

衛生試驗所彙報

第六十四號

厚生省衛生試驗所

昭和十九年七月

目 次

		頁
1. ビタミン B ₁ の簡易比色定量法 (永ス比色標準液の提案)	小川 俊太郎 河内 敬朝	1
2. ワツフル中毒の原因に関する試験報告	秋葉 朝一郎 服部 安藏 市川 忠火 石川 金之助	7
3. テフセンアサガハ属各品種の生産力調査	若林 榮四郎 平岡 好美	31
4. アガリチン製造試験	黒野 吾市 島崎 衛 鈴木 繁 安井 義一 原田 直治	41

衛生試験所彙報

第六十四號

ビタミン B₁ の簡易比色定量法

(永久比色標準液の査察)

技師 小川俊太郎 技手 河内敬朝

緒 言

當今所謂永久比色用標準液は各種の比色定量に於て盛んに應用せられつゝあり、本実験はビタミン B₁ をアレブランダ・マンツラム試薬による呈色反應を利用して定量する際に應用し得べき永久比色標準液を提供すべく企圖せられたり。

實 驗

1 永久比色用標準液

従來發表を見る永久比色用標準液は概ね著色性無機塩水溶液乃至有機性色素の水溶液にして次の四條件を満足し得るものたることを前提とす。

- (1) 入手容易なること。
- (2) 力價檢定の容易なること。
- (3) 液の色調が被檢液の色調と近似し居ること。
- (4) 液の呈色に保存性の有ること。

上述の諸條件に鑑み余等は先づ $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ を使用することとせり。

2 $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 水溶液の調製並力價檢定法

現行合衆國藥局方及 P. Rosin 著 *Reagent Chemicals and Standard* による

2

記載しある所に據れば二價の(Co⁺⁺)コバルト塩のカ價はヨード法に據り簡易に決定し得と稱するも上述各書に記載せる方法にては其の檢定値屢々動搖するの憾みあり。依て余等は次記の如くして $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ 水溶液の調製及カ價檢定を施行せり。

$CoCl_2 \cdot 6H_2O$ 結晶約 65g を稀塩酸(局方塩酸 25cc に水 975cc を混和して製す)に溶解し全量を 1ℓ とす。本液 2~5cc を内容約 250cc の共栓三角コルベン内に採り 10% NaOH 25cc を振盪しつつ徐々に添加し次に局方オキントール 10cc と上同様にして加へ更に水 10cc 及若干箇の沸騰石を加へ後かに直火にて煮沸し徐々に濃縮して全量約 25cc と成すべし。次に液を放冷し(煮沸放冷中生じたる黒褐色の Co_2O_3 としてコルベン壁に附着することなきに注意すべし)ヨードカリ液(ヨードカリ 3g を水 5cc に溶解し直ちに使用)を添加し直ちに 25% 硫酸 25cc を流加して軽く液を混和後栓塞して室温にて 30~60 分間放置し器底に沈着せる Co_2O_3 が完全に溶解したるを確める。後 $N/10 Na_2S_2O_3$ 液により速かに滴定を行ふべし(標示薬: 澱粉溶液)

$N/10 Na_2S_2O_3$ 液 1cc ~ 23.75mg $CoCl_2 \cdot 6H_2O$

計算により求め得たる $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ 水溶液のカ價を斟酌して $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ の 1% 及 2% 水溶液を作製す。但し原液を稀釋するには前記の稀塩酸を使用すべし。

3 コバルト標準液の調製法

2 に於て調製せる $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ の溶液及稀塩酸を次表の割合にて混合しコバルト標準液(以下標準液と稱す)を作製す。此内 No 1~No 10 には 1% $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ 溶液と以下には 2% $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ 溶液を使用す。何れも保存のため比色筒(抽出)内に封入す(第一表)

第一表

番 號	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
コバルト溶液(cc)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	5.5	6	6.5	7	7.5	8	8.5	9	9.5	10
水 (cc)	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0	4.5	4	3.5	3	2.5	2	1.5	1	0.5	0

4 クロム液

標準液の呈色は被檢液に比し黄色を帯ぶ。依りて比色に當りては後者の呈色に幾分の黄色を附加し比較に供せざるべからず。此目的にはクロム酸カリ水溶液を用意す。即ちクロム酸カリの 1.0mg% ~ 10.0mg% の溶液を 1mg 宛 10 階段に區分し合計 10 本のクロム瓶を作製し 10cc 宛比色筒内に封入す。

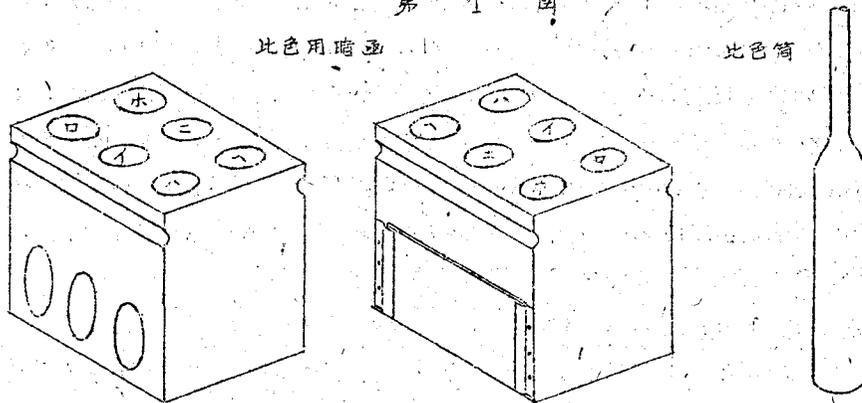
5 水

蒸留水と比色筒内に封入す。

6 比色用器具

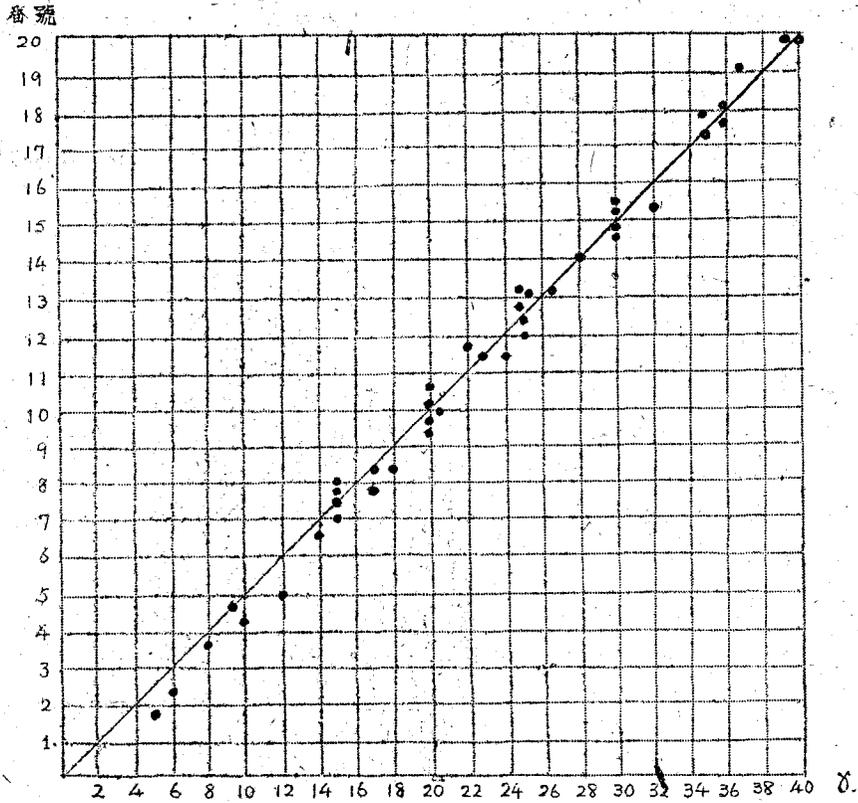
比色法に據る水素イオン濃度測定器に附属せる比色用暗函及第一因中に示すが如き比色筒(内径約1.2cm, 有効の高さ約9cm)を利用す。筒は硬質硝子製にして且可及的径の一定したるものを選び、光源は太陽の散光にて可なり。

第 1 圖

7. 標準液の B_1 當量決定法

B_1 結晶としては武田、立石化学及厚生省より分與される結晶純品を使用し、5%~40%の呈色キシロール液を櫻井法(M.M.印白土0.1g使用)により作製し茲に得たる呈色液を前因中の比色筒内に入れ暗函の中央孔(イ)に挿入し其左右の孔(ロ)(ハ)に夫々3に於て作製せる標準液を挿入す。次で(イ)及(ロ)(ハ)の色調を等しからしむる爲め(ホ)(ヘ)に水を入れる筒を各々挿入し(イ)に対応する孔(ニ)には前記4に於て用意したるクロム液の何れかを滴め色調を可及的同一たらしむ。斯の如き要領にて標準液及クロム液を種々交換しつつ比色を実施すれば被検液と色調の最も近似したる標準液筒の番号を知るを得べく又被検液の色調が何れの番号の標準液色調よりも稍濃厚なるも其次の番号の標準液の呈色より淡き等の結果を判定するを得べし。本操作を反覆し平均値を求め以て標準液の番号と B_1 の个数との關係を追究したるに第2圖の如き關係曲線を得たり。之に據れば个数と番号間には大略直線的關係の成立し居るを見得べし。

第 2 圖



8. 實 験 例

市販 B1 製品を試料としアルフリヒ光度計及本法を利用して各別箇に得たる測定値を示せば次の如し、本法の实用的の價値充分なるを窺はしむ。

試料名稱	アルフリヒ光度計に據る値	本法に據る値
結晶と乳糖との粉劑	400 (8/9)	410 (8/9)
胚芽劑	60 "	63 "
酵母劑	105 "	110 "
液劑 1	64 (7/6)	68 (7/6)
" 2	150 "	165 "
" 3	23 "	25 "

9. 備 考

(1) 本法に於て使用するプロム液の番号と其程度使用したる標準液の番号間に

は大約一定の關係ありて其狀況次の如し(第二表)、但各番号筒を使用し得る限界は其境界の部分に於て相互に幾分重複し居り測定結果も之により左したる影響を蒙らす。

第二表

コバルト標準液の番号	フロム液の番号	コバルト標準液の番号	フロム液の番号
1~3	不用又は1	9~11又は12	5
3~5	1	11~14	6
5~6	2	14~17	7
6~7	3	17~20	8又は9
7~9	4		

(四) 最適比色限界は B_{10} の 20 μ ~30 μ の間なり。

(イ) 標準液の濃度即ち番号を更に細分するも可なるも測定結果は上述の区分程度にて充分実用に供し得。

(ニ) 本法の誤差は士10%程度なり。

(ホ) 本報告中記載せる第二圖の曲線はMM印白土0.1gを吸着に使用したる櫻井法による値を基礎とす。吸着剤又は定量法の異なる場合には曲線は其都度改訂するを要す。

10 結論

B_{10} の比色定量法に於て利用し得べき永久比色標準液の存在を企て無機塩液に據るコバルト比色標準液を提供せり。本法は實際の結果充分の实用的價值を有す。

本実験を実施するに際し東京薬學專門學校勤務報國隊員相澤長雄、中村敏夫両君の助力を得たり。

ワッフル中毒の原因に関する試験報告

技師 秋葉朝一郎 技師 服部 安藏
 技手 市川 忠次 囑託 石川金之助

一 緒 言

近年歐米(主として米國)に於ては葡萄状球菌に起因する食中毒例の報告極めて多数に上り、「米國に於ては食中毒の原因中最も多きものなり」(Green, G. Slocum and B. A. Linden, 1939)とすら稱せらるるは注目すべき事実なり。而して本邦に於ても既に⁽¹⁾小島(昭和14年)⁽²⁾兒玉(昭和14年)⁽³⁾阿部及森(昭和18年)氏等は葡萄状球菌に起因すると認めし食中毒例を報告せるところに於て、従つて此菌は食中毒の原因検索に際して常に留意すべき対象なりと云ふべし。

余等は今夏山梨縣甲府市に發生せるワッフルに起因する集團的食中毒に際し、縣當局より送附せる試料に就き其原因を検索せる結果、本例は葡萄状球菌に起因する食中毒なりとの結論に達せるを以て茲に其の試験成績を報告するものなり。

二 中毒事件の概要

甲府市太田町南部及北部町内常會所屬二百十余戸市民約一千名は、昭和十八年八月十二日午前十時頃より同市常盤町茶菓子店製造に係るワッフルの配給を受けたるに、之を食せる者の中より二百九名(罹患率約21%)の中毒者發生せり。

ワッフルの製造状況は山梨縣内政部衛生課係官の調査せる所に依れば次の如し。菓子製造所の設備、器具、容器及用水等には衛生上遺憾の處を認むること無し。該菓子店に於ては八月十日午前十一時頃に餡を調製し終り之を鉄製鉢御引容器五個に充れて保存せり。翌八月十一日ワッフルの上皮を作り之に前記の餡を包みて約一千個の製品と爲し、木製の箱十個に分ち納め、箱は交互に積重ねて放置せり。製造は十一日午後七時頃完了せり。翌十二日午前九時頃より配給を開始し午前十一時頃大体終了せりと云ふ。

餡の原料は蚕豆、馬鈴薯及砂糖にして混合比率は蚕豆四分馬鈴薯一分砂糖五分

なり、又上反の主原料は小麦粉、鶏卵及砂糖にして他にベーキングパウダー及大豆油を使用せり。前記諸原料と調査するに其品質に異常を認めず。

茲に注目すべきは、某菓子店に於ては、配給用菓子としてワッフル及栗饅頭の一個づつを同一原料を使用して同日に製造し、しかも餡は同一調製法を分ちて用ひたるものなるが、中毒はワッフル配給区域のみより発生し栗饅頭を配給せる區域よりは一名の中毒者も出さざる事実なり。

中毒症状は、八月十二日午後、ワッフル食後二乃至四時間を經て悪心を訴へ數回の嘔吐を催し、大多數の者は下痢を起し軟便乃至水瀉便なるも血液又は粘液を混ぜず、腹痛を訴へし者あり。概ね発熱を見ざるも稀に三十八度に達せし者あり。症状は概ね軽度にして大多數は発病後五、六時間にして軽快せり。比較的重症なりし者六十名ありしも何れも二、三日中に離床するに至り、死亡者皆無なり。

罹患率は約二十一%にして中毒者二百九名中子供が多数を占め、患者の食せるワッフル数を見るに概ね一個なり。

尚、採取時ワッフルに異味を識別し得たりと称する者あるも、概して異臭味と知覺せざりしものの如し。

尚、中毒患者の尿尿に就きてサルモネラ属食中毒菌の検索は施行せず。

以上は山梨縣内政部衛生課の調査報告に據る。

三、 検 体

縣當局より送附せる検体は中毒原因たりしワッフル残品七個並に之と同時に製造し、しかも中毒を惹起せざりし栗饅頭残品七個なり。

ワッフルは共栓罐に容れ其周圍を氷詰となし八月十三日午後四時三十分山梨縣衛生課某技手の當所に持参せるもの、栗饅頭は環詰となし包装して郵送せるものにして八月十六日午後四時當所に到着せり。検体は受領後直に電気冷蔵庫中に保存し随時試験に供せり。

ワッフル一個の平均重量は40gにして餡14g及26gとあり、栗饅頭は一個の平均重量43gにして餡21g及22gなり。

ワッフルは中毒惹起後1日即製造後2日(但し餡は調製後3日)を經過せるものにして、皮には僅微の異臭を感知する程度なるも餡は既に稍、濕潤性を帯び酸敗臭を有せり。

栗饅頭は製造後5日(但し餡は6日)を經過せるものなるも、皮には全然異常を認めず。又餡はワッフルに比して固く濕潤性を欠き微に馬鈴薯臭あるも酸敗臭を

認めず、但し二個に於て皮と髄を分離するに際し糸を引きしものあり、即ち到着當時の外観検査に於て、ワッフルは弱かに腐敗を感知し得たるも糸線頭は腐敗の徴候極めて極微なりしものなり。

四 試 験 方 針

前記の如く本中毒は潜伏期短時間にして、嘔吐及下痢等の胃腸炎症状を主徴候とし、発熱殆ど無く、其の経過迅速なる事並に接觸傳染の認められざりし事等の事實に徴し其原因は毒物(化学毒又は細菌毒)なるべしと推測せらる。しかも豫後可良にして死亡者無きに鑑み、毒物の種類は重金属塩及び葡萄状球菌の産生する毒性物質所謂エンテロトキシンに最も疑を置かざるべからず。

尚又、吐瀉を主徴とする植物塩基毒及蛋白質の腐敗分解に因りて生成するアミン体所謂ブリーゲルのプトメイン性物質も亦考慮するの要あるべし。

茲に於て余等は試料に就き化学的並に細菌學的試験を併施することとし、化学的試験に於ては金属毒、植物塩基毒、^(*)腐敗及の鑑識及び^(*)ブリーゲル法に依るプトメイン性物質の検索を施行し、細菌學的試験に於ては葡萄状球菌並にサルモネラ属食中毒菌の検索を施行するの方針を構てたり。

甲 化 學 的 試 験

五 金 屬 毒 及 植 物 塩 基 毒 の 検 索

検体2gを秤取しフレゼニウス・バボー法に依り壊機せる澄明溶液に就き常法に依り金属毒の有無を検したるに陰性の成績を示せり。

又別に検体5gに就きスタス・オット法に従ひて毒物の抽出分離を行ひ植物塩基毒の呈色反應を検したるも従て陰性の成績を示せり。

六 腐 敗 鑑 識 法 の 試 験

イ 水 分 糖 分 及 灰 分 の 定 量

ワッフル及糸線頭各一種に就き常法に従ひ水分、糖分及灰分を定量し次の成績を得たり。

種別	原検体中の含量					無水物中の含量			
	水分	糖分			灰分	糖分			灰分
		轉化糖	蔗糖	糖分總量		轉化糖	蔗糖	糖分總量	
ワッフル餡	40.13	14.33	12.80	27.13	0.72	23.94	21.38	45.32	1.20
同上皮	32.86	5.33	30.25	35.58	0.83	7.94	45.06	53.00	1.24
栗饅頭餡	26.74	8.89	39.75	48.64	0.87	12.13	54.26	66.39	1.19
同上皮	21.11	2.57	33.74	36.31	0.79	3.26	42.77	46.03	1.00

□ 水浸液の水素イオン濃度及検品の外觀異臭の有無試験

水素イオン濃度は搗碎研磨せる試料1gに煮沸後密栓放冷せる蒸留水10ccを加へ時々振盪しつつ密栓して一時間放置し速心分別せる上清液に就き比色法及瓦斯電池法によりて試験し外觀及異臭の有無試験は検品に就き直接検査せり。其成績次の如し。

番号	種別	水素イオン濃度		外觀及異臭の有無
		比色法(30度)	瓦斯電池法(18度)	
1	ワッフル餡1号品	5.6	5.5	稍湿润性類紫色糖様物質にして類白色大小不同の小片と混じり細粒状臭と有す
2	” 2号品	5.6	5.5	”
3	” 3号品	5.6	5.5	”
4	” 4号品	5.6	5.5	”
5	” 5号品	5.6	5.5	”
6	” 6号品	5.6	5.5	”
7	ワッフル皮1号品	6.6	6.7	黄褐色にして特異の臭氣と有す
8	” 2号品	6.6	6.7	”
9	” 3号品	6.6	6.7	”
10	” 4号品	6.6	6.7	”
11	” 5号品	6.6	6.7	”
12	” 6号品	6.6	6.7	”
13	栗饅頭餡1号品	6.3	6.4	類紫色糖類似の物質にして類白色大小不同の小片と混じり微に特異臭と有す
14	” 2号品	6.3	6.4	”
15	” 4号品	6.3	6.4	”
16	栗饅頭皮1号品	6.8	6.9	淡褐色にして異臭を認めず
17	” 2号品	6.8	6.9	”
18	” 3号品	6.8	6.9	”

ハ、窒素総量及アムモニア性窒素の定量

検体 1g に就き常法に従ひ總窒素を定量し別に搗碎研磨せる試料 5g を秤取し蒸溜水 50cc を加へ稀薄ナトロン液を以て殆ど中和に至らしめ稍、過剰量の炭酸不含有の煨鉄マグネシアを加へたる液キールダニル法に準じアムモニアを蒸溜し之を 1% 硫酸中に捕集し 1% ナトロン液を以て過剰の硫酸を還測しアムモニアの含量を算定せり。其成績次の如し

番号	種別	原検体中の含量(%)		無水物中の含量%	
		窒素総量	アムモニア性窒素	窒素総量	アムモニア性窒素
1	ワツフル 鉛	0.942	0.019 (0.023)	1.573	0.032 (0.039)
2	" 皮	0.869	0.004 (0.005)	1.294	0.006 (0.007)
3	衆饅頭 鉛	1.149	0.006 (0.007)	1.568	0.008 (0.010)
4	" 皮	1.013	0.004 (0.005)	1.284	0.005 (0.006)

備考 括弧内はアムモニアに換算せる數値を示す

ニ、硫化水素の有無試験

鉛及皮の等量と搗碎研磨せる試料 5g と小形エルコルフ中に取り蒸溜せしめたる鉛濾紙の一片を固定せるコルフ栓にて寛く閉塞し温所に一時間放置し呈色の状態を検するにワツフル及衆饅頭共陰性の成績を示せり。

ホ、メチレンブラウ脱色試験

搗碎研磨せる試料 1g と内容 60 cc の比色試験管に取り煮沸後 40 度に保たれる蒸溜水 10 cc を加へ之にメチレンブラウ溶液 (メチレンブラウ酒精飽和液 5cc を 195 cc の蒸溜水に溶解す) 1cc を加へ軽く搖動し流動パラフィンの薄層を設け栓塞して 45 度の恒温槽中に保持し一定時間経過毎に脱色の状態を検せり。其成績次の如し。

種別	時間	30分		60分		
		餡	皮	餡	皮	
ワッフル1号品		約10%脱色	脱色せず	約80%脱色	約10%脱色	2時間後に於ける脱色は60分時に於けるものと殆ど同一なり。
" 2号品		"	"	約70%脱色	"	
" 3号品		"	"	約90%脱色	"	
" 4号品		"	"	約70%脱色	"	
" 5号品		"	"	"	"	
" 6号品		"	"	"	"	
栗饅頭1号品		脱色せず	"	脱色せず	脱色せず	
" 3号品		"	"	"	"	
" 4号品		"	"	"	"	

ハ 酸素消費試験

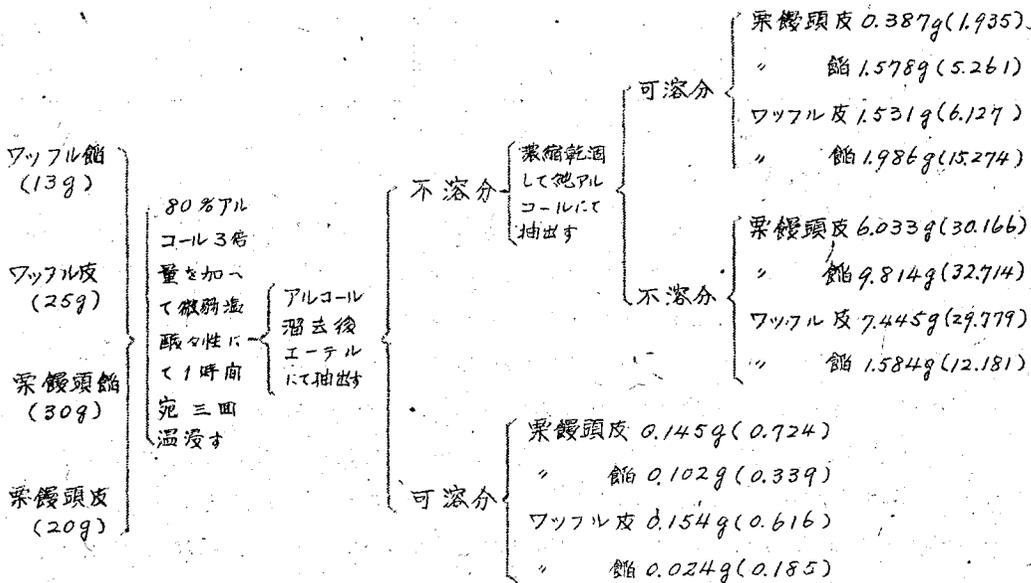
搗碎研磨せる試料各1g宛を3箇の磨り合せ完全なる硝子栓を有する内容250ccの細口強壁硝子塔に取り之に豫め25度の蒸溜水を加へて全満せしめ注意して気泡を無からしめよく振盪し其内1箇は直に次の如く処理し爾餘の2箇は25度の恒温槽中に保存し夫々1時間及2時間経過の後同様に処理せり。

先づ前檢して80%亜塩化マンガン溶液1cc及15%沃度カリウム含有33%ナトリウム適液1ccを孰れもピペットを用ひて靜かに底部に注入し過剰の水分は上口より溢出せしめたる後速に栓塞し空氣を漸ちて振盪す。此際酸素を存在するときは褐色絮状の沈澱を析出す。次に濃塩酸5ccを添加し再び栓塞し沈澱溶解し沃度を析出するに至る迄振盪し析出せる沃度を澱粉糊液を標示薬として10分定規次亜硫酸ナトリウム溶液を以て滴定し1ℓ中の酸素量を算出せり。次亜硫酸ナトリウム液1ccは酸素0.8mgに相當す。試験成績次の如し。

種別	残存酸素mg量(水液1ℓ中の量に換算せるもの)					
	直後		1時間		2時間	
	餡	皮	餡	皮	餡	皮
ワッフル1号品	5.55	5.55	5.55	5.55	4.37	4.37
" 3号品	4.88	5.02	4.88	5.02	4.88	4.37
" 4号品	5.72	4.54	5.72	4.21	5.72	4.21
栗饅頭1号品	4.71	5.51	4.71	5.22	4.71	3.87
" 3号品	5.72	5.49	5.70	5.48	5.70	5.30
" 4号品	5.88	5.45	5.55	5.40	5.55	5.38

七. ブリュージェル法に依るプトマイン性物質の検査

ワツフル7号品の餡13g, 同皮25g 及栗饅頭2号品, 5号品の餡30g, 同皮20gと夫々搗碎し80%アルコール約3倍量を加へ稀塩酸を加へてコンゴコート紙に微弱酸性となし1時間温浸し本操作を3回反覆して可溶分を分ちアルコールを溜去せる残渣をエーテルにて抽出せる後乾涸し純アルコールを加へて之に不溶分を分別しアルコールを溜去せる残渣を更に2回同一操作を反覆して純アルコール不溶分を完全に分離し可溶分よりアルコールを溜去してエキスとせり。其過程を表示すれば次の如し。



備考 括弧内は 100 分の中の含量に換算せる数値を示せり。

前記純アルコール可溶エキスを純アルコールに溶解し所謂ブリュージェルのプトマイン分離法に依り稍過剰のアルコール製昇液を加へ 24 時間放置の後沈澱を析出するゆ否やを検したるにワツフル餡のみ昇液沈澱として 0.0059g を沈降せり。依つて之に硫化水素を通入し硫化水銀を分別せる溶液を蒸縮してエキスとしたりに 0.0032g を得たり。之を 1cc とし呈色反應に点滴を使用し其の残餘をマウスの腹腔内に注射したるに殆ど毒性を認めず。又其他の製品は 50mg 宛注射したるも毒性を認めず。

前記の純アルコール可溶の各製品を約 1% 溶液 (ワツフル餡の昇液沈澱製品は全量を 1cc とし其 1 滴を時計硝子皿に取り沈澱の有無及呈色を鏡下に於て検査

り)となし沈澱及呈色反應を檢したるに次の成績を示せり。

種別	燐オルフ ラム酸	ピクリン 酸	燐モリブ デン酸	ヨードカリ 蒼鈔	スタネツク 試葉	マイエル 試葉	フオリンデニス 尿酸試葉	フオリンデニス フェル試葉
ワッフル銅昇汞沈澱製品	+	+	+	-	+	+	-	+
〃 濃液製品	-	-	-	-	-	-	-	-
〃 皮の製品	±	+	±	-	-	+	±	-
銅銀頭銅の製品	+	+	-	-	±	±	±	-
〃 皮の製品	-	-	-	-	±	±	-	-

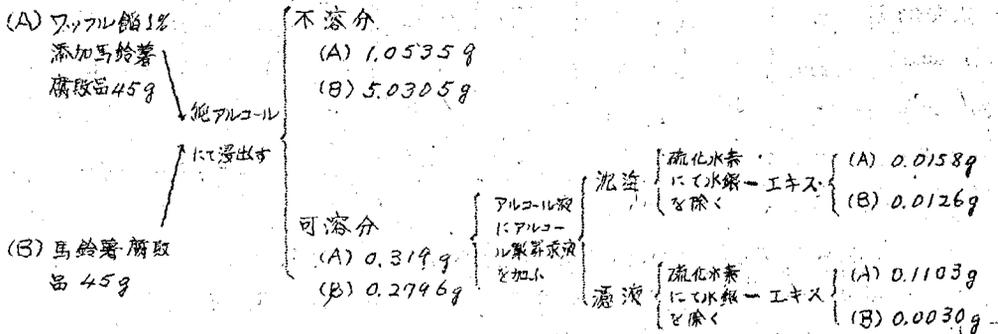
八. 馬鈴薯に就きて施行せる對照試驗

馬鈴薯を煮熟し皮を去りて搗碎研磨して餡状となし 150g 宛 2 等分し 一は其外他はワッフル4号品の餡 1.5g を加へ均等となし夫々硝子皿に盛り厚さ 1.5 cm の層となし紙にて覆ひ 28-31 度の室温に放置し一定時間経過毎に変敗の状態を檢せり。其成績次の如し。

時感 時間	種別	外觀	PH (比色法)	メチレンブラウ脱色試験				原検体中の含量			無水物中の含量	
				30分	60分	120分	150分	水分	窒素 總量	アムモニア 窒素	窒素 總量	アムモニア 窒素
19時向 午後4時 着手	餡添加 馬鈴薯	僅微に淡褐色を呈し 醗敗臭あり。	5.2	淡青色	約90% 脱色	約90% 脱色	約90% 脱色	-	-	-	-	-
	馬鈴薯	淡黄白色 異臭なし。	4.0	脱色せず	脱色せず	淡青色	約80% 脱色	-	-	-	-	-
21時向	餡添加 馬鈴薯	僅微に淡褐色を呈し 醗敗臭稍強し	5.3	淡青色	約90% 脱色	約90% 脱色	約90% 脱色	79.30	0.35	0.025 (0.030)	1.69	0.121 (0.147)
	馬鈴薯	淡黄白色 稍粘稠性増ふ。	5.4	極微 脱色	約80% 脱色	約80% 脱色	約90% 脱色	78.77	0.35	0.046 (0.056)	1.65	0.217 (0.264)
23時向	餡添加 馬鈴薯	僅微に淡褐色を呈し 醗敗臭稍強し。	5.8	約90% 脱色	約90% 脱色	約90% 脱色	約90% 脱色	-	-	-	-	-
	馬鈴薯	淡黄白色 稍粘稠性増ふ。	5.9	極微 脱色	約80% 脱色	約80% 脱色	約80% 脱色	-	-	-	-	-
38時向	餡添加 馬鈴薯	淡黄褐色 約90%醗敗臭あり	7.6	15分にて 約90% 脱色	約90% 脱色	約90% 脱色	約90% 脱色	-	-	-	-	-
	馬鈴薯	淡黄色地に黒薇の 斑を呈し刺戟性 醗敗あり。	7.0	6分にて 約90% 脱色	約90% 脱色	約90% 脱色	約90% 脱色	-	-	-	-	-

備考: 表中括弧内はアムモニアに換算せる數値を示す。

前記ワツフル鉛1%添加馬鈴薯の腐敗品及馬鈴薯腐敗品各45gをワツフル試験に於けると同様に純アルコールにて処理して不溶分と可溶分とに分ち可溶分は之にアルコール製昇赤液を加へて沈澱を析出せしめ其濾液及沈澱より硫化水素にて水銀を除別せる後濃縮してエキス状とせり。其操作過程次の如し。



前記各製品に就きて施行せる呈色試験成績次の如し。

種別	偽フアルム酸	ピロカロン酸	偽エリブテン酸	ヨードカリ砒鉛	スリホック試薬	マイエル試薬	フオリンデニス尿酸試薬	フオリンデニスフェニール試薬
ワツフル鉛1%添加馬鈴薯昇赤沈澱	+	±	+	+	+	+	+	±
同上 濾液	+	±	+	±	+	+	±	+
馬鈴薯腐敗品昇赤沈澱	-	-	-	-	-	-	-	+
同上 濾液	-	-	-	-	-	-	±	±

九. 試験成績に対する考察.

前記試験成績に就き之を考察すること次の如し。

- (一) 検品中金属毒及植物塩基毒は之を検出せざりしを以て中毒現像は変敗作用に基くものと認めらる。
- (二) 依つて先づ変敗機構に直接関係ある水分及糖分の含量を定量せるにワツフル鉛は水分最も多量を示し同上皮之に次ぎ粟饅頭鉛及同上皮の順序に次第に遊離しワツフル鉛は四試料中細菌の生育が最適の含水状態に在ることを認めたり。次に糖分の総量は同一鉛と使用せりと称するワツフルと粟饅頭の両者を比較するに

ワツフル餡は栗饅頭餡に比して著しく少く、轉化糖の含量はワツフル餡は栗饅頭に比して著しく多量なるを以てワツフル餡に於ては蔗糖の大部分は轉化せられるものと認め得べく、この現象は皮に於ても同一傾向を示し、轉化糖の含量は栗饅頭の約2倍に相當する量を示せるを以てワツフルは栗饅頭よりも著しく醗酵作用の旺盛なりしものと推定し得べし。

(三) 水素イオン濃度に於てはワツフル餡は栗饅頭餡に比して僅に酸度の上昇を示し、皮も亦同一傾向を示し、此れも兩者共に pH 5-6 なるを以て著しき醗敗の徴候を認め難し、又外觀及異臭の有無を檢し、此れにワツフル餡に於てのみ著しき変敗進行の徴候を示せるも、其他に於ては特に異状を認めず。

(四) 硫化水素は全檢品中一も之を検出せず。

(五) アミノアの含量はワツフル餡は著しく多量を示し、栗饅頭餡は之に並ぐ分量を示し、之を無水物中の含量に於て比較するにワツフル餡は栗饅頭餡の4倍量に達するにも均ならず、皮に於ては兩者大差無し、之を⁽⁶⁾⁽⁷⁾⁽⁸⁾⁽⁹⁾文献に徴するに、食肉類に在りてはアミノア量 0.02% を超過するものと以て腐敗の徴となすところなるも、食肉類に比し、窒素總量少き餡類に於てはワツフル餡に於ける 0.023% は著しく腐敗の進行せるものと看做して可なるべし。

(六) メチレンブラウ脱色試験に於てはワツフル餡は30分に於て脱色し始め、60分に於ては3号品は約90%、1号品は約80%、2号品及4号品は共に約70%を脱色し、同様の皮は60分経過後に僅に10%を脱色し、栗饅頭は餡、皮共に脱色せず、之を⁽¹⁰⁾文献に徴するに、食肉類に在りては檢体5gに就きて試験し、此れの場合1時間以内の脱色するものは初期腐敗の徴となすところなるを以て、今次試験に於けるが如く、試料1gに就きて試験するにワツフル餡は、總て1時間経過後に於て脱色せるを以て既に著しき腐敗に達し、此れも換言すれば、細菌の含有多量なりしものと推定し得べし。

(七) 酸素消費量試験に於ては各試料間に於て腐敗判定の徴に著すべき差違を示さず、今次試験に於けるが如く、植物性食品の腐敗に於ては酸素消費量の關係は食肉類に於けるものと異なるものと認めらるゝも、今次試験に於けるが如き成績は、時異の現象なるや、亦みに關しては將來多数の食品につき比較検討するに非ざれば、断言する能はず。

(八) フリュージェル法に依りて純アルコールにて抽出せる残渣量を見るにワツフル餡は栗饅頭餡に比して著しく少量にして、又ワツフル皮も亦栗饅頭皮に比して僅に少きと之に反して純アルコール可溶分はワツフル餡は栗饅頭餡の約3倍量に達し、皮に於ても同一傾向を示せり、この現象はワツフルは栗饅頭に比し、腐敗著しく

進行し純アルコール可溶分の著しく増加せるものと認め得べし。次に前記純アルコール可溶分に就きブリューゲルのフトマイン性物質分離法に準據しアルコール懸濁液を加へ24時間放置したるワツフル餾のみ5.9mgの昇汞沈澱を析出し之を硫化水素にて水銀を除きてエキスとしけるに3.2mgを得たるも其他のものは昇汞沈澱を生起せず之とつき呈色反應を檢したるに昇汞沈澱製品は稍フトマイン性物質に紛はしき呈色を示しけるも其濃液製品は陰性なり。又昇汞沈澱を析出せざるワツフル皮製品はピクリン酸反應陽性を示し梁饅頭製品は燐アルフラム酸ピクリン酸共に陽性を示し梁饅頭皮製品は一も陽性を示すものなく以上の三者は共に其他の反應は陰性乃至痕跡程度にして殆ど問題とするに足らず。

(九) ワツフル餾の昇汞沈澱製品をマウスの腹腔内に注射したるも毒性を示さざりしは其量僅微なりしたの其結果に關しては明言し得ざるもムスカリンの如き種毒性毒物に非ざるものと認め得べし。尚ほ其他の昇汞にて沈澱せざるものは50mgを注射するも毒性を示さざりしを以て中毒の原因性成分と認め難し。

(十) 馬鈴薯を用ひて施行せる対照試験に於てはワツフル餾1%添加馬鈴薯腐敗品の純アルコール浸出不溶分は馬鈴薯のみの腐敗品の夫れに比して著しく少量なるも其の可溶分に於ては大差なき矣より看ればワツフル餾添加品は腐敗進行中炭酸等のガス產生著しく旺盛なりしものと認め得べく又昇汞にて沈澱する部分はワツフル餾添加品と之を添加せざるものとは著しき差異を示さざるも其の濃液よりの製品に於てはワツフル餾添加品は之を添加せざるものに比し著しく増大を示せり。

以上各製品の呈色試験に於てはワツフル餾添加馬鈴薯腐敗品より得たる昇汞沈澱製品はピクリン酸反應の痕跡を示したるを除けば總て陽性として其の濃液製品に於ても其の過半は著明に呈色せり。之に反しワツフル餾を添加せざるものに於ては殆ど呈色せず、この結果より考ふれば所謂ブリューゲルのフトマインフラクチオンと称しアルコール液よりアルコール懸濁液によりて沈澱し特異の呈色反應を生起する成分は食品中に増殖する特殊の菌種に密接なる關係を有するものと思惟せらる。

乙. 細菌學的試験

(十) 菌検査の試験方法

I 試料

ワツフル及梁饅頭の各個につき、皮と餾とを可及的完全に分離し、其各1g宛

を滅菌試験管に取り之に 5cc の生理的食塩水を加へ硝子棒を以て丁寧に搗碎して暫時静置し、其上澄液を取りて培養其他の試験に供せり。

II 試験事項並試験方法

1 上澄液塗抹標本の鏡検

グラム染色を行ひて鏡検せり。

2 培養試験

イ 平板培養

普通寒天平板、フリラント緑寒天平板及血液寒天平板面上に上澄液の直接塗抹培養と施行せり。

ロ 液体培養

ブイヨン、馬血清ブイヨン、牛乳及肝片肝臓ブイヨン等に上澄液 0.1乃至 0.3 cc を注加培養せり。

ハ サルモネラ属菌検索

カウフマン培地埋菌法並フリラント緑寒天平板分離培養を行ふ。

3 動物実験

ワツフル 3 個及栗饅頭 3 個の髄及皮の上澄液 0.1乃至 0.3 cc を体重約 12g のマウスの腹腔内に注射して其の生死を 10 日間観察し、其間に於ける斃死マウス並に観察終了後の致死マウスの臓器よりフリラント緑寒天平板を用ひて菌分離培養と施行せり。

4 菌数測定試験

髄及皮の 1g 宛を秤量壺に取り之に 9cc の生理的食塩水を加へ硝子棒を以て搗碎し、室温に 30 分放置せる後上澄液を取り、之を生理的食塩水を以て 10 連法に依りて希釈し、其 0.1 cc を採り普通寒天培養基を用ひて板邊培養に附し、37 度にて 24 時間培養後発生せる集落数を計測せり。

土 菌検索試験成績

1 上澄液鏡検所見

ワツフル 7 個の髄及皮に於ては全例を通じ、グラム陽性の概ね 2 の至数個集合せる球菌（葡萄）を相當数に認め、髄の若干例に於てグラム陽性の比較的大なる桿菌（枯草菌属）少数混在するを認めたり。

之に反し栗饅頭の上澄液に於ては、ワツフルに比すれば菌数明に少数にして且

髄及皮共にグラム陽性の桿菌(枯草菌属)を主とし之に極少数のグラム陽性球菌(葡萄菌, 双球菌, 四連球菌等)又は酵母混在せり。

即ち單に上澄液の鏡検に依りても、明に両者の含有菌相並菌数の著しき相違を驗知せり。

2. 培養所見

- イ. ワッフルに在りては第一及二表に掲示せる如く全例に於て總ての培養基を通じて葡萄状球菌を極めて多数に検出し、之に比較的少数の枯草菌属(枯草菌、馬鈴薯菌、納豆菌)等の桿菌が混在せり。又若干例に於てグラム陰性の小桿菌を検出せるも、連鎖状球菌、変形菌の如きものを検出せず。
- ロ. 粟粒頭に於て検出せるは枯草菌属を主とし、之にグラム陽性の双球菌又は葡萄状球菌等が少数混在せり。

第一表 ワッフルの平板培養所見

試料	試料上澄液 鏡 検	普通寒天平板 培 養	ブライント緑寒天平板 培 養	血液寒天平板 培 養
1号髄	葡萄(++)、桿菌(±)	葡萄(+++), 桿菌(+)	葡萄(++), 桿菌(+)	葡萄(+++), 桿菌(+)
2号 "	〃(++)、〃(±)	〃(+++), 〃(+)	〃(++), 〃(+)	
3号 "	〃(+)	〃(+++), 〃(+)	〃(++), 〃(+)	〃(+++), 〃(+)
4号 "	〃(+++)	〃(+++), 〃(+)	〃(+++), 〃(+)	
5号 "	〃(+), 桿菌(±)	〃(+++), 〃(+)	〃(++), 〃(+)	〃(+++), 〃(+)
6号 "	〃(+), 〃(±)	〃(+++), 〃(+)	〃(+), 〃(+)	
7号 "	〃(+)	〃(+++), 〃(+)	〃(+), 〃(+)	
1号皮	葡萄(+)	葡萄(+), 桿菌(+)	葡萄(+), 桿菌(+)	葡萄(+++), 桿菌(±)
2号 "	〃(+++)	〃(+++), 〃(+)	〃(+), 〃(+)	
3号 "	〃(+)	〃(+), 〃(+)	〃(+), 〃(+)	〃(+++), 〃(±)
4号 "	〃(+)	〃(+++), 〃(+)	〃(+++), 〃(+)	
5号 "	〃(+)	〃(+), 〃(+)	〃(+), 〃(+)	〃(+++), 〃(±)
6号 "	〃(±)	〃(+), 〃(+)	〃(+), 〃(+)	
7号 "	〃(+)	〃(+++), 〃(+)	〃(+), 〃(+)	

葡萄-----葡萄状球菌
 桿菌-----枯草菌、馬鈴薯菌、納豆菌
 ±~+++-----菌数又は粟粒数の多少の記号。

第二表 ワツフルの液体培養所見

試料	普通フイヨン	馬血清フイヨン	牛乳	肝片肝臓フイヨン
1号 銚	菌(+++), 桿菌(+)	桿菌(+++), 桿菌(±)	菌(++) , 桿菌(±)	菌(+), G(-)小桿菌(±)
2号 "	" (+++), " (+)	" (++) , " (±)	" (++) , " (±)	" (+), " (±)
3号 "	" (+++), " (+)	" (++) , " (±)	" (++) , " (±)	" (+), " (±)
4号 "	" (+++), " (+)	" (++) , " (±)	" (++) , " (±)	" (+), " (±)
5号 "	" (+++), " (+)	" (++) , " (±)	菌(++) , 桿菌(±) 酵母(+)	" (+), " (±)
6号 "	" (+++), " (+)	" (++) , " (±)	" (++) , " (±)	" (+), " (±)
7号 "	" (+++), " (+)	" (++) , " (±)	菌(++) , 桿菌(±)	" (+), " (±)
1号 皮	菌(++) , 桿菌(+)	菌(++) , " (±)	菌(++) , 桿菌(±)	菌(+), G(-)小桿菌(±)
2号 "	" (+), " (++)	" (++) , 桿菌(±)	" (++) , " (±)	" (+), " (±)
3号 "	" (+), " (++)	" (++) , 桿菌(±)	" (++) , " (±)	" (+), " (±)
4号 "	" (++) , " (+)	" (++) , " (±)	" (++) , " (±)	" (+), " (±)
5号 "	" (++) , " (+)	" (++) , " (±)	" (++) , " (±)	" (+), " (±)
6号 "	" (++) , " (+)	" (++) , " (±)	" (++) , " (±)	" (+), " (±)
7号 "	" (++) , " (+)	" (++) , " (±)	" (++) , " (±)	" (+), " (±)

G(-)小桿菌-----グラム陰性小桿菌

第三表 菜饅頭培養所見

試料	試料上塗液 鏡 検	普通フイヨン 培 養	普通寒天平板 培 養	カルモネラ属菌検査	
				カウブマン 培地検査	フリラント 線寒天平板
1号 銚	桿菌(+), 双球菌(±)	菌膜, 桿菌(+++)	桿菌(+)	—	集落ナン
2号 "	" (±)	" (++) , " (±)	" (+)	—	"
3号 "	" (+)	" (++) , " (±)	" (±)	—	"
4号 "	" (+), 球菌(±), 酵母(±)	" (++) , 菌(±)	" (±)	—	"
5号 "	" (+), 双球菌(+)	" (++) , " (±)	" (±)	—	"
6号 "	" (+), 酵母(±)	" (++) , " (±)	" (±)	—	"
7号 "	" (+), 球菌(±)	" (++) , " (±)	" (±), 双球菌(±)	—	"
1号 皮	桿菌(+), 菌(±)	桿菌(++) , 菌(+)	桿菌(+)	—	"
2号 "	" (+) 球菌(±)	" (++) , " (+)	" (+)	—	"
3号 "	球菌(+)	双球菌	" (±)	—	"
4号 "	桿菌(±)	桿菌(++) , 菌(+)	" (+), 菌(±)	—	"
5号 "	" (+)	" (++) , " (±)	" (+)	—	"
6号 "	" (+)	" (++) , " (±)	" (+)	—	"
7号 "	" (+), 球菌(±)	" (++) , " (±)	" (+)	—	"

桿菌-----枯草菌, 馬鈴薯菌, 納豆菌

ハ、サルモネラ属食中毒菌検索所見

ワツフルの餡三種及び皮三種に於て、フリラント線寒天平板上に赤色平滑菲薄円形なる集落を作る「グラム陰性無芽胞桿菌を検出せるを以て、之に就き腸炎菌、巖タフス菌、並豚コレラ菌のOH血清を用ひて試験的凝集反応を試みたるに、ワツフル第5号の餡及び皮より巖タフス菌血清に極めて高度に凝集する菌集落を検出せり。依つて該集落より分離せる数菌株に就き、第5表掲示の如き生物学的性状試験並に血清学的試験を施行したる結果、該菌株は巖タフス菌血清に対する類属凝集性の著明なる変異大腸菌なること明となれり。即ちワツフル中よりサルモネラ属菌は検出せざるものとす。又栗饅頭に於ても同成績を得たり。

第四表 ワツフルのサルモネラ属食中毒菌検索

試料	カウマン培地 変化	フリラント線平板培養 集落	菌形態	試験的凝集反應		
				腸炎菌血清	巖タフス菌血清	豚コレラ菌血清
1号 餡	±	赤、平滑、菲薄、湿润、円形	G(-)短桿菌	-	-	-
2号 "	-	黄、平滑、稍厚、湿润、円形	同上	-	-	-
3号 "	-	同上	同上	-	-	-
4号 "	-	集落ナシ				
5号 "	++	黄、平滑、稍厚、湿润、円形	G(-)短桿菌	-	-	-
		赤、平滑、菲薄、湿润、円形	同上	-	+++	-
6号 "	-	集落ナシ				
7号 "	±	灰白、厚く集落	G(-)桿菌			
1号 皮	-	赤、平滑、湿润、菲薄、円形	G(-)短桿菌	-	-	-
2号 "	-	黄、平滑、湿润、円形	同上	-	-	-
3号 "	+++	同上	同上	-	-	-
4号 "	-	赤、平滑、湿润、円形	同上	-	-	-
5号 "	+++	赤、平滑、菲薄、湿润、円形	同上	-	+++	-
6号 "	-	集落ナシ				
7号 "	-	集落ナシ				

第五表 ワッフル5号より分離せる凝集菌の性状

菌株	形態	運動	ゼラチン液、化	インドール形成	牛乳凝固	B.T.Bモルゲン	乳酸	糖ガク	葡萄糖ガス	炭酸ガス	糖ガス	炭475菌血清凝集	
1	G(-)無芽胞桿菌	+	-	-	-	赤	+	+	+++	++	+	+	400x
2	同上	+	-	-	-	同上	+	+	+++	++	+	+	3200x
3	同上	+	-	-	-	同上	+	+	+++	++	+	+	400x
4	同上	+	-	-	-	同上	+	+	+++	++	+	+	6400x
5	同上	+	-	-	-	同上	+	+	+++	++	+	+	800x

使用炭475菌 OH血清の凝集價は (1:12,800 有り)

3. 動物実験所見

ワッフル三個の髄及び皮の上澄液 0.1乃至 0.3 cc を腹腔内に注射せるマウスは注射後数時間は何等の症状を示さざりしも、髄上澄液を注射せるマウス6匹中3匹は翌日斃死し、他の3匹並に皮上澄液注射マウス6匹全部は10日間生存せり。

第六表 ワッフル浸液上澄マウス腹腔内注射成績

	注射量 (cc)	試験数	生存マウス数					マウス臓器菌培養					
			1日	2日	3日	5日	7日	心臓	肝	脾	腎		
1号髄	0.1	3	2	2	2	2	2	斃死 致死	+	+	+	+	+
3号 "	0.2	2	1	1	1	1	1	斃死 致死	+	+	+	+	+
5号 "	0.2	2	0					斃死	+	+	+	+	+
1号皮	0.2	2	2	2	2	2	2	致死	-	-	-	-	+
3号 "	0.2	2	2	2	2	2	2	同上	-	+	+	+	+
5号 "	0.2	2	2	2	2	2	2	同上	-	-	-	-	-
果 錢 頭	1号髄	0.3	2	2	2	2	2	2	同上	-	-	-	-
	2号 "	0.3	2	2	2	2	2	2	同上	-	-	-	-
	3号 "	0.3	2	2	2	2	2	2	同上	-	-	-	-

ワッフル上澄液 0.5 cc 経口投與マウスは全部生存。

死亡マウスを剖検に附し且各臓器よりフリラント緑寒天平板を用ひて菌培養を行はるに、全例に於て多数の葡萄菌を検出せるも、サルモネラ属菌を疑はしむる集落発生せざるを以て、其死因は葡萄菌感染なること明なり。

更に注射10日後全生存マウスを致死せしめて剖検し且菌培養を行はるに、餵上澄液注射マウスに於ては臓器に於ける膿瘍の形成を認め且葡萄菌培養陽性にして、皮上澄液注射マウスに於ては殆半数に於て葡萄菌培養陽性なる成績を示せり。

尚餵上澄液0.5ccを経口的に投與せるマウスは然れ何等の異常を示さず。

次に栗饅頭の餵上澄液0.3cc(ワツフル餵上澄液の1.5乃至3倍量)を注射せるマウスは全部10日間生存し、之を致死解剖して菌培養を施行せるに全然菌を検出せず。

4. 菌数測定所見

上記の如くワツフル中には極めて多数の葡萄状球菌が含有され又栗饅頭中には枯草菌が主として含有されること明となれるを以て、試料1g中に於ける含有菌数の大略を推知するため、普通寒天培養基を用ひてワツフル3個及び栗饅頭3個につきて実験せるに、ワツフル餵に於ては平均約6000万、皮に於ては650万個を含有するものと推定せられ、且平板の表面集落に依りて推算するに其95%以上が葡萄菌にして残余が枯草菌並に其類縁菌なり。栗饅頭は餵に於て平均6万、皮に於て約2万を算し、ワツフルに比すれば其含有菌数著しく小なり、而して其の發生集落は殆ど全部枯草菌並に其類縁菌なり。

十二. 分離葡萄状球菌の性状試験

ワツフル並に栗饅頭より分離せる葡萄状球菌株につき、其の産生色素、溶血作用、ゼラチン液化作用、家兎血漿凝固作用、糖分解作用、メケレンブラウ脱色作用等を検し且数株につきエンテロトキシン産生の有無を試験せり。

I. 試験方法

1. 産生色素

10%牛乳加寒天平板上に塗抹し一夜37度に培養せる後5日間室温に放置して検査せり。

2. 家兎血漿凝固作用

家兎血液9分に5%フエン酸ソーダ液1分を加へて遠心分離し、得たる血漿を

生理的食塩水を以て 10 倍に稀釈し、其の 0.5 cc を小試験管に分注し、之に寒天斜面 18 時間培養菌 1 白金耳量と混和し、37 度にて 3 時間静置して検査せり。

3. ⁽⁴⁾メタレンブラウ脱色作用

普通ブイヨンに 37 度に於て 1 乃至 3 日間培養せるもの 1 cc を試験管に取り、之に 10 cc の蒸溜水を加へ更にメタレンブラウ溶液 (メタレンブラウ酒精飽和溶液 5 cc を 195 cc の蒸溜水に溶解す) 1 cc を加へて混和したる後流動パラフィンを層積して 45 度の恒温槽中に 3 時間保持してメタレンブラウ脱色作用を検査せり。

1 日培養液を以て脱色陰性なるものは 2 日及 3 日培養液に就きて検査し、3 日培養を以てして尚陰性なるものはメタレンブラウ脱色作用無きものと認めたり。

4. エンテロトキシン産生

⁽¹¹⁾⁽¹²⁾ Burnet の方法に従ひ、半凝固培地 (ペプトン 2%、第一磷酸カリ 0.2%、硫酸マグネシア 0.03%、肉エキス 1%、寒天 0.5% pH 7.) にブイヨン 37 度 24 時間培養の菌液を混和してシマールクに分注し、之を細谷式嫌気性培養壺に納め、壺内の空気を真空ポンプを以て排除したる後、炭酸ガス 20% 及空気 80% (又は酸素 20%) の混合気体を導入し、37 度に於て 3 日間培養し、然る後半凝固培地を取出して濾紙及びガイツ濾過器を以て濾過して無菌濾液を取得せり。該濾液並に之に 0.4% の割合にホルマリンを加へ 37 度に 6 時間次いで氷室に一晩放置してアナトキシン化せるものを用ひ、之を仔猫の腹腔内に注射してエンテロトキシンの有無を検せり。体重當 100g 1.0~1.5 cc を注射して異常を示さざるもの乃至は僅に 1 回嘔吐せるに過ぎざる場合は之を陰性と判定せり。

II 試験成績

分離株の諸性状を一括して第七表に掲示せり。ワツフルより分離せる菌 29 株中、黄色株に属するもの (帯白黄色乃至薄褐色産生株) 17 株、白色株 12 株にして橙黄色株なし。栗饅頭よりの分離株は黄色 1 株、白色 2 株、橙黄色 2 株並に紅色色素を産生するもの 1 株を得たり。

ワツフル分離菌 8 株並に栗饅頭分離菌 2 株に就きてエンテロトキシン産生の有無を検したるに、ワツフル分離株に於ては、仔猫体重當 100g、0.5 乃至 1 cc の注射量を以て激烈頻回なる嘔吐並に下痢を呈し遂に斃死せしむるに至れるが如

第七表 分離葡萄状球菌の性状

検体	菌株番号	産生色素	セラケン 炭化	糖分解		血漿凝固	溶血作用	メタレン ブラウ脱色	エンテロ トキシン 産生	
				マンニト	乳糖					
ワ ツ フ ル	餡	1	白	-	+	+	-	-	-	
		2	黄	+	+	+	+	+	+	##
		3	黄	+	+	+	+	+	+	##
		4	白	-	+	+	-	+	+	
		5	黄	+	+	+	+	-	+	-
		10	黄	+	+	+	+	±	+	+
		13	黄	-	+	+	+	+	+	##
	14	黄	+	+	-	-	-	-	-	
	16	黄	+	+	±	+	-	-	+	
	皮	7K	白	+	+	+	-	-	+	
8K		白	+	+	+	+	+	+	##	
9K		白	+	+	+	-	-	-		
栗 饅 頭	2	黄	+	-	-	-	-	-		
	4	白	+	+	-	-	-	-	-	
	5	橙黄	+	-	+	-	-	-	-	

注 エンテロトキシン産生の項中

- ## 0.5~1.0cc (管100g)注射により症状激烈にして斃死せるもの。
 # 1.0cc 注射により症状軽さも斃死せるもの。
 + 1.0cc 注射により症状軽く生存せるもの。
 - 1.0~1.5cc 注射により發状を認めざりしもの。

き強毒株4株並に弱毒株2株及び無毒株2株なりしと対し、栗饅頭分離株中検査せる2株は共に無毒株なり。

前記化学的試験の項に於て記載せる如くワツフル餡はメタレンブラウ脱色作用顕著にしてメタレンブラウ脱色作用を有する細菌の含有多量なることを推定せしめたるが、細菌學的試験によつて該作用強力なる葡萄状球菌が多数存在することを立證し得たり。

而してワツフルより分離し得たる馬鈴薯菌及柿草菌等14株に就きて検査せるに之等は何れもメタレンブラウ脱色陰性なり。

而してメタレンブラウ脱色作用を有する葡萄株(2, 3, 13, 8K等)が概ねエン

第八表 分離株のエンテロトキシン 証明試験

分離株体	菌株番号	濾液	仔猪体重 (g)	注射量 (cc)	cc/100g	症 状	時 間
ワ ツ フル 分 離 株	2	原液(0.3%活性炭加)	♀ 770	9	1.16	15~120分間嘔吐13回,下痢3回	2時間25分後死
	2	"	♀ 480	5	0.96	7分後1回嘔吐,軟便1回	死(翌朝)
	3	原液	♀ 510	2	0.49	13~210分間嘔吐10回,下痢2回	死(5時右)
	3	ホルマリン処理	♂ 690	6.9	1.0	2~60分間嘔吐4回	死(翌朝)
	2	"	♀ 500	2.5	0.5	症状ナシ	生
	5	原液(0.3%活性炭加)	♀ 956	11.0	1.15	症状ナシ	生
	10	原液	♀ 560	5	0.9	15~60分間=嘔吐1回,下痢2回	死(翌朝)
	13	"	♀ 490	5	0.98	12~120分間=嘔吐2回,下痢2回	死(翌朝)
	14	"	♀ 680	10.2	1.5	症状ナシ	生
	16	"	♀ 620	6.2	1.0	6~10分間=嘔吐3回	生
栗 橋 分 離 株	8K	"	♀ 510	5.1	1.0	30~110分間=嘔吐22回,軟便2回	死(2時間16分)
	8K	ホルマリン処理	♂ 440	2.2	0.5	90分~6時間=嘔吐10回	死(翌朝)
	8K	"	♀ 640	6.4	1.0	50~150分間=嘔吐8回,軟便2回	死(翌朝)
栗 橋 分 離 株	4	原液	♂ 480	7	1.46	症状ナシ	生
	5	"	♀ 480	7	1.46	14分後嘔吐1回	生

註. ホルマリン処理 ----- 0.4%にホルマリンを加へ37°に6時間放置後冷蔵庫に保存せるものにして、溶血作用を完全に消失せるものなり。

ラクトキシンの産生顕著にして、従てワツフル中に於てかゝる菌株が増殖して多量のエンテロトキシンを産生し居りたるべきと推定することを得。

菌毒病原性の指標と認めらるゝ産生色素、ゼラチン液化、糖分解、血漿凝固、溶血作用、メチレンブルー脱色等の諸作用とエンテロトキシン産生能との關係に就きては尚検査続行中なるも、單に掲示の成績に徴するも、黄色又は白色株にして他の諸性状が概ね揃つて陽性なるものはエンテロトキシンを産生し、他の諸性状概ね陰性なる菌株(例、栗4及5号、ワツフル14号)は、エンテロトキシンを産生せざることを認め得べし。

十三. 細菌學的試験成績總括

以上記述せる細菌學的試験成績中主要なる事項を總括するに次の如し。

ワツフルの餡及皮中には葡萄状球菌が極めて多量に繁殖し居るに對し、栗饅頭の餡及皮中には主として枯草菌、馬鈴薯菌、納豆菌等が含有され葡萄状球菌は寧ろ稀に少数検出されたるに過ぎず。

ワツフル及栗饅頭よりサルモネラ属食中毒菌を検出せず又他に食中毒の原因と爲すやを疑はしむる如き細菌を驗知せず。

ワツフルより分離せる葡萄状球菌は其性状に於て全株同一には非ざるも明かにエンテロトキシンを産生する數菌株を證明し得たり。

一四 試験成績の總括

以上の化學的並に細菌學的試験成績を彼此考量してワツフル中毒の成因に關し總括的所見を述ぶるに次の如し。

一 金屬毒並に植物塩基毒を検出せず。

潜伏期短く吐瀉を主徴として豫後可良なる食中毒に於て屢々其原因と爲すことある砒素、銅其他の金屬塩及び植物塩基毒は本試料に於ては全然陰性なり。この事實はワツフル製造現場に於ける調査所見に徴するも首肯し得るところなり。

二 変敗の證據著明なり。

ワツフルは八月十三日(製造後2日)、栗饅頭は八月十六日(製造後5日)に入手せるものにして、ワツフルは栗饅頭よりも試験に供する迄の経過時間短かかりしに拘らず変敗の程度一層著明なり。

異臭、水素イオン濃度、アムモニア性窒素、メチレンブラウ脱色作用、含有菌數等の試験成績を綜合するに、ワツフル餡は変敗最も著しくワツフル皮も亦變敗明なるも、栗饅頭餡は變敗極めて輕微、其の皮には變敗の徴を全然認めず。

前章検体の項に記述せる如く、ワツフル及び栗饅頭は八月十日に製造せる同一餡を使用し、皮は八月十一日同一原料より調製したるものなるに拘らず、ワツフルのみ變敗速かなりし理由を考ふるに、ワツフルは皮を軟く焼きて後、之にて餡を包みたるものなるに反し、栗饅頭は生皮に餡を詰めたる後高温度に焼きて製品となすが如き、製法の相違に基因するものなるべし。蓋し水分、糖分、灰分等の定量成績に徴するにワツフルの餡及皮の水分は夫々40.13%及32.86%なるに對し栗饅頭に於ては夫々26.74%及21.11%として水分少く、且つ糖分並に灰分の百分率が栗饅頭に於て夫々大なるは、栗饅頭を焼く際に於ける水分の蒸散に主

として因するものなるべく、従つて此際餡が相當の加熱を受けたことを窺ひ知る事を得べし。而してワッフルが栗饅頭に比して水分比較的多く且つ糖分稍々少く40%以下なりし事は、ワッフルが栗饅頭に比すれば細菌の増殖阻止作用弱く変敗し易き組成に在りしことを示すものなり。

此の事實はワッフルが中毒を惹起し栗饅頭が安全なりし主たる理由と云ふを得べし。

以上は試料につきての所見なるも、之により中毒発生當時(試料入手前日)のワッフルの状態を推察するに、消費者中に異臭味を感知せしものありたるが如く既に少くも初期変敗の感に在りしものと想像せられ、従つて異臭味発生、アムモニア生成等の前駆條件たる細菌(葡萄状球菌)の増殖は相當顕著なりしものと推定する事を得。

三. プトメイン性物質の有無

前記の如くワッフルの変敗著明なりしに因り蛋白質の分解に因りて生成せらるべき有毒アミン系物質所謂プトメインの有無に就て試験せる成績を見るに、ワッフルの餡に於てのみ、其の純アルコール可溶分より昇液沈澱を生じ(反及び栗饅頭に於ては沈澱を生ぜず)、其の沈澱の溶液は諸種アルカロイド試薬に反應陽性にしてワッフル餡中にプトメイン性物質の存在を推定せしむる結果を示したるも、其量僅微なると且マウスに対する毒性弱くムスカリン等の如き激毒物質に非ざる事等に徴し、本物質は中毒の原因とは認め難し。又本物質がエンテロトキシンを示すものに非ざることばエンテロトキシンがブリーゲル法に依るプトメインフラクテオンに移行せざる試験成績(別報に記載の予定)に徴して明にして、従つて本物質は單に葡萄状球菌の産生せる無毒物質の反應と見ろを至當とすべし。

四. 病原性葡萄状球菌を多量に検出せり。

ワッフルの餡及皮は其の1g中に大々約6,000万及650万の菌数を含有し、試料が中毒発生後速に除去せられて冷所に保管せられしものとすれば中毒當時に於ても略々該数に近き程度に含有し居たるものと思料す。而して菌種は葡萄状球菌が殆ど其の全数と占め之に枯草菌屬が混在する程度にして他にサルモネラ屬其他の食中毒菌を含有せず。

ワッフルより分離せる葡萄状球菌株中数株に於てエンテロトキシンの産生を証明せり。而して該毒性物質産生株がメタレンブラウ脱色作用を有する事實とワッフルのメタレンブラウ脱色作用が顕著なりし事實とを参照し、ワッフル中にエン

テロトキシン産生葡萄状球菌が多量増殖し居たるものと推定することを得べし。

次に衆議院に於ては、含有菌種は病原性無き枯草菌属を主とし且其の菌数は僅少にして其1g中餉は約6万、或は約2万と算するに過ぎず。

かくの如き兩者間に於ける菌種並に菌数の相違はワツフルの中毒原因として葡萄状球菌の重要性を示すものなり。

五 考 察

以上列記せる試験成績を綜合するとき、病原性葡萄状球菌がワツフル中に於て異常に増殖してエンテロトキシンを生成したる結果中毒を惹起したるものと考へらるるも、かくる想程の妥當性を判定する上に必要なるは、試料よりエンテロトキシンを抽出証明することなり。

然るに現在の研究に於てはエンテロトキシンの化學的性状等ならず従つて食品中よりの抽出法又不明なる為、ワツフルにつき該毒性物質の直接的証明を施行し得ざりしは遺憾なり。

依つて今後之が研究を続行して試料中の該毒性物質の証明法を考察せんことと期するものなり。

従つて今次試験に於ては、米国並に本邦に於ける既刊諸學者の報告と同様間接的証明も、本例は葡萄状球菌に基因する食中毒なりと認定するものなり。

尚病原性葡萄状球菌の汚染経路に就きて吟味すべく山梨縣衛生課係官の調査を煩したるに、調理者の手指其他に化膿瘻等を認めざる由につき、恐らく空氣其他の環境より混入せるものならんと想像す。蓋しワツフルより分離せる菌株中病原性菌株と非病原性菌株との混在せる事實は遠般の消息を示すものと云ふを得べし。

一 五 結 論

今夏甲府市に於て二百九名の中毒者を出せるワツフルの残品に就きて化學的並に細菌學的試験を施行し茲に得たる成績並に中毒症状に徴し、本中毒はワツフル中に混入増殖したる葡萄状球菌の産生せるエンテロトキシンに原因するものなりと思料す。

文 献

- 1) 小島・大橋：実験医学雑誌 第25巻第5号 495頁 昭和16年
- 2) 兒玉・畑・波谷：東京医事新誌 第63年第3166号 3149頁 昭和14年
- 3) 阿部・森：海軍軍医會雜誌 第32巻第8号 594頁 昭和18年
- 4) 衣笠・服部：衛生試験所彙報 第39号 233頁 昭和7年
- 5) L. Briezer: Untersuchungen über Ptomaine. 252, 1885.
- 6) 小出：藥學雜誌 第344号 657頁, 第345号 777頁 明治43年
- 7) Pennington u. Greenlee: Zschr. f. Nahr. u. Genussm. 21, 381, 1911.
- 8) Tillmans u. Otto: Zschr. f. Lebensm. 47, 25, 1924.
- 9) Glassmann u. Rochwarger: Zschr. f. Lebensm. 58, 585, 1929.
- 10) Tillmans, Strohecker u. Schulze: Zschr. f. Nahr. u. Genussm. 42, 65, 1921.
- 11) 小島・八田：食物中毒菌 297頁 昭和15年
- 12) 細谷・林：化膿性疾患の細菌叢と免疫療法 142頁 昭和18年

(昭和18年12月)

テフセンアサガホ屬各品種の生産力調査

技師 若林榮四郎 技手 平間 好美

1. 緒 言

本問題に関しては既に當折彙報第42号に報告する所ありしに戦時下テフセンアサガホ屬 (*Natura*) アルカロイド中特にスコポラミンの需要増に鑑み同等原料植物たる各品種の生産力及び其の栽培上の得失に就て比較を行へり。

2. 調査材料及び方法

(1) 供試品種

試験區番号	品 種	備 考
第 1 區	ケテフセンアサガホ <i>Natura Metel L.</i>	
第 2 區	雜種2号	<i>Metel</i> と <i>meteloides</i> の中間型
第 3 區	雜種3号	<i>meteloides</i> 型
第 4 區	雜種4号	<i>Metel</i> 型
第 5 區	アメリカテフセンアサガホ <i>D. meteloides DC.</i>	
第 6 區	テフセンアサガホ <i>D. alba Nees.</i>	

品種特性調査概要を表示せば第1表の如し。

(2) 耕種法の概要

1. 苗の養成

整地 前作西洋蕪苜收獲後深耕。3月15日再耕し基肥を散布し丁寧に地均床幅100種、方向東西の短冊形の冷床となし條間15種、方向南北の溝條を残し置く。

播種 昭和17年3月20日條播し直に薄く覆土す。

供苗 各區共草丈は略15種、本葉4~5枚程度のものを供す。

2. 本圃

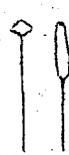
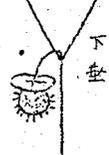
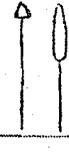
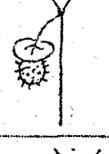
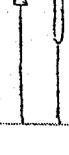
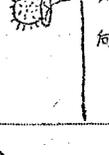
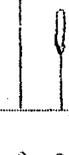
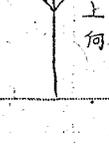
整地 前作罌粟收獲後深耕。6月10日荒地均し畦間130種、方向東西、株間100種の植穴を設け基肥を施用後覆土し置く。

定植 昭和17年6月16日、1ヶ所1株宛とし浅目に植付す。

品 種	成熟期の早晩	草 状			葉			萼					
		草丈 (種)	株張 (種)	形 状	生育最盛期			裂 開 直 前			形 状		
					色	葉柄長 (種)	葉長 (種)	葉幅 (種)	色	花柄長 (種)		萼長 (種)	萼直径 (種)
ケテフセン- アサガホ	早	123.0	125.0		淡緑	10.0	21.0	15.0	緑	1.5	9.0	2.0	
雑種2号	中	117.0	108.0		濃緑	9.0	15.0	10.0	緑	1.2	8.5	2.2	
雑種3号	中	81.3	120.0		緑紫	8.0	20.0	17.0	紫 (開花直前)	2.0	13.5	2.2	
雑種4号	早	148.0	158.0		緑 (幼葉紫)	10.0	22.0	13.5	緑	1.0	9.0	2.1	
アメリカ- テフセン- アサガホ	晩	58.0	120.0		紫	8.0	15.0	8.0	紫	3.2	12.5	1.5	
テフセン- アサガホ	早	110.0	108.0		緑	10.0	15.0	10.0	緑	2.0	10.5	1.5	

注 1. 成熟の早晩は熟果発生期が9月上旬迄のものを早生とし9月下旬迄を中生、以後を晩生として区分せり。
 2. 草丈株張は11月1日の最終期に於て調査せるものなり。

特性調査概要

花 瓣				柱 頭・ 葯				蒴 果			種 子			
色		満 開		開 花 直 前				收 采 直 前			陽 乾 後			
開花直前	開花直後	直径(種)	花長(種)	柱頭色	柱頭直径(種)	柱頭と葯の高	形 状	蒴果の長さ	蒴果の短径	蒴果の大小	着果状況	色	1果備重(五)	4粒重(瓦)
白・頂端淡黄	純白	5.0	10.0	黄	0.3	略同		有長蒴	大		 下垂	褐	3.9	12.5
白頂端帯紫	白	10.0	10.0	淡綠黄	0.2	柱頭が0.5種高		有短蒴	小		 下垂	黄褐	1.9	15.6
白頂端淡紫	白	12.0	8.0	綠黄	0.2	略同		有長蒴	中		 下垂	褐	3.2	12.1
白頂端綠黄	白	8.0	10.0	淡黄	0.2	略同		有長蒴	大		 側向	濃褐	3.9	12.4
白頂端帯紫	淡紫白	10.0	10.0	黄	0.1	柱頭が1.6種高		有極長蒴	中		 下垂	黑褐	2.3	12.2
白頂端淡黄	純白	8.7	10.0	黄	0.2	略同		有極短蒴	大		 上向	黄褐	4.6	16.3

ハ、管理の概要

除草・中耕 4月25日, 5月20日, 7月1日.

施肥

施用期日	肥料名	施用量(疍)	備 考
3月15日	胡麻油粕	0.100	苗床1坪當 基肥として床面撒布 腐熟せる原灰10倍稀釋
5月20日	胡麻油粕	0.070	
6月16日	堆 肥	375.000	本圃10a當 基肥として配合施用
	大豆粕	27.000	
	過磷酸石灰	18.000	

ニ、調査方法

葉は生育に支障を来さざる程度に熟葉より逐次摘取り陽乾す.

果実は蒴の裂開を待り果核より切取り直に果皮と種子とに分ちて陽乾す.

3 生育期間中の気象概況

期 間	月 別	日数	温 度 (度)			天 候 別 日 数							
			最高	最低	平均	晴	曇	雨	晴曇	曇雨	晴雨	晴風	曇風
播種期間	自3月20日 至3月31日	12	19.2	5.0	12.1	6	0	0	3	2	0	1	0
発芽期間	自4月1日 至4月30日	30	19.7	5.7	12.7	14	2	0	3	5	2	3	1
苗床期間	自5月1日 至5月31日	31	22.3	10.8	16.5	10	3	4	6	4	4	0	0
本圃 成育 期間	自6月1日 至7月20日	50	29.0	20.1	24.5	21	10	6	2	10	1	0	0
開花 結実 期間	自7月21日 至8月31日	42	32.0	24.0	28.4	19	2	1	3	11	6	0	0
収実期間	自9月1日 至10月20日	50	27.0	18.0	22.7	17	6	6	3	9	9	0	0
累 計	自3月20日 至10月20日	215	24.9	14.1	19.5	87	23	17	20	41	22	4	1

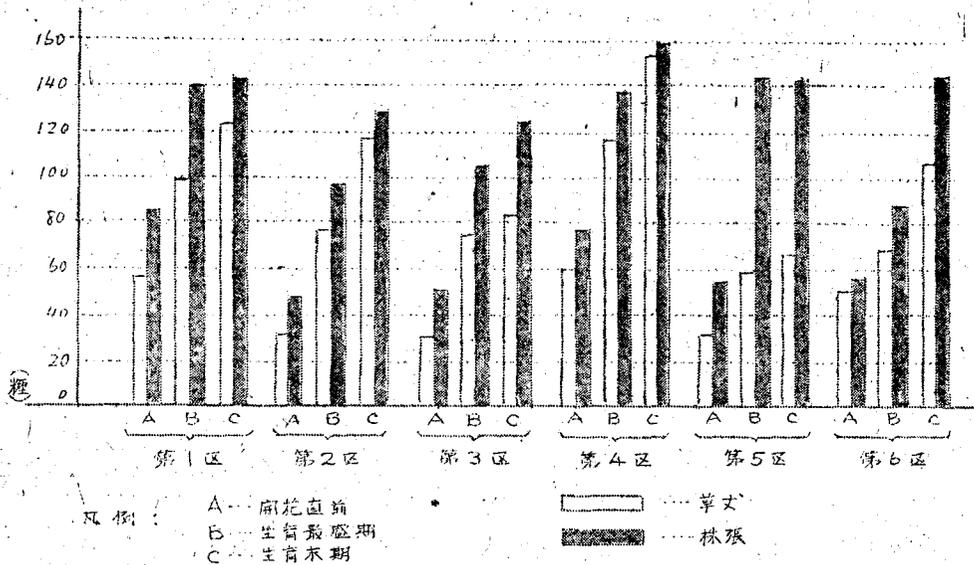
註、當場に於ては例年10月20日を以て収実中止するに由り此の日迄の調査を
実施せるものなり.

4. 調査成績

(1) 草丈株張の伸長度

開花直前、生育最盛期、生育末期に於ける草丈株張の伸長度は第2表に示す如く、即ち各區其草丈は略々一様の伸長度を示し株張に於ては概ねも草丈より約20%大なり、特に第5區に於ては顕著なり。

第2表 草丈株張の伸長度



(2) 生育状況

生育状況は第3表に表示せる如くである。即ち草丈株張に就ては概ねも第4が

第3表 生育に関する調査

試験区番号	草丈(株)	同 比	株張(株)	同 比	摘採 期手日	1株當 地上部重(兩)	同 比	莖の第一分岐 葉の高さ(cm)	同 比
第1区	122.7	111.1	125.4	106.5	9月2日	1.417	119.9	28.1	96.0
第2区	117.2	106.1	118.7	100.8	9月9日	545	46.1	37.3	128.1
第3区	81.3	73.6	120.9	102.7	9月7日	900	76.2	24.2	83.1
第4区	147.7	133.7	158.1	134.3	9月2日	2.363	200.0	36.8	126.4
第5区	58.6	53.0	136.8	116.2	9月23日	364	30.8	27.3	99.8
第6区	110.4	100.0	117.7	100.0	8月31日	1.181	100.0	29.1	100.0

- 註. 1. 草丈株張は生育末期に於て調査せるものなり。
 2. 1株當地上部重は11月13日莖を採取し根を去り莖のみを秤量せるものなり。
 3. 莖の第一分岐葉の高さは地際より第一分岐葉に至る高さを調査せるものなり。

最も大なり。摘採着手日は第6区最も早く、第1, 4, 3区之に次ぎ、第5区最も遅い。一林當地上部重は第4区最も重く第5区時に軽し。之れ生育期間短く地上部枯死早きによるものと思料せらる。莖の第一分岐葉の高は第2区最も高く概して生育不良なり。

(3) 収茶量

収茶期間別の収茶量は第4表の如く第1回収の7月15日及び第6回収の11月11日は何れも第1, 4, 6区のみ収茶なり。第2, 3, 5区に於ては7月15日には未だ収茶の時期に達せず又最終收穫日たる11月11日には殆んど莖葉枯死状態となる。9月12日迄の収茶量に於ては第5区枚数最も多く風乾量は第6区が多收にして第5区之に次ぎ單位枚数並に11月11日迄の總収茶量は第6区最も多收なり。

第4表 収茶量に関する調査

採茶 試験区 番号	10a 當時期別収茶新採量 (匁)					
	7月15日	7月22日	8月7日	8月24日	9月12日	11月11日
第1区	11.200	9.760	136.000	176.000	80.000	72.000
第2区	0	4.720	72.000	112.000	128.000	0
第3区	0	13.440	128.000	225.600	152.000	0
第4区	14.400	12.160	249.600	120.000	115.200	128.000
第5区	0	5.760	112.000	200.000	170.400	0
第6区	24.000	49.120	123.200	344.000	104.000	72.000

採 枚	10a 當 9月12日迄の収量		100枚當 風乾收 茶量(匁)	10a 當 總収茶量(匁)			風乾量 比率	1林當 風乾量 (匁)	
	収茶量(匁)			新採量	風乾量	新採量の 風乾得量 歩合(%)			
	新採量	風乾量							
177.920	412.460	67.360	37.8	484.960	79.360	16.3	67.7	90.1	第1区
253.920	316.720	56.320	22.1	316.720	56.320	17.7	48.0	63.9	第2区
274.120	519.040	78.640	28.6	519.040	78.640	15.1	67.0	89.3	第3区
200.000	511.360	79.680	39.8	639.360	102.080	10.1	87.0	115.9	第4区
365.360	488.160	90.320	24.7	488.160	90.320	18.4	77.0	102.6	第5区
215.200	646.320	103.600	48.1	716.320	117.200	16.0	100.0	133.1	第6区

(4) 収實量

時期別の収實量は第5表に表示せる如く、即ち10月20日迄の収果数並収實量は

第5表 収實量・品質に関する調査

試験区 番号	10a 省 時期別 収 実 量 成 績											
	8月30日～10月20日同				10月21日～31日同				11月1日～10日同			
	収果数	収 実 量 (kg)		新鮮果の 収率 (%)	収果数	収 実 量 (kg)		新鮮果の 収率 (%)	収果数	収 実 量 (kg)		新鮮果の 収率 (%)
	新鮮量	風乾量			新鮮量	風乾量			新鮮量	風乾量		
第1区	22,080	160,880	87,040	54.0	640	3,200	2,400	75.0	160	0,480	0,400	83.3
第2区	10,080	33,440	20,640	61.7	3,600	10,320	5,520	53.4	1,360	4,240	2,080	49.0
第3区	16,480	81,840	54,240	66.2	4,480	21,680	13,040	60.1	1,680	6,960	4,280	61.4
第4区	29,200	232,200	115,600	49.5	1,760	12,320	7,200	58.4	160	1,360	0,400	29.4
第5区	12,320	49,200	29,440	59.8	6,400	25,040	14,960	59.7	2,160	5,280	2,560	48.4
第6区	14,760	203,680	88,640	43.5	9,520	105,440	47,360	44.9	4,000	38,480	27,520	61.1

8月30日～11月10日迄の収實												
11月11日		10a 省						百株高		10a省自8月30日 至11月11日迄の収實量 (kg)		
収果数	未熟果 風乾量 (kg)	収果数	収 実 量 (kg)		新鮮果の 収率 (%)	風乾果の 収率 (%)	収果数	煙丈 風乾量 (kg)	収果数	煙丈 風乾量 (kg)	同比	
			新鮮量	風乾量								
320	0.320	22,380	164,560	89,840	54.5	56.3	260	10,200	23,200	93,860	47.6	第1区
7,840	7,920	15,040	48,000	28,240	58.8	17.7	171	3,200	22,880	36,160	18.3	第2区
5,440	6,640	22,640	110,480	71,560	64.7	44.8	258	8,120	28,080	78,200	39.7	第3区
4,720	3,280	31,120	246,880	123,200	49.9	77.2	354	13,995	35,840	126,480	64.2	第4区
1,600	2,400	20,880	79,520	46,960	59.0	29.4	238	5,330	22,480	49,360	25.0	第5区
2,120	37,440	33,280	341,600	159,520	45.8	100.0	378	18,120	54,480	146,960	100.0	第6区

総アルカロイド 含有率 (%) (注: 未熟果)	同 比	総アルカロイド 絶対量 (g)					同 比
		自8月31日 至10月20日	自10月21日 至10月31日	自11月1日 至11月10日	果 計		
0.28	87.5	2,4371	0,672	0,142	2,5155	49.2	第1区
0.30	93.7	6,192	1,656	0,624	8,472	16.5	第2区
0.45	140.6	2,4408	5,868	1,926	32,292	63.0	第3区
0.43	134.3	4,9708	3,096	0,172	5,2976	103.7	第4区
0.27	84.3	7,948	4,039	0,691	1,2679	24.8	第5区
0.32	100.0	2,8364	1,5455	7,526	5,1046	100.0	第6区

- 註
1. 新鮮量とは収果後果皮を去り直に秤量せるものなり。
 2. 風乾量は10日間乾物乾せるものを秤量せるものなり。
 3. 未熟果は根莖採取の際病の未だ産製せざるものなり。

何れも第4区最も多く第2区に於ては僅少なり。11月10日迄の収米数並収實量に就ては第6区最も多收なるを示し未熟米収量も亦之に準ず。種実の総アルカロイド含有量は雜種系のものは最も高くアメリカテフセンアサガホに於ては極めて低い。アルカロイド絶対量は第4区最も多く第6区之に次ぎ第2区に於ては僅かに8.472%なり。

5. 成績の摘要及び考察

1. 本調査は主としてスコポラミンを含有するテフセンアサガホ属 (*Datura*) 各品種間の生産力並其の栽培上の得失に就て比較を行った。

2. 生育は各區共順調にして第2區は盆状、第1、4、6區は漏斗状、第3、5區は筒筒状を呈す。テフセンアサガホ及びケテフセンアサガホ系のものは生育期間長く莖葉よく繁茂せるもアメリカテフセンアサガホ系(初年目)は之と相反し地上部の枯死が早かつた。之れ宿根性テフセンアサガホの特性ならん。

3. 収葉量はテフセンアサガホ及び雜種4号は何れも葉形大にして摘葉容易何れも多收なり。アメリカテフセンアサガホは雜種4号に次ぎ収葉量多きも葉形小にして着葉密なるため摘葉困難にして多くの労力を要す。雜種2号に於ては最も収量僅少なり。

4. 収實量はテフセンアサガホは鞘の裂開上位のため収米便にして最も多收なりしも種子の乾燥に多くの日数を要するのみならず腐敗し易きを以て調製乾燥法の改善の要あり。ケテフセンアサガホ及びアメリカテフセンアサガホ系のものは何れも鞘の裂開と共に種子脱落し易く収米困難にして、多くの労力を要するも乾燥は極めて容易なり。

5. アルカロイドの含有率は雜種系のもの高し。故にF₁を利用するか又交雜育種法による優良系統を選出すること肝要なりと思料せらる。

6. 結 語

以上の調査成績を中心に検討すれば次の如し。

1. アメリカテフセンアサガホは収量下位、晩生種にして収米困難、着葉密生のため摘葉に何れも多くの労力を要し實際栽培上に適せず。然れども葉、種子の乾燥共に容易にして宿根なるにより空地、畦畔等の小規模栽培に適す。

2. ケテフセンアサガホ及び雜種3号は収量中位、鞘は裂開と同時に種子脱落し易きにより収米困難にして多くの労力を要する欠点あるも乾燥容易なり。

3. 雑種4号及びテウセンアサガホは何れも収量上位なり。特にテウセンアサガホは葉形大にして摘採容易、葉上旬裂開、収採及び調製簡易なり。葉、種子の乾燥には稍困難なるも実採栽培上の優良種と認めらる。

附. テウセンアサガホの収採直前に於ける結実状況

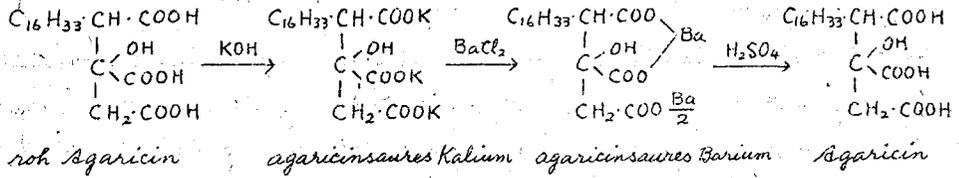
(昭和17年8月30日 唐澤純正氏撮)

アガリチン製造試験

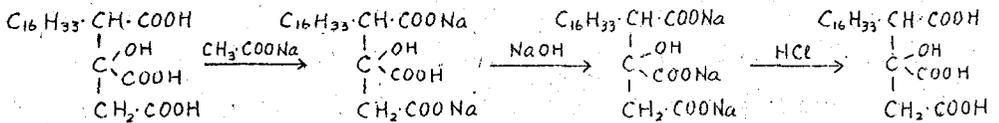
技師 黒野 吾市 技手 島崎 衛
 技手 鈴木 繁 元技手 安井 義一
 囑託 原田 直治

アガリチンはエブリコ *Polyporus officinalis* Fris. (*Fomes officinalis*) より得らるる一種の酸にして、之を初の Martins⁽¹⁾ は Laricin と称し、後 Schoonbrodt⁽²⁾ は Agaricin, Fileury⁽³⁾ は Agaricinsäure と命名し、次で Masing⁽⁴⁾, Jahns⁽⁵⁾, Schmieder⁽⁶⁾, Köner⁽⁷⁾ 等により夫々研究せられ、Thoms 及 Vogelsang⁽⁸⁾ は遂にアガリチンに現今の構造式と共に其本質を明かにせり。

アガリチンは用未、其汗腺の分泌を抑制する作用を有する事と認められ専ら汗抑制剤として医療に供せらるるに至り、吾國に於ても年額 4 Kg 内外を独逸より輸入し居りし所、數年前より當試驗所に於て之が製造を行ふ事となり余等が之に從事する事となれり、原料としてのエブリコは我國に於て千島、樺太、北海道及栃木縣奥日光附近に産し、樺太を除く外其産出量僅少にして、又アガリチン製造原料としての品質も樺太産を以て最も優秀となす⁽⁹⁾ エブリコよりアガリチンの抽出製造に就ては種々の方法あり、當所に於ては製造開始以来 Schmieder の方法を採用し、之に種々の改良を加へ未りたれど、この製造法の難點は其融點の融點比較的低く且アムモニア水に対する溶解不良の故にして日本薬局方適品製造上相當の困難を伴ふ事なり、此の方法は搗碎せるエブリコをアルコールにて抽出し冷後析出せる結晶を 60% アルコールより再結晶し、更に之を純アルコール又はメタノールに溶解し其溶液に苛性カリの純アルコール又はメタノール溶液を加へてアガリチンのカリウム塩を析出せしめ、之を水に溶解し塩化バリウム溶液を加へてアガリチンのバリウム塩を沈澱せしめ、之を 30% アルコールに懸垂し稀硫酸を加へてアガリチンを遊離せしめたる後、再結晶を反覆し精製す、其反應式次の如し、此の方法にて得たるアガリチンは融點 138°~139°を示し、アムモニア水に澄明に溶解し、其收量最高 4% なり。



余等は上述の方法の難点を除き日本薬局方適品の收量高めんとし、*Jahn*, *Fleury*, *Thoms* u. *Vogelsang* 等の製法を遠試せる所、何れも一歩一短ありて満足なる結果を得ず。最後にアガリチンの醋酸ソーダにより水及アルコールに不溶なる酸性ナトリウム塩を形成する性質を利用せる精製法を考案し、昭和十八年度に於ける製造試験に應用せる結果一應満足なる成績を得たり。即ち搗碎せるエブリコをアルコールを以て浸出し析出せる粗アガリチンをアルコールに溶解し之に醋酸ソーダのアルコール溶液を加へアガリチンの酸性ナトリウム塩と析出せしめ、之を熱アルコールにて洗滌後アルカリ溶液に溶解し、更に硫酸を加へてアガリチンを析出せしめ、之を再結晶して純品を得たり。この方法に依り従來の製法に依る際の日本薬局方適品の收量4%を一躍5.7%迄引上げ、且又其融点を139°~140°となす事を得たり。反應式次の如し。



最後に尙新に於けるアガリチン製造試験に終始御指導を給はりし恩師刈米博士に感謝し、又製造開始の初期に従事されし高橋謙一、熊本純三両氏に併せて感謝す。

實 験 之 部

(1) *Schmieder* 氏法に依る製造試験

粗製アガリチン

搗碎せるエブリコの薄片1Kgを変性アルコール4Lにて7時間加温浸出し温時濾過し、残渣は圧搾器を用ひて溶液を搾取し、全濾液を合して一夜放置し析出せる結晶を吸引濾取す。此の結晶を60%アルコール約1Lを用ひて再結晶し粗製アガリチン約200gを得。

アガリタン酸バリウム

粗製アガリタン 100g を 400 cc の純アルコール又はメタノールに加熱溶解し、之に 50g の苛性カリを 300 cc の純アルコール又はメタノールに溶解せる液を加へ充分アルカリ性となす。此處に析出せる石炭酸沈澱を吸引濾取し、之を煮沸に溶解し不溶物あれば濾過し、此の濾液に 90g の結晶塩化バリウムの水溶液を加ふれば白色の沈澱をます。之を濾取水洗し乾燥せる後約 180g のアガリタン酸バリウムを得。

精製アガリタン

アガリタン酸バリウム 180g を 30% アルコール 1ℓ に懸垂し、之に 10% 硫酸 600cc を加へて煮沸し上澄液を傾瀉して硫酸バリウムの沈澱と分離し、冷却せばアガリタンは鱗片状結晶となりて析出す。之を濾取し 30% アルコールより再三再結晶を反覆するも Fp 137°~138° にして、此の 0.5g を取りアモニア水 10cc に溶解するも澄明とならず、之を更に純アルコール及アセトンより再結晶せば Fp 138°~139° となりアモニア水に澄明に溶解するに至る。收量約 20g なり。

(2) 脂肪酸ソーダを使用する製造試験

抽出工程

搗碎せるエブリコ小片 5kg を水綿袋に入れ、変性アルコール 12~15ℓ を加へ 6~7 時間煮沸浸出液直に濾過し水綿袋を圧搾器にて搾出し濾過す。一夜放置後析出せる褐色粗粒を吸引濾取し、之を風乾後 60% アルコール 6 倍量より一回再結晶し淡黄色粒状の再結晶粗製品を得。エブリコ仕込量 100kg より第一粗製品 16.24kg を得。之より 13.62kg の再結晶粗製品を得たり。

第一精製工程

300g の再結晶粗製品を変性アルコール 4ℓ に加熱溶解し煮沸せしめつ之に 600g の脂肪酸ソーダを 2ℓ の変性アルコールに溶解せる液を注加し析出せるアガリタンの酸性ナトリウム塩を熱時吸引濾取し、之を再び 4ℓ のアルコールと共に煮沸し熱時吸引濾取す。次に之を 4ℓ の定規苛性ソーダに溶解し更に 4ℓ の三定規塩酸を加へ混攪してアガリタンを糊状に析出せしむ。一夜放置後吸引濾取し 4ℓ の水を以て 2 回洗浄す。次に 6~7ℓ の 40% アルコールより再結晶し、更に活性炭を以て脱色しつ反覆再結晶す。再結晶粗製品 13.62kg より 8.1kg の第一回再結晶品を得たり。

第二精製工程

第一精製工程に於て得たる再結晶品を更にアルコールより1〜3回再結晶し乾燥して局方アガリチンを得。

第一回再結晶品 8.1 Kg より局方アガリチン 5.78 Kg を得たり。

引用文献

- (1) *Buchner's Repert. f. Pharm.* 2 Reihe 41.
- (2) *Vierteljahresschr. pr. Pharm.* 13 (1863), 227,
- (3) *Jour. de Pharm. Sér. 4. T. 11 (1870), 202*
Repert. de Pharm. 31 (1873), 261
- (4) *Archiv d. Pharm.* 206 (1875), 111
- (5) *Archiv d. Pharm.* 221 (1883), 260
- (6) *Archiv d. Pharm.* 274 (1886) 661.
- (7) *Pharm. Jtg.* 1896, 638
- (8) *A.* 357. 1907.
- (9) 衛生試験所彙報 57, (昭和16年) 5.

昭和19年3月

昭和十九年七月十日印刷

昭和十九年七月二十日發行

著 者

厚生省東京衛生試験所

東京都本郷區森川町九八番地

印刷者 金 森 豊