判定
Vitamin D 補給の方法	壞血病の徴候
試験期間	Vitamin C 標準試験方法
檢體保存上の注意	實驗例—菠薐・トマト汁

第一章 緒 言

栄養學上 Vitamin の等閑視すべからざる事の明らかとなりてより爾來幾多の學者は競ふて之が研究に着手し論說又日を遂ふて盛んなるは人類保健上誠に喜ぶべき事象なりとす。然るに是が研究には多額の費用を要し且其の方法亦甚だ困難なれば實際に試みるに失敗に終る場合多くして容易に企圖し得る所に非ず。

斯かる障礙の存するは學術進歩の上より見るも甚だ遺憾の事にして此の際標準となるべき試験方法の制定は真に焦眉の急なりと思惟す。

本試験所長西崎弘太郎博士は夙に是に著眼せられ余等に其の調査を命せられたり。茲に於て余等は所長御指導の下に或は専門大家に質し或は文献を参照し幾多の失敗を反覆し纏めて標準試験法と題し Vitamin A.B.C. 3種の定量方法を報告せんとす。

若し本報告にして將來 Vitamin 研究に著手せんとする諸士の参考に資するを得ば著者等の欣幸とする所なり。

第二章 Vitamin 試験に於ける準備

試 験 動 物

實驗材料に供せらるゝ動物はその種類甚だ多く例へば白鼠モルモット、鳩、猫、犬、猿、鶏、十姉妹等を挙げ得れども Vitamin 試験に於ては最も經濟的にして効果を早く挙げ得るものならざるべからず。この意味に於て屢用ひらるゝものは白鼠、モルモット、鳩なり。

白鼠 (Albino rat) に就きて

白鼠は四季を通じて最も發育良好にして殊に春季に於ては發育旺盛且つこの時季に出生せるものは最も強壯なり。生後9~12日にして聴くことを得又目は14~17日にて見るを得。雌は雄よりも多少早し。母親に頼る日数は21~22日なり。發育期間は87~120日にして人間の7.5~10年に相當す。凡そ3年の生命を保ち Sexual maturity は雌雄何れも2ヶ月内外にて現はる。仔は通常靜かなる時出生するものにして交尾後21~22日なり。多くの場合夜中或は早朝なり。仔の数は通常4~5匹なれども多きときは3倍に及ぶことあり。雌は屢仔を殺すことあれども馴養せるものはかゝることなし。

攝取量は 100g の體重を有するものは 1 日約 7g との報告あり。然れども實際飼養

するに當りては鼠の飛撒する量を加算して動物の體重に應じ 10g~15g 或は場合により夫れ以上與ふるを必要とすべし。

鼠の體溫は通常 37°~38° を示す室溫の上昇と共に昇るものなり其の他生長は食物に關係あるは勿論にして個々に分離せる動物は一緒に飼養せるものより發育不良なり。周圍の喧騒によりて發育中止或は體重減少するは勿論なり。

尙詳細なる文献は Donaldson 氏の The Rat を参照せられたし。

試験動物の準備

白鼠は市中より得たるものを使用するは不可なり。簡便に似て然らず實驗室にて飼養せるものに及ぶべくも非ず。余等最初購入して試験に供し痛切に其の缺點を味ひたり。次の如し。

1. 病鼠の混在して居る事

白鼠は呼吸器病皮膚病に犯され易く動物商に於て粗惡なる飼料不良なる場所にて飼育せられたるものは體質虛弱にして疾病に罹り易し斯かる動物を試験に供にするときは途中にて落伍す。

2. 年齢の不明

白鼠を用ひて檢體の Vitamin 含有量の比較試験を行ふには年齢の同一なることを要す。然るに購入せるものは不明なり。

3. Vitamin 貯藏量の不明

動物は Vitamin A, B 共に體内に貯藏す此の貯藏に就ては後章に述ぶれども飼料及び飼料に倚れる期間により著しき差あり従つて試験に供したる場合 Vitamin 缺乏症を呈する期間に甚だ長短あり。

4. 個性の變化

動物は個性の變化甚だしきものなり同一條件の下に育たざる鼠は特に然り依つて購入せるものを試験に供するの已むを得ざるとせば之等を平均せしむる爲め其の數を多く取らざるべからず。

斯くの如き不利ある爲め實驗者は宜しく各自同一系統の動物を飼育すべきなり而して必要に應じて其の同一腹仔を用ひて試験すべし。

同一系統の白鼠は次の飼料にて繁殖生長せしむ、

小 麥 98.5%

食 鹽 1.5%

牛 乳 自由に飲ましむ

斯くして育てたるもの、發育状態を次に示すべし。

出産月日	litter の 数		生後21 日平均 の體重	生後 30 日 の 體 重						生 後 60 日 の 體 重					
	雄	雌		雄			雌			雄			雌		
				平均	最高	最低	平均	最高	最低	平均	最高	最低	平均	最高	最低
6月21日	3	3	33	66	68	63	79	62	58	186	192	133	135	142	131
6月23日	6	5	23	49	51	43	42	46	42				119	132	105
7月19日	2	6	24.6	51	52	50	44.5	48	40				109	115	99
7月24日	1	11	20.6	45	45	45	42.9	45	30				83.8	95	75
12月 1日	5	5	23.2	49.2	52	45	52	54	50	143.4	145	130	115.6	121	105
2月 3日	1	5	35.8	64	64	64	55.4	58	53						
2月 4日	3	6	31.3	53	55	51	50.6	54	52						

設 備

周囲の状況は動物の發育に及ぼす影響大なり即ち喧騒、温度の變動、取扱の粗暴等により攝取量を減少し發育不良となる故に動物の飼養に際しては上記の諸點を考慮し適當なる場所を撰定せざるべからずこれに就き 1923年 Gladys Annie Hartwell 氏等は次の如く述べたり。

即ち白鼠の飼養には65°Fの温度を撰びその變動は上下5°F以内に止むる様調節す。高温、低温共に動物の發育には不結果を生ず且つ温度の變動大なるときは Pneumonia を起すものとす。

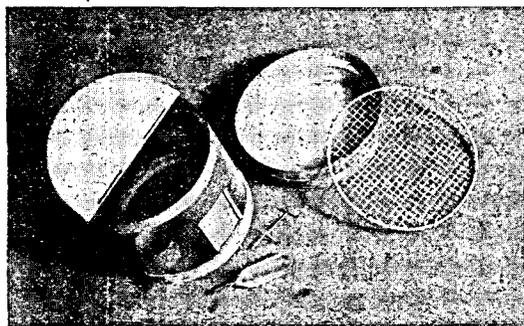


写真 1 動物籠 理研のものと同一

余等は冬季動物室の周囲を黒色の毛布にて被ひ室内に電気ストーブを備へて上記の温度を保ち夏季は通風に注意し各窓を開放し置けり。

動物籠は白鼠には金網製を用ふるを可とす。白鼠の性質として金網製よりも木造の

ものを好むも後者は前者に比して清潔に保ち難きこと及び寄生蟲を防ぎ得ざること並びに白鼠はこれを好んで嚙る等の不利益あり。

余等の使用せるものは理化學研究所に於て使用せるものと同一型にして排泄物受皿床網・金網籠の3部より成る組立式なり。排泄物受皿には新聞紙を敷き日々交換す。寫眞はその分解したるものを示す。

基礎飼料に就きて

Vitamin 試験に使用する飼料は試験すべき Vitamin のみ缺乏し他の諸點悉く完全なる栄養を備ふるを要す。従つてその飼料の具備すべき條件として Eddy 氏は次の數項を擧げり。

1. 動物に必要なカロリーを充分供給するものなること
2. 完全なる飼料の有する栄養分の全種類を適當なる割合にて含有すること
3. 蛋白質は成長に必要な充分の條件を備ふるを要す。即ち是れが爲に知られたるアミノ酸の各種及それ等の適量を供給し得る性質のもの。
4. 消化し易く美味なること
5. 必要に應じて檢體たる Vitamin の何れかを補給し得ること及び Vitamin A, B を適當に混合せば動物は完全に發育し得るものなるを要す

基礎飼料に用ひらるる各成分の研究

各研究者により一般に用ひらるるものはカゼイン、肉蛋白、デキストリン、酵母、肝油、鹽類、寒天、オリーブ油、牛酪、綿實油等なり。動物試験は全期間成る可く同一條件にて行ふべきは勿論にして殊に飼料に於て然り。

實驗途中にてカゼインを肉蛋白に更へ或は澱粉をデキストリンに変更するが如きは避けざる可からず。

1929年 Katharine Hope Coward 氏等はその Vitamin 研究に於てカゼインの種類に依る影響に就き實驗を行へり即ち2種のカゼインを用ひて Vitamin A, B の試験を施行したるに同一檢體なるにかゝはらず各其の Vitamin 含有量の異なる結果を得たり。之れに依りて見るも飼料成分變更の不可なるは明かなるべし。

カゼインと肉蛋白

動物試験に於ける栄養上の優劣は姑く擱き其の精製に當りカゼインは含有する

Vitamin を除去すること甚だ困難にして多大の勞力を要すれども肉蛋白は然らず容易に之れを除去することを得。この點肉蛋白はカゼインに比較して優れどもその收得量甚だ悪しく多額の費用を要するを缺點とするを以て使用に堪へず。

酵 母

酵母は Vitamin B の原料として使用す之れを實驗室にて製造することは極めて困難なるを以て市販の乾燥酵母を購ふべし。

酵母はその製造方法の如何に依りその含有する Vitamin B に相異を來す故に成る可く強力なるものを使用すべし飼料中に混合する場合は5%以上を用ふべし。是れ鼠は Vitamin B に不足を來す時は normal の成長を爲す能はざればなり。

1922年 Cornella Kennedy 氏等は酵母を飼料中に大量加ふるは飼料の精製を徒勞に歸するものなりと云へり然れども之れに代ふる適當なる製品を得る能はざるを以て已むを得ざるべし。1921年 Osborne 及び Mendel 氏は酵母を基礎飼料に多量に用ひたる場合に Vitamin A を供給することを得ざりき。之れより考ふるに之を Vitamin B の原料とするもその或は含有する Vitamin A は度外視して可なり。

澱 粉

Vitamin B 試験の場合馬鈴薯澱粉を使用するときは後章に述ぶる Refection なる現象を呈すれども米澱粉を用ふればかゝる現象は稀なり Vitamin A 試験にはその何れにても可なるべし。

飼 料 の 精 製

飼料精製装置

飼料の精製は飼養動物少數なるときはコルベン等にて行ふも充分にして大なる不便を感ずることなし。

然れども多數の動物の飼養に際しては大型精製装置の必要を生ずべしこれ飼料の準備に忙殺せられざる爲めと精製の度を完全ならしむるにあり。

余等の使用せるものは圖の如き攪拌機付浸出器及び大型 Soxhlet 氏装置なり。

又補助装置として遠心分離器及び壓搾器を使用せり。

特にデキストリンの如き吸濕性のものを處理する場合は遠心乾燥器を使用せざれば

精製殆んど不可能なるべし。

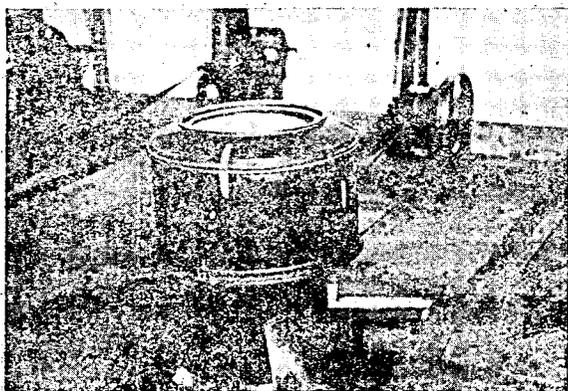
カゼインの精製

Vitamin B 試験用

1928年 Harriette Chick 氏等は Vitamin B の研究に於て従來のカゼイン精製法は Vitamin B の幾分かを殘存するものなりとて特別の精製を施せり余等は此の方法を參考として次の如く精製せり。

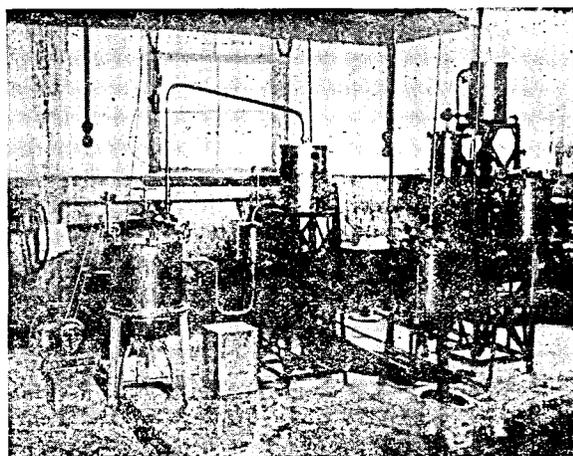
市販粉末カゼインの良質なるものを求めこれに約5倍量の水を加へ醋酸々性(0.1%)となし屢攪拌し1日2回水を交換し其の都度壓搾して水分

を取り約20日間反覆せり次に Soxhlet 氏浸出器に入れ95%のアルコールにて2日間處理し充分脱水し攪拌機付浸出器に移し之に95%アルコールを約倍量加へ日々數時間宛5日間加熱しつゝ浸出を行ふ毎回熱アルコールの儘直ちに遠心分離器に入れて



寫眞3 遠心分離器

はフォルマリンの適量を用ひて之を防止するを得べし。



寫眞2 飼料精製装置

左圖 カゼイン澱粉等はアルコールと共に附屬せるモーターにより攪拌せられながら蒸氣にて熱せられ蒸發せるアルコールは上方冷却器を通じて再びかへり絶えず循環す。

右圖 熱せられたるアルコールは上方冷却器を経て中央の容器に入れられたるカゼインを洗ひ再び下方の容器にかへる。

これを飛散せしむ最後に室温にて乾燥後更に120°にて3日間處理す。

注 意

カゼインの精製はその方法を誤るときは甚だ困難なり水分の附着せる儘乾燥する如きことあらば粘着して粉末になし難きことあり又夏季水にて浸出する日數長きに亘るときは腐敗を來すことあり斯かる場合に於て

Vitamin A 試験用

市販粉末カゼインを約3倍量の95%アルコールにて数時間攪拌機付浸出器にて煮沸す次に熱せる儘これを遠心乾燥器に入れアルコールを飛散せしめて乾燥す。更に新鮮なるアルコールを用ひて同様煮沸すこの操作を一週間反覆したる後 Soxhlet 氏浸出器に入れエーテルにて2日間處理す。

澱粉の精製

市販のものを95%アルコールの3倍量を以て煮沸す。

アルコールは熱時直に遠心乾燥器に入れて飛散せしむ。米澱粉を使用するに際しては先づ水と共に攪拌し上澄液を流し去り數回反覆し次にアルコールにて上の如く操作すべし使用に當り含有する蛋白質を定量しカゼインの量を減ずべし。

オレーフ油

余等はその使用に際し念の爲めこれに空氣を通じつゝ、120°~160°にて24時間熱したる後使用に供せり。

酵 母

乾燥酵母の細線狀に壓出せるものを求め粉末となしエーテルにて1日間浸出したる後低温にて乾燥す。

牛酪の精製

Vitamin A 給源として使用する場合はこれをベッヘルに採り水浴上45°にて熔融せしめたる後遠心機にて處理す。

然るときは牛酪は3層に分るゝを以て上層の透明なる部分をサイフォンにて採取して用ふ。

定 量 分 析

肝油(日本藥局方)

比 重	0.926
ヨード數	146.79
鹼化數	180.80
酸 度	0.30
硫酸一滴により	藍紫色

發烟硝酸 3 滴により 紫藍色～濃褐色

硫化水素にて沈澱を生ぜず

0° に於て 3 時間冷却するに白色固形物を析出せず

オレオ油

	原油	120°～160° にて空気を通じつゝ 24 時間加熱せるもの
比重	0.920	0.931
ヨード數	81.17	66.015
鹼化數	191.05	179.63
酸度	1.25	5.868
Bechi 氏反應	白濁	淡黄色

精製カゼイン

蛋白質として

アルコール、エーテルにて處理せるもの(Vitamin A 試験用)	84.14%
加熱(120° に於て)せるもの(Vitamin B 試験用)	89.96%

當實驗室にて使用せる飼料原料

カゼイン (大島産)	東京市日本橋區本町三丁目貳番地	加藤芳次郎商店
酵母 (パン)	東京市神田區永富町大同ビルディング	オリエンタル酵母工業株式会社販賣所
米澱粉	カゼインと同じ	
脱脂乳粉	末	東京市日本橋區龜島町一の二
燕麥		東京市麴町區飯田河岸六號地
白色デキストリン(赤玉印)		大阪市東區瓦町山口ビルディング内
照射エルゴステリン		ヱイガンツールを用ひたり

第三章 Vitamin 試験方法

試験方法の二種類

試験方法として次の 2 方式あり、

豫防試験 完全栄養より試験すべき Vitamin のみ缺乏せる飼料にて動物を飼養しこれと共に最初より檢體の一定量を與へその幾何瓦が動物の所要量なるやを求むる方法なり。

治療試験 初め試験すべき Vitamin のみ缺乏せる基礎飼料を與へ動物が該 Vitamin

缺乏症状を呈したるとき初めて検體を給與しその動物を回復せしむる程度より検體の所要量を定むる方法なり。

検體の與へ方

検體はこれを基礎飼料と分離して單獨にて與ふる場合及び基礎飼料中に混合し與ふる場合とあり前者は検體若し動物の好食するものなるときは容易に全検體量を攝取せしむることを得て最も正確なる方法なれども動物の嫌惡する検體なるときは後者即ち一定量の検體を基礎飼料に混じて與ふる方法に依らざるべからず然れども動物の飼料攝取量は日々異なるものなり従つてその中に含有する検體量の攝取も亦日々一定ならずして前者に比し不正確なるを免れず、

故に上記2方法の何れを撰ぶべきやは検體の種類、性質を考慮し決定すべきなり又何れに依るも検體多量に過ぐるときは基礎飼料の一定の組成を變化せしむるを以て多量を試験すべき必要ある場合は検體給與に際し必ず定量分析を行ひその結果に徴し基礎飼料各成分の割合を増減するを要す。

例へば1929年 Wallace Ruddel Aykroyd 氏等は Vitamin B₂ の研究に於て基礎飼料として次のものを使用せり。

特別精製カゼイン	20
米澱粉	60
綿實油	15
混合鹽類	5
水	100

別に少量の肝油を與ふ

これに依れば蛋白質含水炭素脂肪は20, 60, 15の比をなせり而してこの飼料を用ひ検體として例へばメリケン粉を採る場合その定量分析を行ひて蛋白質10%含水炭素90%なる値を得たりとせば小麦粉を基礎飼料にその65%を混ずる場合基礎飼料は次の如き組成となす、

精製カゼイン	13.5
米澱粉	1.5

綿實油	15.0
混合鹽類	5.0
小麥粉	65.0
水	100.0

但し如何なる場合にも原蛋白質の $\frac{1}{3}$ 以上は檢體の蛋白質を以て代ふるべからず通常 $\frac{1}{3}$ 以内に止む。

其の他檢體給與上に於て注意すべきは試験中途に於て檢體量の變更をせざることなり是所要量のものを探むる時に誤差を伴ふ懼れあればなり 1922年 Cornella Kennedy 氏等は白鼠に最初少量の酵母を與へ後にその量を増加して成長を來せるものは之を最初より與へし場合の成長に及ばざることを云へり。

試験動物の數及び其の死亡率

動物試験は幾多の條件により支配さるるものなるが故に其の結果の正確程度は動物の數に比例することは明かなり然るに茲に考慮すべきは實驗室の準備なり。如何に多數の動物を以て試験を開始するとも飼料の補給に忙殺され充分自信ある實驗を行ふ能はずとせば寧ろ最初より少數の動物を採るに如かざるなり。

勿論目的に依りては一群數十匹をも必要とすべし然れども檢體中の單なる Vitamin 含有量の定量には一群5~10匹にて充分なるべし。

動物試験なるものは個性の變化甚だしく且死亡率も頗る大なるを以て其の結果も到底正確を期す能はずと説く者あり余等その説の必ずしも不當なるを云はず然れども試験前の動物を如何にして處理せるやを疑ふものなり之を余等の實驗例を以て説明せん。Vitamin 試験の最初に於ける肝油の試験に當りその動物はこれを悉く市中より購入したるものを採用せり然るに時恰も嚴寒に向へる折なれば電氣ストーブにて一定溫度に保ちたるにもかゝらず日々少きときは數匹多きときは10餘匹の落伍動物を出し第一回の數十匹は遂に全滅せり然るに第二回も同様なりしを以て續々と補給し200匹近き動物を失ひて辛うじて試験を終了せりかゝる試験結果の正確を期すべからざるは言を俟たず然るに漸次熟練するに従ひ當實驗室に於て繁殖せしめ注意して發育せしめたる同一系統の動物に就き第2年の同一時期に菠薐の Vitamin A を定量せるに最初

より1匹の落伍動物をも出さず僅か60日前後の期間を以て試験を完了することを得たり。

動物試験の頼りなさを説くもの宜しく實驗室にて飼育して使用に供すべし其の動物の甚だ健全にして結果の正確なることに正に一驚を喫すべし。この手数を煩はしとして省みざる者は動物試験を行ふ資格なき者と知るべし。

Vitamin 含有量の判定

Vitamin の何れを問はず一定せる單位量を含むものなし従つて含有量の判定に當りては之を動物の體重變化に求むべし然るに normal の成長をなさしむる檢體量を求むるは不可なり何となれば normal の成長は時候取扱の如何等に依り甚だしき影響を受くるを以てなり且檢體量は之を多くするに従つて動物體重變化の曲線の接近を來し時に依りては逆現象を呈することさへあり。

然るに體重を辛うじて支持するに足る Minimum の檢體量を標準となすも亦不可なり。これ Vitamin 量不足の爲め動物の外界に對する抵抗力減弱し病鼠の混在を來すことあるを以てなり。

依つて一週間平均 3g の體重増加を來す檢體量を求むべしと云ふ Sherman氏 等の説を採用すべし。

之に對し幾多の非難あり又他の研究者の方法あれども余等過去2ヶ年の實驗に就いて考ふるに此の方法最も簡便にして雌雄性別による差異少なく比較的正確なることを知れり。

尙一言すべきは結果の報告に於てその最も代表的のもののみを掲ぐるは不可なり須らく各群を平均して個性の變化を減じたるものを採用すべし。

第四章 Vitamin A 試験方法

白鼠の體内に於ける Vitamin A の貯藏

白鼠は Vitamin A を攝取してこれを體内に貯藏す。而して其の貯藏量は飼料の如何により異なるを以て Vitamin A 試験には大いに此の點に留意せざるべからず。

若し Vitamin A に豊富なる飼料を以て養ひたる白鼠を試験に供せんか容易に Vitamin A 缺乏症に罹るものに非ず。

余等嘗て3ヶ月に垂んとして體重遂に200gを突破せんとせる失敗を経験せり各種 Vitamin 試験を通じ體內貯藏 Vitamin を最も重要視すべきは本試験と知る可し。

1924年 Sherman 氏等の報告を見るに生後4週間の鼠を Vitamin A 缺乏飼料にて養ひたるに30~77日にて死亡せるを發表せり。

尙ほ試験前の飼料の及ぼす影響に就き Vitamin A に豊富なる飼料にて養へば Vitamin A 缺乏基礎飼料を與へたる場合生存期間の長きを云へり。

又年齢大なるに従ひ體內貯藏 Vitamin A も大となるものなり 1925年 Sherman 氏等の實驗に依れば數ヶ月の年齢のものは Vitamin A を與へずとも百數十日の生存に堪へるを報告せり。

試 験 方 針

前節に述べたる如く白鼠は Vitamin A を體內に貯藏し容易にこれを消費し盡すものに非ざるが故に本試験には治療試験を行ふ可し是豫防試験は體內貯藏 Vitamin A の爲め甚だしく長期を要すればなり。特に動物商より購入せるものはその榮養状態不明なるを以てこれを以て豫防試験を行ふが如きは最も不可なり然れども治療試験には次の不利あり。

1. 動物を全然榮養不良の状態に置く爲め途中にて缺乏症状を呈せざるに餘病を發して斃死する數多し。
2. Vitamin A 缺乏症状を呈する場合これに檢體を與ふる時機を各同一にせざるべからず是甚だ困難なることなり蓋し缺乏症状は只視察によりて其の程度を推定するものにして若しその時期を失することあらば動物は適量によりても回復せず終に斃死することあるを以てなり。

豫防試験賛成論者の説を見るに

1. 動物の死亡率少く檢體を與ふる時機に考慮の要なく比較的正確なる結果を得
2. 1928年 Eleanor Margaret Hume 氏等の説に依れば
一旦榮養不良に陥りたる動物は檢體を與ふるも或る一定期間以後は體重曲線は平行し且つ體重増加率は必ずしも檢體給與量に比例せず然るに豫防法により最初より檢體を與へたるものは檢體に比例して體重増加せり故に豫防試験を採るを獎め

たり。

豫防試験論者の言ふ所は一應首肯なし得る點あれども實際にこれを試みるに多額の費用を要する動物試験に於て豫防試験の如き長期に亘る方法は一般向に非ざる可し。

又市中より購入せる如き以前の栄養状態不明なる動物にて豫防試験を行ひ數十日にて試験を終るが如きはその成績は價值なきものと知るべし蓋し白鼠の Vitamin A を多量に体内に貯藏せるものは2~3ヶ月は之れを缺くとも normal の成長を爲せばなり。治療試験の不利とする死亡率の大なるは熟練によりその數を減じ得べし試験前の栄養に注意すれば只一匹の落伍動物を出すものに非ず意とするに足らざるなり。

又第2の Vitamin 缺乏症状の判断の困難を感じる如きは試験方法の宜しきを得ざるが爲めなり。後章 Vitamin A 缺乏症状を参照すべし。

又 Hume 氏等の説に依る治療試験に依れば一定期間後に體重増加を來さざる事實は余等も亦これを認むるも經驗に依るに30~40日間は斯かる憂無し即ちこの間に於ては體重は檢體量に應じ夫々増加するものなり此の期間に檢體量の比較をなし得るものなれば其の後の體重の増減は不要なり治療試験を否定する理由とならざるべし又治療試験に於ては體重増加率は檢體給與量に必ずしも比例せずとの説は取るに足らず30日前後に貯藏 Vitamin A を消費し盡せる體重の略同一なる動物にて試験を行つて見よ、

茲に一言を要すべきは治療試験に於ては豫防試験に於けるよりも檢體所要量の多きことなり然れども標準を治療に置けば斯かる事は問題とするに足らざるなり、

要するに治療試験は極めて短日月に終り經費も僅少にして熟練するに従ひその結果の正確なる到底豫防試験の追従を許さず。

余等の是迄の經驗に基き治療試験を推奨するものなり。

Vitamin A 試験の難點

本治療試験に於て必要なることは

1. 採用せる動物の健康なること
2. 体内貯藏 Vitamin A の消費日數の全動物を通じて略同一なること
3. 治療開始時に於ける體重の大差なきこと
4. 治療時期を過らざること

なり試験動物にして健康ならざれば正確なる試験成績を得る能はざるは言を俟たず然るに斯の如き動物を得んが爲には幼時より完全なる栄養を以て養ふに如かず然るに Vitamin A に豊富なる完全栄養を以て養はんか動物は容易に体内貯藏 Vitamin A を消費するものに非ず。

又消費日数の各動物を通じて等しからざれば正確なる比較試験を行ふを得ず是動物は治療初期に於ける年齢を異にするを以て體重に差異を生ず例せば或る動物は貯藏 Vitamin A 消費日數に30日を要し他の動物は70日を要し前者の體重70g 後者は百數十g と假定せよ動物試験なるものは年齢體重全く同一なるものに比較すとも個性の變化甚だしく少數の動物にては判定に苦しむものなるに斯くの如く治療初期に於ける體重年齢を異にする動物は治療成績に大なる影響あるべきは明かなり。

治療時期を過たざることも充分の注意を要す各病氣の程度を異にする動物に治療を施すもその結果は知るべきのみ。同一檢體量を用ひ病の輕きものは治癒するに其の時機を失せるものは治療の目的を達する能はざることあるべし。

Vitamin A 試験に於て難點とする以上の事は後章述ぶる所の方法により容易に除くことを得べし。

授乳期中の飼料及び貯藏 Vitamin A の消費日數

H. C. Sherman 氏等の説を参照するに授乳期中餘りに Vitamin A に乏しき飼料にて養へば試験中に於ける傳染病に對する抵抗力を弱むるものなれば貯藏 Vitamin A の消費に稍長き日數を要すとも寧ろ比較的 Vitamin A の多き飼料を與ふべしと云へり。

余等此の點を考慮し次の如き飼養方法を採りたり。

Vitamin A に豊富なる完全栄養を以て飼育せる親鼠を妊娠せしめ出産と同時に H. C. Sherman 氏飼料の粉末全乳を脱脂乳粉末に置換へたる次の飼料を與ふ。

脱脂乳粉末	1
小麥	3
外に食鹽を小麥の	2%

脱脂乳粉末は定量を試みたるに脂肪0.5%を含有せり。

従つて Vitamin A も極めて少量なり母鼠は体内に多量の Vitamin A を貯藏す出生

せる仔鼠は母鼠の乳中の Vitamin A と離乳後は脱脂乳粉末中の少量の Vitamin A とに依り發育し長期に亘るも Vitamin A 缺乏に苦しむことなし。

斯くの如く注意して發育せしめたる仔鼠は健康にして試験期間中落伍する憂ひなく体内貯藏 Vitamin A の量も亦皆同一となり生後4週間體重40g前後のものを Vitamin A 缺乏基礎飼料にて養ふに各動物は均しく30日前後にして貯藏 Vitamin A を消費し盡す其の際に於ける體重に大なる差あることなし。

次に掲ぐる表は余等の使用せる動物の一部なり詳細なる統計は第二報に譲るべし。

生後28日目の體重(雌雄混合)

飼料小麥 $\frac{2}{3}$ 脱脂乳粉末 $\frac{1}{3}$ 及食鹽を小麥の2%

但し出産日まで親は小麥及び牛乳外に食鹽を小麥の2%にて飼養したるもの

出 産 日	1分娩時仔数	平 均	最 低	最 高
9月13日	7匹	42.3	39.2	48.3
9月14日	8	41	37	45
9月16日	10	30	27	35
9月20日	7	34.8	26	40
2月4日	7	35.3	28	40

試験動物の大きさ及び雌雄に就きて

檢體中の Vitamin 含有量の比較を鼠の體重變化に求むるとせば最も理想的の方法は性の同一なること試験開始時の體重の接近せるとなり然るに實際上には不可能なり。

雌雄を考ふるに同一條件の下に同一量の檢體を與ふれば雄は雌よりも體重増加率稍大なり檢體量の異なるに従ひてその差も大となる現象あり1928年 H. C. Sherman 氏等は1週間 3g の體重増加せしむる檢體量を用ひ8週間の各の體重變化を見たるに雄148匹の平均増加量は 24.6g にして 雌148匹のそれは 22.3g なりといふ。

果して然りとせば試験開始に當り雌雄の略同數なる如く注意を拂ひ且つ檢體給與量の少なき所を標準に採らば大なる誤差を來すことなし。

次に治療開始時に於ける體重を考ふるに體重小なるは増加率大にして體重大なるは

之れに反す Sherman 氏等は最適の體重は70~75gより100gを以て望ましきものなりと云へり。

Vitamin A 缺乏基礎飼料

Vitamin A 缺乏基礎飼料は各研究者により夫々組成を異にす余等は文献を参考し次のものを使用せり。

カゼイン	18%
オリーブ油	10"
酵母(乾燥)	7"
澱粉	60"
マッカラム氏鹽 No. 185	5"
Salt mixture No. 185	
NaCl	173
Mg SO ₄ anhydrous	266
Na ₂ HPO ₄ H ₂ O	347
K ₂ H PO ₄	954
CaH ₂ (PO ₄) ₂ H ₂ O	540
Ca lactate	1300
Ferrous lactate	118

此の飼料を定量分析せる結果は次の如し。

含窒素有機物(蛋白質として)	19.30%
粗脂肪	10.01"
その他の無窒素有機物	60.58"
水分	6.18"
礦物質(灰分)	3.93"
内	
磷 (P ₂ O ₅)	3.05"
カルチウム(CaO)	0.53"
アルカリ性度	- 4.05"

上記基礎飼料には Vitamin C を含有せざれども鼠はこれを不必要とす鼠に對する Vitamin C の効果を見る試験は姑く擱き然らざれば之を特に給與するは無益の事なりと思ふ。何となれば動物試験は甚だ手数を要し且多額の經費を要し他の不明なる Factor の入る恐れあれば既に不要なる Vitamin C は之を省略するに如かざるなり。

Vitamin D 補給の方法

上記の飼料のみにては Vitamin A 以外に Vitamin D を含有せざるを以て適當なる方法にてこれを補給する必要ありその方法として次の如きものあり。

1. 白鼠を直接紫外線にて照射する方法

1928年 Eleanor Margaret Hume 氏は約1ヶ年使用せる水銀燈を用ひて1週6回10分宛 50cm の距離にて動物を照射してその結果の良好なりしを報告せり。

2. 飼料の一部又は全部を照射する方法

1927年 H. Steenbock 氏等は約 100g の飼料を金屬製の容器に入れ之を 4 平方呎の面積に擴布し水銀燈を以て30分間 2 呎の距離にて照射せりこれを15分毎に攪拌し1週或は1ヶ月量を一時に調製す。

3. Vitamin A 及び D を含むものより A のみを除去して與ふる方法

これは肝油に空氣を通じつゝ長時間熱す然るときは Vitamin A は破壊せられ D のみを殘留す此の方法は Vitamin A の完全に破壊せられざる場合あるを以て注意を要す。

4. 照射エルゴステリンの一定量を與ふる方法

Vitamin A 試験に於ける Vitamin D 補給方法としては以上の如きものあれどもこれに就き余等の考へを略述すべし余等は最初飼料の一部又は全部を照射する方法に依れり然るに少數の動物の場合は知らず 100 匹近き動物の飼料に日々一定時間照射するは煩瑣に堪へざる所なり。故に之を變更して飼料の一部たる綿質油(余等は最初綿質油を採用せり)に30分照射せるものを使用せるに實驗結果は之を照射せざるものに比較し發育不良なるのみならず途中に於て照射せざる綿質油を交々使用せるに照射せるものを與へたる時に翌日常に體重降下の傾向を示せり。茲に於て照射時間の長さに非ざるか若しくは綿質油に毒作用を生ずる爲なるかと考へたるも其の原因を追究するは今回

の目的に非ざる爲め之を中止せり。

次に白鼠に直接照射の方法を採れり即ち50cmの距離に於て10分間1週6回宛照射せり然るにこれ亦其の發育甚だ悪しく照射の翌日は前例と同じく體重降下の傾向を示せり茲に於て照射時間の長き爲ならずやと思考し之が解決を他の文献に求めたるに1922年 Alfred F. Hess 氏の報文中 3-feet の距離にて2分間照射せば充分 Rachitis の豫防を爲し得ることを云へり依りて余等は之に従ひ實驗せるに是亦發育不良の結果を示せり然るに1928年 W. Kirsch 氏の實驗中の現象として1分間直接照射をせるにその發育の不充分なる事を陳べこれ過剰のカルチウム新陳代謝の爲なるべしと云へり。

之等の事實より考ふるに白鼠に直接照射することは過度に陥り易く不良の結果を招致することあるを以て Vitamin A 試験には之を用ひざるを安全とす若し此の使用の已むを得ざる場合は紫外線の強さ及び飼料の如何により影響あるを考慮し豫備試験を行ひて夫々適當なる條件にて行ふ可きなり。

1924年 E. M. Nelson 氏等の發表に依れば照射せる白鼠及び照射せざる白鼠とを同一の籠に入れ置くことにより照射せざる鼠は照射せるもの、影響を受け成長するものなり又籠の網床を照射するときは Vitamin D 缺乏基礎飼料にて飼養せる鼠は Normal の成長を爲すを報告せり。

紫外光線の鼠に及ぼす影響の如何に大なるかを知るべし。

余等の實驗より考ふるに Vitamin D 補給方法としては照射エルゴステリンを用ふることの最も優れるを知る。

試 験 期 間

之等の問題に就きては各研究者の均しく苦心する所なり治療試験に於いてその試験期間長期に亘るも體重増加は必ずしも之れに伴はず停止同様の状態を來すことは既に述べたる所なり果して然りとせば其の發育期間に於いて試験を終了すべきなり是れ余等が米藥局方の如く35日を以て治療期間とせる所以なり。

檢體保存上の注意

Vitamin A 試験は甚だ長期間を要するを以て従つて試験期間同一の檢體を用ふる場合はその含有せる Vitamin A の量を變化せしめざる様注意せざるべからず。

Vitamin A は空気中にては漸次酸化破壊せらるゝものなり1924年 Arthur D. Holmes氏は新鮮なる肝油と6ヶ月及び1ヶ年空気を遮断して低温に保存したる肝臓より得たる肝油とに就き Vitamin A 試験を行ひたりその結果に依れば上記の條件にて保存せるものは何等その Vitamin A 含有量に變化なきことを報告せり要するに檢體は空気を遮断し低温にて保存せばその効力を變化することなく長期間貯藏し得余等は檢體肝油を硝子容器に入れこれに CO₂ を充滿して密封し暗室に低温にて保存せり。

Vitamin A 缺乏症狀

白鼠は體內貯藏 Vitamin A を消費し盡せば外見上次の如き症狀を呈す即ち發育停止體重減少を來し之と前後して眼に異狀を呈す初め眼瞼腫脹し結膜のカタルを起し更に症狀進行するときは出血化膿失明終に死に到る、



寫眞 4 - Vitamin A 缺乏せる白鼠の目を示す

茲に一言を要するは治療試験に於ては貯藏 Vitamin A を消費したることを發育停止により見るは宜しからず何となれば白鼠は取扱ひの如何、寒冷又は Vitamin A 缺乏ならざる他の病氣により容易に發育停止體重降下するものなればなり是れ米藥局方の肝油の Vitamin A 定量に於いて發育停止或は體重減少1週後に檢體を與ふべしといふことの非難せらるゝ所以なり。

依りて果して缺乏せるや否やは之れを眼の症狀により見るを要す然るに貯藏 Vitamin A 消費日數の長期に亘るものは眼に現はるゝ症狀は發育停止と前後するか若しくは發育停止後容易に症狀を呈せざることあり斯くの如きは治療を病狀の同一程度に於て行ふを不可能ならしむ。

然るに余等の經驗に依れば體內貯藏 Vitamin A 消費日數の短きものは必ず眼より先きに出血を來し體重減少はこれと同時に或は後るゝものなり従つて余等の方法に依りて30日前後にして貯藏 Vitamin A を消費し盡せば先づ眼より出血を來すを以て其の治療時期を過ることなし。

Vitamin A 定量法 (比色法)

檢體中 Vitamin A の有無及びその定量には動物試験以外に比色法なるものあり。1926年 Francis Howard Carr 及び Ernest Arthur Price に依り報告せられたるものは次の如し。

(但し此の反應は肝油中の Vitamin A に對しては鋭敏にして略動物試験の結果と一致すれども他の一般檢體中の Vitamin A には不確實にして適用するを得ず) 試薬としては 3 鹽化アンチモンを使用す。先づこれを少量のクロ、ホルムにて洗滌したる後乾燥しこれをクロ、ホルムに溶解して 30% 溶液としその上澄液を用ふ。次に肝油は 20% クロ、ホルム溶液としその 0.2cc を取りこれに前記アンチモン溶液 2cc を加ふ然るときは忽ち美麗なる藍紫色を呈しこの色調は檢體中に含有する Vitamin A の量に比例して強弱あり。故にこれを Lovibond Tintmeter に依り比色し Vitamin A 含有量を推定す然れども此の呈色反應は極めて不安定にして初め生じたる藍紫色は漸次汚藍色～汚綠色を経て赤褐色に移行するを以て比色操作は兩液混合後極めて短時間内に行はざるべからず。

1929年 Jack Cecil Drummond 氏等は之を肝油中の Vitamin 試験に應用して動物試験と良く一致せることを述べたり又河合龜太郎氏も藥學雜誌にその價値を稱揚せり。

米國藥局方による Vitamin A 定量法

Vitamin A 試験に於て米國藥局方肝油試験法は屢引用せらるゝ所なり該試験法に依れば生後 25~29 日にして體重 35~45g の白鼠を撰び次の基礎飼料を以て飼養す。(詳細は米藥局方を參照すべし)

基礎飼料	Casein	18%
	Salt mixture	4%
	Starch を加へて	100% とす
	Vitamin B として酵母を使用す	

之れを以て治療試験を行ひ動物の體重停止或は減少し初めてより 1 週間を經過したる後檢體たる肝油を與ふ治療期間は 35 日にして此の間 Vitamin A 缺乏による症狀を治療せしめ 10~20g の體重増加を來すに必要な肝油の最少一日量を以て 1 單位とす此の際少くとも 2 匹の對照動物を採り基礎飼料のみを以て飼養す。

同藥局方にては肝油 1g は少くとも 50 單位以上含有すべきを規定せり。

然れども米藥局方は非難すべき點多々あり是等を次に掲ぐべし。

1, 1929年 Katharine Hope Coward 氏等はその Vitamin 試験に於て使用するカゼイ

ンの種類はその結果に著しき差異を來すものなるを以て米藥局方試験方法は甚だ不満足なるものなりと云へり即ち體重を標準とせるは不適當なり。

2. 又茲に使用する基礎飼料は Vitamin D を含有せざるを缺點とす即ち 1928 年 E. M. Nelson 氏等の報告に依れば Vitamin D を添加するときは成長停止前に眼に症状を發し成長停止を來すに至るまで治療試験を待つときは結果は不良なりと述べたり。
3. その他同一腹仔を要求せざることも亦缺點とする處なり。

Vitamin A 標準試験法

Vitamin A 定量には治療試験を行ふべし同一系統に屬する鼠を常に次の飼料を以て養ふ。

小麥	98.5%
食鹽	1.5"

外に牛乳を随意に飲ましむ 但し小麥は粉碎して與ふべし

試験に供せんとする時は是等動物を妊娠せしめ出産と同時に下記の飼料を與ふ、

(107頁参照)

小麥	2/3
脱脂乳粉末	1/3
外に食鹽を小麥の	2%
水は随意に與ふ	

斯くして生後 4 週間後にして體重 40g 前後に達するに及び直ちに Vitamin A 缺乏基礎飼料にて飼養すべし。

飼料は日々新鮮なるものと取換へるを要す。

Vitamin A 缺乏基礎飼料

カゼイン	18%
マッカラム氏鹽 No. 185	5"
オレーフ油	10"
酵母(乾燥)	7"
澱粉又はデキストリン	60"

外に照射エルゴステリンをオリーブ油に溶解し注射器より1日1滴を経口的に與ふ。此の際1滴は照射エルゴステリン $\frac{1}{500}$ mg を含む如くす。

Vitamin A 缺乏症を呈する以前に於いて動物1匹宛個々の籠に分離す。

治療試験開始に當り同一腹仔を各群に配し且つ1群の数は最少5匹を必要とすべし。此の際 Negative Control は2匹以上採るべし。

Vitamin A 缺乏症は體重に依らず目に依りて見るべし治療期間は5週間とす。

此の治療期間に於いて Vitamin A 缺乏に依る症候を治癒せしめ平均増加體重週平均 3g を示すに必要な検體量を求むべし。

實 驗 例

以下述べんとする報告は模範例として掲ぐるものに非ず余等が Vitamin 試験に着手して以來2ヶ年間に於ける實驗にして幾多の失敗を示せるものなり Vitamin 試験法として報告せる本文は是等經驗に依りて書きたるものにして標準試験法と相容れざるもの多し特に肝油、牛酪の試験に於て然り讀者是を諒とすべし。

Vitamin A 試験

時 季 昭和五年秋より冬に亘る

檢 體 日本藥局方肝油(市中販賣のもの10種を混合平均せるもの)

試験動物 市中より買入れたる白鼠を直ちに試験に供せり

試験方法 治療試験にして3方法にて試験せり即ち

1. Vitamin A 及び D 缺乏基礎飼料のみによる方法
2. 照射エルゴステリンを補給する方法
3. Vitamin D 補給の爲め動物に直接照射(50cm の距離にて2分間)を行ふ方法

檢體の與へ方

肝油をオリーブ油に溶解し注射器より1滴宛動物に與ふ各1滴にそれぞれ與へんとする檢體量を含有する如く調製す。

檢體量は 2mg, 1mg, 0.7mg を撰びたり。

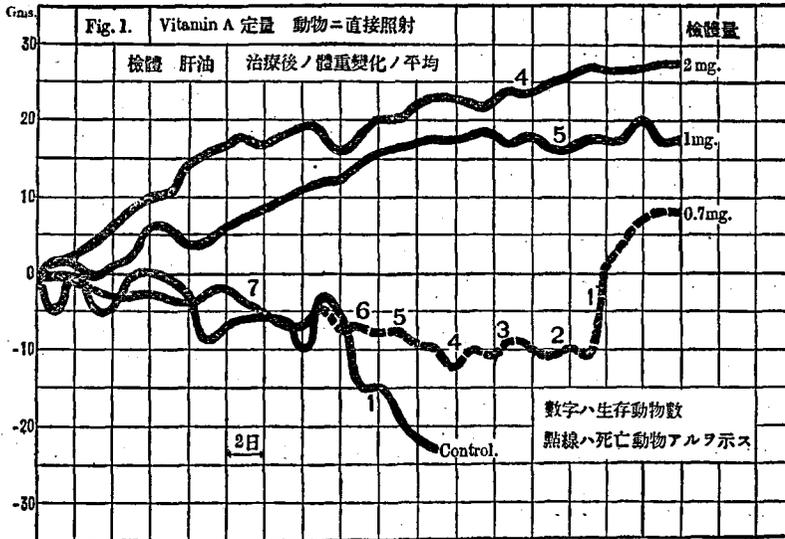
試験結果は次の表によりて見るべし。

Vitamin A 及び D 缺乏基礎飼料のみ
照射エルゴステリン添加
動物直接照射 } を夫々 A }
 } B } にて表す
 } C }

検體 0.7mg

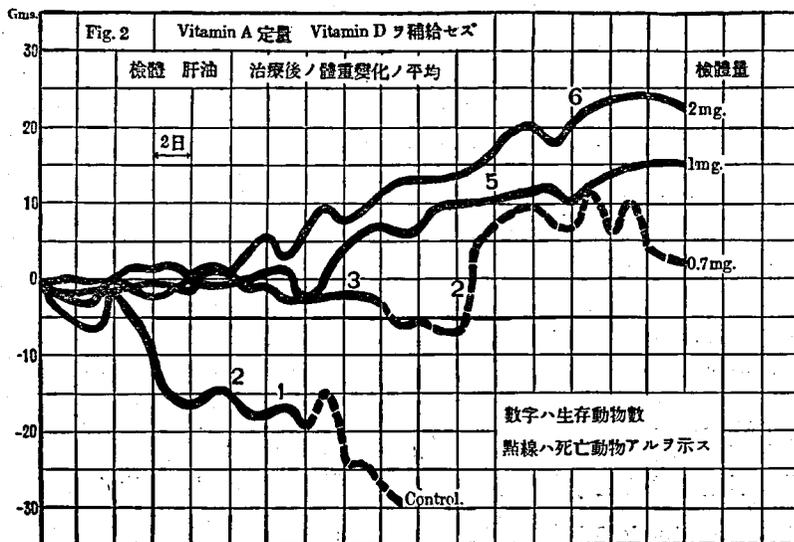
最初の體重			Vitamin A 缺乏までの日数(試験開始までの日数)			試験開始時最初の體重			試験期間			増加體重		
A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
♀ 34	♀ 35	♀ 35	26	30	34	57	60	75	35	26	15	♀ 2	♀ 死	♀ 死
♂ 35	♂ 43	♀ 35	58	68	34	84	83	80	23	25	25	死	"	"
♂ 36	♂ 43	♀ 50	27	45	68	59	75	91	35	35	23	6	20	"
♀ 49	♂ 42	♂ 41	44	50	46	74	95	77	18	"	27	死	-5	"
♂ 41	♂ 43	♂ 39	41	46	59	65	103	99	20	"	30	死	-13	"
		♂ 41			58			74			19			"
		♂ 37			47			68			35			8
平均	39	41	40	39	48	49	68	83	81	26	31	25		

備考 平均数は4捨5入せり以下之に準ず



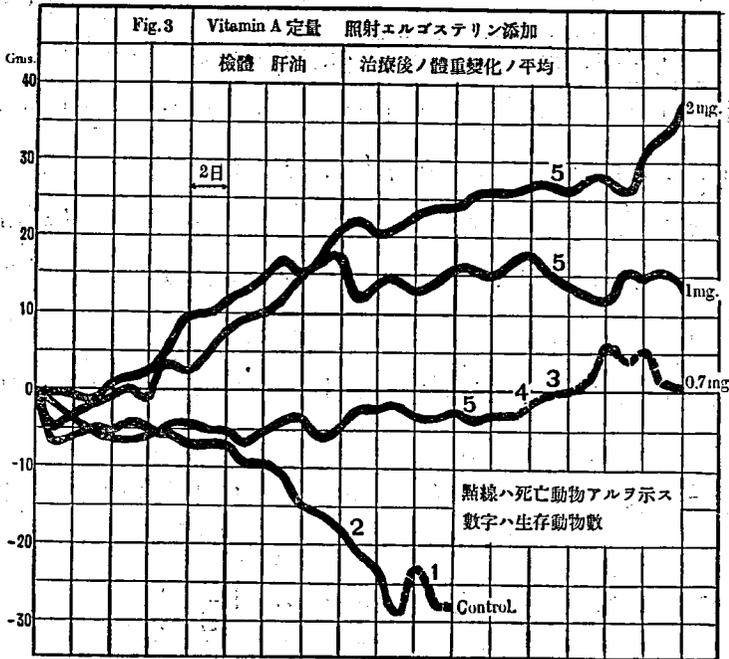
検體 1mg

最初の體重			Vitamin A 缺乏までの日数(試験開始までの日数)			試験開始時の體重			試験期間			増加體重		
A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
g	g	g	日	日	日	g	g	g	日	日	日	g	g	g
合 51	合 42	合 35	49	58	17	79	95	48	35	35	35	13	11	14
早 32	合 46	合 37	72	49	47	101	97	59	"	"	"	21	18	31
合 35	合 45	合 40	34	35	34	56	53	47	"	"	"	12	7	15
合 36	合 47	合 33	23	58	44	61	96	56	"	"	"	13	19	10
合 49	合 45		33	66		71	84		"	"	"	16	15	
平均 41	45	37	43	53	36	74	85	53	35	35	35	15	14	18



検體 2mg

最初の體重			Vitamin A 缺乏までの日数(試験開始までの日数)			試験開始時の體重			試験期間			増加體重		
A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
g	g	g	日	日	日	g	g	g	日	日	日	g	g	g
合 41	合 32	早 37	45	23	29	51	57	60	35	35	35	22	50	21
早 35	合 34	合 51	69	65	59	95	65	76	"	"	"	23	26	13
合 35	合 43	早 33	70	47	39	115	85	64	"	"	"	21	52	22
合 35	合 43	合 34	31	60	42	68	135	61	"	"	"	33	43	57
早 47	合 36		45	47		133	80		"	"	"	-3	20	
	33		51			74						33		
平均 39	38	40	52	47	42	92	84	65	35	35	35	22	38	28



本試験は余等の Vitamin A 試験を開始せる最初のものにして最も不満足のものと言ふべし今その缺點とする所を考ふるに

1. 動物の死亡率甚だ大なりしことなり是市中より購入せる鼠は正確を期せんとする試験に不適なることを示す。
2. 發病期の不揃なることなり是れ以前の榮養状態を無視したるが爲め体内貯藏 Vitamin A の不同なる結果なり。
3. 試験開始即ち治療最初に於ける體重の差大なる事なり是れより起る試験期間の體重變化に及ぼす影響を考ふるを得べし。
4. 購入最初に於ける年齢不同なる爲め全期に亘り發育に及ぼせる影響を想像し得べし。
5. 同一腹仔を使用せざりし爲め個性の變化の大なるを見ることを得べし。

余等は最初本試験に當り Vitamin D の有無及添加の方法の如何による定量結果の相違を見んとせり然るに表に示せるものにては是等に對し正確なる判断を下す能はざるを知る即ち Vitamin A 缺乏までの平均日數の相違に基ける試験最初の體重の差は是等の比較を困難ならしむ。

只今回の試験に於て確かに知り得たるは Vitamin A 試験には豫試験なくして直接照射を用ふるは不可なる事なり。是れ本試験に於いて余等は新たに購入せる太陽燈を用ひ距離及照射時間のみを文献により定めたるを以て動物は Vitamin D の過剰に苦しみ發育も他に比較して悪しく死亡率も多數を算したればなり。

寧ろ操作簡便なる照射エルゴステリンの一定量を用ふるに如かず檢體量の結果の判定としては僅かに生殘れる動物による斯かる缺點多き試験よりしては其の正確は期して望むべからず。

但し週 3g の體重を増加せしむるに必要な檢體量は 3 方法とも 1mg なる事を知る。

即ち何れの方法によるも Vitamin A 定量には實際上所要檢體量の差異を生ぜざるべし。

牛酪の Vitamin A 定量

試験時季 昭和六年春

定量分析

カゼイン	0.08%
乳 糖	0.35
脂 肪	82.26
礦物質(灰分)	1.73
内	
クロールナトリウム(NaCl)	1.70
磷	痕跡
カルチウム	痕跡
水 分	15.58

試験開始前の飼料

余等は既に肝油の試験に於て市中より購入せる鼠を直ちに試験用として採用するは甚しき不利なる事を経験せり依つて今回は同一腹仔を以て試みたり。

其の方法として出産後數日経過せりと覺ほしき動物を親仔諸共買入れ之を 2 組に分ち各次の飼料を以て發育せしめ發病期間に如何なる影響を及ぼすかを觀察せり。

- (1) 小麥及び牛乳
 - (2) " 脱脂乳粉末(2:1)
- } 外に少量の食鹽

試験方法

上記飼料を以て養ひ 30~40g に達せる時之を一匹づゝ籠に入れ Vitamin A 缺乏基礎飼料を以て養ひたり。

試験は 2 組に分ち施行せり即ち

- (A) Vitamin A 缺乏基礎飼料のみを與ふ
- (B) " 及び Vitamin D を補充する爲め照射エルゴステリンを日々經口的に與ふ

同一腹仔の動物は(A) (B) 各組に等しく分ち且各組の各群に存在する如く意を用ひたり而して兩組を各 5 群に分ち各動物の体内貯藏 Vitamin A の缺乏後次の如く檢體を與へたり。

	照射エルゴステリンを與へざる組	照射エルゴステリンを補充せる組	檢 體 量
	動物 數	動物 數	
第 1 群	2 匹	匹	Control
" 2 "	4 "	5 "	0.05g
" 3 "	4 "	6 "	0.1 "
" 4 "	6 "	4 "	0.25 "
" 5 "	2 "	2 "	0.50 "

試験結果

1. Vitamin A 缺乏までの日數(檢體を與へたるまでの日數)

飼料(1)を以て養ひたる組 (Vitamin A の含量大なる飼料)			飼料(2)を以て養ひたる組 (Vitamin A の含量少なる飼料)		
性	治療開始までの日數	治療最初の體重 (g)	性	治療開始までの日數	治療最初の體重 (g)
合	77	150	合	26	65
子		129	子		67
子		140	合		63
合		120	合		71

♀	{ 79	156	♀	{ 31	68
♀	{ 67	136	♀	{ 30	73
♀	{ 47	95	♀	{ 27	62
♂	{ 57	78	♀	{ 33	66
♂	{ 65	131	♂	{ 33	95
♂	23	53	♀	{ 34	74
♂	{ 56	117	♀	{ 35	70
♀	{ 55	76	♀	{ 32	64
♀	{ 73	105	♀	{ 36	80
♂	{ 76	145			
♂	73	113			
♂	{ 70	180			
♀	{ 69	103			
♂	68	127			
♀	{ 70	139			
♂	63	172			
♀	{ 85	125			
♀	{ 82	109			
♀	{ 72	111			
平均	69	122		32	71

備考 括弧は同一腹仔を示す

試験前の授乳期中に於ける飼料は如何に大なる影響を及ぼすかは表によりて見るも明らかなるべし同一腹仔を使用する時は然らざるものより Vitamin A 缺乏までの日數略ぼ同一を示す筈なれども(1)に示す方は

長期に亘る結果比較的不揃なることを認むべし。

反之(2)に於ては缺乏日數の如何に接近せるかを見るべし。

之等を以て見るも Vitamin A の試験に於ては授乳期中 Vitamin A に豊富なる飼料にて養ふ事の不利を知る事を得べし。

治療開始の際の體重

凡そ動物試験に於ては總ての條件の同一なる事の願はしきことは既に度々陳べたるが如し治療開始の際に於ける體重も亦其の一たるを失はず。

余等は成るべく 100g 以下に止めんとして飼料の精製に十分の注意を拂ひたれ共結果は失敗に歸したり。

是時俗も春に於けると更に授乳期中の飼料の影響たるは言を俟たず。

然るに飼料(2)を以て養ひたる組の如何に其の體重の理想的なるかを見よ。体内貯藏 Vitamin A の少き程即ち缺乏までの日數短き程其の體重の接近を容易ならしむ。

照射エルゴステリン添加の影響

本試験に於ては後述する所の發育のあまりに旺盛にして中止の已むを得ざるもの多數を算したるを以て増加體重は正確なる數字にて之を比較するは困難なり。

然るに之等中止せる動物は悉く照射エルゴステリン添加の組より出し之を添加せざる方よりは一匹もかゝる動物を見ざりしより考ふれば明らかに Vitamin D の影響の大なる事を物語るものなるべし。

又之を(2)組即ち脱脂乳を含む飼料にて養へる動物に就き考ふるに次の如き結果を得べし表中兩者の鼠は最初平均體重の略ぼ等しき様に分ちたり。

照射エルゴステリンを添加せず			照射エルゴステリンを添加す			檢體量	
性	治療開始時の體重 (g)	治療後の増加體重 (g)	性	治療開始時の體重 (g)	治療後の増加體重 (g)		
同一腹	♀	* 60	—	♂	70	62	0.25
	♂	* 76	—	♀	74	—	0.05
	♀	64	52	♀	80	34	0.1
同一腹	♀	66	12	♂	95	—	0.05
	♀	68	52	♀	73	18	0.05
	♂	63	85	♀	67	52	0.1
			♀	62	64	''	
			♂	71	94	0.25	
			♂	65	91	0.5	
平均	66			73			

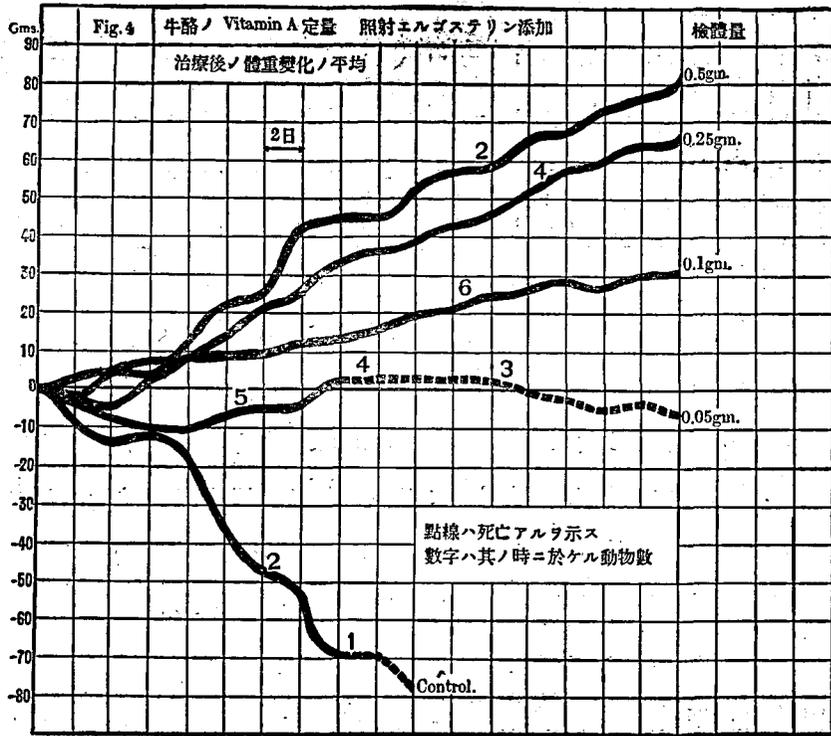
備考 *印は治療後間もなく除外したるものなり

本表にて明らかなるが如く Vitamin D を與ふれば然らざるものより發育良好なるを知るを得べし。

檢體給與後の體重増加は同一檢體量の動物の多くを比較し得ざれば共推して知るべし。

所要検体量の判定

圖にて分明なるが如く Vitamin D を與ふると與へざると之を検体量より考ふるときは 0.05g にては等しく不足せるを知るべし然るに 0.1g にては動物は Vitamin A の十分なる供給を得たり即ち週 3g の體重増加の所要量は牛酪 0.05g と 0.1g の中間に来る。

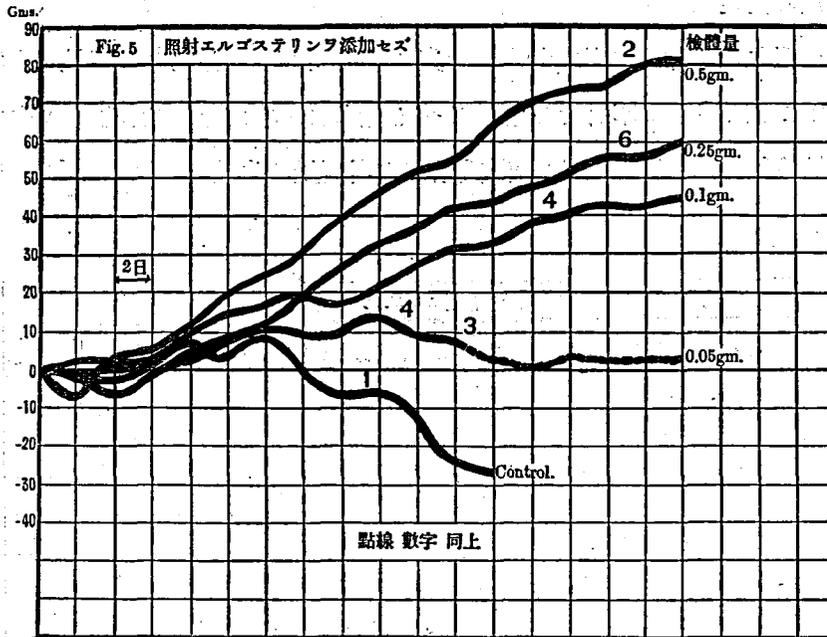


既に前述せる如く Vitamin D を補給すると否とにより著しき體重の差を認めれども微妙なる學術上の差異はしばらく擱き之を單なる檢體の定量より見れば實用上には兩者の差殆んど無しと見るも差支へなかるべし。

尙脱脂乳粉末を利用せる鼠の如く 100g 未滿に於て Vitamin A 缺乏を呈する動物にては兩者の差益々接近せるを見る。

春季に於ける實驗に就いて

春季には鼠は最もよく發育し今回の實驗には只一匹の死亡せる動物だになし余等此



の點に注意せざりしを以て數匹の動物は Vitamin A 缺乏症を未だ呈せざるに體重180~190g に達し遂に除去の已むを得ざるに至れり然るに脱脂乳粉末を利用せる方はかかる事なく 70~80g にて試験に供するを得たるより見れば春先に於ては授乳期の飼料は特別に注意して試験期の體重を調節する必要あるを認むべし。

トマトの Vitamin A 定量

試験時季 昭和六年夏

定量分析

含窒素有機物(蛋白質として)	1.22%
粗脂肪	0.08"
其の他の無窒素有機物	3.48"
礦物質(灰分)	0.52"
水分	94.70"

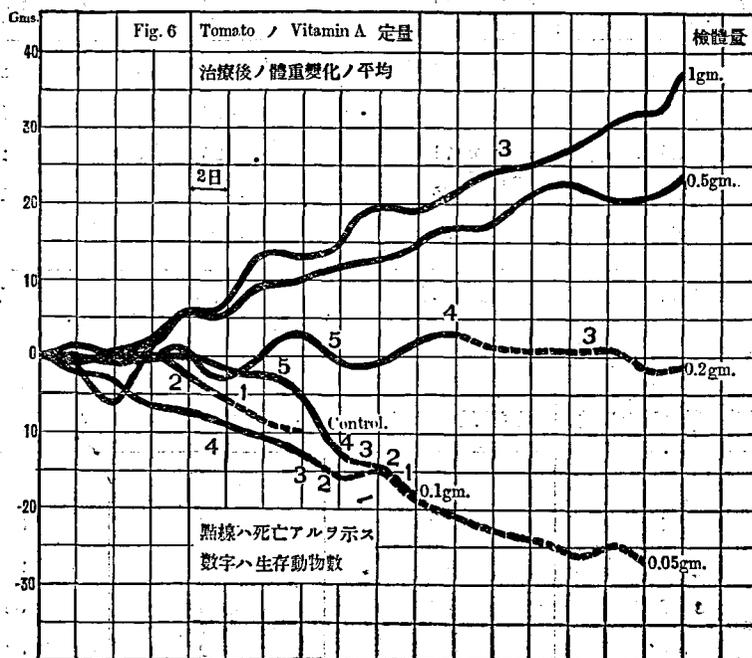
既に余等は數回の試験に於て Vitamin A 試験は一腹仔の必要及授乳期に於ける飼料の忽せにすべからざるを經驗したるを以て今回は生後間もなき動物を買入れ脱脂乳

粉末を含有する本文の如き飼料にて飼育せり。

尙又 Vitamin D の補給は定量上には實際上の差を認めずと雖も之れを與へて缺漏なからしむるは素より望む所なり依りて前回同様照射エルゴステリンを日々經口的に給與せり。

動物は6群に分ち次の如く檢體を與へたり。

	動物數	檢體量
第1群	2匹	Control
" 2 "	4 "	0.05g
" 3 "	5 "	0.1
" 4 "	5 "	0.2
" 5 "	4 "	0.5
" 6 "	3 "	1.0



第1群

Control

性	Vitamin A 缺乏までの日数 (日)	缺乏時の體重 (g)	増加體重 (g)	生存期間 (日)
♀	30	44	-4	10
♀	32	70	-21	14
平均	31	57	-12.5	12

第2群 検体量 0.05gm

性	治療開始までの日数 (日)	治療最初の體重 (g)	増加體重 (g)	生存期間 (日)
♀	33	89	-28	32
♀	31	65	-12	13
♀	28	68	-18	14
♂	33	77	-21	17
平均	32	72.5	-19.8	19

第3群 検体量 0.1g

性	治療開始までの日数 (日)	治療最初の體重 (g)	増加體重 (g)	生存期間 (日)
♀	26	64	-14	21
♀	36	75	-26	17
♂	25	71	-25	20
♀	27	65	-1	15
♂	29	62	-16	19
平均	28.6	67.4	-16.4	18.4

第4群 検体量 0.2g

性	治療開始までの日数 (日)	治療最初の體重 (g)	増加體重 (g)	生存期間 (日)
♀	27	55	-1	22 (死)
♀	34	72	-13	35
♀	33	66	-9	29 (死)
♀	37	80	+5	35
♂	35	85	0	35
平均	33.2	71.6	-3.6	31.2

第5群 検体量 0.5g

性	治療開始までの日数 (日)	治療最初の体重 (g)	増加体重 (g)	試験期間 (日)
♂	33	63	-6	35
♂	25	65	30	"
♀	36	80	35	"
♀	32	75	34	"
平均	31.5	70.7	23.2	35

第6群 検体量 1g

性	治療開始までの日数 (日)	治療最初の体重 (g)	増加体重 (g)	試験期間 (日)
♀	29	58	33	35
♀	33	62	39	"
♀	29	76	40	"
平均	30.3	65.3	39	35

之等の總平均は治療開始までの日数31日治療最初の体重68.6gにて試験に着手する事を得たり如何に經濟的且簡便なるを知るべし上記の表及び Curve より明らかなるが如く週平均3gの体重増加に必要な検体量は0.2gと0.5gの中間に存する事となるべし。

菠稜の Vitamin A 定量

試験時季 昭和6年秋より冬に亘る

検体の定量分析 Vitamin C の部に掲げたり

試験動物の準備

余等は既に是迄の経験に依り市中より購入せるものは種々の缺點あるを知れり完全なる試験を行ふ爲めには必ず實驗室にて飼育し試験に臨んで同一系統の一腹仔を使用して個性の變化を出來得る限り減少すべきなり依つて今回は余等自ら上の如く飼育せる同一腹仔にして生後28日の體重略40gのものを採りて試験に供せり。

次の如く6群に分ちたり

	動物數	検体量
第1群	2	Control

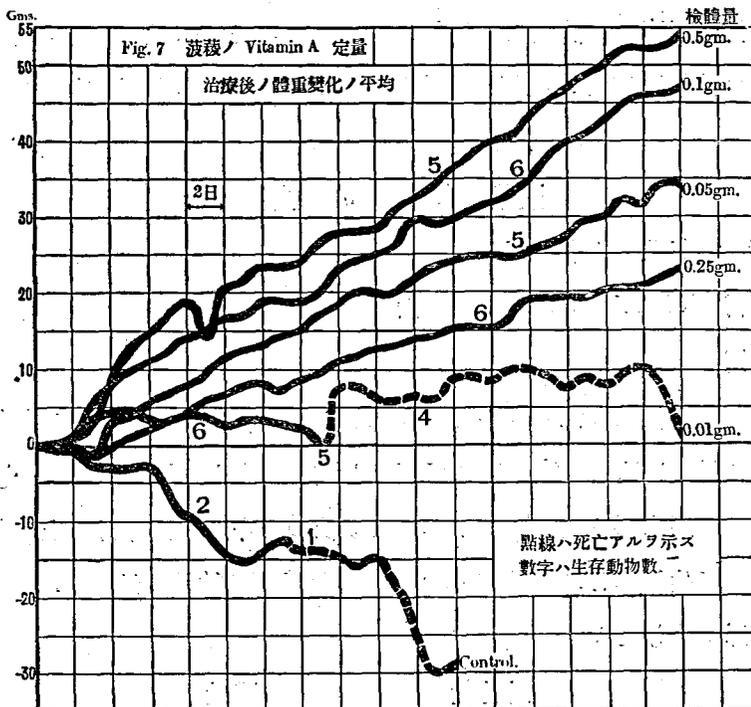
" 2 "	6	0.01g
" 3 "	6	0.025 "
" 4 "	5	0.05 "
" 5 "	6	0.1 "
" 6 "	5	0.5 "

照射エルゴステリンは前回同様與へたり。

試験結果

第一群 Control

性	Vitamin 缺乏までの日数	缺乏時の體重 (g)	増加體重 (g)	生存期間 (日)
♀	31	50	-10	13
♂	31	85	-29	23
平均	31	67.5	-19.5	18



第2群 検体量 0.01g

性	治療開始までの日数 (日)	治療最初の体重 (g)	増加体重 (g)	試験期間 (日)
♂	30	64	7	14 (死)
♀	33	81	14	35
♀	29	76	- 20	20 (死)
♀	30	75	5	35
♂	29	65	- 15	35
♀	28	70	17	35
平均	29.8	71.8	1.3	29

第3群 検体量 0.025g

性	治療開始までの日数 (日)	治療最初の体重 (g)	増加体重 (g)	試験期間 (日)
♂	29	50	16	35
♀	31	55	30	"
♀	30	60	19	"
♀	28	60	17	"
♂	20	65	24	"
♀	29	75	30	"
平均	29.5	62.3	22.6	35

第4群 検体量 0.05g

性	治療開始までの日数 (日)	治療最初の体重 (g)	増加体重 (g)	試験期間 (日)
♀	29	65	30	35
♂	28	61	40	"
♂	30	79	31	"
♀	29	50	28	"
♂	27	67	42	"
平均	28.6	64.4	34.2	35

第5群 検体量 0.1g

性	治療開始までの日数 (日)	治療最初の体重 (g)	増加体重 (g)	試験期間 (日)
♀	27	66	49	35
♀	26	52	33	"
♀	31	63	51	"
♂	28	63	45	"
♀	26	50	57	"
♀	25	62	42	"
平均	27.1	60.1	47	35

第6群 検体量 0.5g

性	治療開始までの日数 (日)	治療最初の体重 (g)	増加体重 (g)	試験期間 (日)
♀	27	64	43	25
♀	29	75	60	"
♀	27	63	49	"
♂	30	78	59	"
♂	25	52	53	"
平均	27.6	66.4	53.8	35

表に依りて明らかなるが如く動物の貯藏 Vitamin A 消費日数は約1ヶ月なり表中25~26日を示すものは試験動物として採用せし時の体重他のものに稍劣りしなり。

余等特に本実験に於いて同一腹仔は貯藏 Vitamin A 消費日数の益接近せるを知れり。

治療時期の視察は斯くの如く30日未滿を以て發病するものは必ず先づ目に徴候現はれ發育停止體重降下は之の後に從ふを以て便利なり。

週平均3gの體重増加をせしむる検体量は0.025gと0.01gの中間に存す。

余等本実験の成績を以て満足せるものに非ず同一系統の鼠を漸次改良して優良なる試験動物を得て更に一段の正確なる成績を得ん事に努力するものなり。

第五章 Vitamin B 試験方法

Vitamin B の種類

Vitamin B は最近の發表に依れば單一の Factor に非ずして數種の Factor の存す

るものなりと考へらるゝに至れり。而して此の中生長促進性 Vitamin B 及抗神経炎性 Vitamin B の存在は略確認せられたるも研究に依り更に Factor は増加するものゝ如し。是等 Factor に関する試験も最近文献中に屢見ゆる所なれども余等は未だ是等に就きては実験をせず。故にこの詳細なる研究は後日に譲り本報告は従來の研究方法に依り生長促進性 Vitamin B は白鼠を用ひ抗神経炎性 Vitamin B は鳩を用ひて試験せり。

白鼠の排泄物攝取に就きて

白鼠は排泄物を食ふ習慣あり。殊に Vitamin B 缺乏症に陥れる時は好んで之を食ふ。然るに排泄物中には Vitamin B 存在するを以て動物之を攝取する時は定量せんとする検體の Vitamin B 含有量の判定を不正確とす。

1923年 H. Steenbock 氏等は動物の排泄物を食ふ結果生ずる試験成績の誤差を論せり。

白鼠を鮑屑上及 Screen 上の 2 群に分ちて飼養し Vitamin B 缺乏飼料を與へり即ち前者は自由に排泄物を食ふに反し後者は然らず。

然るに前者は約二週間成長を持続したる後體重減少を來し此の間最も増加したるものは 22gm を示したるに後者は一週間にして發育停止し後約一週間は體重維持に止れり。以後急に降下せり。この間最も増加せるものは 9gm なり。

尙検體の Vitamin B 含有量は之に注意すると然らざるとにより約 2 倍の差を生ずるものなりと言へり。

本試験にありては常に此の點に注意し例へ Screen を使用すると雖も常に清潔を保つを要す。

白鼠の體内に於ける Vitamin B 貯藏

動物は Vitamin B を體内に貯藏し得るを以て豫防治療の何れの試験に於けるも此の貯藏 Vitamin B を一先づ考慮に入れる必要あり。

1923年 H. Steenbock 氏等は年齢及體重と Vitamin B 貯藏量との關係に就き実験を行へり。

其の結果 3, 4, 5, 6, 週間の年齢の動物は Vitamin B を多く貯藏せざることを示し、之等を Vitamin B 缺乏基礎飼料にて養ひたるに何れも 50 日内外の生命を保てり。而して

動物の年齢大なるに従ひ斃死前の體重の減少の大なることを認めたり。

尙試験前の飼料は Vitamin B 貯藏に大なる影響あるものに非ず。例へ Vitamin B に豊富なる飼料を以て養ふとも之を Vitamin B 缺乏飼料にて養ひたる場合生存期間を甚しく延ばし得るものに非ず。但し其の間に於ける體重増加には差を生ずるものを知るべし。

要するに動物は Vitamin B を貯藏する能力の少なるものなり。Vitamin B を多量に攝取したるものは僅かに一時的の貯藏を示すに過ぎず。

試 験 方 針

凡そ動物試験を開始せんとするに當り最も必要なるは動物の健全なる事なり。斯る動物を得んが爲めには授乳期中の飼料を完全栄養ならしむるを要す。前節に述べたる如く鼠は Vitamin B を貯藏する能力極めて少なるを以て本試験に於ては特殊飼料にて養ふを要せず。完全栄養を與へたるものを直に試験に供すべし。又本試験は豫防試験を採用すべし。是れ後述する Refection の現像あると今一つは體內貯藏 Vitamin B 少なる爲め殊更に之れを消費せしむるを要せず。比較的正確にして安全なる豫防試験を勝れりとなす。

Sherman 氏等も亦本試験は治療試験による事の何等利する所なきを報告せり。

尙同氏等の説によれば實驗期間は 8 週間を以て適當とせり。

動物の性及び最初の體重の及ぼす影響

Vitamin B の所要量は動物の體重に比例するものなり。最初の體重大なるものは多量の Vitamin B を要し若し同量の Vitamin B を與ふれば大なる體重を有する鼠は少なるものより體重増加率少なるものなり。同一量の Vitamin B にては雄は雌より體重増加率大なり。是れ雌は該 Vitamin B を稍多量に要するなるべし。詳細は 1922 年 Osborne and Mendel 及 1927 年 H. C. Sherman 氏等の報告にて知るべし。

Vitamin B 試験の妨害となる Refection

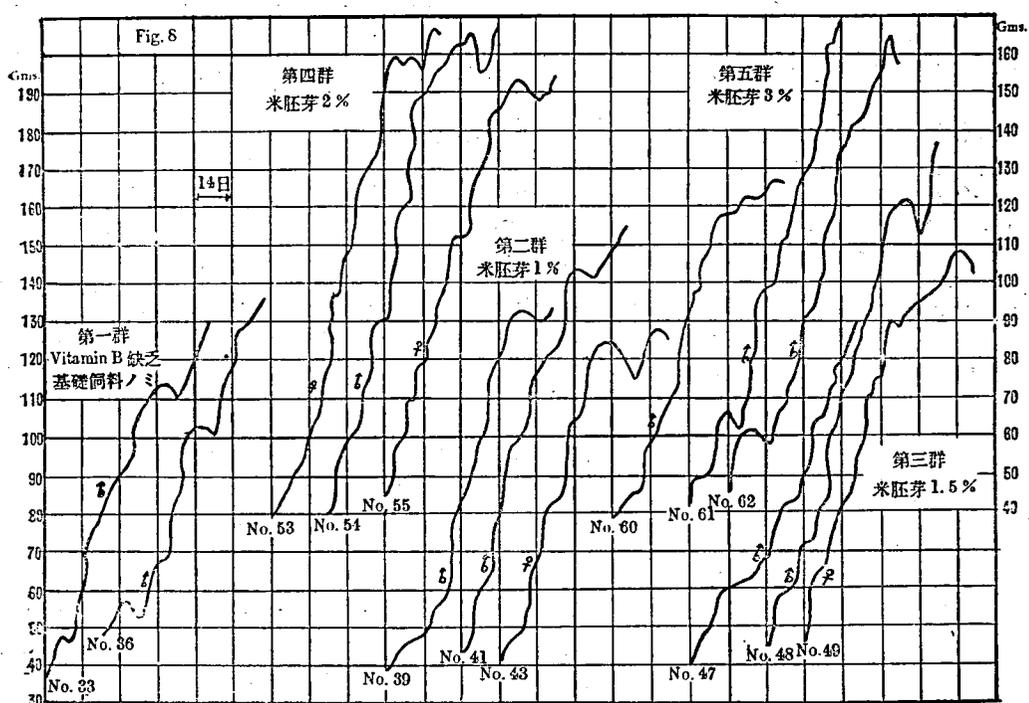
Refection なる現象は 1926 年 L. S. Fridericia 氏により始めて報告されしものなり。鼠を Vitamin B 缺乏基礎飼料を以て飼養する際必然起るべき缺乏症状を呈せずして却つて

體重増加を來し大なる白色の糞を排出する現象を言ふ。

之れに就き余等の實驗せる例を述ぶべし。

余等最初 Vitamin B 試験施行に當り之れを専門大家に質したるに皆この試験の困難なるを語り特にカゼイン中に含有する Vitamin B は除去甚だ困難なるを以て肉蛋白を用ふるの便なる事をすゝめたり。

茲に於て飼料の各成分を細心の注意を以て精製し蛋白源として馬肉蛋白を製し充分なる確信を以て試験に着手せり。



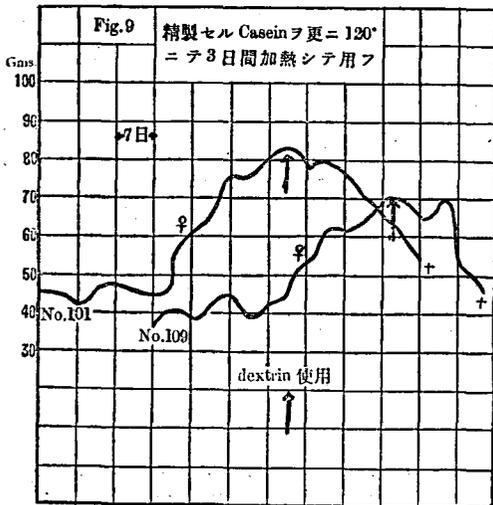
此際檢體として米胚芽を用ひ含有する Vitamin B を定量せんとせり。檢體は基礎飼料に夫々 1% 1.5% 2% 3% を混合し尙此外に Control を加へ動物は 5 群に分ちたり。而して試験開始後 Control の白鼠は Vitamin B 缺乏症狀(體重降下, 體溫降下, 毛は粗野になり跛行し遂に死に至る)を呈し又他の 4 群も檢體量に應じて體重増加に差異ある事を期待せり。然るに Control 動物は一旦體重減少して Vitamin B 缺乏らしき症狀を呈したれ共間もなく健康回復して發育良好となれり。試験開始後既に 70 日に垂んとし尙

各群發育旺盛なり。余等啞然として實驗を中止せり。此際動物は白色の大なる糞を排泄せり。

此の實驗は明かに失敗に終りたるものにして其の成績はFig.8に示せる如し。斯る失敗の原因は奈邊にあらんか。飼料は周到なる注意を拂ひて反覆精製したるに尙且 Vitamin B 缺乏症狀を呈せしむるを得ざりき。使用せる肉蛋白は既に十數回の精製操作により Vitamin B は殆んど除去せられたる筈なり。

然らば澱粉中尙少量の Vitamin B の殘存せるに非ざるや。斯る推定の下に再び澱粉を反覆水にて浸出し次に70%アルコールを以て一週間精製して使用に供せり。蛋白源としては便宜上カゼインを使用せり。然るにカゼイン中の Vitamin B は除去し難しとの事なれば之れを完全に取り除く爲次の如く精製を行へり。

醋酸々性の水を以て1日數回20日間洗滌し次に90%アルコールを以て Soxhlet 氏浸出器中に3日間處理し更に90%熱アルコールを使用して數回浸出し最後に其の或は殘留する恐れある Vitamin B を完全に破壊する爲 120° にて3日間加熱せり。



今回は大なる自信を以て飼料を精製したれば必ず成功すべき事を信じて實驗を始めたり。但し檢體は用ひず。果して鼠が Vitamin B 缺乏により死すべきや否やを見たり。

然るに此等鼠は初めFig9に示せる如く Vitamin B 缺乏にてやがて死するが如き觀ありたるも日ならずして再び健康を回復し體重増加を始め如何ともする能はざりき。余等試みに今迄使用せる馬鈴薯澱

粉を白色デキストリンに取換へたり其の結果 No. 109 は數日後より體重減少を來し Vitamin B 缺乏症狀を呈し11日目に至り終に死せり。No. 101 も又15日後に斃死せり。以上の實驗に依れば原因は略澱粉にあることを推察し得たれ共之れが充分なる理由を究むる事を得ざりき。

然るに引續き文獻調査中既に述べたる如く此の現象は1926年 L. S. Fridericia 氏に依り報告せられたる事を知れり。

次下是等諸氏の報告の大要を記すべし。

1927年 L. S. Fridericia 氏等は次の如く發表せり。

Vitamin B 缺乏基礎飼料

カゼイン	20%
米澱粉	57"
牛酪	15"
寒天	3"
混合鹽類	5"

上記飼料を以て白鼠を飼養せるに3週間後殆んど Vitamin B 缺乏症狀を呈したる時突然 Normal の成長を始め大なる白色の糞を排泄せり。此等の現象に就き觀察したるに斯く Refection を起したる鼠は中斷的なるも遂に十分なる成長を來し Vitamin B なくして仔を産み且飼育する事を得たり。

refectedrat の糞の1日の排泄量は他の然らざるものに比し大なれ共 pellet の數は通常なり。又之等の白色の糞を Vitamin B 缺乏になやむ鼠に與へたるに之等の動物を refeed せしむるを得たり。refected rat と non-refected rat を別々の籠に入れるも之等を同室に置けば refection は屢傳染す。

一旦白色糞を與へて refection を生せしむれば其の後は與へざるも之の状態を持続せり。又白色の糞を室温にて5ヶ月乾燥後鼠に與へたるに悉く refeed せり。即ち半年間は其の activity を保持する事を得。

又實驗に依れば 80°にて10分間熱するも其の activity は失はれざれ共 100°にて10分間處理すれば之を失ふ。

白色糞は non-refected rat 及完全榮養を食する鼠の糞より水、窒素、脂肪及び石鹼質少なし。是れ多量に澱粉を含む爲なり。(refected rat の糞の澱粉含有量平均 58.2% 然らざるものは 9.9%~12.8%)

白色糞の澱粉は變化せずに残る。

經驗に依れば refeeded rat は常に白色の糞を生ずるとは限らず褐色の糞を排泄する事あり。之の糞中に含有する澱粉は白糞より少量なれ共 normal の糞より大なり。而して粒狀をなす。

refeeded rat は食したる澱粉の 65%を吸収するに反し完全栄養若くは Vitamin B 缺乏になやむものは 98~99%を吸収す。即ち refeeded rat は約 3/5 を吸収す。之れより考ふるに消化する能力の破壊されたるに非ず減じたるなり。refeeded rat の褐色の大なる糞を出す時は澱粉の 82~90%を吸収す。

實驗によれば澱粉の利用少きは消化器内の通過速度大なる爲めに非ず。

refeeded rat の白色糞は non-refeeded rat よりの褐色糞より多くの amylase を含有す。

白色糞中の amylase は米澱粉の粒を溶解する事を得。

此の amylase は白色糞中の澱粉には作用せず。この澱粉の amylase に對する抵抗は是等の糞にある澱粉粒に吸収されたる protective substance に基づくものなるべし。

この物質は酸性アルコールに可溶性なり。

白色糞は相當量の Vitamin B を含有す實驗に依れば Vitamin B の痕跡は non-refeeded rat の褐色糞中にも存在す。

adult rat は refection を生ぜしむる事を得ざりき。

refeeded rat が完全栄養にて養はれる時澱粉消化に於ける缺點はなくなり。白色糞は 3 日にして褐色となり約 1 週間後に澱粉粒を含まざるに至る。

完全栄養を食ふ鼠に白色糞を與ふれば糞は (色は dark) 最初澱粉粒を含むもやがて消失す。

次に澱粉を含まざる Vitamin B 缺乏基礎飼料にて試験せり。即ち

精製カゼイン	67%
牛酪	15"
純鹿糖	10"
精製寒天	3"

混合鹽類 (McCollum 及び Davis) 5%

之の飼料を refected rat に與へたるに refection は消失せり。(この飼料に酵母を與ふれば鼠は生長せり)之れにより澱粉と Vitamin B の離るべからざる關係を知る事を得べし。

次にデキストリン(少量の澱粉を含む)を用ひて試験せるに鼠は refeed せり但し生ずる糞は他の鼠をして refeed せしむるを得ざりき。

refected rat の成長は屢々中斷す其の成長期にありては白色糞を出し成長中止若くは減少期にありては褐色の糞を排泄す Vitamin A 缺乏食の鼠に refection を試みたるに何等の影響なし albino mice に就き refection を試験せるに refeed なし得るも困難なる結果を得たり。

鳩に於ける試験に於ては refeed せしむるを得ざりき。

1228年 Stanislaw Kazimierz 氏等も亦 refection に就き研究報告せり。同氏等の發表に依れば refection は米澱粉を使用すれば馬鈴薯澱粉に比較して起り難きを言へり。馬鈴薯澱粉を使用すれば常に此の現象に遭遇す。馬鈴薯澱粉を70%アルコールにて洗滌すれば少數のものは refeed なし得れ共體重減少に至る迄の期間長く尙回復徐々に進行す。

馬鈴薯澱粉の extract には Vitamin B を含有せず又低温に於て refection agent は破壊さる。

馬鈴薯澱粉は米澱粉より上等(窒素の含量は0.15%に對し0.53%)なり。是れ refection は含有する Vitamin B の爲に非ざる事を知る。

Randoin 氏等は Vitamin B は單に含水炭素の metabolism に関係ありと言へり。之より考ふるに馬鈴薯澱粉は消化悪しき故 Vitamin B を不要とするに非ざるやと言へり。或はある protective factor の馬鈴薯澱粉中に存在するなるべし Vitamin B の腸内に出來得るものとせば Vitamin B 缺乏になやむ鼠の糞中に Vitamin B を含有するを以て吸収力の問題を生ずべし。

不消化の澱粉が大なる吸収を生ぜしむるか澱粉が通常腸内 Bacteria より多くの Vitamin B を生ずる所のある微生物の生長に好都合なるか或は兩者の爲なるべし。

要するに馬鈴薯澱粉及葛澱粉は他の澱粉より多く refection の現象を見るべし。

1929年 Arthur Scheunert, Martin Schieblich Johannes Rodenkirchen, 等は同じく refection の現象を實驗して報せり。

彼等の研究によれば refection を起せる鼠の特徴として従來の著者等は糞の性状即ち大なる白色のものになり澱粉を多量に含む事を報告なし居れ共是れは必ずしも信用するに足らざる事を言へり。何となれば refection を起せる鼠にして之れに反する事實あればなり。彼等は refection を起せるや否やは糞の顯微鏡的試験に俟つべきを云へり。(省略)

純デキストリンを使用すれば refection を起さざるものなり。澱粉の種類は refection に関係なし實驗上關係ある如く見ゆるは季節に因るものなり。

refection を防ぐにはアルコールにて煮沸して extract し次に加壓釜にて處理すれば充分なり70%アルコールにて extract せるのみにては多くの場合完全なるものとは言ひ難し糞を10分間 100°にて熱して與ふれば refection を起さざるより見ればバクテリアの爲なる事を知る。

Fridericia 氏の發表による體重40~60gmの鼠のみ refection を起させ得るといふ報告は誤りなりと云へり最初 normal の飼料にて養ひたるものは合成飼料を食せず強度の缺乏症を起して始めて糞を食へ共基礎飼料の不十分なる爲實驗の好都合に進行せざるなり。即ち adult rat も又 refection を起し得。

refection は糞のみならず。胃腸内容物を與へても起し得るものなり。refection を起せる鼠の糞は Vitamin B の二つの factor を含有す。

上記諸氏及余等の經驗によるに Vitamin B 試験施行に當り在來懸念せられたるカゼインの Vitamin B を除くは多くの困難を伴はず却つて澱粉の種類及其の精製方法に缺點あるを知れり refection なる現象は澱粉中に含有する Vitamin B に非ざる事は諸氏の説明により明かなれ共今之れを證すべき大要を列擧すれば次の如し。

- 1 100°に於て10分間加熱し其の activity を破壊する事を得。
- 2 馬鈴薯澱粉の extract には Vitamin B を含有せず。
- 3 refection を起せる鼠の白色糞を他の糞に與へて refeed せしむれば其の後は之れを與へざるも refeed を續行す又同室に refeeded 及 non-refeeded rat を置けば

傳染する事あり。

4 refected rat は白色糞を出す事あり。

5 糞の分析及攝取各成分の吸収率の比較

6 糞の顯微鏡的検査

7 refection を起す鼠は一先づ Vitamin B 缺乏に苦しみ發育停止す。

以上により refection は Vitamin B の爲めに非ざる事を知るを得べし故に Vitamin B 研究に従事するものは之の點に注意を拂ふに非ざれば檢體中の Vitamin B 含有量は正確に知る能はず特に治療試験に於て Control を採用せずして試験する事は賞すべき事に非ず何となれば refection を起す動物は一様に其の殆んど全部が一度發育停止して Vitamin B 缺乏になやむが如き時機に遭遇すればなり。此の時に當り檢體を與へざるも normal の成長を始むるものなり。

然らば此の現象を防止するには如何にすべきや Martin Schieblich, Johannes Rodenk irchen 氏等は澱粉を熱アルコールにて處理し飼料を $\frac{1}{2}$ 氣壓にて半時間滅菌すれば可なる事を報告せり。余等之れに従ひて馬鈴薯澱粉を使用し上記の如く處理して試験に供せり。

即ち 8 匹の鼠を Vitamin B 缺乏基礎飼料のみにて飼育したるに 5 匹は體重降下して斃死せるも残り 3 匹は容易に發病すべき徵候だに見へず。故に白色デキストリンを用ひて遂に死に至らしめたり是れより考ふるに彼等の言ふ所必ずしも信を置くに足らず。

原因は馬鈴薯澱粉に在る事を知るを得べし。

然るに白色デキストリンは今迄の經驗によれば之れを精製せずとも常に Vitamin B 缺乏症狀を呈せしむるを得たり故に馬鈴薯澱粉に代ふるに白色デキストリンを以て試験を行へり白色デキストリンの組成は次の如し。

定量分析

糊 精	冷水に溶性	46.68%
澱 粉	冷水に不溶性但し温湯に溶性	48.88"
礦物質 (灰分)		0.28"
水 分		4.16"

之れを熱アルコールにて數回精製せり。但し飼料は滅菌操作を施さず。

試験結果は殆んど全部 Control 動物の死を見たるも(30日—40日)其の中一匹は37日目に 70g に達し Vitamin B 缺乏症状を現さざるを以て白色デキストリンに代ふるにメルク製の純デキストリンを以てせり。

然るに體重依然として上昇し實驗開始後53日目に 112g. に達したるを以て遂ひに中止せり。

他の一匹も同じく容易に Vitamin B 缺乏の徴候を現さざりしが其の儘持續せるに66日目に斃死せり。

此の結果を考ふるに白色デキストリンにて充分と思はるる成績をあげ得ざりしは時恰も春の好時節なりしを以て幾分 refection の徴候ありし爲なるべし或は之を滅菌して與へしなば見事なる成績を得たるやも知らず之れより考ふるに Vitamin B 試験と白色デキストリンを用ふれば refection を起し易き最も好時節なる春以外に於ては充分なる成績をあげ得べしと想像さる。

純デキストリンを使用すれば refection を起さずと言ふ説は余等之れをメルク製デキストリンに就き試験して事實に反する結果を得たるも Vitamin B 試験に於て澱粉より寧ろデキストリンをアルコールにて精製して使用すれば比較的安全なる事を知る。

然れ共デキストリン使用に當り不便なる事は悉く其の質の異なる事なり常に一樣なるものを得る能はず。且つアルコールを以て精製するに甚だ困難を極むるものなり又防腐劑等を含む事あり澱粉の反應を呈せざる赤玉印のデキストリンを使用せるに動物は常に下痢せり。依つて若しデキストリンを使用するとせば余等の從來使用せる赤玉印の白色デキストリンは經濟的にして且つ上記分析の如く澱粉を半ば含有するを以て精製に容易なり。

次に Stainslaw Kazimierz 氏等の説に従ひ米澱粉を使用して Vitamin B 缺乏基礎飼料を作り飼料全部を滅菌して與へたるに別記實驗例の如く好成績を得たり。

故に Vitamin B 試験に白鼠を使用して試験せんとする時は次の如くすべし。

1 馬鈴薯澱粉を使用せざること。

- 2 米澱粉を精製して用ふべし即ち Vitamin B を除きたる米澱粉を熱アルコールにて処理す。(冷アルコールは不可)
- 3 合成したる Vitamin B 缺乏基礎飼料を全部加圧釜に入れ一氣壓にて半時時滅菌すべし。(1928年 Harriette chick 氏等は 100° に於ける水蒸氣にて 3 時間熱せり)
- 4 動物の籠は常に清潔に保ち時々消毒を怠るべからず。

Vitamin B 缺乏基礎飼料

本試験に用ふる基礎飼料も亦種々あれ共余等は次のものを使用せり。

カゼイン	18%
米澱粉	67"
オリーブ油	10"
マッカラム氏鹽 No. 185	5"

外に Vitamin A を補給する爲肝油を一日 0.03g. 與ふ。(肝油を鼠に多量に與ふるは有害なり注意すべし)

上記基礎飼料定量分析

含窒素有機物(蛋白質として)	16.45%
粗脂肪	10.04"
澱粉其の他無窒素有機物	55.50"
礦物質(灰分)	2.91"
水分	15.10"

檢體給與方法

本試験に於て檢體を與へる場合は是亦基礎飼料と分離し與ふるを可とす。毎朝前日の飼料を籠より取出し動物に空腹を感せしめおきて檢體を與ふれば鼠は容易に之れを食す。

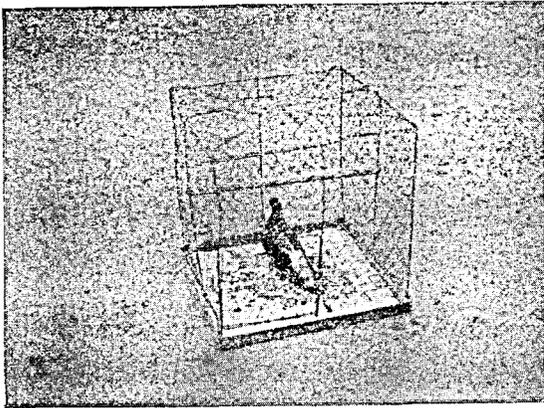
若し檢體を基礎飼料に入れ與ふる場合特に多量を混合するを必要とする時は定量分析を施して基礎飼料の組成を適當に變更せしむるは本試験も亦同様なり。

檢體中 Vitamin B 含有量の僅少なる時は之の給與に當り適當なる工夫を要す。例へば 1927年 Arthur Scheunert 氏は麥酒中の Vitamin B 試験に於て麥酒を減壓 40° にて

濃縮し試験に供せり。又 1925年 W. H. Eddy 氏等は鐘詰渡藜の Vitamin B 試験に於て檢體を 60° を超へざる温度にて乾燥し使用せり。

種々の工夫を凝らすも思はしからざるものは Vitamin B を抽出して與ふべきなり。但し此の際多少の Vitamin 損失は覺悟せざるべからず。

鳩を用ふる試験



寫眞 5 鳩の籠

余等は Vitamin B の各 factor の試験は白鼠のみに依る考へなりしも之等の試験方法の研究に着手する時を有せざりしを以て暫く在來の方法に依り鳩を試験動物として採用せり従つて多くの經驗を有せざれば只參考の程度に止む後に述ぶる鳩を用ふる Vitamin 試験方法は最も簡便なる方法を選びたるものなり。

本試験に二様式あり其の一つは鳩を精白米を以て試験し他の一つは鼠と同じく Vitamin B 缺乏基礎飼料を以て試験す前者は鳩は Vitamin B 以外の Vitamin は此れを必要とせずと言ふ主張のもとに行ふものにして後者は鳩の場合も亦完全榮養より Vitamin B を除きたる飼料に依り飼育する必要ありとの主張に基くものなり。

其の何れを正當とすべきや余等は知らざるも白米のみに依り Vitamin B 試験を施行し得るとせば敢て繁雜なる基礎飼料を調製するの必要なしと考へ白米方法を採ることとせり。

白米を使用する場合は鳩に任意に嚙食せしむるも可なるも Vitamin B 缺乏の爲漸次食欲減退し其の結果遂に斃死する惧あり故に此の場合に強制飼養を推奨す。

白米は午前、午後各一回 10g. 宛與ふ檢體は少量なれば其の儘與へ多量の場合は白米量を減ず確實なる方法としては鼠の場合と同様豫防試験を擧ぐ。鳩の試験に於ては必ず體温を測定するを要す體温正常なる間は例へ體重は降下するも容易に斃死することなし。反之體重のみ注意する時は例へ體重増加を示したりと雖もこれ必ずしも Vitamin B 缺乏の影響に依るものに非ず。鳩は Vitamin B 缺乏の結果消化不良を來し白米の糞囊に停滯せる場合は體重は急に増加することあり此の際體温は却つて降下し

遂に弊る故に鳩の試験には必ず體温體重は共に測定するを要す。

又排泄物に就き其の綠色を呈する時は Vitamin B の不足に依るものなりとの説あれ共未だ確實なるものに非ず Funk 氏の説に依れば糞の綠色は Vitamin B を與へたる後24時間にして消失すると言ふ。

使用する白米は水を以て反覆洗滌し Vitamin B を除きたるものなり。

洗滌白米定量分析

含窒素有機物(蛋白質として)	3.30%
粗脂肪	0.34 "
粗纖維	0.05 "
澱粉其の他無窒素有機物	85.84 "
礦物質(灰分)	0.27 "
内	
カルチウム	痕跡
磷(P ₂ O ₅)	0.02%
水分	10.20 "
アルカリ性度	-1.18 "



寫眞 6 鳩に強制飼養を行ふ

Vitamin B 標準試験法

(A) 鼠を用ふる試験

豫防試験を行ふべし實驗室に於て同一系統の鼠を常に次の飼料を以て養ふ。

小麥	98.5%
食鹽	1.5 "

外に牛乳を隨意に飲ましむ。但し小麥は粉碎して與ふべし

試験に著手せんとする時は生後4週間凡そ 50g. 前後の動物を各別の籠に入れ所要の群に分つべし此の際成るべく同一腹仔を使用すべし。各群は5匹以上を必要とす直ちに次の飼料を供す。

Vitamin B 缺乏基礎飼料

カゼイン	18%
オレーフ油	10%

マッカラム鹽 No. 185 5%

米澱粉 67%

外に肝油を各動物に 0.03gm を與ふ。

上記基礎飼料は refection を防ぐ爲一氣壓にて30分間處理したるものを用ふべし。此の際 negative Control として一群採るを要す。

豫防期間は8週を以て終る此の期間に於て體重増加週平均 3gm. を示すに必要な檢體量を求むべし。(實驗例に述ぶるトマトの如きは斯かる檢體量を見出すを得ず。

余等未だ多くの檢體を試験せざる爲め之れが研究は後日に譲り暫く Sherman 氏の説に依る事とせり)

(B) 鳩を用ふる試験(前述せる如く本試験は最も簡單なる方法を選びたり)

豫防試験を行ふべし市中より幼鳩を購入し次の飼料を以て成長せしむ。

粟 及 玄 米

體重 250g. 前後に達したる時試験を開始すべし基礎飼料は充分洗滌せる白米粉末を經口的に一日 20g. 2 回に分ちて與ふ。水は随意に飲ましめ外に海砂も嘴食に任す。一群少くとも3羽を必要とすべし。豫防期間は50日とし此の間體重支持に足る檢體量を見出すべし。本試験に於ては體重と共に常に體温を(體温計を肛門に挿入すべし)測るを要す。

麥酒酵母の Vitamin B 定量

試験時季 昭和六年夏

檢體は大日本ビール會社より分讓を受けたり。

定量分析

含窒素有機物(蛋白質として)	52.13%
粗脂肪	0.56%
無窒素有機物	34.08"
礦物質(灰分)	7.52"
内	
磷(P ₂ O ₅)	5.93"
カルチウム	痕跡
水分	5.71"

アルカリ性度

— 9.08

試験方法

豫防試験を行ふ既に本文に於て述べたる如く余等は Vitamin B 試験の基礎飼料に馬鈴薯澱粉を使用せる結果動物は refection なる現象を起し數度の失敗を重ねたるを報告せり。又白色デキストリンも稀に之の傾向あるを以て米澱粉に依るべき事の必要を認めたり。

只に酵母のみならず従來の文獻に於ては基礎飼料の澱粉に對する注意を怠りたるを以て檢體中の Vitamin B 含有量の相違せると覺しきもの少なからず。

余等の使用せる動物は市中より購入せる一腹仔を實驗室にて飼育せるものなり檢體は基礎飼料とは別に一定量を日々に與ふ鼠は好んで之れを食ふ期間は8週間にて終る。

	動物數	檢體量
第1群	6 匹	Control
" 2 "	5 "	0.05g.
" 3 "	4 "	0.1 "
" 4 "	5 "	0.2 "
" 5 "	5 "	0.3 "
" 6 "	5 "	0.4 "

同一腹仔は各群に配したり。

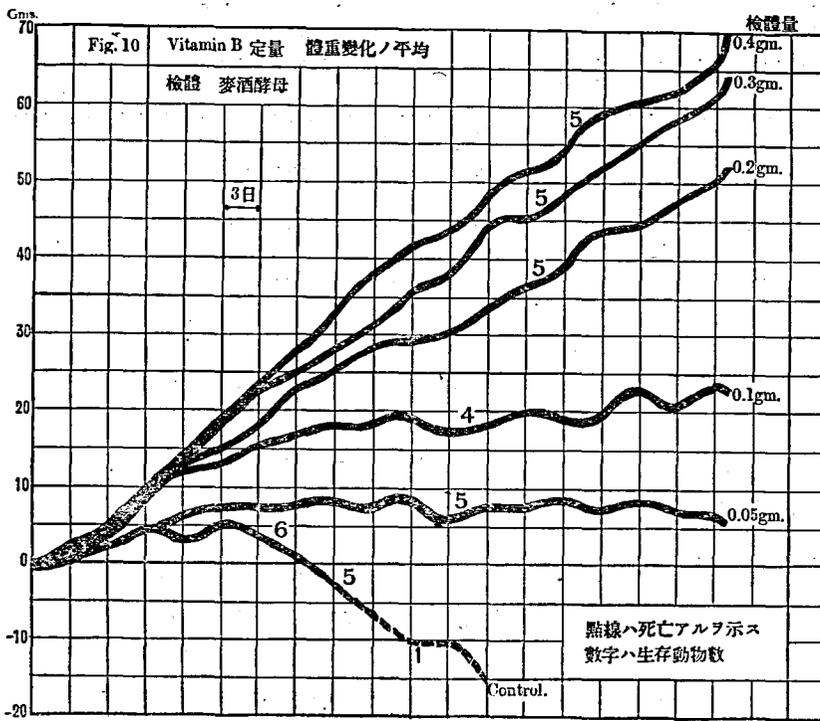
試験結果

第1群 Control.

性	最初の體重 (g)	最後の體重 (g)	増加體重 (g)	生存期間 (日)
合	40	25	-15	37日
♀	40	26	-14	27
♀	43	31	-12	30
♀	46	40	-6	21
合	57	41	-16	30
♀	59	42	-17	31
平均	47.5	34.1	-13.3	29.3

第2群 檢體量 0.05g.

性	最初の體重 (g)	最後の體重 (g)	増加體重 (g)	試験期間 (日)
♂	49	75	26	56日
♀	37	35	-2	"
♂	45	58	13	"
♀	39	40	1	"
♀	52	47	-5	"
平均	44.4	51	6.6	56



第3群 檢體量 0.1g.

性	最初の體重 (g)	最後の體重 (g)	増加體重 (g)	試験期間 (日)
♂	46	75	29	56
♀	42	63	21	"
♂	40	65	25	"
♂	42	57	15	"
平均	42.5	65	22.5	56

第4群 検体量 0.2g.

性	最初の体重 (g)	最後の体重 (g)	増加体重 (g)	試験期間 (日)
♂	45	100	55	56
♂	55	123	66	"
♀	37	93	56	"
♀	38	80	42	"
♂	40	84	44	"
平均	43	94.3	52	56

第5群 検体量 0.3g.

性	最初の体重 (g)	最後の体重 (g)	増加体重 (g)	試験期間 (日)
♂	33	112	74	56
♂	52	123	71	"
♀	33	105	67	"
♂	40	96	56	"
♀	33	90	52	"
平均	41.2	105.2	64	56

第6群 検体量 0.4g.

性	最初の体重 (g)	最後の体重 (g)	増加体重 (g)	試験期間 (日)
♂	42	106	64	56
♂	37	115	78	"
♀	35	100	65	"
♂	37	96	59	"
♂	42	123	81	"
平均	38.6	108	69.4	56

上記の表及別圖にて明かなる如く検體 0.05g. にては8週間體重維持するに足るのみなり.

又 0.1g. にて 22.5g. の増加を示したるを以て週 2.8g. の成長を見たり.

依つて週 3g. の體重増加を示す検体量は 0.1g. が所要量なるべし.

麥酒酵母の Vitamin B 定量

試験時季 昭和六年秋

試験動物 鳩

	動物數	檢體量
第1群	3 匹	Control
" 2 "	3 "	0.1g.
" 3 "	4 "	0.3 "
" 4 "	1 "	0.5 "

試験結果

第1群 Control

最初の體重 (g)	最後の體重 (g)	増加體重 (g)	生存期間 (日)
255	216	-39	14
240	195	-45	13
233	205	-23	13
平均 242.7	205.3	-37.3	133

第2群 檢體量 0.1g.

最初の體重 (g)	最後の體重 (g)	増加體重 (g)	生存期間 (日)
259	257	-2	24
264	209	-55	25
245	281	+36	36
平均 256	249	-7	28.3

第3群 檢體量 0.3g.

最初の體重 (g)	最後の體重 (g)	増加體重 (g)	試験期間 (日)
259	292	33	50
275	290	15	"
231	310	29	"
239	265	26	"
平均 263.5	289.2	25.7	50

第4群 検体量 0.5g.

最初の体重 (g)	最後の体重 (g)	増加体重 (g)	生存期間 (日)
250	285	35	50

表に依り明かなる如く検体量 0.1g. には不足し 0.3g. は50日間体重を支持するに足る.

トマトの Vitamin B 定量

試験時季 昭和六年秋より冬に亘る

検體は一時に多數を買入れ壓搾濾過して汁液を取り「アルコールを加へて50%となし保存せり. 必要に應じて其の上澄液を取り減壓下 40' にて「アルコールを除去して用ひたり.

定量分析

含窒素有機物(蛋白質として)	1.22%
粗脂肪	0.08 "
無窒素有機物	3.48 "
礦物質(灰分)	0.52 "
水分	94.70 "

試験動物は實驗室にて飼育せる同一系統の白鼠を用ひたり検體は前記の如く處理せるものに少量の砂糖を入れて甘味を附して與へたり動物は良く之れを飲む.

	動物數	検体量
第1群	4 匹	Control.
" 2 "	5 "	10cc
" 3 "	5 "	15 "
" 4 "	5 "	20 "

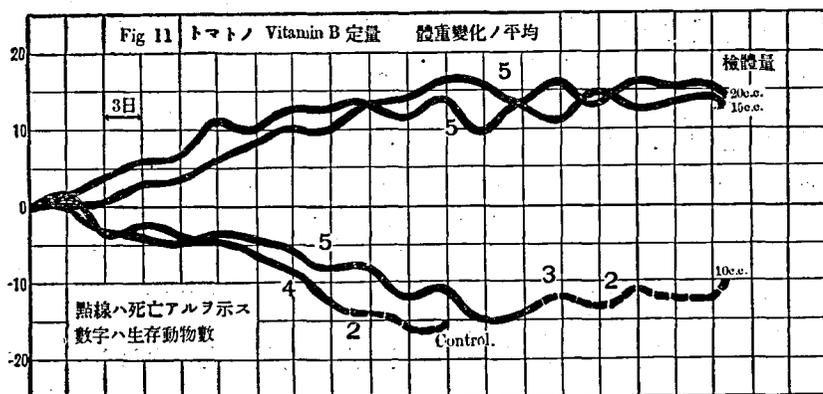
試験結果

第1群 Control

性	最初の體重 (g)	最後の體重 (g)	増加體重 (g)	生存期間 (日)
合	45	25	-20	20
♀	45	27	-18	25
合	45	30	-15	31
♀	44	26	-18	25
平均	44.7	27	-17.7	27.5

第2群 検体量 10cc

性	最初の體重 (g)	最後の體重 (g)	増加體重 (g)	生存期間 (日)
合	46	30	-16	40
合	44	34	-10	56
♀	48	29	-19	43
♀	50	33	-17	41
合	47	34	-13	56
平均	47	32	-15	47.8



第3群 検体量 15cc

性	最初の體重 (g)	最後の體重 (g)	増加體重 (g)	試験期間 (日)
♀	40	55	15	56
♀	45	56	21	"
♀	45	58	13	"
♀	44	55	11	"
合	52	57	5	"

平均	45.2	56.2	13	56
第4群 検体量	20cc			

性	最初の体重 (g)	最後の体重 (g)	増加体重 (g)	生存期間 (日)
♀	55	70	15	56
♀	42	55	13	"
♂	40	54	14	"
♂	49	65	16	"
♀	47	59	12	"
平均	46.6	60.6	14	56

前表にて明かなる如く鼠は15cc以上を飲むも其れに比例して成長を来さず之れに就き1923年 Sherman 氏等の説を見るに多量の検體を飲む鼠は基礎飼料の攝取量を減ずる傾向あり。従つて其の成長は normal 以下なるに關らず Vitamin の量に比例して發育せずと言へり本試験は週平均 3g の體重増加を来さしむる検体量を見出す能はず本文に述べたる如く此の標準の採り方は暫定的のものなれば他日の研究に待つこととせり。

蒞穰の Vitamin B 定量

試験時季 昭和六年秋より冬に亘る。

検體は日々新鮮なるものを買入れたり。

定量分析 Vitamin C の部に掲ぐ。

試験動物は前と同じく同一系統のものを使用せり検體は生の儘與へたり。

	動物數	検体量
第1群	4 匹	Control
" 2 "	5 "	1g.
" 3 "	5 "	2 "
" 4 "	5 "	4 "

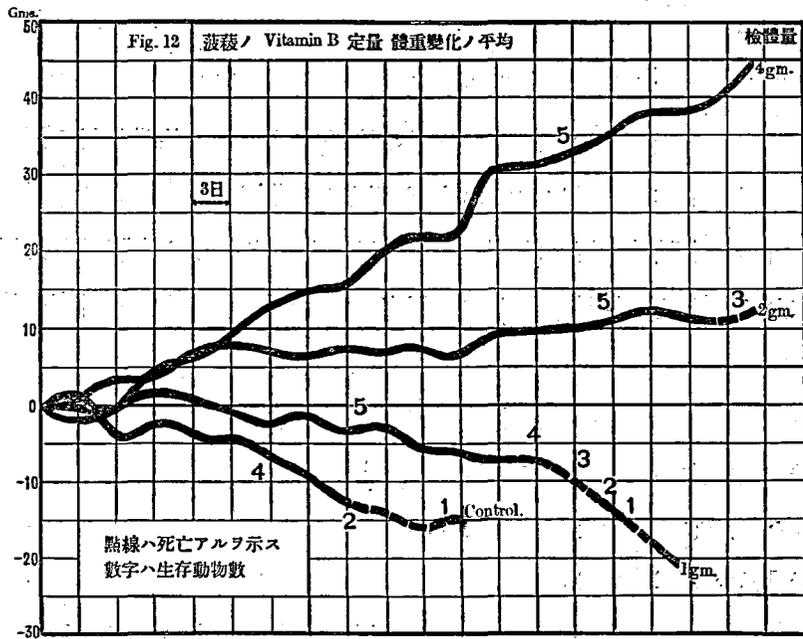
試験結果

第1群 Control

本試験はトマトの Vitamin B 定量と同時に行ひたるを以て Control は共通とせり。

第2群 検体量 1g.

性	最初 の 體 重 (g)	最後 の 體 重 (g)	増 加 體 重 (g)	生 存 期 間 (日)
♀	55	33	-22	51
♀	56	38	-18	44 (死)
♀	53	31	-22	42 "
♀	50	41	-9	45 "
♂	55	45	-10	37 "
平均	53.8	37.6	-16.2	43.8



第3群 検体量 2g.

性	最初 の 體 重 (g)	最後 の 體 重 (g)	増 加 體 重 (g)	試 験 期 間 (日)
♂	49	61	12	49 (死)
♀	53	56	3	55
♂	54	68	14	56
♂	51	84	33	55
♂	42	40	-2	49 (死)
平均	49.8	61.8	12	53.2

第4群 検体量 4g.

性	最初の体重 (g)	最後の体重 (g)	増加体重 (g)	試験期間 (日)
♂	46	93	47	56
♀	50	75	25	"
♀	47	101	54	"
♀	45	85	40	"
♂	50	105	55	"
平均	47.6	91.8	44.2	56

前表に依り明かなる如く検体量 1g. にては不足し 2g. は辛うじて體重を支持するに足る 4g. は充分なり.

依つて週平均 3g. の平均増加せしむる検体量は 2g. と 4g. の中間に存す.

米胚芽の Vitamin B 定量

試験時季 昭和六年冬より七年に亘る

検體は市中販賣のものを買入れ 40° にて乾燥せしめたり.

定量分析

含窒素有機物(蛋白質として)	19.96%
粗脂肪	23.71"
無窒素有機物	41.59"
礦物質(灰分)	10.32"
水分	4.42"
アルカリ性度	+ 2.48"

試験動物は同一系統のものを使用せり.

	動物數	検体量
第1群	3 匹	Control.
" 2 "	5 "	0.05g.
" 3 "	5 "	0.1
" 4 "	5 "	0.2

第5群	5 "	0.3 "
" 6 "	5 "	0.4 "
" 7 "	3 "	1.0 "

檢體は前回同様基礎飼料より分離して與へたり。

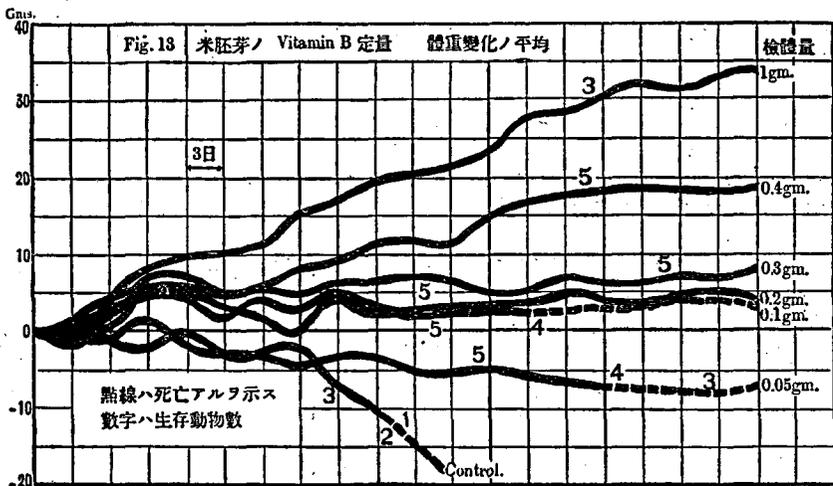
試験結果

第1群 Control.

性	最初の體重 (g)	最後の體重 (g)	増加體重 (g)	生存期間 (日)
♂	40	25	-15	29
♂	50	35	-15	30
♀	54	36	-18	31
平均	48	32	-16	30

第2群 檢體量 0.05g.

	最初の體重 (g)	最後の體重 (g)	増加體重 (g)	生存期間 (日)
♀	40	33	-7	56
♀	45	39	-6	"
♀	42	36	-6	"
♂	40	23	-17	45
♂	45	32	-13	53
平均	42.4	32.6	-9.8	53.2



第3群 検体量 0.1g.

性	最初の体重 (g)	後の体重 (g)	増加体重 (g)	試験期間 (日)
♀	41	40	-1	56
♀	50	44	-6	39
♂	42	44	2	56
♀	40	45	5	"
♂	40	46	6	"
平均	42.6	43.8	1.2	52.6

第4群 検体量 0.2g.

性	最初の体重 (g)	最後の体重 (g)	増加体重 (g)	試験期間 (日)
♀	51	46	-5	56
♀	41	55	14	"
♂	55	62	7	"
♂	45	40	-5	"
♀	43	46	3	"
平均	47	49.8	2.8	56

第5群 検体量 0.3g.

性	最初の体重 (g)	最後の体重 (g)	増加体重 (g)	試験期間 (日)
♀	42	49	7	56
♀	42	59	17	"
♀	46	39	-7	"
♀	43	50	7	"
♀	45	51	6	"
平均	43.6	49.6	6	56

第6群 検体量 0.4g.

性	最初の体重 (g)	最後の体重 (g)	増加体重 (g)	試験期間 (日)
♂	41	57	16	56
♀	42	68	26	"

♀	46	55	9	56
♀	46	70	24	"
♂	42	61	19	"
平均	43.4	62.2	18.8	56

第7群 検体量 1g.

性	最初の体重 (g)	最後の体重 (g)	増加体重 (g)	試験期間 (日)
♂	42	72	30	56
♀	44	76	32	"
♂	47	87	40	"
平均	44.3	78.3	34	56

週平均 3g. の体重増加せしむる検体量は 0.4g. と 1g. の中間に在るを知る.

米胚芽の Vitamin B 定量

試験時季 昭和六年秋

試験動物 鳩

	動物数	検体量
第1群	3 羽	Control
" 2 "	2 "	0.1g.
" 3 "	2 "	0.3 "
" 4 "	2 "	0.5 "

試験結果

第1群 Control

麥酒酵母と同時に施行したるを以て本群は共通とせり.

第2群 検体量 0.1g

最初 (g)	最後 (g)	増加 (g)	生存期間 (日)
260	226	-34	34
261	247	-14	31

食鹽

1"

燕麥は必要に應じ其の都度粉碎し脱脂乳粉末は空氣の接觸面を可及的大とし120°にて2時間加熱す。

牛酪は50°以下にて其の含有するVitamin Aを破壊せざる様注意しつゝ溶解せしめ遠心分離器に装置し水分及び鹽類を除去す。

余等は上記の飼料を調製し定量分析を行ひたるに次の如き結果を得たり。

定量分析

含窒素有機物(蛋白質として)	18.12%
粗脂肪	12.28"
粗纖維	2.35"
糖分(乳糖として)	12.03"
澱粉其の他の無窒素有機物	44.67"
水分	6.10"
礦物質(灰分)	4.45"
内	
磷 (P ₂ O ₅)	2.17"
カルチウム(CaO)	0.61"
クロールナトリウム(NaCl)	1.05"
アルカリ性度	+3.37

尙信頼す可き基礎飼料としては Holst und Frölich の方法を修正せるものにして1928年 Dr. E. Remy の使用せるものなり即ち

燕麥	40g.
ふすま	15"
食鹽	1"
牛乳	45cc

但し牛乳は使用前100°—120°にて1時間加熱せるものなり。此の飼料は簡便にして且良結果を得るものとして各實驗者の推奨するものなるを以て何等懸念なく使用することを得べし。

試験開始前の注意

動物は購入後直ちに試験に供するが如きは最も慎むべきことなり。購入に際し先づ其の健康状態を調査し體質虚弱にして既に疾病に犯され居る徴候を有するものは最初より除外すべし。次に茲に撰擇せる動物は新生活に慣らしめざるべからず。即ち動物は其の周圍の状況及び飼料の變更により是れに馴るゝまで其の攝取量を減じ爲めに體重の減少を來すものなり故に最初試験に供する基礎飼料及び Vitamin C を含有する野菜類を與へて飼養すべし然るときは動物の體重は初め減少す是れ腹中に存在せる以前の飼料の排泄並びに飼料に慣るゝまでの攝取量の減少に基くものにして此の減少しつつある體重再び増加の徴候を示したるときは是れを最初の體重として試験を開始すべし。斯かる些細の注意を怠るときは試験結果を不正確になすものと覺悟せざるべからず。

試験動物の數

これ最も考慮を要すべき問題なり。成るべく多數の動物を使用することにより正確の結果を得るは勿論なれ共其の爲めに充分の注意行届かずして反つて結果を不正確に導くが如きことあるべからず一般に Vitamin の試験は熟練するに従ひ少數の動物にても檢體中 Vitamin の含有量を判定するを得るに至る。

經濟的に且比較的の結果を得るには各群5匹宛にて適當なるべし。尙これに negative control 並びに場合によりては positive control として夫々數匹の動物をも必要とす。negative control は基礎飼料中に Vitamin C を含有せざることを證明せんが爲めなり。

檢體若し液體にしてピペットにて與ふる場合は negative control にも同量の水を與ふれば甚だ正確なる結果を得べし。少數の動物を使用し初めこれに檢體の一定量を與へ漸次増量して所要量を求むるが如きは到底正確なる結果を期し難し。

試験方針

Vitamin C の試験には治療試験よりも豫防試験を適當とす。治療試験に於いては壞血病に罹れる状態を外観のみに依りて推定するものにして後述する徴候により略判斷するを得れ共其の時期を失するときは動物は齒痛を發して檢體の攝取不能となることあり。

其の他種々の點より豫防試験は最も正確なる結果を得るものとして推奨するものな

り。

扱て檢體を與ふるには如何なる方法を採用すべきや勿論檢體の種類並びに時と場合に依れども出來得べくんば強制飼養は差控ふ可し。是動物の消化器官は動物自ら本能的に食ふ場合と然らざる時とは其の消化作用に於て著しき差異あるを以てなり。檢體は基礎飼料中に其の一定量を混ざる場合と檢體のみ單獨にて與ふ場合とあり。動物好んで食するものは後者に依るを可とす。然るときは動物は與へられたる檢體を悉く攝取し最も正確なる結果を得。基礎飼料に混合する場合は毎日の攝取量の多少により檢體の量も亦異なるを以て多少結果に不正確を來すを免れず。

檢體若し Vitamin C 含有量の少なきときは必然多量の檢體を與へざるべからず。然れ共餘り多量の檢體を使用するときは檢體中の Vitamin C 以外の物質の爲め基礎飼料の組成に變化を及ぼし爲めに試験結果に於て Vitamin C 以外の他の Factor を混入す。

檢體を與ふる場合動物若し Vitamin C 缺乏状態にあるときは Vitamin C を含有する物質なれば好んで之を食するものなり。故に出來得べくんば檢體は單獨にて與ふるを可とす。この場合檢體の種類により最初は食ほざるものあれども漸時慣るゝに従ひ攝取し始む。一般に動物に空腹を感せしめ其の食慾に乗じて檢體を與ふれば直ちに食ふものなり。檢體若し流動體の場合はピペットにて與ふるを便利とす。斯かる場合一回量は 5~6cc を限度とし多量と與ふる必要ある時は一日數度に分ち與ふべし。

試 験 期 間

期間の決定は動物の状態により長短あるを以て確言するを得ざるも單に檢體中 Vitamin C を含有するや否やの程度の試験なるときは40~50日にて充分なるべし。然れ共檢體の Vitamin C 含有量を求むるには少くとも90日の日數を必要とす。又人に依り更に長期間繼續する者あれども夫々試験の目的により各自任意に定むべきなり。

試験結果の判定

動物は試験終了後これを解剖に付したる結果を詳細に調査せざるべからず。例へ90日生存せるものにては解剖の結果壞血病に罹れることを示す場合あり。又試験途中にて體重降下し終に斃死せるものと雖も此の場合必ずしも壞血病に因るものと云へ

ざるなり。

モルモットは甚だ呼吸器病に犯され易く又寄生蟲の爲め衰弱し斃るゝ場合あるを以て實驗には細心の注意を拂ひ斯かる動物は惜むことなく除外すべし。

壞血病の徴候

Vitamin C 缺乏飼料にて飼養せるモルモットは早きものは12日前後にして既に壞血病の徴候を示す。次に其の顯著なる徴候を列擧すれば

體重の減少，臼齒の弛緩，齒齦充血して潰瘍を生ず，血尿の排泄，關節部の腫脹並びに疼痛に因り肢を投出し横はる

尙其他 face-ache の徴候あり，頭部を床上に接して横はる

解剖學的所見

骨の毀碎し易きこと，關節部に於ける出血

内臓出血，骨化作用の停止等にして其の他の詳細は Funk 氏著 Die Vitamin(1924)116頁を参照すべし

Vitamin C 標準試験法

本試験は豫防試験を行ふべし。市中より強健なる幼モルモットを購入し Vitamin C 缺乏基礎飼料及 Vitamin C に豊富なる野菜類を以て飼育す。水は随意に飲ましむ。斯くして動物の體重 300gm. 前後に達したる時所要の群に分ち上記野菜類に代ふるに檢體を以てすべし。此の際 negative control を一群必要とす

豫防期間は90日とし最後に解剖に附し壞血病に罹れるや否やを檢すべし。

此の期間體重を支持し壞血病を豫防し得る最少量の檢體量を見出すべし。

實 驗 例

菠薐の Vitamin C 定量

檢體は市中販賣の菠薐の葉の中間をとりたり。日々新鮮なるものを使用せり。

定量分析

窒素總量	0.55155%蛋白質として	3.45%
内		
蛋白質窒素	0.37854" "	2.37"

非蛋白性窒素	0.17301''
粗脂肪	0.31%
粗繊維	1.22''
其他の無窒素有機物	3.51''
灰分	1.71''
内	
磷(P_2O_5)	0.35''
カルチウム(CaO)	0.19''
水分	89.80''
アルカリ性度	15.707

Sherman 氏の基礎飼料を用ひたり。

試験動物は市中より買求め實驗室に到着後10日間基礎飼料及菠薐20g.を與へて飼養せり。

これを4匹宛5群に分ち次の如く檢體を基礎飼料より分離して與へたり。

	檢體量
第1群	Control
" 2 "	0.5g
" 3 "	1.0 "
" 4 "	2.0 "
" 5 "	3.0 "

試験動物は各一匹づつ籠に入れ日々新鮮なる基礎飼料約 20g. 及水を與へ其の攝取量には常に注意して攝取量減少の結果體重に變化を及ぼす事なきやを確めたり。

試験時季 昭和5年4月より6月に亘る

試 験 結 果

第1群 Control

番 號	性	最初の體重 (g)	最後の體重 (g)	増加體重 (g)	生存期間 (日)
No. 1	♀	288	239	- 58	19

2	♀	324	220	-104	22
3	"	303	203	-100	21
4	"	308	219	-98	"
平均		307	217	-90	207

上記動物は解剖の結果悉く壊血病に罹れる事を示す。

第2群 検体量 0.5g.

番 號	性	最初の體重 (g)	最後の體重 (g)	増加體重 (g)	生存期間 (日)
No. 5	♀	340	216	-124	39
6	"	319	250	-69	37
7	"	325	215	-110	27
8	"	353	225	-128	30
平均		334.2	226.5	-107.7	33.2

解剖の結果第1群と同じく重症なりしことを示す。

第3群 検体量 1g

番 號	性	最初の體重 (g)	最後の體重 (g)	増加體重 (g)	生存期間 (日)
No. 9	♀	323	230	-93	90
10	"	351	225	-126	33
11	"	349	297	-52	30
12	"	313	210	-103	33
平均		335.2	240.5	-94.7	46.5

No. 9は90日間の生命を保ちたれ共解剖に附したるに内臓出血齒芽の fragility を認めたり。

第4群 検体量 2g.

番 號	性	最初の體重 (g)	最後の體重 (g)	増加體重 (g)	試験期間 (日)
No. 13	♀	275	240	-12	74
14	"	352	249	-112	83
15	"	252	230	-22	90
16	"	282	239	7	90
平均		297.7	257.2	-34.7	84.2

No. 13 は死後解剖したるに壞血病の徴候を認めず。No. 14 は餘病を發して衰弱の結果死亡せり。解剖の結果數多の寄生蟲を認めたり。

第5群 檢體量 3g.

番 號	性	最 初 の 體 重 (g)	最 後 の 體 重 (g)	増 加 體 重 (g)	試 験 期 間 (日)
No. 17	♀	305	375	70	90
18	"	315	225	- 90	72
19	"	340	400	60	90
20	"	339	340	1	90
平均		324.7	335	10.2	85.5

No. 18は呼吸器病の爲めに斃れたり。以上の試験より考ふるに「モルモット」の壞血病を豫防するに必要な檢體量は2g.なることを知る。

トマト汁の Vitamin C 定量

檢體は市中販賣の新鮮なるものを日々買入れたり。

試験時季 昭和5年6月より8月に亘る

主要成分の定量分析

比重	1.0181(15°にて)
含窒素有機物(蛋白質として)	0.75%
エキス質	4.70
轉化糖	1.48
粗脂肪	0.06
遊離總酸(枸橼酸として)	0.49
灰分	0.53
内 磷(P_2O_5)	0.02568
カルチウム(CaO)	0.00825
アルカリ性度	15.315

基礎飼料及試験開始前の飼養は前回の場合と全く同様なり。各群3匹宛5群に分つ動物の數甚だ少數なれ共多くの實驗者の既に定量せる所なるを以て大體の所要量を

知るを得たると又一方には経費の點を考慮に入れたるを以てなり。

	檢體量
第1群	Control
" 2 "	1.0ca
" 3 "	2.0 "
" 4 "	3.0 "
" 5 "	4.0 "

第1群 Control

番 號	性	最初の體重 (g)	最後の體重 (g)	増加體重 (g)	試験期間 (日)
No. 46	♀	340	233	-107	16
47	"	345	196	-149	19
43	"	265	176	-89	18
平均		316.6	202.6	-114	17.6

第2群 檢體量 1ca

番 號	性	最初の體重 (g)	最後の體重 (g)	増加體重 (g)	試験期間 (日)
No. 49	♀	252	176	-76	47
50	"	275	170	-105	25
51	"	230	222	-8	21
平均		269	189.3	-79.6	31

第3群 檢體量 2ca

番 號	性	最初の體重 (g)	最後の體重 (g)	増加體重 (g)	試験期間 (日)
No. 52	♀	290	225	-65	66
53	"	232	175	-57	32
51	"	305	210	-95	66
平均		292.3	203.3	-89	54.6

第 檢體量 3ca

番 號	性	最 初 の 體 重 (g)	最 後 の 體 重 (g)	増 加 體 重 (g)	試 験 期 間 (日)
No. 53	♀	(230)病氣の爲め實驗開始後23日にて死す			
57	"	255	300	15	66
58	"	285	330	75	66
平均		285	330	45	66

第5群 檢體量 4cc

番 號	性	最 初 の 體 重 (g)	最 後 の 體 重 (g)	増 加 體 重 (g)	試 験 期 間 (日)
No. 61	♀	325	450	125	66
62	"	275	316	41	66
平均		300	383	83	66

本試験は90日に亘り試験する考へなりしも新鮮なる檢體を引續き得る能はざりしを以て66日にて中止せり。

解剖の結果より考ふるに豫防に必要な量は3ccなることを知る。Vitamin C 試験及鳩を用ふる Vitamin B 試験の實驗例は満足に行ふ機會を有せざりしを以て後報に譲るべし。

終りに臨み萬端の御指導及御指圖を忝うせる

所長西崎博士

多大の御援助を賜はりたる

衣笠博士, 木村哲二博士, 藤卷良知博士, 河合龜太郎博士, 理研ビタミン研究室諸氏
及當所服部技手

尙特別の御便宜を與へられたる

傳研小島三郎博士

動物解剖に當り御助言を得たる

秋葉朝一郎博士

純粹なる麥酒酵母を惠與せられたる

橋谷義孝博士

に對し深厚なる感謝の意を表す。

引用文献

- Donaldson. 1924, The rat
2. Gladys Annie Hartwell, Elsie Charlotte Mottram and Vernon Henry Mottram Biochem. J. XVII, 208 (1923)
 3. Eddy. 1921, The Vitamin Manual.
 4. Katharine Hope Coward, Kathleen Mary Key, Barbara Gwynneth Morgan and Maycrie Cambden. Biochem. J. XXIII, 913 (1929)
 5. Cornella Kennedy and Leroy S. Palmer. J. Biol. Chem. 54, 217 (1922)
 6. Harriette Chick and Margaret Honora Roscoe. Biochem. J. 22, 790 (1928)
 7. Wallace Ruddel Aykroyd and Margaret Honora Roscoe. Biochem. J. XXIII, 433 (1929)
 8. H. C. Sherman and Martha M. Kramer. J. Am. Chem. Soc. XLVI 1055 (1924)
 9. H. C. Sherman and L. C. Boynton. J. Am. Chem. Soc. XLVII. 1646 (1925)
 10. Eleanor Margaret Hume and Hannah Hender on Smith. Biochem. J. 22, 504 (1928)
 11. H. C. Sherman and M. P. Burtis. J. Biol. Chem. 78, 672 (1928)
 12. H. Steenbock and Katharine H. Coward. J. Biol. Chem. 72, 765 (1927)
 13. Alfred F. Hess and Mildred Weinstock. J. Biol. Chem. 64, 181 (1925)
 14. W. Kirsh. Biochem. Z. 196, 294 (1928)
 15. E. M. Nelsont and H. Steenbock. J. Biol. Chem. 62, 575 (1924-1925)
 16. Arthur D. Holmes. Ind and Eng. Chem, 16, 381 (1924)
 17. Francis Howard Carr and Ernest Arthur Price. Biochem. J. XX, 497 (1926)
 18. Otto Rosenheim and Jack Cecil Drummond. Biochem. J. XIX, 753 (1925)
 19. 米藥局法, 469
 20. H. Steenbock, Maiana T. Sel, and J. H. Jones. J. Biol. Chem. 55, 411 (1923)
 21. H. C. Sherman and E. H. MacArthur. J. Biol. Chem. 74, 107 (1927)
 22. Thomas B. Osborne and Lafayette B. Mendel. J. Biol. Chem. 54, 733 (1922)
 23. L. S. Fridericia, P. Freudenthal, S. Gudjonsson, G. Johanson and N. Schouby. Journ. of Hyg. 27 70 (1927)
 24. Stanislaw Kazimierz Kon and Elsie Watchorn. Journ. of Hyg. 27, 32 (1928)
 25. Arthur Scheunert, Martin Schieblich und Johannes Rodenkireben. Biochem. Z. 213, 226 (1929)
 26. W. H. Eddy. E. F. Kohman and Victoria Carisson. J. Ind and Eng. Chem. 17, 69 (1925)
 27. H. C. Sherman, V. K. Lamer and H. L. Campbell. J. Am. Chem. Soc. XLIV, 165 (1922)
 28. Dr. E. Remy. Z. f. untersuch. d. Lebensmittel, 55, 385 (1928)

-
29. Martin Schieblieh und Johannes Rodenkirchen Biochem. Z. 213, 234 (1929)
 30. H. C. Sherman and M. R. Grose. J. Am. Chem. Soc. XLV 2728 (1923)
 31. Funk. 1924 Die Vitamin.
 32. F-V. v Hahn Zeitschr. f unters. d. Lebensmittel 53, 18(1930)

昭和七年二月

石炭酸樹脂製飲食物用器具試験成績報告

技 師 衣 笠 豊
 技 手 服 部 安 藏
 助 手 岩 元 恆

昭和五年七月附衛發第 288 號を以て衛生局長より石炭酸樹脂製飲食物用器具に關し石炭酸及フォルムアルデヒドの反應並普通の用法により其溶出する程度調査方照會ありたるを以て左記試験材料に就き試験したるに次の成績を得たり依て之を報告す。

試 験 材 料

衛生局より送附せられたる検品は合計25種にして其外觀、形狀、内容積、箇數及製造所を示せば次の如し。

第 一 表

番 號	種 類	外 觀	容 積	箇 數	製 造 所
1	椀	黒 色 丸 型	335cc	1	神戸市大橋町1丁目14番地 日本化学漆器株式会社
2	椀	褐 色 丸 型	315cc	1	同 上
3	椀	赤 色 丸 型	345cc	1	同 上
4	蓋 付	黒 色	椀蓋 290cc 椀蓋 135cc	1	神戸市岩屋 神戸硬質器具製作所
5	蓋 付	黒 色 丸 型	椀蓋 290cc 椀蓋 120cc	1	同 上
6	椀	黒 色 丸 型	320cc	1	同 上
7	深 皿	青 磁 色	235cc	1	神戸市小野柄通5丁目12番地 櫻野赴夫商店神戸支店
8	皿	青 磁 色	90cc	1	同 上
9	小 皿	青 磁 色	35cc	1	同 上
10	蓋付椀(高砂椀)	津輕塗模様丸型	椀蓋 280cc 椀蓋 130cc	總 數4 内蓋付2	静岡市鷹匠町3丁目 前田傳兵衛
11	蓋 付 椀	朱 色	椀蓋 330cc 椀蓋 175cc	2	大阪市 リグナイト工業株式会社
12	蓋 付 椀	黒 色	椀蓋 330cc 椀蓋 175cc	2	同 上
13	椀	朱 色 丸 型	330cc	2	大阪市 杉野製作所
14	椀	暗 緑 色 丸 型	330cc	1	同 上
15	盆	黒 塗 卷 繪	310cc	1	京都市河原町4條南 サガライト株式会社
16	蓋 付 椀	黒 色 丸 型	椀蓋 300cc 椀蓋 140cc	1	同 上

17	徳 利 袴	朱 緑 模 様 丸 型	110cc	1	京 都 市	帝 王 ラ イ ト 製 作 所
18	茶 卓	朱 緑 模 様 丸 型	85cc	1	同	上
19	茶 卓	濃 褐 色 丸 型	115cc	1	同	上
20	椀	黒 色 丸 型	310cc	1	同	上
21	蓋 付 椀	朱 色 丸 型	椀 185cc 蓋 83cc	1	京 都 市	日 昭 ラ イ ト 工 業 株 式 會 社
22	蓋 付 椀	黒 色 丸 型	椀 290cc 蓋 110cc	1	同	上
23	壺	砂 模 様 丸 型	145cc	1	同	上
24	蓋 付 椀	黒 色 丸 型	壺 230cc 蓋 100cc	1	同	上
25	蓋 付 辨 當 箱	黒 塗 四 角 形 重 三	蓋 45cc 一重 570cc 二重 290cc 三重 220cc	1	同	上

試 験 方 法

今回の供試品と同一種類と認むべき、ラッカライト製品に就きては既に前後2回に互り詳細なる試験報告（衛生試験所彙報第33號175頁及同36號179頁）を發表せるところにして前回の試験に於ては何れも同一種製品に就き一は非煮沸用器具の一般衛生的試験法に準據し4%醋酸溶液、蒸餾水、1%ナトロン滴液、1%鹽酸、清酒及食酢等を用ひて冷浸せる場合及他は前法と同一溶剤を用ひ煮沸用器具として使用する場合の試験法に準據し温浸液に就きて比較試験せり。而して是等の試験成績に徴するに沸騰に到る迄加熱せる4%醋酸を滿盛し30分間放置して得たる浸液に就きて施行せる反應最も適確なる成績を示したるを以て今次の試験に於ては専ら此の方法に依りて試験せり。其實施法次の如し。

沸騰に到る迄加熱せる4%醋酸を滿盛し時計硝子にて覆ひ時々攪拌しつゝ30分間放置して得たる浸液200ccを取り（此際内容量少くして浸液200ccに充たざるものは豫め醋酸液200ccを取り之に没入せしめたり）之に25%磷酸10ccを加へ水蒸氣蒸餾を行ひて得たる餾液50ccに就きフォルムアルデヒド及フェノールの各反應を検す。

試 験 成 績

前記試験法に従ひ試験せる成績次の如し。

第 二 表

反 檢 體 番 號	フ ォ ル ム アル デ ヒ ー ド 反 應					フ ェ ノ ー ル 反 應			
	リミニー	ヴイター	ヘーネル	フクシン 亜硫酸	ペプトン鐵	ミロン	ブローム	クロール 石灰	過クロ ール鐵
1	-	-	-	-	300萬分1弱	-	-	-	-
2	-	-	-	-	300萬分1強	-	-	-	-
3	-	-	-	-	300萬分1弱	-	-	-	-
4	-	-	-	-	300萬分1	6萬分1	6萬分1	-	-
5	-	-	-	-	300萬分1弱	10萬分1弱	-	-	-
6	-	-	-	-	300萬分1	10萬分1弱	-	-	-
7	濃藍色	血赤色	+	濃紫赤色 (約2萬分1)	濃暗紫色 (約2萬分1)	6萬分1	6萬分1	-	-
8	同上	同上	+	同上	同上	10萬分1	-	-	-
9	同上	同上	+	同上	同上	7萬分1	痕跡	-	-
10	-	-	-	-	300萬分1弱	-	-	-	-
11	-	-	-	-	200萬分1	10萬分1	-	-	-
12	-	-	-	-	200萬分1弱	痕跡	-	-	-
13	-	-	-	-	200萬分1	10萬分1	-	-	-
14	微綠色	微紅色	+	-	90萬分1	10萬分1弱	-	-	-
15	-	-	-	-	200萬分1	5萬分1	5萬分1	-	-
16	微綠色	微紅色	+	-	100萬分1	殆ど無し	-	-	-
17	微綠色	微紅色	+	-	100萬分1	7萬分1	痕跡	-	-
18	-	-	-	-	200萬分1	10萬分1	-	-	-
19	微綠色	微紅色	+	-	70萬分1	3萬分1	3萬分1	-	-
20	微綠色	微紅色	+	-	1.0萬分1	3萬分1	3萬分1	-	-
21	微綠色	微紅色	+	-	160萬分1	3萬分1	3萬分1	-	-
22	-	-	-	-	200萬分1	7萬分1	痕跡	-	-
23	-	-	-	-	300萬分1	5萬分1	5萬分1	-	-
24	-	-	-	-	300萬分1	10萬分1弱	-	-	-
25	-	-	-	-	300萬分1	5萬分1	5萬分1	-	-

前記の成績に依れば、衛生局送附に係る檢品25種中フ ォ ル ム アル デ ヒ ー ド に 對 し 最 も 鋭 敏 な る ペ プ ト ン 鐵 反 應 を 極 め て 微 弱 に 即 ち 約 200 萬 分 1 程 度 に 生 起 す る も の は、 稍 多 數 に 及 ぶ も 本 反 應 は 往 々 に し て 爾 他 の 一 般 アル デ ヒ ー ド 類 に 依 つ て 發 現 す る こ と あ る を 以 て 此 極 微 の 反 應 は 果 して フ ォ ル ム アル デ ヒ ー ド に よ る 固 有 反 應 な る や 否 や 俄 か

に断定し難し然れども此ペプトン鐵反應にして100萬分1程度に及ぶときは多くはリミニ、ヴィタリー及ヘーネルの諸反應陽性を呈するに至るを以て之等3反應も亦陽性の場合にはフォルムアルデヒドの存在を認定し得べし。即ち檢品中之等の3反應陽性を呈するものは第7, 8, 9, 14, 16, 17, 19, 20及21號の9種にして總數の42.85%に相當す。又フェノール反應は10萬分1程度にては僅微のミロン反應を呈するのみにして爾他の反應を生起せざるも約7萬分1以上に及ぶときはブローム反應をも生起す而して前記成績中ミロン並ブローム兩反應を呈するものは第4, 7, 9, 15, 17, 19, 20, 21, 22, 23及25號の11種にして總數の44%に相當す。又フォルムアルデヒド及フェノールの兩反應を著明に生起するものは第7, 9, 17, 19, 20及21號の6種(24%)にしてフォルムアルデヒド反應のみ著明に生起するものは第8, 14, 16及20號の4種(16%)。又フェノール反應のみ著明に生起するものは第4, 15, 22, 23及25號の5種(20%)なり故に今フォルムアルデヒド又はフェノールの兩者若くは其一つを含有し衛生上不良と認むべきものは計15種にして檢品總數の60%に相當す。

前記檢體中第8, 9, 17, 18, 19及23號の6箇は何れも醋酸液200cc中に没入せしめ之等器物の内外兩面に作用せしめたるを以て其内面のみより溶出せるフォルムアルデヒド及フェノールによる反應の程度は前記成績の約半ばに相當すべき理なり然れども之等器物の内容は35~115ccにして一方浸液は200ccなるを以て約2~4倍に稀釋せられたるが如き關係を示す。故に彼之を斟酌すれば前記の成績を以て之等檢體より溶出する程度と見做して不可なるべし。尙ほ第17, 18, 19號の3箇は直接飲食物を容るべき器物にあらざるを以て之に就き他の檢體と同様に論ずるは稍嚴酷に失する嫌あるも本試験の目的は現在に於ける市販石炭酸樹脂製食器の品質一般を知悉せんことを主とするものと思ふを以て全檢體に就き同一律に之を試験せり。

前記の試験成績中フォルムアルデヒド及フェノールの兩反應を最も著明に生起せる第7, 8及9號の3種につき前記の試験に供用したるものを更に沸騰4%醋酸, 沸騰蒸留水及冷蒸留水等を用ひて前記の方法に従ひて浸出せるものに就き試験せるに次の成績を得たり。

第 三 表

反 應 檢 體	フ ォ ル ム アル デ ヒ ー ド 反 應					フ ェ ノ ー ル 反 應				
	リ ミ ニ	ヴ イ タ リ	ヘ ー ル	フ ク シ ン 亜 硫 酸	ベ プ ト 鐵	ミ ロ ン	ブ ロ ム	ク ロ ー ル 石 灰	過 ク ロ ー ル 鐵	
沸騰 4% 醋酸 第 2 回 浸 液	7	濃 藍 色	血 赤 色	+	濃 帶 赤 紫 色 (2 萬 分 1 弱)	濃 暗 紫 色 (2 萬 分 1 弱)	7 萬 分 1	痕 跡	-	-
	8	藍 色	血 赤 色	+	濃 帶 赤 紫 色 (3 萬 分 1)	濃 紫 色 (3 萬 分 1 弱)	10 萬 分 1 弱	-	-	-
	9	濃 藍 色	血 赤 色	+	濃 帶 赤 紫 色 (2 萬 分 1 弱)	濃 暗 紫 色 (2 萬 分 1 弱)	8 萬 分 1	痕 跡	-	-
沸騰 4% 醋酸 第 3 回 浸 液	7	藍 色	血 赤 色	+	濃 帶 赤 紫 色 (3 萬 分 1)	濃 紫 色 (3 萬 分 1)	8 萬 分 1	痕 跡	-	-
	8	藍 色	血 赤 色	+	濃 帶 赤 紫 色 (4 萬 分 1)	濃 紫 色 (4 萬 分 1)	10 萬 分 1	-	-	-
	9	藍 色	血 赤 色	+	濃 帶 赤 紫 色 (3 萬 分 1)	濃 紫 色 (3 萬 分 1)	10 萬 分 1 強	-	-	-
沸騰蒸餾水 第 4 回 浸 液	7	藍 綠 色	血 赤 色	+	10 萬 分 1	15 萬 分 1	10 萬 分 1	-	-	-
	8	藍 色	血 赤 色	+	10 萬 分 1	10 萬 分 1	10 萬 分 1	-	-	-
	9	藍 色	血 赤 色	+	8 萬 分 1	18 萬 分 1	痕 跡	-	-	-
冷蒸餾水第 5 回 浸 液	7	-	-	-	-	300 萬 分 1 弱	-	-	-	-
	8	-	-	-	-	300 萬 分 1	-	-	-	-
	9	-	-	-	-	300 萬 分 1	-	-	-	-

前記試験成績に依れば沸騰 4% 醋酸にて浸出せるものは漸次極めて微量宛浸出成分の減量を見るも数回の反復浸出後も尚ほ依然として著明なるフォルムアルデヒード及フェノール反応を示し次に沸騰蒸餾水にて浸出せる場合も亦著明に前記兩反應を生起し最後に冷蒸餾水にて處理せるものも僅微のフォルムアルデヒード反應を生起せり。

試験方法の改良に関する小實驗

前記フォルムアルデヒード及フェノールの檢出法は何れも飲食物中の防腐劑試驗法に準據して施行せるものにして飲食物中には其性質上防腐劑の混入は絶対に許すべからざるものなるを以て可及的鋭敏なる反應を必要とすべきものなるも今次の試験に於けるが如く普通の食器として取扱ふときは果して前記飲食物に對するが如き鋭敏なる試験を適用することの妥當なりや否やの疑を生じたるを以て其試験方法に就き研究せり。即ち従來の試験法は浸液 200 cc を取りて之れに 25% 磷酸 10 cc を添加し水蒸氣蒸餾を行ひて餾液 50 cc を求め共 5 cc 宛を取りて各種の反應を檢するものにして本法に依れば原液の約 4 倍に濃縮せらる故に今浸液其儘を用ふる方法 (次表中の A 法) と従來の如き蒸餾法に依る方法 (次表中の B 法) 竝に蒸餾法に依りて得たる餾液を蒸餾水にて

約 4 倍に稀釋し原容に復したるもの (次表中のC法) に就き各比較試験を施行し次の成績を得たり。

第 四 表

檢體番號	反 應 檢 査 處 理 法	フ ォ ル ム アル デ ヒ ド 反 應					フ ェ ノ ール 反 應				
		リミニー	グイタリー	ヘーネル	フクシン 亜硫酸	ペプトン鐵	ミロン	ブローム	クロール 石灰	過 一 ル 鐵	クロ 一 ル 鐵
4	A 法	-	-	-	-	300萬分1弱	8萬分1	痕跡	-	-	-
	B 法	-	-	-	-	300萬分1	9萬分1	痕跡	-	-	
	C 法	-	-	-	-	殆んど無し	10萬分1弱	-	-	-	
7	A 法	藍色	血赤色	+	帶赤紫色	5萬分1強	9萬分1	痕跡	-	-	
	B 法	藍色	血赤色	+	濃帶赤紫色	4萬分1弱	10萬分1弱	-	-	-	
	C 法	綠色	赤色	+	淡帶赤紫色	10萬分1	痕跡	-	-	-	
8	A 法	藍色	血赤色	+	帶赤紫色	5萬分1弱	10萬分1	-	-	-	
	B 法	藍色	血赤色	+	濃帶赤紫色	4萬分1弱	10萬分1弱	-	-	-	
	C 法	綠色	赤色	+	淡帶赤紫色	25萬分1	痕跡	-	-	-	
9	A 法	藍色	血赤色	+	帶赤紫色	5萬分1	9萬分1	痕跡	-	-	
	B 法	藍色	血赤色	+	濃帶赤紫色	3萬分1	10萬分1弱	-	-	-	
	C 法	綠色	赤色	+	淡紫色	10萬分1	殆ど無し	-	-	-	
11	A 法	-	-	-	-	300萬分1	10萬分1	-	-	-	
	B 法	-	-	-	-	300萬分1	痕跡	-	-	-	
	C 法	-	-	-	-	殆ど無し	痕跡	-	-	-	
12	A 法	-	-	-	-	300萬分1弱	-	-	-	-	
	B 法	-	-	-	-	300萬分1弱	-	-	-	-	
	C 法	-	-	-	-	殆ど無し	-	-	-	-	
13	A 法	微綠色	微紅色	+	-	50萬分1弱	5萬分1	5萬分1	-	-	
	B 法	微綠色	微紅色	+	-	50萬分1	7萬分1	痕跡	-	-	
	C 法	-	-	-	-	300萬分1弱	10萬分1弱	-	-	-	
14	A 法	-	-	-	-	200萬分1	7萬分1	痕跡	-	-	
	B 法	微綠色	微紅色	+	-	100萬分1	6萬分1	僅微	-	-	
	C 法	-	-	-	-	殆ど無し	10萬分1弱	-	-	-	
15	A 法	-	-	-	-	300萬分1	8萬分1	痕跡	-	-	
	B 法	-	-	-	-	200萬分1弱	8萬分1	-	-	-	
	C 法	-	-	-	-	痕跡	10萬分1弱	-	-	-	

19	A	法	微綠色	極微紅色	+	-	90萬分1弱	8萬分1	痕跡	-	-
	B	法	微綠色	極微紅色	+	-	90萬分1	6萬分1	6萬分1	-	-
	C	法	-	-	-	-	殆ど無し	10萬分1弱	-	-	-
20	A	法	-	-	-	-	300萬分1弱	6萬分1	6萬分1	-	-
	B	法	-	-	-	-	300萬分1	5萬分1	5萬分1	-	-
	C	法	-	-	-	-	殆ど無し	10萬分1弱	-	-	-
21	A	法	-	-	-	-	200萬分1弱	6萬分1	6萬分1	-	-
	B	法	-	-	-	-	200萬分1	5萬分1	5萬分1	-	-
	C	法	-	-	-	-	殆ど無し	10萬分1弱	-	-	-
23	A	法	-	-	-	-	300萬分1弱	6萬分1	僅微	-	-
	B	法	-	-	-	-	300萬分1	7萬分1	痕跡	-	-
	C	法	-	-	-	-	痕跡	10萬分1	-	-	-
25	A	法	-	-	-	-	300萬分1弱	9萬分1	痕跡	-	-
	B	法	-	-	-	-	300萬分1弱	9萬分1	痕跡	-	-
	C	法	-	-	-	-	殆ど無し	痕跡	-	-	-

附記 前表中檢體第7, 8及9號は既に前回迄の試験に數回供用せるものにして今回の浸液は第5回目に相當し又第4, 18, 19, 23, 24, 25及27號は第2回目の浸液に相當す。

前記試験成績に就き浸液を直接試験する方法(A法)と之を蒸餾し約4分1に濃縮せるものに就きて試験する方法(B法)とを比較するに其成績殆ど大差無きもフォルムアルデヒド反應は蒸餾法稍鋭敏にしてフェノール反應は後者稍鋭敏なり。蒸餾液を蒸餾水にて約4倍に稀釋して原容積に復せるものは兩反應著しく不鋭敏となれり。此等の原因はフェノール反應を呈する成分中水蒸氣蒸餾に依りても尙ほ餾出困難なるものの存すること及びフォルムアルデヒドは50ccの蒸餾に依りては完全に餾出せずして蒸餾壺中に尙ほ多量のフォルムアルデヒドを殘存したために餾液を稀釋せるものは原液を直接試験せるものに比して著しく不鋭敏なる結果を示せるものと思考す。

前記の試験成績に徴すれば石炭酸樹脂製飲食物用器具の試験には、從來の如き蒸餾法に比して浸液を直接試験する方法は簡便にして充分所期の目的を達し得べきものと信ず。

總 括

1. 前記第2表に示す如く衛生局送付の検品25種中フォルムアルデヒド又はフェノールの兩反應を著明に生起するものは總數中15種にして60%に相當し著しく不良の成績を示せり。
2. 前記不良の検品に就き數回反覆して浸出せる浸液を試験するに漸次浸出成分稍遞減の傾向を示すも尙ほ依然としてフォルムアルデヒド及フェノールの兩反應を生起するを認めたり。
3. 従來の蒸餾試験法と浸液の直接試験法及蒸餾液の稀釋試験等を夫々比較研究の結果浸液の直接試験法は、従來の蒸餾法に比して著しく簡便にして充分所期の目的を達し得べきことを認めたり。

昭 和 五 年 十 月

魚肉類のフォルムアルデヒド反応 に関する試験成績報告 (第二報)

技 師 衣 笠 豊
技 手 服 部 安 藏
助 手 岩 元 恒

内 容 目 次

- | | |
|--|--|
| <ol style="list-style-type: none"> 1. 緒 言 2. アニリンエーテル振盪法に就て <ol style="list-style-type: none"> (A) アニリンの精製 (B) フォルムアルデヒド含有水溶液を以てする豫備試験 (C) 罐詰蟹肉及蝦肉に對する試験 3. 烏賊及章魚に對する試験 <ol style="list-style-type: none"> (A) 水蒸氣蒸餾法に依る試験 (B) 直接蒸餾法に依る試験 (C) アニリンエーテル法に依る試験 4. フォルムアルデヒド類似物質の生成と加熱温 | <p>度との關係</p> <ol style="list-style-type: none"> 5. フォルムアルデヒド類似物質の昇汞複鹽生成試験 6. フォルムアルデヒド類似物質の生成母體に就て 7. やり烏賊中のフォルムアルデヒドの試験に就て 8. 蟹罐詰肉中のフォルムアルデヒドの試験に就て 9. 總括並結論 |
|--|--|

一. 緒 言

フォルムアルデヒドを混入せざる罐詰蟹肉にして自然にフォルムアルデヒド反應を生起することあり爲めに飲食物防腐劑取締上支障を來すこと屢なるを以て小官等は曩きに本問題に就き研究の結果蟹及其他數種の魚貝肉は之を水と共に加熱するときは其肉成分の分解を來たしフォルムアルデヒドに對する諸反應を呈する物質微量を化生することを闡明し従つて之等検肉中フォルムアルデヒドの試験に對しては在來の蒸餾試験法は之を適用するを得ざるを以て別途の新検出法の考案を要すべく又市販罐詰蟹肉等は一旦加熱を施したるものなれば既に幾分のフォルムアルデヒド反應を呈する物質を化生せるものと認めざる可らず. 故に是等微量の化生物によりては陰

性を呈し特に故意にフォルムアルデヒドを混加せる場合に於てのみ始めて検出し得るが如き良好なる反應を選用し以て天然に化生せるものと人意的に混加せるものとを鑑別する方法を講せざる可らざることを報告せり。(衛生試験所彙報第 33 號 57 頁) 而して富山縣衛生課に於ても亦客年烏賊、鰯及章魚等に就き多數の實驗を行ひ検肉の熱浸液及冷浸液の蒸餾液は約 20 萬分 1~200 萬分 1 のフォルムアルデヒド反應を呈することを認め是等の肉類は加熱によりて肉成分の分解を來たしフォルムアルデヒドを化生するものなりと發表せり(日本衛生化學會誌第 2 卷第 4 號)。

前述の如く蟹、烏賊及章魚等の魚肉中には加熱によりてフォルムアルデヒド反應を呈する物質の化生せらるゝことは確實なるが如きも從來の試験法は孰れも蒸餾法によりて試験する方法を應用せるものなるを以て加熱處理を施さざる全く生の儘の是等魚肉中には天然に斯の如きフォルムアルデヒド反應を呈する物質を含有するものなりや否やは全く不明なり。故に先づ此點を究めたる後其生成の經路を明瞭ならしめ以て之れが鑑識、分離の方法を講ずるの必要を認めたるを以て順序として從來の如く蒸餾法に依らざる抽出分離法を應用し生魚と之を加熱せる場合とに於ける之等類似反應を呈する物質の發生原因に就き研究したる結果生魚肉中には斯の如き類似反應を生起する物質を含有せず専ら魚肉中の特種成分の加熱分解に依りて化生するものなることを驗知し更に實驗の結果斯の如き成分は磷ウオルフラム酸によりて沈澱せらるゝことを確め次ひで是等の類似反應を呈する物質を除別し防腐の目的に添加せられたるフォルムアルデヒドのみを確實に鑑識し得べき試験法の案出に成功せり。今其研究經過を示せば次の如し。

二. アニリンエーテル振盪法に就て

小官等は先づ検肉を加熱せずしてフォルムアルデヒドを抽出鑑識する方法の必要を認めたるを以て種々文獻に徴したる結果先年當所石川技師によりて清酒及醬油中のフォルムアルデヒドの検出に對して應用せられたるトリラー及クラール兩氏法最も適當なりと信じたるを以て之を應用することとせり。本法は次の原理に基きて施行するものなり。

フォルムアルデヒドにアニリンを作用せしむるときはアンヒドロフォルムアルデ

ヒードアニリンを生成しこのものは硫酸の作用によりて直にフォルムアルデヒドを分離し硫酸アニリンを生ず次に之をアムモニアを以て強アルカリ性とすればフォルムアルデヒドはヘキサメチレンテトラミンとなり硫酸アニリンはアニリンを分離し硫酸アムモニウムに變ず。茲に化成したるヘキサメチレンテトラミンは之を硫酸にて分解すれば再びフォルムアルデヒド及硫酸アムモニウムとなる。

小官等は今回本法を魚肉類中のフォルムアルデヒドの鑑識に應用せんとするに當り先づ其フォルムアルデヒド抽出能率を水蒸氣蒸餾法に依れるものと同一又は夫れ以上たらしむることを目的とし最初一定量のフォルムアルデヒド含有水溶液に就き水蒸氣蒸餾法とアニリン振盪法とを竝試し蒸餾液と振盪抽出液を夫々同一容量となして其反應の鋭敏度を比較せしにアニリンエーテル振盪法の從來の水蒸氣蒸餾法に比して少しく不鋭敏なることを認めたるを以て種々實驗の結果之に改良を加へ次の如く施行せり。

(A) アニリンの精製

本試験の實施に際しアニリンの純度は最も重要なことを認めたるを以て市販のアニリン油に就き次の精製法を試み極めて良結果を得たり。

アニリン油約 100 g を小蒸餾コルベンに取り之に約 20 g の亞鉛塵を添加し最初は小火焰を以て徐々に加熱し 180° 以下に溜出する部分を除別したる後 $180^{\circ} \sim 183^{\circ}$ に溜出する部分を集め之に亞鉛塵約 20 g を添加して再溜し $182^{\circ} \sim 183^{\circ}$ に溜出する部分を集むるときは殆ど無色透明のアニリンを得べし。精製アニリンは之を遮光瓶に容れ密栓貯藏するを要す但し貯藏久しきに亘るときは少しく著色すべし既に著色せるものは全く使用に適せざるものとす。

(B) フォルムアルデヒド含有水溶液を以てする豫試験

檢液 200cc にエーテル 100cc 竝にアニリン 15 滴及食鹽約 25 g を加へて飽和せしめ 30 分間強く振盪し静置したる後水層を除別しエーテル層に 80 %硫酸約 30 滴を滴加しよく振盪混和 (白色粘稠性物質を析出す) したる後水約 20cc を加へ析出物を溶解せしめ 30 分間強く振盪し次に水層を一旦別の容器に移し之に強アムモニア水を加へてアルカリ性となしたる後再び前記のエーテル液に合し容器を少量の水にて洗ひ

洗液を之に合し静に振盪したる後水層を分離しエーテル層を 5 % アムモニア水 10 cc にて 1 ~ 2 回洗滌し洗液をアムモニアアルカリ性水性液に合し之を重湯煎上に加温し大部分のアムモニア及エーテル分を蒸散せしめ冷後之に 80 % 硫酸を滴加してコンゴロート紙を用ひて微に酸性を呈せしむこの際反應熱を生ずるを以て過熱せざる様注意すべし次に之を 15 分間放置したる後水を加へて總量を正確に 50 cc とし次の反應試験に供す。

(イ) ザルコウスキー氏法

檢液 5cc を内徑 2 cm 高さ 18cm の平底比色試験管に取り之に 1.5 % ウィッテペプトン溶液 2.5cc を加へ善く混和し次に過クロール鐵含有鹽酸 (藥局方鹽酸 1 L に對し 5 % 過クロール鐵溶液 1cc を加へたるもの) 7.5cc を加へ 5 分間沸湯中に加熱したる後直に水を以て冷却すべしフォルムアルデヒド存在に於ては紫色を呈す。

(ロ) 柳澤・丸山氏法

檢液 5cc を取り生卵白 1 分に水 4 分を加へよく混和して得たる透明溶液 2.5cc 及鹽酸 (局方鹽酸 1 L に就き 5 % 過クロール鐵溶液 1cc を加へたるもの) 7.5 cc を加へて半分 ~ 1 分間煮沸せしむるときはフォルムアルデヒド存在に於ては紫色を呈す。

(ハ) ヘーネル氏法 (牛乳法)

檢液 5cc を取り等量の水にて稀釋せる牛乳 5cc を加へ硫酸 (90 ~ 94 % の硫酸 100 cc に就き 5 % 過クロール鐵溶液 1cc を加へたるもの) 5 cc を管壁に沿ひて加ふるときはフォルムアルデヒドの存在に於ては接觸面に紫色の輪帶を生ず。

(ニ) リミニー氏法

檢液 5 cc を取り新製 4 % 鹽酸フェニールヒドラチン溶液 0.5 cc 及新製 0.5 % ニトロプルシットナトリウム溶液 3 滴を加へ次に 10 % ナトロン滴液 3 滴を加へアルカリ性となすべしフォルムアルデヒドの存在に於ては藍色を呈す。

(ホ) ヴィタリー氏法

檢液 5 cc を取り新製の 4 % 鹽酸フェニールヒドラチン溶液 1cc 及 4 % 過クロール鐵溶液 3 滴を加へたる後鹽酸 3 滴を加へよく混和すべしフォルムアルデヒドの存在に於ては赤色を呈す。

(へ) フクシン亞硫酸法

檢液 5cc を取り濃硫酸 1cc を發熱せざる様注意して混和し次にフクシン亞硫酸溶液 (現行公定メチールアルコール試験法に規定せるもの) 5cc を加へ徐々によく混和しゴム栓を施し放置するときはフォルムアルデヒドの存在に於ては 1 時間~2 時間後に於て紫色~紫紅色を呈す。

(ト) ザバリツユカリーゼンベルグ氏法

檢液 5cc を取り 0.1% フロログルチン溶液及 10% カリ滴液各 1cc を加へ善く混和するときはフォルムアルデヒド存在に於ては赤色~橙赤色を呈す。

(チ) シュリーフェル氏法

檢液 5cc を取り新製 1% 鹽酸フェニールヒドラチン溶液 1cc 及新製 5% フェリチアンカリウム溶液 0.5cc を加へ濃鹽酸 2.5cc を加ふるときはフォルムアルデヒドの存在に於てはフクシン紅色を呈す。

前記 8 種の呈色反應中リミニー、ヴィタリー、ザバリツユカ及シュリーフェルの諸反應はアニリンエーテル振盪抽出液を其儘使用するときには是等の呈色反應を妨害する物質を含有するために呈色せず故に抽出液を小蒸餾コルベンに移しアスベスト板上にて注意して蒸餾し餾液を原容に復して試験せるに極めて良好なる成績を示せり。

今種々の含量に於けるフォルムアルデヒド水溶液に就き前記アニリンエーテル振盪法と水蒸氣蒸餾法とを施して得たる各抽出液の反應鋭敏度を比較せしに次の成績を示せり。但し水蒸氣蒸餾法に於ては檢液 200cc を内容約 500cc の圓底硝子壺に取り 25% 磷酸 10cc を加へ水蒸氣蒸餾を行ひ餾液 50cc を取之りに就き試験せり。

第 一 表

試 験 法	フォルム アルデヒ ド含量	呈 色 反 應							
		ザルコウ スキエ 氏法	柳澤 山氏法	丸 氏法	ヘー ネル 氏法	リミニ ー氏 法	ヴィタ リー 氏法	フクシ ン 亞硫酸 法	ザバリ ツユカ リーゼ ンベル グ氏法
アニリンエー テル 法	50 萬分 1	+	+	+	+	+	-	+	+
	100 萬分 1	+	+	+	+	+	-	+	+
	200 萬分 1	+	+	+	-	-	-	±	+

水蒸氣蒸餾法	300萬分1	+	+	+	-	-	-	-	±
	500萬分1	+	±	+	-	-	-	-	-
	800萬分1	+	-	+	-	-	-	-	-
	50萬分1	+	+	+	+	+	-	+	+
	100萬分1	+	+	+	+	+	-	+	+
	200萬分1	+	+	+	-	-	-	±	+
	300萬分1	+	±	+	-	-	-	-	±
	500萬分1	+	-	+	-	-	-	-	-
	800萬分1	±	-	±	-	-	-	-	-

前記試験成績に示すが如くアニリンエーテル法に依りて得たる抽出液の示す呈色反應の強度は水蒸氣蒸餾法に比して遜色なきことを認めたり。

(C) 罐詰蟹肉及蝦肉に對する試験

前記の如くフォルムアルデヒド含有水溶液に就き施せる試験は充分満足なる成績を得たるを以て更に罐詰蟹肉及蝦肉に就き次の方法に依りて試験せり。

檢體 50 g を取りよく搗碎し内容約 500cc のコルベンに蒸餾水 200cc を用ひて流入せしめ密栓し時々振盪しつゝ 30 分間放置したる後ガーゼにて壓搾濾過し濾液を分液漏斗中に集めエーテル 100cc を加へ次にアニリン油 15 滴を加へ更に食鹽 25 g を添加し 30 分間強く振盪し暫時放置の後下層の水液を除別す此際エーテル層中には著しく乳濁狀を呈する部分を存するを以て之に乾燥酸性白土の適量を加へ振盪するときはエーテル層は透明となり且つ著色せる不純物は著しく除去せられ大ひに精製の目的を達せらる。次にこのエーテル性液を必要に應じて乾燥濾紙を用ひて別の分液漏斗中に濾入し残渣を少量のエーテルを用ひてよく洗ひ洗液を合して之を 10% アムモニア水 5~10cc 宛を以て數回振盪洗滌し洗滌液の殆ど著色せざるに至り更に 1 回蒸餾水 5 cc を以て洗ひ次に 80% 硫酸稍過剰を加へて強酸性となしよく振盪混和したる後蒸餾水 20~25cc を加へ 30 分間強く振盪し水層を別の容器に分取し強アムモニア水を加へて強アルカリ性となしたる後再び前記のエーテル液に合し容器を少量の水にて洗ひ洗液を之に合し靜に振盪したる後水層を分離しエーテル層を 5% アムモニア水 10 cc 宛にて 1~2 回洗滌し洗液をアムモニア性水液に合し之を重湯煎上に温めて大部分のアムモニア

竝ニエステル分を蒸散せしめたる後冷却しつゝ之に 80% の硫酸を徐々に滴下して酸性となし之を小蒸餾コルベンに移し容器を洗ひ洗液を合し總量を約 60 cc となし注意して其 50 cc を蒸餾し其餾液に就きて呈色反應を試験せり。其成績次の如し。

第 二 表

檢 體 種 類	商 標	製 造 元	罐共全重量 (g)	肉量 (g)	硫酸紙量 (g)	ザルコウスキー氏法	ヘーネル氏法	柳澤丸山氏法
罐詰蟹肉	國 印	鈴木商店	270	188	7	300萬分1弱	±	±
同上蟹肉の殘渣を水200ccにて浸出せる浸液	—	—	—	—	—	—	—	—
罐詰蟹肉	S 印	SJ 商會	300	210	7	300萬分1	+	+
同上蟹肉の殘渣を水200ccにて浸出せる浸液	—	—	—	—	—	—	—	—
罐詰蟹肉	マイクロホン印	福祿商會	270	190	7	300萬分1	+	+
同上蟹肉の殘渣を水200ccにて浸出せる浸液	—	—	—	—	—	—	—	—
罐詰蝦肉	U 印	確水商會	190	100	3.5	—	—	—
同上蝦肉に300萬分1のフォルムアルデヒドを添加す	—	—	—	—	—	300萬分1弱	+	+

前記試験成績に示すが如く罐詰蟹肉をアニリンエステル振盪法に依りて試験するとき第1回水浸液はザルコウスキー氏反應約 300 萬分 1、ヘーネル氏反應及柳澤丸山氏反應は陽性又は痕跡程度の反應を示すも其殘渣を再び水にて處理せる第2回水浸液は何れも陰性反應を示せり。故に加熱操作によりて罐詰蟹肉中に化生せるフォルムアルデヒド類似の反應を呈する成分は悉く第1回水浸液中に移行せるを認めたり。又罐詰蝦肉は全く類似反應を生起せず之に 300 萬分 1 のフォルムアルデヒドを添加するときは明瞭に之を検出し得べきを認めたり。

三. 烏賊及章魚に對する試験

(A) 水蒸氣蒸餾法に依る試験

(イ) 北海道産やり烏賊 50 g を細截し水を 400cc 加へ時々振盪しつゝ 2 時間放置したる後漉過し殘渣を水にてよく洗ひ洗液を合し總量を 600cc となし其 200cc を取り 25% 磷酸 10 cc を加へ水蒸氣蒸餾を行ひ 50 cc 宛第 4 餾液迄分取し其餾液に就きザルコウスキー、ヘーネル及柳澤丸山氏の諸反應を検し次の成績を得たり。

第 三 表

餾 液		反 應	ザルコウスキー氏法	ヘーネル氏法	柳澤丸山氏法
第 1	餾 液	液	-	-	-
第 2	餾 液	液	-	-	-
第 3	餾 液	液	- (稍紅色を帯ぶ)	-	-
第 4	餾 液	液	- (同 上)	-	-

前記試験に於てはフォルムアルデヒド反応として最も鋭敏なる前記3反應何れも陰性を示せるを以て他の反應試験は之を省略せり。

(ロ) 次に生章魚 50 g を細截し水 200cc を加へ時々振盪しつゝ 2 時間放置したる後漉過し漉液に 25% 磷酸 10 cc を添加したる後水蒸氣蒸餾を行ひ各 50 cc 宛第 6 餾液迄分取し之に就き諸反應を検し次の成績を得たり。

第 四 表

餾 液		反 應	リミニエー氏法	ヴァイタリー氏法	ヘーネル氏法	フクシン亞硫酸法	ザバリツエカ氏法	ザルコウスキー氏法	柳澤丸山氏法	シュリーフェル氏法
第 1	餾 液	液	-	-	-	-	-	±	-	-
第 2	餾 液	液	-	-	+	-	±	300 萬分 1 弱	±	-
第 3	餾 液	液	±	+	+	-	+	200 萬分 1 強	+	+
第 4	餾 液	液	±	±	+	-	+	200 萬分 1	+	+
第 5	餾 液	液	-	-	+	-	±	300 萬分 1	+	±
第 6	餾 液	液	-	-	+	-	±	300 萬分 1 弱	+	±

(B) 直接蒸餾法に依る試験

(イ) 前記(A)の(イ)試験に供せるやり烏賊水浸液の殘餘の部分 300cc を蒸餾コルベンに取りアスベスト板上に於て蒸餾し(蒸餾温度は 98° を示せり) 餾液 10cc 宛 4 箇を分取し次に 50 cc 宛 5 箇蒸餾し各分餾液に就き呈色反應を検し次の成績を得たり。

第 五 表

餾 液		反 應	リミニエー氏法	ヴァイタリー氏法	ヘーネル氏法	フクシン亞硫酸法	ザバリツエカ氏法	ザルコウスキー氏法	柳澤丸山氏法	シュリーフェル氏法
第 1	餾 液(10cc)	液	±	-	-	-	-	-	+	-

第 2	餾液(10cc)	-	+	-	-	-	40萬分1	-	-
第 3	餾液(")	-	-	+	-	-	-	-	+
第 4	餾液(")	-	-	-	-	+	-	-	+
第 5	餾液(50cc)	+	+	+	+	+	20萬分1	+	+
第 6	餾液(")	+	+	+	+	+	25萬分1	+	+
第 7	餾液(")	+	+	+	-	+	100萬分1	+	+
第 8	餾液(")	+	+	+	-	+	100萬分1強	+	+
第 9	餾液(")	+	+	+	-	+	80萬分1	+	+

(ロ) 次にやり烏賊 50 g を細截し水 200 cc を加へ以下前法と同様に處理し 50 cc 宛第 6 餾液迄分取せり。但し蒸餾第 3 回目に水約 150 cc を追加せり之に就き諸反應を檢し次の成績を得たり。

第 六 表

餾液		反 應		リミノー氏法	ヴィタリ一氏法	ヘーネル氏法	フクシン亞硫酸法	ザバリツユカ氏法	ザルコウスキー氏法	柳澤丸山氏法	シュリーフェル氏法
第 1	餾液	-	-	+	-	-	-	-	300萬分1弱	+	-
第 2	餾液	-	-	+	-	-	-	-	300萬分1	+	-
第 3	餾液	-	+	+	-	-	+	+	100萬分1弱	+	+
第 4	餾液	-	+	+	-	-	+	+	100萬分1弱	+	+
第 5	餾液	+	+	+	-	-	+	+	90萬分1	+	+
第 6	餾液	+	+	+	-	-	+	+	90萬分1	+	+

(ハ) 前記の試験は孰れも蒸餾コルベンに彎曲硝子管を附して直接蒸餾を施せるものにして之等の装置に於ては蒸餾に際し内容物の泡起等によりて原液の一部餾液中に隨伴移行する虞あり之れが爲め呈色反應に影響することなきを保し難きを顧慮し更にワグネル分餾管を附して蒸餾を再試せり。即ちやり烏賊 50 g に水 200 cc を加へ前回と同様にして蒸餾せり。但し蒸餾第 4 回目には水約 200 cc 第 8 回目には 100 cc を追加せり。其試験成績を示せば次の如し。

第 七 表

留 液		反 應		リミニー	ヴィタリ	ヘーネル	フクシン	ザバリツ	ザルコウス	柳澤丸山	シュリー
				氏法	ー氏法	氏法	亞硫酸法	ユカ氏法	キー氏法	氏法	フェル氏法
第 1	留 液	-	-	-	-	-	-	-	痕 跡	-	-
第 2	留 液	-	-	-	-	-	-	-	殆ど無し	-	-
第 3	留 液	-	-	-	-	-	-	-	痕 跡	-	-
第 4	留 液	-	-	-	-	-	-	-	870萬分1	-	-
第 5	留 液	-	-	+	-	-	-	-	300萬分1	+	-
第 6	留 液	-	+	+	-	+	+	+	100萬分1	+	+
第 7	留 液	-	+	+	-	+	+	+	100萬分1強	+	+
第 8	留 液	-	+	+	-	+	+	+	100萬分1	+	+
第 9	留 液	-	+	+	-	+	+	+	90萬分1	+	+

(ニ) 生章魚 50g を細截し水 200 cc を加へ時々振盪しつゝ、2 時間放置したる後漉過し漉液を蒸餾コルベンに移しアスベスト板を用ひ 50cc 宛 7 箇分餾せり。但し第 4 回目の蒸餾の際水約 200 cc を追加せり。

各分餾液に就きて施行せる反應試験成績次の如し。

第 八 表

留 液		反 應		リミニー	ヴィタリ	ヘーネル	フクシン	ザバリツ	ザルコウス	柳澤丸山	シュリー
				氏法	ー氏法	氏法	亞硫酸法	ユカ氏法	キー氏法	氏法	フェル氏法
第 1	留 液	+	+	+	+	+	+	+	10萬分1	+	+
第 2	留 液	+	+	+	+	+	+	+	8萬分1	+	+
第 3	留 液	+	+	+	+	+	+	+	10萬分1	+	+
第 4	留 液	+	+	+	+	+	+	+	10萬分1	+	+
第 5	留 液	+	+	+	+	+	+	+	10萬分1	+	+
第 6	留 液	+	+	+	+	+	+	+	7萬分1	+	+
第 7	留 液	+	+	+	+	+	+	+	15萬分1	+	+

(ホ) 生章魚 150g を細截し食鹽 5g 及水 300 cc を加へ 30 分間煮沸したる後漉過し其漉液に就き前法と同一方法に依り第 6 留液迄分取せり。但し蒸餾第 3 回目に水約 150 cc を追加せり之に就き各種の呈色反應を試験せり。其成績次の如し。

第九表

反 應			反 應								
			リミニー 氏法	ヴィタリ ー氏法	ヘーネル 氏法	フクシン 亞硫酸法	ザバリツ ユカ氏法	ザルコウス キー氏法	柳澤丸山 氏法	シュリー フェル氏 法	
第 1	第 1	留 液	+	+	+	+	+	+	10萬分1	+	+
第 2	第 2	留 液	+	+	+	+	+	+	5萬分1	+	+
第 3	第 3	留 液	+	+	+	+	+	+	20萬分1	+	+
第 4	第 4	留 液	+	+	+	+	+	+	15萬分1	+	+
第 5	第 5	留 液	+	+	+	+	+	+	15萬分1	+	+
第 6	第 6	留 液	+	+	+	+	+	+	20萬分1	+	+

(へ) 生章魚 150g を細截し水 300cc 及 4% 醋酸 30cc を添加し 30 分間煮沸したる後漉過し其漉液に就き前法と同一方法に依り第 6 留液迄蒸留し之に就き各種の呈色反應を試験せり。其成績次の如し。

第一〇表

反 應			反 應								
			リミニー 氏法	ヴィタリ ー氏法	ヘーネル 氏法	フクシン 亞硫酸法	ザバリツ ユカ氏法	ザルコウス キー氏法	柳澤丸山 氏法	シュリー フェル氏 法	
第 1	第 1	留 液	+	+	+	+	+	+	2萬分1	+	+
第 2	第 2	留 液	+	+	+	+	+	+	3萬分1	+	+
第 3	第 3	留 液	+	+	+	+	+	+	1萬分1	+	+
第 4	第 4	留 液	+	+	+	+	+	+	5千分1	+	+
第 5	第 5	留 液	+	+	+	+	+	+	2萬分1	+	+
第 6	第 6	留 液	+	+	+	+	+	+	1萬分1	+	+

(C) アニリンエーテル法に依る試験

(イ) 生やり烏賊 50g を細截し水 600cc を加へ時々振盪しつゝ 2 時間放置したる後壓搾漉過し漉液を 2 等分し 1 は直ちに 2 の (C) に於て述べたるアニリンエーテル法に依りて試験し他は之をコルベンに移し冷却器を附してアスベスト板上に 1 時間煮沸し冷後同様に試験せり。

(ロ) 又別に生やり烏賊 50g を秤取し細截し水 200cc を加へ時々振盪しつゝ 2 時間放置したる後漉過し前法と同様に浸液其儘のもの及び之を 1 時間煮沸せるものにと就き試験せり。其成績次の如し。

第一一表

反 應	リミニー氏法	ヴィタリ-氏法	ヘーネル氏法	フクシン亞硫酸法	ザバリツユカ氏法	ザルコウスキー氏法	柳澤丸山氏法	シュリーフェル氏法
檢體 50gを水 600ccにて浸出せるもの(生の儘)	-	-	-	-	-	±	-	-
同 上 浸 液 (1時間煮沸せるもの)	+	+	+	+	+	20萬分1	+	+
檢體 50gを水 200ccにて浸出せるもの(生の儘)	-	-	-	-	-	±	-	-
同 上 浸 液 (1時間煮沸せるもの)	+	+	+	+	+	10萬分1	+	+

(ハ) 次に生章魚 50g を細割し水 200cc を加へ時々振盪しつゝ、2 時間放置したる後其浸液を 1 は其儘アニリンエーテル法によりて試験し他は冷却器を附してアスベスト板上に 1 時間加熱したる後冷却し前記の如く試験せり。其成績次の如し。

第一二表

反 應	リミニー氏法	ヴィタリ-氏法	ヘーネル氏法	フクシン亞硫酸法	ザバリツユカ氏法	ザルコウスキー氏法	柳澤丸山氏法	シュリーフェル氏法
檢體 50gを水 200ccにて浸出せるもの(生の儘)	-	-	±	-	-	800萬分1	-	-
同 上 浸 液 (1時間煮沸せるもの)	+	+	+	+	+	10萬分1	+	+

前記の試験中(B)の(イ)(ホ)及(へ)の 3 試験は特に富山縣衛生課島崎、池田及高井氏等の報告(衛生化學會誌第 2 卷第 4 號)に従ひて直接蒸餾試験を施行し(A)の(イ)及(C)の(イ)兩試験も亦其檢體及水浸法等に就き前記 3 氏の方法を應用し爾他の試験に於ては専ら從來小官等の常用し來れる方法に據れり。今此等の試験成績を通覽するにやり烏賊の水浸液に就きて水蒸氣蒸餾法を施せるものは殆どフォルムアルデヒードの呈色反應を生起せざるも章魚の水浸液に就き水蒸氣蒸餾法に依りて得たる餾液及びやり烏賊並章魚の水浸液に就き直接蒸餾法を施して得たる餾液は共にフォルムアルデヒードの呈色反應を生起し直接蒸餾法に據れるものは水蒸氣蒸餾法に據れるものに比して遙かに著明の反應を呈し殊に章魚肉の餾液は反應顯著なり。然るに之をアニリンエーテル法に依り水浸液に就き加熱を避けて試験するときは生魚肉を用ひたるものに在りては僅にザルコウスキー氏反應のみ痕跡或は極微に陽性を呈するのみにして其他

は全部陰性なり。次に該浸液を1時間煮沸するときは著明にフォルムアルデヒド反応を呈するに至るを認めたり。故にやり烏賊及章魚も亦蟹肉と同様に之を加熱すればフォルムアルデヒドの呈色反応を生起するに至ること確實にして其反應の程度は蟹肉に比し遙かに強烈にして殊に章魚に於て然りとなす。

四. フォルムアルデヒド類似物質の生成と加熱温度との關係

前記烏賊及章魚の水浸液中の成分よりフォルムアルデヒド類似の反應を生起する物質の化生には如何なる程度の加熱を必要とするや之を確定せんがため次の實驗を施行せり。

やり烏賊 150g を細截し水 600cc を加へ時々振盪しつゝ 2 時間放置したる後壓搾濾過し濾液を 3 等分し 1 は其儘アニリンエーテル法に依りて處理し他の 1 はコルベンに移し冷却器を附し 90° の恆溫槽中にて 1 時間加熱し第 3 のものは同じく冷却器を附し沸騰水浴中に没入して 1 時間加熱したる後兩者を同様にアニリンエーテル法によりて處理し此 3 者に就き各種の反應を検せるに次の成績を示せり。

第一三表

反 應	リミニー 氏法	ヴィタリ -氏法	ヘーネル 氏法	フクシン 亞硫酸法	ザバリツ ユカ氏法	ザルコウス キー氏法	柳澤丸山 氏法	シュリー フェル氏 法
生やり烏賊冷浸液	-	-	-	-	-	± (極微紅)	-	-
同上冷浸液を 90° にて 1 時 間加熱す	-	-	-	-	-	± (極微紅)	-	-
同上冷浸液を沸湯中にて 1 時間加熱す	+	+	+	-	+	80 萬分 1	+	+

前記の試験によりやり烏賊の水浸液は之を 90° 以下の温度に於て 1 時間程度加熱するもフォルムアルデヒド類似の反應を呈する物質を化生せざることを認めたり。蟹及章魚等も亦同様の關係を有するやに就きては今次の試験中検肉を入手し得ざりしを以て試験未了に屬すと雖も恐らく同様なるべきを思惟せしむ果して然りとせば此等の検肉其儘或は其水浸液に就き磷酸酸性に於て 80° 以下の温度に於て減壓蒸餾を施し餾液をアムモニア水中に捕集するときは良好なる結果を收め得べきに非るかを想像せしむるも此等の試験は擧げて後日に譲れり。

五. フォルムアルデヒド類似物質の昇汞複鹽生成試験

前記の試験成績に依ればやり烏賊の水浸液を加熱して煮沸せしむる時はフォルムアルデヒドと全く同一の呈色反應を生起する物質を化成するものなるとを認めたり。

今小官等は更に進んで本物質はフォルムアルデヒドと同一物質なりやを確證することの必要を認めたるを以て次の方法に依りヘキサメチーレンテトラミン昇汞複鹽生成試験を施行せり。

生やり烏賊の細截せるもの 200g を蒸餾コルベンに容れ水 500cc を加へアスベスト板上にて加熱し豫めアムモニア水約 10cc を容れたる受器中に蒸餾し大部分餾出したる後コルベン中に再び水 500cc を追加して同様に蒸餾し斯く 3 回反復蒸餾し最後の餾液の一部分を取りザルコウスキー氏反應を検し殆ど陰性を示せり。依て之等の餾液を合併し再び蒸餾コルベンに移しアムモニア水を滴加しつゝ 40° 以下の低温にて減壓濃縮し可及的少量となしたる後稀硫酸々性となして蒸餾し其餾液を更にアニリンエーテル法に依りて精製しアムモニアアルカリ性分離部分中よりエーテルを完全に蒸散せしめたる後稀硫酸々性となし再び蒸餾し餾液の總量を約 150cc となし試に其 1cc を取りてザルコウスキー氏呈色反應によりて比色定量せるに約 7 千分 1 に相當するフォルムアルデヒドの含量を示せり。次にこの精製濃縮液の一定量を取りて常法に従ひアムモニア水を加へアルカリ性を保ちつゝ可及的低温にて蒸發乾涸しヘキサメチーレンテトラミンを生成せしめ之に就き昇汞複鹽を化成せしめたるに特異の放線狀の星形結晶を析出し之をフォルムアルデヒドより製出せる結晶と比較するに殆ど同一なりき。

前記の試験によりてやり烏賊肉は之を水と共に加熱すればフォルムアルデヒドを化生すること疑なき事實と認めざるを得ず章魚、蟹其他の特種魚肉も亦之と同一成績を示すものなりや否やに就きては前述の如く當時生章魚等の魚類を市場に於て入手困難なりし爲め試験し能はざりしを以て今遽かに之を斷定し難きも略之と同一なるべきを思惟せしむ本問題に關しては更に他日精査の上報告するところあるべし。

六. フォルムアルデヒド類似物質の生成母體に就て

敍上の如く烏賊、章魚等の魚類の加熱によりてフォルムアルデヒド反應を呈するに至るは之等特種の魚肉類中の蛋白質或はアミノ酸等の加熱分解に依りて生成するも

のに非ずや若し然りとすれば豫め之等の物質を除別するときは故意に防腐の目的に使用せるフォルムアルデヒドを鑑別し得べきを思惟せしめたるを以て次の実験を施行せり。

細截せるやり鳥賊肉 400g を取り水 500cc を加へ時々振盪しつゝ 2 時間放置したる後漉過し其残渣に再び水約 250cc を加へて 2 時間放置し漉過し其兩漉過液を合し之を 5% 硫酸々性となし之に 5% 硫酸々性 20% 燐ウォルフラム酸溶液を添加して沈澱を析出せしめ沈澱を 5% 硫酸にてよく洗ひ洗液を濾液に合し茲に得たる沈澱竝に濾液を次の如く處理せり。

(イ) 燐ウォルフラム酸沈澱の處理

燐ウォルフラム酸の沈澱を水中に混攪して泥狀となし之にバリット水を加へ微弱アルカリ性となしよく振盪して完全に分解し次に之を濾過し濾液を稀硫酸にて中和し過剰のバリットを除別したる後アムモニアアルカリ性となし更にアムモニア水を添加しつゝ減壓濃縮して總量を約 700cc となし之を別の蒸餾コルベンに移し稀硫酸を加へて酸性となしアスベスト板上にて蒸餾し餾液 50cc を取り之に就き呈色反應を検せり。

(ロ) 燐ウォルフラム酸沈澱濾液の處理

燐ウォルフラム酸沈澱の濾液は之にバリット水を加へて微弱アルカリ性となし硫酸及過剰の燐ウォルフラム酸を濾別し濾液中稍過剰のバリットを稀硫酸にて中和除別し以下前法と全く同様に處理して蒸餾液 50cc を取り同様に呈色反應を検せり。其成績次の如し。

第一四表

檢 體	反 應								
	リミニー氏法	ヴィタリ氏法	ヘーネル氏法	フクシン亞硫酸法	ザバリツユカ氏法	ザルコウスキー氏法	柳澤丸山氏法	シュリーフェル氏法	
燐ウォルフラム酸沈澱處理液	+	+	+	+	+	約8萬分1	+	+	
燐ウォルフラム酸沈澱濾液	-	-	-	-	-	±	-	-	

前記實驗に依りフォルムアルデヒドの反應を生起する物質の母體は悉く燐ウォルフラム酸沈澱中に移行し其濾液中には之を含有せざることを認めたり。而してフォルムアルデヒド化生の母體の本質に関する研究は之を後日に譲り次の實驗に移れり。

七. やり烏賊中のフォルムアルデヒドの試験に就て

前記の試験成績に基き更にやり烏賊に種々の割合にフォルムアルデヒドを添加せるものに就き実験せり。其試験方法竝に成績を示せば次の如し。

やり烏賊の細截せるもの 50g 宛 5 個のホルベンに容れ 1 は其儘他の 4 個は夫々検體に對し 2 萬分の 1, 5 萬分の 1, 10 萬分の 1 及 20 萬分の 1 の割合にフォルムアルデヒドを添加し水 200 cc を加へ時々振盪しつゝ 1 時間放置したる後 5% の割合に稀硫酸を添加し更に時々振盪しつゝ 1 時間放置し之を濾過し濾液に 5% 硫酸々性 20% 燐ウオルフラム酸溶液を添加し沈澱を完了せしめ之を除別し濾液を蒸餾ホルベンに移しアスベスト板上に於て蒸餾し受器中には豫め少量のアムモニア水を容れ餾液を常にアルカリ性を保たしめ茲に得たる餾液にアムモニアを滴加しつゝ之を減壓濃縮して約 100 cc となし之を別の蒸餾ホルベンに移し稀硫酸を加へて酸性となしアスベスト板を用ひて 50 cc を蒸餾し其餾液に就き呈色反應を検せるに次の成績を得たり。

第一五表

反 應	リミニー氏法	ヴィタリ氏法	ヘーネル氏法	フクシン亞硫酸法	ザバリツヌカ氏法	ザルコウスキー氏法	柳澤丸山氏法	シユリーフェル氏法
フォルムアルデヒドを添加せざるもの	-	-	-	-	-	-	-	-
フォルムアルデヒド 2 萬分 1 添加	+	+	+	+	+	5 萬分 1 強	+	+
フォルムアルデヒド 5 萬分 1 添加	+	+	+	+	+	10 萬分 1	+	+
フォルムアルデヒド 10 萬分 1 添加	+	+	+	+	+	80 萬分 1 強	+	+
フォルムアルデヒド 20 萬分 1 添加	+	+	+	-	+	100 萬分 1 弱	+	+

前記試験成績に依ればやり烏賊生肉の水浸液は之より燐ウオルフラム酸にて沈澱する部分を除別するときはフォルムアルデヒド反應を生起する物質を化成することなく之にフォルムアルデヒドを添加せるものは 20 萬分の 1 の分量に於てもよく識別し得べきことを認めたり。

八. 蟹罐詰肉中のフォルムアルデヒドの試験に就て

前述の如くやり烏賊生肉に混加せるフォルムアルデヒドの試験に對しては豫め燐

ウォルフラム酸沈澱除去法を應用し以て生肉中類似反應を生起する物質の母體を除去するときは極めて良好なる成績を得べきを認めたるも蟹罐詰肉の如く一旦加熱加工せる魚肉に在りては既に其際多少成分の分解を來たし類似反應を呈する物質を生成したためにフォルムアルデヒドの檢出に支障を與ふることなきや否や大ひに疑問とするところなるを以て之に就き次の實驗を施行せり。

市販蟹罐詰8種を購入し其4種は全内容物を細截均等となし夫々50g宛コルベンに容れ水200ccを加へ他の2種は内容物を上、中、下の3部分に區劃し各細截せるもの50g宛をコルベンに取り水200ccを加へ2種は前記兩様の水浸處理法を施し之等の試料に種々の割合にフォルムアルデヒドを添加し何れも時々振盪しつゝ1時間放置したる後5%の割合に稀硫酸を添加し更に時々振盪しつゝ1時間放置し之をガーゼにて濾過し残渣を少量の5%硫酸にて洗ひ之を濾液に合したる後5%硫酸製20%燐ウォルフラム酸溶液を注意して添加し完全に沈澱を析出せしめ(この際燐ウォルフラム酸を過剰に添加せざる様注意することを要す)其透明溶液に燐ウォルフラム酸溶液を滴加振盪して數分時間放置するも白色絮狀の沈澱を生起せざるに至らしめ茲に析出せる沈澱を少量の5%硫酸にて洗ひ洗液と濾液とを合し蒸餾コルベンに移しアスベスト板を用ひ豫めアムモニア水少量を容れたる受器中に其大部分を蒸餾(餾液は常にアムモニアアルカリ性なるを要す)し餾液を暫時放置の後他の蒸餾コルベンに移しアムモニア水を滴加しつゝ之を減壓濃縮し總量を約100ccとなし更に之を別の蒸餾コルベンに移し稀硫酸を添加して酸性となし全量を約130ccとなしアスベスト板上に於て蒸餾し餾液を50cc宛2箇分取し之に就き各種の反應を試験せり。其成績次の如し。

第一六表

檢體種類	檢 肉 採 取 法	フォルム アルデ ヒド添加 量	留 液 番 號	呈 色 反 應								
				リミニ -氏法	ヴィタ グリー氏 法	ヘーネ ル氏法	フクシ ン亞硫 酸法	ザバリ ツユカ 氏法	ザルコウス キー氏法	柳澤丸 山氏法	シュリ ーフエ ル氏法	
ヤマイン 印蟹罐詰 (石井製)	全均等肉 50g	添加せず	第 1	-	-	±	-	-	300萬分1	±	-	
			第 2	-	-	±	-	-	±	-	-	
	全均等肉 50g		2萬分1	第 1	+	+	+	+	+	5萬分1	+	+
			第 2	+	+	+	+	+	8萬分1	+	+	

(中島製) ダイヤモンド印 蟹罐詰 (高橋製)	50g	添加せず	第 2	-	-	±	-	-	300萬分1弱	-	-
	下部肉		第 1	-	-	+	-	-	200萬分1	+	±
	50g 内煮汁	添加せず	第 2	-	-	±	-	-	300萬分1	±	-
	30g		第 1	-	-	±	-	-	300萬分1	±	-
	上部肉	添加せず	第 2	-	-	-	-	-	300萬分1弱	-	-
			50g	第 1	-	-	±	-	-	300萬分1	±
	中部肉	添加せず	第 2	-	-	-	-	-	300萬分1弱	-	-
			5g	第 1	-	-	±	-	-	300萬分1	±
	下部肉	添加せず	第 2	-	-	-	-	-	300萬分1弱	-	-
			50g	第 1	-	-	±	-	±	200萬分1弱	±
	全均等肉	添加せず	第 2	-	-	-	-	-	300萬分1弱	-	-
			50g	第 1	+	+	+	-	+	100萬分1強	+
上部肉	添加せず	第 2	+	+	+	-	+	100萬分1	+	+	
		50g	第 1	-	-	-	-	-	300萬分1弱	-	-
中部肉	添加せず	第 2	-	-	-	-	-	±	-	-	
		50g	第 1	-	-	±	-	-	300萬分1	±	-
下部肉	添加せず	第 2	-	-	-	-	-	300萬分1弱	-	-	
		50g	第 1	-	-	±	-	-	300萬分1強	±	-
内煮汁	添加せず	第 2	-	-	-	-	-	300萬分1弱	-	-	
		12g	第 1	-	-	±	-	-	300萬分1強	±	-
全均等肉	10萬分1	第 2	-	-	-	-	-	300萬分1弱	-	-	
		50g	第 1	+	+	+	-	+	80萬分1	+	+
			第 2	+	+	+	-	+	100萬分1	+	+

前記試験成績に依れば均等なる検肉 50g の試験に在りては其第 1 餾液はザルコウスキー氏反應 250 萬分 1 ~ 300 萬分 1 を示しヘーネル氏反應及柳澤丸山氏反應は痕跡又は疑問とする程度にして其他の諸反應は全部陰性なり. 而して第 2 餾液は第 1 餾液に比して各呈色反應著しく微弱となれり. 次に供試量を 30g に減せるものはザルコウスキー氏反應約 400 萬分 1 を示しヘーネル氏反應は疑問程度にして其他は全く陰性なり然るに検體 50g に對しフォルムアルデヒドを 2 萬分 1 ~ 5 萬分 1 の割合に添加せるものは第 1 餾液は孰れも陽性反應を示し第 2 餾液はフクシン亞硫酸反應のみ時として陰性を呈することあるも其他の諸反應は全部陽性を呈せり. 又検體 50g に對し 10 萬分 1 の割合に添加せるものは其第 1 餾液はフクシン亞硫酸反應多くは陰性 (1 例陽性を呈せるものあり) なるも其他の反應は全部陽性にして第 2 餾液に於ても亦フクシン亞硫酸以外の諸反應は悉く陽性を示せり. 更に検體 50g に對し 20 萬分 1 の割合にフォルムアルデヒドを添加せるものは其第 1 餾液はザルコウスキー氏反應 150 萬分 1 強を示し

フクシン亞硫酸以外の諸反應は全部陽性を呈し第2 餾液はザルコウスキー氏反應 200 萬分1 程度フクシン亞硫酸反應陰性、リミニー及ヴィタリーの兩反應は疑問の反應を現はせるも其他の諸反應は悉く陽性を呈せり。

前記の如く罐詰蟹肉はザルコウスキー氏反應 300 萬分1 ~ 250 萬分1 程度に相當する微弱の陽性反應を呈することあるも之等は罐詰製造に際し自然に發生するフォルムアルデヒド類似の物質として看過するを至當とすべく之に反し故意にフォルムアルデヒドを防腐の目的に使用せる場合は供試量 50g に對し 10 萬分の1 の微量を添加せる場合に於ても其第1 餾液はフクシン亞硫酸反應を除く諸他の反應は孰れも陽性を示しフクシン亞硫酸反應と雖も熟練するときはよく陽性の成績を示せり。又檢體 30g に對し10萬分の1 の割合にフォルムアルデヒドを添加せる場合には其第1 餾液はフクシン亞硫酸反應以外の諸反應は悉く陽性を示し5 萬分の1 の割合に添加するときにはフクシン亞硫酸反應も亦微弱陽性を示しよく之を識別し得たり。

次に檢肉の採取部分によりて反應の強弱なきや否やを顧慮し之を試験したるに主として上層部分は反應の程度微弱にして中層より下層に到るに従ひて稍強烈となる傾向を有するも下層部分の第1 餾液に在りてもザルコウスキー氏反應 200 萬分の1 を超過せざることを認めたり。

前記の如く罐詰蟹肉は其の製造工程中に既に僅微のフォルムアルデヒド類似の反應を呈する物質を生成し其分量は前記8 種の檢體に就きて試験せる成績に依れば極めて微量にしてリミニー、ヴィタリー、フクシン亞硫酸等の諸反應は之を呈することなし故に之をウトロロピン昇汞複鹽生成法によりフォルムアルデヒドなるや否やを判定すること能はざるは論を俟たず。

尙ほ罐詰蟹肉を更に加熱するときは著明の類似反應を生起するに至ることは既に第1 報の試験に於て略々分明せる處なるも更に次の試験によりて一層明瞭となれり。即ち罐詰蟹肉 50g を取り之に水 200cc を加へ冷却器を附しアスベスト板上に1 時間煮沸し冷後之を5 % 硫酸々性となし隣ウォルフラム酸沈降法を行ひ前記試験法に従ひ試験したるに次の成績を示せり。

第十七表

檢體種類	試液番號	リミニー氏法	ヴィタリ-氏法	ヘーネル氏法	フクシン亞硫酸法	ザバリツユカ氏法	ザルコウスキー氏法	柳澤丸山氏法	シュリーフェル氏法
ヤマイシ印 罐詰蟹肉 (1時間加熱す)	第 1	+	+	+	-	+	100萬分1強	+	+
	第 2	±	±	+	-	+	150萬分1	+	+

前表の如く蟹肉を強く加熱するときは稍著明のフォルムアルデヒド反應を生起するに至るも現時の罐詰製造法によりて製せるものは恐らく前記第 16 表に於ける類似反應の範圍を出でざるものと認めて大過なかるべきを信ず。

九. 總括並結論

前記試験成績を總括し之を結論すること次の如し。

1. 蟹、烏賊及章魚等の如く加熱に依りて自然にフォルムアルデヒドの反應を生起する成分を化生する肉類中フォルムアルデヒド試験に對し從來一般に應用せられたる水蒸氣蒸餾法を施すときは試験操作中に加熱を必要としたために肉成分の分解を來しフォルムアルデヒドの反應を生起するを以て之等の肉類に對しては本法を適用する能はず。故に之を避けてトリラー及クラール兩氏のアニリンエーテル振盪法を應用し其抽出後の反應の鋭敏度を水蒸氣蒸餾法と同様ならしめんがため從來の方法に種々改善を加へたる結果水蒸氣蒸餾法に比し却つて遙に良好なる成績を得るに至れり。次に該法を罐詰蟹肉及蝦肉に應用せしに加熱操作によりて蟹肉中に化生せる微量のフォルムアルデヒドの反應を呈する物質は悉く其第 1 回水浸液中に移行し第 2 回水浸液は既に全く陰性を示せり。又罐詰蝦肉は全くフォルムアルデヒド反應を生起せず之に 300 萬分の 1 のフォルムアルデヒドを添加せるものは前記アニリンエーテル振盪法によりて明に之を検出し得べきことを驗知せり。

2. 北海道産やり烏賊を水蒸氣蒸餾法に依りて蒸餾し餽液を 50cc 宛 4 箇分取し之に就き各種呈色反應を試験せしにフォルムアルデヒドの含存を認めざるも生章魚に在りては第 2 餽液以後に於てザルコウスキー氏反應 200 萬分の 1 ~ 300 萬分の 1 のフォルムアルデヒドの含存を示せり。然るに直接蒸餾法に依りて試験するときはやり烏賊に在りては 50cc 宛の分餽に於て第 9 回餽液に於ても尚ほ 80 萬分の 1 ~ 90

萬分の1のフォルムアルデヒドの含存を示し生章魚は更に一層顯著なるフォルムアルデヒドの呈色反應を生起することを認めたり。

3. 生やり烏賊及生章魚をアニリンエーテル振盪法に依りて加熱を避けて試験するときは殆どフォルムアルデヒドの反應を生起することなきも試験前1時間煮沸せるものに在りては10萬分の1~20萬分の1に相當するフォルムアルデヒドの反應を現し兩者は加熱によりて該反應を生起する物質を化生することを確證し得たり。

4. やり烏賊は其生魚肉を90°に於て1時間加熱するもフォルムアルデヒド類似の反應を呈する物質を化生することなく沸湯中にて1時間加熱することによりて生成するものなることを認めたり。

5. やり烏賊肉中より加熱によりて化生するフォルムアルデヒド反應を呈する物質はウロトロピン昇汞複鹽生成法により特異放線狀の星狀結晶を析出するを以てフォルムアルデヒドなること疑なきものと認む。

6. やり烏賊の水浸液を燐ウオルフラム酸を以て處理し之によりて沈澱する部分と然らざるものとに分別し兩者に就き直接蒸餾法を施して試験するに沈澱部分はザルコウスキー反應に於て約8萬分の1に相當するフォルムアルデヒドの含存を示せるも其濾液部分は殆ど全く陰性を示せり。之に依りて觀ればやり烏賊の水浸液中加熱によりてフォルムアルデヒドを化生する母體は燐ウオルフラム酸によりて沈澱せらるべき物質なることを認むべく其本體の究明は之を後日に期すべし。

7. やり烏賊に種々の割合にフォルムアルデヒドを添加し一定時間經過の後其水浸液に就き前項に於けると同様に燐ウオルフラム酸處理法を施して其沈澱部分を除別したる濾液を所定の如く直接蒸餾に附して其餾液の呈色反應を検するに20萬分の1のフォルムアルデヒド添加の場合に於ても極めて正確に鑑識し得べきを認めたり。

8. やり烏賊等の如く生魚肉中のフォルムアルデヒド化生母體は燐ウオルフラム酸沈澱法に依りて之を除去し得べきも罐詰蟹肉等の如く既に加熱加工せる魚肉に在りては其肉中に微量のフォルムアルデヒド類似の反應を生起する物質を含存すべきを以て之を検せんがため市販の蟹罐詰8種を購入し之に就き其1罐中の全内容均等とせるもの及び上、中、下の各部分に區別せるものに就き試験せしに上層より下層に到る

に従ひて反應稍強烈となる傾向を有するも蒸汁を最も多量に含有する下層部分に於てもザルコウスキー氏反應 200 萬分の 1 を超過することなく全内容を均等とせるものは 250 萬分の 1 ~ 300 萬分の 1 の呈色反應を示せり。

9. 上記試験成績に依ればやり烏賊等の生魚肉中從來の加熱蒸餾試験法に依りてはフォルムアルデヒド類似の反應を生起し之れが鑑識困難なるものに在りてはアニリンエーテル振盪法を施すか或は豫め燐ウオルフラム酸沈澱法に依りて之を生起する母體を除別するときは加熱操作を用ふるも類似反應を生起せざるを以て防腐の目的に添加せられたるフォルムアルデヒドを容易に鑑識し得べく又罐詰蟹肉等の如く其製造工程中に於て加熱操作を受けたるために既にフォルムアルデヒド反應を生起する物質を化生せるものに在りても極めて微量にしてリミニ、ヴィタリー、フクシン亞硫酸等の諸反應を呈することなし。然るに防腐の目的にフォルムアルデヒドを添加せるものに在りては其 20 萬分の 1 を添加せるものに於ても檢肉 50g に就き試験するときはフクシン亞硫酸反應以外の諸反應は悉く陽性を示し 5 萬分の 1 の割合に添加せるものに在りては各反應全部陽性の成績を示せり。又實際問題として魚肉類に對して 20 萬分の 1 以下のフォルムアルデヒドを添加するも全く防腐効力を有せざるを以て斯の如き微量のフォルムアルデヒドの鑑識を必要とせざるべく前記の方法は罐詰蟹肉中のフォルムアルデヒドの鑑識法として適當なるものと信ずるものなり。

今回の試験に於ては生章魚其他フォルムアルデヒド類似反應を生起する各種の魚類を入手し難く専らやり烏賊及罐詰蟹肉を試験材料に供せるを以て爾他の魚肉類全般に亘り果して之と同一の成績を得べきや否やは今遽に斷言し得ざるも略々之と同一なるべきことを想像し得べく此點に關しては他日精査の上報告せんことを期す。

昭和六年十一月

火酒試験成績報告(第一報)

技 師 衣 笠 豊
 技 手 坪 井 祿 平
 助 手 柳 喜 久 雄
 助 手 神 谷 正 夫

曩に衛生局より送附せられたる火酒類に就き其比重及アルコール含量の検定並衛生上有害成分の試験を施行したるに次の成績を得たるを以て茲に之を報告す。

試 験 材 料

衛生局より送附せられたる可検品は19箇にして其種類名稱外觀及氣味等次の如し。

第 一 表

檢體 番號	種 類	名 稱	外 觀	氣 味	産 地	容 器
1	ラ ム	Blackhead Rum	褐色澄明	香氣稍強く微に苦味あり	西印度	硝子 壺
2	コンニャク	Hennessy Cognac	淡褐色澄明	"	英	"
3	ブランデー	Marie Brizard & Roger	淡黄褐色澄明	個有の氣味あり	佛	"
4	ウキスキー	Scotch whisky	"	"	英	"
5	"	Suntory whisky	"	"	日本	"
6	"	Jonnie Walker	"	"	英	"
7	カクテル	Fifty-Fifty Cocktail	淡褐色殆澄明	特異の氣味あり	"	"
8	"	龍鳳號玫瑰露酒	微黄色澄明	弱き香氣及甘味あり	支	"
9	ヂ ン	Tom Gin	無色澄明	個有の氣味あり	佛	"
10	"	Dry Gin	微黄色澄明	"	英	"
11	"	Mockba	無色澄明	"	不明	"
12	リキュール	Cherry Brandy	櫻實赤色殆澄明	エステル様芳香 甘味及酸味あり	和 蘭	"
13	"	Peach Brandy	褐色澄明	個有の香氣及強甘味あり	佛	"
14	"	D.O.M. Liquor	淡黄褐色澄明	"	"	"
15	"	Luxardo Liquor	無色澄明	香氣及甘味強し	不明	"
16	"	Absinth Liquor	帶綠褐色澄明	アブシント個有の氣味あり	西	"
17	"	Freezoment	綠色澄明	薄荷の香氣並強甘味あり	佛	"

18	リキュール	Peppermint	緑 色 澄 明	薄荷の香氣並強甘味あり	佛	硝子壺詰
19	"	Banane	淡 褐 色 澄 明	エステル様芳香及甘味強し	"	陶製壺

試 験 範 圍

火酒飲用上人體に及す作用の大小強弱を論せんには先之が常成分の量を検査し併て特種成分の存否並其量を試験し其結果により品質の可否を決定するを要すべし。而してアルコールは主要成分なるが故に勿論定量の必要ありと雖も爾餘の成分は多くは微量なるを以て其作用の比較的強大なりと認むべき成分に就て検査を行へば可なるべきなり。此意味に於て小官等は次の數種成分に就て検査することとせり。

1. アルコホル
2. 高級アルコール（フーゼル油）
3. 青酸（第12及13號の2箇は果實酒たるの標記あるを以て本成分の試験を施行せり）
4. ツョーン及アブシンテン（第16號アブシント酒に付）
5. メチールアルコール
6. アセトン
7. ピリヂン
8. タール色素

試 験 方 法

(1) アルコホルの定量 酒精性飲料中アルコールの測定は其エキス分極めて微量にして且エステル、エーテル性油及エッセンス類も亦微量の場合には直接其比重の檢定によりて之を遂行し得るも多くは檢體或は其稀釋液を蒸餾して得たる餾液の比重を測定する方法によるものとす然るに火酒類の如く多量の揮發性物質を含有するものにありては豫め之を除別するを要するや論を俟たず。而して之が除別方法としては獨逸火酒課稅規則⁽¹⁾に制定せる鹽析法、ヘーヘルマン氏⁽²⁾の石油エーテル振盪法、前記兩法を併用せるツェツ氏法⁽³⁾並にマン氏⁽⁴⁾の炭酸マグネシウム法等あり。今回試験すべき檢體は多量のエキス又はエーテル性油を含有するもの多きを以て小官等は先づ獨逸の鹽析

法を應用して試験したるに充分鹽析の目的を達すること困難なる事實を認めたるを以て之を中止しツェツツ氏法に類似せるソープ及ホルム⁽⁵⁾氏の方法に従ひ實驗したるに其成績良好なるを認めたり。依て専ら本法に準據し定量分析を施行せり、其方法次の如し。

15°の檢體25ccを分液漏斗に取り之に飽和食鹽溶液125cc及石油エーテル(沸騰點50~70°)80ccを加へ10分間振盪し30分間放置したる後下層の水液を第2の分液漏斗に移し残留する石油エーテル及飽和食鹽溶液10ccを以て洗滌し洗液は第2分液漏斗中の主液に合し之に新たに石油エーテル80ccを加へ前回の如く振盪し靜置したる後下層の水溶液を蒸餾コルベンに移し石油エーテルは飽和食鹽溶液を以て洗滌し洗液はコルベン中の主液に合し之に蒸餾水50cc(全液量200cc以上となる)及浮石小片數箇を投じて蒸餾し蒸餾液約100ccを取り水を加へて15°に於て100ccとなし比重を檢定しウキンヂ⁽⁶⁾氏アルコール表に照してアルコールの含量を求め其値を4倍して檢體100cc中アルコールのグラム量を得更に次式により重量%を算出せり。

$$x = \frac{g}{0.999126 \times S}$$

式中xは求むべきアルコールの重量%, gは15°に於ける檢體100cc中のアルコールのグラム量, Sは15°に於ける原檢體の比重を示す。

但し第3, 4及17號の3箇は何れも無色若くは殆無色にしてエーテル性油微量なりと認めたるを以て前記の手數を省き水を以て2倍容に稀釋し蒸餾するの法に據れり。即ち15°の檢體50ccを蒸餾コルベンに取り水50ccを加へて蒸餾し餾液約90ccを取り水を加へて15°に於て100ccとなし比重を檢定して餾液100cc中に於けるアルコールの含量を求め之を2倍して檢體100cc中に於けるアルコールのグラム量を算出し以下前記の如くして重量%を算出せり。

(2) フーゼル油の鑑識並定量, 附アルデヒドの試験

フーゼル油の鑑識に對してはゲーベル⁽⁶⁾氏法ウッフエルマン⁽⁷⁾氏法マルクワルト⁽⁸⁾氏法及コマロウスキー⁽⁹⁾氏法等多數の方法ありと雖も少量の檢體を以て簡単に施行し得べき良反應を發見し得ざりしを以て小官等は從來最も鋭敏なる反應として知られたる前記コマロウスキー氏法に基き呈色反應を試み之を鑑定せり。即ち其實施方法次の如し。

火酒50ccを取り15%ナトロン滴液5ccを加へ30~40ccを蒸餾し餾液10ccを取り1%

アルコール製サリチールアルデヒド溶液 25~30 滴を加へ更に濃硫酸 20cc を加へて振盪し冷後變色を検せり (フーゼル油存在に於ては柘榴紅色を呈す)

フーゼル油の定量試験にはリヨーゼ⁽¹⁰⁾、ベックマン⁽¹¹⁾、ギラルド⁽¹²⁾及マルクワルト⁽¹³⁾氏法等種種あるも従來最も優良なる方法として認められたるものはリヨーゼ氏法及マルクワルト氏法なりとす。依て小官等は主としてリヨーゼ氏法に従ひ補ふにマルクワルト氏法と原理を同じくせる米國農藝化學者協定リキュール及蒸餾酒中のフーゼル油定量法に準據して施行せり (以下本法は便宜上之を米國法と記すべし)

リヨーゼ氏法はクロロホルムのアルコール類に對する溶解度を異にする性質を利用せるものにして後に至りスツッチェル⁽¹⁴⁾及ライトマイアー⁽¹⁵⁾並オイゲン、セル氏⁽¹⁶⁾等によりて改良せられ獨逸國に於て 1895 年發布の火酒課税法施行細則中に醱酵及蒸餾副産物試験法としてセル氏の改良法を採用規定せられたり。其他本法は一般成書に詳記あるを以て茲に之を贅せず。但し本法施行上の要點に付小官等の處理せる方法を示せば次の如し。

檢體 100cc を 15° に於て蒸餾コルベンに取りナトロン滴液 (15%) 5cc を加へ還流冷却器を附し半時間煮沸したる後放冷し少量の水を以て冷却器の下端を洗滌しコルベンをリービッヒ冷却器を有する蒸餾装置に連結し約 90cc を蒸餾し水を加へて 15° に於て 100cc となし比重を検してアルコールの含量を定め其 55cc を 110cc のメスコルベンに分取し之に 30 容量% のアルコール含量となすに必要なる水又はアルコールの計算量を加へ更に 30 容量% のアルコール溶液を追加して 110cc となし再び比重を検定し必要あらば 2~3 滴の水又は純アルコールを加へて正確に 30 容量% のアルコール含量となし以下處定の方法に従ひて試験せり。斯くして得たるフーゼル油の容量は檢體 50cc 中の量なるを以て之を 2 倍して容量% を得たり。尙ほ本試験施行上必要なる純アルコールの製法は次の如く行へり。

純アルコール (フーゼル油不含) の製法。フーゼル油不含の酒精製造に關してはブリュッセル⁽¹⁷⁾氏に従へば市販の純アルコール 1L にカルチウム 20g を加へ水浴上にて數分間還流冷却器を附して温め水素の作用止むに至りて蒸餾する方法ありと雖も小官等は西崎博士⁽¹⁸⁾に従ひ次の方法により精製せり。

日本薬局方の純アルコールに少許のカリ滴液を加へて徐々に蒸餾し其1Lに付初溜液100ccを除き爾後の蒸餾液500ccを取り漸次斯くの如くして4Lの純アルコールより2Lを得、之より更に1Lを得、3度蒸餾して500ccを取り試験せるにフーゼル油を検出せざりしを以て之を稀釋しスツツチュル及ライトマイア-並セル氏改良リヨーゼ氏法に従ひ各個の振盪器に對するクロロフォルムの増容を検定すると共に更にアミールアルコールを加へて試験したるに次表に示す如く略混加せる量を檢定し得たるを以て之をフーゼル油の試験に使用せり。

第 二 表

番 號	アミールアルコール容量%		
	混入量	檢出量	平均檢出量
第 1 回	0.1	0.09	0.096
第 2 回	0.2	0.20	
第 3 回	0.2	0.19	

以上リヨーゼ氏法により試験するに當りアルカリを以て處理するも鹼化せざる揮發油を含有する檢體にありてはクロロフォルムの容量に變化を來しフーゼル油を誤認せしむる虞れあるを以て斯くの如き檢體に對しては更に米國法を試みたり。即ち本法は液體中のフーゼル油をクロロフォルム又は四鹽化炭素等を以て抽出し之を酸化劑を以て處理し生成せる酸を蒸餾し10分定規アルカリ液を以て測定し之をアミールアルコールとして計算する方法なり。然るに之に従ひ施行せる小官等の實驗成績は甚だ低き値(約 $\frac{3}{5}$ ~ $\frac{2}{3}$)を得たるを以て更に之に改良を加へ實驗したるに稍々近似せる結果を得たり。小官等の改良方法次の如し。

15°の檢體100ccを蒸餾コルベンに取り2分定規ナトロン液20ccを加へ、還流冷却器を裝して1時間煮沸し冷後少量の水にて冷却器の下端を洗滌し洗液はコルベン中の主液に合し蒸餾装置を連結して90ccを蒸餾し冷後殘液に水20ccを加へて再び蒸餾し殘液20ccとなるに至りて止む(第2回蒸餾殘渣に更に水10ccを加へて10ccを蒸餾し其溜液に就きコマロウスキー氏反應を検するにフーゼル油の反應を認めざりき)。

檢體若し10萬分15以上のアルデヒドを含有するときは前記蒸餾液に鹽酸メタフ。

ニ—レンヂアミン 0.5gを加へ還流冷却器を附し1時間煮沸したる後 100cc を蒸餾し殘液に水25ccを加へて再び蒸餾し殘液約25ccとなるに至りて止む(注意A)

前記蒸餾液に食鹽を加へて比重を 1.10となし(或は蒸餾液に14%の割合に食鹽を溶解せしめ)四鹽化炭素を以て3回夫々 40, 30及20ccにて次て4回各10cc宛にて振盪し(注意B)四鹽化炭素振盪液を合し之を15°に於て飽和せる芒硝溶液50cc宛にて3回振盪し(注意C)芒硝溶液を合し之を3回各10cc宛の四鹽化炭素を以て振盪洗滌し(注意D)茲に分取せる四鹽化炭素洗液を前の四鹽化炭素液に合し(四鹽化炭素全量 160ccとなる)之をコルベンに移し酸化劑(クロム硫酸液) 50cc(注意E)を加へ還流冷却器を附して重湯煎上にて8時間(注意F)煮沸したる後之に水30ccを加へて蒸餾装置に連結し殘留液約25ccとなるに至る迄蒸餾し殘液に更に水80ccを加へて再び蒸餾し殘液約20ccとなるに至りて止む(第2回蒸餾殘液に更に水を加へて蒸餾し其餾液に付て檢するに纈草酸の臭氣を感せず)茲に得たる蒸餾液を10分定規アルカリ液を以て測定す. 米國法に於ては此際初めメチールオレンジ溶液を加ふるに著しく酸性を呈する時は之が中和に要したる10分定規アルカリ液のcc數を後に得たる總消費量より減却し其差を以て纈草酸となすも纈草酸も亦少しくメチールオレンジを赤變せしめ終末點を不明瞭ならしむる嫌あり而してメチールオレンジにより呈色する鏷酸は四鹽化炭素の分解によつて生成せる鹽化水素に因るものとせらるれとも實驗上寧ろ硫酸を含有する場合多きを以て斯くの如き場合はフェノールフタレインを標示薬となしアルカリ液を加へてアルカリ性となし蒸餾して先四鹽化炭素を除きたる後磷酸を以て酸性となし再び蒸餾し殘液少量となるに至り更に前記の如く少量の水を加へて蒸餾を行ひ後の2回に得たる餾液を合しフェノールフタレインを標示薬となし10分定規ナトロン液を以て測定し此處に消費せる10分定規アルカリ液のcc數に 0.0038を乗ずるときは無水アミールアルコールの重量%量を得べし之をアミールアルコールの比重0.81を以て除すれば容量%量を得べし. 而して小官等はフォーゼル油不含の30容量%酒精100ccに付アミールアルコール(沸騰點129~131°)0.2ccを混和し本法により試験したるに次の成績を得たり.

第 三 表

番 號	混 和 量		検 出 量	
	容 量	重 量	容 量	重 量
第 1 回	0.2cc	0.162g	0.1684cc	0.1364g
第 2 回	0.2"	0.162"	0.1706"	0.1382"
平 均	0.2"	0.162"	0.1700"	0.1373"

前記試験の結果によれば小官等の補正を加へたる米國法によるも混加せるアミールアルコールの85.25容量%(又84.75重量%)を検出し得るに過ぎず。故に本法によりフーゼル油の定量を施すときは之に一定の補正係數(此場合は1.173)を乗じて真正の含量を求むべきなり。但し該係數は分析者の技術如何により一定せざるべきを以て既知量のフーゼル油を含有するアルコールに付數回反復實驗し決定するを妥當とすべし。

注 意

前記の試験實施上注意を要する點(注意A~F)を擧ぐれば次の如し。

(A) 米國法に於ては比色法によりアルデヒドを定量する方法を記載しあるも小官等はリーテル⁽¹⁹⁾氏亞硫酸法により此處に試験すべき檢體に就き豫めアルデヒドを定量せり。其方法次の如し。

可檢火酒25ccを取り水を加へて50ccとなし受器をよく氷冷しつつ約40ccを蒸留し留液に水を加へて原容に復し能く混和し其液より5ccを取りフクシン亞硫酸溶液によりアルデヒドの定性試験を行ひたる後殘液より40cc(原檢體20ccに相當す)を取り豫め酸性亞硫酸ナトリウム溶液(酸性亞硫酸ナトリウム13gを水1Lに溶解したるもの)50ccを容れたる100ccのメスコルベン中に注加し水を追加して全量を100ccとなし4時間放置後40ccを分取し稀硫酸(1+3)5ccを加へ澱粉糊液を標示薬として迅速に50分定規ヨード液を以て滴定す。(ヨード液1ccはアセトアルデヒド0.00044gに相當す)次に殘液より40ccを取り豫め25ccの定規カリ液を容れたるコルベン中に注加し10~15分間放置したる後稀硫酸(1+3)5ccを加へ50分定規ヨード液にて前記の如く滴定し兩滴定數の差を求め之に0.00044を乗し更に之に $\frac{100}{8}$ を乗ずるときは檢體100cc中に於けるアルデヒドの量を得べし。

(B) 米國法の如く四鹽化炭素を以て4回毎回夫々40, 30, 20及10cc(合計100cc)を以て振盪したるのみにては食鹽溶液中に尙微量のフーゼル油を残留す。故に小官等は更に四鹽化炭素各10cc宛を以て3回(合計130cc)振盪したるに食鹽溶液中殆どフーゼル油反應を認めざりき。

(C) 此際芒硝溶液各50cc宛を以て2回四鹽化炭素を洗滌したるのみにては尙四鹽化炭素中に少量の食鹽を残留す。然れども3回(芒硝溶液全量150ccとなる)洗滌するときは四鹽化炭素中食鹽及エチルアルコールを残留せず(小官等は該四鹽化炭素を更に水にて振盪洗滌し其水液の一部に付銀液によりてクロールを他の一半に付アルコールをリーベン⁽²⁰⁾氏ヨードホルム反應により試験したるに何れも之を検出せざりき)。

(D) 芒硝溶液を四鹽化炭素を以て洗滌せざるときは之に少量に残留する四鹽化炭素と共に微量のフーゼル油を残留すべし。

(E)及(F) 米國法に於ては四鹽化炭素合計100ccに對し酸化劑50cc煮沸時間(即ち酸化時間)8時間とせるも小官等の方法によれば四鹽化炭素總量160ccとなるを以て酸化劑及酸化時間も亦之に準し増大せざるべからざるやに關し試験したるに其結果は四鹽化炭素160cc酸化劑80cc及酸化時間12時間とせる場合に於ても亦四鹽化炭素160cc酸化劑50cc及酸化時間8時間とせる場合と殆ど一致せる成績を得たるを以て後法を採れり。本法に要する試藥(四鹽化炭素及酸化劑)の製法を示せば次の如し。

1. 四鹽化炭素 マルクワルト氏は四鹽化炭素を精製するに之をクローム硫酸と共に熱する方法によれるも米國法に於ては次の如く規定せり。即ち四鹽化炭素に其10分1容量の濃硫酸を加へて振盪し一夜間放置したる後酸液を去り水洗し次でナトロン滴液にて洗滌し再び水洗しフェノールフタレインを以て檢するに洗液アルカリ性反應を呈せざるに至りて蒸餾すべし。

2. 酸化劑 重クローム酸カリウム100gを水900ccに溶解し之に濃硫酸100ccを混和すべし。

(3) 靑酸の鑑識並定量

檢體50ccを蒸餾して餾液40ccを取り水を加へて原容に復し之に就き瘻瘡木脂銅反應及硝酸銀反應を檢し陽性反應を呈するものは更に瘻瘡木脂丁幾及硫酸銅溶液を用ひ

比色定量試験を施せり。

(4) ツヨーン及アブシンチンの鑑識

⁽²¹⁾文獻によればアブシント酒は苦艾、茴香及アニス油等を加へて製するリキュールにして之等芳香油類の氣味を具へ水を以て稀釋すれば濁濁を呈す。アブシント油の芳香成分はツヨーン(タンアセトン又アブシントール $C_{10}H_{16}O$)なるテルペンケトンにして苦味成分はアブシンチンなり。而して檢體第16號はアブシントの標記を具へ其氣味も亦之に一致するを以て次の方法に従ひツヨーン及アブシンチンの試験を施行せり。

(イ) ツヨーンの證明法 ⁽²²⁾Roque氏に従ひ檢體 200ccを取り水 20ccを加へて蒸餾し餾液 200ccを得之にアニリン及舍利別狀磷酸各1ccを加へ還流冷却器を附して1時間煮沸し冷後水 20ccを加へて再び蒸餾し餾液 200ccを得之を分液漏斗に移しエーテル 100cc及水400ccを加へて振盪し靜置後エーテル液(約50ccを得べし)を直徑 7 cm 高 5cmの皿に移し95%アルコール10ccを加へ室温にて蒸散せしめ殘液約 5 ccとなるに至り少量のアルコールを加へて溶解しツヨーン反應を検す。即ち上記アルコール溶液に新製10%ニトロプルシットナトリウム溶液 1cc 及10%炭酸ソーダ溶液 0.5ccを加へて振盪し半分間の後強醋酸 1ccを加へ再び振盪すべし。ツヨーン存在に於ては赤色を呈す。

(ロ) アブシンチンの證明法 ⁽²³⁾ドラージェンドルフ、クビツキー氏に従ひ麥酒中苦味質の試験法に準じ次の如く施行せり。

檢體 100ccを取り約半量となるまで蒸發してアルコール分を驅除し殘液に熱時に於て強鹽基性の鉛醋又はアムモニアアルカリ性の鉛醋を加へ復沈澱を起せざるに至り可及的迅速に濾過し濾液に硫酸を加へて過剰の鉛を沈澱せしめ濾過し濾液にアムモニア水を加へて中和し弱醋酸性を呈するに至らしめ之を水浴上にて蒸發せしめ殘液30~25ccとなるに至らば之に4倍容量の無水酒精を混和しよく振盪し冷所に24時間放置したる後アルコール分を餾去し殘液(酸性を呈す)を石油エーテルと共に振盪し石油エーテル液を分取し注意して石油エーテルを蒸散せしめ其殘留物に就き檢するにアブシンチン存在に於ては次の反應を呈す。

1. 濃硫酸を加ふれば褐色を呈して溶解し之を濕潤氣中に放置するときは紫紅色を呈す。

2. 残渣の一部を少量の水に溶解し濾過したる液はアムモニア性銀液を還元しクロール金及ヨードヨード汞カリウムにより沈澱を生じ鞣酸, プロームプロームカリウム, ヨードヨードカリウム, 硝酸亞酸化汞に由ては唯微弱の濁濁を生ずるに過ぎず。

(5) メチールアルコールの鑑識

メチールアルコールは衛生試験所彙報第32號に於て研究報告せる方法に従ひ試験せり。即ち檢體10ccを取り水10ccを加ヘライフ氏改良法に従ひ蒸餾し餾液に就きフクシン亞硫酸反應を検せり。

(6) アセトンの鑑識

アセトンの検査は檢體10ccを取り前記メチールアルコール試験と同様に蒸餾して得たる餾液に就き第6版獨逸藥局方所載純アルコール試験法に従ひ呈色反應を検せり。即ち餾液1ccを小試験管に取り之に15% ナトロン滴液1cc 及ニトロプルシットナトリウム溶液(ニトロプルシットナトリウム1分を水39分に溶解して製す)5滴を加へて振盪するときにはアセトン存在に於ては赤色又は橙赤色を呈す(第1反應)次で之に醋酸(29.7~30.6%) 1.5ccを加ふるときは紅紫色を呈しアセトン微量の場合には葡萄酒赤色を呈す(第2反應)。アセトン不含の場合には第1反應は類黄色を呈し第2反應は帶綠黃褐色を呈す。而して本反應の鋭敏度に關し試験せるに次の如し。

第 四 表

番 號	アセトン水溶液	第 1 反 應	第 2 反 應	備 考
	1/100 (1.0%) 溶液	櫻 實 紅 色	暗 紫 紅 色	
2	1/500 (0.2%) "	帶 黃 赤 色	淡 暗 紫 紅 色	
3	1/1000(0.1%) "	赤 黃 色	帶 紫 暗 褐 色	直に淡褐色となる
4	1/2000(0.05%) "	帶 赤 黃 色	淡 暗 紫 褐 色	瞬時に淡褐色となる
5	含有せざる水	類 黃 色	淡 褐 色	

本反應は同時にアセトン不含の水と對照して行ふに非ざればアセトン微量なる場合は判別し難し。

(7) ビリヂンの鑑識

ビリヂンの検査法中 T. W. Kulikow 及 T. N. Krestowosdwigenskaja⁽²⁴⁾ 兩氏の呈色

反應は甚だ鋭敏(同氏報文によれば 1L 中 0.025mg 即 1 億分 2.5 のピリヂンを検出し得べし)なるを以て小官等は本反應を應用して次の方法により検査を行へり。

試薬1 プロームチアン溶液 10%プローム水40~50ccを取り氷冷しつつ之に10%チアンカリウム溶液を滴加し其液全く無色となるに至らしむ。本試薬は數日間効力を存す。

試薬2 飽和アニリン水 新たに蒸餾して得たる無色アニリンを蒸餾水中に加へ振盪して飽和せしむ。

試験法 檢體50ccを蒸餾コルベンに取り磷酸(1+3) 10滴を加へて蒸餾し餾液約15~20ccを得るに至り(アルコール分大約餾出すべし)蒸餾を中止し殘液を冷却し之に20%ナトロン滴液 1ccを加へて再び蒸餾す。此際餾液を磷酸(1+3)10滴を容れ豫め氷水中に挿入冷却せる試験管中に捕取し約10ccを得るに至らば蒸餾を中止し餾液は能く振盪して瓷皿に移し沸騰重湯煎上にて蒸發し殘液約 3ccとなるに至らば之を小蒸餾コルベンに移し瓷皿は少量の水にて2~3回洗滌し洗液は悉く主液に合し之にナトロン滴液(20%) 1cc及浮石小片2~3箇を加へて蒸餾し餾液 0.5ccを小試験管に取り之れに飽和アニリン水及プロームチアン溶液各 1滴を滴加し其反應を検す。檢體中ピリヂン存在するときは α -Anilinphenyl dihydropyridinbromid を生成し其量の多少により混液黄色~橙黄色を呈し或は赤色の沈澱を生ず。本反應の鋭敏度は前記の如くなりと雖も更に反應状態を鮮明ならしめんが爲めに試験を行ひたるに次の成績を得たり。

第 五 表

番號	檢液中ピリヂンの含有量	試 薬 滴 加 後 反 應 状 態			
		直 後	2 分 後	5 分 後	1 時 間 後
1	含有せざる水	無 色	無 色	無 色	無 色
2	100 萬分 1	殆ど無色	極微黄色	僅微黄色	僅微類褐色
3	50 萬分 1	極微黄色	微黄色	微黄色	微褐色
4	10 萬分 1	淡黄色	淡黄色	黄色	淡褐色
5	5 萬分 1	淡黄色	黄色	濃黄色	帶赤褐色 (赤澱僅微析出)
6	1 萬分 1	黄色	帶赤黄色	帶赤黄色	赤澱析出(微量)
7	1000 分 1	黄色	帶赤黄色	赤澱析出(少量)	

表によりて明かなる如く檢體中ピリヂンの濃度によりて反應の完結に5分~1時間

を要するを以て反應微弱なる場合は試薬滴加後1時間を経過して觀察するを確實なりとす。而して上記試験法によるときは火酒中に含有するピリヂンの幾何量まで検出し得るやを決定せんが爲に次の如き試験を施行せり。但し供試火酒は寶燒酎を以てせり。本品は上記試験法によりピリヂンを検出せざるものなり。即ち本品に5萬分1の割合にピリヂンを混和し其50ccを取り試験せしに試薬滴加後5分にして赤色沈澱を折出せり。依て此處に得たる成績(反應狀態)を前表に對照するときは檢體中に含有するピリヂンの濃度を略々察知するを得べし即前表中本試験の成績に一致する反應を示すピリヂンの濃度は1000分1(0.1%)なり。故に本試験法によるときはピリヂンの濃度を50倍に濃縮し得るものと云ふを得べく従つて檢體中には此處に檢出せる反應に該當する濃度の50分1に相當するピリヂンを含有するものと云ふを得べし。茲に於て更に次表を作製することを得べし。

第 六 表

試薬滴加1時間後に於ける反應の狀態	反應に該當するピリヂンの濃度	可檢品中に含有せらるべきピリヂンの濃度
赤色沈澱少量	1000分1	5萬分1……(1000分1×1/50=5萬分1)
赤色沈澱微量	1萬分1	50萬分1……(1萬分1×1/50=50萬分1)
淡褐色	10萬分1	500萬分1……(10萬分1×1/50=500萬分1)
僅微褐色	50萬分1	2500萬分1……(50萬分1×1/50=2500萬分1)
僅微類褐色	100萬分1	5000萬分1……(100萬分1×1/50=5000萬分1)

(8) タール色素の檢定

可檢品中淡褐色～褐色を呈せるものに對しては之れが試験を省略し特に著明にタール色素の色彩を帯びたるものみに就き試験を施行せり。即第12號は櫻實紅色を呈し第17及18號の2箇は何れも綠色を呈するを以て W. E. Mathewson⁽²⁵⁾ 氏法に従ひアミールアルコール及鹽酸による分離法等を應用し可及的純粹に分離せる色素を用ひて染色せる羊毛布に對する各試薬の反應或は色素溶液に對する還元又は酸化等の關係を檢せり。

試験成績並考察

1. 比重並アルコール含量

第七表

検體 番號	比 重	ア ル コ ホ ル 含 量			検體 番號	比 重	ア ル コ ホ ル 含 量		
		100cc中の グラム量	重量%	容量%			100cc中の グラム量	重量%	容量%
1	0.9506	32.28	33.99	40.68	11	0.9547	30.70	32.18	38.68
2	0.9721	33.68	34.67	42.44	12	1.1303	19.56	17.32	24.64
3	0.9469	34.52	33.49	43.51	13	1.0245	30.40	29.70	38.31
4	0.9459	35.08	37.12	44.21	14	1.0699	33.12	30.98	41.72
5	0.9461	33.40	35.33	42.00	15	1.0969	24.81	22.66	31.31
6	0.9472	33.63	35.59	42.44	16	0.8931	53.12	59.33	66.94
7	0.9799	21.23	21.74	23.82	17	1.2340	23.04	20.62	29.04
8	0.9764	36.10	37.00	45.49	18	1.1474	20.04	17.47	25.25
9	0.9573	34.70	36.23	43.73	19	1.1323	23.80	21.03	29.99
10	0.9472	34.70	33.67	43.73					

獨逸火酒專賣法によれば其酒精含量はアラック、ラム及果實火酒類は38容量%以上、
 其他の火酒類は32容量%以上を含有すべきを制定せり。但しリキュールに對しては特に
 除外例を設け卵及チョコレートリキュールは20容量%以上、カカオ、茶及珈琲リキュ
 ール並に瑞典ブンシュは25容量%以上其他は苦味リキュールと共に30容量%以上を
 含有すべきを規定し且つリキュールは一般にエキス分20%以上を含有する甘味火酒とせ
 られたり。今該規定を検品中各火酒類に適用すれば第6、12及18號は何れも其酒精含量
 不足にして第17及19號は殆ど限界量に達するを以て問題とするに足らざるべし。其他
 は何れも適合す。而して酒精含量餘りに低きものは贗造又は變敗酒と認むべきものと
 せらる。

2. フーゼル油附アルデヒード

フーゼル油定性試験の結果各検品は何れも陽性反應を呈したるを以て更に定量試験
 を施行せり。而して第8號検品は比較的少量のフーゼル油を含有し第17及18號の2箇
 は少量の薄荷油を第16號は少量の揮發油を含有するを以て特に酸化法を併試せり。然
 るに第8、17及18號は共にリヨーゼ氏法よりも低き値を得たり。之れ其含有する薄荷油又
 は其他の不飽化性揮發油を共存するによるものなるべし。又第16號はリヨーゼ氏法よ
 りも著しく少量検出せるは本検體中の揮發油は酸化によりて種々の酸類を化生するに

基因するものと認むるを得べし。随つて本檢體は寧ろリョーゼ氏法を採用するを可とするものの如し。各檢體中フーゼル油並アルデヒード含量次の如し。

第 八 表

檢體 番號	フーゼル油容量%		アルコールに對する フーゼル油の容量%		アルデヒード
	リョーゼ氏法	酸化法	リョーゼ氏法	酸化法	
1	0.056	—	0.133	—	—
2	0.167	—	0.393	—	—
3	0.193	—	0.451	—	—
4	微量	—	—	—	—
5	0.217	—	0.516	—	—
6	0.114	—	0.269	—	—
7	微量	—	—	—	—
8	0.345	0.308	0.758	0.677	5.03
9	微量	—	—	—	—
10	0.057	—	0.130	—	—
11	0.132	—	0.341	—	—
12	微量	—	—	—	—
13	0.277	—	0.723	—	—
14	0.076	—	0.182	—	—
15	0.014	—	0.015	—	—
16	0.184	0.283	0.274	0.423	5.23
17	0.210	0.136	0.723	0.468	0.41
18	0.124	0.104	0.491	0.412	5.40
19	0.068	—	0.220	—	—

酒精中不純物たるフーゼル油は可及的微量なるを可とし酒精分に對し 0.6 容量%を超過するものは排斥すべしとせらる。今此限界量に従へば第8,13及17號の3箇は不良品と認めざるを得ず。尙ほ酸化法に従ひフーゼル油定量に際し同時に測定し得たる4箇檢體中のアルデヒード含量は之等火酒類中の含量としては比較的少量の部に屬すべし。

3. 青 酸

青酸の試験は石果酒と認むべき第12號及第13號の2箇のみに就きて之を施行せり。定性試験の結果兩者共に其存在を認めたるを以て更に比色定量試験を行ひたるに其成績

次の如し。

第 12 號 1.8mg (1L中)

第 13 號 2.4mg (1L中)

而して石果火酒中の青酸含量はケーニツヒ氏によれば左の如し。(100g中mg量)

	遊離青酸	結合青酸
櫻實火酒	0.2~7.5	0~7.3
梅實火酒	0~1.3	0~3.2

是に依て觀れば第12及13號中の青酸含量は極めて微量と云ふべく衛生上論するに足らざるべし。

4. ツョーン及アブシンチン

前述の如く檢體第16號はアブシント酒の標記を有し其内容は帶綠褐色澄明にしてアブシントの氣味を具へ水を以て稀釋すれば濁濁を呈す。之れ1910年發布瑞西國アブシント酒取締規則中に規定せる性狀に一致する所にしてアブシント酒たるは疑ひなき所なるも尙ほ之に就きツョーン及アブシンチンの試験を施したるにツョーンの反應は陰性を呈せり。但し本反應試験に用ふる試薬中ニトロプルシットナトリウム溶液も亦類赤色を呈するを以て反應物質稍多量に含有するにあらざれば明瞭に鑑別し難きを思惟せしめたり。次にアブシンチン反應中第1の濃硫酸反應は微弱なるも最初淡褐色を呈し長く放置するときは類赤色を呈せり。第2の諸反應は何れも不明に終れり。

之を要するに檢體第16號はツョーン及アブシンチンの存在を確實に鑑識し得ざりしと雖も其氣味等に徴しアブシント酒なるを認めざるを得ず。

アブシント酒の製造に供する苦艾中には0.5~2%の揮發油(アブシント油)を含有し該揮發油は麻醉性を有し痙攣を起す。又アブシント含有の酒精性飲料を永く濫用するときは慢性中毒に陥り癲癇様發作を來すと云ふ。斯くの如きを以てアブシント酒は瑞西に於ては既に1910年7月24日及同年10月5日の發令により其發賣を禁止し佛國及白國も亦之が販賣を禁止せりと聞く。而して獨逸に於ては1923年4月27日の發令により(1)アブシントと稱する火酒及之に類する製品又は之等の飲料の製造に供する原料物質(エッセンス, エキス)の輸入, 製造, 廣告, 販賣又は販賣の目的を以て貯藏陳列す

備考 表中「呈色せず」と記せるはメチールアルコールに基因する反應を呈せざるの意味にして溶液全く無色なることを示すものに非ず。

以上の試験成績に據れば硫酸 1 cc 添加の場合檢液 0.1 cc に於て 2 時間經過後微藍乃至淡藍色を呈するものは第 15, 18 及 19 號にして第 16 及 17 號は淡紫藍色を呈し檢液 0.2 cc 及 0.3 cc に於ては第 1, 2, 10, 15, 18 及 19 號は微藍乃至淡藍色, 第 16 及 17 號は淡紫藍乃至紫藍色を呈し其他の檢體は何れも呈色せず。次に硫酸 2 cc 添加の場合を觀るに第 16 及 17 號の 2 箇のみ呈色し其他は何れも無色となれり。是を以て觀れば第 1, 2, 15, 18 及 19 號の 5 箇檢體は痕跡乃至 0.05% 未滿のメチールアルコール含有の疑を存し檢體第 16 及 17 號の 2 箇はメチールアルコール 0.1% 未滿程度の反應に該當す。今假りに之を各箇檢體中のアルコール含量に對する容量%に換算すれば第 1 及 2 號は 0.12%, 第 15 號は 0.16%, 第 18 號は 0.2%, 第 19 號は 0.17%, 第 16 號は 0.15%, 第 17 號は 0.34% に相當す。然るに後文ピリヂンの項に於て記述する如く變性火酒の場合にはメチールアルコールの含量は 2% に達するものの如く且つ之等の檢體中には特種の芳香揮發性分を含有するを以て此等の揮發性成分がメチールアルコールの類似反應を呈するやも計り難く而かも前掲の反應をメチールアルコールのみに因るものと假定するも尙ほ前記の含量なるを以て故意にメチールアルコールを添加し或は之を以て變性せる火酒若くは酒精を使用せるものと認め難く寧ろ各火酒製造の際天然に化生せるものと認むるを妥當とすべし。而して檢體第 16 號はアプシント酒又第 17 號は薄荷を含有するものと認めたるを以て苦艾丁幾及薄荷精を調製し之等に就きメチールアルコールの試験を行ひ以て類似反應を呈するや否やを檢せるに次の成績を得たり。

苦艾丁幾及薄荷精中メチールアルコールの有無檢定試験

苦艾丁幾は當所藥用植物栽培試験圃場(埼玉縣粕壁)に於て栽培せる生藥苦艾草を細切したるもの 5 分に 70 容量%酒精 100 分を加へて 7 日間室溫にて浸出したる後濾過して得たる帶綠褐色の澄明液に付又薄荷精はメチールアルコールを含有せざる日本藥局方酒精に 5% の割合に薄荷油を混和して製したる溶液に付何れも 10 cc を取り水 10 cc を加へてライフ氏改良法により蒸餾し其餾液に就き前記の方法により試験を行ひたるに其成績次の如し。

第十表

	供試量 cc	濃硫酸 1 cc 添加				濃硫酸 2 cc 添加			
		10分後	20分後	1時間後	2時間後	10分後	20分後	1時間後	2時間後
苦艾丁幾	0.1	極微藍	呈色せず	呈色せず	呈色せず	—	—	—	—
	0.2	僅微藍	極微藍	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず
	0.3	微藍	微藍	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず
薄荷精	0.1	極微藍	微藍	微藍	微藍	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず
	0.2	淡藍	淡藍	淡藍	淡紫藍	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず
	0.3	淡藍	帶紫藍	紫藍	帶藍紫	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず

前記試験成績に徴すれば苦艾丁幾は類似反應を呈せず。薄荷精は濃硫酸1cc添加の場合には微に類似反應を呈するも硫酸2cc添加によりて消失するを認めたり。然るに檢體第16及17號中には之等成分以外に不明の揮發性成分を含有するやも保し難く従つて毫も類似反應を呈する事なしと斷ずるを得ずと雖も前述の如く兩檢體の反應は恐らく其製造の際自然に化生せる微量のメチールアルコールに因るものと思料す。

前記の如く第1, 2, 5, 18及19號の5箇は極微量のメチールアルコール含有の疑を有し第16及17號の2箇は0.1%未滿に相當する反應を示せるも之等檢體に付現行メチールアルコール試験法に従ひ其確定試験を施行するときは何れも陰性の結果に終るべきは從來の經驗に徴し明瞭なる所にして斯く製造の際天然に化生せるものと認むべき微量のメチールアルコールに對しては衛生上特に論難するに及ばざるべきを思考す。

6. アセトン

試験の結果各品何れも第1及第2反應共に陽性の反應を認めざりき。

7. ピリジン

前記 T. W. Kulikow 及 T. N. Krestowosdwegenska^a 兩氏の方法に従ひ試験を行ひ反應の狀況を觀察したるに1時間後に於ける成績次の如し。

第十一表

檢體 番號	反應狀況								
1	微褐色	2	極微褐色	3	無色	4	無色	5	黃色

6	淡 褐 色	9	殆 無 色	12	無 色	15	殆 無 色	18	無 色
7	淡 帶 褐 黄 色	10	"	13	"	16	無 色	19	"
8	殆 無 色	11	無 色	14	殆 無 色	17	"		

前記成績によれば1時間後に於てピリヂンの類似反應を呈せるものは檢體第1, 2, 6及7號の4箇にして其呈色程度よりすれば第6號は500萬分1, 第1號は2500萬分1に略相當し其他は之等に比し尙ほ遙かに微量なり。而して獨逸に於ける火酒課税免除規則に規定せる火酒變性藥は木精4容積及ピリヂン1容積より成る混合物にして其2.5Lを變性すべき火酒100Lに加ふべきを制定し其變性藥1Lに付ラヘンデル油或は迷迭香油50gを混和することを得とせらる。右規則によれば普通の變性藥として使用せらるる量は火酒100L中木精2L(内アセトン0.5L)ピリヂン0.5Lなるを以て其含有%量は木精2%ピリヂン0.5%に相當す。故に若し檢體にして工業上等飲用以外の目的に使用せんが爲め上記變性藥を以て變性せる火酒なるときは本試験法により著量赤色沈澱を生ずべき理にして之等變性火酒を0.1%の割合に添加せる場合(ピリヂンの含有量は20萬分1に相當す)に在りても尙ほ且つ微量の赤色沈澱を生ずべき理なり。且つ火酒中には往々天然に極微量のピリヂンを含有するとあるは成書の示す所なるを以て前記4箇の檢體はピリヂンを以て變性せる火酒又は酒精を混和せるものと認め難く前掲の反應を以てピリヂンに基因するとなすも斯くの如き極微量の存在は衛生上顧慮するを要せざるべし。

8. タール色素

W. E. Mathewson 氏法に従ひ試験の結果第15號はコヘニールを又第17及18號はリヒトグリュン S.F. を含有することを檢明し得たり。而して之等の色素は何れも無害性色素として認めらるゝものなり。

總 括

前記試験成績並に考察に基き總括すること次の如し。

1. 檢品の比重はリキュールを除きたる火酒11箇にありては最低0.9459最高0.9799を示しリキュール8箇中最低0.8961最高1.1474に及べり。
2. 酒精含量はリキュール以外の火酒に在りては最低26.82 最高45.49リキュールは最低24.64 最高66.94 容量%を示せり。

3. 検品中第8, 13及17號の3箇はフーゼル油の含量酒精分に對し0.6容量%を超過し不良品と認めざるを得ず。
4. 検品第16號はアブシント酒と認むべく之れが衛生上有害なること竝に歐洲諸國に於ける取締狀況は叙上の如くなるを以て本邦に於ても亦本品の販賣は之を禁止すべきものと思料す。
5. 検品中有害成分として前掲の外極微量のメチールアルコール, ビリヂン竝に青酸を含有せるものあるも之等火酒類の殆ど常成分と見做すべき程度に過ぎざるを以て衛生上特に指摘するに足らざるべし。
6. 檢體中タール色素を以て著色せるもの2箇動物性色素を使用せるもの1箇を検出せり。而して之等の色素は何れも無害性色素に屬す。

引 用 文 獻

- (1) Technische Bestimmungen zum Gesetze über das Brantweinmonopol, Zentralbl. f. d. Deutsche Reich, 1919, 47, 1547; Gesetze u. Verordnung 1921, 13, 23.
- (2) Hefeman, Pharm. Zentralh., 1896, 37, 683.
- (3) F. Zetzche, Pharm. Zentralh., 1903, 44, 163; Zeitschr. f. Untersuchung d. Nahrungs- u. Genussmittel, 1904, 7, 567.
- (4) E. A. Mann, Zeitschr. f. Untersuchung d. Nahrungs- u. Genutssmittel, 1906, 12, 435.
- (5) Thorpe & Holme, Journ. chem. Soc., 1903, 83, 314.
- (6) Gäbel, Chem. Zentralbl., 1831, 64; Deutsches Arzneib. V. Ausg. S. 40.
- (7) Uffermann, Archiv f. Hygiene, 1886, 4, 229; Chem. Zentralbl. 1886, 745; Zeitschr. f. Analyt. Chem., 1888, 27, 99.
- (8) Marquardt B. d. Deutsch. Chem. Gesellschaft, 1832, 1370, 1661.
- (9) Komarowsky, Cham. Zeitg., 1903, 27, 803, 1036; Chem. Zentralb., 1903, 11, 742.
- (10) Röse, J. König, Chem. Nahrungs- u. Genussmittel 3 Bd. 3 Teil, S. 341.
- (11) E. Beckmann, Zeitschr. f. Untersuchung d. Nahrungs- u. Genussmittel, 1899, 2, 709; 1901, 4, 1059; 1905, 10, 143.
- (12) Ch. Girard, J. König, Chem. Nahrungs- u. Genussmittel 3 Bd. 1 Teil, 536.
- (13) L. Marquardt, B. d. Deutschen Chem. Gesellschaft 1832, 1370, 1661.
- (14) Stutzer u. Reitmair, Zeitschr. f. Analyt. Chem., 1892, 31, Anhang 2.
- (15) Anlage zu S 5 der Alkohollieferungsordnung, Zeitschr. f. Untersuchung d. Nahrungs- u. Genussmittel, 1901, 4, 186.
- (16) Plücker, Zeitschr. f. Untersuchung d. Nahrungs- u. Genussmittel, 1909, 17, 454.

- (18) 西崎博士, 藥學雜誌, 301號 221頁 (明治40年)
- (19) E. Rieter, Zeitschr. f. Analyt. Chem., 1897, 26, 403.
- (20) Lieben, Zeitschr. f. Analyt. Chem., 9, 235; Chem. Zentralb., 1870, 66.
- (21) Chem. Zentralb. (79), 1903, III, 449.
- (22) X. Roques, Zeitschr. f. Nahrungs- u. Genussmittel Untersuchung, 17, 1909, 237.
- (23) Dragendorff-Kulicki, G. Baumert, Gerichtliche Chemie, 2 Aufl. S. 422.
- (24) T. W. Kulikow u. T. N. Krestowosdwigenskaja, Zeitschr. f. Analyt. Chem., 79, 42, 19, 1930.
- (25) W. E. Mathewson, Separation and identification of food coloring substances, U. S. Dept. Agr. Bul. 443, 1917.

昭和六年十二月

火酒試験成績報告 (第二報)

技 師 衣 笠 豊
 技 手 坪 井 祿 平
 助 手 神 谷 正 夫

本年八月衛生局より第2回送附の火酒類に就き試験を施行したるに次の成績を得たるを以て茲に之を報告す。

試験材料

供試品は警視廳に於て収去せるものに係り合計19種49個を算す。各種共硝子壺に容れたるものにして其内容約200ccなり。今各檢品の外觀及氣味等を記すれば次の如し

第一表

檢證番號	名 稱	外 觀	氣 味	收 去 先
1	琉 球 泡 盛	殆 無 色 澄 明	固有の氣味あり	○ 村 ○ 次 郎
2	燒 酎	"	"	○ 崎 ○ 太 郎
3	"	無 色 澄 明	"	○ 田 洋 酒 店
4	"	"	"	○ 酒 造 株 式 會 社
5	" (粕入)	"	"	"
6	旭 燒 酎	殆 無 色 澄 明	"	○ 谷 巴 一
7	ジ ン	無 色 澄 明	"	○ 田 商 店
8	"	"	"	○ 田 洋 酒 店
9	"	"	"	○ 藤 ○ 男 商 店
10	"	殆 無 色 澄 明	"	○ ○ ○ ボ ル ド 商 行
11	40 ウ オ ッ カ	無 色 澄 明	"	○ 田 商 店
12	ウ オ ッ カ	"	"	○ 谷 巴 一
13	ラ ム	淡 黄 褐 色 澄 明	"	○ ○ ○ ボ ル ド 商 行
14	ウ キ ス キ ー	淡 褐 色 澄 明	"	○ 見 屋
15	"	"	"	○ 崎 ○ 太 郎
16	"	"	"	○ 田 商 店

17	ウキスキー	淡褐色澄明	固有の氣味あり	○ 田 洋 酒 店
18	"	淡帯赤褐色澄明	"	○ 藤 ○ 男 商 店
19	"	淡褐色澄明	"	○ 酒 造 株 式 會 社
20	"	"	"	○ 谷 べ ー
21	"	"	"	"
22	" 1號(古酒)	"	"	○○○ボルド商行
23	" 2號(新酒)	"	"	"
24	ブランデー(約48度)	赤褐色澄明	"	○ 崎 ○ 太 郎
25	"	褐色澄明	"	○ 田 洋 酒 店
26	"	淡褐色澄明	"	○ 藤 ○ 男 商 店
27	"	"	"	○ 酒 造 株 式 會 社
28	電氣ブランデー	暗赤褐色澄明	特異の氣味あり	○ 谷 べ ー
29	ブランデー	淡褐色澄明	固有の氣味あり	"
30	"	"	"	○○○ボルド商行
31	興奮ブランデー	褐色澄明	特異の氣味あり	"
32	カクテル	赤褐色澄明	固有の氣味あり	○ 酒 造 株 式 會 社
33	シェリー	淡褐色澄明	特異の氣味あり	○ 谷 べ ー
34	ベルモット	赤褐色澄明	"	○ 酒 造 株 式 會 社
35	"	暗褐色澄明	"	○ 谷 べ ー
36	アブシント	淡綠色澄明	アブシント固有の氣味及性状を有す	○ 田 商 店
37	"	淡黄褐色澄明	"	○ 田 洋 酒 店
38	"	綠黄色澄明	"	○ 藤 ○ 男 商 店
39	キュラソー	赤褐色澄明	甘味強し	○ 酒 造 株 式 會 社
40	"	"	"	○ 田 洋 酒 店
41	マングリン	赤色澄明	"	○ 藤 ○ 男 商 店
42	"	淡赤色澄明	"	○ 谷 べ ー
43	ペパーミント	綠色澄明	薄荷の香氣及甘味を有す	○ 田 洋 酒 店
44	"	"	"	○ 酒 造 株 式 會 社
45	チェリーブランデー	赤色澄明	エステル様芳香及甘味を有す	○ 田 洋 酒 店
46	紫蘇酒	淡紫紅色澄明	甘味強し	○ 谷 べ ー
47	直し酒	微黄色澄明	"	"
48	龜の年	"	"	"
49	マラスクイーン	無色澄明	"	○ 酒 造 株 式 會 社

尙檢品を其種類により分別すれば次の如し

第 二 表

リキュール以外の火酒				リキュール又は之に準すべきもの																		
名	稱	箇數	名	稱	箇數	名	稱	箇數														
泡	盛	1	ウ	オ	ッ	カ	2	キ	ュ	ラ	ソ	ー	2	ベ	ル	モ	ッ	ト	2			
燒	酎	5	ラ			ム	1	マ	ン	ダ	リ	ン	2	ア	ブ	シ	ン	ト	3			
ジ	ン	4	ウ	キ	ス	キ	ー	10	ベ	バ	ー	ミ	ン	ト	2	シ	ェ	リ	ー	酒	1	
ブ	ラ	ン	デ	ー	8				チ	ェ	リ	ー	ブ	ラ	ン	デ	ー	1	其		他	3
カ	ク	テ	ル	1					紫	蘇	酒	1										

試 験 範 圍

今回の試験に於ける主なる目的はアルコールの定量にありたるも更に比重、メチルアルコール、アセトン及ピリヂン等を試験せり。フーゼル油其他の物質の検査は検體少量なる爲到底其目的を達し得ざるべきを以て之を除外し有色酒に就き極めて大略的にタール色素の存否を検せり。

試 験 方 法

試験方法は各成分共に囊に報告せる火酒の検査に於て施行せし方法に専ら準據したるを以て此所に反覆記述するの煩を避け試験成績のみを記するに止めたり。

試 験 成 績

1. 比重及アルコール

第 三 表

檢體 番號	比 重	ア ル コ ホ ル 含 量			檢體 番號	比 重	ア ル コ ホ ル 含 量		
		100cc 中 のグラム 量	容量%	重量%			100cc 中 のグラム 量	容量%	重量%
1	0.9445	3.376	42.55	35.74	8	0.9351	39.68	50.00	42.47
2	0.9430	35.03	44.21	37.23	9	0.9418	39.96	50.36	42.33
3	0.9141	33.96	42.80	36.00	10	0.9430	35.08	44.21	37.23
4	0.9659	23.36	29.44	24.21	11	0.9409	37.08	46.72	39.44
5	0.9381	23.82	30.02	23.04	12	0.9457	34.24	43.15	36.24
6	0.9518	31.20	33.31	32.51	13	0.9427	33.52	46.02	38.77
7	0.9544	30.40	38.31	31.83	14	0.9330	39.70	50.03	42.45

15	0.9350	39.68	50.00	42.47	33	1.0013	17.40	21.93	17.37
16	0.9346	33.52	46.02	39.11	34	1.0431	17.40	21.93	16.70
17	0.9333	40.23	50.76	43.03	35	1.0468	13.40	16.89	12.81
18	0.9452	35.08	44.21	37.14	36	0.9018	51.24	64.56	56.87
19	0.9534	31.48	39.57	33.04	37	0.9123	54.72	63.95	60.00
20	0.9456	34.21	43.15	33.24	33	0.5923	56.32	70.97	63.17
21	0.9537	31.64	38.61	32.15	33	1.1502	16.44	20.71	14.30
22	0.9477	35.08	44.21	37.05	40	1.1518	15.24	19.20	13.24
23	0.9328	40.56	51.09	43.52	41	1.1446	18.12	22.84	15.84
24	0.9381	38.52	48.54	41.09	42	1.0747	24.03	30.34	22.43
25	0.9613	25.83	32.62	23.94	43	1.1500	15.48	19.51	13.47
26	0.9525	27.44	34.58	23.83	44	1.1293	13.60	17.14	12.05
27	0.9354	42.15	53.11	39.40	45	1.0603	21.28	23.82	23.10
28	0.9850	26.12	32.92	23.54	46	1.0001	23.32	29.39	23.34
29	0.9540	30.64	33.61	32.14	47	0.9904	22.56	23.44	22.80
30	0.9356	39.68	50.00	42.45	43	1.0320	24.56	30.95	23.82
31	0.9778	26.92	33.93	27.55	49	1.0856	24.56	30.95	22.64
32	0.9822	25.88	32.62	26.37					

前記 49 箇の檢體中第 1 ~ 32 號迄は其比重何れも 1 未滿を有しエキス分少き蒸餾火酒に屬すべきものにして其酒精含量最低 29.44 最高 53.11 容量%を示し第 33 ~ 49 號はリキュール又は之に準すべき火酒に屬し其比重はアブシント酒及其他の 1 種を除き何れも 1 以上を有し其酒精含量はアブシント酒を除き最低 16.89 最高 33.93 容量%を示しアブシント酒は 64.56 ~ 70.97 容量%に及べり。

2. メチールアルコール

第 四 表

檢體 番號	供試 量cc	硫酸添加量		檢體 番號	供試 量cc	硫酸添加量		檢體 番號	供試 量cc	硫酸添加量	
		1cc	2cc			1cc	2cc			1cc	2cc
1	0.1	呈色せず	—	2	0.2	呈色せず	—	4	0.3	紫 藍	呈色せず
	0.2	呈色せず	—		0.3	極微 藍	—		0.1	微 藍	呈色せず
	0.3	呈色せず	—	3	0.1	紫 藍	呈色せず		0.2	淡 藍	呈色せず
0.1	呈色せず	—	0.2		紫 藍	呈色せず	0.3		淡 藍	呈色せず	

5	0.1	微 藍	呈色せず	17	0.3	呈色せず	—	28	0.2	淡 藍	呈色せず
	0.2	淡 藍	呈色せず		0.1	呈色せず	—		0.3	淡 藍	呈色せず
	0.3	淡 藍	呈色せず		0.2	呈色せず	—		0.1	微 藍	呈色せず
6	0.1	淡 藍	呈色せず	18	0.3	呈色せず	—	29	0.2	淡 藍	呈色せず
	0.2	淡 藍	呈色せず		0.1	呈色せず	—		0.3	淡 藍	呈色せず
	0.3	淡 藍	呈色せず		0.2	呈色せず	—		0.1	呈色せず	—
7	0.1	呈色せず	—	19	0.3	極微紫藍	—	30	0.2	呈色せず	—
	0.2	呈色せず	—		0.1	呈色せず	—		0.3	呈色せず	—
	0.3	呈色せず	—		0.2	呈色せず	—		0.1	呈色せず	—
8	0.1	呈色せず	—	20	0.3	呈色せず	—	31	0.2	呈色せず	—
	0.2	呈色せず	—		0.1	呈色せず	—		0.3	呈色せず	—
	0.3	呈色せず	—		0.2	呈色せず	—		0.1	呈色せず	—
9	0.1	呈色せず	—	21	0.3	微 藍	—	32	0.2	呈色せず	—
	0.2	呈色せず	—		0.1	微 藍	呈色せず		0.3	極微藍	—
	0.3	呈色せず	—		0.2	淡 藍	呈色せず		0.1	呈色せず	—
10	0.1	呈色せず	—	22	0.3	淡 藍	呈色せず	33	0.2	微 藍	呈色せず
	0.2	極微藍	—		0.1	呈色せず	—		0.3	微 藍	呈色せず
	0.3	極微藍	—		0.2	呈色せず	—		0.1	呈色せず	—
11	0.1	呈色せず	—	23	0.3	呈色せず	—	34	0.2	呈色せず	—
	0.2	呈色せず	—		0.1	呈色せず	—		0.3	極微藍	—
	0.3	呈色せず	—		0.2	呈色せず	—		0.1	淡 藍	呈色せず
12	0.1	藍	呈色せず	24	0.3	極微藍	—	35	0.2	淡 藍	呈色せず
	0.2	紫 藍	呈色せず		0.1	紫 藍	微紫藍		0.3	淡 藍	呈色せず
	0.3	紫 藍	呈色せず		0.2	紫 藍	淡紫藍		0.1	呈色せず	—
13	0.1	呈色せず	—	25	0.3	紫 藍	淡紫藍	36	0.2	微 藍	呈色せず
	0.2	極微紫藍	—		0.1	呈色せず	—		0.3	淡 藍	呈色せず
	0.3	極微紫藍	—		0.2	呈色せず	—		0.1	呈色せず	—
14	0.1	呈色せず	—	26	0.3	呈色せず	—	37	0.2	呈色せず	—
	0.2	呈色せず	—		0.1	呈色せず	—		0.3	極微藍	—
	0.3	呈色せず	—		0.2	微 藍	呈色せず		0.1	呈色せず	—
15	0.1	呈色せず	—	27	0.3	微 藍	呈色せず	38	0.2	呈色せず	—
	0.2	呈色せず	—		0.1	呈色せず	—		0.3	極微藍	—
	0.3	極微紫藍	—		0.2	呈色せず	—		0.1	呈色せず	—
16	0.1	呈色せず	—	28	0.3	呈色せず	—	39	0.2	呈色せず	—
	0.2	呈色せず	—		0.1	微 藍	呈色せず		0.3	呈色せず	—

40	0.1	呈色せず	—	44	0.1	呈色せず	—	47	0.1	微 藍	呈色せず
	0.2	呈色せず	—		0.2	呈色せず	—		0.2	微 藍	呈色せず
	0.3	呈色せず	—		0.3	呈色せず	—		0.3	微 藍	呈色せず
41	0.1	呈色せず	—	45	0.1	呈色せず	—	48	0.1	呈色せず	—
	0.2	呈色せず	—		0.2	呈色せず	—		0.2	呈色せず	—
	0.3	呈色せず	—		0.3	呈色せず	—		0.3	極微藍	—
42	0.1	微 藍	微紫藍	46	0.1	淡 藍	呈色せず	49	0.1	呈色せず	—
	0.2	淡 藍	淡帯紫藍		0.2	紫 藍	呈色せず		0.2	極微藍	—
	0.3	淡 藍	淡帯紫藍		0.3	紫 藍	呈色せず		0.3	極微藍	—
43	0.1	呈色せず	—								
	0.2	呈色せず	—								
	0.3	呈色せず	—								

備考 表中「呈色せず」と記せるはメチールアルコールに基因する反應を呈せざるの意味にして溶液全く無色なることを示すものに非ず。

以上の試験成績に據れば硫酸 1cc 添加の場合餾液 0.1cc に於て 2 時間經過後微藍色～淡藍色を呈するものは第 4, 5, 6, 12, 21, 28, 29, 35, 42, 46 及 47 號の 8 種 11 箇にして紫藍色を呈するものは第 3 號及 24 號の 2 種 2 箇なり。又餾液 0.2cc 及 0.3cc に於て微藍～淡藍色を呈するものは第 4, 5, 6, 20, 21, 26, 28, 29, 33, 35, 36, 42 及 47 號の 8 種 13 箇又淡紫藍～紫藍色を呈するものは第 3, 12, 24 及 46 號の 4 種 4 箇なり。次に硫酸 2cc 添加の場合を觀るに第 24 及 42 號の 2 種 2 箇のみ呈色し其他は何れも無色となれり。依て第 20, 26, 33 及 36 號の 4 種 4 箇檢體は痕跡程度第 4, 5, 6, 12, 21, 28, 29, 35, 46 及 47 號の 7 種 10 箇は痕跡乃至 0.05% 未滿又第 24 及 42 號の 2 種 2 箇は 0.1% 未滿のメチールアルコールの反應を呈せり。

3. アセトン

第 五 表

檢體 番號	第1反應	第2反應									
1	黄 色	淡帯緑褐色	6	黄 色	淡帯緑褐色	11	橙黄色	淡帯緑褐色	16	黄 色	淡帯緑褐色
2	"	"	7	"	"	12	黄 色	"	17	橙黄色	"
3	"	"	8	"	"	13	"	"	18	"	"
4	"	"	9	"	"	14	"	"	19	黄 色	"
5	"	"	10	"	"	15	"	"	20	"	"

21	黄色	淡帶緑褐色	29	黄色	淡帶緑褐色	37	黄色	淡帶緑褐色	45	微橙黄色	帶緑黄褐色
22	"	"	30	"	"	38	"	"	46	黄色	"
23	橙黄色	"	31	微橙黄色	帶緑黄褐色	39	"	"	47	濃黄色	"
24	橙赤色	淡紫褐色	32	黄色	淡帶緑黄褐色	40	濃黄色	帶緑黄褐色	48	黄色	"
25	黄色	淡黄褐色	33	"	淡帶緑褐色	41	黄色	淡帶緑褐色	49	"	"
26	"	淡綠黄褐色	34	"	"	42	"	"			
27	"	淡帶緑褐色	35	橙黄色	"	43	微橙黄色	"			
28	"	"	36	"	"	44	"	帶緑黄褐色			

以上の成績に據れば檢體第 24 號は第 1 反應橙赤色を第 2 反應淡紫褐色を呈せり。今之を前回報告に於ける第 5 表と對照すればアセトンの含量 1/2000 程度に相當するを以て本檢體中には約 2 萬分 1 程度のアセトン含有の疑あり。爾他の檢體に於ては何れも陰性の反應を示せり。

4. ビリヂン

第 六 表

檢體 番號	反應狀況	檢體 番號	反應狀況	檢體 番號	反應狀況	檢體 番號	反應狀況	檢體 番號	反應狀況	檢體 番號	反應狀況
1	微赤褐色	10	無 色	18	無 色	26	淡赤褐色	34	無 色	42	無 色
2	無 色	11	"	19	殆 無 色	27	無 色	35	"	43	"
3	"	12	"	20	微赤褐色	28	"	36	"	44	"
4	"	13	"	21	無 色	29	"	37	"	45	"
5	"	14	"	22	微黄褐色	30	"	38	"	46	"
6	"	15	"	23	無 色	31	"	39	"	47	"
7	"	16	"	24	微赤褐色	32	"	40	"	48	"
8	"	17	"	25	無 色	33	淡赤褐色	41	"	49	"
9	"										

前記試験成績に據れば 1 時間後に於てビリヂンの類似反應を呈する檢體は第 1, 20, 24, 26 及 33 號の 4 種 5 箇にして其他は陽性の反應を呈せず。而して反應の程度を前回報告に於ける第 7 表に對照し之等檢體中に於けるビリヂンの濃度を推定すれば第 1, 20 及 24 號の 3 箇檢體は 500 萬分 1 程度を又第 26 及 32 號の 2 箇檢品は 250 萬分 1 程度のビリヂンを含有するの疑を存すべし。

5. 着色料

着色料の鑑識は検體少量なりし爲め満足し得べき試験を施すことを得ず只極めて大略的に行へり。殊に検體淡色なるもの或は數種の混合色素を含有するもの、如きものに在りては之を分離検明すること到底不可能の問題なるべきを以て之等の検體に對しては其検索試験を省略せり。而して検體 49 箇中第 13 ~ 46 號の 34 箇は悉く有色酒にして之が試験の成績次の如し。

第 七 表

検體 番號	検 體 色 相	検出せる着色料	検體 番號	検 體 色 相	検出せる着色料	検體 番號	検 體 色 相	検出せる着色料
13	淡 褐 色	カ ラ メ ル ?	25	褐 色	カ ラ メ ル ?	37	淡黄褐色	不明のタール色素を混有す
14	"	カ ラ メ ル	26	淡 褐 色	カ ラ メ ル	33	緑 黄 色	"
15	"	不明のタール色素を混有す	27	"	カ ラ メ ル ?	39	赤 褐 色	カ ラ メ ル ?
16	"	カ ラ メ ル	28	暗赤褐色	"	40	"	不明のタール色素を混有す
17	"	"	29	淡 褐 色	カ ラ メ ル	41	赤 色	不明のタール色素(赤及黄)を混有す
18	淡帯赤褐色	カ ラ メ ル ?	30	"	カ ラ メ ル ?	42	淡 赤 色	クリスタルボンソー及ナフトールエロース
19	淡 褐 色	カ ラ メ ル	31	褐 色	カ ラ メ ル	43	緑 色	リヒトグリユン SF
20	"	"	32	赤 褐 色	"	44	"	"
21	"	カ ラ メ ル ?	33	淡 褐 色	"	45	赤 色	クリスタルボンソー
22	"	カ ラ メ ル	34	赤 褐 色	カ ラ メ ル ?	46	淡紫紅色	不明のタール色素を混有す
23	"	カ ラ メ ル ?	35	暗 褐 色	カ ラ メ ル			
24	赤 褐 色	カ ラ メ ル	36	淡 緑 色	不明のタール色素を混有す			

備考 (1) ? を附したるものはタール色素混有の疑あるものとす。

(2) 第 1 號より第 12 號に至る 12 箇及第 47 ~ 49 號の 3 箇検品は無色又は微黄色なるが故に試験を省略せり。

前記成績に示す如く單にカラメルを以て着色せるものと認むべきもの 5 種 13 箇カラメルの外不明のタール色素を共存する疑あるもの 5 種 10 箇、不明のタール色素を混有するもの 5 種 7 箇竝に含存タール色素を検明し得たるもの 3 種 4 箇を算せり。而して検出せるタール色素は無害性色素に屬す。

總 括

前記試験成績に従ひ總括すること次の如し。

1. 検品の比重はリキュールに準すべきものを除きたる火酒 32 箇(第 1~32 號)に在りては 0.9323~0.9850 を示しアブシント酒(3 箇)は 0.8923~0.9018 其他の準リキュール酒(14 箇)は 0.9822~1.1518 を示せり.
2. 酒精含量は準リキュール以外の火酒に在りては 29.44~53.11 アブシント酒は 64.56~70.97 爾他の準リキュール酒は 16.89~32.62 容量%を示せり.
3. 検品第 24 號は 0.1%未滿のメチールアルコール竝に 2 萬分 1 程度のアセトン反應をも示し尙微にピリヂン反應を呈するを以て之等を綜合すれば不良品と認めざるを得ず.
4. 其他の檢體中極微量のメチールアルコール、アセトン或はピリヂンを含有するものを認むるも衛生上特に指摘するに足らざるべきを思惟す.
5. 検品中タール色素を以て著色せるもの竝に其疑を存するもの、合計 12 箇(約 43%)の多きに及べり. 而して檢明し得たるタール色素(3 箇)は何れも無害性色素に屬せり.

昭和七年一月

食肉腐敗鑑識法の研究 (第一報)

技 師 衣 笠 豊
 技 手 服 部 安 藏
 助 手 須 藤 宏

内 容 目 次

第一章 緒言	(イ) 実施法
第二章 食肉類の腐敗鑑識法に関する従來の研究に就て	(ロ) 試験成績
第三章 食肉腐敗の鑑識法に関する基礎的試験法の研究	(三) 硝石還元試験法
(一) アムモニア及アミノ酸窒素の定量	(四) メチレンブラウ試験法
(甲) アムモニアの定量法	第四章 市販獸肉類の貯藏に依る初期腐敗鑑識試験
A. 減壓蒸餾法	(一) 牛 肉
B. 水蒸氣蒸餾法	(二) 豚 肉
(乙) アミノ酸窒素定量法	(三) 馬 肉
(二) 酸素試験法	第五章 總 括
	引用文献

第一章 緒 言

腐敗飲食物に依る中毒者數は逐年増加の傾向を示し昭和三年度に於ける内務省の調査に據れば其中毒者總數は實に 1934 人にして其中 52 人の死亡者を出せり。是れ國民の保健上誠に憂慮すべき現象にして其中毒原因を究明し之が豫防の對策を講ずることは公衆衛生上焦眉の急務たるを失はず。殊に近時益々隆盛ならんとする傾向を有する各都市の公衆食堂、一般飲食店其他軍隊、工場及寄宿舎等の集團的食品調理の場合に於ける諸材料の新鮮度を適確に試験し危害を未然に防止し得る試験法の完成は緊急の要務たるを信ずるものなり。

小官等は偶々飲食品の腐敗程度鑑識法研究の必要に迫られたるを機とし内外諸多の

文献を渉獵し種々實驗を重ねたる結果先づ獸肉類の試験に關し次の如き成績を得たり。依て之を以て第一報となす。

第二章 食肉類の腐敗鑑識法に關する従來の研究に就て

總ての有機生物質は微生物の作用によりて分解を來たし種々なる階梯を経て順次單純化し遂には水、炭酸、アムモニアの如き炭素、水素、酸素及窒素等の各簡單なる化合物體に變ず。此現象を醱酵及腐敗と稱す。

食品中毒の原因は、(1) 大腸菌或はバラチフス B 菌等の如き細菌直接の作用及之より生ずる毒素に依るもの、(2) 腐敗に因く化學的分解産物たるプトマイン或はフェノール性化合物等に依るもの、(3) 河豚、生梅、菌蕈類等の如き特種の動植物性食品中に含有する有毒成分によるものと更に(4) 食器等より飲食物中に移入せる有毒性金屬化合物竝に著色料等に由るもの、4 種に大別し得べし。而して變色、嫌惡すべき惡臭等の如き外觀、嗅覺により明かに腐敗の徵候を認め得べきものは既に食品としての價値を失ひ之を誤つて食膳に供する機會も比較的少なきを以て衛生上大なる危険を伴はざるべきも外觀、臭氣等によりては未だ腐敗の判定を下し能はざる場合に於て既に腐敗進行中のものは中毒の危険最も大にして衛生上重大なる意義を有するものなり。

斯の如き腐敗進行の初期を鑑識するに最も確實なる方法は其變化の状態を細菌學的に培養法を行ひ菌數によりて判斷するとは理想とするところなるも繁雜なる手數と多くの時間を要し到底實際的に應用し難し。之に反し化學的鑑識法は極めて容易に施行し得べきを以て夙に之が研究に志せし學者少からず。而して肉類の進行せる腐敗に對しては之を化學的に鑑識すること比較的困難ならず。即ち Richardson & Scherübel⁽¹⁾ 氏等の研究に従へば肉類の著しき分解の場合には其凝固性物質中の窒素量約 50% を増加し之に反し總窒素、アルブモゼン及乳酸の量は著しく低減す。又腐敗肉類のラクトムスに對するアルカリ性反應、獨逸飲食物化學者協定試験法⁽²⁾ に於けるが如く肉類の腐敗産物たるインドール、スカトール、フェノール類及芳香屬オキシ酸類試験或は瑞西飲食物化學者の方法⁽³⁾ に従ひプトマインの檢索によりて腐敗肉たることを鑑定し得べし。此等の方法は既に著しき腐敗臭を發散し外觀的に腐敗の徵候を識別し得べきものに對してのみ有効にして感覺的檢査によりて識別不能なる初期腐敗の鑑識法と

しては殆ど價値なかりき。

腐敗の徴候として感覺的に最も一般に認め得らるゝものは1種の嫌惡すべき異臭にして之は主としてアムモニア、硫化水素、オキシ酸類、インドール、スカトール等に起因し就中アムモニアは腐敗の初期に於ても比較的多量發生するを以て此アムモニアの試験によりて初期腐敗の鑑別を企圖するもの多かりき即ち Eber⁽⁴⁾氏は既に1891年に検肉より發生するアムモニアを鹽酸に作用せしめ生起する礫砂の白霧によりて腐敗の程度を鑑識し得べきことを報告せり。之に對し Glage⁽⁵⁾氏はアムモニアの化生は腐敗の表徴とするに足らずと反駁せられたり。

Mai⁽⁶⁾氏は検肉中のアムモニアを定量し其絶對的含量によりて腐敗の初期を推定することは到底不可能なるも食肉中の總窒素とアムモニア含量との比によりて比較的よく腐敗の程度を鑑別し得べしとなす。即ち新鮮肉に在りてはアムモニア1に對して總窒素9.7~10.0なるも少しく腐敗に傾けるものに在りては6.3~7.4に低下すべきを報告せり。

Tillmans u. Mildner⁽⁷⁾氏等は Mai 氏竝に後述の Ottolenghi 氏の方法に基き腐敗肉中の總窒素、アムモニア及アミノ酸窒素の量的變化を研究し兩氏の方法も亦既に腐敗の稍進行せるものに於てのみ有効にして其初期に於ては著しき効果無きことを認め別に好氣性菌の酸素消費量を以て腐敗の程度を鑑識する試験法を案出せり。

J. Tillmans u. R. Otto⁽⁸⁾氏等は從來専ら哺乳動物の肉類の腐敗に關し研究を重ねたるが更に魚肉に就きて試験するに魚肉の腐敗は獸肉類の場合と大いに其趣きを異にするを認めアムモニア及アミノ酸窒素の測定によりて初期の腐敗を鑑別し得べきを驗知せり。即ち魚肉類は同氏等の試験法によりて測定し得たるアムモニア量0.03%アミノ酸窒素0.1%より多量含有するときは初期の腐敗を來せるものと認むべきを報告せり。

Wolff⁽⁹⁾氏は食肉類の腐敗分解程度を琥珀酸の鑑識によりて判定せんことを試みたるも是亦進行せる腐敗の場合に於てのみ有効なりき。Furth u. Lenk⁽¹⁰⁾氏等は乳酸含量の變化によりて新舊肉の鑑別を試みたり。

Chodat⁽¹¹⁾氏は蛋白質にチロヂナーゼを作用せしめペプチード及ポリペプチードと

して鑑識する方法を考案せり。即ち新鮮肉汁はチロヂナーゼ及酸化作用によりて螢光を有せざる赤色或は褐色に變ずるもプロテオリナーゼの進行せるものは赤色を帯びたる綠色にして稍長時間持続するものなることを認めたり。

Ottolenghi⁽¹²⁾氏は Sørensen 氏のフォルモール法を應用してアミノ酸窒素を定量して腐敗の初期を鑑別する方法を發表せり。即ち氏は専ら Henriques u. Gjaldbak 兩氏の滴定法を應用し試験したるに滅菌肉のプロテオリナーゼは極めて徐々に一定の規則のもとに進行するも細菌によりて汚染せられたるものは最初は滅菌肉と同様のフォルモール價を有するも極めて急激に上昇し新鮮或は腐敗に至らざる肉と著しく相異なるに至ることを驗知せり。されど一定のフォルモール價を有する食肉と雖も其細菌含量は必ずしも之に一致せず。この原因はアミノ酸窒素の増加以前に既に検肉の内部に細菌の含存するに因るものなりと報告せり同氏は同時に前記 Früha u. Lenk 竝に Chodat 氏等の方法を追試したるに乳酸含量の變化試験は其効果を認めず。Chodat 氏法も赤色相の相異餘り少なく實用上の價值疑はしきを報せり。尙ほ氏は検肉の電導度の測定は肉類の初期腐敗に對し其効果を認めざりき。此點は Tillmans u. Mildner 氏等の試験も亦同様の結果を來せり。

Tillmans, Strohecker u. Schütze⁽¹⁴⁾氏等は先きの酸素法の研究に端緒を得更に細菌の特性に基く硝石還元法及メチレンブラウ脱色法を應用して食肉の初期腐敗の鑑識に對し稍満足なる方法を報告せり。氏等は同時に揮發性物質及水素イオン濃度等に就きて試験せしも何れも不結果に終れり。

Willstätter u. Waldschmidt-leitz⁽¹⁵⁾氏等はアミノ酸及ポリペプチドの水溶液中に在りては其アミノ基加水分解を受け水酸イオンを生ずる爲め兩性反應を呈するも之にアルコールを加へ其濃度 50% に達するときはアミノ基の加水分解作用阻止せられ爲めに兩性反應消失しカルボキシル基のみ分裂して水素イオンを生せしむるの事實を認め之を初期腐敗の鑑識に應用し得べきことを述べ次で Tillmans u. Otto 兩氏は前記の方法を改良し魚肉の水浸液に膠狀水酸化鐵液を加へ析出する蛋白質を濾別し濾液の一半をフェノールフタレインを標示薬として 10% 定規ナトロン液にて滴定し他の一半に 95% アルコールを添加してアルコールの濃度を 50% となし同様にナトロン

液にて滴定し兩者に於けるナトロン液の消費量の差3以上を示すものは明かに腐敗に達したるものとして判定し得べく魚肉類の腐敗鑑別法として稍有效なるを報告せり。然れども本法は温血動物の肉類に對しては著しく進行せる腐敗の場合に於てのみ之を應用し得るに過ぎざるを認めたり。

Lüthe u. Mertz⁽⁶⁾ 氏等は檢肉を95%酒精にて浸出し蛋白質を凝固せしめ浸液中のアミノ酸をアルコール製1%ニンヒドリン溶液又は Neuberg-Manasse 試薬(α ナフチールイソチアナート)を用ひて定性的に或はフォルモール法及マイクロキールダール法によりて定量的に檢定する方法を推奨せり。然れども Tillmans u. Mildner⁽⁷⁾ 氏等の報告する如く顯著なるアミノ酸の増加と雖も必ずしも初期の腐敗を表徴するに足らず。且つアミノ酸は其大部分95%アルコールには殆ど溶解せざる等の缺點あるを以て本法は實用上の價値少なきを指摘せられたり。

R. Heyner u. O. Mann⁽⁷⁾ 兩氏は肉類中の粗蛋白質、純蛋白質、ペプトン及肉鹽基中の各窒素、アムモニア並非凝固性窒素化合物の量を檢したるに純蛋白質窒素の總窒素量に對する%量のみ稍初期腐敗の鑑別に資し得べきを認め又肉類及其水溶液に就き電解法による水素イオン濃度測定は獸肉類の成熟せるもの、初期腐敗の鑑識上有效にして馬、牛及豚肉はキンヒドロン電極法によりて測定するときは通例PH 6.0~6.2を示し6.2を超過するものは疑もなく腐敗せるものと認めて可なりとせられ化學的防腐劑混加によりて其水素イオン濃度影響受くるときはPHの測定は其價値なきを報せり。

Tillmans, Hirsch u. Kahn⁽⁸⁾ 氏等は食肉の初期腐敗に就き次の如き試験を行へり。即ち一定の方法に依りて得たる食肉類の浸出液に就き其氷點降下、屈折率、還元力、電導度、表面張力、水蒸氣と共に蒸餾性物質中の揮發酸、揮發性鹽基、オスレル氏試薬により著色及沈澱性物質、アミン反應、グリコーゲン、プリン鹽基、クレアチン並エンチーム等の試験を施したるも特に鑑定に資すべき特徴を認むるに至らざりき。

L. M. Horowitz-Wlassowa⁽⁹⁾ 氏は肉製品の衛生學的検査法を研究し食肉類の水浸液に就きアルカリ度(若くは酸度)、水素イオン濃度、屈折率、ピウレット反應、總窒素、クニン酸又は燐ウォルフラム酸により沈澱する成分中の窒素、酸化力及沃度結合

力等を檢したるも腐敗の鑑識に對し著しき效果を示さざりき。又更に Eber 氏の反應を追試したるに 1 週間以上の貯藏にある陳久の進行せる腐敗肉に對してのみ有効にして初期腐敗に對しては效果なかりき。又檢肉に水酸化ナトリウム或は煨製マグネシウムを添加して煮沸せしめ遊離する結合アムモニアをラクス紙によりて鑑識する方法を試みたるも本試験操作中蛋白質分解を來たし腐敗の有無に關せずアムモニアを發生し終に失敗に歸せり。次で細剖せる檢肉をアムモニア不含の水にて處理し浸液に酸化マグネシウムを添加し 50° にて 5 分間温めアミノ酸のアムモニア分解を避けつゝアムモニアを分離せしめ之を濕潤せるラクス紙にて試験せり。本法は Eber 氏法に比して遙に鋭敏にして檢肉 1 g 中 0.2 mg (0.02%) の微量のアムモニアをよく檢出し得べきことを報告し又フォルモール法によりて遊離アミノ酸を滴定し之等の兩法は肉製品の新鮮度の鑑識に充分應用し得べきことを認めたり。

B. Glassmann u. F. Rochwarger⁽²⁰⁾ 兩氏は肉類の浸液を精製パーマチャットにて處理し結合アムモニアを之に吸著せしめ次に之をナトロン滴液にて處理してアムモニアを遊離せしめ其溶液に就きネスレル試薬を用ひて結合アムモニアを比色定量し以て肉類の初期腐敗を鑑識する方法を創案し多數の檢體に就き試験したる結果獸肉類に在りては結合アムモニアの量 0.02% を超過するときは腐敗を示し König 氏の所説とよく一致するを認め魚肉に在りては 0.02 ~ 0.025 % を以て限界量とすべきを驗知せり。

前述の外肉類の腐敗鑑識法に關し研究發表せられたる文獻極めて多數にして一々枚擧の煩に堪へざるも衛生化學上最も重要とするところの腐敗の初期を鑑識するに適當なる方法を認むる能はず。

食肉の中毒は各個人の體質によりて著しく異なるものにして或者は極めて微に腐敗せるものを食して既に劇烈なる中毒症狀に陥る場合も他の者は平然たることあり。故に食肉の腐敗程度の鑑識には各種の場合を想像せざるべからざるも之を次の 2 種に大別し得べく其 1 は食肉として使用に供し得るや否や即ち其新鮮度の鑑識を主とする場合他は中毒等の場合其原因は果して腐敗食品に因けるものなりや或は其他の有害性金屬或は著色料等に原因するものなりやの判別を要する場合にして前者は極めて初期の鑑別を必要とするも後者は往々にして感覺的試験に於て其腐敗の程度を認め得べき稍進行せる腐敗の鑑識を必要とするものなり。

第三章 食肉腐敗の鑑識法に関する基礎的試験法の研究

(一) アムモニア及アミノ酸窒素の定量

アミノ酸並アムモニアの微量は新鮮肉中にも存することあるも或一定量以上は何れも蛋白質の腐敗産物として生成せらるゝを以て従来種々なる方法に依りて測定せられたり。而してアムモニアは多くの場合微弱アルカリ性に於て蒸餾し之を定規酸液中に吸収せしめ次に定規アルカリ液にて還測するにあり。然るに蒸餾操作中往々蛋白質の分解によりて微量のアミノ酸及アムモニアを化生することあるを以て通例減壓等によりて可及的之を避くべきなり。

小官等は試に減壓蒸餾法と水蒸氣蒸餾法とを並試し兩者の成績を比較せり。今其試験方法を詳記すれば次の如し。

(甲) アムモニアの定量法

A 減壓蒸餾法

脂肪並纖維等を可及的除去し細到均等とせる検肉 20 g をコルベンに取り蒸餾水 200cc を加へ冷蔵庫内に 2 時間静置せる後濾過し其残渣を少量の水にて洗滌し濾液及洗液を合し蒸餾コルベンに移し豫め熾灼して炭酸を除去せる煨製マグネシア 2 g を添加し減壓蒸餾を行ひコルベンの内温を 50° 以下に保ちつつ冷却管の下端に連結せる 10 分定規硫酸 50cc を容れたるペリゴ管中に溜取し約 1 時間にして約 150cc を蒸餾せる後メチールオレンジを標示薬とし 10 分定規ナトロン液を以て還測し之より検體 100g 中のアムモニアの mg 量を算出せり。

B 水蒸氣蒸餾法

前記 A 法と同一方法に依りて得たる水浸液に煨製マグネシア 2 g を添加し水蒸氣蒸餾を施して 10 分定規硫酸 50cc を容れたるペリゴ管中に溜取し約 30 ~ 40 分にして約 150cc を蒸餾せる後前記 A 法の如く 10 分定規ナトロン液を以て還測し之より検體 100g 中のアムモニアの mg 量を算出せり。

(乙) アミノ酸窒素定量法

前記アムモニアの蒸餾残渣を濾過し濾液に稀硫酸を加へて其濃度を約 5% となし之に 10% 燐ウオルフラム酸 5% 硫酸溶液を加へ生成せる沈澱を濾別し之を 5% 稀硫酸

にてよく洗滌し濾液と洗液とを合し之に水酸化カルチウムの稍過剰を加へて微弱アルカリ性となし濾過し其濾液を蒸發乾涸し之を豫め煮沸したる水に溶解し加温濾過し残渣を温湯にてよく洗ひ濾液を一定容量となし其一定量を取りてファンズライクの装置を用ひて定量し標準氣壓並標準溫度に於けるアミノ酸窒素を算出し檢體 100g 中のmg量に換算せり。

牛肉、兎肉及鶏肉に就き前記試験法を應用して試験せる成績を示せば次の如し。

第 一 表

種別	貯日	貯藏數	貯藏方法	外觀及變敗狀況	減壓蒸餾法		水蒸氣蒸餾法		試 驗 時 期
					アムモニア (mg量)	アミノ酸 窒素 (mg量)	アムモニア (mg量)	アミノ酸 窒素 (mg量)	
牛肉	第1日	1	購入直後	外觀臭氣異狀なし	14.3	55.6	15.6	42.1	7月中旬
	第2日	2	25~30°の室温に 貯藏す	外觀異狀なきも微 に異臭あり	35.4	66.4	37.9	64.9	"
	第3日	3	同 上	外觀變色し腐臭を 發す	93.6	84.7	99.8	67.3	"
牛肉	第1日	1	購入直後	外觀臭氣異狀なし	14.3	55.6	15.6	42.1	7月中旬
	第2日	2	冷蔵箱内(10°)内 貯藏	外觀臭氣異狀なし	18.9	60.5	21.5	59.0	"
	第3日	3	同 上	外觀臭氣殆ど異狀 なし	31.5	67.4	32.9	64.4	"
	第4日	4	同 上	外觀微に變色し少 しく異臭あり	41.3	—	42.9	—	"
牛肉	第1日	1	購入直後	外觀臭氣異狀なし	20.4	56.4	22.2	54.1	9月上旬
	第2日	2	25~28°の室温に 貯藏す	表面變色し微に異 臭あり	61.4	65.5	61.6	60.7	"
	第3日	3	同 上	著しき腐臭あり	185.9	125.7	186.4	106.1	"
	第4日	4	同 上	蛆を發生す	193.4	127.6	204.8	115.3	"
兎肉	第1日	1	屠殺直後	外觀臭氣異狀なし	12.5	40.5	17.2	39.9	9月下旬
	第2日	2	冷蔵箱(10°)内貯	外觀臭氣異狀なし	13.3	41.6	20.0	41.3	"
	第3日	3	同 上	外觀臭氣異狀なし	16.4	55.9	20.1	55.3	"
	第4日	4	同 上	外觀臭氣異狀なし	17.6	60.8	21.1	57.1	"
	第5日	5	同 上	外觀臭氣異狀なし	18.1	76.6	21.3	63.5	"
	第6日	6	同 上	外觀臭氣異狀なし	20.3	78.5	23.6	71.3	"
兎肉	第1日	1	屠殺直後	外觀臭氣異狀なし	14.5	61.7	14.7	51.6	9月下旬
	第2日	2	冷蔵箱(10°)内貯	外觀臭氣異狀なし	14.9	71.3	15.4	60.6	"

前記試験成績に依ればアムモニアの含量は水蒸氣蒸餾法に依れるものは減壓蒸餾法に於けるものに比して何れも稍高き數値を示しアミノ酸窒素の含量は之と全く反對の

關係を示せり。蓋し是等の原因は水蒸氣蒸餾法に於ては其操作中高熱を受くるためアミノ酸等の如き含窒素成分のアムモニアに分解するに由るものなるべし。故に是等の試験に在りては減壓蒸餾法を行ひホルペンの内温を 50° 以下に保ち以て蒸餾操作中爾他の成分の分解によるアムモニアの化生を可及的避くるを要すべきを認めたり。

アムモニアの微量は各種の新鮮肉中にも之を含有し其量も亦一定せざるを以て検肉の腐敗を判定すべきアムモニアの限界量を決定することは極めて困難なる問題なり。今前表に就きて見るに兎肉は屠殺直後に於て検體 100 g 中 12.5 mg 同しく鶏肉は 14.5 mg を有し又屠殺後約 2 日間冷蔵せりと稱する市販の牛肉は 14.3 mg を示せり。

是等の數例に就きて見るに何れも検體 100 g 中のアムモニア含量 20.0 mg 未滿のものは未だ初期腐敗に達せざるものと認め得べし。

之を文獻に徴するに小出脩氏⁽²¹⁾は生牛肉に就き試験を行ひ次の成績を示せり。

第 二 表

		屠殺後經過日數		ア ム モ ニ ア % 量		
				平均	最多	最少
冬 期 (室溫 9.5°)	}	2	日 目	0.0151	0.0200	0.0102
		3	日 日	0.0143	0.0205	0.0085
		4	日 日	0.0228	0.0410	0.0119
		5	日 日	0.0191	0.0113	0.0171
		6	日 日	0.0241	0.0346	0.0179
		7	日 日	0.0292	0.0363	0.0222
夏 期 (室溫 23.7°)	}	2	日 日	0.0191	0.0233	0.0123
		3	日 日	0.0683	0.1434	0.0265
		4	日 日	0.1161	0.1233	0.1084

前表に依れば屠殺後第 2 日目即ち通例消費者の手に入るべき時期に於ては検體 100 g 中 10 ~ 20mg にして夏期試験に於ける最大含量のものは 20.0mg を超過する數値を示し大略小宮等の試験成績と一致するところなり。更に Pennington u. Greenlee⁽²⁾氏等は新鮮肉の水浸液に酸化マグネシウムを加へてアムモニア不含の空氣を通じ加熱を避け減壓蒸餾を施したる結果鶏肉に在りては 0.02 ~ 0.012% 兎肉に在りては 0.007% のアムモニアを検出せり。

是等の實驗に徴すればアムモニアの含量 0.02%未滿の食肉は腐敗の初期に達せざるものと認めて大過なかるべし。而してケーニッヒ氏はアムモニア含量 0.02%を超過するものは既に變敗に達したる不良肉と認むべきなりと論じ B. Glaszmann u. Rochwarger⁽²⁰⁾ 氏等も亦此の説を肯定し更にアムモニア含量 0.02 ~ 0.025% を超過するものは外觀既に不良にして明かに腐敗に達し食用に供すべからざるものなることを指摘せり。又 Tillmans u. R. Otto⁽⁸⁾ 氏等に依れば檢體 100 g 中アムモニア含量 30mg を超過せるものは既に初期腐敗に達したるものなりとせらる。而して小官等の施行せる前記試驗成績を見るに概して檢肉 100 g 中アムモニア含量 30mg を超過するものは感覺試験に依りても亦既に不良なるを認め得べくこの限界量を以て判斷するときは稍進行せる腐敗の鑑識に適當なるものと謂ひ得べし。

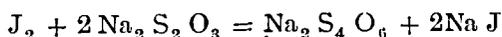
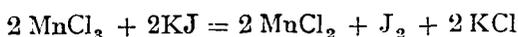
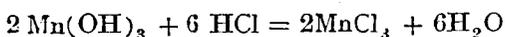
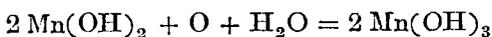
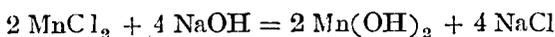
アミノ酸窒素の含量は前記試驗成績に依れば新鮮なる兎肉に在りては檢體 100 g 中 40.5mg 又牛肉に在りては 55.6mg 鶏肉に在りては 61.7mg にして新鮮なる獸肉中のアミノ酸窒素の含量は大略 60.0mg 以内に在るものの如し。而して檢肉の初期腐敗を判定すべきアミノ酸窒素の限界量に關しては Tillmans u. R. Otto 氏等は魚肉に就きて施行せる試験成績に徴しアミノ酸窒素 100mg を超過せるものは既に初期腐敗に達せるものなりと認定せり。然るに小官等の今回牛、鶏及兎肉等の獸肉に就きて施行せる試験成績に依れば檢肉 100 g 中アミノ酸窒素 70.0mg を超過するものは既に初期腐敗に達せるものあることを認めたり。

斯くの如く檢肉の腐敗の初期を正確に判定すべきアムモニア及アミノ酸窒素の限界量の決定には多數の實驗を経ざれば確實なる論據を求め難きも前記の實驗成績より判斷すればアムモニアの含量は檢肉 100 g 中 30mg 又アミノ酸窒素は同じく 70.0mg を超過するものは既に腐敗の初期に達したるものと認めて大過なかるべきを思惟せしむ。

(二) 酸 素 試 験 法

本法は Tillmans u. Mildner⁽⁷⁾ 氏等の創案に係り其後更に Tillmans, Strohecker 氏等⁽¹⁴⁾ 及 Willstatter u. Waldschmidt-Leitz 氏等⁽¹⁵⁾ に依りて改良せられたるものにして腐敗肉中の好氣性菌は水中に溶存する酸素の一定量を攝取するを以て其の完全に消費せらるゝ迄の時間を比較して腐敗の程度を鑑識せんとするものなり。而して水中の酸素定量法は L. W. Winkler 氏の方法に準據せるものにして其原理は一定量の水に亞

クロールマンガン及ナトロン滴液を添加するときは水酸化亜酸化マンガンを生じ此際酸素の存在に由りて水酸化亜酸化マンガンの一部分は酸化せられて水酸化酸化マンガンに變ず。今之にヨードカリウム及鹽酸を加ふれば水酸化酸化マンガンはクロールマンガンに變じ此クロールマンガンはヨードカリウムに作用し之より酸素と平衡量のヨードを遊離せしむ。依て其遊離ヨードを 10 分定規次亞硫酸ナトリウム液を以て滴定するにあり。其化學變化を示せば次の如し。



(イ) 實 施 法

善く細割均等とせる検肉各 5g 宛を 4 箇の磨り合せ完全なる硝子栓を有する内容 250cc の細口強壁硝子壺に取り之に豫め 25° に温めたる蒸留水を加へて全滿せしめ注意して氣泡を無からしめよく振盪し其内 1 箇は直に次の如く處理し爾餘の 3 箇は 25° の恆溫槽中に保存し夫々 2 時間、4 時間及 6 時間經過の後同様に處理せり。

先づ開栓して 80% 亞鹽化マンガン溶液 1cc 及 15% 沃度カリウム含有 33% ナトロン滴液 1cc を孰れもピベットを用ひて靜かに底部に注入し過剰の水分は上口より溢出せしめたる後速に栓塞し空氣を斷ちて振盪す。此際酸素を存在するときは褐色絮狀の沈澱を析出す。次に濃鹽酸 5cc を添加し再び栓塞し沈澱溶解し沃度を析出するに到る迄振盪し析出せる沃度を澱粉糊液を標示薬として 10 分定規次亞硫酸ナトリウム溶液を以て滴定し 1L 中の酸素量を算出すべし。次亞硫酸ナトリウム液 1cc は酸素 0.8mg に相當す。

尙ほ實驗の結果固形沃度カリウム添加の代りに前記の如く豫め之をナトロン滴液中に 15% の割合に溶解せしめたるものを使用し又亞鹽化マンガン溶液及ナトロン滴液の添加によりて析出せる沈澱を靜置して完全に沈降せしめ其上澄液 5cc をホールピベットにて吸取除去したる後濃鹽酸 5cc を加へ沈澱を溶解せしめ之を滴定せるに極めて

良結果を得たり。

(口) 試 験 成 績

前記の方法に依りて牛、馬及豚肉等に就き施行せる試験成績を示せば次の如し。

第 三 表

種別	貯 藏 日 数	貯 藏 方 法	外観及變敗狀況	残存酸素 mg 量 (水液 1 L 中の 量に換算せるもの)				試験時期
				直 後	2 時間	4 時間	6 時間	
牛肉	第 1 日	購 入 直 後	外観臭氣異狀なし	8.42	5.96	5.96	4.19	2 月上旬
	第 1 ~ 第 2 日	16~13° の室温に 貯藏	外観殆ど變化なき も僅に異臭あり	8.40	5.33	4.36	0	"
	第 2 ~ 第 3 日	15~13° の室温に 貯藏	微に腐臭を發し食 用として不適當と なる	8.38	4.99	0	—	"
馬肉	第 1 日	購 入 直 後	外観臭氣異狀なし	9.36	7.62	5.79	5.51	"
	第 1 ~ 第 2 日	16~13° の室温に 貯藏	外観臭氣異狀なし	9.30	7.00	4.82	3.91	"
	第 2 ~ 第 3 日	15~13° の室温に 貯藏	微に變色せるも腐 臭なし食用に供す ることあるべし	9.23	5.68	3.19	0(5時間)	"
豚肉	第 1 日	購 入 直 後	外観臭氣異狀なし	9.36	6.96	5.68	5.25	"
	第 1 ~ 第 2 日	第 1 日は冷蔵庫 (10°)第 2 日は 16~ 13° 室温に貯藏	外観異狀なきも微 に異臭あり食用に 供し得ることある べし	9.22	5.77	4.84	0	"
	第 2 ~ 第 3 日	15~13° の室温に 貯藏	表面稍粘化し微に 腐臭あり食用に供 することなかるべ し	8.05	4.62	0	—	"

前記の試験成績を見るに第 1 日目冷蔵庫内貯藏のものは牛、馬及豚肉の何れも 6 時間經過後に於ける水液 1 L 中の残存酸素の含量は 4.0mg 以上を示し漸次腐敗の進行につれて減少し牛肉及豚肉は室温貯藏第 2 日目に於て 6 時間を經過せるものは零となり馬肉は腐敗の進行速度緩徐にして第 3 日目の 5 時間後に於て零となり牛肉及豚肉は室温貯藏第 3 日目に於て外観臭氣等より判断して普通の家庭に於ては食膳に供し得ざる程度の腐敗を示し 4 時間を經過せるものは零を示せり。而して馬肉のみは室温貯藏第 3 日目に於ても依然として腐敗の程度著しく進行せず。通例食用に供し得る程度の外観を保有し 5 時間貯藏するときは漸く零となれり。

今 Tillmans⁽¹⁴⁾ 氏等の實驗に依れば温度を 22° に保ちて試験せるに 1~2 時間にて零となるものは初期腐敗に達したるものと認め得べしと稱せり。然るに小官等の前記試験成績より判断すれば温度を 25° に保ち 4 時間を經過せる際零となるものは既

に初期腐敗に達したるものにして1~2時間にして零となるものは著明なる腐敗に達したるものと認め得べきが如し。尙ほ此點は多數の實驗に依りて確證すべし。

(三) 硝石還元試験法

本法は腐敗肉中の還元性作用を有する細菌に依りて一定濃度を有する硝酸カリウム溶液中の硝酸の消費速度によりて腐敗の程度を鑑識するものなり。

今 Tillmans⁽¹⁴⁾ 氏等の創案に成れる試験方法を述べれば次の如し。

内容約 60cc の共栓硝子壺 6 箇を用意し之に検肉 10g (肉挽器にて充分細截すべし) を秤取し之に豫め 37° に温めたる稀薄の硝酸カリウム溶液 (1L 中 N_2O_5 として 3 mg を含有するもの) を全滿し壺栓を施し 1 箇は直ちに爾餘は 37° の恒温槽中に保存し一定時間経過毎に取出して次の如く處理すべし。

稀薄硝酸カリウム溶液は 1L 中 N_2O_5 として 100mg を含有する標準溶液 (純硝酸カリウム 0.1871g を蒸留水に溶解し全量を 1L となせるもの) を用ひ調製すべし。

前記検肉の水浸液を濾過し濾液の一部に同容量の昇汞鹽酸溶液 (5% 昇汞溶液に 2% 鹽酸同容量を混和す) を添加して析出する蛋白質の沈澱を濾別し其濾液を比色法によりて定量す。即ち前記標準溶液と同様に純硝酸カリウムを用ひ 1L 中に N_2O_5 として夫々 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 及 2.5 mg を含有する對照溶液を調製し再留蒸留水にて試験管を清洗し前記検肉の昇汞處理濾液及對照溶液各 1 cc を正確に量取し之にヂフェニールアミン硫酸溶液 (ヂフェニールアミン 0.035 g を 500cc のメスコルベンに取り 190cc の稀硫酸(1+3vol.)を加へ次に濃硫酸を加へ振盪すれば適度の熱を發生しヂフェニールアミンを溶解すべし。茲に於て殆ど標線迄濃硫酸を添加し冷後よく混合し更に濃硫酸を標線迄追加しよく混和すべし) 1cc を加へ冷水中にて冷却し 1 時間を経過せる後着色の程度を標準液と比較し残存する硝石を 1L 中 N_2O_5 の量として算出すべし。

小官等は前記の方法に依りて試験せしに硝酸カリウムの含量多量のためにヂフェニールアミン溶液の添加によりて 5~6 時間を経過せるも孰れも暗藍色を呈し比色殆ど不可能にして全く無色となるか又は淡色となりて標準溶液との比色に便宜となる迄には極めて長時間を要し到底其目的を達し得ざりしを以て種々實驗の結果之を改良し前記の硝酸カリウム溶液 60cc を 20cc に減じ内容 35cc の共栓試験管に容れ上記の如く

試験せり。

其試験成績次の如し。

第 四 表

種類	貯藏 日数	貯 藏 方 法	外 観 及 變 敗 状 況	37° 恒溫槽中保存時間の経過によ る残存 N_2O_5 mg 量						試 験 時 期
				直後	1時間	2時間	3時間	4時間	5時間	
牛肉	第1日	購 入 直 後	外觀臭氣異状なし	1.3	1.3	0.6	0.5	0.5	0.08	7月中旬
	第1~ 第2日	室内貯藏 (温度25~30°)	外觀異状なきも微 に異臭あり	1.2	0.3	0.2	0.03	0	—	"
	第2~ 第3日	室内貯藏 (温度25~30°)	表面變色腐臭あり 食用に供すること なかるべし	0.7	0.05	0	—	—	—	"
馬肉	第1日	購 入 直 後	外觀臭氣異状なし	1.2	1.2	0.8	0.7	0.7	0.2	"
	第1~ 第2日	室内貯藏 (温度25~30°)	外觀微に變色異臭 あり殆ど食用に供 することなかるべ し	1.1	0.2	0.1	0.02	0	—	"
	第2~ 第3日	室内貯藏 (温度25~30°)	表面變色腐臭あり 食用に供すること なかるべし	0.6	0.05	0	—	—	—	"
豚肉	第1日	購 入 直 後	外觀臭氣異状なし	1.2	1.1	0.7	0.6	0.5	0.3	"
	第1~ 第2日	室内貯藏 (温度25~30°)	外觀變色異臭あり 殆ど食用に供す ることなかるべし	0.7	0.2	0.1	0.01	0	—	"
	第2~ 第3日	室内貯藏 (温度25~30°)	著しく腐敗す	0.5	0.1	0	—	—	—	"

前記試験成績に依れば牛、馬及豚肉等の未だ腐敗に達せざるものは 37° にて5時間を経過するも尚ほ微量の硝石の残存するを認め得べきも貯藏時間の経過につれて漸次硝石を消費し室温貯藏第2日目に於て4時間にて孰れも零となり第3日には著しき腐敗に達し2時間にて零となれり。

次に1L中3mgの硝酸カリウムを含有する溶液20ccの代りに1L中1.5mgの硝酸カリウムを含有する溶液20ccを用ひて試験せるに比色容易にして充分満足なる成績を示せり。但し此際は1L中に N_2O_5 として夫々 0.05, 0.10, 0.15, 0.2, 0.25, 0.3, 0.4, 0.5 及 1.0 を含有する對照溶液を調製すべし。其試験成績を示せば次の如し。

第 五 表

種類	貯 藏 日 数	貯 藏 方 法	外 観 及 變 敗 状 況	37° 恒溫槽保存時間経過に よる残存 N_2O_5 mg 量					試 験 時 期
				直後	1時間	2時間	3時間	4時間	
	第1日	購 入 直 後	外觀臭氣異状なし	0.6	0.5	0.5	0.5	0.5	11月上旬

牛肉	第1日	室内貯藏 (温度16~13°) 解卵器内貯藏 (温度25°)	表面微に粘化し腐	0.25	0.2	0.15	0.01	0	11月上旬
	第2日		臭あり 表面微に變色し腐	0.2	0.2	0.05	0	—	—
馬肉	第1日	購入直後	外觀臭氣異常なし	0.7	0.5	0.5	0.5	0.5	—
	第2日	室内貯藏 (温度16~13°) 解卵器内貯藏 (温度25°)	外觀臭氣殆ど異常なし 表面變色し異臭あり	0.25	0.2	0.2	0.15	0.06	—
豚肉	第1日	購入直後	外觀臭氣異常なし	0.6	0.6	0.5	0.5	0.5	—
	第2日	室内貯藏 (温度16~13°) 解卵器内貯藏 (温度25°)	表面變化なきも微に異臭あり 腐敗臭を發す	0.25	0.25	0.2	0.08	0.05	—

前記試験成績に示すが如く牛肉第2日目の室内及解卵器貯藏品並豚肉第2日目の解卵器貯藏品の如く腐敗臭を發し感覺試験によりて明かに腐敗に達したることを認め得べきものは孰れも4時間以内に於て零となれり。

Tillmans⁽¹⁴⁾ 氏等の説に従へば2~4時間にて硝石を完全に消費するものは既に初期腐敗に達したるものとせられ小官等の實驗成績も略之に一致し4時間以内に於て標準溶液中の N_2O_5 を完全に消費するものは既に初期腐敗に達し2時間以内に於て消費するものは著しき腐敗に達したるものと認め得べし。

(四) メチレンブラウ試験法

本法は前記酸素法及硝酸法と等しく Tillmans 氏等に依りて創案せられたるものにして腐敗菌の色素還元作用を應用せるものなり。其試験方法を述べれば次の如し。

細剉均等とせる検肉5gを秤取し内容60ccの比色試験管に取り煮沸後40°に保ちたる蒸留水を充たし之にメチレンブラウ溶液(メチレンブラウ酒精飽和液5ccを195ccの蒸留水に溶解す)1ccを加へ軽く搖動し栓塞して45°の恆溫槽中に保持す。

小官等は前記の方法に依りて試験せしに脱色極めて不均等にして底部に位置する約10cc即ち検肉に接する部分は全く脱色せざるか又は長時間を經過して僅に脱色する等多大の不便を感じたるを以て蒸留水の添加量を10ccに減じ上面に流動パラフィンの薄層を設けて空氣との直接の接觸を避けて試験せしに極めて良好なる結果を示せり。

今前記試験法に基きて施行せる試験成績を示せば次の如し。

第 六 表

種 類	貯藏日數	貯 藏 方 法	外 觀 及 變 敗 狀 況	脱色時間	試驗時期	
牛	肉	第 1 日	購 入 直 後	外 觀 臭 氣 異 狀 な し	3 時 間 以 上	7 月 中 旬
		第 1 日 ~ 第 2 日	室 內 貯 藏 (溫 度 25 ~ 30°)	外 觀 異 狀 な き も 微 に 異 臭 あり	3 分 20 秒	"
		第 2 日 ~ 第 3 日	室 內 貯 藏 (溫 度 25 ~ 30°)	表 面 變 色 腐 臭 あり 食 用 に 供 し 得 ざる 程 度	2 分 58 秒	"
牛	肉	第 1 日	購 入 直 後	外 觀 臭 氣 異 狀 な し	5 時 間 以 上	11 月 上 旬
		第 1 日 ~ 第 2 日	室 內 貯 藏 (溫 度 16 ~ 13°) 解 卵 器 內 貯 藏 (溫 度 25°)	表 面 微 に 粘 化 し 異 臭 あり 表 面 微 に 變 色 し 腐 臭 あり	30 分 15 分	" "
馬	肉	第 1 日	購 入 直 後	外 觀 臭 氣 異 狀 な し	5 時 間 以 上	11 月 上 旬
		第 1 日 ~ 第 2 日	室 內 貯 藏 (溫 度 16 ~ 13°) 解 卵 器 內 貯 藏 (溫 度 25°)	外 觀 臭 氣 殆 ど 異 狀 な し 表 面 變 色 異 臭 あり	30 分 20 分	" "
豚	肉	第 1 日	購 入 直 後	外 觀 臭 氣 異 狀 な し	5 時 間 以 上	"
		第 1 日 ~ 第 2 日	室 內 貯 藏 (溫 度 16 ~ 13°) 解 卵 器 內 貯 藏 (溫 度 25°)	表 面 變 化 な き も 微 に 異 臭 あり 著 し き 腐 臭 あり	30 分 15 分	" "

前記試験成績を見るに新鮮肉と認むべきものは3時間~5時間以上脱色せず。又外觀異状無く微に異臭を有し未だ食用に供し得べき外觀を供ふるものに於ても何れも1時間以内にて脱色し既に腐敗の初期に陥りたるものなることを示し感覺的に明瞭に腐敗に達したることを認め得べきものは孰れも2~3分間にて脱色せり。

Tillmans 氏等の牛、馬等の多數の獸肉に就きて施行せる實驗に依れば新鮮肉に在りては何れも1時間30分以上4時間の脱色時間を要し腐敗の進行につれて愈々速に脱色し既に感覺試験に於て腐敗の徴候を認め得べき程度のものは30~40分にて脱色し著しき腐敗に陥りたるものは5~10分にて脱色せることを認め同氏等は1時間以内にて脱色するものは初期腐敗に陥りたるものなりと述べたり。而して小官等の試験成績も亦略 Tillmans 氏等の實驗と一致するところにして1時間以内にて脱色するものは初期腐敗に達し30分以内にて脱色するものは著しき腐敗に陥りたるものと認め得べし。

第四章 市販獸肉類の貯藏に依る初期腐敗鑑識試験

前述の試験に於て食肉類の新鮮度並腐敗の程度を鑑別すべき試験法に就き多數の實驗を重ね稍満足すべき方法を驗知し得たるを以て市販の獸肉を購入し室温或は解卵器

に保存し種々なる程度に變敗せしめ前記の方法を應用して其新鮮並變敗の程度を試験せり。其試験成績を示せば次の如し。

(一) 牛 肉

第 七 表

種別	貯藏日数	貯藏方法	外觀及變敗狀況	反應	アムモニア量	アミノ酸窒素	酸 素 法				硝 石 法					メチレンブラウ法	判定	
							直後	2時間	4時間	6時間	直後	1時間	2時間	3時間	4時間			5時間
牛肉	第1日	購入直後	外觀臭気なし	弱酸性	13.03	61.98	6.22	2.58	2.40	2.28	0.47	0.40	0.47	0.35	0.30	0.25	2時間以上	新鮮
	第1~第2日	室温(13~18°)に貯藏	外觀臭気なし	同上	15.58	78.72	5.67	1.94	1.16	1.11	0.40	0.30	0.30	0.25	0.25	0.20	1時間39分	新鮮ならず
	第2~第3日	孵卵器(21.6°)に貯藏	外觀殆ど異状なきも微に臭気あり食用に供し得べし	微酸性	32.02	105.16	6.19	1.59	0	0	0.40	0.30	0.25	0.08	0	0	16分20秒	初期腐敗に達す
	第3~第4日	孵卵器(21.6°)に貯藏	外觀變腐臭気あり食用に供すべし	アルカリ性	43.18	145.22	5.19	0	—	—	0.35	0.29	0	0	0	0	3分5秒	著し腐敗に達す

備考 前表中硝石法の試験は 1L 中 N_2O_5 1.5mg を含有する溶液を使用せり以下準之

前表に示すが如く市販牛肉を購入直後に試験せるものは弱酸性を呈し外觀臭気等全く異状無くアムモニア、アミノ酸窒素、酸素、硝酸及メチレンブラウ試験法等の成績は何れも腐敗の徴候を示すことなきを以て新鮮肉と認め得べく次に2日間(約24時間)13~18°の室内に保存せるものに就きて施行せる成績を看るに外觀反應等は殆ど前日と大差なくアムモニア、酸素、硝酸及メチレンブラウ等の試験に於ては前日の成績に比して稍變敗程度の進行を窺知し得べきも未だ此等の試験に於ては初期腐敗の限界に達せず。又アミノ酸窒素は78.72mgを示し初期腐敗の限界量70.0mgを少しく超過せるを以て稍前日に比して新鮮度の衰へたるものと認め得べきも外觀、臭気等殆ど前日と異らざるを以て此状態に於ては充分食用に供し得べし。

前記2日間 13 ~ 18° の室温に保存したる検肉を更に 24 時間 21.6° の解卵器中に保存せるものは外觀殆ど異状を認め難きも微に異臭ありて不注意なる家庭に在りては充分食用に供し得る程度の變敗を示し微に酸性を呈す。而してアムモニア、アミノ酸窒素、酸素及硝石等の試験に於ては何れも初期腐敗の徴候を示しメチレンブラウの試験に於ては著しき腐敗の徴候を示せり。故に此程度に變敗せるものは明かに初期腐敗に達し之を食用に供するときは稍危険の虞あるものと認め得べし。

第4日目の試験に供せる検肉は3日間 13 ~ 18° の室温に放置したる後 24 時間 21.6° の解卵器中に保存せるものにして外觀變色し腐臭を發し食用に供し得ざる程度の變敗を認め得べくアルカリ性を呈す。又アムモニア、アミノ酸窒素、酸素、硝石及メチレンブラウ等の試験成績は何れも著しき腐敗の徴候を示し到底食用に供し得ざることを認め得たり。

(二) 豚 肉
第 八 表

種別	貯藏日数	貯藏方法	外觀及變敗状況	反應	アムモニア量	アミノ酸窒素	酸 素 法				硝 石 法					メチレンブラウ法	判定	
							直後	2時間	4時間	6時間	直後	1時間	2時間	3時間	4時間			5時間
豚肉	第1日	購入直後	外觀臭なし	弱酸性	13.03	62.27	5.53	4.99	4.53	4.47	0.6	0.5	0.4	0.25	0.2	0.1	5時間以上	新鮮
	第1~2日	室温(12~18°)に貯藏	表面變色し微臭あり食用に供するべし	同上	14.25	66.54	5.44	5.19	1.59	0	0.6	0.25	0.15	0.1	0.1	0	1時間20分	新鮮ならず
	第2~3日	解卵器(23°)に貯藏	腐敗臭あり食用に供するべし	中性	37.60	84.30	7.33	0	—	—	0.6	0.3	0.15	0	0	0	6分50秒	著しき腐敗に達す
	第3~4日	1~3日迄室温(12~18°)貯藏のをも更に解卵器(20°)に	腐敗臭あり第3日のものに比し著しからず殆ど食用に	微酸性	44.37	79.18	7.07	2.99	0	—	0.6	0.3	0.3	0.25	0.1	0	17分20秒	初期腐敗に達す

	貯藏	となか るべし																	
--	----	------------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

前表に示すが如く市販豚肉を購入直後に試験せるものは外観及臭気等異状を認めず。弱酸性を呈しアムモニア、アミノ酸窒素、酸素、硝石及メチレンブラウ試験法等の成績は何れも腐敗の徴候を示すことなく新鮮肉と認め得べく次に第2日目の試験に供せる検肉は第1日目に於て試験に供せる肉を12~18°の室温に保存せるものにして表面微に變色し僅に異臭あるも充分食用に供し得る程度の外観を存し弱酸性を呈す。之に就きアムモニア、アミノ酸窒素、酸素、硝石及メチレンブラウ等の試験を施行せるに第1日目のものに比して稍不良の成績を示せしも未だ初期腐敗の徴候を示すことなく食用に供するも危害を來たす虞なかるべし。

第3日目の試験に供せるものは第2日目の試験に供せるものを更に28°の孵卵器中に一夜间保存せるものにして既に腐敗臭を發し食用に供し得ざる程度の外観を有し中性を呈す。アムモニア及アミノ酸窒素の含量は既に限界量を超過し酸素は2時間にて零となり硝石は3時間にて零となりメチレンブラウは6分50秒にて脱色せるを以て何れも著しき腐敗に陥りたるものなることを認め得べし。

第4日目の試験に供せるものは3日間12~18°の室温に放置せる後一夜间20°の孵卵器中に保存せるものにして腐敗臭あるも第3日目の試験に供せるものに比して著しからざるが如き感あるも少しく注意するときは到底食用に供し得ざる程度のものにして微に酸性を呈せり而してアムモニア並アミノ酸窒素は初期腐敗の限界量を超過し酸素は4時間にて零となり硝石は4時間にて0.1にして5時間にて零となり又メチレンブラウは17分20秒にて脱色せり故に之等の成績より判断して明に初期腐敗に達したるものと認め得べし。

(三) 馬 肉
第 九 表

種別	貯藏 日数	貯藏 方法	外観及 變敗狀 況	反 應	アムモ ニア量	アミノ 酸窒素	酸 素 法			硝 石 法					メチレ ンブラウ 法	判定		
							直後	2時 間	4時 間	直後	1時 間	2時 間	3時 間	4時 間			5時 間	
	第1日	購入 直後	外観臭 氣狀 なし	弱酸 性	15.16	70.50	6.87	5.73	4.76	4.16	0.6	0.5	0.5	0.5	0.4	0.4	3時間 以上	新鮮

馬肉	第1~ 第2日	室温(12~17°)に貯蔵	外觀變化も微く異臭を發するに供するべし	變色し腐りありて殆ど食用に供するべし	中性	試 験 成 績											新鮮ならず		
						15.33	72.45	7.01	4.47	1.65	0	0.6	0.5	0.5	0.5	0.4		0.3	30分
						26.91	79.48	7.21	3.36	0	—	0.6	0.6	0.5	0.25	0.95		0	20分
						31.17	96.31	4.93	0	—	—	0.6	0.6	0.4	0.05	0		0	40分 10秒
	第2~ 第3日	解卵器(21°)に貯蔵	表面變色し腐りありて殆ど食用に供するべし	變色し腐りありて殆ど食用に供するべし	中性	26.91	79.48	7.21	3.36	0	—	0.6	0.6	0.5	0.25	0.95	0	20分	初期腐敗にす
	第3~ 第4日	1~3日迄室温(12~17°)貯蔵のものを更に解卵器(1.6°)に貯蔵	表面變色し腐臭ありて食用に供するべし	變色し腐臭ありて食用に供するべし	中性	31.17	96.31	4.93	0	—	—	0.6	0.6	0.4	0.05	0	0	40分 10秒	著し腐敗にす

前表に示すが如く市販の馬肉を購入し其直後に試験せるものは外觀及臭氣等異狀無く弱酸性を呈す。アムモニア、酸素、硝石及メチレンブラウ等の試験に於ては新鮮肉と認め得べきもアミノ酸窒素の含量稍大にして僅に初期腐敗の限界量を超過するもこの現象は屠殺後時間の経過に依るものなるや或は特に検肉の性質に基くものなりやは他日屠殺直後の検肉に就きて試験せざれば之を断定する能はず。其他の成績より判断して供試馬肉は新鮮なるものと見て可なるべし。次に之を12~17°の室温に保存し翌日検するに外觀變化無く微に異臭を發するに到りたるも充分に食用に供し得る程度の状態を保ち中性を呈す。アムモニア、酸素及硝石等の試験に於ては未だ初期腐敗の徴候を呈せざるもアミノ酸窒素及メチレンブラウ等の試験に於ては稍初期腐敗の徴候を認め得べく既に新鮮ならざるものと認定し得べし。

第3日目の試験に供せる検肉は第2日目の試験に供せるものを更に一週間21°の解卵器中に保存せるものにして表面變色し微に腐敗臭ありて殆ど食用に供し得ざる程度の外觀を有し中性を呈す。アムモニアの含量は26.91mgにして初期腐敗の限界量30.0mgを超過せざれどもアミノ酸窒素、酸素及メチレンブラウ等の成績は孰れも不良にして硝石の試験に於ては4時間目に於て0.05又5時間目に於て零となりたるを以

て是等の成績を綜合して検肉は既に初期腐敗に陥りたるものと認め得べし。

第4日目の試験に供せるものは3日間 $12 \sim 17^{\circ}$ の室温に放置し第4日目試験著手前一夜間 21.6° の孵卵器内に保存せるものにして表面變色乾燥し腐敗臭を發し外觀より判斷して既に食用に供し得ざる程度のものにして中性を呈せり。アムモニア、アミノ酸窒素は孰れも初期腐敗の限界量を超過し酸素は2時間又硝石は4時間にて零となりメチレンブラウは4分10秒にして脱色せり。故に是等の成績を綜合して判斷するに検肉は既に著しき腐敗に陥りたるものと認め得べし。前記の實驗は何れも10月の時期に於て之を施行せり。

第五章 總 括

前記試験成績に基き之を總括すること次の如し。

市販獸肉類の新鮮度竝に腐敗の程度はアムモニア及アミノ酸窒素の定量、酸素試験法、硝石還元試験法及メチレンブラウ試験法によりて鑑別し得べきことを認めたり。

アムモニアの定量に於て水蒸氣蒸餾法と減壓蒸餾法とを比較せるに前者は操作中高熱のためにアミノ酸の如き含窒素成分の分解を來し不正確を免れず。故に減壓蒸餾法に依りコルペンの内温を 50° 以下に保つことの必要なるを認めたり。次に腐敗の初期を認定すべきアムモニア竝にアミノ酸窒素の限界量の決定は極めて困難なるも大略アムモニアの含量檢肉100gに對し30mgを超過するもの及びアミノ酸窒素は同じく70.0mgを超過するものは既に初期腐敗に達せるものと認め得べし。

酸素試験法に於ては浴温を 25° に保ち4時間を經過せる際零となるものは著しき腐敗に陥りたるものなることを認めたり。

硝石還元試験法に於ては Tillmans 氏の方法に依りて試験するときは硝石の含量濃厚に過ぎて比色困難なるを以て硝酸カリウムの含量を半減し1L中1.5mg含有の溶液を用ひて極めて良好なる成績を得たり。而して4時間以内にて標準溶液中の N_2O_5 を完全に消費するものは既に初期腐敗を來し2時間以内にて消費するものは著しき腐敗に達せるものなることを認めたり。

メチレンブラウ試験法に於ては1時間以内にて脱色するものは既に初期腐敗を來し30分以内にて脱色するものは著しき腐敗に陥りたるものなることを認めたり

市販の牛肉、豚肉及馬肉等を貯藏し之に就き前記試験法竝に判定法に基き其變敗の程度を試験し之を判定するに稍満足なる結果を得べきことを認めたり。

引 用 文 獻

- (1) Richardson und Scherubel; Ztschr. f. Nahr. u. Genussm. 17, 247, 1909.
- (2) Vereinb. z. Unters. u. Beurteilung von Nahr. u. Genussm. Heft I, 1897, s. 34.
- (3) Schweizer. Lebensmittelbuch. 2. Aufl, 1906.
- (4) Eber; Archiv f. wissenschaft. u. prakt. Therapis. 1891, 17.
- (5) Glage; Ztschr. f. Fleisch. u. Milchhygiene. 1899, 9, 83.
- (6) Mai; Ztschr. f. Nahr u. Genussm. 4, 18, 1901.
- (7) Tillmans u. Mildner; Ztschr. f. Nahr. u. Genussm. 32, 65, 1916.
- (8) J. Tillmans u. R. O. to; Ztschr. f. Lebensm. 47, 25, 1924.
- (9) Wolff; Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. 4, 254.
- (10) Furth u. Lenk; Ztschr. f. Nahr. u. Genussm. 24, 189, 1912.
- (11) Chodat; Arch. d. Sciences Physiques et Natur. 33, 1912.
- (12) Ottolenghi; Ztschr. f. Nahr. u. Genussm. 26, 728, 1913.
- (13) Henriques u. Gjaldbak; Ztschr. Physiol. Chem. 75, 363, 1911.
- (14) Tillmans, Strohecker u. Schusze; Ztschr. f. Nahr. u. Genussm. 42, 65, 1921.
- (15) Willstatter u. waldschmidt-Leitz; Ber. Deutsch. Chem. Gesellsch. 54, 2983, 1921.
- (16) Luttge u. Mertz; Ztschr. f. Lebensm. 48, 451, 1924.
- (17) R. Herzner u. O. Mann; Ztschr. f. Lebensm. 52, 1926.
- (18) Tillmans, Hirsch u. Kahn; Ztschr. f. Lebensm. 53, 44, 1927.
- (19) L. M. Horowitz-Wlassowa; Ztschr. f. Lebensm. 55, 239, 1928.
- (20) B. Glassmann u. F. Rochwarger; Ztschr. f. Lebensm. 58, 585, 1929.
- (21) 藥學雜誌; 第344號 657. 第345號 777. 明治43年.
- (22) Pennington u. Gr. enlee; Ztschr. f. Nahr-u. Genussm. 21, 331, 1911.

昭和六年十二月