

工-19D

衛生試驗所彙報

第四十一號

內務省衛生試驗所

昭和八年三月

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
研究及調査成績を収録せるものなり

昭和八年三月

目 次

1.	サンセットエロー FCF 外3種の石炭タール色素 の化学的試験成績報告	石苗山 尾村中 正徳國 文次郎	頁 1
2.	サンセットエロー FCF 外3種の石炭タール色素 の毒性調査報告	伊東幹愛 霜島島彊 山本九秋 外三名	5 10
3.	ビタミン標準試験法(第2報) ビタミンD	秋林葉朝一耶 米米野倉英彦	27
4.	菌抗元の研究(第1報) チフス菌煮沸抗元の吸著法による精製試験	秋林葉朝一耶 米米野倉英彦	27
5.	菌抗元の研究(第2報) チフス菌煮沸抗元の透析 法による精製試験竝に無蛋白培地の考案	秋林葉朝一耶 米米野倉英彦	34
6.	吸著剤の経口投與に關する2,3の基礎的實驗	秋林葉朝一耶 風間美佐雄	41
7.	堆肥糞尿等の熟成促進を目的とする細菌製剤の犬 蛔蟲卵滅殺力試験報告	秋林葉朝一耶 風間美佐雄	48
8.	アリール芥子油(揮發芥子油) 及フェニル芥子油(無臭芥子油)の毒性比較調査報告	伊東幹愛	52
9.	オイカリブス油の毒性に關する調査報告	伊東幹愛	58
10.	石油の藥理的作用について	伊東幹愛	65
11.	酸性綠礬泉中に於ける膠質狀酸化鐵の存在に就て	勝田泰 苗村徳次郎	70
12.	市乳の加熱度及新鮮度の鑑別法に關する研究 (第2報)	服部安藏 秋山勝治	83
13.	市乳の加熱度及新鮮度の鑑別法に關する研究 (第3報) ラーム層の測定による加熱溫度の鑑別法に就て	服部安藏 秋山勝治	109
14.	ヒラズールと稱する飲食物防腐劑の防腐效力試験 成績報告	服部安藏 霜島彊	132

15.	スメラチンAと稱する防腐劑の效力試験成績報告……………	石 遠 和	尾 藤 田	正 興	文 作 清	……144
16.	キクナーと稱するものゝ醬油に對する防黴效力試 驗成績報告……………	石 遠 和	尾 藤 田	正 興	文 作 清	……149
17.	一蒲銑防腐劑の蒲銑に對する防腐效力試験成績報 告 附タンニン酸の醬油に對する防黴效力試験成 績報告……………	石 坪 遠	尾 井 藤	正 謙 興	文 平 作	……153
18.	ホルムアルデヒドの實性反應に就て……………	石 和	尾 田	正	文 清	……160



報 彙 所 驗 生

第 四 十 一 號

サンセットエロー FCF 外 3 種の石炭タール色素の化學的試験成績報告

技 師 石 尾 正 文
囑 託 苗 村 德 次 郎
助 手 山 中 國 夫

昭和 6 年 10 月 29 日附衛保第 807 號を以ての照會に基き衛生局より送附されたる左記 4 種の石炭タール色素に付化學的試験を施行したるに左記の成績を得たるを以て茲に報告せんとす

記

- | | |
|-----------------|-------------------|
| 1, サンセットエロー FCF | 2, ブリ・アントブリユー FCF |
| 3, ファストグリーン FCF | 4, ボンソー SX |

右記 4 種の石炭タール色素は現時米國に於て食品の著色料に使用さるゝものなれ共彼の國に於て之が使用許可の公布されたるは僅に數年前のことにして又是等の品が我國に輸入さるゝに至りしは最近のことに屬す

(1) サンセットエロー FCF (Sunset yellow FCF)

檢品は橙赤色の粉末にして、水及 50% アルコールに溶け、水溶液は橙黄色を呈す之に就き施行したる試験の成績左の如し

甲, 定 性 試 験

- 1, 檢品の水溶液は鹽酸を和するに殆ど變化せず
- 2, 檢品の水溶液は苛性ソーダ溶液により赤褐色に變ず

3, 検品は濃硫酸に溶解して橙黄色を呈し之を水を以て稀釋すれば黄色の溶液となる

4, 検品中砒素並有害性金屬を検出せず

乙, 定 量 分 析

水 分	15,24%	食 鹽	3,98%
芒 硝	0,37%	色 素	$\left(\begin{array}{l} \text{還元剤の消費量より} \\ \text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_7\text{S}_2\text{Na}_2 \text{ と} \\ \text{して算出} \end{array} \right) 80,59\%$

右の試験成績に據れば検品中の色素はスルファニル酸アゾ-ベターナフトール-6-スルホン酸のジナトリウム鹽 Sulfanilsäure-azo- β -naphthol-6-sulfonsäure (Dinatrium) より成るものと認む、尙水溶液に於て前記の如く酸に由り殆ど變化せざる性質は本品が橙色素として使用せらるるに當り従來の品即オレンジ1の缺點を補ふものと認めらる

(2) フリリアントブリュー FCF (Brilliant blue FCF)

検品は光澤ある紫色の粉末にして、水及アルコールに容易に溶け、水溶液は帶緑青色を呈す之に就き施行したる試験の成績左の如し

甲, 定 性 試 験

- 1, 検品の水溶液に濃鹽酸を滴加すれば綠色に變じ更に酸を追加すれば橙黄色に變ず之を水を以て稀釋すれば再び綠色に變ず
- 2, 検品の水溶液は苛性ソーダ溶液により冷時變化せざれ共煮沸すれば紫紅色に變ず
- 3, 検品は濃硫酸に溶解して橙黄色を呈し、之を水を以て稀釋すれば綠色に變ず
- 4, 検品中砒素並有害性金屬を検出せず

乙, 定 量 分 析

水 分	11,35%	食 鹽	1,60%
色 素	$\left(\begin{array}{l} \text{還元剤の消費量より} \\ \text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{O}_9\text{S}_3\text{N}_2\text{Na}_2 \text{ と} \\ \text{して算出} \end{array} \right) 88,32\%$		

右の試験成績に據れば検品中の色素は主としてジエチル-デ-バラ-スルフォ-ベンチール-バラ-アミノ-オルト-スルフォ-フクソンイモニウムのジナトリウム鹽 Diaethyl-di-p-sulfobenzyl-p-amino-o-sulfofuchsonimonium (Dinatriumsalz des inneren sulfonates) より成るものと認む

(3) ファストグリーン FCF (Fast green FCF)

検品は帯赤～帯褐紫色の粉末にして水及アルコールに溶け水溶液は帯青緑色を呈す之に就き施行したる試験の成績左の如し

甲, 定性試験

- 1, 検品の水溶液に鹽酸を添加すれば綠色を呈し更に酸を追加すれば帯褐橙色に變ず之を水を以て稀釋すれば再び綠色に變ず
- 2, 検品の水溶液は苛性ソーダ溶液 1 滴により紫青色に變ず, 鹽酸酸性にて綠色
- 3, 検品は濃硫酸に溶解して帯褐橙色を呈し之を水を以て稀釋すれば綠色に變ず
- 4, 検品中砒素並有害性金屬を検出せず

乙, 定量分析

水分	9,01%	食鹽	5,13%
芒硝	0,46%	色素	(還元剤の消費量より $C_{37}H_{34}N_2O_{10}S_3Na_2$ と して算出) 88,04%

右の試験成績に據れば検品中の色素は主としてヂエチル-ヂ-バラ-スルフォベンチル-バラ-アミノ-2-スルフォ-4-ヒドロキシ-フクソンイモニウムのヂナトリウム鹽 Diaethyl-di-p-sulfobenzyl-p-amino-2-sulfo-4-hydroxy-fuchsonimonium (Dinatriumsalz des inneren sulfonates) より成り少量のモノナトリウム鹽を混有するものと認む尙本色素は當業者の報告によれば之を清涼飲料水の著色料に使用したる場合從來使用し來りたるリヒトグリーン SF に比し太陽光線に對する抵抗優り容易に褪色せずと言ふ

(4) ホンソー SX

検品は赤色の粉末にして水稀薄アルコールに溶け水溶液は赤色を呈す之に就き施行したる試験の成績左の如し

甲, 定性分析

- 1, 検品の水溶液に鹽酸を和するに殊ど變化せず
- 2, 検品の水溶液は苛性ソーダ溶液により橙黄色に變ず
- 3, 検品は濃硫酸に溶解して紅色を呈し之を水を以て徐々に稀釋すれば始め沈澱を析出し後之を溶去して赤色の溶液となる
- 4, 検品中砒素並有害性金屬を検出せず

乙、定 量 分 析

水 分	11,40%	食 鹽	3,18%
芒 硝	1,46%	鐵 (Fe として)	0,35%
色 素	(還元剤の消費量より $C_{13}H_{14}N_2O_7S_2Na_2$ と して算出) 84,82%		

右の試験成績に據れば検品中の色素は主としてジメチル-スルフォベンゾール-アゾ- α -ナフターナフトール-4-スルフォン酸のジナトリウム鹽 (Dimethyl-sulfobenzol-azo- α -naphthol-4-sulfonsauresdinatrium) よりなるものと認む但し鐵の含量 0,35% なるは食料色素の夾雜物として多きに過ぐる恨みあり

(5) 結 論

検品四種は何れも主要成分たる純色素の含量多く又有害性金屬を検出せざる逸品なれ共ボンソー SX は夾雜物として稍々多量の鐵を含有するのみならず定量分析の成績稍々不満足にして精製不充分ならざるやの疑あるものなるを以て4種中該品のみは清涼飲料水の著色料として品質佳良なるものと認め難きものなり 昭和7年10月 日

サンセットエロー FCF 外 3 種の石炭 タール色素の毒性調査報告

技 師 伊 東 幹 愛
助 手 霜 島 疆

サンセットエロー FCF, ブリリアントブルー FCF, ファストグリーン FCF, ボンソー SX は別紙石尾技師等の試験報告によれば夫々スルファニール酸アゾベタナフトール 6 スルホン酸のナトリウム鹽, デエチルデバラスルフォベンチルパラアミノオルトスルフォクソニモニウムのナトリウム鹽, デエチルデバラスルフォベンチルパラアミノスルフォ 4 ヒドロオキシフクソニモニウムのナトリウム鹽, デメチルスルフォベンゾールアゾアルファナフトール 4 スルホン酸のナトリウム鹽より成る新種のもものと判定せらるゝにより直ちにその毒性を決定せんと企て最近之が成績を得たるを以て報告せんとす。

1 金線蛙につきての試験

實驗動物としては金線蛙の雄を用ひ豫め試験室に 2~3 日間飼育せるものを用ひ檢體はすべて之を 10% 水溶液となし體重 10g に對する一定量を胸腔淋巴囊に各 3 匹宛注射し依りて起る變化を 24 時間觀察せり。然してその中毒症狀を一々詳述するは煩に堪へざるを以て之を表示し主なる症狀のみの記載に止めたり。

a ボンソー SX に就きての試験 6 月 17 日 室温 22°

動物 番號	體重 (g)	體重 10g に對 する 10% 液の 注射量 (cc)	全注射 量 (cc)	主なる症狀	生死	動物 番號	體重 (g)	體重 10g に對 する 10% 液の 注射量 (cc)	全注射 量 (cc)	主なる症狀	生死
1	22.0	0.1	0.220	全身赤色を帶 び元氣なし	生	7	23.0	0.3	0.690	劇しき痙攣, ストリキニー ネ様強直死	死
2	23.0	"	0.230			8	28.0	"	0.840		
3	22.5	"	0.225			9	26.0	"	0.780		
4	19.0	0.2	0.380	劇しき痙攣, 呼吸麻痺	死	10	25.0	0.5	1.250	"	死
5	19.5	"	0.300			11	25.5	"	1.275		
6	23.5	"	0.470			12	23.5	"	1.175		

b サンセットエロー FCF に就きての試験 6月17日 室温23°

動物 番號	體重 (g)	體重10gに對 する10%液の 注射量(cc)	全注射 量(cc)	主なる症状	生死	動物 番號	體重 (g)	體重10gに對 する10%液の 注射量(cc)	全注射 量(cc)	主なる症状	生死
13	31.0	0.1	0.310	全身オレンジ 色に著色し元 氣衰ふ	生	19	25.0	0.3	0.750	痙攣 痙攣, 眼球突 出 痙攣, 眼球突 出	生
14	29.5	"	0.295			20	27.5	"	0.825		死
15	26.5	"	0.265			21	19.5	"	0.585		生
16	23.0	0.2	0.460			22	20.0	0.5	1.000		死
17	21.0	"	0.420			23	23.0	"	1.150		生
18	19.5	"	0.390	痙攣	死	24	25.0	"	1.250	死	

c ファストグリーン FCF に就きての試験 6月20日 室温23°

動物 番號	體重 (g)	體重10gに對 する10%液の 注射量(cc)	全注射 量(cc)	主なる症状	生死	動物 番號	體重 (g)	體重10gに對 する10%液の 注射量(cc)	全注射 量(cc)	主なる症状	生死
25	16.5	0.1	0.165	全身綠色を呈 し元氣衰ふ	生	30	20.0	0.2	0.400	痙攣, 呼吸麻 痺, 強直死	死
26	18.0	"	0.180			31	19.5	0.3	0.585		
27	23.5	"	0.235			32	21.5	"	0.645		
28	19.0	0.2	0.380			33	16.5	"	0.495		
29	25.0	"	0.500			34	21.5	0.5	1.075		
						35	17.5	"	0.875		
				36	19.0	"	0.950				

d ブリアントブルー FCF に就きての試験 6月20日 室温23°

動物 番號	體重 (g)	體重10gに對 する10%液の 注射量(cc)	全注射 量(cc)	主なる症状	生死	動物 番號	體重 (g)	體重10gに對 する10%液の 注射量(cc)	全注射 量(cc)	主なる症状	生死
37	20.0	0.1	0.200	全身青色を呈 するも大なる 異狀なし	生	43	19.5	0.4	0.780	輕き痙攣	死
38	25.0	"	0.250			44	18.0	"	0.720		
39	23.5	"	0.235			45	18.0	"	0.720		
40	24.0	0.3	0.720			46	22.5	0.5	1.125		
41	20.5	"	0.615			47	22.0	"	1.100		
42	20.0	"	0.600	元氣なし	死	48	23.5	"	1.175		

2 マウスに就きての試験

實驗動物としてマウスの雄を用ひ檢體は豫め5%, 10%の2種の水溶液を作り之を必要に應じて體重10gに對し一定量宛各3匹に注射せり。注射法は皮下注射, 靜脈注射の二途を選び前者の場合には背部皮下へ後者の場合には尾靜脈に注入せり。依りて起る變化を24時間觀察しその中毒症狀は蛙の場合と同じく主なるものゝみを表示することゝせり。

甲 マウスの皮下注射に依る試験

a ポンソー SX に就きての試験 6 月 7 日 室温 22°

動物 番 号	體 重 (g)	體重 10g に對 する 10% 液の 注射量 (cc)	全注射 量 (cc)	主なる症状	生死	動物 番 号	體 重 (g)	體重 10g に對 する 10% 液の 注射量 (cc)	全注射 量 (cc)	主なる症状	生死
1	15.0	0.1	0.150	大なる異状を 認めざるも元 氣なし	生	4	18.0	0.2	0.360	劇しき痙攣後 麻痺	死
2	18.5	"	0.185			5	21.0	"	0.420		
3	37.0	"	0.370			6	20.5	"	0.410		

b サンセットエロー FCF に就きての試験 6 月 20 日 室温 23°

動物 番 号	體 重 (g)	體重 10g に對 する 10% 液の 注射量 (cc)	全注射 量 (cc)	主なる症状	生死	動物 番 号	體 重 (g)	體重 10g に對 する 10% 液の 注射量 (cc)	全注射 量 (cc)	主なる症状	生死
7	15.0	0.2	0.300	大なる症状を 認めず	生	16	19.0	0.5	0.950	輕き痙攣, 麻 痺	死
8	18.0	"	0.360			17	20.0	"	1.000		
9	16.5	"	0.330			18	19.0	"	0.950	"	生
10	21.0	0.3	0.630			19	16.0	0.6	0.960		
11	16.5	"	0.495			20	16.0	"	0.960	"	死
12	16.0	"	0.480			21	14.5	"	0.890		
13	16.0	0.4	0.640								
14	14.0	"	0.560								
15	13.5	"	0.540								

c ファストグリーン FCF に就きての試験 6 月 27 日 室温 23°

動物 番 号	體 重 (g)	體重 10g に對 する 10% 液の 注射量 (cc)	全注射 量 (cc)	主なる症状	生死	動物 番 号	體 重 (g)	體重 10g に對 する 10% 液の 注射量 (cc)	全注射 量 (cc)	主なる症状	生死
22	19.5	0.2	0.390	異状なし	生	28	13.0	0.4	0.520	輕き痙攣, 麻 痺	死
23	23.0	"	0.460			29	15.5	"	0.620		
24	16.5	"	0.330			30	17.0	"	0.680		
25	26.5	0.3	0.795			31	20.5	0.5	1.025	"	生
26	18.0	"	0.540			32	20.5	"	1.925		
27	18.0	"	0.540			33	14.5	"	1.725		

d ブリリアントブルー FCF に就きての試験 6 月 20 日 室温 23°

動物 番 号	體 重 (g)	體重 10g に對 する 10% 液の 注射量 (cc)	全注射 量 (cc)	主なる症状	生死	動物 番 号	體 重 (g)	體重 10g に對 する 10% 液の 注射量 (cc)	全注射 量 (cc)	主なる症状	生死
34	20.5	0.1	0.205	大なる異状な きも元氣なし	生	40	19.0	0.3	0.570	輕き痙攣, 麻 痺	死
35	19.5	"	0.195			41	26.0	"	0.780		
36	22.5	"	0.225			42	18.0	"	0.540		
37	19.0	0.2	0.380			43	17.0	0.5	0.850	劇しき痙攣	生
38	26.0	"	0.520	44	18.5	"	0.925				
39	18.0	"	0.360	45	16.0	"	0.800				

乙 マウスの静脈内注射による試験

a ポンソー SX に就きての試験 7月8日 室温 25°

動物 番號	體重 (g)	體重 10g に對 する注射量 (cc)	全注射 量 (cc)	主なる症狀	生死	動物 番號	體重 (g)	體重 10g に對 する注射量 (cc)	全注射 量 (cc)	主なる症狀	生死
46	16.5	5% 0.1	0.165	痙攣, 呼吸麻 痺	生	51	18.5	10% 0.1	0.185	劇しき痙攣, 呼吸麻痺	死
47	25.0	" "	0.250			52	20.5	" 0.2	0.410		
48	17.0	" "	0.170			53	20.0	" "	0.400		
49	17.0	10% 0.1	0.170			54	18.0	" "	0.360		
50	16.5	" "	0.165								

b サンセットエロー FCF に就きての試験 7月8日 室温 25°

動物 番號	體重 (g)	體重 10g に對 する注射量 (cc)	全注射 量 (cc)	主なる症狀	生死	動物 番號	體重 (g)	體重 10g に對 する注射量 (cc)	全注射 量 (cc)	主なる症狀	生死
55	17.5	10% 0.1	0.175	輕き痙攣	生	60	18.0	10% 0.4	0.360	劇しき痙攣, 呼吸麻痺	死
56	19.0	" "	0.190			61	14.5	" 0.3	0.435		
57	27.0	" "	0.270			62	17.0	" "	0.510		
58	15.0	" 0.2	0.300			63	18.0	" "	0.540		
59	22.0	" "	0.420								

c ファストグリーン FCF に就きての試験 7月19日 室温 26°

動物 番號	體重 (g)	體重 10g に對 する注射量 (cc)	全注射 量 (cc)	主なる症狀	生死	動物 番號	體重 (g)	體重 10g に對 する注射量 (cc)	全注射 量 (cc)	主なる症狀	生死
64	17.5	5% 0.1	0.175	異常なし	死	70	21.0	10% 0.2	0.420	麻痺劇しき痙 攣	死
65	20.0	" "	0.200			71	17.0	" "	0.340		
66	2.00	" "	0.200			72	16.5	" "	0.330		
67	21.5	10% 0.1	0.215			73	14.0	" 0.3	0.420		
68	24.0	" "	0.240			74	15.5	" "	0.465		
69	25.0	" "	0.250			75	14.5	" "	0.435		

d ブリリアントブルー FCF に就きての試験 7月19日 室温 26°

動物 番號	體重 (g)	體重 10g に對 する 10% 液の 注射量 (cc)	全注射 量 (cc)	主なる症狀	生死	動物 番號	體重 (g)	體重 10g に對 する 10% 液の 注射量 (cc)	全注射 量 (cc)	主なる症狀	生死
76	18.0	0.1	0.180	異常なし	生	81	15.0	0.2	0.300	痙攣, 麻痺	死
77	15.0	"	0.150			82	15.0	0.3	0.450		
78	15.0	"	0.150			83	15.5	"	0.465		
79	13.0	0.2	0.260			84	18.0	"	0.540		
80	16.0	"	0.320								

3 家兔静脈内注射試験

實驗動物として家兔の雄を用ひ體重は早朝空腹時に計上す檢體は 5% 及 10% 水溶液を用ひ共に體重 1kg に對し 10cc 宛耳静脈に注入しより起る變化を 10 日間觀察

せり其成績次の如し。

a 5% 溶液使用の場合

色素の種類	家兎 体重 kg	体重 1kg に對する 注射量 (cc)	経 過	生死	尿蛋 白	色素の種類	家兎 体重 kg	体重 1kg に對する 注射量 (cc)	経 過	生死	尿蛋 白	
ボンソー SX	1.75	10.0	注射後 2-3 日 間は多少衰弱 せるもの、如 きも漸時間復 せり	生	無	ファストグリ ン FCF	1.90	10.0	全身濃厚に著 色せる外左程 の異状を認め ず尿も亦強く 著色せしも約 5-6 日間にし て色調消失す	生	無	
	1.50	"		"	"		2.10	"		"	"	"
	2.00	"		"	"		2.10	"		"	"	"
サンセットエ ロー FCF	1.70	"		"	"	ブリリアント ブリュー FCF	1.85	"		"	"	"
	2.00	"		"	"		2.00	"		"	"	"
	2.35	"		"	"		2.35	"		"	"	"

b 10% 溶液使用の場合

色素の種類	家兎 体重 kg	体重 1kg に對する 注射量 (cc)	経 過	生死	尿蛋 白	色素の種類	家兎 体重 kg	体重 1kg に對する 注射量 (cc)	経 過	生死	尿蛋 白					
ボンソー SK	1.50	10.0	いづれも輕き 痙攣後麻痺、 呼吸麻痺にて 斃る	死	無	ファストグリ ン FCF	1.60	10.0	注射直後より 全身著色せる も左程の異状 を認めず尿又 極度に著色せ るも 5-6 日間 にして色調漸 時消失せり	生	"					
	1.90	"					"	"				1.83	"	"		
	1.47	"					"	"				1.90	"	"		
サンセットエ ロー FCF	1.47	"				"	"	ブリリアント ブリュー FCF				1.63	"	"	"	"
	1.90	"				"	"					1.95	"	"	"	"
	2.10	"				"	"					2.22	"	"	"	"

4 總 括

以上の實驗成績を通覽して各色素の體重 1 kg に對する致死量を算出し之を表示するに次の如し。

色素の種類	動物の 種類	投與方法	体重 1kg に對する 致死量 (g)	色素の種類	動物の 種類	投與方法	体重 1kg に對する 致死量 (g)
1. ボンソー SX	蛙	皮下注射	2.0	3. ボンソー SX	マウス	靜脈内 注射	1.0
サンセットエロー FCF	"	"	3.0	サンセットエロー FCF	"	"	2.0
ファストグリーン FCF	"	"	3.0	ファストグリーン FCF	"	"	1.0
ブリリアントブリュー FCF	"	"	4.0	ブリリアントブリュー FCF	"	"	2.0
2. ボンソー SX	マウス	皮下注射	2.0	4. ボンソー SX	家兎	靜脈内 注射	1.0
サンセットエロー FCF	"	"	5.0	サンセットエロー FCF	"	"	1.0 以上
ファストグリーン FCF	"	"	3.0	ファストグリーン FCF	"	"	
ブリリアントブリュー FCF	"	"	3.0	ブリリアントブリュー FCF	"	"	

即ち本試驗成績より見る時は以上 4 種の色素は一般に毒性比較的弱く 4 種の内にてはボンソー SX 最も強し故に若し以上 4 種の色素にして化學的試驗成績可良ならんには之を清涼飲料水原料として使用するも大過なからんか。昭和 7 年 9 月

ビタミン標準試験法 (第二報)

ビタミン D

嘱 託 山 本 允 秋
 助 手 萬 年 文 雄
 助 手 小 野 尹
 助 手 福 王 隆

第7章 Vitamin D 試験方法

- | | |
|---------------------------|---------------------|
| 1. 緒言 | 10. 検体の與へ方 |
| 2. 白鼠飼育上の注意 | 11. 治療期間 |
| 3. 白鼠の死亡率 | 12. レントゲン撮影に就て |
| 4. 白鼠の補充 | 13. 季節と佝僂病の程度 |
| 5. 設備 | 14. 佝僂病の治療に就て |
| 6. 試験方法の種類 | 15. 試験結果の判定 |
| 7. 白鼠の体内に於ける Vitamin D 貯藏 | 16. Vitamin D 標準試験法 |
| 8. 試験方針 | 17. 實驗例 |
| 9. 基礎飼料 | |

1 緒言

曩に第1報として衛生試験所彙報第39號に於て Vitamin A,B,C, 3種の定量方法を報告せり

著者等は更に西崎博士及所長衣笠博士の懇篤なる指導の下に Vitamin D 定量方法の研究に従事せり、本定量方法は他と趣を異にし從來文献に示されたる方法を以てしては殆んど不可能なるを認めたり是れ外國に於て使用せらる基礎飼料は我國にては本研究に適せざればなり然れども其の方法宜しきを得んか各種の Vitamin 中最も簡單正確且つ僅少の經費を以て行ふを得べし

茲に第2報として Vitamin D 標準試験方法を報告せんとす

2 白鼠飼育上の注意

著者等は白鼠の飼料として第1報に次の二法を示せり

Diet 1

小 麥 粉 末 98.5% 食 鹽 1.5%

外に新鮮なる牛乳を自由に飲みしむ

Diet 2 (体内貯藏 Vitamin A を制限する場合)

脱 脂 乳 粉 末 1/3 小 麥 粉 末 2/3

食鹽を小麥の 2%

前記飼料の小麥は之を粉末にする要あり然らざれば白鼠は小麥のみを撰びて食すればなり尙牛乳は新鮮にして Vitamin A に富み白鼠の体内に十分 Vitamin A を貯藏せしめ得るものならざるべからず又十分之を攝取せしむる必要あり然らざれば Reproduction の成績良好ならざることあり

繁殖上の注意 白鼠は出産後其周圍喧騒なるときは仔鼠を食ふ習慣あり甚だしきは飼料を與ふる爲め容器を其の籠中に差入するのみにても食ふものあり特に出産後2~3日は最も注意を要す余等最初此の點に注意を缺きたるを以て莫大の損失を蒙りたり依つて次の如き方法を採用せんことを推奨す即ち出産は交尾後 21~22 日なるを以て 20 日前後と覺しき頃妊娠せる母鼠は之を静かなる別室に移し黒布にて籠を覆ふ但し空氣の流通には十分注意を要す毎朝静かに籠に接近し分娩せるや否やを窺ふべし若し出産せる時は仔鼠の鳴聲にて之を知るを得べし此の際は生後少くとも 3 日間は全く手を付けず其の儘にて放置すべきなり勿論飼料及水は豫め數日間用意し置くべし出産するまで總ての手入及新鮮なる牛乳を與ふる事は忘るべからず引續き牛乳を與ふる必要あるときは出産後 3 日間は Diet 1 に全乳粉末 (例へばクリム, 森永ドライミルクの如きもの) を 1/2 添加して用ふべし斯くして生後數日安靜に放置すれば白鼠の損失を招くことなし尙 1 度出産せる白鼠は完全榮養にて 2 ヶ月間飼育したる後に交尾せしむべし特に出産後 Diet 2 を與へたる白鼠を引續き妊娠せしむるが如きは例へば Vitamin A の試験に於ても發病期間を甚だ短縮せしめ思はしき成績を得る能はず注意すべし

白鼠の發育狀態(第 1 報の續)

第 1 表

飼 料 Diet 1

出産月日	分娩時		生後21日平均 體重	生後30日の體重						生後60日の體重					
	仔數			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	
	3月30日	4	2	37.3g	65.5g	70g	61g	60g	61g	59g	205.2g	210g	200g	142.5g	143g
6月25日	1	3	29.0	55	55	55	51	55	48	200	200	200	135	145	130
7月2日	6	2	27.9	54.1	60	47	50	53	47	180	195	165	156.6	170	140
9月22日	2	4	36.1	52	50	54	50.5	50	51						
10月22日	8	1		56.9	48	57	55	55	55						
11月4日	2	4	36.3	38	36	40	39.5	33	42						
10月14日	1	4		60	60	60	53.2	50	55						
11月16日	3	7	22.5	37.3	37	38	35	34	35						
12月28日	3	6	31.1	46.6	45	48	44.5	43	49						

第 2 表

飼料 Diet 2

但し出産日まで親は Diet 1 にて飼養す

生後 28 日目の體重(雄雌混合)

出産月日	分娩時 仔數	平均	最底	最高	出産月日	分娩時 仔數	平均	最低	最高
2月29日	11匹	35.5g	29g	40g	6月16日	7	50.0	46	53
3月27日	12	36.2	27	44	7月19日	7	37.4	32	41
4月11日	9	39.5	36	42	7月26日	10	35.5	32	38
4月26日	8	49.5	41	58	8月10日	12	40.9	38	45
5月25日	9	42.8	34	49	8月26日	11	39.1	32	44
5月10日	8	50.7	46	54	1月19日	9	41.4	35	45
5月12日	7	53.5	50	59	1月20日	8	39.4	35	46

3. 白鼠の死亡率

動物の死亡率に就きては既に第1報に於て報せる如く十分の注意を以て實驗室に於て飼養せる白鼠を試験に供するときは殆んど1匹の落伍動物をも出すものに非ず實驗途中に於て他の疾病の爲めにたとへ1匹たりとも斃れることありとせば既に其の實驗の不正確を物語るものなり斯くの如き落伍動物を出すとせば他の生存動物中にも亦同様の疾病に犯されたるものの存する事を覺悟せざるべからず是れ最後の結果に於ける判定を誤らしむるものと云はざるべからず此の點は實驗者の最も注意を要する事項なるを以て茲に之を再説する所以なりとす

4. 白鼠の補充

Vitamin の試験に使用する白鼠は實驗室に於て繁殖飼養せるものの最も理想的なる

は既に度々述べたる所なれども甚だ急を要する場合若しくは 100 匹以上多数の動物を準備せんとする時設備共の他の都合により間に合ひ難き事あり斯くの如き場合は之を市中より購入して補充すべきなるも此際は生後数日の仔鼠を親と共に求むべし茲に一言を要するは斯かる鼠は何れの飼料を以て養ふも完全なる生長を爲さずして發育甚だ不良なるものあり是れ出産前親の榮養不良なるに由るなり發育の甚だしく後れたるもの及び一旦發育不良にして毛並の荒れたる仔鼠は其の後健康を回復するとも斷じて實驗に用ふべからず著者等の經驗に依るに購入後直ちに Diet 2 にて飼育せる鼠は 1 腹仔 10 組の中 1~2 組は常に充分の發育を爲し得ざるものあるを認めたり

斯く購入して生後約 4 週間と覺しき頃まで飼育せる發育充分なる鼠を試験に供するに多少の落伍はあるも略好成绩を得べし(實際購入せる仔鼠は發育悪しきものなれば 4 週間で少し經過して所定の體重に達せるものを用ふるを可とす)

體重 40~50 gm の白鼠を購入して直ちに試験に供すれば續々落伍して完全なる試験は成し難きものなり動物試験の不正確を論ずるに當りては必ずその Technique を考慮すべき必要あり

5. 設 備

實驗室溫度鼠籠等總て第 1 報に詳述せる如し只異なるは Vitamin D 試験に於ては紫外線の射入せざる様充分なる注意を要す此の點に注意を拂ふに非ざれば基礎飼料は如何に完全なるも白鼠は佝僂病に罹り難し特に紫外線の豊富なる夏秋に於ては充分なる設備を施すべし余等は常に暗室を使用せり

又鼠籠も常に清潔に保つは必要なれ共日光に曝したるものを用ふるは不可なり是れ白鼠は紫外線の照射を受けたる籠に居らしむる時は佝僂病に罹り難きものなればなり

1925 年 E. H. Nelson and H. Steenbock は動物籠の亞鉛鍍金せる鐵の Screen を照射すれば antirachitic Vitamin を缺乏せる飼料にて養ふも白鼠は Normal の發育を爲す事を報告せり

6. 試験方法の種類

Vitamin D の定量に對しては分析的等種々の方法あれどもその多くは甚だ手数を要し且つ熟練に待たざるべからず而して最も多く用ひられ且つ信頼し得る方法は line

test 及レントゲン法にして後者の方法には次の利點あり

- 1 動物を殺す必要なきこと
- 2 佝僂病に罹れるや否やを正確に知り得ること
- 3 手数を要せざること

然れども本法は肉眼的検査なるを以て line test の如き顯微鏡的検査と異り檢體中の Vitamin D 檢定に對し極めて僅微の含有量の差異を短時日の間に見出す能はざる缺點有るも實用的には最も勝れたる最も正確なる方法なり

7, 白鼠の體内に於ける Vitamin D 貯藏

1923 年 Alfred F. Hess, M Weinstock, and E. Tolstoi 氏等は Vitamin D 試験に於ては授乳期中の飼料は基礎飼料と同様に白鼠の罹病に重大なる關係あるを報告せりその他の文献を参照するに白鼠は體内に Vitamin D を貯藏する能力を有することは疑を容れず然れども著者等の經驗に依れば生後約 4 週間の仔鼠を用ひて試験するに其の體内貯藏 Vitamin D は大なる妨害を爲すものに非ずと考ふ従つて本試験に採用する白鼠は完全榮養を以て飼育し Vitamin A を十分體内に貯藏せしめ試験期間中 Vitamin A 缺乏症を發するが如きことなからしむるを要す基礎飼料中黄色玉蜀黍は Vitamin A の給源なるも豫め體内に十分 Vitamin A を貯藏せしむれば Vitamin A 缺乏飼料にて養ふも 50~60 日は堪へ得るを以て何等の懸念なく試験を終へるを得べし

8, 試験方針

本試験も亦治療豫防何れの試験にても可なり然れども他の Vitamin 試験と異り其の方法宜しきを得ざれば白鼠は必ずしも佝僂病に罹らず時季により甚しく左右さる故に本試験は一旦正確に佝僂病を生せしめたる後治療試験を行はんことを推奨す

9, 基礎飼料

本試験に於て最も困難を感ずるは基礎飼料なり何となれば他の Vitamin 試験と異り飼料中 Vitamin D を缺くも必ずしも白鼠は佝僂病に罹らざればなり而して本飼料中には Vitamin D 以外の他の Vitamin は悉く含有せしむる必要あり然るに Vitamin A を含有せしめんとすれば常に A 中 D を隨伴するを以て Vitamin D も共に含有するに至る又 Vitamin A の含量を減少すれば白鼠は Vitamin A 不足に苦しみ試験の

未だ終らざるに Vitamin A 缺乏症を發することあり

佝僂病に罹る原因は未だ充分判明せざれども Vitamin D の缺乏磷とカルチウムの不調和なること及び磷の量の所要量より以下なることは絶対必要條件なり

文献中に於ける基礎飼料中最も著明にして各研究者に依りて多く用ひらるるは1925年 McCollum 氏等の Diet 3143 及 1925年 Steenbock 氏等の Diet 2965 なり然れども本邦に於て上記及其他の基礎飼料を以て直ちに試験を始むるは不可なり極めて特殊の例外を除き白鼠は佝僂病に罹るものに非ず是著者等が文献中に教へられたる飼料を以て試験に著手し過去1年に互り失敗を反覆したればなり本邦の如き氣候竝に食物の成分中鹽類の含有量を異にする所に於ては特種の飼料を調製する必要あり

1925年 E. N. McCollum, Nina Simmonds and J. Ernestine Becker は McCollum 氏 Diet 3143 號は飼料中麥の種類に依り動物は佝僂病に罹り難きものなりとして之に代るべき他の飼料を報告せり

要するに Vitamin D の研究は世界各國常に同一の飼料を用ふること能はざるなり著者等は苦心の結果次の飼料を調製せり

Diet No. 11

小 麥 麸	7	米澱粉(或は白色デキストリン)	54
卵 白	80 (内蛋白 10 水 70)	CaCO ₃	3
玉蜀黍(黄色)粉末	25	NaCl	1

外に Vitamin B 補充として乾燥ビール酵母 0.1 gm を1日1回別の容器に入れて與ふ

小麥麸の製法(西崎博士著蛋白質化學 81 頁原文の儘)「麸素(Gluten 又は Kleber)を製するには小麥粉 25 分を取り之に水 13 分を加へ能く搓捏して 30 分間放置したる後水道栓を開き水を流出せしめ澱粉を洗去すれば麸素は黄褐色にして彈性を有する粘着性の塊をなし殘留す」

上記の如くにして製せるものを米澱粉の助けをかりて乾燥粉末にして用ふべし

卵 白

新鮮なる鶏卵を求め煮沸して其の卵白を水洗して卵黄を完全に取り去りたるものを直ちに使用すべし

余等は最初市中よりエッグ、アルブミンを求め粉末となして使用したるも卵白を其の儘混合せる飼料に比し罹病程度良好ならざりしを以て已むを得ず CaCO_3 を 4% に増加せり然るに卵白を用ふれば CaCO_3 は 3% にて十分佝僂病を發病せしめ得べし是れ卵白は Vitamin B₂ を含有するを以て之れに他の B を補給すれば白鼠の發育甚だ良好なる爲なるべし

市中販賣の乾燥エッグ、アルブミンを使用するときは Vitamin B の補給量を増加せざれば發育佳良ならざる事あり然るに普通 B の製劑中には常に磷を含有せるを以て B の量をあまり増加するは磷を多量に與ふる事となり其の結果佝僂病に罹り難し

玉蜀黍

白色と黄色の 2 種あれども黄色のものを粉末として用ふ上等品を用ふべし粉末にせる如きものを購ふ可からず是れ Vitamin A 及 B の給源なればなり

CaCO_3 NaCl

共に化學的純粹のものを購入すべし是れ Mg 等の混入あれば磷と同様に佝僂病に罹り難しとの説あればなり

飼料の調製法

小麥麩は常に小麥粉より製造せる新鮮なるものを用ふ可し市中より燒麩の原料を求むるは宜しからずニガリを使用する故 Mg を含めばなり出來得る限り水分を搾り去り直ちに米澱粉(若しくは白色デキストリン)の一部の助けを借りて能くこれを搓捏混和したる後小片に分ちなし 76°~80° にて乾燥し粉碎機にて細粉となして用ふ

使用に當りては使用せる米澱粉の計算量減じて所要の%と爲して用ふる事

飼料中 Vitamin A, B を充分含有せしむることは必要なり Vitamin A は玉蜀黍中にあり(白色玉蜀黍は Vitamin A を含有せず)文献を参照するに 25% にて充分と思はるるも 1925 年 H. Steenbock and Archie Black 氏等は McCollum 氏 3143 號の基礎飼料は玉蜀黍 33% にては尙不充分なるを言へり依つて著者等の方法は基礎飼料給與前の飼料を後に述ぶる如く牛乳を與へ充分體內に Vitamin A を貯藏せしむ然るときは白鼠は Vitamin A 缺乏飼料にて數十日は Normal の發育を爲すものなり即ち著者等は體內貯藏 Vitamin A と 25% の玉蜀黍の Vitamin A にて試験中 Vitamin A

に不足を來すことなからしめたり次に Vitamin B は玉蜀黍中の含量及卵白の B₂ にては明かに B₂ 以外の faktor 不足なり著者等は乾燥ビール酵母 0.1 gm を日々補足したり白鼠は好んでこれを食べ

著者等の飼料を調製して白鼠に與ふるに驚くべき正確さを以て佝僂病に罹るを見るべし、他の文献中に見ゆる飼料を用ふるときは數十日の長きを要し佝僂病に罹るを得ず、或は時季により罹病することあるも極めて少數の 1 部に過ぎずして試験動物として採用し難きものあるに反し著者等の飼料にて生後 28 日の白鼠を飼育するに僅かに 3 週間(春季は 2 週間にて充分)にして冬を除く外例外なく Vitamin D 缺乏症を發すべし且つ著者等の方法に依る時は發育良好にして試験途中にて Vitamin A 缺乏症を發することなく確實なる結果を得べし上記の方法に依れば甚だ短期日にして且つ飼料の精製も要せず最も輕少の經費にて行ふを得べし

10. 檢體の與へ方

本試験に於ては肝油或はオリーブ油に溶解せるエルゴステリン或は是に類似せる檢體は基礎飼料とは別に經口的に與ふるを可とす然れども P 及 Ca を含む檢體の Vitamin D を試験せんとする時は是等を基礎飼料に混合して與ふる場合は先づ檢體中の P 及 Ca の定量を行ひ其の結果により基礎飼料中の CaCO₃ の量を増減して檢體及基礎飼料の混合飼料中に含まる P 及 Ca の比を常に基礎飼料中の比と同様にすべし是れ最も必要の事項なり注意すべし

11. 治療期間

文献を参照するに各研究者により其の日數を異にす 5 日, 7 日, 8 日, 10 日, 14 日, 21 日, 等の如し Line test の如き顯微鏡的検査に依るときは 10 日以内の短時日に於て骨化作用を認むるを得べし然れどもレントゲン法のみに依るときは肉眼的検査に屬するを以て極めて短時日に試験を終るは不可なり著者等は 14 日を以て試験期間と定めたり

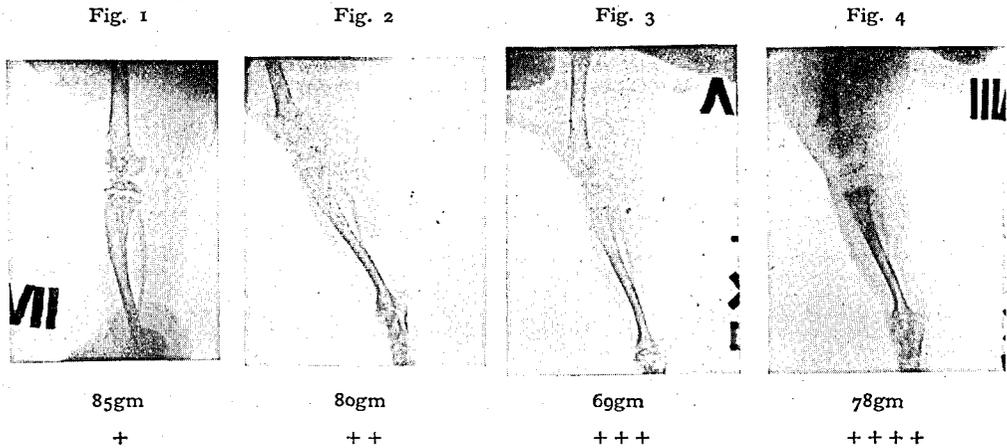
12. レントゲン撮影に就きて

研究者に依りては撮影の際白鼠を固定する爲エーテル麻酔を行ふものあり著者等の經驗に據れば斯かる必要なし麻酔法はその處置宜しきを得ざれば往々にして白鼠は死する恐あるを以て斯かる方法は可及的避くるを可とす、撮影は僅か $\frac{1}{2}$ - $\frac{1}{10}$ 秒にて終る

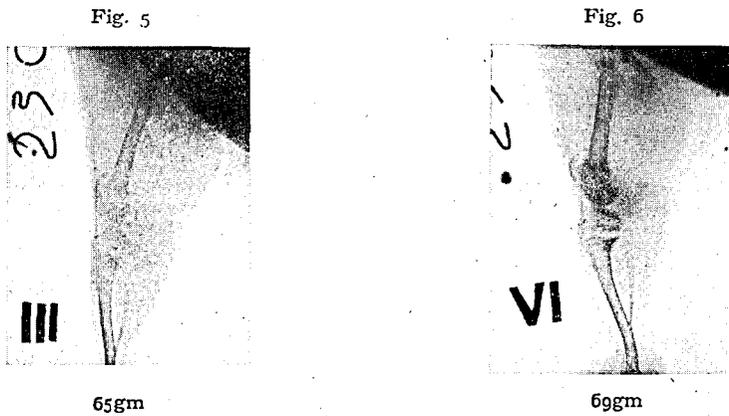
を以て熟練すれば斯かる必要なかるべし尙撮影は左足膝關節部を選ぶべし左右何れも全く同一なれ共便宜上各研究者の檢定方法に従ひ斯く定めたり

13. 季節と佝僂病の程度

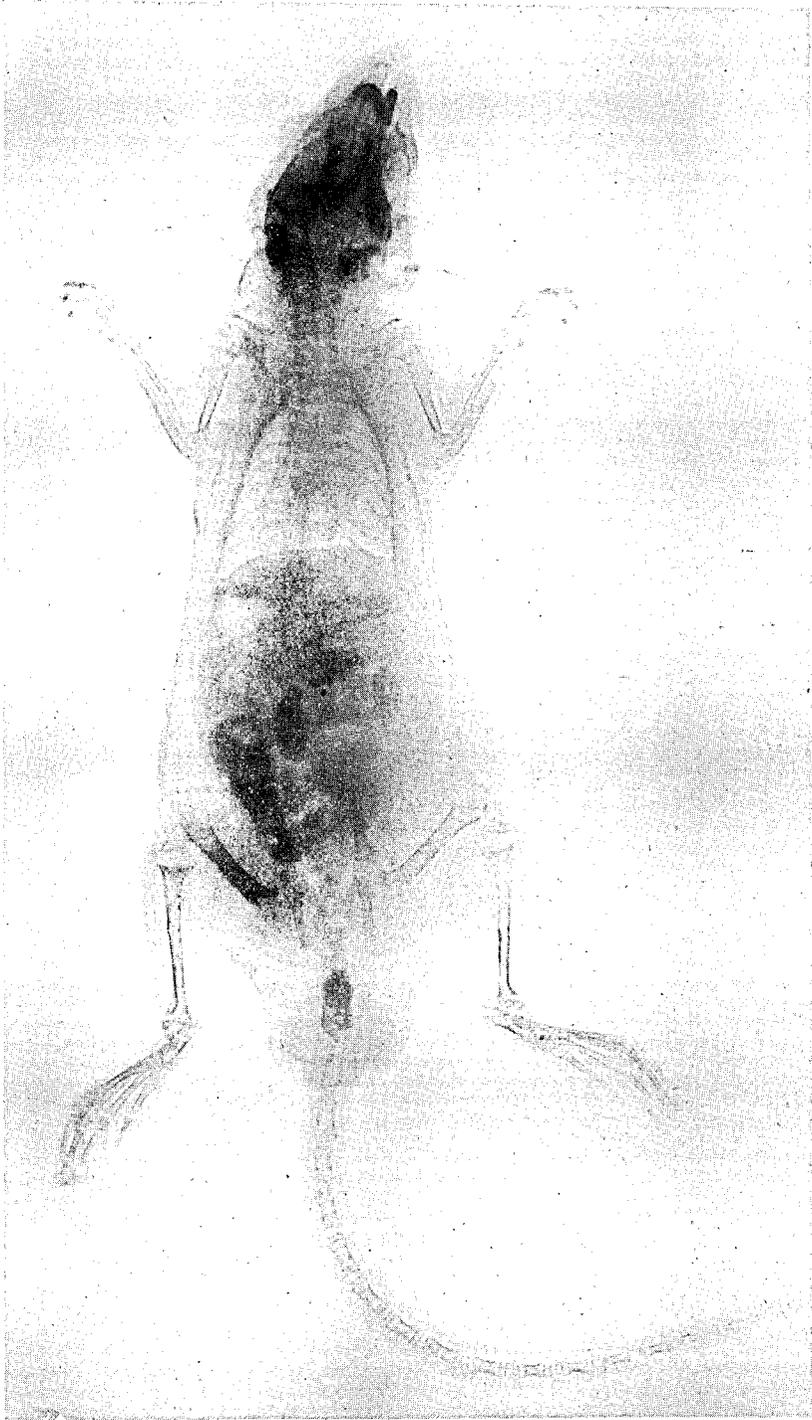
白鼠の罹病程度は季節により必ずしも一樣ならず著者等の經驗に依るに春季は最も罹り易く夏季秋季是れに次ぎ冬季は本試験を行ふに適せざるが如し他の3季は罹病容易にして其の發病程度も概して同一なるも冬季に於ては充分の Vitamin D 缺乏症狀を發せしむる能はず且その程度甚だ不揃なるを見る然れ共經驗尙淺きを以て果して季節によるものなりや或はその際使用せる飼料によるものなるや正確に斷言するを得ず



上圖は佝僂病に罹れる白鼠の左足關節を示す Vitamin D 定量の場合に + + + 程度の症狀を呈せしむるを要す



上圖は治癒しつつある状態を示す



83gm 佝僂病に罹れる白鼠の全身を示す

後日の研究に俟つべし、著者等の飼料を使用すれば白鼠は容易に+++或は++++程度の佝僂病 (Fig 3 及 4 参照) に罹れるも季節により長短あり例へば春季の如きは2週間にて十分なるも他の季節にては長きは4週間を要すべし冬季は長期間飼養するも++程度若しくは全然罹病せず

茲に注意すべきは健康なる白鼠も發育の途中にあるものは恰も軽度の佝僂病に罹れる如く Diaphyse と Epiphyse との中間に稍間隙を有するものあり依つて斯かる動物と區別する爲め常に本試験にありては+++程度の罹病動物を出す如く努力すべきなり

14. 佝僂病の治癒に就て

Vitamin D を缺乏せる所定の基礎飼料を與へて佝僂病を發せる白鼠に Vitamin D を含有する檢體を與ふるも飼料を異にするときは必ずしも其の治癒程度同一ならざるは既に A. Van Harreveld 氏の報告せる所なり是れ基礎飼料中に含有する磷, Vitamin B 及其の他に依りて著しく影響さるるものにして同氏は斯の如き缺點ある即ち磷の甚だ僅少なる且 Vitamin B, Albumen の不十分なる飼料を使用すれば Vitamin D 缺乏症は呈せしめ得るも肝油の大量を與へて尙治癒せしめ得ざる事を報告せり余等亦實驗の結果之を確證するを得たり

著者等の飼料を使用するに當り特に注意すべきは Vitamin B なり若し實驗中漸次體重減少する傾向あらば補給せる Vitamin B の不充分なりと知るべし著者等は大日本麥酒會社より特別に分讓を乞ひたり別記の飼料に Vitamin B を補給すれば發育良好なり

15. 試験結果の判定

治療結果の判定に先だちて注意すべき事は治療期間中の白鼠の發育状態なり白鼠は Vitamin D を給與せずとも絶食する事により佝僂病を治癒せしめ得るものなり依つて治療期間中は撮取量に十分注意を拂ふべし撮取量の餘り僅少なるもの及試験期間中發育停止並びに體重減少せるものは試験成績より除外すべし

各研究者の多くは治療期間に於ける治癒程度により檢體中の Vitamin D 含有量を判定せんとせり著者等の經驗に依るに顯微鏡的検査は例外とするもレントゲン法にて検査するときは此の治癒程度を正確に區別するは困難なりと考ふるを以て治療期間中に完全に治癒せしめ得る檢體量を求むるを可とすべし

16. Vitamin D 標準試験法

治療試験を行ふべし實驗室に於て同一系統に屬する白鼠を常に次の飼料を以て養ふべし

小 麥 粉 末 98.5% 食 鹽 1.5%

外に新鮮なる牛乳を自由に飲ましむべし

試験を開始せんとするときは是等白鼠を妊娠せしめ生後 28 日に至り下記の基礎飼料を與ふべし水は蒸餾水を與ふべし

Diet No. 11

小 麥 麸	7	米 澱 粉	54
卵 白	80 (内蛋白 $\frac{10}{70}$)	CaCO ₃	3
玉蜀黍(黄色)粉末	25	NaCl	1

外に各鼠に付き乾燥ビール酵母 0.1 gm を日々別に補足して用ふべし

2-3 週間後レントゲン撮影を行ひ佝僂病に罹れるを確めたる後(佝僂病は+++の程度なるを要す)(Fig 3 参照)直ちに檢體を與へ治療期間を 14 日とす(撮影は 15 日に行ふ) 試験動物は各群少くとも 10 匹を要す而して治療期間中一群少くとも 8 割の白鼠を完全に治療せしめ得る最少檢體量を見出すべし體重秤量は治療前後 2 回行ひ治療期間中體重減少せるもの及び攝取量の甚だ少きものは除外すべし(完全なる治療を求むべきか或は石灰沈着を認め得べき所要檢體量を見出すべきかに關しては後日の研究に俟つて之を決定すべきも著者等は前記の如く暫定的に完全治癒試験を採用せり)

尙試験成績發表の際には必ず其の時季を明記すべし

實 驗 例 1

以下の實驗例に必ずしも標準試験法の如く行ひたるものに非ず依つて所要檢體量も多少異り且動物の發育狀態筈も劣ると知るべし

檢 體 市中販賣某著名肝油

試験時季 昭和 7 年 5 月—6 月

所定の方法に依り實驗室に於て飼育せる生後 28 日體重 40-50gm の仔鼠を Diet No. 11 にて飼育す 15 日後にレントゲン撮影を行ふに悉く佝僂病に罹れるを認めたり依つて檢體を 1mg, 5mg, 10mg, 20mg, 50mg. に分ち與へたり試験動物は體重減少せるものは除外し補充して各群 10 匹とせり以下の實驗も全部同様なり

試 驗 成 績

1 群

檢體量 1mg (試験動物として採用せる取初. 體重は省略以下同じ)

動物番號	罹病程度	最初の體重	最後の體重	増加體重	試験期間	治癒程度	動物番號	罹病程度	最初の體重	最後の體重	増加體重	試験期間	治癒程度
1	+++	67gm	80gm	13gm	14日	-	6	+++	70gm	83gm	13gm	14日	-
2	+++	79	106	27	"	-	7	+++	57	71	14	"	-
3	+++	67	82	15	"	-	8	+++	64	79	15	"	-
4	+++	71	86	15	"	-	9	+++	55	64	9	"	-
5	++++	65	73	8	"	-	10	++++	66	81	15	"	-

最初の體重は檢體を興へ始めたる時を意味す

第 2 群 檢體量 5mg

動物番號	罹病程度	最初の體重	最後の體重	増加體重	試験期間	治癒程度	動物番號	罹病程度	最初の體重	最後の體重	増加體重	試験期間	治癒程度
11	+++	61gm	71gm	10gm	14日	+	16	+++	63gm	75gm	12gm	14日	+++
12	++	47	56	9	"	++	17	+++	55	73	18	"	++
13	+++	64	74	10	"	+	18	++++	63	64	1	"	+++
14	++++	62	79	17	"	++++	19	++++	73	90	17	"	+++
15	++++	53	62	9	"	++++	20	+++	68	84	16	"	+

第 3 群 檢體量 10mg

動物番號	罹病程度	最初の體重	最後の體重	増加體重	試験期間	治癒程度	動物番號	罹病程度	最初の體重	最後の體重	増加體重	試験期間	治癒程度
21	+++	61gm	78gm	17gm	14日	++++	26	++	54gm	58gm	4gm	14日	++++
22	+++	68	89	21	"	++++	27	+++	50	56	6	"	++++
23	+++	67	83	16	"	++++	28	++	48	50	2	"	++++
24	++++	66	77	11	"	++++	29	+++	57	60	3	"	++++
25	++++	55	65	10	"	++++	30	+++	58	66	8	"	+++

第 4 群 檢體量 20mg

動物番號	罹病程度	最初の體重	最後の體重	増加體重	試験期間	治癒程度	動物番號	罹病程度	最初の體重	最後の體重	増加體重	試験期間	治癒程度
31	+++	64gm	78gm	14gm	14日	++++	34	++++	75gm	76gm	1gm	14日	++++
32	++++	68	84	16	"	++++	35	+++	59	64	5	"	++++
33	++++	66	75	9	"	++++	36	+++	83	95	12	"	++++

第 5 群 檢體量 50mg

動物番號	罹病程度	最初の體重	最後の體重	増加體重	試験期間	治癒程度	動物番號	罹病程度	最初の體重	最後の體重	増加體重	試験期間	治癒程度
37	++++	86gm	103gm	17gm	14日	++++	40	+++	60gm	65gm	5gm	14日	++++
38	++++	65	69	4	"	++++	41	++++	72	93	21	"	++++
39	+++	72	73	1	"	++++							

上記の成績表に見る如く檢體 1mg にては治癒せず 5mg の量にては稍々不十分なり
10mg 以上は完全に治癒せり

即ち所要の檢體量は 5mg と 10mg の中間に存するを知る

実験例 2

検 體 市中販賣 Vitamin D 製劑 A

試験時季 昭和7年7-8月

試験動物は實驗室にて飼育せるもの及市中より購入して約1ヶ月間飼養せる體重 40gm-50mg のものを採用せり Diet No. 11 を給與後 21 日後にレントゲン撮影を行ひたるに悉く佝僂病に罹れるを認めたり依つて檢體を $1/10000$ mg (エルゴステリン) $1/5000$ mg $1/1000$ mg $1/500$ mg $1/100$ mg に分ち與へたり

試験成績

第 1 群

檢 體 量 $1/10000$ mg

動物番號	罹病程度	最初の體重	最後の體重	増加體重	試験期間	治癒程度	動物番號	罹病程度	最初の體重	最後の體重	増加體重	試験期間	治癒程度
45	+++	62gm	72gm	10gm	14日	-	50	+++	74gm	76gm	2gm	14日	-
46	++++	78	87	9	"	-	51	++++	65	73	8	"	+
47	+++	64	70	6	"	-	52	+++	67	69	2	"	-
48	+++	65	73	8	"	-	53	+++	68	73	5	"	-
49	+++	67	77	10	"	-	54	+++	62	65	3	"	-

最初の體重は檢體を與へ始めたる時を意味す

第 2 群

檢 體 量 $1/5000$ mg

動物番號	罹病程度	最初の體重	最後の體重	増加體重	試験期間	治癒程度	動物番號	罹病程度	最初の體重	最後の體重	増加體重	試験期間	治癒程度
55	+++	58gm	68gm	10gm	14日	-	60	+++	71gm	82gm	11gm	14日	-
56	+++	69	81	12	"	-	61	+++	69	78	9	"	-
57	+++	81	87	6	"	-	62	+++	66	71	5	"	-
58	+++	79	100	21	"	-	63	++	54	56	2	"	-
59	+++	55	70	15	"	-	64	++	53	55	2	"	-

第 3 群

檢 體 量 $1/1000$ mg

動物番號	罹病程度	最初の體重	最後の體重	増加體重	試験期間	治癒程度	動物番號	罹病程度	最初の體重	最後の體重	増加體重	試験期間	治癒程度
65	+++	56gm	68gm	12gm	14日	++	70	+++	63gm	70gm	7gm	14日	+++
66	+++	65	74	9	"	++	71	+++	49	65	16	"	+++
67	+++	72	75	3	"	+++	72	+++	72	79	7	"	+++
68	+++	67	78	11	"	+++	73	+++	70	72	2	"	++
69	+++	60	63	3	"	+++	74	+++	61	67	6	"	++

第 4 群

檢 體 量 $1/500$ mg

動物番號	罹病程度	最初の體重	最後の體重	増加體重	試験期間	治癒程度	動物番號	罹病程度	最初の體重	最後の體重	増加體重	試験期間	治癒程度
75	+++	70gm	82gm	12gm	14日	++	80	+++	48gm	57gm	9gm	14日	++++
76	+++	75	85	10	"	+++	81	+++	59	69	10	"	++++
77	+++	60	62	2	"	++++	82	+++	75	91	16	"	++++
78	+++	60	62	2	"	++++	83	+++	71	77	6	"	++++
79	+++	81	100	19	"	++++	84	+++	71	73	2	"	++++

第 5 群

検 體 量 $1/100$ mg

動物番號	罹病程度	最初の 體 重	最後の 體 重	増加體重	試験期間	治癒程度	動物番號	罹病程度	最初の 體 重	最後の 體 重	増加體重	試験期間	治癒程度
85	+++	77gm	79gm	2gm	14日	++++	90	+++	61gm	78gm	17gm	14日	++++
86	+++	71	73	2	"	++++	91	+++	67	75	8	"	++++
87	+++	92	102	10	"	++++	92	+++	59	63	4	"	++++
88	+++	73	75	2	"	++++	93	+++	58	67	9	"	++++
89	+++	64	67	3	"	++++	94	+++	59	71	12	"	++++

上記の表によりて判断するに +++++ の治癒を生ぜしむるに必要な検體量は $1/1000$ mg と $1/500$ mg の中間に存するを知る

實 験 例 3

檢 體 市中販賣 Vitamin D 製劑 B

試験時季 昭和7年8-9月

試験動物は實驗例2と同様

Diet No. 11 を給與後 21 日後にレントゲン撮影を行ふ

悉く佝僂病に罹れるを認めたり

檢體の給與量 $1/10000$ mg $1/5000$ mg $1/1000$ mg $1/500$ mg $1/100$ mg (エルゴステリン)

試 験 成 績

第 1 群

検 體 量 $1/10000$ mg

動物番號	罹病程度	最初の 體 重	最後の 體 重	増加體重	試験期間	治癒程度	動物番號	罹病程度	最初の 體 重	最後の 體 重	増加體重	試験期間	治癒程度
95	+++	66gm	72gm	6gm	14日	-	100	+++	74gm	90gm	16gm	14日	-
96	+++	85	99	14	"	-	101	+++	68	78	10	"	-
97	+++	97	108	11	"	-	102	+++	74	90	16	"	-
98	+++	69	81	12	"	-	103	+++	89	94	5	"	-
99	++++	76	78	2	"	-	104	+++	77	85	8	"	-

最初の體重は檢體給與の時を意味す

第 2 群

検 體 量 $1/1000$ mg

動物番號	罹病程度	最初の 體 重	最後の 體 重	増加體重	試験期間	治癒程度	動物番號	罹病程度	最初の 體 重	最後の 體 重	増加體重	試験期間	治癒程度
105	+++	78gm	90gm	12gm	14日	-	110	+++	70gm	81gm	11gm	14日	-
106	+++	66	67	1	"	-	111	+++	66	77	11	"	-
107	+++	61	65	4	"	-	112	+++	64	75	11	"	-
168	+++	63	75	12	"	-	113	+++	63	70	7	"	-
109	+++	70	75	5	"	-	114	+++	76	78	2	"	-

第 3 群

検 體 量 $1/1000$ mg

動物番號	罹病程度	最初の體重	最後の體重	増加體重	試験期間	治癒程度	動物番號	罹病程度	最初の體重	最後の體重	増加體重	試験期間	治癒程度
115	+++	66gm	71gm	5gm	14日	-	120	+++	78gm	89gm	11gm	14日	-
116	+++	78	88	10	"	-	121	+++	73	78	5	"	-
117	+++	75	83	8	"	-	122	+++	74	87	13	"	-
118	+++	72	82	10	"	-	123	+++	77	88	11	"	-
119	+++	63	70	7	"	-	124	+++	85	97	12	"	-

第 4 群 検 體 量 1/500 mg

動物番號	罹病程度	最初の體重	最後の體重	増加體重	試験期間	治癒程度	動物番號	罹病程度	最初の體重	最後の體重	増加體重	試験期間	治癒程度
125	+++	66gm	69gm	3gm	14日	-	130	+++	76gm	83gm	7gm	14日	-
126	+++	79	96	17	"	-	131	+++	72	76	4	"	-
127	+++	67	76	9	"	-	132	+++	69	76	7	"	-
128	+++	75	92	17	"	-	133	+++	61	66	5	"	-
129	+++	69	79	10	"	-	134	+++	60	63	3	"	-

第 5 群 検 體 量 1/100 mg

動物番號	罹病程度	最初の體重	最後の體重	増加體重	試験期間	治癒程度	動物番號	罹病程度	最初の體重	最後の體重	増加體重	試験期間	治癒程度
135	+++	81gm	88gm	7gm	14日	++++	140	+++	67gm	70gm	3gm	14日	++++
136	+++	78	80	7	"	++++	141	+++	52	57	5	"	++++
137	+++	65	69	4	"	++++	142	+++	48	53	5	"	++++
138	+++	65	70	5	"	++++	143	+++	85	88	3	"	++++
139	+++	73	80	7	"	++++	144	+++	79	83	4	"	++++

即ち検體 1/100 mg にて始めて有效なり

實 験 例 4

検 體 日本薬局方肝油

試験時季 昭和7年8-9月

試験動物 前例同様

Diet No. 11 を給與後 21 日後にレントゲン撮影を行ひたるに悉く佝僂病に罹れり

検體給與量 25 mg 50 mg 80 mg 120 mg

第 1 群 検 體 量 25 mg

動物番號	罹病程度	最初の體重	最後の體重	増加體重	試験期間	治癒程度	動物番號	罹病程度	最初の體重	最後の體重	増加體重	試験期間	治癒程度
145	+++	66gm	70gm	4gm	14日	-	150	+++	66gm	75gm	9gm	14日	-
146	+++	65	67	2	"	-	151	+++	60	68	8	"	-
147	+++	66	69	3	"	-	152	+++	63	68	5	"	-
148	++++	72	85	13	"	-	153	+++	71	81	10	"	-
149	+++	56	64	8	"	-	154	+++	58	67	9	"	-

第 2 群 検 體 量 50 mg

動物番號	罹病程度	最初の體重	最後の體重	増加體重	試験期間	治癒程度	動物番號	罹病程度	最初の體重	最後の體重	増加體重	試験期間	治癒程度
155	+++	68gm	76gm	8gm	14日	+	160	+++	67gm	71gm	4gm	14日	+
156	+++	57	65	8	"	++	161	+++	83	90	7	"	++
157	+++	71	85	14	"	+	162	+++	58	68	10	"	-
158	+++	72	77	5	"	+	163	+++	84	87	3	"	-
159	+++	73	88	15	"	+	164	---	-	-	-	-	-

第 3 群 検 體 量 80 mg

動物番號	罹病程度	最初の體重	最後の體重	増加體重	試験期間	治癒程度	動物番號	罹病程度	最初の體重	最後の體重	増加體重	試験期間	治癒程度
165	+++	70gm	80gm	10gm	14日	+++	170	+++	50gm	52gm	2gm	14日	+
166	+++	54	64	10	"	+	171	+++	58	61	3	"	+
167	+++	70	73	3	"	+	172	+++	81	97	16	"	++
128	++	65	76	11	"	++	173	++	82	92	10	"	++
169	++	56	64	8	"	+	174	++	82	62	10	"	+

第 4 群 検 體 量 120 mg

動物番號	罹病程度	最初の體重	最後の體重	増加體重	試験期間	治癒程度	動物番號	罹病程度	最初の體重	最後の體重	増加體重	試験期間	治癒程度
175	+++	69gm	73gm	4gm	14日	-	180	+++	58gm	63gm	5gm	14日	++
176	+++	70	77	7	"	+	181	+++	66	69	3	"	+++
177	+++	76	84	8	"	+++	182	+++	62	68	6	"	++++
178	+++	78	86	8	"	+	183	+++	63	65	2	"	++
179	+++	70	78	8	"	++	184	+++	56	70	14	"	++++

本検體は 120 mg にても尙不足なり

終りに臨み多大の御便宜及御指導を賜りたる、西崎弘太郎博士、所長衣笠豊博士レントゲン装置購入に際し御盡力を與へられたる、前陸軍衛生材料廠長渡邊又治郎博士陸軍一等藥劑正、北川順氏及び麥酒酵母の御惠與にあづかりたる大日本麥酒會社取締役永井熙八氏に對し深甚なる謝意を表す

引 用 文 獻

1. E. M. Nelson and H. Steenbock J. of Biol. Chem. 62. 575 (1924-25)
2. E. V. McCollum, Nina Simmonds, and J. Ernestine Becker J. of Biol. Chem. 65 97 (1925)
3. 西崎弘太郎博士著、蛋白質化學 大正 15 年
4. E. V. McCollum and Nina Simmonds and P. G. Shipley and E.A. Park J. of Biol. Chem. 51 41(1925)
5. H. Steenbock and Archie Black J. of Biol. Chem. 64 263 (1925)
6. Alfred F. Hess, M. Weinstock and E. Tolstoi J. of Biol. Chem. 57 731 (1923)
7. E. V. McCollum and Nina Simmonds J. of Biol. Chem. 51 41 (1922)
8. A. Van Harreveld. Mededeelingen (1929-1931)

菌 抗 元 の 研 究 (第 一 報)

チフス菌煮沸抗元の吸着法による精製試験

技 師 秋 葉 朝 一 郎

囑 託 林 倉 一

助 手 米 野 英 彦

緒 言

菌抗元の化学的研究就中共蛋白質及含水炭素に関する研究は Dochez 一門の研究發表以來(1917)諸學者の研究相踵ぎ漸次闡明せられつつあり。此等諸學者の報告を見るに菌抗元成分の分離方法は 56° に於て殺菌したる後菌體を振盪破碎するが如き物理的操作に據り或は菌體を溶解し若しくは抽出する等の化学的操作を用ひて菌抗元を溶媒中に移行せしめ以て抗元の諸要素を分離精製するを一般とし煮沸操作に據つて菌抗元を抽出し之に就き其化学的性状を研究せる例は極めて僅少なり。煮沸免疫元は夙に鳥瀉博士の唱導せる處にして其毒力に於て或は其免疫機轉に於て従來のワクチンに比して特異の性状を有するものと稱せらる。惟ふに煮沸操作が菌體成分(特に蛋白質)に對して著明なる影響を及ぼすべきは容易に首肯し得る處にして従つて低温に於て抽出せる抗元と煮沸抗元との間に於ては其の性状に相異なるものあらんと思考せられる。之余等の煮沸操作に據つて抽出せる免疫元に就て其化学的並に免疫學的研究を企てたる所以なり。而して余等は本問題の研究に入るに先だち先づ以て煮沸抗元を可及的純粹なる状態にあらしむる事即精製する事を以て先決問題なりと思考したり。蓋し培養基質の混入は化学的成分の檢定の上に又量的研究の上に支障する事少なからざればなり。

精 製 方 法

精製試験は Willstätter, Euler, Josephan 氏等の酵素精製法並に細谷, 宮田氏等のチフテリア毒素, 破傷風毒素の精製の爲に考案せられたる方法に準據す。兩法の明細なる説明は夫れ夫れの原著に譲りここには余等の施行したる方法に就て詳述す。

1). 酵素精製法による法

煮沸抗元液に醋酸を加へて $\text{P}_{\text{H}}5$ となしたる後硫酸アルミニウムより調製せるポリ水酸化アルミニウム B を約 20% の割合に加へ振盪混和せる後 1 夜室温に放置して充分なる吸着を行はしむ。翌日遠心沈澱してポリ水酸化アルミニウム B を集め 2~3 回醋酸酸性の蒸溜水にて洗滌したる後此を原煮沸抗元液と同量の蒸溜水に浮遊しアンモニア水を加へて $\text{P}_{\text{H}}9$ となして室温に 1 夜放置して抽出 (Eluation) を行ふ。該液に就き遠心沈澱及濾過を行ひ濾液を牛腸膜或はコロヂオン囊に入れて 1~3 日間流水中にて透析す。

2). 毒素精製法による法

煮沸抗元液に 2% 塩化亜鉛水溶液を注意しつつ沈澱の最早生せざるに至るまで注加す。此を濾過し沈澱を蒸溜水を以て數回充分洗滌したる後乳鉢に採り適量の蒸溜水を加へて磨碎し更にクエン酸アンモンの中性溶液を攪拌しつつ沈澱が完全に溶解するに至るまで滴加す (中性クエン酸アンモン溶液は 10% クエン酸溶液をアンモニア水を以て中和して造る)。以上の溶液に新に調製せる硫化アンモン溶液 (10% アンモニア水に硫化水素を飽和せしめたるもの) を過不及無き様粗大な硫化亜鉛の沈澱を生ずる限り注加す。之れを濾過し濾液を流水中にて 1~3 日間透析す。此を精製抗元第 1 液とす。

更に精製する爲には 4% 醋酸亜鉛水溶液を精製抗元第 1 液に加へ (酸性となる) 之に稀釋アンモニア水を徐々に注加しつつ微弱酸性とならしむる時は多量の沈澱を生ず。沈澱を數回洗滌したる後クエン酸アンモン溶液に溶解し更に硫化アンモンを加へて硫化亜鉛の沈澱を濾別しかくして得たる濾液を流水中にて腸膜或はコロヂオン囊により 1~3 日間透析す。此を精製抗元第 II 液とす。

實 験 材 料

煮沸抗元液を次の 2 種とす。

1) 寒天斜面培養のチフス菌を掻き集め共 3 mg (濕潤状態に於て) が生理的食塩水 1 cc 中に含有せらるる割合につくれる浮游液を $95^{\circ}\sim 100^{\circ}$ に 30 分間加熱したる後先づバルブ層にて次いでベルケフェルド濾過器にて濾過して菌體を除去したるもの。

2) チフス菌普通ブイヨン培養を $95^{\circ}\sim 100^{\circ}$ に 30 分間加熱せる後 (1) と同様操作に

よつて濾過せるもの。

(1) は培養基液の混入微量なるを以て可検材料としては可良なれども病原菌に於ては其の操作に繁雜と危険とを伴ふを以て(2)の材料にして精製可能ならんが研究上の便益尠しとせず。之兩種に就て研究せる所以なり。

試験は先づ蛋白反應によりて精製度を檢し次に試験管内(in vitro)に於ける抗元力を補體結合反應及沈降反應によりて計測比較し更に生體內(in vivo)に於ける抗元能力の有無を抗體產生及過敏症試験に據りて確めたり。

實 驗 成 績

A). 菌浮游液を材料とせる場合

煮沸抗元液 1 を細谷氏法及 Willstätter 氏法に據つて精製せる精製液は何れも無色澄明なり。

1). 蛋白反應

此等の液に就き蛋白反應を試みたる成績次の如し

呈 色 反 應

	原液	精製液		原液	精製液		原液	精製液
Biuret Reaktion	-	-	Millon Reaktion	-	-	Hopkins-Colé Reaktion	-	-
Ninhydrin	-	-	Molisch	-	-	Pauly-Diazo	-	-
Xanthoprotein	-	-	Neubauer-Rohde	-	-	Schwefelblei	-	-

沈 澱 反 應

	原液	精製液		原液	精製液
煮 沸	-	-	黄血滴塩	+	+
硝 酸	-	-	類油體	-	-
重金屬	{ 硝酸水銀 硫酸銅 醋酸鉛	-	試 薬	ピクリン酸	-
				タンニン酸	-
				ズルホサリチール酸	-
				磷ウォルフラム酸	+
		+	硫酸アンモン飽和液	±	

即 1 cc 中に菌 3 mg を含有する程度の菌浮游液を材料として調製せる煮沸抗元液及其の精製液は何れも呈色蛋白反應陰性にして沈澱反應に於ては醋酸鉛, 磷ウォルフラム酸及硫酸アンモンの飽和に依つて極めて軽度の沈澱を生ずるに過ぎず。此事實は

1 cc 中に菌 3 mg を含有する程度の菌浮游液より調製せる煮沸抗元液は蛋白質含有量極めて微量なる事を示す。

2). 試験管内に於ける抗元性

常法によりて製したるチフス全菌免疫血清を用ひ煮沸抗元原液及精製抗元液の抗元量を比較計測せり。

沈降反應に據る成績は

免疫血清 抗元	原液	1:5	1:10	1:20
煮沸抗元原液	卅	-	-	-
精製液 A	卅	-	-	-
” B	+	-	-	-

左の如く反應度何れも輕微にして兩者を比較する事を得ず因つて鋭敏なる補體結合反應を行ひたるに其の成績次の如し。

補體結合反應 (Browning 氏法により免疫血清 0.1 cc と共に補體 2 單位を結合する抗元量を定測す)

種類	抗元量 cc	1.0	0.8	0.5	0.3	0.2	0.1	0.08	0.05	0.03	0.01	K
煮沸抗元原液					卅	卅	卅	卅	卅	±	-	-
精製液 A					卅	卅	卅	卅	±	-	-	-
” B	卅	卅	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

註 A……細谷氏法による精製液

B……Polyaluminium hydroxyd B による精製液

精製液は何れも煮沸抗元原液と同量に補正したる後に本實驗を試みたり。尙上表に陽性なる抗元量自體に補體防止力無きを豫備實驗に於て確めたるは勿論なり。

以上の補體結合反應を指針としたる成績より煮沸抗元の吸着法に據つて精製液に移行する率を見るに

$$\text{細谷氏法によりては} \quad \frac{0.05}{0.08} \times 100 = 62\%$$

$$\text{ポリ水酸化アルミニウム B によりては} \quad \frac{0.05}{0.5} \times 100 = 10\%$$

にして細谷氏法によりては精製過程に於ける損失量尠く精製し得れどもポリ水酸化アルミニウム B によつては收得量前者に著く劣る事を知りたり。

箭頭氏は市販水酸化アルミニウム $Al_2(OH)_6$ を用ひて吸着法によりチフス菌毒の精製を行ひたるも氏の報告には數量的記載無き爲其の收得量を余の成績に比較する能はず。

水酸化アルミニウムによる精製法の成績は酵素に於ても其の操作法如何によつて相當動搖するを以て余等の實驗に於ても操作過程を逐一吟味研究すれば或は成績良好となるやも知れざれども細谷氏法によりて優秀なる得量の下に精製し得る事を知り次のチフス菌ブイヨン培養を材料として行ふ精製試験に於ては水酸化アルミニウム法を省略し細谷氏に據りてのみ行ひたり。

B). ブイヨン培養を材料とせる場合

普通ブイヨンを用ひチフス菌を 37° に數日間培養したるものを 100° に 30 分間加熱したる後最初にバルブ層次いで濾過器を以て濾過し濾液を既述せる細谷氏法に據つて精製し精製第 I 液及第 II 液を作る。精製第 I 液は黄色澄明第 II 液は極微に黄色を帯ぶる透明液なり。

1). 蛋白反應

煮沸抗元原液に於ては Ninhydrin, Biuret, Molisch, Xanthoprotein, Millon, Neubauer-Rohde, Hopkins-Cole 反應等陽性なるも精製液第 I 液にては唯 Biuret 反應のみ陽性にして精製第 II 液に於ては Biuret 反應も亦陰性となる。

呈 色 反 應

	原液	精製 I	精製 II		原液	精製 I	精製 II
Ninhydrin-Reaktion	卅	-	-	Neubauer-Rohde Reaktion	+	-	-
Biuret	卅	+	-	Hopkins-Cole	±	-	-
Molisch	+	-	-	Pauly	-	-	-
Xanthoprotein	+	-	-	Schwefelblei	-	-	-
Millon	+	-	-				

2). 試験管内に於ける抗元性

補體結合反應を指針として精製液の抗元量を測定せるに次の如し。

補體結合反應

種類 \ 抗元量 cc	0.3	0.2	0.1	0.08	0.05	0.03	0.01	K
原 液	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-
精製液 II	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-

即細谷氏法によりてブイヨン培養濾液を材料としたる場合に於ても亦收得量よ

く煮沸抗元を精製し得る事を知りたり。

沈降反應に於ては原液、精製液共に陰性なりき。

3). 生體內に於ける抗元性

以上の實驗に於て呈色反應陰性となるまで精製せる煮沸抗元液は試験管内に於て充分抗元性を有する事を知りたるを以て次に生體內に於ける抗元性を試験せり。

a). 抗體產生能力

體重 2kg 前後の家兎を用ひ煮沸抗元原液及精製液各 4cc を 3 回に分ちて耳靜脈内に注射し注射完了 10 日後血清を採取しチフス菌に對する凝集價及當該原液、精製液に對する沈降價を測定せるに次の如く凝集素並に沈降素を產生せしめ得る事を知る。

抗 體	家兎番號		抗煮沸抗元原液血清		抗精製抗元液血清	
	1	2	3	4	3	4
凝 集 價	1280	1280	1280	640		
沈 降 價	1:4	1:4	1:3	1:2		

註 使用家兎の正常凝集價は何れも 20 倍以下正常沈降價は何れも零なり

b). 過敏症試験

300 gr の「モルモット」の腹腔内に原液及精製液の 2cc づつを注射して感作し 2 週間後に各液の

1~2cc を心臟内に注射せるに原液、精製液共に定型的の過敏症症狀を惹起せしむるを認めたり。

以上の實驗によつて細谷氏の精製法によりて得たる精製液は試験管内に於ても抗元性を有する事を確め得たり。

透析の抗元量に及ぼす影響

抗元量	0.3	0.2	0.1	0.08	0.05	0.03	0.01
透 析 前	+++	+++	+++	+++	+++	+	-
4 日 透 析 後	+++	+++	+++	+++	+	+	-

精製第 II 液を腸膜或はコロデオン囊に容れ之にトルオール

の適量を重層して流水中に 4 日間透析したる後抗元量を測定し抗元性物質は透析せられざる事を知りたり。

結 論

- 1). 余等の行ひたるポリ水酸化アルミニウム B による精製方法によつては精製抗元の收得量可良ならず。
- 2). 細谷氏法に據れば收得量よく精製する事を得。
- 3). 精製抗元は in vitro 及 in vivo に於て抗元性を有す。
- 4). 煮沸抗元は透析せられず。

文 献

大 谷 武 夫	酵素研究法		
細 谷 宮 田	破傷風毒素の精製法	実験醫學雜誌	第 14 卷 8 號
”	デフテリー毒素の精製法		第 14 卷 10 號
松 岡 一 馬	インヴェルチンの免疫學的研究		第 14 卷 8 號
細谷, 寺尾, 高田	志賀赤痢菌毒素の精製法	日本傳染病學會雜誌	第 5 卷 9 號
箭 頭 正 男	水酸化アルミニウム $[Al_2(OH)_6]$	吸着法による精製毒素の研究	
	1. チフス菌毒素に就て		
		日本微生物學病理學雜誌	第 26 卷 6 號

菌 抗 元 の 研 究 (第 二 報)

チフス菌煮沸抗元の透析法による精製試験
並に無蛋白培地の考案

技 師 秋 葉 朝 一 郎

助 手 米 野 英 彦

緒 言

余等は前實驗に於てチフス菌煮沸抗元が非透析性なる事を確認せり。又破傷風毒素、デフテリア毒素、志賀菌より分離せる多糖類等も亦透析せられず。かく一般に抗元性を有する物質は複雑なる組成を有し透析膜を通過せざるものなり。ここに於て若しアミノ酸、糖類、鹽類等の如き容易に透析せらるる物質よりなる液體培養基を用ひて菌を培養し透析法を應用して培養成分 (Nährmaterial) を除去し必要なる抗元のみを透析膜内に把握しかくして容易に抗元を精製し得るとせんか菌抗元の研究上利便尠しとせず。

かかる目的に應用し得る培地は從來發表せられたるものの中にては Uschinsky 及 Fränkel 等の考案せる無蛋白培地なれども該培地に於ては一般に菌發育の微弱なると發育する菌種の尠きとの缺點あり。例へば腸内菌中 *B. coli*, *B. paratyphosus B.* は該培地に發育すれども *B. typhosus*, *B. paratyphosus A.*, *B. dysenteriae* 等は發育せず。かかる事實は恐らく含有するアミノ酸の種類の少きと其組成の餘りに簡單なる事に基因するものと思ふ。而て此缺點を補はんが爲に精製せる多種のアミノ酸を加へんとせばそは經濟的に不可能なり。

ここに於て余等は蛋白質を加水分解する事によつて適切なる透析性培地を得ん事に着眼し其原料としてカゼイン及ペプトンを選びたり。

蓋しカゼインは Arginin, Histidin, Lysine, Tyrosine, Tryptophan, Cystin 等生物の發育に主要なるアミノ酸を含有する事と容易に比較的精製せる市販品を入手し得るが爲

にしてペプトンは通常培養基成分として必須のものにして且容易に加水分解を行ひ得るが爲なり。

實 験

加水分解法

100° に於て蛋白質を加水分解する時は長時間を要するを以て 20 封度加壓の下に 3 時間加水分解を行ふ事とし此條件の下に一定の酸度に於て加水分解し得る蛋白質の含有量を検定せり。即硫酸溶液 100 c.c にカゼイン又はペプトンの一定量を加へ(百分比に非ず)加壓釜申にて分解す。硫酸を用ひたる所以は硫酸は容易に除去し得るが爲なり。蛋白質の加水分解は Biuret 反應陰性となるを以て完了せるものと見做す。其成績は次表の如し。

蛋白質の加水分解試験

酸	Biuret 反應						酸	Biuret 反應					
	5	10	15	20	30	40		5	10	15	20	30	40
カゼイン, 5 % 硫酸	+	+	+	+	+	+	カゼイン, 20 % 硫酸	-	-	-	-	-	-
カゼイン, 10 % 硫酸	-	-	-	+	+	+	ペプトン, 5 % 硫酸	-	-	+	+	+	+

處 理

加水分解の際酸度餘りに強き時は屢々高級アミノ酸の分解を來たすを以て(後述)可及的酸度低きを可とす。此見地よりカゼインに於ては 10% 硫酸を用ひペプトンに於ては 5 % 硫酸を用ひ此によつて完全に分解し得るカゼイン及ペプトンの極限量を分解せしむ。

分解液は Humin 質を生じて黒褐色となるを以て炭末若しくは酸性白土を用ひて脱色し濾液を淡褐色となるに至らしむ。此際酸性白土を用ひたる場合には酸性白土はヘキソン鹽基 (Lysin, Arginin, Histidin) を吸着するを以て此を抽出せざるべからず。即吸着せる酸性白土を集め數回洗滌したる後(洗液は脱色液に加ふ)乳鉢に取り之に水酸化石灰乳を加へて研和す。アルカリ性液中にて酸性白土は吸着せる Hexonbase を遊離せしむるを以て此を濾過し濾液は先の脱色液に加ふ。酸性白土は再び乳鉢に取り之に水を加へて研和す。前に加へし水酸化石灰の溶解せざるものが酸性白土に混じて殘留しおれば水を加へたるのみにして酸性白土浮游液はアルカリ性となるべし。若しアルカリ性とならざる時は水酸化石灰の粉末を加へて研磨す。然る後濾過し濾液は脱色液に加ふ。かくの如き抽出法を繰り返へす事三四回にして大部分の Hexonbase を同收する事を得。水酸化石灰乳は常に PH9 の近くにありて抽出に便なり。

炭末を以て脱色する時は炭末は Hexonbase を吸着せざるを以て酸性白土を用ふるよりは操作簡便なり。然れども脱色力は酸性白土に劣るが故に 10~20% の硫酸によつて多量の蛋白質を分解したる Humin 多き液の脱色には適せず。かかる場合には酸性白土を用ふるを便とす。5 % の硫酸によつてペプトンを分解したるが如き分解液に於ては Humin 質少きを以て炭末を用ふるを可とす。

次にかくして得たる加水分解脱色液より硫酸を除去せざるべからず。此が爲めには液に水酸化石灰の粉末を攪拌しつゝ加へ硫酸を硫酸石灰となして沈澱せしめて液を中性に至らしめて後濾過す。濾液中には尙硫酸石灰溶存するを以て加壓釜にて 15 封度に 30 分間加熱し生じたる沈澱を濾別す

かくの如くして得たる液は黄褐色透明の液にして Biuret 反應を呈せずコロヂオン膜に入れて 1 夜流水中

に放置するに殆無色透明となり Ninhydrin, Xanthoprotein, Millon, Phosphowolframsäure 等のアミノ酸反應總て陰性となる。

本液を適宜に稀釋 (Casein 液 5-6 倍, Pepton 液 5 倍) し之に 0.5% の割合に食塩を加へて加壓滅菌したるものを培養基となして B. coli, B. typhosus, B. paratyphosus A 及 B, B. dysenteriae, Staphylococcus 等を接種培養するに何れも好く發育す。即かくの如き培養基は蛋白質を含まず全く透析性物質のみよりなりて菌の發育可良なり。

本培地のアミノ酸反應及菌繁殖度に就ては後章に綜合して記述すべし。

尙本培地に於ける菌の發育状態がアミノ酸に少しく劣る事實は肉エキス中に含有せらるゝ或物質 (肉鹽基の如き) が缺除する事に因るならんかと考へかゝる物質を肉エキスより分離してカゼイン或はペプトン分解液に加へる事によつて所期の目的を達し得べしと思惟し酸性白土を用ひて肉鹽基の分離を試みたり。

然るに偶然肉エキス溶液を酸性白土によつて處理する事により肉エキス中の蛋白質を除去し得る事を知り此方法によつて蛋白質を含まず透析性物質よりなる培養基を肉エキスより製し得るに至れり。

肉エキス中の蛋白質を除去する方法

5% Liebig 肉エキス溶液に稀硫酸をコンゴ赤試験紙に微弱に感ずる程度に迄加へ 10~30 分間蒸氣釜中に放置する時は多量の沈澱を生ず、此沈澱に就て Biuret 反應を検するに陽性なり。即酸性となして煮沸する事によつて肉エキス中の蛋白質を或程度迄除去し得る事を知る。加熱せる後液を濾過して沈澱を去り濾液に Biuret 反應を試むるに陽性にして蛋白質の溶存する事を知る。

此溶液に約 $\frac{1}{20}$ ~ $\frac{1}{30}$ 量の酸性白土を加へて 5~15 分間振盪したる後濾過す。此操作を數回反覆する時 Biuret, Tanninsäure, Pikrinsäure 反應陰性となるのみならず更に吸着を進行せしむれば Pauly, Phosphowolframsäure 等の反應も亦陰性となるに至る。かく處理したる液は淡黄色透明にして之を假りに處理液と呼ぶ。

酸性白土は數回洗滌 (洗液は處理液に合す) したる後鉢に取り之に水酸化石灰乳を加へて鹽基性物質を遊離せしめて濾過す。此抽出操作を 3~4 回反覆する事によつて殆完全に抽出する事を得べし。抽出後の濾液を抽出液と呼び蛋白反應を検するに Biuret, Tanninsäure, Pikrinsäure の反應は陰性にして Pauly, Phosphowolframsäure 反應陽性なり。(次表参照)

酸性白土に據る肉エキスの處理

	肉 x 溶液	處理液	抽出液		肉 x 溶液	處理液	抽出液		肉 x 溶液	處理液	抽出液
Biuret	+	-	-	Millon	-	-	-	Phosphowolframsäure	卅	-	卅
Ninhydrin	-	-	-	Hopkins-Cole	-	-	-	Tanninsäure	卅	-	-
Xanthoprotein	-	-	-	Pauly	+	-	卅	Pikrinsäure	卅	-	-

以上の結果によつて考ふるに肉エキス溶液を酸性白土を以て處理する場合此に吸着せらるる物質に 2 種あり。即吸着せられたるままアルカリ液中にて遊離せられざる Biuret, Tanninsäure, Pikrinsäure 反應の陽性なる物質とアルカリ液中にて遊離せらるる Pauly 及 Phosphowolfram 酸反應陽性なる物質となり。

前者は恐らく蛋白質にして後者は Pauly 反應は陽性なるも Millon 及 Folin 反應陰性

なるを以て Histidin か或は之と β -alanin との Dipeptid なる Carnosin ならむと思考す。

ここに於て前者が果して蛋白質なりや否やを確むる爲に次の實驗を行ひたり。

1) 蛋白質及其分解物の酸性白土に對する態度

各物質の1%溶液を作り之を硫酸酸性となし酸性白土を以て處理したる後酸性白土を採りてアルカリ液中にて抽出處置を行ひ處理液と抽出液とに就て呈色反應を試み吸着抽出の有無を検せり。

	吸着	抽出		吸着	抽出		吸着	抽出
卵アルブミン	+	-	アルブモーゼ	+	+	ヘキソン鹽基	+	+
家兎血清	+	-	ペプトン	+	+	1-アミノ酸	-	-

表の成績の如く卵アルブミン及血清等の蛋白質は酸性に於て酸性白土に吸着せらるれども吸着せられたるものはアルカリ液にて抽出せられず。此事實は肉エキス溶液より酸性白土にて除去し得らるる Biuret 反應陽性なる物質が蛋白質なる事に對する有力なる證據なりと考ふ。

2) 透析試驗

蛋白質は一般に非透析性なり。故に肉エキス溶液中の Biuret, Pikrinsäure, Tanninsäure 反應陽性にして酸性白土にて除去し得る物質が非透析性なる事を確め得れば此事實も亦該物質が蛋白質なる事の一證左となるべし。

よつて肉エキス溶液並に參考の爲に處理液及抽出液とをコロヂオン囊に入れ1~2日流水中にて透析し呈色反應を試みるに次の如し。

	肉エキス		處理液		抽出液			肉エキス		處理液		抽出液	
	原液	透析液	原液	透析液	原液	透析液		原液	透析液	原液	透析液	原液	透析液
Biuret	卅	卅	-	-	-	-	Pauly	卅	-	-	-	卅	-
Tanninsäure	卅	卅	-	-	-	-	Phosphowolframsäure	卅	卅	-	-	卅	-
Pikrinsäure	卅	卅	-	-	-	-	蒸發殘渣	卅	+	卅	-	卅	-

かくして肉エキス中の Biuret, Pikrinsäure, Tanninsäure 反應に陽性なる物質は非透析性にして Pauly 及 Phosphowolframsäure 反應に陽性なる物質は透析性なる事を知りたり。

以上の如き事實より肉エキス溶液より酸性白土によつて除去し得る物質は蛋白質な

りとして誤なかるべし。

扱上述の肉エキス處理液に抽出液を加へたるものは淡褐色澄明の液にして硫酸酸性なり。故に之に水酸化石灰末を攪拌しつつ加へて中和し濾過して硫酸石灰を除く。尙之を15封度に15~20分間加熱すれば少許の硫酸石灰の沈澱を生ずるを以て此を濾別す。本液をコロチオン囊に入れ1夜流水中にて透析すれば無色澄明となりアミノ酸の反應消失す。

又本液を2~3倍に稀釋し0.5%に食塩を加へ加壓滅菌したるものに *B. typhosus*, *B. paratyphosus*, *B. coli*, *B. dysenteriae*, *Staphylococcus* を接種するに何れもよく發育す、然れど其程度は普通ブイオンに些劣るを見る。

無蛋白培地の諸反應

余等の考案せる上述3種の培地のアミノ酸反應は次の如し。

無蛋白培地の反應

	肉エキス處理液	カゼイン分解液	ペプトン分解液	透析液		肉エキス處理液	カゼイン分解液	ペプトン分解液	透析液
Biuret	-	-	-	-	Neubauer-Rohde	-	-	-	-
Ninhydrin	-	+	+	-	Horkins-lole	-	-	+	-
Xanthoprotein	-	+	+	-	Pauly	+	-	+	-
Millon	+	+	+	-	Phosphowolframsäure	+	+	+	-
Molisch	-	-	-	-					

カゼインは Hopkins-Cole 反應陽性なるも其加水分解液は陰性にして恐らく Tryptophan が強酸 (10% H_2SO_4) の作用によつて破壊せらるる爲ならん。5% H_2SO_4 にて分解せるペプトン分解液は Hopkins-Cole 反應陽性にして Tryptophan の存在を認む。

何れの培地に於ても透析によつてアミノ酸の諸反應は消失す。

菌發育度

先に記したる如く個々の培地に菌を培養する時には繁殖度普通ブイオンに劣るを以て此を交互に組合せ

肉エキス處理液 + ペプトン分解液 (x + p), 肉エキス處理液 + カゼイン分解液 (x + k), カゼイン分解液 + ペプトン分解液 (k + p) 等の培養基をつくりて菌の繁殖度を普通ブイオンと比較するに次表の如し。

カゼイン 15 gm が 100 cc の 10% 硫酸液に又ペプトン 10 gm が 100 cc の 5% 硫

酸液に對する割合に混和して加水分解したるものを原液とし此稀釋倍數を以て各培地の濃度を表す。又肉エキス處理液は5%溶液よりつくれるものを原液として此稀釋倍數を以て培地の濃度を表す。即肉エキス處理液(x)の2.5倍、カゼイン分解液(k)の5倍、ペプトン分解液(p)の2倍稀釋液並に此等の等量混合液3種をつくり更に各々に0.5%の割合に食塩を加へて加壓滅菌せるものを培地とす。尙普通ブイヨン、Uschinsky 及 Fränkel の無蛋白培地を對照とし各培地の等量に等量の菌を接種し24時間培養後菌の發育状態を目測し普通ブイヨンの混濁度を標準として+を以て表し此に優るものは+., +.. 等右側に圈點を附し劣るものは左側に圈點を附す。圈點の數2個は1個よりも優劣の度強きを示す。(次表參照)

菌 發 育 試 験

	T	A	B	C	F	S	
Bouillon	+	+	+	+	+	+	
X	+.+	+.+	+.+	+	+.+	+	
K	+.+	+.+	+	+	+.+	+	T.....B. typhosus
P	+.+	+	+.+	+	+.+	+	A.....B. paratyphosus A
x + p	+	+	+.+	+.+	+.+	+.+	B.....B. " B
x + k	+..	+..	+.+	+.+	+.+	+..	C.....B. coli
k + p	+..	+..	+.+	+.+	+.+	+..	F.....B. dysenteriae (Flexner)
Uschinsky	-	-	+.+	+.+	-	-	S.....Staphylococcus
Fränkel	-	-	+.+	+.+	-	-	

其成績によれば混合培地に於ける B.typhosus, B. paratyphosus A 及 B, B. coli, B. dysenteriae, Staphylococcus の發育度は普通ブイヨンに優るとも劣らざる事を知る。

以上記述せる如くしてカゼイン及ペプトンの加水分解により又肉エキス溶液を酸性白土を以て處理する事により余等の企圖したる處の蛋白質を含まず透析性物質のみよりなり且菌發育の可良なる培地を得たり。よつて此を用ひて煮沸菌抗元の精製を行はんと試みたり。

透析法による煮沸菌抗元の精製法

肉エキス處理液及カゼイン加水分解液より作れる培地にチフス菌を數日間培養したる後 100° に 30 分間加熱して菌抗元を浸出し之を濾過して菌體を除去す。濾液はコロヂオン囊に入れ石炭酸或はトルオールを加へて流水中にて1~3日透析すれば殆無色

澄明となる。透析液に就てアミノ酸反應を試みるに次の如く諸反應陰性となる。

	煮沸 抗元液	透析液		煮沸 抗元液	透析液		煮沸 抗元液	透析液
Biuret	-	-	Molisch	-	-	Ferocyankali	-	-
Ninhydrin	卅	-	Hopkins-Cole	-	-	Phosphowolframsäure	卅	-
Xanthoprotein	卅	-	Pauly	卅	-			
Millon	卅	-	Pb-acetat	卅	-			

次に透析液の抗元量を補體結合反應によつて測定せるに次表の如し。

補體結合反應(チフス免疫血清 0.1 cc と共に補體 2 單位を結合する抗元量)

	抗 元 量 cc						
	0.3	0.2	0.1	0.08	0.05	0.03	0.01
原 液	卅	卅	卅	卅	卅	+	-
透析液(2日)	卅	卅	卅	卅	卅	+	-
” (4日)	卅	卅	卅	卅	卅	+	-

即透析法によつて抗元量の
損失なく煮沸菌抗元を精製し
得たり。依つて今後は此方法
によつて菌抗元を精製し諸種

の化學的性状或は免疫學的性状の研究を續行せんとす。

結 論

余等は煮沸菌抗元が非透析性なる事を知り透析法に據つて抗元の精製を簡易ならしめんと試みたり。即透析性物質のみよりなる培養基を用ひて菌を培養し煮沸濾過せる後透析膜に入れて透析し培養基質(Nährmaterial)を透析除去し以て抗元物質のみを得んとするものなり。此目的の下に研究を行ひカゼイン、ペプトン等の蛋白質を加水分解してアミノ酸となし又肉エキス溶液より蛋白質を除去して透析性物質のみを利用し此等の物質を混合する事によつて菌發育可良にして且蛋白質を含まず透析性物質のみよりなる培養基を製する事を得たり。

本培養基にチフス菌を培養し煮沸抗元をつくり之を透析して極て容易に且抗元量の損失なく煮沸菌抗元を精製する事を得たり。

本研究に當りて所長衣笠博士の絶えざる御指導を得たり記して深甚の謝意を表す。

文 獻

西崎弘太郎：蛋白質化學

Otto Kestner：Chemie der Eiweisskörper

Mitchell et Hamilton：The biochemistry of the amino acids.

吸着劑の徑口投與に關する二、三の基礎的實驗

技 師 秋 葉 朝 一 郎

囑 托 風 間 美 佐 雄

緒 言

傳染性腸疾患、腸炎、異常醱酵、便秘等に炭末、珪酸化合物（酸性白土製劑、白陶土等）が現在盛に使用せられ卓效を收めつつあり。其藥理作用は文獻に徴するに水分吸着、毒物吸着、細菌吸着の作用に基くものとせらる。従つて其作用は腸管内に存する毒物を吸着すると共に毒物形成の因をなす細菌を吸着して其發育を阻止し或は其異常醱酵毒物形成作用を抑制するものにして根元療法的効果と對症療法的効果とを兼備するものと一般に解釋せられるものと思ふ。余等は此等吸着劑の對症療法的効果には何等の異論なけれども細菌を吸着し其繁殖力活動力を抑制する根元療法劑としての作用に就ては諸家の發表せる實驗方法に徴して疑問を抱きて本研究を企てたり。

實驗材料並に實驗方法

市販品中炭末、珪酸化合物各5種を撰びて實驗材料とす。試驗菌株は腸内細菌の代表として大腸菌を使用せり。實驗方法は各項に於て述ぶべきも大體に於て大腸菌の生理的食塩水浮游液に3%の割合に吸着劑を混じ振盪器によつて15分間緩徐に振盪した後二重滅菌濾紙にて濾過し濾液の一定量を採りて平板培養を行ひ發生集落數を算して吸着力の程度を知る。

實 驗 成 績

第1項 生理的食塩水中に於ける吸着力並に

水素イオン濃度と吸着力との關係

吸着劑の性能批判にあつて共有する諸作用が生體各部の水素イオン濃度に於て完全に行はるる事が必須條件たるを Bechhold 氏は提唱せり。酸性白土の如きものにあつて特に兩者の關係深きは汎く知らるる所なり。余等も吸着劑の細菌吸着能比較にあ

たつて同時にメヂウムの水素イオン濃度との関係をも検せり。

第1表は比較的少量の菌を用ひたるものにして吸着後濾液の0.1cc中に含有せらるる細菌數即吸着せられざりし細菌數を記號を以て示す。

第2表は吸着力の比較を明確ならしめんが爲に浮游液の菌數を減じ集落數を計測し得る程度となして實驗せるものなり。

第1表 生理的食塩水中に於ける吸着力

		濾液 0.1cc 培養菌集落數									濾液 0.1cc 培養菌集落數						
吸着劑	PH	4	5	6	7	8	9	吸着劑	PH	4	5	6	7	8	9		
珪酸化合物	1	+	+	+	卅	卅	卅	炭末	1	±	±	±	+	+	+		
”	2	+	+	+	卅	卅	卅	”	2	+	+	+	卅	卅	卅		
”	3	卅	卅	卅	卅	卅	卅	”	3	+	+	+	卅	卅	卅		
”	4	±	±	±	卅	卅	卅	”	4	+	+	+	卅	卅	卅		
”	5	+	+	+	卅	卅	卅	”	5	卅	卅	卅	卅	卅	卅		
對照		卅	卅	卅	卅	卅	卅	對照		卅	卅	卅	卅	卅	卅		

第2表 生理的食塩水中に於ける吸着力

		濾液 0.1cc 培養菌集落數									濾液 0.1cc 培養菌集落數						
吸着劑	PH	4	5	6	7	8	9	吸着劑	PH	4	5	6	7	8	9		
對照		5712	4960	4280	6340	5870	5430	對照		5712	4960	4280	6340	5870	5430		
珪酸化合物	1	1	2	11	24	21	18	炭末	1	0	1	0	0	0	0		
”	2	2	1	9	18	16	23	”	2	0	7	0	0	0	0		
”	3	10	25	45	98	83	62	”	3	0	0	0	2	3	0		
”	4	0	3	10	14	9	2	”	4	13	39	27	63	53	65		
”	5	2	15	18	22	17	13	”	5	553	478	450	596	512	507		

第1,2表に見る如く炭末,珪酸化合物共に生理的食塩水中にてはよく細菌を吸着す。而て兩者共酸性溶媒中に於て中性,アルカリ性溶媒中に於けるよりも吸着力強し。從來の文獻に於ては食塩水若くは蒸留水中に於ける細菌吸着の事實を以て腸管内に於ける場合をも付度して吸着劑は根元療法的効果を有すと結論せり。余等は此點に疑義を抱き尙細菌體よりも更に被吸着性の強しと思はるる蛋白質,アルブミン,ペプトン,鹽基性アミノ酸等の存在の下に試験すべき事が腸管内の條件の類推により適切なるべしと思惟し次の實驗をなせり。

第2項 ブイオン中に於ける吸着力

Liebig の肉エキス 5.0 gm ペプトン 10 gm 食塩 5 gm を水 1 L に溶解したるものを標準ブイオンとして之を適宜に稀釋し且各水素イオン濃度列を作り此を以て大腸菌浮游液をつくり此中に於ける吸着剤の細菌吸着力を検せり。

第3表はブイオン5倍稀釋液に就ての實驗なり。實驗の結果珪酸化合物は勿論2種の優秀なる外國製炭末を除き他の炭末は其吸着力生理的食塩水中に於ける場合に比すれば著く減弱せるを知れり。次に優秀なる吸着能を有する外國製2種炭末に就き其ブイオン2倍稀釋液及原液中に於ける吸着力を實驗せる結果は第4,5表に示す。即かか

第3表 ブイオン5倍稀釋液中に於ける吸着力

濾液 0.1 cc 培養菌集落數

吸着剤	PH					吸着剤	PH				
	5	6	7	8	9		5	6	7	8	9
照 對	17700	17980	20880	18560	19024	對 照	17700	17970	20880	18560	19024
珪酸化合物 1	10400	13160	13340	11600	15312	炭 末 1	5	0	0	0	0
” 2	11020	11450	13250	10710	16238	” 2	1	10	1	8	7
” 3	13000	13400	17640	14730	15800	” 3	7018	12852	12920	10484	10930
” 4	8874	10703	9860	9300	12518	” 4	4988	5140	5260	8062	7640
” 5	8126	8758	9338	10250	13223	” 5	12800	13400	16540	15720	14510

第4表 ブイオン2倍稀釋液中に於ける吸着力

第5表 ブイオン原液中に於ける吸着力

吸着剤	PH					吸着剤	PH				
	5	6	7	8	9		5	6	7	8	9
對 照	12760	14430	16356	16580	18560	對 照	13050	14800	13920	15600	18540
外國製炭末 1	1110	1264	1273	5786	6222	外國製炭末 1	6280	8280	9260	11517	12290
” 2	7598	8580	11894	7540	9853	” 2	9280	12920	12760	12965	13970

る炭末と雖も2倍稀釋液中にては細菌の吸着力著く減弱し原液にありては細菌を吸着する事極て輕微となる。

以上第2項に於ける實驗により蛋白質、ペプトン、アミノ酸等の豊富に存在する液中に於ては細菌の被吸着性は之に劣るを以て易吸着性の化學的物質が先に吸着せられて吸着剤を飽和し細菌の吸着せらるるは僅少なり結論せざるべからず。而してここに使用せるブイオン中の蛋白質、ペプトン、ポリペプチド、アミノ酸等の含有量は一般食品中の含有量よりも遙に少く従つて消化管中に於ける含量よりも更に僅少なりと考ふ。従つて珪酸化合物及炭末等の腸管内に於て細菌を吸着する作用は極て輕度なり

にして一面吸着劑の殺菌力の有無を示すものなり。菌食塩水浮游液に吸着劑を混じり 15 分間緩徐に振盪し充分吸着せしめたる後濾過して吸着劑を集めペトリ一皿に收めて乾燥保存し此一定量を一定時間經過後にブイヨンに投じて培養す。第 6 表に見る如く炭末及珪酸化合物何れによるも吸着後 2 日以内に菌の増殖力を失ふ事なきも珪酸化合物には弱度の殺菌力ありて 5 日乃至 10 日以後には死滅するもの多し。炭末にありては殺菌力なく吸着後 40 日を経るも菌は繁殖力を有す。

即細菌製劑配伍投與の際有效細菌の口腔食道胃腸中に於て吸着せらるる事の輕微なるべき事と吸着せられたる細菌と雖も良環境の下にて(腸中にて)充分發育し得る事との 2 點より細菌製劑と吸着劑との配伍投與は可なりと結論する事を得。

炭末に毫も殺菌力なきために炭粉を銀微粒子にて被覆し吸着と殺菌との 2 作用を兼備せしめんとする製劑あり。獨逸製アドソルガン、ジラルゲル及本邦にては某製劑等之なり。最後に此種吸着劑の效力及細菌製劑との配合の可否如何に就て記さん。余等前 2 者を入手する事を得ざりしを以て本邦産某製劑に就き次の如き實驗を試たり。

1. 10 cc のブイヨンに某製劑 0.5 gm を入れ此に大腸菌を移植培養せるに菌は充分に發育し該製劑に發育阻止力なき事を知りたり

2. 10 cc の大腸菌培養ブイヨンに某製劑 0.5 gm を入れ時々振盪し 4 時間、8 時間、12 時間、48 時間の後に菌浮游液 1 白金耳をとり菌の生死並に生存菌數を平板培養法によりて検査せるに極輕微の消毒力を示したるのみにして炭粉を被覆せる銀微粒子がブイヨン液中に游離して殺菌作用を現す事は殆ど期待し得ざる事を知れり。

3. 大腸菌の食塩水浮游液に某製劑を 3 % の割合に入れて菌を充分に吸着せしめたる後濾過し該製劑をペトリ一皿に採りて乾燥保存し 1 定時間後其 1 白金耳をブイヨンに投じ菌の生死を検して吸着せる菌に對する殺菌力を見たるに吸着後 24 時間後に於ては菌は發育せず該製劑は吸着せる菌に對して弱度の殺菌力を有する事を知れり。以上の成績を約言すれば本邦産某製劑は吸着せる菌に對して輕度の殺菌力を有するに過ぎず吸着せざる菌に對する殺菌力即銀粒子が溶媒中に游離して現す殺菌力は殆どなき事を知れり。而して腸内に於ては細菌は殆ど吸着せられざるを以て吸着せる菌に對する殺菌力も何等功を奏せずかかる製劑は單に炭末としての効果を有するのみと稱するを

得べし。従つて本剤に於ても拮抗菌製劑の配伍投與は可なりと結論する事を得。

第4項 腸内消毒劑の配伍投與の可否

腸内消毒劑を吸着劑と配伍投與する場合に消毒劑が吸着劑によつて吸着せらるるや否や或は其程度を知る事は臨牀上緊要なる事なり。余等は通常投與せらるるものにして且試験の便宜上水溶性若くは稀薄アルコール溶性なるもの數種即石炭酸、レゾルシン、グアヤコール、クレオソート、薄荷油を撰び之に對する吸着劑の吸着作用を實驗せり。其他の腸内消毒劑或は制酵劑はここに使用せるものと略類似せる化學組成を有するもの多ければ他は此結果より類推して大過なからんかと思惟す。

第7表 吸着劑の消毒劑に對する吸着力
+ は菌の生存を - は死滅を示す

消毒劑	作用時間(分)							
	5	10	20	30	40	50	60	
1% 石炭酸	+	+	-	-	-	-	-	
炭末吸着後(濾液)	+	+	+	+	+	+	+	
白土吸着後(濾液)	+	+	+	-	-	-	-	
3% レゾルシン	+	+	-	-	-	-	-	
炭末吸着後(濾液)	+	+	+	+	+	+	+	
白土吸着液(,,)	+	+	+	-	-	-	-	
0.5% グアヤコール	+	+	-	-	-	-	-	
炭末吸着後(濾液)	+	+	+	+	+	+	+	
白土吸着後(濾液)	+	+	-	-	-	-	-	

第8表 薄荷油に對する吸着力
+ は菌の生存を - は死滅を示す
薄荷油は20%アルコール溶液とす

消毒劑	作用時間(分)							
	5	10	20	30	40	50	60	
對照	20% アルコール	+	+	+	+	+	+	
	0.05% 薄荷油	+	-	-	-	-	-	
	0.1% ,,	-	-	-	-	-	-	
	0.2% ,,	-	-	-	-	-	-	
炭末吸着液	0.05% ,,	+	+	+	+	+	+	
	0.1% ,,	+	+	+	+	+	+	
	0.2% ,,	+	+	+	+	+	+	
白土吸着液	0.05% ,,	+	+	+	+	+	+	
	0.1% ,,	-	-	-	-	-	-	
	0.2% ,,	-	-	-	-	-	-	

實驗方法

豫め腸管消毒劑の大腸菌に對する消毒力を George Reddish の方法によりて檢定し適當なる消毒力を有する溶液を作り3%の割合に吸着劑を混じて30分間緩徐に振盪吸着せしめたる後濾過し濾液の消毒力を檢し之と原溶液の消毒力とを比較して吸着せらるる程度を知らんとせり。

吸着劑として珪酸化合物の代表として某酸性白土製劑を炭末の代表としてメルク製炭末を用ひたり兩者共吸着力優秀にして各0.1gmの0.1%メチレン青溶液に對する脱色力は某酸性白土製劑 14.4 ccメルク製炭末 33.3 ccなり。即メルク製炭末の吸着力は某劑の約2.5倍なり。

第7,8,9表に示す如く石炭酸、レゾルシン、グアヤコール、薄荷油、クレオソー

第9表 クレオソートに對する吸着力

+ は菌の生存を - に死滅を示す
クレオソートは 5% アルコール溶液とす

消毒劑	作用時間(分)	5	10	20	30	40	50	60
	對照	5% アルコール	+	+	+	+	+	+
0.5% クレオソート		-	-	-	-	-	-	-
1% "		-	-	-	-	-	-	-
2% "		-	-	-	-	-	-	-
炭末吸着液	0.5% "	+	+	+	+	+	+	+
	1.0% "	+	+	+	+	+	+	+
	2.0% "	-	-	-	-	-	-	-
白土吸着液	0.5% "	-	-	-	-	-	-	-
	1.0% "	-	-	-	-	-	-	-
	2.0% "	-	-	-	-	-	-	-

ト等は酸性白土製劑によつて吸着せらるる事極めて輕微なるもメルク製炭末によりては相當に吸着せらる。故に此等の腸内消毒劑を白陶土、酸性白土製劑等とを配合するには何等支障なげんもメルク製炭末の如き吸着力強き炭末と配伍せんとせば普通量より多量に使用せざるべからず。

結 論 及 考 察

- (1) 珪酸化合物(酸性白土製劑, 白陶土) 及諸種の炭末は食塩水中に於ては細菌をよく吸着するも被吸着性物質の多きブイヨン中にては吸着力極めて輕微となる。
- (2) 此等の吸着劑は殺菌力を殆んど有せず。従つて吸着せられたる細菌と雖適當なる環境の下に發育増殖する事を得。
- (3) 酸性白土製劑は腸内消毒劑を殆ど吸着せざれども吸着力優秀なる炭末は吸着す。

以上得たる結論より演釋し吸着劑の使用に關し次の如く推論する事を得べし。

此等の吸着劑は腸内に於て細菌を吸着する事極めて輕度にして且殆ど殺菌力を有せざるが故に傳染性腸疾患異常醱酵等の疾患に對しては毒物、粘液の吸着或は炎症面の被覆等の對症的效果を有するのみにして有害細菌を抑止撲滅する根元療法的效果を期待する能はず。此事實は銀粒子を被覆して消毒效果を企圖せる製劑に於ても同様なり。従つて此等の疾患に對しては吸着劑に拮抗菌製劑若くは腸内消毒劑を配伍するを合理的なりとす。蓋此等の製劑は吸着劑との配伍によりて著き影響を受けざる事は第3, 4項の實驗の示す處なればなり。

文 獻

和泉, 中村: 吸着劑の性能に就て 治療藥報 第339號
 阪口: 吸着劑とアルカロイドとの配伍 醫局及藥局 第8卷3號
 高橋: 諸種吸着に關する毒物的研究 岡山醫學會雜誌 第437號
 M, Eisler: Further experiments on the influence of adsorption by charcoal on poisoning and detoxicating. Biochem. Zeitschrift 172, 154-170

堆肥糞尿等の熟成促進を目的とする細菌 製剤の犬蛔蟲卵滅殺力試験報告

技 師 秋 葉 朝 一 郎
囑 託 風 間 美 佐 雄

緒 言

堆肥糞尿等の熟成を促進して優良なる肥料を経済的に且容易に作成せんとする目的の下に纖維素分解菌、窒素固定菌及其他 1, 2 の細菌を培養し之を糠其他の栄養的賦形剤に混和し製剤として發賣せられつつあるものあり。

本剤が有機物の腐敗分解を促進する作用を有する點より糞便中の寄生蟲卵或は病原菌の死滅をも促進する作用を有するものに非ざるかとは誰しも推考し得る所なるべし。本製剤の製造者も亦かかる考への下に本剤の寄生蟲卵滅殺力試験を當所に依頼出願せり。

果してかかる作用ありとせば糞尿の處理上寄與する所尠からざるべきを思ひ余等本出願を受理し之に關する實驗を行ひたるを以てここに其實験成績を報告せんとす。

實 驗 方 法

寄生蟲卵保有の人糞を入手する事は當所に於ては困難なるを以て之に代ふるに犬蛔蟲卵を以てせり。即蛔蟲の寄生せる幼犬を購入して當所内に飼養し昭和7年7月28日より8月13日迄17日間に亙りて其糞便を採取貯藏せり。之に約5倍量の水を加へて良く攪拌混和したる後2個の硝子圓筒に分ち其一方には糞便の約25分の1量の製剤を數回に分ちて混和し他方は對照とし兩者共に8月13日より11月11日迄90日間冷暖裝置なき室中に放置せり。此間約10日毎に兩者より可及的等量の糞便を採取して集卵法を行ふ。

集卵法 採取せる糞便に水を加へてよく攪拌したる後細目の金網を以て濾過し細長き硝子圓筒に入れ24時間靜置す。上澄液を捨て再び沈渣に水を加へて攪拌し24時間

静置して後上澄液を捨て沈渣はピペットにて吸上げ豫め準備し置きたる瓦培養基上に塗布し 28°の孵籠中にて約 2 週間培養す。瓦培養基は約 12 糶平方となしたる瓦を豫め乾燥滅菌して後大形のペトリー皿に納め之に水道水を辛ふじて瓦の浸潤する程度に入れたるものなり。

15 日間培養後全量を掻き集め矢尾板氏法に據りて集卵法を行ひたる後沈澱物を 6 枚の載物ガラス上に同一面積の區劃内に塗布し乾燥せり。然る後各々の標本に就き其 30 視野宛を鏡檢し發育卵(仔蟲を藏せるもの)、不發育卵(死滅せるもの及不受精卵の兩者を含む譯なれども不受精卵は僅少なりしを以て不發育卵は死滅せるものと見做す)及崩壞卵(頽廢の徴候を示すもの)の數を計測し 6 枚の標本に就き總計す。

製剤の効果の判定は單に蛔蟲卵の死滅完了迄の日數のみを標準とせず發育卵(生卵)及死滅卵(不發育卵と崩壞卵との和)との全卵數に對する 100 分比を算出し蟲卵死滅速

蛔 蟲 卵 數

經 過 日 數		15	25	35	45	55	75	90	經 過 日 數		15	25	35	45	55	75	90
對 照	發 育 卵	71	56	78	52	57	12	0	試 驗	發 育 卵	60	83	83	72	49	8	0
	不 發 育 卵	69	50	110	90	129	78	57		不 發 育 卵	68	104	107	138	110	95	49
	崩 壞 卵	37	47	70	67	102	100	132		崩 壞 卵	36	50	90	90	112	123	115
	全 卵 數	177	153	258	209	288	190	189		全 卵 數	164	237	280	300	271	226	164

種 類 別 100 分 比

經 過 日 數		15	25	35	45	55	75	90
對 照	發 育 卵		40.1	36.6	30.2	24.9	19.8	0
	不 發 育 卵	} 死滅卵	39.0	32.7	42.6	43.1	44.8	30.2
	崩 壞 卵		20.9	30.7	27.2	32.0	35.4	69.8
			59.9	63.4	69.8	75.1	80.2	93.7
								100
試 驗	發 育 卵		36.5	35	29.7	24	18.1	0
	不 發 育 卵	} 死滅卵	41.5	43.9	38.2	46	40.6	29.9
	崩 壞 卵		22.0	21.1	32.1	30	41.3	70.1
			63.5	65	70.3	76	81.9	96.4
								100

度を比較せんと試みたり。

雷 100 分比を出す場合に考慮すべきは死滅卵が速かに溶解して認識する事不可能となるに非ずやてふ事なり。此の問題解決の爲に余等是不發育卵(發育せざるも形態完全なるもの)と崩壞卵(形態に Degeneration を示せるもの)とを區別して計測せり。

Fig. 1 對照壺

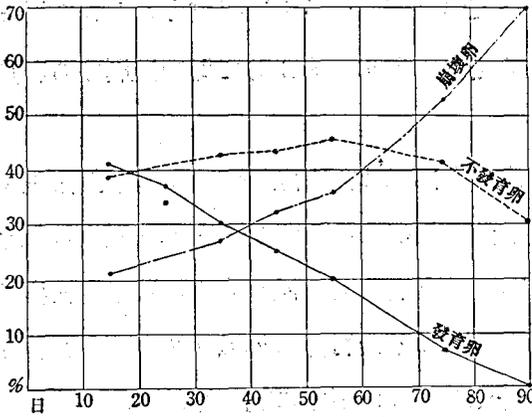


Fig. 2 試驗壺

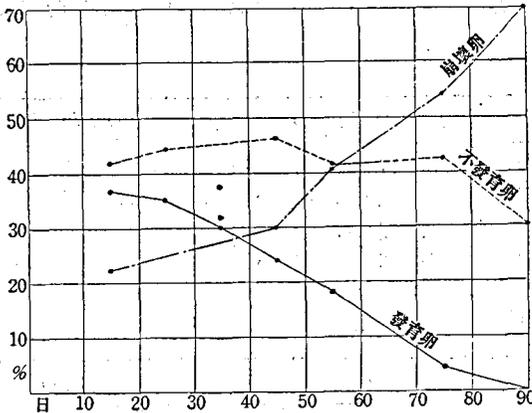
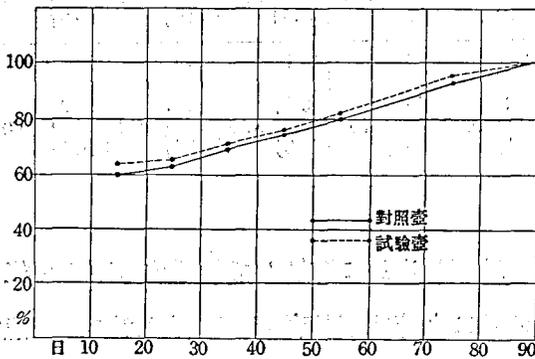


Fig. 3 死滅卵%



其結果表及曲線の示す如く不發育卵の数は漸次増加したる後 45~55 日以後は減少するに拘らず崩壊卵數は時日の経過と共に増加し特に 55 日以後著明に増加する事を認めたり。即犬蛔蟲卵は死滅後漸次崩壊し始むるも容易に溶解し消失せざるものなる事を知る。

かかる事實より檢鏡によつて得たる成績より算出せる發育卵(生卵)或は死滅卵の 100 分比は信憑し得るものと思ふ。

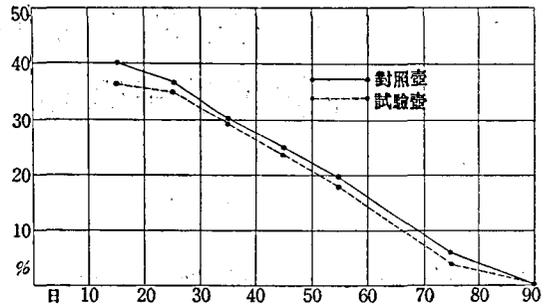
結 果

1. 發育卵は實驗開始 15 日目に 36.5~40.1% にして過半数は死滅卵なり。かく死滅卵の多きは排便後 17~32 日(試驗開始前の貯藏期間 17 日通算)にして比較的時日を経たるが爲なるべし。發育卵(生卵)數は爾後かなり速かに減少し 75 日以後には僅かに 4~6% にして 90 日後には全部死滅す。之に貯藏期間を通算すれば糞便中の犬蛔蟲卵は 90~107 日後には死滅すと云ふを得べし。但觀察期間は 8 月中旬より 11 月中旬迄とす。

2. 某製劑の犬蛔蟲卵死滅促進效

果(或は滅殺効果)は如何. 先づ生卵の全部死滅するに要する時日を對照壺と試験壺に就いて比較するに製剤を加へたるが爲に所要時日短縮せらるると云ふ事なし. 又蟲卵の死滅速度即發育卵或は死滅卵 100 分比曲線の推移を比較するも(圖 3 及 4)對照

Fig. 4 發育卵%



との間に殆ど差を認めず. 但各試験日に於ける 100 分比を見るに試験壺に於ては對照壺よりも發育卵の率少しく低く死滅卵の率少しく高く即其差 0.6~3.6% 平均 1.7% にして此事實は製剤の効果を示すものと思ふ.

以上の如き事實より纖維素分解菌及窒素固定菌を主成分として有機物(堆肥, 糞尿等)の熟成促進を目的とする製剤の糞便中に於ける犬蛔蟲卵に對する滅殺作用(或は死滅を促進する作用)は殆ど認め難しと結論せざるべからず.

文 獻

高野, 勝保, 内藤: 日本公衆保健協會雜誌第 2 卷 1 號
 宮川: 臨牀寄生蟲病學
 吉田, 堀田: 東京醫事新誌 第 2125, 2126

アリール芥子油(揮發芥子油)及フェニール 芥子油(無臭芥子油)の毒性比較調査報告

技 師 伊 東 幹 愛

昭和6年6月8日附衛保第424號及同年9月28日附衛保第771號を以て衛生局長よりの照會に係る無臭芥子油の醬油に對する防黴效力に就きては先に衣笠技師等により報告せられたるも爾後その衛生害否に就き動物試験を續行し最近次の成績を得たるを以て之を報告す。

内 容 目 次

- 第1章 緒言
- 第2章 家兎靜脈内注射による致死量決定
- 第3章 少量のアリール芥子油及フェニール芥子油を連日經口的に投與せる家兎の組織學的所見
- 第4章 結論

第1章 緒 言

フェニール芥子油の生理學的作用に關しては之をアリール芥子油に對する化學構造の關係及諸性状より或る程度の推定を下すに止り實驗的記録を見ずより既に醬油防黴劑として許可せられたるアリール芥子油と比較試験を行ひその防黴作用と毒性との關係を明にするはただに藥理學上より見て興味あるのみならず實際問題としても必要なりと考へ兩者の比較試験を行ひたり。

芥子粉は醬油防黴劑としては古くより用ひられしものの如く芥子油の殺菌防腐效力に關しては Bokorny, Koch, Salkowski 鈴木, 井爪氏等の報告あり衣笠技師等の報告によるもその防黴力は優秀にして開栓容器貯藏醬油に使用せる場合に於ても 10,000 倍にて充分その目的を達し得と。

齎てアリール芥子油の生理作用に就きて考ふるにその毒性は相當激しく殊に局所を刺激すること強く1平方米中既に 90mg の存在に於て特異なる刺激臭性氣の爲め諸粘膜は刺激されて吾人の存在を許さず。即ち人眼に於ける最小刺激濃度は 200,000 倍にして腕に於ては 2,500 倍にして既に蕁麻疹様の發赤腫脹を來し猶濃度高まる時は水

泡更に進みて壞疽を來すは勿論なり。若し之を内服する時は消化管の粘膜は極度に刺激され發赤、腫脹は勿論更に進んで壞疽に陥入る。吸収作用としては肺氣腫、痙攣、體溫下降、中樞麻痺等を來す。

家兎に靜脈内注射を行ふ時は呼吸麻痺、血管運動神經麻痺、筋肉痙攣、體溫下降を來し殊に呼吸中樞の麻痺最も著明なり。その靜脈内注射による致死量は Calier 及 Evans によれば體重 1kg につき 0.012cc にて又經口的投與に於ける Cyolema の實驗に於ては 0.2mg なりと。然れども反覆して小量を注射する時は之の毒物に對する或る程度の抵抗力を生ずと云ふ。蛙に於ては 0.005g にして中樞刺激による激しき興奮と痙攣の後死を來す(Henze)みみずは 200,000 倍液中に於て死し魚類は 1,320,000 倍液中に於て麻痺を來さずして痙攣のみを惹起して死に至ると。要するにその大部分はアリール芥子油の有する辛辣なる局所刺激作用に基くものの如し

衛生局より送附のフェニール芥子油は無色透明にして特異の臭氣(アリール芥子油に比しその刺激的臭氣はるかに少し)を有する液體にしてその醬油に對する防黴力は小林氏によるも衣笠技師によるも共に約 20,000 倍に於て完全にして即ちアリール芥子油よりも稍々有效なるが如し。故に若し本品にして其の毒性少きとせば優秀なる防腐劑と云ふを得べし。

第2章 家兎靜脈内注射による致死量の決定

試薬としてアリール芥子油は第4版日本藥局方揮發芥子油を、フェニール芥子油は衛生局より送附のものを用ひ共に局方アルコールにて 20% 溶液を作用し家兎體重 1kg に對し一定量宛靜脈内に注入しよりて起る變化を觀察せり之を表示せば次の如し。

1. アリール芥子油

動物番號	體重(kg)	性	體重 1kg に対スル注射量(cc)	全注射量(cc)	主なる症狀	生死	備考
1	1.92	♂	0.05	0.096			
2	2.00	〃	〃	0.1	激しき痙攣(叫聲を發す) 呼吸麻痺	直	死
3	2.00	〃	〃	0.1			
4	1.80	〃	0.03	0.054	激しき痙攣ついて來る麻痺 (叫聲を發す)	5-10 分後死	
5	1.80	〃	〃	0.054			
6	2.00	〃	〃	0.06			
7	2.07	♂	0.02	0.0414	痙攣、稍々興奮状態麻痺	約 5 時間後死	

8	2.00	〃	〃	0.04			
9	2.00	〃	〃	0.04	〃	翌朝死	
10	1.80	〃	0.01	0.018	少しく興奮状態を示せるも 約2時間にして平静	5日を経過する も死せず	尿中蛋白著明
11	1.90	〃	〃	0.019			
12	2.10	〃	〃	0.021			

2. フェニール芥子油

動物 番號	體 重 (kg)	性	體重 1kg に 對する 注射 量(cc)	全注射量 (cc)	主 なる 症 狀	生	死	備 考
1	1.77	♂	0.1	0.177	激しき痙攣、呼吸麻痺(最 後に叫聲を發す)	直	死	尿中蛋白著明
2	1.90	〃	〃	0.19				
3	2.20	〃	〃	0.22				
4	2.00	〃	0.05	0.1	〃	約10-15分にて 死		
5	1.77	〃	〃	0.0885	〃			
6	2.00	〃	〃	0.1	〃			
7	2.20	〃	0.03	0.066	痙攣約3分にして麻痺症狀 あるも約3時間にして外觀 常に復せり	7日を経るも死 せず		
8	1.80	〃	〃	0.054				
9	2.00	〃	〃	0.06				
10	2.00	〃	0.02	0.04	注射直後は興奮著明呼吸數 増多やがて沈靜に復す3時 間後には常の如し	〃	〃	
11	2.00	〃	〃	0.04				
12	2.10	〃	〃	0.042				
13	1.94	〃	0.01	0.0194	稍々興奮の狀あり	〃	尿中蛋白痕跡	
14	1.80	〃	〃	0.018				
15	2.30	〃	〃	0.023				

以上の成績を見るにアリール芥子油の家兎静脈内注射による致死量は體重 1kg、につき 0.02 cc にしてフェニール芥子油の夫は 0.05cc なり即ちアリール芥子油はフェニール芥子油よりその毒性はるかに強し。然れどもその中毒症狀は質的には兩者相同じきものの如く主として激しき痙攣及呼吸麻痺なり又死を免かれしものに於ても共に腎臓を刺激して蛋白尿を起さしむ。

第3章 少量のアリール芥子油及フェニール芥子油を連日

経口的に投與せる家兎の組織學的所見

既に緒言に於て述べたる如くアリール芥子油は 10,000 倍液に於てフェニール芥子油は 20,000 倍液に於て著明なる防黴作用を呈するも兩者の毒性を比較する意味に於て共に局方アルコールにて 10,000 倍溶液を用ひ各 3 匹宛の家兎の空腹時に 10~15cc の水の助を藉りてネラトン氏カテーテルにて胃中に送入し約 50 日以上 80 餘日に及びしものを脱血死に至らしめて胃、腸、膀胱、肺臓、腎臓、肝臓につき組織學的檢索を行

へり。

然しその投與量に關しては先にベタナフトール及びオイカリプス油の醬油防黴劑としての衛生上の害否につき報告せると同一理由の下に家兎體重 1kg に對し 10,000 倍アルコール溶液 1cc 宛與へたり。同時に對稱とし體重 1kg に對しアルコール 1cc を全く同一條件の下に與へて試験せるは勿論なり。

組織學的檢索はパラフィン包癒法を用ひヘマトキシリン、エオジン染色によれり。

實驗成績次の如し。

第1例 動物番號 5號 2.4kg ♂ 家兎

毎日 10,000 倍アリアル芥子油アルコール溶液體重 1kg に對し 1cc 宛經口的投與(1日の全投與量 2.4cc)

投與日數 自9月22日至12月10日, 80日間

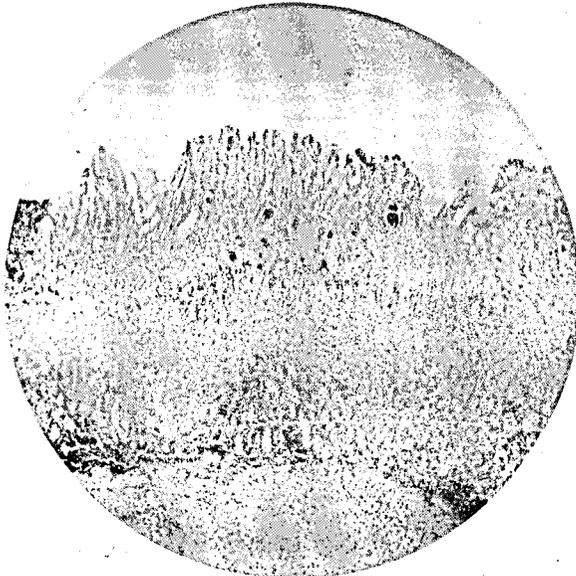
投與せる全絶對量 0.0192cc

致死方法 脱血死

投與後壹ヶ月より漸時體重の減少を來し11月10日頃より尿中に痕跡の蛋白を認む食慾又寝へ全身の骨格筋は弛緩し致死前の體重は 1.8kg なりき

第 1 圖

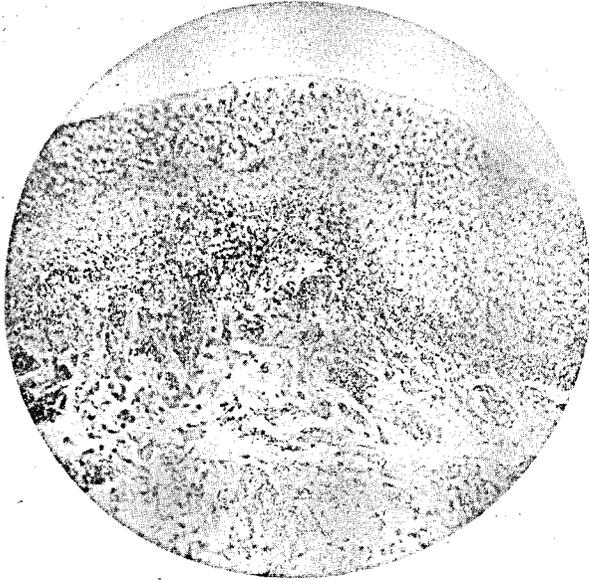
第4例 動物番號 5號 2.4kg ♂ 家兎 10,000 倍アリアル芥子油アルコール溶液體重 1kg に對し 1cc 宛連日經口的投與し 80 日及ぶもの、胃底部擴大 100 倍 ヘマトキシリン、エオジン染色



剖見するに肉眼的には肝臓は全體に一樣に暗褐色を呈しアチヌス著明なり硬度普通にして特に異常を認めず腎臓はカプセルの剝離稍々困難なるもマルピギー氏小體著明なり膀胱は一般に充血し夥しき溢血を見る胃部も亦一般に充血し底部より大彎に及び 50 錢銀貨大の著明なる出血瘻を見該部分の上皮層は壞疽に陥入れるもの如し顯微鏡的所見も亦肉眼的所見に一致し胃の該出血部を百倍の擴大度にて見る時は(第1圖)上皮細胞は大部分壞疽に陥入りほとんど染色せず所々に凝血塊を認め上皮下出血又著明なり膀胱も上皮下に著明なる出血を見ること第2圖に示すが如し肝臓は中心靜脈及細胞索間の毛細管に於て多少の充血を認め從て細胞索間比較的廣く又肝細胞自身退行的變化を示し處によりては第3圖に見る如く變性を來し爲めに染色著しく不良なり腎臓に於ては絲絨體充血を來し爲めにマルピギー氏小體は全體として肥大し小葉間血管又多少充血あり

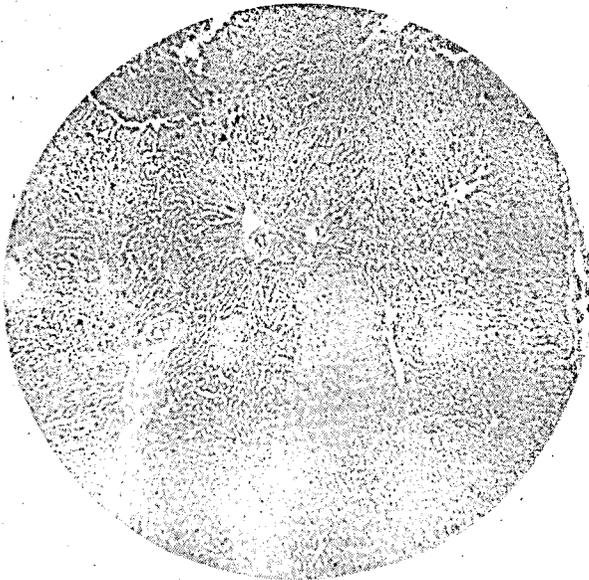
第 2 圖

第 1 圖と同一家兎の膀胱 擴大 182 倍



第 3 圖

第 1 圖と同一家兎の肝臓 擴大 100 倍



第 2 例 動物番號 6 號 2.1kg ♂ 家兎

本例に於ては第 1 例に同じく毎日 10,000 倍
アリアル芥子油アルコール溶液體重 1kg 7
對し 1cc 宛ネラトソ氏カテーテルにより投
與せしが 25 日目に誤りて氣管へ吸入し爲
めに直ちに窒息死を來せるを以て不結果に
終れるも一應剖見せしに肉眼的には認むべ
き病變を見ざりき。

第 3 例 動物番號 7 號 2.2kg ♂ 家兎

毎日 10,000 倍 アリアル芥子油アルコール
溶液體重 1kg に對し 1cc 宛經口的投與 (1日
の全投與量 2.2cc)

投與日數 自 9 月 22 日至 11 月 30 日 70
日間

致死方法 自然死

第 1 例に同じく投與後 1ヶ月頃より漸時食
慾減退體重減少し 11 月 30 日に自然死を來
せし際には 1.48kg なりき全身の筋肉弛緩し
營養悪しく剖見するに胃底部に廣範なる出
血あり、腸管壁は骨骸筋に同じく一般に著
しく薄にしてアτροφイーレンゼリ 肝臓は
その邊縁圓滑にして稍々腫脹しアチヌス著
明ならず 腎臓は暗赤色を呈しカプセルの剝
離稍々困難なり。

膀胱中に殘存する尿を注射器にて吸引し
て檢するにスルフォサリチール酸試験によ
るも煮沸試験によると共に蛋白を證明し得、
顯微鏡的檢査に於ては肉眼的所見及第 1 例
に於けるものと略々一致せる所見を得たる
を以て此に詳細なる記述を省略することと
せり

次に第 4 例より第 6 例に於ける家兎に於
てはいづれもフェニール芥子油の 10,000 倍
アルコール溶液を毎日體重 1kg に對し 1cc
宛アリアル油に於ける場合と同じ方法にて

経口的に投與せり。

投與期間は3例共自9月22日至12月10日80日間にして自然死を來せるものなく外觀上(食慾、元氣、尿の所見等)異常を認めず檢體投與前の體重及脱血致死前の體重を見るに

	檢體投與前	致死前
第4例	2.05kg	2.5kg
第5例	2.5kg	2.65kg
第6例	2.4kg	2.04kg

剖見並びに檢鏡するに3例共胃底部に輕微の充血を認めしのみ他に全く所見なし即ち同時に對稱として2.15kgの♂家兎に體重1kgに對し局方アルコール1cc 経口的に投與し80日間に及べる家兎の所見と大差なきを知りたり

以上の實驗は短時日の間に行ひたるを以て之にて直ちに兩芥子油を少量宛連續投與せる際に於ける慢性中毒の問題を云々する能はざるも少くとも兩芥子油間に於ける毒性の相異は之を認むるを得べし。

第4章 結 論

1. アリール芥子油及フェニール芥子油は共に著しき醬油防黴性を有するも後者の方稍々優秀なり。
2. 家兎靜脈内注射により急性中毒による致死量を見るに體重1kgに對しアリール芥子油は0.02cc フェニール芥子油は0.05ccにして前者は後者の約2倍半の毒性を有す。
3. 家兎に毎日兩芥子油の少量を連續経口的に投與するにアリール芥子油は諸臟器に一定の病的變化を與ふるもフェニール芥子油に於ては認むべき變化なし。
4. 然れども實驗は短時日の間に施行せるを以て之たが成績に基きフェニール芥子油を少量宛連續投與せる際に於ける衛生害否を斷定するを得ずと雖も少くともアリール芥子油に比し優りたる防黴劑と認めざるを得ず。

文 獻

1. 小林 第7回大阪市立工業試験所報告昭和6年
2. 醸協 大正13年2號67昭和2年10號94
3. 衣笠 衛生試験所彙報 第36號
4. Houben: Fortschritte d. Heilstoff Ch. II Abt. I Bd. II Hälfte.
5. Bokorny: Pfl. 73, 385 (1898)
6. Koch: Mitt. a. d. Kais. Gesundheitsamt 1, 271 (1881)
7. Salkowski: B, Z. 7, 371 (1915)
8. Carlier u. Evans: Bi. J. 2, 325 (1903)
9. Henze: Diss. Halle 1873; Zentr. med. Wiss. 24, 433 (1878)
10. Kobert: Toxikologie II 536 (1906)
11. 伊東: 衛生試験所彙報第36號昭和5年 以上

所謂オイカリプス油の毒性に関する調査報告

技 師 伊 東 幹 愛

昭和6年3月20日付衛發第90號を以て衛生局長より飲食物主として醬油の防腐劑としてオイカリプス油の使用に關し之が衛生上の害否に付き照會ありたるを以て直に調査試験を行ひ次の成績を得たり依て之を報告す。

内 容 目 次

第1章 緒 言	第3章 少量のオイカリプス油を連日經口的 投與せる家兎の組織學的所見
第2章 家兎靜脈内注射によるオイカリプス 油の毒性乃至致死量の決定	第4章 結 論 引用文獻

第1章 緒 言

オイカリプス油はオイカリプス葉中に含有する揮發油にして主としてチネオール(オイカリプトール)より成り其他少量のピネン、痕跡の酪酸、纈草酸、カブロン酸等のアルデヒドを含有す。従ひてオイカリプスの毒性中毒症狀は主としてオイカリプトールに起因す。

オイカリプトールの毒性に關しては Brünig 氏が稍々系統的なる報告を發表し居れり。同氏によれば蛙の體重 1 kg に就き 0.5 g を注射するか又はオイカリプトール蒸氣を吸入せしむるときは一過性の麻痺症狀を見るもやがて回復す。其際他の揮發油及びカンフルに見る如きクラレ様の作用を認むるを得ず。藁に於ては體重 1 kg につき 1 cc を與ふるも必ずしも死を來さず長き麻酔の後覺醒するもの多し。

魚類は之を 10,000 倍の水溶液中に放置するも 48 時間以内に於ては死滅せず注射するも體重の 0.02 % 迄は殆ど無害なり。

溫血動物にては家兎に 1~5 cc 皮下注射するも殆ど作用にくモルモットに於ても 0.15 乃至 0.25 g にては同じく作用を認めず。然れども體重 1 kg につき 1 cc を注射するときは麻痺の後に死を來す。以てモルモットに對する致死量とす。經口的には體重 1 kg に對し 2 cc を以て死を來す。

次に人體に對する關係を見るにオイカリブス油は揮發性を有するがため局所を刺激し皮膚に塗擦するか又はオイカリブス葉に接觸することによりて蕁麻疹乃至水泡を生ずる事あり。又之を吸入するときは蛋白尿を見る。排泄は主として肺、皮膚、腸、腎臓に於て行はる。重篤なる中毒症状は既に4死にして發現し15~30gは致死量に相當す。

10歳の小兒感冒豫防の目的を以て15gを飲用せしに15時間にして嘔吐を來し顔面蒼白、脈搏微弱となり遂に呼吸困難を來して死亡せり剖見するに胸腔中に多量の出血を認めたりと。又ある成年男子は20gを飲用して同じく呼吸困難を起し40時間後に死せり。Tappeiner氏は20g以上を以て致死量なりとせり。

又1日數回20滴のオイカリブス油を服用し2日に渉れるものにおいて蕁麻疹様發疹を起し該油の服用を中止せし後も猶反覆發せりと云ふ。之の際口唇の乾燥、鼻腔の刺激症状、蟻走感等之に伴ひ猶小水泡、皮膚炎をも來すことありと。

オイカリブス油は如何なる方法にて之を應用するも腎臓を刺激す、之れ體中に入れ該油は少くとも一部は腎臓より排泄さるるが爲めにして特に注目し價すべき點なりとす。

最後にオイカリブス油の殺菌力及防腐效力に就きて考ふるにその殺菌力は僅微にして又回蟲驅除等の目的に使用せられしことあるもその効價は零に近し。然れどもヘーフェ及絲狀菌等に對しては多少その作用を有するものの如し。次に服部技手による醬油に對するオイカリブス油の防腐試験成績に據れば醬油200ccに對し該油0.4ccにて換言せば500倍にて防腐效力を示すを以て一般防腐劑としての價値は大なるものに非ず。

而してもし吾人が日常此の如き程度にオイカリブス油を含有せる醬油を用ひたる場合に於ける衛生上の害否如何は本調査の骨子を爲すものにして文献に見る如き急性中毒による毒性はただ之を參考に資するに止るのみなるも實驗順序として先づ家兎に於ける急性中毒による致死量、毒性を決定しついで少量のオイカリブス油を連日經口的に投與せる家兎につきてその成績を求めたり。

第2章 家兎靜脈内注射によるオイカリブス油の毒性乃至致死量の決定

始め本試験に於て試藥として日本藥局方オイカリブス油を使用せんとし巷間に之

を求めたるも遂いに入手し得ず。止むなく市販の所謂オイカリブス油數種を求め化學的試験を行ひしにいづれも局方不適なり。然れども醬油の防腐劑として使用せらるるものも之の範圍を出でざる所謂オイカリブス油ならんと考へ最も發賣量多しとせらるる某商店のオイカリブス油を使用せり。該オイカリブス油の化學的性質次の如し。

- (1) 比重 0.87
- (2) 70% アルコホル3容量に溶解せず
- (3) 氷醋酸及亞硝酸により結晶を生ず
- (4) 磷酸(比重 1.75)により30分以内に固結せず
- (5) 攝氏 170°~175° に於て半量以上蒸溜す
- (6) 左旋 18.6~18.7 なり

本檢體は日本藥局方不適にして *E. amygdalina* (濠洲産)の油に類似せり。

該オイカリブス油をその儘家兎の體重 1 kg に對し一定量宛耳靜脈内に徐々に注入しよりて來る變化を觀察せり。各一定量に對して3例宛行ひたる成績次の如し。

實驗日 19-20/IV, 32 室温 20°

動物番號	體重(kg)	性	體重1kgに對する注射量(cc)	全注射量(cc)	主なる症狀	生	死	備考	
1	1.85	♂	1.0	1.85	間代性痙攣, 呼吸麻痺	直	死		
2	2.00	〃	〃	2.00	〃	〃	〃		
3	2.10	〃	〃	2.10	〃	〃	〃		
4	2.15	〃	0.5	1.07	〃	〃	〃		
5	2.00	〃	〃	1.00	〃	〃	〃		
6	1.90	〃	〃	0.95	〃	〃	〃		
7	1.90	〃	0.3	0.57	間代性痙攣, 興奮について著明なる麻痺を見る縮腿, 呼吸麻痺	約2時間後に死	1時間後に死		
8	2.00	〃	〃	0.60					
9	2.00	〃	〃	0.60					
10	1.80	〃	0.1	0.18	注射直後には不安, 興奮の狀ありしも3時間にして回復せり	3週間をふるも生	尿に蛋白著明(5日目)		
11	2.10	〃	〃	0.21					
12	2.20	〃	〃	0.22					

以上の成績表より判定するに家兎の靜脈内注射によるオイカリブス油の致死量は體重 1 kg に對し 0.3 cc にしてその主な中毒症狀は痙攣, 呼吸麻痺にして死を免れしものに於ても尿中蛋白の出現する處より考ふるに腎臟を害するものの如し。

第3章 少量のオイカリブス油を連日経口的に投與せる 家兎の組織學的所見

茂木啓三郎氏によれば本邦に於て平均1石の醤油を1人にて使用するに約10ヶ年を要すと、之を1日に換算せば1日約50ccを要することとなる。即ち老若男女を問はず1日約50ccの醤油を毎日攝取するものと見做し此處に計算に便ならしむる爲め健康大人の平均體重を50kgと假定せば1kgに對し1ccの醤油を用ふる理にして若し該醤油がその防腐效力を示す最小濃度として500倍の割合にオイカリブス油を含有するとせば體重1kgに對し500倍オイカリブス油1ccを攝る理となる。よりにて余は實驗動物として家兎を用ひ豫めアルコールにてオイカリブス油の500倍溶液を作りおき之を毎日體重1kgに對し1cc宛10~20ccの水と共に早朝空腹時にネラトン氏カテーテルにて胃中に送入し約50日以上80餘日に及びしものを脱血死に至らしめ胃、腸、肝臓、腎臓、肺臓につきて組織學的檢索を行へり。之の時對稱として體重1kgにつきアルコール1ccを全く同條件の下に與へて同じく試験せり。然して組織學的檢索はパラフィン包癒法を用ひ主としてヘマトキシリンエオヂン染色法により檢鏡せり。

實驗成績次の如し

第1例 動物番號 8號 2.3kg ♂ 家兎

毎日500倍オイカリブス油アルコール溶液體重1kgに對し1.0cc宛経口的投與(1日の全投與量2.3cc)

投與日數 自9月22日至12月14日 84日間

投與せる全絶對量 0.39cc

致死方法 脱血死

致死前の體重は1.5kgにして體重は全經過を通じ時に増減を認めしも一般には減少を來し、食慾は投與後約貳ヶ月頃より相當減退を來せるもの、如く筋肉一般に弛緩し無氣力なり又檢尿するに蛋白陽性なり(煮沸試験による)頸動脈よりの脱血死に陥入らしめ直ちに剖見するに肉眼的には肺臓、肝臓、膀胱、腸には認めず。胃は一般に多少の充血を認め殊に底部、大彎に於て著明なり。

腎臓は左右共に一般に多少充血し小豆色を呈せるも稍々白濁せるが如きマアツェを帶ぶ、マルビキー氏小帯は著明に肉眼的に認め得、カプセルの剝離容易なり。

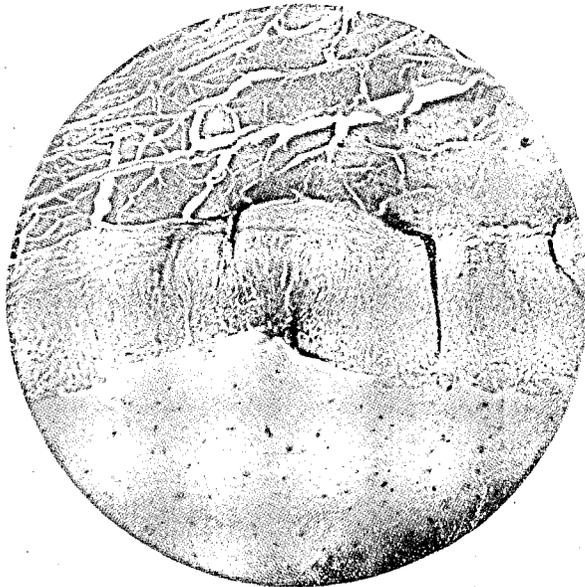
顯微鏡學的檢査に於ても肉眼的所見に一致し胃底部、大彎の粘膜に於て多少の充血竈を認め時に上皮細胞間に小なる溢血點を認む。

腎臓は同じく一般に充血し所々に小出血あり絲絛は腫張、充血を來し爲めにポーマン氏囊の内外2葉間の



第 1 圖

2.3 kg ♂ 家兎 84 日間に全量 0.39 cc のオイカリブス油を毎日経口的に與へしもの、腎臟
 擴大約 218 倍
 ヘマトキシリン、エオジン染色



第 2 圖

2.27 kg ♂ 家兎 51 日間に全量 0.232 cc のオイカリブス油を毎日経口的に與へしもの、胃
 擴大約 70 倍
 ヘマトキシリン、エオジン染色

空隙は狭小にして曲細尿管の上皮細胞も亦腫張潤澤を來し原形質の染色不良にして構造不明瞭なり

第 2 例 動物番號 9 號 2.27kg

♂ 家兎

毎日 500 倍オイカリブス油アルコール溶液體重 1 kg に對し 1.0 cc 宛経口的投與 (1 日の全投與量 2.27 cc)

投與日數 自 9 月 22 日至 11 月 11 日

51 日間

投與せる全絶對量 0.232 cc

致死方法 脱血死

本例に於ては投與後約 1 ヶ月半にして急速なる體重の減小及食欲減退を來し致死前 2, 3 日間は全く食物を攝取せず、第 1 例に見る如く全身の筋肉極度に弛緩し體重 1.26 kg にしてほとんど死に瀕せるを以て脱血死に至らしめたり、本例に於ても既に尿中に痕跡の蛋白を認めたり

剖見するに同じく胃及腎臟に變化を認めその性質的に於ては第 1 例と同様なるも程度に於て稍々相異あり、胃部の變化は本例に於て著明にして胃部粘膜はその底部に於て著しき出血あり且その上皮細胞は退行性變化を來せり。

腎臟に於ける所見は第 1 例に殆んど同じくたゞその程度輕微なり

本例に於ては腸粘膜に於ても明に退行性變化を認め筋肉層も極めて菲薄なりき

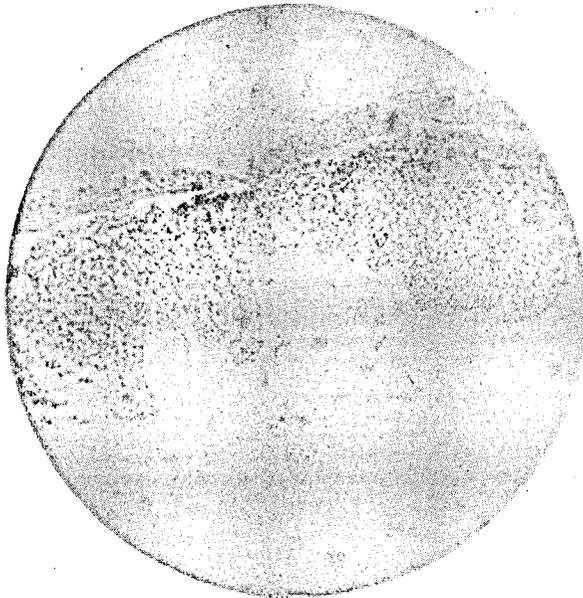
第 3 例 動物番號 10 號 2.45kg

♂ 家兎

毎日 500 倍オイカリブス油アルコール溶液體重 1 kg に對し 1.0 cc 宛経口的投與 (1 日の全投與量 2.45 cc)

投與日數 自 9 月 22 日至 12 月 1 日

71 日間



第 3 圖

2,27 kg ♂ 家兔 51日間に全量 0.232 cc のオイカリプス油を毎日經口的に與へしもの、腸ヘマトキシリン、エオジン染色
 擴大約 218 倍

に胃に於てその底部及大彎に於て肉眼上及顯微鏡學的検査に於て共に輕度の充血を認めしもその程度に於ては前者よりはるかに輕微なり他臟器に於ては全く變化を見ず。

以上の實驗成績より之を觀るときはオイカリプス油の少量宛連續經口的投與による家兔の組織學的變化は胃及腎臟に於て認め得べく主としてその揮發性に基く局所刺激によるものの如く胃に於てはその直接刺激により腎臟に於てはオイカリプス油の排泄さるる際受くる變化によるものの如きもその程度は大なるものに非ず。

第 4 章 結 論

以上の實驗成績より結論を下す事次の如し。

- 1 所謂オイカリプス油は之を醬油に混ずるときは約 500 倍に於て始めて防黴作用を示すを以て優秀なる防黴作用を有するものと云ふを得ず。
- 2 家兔の靜脈内注射によるオイカリプス油の致死量は體重 1 kg に對し 0.3 cc なり尙 0.1 cc の如く致死量に達せざる量を用ふるも著明なる蛋白尿を起す。
- 3 オイカリプス油を體重 1 kg に對し 0.002 cc 宛連日經口的に投與し 51 日以

投與せる 0.35 cc
 全絶對量
 致死方法 脱血死

本例に在りても其の經過中に於て前 2 例と全く同じく體重の減少、食慾の減退を來し爲めに一般症狀著しく不良にして猶實驗を續行する能はず止むなく 71 日に於て之を脱血致死せしめたり、同じく尿中に痕跡の蛋白を認む剖見するに肉眼的及顯微鏡的所見共には前 2 者に同じ

第 4 例 動物番號 1 號 2.15 kg
 ♂ 家兔

オイカリプス油を經口的に投與せし際溶劑として局方アルコールを用ひし爲めその對稱として行ひしものにして毎日體重 1 kg に對しアルコール 1.0cc を與へ 9 月 21 日より 12 月 14 日の 84 日に於て全量約 181 cc に至る致死前の體重は 2.4cc にして全經過中外見上及尿に異常を見ず剖見する

上に及ぶ家兎の胃及腎臓は一定の病的變化を受く。

4 以て之を醬油防黴劑として用ふるは不適當なりと認む。 以上

引用文献

1. 近藤, 朝比奈, 第4改正日本薬局方註解
2. H. Brüning: Z. f. exp. Path. u. Therap. 11. 15 (1912)
3. Tappeiner: Arzneimittel-lehre u. Arzneiverordnungslehre 155. Auflage S. 208
4. Houben: Fortschritte d. Heilstoffchemie II Abteilung I Bd. II Hälfte 1930
5. 伊東, 柴田: 衛生試験所彙報 36號
6. Lewin: Gifte u. Vergiftungen 1929
7. 後藤: 京都醫學界雜誌 22卷 7號 大正14年

石油の藥理的作用について

技 師 伊 東 幹 愛

石油は化學的單一體に非ずして鑛油の攝氏 150~300° にて蒸溜し來る成分の混合體にて比重は多く 0.76~0.86 の間にあり。従ひて産地を異にするにより精製法の如何により化學的成分に甚だしき相違あるは免れ難き處にしてその主成分は炭化水素なることは既知の事實なるも各成分の分子式又は構造式に關しては尙未だ全く明なりと云ふを得ず。故に石油の藥理作用に關しても之をある單一既知の物質に歸せしむる能はず而して先人の之に關する業績を見るに各報告者は單に石油と記載するのみにしてその由來及分析表を掲げず。爲めに必ずしも同一成分の石油につきての試験成績に非ざるを以て其報告は區々にして統一を缺く。

元來石油は古く民間藥として皮膚病殊に疥癬、毛虱等に應用せられたることあり然れども皮膚炎、浮腫、蛋白尿、發疹等の不愉快なる副作用の存する爲めその應用は廣範に涉らざりき(Kobert)。

内服に依る中毒例は自殺の目的、他殺の目的、誤用等に於て見られたるものなれどもその重篤なる中毒例は甚だ稀なりき。種々の文献例に依るにその毒性は比較的少きものの如く Johannessen の小兒に於ける例に於てのみ死亡例を見又 2 歳半の小兒 120 g のアメリカ産石油を飲み意識不明となりチアノーゼ嘔吐下痢ありしも尙治癒せりとの Arohnheim の報告ある外他の諸例に於ては死亡せるを報告せるものなく大人に於ては 250 cc, 500 cc, 700 cc を飲用せる例に於ても重篤なる中毒症狀を發せざりき。即ち石油は之を内服せる場合にはその作用閾値は甚だ高きものの如し。元來石油の藥理作用は H. Meyer の所謂類脂肪溶解性に基くものなるを以て局所的には著しき刺激作用を示し内用する時は胃粘膜及腸粘膜を刺激して胃腸炎を誘發し嘔吐、下痢等によりて大部分そのまま排泄せられ吸收さるる事比較的少きが如し此の吸收如何に關しては尙論争の餘地存すれども石油飲用者の呼氣に石油臭の存在すること動物實驗にて諸内

臓が石油臭を呈すること尿中蛋白を見ること及脳症状を呈する事等より見る時は石油の性質により多少は吸収さるるものの如くその吸収作用は脂肪屬炭化水素に共通なる麻醉作用の發現なり。

Lewin は石油中毒症状を次の如く 2 型に分ちその症状は多く 500~700 cc 飲用によりて起り第 1 型は石油中の高温揮發成分に基き第 2 型は低温揮發成分に起因す。

第 1 型 胃腸型 灼熱感、渴、嘔吐、疝痛、下痢、黄疸、排尿時疼痛、呼氣及皮膚の石油臭、尿蛋白、圓痔等

第 2 型 腦 型 困迷、頭痛、眩暈、細速脈、呼吸困難、縮瞳又は散瞳意識不明
稀に痙攣

勿論右 2 型は明瞭なる區別あるにはあらで石油の成分如何により又その量により兩者の移行型を見又中毒を惹起すべき石油量に於ても個人の體質、その時の體の狀態如何によりて可成りの相違あるべくその 1 例として彼は潜伏性結核の男子 200 cc の石油を服用し 17 時間溷迷狀態にあり次いで呼吸困難、氣管枝肺炎を起し 12 日目に咯痰中に結核菌を發見すと報告せり。其他石油中毒者の尿中には往々にして蛋白證明され又石油は檢出し得ざるも(檢出せりと報告あるも信する能はず)硝酸に依り沈澱し熱又はエーテルに依り可溶性物質を證明し得ることあり。猶 Lewin, Kobert 等により種々の形をなせるアクネを認められたり。

かかる中毒例あるにもかかわらず石油は成人に對しその毒性比較的少く而も下痢作用あるを以て Sollmann は下劑として 10~30 cc を食前に又は 30~60 cc を就寢前に飲用するを推稱せり然れども此の場合にも嘔氣、嘔吐を見ると報告せるものあり (Bastedo)。

次ぎに動物に對する作用を見るに Ottolenghis は犬にアメリカ産石油を飲用せしめしにその 6 cc は之を殺し 4 cc は嘔吐、下痢を來し 2 cc は全く作用なしと報告しピオンダスは家兎及犬に 50-150 cc のアメリカ産石油を飲用せしめしに 3~7 日にて死亡せりと Lewin は 1 立の石油を飲みし牛は唾涎、呼吸困難、39° の發熱及興奮と沈靜とが交互に來れるを報告せり。其他尙種々なる斷片的報告あるも最も系統的に動物實驗を行ひしは Rost 氏にしてその獨乙衛生局より發表せる成績を轉載することとせり。

実験に使用せし石油はロシア産のもの及アメリカ産のものにて Dapol 及 Urania の名稱あるものを用ひ実験動物としては犬を用ひ始めの試験に於ては少量を漸次増量しつつ反覆用ひ後の実験に於ては大量を用ひたり。然して初めの試験に於ては常に石油を 100 cc の水と共に混じ胃カテーテルにて食餌前に送らせり。

実験月日	犬 番 號	208	209	210
	最初の體重	7600g	9800g	10500g
1 Urania なるマークあるアメリカ産石油を與ふ				
自 1 月 25 日 至 2 月 9 日	毎日 4cc 宛 12 回	毎日 5cc 宛 12 回	毎日 10cc 宛 12 回	毎日 10cc 宛 12 回
自 2 月 10 日 至 2 月 13 日	„ 8cc 宛 3 回	„ 10cc 宛 3 回	„ 20cc 宛 3 回	„ 20cc 宛 3 回
2 月 14 日	10cc	12cc	22.5cc	22.5cc
2 月 15 日	12cc	15cc	25.0cc	25.0cc
體 重	7800g	10100g	111500g	111500g
2 月 16 日	15cc	20cc	30cc	30cc
	1 時間半後激しき嘔吐	1 時間半後嘔吐	1 時間半後嘔吐	1 時間半後嘔吐
2 月 19 日	12cc	15cc	25cc	25cc
2 月 20 日	15cc(嘔吐あり)	15cc	25cc	25cc
2 次いでロシア産石油を與ふ				
自 2 月 22 日 至 2 月 24 日	5cc より始め 15cc に至る	8cc より始め 15cc に至る	10cc より始め 20cc に至る	10cc より始め 20cc に至る
2 月 26 日	12cc	12cc	20cc	20cc
2 月 27 日	15cc	15cc	25cc	25cc
	2 時間半より 5 時間の後に嘔吐あり			
2 月 28 日	13cc	15cc	27.5cc	27.5cc
3 月 4 日	15cc	17.5cc	30.0cc	30.0cc
		輕き下痢あり	嘔吐輕き下痢あり	嘔吐輕き下痢あり
自 3 月 5 日 至 3 月 6 日	毎日 17.5cc 宛	毎日 20cc 宛	毎日 27.5cc 宛	毎日 27.5cc 宛
3 月 7 日	20cc	22.5cc	25cc	25cc
3 月 8 日	22.5cc	25.0cc	25cc	25cc
	嘔吐あり			
3 月 9 日	20cc	27.5cc	27.5cc	27.5cc
		嘔 吐	嘔 吐	嘔 吐
3 最後に Dapol なるアメリカ産石油を用ゆ				
自 3 月 11 日 至 3 月 13 日	10cc より 17.5cc に増量しつゝ	15cc より 22.5cc に増量しつゝ	20cc より 27.5cc に増量しつゝ	20cc より 27.5cc に増量しつゝ
3 月 14 日	20cc	25cc	30cc(嘔吐あり)	30cc(嘔吐あり)
3 月 15 日	22.5cc	27.5cc	27.5cc	27.5cc
3 月 20 日	25.0cc	30.0cc	—	—
實驗終了後の體重	7400g	9950g	10400g	10400g

即ち 55 日間に 39 回石油を服用せしめしにウラニアは 12~25cc ダボールは 20~27.5cc ロシヤ産石油は 13~27 cc の程度に耐へ得たり。之の耐過量を越ゆるも時々輕き嘔吐又は下痢を見るのみ全身中毒殊に麻醉作用は全く之を認むるを得ず。又腎臟刺激或は血液等の變化等も認めずして體重も亦殆んど變化なし。

次に大量を與へし例として 42 kg の犬に反覆ウラニアなる名稱のアメリカ石油を 50~200 cc 與ふるに

實驗月日	投與石油量	石油投與後の動物の状態
1 月 24 日	120cc	20 分後に數回嘔吐せるも 3 時間後には舊に復す
2 月 8 日	50cc	食物を好んで喰ふ
2 月 17 日	75cc	食物を好んで喰ふ
2 月 20 日	100cc	全く作用なし
2 月 21 日	150cc	同
2 月 22 日	200cc	10 分後兩耳を垂れ唾液流出、嘔氣、劇しき嘔吐、下痢、
		2 月 23 日 未だ全く快復せず 2 月 24 日 全く舊に復す

即ち 200 cc 位の大量を與ふるも吸收による中毒症状は之を認むるを得ざりき。

次に吸收による生理作用を見んとて經口的方法によらずモルモットの腹腔内注射を行ひしに

1 ウラニア石油

體重 (g)	注射量 (cc)	體重 1kg に對する注射量 (cc)	作用	死
420	5	11.9	1~2 時間後麻痺	翌朝死
470	10	20.0	"	翌日午後死
510	20	39.2	"	夜中死

2 ロシヤ産石油

體重 (g)	注射量 (cc)	體重 1kg に對する注射量 (cc)	作用	死
720	10	14.0	2 時間後輕き麻醉、食慾不振	2 日後死
680	5	7.3	"	"
670	2.5	3.7	輕き疲勞	"
620	1	1.6	"	5 日後死

即ち以上の諸成績を見るにその注射による時は相當の毒性を示すが如きも經口的に内服せる場合には毒性弱きものの如く思はる然してその依りて來る所以は石油が局部を刺激する性ある爲めに嘔吐又は下痢等によりて大部分排泄さるるによりその吸收比較的僅少なるによるならんか。

次に之を長野縣，神奈川縣，山梨縣等の肺結核の所謂石油療法につきて轉考するに大人が石油を 20~25~30 g 位飲用するとするも Sollmann の所謂下劑としての使用程度なるを以て灼熱感，嘔吐，下痢等の症狀を呈するに止り大なる中毒症狀を惹起することなき様推定さる然し此處に考慮に入るべきは既述せる如く市販の石油と云ふも常に同一成分單一體にあらずして種々なる物質の混合物たると之を飲用するものの健康狀態如何にあり。即ち低温揮發成分の含量大にして下痢的作用少く且何等かの原因にてその吸収を速進さるる如き條件にある時之を飲用せばその吸収作用は容易に發現し得ればなり。

翻つて結核に對する石油の作用如何を見るに本問題に關しては文獻上に全く之を發見し得ず然も石油の既知の藥理作用によるもその僅微なる殺菌作用よりするも共に醫學的に之を説明し得ず即ち全く不明なり然れども石油の藥理に關してはその文獻猶少く科學的系統的研究の餘地多分に存し一方事結核に關する重大問題なるを以て結核に對する石油の效果如何及その衛生上の害否に就きては實地調査に依りその適確なる事實を知りその事實を基とし或る程度の判定を下し之に従ひ詳細なる生理的試験を試みその本態を掴み後批判すべきものとす。

引用文獻

1. L. Lewin; Gifte u. Vergiftungen IV Aufl. 1929.
2. Kobert; Lehrbuch d. Toxikologie II Bd. 1906.
3. Lewin; A. f. Path. Anat. Bd. CXII. 1888.
4. Sollmann; Manual of Pharmakologie 1922
5. Johannessen; Berl. Klin. W. 1896, Nr. 15.16.
6. Bradley, Gassel; J. Biol. Chem. 11(1912)
7. Hutchinson; Brit. medic. Journ. 1890 März.
8. Bloor; J. Biol. Chem. 24, 447 (1916)
9. Bastedo; J. Am. Med. Assoc. 63, 715(1914)
Am. J. Med. Science 159, 53 (1920)
10. T. Houben; Fortschritte d. Heilstoffchemie II Abt. I Bd.
11. E. Rost; Kais. Gesundh.-Amt 47. 240-51, Müry, Berlin.
12. Ottolenghis; Virchow-Hirsch Jahresber. d. ges. Med. 1897, I. S. 363.
13. Biondis; Annales d'hygiène publique III. Serie Bd. I.
14. Heffter; Berichte über toxikol. Arbeiten in Schmid's Jahrbüchern d. ges. Med. Bd. 257 s. 190.
15. Aronheim; D. med. Woch. 1903 s. 421.
16. 宇都宮, 岡山醫學 74.11
17. 桂田, ,, 13
18. 衛生局よりの添附書類 昭和7年
(富田辰三氏報告, 川本勇次郎氏パンフレット長野縣知事發 251 號)
昭和7年9月

酸性綠礬泉中に於ける膠質狀 酸化鐵の存在に就て

囑 託 勝 田 泰
囑 託 苗 村 徳 次 郎

- | | |
|-------------------|--------------------|
| 1. 緒 言 | 4. 膠質狀酸化鐵を含有せざる綠礬泉 |
| 2. 膠質狀酸化鐵を含有する綠礬泉 | 5. 考察並結論 |
| 3. 膠質狀酸化鐵の成因 | 6. 總括・文獻 |

1 緒 言

現今鑛泉分析の結果を表示するに當りて單に從來の鹽類表のみに依らずして之にイオン表をも併せ用ふるに至れるは輒近鑛泉検査法に於ける劃時代的進歩なり。然れども一面近代科學の進歩發達は其停止する所を知らざるが如き狀況なるを觀れば實際分析の衝にあたる吾人も亦現在の方法を以て無缺となし徒らに之のみに安んずる能はざるや炳なり。この見地に基きて曩に當所檢明部は卒先して鑛泉の水素イオン濃度測定の制度を新に設け余等をして其衝に當らしめしがこの度測らずも之がために酸性綠礬泉中に於ける膠質狀酸化鐵の存在を檢明し得るに至れり。元來酸性綠礬泉なるものはその分析の結果に於てカチオン總量及びアニオン總量間に往々にして莫大なる相違を生ずる事あるにも關らず現行分析法は之に就き何等説く所なく全く當局者一同の秘に難物視せし所なりしが之原因に就きても併せて明にするを得たるを以て此處にその概要を報告せんとす。

2 膠質狀酸化鐵を含有する綠礬泉

綠礬泉は千分中フェロイオン (Fe^{2+}) 又はフェリイオン (Fe^{3+}) 0.01 分以上を含有しアニオンとして硫酸イオン (SO_4^{2-}) 其主成分をなし之を結合するときは鹽類表に於て硫酸亞酸化鐵又は硫酸鐵を構成するものにして之に少量乃至微量の遊離鑛酸共存するものを特に酸性綠礬泉と稱することあり。

宮城縣栗原郡文字村上文字二本木に湧出する冷鑛泉は淡黃褐色澄明にして收斂味を

具へその水素イオン濃度は次の如く

$$\text{pH} = 1.80 \quad (18^\circ) \quad [\text{H}^+] = 1.6 \times 10^{-2} \text{ 定規}$$

但しキンヒドロソ電池法に據るものとす

酸性緑礬泉なるを示し之を現行鑛泉検査法に準じて分析しそのイオン表を作製せるに第1表の如き成績を示せり:

第 1 表
(イオン表) 本水1キログラム中ニ含有スル各成分及其量次ノ如シ

カチオン	グラム	ミリモル	ミリグラム當量
水素イオン (H ⁺).....	0.0080	8.0006	8.0006
カリウムイオン (K ⁺).....	0.0019	0.0486	0.0486
ナトリウムイオン (Na ⁺).....	0.0194	0.8435	0.8435
アムモニウムイオン (NH ₄ ⁺).....			
カルチウムイオン (Ca ⁺⁺).....	0.0199	0.4967	0.9933
マグネシウムイオン (Mg ⁺⁺).....	0.0140	0.5757	1.1513
フェロイオン (Fe ⁺⁺).....	0.2772	4.9642	9.9284
フェリイオン (Fe ⁺⁺⁺).....	0.9808	16.5644	52.6934
マンガノイオン (Mn ⁺⁺).....	0.0088	0.1602	0.3204
アルミニウムイオン (Al ⁺⁺⁺).....	0.0665	2.4539	7.3616
銅イオン (Cu ⁺⁺).....			
亜鉛イオン (Zn ⁺⁺).....			81.3411
アニオン			
硝酸イオン (NO ₃ ⁻).....			
クロールイオン (Cl ⁻).....	0.0375	1.0575	1.0575
ヒドロ砒酸イオン (HAsO ₄ ⁻).....	0.0018	0.0257	0.0257
ヒドロ磷酸イオン (HPO ₄ ⁻).....			
硫酸イオン (SO ₄ ⁻).....	2.5174	26.2039	52.4077
ヒドロ硫酸イオン (HSO ₄ ⁻).....	0.7766	8.0006	8.0006
(SO ₄ =).....			61.4915
硼酸(メタ) (HBO ₃).....			
珪酸(メタ) (H ₂ SiO ₃).....	0.0284		19.8496
膠質狀酸化鐵.....	0.5283		
遊離炭酸 (CO ₂).....			
遊離硫化水素 (H ₂ S).....	4.7582		

即ち上表を要約すれば次の如し.

カチオン	ミリグラム當量	アニオン	ミリグラム當量
カチオン總量	89.3411	アニオン總量	69.4921
其内 (H ⁺)	16.0006	其内 (結合 SO ₄ ⁻)	52.4077
(Fe ⁺⁺)	9.9284	(遊離 SO ₄ ⁻)	16.0006
(Fe ⁺⁺⁺)	52.6934		
殘餘のカチオン總計	10.7193	殘餘のアニオン總計	1.0832

然るに今之等を常法に従ひ結合せしむれば (Fe^{+++}) の 19.8496 ミリグラム當量丈は過剰となり結合の相手を失ふに至る可し。勿論本分析表の示す數値は反復數回にわたる精密なる定量を經し結果なるが故に之に聊かの誤謬もある理なし。されば結局この過剰の鐵は本來イオン (Fe^{+++}) としては存在せざりしも分析に際し屢ば酸にて處理せられたるが爲遂にフェリイオンと化したるものと推定するの外なし。而して鐵が澄明なる鑛泉中にイオン以外の形ちにて存在するとせんかおそらくは Fe_2O_3 或は FeO のコロイド以外を出でざる可しとは大體豫想し得る所なりとす。蓋し鐵は單體としてコロイド狀を呈し得ざるや炳なればなり。

此處に於て原鑛泉に就き改めて検討せしに以下に列擧するが如き事實あるを觀取し得たり即ち

1. 本鑛泉の色調を検するに可なり強き赤褐色を呈し本泉中に含まるる程度の量のフェリイオン並フェロインの示す色としては餘りに濃厚に過ぎ從て之等のイオンの呈する色とは到底考ふるを得ず。而して試みにメルク會社の發賣にかかるコロイド狀酸化鐵 (Fe_2O_3) 溶液を求め之を適當に蒸溜水を以て稀釋して得たる液と原泉との色調を比較するに全く同一なり。

2. 本鑛泉の少量を約 1 分間煮沸すれば忽ち溷濁を來し次で赤褐色の沈澱を生じ試に濾過すればその濾液は最早着色せず而して該沈澱を検するに Fe_2O_3 なる組成を有す。

3. 之が煮沸の前後に於ける水素イオン濃度は各 $\text{pH} = 1.80$ 及び $\text{pH} = 1.60$ にして即ち游離鑛酸量に殆ど増減なきを示すが故に此處に沈澱として生じたる Fe_2O_3 は最初よりアニオンとは結合し居らざりし事炳なり。

4. 本鑛泉に水を加へて稀釋すれば徐々に溷濁を來し 5~6 時間の後には Fe_2O_3 の赤褐色沈澱を生ず。

5. 本鑛泉の一定量をコロヂウム透析膜 (之を作るにはカールバウム製透析膜用コロヂウムを最適とす) 中に容れ流水 (蒸溜水を用ふ) 中に浸し 1 晝夜透析を行ひたるに膜内に赤褐色の沈澱殘留するのみにして膜の内外には最早や全くイオンを検出せず。本沈澱物は Fe_2O_3 なる組成を有し之を定量するにフェリイオンとして

(Fe^{+++}) 22.4463 ミリグラム當量

なる數値を示し前記のイオン表中カチオンとして餘剩を來せる。

(Fe⁺⁺⁺)..... 19.8496 ミリグラム當量

なる數値と略一致す。而してそれ等の數の示す如く透析法に依りて定量せる値が稍大なるは透析途上に於て礬泉が漸次水により稀釋せらるるや硫酸鐵並に硫酸亞酸化鐵の一部次式の示す如く

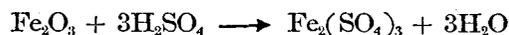


加水分解をなし(後文參照)爲に新に生ぜし少量の Fe₂O₃ 及び微量の FeO をも併せ定量せるに基因するものと解せらる。さればコロイド鐵の含有量は常法に依りて分析せる結果得たるイオン表中のカチオン總量よりアニオン總量を減じて得たる差額を以て示す方が斯る誤差を避け得る點に於て優れり。然れども此場合には水素イオンの濃度(H⁺)を極めて精確に測定するを要する事勿論にして此處に於てか礬泉分析にも所謂水素イオン濃度測定の必要を生ずるものとす。蓋し從來の滴定法に依る水素イオン濃度の算出方法を以てしては到底精確なる數値を期待し能はざるや炳なればなり。

以上の成績に就て見るに本礬泉はフェリイオンとして(Fe⁺⁺⁺).....19.8496 ミリグラム當量に相當する膠質狀酸化鐵を Fe₂O₃ として 11 中に 0.5283 g 含有する事を檢明し得たり。

3. 膠質狀酸化鐵の成因

さて從來の分析書の説く所に據ればフェリイオン(Fe⁺⁺⁺)を酸化鐵 Fe₂O₃ 或は水酸化鐵 Fe(OH)₃ (即ち Fe₂O₃·3H₂O) として沈澱せしむるにはアムモニア、苛性アルカリ等の過剩を加えるの要ありとせられ又之等の沈澱をフェリイオンと化するには鹽酸、硫酸、硝酸等を添加す可しとせらる。此見地のみよりすれば上例の礬泉に於て之がアルカリ性ならざるにも關らず Fe₂O₃ が存在せる事實或は又游離硫酸が 1.6 × 10⁻² 定規即ち礬泉としては極めて多量に存在せるにも關らず一方に Fe₂O₃ が共存せる事實等に就ては未だ釋然たらざる所あらん。例へば次式の示す反應により



Fe₂O₃ は硫酸鐵となる可きが至當ならんに本例に限り然らざるは何故なりや等の疑念

もあらん。今之等に關し少しく述ぶる所ある可し。

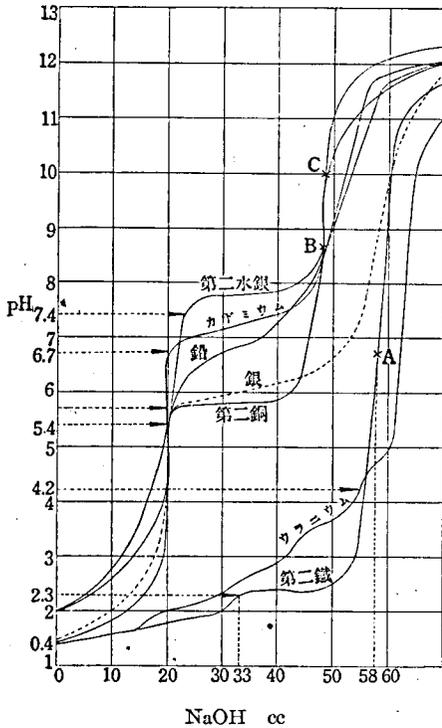
フェリ鹽類の水溶液を適當に處理すれば加水分解を起して遊離酸を生じ同時に一方には膠質狀酸化鐵生成せらるる事實あるは既に古くより多數の學者に依りて指摘せられたる所なり。Péan de St. Gilles¹氏は1855年に醋酸鐵の水溶液を長時間煮沸せしに該溶液獨特の赤褐色は變じて黄赤色となり同時にフェリ鹽特有の味は變じて酸味を呈するに至れるを報せり。此黄赤色溶液は即ち膠質狀酸化鐵溶液にして後年人之を呼んでPéan de St. Gilles Sol(ゾル)と稱す。次で1862彼の膠質化學の開祖Graham²氏はフェリ鹽類水溶液をアンモニヤにて處理して得たる膠狀水酸化鐵の沈澱を酸化鐵の水溶液中に解かし(之は溶解に非らずして解膠Peptizationなり)たる後之を透析して鹽化鐵を除去し濃赤褐色澄明なる液を得たり。是亦一種の膠質狀酸化鐵にして所謂Grahams Solなりとす。此2種の膠質狀酸化鐵は其後多くの學者即ちKrecke³, Biltz⁴, van Bemmelen⁵, Freundlich⁶, Grimaux⁷, Bradfield⁸, Weiser⁹等の諸氏により醋酸鐵, 鹽化鐵, 硫酸鐵, 硝酸鐵, 鐵カーボニル, 鐵エチレート等より種々の方法に依り作られ又その性狀に就き検討せらるるに至りし結果適當に處理すれば兩者は相互に變じ得るが故にその差異は單に膠質物粒子の大きさのみ即ち前者は後者より粒子大なる以外何等相違する所なきものとせらるるに至れり。

この鐵ゾルは勿論アルカリに會へば凝固して膠狀水酸化鐵の沈澱を生じ強酸に會へばフェリイオンと化すが故に或程度の濃さの酸性溶液内に限りて存在し得るものたるや柄なるも是れに就きては從來略ぼ微弱乃至弱酸性域ならんと推定し得るのみにて之が安定を保ち得ると否との限界の酸度換言すれば限界水素イオン濃度(Limitting hydrogen ion concentration)は永く之を知るに由なかりき。

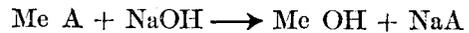
然るに近年水素イオン濃度の測定方法明かにせらるるや各方面の新研究にその應用を見るに至り美事効果を奏せし文獻例擧げて數ふ可からざる處なるが余等の蒐め得たる此の種の文獻中の次の1例は以上述べたる問題の解決に資する所多大なるものあり即ちH.T.S. Britton¹⁰氏は鹽化第2水銀, 硫酸カドミウム, 硝酸鉛, 硝酸銀, 硫酸第2銅, 硝酸ウラニウム, 及び鹽化第2鐵等の0.02モル或は其れ以下の稀薄水溶液中に夫れ夫れ鹽酸, 硫酸, 硝酸等の一定量を添加して一定水素イオン濃度の溶液を作りそ

の 100 cc を 0.1-n 苛性ソーダ溶液にて滴定する際に生ずる水素イオン濃度の變化を酸素電極及び標準甘汞電極を用ひて測定し第 1 圖の如き結果を得たり。

第 1 圖



之等の電壓曲線の最下部より第 1 の彎曲點即ち → 印を附したる所迄該溶液の pH を變化せしむるに要したる苛性ソーダは遊離酸の中和に費消せられたるものにして此彎曲點より第 2 の彎曲點を経て曲線の直立部の中央に相當する點 (例へば鐵に於ては A 點, 銅に於ては B 點カドミウムに於ては C 點) 迄該溶液の pH を變せしむる爲に添加せられたる苛性ソーダの量は之等の金屬鹽類より次式に従ひて



但し Me は金屬原子 A は酸根を示すものとす

金屬の酸化物を遊離せしむるに消費せられたるものとす。例せば遊離鹽酸を含める鹽化第 2 鐵溶液 100 cc を 1/10 苛性ソーダに

て滴定せしに pH = 0.4 より pH = 2.3 迄變せしむるに要せし苛性ソーダ溶液即ち 33 cc は遊離鹽酸の中和に消費せられたるを示し又 pH = 2.3 を pH = 7.1 (A 點) 迄變せしむるに要せしアルカリ量即ち 58 - 33 = 25 cc は次式の示す反應



を進行せしむるに消費せられたりとの意なり。

以上の成績に就て見れば鹽化鐵の稀薄溶液が苛性アルカリに會へば pH = 2.3 即ち可なりの強酸性溶液内に於て既に Fe₂O₃ を分離するものにして此際その全部を分離し終る A 點即ち pH = 6.6 迄は膠質狀酸化鐵の状態を保ち之以上にアルカリを添加するに及び此處に凝固を惹起して膠狀水酸化鐵と化するものなる事を知る。換言すれば膠質狀酸化鐵の安定なるべき領域即ち限界水素イオン濃度は pH = 2.3 ~ 6.6 なるを知

り得可し。

今諸種の金屬鹽類の酸性稀薄溶液中にアルカリを添加せる場合に該金屬酸化物の膠質状態に游離し始むる限界水素イオン濃度を列挙すれば第2表の如し。

第 2 表

	PH		PH		PH
Magnesium	10.5	Cobalt	6.8	Zinc	5.2
silver	9(?)	Yttrium	6.8	Uranic	4.2
Manganous	8.5-8.8	Cadmium	6.7	Aluminium	4.2
Lanthanum	8.4	Nickel	6.7	Thorium	3.5
Cerons	7.4	Lead	6.0	Stannous	2.0(?)
mercuric	7.3	Beryllium	5.7	Zirconium	2.0(?)
Praseodymium	7.1	Ferrous	5.5	Ferric	2.0(?)
Neodymium	7.0	Cupric	5.3		
Samarium	6.8	Chromium	5.3		

本表に就て見るに FeO ゼルの生成に必要な限界 pH は 5.5 なるが故に之より遙かに強酸性を呈する本鑛泉の如きものには亞酸化鐵ゼルの存在し得ざるは明なり。 Fe_2O_3 ゼル生成の限界 pH は表中に疑問符號(?)を附しあるが如く未だ精密なる定量的測定は試みられざるものの如く且つ前記 Britton 氏の得たる $\text{pH} = 2.3$ 及 $\text{pH} = 6.6$ なる數値と雖も單に概略に過ぎざる事は同氏も之を認むる所なり。

余等は電壓滴定法に據らざる別法に依りて之が測定を行ひたるに $\text{pH} = 1.2$ 及び $\text{pH} = 7.0$ なる結果を得たり。其方法は即ち先づメルク或はカルバウム製最純の硫酸第2鐵、鹽化第2鐵及び醋酸第2鐵の一定量を秤取し之等に夫れ夫れ % 硫酸、鹽酸、醋酸溶液を添加して前記鹽類の $\text{M}/100$ 酸性溶液を製す。此際酸を添加せるは溶液中の鐵分をして充分イオン化せしめ以て Fe_2O_3 ゼルの發生を豫防せんが爲なり。次に $\text{pH} = 0$ より $\text{pH} = 10.0$ 迄の各種の緩衝液 (Buffer solution) を作り之が 4 cc を試験に採取して其れに前記の鹽類溶液 1 滴 ($1/20$ cc) 宛を添加す。然る時は該鐵鹽類の約 $\text{M}/10000$ に相當する各種水素イオン濃度の溶液を製出し得るものにして之等に就き直ちに着色度及び沈澱の有無を検するに第3表の如き結果を示せり。

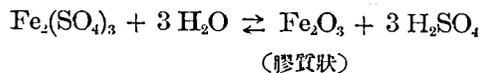
第 3 表

PH	種別			PH	種別		
	硫酸第2鐵 M/1000	鹽化第2鐵 M/10000	醋酸第2鐵 M/10000		硫酸第2鐵 M/10000	鹽化第2鐵 M/10000	醋酸第2鐵 M/10000
0	無色澄明	無色澄明	無色澄明	4.0	赤褐色澄明	赤褐色澄明	赤褐色澄明
0.2	"	"	"	5.0	"	"	"
0.4	"	"	"	6.0	"	"	"
0.6	"	"	"	6.2	"	"	"
0.8	"	"	"	6.4	"	"	"
1.0	"	"	"	6.6	帶褐色沈澱	帶褐色沈澱	帶褐色沈澱
1.2	淡褐色澄明	淡褐色澄明	淡褐色澄明	6.8	"	"	"
1.4	"	"	"	7.0	"	"	"
1.6	"	"	"	7.2	"	"	"
1.8	"	"	"	7.4	"	"	"
2.0	赤褐色澄明	赤褐色澄明	赤褐色澄明	7.6	"	"	"
2.2	"	"	"	7.8	"	"	"
2.4	"	"	"	8.0	"	"	"
2.6	"	"	"	9.0	赤褐色沈澱	赤褐色沈澱	赤褐色沈澱
3.8	"	"	"	1.0	"	"	"
3.0	"	"	"				

即ち之等のフェリ鹽類溶液は pH = 1.0 迄は無色にして悉くイオン化せるを認む
($M/10000$ 程度の稀薄溶液に於てはフェリイオンの色は之を認むるを得ざればなり)。然る
に pH = 1.2 に於ては何れも鮮明なる淡褐色を呈し此處にフェリゾル生成の徴表れ
pH = 2.0 に至るや該色調は稍濃厚となり以後は殆ど變化なし。pH = 6.6 に至るや該
色調は消失すると共に帶褐色の濁濁を生じ暫時にして膠狀水酸化鐵の沈澱器底に集ま
れるを看取し得。

以上の成績に依れば膠質狀酸化鐵の稀薄溶液中に於ける限界水素イオン濃度は pH
= 1.2 及び 6.4 なる値を有す換言すればフェリゾルは pH = 1.2~6.4 の範圍内に於
てのみ安定に存在し得るものにして pH = 1.2 以下の強酸性に會へば溶解してフェリ
イオンと化し pH = 6.4 以上に於ては凝固せられて水酸化物の沈澱を生ずるに至るも
のとす。

さて綠礬泉中に於けるフェリ鹽類に就て考察せんに含有せらるる綠礬は次式の示す
如き



可逆反應に依り一部分は加水分解して膠質狀酸化鐵及び游離硫酸を生成し居れる事に

就ては最早や疑ふ餘地なし。而して此處に生じたる游離硫酸に依りて該鑛泉の水素イオン濃度がフェリゾルの限界 $\text{pH} = 1.0 \sim 2.0$ に達したる時を以て左邊より右邊に進む反應は止みここに於て平衡状態を保つものと推定せらる。最近余等の測定せる數種の綠礬泉の pH に就て見るに次の如く

種 別	pH	種 別	pH
酸性明礬綠礬泉	1.47	酸性明礬綠礬泉	1.88
酸性綠礬泉	1.80	同上	1.65
酸性明礬綠礬泉	2.39		

良く以上の所説に適合せり。

現今綠礬泉中少量乃至微量の鑛酸を含有するものを酸性綠礬泉と呼稱せるも凡そ綠礬泉たる以上常に必ず可なり多量の鑛酸を供なへるものの如く従つて或は綠礬泉と言ひ或は酸性綠礬泉と言ふが如き區別をなすの要なきものと思考せらる。

4. 膠質狀酸化鐵を含有せざる綠礬泉

新潟縣西頸城郡草川村字大平燒山噴火口下に湧出する溫泉は酸性明礬綠礬泉にして源泉溫度は 88° なり。微黄色澄明酸味並に收斂味を具へ其水素イオン濃度を測定するに次の如く

$$\text{pH} = 0.40 \quad (18^\circ)$$

但し キンヒドロン電池法に據る

約 $\frac{2}{3}$ 定規の游離鹽酸を含みそのイオン表は第4表の如し (分析擔當者湯淺助手)

第 4 表

カチオン	ミリグラム 當 量	アニオン	ミリグラム 當 量
水素イオン (H^+)	401.0	クロールイオン (Cl^-)	563.7
カリウムイオン (K^+)	9.829	ヒドロ砒酸イオン (HAsO_4^{3-})	0.02956
ナトリウムイオン (Na^+)	66.87	硫酸イオン (SO_4^{2-})	174.4
アモニウムイオン (NH_4^+)	1.333		<u>738.1</u>
カルチウムイオン (Ca^{2+})	100.3		ミリモル
マグネシウムイオン (Mg^{2+})	43.14	硼酸(メタ) (HBO_3)	10.69
フェロイオン (Fe^{2+})	34.65	珪酸(メタ) (H_2SiO_3)	10.67
フェリイオン (Fe^{3+})	25.28		
銅イオン (Cu^{2+})	0.00039		
亜鉛イオン (Zn^{2+})	0.3902		
	<u>738.1</u>		

本鑛泉はフェリイオンを 25.28 ミリグラム當量即ち可なり多量に含有するにも關ら

ず色調は微黄色を呈するのみにして些のフェリゾル存在の徴なく分析結果も亦カチオン總量とアニオン總量とは良く一致して聊もフェリゾルを含有せざるを示せり。是れ其 pH = 0.4 にしてフェリゾルの限界 pH 以下なるが爲ならんと推定するを得可し。

福島縣信夫郡佐倉村一切經山中に湧出する酸性明礬綠礬泉は源泉温度 120° に淡黄色澄明收斂味を有す

其水素イオン濃度を測定するに次の如し

$$\text{pH} = 1.47 \quad (18^\circ)$$

但し キンヒドロソ電池法に據る

又分析の結果得たるイオン表は第五表に示す如し(分析擔當者遠藤技手)

第 5 表

カチオン	グラム	ミリモル	ミリグラム 當量
水素イオン (H ⁺)	0.0197	19.5512	19.5512
カリウムイオン (K ⁺)	0.0328	0.8389	0.8389
ナトリウムイオン (Na ⁺)	0.1388	6.0348	6.0348
アムモニウムイオン (NH ₄ ⁺)	0.0030	0.1666	0.1666
カルチウムイオン (Ca ⁺⁺)	0.3794	9.4684	18.9368
マグネシウムイオン (Mg ⁺⁺)	0.1574	6.4720	12.9440
フェロイオン (Fe ⁺⁺)			
フェリイオン (Fe ⁺⁺⁺)	0.5372	9.6203	28.8609
マンガノイオン (Mn ⁺⁺)	0.0017	0.0309	0.0618
アルミニウムイオン (Al ⁺⁺⁺)	0.6644	24.5166	73.5438
銅イオン (Cu ⁺⁺)			
亜鉛イオン (Zn ⁺⁺)			
			160.9448
アニオン			
硝酸イオン (NO ₃ ⁻)			
クロールイオン (Cl ⁻)	0.0349	0.9842	0.9842
ヒドロ砒酸イオン (HAsO ₄ ^{''})	0.0017	0.0012	0.0024
ヒドロ磷酸イオン (HPO ₄ ^{''})			
硫酸イオン (SO ₄ ^{''})	6.7445	70.2635	140.4070
ヒドロ硫酸イオン (HSO ₄ ['])	1.8980	19.5512	19.5512
(SO ₄ =)			
			160.9448
硼酸(メタ) (HBO ₂)			
珪酸(メタ) (H ₂ SiO ₃)			
遊離炭酸 (CO ₂)			
遊離硫化水素 (H ₂ S)			

本成績の示す如く本泉中に含まるるカチオン及びアニオンの総量は良く一致し膠質状酸化鐵を検出し得ざるもの如し。その pH は 1.2~6.4 の範圍内に在るが故に理論上綠礬の加水分解に依りて生じたる若干量のフェリゾルが存在す可き筈なるに其ことなきの事實は之を次の如く説明するを得んか。

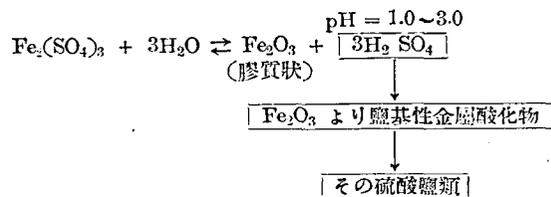
綠礬の加水分解に依りて生成せらるる酸化鐵ゾルと游離酸とは常に同一當量なるを以て今之を常法に従ひ分析を行へば其途上に於ける酸處理によりて鐵ゾルはフェリオオンと化するが爲分析表に表れたるカチオンとアニオンとの総量は結局何等の相違を示さざる可し。換言すればカチオン總量とアニオン總量とに差異なき事と酸化鐵ゾル存在の有無とは別個の問題たる可く而して之が含有せらるると否とは當該鑛泉の pH に依つて決定せらる可きものなりと思考せらる。

又斯の如く單に綠礬の加水分解に依りて游離酸と同一當量宛生成せらる可き鐵ゾルの量は極めて微量なるもの如く分析に際しては之を無視して可ならん。

然るに本文の頭初に記載せる鑛泉の如きは之と大いにおもむきを異にし極めて多量の酸化鐵ゾルを含有し常法に準じて之を分析すればカチオンとアニオンとの総量は一致せず。何故に斯くの如き 2 種別を綠礬泉に生ずるやに就き少しく考察せんとなす。

5. 考 察 結 論

極めて異例に屬するもの (pH = 1.0 以下の強酸性のもの) を除きたる綠礬泉は普通その水素イオン濃度約 pH = 1~3 にして且つ多少の差こそあれ常に酸化鐵ゾルを共ふ事實ある事並にその理由に付きては以上説べたる所なるが之等を常法によりて分析するに當り酸化鐵ゾルの含量極めて少く之を度外視して毫も支障なきものと其含量多くして之を度外視すれば到底分析表を完成し能はざるものとの 2 者あり而して前者は溫泉にして後者は冷泉なりとなす。今再び綠礬の加水分解式を見るに



若し此處に分解生成せられたる硫酸が Fe_2O_3 よりもより鹽基性の金屬酸化物例へば

Al_2O_3 , CuO , FeO , ZnO , MnO , MgO , CaO , K_2O , Na_2O , NH_3 等に會ひて消費せられんか該反應の平衡は破れ左邊より右邊に進行し爲に Fe_2O_3 の膠質狀物質は漸次蓄積せらる可し。斯る場合に該礬泉が高溫度なるか或は凝結劑 (Coagulator ゾルを凝固沈澱せしむる鹽類其他の電解質) を多分に含有するとせんか生成せられたる Fe_2O_3 ゾルは直ちに凝結 (Coagulation 或は flocculation) を惹起して沈降し分離せらるるに至れども凝結劑も多からず且つ比較的低溫度ならんには鐵ゾルは安定を保ち得て次第に蓄積せらるるに至るや必せり。

扱て以上を以て本報告は了へたれども叙上の事項は未だ多くの實驗例を経たるに非ざるを以て尙今後の研究補足を要する點必ずしも無きを保せざる可し。然れども次の一事項は余等確信を以て之を世の分析者に薦めんとす。

酸性綠礬泉中冷泉にして其淡赤褐色又は帶黃褐色の色調比較的著しきものは膠質狀酸化鐵含有の恐れあり。特に稀硫酸亦は稀鹽酸を加へて遊離酸の濃度を増さしむときその色調變化し殆ど無色か又は微帶黃色澄明の液と化するものに於て然り。而して之を熱すれば直ちに水を加へて稀釋すれば 5~6 時間後に赤褐色の沈澱を生ずるは正に酸化鐵ゾル含有の徴なりとす。之を常法に従ひて分析すればカチオン總量とアニオン總量とは一致せずして若干のフェリイオン (Fe^{+++}) の余剰を生ず可し。然る時はその余剰を Fe_2O_3 として算出しコロイド酸化鐵として分析表用紙の餘白に記入し置かる可し。之に反し單に淡黄色又は帶黄色を呈し稀硫酸又は稀鹽酸を加ふるも該色調に變化なく之を熱するも或は稀釋するも溷濁せず沈澱も生ぜざるものは此の悞れなし。總ての溫泉並に一部の冷泉は之に屬するものの如し。

6. 總 括

1. 礬泉の一成分として膠質物の形に於て存在するものの既に知られたるものは砒素、硫黃等なり。鐵に就ては重碳酸亞酸化鐵の酸化鐵となりて沈澱するに際し一時膠質狀態を経るものなるべしと考へられたるも未だ實證せられたるには非らず。余等は綠礬泉の定量分析に際し膠質狀酸化鐵の存在を確認し之が定性並に定量法を明にするを得たり。

2. 本膠質狀酸化鐵は彼の Péan de St. Gilles' ゾル及び Grahams ゾルとして著名

なる酸化第2鐵ゾルと全く同1組成を有す。

3. H. T. S. Britton 氏は電壓測定法に據り酸化第2鐵ゾル存在の限界水素イオン濃度を概略 $\text{pH} \doteq 2.3$ 及び $\text{pH} \doteq 6.6$ と算出せしが之に對し余等は別法に依りて凡そ $\text{pH} = 1.2$ 及び $\text{pH} = 6.4$ と決定せり。而して該ゾルを含有する綠礬線の pH は此の限界内に在る可き理を明にし之を數例に就きて實測せるに $\text{pH} = 1.0 \sim 2.0$ なる結果を得たり。之に就きて觀るにその限界 pH は Britton 氏の求めし値よりも小ならざる可からざるが如し。

4. 綠礬泉は膠質狀酸化鐵含有量の多少によりて概略左の如く分類するを得可し。

イ. 膠質狀酸化鐵の含有量大にして之が定量を要するもの。常に冷泉に屬し帶赤褐色或は帶黃褐色を呈し硫酸、鹽酸等を添加すれば該色調は變化して極めて微弱となり熱すれば直ちに稀釋すれば暫時にして赤褐色の濁濁或は沈澱を生ず。その水素イオン濃度は普通 $\text{pH} = 1.0 \sim 3.0$ なり。

ロ. 膠質狀酸化鐵は殆ど含有せざるか或は多少含有するも分析に際して度外視し得るもの。總ての溫泉及び1部の冷泉にして極めて微に着色し強酸の添加に依りても其色調を變せず且熱するも稀釋するも何等の變化なくその水素イオン濃度は $\text{pH} = 1.0 \sim 3.0$ なり。 $\text{pH} = 1.0$ 以下の極めて強酸性のものも亦之に屬す。

文 獻

- (1) Péan de st. Gilles: Compt. rend., 40, 568, 1243 (1855)
- (2) Graham: J. Chem. Soc., 15, 250 (1862)
- (3) Krecke: J. prakt. Chem., (2) 3, 286 (1871)
- (4) Bilz: Ber., 35, 4431 (1902)
- (5) van Bemmelen: Z. anorg. Chem., 36, 380 (1903)
- (6) Freundlich und Wosnessensky: Kolloid-Z., 33, 222 (1923)
- (7) Grimaux: Compt. rend., 98, 105, 1434 (1884)
- (8) Bradfield: J. Am. Chem. Soc., 44, 965 (1922)
- (9) Weiser: J. phys. Chem., 24 299 (1920)
- (10) Britton: J. Am. Chem. Soc., (1926)

市乳の加熱度及新鮮度の鑑別法 に関する研究 (第2報)

技 手 服 部 安 藏
技 手 秋 山 勝 治

内 容 目 次

1. 緒 言	B 防腐剤の影響
2. アミラーゼ試験法に就て	4. ラーム形成能試験に就て
A コーニング氏法	5. オキシダーゼ試験法に就て
B ワインスタイン氏法	A ストリヒ氏法
C ローテンフッセル氏法	B ローテンフッセル氏法
D 小官等の改變せるローテンフッセル氏簡便法	C ベンチマン反應
E 前記各試験法に對する考察	D 前記各試験法に對する考察
3. アルデヒドカタラーゼ試験法に就て	6. アルブミン試験法に就て
A 滅菌時に於ける空氣の酸化作用	7. 總 括
	引用文献

1. 緒 言

本問題の研究に關しては既に衛生試験所彙報第 36 號に於て第 1 報として之を發表せるところなるも爾來衣笠所長指導のもとに試験を繼續し第 1 報當時の實驗中原因不明の現象として報告せし點の究明に努め又其後の報告に係る文獻を參照し種々實驗を行ひ次の成績を得たるを以て之を第 2 報として報告す。

2. アミラーゼ試験法に就て

(A) コーニング¹⁾氏法

前回報告せるコーニング氏澱粉糖化試験法に於ては生乳は 1% 澱粉溶液 2 滴及 3 滴添加により常に淡黄色を呈し同上澱粉溶液 2 滴添加の場合淡黄灰色又は淡灰黄色を呈するときは 55°~60° の加熱乳なることを示し灰青色を現はすときは 55° 又は 60° 以上の加熱乳と認定し 3 滴添加の場合淡灰黄色を呈するときは 55° 程度の加熱乳と推定せり。今是等の試験成績を考察するに二三改良の餘地あるべきを思惟せしめたるを以て先づ澱粉溶液の濃度を半減し即ち 0.5% の溶液を用ひヨード溶液とこの澱粉溶液

の添加量の増減による状況を検し又メルク製澱粉の代りに日本薬局方澱粉を使用して之を比較し次の成績を得たり。

等 1 表

澱粉種類	メルク製可溶性澱粉				日本薬局方澱粉			
	生乳	50° 30	55° 30	63° 30	生乳	50° 30	55° 30	63° 30
		分加熱乳	分加熱乳	分加熱乳		分加熱乳	分加熱乳	分加熱乳
1 ヨード溶液添加数	2	淡黄	淡黄	淡黄	淡黄	淡黄	淡黄	淡黄
	3	同 上	同 上	微灰黄	微淡黄	同 上	微灰黄	微灰黄
	4	同 上	同 上	淡灰黄	淡灰青	淡灰黄	淡灰青	淡灰青
	5	同 上	微灰黄	淡灰青	同 上	淡灰青	同 上	同 上
	6	同 上	淡灰青	同 上	同 上	同 上	同 上	同 上
	7	微灰黄	同 上	同 上	同 上	—	—	—
	8	同 上	同 上	同 上	—	灰 青	灰 青	灰 藍
	9	淡灰黄	同 上	—	—	—	—	—
	10	淡灰青	— 黄	— 黄	— 黄	灰 青	灰 青	灰 藍
	2	2	黄	黄	黄	黄		
4		同 上	同 上	同 上	同 上			
5		同 上	同 上	微灰黄	微灰黄			
6		同 上	同 上	灰黄	灰黄			
7		同 上	同 上	灰青	灰青			
8		黄	同 上	灰 青	—			
9		微灰黄	同 上	—	—			
10		灰 青	—	—	—			

備考 供試乳は當所附近の和田牛乳店より購入せる混合生乳にして試験當日早朝搾乳し可及的注意して運搬せるものなり以下之に準ず

前記試験は9月中旬に於て施行せり

前記試験成績を看るにヨード溶液 1cc に對し 0.5% 澱粉溶液 2滴を添加せるものは孰れも淡黄色にして生乳と各温度に於ける加熱乳との識別不能なるも 3滴添加の場合にはメルク製澱粉を使用せるものは 55° 以上日本薬局方澱粉を使用せるものは 50° 以上に於て微灰黄色を呈し之を仔細に觀察するときは淡黄色に比較して僅に色相の差違を認め得べきも明からなす。又 4滴添加の場合メルク製澱粉溶液を使用せるものは生乳及 55° 以下の加熱乳は淡黄~淡灰黄色を呈するも 63° 以上の加熱乳は淡灰青色を現はすを以て之を區別し得べく日本薬局方澱粉溶液を使用せるものは生乳及 50° 加熱乳は淡灰黄色を呈するも 55° 以上の加熱乳は灰青色を現はすを以て明瞭に鑑別

し得たり。次に5滴添加の場合メルク製可溶性澱粉溶液を使用せるものに在りては生乳は淡黄色、50°加熱乳は微灰黄色を呈するも55°以上の加熱乳は淡灰青色を現はすを以て明瞭に之を識別し得べし。又日本薬局方澱粉溶液を使用せるものは5滴以上に於ては生乳並63°以下の加熱乳は孰れも淡灰青～灰青色若くは灰藍色を呈し其間の鑑別殆ど不能なり。更にメルク製可溶性澱粉溶液6滴添加の場合生乳は依然として淡黄色を呈するも50°以上の加熱乳は淡灰青色を現はすを以て生乳と明かに鑑別し得べく又7滴添加の場合生乳は微灰黄色を呈するも50°以上の加熱乳は孰れも淡灰青色にして7,8及9滴添加のものは之と殆ど同一關係を示し10滴に増加するときは既に生乳は淡灰青色を現はすを以て其鑑識全く不能となれり。

次にヨード溶液2ccに對する0.5%メルク製澱粉溶液3,4,5及6滴を添加せるものは何れも黄～灰黄色にして各之を鑑別し難きも7滴添加に在りては生乳及50°以下の加熱乳は黄～灰黄色を呈するも55°以上の加熱乳は灰青色を現はし又8及9滴添加の場合には生乳は依然として黄～灰黄色を呈するも50°以上の加熱乳は何れも灰青色を現はすを以て明かに之を識別し得べし。然るに10滴添加の場合には全部灰青色となるを以て生乳と各温度の加熱乳とを鑑識すること不能なり。

(B) ワインスタイン²⁾氏法

1928年ワインスタイン氏はアミラーゼ試験法の改良に就きて報告せり。其方法次の如し。

可檢乳各10cc宛を試験管5本に取り之に1%澱粉溶液0.1, 0.2, 0.3, 0.4及0.5ccを加へ注意して振盪混和(此際試験管を握りし手の汗又は唾液の混入せざる様注意を要す)し之を37°の温湯中に挿入して豫め温めたる後更に37°の恆温槽中に50~60分間放置し次に之を冷水にて冷却したる後各試験管にヨード溶液(ヨード1g及ヨードカリウム2gを水300ccに溶解せるもの)3cc宛を加へ硝子棒にて充分混攪し更に5%醋酸5cc宛を加へ再びよく混和してカゼインを凝固せしめ1~2分間の後之を乾燥濾紙を以て内容100ccを有するエルレンマイエル壺中に濾入し其濾液の色相を比較するときはアミラーゼ存在の場合には該濾液は孰れも黄色を呈するものなれ共若し之を存せざるか或は其糖化力極めて弱き場合に於ては其濾液は夫々色相を異にす。此

際 60° 30 分加熱乳は概ね次の如き結果を示す。

澱粉溶液添加cc数	色 相	澱粉溶液添加cc数	色 相
0.1	黄 色	0.4	藍 紫 色
0.2	灰黄色にして微に赤味を帯ぶ	0.5	同 上
0.3	玉葱様赤色		

小官等は前記ワインスタイン氏の方法とコーニング氏の方法を並試し同一分量のヨード溶液及澱粉を添加せる場合の成績を比較し次の成績を得たり。但し實測の結果 0.5 % 澱粉溶液 4 滴は 1 % 澱粉溶液 0.1 cc に相當するを以てワインスタイン氏法に對しても 0.5 % 澱粉溶液を用ひ cc 量の代りに之に相當する滴量を以てせり。

第 2 表

澱粉の種類 ヨード溶液添加液cc数	メルク製可溶性澱粉溶液				日本藥局方澱粉溶液			
	生 乳	50° 30分 加熱乳	55° 30分 加熱乳	63° 30分 加熱乳	生 乳	50° 30分 加熱乳	55° 30分 加熱乳	63° 30分 加熱乳
	4	5	6	7	8	9	10	12
3	(甲) 枸橼黄 (乙) 黄	(甲) 枸橼黄 (乙) 黄	(甲) 枸橼黄 (乙) 黄	(甲) 枸橼黄 (乙) 黄	(甲) 枸橼黄 (乙) 黄	(甲) 枸橼黄 (乙) 黄	(甲) 枸橼黄 (乙) 黄	(甲) 枸橼黄 (乙) 黄
	(甲) 枸橼黄 (乙) 黄	(甲) 枸橼黄 (乙) 黄	(甲) 枸橼黄 (乙) 黄	(甲) 枸橼黄 (乙) 黄	—	—	—	—
	(甲) 枸橼黄 (乙) 黄	(甲) 枸橼黄 (乙) 黄	(甲) 枸橼黄 (乙) 黄	(甲) 枸橼黄 (乙) 黄	(甲) 枸橼黄 (乙) 黄	(甲) 枸橼黄 (乙) 黄	(甲) 枸橼黄 (乙) 黄	(甲) 枸橼黄 (乙) 黄
	(甲) 枸橼黄 (乙) 黄	(甲) 枸橼黄 (乙) 黄	(甲) 枸橼黄 (乙) 黄	(甲) 枸橼黄 (乙) 黄	—	—	—	—
	(甲) 枸橼黄 (乙) 黄	(甲) 枸橼黄 (乙) 黄	(甲) 灰 黄 (乙) 黄	(甲) 灰 黄 (乙) 黄	(甲) 微灰黄 (乙) 黄	(甲) 微灰黄 (乙) 黄	(甲) 灰 黄 (乙) 帶赤黄	(甲) 灰 黄 (乙) 帶赤黄
	(甲) 枸橼黄 (乙) 黄	(甲) 微灰黄 (乙) 黄	(甲) 灰 黄 (乙) 黄	(甲) 灰 黄 (乙) 黄	—	—	—	—
	(甲) 微灰黄 (乙) 黄	(甲) 微灰黄 (乙) 黄	(甲) 灰 青 (乙) 黄	(甲) 灰 青 (乙) 帶赤黄	(甲) 灰 黄 (乙) 黄	(甲) 灰 黄 (乙) 黄	(甲) 灰 青 (乙) 帶赤黄	(甲) 灰 黄 (乙) 帶赤黄
	(甲) 灰 黄 (乙) 黄	(甲) 灰 青 (乙) 黄	(甲) 灰 青 (乙) 帶赤黄	(甲) 灰 青 (乙) 帶赤黄	(甲) 灰 青 (乙) 黄	(甲) 灰 青 (乙) 黄	(甲) 灰 青 (乙) 帶赤黄	(甲) 灰 青 (乙) 玉葱赤
	(甲) 灰 青 (乙) 黄	(甲) 灰 青 (乙) 黄	(甲) 灰 藍紫 (乙) 汚	(甲) 灰 藍紫 (乙) 汚	(甲) 灰 青 (乙) 黄	(甲) 灰 青 (乙) 黄	(甲) 灰 青 (乙) 汚	(甲) 灰 藍紫 (乙) 汚
	(甲) 灰 青 (乙) 黄	(甲) 灰 青 (乙) 黄	(甲) 灰 藍紫 (乙) 藍	(甲) 灰 藍紫 (乙) 藍	(甲) 灰 青 (乙) 黄	(甲) 灰 青 (乙) 黄	(甲) 灰 藍紫 (乙) 藍	(甲) 灰 藍紫 (乙) 藍

備考 本實驗は 9 月中旬施行せるものにして前表中甲欄はコーニング氏の反應、乙欄はワインスタイン氏の反應を示す

前記の試驗成績中コーニング氏法に據れるものを見るにヨード溶液 3 cc に對し 0.5 % 澱粉溶液を 4 滴より 9 滴迄添加せるものは孰れも枸橼黄~灰黄色を呈するを以て此間に於ける加熱温度の判別殆ど全く不能なるも 10 滴添加に於てはメルク製可溶性澱

粉及日本藥局方澱粉使用のものも共に 55° 以上の加熱乳は灰青色を呈し生乳及 50° 以下の加熱乳は微灰黄～灰黄色を呈するを以て明かに鑑別し得べく又 12 滴添加に於てはメルク製可溶性澱粉使用のものは生乳は灰黄色を呈し 50 度以上の加熱乳は灰青色を現はすを以て兩者を識別し得べきも日本藥局方澱粉使用のものは總て灰青色となり其り判別全く不能に陥れり。次に 16 滴以上を添加するときはメルク製可溶性澱粉及日本藥局方澱粉を使用せるものも共に灰青～灰藍色となり其鑑別殆ど不能なることを認めたり。

次にワインスタイン氏法に據れる成績を見るに 0.5 % 澱粉溶解を 4,5,6 及 7 滴添加のものはメルク製澱粉及日本藥局方澱粉使用のものも共に全部黄色にして 8 滴添加の場合メルク製澱粉使用のものは全部黄色を呈するも日本藥局方澱粉使用のものは生乳及 50° 加熱乳は黄色にして 55° 以上の加熱乳は帶赤黄色を現はせり。又 10 滴添加の際メルク製澱粉を用ひたるものは生乳及 55° 以下の加熱乳は黄色を呈し 63° 加熱乳は帶赤黄色となり日本藥局方澱粉使用のものは前記 8 滴添加のものと同呈色を示し 12 滴即ち 0.3 cc を添加せる場合はメルク製澱粉及日本藥局方澱粉共に何れも生乳及 50° 加熱乳は黄色を呈し 55° 以上の加熱乳は帶赤黄～玉葱赤色を現はせり。次に 16～20 滴即ち 0.4～0.5 cc 添加の場合はメルク製澱粉及日本藥局方澱粉を使用せるものも共に生乳及 50° 加熱乳は黄色を呈するも 55° 以上の加熱乳は汚紫～藍紫色を現はすを以て明瞭に之を鑑別し得べし。而して前記呈色反應中黄色に對し帶赤黄～玉葱赤色を比較し以て檢乳の加熱溫度を鑑別することは稍々熟練を要し確實を缺く嫌あるを以て小官等は之を加熱溫度の判定に應用せざりき。尙ほ 1930 年ワインスタイン²⁾氏の報告に依ればメルク製可溶性澱粉等の如く之を顯微鏡下に檢するに著しく膨化せる状態に在るものはアミラーゼ試験には不適當にして普通の良質馬蹄薯澱粉の 1 % 水溶液は最も適當なりと述べられたるも該報文中には詳細なる實驗記録を缺くを以て之れが批判は後日に譲ることせり。

(C) ローテンフッセル⁴⁾氏法

1930 年ローテンフッセル氏は從來の同氏のアミラーゼ試験法に改良を加へ次の如き試験法を發表せり。

牛乳 30 cc を内径 7 cm 長さ 23 cm にして下部圓錐狀に收縮せる遠心沈澱管に容れ之にメスピペット或はピウレットにて次醋酸鉛溶液 1.6 cc を添加し強く振盪したる後遠心分離し之に鹽酸不含のトリクロールエチレン 1.5~2.0 cc を加へ更に再び強く振盪し之を栓塞せる後約 20 分間遠心分離し透明なる乳清を分別す。此際トリクロールエチレンの代りにクロロホルムを使用し得べきもこのものは一部分乳清中に移行する性質あり。次にこの乳清を内容 18~20 cc にして 10 cc の點に度目を有する良質の試験管に濾過することなく各 10 cc 宛分注し之に次の方法に依りて製せる標準澱粉溶液 1 cc を添加し室温にては 12~16 時間 37°~45° の恆溫槽に於ては約 3~4 時間經過せる後長さ約 8 cm 内径約 8 mm にして内容約 3~3.5 cc を有する小試験管に其約半量に達する迄乳清を添加し之に同容量の 0.002 分定規ヨード溶液を加へよく之を混合し其色相を觀察し檢乳の加熱溫度を測定す。

檢乳の呈色と加熱溫度との關係は次の如し。

- 黄 色 生乳若くは生乳の性質を具有する乳汁
- 褐 色 約 55° にて長時間加熱せる乳汁にして稍々アミラーゼ能力の減退を示す
- 紫褐色 前者より稍々高温にて加熱せる乳汁
- 赤紫色 60°~63° にて約 30 分間加熱せる乳汁
- 紫 色 63° にて持續滅菌を行へる乳汁
- 藍 色 高温滅菌乳

標準澱粉溶液の調製。可溶性澱粉 10 g を乳鉢中に取り約 10 cc の水にてよく研磨混合したる後内容 1 L のペッヘルグラス中に煮沸せる水 500 cc を以て洗入しアスベスト板上にて 10 分間弱く煮沸したる後之にグリセリン（再溜精製せるものにして比重 1.23）150 cc を注加し更に 10 分間弱く煮沸するときは 103°~104° に達するに及び全く透明の溶液となる次に精製食鹽 6 g を約 50 cc の沸湯に溶解せるもの竝に 0.25 分定規ナトロン液 5 cc を注加し之を内容 1 L の共栓メスチリンデル中に濾過（Schleicher and Schüll Nr 1117 $\frac{1}{2}$ 直径 18.5 cm の折疊濾紙を使用するを可とす）し次に其熱濾液に 96 % アルコール 250 cc を約 50 cc 宛添加しよく混和したる後一旦煮沸せる蒸溜水

を以て全量を1Lとす斯くして製せる澱粉溶液はよく貯藏に耐ゆるを以て其透明なる上澄液を使用すべし。

小官等は前記方法に準據しカールバウム製及メルク製可溶性澱粉並日本薬局方澱粉溶液を調製し63° 30分加熱乳及生乳につき前記澱粉溶液0.5 cc, 1.0 cc及2.0 ccを添加し之を40°の恆溫槽中にて4時間加溫し糖化せしめたるものに就き試験せるにカールバウム製可溶性澱粉使用のもののみ稍所期の目的を達し得るもメルク製品及日本薬局方製品は孰れもヨード溶液の添加により淡黄色を呈し澱粉量不充分にして生乳及63°加熱乳の判別困難なりき。即ちローテンフッセル氏の處方に基き前記3種の澱粉を以て調製せる標準澱粉溶液中カールバウム製可溶性澱粉溶液のみ沈澱微量にして上液澄明なるを以て使用に供し得べきも爾他のメルク製及日本薬局方澱粉溶液は孰れも多量の白色沈澱を析出し殊に冬季寒冷の時期には沈澱の析出甚だしきを以て其上澄液中の澱粉含量は著しく稀薄となりて殆ど使用に堪えざることを認めたり。依つて小官等は前記沈澱を防止せんが爲めにアルコールの代りに蒸溜水を用ひたるものと前記カールバウム製澱粉を用ひて調製せる標準澱粉溶液とを併用し生乳及63° 30分加熱乳に就き比較試験し次の成績を得たり。

第 3 表

澱粉溶液の種類	澱粉溶液添加量(cc)	澱粉溶液中の澱粉含量(mg)	檢乳の種類			
			生乳	63° 30分加熱乳		
ローテンフッセル氏1%標準澱粉溶液(カールバウム製品使用)	0.5	—	呈色せず	藍紫	同	上
	1.0	—	殆呈色せず	同	同	上
	2.0	—	藍紫	同	同	上
ローテンフッセル氏法による1%日本薬局方澱粉溶液(アルコールの代りに蒸溜水を使用)	0.25	2.5	淡紫	同	同	上
	0.5	5.0	藍紫	同	同	上
	1.0	10.0	同	同	同	上
ローテンフッセル氏法による1%メルク製澱粉溶液(アルコールの代りに蒸溜水を使用)	2.0	20.0	同	同	同	上
	0.25	2.5	淡紫	同	同	上
	0.5	5.0	藍紫	同	同	上
	1.0	10.0	同	同	同	上
	2.0	20.0	同	同	同	上

備考 前表中カールバウム製品を以て製せる標準澱粉溶液中には微量の澱粉を沈澱するを以て溶液中の澱粉含量を表示せず。以下之に倣ふ。

前記試験成績を見るにローテンフッセル氏法に従ひてトリクロールエチレン(クロロ

ホルムを使用するも殆ど同一結果を得たり)を用ひて生乳より製せる乳清 10 cc に対しカールバウム製品を以て調製せるローテンフッセル氏 1 %標準澱粉溶液を使用せるものは其 0.5cc~1.0 cc を添加するときは生乳は全く呈色せざるか又は殆ど呈色せざるも 63° 加熱乳は孰れも藍色を呈するを以て容易に識別し得べし。之に反しメルク製可溶性澱粉及日本薬局方澱粉溶液 0.25 cc 即ち澱粉 2.5 mg を添加せるものは糖化 4 時間に及ぶも尙ほ多量の澱粉を殘存するために生乳及 63° 加熱乳との判別困難にして添加澱粉の過剰なることを驗知せるを以て其濃度を稀釋し又添加量を種々に減じたるものに就き試験を行ひ次の成績を得たり。

第 4 表

澱粉溶液の種類	澱粉溶液添加量(cc)	澱粉溶液中の澱粉含量(mg)	檢乳の種類	
			生乳	63° 30分加熱乳
ローテンフッセル氏法による 0.5%メルク製澱粉溶液(アルコールの代りに蒸溜水を使用)	0.12	0.6	呈色せず	藍紫
	0.25	1.25	同上	同上
	0.5	2.5	淡紫	同上
ローテンフッセル氏法による 0.5%日本薬局方澱粉液(アルコールの代りに蒸溜水を使用)	0.12	0.6	呈色せず	同上
	0.25	1.25	同上	同上
	0.5	2.5	淡紫	同上
0.2%日本薬局方澱粉溶液	0.3	0.6	呈色せず	淡藍
	0.6	1.2	同上	藍
	1.0	2.0	同上	同上
	1.25	2.5	淡紫	同上
	2.5	5.0	藍紫	同上

前記試験成績に示すが如くローテンフッセル氏法に基きアルコールの代りに蒸溜水を用ひて調製せる 0.5%メルク製可溶性澱粉並日本薬局方澱粉液は其の 0.12 cc 及 0.25 cc を添加するときは生乳に在りては全く呈色せざるも 63° 30分加熱乳に在りては藍紫色を呈するを以て之を明瞭に識別し得べきも添加量を 0.5 cc に増量するときは生乳は淡紫色に變じ 63° 加熱乳は藍紫色を呈し兩者の區別殆ど不能となるを認めたり又 0.2%日本薬局方澱粉溶液に在りては其 0.3 cc, 0.6 cc 及 1.0 cc 添加のものは生乳は全く呈色せざるも 63° 加熱乳は淡藍色~藍色を呈し之を鑑別し得べきも 1.25 cc 以上添加のものは生乳に在りては淡紫色又は藍紫色を呈し 63° 加熱乳は藍色を呈するを以て兩者の判別殆ど不能なり。

今之等添加せる澱粉溶液中の澱粉含量を比較すれば生乳より得たる乳清 10 cc によ

りて4時間以内に於て完全に糖化せらるる澱粉量は2.0 mg 以内にして既に2.5 mg に達する時は生乳も又淡紫色を呈するを以て澱粉添加量の過剰なるを認め得べし。

次に生乳、50°、55°、60°、63°及70°各30分加熱乳に就き前記各種の澱粉溶液を用ひて前記の如く4時間作用せしめ又特に0.2%日本薬局方澱粉溶液に就ては別に2時間作用せしめて試験を行ひ次の成績を得たり。

第 5 表

澱粉溶液の種類及糖化時間	澱粉溶液添加量(cc)	澱粉溶液中の澱粉含量(mg)	檢 乳 の 種 類							
			生 乳	50° 30分 加熱乳	55° 30分 加熱乳	60° 30分 加熱乳	63° 30分 加熱乳	70° 30分 加熱乳		
ローテンフッセル氏1%標準澱粉溶液(カールバウム製品 使用糖化4時間)	0.5	—	呈色せず	呈色せず	淡藍紫	藍 紫	藍 紫	藍 紫	藍 紫	
	1.0	—	同 上	同 上	同 上	同 上	同 上	同 上	同 上	
ローテンフッセル氏法による0.5%メルク製澱粉溶液(アルコールの代りに蒸溜水を使用 糖化4時間)	0.12	0.6	同 上	同 上	同 上	同 上	同 上	同 上	同 上	
	0.25	1.25	同 上	殆呈色せず	同 上	同 上	同 上	同 上	同 上	
ローテンフッセル氏法による0.5%日本薬局方澱粉溶液(アルコールの代りに蒸溜水を使用 糖化4時間)	0.12	0.6	同 上	呈色せず	同 上	同 上	同 上	同 上	同 上	
	0.25	1.25	同 上	殆呈色せず	同 上	同 上	同 上	同 上	同 上	
0.2%日本薬局方澱粉溶液(糖化4時間)	0.3	0.6	同 上	呈色せず	淡藍紫	淡 藍	淡 藍	淡 藍	淡 藍	
	0.6	1.2	同 上	同 上	淡 藍	藍	藍	藍	藍	
	1.0	2.0	同 上	殆呈色せず	同 上	同 上	同 上	同 上	同 上	
0.2%日本薬局方澱粉溶液(糖化2時間)	0.3	0.6	同 上	同 上	同 上	淡 藍	淡 藍	淡 藍	淡 藍	
	0.6	1.2	同 上	同 上	同 上	藍	藍	藍	藍	
	1.0	2.0	殆呈色せず	極 微 紫	同 上	同 上	同 上	同 上	同 上	

前記成績を見るにローテンフッセル氏の正規の方法に基きて調製せるカールバウム製1%標準澱粉溶液を0.5 cc 及 1.0 cc 添加し4時間糖化せるものに於ては孰れも同一の成績を示し生乳及50°加熱乳は全く呈色せざるも55°以上の加熱乳は淡藍紫~藍紫色を呈するを以て明瞭に之を識別し得べく又アルコールの代りに蒸溜水を使用し其他はローテンフッセル氏法に従ひて調製せる0.5%メルク製澱粉及日本薬局方澱粉溶液を使用せるものに在りては其0.12 cc 及 0.25 cc を添加し4時間糖化せるもの示す呈色反應は殆ど前者と同一關係を示し0.2%日本薬局方澱粉溶液0.3 cc, 0.6 cc 及 1.0 cc を添加し4時間糖化せるものに在りても亦殆ど之と同一呈色を示せり。又此際糖化時間を2時間に短縮し0.3 cc, 0.6 cc 及 1.0 cc 添加の場合には生乳は全く呈色せざるか若くは殆ど呈色せず50°加熱乳に在りては、0.3 cc 及 0.6 cc 添加のものは殆ど呈色せざるも1.0 cc 添加のものは極微紫色を呈し55°以上の加熱乳は孰れも淡藍~藍

色を呈するを以て之と明かに區別し得べきことを認めたり。

(D) 小官等の改變せるローテンフッセル氏簡便法

前記諸種の澱粉溶液中ローテンフッセル氏法に基きて調製せるカールバウム製品を使用せる標準澱粉溶液はよく貯藏に耐えて良好なる成績を得べきも製法稍繁雜なる缺點あり。之に反し日本藥局方 0.2% 澱粉溶液は保存に際し耐久性なきも製法簡單にして且前記試験成績に示すが如く糖化 2 時間に於ても充分所期の目的を達し得べきを以て種々實驗の結果ローテンフッセル氏法を少しく改變したる簡便法を案出せり。即ち次の如し。

前記ローテンフッセル氏法に基きて調製せる乳精 10 cc に新製 0.2% 日本藥局方澱粉溶液 (日本藥局方掲載の澱粉には米、葛等の如き原料を異にする數種の澱粉あるも通例使用せらるる原料は馬齡薯にして小官等も亦馬齡薯より製せる局方澱粉を使用せり即ち其 1 g を 500 cc のメスホルペン中に秤取し少量の冷水を加へてよく混合せしめたる後更に水 250 cc を加へ靜に動搖しつつ加温糊化せしめ冷後全量を 500 cc とす) 0.3 cc 及 0.6 cc を添加しよく振盪して均等となし之を 40° の恆温槽中にて 2 時間加温したる後氷水中にて數分間冷却し次に 0.002 分定規ヨード溶液同容量或はコーニング氏ヨード溶液 0.2 cc を添加して靜に混和したる後其色相を觀察すべし。此際生乳及 50° 加熱乳は淡黄色 (ヨード溶液を添加せざる乳清夫れ自體は既に微黄色なり) を呈し 55° 以上の加熱乳は淡藍~藍色を呈すべし。

(E) 前記各試験法に對する考察

前記各試験法に就きて之を考察するにアミラーゼの澱粉糖化作用に基く牛乳の加熱温度鑑別法中コーニング氏法及ワインスタイン氏法はヨード溶液と澱粉溶液との添加量及澱粉の種類との間に密接なる關係を示すものにして其應用の如何によりては生乳並 50°, 55° 及 63° 各 30 分加熱乳を明瞭に識別し得べきことを認めたり。今之を要約して表示すれば次の如し。

次表に示すが如くコーニング氏法に於てはヨード溶液 1 cc に對しメルク製 0.5% 可溶性澱粉溶液 4 滴を加ふるときは 55° 30 分加熱乳と 63° 30 分加熱乳、同 5 滴添加のときは 50° 30 分加熱乳と 55° 30 分加熱乳、同 6 滴添加のときは生乳と 50° 30 分

第 6 表

試験方法	澱粉の種類	ヨード溶液添加量cc	0.5%澱粉溶液添加滴数	生乳	50° 30分加熱乳	55° 30分加熱乳	63° 30分加熱乳	備考	
コーニング氏法	メルク製可溶性澱粉溶液	1	4	淡黄	淡黄	淡灰黄	淡灰青	第1表参照	
		1	5	同上	淡灰黄	淡灰青	同上		
		1	6	同上	淡灰青	同上	同上		
		2	7	黄	灰黄	灰青	灰青		
		2	8	同上	灰青	同上	—		
	日本薬局方澱粉溶液	3	10	微灰黄	微灰黄	同上	灰青	第2表参照	
		3	12	灰黄	灰青	同上	同上		
		1	4	淡灰黄	淡灰黄	同上	同上		第1表参照
		3	10	灰黄	灰黄	同上	同上		
		ワインスタイン氏法	メルク製可溶性澱粉溶液	3	16	黄	黄		汚紫
3	20			同上	同上	藍紫	藍紫		
日本薬局方澱粉溶液	3		16	同上	同上	汚紫	汚紫		
	3		20	同上	同上	同上	藍		

備考 前表中 — 線による区劃は加熱温度を明瞭に鑑別し得べき境界線を示す

加熱乳とを夫々鑑別し得べし。又ヨード溶液 2 cc に對しメルク製 0.5 % 澱粉溶液 7 滴を添加するときは 50° 30 分加熱乳と 55° 30 分加熱乳, 8 滴を添加するときは生乳と 50° 30 分加熱乳とを夫々區別し得べく更にヨード溶液を 3 cc に増量しメルク製 0.5 % 澱粉溶液 10 滴添加のときは 50° 30 分加熱乳と 55° 30 分加熱乳, 12 滴添加のときは生乳と 50° 30 分加熱乳とを夫々識別し得たり。又日本薬局方澱粉を使用するときは單にヨード溶液 1 cc 及 3 cc に對し澱粉溶液 4~10 滴を添加せる場合 50° 30 分加熱乳と 55° 30 分加熱乳とを區別し得るに過ぎずメルク製澱粉溶液に比し著しく劣れるを認めたり。

次にワインスタイン氏法に於てはメルク製可溶性澱粉及日本薬局方澱粉を使用せる

第 7 表

澱粉溶液の種類	澱粉溶液添加量(cc)	澱粉溶液中の澱粉含量(mg)	糖化時間	生乳	50° 30分加熱乳	55° 30分加熱乳	63° 30分加熱乳
ローテンフッセル氏 1% 標準澱粉溶液(カールバウム製品)	0.5	—	4	呈色せず	呈色せず	淡藍紫	藍紫
ローテンフッセル氏 0.5% 澱粉水溶液(メルク製品)	0.12	0.6	4	同上	同上	同上	同上
ローテンフッセル氏 0.5% 澱粉水溶液(日本薬局方製品)	0.12	0.6	4	同上	同上	同上	同上
0.2% 日本薬局方澱粉溶液	0.3	0.6	4	同上	同上	同上	淡藍
	0.3	0.6	2	同上	始呈色せず	淡藍	同上

備考 前表中 — 線による区劃は加熱温度を明瞭に鑑別し得べき境界線を示す

ものは共に同様の結果を示しヨード溶液 3 cc に對し澱粉溶液 16 滴又は 20 滴を添加するときは 50° 30 分加熱乳と 55° 30 分加熱乳とを識別し得べきことを認めたり。

最後にローテンフッセル氏法に於ては單に 50° 30 分加熱乳と 55° 30 分加熱乳とを鑑別し得るに過ぎず之を要約して表示すれば前記第 7 表の如し。

前表に示すが如くローテンフッセル氏法に依りて調製せる乳清 10 cc に對し同氏の處方に基きて製せる 1% カールバウム製澱粉溶液 0.5 cc を加へ 4 時間糖化せる後 0.002 分定規ヨード溶液同量を添加するときは 50° 30 分加熱乳と 55° 30 分加熱乳とを明かに鑑別し得べくローテンフッセル氏標準澱粉溶液の代りにアルコールを蒸留水にて代用せる外同氏の處方に基きて調製せるメルク製及日本藥局方澱粉溶液は夫々 0.12 cc 又 0.2% 日本藥局方澱粉溶液は 0.3 cc を添加するときは前記ローテンフッセル氏標準澱粉溶液を使用せるものと全く同一の成績を得べく又この場合糖化時間を 2 時間に短縮するも其判定上支障を來さざることを認めたり。

今前記 3 法中の特長を考察するにコーニング氏法は 3 者中最も簡便にして澱粉溶液の添加量に依りて生乳竝 50°, 55° 及 63° 各 30 分加熱乳を夫々鑑別し得る特長を有するも其呈色時の色相鮮明ならず且つ速かに褪消する缺點あり。又ワインスタイン氏法及ローテンフッセル氏法は乳清に就きて試験する方法なるが故に其操作に手数を要し且つ兩者孰れも單に 50° 30 分と 55° 30 分加熱乳とを區別し得るに過ぎざるも其呈色時の色相最も鮮明にして比較的長時間持續するを特長とす。

次に小官等の改變せるローテンフッセル氏簡便法は同氏の原法に比して澱粉溶液の製法著しく簡便にして特にカールバウム製品を用ふることなくも隨時市場に求め得べき日本藥局方澱粉を用ひ之を 0.2% 水溶液となすのみにて足るものにして其糖化には必ずしも 4 時間を要せず 2 時間に於ても充分鑑識し得べきことを認めたり。

尙ほワインスタイン氏原法に示されたる 63° 30 分加熱乳の呈色反應は澱粉溶液 0.1 cc 添加に於ては黄色、同 0.2 cc にては帶赤灰黄色、同 0.3 cc にては玉葱様赤色、同 0.4 cc~0.5 cc にては藍紫色なり。然るに小官等の實驗成績に據れば 55° 30 分加熱乳も亦之と同一呈色を示せり。又ローテンフッセル氏原法の判定標準に従へば黄色を呈するものは生乳、褐~紫褐色を呈するものは 55° 又は 55° 以上の加熱乳、赤紫色を呈する

ものは60°~63° 30分加熱乳、紫色を呈するものは63° 持續滅菌乳、藍色を呈するものは高熱滅菌乳とせられたるも小官等の實驗成績に依れば生乳並50° 以下の加熱乳は全く呈色せざるか或は殆ど呈色せず、55° 以上の加熱乳は孰れも淡藍紫~藍色を呈せり。斯の如くワインスタイン氏法及ローテンフッセル氏法に準據して施行せる小官等の成績に於ては63° 30分加熱乳のみならず55° 30分加熱乳も亦之と殆ど同一呈色反應を示すを以て單獨に63° 30分加熱乳の鑑別法として應用するは適當ならず。又ローテンフッセル氏の成績の如く之によりて前記の各加熱乳を鑑別し得ざるや勿論なり。之を要するに本酵素反應試驗は寧ろ63° 未滿の加熱乳殊に生乳或は50° 以下の加熱乳なるか又は55° 程度の加熱乳なるかを判定するに有要なるを認めしむ。

3. アルデヒドカタラーゼ試験法に就て

前回報告せるシャルデンゲル氏反應は爾他のアマラーゼ、カタラーゼ及オキシダーゼ等の諸反應と綜合判定をなすとき往々にして矛盾現象を生起することあり其原因の一は再加熱によることを認めたるも尙ほ原因不明の場合あり故に之を究明せんが爲め次の二つの場合を假定し之に就き試験を施行し次の成績を得たり。

(A) 滅菌時に於ける空氣の酸化作用

牛乳の低温滅菌法は從來小官等の實驗室に於て施行し來りたるが如く生乳を市乳壺に詰め驗溫器を挿入せる木栓を施して一定溫度の湯浴中に没入せしむるもの或は通例ミルクブランド等に於て行はるるが如く攪拌翼を以て急激に混攪し又は緩徐に攪拌するもの等其方法の如何に依りて乳汁と空氣との接觸状態を異にし従つて乳質の酸化せらるる程度に差違の生すべきは想像し得るところなるを以て先づ小官等は壺栓を施して靜置せる儘滅菌せるもの及び急激に攪拌して空氣と充分接觸せしめつつ30分間加熱滅菌せる牛乳の2種類に就きシャルデンゲル氏反應を検せり。其成績次の如し。

第 8 表

檢乳 番號	加熱溫度 及 時間	加熱 方法	保存の状態	脱色時間	檢乳 番號	加熱溫度 及 時間	加熱 方法	保存の状態	脱色時間
1	63° 30分	靜置	3時間流水中	12分	4	63° 30分	攪拌	22時間冷蔵箱中	35分
2	63° 30分	攪拌	3時間流水中	17分	5	3を63° 30分再加熱す	靜置	2時間流水中	2時間以上
3	63° 30分	靜置	22時間冷蔵箱中	12~13分	6	4を63° 30分再加熱す	攪拌	2時間流水中	2時間以上

備考 前記實驗は9月中旬之を施行せり

前記試験成績を見るに加熱の際攪拌によりて空氣とよく接觸せしめたるものは靜置して可及的空氣との接觸を避けたるものに比して一般にメチレンブラウの脱色時間を延長する傾向を示す。この現象は主としてアルデヒドカタラーゼは急激なる攪拌によりて空氣のために酸化せられて其作用の微弱となりたることに起因するものと想像し得べし。尙ほ再加熱せるものは何れも2時間以上に於ても脱色せざるは著しく還元酵素の消滅せることに原因すべし。

(B) 防腐劑の影響

アルデヒドカタラーゼ作用は檢乳に防腐劑の添加せられたる場合之によりて影響せらるること無きや否やを檢せんが爲め生乳に對して硼砂、安息香酸ナトリウム、サリチール酸及重炭酸ナトリウムを添加せるものに就きシャルヂンゲル反應を試験せり。其成績次の如し。

第 9 表

生乳 10 cc に對する防腐劑添加量	脱色時間	生乳 10 cc に對する防腐劑添加量	脱色時間
對 照 生 乳	5 分	安息香酸ナトリウム 0.05 g 添加	2 時間以上
重炭酸ナトリウム 0.1 g 添加	2 分	サリチール酸 1000 分 1 溶液 1 cc 添加	10 分
硼 砂 0.1 g 添加	3 分		

前表を見るに對照として使用せる生乳は5分間にて脱色する場合共生乳 10 cc に硼砂 0.1 g を添加せるものは3分間にて脱色し同様に安息香酸ナトリウム 0.05 g を添加せるものは2時間以上を經過するも脱色すること無くサリチール酸 1000 分 1 溶液 1 cc を添加せるものは10分にて脱色し孰れも對照生乳に比して脱色時間を延長し又別に參考として生乳 10 cc に重炭酸ナトリウム 0.1 g を添加せるものは對照に比して脱色時間を速進せり。

前記試験成績により或種の防腐劑はアルデヒドカタラーゼに對して著しき影響を及ぼすものなることを窺知せしむるに足るべし而して之等防腐劑の量的關係又は其原因等に關する研究は擧げて後日に譲れり。

4. ラーム形成能試験に就て

ワインスタイン氏の實驗に依れば生乳を放置するときは脂肪球は浮上して所謂ラーム層を形成し 63° 30 分加熱乳にありては其境界線は劃然と識別し得べきも 65.5° 以

上の加熱乳に在りては其境界線は著しく不明瞭となる而して其ラーム層の厚さは 63° 30 分加熱乳に在りては溫所に 30 分間放置の際約 1 cc に達し其後 90 分以内に於ては尙ほ幾分層の厚さを増加す。ワインスタイン氏は 90 分を經過するもラーム層を形成せざるが如き牛乳は強く加熱せられたるものなりと認定せり。

今同氏の試験法を示せば次の如し。

檢乳 48 cc~50 cc を内容 50 cc のメスチリンデルに取り之に飽和酒精製アルカリブラウ 6 B 溶液 0.15 cc を加へよく混合したる後 45°~50° の恆溫槽中にて 90 分加溫す此加溫中先づ 30 分を經過せるときラーム分離線の明瞭なるや否やを検し次に 45 分、60 分及 90 分經過時の各 3 回ラーム層を讀取し其厚さ及色相(淡藍色なるや鮮藍色なるや)を觀察すべし。アルカリブラウの添加によりて上層に位するラーム層は淡色となり其下層は濃染せらるるを以て其境界線の觀測に便なりとす。

前記試験法に従ひて生乳、50°、55°、63°、70° 及 80° 30 分加熱乳に就きて施行せる成績を示せば次の如し。

第 10 表

試験項目 經過時間 檢乳の種類	ラーム層 (cc)					
	30 分	45 分	60 分	90 分	2 時間	18 時間 (室溫放置)
生乳	1.0 (明瞭)	1.0 (明瞭)	1.5 (明瞭)	1.5 (明瞭)	1.5 (明瞭)	4.0 (明瞭)
50° 30 分 加熱乳	不明瞭	不明瞭	不明瞭	不明瞭	1.5 (稍明瞭)	同上
55° 30 分 加熱乳	同上	同上	同上	同上	不明瞭	同上
63° 30 分 加熱乳	同上	同上	同上	同上	同上	同上
70° 30 分 加熱乳	同上	同上	同上	同上	同上	不明瞭
80° 30 分 加熱乳	同上	同上	同上	同上	同上	同上

備考 前記實驗は 9 月中旬搾乳後約 5 時間經過後の牛乳に就き 恆溫槽の溫度 45° に於て試験せるものにしてラーム層は淡藍色を呈せり。

前記試験成績に依れば生乳はラーム層の分離境界線比較的明瞭にして 30 分經過後に於て既に 1.0 cc に達し 1~2 時間後に於ては 1.5 cc を示し之を室溫に約 18 時間放置するときは 4.0 cc となれり。然るに 50°、55°、63°、70° 及 80° 各 30 分加熱乳は孰れもラーム層の分離線不明瞭にして 2 時間を經過するときは 50° 30 分加熱乳のみは稍明瞭にしてラーム層 1.5 cc を示し其他は依然として不明瞭なり。次で之を約 18 時間室溫に放置するときは 50°、55° 及 63° 加熱乳は孰れも 4.0 cc を示し其ラーム層は總

て淡藍色にして其境界線を明瞭に識別し得たり。

次に恆溫槽の溫度を 37° となし試験したるに殆ど前者と同一にして室溫に約 18 時間放置するときは生乳、50°、55° 及 60° 加熱乳はラーム層 3.0 cc、63° 加熱乳は 2.5 cc を示し其ラーム層は孰れも淡藍色にして明瞭に識別し得たるも 70° 加熱乳はラーム層の分離境界線不明瞭にして區別すること不可能なりき。其成績次の如し。

第 11 表

試験項目 檢乳の種類	ラーム層 (cc)					
	30 分	45 分	60 分	90 分	2 時間	18 時間 (室溫放置)
生 乳	1.0 (明瞭)	1.5 (明瞭)	1.5 (明瞭)	1.5 (明瞭)	1.5 (明瞭)	3.0 (明瞭)
50° 30 分 加熱乳	不 明 瞭	不 明 瞭	不 明 瞭	不 明 瞭	1.5(稍明瞭)	同 上
55° 30 分 加熱乳	同 上	同 上	同 上	同 上	不 明 瞭	同 上
60° 30 分 加熱乳	同 上	同 上	同 上	同 上	同 上	同 上
63° 30 分 加熱乳	同 上	同 上	同 上	同 上	同 上	2.5 (明瞭)
70° 30 分 加熱乳	同 上	同 上	同 上	同 上	同 上	不 明 瞭

備考 前記實驗は 9 月中旬搾乳後約 5 時間經過後の牛乳に就き恆溫槽の溫度 37° に於て試験せるものにしてラーム層は淡藍色を呈せり。

前記ワインスタイン氏の方法を追試したる成績を考察するに 45° にて加溫 90 分に於て明瞭にラーム層を分離するものは牛乳のみにして 50°、55°、63°、70° 及 80° 各 30 分加熱乳は全くラーム層を分離せず室溫に 18 時間放置するときは漸く生乳並 50°、55°、63° 各 30 分加熱乳のみ明瞭にラーム層を分離せり。又浴溫を 37° と爲し加溫せるものの示す成績も殆ど前者と同一にしてワインスタイン氏の説くが如く 90 分時に於て觀測し此際ラーム層を形成せざるものは強く加熱せられたる牛乳と認定すべしとなす判定法は到底之を實地に應用し能はざることを認めたるを以て更に實驗を重ねたる結果之が改良法を案出し得るに至れり近く第 3 報として之を報告すべし。

5. オキシダーゼ試験法に就て

(A) ストリヒ⁶⁾氏法

オキシダーゼは牛乳中の各種酵素中最も耐熱性にして此酵素による反應中從來一般に應用せらるるものはストリヒ氏反應なり本法は 1898 年以來生乳と煮沸乳との鑑別に常用せられたるものにして其呈色限界點は乳質によりて多少の相違あるも通例 80° 以上にて短時間加熱せるもの、又は 75° にて 5 分間及 70° にて 50 分加熱せる乳汁は孰

れも本反應を呈せず其試験法は種々の變法ありて多少の相違あるも日本藥學會協定法に掲げられたる試験法を示せば次の如し。

檢乳 10 cc を取り 0.2 % 過酸化水素溶液 (其 1 L に硫酸 1 cc を加へて酸性とせるもの) 1 滴及 2 % パラフェニールレンジアミン溶液 2 滴を加へて振盪するときは前記限界點以下に於ける低温加熱乳は青色を呈す。

(B) ローテンフッセル氏法

前記ストリヒ氏法は簡便なる方法なるもパラフェニールレンジアミン溶液は變化し易きを以てローテンフッセル氏は此等の缺點を補ひ且つ防腐劑の含存若くは細菌の發生によりても影響せられざる方法を考案し更に同氏は最近に到り之を改良せる新法を報告せり此等兩試験法を示せば次の如し。

(イ) ローテンフッセル⁶⁾氏舊法

檢乳 100 cc に次醋酸鉛液 6 cc を加へ乾燥濾紙を用ひて濾過し其濾液 10 cc を試験管に取り 0.3 % 過酸化水素液 1~2 滴を加へ之に鹽酸パラフェニールレンジアミングアヤコール試薬 (鹽酸パラフェニールレンジアミン 1 g を蒸溜水 15 cc に溶解し之にグアヤコール 2 g を 96 % アルコール 135 cc に溶解せるものを混合して製す) 2~3 滴を添加す此際生乳若くは低温加熱乳は濃紫色を呈するも 75° にて 5 分間又は 78°~80° にて 1 分間加熱せる乳汁は本反應を呈色せず。

(ロ) ローテンフッセル⁷⁾氏新法

前記の方法に依りて製せる乳清 10 cc を取り之に 3 % 過酸化水素液 3~4 滴を混和し軽く搖動したる後パラテトロールスルフィット (Paratetrolosulfit) 試薬約 10 滴を添加す此際生乳に在りては鮮麗なる紫色を呈するも高温加熱乳若くは煮沸乳に在りては呈色せず。

パラテトロールスルフィット試薬の製法

鹽酸パラフェニールレンジアミン 1 g を蒸溜水 12 cc に溶解し別に結晶グアヤコール 4 g を 96 % アルコール約 100 cc に溶解せるものを調製しこの兩者を合したる後 96 % アルコールを加へて總量 150 cc と爲す。使用に臨み本試薬 100 cc に對し新製純酸性亞硫酸ナトリウム溶液 10 滴 (本液 40 滴は 2.9 cc に相當すべし) を添加す。

(C) ベンチデン反應

(イ) ベンチデン反應舊法⁷⁾(ウキルキンソン及ペータース氏法)

本法は牛乳中のバラオキシダーゼは過酸化水素の存在に於てアゾ化合物なるベンチデンを酸化して青色の色素に変化せしむることに基けるものにして其方法次の如し。

檢乳 10 cc を試験管に取り 4% ベンチデンアルコール溶液 2 cc 次に 3% 醋酸 2~3 滴を加へ終りに 3% 過酸化水素液を管壁に沿ふて徐々に流下せしむるときは生乳に在りては青色の層を生ずれ共 79° 以上の加熱乳に在りては之を生起せず。

(ロ) ベンチデン反應新法⁸⁾(エーベル及ファイハー氏法)

本反應は前記舊法を改良せるものにして次の 3 種の試験によりて綜合判定を行ふ。

第 1 法. 檢乳 5 cc にベンチデン溶液(純ベンチデン 4 g を 96% アルコール 100 cc 中に溶解せるもの) 0.5 cc を滴加しよく振盪し 1 分間を經過せる後 1% 過酸化水素液 1 滴を加ふ此際低温加熱乳は直ちに青綠色を呈し速かに變色するも生乳は低温加熱乳に比して呈色著しく緩徐にして其反應の程度稍強く且つ安定なり。然るに高温加熱乳は全く呈色せず。

第 2 法. 前記第 1 法に依りて試薬を添加し約 1 分經過後冷飽和硫酸マグネシウム溶液 10 cc を添加するか又は別に檢乳 5 cc に冷飽和硫酸マグネシウム溶液 10 cc 及 1% 過酸化水素液 1 滴を加へ 1 分間放置したる後ベンチデン溶液 0.5 cc を加ふ此際檢乳にベンチデン試薬添加後硫酸マグネシウム溶液を添加せるものは生乳に在りては直ちに灰綠色を呈し其色相は約 10 分經過後に於て青~暗綠色に變じ 63° 30 分加熱乳に在りては直ちに灰緑~灰青色を呈し 10 分經過後には凝固性物質を析出しこのものは生乳に在りては暗青色を呈し低温加熱乳に在りては灰~褐灰色又は著明なる灰綠色を呈するも高温加熱乳に在りては全く呈色せず。又檢乳に飽和硫酸マグネシウム溶液添加後ベンチデン試薬を加へたるものは生乳に在りては直ちに鮮藍紫色、63° 30 分加熱乳に在りては鮮綠色を呈し 2~3 分經過後に於ては兩者共に色調著しく濃厚となるも高温加熱乳は依然として呈色せず。

第 3 法. 檢乳 5 cc に冷飽和硫酸ナトリウム溶液 10 cc 及 1% 過酸化水素液 1 滴を加へ 1 分間放置したる後ベンチデン溶液 0.5 cc を加ふ此際生乳は 10~20 分經過後に

於てチョコレート褐~紫褐色を呈し往々にして青灰~青色を呈することあるも低温加熱乳に在りては灰褐~鮮褐色又は灰緑~綠色を呈す然るに高温加熱乳に在りては全く呈色せず。

今各種檢乳に就き前記の方法に基き試験を行ひ尙ほベンチデン反應新法中の第2法及第3法に對しては硫酸マグネシウム及硫酸ナトリウム溶液をベンチデン試薬混和前

第 12 表

反應の種類	生乳	60° 30分 加熱乳	63° 30分 加熱乳	65° 30分 加熱乳	68° 30分 加熱乳	70° 30分 加熱乳	75° 瞬間 加熱乳	75° 30分 加熱乳	80° 瞬間 加熱乳
ストリヒ氏反應	直に濃藍	直に濃藍	直に濃藍	直に濃藍	直に濃藍	2~3秒後淡藍	2~3秒後淡藍	殆色せず	全く呈色せず
ローテンフッセル氏反應(舊法)	直に濃紫紅	直に濃紫紅	直に濃紫紅	直に濃紫紅	直に濃紫紅	2~3秒後紫紅	2~3秒後紫紅	同上	同上
ローテンフッセル氏反應(新法)	同上	同上	同上	同上	同上	同上	同上	同上	同上
ベンチマン反應(舊法)	濃藍	濃藍	藍	藍	藍	微藍	微藍	同上	同上
ベンチマン反應(新法)第1法	直後	藍	藍	同上	同上	同上	殆色せず	全く呈色せず	—
	2~3分後	汚藍	微灰黃	微灰黃	微灰黃	微灰黃	全く呈色せず	同上	—
	約10分後	灰	灰	灰	灰	同上	同上	同上	—
ベンチマン反應(新法)第2法	直後	藍	藍	淡灰	微灰綠	微灰綠	殆色せず	同上	—
	2~3分後	濃藍	濃藍	濃藍	濃藍	濃藍	同上	同上	—
	約10分後	同上	同上	同上	同上	同上	極微灰綠	同上	—
ベンチマン反應(新法)第2法	直後	同上	瞬間微藍直に消失	瞬間微藍直に消失	瞬間微藍直に消失	全く呈色せず	全く呈色せず	同上	—
	2~3分後	同上	微灰藍	微灰藍	微灰藍	同上	同上	同上	—
	約10分後	同上	藍	藍	藍	微灰黃	微灰黃	同上	—
ベンチマン反應(新法)第3法	直後	全く呈色せず	全く呈色せず	全く呈色せず	全く呈色せず	全く呈色せず	全く呈色せず	同上	—
	2~3分後	微褐黃	微褐黃	微褐黃	微褐黃	微褐黃	微褐黃	同上	—
	約10分後	淡褐黃	淡褐黃	淡褐黃	淡褐黃	淡褐黃	同上	同上	—
ベンチマン反應(新法)第3法	直後	全く呈色せず	全く呈色せず	全く呈色せず	全く呈色せず	全く呈色せず	全く呈色せず	同上	—
	2~3分後	淡灰藍	淡灰藍	淡灰藍	殆色せず	殆色せず	同上	同上	—
	約10分後	濃藍	濃藍	濃藍	淡灰藍	淡灰藍	殆色せず	同上	—

備考 前表中 — 線による區劃は加熱溫度を明瞭に鑑別し得べき境界線を示す。前記實驗は 10 月中旬施行せるものなり。

後に於て添加したるものに就き夫々試薬添加直後2~3分及10分經過時に於ける呈色の状態を検し前記第12表の成績を得たり。

前記試験成績を看るにストリヒ氏反應, ローテンフッセル氏反應, 同改良法及ベンチデン反應舊法は孰れも生乳及各加熱乳に對する呈色反應の關係相類似し70° 30分加熱乳及75° 瞬間加熱乳は稍呈色するも75° 30分加熱乳は孰れも殆ど呈色せず, 80° 瞬間加熱乳に在りては全く呈色せず。又ベンチデン反應新法の第1法中試薬添加直後に觀察せるものに在りては生乳竝 60°~68° 各30分加熱乳は孰れも藍色にして70° 30分加熱乳は殆ど呈色せず2~3分經過後に在りては生乳は汚藍色を呈し68° 以下にて各30分加熱せるものは微灰黄色を呈し70° 30分加熱乳及75° 瞬間加熱乳は全く呈色せず。更に10分經過後に色ては生乳竝 68° 以下にて各30分加熱せるものは孰れも灰色にして70° 30分加熱乳及75° 瞬間加熱乳は全く呈色せざりき。

次にベンチデン反應新法中の第2法即ちベンチデン試薬添加後に硫酸マグネシウム溶液を加へたるものに在りては添加直後に於ては生乳及60° 30分加熱乳は藍色, 63° 30分加熱乳は淡灰色, 65° 及68° 30分加熱乳は微灰綠色, 70° 30分加熱乳は殆ど呈色せず75° 瞬間加熱乳は全く呈色せざりき。又2~3分經過後に於ては生乳竝 68° 以下の溫度にて各30分間加熱せる檢乳に在りては孰れも濃藍色にして70° 30分加熱乳は殆ど呈色せず, 75° 30分加熱乳は全く呈色せず, 10分經過後に於ては70° 30分加熱乳は極微灰綠色に變ずる外殆ど2~3分經過時に於ける呈色反應と同一なりき。次に前記第2法中檢乳に硫酸マグネシウムを加へたる後ベンチデン試薬を添加せるものに在りては添加直後には生乳は濃藍色にして60°, 63°, 65° 各30分加熱乳は試薬添加の瞬間に於ては微藍色を呈するも直に消失し68° 及70° 30分加熱乳竝 75° 瞬間加熱乳は全く呈色せず。又2~3分經過時に於ては生乳は濃藍色, 65° 以下の溫度に各30分間加熱せるものは孰れも微灰藍色にして68° 及70° 30分加熱乳竝 75° 瞬間加熱乳は全く呈せず, 10分經過後に於ては生乳及65° 以下の溫度にて各30分加熱せるものは孰れも藍色, 68° 及70° 30分加熱乳は共に微灰黄色, 75° 瞬間加熱乳は全く呈色せざりき。尙ほ前記試験に於てはエーベル氏等によりて報告せられたるが如く凝固性物質を生起せず従つて之を鑑識することは不可能なりき。

最後にベンチデン反應新法中の第3法即ち檢乳に硫酸ナトリウム溶液を添加したる後ベンチデン試薬を加へたるものに在りては試薬添加直後に於ては孰れも全く呈色せず2~3分經過後に於けるものは生乳並70°以下の溫度にて各30分加熱せるものは孰れも微褐色を呈し75°瞬間加熱乳は全く呈色せず。又10分經過後に於けるものは2~3分經過時に於けるものに比して少しく濃厚となるのみにして殆ど之と同一關係を示せり。次にエーベル氏等の試験法中には記載せられざるも試みに第2法に於けるが如くベンチデン試薬添加後に硫酸ナトリウム溶液を加へたるものに就き其呈色反應を檢したるに試薬添加直後に於ては孰れも呈色せず2~3分經過時に於ては生乳及60°, 63°各30分加熱乳は淡灰藍色65°及68°各30分加熱乳は殆ど呈色せず, 70°30分加熱乳及75°瞬間加熱乳は全く呈色せず, 又10分經過時に於ては生乳並60°及63°各30分加熱乳は孰れも濃藍色にして65°及68°各30分加熱乳は淡灰藍色, 70°30分加熱乳は殆ど呈色せず75°瞬間加熱乳は全く呈色せざりき。

(D) 前記各試験法に對する考察

前記オキシダーゼ試験法に對する成績を考察するにストリヒ氏反應, ローテンフッセル氏反應, 同改良法及ベンチデン反應舊法は孰れも生乳及各加熱乳に對する呈色反應の關係相類似し80°瞬間加熱以上の高溫加熱乳は明かに之を鑑別し得べきことを認めたり。

次にベンチデン反應新法中の第1法によりて試験するときは70°30分若くは75°瞬間加熱以上第2法中試薬混和直後に硫酸マグネシウム溶液を添加せるものは75°瞬間加熱以上同第2法中硫酸マグネシウム溶液を添加せる後ベンチデン試薬を加へたるものに在りては68°30分若くは75°瞬間加熱以上, 同第3法中硫酸ナトリウム溶液添加後ベンチデン試薬を加へたるものに在りては75°瞬間加熱以上, 同第3法中ベンチデン試薬混和後に硫酸ナトリウム溶液を添加せるものに在りては70°30分若くは75°瞬間加熱以上の加熱乳に對し夫々之を鑑別し得べきことを認めたり。

6. アルブミン試験法に就て

ワインスタイン²⁾氏の實驗に依ればアルブミンの沈澱量は牛乳の加熱に依りて増加し60°~65.5°にて加熱せる牛乳はアルブミンの沈澱單位0.1~0.3の間にあるも67°

~68° に於ては著しく沈澱の量を増加し少くとも 0.5 を示す。而して牛乳搾取後塵埃除去の目的を以てする遠心操作はアルブミンの沈澱量に影響を與ふることなしと言ふ同氏の試験方法を述べれば次の如し。

(A) ワインスタイン氏のアルブミン試験法

検乳 10 cc をトロンムスドルフ氏沈澱管に取り 1 分間約 2000 回廻轉にて 5 分間遠心分離す此際若し 60° 以上にて加熱せられたる牛乳に在りては凝固アルブミンを沈澱す本試験法に使用するトロンムスドルフ沈澱管は下端毛細管狀に展延せる全内容約 17 cc の厚壁試験管にして 5 cc 及 10 cc の度目を有し毛細管部は長さ 2.5 cm を有し之を 2 等分し 1 及 2 の度目を附し其各 1 度目間を 5 等分せるものにして 1 小度目は 0.2 即ち 0.002 cc に相當す。

小官等は各種の検乳に就き數回反覆して試験せるも合理的數値を得ること難く又アルブミンの沈澱は微黃色を呈し乳汁は白色なるを以て兩者の識別極めて困難にして種々の色素溶液を添加し之によりて沈澱の讀取を容易ならしむる等種々改善を試み多少の効果を認めたるも終に満足なる成績を得る能はざりき。而して偶々小官等は検乳に醋酸を加へカゼインを凝固せしめ之を濾別して得たる澄明なる乳清を加温し其濁度によりて加熱溫度を鑑識せんと試みたるゼリグマン¹⁾氏の報告に端緒を得て之を前記ワインスタイン氏アルブミン沈澱法に應用しワインスタイン氏の從來の方法と反對に加熱によりて凝固せるアルブミンをカゼインと共に濾別し溶存するアルブミンを再び加熱によりて凝固せしめ之を沈澱管によりて測定し其加熱溫度を判定せんと試みたるに極めて満足なる成績を得たり。其試験方法を述べれば次の如し。

(B) 小官等の考案によるアルブミン試験法

検乳 5 cc を試験管に取り之に蒸溜水 17 cc を加へて稀釋し次で 10 分 1 定規醋酸液 (0.6% 醋酸に相當す) 3 cc を加へよく振盪し析出せる凝固性物質を乾燥濾紙を用ひて濾別して得たる澄明なる乳清 5cc~10 cc を試験管に取り重湯煎中に於て 5 分間加熱し之をトロンムスドルフ沈澱管に移し試験管は數回少量の蒸溜水にて洗ひたる後、之を約 2000 回の廻轉速度にて 5 分間遠心分離し茲に沈澱せるアルブミン量を讀取し乳清 5 cc を取りたる場合は之を 5 倍し又 10 cc 取りたる場合は 2.5 倍して検乳 5 cc 中のアル

ブミン量に換算して記載すべし。

前記試験法に基づき施行せる成績次の如し。

第 13 表

検乳の種類	乳採取量(cc)	滅菌直後に試験せるもの		冷蔵箱(攝氏1~5°)中に24時間貯蔵せるものに就きて試験せるもの		検乳の種類	乳採取量(cc)	滅菌直後に試験せるもの		冷蔵箱(攝氏1~5°)中に24時間貯蔵せるものに就きて試験せるもの	
		供試乳中のアルブミン量	検乳5ccに換算せるアルブミン量	供試乳中のアルブミン量	検乳5ccに換算せるアルブミン量			供試乳中のアルブミン量	検乳5ccに換算せるアルブミン量	供試乳中のアルブミン量	検乳5ccに換算せるアルブミン量
生乳	5	1.9	9.5	1.9	9.5	80° 30分加熱乳	10	痕跡	痕跡	痕跡	痕跡
60° 30分加熱乳	5	1.9	9.5	1.9	9.5	85° 1分加熱乳	10	0.15	0.38	0.16	0.40
63° 30分加熱乳	5	1.9	9.5	1.9	9.5	85° 5分加熱乳	10	0.07	0.18	0.1	0.25
65° 30分加熱乳	5	1.9	9.5	1.9	9.5	85° 10分加熱乳	10	痕跡	痕跡	痕跡	痕跡
68° 30分加熱乳	5	1.9	9.5	1.9	9.5	87° 1分加熱乳	10	痕跡	痕跡	痕跡	痕跡
70° 30分加熱乳	5	1.7	8.5	1.8	9.0	87° 5分加熱乳	10	痕跡	痕跡	痕跡	痕跡
75° 10分加熱乳	5	0.9	4.5	0.9	4.5	87° 10分加熱乳	10	痕跡	痕跡	痕跡	痕跡
75° 20分加熱乳	5	0.28	1.4	0.29	1.45	90° 1分加熱乳	10	痕跡	痕跡	痕跡	痕跡
75° 30分加熱乳	5	0.2	1.0	0.2	1.0	90° 5分加熱乳	10	痕跡	痕跡	痕跡	痕跡
80° 5分加熱乳	10	0.1	0.25	0.1	0.25	95° 1分加熱乳	10	痕跡	痕跡	痕跡	痕跡
80° 10分加熱乳	10	痕跡	痕跡	痕跡	痕跡	95° 5分加熱乳	10	痕跡	痕跡	痕跡	痕跡
80° 20分加熱乳	10	痕跡	痕跡	痕跡	痕跡						

備考 アルブミン沈澱量の容積を示す数字はトロムストロフ沈澱管の度目を以て示せるものにして1.0は0.01ccに相當す

前記試験は9月中旬に於て施行せり

前記成績中滅菌直後の検乳に就き施行せるものを看るに生乳及68°以下の温度にて各30分加熱せるものの示すアルブミン沈澱量は孰れも全く同一にして検乳5cc中9.5を示し70°30分加熱乳に在りては少しく減少して8.5となり75°よりは著しく影響せられ同温度にて10分加熱せるものは4.5,同20分加熱せるものは1.4,同30分加熱せるものは1.0を示せり。又80°5分加熱乳は0.25にして80°10分以上の加熱乳は殆どアルブミンを沈澱せず次に85°1分加熱乳は0.38を示し同温度にて5分加熱せるものは0.18にして同温度にて10分以上加熱せるものは殆ど之を沈澱せず。又87°以上の高温度にては既に1分加熱乳に於ても殆どアルブミンを沈澱せざることを認めたり。又前記検乳を1°~5°冷蔵箱中に24時間貯蔵せるものは貯蔵前のものと殆ど同一の成績を示せり。

前記試験成績を考察するに本試験法は既に大部分の酵素消滅し従つて酵素反應に依りては充分に鑑識し得ざる70°~75°以上の加熱乳を鑑別し得べく殊に現時高温滅菌

乳として歐米諸國に於て一般に應用せらる 80°~85° 5 分加熱乳に於ても尙ほアルブミンの沈澱を認め得べく同溫度にて 10 分加熱せるものは之を沈澱せざるに到るは興味ある事實なり。而して 85° 10 分以上の高温加熱乳の鑑識に關しては目下實驗續行中なるを以て他日の機會に於て之を報告すべし。

7. 總 括

叙上の試験に依りて得たる成績中其要點を摘録すれば次の如し。

1. アミラーゼ試験法中コーニング氏法を應用するときはヨード溶液 1 cc, 2 cc 及 3 cc に對し 0.5 % メルク製澱粉溶液の添加量を適宜加減するときは生乳並 50°, 55° 及 63° 各 30 分加熱乳を夫々鑑別し得べく此際日本藥局方澱粉はメルク製可溶性澱粉に比して著しく不適當なることを認めたり。又ワインスタイン氏法を追試し澱粉溶液の添加量を種々加減して試験したるに單に 55° 以上の加熱乳たることを鑑別し得るに過ぎず此際メルク製可溶性澱粉を使用せるものと日本藥局方澱粉を使用せるものとは全く同一結果を示すものなることを認めたり。次にローテンフッセル氏法に従ひて 1 % 標準澱粉溶液を製して試験したるにカールバウム製可溶製澱粉を用ひたる場合は澄明なる溶液を得べきもメルク製品及日本藥局方製品は共に著しき多量の不溶解性物質を析出するために使用に堪えずローテンフッセル氏處法中のアルコールの代りに蒸溜水を使用するときは前記兩種の澱粉によりても共に澄明の溶液を得べく其適量を用ふるときは上記ローテンフッセル氏標準澱粉溶液を使用せるものと同一成績を示し共に 55° 以上の加熱乳を鑑別し得べきことを認めたり。而して小官等の改變せるローテンフッセル氏簡便法は 0.2 % 日本藥局方澱粉溶液を使用し糖化時間も從來の方法に比して 2 分の 1 に短縮し著しく簡便にして充分所期の目的を達し得べきことを信せしめたり。

2. アルデヒドカタラーゼ試験に於けるシャルデンゲル氏反應のメチレンブラウ脱色時間の矛盾現象に就き空氣の酸化作用と防腐劑の影響に對し小實驗を行ひたる結果生乳を加熱の際攪拌して空氣とよく接觸せしめたるものは靜置して可及的空氣との接觸を避けたるものに比し一般にメチレンブラウの脱色時間を延長することを認め又重曹、硼砂、安息香酸ナトリウム及サリチール酸等の藥物を添加せる場合に於ける前記の影響を試験せるに或種の防腐劑はアルデヒドカタラーゼ作用に對して著しき影

響を及ぼすものなることを認めたり。

3. ラーム層の試験成績はワインスタイン氏の夫れと著しく異り 45°にて 90 分加温の際観測せるに生乳以外のものは殆ど正確に之を判別すること不能にして浴温を 37° とするも効果無きことを認めたり。尙ほ更に實驗を重ねたる結果之が改良法を案出し得るに至れり近く第3報として之を報告すべし。

4. オキシダーゼ試験に於てはストリヒ氏法、ローテンフッセル氏法、同改良法及ベンチデン反應舊法は孰れも殆ど相類似せる呈色關係を示し 80° 瞬間加熱以上のものは明に之を鑑別し得べきことを認めたり、次にエーベル及ファイハー兩氏に依りて改良せられたるベンチデン反應新法に就きて試験せるに其第1法即ち同氏等の處法に基くベンチデン試薬のみを添加せるものに在りては 70° 30 分若くは 75° 瞬間加熱乳以上、同第2法中試薬混和直後に硫酸マグネシウム溶液を添加せるものは 75° 瞬間加熱以上同、第2法中試薬混和直後に硫酸マグネシウム溶液を添加せるものは 75° 瞬間加熱以上、同第2法中硫酸マグネシウム溶液を添加せる後試薬添加のものは 68° 30 分若くは 75° 瞬間加熱以上、同第3法中硫酸ナトリウム溶液添加後ベンチデン試薬を加へたるものは 75° 瞬間加熱以上、同第3法中ベンチデン試薬混和後硫酸ナトリウム溶液を添加せるものは 70° 30 分若くは 75° 瞬間加熱以上の加熱乳と夫以下のものとを鑑別し得べきことを認めたり。

5. ワインスタイン氏のアルブミン試験法を追試したるに満足なる成績を擧ぐる能はず然るに醋酸を用ひてカゼインを凝固せしめ之を濾別し其透明濾液を加温して溷濁を生せしめ其程度により溶存するアルブミンを概測し加熱度を判定するゼリグマン氏の方法と前記ワインスタイン氏の沈澱法とを折衷したる試験法を考案しワインスタイン氏の方法と反對に檢乳中に溶存するアルブミン量をトロンムスドルフ沈澱管を用ひて定量せるに極めて良好なる成績を示し從來の酵素試験法に依りては満足なる判定不能なる比較的高温加熱乳に對しても之を應用し得べきことを認めしめたり。

附 記

尙ほ前記試験成績中カタラーゼ試験法に關するものは未だ實驗完了せざるを以て便宜上之を分割し他日之を報告することとせり。

引用文獻

1. Koning; *Milchwirtschaft. Zentralb.* 3, 41, 1907.
2. P. Weinstein; *Ztschr. f. Lebensm.* 56, 457, 1928.
3. P. Weinstein; *Ztschr. f. Lebensm.* 59, 513, 1930.
4. S. Rothenfüszer; *Ztschr. f. Lebensm.* 60, 94, 1930.
5. Storch; *Ztschr. f. Nahr. u. Genüßm.* 2, 239, 1899.
6. S. Rothenfüszer; *Ztschr. f. Nahr. u. Genüßm.* 16, 63, 1908.
7. Wilkinson u. Peters; *Ztschr. f. Nahr. u. Genüßm.* 16, 172, 1908.
8. K. Eble u. H. Pfeiffer; *Ztschr. f. Lebensm.* 60, 311, 1930.
9. E. Seliegmänn; *Ztschr. f. angew. C.* 1540, 1906.

昭和7年10月

市乳の加熱度及新鮮度の鑑別法に 關する研究 (第3報)

ラーム層の測定による加熱温度の鑑別法に就て

技 手 服 部 安 藏
技 手 秋 山 勝 治

内 容 目 次

- | | |
|--------------------------|-----------------------------------|
| 1. 緒 言 | D 冷蔵箱貯蔵乳に對する試験 |
| 2. ゲルベル氏ブチロメーターを使用せる實驗 | E 再加熱乳に對する試験 |
| 3. 小官等の調製せるラーム測定管を以てせる實驗 | F ミルクプラント滅菌装置を用ひて處理せる牛乳に就きて施行せる試験 |
| A 試薬添加による影響比較試験 | 4. 東京市乳の加熱度試験成績 |
| B 滅菌温度及時間のラーム層に及ぼす影響試験 | 5. 總 括 |
| C 加熱方法に依る影響試験 | 6. 引用文献 |

1. 緒 言

1928年ワインスタイン¹⁾氏は生乳を放置するときは、脂肪球は浮上して所謂ラーム層を形成し63°にて30分間加熱せる牛乳に在りては其境界線は劃然と識別し得べきも65.5°以上の加熱乳に在りては、其境界線著しく不明瞭となるを以てよく之と識別し得べきことを報告せり。小官等は前回の第2報に於て之を追試し小實驗を試みたるも遂に所期の成績を得る能はざりき。然るに1929年オルラゼンセン^{2) 3) 4)}氏はラーム層の測定による牛乳加熱温度の鑑別法に關し報告し本年更に本問題に對する有益なる研究業績⁵⁾を發表せり。

同試験法の大要を述べれば次の如し。

2本のヘイベルグ氏ラムブチロメーター(この際最良ならざるもゲルベル氏ブチロメーターを代用し得べし)を取り1は檢乳10ccを容れ他は檢乳5ccに同量の蒸溜水を加へて稀釋しこの際ラーム層境界線の識別に便せんが爲めストリヒ氏試薬の使用

を推奨せり。次に之を栓塞したるものを 12°~15° の冷水中に 2 時間放置したる後ラーム層の厚さを讀取し稀釋せる牛乳のラーム層は之を 2 倍して比較すべし。即ち生乳に在りては蒸溜水の添加によりてラームの形成容易となるも 63° 30 分加熱乳に在りては凝集力微弱となるを以て既に同量の蒸溜水にて稀釋せられたるものに在りては著しくラーム層の減少を來す、今稀釋せる牛乳の形成するラーム層と稀釋せざる牛乳の形成するラーム層の比を A とせば A 値は生乳に在りては 1 よりも大にして 63° 30 分加熱乳に在りては 1 よりも小なり若し此際 A 値 1 に近くして判定上疑義を懐かしむるときは稀釋せる牛乳の形成するラーム層の厚さと稀釋せざる牛乳の脂肪量の比を算出し比較するときは判定上参考と爲し得べし。今此の比率を C とせば C 値は生乳に在りては 3.9~10.0 の間に在りて平均 8.3 を示し、63° 30 分加熱乳に在りては 0.1~3.7 の間に在りて平均 1.3 にして瞬間滅菌乳に在りては 0~0.3 を示す。

小官等は前記試験法に準據し種々實驗を行ひたる結果其操作比較的簡便にして充分満足すべき成績を得たるを以て次に之を第 3 報として報告すべし。

2. ゲルベル氏ブチロメーターを使用せる實驗

前記ゼンセン氏の報告に依ればゲルベル氏ブチロメーターを代用するときは最良の成績は得難きも本試験に應用し得べきことを述べられたるを以て之を用ひて試験を施行せり。其方法次の如し。

2 本のゲルベル氏ブチロメーターを取りて 1 は檢乳 22 cc を充し他は檢乳 11 cc に同量の蒸溜水を添加し又別に前記と同様に調製せる 1 組の管を用意し之にストリヒ氏試薬(檢乳 10 cc に對し 0.2 % 過酸化水素液(其 1 L に硫酸 1 cc を加へて酸性とせるもの) 1 滴及 2 % パラフェニレンチアミン溶液 2 滴を加へて振盪す)を添加せるものを調

第 1 表 ホルスタイン種混合乳 試験時期 8 月 12 日 脂肪含量 3 %

檢乳の種類	檢乳 22 cc 中のラーム層				檢乳 10 cc に換算せるラーム層		A 値	C 値	檢乳の種類	檢乳 22 cc 中のラーム層				檢乳 10 cc に換算せるラーム層		A 値	C 値
	稀釋せず	稀釋す	稀釋せず	稀釋す	稀釋せず	稀釋す				稀釋せず	稀釋す	稀釋せず	稀釋す	稀釋せず	稀釋す		
生 乳	約 22.0	約 32.0	約 10.0	約 14.5	1.5	4.8			63° 30分加熱乳	8.0	4.5	3.6	2.1	0.6	0.7		
50° 30分加熱乳	約 23.0	約 33.0	約 10.5	約 15.0	1.4	5.0			70° 30分加熱乳	痕跡	痕跡	—	—	—	—		
55° 30分加熱乳	約 23.0	約 32.0	約 10.5	約 14.5	1.4	4.8			80° 30分加熱乳	痕跡	痕跡	—	—	—	—		

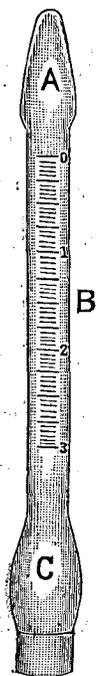
附記 前表中ラーム層 9 以上のものは目測によりて其概量を算出せるものなり

製し攝氏 $12^{\circ} \sim 15^{\circ}$ の冷水中に2時間静置しラーム層の厚さを讀取せり其成績前表の如し。

前記試験成績に依れば生乳、 50° 加熱乳及 55° 加熱乳に在りては孰れも9以上のラーム層に達するを以てゲルベル氏ブチロメーターを用ひては正確に之を讀取する能はず。本來ゲルベル氏ブチロメーターは牛乳中の脂肪を定量することを目的として製せられ0.1ccの容積を約0.7cmの長さに劃度せるものにして之を1度目となし其間を10等分し最大9度目即ち9%迄の脂肪を定量し得る様に調製せられたるものなるを以て前記試験成績に見るが如く 63° 若しくは其以上の温度にて30分間加熱せられたる牛乳にして其ラーム層9未滿に止る牛乳に對しては應用し得べきも他のものに對しては正確なる測定不可能なるを以て小官等は次の如きラーム測定管を調製して試験せり。

3. 小官等の調製せるラーム測定管を以てせる實驗

ゼンセン氏の使用せるヘイベルグ氏のラームブチロメーターの構造に關しては小官等の參考とせる報告書中には詳細なる説明を缺除せるを以て之を模造すること不可能なり。しも該報告書中に記載せられたるラーム層より推定するときは其度目はゲルベル氏



ブチロメーターの如く0.1ccを1度目とせるもの、如く思惟せらる然るに小官等はゲルベル氏ブチロメーターを應用せる經驗に徴するに劃度管餘りに細長に過ぐるときはラーム層の分離良好ならざるが如き感を懷かせしを以て略外形をゲルベル氏ブチロメーターに模したる左圖の如きラーム測定管を調製せり。

全長19cmの硝子管にしてAは圓錐狀を爲しBは劃度管にして尖端より約3.5cmの點を基點とし之れより1ccを約3.5cmの長さに相當する様に劃度し其間を20等分したるものにして1小度目は0.05ccに相當し、最大3cc迄を測定し得る様に劃度せるものなりCは内容約7ccの膨大部にして一端は開口して直徑約1.1cmのゴム栓を以て栓塞す今之を用ひてラーム層の高さを測定せんには檢乳を豫め 15° に冷却し之を振盪して均等となし2本のラーム測定管を取りて第1のものには檢乳10ccを容れ第2のものには檢乳5ccに同量の蒸溜水を

加へて稀釋し兩者にストリヒ氏試薬を添加せる後靜に 2~3 回反覆顛倒して内容をよく混合し 12°~15° の冷水中に 2 時間靜置して析出せるラーム層を讀取し此際稀釋せるものによるラーム層は之を 2 倍して檢乳 10 cc の量に換算し次にゲルベル氏法に従ひて脂肪を定量し前記ゼンセン氏の方法に従ひて A 及 C 値を算出す今前記試験法に基きて施行せる實驗成績を示せば次の如し。

A 試薬添加による影響比較試験

小官等は前記試験法を實施せんとするに當り試薬添加のラーム層の形成に及ぼす影響を豫め試験することの必要を認めたるを以て次の實驗を行へり。

第 2 表 ホルスタイン種混合乳 試験時期 8 月 22 日 脂肪含量 3 %

試薬の種類及添加量	生 乳				63° 30 分加熱乳			
	ラ ム 層				ラ ム 層			
	稀釋せず	稀釋す	A 値	C 値	稀釋せず	稀釋す	A 値	C 値
試 薬 添 加 せ ず	1.15	1.20	1.04	0.38	0.70	0.80	1.14	0.23
ストリヒ氏試薬各 1 滴添加	1.20	1.25	1.04	0.40	0.65	0.70	1.07	0.22
ストリヒ氏試薬各 2 滴添加	1.15	1.20	1.04	0.38	0.70	0.80	1.14	0.23
ストリヒ氏試薬各 3 滴添加	1.20	1.20	1.00	0.40	0.65	0.70	1.07	0.22
アルカリブラウ6B試薬 1 滴添加	1.20	1.25	1.04	0.40	0.70	0.80	1.14	0.23
アルカリブラウ6B試薬 2 滴添加	1.15	1.20	1.04	0.38	0.70	0.70	1.00	0.23
アルカリブラウ6B試薬 3 滴添加	1.20	1.20	1.00	0.40	0.65	0.80	1.23	0.22

前記試験成績に示すが如く小官等の調製せるラーム測定管は内容 1cc を以て 1 單位と爲しゼンセン氏は内容 0.1 cc を以て 1 單位と爲せり。故に小官等の試験法に依れる單位はゼンセン氏の單位の 10 分の 1 に相當し従つて A 値は變化無きも C 値は 10 分の 1 だけ低下しゼンセン氏の記載法に依る 1 は小官等の成績の 0.1 に相當す。今試薬添加のラーム層に對する影響を見るに之を添加することに依りて殆ど影響せらるること無く試薬を添加せざるときはラーム層の境界面甚だ不鮮明にして其讀取困難なり而してストリヒ氏の試薬は 79° 以上の高温滅菌乳を鑑別し得る便あるを以て爾後の試験に於ては何れもストリヒ氏試薬を添加し 2 % パラフェニールレンジアミン溶液 2 滴及 0.2 % 過酸化水素液 1 滴を添加することとせり。

B 滅菌温度及時間のラーム層に及ぼす影響試験

試験當日早朝搾取せる可及的新鮮なる正常牛乳を冷却しつつ實驗室に運びよく混合し均等と爲したる後内容約 180 cc の市乳壺に分取し之に豫め標準驗温器に比較し

て温度を補正せる驗温器を挿入せる木栓を施し夫々 50°, 55°, 60°, 63°, 65° 及 70° の恆温槽中にて加熱し檢乳正に所要の温度に達してより正確に 10 分, 20 分, 30 分, 40 分, 50 分及 1 時間加熱したる後直ちに流水にて冷却し次に氷水中に浸けて温度を正確に 15° と爲したるものを試験に供せり。

第3表 ホルスタイン種混合乳 試験時期 8月26日 脂肪含量 3.5%

檢乳の種類	ラーム層		A値	C値	檢乳の種類	ラーム層		A値	C値
	稀釋せず	稀釋す				稀釋せず	稀釋す		
生乳	1.30	1.80	1.38	0.51	65° 30分 加熱乳	痕跡	痕跡	—	—
50° 30分 加熱乳	1.00	1.60	1.60	0.46	68° 10分 加熱乳	0.05	0.05	1.00	0.02
55° 30分 加熱乳	1.30	1.80	1.38	0.51	68° 20分 加熱乳	痕跡	痕跡	—	—
60° 30分 加熱乳	1.00	1.70	1.70	0.48	68° 30分 加熱乳	痕跡	痕跡	—	—
63° 10分 加熱乳	0.70	1.10	1.57	0.31	70° 10分 加熱乳	痕跡	痕跡	—	—
63° 20分 加熱乳	0.80	0.90	1.12	0.26	70° 20分 加熱乳	痕跡	痕跡	—	—
63° 30分 加熱乳	0.60	0.60	1.00	0.17	70° 30分 加熱乳	痕跡	痕跡	—	—
63° 40分 加熱乳	0.55	0.60	1.09	0.17	80° 5分 加熱乳	0.05	0.05	1.00	0.02
63° 50分 加熱乳	0.50	0.54	1.08	0.15	80° 10分 加熱乳	痕跡	痕跡	—	—
63° 1時間 加熱乳	0.45	0.54	1.20	0.15	瞬間 加熱乳	0.05	0.05	1.00	0.02
65° 10分 加熱乳	0.60	0.70	1.16	0.20	煮沸 5分間 加熱乳	0.05	痕跡	—	—
65° 20分 加熱乳	0.15	0.30	2.00	0.09					

第4表 ゼルシー種單乳 試験時期 8月30日 脂肪含量 3.6%

檢乳の種類	ラーム層		A値	C値	檢乳の種類	ラーム層		A値	C値
	稀釋せず	稀釋す				稀釋せず	稀釋す		
生乳	1.40	1.60	1.14	0.44	63° 50分 加熱乳	0.50	0.40	0.80	0.11
50° 30分 加熱乳	1.50	1.90	1.27	0.53	63° 1時間 加熱乳	0.40	0.35	0.87	0.10
50° 1時間 加熱乳	1.40	1.90	1.35	0.53	65° 10分 加熱乳	0.60	0.60	1.00	0.17
55° 30分 加熱乳	1.45	1.90	1.31	0.53	65° 20分 加熱乳	0.40	0.35	0.87	0.10
55° 1時間 加熱乳	1.30	1.90	1.46	0.53	65° 30分 加熱乳	0.10	0.05	0.05	—
60° 10分 加熱乳	1.40	1.90	1.35	0.53	68° 19分 加熱乳	0.05	0.05	1.00	—
60° 20分 加熱乳	1.40	1.90	1.35	0.53	68° 20分 加熱乳	痕跡	痕跡	—	—
60° 30分 加熱乳	1.40	1.80	1.28	0.51	68° 30分 加熱乳	痕跡	痕跡	—	—
60° 40分 加熱乳	1.45	1.80	1.24	0.51	70° 10分 加熱乳	0.05	0.05	1.00	—
60° 50分 加熱乳	1.40	1.80	1.28	0.51	70° 20分 加熱乳	痕跡	痕跡	—	—
60° 1時間 加熱乳	1.35	1.80	1.33	0.51	70° 30分 加熱乳	痕跡	痕跡	—	—
63° 10分 加熱乳	0.75	0.80	1.06	0.22	80° 5分 加熱乳	0.05	0.05	1.00	—
63° 20分 加熱乳	0.75	0.80	1.06	0.22	80° 10分 加熱乳	痕跡	痕跡	—	—
63° 30分 加熱乳	0.70	0.60	0.85	0.17	瞬間 加熱乳	0.05	痕跡	—	—
63° 40分 加熱乳	0.60	0.60	1.00	0.17	煮沸 5分間 加熱乳	痕跡	痕跡	—	—

前記試験成績を見るに第3表に於けるホルスタイン種混合乳に就て試験せるもの
在りては其ラーム層は生乳を稀釋せざるものは1.3稀釋せるものは1.8, なるも50°,

55° 及 60° 各 30 分間加熱するときは其ラーム層は生乳に對して多少の變化を示すも著しからず。即ち稀釋せざるものも稀釋せるもの孰れも其ラーム層は 1.0 以上 A 値も亦 1.0 以上にして C 値は 0.4 以上なり。然るに 63° に加熱するときは著しき變化を來し既に 63° にて 10 分間加熱せるものは其ラーム層稀釋せざるものに在りては 0.7 に減じ稀釋せるものに在りては 1.1 となり又 A 値は 1.57, C 値は 0.31 を示せり。而して同溫度にて加熱する時間の延長に従ひて其ラーム層は愈々減少を示し 63° にて 30 分間加熱せるものに在りては稀釋せざるもの及稀釋せるもの共に 0.6 となり A 値は 1.0, C 値は 0.17 を示せり。

ゼンセン氏に依る A 及 C 値の判定標準を見るに A 値は生乳に在りては 1 より大にして 63° 30 分加熱乳に在りては 1 よりも小なり若し A 値 1 に近きときは C 値は生乳に在りては 3.9~10.0 にして平均 8.3 又 63° 30 分加熱乳に在りては 0.1~3.7 にして平均 1.3 を示すを以て之によつて確證し得べしとなす此の標準を小官等の成績に應用せんには A 値は其儘適用し得べきも既に前述の如く C 値は計算の單位を異にするを以てゼンセン氏の 10 分の 1 の單位を採用せざるべからず即ち生乳に在りては 0.39~1.00 平均 0.83 又 63° 30 分加熱乳に在りては 0.01~0.37 平均 0.13 とせざるべからず。

この判定標準を前記試験成績に適用せるに 60° 以下にて加熱せるものは孰れも生乳の判定標準内に屬し 63° にて 10 分, 20 分及 30 分加熱せるものは孰れも 63° 30 分加熱乳の標準内に屬するものなることを認めたり。又 63° 30 分以上 40 分, 50 分と漸次加熱時間の延長せるに伴ひて益々ラーム層を減少し同溫度にて 1 時間加熱せるものに在りては稀釋せざるものは 0.45, 稀釋せるものは 0.54, A 値は 1.20, C 値は 0.15 を示せり。次に 65° にて 10 分間加熱せるものは略 63° にて 30 分加熱せるものに匹敵し 20 分に延長するときはラーム層の形成著しく不良に陥り 30 分に於ては殆ど之を形成せざるに到り 68° にては既に 10 分間加熱せるものに在りてもラーム層の形成著しく不良となり 20 分間以上加熱せるものに在りては殆ど之を形成せざるに到り 70° にては 10 分以上 80° にては 5 分以上, 煮沸にては瞬間加熱せる牛乳は孰れも殆どラーム層を形成せざるに依り他と明瞭に識別し得べきことを認めたり。

第 4 表に於けるゼルシー種單乳に就て施行せる成績も亦殆ど第 3 表の成績と同一結

果を示し特に 60° に於ける 10 分より 1 時間に到る各 10 分毎に於ける加熱時間の變化に依るラーム層に對する影響を検せるに殆ど影響せられざることを認めたり。

本試験に於て殊に注意すべきことはゼンセン氏の說に従へばゼルシー種乳牛より搾取せる牛乳は其脂肪球過大なるためラーム層の析出良好ならず爲めに完全なる成績を得ざることを報告せられたり。小官等は之を確試せんとしたるもゼルシー種乳牛は其體質本邦の風土に適せざると乳汁の分泌量少きため今日一般の牧場にては飼養せられざる爲め其乳汁を得ること困難にして僅に某牧場主の好意に依りて 1 頭の乳牛より得たる乳汁に就きて試験せるのみなるを以て之を斷言するを得ざれども前記の實驗に依れば何等の支障なく試験し得るものなることを認めたり。

C 加熱方法に依る影響試験

前記試験に供せる加熱乳は孰れも市乳壘に驗温器を挿入せる木栓を施し恆温槽中に於て所要の時間加熱せるものなるも此の方法によるときは所要の温度に達する迄かなりの時間を要しラーム層の形成に影響する懸念あるべきを思惟せるを以て從來の壘裝加熱法によるものと別に檢乳約 20 cc を薄壁の試験管に容れ加熱せるものとに付温度上昇の關係を比較せるに次の如し。

壘裝加熱

檢乳の種類	所要温度に達する迄の時間	檢乳の種類	所要温度に達する迄の時間
50° 加熱乳	{ 室温—45° 8分 } { 45°—50° 3分 } 11分	63° 加熱乳	{ 室温—55° 9分 } { 55°—60° 6分 } { 60°—63° 3分 } 18分
55° 加熱乳	{ 室温—45° 7分 } { 45°—50° 5分 } { 50°—55° 2分 } 14分	65° 加熱乳	{ 室温—59° 9分 } { 59°—63° 6分 } { 63°—65° 5分 } 20分
60° 加熱乳	{ 室温—53° 9分 } { 53°—56° 3分 } { 56°—60° 6分 } 18分	68° 加熱乳	{ 室温—63° 10分 } { 63°—68° 5分 } 15分

試験管加熱

檢乳の種類	所要温度に達する迄の時間	檢乳の種類	所要温度に達する迄の時間	檢乳の種類	所要温度に達する迄の時間
50° 加熱乳	2分	60° 加熱乳	4分	65° 加熱乳	4分
55° 加熱乳	3分	63° 加熱乳	3分	68° 加熱乳	4分

前記成績に示すが如く壘裝滅菌の場合は通例十數分を要するも試験管滅菌の場合は僅に數分にて所要の温度に達するものなることを認めたり。今前記兩種の滅菌法に従

ひて施行せる加熱乳に就きラーム層を試験せる成績を示せば次の如し。

第5表 ホルスタイン種混合乳 試験時期 9月6日 脂肪含量 3.4%

検乳の種類	ラーム層		A値	C値	検乳の種類	ラーム層		A値	C値
	稀釋せず	稀釋す				稀釋せず	稀釋す		
生 乳	1.05	1.00	1.00	0.29	63° 30分 { 試験管加熱 壘装加熱	0.65	0.50	0.76	0.14
						0.60	0.60	1.00	0.17
55° 30分 { 試験管加熱 壘装加熱	1.10	1.40	1.27	0.41	64° 30分 { 試験管加熱 壘装加熱	0.25	0.25	1.00	0.07
	1.25	1.40	1.10	0.41		0.25	0.25	1.00	0.07
60° 30分 { 試験管加熱 壘装加熱	1.27	1.30	1.00	0.37	65° 30分 { 試験管加熱 壘装加熱	0.10	0.05	1.00	—
	12.0	1.00	0.80	0.29		0.10	0.05	1.00	—

第6表 ホルスタイン種混合乳 試験時期 9月16日 脂肪含量 3.2%

検乳の種類	ラーム層		A値	C値	検乳の種類	ラーム層		A値	C値
	稀釋せず	稀釋す				稀釋せず	稀釋す		
生 乳	1.15	1.54	1.33	0.48	63° 30分 { 試験管加熱 壘装加熱	0.70	0.80	1.14	0.25
						0.70	0.80	1.14	0.25
50° 30分 { 試験管加熱 壘装加熱	1.15	1.54	1.33	0.48	64° 30分 { 試験管加熱 壘装加熱	0.30	0.30	1.00	0.09
	1.10	1.50	1.36	0.47		0.30	0.30	1.00	0.09
55° 30分 { 試験管加熱 壘装加熱	1.10	1.60	1.45	0.50	65° 30分 { 試験管加熱 壘装加熱	0.10	0.05	0.50	—
	1.10	1.50	1.36	0.47		0.10	0.05	0.50	—
60° 30分 { 試験管加熱 壘装加熱	1.10	1.50	1.36	0.47					
	1.10	1.40	1.27	0.44					

前記第5及第6表の試験成績を見るに試験管加熱のものゝ壘装加熱のものとの形成するラーム層は殆ど同一にして所要温度に達する迄に加熱せらるる時間の多寡に依りて殆ど影響せられざることを認めたり尙ほ 64° にて30分間加熱するときは其ラーム層は 63° 30分間加熱せるものの約2分の1に相當するものなることを驗知せり。

D 冷蔵箱貯藏乳に對する試験

ゼンセン氏の報告に依れば検乳を冷蔵するときは脂肪球凝縮してラームの形成不良となるを以て一旦 50° にて5分間加温したる後再び 15° 迄冷却し試験すべきことを述べられたり。小官等は前記第5表に於て試験せる壘装加熱乳の殘餘を取りて電氣冷

第 7 表

検乳の種類	攝氏約 1~5° にて 24 時間冷蔵後直接試験せるもの				攝氏約 1~5° にて 24 時間冷蔵後 50° にて 5 分間加温せるもの			
	ラーム層				ラーム層			
	稀釋せず	稀釋す	A 値	C 値	稀釋せず	稀釋す	A 値	C 値
生 乳	1.05	1.1	1.04	0.34	1.15	1.1	0.95	0.34
55° 30分 壘装加熱乳	1.00	1.20	1.20	0.38	1.25	1.40	1.12	0.44
60° 30分 壘装加熱乳	0.85	0.70	0.82	0.22	1.10	0.80	0.72	0.25
63° 30分 壘装加熱乳	0.20	0.30	1.50	0.09	0.65	0.50	0.76	0.15
65° 30分 壘装加熱乳	0.05	痕跡	—	—	痕跡	痕跡	—	—

藏箱中に於て攝氏約 $1\sim 5^{\circ}$ にて24時間貯藏せる後直に 15° としたるものと 50° にて5分間加温せる後 15° と爲したるものとの兩者に就き其ラーム層を試験せるに前記第7表の成績を示せり。

前記試験成績に依れば檢乳を攝氏約 $1^{\circ}\sim 5^{\circ}$ の冷蔵箱中に24時間冷蔵するときは生乳に在りてはラーム層の分離に著しき變化を及ぼさざるも 60° 以上に加熱せる牛乳に在りてはラーム層の分離著しく不良となり 63° 30分加熱乳に在りては冷蔵前の檢乳の約3分の1に減少するに之を 50° にて5分間加温するときは著しく良好となり冷蔵前と略々同一のラーム層を分離せり。

E 再加熱乳に對する試験

低温殺菌は新鮮なる乳汁に對して行ふべきものなるも往々にして一旦加熱せる乳汁を其儘又は之を生乳に混じて再加熱を行ふこと無きを保し難きを以て次の如き種々なる場合を想像し之に就き試験を施行せり。

(イ) 63° 30分加熱乳を24時間冷蔵の後同温度にて

同時間再加熱せる場合に於けるラーム試験

63° にて30分間加熱乳に就き豫め其ラーム層を検し之を攝氏約 $1^{\circ}\sim 5^{\circ}$ の冷蔵箱中に24時間貯藏したる後再び 63° にて30分間加熱せるもののラーム層を試験せるに其成績次の如し。

第 8 表

檢乳の種類	脂肪 (%)	63° 30分加熱乳				63° 30分加熱乳を24時間冷蔵後同温度にて同時間再加熱す			
		ラーム層				ラーム層			
		稀釋せず	稀釋す	A値	C値	稀釋せず	稀釋す	A値	C値
ホルスタイン乳壘裝加熱	2.9	0.60	0.50	0.83	0.17	0.05	0.05	1.00	0.02
ホルスタイン乳壘裝加熱	3.5	0.60	0.50	0.83	0.14	0.10	0.05	0.50	0.01
ホルスタイン乳壘裝加熱	3.2	0.70	0.50	0.70	0.16	0.05	0.05	1.00	0.02
ゼルシー乳壘裝加熱	3.6	0.85	0.60	0.70	0.17	0.05	0.05	1.00	0.01
ホルスタイン乳壘裝加熱	3.2	0.70	0.80	1.14	0.25	0.15	0.10	0.67	0.03
ホルスタイン乳プラント滅菌	3.2	0.90	1.00	1.11	0.31	0.10	0.05	0.50	0.02
ホルスタイン乳プラント滅菌	3.2	0.80	0.90	1.12	0.28	0.10	0.05	0.50	0.02
ホルスタイン乳プラント滅菌	3.2	0.45	0.30	0.66	0.09	0.05	0.05	1.00	0.02
ホルスタイン乳プラント滅菌	3.0	0.25	0.30	1.20	0.10	0.10	0.05	0.50	0.02
ホルスタイン乳プラント滅菌	3.0	0.25	0.30	1.20	0.10	0.05	0.05	1.00	0.02

前記試験成績を看れば 63° 30分加熱乳を24時間冷蔵せる後再加熱せる牛乳は其

ラーム層の分離著しく不良にして前記10例中稀釋せざる場合 0.15を示せるものは單に1例に過ぎず他は孰れも 0.1~0.05 にして、水にて稀釋せるものは1例のみ 0.1を示せるのみにして爾他のものは孰れも 0.05に過ぎずして正規の方法に従ひて滅菌せる牛乳と明に識別し得たり。

(ロ) 生乳に 63° 30分加熱せる牛乳を種々なる割合に

混合し之を再加熱せる場合に於けるラーム試験

生乳及之を 63° にて30分間加熱せるものの形成するラーム層を測定し次に生乳に對し 63° 30分加熱乳を滅菌直後に於て夫々 20, 40, 50, 60 及 80 % の割合に混合したるものと之等の混合乳を 63° にて30分間再加熱せるものによつて生ずるラーム層を夫々試験し次の成績を得たり。

第 9 表

檢乳の種類	脂肪量 (%)	再加熱前ラーム層		A値	C値	再加熱後ラーム層		A値	C値
		稀釋せず	稀釋す			稀釋せず	稀釋す		
生乳	3.4	1.15	1.10	0.95	0.32	—	—	—	—
63° 30分壘裝加熱乳	”	0.65	0.50	0.77	0.15	—	—	—	—
生乳に前記加熱乳20%を加ふ	”	1.10	1.00	0.91	0.29	0.20	0.20	1.00	0.06
生乳に前記加熱乳40%を加ふ	”	0.90	0.80	0.88	0.23	0.07	0.05	0.70	0.01
生乳に前記加熱乳50%を加ふ	”	0.80	0.75	0.93	0.22	0.05	痕跡	—	—
生乳に前記加熱乳60%を加ふ	”	0.75	0.70	0.93	0.21	0.05	痕跡	—	—
生乳に前記加熱乳80%を加ふ	”	0.70	0.65	0.93	0.19	痕跡	痕跡	—	—

前記試験成績に示すが如く生乳に 63° 30分加熱乳を各種の割合に混合するときは其混合の割合に比例してラーム層を減少し之等の混合乳を夫々再加熱するときは 63° 30分加熱乳 20 % を混じり再加熱せるものは其ラーム層稀釋前後のものは孰れも 0.2を示せるも 40 % を混じたるものは稀釋せざるものは 0.07, 稀釋せるものは 0.05 に減じ 50 % 以上を混じり再加熱せるものは僅に 0.05 か又は殆どラーム層を分離せざるに到るを以て正規の方法に従ひて滅菌せる牛乳と明に識別し得べきことを認めたり。

尙ほ前記試験成績は 63° 30分加熱乳を滅菌直後に於て生乳に混合し之を再加熱せるものなるも通例市場に試ける再加熱の場合を考ふるに斯の如き例は稀にして滅菌乳を一定時間貯藏せる後混合するものと思考せらる然るに低温滅菌乳は一般に之を貯藏するときは漸次ラーム層を減少する傾向あるを以て之を生乳と混合し再加熱せる場合

は前記成績に於けるよりも一層ラーム層の形成を不良ならしむることは想像に難からざるところなり。

(ハ) 生乳に煮沸乳を種々なる割合に混合し之を再加熱せる場合に

於けるラーム試験

生乳及煮沸乳の形成するラーム層を測定し次に生乳に對し煮沸乳を夫々(ロ)の試験に於けるが如く混合したるものと夫等の混合乳を63°にて30分間再加熱せるものによつて生ずるラーム層を夫々試験し次の成績を得たり。

第 10 表

検乳の種類	脂肪量 (%)	再加熱前ラーム層		A値	C値	再加熱後ラーム層		A値	C値
		稀釋せず	稀釋す			稀釋せず	稀釋す		
生乳	3.4	1.15	1.10	0.95	0.32	—	—	—	—
煮沸乳	..	痕跡	痕跡	—	—	—	—	—	—
生乳に前記煮沸乳20%を加ふ	..	1.00	0.60	0.60	0.17	0.20	0.20	1.00	0.06
生乳に前記煮沸乳40%を加ふ	..	0.60	0.30	0.50	0.08	0.07	痕跡	—	—
生乳に前記煮沸乳50%を加ふ	..	0.50	0.20	0.40	0.06	0.05	痕跡	—	—
生乳に前記煮沸乳60%を加ふ	..	0.20	0.10	0.50	0.03	痕跡	痕跡	—	—
生乳に前記煮沸乳80%を加ふ	..	0.05	痕跡	—	—	痕跡	痕跡	—	—

前記試験成績に示すが如く生乳に煮沸乳を各種の割合に混合するときは其混合の割合に比例してラーム層を減少し之等の混合乳を夫々再加熱するときは生乳に煮沸乳を20%混じたるもののみ稀釋前後に於てラーム層0.2を示すも40%以上混合せるものは其ラーム層極めて僅微にして正規の方法に従ひて滅菌せる牛乳と明に識別し得たり。

F ミルクプラント滅菌装置を用ひて處理せる牛乳に就きて施行せる試験

現時ミルクプラントにて使用する滅菌装置には種々なる型式ありて一定せざれども牛乳を攪拌しつつ直接蒸氣を通じ又は周圍の湯浴を加温して之を温め63°に達するに及び蒸氣の通入を調節して63°にて30分間加熱し然る後蒸氣の代りに冷水を通じて攝氏約50°に冷却し更に冷却装置により冷却しつつ壘装するものなり。而して壘装し終る迄の時間は滅菌装置の大小等によりて一樣ならざるも通例1~2時間を要す又生乳を滅菌装置に移してより正に63°に加温せらるる迄の時間は多數のミルクプラントに就て調査したる結果其間多少の相違あるも通例蒸氣通入後15~20分にして所要の温度に達するものにして恰も小官等の實驗室に於て壘装加熱せる検乳に略々一致す。

前記多數の實驗成績に徴するに生乳を實驗室に於て一定溫度に於て加熱するとき其生起するラーム層は $50^{\circ}\sim 60^{\circ}$ に於ては最も良好にして往々にして生乳を凌駕することあるも 63° 30分加熱乳に在りては其ラーム層生乳の約2分の1即ち水にて稀釋せざるものも又稀釋せるものも共に $0.6\sim 0.7$ A 値は 10.0 前後、C 値は $0.1\sim 0.2$ なるを以て生乳若くは 60° 以下にて30分間加熱せる牛乳と明に識別し得べく 64° 30分加熱乳に在りては 63° 30分加熱乳によりて生起せらるるラーム層の約2分の1に減するを以て識別益々容易にして遂に 65° 30分加熱乳に在りては殆どラーム層を生起せざるに到るべし。次に加熱時間に對する關係を見るに 60° 迄は10分より1時間に到る各加熱時間の延長に伴ひて著しき變化を示さざるも 63° 以上にては急劇なる變化を示し 63° にて1時間加熱するときは同溫度にて10分間加熱せるものの示すラーム層の約2分の1に減するものなることを認めたり。

以上の實驗成績は孰れも實驗室内に於て正確なる驗溫器を使用し周到なる注意のもとに施行せる成績なるが故に此の標準を以て市販低溫滅菌乳を律するは少しく酷に過ぐべし。今實地にミルクプラントに於て大規模に滅菌する場合は斯の如き正確なる方法は期待し得ざるものにして 63° を中心として其前後に多少の溫度の開きを生ずるは之を認めざるべからず。然るに 63° より 65° に至る僅に2度の溫度はラーム層に對して著しき影響を及ぼすものなるを以て實地にミルクプラントの滅菌装置を用ひて滅菌せる場合には如何なる程度迄の正確度を維持し得るものなるやを實驗し然る後市販低溫滅菌乳に對する許容標準を定むることの必要を認めたり。

小官等は此の見地に基き市内二三ミルクプラント當事者の好意に依り實地に夫等プラントに於ける滅菌装置を利用し加溫せる檢乳に就き試験を施行し次の成績を得たり

(イ) S ミルクプラント滅菌装置を用ひて加熱せる牛乳に就きて

施行せる試験

本滅菌装置は縦型式約2石入のものにして蒸氣を通じてより約15分にして所要溫度に達す其試験成績次の如し。

第11表 ホルスタイン種混合乳

試験時期 9月9~10日 滅菌に供せる牛乳量 約2石 脂肪含量 3.2%

検乳の種類	加熱處理直後		A値	C値	24時間冷蔵後 50° 5分加熱		A値	C値
	ラーム層				ラーム層			
	稀釋せず	稀釋す	稀釋せず	稀釋す	稀釋せず	稀釋す		
1. 生乳	1.10	1.70	1.54	0.56	1.00	1.40	1.40	0.43
2. 63° 30分試験管加熱	0.77	0.80	1.04	0.25	0.70	0.80	1.14	0.25
3. 63° 30分壘装加熱	0.70	0.80	1.14	0.25	0.65	0.50	0.77	0.15
4. プラント滅菌63°直後	1.07	1.90	1.77	0.59	0.85	1.30	1.52	0.40
5. プラント滅菌63°10分後	1.05	1.50	1.42	0.46	0.70	0.90	1.28	0.28
6. プラント滅菌63°20分後	1.00	1.10	1.10	0.34	0.70	0.70	1.00	0.21
7. プラント滅菌63°30分後	0.90	1.00	1.11	0.31	0.50	0.40	0.80	0.12
8. プラント滅菌冷却壘装最初のもの	0.80	0.90	1.12	0.28	0.50	0.40	0.80	0.12
9. プラント滅菌壘装着手10分後	0.75	0.90	1.20	0.28	0.50	0.40	0.80	0.12
10. プラント滅菌壘装着手30分後	0.75	0.90	1.20	0.28	0.45	0.40	0.88	0.12
11. プラント滅菌壘装着手1時間(最終)のもの	0.70	0.80	1.14	0.25	0.40	0.30	0.75	0.09

前記試験成績中1,2及3は對照としてプラント滅菌試験に供せると同一生乳竝實驗室に於て施行せる63°30分試験管及壘装加熱乳を示し4は乳温正に63°に達したるとき之を分取し5,6及7は63°に達してより夫々10分,20分及30分經過後に於て分取せるものにして以上4種の檢乳は何れも滅菌装置の上部より分取せるものなり。8より11に到る4種のものは63°にて30分間加熱したる後蒸氣の通入を中止し冷水を以て冷却し尙ほ攪拌を續けつつ下部のパイプより冷却機を通し壘詰機によりて壘装せられたるものなり。即ち8は第1回目の壘装品に係はり9,10及11は壘装開始後10分,30分及1時間後のものにして壘装開始より終了に到る時間の經過に伴ひて漸次僅微にラーム層の減少を示せるも之を概括すれば稀釋せざる場合は0.8~0.7,稀釋せるものは0.9~0.8又A値は1.12~1.20,C値は0.28~0.25の範圍内にあるものなることを認めたり。

次に前記加熱乳を24時間冷蔵後50°にて5分間加熱せるものを試験せるものに在りては生乳及實驗室に於て加熱せるものは,僅微にラーム層の減少を示せるのみなるもプラント滅菌乳に在りては著しくラーム層の減少を示し壘装開始後に分取せる4種のものは之を概括すれば稀釋せざるもの示すラーム層は0.5~0.4稀釋せるものは0.4~0.3又A値は0.88~0.75,C値は0.12~0.09の範圍内に在るものなることを認めたり。尙ほ更に日を異にして滅菌せる牛乳に就き施行せる試験成績を示せば次の如し。

第12表 ホルスタイン種混合乳

試験時期 9月12日~13日 滅菌に供せる牛乳量 約1石 脂肪含量 3.2%

検乳の種類	加熱処理直後		A値	C値	24時間冷蔵後 50° 5分加温		A値	C値
	ラーム層				ラーム層			
	稀釋せず	稀釋す	稀釋せず	稀釋す				
1. 生乳	1.10	1.70	1.54	0.56	1.25	2.00	1.60	0.60
2. 63° 30分試験管加熱	0.75	0.80	1.06	0.25	0.65	0.60	0.92	0.19
3. 63° 30分壘装加熱	0.70	0.80	1.14	0.25	0.60	0.50	0.83	0.15
4. プラント滅菌63°直後	0.85	1.40	1.64	0.43	1.20	1.90	1.58	0.59
5. プラント滅菌63°10分後	0.80	0.80	1.00	0.25	0.85	0.80	0.94	0.25
6. プラント滅菌63°20分後	0.55	0.50	0.91	0.15	0.45	0.54	1.20	0.16
7. プラント滅菌63°30分後	0.45	0.30	0.67	0.09	0.40	0.30	0.75	0.09
8. プラント滅菌冷却壘装最初のもの	0.45	0.20	0.45	0.06	0.30	0.30	1.00	0.09
9. プラント滅菌壘装着手30分(最後)のもの	0.40	0.20	0.50	0.06	0.27	0.30	1.11	0.09

前記試験成績は前回と同一滅菌装置を用ひたるものなるも其仕込乳量は前回の約半量に減じたるを以て壘装開始後約30分にして終了せり、前記試験成績中壘装品のラーム量は之を概括すれば稀釋せざるものに於ては0.45~0.4, 稀釋せるものに於ては0.20又A値は0.45~0.5, C値は0.06を示し之を24時間冷蔵後試験せるものに於ては、稀釋せざるものは0.30~0.27稀釋せるものは0.3又A値は1.00~1.11, C値は0.09を示せり。斯の如く前回の成績に比してラーム層の減少を示せるは仕込量の約半減せるに對し蒸氣通入量の調節完全ならざりし爲めに前回に比して過度に加熱せられたるものと想像せらる。

(ロ) K ミルクプラント滅菌装置を用ひて加熱せる牛乳に就きて
施行せる試験

本滅菌装置は横型パーレル式約4石入のものにして之に50°に温めたる牛乳を詰め蒸氣を通じ周圍の湯浴を温むるときは約5分にして所要の温度に達す茲に於て蒸氣の通入を調節し30分間加熱したる後冷水にて冷却し乳温を約50°となし尙ほ攪拌を繼續しつつ冷却機を経て壘詰機に到り壘装せらるるものにして通例壘装開始より50分にして完了すと言ふ其試験成績第13表の如し。

後記試験成績中1,2及3は前回の試験に於けるが如く對照として生乳竝實驗室に於て加熱せる低温滅菌乳を示せるものなり。又4,5,6及7は乳温正に63°に達したる直後10分,20分及30分經過後に於て滅菌装置の上部より分取せるものなり。次に8,9

第13表 ホルスタイン種混合乳

試験時期 9月13日~14日 滅菌に供せる牛乳量 約3石 脂肪含量 3.0%

検乳の種類	加熱處理直後		A値	C値	24時間冷蔵後 50度5分加温		A値	C値
	ラーム層				ラーム層			
	稀釋せず	稀釋す			稀釋せず	稀釋す		
1. 生乳	1.10	1.80	1.64	0.60	1.00	1.60	1.60	0.53
2. 63° 30分試験管加熱	0.70	0.80	1.14	0.27	0.50	0.40	0.80	0.13
3. 63° 30分壘装加熱	0.70	0.80	1.14	0.27	0.45	0.40	0.89	0.13
4. プラント滅菌63°直後	0.90	0.94	1.04	0.31	0.70	0.80	1.14	0.27
5. プラント滅菌63°10分後	0.45	0.40	0.89	0.13	0.40	0.30	0.75	0.10
6. プラント滅菌63°20分後	0.25	0.30	1.20	0.10	0.25	0.30	1.20	0.10
7. プラント滅菌63°30分後	0.25	0.20	0.80	0.07	0.25	0.30	1.20	0.10
8. プラント滅菌冷却壘装最初のもの	0.25	0.20	0.80	0.07	0.20	0.15	0.75	0.05
9. プラント滅菌壘装着手25分後	0.25	0.20	0.80	0.07	0.20	0.15	0.75	0.05
10. プラント滅菌壘装着手50分(最終)のもの	0.25	0.20	0.80	0.07	0.20	0.15	0.75	0.05

及10は63°にて30分間加熱せる後蒸氣の通入を中止し冷水にて約50°に冷却し攪拌を繼續しつつパイプにて冷却機を通じ壘詰機に到り壘装せられたるものより最初、中間及最終壘詰品を夫々分取せるものなり。前記試験成績を通覽するにプラント滅菌乳は實驗室滅菌乳に比して其ラーム層著しく少く今壘詰品3種のラーム層を概括すれば稀釋せざるものに於ては0.25, 稀釋せるものに於ては0.2又A値は0.8 C値は0.07を示し之を24時間冷蔵後試験せるものに於ては稀釋せざるものは0.2, 稀釋せるもの

第14表 ホルスタイン種混合乳

試験時期 9月14~15日 滅菌に供せる牛乳量 約3石 脂肪含量 3.2%

検乳の種類	加熱處理直後		A値	C値	24時間冷蔵後 50度5分加温		A値	C値
	ラーム層				ラーム層			
	稀釋せず	稀釋す			稀釋せず	稀釋す		
1. 生乳	0.90	1.30	1.44	0.40	0.90	1.10	1.33	0.34
2. 63° 30分試験管加熱	0.60	0.65	1.08	0.20	0.40	0.40	1.00	0.12
3. 63° 30分壘装加熱	0.65	0.65	1.00	0.20	0.45	0.40	0.88	0.12
4. プラント滅菌63°直後	0.77	0.90	1.17	0.28	0.80	0.90	1.12	0.28
5. プラント滅菌63°10分後	0.40	0.30	0.75	0.09	0.30	0.20	0.66	0.09
6. プラント滅菌63°20分後	0.25	0.20	0.80	0.06	0.20	0.15	0.75	0.04
7. プラント滅菌63°30分後	0.25	0.15	0.60	0.04	0.20	0.15	0.75	0.04
8. プラント滅菌冷却壘装最初のもの	0.25	0.15	0.60	0.04	0.20	0.20	1.00	0.06
9. プラント滅菌壘装着手25分後	0.25	0.15	0.60	0.04	0.20	0.20	1.00	0.06
10. プラント滅菌壘装着手50分(最終)のもの	0.20	0.10	0.50	0.03	0.20	0.20	1.00	0.06

は 0.15 又 A 値は 0.75, C 値は 0.05 を示せり。斯の如く供試乳は實驗室加熱乳に比して著しき低きラーム層を示せるは 63° 以上恐らく 64° 附近にて熱せられたものなることを想像し得べし。尙ほ更に日を異にして殺菌せる牛乳に就きて施行せる試験成績を示せば前記第 14 表の如し。

前記第 14 表の試験成績は第 13 表と略同一にしてプラント滅菌乳は實驗室滅菌乳に比して著しく低きラーム層を示し 64° 附近の温度にて加熱せられたるものなることを認めたり。

(ハ) 小兒均等牛乳に就きて施行せる試験

小兒均等牛乳は生乳を約 50° に加温したる後均等機によりて處理し直ちに低温滅菌装置によりて 63° にて 30 分間加熱し之を 50° に冷却し冷却機を通じ壘詰機にて壘装するものなりと言ふ。

小官等は滅菌直前の均等乳に就き試験せんと希望せるも之が分譲を得ること不可能なりしを以て滅菌直後、其中間及最終の壘詰品に就き試験せり。其成績次の如し。

第 15 表 ホルスタイン混合乳

試験時期 9 月 7 日 脂肪含量 3.3 %

検乳の種類	ラーム層		A 値	C 値
	稀釋せず	稀釋す		
63° 30分壘装直後のもの	0.05	痕跡	—	—
壘装着手50分後のもの	0.05	痕跡	—	—
壘装着手最終(1時間40分)のもの	0.05	痕跡	—	—

第 16 表 ホルスタイン混合乳

試験時期 9 月 14 日 脂肪含量 3.0 %

検乳の種類	ラーム層		A 値	C 値
	稀釋せず	稀釋す		
63° 30分壘装直後のもの	0.05	痕跡	—	—
壘装着手58分後のもの	0.05	痕跡	—	—
壘装着手最終(1時間40分)後のもの	0.05	痕跡	—	—

前記第 15 及 16 表の成績に示すが如く生乳を均等機にかけて乳球を破壊せる均等乳に在りては殆どラーム層を分離することなし之はゼンセン氏の成績と一致するところにして斯の如き牛乳は本試験法によりて判定し得べき範囲外に屬する特種加工牛乳に編入すべきものなることを認めたり。

4. 東京市乳の加熱度試験成績

上記試験法に従ひ東京市内の販賣乳に就き調査せる成績次の如し。

検 體 番 號	購 入 日 時 間 (昭和7年)	施 封 状 況	酸 度	脂 肪	ス ト リ 反 應	ラ ー ム 層 (50 分 加 温)				推 定 加 熱 温 度	購 入 場 所	檢 面 の 記 載 主 要 事 項
						稀 釋 ぜ ず	稀 釋 す	A 値	C 値			
1	9月20日(火) 午前9~10時	王冠コルク(經木)	5.8	3.5	+	0.25	0.20	0.08	0.06	63°~64°	本所區某A ミルクプラント	同所滅菌(全乳火曜)
2	9月20日(火) 午前9~10時	廣口瓶(紙 栓)	6.6	3.3	+	0.30	0.25	0.83	0.08	63°~64°	本所區某B ミルクプラント	同所滅菌(全乳火曜)
3	9月20日(火) 午前10~11時	王冠コルク(經木)	6.6	3.0	+	1.00	1.00	1.00	0.33	60°前後	日本橋區某C ミルクプラント	同所滅菌(全乳火曜)
4	9月20日(火) 午前10~11時	王冠コルク(經木)	6.4	3.1	+	0.60	0.60	1.00	0.19	63°	赤坂區某D ミルクプラント	同所滅菌(全乳火曜)
5	9月20日(火) 午前11~12時	王冠コルク(經木)	6.3	3.1	+	0.30	0.30	1.00	0.09	63°~64°	赤坂區某E ミルクプラント	同所滅菌(全乳火曜)
6	9月20日(火) 午前11~12時	王冠コルク(經木)	6.0	3.1	+	0.20	0.15	0.75	0.05	63°~64°	麴町區某F ミルクプラント	同所滅菌(全乳火曜)
7	9月20日(火) 午前11~12時	王冠コルク(經木)	6.5	2.9	+	0.40	0.30	0.75	0.10	63°~64°	下谷區某G ミルクプラント	同所滅菌(全乳火曜)
8	9月20日(火) 午前11~12時	王冠コルク(經木)	6.4	3.5	+	0.45	0.40	0.90	0.11	63°強	淺草區某H ミルクプラント	同所滅菌(全乳火曜)
9	9月22日(木) 午前9~10時	王冠コルク(經木)	6.2	3.3	+	0.55	0.50	0.90	0.15	63°	板橋區某I ミルクプラント	同所滅菌(全乳火曜)
10	9月26日(月) 午前9~10時	王冠コルク(經木)	6.8	3.1	+	0.05	0.05	1.00	0.02	65°強	芝區某J ミルクプラント	同所滅菌(全乳月曜)
11	9月26日(月) 午前9~10時	王冠コルク(經木)	6.5	3.1	+	0.25	0.20	0.80	0.06	63°~64°	芝區某K ミルクホール	芝區某K ミルクプラント滅菌(全乳月曜)
12	9月26日(月) 午前9~10時	王冠コルク(經木)	6.2	3.0	+	0.65	0.55	0.84	0.18	63°	芝區某L ミルクホール	芝區某L ミルクプラント滅菌(全乳月曜)
13	9月26日(月) 午前10~11時	王冠コルク(經木)	5.8	3.0	+	0.10	0.10	1.00	0.03	64°~65°	芝區某M ミルクプラント	同所滅菌(全乳月曜)
14	9月26日(月) 午前10~11時	王冠コルク(經木)	5.6	3.0	+	0.05	痕跡	—	—	65°~66°	芝區某N ミルクプラント	同所滅菌(全乳月曜)
15	9月26日(月) 午前10~11時	王冠コルク(經木)	6.3	2.9	+	0.05	0.05	1.00	0.02	65°強	芝區某O ミルクプラント	同所滅菌(全乳月曜)
16	9月26日(月) 午前11~12時	王冠コルク(經木)	6.0	3.1	+	0.90	0.80	0.88	0.26	63°弱	麻布區某P ミルクプラント	同所滅菌(全乳月曜)
17	9月26日(月) 午前11~12時	王冠コルク(經木)	6.5	3.2	+	0.67	0.50	0.74	0.15	63°	麻布區某Q ミルクプラント	同所滅菌(全乳月曜)
18	9月26日(月) 午前11~12時	王冠コルク(經木)	6.4	3.3	+	0.05	0.05	1.00	0.02	65°強	神田區某R ミルクプラント	同所滅菌(全乳月曜)
19	9月29日(木) 午前9~10時	王冠コルク(經木)	6.5	3.3	+	0.85	0.70	0.82	0.21	63°弱	深川區某S ミルクプラント	同所滅菌(全乳木曜)
20	9月29日(木) 午前9~10時	王冠コルク(經木)	6.4	3.0	+	0.15	0.14	0.93	0.05	64°前後	深川區某T 喫茶店	江戸川區某T ミルクプラント滅菌(全乳木曜)
21	9月29日(木) 午前10~11時	王冠コルク(經木)	5.6	3.0	+	0.50	0.70	1.40	0.23	63°	本所區某U ミルクプラント	同所滅菌(全乳木曜)
22	9月29日(木) 午前10~11時	王冠コルク(經木)	7.0	3.4	+	0.65	0.70	1.01	0.21	63°	深川區某V ミルクプラント	同所滅菌(全乳木曜)
23	9月29日(木) 午前11~12時	王冠コルク(經木)	6.4	3.1	+	0.05	0.05	1.00	0.02	65°強	本所區某W ミルクプラント	同所滅菌(全乳木曜)
24	9月29日(木) 午前11~12時	王冠コルク(經木)	6.8	3.2	-	痕跡	痕跡	—	—	80°以上	本所區某X ミルクプラント	同所滅菌(全乳木曜)
25	9月29日(木) 午前11~12時	王冠コルク(經木)	6.4	3.3	+	0.57	0.05	0.87	0.15	63°	日本橋區某Y 喫茶店	某V ミルクプラント滅菌乳(全乳木曜)
26	9月29日(木) 午前11~12時	王冠コルク(經木)	6.8	3.2	+	0.75	0.80	1.06	0.25	63°弱	淺草區某C ミルクホール	某C ミルクプラント滅菌乳(全乳木曜)

検体 番 號	購入月日 時 間 (昭和7年)	施栓状況	酸 度	脂 肪	ス ト リ 反 應	ラーム層(50° 5分加温)				推定加 熱温度	購入場所	栓面の記載 主 要 事 項
						稀釋 せず	稀釋 す	A値	C値			
27	9月29日(木) 午前10~11時	王冠コルク(經木)	6.5	3.3	+	0.15	0.10	0.66	0.03	64°前後	淀橋區食 堂	本郷區某Yミルクプラ ント滅菌乳(全乳 木曜)
28	9月29日(木) 午前10~11時	王冠コルク(經木)	6.4	3.3	+	0.05	0.05	1.00	0.02	65°強	淀橋區 喫茶店	某Eミルクプラント 滅菌乳(全乳木曜)
29	9月29日(木) 午前10~11時	王冠コルク(經木)	6.6	3.4	+	0.35	0.30	0.86	0.09	63°~64°	牛込區 牛乳店	某Cミルクプラント 滅菌乳(全乳木曜)
30	9月29日(木) 午前11~12時	王冠コルク(經木)	6.6	3.4	+	0.25	0.10	0.40	0.03	63°~64°	牛込區 某ミルクホール	小石川區某Zミルク プラント滅菌乳(全 乳木曜)
31	9月29日(木) 午前11~12時	王冠コルク(經木)	5.8	3.2	+	0.20	0.14	0.70	0.04	63°~64°	淺草區 喫茶店	某Aミルクプラント 滅菌乳(全乳木曜)
32	9月29日(木) 午前11~12時	廣口瓶 (紙栓)	6.0	3.1	+	0.05	0.05	1.00	0.02	65°強	足立區 牛乳店	某Bミルクプラント 滅菌乳(全乳木曜)
33	9月29日(木) 午前11~12時	王冠コルク(經木)	6.8	3.1	+	0.05	痕跡	—	—	65°~66°	足立區 喫茶店	プラント不明 (全乳木曜)
34	9月29日(木) 午前11~12時	王冠コルク(經木)	6.8	3.1	+	0.45	0.30	0.66	0.09	63°強	淺草區 喫茶店	プラント不明 (全乳木曜)

上記試験成績に就き推定加熱温度を基礎とし之を總括し其ラーム層並 A 値及 C 値を比較し其平均數を算出すれば次の如し。

第 18 表

推定加熱温度	検体 番 號	ラーム層				推定加熱温度	検体 番 號	ラーム層				
		稀釋 せず	稀釋 す	A値	C値			稀釋 せず	稀釋 す	A値	C値	
63° 加熱乳と認 むべきもの	4	0.60	0.60	1.00	0.19	64° 強加熱乳と 認むべきもの	29	0.25	0.30	0.86	0.09	
	9	0.55	0.50	0.90	0.15		30	0.25	0.10	0.40	0.03	
	12	0.65	0.55	0.84	0.18		31	0.20	0.14	0.70	0.04	
	17	0.67	0.50	0.74	0.15		平均	0.28	0.21	0.76	0.07	
	21	0.50	0.70	1.40	0.23		20	0.15	0.14	0.93	0.05	
	22	0.65	0.70	1.01	0.21		27	0.15	0.10	0.66	0.03	
	25	0.57	0.50	0.87	0.15		平均	0.15	0.12	0.70	0.04	
平均	0.60	0.57	0.97	0.18	64°~65°加熱乳と 認むべきもの	13	0.10	0.10	1.00	0.03		
63° 強加熱乳と 認むべきもの	8	0.45	0.40	0.90		0.11	10	0.05	0.05	1.00	0.02	
	34	0.45	0.30	0.66		0.09	15	0.05	0.05	1.00	0.02	
	平均	0.45	0.35	0.78		0.10	18	0.05	0.05	1.00	0.02	
63° 弱加熱乳と 認むべきもの	16	0.90	0.80	0.88	0.26	65° 加熱乳と認 むべきもの	23	0.05	0.05	1.00	0.02	
	19	0.85	0.70	0.82	0.21		28	0.50	0.05	1.00	0.02	
	26	0.75	0.80	1.06	0.25		32	0.05	0.05	1.00	0.02	
	平均	0.83	0.77	0.92	0.24		平均	0.05	0.05	1.00	0.02	
63°~64°加熱乳 と認むべきもの	1	0.25	0.20	0.80	0.06	65°~66°加熱乳と 認むべきもの	14	0.05	痕跡	—	—	
	2	0.30	0.25	0.83	0.08		33	0.05	痕跡	—	—	
	5	0.30	0.30	1.00	0.09		平均	0.05	痕跡	—	—	
	6	0.20	0.15	0.75	0.05	80° 以上加熱乳と 認むべきもの	24	痕跡	痕跡	—	—	
	7	0.40	0.30	0.75	0.10		60° 前後加熱乳と 認むべきもの	3	1.00	1.00	1.00	0.33
	11	0.25	0.20	0.80	0.06							

前記試験成績を通覽するに東京市内販賣乳 34 種中 63° 加熱乳と認むべきものは 4, 9, 12, 17, 21, 22 及 25 號の 7 種にして其ラーム層は平均稀釋せざるものは 0.60 稀釋せるものは 0.57 又 A 値は 0.97, C 値は 0.18 を示し 63° 強の加熱乳と認むべきものは 8 及 34 號の 2 種にして其ラーム層は平均稀釋せざるもの 0.45, 稀釋せるもの 0.35 又 A 値は 0.78, C 値は 0.10 を示せり. 次に 63° 弱加熱乳と認むべきものは 16, 19 及 26 號の 3 種にして其ラーム層は平均稀釋せざるもの 0.83, 稀釋せるもの 0.77 又 A 値は 0.92, C 値は 0.24 を示せり. 但しこの 3 種の檢乳は前記 63° 加熱乳に比して極めて僅にラーム層多きのみにして略 63° 加熱乳と見倣して大過無きものに屬す 63°~64° 加熱乳と認むべきものは 1, 2, 5, 6, 7, 11, 29, 30 及 31 號の 9 種にして其ラーム層は平均稀釋せざるもの 0.28, 稀釋せるもの 0.21 又 A 値は 0.76, C 値は 0.07 を示し, 64° 強の加熱乳と認むべきものは 20 及 27 號の 2 種にして其ラーム層は平均稀釋せざるもの 0.15, 稀釋せるもの 0.12 又 A 値は 0.70, C 値は 0.04 を示し 64°~65° 加熱乳と認むべきものは僅に 13 號 1 種のみにして其ラーム層は稀釋せざるもの, 稀釋せるもの共に 0.1 にして A 値は 1.0, C 値は 0.03 を示し 65° 強加熱乳と認むべきものは 10, 15, 18, 23, 28 及 32 號の 6 種にして其ラーム層は平均稀釋せざるもの稀釋せるもの共に 0.05 にして A 値は 1.00, C 値は 0.02 を示せり. 次に 65°~66° 加熱乳と認むべきものは 14 及 33 號の兩種にして其ラーム層は共に稀釋せざるもの 0.05 にして稀釋せるものは殆ど之を形成せざりき. 又ストリヒ氏反應陰性にして殆どラーム層を形成せず 80° 以上の高温加熱乳と認むべきものは 24 號 1 種にして, 3 號は其ラーム層稍過大にして 60° 又は夫れ以下の加熱乳と認むべきものなるもこの檢乳と同一配給所より配達せられたりと見倣すべきものにして更に日を異にして某ミルクホール並某牛乳店より購入せる 26 及 29 號の兩種に就きて試験せるに前者は 63° 弱加熱乳に相當し後者は 63°~64° の加熱乳と判定せられたり. 今之等の試験成績を通覽するに 63° 以上 65° 以下の範圍内に入るべきもの即ち 63°, 63° 弱, 63° 強, 63~64°, 64° 強, 64°~65° 以内の加熱乳と認むべきものは 34 種中 24 種にして總數の約 70% に相當し 60° 未滿の加熱乳と認むべきものは僅に 1 種にしてこのものも再度の試験に於ては 63°~64° の加熱乳たることを認め得たるを以て眞に 65° 以上若くは再

加熱乳の疑あるものは9種にして總數に對して26.47%に相當せり。

前記試験成績に示すが如く小官等の實驗に基く判定標準を應用するときは市販低温滅菌乳の加熱状態を稍正確に推定し得べし。又第1回報告に於ては市販乳に就きて施行せる成績に就き單に60°~65°加熱乳及65°~70°加熱乳80°以下及以上の加熱乳たることを推定し得たるに過ぎざるも今回の試験に於ては60°~65°に到る間の最も重要なる各溫度に於ける加熱度を比較的正確に試験し得たるを以て一段の進歩を示せることを認め得べく本試験法は酵素を以てする爾他の此種試験法に比して比較的簡便にして充分所期の目的を達成し得べき良法なりと信ずるものなり。

5. 總 括

叙上の試験によりて得たる成績中其要點を摘録すれば次の如し。

1, ゼンセン氏の報告に基きゲルベル氏のブチロメーターを代用して施行せるラーム試験成績は満足なる結果を示さざりしも同氏に模して小官等の考案せるラーム測定管は充分所期の目的を達し得べきものなることを認めたり。

2, ラーム層の測定に際し檢乳に對し適當なる著色を施さざるときは其境界線著しく不鮮明にして讀取困難なるを以て試薬添加を可と認め次でストリヒ氏及アルカリブライウ兩試薬添加量のラーム層に對する影響を検せるも殆ど之によつて影響せられざることを認め就中ストリヒ氏試薬は兼ねて80°以上の加熱乳たることを識別し得る便あるを以て之が使用は最も有利なるものと認めたり。

3, 滅菌溫度及時間のラーム層の形成に及ぼす影響を試験せるに生乳のラーム層は稀釋せざるものは約1.3~1.4にして平均1.35, 稀釋せるものは1.8~1.6にして平均1.7, 又A値は1.38~1.14にして平均1.26, C値は0.51~0.44にして平均0.48にして, 50°, 55°及60°加熱乳の如く60°以下にて加熱せるものは, 其ラーム層竝A及C値は略生乳と等しく63°にて10分, 20分, 30分加熱乳は孰れも略々63°30分加熱乳の示すラーム層即ち稀釋せざるもの0.6~0.8にして平均0.7, 稀釋せるものは0.6~1.0にして平均0.8, A値は1.0, C値は0.1~0.2にして平均0.15を示し63°30分以上, 40分, 50分と漸次加熱時間の延長に伴ひて益々ラーム層を減少し同溫度にて1時間加熱せるものは其ラーム層稀釋せざるもの0.4~0.45にして平均0.43, 稀釋せるも

のは 0.54~0.35 にして平均 0.45, A 値は 1.20~0.87 にして平均 1.04, C 値は 0.15~0.10 にして平均 0.13 を示すことを認めたり. 又 64° 30 分加熱乳は其ラーム層 63° 30 分加熱乳の約 2 分の 1 に減じ稀釋せざるもの及稀釋せるもの共に 0.25~0.38 にして A 値は 1.00, C 値は 0.07~0.09 を示すものなることを認めたり.

次に 65° 10 分加熱乳は略 63° 30 分加熱乳に匹敵し之を 20 分に延長するときはラーム層の形成不良となり加熱 30 分に及ぶときは殆ど之を形成せず又 68° 10 分加熱乳はラーム層の形成著しく不良にして 20 分以上の加熱乳は殆ど之を形成せず 70° にては 10 分以上, 80° にては 5 分以上煮沸せる場合は瞬間時の加熱にて殆どラーム層を形成せざるに到るものなることを認めたり. 次にゼンセン氏の報告に依ればゼルシー種乳牛より搾取せる乳汁は其脂肪球過大なるため満足なる成績を得られざることを報告せられたるところなるも小官等は僅に 1 種のゼルシー種乳牛より得たる乳汁に就きて試験せる成績に依れば他の乳汁と同様に試験し得るものなることを認めたり. 然れ共この點は他日多數の同種乳牛より得たる乳汁に就きて實驗するに非れば之を斷定する能はず.

4, 從來小官等の供試乳に對し施行せる加熱方法は市乳壺に驗溫器を挿入せる木栓を施し一定溫度の恆溫槽中に入れて所要時間加熱せるものなるもラーム層の試験に於ては極めて僅少の溫度も著しき影響を與ふるものなるを以て從來の如き方法に依りて加温するときは所要の溫度に達する迄相當の時間を要するを以て之れがラーム層の形成に影響すること無きや否やを検することの必要を認めたるを以て壺裝加熱法と試験管加熱法とを比較試験せり. 即ち壺裝加熱せるものは所要の溫度に達する迄 11~20 分を要するも試験管加熱のものは 2~4 分にて足ることを知りこの兩方法にて加熱せる乳汁に就きラーム層を試験せるも兩者殆ど同一にして加熱せられてより所要の溫度に達する迄の時間の相違によりラーム層は著しく影響せられざることを認めたり.

5, ゼンセン氏の報告に依れば檢乳を冷蔵するときは脂肪球凝縮してラーム層の形成不良となるを以て一旦 50° にて 5 分間加温したる後 15° に冷却し試験すべきことを述べられたり. 小官等は之を追試したるに同氏と全く同一の成績を示せり.

6, 夏季に於ける殘乳又は遠隔の地より運搬せらるる牛乳は其安全を期する目的を

以て再加熱操作を行ふことあるは屢々耳にするところなるを以て次の如き種々なる場合を假定して之に就き試験を施行せり。

(イ) 63° 30分加熱乳を 1°~5° の冷蔵箱中に 24 時間貯藏し更に之を 63° にて 30 分間加熱せるものはラーム層著しく減少し稀釋せざるものに在りては多くは 0.05~0.1 にして稀に 0.15 を示すものあり。稀釋せるものは 0.05 にして稀に 0.1 を示すものあり又 A 値は 0.50~1.00, C 値は 0.01~0.03 にして正規の方法に依りて滅菌せる牛乳と明に鑑別し得べきものなることを認めたり。

(ロ) 生乳に 63° 30分加熱乳を種々なる割合に混合し之を 24 時間 1°~5° の冷蔵箱中に貯藏し之を再び 63° にて 30 分間加熱せるものに就きラーム層を検せるに生乳に 63° 30分加熱乳を 20% 混合せるものは之を再加熱せる場合其ラーム層は稀釋せざるもの及び稀釋せるもの共に 0.2 にして, A 値は 1.00, C 値は 0.06 を示し同様に 40% を混合せるものは稀釋せざるもの 0.07, 稀釋せるもの 0.05 にして A 値は 0.70, C 値は 0.01 を示せるのみにして 50% 以上添加のものは殆どラーム層を形成せず爾他のものと明に識別し得べきことを認めたり。

(ハ) 生乳に煮沸乳を種々なる割合に混合し之を 24 時間 1°~5° の冷蔵箱中に貯藏したものを再加熱せるものに在りては煮沸乳を 20% 混合せるもののみ其ラーム層稀釋せざるもの及び稀釋せるもの共に 0.2 にして A 値は 1.00, C 値は 0.06 を示すも其他のものは孰れも殆どラーム層を形成せざることを認めたり。之を要するに 63° 30分加熱乳に對して再加熱せるものは完全に之を識別し得べく又生乳に對し 63° 30分加熱乳若くは煮沸乳を種々なる割合に混合して再加熱するときは生乳に對し 20% 混合せる場合は之を識別すること稍不確實なるも實際問題として斯くの如き少量の滅菌乳を混合して再加熱することは極めて稀有なるべきを以て普通一般に再加熱乳と稱せらるるものは明瞭に之を判別し得べきことを認めたり。

7, 前記各種の實驗に依りて實驗室に於て種々なる溫度に於て加熱せる場合に生起するラーム層に就き試験するときは其檢乳の加熱溫度を稍正確に之を識別し得たるもこの判定標準を市販乳に應用するに當り實際ミルクプラントにて大規模の裝置を用ひて滅菌するとき斯の如く精密なる溫度の調節を實行し得るや否や若し果して不可能な

りとせば現時警視廳令に依りて 63° 30 分間加熱を強要せらるる市販乳に對し直ちに前記の判定標準を適用することは嚴酷に過ぐる嫌あるべく茲に於て特定の標準を定め之に準據することの必要を認めたるを以て市内二三のミルクプラント當事者の好意に依り實地に其装置を用ひて滅菌せる乳汁に就き試験せる結果小官等の實驗室に於けると略同一なる成績を得んが爲めには極めて周到なる注意を必要とするものにして一般に過熱せらるる傾向を有しプラント滅菌乳は略 63° 以上 65° 未滿即ち其ラーム層は稀釋せざるものは 0.2~0.8, 稀釋せるものは 0.2~0.9, A 値は 0.5~1.5, C 値は 0.05~0.30 の範圍内に在るものにして、之を市販低温滅菌乳の判定標準として適用することの妥當なるべきを信せしめたり。又小兒均等牛乳はラーム層を形成せざるを以て特殊加工牛乳として取扱ふべきものなることを驗知せり。

8, 最後に前記ラーム試験法に従ひ東京市乳に就き其加熱溫度を検せるに可檢總數 34 種中 63° 以上 65° 未滿の加熱乳と認むべきものにして上記市販乳に對する低温滅菌乳の判定標準内に入るべきものは總計 24 種にして總數の約 70% に相當し 60° 未滿の加熱乳と認むべきものは僅に 1 種に過ぎず(同一配給所の檢乳にして日を異にして試験せるものは 63°~64° の加熱乳たることを示せり)眞に 65° 以上若くは再加熱乳の疑あるものは 9 種にして總數の 26.47% に相當せり。

前述の如く本ラーム試験法は 60° 以上 65° 未滿の間に於ける加熱溫度の變化を明確に判別し得るものにして此事實は低温滅菌乳の加熱溫度判定上最も重視すべき點にして本法は其操作極めて簡單にして殆ど何等特別の熟練を要すること無くも充分之を遂行し得べきを以て低温滅菌牛乳の衛生警察的取締上將又牛乳營業者が直接自己の製品の試験に應用して充分其効果を期待し得べき價值あるものと認む。

引用文獻

- | | |
|--|---|
| <ol style="list-style-type: none"> 1. P. Weinstein; Ztschr. f. Lebensm. 56, 457, 1928. 2. O. Jensen; Le Lait 19, 622, 1929. 3. " " " " 19, 724, 1929. | <ol style="list-style-type: none"> 4. O. Jensen; Le Lait 19, 816, 1929. 5. " " Ztschr. f. Lebensm. 60, 300, 1932. |
|--|---|

昭和7年 11 月

ヒラゾールと稱する飲食物防腐劑の防腐効力 試験成績報告

技 手 服 部 安 藏
助 手 霜 島 彊

昭和6年5月22日附衛保第305號を以て衛生局より照會に係るヒラゾールと稱するものの食品に對する防腐効力に關し試験を行ひ次の成績を得たるを以て之を報告す。

1. 試 験 材 料

衛生局より送附に係る檢品はヒラゾール結晶品 100 g 及同 20 % 水溶液 100 cc 入各 1 瓶にして入手後直に氷室に貯藏せり而して該結晶品は室溫に於ては過半溶解して液狀を爲す。之を 20 % 水溶液となし其有力クロールを定量するに其含量 1.38 % を示し又衛生局送附に係る 20 % 水溶液は瓶栓の部位破損し内容物の 1 部漏出せり其有力クロールは 1.152 % にして兩者共に強烈なるクロール臭を發す。

本品は特許製品に係り製造者に從へば尿素 6 g を水 200 cc に溶解し之にクロール瓦斯を強度に通じ充分に飽和せしむるか又はクロール飽和液 200 cc に尿素 6 g を投ず而して何れの場合にもよく振盪し未だ遊離クロールを證明し得る時期に於てグリセリン 0.5g を投じ再び振盪して 24 時間冷暗所に放置し完全に化合作用を遂げしめ次で得たる溶液を低溫に於て蒸發せしめ白色の針狀結晶となしたるものにして著しく引濕性を有し既に 20° に於て徐々に潮解を來たすを以て常に氷室に貯藏すべき缺點あるが故に保管乃至使用上の必要よりして濃厚水溶液として使用するものにして常水、牛乳又は清酒 1 L に對し本品の結晶を 20 % 水溶液と爲し其 1 cc を添加するときはよく防腐の目的を達し得と云ふ。

2. 試験方法及成績

(1) ヒラゾールの清酒に對する防腐効力試験

(甲) 清酒に對する防腐効力試験

醸造試験所の醸造に係る防腐剤不含の清酒に内 3 割の割合に水を混加し之に 1000 分 1 量の腐敗酒を混加せるものと然らざるものととの兩種に就き試験せり。即ち上記調製酒 100 cc を清浄なる硝子壺中に容れ之に前記ヒラゾール結晶品の 20% 水溶液 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 及 0.5 cc の割合に添加し對照として全く防腐剤を加へざるもの及びサリチール酸を石 10 分の割合に添加せるもの等を作り夫々紙帽にて覆ひ 28° の孵卵器中に保存し沈澱濁濁及腐敗臭の有無を検せり。

調製品 100 cc に對しヒラゾール 20% 水溶液 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 及 0.5 cc を添加せる場合の有カクロールの含量次の如し。

ヒラゾール 20% 水溶液添加分量 (cc)	調製酒 100 cc 中の有カクロール含量	ヒラゾール 20% 水溶液添加分量 (cc)	調製酒 100 cc 中の有カクロール含量
0.1	0.00138	0.4	0.00552
0.2	0.00276	0.5	0.00691
0.3	0.00414		

別に調製酒中に漂白粉溶液を添加し其有カクロールの含量を前記ヒラゾールと全く同一ならしめ其防腐效力を比較試験せり。

前記試験方法に基きて施行せる防腐效力試験成績次の如し。

第 1 表 衛生局送附に係るヒラゾールに就きて施行せる防腐效力試験成績

日数	腐敗酒を添加せざるもの (100cc)							腐敗酒を添加せるもの (100cc)						
	對照	サリチール酸石 10 分	0.1cc	0.2cc	0.3cc	0.4cc	0.5cc	對照	サリチール酸石 10 分	0.1cc	0.2cc	0.3cc	0.4cc	0.5cc
1	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし
5	”	”	”	”	”	”	”	沈澱を生ず	”	”	”	”	”	”
8	”	”	”	”	”	”	”	上液濁濁し腐臭を發す	”	極微に沈澱を生ず	”	”	”	”
10	微に沈澱を生ず	”	”	”	”	”	”	”	”	上液濁濁す	微に沈澱を生ず	極微に沈澱を生ず	”	”
15	上液濁濁し腐臭を發す	”	微に沈澱を生ず	”	”	”	”	”	”	上液濁濁し腐臭を發す	上液濁濁し腐臭を發す	微に沈澱を生ず	”	”
17	”	”	”	極微に沈澱を生ず	”	”	”	”	”	”	”	上液濁濁し腐臭を發す	微に沈澱を生ず	”
20	”	”	上液濁濁し腐臭を發す	”	”	”	”	”	”	”	”	”	上液濁濁し腐臭を發す	”
23	”	”	”	上液濁濁す	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”
30	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”

第 2 表 漂白粉に就きて施行せる防腐效力試験成績

日数	腐敗酒を添加せざるもの (100cc)							腐敗酒を添加せるもの (100cc)						
	対照	サリチール酸石10分	0.03cc	0.06cc	0.09cc	0.12cc	0.15cc	対照	サリチール酸石10分	0.03cc	0.06cc	0.09cc	0.12cc	0.15cc
1	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし
5	”	”	”	”	”	”	”	沈澱を生ず	”	”	”	”	”	”
8	”	”	”	”	”	”	”	上液濁濁し腐臭を發す	”	微に沈澱を生ず	極微に沈澱を生ず	”	”	”
10	微に沈澱を生ず	”	”	”	”	”	”	”	”	上液濁濁す	微に沈澱を生ず	”	”	”
15	上液濁濁し腐臭を發す	”	微に沈澱を生ず	極微に沈澱を生ず	”	”	”	”	”	上液濁濁す	”	”	”	”
17	”	”	上液濁濁す	上液濁濁す	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”
20	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”
23	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”
30	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”

備考 漂白粉は冷飽和透明水溶液を使用せるものにして本液 1cc 中には有クロール 0.046 g を含有し本液 0.03 cc はヒラゾール 20% 水溶液 0.1 cc, 0.03 cc は 0.2 cc, 0.09 cc は 0.3 cc, 0.12 cc は 0.4 cc 及 0.15 cc は 0.5 cc に夫々對應す以下之に準ず。

前記試験成績を見るに衛生局送附に係るヒラゾール 20% 水溶液は腐敗酒を混入せざる稀釋清酒に對し製造者の指示する分量即ち稀釋清酒 100 cc に對し 0.1 cc を添加せるものは僅に防腐效力を示し 0.2 cc を添加せるものは稍防腐效力を増大し 0.3 cc, 0.4 cc 及 0.5 cc を添加せるものに於ては 50 日間を經過するも腐敗の徴候を示さず然るに腐敗酒を混入せる稀釋酒に在りては添加量の増加に伴ひて沈澱濁濁の生起を遅延せしめたるも 0.5 cc 添加のものに在りても 20 日目に於て完全に腐敗に陥れり。又漂白粉の冷飽和水溶液を添加し其有カクロールの含量をヒラゾールと同様ならしめたるものに於てはヒラゾールの 0.2 cc に相當する分量に於ては兩者の成績大差なきも 0.3cc 以上の分量に在りては漂白粉を添加せるものは却つて良好なる成績を示しヒラゾールの 0.3 cc, 0.4 cc 及 0.5 cc に相當する分量を添加せるものは腐敗酒を混入せるものに於ても 30 日間依然として腐敗の徴候を示さざりき。

(乙) 糖液に對する防腐效力試験

常水に對する防腐效力試験を施行せんと試みたるも其沈澱濁濁に依る腐敗鑑別の方法困難なりしを以て水に一定分量の單舍利別を加へ 15° に於て比重 1.1125 を有す

る糖液を調製し之に就き前記稀釋清酒の場合と同様に防腐劑を加へ 28° の孵卵器中に保存せり。其防腐效力試験成績次の如し。

第3表 糖液に對して施行せる防腐效力試験成績

日 數	糖液 100 cc に對するヒラゾール 20% 溶液添加量						糖液 100 cc に對する漂白粉冷飽和溶液添 加量				
	對 照	0.1 cc	0.2 cc	0.3 cc	0.4 cc	0.5 cc	0.03 cc	0.06 cc	0.09 cc	0.12 cc	0.15 cc
1	異状なし	異状なし	異状なし	異状なし	異状なし	異状なし	異状なし	異状なし	異状なし	異状なし	異状なし
3	白色絮状の沈澱を生ず	白色絮状の沈澱を生ず	僅微に白色絮状の沈澱を生ず	殆ど異状なし	”	”	白色絮状の沈澱を生ず	白色絮状の沈澱を生ず	殆と異状なし	”	”
4	著しく潤濁す	著しく潤濁す	著しく潤濁す	著しく潤濁す	微に沈澱を生ず	極微に沈澱を生ず	著しく潤濁す	著しく潤濁す	著しく潤濁す	殆と異状無し	殆と異状なし
6					著しく潤濁す	著しく潤濁す				微に潤濁す	微に潤濁す

前記試験成績に依れば糖液 100 cc に對しヒラゾール 20% 水溶液 0.4 cc 以上を添加するときは微に防腐效力を示し冷飽和漂白粉溶液の 0.12 cc 及 0.15 cc を添加せるものは殆ど之と同一効果を有するものなることを認めたり。

(丙) 牛乳に對する防腐效力試験

生乳 100 cc を硝子壺に取り之れに前記と同様に防腐劑を添加し密栓して 28° の孵卵器中に保存し其外觀の變化に依り腐敗の程度を比較せり。其防腐效力試験成績次の如し。

第4表 牛乳に對して施行せる防腐效力試験成績

日 數	對 照	生乳 100 cc に對するヒラゾール 20% 溶 液添加量					生乳 100 cc に對すヒラゾール 20% 溶液添加量				
		0.1 cc	0.2 cc	0.3 cc	0.4 cc	0.5 cc	0.03 cc	0.06 cc	0.09 cc	0.12 cc	0.15 cc
1	異状なし	異状なし	異状なし	異状なし	異状なし	異状なし	異状なし	異状なし	異状なし	異状なし	異状なし
2	カゼイン凝固す	カゼイン凝固す	カゼイン凝固す	殆と異状なし	殆と異状なし	殆と異状なし	カゼイン凝固す	カゼイン凝固す	殆と異状なし	”	”
3				”	”	”			”	殆と異状なし	殆と異状なし
4				カゼイン凝固す	カゼイン凝固す	カゼイン凝固す			カゼイン凝固す	カゼイン凝固す	カゼイン凝固す

前記試験成績に依れば生乳 100 cc に對しヒラゾール 20% 溶液 0.3 cc~0.4 cc 以上を添加するときは微に防腐效力を有し漂白粉飽和水溶液も亦殆ど之と同一效力を示し生乳 100 cc に對し 0.09 cc~0.12 cc (有力クロールの含量は前記ヒラゾールの 0.3 cc~0.4 cc に對應す) を添加するときは微に防腐效力を有することを認めたり。

(2) ヒラゾール試製品の清酒に對する防腐效力試験

製造者の指示する方法に基きて試製せるヒラゾールは白色靡粥状引濕性强き結晶性物質にして之を冷却しつつ速に吸引濾過して水分を去りクロールカルチウム除濕器内に納れ乾燥するときは白色の輕き針狀結晶塊となる之を 20% 水溶液となして其有力クロールを定量するに 8.865% を示し衛生局より送附に係るものに比して著して強度の有力クロールを含有することを認めたり。之に就き清酒に對する防腐效力を試験せるに次の成績を示せり。

第5表 ヒラゾール試製品の清酒に對する防腐效力試験成績

日 数	腐敗酒を添加せざるもの (100cc)							腐敗酒を添加せるもの (100cc)						
	對照	衛生局送附 ヒラゾール 20% 溶液 0.1cc	ヒラゾール試製品 20% 溶液					對照	衛生局送附 ヒラゾール 20% 溶液 0.1cc	ヒラゾール試製品 20% 溶液				
		0.1cc	0.2cc	0.3cc	0.4cc	0.5cc			0.1cc	0.2cc	0.3cc	0.4cc	0.5cc	
1	異狀なし	異狀なし	異狀なし	異狀なし	異狀なし	異狀なし	異狀なし	異狀なし	異狀なし	異狀なし	異狀なし	異狀なし	異狀なし	
2	”	”	”	”	”	”	極微に沈澱を生ず	”	”	”	”	”	”	
3	”	”	”	”	”	”	微に沈澱を生ず	”	”	”	”	”	”	
5	極微に沈澱を生ず	”	”	”	”	”	上液微に濁す	”	”	”	”	”	”	
7	微に沈澱を生ず	”	”	”	”	”	上液潤濁す	”	”	”	”	”	”	
8	上液微に濁す	”	”	”	”	”	”	極微に沈澱を生ず	極微に沈澱を生ず	”	”	”	”	
9	”	”	”	”	”	”	”	微に沈澱を生ず	”	”	”	”	”	
10	上液潤濁す	極微に沈澱を生ず	”	”	”	”	”	上液潤濁す	微に沈澱を生ず	”	”	”	”	
12	”	微に沈澱を生ず	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	
13	”	上液潤濁す	極微に沈澱を生ず	”	”	”	”	”	上液潤濁す	”	”	”	”	
15	”	”	微に沈澱を生ず	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	
18	”	”	上液潤濁す	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	
25	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	
30	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	

備考 第5表以下の試験に在りては大藏省醸造試験所醸造清酒缺乏し再入手し得ざりしを以て市販品中防腐劑不含清酒を嚴選し之を使用せり。

前記試験成績を見るにヒラゾール試製品 20% 水溶液の清酒に對する防腐效力は衛生局經由製造者の送附に係るものに比して著しく強烈にして腐敗酒を添加せざる對照試験に供せるものは、約 10 日目にて上液潤濁し腐敗に陥りたるも之に檢液 0.1 cc を添加せるものは 18 日目に於て上液潤濁し腐敗に陥り 0.2 cc 以上添加のものは孰れも 30 日を經過するも腐敗に陥らざりき。又衛生局送附に係るヒラゾール 20% 水溶液 0.1cc

を添加せるものを同一條件に於ける比較對照として試験せるに 13 日目に上液溷濁し腐敗に陥り前記試製品 0.1 cc を添加せるものに比して防腐效力稍劣るものなることを認めたり。次に腐敗酒を添加せるものに就きて施行せる試験成績も略之と同一にして對照試験に供せるものは、7 日目に於て完全に腐敗に陥り檢體 0.1 cc を添加せるものは 13 日目に腐敗に陥りたるも 0.2 cc 以上を添加せるものは孰れも 30 日目に到るも腐敗に陥らざりき。又比較對照として衛生局送附に係るヒラゾール 20 % 水溶液 0.1 cc を添加せるものは試験著手後 10 日目に於て腐敗に陥り試製品に比して防腐效力劣るものなることを認めたり。

(3) デクロールカルバミット試製品に對する防腐效力試験

前記ヒラゾールの製法に従へば本品は一種のクロールカルバミット (NHCl.CO. NHCl) と認むべきものなるも其クロールの結合狀態等は全く不明なり然るに尿素にクロールを作用せしめてデクロールカルバミットを製する方法は 1909 年 Chattaway 氏に依りて報告 (Journ. Chem. Soc. Vol. xcv. 1909. 464) せられたるところにしてヒラゾールと稱するものと最も親近の關係あるものと思惟せるを以て之を試製し其防腐效力を比較試験せり Chattaway 氏の製法を述ぶれば次の如し。

尿素 6 g を蒸溜水 50 cc に溶解し之に酸化亞鉛の細末 10 g を加へ之を起寒劑を用ひて零下約 5° に冷却し混攪しつつ急激にクロール瓦斯を通入するときは暫時にして酸化亞鉛は溶解して透明の液體となり次でデクロールカルバミットの結晶を析出す。之を吸引濾過し氷冷せる蒸溜水約 5 cc 宛を以て 2 回洗滌したる後乾燥クロロホルムにて更に數回洗滌するときは微量のデクロールカルバミットは溶失するもよく附着せる大部分の水分を除去し得べく之を真空クロールカルチウム除濕器中にて乾燥す。得量約 10 g を示し白色にして輕き結晶粉をなす。

小官等は前記の方法に準據して製せるに得量稍劣るも大略其記載に一致する製品を得たり故に之を 20 % 水溶液として其有力クロールを定量せるに 9.9288 % にして之に就き稀釋清酒に對する防腐效力を試験せるに次の成績を示せり。

第 6 表 デクロールカルバミット試製品の清
酒に對する防腐效力試験成績

日 数	腐敗酒を添加せざるもの (100 cc)							腐敗酒を添加せるもの (100 cc)						
	対照	ヒラゾール 添附品20% 水溶液 0.1cc	デクロールカルバミット試製品 20% 溶液					対照	ヒラゾール 添附品20% 水溶液 0.1cc	デクロールカルバミット試製品 20% 溶液				
		0.1cc	0.2cc	0.3cc	0.4cc	0.5cc			0.1cc	0.2cc	0.3cc	0.4cc	0.5cc	
1	異状なし	異状なし	異状なし	異状なし	異状なし	異状なし	異状なし	異状なし	異状なし	異状なし	異状なし	異状なし	異状なし	
2	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	
3	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	
5	極微に沈澱を生ず	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	
7	微に沈澱を生ず	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	
8	上液微に濁す	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	
9	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	
10	上液濁す	極微に沈澱を生ず	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	
12	”	微に沈澱を生ず	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	
13	”	上液濁す	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	
15	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	
18	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	
25	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	
30	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	”	

前記試験成績を見るに Chattway 氏の方法に基きて製せるデクロールカルバミットの 20% 水溶液の稀釋清酒に對する防腐效力はヒラゾール試薬品に比して稍強力にして腐敗酒を添加せざるものに於ては調製酒 100 cc に對し 0.1 cc 以上を添加せるものは孰れも試験著手後 30 日を經過するも腐敗せず又腐敗酒を添加せるものに於ても其 100 cc に對し 0.1 cc を添加せるものは 25 日目に於て腐敗に陥りたるも 0.2 cc 以上添加のものは 30 日に至るも腐敗せず著しき防腐效力を有するものなることを認めたり。

(4) ヒラゾール、デクロールカルバミット及漂白粉等の清酒並水溶液中に於ける有力クロール消失比較試験

清酒及蒸溜水 250 cc 宛を各 4 箇の硝子壺に取り之に衛生局送附に係るヒラゾール、同試製品及デクロールカルバミット試製品の各 20% 水溶液 0.25 cc 並漂白粉冷飽和水溶液 0.075 cc を夫々添加しよく混和したる後直に滴定し各溶液 100 cc 中の有力クロールの含量を算出し次に寛く壺栓を施し約 20° 前後の室温に放置し 24 時間經過毎に之を滴定し檢液 100 cc 中の有力クロール消失の状態を観察せり。其成績次の如し。

第7表 清酒に就きて施行せる成績

日 數	検液 100 cc 中の有力クロール含量			
	衛生局送附に係るヒラゾール	ヒラゾール試製品	デクロールカルバミット試験品	漂白粉
1	0.0009	0.0021	0.0025	0
2	0	0.0001	0.0001	
3		0	0	

第8表 蒸溜水に就きて施行せる成績

日 數	検液 100 cc 中の有力クロール含量			
	衛生局送附に係るヒラゾール	ヒラゾール試製品	デクロールカルバミット試験品	漂白粉
1	0.00139	0.00863	0.00938	0.00135
2	0.00138	0.00860	0.00936	0.00133
3	0.00135	0.00857	0.00935	0.00132
4	0.00134	0.00855	0.00934	0.00131
5	0.00132	0.00852	0.00932	0.00128

左記試験成績に依れば衛生局送附に係るヒラゾール, 同試製品, デクロールカルバミット及漂白粉等は蒸溜水中に在りては何れも殆ど大差なく極めて徐々に有力クロールの消失を認めたるも清酒に在りては著しく之と異り漂白粉は添加直後に有力クロールを全く消失し衛生局送附に係るヒラゾールは24時間経過後に又ヒラゾール試製品及デクロールカルバミットは48

時間経過後に何れも其有力クロールを消失するものなることを認めたり。

(5) 有力クロールの清酒防腐效力に及ぼす影響試験

前記試験に於てヒラゾール, デクロールカルバミット及漂白粉は蒸溜水中に在りては何れも殆ど大差なく極めて徐々に有力クロールの消失を認めたるも清酒に在りては之と異り藥物を添加してより1~2日後に其有力クロールを消失するものなることを認めたり。此の結果より判断するに有力クロールの消失は其溶液中に含有する有機物質の分量に關係するものにして此等藥物の防腐效力は其有力クロールによるものとせば防腐すべき溶液中の有機物質の含量に應じて藥物の添加量を増加せざるべからずこの事實は防腐剤としての効果判定上極めて重要なることとなりと信じたるを以て小官等は次の方法に依り溶液中に残存する有力クロールと其防腐效力の關係を試験せり。

防腐剤不含の清酒に内3割の割合に水を混じり其100cc宛を清淨なる共栓硝子壺に分取し之に衛生局送附に係るヒラゾール, 同試製品及デクロールカルバミット試製品各20%水溶液0.1ccを加へ其有力クロールの含量を前記有力クロールの消失比較試験に於けると同様ならしめ別に對照として藥物を加へざるもの及びサリチル酸を石10匁の割合に混和せるものを用意し壺栓を施し約23°の室溫に10日間放置せる後残存する有力クロールを検せるに衛生局送附に係るヒラゾール及漂白粉を添加せるもの

は全く有力クロールを認めざるもヒラゾール試製品並ヂクロールカルバミット試製品は孰れも極微に有力クロールの残存を認めたり。この事實は前記有力クロール消失比較試験にては兩者共に藥物添加後 2 日後に有力クロールを消失せる成績に對し一見矛盾の感を懐かしむるも其原因は恐らく本試験に於ては便宜上清酒に對し内 3 割の水を添加し稀釋したるものを共栓硝子壺中に密栓保存せるに因るものならん而して檢液全部に對し藥物添加 10 日の後 1000 分の 1 量の腐敗酒を添加し又ヒラゾール試製品並ヂクロールカルバミット試製品は藥物添加後 20 日目に於て全く有力クロールを消失したるを以て同日更に 1000 分 1 量の腐敗酒を添加し之に就き防腐效力を試験せるに其成績次の如し。

第 9 表 有力クロールの清酒防腐效力に及ぼす影響試験成績

日 数	對 照		ヒラゾール衛生局附送品 20% 水溶液 0.1cc 添加 (有力クロール 0.00139)	ヒラゾール試製品 20% 水溶液 0.1cc 添加 (有力クロール 0.00863)	ヂクロールカルバミット試製品 20% 水溶液 0.1cc 添加 (有力クロール 0.00938)	漂白粉飽和水溶液 0.03cc 添加 (有力クロール 0.00135)
	藥物を添加せざるもの	サリチール酸石 10 匁添加				
1	異状なし	異状なし	異状なし	異状なし	異状なし	異状なし
10	”	”	(有力クロール)を消失す	(微に有力クロール)を殘存す	(微に有力クロール)を殘存す	(有力クロール)を消失す
13	微に沈澱を生ず	”	微に沈澱を生ず	”	”	微に沈澱を生ず
17	上液潤濁す	”	上液潤濁す	(極微に有力クロール)を殘存す	(極微に有力クロール)を殘存す	上液潤濁す
20	”	”	”	(有力クロール)を消失す	(有力クロール)を消失す	”
22	”	”	”	微に沈澱を生ず	微に沈澱を生ず	”
25	”	”	”	上液潤濁す	上液潤濁す	”

前記試験成績を見るに衛生局送附に係るヒラゾール及漂白粉飽和水溶液を添加せるものは孰れも藥物添加 10 日後に其有力クロールを消失し之に 1000 分の 1 量の腐敗酒を添加するときは 3~7 日後に於て完全に腐敗を來し藥物を添加せざる對照酒と全く同一なりき。又ヒラゾール試製品及ヂクロールカルバミット試製品は藥物添加 10 日後に於ても尙ほ微に有力クロールの残存を示し此際 1000 分の 1 量の腐敗酒を添加するも腐敗に陥ること無く藥物添加 17 日後に於ては其有力クロールは極微量となり 20 日後に於ては全く消失するに至れり故に同日更に 1000 分の 1 量の腐敗酒を添加せるに

爾後 2~5 日經過後に於て完全なる腐敗に陥れり然るに對照として石 10 匁の割合にサリチール酸を添加せるものは完全なる防腐效力を示せり。前記試験成績より之を判斷するに此等クロール含有藥物の防腐效力はサリチール酸の如き防腐劑とは腐敗菌に對する作用を異にするものにして其防腐效力は主として有力クロールの殺菌作用に基づくものと認むべきものにして前記試験成績に依れば極めて微量の有力クロールの含有もよく腐敗菌の繁殖を防止し得るも之に反し有力クロールを消失するときは全く防腐效力を有せざるに到るものなることを認めたり。

3. 總括並結論

前記試験成績に基き之を總括結論すること次の如し。

1. 衛生局送附に係るヒラゾール結晶品を水に溶解して 20% 水溶液とせるものは有力クロール含量 1.38 % を示し此れと同一有力クロールを含有する漂白粉溶液を調製し稀釋清酒に對する防腐效力を試験するにヒラゾール 20% 水溶液は製造者の指示する分量即ち腐敗酒を添加せざる調製酒 100 cc に對し 0.1 cc を滴加せる場合は僅に防腐效力を有し 0.2 cc を添加せるものより漸次效力を増大し 0.3 cc 以上を添加するときは 30 日間を經過するも腐敗の徵候を呈せざりしも腐敗酒を添加せるものに在りては添加量の増加に伴ひて沈澱濁濁の生起を遅延せしめたるも完全なる防腐效力を認め難く 0.5 cc を添加せるものに於ても試験著手 20 日目に於て腐敗を來せり然るに計算量の漂白粉を添加し其有力クロールの含量を衛生局送附に係るヒラゾールと同一ならしめたるものに於てはヒラゾール 0.2 cc に相當する分量に於ては兩者の成績大差なきも 0.3 cc 以上に在りては之に相當する漂白粉を添加せるものの示す成績は遙に良好にして腐敗酒を添加せるものに於ても 30 日間は依然として腐敗の徵候を示すことなく極めて良好なる成績を示せり。

2. 次に糖液 (15° に於て比重 1.1125 を有するもの) に就きヒラゾール 20% 水溶液及び之と同一有力クロールを含有するが如く冷飽和漂白粉溶液を添加し其防腐效力を比較試験せるに糖液 100 cc に對しヒラゾール 20% 水溶液 0.4 cc 及び之に對應する冷飽和漂白粉溶液 0.12 cc 以上を添加せるものは微に防腐效力を示し兩者殆ど差違なきことを認めたり。

3. 前記糖液の場合と同様に牛乳に就きヒラゾール並漂白粉との防腐效力を比較するに其效力殆ど糖液の場合と同様にして生乳 100 cc に對して衛生局送附に係るヒラゾール 20% 溶液 0.3 cc 及漂白粉冷飽和溶液 0.12 cc 以上を添加するときは微に防腐效力を有することを認めたり。

4. 製造者の指示する方法に準據して調製せるヒラゾール試製品は之を 20% 水溶液となして其有力クロールを定量するに 8.865 % を示し衛生局送附に係るものに比して著しき強度の有力クロールを含有し其稀釋清酒に對する防腐效力を検するに極めて強烈にして調製酒 100 cc に對して 20% 水溶液 0.2 cc 以上を添加せるものは腐敗酒を添加せるものと然らざるものとに論無く孰れも試験著手後 30 日を經過するも全く腐敗に陥らざりき。

5. Chattaway 氏の方法に準據して製せるデクロールカルバミッドは其有力クロールを定量するに 9.928 % を示し之に就き稀釋清酒に對する防腐效力を試験するにヒラゾール試製品に比して稍強力にして腐敗酒を添加せざる調製酒 100 cc に對し 0.1 cc 以上添加のものは 30 日を經過するも腐敗せず又腐敗酒を添加せるもの 100 cc に對し 0.1 cc を添加せるものは試験著手後 30 日目に於て腐敗を來せるも 0.2 cc 以上添加のものは 30 日を經過するも腐敗せず著しく良好なる成績を示せり。

6. 衛生局送附に係るヒラゾール、同試製品、デクロールカルバミッド及漂白粉等の溶液中に於ける有力クロール消失の状態を比較試験せるに蒸溜水中に在りては何れも殆ど大差なく極めて徐々に有力クロールの消失を認め得べきも清酒の場合には著しく之と異り添加直後又は添加 24 時間乃至 48 時間以後には全く有力クロールを消失するものなることを認めたり。

7. ヒラゾール、デクロールカルバミッド及漂白粉等の如きクロール含有藥物はサリチル酸の如き防腐劑とは防腐作用を異にし其防腐效力は主として有力クロールの殺菌作用に基くものにして極めて微量の有力クロールの含存もよく腐敗菌の繁殖を防止し得るも之に反し有力クロールを消失するときは全く防腐效力を有せざるに到るを以て清酒等の如き有機物質を含有する溶液に對しては其有機物質と結合して尙ほ過剰の有力クロールを殘存するときは持續的防腐效力を認め得べきも然らざる場合は單に蒸

氣殺菌等に於けるが如く一時的殺菌效力は認め得べき持続的の殺菌防腐效力は認め難く従つて溶液中の有機物質の含量に應じ其添加量を増加することの必要なることを認めたり。

前記試験成績を按ずるに此等の防腐效力は孰れも其有力クロールの含量に比例すること明瞭にして完全なる防腐効果を挙げんとせば衛生局送附に係るヒラゾールは稀釋清酒 1 L に對しては其 20 % 溶液 5 cc を添加するも尙ほ且つ不充分なるも小官等の試製せるヒラゾール並デクロールバミッドは稀釋清酒 1 L に對して各 20 % 溶液 1~2 cc 添加に於て其目的を達することを認めたり。即ち衛生局送附に係るヒラゾール 20 % 溶液 5 cc 中の有力クロールの含量は 0.0691 g にしてヒラゾール試製品 20 % 溶液の有効量 1~2 cc 中の有力クロール含量は 0.08865~0.1773 g 又デクロールカルバミッド 20 % 溶液の有効量 1~2 cc 中の有力クロール含量は 0.09928~0.10857g に相當す。而して此等有力クロールの有効量は清酒に内 3 割の水を混和して稀釋せるものに對して試験せる場合の有効分量なるを以て多量の有機物質を含有する溶液を防腐せんが爲めには更に多量の藥物を使用せざるべからざるやも保し難く且つ此等クロール含有防腐劑は其有力クロールを消失するときは全く防腐效力を有せざるに到るを以てサリチール酸の如き防腐劑と異り恰も煮沸滅菌に於けるが如く一時的滅菌作用と看做すべきものにしてサリチール酸等と同様に持続的防腐作用を有せしめんが爲めには防腐すべき溶液中に含存する有機物質と結合して尙ほ過剰の有力クロールを含有せざるべからざるを以て完全に防腐の目的を達せんが爲めには比較的少量を使用せざるべからざる缺點を有す。

前記の諸點より之を考察すればヒラゾールと稱するものは今日飲料水の殺菌作用に供せらるる漂白粉と同一視すべきものにして飲食物の防腐劑としては不適當なるものと認めざるを得ず。

昭和 7 年 6 月

スメラチンAと稱する防黴劑の効力 試験成績報告

技 師 石 尾 正 文
技 手 遠 藤 興 作
助 手 和 田 清

本年1月15日付衛保發第951號を以て衛生局より照會に係るスメラチンAと稱する防黴劑に就き効力試験を施行したるに次記の成績を得たるを以て之を報告す

緒 言

曩に深井氏は醬油黴の發生に關し⁽¹⁾カブリン酸の作用並に⁽²⁾カブロン酸、カブロール酸、カブリン酸、ラウリン酸及ミリスチン酸等の脂肪酸列の作用を研究し其防黴効果はカブリン酸を最高とし之より脂肪酸を構成する炭素數の増加するも減少するも其効果は何れも彼に劣ることを報告せり、爾後カブリン酸の誘導體を以て醬油の防黴劑に供せんとする研究各方面に於て試みられたるもの、如く本防黴劑スメラチンAも亦其1例と認むべきものにして主としてアルフテオキシカブリン酸ナトリウム $[C_{10}H_{19}O_3Na = CH_3(CH_2)_7CH(OH)CO_2Na]$ より成ると云ふ本報告に於ては試験品に就き化學的検査を行ひ次で醬油並に佃煮に對する防黴効力試験を施行したり其成績次の如し

第1. 試験品の檢索

衛生局より送附せられたるスメラチンAと稱する試験品(約10g)は白色の粉末にして水及アルコールに微に白濁して溶解し水溶液は之を振盪するに石鹼液の如く泡立ち鑛酸にて酸性となすときは白色絮狀の沈澱を生じ水面に浮び之をエーテルにて振盪するにエーテルに全溶す此のエーテル溶液よりエーテルを除去すれば結晶性の物質を残留す試験品に就き施行したる定量分析の結果次の如し

1. 試験品の分析表

水	分	1.37%	ナトリウム	10.63%
脂	肪	酸	ハロゲン(ブロームとして)	1.50%

上記の成績によれば試験品は主として脂肪酸ソーダより成ること明かとなりたるを以て遊離脂肪酸を作り之に就き検査したり

2. 遊離脂肪酸の試験

試験品 3g を水に溶解し稀硫酸を加へて酸性となし析出せる脂肪酸をエーテルにて處理し遊離脂肪酸 2.5g を得たり

本品は結晶性にしてアルコール、エーテル及石油エーテル等に容易に溶解し 34-36 度に於て熔融し分子量は實測の結果 194.4 の値を見出した

次に本品のアセチル誘導體を作るの目的を以てアルファオキシラウリン酸よりアルファアセトオキシラウリン酸を誘導する⁽³⁾方法に準じ本試験品 0.5g をアセチルクロリド 0.9g と共に加熱し水及エーテルにて處理したるに 38.5 度に於て熔融する結晶性物質 0.45g を得たり之に就きアセチル數を測定したるに其値殆ど 0 なり、依て之を原酸と混合して熔融點を測定したるに 38 度に於て熔融す

3. 遊離脂肪酸の結晶分別

前項の試験に供したる遊離脂肪酸は單一の化合物より成るや否や前記の試験にては猶不充分なるを以て其 1g を取り純アルコール 30cc に溶解し之に醋酸バリウム 0.68g を水 7cc に溶解したるものを分別結晶法に従ひ 2 回に亘りて添加し此處に生じたる沈澱を 3 區分に分別し各遊離の酸となし之に就き熔融點及分子量を測定したるに次の成績を得たり

分別結晶 3 區分の試験成績表

區	分	分別 第 1 區	分別 第 2 區	分別 第 3 區
得	量	0.47 g	0.30 g	0.14 g
熔	點	40°	38°	結晶及油狀の混合物
分	子	202.17	201.77	測定せず

前記 1, 2, 3 の試験成績を通覽すれば試験品の 75-85% を占むるナトリウム鹽を形成する脂肪酸は 1 種より成れることを認め得べし即ち此の脂肪酸は其熔融點 40 度附近にしてアルファオキシ酸としては意外に低温度にて熔融し冷時石油エーテルに容易に溶解すること及アセチル誘導體を生成せざること等⁽⁴⁾アルファオキシ脂肪酸の性質に副はざる點多く寧ろ脂肪酸其物に近似せり、試みに融點 44 度を示すカールバー

ム製ラウリン酸(分子量 200)と混融したるに其温度 43 度を示せり依て試験品の遊離酸は主としてラウリン酸より成るものと認む尙分別第 2 區及第 3 區の成績より推測して少量のカブリン酸及之に近き炭素數の脂肪酸を混合せるやの疑あり又試験品のブroomソーダを含有するは材料をブroomにて處理したることあるを示すものなり

第 2. 醬油に對する防黴効力試験

本試験に於ては數日の経過により黴を生じ始むる稀薄醬油及之に防黴劑としてカブリン酸又はベタナフトールを混和したるものを對照とし稀薄醬油に試験品を添加したるものに就き黴の發生する狀況を觀察し其防黴効力を檢定せり

稀薄醬油には市販 萬 印に水を加へて之を稀釋しボーメ 15 の比重を示すものを用ひカブリン酸及ベタナフトールは稀薄醬油 200 cc に對し各 0.01 g (醬油 1 石當り 9 g) 試験品は 0.01 g 及 0.02 g (指定量)並に其の 2 倍量 0.04 g を添加したり

試験に當りては前記各種の供試品を約 1 cc のアルコールに溶解して稀薄醬油 200cc に添加し何れも同型硝子壺に納れ紙帽にて覆ひ之に數個の小穴を穿ち 28-30 度の孵卵器中に貯藏し黴の發生するに至る迄時々觀察し液面に菌の聚落を生じ全面に及ぶを以て限度としたり

スメラチン A の醬油に對する防黴効力試験成績表

供試品名	スメラチン A			對照醬油	カブリン酸	ベタナフトール
	0.01	0.02	0.04			
200 cc 中に添加したる試験品の g 量	0.01	0.02	0.04	0	0.01	0.01
外 觀	表面に析出物浮ぶ	表面に析出物浮ぶ	表面に析出物浮ぶ	析出物なし	析出物なし	析出物なし
試験 第 1 日	異状なし	異状なし	異状なし	異状なし	異状なし	異状なし
” 第 5 日	”	”	”	”	”	”
” 第 8 日	”	”	”	液面に極めて僅に黴生す	”	”
” 第 12 日	”	”	”	黴生す	”	”
” 第 17 日	”	”	”	液面黴にて覆はる	”	”
” 第 25 日	液面に黴生す	極めて僅に黴生す	”	”	”	”
” 第 30 日	液面黴にて覆はる	”	”	”	”	”
” 第 34 日	”	液面に黴生す	”	”	”	”
” 第 40 日	”	液面黴にて覆はる	”	”	”	”
” 第 58 日	”	”	”	”	”	”

”	第 60 日		”	”	黴稍著明に生ず
”	第 65 日		器壁に黴生す	極めて僅に黴生す	液面黴にて覆はる
”	第 70 日		黴液面に及ぶ	”	

本試験は 6-8 月の間に於て行ひたり

前記の試験成績によれば稀薄醬油は 8 日後黴を發生したるに試験品 0.01 g 及 0.02 g を添加したるものは 25 日後に於て 0.04 g を添加したるものは 65 日後黴の發生を看取せり即ち試験品は醬油黴の發生を抑制する效力を有す但し其效力は供試料の量に比例し 0.04 g を用ひたるものにありてはベタナフトールの場合よりも幾分優れる成績を示しカブリン酸と殆ど同一の效力を有す然る時は本試験品の效力はカブリン酸の 4 分の 1 に略該當するものと認め得べし、然るに⁽³⁾深井氏の實驗成績によればラウリン酸はカブリン酸の 5 倍量を使用するも防黴の効果は猶且つカブリン酸に及ばず恐らく此の差異は本試験品が純粹のラウリン酸より成るものに非らずしてカブリン酸を夾雜せるに因る所ならんと思惟す

第 3. スメラチン A の佃煮に對する防黴効力試験

本試験に於ては昆布を材料として自製したる佃煮及其 100 g に付ベタナフトール 0.025 g を添加したるものを對照に供し佃煮に製造者の有效量と稱する最大量 0.2 g 並に其の 2 倍量の試験品を添加したるものに就き黴の發生に至る状況を觀察しその防黴効力を試験せり

試験に當りては可檢品に均等の條件を與ふる爲め佃煮を作る際に殘留する餘分の液汁(佃煮製造業者は之をたれと稱す)を利用し之に防黴劑を溶解して使用したり、即ち昆布の佃煮をベツヘルガラス中に秤取し之を重盪煎内に浸漬し 15 分間加熱し蒸散する佃煮の水分をたれ中の水分にて補ふの手段を採り佃煮 100 g に對したれ乃至防黴劑を混和したるたれ 5 cc を添加し所定の加熱時間中善く攪拌し冷後之をペトリー皿に移し硝子戸棚に貯藏し室温に於て黴の發生するに至る状況を觀察したり

スメラチンAの昆布佃煮に對する防黴效力試験成績表

供 試 品 名	ス メ ラ チ ン A		對 照	ベ タ ナ フ ト ール
100 g 中に添加したる試験品のg量	0.2	0.4	0	0.025
臭 味 外 觀	低位脂肪酸固有の氣味を有す	試験品の臭氣著しく昆布の外觀を損す	昆布佃煮固有の外觀氣味を具ふ	昆布佃煮固有の外觀氣味を具ふ
試 験 第 1 日	異狀なし	異狀なし	異狀なし	異狀なし
” 第 3 日	”	”	”	”
+ 第 4 日	極めて僅に白黴生ず	”	極めて僅に白黴生ず	”
” 第 6 日	白黴著明に生ず	僅に白黴生ず	白黴著明に生ず	”
” 第 7 日	全面白黴にて覆はる	”	全面白黴にて覆はる	”
” 第 8 日	”	白黴稍著明に生ず	”	”
” 第 10 日	”	全面白黴にて覆はる	”	”
” 第 14 日	”	”	”	”

本試験は8-9月の間に於て施行せり

前記の試験成績によれば昆布の佃煮 100 g に對し 0.2 g の試験品を添加したるものは對照品と同様 4 日後黴を發生し 0.4 g を添加したるものは 6 日後黴の發生を見たり故に本試験品は多量に之を使用する時は幾分黴の發生を抑制するやの傾向あれ共ベタナフトールを用ひたるものゝ 14 日後猶黴の發生を見るに至らざりしものに比すれば殆ど其防黴效力は微弱にして敢て効果ありと稱し難し

結 論

1. スメラチンAと稱する試験品は主としてラウリン酸ソーダ [$C_{12}H_{23}O_2Na = CH_3(CH_2)_{10}CO_2Na$] より成りカプリン酸及之に近き炭素數の脂肪酸等のソーダ鹽を夾雜せるやの疑ひあるものなり
2. 試験品は醬油の防黴劑に供し添加量 0.02% に於て顯著に效果あり而して其效力はベタナフトール或はカプリン酸に比し略其4分の1に當る
3. 試験品は佃煮の防黴劑に供し殆ど效力を認め難し

引 用 文 献

- (1) 深井冬史, 醸造試験所報告 第106號 204頁
- (2) 深井冬史, 醸造試験所報告 第110號 212-213頁
- (3) C. 1904. 1. 261
- (4) Le. Sueur, Soc 87. 1903., Bagard, Bl. [4] 1. 310, 348.

昭和7年11月

キクナーと稱するもの、醬油に對する 防黴效力試験成績報告

技 師 石 尾 正 文
技 手 遠 藤 與 作
助 手 和 田 清

昭和6年10月13日付衛保第804號を以て衛生局より照會に係るキクナーA、B及Cと稱する3種の樹脂酸製品に就き醬油に對する防黴效力を試験したるに次の成績を得たるを以て之を報告す

緒 言

樹脂酸製品の醬油防黴效力に關しては既に衣笠技師等に依り樹脂酸蒼鉛及石灰鹽に就き施行せられたる試験成績の報告(衛生試験所彙報第32號157頁)ありて2種共に效能無きことを記載せり而して本試験品キクナーは樹脂酸製品にして前記報告の品に類するを以て其の效力に就ては最初より疑問視せる所なりき

(1) 試 験 材 料

衛生局より送附せられたる試験3種中キクナーA及Cは帶黄色の粉末にしてコロフォニウムの香氣を有し水と共に振盪するに沈澱すキクナーBは帶黄白色にして粉末狀をなし濕潤せるやの狀を呈し同じくコロフォニウムの香氣を有す水と振盪するに水面に浮び殆ど沈降せず水には3種共殆ど溶解し難し之に就き定量分析を施行したるに其成績次の如し

試 験 品 分 析 表

試 験 項 目	キ ク ナ ー A	キ ク ナ ー B	キ ク ナ ー C
水 分	11.24%	35.98%	15.83%
礦 物 質(灰分)	25.67	1.91	36.61
有 機 性 物 質	63.09	62.11	47.56
内エーテル可溶性物 質	62.80	61.23	46.31

上記試験成績表に示す如く有機性物質は3種共殆どエーテルに可溶性にして試験品をエーテルにて抽出したるものは淡褐色透明の塊をなし粘着性を有す之に就きウンフェルドベン・フランヒモント氏反應を検したるに顯著に反應し樹脂酸なることを明かにせり尙キクナーA及キクナーCの灰分中よりは著量の珪酸を検出せり

前記の試験成績をキクナー製造者の製法書に記載せる原料と對照して判定すれば試験品は樹脂酸を主成分とするものにしてA及C中には白陶土存在し樹脂酸の含量は3種共大差無きを知れり依てキクナーにして若し醬油の防黴效力を具有するものとすれば其效力は3種共大差なかる可きを豫想し得るものとす

(2) 醬油に對する防黴效力試験

本試験に於ては6--8日の経過により黴を生じ始めし稀薄醬油及之に防黴剤ベタナフトールを混和したるものを對照として稀薄醬油に試験品を混和したるものに付黴の發生する狀況を觀察し其防黴效力を検定せり

對照醬油には市販  印に水を加へて之を稀釋しボーメ15度の比重を示すものを用ひ1は其儘他は其200ccに對してベタナフトール0.01g(醬油壹石當り9g)を添加したるを以てし試験品を稀薄醬油に添加して試験に附したるものは下表の如くキクナーA及Bに就きては4種キクナーCに就ては3種なりとす

試験品の添加量表

試 験 品	キクナーA				キクナーB				キクナーC		
	(1)	(2)	(3)	(4)	(1)	(2)	(3)	(4)	(1)	(2)	(3)
對照醬油 200cc に添加したる g 量	0.0022	0.0055	0.011	0.05	0.0022	0.011	0.022	0.05	0.002	0.022	0.05
壹石當りの g 量	2	5	10	45	2	10	20	45	2	20	45

上表中(1)及(2)は製造者の言ふ有效量なり

試験に當りては稀釋醬油 200cc宛を硝子壺に取り之に上表に記載の各種供試量を添加し善く振盪して充分に混和す對照としての稀釋醬油及之にベタナフトールを加へたるものは之を同型硝子壺に各200ccづつ取り各壺何れも紙帽にて覆ひ針にて數個の穴を穿ち攝氏28度の孵卵器中に納れ黴の發生するに至る迄時々觀察す

黴の程度は液面に菌の聚落を生じ全面に及ぶを以て程度としたり

キクナー A の防黴效力試験成績表

200 cc 中に添加したる試験品の g 量	0.0022	0.0055	0.011	0.05	對 照	ベタナフトール 0.01
外 観	殆ど沈澱なし	極めて僅に試験品の沈澱を認む	僅に試験品の沈澱を認む	試験品の沈澱を認む	液澄明	液澄明
試験 第 1 日	異状なし	異状なし	異状なし	異状なし	異状なし	異状なし
” 第 2 日	”	”	”	”	”	”
” 第 3 日	”	”	”	”	”	”
” 第 4 日	”	”	”	”	”	”
” 第 6 日	器壁に僅に黴生す	器壁に僅に黴生す	器壁に僅に黴生す	器壁に僅に黴生す	器壁に僅に黴生す	”
” 第 8 日	液面に黴生す	液面に黴生す	液面に黴生す	液面に黴生す	液面に黴生す	”
” 第 12 日	液面黴にて覆はる	液面黴にて覆はる	液面黴にて覆はる	液面黴にて覆はる	液面黴にて覆はる	”

キクナー B の防黴效力試験成績表

200 cc 中に添加したる試験品の g 量	0.0022	0.011	0.022	0.05	對 照	ベタナフトール 0.01
外 観	極めて僅に試験品液面に浮ぶを認む	僅に試験品液面に浮ぶを認む	試験品液面に浮ぶを認む	試験品液面に浮ぶを認む	液澄明	液澄明
試験 第 1 日	異状なし	異状なし	異状なし	異状なし	異状なし	異状なし
” 第 2 日	”	”	”	”	”	”
” 第 3 日	”	”	”	”	”	”
” 第 6 日	”	液面に僅に黴生す	液面に僅に黴生す	器壁に黴生す	”	”
” 第 8 日	器壁に僅に黴生す	液面に黴生す	液面に黴生す	液面に黴生す	器壁に黴生す	”
” 第 12 日	液面に黴生す	液面黴にて覆はる	液面黴にて覆はる	液面黴にて覆はる	”	”
” 第 15 日	液面黴にて覆はる	”	”	”	液面黴にて覆はる	”

キクナー C の防黴效力試験成績表

200 cc 中に添加したる試験品の g 量	0.0022	0.022	0.05	對 照	ベタナフトール 0.01
外 観	殆ど沈澱なし	試験品の沈澱を認む	試験品の沈澱を認む	液澄明	液澄明
試験 第 1 日	異状なし	異状なし	異状なし	異状なし	異状なし
” 第 2 日	”	”	”	”	”
” 第 4 日	”	”	”	”	”
” 第 6 日	液面に黴生す	液面に黴生す	液面に黴生す	液面に黴生す	”
” 第 8 日	液面黴にて覆はる	液面黴にて覆はる	液面黴にて覆はる	液面黴にて覆はる	”

前記試験の成績に據れば試験品は稀釋醬油 200 cc に對し 0.0022—0.022 g の範圍に於ては對照に供へしベタナフトール 0.01g を添加したるもの、試験全期間を通じて黴

を生ぜざりしに對し稀薄醬油と同じき狀況の下に於て黴を生じたり又添加量を増加して0.05 gを用ひたる場合も亦同様の結果を示せり依て3種の試験品には效力に差別なく醬油の防黴效力を認むるを得ず

結 論

1. 試験品キクナー A, B 及 C は樹脂酸を主成分とする製品にして A 及 C は白陶土を多量に含有す
2. 試験品 3 種は防黴效力試験成績の結果に據れば醬油に對し防黴の效力を有するものと認め難し
3. 本報告及前記報告(前出)に據り樹脂酸は酸其儘としても亦蒼鉛或は石灰と鹽類を爲す場合に於ても醬油の防黴劑に供し效果無きを知る

昭和7年10月

一蒲鉾防腐劑の蒲鉾に對する防腐效力試験成績報告

附 タンニン酸の醬油に對する防腐效力試験成績報告

技 師 石 尾 正 文
技 手 坪 井 祿 平
同 遠 藤 與 作

昭和6年7月4日附衛保第617號を以て衛生局よりの照會に基き標記の件に關し試験を行ひ次の成績を得たるを以て之を報告す

第1 蒲鉾防腐劑の防腐效力試験

緒 言

蒲鉾は一つの魚肉加工品と見做すべきものにして普通之を製するには先原料たる魚肉を摺り之に調合物を混入して摺り身と稱するものを製し之を木板に盛り形を整へ水蒸氣を以て蒸煮して製せらる、調合物としては澱粉、蔗糖、味淋及食鹽等を用ひ現在は調味料の一つとして殆ど一般に味の素を混用すと云ふ、斯くの如く蒲鉾は甚複雑なる成分を有するを以て種々の細菌の發育に適すべく随つて頗る變敗し易き食品に屬す、而して其變敗の狀況を觀察するに初め極めて緩和にして比較的不快ならざる異臭を放ち表面に粘液(俗にネトと稱せらる)を發生し時を経るに従ひて臭氣次第に不快となり粘液益々増加し次で白色の黴を發生し強烈なる惡臭を放つに至るを普通とす、然れども腐敗の狀況及速度等は品質、季節、天候及殊に貯藏の方法等により一定ならざるは勿論にして夏期は殊に變敗速かなり

上述の如く蒲鉾は甚變敗し易く且つ變敗狀況は極めて容易に外觀的に觀察し得るを以て本試験に於ては貯藏耐否試験を行ひ外觀的状況に従ひ本防腐劑の蒲鉾に對する防腐效力を判定したり

1 試 験 材 料

甲 蒲 鋅 防 腐 劑

衛生局の照會に係る蒲鋅防腐劑は日本藥局方處載の藥品を混和して製するものにして其品目、分量、調製法、用法及用量を抄録すれば次の如し

(1) 藥品名及數量 鹽化カルシウム 0.3 g, 乳酸石灰 0.2 g, 煨性マグネシア 0.1 g, タンニン酸 0.1 g

(2) 調製法 前記の藥品をよく混和して製す

(3) 用法及用量 蒲鋅製造用摺り身 187.5 g (50匁)に對し前記の混合藥品を 0.7 g の割合に摺り混ぜて用ふ

乙 供試蒲鋅の製造

供試品の製造には東京市内の某蒲鋅製造業者より直接購入したる蒲鋅製造原料(摺り身)を用ひたり、即ち其一定量を磁製乳鉢に取り之に防腐劑を研和し全質均等となるに至り普通市販品の如く木製板に着け蒸籠に入れ水蒸氣を導入し適當に蒸煮して製したり、其種類及製造直後に於ける各品の外觀及氣味を記すれば次の如し

(1) 對照品 全く防腐劑を混入せざるもの

類黄白色にして蒲鋅固有の氣味を有す

(2) 原料(摺り身) 100 g に付可檢防腐劑を 0.37 g (所定量)の割合に混和せるもの
帶褐灰色にして氣味殆ど對照品と區別し難し

(3) 原料(摺り身) 100 g に付可檢防腐劑を 0.75 g (所定の 2 倍量)の割合に混和せるもの

帶褐灰色にして微に收斂味を感ず

(4) 原料(摺り身) 100 g に付可檢防腐劑を 1.46 g (所定量の 4 倍)の割合に混和せるもの

淡褐色にして微弱なる特異の臭氣並弱き收斂味を有す

(5) 原料(摺り身) 100 g に付ベタナフトールを各 0.2 g 及 0.5 g の割合に混和せるもの

何れも白色にして臭氣殆ど異狀なきも辛烈性の味を含有す

以上の内第3以下の製品は參考の爲め併て製造し試験に供せるものなり、而して前記の如く可檢防腐劑を混入せる蒲銑の褐色を帶ぶるは主として防腐劑中の成分たるタンニン酸と蒲銑原料中に含存する鐵分との反應により生成せるタンニン酸鐵の色に起因するものなるべし、依而本試料の製造には鐵器を用ひず磁器又は硝子器等を以て之を處理したれども遂に對照品の如く類黄白色の外觀を有するものを製すること能はざりき之れ其原料(摺り身)中に鐵分を含有せしに由るべし

2 防腐效力試驗

本試験には(1)室内貯藏試験及(2)孵卵器内貯藏試験を行ひたり即ち前述の數種可檢試料を各板に附着したるまま2部に分ち1部は之を比較的塵埃少なき室内に置きたる硝子戸棚内に貯藏し他の1部は攝氏28度の孵卵器内に貯藏し毎日2回宛其外觀的變敗狀況を觀察せり而して防腐效力の判定は可檢蒲銑に粘液を發生せるを認めたる或る觀察時刻までの時間を計算し之を貯藏耐久時間となし之と全く同様に處理したる防腐劑を加へざる對照試料の貯藏耐久時間と比較するの法に據れり、但し試験は參考の爲め粘液の外徴を發生し變敗性臭氣を放つに至るまで之を續行せり

試驗成績

(1) 室内貯藏耐久力試驗成績表

試驗 日順	觀察 時刻	室内 天氣 溫度 (攝氏)	原料(摺り身) 100gに對し添加せる防腐劑のg量					
			對照品	可檢防腐劑添加品			ベタナフトール添加品	
			防腐劑を添加せず	0.37(所定量)	0.75(所定量の2倍)	1.49(所定量の4倍)	0.20	
第1日	正午	晴	23度	製造直後	製造直後	製造直後	製造直後	製造直後
	後4時	”	23,,	異狀なし	異狀なし	異狀なし	異狀なし	異狀なし
第2日	前8時	曇	21,,	同上	同上	同上	同上	同上
	正午	晴	23,,	同上	同上	同上	同上	同上
第3日	後4時	”	22.5,,	同上	同上	同上	同上	同上
	前8時	雨	21,,	微量の粘液を生ず	微量の粘液を生ず	微量の粘液を生ず	同上	同上
	正午	”	22,,	同上	同上	同上	同上	同上
第4日	後4時	雨	22,,	粘液増加し徴を生じ變敗臭を感ず	粘液増加し徴を生じ變敗臭を感ず	同上	同上	同上
	前8時	”	20,,	中止	中止	粘液増加し徴を生じ變敗臭を感ず 中止	粘液及少量の徴を生じ臭氣變敗性となる 中止	同上

(2) 攝氏 28 度解卵器内貯藏耐久力試験成績表

試 験 日 順	観 察 時 刻	原料(摺り身) 100 g に對し添加せる防腐劑の g 量				ベタナフトール添加品
		對 照 品	可 檢 防 腐 劑 添 加 品			
		防腐劑を添加せず	0.37 (所定量)	0.75 (所定量の 2 倍)	1.49 (所定量の 4 倍)	
第 1 日	正 午	製造直後	製造直後	製造直後	製造直後	製造直後
	後 4 時	異状なし	異状なし	異状なし	異状なし	異状なし
第 2 日	前 8 時	同 上	同 上	同 上	同 上	同 上
	正 午	同 上	同 上	同 上	同 上	同 上
第 3 日	後 4 時	微量の粘液を発生す	微量の粘液を発生す	同 上	同 上	同 上
	前 8 時	粘液増加し黴を發生し變敗臭を感ず	粘液増加し黴を發生し變敗臭を感ず	粘液及黴を發生し變敗臭を感ず	微量の粘液を生ず	同 上
第 4 日	正 午	中 止	中 止	中 止	同 上	同 上
	後 4 時				同 上	同 上
第 4 日	前 8 時				数箇の黴を生じ變敗臭を感ず	同 上
					中 止	同 上

前記試験の成績に徴し貯藏耐久時間を観るに室内貯藏試験に於ては本蒲鉾防腐劑添加試料中之を蒲鉾原料(摺り身) 100 g に對し 0.37 g (即ち所定量) 及 0.75 g (所定量の 2 倍) の割合に混和せるものは何れも防腐劑を添加せざる對照試料と等しく 44 時間を示し又之を 1.49 g (所定量の 4 倍) の割合に添加せるものは 68 時間に及べり、而して攝氏 28 度解卵器内貯藏試験に於ては前試験よりも變敗速かにして對照試料及蒲鉾原料(摺り身) 100 g に對し可檢防腐劑を 0.37 g (所定量) の割合に添加せるものは貯藏耐久時間何れも 28 時間にして之を 0.75 g (所定量の 2 倍) 及 1.49 g (所定量の 4 倍) の割合に添加せるものは各 44 時間なり、然るにベタナフトール添加試料に在りては之を蒲鉾原料(摺り身) 100 g に對し 0.2 g の割合に添加せるものは室内貯藏試験に於て又之を 0.5 g の割合に添加したるものは攝氏 28 度解卵器内貯藏試験に於て何れも上記試験期間中其外觀及氣味の變化せるを認めざりき

以上の如く本蒲鉾防腐劑は之を其所定量(原料摺り身 100 g に對し 0.37 g)乃至其 2 倍量の割合に蒲鉾に使用するも殆ど其防腐效力を認めざるも之を所定量の 4 倍(原料摺り身 100 g に對し 1.49 g)以上に混和するときは幾分防腐效力を有するものと認めらる、然れども斯くの如く多量を使用する場合は著しく品質を損し其色澤及香味を害するを以てかゝる大量の使用は實施し難きものと思考せらる

結 論

1. 蒲銻の防腐劑として本防腐劑を使用するときは其成分たるタンニン酸及蒲銻原料中の鐵分の爲め製品は淡褐色を帶ぶるを以て本品は白色蒲銻の製造に供し難きものと認む
2. 蒲銻の防腐劑として本防腐劑を所定量(原料摺り身 100 g に付 0.37 g)乃至其 2 倍量に添加するも防腐效力を認めず

第 2. タンニン酸の醬油に對する防黴效力試驗

タンニン酸の微生物に對する作用に關しては⁽¹⁾多くの研究ありて腐敗せる蛋白質中のバクテリアを始めとし數種の細菌類及アピクラッス酵母菌並に或る種の絲狀菌等はタンニン酸の溶液中に於て死滅するか或は發育を阻害され黒黴外數品の絲狀菌は抵抗強く酸の存在に於て蕃殖す等の報告あり、就中アスペルギルス・ガロミセスは培養液中に於てタンニン酸を分解する力強くタンニン酸を原料として沒食子酸を製造するに當り屢々分解劑に供せらるゝを以て周く知らるゝものなり、而して醬油の黴はチゴサツカロミセス・ヤボニクス並にチゴサツカロミセス・サルスス等の如き産膜酵母の蕃殖に起因するものなれ共此種の酵母に對するタンニン酸の作用に就ては未だ實驗の行はれたるものあるを聞知せず

醬油にタンニン酸を添加することは醬油の製造に於ては往々行はるものゝ如く醸造に關する文書中醬油の近下げ劑にタンニン酸又は柿澁を使用する⁽²⁾記事を掲ぐるものあり、素より醬油にタンニン酸を添加することの近下げの手段に供するものなると將又防黴の目的を以てするものなるとを問はず之を實施したる場合に於てタンニン酸の醬油黴に及ぼす影響は主として醬油中に溶存せるタンニン酸の量と黴の蕃殖力との關係如何に歸すべきものなり、然るにタンニン酸は蛋白質其他鹽基性物質と結合し易く又多量の食鹽を含有する溶液よりは鹽析さるゝ性質を有す故にタンニン酸を醬油に添加するも或はタンニン酸は醬油中に留まること能はざるやも測り難きを以て本試験に於ては先づ醬油に對するタンニン酸の溶解程度を検し次に其防黴效力試験を行ひたり

(1) タンニン酸は醬油に溶存するものなりや否やの試験

市販  印醬油に局方タンニン酸の水溶液少許を混和すれば濁濁を生じ之を靜置す

れば黒褐色の沈澱を沈着す上澄液は其氣味に於て原醬油と差異を認め難きも外觀に於て稍褪色せり、此上澄液に就き次の方法に據りタンニン酸の存否を検したり

検品 10 cc にアミールアルコール 5 cc を加へ振盪しアミールアルコール層を分取しアルコールを加へて全量を 10 cc となし之に鹽化第 2 鐵の 0.5 % 溶液 0.1 cc を加へ振盪して生起するタンニン酸の藍黑色の呈色程度を含量既知のタンニン酸の標準溶液と比色しタンニン酸の量を測定して次の成績を得たり

試 験 成 績

醬油 100 cc に添加したるタンニン酸の g 量	0.0165	0.05	0.1
タンニン酸を溶解するに使用したる水の量	1 cc	1 cc	1 cc
醬油 100 cc 中に溶存するタンニン酸の g 量	殆ど検出せず	0.0025	0.009

本試験成績に據れば 100 cc に付 0.0165 g (1 石當り 8 匁) のタンニン酸を添加したる醬油の上澄液はタンニン酸を殆ど含有せ

ず、0.05 g 又は 0.1 g の如く添加量を増加したるものは夫々 0.0025 g 及 0.009 g を醬油中に残留せることを驗知せり、然るに⁽²⁾記録によればタンニン酸を逆下げ劑として使用する場合は醬油 1 石に對し其使用量は 5—8 匁なりと云ふ然る時は此の如き程度の添加量に於てはタンニン酸は悉く析出せられ醬油中には殆ど溶存すること無きことを知得したり、但し之より多量を添加する時は僅少なから前表に記載の如く溶存することを知れり

(2) タンニン酸を醬油に添加したるもの、防黴效力試験

本試験に於ては 10 數日の経過により黴の生じ始むる稀薄醬油及之に防黴劑としてベタナフトールを混和したるものを對照とし稀薄醬油に試験品を添加したるものに就き黴の發生する状況を觀察し其防黴效力を検定せり、稀薄醬油には市販  印に水を加へて之を稀釋しボーメ 15 度の比重を示すものを用ひベタナフトールは稀薄醬油 200 cc に對し 0.01 g (醬油 1 石當り 9 g) 試験品は 0.033g, 0.1 g 及 0.2 g を添加したり

試験に當りては稀薄醬油 200 cc 宛を同型硝子壺に取り之に上記の各供試品を約 1 cc の水に溶解して添加し善く振盪して混和し何れも紙帽にて覆ひ數個の小穴を穿ち攝氏 28 度の孵卵器中に貯藏し黴の發生に至る迄時々觀察し液面に菌の聚落を生じ全面に及ぶ時を以て限度としたり

タンニン酸の醬油に對する防黴效力試驗成績

稀薄醬油 200 cc に添加したるタンニン酸のg量	0.033	0.1	0.2	對照醬油	ベタナフトール 0.01
200 cc 中に溶存するタンニン酸のg量	殆ど検出せず	0.005	0.013	—	—
外 觀	僅に黒褐色の沈澱生ず	黒褐色の沈澱生ず	黒褐色の沈澱生ず	沈澱なし	沈澱なし
試験 第 1 日	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし
” 第 4 日	”	”	”	”	”
” 第 10 日	”	”	”	”	”
” 第 14 日	”	”	”	”	”
” 第 16 日	僅に黴生ず	僅に黴生ず	僅に黴生ず	僅に黴生ず	”
” 第 18 日	液面に黴生ず	液面に黴生ず	液面に黴生ず	液面に黴生ず	”
” 第 21 日	液面黴にて覆はる	液面黴にて覆はる	液面黴にて覆はる	液面黴にて覆はる	”

上記試験成績を看るに稀薄醬油にタンニン酸を添加せるものは何れも皆對照醬油と同様に 16 日後黴を發生しベタナフトールを添加せるものは全試験期間を通じて遂に黴の發生を認むるに至らず此成績よりしてタンニン酸は醬油に對し防黴效力を有するものとは認め難し

結 論

1. 普通塗下げ劑に使用する程度(醬油 100 cc に付 0.0165 g) に於てタンニン酸を水に溶解し醬油に添加したる場合にはタンニン酸は直に析出し醬油中に殆ど溶存すること無し、但し之より多量(醬油 100 cc に付 0.1 g) を添加したる場合には其一部分(醬油 100 cc に付 0.009 g) を溶存す
2. タンニン酸は醬油に對し防黴效力を有せず

引 用 文 献

- (1) A. Heffter, Handbuch der experimentellen Pharmakologie, 1528 (1824).
- (2) 日本醸造協會雜誌 第 27 年第 2 號 68 頁
昭和 7 年 12 月

ホルムアルデヒドの實性反應に就て

技 師 石 尾 正 文
助 手 和 田 清

抑々ホルムアルデヒドの毒性は更めて論述する迄も無く劇しきものに屬し清酒の如き蛋白の乏しき品にありてはホルムアルデヒドの含量 20 萬分 1 より多き時は既に衛生上不安なりと言はるゝものなり。されば清酒の場合に於ては少くとも此程度に於て之を検出することは鑑識法の必要條件なりとす。但し蛋白に富める食品にありては保健衛生上の見解に係るホルムアルデヒドの鑑識法は又自ら其々別個のものたるべし。

又楯の半面より之を看ればホルムアルデヒドは其毒性劇しきに依り防腐劑に供し效果優秀なるものなり故に其僅少を使用して所期の目的を達する便宜を有す。清酒の如き僅か 20 萬分 1 量に於て盛夏の季節猶防腐の効果を現すと云はるゝ所にして之が利用の危機は世俗の免かれ難きものゝ如く屢々此の種の誘惑に敗れて危険を冒し之を食品に混合することありと聞く。さればにや舊來諸種の食品中に於ける其鑑識法は爾餘の防腐劑に比し詳細に追究され居ること周知の如し。

更にホルムアルデヒドは其性質上化學變化を惹起し易き物質なるを以て學術研究の資料としては勿論化學工業に又醫藥に利用さるゝこと廣汎にして其消費額は年々隆盛に赴くものなり。従つてホルムアルデヒドの鑑識は是等の方面に於ても研究され其報告に係る文獻は殆んど枚舉に遑無き程のものあり。茲に其大要を集輯して食品中ホルムアルデヒドの鑑識法に資せんとす。

儲食品中のホルムアルデヒドを鑑識するには直接可檢品に付試薬を加へて試験を行ふことは殆んど稀にして大抵可檢品より一旦檢液を作り之に付試験するを常法とせり。而して其鑑識に當るものはホルムアルデヒドの實性反應にして其方法の種類に依り之を結晶法、滴定法及呈色反應の三種に分別す。尙可檢品より檢液を作る方法に關しては蒸溜法、抽出法及濾過法等あれ共本題に於ては此方面に觸れること無く専ら實

性反應に就て記述する所あるべし。

1. ヘキサメチレンテトラミン及無機鹽との複鹽の結晶生成に由る鑑識法

本法はホルムアルデヒドをアンモニアと濃縮してヘキサメチレンテトラミンとなし之に昇汞或はカリウムヨード汞等を結合せしめ前者にありては三線狀及多放線狀の星狀結晶を後者にありては淡黄色の六角形又は六面體の結晶を形成せしむる方法にしてホルムアルデヒドの固有反應として判定上極めて確實なる鑑識方法なりと遍く化學者の間に推賞さるゝものなり。

文獻に依れば⁽¹⁾ローゼンターレル氏 (Rosenthaler) は葡萄酒及牛乳に於てウロトロピン昇汞生成法の限度をウロトロピンの 50 萬分 1 としヨード汞複鹽の限度を 1 萬分 1 と報告せり。

ホルムアルデヒド其物に就ては⁽²⁾石田氏は 10 萬分 1 ホルムアルデヒド水溶液に於てウロトロピン昇汞の結晶を検出し⁽³⁾衣笠氏等は生やり烏賊の蒸溜々液につきて豫め呈色反應により 7 千分 1 量のホルムアルデヒドを含有することを知りたるものを以てウロトロピン昇汞の結晶を認め⁽⁴⁾石津氏等は氏等の提唱する如き種々の注意を以てして清酒中 10 萬分 1 に於てウロトロピン昇汞の結晶を稍々確實に検出し得るが如しとし尙 100 萬分 1 にても屢々検出し得るも成績不定なりと言へり。又⁽⁵⁾筆者(石尾)の經驗に依れば燻製肉にホルムアルデヒドを添加せる際ウロトロピン昇汞の結晶は 5 千分 1 を検出し得るに反しヨード汞複鹽は 2 千分 1 にては検出し得るも 5 千分 1 にては検出し難く又少しく試験方法を變更して豫め呈色反應によりて 1 萬分 1 よりは多けれど 5 千分 1 より少きホルムアルデヒドを含むことを知りたるハムに就てウロトロピン昇汞の結晶を検定し得たり。

⁽⁶⁾ドブリネル氏 (Dobriner) はホルムアルデヒドに就てウロトロピン昇汞の結晶は 10 萬分 1, ヨード汞複鹽の結晶は 1 萬分 1 を検出し得るとし尙これら以外の試薬に依る複鹽生成の鋭敏度は鹽化白金, 磷ウオルフラム酸, 及ヨードヨードアルカリ等にて 1 萬分 1, 鹽化錫, ヨードカリウム, ヨード蒼鉛ヨードカリウム等にて 1 千分 1 を検出し得たりとせり。

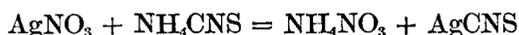
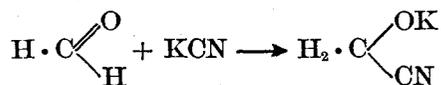
斯の如く本法は後文記載の呈色反應に比し鋭敏度低く且つ實施にあたりて熟練を要

し尙且つ一定せる成績を得難きの嫌あるものなり。故に清酒の如く 20 万分 1 程度にて鑑識を必要とするものにおいて例へ本法はホルムアルデヒドに固有にして確實なる反應なりと雖俄に實用に供し難きものと言はざるべからず。

2. 滴 定 法

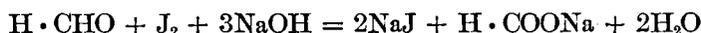
滴定法に屬するものに⁽⁷⁾ロミジン氏 (Romijn) に依るシアンカリ法及沃度法等あり。

シアンカリ法は檢液 10 cc を取り 10 分定規硝酸銀溶液 10 cc (50% 硝酸 2 滴添加) 及 3.1 g のシアンカリを水 500 cc に溶解したるシアンカリ溶液 10 cc を加へ水を追加して全量を 50 cc としよく振盪して濾過し濾液 25 cc を取り鹽化鐵溶液を標示薬として過剰の硝酸銀を 10 分定規硫シアンアンモン溶液にて逆測し同時に盲驗を行ひ其差額よりホルムアルデヒドを定量せんとするものにして本反應の方程式を示せば次の如し



本法はアセトアルデヒド、ベンツアルデヒドも反應するものなれどもこれ等アルデヒド等の存在に於てもホルムアルデヒドの定量に用ひ得らるゝものにして⁽⁸⁾英國に於て牛乳中のホルムアルデヒドの鑑識に用ひらる。

沃度法とは檢液に一定量の沃度溶液を加へ之にナトロン滴液を加へ次に之を鹽酸々性となし過剰の沃度を澱粉溶液を標示薬として次亞硫酸ソーダ溶液にて逆測する方法にして本反應の方程式次の如し



但し本法はアセトアルデヒド、ベンツアルデヒドの共存する時はホルムアルデヒド定量法として用ひ得られざるものなり尙本法はホルムアルデヒドの含量極微の時果して使用に堪へ得るものなりや否や不明なり。

3. 呈 色 反 應

呈色反應に關する研究報告は頗る多く⁽⁹⁾ザバリッチユカ・ハルニ₁シュ (Sabalitschka

u. Harnisch) 兩氏の報告に於ても引用文献数は 121 に上れり、而して兩氏の試験したる成績に據れば 20 數種の呈色反應中ホルムアルデヒドに特有なるものは數種に過ぎずとし尙此特有なるものと雖判定上疑惑を生ずるが如きものありて實際に用ひ得らるゝ方法は更にその數を減せり。以下數項に分ちてザバリッチユカ・ハルニ、シュ兩氏の報告に係る成績を基として記述する所あるべし。

其 1 フェノール類を用ふる反應

(1) ユッド (Judd) 反應

フロログルシン、カリ滷液 鋭敏度 10 萬分 1

アルコール性フロログルシンを用ひホルムアルデヒドは薔薇紅色を呈し 12 分間その色を持続すブチルアルデヒド、アセトアルデヒドも紅色を呈すといふも前者は 4 分間後者は 6~8 分間後褪色す、而して此保色時間の差に依りて各アルデヒド類は區別し得べしと

(2) ザバリッチユカ・リーゼンベルグ (Sabalitschka u. Riesenberg) 反應

フロログルシン、カリ滷液 鋭敏度 90 萬分 1

ホルムアルデヒドの濃淡に依り深紅色乃至微薔薇紅色を呈す但し 10~30% には呈色せざるか或は微に呈色するに過ぎず。ホルムアルデヒドの濃厚液にては 20 分間、稀薄液にては 12 分間その色を保つと云ふも 50 萬分 1~90 萬分 1 には暫時の後青紫色に變ず。アセトアルデヒドも紅色を呈するも保色時間は 6~8 分間なるを以てホルムアルデヒドの場合と區別し得。又フルフロールも紅色を呈す然し乍らホルムアルデヒドより後れて呈色するものにしてやがて葡萄酒紅色を呈す。又 50 cc の水にフルフロール 1 滴加へたるものは微に薔薇紅色を呈し數時間經過したる後葡萄酒紅色を呈す但しフルフロールの鋭敏度は 1 萬分 1 に過ぎず。10% 葡萄糖を稀硫酸と共に煮沸しカリ滷液にて中和して試験すれば薔薇紅色を呈し後黄色に變化す

(3) ウェーベル・トルレンス (Weber u. Tollens) 反應

フロログルシン、濃鹽酸、鋭敏度 1 萬分 1

ホルムアルデヒドは加温に依りて白濁し後赤黄色絮狀の沈澱を生ず。此反應はアルデヒド類、糖類にても起るものなれども沈澱の状態によつて區別し得

極めて稀薄なるフルフロールは沈澱を生ぜずして薔薇紅色を呈しやがて青色乃至青緑色に變ず。

(4) コーン (Cohn) 反應

レゾルシン, 濃硫酸, 鋭敏度 10 萬分 1

本反應はホルムアルデヒドにより上部に白色沈澱を生じ接界面は葡萄酒紅色又は微薔薇紅色を呈す。他のアルデヒドによりても上部に白色沈澱を生ずるも接界面の色を異にす。例へばアセトアルデヒドは深綠色, ベンツアルデヒドは黄色を呈し又 1% アルコール性フルフロールを 50 倍に稀釋せるものは下部は黄綠色上部は褐赤色を呈し接界面は薔薇紅色を呈しその上部に帶白青色の濁濁を生じ又 1% 葡萄糖にては上部に白色沈澱を有する深紅色の接界面を生ず。此の如く本反應はホルムアルデヒドの證明に屢々疑惑を生ずるの危機あるものなり。

(5) レビン (Lebbin) 反應

レゾルシン, ナトロン鹼液, 鋭敏度 20 萬分 1

ホルムアルデヒドは初め黄色を後赤色を呈す。クロ、ホルムは此反應を呈するもその鋭敏度は 5 千分 1 に過ぎず即此含量に於ては檢體はクロ、ホルム臭を發し尙その 10 倍に於てさへイソニトリル反應を呈する爲本反應はクロ、ホルムに煩はさるゝことなし。ザバリッチユカ・ハルニッシュ兩氏によれば 1% フルフロールは初め黄綠色を後深紅色を呈しホルムアルデヒドの呈色とよく酷似すと。又 10% 葡萄糖溶液にても初め黄綠色を後煮沸により葡萄酒紅色を呈す

(6) ピール・ライフ及ハンネル (Pfyl, Reif u. Hanner) 反應 (i)

グアヤコール, 硫酸, 鋭敏度 5 千分 1

ホルムアルデヒドに依り赤色乃至暗紫色を呈しフルフロールは橙赤色, ベンツアルデヒドは赤褐色を呈す。ザバリッチユカ・ハルニッシュ兩氏によれば 1% アルコール性フルフロールは赤紫色を呈し又 10% 葡萄糖溶液はホルムアルデヒドの如き赤色を乳糖は葡萄酒紅色を呈す

共 2 種 アルカロイドを用ふる反應

(1) ピール, ライフ及ハンネル (Pfyl, Reif u. Hanner) 反應 (ii)

アポモルヒン, 硫酸 鋭敏度 5 千分 1

ホルムアルデヒドにより暗灰紫色を呈す. フルフロールは長く保ち得る紅色を呈し區別することを得. 10% 葡萄糖溶液は白濁し葡萄糖の小粒を加ふる時は葡萄酒紅色を呈し後青紫色に變ず

(2) ボンネット, ケントマン (Bonnet u. Kentmann) 反應

モルヒン鹽類, 濃硫酸, 鋭敏度 1 千分 1

ホルムアルデヒドにより赤紫色を呈す. 25 萬分 1 量のホルムアルデヒドにては最早特有なる色を現はさずして褐色を呈す. アセトアルデヒドは極微褐色を呈し稀薄液に於ては疑惑を生ず. ザバリッチユカ・ハルニィシュ兩氏によれば 1% アルコール性フルフロール及 10% 葡萄糖溶液に於ては 1% ホルムアルデヒドが呈すと同じき程度の赤紫色を呈す

其 3 ナフタリン類を用ふる反應

(1) ダーネ (Dané) 反應

アルフナフトール, カリ鹼液 鋭敏度 10~30%

ホルムアルデヒドは綠色を呈し後暗青色を呈す此反應は 10~35% の如き濃厚なるホルムアルデヒドにては適用し得るも既に 1% 溶液 4 滴にては呈色せず. 10% 葡萄糖溶液及フルフロール溶液は深紅色を呈し乳糖はホルムアルデヒドと同じ色を呈す

(2) デイツ (Ditz) 反應

ナフタリン, 濃硫酸 鋭敏度 5 千分 1

ホルムアルデヒドはナフタリンとの重合物によりて接界面に初めは青色を呈し振盪後暗青色を呈す. アセトアルデヒドは重合物を作らずベンツアルデヒドは單に赤黄色を呈し乳糖は接界面に紫青色を呈するも二液の混合によりて消失す. フルフロールは接界面に黄綠色を呈し一時色相濃厚となり後赤褐色に變ず. 本反應はホルムアルデヒドに特有のものなれども不鋭敏なり

其 4 フェニルヒドラジンをを用ふる反應

(1) アルノルド・メンツェル (Arnold u. Mentzel) 反應 (i)

鹽酸フェニルヒドラジン, 鹽化第二鐵, 硫酸, 鋭敏度 5 萬分 1

ホルムアルデヒドは赤色を呈す。又アセトアルデヒドのアルコール溶液及水溶液(1:150)に於ても同じ色を呈すアセトン、ベンツアルデヒド、クロラール等は赤色を呈せざれ共アクロレインは赤色を呈す。ザバリッチユカ・ハルニィシュ兩氏は1%アルコール性フルフロール溶液も赤色を呈すれど暫時の後褐赤色に變ずるを以てホルムアルデヒドと辨別し得ると。又葡萄糖溶液は褐赤色を呈すと言へり

(2) アルノルド・メンツェル (Arnold u. Mentzel) 反應 (ii)

鹽酸フェニルヒドラジン, ニトロプルシトソーダ, ナトロン鹵液 鋭敏度 6 萬分 1
本反應はリミニー反應と同一種と見做すべきものにして其差は鹽酸フェニルヒドラジンを固體の儘使用する點にありとす

本反應はホルムアルデヒドに依り青色乃至青灰色を呈しホルムアルデヒドに特有なり蔗糖, 乳糖及澱粉は反應せずフルフロールにては赤色を, 10% 葡萄糖溶液にては黄赤色を呈す

(3) アルノルド, メンツェル (Arnold u. Mentzel) 反應 (iii)

鹽酸フェニルヒドラジン, フェリシアンカリ, ナトロン鹵液 鋭敏度 5 萬分 1

ホルムアルデヒドは緋色を呈す。本反應は澱粉にては反應せず又フルフロールに於てはホルムアルデヒドの色相と辨別し得る赤色を呈し乳糖及蔗糖溶液にては長く放置する時にはホルムアルデヒドの呈する色と混同し易き赤色を呈す

(4) ビルハシー (Pilhasy) 反應

鹽酸フェニルヒドラジン, 醋酸ソーダ, 鋭敏度 25 萬分 1

ホルムアルデヒドは酸性に於て綠色を呈す。ザバリッチユカ・ハルニィシュ兩氏によれば1%アルコール性フルフロール溶液も酸性に於て綠色を呈すれども暫時の後赤黄色に變ず又澱粉溶液は赤黄色を, 乳糖溶液は黄綠色を, 10% 葡萄糖溶液は顯著に綠色を呈し蔗糖溶液は褐色の沈澱を生ず

(5) リミニー (Rimini) 反應

鹽酸フェニルヒドラジン, ニトロプルシトソーダ, ナトロン鹵液 鋭敏度 100 萬分 1

ホルムアルデヒドに依り青色を呈す。アクロレインは此反應を起さず又フルフロールも呈色せず。10% 葡萄糖溶液は綠色を呈し後赤色に變ず。尙 100 萬分 1 量のホルム

アルデヒドの呈する青色は瞬時綠色に變ず

(6) シュリーヘル (Schryver) 反應

鹽酸フェニルヒドラジン, フェリシアンカリ, 鹽酸 鋭敏度 100 萬分 1

ホルムアルデヒドは紅色を呈す。但しグリオキシール酸はホルムアルデヒドと同じ色を呈す。アセトアルデヒド及フルフロールはホルムアルデヒドの如き紅色を呈せず

(7) ビタリー (Vitali) 反應

鹽酸フェニルヒドラジン, 鹽化第二鐵, 鹽酸 鋭敏度 100 萬分 1

ホルムアルデヒドは赤色を呈す。筆者等の經驗に依れば本反應は清酒の場合に於てはホルムアルデヒド水が呈する赤色よりも稍々濃厚なる赤色を呈し⁽¹⁰⁾又(石尾)他のホルムアルデヒド反應にては陰性を示したる氷醋酸に於て時に微薔薇黄色を呈することありたり。本反應はホルムアルデヒドに特有のものと認め難きものゝ種類に屬するものなり

其 5 蛋白質を用ふる反應

(1) ヘーネル (Hehner) 反應

ペプトン, 鹽化第二鐵, 硫酸 鋭敏度 20 萬分 1

ホルムアルデヒドは紫色を呈す。但し甚しく稀薄なる溶液に於ては赤紫色を呈し濃厚なる溶液に於ては呈色せず 1% に於て微に紫色を呈す

本反應はアセトアルデヒド, バラアルデヒド, フルフロール, 過酸化水素, 脂肪酸類, 芳香酸類, 含水炭素, フェノール類等に由り紫色を呈せず。但しザバリッチユカ・ハルニィシュ兩氏はフルフロールの甚しき稀薄溶液に於ては微に薔薇紅色を呈し後赤紫色に變ずと云ひホルムアルデヒドの稀薄溶液も赤紫色を呈するものなれば此際混同し易き候ありと注意せり

(2) ザルコウスキー (Salkowski) 反應

ペプトン, 鹽化第二鐵, 鹽酸 鋭敏度 100 萬分 1

ホルムアルデヒドは紫色を呈す。本反應はザルコウスキー氏も言へる如くオキシメチルフルフロールにても同じ色を呈す

但し本反應はウィッチペプトンを使用せる場合上記の成績を掲げ得るものにしてべ

プトン製品の種類に由りては其鋭敏度は著しく低下するものとす

(3)⁽⁴⁾ヨッダー・タガルト (Joder u. Taggart) 反應

ペプトン及鹽酸, 鹽化第二鐵 鋭敏度 500 萬分 1

ホルムアルデヒドは紫色を呈す. ヨッダー・タガルト兩氏に依ればアセトアルデヒド, ベンツアルデヒド, フルフロール, メチルアルコール, エチルアルコール, エーテル, 醋酸, 乳酸, 糖酸, プロピオン酸, 枸橼酸, グリコール酸, 安息香酸, 石炭酸メトール, ビロガロール, シアン, アクロレイン等は此反應を現はさずと. 又サリチル酸, アセトンも本反應を呈せず

(4) 柳澤・丸山反應

卵白及鹽酸, 鹽化第二鐵 鋭敏度 300 萬分 1

ホルムアルデヒドは紫色を呈す

(5) 獨逸公定法

牛乳及鹽酸, 鹽化第二鐵 鋭敏度 100 萬分 1

ホルムアルデヒドは紫色を呈す

(4), (5) の反應を⁽⁴⁾石津氏はホルムアルデヒドに略固有なりとせり

其 6 特異の試薬を用ふる反應

(1) ガブッチ (Gabutti) 反應

カルバツォルー, 硫酸 鋭敏度 1 萬分 1

本反應はホルムアルデヒドに依り灰青色乃至青綠色の沈澱を生じ之を水に注加するもその色を保つ. ベンツアルデヒドは紅色を呈し之を水に注ぐに青色に變ず. フルフロールは紅色乃至紫色を, 葡萄糖は紫色を呈すと言ふもザバリッチユカ・ハルニィシュ兩氏に依ればアセトアルデヒドはホルムアルデヒドと同じ色を呈し又アルコール性フルフロールは深青色を呈すと, 又乳糖も青色を呈す

(2) フィンケ (Fincke) 反應

フクシン, 亞硫酸ソーダ, 鹽酸 鋭敏度 10 萬分 1

ホルムアルデヒドは紫色を呈す, アセトアルデヒドも紫色を呈すれども比較的速に消失するに反しホルムアルデヒドの呈する紫色は時間の経過に従ひ濃厚となり安定と

なる。又ザバリッチユカ・ハルニィシュ兩氏に依ればフルフロール及糖類は本反應を呈せず。斯くして本反應はホルムアルデヒドに特有なるものと認めらる。但しシッフ氏 (Schiff) の反應 (フクシン, 亞硫酸ソーダ, 硫酸) はアルデヒド一般反應に屬しフィンケ反應と區別されるものとす

(3) ゴロディッツ (Golodetz) 反應

ベンゾイルスーパオキシド, 硫酸 鋭敏度 1 萬分 1

ホルムアルデヒドは血赤色を呈す又フルフロール, 葡萄糖, 蔗糖, 乳糖の稀薄液には微に薔薇紅色を呈し後褐色に變ず

(4) トリラー (Trillat) 反應

アニリン水溶液 鋭敏度 2 萬分 1

ホルムアルデヒドの多量により白濁又は白色沈澱を生ず。但しアセトアルデヒドも白濁しザバリッチユカ・ハルニィシュ兩氏によればフルフロール及葡萄糖も白濁すと又デメチールアニリンを用ふればホルムアルデヒドは青色を呈す又ファンエック氏 (van Eck) はベンジデンを用ふればホルムアルデヒドは微黄色を呈しアセトアルデヒド, ベンツアルデヒド, アクロレインも同様に反應することを報告せり

(5) フェーデル (Feder) 反應

昇汞, ナトロン滷液及亞硫酸ソーダ 鋭敏度 2 萬分 1

ホルムアルデヒドは水銀を分離して溷濁す。但し 1% フルフロール, アセトアルデヒド及 10% 葡萄糖も同様な溷濁を生ず

以上の呈色反應に就きてザバリッチユカ・ハルニィシュ兩氏の與へたる結論を基として本項の結論を示せば次の如し

其 1 アセトアルデヒド, フルフロール, 含水炭素及他物質の存在に於てホルムアルデヒドの鑑識に適用し得べきもの

(i) 5 萬分 1 量のホルムアルデヒドに於て適用し得るもの

ザバリッチユカ・リーゼンベルグ, ユッド, コーン, アルノルド・メンツェル (iii), リミニー, 及フィンケ反應等

(ii) より以上濃厚なるホルムアルデヒドに於て適用し得るもの

ウェーベル・トルレンス、ビール・ライフ及ハンネル (ii), ダーネ、及ディッツ反應等
其 2 アセトアルデヒド、フルフロール、含水炭素及他物質の存在に於てホルムアルデヒドの鑑識に適用し得ざるもの

レビン、ビール・ライフ及ハンネル (i), ボンネット・ケントマン、ガブッチ、ゴロディッツ、トリラー、フェーデル、アルノルド・メンツェル (i) 及 (ii), ビルハシー、シュリーヘル、ヘーネル及ザルコウスキー反應等

其 3 鋭敏度高きものはリミニー、シュリーヘル、ザルコウスキー、ザバリッチユカ・リーゼンベルグ反應等

其 4 鋭敏度高く而かもホルムアルデヒド以外の物質の共存に於て尙適用し得るものは僅にリミニー、ザバリッチユカ・リーゼンベルグ反應等及ヨッダー・タガルト、柳澤・丸山、獨逸公定法等の反應に過ぎず

以上列記したる多數の呈色反應の内ホルムアルデヒドに固有なる反應として權威を有し而かも其鋭敏度高きものは唯一のリミニー反應なることを了承し得べし

然るに本反應の實施に當りて既知の處方によりては前記の如く高き鋭敏度を承認し能はざるを常とせり尤も⁽²⁾石田氏は 50 萬分 1 に於て青色を認めたりとなせども⁽⁴⁾石津氏等は清酒中に存在するホルムアルデヒド量 10 萬分 1 に於て其呈色反應は綠色なりと報告せり偶筆者等今回試薬の使用方に就き追究を試みる所ありたるに次記の方法により毎回の試験に於て異同なく 100 萬分 1 に近き鋭敏度を有するものなることを驗知したり仍て茲に附記して本題の記事を擲筆せんと欲す

試験方法 檢液 15 cc を内容約 60 cc を有する試験管にとり新製鹽酸フェニルヒドラジン溶液 (1 g を水 100 cc に溶解し濾過して用ふ) 1 cc を加へ振盪し 10 分間放置の後 2% ニトロブルシットソーダ新製溶液 3 滴を加へて振盪し更に 5 分間放置の後ナトロン滷液 (15%) 3 滴を加ふ、尙檢液 10 cc 乃至 5 cc を取る時は試薬の使用量を適宜減少するを可とす

ホルムアルデヒド含有水及分溜法により得たる清酒の第二溜液につきて施行したる本反應の成績下の如し

ホルムアルデヒド水					ホルムアルデヒド含有清酒					ホルムアルデヒド 不含清酒	蒸溜水
水に對するホルムアルデヒド添加量					清酒に對するホルムアルデヒド添加量						
1/20萬	1/30萬	1/40萬	1/50萬	1/100萬	1/20萬	1/30萬	1/40萬	1/50萬	1/100萬		
+	+	+	+	-	+	+	+	±	-	-	-
(青色)	(青色)	(青色)	(青色)	(綠色)	(青色)	(青色)	(青色)	(青色は綠色又)	(黄色)	(黄色)	(黄色)

引用文献

- (1) Rosenthaler ; Pharm. Zentralh. 54, 1154
- (2) 石田 ; 藥學雜誌 422 號 304 (大正 6 年)
- (3) 衣笠, 服部, 岩元 ; 本藥報 39, 190
- (4) 石津, 柳澤, 岡島 ; 本藥報 17, 35, 38, 47,
- (5) 石尾, 青木 ; 本藥報 18, 227, 230
- (6) Dobriner ; Zeitschr. f. Analyt. Chem, 36, 45 (1897)
- (7) Romijn ; Zeitschr. f. Analyt. Chem. 36, 19, 21 (1897)
- (8) Food and Drugs. vol 1, 66
- (9) Sabalitschka u. Harnisch ; Pharm. Zentralh. 67, 289, 309, 324, 339, 357, 371, 387
- (10) 石尾 ; 本藥報 17, 93
- (11) Yoder u. Taggart ; Zeitschr. f. Untersuchung d. Nahr. u. Genussm. 20, 210 (1910)

昭和 8 年 1 月

Bulletin

of

The Imperial Hygienic Laboratories.

Abstracts from Original Papers.

1. **Chemical test of the coal-tar dyes, Sunset Yellow FCF and three others.** By *M. Ishio, T. Naemura and K. Yamanaka.*

The first samples of Sunset Yellow FCF and three others, the permitted colors for use in food in U.S.A. sent for to our laboratory are tested qualitatively and quantitatively, and their results are given.

2. **Toxicological studies on the food colors—Sunset Yellow FCF, Ponceau SX, Fastgreen FCF and Brilliant blue FCF.** By *M. Ito.*

3. **The standard method for the determination of vitamin D.** By *N. Yamamoto and F. Mannen.*

Young albino rats, about 50 gm. in weight, are fed on a basal diet of the following prescription.

wheat gluten	7
egg white	80 (protein 10. water 70)
yellow corn	25
rice starch	54
CaCO ₃	3
NaCl	1

0.1 gm. brewer's yeast daily are given to rats on the diet to provide vitamin B.

This diet produces severe rickets with an epiphyseal cartilage and metaphyse uniformly free from Calcium in rats in a few weeks. This experiment proved successful in all seasons with the exception of winter.

4. **Studies on the bacterial antigen. 1 Report.**

The purification of the boiled antigen of the typhoid bacillus by means of adsorption. By *T. Akiba, K. Hayashi, H. Mieno.*

Material :

The emulsion or broth culture of typhoid bacillus is heated at 90–100°C for thirty minutes and then filtered with Berkefeld filter.

Method of purification :

1. According to the purification of ferments by Willstätter, Euler and Josephan, polyaluminiumhydroxyd B is mixed to the filtrate at 20 %. They are shaken often and placed at room temperature for twenty hours. After collecting and washing two or three times with the weak solution of acetic acid, the adsorbent is emulsified in ammonia alkaline solution (pH 9) of the same volume as the original filtrate and left at room temperature for twenty hours.

By filtering or centrifuging, the adsorbent is removed and the clear solution is dialysed for one to three days in flowing water.

2. According to the purification of toxin by Hosoya and Miyata, 2 % zinc chlorid solution is added to the original filtrate so long as precipitation goes on. After filtering and washing, the precipitates are dissolved in neutral ammon citrate solution and then zinc is removed as sulphuretted zinc precipitates by mixing sulphuric ammon solution.

This filtrate is dialysed for one to three days in flowing water. This solution is the purified antigen 1.

The purified antigen 1 is moreover adsorbed by 4 % zinc acetate solution and manoevered in the same order above-mentioned.

This solution is the purified antigen 2.

Results :

The purified antigens from bacterial emulsion or broth culture by both adsorption methods are clear and negative at many colour reactions of protein and amino acid. Antigenity of purified antigens is recognized by both in vivo and in vitro examinations. That is, we could purify the antigen of typhoid bacillus by adsorption method, the yield of the purified antigen is better by Hosoya's method, but not good by polyaluminiumhydroxyd B method manoevered above-mentioned.

5. Studies on the bacterial antigen. 2 Report.

The purification of the boiled antigen of the typhoid bacillus by means of dialysis. By *T. Akiba, K. Hayashi, H. Meno.*

Recognizing the boiled antigen non-dialytic, we then intended to simplify the purification of antigen by means of dialysis. That is, if bacillus is cultivated in such a culture medium as being consisted only of dialytic substances and then the

culture is boiled, filtered and dialysed, we shall obtain very easily the purified antigen.

For this purpose we continued the study and devised the following media. We hydrolysed pepton and casein with 5-10 % sulphuric acid, then decolorized them and removed sulphur. Protein contained in beef extract was removed by manoeuvring with acid clay. By mixing properly the hydrolysed protein substance and beef extract solution without protein, we could prepare easily dialytic culture media, in which *B. typhosus*, *B. paratyphosus* A and B, *B. coli*, *B. dysenteriae*, and *Staphylococcus* were cultivated as well as in broth.

Considering these media being satisfactory, we cultured *B. typhosus* in these media, boiled for thirty minutes and filtered. The filtrate was dialysed in collodion sack in flowing water for one to four days. The filtrate becomes almost colourless and many colour reactions of amino acids disappear. The antigen content of purified solution is similar to the original.

In such manner, we could purify the boiled antigen very easily and with very good yield.

6. A few fundamental examinations regarding the oral application of adsorbents. By *T. Akiba, M. Kasama.*

Adsorbents (white bole, acid clay preparations, medicinal char-coal) are said to adsorb toxin, poison derived from decomposing protein and bacteria. In this chapter we wish to deal with the adsorption of bacteria. According to our experiments we have to conclude that their adsorbing ability of bacteria was not so remarkable in practice as is generally considered. These adsorbents remarkably adsorb bacteria in water or saline solution, but in whole broth or three time diluted broth their adsorption is very weak.

From this fact it will be right to consider that in intestinal canal, where more amount of protein, albumose, pepton and amino acid are contained than in broth, we can scarcely expect the adsorption of bacteria. Therefore, in the case of abnormal fermentation or intestinal infectious diseases it is reasonable to apply these adsorbents combining with lactic acid bacteria or germicidal drugs in order to kill or diminish the harmful bacteria.

There is no hinderance in application of adsorbents combining with bacterial preparations, because bacteria are scarcely adsorbed and even bacteria which were adsorbed are not killed within a few days and are able to develop according to our experiments.

Acid clay and white bole do not almost adsorb phenol, resorcin, guajacol, menthol oil and creosote; but char-coal do slightly.

Therefore, we must conclude that they have to use these antiseptic medicaments in a dose slightly more than usual, in case of applying char-coal combining with them.

7. **Results of examinations on the eggicide power (eggs of round worms of dogs) of a bacterial preparation, which is properly used for activating the decomposition of excreta or vegetable manures.** By *T. Akiba, M. Kasama.*

A bacteril preparation containing cellulose splitting bacteria and nitrogen fixing bacteria will be able to decompose eggs of parasites in excreta as much as excreta or vegetable manures? On these problem we continued examinations with eggs of round worms of dogs for ninty days from August 15 to November 17.

Results are as follow :

1. Eggs of round worms of dogs in feces cease their development after 90-100 days in rather warm time.

2. Discussing from the point of length of life and the velocity of death of eggs, we could scarcely recognize that the bacterial preparation above mentioned had the eggicide power or activating power of destruction of eggs.

8. **Toxicological studies on the Allyl-(Volatile) and Phenyl-(Non-volatile) Masturd Oil.** By *M. Ito.*

9. **Toxicological studies on Eucalyptus Oil.** By *M. Ito.*

10. **On the pharmacology of petroleum.** By *M. Ito.*

11. **A study of ferric oxide sol in acid vitriol spring.** By *Y. Katsuda and T. Nacmura.*

It had been generally regarded up to this day as one of the most difficult experiments to analyse acid vitriol spring on account of the fact that no explanation has been given for the difference in the quantities of cations and of anions, which often occurs in our laboratory. We have found, however, colloidal

ferric oxide in an acid vitriol spring, which, we believe, makes clear the reason of the above difficulty; here we should like to give a brief report on the matter.

Acid vitriol cold spring of a district in Miyagi-ken was taken as the material for the experiment, and the result of analysis in regard to its ions is as follows:

Sum of cations	89.3417 mg. equivalent
(H ⁺)	16.0006
(Fe ⁺⁺)	9.9284
(Fe ⁺⁺⁺)	52.2901
(the others)	10.7193
Sum of anions	69.4921
(SO ₄ ^{''} combined)	52.4077
(SO ₄ ^{''} free)	16.0006
(Cl)	1.0575
(HA ₂ O ₄ ^{''})	0.0257

When all these are combined together in the usual manner 19.8496 of ferri ions is left uncombined. As these figures were obtained as the result of several accurate measurements, there can be no error as to what they indicate; and for that reason, this amount of ferric ions must have been existed in a non-ion state and in the process of analysis must have been transformed into ions.

With the above fact in mind, when the spring water is reexamined further, the following facts were found.

1. The spring water has a red brown color which is much stronger than that which this amount of ferri ions ordinarily gives. Comparing it with that of diluted solution of colloidal ferric oxide of Merck, it is found that they are exactly the same.

2. The hydrogen ion concentration of the spring water is: pH=1.80 (18°). When it is boiled for about one minute, red brown hydrous ferric oxide is precipitated and the pH of the filtrate shows 1.60 (18°). The fact that there is hardly any change in pH before or after boiling indicates that hydrous ferric oxide precipitated has never been combined with any anion from the beginning.

3. When a certain amount of the spring water is put into a collodium membrane and is dialysed for about twenty-four hours, a certain amount of hydrous ferric oxide is precipitated in the membrane. Its quantitative analysis gives (Fe⁺⁺⁺)=22.4463 mg. equivalent per 1 L. which nears the quantity of excess cation given by the ordinary method of analysis: (Fe⁺⁺⁺)=19.8496 mg. equivalent.

According to these findings, we conclude that the excess of cation 19.8496 mg.

equivalent existed as colloidal ferric oxide $\text{Fe}_2\text{O}_3=0.5283$ g per 1 L, and was transformed into ferric ions during the process of analysis of its frequent treatment by concentrated acids.

This colloidal ferric oxide is produced by hydrolysis of green vitriol contained in the spring water and has exactly the same characteristics as those of what is known as the Péan de St. Gilles sol¹ or Grahams sol² of ferric oxide.

H. T. S. Britton³ measured the change in the hydrogen ion concentration of a diluted solution of acid ferric chloride by the potentiometric titration, as it was titrated by an alkali solution and he found that colloidal ferric oxide did not exist at first when pH was very small but it appeared when pH reached nearly 2.3 and changed into hydrous ferric oxide by coagulation when pH reached nearly 6.6. In other words, the range which allowed the existence of the colloid was: $\text{pH}=2.3\sim 6.6$ according to his data.

We, also, obtained the similar range by another method. We examined the tint of M/10,000 of ferric salt solution of various hydrogen ion concentrations, adding one drop (1/25 cc.) of M/100 solutions of $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, FeCl_3 and $\text{Fe}(\text{CH}_3\text{COO})_3$ to 4 cc. of various buffer solutions of $\text{pH}=0\sim 10$. We observed no color up to $\text{pH}=1.0$, whereas the characteristic red brown appeared suddenly when pH reached 1.2 and coagulation began to take place when pH reached 6.6. Therefore, we concluded that the upper limiting hydrogen ion concentration of ferri sol is $\text{pH}=1.2$ and its lower limit is 6.4. Considering the fact that pH value of vitriol spring is $\text{pH}=1\sim 2$ in most cases, the upper limit 1.2 given by our experiment seems more credible than that of Britton, 2.3.

However, analysing a certain acid vitriol hot spring water pH of which is inside of this range, there was no difference observable in the qualities of cation and of anion. As ferri sol produced by hydrolysis of green vitriol solution always coexists with the equivalent amount of free sulphuric acid, it is only natural that there should be no difference between the quantities of the two ions. That means that the existence of colloidal ferric oxide cannot be denied by the presence of the two ions of the same quantity only, even though in such cases the amount of the sol is so little that it can practically be neglected.

Then why does a certain kind of cold acid vitriol spring water, such as the one mentioned in the beginning of this report, contain such a considerable amount

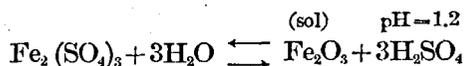
1) Compt. rend., 40, 568, 1243 (1855)

2) J. Chem. Soc., 15, 250 (1862)

3) J. Chem. Soc., 127, 2148 (1925)

of this sol? The following is the explanation we have given for it.

The hydrolysis of green vitriol solution may be expressed by the following formula :



This reversible reaction becomes equilibrium when its hydrogen ion concentration reaches pH=1.2 in the case of a purely chemical preparation. But in the case of natural spring water the reversible reaction given above goes on from left to right, for it is probable that free sulphuric acid produced is used up as it reacts to the metal oxides more basic than Fe_2O_3 sol such as MnO , FeO , CuO , Al_2O_3 , ZnO or PbO . Consequently accumulation of excess ferri sol begins to take place. Here, if it should be the case of hot spring water or of the certain kind of cold spring water which contains much coagulator, the sol would be coagulated immediately without being accumulated, but otherwise a considerable quantity of it will be accumulated.

As the data given above have been attained from only a few examples, there may still be room for further study in regard to the subject. We, however, believe that we are justified in saying with conviction; that when the vitriol spring water to be tested is cold, it is apt to contain colloidal ferric oxide; that there is no doubt as to its presence if its red brown color disappears or becomes very faint when an acid is added: or if red brown hydrous ferric oxide precipitates immediately when heated, or five or six hours later when diluted with water; that if such sample be analysed according to the usual method, the quantities of cation and of anion will never be equal: and that this difficulty may be overcome by calculation the excess ferri ions as Fe_2O_3 and by noting down the figure in the table as colloidal ferric oxide sol.

12. Studies on the detection of the pasteurized temperature and a condition of freshness in milk. (II report). By Y. Hattori, K. Akiyama.

In continuing the previous report under this heading (this Journal 36, 1930), the authors studied the various methods by testing on enzyme reaction, creamline and determination of Albumin in milk.

13. Studies on the detection of the pasteurized temperature and a condition of freshness in milk (III report)

(Detection of the pasteurized temperature on the creaming ability of milk). By Y. Hattori, K. Akiyama.

The authors studied on detection of the pasteurized temperature on the creaming ability of milk according to O. Jensen's process. From the results of their various examinations, they have recognized that their new-type butyrometer is most suitable for detecting the pasteurized temperature (above 60° to 65°) in dairy milk.

14. **Effect of "Hirasol" on the preservation of food-stuffs.** By *Y. Hattori, M. Shimojima.*

15. **The preservative effect of "Sumerachin A" on Soya sauce.** By *M. Ishio, Y. Endo and K. Wada.*

A preservative labeled under the name of "Sumerachin A" was analysed and we found that the sample was composed of sodium salts of lauric acid mainly and in small quantities of capric acid and the neighbouring ones. The preservative effect is 0.02 g of the sample to 100 g of Soya sauce, corresponding to one-fourth of the effects of β -naphthol or capric acid.

16. **The preservative effect of "Kikuna" on Soya sauce.** By *M. Ishio, Y. Endo and K. Wada.*

Three samples labeled under the names of "Kikuna A, B, C," was analysed and we found that they are composed mainly of resinous acid and white bole whose quantities in each samples are different. No preservative effects on Soya sauce can be showed by the samples.

17. **The effect of a preservative on "Kamaboko," mashed flesh of fish and the preservative effect of Tannic acid on Soya sauce.** By *M. Ishio, R. Tsuboi and Y. Endo.*

18. **On the qualitative testings of formaldehyde.** By *M. Ishio and K. Wada.*

The detecting methods of a small portion of formaldehyde by means of the formation of the typical crystal of hexamethylenetetramine with inorganic salts or the titrations or color reactions, are reviewed; and Rimini's reaction is chosen as the most valuable testing for the detection of formaldehyde in Sake, an alcoholic drink popular with our people. Mix 15 cc of the test solution with 1 cc of 1 % solution of phenylhydrazinhydrochloride, allow to stand for 10 min., add 3 drops of 2 % solution of nitroprussidnatrium, allow to stand for 5 min., finally add 3 drops of 15 % solution of sodiumhydroxyde, and a blue color occurs, 1 p. of formaldehyde in 500000 p. of the sample being detected in every test.