

衛生試驗所彙報

第四十五號

內務省衛生試驗所

昭和十年三月

緒 言

本號ハ衛生事項ニ關スル化學的細菌學的
並藥理學的研究及調査事項ヲ收録セルモ
ノナリ

昭和十年三月

凡 例

キ ロ グ ラ ム

kg

グ ラ ム

g

ミ リ グ ラ ム

mg

プ ロ セ ン ト

%

キ ロ メ ー ト ル

km

メ ー ト ル

m

セ ン チ メ ー ト ル

cm

ミ リ メ ー ト ル

mm

リ ツ ト ル

l

立方センチメートル

cc

平方センチメートル

qcm

分 解 點

Zp

熔 融 點

Fp

沸 騰 點

Kp

減 壓 の 沸 騰 點

Kp₁₀ Kp₁₅

比 重

D D₄²⁰

定 規 溶 液

n- n/10- n/50-

目 次

	頁
1. 大氣中に於ける活性酸素の臨地検出法に就て.....石 尾 正 文... 1	小 暮 明 正
2. 日射及紫外線の測定に就て.....勝 田 泰... 10	✓
3. 空氣中の細菌數測定法に就て.....秋 葉 朝 一 郎... 33	風 間 美 佐 雄
4. 吸着剤による水中特殊細菌の濃縮法	
上水中の大腸菌検出法への應用に就て.....秋 葉 朝 一 郎... 43	風 間 美 佐 雄
5. 鹽類の補體保存作用に就て.....秋 葉 朝 一 郎... 55	林 倉 一
6. ブルガリア桿菌、顆粒桿菌及嗜酸桿菌の鑑別に就て.....秋 葉 朝 一 郎... 69	風 間 美 佐 雄
7. 酵素試験成績報告(第一報).....勝 田 泰... 99	福 山 富 太 郎
8. ホルムアルデヒドの防腐劑としての價值に就て.....伊 東 幹 愛...117	
9. 魚肉類中ホルムアルデヒド類似の反應を生起する	
物質の本體に關する研究(第一報)	
北海道産やり烏賊に就て.....服 部 安 藏...123	長谷部 俊 彦
10. 魚肉類中ホルムアルデヒド類似の反應を生起する	
物質の本體に關する研究(第二報)	
北海道産やり烏賊に就て.....服 部 安 藏...131	長谷部 俊 彦
11. ホルムアルデヒドに對する卵白鐵鹽酸反應に就て.....服 部 安 藏...141	長谷部 俊 彦
12. 燻製肉類中ホルムアルデヒド試験法に就て.....服 部 安 藏...156	長谷部 俊 彦
13. ニバギン A、ニバギン M 及ニバズール M と稱する	
防腐劑の醬油に對する防腐效力試験成績.....石 尾 正 文...171	遠 藤 興 作
14. パラオキシ安息香酸、エステル類の毒性調査報告.....伊 東 幹 愛...177	汪 弘 臣 滔

15. 酒精性飲料並製劑中メチルアルコールの

試験に就て.....

服部 安 藏
長谷部 俊 彦...185

16. 伊香保温泉分析成績に就て.....

服部 安 藏
武藤 田 道
長谷部 清 彦...200

17. ズルチンの人工甘味料としての價值に就て.....

伊 東 幹 愛...217

18. 歐文抄録

衛生試験所彙報

第四十五號

大氣中に於ける活性酸素の臨地檢出法に就て

技 師 石 尾 正 文

助 手 小 暮 明 正

本試験は内務省衛生局主唱の下に昭和九年八月施行せる海水浴場並にキャンプ場の衛生調査に關する基礎實驗として行ひたるものにして、調査成績中本報告に關係あるものは茲に併記せり。

本題に掲ぐる活性酸素とはオゾン、過酸化窒素、及び過酸化水素中の反應し易き酸素の謂にして、是等の化合物中本報告の主眼とするものはオゾンとす。蓋し空中に於ける僅微のオゾンは衛生學上空氣の清純を表象すとの説⁽¹⁾あればなり。

大氣中に於けるオゾンは分光學的研究に據り其存在を確認され、其成因は主として空中に於ける無聲放電並に紫外線の照射にありとせり。而して前者の場合にオゾンに伴ひ過酸化窒素の化生する事は既に公知の事實⁽²⁾に屬すれ共、近頃後者の場合にも亦同様の現象ありと説く學者⁽³⁾あり。

大氣中に於けるオゾンの存在量に關しては數多の實驗例ありて、往年の業績には空氣 100 l に付小數點第三位に於ける mg 量の測定値を報告するもの比較的多し、但し之と懸隔せる成績を報告するもの亦尠からず。近年の業績に於ては活性酸素化合物を分別定量したる結果オゾンの含量は低下せり。

次表はオゾン、過酸化窒素、及び過酸化水素の測定成績中近年の報告に係るものとす。

試 験 者	試 験 地	オ ゾ ン	過酸化窒素	過酸化水素
Keiser & McMaster ⁽⁴⁾	アメリカ大陸	痕 跡	檢 出 せ ず	檢 出 せ ず
Hayhurst & Pring ⁽⁵⁾	イギリス { 嶼島、本島、空中 (8000呎迄) 空中	100 l 中 0,00003~ 0,0003 mg 100 l 中 0,013~0,04 mg	存 在 す れ ど も 含 量 不 足 オ ゾ ン の 含 量 以 下	

Pring	(6)	アルプス山	地上(高度 3.58km) 空中(高度 5~20km)	$4.7 \times 10^{-6} \text{Vol}\%$ $2.5 \times 10^{-6} \text{Vol}\%$	痕 痕	跡 跡	痕 痕	跡 跡
Fabry & Buisson	(7)	フランス	大陸(高度 0.3km)	0.0022cc/m ³				
Götz & Ladenburg	(8)	スイス	(高度 2.2km)	0.0029cc/m ³				
D.Vorländer & Gohdes	(3)	ドイツ			100 l 中 0.002 mg 平均数			

オゾンの検出法はヨードカリウム澱粉紙を以てする Schönbein⁽⁹⁾ の業績以後新法の考案せられたるもの十數種に及べり。Arnold-Mentzel⁽¹⁰⁾ は是等の方法は過酸化窒素、及び過酸化水素の夾雜する場合には無効なりとし、テトラメチル・パラ・ジアミノ・デフエニルメタンを新試薬に推舉せり。併るに Hayhurst & Pring⁽⁶⁾ は大氣中のオゾンの測定には此試薬を使用して好結果を得ずと報告す。近年に於ける検出法の研究は分光學的方面に著しく進展し、化學分析の領域に於ては新法の案出漸く衰へ Keiser & Mc Master 以後は試料の氣體中より過酸化窒素、及び過酸化水素を除去する方法の研究に轉向の趨勢を示せり。Usher & Ras⁽¹¹⁾ は化學的方法に據り空中に於けるオゾンと過酸化窒素との分別定量を行ひ、十四回の實驗中オゾンは検出するに至らず、過酸化窒素を検出したる事二回なりしが、此成績には雷の影響を認むと報告す。但し同氏等の實驗は空氣の捕集量 7 l ならば諸家の實驗に比し試料僅少なり。

前掲の如き文獻に依りて大氣中に於ける活性酸素化合物の分布状態を按ずるに、オゾンは土地の高度増大するに従ひ其存在量は増加す。但し高山上を除き地上に於ける量は僅微にして、空氣 100 l に付小數點第四位に於ける mg 量に留り、高地と平地とに於ては其量に相違あれ共、其差は僅少なるものゝ如し。過酸化窒素に關してはオゾンに比し知見狭く、僅に平地に於てオゾンより多量に存在するものゝ如き傾向ある事を認知するに過ぎず、過酸化水素に關しては殆ど識る所なし。而して是等活性酸素化合物の大氣中に於ける存在量は、孰も微量なるを以て簡易なる試験方法に據りては測定不能と認めらる。されば時間に餘裕無き臨地試験に於ては、オゾンの含量檢定は困難なる事始めより明なるが故に、今回執行したる東京を中心とせる海水浴場、並にキャンプ場に於ける空氣試験に於ては、オゾンに代るに活性酸素を試験の目標としたり。

本來臨地試験には簡易なる手段を以て短時間に實驗成績を收得する方法を可とす。

本報告の實驗に於ても此趣旨に準じ、活性酸素の試験には定性分析にて満足し、試験方法には取扱に簡便なる試験紙法を採用し、30分間以内にて實驗終了の標準を以て、可檢空氣は8 l を捕集して試料に供する事となしたり。試験紙法には周知のヨードカリウム澱粉紙、及びオゾンに固有なる呈色反應を現すと稱するテトラ・バーゼ紙⁽¹⁰⁾ (テトラメチル・バラ・ジアミノ・ヂフェニルメタン Tetramethyl-p-diaminodiphenylmethan を試薬とす) 並ラトラ紙⁽¹²⁾ (テトラメチル・バラ・フェニレンジアミン Tetramethyl-p-phenyldiamin を試薬とす) の三種中より選定することとし、先づ其感度を比較する爲め、實驗室に於て稀薄なるオゾンを含む空氣 (100 l に付オゾンの含有量 0.39 mg) を製し、其 10 cc 宛を作用せしめたるに、此場合には三紙共孰れも顯著に呈色反應を現したり。然れ共臨地試験の場合にはヨードカリウム澱粉紙及び濕潤狀態に於けるテトラバーゼ紙には變化なく、テトラ紙は作用せり、仍て本試験に於てはテトラ紙を採用し、之を空氣中の活性酸素と作用せしめ、反應中紙面に現はるゝ紫色に付、比色法により其濃度檢定するの法に據らんとす。

從來テトラ紙法に對しては種々の非難あり、著者等も試験準備中、本法に用ふる試薬、テトラメチル・バラ・フェニレンジアミンの入手に關し、又本試薬の變化し易き性質に關し、苦き經驗を有す。幸に新製法に據り本試薬を容易に製造し得たるを以て、茲に文獻上に記載の本試験方法に改良を加ふる事に依りて、本法の實用化を企圖したるものなり。

一、試薬 (テトラメチル・バラ・フェニレンジアミン

Tetramethyl-p-phenyldiamin) の調製

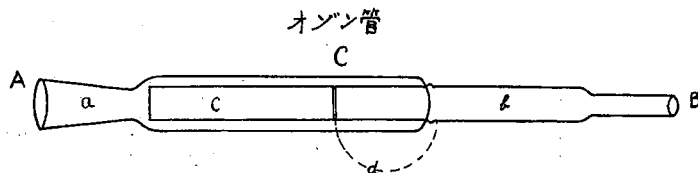
本品は販賣用の既製品目録中に其名稱の掲載さるゝ事あれ共、常備品として供給さるゝ事は稀なり、故に本品を使用せんと欲すれば之を調製するの覺悟を要す。而して其製造法として文獻に記載さるゝものは、バラ・フェニレンジアミン p-Phenyldiamin にメチルアルコールを加壓の下に作用せしむる方法なり。本報告に於ては、バラ・フェニレンジアミンをパラホルムアルデヒドと共に接觸劑の存在に於て水素還元を試みたるに、反應平滑に進行し、容易に調製の目的を達し得たり。實驗例下の如し。

パラ・フェニレンジアミン 2.5 g を振盪壺に取り、50% のメチルアルコール 100 cc を加えて溶解し、之にパラホルムアルデヒド 3 g 及び還元ニッケル 2 g を投加し、更に活性炭 5 g (一旦灼熱し 50 cc の沸湯中に投入し冷後用ふ) を水を以て洗入したる後、熱を與へて 40~50°C の溫度を保たしめ、振盪しつゝ之に水素を通ずるに、4~5 時間後略計算量 (1:4) の水素を吸収して反應終了す。壺内の反應生成物は之を迅速に濾過し、濾液を加温して濃縮し、茲に析出せる粗製品を「リグロイン」にて再結晶すれば概ね テトラメチル・パラフェニレンジアミン 0.8 g を收得す。

本品は無色の光澤を有する板狀結晶にして Fp. 51°C なり。本結晶の 1~2 片を取り試験管に容れ、水を加えて振盪すれば、結晶片には變化を認めざるも、水溶液は直に紫色を呈す。又アルコールを加えたるものは直ちに溶解し、溶液は始め微に褐色を呈するに過ぎざれ共、之を放置すれば暫時の後藍色に著色す。

二、試 験 方 法

試薬には「テトラメチル・パラフェニレンジアミン」の 0.5% アルコール溶液を供す。本溶液は用に臨みて調製し、褐色壺に容れ密栓して貯ふべし。但し調製後 10 日間以上を経過したるものは使用せざるを可とす。テトラ紙の調製には定量用濾紙を徑 1 cm の圓形に截り取り、細針を以て之に數個の穴を穿通し、試験現場に於て試薬を以て潤すべし。試験には挿圖の如きオゾン管を用ひテトラ紙をオゾン管内に挿入する際、其表面に「グリセリン」及び「アルコール」の等量混液 1 滴を給す。



圖中 A は空氣の流入口、B は排出口にして水を滿たせる内容 5 l の壺とゴム管を以て連結す。壺内の水は之を 8~10 分間に 4 l の速度にて流出せしめ、可檢空氣をオゾン管に導入するの務をなす。C は c 及び b なる 2 個の硝子管を以て固定さるテトラ紙の位置にして、c は a 管に出入自在なる硝子管、d は a, b 兩管の磨合せ口なり。

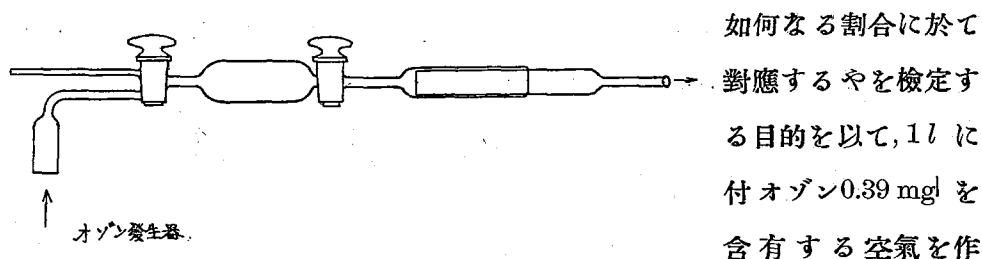
前記の如き装置を以て 8l の空氣をオゾン管に導入したる後、試験紙の現す紫色を以て次記の方法に據り作製したる標準色と比較し、活性酸素に由る反應の強弱を検定す。

三、比色用標準色の作製

Wurster は比色の標準に Dr. Schuchardt in Görlitz 製の色調表を使用せり。本實驗室には此表の備付無きを以て、本報告に於ては此表作製の基礎をなせる方法に準據し、定規ヨード液を種々の割合に稀釋し、各 1~2 滴をテトラ紙に作用せしめ、其處に生じたる紫色の濃度を Lovibond の Tintometer を以て検定したる結果、次記の四種の紫色を比色の標準に供するを以て適當なる方法と認めたり。

標準色	I	II	III	IV
L.U. { 青	4.0	3.0	2.0	1.0
赤	3.0	2.0	1.0	0.5

本標準色を適用するに當り、豫め此四種の表示する紫色の濃淡は活性酸素と



り、之を内容 5, 10, 15 cc を有する上圖の如き 3 個のガスビペットに分取し、之をテトラ紙に作用せしめ、其處に現はれたる色調を、前記標準色と比較したるに、5 cc のものは III に、10 cc のものは II に、15 cc のものは I に色度略合致せり。但し 0.39 mg より稀薄なるオゾンを含有する空氣は調製すること不可能なりしを以て、斯る稀薄なる場合に於けるオゾン量と呈色反應の強度との關係は、遺憾ながら之を了知することを得ざりき。

要するに、本検出法に於て標準色を作製して之を比色の用に供する所以は、空氣中に於ける活性酸素の多少を比較する上に於て階級を設けて鑑識の認定を

容易ならしめんと企てたるに過ぎず。

四、臨地試験の成績

試験に當りては豫めテトラ紙を「グリセリン」及び「アルコール」の等量混液1滴を以て潤し、試験管に容れゴム栓を以て密閉して對照試験に供し、其結果に於て毎同標準色 IV に比し著しく淡色なる事を確むるを要す。而して本試験に於て標準色 IV より淡色の成績を検したる時は其成績を「一」と記録し其他の場合は下記の規約に従ふ。

テトラ紙に現るゝ呈色の程度

記 録 法

標準色 I に匹敵するもの

+++

標準色 II に "

++

標準色 III に "

+

標準色 IV に "

±

標準色 I より淡く同 II より濃き場合 +++~++

標準色 II より淡く同 III より濃き場合 ++~+

試験は一ヶ所に於て大抵連續的に2回施行したり。然るに其成績は略一致せるを常としたるを以て、下表中には其一例を記載するに止む。尙下表中には活性酸素の成績と對照する爲、同時に觀測したる紫外線量（電流計の目盛）に關する成績を列記せり。

試 驗 成 績 表

試 驗 地	試 驗 日 時		天 候			活 性 酸 素	紫 外 線		高 度
	月 日	時 間	前 日	當 日	試驗時		試 驗 時	最高値	
日光中禪寺湖菖蒲ヶ濱	8. 7	午前 7	晴	曇	曇	++ ~ +			1.3 km
菅 平 大 明 神 澤	" . 9	" 10	雨	雨後曇	曇時々晴	++ ~ +	午後 2.20	41.0	1.42km
上 高 地 小 梨 平	" .11	" 9.20	雨	雨後晴	晴	+++~+++	" 0.42	42.0	1.52km
山 中 湖 畔	" .14	" 5.40	晴	快 晴	快 晴	+	午前 9	39.0	1.0 km
千葉市寒川出州海水浴場	" . 4	" 11.30	晴	晴	晴	±	" 10	40.5	
上 總 一 宮 海 水 浴 場	" . 5	" 11	晴	曇	曇	±	" 10.55	32.0	
上 總 興 津 海 水 浴 場	" . 6	" 9.30	曇	快 晴	快 晴	±	" 10.10	40.0	
安 房 北 條 海 水 浴 場	" . 7	午後 2.30	快晴	晴	晴	±	午後 0.15	40.0	
保 田 海 水 浴 場	" . 8	午後 9.30	晴	晴	晴	±	午前10.51	45.0	

佐貫海水浴場	" .9	" 8	晴	曇	曇	±	午後 1	31.0
鎌倉由比ヶ濱海水浴場	" .10	" 7.30	曇	晴	晴	±	午前10.50	36.5
葉山一色海水浴場	" .11	" 9	晴	曇	曇	±	午後 2.38	38.0
本牧海水浴場	" .12	" 9	曇	快 晴	快 晴	一	午前 8.45	32.0
羽田海水浴場	" .27	" 10.45	雨	快 晴	快 晴	±	" 11.5	39.0
當所内(但實驗室外)	" .1	" 9.		晴	晴	+~±		

總 括

以上の試験成績を總括すれば其要旨下の如し。

一、大氣中に於ける活性酸素の検出法中、臨地試験に供し、30分間以内に實驗終了するが如き簡易試験に適用し得るものを選定する爲、テトラ紙法、ヨードカリウム澱粉紙法、及びテトラバーゼ紙法に付き、感度の比較試験を施行したるに、テトラ紙法は鋭敏にして用に適する事を驗知したり。

二、テトラ紙の試薬 テトラメチル・パラフェニレンジアミン (Tetramethyl-p-phenyldiamin) はパラフェニレンジアミン (p-Phenyldiamin) をパラホルムアルデヒドの存在に於てニッケルを接觸剤とし水素還元を行へば平滑に製造し得。此新製法は本検出法の實施を容易ならしめたり。

三、本報告に於ては、活性酸素のテトラ紙に反應して生ずる紫色の濃度を比色法により檢定するに際し、標準を L.U. にて表はし本検出法の普遍を期したり。但し活性酸素によるテトラ紙の呈色反應に對する機巧に關しては、尙檢討を要する點殘存せるを以て本法には定量的効果は期待し難きものとす。

四、昨年八月中執行したる試験の結果に依れば、東京附近の海水浴場と中禪寺湖畔(高度 1.3 km)・菅平(高度 1.42 km)及び上高地(1.52 km)等の高地に於けるキャンプ場との間には、空氣中の活性酸素の反應に判然たる差ありて、其強さは土地の高度に準じて増加せり。然れ共是等のキャンプ場の高度は最高 1.52 km なるを以て、オゾンに關する文獻上の記載に由るも、此程度の高地と平地との間に於けるオゾンの分布上の差は概して僅なるものゝ如きが故に、今回の試験に於て現はれたる結果は土地の高度に依る影響以上に、試験方法又は試験地の空氣の性状特に空氣の清純度に基因する所大なるものと認めざるを得ず。

紫外線は成績上に於ては、キャンプ場と海水浴場との間に於て差を認め難けれども、勝田囑託の報告に由れば前者は後者に勝る傾向ありとせり（別報参照）。

但し其差は活性酸素の如く顯著なるものに非ざるべし。此現象即ちキャンプ場と海水浴場とに於て、紫外線と活性酸素との並行せざる事實は、一面に於てキャンプ場に於ける空氣は海水浴場に於けるものに比し、紫外線の影響を善く保留する性能ある事を表すものにして、空氣の純度に關係ありと認めらるゝ所以なりとす。

五、山中湖畔に於けるキャンプ場（高度 1km）の試験は快晴の日に行はれたるものなるにも拘らず、其成績は活性酸素にありても亦紫外線にありても、海水浴場の成績に近似し土地の高度の影響を殆ど表示せず。これ地勢の影響大なるが爲にして、上高地等のキャンプ場に比し此地の空氣の稍不純なるに歸すべきものと認む。

六、海水浴場に於ける活性酸素の反應は、市街地（横濱本牧海水浴場）と市街より隔りたる海岸地との間に於て差あるが如きも、其差は紫外線の成績の如く、明確ならず。

七、當所内の活性酸素の成績は、明かに過酸化窒素の作用なりと認む。

本報告中、テトラメチル・パラフェニレンジアミンの製造は當所製薬部近藤技師の實驗室に於て、又稀薄なるオゾンを含有する空氣を材料として行ひたる試験は横濱高等工業學校助教授河村文一氏の實驗室に於て執行したるものなり。

引 用 文 獻

- 1) E. Gotschlich, Handbuch d. Hygienischen untersuchungs methoden. I. 705.
- 2) E. Fonrobert, Das Ozon. 100 (1916).
- 3) Vorländer & Gohdes, B. 64, 1774—86 (1931).
- 4) E. H. Keiser & Mc Master, Am. Chem. Jour. 39, 96 (1908).
- 5) W. Hayhurst & J. N. pring, J. Chem. Soc. 97, 868 (1910).
- 6) J. N pring, C. 1914, III. 161.
- 7) C. Fabry & Buisson, Compt. rend. 192, 457—61 (1931).

- 8) F. P. Götz & R. Ladenburg, Chem. Abst. 25, 3530 (1931).
- 9) Schönbein, A. 89, 257 (1854).
- 10) C. Arnold & C. Mentzel, B. 35, 1324. 2902. (1902).
- 11) F. L. Usher & B. Sanjiva Ras, J. chem. Soc. III 799 (1917).
- 12) C. Wurster, B. 21, 921 (1888).
- 13) F. Fischer & marx, B. 39, 2555 (1906).

昭和 年 月 日

日射及び紫外線の測定に就て

囑 託 勝 田 泰

本試験は内務省衛生局主唱の下に昭和九年八月施行せる海水浴場並にキャンプ場の衛生調査に関する基礎實驗として行ひたるものにして其調査成績中本報告に關係あるものは茲に之を併記せり。

内 容 目 次

一 日 射	四 紫外線測定法
二 日射測定法	五 日射及び紫外線測定成績
三 紫 外 線	六 測定成績に就て

一 日 射

太陽の輻射は實に地上エネルギーの根元なりとす。之を氣象學上より觀ればあらゆる氣象現象の源泉たる可し。之を生物學上より觀ればあらゆる生理作用の源泉なりと見做し得可く從ひてその消長は吾人の保健衛生にも影響する所亦極めて重大なるものあらん。

氣象用語にて太陽の輻射を簡單に日射と稱す。輻射學的並に分光學的推論に依れば太陽の溫度は凡そ攝氏 5500° にして地球大氣の外側に於ける日射エネルギーを之より推測するに其波長別に依る分類第1表の如し。

第1表 波長と太陽のエネルギー

波 長 $\text{\AA}$	0~4500	4500~5500	5500~6700	6700~9000	9000~11000	11000~14000	14000~ ∞
エネルギー%	12	20	17	20	11	8	12

$\text{\AA}$ オングストローム單位 ($\text{\AA}$ ngstrom unit 10^{-8}cm)

又輻射線を波長別に分類すれば第2表の如し。

第 2 表

輻 射 線			
紫 外 線		可 視 光 線	赤 外 線
遠紫外線	近紫外線		
2000~2950 Å	2950~3950 Å	3950~8000 Å	8000~4000000 Å

日射が大気層中に入射すれば此處に大氣に依る吸収現象生じ爲に地面に到達するのは其一部に過ぎるものなり。例へば晴天の日に大氣外側に到達する輻射エネルギーの 75% は高さ 1800 m 迄來射すれども水平面に達するものは 50% なり。而して短波長のもの程吸収され易きが故に地面に來射する日射の約 60% は波長 8000 Å 以上の所謂赤外線に屬し残余の約 40% が 8000 Å 以下の可視光線及び紫外線にして、就中所謂紫外線即ち 3950 Å 以下の短波長のものは僅かに全體の 1% にも達せざるものなり。

日光浴の保健上並に治療上有効なるは專ば此總日射量の 1% にも満たざる紫外線の有する殺菌作用、刺戟作用、造ビタミン D 作用等に依るものと信ぜらるゝと雖も亦一面紫外線は人體の皮膚 0.5 mm 以上に及ばざるに反し赤外線は良く深部に透入して筋肉乃至内臓に及び最大透過力を有する赤色光線に至りては屢しば身體を通過する事實あり。要之長波長に屬する赤色光線、赤外線等の生理作用は未だ明かならざる處多く従ひて日光療法の効果を紫外線作用にのみ歸するは聊か尙早の感なしとせず。赤外線が身體を温むる作用最も強きことは明かにしてこの作用が既に生理上頗ぶる有意義なるは吾人に幾多の經驗あり。又温度の上昇が紫外線の有する諸作用を著しく旺盛ならしむることに就きても既に幾多の實驗的證明あり。實際可視光線、赤外線等も亦多少の殺菌作用を有する實證さへあれども是れ果して紫外線の如く菌體を光線自體にて直接破壊するものなるか或は温度の上昇に依るものなるかは未だ明かならず。又余りに強烈なる日射は所謂日射病を誘發することある可く其生理作用の致死的なるや明かなり。

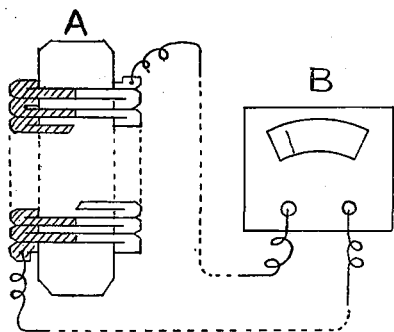
二 日 射 測 定 法

物體に入射せる輻射エネルギーの全部を吸収するものを黒體 (Black body) と稱

す。黒體は入射せる輻射エネルギーの全部を吸収して之を熱エネルギーに變ずるが故に此熱量を測定すれば初めの輻射量を知り得る理なり。アラゴー・ダービー日射計、オングストローム日射計、アボット水流日射計、アボット銀盤日射計、ロビッチ日射計⁽¹⁾は最も著名なる日射量測定器にして其原理は何れも如上の理に基く。

今回の測定に使用せる大山式熱電堆型日射計（横河電機製作所製）は第一圖 A に示すが如き厚さ約 5 ミクロンのマンガン及びコンスタンタンの薄き箔よりなれる熱電堆（Thermo-pile）の表面を煤塗りせるものを半球形の真空硝子容器内に封入せるものとミリヴォルト記録計 B とより成り A、B は別個の携帯用小箱に收めらる。本器は氣

第 一 圖



象變化に伴なふ日射の變化を時々刻々指示計の目盛によりて直讀し得る特徴を具え且つ使用時に何等の熟練を要せざるものにして臨地測定用として頗る好適なり。

太陽輻射線に對して直角に向けたる一平方糎に、一分間に來射する輻射量を直達日射量と稱し水平面一平方糎に來射する輻射量を水平面日射量と稱す。亦日射が天空に於て反射並に屈折せられて來

射するものを天空輻射と稱す。氣象觀測に於ては通常天空輻射を含まざる直達日射量及び天空輻射を含む水平面日射量とを測定する慣習あれども今回の測定目的は聊か其立場を異にするが故に特に太陽輻射線に直角なる一平方糎に一分間に來射する總日射量即ち天空輻射の一部をも含む直達日射量を測定せり。

大山式日射計の日射指示計の目盛はミリワット/平方糎 (milliwatt/sq. cm) 單位にして此目盛の讀みに $\frac{60}{4.185 \times 1000} \div 0.0143$ を乗ずれば カロリー/糎² 分の單位に換算し得るなり。尙輻射に關する太陽常數（大氣層に依る吸収なき場合の日射量）の平均値を Charles G. Abbot 氏に従ひて 1.932 カロリー/糎² 分とし之を本指示計の目盛に換算すれば $1.932/0.0143=135.1$ ミリワット/平方糎となるが故に本指示計には此點を特に考慮し 150 ミリワット/平方糎迄を目盛りて以て如何なる場合にも指針の振れ過ぎに依り最大目盛を越すが如き事なからしむ。

四 紫 外 線

近年諸學者の研究に依り紫外線の殺菌作用、人體刺戟作用、造ビタミンD作用等の明かにせらるるや日光浴乃至日光療法の効果は主として日光中に含まるる紫外線の作用に基くものと信ぜらるるに至れり。

太陽輻射線中には理論上長波長の赤外線よりX線に近き短波に至る迄存在せざる可からざるにも關らず實際地表に到達するものは常に $2900 \text{ \AA}$ 以上のものに限らる。Miethe と Lehmann⁽²⁾ の實測に依れば Berlin (50 m) と Monte Rosa (4560 m) とに於ける太陽紫外線の最短波長は何れも $2912 \text{ \AA}$ にして又 Wigand⁽³⁾ に依れば Halle (1000 m) 及び輕氣球上 9000 m の高空に於ける最短波長の太陽紫外線は夫れぞれ $2897 \text{ \AA}$ 及び $2896 \text{ \AA}$ なりきと謂ふ。以上の如き $2900 \text{ \AA}$ 内外の紫外線は正午の太陽即ち天頂時に於て認めらるるものにして午前又は午後の傾ける太陽よりの來射線中には存在せず。Cornu⁽⁵⁾ は Courtenay に於て測定せしに正午に於ける最短波として $2950 \text{ \AA}$ を午後5時に於ける最短波として $3150 \text{ \AA}$ を得又 Gösz⁽⁶⁾ は正午に $3090 \text{ \AA}$ 午後5時に $3190 \text{ \AA}$ なる最短波を觀測し得たりと報告す。同一地點に於ける以上の變化と同様の變化は亦春夏秋冬或は熱帶、溫帶、寒帶に於ても存するなり。

斯くの如く最短波長の太陽紫外線に一定の限界在るは地上約 40 呎の上層に存在すると信ぜらるるオゾン層により $2900 \text{ \AA}$ 以下の短波の吸収せらるる爲となす一説現在最も有力なり。又既に述べたるが如く太陽紫外線の最短波長は50mに於ても9000mに於ても全く同一にして高度に無關係なれども本事實は紫外線の強度が高度に無關係なりとの意にはあらざるなり。紫外線量は高度、位置、季節、氣象狀態等によりて夫れぞれ相違す。是れ紫外線が大氣層を通過するに際しオゾン、空氣、水蒸氣、水滴、塵埃、煤煙等に依りて吸収、反射、屈折、廻折せられ易きが爲にして現に夏は冬よりも、高原は平野よりも、郊外は市街よりも紫外線に富める幾多の實證あり。

紫外線の殺菌作用に關する研究を通觀するに短時間照射にて殺菌作用を行ふ最も強力なる紫外線は $2950 \text{ \AA}$ 以下の比較的短波長のものにして凡ての細菌凡ての生物組織に對して致死的に作用す。其他の諸種紫外線作用に於ても少量にて強力なる活性を示すものは大體 $3000 \text{ \AA}$ 以下の波長のもの即ち太陽輻射線中には殆ど含有せられざるも

のなり。之に對し太陽輻射線中に存在する $2950\sim 3500\text{ \AA}$ の紫外線は強く長く當てたる時のみ細菌を殺すに留まるも一面には身體に適當の刺激を與へ新陳代謝を促し保健並治療上有効なりと謂ふ。就中比較的短波長に屬する $2950\sim 3200\text{ \AA}$ のものは保健上特に有効なりと一般に信ぜられその研究者の名に因みてドルノ線 (Dorno ray) と稱せらる。然れども Hess と Wenstock⁶⁾ は紫外線の佝僂病及び破傷風治癒作用に對する有効限界波長を略ぼ $3500\text{ \AA}$ 附近と定め亦 Coblentz と Fulton⁷⁾ は $3650\text{ \AA}$ の紫外線に依りて大腸菌の完全に殺されたるを報告す。

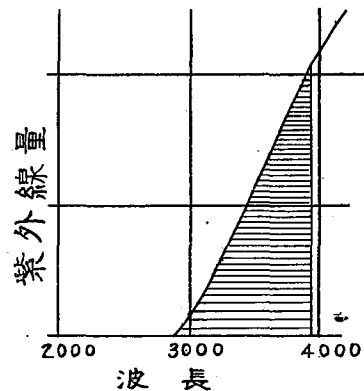
以上に就きて觀るに紫外線必ずしも總てが有効なりと言ひ得ざる事は直ちに首肯し得らるるも有効線と無効線との限界波長の確定的區別に至りては未だ判然たらざるものの如し。尙太陽紫外線 ($2950\sim 3950\text{ \AA}$) は波長の短きもの程有効なる一面には波長の長きもの程多量に含有せらるる事第2圖の示すが如く且つ亦その長きもの程身體透過率大なる事第3表の

第 2 圖

太陽の紫外線量

第3表 紫外線の皮膚透過率

波 長 $\text{\AA}$	4050	3660	3540	3130	3020	2970	2890
0.1mmを透過する%	55	49	42	30	8	2	0.01
0.5mm "	5	3	—	0.3	—	—	—
1.0mm "	0.3	0.08	0.02	0.006	—	—	—



如き事實あるが故に長波長の多量と短波長の少量とは

果して何れが保健上効果的なるやに就きても研究の餘地ありて有効紫外線が果してドルノ線のみなるや否やは單に殺菌力の多少有無のみを以ては未だ遽かに斷定し難きに非らずやと思考せらる。余りに強烈なる紫外線は日射病、皮膚炎症、視力障害等を誘發し屢しば生物組織に對し有害的乃至致死的に作用する事實も亦保健衛生上看過し得ざる所なり。

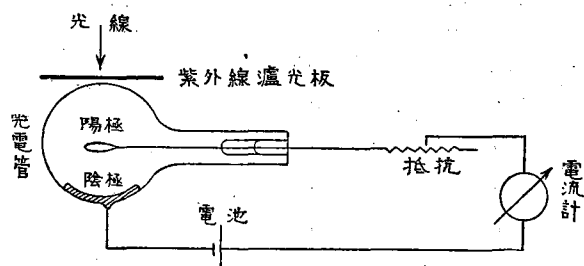
五 紫 外 線 測 定 法

紫外線量の測定法としては紫外線の光化學作用、螢光作用、燐光作用、光電作用等を應用せる諸方法あれども何れも感度惡るきか、働作時間長きに過ぐるか、測定に手

數を要するか、装置尨大高價にして實用品としては未だ改良の餘地ありて特に携帯用、臨地測定用としては好適ならず。然るに理化學研究所員二神哲五郎氏最近の考案に成れる簡易紫外線測定器⁽⁸⁾は紫外線照射を受くるや直ちに指針は働作し紫外線強度を表はす數字を直續し得られ而かも全装置の重量僅々一匁餘、携帯に便利にして且つ氣象變化極まりなき間に處しても尙良く僅かの時間内に巧みに詳細なる觀測をなし得る特徴を備え臨地測定用としては蓋し最適なりと認め本測定に之を採用せり。

太陽紫外線量の如く時々刻々多大の消長あるものの測定には光電作用を利用し瞬間的觀測を行ふ方法の最適なるや明かなり。本器は瀘光板を附したる瓦其入セシウム光電管及び電流計を適當なる回路にて接續し照射紫外線量に比例して起る光電流を計るものにして装置概略は第3圖の如し。

第 3 圖



瓦其入セシウム光電管は變化する事甚だ尠く溫度に依る光電流の變化も常溫に於ては全く無視し得られ此目的には永久不變なりと見做し得るなり。太陽輻射線のエネルギーの約60%は赤外線、約40%は可視光線に

して紫外線は數百分の一程度なれども本光電管に適當なる瀘光板例へば Jena 製 UGI の如きものを使用すれば本器に感ずる太陽輻射線は赤外線約 39%, 可視光線約 6%, 紫外線約 55% にして此比例關係は殆ど不變と見做し得る程度なるを以て太陽紫外線量の比較測定には充分なり。

本器に據り實測するに東京に於ける 8 月の快晴日の正午の太陽紫外線にては最高 33 目盛にして亦大氣層に依る吸收なき場合の太陽紫外線の約 60% なる事を推測し得るなり。即ち太陽紫外線常數は本器にて約 $33 \times \frac{100}{60} = 55$ 目盛となる。故に本器は此點を考慮し 100 まで目盛りて以て如何なる場合にも最大目盛を越すが如き事なからしむ。

今回の測定に於ては日射量測定に準じ太陽紫外線に直角なる平面に來射する總紫外線即ち天空輻射の一部をも含む直達紫外線の強度の比較觀測を行ひたり。

六、日射及び紫外線測定成績

日射及び紫外線の観測は從來一ヶ所に對して尠くとも晴天數日を要するものとせらる。今回は概ね好天候に恵まれたる爲と計器の性能佳良なりし爲とを以て殆んど一ヶ所一日宛の豫定通りの観測をなし得たるは幸甚なりき。唯だ日光・菅平・上高地の午前中の天候不良なりしを遺憾とするのみ。

各地に於ける日射及び紫外線の一日中の観測結果は第4表及び第4圖に示す如し。各地に於ける當日の最大値を観測せんが爲に太陽面並に其附近の天空状態には特に細心の注意を怠ざりき。

第4表 日射及び紫外線測定成績

1. 寒川、出洲

観測日 昭和9年8月4日

測定時刻	日 射 量 (瓦カロリー/糎 ² 分)	紫 外 線 量 (電流計の目盛數)	雲形及び雲量	天 空 狀 態 概 況
時分 10.00	—	40.5	高層雲 5	太陽附近晴
10.07	1.22	—	" 5	"
10.30	1.23	38.0	" 6	"
10.50	1.29	41.0	" 5	"
11.15	1.12	36.0	" 6	"
11.40	1.16	37.0	" 6	"
12.00	1.23	39.0	" 5	太陽附近高層雲あり。太陽面は快晴
12.30	1.14	36.0	" 5	"
13.27	1.42	40.5	" 8	太陽附近高層雲あり。太陽面のみ快晴
13.30	0.57	18.0	" 8	太陽面高層雲にて掩はる
13.40	0.44	17.0	" 9	"
14.00	0.34	13.0	" 9	"

2. 上總一の宮

観測日 昭和9年8月5日

測定時刻	日 射 量 (瓦カロリー/糎 ² 分)	" " " " (電流計の目盛數)	雲形及び雲量	天 空 狀 態 概 況
時分 10.10	1.06	29.0	層積雲 9.5	{太陽附近は大體青空なれども薄雲あり。日輪見ゆ
10.40	1.13	34.0	高層雲 9.5	"
10.55	1.06	32.0	" 10	"
11.30	0.93	25.0	" 9	"

11.45	0.96	25.0	高層雲 8	"	太陽附近は大體青空なれども薄雲あり。日輪見ゆ
12.00	1.22	30.0	" 7	"	
12.20	0.86	22.0	層積雲 9	"	観測地點附近に夕立あり
14.00	—	13.0	" 10	"	"

3. 上 總 興 津

観測日 昭和9年8月6日

測定時刻	日 射 量 (瓦カロリー/糎 ² 分)	紫 外 線 量 (電流計の目盛数)	雲形及び雲量	天 空 状 態 概 況
時分 8.25	—	34.0	層積雲 7	太陽附近雲あり。太陽面は快晴
8.45	1.26	36.0	" 6	"
9.00	1.42	38.0	" 7	"
9.13	1.22	39.0	" 5	"
9.30	1.14	39.0	" 2	太陽附近雲なし。快晴
10.16	1.14	4.00	卷 雲 2	"
10.30	1.16	39.0	" 2	"
11.05	1.16	38.0	" 1	"
11.25	1.16	38.0	" 1	"
11.40	1.19	37.0	" 1	"
12.00	1.17	38.0	" 1	"
12.20	1.14	37.0	" 1	"
12.50	1.17	34.0	" 1	"
13.25	1.17	35.0	" 0	"
14.00	1.16	34.0	" 0	"

4. 館 山 北 條

観測日 昭和8年8月7日

測定時刻	日 射 量 (瓦カロリー/糎 ² 分)	紫 外 線 量 (電流計の目盛数)	雲形及び雲量	天 空 状 態 概 況
時分 8.30	—	34.0	卷 雲 5	太陽附近雲なし
9.10	1.23	35.0	" 5	"
9.30	0.86	26.0	" 7	太陽面雲に掩はる
9.45	1.29	38.0	" 6	太陽附近巻雲あり。太陽面は晴
10.10	1.34	37.0	" 5	"
10.50	1.27	37.0	" 2	太陽附近雲なし
11.15	1.17	35.0	" 2	"

11.45	1.29	38.5	巻積雲 1	太陽附近雲あり。太陽面は晴
12.15	1.32	40.0	" 1	"
12.35	1.17	37.0	" 1	太陽附近雲なし
12.50	1.20	36.0	巻雲 2	"
13.00	1.06	35.0	" 2	"
13.15	1.22	39.0	" 4	太陽附近雲あり。太陽面は晴
13.45	1.04	36.0	" 4	"
14.20	1.13	37.0	" 4	"

5. 保 田

観測日 昭和9年8月8日

測定時刻	日 射 量 (瓦カロリー/㊦分)	紫 外 線 量 (電流計の目盛数)	雲形及び量雲	天 空 状 態 概 況
時 分 9.10	1.12	36.0	巻層雲 7	{太陽の周囲に雲あり。太陽面は晴。日 輪見ゆ
9.30	1.22	39.0	" 7	"
9.45	1.23	41.0	" 7	"
10.15	1.17	38.0	" 6	太陽の一部に巻層雲かかる
10.30	1.32	41.5	" 6	太陽附近巻層雲あり。太陽面は晴
10.51	1.64	45.0	" 6	太陽の周囲に巻層雲あり。太陽面は晴
11.20	1.40	42.0	巻雲 6	"
11.30	1.43	42.0	" 6	"
11.50	1.50	42.0	" 7	太陽の周囲に巻雲あり。太陽面は晴
11.55	1.62	44.0	" 7	"
12.20	1.29	45.0	" 7	太陽の周囲に巻積雲あり。太陽面は晴
12.30	1.30	40.0	" 7	"
13.20	1.17	37.0	" 6	"
14.00	0.97	33.0	" 5	"
14.30	1.07	33.0	" 5	"

6. 佐 貫

観測日 昭和9年8月9日

測定時刻	日 射 量 (瓦カロリー/㊦分)	紫 外 線 量 (電流計の目盛数)	雲形及び量雲	天 空 状 態 概 況
時 分 9.50	0.86	24.0	層雲 9	太陽面雲に蔽はる
10.00	0.96	27.0	" 10	"
10.27	0.62	18.0	" 10	"
11.10	0.86	26.0	" 9	"

11.15	0.86	27.5	層 雲 9	太陽面雲に蔽はる。日輪見ゆ
11.30	1.09	30.0	高層雲 9	太陽面雲に蔽はる
11.55	1.03	28.0	" 9	"
12.10	1.07	28.5	" 8	"
12.20	1.17	30.0	" 8	"
12.35	1.07	30.0	" 9	"
12.50	1.09	29.5	" 9	"
13.00	1.06	31.0	" 9	太陽面薄雲に蔽はる
13.40	0.93	26.0	" 9	太陽面雲に蔽はる
13.55	1.00	28.5	層 雲 9	"
14.15	—	15.0	" 10	"

7. 鎌 倉

観測日 昭和9年8月10日

測定時刻	日 射 量 (瓦カロリー/平方分)	紫 外 線 量 (電流計の目盛数)	雲形及び雲量	天 空 状 態 概 況
時 分 8.40	0.86	27.5	高層雲 7	太陽面雲に蔽はる
9.00	0.99	32.0	" 7	太陽雲間に現はる。快晴ならず
9.10	1.09	35.0	" 7	"
9.15	1.10	36.0	" 7	"
9.20	1.06	35.0	" 8	"
10.00	0.87	28.0	" 9	太陽面雲に蔽はる
10.25	0.96	31.0	層 雲 9	"
10.35	1.07	32.0	" 8	太陽雲間に現はる。快晴ならず
10.50	1.23	36.5	" 9	"
11.10	0.89	30.0	" 10	"
11.20	0.76	26.5	" 10	太陽面雲に蔽はる
11.50	0.72	25.0	" 10	"
12.55	1.04	33.0	" 10	太陽雲間に現はる。快晴ならず
13.05	1.06	32.0	" 10	"
13.50	0.63	22.0	" 10	太陽面雲に蔽はる

8. 葉 山

観測日 昭和9年8月11日

測定時刻	日 射 量 (瓦カロリー/平方分)	紫 外 線 量 (電流計の目盛数)	雲形及び雲量	天 空 状 態 概 況
時 分 8.42	—	15.0	層積雲 9	太陽面雲に蔽はる

8.45	0.67	20.0	層積雲 9	太陽面雲に蔽はる
9.20	0.82	22.0	" 8	"
9.30	0.80	24.0	" 8	"
10.35	0.89	25.5	" 8	"
11.35	0.94	30.0	" 9	"
11.37	1.00	31.0	" 9	"
12.35	0.56	16.0	" 9	"
12.43	1.02	31.0	" 8	太陽に淡き高層雲かかれり
12.47	1.03	36.5	" 8	太陽附近雲なし。太陽面は晴
13.33	1.30	37.0	" 8	"
14.38	1.46	38.0	" 7	"
14.45	1.29	37.0	" 7	"
14.55	1.30	37.5	" 7	"

9. 本 牧

観測日 昭和9年8月12日

測定日数	日 射 量 (瓦カロリー/1分)	紫 外 線 量 (電流計の目盛数)	雲形及び雲量	天 空 状 態 概 況
時 分 8.45	1.12	32.0	巻 雲 1	太陽附近雲なし。太陽面は晴
9.10	1.12	32.0	" 1	"
9.30	1.12	32.0	" 1	"
10.00	1.12	31.0	" 1	"
10.15	1.12	31.0	" 1	"
10.40	1.12	31.0	" 1	"
11.00	1.13	30.0	" 1	"
11.30	1.14	30.5	" 1	"
11.50	1.14	31.5	" 1	"
12.05	1.13	30.0	" 1	"
13.30	1.10	24.0	" 2	"
14.00	1.09	24.0	" 2	"

10. 羽 田

観測日 昭和9年8月27日

測定時刻	日 射 量 (瓦カロリー/1分)	紫 外 線 量 (電流計の目盛数)	雲形及び雲量	天 空 状 態 概 況
時 分 10.45	—	38.0	巻層雲 4	太陽附近雲なし。太陽面は晴
11.00	—	38.0	" 4	"

11.05	—	39.0	巻層雲 4	太陽附近雲なし。太陽面は晴
11.30	—	36.5	積雲 1	"
11.39	—	38.0	" 1	"
11.46	—	37.5	" 1	"
11.55	—	37.5	" 1	"
12.05	—	37.5	" 1	"
12.40	—	36.5	" 1	"
13.05	—	36.0	" 1	"
13.20	—	35.0	" 1	"
13.40	—	35.0	" 1	"
14.00	—	33.0	" 1	"
14.20	—	33.5	" 1	"
14.42	—	31.0	" 1	"

11. 日光中禪寺湖畔中宮祠

観測日 昭和9年8月6日

測定時刻	日射量 (瓦カロリー/平方分)	紫外線量 (電流計の目盛数)	雲形及び雲量	天空状態概況
時分 13.45	1.64	45.0	層積雲 8	太陽の周囲に雲あり。太陽面は晴
13.50	1.67	43.0	" 7	"
13.54	1.65	43.5	" 2	太陽の周囲に雲なし
13.57	1.56	43.0	" 7	"
13.58	1.57	42.5	" 7	"
14.00	1.54	42.5	" 7	"
14.04	1.49	41.0	" 7	"
14.05	1.48	43.0	" 7	"
14.06	1.44	41.5	" 7	"
14.07	1.43	41.5	" 7	"
14.09	1.40	—	" 7	"

12. 菅平キャンプ場

観測日 昭和9年8月9日

測定時刻	日射量 (瓦カロリー/平方分)	紫外線量 (電流計の目盛数)	雲形及び雲量	天空状態概況
時分 14.10	1.20	35.0	層積雲 8	太陽附近雲あり。太陽面は晴
14.20	1.44	41.0	" 8	太陽の周囲に雲あり。太陽面は晴
14.21	1.24	37.0	" 8	"

14.22	1.29	37.0	層積雲 8	太陽の周囲に雲あり。太陽面は晴
14.25	1.29	37.0	" 8	"
14.30	—	—	" 9	太陽面雲に蔽はる

13. 上高地キャンプ場

観測日 昭和9年8月12日

測定時刻	日 射 量 (瓦カロリー/平方分)	紫 外 線 量 (電流計の目盛数)	雲形及び雲量	天 空 状 態 概 況
時 分 9.30	0.33	11.0	層 雲 10	層雲天空を蔽ふ
12.15	1.54	41.0	" 9	{太陽の周囲に極めて薄き巻雲あり。太陽面は晴
12.25	1.47	40.0	" 8	"
12.30	1.33	38.0	" 8	太陽の周囲に雲なし
12.40	1.36	42.0	" 7	{太陽の周囲に極めて薄き巻雲あり。太陽面は晴
12.50	1.46	40.0	" 7	太陽附近雲塊あり。太陽面は晴
12.51	1.54	—	" 7	"
13.45	1.32	37.0	" 5	太陽附近層雲の塊あり。太陽面は晴
13.50	1.26	38.0	" 5	"
13.55	1.07	—	" 6	太陽附近雲なし
14.00	1.31	40.0	" 6	"
14.09	1.23	39.0	" 5	"
14.12	1.26	40.0	" 7	太陽附2塊の層雲あり。太陽面は晴
14.18	1.24	41.0	" 6	"
14.30	1.24	38.0	" 5	"

14. 山中湖畔キャンプ場

観測日 昭和9年8月14日

測定時刻	日 射 量 (瓦カロリー/平方分)	紫 外 線 量 (電流計の目盛数)	雲形及び雲量	天 空 状 態 概 況
時 分 8.50	—	35.0	巻積雲 2	快晴なれども霧あり
9.00	1.27	39.0	" 2	"
9.30	1.24	36.0	" 2	"
10.00	1.20	35.0	" 2	"
10.30	1.22	35.0	" 2	"
10.45	1.26	36.0	" 2	"
10.58	1.32	36.0	" 2	"
11.05	1.24	35.0	" 2	"

11.30	1.21	34.0	巻積雲 2	快晴なれども霧あり
12.00	1.23	34.0	" 2	"
12.20	1.23	34.0	" 2	"
12.40	1.20	35.5	" 2	"
13.03	1.21	34.0	" 2	"
13.33	1.27	32.5	" 2	"
14.00	1.21	32.0	" 2	"

15. 東京市(東京衛生試験所屋上)

観測日 昭和9年8月14日

測定時刻	日 射 量 (瓦カロリー/㎠分)	紫 外 線 量 (電流計の目盛数)	雲形及び雲量	天 空 状 態 概 況
時 分 9.30	0.89	26.0	0	太陽面並天空ともに快晴
10.15	1.02	29.0	"	"
10.40	1.03	30.5	"	"
11.06	1.00	30.0	"	"
11.56	1.01	29.0	"	"
12.00	1.00	29.0	"	"
12.15	1.03	30.0	"	"
12.46	1.02	30.0	"	"
13.16	1.04	30.0	"	"
13.24	0.92	26.0	"	{ " 當試験所内の煙突より淡より 淡き煤煙出づ
13.29	1.03	30.0	"	太陽面並天空ともに快晴
13.51	1.04	28.5	"	"
14.00	1.02	28.5	"	"
14.30	1.01	28.5	"	"
15.00	0.97	26.5	"	"

16. 東京市(東京衛生試験所屋上)

観測日 昭和9年8月15日

測定時刻	日 射 量 (瓦カロリー/㎠分)	紫 外 線 量 (電流計の目盛数)	雲形及び雲量	天 空 状 態 概 況
時 分 10.00	—	24.0	0	
11.00	—	26.0	"	
11.13	1.11	31.5	"	快晴。青空の色濃し
11.20	1.10	31.5	"	"
11.32	1.14	32.0	"	"

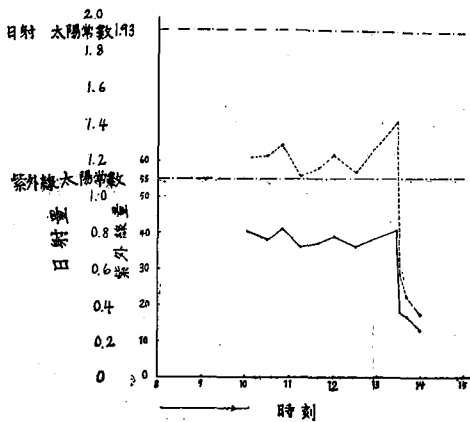
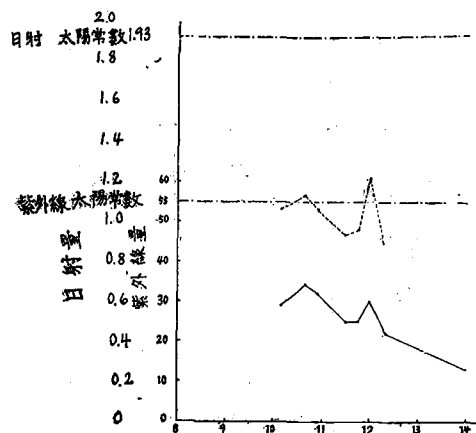
11.47	1.10	32.5	0	快晴。青空の色濃し
12.00	1.09	31.5	"	"
12.05	1.05	30.0	"	"
12.46	1.03	29.5	"	"
13.48	1.09	30.0	"	"
14.00	1.02	29.0	"	"
14.27	1.00	28.0	横雲 1	太陽附近雲なし。太陽面は晴
14.58	0.99	27.5	" 1	"
15.00	1.00	27.0	" 1	"
15.10	0.98	26.0	" 2	"

17. 東京市(東京衛生試験所屋上)

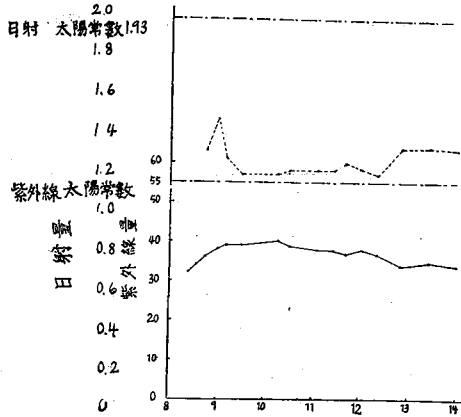
観測日 昭和9年8月18日

測定時刻	日射量 (ワット/平方分)	紫外線量 (電流計の目盛数)	雲形及び雲量	天空状態概況
時分 10.00	1.17	32.0	0	快 晴
10.30	1.23	33.0	"	"
11.05	1.14	32.0	"	"
11.31	1.17	32.0	"	"
12.03	1.12	31.5	"	"
12.30	1.19	32.5	"	"
13.04	1.10	31.5	"	"
14.01	1.08	30.0	"	"

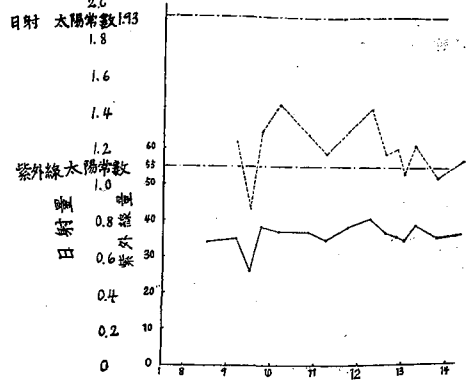
第4圖 日射及び紫外線消長圖表

寒 川
(晴)一の宮
(快晴ならず)

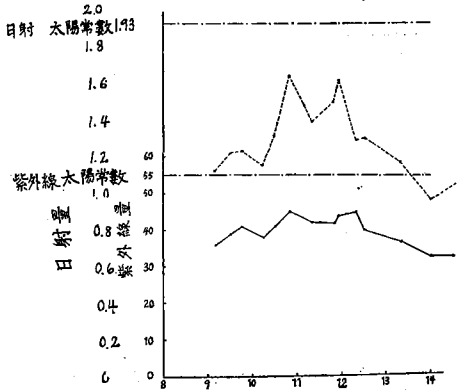
興 津
(晴)



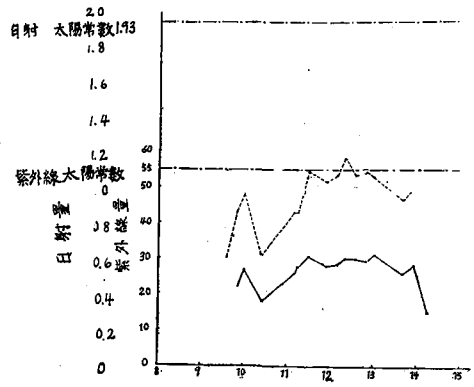
北 條 館 山
(晴)



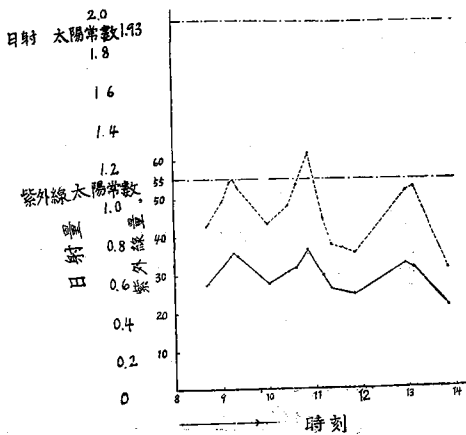
保 田
(晴)



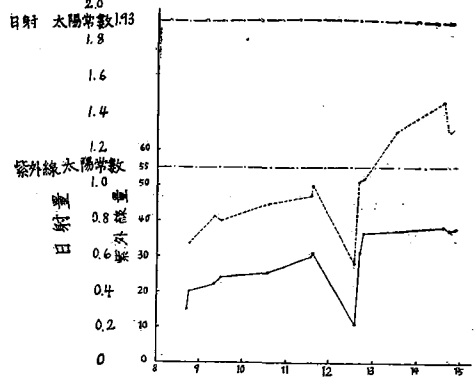
佐 賀
(曇)



鎌 倉
(快晴ならず)

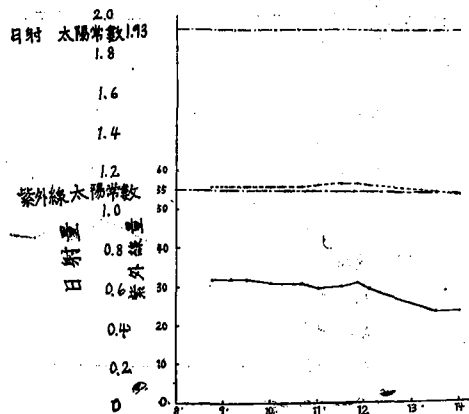


葉 山
(午前曇, 午後晴)



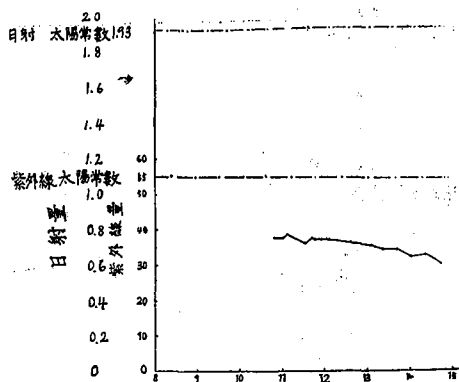
本 牧

(晴)



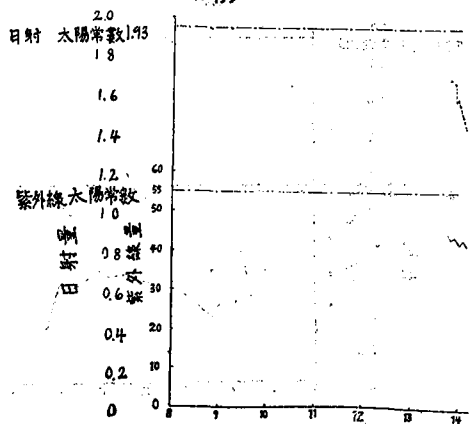
羽 田

(晴)



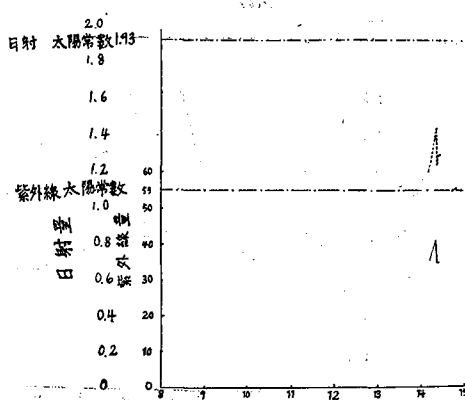
日光(中禪寺湖畔)

(晴)



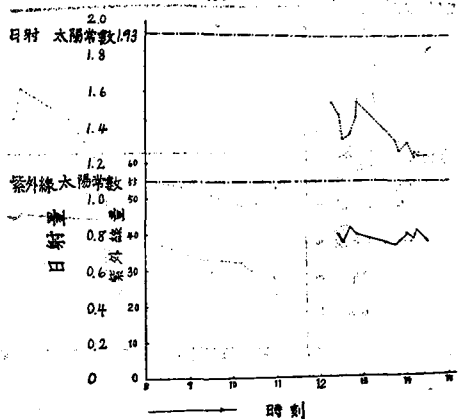
菅 平

(晴)



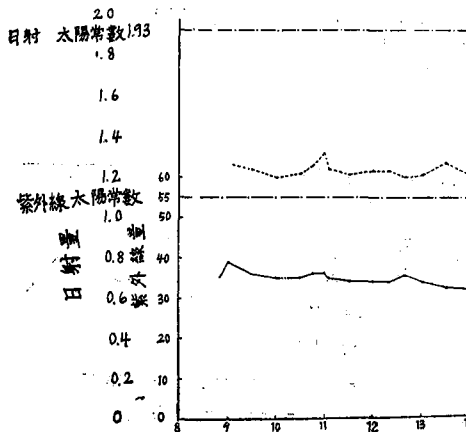
上 高 地

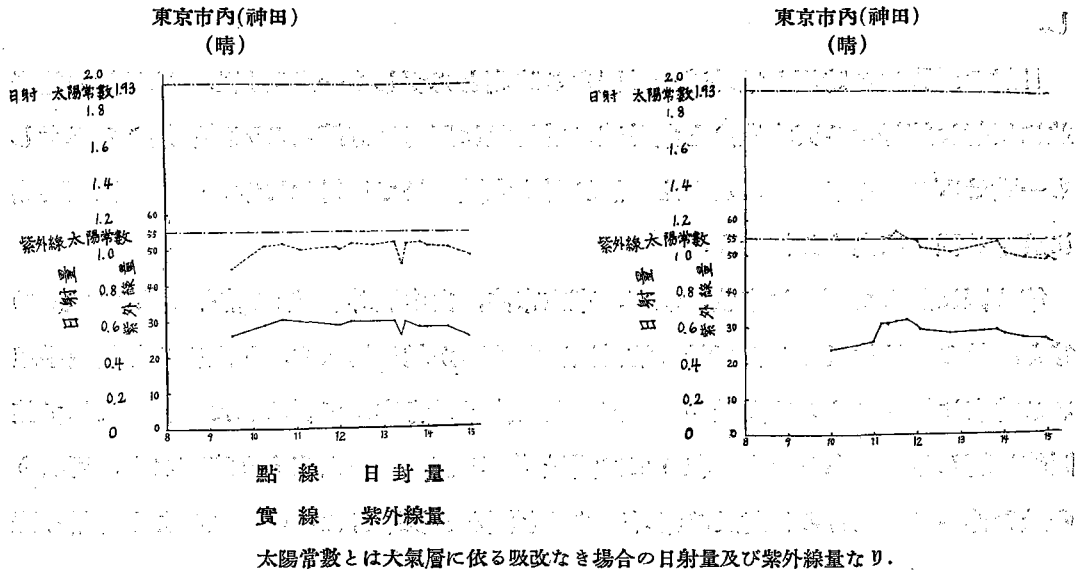
(晴)



山 中 湖 畔

(晴なれど霧あり)



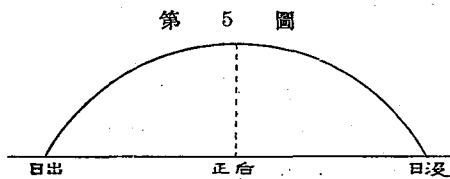


七 測定成績に就て

第4表並に第4圖に就て觀るに午前の天候不良なりし日光、菅平、上高地、佐貫、葉山を除けば一日中の日射量並に紫外線量の最大值は次表の如く

觀 測 時 刻	時分 9.00~10.00	10.01~11.00	11.01~12.00	12.01~13.00	13.01~14.00	14.01~15.00
日射量最大値觀測回数	1	5	3	0	2	0
紫外線量最大値觀測回数	2	7	2	2	0	0
合 計	3	12	5	2	2	0

午前に 20 回午後 4 回觀測し得られたり。理論上は太陽の天頂に達せる正午に於て



第5圖に示す如く日射量並に紫外線量は最大なる可きなれども一の宮に於ける日射量最大値が正午に於て觀測せられたる以外觀測結果に殆ど此事なきは大氣の輻射線透過率が正午

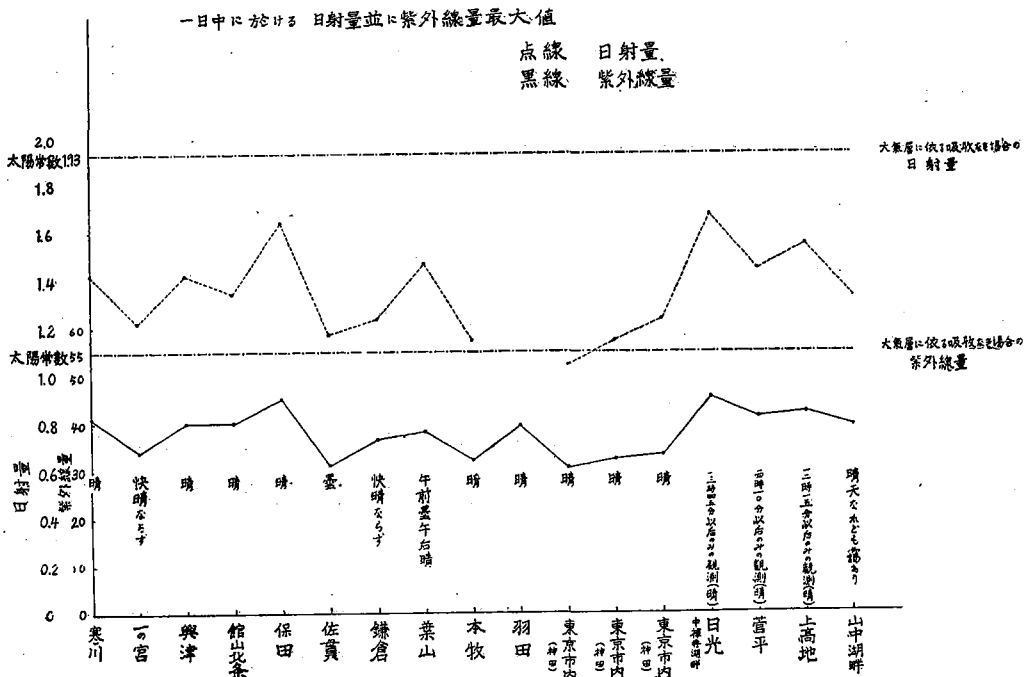
附近より低減し始むる事實を示すものならん。而して各輻射線最大値の觀測回数を一時間毎に數ふれば10~11時に於ける12回或は10時30分~11時30分に於ける12回を以て最多とす。以上に依りて觀るに盛夏の候一日中に於て大氣最も清澄にして日射並に紫外線の最強なるは10~11時或は11時前後に於ける一時間なりと推斷し得可

し。

日射の最強なる時刻と紫外線の最強なる時刻と必ずしも一致を見ざるは日射の透過並に反射に適好なる天空状態と紫外線の透過並に反射に好適なる天空状態との必ずしも一致せざる事を示すものならん。然れども大體に於て日射並に紫外線の各観測時刻に於ける強さは良く比例せり。

第4圖に就きて觀るに本牧、羽田、東京市内、山中湖畔(興津も稍や此部類に屬す)等と殘餘の各地に於ける輻射量の消長圖線とは聊か趣を異にす。該圖線の比較的平坦なる前者に屬するものは雲量 0~2 割の全天空殆ど青空にて覆はれたる快晴にして該圖線に著しき起伏ある後者に在りては雲量 5~9 割の雲の去來多き晴天なり。かなりの量を伴へる晴天日の日射及び紫外線は殆ど雲なき快晴日に於ける夫れよりも稍や強

第 6 圖



き傾向あり。而して各地に於ける最大輻射量は快晴なる太陽面の附近に雲ある場合に観測し得られたり。房總、湘南地方に於て日射量 1.40 以上を示せる寒川、興津、保田、葉山の四ヶ所に於ける観測時の雲量は何れも 5~8 割にして紫外線の強度記録第一位及び第二位(山岳地方を除く)なりし保田及び寒川に於ける各観測時の雲量は 5~

7 なりき。又日光、菅平、上高地に於て日射量及び紫外線量の最大値を記録せる當時の雲量は何れも7~9 なりき（第4表、第4圖、第6圖参照）。如上の現象は雲によりて反射せられたる輻射線の影響にして且つ該天空輻射量の決して僅少なからざる事を立證せるものなり。之が適例は保田に於ける10時30分より12時30分に至る2時間に亘る測定成績なり。日射量は1.29~1.64 瓦カロリー/糎²分、紫外線強度は40.0~45.0の間を上下するの奇現象を呈せり。實に日光、上高地等に於ける觀測成績に匹敵す。斯かる強烈なる輻射が此地方に於て太陽より直接に來射せるものとは到底考ふること能はざるは臨海地方に於ける諸成績に徴し

て明なる處にして當時の天空狀況より推測するに是れ全く太陽面附近の雲の反射に據る天空輻射に基く一時的現象ならんと思考せらる。然りと雖も比較的寒冷なる山岳地方とは異なり氣溫並に氣曝溫 30° を超へ地溫 50° を超ゆる海濱に於て斯る強烈なる輻射線が屢しば長時間に亘りて持續的に來射

地	名	日射積算量(瓦カロリー/糎 ²)
寒	川	145
一	の	116
興	宮	139
館	津	152
山	北	147
保	田	102
佐	貫	108
鎌	倉	99
葉	山	99
本	牧	139

するものとすればその長時間照射による人體生理作用は明かに有害的乃至致死的なる可く特に虛弱者或は過勞者に對しては日射病、皮膚炎症、視力障礙等誘發の恐れあり。保健衛生上考慮の要あらん。

臨海地方に於ける 10~12 時の日射積算量は次表の如く最大は館山北條の 152 にして最小は葉山の 99 なりき。但し本數値は次式に依りて推算せるものなり。

$$\text{日射積算量} = ST + s(120 - T)$$

S: 太陽面雲に掩はれざる場合の日射量平均値

s: 太陽面雲に掩はれたる場合の日射量平均値

T: 日照時數 (分)

日射量並に紫外線量の各地に於ける最大値を圖示すれば第6圖の如く兩者の消長も亦略ぼ相比例す。日射に關する太陽常數を Charles G. Abbot に從ひて 1.93 カロリー/糎²分とし紫外線に關する太陽常數を二神哲五郎氏に從ひて 55.0 とし各地に於ける日

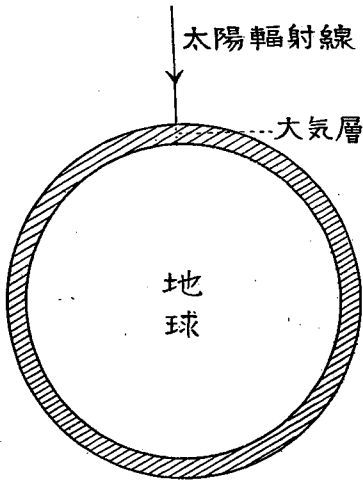
射量並に紫外線量の最大値の太陽常數に對する%量を算出するに第5表の如し。但し太陽常數とは第7圖に示す如く地球大氣層外測に到達せる太陽輻射線量即ち大氣層に依る吸収なき場合の輻射線量を實驗並に理論より算定せる値なりとす。第6表に示す各輻射線の%量は氣象學上の所謂日射量透過率に近似せる意味を有する數値にして唯兩者の相違する所を擧ぐれば後者は専ら直達日射量のみに関し前者は天空輻射の一部を含む直達日射量に関する數値なる點に在り。表示の如く各地に於ける日射量及び紫外線量の最大値の太陽常數に對する%量間には略ぼ相似的消長あり。日射量の最大%量は8月7日13時50分日光中禪寺湖畔に於て觀測し得たる86.5% 紫外線に関する最大値は同日同場所に於て13時45分に記録せられ更に8月8日10時51分並に12時20分に保田に於て記録せられたる81.8%なり。

山岳地帯は概して天候に恵まれず一日中に於て輻射量屢しば最大値を示す可き午前中に於ける觀測を行ひ得たるは僅かに山中湖畔のみなりき。山中湖畔に於ける天候も快

第5表 日射量及び紫外線量最大値の太陽常數に對する%量

地名	日 射		紫 外 線	
	日 射 量 最 大 値	太陽常數に對する%量	紫外線量最大値	太陽常數に對する%量
寒 川	1.42	73.5	41.0	74.5
一 の 宮	1.22	63.1	34.0	61.8
興 津	1.42	73.5	40.0	72.7
館 山 北 條	1.34	69.4	40.0	72.7
保 田	1.64	84.9	45.0	81.8
佐 貫	1.17	60.6	31.0	56.4
鎌 倉	1.23	63.7	36.5	66.4
葉 山	1.46	75.6	38.0	69.1
本 牧	1.14	59.0	32.0	58.2
羽 田	—	—	39.0	70.9
東 京(神田)	1.23	63.7	33.0	60.0
日光中禪寺湖畔	1.67	86.5	45.0	81.8
菅 平	1.44	74.6	41.0	74.5
上 高 地	1.54	79.7	42.0	76.4
山 中 湖 畔	1.32	68.3	39.0	70.0

第 7 圖



晴とはいへ靄ありて絶好の天空状態とは言ひ得ず。臨海地帯は概ね好天気にて（佐貫を除く）終日の観測を行ひ得たり。従ひて山、海兩地帯に於ける輻射量の詳細なる比較検討は之を他日に俟つの他なしと雖も唯若干の消息は今回の測定成績のみに據りても窺ひ知るを得るなり。試みに太陽常數に對する輻射線%量約 70% 及び 60% に相等する日射量夫れ夫れ 1.40 並に 1.20 瓦カロリー/糎²分、紫外線強度 40.0 並に 35.0 を観測し得たる回數の全觀測回數に對する割合を山岳、海濱、東京市内に三別して比較するに

第 6 表に示すが如し。

第 6 表

地 方 別	日 射			紫 外 線		
	全觀測回數	1.40 以上を 觀測せる回數	1.20 以上を 觀測せる回數	全觀測回數	40.0 以上を 觀測せる回數	35.0 以上を 觀測せる回數
山 岳 地 帯	43	16	36	43	18	36
臨 海 地 帯	106	9	34	121	14	68
東京市街地	43	0	1	43	0	0

備考 佐貫に於ける觀測成績は當日天候不良なりし爲之を本表に編入せず

本表及び第 4 圖、第 5 圖、第 5 表等に就きて觀るに山岳地帯の午後と臨海地帯の午前とに於ける日射及び紫外線の最大値並に平均値は明に前者の場合に於て大なり。本事實より推測するに午前中に於ける兩者の成績には必ずや更に劃然たる相違あらん。又試みに 14~15 時間に於ける晴天日の日射量及び紫外線量最大値を比較すれば日光菅平、上高地三ヶ所の平均は夫れ夫れ 1.43 瓦カロリー/糎²分及び 42.0 にして興津、館山北條、保田、葉山四ヶ所の平均は夫れ夫れ 1.20 瓦カロリー/糎²分及び 36.0 にして日射量並に紫外線量は何れも臨海地方は山岳地方の約 90% に當る。（尙東京市内の同時刻に於ける平均値は夫れ夫れ 1.03 瓦カロリー/糎²分及び 29.0 にして東京に於ける日射並に紫外線量は何れも山岳地方の約 70%、臨海地方の約 80% に當る）。

東京市内に於ける日射量及び紫外線量と山岳或は臨海地方に於ける夫れとを比較するに更に顯著なる相違あり。試みに東京市内と臨海地帯に於ける快晴日の最強日射及び紫外線を比較するに日射量は 1.23 瓦カロリー/糎²分(太陽常數に對する%量 63.7%) 對 1.64 瓦カロリー/糎²分(84.9%), 紫外線量は 33.0 (60.0%) 對 45.0 (81.8%) にして東京市内に於ては何れも臨海地方の 70% なり。又殆ど雲なき(雲量 0~2 割)天空狀況の下に觀測し得られたる日射量及び紫外線量最大値の平均は東京市内にては 1.14 瓦カロリー/糎²分及び 32.0, 臨海地方に於ては(興津, 館山北條) 1.23 瓦カロリー/糎²分及び 39.0 にして即ち東京市内に於ける日射量及び紫外線量は夫れ 夫れ臨海地方に於ける夫れの約 90% 及び 80% に當る。

本牧, 羽田, 東京市内(3日間)に於ける觀測當日の天空狀況は何れも殆ど雲なき快晴日にして全く同一なり。之等の日射量及び紫外線量の最大値を比較するに次の如く

		日射量最大値	紫外線量最大値
本	牧	1.14 瓦カロリー/糎 ² 分	32.0
羽	田	—	39.0
東京市内(神田)		1.14 (平均値)''	32.0

本牧に於ける觀測成績は東京に於ける三日間の平均値と全く同一なり。市街地に臨接せる影響の表れなる可し。羽田に於ける紫外線量最大値は極めて類似の天空狀況下に觀測せられたる上總興津, 館山北條に於ける最大値の平均 39.0 と全く同一なり。以上に就きて觀るに東京灣内にありても都會地帯より相當の距離にある海濱に於ては其紫外線強度は房總, 湘南地方の海濱と全く同様にして都會地に比し約 20% 増大する事を略ぼ察知し得るなり。

文 獻

- (1) 岡田武松氏「氣象器械學」
- (2) A. Miethe und E. Lehmann, Berichte ber Berliner Akademie, 1909. 8.
- (3) A. Wigand, Phys. Z. 1913. 14.
- (4) A. Cornu, Comp. Rend. 1879. 88.
- (5) P. Gösz, Beitr. Phys. d. freien Atm. 1926. 13.
- (6) A. Hess and W. weinstock, Jonr. Amer. Med. Assoc 1923. 80.
- (7) W. Coblentz and H. Fulton, Bur. of Standards, Sci. Paper. 1924. No. 495.
- (8) 二神哲理五郎氏「理化學研究所彙報」第 12 輯第 10 號・「螢光」第 7 卷第 11 號。

空氣中の細菌數測定法に就て

技 師 秋 葉 朝 一 郎

囑 託 風 間 美 佐 雄

本試験は内務省衛生局主唱の下に昭和九年八月施行せる海水浴場並にキャンプ場の衛生調査に關する基礎實驗として行ひたるものにして其調査成績中本報告に關係あるものは茲に之を併記せり。

第 1 章 測定法の文獻

空氣中の細菌數を空氣汚染度の標示として測定せんとする方法に次の如きものあり。

1) 落下法 (Absitzmethode nach R. Koch)

膠質或は寒天平板培養基をつくり可檢場所に於て「ペトリー皿」の蓋を取りて一定時間 (10~20 分間) 水平に靜置し空氣中の細菌を平板培養基面上に落下せしめたる後蓋を被ひ適溫に於て培養し發生する集落數を検す。此方法は極て簡易なるも一定量の空氣中に存在する細菌數を知る事能はざるのみならず空氣の流動によつて影響を被る事大なるを以て、只單に可檢場所の空氣の汚染度の大體を窺知するにすぎず。

2) Hess 氏法

口徑 3.5 cm 長さ 70 cm の硝子管の内面に膠質培養基を塗布し、管の一端には小孔を穿ちたる「ゴム」膜を張り他端を吸引裝置に持續して吸引し空氣が硝子管を通過する間に細菌を膠質培養基面に附着せしめ、硝子管を適溫に靜置して培養し發生する細菌集落數を計測する方法なり。此方法は一定量の空氣を通過せしめ得るを以て落下法に少しく優ると雖も細菌を把握するに非ずして單に其自然附着に據るものなるが故に培養基面に附着せずして通過する細菌數も僅少なからざるべく正確なる方法とは稱し難し。

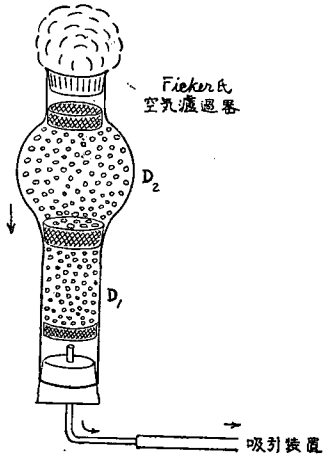
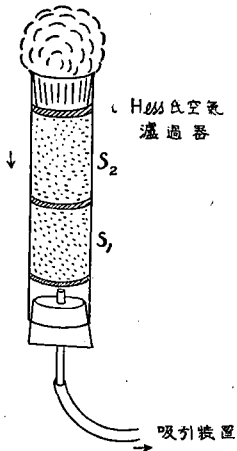
3) Petri 氏法

Petri 氏は Koch 氏法或は Hess 氏法の如く培養基面への細菌の自然附着に俟つが

如き不確實なる方法を改めて細菌を抑留するに濾過層を用ふる方法を考案せり。即第1圖の如く口径 1.6 cm 長さ 9 cm の硝子管に石英砂を充填せるものを以て一定量の空氣を濾過し細菌を石英砂層に抑留せしめたる後此石英砂を數個の「ペトリー」皿に分ち之に膠質或は寒天培養基を混和して培養し發生する集落數を検す。石英砂は金網を以て堺し圖の如く S_1 及 S_2 の二個の砂柱となす。 S_1 は對照と見做すべきものにして、

第 1 圖

第 2 圖



細菌は前部 S_2 に於て抑留され S_1 の部分には殆ど細菌を認めずと云ふ。

4) Ficker 氏法

Ficker 氏は Petri 氏法を少しく改良し次の如き空氣濾過器を考案せり。即石英砂は培養基を不透明となし集落の檢測を不便ならしむるが故に硝子粒を以て之に代へたり。硝子片を灼熱せ

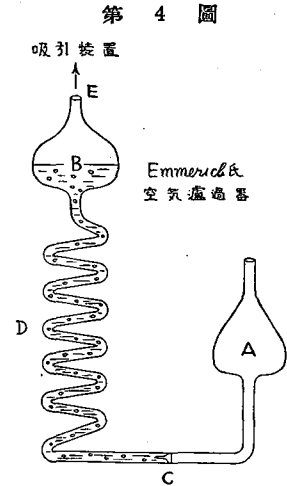
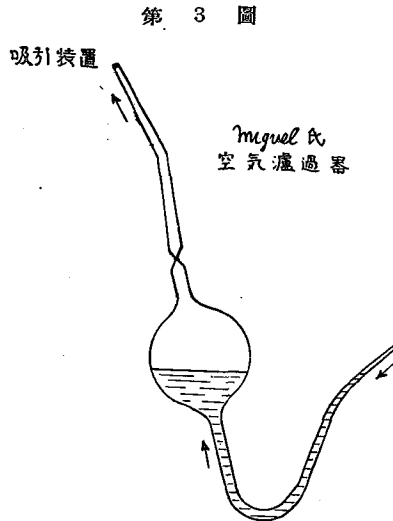
る後之を水中に投じて小片となし更に之を乾燥後磨碎して直径 0.5—0.25 mm の硝子粒となして用ふ。

尙硝子管は上部を膨隆せしめて空氣が管壁と硝子柱との間隙を通過する事を防ぎ以て空氣の濾過を完全ならしめんと試みたり。一定量の空氣を濾過したる後 D_2 の硝子粒を 8 枚の「ペトリー」皿に、 D_1 を 4 枚の「ペトリー」皿に分ち入れ之に培養基を注ぎて混和培養し發生する集落數を檢測す。本法の詳細に就ては文獻(2)及(3)を參照されし。尙植木氏は白色硝子粒を用ふる時は集落と硝子粒との鑑別を誤り易しと爲し培養基色に近き褐色硝子粒を使用せり。

Petri 氏法及 Ficker 氏法は固形體層を以て空氣を濾過する方法なるも液層を以て空氣を濾過して空氣中の細菌を抑留せんとするものに Miquel, Emmerich, Oker-Blom 氏等の諸法あり。

5) Miquel 氏法

第3圖の如き硝子管を作り中央の球部に液體培地 20~25 c.c を容れ此液層を通じて空氣を濾過し菌體を液中に抑留せんとする方法なり。一定量の空氣を濾過せる後液の一部を取りて膠質又は寒天平板培養に附し發生せる細菌集落數を測算す。



6) Emmerich 法

Emmerich 氏は Miquel 氏法に於ては細菌を抑留する事の不完全なる事を知り此缺點を除くべく (1) 氣泡を小ならしむる爲に C 部に毛細管を裝置し (2) 氣泡と液との接觸を充分ならしめんが爲に硝子管を螺旋狀となしたるものを考案せり。最初 A 球に液體培養液 20~25 c.c を容れ E 口より吸引すれば液は A より D 及 B に移り C より生じたる小氣泡が D 及 B を通過する間に氣泡中の細菌は殆ど液中に抑留さるゝと稱す。

Emmerich は 1 時間に約 1 l の速度にて吸引するを定法とせるも、かくの如き緩徐なるに於ては、多數の個所の試験に用ふるに適せず。

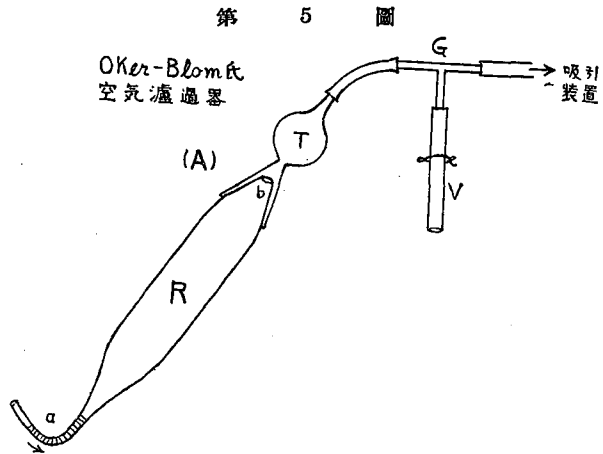
7) Oker-Blom 氏法

Oker-Blom 氏は Petri 氏法或は Ficker 氏法の如く固形體層を以て濾過する方法に於ては塵埃に附着せる細菌を個々に分離し得ざる恐あるに對し液層濾過の場合には液を振盪する事によつてかかる憂を除き得べしと爲し液體濾過法の利點に着眼せり。然しながら Miquel, Emmerich 氏法の如く液體培養基を用ひて濾過する事は操作中に

菌の増殖を招くを以て適切ならず且 15~20 c.c 等比較的多量の液を使用する時は抑留せる細菌數小數なる場合には誤差を來し易きを以て兩氏の法にも遺憾の點ありと爲し、こゝに於て Oker-Blom 氏は可及的小量の滅菌水を以て空氣を濾過し抑留せる細菌を培養検測する方法を案出せり。

氏の濾過器は次の如し。

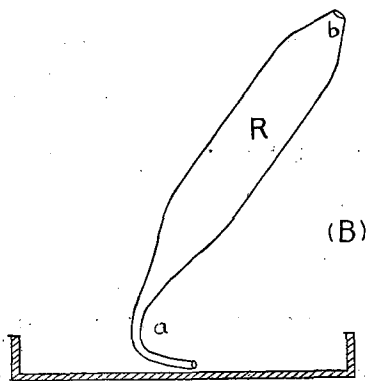
直徑 2 cm の硝子管 R の先端 a を圖の如く引伸して鉤狀となし曲部の内徑を 2 mm とす。他端 b は磨合良き硝子帽 T に連結し T の他端は「ゴム」管を以て T 字硝子管 G に繋る。G の一端は吸引装置に一端は「ゴム」管 V に連結す。V には挟み止を附す。試験に臨み滅菌せる R 及 T 其他を圖の



如く連結し a 口より 3~5 滴の滅菌蒸餾水或は滅菌生理的食鹽水を入れる（其際 V の活栓を開きて水の注入を可能ならしむ）。吸引は空氣每秒 40 c.c 即 1 分間に約 2.5 l の

速度にて行ふ。然る時は小氣泡は a の部にて破躍しつゝ通過し空氣中の細菌は水中に抑留せらる。又此氣泡の破躍によつて塵埃に附着せる細菌を分離する事を得べしと稱す。操作中注意すべきは、吸引強き時は水滴飛散して硝子管壁に附着し a 部空虛となる事なり。かゝる時は一時吸引を中止して水滴を補充せざるべからず。所定量の空氣を吸引し終らば R を取りはずし (B) 圖の如き位置に「ペトリ

第 5 圖



皿より管壁を洗ひつゝ注入し a 口より皿上に噴出して動搖混和し培養基を凝固せし

めたる後培養す。

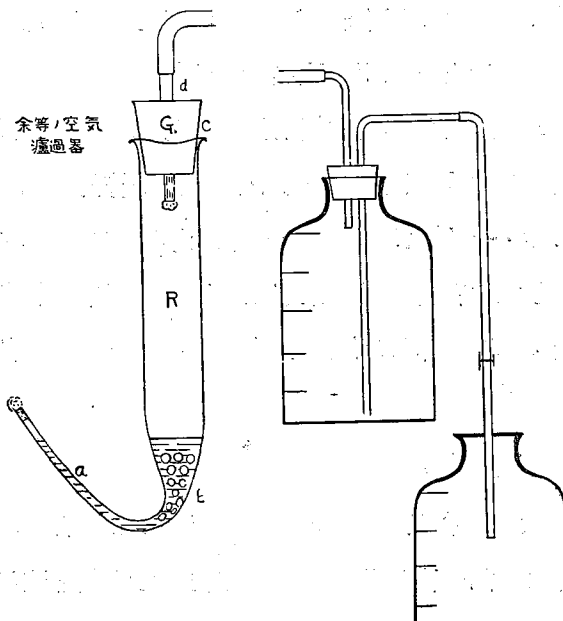
上記の方法によりて果して空氣中の細菌を完全に抑留し得るや否や多大の懸念を感じざるを得ず。Oker-Blom 氏の實驗成績に徴するに 12.7 l 中に 100—3000 個の細菌を含有するが如き空氣を濾過し殆ど完全に細菌を抑留し去ると云ふ。

余等は Oker-Blom 氏の濾過器を少しく簡易化し次項に記述するが如きものと爲して其細菌抑留率を追試せるに次項に記すが如く優秀なる成績を得たり。

第2章 余等の空氣濾過裝置

上記諸家の方法を考察するに Ficker 氏法は最も確實なるを思はしむるも濾過層たる硝子粉を 8—12 枚の皿に分ちて培養せざるべからざる事は遠距離に出張し多數の檢測を行はんとするが如き場合には少しく繁雜なりとせざるべからず。之に反し液體濾過に於ては小量ならば全液を多量ならば其一部を取りて培養する事を得るが故に培養操作は簡便なり。但し Miquel 及 Emmerich 氏法は其操作の簡易さに於て遙に Oker-Blom 氏法に及ばず。こゝに於て余等は Oker-Blom 氏法に據ることとし且氏の濾過裝置中磨合せの硝子蓋は「ゴム」栓に改め丁字管は之を除きて次の如きものを製作せり

第 6 圖



第 6 圖の如く長さ約 12cm 口徑 1.5—2cm の硝子管の先端を「し」字形に引伸し a の内徑を 0.2—0.3cm とす。硝子管の他端 c は小硝子管 d を有する「ゴム」栓 G に連結し d は更に「ゴム」管を介して吸引裝置に連る。a 及 d の先端には綿栓を施す。此濾過器を以て Oker-Blom 氏法に準じて空氣を濾過する場合には滅菌せる R をとり c 端より數滴の滅菌水を b 部に滴下し次で G を密栓し d を吸引裝置に繋ぎ水が a 部に在る様之を少しく斜めに把持して吸

引を開始し同時に a 端の綿栓を除く。濾過操作中は水が常に a 部に在る様注意し空氣をして必ず氣泡をつくりて通過せしめざるべからず。若し水が b 部に來るか或は飛散して管壁に附着するが如き事あらば水は空氣の通路を完全に閉鎖する事を得ざるが故に空氣は濾過されずして通過するに至るを以て其成績に誤を來すべし。一定量の空氣を濾過し終らば R を取りはづし 10cc. の寒天或は膠質培地を c より注加し b 及 a 部を洗ひつゝ「ペトリ」皿上に落とし混和して適溫に培養す。或は 1~2cc の滅菌水を以て R 中の水を「ペトリ」皿上に洗去し之に培地を混和して培養するも可なり。

余等は Oker-Blom 氏法を追試して細菌抑留率の良好なるを知りたるも上記の如き失敗に陷るの懸念を持ちたるを以て使用水量を少しく増加して操作上の失敗を少なからしめんと欲し 1~2cc の滅菌水を用ひたるに、濾過速度速かなる時は水量増加したると b の管幅 a より大なるとの爲に泡沫は大となり其破裂によりて水滴 R の上部に迄飛散するに至れるを以て、之を防がんがため b 部に直徑 0.4cm の硝子玉約 10 個を入れたるに泡沫は小となり従つて水滴の飛散を尠からしむるを得たり。即硝子玉を入れたる R 及 G を別個に滅菌し置き試験に臨み R の b 部に 1~2cc の滅菌水若くは滅菌生理的食鹽水を入れ、G を密栓して、d を以て吸引裝置に繋ぎ。吸引を開始すると共に a 先端の綿栓を除去す。吸引操作中 R を少しく斜となし水は a 部及 b 部にあらしむべし。一定量の空氣を吸引し終らば R をとりはづし濾過せる空氣中に含有せらるゝ細菌數の多寡の豫想に應じて 1~3cc の水を加へ（空氣清淨なる時は加へず）滅菌「ピペット」を用ひて硝子管壁に飛散せる水滴を洗ひおとすと共に硝子管内の水をよく混和し次で其中の 0.5~1cc を「ペトリ」皿に取り 10cc の寒天培養基を加へて平板培養に附す。發生せる集落數を検測し之に稀釋倍數を乘じ以て濾過空氣中の細菌數を算出す。余等は吸引裝置として容量 5l の吸引壺を使用し 4~8l の空氣中の細菌數を計測せり。

第 3 章 實 驗 成 績

Oker-Blom 氏法の如く數滴の水を用ひたる場合及 1~2cc の水を用ひたる場合の空氣中の細菌を抑留する程度を知らんが爲に前記の濾過裝置を 2 個連結して空氣を濾過し第 I 管及第 II 管中に抑留されたる細菌數を培養檢測し第 I 管に於て抑留されたる

細菌數及び抑留されずして逸走し第 II 管に致りたるものとを比較するに次の如し。

A) 3—5 滴の滅菌水を使用せる場合 (Oker-Blom 氏法)

空氣：實驗室内の空氣は清淨なるが故に動物舎に至り飼料の藁を動搖或は散布して飛塵を多からしめたり。

第 1 表

空 氣 量	吸 引 時 間	第 I 管	第 II 管	$\frac{II}{I}$
1) 4L.	4 m	849	5	$\frac{1}{170}$
2) "	"	4,160	6	$\frac{1}{693}$
3) "	5	5,640	137	$\frac{1}{41}$
4) "	5	186	0	
5) "	5	2,720	3	$\frac{1}{907}$
6) "	6	4,000	4	$\frac{1}{1,000}$
7) "	5	4,480	0	
8) "	4	3,240	11	$\frac{1}{295}$
9) "	5	3,760	1,072	$\frac{1}{3}$
10) "	4	3,970	474	$\frac{1}{8}$

以上は 20 回試験したる成績の中より摘録せるものなるが (9), (10) の如く細菌の抑留率極て悪き場合は水が空氣の通過道を完全に封鎖し得ざりし場合にして實驗の失敗せる例なるも多くの場合第 I 管に於て抑留せられずして逸走する細菌數は抑留せらるゝもの 1—0.1% なり。即本法の細菌抑留力は比較的確實なりと認むる事を得べし。

B) 1—2 c.c の滅菌水を使用せる場合 (余等の變法)

第 2 表

空 氣 量	水 量	吸 引 時 間	第 I 管	第 II 管	$\frac{II}{I}$
1) 4L.	1 c.c	10 m	9,600	80	$\frac{1}{120}$
2) "	1	10	12,000	334	$\frac{1}{36}$
3) "	1	10	6,400	16	$\frac{1}{400}$
4) "	1	20	6,480	6	$\frac{1}{1,080}$

5) 4l.	1	26	8,000	38	$\frac{1}{210}$
6) "	1	30	22,760	112	$\frac{1}{20}$
7) "	2	12	1,960	6	$\frac{1}{326}$
8) "	2	12	1,551	2	$\frac{1}{775}$
9) "	2	23	876	18	$\frac{1}{49}$
10) "	2	23	869	20	$\frac{1}{43}$

以上は 30 回實驗せるものより摘録せるものにして、水量 1cc と 2cc との間に細菌抑留率の差を見ず、又吸引時間約 10 分間なる場合と約 20 分間なる場合との間に於ても差を認めず。細菌の第 1 管に抑留されずして第 2 管に移行する率は大多數は 1% 以下なるも時に 2% 以上となる場合ありて、本法の細菌を抑留する力は Oker-Blom 氏の原法に少しく劣るが如き感あり。思ふに Oker-Blom 氏法の如く狹少なる管部に於て泡沫をつくり且破躍せしめつゝ空氣を通過せしむる事が水と空氣との接觸を比較的完全ならしむるが爲ならんか。1~2c.c. 用ひたる場合にては濾滴管を少しく斜めに把持し水を A 部にも行き渡らしめて濾過する場合には等く好結果を得たり。

かゝる實驗成績に徴し今次の海水浴場及キャンプ場の空氣試験に際し (A) (B) 何れの方法を用ふるも可なりと思考せるも、Oker-Blom 原法に於ては水量小なるが爲に實驗操作に失敗を來す事多かるべきを憂ひ、余等の變法により 1~2c.c. の水を用ひて空氣を濾過する方法に據れり。即空氣 4l を吸引壺によりて吸引濾過せる後濾過管中の滅菌水 0.5~1.0c.c. を無菌的に採取して之を普通寒天培養基を用ひて平板培養に附し夏期室溫に於て 1 週間培養し發生せる集落數を算し以て可檢空氣 4l 中の細菌數を算出せり。

附. 海水浴場及キャンプ場の空氣中の細菌試験成績

空氣中の細菌數測定法として前記の吸引濾過法及落下法とを併用せり。兩法の結果を比較するに (第 3 表參照) 必しも平行せず。又細菌數及塵埃數と風速との關係を見るに塵埃數は略々風速の大小と平行し細菌數は稍々之に準ずと雖も其關係塵埃程明瞭ならず。蓋し細菌の空氣中に飛揚せらるゝは風、交通機關、人畜の往來等によるものなる事は塵埃と同様なるも、地形の狀況により飛塵中に含有せらるる細菌數に相違あ

るに由るものならんか。

キャンプ場と海水浴場の空氣中の細菌並に塵埃數を比較するに、海水浴場の空氣中の夫はキャンプ場に比して概して多し。其理由は海岸地方に於ては平日晴朗なる日と雖も海風常に吹き且風速度山嶽地方の靜風に比して大なる事並に地域砂濱なるが爲に砂塵飛揚し易き事とによるべし。尙海水浴場の空氣に於ては細菌數は塵埃數の數百分の一に過ぎざるに、キャンプ場の空氣に於ては數分の一にして其比例に大なる相違を見る。其理由は海水浴場に於ける塵埃は殆ど砂塵なるに對しキャンプ場に於ける塵埃は（山中湖畔は砂塵）大部分有機性塵即植物性飛塵なる事に存せん。蓋し砂塵には細菌の含量少く植物性塵には細菌の附着するもの多數なるが爲なり。

次に各海水浴場の空氣中の細菌數に就て見るに北條、保田、佐貫、鎌倉等において風速の大小及塵埃の多小に平行して増減するも葉山及一宮に於ては塵埃多きに拘らず細菌數少きは砂濱の清淨なるに由らん。寒川、興津、本牧、羽田に於ては他の試験地に比し砂塵の割合に細菌數の多かりしは其理由明瞭ならざるも地形的情況に基因するものならん。

又各キャンプ場に就て比較するに細菌數は菅平、日光、山中湖の順に増加し塵埃數に平行するも唯上高地に於ては塵埃數最少なるに拘らず細菌數多數なり。之他の試験地は開豁なる平地なりしに拘らず上高地にありては樹間に於て試験せるが爲ならんか。

第3表 空氣中の細菌數並に塵埃數

試 驗 地	1m ³ 中の細菌數	20分間に於ける 落 下 菌 數	1m ³ 中の塵埃數	風 速 (m/秒)
千 葉(寒川)	5,500	140	129,514	1.3
一 宮	1,500	70	851,936	4.4
興 津	12,000	39	869,228	3.81
北 條	7,500	82	1048,501	5.29
保 田	4,500	129	865,770	4.1
佐 貫	4,000	116	772,286	3.33
鎌 倉	2,500	47	637,196	1.50
葉 山	2,000	144	914,258	4.6
横 濱(本牧)	3,500	127	257,123	0.82

羽 田	3,500	60	15,069	1.90
東京市街(試験所所在地)	5000~7000			
日 光(葛蒲ヶ濱)	1,500	6	5,364	2.56
菅 平	1,000	12	3,317	1.4
上 高 地	3,500	20	3,176	0.66
山 中 湖 畔	2,000	30	21,068	3.04

文 獻

- 1) Petri; Zeitschrift für Hygiene Bd 3.
- 2) Fieker; " Bd 22
- 3) 植木良佐; 衛生試験所彙報 18號 大正11年
- 4) Rudolf Emmerich; Archiv für Hygiene Bd. I, S. 169, 1883
- 5) Oker-Blom; Z. f. Bakt. I Abt. Orig. Bd. 65, S. 5,220, 1912
- 6) Gotschlich; Handbuch der hygienischen Untersuchungsmethoden.

吸着剤による水中特殊細菌の濃縮法

(上水中の大腸菌検出法への應用に就て)

技 師 秋 葉 朝 一 郎

嘱 托 風 間 美 佐 雄

緒 言

水中に含有せらるゝ特殊の細菌例ばチフス菌、コレラ菌、赤痢菌等の病原菌或は大腸菌等を検出せんと試むる時かゝる特殊の細菌數は極て僅少なるを以て多量の檢水に就て試験するを要す。然るに多量の檢水を其儘試験に供せんとせば當然多大の勞力を拂はざるを得ず。故にかゝる場合には多量の水中に含有せられるゝ小許の特殊細菌を少量の水中に移行せしめて即細菌の濃縮を行ふて試験に供するを便利とすべし。

水中細菌の濃縮法に就ては從來諸種の方法考案せられたり。即 1. 濾過法 2. 低溫蒸發法 3. 濃厚なる培地を加ふる法 4. 凝集剤を加ふる法等之なり。

こゝに此等諸種の方法に就き其概略を記し併而其得失を考察せん。

1) 濾 過 法

a. Heim 氏法 アスベスト濾過器を用ひて檢水を濾過し細菌を集むる法なり。

b. Hesse 氏法 ²⁾ 硅藻土粉末をベルケフェルド濾過器に沈着被覆せしめたるものを以て多量の檢水を濾過し次いで少量の滅菌水を用ひて濾過器を逆に吸引洗滌して硅藻土及濾過器に抑留せられたる細菌を流出せしめて培養する法なり。

c. Müller 氏法 ²⁾ 石膏を以て平板を作りて滅菌し此表面に一定量の檢水を注ぎて吸収せしめたる後更に此表面に培養基を注加して吸収凝固せしめて培養する法なり。若し遠藤培養基を注加せば檢水中の大腸菌を検出し得と稱す。

以上 3 方法中實用に適するは單に Hesse 氏法のみなるも之とて手段の繁雜なるに拘らず檢出率低く從つて實際的價值に乏しきものなり。

2) 低溫蒸發による法

Marmann 氏法 ³⁾ 遠藤平板培地上に一定量の檢水を注ぎて特殊の蒸發函或は血清

乾燥器中に静置し 30~40° の温風を送りて検水を蒸發せしめ平板面の乾燥するを待ちて孵籠に移して培養し發生する大腸菌集落を測定する法なり。本法の缺點は特殊の乾燥器を必要とする事及検水の量に制限ありて 100cc 以上は試験の困難なる事なり。

3) 濃厚なる培地を加ふる法

Bürger⁴⁾ 氏法 通常の培地の 2~2.5 倍の濃度の培地を作成して保存し之を検水に混じて通常の濃度とならしめて培養する方法なり。本法は少量の検水に就きて行ふには便利なるも多量の検水には適せず。

4) 凝集剤を加ふる法

本法は検水に凝集剤を加へ生成する凝塊をして細菌を吸着して沈澱せしめ此凝塊を採集して培養する方法なり。

a. Vallet 及 Schüder⁵⁾ 氏法 かゝる方法を最初に提唱せるは佛の Vallet にして獨の Schüder 之を改良せる方法なり。此等の方法は検水に チオ硫酸曹達を加へ更に硝酸鉛を加へて沈澱を生ぜしめ此沈澱を集めて培養する法なり。Müller の研究によれば本法は細菌の吸着効果優秀ならずと云ふ。

b. Ficker⁶⁾ 氏法 検水に苛性曹達溶液を加へてアルカリ性となしたる後硫酸鐵液を加ふる法なり。

c. Müller⁷⁾ 氏法 凝集剤として検水に鹽化鐵液を加ふる法なり。但石灰鹽の含量少き水にては凝塊の生成不良なるを以てかゝる場合にはアルカリ液を加ふ。本法は前記の方法に比すれば細菌の吸着良好なるのみならず凝塊の沈降時間も比較的短く 30 分以内に完了すと云ふ。

d. Dienert et Etrillard⁸⁾ 氏法 豫め作成し置きたる膠狀の硫酸礬土を検水に加へて細菌を吸着沈澱せしめる法なり。

扱上記各種の濃縮方法を比較考察するに検水の量に制限されず比較的少量の検水にも應用し得且検出成績の良好なるは化學的凝集剤を使用する方法なり。就中第二鹽化鐵液を用ふる Müller 氏法は優秀なりと考へらる。然しながら該法と雖も凝塊の沈澱を完了する迄に 30 分間を要すと云はれ且沈澱物を濾過又は遠心沈澱によつて集めて損

失なく總量を培養せんとせば相當面倒なる操作を行はざるべからざるの缺點を有す。

こゝに於て余等は凝集剤の代りに炭末、酸性白土、白陶土等の吸着剤を應用する事に着想せり。蓋し現今市場に販賣せられつゝある吸着剤は其細菌吸着力が凝集剤に比し遙に優秀なる事及其粒子が凝集剤の其に比して大なるが爲に操作に正確と簡便とを期し得るならんと考へたるが故なり。

余等は先づ吸着剤を細菌の濃縮の目的に用ひて之を上水中の大腸菌検出に利用し得るや否やを知らんとせり。若し之に可能ならば他の病原菌の検出にも應用し得るものと思惟せらるゝが故なり。

翻つて現今各國に於て行はれつゝある上水道の大腸菌試験法を見るに 100cc の検水は 10cc 宛に分つて 10 個の酸酵管に培養して推定試験を行ふを常法とす。然しかくの如き方法によりては 500—1,000cc の検水に就て試験せんとする場合或は 100cc の検水にても 10 數種を同時に試験せんとするが如き場合には全操作極て複雑とならざるを得ず。^{9), 10), 11)}

且又今日の都市の上水道に就て見るに原水は知らず上水の 1—10cc 中に大腸菌を含むが如き事は萬々在り得ざる事と思考す(後述)。又諸外國の上水道當局の報告を見るも 100cc を單位とし此數拾内至數百種の中何%に於て大腸菌陽性なりと云ふが如くに記載するを一般とす。

依つて思ふに上水に於ける大腸菌試験は 100cc 以上の検水に就て行ふべきものにして 1—10cc の検水に就ての試験は丈余の水深を計るに寸尺を以てするに等しく意義尠きものならんと思考す。

以上の如く上水に於ては 100cc 以上 1—2l の如き多量の検水に就て大腸菌試験を行ひて清淨度を検査すべきものなりとせば必然從來の方法にては實施上多大の困難を伴ふを以て多量の検水中の大腸菌を濃縮する簡易にして且精確なる濃縮法の考案を必要とすべし。此余等が吸着剤を上水中の大腸菌検出に應用せんとせる理由の主點なり。

豫 備 實 験

1) 吸着剤の吸着力試験

余等は先づ市場に販賣せらるゝ吸着剤として珪酸化合物五種(局方白陶土、アドソ

ルビン及3種の酸性白土)並に藥用炭末五種(メルク炭末, ノリット炭末, 三共炭末, アドース, カーボニン)を入手し之に就き色素脱色力及細菌吸着力を試験し其吸着力優劣を知らんとせり。

色素脱色力は吸着剤 0.1gm (乾燥操作を行はず蓋し實地使用の際には乾燥せず市販品其儘を用ふると考へらるゝが故なり)を 0.1%のメチレン青溶液に混じ5分間振盪して後濾過する方法によりて脱色せらるゝメチレン青溶液の最大量を以て表す。

細菌吸着力試験は寒天斜面培養の大腸菌一定量を生理的食鹽水に浮游し此浮游液10ccに0.3gmの吸着剤を加へて25分間振盪せる後濾過し濾液1ccを採つて寒天平板培養

第1表 吸着力試験

		メチレン青液脱色量	大腸菌集落數
珪酸化合物	1	14.5cc	21
	2	11.5"	16
	3	14.0"	83
	4	14.4"	9
	5	0.8"	17
藥用炭末	1	33.3"	0
	2	12.0"	0
	3	5.0"	3
	4	6.5"	53
	5	0.5"	512
			對照 640

を行ひかくして發生せる集落數の多寡によりて吸着力の強弱を表す。

結果は第1表に示す如く各品種間に相當の差異を示せども炭末5以外は何れも優秀なる細菌吸着力を有す。且色素の吸着能と細菌吸着能とは必しも平行せざる事を知る。

2) 吸着剤の細菌に及ぼす影響に関する實驗

第2表 吸着せられし大腸菌の生存試験

保存日数 \ 吸着剤	酸性白土 1	" 2	" 3	アドソビリン	白陶土	メルク炭末	ノリット炭末	三共炭末	アドース	カーボニン
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
15	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+

(+)は菌の生存を(-)は菌の死滅を示す

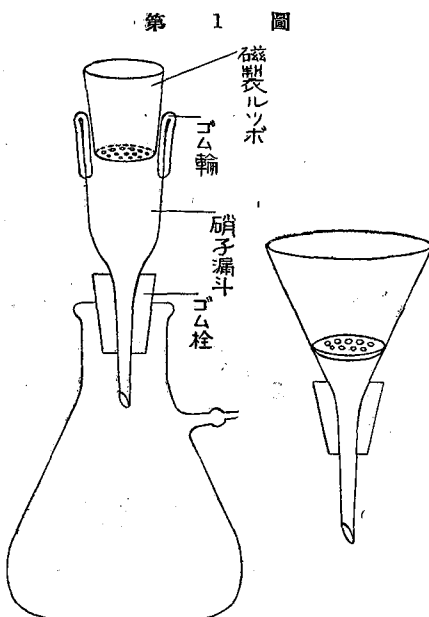
若し吸着剤が大腸菌の發育を阻害するか或は之を速に死滅せしむる作用を有するとせば吸着剤を濃縮法に應用する事は不可能となるべし。故に余等は此點を確むべく各種の吸着剤に大腸菌を吸着せしめたる後無菌的に濾過して吸着剤を濾紙上に集め之を滅菌「シャーレ」に納め孵籠中にて乾燥して保存し一定日後に少量の吸着剤を採り「ブイヨン」に投じて培養し吸着せられたる大腸菌の生死或は發育の状態を検せり。其結果は第2表に示す如く大腸菌は何れの吸着剤に吸着せらるゝも10日以前に死滅する事なく24時間以内に速に増殖す。

以上(1)及(2)の實驗により吸着剤を細菌の濃縮剤として應用し得る事を知れり。

3) 實驗方法に關する試験

上記の實驗により市販のアドソルビン、白陶土、メルク炭末、ノリット炭末、三共炭末等何れも優秀なる細菌吸着能を有する事を知りたるも次に此中何れが最實驗に適するやを検せんとせり。其爲には先づ以て余等の施行せんとする實驗操作を定めざるべからず。

余等は檢水 100cc を滅菌コルベンに採り之に一定量の吸着剤を混じて振盪し細菌を吸着せしめたる後濾過して吸着剤を濾紙上に集め以て濾紙と共に吸着剤の全量を酸酵



管に投じて培養するを最も誤差少なき方法なりと思ふ。其爲には吸着剤を可及的小さき濾紙上に集めざるべからず。然れども小濾紙を用ひて檢水を濾過せんとせば當然濾過速度減少すべし。従つて操作時間の短縮を圖らんとせば吸引濾過に依らざるべからず。

以上の如き考察の結果余等は次の如き濾過装置を使用せり。

口徑 4cm 高さ 4cm 底徑 2.5cm の磁製ルツボの底面に無數の小孔を穿ちたるものをゴム輪を以て硝子漏斗に聯結し更にゴム栓を以て吸引コルベンに裝置す(第1圖參照)

次でルツボの底面に適合する大きさに切りたる普通濾紙1枚を敷き之に少量の水を注加吸引して濾紙を底面に密着せしめたるものを濾過装置となす。

或は口径 9cm の硝子漏斗内に直径 3.5cmの目皿（磨合せ爲したるもの）を置き此を吸引場に装置す。目皿上に之より少しく大なる濾紙1枚を敷き少量の水を注加して吸引し濾紙をして目皿及周囲の漏斗壁に密着せしめ間隙無き様注意す。

此濾過層に薬用炭末、局方白陶土、アドソルビン等を加へたる液を注ぎて吸引濾過を試みるに白陶土は微粒子に過ぎて濾紙によりて完全に抑留せられざるを以て使用に不適當なりと言はざるを得ず。又薬用炭末は殆完全に抑留せらるゝも検水を濾過せる後ルツボ或は漏斗壁に附着せる炭末を洗去して發酵管に流注せんとする場合粒子輕きに過ぎて完全に洗去し得ざる憾あり。

之に反して酸性白土或はアドソルビン等は粒子の大きさ、粒子の重さ、濕潤性等適度にして濾紙によりて完全に抑留せらるゝのみならず器壁残留分を洗去する事又容易なり。

余等はいかゝる事實と一定の製品を入手し得る事の利點よりアドソルビンを選用する事とせり。

次に上水中の細菌を完全に吸着するに必要な吸着剤の量即使用量を決定する必要あり。

依つて給水栓より採取せる上水及稀薄なる大腸菌浮游液 100c.c 中に滅菌アドソルビン 0.1~0.3gm を混じて5分間以上振盪せる後吸引濾過し濾液 1c.c を平板培養に附し發生せる集落數を計算せり。(第3表參照)

第3表 アドソルビンの細菌吸着力

濾 過 前	1c.c 中の細菌數	上 水 25	大 腸 菌 浮 游 液	
			260	450
吸着後	0.1gm (0.1%)	0	0	5
	0.2gm (0.2%)	0	0	5
	0.3gm (0.3%)	0	0	0

上水中の細菌數は寒天平板法により 100 個以下と規定されたるものなるを以て上水

中の細菌を全部吸着するに必要なアドソルビンの量は検水に對し 0.1%にて充分なる事を知りたり。

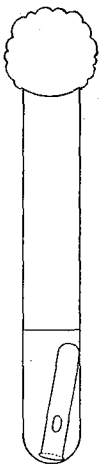
實驗方法

以上の如き豫備實驗を経て次の如く實驗操作を定めたり。

濾過裝置に濾紙 1 枚を入れ硫酸紙に包みて加壓滅菌して保存す（或は濾過直前にルツボ、硝子漏斗及濾紙をアルコールに浸して滅菌し之等を吸引コルベンに聯結裝置したる後滅菌水にて洗滌するも可なり）アドソルビンは 0.1gm 宛を小試験管に入れ 160～180°にて 30 分間滅菌して保存す。

醗酵管はダーラム (Durham) 醗酵管と同形のものを口徑 3cm 長さ 20cm の大試験管を以て造り中に倒立する小試験管は其下部側壁に小孔を穿つ。小孔を穿つ理由は管底にアドソルビンが沈澱し時に小試験管口を塞ぎて小試験管内に於けるガスの貯溜を障碍する場合あるを以てなり。(第 2 圖參照)

第 2 圖



醗酵管には 1%乳糖加ペプトン水 30c.c を容れて滅菌す。本醗酵管は検水 10c.c に就きて大腸菌推定試験をなすに適す。

試験に際しては検水 100c.c を容量 200c.c の滅菌コルベンに容れ滅菌アドソルビン 0.1gm を加へ 5 分間以上振盪す。

滅菌せる濾過裝置を吸引コルベンに聯結しルツボ或は目皿の底面に 1～2 枚の滅菌濾紙を敷き之に數滴の滅菌水を滴下して濕せる後吸引して濾紙をルツボの底面或は目皿上に全く間隙なき様密着せしむ。(此點最肝要なり)

次に弱く吸引しつゝ検水を注ぎ吸着剤の通過せざる事を確めてより強く吸引しつゝ濾過す。最後に検水を容れたるコルベンは滅菌水を以て數回洗滌して濾過し吸着剤を全部濾紙上に集む。

かくて完全に水分を去りし後分離せるルツボ或は目皿より滅菌せるピンセットを用ひて濾紙を取りて醗酵管に投ず。次いでルツボを醗酵管の口に重ね其底面或は周壁に残存せる少許のアドソルビン及ピンセットの先端に附着せる極微のアドソルビンをも 10cc の滅菌水を以て洗去して醗酵管に流入す。目皿附硝子漏斗使

用の場合も同様處理す。

かくの如くせば 100cc 中の細菌を濃縮して 1 個の醗酵管を用ひて培養する事を得べし。

以上記述せる方法は 100~200cc の比較的小量の檢水に就て行ふ操作なるも 1l 以上の檢水に就て行ふ場合には檢水に 0.05~0.1% の割合に滅菌アドソルビンを加へて振盪したる後滅菌せる小型のブフネル磁製漏斗の底面に 1 枚の滅菌濾紙を密着せしめたるものを以て濾過し濾紙は捲いて 1 個の醗酵管に投じ培養すれば可なり。此方法により檢水 1~3l 中の細菌を濃縮して 1 個の醗酵管によりて容易に推定試験を行ふ事を得

醗酵管は 24~48 時間孵籠に納めたる後遠藤培養基を用ひて分離培養を行ひ更に精査して大腸菌の存否を確定せり (上水試験法¹¹⁾參照)。

尙現行上水大腸菌試験法の如く檢水 100cc を 10 分して 10cc 宛 10 個の醗酵管に分ちて培養し其大腸菌檢出成績を對照として現行推定試験法と余等の濃縮法との檢水 100cc 中に存在する大腸菌の檢出率を比較検討し以て余等の方法の價值を知らんと試みたり。

後に述ぶるが如く東京市上水の 大腸菌含有度は極めて低く 100cc 中には到底存在せず従つて上水其儘を試験に供し得ざるを以て上水を用ひて大腸菌ブイヨン培養 1cc を五拾乃至數百億倍に稀釋し 100cc 中に適當量の大腸菌を含有する如く作成せるものを以て檢水とせり。即現行法により 100cc を 10 分して分注せる醗酵管 10 個中大腸菌陽性なるもの 8 管ある場合 6 管ある場合或は 1 管ある場合等大腸菌濃度種々なる可檢水を作り其 100cc を余等の濃縮法によつて 1 個の醗酵管に培養せり。かゝるものを毎回 10 個宛行ひ其陽性率を檢せり。又檢水 1l に就ての試験に於ては檢水の大腸菌濃度を濃縮法を應用せる 100cc 宛 10 管培養の試験成績によつて示せり。

實驗成績は一括して第 4 表に示せり。

第 4 表 本法の大腸菌檢出率

對 照 (現行法により 100cc 中 の大腸菌濃度を示す)	濃縮法による檢出率		
	10 cc 列	100 cc 列	1,000 cc 列
1) 10 管中	8 管陽性.....	10 管中	10 管陽性 (100%)

2)	10 "	6 "		10 "	10 "	(100%)
3)	10 "	4 "		10 "	10 "	(100%)
4)	10 "	2 "		10 "	9~10 "	(90~100%)
5)	10 "	1 "		10 "	8~10 "	(80~100%)
6)	10 "	0或は1 "		10 "	6~7 "	(60~70%)
7)	20 "	0或は1 "		12 "	4~5 "	(30~40%)
8)				10管中	5 管陽性.....	5管中 5 管陽性 (100%)
9)				10 "	4 "	5 " 5 " (100%)
10)				10 "	2 "	5 " 5 " (100%)

之を説明すれば

- 1) 100cc の検水を 10cc ずつ 10 個の醗酵管に分つて培養し其中 8 管, 6 管, 4 管等比較的多くの醗酵管が大腸菌陽性なるが如き可検水にありては余等の濃縮法によりて検水 100cc に就き 100% に大腸菌を検出し得たり. (第 4 表 1, 2, 3 行参照)
- 2) 次に検水 10cc を容れたる 10 個の醗酵管中 2 管或は 1 管が大腸菌陽性なるが如き換言すれば 100cc 中に含まるゝ大腸菌数の極て尠き検水にありても濃縮法により殆ど常に (80~100%) 大腸菌を検出する事を得たり. (第 4 表 4, 5 行参照)
- 3) 検水を更に稀釋して 10cc 10 管法により陽性なる醗酵管が 1 個ある時と全く無き時とがあるが如き場合に於ても余等の方法により検水 100cc に就き過半数 (60~70%) の場合に大腸菌を検出し得たり. (第 4 表 6 行参照)
- 4) 3 項の可検水を更に倍量に稀釋して 10cc ずつ 20 管 (總量 200cc) 中陽性なる醗酵管が 1 管ある時と無き時とあるが如き検水に於ても濃縮法により検水 100cc に就き約 30~40% に大腸菌を検出し得たり. (第 4 表 7 行参照)
- 5) 4 項の如き検水或は之を 2~3 倍に稀釋して濃縮法により其 100cc ずつを 10 個 (全量 1l) の醗酵管に培養せる場合其中 5 管, 4 管, 2 管等到大腸菌陽性なるが如き検水を作り其 1l を濃縮法により 1 管に培養する試験を行ひたるに常に (100%) 大腸菌を検出し得たり. (第 4 表 8, 9, 10 行参照)

結 論

以上の如き成績より歸納して次の如く結論する事を得. 100cc の検水に就て大腸菌推定試験を行ふ場合に現行法の如く 10cc ずつ 10 個の醗酵管に分注して行ふ方法と濃

縮法を應用し 1 個の醗酵管を用ふる余等の方法との大腸菌検出率は先づ同等なり。

又濃縮法を用ふれば 1l 或は其以上の検水に就ても 1 個の醗酵管を用ひて大腸菌試験を容易に行ふ事を得且其検出率は優秀なり。

従つて 100cc の検水が 2~3 種の場合には現行法の如く行ふを便利とせんも數種以上の場合或は 500cc 以上の検水に就て大腸菌試験を行ふ場合には余等の濃縮法を應用する時全實驗操作を極て簡易化する事を得べし。

こゝに於て余等は今後上水に就ての大腸菌試験は單に 100cc 以下の成績にて足れりとせず 100cc 以下にて陰性なる場合は更に 1l 乃至 10l 等多量の検水に就て試験し上水中の大腸菌の眞の濃度を確認せんと思ふ。

尙チフス菌、パラチフス菌、赤痢菌等を炭末、アドソルビン等に吸着せしめたる後其小量を採りてブイヨンに投じて培養するに何れの菌もよく發育繁殖す。故に此種の吸着劑は河水、井水、田水等多量の水中に稀薄に存在する病原菌を分離檢索する目的に應用し得るものと想像す。

附. 上水道の大腸菌試験檢査成績

原水たる河流水、受水井等より採酌せる検水に於ては大腸菌を概ね檢出せるも濾過水に於ては鹽素滅菌後は勿論鹽素滅菌前と雖も大腸菌を檢出する事能はざりき。但推定試験に於ては 10~100cc にて陽性なる場合尠からず。

尙又研究室の給水栓より採水し 1~2l の検水に就き余等の濃縮法に依り 3 月より 6 月の候に亘り 拾數回試験せる場合に於ても上水中より大腸菌を檢出する事能はざりき。

第 5 表 A 上水道水質の細菌學的試験 (原水の部)

採 酌 日 年 月 日	水 の 種 類	細菌數 1cc中	推定試験(醗酵試験)			確 定 試 験		
			100cc	10cc	1cc	100cc	10cc	1cc
9 6 19	河 水(多 摩 川)	765	+	+	+	+	+	-
" " "	" "	553	+	+	+	+	+	+
" " "	" "	755	+	+	+	+	+	-
" " "	" "	376	+	+	+	+	+	+
" " "	" "	98	+	+	+	+	+	+
" " "	" "	770	+	+	+	+	+	-

"	7	5	"	"	190	+	+	+	+	+	+
"	"	"	"	"	160	+	+	+	+	+	+
"	"	"	"	"	260	+	+	+	+	+	+
"	"	"	"	"	960	+	+	+	+	+	+
"	"	"	"	"	1200	+	+	+	+	+	+
"	11	21	"	(多摩川上流)	588	+	+	+	+	-	-
"	6	11	原水	(A水道受水井)	632	+	+	+	-	-	-
"	7	4	"	"	162	+	+	+	+	+	-
"	"	24	"	"	125	-	+	+	-	-	-
9	7	3	原水	(C水道受水井)	750	+	+	+	+	+	+
"	"	10	鑿井水	(D水道)	3	-	-	-	-	-	-
"	"	21	"	(B水道)	2	-	-	-	-	-	-
"	"	28	"	(")	9	-	-	-	-	-	-
"	10	3	原水	(A水道接合井)	38	-	-	-	-	-	-

(鹽素消毒施行)

第5表B 上水道水質の細菌學的試験(濾過水の部)

採 酌 日 年 月 日	水 の 種 類	細菌數 1cc中	推定試験(醗酵試験)			確 定 試 験		
			100cc	10cc	1cc	100cc	10cc	1cc
9 6 11	*濾過水(A水道調整井)	3	-	-	-	-	-	-
" " "	" "	4	+	-	-	-	-	-
" " "	" "	3	+	-	-	-	-	-
" " "	" "	4	+	+	-	-	-	-
" " "	" "	3	+	±	-	-	-	-
" 6 13	" (A水道給水栓)	3	+	-	-	-	-	-
" " "	" "	2	+	-	-	-	-	-
" " "	" "	3	+	-	-	-	-	-
" " "	" "	10	+	-	-	-	-	-
" " "	" "	2	-	-	-	-	-	-
" " "	" "	1	+	-	-	-	-	-
" 6 26	" (A水道配水池)	7	-	-	-	-	-	-
" " "	" (" 給水栓)	4	-	-	-	-	-	-
" " "	" "	8	±	-	-	-	-	-
" 7 4	" (" 集合井)	6	+	+	-	-	-	-
" " "	" (" 急速濾過)	22	+	+	-	-	-	-
" " "	" "	12	+	+	-	-	-	-

"	7	24	" (" 集合井)	5	+	+	+	-	-	-
"	"	"	" (" 急速濾過)	7	+	+	-	-	-	-
"	10	18	" (" 給水栓)	1	-	-	-	-	-	-
"	11	29	" (")	16	-	-	-	-	-	-
"	"	"	" (" 集合井)	8	+	-	-	-	-	-
"	6	28	" (B 水道 給水栓)	4	-	-	-	-	-	-
"	"	"	" (")	5	+	-	-	-	-	-
"	"	"	" (")	13	-	-	-	-	-	-
"	7	3	" (C 水道)	3	+	-	-	-	-	-
9	7	11	*濾過水(D 水道 配水池)	2	-	-	-	-	-	-
"	"	"	* " (")	2	-	-	-	-	-	-
"	10	15	* " (E 水道 給水栓)	2	+	-	-	-	-	-
"	"	"	* " (")	2	+	-	-	-	-	-
"	"	"	* " (")	1	-	-	-	-	-	-
"	11	"	" (C 水道 給水栓)	2	+	-	-	-	-	-
"	"	"	" (")	6	+	+	-	-	-	-

註 (1) 水道 A, B, C に於ては鹽素滅菌を行ひ D, E 兩水道にては行はず

(2) 濾過水中 * 印は鹽素滅菌を行はざるを意味す

文 献

- 1) Hesse : Zeitschrift für Hygiene. Bd. 69; S. 522 (1911)
Bd. 70; S. 311 (1911)
- 2) Müller: Arbeiten aus dem Kais. Gesundheitsamte. Bd. 47; S. 513 (1914)
- 3) Marmann: Zentralblatt für Bakteriologie. IAbt. Orig. Bd. 50; S. 267 (1909)
- 4) Bürger; Zentralblatt für Bakteriologie. IAbt. Orig. Bd. 79; S. 462 (1917)
- 5) Schüder: Zeitschrift für Hygiene. Bd. 42; S. 317 (1903)
- 6) Ficker: Hygienische Rundschau. 1904; S. 7
- 7) Müller; Zeitschrift für Hygiene. Bd. 51; S. 1; (1905)
- 8) Dienert et Etrillard: Annales de l'inst. Pasteur. Tome 46 P. 277 (1931)
- 9) American public Health association: Standard methods of water analysis. 6th edition (1925)
- 10) 上水協議會 : 協定上水試験法 統計及報告 第 23 回 (昭 2)
- 11) 第五改正藥局法 : 常水判定標準及試験法 (昭 7)

鹽類の補體保存作用に就て

技 師 秋 葉 朝 一 郎
囑 託 林 倉 一

緒 論

補體が血清採取後時間の経過と共に減弱する事の本態に關して次の如き説あり。

- 1) Sachs und Teruuchi¹⁾ は血清中に補體消化酵素 (Komplementzoide Ferment) が存在し其作用によりて補體は漸次破壊せらるゝものなりとなす。
- 2) Klopstock²⁾ は時日の経過、振盪、加熱等によつて補體が非働性となるは血清の不安定なる膠質状態 (Labile kolloidale Dispersität) の變化に基因するものなりと稱す。
- 3) 鈴木、後藤、平田³⁾ は血清貯藏中補體の第三成分が中節及末節に先ちて破壊せらるゝと報告せり。

而して食鹽其他の鹽類の補體保存作用の機轉に關しては

- 1) Friedberger⁴⁾ は高張食鹽溶液は Sachs の所謂補體消化酵素の作用を阻止するが爲ならんと爲し。
- 2) Ginsburg und kalinen⁵⁾ は補體作用は血清「コロイド」の Dispersität に基くとの Klopstock の見解に基き、鹽類の補體保存作用は血清の不安定な Kolloid-dispersität を安定ならしむ事に存すと唱ふ。

鹽類に補體保存作用あることを最初に認めしは Friedberger にして氏が食鹽の添加によつて補體保存の可能なるを證明せるより以來諸家の此點に關する報告尠からず。其主要なるものを摘記すれば次の如し。

- 1) Friedberger (1908) は 8% 食鹽溶液を補體血清に等量に混和し氷室中に貯ふることにより補體價を 2~3 週間保存し得るとなし。
- 2) Rahmy & Hammelschmidt (1917) は 10% 醋酸ソーダ加生理的食鹽水溶液を血清に 1:4 の割合に加へ氷室に貯ふれば補體價を 3~4 週間保持せしめ得ると報告し。

3) Grigorowitsch (1913) は硫酸「マグネシア」を 4% の比に補體血清に加ふる事によつて 2~3 週間補體を保持せしめ得る事を報告せり。

以上の如き方法に就ての諸家の追試成績は何れも食鹽、醋酸ソーダ等の鹽類が補體保存作用ある事を承認したるも其記載せる保存有効期間には若干の相違あり。而して Klein (1921) は細菌の汚染あれば容易に補體價減少するの事實を指摘せり。

4) Ginsburg & Kalinen (1927) は上記の如き諸家の成績に徴し補體の保存を鹽類の作用と防腐劑の防腐作用との協力によつて達成せん事に着想せり。而て補體血清に 2% の比に硼酸を加える事によつて防腐の目的を達すとなせり。次に氏等はクロール化合物として NaCl, KCl, NH_4Cl , SrCl_2 , BaCl_2 , CaCl_2 , MgCl_2 , 及硫酸鹽として MgSO_4 , Na_2SO_4 及 CH_3COONa の 10 種の鹽類を使用し其補體保存作用を検し NaCl, SrCl_2 , MgCl_2 , MgSO_4 , Na_2SO_4 , CH_3COONa は保存作用を有すれども爾餘の KCl, NH_4Cl , CaCl_2 , BaCl_2 は其作用無き事を報告し就中 NaCl 及 SrCl_2 は補體保存作用最も優秀なりとせり。

而して SrCl_2 を 5% 硼酸を 4% の比に蒸餾水に溶解せるもの及 NaCl を 10%, 硼酸を 4% の比に加へたる溶液の二種を作り、各液を各々等量の補體血清に混和し氷室に保存せるに 3~8 週間後に於て補體價に殆んど變化なく僅かに 1 單位の減弱を示せるに過ぎず、又室温に放置する時は 3 週間 37° に於ては 2 日間補體作用を保存すと稱せり。且かゝる保存補體を使用して 220 例の血清に就きワ氏反應を検査せる成績は新鮮補體を使用せる成績に一致すと爲せり。又氏等は第二報に於て補體血清に 10% の比に食鹽を 4% の比に硼酸を結晶のまゝ混和する方法によつて之を室温暗所に保存し 3~4 ヶ月間使用に堪えたりと報告せり。又同報告に於て醋酸ソーダの補體保存力は食鹽に劣り、且グリセリンの防腐力は硼酸に劣ると爲せり。

Ruffner (1929) は硼酸、チモール、グリセリン、石炭酸等の適量の防腐劑を 10% NaCl 溶液に加へて溶解し該液を補體血清に等量に加へて保存し、細菌汚染の有無及補體價の減弱如何を検せるに何れも細菌の汚染は認めざりしも石炭酸及「チモール」を加へたるものに於ては比較的短時日に補體價は減少するを以て補體血清の防腐の目的には不適當なりと報告せり。且又 NaCl, SrCl_2 , Na-Citrat, Na-Azetat の保存

効果の比較の結果は Na-Azetat が最も良く NaCl 之に次ぎ SrCl_2 , Na-Citrat は良好ならずとせり。

6) Sonnenschein (1930) は Ginsburg の食鹽及硼酸による保存方法を追試し氷室に保存する時は4週間は補體價に變化なく、室温暗所に保存する時は16日間は變化なく3—4週間に亘れば幾分減弱すとなし、かゝる保存補體を使用せしワ氏反應成績は新鮮補體を使用せる場合と大體一致す(99%)となせり。

7) Ronchèse (1931) は Chinosol 加高張食鹽溶液(水 1l + NaCl 54gm + chinosol 0.25gm)をつくり此 1.5cc を補體血清 1cc に混和して保存する時は2—3週間は使用に堪ゆと報告せり。

8) Schirwindt & Liebermann (1931) は(10%食鹽+4%硼酸)法と(10%醋酸曹達+4% 硼酸)法とを比較し其補體保存作用に優劣なしとなし且かゝる保存補體はワ氏反應其他の補體結合反應に用ひて支障なしと報告せり。

吾國に於ても Ginsburg の方法に關する追試尠からず。

9) 鈴木、後藤、平田氏等は殺菌性補體及溶血性補體の保存力を檢し 0° に保存すれば43日間室温に於ては26日間は使用し得べしと報告せり。

10) 山田氏 (1931) は硼酸を2%以上に血清に加ふる時は雜菌の發育を阻止すると並に2% 硼酸と共に食鹽を3—10%に加ふる時は補體價は 20° 保存の場合には4週間 0° に貯ふる場合には40日以上時に80乃至100日後に於ても使用に堪える事ありと言へり。且 Wasserman 試験に於て保存補體を使用する時の成績は新鮮補體使用によつて陰性のものは必ず陰性となり陽性のものは必ず陽性に出で且其強度も略々一致する事を報告せり。

第1表 鹽類添加による補體保存法の文獻

著 者	保 存 方 法	有 効 期 間
Friedberger 1908	8% NaCl 溶液を等量混和	2—3週間迄
Rahmy, Hammelschmidt (1917)	10% CH_3COONa 溶液を 6:4 の比に混和	3 週間迄
Grigorowitsch (1913)	MgSO_4 を 4% に混和	2—3週間迄
Ginsburg & Kalinen (1927)	(5% SrCl + 4% 硼酸) 溶液等量混和 (10% NaCl + 4% 硼酸) 等量混和	3—8週間迄(氷室) 3週間以上(室温)

Ginsburg & Kalinen	(1929)	NaCl を 10%, 硼酸を 4% の比に混和	3~4ヶ月迄(遮光室温)
Ruffner	(1929)	$\left\{ \begin{array}{l} (4\% \text{ NaCl} + 4\% \text{ 硼酸}) \text{ 溶液等量混和} \\ (4\% \text{ CH}_3\text{COONa} + 4\% \text{ 硼酸}) \text{ " } \\ (5\% \text{ SrCl}_2 + 4\% \text{ 硼酸}) \text{ " } \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} 3 \text{ 週以上(氷室)} \\ 3\sim 7 \text{ 週以上(")} \\ \text{溶血阻止作用ありて不能} \end{array} \right.$
鈴木, 平田	(1929)	(10% NaCl + 4% 硼酸) "	$\left\{ \begin{array}{l} 43 \text{ 日以上(氷室)} \\ 26 \text{ 日以上(室温)} \end{array} \right.$
Sonnenschein	(1930)	(10% NaCl + 4% 硼酸) "	3~4週迄(遮光室温)
山 田	(1931)	3~10% に NaCl, 2% に硼酸混和 "	$\left\{ \begin{array}{l} 4 \text{ 週以上(氷室)} \\ 4 \text{ 週以上(氷室)} \end{array} \right.$
Ronchèse	(1931)	(54g NaCl + 0.25g Chinosol in 1l) 溶液 1.5cc を 1cc の血清に加へる	2~3週以上(室温)
森	(1934)	$\left\{ \begin{array}{l} (10\% \text{ NaCl} + 4\% \text{ 硼酸}) \text{ 溶液等量混和} \\ (10\% \text{ CH}_3\text{COONa} + 4\% \text{ 硼酸}) \text{ 溶液等量混和} \\ (20\% \text{ NaCl 溶液とグリセリン等量混液) を} \\ \text{等量混和} \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} 145 \text{ 日(氷室)} \\ 54 \text{ 日(")} \\ 74 \text{ 日(")} \end{array} \right.$

11) 森(1934)は(10%食鹽+4%硼酸)溶液,(10%醋酸曹達+4%硼酸)溶液及(20%食鹽溶液とグリセリン等量混和液)の三種の溶液を等量の補體血清に混和して保存し第一液を混和せるものは145日第2液を混和せるものは54日間第三液を混和せるものは74日間補體作用を維持するも溶血時間は保存期間の延長に伴ひ少しく遅延すとなし且補體結合反應ワッセルマン反應試験に於て保存補體は新鮮補體と相違なきことを述べたり。

以上諸家の報告を綜括すれば別表の如し。

上記の報告に徴するに「モルモット」補體血清に2~4%に硼酸を加へて雑菌の發育を阻止し同時に2~10%の食鹽或は2~5%の醋酸ソーダを加ふる事によつて補體價を4週乃至數ヶ月働性狀態に保持し得且補體結合反應に使用し得る事を知る可し。従つて補體の保存法に就ては既に充分なる成果を得たるものと言ふべく敢て研究の要なけんも余等は食鹽及醋酸曹達の補體保存力を追試して日常實驗への利便に資せんと欲し且併せて數種鹽類の補體保存力を檢するも亦興味あるべきを思ひ些實驗せるを以てこゝに其概要を報告せんとす。

第1章 鹽類の補體保存力試験

Ginsburg は輕金屬の鹽化物及硫酸化物中 NaCl, KCl, SrCl₂, BaCl₂, CaCl₂, MgCl₂, MgSO₄, Na₂SO₄の八種に就て其補體保存作用を檢し NaCl, SrCl₂, MgCl₂, MgSO₄, Na₂

SO_4 の四種即ち Na^+ , Sr^{++} , Mg^{++} の鹽類は補體を障害せずして保存作用あることを明にせり。

又 Rahmy & Hammelschmidt, Ruffner は Na の醋酸鹽も亦補體保存作用良好にして「クエン」酸鹽は輕度乍ら該作用ありと報告せり。上記の報告を見て余等は先づ Mg^{++} 鹽と Na^+ 鹽と何れが補體の保存に適するものなりやを検せんと欲し數匹の「モルモット」より法の如く血液を採取し一夜氷室に放置したる後血清を分離採集し之に 2% の比に硼酸を加へたる後此を數個に分ち之に Na_2SO_4 及 MgSO_4 を 1, 2, 5, 10% の比に加へて冷蔵庫に放置し所定日經過後 Browning の補體價測定法に従ひ血清の 4 倍稀釋 0.01~0.04cc を各管に取り之に 3% 山羊感作血球液 0.5cc を加へ 37° に 1 時間作用せしめたる後補體價を検せり。結果は第 2 表の如く Na_2SO_4 加補體は 40~50 日間原價(0.03)を維持し爾後少しく減弱(0.04)するも 150 日間は 0.04 にありて使用に堪ゆ(力價 0.04cc 以下にても使用に堪えざるに非ざるも假に 0.04cc を以て使用限界とせり) MgSO_4 を加へたるものに於ては 10 日~20 日後に 0.02 より 0.03 に減弱せる後 90 日間は 0.04 にありて使用に堪ゆ。

以上の事實より見て Na^+ 鹽は Mg^{++} 鹽よりも補體障害作用少きものと思料せらる。

こゝに於て諸種の「ナトリウム」鹽中補體障碍作用尠きものと思料せらるゝものを撰びて實驗に供せり。即 NaCl , Na_2NO_3 , Na_2SO_4 , Na_2HPO_4 の無機鹽及 Na-Azetat (一鹽基酸) Na-Oxalat , (二鹽基酸) Na-Citrat (三鹽基酸) を使用せり。

第 1 項 豫 備 試 験

食 鹽	局方品及メルク製純品
硫 酸 ソ ー ダ	小西製化學用純品
硫酸マグネシア	局 方 品
硝 酸 ソ ー ダ	メルク製純品
第二磷酸ソーダ	カールバウム製純品
醋 酸 ソ ー ダ	小島製純品
蓼 酸 ソ ー ダ	小西製純品
クエン酸ソーダ	メルク製純品

使用せる無機及有機酸鹽類は純粹なる製品を用ふる事に留意せり。

鹽類の補體保存作用を検する上に於て考慮すべき條件に (1) 補體を障礙する作用なき事 (2) 鹽類の存在によつて溶血機轉を障礙せざる事 (3) 補體結合機轉に障礙を與へざる事の三點なり。

鹽類の補體保存作用檢索の順序として先づ鹽類の溶血機轉に及ぼす影響を検せざるべからず。

第2表 使用鹽類の溶解度 (g%)

硫酸ソーダ	$\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$	0° 12.5; 15° 33.3gm
硫酸マグネシア	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0° 76.9; 10° 96.5; 20° 119.8
硝酸ソーダ	NaNO_3	0° 79.75; 10° 84.30; 20° 89.55
第二磷酸ソーダ (nach Sörensen)	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)	0° 1.8; 10° 3.7; 15° 5.1
醋酸ソーダ	$\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	0° 26.6; 10° 29.0; 20° 31.7
蓚酸ソーダ	NaC_2O_4	15° 3.12; 20° 3.30
クエン酸ソーダ	$\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 5\frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$	
食鹽	NaCl	0° 35.52; 14° 35.87

¹⁴⁾ 徳永は Na-Sulfat, Mg-Sulfat, Na-Zitrat, Ba-Chlorid, Na-nitrat,

K-Nitrat, K-Tararat, Na-Azetat, K-Azetat, K-Chlorid の 10 種の鹽類の溶液を用ひて其補體作用に及ぼす影響を検し Na-Azetat 及 K-Azetat 以外の鹽類は濃度 1% 以上に於ては補體作用を障礙すと報告せり。石川¹⁵⁾も亦 CaCl_2 , MgSO_4 , NaBr , KBr , K_2J 等は試験管内溶血機轉を阻止することを認め其本態は免疫血清中の溶血素を障礙するに非ずして補體自體に働くものならんと考察せり。森重及鎌倉は生理的鹽食水溶液に KCl , CaCl_2 , MgCl_2 , MgSO_4 等を混加せるものは溶血機轉に變化を與へ、 KCl , CaCl_2 は軽度の阻止作用を MgCl_2 は高度の阻止作用を示すに對し MgSO_4 は促進作用を認むとなし其作用の本態は主として赤血球に變化を及ぼし補體結合上の關係に變化を與ふるに基因するが如しと報告せり。

余等は氏等の報告に徴し上記の鹽類の溶血作用に及ぼす影響を知らんと欲し次の如き實驗成績を得たり。

實驗法

(1) 各種鹽類の 2% 溶液を作り

(2) 此溶液より 0.85% 生理的食鹽水を以て 1:1, 4:5, 1:2.5, 1:5, 1:10, 1:20, 1:40 等の稀釋液をつくる。

(3) かゝる稀釋液 0.5cc を溶血素に加ふ。

(4) 補體血球溶血素等の稀釋には 0.85% NaCl 溶液を用ふ。

感 作 血 球	0.5cc	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
補 體 1 單 位	0.02cc	"	"	"	"	"	"
(2 單 位)	(0.04cc)						
鹽 類 加 食 鹽 水	0.5cc	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
(鹽 類 稀 釋 倍 數)	(1)	($\frac{5}{4}$)	(2.5)	(5)	(10)	(20)	(40)
溶 血 系 に 於 け る 類 の 濃 度 %	約 1	0.8	0.4	0.2	0.1	0.05	0.025

$$\text{算式} \quad \left(\frac{0.5}{1.02} \sim \frac{0.5}{1.04} \right) \times \frac{1}{\text{稀釋倍數}} \times 2\%$$

37° の孵籠に置き 15 分 30 分 60 分毎に溶血程度を検す。其成績は別表の如し。

食鹽 0.85% 溶液を使用せる場合の溶血度を標準として判定すれば鹽類の溶血機轉に及ぼす影響は次の如し。(第 3 表 參 照)

- 1) 食鹽溶液は 1.3% (補體 1 單位) 或は 1.4% (補體 2 單位) 以上に於ては溶血機轉に對し阻止作用を認む。
- 2) 硫酸ソーダ及醋酸ソーダは阻止力最も輕度にして其含有量 1% に至りて僅かの阻止力を認むるに過ぎず 0.8% 以下に於ては何等の影響を認めず。
- 3) 硫酸マグネシア及硝酸ソーダは前者に次ぎ 0.2% (補體 1 單位) 0.8% (補體 2 單位) 以下に於ては阻止作用なし。
- 4) 第二 磷酸ソーダは 0.1% (1 單位) ~ 0.4% (2 單位) 以下, クエン酸ソーダは 0.1 (1 單位) ~ 0.4% (2 單位) 以下に於ては阻止作用なし。
- 5) 蔞酸ソーダの阻止作用最著明にして 0.025% (1 單位) ~ 0.1% (2 單位) 以下に於ては阻止作用なし。

以上の成績より考ふるに前記鹽類が或濃度以上に生理的食鹽水中に混在する時何れも若干の阻止作用を認む。

次に之等の鹽類を補體血清に加へて保存し之を溶血系に加ふる場合に上記鹽類は幾

第 3 表 A 補體 1 單位を使用せる場合

O.....非 溶 血 St.....強度溶血 K.....完全溶血 Sp.....跟跡溶血 Fk.....殆ど溶血

何量に加はるものなりやを考へざるべからず。

Browning の方法に従ひ補體價を測定するに體補血清の 4 倍稀釋 0.01cc~0.04cc の間に補體の 1 單位が存在するを通常とす、従つて使用する補體血清量は $\frac{1}{4} \times \frac{1}{100} \sim \frac{1}{4} \times \frac{4}{100}$ を 1 單位として用ふ。故に今補體血清中に鹽類が 10% 含まるとせば 1 單位血清中の鹽類の含量は約 $\frac{1}{4,000} \sim \frac{1}{1,000}$ gm なり。而して溶血系は、感作血球 0.5cc + 食鹽水 0.5cc + 補體 (0.01~0.04) = 1.01~1.04cc なり。故に此中における補體血清量 $\div \frac{0.01}{1.0} \sim \frac{0.04}{1.0} = \frac{1}{100} \sim \frac{4}{100}$ 。故に 1 單位の補體血清と共に溶血系に混入する鹽類の量は最高 $\frac{4}{100} \times \frac{1}{1,000}$ gm = $\frac{4}{100,000}$ gm なり。即ち溶血系中の 0.004% なり。従つて補體血清中に加ふる鹽類が 10% 以下なる場合には溶血系中に混入する鹽類の量は更に僅少となる。故に前記の實驗成績より推して加入鹽類が溶血機轉に對し阻止的に働く憂なき事を知るべし。

第 2 項 鹽類の補體保存作用に就て

數頭の「モルモット」より採血せる血液を 1 夜氷室に放置して後血清を採取して混和し之に 2% の比に硼酸末を加へて溶解し然る後血清を試験管に別ち之に各種鹽類 (蓆酸ソーダを除く) を 10% の比に加へて溶解せしめ之を原液となし前記の硼酸加血清を以て稀釋し各種濃度鹽類加血清をつくる。

蓆酸ソーダは溶解度低く 2.5% に加ふるも既に飽和す。磷酸ソーダ加血清は氷室中におさむる時は 10% のものに於ては飽和に達し結晶析出するを見る。

各種鹽類加補體血清は何れも冷庫に保存し、所定時日後其補體價を Browning の方

第 4 表 鹽類無添加補體の有効期間

保 存 日 數	血 清 量 (1:4)	無 處 置 補 體				2% 硼 酸 加 補 體			
		0.01cc	0.02cc	0.03cc	0.04cc	0.01cc	0.02cc	0.03cc	0.04cc
1 日 後		-	+++	+++	+++	-	+++	+++	+++
2 日 後		-	-	+++	+++	-	+++	+++	+++
3 日 後		-	-	+++	+++	-	+++	+++	+++
4 日 後		-	-	+++	+++	-	+++	+++	+++
6 日 後		-	-	-	+++	-	+++	+++	+++
7 日 後		-	-	-	+++	-	-	+++	+++
14 日 後		-	-	-	-	-	-	+++	+++

註 (一).....溶血せざるものを(+~+++).....溶血を示す

法に従ひて検し血清 4 倍稀釋 0.04cc 以下に補體 1 單位が低下するに至る迄の日數を以て便宜上補體保存有効日數となせり。蓋し通常「モルモット」血清の補體價の 1 單位は 0.02cc にあるもの多きを以て若し其 1 單位が 0.04cc 以上となれば補體は $\frac{1}{2}$ 以上に減弱せし事となるを以て 0.04cc を以て有効の限界と見做したる爲なり。

實驗成績

最初に補體血清を處理せざるまゝに於て冷蔵庫に保存せる場合及硼酸のみを 2% の比に加へて保存せる場合幾日間補體價を保存して使用に堪えるかに就て實驗せるに第 4 表の如く無處置の儘にて補體は六日間保存に堪え硼酸を加へたるものは 2 週日後と雖も尙使用に堪ゆ。但し補體血清によりて保存期間に幾分の差異を認め或場合は之よりも短く或場合は長し。

硼酸を 2% の比に加へたる補體血清に鹽類を加ふる事により使用に堪える程度に補體を維持し得る期間は第 5 表の如し。即ち前記八種の鹽類中硝酸ソーダのみは使用に堪えず。其理由は前記豫試験の成績に徴し硝酸鹽類の存在が溶血機轉を阻止するに非ずして補體自身を障礙するものなりと思考す。

他の 7 種の鹽類は何れも保存作用を有し最長期に保存し得たるは 1~5% 硫酸ソーダ (150 日) にして 5~2.5% 第二磷酸ソーダ (120 日) 1~2% 硫酸マグネシア (90 日) 及 1~10% 醋酸ソーダ (90 日) 之に次ぎ局方 1~10% 食鹽 (60 日), 2.5~5% クエン酸ソーダ (60 日) 飽和碳酸ソーダ (50 日) メルク製 10% 食鹽 (40 日) の順なり。

第 5 表 保存補體血清の溶血價

最少溶血價を 4 倍稀釋血清の容量(cc)を以て表す

保 存 日 數 鹽 類 含 有 %		1	10	20	30	40	50	60	90	120	150	160
硫 酸 ソ ー ダ	10%	0.02	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.04	0.04	0.04 $\frac{1}{2}$	>0.04	
	5%	0.02	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.04	0.04	0.04	0.04	>0.04
	2%	0.02	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
	1%	0.02	0.03	0.03	0.03	0.03	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	>0.04
硫 酸 マ グ ネ シ ア	10%	0.02	0.03	0.04	0.04	0.04 $\frac{1}{2}$	0.04 $\frac{1}{2}$	0.04 $\frac{1}{2}$	0.04 $\frac{1}{2}$	>0.04		
	5%	0.02	0.03	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04 $\frac{1}{2}$	0.04 $\frac{1}{2}$	>0.04		
	2%	0.02	0.03	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	>0.04	>0.04		
	1%	0.02	0.03	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	>0.04	>0.04		

食 方 鹽 (局 方 品)	10%	0.02	0.03	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	>0.04		
	5%	0.02	0.03	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	>0.04		
	2%	0.02	0.03	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	>0.04		
	1%	0.02	0.03	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	>0.04		
食 鹽 (メルク製純品)	10%	0.02	0.03	0.03	0.03	0.03	>0.04				
	5%	0.02	0.03	0.03	>0.04	>0.04					
	25%	0.02	0.03	0.03	>0.04	>0.04					
硝 酸 ソ ー ダ	10%	>0.04	>0.04								
	5%	0.04	>0.04								
	2.5%	0.03	>0.04								
第2磷酸 ソ ー ダ	10%(飽和)	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	>0.04	
	5%	0.02	0.02	0.02	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.04	
	2.5%	0.02	0.02	0.02	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.04	
醋 酸 ソ ー ダ	10%	0.02	0.02	0.02	0.03	0.04	0.04	0.04	0.04	>0.04	
	5%	0.02	0.02	0.02	0.03	0.04	0.04	0.04	0.04	>0.04	
	2.5%	0.02	0.02	0.02	0.03	0.04	0.04	0.04	0.04	>0.04	
蓆 酸 ソ ー ダ	2.5%	0.02	0.02	0.02	0.04	0.04	0.04	0.04#	0.04#	>0.04	
クエン酸ソーダ	10%	0.02	0.03	0.03	0.04	0.04	0.04	0.04	>0.04	>0.04	
	5%	0.02	0.03	0.03	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04#	>0.04	
	2.5%	0.02	0.03	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04#	>0.04	

註 #……………は僅に血球殘留するを示す

第6表 鹽類加補體血清の保存可能期間(冷蔵庫保存)

	10%	5%	2-2.5%	1%
硫 酸 ソ ー ダ	90日	150日	160日	150日
硫酸マグネシア	30 "	50 "	90 "	90 "
食 鹽(局 方 品)	60 "	60 "	60 "	60 "
" (メルク純品)	40 "	20 "	20 "	
硝 酸 ソ ー ダ	0	1 "	1 "	
第2磷酸ソーダ	90 "(飽和)	120 "	120 "	
醋 酸 ソ ー ダ	90 "	90 "	90 "	
蓆 酸 ソ ー ダ			50(飽和)	
クエン酸ソーダ	60 "	60 "	60 "	

メルク製食鹽の保存力が局方品食鹽に劣る理由は局方品にはマグネシウム及カルシウム鹽類等が夾雜物として存在して協力作用を呈するに由るものならんか。

第2章 保存補體による「ワツセルマン」反應

上記の實驗により溶血性補體を諸種鹽類の添加によつて保存し得る事を知りたるを以て之等の保存補體を使用して補體結合反應を施行して誤り無きや否やを確めんとし「ワツセルマン」反應を行ひたり。而して食鹽及醋酸ソーダが保存作用を有し且かゝる保存補體を補體結合反應に應用して支障なき事に就ては Ginsburg et Kalinen, Ruffner, 山田, 森等の報告ありて信據するを得るを以て, 余等は之を省略し, 余等の實驗に於て始めて其保存作用を認め得たるものにして且食鹽及醋酸ソーダに優ると考へらるゝ硫酸ソーダ, 第2 磷酸ソーダ及クエン酸ソーダの三種を選び之を2% 硼酸加血清に5%の比に混じて溶解せる後氷室に保存し置き1~16 週日保存のものを使用して「ワツセルマン」反應を試み且同時に新鮮補體を使用して同一血清に就て平行して試験し兩者の成績を比較したるに其結果は次の如し。

(1) 5%硫酸ソーダ加補體

新鮮補體	保存補體(2~4週)
陰性 46例	陰性 46例
陽性 28例	陽性 28例
陽 性 内 譯	
卅 15	卅 13, 卅 1, + 1
卄 7	卄 2, 卄 3, + 2
十 6	+ 6

(2) 5%第2 磷酸ソーダ加補體

新鮮補體	保存補體(1~16週)
陰性 38例	陰性 38例
陽性 33例	陽性 33例
陽 性 内 譯	
卅 13	卅 13

卅	14.....	卅 3, 卅 7, + 4
+	6.....	+ 6

(3) 5%クエン酸ソーダ加補體

新鮮補體

保存補體(1~16週)

陰性 36例.....陰性 36例

陽性 36例.....陽性 36例

陽 性 内 譯

卅 13.....卅 11, 卅 2

卅 14.....卅 2, 卅 9, + 3

+ 9.....+ 1, + 8

上記の如く何れの鹽類を用ひて保存したる血清に於ても陽性及陰性の判定は新鮮補體を使用したる場合と一致す。併しながら陽性血清の内譯を検討する時強陽性(卅)の場合及弱陽性(+)の場合には一致するも中等度(卅)の血清にありては(卅)となり或は(+)となりて一致せざる場合比較的多し。其理由は中等度陽性の場合には實驗手技により誤差を來し易きが爲ならんか。兎に角陰性陽性間における誤差の認められざる所より思考して硫酸ソーダ、燐酸ソーダ、クエン酸ソーダの添加によりて保存せる補體を補體結合反應に使用して差支へなきものと思ふ。

文 獻

- 1) Sachs und Teruwchi: Klin. Wochenschrift. 1907, S. 467, 520, 602
- 2) Klopstock: Z.f. Bakt. Orig. IAbt. 1926, Bd. 100, S. 90.
- 3) Friedberger: Z.f. Bakt. Orig. IAbt., 1908, Bd. 46, S. 441~456
- 4) Ginsburg und Kalinen: Z.f. Im-forschung 1927, Bd. 53, S. 219
- 5) " " 1926, Bd. 63 S. 107
- 6) Ruffner: Z.f. Im-forschung 1929, Bd. 60, S. 166
- 7) Sonnenschein: Z.f. Im-forschung 1930, Bd. 66, S. 330
- 8) Schirwindt & Liebermann: Wratschebnaja, Gaseta 1931, No. 16~17
- 9) Ronchèse: C. r. Soc. Biol, 1931, 106, 19~20
- 10) 鈴木, 後藤, 平田: 臺灣醫學雜誌 昭和4年 287號 151頁
- 11) 山田: 北越醫學會雜誌 昭和6年 46號 616頁

- 12) 森 : 日本微生物病理學雜誌 昭和9年 28卷 1號
- 13) 德永: Z.f. Bakt. Orig. IAbt Bd. 107, S. 283, 1928
- 14) 石川: 衛生學傳染病學雜誌 大正14年 21卷 1頁
- 15) 森重, 鎌倉 : 衛生學傳染病學雜誌 昭和3年 24卷 1頁

ブルガリア桿菌、顆粒桿菌及嗜酸桿菌 の鑑別に就て

技 師 秋 葉 朝 一 郎
囑 託 風 間 美 佐 雄

緒 言

太古の時代より人類は酸變乳汁を生のみにて愛用し之を常食として食卓に供へたりと云ふ。而して其多くは牛乳、山羊乳等を自然に酸酵せしめたるものにして其名稱も亦地方によりて異なる。例之埃及に於ける *Leben raid*, バルカン半島に於ける *Yoghurt*, ロシアの高原地方に於ける *Kumys*, 高索地方に於ける *Kefir*, アルメニアの *Majun*, ローマ及希臘に於ける *Oxygala* 及 *Chiston*, サルジニアの *Cioddu*, アルゼリアの *Rayet*, 印度の *Dadhi* 等あり。

就中 *Yoghurt* は *Elie Metchnikoff* の研究によりて有名となり之より分離せる *B. burgaricus* を以て酸變せしめたる牛乳の飲用は歐米諸國に於て嘗て旺なる流行を見た。吾邦に於ても大正三年の頃一時の流行を見たるも一般の嗜好に適しざりし爲か或は高價なりしに基因するか漸次衰微し現今にては二三の都市に於て製造販賣するのみと聞く。然れども *B. burgaricus* は由緒深き菌種なる所より粉末乳酸菌製劑に於ては之を含むもの尠からず。

其後諸家の研究により *B. burgaricus* は人腸内に於ける常在菌種に非る處より腸内に於ける長期の常住繁殖に適せずとの見解と *B. burgaricus* の抵抗弱く死滅し易き事實の立證せらるゝに至り本菌種の利用は漸次歡迎せられざるの傾向にあり。

近時米國に於ては *B. acidophilus* を牛乳中に培養し、*Acidophilus Milk* と稱し整腸營養劑として盛んに飲用す。殊に結核療養所に於て結核患者に賞用すと聞く。吾邦に於ても亦近時 *B. acidophilus* を使用せる製劑多數製造販賣せらるゝに至れり。

吾國に於て現今製造販賣せらるゝ乳酸菌製劑に就て其使用する處の菌種を通覽するにブルガリア桿菌 (*B. bulgaricus*), 嗜酸桿菌 (*B. acidophilus*), 顆粒桿菌 (*Köruchnen*)

bacillus), 連鎖狀乳酸菌 (*Streptococcus acidilactici*), 乳酸球菌 (*Micrococcus lactis acidilactici*) 等なり.

近時此等の市販品に就て需要者或は製造者より單に乳酸菌を含有すとの證明にては嫌たらず使用菌種の檢定證明を乞ふもの尠からず. 而て乳酸球菌に就て之を更に各亞屬に分類檢定する事は今日一般の要求する處に非ずして乳酸桿菌に就てのみ之が *B. bulgaricus* なりや *B. acidophilus* なりや *Körnchenbacillus* なりやの檢定を要求するの現状なり.

こゝに於て *B. bulgaricus*, *Körnchenbacillus* 及 *B. acidophilus* の 3 種乳酸桿菌の鑑別に關する文獻を涉獵するに未だ充分なる研究を見る事能はず. 因つて余等は此點に關し既往の文獻を參照しつゝ實驗を試み略々三者の鑑別點を明確に爲し得たるを以てこゝに報告せんとす.

第 1 章 乳酸桿菌の分離法

本邦にて製造販賣する乳酸菌製劑中 *B. bulgaricus*, *B. acidophilus* 及 *Körnchenbacillus* を主要乳酸菌となすと稱する數種製品を實驗材料とせり.

檢體適量を採りて牛乳培養基或は 3% 乳糖加ブイヨン (pH 6.0) に移植し 37° 及 42° の孵卵器中に 48 時間以上培養せる後 3% 乳糖加寒天 (pH 6.0) 平板に塗布移植して 48 時間 37° に培養し然る後形態種々なる孤立せる聚落を鈎菌して染色檢鏡し形態乳酸桿菌に一致するものを撰びて 3% 乳糖加ブイヨンに移植して純培養となす.

余等は本法により數種の檢體より 3 種の乳酸桿菌を分離し得たり. 此等各種の菌に就き其生物學的性狀, 培養上の所見等を綜合觀察し且從來の文獻に照して夫々 *B. bulgaricus* (2 株), *B. acidophilus* (3 株), *Körnchenbacillus* (2 株) に一致すべきものなる事を確めたり.

よつて以下に余等の分離せる此等 3 種の菌に就き其一般性狀を記述すべし.

第 2 章 第 1 項 フルガリア桿菌の一般性狀

1) 形 態

極て多種多形なるも普通幅 $0.6\sim 0.9\mu$ 長さ $4\sim 18\mu$ 程度の長桿狀菌なり. 兩端鈍圓なるもの多きも時に膨隆せるもの又は截斷狀を呈するもの等ありて同一培養基上に於

ても一定せず。殊に培養基の種類、培養温度、及培養時間等の差により其形態容易に變易し短少にして連鎖をなすものあり長大にして單一なるものあり數個の連鎖をなすもの或は長糸状をなし2〜3視野に亘るもの等あり。

2) 染色

培養新しきものは「グラム」陽性なるも陳舊となるに従ひ陰性となるもの尠からず。

メチレン青にて染色するに一般に新しき培養に於ては菌體平等に染色せられ顆粒を認めざるも牛乳に培養せる場合及其他の培地にても陳舊なる培養に於ては菌體の染色平等ならずして顆粒状様に染色せらるゝものあり。然れどもナイセル異染體染色法によりては染色せらるる事なきが故に眞の顆粒には非るものと云ふべし。

芽胞、鞭毛、莢膜等なし。固有運動を認めず。

3) 培養上の性状

本菌は通性嫌氣性なり。

イ) 牛乳

本菌の好適培地にして $37^{\circ}\sim 42^{\circ}$ に24時間培養するに牛乳を全く凝固す。其粘調度は日を経るに従ひ幾分減少す。牛乳を凝固するも乳清を殆ど析出せず又ペプトン化する事なし。

ロ) 糖加寒天培地(pH6.2)

本菌を1〜5%の割合に乳糖或は葡萄糖を加へたる寒天培地に塗布し $37\sim 42^{\circ}$ に於て培養するに24時間後には極て微小なる塵埃を撒布せるが如き集落を生じ48時間後に至り稍々明瞭な菲薄透明周縁不正にして星芒状をなす特異の集落となる。かくの如き集落大多數なるも中に小數ながら集落比較的大にして且厚く稍々不透明なるもの混在す。弱擴大にて之を檢鏡するに周邊不正且表面凸凹粗雜にして前記小集落の集合せるが如き觀を呈す。(附圖1及2参照)

上記兩種の集落より釣菌し或は分離培養をなしたるものより釣菌染色するに同形態グラム陽性の菌を認む。

又此大集落を採りて糖加ブイヨンに培養し更に糖加寒天に塗布するに前記の小集落と等しきものを發生する處より見れば大集落は小集落の集合と見るべきものならん。

培養 24~48 時間後の集落は星芒状 (附圖 1) を呈するも更に培養し 3 日以後となり集落發育するに従ひて突起は成長し突起は更に小突起を生じ 1 種の苔状若くは毛塊の如き集落となる (附圖 2)

余等の分離せる *B. bulgaricus* は 2 菌株とも同様の集落を形成し本菌株が原型なるか變易型なるか判明せず。其 Dissociation 就ては今後の研究に俟つ。

ハ) 糖加高層寒天 (pH6.3)

穿刺線に沿ひ濃厚黄白色粗糙なる發育をなす。

瓦斯の發生なし。

ニ) 糖加ブイヨン (pH6.2)

1~5% に乳糖或は 葡萄糖を加へたる ブイヨンに 37~42° に於て培養するに 24 時間にて僅かに混濁し 48 時間にて混濁著明となり漸次日を経るに従ひ發育せる菌は管底に沈澱し上部透明となる。之を振盪するに沈澱せる菌は粘稠牽縷性の外觀を呈して浮揚す。本培地も亦本菌の好適培養基なり。

ホ) 乳清培地

發育可良なり。始め全般に混濁し後沈澱を生ず。

ヘ) 遠藤培地

決して發育せず。

ト) 中性紅高層寒天 (pH6)

よく發育するも還元反應無し。

チ) 血液 (山羊, 家兎) 寒天 (pH6)

發育するも溶血作用なし。

リ) 2% グリセリン寒天及ブイヨン (pH6)

發育良好にして糖加培地に於けるが如し。

ス) 馬鈴薯

肉眼的には發生せる集落を認め難きも塗布染色檢鏡するに僅に發育せるを認む。

ル) 普通ブイヨン及寒天

發育不良なり。

ヲ) ラクムスモルケ

發育不良なり。

ワ) ペプトン水 (pH6.3)

發育を認め難し。

カ) 豆乳培養基

發育不良なり。本性狀は顆粒桿菌、嗜酸桿菌との鑑別點となる。

4) インドール反應

陰 性

第 2 項 顆粒桿菌の一般性狀

1) 形 態

多様多形なれども普通幅 $0.5\sim0.7\mu$ 長さ $3\sim20\mu$ 程度の桿菌なり。培地の種類、培養溫度及時間によりて形態に種々の變易を生ず。

菌の排列を見に寒天斜面及穿刺培養等固形培地にありては連鎖をなすも液體培地培養 ($37\sim40$) にありては常に孤立するもの多く稀に 2~3 個の短連鎖をなすに過ぎず。但 45° 以上の高溫培養の際には液體培地に於ても短連鎖をなす。(第 6, 7 表参照) 本性狀は顆粒桿菌の特異の點と認む。

2) 染 色

培養後新鮮なるものはグラム陽性なるも培養陳舊となるに従ひグラム陰性となる傾向あり。

且グラム染色にては顆粒を認めず。

本菌を牛乳培養基、乳糖加ブイヨン、就中 1~5 %果糖加ブイヨンに $37\sim40^\circ$, 24~48 時間培養せるものをメチレン青にて染色するに菌體內に略等距離に 5, 6 個の顆粒を認む。亦ナイセルの顆粒染色法を行ふに極て著明に染色せらる。

但顆粒は培養陳舊 (2 週日以上) となりたるもの、固形培地及高溫 45° 培養のものに於ては殆ど染色せられず。

3) 培養上の性狀

本菌は通性嫌氣性なり。

イ) 牛乳培養基

本菌の好適培地にして本菌を移植し 37~40° に培養するに 24 時間後全く凝固し少量の乳清を析出する事あり。ペプトン化せず。

ロ) 糖加寒天培地 (pH6.2)

1~5%に乳糖或は葡萄糖を加へたる寒天培地に本菌を塗布し 37~42° に培養するに24時間後に極て微細なる集落發生し48~72時間後に至り明瞭なる集落となる。顆粒桿菌はブルガリア菌に比すれば發育良好にして集落はブルガリア菌及嗜酸桿菌よりも大にして且厚く略圓形白色不透明なり。3~4日培養集落成長せるものを弱擴大にて檢鏡するに周邊不正表面粗糙にして周邊部厚く中央寧ろ菲薄なり。其集落の形態はブルガリア菌、嗜酸桿菌の其とは全く異なる。(附圖3參照)

嗜酸桿菌の R 型集落はやゝ之に類似すれども中央部隆起して厚し。

唯本型が顆粒桿菌の原型に屬すべきか其變易型なるか目下研究中にて判明せず。

余等の分離せるものは2株とも同型たる事を明記するに止む。

ハ) 糖加高層寒天 (pH6.2)

穿刺線に沿ひ濃黄白色粗糙なる線狀の發育をなし日を経るに従ひ表面にも發育す。瓦斯の發生なし。

ニ) 糖加ブイヨン (pH6.2)

1~5%に乳糖或は葡萄糖を加へたるブイヨンに本菌を移植し 37~42° に培養するに 24 時間後にて既に著明に發育し (ブルガリア菌、嗜酸桿菌よりも發育速なり) 全體に濁濁す。日を経るに従ひ菌體は漸次沈澱し約 10 日にして沈降し終りブイヨン澄明となる。沈澱せる菌體は振盪すれば粘稠牽縷性の外觀を呈して浮揚す。

ホ) 乳清培地 (pH6.5)

發育可良なり。

ヘ) 遠藤氏培地

發育せず。

ト) 中性紅高層寒天

發育するも還元及ガス形成作用なし。

チ) 血液 (山羊, 家兎) 寒天

發育するも溶血せず.

リ) 2% グリセリン寒天或はブイヨン

發育良好にして糖加寒天と同様なり.

ヌ) 馬鈴薯培地

肉眼にては集落を認め難きも塗抹標本となすに軽度に發育せるを知る.

ル) 普通ブイヨン及寒天

發育良好ならず.

ヲ) ラクムスモルケ

極て發育不育なり.

ワ) ペプトン水

發育するも良好ならず.

カ) 豆乳培地

發育良好にして蛋白の凝固沈澱を示す. 本性狀は *B. bulgaricus* と異なる點なり.

4) インドール反應

陰 性

第3項 嗜酸桿菌の一般性狀

1) 形 態

長短大小種々の菌にして幅 $0.7 \sim 0.8\mu$ 長さ $1.8 \sim 4.0\mu$ 程の桿菌なり. 但 S 型菌株にては短小桿菌にして R 型或は中間型菌株にては長桿菌なるもの多く此點松田氏の研究と一致する處なり多くは孤立するも二個併列するもの或は數個連るもの等あり形狀も亦眞直なるもの或は彎曲せるもの (R 型) 等あり.

2) 染 色

グラム陽性なるも陳舊となれば陰性にも轉化す. メチレン青にて染色するに何れの培養基に培養せるものに於ても菌原形質平等に染色し顆粒狀物質を認めず. 芽胞, 莢膜, 鞭毛染色等皆陰性なり.

3) 培養上の性狀

本菌も亦通性嫌氣性なり。

イ) 牛 乳

諸家の文獻に徴するに嗜酸桿菌は何れも牛乳中に良く發育するもカゼインを凝固するものと然らざるものとありて一定せず。余等の乳酸菌製劑より分離せる3種及哺乳兒糞便より分離せるもの5種に就て見るも同様にして且凝固するものと雖も *B. bulgaricus* 及 *Körnchenbacillus* に比すれば凝固力遅く 24 時間にては凝固せず早くも 48 時間後に至りて始めて凝固す。凝固状態に就て見るに乳清を比較的多量に析出す。

ロ) 糖加寒天培地 (pH6.3)

乳糖或は葡萄糖を 1~5% の割合に加へたる寒天培地上に塗布し 37° に培養するに表面微細な露滴狀の集落發生し 48~72 時間後に明確なる集落となる。

集落に3種あり。

1) 正圓形にして周邊規則正しく表面滑澤にして球狀に隆起す。培養3日後のものを透視するに白色不透明なり。之をS型とす。

2) 集落S型より稍大きく形態區々なり。周邊は不正にして表面粗雜顆粒狀をなし且周邊部は菲薄なるも中央部隆起す。之をR型とす。本集落は一見顆粒桿菌の集落に類似すれども表面の性狀に於て又後者が中央部寧ろ菲薄なるに本型は中央部厚き點等に於て容易に鑑別する事を得。

3) S型集落に類似すれども其形態不正なるものにしてS型及R型の移行型と認むべきものなり。(附圖4,5,6)

余等の乳酸菌製劑より分離せる嗜酸桿菌はR型2株S型1株なり。

ハ) 糖加高層寒天

穿刺線に浴び發育良好なり。ガスを形成せず。

ニ) 糖加ブイヨン (pH6.2)

37° 24時間培養にて濁濁を來たし 48 時間後に至れば菌は管底に沈澱しブイヨン澄明となる。但し菌株により 3~4 日培養に於ても全體濁濁せるものあり。菌沈渣は粘稠牽縷性なり。

ホ) 乳清培地

發育す。

ヘ) 遠藤培地

發育せず。

ト) 中性紅寒天

37° 培養 3 日後にて良好なる發育を認む。還元及ガス形成なし。

チ) 血液 (山羊, 家兎) 寒天

發育するも溶血作用を認めざりき。

リ) グリセリン寒天及ブイヨン

發育良好なり。

ス) 馬鈴薯培地

37° に 2 週間培養するも集落を認め難く檢鏡により僅に發育せるを認む。

ル) 普通寒天

中性寒天及弱アルカリ性寒天に移植 37° に培養するに 3~4 日後に微小集落の發生を認む。

ヲ) 普通ブイヨン

中性ブイヨンに移植し 37° に培養するに 48 時間後僅に混濁し其後漸次菌沈澱す。

ワ) ラクトースモルケ

發育す。

ヨ) ペプトン水

發育す。

タ) 豆乳培地

發育良好にして蛋白析出沈澱す。

5) インドール反應

陰性なり。

B. bulgaricus, *Körnchenbacillus*, *B. acidophilus* の解糖酸形成作用に就ては、諸家の文獻に徴し三者間に明確なる差異を認め難く徒らに繁雜を加ふるのみなりと思考

したるが故に其試験を省略せり。

第3章 フルガリア桿菌、顆粒桿菌及嗜酸菌の鑑別事項

Luerssen u. Kühn (1908) は Yoghurt 中より 2 種の乳酸桿菌を分離し顆粒を形成するものを *Körnchenbacillus* (Lebmann u. Neumann に従ひば *B. granulosum*) となし顆粒を形成せざるものを *B. bulgaricus* となせり。而して兩菌株は發育溫度、馬鈴薯上の發育、顆粒形成の有無によりて區別し得べしと稱せり。即 *B. bulgaricus* は發育適溫 45~50° にして *Körnchenbacillus* は 37~40°, 前者は馬鈴薯上に發育するも後者は發育せず、前者は顆粒は形成せざるも後者は明瞭に形成す。

Kuntze (1909) は 顆粒非形成菌は顆粒形成菌の變種にして一時顆粒形成能力を失ひたるに過ぎずとなす。

White 及 Avery (1909) は乳酸桿菌に 2 種ありとし A 型はメチレン青にて菌體平等に染色し、牛乳中にて 2.7~3.7% の酸を形成し且炭酸を形成す、成生せられたる乳酸は不働性；B 型はメチレン青に強く染まる顆粒を形成し、牛乳中にて 1.2~1.6% の酸を形成し且炭酸を形成せず、成生されたる乳酸は左旋性なり。等數點の相違を指摘す。

菱刈は (1924) *B. bulgaricus* と *Körnchenbacillus* の異同に關して精細に研究し形態、集落、發育溫度、凝乳狀態、顆粒形成、血清學的性狀等により區別し得るものとせり。

Thomas (1928) は *B. bulgaricus*, *B. acidophilus* 及 *Döderlein-bacillus* に就きて *B. bulgaricus* の免疫血清は *B. acidophilus* 及 *Döderlein-bacillus* を凝集せず且 *B. bulgaricus* は後 2 者の免疫血清によりて凝集されず、*B. acidophilus* 及 *Döderlein-bacillus* の免疫血清は相互に凝集すと報告せり。

Upton & Kopeloff (1932) は *B. acidophilus* 及 *B. bulgaricus* の R 型と S 型とは抗原性全く異り且 *B. acidophilus* 及 *B. bulgaricus* の R 型同志及 S 型同志の間には凝集反應による相異を見出し得ずとなせり。

以上の如く 3 者の鑑別に就きては異説ありて何れも遽に信凭すべからず。

依つて余等は前章一般性狀の試験に於て鑑別事項となり得べしと推測せられたる性

状並に諸家の報告により鑑別に有利なるべしと思考せらる事項を追試し其結果を次項に記述す。

第1項 培養上の所見

前章一般性状の項に記述せる處なるも3者の鑑別に主要なりと思考せらるゝものを重ねて摘録す。

イ) 集落の形態

含糖寒天平板上に於ける適温 2~3 日培養後のものに就て見るに *Körnchenbacillus* は最發育良好にして集落大なり。

B. bulgaricus ブルガリア桿菌

本菌の集落は微小菲薄にして周邊に突起を有し 24~48 時間培養のものに於ては(附圖1)星芒状を呈するも 3~4 日となれば(附圖2)集落の突起延長して苔状或は毛塊状となり全體菲薄にして表面粗糙顆粒状なり。かくの如き最初星芒状なる集落の外に其多數集合せるを思はしむる大なる集落混在す。(附圖1)。該菌種は變異型となすべきか將又原型とすべきものなるか其 dissociation に就ては目下實驗中に屬す。唯余等の分離せる *B. bulgaricus* 2 株共に同様にして且本菌の發見者たる Luerssen 及 Kühne, 菱刈其他の記載せる *B. bulgaricus* の集落の性状が余等の菌株の集落に一致する事を併せて考ふる時前述の本菌型が安定型なるやを思はしむ。

Körnchenbacillus (*B. graunlosum*) 顆粒桿菌

本菌の集落は比較的大にして且厚く肉眼にて見る時は略圓形にして白色不透明なり。培養3日以後の發育せる集落を弱擴大にて檢鏡するに周縁不規則表面又粗糙にして周邊部比較的厚く中央部寧ろ菲薄なり。余等の分離せる顆粒桿菌2株共に同一の集落を形成す。本菌の R 型なりや S 型なりや文獻に徴するも判明せず。其 Dissociation に就ては研究中なり。(附圖3)

B. acidophilus 嗜酸桿菌

余等の乳酸菌製劑より分離せる本菌は R 型 2 株 S 型 1 株なり。本菌の集落は顆粒桿菌の集落よりも小にして菲薄なり。S 型は正圓形周邊並に表面共に滑澤にして中央球状に隆起す。(附圖4)

R型集落はS型より大にして形状區々なるも周邊不正突刺あり表面蕪雜顆粒狀にして顆粒桿菌の集落に稍似たるも周縁部菲薄にして中央隆起して厚し。(附圖6)

本菌の中間型は周邊及表面滑澤なるも形態正圓ならずして不正諸種の形状をなす。(附圖5)

以上の如き集落の形状により3種を明瞭に鑑別し得たり。故に形態の性状は肝要なる鑑別點の一なりと信ず。

ロ) 菌形態

牛乳或は糖加ブイヨン(就中乳糖及果糖)に適温2~3日培養の新鮮なる菌株に就きレフレル氏メチレン青染色或はナイセル染色を行ふに顆粒桿菌に於ては顆粒著明なるもブルガリア菌、嗜酸桿菌には認めず。陳舊なる培養を用ふる時ブルガリア菌に於ても顆粒様染色をなす場合あり且顆粒桿菌に於ても固形培地培養、陳舊(2週日以上)となりたる液體培養及高温45°培養のものに於ては顆粒殆ど染色せられざる事あり。かゝる事實は染色による菌種の鑑別に留意すべき點なり。菌體の大きさに於ては3者の鑑別は到底不可能なり。唯 *B. acidophilus* のS型にありては菌體極短小なる事に注意すべきなり。

ハ) 牛乳培地

菱刈は *B. bulgaricus* と *Körnchenbacillus* との凝乳状態を比較し顆粒桿菌は牛乳を凝固するに粘稠度少く乳清を多小析出するも、ブルカリ桿菌に於ては殆ど乳清を析出する事なく凝乳し始めは粘稠性なるも日を経るに従ひ粘稠度減退し且此凝乳を70°以上に加熱するに溶融すと報告せり。

余等3種の菌を牛乳に移植し37°に培養せるに *B. bulgaricus* 及 *Körnchenbacillus* は24時間にて全く凝固し *B. acidophilus* は48時間後に至りて或菌株は凝固し或菌株は數日を経るも凝固せず。 *B. acidophilus* の凝乳力は前2者に劣る。又3者の凝乳状態を比較するに粘稠度にも乳清析出度にも大差なく判然せず。 *B. bulgaricus* による凝乳は70°以上に加温せるも溶融せざりき。

牛乳37°培養のものを染色檢鏡するに *B. bulgaricus* は長連鎖或は糸状をなし、 *B. acidophilus* は2~3個の短連鎖をなし、 *Körnchenbacillus* は多くは孤立して

存在し顆粒の染色著明なり。

ニ) 豆乳培地

菱刈によれば *B. bulgaricus* は豆乳培地に於ける發育悪く蛋白を凝固せしむるに數日を要するも *Körnchenbacillus* は發育よく1~2日にて凝固せしむると云ふ。余等の實驗に於ては *B. acidophilus* 及 *Körnchenbacillus* は發育よく48時間後には蛋白を凝固沈澱せしめたるも *B. bulgaricus* は發育良好ならず數日を経たるも凝固せしむるに至らざりき。

ホ) 馬鈴薯培養基

Luerissen u. Kühne によれば *B. bulgaricus* は馬鈴薯培地に發育し *Körnchenbacillus* は發育せずと云ふ。余等の實驗に於ては3種とも集落の形成著明ならず檢鏡により僅に發育を認めたるに過ぎずして3種の鑑別不可能なりき。

其他の培養基に於ては3種の鑑別不可能にして要之に一般の培養上の性状に於て確實に3者の鑑別に資し得べしと考へらるゝものは集落の形態、顆粒の染色のみにして牛乳培地或は豆乳培地に於ける性状の差は菌株數少く且其性状に變異多き可能性多分にあるを以て參考となすに止むべきものならんか。

第 2 項

培養基の種類及培養溫度と菌發育及菌形態との關係に就て。

試験方法

培養基は一般の乳酸菌培養に好適なる3%乳糖加ブイヨン(pH6.2), 3%乳糖加寒天(pH6.2)及牛乳とす。之に乳糖加ブイヨン48時間培養の菌を常に3白金耳量づつ移植し培養96時間後に繁殖の程度及メチレン青染色による菌形態の觀察を行へり。

其成績次表の如し。

第 1 表 22° 培 養

菌 種 培 養 基	B. bulgaricus		Körnchenbacillus		B. acidophilus	
	發 育	形 態	發 育	形 態	發 育	形 態
3% 葡萄糖 ブイヨン	—		—		±	孤立或は並列
3% 乳糖 ブイヨン	—		—		±	"

3% 葡萄糖 寒 天	—		—		±	2,3 個連結或 は並列
3% 乳 糖 寒 天	—		—		±	"
2% グリセリンブイヨン	—		—		±	孤立或は並列
3% 果糖 ブイヨン	—		—		±	"
牛 乳	—		—		±	"

第 2 表 25° 培 養

菌 種 培 養 基 所 見	B. bulgaricus		Körnchenbacillus		B. acidophilus	
	發 育	形 態	發 育	形 態	發 育	形 態
3% 葡萄糖 ブイヨン	+	2,3 個連結	+	孤 立 顆 粒 著 明	+	2,3 個連結
3% 乳 糖 ブイヨン	+	"	+	孤 立 顆 粒 著 明	+	"
3% 葡 萄 糖 寒 天	+	3,4 個連結	+	2,3 個連結 顆 粒 不 明 瞭	+	3,4 個連結
3% 乳 糖 寒 天	+	"	+	"	+	"
2% グリセリンブイヨン	+	2,3 個連結	+	孤 立 顆 粒 な し	+	2,3 個連結
3% 果糖 ブイヨン	+	2,3 個連結	+	孤 立 顆 粒 著 明	+	2,3 個連結
牛 乳	凝固 —	3,4 個連結	凝固 —	孤 立 顆 粒 著 明	凝固 —	孤立若くは 並列

第 3 表 30° 培 養

菌 種 培 養 基 所 見	B. bulgaricus		Körnchenbacillus		B. acidophilus	
	發 育	形 態	發 育	形 態	發 育	形 態
3% 葡萄糖 ブイヨン	卅	2,3 個連結	卅	孤 立 顆 粒 著 明	卅	2,3 個連結
3% 乳 糖 ブイヨン	卅	"	卅	"	卅	"
3% 葡 萄 糖 寒 天	卅	4,5 個連結	卅	3,5 個連結 顆 粒 不 明	卅	5,6 個連結
3% 乳 糖 寒 天	卅	4,5 個連結	卅	"	卅	"
2% グリセリンブイヨン	卅	2,3 個連結	卅	孤 立 顆 粒 な し	卅	4,5 連個結

3% 果糖 ブイヨン	+	2,3 個連結	+	孤立 顆粒著明	+	2,3 個連結
牛 乳	凝固 + 48 時間	3,5 個連結	凝固 + 48 時間	孤立 顆粒著明	凝固 + 72 時間	2,3 個連結

第 4 表 37° 培 養

菌 種 培 養 基	所 見	B. bulgaricus		Körnchenbacillus		B. acidophilus	
		發 育	形 態	發 育	形 態	發 育	形 態
3% 葡 萄 糖 ブ イ ヨ ン		+	2,3 個連結	+	孤 立 顆 粒 な し	+	2,3 個連結
3% 乳 糖 ブ イ ヨ ン		+	2,3 個連結	+	孤 立 顆 粒 著 明	+	"
3% 葡 萄 糖 寒 天		+	5,7 個連結	+	3,5 個連結 顆 粒 な し	+	5,6 個連結
3% 乳 糖 寒 天		×	5,7 個連結	+	"	+	"
2% グリセリンブイヨン		+	2,3 個連結	+	孤 立 顆 粒 な し	+	4,5 個連結
3% 果 糖 ブ イ ヨ ン		+	2,3 個連結	+	孤 立 顆 粒 著 明	+	2,3 個連結
牛 乳	凝固 + 24 時 間	糸 状	凝固 + 24 時 間	孤 立 顆 粒 著 明	凝固 + 48 時 間	2,3 個連結	

第 5 表 42° 培 養

培 養 基	菌 種 所 見	B. bulgaricus		Körnchenbacillus		B. acidophilus	
		發 育	形 態	發 育	形 態	發 育	形 態
3% 葡 萄 糖 ブ イ ヨ ン		卅	2,3 個連結	卅	孤 立 顆粒不著明	±	孤 立 或 は 並列
3% 乳 糖 ブ イ ヨ ン		卅	2,3 個連結	卅	孤 立 顆粒著明	±	"
3% 葡 萄 糖 寒 天		卅	糸状のもの 多し	卅	5,8 個連結 顆粒なし	±	2,3 個連結 或は並列
3% 乳 糖 寒 天		卅	糸状のもの 多し	卅	5,8 個連結 顆粒なし	±	"
2% グリセリンブイヨン		卅	2,3 個連結	卅	孤立のもの 多し 顆粒なし	±	孤立或は並 列
3% 果 糖 ブ イ ヨ ン		卅	2,3 個連結	卅	孤 立 顆粒著明	±	"
牛 乳		凝固 + 48 時間	糸状のもの 多し	凝固 + 48 時間	孤 立 顆粒著明	±	"

第 6 表 45° 培 養

菌 種 所 見 培 養 基	B. bulgaricus		Körnchenbacillus		B. acidophilus	
	發 育	形 態	發 育	形 態	發 育	形 態
3% 葡萄糖 ブイヨン	卅	5, 6 個連結	卅	2, 3 個連結 顆粒なし	—	—
3% 乳糖 ブイヨン	卅	5, 8 個連結	卅	2, 3 個連結 顆粒なし	—	—
3% 葡萄糖 寒天	卅	長糸状	卅	長糸状 顆粒なし	—	—
3% 乳糖 寒天	卅	長糸状	卅	長糸状 顆粒なし	—	—
2% グリセリンブイヨン	卅	4, 5 個連結	卅	2, 3 個連結 顆粒なし	—	—
3% 果糖 ブイヨン	卅	4, 5 個連結	卅	2, 3 個連結 顆粒なし	—	—
牛 乳	凝固 + 24 時間	長糸状	凝固 + 24 時間	長糸状 顆粒なし	—	—

第 7 表 50° 培 養

菌 種 所 見 培 養 基	B. bulgaricus		Körnchenbacillus		B. acidophilus	
	發 育	形 態	發 育	形 態	發 育	形 態
3% 葡萄糖 ブイヨン	卅	5, 8 個連結	卅	2, 3 個連結 顆粒なし	—	—
3% 乳糖 ブイヨン	卅	5, 8 個連結	卅	2, 3 個連結 顆粒なし	—	—
3% 葡萄糖 寒天	卅	長糸状	卅	長糸状 顆粒なし	—	—
3% 乳糖 寒天	卅	長糸状	卅	長糸状 顆粒なし	—	—
2% グリセリンブイヨン	卅	4, 5 個連結	卅	2, 3 個連結 顆粒なし	—	—
3% 果糖 ブイヨン	卅	4, 5 個連結	卅	2, 3 個連結 顆粒なし	—	—
牛 乳	凝固 + 24 時間	長糸状	凝固 + 24 時間	長糸状 顆粒なし	—	—

以上の成績を綜括すれば次の如し。

1) ブルガリア桿菌

本菌は 25~50° に於て發育し 42~50° の高温にありて發育最旺盛なり形態は低温に於ても高温培養に於ても或は亦固形培地にありても液體培地にありても常に長桿状

をなし、しかも數個聯結して存在するもの多し。且 $45\sim 50^{\circ}$ の高温培養にありては連鎖長大となり就中固形培地にありては長糸状をなすもの多し。牛乳は低温にありては4日以内には凝固せざりしも 37° 以上にありては24時間にして完全に凝固す。

2) 顆粒桿菌

$25\sim 50^{\circ}$ に於て發育し就中 $40\sim 50^{\circ}$ にありて發育最旺盛なり。形態は幾分ブルガリア桿菌より短く其排列に特異の點を認む。即液体培地牛乳或は糖加ブイヨン 42° 以下培養にありて顆粒桿菌はブルガリア菌及嗜酸桿菌と異り孤立して存在するもの多く且顆粒を明瞭に認む。但グリセリンブイヨン及 45° 以上の高温培養に於ては連鎖をなし且顆粒染色せられず。

固型培地に於ては 42° 以下に培養するも常に數個の短連鎖をなし顆粒を殆どなく且 45° 以上の培養に於ては長糸状をなし顆粒を全く認めず。

かくの如く顆粒桿菌は單在若くは2,3個の短連鎖をなす場合(適温液体培地)に顆粒著明にして長連鎖或は糸状をなす場合(固形培地或は高温培養)には顆粒消失する特異の性状あり。

牛乳は適温 37° 以上に於ては24時間後に全く凝固す。

3) 嗜酸桿菌

$22\sim 40^{\circ}$ に於て發育し $30\sim 37^{\circ}$ を適温となし 40° にありては發育微弱に 45° 以上にては全く發育せず。此點ブルガリア菌、嗜酸桿菌との相異截然たり。菌は固形培地に於ても液体培地に於ても2,3個連結するもの多し。牛乳凝固は前2者に比して弱く適温 ($30\sim 37^{\circ}$) に於ても48~72時間にして漸く凝固せり。

以上を要約すれば培養温度と發育並に形態との關係によりて3菌種を區別する事を得。即

イ) *B. acidophilus* は 45° 以上にては發育せざる點に於て *B. bulgaricus* 及 *Körnchenbacillus* と異なる。

ロ) *B. bulgaricus* と *Körnchenbacillus* の牛乳若くは乳糖或は果糖加ブイヨン 37° 、2~3日培養の菌を檢鏡するに *B. bulgaricus* は連鎖をなすもの多きに反し *Körnchenbacillus* は孤立して存在し且顆粒著明なる點に於て差違明瞭なり。

第3項 菌發育と pH との関係

2% 乳糖ブイヨンに局方醋酸或は苛性曹達を加へて pH3~8 の培地をつくり之に各菌種の乳糖ブイヨン適温培養のもの 2 白金耳量を移植し 37° に培養し五日間毎日培地の濁濁或は沈澱の有無を検し發育の良否を観察せり。(第8表参照)

B. bulgaricus 及 *Körnchenbacillus* は pH4~7 の間に於て發育し *B. acidophilus* は pH 5~7.5 に於て繁殖せり。3 菌株とも pH6~7 を好適 pH とす。

B. acidophilus の發育可能なる pH 圏は大多數に於て pH4.6~7.8 なるは諸家の實驗の一致する處なるも菌株により幾分の範圍の廣狹あるは免れず (Canon, 廣澤等)

第8表 培地の pH と菌の發育との關係

菌 種 pH	<i>B. bulgaricus</i>		<i>Körnchenbacillus</i>		<i>B. acidophilus</i>			
	A	B	A	B	A	B	C	D
3.0	—	—	—	—	—	—	—	—
4.0	+	+	+	+	—	—	—	—
5.0	+	+	+	+	+	+	+	+
6.0	+	+	+	+	+	+	+	+
7.0	+	+	+	+	+	+	+	+
7.5	—	—	—	—	+	+	±	±
8.0	—	—	—	—	—	—	—	—

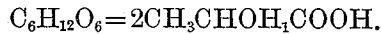
余等の實驗成績も大體之に一致し *B. bulgaricus* 及 *Körnchenbacillus* が弱アルカリ培地には發育せざるに反し *B. acidophilus* の發育可能なるは *B. acidophilus* の特性とも見做すべきか。

第4項 成生乳酸鹽の旋光性並に酸產生量

B. bulgaricus, *Körnchenbacillus* 及 *B. acidophilus* の酸成生能力 (主として乳酸) の上に差異ありや或は成生せられたる乳酸の旋光性に差異ありや。本問題に關し文獻に徴するに或程度の差異を認めらるゝが如く思考せらるゝが故に余等も亦本實驗を施行せり。

元來乳酸菌による糖類の分解は一般酵母の醗酵と異り酸を形成するのみにしてガスを產生せざるものなり。即多糖類は單糖類に分解され更に單糖類 1 分子は 2 分子の乳

酸に分解せらるゝものと考へらる。



而してこゝに成生せらるゝ乳酸の旋光性は作用する乳酸菌の種類により或は培養基の種類によりて相異なるものにして例へば *B. bulgaricus* と *Körnchenbacillus* との成生する乳酸の旋光性異り又等く *B. bulgaricus* によるも牛乳培養基中にて成生するものは右旋性にして人工培地に於ては非働性なるが如し。

Bertrand u. Duchacek に據れば *B. bulgaricus* は牛乳中にて右旋性及左旋性の乳酸を形成するも菌の發育の爲に左旋性乳酸を多く消費するが故に結局牛乳中の乳酸は右旋性を呈するものにして人工培地に於ては兩者同量に存在するが故に非働性なりと云ふ。

White 及 Avery は顆粒桿菌は左旋性の乳酸を成生しブルガリア桿菌の夫は非働性なりとなす。

菱刈はブルガリア菌が牛乳中にて成生する乳酸は右旋性若くは非働性にして顆粒桿菌の成生するものは左旋性なりと云ふ。

成 生 乳 酸 鹽 の 旋 光 性

500cc の牛乳にブルガリア菌及顆粒桿菌を移植せるものは 40° に嗜酸桿菌を移植せるものは 37° に 1 週間培養して乳酸の成生充分となるを待ちて先づ牛乳を煮沸し濾過して粗大なるカゼインの凝塊を除く。然る後 20~30gm の炭酸亞鉛を加へて加温し乳酸亞鉛を成生せしめ之を温に乗じて濾過し濾液を更に濃縮せる後冷却して乳酸亞鉛の結晶を析出せしむ。結晶は一度濾紙上に集めし後約 6~10 倍量の熱湯に溶解し更に濃縮し冷却して結晶を析出せしむ。かくの如く再三再結晶を行ひ精製し乾燥せしむ。其 0.1~0.2gm を採りて 20cc の熱湯に溶かし此溶液によりて旋光度を検せり。余等の 3 回反復したる實驗の結果によれば *B. bulgaricus* より成生せる乳酸亞鉛は右旋或は非働性、*Körnchenbacillus* は左旋或は非働性、*B. acidophilus* は右旋性なり。

酸 産 生 量

各種乳酸菌中乳酸成生力は *B. bulgaricus* 最大なりと云ふ。Metchnikoff に依れば乳酸成生量 3% に達すと云ひ Bertrand u. Duchacek の研究によれば *B. bulgaricus*

は牛乳 1l 中に 25gm の乳酸と琥珀酸, 0.5gm の醋酸及極少量の蟻酸を成生すと云ふ。又 Chatterjee, 石黒等の研究によるも *B. bulgaricus* は牛乳 1l 中 22~25gm の乳酸を成生し他の乳酸菌の及ばざる所なりと云ふ。菱刈の報告に見るに *B. bulgaricus* の酸産生力は *Körnchenbacillus* に少しく優るとなす。

余等は諸家の牛乳中に於ける酸成生力を檢したるに反し糖加ブイオンを使用せり。蓋し糖による酸生成量の差を知らんが爲なり。即 3% に割合に乳糖或は葡萄糖を加へたるブイオンに (pH6.5) に一定量の菌を移植し 37° 及 42° の孵籠に培養し毎日成生酸度を測定し 7 日間觀測せり。

菌株は各 2 株づゝを用ひたり。

酸度測定はブイオン 10cc を採り蒸餾水を以て 5 倍に稀釋したるものを phenolphthalein を指示液とし N/10 苛性ソーダ液を以て中和し所要アルカリ液量を以て總酸度を示す。

次表の數字は糖加ブイオン自體を phenolphthalein 中性となすに要する苛性曹達溶液の cc 數を控除したるものなり。

第 9 表 *B. bulgaricus*

		37°				42°			
		乳 糖		葡 萄 糖		乳 糖		葡 萄 糖	
		A	B	A	B	A	B	A	B
1	日	5.3	5.5	3.5	3.6	5.5	5.7	4.5	4.7
2	日	7.1	7.2	5.6	5.8	7.4	7.6	5.6	5.8
3	日	8.8	8.9	6.0	6.5	9.7	9.9	6.2	6.4
4	日	9.0	9.0	6.8	7.0	10.0	10.0	6.9	7.0
5	日	9.2	9.4	7.1	7.2	10.1	10.2	7.4	7.5
6	日	10.0	10.1	7.3	7.5	10.2	10.3	8.5	8.8
7	日	10.5	10.6	8.1	8.2	10.4	10.5	8.6	8.8

第 10 表 *Körnchenbacillus*

		37°				42°			
		乳 糖		葡 萄 糖		乳 糖		葡 萄 糖	
		A	B	A	B	A	B	A	B
1	日	4.2	4.0	5.5	5.6	6.2	6.3	6.2	6.7
2	日	8.8	8.7	7.8	7.7	9.2	9.3	8.2	8.4

3	日	9.8	9.7	9.5	9.3	9.5	9.6	8.4	8.7
4	日	10.5	10.5	10.7	10.6	10.0	9.9	8.8	8.7
5	日	11.6	11.5	11.7	11.8	10.4	10.5	9.0	9.2
6	日	12.3	12.4	11.8	11.9	10.5	10.6	9.3	9.5
7	日	12.8	12.7	11.8	11.9	10.7	10.8	9.3	9.5

第11表 *B. acidophilus*

37°

		乳 糖		葡 萄 糖	
		A	B	A	B
1	日	2.2	2.5	2.3	4.0
2	日	3.0	3.2	3.3	5.0
3	日	3.3	3.9	4.2	5.1
4	日	3.8	4.0	5.1	5.5
5	日	4.0	4.4	5.7	6.3
6	日	4.6	5.0	6.0	6.5
7	日	5.0	5.1	6.2	7.0

第12表 總酸度の比較 (7日培養後に於ける)

		乳 糖		葡 萄 糖	
		37°	42°	37°	42°
<i>B. bulgaricus</i>	A	10.5	10.4	8.1	8.6
	B	10.6	10.5	8.2	8.8
<i>Körnchenbacillus</i>	A	12.8	10.7	11.8	9.5
	B	12.7	10.8	11.9	9.5
<i>B. acidophilus</i>	A	5.0	—	6.2	—
	B	5.1	—	7.0	—

以上の成績を綜括すれば次の如し。

1. *B. bulgaricus* 葡萄糖に比し乳糖より多量の酸を形成す。培養温度37°及42°に於ける酸成生量には大差なく酸成生速度は42°に於て少しく速なる感あり。
2. *Körnchenbacillus* 葡萄糖に比し乳糖より稍々多量の酸を形成す。42°に於ては37°に於けるよりも酸成生速なるも7日後に於ける總酸度は37°に於ける方大なり。
3. *B. acidophilus* 乳糖に比し葡萄糖より多量の酸を形成す。
4. ブルガリア桿菌，顆粒桿菌及嗜酸桿菌の酸産生力を比較するに諸家の文獻と異

り顆粒桿菌がブルガリア菌に優り嗜酸桿菌は凝乳作用顯著なる菌株なりしに拘らず前二者に遙に劣る。

嗜酸桿菌が酸産生力の比較的劣弱なる事及乳糖よりも葡萄糖より多量の酸を形成する性状はブルガリア菌、顆粒桿菌との鑑別事項と爲し得るものと思ふ。

第4章 血清學的性状

菱刈 (1924) は *B. bulgaricus* と *Körnchenbacillus* とは凝集反應、沈降反應、補體結合反應とにより截然と區別し得ると報告し Thomas (1928) は *B. bulgaricus* は *B. acidophilus* 及 *Döderlein-bacillus* の免疫血清によりて凝集せられず且 *B. bulgaricus* の免疫血性は *B. acidophilus* 及 *Döderlein-bacillus* を凝集せずと發表せり。然るに Upton 及 Kopeloff (1932) は Dissociation の見地より *B. bulgaricus* と *B. acidophilus* の異同に關して研索し R 型 *B. bulgaricus* と R 型 *B. acidophilus* 或は S 型 *B. bulgaricus* と S 型 *B. acidophilus* 即兩菌種の同型は抗原性同一にして凝集反應及凝集素吸収試験によりては區別し得ざる事及同一菌種に於ても R 型と S 型の抗原性は全く異なる事を記述せり。

Arkwright, Burnet 其他により同一菌種の R 型と S 型とは抗原性を異にする事闡明せられて以來菌型の別は血清學性状研究の上に重要視すべき事項となれり。然れども乳酸菌に關してはかかる研究尠く殊に乳酸菌種間の血清學的鑑別に Dissociation の概念を導入して研究せるは Upton 及 Kopeloff を最初とすべし。

余等の乳酸菌製劑より分離せる *B. bulgaricus* 及 *Körnchenbacillus* は幾多の努力を傾到せるも僅に2株宛にしてしかも其集落形態は同一にして加ふるに今日迄兩菌種の菌型に關する精細なる發表を披見し得ず且余等の Dissociation の研究も其途上にありて余等の分離せる菌株の菌型を決定し得ざりき。然れども從來諸家の記載せる處を參照すれば余等の分離せる *B. bulgaricus* 及 *Körnchenbacillus* は不安定なる變異型に非ずして安定型なるを思はしむ。

次に乳酸菌製劑より分離し得たる *B. acidophilus* は R 型2株及 S 型1株なりき。

以上の3菌種に就き血清學的異同に關してなしたる實驗結果を次項に記述せん。但し3菌種の Dissociation に就ては目下研究中なるを以て其完了せる曉本成績の訂正す

べきものであらば更に此が批判をなすべし。

第1項 凝 集 反 應

免疫血清

B. bulgaricus, *Körnchenbacillus* 及 *B. acidophilus* A (R型) を3% 乳糖ブイヨンに移植培養せるものを遠心沈澱してブイヨンを去り生理的食鹽水にて菌浮游液を作り之を1週間の間隔をおきて家兎耳靜脈内に數回注射して免疫血清を造れり。

抗 亢

3% 乳糖ブイヨンに各菌種を37° 24時間培養しブイヨン平等に濁濁せるものを用ひたり。*B. acidophilus* (殊にR型) は Spontane Agglutination 強く平等なる菌液を得難きものなりと云ふも余等の菌株に於てはブイヨンの若培養を用ふれば充分使用する事を得たり。

凝集反應の操作は常法の如くし37° に2時間放置せる後更に室温におき翌日成績を判定せり。

其成績次の如し。(表13~15参照)($\equiv$), ($\equiv$), (+)は陽性の強弱度を示し(-)は陰性を示す。

第13表 *B. bulgaricus* A 免疫血清に對する凝集反應

菌 種	血清稀釋倍数	25	50	100	200	400	800	1,600	3,200	6,400	12,800	K
<i>B. bulg.</i> A		$\equiv$	$\equiv$	$\equiv$	$\equiv$	$\equiv$	$\equiv$	+	+	-	-	-
" B		$\equiv$	$\equiv$	$\equiv$	$\equiv$	$\equiv$	$\equiv$	+	±	-	-	-
<i>Körn. bac</i> A		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
" B		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B. acid.</i> A (R型)		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
" B (R)		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
" C (S)		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

第14表 *Körnchenbacillus* A 免疫血清に對する凝集反應

菌 種	血清稀釋倍数	25	50	100	200	400	800	1,600	3,200	6,400	12,800	K
<i>Körn. bac.</i> A		$\equiv$	$\equiv$	$\equiv$	$\equiv$	$\equiv$	$\equiv$	$\equiv$	$\equiv$	+	-	-
" B		$\equiv$	$\equiv$	$\equiv$	$\equiv$	$\equiv$	$\equiv$	$\equiv$	+	±	-	-

B. bulg.	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
"	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B. acid.	A (R)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B (R)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	C (S)	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-

第 15 表 B. acidophilus A (R 型) 免疫血清に對する凝集反應

血清稀釋倍數		25	50	100	200	400	800	1,600	3,200	6,400	12,800	K
菌	種											
B. acid.	A (R)	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	+	-	-
"	B (R)	卅	卅	卅	卅	卅	+	±	±	±	-	-
"	C (S)	卅	卅	卅	卅	+	±	-	-	-	-	-
B. bulg.	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
"	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Körn. bac A		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
"	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- 1) B. bulgaricus A 免疫血清 (凝集價 3200 倍) に對し B. bulgaricus B も略同價迄凝集したるに反し Körnchenbacillus 及 B. acidophilus は其凝集價 25 倍以下なり。
- 2) Körnchenbacillus A 免疫血清 (凝集價 6400 倍) に對し Körnchenbacillus B は略同價まで反應陽性なるに B. bulgaricus 及 B. acidophilus は凝集價 25 倍以下なり。
- 3) B. acidophilus A (R 型) 免疫血清 (凝集價 6400 倍) に對し B. acidophilus B (R 型) は 800 倍 B. acidophilus C (S 型) は 400 倍迄陽性なるに對し B. bulgaricus 及 Körnchenbacillus は何れも陰性なり。

第 2 項 沈 降 反 應

免疫血清 凝集反應に用ひたるものに同じ。

抗 原 3% 乳糖加ブイヨンに各乳酸桿菌を移植し 37° に 1 週間培養せる後遠心沈澱し其上澄液を抗原とす。

術 式 Uhlenhuth 氏法により抗元を順次稀釋して重層す。

成績の判定は室温に放置し 2 時間以内に顯出する白輪の有無及強弱を以てす。

其成績は表第 16~18 の如し。(卅)(卅)，(+)は陽性の強弱を示し(-)は陰性なりしを示す。

第 16 表 *B. bulgaricus* A 免疫血清に對する沈降反應

抗原稀釋倍數 菌 種		1	2	4	8	16	32
<i>B. bulgaricus</i>	A	卅	卅	卅	+	±	-
"	B	卅	卅	卅	+	-	-
<i>Körnchenbacillus</i>	A	卅	+	-	-	-	-
"	B	卅	+	-	-	-	-
<i>B. acidophilus</i>	A (R)	±	-	-	-	-	-
"	B (R)	±	-	-	-	-	-
"	C (S)	±	-	-	-	-	-

第 17 表 *Körnchenbacillus* A 免疫血清に對する沈降反應

抗原稀釋倍數 菌 種		1	2	4	8	16	32	64
<i>Körnchenbacillus</i>	A	卅	卅	卅	卅	±	-	-
"	B	卅	卅	卅	+	±	-	-
<i>B. bulgaricus</i>	A	卅	+	-	-	-	-	-
"	B	卅	+	-	-	-	-	-
<i>B. acidophilus</i>	A (R)	+	-	-	-	-	-	-
"	B (R)	+	-	-	-	-	-	-
"	C (S)	+	-	-	-	-	-	-

第 18 表 *B. acidophilus* A (R型) 免疫血清に對する沈降反應

抗原稀釋倍數 菌 種		1	2	4	8	16	32
<i>B. acidophilus</i>	A (R)	卅	卅	卅	卅	+	-
"	B (R)	卅	卅	卅	+	±	-
"	C (S)	卅	卅	卅	±	-	-
<i>B. bulgaricus</i>	A	卅	卅	±	-	-	-
"	B	卅	卅	±	-	-	-
<i>Körnchenbacillus</i>	A	卅	卅	+	-	-	-
"	B	卅	卅	+	-	-	-

- 1) *B. bulgaricus* A 免疫血清 (沈降價 8 倍) に對し *B. bulgaricus* B は同價を示せども *Körnchenbacillus* は 2 倍迄 *B. acidophilus* は 1 倍迄陽性なるに過ぎず。
- 2) *Körnchenbacillus* A 免疫血清 (沈降價 8 倍) に對し *Körnchenbacillus* B は 8 倍迄陽性なるも *B. bulgaricus* は 2 倍迄 *B. acidophilus* は 1 倍陽性なるに過ぎず。
- 3) *B. acidophilus* A (R 型) 免疫血清 (沈降價 16 倍) に對し *B. acidophilus* B (R 型) は 8 倍迄, *B. acidophilus* C (S 型) は 4 倍迄陽性なり。
- B. bulgaricus* は 2 倍迄 *Körnchenbacillus* は 4 倍迄陽性なり。
- かくの如く *B. acidophilus* の免疫血清に對しては *B. bulgaricus* 及 *Körnchenbacillus* の類屬反應強く區別明確ならざるは特異現象となすべし。

第 3 項 補體結合反應

免疫血清 凝集反應に用ひたるものに同じ。

抗 原 沈降反應に用ひたるものと同様にして得たるものなるも本實驗に於ては苛性曹達にて中和して更に 5 倍に稀釋せるものを使用せり。

補 體 試驗前日採血一夜氷室に放置せる後血清を分離し之を 10 倍に稀釋せる後其力價を檢定し常に 2 單位量を使用せり。

溶 血 系 3% 山羊血球浮液を感作せり。

豫備試驗に於て抗元 5 倍稀釋 0.5cc 及免疫血清 10 倍稀釋 0.5cc は補體阻止作用無きを確めたる後補體結合反應は次の術式に據りて行へり。

血 清 稀 釋 度	10倍	20	40	80	160	320	640
血 清 量	0.5cc	"	"	"	"	"	"
抗 元 量	0.5 "	"	"	"	"	"	"
補體 2 單位 + 食鹽水	0.5 "	"	"	"	"	"	"
溶 血 系	0.5 "	"	"	"	"	"	"

37°1½時間

37°に 1 時間放置せる後氷室に 1 夜放置して後判定す。

(一) は完全溶血を

(#), (H), (+) は溶血せざるを

(±) は溶血不完全なるを示す。

第19表 B. bulgaricus A 免疫血清に對する補體結合反應

血清稀釋倍数		10	20	40	80	160	320	640
菌種								
B. bulgaricus	A	+	+	+	+	+	—	—
"	B	+	+	+	+	—	—	—
Körnchenbacillus	A	—	—	—	—	—	—	—
"	B	—	—	—	—	—	—	—
B. acidophilus	A (R)	—	—	—	—	—	—	—
"	B (R)	—	—	—	—	—	—	—
"	C (S)	—	—	—	—	—	—	—

第20表 Körnchenbacillus A 免疫血清に對する補體結合反應

血清稀釋倍数		10	20	40	80	160	320	640
菌種								
Körnchenbacillus	A	+	+	+	+	+	+	—
"	B	+	+	+	+	+	—	—
B. bulgaricus	A	—	—	—	—	—	—	—
"	B	—	—	—	—	—	—	—
B. acidophilus	A (R)	—	—	—	—	—	—	—
"	B (R)	—	—	—	—	—	—	—
"	C (S)	—	—	—	—	—	—	—

第21表 B. acidophilus A (R型) 免疫血清に對する補體結合反應

血清稀釋倍数		10	20	40	80	160	320	640
菌種								
B. acidophilus	A (R)	+	+	+	+	+	—	—
"	B (R)	+	+	+	+	+	—	—
"	C (S)	+	+	+	+	—	—	—
B. bulgaricus	A	—	—	—	—	—	—	—
"	B	—	—	—	—	—	—	—
Körnchenbacillus	A	—	—	—	—	—	—	—
"	B	—	—	—	—	—	—	—

成績次の如し. 表第19~21 参照

1) B. bulgaricus A 免疫血清に對し B. bulg. A は血清稀釋 160 倍迄補體結合反應陽

性 *B. bulg.* B は 80 倍迄陽性なるも *Körnchenbacillus* 及 *B. acidophilus* は全然陰性なり。

2) *Körnchenbacillus* A 免疫血清に對し *Körnchenbacillus* A は血清稀釋 320 倍迄陽性, *Körnchenbacillus* B は 160 倍迄陽性なるも *B. bulgaricus* 及 *B. acidophilus* は全然陰性なり。

3) *B. acidophilus* A (R 型) 免疫血清に對し *B. acid.* A は血清稀釋 160 倍迄陽性, *B. acid.* B (R 型) は 80 倍, *B. acid.* C (S 型) は 40 倍迄陽性なるも *B. bulgaricus* 及 *Körnchenbacillus* は全然陰性なり。

以上本章に於て得たる結果より見るに *B. bulgaricus*, *Körnchenbacillus* 及 *B. acidophilus* の 3 者は凝集反應, 沈降反應及補體結合反應によりて略々明確に區別する事を得。唯 *B. acidophilus* 免疫血清が沈降反應に於てのみ *B. bulgaricus* 及 *Körnchenbacillus* に對し類屬反應を呈する事は注意すべきものと考え。

尙 3 種の菌の Dissociation による免疫學的の性狀に就ては後日の研究に俟つて報告すべし。

結 論

以上の實驗成績よりブルガリア桿菌 (*B. bulgaricus*), 顆粒桿菌 (*Körnchenbacillus*, *B. graunlosum*) 及嗜酸桿菌 (*B. acidophilus*) の三者は (1) 集落の形態 (2) 顆粒染色 (3) 牛乳或は豆乳培養上の所見 (4) 培養基の種類及培養温度と菌發育並に其形態との關係 (5) 發育 pH 圏の比較 (6) 酸生成量の比較 (7) 血清學的性狀等の諸點を比較検討する時明劃に區別する事を得。就中 (1), (2), (4), (7) の諸項は重要なる鑑別事項と爲す。

文 獻

-Luerssen u. Kühne; Cent. bl. f. Bakt. II Abt. Bd. 20, S. 234. 1908

White u. Avery; Cent. bl. f. Bakt. II Abt. Bd. 15, S. 577. 1906

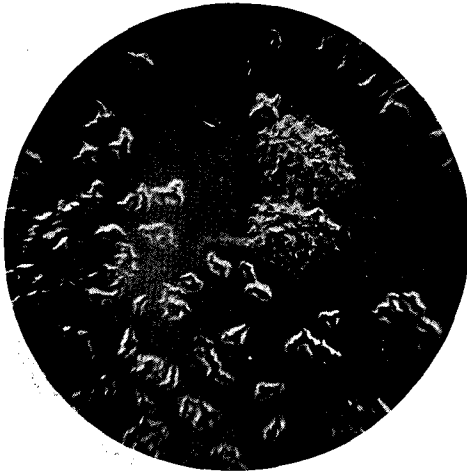
菱 刈 日本微生物學會雜誌 第 18 卷 第 2 號 234 頁 大正 13 年

廣 澤 衛生學傳染病學雜誌 第 24 卷 第 4~5 號 昭和 3 年

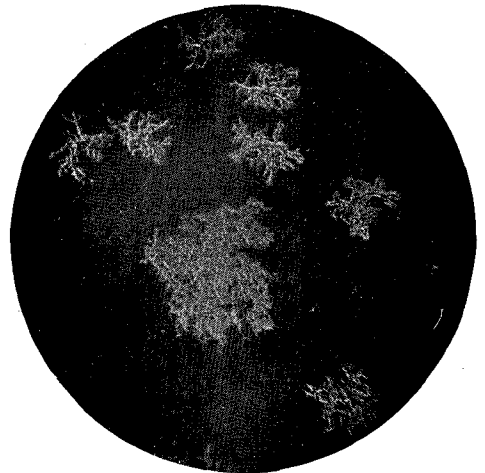
Thomas; J. of inf. Diseases. Vol 43, P. 218, 1928

Upton & Kopeloff; J. of Bakt. Vol. 23, P. 455, 1932

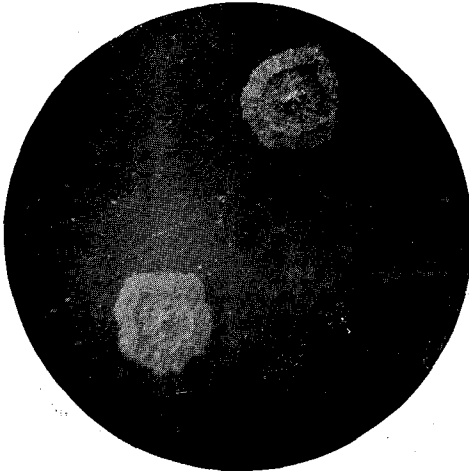
松 田 衛生學傳染病學雜誌 第 30 卷 歐 1 昭和 9 年



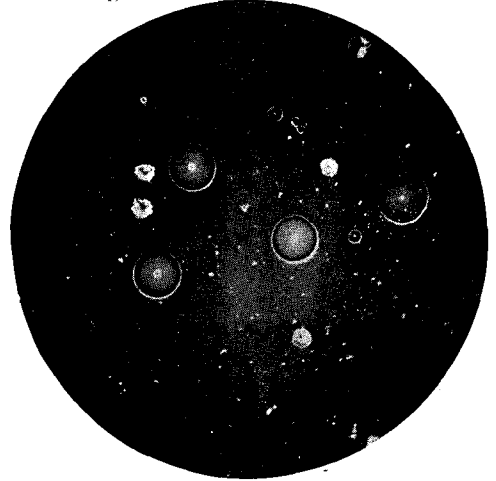
No. 1 *B. bulgaricus*
糖加寒天平板 37° 24 時間培養



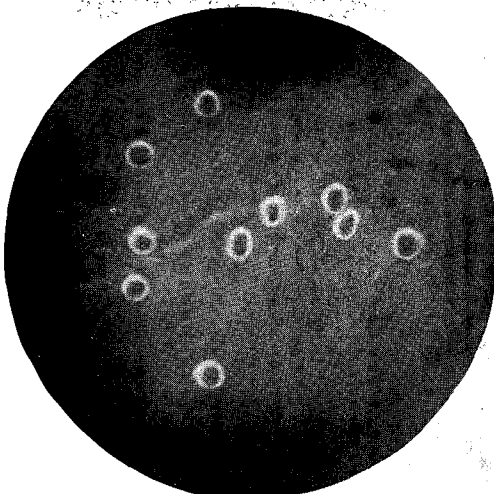
No. 2 *B. bulgaricus*
糖加寒天平板 37° 72 時間培養



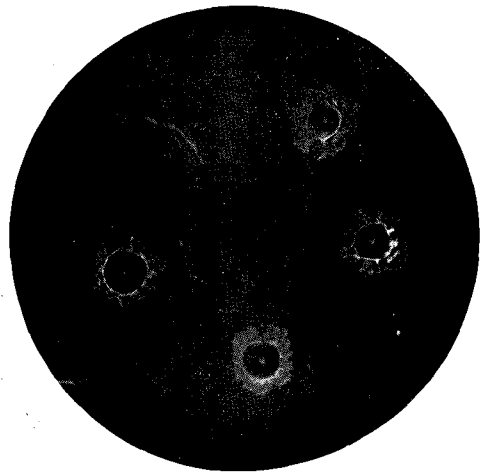
No. 3 *Körnchenbacillus* (*B. granuluosum*)
糖加寒天平板 37° 72 時間培養



No. 4 *B. acidophilus* (S 型)
糖加寒天平板 37° 72 時間培養



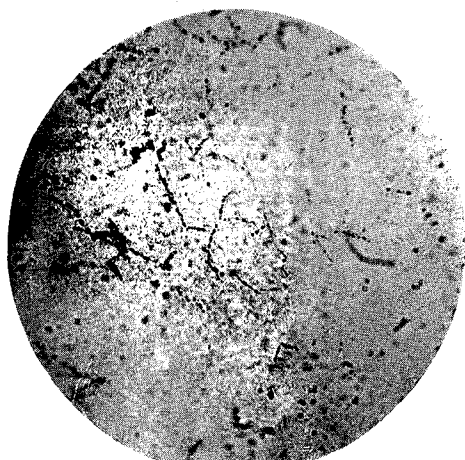
No. 5 *B. acidophilus* (中間型)
糖加寒天平板 37° 72 時間培養



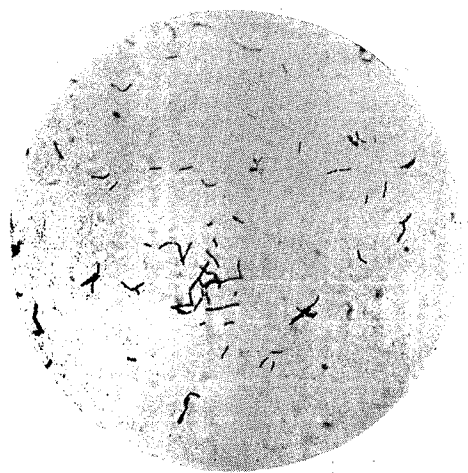
No. 6 *B. acidophilus* (R 型)
糖加寒天平板 37° 72 時間培養



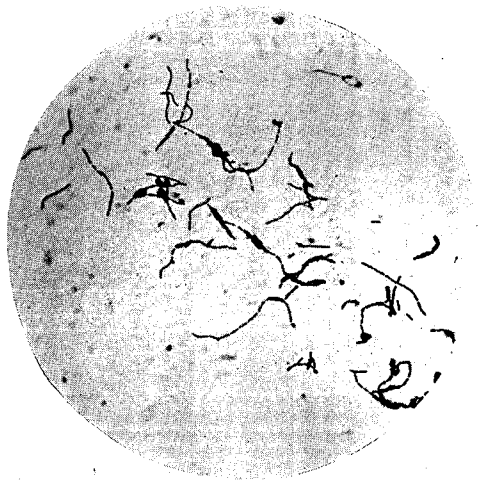
No. 7 *B. bulgaricus*
3%乳糖ブイヨン 37° 24時間培養



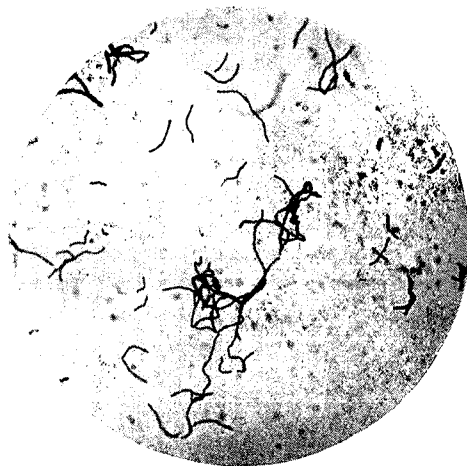
No. 8 Körnchenbazillus
3%乳糖ブイヨン 37° 24時間培養



No. 9 *B. acidophilus* (S型)
3%乳糖ブイヨン 37° 24時間培養



No. 10 *B. acidophilus* (中間型)
3%乳糖ブイヨン 37° 24時間培養



No. 11 *B. acidophilus* (R型)
3%乳糖ブイヨン 37° 24時間培養

酵素試験成績報告(第一報)

囑 託 勝 田 泰
助 手 福 山 富 太 郎

- 一 緒 言
- 二 動物質酵素製劑試験成績
- 三 植物質酵素製劑試験成績
- 四 動物質及植物質混合製劑試験成績
- 五 總 括

一 緒 言

近年酵素化學の著しき發達に伴ひて酵素新製劑の定量的試験を出願するもの尠からず。之を分類すれば (1) 動物質酵素製劑 (2) 植物質酵素製劑 (3) 動物質酵素及び植物質酵素の混合製劑にして其目的とする所は (A) 脂肪 (B) 蛋白質 (C) 澱粉等の分解力試験なり。然るに未だ正規の試験法の制定なきが故に新品の試験に應じたる毎に先ず從來の報告書記載の諸方法を比較研討して以て現時に於て最適なりと信じたる方法を暫定し之に據り試験を實施せり。從來一般に行はるる方法中改良を要する點、豫備試験成績、試験方法等と共に其成績を報告せんとす。

二 動物質酵素製劑試験成績

1. パンクレアチン試験成績

パンクレアチンは豚の膵臓及び膵液の乾燥製劑にして所謂三大消化酵素なるトリプシン、アミラーゼ及びリパーゼを主成分とし其他約十五種の酵素を含有すれども通常はトリプシンの蛋白質分解力、アミラーゼの澱粉分解力及びリパーゼの脂肪分解力の三種の檢定を行へば充分なり。之等の檢定法の一部に就きては既に本彙報第二十號、⁽¹⁾第三十八號⁽²⁾及び第四十號⁽³⁾に於て詳細なる記載あるを以つて此處に再録の要なきが如しと雖も唯二三の改良を要す可き點存するを以て便宜上其概要をも併せ述べ之に就きて再研討を行はんとす。

一. 蛋白質分解力檢定

凡そ酵素の定量的試験法は作用物質の消失量，作用生成物の増加量を定量して以て之が酵素力を決定する化学的試験法と作用中或は作用の前後に於ける粘度，表面張力，電気傳導度，施光度等を測定して以て其作用力を決定する物理的方法との二者に大別し得。バンクレアチン中の蛋白質分解酵素の検定法にも如上の原理に基く諸方法あれどもトリブシン，トリブシノーゲン，エンテロキナーゼ，アンチトリブシン等の一般定量法として最も普通に行はるるフルド・グロス氏 (Fuld-Gross) 法に準據せり。之に必要な溶液及び試験の実施方法は次の如し。

試験の実施方法 先づ次の三種の溶液を準備す。

- a. 検體溶液 検體 0.1g に 100cc の蒸溜水を加へ 1 時間振盪せる後定量用濾紙にて濾過す。バンクレアチン中の粉末狀脾臓組織に依りて吸着せられ居る酵素は容易に浸出し能はざるが故に振盪操作は極めて重要なり。不完全なる振盪法は屢ば著大なる誤測の因となる。(彙報第 38 號 127 頁參照)
- b. カゼイン溶液 メルク亦はカールバウム製ハンマーステン氏精製カゼイン (Kaseinum puriss nach Hammersten) 1g 及び純炭酸ソーダ 1g に蒸溜水を加へて溶解せしめて全容を 1l となす。本液の水素イオン濃度は pH=9.40 にして脾臓トリブシンの最適水素イオン濃度 pH=9.50 (リンゲル氏に據る) に略ぼ該當す。
- c. 醋酸々性アルコール溶液 氷醋酸 1 分，無水アルコール 50 分及び蒸溜水 49 分を混和す。

先づ試験管 10 本に次の如き割合にて混液を調製す。

試験管番號	検 體 溶 液 (cc)	カゼイン溶液 (cc)	蒸 溜 水 (cc)
No. 1	10	10	0
No. 2	9	"	1
No. 3	8	"	2
No. 4	7	"	3
No. 5	6	"	4
No. 6	5	"	5
No. 7	4	"	6
No. 8	3	"	7

No. 9	2	10	8
No. 10	1	"	9

以上を 40° の恒温水槽中に 1 時間放置して作用せしめたる後冷却し其 4cc 宛を採り之に醋酸々性アルコール溶液 6 滴宛を加ふ。然る時はカゼインの悉く分解せられたるものは澄明なるも不分解カゼインの残存せるものは混濁を生ず。玆に於て混濁を生ぜざる酵素の最少量即ちカゼインを完全に分解するに要する酵素の最少量よりカゼインの幾倍量を消化したるかを決定するものとす。0.1% の檢體溶液にては全部澄明なる事あり。斯る時には更に之が 10 倍稀釋液に就きて實施するを要す。本法は尠くも 2 回反覆施行し若し其成績一致せば之にて止め一致せざれば更に 1 回行ひて平均値を求むるを可とす。原報告に於ては各試験管の内容を 4cc 宛にて施行せるも此處には全容を 20cc 宛としたるは單に操作上の誤差を可及的に少なからしむる目的に外ならず。

一般に酵素量と酵素力試験成績とは必ずしも直線的關係を以て比例するものには非らざるなり。換言すれば曲線的關係を以て比例する場合あり。然るに本法に據る試験成績は將に前者に屬し其數値は正しく酵素量に比例す。例へば 5 倍に稀釋せる酵素製劑

第 1 表
トリプシン試験成績

種 別	成 績
檢 體 No. 1	16.00
" No. 2	3.20
" No. 3	13.33
" No. 4	5.25
" No. 5	9.30

と原品との酵素力試験を行ひたるに其成績は 3.2 及び 16 にして、全く稀釋度に一致せり。蓋し本試験の目的には極めて好適なる方法なりと言ふ可し。

檢體 No. 1 は蛋白質、澱粉並脂肪分解力極めて強く最も優秀なる市販品なるを以て一般に本法に依る成績判定は常にへ 0~16 倍なる數値を示すものと見做し得可し。

二. 澱粉分解力檢定

日本藥局方規定のバンクレアチンの澱粉糖化力適否試験に準據し之を定量試験法として應用せり。實施方法次の如し。

100°C に於て 3 時間乾燥せる馬鈴薯澱粉 5g 宛を内容約 200cc のエレンマイヤーコルベシ 5 個に秤取し之に 30cc 宛の水を和して良く混和したる物に動搖しつつ熱湯 70cc

を注加し食鹽 0.03g 宛を加へ重湯煎上に 30 分間加温して糊化せしめたる後 40° に冷却し之に檢體 0.05g 宛を加へ 40° の恒温水槽中にて屢ば振盪しつつ 1 時間作用せしめ先づ 1 個のコルベン中より該溶液 10cc を容器に採り重湯煎上に加熱しつつフエーリング溶液を徐々に注加して凡そ其幾許 cc を脱色するやを検す。今假りに其所要量を凡そ 36cc なりしとすれば次にコルベン中より 10cc 宛を採り之等にフエーリング溶液 34, 35, 36, 37, 38cc 等順次其量を加減して加へ重湯煎上に 10 分間加温したる後其着色度を檢し然る後更に之を濾過し其濾液 4cc に硫化曹達液 3 滴宛を添加して混濁亦は沈澱の有無を検す。以上の操作を 5 個のコルベン中の檢液に就て施行せるに第 2 表の如き成績なりしとせんか、

第 2 表

コルベン番號	添加せるフエーリング溶液のcc數	着 色 度	濾液の硫化曹達による沈澱の有無
No. 1	37	青 黄	有
	36	黄	無
	35	黄	無
No. 2	37	青 黄	有
	36	黄	無
	35	黄	無
No. 3	36	青 黄	有
	35	黄	無
	34	黄	無
No. 4	36	微 青 黄	微
	35	黄	無
	34	黄	無
No. 5	36	青 黄	有
	35	黄	無
	34	黄	無

今澱粉量を零とせる盲檢及び檢體を零とせる盲檢が何れもフエーリング溶液 1cc をも還元せずして青色を呈するものとすれば盲檢成績を零と看做し檢體に依りて完全に

還元せられたるフェーリング溶液の最大量の平均を求むるに $(36+36+35+35+35)/5 = 35.4\text{cc}$ なり。フェーリング溶液の 1cc は 0.0074g の麦芽糖に依つて還元せらるるが故に検體 1分 によりて生成せられたる麦芽糖の量は $35.4 \times 0.0074 / 0.05 \times 10 = 52.4\text{分}$ なり。即ち本検體 1分 は 100分 の澱粉に作用して 52.4分 の麦芽糖を生成せる事となる。

尙脾臓アミラーゼの最適水素イオン濃度は $\text{pH}=6.8\sim 7.1$ (シャーマン, ウキルス、テッター, ハーン諸氏に據る) なるを以つて本法は期せずして略ぼ其最適水素イオン濃度に於て試験を施行し居れる理なり。本法に據る實驗成績は末だ如上に引用せし一例に過ぎず。

三. 脂肪分解力検定

ロナ・ミハエリス氏 (Rona-Michaelis) のエステラーゼ並にリパーゼ検定法に就ては既に本彙報第 38 號及び第 40 號記載の「パンクレアチン中のリパーゼに就て」第一報並第二報に於て試験方法及び試験成績の詳細を報告せるを以て此處に最近實施せる成績中より一判定例を擧ぐるに止めんとす。

例. ロナ・ミハエリス氏脂肪分解酵素検定法に基き本品の 0.01% 水溶液 1cc に本酵素の最適水素イオン濃度 (pH) 8.0 , 攝氏 40° に於てトリブチリン飽和水溶液 30cc に 10分間 作用せしめたるに其 13% を分解せり。

本法の特徴とする所は作用後僅か 10分間 にて試験を了へる點及び酵素の最適水素イオン濃度に於て實施し得る點に在り。本法に於てはむしろ可及的短時間内に於て測定を行ふ事を要するは彙報第 38 號 125 頁第二圖及び第 40 號 297 頁第 6 表等の成績に徴し明かなり。故に本法に據る成績の記載は作用時間 10分間 に於ける數値を以つてするか或は 10分間 , 20分間 , 30分間 に於ける數値を連記するを以つて可とし 20分間 或は 30分間 に於ける數値のみを以つて表すは不合理なり。

フオールハルド・スターデ氏⁽¹⁾ (Volhard-Stade) の方法は最も普通に行はるゝものにして其成績は作用せしめたる總脂肪中リパーゼに依りて分解せられたる脂肪の%量を示すものなり。本法は原報の儘の操作にては試験時に支障を來す場合あるのみならず亦其成績に屢ば甚だしき誤差を生ずる事あり。然れども操作上に多少の改正を加ふれば好適なる試験法となるものにして余等は専ら本法に據りて酵素力判定を行ひ居

れり。

先づ改正せる方法の實施に就きて述べ然る後に改正個所及び其理由に及ばん。

試験の實施方法 先づ次の溶液を準備す。

a. 卵黄乳劑 3 個の卵黄に水 100cc を加へ振盪して均等の乳劑とす。

b. n/10 苛性曹達溶液

c. 1n 苛性曹達溶液

d. 1n 硫酸

檢體 0.5g⁽¹⁾ に 100cc の水を和したるものを 1 時間振盪したる後定量用濾紙にて濾過し内容約 200cc の硬質硝子壺中に該濾液 5cc, 卵黄乳劑 10cc 及び少量のトルオールを加へ 38~40° に於て 24 時間放置したる後之にエーテル 75cc 及無水アルコール 5cc⁽²⁾ を加へ密栓して振盪しエーテル層の著しく黄色を呈するに至るべし。此際中性脂肪及び脂肪酸は同一の比例を以てエーテル中に移行す。故にエーテル層 50cc を取り之に無水アルコール 50cc 及びフェノールフタレイン溶液 2 滴を加へ n/10 苛性曹達を以て滴定す (滴定 I)。

尋で之に 1n 苛性曹達溶液 10cc を加へ密栓して室温に於て 24 時間放置し中性脂肪を鹼化せしめたる後 1n 硫酸 10cc を加へて苛性曹達溶液を中和し茲に遊離せる脂肪酸を尙ほ一同 n/10 苛性曹達溶液にて滴定す (滴定 II)。

滴定 I 及び滴定 II に於て消費したる n/10 苛性曹達溶液の cc 數より次式の示す%量を算出す。

$$A = \frac{I}{I+II} \times 100\%$$

次に酵素量を零とせる盲檢⁽³⁾を行ひ其%量を

$$B = \frac{I}{I+II} \times 100\%$$

とすれば A-B は酵素によりて分解せられたる脂肪量の總脂肪量に對する%量なりとす。而して本試験は豫め 5 個の容器を用意し之等に卵黄乳劑各 10cc 宛を取り其 3 個を檢體試験用に其 2 個を盲檢用に供し A 及び B は之等の平均値⁽⁴⁾を採るを要す。而して以上の方法に依りて得たる成績が零なる時には檢體の 2% 溶液 5cc⁽⁵⁾ に就きて試験を

行ふ可し。従ひて本試験成績の判定には検體の濃度を明記するの要ありとす。

改正を加えたる個所 (イ), (ロ), (ハ), (ニ), (ホ), (ヘ) に就き解説するに次の如し。

原法及び改良法に依りて得たる成績は第3表の如し。

第3表 リパーゼ試験成績

種 別	原法に依る成績(供試品量0.1g) 分解されたる脂肪の%量	改良法に依る成績(供試品量0.025g) 分解されたる脂肪の%量
パンクレアチン A 號	52.17	40.84
" B	37.33	6.33
" C 號	72.63	64.75
" D 號	3.00	0
" E	31.35	8.32
" F 號	30.00	9.00

扱て原法を改良せる個所は (イ), (ロ), (ハ), (ニ), (ホ), (ヘ) 等にして供試品量を原法の四分の一に改めたる理由は次の如し。今試験成績に就きて見るにパンクレアチン A 號及び C 號の如き優良なる製品に於ては供試量を 0.1g とせる場合と 0.025g とせる場合とに於ける成績の差異は比較的僅少にして酵素量の比 4:1 に該當せず。又パンクレアチン A 號及び B 號は同一會社の製品にして B 號は A 號に若干倍の澱粉を混入し同會社に於て原法に依りて試験を行ひたるに其成績は酵素量の比と甚だしき懸隔ありし故特に原法を指定せる検定依頼の爲當所に差し出されたるものなり。然るに改良法に依りて得たる成績を通告せるに略ぼ澱粉に依る稀釋度に一致せりと言ふ。抑も酵素試験を行ふに際しては供試品の添加量を慎重に吟味して適量ならしむるに非らざれば良好なる成績を期し能はざるは公知の事實にして原法に於て規定せる 0.1g は過大に過ぐるものとす。

酵素液調製に際して振盪操作を規定するの要あるは既に本文蛋白質分解力検定法中に於て述べたるが如し。

原法に於て「エーテル 75cc 及アルコール 2cc を加へ」と規定せるを「エーテル 75cc 及アルコール 5cc を加へ」と訂正せり。原法を施行するに當り本操作を了へたる卵黃

乳劑，エーテル及アルコールの混液は屢ば膠體を形成して固化して試験の續行を不可能ならしむることあり。然るにアルコール量を 5cc とせるに全く如上の現象を阻止し得たり。アルコール添加は膠體の生成を防止する目的ならんも 2cc にては過少なり。

本法に依る實驗誤差は全然之を無視し得ざる場合多きを以て數回の平均値を取るの要あり。亦酵素量を零とせる盲檢の結果は常に脂肪分解%量 3.0~4.0 にして稍顯著なるは蓋し作用時間 24 時間の長さに亘るが爲ならん。

パンクレアチ D 號の如く改良法にて其成績零にても原法にては 3 なり。斯る供試品はパンクレアチンとしては全く價值なき製品なれど一般酵素製劑としては決して然らざるなり。亦原法規定の供試量にて其成績零なる場合にては酵素含有の有無檢定亦是其定量試験を目的とする以上は更に其供試品量を増量する要あることある可し。要之に本試験の判決文中には心ず供試品添加量を明記するを可とす。

2. 家鶏の胰臟製劑試験成績

檢體は帶褐黄色の粉末なり。之に就き本文記載のパンクレアチン試験法に依りて試験を遂ぐる其成績次の如し。

- (1) 澱粉分解力 本品 1 分を 100 分の澱粉に 40° に於て 1 時間作用せしめたるに 57.0 分の麥芽糖を化生せり。
- (2) 蛋白質分解力 本品 1 分を水素イオン濃度 (pH) 9.40, 38° に於てカゼイン溶液に作用せしめたるに 13.33 分のカゼインを分解せり。
- (3) 脂肪分解力 (イ) ロナ・ミハエリス氏法に基き本品の 0.01% 水溶液 1cc を水素イオン濃度 (pH) 8.0, 40° に於トリブチリン飽和溶液 30cc に作用せしめたるに作用時間 10 分間に於て其 38%, 20 分間に於て 47%, 30 分間に於て 55% を分解せり。(ロ) フォールハルド・スターゲ氏法に基き本品 0.025g を卵黃乳劑 10cc に 38° に於て 24 時間作用せしめたるに該脂肪の 9.0% を分解せり。

3. 蝸牛臟器製劑の脂肪分解力試験成績

本品は類白色の細末なり。之に就き試験を遂ぐるに次の如し。

- (1) ロナ・ミハエリス氏法に依る試験成績 本品の最適水素イオン濃度は不明なるを以つて微弱酸性 (pH=6.0) 及び微弱アルカリ性 (pH=8.0) とに於て試験を

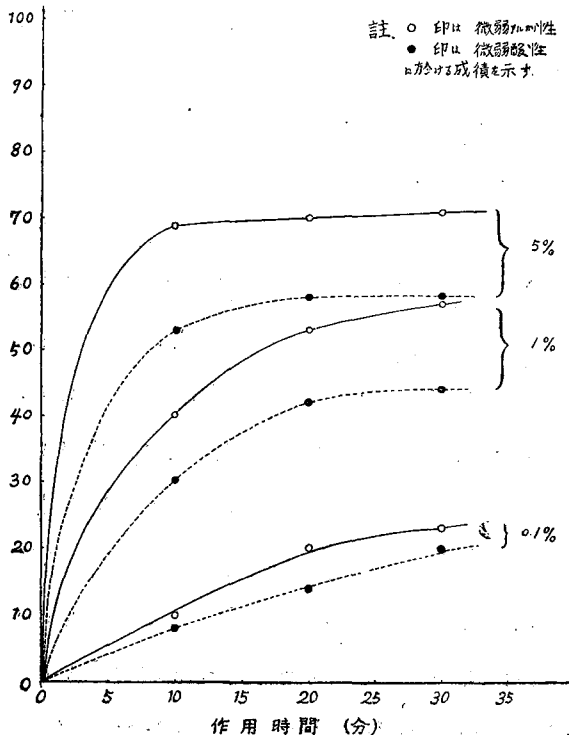
行ひたり。其成績第4表の如し。

第4表 蝸牛リパーゼ試験成績(作用温度=40°)

作用時に於ける pH	供試品の濃度 (%)	測 滴 計 の 滴 数					分解せられたるトリブチリン飽和溶液の % 量			
6.0	0.1	作用時間(分)	0	10	21	30	0	10	21	30
		滴 数	134	131	130	129	0	10	14	20
"	1.0			12	20	30		12	20	30
		"	"	126	122	121	"	30	42	44
"	5.0			11	20.5	30		11	20.5	30
		"	"	117.5	114.5	114.5	"	53	58	58
8.0	0.1			11	20	30		11	20	30
		"	"	132	129	128	"	8	20	23
"	1.0			10	20	30		10	20	30
		"	"	128.5	127	122	"	40	53	57
"	5.0			11	20	30		11	20	30
		"	"	108	107.5	106.5	"	69	70	71

註 本測滴計の純水に對する滴数は 40° に於て 87 なり。供試品溶液 1cc にトリブチリン飽和溶液 30cc を作用せしめたり。

第 1 圖



本成績を圖示すれば第1圖の如し。

以上に就きて視るに本品中の脂肪分解酵素は微弱酸性に於けるよりも微弱アルカリ性に於て活性大なれども斯る性狀明かならざる酵素に對しては兩者に於ける成績を併記するを可とす。

(2) フォールハルド・スターデ氏法に基き本品 0.25g を卵黃乳劑 10cc に 38° に於て 24 時間作用せしめたるに該脂肪の 18% を分解せり。亦本品 1g にては 44.08% を分解せり。

三. 植物質酵素製劑試験成績

1. パパイン試験成績

パパイン (Papain) は一名パバヨチン (Papayotin) と稱し熱帯産の果樹カリカ・パヤ (Corica Papaya L. 蕃瓜樹, パパイヤ) の果實, 葉, 樹幹, 根等に含まるる酵素にして蛋白質に作用する植物性酵素中最も強力なり. 就中未熟の果實の乳汁中より採取せるもの最も強し. 本邦に於ては近時南洋諸島に於て之が製造を目的として栽培せられたる同果樹より旺んに製出せられ調味料, 製菓原料として或は化粧品並石鹼原料として廣く應用せらるるに至り爲に之が品質檢定依頼の目的を以て當所に差出さるるもの漸く多きを加ふるに至れり.

之が作用力測定方法を從來の報告書中に索ひるにウキルステッター氏のゲラチン, フィブリン, ペプトン等に對する分解力測定に依る方法, ヘル氏の卵白分解力に依る方法あり. 然るに余等は蛋白質分解酵素の檢定に使用する作用物質を出來得可くんばカゼインに統一せんとし (蓋し本品はハーマーステン氏精製カゼインの如き品質常に一定せる純品を容易に求むるを得ればなり) フルド・グロス氏の蛋白質分解酵素檢定法に準基して豫備試験を行ひたるに前記ウキルステッター氏のゲラチン法に劣らざる良方法の私案を得たるを以て之に依りて檢定を施行せり.

豫 備 試 験 成 績

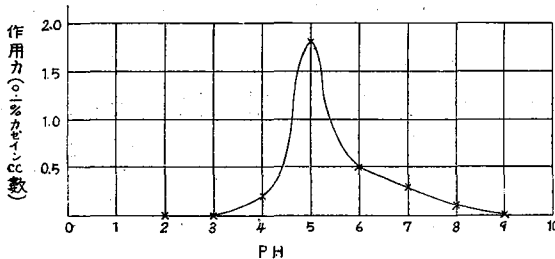
フレンケル⁽⁶⁾及びウキルステッター氏等⁽⁷⁾⁽⁸⁾に依ればパパインのゲラチン分解に對する最適水素イオン濃度は $\text{pH}=5.0$, フィブリン分解に對する場合は $\text{pH}=7.20$ なりと言ふ. カゼイン分解力に依りて酵素量を決定せんとせば先づカゼイン分解に對する最適水素イオン濃度を決定せざる可からず. 故に次の如き方法に依りて試験を実施せり.

一列の試験管を取り之等に 0.1% カゼイン溶液 (0.1% 炭酸ソーダ溶液を以て調製せるもの) 0.1, 0.2, 0.3cc……等順次其量を變じて加へ水を補ひて内容を總て 2cc となし更に各種 pH の緩衝液 1cc 宛を加へて内容を總て 3cc としたるものに 0.1% パパイン溶液 1cc 宛を加へ 40 に於て 1 時間作用せしめたる後直ちに冷却し豫め決定し置きたる計算量の苛性加里溶液或は醋酸を滴下して各試験管内の檢液を悉くカゼインの等電位點なる $\text{pH}=4.60\sim 4.70$ とす. 然る時はカゼインの殘存せるものは之

が析出により濁濁を生ず。斯くして同一酵素量に對して濁濁を生ぜざる最大カゼイン量(cc數)を決定せるに次の如き結果を得たり。(但し pH の調節には Sørensen 氏の枸橼酸鹽=鹽酸, 枸橼酸鹽=苛性曹達, 磷酸鹽, 硼砂=鹽酸等の緩衝液を用ひたり)

pH	2	3	4	5	6	7	8	9
カゼイン分解量(cc)	0	0	0.2	1.8	0.5	0.3	0.1	0

第 2 圖



之を圖示すれば第 2 圖の如し。

以上の成績に依りパパイン酵素のカゼイン分解作用に對する最適水素イオン濃度はグラチン分解の場合と等しく pH=5.0 附近なるを知り得たり。

パパインのカゼイン分解作用に對する温度の影響を検せんが爲に次の如き試験を實施せり。先ず酵素溶液及びカゼイン溶液を次の如き分量宛取り

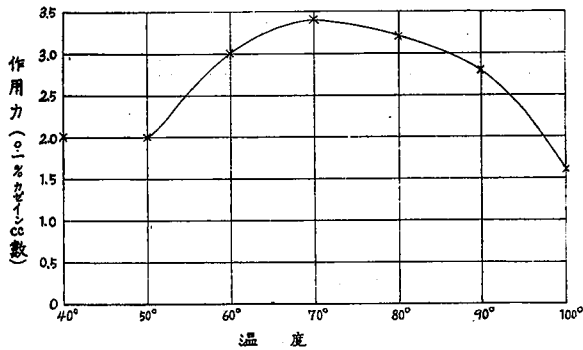
- (1) 0.1% パパイン溶液 1cc.
- (2) 0.1% カゼイン溶液 (0.1% 炭酸曹達溶液にて調製せるもの) 0.1, 0.2, 0.3cc……に水を補足して全容を 2cc とし更に pH=5.0 なるゼレンゼン氏枸橼酸=苛性曹達緩衝液 1cc 宛を加へて合計 3cc となせる各液。

豫め一定温度に溫め置きたる (1) 及 (2) を速かに一列の試験管中に混じて再び該温度に保ちつつ 1 時間作用せしめたる後冷却し醋酸々性アルコール溶液 (氷醋酸 1, 水 49, アルコール 50 の混合液) 0.5cc 宛を加へて殘存せるカゼインを濁濁狀に析出せしむ。本操作を 40°, 50°, 60°, 70°, 80°, 90°, 100° に於て施行し以下前記最適 pH 決定法と全く同様にしてカゼイン分解力の比較檢定をなしたるに次の如く

度 温	40°	50°	60°	70°	80°	90°	100°
カゼイン分解量(cc)	2.0	2.0	3.0	3.6	3.2	2.8	1.6

之を圖示すれば第 3 圖の如し。

第 3 圖



以上の成績に就きて観るに 40° と 50° に於ける作用力の相違は殆ど認め難し. 50~60° 間に於て其力は急激に増加し 70° 附近に於て最高に達し以後は徐々に弱まり 90~100° 間に於て急激に減退す. 然れども 100° に於ても尙相當の作用力を保持せり.

(9)(10) 従來の報告書の説く所に據ればパバインは一般酵素に比して耐熱性强く其最適温度は 65~70° にして 80~90° に至りて其力を失ふものとせらる. 是と本成績とを對照するに適温に就ては良く一致せるも 80° 以上の成績は全く相反す. 一般に或る酵素の熱に對する安定度は作用時の水素イオン濃度, 作用物質の種類等によりて相違し亦作用時間の長短にも大なる關係ありて決して一定不變なるものには非らざるなり. 水素イオン濃度に就きては其最適水素イオン濃度に於て最も安定なり. 本試験成績が従來の報告書記載の夫れと相違し 80~90° に至りても尙顯著なる作用力を保持し 100° に熱するも直ちに悉く分解したるには非らざる事を示せるは蓋しパバインの最適水素イオン濃度 pH=5.0 に於て之を施行せし爲ならん.

亦 90° に 1 時間 30 分處理せるパバインに就きて試験せるに其作用力は全く失はれたるを知り得たる所より觀るにパバイン安定度は加熱時間の長短によりても著しく異なり短時間熱處理をなせるものは 100° 以上に於ても尙多少作用あれども長時間處理せるものは 90° に於ても既に全く其力を失ふものと思考せらる.

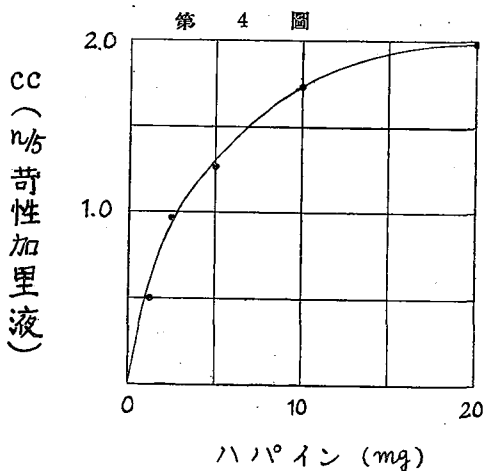
パバイン 試験 成績

ウキルステッター氏のパバイン定量法⁽⁸⁾の原理は供試品の一定量を最適水素イオン濃度 pH=5.0, 温度 40° に於て豫め 2 時間靑酸 (5mg) にて活性化せしめたるものを一定量のグラチン溶液に 40° に 1 時間作用せしめたる後苛性加里液 ($\frac{n}{5}$) にて滴定して加水分解されたるグラチン量を定め而して豫め任意に選定せる標準酵素粉末の種々の量によりて同一條件に於て分解さるるグラチン量と上記の供試品に依りて分解さる

る量とを對照して該酵素量を測定す。即ち次の表及第4圖の値によりて示さる標準酵素粉末 1mg 中に含まるる酵素量を見掛けの單位となす。

酵 素 量 (1cc 中の mg)			1.25	2.5	5.0	10.0	20.0
n/5	KOH	cc 數	0.50	0.77	1.26	1.73	1.96

但し、靑酸にて2時間活性化せる酵素液 10cc を pH=5.0, 40° に於て 0.4g に1時間作用せしめたる後 n/5 KOH にて滴定せるものとす。



余等は之に對し既述の理由に依りカゼインを作用物質として水素イオン濃度及び温度の最適條件下即ち pH=5.0 及 70° に於て實施せり。本法はウキルステッター氏ババイン定量法とフルド・グロス氏蛋白質分解酵素檢定法との折衷案にして其實施方法は次の如し。

(一) 試験に必要な溶液及び器具

- a. 0.1%カゼイン溶液. カールバウム又はメルク製ハンマーステン氏精製カゼイン 1g を 0.1%純炭酸曹達溶液中に溶解し 1ℓ となす。
- b. 0.01%檢體溶液. 檢體 0.05g を 500cc の水と共に 1 時間振盪したる後定量用濾紙にて濾過せるもの。
- c. pH=5.0 なるゼレンゼン氏緩衝液. カールバウム又はメルク製ゼレンゼン氏酵素試験用純枸橼酸 21.008g を 1n 苛性曹達溶液 200cc 中に溶解して作れる 1/10 モル第二枸橼酸曹達溶液の 41 cc に n/10 鹽鹽 59cc を和して 100cc とす。
- d. pH=3.0 なるゼレンゼン氏緩衝液. 1/10 モル第二枸橼酸曹達溶液 95cc に n/10 苛性曹達溶液 5cc を和して 100 cc とす。
- e. 比濁用標準カゼイン溶液. a. の 10 倍稀釋液 100cc.

f. 比濁用試験管 長さ 25cm 内容約 41~42cc (40cc を容るる所に目盛を施せるもの) 20 本を用意す。

(二) 試験の実施 内容約 200cc の共栓付三角コルバン中にカゼイン溶液 50cc, 検體溶液 5cc, pH=5.0 の緩衝液 10cc 及び水 35cc を混和して 100cc としたるものを 70° の恒温槽中にて 1 時間放置せる後直ちに冷却し其 2cc を比濁用試験管に取り pH=3.0 の緩衝液 1.7cc を加へ水を追加して目盛迄至らしむ。10 本の比濁用試験管に比濁用標準カゼイン溶液を 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10cc 宛を取り pH=3.0cc の緩衝液 1cc 宛を加へ水を追加して目盛迄至らしむ。之等を試験管臺に挿入し黑色紙上に於て濁度を比較して可検液中に残存せるカゼイン量を決定して分解せられたるカゼイン量を求む。例へば可検液の濁度が 6cc の標準液と 7cc の標準液との中間にあれば残存せるカゼインは 65% にして従つて分解せられたる量は 35% なり。(尚酵素量を零とせる盲檢並にカゼイン量を零とせる盲檢を行ふ可し。普通前者は 5~0 にして後者は 0 なり)

以上に依り檢體 1 分を最適条件下即ち pH=5.0, 70° に於て 100 分のカゼインに 1 時間作用せしめたる時其何分を分解するやを知り得可し。

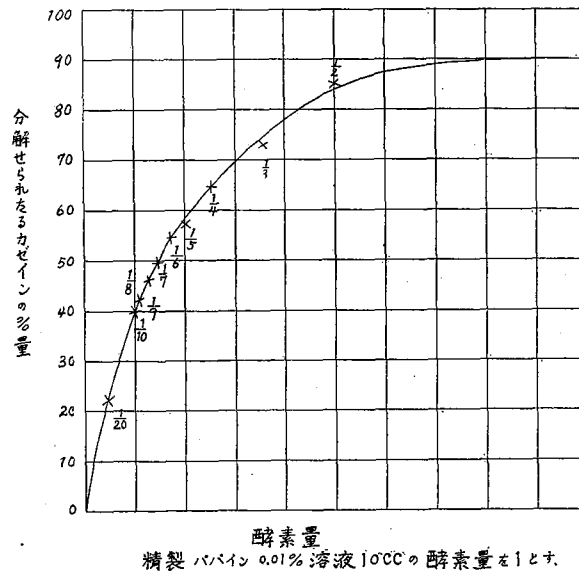
亦ウキルステッター氏アルコール沈澱法に依りて精製せるパバインにて規定の溶液を製し更にその 1/2, 1/3, 1/4, 1/5, 1/6, 1/7, 1/8, 1/9, 1/10 及 1/20 倍稀釋液を作り之等に就きて試験を実施せしに其成績次表の如く

酵 素 量 (0.01% パバイン溶液 10cc 中の酵素量を 1 とす)	1	1/2	1/3	1/4	1/5	1/6	1/7	1/8	1/9	1/10	1/20
酵素 1 分對カゼイン 100 分中より分解せられたるカゼイン % 量	90	85	73	65	57	55	49	46	42	40	22

之を圖示すれば第 5 圖の如し。

本成績と供試品の試験成績とを對照すれば精製パバイン中に含有せらるる酵素の何% を供試品は含有するかも決定し得るなり。パバイン製劑若干種に就き得たる成績を擧ぐれば第 5 表の如し。

第 5 圖



第5表 パパイン定量試験成績

種 別	供試品1分が100分のカゼインより分解せるカゼイン%量	精製パパイン中の酵素量を100単位とす
バ パ イ ン 第 1 號	75	34
" 第 2 號	60	21
" 第 3 號	20	4
" 第 4 號	87	60
" 第 5 號	85	53
" 第 6 號	50	15
" 第 7 號	85	53
" 第 8 號	5	0.5
メ ル ク 製 パ パ イ ン	20	4
メ ル ク 製 純 パ パ イ ン	80	43

2. 酵母製剤の蛋白質分解力試験成績

酵母製剤3種に就きフルド・グロス氏法に準據してカゼインを作用物質とし水素イオン濃度 pH=6.0, 7.0, 8.0 に於て 40° に1時間作用せしめたるに内2種は蛋白質分解酵素を検出せず他の1種中僅微の本酵素を検出せり。

四. 動物性及植物性酵素混合製劑試験成績

動植物性酵素の混合製劑は全然性狀を異にする脂肪、澱粉或は蛋白質の何れかの分解酵素の2種以上を含有する事あるを以て其試験の實施は稍複雑なり. 各酵素に就き水素イオン濃度及び温度の最適條件下に於て各個に之を實施せざる可からざるや勿論なればなり.

1. 混合製劑第一號試験成績 本品は類白色の粉末にしてパバイン及びパンクレアチンの混合製劑なり. 蛋白質分解酵素としてパバイン酵素並に膵臓トリプシンの2種を含有しパバイン酵素の最適條件は $\text{pH}=5.0$ 及び 70° にして膵臓トリプシンの夫れは $\text{pH}=9.0$ 及び 40° なるを以つて之等の條件下に於て其作用力を檢するの要あるものとす.

(イ)蛋白質分解力試験成績

a. パバイン試験成績 本文既載のパバイン試験法により本品の 0.1% 溶液 1cc を $\text{pH}=5.0$, 70° に於て 0.1% カゼイン溶液 100cc に1時間作用せしめたるに其 20% を分解せり. 即ち本品1分は100分のカゼインに作用して20分を分解せしなり.

b. 膵臓トリプシン試験成績 フルド・グロス氏法により本品を $\text{pH}=9.40$, 40° に於てカゼイン溶液に1時間作用せしめたるに本品1分は1.66分のカゼインを分解せり.

(ロ)脂肪分解力試験成績 フォールハルド・スターデ氏法により本品の 0.1g を卵黄乳劑 10cc に 38° に24時間作用せしめたるに該脂肪の 3% を分解せり. 尚ロナ・ミハエリス氏法に依り本品の 0.01% 水溶液 1cc を本酵素の最適條件下即 $\text{pH}=8.0$, 40° に於てトリプチン飽和溶液 30cc に作用せしめたるに作用後10分間に於て其 13% を, 20分間に於て其 18% を, 30分間に於て其 22% を分解せり.

(ハ)澱粉分解力試験成績 本文既載の日本薬局方に準據せる方法に依り試験するに本品1分は 40° に於て100分の澱粉に作用し1時間にして52.4分の麥芽糖を化生せり.

2. 混合製劑第2號試験成績 本品は灰褐色の粉末にして植物性ヂアスターゼ及びペプシンの混合製劑なり.

(イ)澱粉分解力試験成績 日本薬局方ヂアスターゼ試験法に準據せる定量法に依れ

り。其實施方法は本文既載の膵臓アミラーゼの試験法(パンクレアチン試験法参照)の作用温度 40° とあるを 55° とせる以外は全く同一操作に據れるものとす。如上の方法に依りて試験を遂ぐるに本品 1 分は 55° に於て 100 分の澱粉に作用し 1 時間にして 5.92 分の麥芽糖を化生せり。

(ロ)蛋白質分解力試験成績 日本薬局方ペプシン試験法に準據せり其實施方法は次の如し。鶏卵を 8 分間煮熟し、冷却後卵白中央部のみを局方 5 號篩を以て 2 回篩過せるもの 10g 宛を 9 個の共栓付き三角フラスコに取り 50° の水を順次 80.0, 83.3, 85.7, 87.5, 89.0, 90.0, 90.9, 91.7, 92.9cc 及び豫め 30 分間振盪して濾別せし 1% 檢體溶液 20.0, 16.7, 14.3, 12.5, 11.0 10.0, 9.1, 8.3, 7.1cc 宛を加へ更に 0.5cc 宛の鹽酸を追加したるものを 50° の水槽中に 15 分毎に振盪つつ 2 時間放置したる後正規の容器中に移して 30 分後其消化卵白の殘渣を測定し局方指定の方法に依りて其作用力を決定せり。以上の方法に據り本品を其最適條件下即ち $\text{pH}=1.20$, 50° に於て煮沸卵白に 2 時間作用せしめたるに本品の 1 分は 70 分の卵白を分解せり。

總 括

近年酵素製劑の製造著しく旺となり之が効力檢定を求むるもの漸く多きを加ふるに至れり。然るに未だ其標準試験法の制定せられたるものなし。茲に於てか當所に於ては暫定的試験法に依りて其定量的試験の依頼に應ぜり。本報告は其成績を一括せるものにして其概要次の如し。

- 一。酵素製劑を分類すれば動物性製劑、植物性製劑及び其混合製劑の 3 種にして亦蛋白質、脂肪及び澱粉分解酵素製劑の 3 種なり。
- 二。各種酵素別に暫定的標準試験法を設け之に依りて若干の製品に就きて試験を實施せり。
- 三。フオールハールド・スターデ氏脂肪分解力試験法は動物性酵素特に膵臓製劑の試験に際して屢ば著大なる誤差を生ずる事を明かにし之を改良せり。
- 四。パバイン酵素のカゼイン分解に對する最適條件 (pH 及溫度) を決定し之を基礎として本酵素の標準試験法を設定せり。
- 五。パバイン酵素は 80° 以上に於ては其作用力を全く失ふものと從來は信ぜられた

るもカゼインを作用物質としてその最適条件下即 $\text{pH}=5.0$ に於て實驗せるに $80^{\circ}\sim 90^{\circ}$ にては極めて活發に作用し 100° に於ても尙幾分の作用力を保有せるを認めたり。

引 用 文 獻

- (1) 西崎 衛生試験所彙報第二十號
- (2) 勝田, 岡部 衛生試験所彙報第三十八號
- (3) 勝田, 岡部 衛生試験所彙報第四十號
- (4) E. Fuld. Biochem. Z. 1907, 6.
- (5) O. Gross. Arch. experim. Path. Pharm. 1906, 58.
- (6) E. Frankel, F. Biol. Chem. 1916, 26.
- (7) R. Willstätter u. Grapomann. Z. phys. chem. 1924, 138.
- (8) R. Willstätter u. O. Ambros. Z. phys. chem. 1926, 151.
- (9) D. Jonescu. Biochem. J. 1907, 2.
- (10) F. Sachs. Z. phys. chem. 1907, 51.

ホルムアルデヒドの防腐剤としての價值に就いて

技 師 伊 東 幹 愛

ホルムアルデヒドは Ludwig⁽¹⁾ により卓越せる防腐力を認められしも人體に有害なりとの理由の下に實際の應用には至らざりき。爾後多くの専門家、學者及び一般公衆よりも飲食物への混入は危険視されたりしが優秀なる防腐剤少きとその微量にて尙よく防腐の目的を達し得るとにより巷間尙或範圍に於て使用されあるものゝ如し。

ホルムアルデヒドは簡單なる炭素化合物なるも化學的には大なる親和力を有し殊に蛋白質に對しては極めて稀薄なる溶液に於ても猶よく反應しそのコロイド狀態を根本より變じ而もその反應は不可逆性に近し。則ち藥理學上より之を見れば有力なる原形質毒なり。ホルムアルデヒドの殺菌力、防腐力及び毒性も一に此の蛋白質を變性せしむる作用に基くものにして先づ細菌に對する作用を見るに 20,000 倍にて脾脫疽菌を殺し細菌中最も抵抗力強しと稱せらるゝその芽胞すら 1,000 倍にて死す。又草履蟲の如き原蟲にても 10,000 倍にて 5 分間以内に死すと云ふ。防腐作用に關しては各報告者によりて多少區々たるを免れずと雖も今その概要を見るに Weigle 及 Merkel は 5,000 倍の割合にホルムアルデヒドを添加することにより牛乳を 25° 保溫にて 100 時間魚類を 6 日間新鮮なる狀態にて貯藏し、Bevan は 100cc の牛乳に 4 滴のホルマリンを加へて 6 週間餘腐敗を防ぎ⁽²⁾ Koslowki は煮たる魚及卵等において 1kg に對し 0.01g 即ち 10 萬倍にて煮たる果物にては 1kg に對し 0.1g 則 10,000 倍にて防腐効力を見しも生魚、生卵、生果にては此の如き卓効を認め得ざりき。⁽³⁾ Rideal は牛乳に 10 萬倍の割合にホルムアルデヒドを加ふる事に依り之を 7 日間貯藏し得之を飲用せしも無害なりしと、又 Jablin-Gonnet 及 Raczowski はビール及ワイン 1l に 0.0005g 則 200,000 倍の割合に添加することによりより以上の醱酵を停止せしめ得たりと報告せり。

次ぎに食物の消化吸收に參與する酵素に對する作用を知らんが爲めに Johannessen⁽⁴⁾ の報告を參照するにペプシンは殆んど變化を受けざるも活性トリプシノーゲン (Trypsinogenum activatum) は 2,000 倍にてメルクのトリプシンは 100 倍にて全く

蛋白消化作用を失ふ。尙興味あることは之等の酵素のホルムアルデヒドにて變性せる蛋白質に對する消化作用なりとす。則ち 10,000 倍ホルムアルデヒド液にて處置されし蛋白質は全くペプシンにより消化されず。5,000 倍液にて處置されしものはトリプシンに依り影響を受けず。則ち蛋白質の消化に對するホルムアルデヒドの態度は蛋白質自身に對しても之を消化吸收せしむる酵素に對しても共に阻止的に作用するを以て酵素及蛋白質共にホルムアルデヒドに依りて處置せられたる場合に於ける蛋白消化阻害作用に關する報告を發見し得ざるを遺憾とするもおそらくその作用は重積するものならんと考へらる。

次ぎにホルムアルデヒドの毒性に就き考ふるに既に反覆せる如くその毒性は主として蛋白質との結合にあるを以てその作用は吸収作用よりも寧ろ局所作用に於て峻烈なりとす。之れ從來ホルムアルデヒドが下等動物に有毒なるに比し高等動物には比較的毒性少しとされし一因なれどもホルムアルデヒドは全體として夫自身矢張メタン系に特有なる作用を有す。元來メタン系の炭化水素化合物に於ては所謂 Richardson の法則により炭素數の増加に伴ひその毒性を増加するものにしてアルデヒドの前身たるアルコールに於ても亦然り。故にメチルアルコールはエチルアルコールよりも毒性少き理なるも事實は之に反せり、その第一酸化物たるアルデヒドに於ても之の例外成立しホルムアルデヒドはアセトアルデヒドより毒性大なり。今その最小致死量を見るに犬は體重 1kg に對し皮下にては 0.22g 靜脈内にては 0.07g にて死し家兎は 1kg に就き 0.24g にて蛙は 0.8mg にて死す。靜脈内注射は皮下注射の場合より 3~5 倍毒性高まり症狀としては嘔吐、痙攣、反射消失、呼吸停止なり。之を經口的に攝る時は少量にして既に唾液流出、嘔吐、胃腸炎を誘發し更に量を加ふれば麻酔、意識不明、無尿、痙攣、虚脱にて死を來す。人間に於ては 40% ホルマリン一食匙とる時は劇しき胃痙攣と嘔吐を來して回復に向へりとの⁽⁴⁾ポエナル・カブレスコの報告あるも⁽⁸⁾Levison に依れば 40% ホルマリンは 30~90cc にて 30 分にて 4% のもの 30~90cc は 29 時間にて大人を致死せしむと報告し⁽¹²⁾三村も亦 26 歳の鮮人大酒酩酊後消毒用の 35% ホルマリン 50~60g 約嚥下 30 分後死亡せりと報告せり。

尙ホルムアルデヒドが瓦斯狀を爲して空中に飛散せる時その⁽⁴⁾0.8~2mg が 1l の空

以上は主としてホルムアルデヒドによる急性中毒の場合なるが實際之が防腐劑として使用されし場合に微量宛連日經口的に攝取せる際果して幾何の害を健康に及ぼすやは緊急なる問題なるも之に關する業績少く動物實驗に於ては 12kg の犬に毎日 0.6~1.0g のホルマリン(%不明)を經口的に與へしに比較的よく耐へたりと。又 9,000 倍の割合に含める食物をとれる小兒にありては窒素、磷、脂肪の同化作用を阻止せられたりと。⁽⁸⁾ Lewin に依れば 10,000 倍の割合にホルムアルデヒドを含める牛乳を毎日反覆とれる乳兒は20日間にて死亡せりと。一般にホルムアルデヒドに對し成人老人よりも小兒、乳兒に於て著しく鋭敏なるはその生活狀態の相違とホルムアルデヒドの藥理作用とより考へて興味あり且注目すべき點なりとす。人間に就きての實驗的研究につきては⁽⁹⁾ Wiley が U.S. Departement of agriculture, Bureau of chemistry, Bulletin No. 84 past V 1908 に於て比較的詳細に報告せるを以て一部轉載することとせり。實驗方法としては全く健康なる成年男子を使用し之に次表に示すが如き方法によりホルムアルデヒド 0.1~0.2g を牛乳に添加して連日投與し15日間に至らしめしものなり投與方法次の如し。

[illegible]

25 日	"												
26 日	"												
合 計	0.5	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
第 2 期													
11 月 27 日	0.2												
28 日	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
29 日	"												
30 日	"												
12 月 1 日	"												
合 計	1.0	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
第 3 期													
2 日	0.2	"	"	"	"	0.2	0.2	0.1	0.2	0.2	"	"	"
3 日	"					0.2	"	0	0.2	"			
4 日	"					0.2	"	0	0.2	"			
5 日	"					0.1	"	0	0.1	"			
6 日	"					0	"	0	0	"			
合 計	1.0	"	"	"	"	0.7	1.0	0.1	0.7	1.0	"	"	"
全 量	2.5	"	"	"	"	2.2	2.5	1.6	2.2	2.5	"	"	"

臨床上的経過を見るに 10 人に於て 10 日目頃より頭痛、胃痛、體痛、嘔氣、嘔吐、皮膚搔痒感、發疹等の症狀あり、尙體溫、體重、糞尿、新陳代謝等に及ぼす影響を表示せば次の如し。

	No. 1~6			No. 7~12		
	ホルムアルデヒド服用前10日間ノ平均値	服用中15日間ノ平均値	服用中止後10日間ノ平均値	ホルムアルデヒド服用前10日間ノ平均値	服用中15日間ノ平均値	服用中止後10日間ノ平均値
體 溫 (°F)	98.3	98.0	98.1	98.4	98.3	98.1
體 重 (kg)	63.50	63.27	63.27	63.01	62.93	62.43
大 便 :						
量 (g)	101.00	108.00	103.00	116.00	96.34	91.00
水 分 (%)	77.35	79.45	77.87	78.34	76.78	76.46

固 形 分 (g)	23.00	22.00	23.00	25.00	22.00	21.00
尿 量 (cc)	970.00	1,085.00	1,062.00	1,170.00	1,191.00	1,309.00
沈 渣 物 (%)				6.36	70.00	72.7
硫黄 (SO ₃ として) g						
中 性	0,231	0,202	0,193	0,246	0,279	0,217
無 機	1,859	1,872	1,822	2,035	2,001	2,089
エーテル硫酸	0,143	0,141	0,146	0,143	0,143	0,141
計	2,232	2,215	2,161	2,424	2,423	
新陳代謝 (%)						
窒 素						
同化されしもの (尿)	82.92	81.50	80.54	85.02	82.62	85.74
同化せられざりしもの (糞)	9.67	9.27	9.71	9.94	8.81	
磷 酸						
同化されしもの	59.71	46.43	63.06	60.46	64.88	
同化せられざりしもの	30.93	29.27	31.78	33.24	29.19	30.33
硫 黄						
同化されしもの	78.35	73.78	87.41	79.34	76.61	81.96
同化せられざりしもの	12.26	11.06	12.70	12.54	10.96	10.98

以上の報告より Wiley は結論としてホルムアルデヒドを防腐剤として使用するは不適當なりとせり。

尙近年沖繩縣下に於ては作物不況の爲め米麥代用として蘇鐵中の澱粉を常食とするもの多く之が調理方法適當ならざりしものによりては中毒患者を續出せり。而してその中毒の本態に就きては尙全く明瞭ならざれども吉村によれば中毒はその中に含有せらるゝホルムアルデヒドに因ると云ふ。その含量は種子に於ては 0.15% 根幹中には 0.005% なりと。

以上の報告を總括して考察するにホルムアルデヒドの完全なる殺菌作用は 20,000 倍内外にして防腐作用は飲食物の性質によりて差異あるも之より高きものゝ如し。然れどもその本質が防腐さるべき飲食物の蛋白質を變性せしめ之を消化し難き形に變じ且蛋白質消化酵素の作用を阻害すと云ふ點に於て既に防腐剤としての資格を失ふ。防腐剤は防腐さるべき飲食物に何等の變化を與へざるを以て理想條件となせばなり。

然れども蛋白質の比較的少き飲食物にして例へば酒の如きものに於ては夫自身中に含有されて防腐作用を示すアルコールと相俟ちて驚くべき僅微のホルムアルデヒドにて充分防腐の効を達し得らるゝものとせば別に考慮の餘地存す。殊に酒客にありては連日酒を飲用するを以てその吸収作用は別とするもアルコールの胃腸に及ぼす局所作用に就き考慮をめぐらす時はホルムアルデヒドの之に及ぼす影響はホルムアルデヒドにより鋭敏なる小兒又は酒、刺戟物を嗜まぬ成人に對する場合と多少その關係を異にする様思はる。

大に量的の立場よりホルムアルデヒドの有害性を見るに成年に對する最小致死量 40% のもの 30~90cc の間にあるものゝ如く又連日攝取せる場合の最小作用量を ⁽¹⁰⁾by の實驗にて報告せる 1 日量 0.1g とせば Eccles 所謂防腐劑としての最大許容量はその 20 分の 1 則ち 0.005 瓦以下にして若し之を日本酒の場合に適合して考ふるに毎日 5 合平均飲酒するものにありては 5 合中 0.005g 以下則ち約 20 萬倍以下にホルムアルデヒドを含めるものを攝取せざれば衛生上有害の恐あるものと認めらる。

引用文獻

1. Yanio u. Seitter: Der Formaldehyd, 1901
2. Meyer u. Gottlieb: Experimentelle Pharmakologie V. Aufl. 1921
3. F. Johannessohn: Bio. Z. B. 83, 28 (1917)
4. J. Houben: Fortschritte d. Heilstoffchemie II Abt. 1 Bd. 1 Hälfte
5. J. Pohl: A. pth. 31, 281 (1893)
6. J. Kluber: M.M.W. 1900 1588
7. A. Gerlach: M.M.W. 1902 1503
8. Lewin: Gifte u. Vergift. 1929
9. H.W. Wiley: U.S. Departm. of Agric. Bur. of chemistry, Bull. 84 5. Teil Washington.
10. R.G. Eccles: Die Bedeutung d. Konservierungsmittel für d. menschliche Ernährung 1906
11. 吉村: 學術協報 4. 525~531 (1929)
11. 三村: 軍醫團雜誌 213 號 467 昭和 6 年

魚肉類中ホルムアルデヒド類似の反應を 生起する物質の本體に関する研究 (第一報)

北海道産やり烏賊に就て

技 手 服 部 安 藏

助 手 長 谷 部 俊 彦

1. 緒 言

蟹罐詰肉中にホルムアルデヒドの反應を呈する成分を含有することは大正6年石田¹⁾氏に依りて始めて研究發表せられたるところにして同氏は新鮮なる蟹肉は殆ど其反應なく時日の経過に従ひ漸次増加するものの如く然れ共長時日を経たるか又は變敗せる罐詰肉は其反應却つて著しく微弱なることを發見し之を以て化生せるホルムアルデヒドの酸化によりて他の物質に變移せるものならんと解釋せり。又米國にては 1926 年 D.B. Dill 及 P.B. Clark²⁾ 兩氏は甲殻類の罐詰肉中にホルムアルデヒドの化生を確認し同年 A.R. Tankard 及 J.T. Bagnall³⁾ 兩氏は種々の魚類に就きホルムアルデヒド化生の關係を研究し其原因はトリメチールアミンに基くものなるべしと報告せり。又島崎⁴⁾氏等は多數の魚肉類に就き實驗の結果烏賊、鰐及章魚等の魚肉を水と共に加熱するときは肉成分に分解を來しホルムアルデヒドを化生することを報告し柳澤氏等⁵⁾は罐詰蟹肉中のホルムアルデヒド反應を呈する成分は其中に含有せらるるヒスチデンの分解に依るものなることを報告せられたり。

前述の如く故意にホルムアルデヒドを混入せざる罐詰肉中に自然にホルムアルデヒド反應を生起する成分を化生するものとせば飲食物防腐劑取締上重大なる支障を生ずべきを以て曩きに衣笠博士等⁶⁾は之れが研究を企圖せられ蟹及其他數種の魚貝肉は之を水と共に加熱するときは其肉成分に分解を來しホルムアルデヒドに對する諸反應を呈する物質微量を化生することを明瞭ならしめ其結果前記魚貝肉類の試験には從來の蒸溜試験法は之を適用し難きを認め又市販の罐詰蟹肉等は既に一旦加熱せられたるものなるを以て微量のホルムアルデヒド反應を生起する成分の化生を免れざるべく之等微

量の化生成分に對して陰性を呈し防腐の目的の爲めに故意に添加せるホルムアルデヒドに對して陽性を示すべき試験法の必要なることを報告せられたり。其後余(服部)も亦衣笠博士指導のもとに本研究に従事し、生やり烏賊及章魚をアニリンエーテル振盪法に依りて加熱を避けて試験するときは殆どホルムアルデヒド反應を生起すること無きも試験前一時間煮沸せるものは著明に該反應を呈し且つ水浸液中溶存せる其母體は悉く燐ウオルフラム酸によりて沈澱せらるることを發見しこの沈澱を除別したるものに就き試験するときは防腐の目的に添加せられたるホルムアルデヒドを鑑識し得べきことを報告せり。

余等は今回更に前記燐ウオルフラム酸沈澱中に含有せらるるホルムアルデヒド反應を生起する成分の本體を研究することの必要を認めたるを以て先づ北海道産やり烏賊 *Loligo bleekeri keferstein* を材料とし其ホルムアルデヒド化生母體の檢索法に就きて研究したる結果之れが鑑識に對しては直接蒸溜法に依りて得たる溜液に就き卵白鐵鹽酸⁸⁾反應を應用して化生ホルムアルデヒドを検出する方法を最良と認め、又ホルムアルデヒド化生母體は水に不溶性肉成分の加熱分解によりて生成するものに非らずしてやり烏賊肉中自然に水に極めて易溶性状態に於て含存することを確認せるを以て該化生母體の抽出には水浸法に據るを最良と認めたり。次に蒸溜時に於ける水液の水素イオン濃度はホルムアルデヒドの化生に密接なる關係を有することを驗知せり。以上の實驗はホルムアルデヒド化生母體研究の豫試験として施行せるものなるも便宜上之を一括し第一報とし茲に其試験方法及成績を報告すべし。

2. 水蒸氣蒸溜法と直接蒸溜法との比較

前回の報告に於て生烏賊及生章魚肉の細截せるもの 50g を取り其水浸液に 25% 燐酸 10cc を添加し水蒸氣蒸溜を施すに其溜液の呈するホルムアルデヒド反應は水浸液に燐酸を添加せず其儘アスベスト板上にて直接蒸溜して得たる溜液の呈する反應に比し著しく微弱なることを發表せり。而して後述の如く燐酸又は硫酸酸性に於て直接蒸溜を行ふときは其際 pH 2.0 以下の強酸性の場合には著しくホルムアルデヒドの化生を妨害するの事實に徴し更に水浸液を其儘水蒸氣蒸溜及直接蒸溜に附したる場合兩者の呈色反應の關係を吟味する必要を認め次の試験を施行せり。

北海道産なり烏賊の細截せる筋肉部分 50g を取り之に水 200cc を加へ約 60° にて 1 時間溫浸せる後濾過し其濾液を蒸溜壺に容れ水蒸氣蒸溜を行ひ 5 分間に 50cc を溜出する速度にて 50cc 宛第 10 溜液迄分取し又別に之と同一方法に依りて得たる浸液を蒸溜壺に容れアスベスト板上に於て 20 分間に 50cc を溜出する速度にて 50cc 宛 3 回溜出し第 4 回目より 1 回蒸溜毎に水 50cc を補給しつつ蒸溜を繼續し第 10 溜液迄分取し各溜液に就き卵白鐵鹽酸反應によりて化生ホルムアルデヒド量を概測せり、其成績次の如し。

第 1 表

反 應 溜 液 番 號	卵 白 鐵 鹽 酸 反 應	
	水 蒸 氣 蒸 溜 法	直 接 蒸 溜 法
1	痕 跡	03 萬 分 1
2	60 萬 分 1	02 萬 分 1
3	40 萬 分 1	01 萬 分 1
4	20 萬 分 1	"
5	"	15 萬 分 1
6	15 萬 分 1	"
7	"	"
8	"	"
9	"	"
10	"	"

前表に示す如く磷酸を添加せざる場合に於て直接蒸溜法は水蒸氣蒸溜法に比して優れることを認めたり。

3. 直接蒸溜法に於ける蒸溜の方法とホルムアルデヒド化生の關係

北海道産なり烏賊の細截せる筋肉部分 50g に水 200cc を加へ約 60° にて 1 時間溫浸して得たる浸液 220cc を内容約 300cc の蒸溜壺に取り次の 4 種の方法に依りてアスベスト板上にて 20 分間に 50cc を溜出する速度にて第 10 溜液迄分取せり。

第 1 法 溜液 50cc を分取する毎に水 50cc を補ひ蒸溜壺内の液量 220~170cc を保ちつつ蒸溜す。

第2法 溜液 50cc 宛2回分取せる後1回蒸溜毎に水 50cc を補ひ蒸溜壺内の液量 170~120cc を保ちつつ蒸溜す。

第3法 溜液 50cc 宛3回分取せる後1回蒸溜毎に水 50cc を補ひ蒸溜壺内の液量 120~70cc を保ちつつ蒸溜す。

第4法 溜液 50cc 宛4回分取せる後1回蒸溜毎に水 50cc を補ひ蒸溜壺内の液量 70~20cc を保ちつつ蒸溜す。

前記の方法に依りて得たる各溜液に就き化生ホルムアルデヒド量を卵白鐵鹽酸反應に依りて概測するに其の成績次の如し。

第 2 表

反 應	卵 白 鐵 鹽 酸 反 應			
蒸 溜 法	第 1 法	第 2 法	第 3 法	第 4 法
溜液番號				
1	30 萬 分 1	30 萬 分 1	30 萬 分 1	30 萬 分 1
2	"	20 萬 分 1	20 萬 分 1	20 萬 分 1
3	"	15 萬 分 1	10 萬 分 1	10 萬 分 1
4	"	"	"	"
5	"	"	"	"
6	"	"	15 萬 分 1	"
7	"	"	"	"
8	"	"	"	15 萬 分 1
9	"	"	"	"
10	"	"	"	"

前表に依れば第1法はホルムアルデヒドの溜出最も少なく第2, 第3及第4の如く蒸溜壺内の溶液濃厚となるに従ひホルムアルデヒドの溜出量も亦從つて多きを認む。而して第4法は最高の成績を示したるも泡起甚しく且つ蒸溜壺の内壁に焦著する危険あるを以て寧ろ第3法によるを可と認め爾後の試験に於ては總て本法を採用することとせり。

4. 生及乾鳥賊中のホルムアルデヒド化生母體は其水浸液中に 完全に移行するや否やの試験

余等はホルムアルデヒド化生母體の研究に當り之等の成分は完全に水浸液中に移行

するものなりや又は水に不溶性肉成分の絶えざる分解に依りて之を化生するものなりやを確證することは極めて重要なことを認めたるを以て之れが究明と同時に從來専ら生鳥賊を材料とせるも乾鳥賊は其取扱ひ著しく簡便なるを以て之を生鳥賊に代用せんが爲め兩者の得失に就きて比較研究せり。其試験法次の如し。

生やり鳥賊に在りては細截せる筋肉部分 50g 乾やり鳥賊に在りては 10g を秤取し水を 200cc 加へて約 60° にて 1 時間溫浸したる後之を濾過し生鳥賊は浸液 220cc, 乾鳥賊は同 190cc を得たるを以て後者に水を加へて兩者を等しからしめ前記第 3 法に従ひ 50cc 宛蒸溜せり。尙ほ其浸出残渣は更に之を反覆溫浸し浸液の蒸溜液に就きホルムアルデヒド反應を検するに陰性となるに及び残渣を蒸溜壺に容れ水 200cc を加へたるものと水 200cc に 25% 磷酸 10cc を加へたるものとに就き水蒸氣蒸溜試験及直接蒸溜試験を施行せり。其成績次の如し。

第 3 表

反 應 種 別 溜 液 番 號	卵 白 鐵 鹽 酸 反 應											
	生 や り 鳥 賊 50g						乾 や り 鳥 賊 10g					
	第 1 回 浸 液	第 2 回 浸 液	第 3 回 浸 液	殘 渣 直接 蒸 溜	殘 渣 (磷酸 添加) 直接 蒸 溜	殘 渣 (磷酸 添加) 水蒸氣 蒸 溜	第 1 回 浸 液	第 2 回 浸 液	第 3 回 浸 液	殘 渣 直接 蒸 溜	殘 渣 (磷酸 添加) 直接 蒸 溜	殘 渣 (磷酸 添加) 水蒸氣 蒸 溜
1	30 萬分 1	60 萬分 1	呈色 せず	呈色 せず	呈色 せず	呈色 せず	60 萬分 1	殆ど とせ 呈 色 せず	呈色 せず	呈色 せず	呈色 せず	呈色 せず
2	20 萬分 1	呈色せず	"	"	"	"	30 萬分 1	60 萬分 1	"	"	"	"
3	10 萬分 1	"	"	"	"	"	20 萬分 1	痕 跡	"	"	"	"
4	"						10 萬分 1	殆ど とせ 呈 色 せず				
5	15 萬分 1						"	呈色せず				
6	"						"					
7	"						15 萬分 1					
8	"						20 萬分 1					
9	"						"					
10	"						"					
11	20 萬分 1						"					
12	30 萬分 1						"					
13	40 萬分 1						"					
14	"						30 萬分 1					

15	"					"					
16	50萬分 1					40萬分 1					
17	60萬分 1					"					
18						50萬分 1					
19						"					
20						60萬分 1					

前表を見るに生やり烏賊は 4 倍量、乾やり烏賊は 20 倍量の水を加へて約 60° にて 1 時間温浸するときはホルムアルデヒド化生母體は悉く該水浸液中に移行し其浸出殘渣は其儘或は磷酸酸性に於て直接蒸溜或は水蒸氣蒸溜を施すも孰れの場合に於ても全くホルムアルデヒド反應を呈せず尙ほ念の爲め乾やり烏賊の水浸殘渣 20g に 20% 鹽酸 100cc を加へ冷却器を附してアスベスト板上に 5 時間加熱したる後ナトロン鹼液にて微弱酸性と爲し之を水蒸氣蒸溜に附して得たる溜液に就き檢したるも全く陰性の結果を得たり。依つて所謂ホルムアルデヒド呈色反應は水に不溶性肉成分の加熱分解に依りて生起するものに非らずして該反應化生母體は水溶性狀態に於て自然に現存すること疑の餘地なきものと云ふべく従つて該母體の抽出には水浸法に依るを最も適當とすべし。又前記成績に依り乾烏賊 10g より化生せらるるホルムアルデヒド量は略生烏賊 50g の夫れに匹敵し且つ乾烏賊は其取扱ひ生烏賊に比し著しく簡便なるを以て研究材料として最も適當なることを認めたり。

5. 蒸溜時に於ける水素イオン濃度とホルムアルデヒド化生の關係

島崎氏等の報告に依れば烏賊及章魚等の水浸液を直接蒸溜の際磷酸又は醋酸を添加して蒸溜するときは之を添加せずして蒸溜せるものに比し溜液のホルムアルデヒド反應著しく微弱なりと云ふ。余等の前回の報告に於ては専ら島崎氏等の方法に準據し酸を添加せざる直接蒸溜法を採用せるも今回化生母體の研究に當り蒸溜の際水浸液に添加せる酸の種類及酸度の相違はホルムアルデヒドの化生に如何なる影響を及ぼすやを明確ならしむることの必要を感じたるを以て次の實驗を施行せり。

乾やり烏賊 10g に水 200cc を加へ約 60° にて 1 時間温浸したる後濾過し其濾液に水を加へて 200cc となし之に日本藥局方磷酸 10cc, 5cc 及 1cc, 20% 硫酸 3cc, 1cc 及 0.5cc, ホルムアルデヒド不含の 20% 醋酸 10cc 及 5cc, 同氷醋酸 10cc 及 5cc を添

加し其水素イオン濃度を檢したる後直接蒸溜法に従ひて蒸溜し其溜液に就き卵白鐵鹽酸反應を檢し之等の成績を酸を添加せざる浸液に就きて施行せるものと比較せり。即ち次の如し。

第 4 表

酸の種別	日本薬局方磷酸			20 % 硫酸			20 % 醋酸		氷 醋 酸		酸を添加せざる水浸液
酸 加 量 pH 溜液番號	10cc	5cc	1cc	3cc	1cc	0.5cc	10cc	5cc	10cc	5cc	
	1.92	2.38	4.48	1.92	3.68	4.80	3.67	4.08	3.15	3.43	6.17
1	呈色せず 殆ど呈色せず	痕 跡	40萬分1	呈色せず	70萬分1	40萬分1	70萬分1	45萬分1	70萬分1	70萬分1	40萬分1
2		"	30萬分1	"	40萬分1	30萬分1	40萬分1	30萬分1	50萬分1	40萬分1	30萬分1
3	痕 跡	50萬分1	20萬分1	"	20萬分1	20萬分1	20萬分1	20萬分1	30萬分1	30萬分1	20萬分1弱
4	"	40萬分1	"	痕 跡	"	"	"	"	20萬分1	20萬分1	"
5	"	"	15萬分1	"	"	"	15萬分1	15萬分1	15萬分1	15萬分1	15萬分1
6		"	"		"	15萬分1	"	"	"	"	"
7		"	"		"	"	20萬分1	20萬分1	20萬分1	"	"
8		"	20萬分1		"	"	"	"	"	20萬分1	"
9		"	"		"	"	"	"	"	"	"
10		"	"		"	20萬分1	"	"	"	"	20萬分1

前表中不揮發酸即ち磷酸及硫酸を種々の割合に添加せる際溜出するホルムアルデヒド量を酸を添加せざる場合の成績と比較するに孰れも蒸溜著手當初に於ける浸液の水素イオン濃度によりて影響せられ浸液の pH 1.92 以下の強酸性に於ては殆どホルムアルデヒドを溜出せず pH 2.38 より漸次溜出を認め pH 4.48 以上の酸度に於ては殆ど酸の添加によりて妨害せられざることを認めたり。又醋酸の場合は水浸液と約同量の氷醋酸を添加せざれば pH 1.92 に達せず、斯の如き強醋酸々性の場合に於ける試験の必要を認めざるを以て氷醋酸 10cc 添加のものに就き檢したるに蒸溜著手當初の pH 3.15 にして之れ以下の分量を添加せるものと共に殆どホルムアルデヒドの化生を妨害せざることを認めたり。

6. 總 括

前記試験成績を總括すること次の如し。

1. ホルムアルデヒド化生母體の鑑識に對し直接蒸溜法と水蒸氣蒸溜法との優劣を比

較したるに直接蒸溜法の優れることを認めたり。

2. 前記直接蒸溜法は蒸溜壺内の液量（蒸溜著手當初に於て pH 4.5 以上の微弱酸性たるを要す）120cc より 70cc の間を保ちつつ 20 分間に約 50cc を溜出する速度にて蒸溜し其溜液に就き卵白鐵鹽酸反應を應用するを最も適當と認めたり。

3. 乾烏賊は約 20 倍量生烏賊は約 5 倍量の水を加へて約 60° にて 1 時間溫浸すればホルムアルデヒド化生母體は殆ど完全に之に移行し其殘渣は水と共に或は 25% 磷酸 10cc を添加しアスベスト板上に加熱蒸溜するか又は水蒸氣蒸溜を施すか或は 20% 鹽酸を加へ冷却器を附してアスベスト板上に 5 時間加熱したる後ナトロン滴液にて微弱酸性となし水蒸氣蒸溜を施すも孰れの場合に於ても其溜液中ホルムアルデヒド反應を認めず。故にホルムアルデヒド化生母體は自然に水溶性狀態に於て現存し水に不溶性肉成分の加熱分解に依りて生成するものに非ざることを認めたり。

4. 蒸溜の際添加すべき酸の種類及其酸度のホルムアルデヒド化生に及ぼす影響を検したるに磷酸及硫酸の如き不揮發酸添加の場合には共に蒸溜著手當初の pH 1.92 以下の強酸性に於ては殆どホルムアルデヒドを溜出せず pH 値の増大に伴ひて漸次ホルムアルデヒドの溜出を認め pH 4.48 に達すれば殆ど添加せる酸の影響無く又醋酸の場合は比較的多量即ち浸液 200cc に對して氷醋酸 10cc を添加するも pH 3.19 に留りホルムアルデヒドの溜出を殆ど妨害せざることを認めたり。

引 用 文 獻

1. 藥學雜誌, 第 422 號 300 頁 大正 6 年
2. J. Assoc. official. Agr. chem. 9, 117~122 (1926)
3. Analyst. 51, 565~567 (1926)
4. 日本衛生化學會誌, 第 2 卷 第 4 號 1 頁 昭和 5 年
5. 藥學雜誌, 第 52 卷 第 7 號 603 頁 昭和 7 年
6. 衛生試驗所彙報, 第 33 號 57 頁 昭和 4 年
7. 衛生試驗所彙報, 第 39 號 177 頁 昭和 7 年
8. 日本衛生化學會誌, 第 5 卷 第 3 號 157 頁 昭和 8 年

昭和九年九月

魚肉類中ホルムアルデヒド類似の反應を 生起する物質の本體に關する研究 (第二報)

北海道産やり烏賊に就て

技 手 服 部 安 藏

助 手 長 谷 部 俊 彦

本研究中ホルムアルデヒド化生母體の鑑識及抽出法に關しては既に前記第1報に於て一括之を報告せり。

今回余等は北海道産やり烏賊の水浸液に就き銀フラクチオン法を應用し以て同浸液中ホルムアルデヒド反應を呈する物質の何れのフラクチオンに移行するやを檢したるに該成分は悉くリジンフラクチオン中に移行しベタインと共存し常用のアルコール製昇汞沈澱法によりては兩者を分離し得ざりしも其アルコール溶液をアルコール製硝酸銀溶液にて處理するときはベタインは完全に沈澱せられホルムアルデヒド化生母體は悉く其母液中に溶存するを以て之を分別し得たり。即ち銀沈澱を水中に混攪し稀鹽酸にて鹽化銀を除きたる後減壓濃縮し冷所に放置すれば白色針狀の結晶を析出し之を水と共に加熱蒸溜するも溜液は全くホルムアルデヒド反應を呈せず。其 Fp. 237~238.5° にして分析の結果ベタイン鹽酸鹽 $C_6H_{11}NO_2 \cdot HCl$ に一致し之よりピクラー特 (Fp. 181°, $C_6H_{11}NO_2 \cdot C_6H_5N_3O_7$), 鹽化金複鹽 (Fp. 205°, $C_6H_{11}NO_2 \cdot AuCl_4$) 及鹽化白金複鹽 (Fp. 244°, $(C_6H_{11}NO_2 \cdot HCl)_2PtCl_4$) を製出し得たり。次に母液は稀鹽酸にて鹽化銀を除き炭酸バリウムにて遊離鑛酸を除去しアルコール分を減壓溜去したる後常法に従ひて燐ウォルフラム酸にて處理して得たる沈澱をバリット水にて分解し之を微弱鹽酸々性に於て減壓濃縮し白色針狀の結晶を得たり。この結晶は水と共に加熱蒸溜又は封管加熱すれば極めて著量のホルムアルデヒドを化生す。其 Fp. 216° を示し分析の結果 $C_3H_9NO \cdot HCl$ なる組成を有することを認め更に之れよりピクラー特 (Fp. 201~205°, $C_3H_9NO \cdot C_6H_5N_3O_7$), 鹽化金複鹽 (Fp. 268°, $C_3H_9NO \cdot AuCl_4$) 及鹽化白金複鹽 (Fp. 223°, $(C_3H_9NO \cdot$

$\text{HCl})_2 \text{PtCl}_4]$ を製出し得たり。

前記ホルムアルデヒドを化生する結晶性物質は之を文獻に徴するに W. R. Dunstan, E. Goulding 兩氏 (J. chem. soc., 75, 792, 1889) の研究に係る Trimethylaminoxyd と同一物質と認めたるを以て同氏等の方法に基き Trimethylamin より製出せるものと余等の北海道産やり烏賊より抽出せるものとを比較せるに全く同一性質を有し又抽出物及試製品の各鹽酸鹽 0.1% 水溶液 5cc をカリウス管に封入し 220° にて 1 時間加熱すれば兩者共に前記分解液 5cc に對し $\frac{1}{5500}$ に相當するホルムアルデヒドを化生し其分解液中に Dimethylamin の存在を確證し得たり。即ちやり烏賊中のホルムアルデヒド反應を生起する物質の本體は Trimethylaminoxyd にして次式の如き變化に依りてホルムアルデヒドを化生するものと認む。

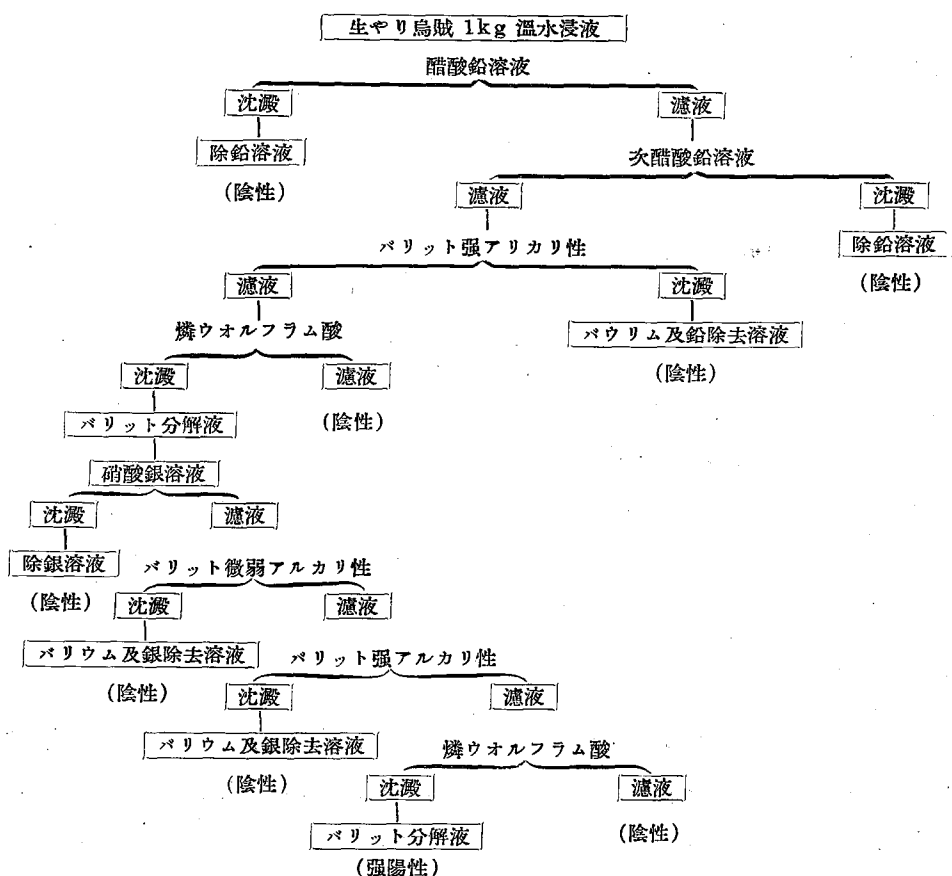


實 驗 の 部

1) ホルムアルデヒド化生母體の検索

北海道産やり烏賊の細截せる筋肉部分 1kg に 4 倍量の水を加へ約 60° にて 1 時間宛 3 回溫浸し浸液を集めて微弱醋酸々性となし減壓濃縮し濃縮液に醋酸鉛溶液を加へ析出する沈澱を分離し其濾液に次醋酸鉛溶液を加へ析出する沈澱を分離し次に其濾液に粉末バリットを加へ強アルカリ性ならしむるときは再び多量の沈澱を析出するを以て之を濾別し各沈澱を夫々稀硫酸にて處理し鉛を除別したる後濾液を適度に濃縮し生烏賊 100g に相當する分量を取り pH 6.0 となし直接蒸溜法 (第 1 報參照) によりて得たる溜液に就き卵白鐵鹽酸反應を検したるに何れも陰性を示せり。

鉛沈澱を除別せる濾液は稀硫酸にて過剰の鉛を除去し常法に依り隣ウォルフラム酸にて處理したる沈澱をバリット水にて分解したる後之を銀フラクチオン法に従ひて處理し各フラクチオンに分別せるものを夫々前記鉛沈澱の場合と同様に蒸溜して得たる溜液に就き卵白鐵鹽酸反應を検したるにリジンフラクチオンのみ強陽性を呈し其他は悉く陰性を示せり。今其成績を要約表示すれば次の如し。



3	$\frac{1}{60\text{萬}}$		
4	$\frac{1}{40\text{萬}}$		
5—6	各 $\frac{1}{30\text{萬}}$		
7—10	各 $\frac{1}{25\text{萬}}$		
11—26	各 $\frac{1}{30\text{萬}}$		
27—34	各 $\frac{1}{50\text{萬}}$		
35	$\frac{1}{60\text{萬}}$		
36	$\frac{1}{70\text{萬}}$		

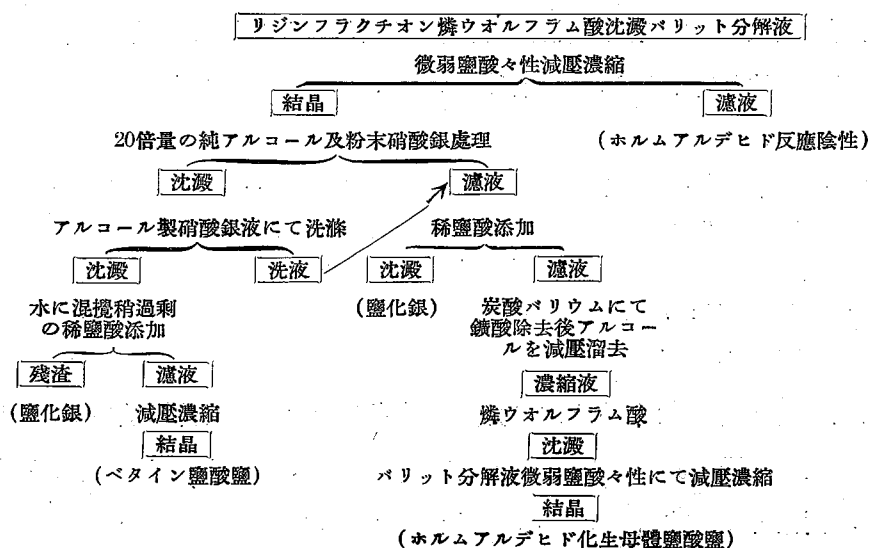
前記結晶を従来常用せらるる Schulze 氏(Z. physiol. Chem. 60, 155, 1909) のベタイン分離法に従ひ多量の純アルコールに加温溶解せしめ冷後アルコール製昇汞溶液を加ふるときは多量の沈澱を析出するを以て之を濾別し水に溶解し硫化水素にて水銀を除きたる後減壓濃縮し放置するときは多量の針狀結晶を析出す次に前記昇汞沈澱濾液よりアルコールを溜去したる残渣を水に溶解し硫化水素にて水銀を除き之を減壓濃縮し再び白色の針狀結晶を得たり。今之等兩種結晶に就き前記の如く其 0.05g を取りて蒸溜を行ひて得たる各溜液に就き卵白鐵鹽酸反應を検したるに兩結晶共何れもホルムアルデヒド反應を呈し昇汞法に依りては兩者の分離不可能なるを認めたり。其成績次の如し。

昇汞沈澱より得たる結晶		昇汞沈澱母液より得たる結晶	
溜液番 號	ホルムアルデヒド概測量	溜液番 號	ホルムアルデヒド概測量
1—3	各 $\frac{1}{60\text{萬}}$	1—4	各 $\frac{1}{50\text{萬}}$
4—8	各 $\frac{1}{40\text{萬}}$	5	$\frac{1}{25\text{萬}}$
9—15	各 $\frac{1}{50\text{萬}}$	6—20	各 $\frac{1}{20\text{萬}}$
16—20	各 $\frac{1}{60\text{萬}}$	21—30	各 $\frac{1}{30\text{萬}}$
		31—32	各 $\frac{1}{50\text{萬}}$
		33	$\frac{1}{60\text{萬}}$

2) ホルムアルデヒド化生母體とベタインとの分離試験

前記の如く昇汞法に依りてはホルムアルデヒド化生母體分離の目的を達し得ざりしを以て更に種々實驗の結果結晶を純アルコールに溶解し、之にアルコール製硝酸銀溶

液を添加し析出する沈澱を分離するときはホルムアルデヒド化生母體を完全に分離し得べきことを認めたり。然れ共其實施に當り之等の結晶は孰れも純アルコールに難溶なるを以て其溶解に極めて多量の純アルコールを必要とし其取扱ひ甚しく不便なるを以て該結晶を約 20 倍量の純アルコール中に投入し稍過剰の粉末硝酸銀を添加し冷却器を附して溫湯中にて僅かに加溫すればベタインは鹽化銀と共に完全に沈澱し化生母體の硝酸鹽は純アルコールに易溶なるを以て溶存し斯くして兩者容易に分離せらる。茲に得たるベタインの銀沈澱を硝酸銀含有純アルコールにて溫時よく洗ひ洗液を濾液に合し沈澱は之を水に混攪し稍過剰の稀鹽酸を加へて鹽化銀を除き濾液を減壓濃縮し冷所に放置すれば白色針狀の結晶を析出す。之れを純メタノールより再結晶精製す、前記銀沈澱を分離せる濾液は之に稀鹽酸を加へ析出する鹽化銀を除き其濾液に粉末炭酸バリウムを混じ振盪して遊離鹽酸を除去したる後アルコールを減壓溜去し其濃縮液を常法に依り燐ウオルフラム酸にて沈澱せしめ之をバリット水にて分解し過剰のバリウムを稀硫酸にて精密に除去し茲に得たる母體の硫酸鹽をクロールバリウムにて鹽酸鹽に變じ、減壓濃縮し之に純アルコールを加へ放置すれば白色針狀の結晶を得更に之を純メタノールより再結晶精製す。以上の實驗には原料として乾烏賊を使用せり、其成績に依ればリジンフラクチオンより得たる總結晶性物質は乾烏賊 1kg に付鹽酸鹽として約 65g にして内ベタイン鹽酸鹽は約 40g に相當し其他は化生母體の鹽酸鹽なり前記處理法を要約表示すれば次の如し。



3) リジンフラクチオンより得たる 2 種の結晶性物質に就て

前記リジンフラクチオンより得たる 2 種の結晶性物質中 1 は Trimethylaminoxyl 他は Betain にして前者はホルムアルデヒドを化生し後者は之を化生せざることを確認せり即ち次の如し。

A). 抽出せる Betain の性状

(a) 鹽酸鹽 前記アルコール製硝酸銀沈澱より製せる白色針狀の結晶は強き酸味を有し其水溶液は著しき鑛酸々性を示す。Fp. 237°~238.5°

分析

1. 物質	0.091g	CO ₂ : 0.13g	H ₂ O : 0.063g	C% 38.96	H% 7.75
2. "	0.1123g	" 0.1339g	" 0.0655g	" 38.81	" 7.79
平 均				" 38.89	" 7.77

物質 0.0601g N₂ : 4.68cc (771mm, 17°) N% 9.13

" 0.1123g AgCl : 0.1045g (Carius) Cl% 23.02

C₆H₁₁NO₂·HCl として理論數 C% 39.06, H% 7.87, N% 9.12, Cl% 23.08.

分子量測定 (滴定法, 標示藥ブロームチモールブラウ)

1. 物質	0.1g	N/10 KOH	6.6cc	分子量	151.51
2. "	0.1174g	"	7.75cc	"	151.50
平 均				"	151.51

C₆H₁₁NO₂·HCl として理論數 " 153.56

(b) ピクラー ト 鹽酸鹽 0.5g を取りナトロン鹵液にて中和したる後適量のピクリン酸を加へて冷所に放置すれば針狀の結晶を析出す之を濾集し溫湯より數回再結晶して精製す。黃色針狀の結晶を得たり。得量 1.15g, Fp. 181°

分析

1. 物質	0.0672g	CO ₂ : 0.0942g	H ₂ O : 0.0261g	C% 38.23	H% 4.35
2. "	0.0246g	" 0.0343g	" 0.0095g	" 38.03	" 4.32
平 均				" 38.13	" 4.34

物質 0.025g N₂ : 3.7cc (764mm, 25°) N% 16.53

C₆H₁₁NO₂·C₆H₃N₃O₇ として理論數 C% 38.14, H% 4.08 N% 16.19

(c) 鹽化金複鹽 鹽酸鹽 0.5g を取り之に稀鹽酸數滴を加へたる後計算量の 10% 鹽化金溶液を加へ硫酸除濕器中に放置すれば針狀結晶を析出す、之を濾集し溫湯より數回再結晶精製す。黃色針狀の結晶を得たり。得量 1.1g, Fp. 205°

分析

物質	0.0592g	N ₂ :1.74cc (763mm, 20°)	N%	3.37
"	0.1171g	Au:0.0501g	Au%	42.78
C ₅ H ₁₁ NO ₂ ·HAuCl ₄ として理論數				
		N%	3.07,	Au% 43.14

(d) **鹽化白金復鹽** 鹽酸鹽 0.5g を取り 10% 鹽化白金溶液を用ひ前記鹽化金復鹽の場合と同様に處理す。帶褐黃色針狀の結晶を得たり、得量 1g, 224° にて分解熔融す。

分析

物質	0.0565g	N ₂ :2.3cc (764mm, 19°)	N%	4.69
"	0.1172g	Pt:0.0348g	Pt%	29.69
(C ₅ H ₁₁ NO ₂ ·HCl) ₂ PtCl ₄ として理論數				
		N%	4.35,	Pt% 30.30

B) 抽出せるホルムアルデヒド化生母體 (Trimethylaminoxyd) の性狀

(a) **鹽酸鹽** 白色針狀の結晶にして其水溶液は強き酸味並に鹽酸々性を示し水に易溶アルコール, メタノール, 氷醋酸及ピリヂンには難溶, エーテル, 石油エーテル, アセトン及ベンゾールに不溶なり。216° にて分解熔融す。

分析

1. 物質	0.101g	CO ₂ :0.1185g	H ₂ O:0.0793g	C%	32.00	H%	8.79
2. "	0.1013g	" :0.1193g	" :0.08123g	"	32.12	"	8.97
平均				"	32.06	"	8.88
物質	0.042g	N ₂ :4.47cc (771mm, 17°)				N%	12.48
"	0.1287g	AgCl:0.1655g (Carius)				Cl%	31.81
C ₃ H ₉ NO·HCl として理論數							
		C%	32.28,	H%	9.04,	N%	12.56,
				Cl%	31.78		

分子量測定 (滴定法 標示藥プロームチモールブラウ)

物質	0.0995g	N/10 KOH	8.6cc	分子量	115.70
"	0.103g	"	8.62cc	"	118.80
平均				"	117.25
C ₃ H ₉ NO·HCl として理論數					115.55

(b) **ピクラート** 鹽酸鹽 0.5g を取り前記ベタイン鹽酸鹽に於けると同様に處理す黃色微細針狀結晶を得たり、得量 1.2g, Fp. 201°~205°

分析

1. 物質	0.0912g	CO ₂ :0.1192g	H ₂ O:0.033g	C%	35.65	H%	4.05
2. "	0.091g	" 0.1197g	" 0.0323g	"	35.87	"	3.97
平均				"	35.76	"	4.01

物質 0.0336g N_2 :5.46cc (763mm. 23°)

N% 18.35

 $C_3H_9NO \cdot C_6H_3N_3O_7$ として理論數

C% 35.52, H% 3.94, N% 18.42

(c) 鹽化金複鹽 鹽酸鹽 0.5g を取り前記ベタイン鹽酸鹽に於けると同様に處理す。

黄色針狀の結晶を得たり。得量 1.4g, Fp. 268°

分析

物質 0.0523g

 N_2 :1.6cc (764mm. 18°)

N% 3.55

" 0.1231g

Au:0.0579g

Au% 47.03

 $C_3H_9NO \cdot HAuCl_4$ として理論數

N% 3.37, Au% 47.50

(d) 鹽化白金複鹽 鹽酸鹽 0.5g を取り前記ベタイン鹽酸鹽に於けると同様に處理

す。帶褐黄色針狀の結晶を得たり。得量 1.1g, Fp. 223°

分析

物質 0.0631g

 N_2 :2.72cc (764mm. 19°)

N% 4.97

" 0.1162g

Pt:0.0386g

Pt% 33.22

 $(C_3H_9NO \cdot HCl)_2PtCl_4$ として理論數

N% 5.00, Pt% 34.85

(e) 遊離鹽基 鹽酸鹽を水に溶解しフェノールフタレインを標示薬としバリット

水にて中和し 30° 以下の低温にて減壓濃縮して得たる乾涸物を純アルコールにて浸出し浸液中のアルコールを溜去して濃厚となし結晶を析出せしめ之を再結晶精製す。本品は潮解性を有する白色無臭微細の針狀結晶にして葡萄糖に類する甘味を有し2分子の結晶水を含み其 0.1% 水溶液は pH 7.08 にして石鹼溶液様の觸感を有す。水, アルコール, メタノール, グリセリン, ピリジン及氷醋酸には易溶なるもエーテル, 石油エーテル, アセトン, ベンゾール, キシロール, 二硫化炭素, 四鹽化炭素, クロロホルム, 醋酸エーテルには不溶なり。本品を乾燥空氣中にて注意して徐々に 100° 以上に加熱すれば先づ熔融して結晶水を失ひ次に一部分昇華す。又濕潤空氣中特に少量の水を添加して 100° 以上に強熱すればホルムアルデヒド, 炭酸瓦斯及アンモニア等に分解す。

本品の水溶液は磷ウオルフラム酸にて白色絮狀の沈澱を析出するも昇汞, タンニン酸, ドラゲンドルフ試薬, マイヤー試薬及フェーリング試薬によりて沈澱せず。アンモニア性硝酸銀液を還元し過マンガン酸カリ溶液は酸性又はアルカリ性にて脱色容易なるも中性にては困難なり。尙ほミロン反應, ネスレル反應及ピウレット反應孰れも陰性なり。

4) 封管加熱に依るホルムアルデヒド化生試験

今回やり烏賊より抽出せる結晶性 Trimethylaminoxyd は其極めて微量にても著量のホルムアルデヒドを化生するを以て從來やり烏賊の水浸液に對し實施し來りたるが如く蒸溜壺中にて加熱分解せしめ其溜液に就きて試験する方法は甚だ不適當なることを認めたるを以て結晶を水と共にカリウス管中にて加熱し化生せるホルムアルデヒドを直接鑑識する方法を案出せり。即ち次の如し。

Trimethylaminoxyd 鹽酸鹽 0.1% 水溶液 5cc をカリウス管に封入し次表に示すが如き溫度にて一定時間加熱したる後其分解液を卵白鐵鹽酸反應によりて化生ホルムアルデヒド量を比色定量せり。其成績次の如し。

加熱時間 加熱溫度	1 時 間	2 時 間	5 時 間
110°	—	呈色せず	痕 跡
127°	—	"	"
150°	—	"	$\frac{1}{60萬}$ 弱
160°	痕 跡 $\frac{1}{5500}$	$\frac{1}{50萬}$	$\frac{1}{10萬}$ 強
220°	$\frac{1}{5500}$	—	—

備考 ベタイン鹽酸鹽 0.1% 水溶液 5cc を 220° にて 1 時間封管加熱せるものは卵白鐵鹽酸反應陰性なり。

前記成績に依れば 160° にて 5 時間加熱の際に化生するホルムアルデヒドの分量は $\frac{1}{10萬}$ 強なるに對し 220° にて 1 時間加熱するときは急激に著しく多量のホルムアルデヒドを化生し其分解液は強きホルムアルデヒド臭を發し之を 10 倍に稀釋し卵白鐵鹽酸反應によりて比色定量するに $\frac{1}{5萬5千}$ のホルムアルデヒド量に相當し之を原液 5cc 中の含量に換算すれば $\frac{1}{5500}$ に相當せり。

5) やり烏賊より得たるホルムアルデヒド化生母體と試製 Trimethylaminoxyd との比較試験

前記試験によりやり烏賊中のホルムアルデヒド化生母體は Trimethylaminoxyd に一致することを認めたるを以て更に W.R. Dunstan, E. Goulding 氏等に従ひ Trimet-

hylamin より Trimethylaminoxid を合成し之を抽出物と比較せり。即ち試製品の鹽酸鹽は白色針狀の結晶にして 216° にて分解熔融し其他一般性狀はやり烏賊より得たるものと全く一致し兩者を混融するも熔融點の下降を示さず。

分析

物質	0.05g	N ₂ :5.56cc (763mm. 23°)	N%	12.60
"	0.089g	AgCl 0.114g (Carius)	Cl%	31.69
C ₃ H ₉ NO.HCl として理論數		N%	12.56	Cl% 31.78

本品の 0.1% 水溶液 5cc をやり烏賊より得たる結晶と同様に 220° にて 1 時間封管加熱したる後卵白鐵鹽酸反應によりて化生ホルムアルデヒド量を比色定量せるにやり烏賊より得たるものと全く同一にして $\frac{1}{5500}$ に相當し、又やり烏賊より抽出せる結晶及試製品の分解液に就き夫々 Lieberman's Nitrosamin 反應を検したるに孰れも強陽性を呈し Dimethylamin の現存を示せるもベタインの封管加熱分解液は該反應陰性を示せり。

昭和九年十月

ホルムアルデヒドに對する 卵白鐵鹽酸反應に就て

技 手 服 部 安 藏

助 手 長 谷 部 俊 彦

内 容 目 次

- | | |
|--------------------------|-----------------|
| 一. 緒 言 | 鐵鹽酸反應に就て |
| 二. 柳澤丸山氏法と改良卵白鐵鹽酸法の比較試験 | 六. 類似反應に對する試験 |
| 三. 試薬添加量の呈色に及ぼす影響試験 | 七. 試薬の耐久力試験 |
| 四. 鹽化第二鐵添加量の呈色反應に及ぼす影響試験 | 八. 清酒に就きて施行せる試験 |
| 五. ホルムアルデヒド濃厚溶液に對する卵白 | 九. 總括並結論 |
| | 引用文獻 |

一. 緒 言

ホルムアルデヒドは飲食物の防腐劑として從來屢々應用せらるゝものにして又蟹、烏賊及章魚等の魚肉類中には自然にホルムアルデヒド反應を生起する物質を化成し燻製肉類に在りては其製造工程中微量の該反應を呈する物質を生成す。

斯の如く自然に食品中にホルムアルデヒドの呈色反應を生起する物質を微量に含有することあるを以て防腐の目的に故意に添加せるものなりや否や其判定上屢々疑義を生ずることあり。

從來ホルムアルデヒド反應として一般に應用せられたるものは既に 20 種に餘るも其多くは類似反應を伴ひてホルムアルデヒド固有の反應と認むべきものは極めて少し即ち 1926 年ザバリチュカ⁽¹⁾及ハルニイシュ氏等は 22 種のホルムアルデヒド呈色反應に就き比較試験したる結果其固有の反應として實用に供し得べきものはユッヂ氏法(フロログルチン及ナトロン又はカリ滴液による反應)、ザバリチュカ、リーゼンベルグ氏法(フロログルチン及カリ滴液による反應)、コーン氏法(レゾルチン硫酸反應)、アーノルドメンツェル氏第二法(アルカリ性溶液中に於けるフェニールヒドラチン及ニトロプロシットナトリウムの反應)、リミニー氏法(アルカリ性溶液に於ける鹽酸フェニ

ールヒドラチン及ニトロプルシットナトリウムの反應), フィナッケ氏法(フクシン亞硫酸反應)の6種に過ぎず, 其他は極めて濃厚溶液に於てのみ呈色するか又はアセトアルデヒド, フルフロール等に依りて類似反應を生起するを以て飲食物中ホルムアルデヒドの固有反應として其鑑識に應用し能はざることを報告せり。

蛋白質中のトリプトファンとホルムアルデヒドは鹽化鐵, 亞硝酸ソーダ又は過酸化水素の觸媒作用によりて紫色の色素を化成することは既にトリプトファンアルデヒド反應⁽²⁾として知られたるところにして 1920 年フュールス及ノーベル氏等⁽³⁾⁽⁴⁾は之をトリプトファンの比色定量法に應用せり。而して之をホルムアルデヒドの鑑識に應用せるは 1896 年ヘーネル氏⁽⁵⁾にして同氏はホルムアルデヒド含有の疑ある牛乳に微量の鐵分を含む粗製濃硫酸を添加し2液層となすときはホルムアルデヒドの存在に於ては紫色の輪帶を生ずることを認め, 次で 1890 年レオナルドスミス氏等⁽⁶⁾は牛乳に少量の鹽化鐵及濃鹽酸を添加し煮沸するときは檢液中 100 萬分 1 のホルムアルデヒドを鑑識し得べきことを報告せり。

其後之等の反應に關し種々研究せられ遂に 1903 年フィリッゲル氏⁽⁷⁾⁽⁸⁾⁽⁹⁾はヘーネル氏反應を牛乳のみならず一般飲食物中のホルムアルデヒドの鑑識に應用し其範圍を著しく擴大せり。同氏は本反應はアセトアルデヒド, バラアルデヒド, フルフロール及爾他の物質により黄色, 黄褐色, 褐色, 帶綠褐色又は赤褐色を呈し過酸化水素, 多數の脂肪並芳香屬有機酸, 炭水化物及フェノール等に依りても全く紫色を呈せざることを報告せり。

其後ザバリチュカ⁽¹⁰⁾及ハルニイシュ⁽¹¹⁾, ラムゼー⁽¹¹⁾及ラワール氏等⁽¹²⁾も亦ヘーネル氏反應に就き試験し葡萄糖及乳糖溶液等は濃褐色又は赤褐色の輪帶を生じ尙ほ蔗糖の過熱の場合或はフルフロールの存在に於ても亦接界面褐色を帶ぶることを報告せり。

1915 年ザルゴウスキー氏⁽¹³⁾はリーチ氏反應中の牛乳をウキッテペプトン⁽¹⁴⁾に改め次の如き試験法を案出せり。

ホルムアルデヒド含有檢液約 8cc に小匙量のウキッテペプトンを振盪しつゝ添加したる後 3% 鹽化第二鐵溶液 3~4 滴を加へ茲に得たる僅に濁濁せる溶液中に其半量に相當する比重 1.19 を有する鹽酸を加へて加熱煮沸に至らしむ。此際 100 萬分 1 の微

量のホルムアルデヒドの存在に於ても直に紫色を呈し明に之を識別し得べし。

尙ほ同氏等の研究に依ればオキシメチールフルロールも亦本反應に類似する呈色を示すを以てホルムアルデヒドの固有の反應とは認め難しと報告せられたり。

今前記の諸反應を見るに孰れも蛋白質として牛乳若くはウキッテペプトンを用ひ之に濃硫酸を作用せしむるか又は鹽酸溶液に於て加熱するものなるを以て牛乳中の糖分は一部分炭化せられて赤褐色を帶び呈色著しく妨害せらるゝか又はペプトン中の不純物の變化によりて其呈色の鮮明度を阻害せらるゝに至る。而してザルコウスキー氏反應は呈色液澄明にて稍耐久性なるを以て不満足ながら從來屢々ホルムアルデヒドの比色定量法に應用し其含量の概測に便せり、然れ共其呈色鋭敏に過ぎ往々にして 500 萬分 1 の微量に於ても尙ほ僅微に汚紫色を帶び又ホルムアルデヒドを含有せざるものに於ても微に褐色を呈し、呈色判定の限界點甚だ不明瞭なる缺點あり、之に反し既に大正 5 年柳澤丸山氏等⁽¹⁵⁾に依りて發表せられたる方法は牛乳及ペプトンに代ふるに鶏卵白を使用し鹽酸及鹽化第二鐵の添加量を適當に加減したるを以て前記の諸反應に比し類似反應を呈する事少く同氏等の報告に依ればアセトアルドデヒド、バラアルデヒド、フェノール、有機酸、其他清酒中の揮發性成分に依りて類似反應を呈することなく清酒に就きて檢するに 50 萬分 1 のホルムアルデヒドもよく鮮麗なる紫色を呈し明に之を鑑識し得べきことを報告せられたり。然れ共之等の反應は前記ザバリチュカ及ハルニイシュ氏等の比較試験報告中に引用せられざりしは甚だ遺憾とするところなり。

余等は食品中のホルムアルデヒド鑑識法として前記柳澤、丸山氏法を最も適當なりと認めたるも之が實際的應用に當りては反應溶液中に多量の白色絮狀物質を析出し呈色限界點の判別上不便尠からざるを以て之を改善して澄明溶液となし以て前記ザルコウスキー氏法に於けるが如く比色定量法に應用せんことを企圖し種々實驗の結果其呈色限界點を 100 萬分 1 前後に低下し呈色液澄明にして之を長時間保存するも全く變色せざるを以て比色に便にして且試薬は相當期間貯藏に堪え得ることを認めたるを以て次に之を報告すべし。

二. 柳澤、丸山氏法と改良卵白鐵鹽酸法の比較試験

柳澤、丸山氏法は獨逸公定法に基き牛乳の代りに鶏卵白を應用せるものにして獨逸

公定法に比し呈色著しく鮮麗なり。今獨逸公定法及柳澤、丸山氏法を示せば次の如し。

獨逸公定法 檢液 5cc を潤大なる試験管に取り之に新鮮なる牛乳 2cc 及比重 1.124 の鹽酸（其 100cc に就き 10% 鹽化第二鐵溶液 0.2cc を加へたるもの）7cc を混和し加熱して約 30 秒間微に沸騰せしむホルムアルデヒドの存在に於ては紫色を呈すべし。

柳澤、丸山氏本法 檢液 10cc を取り生鶏卵白 1 分に水 4 分を加へよく混和して得たる透明液 5cc 及鹽酸（局方鹽酸 1*l* に就き 5% 鹽化第二鐵溶液 1cc を加へたるもの）15cc を加へて半分乃至 1 分間煮沸せしむるときはホルムアルデヒドの存在に於ては紫色を呈す。

柳澤、丸山氏別法 前法中の檢液採取量を 5cc 及鹽化第二鐵鹽酸溶液添加量を 7.5cc に夫々半減し其他は前法と全く同一方法に依りて試験せり。

余等は前記柳澤、丸山氏法に準據し卵白、鹽化第二鐵及鹽酸の分量を種々變更して製せる卵白鐵鹽酸溶液及鶏卵白の代りに牛乳を使用せる牛乳鐵鹽酸溶液を調製し種々の割合にホルムアルデヒドを含有する水溶液に就き比較試験せり、即ち次の如し。

A. 卵白鐵鹽酸甲法による試験

本法は前記柳澤、丸山氏本法に基きて調製せる卵白鐵鹽酸溶液を使用せるものにして其試薬の製法及試験法を示せば次の如し。

生鶏卵白 10g に水 40cc を加へ振盪して得たる溶液を 30% 鹽酸 20cc 中に徐々に混和したる後約 35° にて數分間溫め凝固せる蛋白質を濾過し濾液を 30% 鹽酸 130cc 中に攪拌しつゝ混和して得たる澄明液に新製 0.5% 鹽化第二鐵溶液 0.75cc を加ふ。檢液 5cc に本試薬 10cc を添加し沸湯中に 5 分間加熱したる後直に冷却すべし。

B. 卵白鐵鹽酸乙法に依る試験

本法は前記柳澤、丸山氏別法に基きて調製せる試薬を應用せるものにして其試薬の製法及試験法次の如し。

生鶏卵白 10g に水 40cc を加へ振盪して得たる溶液を 30% 鹽酸 20cc 中に徐々に混和したる後約 35° にて數分間溫め凝固せる蛋白質を濾過し濾液を 30% 鹽酸 55cc 中に攪拌しつゝ混和して得たる澄明液に新製 0.5% 鹽化第二鐵溶液 0.75cc を添加す。

檢液 5cc に本試薬 12.5cc を添加し沸湯中に 5 分間加熱したる後直に冷却すべし。

C. 卵白鐵鹽酸丙法に依る試験

本法は前者より鹽酸の濃度を少しく弱めたるものにして其試薬の製法及試験法を示せば次の如し。

生鶏卵白 10g に水 65cc を加へ振盪して得たる溶液を 30% 鹽酸 20cc 中に徐々に混和したる後約 35° にて數分間溫め凝固せる蛋白質を濾過し濾液を 30% 鹽酸 35cc 中に攪拌しつゝ混和して得たる澄明液に新製 0.5% 鹽化第二鐵溶液 0.5cc を添加す。

檢液 5cc に本試薬 12.5cc を添加し沸湯中にて 5 分間熱したる後直に冷却すべし。

D. 牛乳鐵鹽酸甲法に依る試験

本試薬は前記卵白鐵鹽酸甲法に於ける鶏卵白の代りに牛乳 (cc 量) を使用せるものにして試薬の製法及試験法は之と全く同一なり。

E. 牛乳鐵鹽酸乙法に依る試験

本試薬は前記卵白鐵鹽酸乙法に於ける鶏卵白の代りに牛乳 (cc 量) を使用せるものにして試薬の製法及試験法は之と全く同一なり。

前記試験法に基きて施行せる成績次の如し。

第 一 表

試 験 法	柳澤, 丸山 氏本法	柳澤, 丸山 氏別法	卵 白 鐵 鹽 酸 法			牛 乳 鐵 鹽 酸 法	
			甲法	乙法	丙法	甲法	乙法
試薬添加量(cc)	卵白液 5 鹽化第二鐵 鹽酸 15	卵白液 2 鹽化第二鐵 鹽酸 7.5	10.0	12.5	12.5	10.0	12.5
檢液採取量(cc)	10.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
ホルムアル デヒド 含 量	1 萬分 1	濃 紫	濃 紫	濃 紫	淡 紫	淡 紫 紅	淡 紫 紅
	5 萬分 1	"	"	"	"	微 紫 紅	"
	10 萬分 1	紫	"	"	" (前者より 稍淡し)	極微紫紅	極微紫紅
	20 萬分 1	淡 紫	紫	紫	微 紫	痕 跡	"
	25 萬分 1	"	" (前者より 稍淡し)	"	"	全く呈色せず	痕 跡
	50 萬分 1	微 紫	淡 紫	淡 紫	"	—	全く呈色せず
	75 萬分 1	"	微 紫	微 紫	"	—	—
	100 萬分 1	"	痕 跡	殆ど呈色せず	極微紫	—	—
	150 萬分 1	極微紫	全く呈色せず	全く呈色せず	痕 跡	—	—
	200 萬分 1	痕 跡	全く呈色せず	—	全く呈色せず	—	—
	300 萬分 1	殆ど呈色せず	—	—	"	—	—
	500 萬分 1	全く呈色せず	—	—	"	—	—

附 記

柳澤、丸山氏は孰れも沸湯中にて5分間加熱後直に冷却せり、

前記試験成績を見るに柳澤、丸山氏本法はホルムアルデヒド含量100萬分1のものは微紫色を呈し200萬分1にては尚ほ痕跡程度の著色を示し500萬分1にては全く呈色せざるに至る。即ち明瞭に識別し得べき呈色は150萬分1以上にして夫れ以下に於ては著色の程度を識別すること困難なり。又其別法に於ては本法に比して一般に不鋭敏となり75萬分1のものは極微紫色100萬分1のものに在りては痕跡程度の著色を示し150萬分1添加のものは全く呈色せず。次に柳澤、丸山氏本法に準據して調製せる卵白鐵鹽酸甲法の試薬を使川せる成績に在りては100萬分1添加のものは極微紫色を呈するも150萬分1添加のものは殆ど呈色せざりき。又同乙法に於ては75萬分1以上添加のものは甲法と殆ど同一呈色を示すも100萬分1添加のものは殆ど呈色せず。次に同丙法に在りては前記乙法に比して一般に淡色となりて呈色限界點明瞭を缺き100萬分1添加のものは極微紫色、150萬分1添加のものは痕跡程度の著色を示し前記甲乙兩法に比して却つて不良の成績を示せり。

卵白の代りに牛乳を用ひたるものは孰れも呈色著しく不鋭敏となれり即ち前記卵白鐵鹽酸甲法試薬に準據して調製せる牛乳鐵鹽酸甲法に在りては1萬分1を添加せる濃厚水溶液に在りても淡紫紅色を呈するに過ぎず10萬分1添加のものは極微紫紅色次に20萬分1添加のものは痕跡程度の著色を示し、又卵白鐵鹽酸乙法に準據して製せる牛乳鐵鹽酸乙法に在りては前記甲法に比して僅に鋭敏度を増し25萬分1添加のものに在りても亦痕跡程度の呈色を示すことを認めたり。

前記卵白鐵鹽酸試薬に依る甲、乙及丙の3法中甲、乙の兩法は孰れも實用的價值を認め得べく殊に乙法最も適當なりと認めたるを以て以下の試験には専ら該法を應用し單に之を卵白鐵鹽酸法として示せり。

三. 試薬添加量の呈色に及ぼす影響試験

卵白鐵鹽酸乙法に於ける試薬の添加量12.5ccは柳澤、丸山氏別法に基きて之を算出せるものなるも果して此の分量が最適量なるや否や一應之を吟味するの必要を認めたるを以て種々の割合にホルムアルデヒドを添加せる蒸留水に該試薬を夫々5cc, 10cc,

12.5cc, 15cc, 20cc 及 35cc を添加し之に就き其呈色反應を検し次の成績を得たり。

第 二 表

卵白鐵鹽酸溶液 添加量(cc)		5.0	10.0	12.5	15.0	20.0	35.0
ホルムアル デヒド 添加 量	1萬分1	淡 紫	濃 紫	濃 紫	濃 紫	濃 紫	濃 紫
	5萬分1	"	"	"	"	"	"
	10萬分1	微 紫	紫	"	"	"	"
	20萬分1	"	"	紫	紫	紫	紫
	25萬分1	"	淡 紫	"	"	"	"
	50萬分1	極 微 紫	微 紫	淡 紫	淡 紫	淡 紫	淡 紫
	75萬分1	全く呈色せず	痕 跡	微 紫	微 紫	微 紫	微 紫
	100萬分1	—	殆と呈色せず	殆と呈色せず	殆と呈色せず	殆と呈色せず	殆と呈色せず

前記試験成績に依れば卵白鐵鹽酸液 5cc 添加の場合は呈色一般に淡色なるも試薬添加量の増加に伴ひて漸次呈色濃厚となり 12.5cc 添加に至り最高を示し爾後試薬の増量に伴ひて殆ど影響せらるゝことなく 35cc 添加に於ても 12.5cc 添加の場合と其呈色殆ど大差無きことを認めたり。

四. 鹽化第二鐵添加量の呈色反應に及ぼす影響試験

前記卵白鐵鹽酸試薬中に添加せる鹽化第二鐵の分量によりて呈色反應鋭敏度に及ぼす關係を知らんが爲め卵白鐵鹽酸溶液調製の際鹽酸 75cc に對し 0.5%鹽化第二鐵溶液を夫々 0.15cc, 0.375cc, 0.75cc, 1cc, 1.5cc 及 3cc の割合に添加せるものを調製し之等を以てホルムアルデヒド含有蒸溜水に就き試験を施行し次の成績を得たり。

第 三 表

0.5% 鹽化第二鐵 液添加量(cc)		0.15	0.375	0.75	1.0	1.5	3.0
鹽酸に對する鹽化 第二鐵の%量		0.001	0.0025	0.005	0.0067	0.01	0.02
ホルムアル デヒド	1萬分1	濃 紫 紅	濃 紫	濃 紫	濃 紫	濃 紫	濃 紫
	5萬分1	"	"	"	"	"	"
	10萬分1	"	"	"	"	"	紫
	20萬分1	紫 紅	紫	紫	紫	紫	微 紫
	25萬分1	淡 紫 紅	"	"	淡 紫	淡 紫	"
	50萬分1	微 紫 紅	淡 紫	淡 紫	微 紫	微 紫	溫時微黃, 冷時 殆と呈色せず

添加量	75萬分1	微 紫 紅	微 紫	微 紫	殆と呈色せず	殆と呈色せず	—
	100萬分1	極微紫紅	極微紫	殆と呈色せず	—	—	—

前記試験成績を見るに鹽化第二鐵を鹽酸に對し 0.001%の割合に添加せるものは本反應固有の紫色を呈せずして紫紅色を示せり、次に同じく 0.0025% (甲法) の割合に添加せるものは呈色最も鋭敏にして 10 萬分 1 以上の濃厚液に在りては孰れも濃紫色を呈し以下稀薄液となるに従ひて紫色、淡紫色及微紫色に變じ 100 萬分 1 含有のものに在りても尙ほ極微紫色を呈す然るに鹽化第二鐵の添加量を之より増加するときは、次第に呈色不鋭敏となり鹽酸に對し 0.005% (乙法) 添加のものは 75 萬分 1 又同じく 0.0067~0.01% 添加のものは共に 50 萬分 1 更に 0.02% 添加のものに在りては 25 萬分 1 迄呈色せり依て之等の試験成績に就きて考ふるに鹽化第二鐵溶液の添加量を加減するときは呈色鋭敏度を一定範圍内に調節し得べきことを認めたり。

五. ホルムアルデヒド濃厚溶液に對する卵白鐵鹽酸反應に就て

フリッゲル氏等の研究に依ればホルムアルデヒドに對する蛋白質及鹽化第二鐵鹽酸の反應は著しく濃厚なるホルムアルデヒド溶液に對しては呈色反應其濃度に一致せざることを述べられたり、依て余等は第四表に示す如き諸反應に就き濃厚ホルムアルデヒド溶液に對する關係を試験し次の成績を得たり。

第 四 表

試験法 ホルムアルデヒド添加量	卵白鐵鹽酸法	柳澤丸山氏法	ザルコウスキー氏法	獨逸公定法	リミニー氏石尾氏改良法	ザバリチユカリールゼンベルグ氏法	シュリーフェル氏法	フクシン亞硫酸法
1萬分1	濃 紫	濃 紫	濃 紫	濃 紫	暗 青	赤	濃 赤	濃 フクシ ン 紅
8000分1	"	"	"	"	"	"	暗 赤	"
6000分1	"	"	濃 褐 紫	"	"	"	"	"
4000分1	紫	紫	褐 紫	紫	"	淡 赤	濃 赤	"
2000分1	"	"	褐	淡 紫 褐	濃 青	"	"	"
1000分1	淡 紫	淡 紫	淡 褐	微 紫 褐	微 汚 青	"	汚 赤	"
800分1	"	微 紫	"	微 褐 紫	極微汚青	"	"	"
600分1	微 紫	極微紫	微 褐	淡 藁 黄	"	"	"	"
400分1	極微紫	藁 黄	藁 黄	微 藁 黄	"	微 赤	"	"
200分1	痕 跡	"	"	"	"	淡 橙	褐 赤	"
100分1	呈色せず	"	"	黄	"	"	褐	"

前記試験成績を見るに卵白鐵鹽酸法、柳澤丸山氏法及獨逸公定法の3者は孰れも約1萬分1添加に於て最高の呈色を示し夫れ以上の濃度に於ては却つて淡色となり6000分1迄は濃紫色を保つも4000分1以上にては漸次紫色、淡紫色及微紫色に變じ卵白鐵鹽酸法は200分1、柳澤丸山氏法は400分1、獨逸公定法は600分1以上の濃厚溶液に在りては殆ど之を鑑識すること不能なり、次にザルコウスキー氏法は1萬分1含有のもの最も濃厚なる紫色を示し夫れ以上の濃度に於ては次第に汚色を増し2000分1以上のものは褐色を呈し全く之を鑑別し得ざるに至れり、次にリミー反應石尾氏改良法、ザバリチュカ、リーゼンベルグ法及シュリーフル法等に依る成績も又殆ど前者と同一關係を示せるも、獨りフクシン亞硫酸法のみ濃厚溶液に在りても依然として濃フクシン紅色を示せり。

前記の如く本卵白鐵鹽酸反應はフクシン亞硫酸反應以外の諸他の呈色反應と同様に極めて濃厚なるホルムアルデヒド溶液に對しては、正當なる呈色を示さざるを以て之を鑑識すること不能なるも飲食物中に5000分1以上のホルムアルデヒドを含有するときは既に其臭氣等によりて之を鑑識し得べく若し斯の如き疑惑を生じたるときは、更に之を稀釋して試験する方法も思考せらるゝところにして實際問題として之を懸念する必要無かるべし。

六. 類似反應に對する試験

從來の文獻に徴しホルムアルデヒド試験に當りて最も類似反應を惹起し易きものと認めたるアセトアルデヒド、フルフロール、フェノール及醋酸等の各100分1、1000分1、1萬分1及10萬分1水溶液を調製し之に就き前記卵白鐵鹽酸反應を應用する場合類似反應を生起すること無きや否やを検し次の成績を得たり。

第 五 表

種 別 合 量	アセトアルデヒド	フルフロール	フェノール	醋 酸
100 分1	汚 藁 黄	汚 藁 黄	呈 色 せ ず	呈 色 せ ず
1000 分1	微 褐 赤	汚 緑 黄	"	"
1萬分1	極 微 褐 赤	微 黄 緑	"	"
10萬分1	極 微 藁 黄	極 微 黄 緑	"	"

前記試験成績に就きて考ふるに本卵白鐵鹽酸反應はホルムアルデヒド以外のものに

よりて、紫色又は藍色等の如き紛はしき呈色を示すこと殆ど之れ無きを想像し得べく類似反應に對して比較的安全なることを認めたり。

七. 試薬の耐久力試験

柳澤、丸山氏法に於ける卵白液は極めて腐敗し易きを以て使用に臨みて新製するを要す。

余等は前記諸試験に使用したる卵白鐵鹽酸試薬の耐久力を試験することの必要を認めたるを以て之を無色壺中に容れて $1^{\circ}\sim 5^{\circ}$ の冷蔵庫及 $15^{\circ}\sim 25^{\circ}$ の室温に保存せるもの並之を褐色壺中に容れて $15^{\circ}\sim 25^{\circ}$ の室温及 28° の孵卵器中に保存せるものを用ひ 10 萬分 1 及 50 萬分 1 の割合にホルムアルデヒドを含有する水溶液に就き呈色の状態を検し其の耐久力を試験したるに次の成績を得たり。

第 六 表

貯藏方法	冷蔵庫 (1°—5°) 無色壺中に貯ふ、		室温放置 (15°—25°) 無色壺中に貯ふ、		室温放置 (15°—25°) 褐色壺中に貯ふ、		孵卵器内 (28°) 褐色壺中に貯ふ、		
ホルムアルデヒド 添 加 量	10 萬分1	50 萬分1	10 萬分1	50 萬分1	10 萬分1	50 萬分1	10 萬分1	50 萬分1	
貯 藏 日 数	1	濃 紫	微 紫	濃 紫	微 紫	濃 紫	微 紫	濃 紫	微 紫
	2	"	"	"	"	"	"	" (僅微に赤色を帶ぶ)	" (僅微に赤色を帶ぶ)
	3	"	"	" (極微赤色を帶ぶ)	" (極微赤色を帶ぶ)	" (極微赤色を帶ぶ)	" (極微赤色を帶ぶ)	" (赤色を帶ぶ)	" (赤色を帶ぶ)
	4	"	"	" (僅微赤色を帶ぶ)	" (僅微赤色を帶ぶ)	"	"	紫 紅	微 紫 紅
	5	"	"	"	"	"	"	"	"
	6	"	"	"	"	"	"	紅 紫	微 紅 紫
	10	" (極微赤色を帶ぶ)	" (極微赤色を帶ぶ)	紫 紅	微 紫 紅	紫 紅	微 紫 紅	—	—
15	"	"	—	—	—	—	—	—	

前記試験成績に依れば無色壺中に貯へ冷蔵庫中に保存するときは調製後 15 日を経過するときは極微に赤色を帶ぶるも使用上何等の支障を認めず、次に之を無色壺又は褐色壺中に容れて $15^{\circ}\sim 25^{\circ}$ の室温に保存するときは調製後 10 日に於ては孰れも紫紅～微紫紅色を呈し又褐色壺中に容れて 28° の温所に保存せるものは調製後 4 日に於て紫紅～微紫紅色を呈し 6 日後に於ては紅紫～微紅紫色を呈せり之等紫紅～紅紫色を呈せるものは、不純物を含有せざるホルムアルデヒド水溶液に對しては充分使用に供し得べきも檢體に應用する場合には本試薬の添加により往々にして、極微黃色又は

極微蕁黃色を呈するものあり。斯の如き場合微量のホルムアルデヒドを鑑識するに當りては其限界量の鑑別明瞭ならざることあるを以て既に紫紅～紅紫色を呈するに至りたるものは使用せざるを可とす。

之を要するに本試薬は室温高き夏季に在りても數日間は何等の支障なく使用に供し得べく、之を冷蔵するときは2週間以上の貯藏に堪え特に之を遮光壺中に保存する必要無きことを認めたり。

八. 清酒に就きて施行せる試験

前記蒸留水中に各種の割合にホルムアルデヒドを含有せしめたるものに就きて、施行せる試験成績に依れば卵白鐵鹽酸法は極めて満足なる成績を得べきことを認めたるを以て次に之を清酒に對して應用し、リミニー反應及柳澤、丸山氏反應等と比較せり、即ち防腐劑不含の清酒にホルムアルデヒドを夫々10萬分1, 20萬分1, 30萬分1, 40萬分1, 50萬分1, 60萬分1, 75萬分1及100萬分1の割合に添加せるものと對照としてホルムアルデヒドを添加せざる清酒に就き石尾氏の清酒中ホルムアルデヒド試験法⁽¹⁶⁾に準據し次の如く試験せり。

清酒 100cc を内容約 300cc の硝子壺に取り 20% 磷酸 5cc を加へ素焼の小破片數箇を添加し石綿板上に熱し5分間約 5cc の溜出速度に於て蒸留し初溜液 30cc を棄て次に溜出する中溜液 20cc を捕集し其溜液 5cc に就きリミニー反應石尾氏改良法⁽¹⁷⁾と卵白鐵鹽酸法(試薬 12.5cc 添加)を試験し次に溜液 3cc を蒸留水 2cc にて稀釋し之に就き前記の割合に試薬を添加せる卵白鐵鹽酸反應と別に試薬 15cc を添加せるもの及參考として柳澤、丸山氏本法によりて試験せり、其成績次の如し。

第 七 表

ホルムアル デヒド含量	溜液 5cc に就きて施行せるもの		溜液 3cc を蒸留水 2cc にて稀釋 せるものに就きて施行せるもの		
	リミニー反應 石尾氏改良法	卵白鐵鹽酸法 (試薬 12.5cc)	卵白鐵鹽酸法 (試薬 12.5cc)	卵白鐵鹽酸法 (試薬 15.0cc)	柳澤丸山氏本法
10萬分1	濃 青	紫 (10萬分1弱)	紫 (20萬分1)	紫 (20萬分1)	紫
20萬分1	青	" (25萬分1弱)	淡紫(40萬分1)	淡紫(40萬分1)	淡 紫
30萬分1	淡 青	淡紫(40萬分1弱)	極微紫(60萬分1)	極微紫(60萬分1)	微 紫 褐
40萬分1	微青(直に綠變)	微紫(50萬分1強)	殆と呈色せず	殆と呈色せず	極 微 褐 紫

50萬分1	微	綠	極微紫(60萬分1)	殆ど呈色せず	殆ど呈色せず	淡 汚 褐
60萬分1	極 微	綠	痕 跡	"	"	"
75萬分1	極 微 黄	綠	殆ど呈色せず	"	"	"
100萬分1	淡 黄	黄	"	"	"	"
ホルムアルデヒド不含清酒	極 微	黄	全く呈色せず	全く呈色せず	全く呈色せず	淡 褐

前記試験成績を見るにリミニー反應石尾氏改良法に依れるものはホルムアルデヒドの含量 40 萬分 1 迄は孰れも明に之を鑑識し得べく次に溜液 5cc に就きて施行せる卵白鐵鹽酸反應に於ては 50 萬分 1 添加迄明に之を識別し得べきも 60 萬分 1 添加のものは判別困難にして 75 萬分 1 及 100 萬分 1 添加のものは殆ど呈色せず。次に溜液 3cc を蒸留水 2cc にて稀釋せるものは 30 萬分 1 添加のものと識別し得べきも 40 萬分 1 以下のものは殆ど呈色せず。又卵白鐵鹽酸試薬は之を 12.5cc とするも 15cc とするも全く同一成績を示せり。尙ほ参考として施行せる柳澤、丸山氏法の成績も亦 30 萬分 1 添加のものと之を識別し得べきも 40 萬分 1 のものは之を鑑別すること困難なりき。

九. 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。

一. 從來ホルムアルデヒドの鑑識法として應用せられたる諸種の反應中柳澤、丸山氏法を改變せる卵白鐵鹽酸反應を最も適當なるものと認めたり。而して前記卵白鐵鹽酸甲法及同乙法は兩者其呈色鋭敏度を少しく異にするも孰れも充分其實用的價值を認め得べく余等は前記 2 法中乙法を以て最も適當なりと認め専ら之を應用せり、即ち本卵白鐵鹽酸法はホルムアルデヒド含有水溶液 1 萬分 1 より 10 萬分 1 に於ては濃紫色を呈し、20 萬分 1 より 25 萬分 1 に於ては紫色、50 萬分 1 に於ては淡紫色、75 萬分 1 に於ては微紫色を呈し 100 萬分 1 に於ては殆ど呈色せず、又其呈色液澄明なるを以て比色法によりて供試檢液中のホルムアルデヒド含有量を概測し得べく且つ其呈色液は約一週間以上を経過するも殆ど變色せざるを以てホルムアルデヒドの鑑識の場合最も有力なる判定資料たらしめ得べきことを信ぜしめたり。

二. 本卵白鐵鹽酸試薬添加量の呈色に及ぼす影響を試験したるに前記乙法中に規定せる分量即ち檢液 5cc に對し乙法に依りて調製せる卵白鐵鹽酸溶液 12.5cc を添加せ

るものは最高の呈色を示し之れ以上の分量に於ては添加量の増加に伴ひ殆ど影響なきことを認めたり。

三. 卵白鐵鹽酸反應に於て反應溶液中鹽化第二鐵の含量如何によりて呈色の鋭敏度に及ぼす關係を試験したるに試薬中の鹽酸量に對し鹽化第二鐵 0.0025% を添加せるもの(甲法)呈色最も鋭敏にしてホルムアルデヒド 100 萬分 1 含有水溶液に在りても極微紫色を呈し鹽酸に對し鹽化第二鐵 0.005% を添加せるもの(乙法)は 75 萬分 1 に於ては微紫色を呈するも 100 萬分 1 に於ては殆ど呈色せず、之れ以上鹽化第二鐵添加量の増大に伴ひ漸次呈色鋭敏度を減退し鹽酸に對し鹽化第二鐵 0.0067~0.01% を添加せるものは共に 50 萬分 1 に於ては微紫色を呈するも 75 萬分 1 含有のものは殆ど呈色せず、更に 0.02% の割合に添加せるものは 25 萬分 1 に於ては微紫色を呈するも 50 萬分 1 に於ては殆ど呈色せざることを認めたり。

四. 本卵白鐵鹽酸試薬の濃厚ホルムアルデヒド水溶液に對する呈色の關係を試験したるに 1 萬分 1 溶液に於て最高の呈色を示し約 6000 分 1 迄は尚ほ濃紫色を呈するも之より濃厚溶液となるに従ひ漸次淡色となり 400 分 1 に於ては極微紫色 200 分 1 に在りては痕跡程度の呈色を示すに過ぎず、此の關係を爾他の呈色反應に就て試験したるにフクシン亞硫酸反應以外の呈色反應即ち柳澤、丸山氏反應、ザルコウスキー氏反應、獨逸公定法による反應、リミー氏石尾氏改良法による反應、ザバリチュカリーゼンベルグ氏反應及シュリーフェル反應等も亦略之と同一關係を示し濃厚ホルムアルデヒド溶液に對しては正當なる呈色を示さざることを認めたり。

五. ホルムアルデヒドの試験に際し從來最も類似反應を惹起し易きものと認められたるアセトアルデヒド、フルフロール、フェノール及醋酸等に對し試験したるに之等のものは孰れも本卵白鐵鹽酸反應固有の呈色たる紫色又は藍色等の如き紛はしき色相を示さざることを認めたり。

六. 本卵白鐵鹽酸試薬の耐久力に就きて試験したる結果冷蔵庫中に之を保存するときには約 2 週間を経過するも殆ど變化無く又室温高き場所に保存するも數日間は充分使用に堪え得べく特に遮光壇中に貯藏する必要無きことを認めたり。

七. 前記試験法を清酒中に種々の割合にホルムアルデヒドを含有せしめたるものに

就き之を石尾氏の清酒中ホルムアルデヒド試験法に従ひて蒸溜し一は直接其溜液 5cc に就きリミー氏反應石尾氏改良法と本反應を併試し他は溜液 3cc を蒸溜水 2cc にて稀釋したるものに就き柳澤、丸山氏本法と本卵白鐵鹽酸法中試薬 12.5cc を添加せるものと 15cc を添加せるものとに就き比較試験したるに溜液 5cc に就きて試験せる成績中リミー氏反應石尾氏改良法に依れるものは 40 萬分 1 添加のものは微青色を呈するを以て之を鑑識し得べく 50 萬分 1 添加のものは之を識別すること困難なり。然るに本卵白鐵鹽酸法に依れるものは 40 萬分 1 添加のものは微紫色にして容易に之を鑑識し得べく 50 萬分 1 添加のものに於ても極微紫色を呈するを以て明に之を識別し得たるも 60 萬分 1 添加のものは之を判別すること困難なりき、又溜液 3cc を蒸溜水 2 cc にて稀釋せるものに就きて施行せる柳澤、丸山氏本法による成績は 30 萬分 1 添加のものは微紫褐色を呈し明に之を鑑別し得べきも 40 萬分 1 添加のものは極微褐紫色にして其判別困難なり、次にこの稀薄液に對して施行せる卵白鐵鹽酸法による成績は 30 萬分 1 添加のものは極微紫色を呈し之を識別し得べく 40 萬分 1 以下の分量を添加せるものは殆ど呈色せず、又試薬を 12.5cc 添加するも 15cc 添加するも呈色の状態は殆ど同一なることを認めたり。

前述の如く本呈色反應は從來應用せられたる諸多のホルムアルデヒド反應中類似反應を伴ふこと最も少く殆どホルムアルデヒド固有の呈色反應とも認め得べきものにして其呈色液澄明にして長時間之を保存するも變色せざることは最も重視すべき點なり即ち本法を應用して飲食物中微量のホルムアルデヒドを検出せんとするに當りては一定のホルムアルデヒドを含有する標準溶液を調製し之と比較對照して其含量を概測し得るが故に其判定をして一層正確ならしめ得べく之を實地に應用するに當りては最も有力なる呈色反應たるべきことを信ずるものなり。

引 用 文 獻

1. T. Sabalitischka u. C. Harnisch; Pharm. Zentralhalle. 67, 289, 309, 324, 339, 357, 371, 387, (1926)
2. A. Adamkiewicz; Pflügers Arch. Bd. 9, 156, (1874)
3. O. Fürth u. E. Nobel; Biochem. Ztschr. Bd. 109, 103, (1920)
4. O. Fürth u. Fr. Lieben; Biochem. Ztschr. Bd. 109, 124, (1920)

5. O. Hehner; Analyst 21, 94. Chem. Zentralbl. 1, 1145, (1896)
6. N. Leonard u. H. Smith; Chem-Ztg. 23, 48, (1899)
7. A. G. Luebert; Journ. Amer. Chem. Soc. 23, 682, (1901) Chem. Zentralbl. 11, 900, (1901)
8. P. H. Alcock; Pharmac. Journ. 23, 28, (1906) Chem. Zentralbl. 2, 825, (1906)
9. M. B. Viosenets; Ztschr. Angew. Chem. 20, 79, (1907)
10. F. V. Fillinger; Ztschr. f. Unters. d. Nahr.-u. Genüßsm. 16, 226, (1908)
11. A. Ramsay; Chem. News. 98, 288, (1908) Chem. Zentralbl. 1, 469, (1909)
12. CH. H. Lawall; Amer. Journ. Pharm. 81, 394, (1909) Chem. Zentralbl. 11, 1736, (1909)
13. E. Salkowski; Bioch. Ztschr. 68, 338, (1915)
14. Leach; Ztschr. f. Unters. d. Nahr.-u. Genüßsm. 28, 230, (1914). Biochem. Ztschr. 65, 86, (1914)
15. 柳澤秀吉, 丸山敬夫; 藥學雜誌, 第412號 482頁 (大正五年)
16. 衛生試験所彙報; 第17號 105頁 (大正九年)
17. 衛生試験所彙報; 第41號 160頁 (昭和八年)

昭和八年四月

燻製肉類中ホルムアルデヒド試験法に就て

技 手 服 部 安 藏
助 手 長 谷 部 俊 彦

内 容 目 次

- | | |
|-------------------------------------|-----------------------|
| 1. 緒 言 | 就て |
| 2. 水蒸氣蒸溜法と直接蒸溜法との比較試験 | 6. 市販及水産講習所寄贈に係る燻製肉類に |
| 3. 市販及水産講習所寄贈燻製肉類に對し直接蒸溜法に依りて施行せる試験 | 對し新試験法に依りて施行せる試験 |
| 4. 機タングステン酸處理法に依りて施行せる試験 | 7. 燻製肉類中ホルムアルデヒド試験法の— |
| 5. 燻製肉類中ホルムアルデヒド新試験法に | 改正案に就て |
| | 8. 總 括 |

1. 緒 言

燻製肉類中のホルムアルデヒド試験法に關しては先年當所石尾及青木氏等（衛生試験所彙報第 18 號 211 頁）に依りて詳細調査報告せられたるところにして同氏等は市販及水産講習所寄贈燻製肉類 20 種に對し獨逸公定試験法に準據し水蒸氣 蒸溜を行ひて 50cc を溜取し一は溜液其儘他は其 1cc を水 4cc にて稀釋し之に就き (1) 牛乳、鹽化鐵及鹽酸を用ふる獨逸公定豫試験法、(2) 鹽酸フェニールヒドラチン、鹽化鐵及鹽酸を用ふるヴィタリー氏法、(3) 鹽酸フェニールヒドラチン、ニトロプルシットナトリウム及ナトロン鹼液を用ふるリミー氏法、(4) 卵白及鹽化鐵鹽酸を用ふる柳澤、丸山氏法を應用し試験したる結果其製造工程中木屑等の燻烟に由り製品中に通例 5 萬分 1—1 萬分 1 に相當するホルムアルデヒド反應を生起する成分を移行し其最大の場合に於ても 5 千分 1 を超過すること無く更に獨逸公定確定試験法によりて檢するにウロトロピン昇汞結晶及マイエル試薬に依りて結晶を析出するもの一も無きことを報告せられたり。

今前記獨逸公定試験法に就て考ふるに其確定試験たる昇汞及マイエル試験に依る結晶法は技術上多大の熟練を必要とする試験法にして往々にして比較的著量のホルムア

アルデヒドの存在を看過すること無きを保し難く斯の如きは衛生取締上最も憂慮すべき事項にして余等は寧ろ技術上の巧拙によりて鑑識を誤ること無き適當なる呈色反應を撰用し之を實地取締上に適用することは衛生的見地より觀て最も妥當なりと信じたるを以て之に就きて研究せり。

余等は先年衣笠所長指導のもとに蟹、烏賊及章魚等の如き天然にホルムアルデヒド反應を生起する成分を含有する魚肉類の試験法に關し報告（衛生試験所彙報第 39 號 177 頁）し該反應を生起する成分は之等魚肉類中の特種蛋白質の分解によりて生起するものにして之等蛋白質を磷タングステン酸によりて沈澱せしめ其濾液に就きて試験するときは故意に防腐の目的に添加せられたるホルムアルデヒドを明瞭に識別し得べきことを報告せり。余等は前記の方法を燻製肉類中のホルムアルデヒド試験法に應用し更に之を改善して著しく簡易ならしめ取締上に適用し充分所期の目的を達し得べき試験法を案出せるを以て次に之を報告すべし。

2. 水蒸氣蒸溜法と直接蒸溜法との比較試験

獨逸公定肉類中ホルムアルデヒド試験法は水蒸氣蒸溜を施して得たる溜液に就きて試験するものにして石尾氏等も亦該法に準據して施行せるものなり。然れども水蒸氣蒸溜法に依るときは溜出速度等によりて溜液中に移行するホルムアルデヒドの分量著しく異なることあり。この點を一應吟味する必要を認めたるを以て溜出速度等を一定ならしめ直接蒸溜法と比較試験せり、其試験法次の如し。

A. 水蒸氣蒸溜法

檢肉の細判せるもの 30g を内容約 500cc のコルベンに取り水 200cc を加へて均等に分布し 30 分間放置したる後 25% 磷酸 10cc を加へ 5 分間に約 50cc を得る溜出速度に於て水蒸氣蒸溜を行ひ 50cc 宛 2 回溜取せり。

B. 直接蒸溜法

檢肉の細判せるもの 30g をコルベンに取り蒸溜水 200cc を加へ栓塞し時々振盪しつつ 1 時間放置したる後 25% 磷酸 10cc を加へ再び時々振盪しつつ 1 時間放置したる後濾過し内容約 500cc のコルベンに容れ素焼の小破片數箇を添加し石棉板上に熱し 5 分間に約 5cc を得る溜出速度に於て蒸溜し 50cc 宛 2 回溜取せり。

今市販のハム肉、燻製鮭、燻製鮭並水産講習所より寄贈に係る鮭及鮭の燻製品に就き前記 A,B 兩法に依りて蒸溜し得たる溜液を以て各呈色反應を検したるに其成績次の如し。

第 一 表

檢體種別	試験方法	溜液 番 號	リミニー 反應石尾 氏改良法	卵白鐵鹽酸法	グイタリ ー法	ザバリチユ カリゼン ベルグ法	シュリー フェル法	フクシン 亜硫酸法
ハム肉 (市販品)	水蒸氣蒸溜法	第 1	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず
		第 2	〃	〃	〃	〃	〃	〃
	直接蒸溜法	第 1	〃	〃	〃	〃	〃	〃
		第 2	〃	〃	〃	〃	〃	〃
燻製鮭 (市販品)	水蒸氣蒸溜法	第 1	〃	〃	〃	〃	〃	〃
		第 2	〃	〃	〃	〃	〃	〃
	直接蒸溜法	第 1	〃	〃	〃	〃	〃	〃
		第 2	〃	〃	〃	〃	〃	〃
燻製鮭 (市販品)	水蒸氣蒸溜法	第 1	濃 青	濃紫(7萬分1)	濃 赤	濃 赤	濃 赤	濃藍紫
		第 2	濃 青	濃紫(7萬分1)	濃 赤	濃 赤	濃 赤	濃藍紫
	直接蒸溜法	第 1	濃 青	濃紫(10萬分1)	濃 赤	濃 赤	濃 赤	濃藍紫
		第 2	濃 青	濃紫(15萬分1)	濃 赤	濃 赤	濃 赤	藍 紫
燻製鮭 (水産講習所寄贈品)	水蒸氣蒸溜法	第 1	青	微紫(40萬分1)	赤	赤	赤	淡藍紫
		第 2	淡 青	微紫(40萬分1弱)	赤	赤	赤	淡藍紫
	直接蒸溜法	第 1	微 青	微紫(40萬分1)	赤	赤	赤	微藍紫
		第 2	極微青	微紫(50萬分1)	微 赤	微 赤	微 赤	呈色せず
燻製鮭 (水産講習所寄贈品)	水蒸氣蒸溜法	第 1	呈色せず	極微紫(60萬分1)	呈色せず	呈色せず	淡 赤	〃
		第 2	〃	呈色せず	〃	〃	呈色せず	〃
	直接蒸溜法	第 1	〃	〃	〃	〃	〃	〃
		第 2	〃	〃	〃	〃	〃	〃

備考 前記反應中リミニー反應石尾氏改良法は衛生試験所彙報第41號 160 頁記載の方法に據り卵白鐵鹽酸法は前記余等の報告せる方法に基き其他は衛生試験所彙報第 39 號 180 頁の方法に據れるものにして孰れも溜液 5cc を使用せり。

前記試験成績に依れば直接蒸溜法に依れるものは水蒸氣蒸溜法に依れるものに比して呈色反應稍微弱の感あるも充分之に代用し得べきことを認めたり。

3. 市販及水産講習所寄贈燻製肉類に對し

直接蒸溜法によりて施行せる試験

前記の豫試験により直接蒸溜法は充分從來の水蒸氣蒸溜法に代用し得べきことを認めたるを以て更に左記 26 種の檢體に就き直接蒸溜法によりて試験せり。今檢品の外觀、重量、購入價格、製造元並購入及寄贈先を示せば次の如し。

第 二 表

檢體 番 號	檢體種別	外 觀	肉 量 (g)	液汁量 (g)	購入價格 (錢)	製 造 元	購入又は寄贈先
1	低熱煙煙 鎌倉ハム	外部をベンガラを塗布 せる布にて被包せらる	500	—	160	相州大船驛脇鎌 倉ハム〇〇商會	試験所附近某店
2	同 上	同 上	同 上	—	同 上	同 上	同 上
3	鎌倉ハム	罐詰品	65	5	30	鎌倉郡中和田村 〇〇商會	新宿〇〇商會
4	ハ ム	普通のハムの切身	100	—	40	—	試験所附近某店
5	高熱煙煙 ハ ム	同 上	100	—	43	相州大船驛脇鎌 倉ハム〇〇商會	試験所附近某店
6	煙製ソー セーデ	堅き暗黒色のソーセー ジ	175	—	68	—	新宿〇〇
7	ベーコン	稍脂肪多し	100	—	11	—	同 上
8	煙製鯉	原形の儘煙製とせるも の	150	—	5	北海道産	銀座〇〇
9	同 上	同 上	280	—	10	同 上	新宿〇〇
10	同 上	同 上	900	—	30	—	日本橋〇〇
11	同 上	同 上	200	—	8	—	上野〇〇
12	冷煙製鯉	同 上	500	—	—	北海道水産試験 所製	〇〇〇〇
13	煙製鮭	堅き切身にして肉片は 鮭赤色を呈す	95	—	22	樺太産	水産講習所 銀座〇〇〇〇〇 〇商店
14	同 上	切身をセロファンにて 包めるものにして暗肉 赤色を呈す	90	—	20	北海道産	銀座〇〇〇
15	冷煙製鮭	切身をセロファンにて 包めるものにして鮭赤 色を呈す	110	—	25	同 上	新宿〇〇商會
16	溫煙製鮭	稍水分を含みたる切身 にして柔軟肉赤色を呈 す	100	—	30	—	同 上
17	露西亞式 煙製鮭	同 上	110	—	20	—	同 上
18	煙製鮭	オリーブ油漬罐詰	80	35	35	東京大阪〇〇食 料會社	銀座〇〇〇
19	同 上	切身をセロファンにて 包みたるものにして稍 硬く暗肉赤色を呈す	95	—	20	—	上野〇〇〇〇〇 〇
20	同 上	味付そぼろにして硝子 燻詰とせるもの	125	—	50	東京〇〇〇食料 品研究所	新宿〇〇
21	同 上	鮭肉赤色を呈する切身 なり	90	—	—	同所にて市販品 を購入せるものと 言ふ	水産講習所
22	同 上	鮭肉赤色を呈し稍柔軟 なり	100	—	—	同 上	水産講習所
23	冷煙製鮭	鮭肉赤色を呈する切身	250	—	—	北海道水産試験 所製	同 上
24	煙製鰻巻 鱈	煙製鰻を藁にて被包せ るもの	200	—	—	神奈川縣水産試 験所製	同 上
25	煙製から すみ	セロファンにて被包せ られ稍硬し	70	—	65	—	銀座〇〇
26	煙製鰻	煙製鰻の切身をオリ ーブ油漬とせるもの	65	40	35	—	新宿〇〇

前記檢體に就きて施行せる成績次の如し。

第 三 表

検體 番號	検 體 種 別	溜 液 番 號	リミニー氏 反應石尾氏 改良法	卵白鐵鹽酸反應	ヴィタリ ー反應	ザバリチエ ン カリゼン ベルグ反應	シュリー フェル反 應	フクシン 亞硫酸反 應
1	低熱燐燐倉ハム (外皮部)	{第1 第2	呈色せず 〃	痕 跡 呈色せず	呈色せず 〃	呈色せず 〃	淡 赤 微 赤	呈色せず 〃
2	同 上(内 部)	{第1 第2	〃 〃	〃 〃	〃 〃	〃 〃	呈色せず 〃	〃 〃
3	銻 倉 ハ ム	{第1 第2	微 青 極微青	紫 跡 呈色せず	〃 〃	〃 〃	淡 赤 微 赤	〃 〃
4	ハ ム	{第1 第2	呈色せず 〃	〃 〃	〃 〃	〃 〃	呈色せず 〃	〃 〃
5	高熱燐燐ハム	{第1 第2	〃 〃	〃 〃	〃 〃	〃 〃	〃 〃	〃 〃
6	燐製ソーセージ	{第1 第2	〃 〃	〃 〃	〃 〃	〃 〃	〃 〃	〃 〃
7	ベ ー コ ン	{第1 第2	淡 青 淡 青	淡紫(30萬分1) 微紫(75萬分1)	微 赤 呈色せず	淡 赤 微 赤	濃 赤 赤	淡藍紫 極微藍
8	燐 製 餅	{第1 第2	呈色せず 〃	呈色せず 〃	〃 〃	呈色せず 〃	呈色せず 〃	呈色せず 〃
9	同 上	{第1 第2	淡 青 微 青	淡紫(30萬分1) 微紫(75萬分1)	〃 〃	淡 赤 微 赤	赤 微 赤	微藍紫 呈色せず
10	同 上	{第1 第2	呈色せず 〃	呈色せず 〃	〃 〃	呈色せず 〃	呈色せず 〃	〃 〃
11	同 上	{第1 第2	〃 〃	極微紫(75萬分1) 呈色せず	〃 〃	〃 〃	微 赤 呈色せず	〃 〃
12	冷 燐 製 餅	{第1 第2	微 青 極微青	淡紫(40萬分1) 淡紫(50萬分1)	赤 微 赤	赤 微 赤	赤 微 赤	微藍紫 呈色せず
13	燐 製 鮭	{第1 第2	濃 青 青	濃紫(10萬分1) 紫 (20萬分1)	赤 赤	濃 赤 赤	濃 赤 赤	紫 微 紫
14	同 上	{第1 第2	呈色せず 〃	微紫(75萬分1) 呈色せず	呈色せず 〃	呈色せず 〃	微 赤 呈色せず	呈色せず 〃
15	冷 燐 製 鮭	{第1 第2	濃 青 濃 青	微紫(8萬分1) 濃紫(10萬分1)	濃 赤 濃 赤	濃 赤 濃 赤	濃 赤 濃 赤	濃 紫 紫
16	温 燐 製 鮭	{第1 第2	微 青 呈色せず	淡紫(50萬分1) 極微紫(75萬分1弱)	微 赤 呈色せず	微 赤 呈色せず	赤 微 赤	極微紫 呈色せず
17	露西亞式燐製鮭	{第1 第2	淡 青 微 青	淡紫(30萬分1) 微紫(50萬分1)	微 赤 呈色せず	微 赤 呈色せず	赤 微 赤	微 紫 〃
18	燐 製 鮭	{第1 第2	微 青 呈色せず	淡紫(40萬分1) 微紫(75萬分1)	微 赤 呈色せず	微 赤 呈色せず	赤 微 赤	極微藍 呈色せず
19	同 上	{第1 第2	濃 青 青	濃紫(10萬分1) 濃紫(15萬分1)	濃 赤 赤	濃 赤 赤	濃 赤 濃 赤	濃 紫 紫

20	同	上	{第1	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず
			{第2	〃	〃	〃	〃	〃	—
21	同	上	{第1	青	濃紫(16萬分1)	微 赤	濃 赤	濃 赤	紫
			{第2	淡 青	淡紫(35萬分1)	呈色せず	赤	赤	微藍紫
22	同	上	{第1	微 青	淡紫(40萬分1弱)	〃	微 赤	微 赤	極微藍
			{第2	極微青	微紫(75萬分1)	〃	呈色せず	微 赤	呈色せず
23	冷 燻 製 鮭		{第1	呈色せず	呈色せず	〃	〃	呈色せず	〃
			{第2	〃	〃	〃	〃	〃	〃
24	燻 製 藁 巻 鰯		{第1	〃	〃	〃	〃	〃	〃
			{第2	〃	〃	〃	〃	〃	〃
25	燻 製 からすみ		{第1	〃	〃	〃	〃	〃	〃
			{第2	〃	〃	〃	〃	〃	〃
26	燻 製 鮑		{第1	極微青	微紫(60萬分1)	〃	微 赤	微 赤	〃
			{第2	呈色せず	呈色せず	〃	呈色せず	呈色せず	〃

備考 前表の成績は孰れも溜液 5cc に就き施行せり。

前記市販竝水産講習所寄贈燻製品類に就き直接蒸溜法に依りて試験せる成績に據ればハム類はホルムアルデヒドの反應を呈するもの最も少くソーセージ及ベーコン各一種に就きて試験せるものに於てはベーコンは稍々著明にホルムアルデヒドの反應を呈するもソーセージは全く陰性なり。又燻製鮓は稍々著明に陽性反應を呈し燻製鮭は反應最も顯著なり、其他燻製鰯及燻製からすみは全く陰性にして燻製鮑は微に陽性を示せり。

4. 燐タングステン酸處理法に依りて施行せる試験

前回余等の魚肉類に就て施行せる試験法は數回蒸溜操作を施すを以て稍煩雜なるを免れず、従つて實際的應用に當り不便尠からざるべきを思惟せしめたるを以て種々實驗の結果之を簡易化し次の如き試験法を案出せり。

檢體の細判せるもの 30g をコルベンに取り水 100cc を加へ栓塞し時々振盪しつつ 1 時間放置し次に 50% 硫酸 10cc を加へ再び時々振盪しつつ 1 時間放置したる後濾過し濾液に 5% 硫酸々性 20% 燐タングステン酸溶液を加へ沈澱を完了せしめたる後吸引濾過し濾液に蒸溜水を加へて全量を 200cc となし之を内容約 500cc のコルベンに容れ素焼の小破片數箇を投入し石棉板上に熱し 5 分間に約 5cc を得る溜出速度に於て 50cc 宛 2 回溜取し之に就き各呈色反應を検すべし。

罐詰蟹肉竝前記直接蒸溜試験法に於てホルムアルデヒドの反應を呈せざる燻製鮓及

ハム肉に對しホルムアルデヒドを添加せざるものと10萬分1、5萬分1及2萬分1添加せるものに就き本試験法を應用し各溜液の呈色反應を検し次の成績を得たり。

第 四 表

檢體種別	ホルムアルデヒド添加量	溜液番號	リミニー氏反應石尾氏改良法	卵白鐵鹽酸反應	ヴィタリー反應	ザバリチュカリーゼンベルグ反應	シュリーフェル反應	フクシン亞硫酸反應
罐詰蟹肉	添加せず	{第1	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず
		{第2	〃	〃	〃	〃	〃	〃
同 上	10萬分1添加	{第1	〃	〃	〃	極微赤	微 赤	〃
		{第2	〃	〃	〃	呈色せず	微 赤	〃
同 上	5萬分1添加	{第1	微 青	微紫(50萬分1)	極微紫	微 赤	赤	極微藍
		{第2	極微青	微紫(70萬分1)	呈色せず	微 赤	赤	〃
同 上	2萬分1添加	{第1	青	紫 (2萬分1)	濃 赤	濃 赤	濃 赤	淡 紫
		{第2	微 青	微紫(70萬分1)	赤	赤	赤	微 紫
燻製鮭	添加せず	{第1	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず
		{第2	〃	〃	〃	〃	〃	〃
同 上	10萬分1添加	{第1	〃	〃	極微赤	極微赤	赤	〃
		{第2	〃	〃	呈色せず	呈色せず	淡 赤	〃
同 上	5萬分1添加	{第1	微 青	微紫(40萬分1)	極微赤	赤	濃 赤	極微藍
		{第2	極微青	極微紫(75萬分1)	呈色せず	微 赤	赤	呈色せず
同 上	2萬分1添加	{第1	微 青	微紫(40萬分1)	赤	濃 赤	濃 赤	微 紫
		{第2	微 青	微紫(50萬分1)	呈色せず	赤	赤	極微藍
ハ ム	添加せず	{第1	呈色せず	呈色せず	〃	呈色せず	呈色せず	呈色せず
		{第2	〃	〃	〃	〃	〃	〃
同 上	10萬分1添加	{第1	〃	〃	〃	極微赤	極微赤	〃
		{第2	〃	〃	〃	呈色せず	極微赤	〃
同 上	5萬分1添加	{第1	微 青	微紫(40萬分1)	極微赤	赤	赤	極微藍
		{第2	極微青	極微紫(75萬分1)	呈色せず	微 赤	淡 赤	呈色せず
ハ ム	2萬分1添加	{第1	淡 青	淡紫(30萬分1)	赤	淡 赤	濃 赤	淡藍紫
		{第2	微 青	微紫(60萬分1)	呈色せず	微 赤	赤	極微藍

備考 前表の成績は孰れも溜液 5cc に就き施行せり。

前記試験成績に依れば罐詰蟹肉、燻製鮭及ハム肉はホルムアルデヒドを添加せざるものは各反應孰れも呈色せず 10 萬分 1 添加のものはザバリチュカリーゼンベルグ反應及シュリーフェル反應に於て極微に或は微に呈色せるのみにして其他の反應は何れも陰性なり、然るに 5 萬分 1 添加のものは第一溜液に在りては各反應陽性を示し第二溜液に在りてもヴィタリー反應及フクシン亞硫酸反應以外のものは孰れも陽性を示し 2 萬分 1 を添加するときは第一及第二溜液共に各反應孰れも著明に陽性を示せり。

5. 燻製肉類中ホルムアルデヒド新試験法に就て

前記試験成績に依ればホルムアルデヒド反應を呈せざる罐詰蟹肉、燻製鮭及ハム肉に對しホルムアルデヒドを添加し燐タングステン酸處理法に依りて沈澱を除別したる後之を蒸溜し其溜液に就き直接各呈色反應を検するときは5萬分1以上添加のものより明に之を鑑識し得べきことを認めたり。然るに先年石尾氏等は市販及水産講習所寄贈燻製肉類 20 種に就き水蒸氣蒸溜法に依りて試験せるに之等の製品は通例其製造工程中に5萬分1~1萬分1に相當するホルムアルデヒドを化成し稀に5千分1に達するものあることを報告せられたり。又余等の前記直接蒸溜法に依りて試験せる成績に在りては之を卵白鐵鹽酸法によりて概測するに其第一溜液中には最大の場合8萬分1のホルムアルデヒドを含有し檢品中其大部分は10萬分1より60萬分1の間に於けるホルムアルデヒド含量に相當することを認めたり。故に前記直接蒸溜法を應用するときは各種燻製肉類の多くは防腐劑取締規則に牴觸し販賣に適するものは極めて僅少となるべし。然るに燻製肉類の製造上極めて僅微のホルムアルデヒド反應成績物の化生は全く止むを得ずとせば燻製肉類の販賣を認むる以上之を看過するの外なかるべし。然るときは直接蒸溜法は之を直に取締上に應用することの不適當なるは論を俟たず。

今獨逸公定確定試験法により施行せる石尾氏等の報告によればホルムアルデヒドを含有せざるハム肉に對しホルムアルデヒドを2千分1添加せる場合はウロトロピン昇汞結晶及マイエル試薬による結晶を顯著に析出し5千分1添加のものはウロトロピン昇汞結晶を僅微に析出するもマイエル試薬に依る結晶を析出せず、故に5千分1以下のホルムアルデヒドを含むものは獨逸公定確定試験法に於て許容せらるべき範圍内に屬し同氏等の試験せる燻製品中には之に牴觸するもの一も無きことを報告せられたり。然れどもこの結晶法による確定試験法は既に緒言中に述べたるが如く技術者の習熟の如何によりて検出し得る分量を異にし果して總ての場合5千分1程度の分量を確實に検出し得るや否や疑はしく又之を從來の報告竝今回余等の施行せる成績に徴するに許容限界點を獨逸公定法に於けるが如く寛大にせざれば取締法の運用上に支障を來すものとは思考せられず、況んや石尾氏等の報告に依れば5千分1の如き著量のホルムアルデヒドを含有するものは極めて稀有のことにして其大部分は1萬分1よりも微量の

ものに屬す斯の如く燻製肉の製造上微量のホルムアルデヒドの混入は到底免かるべからざるものとせば衛生上危険なりと認むべき限界量の發見を必要とするに至るべく従つて其限界量を顧慮して之が試験法を考案すべきを緊要なりと認む。而してホルムアルデヒドの有害性に關し本年3月當所伊東技師の報告せる調書に就きて見るに連日攝取せる場合の人體に對する最少作用量はウイレー氏の實驗によれば1日量0.1gにして之をエックレス氏の所謂防腐劑としての最大許容量即ち其20分1とせば0.005gに相當し之を燻製肉の場合に就きて考ふるに今假りに1日平均50gを攝取するものとせば其中に0.005g即ち1萬分1以下にホルムアルデヒドを含有するものを攝取せざれば衛生上有害の危険あるものと認めらる。故に寧ろ衛生的見地より之を考察するときは1萬分1以上のホルムアルデヒドを含有する製品は須らく其製造法に改良を命じこの限界量を超過せざる良品の製造を強要することは保健衛生上最も妥當なるを思惟せしめたり。

今余等の施行せる試験法の研究經過を示せば次の如し。

ホルムアルデヒドの呈色反應を示さざるハム肉、燻製肉及同鮭の3種を選び之を細判し其30gをコルベンに取り蒸溜水100ccを加へ之に1千分1より10萬分1に至る各分量のホルムアルデヒドを添加し密栓して冷所に一夜間放置の後50%硫酸10ccを加へ時々振盪しつゝ1時間放置したる後濾過し濾液に5%硫酸含有20%磷タングステン酸溶液を加へ沈澱を完了せしめ吸引濾過し濾液に蒸溜水を加へて全量を200ccとなし之を内容約500ccのコルベンに容れ素焼の小破片數箇を添加し石棉板上に熱し5分間約5ccの溜出速度に於て20ccを溜取し一は直接溜液を用ひ他は溜液1分を蒸溜水4分にて稀釋せるものに就き次の呈色反應を検せり。

A. リミーニ反應石尾氏改良法 檢液5ccに就き試験せり。

B. 卵白鐵鹽酸法 檢液3ccを水2ccにて稀釋したるものに就き試験せり。

C. フクシン亞硫酸法 檢液5ccに濃硫酸1ccを發熱せざる様注意して混合し次にメチールアルコール試験法に規定せられたるフクシン亞硫酸溶液5ccを加へ栓塞し軽く搖動し

て混和せしめ2時間放置後に観察せり。

前記試験法に基きて施行せる成績次の如し。

第五表 (イ) ハム肉に就きて施行せる成績

試験法 溜液採取量		直接溜液に就き施行す			溜液1分を水4分にて稀釋せるものに就き施行す	
		リミニー反應 石尾氏改良法	卵白鐵鹽酸法	フクシン亞流 酸法	リミニー反應 石尾氏改良法	卵白鐵鹽酸法
		溜液 5cc	溜液 3cc 水 2cc	溜液 5cc	稀釋液 5cc	稀釋液 3cc 水 2cc
ホルムアルデヒド添加量	添加せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず
	10 萬分 1	〃	〃	〃	〃	〃
	7 萬 5 千分 1	〃	〃	〃	〃	〃
	5 萬分 1	〃	〃	〃	〃	〃
	2 萬 5 千分 1	淡 青	淡紫(50萬分1弱)	微 藍	〃	〃
	2 萬分 1	淡 青	淡紫(50萬分1強)	淡 藍	〃	〃
	1 萬 5 千分 1	青	淡紫(45萬分1)	淡 紫 藍	〃	〃
	1 萬分 1	濃 青	紫 (20萬分1強)	紫	微 青	淡紫(50萬分1弱)
	8 千分 1	濃 青	紫 (14萬分1)	紫 紅	淡 青	淡紫(50萬分1)
	6 千分 1	濃 青	濃紫(10萬分1)	紫 紅	淡 青	淡紫(50萬分1強)
	4 千分 1	極 濃 青	濃紫(5萬分1)	濃 紫 紅	濃 青	淡紫(25萬分1)
	2 千分 1	極 濃 青	濃紫(3萬分1)	濃 紫 紅	極 濃 青	紫 (15萬分1)
	1 千分 1	極 濃 青	濃紫(1萬分1)	濃 紫 紅	極 濃 青	濃紫(5萬分1)

(ロ) 燻製鯡に就きて施行せる成績

試験法 溜液採取量		直接溜液に就き施行す			溜液1分を水4分にて稀釋せるものに就き施行す	
		リミニー反應 石尾氏改良法	卵白鐵鹽酸法	フクシン亞流 酸法	リミニー反應 石尾氏改良法	卵白鐵鹽酸法
		溜液 5cc	溜液 3cc 水 2cc	溜液 5cc	溜液 5cc	溜液 3cc 水 2cc
ホルムアルデヒド添加量	添加せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず
	10 萬分 1	〃	〃	〃	〃	〃
	7 萬 5 千分 1	〃	〃	〃	〃	〃
	5 萬分 1	〃	〃	〃	〃	〃
	2 萬 5 千分 1	青	淡紫(50萬分1弱)	微 藍	〃	〃
	2 萬分 1	濃 青	淡紫(50萬分1)	淡 藍	〃	〃
	1 萬 5 千分 1	濃 青	淡紫(40萬分1)	淡 紫 藍	〃	〃
	1 萬分 1	濃 青	紫 (25萬分1)	濃 紫	微 青	淡紫(50萬分1弱)
	8 千分 1	極 濃 青	紫 (20萬分1)	濃 紫	淡 青	淡紫(50萬分1)
	6 千分 1	極 濃 青	濃紫(10萬分1弱)	濃 紫 紅	淡 青	淡紫(50萬分1)
	4 千分 1	極 濃 青	濃紫(5萬分1弱)	濃 紫 紅	濃 青	紫 (25萬分1)
	2 千分 1	極 濃 青	濃紫(4萬分1)	濃 紫 紅	極 濃 青	紫 (20萬分1)
	1 千分 1	極 濃 青	濃紫(1萬分1弱)	濃 紫 紅	極 濃 青	濃紫(6萬分1)

(ハ) 燻製鮭に就きて施行せる成績

		直接溜液に就きて施行す			溜液1分を水4分にて稀釋せるものに就き施行す	
試験法 溜液採取量		リミニー反應 石尾氏改良法	卵白鐵鹽酸法	フクシン亞硫酸法	リミニー反應 石尾氏改良法	卵白鐵鹽酸法
		溜液 5cc	溜液 3cc 水 2cc	溜液 5cc	溜液 5cc	溜液 3cc 水 2cc
ホルムアルデヒド添加量	添加せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず
	10 萬 分 1	〃	〃	〃	〃	〃
	7 萬 5 千 分 1	〃	〃	〃	〃	〃
	5 萬 分 1	〃	〃	〃	〃	〃
	2 萬 5 千 分 1	淡 青	淡紫(50萬分1)	微 藍	〃	〃
	2 萬 分 1	青	淡紫(50萬分1強)	淡 藍	〃	〃
	1 萬 5 千 分 1	濃 青	淡紫(40萬分1)	淡 紫 藍	〃	〃
	1 萬 分 1	濃 青	紫 (25萬分1)	濃 紫	微 青	淡青(50萬分1)
	8 千 分 1	濃 青	紫 (20萬分1)	濃 紫	青	淡紫(40萬分1)
	6 千 分 1	極 濃 青	濃紫(10萬分1)	濃 紫 紅	青	淡紫(30萬分1)
	4 千 分 1	極 濃 青	濃紫(5萬分1)	濃 紫 紅	濃 青	淡紫(25萬分1)
	2 千 分 1	極 濃 青	濃紫(4萬分1)	濃 紫 紅	極 濃 青	紫 (20萬分1)
	1 千 分 1	極 濃 青	濃紫(1萬分1)	濃 紫 紅	極 濃 青	濃紫(5萬分1)

前記試験成績を通覽するにハム肉 燻製鮭及燻製鮭肉の示す呈色反應は孰れも殆ど同一の關係を示し直接溜液に就きて施行せる成績に於てはホルムアルデヒド2萬5千分1以上添加のものはリミニー反應石尾氏改良法、卵白鐵鹽酸法及フクシン亞硫酸法の諸反應孰れも著明に呈色し溜液1分を水4分にて稀釋せるものは1萬分1添加のものよりリミニー反應石尾氏改良法及卵白鐵鹽酸の兩反應著明に呈色せり。

6. 市販及水産講習所寄贈燻製肉類に就きて施行せる試験

前記ハム肉、燻製鮭及燻製鮭に就きて施行せる成績に依れば溜液1分を水4分にて稀釋せるものに就きリミニー反應石尾氏改良法及卵白鐵鹽酸法によりて試験するにホルムアルデヒド反應を示さざる検肉に對し1萬分1以上添加のものより著明に呈色し容易に之を識別し得べきことを認めたるを以て之を前記第二表に表示したる順序に従ひ市販及水産講習所寄贈の燻製品に就き前法の如く直接溜液を用いたるものと溜液1分を水4分にて稀釋せるものとに就きリミニー反應石尾氏改良法及卵白鐵鹽酸法の兩反應を検し尙參考として稀釋液に就きフクシン亞硫酸反應を検したるに次の成績を示せり。

第 六 表

検 體 番 號	試 驗 法 溜液採取量 檢 體 種 別	直接溜液に就き施行す		溜液 1 分を水 4 分にて稀釋せるものに就き施行す		
		リミニー反應 石尾氏改良法	卵白鐵鹽酸法	リミニー反應 石尾氏改良法	卵白鐵鹽酸法	フクシン亞硫酸法
		溜液 5cc	溜液 3cc 水 2cc	稀釋液 5cc	稀釋液 3cc 水 2cc	稀釋液 5cc
1	低熱燻煙鎌倉ハム	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず
2	同 上	"	"	"	"	"
3	鎌 倉 ハ ム	"	"	"	"	"
4	ハ ム	"	"	"	"	"
5	高 熱 燻 煙 ハ ム	"	"	"	"	"
6	燻 製 ソ ー セ ー ジ	"	"	"	"	"
7	ベ ー コ ン	"	"	"	"	"
8	燻 製 鯡	"	"	"	"	"
9	同 上	"	"	"	"	"
10	同 上	"	"	"	"	"
11	同 上	"	"	"	"	"
12	冷 燻 製 鯡	"	"	"	"	"
13	燻 製 鮭	青	淡紫(30萬分1強)	微 青	極微紫(75萬分1)	極 微 藍
14	同 上	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず
15	冷 燻 製 鮭	濃 青	紫 (20萬分1強)	微 青	微紫(50萬分1弱)	微 紫
16	溫 燻 製 鮭	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず
17	露 西 亞 式 燻 製 鮭	"	"	"	"	"
18	燻 製 鮭	"	"	"	"	"
19	同 上	濃 青	紫 (25萬分1強)	微 青	微紫(60萬分1)	極 微 藍
20	同 上	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず
21	同 上	青	淡紫(40萬分1)	"	"	"
22	同 上	呈色せず	呈色せず	"	"	"
23	冷 燻 製 鮭	"	"	"	"	"
24	燻 製 蕁 卷 締	"	"	"	"	"
25	燻 製 からすみ	"	"	"	"	"
26	燻 製 鮑	"	"	"	"	"

前記試験成績に依れば検品總數 26 種中直接溜液に就きて試験せる場合リミニー反應石尾氏改良法及卵白鐵鹽酸法の兩反應を著明に呈色するものは第 13 號、15 號、19 號及 21 號の 4 種にして之を 4 倍の蒸溜水にて稀釋するときは第 21 號は全く呈色せざるに至り爾他の 3 種のものは依然として著明に呈色しフクシン亞硫酸反應も亦呈色す、しかも之等の檢體は孰れも燻製鮭なるところより考ふれば該製品は其製法上に何等か特殊の事情の存することを想像し得べく其含量は前記第五表の成績より判斷すべし

ば1萬分1以上のホルムアルデヒドを含有するものと認め得べし。前述の如く溜液を4倍の蒸溜水にて稀薄し之に就きリミニー反應石尾氏改良法及卵白鐵鹽酸法によりて試験する方法は之を市販燻製肉類の取締上に應用して最も適當なるものと思はせらる。即ち本試験法に依りて檢するに1萬分1以上のホルムアルデヒドを含有すと認むべきものは檢品總數26種中3種(11.5%)にして之を燻製鮭に就て看るに總數11種中3種即ち27.2%に相當し大部分のものは1萬分1以下のホルムアルデヒドを含有するものなることを認めたり。

7. 燻製肉類中のホルムアルデヒド試験法の一改正案に就て

前記試験成績に基き燻製肉類中のホルムアルデヒドの許容限界量を1萬分1と假定せば次の如き試験法を以て最も適當なりと認む。

燻製肉類中ホルムアルデヒド試験法案

檢體の細判せるもの30gを硝子壺に取り蒸溜水100ccを加へて栓塞し時々振盪しつゝ1時間放置し次に50%硫酸10ccを加へ時々振盪しつゝ更に1時間放置したる後濾過し濾液に5%硫酸含有20%磷タングステン酸溶液を加へ沈澱を生ぜざるに至り吸引濾過し濾液に蒸溜水を加へて全量を200ccとなし之を内容約500ccの硝子壺に容れ素焼の小破片數箇を添加し石綿板上に熱し5分間約5ccの溜出速度に於て蒸溜し溜液20ccを取り其1分を水4分にて稀釋し次の試験を行ふべし。

(A) 溜液5ccを試験管に取り之に新に製したる約1%の鹽酸フェニールヒドラチン溶液0.5ccを加へ10分間放置の後1%ニトロプルシットソーダ溶液2滴を加へ更に5分間經過後1%ナトロン鹼液2滴を加ふ。

(B) 溜液3ccを試験管に取り水2cc及卵白鐵鹽酸溶液15ccを加へ試験管を沸湯中に浸漬し5分間熱したる後直に冷却すべし。

卵白鐵鹽酸溶液。生鶏卵白10gに水40ccを加へ振盪して得たる溶液を30%の鹽酸20cc中に徐々に混和したる後數分間約35°に溫め凝固せる蛋白質を濾過し濾液を30%鹽酸55cc中に攪拌しつゝ混和して得たる澄明液に新製0.5%鹽化第二鐵溶液0.75ccを加へて製すべし。

前記(A)試験に於て青色を呈し(B)試験に於て紫色を呈するときはホルムアルデ

ヒドの存在を徴す。

8. 總 括

以上の試験成績に基き之を總括すること次の如し。

1. 燻製肉類中のホルムアルデヒド試験に於て獨逸公定法による水蒸氣蒸溜法と直接蒸溜法とを比較試験したるに直接蒸溜法は水蒸氣蒸溜法に比してホルムアルデヒドの溜出稍劣るも充分之に代用し得べきことを認めたり。
2. 市販及水産講習所寄贈に係る燻製肉類 26 種に就き直接蒸溜法に依りて試験したるソーセージ、鯔及カラスミはホルムアルデヒドの反應全く陰性にしてハム肉は 5 種中 2 種僅微に陽性を示し其他は陰性なり。ベーコン及鮭は稍著明に呈色反應を現はし鮭は 11 種中 9 種陽性を示し 8 種は反應最も顯著にして燻製鮑は微に陽性を示せり。
3. 燻製肉類中ホルムアルデヒドの試験に對し隣タングステン酸處理法を應用し罐詰蟹肉竝に直接蒸溜試験法に於てホルムアルデヒド反應を示さざる燻製鮭及ハム肉に夫々ホルムアルデヒドを添加し 50cc 宛 2 回蒸溜せる溜液に就きて試験せるに 5 萬分 1 添加のものより孰れも著明なる呈色反應を認めたり。
4. ホルムアルデヒドの反應を示さざるハム肉、鮭及鮭の燻製品に對し夫々ホルムアルデヒドを添加し冷所に一夜間放置したる後隣タングステン酸法を施し其 20cc を溜取し一は直接溜液を用ひ他は溜液 1 分を蒸溜水 4 分にて稀釋せるものに就き各其 5cc に對しリムーニール反應石尾氏改良法又溜液 3cc を蒸溜水 2cc にて稀釋せるものに就き卵白鐵鹽酸反應を検し尙ほ參考として直接溜液 5cc に就きフクシン亞硫酸反應を検したるに直接溜液に就きて試験せる場合はホルムアルデヒド 2 萬 5 千分 1 添加の際 3 反應共孰れも著明に陽性を示し稀釋液に於ては 1 萬分 1 添加のものより顯著なる陽性反應を呈することを認めたり。
5. 市販竝水産講習所寄贈に作る燻製品 26 種に就き前記試験法を應用したるに溜液を直接試験したる場合著明に呈色し 2 萬 5 千分 1 以上のホルムアルデヒドの含存を示すものは 4 種にして之を 4 倍の蒸溜水にて稀釋するときは 3 種（燻製鮭）のみ依然として著明に呈色し 1 萬分 1 以上のホルムアルデヒドの含存を示せり。
6. 燻製肉類に對し獨逸公定試験法に準據してホルムアルデヒドの試験を施すときは

5 千分 1 以上の含有量にあらざれば之を確證するを得ざるは石尾氏等の試験によりて明かにせられたるところにして若し該試験法を燻製肉類に適用せんか當然 5 千分 1 程度迄看過せらるることとなるも斯の如きは稍寛容に過ぐるを思惟せしむるところにして之を 1 萬分 1 程度に保持するときは保健衛生上最も妥當なりと信じたるを以て之に適用すべき一改良試験法案を提出せんとす。

昭和八年五月

ニパギンA、ニパギンM及ニバゾールMと稱する 防腐劑の醬油に對する防黴効力試験成績

技 師 石 尾 正 文
技 手 遠 藤 與 作

昭和8年5月22日付衛保第262號を以て衛生局よりの照會に従ひ標記の試験を施行したり、其成績左の如し。

試 験 品

試験品は3種にして衛生局より送附の品には Nipagin A, Nipagin M, Nipasol M の名箋を附す、但し添付書類中の記名にはニバゾール M の名稱無く單にニバゾールと記載す。

各試験品の外觀、性狀、反應、純度等次表の如し。

化學的試験成績表

試 験 項 目		ニ パ ギ ン A	ニ パ ギ ン M	ニ バ ゾ ー ル M
外 觀		白色結晶性の粉末	同 左	同 左
溶解度	0.1gを溶解するに要する水の量	約 150g	約 80g	約 300g
	1.0gを溶解するに要するアルコールの量	約 2.2g	約 2.5g	約 2g
灰 分	(0.2gを熱灼したる時の残留物)	殆 無 し	同 左	同 左
融 點		117°~121°	125°~126°	100°~104°
成分の鑑 識	パラオキシ安息香酸の反應	鹼化物より酸性物質を抽出し之にミロン氏試薬を加ふるに赤色を呈す	同 左	同 左
	エステルを形成する各種アルコールの鑑識	鹼化物の溜液に付試験すヨードカリ溶液に由てヨードホルム(エチルアルコールの反應)を生ず	メチルアルコールの反應顯著	プロピルアルコールの特異臭顯著
遊離パラオキシ安息香酸の有無檢定		殆 檢 出 せ ず	檢 出 せ ず	殆 檢 出 せ ず

(1) メチルエステルの有無検定		検出せず	—	検出せず
純度%	試 験 品	パラオキシ安息香酸の エチルエステルとして 101.45	同左酸のメチルエステ ルとして 98.94	同左酸のプロピルエス テルとして 101.89
	苛性加里上に真空乾燥 したるもの	100.49	100.10	101.31

尙試験品を重炭酸ソーダ溶液を以て処理したる後再結晶して精製したるものは次表の如き成績を與ふ。

試 験 項 目		ニ バ ギ ン A	ニ バ ギ ン M	ニ バ ザ ール M
融	點	118.5°	129°	98°
文 獻 上 の 融 點		パラオキシ安息香酸の エチルエステル 113°	同左酸のメチルエステ ル 131°	同左酸のプロピルエス テル 96.2°
純 度	%	100.21	99.92	100.72

註 前記各項の試験方法中遊離パラオキシ安息香酸の存否検定試験及純度試験は次の方法に據れり。

遊離パラオキシ安息香酸の存否検定 試験品 1g を取り 10% の重炭酸ソーダ溶液 2cc を加ふ。若し試験品中に遊離酸存在すれば此際炭酸ガスを發生し其濾液は之に稀硫酸を加へて酸性となすに白色の結晶性析出物を生ず。

純度の検定 試験品 0.5g を取り二分定規カリ液 25cc を加へ直火にて 1 時間鹼化しフェノールフタレインを標示薬として二分定規鹽酸を以て全く赤色を認めざるに至る迄滴定し鹼化に要せしカリ液の cc よりエステルの含量を算定す。

醬油に對する防黴効力試験

本試験に於ては市販鰯印醬油に水を約 10 對 8 の割合に加へて稀釋しボーメ 15 度の比重を示すもの及水を約 2 割加へて稀釋しボーメ 20 度の比重を示すものの 2 種を試験材料となし前者を用ひたる場合は防黴劑を添加して火入し後者を用ひたる場合は防黴劑を加へて火入したる後醬油黴を移植し各貯藏堪久試験に附したり。

試験に當りては前記稀釋醬油 100cc を内容約 200cc の硝子壺に取り之れにニバギン A は 0.0083g (所定量にして醬油壹石當り 15g の割合) 及其 2 倍量並 3 倍量を添加しニ

ニバギンMは0.011g(所定量にして壹石當り20gの割合)及其2倍量並3倍量。ニバゾールMは0.0056g(所定量にして壹石當り10gの割合)及其2倍量並3倍量を添加し對照試驗にはベタナフトールの0.005g(壹石當り9gの割合)を添加したるものを用意せり。此等の可檢品は60~65度の溫湯中に浸漬し時々壺を振盪しつつ30分間加溫し特にポーメ20度の比重を示す稀釋醬油を材料となしたるものには壺の内容物を一旦冷却したる後生理的食鹽水10ccに對し醬油黴二白金耳の混和物より二白金耳宛を採取して之を添加したり。試驗用の各壺は何れも紙帽にて覆ひ數個の穴を穿ち28度の孵卵器内に於て黴の發生に至る經過を觀察したり。

第1表 ニバギンA、ニバギンM及ニバゾールMの醬油に
對する防黴効力試驗成績(醬油黴を移植せざるもの)

可 檢 品	ニバギンAを添加したる 稀 釋 醬 油			ニバギンMを添加したる 稀 釋 醬 油			ニバゾールMを添加 したる 稀釋醬油			對 照 試 驗	
	0.0083	0.0167	0.025	0.011	0.022	0.033	0.0056	0.011	0.0167	稀釋醬 油其儘	ベタナフトー ルを添加した る稀釋醬油
100cc 中に 添加したる 檢體のg量										0	0.005
外 觀 氣味の變化	變 化 な し	變 化 な し	變 化 な し	變 化 な し	變 化 な し	變 化 な し	變 化 な し	變 化 な し	變 化 な し		變 化 な し
試驗第1日	—	—	—	—	—	—	—	—	—		—
" 第7日	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" 第12日	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" 第17日	—	—	—	±	—	—	—	—	—	—	—
" 第21日	±	—	—	±	—	—	±	—	—	±	—
" 第24日	+	—	—	±	—	—	+	—	—	±	—
" 第29日	卅	—	—	+	—	—	卅	±	—	±	—
" 第32日		—	—	卅	±	—		±	—	+	—
" 第40日		—	—	卅	+	—		+	—	卅	—
" 第50日		±	—		+	—		卅	—		—
" 第60日		±	—		卅	—			—		—
" 第65日		±	—			—			—		—

表中—の記號は可檢品に異狀なきを示し

＋の記號は黴の發生を示し其數多き程甚だしきものにして

±は痕跡なるを示す。

第 2 表 醤油黴を移植したる際に於けるニバギン A,
ニバギン M 及ニバゾール M の防黴効力試験成績

可 検 品	ニバギン A を添加したる 稀 釋 醬 油			ニバギン M を添加したる 稀 釋 醬 油				ニバゾール M を添 加したる稀釋醬油			對 照 試 験	
											稀釋醬 油其儘	ペタナフトー ルを添加した る稀釋醬油
100cc 中に 添加したる 檢體の g 量	0.0083	0.0167	0.025	0.011	0.022	0.033	0.044	0.0056	0.011	0.0167	0	0.005
外 觀 氣味の變化	變 化 し な	變 化 し な	變 化 し な	變 化 し な	變 化 し な	變 化 し な	變 化 し な	變 化 し な	變 化 し な	變 化 し な	—	變 化 し な
試驗第 1 日	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		—
" 第 2 日	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" 第 4 日	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" 第 6 日	—	—	—	±	—	—	—	—	—	—	±	—
" 第 8 日	±	—	—	卅	±	—	—	—	—	—	卅	—
" 第 10 日	+	—	—		+	—	—	±	—	—		—
" 第 13 日	卅	—	—		卅	±	—	卅	—	—		—
" 第 16 日		—	—			卅	—		—	—		—
" 第 20 日		—	—				—		—	—		—
" 第 30 日		—	—				—		—	—		—
" 第 40 日		—	—				—		—	—		—
" 第 50 日		—	—				—		—	—		—
" 第 60 日		—	—				—		—	—		—
" 第 65 日		—	—				—		—	—		—

第 1 表の成績によればニバギン A は所定量 (100cc に付き 0.0083g) に於ては効果を表はさず 2 倍量を使用する時は對照試験に比し 29 日間黴の發生を抑制し 3 倍量を使用したるものによりては試験全期間黴の發生を認めず。

ニバギン M は所定量に於ては防黴の効力を有せず 2 倍量に於ては對照試験に對し 11 日間黴の發生を抑制し 3 倍量に於ては試験期間中黴の發生を認めず。

ニバゾール M を添加したる醤油は所定量 (100cc に付き 0.0056g) に於ては効力を有せざれ共 2 倍量に於ては 8 日間黴の發生を抑制し 3 倍量を添加したるものは試験期間中黴の發生を認めず。

第 2 表の成績によればニバギン A は所定量によりては對照試験に比し 2 日間黴の發育を抑制し 2 倍量を使用したるものによりては試験期間中黴を發生せず。

ニバギン M は所定量に於ては効力を有せず 2 倍量に於て 2 日間、3 倍量に於て 7 日間の黴の發育を抑制するの効果を表し特に試験したる 4 倍量に至り試験期間中黴の發育を抑制し得たり。

ニバゾール M は所定量に於て既に 4 日間黴の發育を抑制し 2 倍量を使用したるものは試験期間中黴の發育を抑制し得るの効果を表せり。

前記第 1 及第 2 の成績表は 3 種の試験品の効力検定に於て並行せる結果を示し効力の優秀なるものより記載すればニバゾール M、ニバギン A、ニバギン M の順序を爲せり。茲に第 2 表の成績中試験全期間中防黴効果を發現したる場合の最底成績を摘録すれば其成績下の如し。

第 3 表 醬油に 2 割の水を加へ醬油黴を投加したる
場合に於ける効力の比較

試 験 品	65 日間黴を發生せざる場合の最少添加量			
	100cc に付		壹石に付	
ニ バ ギ ン A	0.0167g		30g	
ニ バ ギ ン M	0.044g		80g	
ニ バ ゾ ー ル M	0.011g		20g	

結 論

前記の試験成績を總括すれば其歸結次の如し。

1. 試験品の品質に關し定性分析の結果に據れば 3 種共遊離のパラオキシ安息香酸を含有せず、又ニバギン A 及ニバゾール M は該酸のメチルエステルを含有せず、而して其純粹の程度は次表によりて之を検定すれば

	純 度 %	融 點	文 獻 上 の 融 點
ニ バ ギ ン A	101.45	117°~121°	パラオキシ安息香酸エチルエステル 113°
再結晶したるニバギンA	100.21	118.5°	
ニ バ ギ ン M	98.94	125°~126°	上記酸のメチルエステル 131°
再結晶したるニバギンM	99.92	129°	
ニ バ ゾ ー ル M	101.89	100°~104°	上酸のプロピルエステル 96.2°
再結晶したるニバゾールM	100.72	98°	

ニバギン M は品質に於て他の 2 種に優れり、但 3 種共再結晶すれば品質は昂上し略純品に化す。

2. 醤油に對する防黴効力試験成績に據れば各試験品共に効果顯著にして約 2 割の加水行ひたる圈印の稀釋醤油は添加量下記の場合 65 日の全試験期間中黴の發生を抑制したり。

ニバギン A	稀釋醤油 100cc に付	0.0167g	壺石に付	30g の割合
ニバギン M	"	0.044g	"	80g の割合
ニバゾール M	"	0.011g	"	20g の割合

尙上表の割合を以て試験品を添加したる稀釋醤油は外觀及氣味を變化せず。

昭和 9 年 10 月 29 日

引用文獻

- (1) F. Weiss: Zeits. f. unter. d. Lebens. 55. 28.

パラオキシ安息香酸エステル類の毒性調査報告

技 師 伊 東 幹 愛
技 手 東 弘 臣
助 手 汪 文 滔

昭和 8 年 5 月 22 日附衛保 262 號を以て衛生局長より飲食物防腐劑としてパラオキシ安息香酸のメチル、エチル、プロピルの 3 種のエステルに就き防腐作用及之が使用上に於ける衛生上の害否に就き照會ありたる内その防腐作用に就きては石尾技師等に於て調査せるを以て余等はその毒性に就き調査中の處次の如き成績を得たるを以て茲に報告せんとす。

パラオキシ安息香酸のエステル類は中性、無臭、無味にして附加物の反應（性）如何に係はらず使用せられ而も大なる防腐力を有する特點ありとの理由により近來そのメチルエステルはニバギン M、エチルエステルはニバギン A、プロピルエステルはニバゾール M なる商品名の下に諸種の防腐劑として發賣せられ居るを以て既に之に關し多くの報告あり。而も之が殺菌防腐の効に關しては Sabalitschka⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾ に負ふ處多く今醗酵抑制及黃色連鎖狀球菌に對する作用を石炭酸其の他數種の檢體と比較せし報告を見るに次の如し。（石炭酸の効力を 1.0 として計算す）

檢 體 名	醗 酵 抑 制	黃色連鎖狀球菌に對する作用	
		殺 菌	發 育 抑 制
メタオキシ安息香酸	2.2	—	—
パラオキシ安息香酸	2.2	3.6	1.9
” メチルエステル	3.7	2.6	3.0
” エチルエステル	5.3	7.1	8.8
” N—プロピルエステル	25.0	15.0	17.0
” I—プロピルエステル	15.0	13.0	—
” N—ブチルエステル	40.0	37.0	32.0
” アミルエステル	53.0	—	—
” アリルエステル	15.0	12.0	—
” ベンチルエステル	69.0	83.0	109.0
石 炭 酸	1.0	1.0	1.0

次いで *Panicillium glaucum* に對する發育防止濃度をサリチル酸及そのナトリウム鹽に比するに

サリチル酸	サリチル酸ソーダ	パラオキシ安息香酸 メチルエステル
0.214%	4.3%	0.071%

又當所石尾技師等の報告によるも醬油に對しメチルエステルは1萬分の4.4 エチルエステルは1萬分の1.67 プロピルエステルは1萬分の1.1にて防黴作用を示すと云ふ以て安息香酸、サリチル酸の微力なるに對し優れたる防腐力を有すと云ふを得べし。

次に其の毒性に關しては Schübel⁽⁴⁾、Schübel u Manger⁽⁵⁾ の報告あり、次の如し。

		メチルエステル	エチルエステル	プロピルエステル
大及家兎に經口的に 投與せる場合の體重 1kgに對する尿中へ の排泄量	中毒量 致死量	2g 3g 15~40%	4g 5g 7~49%	3~4g 6g 4~21%

而して中毒量に於ては多く尿中蛋白及糖を證明す、然れども中毒量以下に於ては連用するも慢性中毒蓄積作用を來すことなしと報告せり。之をサリチル酸メチルエステル、サリチル酸、サリチル酸ナトリウム、安息香酸及其ナトリウム鹽等の毒性と比較する意味に於て之等の經口的投與に於ける體重1kgに對する致死量を表示するに次の如し。⁽⁶⁾⁽⁷⁾

動物種類	Dosis Pro	サリチル酸 メチルエステル	サリチル酸 ナトリウム	サリチル酸	安息香酸及 其ナトリウム鹽
犬	kg	2.05~2.15g	0.45~0.5g	—	1g中毒、2g致死量
家兎	kg	2.75~2.85g	1.2~1.6g	1.1~1.6g	ca 2g

以上の諸文獻に依り經口的投與に於ける毒性は略々之を知り得たるを以て更に之が生體内に完全に吸収せられたる時の毒性を比較せんと欲しパラオキシ安息香酸のメチル、エチル、プロピルの三エステル及そのナトリウム鹽、遊離酸並びに安息香酸、サリチル酸の7檢體のマウスに對する毒性を皮下注射法に依り試験せり。而して檢體は遊離パラオキシ安息香酸は武田製のもをその各エステル類は夫々衛生局より送付のものなるニバギンM (メチルエステル)、ニバギンA (エチルエステル)、ニバゾール

M (プロピルエステル) を用ひ (その化學的性質に就きては石尾技師等に於て報告せるものなり) 其の他のものは總て局方品を使用せり. パラオキシ安息香酸のエステル類は一般に水に難溶なるを以て他の檢體に於ても試験方法の均一を期する爲, すべて局方アラビアゴム末の助を籍りて所定濃度の乳劑を作り之を健康雄マウスの背面皮下に體重 10g に對し一定量宛注射し以てその症狀を觀察せり. 其成績次の如し.

パラオキシ安息香酸メチルエステル (ニバギン M)

檢液調製法

檢體 1g 及アラビアゴム末 0.5g を乳鉢中にてよく研磨混和し然る後水を加へて乳劑を作り全量を 10cc とす.

雄マウスに對する皮下注射

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		
					注 射 後 一 日 目	二 日 目	三 日 目
1	12.5	0.3	0.375	麻痺して頻死の 状態の如く見え るも翌日全く回復す	生	生	生
2	12.0		0.36		生	生	生
3	13.0		0.39		生	生	生
4	13.0	0.5	0.65	全く衰弱無力の 状態にて回復せ ず	死	死	死
5	13.5		0.675		死	死	死
6	13.5		0.675		死	死	死
7	12.0	0.7	0.84	同 上	死	死	死
8	11.5		0.805		死	死	死
9	11.5		0.805		死	死	死

パラオキシ安息香酸エチルエステル (ニバギン A)

檢液調製法

檢體 1g 及アラビアゴム末 0.5g を乳鉢中にてよく研磨混和し然る後水を加へて乳劑を作り全量を 10cc とす.

雄マウスに對する皮下注射

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		
					注 射 後 一 日 目	二 日 目	三 日 目	注 射 後 一 日 目	二 日 目	三 日 目
10	13.0	0.3	0.39	大なる異狀を認 めざるも元氣衰 ふ	生	生	生	生	生	生
11	12.5		0.375		生	生	生	生	生	生
12	12.5		0.375		生	生	生	生	生	生
13	13.5	0.5	0.675	著しく衰弱し無 力なり	死	死	死	死	死	死
14	12.0		0.625		生	死	死	死	死	死
15	13.0		0.65		死	死	死	死	死	死
16	14.0	0.7	0.98	同 上	死	死	死	死	死	死
17	13.5		0.945		死	死	死	死	死	死
18	13.5		0.945		死	死	死	死	死	死

バラオキシ安息香酸プロピールエステル (ニバゾール M)

檢液調製法

檢體 2g 及アラビヤゴム末 1g を乳鉢中にてよく研磨混和し然る後水を加へて乳劑を作り全量を 10cc とす。

雄マウスに對する皮下注射

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		
					注 射 後 一 日 目	二 日 目	三 日 目	注 射 後 一 日 目	二 日 目	三 日 目
19	13.0	0.3	0.39	大なる變化なし	生	生	生	生	生	生
20	15.0		0.45		生	生	生	生	生	生
21	14.0		0.42		生	生	生	生	生	生
22	14.0	0.5	0.70	無力困憊之狀	死	死	死	死	死	死
23	13.5		0.675		死	死	死	死	死	死
24	13.5		0.675		死	死	死	死	死	死
25	14.0	0.7	0.98	同 上	死	死	死	死	死	死
26	14.5		1.015		死	死	死	死	死	死
27	13.0		0.91		死	死	死	死	死	死

局方サリチール酸 (中和せり)

檢液調製法

検體 0.1g を 2% の重炭酸曹達液に溶解し之にアラビヤゴム末 0.5g を加へて後全量を 10cc の乳劑となす弱アルカリ性反應を呈す。

雄マウスに對する皮下注射

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		
					注 射 後 一 日 目	二 日 目	三 日 目
28	15.0	0.3	0.45	大なる異狀を認めず	生	生	生
29	15.5		0.465		生	生	生
30	16.0		0.48		生	生	生
31	15.5	0.5	0.775	刺戟に依り興奮を見る	死	死	死
32	15.5		0.775		生	生	生
33	14.0		0.70		死	死	死
34	17.5	0.7	1.22	痙攣死を起すものあり	死	死	死
35	16.5		1.15		死	死	死
36	15.5		1.08		死	死	死

局方安息香酸（中和せり）

檢液調製法

検體 0.2g を 4% の重炭酸曹達液に溶解し之にアラビヤゴム末 0.5g を加へて後全量を 10cc の乳劑となす弱アルカリ性反應を呈す。

雄マウスに對する皮下注射

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		
					注 射 後 一 日 目	二 日 目	三 日 目
37	15.0	0.3	0.45	大なる異狀を認めず	生	生	生
38	15.0		0.45		生	生	生
39	16.0		0.48		生	生	生
40	15.0	0.5	0.75	麻痺作用あらはるるも翌日回復す	生	生	生
41	15.5		0.775		生	生	生
42	14.0		0.70		生	生	生

43	14.5		1.01		死	死	死
44	16.5	0.7	1:15	麻痺して元氣なし	死	死	死
45	13.5		0.94		死	死	死

遊離パラオキシ安息香酸

2% 検液調製法

検體 0.2g とアラビヤゴム末 0.2g を乳鉢中でよく研磨混和し然る後水を加へて全量 10cc の乳液となす。

雄マウスに對する皮下注射

動物 番 號	體 重 g	體重 10g に對する 注射量 (cc)	全注射量 (cc)	生			死		
				注射後一日目	二 日 目	三 日 目	注射後一日目	二 日 目	三 日 目
46	10		0.1	生	生	生			
47	10	0.1	0.1	生	生	生			
48	11		0.11	生	生	生			
49	7		0.21	生	生	生			
50	10	0.3	0.30	死	—	—			
51	10		0.30	生	死	—			
52	10		0.5	死	—	—			
53	10	0.5	0.5	生	生	死			
54	12		0.6	生	生	生			

5% 検液の調製

検體 0.5g とアラビヤゴム末 0.5g を乳鉢中で研磨混和し後水を加へて全量 10cc の乳液となす。

雄マウスに對する皮下注射

動物 番 號	體 重 g	體重 10g に對する 注射量 (cc)	全注射量 (cc)	生			死		
				注射後一日目	二 日 目	三 日 目	注射後一日目	二 日 目	三 日 目
55	15.5		0.465	死	—	—			
56	16.0	0.3	0.48	死	—	—			
57	17.0		0.51	死	—	—			

58	15.5		0.775	死	—	—
59	15.0	0.5	0.75	死	—	—
60	15.5		0.775	死	—	—
61	14.0		0.98	死	—	—
62	15.0	0.7	1.05	死	—	—
63	16.0		1.12	死	—	—

パラオキシ安息香酸（中和せり）

検液調製法

検體 1g を重炭酸曹達液に溶解し之にアラビヤゴム末 0.5g を和して全量 10cc の乳劑となす，弱アルカリ性反應を呈す。

雄マウスに對する皮下注射

動物 番 號	體 重 g	體重 10g に對する 注射量 (cc)	全注射量(cc)	生 死		
				注射後一日目	二 日 目	三 日 目
64	16		0.16	生	生	生
65	16	0.1	0.16	生	生	生
66	10		0.10	生	生	生
67	17		0.34	死	—	—
68	15	0.2	0.30	生	生	生
69	16		0.32	死	—	—
70	16		0.48	死	—	—
71	11	0.3	0.33	死	—	—
72	10		0.30	死	—	—

今以上の結果よりその皮下注射法によるマウス 1kg に對する最小致死量を算出し
列擧するに次の如し。

パラオキシ安息香酸メチルエステル（ニバギン M）	5.0g
パラオキシ安息香酸エチルエステル（ニバギン A）	5.0g
パラオキシ安息香酸プロピルエステル（ニバゾール M）	10.0g
遊離パラオキシ安息香酸	0.6g

パラオキシ安息香酸（中和せり）	2.0g
安息香酸（中和せり）	1.4g
サリチル酸（中和せり）	0.5g

總 括

以上文獻及實驗成績より之を見るにパラオキシ安息香酸のエステル類は著明なる醗酵抑制、殺菌力を有し醬油に對しても亦かなりの防黴力を示し殊にプロピルエステル最も優れエチルエステル、メチルエステルの順位に之に次ぐ、然るに毒性は全く反對にしてプロピルエステル最も少くエチルエステル、メチルエステルは余等の成績に於ては數字的に同結果なりしも文獻に於てはメチルエステル毒性最も強しと云ふ。然れども猶之をサリチル酸、安息香酸⁽⁸⁾の夫に比すれば遙に弱し、又田村、木原に依ればパラオキシ安息香酸の腎臓より排泄せらるるに當りて腎酸素消費を來すこと極めて少く殆んど腎刺激を來すことなしと云ふ。故に以上のパラオキシ安息香酸エステル類中エチル及プロピルエステルは比較的毒性少なき防腐劑と認め得べきも之に反しメチルエステルは前二者に比し毒性稍強く其效力劣り且つ體内に吸収後メチルアルコールを遊離する虞あるを以て防腐劑として適當なりと言ひ難し。

引 用 文 獻

- 1) Sabalitschka: Apothekerzeitung, 1928, Bd. 43, s. 671
- 2) Sabalitschka: Pharmazeutica acta Helvetica 1928, Bd. 3, s. 103
- 3) Sabalitschka u. Dietrich: Desinfektion, 1926, Bd. 11, 67, 94
- 4) Schübel: M.m.W., 1930, Bd. 77, s. 13
- 5) Schübel u. Manger: A. pth. 1929, Bd. 146. s. 208
- 6) F. Flury u. F. Zernick: Handbuch d. biol. Arbeitsmethoden, Abderhalden, 1928
- 7) Rost u. a: Arb. a.d. Kais. Ges.-Amt, 1913, Bd. 45
- 8) Tamura K. and Kihara G: Japan. Journ. of Med. Sciences, IV, pharmacolo., VIII 1933, 160

酒精性飲料並製劑中メチールアルコールの試験に就て (第二報)

技 手 服 部 安 藏
助 手 長 谷 部 俊 彦

1. 緒 言

酒精性飲料並藥局方製劑中のメチールアルコール試験に關しては先年衣笠所長と共にライフ氏蒸溜法を應用せる簡便法に就き研究したる結果從來の方法に比し著しく簡單にして少量の檢體を用ひて充分所期の目的を達し得べき改良法を案出報告せり。⁽¹⁾ 其後刈米及天田氏等は前記改良法をアルコール含有製劑中のメチールアルコール檢出法に應用せる試験成績を報告せり、⁽²⁾ 而して之等の試験に應用するフクシン亞硫酸反應はメチールアルコールの酸化によりて化生するホルムアルデヒドの固有反應に非ず常に傍生するアセトアルデヒドも亦同一反應を呈するを以て該試験法に於ては酸化液中に濃硫酸 1cc を添加してアセトアルデヒドの呈色反應を抑制するを必要とせり。然れ共種々の揮發性成分を含有する檢體に在りては其蒸溜液のカメレオン酸化によりてアセトアルデヒドの外尙ほ類似反應を生起する物質を化生すべく之等物質も亦常に濃硫酸 1cc の添加によりて其反應を完全に抑制せらるるや否や之等の關係は未だ明瞭ならざるものあり、殊に植物性揮發油類を含有する檢體に在りては試藥添加直後著明に呈色し 1 時間以内に消失することあるは屢々經驗するところなり。斯の如くフクシン亞硫酸反應を以て最後の判定となす試験法の場合には尙ほ研究の餘地あることを認めたるを以て衣笠所長指導のもとに研究を繼續し從來のフクシン亞硫酸反應の代りに余等の實驗の結果殆どホルムアルデヒドの固有反應とも認め得べき卵白鐵鹽酸反應⁽³⁾の應用を企圖し先づ酒精に就き試験し其溜液のカメレオン酸化液に直接該試藥を添加したるに全く呈色せざりしを以て酸化液を再溜し卵白鐵鹽酸反應と共に石尾氏改良リミニー反應及フクシン亞硫酸反應等に依りて檢したるに其初溜液 1cc 中にはホルムアルデヒド

を殆ど移行せざるか又は極微量移行するに過ぎずして大部分は第2溜液 5cc 中に含有せらるることを認めたり。依つて更に本印葡萄酒、清酒及焼酎並之等に種々の割合にメチールアルコールを添加せるものに就き前記反應を比較研究したるに卵白鐵鹽酸反應及石尾氏改良リミニー反應は極めて正確なる成績を示すも呈色鋭敏に過ぎ純酒精の試験に於けるが如く痕跡のメチールアルコールに對しても之れが試験を要する場合以外には適せざることを認めたり。然るにフクシン亞硫酸反應は從來の試験法に比し其呈色鋭敏度稍低下すと雖もアセトアルデヒド及其他の揮發性成分に依りて影響せらるること一層少なく天然に含有する極微量のメチールアルコール若しくは其他の不純物による類似反應は殆ど之を除別し得べきを認めしめたるを以て此關係に於て從來最も問題となれるチンキ劑及酒精製劑に就き之を應用せるに未だ全く完全とは稱し難しと雖も從來の試験法に比し一段の進歩せるものとして推奨する價值あるを信ずるものなり。以下之れが研究の經過並試験成績を示せば次の如し。

2. メチールアルコール含有酒精に對し卵白鐵鹽酸反應の應用に就て

曩に余等の創案せる試験法(以上便宜上今回の再溜試験法に對し直接試験法と稱す)に従ひ處理して得たるカメレオン酸化液に就きフクシン亞硫酸溶液の代りに直接卵白鐵鹽酸試薬を應用したるも全く呈色せず、所期の目的を達成し得ざりしを以て次の如く之を改變せり。

直接試験法に準據し檢液 20cc を内容約 50cc の蒸溜硝子壺に容れ炭酸マグネシア 0.1g-0.5g を加へたる後之に約直角に2回屈曲せる蒸溜硝子管を緊密に連結し硝子壺をアスベスト板上に置き小火焰にて徐々に加熱し 1cc を氷冷せる劃度小試験管中に溜取し其溜液 0.2cc を前記と同形の硝子壺に取り水を加へて總量を 5cc となし之に1% 過マンガン酸カリウム溶液 5cc 及 50% 硫酸 0.4cc を加へ2分間放置したる後 8% 蓼酸溶液 1cc を加へて脱色せしめ素焼小破片數箇を添加し前記と同一方法に依りて氷冷せる劃度小試験管中に 1cc 宛 8 箇蒸溜し各其 1cc に水を加へて總量 5cc とせるものと初溜液 1cc を捨て第2溜液 5cc を集めたるものにと就き夫々卵白鐵鹽酸反應を試験せり。

前記試験法に依りメチールアルコール不含の純酒精を以て調製せる 20% 酒精及之に次表に示す如く種々の割合にメチールアルコールを添加せる檢液に就き施行せる試

驗成績次の如し。

第 1 表

溜液種別		卵 白 鐵 鹽 酸 反 應 (蒸 溜 液 0.2cc)								
木精 添加量 (%)		第1溜液 (1cc)	第2溜液 (1cc)	第3溜液 (1cc)	第4溜液 (1cc)	第5溜液 (1cc)	第6溜液 (1cc)	第7溜液 (1cc)	第8溜液 (1cc)	第2-第6溜 液 (5cc)
20 % 酒精	0.01	微蕪黃	痕 跡	痕 跡	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	極微紫萬 (1/70萬)
	0.02	"	"	"	殆ど呈色 せず	"	"	"	"	極 微 紫 (1/70萬)
	0.03	"	極 微 紫 (1/70萬弱)	"	"	"	"	"	"	微 紫 (1/60萬)
	0.04	"	極 微 紫 (1/70萬弱)	"	痕 跡	殆ど呈色 せず	"	"	"	微 紫 (1/50萬)
	0.05	"	極 微 紫 (1/70萬弱)	極 微 紫 (1/70萬弱)	"	痕 跡	殆ど呈色 せず	"	"	微 紫 (1/40萬)
	0.1	"	微 紫 (1/45萬)	微 紫 (1/50萬強)	微 紫 (1/50萬)	極 微 紫 (1/70萬)	痕 跡	殆ど呈色 せず	"	紫 (1/20萬)
	0.2	"	微 紫 (1/30萬弱)	微 紫 (1/40萬)	微 紫 (1/45萬)	微 紫 (1/45萬)	微 紫 (1/50萬強)	極 微 紫 (1/60萬)	痕 跡	紫 (1/15萬)
	0.3	"	淡 紫 (1/30萬)	淡 紫 (1/30萬)	淡 紫 (1/30萬)	微 紫 (1/35萬)	微 紫 (1/40萬)	微 紫 (1/50萬)	微 紫 (1/70萬)	濃 紫 (1/10萬)
	0.4	"	淡 紫 (1/30萬)	紫 (1/20萬)	淡 紫 (1/30萬)	淡 紫 (1/30萬)	淡 紫 (1/35萬)	微 紫 (1/40萬)	微 紫 (1/50萬)	濃 紫 (1/7萬)
	0.5	"	紫 (1/20萬)	紫 (1/20萬)	紫 (1/20萬)	淡 紫 (1/30萬)	微 紫 (1/35萬)	微 紫 (1/40萬強)	極 微 紫 (1/50萬)	濃 紫 (約1/5萬以 上)
酒 精	1.0	"	濃 紫 (1/7萬)	濃 紫 (1/5萬)	濃 紫 (1/10萬)	濃 紫 (1/10萬弱)	濃 紫 (1/10萬)	微 紫 (1/40萬)	微 紫 (1/50萬)	"
	添加せず	"	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	殆ど呈色 せず

備考 括弧内の數字はホルムアルデヒドとして比色定量せる分量を示す以下之に準ず

前表を見るに初溜液 1cc に就きて試験せるものは檢體中メチールアルコールを添加せるものと否らざるものとを問はず孰れも卵白鐵鹽酸反應陰性にして第2溜液乃至第8溜液に在りてはメチールアルコールを添加せざるものは全く陰性の成績を示しメチールアルコール添加のものは其含量 0.01% 及 0.02% のもののみ第2溜液及第3溜液に於て痕跡程度の呈色を示したるも 0.03% 以上添加のものに在りては添加量の増加に比例して順次著明に陽性を示せり。次に初溜液 1cc を捨て第2溜液として 5cc を溜取せるものはメチールアルコール 0.01% 添加のものに於ても極微紫色 (ホルムアルデヒドとして 1/70 萬) を示し以てメチールアルコールの含存を認め得べく夫れ以上添加のものに於ては何れも明かに之を鑑識し得たり。

尙ほ檢體のアルコール濃度の相違によりて初溜液の呈色に影響を及ぼすこと無きや否やを檢せんが爲め種々の割合にメチールアルコールを添加せる 50% 酒精 10cc 及 5% 酒精 20cc の蒸溜液に對し前記と同一方法によりて再溜せる初溜液及第2溜液に就き

て夫々試験したるに5% 酒精のみはメチールアルコール1% 以上を添加せるものより初溜液微に呈色したるも其他は全部前表20%酒精に於けるものと略々同一成績を示し檢體のアルコール濃度の相違は呈色に殆ど影響を及ぼさざることを認めたり。

3. フクシン亞硫酸反應と卵白鐵鹽酸反應との比較試験

前記メチールアルコール含有5%, 20% 及 50% 酒精に就き再溜液試験法に依りて試験したる成績に依れば初溜液 1cc 中には卵白鐵鹽酸反應を生起する成分を全く移行せざるか又は其微量を移行するに過ぎず其大部分は第2溜液 5cc 中に含有せらるることを認めたるを以て更に 20% 酒精及之に 0.05%, 0.1%, 0.2% 及 0.5% の割合にメチールアルコールを添加せるもの各 20cc を取り其溜液 1cc 中 0.1cc 及 0.2cc を取りて前法の如く處理して得たる初溜液 1cc に就き石尾氏改良リミニー反應⁽⁴⁾ 及フクシン亞硫酸反應を検し次に第2溜液 5cc に就き石尾氏改良リミニー反應, 卵白鐵鹽酸反應及フクシン亞硫酸反應を検し又別に檢液 20cc に就き直接試験法に基き比較試験を施せり其成績次の如し。

第 2 表

檢 體	蒸溜液採取量 (cc)	初溜液 1cc に対し施行せる成績		第2溜液 5cc に対し施行せる成績				直接試験法による成績	
		石尾氏改良リミニー反應	フクシン亞硫酸反應		石尾氏改良リミニー反應	卵白鐵鹽酸反應	フクシン亞硫酸反應		フクシン亞硫酸反應
			1時間後	2時間後			1時間後	2時間後	
20 % 酒 糖 (20cc)	0.1	淡 赤	呈色せず	呈色せず	—	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず
	0.2	"	殆ど呈色せず	"	—	"	"	"	"
0.05% メチールアルコール含有20% 酒精 (20cc)	0.1	"	呈色せず	"	黄 褐	極微紫 (1/60萬)	"	"	極微藍
	0.2	"	殆ど呈色せず	"	"	微 紫 (1/50萬)	"	"	微 藍 痕 跡
0.1% メチールアルコール含有20% 酒精 (20cc)	0.1	"	呈色せず	"	綠	微 紫 (1/50萬)	"	"	"
	0.2	"	殆ど呈色せず	"	綠 青	微 紫 (1/40萬)	"	"	微 藍
0.2% メチールアルコール含有20% 酒精 (20cc)	0.1	"	呈色せず	"	"	淡 紫 (1/30萬)	極微藍	微 藍	"
	0.2	"	殆ど呈色せず	"	青	紫 (1/20萬)	微 藍	淡藍紫	淡藍紫
0.5% メチールアルコール含有20% 酒精 (20cc)	0.1	"	呈色せず	"	"	紫 (1/20萬)	極微藍	微 藍	"
	0.2	"	殆ど呈色せず	"	"	濃 紫 (1/10萬)	微 藍	淡藍紫	藍 紫

備考 前表中初溜液に對する卵白鐵鹽酸反應は孰れも藥黃色或は淡汚褐色を呈したるを以て以下表中總て之を省略せり又酸化後の再溜液に對し施行せるフクシン亞硫酸反應は酸度及試藥の添加量等の諸條件を直接試験法と全く同一ならしめたり。

前表を見るに再溜試験法に依る初溜液 (1cc) は石尾氏改良リミニー反應及フクシン亞硫酸反應共に陰性の成績を示し第2溜液 (5cc) に在りては石尾氏改良リミニー反應はメチールアルコール0.1%添加のものより又卵白鐵鹽酸反應は0.05%添加のものより夫々陽性を示しフクシン亞硫酸反應は0.2%添加のものより呈色し其間に著しき差違を示せり蓋し其理由は前記3反應の呈色鋭敏度の相違 (石尾氏改良リミニー反應はホルムアルデヒド約 $1/40$ 萬 $\sim 1/50$ 萬以上, 卵白鐵鹽酸反應は同じく約 $1/70$ 萬以上及フクシン亞硫酸反應は同じく約 $1/20$ 萬 $\sim 1/30$ 萬以上含有のものより呈色す) に原因するものと謂ふべし而して再溜試験法に依る初溜液中には殆どアセトアルデヒドのみ溜出せるを認むべくフクシン亞硫酸反應試験に於て所定硫酸の添加により該アルデヒドの反應は抑制せられて陰性となるを以て直接試験法に従ひフクシン亞硫酸反應を検するも敢て不可なきが如しと雖もメチールアルコール含量0.1% 以内の微量の場合には多く微藍色を呈し其判定に苦しむ場合少なからず然るに再溜試験法により得たる第2溜液に就き卵白鐵鹽酸反應を検するときはメチールアルコール不含のものは少しも呈色することなく之を含有するときは微量と雖も直ちに紫色を現はし且つメチールアルコール不含の純酒精に所要量のメチールアルコールを添加せる標準溶液を調製し之を檢體と全く同様に處理して卵白鐵鹽酸反應を検し以て比色法によりメチールアルコールの含量を概測し得べきを以て著しく正確なる成績を得べきを認めたり。但し本反應は他の2反應に比し一層鋭敏なるを以て天然に極めて微量のメチールアルコール又は其他の不純物を含有する飲食物の試験に際し如何なる關係を示すべきやを顧慮し次の試験を施行せり。即ち東京衛生試験所の封緘葡萄酒, 市販清酒及燒酎並之にメチールアルコールを0.05%, 0.1% 及0.2%の割合に添加せるものに就き前記と同一方法に依りて試験したるに次の成績を得たり。

第 3 表

検 體	蒸溜液採取量 (cc)	初溜液 1cc に對し施行せる成績				第 2 溜液 5cc に對し施行せる成績				直接試験法による成績	
		石尾氏改良リミニー反應	フクシン亞硫酸反應		石尾氏改良リミニー反應	卵白鐵鹽酸反應	フクシン亞硫酸反應		フクシン亞硫酸反應	フクシン亞硫酸反應	
			1時間後	2時間後			1時間後	2時間後			1時間後
本 印 葡 萄 酒 (メチールアルコール) (添加せず)	0.1	淡 赤	呈色せず	呈色せず	呈色せず	殆ど呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず
	0.2	"	極微藍	"	"	極微紫 (1/70萬弱)	"	"	微 藍	痕 跡	
本 印 葡 萄 酒 (メチールアルコール) (0.05% 添加)	0.1	"	痕 跡	"	綠青	微 紫 (1/40萬)	"	"	"	微 藍	
	0.2	"	極微藍	"	"	微 紫 (1/30萬弱)	"	"	淡藍紫	淡藍紫	
本 印 葡 萄 酒 (メチールアルコール) (0.1% 添加)	0.1	"	痕 跡	"	"	微 紫 (1/30萬弱)	"	極微藍	微 藍	微 藍	
	0.2	"	極微藍	"	"	微 紫 (1/30萬強)	極微藍	微 藍	淡藍紫	淡藍紫	
本 印 葡 萄 酒 (メチールアルコール) (0.2% 添加)	0.1	"	"	"	"	微 紫 (1/30萬強)	微 藍	淡藍紫	"	藍 紫	
	0.2	"	"	"	青	紫 (1/20萬)	淡藍紫	藍 紫	藍 紫	"	
清 酒 (月 桂 冠) (メチールアルコール) (添加せず)	0.1	"	呈色せず	"	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず
	0.2	"	"	"	"	痕 跡	"	"	"	"	
清 酒 (月 桂 冠) (メチールアルコール) (0.05% 添加)	0.1	"	"	"	"	極微紫 (1/60萬弱)	"	"	"	痕 跡	
	0.2	"	"	"	"	微 紫 (1/50萬弱)	"	"	痕 跡	極微藍	
清 酒 (月 桂 冠) (メチールアルコール) (0.1% 添加)	0.1	"	"	"	綠	微 紫 (1/50萬)	"	痕 跡	"	微 藍	
	0.2	"	"	"	綠青	微 紫 (1/40萬)	痕 跡	"	微 藍	淡藍紫	
清 酒 (月 桂 冠) (メチールアルコール) (0.2% 添加)	0.1	"	"	"	"	微 紫 (1/35萬)	"	微 蓋	"	"	
	0.2	"	"	"	青	紫 (1/20萬)	微 藍	淡藍紫	淡藍紫	藍 紫	
燒 酎 (寶 印) (メチールアルコール) (添加せず)	0.1	"	痕 跡	"	綠	微 紫 (1/50萬)	呈色せず	呈色せず	微 藍	微 藍	
	0.2	"	"	"	"	微 紫 (1/45萬)	"	"	"	"	
燒 酎 (寶 印) (メチールアルコール) (0.05% 添加)	0.1	"	"	"	"	微 紫 (1/45萬)	"	"	"	"	
	0.2	"	"	"	綠青	微 紫 (1/35萬)	極微藍	微 藍	"	淡藍紫	
燒 酎 (寶 印) (メチールアルコール) (0.1% 添加)	0.1	"	"	"	"	微 紫 (1/35萬)	"	"	"	"	
	0.2	"	極微藍	"	青	淡 紫 (1/25萬)	微 藍	"	淡藍紫	"	
燒 酎 (寶 印) (メチールアルコール) (0.2% 添加)	0.1	"	"	"	"	紫 (1/20萬弱)	"	淡藍紫	"	藍 紫	
	0.2	"	"	"	"	紫 (1/15萬)	淡藍紫	藍 紫	藍 紫	"	

前表中溜液 0.2cc を取り之を酸化したる後再溜したる場合の成績につき考察するに
 初溜液に就きて施行せる石尾氏改良リミニー反應に在りては總て陰性の結果を示し又
 フクシン亞硫酸反應に於ては試薬添加 1 時間後に於ては痕跡乃至極微藍色を呈したる
 ものあるも 2 時間後には孰れも陰性となりこの部分中には主としてアセトアルデヒド

又は其の他揮發性成分を移行しメチールアルコールより化生せるホルムアルデヒドは殆ど全く移行せざることを認めたり。次に第2溜液に在りては石尾氏改良リミー反應は本印葡萄酒及清酒共にメチールアルコールを添加せざるものは孰れも陰性を示しメチールアルコールを添加せるものは葡萄酒は0.05% 清酒は0.1% 添加のものより緑青色を示し燒酎は之を添加せざるものも綠色を示せり。次に同溜液に對して施行せる卵白鐵鹽酸反應に於てはメチールアルコールを添加せざる場合清酒のみは殆ど呈色せざるも本印葡萄酒及燒酎は共に呈色し0.05%以上を添加するときは總て著明に呈色せり。

斯くの如く前記兩反應は呈色鋭敏に過ぎ葡萄酒又は燒酎等に於けるが如く天然に含有する極微量のメチールアルコール若くは不純物によりて呈色し故意に使用せるメチールアルコールと鑑別困難なるが爲めに取締法の實施に當りて過誤に陥り易き缺點あるを以て之を推奨し難きもメチールアルコールを毫も含有せざる化學的純粹の酒精を必要とする場合の試験に適することを認めたり。更に同溜液に對して施行せるフクシン亞硫酸反應に在りては本印葡萄酒及清酒はメチールアルコールを添加せざるものは勿論0.05%添加のものに於ても呈色せず0.1% 添加のものより呈色し0.2% 添加のものは著明に呈色し燒酎は之を添加せざるものは呈色せざるも0.05%添加のものより微に呈色し0.1% 添加のものは著明に呈色せり。又直接試験法に在りては葡萄酒及燒酎はフクシン亞硫酸反應に於てメチールアルコールを添加せざるものも既に微に呈色し従つてメチールアルコール添加のものも再溜試験法の場合に比し呈色反應強烈なり。清酒はメチールアルコール添加のもののみ呈色せるも其呈色度は葡萄酒及燒酎と同様に再溜試験法に比し一層強甚なり斯くの如く再溜試験法はフクシン亞硫酸反應の鋭敏度直接試験法に比し稍低下することは前記第2表の成績と一致する所なるも該試験法に據るときは天然に含有する極微量のメチールアルコール若くは他の不純物に基因すべき呈色反應陰性となり之に對し故意にメチールアルコール0.05%以上添加するとき始めて呈色するを以て兩者を比較的容易に鑑別し得るの利點あり従つて天然に微量のメチールアルコール含有の疑ある酒精飲料或は製劑中のメチールアルコール試験法として最も適することを認めたり。尙ほ溜液0.1ccに就きて施行せる成績は0.2ccに於けるものと殆ど大同小異の結果を示し寧ろ採取量に基く誤差を少なからしむる爲めには

0.2cc に就き試験するを可と認めたり。

4. アルコール含有製劑に對し再溜試験法の應用に就て

前記再溜試験法を市販日本藥局方チンキ及酒精劑 44 種に對し應用し初溜液 1cc に對し石尾氏改良リミニー反應及フクシン亞硫酸反應を検し次に第 2 溜液 5cc に就きフクシン亞硫酸反應、石尾氏改良リミニー反應及卵白鐵鹽酸反應を検し別に直接試験法によりて得たる成績と比較するに次の如し。

第 4 表

檢 體	蒸 溜 液 採 取 量 (cc)	初溜液 1cc に對し 施行せる成績		第 2 溜液 5cc に對して施行せる成績				直接試験法に依 る 成 績	
		フクシン亞硫酸 反 應		フクシン亞硫酸 反 應		石尾氏改 良リミニ ー 反 應	卵白鐵鹽 酸 反 應	フクシン亞硫酸 反 應	
		1時間後	2時間後	1時間後	2時間後			1時間後	2時間後
苦 味 チ ン キ	0.1	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	極微紫 (1/60萬弱)	微 藍	極微藍
	0.2	痕 跡	"	"	"	"	極微紫 (1/60萬)	"	微 藍
芳 香 チ ン キ	0.1	呈色せず	"	"	"	"	呈色せず	呈色せず	呈色せず
	0.2	痕 跡	"	"	"	"	"	痕 跡	"
阿 魏 チ ン キ	0.1	呈色せず	"	"	"	綠	微 紫 (1/60萬)	微 藍	微 藍
	0.2	"	"	極微藍紫	微 藍	綠 青	微 紫 (1/40萬)	"	"
橙 皮 チ ン キ	0.1	"	"	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	極微藍	極微藍
	0.2	"	"	"	"	"	極微紫 (1/60萬)	微 藍	微 藍
安 息 香 チ ン キ	0.1	"	"	"	"	"	極微紫 (1/70萬)	"	"
	0.2	極微藍	"	"	微 藍	綠 青	微 紫 (1/40萬)	"	"
カ ン タ リ ス チ ン キ	0.1	呈色せず	"	"	呈色せず	呈色せず	痕 跡	呈色せず	呈色せず
	0.2	"	"	"	"	"	"	極微藍	"
菴 椒 チ ン キ	0.1	"	"	"	"	"	呈色せず	呈色せず	"
	0.2	"	"	"	"	"	"	痕 跡	"
阿 仙 藥 チ ン キ	0.1	"	"	"	"	"	"	呈色せず	"
	0.2	"	"	"	"	"	"	極微藍	"
キ ナ チ ン キ	0.1	極微藍	"	"	"	"	極微紫 (1/60萬弱)	微 藍	極微藍
	0.2	微 藍	"	"	"	"	極微紫 (1/60萬)	"	微 藍
複 方 キ ナ チ ン キ	0.1	"	"	"	"	"	呈色せず	"	呈色せず
	0.2	"	"	"	"	"	"	"	"
桂 皮 チ ン キ	0.1	呈色せず	"	"	"	"	"	呈色せず	"
	0.2	"	"	"	"	"	痕 跡	"	"

コロンボチンキ	0.1	"	"	"	"	"	呈色せず	極微藍	"
	0.2	"	"	"	"	"	痕跡	"	"
サフランチンキ	0.1	痕跡	"	"	"	"	呈色せず	"	"
	0.2	微藍	"	"	"	"	痕跡	"	"
ヂキタリスチンキ	0.1	呈色せず	"	"	"	"	呈色せず	極微藍	"
	0.2	"	"	"	"	"	"	"	"
リンゴ鐵チンキ	0.1	"	"	"	"	"	"	呈色せず	"
	0.2	"	"	"	"	"	痕跡	痕跡	"
五倍子チンキ	0.1	"	"	"	"	"	呈色せず	呈色せず	"
	0.2	"	"	"	"	"	痕跡	痕跡	"
ゲンチアナチンキ	0.1	"	"	"	"	"	極微藍 (1/60萬)	極微藍	極微藍
	0.2	痕跡	"	"	極微藍	綠	微紫 (1/50萬)	微藍	微藍
龍膽チンキ	0.1	呈色せず	"	"	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず
	0.2	"	"	"	"	"	"	極微藍	"
グアヤクチンキ	0.1	"	"	"	"	"	"	呈色せず	"
	0.2	痕跡	"	"	"	"	"	痕跡	"
吐根チンキ	0.1	"	"	"	"	"	"	"	"
	0.2	極微藍	"	"	"	"	痕跡	微藍	"
ミルラチンキ	0.1	呈色せず	"	"	"	"	呈色せず	極微藍	"
	0.2	痕跡	"	"	"	"	極微紫 (1/70萬弱)	微藍	極微藍
阿片チンキ	0.1	呈色せず	"	"	"	"	痕跡	極微藍	呈色せず
	0.2	痕跡	"	"	"	"	"	微藍	極微藍
阿片安息香チンキ	0.1	呈色せず	"	"	"	"	呈色せず	呈色せず	呈色せず
	0.2	"	"	"	極微藍	綠	微紫 (1/50萬)	微藍	微藍
苦木チンキ	0.1	"	"	"	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず
	0.2	"	"	"	"	"	"	痕跡	"
大黃チンキ	0.1	"	"	"	"	"	"	極微藍	"
	0.2	極微藍	"	"	"	"	"	微藍	"
水製大黃チンキ	0.1	呈色せず	"	"	"	"	極微紫 (1/70萬弱)	痕跡	"
	0.2	"	"	"	"	"	極微紫 (1/60萬)	微藍	微藍
ロートチンキ	0.1	"	"	"	"	"	呈色せず	呈色せず	呈色せず
	0.2	痕跡	"	"	"	"	痕跡	痕跡	"
ストロファンツスチンキ	0.1	呈色せず	"	"	"	"	呈色せず	呈色せず	"
	0.2	"	"	"	"	"	痕跡	"	"
ホミカチンキ	0.1	"	"	"	"	"	呈色せず	"	"
	0.2	痕跡	"	"	"	"	"	痕跡	"

吉 草 チ ン キ	0.1	呈色せず	"	"	"	"	"	呈色せず	"
	0.2	"	"	"	"	"	"	"	"
エーテル性吉草チンキ	0.1	"	"	"	"	"	"	"	"
	0.2	"	"	"	"	"	"	"	"
生 薑 チ ン キ	0.1	"	"	"	"	"	極微紫 (1/70萬弱)	痕 跡	"
	0.2	"	"	"	"	"	極微紫 (1/70萬)	極微藍	痕 跡
ヨ ハ ド チ ン キ	0.1	"	"	"	"	"	呈色せず	痕 跡	呈色せず
	0.2	極微藍	"	"	"	"	"	極微藍	"
芳香アンモニア精	0.1	呈色せず	"	極微藍	微 藍	緑	微 紫 (1/50萬)	微 藍	淡藍紫
	0.2	痕 跡	痕 跡	微 藍	"	緑 青	微 紫 (1/40萬強)	淡藍紫	紫 藍
アンモニア茴香精	0.1	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	緑	微 紫 (1/50萬)	微 紫	微 藍
	0.2	極微藍	"	極微藍	微 紫	緑 青	微 紫 (1/30萬弱)	淡藍紫	淡藍紫
甘 硝 石 精	0.1	"	痕 跡	微 藍	淡藍紫	青	紫 (1/20萬)	"	"
	0.2	微 藍	極微藍	淡 藍	藍 紫	"	紫 (1/15萬)	"	藍 紫
薄 荷 精	0.1	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず
	0.2	"	"	"	"	"	痕 跡	"	"
エ ー テ ル 精	0.1	"	"	"	"	"	呈色せず	"	"
	0.2	痕 跡	"	"	"	"	"	"	"
ク ロ ロ ホ ル ム 精	0.1	呈色せず	"	"	"	"	"	"	"
	0.2	"	"	"	"	"	"	"	"
ラ ヘ ン デ ル 精	0.1	痕 跡	痕 跡	"	"	"	極微紫 (1/70萬)	微 藍	微 藍
	0.2	極微藍	"	"	"	"	極微紫 (1/60萬)	"	淡 藍
カ ン フ ル 精	0.1	呈色せず	呈色せず	"	"	"	呈色せず	呈色せず	呈色せず
	0.2	"	"	"	"	"	極微紫 (1/70萬強)	極微藍	極微藍
コ ン ザ ラ ン ゴ 酒	0.1	"	"	"	"	"	呈色せず	痕 跡	呈色せず
	0.2	痕 跡	"	"	"	"	痕 跡	微 藍	痕 跡
コ ニ ア ク	0.1	呈色せず	"	"	"	"	呈色せず	呈色せず	呈色せず
	0.2	"	"	"	"	"	極微紫 (1/70萬)	痕 跡	"
セ リ 酒	0.1	"	"	"	"	"	呈色せず	呈色せず	"
	0.2	"	"	"	"	"	"	"	"

備考 前表中初溜液 1cc に對して施行せる石尾氏改良リミニー反應による呈色は孰れも淡赤色なりしを以て之を省略せり。

前表中溜液 0.2cc を取り常法に依り酸化したる後再溜したる場合の成績に就き考察するに初溜液 (1cc) に對し石尾氏改良リミニー反應を検せるものは全部陰性にして同

溜液に對しフクシン亞硫酸反應を検せるものに在りては試藥添加1時間後に於て觀察せるものは大部分陰性にして僅に數種極微藍又は微藍色を呈せるも2時間經過の後は甘硝石精のみ極微藍色を呈し其他數種僅かに痕跡程度に呈色するも其他のものは全く呈色せず次に第2溜液(5cc)に對するフクシン亞硫酸反應の狀況を見るに試藥添加1時間後に於ては阿魏チンキ、芳香アンモニア精、アンモニア茴香精及甘硝石精の4種極微藍乃至淡藍色を呈し試藥添加2時間後に於ては甘硝石精は藍紫色に變じ前記の外に安息香チンキ、ゲンチアナチンキ及阿片安息香チンキの3種も亦極微藍乃至微藍色を呈したるも其他のものは全部呈色せざりき故に今之を第5版日本藥局方規定の試藥添加2時間以内に持續する藍紫色、紫色或は紅紫色を呈するものを陽性と看做す判定標準に従へば甘硝石精以外のものは全部陰性の結果を示すべし。又石尾氏改良リミニ反應を検せるものに在りては阿魏チンキ、安息香チンキ、ゲンチアナチンキ、芳香アンモニアチンキ及アンモニア茴香精の6種は綠乃至綠青色を呈し甘硝石精は青色を呈せり。

前記試験成績に依り市販藥局方チンキ及酒精劑中に天然に含有せらるメチールアルコール反應を生起する成分の含量は比較的微量なることを認めたるも今之を卵白鐵鹽酸反應によりて化生ホルムアルデヒド量を概測するに極微量(約 $\frac{1}{70}$ 萬)を含有するものはミルラチンキ、生薑チンキ、カンフル精、及コニアクの4種にして微量(約 $\frac{1}{40}$ 萬 $\sim\frac{1}{60}$ 萬)を含有するものは苦味チンキ、阿魏チンキ、橙皮チンキ、安息香チンキ、ナチンキ、ゲンチアナチンキ、阿片安息香チンキ、水製大黃チンキ、芳香チンキ、アンモニア精及ラヘンデル精の10種、稍著明(約 $\frac{1}{30}$ 萬)を含有するものはアンモニア茴香精の1種及著量(約 $\frac{1}{15}$ 萬)を含有するものは甘硝石精の1種なり。而して之を第2表の成績に基きメチールアルコールの添加量とそれより化生せらるホルムアルデヒド量との關係より考察するに之等類似反應を呈する大部分のものはメチールアルコールとして0.1% 以内を含有しアンモニア茴香精のみ0.1% を稍超過し又甘硝石精は0.2% 以上0.5% 未滿のメチールアルコールに相當する分量を含有するものなることを認めたり。次に之等のメチールアルコール反應は原料に供せられたる生藥中より天然に化生せられたるものなるや或は又製造に供せる酒精に因くものなるやを一應

吟味することの徒爾ならざるを認めたるを以て前表中卵白鐵鹽酸反應陽性を示したる數種のものを選び市販生薬を原料としメチールアルコール不含の純酒精を用ひ日本薬局方規定の方法に従ひて調製せるチンキ及酒精劑に就き第4表と同一方法に基き試験したるに次の成績を得たり。

第 5 表

検 體	蒸 溜 液 取 採 量 (cc)	初溜液 1cc に對して 施行せる成績		第2溜液 5cc に對して施行せる成績				直接試験法に依る成績	
		フクシン亞硫酸 反 應		フクシン亞硫酸 反 應		石尾氏改良リミニ ー反應	卵白鐵鹽 酸 反 應	フクシン亞硫酸 反 應	
		1時間後	2時間後	1時間後	2時間後			1時間後	2時間後
苦 味 チ ン キ	0.1	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず
	0.2	"	"	"	"	"	痕 跡	"	"
阿 魏 チ ン キ	0.1	"	"	"	"	"	"	"	"
	0.2	"	"	"	"	"	極微紫 (1/60萬)	極微藍	痕 跡
橙 皮 チ ン キ	0.1	"	"	"	"	"	呈色せず	呈色せず	呈色せず
	0.2	"	"	"	"	"	"	"	"
安 息 香 チ ン キ	0.1	"	"	"	"	"	痕 跡	痕 跡	"
	0.2	痕 跡	"	"	"	"	極微紫 (1/60萬)	極微藍	痕 跡
ゲ ン チ ア ナ チ ン キ	0.1	呈色せず	"	"	"	"	呈色せず	呈色せず	呈色せず
	0.2	"	"	"	"	"	"	"	"
阿 片 チ ン キ	0.1	"	"	"	"	"	"	"	"
	0.2	"	"	"	"	"	"	"	"
大 黄 チ ン キ	0.1	"	"	"	"	"	"	"	"
	0.2	"	"	"	"	"	"	"	"
水 製 大 黄 チ ン キ	0.1	"	"	"	"	"	痕 跡	痕 跡	"
	0.2	"	"	"	"	綠	微 紫 (1/50萬)	"	微 藍
生 薑 チ ン キ	0.1	"	"	"	"	呈色せず	呈色せず	呈色せず	呈色せず
	0.2	"	"	"	"	"	"	"	"
ア ン モ ニ ア 茴 香 精	0.1	痕 跡	"	"	"	"	痕 跡	"	"
	0.2	極微藍	"	"	"	"	極微紫 (1/60萬強)	極微藍	痕 跡
甘 硝 石 精	0.1	"	痕 跡	微 藍	淡藍紫	青	紫 (1/20萬)	淡藍紫	淡藍紫
	0.2	微 藍	極微藍	淡 藍	藍 紫	青	紫 (1/15萬)	"	藍 紫

前表の成績を第4表と比較するに試製品中甘硝石精及水製大黃チンキ以外は市販品に比して孰れも化生ホルムアルデヒド量の著しく僅少なることを認めたり。即ち本再

溜試験法に依れば純良なる酒精を用ひて製せるチンキ及製劑に對しては甘硝石精を除き充分満足なる成績を得べきを以て本法は從來の試験法に比し一段の進歩を示せるを確信するものなり。而して第五版藥局方中に除外例として示されたる甘硝石精は本法に於ても亦依然として著明なる類似反應を呈するを以て之を應用し得ざるを遺憾とす之に對する試験法は他日究明せんことを期するものなり。

5. メチールアルコール試験法の一改正案に就て

余等は前記實驗成績に徴しアルコール及アルコール含有飲料並製劑中のメチールアルコールを検出するには次の方法に依るを最も適切なるものと信ず。

メチールアルコール試験法案

酒精含量 20% 迄のものに在りては 20cc, 50% 迄のものに在りては 10cc を取り又 50% を超過するものに在りては 10cc を取り同量の水を加へて稀釋し之を内容 50cc の小硝子壺に取り抱栓を施し之に約直角に 2 回屈曲せる蒸溜硝子管を裝し石棉板上に於て徐々に熱し蒸溜管の下降部分に熱を帶ばしめざる様注意して 1cc を氷冷せる硝子小劃度管中に溜取し其溜液 0.2cc を前記と同形の硝子壺に取り水 5cc, 1% 過マンガン酸カリ溶液 5cc 及同容量の水を以て稀釋せる硫酸 0.4cc を和し 2 分間の後 8% 砒酸溶液 1cc を以て脱色し素焼小破片數箇を添加し前記と同一方法に依り氷冷小劃度管中に蒸溜し初溜液 1cc を捨て第 2 溜液 5cc を約 10 分間に溜出する速度に於て溜取し善く冷却しつつ徐々に濃硫酸 1.0cc を添加し次に公定法フクシン亞硫酸溶液 5cc を加へ試験管を栓塞し軽く搖動したる後放置すべし。茲に 2 時間以内に持續する藍紫色、紫色或は紅紫色を呈すればメチールアルコールを含有するの徴なりとす。

6. 總 括

以上の試験成績に依り之を總括すること次の如し。

1. アルコール含有飲料及製劑中のメチールアルコール試験に於てライフ氏蒸溜法を應用して得たる溜液を常法に従ひカメレオン酸化を行ひ化生せるホルムアルデヒドを再溜し卵白鐵鹽酸反應、石尾氏改良リミニー反應及フクシン亞硫酸反應等に依りて檢するに其初溜液 1cc 中にはホルムアルデヒドを殆ど移行せざるか又は極めて微量を移行するに過ぎず大部分は第 2 溜液 5cc 中に含存せらるるものなることを認めたり。

2. 前記再溜試験法をメチールアルコール不含の純酒精を以て調製せる 20% アルコール及之に種々の割合にメチールアルコールを添加せる検體に對し應用せるに極めて良好なる結果を示したるを以て次に本印葡萄酒、清酒及燒酎並之等に種々の割合にメチールアルコールを添加せるものに就き石尾氏改良リミニー反應、卵白鐵鹽酸反應及フクシン亞硫反應に依る成績を比較研究したるに石尾氏改良リミニー反應及卵白鐵鹽酸反應は呈色鋭敏に過ぎ衛生取締上に應用することは不適當なるもメチールアルコール不含の化學的純酒精を必要とする試験に應用するときは極めて正確なる結果を得べきことを認めたり。又再溜試験法及從來の直接試験法に依るフクシン亞硫酸反應の成績を夫々比較したるに再溜試験法に基けるものはアセトアルデヒド及其他の揮發性成分によりて影響せらるることなく呈色鋭敏度低下するを以て天然に含有する極微量のメチールアルコール若しくは不純物に依る反應を一掃し故意に添加せるメチールアルコールの鑑別を容易ならしむるが故に酒精飲料及製劑中のメチールアルコール試験法として最も適當なることを認めたり。

3. 前記再溜試験法を市販のチンキ類及酒精劑 44 種に應用しフクシン亞硫酸反應を檢したるに呈色せるもの總計 7 種中甘硝石精のみは藍紫色を呈するも他の 6 種は極微藍～微藍色を呈するを以て之を現行藥局方規定の藍紫色、紫色或は紅紫色を呈するものを陽性と看做す判定標準に従へば甘硝石精以外のものは全部陰性の結果を示すものなることを認めたり。又卵白鐵鹽酸反應陽性のもの總數 16 種中其の 14 種はメチールアルコールとして 0.1% 以内を含みアンモニア茴香精は 0.1% を稍超過し甘硝石精は 0.2% 以上 0.5% 未滿のメチールアルコールに相當する分量を含有するものなることを認めたり。

4. 前記市販チンキ類及酒精劑中著明に卵白鐵鹽酸反應を生起するものを選び日本藥局方規定の方法に従ひメチールアルコール不含の純酒精を用ひて調製せる製品に就き試験したる試製品中甘硝石精以外のものは市販品に比して呈色著しく微弱なることを認めたり。

5. 前記多數の實驗成績に徴し從來のメチールアルコール試験法に對し一改良試験法案を提出せんとす。

引用文献

1. 衛生試験所彙報; 第 32 號, 267 頁 (昭和 3 年)
藥學雜誌; 第 48 卷, 第 8 號, 767 頁 (昭和 3 年)
2. 衛生試験所彙報; 第 40 號, 197 頁 (昭和 7 年)
3. 本彙報141頁及日本衛生化學會誌; 第 5 卷, 第 3 號, 157 頁 (昭和 8 年)
4. 衛生試験所彙報; 第 41 號, 160 頁 (昭和 8 年)

昭和九年五月

伊香保温泉分析成績に就て

技 手 服 部 安 藏
 技 手 武 田 義 道
 囑 託 藤 井 清 次
 助 手 長 谷 部 俊 彦

内 容 目 次

第一章 緒 言

第二章 検水採取場所の概況

第三章 分析成績

第四章 各源泉中の成分及其含量の對照並喜多尾氏の分析成績との比較

第五章 湧出後時間の経過及導水に依る泉質の變化に就て

第一章 緒 言

伊香保温泉の泉質、氣象其他の衛生的施設等に関しては明治36年元當所技師喜多尾元英氏によりて臨地試験せられたる詳細なる調査成績あり然るに今回同地温泉場組合の依頼により再び其泉質に就き臨地試験を施行するの機會を得たり。而して今回の試験と喜多尾氏の試験との間には既に30有餘年の歳月を經過し居り兩者の成績を比較對照するときは泉質の變化等興味ある事實を認むると共に鑛泉分析に際しては源泉試験の極めて重要性を有することを如實に立證せるを認めたり。

本來泉質を決定すべき精密なる化學的分析には其一半は源泉に於て施行すべきを原則となす然るに源泉試験には稍多大の經費を要するを以て通例試験室に送致せられたる検水に就き分析を施行するものなるも之れが爲め泉質に對し誤れる分類を決定する場合往々なるは遺憾とする處なり。

鑛泉是一種の泉水にして地下水の地上に湧出する間に種々の成分を溶出し之を含有したるものなるを以て地下に在りては之等の諸成分を抱合し得るも一旦地上に湧出し外的條件の急激なる變化によりて其集成に著しき差違を生ずるものなり重碳酸亞酸化鐵 $\text{Fe}(\text{HCO}_3)_2$ を溶存する炭酸鐵泉の如きは著明なる一例にして其地上に湧出するや

空氣中の酸素の酸化作用に依りて水酸化鐵 $\text{Fe}_2(\text{OH})_6$ を析出し赤褐色の沈澱又は濁濁を生ずべし。



殊に遊離炭酸、硫化水素の如き瓦斯類或はラヂウムエマナチオン等の如き特殊成分の著しき變化を來すことは言を俟たざるところなり。又水素イオン濃度も著しき影響を受け特に遊離炭酸を含有する鑛泉に在りては時間の經過若しくは急激なる空氣との接觸に由る遊離炭酸の逸散に伴ひ其 pH 値著しく變化し酸性よりアルカリ性に變移す故に斯種の鑛泉に在りては源泉に就きて施行せる成績に於てのみ其完全を期し得べく當該鑛泉の療養機能を全からしむる爲めには可及的源泉の狀態に於て飲用又は浴用に供することは極めて重要なり此點より見て從來等閑視せられたる送水の方法等に関しても新たなる研究を必要となすべし。今回伊香保温泉の源泉試験成績を考察するに及び益々其重要性を痛感せり以下逐次之に就きて説述すべし。

第二章 檢水採取場所の概況

源泉は伊香保町を距る西南約 655m 宇湯元と稱する溪谷に於て約 218m 餘に亘る無數の岩罅より湧出し之を大堰と稱するところに於て一旦合流せしめたる後各宿舍に分配す。今回の試験に於ては前記源泉中主要なるもの 5 箇及合流泉 1 箇總計 6 種に就き試験せり。今供試鑛泉採取場所を便宜上第 1 號泉より第 6 號泉に分ち其概況を述べれば次の如し。

(1) 第 1 號泉 (甲湯元 584 番地湧出)

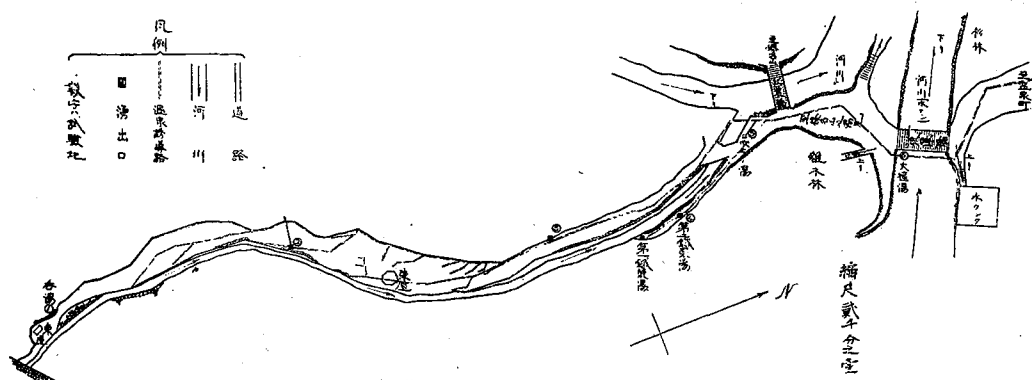
通稱飲湯と稱し 5 源泉中最も上方に位し其近傍より湧出する源泉を約 30cm 四方の石造井筒に集め之より流出せるものは他の源泉と合して大堰に至る。無色澄明無臭にして其湧出量は 4730hl (24 時間) なり (以下總て附圖參照)

(2) 第 2 號泉 (甲湯元 582 番地湧出)

本源泉は飲湯を距る下方約 76m の道路下約 3m の洞穴内より湧出し該洞穴内は炭酸瓦斯にて充たされ導管には黃褐色沈澱物を附着す之より流出せるものは他の源泉と合して大堰に至る。無色澄明無臭にして其湧出量 1889 hl (24 時間) なり。

(3) 第 3 號泉 (甲湯元 580 番地湧出)

本源泉は前記第2號泉を距ること下方約 82m 飲湯を距ること約 158m の場所に在り路面下約 3m の洞穴内より湧出す本洞穴内は炭酸瓦斯にて充され爲めに内部に入ること能はざるを以て其上口を長時間開放せしめ炭酸瓦斯を遁散せしめたる後試験せり之より流出せるものは約 9m にして合流泉に合して大堰に至る。無色澄明無臭にして湧出量 12960 hl (24時間) なり。



(4) 第4號泉 (甲湯元 577 番地湧出)

本源泉は通稱第二鐵漿湯と呼ばれ第3號泉を距ること下方 42m 第1號泉を距ること約 200m の位置に在り小溪流を隔てたる巖石に溝渠を鑿ちたるものにし度本溝渠内は炭酸瓦斯にて充たされ導管には著しく多量の黄褐色の沈澱物を附著す第一鐵漿湯 (湧出量少く特に之を試験する必要を認めず) との距離約 15m にして溝渠にて連續す。無色無臭にして僅微に濁濁す湧出量 39318 hl (24時間) なり。

(5) 第5號泉 (甲湯元 574 番地の1湧出)

本源泉は通稱吹上湯と呼び第二鐵漿湯を距ること下方 31m 道路の下約 61 cm の所に約 30cm 四方の方形木枠を埋め湯は枠内の砂礫間より湧出し盛に氣泡を發す之より流出せるものは約 5m にして前記4種の合流泉に合し大堰に至る。無色無臭澄明なり湧出量 603 hl (24時間) なり。

(6) 第6號泉 (字上の山 573 番地先採酌)

本泉は通稱大堰と稱し第1號泉より第5號泉に至る各泉の合流泉にして第5號泉を距る下方 51m の位置に在り木樋導管内より採酌す管内には多量の黄褐色沈澱物を附

著す。無色無臭にして僅微に沈澱物を含有す。

以上の外飲湯の上方に黒堰湯と稱する源泉あり岩罅より湧出するも現在利用せられず又飲湯の下方に猶ほ數箇の源泉在りて合流するも何れも其湧出量僅微なるを以て之が試験を省略せり。

第三章 分 析 成 績

(1) 第1號泉 (飲湯)

本泉は源泉溫度 44° を示し泉源に於て採酌せる鑛水は無色澄明無臭にして微に舌上を刺戟し爽快味を有し微弱酸性反應を呈し長時間空氣に接觸すれば帶黃白色の沈澱を析出す。其 pH 値は 31° に於て 5.60 (比色法) を示し比電導度 (横川式電導度試験器にて測定す) は 18° に於て 0.00168 なり。本水を試験室に送致せるものは比重 15° に於て 1.0 にして其水素イオン濃度 (pH) は 18° に於て 6.41 (キンヒドロソ電池法) なり。分析の結果土類含有弱石膏性苦味泉に屬す其成績次の如し。

本鑛水 1 kg 中に含有する成分並其分量

	グ ラ ム	ミリイオン及ミリモル	ミ リ ヴ ァ ル
カ チ オ ン			
カリウムイオン (K^+)	0.0141	0.3606	0.3606
ナトリウムイオン (Na^+)	0.06265	2.724	2.724
アムモニウムイオン (NH_4^+)	0.0016	0.08889	0.08889
カルチウムイオン (Ca^{++})	0.178	4.443	8.885
マグネシウムイオン (Mg^{++})	0.02819	1.159	2.318
フェロイオン (Fe^{++})	0.0063	0.1128	0.2256
アルミニウムイオン (Al^{+++})	0.002857	0.1054	0.3163
計			14.92
ア ニ オ ン			
クロールイオン (Cl^-)	0.1573	4.436	4.436
硫酸イオン (SO_4^{--})	0.285	2.967	5.933
ヒドロ炭酸イオン (HCO_3^-)	0.2776	4.549	4.549
計			14.92
通 計	1.013	20.95	
硼 酸 (メタ) (HBO_2)	0.0064	0.1461	
珪 酸 (メタ) (H_2SiO_3)	0.2025	2.594	

合 計	1.222	23.69	
遊 離 炭 酸 (CO ₂)	0.2978	6.768	
總 計	1.52	30.46	
マンガンイオン (Mn ⁺⁺)	痕 跡		

以上各成分の分量に基き算定するに本鑛水は其集成に於て 1kg 中次の鹽類を含有する溶液に概略相當す。

	ゲ	ラ	ム
ク ロ ー ル カ リ ウ ム (KCl)		0.02689	
ク ロ ー ル ナ ト リ ウ ム (NaCl)		0.1592	
ク ロ ー ル ア ム モ ニ ウ ム (NH ₄ Cl)		0.004756	
ク ロ ー ル カ ル チ ウ ム (CaCl ₂)		0.07007	
硫 酸 カ ル チ ウ ム (CaSO ₄)		0.3823	
重 炭 酸 カ ル チ ウ ム [Ca(HCO ₃) ₂]		0.1625	
重 炭 酸 マ グ ネ シ ウ ム [Mg(HCO ₃) ₂]		0.1696	
重 炭 酸 亞 酸 化 鐵 [Fe(HCO ₃) ₂]		0.02006	
硫 酸 ア ル ミ ニ ウ ム [Al ₂ (SO ₄) ₃]		0.01805	
硼 酸 (メ タ) (HBO ₂)		0.0064	
珪 酸 (メ タ) (H ₂ SiO ₃)		0.2025	
合 計		1.222	
遊 離 炭 酸 (CO ₂)		0.2978	
總 計		1.52	

(2) 第2號泉

本泉は源泉溫度 49°を示し泉源に於て採酌せる鑛水は無色澄明無臭にして微に收斂性味あり微弱酸性反應を呈し長時間空氣に接觸すれば帶黃白色の沈澱を析出す其 pH 値は 26° に於て 5.20(比色法)を示し比電導度は 18° に於て 0.00148なり。

本水を試験室に送致せるものは比重攝氏 15° に於て 1.0. にして其水素イオン濃度 (pH) は攝氏 18° に於て 6.13 (キンヒドロソ電池法) なり分析の結果土類含有弱石膏性苦味泉に屬す其成績次の如し。

本鑛水 1kg 中に含有する成分並其分量

	グ	ラ	ム	ミリイオン及ミリモル	ミ	リ	ヴ	アル
カ チ オ ン								
カリウムイオン (K^+)			0.01428		0.3652			0.3652
ナトリウムイオン (Na^+)			0.06639		2.887			2.887
アムモニウムイオン (NH_4^+)			0.0018		0.1			0.1
カルチウムイオン (Ca^{++})			0.184		4.592			9.184
マグネシウムイオン (Mg^{++})			0.03162		1.3			2.6
フェロイオン (Fe^{++})			0.005209		0.0933			0.1866
アルミニウムイオン (Al^{+++})			0.003689		0.1361			0.4084
計								15.73
ア ニ オ ン								
クロールイオン (Cl^-)			0.1608		5.099			5.099
硫酸イオン (SO_4^{--})			0.2132		2.219			4.438
ヒドロ炭酸イオン (HCO_3^-)			0.3779		6.194			6.194
計								15.73
通 計			1.079		22.99			
硼 酸 (メタ) (HBO_2)			0.0032		0.07303			
珪 酸 (メタ) (H_2SiO_3)			0.2116		2.71			
合 計			1.296		25.77			
遊 離 炭 酸 (CO_2)			0.2164		4.919			
總 計			1.51		30.69			
マンガノイオン (Mn^{++})			痕 跡					
ヒドロ磷酸イオン (HPO_4^{--})			痕 跡					

以上各成分の分量に基き算定するに本鑛水は其集成に於て 1 kg 中次の鹽類を含有する溶液に概略相當す。

	グ	ラ	ム
ク ロ ー ル カ リ ウ ム (KCl)			0.02723
ク ロ ー ル ナ ト リ ウ ム ($NaCl$)			0.1688
ク ロ ー ル ア ム モ ニ ウ ム (NH_4Cl)			0.00535
ク ロ ー ル カ ル チ ウ ム ($CaCl_2$)			0.09695
硫 酸 カ ル チ ウ ム ($CaSO_4$)			0.2743
重 炭 酸 カ ル チ ウ ム [$Ca(HCO_3)_2$]			0.2762
重 炭 酸 マ グ ネ シ ウ ム [$Mg(HCO_3)_2$]			0.1902

重炭酸亜酸化鐵	[Fe(HCO ₃) ₂]	0.01659
硫酸アルミニウム	[Al ₂ (SO ₄) ₃]	0.02331
硼酸 (メタ)	(HBO ₂)	0.0032
珪酸 (メタ)	(H ₂ SiO ₃)	0.2116
合計		1.296
遊離炭酸	(CO ₂)	0.2164
總計		1.51

(3) 第3號泉

本泉は源泉温度 47.5° を示し泉源に於て採酌せる礦水は無色澄明無臭にして微弱酸性反應を呈し長時間空氣に接觸すれば帶黄白色の沈澱を析出す其 pH 値は 32° に於て 6.10 (比色法) を示し比電導度は 18° に於て 0.001119 なり。

本水を試験室に送致せるものは比重 15° に於て 1.0 にして其水素イオン濃度 (pH) は 18° に於て 6.43 (キンヒドロソ電池法) なり。分析の結果土類含有炭酸鐵泉に屬す其成績次の如し。

本礦水 1kg 中に含有する成分並其分量

	グラム	ミリイオン及ミリモル	ミリヴァール
カチオン			
カリウムイオン (K ⁺)	0.007718	0.1974	0.1974
ナトリウムイオン (Na ⁺)	0.08049	3.5	3.5
アムモニウムイオン (NH ₄ ⁺)	0.0033	0.1833	0.1833
カルシウムイオン (Ca ⁺⁺)	0.09992	2.494	4.987
マグネシウムイオン (Mg ⁺⁺)	0.02105	0.8655	1.731
フェロイオン (Fe ⁺)	0.01039	0.1861	0.3721
アルミニウムイオン (Al ⁺⁺⁺)	0.004455	0.1644	0.4932
計			11.46
アニオン			
クロールイオン (Cl ⁻)	0.06611	1.864	1.864
硫酸イオン (SO ₄ ^{''})	0.1893	1.97	3.941
ヒドロ炭酸イオン (HCO ₃ ['])	0.3453	5.659	5.659
計			11.46
通計	0.828	17.08	
硼酸 (メタ) (HBO ₂)	0.00227	0.05182	
珪酸 (メタ) (H ₂ SiO ₃)	0.214	2.741	

合 計	1.044	19.87
遊 離 炭 酸 (CO ₂)	0.3436	7.809
總 計	1.388	27.68
マンガンイオン (Mn ⁺⁺)	痕 跡	
ヒドロ磷酸イオン (HPO ₄ ^{''})	痕 跡	

以上各成分の分量に基き算定するに本鑛水は其集成に於て 1 kg 中次の鹽類を含有する溶液に概略相當す。

	ゲ	ラ	ム
ク ロ ー ル カ リ ウ ム (KCl)			0.01472
ク ロ ー ル ナ ト リ ウ ム (NaCl)			0.08671
硫 酸 ナ ト リ ウ ム (Na ₂ SO ₄)			0.1433
ク ロ ー ル ア ム モ ニ ウ ム (NH ₄ Cl)			0.009807
硫 酸 カ ル チ ウ ム (CaSO ₄)			0.09741
重 炭 酸 カ ル チ ウ ム [Ca(HCO ₃) ₂]			0.2882
重 炭 酸 マ グ ネ シ ウ ム [Mg(HCO ₃) ₂]			0.1267
重 炭 酸 亜 酸 化 鐵 [Fe(HCO ₃) ₂]			0.03309
硫 酸 ア ル ミ ニ ウ ム [Al ₂ (SO ₄) ₃]			0.02815
硼 酸 (メ タ) (HBO ₂)			0.00227
珪 酸 (メ タ) (H ₂ SiO ₃)			0.214
合 計			1.044
遊 離 炭 酸 (CO ₂)			0.3436
總 計			1.388

(4) 第 4 號泉 (第二鐵漿湯)

本泉は源泉溫度 50°を示し泉源に於て採酌せる鑛水は殆ど無色無臭にして僅微に濁し之を舌上に致せば極微に收斂味を感ず微弱酸性反應を呈し長時間空氣に接觸すれば帶黃白色の沈澱を析出す其 pH 値は 31°に於て 6.2 (比色法)を示し比電導度は18°に於て 0.00209 なり。

本水を試験室に送致せるものは比重 15°に於て 1.0 にして其水素イオン濃度(PH)は 18°に於て 6.53 (キンヒドロソ電池法)なり。分析の結果土類含有弱石膏性苦味泉に屬す其成績次の如し。

本鑛水 1kg 中に含有する成分並其分量

	グ	ラ	ム	ミリオン及ミリモル	ミ	リ	ヴ	アル
カ チ オ ン								
カリウムイオン (K.)		0.0212		0.5422		0.5422		
ナトリウムイオン (Na ⁺)		0.05405		2.35		2.35		
アムモニウムイオン (NH ₄ ⁺)		0.0014		0.07778		0.07778		
カルチウムイオン (Ca ⁺⁺)		0.2464		6.15		12.3		
マグネシウムイオン (Mg ⁺⁺)		0.04526		1.861		3.722		
フェロイオン (Fe ⁺⁺)		0.002545		0.04558		0.09115		
アルミニウムイオン (Al ⁺⁺⁺)		0.001958		0.07227		0.2168		
計						19.3		
ア ニ オ ン								
クロールイオン (Cl ⁻)		0.1632		4.602		4.602		
硫酸イオン (SO ₄ ^{''})		0.322		3.352		6.703		
ヒドロ炭酸イオン (HCO ₃ ['])		0.4878		7.995		7.995		
計						19.3		
通 計		1.346		27.05				
硼 酸 (メタ) (HBO ₂)		0.0032		0.07302				
珪 酸 (メタ) (H ₂ SiO ₃)		0.1919		2.458				
合 計		1.541		29.58				
遊 離 炭 酸 (CO ₂)		0.2663		6.052				
總 計		1.807		35.63				

以上各成分の分量に基き算定するに本鑛水は其集成に於て 1kg 中次の鹽類を含有する溶液に概略相當す。

	グ	ラ	ム
ク ロ ー ル カ リ ウ ム (KCl)		0.04043	
ク ロ ー ル ナ ト リ ウ ム (NaCl)		0.1374	
ク ロ ー ル ア ム モ ニ ウ ム (NH ₄ Cl)		0.004161	
ク ロ ー ル カ ル チ ウ ム (CaCl ₂)		0.09058	
硫 酸 カ ル チ ウ ム (CaSO ₄)		0.4415	
重 炭 酸 カ ル チ ウ ム [Ca(HCO ₃) ₂]		0.3389	
重 炭 酸 マ グ ネ シ ウ ム [Mg(HCO ₃) ₂]		0.2723	
重 炭 酸 亞 酸 化 鐵 [Fe(HCO ₃) ₂]		0.008106	
硫 酸 ア ル ミ ニ ウ ム [Al ₂ (SO ₄) ₃]		0.01237	
硼 酸 (メタ) (HBO ₂)		0.0032	
珪 酸 (メタ) (H ₂ SiO ₃)		0.1919	

合	計	1.541
遊離炭酸 (CO ₂)		0.2663
總計		1.807

(5) 第5號泉 (吹上湯)

本泉は源泉溫度 41° を示し泉源に於て採酌せる鑛水は無色澄明無臭にして刺戟性爽快味を有し微弱酸性反應を呈し長時間空氣に接觸すれば帶黃白色の沈澱を析出す其 pH 値は 31° に於て 5.40 (比色法)を示し比電導度は 18° に於て 0.001874なり。

本水を試験室に送致せるものは比重 15° に於て 1.0 にして其水素イオン濃度(pH)は 18° に於て 6.80 (キンヒドロソ電池法)なり。分析の結果土類含有弱石膏性苦味泉に屬す其成績次の如し。

本鑛水 1 kg 中に含有する成分並其分量

	グ ラ ム	ミリイオン及ミリモル	ミ ル ヴ ァ ル
カ チ オ ン			
カリウムイオン (K ⁺)	0.00595	0.1525	0.1525
ナトリウムイオン (Na ⁺)	0.07709	3.352	3.352
アムモニウムイオン (NH ₄ ⁺)	0.00105	0.05833	0.05833
カルチウムイオン (Ca ⁺⁺)	0.2384	5.949	11.9
マグネシウムイオン (Mg ⁺⁺)	0.05036	2.071	4.141
フェロイオン (Fe ⁺⁺)	0.009535	0.1708	0.3415
アルミニウムイオン (Al ⁺⁺⁺)	0.01177	0.4343	1.303
計			21.25
ア ニ オ ン			
クロールイオン (Cl ⁻)	0.06116	1.725	1.725
硫酸イオン (SO ₄ ^{''})	0.3885	4.044	8.088
ヒドロ炭酸イオン (HCO ₃ ⁻)	0.6976	11.43	11.43
計			21.25
通 計	1.541	29.39	
硼 酸 (メタ) (HBO ₂)	0.00227	0.05182	
珪 酸 (メタ) (H ₂ SiO ₃)	0.1896	2.428	
合 計	1.733	31.87	
遊離炭酸 (CO ₂)	0.5157	11.72	
總 計	2.249	43.59	

以上各成分の分量に基き算定するに本鑛水は其集成に於て 1kg中次の鹽類を含有す

る溶液に概略相當す。

	グ	ラ	ム
ク ロ ー ル カ リ ウ ム (KCl)		0.01134	
ク ロ ー ル ナ ト リ ウ ム (NaCl)		0.08854	
硫 酸 ナ ト リ ウ ム (Na ₂ SO ₄)		0.1305	
ク ロ ー ル ア ム モ ニ ウ ム (NH ₄ Cl)		0.003121	
硫 酸 カ ル チ ウ ム (CaSO ₄)		0.3368	
重 炭 酸 カ ル チ ウ ム [Ca(HCO ₃) ₂]		0.5634	
重 炭 酸 マ グ ネ シ ウ ム [Mg(HCO ₃) ₂]		0.303	
重 炭 酸 亜 酸 化 鐵 [Fe(HCO ₃) ₂]		0.03037	
硫 酸 ア ル ミ ニ ウ ム [Al ₂ (SO ₄) ₃]		0.07436	
硼 酸 (メ タ) (HBO ₂)		0.00227	
珪 酸 (メ タ) (H ₂ SiO ₃)		0.1896	
合 計		1.733	
遊 離 炭 酸 (CO ₂)		0.5157	
總 計		2.249	

(6) 第 6 號 泉 (大 堰 湯)

本泉は源泉溫度 47°を示し導管より採酌せる礦水は殆ど無色無臭にして僅微に沈澱物を有し極微に收斂性味を有す反應は微弱酸性にして長時間空氣に接觸すれば帶黃白色の沈澱を析出す其 pH 値は 31° に於て 5.60 (比色法)を示し比電導度は 18° に於て 0.001765 なり。

本水を試験室に送致せるものは比重 15° に於て 1.0 にして其水素イオン濃度 (pH) は 18° に於て 6.14 (キンヒドロソ電池法) なり。分析の結果土類含有弱石膏性苦味泉に屬す其成績次の如し。

本礦水 1kg 中に含有する成分並其分量

	グ	ラ	ム	ミリイオン及ミリモル	ミ リ ヴ ア ル
カ チ オ ン					
カ リ ウ ム イ オン (K ⁺)		0.009487		0.2426	0.2426
ナ ト リ ウ ム イ オン (Na ⁺)		0.09036		3.929	3.929
ア ム モ ニ ウ ム イ オン (NH ₄ ⁺)		0.0012		0.06666	0.06666
カ ル チ ウ ム イ オン (Ca ⁺⁺)		0.1428		3.552	7.103
マ グ ネ シ ウ ム イ オン (Mg ⁺⁺)		0.0271		1.115	2.229

フェロイオン (Fe^{++})	0.006222	0.1115	0.2229
アルミニウムイオン (Al^{+++})	0.01213	0.4477	1.348
計			15.14
アニオン			
クロールイオン (Cl')	0.1377	3.883	3.883
硫酸イオン (SO_4'')	0.2663	2.772	5.544
ヒドロ炭酸イオン (HCO_3')	0.3483	5.709	5.709
計			15.14
通 計	1.041	21.83	
硼 酸 (メタ) (HBO_2)	0.0016	0.03651	
珪 酸 (メタ) (H_2SiO_3)	0.2072	2.654	
合 計	1.25	24.52	
遊離炭酸 (CO_2)	0.2373	5.393	
總 計	1.487	29.91	

以上各成分の分量に基き算定するに本鑛水は其集成に於て 1 kg 中次の鹽類を含有する溶液に概略相當す。

	グ	ラ	ム
クロー、ルカリウム (KCl)			0.01809
クロー、ルナトリウム (NaCl)			0.2089
硫酸ナトリウム (Na_2SO_4)			0.02524
クロー、ルアムモニウム (NH_4Cl)			0.003566
硫酸カルチウム (CaSO_4)			0.2618
重炭酸カルチウム [$\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$]			0.264
重炭酸マグネシウム [$\text{Mg}(\text{HCO}_3)_2$]			0.1631
重炭酸亞酸化鐵 [$\text{Fe}(\text{HCO}_3)_2$]			0.01982
硫酸アルミニウム [$\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$]			0.07665
硼 酸 (メタ) (HBO_2)			0.0016
珪 酸 (メタ) (H_2SiO_3)			0.2072
合 計			1.25
遊離炭酸 (CO_2)			0.2373
總 計			1.487

備考 前記成績中水素イオン濃度、遊離炭酸、亞酸化態鐵及比電導度は何れも泉源に於て試験せり。

第四章 各源泉中の成分及其含量の對照竝喜多尾氏の 分析成績との比較

前記各源泉に就き測定し得たる各成分及其含量を喜多尾氏の分析成績と比較對照すれば次の如し但し同氏の採酌せる鐵漿湯は果して第一鐵漿湯なるや第二鐵漿湯なるや不明なるも便宜上後者と比較表示せり。

A 鑛水 1kg 中に含有する各成分の g 量比較表

	第一號泉(飲湯)	第二號泉	第三號泉	第四號泉 (第二鐵葉場)	第五號泉 (吹上場)	第六號泉 (大堰湯)
	喜多尾氏 今回の成績の成績	喜多尾氏 今回の成績の成績	喜多尾氏 今回の成績の成績	喜多尾氏 今回の成績の成績	喜多尾氏 今回の成績の成績	喜多尾氏 今回の成績の成績
カチオソ						
カリウイオン	0.0099	0.0141	—	0.007718	—	0.009487
ナトリウムイオン	0.0892	0.06339	—	0.08049	—	0.09036
アモニウムイオン	—	0.0016	—	0.0033	—	0.0012
カルシウムイオン	0.1224	0.178	—	0.09992	—	0.0012
マグネシウムイオン	0.0274	0.03162	—	0.0305	—	10.423
フェロイオン	0.0076	0.005209	—	0.01039	—	0.0271
マンガンイオン	0.0017	痕跡	—	痕跡	—	0.00322
アルミニウムイオン	痕跡	0.002657	—	0.004455	—	0.01213
アニオン						
クロールイオン	0.1055	0.1573	—	0.06611	—	0.1377
ヨードイオン	痕跡	—	—	—	—	—
ブロームイオン	痕跡	—	—	—	—	—
硫酸イオン	0.2754	0.256	—	0.1893	—	0.2663
ヒドロ磷酸イオン	痕跡	痕跡	—	痕・跡	—	—
ヒドロ炭酸イオン	0.2498	0.3779	—	0.3453	—	0.3483
通計	0.8889	1.013	—	0.828	—	1.041
礫 (メタ)	—	0.0084	—	0.00227	—	0.0016
珪酸 (メタ)	0.2068	0.2025	—	0.214	—	0.2072
合計	1.0957	1.222	—	1.044	—	1.25
遊離炭酸	0.6757	0.2978	—	0.3436	—	0.2373
總計	1.7714	1.52	—	1.388	—	1.487

B 前記イオンを結合せしめたる鹽類の比較表

反 固 形 物 總 量	第一號泉(飲湯)		第二號泉		第三號泉		第四號泉 (第二鐵漿湯)		第五號泉 (吹上湯)		第六號泉 (大堰湯)	
	喜多尾氏 の成績	今回の成績	喜多尾氏 の成績	今回の成績	喜多尾氏 の成績	今回の成績	喜多尾氏 の成績	今回の成績	喜多尾氏 の成績	今回の成績	喜多尾氏 の成績	今回の成績
應	弱酸性	微弱酸性	微弱酸性	微弱酸性	微弱酸性	微弱酸性	弱アルカリ性	微弱酸性	弱アルカリ性	微弱酸性	弱アルカリ性	微弱酸性
量	0.9586	1.163	1.081	0.823	1.3419	1.458	1.654	—	1.654	—	1.082	—
ク	0.0468	0.02889	0.02723	0.01427	—	0.04043	—	0.03134	—	0.01809	—	—
硫	0.0220	—	—	—	0.0168	—	—	—	0.0202	—	—	—
ク	—	0.1592	0.1688	0.08671	0.1055	0.1374	—	0.08854	0.1618	0.2089	—	—
硫	0.1007	—	0.00535	0.1433	0.2910	—	—	0.1305	0.1616	0.02524	—	—
重	0.1393	—	—	—	0.1393	—	—	—	0.0624	—	—	—
ク	—	0.004756	0.00535	0.009807	—	0.004161	—	0.003121	—	0.003566	—	—
ク	—	0.07007	0.09695	—	—	0.09058	—	—	—	—	—	—
硫	0.2769	0.3823	0.2743	0.08741	0.3691	0.4415	—	0.3368	0.1797	0.2618	—	—
重	0.1646	0.1625	0.2762	0.2882	0.3315	0.3389	—	0.5634	0.2988	0.264	—	—
ク	0.1036	—	—	—	0.1271	—	—	—	—	—	—	—
重	0.0063	0.1696	0.1902	0.1267	0.0167	0.2723	—	0.303	0.0057	0.1631	—	—
重	0.0242	0.02006	0.01659	0.03309	0.0194	0.008106	—	0.03037	0.0232	0.01982	—	—
重	0.0055	—	—	—	0.0070	—	—	—	0.0047	—	—	—
硫	痕跡	0.01805	0.02331	0.02815	痕跡	0.01237	—	0.07436	痕跡	0.07665	—	—
礫	—	0.0064	0.0032	0.00227	痕跡	0.0032	—	0.00227	痕跡	0.0016	—	—
珪	0.2068	0.2025	0.2116	0.214	0.1624	0.1919	—	0.1896	0.2007	0.072	—	—
合	1.0957	1.222	1.296	1.044	1.5858	1.541	—	1.733	1.3002	1.25	—	—
遊	0.6757	0.2978	0.2164	0.3436	0.0608	0.2663	—	0.5157	0.1082	0.2573	—	—
總	1.7714	1.52	1.51	1.388	1.6466	1.807	—	2.249	1.4084	1.487	—	—
マ	—	痕跡	痕跡	痕跡	—	—	—	—	—	—	—	—

流泉たる大堰湯に在りては喜多尾氏の試験當時殆ど中性なりしに對し今回の試験に於ては微弱酸性を示せり。

以上の如く性(反應)及各成分含量變化の事實は分析技術の進歩及技術者に依る手腕の相違等は多少考慮しても尙ほ且つ30年間の時日を経過せる間に泉質に變化を來したることは之を否定し難かるべくこの現象は獨逸鑛泉誌(1907年版)にバウル博士の述べられたるが如く鑛泉は地表上に起る變化によりて影響せられず數十年乃至數百年其集成に殆ど變化なきものなりとの見解に背馳するところなるも我國の如く火山地帯に位置し地塊運動盛んなる地質に在る鑛泉に對してはバウル博士の所説は適用し得ざるべく我國著名鑛泉の大部分は分析後既に20—30年を経過し居るを以てこの點に對して尙ほ將來多數の分析成績を比較したる上確證せんことを期するものなり。

第五章 湧出後時間の經過及導水に依る泉質の變化に就て

前記源泉試験を施したる6種の鑛泉を夫々密栓して實驗室に送致し約7日及3ヶ月を経過したる後其遊離炭酸、フエロイオン、水素イオン濃度及比電導度を試験したるに次の成績を得たり。

第 一 第 二 第 三 第 四 第 五 第 六	泉 號	遊離炭酸				フエロイオン				pH				比電導度 (18°)			
		探酌直後 の成績	探酌後約7日 の成績	探酌後約3ヶ月 の成績	探酌後約7ヶ月 の成績	探酌直後 の成績	探酌後約7日 の成績	探酌後約3ヶ月 の成績	探酌後約7ヶ月 の成績	探酌直後 の成績	探酌後約7日 の成績	探酌後約3ヶ月 の成績	探酌後約7ヶ月 の成績	探酌直後 の成績	探酌後約7日 の成績	探酌後約3ヶ月 の成績	探酌後約7ヶ月 の成績
	1	0.2978	0.373	0.02695	0.0063	0.00448	0.00056	5.60 (31°)	6.41(18°)	7.13(18°)	0.00168	0.001353	0.001353	0.00168	0.001353	0.001353	0.001353
	11	0.2164	0.206	0.1992	0.005209	0.004032	0.000392	5.20 (26°)	6.13()	6.17()	0.00148	0.001366	0.001366	0.00148	0.001366	0.001366	0.001366
	111	0.3436	0.2697	0.1954	0.01039	0.000448	0.000336	6.10 (31°)	6.43()	7.91()	0.00119	0.001051	0.001051	0.00119	0.001051	0.001051	0.001051
	1111	0.2663	0.2458	0.0728	0.002545	0.000448	0.000448	6.20 (31°)	6.53()	7.50()	0.00209	0.002017	0.002017	0.00209	0.002017	0.002017	0.002017
	11111	0.5157	0.2777	0.09196	0.009535	0.000865	0.00028	5.40 (31°)	6.80()	7.71()	0.001874	0.001391	0.001391	0.001874	0.001391	0.001391	0.001391
	111111	0.2373	0.1931	0.06897	0.006222	0.004816	0.000392	5.60 (31°)	6.14()	6.94()	0.001765	0.001366	0.001366	0.001765	0.001366	0.001366	0.001366

備考 前表中探酌後7日經過時に於ける比電導度は試験器械故障の爲め之を試験せず

前記成績の示す如く各鑛泉は時日の経過に従ひ泉質に著しき變化を來すを認むべく従つて鑛泉分析は源泉試験の極めて重要なことを首肯するに足るべし殊に本泉の如き炭酸鐵泉に於て然りとなす。

次に本泉を浴槽中に導入するに當り其泉質の變化如何を試験せり。即ち合流源泉たる第6號泉(大堰湯)に對し伊香保神社側にて採酌せる鑛水及某旅館内湯に就き前記と同様の試験を施行せり其成績次の如し。

	遊離炭酸	フェロイオン	pH (比色法22°)	比電導度 (18°)
第 六 號 泉	0.2373	0.006222	5.60	0.001765
伊香保神社 側採酌鑛水	0.09207	0.0037	6.94	0.001713
某旅館内湯	痕 跡	検 出 せ ず	7.70	0.001440

前記試験成績に示すが如く第6號泉と伊香保神社側採酌鑛水とを比較するに後者は遊離炭酸及フェロイオン量約半減し pH 値は増大してアルカリ性に傾き比電導度も亦減退し更に之を浴槽に導けるものは遊離炭酸は痕跡となりフェロイオンは検出せざるに至り水素イオン濃度及比電導度は前記の傾向を一層顯著に示せり。

以上の結果は主として鑛泉導水方法の缺陷に歸せしむべきものにして即ち第6號泉より伊香保神社側に至る約 500 m の導管は木樋にじり石蓋にて覆はれたるも極めて不完全にして空氣と自由に接觸し且つ伊香保神社側より各浴槽に至る間は勾配急にして鑛水は急湍をなして流下するを以て遊離炭酸は容易に通散し亞酸化態鐵は酸化鐵に變化せらるゝことに原因すべし。

以上の事實は引湯上極めて注意すべきことにして鑛水本來の性質を保持せしむる爲めには密閉式導管を採用し可及的導管中に於ける空氣との攪和に依る酸化作用を避けて浴槽中に導入することは極めて重要なりと認む。

昭 和 十 年 一 月

ヅルチンの人工甘味料

としての價值に就いて

技 師 伊 東 幹 愛

ヅルチンはサッカリンと共に有力なる人工甘味料と見做されサッカリンより快き甘味を有し而も猶砂糖の200—250倍の甘さを有すと云ふ化學的にはパラフェネチール尿素 $\text{NH} \cdot \text{CO} \cdot \text{NH}_2$  にしてその藥理作用はフェナセチンに類似せるものにして直接作用即ち消化管内に於ける作用と吸収作用との二方面より之を觀察するを要すべし。

先づ細菌及酵素に對する作用を見るに大腸菌に對してはその1600倍液を作用せしむるも殆んど殺菌作用を示さず酵素に對しては之と異り胃液の蛋白消化酵素に對しては抑制的に作用し1600倍に於てすでにその蛋白消化力の10%を3200倍に於ては5%を減じ6400倍に到りて始めて無關係なり普通飲食物に甘味を附するにヅルチンの凡そ3000倍濃度を要すとせばペプシンの蛋白消化力は5%を減ぜらるヂアスターゼ並胰臟リバーゼも同じく抑制的な影響を受く今之を表示せば次の如し。

胰 臟 リ バ ー ゼ の 場 合

ヅルチン濃度	消化力の減殺程度
1760倍	27%減
3500倍	14%減
7000倍	9%減

ヂ ア ス タ ー ゼ の 場 合

ヅルチン濃度	消化力の減殺程度
1600倍	26%減
3200倍	18%減
6400倍	2%減

即ちヅルチンは之を経口的に攝る時は胃腸液の消化力を幾分減殺す。

以上はその直接作用なるがヅルチンの本來の毒性は吸収後如何なる機轉をとるかにあり Uglowgg に依ればヅルチンに弱酸又は弱アルカリを作用せしむる時はパラアミドフェノールを生ず。パラアミドフェノールは有力なる血色素毒にしてヘモグロビン

をメトヘモグロビンに變ずヅルチンは生體內に吸収せらるゝ時も試験管内に於けると全く同様な變化を蒙りて分解さるる從ひて尿中にアミドフェノールを證明す故に動物に中等量のヅルチン(體重 1Kgに對し0.1g)を毎日經口的に與ふる時は數週にして體中にパラアミドフェノールの成立によりて説明し得る一定の症狀群を示し且血液中にメトヘモグロビンを證明し得。

一方ヅルチンを砂糖代用品として用ふるも無害なりとの説を爲す Rost の報告を見るに犬に對し 0.3g 迄は殆んど認むべき變化なきも之以上與ふる時は個體により稍相異ある一定の症狀を呈すその作用點は中樞神系及血色素にしてその性質はフェナセチンと類似のものなるもその反應は個性により甚だしく相異し一般に幼若動物は成育せるものより鋭敏なせものゝ如し是個體により體內に於てパラアミドフェノールの成生に遲速あるが爲めなり注目すべき點なりとす。

次に人體試験に對する報告を見るに Kobert は 7~82 歳の 4 人の女及 7 人の男子に毎日 0.1~0.2g 時に 0.6g を與へ臨床的に觀察せしに何等の異狀を認めず又 Ewald は 2.3 の患者に 1 日 1.5g を他の患者には毎日 0.4g を與へ 3 週間に及びしが何等の變化を認めざりしと Rost は前述の動物試験の結果之を自己の家族に試みたり則彼自身及妻 13 及 16 歳の 2 男子及下僕に對し一切の砂糖を廢止し之に更ふるにヅルチンを以てし凡そ 286 日間に 154g のヅルチンを使用せり(之をその甘さより砂糖に換算する時は 37.6kg に及ぶ) 1 家族 5 人にて 1 日平均 0.54g のヅルチン(130g の砂糖に等)を 286 日連用せる理なり而して起る變化を詳細に觀察せるが何等の異狀を認めざりきよりて彼は之に自信を得他の 30 人の人々に試みたり始め 14 日間は毎日 0.1g 宛を 15 日目には 0.3g のヅルチンを與へてその全經過を觀察せしが經過中には何等の症狀を認めず尿にも蛋白、糖及インドフェノール反應なかりしが最後の 0.3g を服用せし後の尿に於ては 17 人は全く變化なく 10 人に弱きインフェノール反應を見 3 人に稍々明瞭なる反應を認めたり以上の成績より Rost はヅルチンは毎日 0.3g 迄は無害にして時々 0.5g 迄は許容さるべきものなりと結論せり因にヅルチンの致死量は犬に於ては體重 1kg に對し 1g にして 6 歳位の男子にありては 8~10g なりと云ふ。

以上の諸點より考察するにヅルチンの藥理作用はフェナセチンの夫に類似しその毒

性は吸収後分解されて血色素毒なるパラアミドフェノールを生ずるにあるものゝ如く
サッカリンに比し毒性強きものと認めざるを得ず。

引用書目

1. THouben : Fortschritte d.Heilstoffchemie IIAdt.Bd.II.
2. W. A. Jglow : Arch. f. Hyg. XCV(1925)
3. Rost u. Braun: Arb. aus d. Reichsgesundheitsamt Bd. 57, 216(1926)
4. Ewald : Pflüger, s Arch. f. d. gesamt. Physiol. (1893)390.
- 5 Strling : M. m. w.(1896) 1227.
6. Kobert : Zit n, Rost a, Braun(l.c)

以 上

昭和 9 年 7 月

Bulletin

of

The Imperial Hygienic Laboratories.

Abstracts from Original Papers.

1. On the simple method for the detection of the active oxygen in air. By *M. Ishio and A. Kogure.*

Testifying the sensibilities of three test paper methods of potassium iodide and starch-, tetrabase-, and terapaper, we selected the last one for practical use.

Its reagent, tetramethylparaphenyldiamine, is found to be able to get in smooth reaction by hydrogenation of paraphenyldiamine on the presence of paraformaldehyde and nickel as a catalyser.

We compared the intensities of the color reaction on the paper with the following standards.

Standard.	I.	II.	III.	IV.
L. U. {Blue.	4.0	3.0	2.0	1.0
{Red.	3.0	2.0	1.0	0.5
Description:	+++	++	+	±

The tests in summer season of 1934 give us the following results:

Intensity of active oxygen in air of cities	—	or	±	or	+
" " " of coasts (famous bathing places					
in the vicinity of Tokyo)	±				
" " " of high regions					
in japanese eastern national parks, their altitudes ranging					
up to 1.0-1.5 km (camping places)	+	or	++	or	+++

2. On the Measurement of the Sun Light and Its Ultra-Violet Rays. By *Y. Katsuda.*

The following has been extracted from the reports of the research work on the hygienic conditions of summer-resorts which was done under the direction of the National Bureau of Hygiene, August 1934. It includes the fundamental experiments and their practical applications on the Boshu Peninsula, Shonan,

and the camping places at Nikko, Sugadaira, Kamikochi and Lake Yamanaka and also the cities of Tokyo and Yokohama.

Using the Oyama's thermoelectric-pile pyrliometer and the Futagami's portable intensimeter for ultra-violet rays, the results may be briefly given as follows :

1. The sun-light and its ultra-violet rays alone were both found to be most intense from 10 A. M. to 11 : 30 A. M.. This was true of all the places examined.

2. The intensity of the sun-light and of the ultra-violet rays of the sea-side resorts was approximately 90% of that of the mountain resorts, and the intensity of the rays in the cities was from 80 to 90% of that of the sea-side and from 70 to 80% of that on the mountains.

3. Although the intensity is greater at the mountain-resorts, as it has been shown above, than the sea-side resorts, the total sum of the quantity of the rays integrated during the period of one month is most likely greater at the sea-side than on the mountains, considering the fact that there are only a few clear days at the mountain resorts examined, compared to the sea-side places.

3. On the estimating Method of Bacteria in the Air. By *T. Akiba and M. Kazama.*

Oker-Blom reported in 1912 a new method of estimating bacteria in the air. This method is far simpler than any others hitherto published such as those of Rudolf Emmerich, Petri or Ficker.

Oker-Blom's method is as follows. Filtering some amount of air through some drops of water in the narrow part of U-tube, water is then cultivated. We tested its exactness and recognized Oker-Blom's method to be simple and exact.

4. Concentration of Special Bacilli in Water by Adsorbents. Its Application to detection of *B. coli* in tap water. By *T. Akiba and M. Kazama.*

When we wish to detect some special bacilli such as dysentery-, typhoid-, coli-bacilli which exist in a small number in water, it is convenient to concentrate the bacillus. For the purpose, many methods have been devised as follow : 1. filtration of water 2. concentration of water by evaporation 3. adsorption of bacilli by coagulating chemicals as iron chloride, iron sulfate, lead nitrate and alum. Among these the last method may be best. But it is difficult to gather perfectly the coagulating chemicals added to water.

Adsorbents such as (white bole, acid clay and medicinal char coal) are known

to adsorb remarkably bacilli in water. Having experimented that bacilli adsorbed by these preparations did not die at least for 10 days, we considered to utilize adsorbents for concentration of bacilli in water. After adding 0.1—0.2% adsorbents into the water and shaking more than five minutes, we filtered the water through the normal filter paper under reduced pressure. Gathered adsorbents with the little filter paper were thrown into the broth and after the enumeration of bacilli we isolated the specific bacilli by the routine method. Using such a concentrating method, we can easily detect *B. coli* in more amount of water than 100–1,000 cc.

5. On the Complement preserving Effect of Salts. By *T. Akiba and K. Hayasi.*

For the experiment we selected eight kinds of salts such as sodium sulfate, magnesium sulfate, sodium chloride, sodium nitrate, sodium phosphate, sodium acetate, sodium oxalate and sodium citrate which were considered to be relatively inert in disturbing the complement fixation mechanism. Adding such salts in the rate of 1–10% with 2% boric acid as bactericidal preservative into the complement serum of guinea pigs and preserving such serum in the ice box, we estimated regularly at a definite interval the complement titre according to the Browning method.

The result we obtained was that the complement serum was preserved active by adding 2% boric acid with:

- 2–10% sod. sulfate for 90–160 days
- „ sod. phosphate for 90–120 days
- „ sod. acetate for 90 days
- „ mag. sulfate for 30–90 days
- „ sod. chloride for 60 days
- „ sod. citrate for 60 days
- 2.5% sod. oxalate for 50 days.

Sodium nitrate is injurious for complement.

We examined next whether or not such a preserved complement might be used for Wassermann reaction in the same manner as the fresh serum and found the preserved complement serum to be satisfactory.

6. On the Differentiation of *B. Bulgaricus*, *B. Granulosum* and *B. Acidophilus*. By *T. Akiba and M. Kazama.*

We isolated some strains of *B. bulgaricus*, *B. granulosum* and *B. acidophilus* from medicinal preparations of lactic acid bacilli and studied bacteriologically and serologically. We then conclude that these lactic acid bacilli can be distinguished from each other in many points such as in the form of colony, in pigment staining, in the relation among culture media, temperature of cultivation and the form of bacilli; and in the serological properties.

7. The Quantitative Estimations of Enzyme Preparations. By Y. Katsuda and T. Fukuyama.

This article includes all the reports on the experiments of the enzyme preparations presented to our Laboratory for quantitative estimations.

The preparations may be classified into three: (1) animal-origins, (2) plant-origins and (3) combination of the two. The quantitative estimations are also of three kinds: decomposing power on (1) protein, (2) fat and (3) starch.

The main features of the report are the following: (1) The method of determining the fat decomposing power by Volhard-Stade, which has been widely used, was found to be often erroneous, and its reason was also made clear. An improvement was proposed.

2. The following data were obtained by measuring the decomposing power of papain for casein at various hydrogen ion concentrations.

pH	2	3	4	5	6	7	8	9	(at 40°)
Decomposed casein (cc)	0	0	0.2	1.8	0.5	0.3	0.1	0	

From the above data, the optimum hydrogen ion concentration of papain for casein is determined to be pH=5.0, which is identical to the optimum pH or gelatin, given by Willstätter.

3. The effects of temperature on the above experiment:

Temperature	40°	50°	60°	70°	80°	90°	100°
Decomposed casein (cc)	2.0	2.0	3.0	3.6	3.2	2.8	1.6

The above shows that the optimum temperature is 70° which agrees with the previously reported values, 65°~70°.

It has been considered that papain loses its activity above 80°. But the experiment makes it clear that it retains its activity considerably from 80° to 90° and still a little at even 100° when it acts on casein at op. pH and Op. temperature for an hour.

4. The quantitative estimation of papain was performed by a new method which combines the methods of Willstätter and of Fuld-Gross.

8. **Über Formaldehyd als Konservierungsmittel.** By *M. Ito*.

9. **Studies on substance in fishes in which cause the natural developed formaldehyde-like reaction (1. report)** By *Y. Hattori and F. Hasebe*.

Canned crab meat, octopus, cuttlefish, etc., when heated with water, chemically produce formaldehyde reaction. This makes it often difficult to distinguish it from formaldehyde which is artificially added as preservative.

For the solution of this problem, first of all, we have studied on the various detecting methods of the mother substance which cause the natural developed formaldehyde-like reaction in cuttlefish (*Loligo bleekeri* keferstein). After a series of experiments, we have found that in testing on the detection of formaldehyde-like reaction in fishes, the better results can be secured by using iron-reaction¹⁾ as described already for the distillate on the asbest-board of aqueous extract solution (neutral or above pH 4.48).

References.

- 1) *J. Hyg. Chem. soc. Japan*, vol. 5, No. 3, 157. 1933.

10. **Untersuchung über die Natur der Substanz, die im Fleisch der Fische eine formaldehydähnliche Reaktion bewirkt. (II. Mitteilung) Ueber den *Loligo bleekeri* Keferstein aus Hokkaido.** bei *Y. Hattori und T. Hasebe*:

Ueber die Identifizierung und Extraktionsmethode der formaldehydbildenden Muttersubstanz dieser Untersuchung wurde bereits in der I. Mitteilung kurz mitgeteilt.

Verff. haben unter Benutzung der Methode der fraktionierten Fällung der Silbersalze im wässerigen Auszug des *Loligo bleekeri* Keferstein aus Hokkaido geprüft, in welche Fraktion die Substanz dieses Auszugs, die die Formaldehydreaktion gibt, übergeht und haben festgestellt, dass dieser Bestandteil sich vollständig mit Betain zusammen in der Lysinfraktion vorfindet. Sie konnten zwar die beiden Substanzen durch Fällung mit alkoholischem Sublimat nicht trennen, aber als sie ihre alkoholische Lösung mit alkoholischer Silbernitratlösung behandelten, wurde Betain vollständig gefällt und da die formaldehydbildende Muttersubstanz vollständig in der Mutterlauge gelöst bleibt, konnte

dieselbe dadurch getrennt werden. Wird nämlich der Silberniederschlag im Wasser verrührt und die Flüssigkeit nach Entfernung des Chlorsilbers durch verdünnte Salzsäure unter vermindertem Druck konzentriert und am kühlen Orte stehen gelassen, so scheiden sich weisse Nadeln ab. Werden dieselben mit Wasser zusammen erhitzt und die Flüssigkeit destilliert so zeigt das Destillat gar keine Formaldehydreaktion. Der Schmelzpunkt jener Substanz ist $237-238,5^{\circ}$ und der Analyse nach ist sie mit Betainchlorhydrat identisch ($C_5H_{11}NO_2HCl$). Daraus konnten das Pikrat (Fp. 181° $C_5H_{11}NO_2 \cdot C_6H_3N_3O_7$), das Golddoppelsalz (Fp. 205° $C_5H_{11}NO_2 \cdot AuCl_4$) und das Platindoppelsalz (Fp. 244° $(C_5H_{11}NO_2 \cdot HCl)_2 \cdot PtCl_4$) hergestellt werden. Die Mutterlauge wurde mit verdünnter Salzsäure versetzt, vom Chlorsilber befreit; die freie Mineralsäure wird dann durch Bariumcarbonat entfernt und nach der Destillation des alkoholischen Anteils unter vermindertem Druck die Flüssigkeit in üblicher Weise mit Phosphorwolframsäure behandelt, der erhaltene Niederschlag durch Barytwasser zerlegt. Die schwach salzsaure Lösung wird unter vermindertem Druck konzentriert, wobei man weisse Nadeln bekommt. Wird diese Substanz mit Wasser erhitzt und destilliert oder im Einschmelzrohr mit Wasser erhitzt, so bilden sich beträchtliche Mengen Formaldehyd. Die Substanz zeigt den Fp. 216° und hat der Analyse nach die Zusammensetzung $C_3H_9HO \cdot HCl$. Daraus haben Verff. das Pikrat (Fp. $201-205^{\circ}$ $C_3H_7NO \cdot C_6H_3N_3O_7$), das Golddoppelsalz (Fp. 268° $C_3H_7NO \cdot HAuCl_4$) und das Platinchloriddoppelsalz (Fp. 228° $(C_3H_7NO \cdot HCl)_2 \cdot PtCl_4$) hergestellt.

Da festgestellt wurde, dass die obige formaldehydbildende, kristalline Substanz mit dem Trimethylaminoxid von W. R. Dunstan, E. Goulding (Soc, 75, 792 (1889)) identisch ist, wurde es nach der Methode dieser Autoren aus Trimethylamin dargestellt und mit dem von Verff. aus *Loligo bleekeri* Keferstein aus Hokkaido extrahiertem Präparat verglichen, wobei sich herausstellte, dass sie dieselben Eigenschaften haben. Werden nämlich je 5 ccm. einer 0.1% ig. wässerigen Lösung der Chlorhydrate des Extrakts und des dargestellten Produktes im Carius-Rohre eine Stunde lang auf 220° erhitzt, so bildet sich in beiden Fällen Formaldehyd, der $1/5500$ der obigen 5 ccm. entspricht. In der zersetzten Flüssigkeit findet sich Dimethylamin. Kurz die Substanz, die im *Loligo bleekeri* Keferstein die Formaldehydreaktion bewirkt, ist Trimethylaminoxid und Formaldehyd bildet sich durch Veränderung, die der folgenden Gleichung entspricht:



11. On a New improved Method for detection of formaldehyd. By *Y. Hattori and T. Hasebe.*

The authors have found a new improved method for detection of formaldehyde which is used as a food preservative.

The procedure of the method is as follows: Introduce 10g. of the fresh egg-albumen into a beaker and mix it by stirring to a 40cc. of water. Transfer the mixture to a 20 cc. of 30% hydrochloric acid. Allow to stand for a few minutes in a water-bath at about 35°C., in order to coagulate the protein, while shaking frequently, and then filter through a dry paper. Dissolve carefully the filtrate to a 55 cc. of 30% hydrochloric acid, and then add recently prepared 0.75 cc. of 0.5% ferric chloride solution to a clear mixture. Mix 5 cc. of the test solution with 12.5 cc. of reagent, immerse the test tube in the boiled water-bath for about 5 minutes. Remove the tube, and cool it immediately in cold water. A violet colour develops in the presence of formaldehyde. The delicacy of the test is about 1 part of formaldehyde in 750000 parts.

12. On the detection of formaldehyde in the smoked meat. By *Y. Hattori and T. Hasebe.*

After surveying the various Methods proposed for the detection of formaldehyde in smoked meat, we have found the following method to be suitable and practicable for the estimation of formaldehyde in smoked meat.

The procedure of the method is as follows: Transfer 30 g. of pulverized sample to a flask with 100cc. of water, corked and allow to stand 1 hour with frequent shaking. Then add 10cc. of 50 % sulphuric acid. Allow to stand for 1 hour, shaking frequently, and then filter through a filter-cloth, add a sufficient quantity of 20% phosphotungstic acid solution in 5 % sulphuric acid to the filtrate. After removing the precipitate produced by filtration transfer the filtrate to a round-bottomed flask of 500 cc. capacity. Make 200 cc. with water. Rest the flask on the asbestos board and so regulate the flame as to collect 20 cc. of the distillate in as nearly 20 minutes as possible. When the distillation is complete, dilute one part of the distillate with four parts of water. The following tests A and B are carried out with the dilute distillate.

A. Mix 5cc. of the test solution with 0.5cc. of freshly prepared 1% solution of phenylhydrazin-hydrochloride, allow to stand for 10 minutes, add 2 drops of 1% solution of nitroprussidnatrium, allow to stand for 5 minutes,

finally add 2 drops of 1% solution of sodiumhydroxyde.

B. Place 3cc. of test solution into test-tubes, fill 2 cc. of water and 15 cc. of reagent. The test-tube is immersed in the boiled water-bath for about 5 minute. Remove the tube, allow to cool. Reagent is prepared as follows :

Introduce 10g. of the fresh egg-albumin into a beaker and mix it by stirring to a 40cc. of water. Transfer the mixture slowly to a 20 cc. of 30% hydrochloric acid. Allow to stand for a few minutes in a water-bath at about 35°C., in order to coagulate the protein, while shaking frequently, and then filter through a dry paper. Dissolve carefully the filtrate to a 55cc. of 30% hydrochloric acid, and then added recently prepared 0.75 cc. of 0.5% ferric chloride solution to a clear mixture.

In the above test A a blue color and B a violet color develop in the presence of formaldehyde.

13. The preservative effects of methyl-, ethyl- and propyl-p-oxybenzoate on Soya sauce. By *M. Ishio and Y. Endo.*

0.0167g of methylester, 0.044g of ethylester and 0.011g of propylester preserved every 100 cc. of the diluted Soya sauce (8:2) from growing of the film yeast during 65 days at 28°C.

14. Toxikologische Untersuchungen über die p-Oxybenzoesäure und ihre Estern. By *M. Ito, H. Higashi and B. O.*

15. On the detection of methanol in spirits, alcoholic beverages, tinctures, etc. By *Y. Hattori and T. Hasebe.*

According to a modified manner of Reif's method, one (Hattori) of the author described in the previous reports¹⁾. After surveying the various methods, we have found a new improved process which is perhaps the most suitable and practicable for detection of metanol in rectified spirits, alcoholic beverages, tinctures and other sprituous preparations,

The method was carried out as follows : With liquids, containing less than 20 % of alcohol use 20 cc. with liquids, containing more than 20 % but less than 50 % of alcohol use 10cc., with liquids, containing more than 50% of alcohol use 10cc., and dilute it with water to 20 cc.

Introduce the test solution into a 50cc. distillation flask and connect a small

glass tube with length of 75cm., which is bent two times nearly at right angles, with the neck of the flask as a condenser, according to Reif's process. Distil carefully 1cc. into a small test-tube surrounded by ice water, using a small flame, in order that the last vertical part of the condenser is not heated by the distillate. Place 0.2 cc. of distillate in to the same flask as described above, add 5cc. of water and 5cc. of 1% solution of potassium permanganate and 0.4cc. of 50% sulphuric acid.

Allow the mixture to stand for 2 minutes, decolorize by adding 1cc. of 8% solution of oxalic acid. Then the content of the flask add a few pieces of porcelain, distil carefully 1cc. into a small test-tube surrounded by ice-water as described above. Remove 1cc. of the first distillate and then, carefully heated, so that 5cc. distil over about 10 minutes. To the 5cc. of the secondary distillate add slowly 1cc. of concentrated sulphuric acid. Then to the liquid add 5cc. of fuchsinsulphurous acid solution and mix well. If methanol is present in the sample, a violet or violet-red color will develop in 2 hours.

References.

- 1) Bull. Imperial Hyg. Lab. No. 32, 267, 1928.
J. pharm. soc. Japan, vol. 48, No. 8, 767, 1928.

16. On the analytical test of the hot spring "Ikao". By Y. Hattori, Y. Takeda, K. Fujii and T. Hasebe.

-
17. Über Dulcin als Süßstoff. By M. Ito.
-

衛生試験所彙報第四十三號

(飲食物並日用品類分析表)

正 誤 表

頁	行	正	誤
1	綿羊肉カロリー中	154	159
43	米 胚 芽 中	胚 芽 末	胚 芽 米
"	米 胚 芽 中	米 芽 末	米 芽 米
132	レコード石鹼中	水分 12.05	水分 18.84
"	"	無水脂肪酸 72.12	無水脂肪酸 —
"	"	結合アルカリ (Na_2O) 6.22	結合アルカリ (NaOH) 7.84
"	"	遊離脂肪 7.46	遊離脂肪 (脂肪及樹脂) 6.24
"	"	クロール ナトリウム 0.79	クロール ナトリウム 0.17
"	"	遊離アルカリ 0.15	遊離アルカリ 0.34
"	"	備考欄中より結合脂肪酸及樹脂酸 65.17を削除す	