年　報

ANNUAL REPORT

20

昭 和 43 年

1 9 6 8

東 京 都 立 衛 生 研 究 所

TOKYO-TO LABORATORIES

FOR

MEDICAL SCIENCES

1970 [illegible]

東京都立衛生研究所年報19　正誤表

ページ	項	目	誤	正
目次 1	第4章 1	藪内清　の下	挿　入	他1名
1	右	下から6行目	延 1,124名	延 1,156 名
3		庶務課　5	回書類	図書類
〃		食品部　5	試食	試験
7	左	上から19行目	病原大腸	病原大腸菌
〃	〃	下から20行目	ユリシン型	コリシン型
10	右	上から18行目	範囲はきめて	範囲はきわめて
12	〃	上から4行目	「土壌中	「土壌中
13	〃	下から3行目	華子類	菓子類
14	〃	上から17行目	雑乳食	離乳食
15	〃	上から7行目	（ウイルン分離	（ウイルス分離
〃	〃	下から3行目	オリブ油	オリーブ油
16	左	下から9行目	対策か	対策が
17	〃	下から2行目	カオリン,	（カオリン,
41	右	上から2行目	栄養短朝大学	栄養短期大学
43	左	下から1行目	性質であろと	性質であると
51	表2	下から4行目	1.0×20^9	1.0×10^9
75	英文	下から8行目	the compalisons	the comparisons
113	表1	上から6行目	洗滌サラット	洗剤サラット
〃	〃	下から4行目	テドラックス	エドラックス
〃	〃	下から2行目	すすぎ5回	すすぎ5分
114	表2	A　商　会	23,040	230,400
116	表5	下から4行目	20,490	20,480
153	英文	(1)の行	and inproved	and improved
159	右	下から6行目	メラミン尿素樹脂	メラミン，尿素樹脂
161	表2	下から3行目	÷1　3	±1　3
162	左	上から8行目	検出あるもの	検出するもの
〃	〃	上から14行目	任重合の	低重合の
〃	右	4.　ま　と　め 上から8行目	適となる。	適となっている。
168	左	下から5行目	トストジュース	トマトジュース
172	〃	下から18行目	水で茹ででた	水で茹でた
178	表1	菌種欄	Sta aur	Sta. aur
186	左	下から9行目	指標として	指標としての
189	〃	下から2行目	一乳質変化	乳質変化
〃	右	上から6行目	陰注細菌	陰性細菌
193	〃	上から7行目	Amkerlite	Amberlite
194	Fig 4	右上	右3(5)	消除
〃	右	上から4行目	蔽ペイ	隠ペイ
〃	〃	下から11行目	C—42	C—24
202	左	下から7行目	用いている。Dow-	用いている Dow-
203	右	下から6行目	水酢酸	氷酢酸
204	表	Table. 1 の行	Giv Tar	Giv Tan
205	Fig 1	説明文3行目	Chromosord	Chromosorb
〃	左	下から2行目	水素イオン化	水素炎イオン化
206	左	下から3行目	SE—30	SE—30
208	左	下から4行目	飯料水	飲料水
〃	〃	下から3行目	飯料と	飲料と
210	〃	下から1行目	総会医学会	総合医学会
〃	右	下から1行目	検計と	検討と
211	左	上から15行目	酒井照子	酒井昭子
〃	右	上から13行目	使用状治	使用状況
130	表7	上から1行目	0.047	0.447
〃	〃	上から2行目	0.457	0.457

はじめに

昭和43年中に行なつた試験検査および調査研究に併せて事務的報告を集めた年報第20号が出来上りました。

昭和43年における当所の特筆すべき変化は，まず多摩支所の誕生であります。これは今までの立川出張所が強化され，三級廨に昇格したもので，専任の支所長が配置されることになりました。多摩支所は三多摩の公衆衛生検査の中核となるもので，またこの地域は都内23区とは異なる環境条件にあり，著しい人口の増加につれて，行政活動の量的質的拡張も急激に起ると思われますので，更にその拡張強化に努力したい所存です。

公害に関する試験研究は，新たに首都整備局に公害研究所が設立され，そこで行なわれることになりましたが，その業務の一部は当所が委託をうけて，従来通り行なうことになりました。

次に挙げたいのは衛生研究所の中期計画の件であります。最近，食品衛生についての一般の関心が高まり，殊に食品添加物に対する不安が増してきたので，行政面でも一斉検査，摘発等が活発に行なわれるようになりました。このような行政上の要求に対し，現在の衛生研究所の規模では，到底これに応ずることができませんので，食品検査部門の拡充計画が検討されるようになりました。都民のシビルミニマムを達成するため，知事は特にいわゆる中期計画に力を注いでおられますが，衛生研究所の食品検査部門の拡充計画もその一つとして取り上げられています。従つて，遠からずこの計画は具体化するものと期待しています。

時代の進展とともに，衛生研究所の果たす役割は益々重くなり，業務の内容も益々広く，且つ深くなつていくことは明らかであります。われわれは責任の重さを自覚するとともに，今後とも衛生行政のバックボーンの役割を果たすべく積極的に努力を重ねていく所存であります。

—昭和44年10月１日，都民の日に—

東京都立衛生研究所

所長　辺野喜　正　夫

目　　次

第1章　序　　説……1

第2章　機構および事業の概要……2

1　機　　構……2

2　予算および決算……4

3　施　　設……5

第3章　業　　務……6

1　庶　務　課……6

2　経　理　課……6

3　細　菌　部……6

4　ウイルス部……7

5　臨床試験部……7

6　環境衛生部……8

7　水質試験部……8

8　食　品　部……9

9　栄　養　部……10

10　乳肉衛生部……10

11　医薬品部……11

12　化粧療品部……12

13　多摩支所……12

第4章　調査研究事項……35

1　腸内ウイルス感染症の実態は握に関する研究……岩崎謙二……35
　未処理下水からのウイルス分離について　柏木義勝 他8名

2　1968年度東京都における日本脳炎の疑似患者についての……藪内清……39
　血清学的検索成績および疫学的調査　岩崎謙二 他7名

3　1968年5月から1969年3月にかけて東京都内に発生した……坂井冨士子……53
　インフルエンザのウイルス学的血清学的検索成績　岩崎謙二 他5名

4　生物試料へのレプリカ法の応用……前木吾市……59
　柏木義勝 他6名

5　昭和43年度臨床試験部の研究業績……71

Ⅰ　界面活性剤の研究……柳　沢　文　正……71
　　とくにドデシルベンゼンスルフォン酸ソーダと　山　岸　達　典
　　ヘモグロビンとの複合体物質の抗原性について

Ⅱ　食酢の生化学的研究（Ⅰ）……柳　沢　文　正……85
　　食酢の血清電解質におよぼす影響と浸透性について　小笠原　公
　　武士俣　邦　雄

Ⅲ　食酢とカルシウム……武士俣　邦　雄……91
　　小笠原　公
　　柳　沢　文　正

6　菓子害虫に関する研究……中　田　英　吉……93
　　1　実態調査　野　牛　弘
　　辺野喜　正　夫

7　貸おしぼりの消毒法改善について……野　牛　弘……97
　　小　林　正　武
　　他　5　名

8　冬期における東京都庁各事業所内の環境条件について……野　牛　弘…109
　　両　角　清
　　他　8　名

9　原子吸光分光分析法による浮遊塵埃中の金属成分分析に……野　牛　弘…115
　　対する若干の検討と都内における測定結果について　瀬　戸　孝　博
　　他　2　名

10　全国の地下水の水質調査……木　村　康　夫…119
　　三　村　秀　一
　　他　1　名

11　水道水中のアンモニア性窒素と亜硝酸性窒素の同時検出について……木　村　康　夫…123
　　アンモニア性窒素を含む深井戸水を原水とした場合　山　崎　堅　吉
　　他　1　名

12　ソフト型界面活性剤のオゾン酸化について……木　村　康　夫…131
　　三　村　秀　一
　　他　1　名

13　河川の水質汚濁に関する生物学的研究……松　本　浩　一…135
　　1　那珂川の底棲動物相について　松　本　昌　雄

14　微生物の代謝産物に関する研究……直　井　家寿太…149
　　1　ブドウ球菌の産生する揮発性物質の Gas-chromatography　小久保　弥太郎
　　他　3　名

15　微生物の代謝産物に関する研究……直　井　家寿太…155
　　2　好気性有芽胞菌の産生する揮発性物質　二　島　太一郎
　　の Gas-chromatography　他　2　名

16　食品中よりの各種酸化防止剤の分離・定性・定量法について……酒　井　昭　子…159

17　清涼飲料水用容器材としてのポリプロピレンの衛生学的考察……遠　藤　英　美…175
　　藤　居　瑛
　　他　4　名

18　ガンマー線照射による小麦グルテンの変質（第7報）……道　口　正　雄…183

19 日常食品の酸価およびアルカリ価……西田甲子… 189
V くだもの，ナッツ類のアルカリ価 五島孜郎

20 STUDIES ON PENICILLIN-INDUCED L FORM OF LISTERIA MONOCYTOGENES ……H. MURAKAMI et al.… 193

21 超高温処理（U.H.T処理）びん装乳の保存性について……春田三佐夫… 199
加藤千里
他 2 名

22 えびの鮮度について（抄録）……大石純一… 215
渡辺学
他 3 名

23 発熱性物質に関する研究 I ……下平彰男… 219
化学的物質による体温変動 田村健夫

24 生薬の試験法に関する研究（1）……西川洋一… 223
蒼朮および白朮の簡易識別法について

25 パームチット・臭化シアン法について……橋爪六郎… 227
風間成孔
他 1 名

26 月経処理用タンポンの吸収能について……西田茂一… 231

27 主として化粧品中のセレンの定量法について（抄録）……戸谷哲也… 235
原田裕文
他 3 名

28 トウガラシチンキの品質とチンキ中 Capsaicin の確認について……小泉清太郎… 237

29 FTA-Test の基礎的研究 第1報……西條頼広… 243
FTA-Test に用いる抗原の調整について 上木英人

30 1968年他誌（学会）に発表した研究業績…… 251

第1章　序　　説

1.　設立の目的と事業

東京都立衛生研究所は東京都の公衆衛生の向上増進に寄与するために設立された。

業務内容は細菌学的検査，ウイルス試験，血清学的検査，寄生虫検査，臨床試験，環境衛生試験，水質試験，食品試験，製品検査，栄養試験，獣疫検査，医薬品試験，化粧療品試験その他の衛生試験およびこれらに関する調査研究など，きわめて多岐にわたつている。

これらの試験検査は衛生行政に裏付けを与えるため，東京都衛生局の各部および各保健所が収去した検体や食中毒に関する行政試験を中心としているが，一般都民からの依頼試験にも応じている。

また，衛生局所属の技術職員―都内各保健所検査関係職員，保健所配属の食品衛生，環境衛生，薬事衛生各監視員，狂犬病予防員，栄養士，保健婦などを対象に衛生試験検査技術の指導講習会を開き技術指導に努めている。

さらに，公衆衛生および衛生検査法に関する広範な調査研究を行ない，その成果を各学会において活溌に発表するとともに，行政面にもこれを活用し検査方法の確立，改善等にも積極的に活動している。

2.　沿　　革

本研究所の設立以前には，東京都には衛生試験所，衛生検査所，細菌検査所，獣疫検査所，血漿研究所および製薬研究所の6施設があり，それぞれの目的に従つて業務を行なつていたが，昭和24年3月，これらを統合して本研究所が設立せられた。

3.　本年の状況

本研究所の取扱件数の大半を占める法定伝染病病原菌の検査は287,888件（陽性数303件，0.105％）で昨年より約34,000件の減少であつたが，陽性率も昨年の0.23％に比べて大幅に減少した。本年もまた都内各地に赤痢の集団発生（17件）があり，ソンネ菌によるもの9件，フレキシネル菌によるもの8件であつた。

食中毒の細菌検査は11,901件（陽性176件）で昨年より4,000件増加した。

集団かぜの発生も多く，特に本年は9月から10月にかけて「香港かぜ」の流行があつた。これは従来のインフルエンザウイルス A_2 と若干の共通抗原を有するが，現在までに分離されたインフルエンザウイルスのどれにも該当しないと思われるA型のウイルスであつた。

大気汚染測定業務としては，厚生省委託の大気汚染調査の一環として，亜硫酸ガス，一酸化炭素，じんあいなどの常時監視業務を行なつているが，装置の改良により自動計数化装置の運行が可能となつた。また降下ばいじん量測定は，測定点を24箇所から30箇所に増加した。

食品衛生関係では，一般飲食店，集団給食施設，給食センター等の主食，そう菜，菓子飲料類，食器具，従業員の手指等について細菌検査を行なつた結果21,646件中不適率は49.6％におよんでいる。不適理由は主として大腸菌群の検出およびコアグラーゼ陽性ブドウ球菌の検出によるものであつた。食中毒の化学検査は2,437件中不適106件で，原因食にはトマトジュース，オレンジジュース，茶等があり原因物質としてスズ，カドミウム等が検出された。

毒物及び劇物検査では，メッキ工場廃液のシアン定量分析を411件行なつたが，制限濃度2ppm以下のものはわずかに102検体（24.8％）であり，限度をこえるものの中には200ppm以上の濃度を示すものが14検体あつた。

玩具の行政試験では，おしやぶり，風船，粘土，ラッパ等について2,465件行ないラッパ，風船，油粘土から法定外色素の溶出が認められた。

例年行なつている衛生試験技術者指導講習会を本年も実施し延939名が受講した。

第2章　機構および事業の概要

1. 機　　構

本研究所は所長，次長の下に，庶務課，経理課の2課と細菌部，ウイルス部，臨床試験部，環境衛生部，水質試験部，食品部，栄養部，乳肉衛生部，医薬品部，化粧療品部の10部および多摩支所がある。細部の組織，担当業務の概要および配置人員は別表のとおりである。

職　員　配　置　表

(44. 4. 1)

職名 / 部課名	主事	技師	主事補	技師補	技術助手	業務員	工員	作業員	用務員	計
庶務課	13	4	4	3	1			1	4	30
経理課	11	1	2	5			1			20
細菌部		22		6		1	2	9	1	41
ウイルス部		7				1	1	1		10
臨床試験部		9		1				1		11
環境衛生部		10		1				1		12
水質試験部		13					1	4		18
食品部		18		1		1	1	3		24
栄養部		6						1		7
乳肉衛生部		7		1				2		10
医薬品部		12		1			1			14
化粧療品部		7		1						8
多摩支所	1	7	2	2				2		14
計	25	123	8	22	1	3	7	25	5	219

東京都立衛生研究所の組織と事業

(44. 4. 1)

所長
技師　辺野喜正夫

次長
主事　小田部孝市

- **庶務課**　主事　栗原　勇夫
  - 1. 所所属職員の人事および給与
  - 2. 公文書類の収受，配布，発送，編集および保存
  - 3. 試験検査技術の指導講習
  - 4. 調査および統計
  - 5. 資料および図書類の収集，管理，保管および利用
  - 6. 他課，部に属しないこと
- **経理課**　主事　高橋　弘之
  - 1. 予算，決算および会計
  - 2. 施設の維持管理
- **細菌部**　技師　善養寺　浩
  - 1. 各種伝染病菌および食中毒の検査
  - 2. 血清学的検査
  - 3. 消毒剤の効力試験
  - 4. 医療器具等の無菌試験
  - 5. 他部に属しない細菌学的試験および検査
  - 6. 実験用動物の飼育管理
  - 7. 細菌学的および血清学的調査および研究
- **ウイルス部**　技師　根津　尚光
  - 1. ウイルスの検査
  - 2. リケッチアの検査
  - 3. 電子顕微鏡検査
  - 4. ウイルス学的調査および研究
- **臨床試験部**　技師　柳沢　文正
  - 1. 血液，し尿，脳脊髄液等の生化学的試験および検査
  - 2. 寄生虫および原虫の検査
  - 3. 臨床生化学的および病理学的調査および研究
- **環境衛生部**　技師　野牛　弘
  - 1. 日光，空気，温度，ばい煙および騒音に関する衛生学的試験
  - 2. じんかい，し尿その他汚物の検査
  - 3. 住居および被服の衛生学的検査
  - 4. その他環境衛生に関する試験および検査
  - 5. 環境衛生に関する調査および研究
  - 6. 医動物の検査，調査および研究
- **水質試験部**　技師　木村　康夫
  - 1. 水質および温泉の検査，調査および研究
- **食品部**　技師　松本　茂
  - 1. 飲食物の試験および検査
  - 2. 食中毒の化学的試験および検査
  - 3. 製品検査
  - 4. 食品添加物の試験および検査
  - 5. 飲食器，調理器具等の試験および検査
  - 6. 前5号に規定する事項の調査および研究
- **栄養部**　(兼)技師　春田三佐夫
  - 1. 栄養学的試験，調査および研究
- **乳肉衛生部**　技師　春田三佐夫
  - 1. 乳肉食品の試験および検査
  - 2. 狂犬病その他人畜共通疾患の検査
  - 3. 前2号に規定する事項の調査および研究
- **医薬品部**　技師　田村　健夫
  - 1. 医薬品および医薬品原料の試験および検査
  - 2. 毒物および劇物の試験および検査
  - 3. 毒物中毒の化学的試験および検査
  - 4. 他部に属しない化学的試験
  - 5. 前4号に規定する事項の調査および研究
- **化粧療品部**　(兼)技師　田村　健夫
  - 1. 化粧品および化粧品原料の試験および検査
  - 2. 医薬部外品の試験および検査
  - 3. 医療用具および衛生材料の試験および検査
  - 4. がん具類の試験および検査
  - 5. 麻薬，阿片，大麻の試験，検査および鑑定
  - 6. 前5号に規定する事項の調査および研究
- **多摩支所**　技師　上木　英人
  - 1. 支所所属職員の人事および給与
  - 2. 支所の会計事務
  - 3. 細菌学的検査
  - 4. 化学的試験および検査
  - 5. 寄生虫および原虫の検査
  - 6. 臨床検査
  - 7. 前4号に規定する事項の調査および研究

2. 予算および決算

(1) 昭和43年度決算

(イ) 歳　　入

区　　分	予　算　額	決　算　額	増　△減
	円	円	円
使用料及び手数料	59,430,000	66,595,203	7,165,203
国庫支出金	732,000	672,000	△60,000
諸収入	80,000	116,686	36,686
計	60,242,000	67,383,889	7,141,889

(ロ) 歳　　出

事　項　名	予　算　額	決　算　額	不　用　額
	円	円	円
衛生研究所管理運営	403,651,000	396,674,071	6,976,929
伝染病対策			
保菌者検索	19,117,000	19,116,634	366
計	422,768,000	415,790,705	6,977,295

(2) 昭和44年度予算

(イ) 歳　　入

区　　分	本年度予算額	前年度予算額	増　△減
	円	円	円
使用料及び手数料	62,618,000	59,430,000	3,188,000
国庫支出金	746,000	732,000	14,000
諸収入	87,000	80,000	7,000
計	63,451,000	60,242,000	3,209,000

(ロ) 歳　　出

事　項　名	本年度当初予算額	前年度予算額	増　△減
	円	円	円
衛生研究所管理運営	426,760,000	403,651,000	23,109,000
衛生研究所施設整備	27,080,000	0	27,080,000
伝染病対策			
保菌者検索	18,474,000	19,117,000	△643,000
計	472,314,000	422,768,000	49,546,000

3. 施　　設　　(44. 4. 1)

課部廨名	所在地	電話	棟数	建物延面積	敷地	摘要
庶務課 経理課 細菌部 ウイルス部 臨床試験部 環境衛生部 水質試験部 食品部 栄養部 乳肉衛生部 医薬品部 化粧療品部	新宿区百人町4の539 〒 No. 160	363-3231(代) 368-4141(経理) 371-1669(所長)	7	m² 8,448.85	m² 12,363.6	鉄筋コンクリート建 1. 地上4階, 地下1階 2. 地上2階, 地下1階 他5棟
多摩支所	立川市柴崎町3の16の25 〒 No. 190	0425-24-8263	2	m² 203.6		立川保健所内 鉄筋コンクリート造 平屋他1
計			9	m² 8,652.45	m² 12,363.6	

第3章　業　　務

1. 庶　務　課

人事，文書，給与などの一般庶務事項のほか，各種検査物の受付，統計の作成などを行なつている。また事業月報，年報，研究報告を発行し，業務成績，調査研究の成果などを発表して，事業の周知，学術の交流に資している。衛生局に所属する衛生試験検査技術者に対する技術指導講習会を本年も開催し延939名が受講した。(別表)　さらに近年は関係大学（養成所）などからの実習依託が多く，本年は延3,982名にのぼつた。また関係大学学生，各種団体等からの見学者も多く，外国からの視察者も含めて，別表に示すとおり1,858名が本所を訪れている。

2. 経　理　課

会計事務および物品の調達，工事その他契約事務を担当している。

A　主な工事

(1)	給水管引込工事	1,990,000円
(2)	陸屋根防水工事	1,700,000円
(3)	冷却塔改修工事	1,585,000円
(4)	その他施設改修工事	1,643,270円
	計	6,918,270円

B　物品調達

(1)	小型乗用自動車	980,000円
(2)	超低温槽	2,050,000円
(3)	高感度ポーラログラフ	1,140,000円
(4)	デジタルカウンター（原子吸光光度計附属）	1,180,000円
(5)	低温フラン器	697,000円
(6)	ガスクロマトグラフ	1,536,200円
(7)	分光光度計	1,128,000円
(8)	ポーラログラフ	1,487,500円
(9)	ガスクロマトグラフ	885,000円
(10)	自記分光光度計	3,604,000円
(11)	自動分析器	3,374,000円
(12)	ガスクロマトグラフ	1,500,000円
(13)	コールドトーム	578,000円
(14)	電子卓上計算機他338点	19,715,957円
	計	39,855,657円

3. 細　菌　部

検査業務の大半は法定伝染病原因菌の中で，特に腸管系病原菌の検査であり，このほかに食中毒細菌の検査，梅毒の血清学的診断，結核菌の検査，消毒剤，予防剤の効力試験，医療，衛生機器の殺菌効力試験，無菌試験およびこれらに関する調査研究を行なつている。

昭和43年中の総取扱件数は311,243件で，このうち204,865件は飲食物取扱業者，各種団体の給食従業者，上水道事業従事者，学校給食従業者，保菌者，注意患者，患者家族等に対する腸管系病原菌の検索であつて，特にこれらの疾病が多発する5月～9月を中心として都民の食生活に密接な関連のある飲食物営業者，集団給食従業者の保菌者対策として162,722件のふん便検査を行ない，赤痢菌13件，チフス菌2件およびサルモネラ52件を検出した。

本年は例年に比較して赤痢の流行が少なく，集団発生も17件でありその発生規模も概して小さいのに反してサルモネラの検出率が年々増加している。

細菌性食中毒関係の検体数は年々増加しており，本年は11,901件について菌検索を行ない陽性1,473件であつた。検査成績から事件の原因別にみると，腸炎ビブリオによるものがもつとも多く60件であり，ついでブドウ球菌によるもの16件，サルモネラによるもの8件，病原大腸菌によるもの4件であつた。

梅毒血清反応は86,546件（緒方法34,399件，ガラス板法52,147件）を処理したが，その陽性率は昨年の4.18%（3,913件）に比し，4.08%（3,533件）とわずかに減少を示している。また緒方，ガラス板両法による定量検査は4,786件であつた。この両試験法による成績が不一致の場合もあるため最も信頼し得る試験法とされている血球凝集反応（ＴＰＨＡ），蛍光抗体法（ＦＴＡ）をとりいれこの不備を補うことにした。

調査研究としては，腸内細菌検査および食中毒検査によつて検出された赤痢菌，サルモネラおよび腸炎ビブリオその他の病原菌について，抗生物質耐性試験を行ない，耐性化の年次推移を把握すると共に今後の治療の指標とするための貴重な成績を得た。また，腸炎ビブリオ食中毒予防の基礎的資料とするために，本菌の海洋，市場および小売店の魚並びに家庭における汚染の状況について調査を行ない貴重な資料を得ることができた。年々増加傾向を示すサルモネラ食中毒予防の立場から，本菌の生態学的調査を行ない，と畜場の汚水，市販の生肉等からかなり本菌が検出されてい

る。ブドウ球菌食中毒の原因となる黄色ブドウ球菌のコアグラーゼ型別やエンテロトキシンを直接に証明するための基礎的研究を行なつている。

4. ウイルス部

ウイルス，リケッチァ性疾患の病原的確認をはじめウイルス，リケッチァに関する検査および調査研究を行なつている。また，電子顕微鏡を利用した微生物の形態学的検査，研究も行なつている。

43年中に取扱つた検査件数は9,185件（行政検査7,243件，依頼検査1,942件）で，調査研究は6,585件である。

検査件数の大半は行政検体および伝染病流行予測事業関係のものであり，一般依頼は少なく，しかもウイルス分離試験よりも手数料が安価である血清試験が主となつている。公衆衛生的見地からみたウイルス学的試験結果のもつ意義は極めて大きいが，試験結果が個々の患者自身の直接利益とならない医学の現状では前記の現象はやむを得ないものであろう。

本年の業務の特色は「香港かぜ」に関するもので，7月から香港におけるインフルエンザの流行が伝えられ，これが我国を侵すことを予想して防疫対策がいそがれたことであつた。「香港かぜ」は，結局従来のインフルエンザウイルス A_2 と若干の共通抗原を有するが，現在までに分離されたインフルエンザウイルスのどれにも該当しないと思われるA型のウイルスの流行であつたが，このウイルスで作られたワクチンの絶対量が流行予想期までに十分でないと考えられるところから，種々それにともなう調査研究が行なわれた。

都内の流行状況は，我々の検査からみれば9月から10月頃にかけては，B型の地域的流行が主流であつたが，9月11日香港経由で来日したアメリカ人大学生，9月18日香港経由帰国した会社重役，10月12日香港滞在後帰国した電々公社社員から相次いで香港かぜAウイルスが分離され，又国内における感染としては学級閉鎖中の両国中学校生徒から10月19日にはじめて「香港かぜ」ウイルスが分離され，それ以後全都に大きな流行を見た。都立監察医務院からの解剖例40件の検査依頼があり，そのうち4例から「香港かぜ」ウイルスが分離された。

日本脳炎においても極めて特徴的な傾向が見られた年であり，疑似患者検体は相当数にのぼつたが，結局検査で陽性成績が得られたのは，漸く9月に入つてからの1例のみであり，例年の通り行なわれたと場豚血清による流行予測における陽性転化の時点も非常に遅く，9月9日に陽性率61.5%となり厚生省から日脳汚染地区に指定された。

流行予測事業（厚生省委託事業）も例年通りポリオ及び日本脳炎について行なわれ，本年はこれに加えるにインフルエンザの流行予測事業も行なわれた。

調査研究としては，例年の通りインフルエンザの血清疫学的研究を続行し，日本脳炎においては，中央保健所八丈出張所と共同で八丈島の蚊の採取を行ない，蚊の発生状況，分類，ウイルス分離を実施するとともに人の血清収集，抗体調査を行なつた。昨年に引きつづき本年も青梅市附近に流行する脳脊髄炎，いわゆる青梅病に関する送付検体のウイルス学的検索を行なつた。

5. 臨床試験部

血液，し尿，髄液などの臨床試験検査および寄生虫，原虫の検査と，これらを基礎とした生化学的研究を行なつている。

43年中における臨床試験検査の総取扱件数は18,904件，寄生虫および原虫検査は10,468件であつた。

この内訳を示すと臨床試験検査では，血液理化学試験13,437件，血液型検査（ＡＢＯ式とRh型）3,620件，血液像検査90件，姙娠反応検査507件，その他1,250件である。

昨年と比較してみると血液理化学試験，血球数算定，姙娠反応検査が増加し，血液型検査，血液像検査，尿成分検査が減少した。取扱い件数の最も多い血液理化学試験をみると，取扱い種別約40種のうち，高度の技術を要するものが増加し，平易な種目としだいに交代しつつある傾向にある。これらのなかでも肝腎機能に関係あるタンパク質とその分画，非タンパク性窒素成分，トランスアミナーゼ，アルカリンフォスファターゼ乳酸脱水素等の酸素活性，ナトリウム，カリウム，クロール等の電解質，アンチストレプトリジン0価，C反応性タンパク等の血清学免疫学的検査が多い。

寄生虫および原虫検査は年々減少し昨年の約半数であり，陽性率も2.17%の低率である。汚水処理場汚泥の寄生虫検査を行ない，生死卵鑑別を行なつているが結果は殆ど死卵である。

調査研究としては，昨年に引き続き純正食品について栄養化学の面から健康との関連性について生化学的研究を進めている。成人病疾患の急増は産業関連の公害とならび食品の影響が大である。そこで本年度は食生活上好んで用いられる食酢の生体におよぼす影響について吟味した。食酢には醸造酢と合成酢があり，先進国では厳格な規制があるがわが国では両者が区別な

く用いられている現状である。これらが生体に及ぼす影響の差異は，従来から同一視されているきらいがあるので，この点を明らかにすべくまず電解質におよぼす差異の検討を行なつた。

長年にわたる継続研究としては中性洗剤の生化学的研究を行なつている。すなわちドデシルベンゼンスルホン酸ソーダ（ＤＢＳ）については，本年度から免疫学的研究に着手した。

6.　環境衛生部

環境衛生全般にわたる検査すなわち，温度条件，粉じん，換気状態，有害化学成分，放射能，騒音などの試験検査およびこれらに関する調査研究を行なつている。

43年中の取扱件数は4,921件（行政2,177件，依頼2,744件）であり，調査研究は2,225件であつた。

近年都内の事業所，工場等の労働環境は急速に改善されつつあり，中には高層ビル化され，空調設備も完備されているものもある。これにともない空調設備に対する不満が頻発し，これが当部に対する環境測定依頼となつて現われてきている。

10年以上も継続して行なつていた大気汚染研究は，年々重要性が増大し，都市公害行政の重要事項として都政でとり上げられ，このために公害研究機関として公害研究所が新設された。

大気汚染測定業務の重点は，国設東京大気汚染測定所の管理運営，降下ばいじん量測定，二酸化鉛法による亜硫酸ガス濃度測定，降下塵及び浮遊塵の放射能測定及び一酸化炭素濃度測定等である。国設測定所は，昭和41年８月に設置されて以来自動計数化装置の改良が逐次進捗し，本年後半にかけて自動計数化装置の自動運行が可能となり信頼できるデーターを提供しうるようになつた。

降下ばいじん量測定は，測定点を30箇所に増加し各区に１箇所と三多摩，島嶼に７箇所を設置した。過去10年関の測定値では昭和36年度を頂点とし，それ以後漸減傾向を示しているが，この２，３年再び増加傾向を示しはじめた。降下ばいじん中不溶成分は減少傾向を示すが，可溶成分の増加傾向が認められる。

二酸化鉛法による亜硫酸ガス量の測定値からは過去10年間に亜硫酸ガス量の年次増加は認められない。

放射能測定では，米，ソ，仏，中共の核爆発実験にかかわらず増加を認めない。

都内大気中のＣＯ濃度測定は昭和29年から10数年にわたり実施していたが，その測定値の解析の結果はＣＯ濃度の年次増加は激しく，特に冬期の増加と城西地区の増加が著しいことが認められた。いまや都内23区内はほぼ一様にＣＯで汚染されていると考えられる。またＣＯ増加は石油燃料消費量と正相関があり特に小規模暖房器に使用されると考えられる灯油の増加に相関性がある。また，同じく小規模暖房器に使用される都市ガスとの相関も強いことから，小規模暖房器の大気汚染への影響を見逃がすことができないことを知つた。

環境衛生業態検査の一環として貸おしぼりの細菌検査を実施した。昭和41年に行なつた時より格段に良い成績を得たが，まだ１枚につき１億箇以上10％強，10万箇以上45％であり，洗濯，消毒法の根本的改善策を得る必要のあることを認めた。

調査研究としては，家兎気管繊毛運動の各種ガスの影響，微量血中一酸化炭素ヘモグロビン定量法の研究，菓子害虫実態調査その他を行なつている。

7.　水質試験部

一般飲料水，公衆浴場水，プール水，工業用水，水道法にもとづいて行なう簡易水道水，専用水道水，また公共用水域の水質の保全に関する法律や，工場排水の規制に関する法律にもとづいて行なう工場排水，温泉法による温泉等広範囲にわたつての試験，調査，研究を行なつている。

43年中の総取扱件数は36,147件であり，このうち飲料水関係（井戸水，水道水）の飲料適否試験は27,544件で，井戸水は16,269件を占め不適率は50.6％であつた。これを化学と細菌別に不適率をみると，化学によるものが44.8％，細菌によるものが56.4％とほぼ例年に近い数値であつた。また本年は８～９月にかけて高井戸保健所で住民に対して井戸水質検査を行なうようＰＲした関係で，その管内だけで約1,300件の依頼が集中した。また８月以降世田谷区役所からの依頼で区内井戸水の細菌検査3,258件について行ない，45年度までに約19,000件を予定している。

タンク水は，学校，ビル，マンション等の依頼が多いが，今後は高層建築の推進化に伴ない件数の増加は明らかである。またタールエポキシ系塗料を防蝕の目的で塗布した水道用器材の塗料溶出について，水道局でその規格を作成し，化学的試験については当部が担当することになつたため630件の依頼があつた。

６月に帰属になつた小笠原諸島の飲料水調査に伴う水質試験を衛生局の行政試験と建設局土木技術研究所からの依頼で48件処理した。

都内プール水の検査は７～８月に保健所職員と共に現場試験と施設調査を行ない責任者ならびに現場職員

に対して管理の技術面について指導を行なつた。試験結果から見ると，不適のほとんどが残留塩素量基準以下で，そのため大腸菌群の項目に抵触するものが数件あつた。

工場排水試験は，主に首都整備局都市公害部および通産省の指示による工場からの依頼が多く699件を処理した。

し尿浄化槽放流水は，清掃局および一般都民からの依頼によるもので3,689件を処理した。この放流水検査は清掃法にもとづいて行なわれるもので，その検査対象件数は都内で約10万に達すると推定されており検査件数の増加が考えられる。

生物関係ではスライムについての検査が多くなつている。スライムは飲料水および工業用水において種々の浮遊沈でん物が生じたり，あるいは給水系統に種々の附着物が生じて閉塞を惹起することなどから，これらの原因の究明および適確な処置法を知るためにこれらの試験が依頼されてくるものである。

調査研究としては，深井戸水中のアンモニア性窒素と残留塩素との関係，瞬間湯沸器通水中の銅量と銅定量法について，ＢＯＤ試験妨害物質について，多摩川，隅田川，荒川，江戸川の河川水中の総水銀の定量について，都内の中小河川の改修工事に伴う沿岸井戸水への影響について，ソフト型合成洗剤に対するオゾン酸化について，鉄細菌に関する研究，河川の水質汚濁に関する生物学的研究その他がある。

8. 食　品　部

乳肉魚介を除く一般飲食物について，行政試験，食中毒の化学的検査および一般からの依頼試験，着色料その他の食品添加物，器具，容器包装などの試験検査およびこれらに関する調査研究を行なつている。

43年中の総取扱件数は63,881件（理化学試験38,958件，細菌学的検査24,923件）で，行政試験44,775件，依頼試験19,106件であつた。

(1) 食品化学試験

ア　行政検査

年間を通じ昨年と同様食品中の保存料，漂白料に関する試験が最も多く，着色料，重金属等の試験がこれに次ぐものであつた。その他44年1月からのズルチンの全面使用禁止に先だち，使用の一部規制が行なわれたためこれにともなう各種食品中のズルチンの定性および定量試験が行なわれた。

一斉検査としては，(ア)サラダ類，クリスマスケーキの保存料，(イ)春季の行楽地（行商），(ウ)子供の日を中心に行なわれた子供食品，(エ)6～7月の氷雪規格基準試験，(オ)清涼飲料水の規格および添加物に関する試験等が行なわれた。歳末における正月食品の一斉検査では，保存料，漂白料および着色料の検査に重点がおかれ，野菜，果実等の農薬検査では季節により品目を選び数回に分けて行なわれ，重金属，農薬の残留について検査を行なつた。

中毒およびその関連としては2,437件で，このうち不適106件であり中毒例には次のようなものがあつた。(ア)かん詰ジュースによる中毒として3月トマトジュース，4月オレンジジュースがあり，いずれもスズの溶出によるものと結論された。(イ)毒草による中毒は9月イッポンシメジ，クサウラベニタケ。(ウ)5月ヨウシュヤマゴボウ。(エ)4月茶がらからカドミウム検出。(オ)その他えびせんべい中の油脂変敗によるもの等があつた。

イ　一般依頼試験

食品中の添加物に関するものが多く，清涼飲料規格と油脂中のヒ素，重金属類の検査等も増加の傾向を見せている。

また，砂糖およびかん詰中の人工甘味料について公取委から依頼があり，最近は消費者センターから依頼される検体もでている。

(2) 容器，包装関係

行政検査では陶磁器50件（不適21件，鉛検出），合成樹脂47件（不適14件，ホルムアルデヒド検出），その他225件（不適72件）となつており不適理由では依然ホルムアルデヒド，鉛，許可外色素，蛍光剤検出等が数えられる。

同依頼試験では陶磁器25件，合成樹脂製品454件，その他940件であり，合成樹脂規格試験が多く不適品の多くは過マンガン酸カリウム消費量の項によつている。

(3) 食品添加物試験

ア　製品検査

甘味料製剤は2,801件（不適3件）で，ズルチンについては44年1月に使用禁止となつたが，合成甘味料製剤の件数は増加の傾向を見せ，42年の20％増となつている。着色料では266件で，最近天然色素を加味したもの等が出現し，分析技術的に種々研究を必要とするものが増加している。硫酸カルシウム製剤は1,056件と大幅に増加したが，これもとうふのみならず種々の食品に添加されている。かん水は6,317件（不適43件）で不適理由としては沈渣によるものおよび配合の誤りによると見られるもの等であつた。

イ　収去品検査その他

規格試験67件（不適7件）その他347件であるが，米ぬか油事件に関連してn—ヘキサン，水酸化ナトリウム，リン酸等の検体が多かつた。一般依頼は規格適否86件（不適7件）その他698件となつている。

(4) 細菌検査

行政検査の総件数は21,610件で不適率は49.6%におよんでいる。検査対象業種は一般飲食店，すし屋，集団給食施設，給食センター，駅構内売店，列車食堂等で，主食，そう菜，菓子飲料類のほか，食器具，まな板，従業員の手指，ふきん等について検査を行なつた。不適理由は主として大腸菌群検出およびコアグラーゼ陽性ブドウ球菌の検出をみたものである。伝染病予防および食中毒予防のための夏季対策は6,112件で，大腸菌群汚染82%，ブドウ球菌汚染54%（内コアグラーゼ陽性10%）であつた。夏季市販生ジュースについて，取扱者の手指，器具等とともに計239件の検査を行なつたが35件（14.6%）から大腸菌群を検出した。またドライブインを対象に2次にわたつて951件の検査を行なつた。その結果としては大腸菌群汚染492件（51.5%），ブドウ球菌汚染233件（24.5%，うちコアグラーゼ陽性率8.4%）を示した。一般依頼件数は3,313件で，学校給食関係の検体が最も多数をしめた。

調査研究としては，食品中の好冷菌に関する研究，油脂の酸敗に関する研究その他がある。

9. 栄養部

食品の成分分析，栄養価の測定および特殊栄養食品中の添加栄養素量の試験ならびにこれらに関する調査研究を行なつている。

43年中の取扱件数は836検体2,702件（行政試験555件，依頼試験2,147件）である。

行政検査は，特殊栄養食品およびこれと類似の食品中の強化栄養素量の確認試験を主としており，取り扱つた件数は507件である。その他調製粉乳による事故発生に伴い33検体48件の試験を行なつた。検査結果は特殊栄養食品において適格率89.7%で，菓子類，パン類，めん類およびし好飲料などに標示量とかけはなれた数値を示すものが多い傾向にある。

類似品に関しては誇大広告とも思われるものが菓子類，魚肉ハム，ソーセージ類にみられ，栄養素を強化したと思われるものは50%弱であつた。

依頼試験の検体種別は多種多様であるが，依頼状況は例年と同様調味料および菓子類，飲料類のし好品が多く，ついでパン，めん類などである。本年とくに注目されるのは香辛料，惣菜類の依頼が目立つたことである。これは食品加工の発達さらには製造者の栄養に関する自覚によるものかと考えられる。依頼検体のうち学校給食用として取り扱つたもの97検体，特殊栄養食品としての許可申請のためのもの28検体，収去検査の結果再検査を言い渡されたもの11検体で，これらの総計は総依頼検体の約35%に相当する。数字には表われないが，都民からの栄養に関する相談の多くなつてきたことも本年の目立つ点といえよう。

調査研究としては，強化栄養素の経時的変化，姙娠時の無機質代謝，γ線照射による小麦タンパク質の変質，種実類中のカルシウム，リン量および酸，アルカリ価についてその他がある。

10. 乳肉衛生部

乳および乳製品，食肉，魚介ならびにその加工品などの検査，狂犬病その他人畜共通疾患の検査およびこれらに関する調査研究を行なつている。

43年中の総取扱件数は14,730件で，行政検査6,101件，依頼試験8,629件である。

乳，乳製品の検体は公衆衛生部乳肉衛生課および各保健所から送付される収去検体と，乳，乳製品会社，販売会社，都学校給食会，消費者団体など，生産者，消費者からの依頼品で，行政検査2,814件，依頼検査3,194件である。収去検体の大部分は一斉収去検査によるもので，牛乳，加工乳，乳飲料，アイスクリーム類，はつ酵乳，乳酸菌飲料などである。本年は乳，乳製品関係の事故が以外に多く，育児用調製粉乳のビタミンC過量含有による事件，販売店における牛乳の詰換事件，陳旧牛乳のキャップ取り換え事件，不良原料乳の使用による事故などがあつた。ソフトアイスクリームについては一部警視庁の依頼による検査も行なつた。都内に搬入される生乳の主として成分について64例の試料を対象に実態調査を行なつた。依頼品の中では，都アイスクリーム協会依頼のアイスクリーム自主検査，牛乳普及会依頼の乳関係の自主検査が4月から9月の間に実施された。

食肉魚介類ならびにその加工品の検査も乳類と同様，収去検査と依頼品で，行政検査5,797件，依頼検査2,867件である。近年とみに動物性蛋白食品の消費率が上昇し，これに対処すべくかなり多種類の製品をチュックする必要があるため，検査件数も多数にのぼつている。冷凍肉として豚のカット肉を畜産事業団の倉庫から4，6，8月にそれぞれ収去したものの品質試験を行なつた。その他生食用かき，冷凍食品，ソーセージ類，ねり製品，包装食品が主なものである。依頼についても同様な傾向にあり，やはりメーカーからの依頼が主になつている。この種食品業界も近年とみ

に近代化が進み，業界自体の衛生に対する関心の度も深まりつつある関係で，今後検査件数は一層増加するものと思われる。

獣疫関係では，疑似狂犬病受理件数18件で，その内訳は畜犬2，無届犬5，野犬11で，検査の結果狂犬病はすべて陰性であつた。

医薬品等の毒性試験は40件で，内訳は急性毒性試験22，安全試験12，皮肢反応試験6であつた。なお，医薬品の毒性試験は一応7月で業務を打ち切り，今後は獣医公衆衛生本来の業務として動物の側，特に動物性蛋白食品の原料としての動物からの人畜共通疾患の調査研究を推進することにした。その手始めとして，目下リステリア，P.P.L.Oを中心に基礎的研究を行ない，他方環境からのこれら病原体のサーベイを開始した。

調査研究としては，流通過程におけるUHT殺菌びん装乳の保存性，特に保存性を左右する因子としての低温細菌の汚染状況とその消長に関する調査研究，低温細菌のうち特に脂肪分解能をもつ細菌に対する選択培地crossley培地の試作とその性能の検討，冷凍えびの鮮度判定基準設定のための基礎資料とすべく，都水産衛生協議会から試料の提供を得て，数種の冷凍えびを調査した。獣疫関係では，野犬における抗狂犬病ウイルス中和抗体の検索を，犬管理所の捕獲犬を対象に実施した。

11. 医薬品部

一般医薬品，生薬，製薬原料，毒物および劇物ならびに毒物中毒に関する試験，検査および調査研究を行なつている。

43年中の総取扱件数は3,715件（行政検査1,656件，依頼試験2,059件）で，このほかに殺虫剤の封かん18,289件である。

行政検査の内訳は，薬事監視業務としての収去検体231，事故検体22，補給業務3検体，検定業務158検体，毒物及び劇物416検体，その他37検体である。収去検査は一般販売業から収去されたもので，内服用栄養剤としてのいわゆるドリンク剤29検体，消化酵素製剤9検体，総合感冒剤76検体，ヒ素を含有するおそれのある日本薬局方無機薬品51検体，日本薬局方希ヨードチンキ15検体，日本薬局方マーキュロクロム液15検体，その他20検体で，配合成分の確認及び定量分析を行なつた。このうちドリンク剤はビタミンB_1，B_2，Cなどを試験対象成分として定量分析し，含量不足が9検体，B_2が処方量の約倍量含有されているものが2検体あつた。消化酵素製剤はでんぷん消化力及び錠剤崩壊度を検査し，不適品3検体を検出し，日本薬局方無機薬品はヒ素が限度をこえるものはなかつたが，薬局方各条の基準に適合しないものが4検体あつた。また，日本薬局方希ヨードチンキ及びマーキュロクロム液には不適品はなく，その他のものについては44年にわたつて検査を続行中である。

事故検体は，一般都民からの要望により保健所から薬務部を通じて送付される医薬品で，保存期間が甚だしく長期にわたつたために経時変化をおこしたもの，服用者の特異体質による副作用，誤用及び保存条件の不備と思われるものなどである。

検定業務による検査は都内の血液銀行から収去した血液保存剤12検体のヒ素含量測定，成分の定量分析及び発熱性物質試験を行なつたが，いずれも規格に適合した。又血液比重測定用硫酸銅液135検体の比重測定を行なうとともに，薬務部の依頼により11種の基準比重の硫酸銅液各10lを調製した。

毒物及び劇物検査は，メッキ工場廃液411検体中のシアンの定量分析を行なつたが，制限濃度の2ppm以下のものはわずかに102検体（24.8%）で，限度をこえるものが309検体（75.2%）もあり，そのうち200ppm以上の濃度を示すものが14検体もあつた。このことは衛生上有害なことはもちろんであるが，河川の汚染等の原因となり，公害問題として至急に対策がのぞまれる。また学童を対象とする商品の中に劇物2件を検出し，その資料を薬務部に提供し事故を未然に防止することができた。

依頼試験は理化学的試験866検体，生物学的試験397検体及び封かん18,289検体である。これらのうち医薬品の理化学的試験は各種製剤の薬局方等の基準試験，配合成分の定性，分量分析，経時変化，剤形の物理学的試験，配合原料の純度試験及び定量分析，原料生薬の品頒試験としての有効成分の定量分析等が122検体，予防部，各区市町等が購入する殺虫剤の規格基準適否試験470検体，各種殺虫剤の成分の定量分析及び恒数の測定274検体であつた。

生物学的試験は医薬品製造業者からの依頼による発熱性物質試験が主で，糖類69検体，注射用蒸溜水，生理食塩水及びリンゲル液など36検体，アミノ酸27検体，各種ビタミン24検体，グリチルリチン21検体，そのほかコンドロイチン，プロトポルフィリンなどの特殊なものが57検体，さらにプラスチック製の輸液セット等の医療用具類が93検体であつた。

調査研究としては，医薬品製剤の規格及び試験法設定に関する研究，原料生薬及び生薬製剤の規格及び試

験方設定に関する研究，化学的発熱性物質に関する研究，混合殺虫剤成分の分離定量法に関する研究その他がある。

12. 化粧療品部

化粧品，医療用具，衛生材料，玩具およびこれらの原料，麻薬，医薬部外品等の試験検査およびこれらに関する調査研究を行なつている。

43年中の総取扱件数は11,075件で，行政試験7.724件，依頼試験3,351件であつた。

行政試験のうち，化粧品関係は4,208件でヘアースプレーを3，7，11月に，口紅，粉白粉を11月に行なつた。このうちヘアースプレーについては，危険な可燃性ガスを使用したものや有害性金属としての鉛を多量に含有するものがあり今後の品質の向上が望まれる。麻薬では，3月に塩酸コカインと表示されているが，内容に疑いのある粉末について麻薬の鑑定を行ない塩酸コカインの反応を検出した。医薬部外品754件では化粧クリームを7月に，生理処理用品を7，8月に行なつたが，クリームについてはその承認内容成分を含有しないものと認められた。

医療用具衛生材料266件については，絆創膏を8月に，脱脂綿を11月に行なつたが，脱脂綿においてその水溶性物質量が規準を超えるものがあり，歯科材料では着色料として法定外色素であるローダミンBが検出された。玩具2,465件では，主として6月にラッパ，12月におしやぶり，がらがら，風船，粘土等について行なつた。このうち，ラッパ（赤色）からローダミンBを，他の4色のラッパおよび風船（赤色），油粘土（橙，黄色）からいづれも法定外色素の溶出が認められた。

依頼試験のうち，化粧品関係1,664件では，化粧品原料としてのタール色素，香料の取扱件数が多く，有色顔料（ベンガラ，群青，オーカー），無機粉末（タルク，カオリン，カーボンブラック等），ロウ類，界面活性剤等の規格試験が増加している。このほかに粉白粉，口紅，ヘアークリームや毛髪中の有害性金属試験等を行なつている。療品その他608件については，血液セット類，繊維衛生材料，歯科材料等についての基準または承認内容適否試験のほか，各種の合成樹脂製容器，ゴム製乳首哺乳器等の乳児用品およびその原料，塗料，接着剤，皮革製品，印刷物等について有害性物質試験を行なつている。麻薬関係では，動物体の一部について薬毒物化学試験として，モルヒネ，ストリキニーネの検出を行なつた。玩具等468件では，ゴム風船，粘土，絵具等の文具類について法定外着色料の試験を行ない，その他についてはホルマリン，有害性金属等の有害性物質試験を行なつたが，ゴム風船等に依然として法定外色素の溶出を認めるものがあり，赤色のものに多い。医薬部外品65件には，歯ミガキ，湯の花，防腐剤等があり，歯ミガキについては法定外色素としてローダミンBを検出している。依頼試験中，化粧品，用具をはじめ各種のものについて皮膚刺激試験の実施を必要とするものがきわめて増加しており，また化粧品，防虫剤，接着剤，塗料等その成分試験としてガスクロマトグラフィーによるものが多い。

調査研究としては，化粧品原料基準設定に関する研究，有害性金属の微量試験法と代謝に関する研究，化粧品の特殊成分試験法作成に関する研究その他がある。

13. 多摩支所

法定伝染病病原菌の検査を主とする細菌検査，血液型検査，尿成分検査等の臨床検査，水道水および一般水等の水質検査，食品の化学および細菌検査などを行なつている。

昭和43年中の総取扱件数は120,487件で，細菌検査99,192件，臨床試験11,159件，水質試験10,136件である。

細菌検査の主なものは，夏期伝染病対策の一環として行なつた消化器系伝染病予防対策としての保菌者検索41,210件，患者発生時の関係者検便7,818件，集団給食従事者，飲食物取扱者を対象とするもの19,388件，その他14,949件である。

臨床試験では，寄生虫検査8,307件，血液型検査1,264件，尿成分検査907件，その他理化学試験，糞便検査等となつている。

水質検査では，飲料水の飲料適否試験が主なもので水道水6,542件，井戸水3,594件であり，水道水では化学検査で5％，細菌検査で4％の不適，井戸水では化学検査で40％，細菌検査で44％の不適があつた。

菌別	態別	検査所別	本所	多摩支所	計
腸・パラチフス	注意患者	胆汁培養	– 23	– 1	– 24
		ウィダール反応	9 564	– 2	9 566
		尿	– –	– –	– –
	解熱患者		3 32	– 7	3 39
	保菌者		6 10	– –	6 10
	関係者		34 4,052	– 224	34 4,276
	計		52 4,681	– 234	52 4,915
赤痢	注意患者		– –	– –	– –
	解熱患者		5 251	– 281	5 532
	保菌者		1 8	– 1	1 9
	関係者		95 4,709	59 7,594	154 12,303
	計		101 4,968	59 7,876	160 12,844
腸・パラチフス・赤痢			77	7	84
健康者			195,216	75,255	270,471
菌型	F	1a	1		1
		1b	1		1
		2a	7	35	42
		2b	3		3
		3a	12	2	14
		3b		2	2
		3c			
		4a	1		1
		4			
	FV	X	2		2
		Y	1	4	5
	D		88	17	105
	T		27	1	28
	P		1		1
	PB		9	1	10
	サルモネラ	B	20		20
		C	27	1	28
		D	1		1
		E	27	3	30
			2		2
	計		230	66	296

菌別	態別	検査所別	本所	多摩支所	計
流脳			– –	– –	– –
ジフテリア			– –	– 18	– 18
コレラ			2 サルB 1 7 サルE 1	– –	2 7
結核	耐性		– 93	– 2	– 95
	検鏡		5 545	4 83	9 628
	培養		34 976	7 76	41 1,052
	計		39 1,614	11 161	50 1,775
淋菌	検鏡		– 11	1 77	1 88
	培養		– 28	– –	– 28
	計		– 39	1 77	1 116
ワッセルマン反応	定量	ガラス板法	2,007 2,384	205 239	2,212 2,623
		緒方法	1,953 2,402	187 239	2,140 2,641
	定性	ガラス板法	1,898 52,147	313 8,606	2,211 60,753
		緒方法	1,635 34,399	272 6,475	1,907 40,874
中毒	飲食品		360 2,767	– –	360 2,767
	吐物・尿		1,295 9,134	– –	1,295 9,134
	計		1,655 11,901	– –	1,655 11,901
ペスト			– –	– –	– –
効力試験			– 257	– –	– 257
その他			176 1,228	– 12	176 1,240
計			– 311,243	– 99,192	– 410,435

注：上段数字は陽性数を示す。

（2） 業 務 成 績 年 報（その２）（昭和43年１月～12月）

保健所別 ＼ 特殊グループ別		(集)		(食)		(防)		健康診断 保健所		健康診断 その他		チフス経過者		赤痢経過者	
麹	町	43	−	−	−	13,769	4	−	−	−	−	−	−	−	−
神	田	1,611	−	517	1	8,354	5	138	−	−	−	1	−	−	−
中	央	4	−	−	−	9,480	2	−	−	−	−	−	−	−	−
日	橋	−	−	−	−	14,902	6	25	−	−	−	−	−	−	−
芝		−	−	3,815	2	16,841	7	119	−	−	−	4	1	38	−
麻	布	688	−	1,040	1	3,012	3	112	−	−	−	−	−	10	1
赤	坂	3,763	1	−	−	5,857	1	31	−	−	−	2	−	2	−
牛	込	2,370	−	14	−	4,274	1	245	1	−	−	−	−	9	−
四	谷	860	−	317	−	4,516	−	395	−	−	−	−	−	4	−
淀	橋	−	−	−	−	−	−	−	−	6,725	2	−	−	−	−
小	石	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
本	川	−	−	−	−	5,372	1	−	−	−	−	12	−	−	−
下	郷	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
浅	谷	1	−	−	−	11,721	8	14	−	−	−	1	−	−	−
向	草	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
本	島	−	−	−	−	9,707	5	78	−	−	−	−	−	50	2
城	所	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
深	東	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
品	川	−	−	−	−	9,839	2	82	−	−	−	−	−	−	−
荏	原	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
目	黒	−	−	−	−	5,874	3	−	−	−	−	−	−	−	−
碑	谷	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
大	森	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
調	布	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
蒲	田	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
糀	谷	55	−	−	−	−	−	3	−	−	−	5	1	3	−
世	谷	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
梅	丘	−	−	−	−	−	−	303	−	−	−	−	−	−	−
玉	川	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	1	−
	砧	535	−	35	−	4,168	4	169	−	−	−	−	−	12	−
渋	谷	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
中	野	2,678	−	922	−	8,131	5	569	−	−	−	−	−	9	−
中	野	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
杉	並	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
杉	並	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
豊	島	2,420	1	496	−	17,455	7	266	−	8	−	6	−	95	2
豊	島	11	−	−	−	4,439	3	17	−	−	−	1	−	−	−
王	子	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
赤	羽	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
滝	野	442	1	−	−	4,993	−	186	−	−	−	−	−	18	−
荒	川	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
板	橋	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
板	橋	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
練	馬	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
石	神	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
足	井	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
千	立	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
葛	住	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
葛	飾	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
江	戸	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
（葛	西）	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
小	岩	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
青	梅	1,741	−	321	−	5,329	2	1,647	−	−	−	1	−	20	−
五	日	1,049	−	396	−	2,233	1	44	−	−	−	−	−	1	−
八	王	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	4	−
町	子	−	−	−	−	−	−	666	−	−	−	−	−	3	−
府	田	3,403	−	910	−	8,449	−	1,526	−	−	−	−	−	43	−
立	中	2,822	−	1,600	−	11,674	1	8,203	2	−	−	1	−	40	−
武	川	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	1	−	−	−
田	蔵	1,620	−	263	−	4,463	−	1,573	−	−	−	1	−	6	−
小	金	1,210	−	520	−	4,220	−	314	1	−	−	3	−	4	−
小	井	2,389	−	1,144	−	4,842	−	397	−	−	−	−	−	160	5
高	戸	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
志	村	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
（大	島）	60	−	−	−	−	−	5	−	−	−	−	−	−	−
（三	宅）	46	−	10	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
（八	丈）	202	−	−	−	18	−	−	−	−	−	−	−	−	−
計		30,023	3	12,320	4	203,932	71	17,127	4	6,733	2	39	2	532	10

チフス関係者		赤痢関係者		チフス疑似者 胆汁培養		チフス疑似者 ウイダール反応		赤痢疑似者		チフス保菌者		赤痢保菌者		コレラ		計	
–	–	9	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	13,821	4
22	–	57	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	10,700	6
99	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	9,583	3
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	14,927	6
79	2	450	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	2	–	21,348	12
4	–	48	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	4,914	6
–	–	234	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	9,889	2
1	–	146	2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	7,059	4
4	–	174	4	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	6,270	4
31	–	210	–	4	–	5	1	–	–	–	–	–	–	1	サルE 1	6,976	5
17	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	17	1
50	1	10	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	5,444	2
10	–	24	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	34	–
25	–	24	–	1	–	1	1	–	–	–	–	–	–	–	–	11,788	9
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
–	–	793	17	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	10,628	24
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	9,921	2
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	5,874	3
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
5	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	5	–
3,595	29	–	–	1	–	537	–	–	–	–	–	–	–	–	–	4,199	30
–	–	203	22	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	203	22
–	–	42	3	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	345	3
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	1	–
79	–	151	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	5,149	4
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
–	–	234	1	–	–	–	–	–	–	–	–	1	–	–	–	12,544	6
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	1	サルB 1	1	1
–	–	5	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	5	–
23	–	1,144	37	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	21,913	47
4	–	141	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	4,613	3
–	–	9	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	9	1
–	–	365	4	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	365	4
–	–	130	3	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	5,769	4
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	2	–	–	–	–	–	2	–
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
2	–	18	–	–	–	–	–	–	–	6	5	–	–	–	–	26	7
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
–	–	1,314	3	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	10,373	5
–	–	27	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	3,750	1
–	–	373	4	17	–	20	7	–	–	–	–	–	–	–	–	414	11
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	669	–
7	–	801	3	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	15,139	3
191	–	1,935	7	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	26,466	10
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	1	–
2	–	111	3	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	8,039	3
23	–	130	–	–	–	1	–	–	–	–	–	–	–	3	–	6,428	1
3	–	2,903	39	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	11,838	44
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
–	–	3	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	3	–
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	65	–
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	56	–
–	–	85	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	305	–
4,276	34	12,303	154	23	–	564	9	–	–	8	5	1	–	7	2	287,888	303

（3）業務成績年報（昭和43年1月～12月）

項目	行政	依頼	調査研究	計	血清試験				ウイルス組織培		
					HIテスト	補体結合反応	中和試験	その他	サル腎	HeLa	FL
インフルエンザ	521	165	3,076	3,762	3,087	864	–	–	–	–	–
パラインフルエンザ	389	–	59	448	663	–	–	–	195	–	–
耳下腺炎	–	47	2	49	–	47	–	–	–	–	–
アデノ	431	132	108	671	–	383	–	–	207	216	224
日本脳炎	703	97	1,317	2,117	2,716	95	21	–	–	–	–
急性灰白髄炎	306	48	122	476	–	144	444	–	194	190	194
コクサッキー	20	142	166	328	–	705	–	–	57	49	57
エコー	20	131	188	339	–	130	95	–	57	45	53
リケッチャ	–	1	–	1	–	–	–	1	–	–	–
原発性異型肺炎	–	1	–	1	–	–	–	1	–	–	–
ヘルペス	–	81	3	84	–	81	–	–	–	–	–
痘瘡	–	–	86	86	82	–	–	–	–	–	–
ポールバンネル	–	12	–	12	–	–	–	12	–	–	–
青梅病	114	–	–	114	176	1,232	36	–	26	26	26
原因不明疾患	164	8	118	290	33	174	–	–	178	178	178
その他	135	60	1,316	1,511	–	–	40	1	11	11	11
計	2,803	925	6,561	10,289	6,757	3,855	636	15	925	715	743

（4）業務成績年報（その1）（昭和43年1月～12月）

種目 / 検体	血液検査	理化学試験	血液型検査		血球計算		血液像	髄液検査
			ABO	Rh	赤	白		
血液 血液	176	213	2,610	2,274	203	188	90	–
血液 血清	238	13,239	–	–	–	–	–	–
血液 血漿	–	18	–	–	–	–	–	–
髄液	–	7	–	–	1	–	–	19
胃液	–	–	–	–	–	–	–	–
屎	–	–	–	–	–	–	–	–
尿	–	–	–	–	–	–	–	–
その他	–	6	–	–	–	–	–	–
本所	414	13,437	1,978	1,642	204	188	90	19
多摩支所	–	46	632	632	–	–	–	–
計	414	13,483	2,610	2,274	204	188	90	19

ウ イ ル ス 部

ス分離同定試験							その他						計
養試験			動物試験										
ハムスター腎	鶏胚	その他	発育鶏胚	哺乳マウス	サル	その他	免疫血清作成	抗原作成	ウイルス，リケッチャ株の継代培養	細胞の継代培養	電子顕微鏡	その他	
9	–	9	240	–	–	–	26	7	–	–	–	–	4,242
–	–	–	–	–	–	–	–	32	–	–	–	–	890
–	–	–	–	–	–	–	–	2	–	–	–	–	49
–	–	–	–	–	–	–	–	16	–	–	–	–	1,046
–	58	–	–	22	–	3	–	1	–	–	–	16	2,932
–	–	–	–	78	–	–	–	18	–	–	–	–	1,262
–	–	–	–	49	–	–	5	33	–	–	–	–	955
–	–	–	–	–	–	–	–	1	–	–	–	–	381
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	1
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	1
2	–	–	–	–	–	–	–	1	–	–	–	–	84
–	–	–	1	–	–	–	–	2	1	–	–	–	86
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	12
–	–	–	2	25	–	–	–	–	–	–	–	–	1,549
–	–	–	11	139	–	–	–	–	–	–	–	–	891
–	–	–	–	3	–	–	–	–	27	563	722	122	1,511
11	**58**	**9**	**254**	**316**	**–**	**3**	**31**	**113**	**28**	**563**	**722**	**138**	**15,892**

臨 床 試 験 部

胃液検査	妊娠反応	尿検査 成分		沈渣	糞便検査	その他	本所	多摩支所	計
		定性	定量						
–	–	–	–	–	–	608	4,444	1,918	6,362
–	–	–	–	–	–	–	13,477	–	13,477
–	–	–	–	–	–	–	18	–	18
–	–	–	–	–	–	–	27	–	27
3	–	–	–	–	–	–	3	–	3
–	–	–	–	–	19	–	16	3	19
–	507	1,113	192	8	–	–	913	907	1,820
–	–	–	–	–	–	24	6	24	30
3	507	206	192	8	16	–	18,904	–	–
–	–	907	–	–	3	632	–	2,852	–
3	**507**	**1,113**	**192**	**8**	**19**	**632**	**–**	**–**	**21,756**

（5）業務成績年報（その2）（昭和43年1月～12月）

臨床試験部

検体＼項目	理化学検査	無機定量	有機定量	機能検査	癌反応	毒性試験	合成及び抽出	寄生虫調査研究	原虫調査研究	研究指導	その他	計
血液	811	–	419	–	–	–	–	–	–	–	–	1,230
血清	849	5,028	2,307	125	271	–	–	–	–	–	–	8,580
尿	127	77	737	–	–	–	–	–	–	–	–	941
屎	3	–	2	–	–	–	–	2,062	–	–	–	2,067
その他	779	830	285	471	891	40	36	3,200	–	144	–	6,676
計	2,569	5,935	3,750	596	1,162	40	36	5,262		144		19,494

（7）業務成績年報（昭和43年1月～12月）

種別＼件数	取技件数				試験						
	依頼	行政	調査研究	計	気温	湿度	その他の温熱条件	照明	紫外線	騒音	塵埃
事務所	1,573	–	–	1,573	3,441	3,439	10,103	1,988	–	153	4,156
工場	818	–	–	818	355	188	821	102	–	107	281
デパート，商店その他	353	115	–	468	7	7	40	6	–	–	25
貸タオル，おしぼりの細菌検査	–	–	1,111	1,111	–	–	–	–	–	–	–
降下煤塵試験	–	330	–	330	–	–	–	–	–	–	–
気象調査	–	366	366	732	12,396	11,906	28,745	–	–	–	–
大気汚染監視業務	–	275	–	275	6,600	6,600	13,200	–	–	–	6,600
その他	–	1,091	748	1,839	734	744	–	–	–	–	4,532
計	2,744	2,177	2,225	7,146	23,543	22,884	52,909	2,096	–	260	15,594

（6） 業 務 成 績 年 報（その３）（昭和43年１月～12月）

臨 床 試 験 部

種別 ＼ 検査所別		本所 検査数	本所 (+)	多摩支所 検査数	多摩支所 (+)	計 検査数	計 (+)
原虫	赤痢アメーバ	1	−	−	−	1	−
	マラリヤ	−	−	−	−	−	−
	その他	−	−	−	−	−	−
	計	1	−	−	−	1	−
寄生虫	検体 ふん便	10,371	226	8,307	64	18,678	290
	検体 汚泥培養	96	84	−	−	96	84
	蛔虫	−	110	−	62	−	172
	鉤虫	−	3	−	−	−	3
	鞭虫	−	46	−	−	−	46
	蟯虫	−	137	−	2	−	139
	その他	−	14	−	−	−	14
	計	10,467	310	8,307	64	18,774	374
合計		10,468	310	8,307	64	18,775	374

環 境 衛 生 部

検査件数											
空気イオン	炭酸ガス	一酸化炭素	有害ガス	理化学試験	細菌学的試験	生理的検査	動物試験	放射能測定	空気汚染度測定	その他	計
−	2,165	168	233	−	2,158	−	−	−	−	32	28,036
−	103	9	501	83	115	−	−	−	428	14	3,107
−	6	2	97	4	715	−	−	−	−	6	915
−	−	−	−	−	1,154	−	−	−	−	−	1,154
−	−	−	−	5,010	−	−	−	174	13,536	−	18,720
−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	53,047
−	−	5,136	31,695	−	−	−	−	−	−	−	69,831
5,548	−	−	9,511	−	−	−	596	263	5,136	−	27,074
5,548	2,274	5,315	42,037	5,097	4,142	−	596	437	19,100	52	201,884

(8) 業務成績年報 (昭和43年1月～12月)

種別＼項目	取扱件数				試験						
	依頼		調査	計	物理学的検査			化学			
	適	否			温度	濁色度	比重	硬度	反応試験	残渣試験	酸素測定
一般飲料水(井水その他)	1,321 8,083	8,186	17	17,607	−	33,962	−	8,657	8,608	8,583	8,219
水道水(精密検査)	49 1,313	59	10	1,431	10	236	−	118	354	126	118
水道水(定期検査)	42 8,849	1,054	19	9,964	1	11,202	−	92	16,803	27	5,598
工業用水	296		−	296	−	1,162	−	294	295	294	271
タンク水その他	599		473	1,072	6	617	−	215	905	125	457
温泉(療養泉)		4	−	4	−	−	−	−	10	4	−
温泉(中分析)	1		−	1	1	−	1	−	3	1	−
河川水	61		6	67	6	−	−	1	7	22	10
海水	5		−	5	−	2	−	−	3	2	−
プール水	679		−	679	686	317	−	−	291	−	327
浴場水	366		28	394	78	172	−	−	173	−	189
工場排水	699		−	699	−	30	−	20	504	555	542
下水	76		12	88	12	10	−	−	82	113	76
浄化そう，消化そう放流水(清掃局)	2,569		−	2,569	−	−	−	−	−	−	2,659
浄化そう.消化そう放流水	1,120		6	1,126	5	69	−	−	315	651	604
水中生物，その他の生物	−		27	27	−	−	−	−	−	−	−
天水	−		7	7	6	−	−	−	−	7	−
雨水	−		52	52	−	−	−	−	−	−	−
その他	59		−	59	−	−	−	−	−	−	−
小計	7,941 18,246	9,303	657	36,147	811	47,779	1	9,397	28,354	10,510	19,070
多摩支所 一般飲料水(井水その他)	2,532	1,062	−	3,594	−	7,460	−	1,865	1,865	−	1,865
多摩支所 水道水(定期検査)	6,254	288	−	6,542	−	6,534	−	−	6,532	3,266	3,266
多摩支所 小計	8,786	1,350	−	10,136	−	13,994	−	1,865	8,397	3,266	5,131
計	7,941 27,032	10,653	657	46,283	811	61,773	1	11,262	36,751	13,776	24,201

検査件数															
的試験								細菌及び生物検査							計
窒化合素物	陽ンイオ類	陰ンイオ類	残留塩素	放射能	有機燐	A・B・S	フーエルノ類	一細菌般数	大腸菌数	水中生物名検索	菌名検索試験	プランクトンその他	スライム	検鏡	
25,716	26,025	8,794	3	–	5	5	25	21,506	37,627	–	–	–	–	–	187,736
354	1,062	472	–	10	30	88	–	6,753	10,285	–	–	–	–	–	20,016
16,803	825	5,608	2	1	–	1	–	9,352	9,445	–	–	–	–	–	75,760
879	880	296	–	–	–	–	–	6	10	–	–	–	–	–	4,387
1,384	771	323	177	–	3	5	–	–	–	–	–	–	–	–	4,988
–	2	8	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	24
1	5	9	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	21
81	17	11	–	6	–	–	–	36	165	–	–	–	–	–	362
2	–	6	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	15
341	14	290	268	–	–	–	–	1,048	2,323	–	–	–	–	–	5,905
356	3	169	60	–	–	–	–	42	622	–	–	–	–	16	1,880
107	125	220	–	–	1	5	–	–	222	–	–	–	–	–	2,331
30	16	33	–	12	–	–	–	–	18	–	–	–	–	–	402
2,569	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	5,228
267	2	101	–	–	–	–	–	–	3,423	–	–	–	–	–	5,437
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	27	–	–	–	–	27
–	–	–	–	7	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	20
–	–	–	–	52	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	52
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	29	30	59
48,890	29,747	16,340	510	88	39	104	25	38,743	64,140	27	–	–	29	46	314,650
5,597	3,795	1,265	–	–	–	–	–	3,129	6,328	–	–	–	–	–	33,169
9,798	–	3,266	–	–	–	–	–	10,075	16,494	–	–	–	–	–	59,231
15,395	3,795	4,531	–	–	–	–	–	13,204	22,822	–	–	–	–	–	92,400
64,285	**33,542**	**20,871**	**510**	**88**	**39**	**104**	**25**	**51,947**	**86,962**	**27**	–	–	**29**	**46**	**407,050**

(9) 業務成績年報(その1)(昭和43年1月～12月)

種別 ＼ 件数		取扱件数 依頼試験 適	依頼試験 否	行政試験 適	行政試験 否	調査研究	計	試験 理化 感覚試験	pH	比重(度数)	融点・容沸状	異物・偽和物	変敗試験	灰分
飲料類	氷雪	12	20	1,258	162	−	1,452	799	782	−	−	798	−	−
	清涼飲料	703	36	2,264	591	−	3,594	69	46	−	−	74	50	−
	酒精飲料	6	−	61	83	−	150	14	−	−	−	−	−	−
菓子類	氷菓	11	−	37	−	−	48	22	−	−	−	−	−	−
	飴菓子	459	36	998	241	−	1,734	89	13	−	−	1	81	−
	あん類	86	−	803	9	41	939	12	−	−	−	−	−	−
	せんべい，あられ	11	−	444	52	−	507	23	−	−	−	50	178	−
	その他	247	15	4,254	1,678	183	6,377	94	20	−	−	−	308	−
主食類	穀粒，穀粉	178	12	1,007	445	−	1,642	76	33	−	60	201	80	−
	パン，麺類	127	17	749	426	32	1,351	227	3	−	11	198	185	34
副食類	調味料	419	−	1,036	429	220	2,104	99	31	23	−	163	−	−
	缶詰，瓶詰	265	41	958	240	100	1,604	102	18	−	−	72	2	25
	佃煮，漬物	463	30	1,425	365	−	2,283	85	32	−	−	1	52	10
	油脂類	162	−	589	28	3,662	4,441	205	−	−	−	7	7,154	−
	その他	2,037	261	5,602	2,695	1,810	12,405	534	34	−	−	176	779	−
添加物	規格試験	−	−	35	1	−	36	2	−	−	−	−	−	−
	その他	120	4	138	68	277	607	60	−	−	−	−	3,800	−
食器及び容器包装		53	31	2,224	4,328	−	6,636	−	−	−	−	−	−	−
その他		561	42	3,238	5,076	870	9,787	−	−	−	−	−	−	−
計		5,920	545	27,120	16,917	7,195	57,697	2,512	1,012	23	71	1,741	12,669	69
		6,465		44,037										
定性試験		2,094		14,703		2,397	19,194							
定量試験		1,058		7,724		2,778	11,560							
細菌試験		3,313		21,610		2,020	26,943							

(10) 業務成績年報(その2)(昭和43年1月～12月)

種別 ＼ 件数		取扱件数 製品検査 適	製品検査 否	依頼試験 適	依頼試験 否	行政試験 適	行政試験 否	調査研究	計	試 感覚試験	確認試験	純 溶状	反応	液性	融点
合成甘味料	サッカリン製剤	2,432	2	1	−	−	−	20	2,455	9,720	12,275	4,910	−	2,435	2,435
	ズルチン製剤	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	サッカリン・ズルチン製剤	365	1	−	−	−	−	−	366	1,303	2,569	1,468	−	367	734
かんすい		6,274	43	−	−	−	−	−	6,317	25,488	38,226	12,744	19,126	6,318	5,607
合成着色料製剤		264	−	−	−	−	2	−	266	1,541	2,544	786	81	124	−
硫酸カルシウム		1,056	−	−	−	−	−	300	1,356	4,624	7,809	3,110	2,822	1,258	437
器具及容器包装	規格試験	−	−	430	49	61	37	46	623	1,246	5,530	108	−	1,138	108
	その他	−	−	888	52	154	70	226	1,390	1,390	2,380	138	−	2,242	69
添加物	規格試験	−	−	79	7	60	7	−	153	612	985	446	358	219	113
	その他	−	−	688	10	329	18	1,240	2,285	7,745	12,793	4,415	4,516	2,370	−
計		10,391	46	2,086	118	604	134	1,832	15,211	53,669	85,111	28,125	26,903	16,471	9,503
		10,437		2,204		738									
規格試験	器具容器包装			479		98		46							
	添加物			86		67		−							
定性				935		288		896							
定量				704		285		890							

食　品　部

検査件数														
学試験										細菌試験				計
重金属・ヒ素	硼酸・亜硫酸	メタノール	ホルムアルデヒド	フェノール	着色料	防腐剤	甘味料	動物試験	その他	生菌数	大腸菌数	食中毒菌	その他	
–	–	–	–	–	–	–	–	–	4,099	213	1,136	426	–	8,253
3,359	34	8	6	–	3,219	11,296	1,138	–	169	133	664	204	332	20,801
107	–	25	32	–	35	350	–	–	40	–	–	–	–	603
60	80	–	–	–	170	–	24	–	–	6	24	6	–	392
1,281	771	2	2	–	5,061	356	89	37	45	–	–	–	–	7,828
39	763	–	–	–	398	2,242	1,231	–	–	–	–	–	–	4,685
302	824	–	–	–	704	224	335	–	25	–	–	–	–	2,665
857	2,070	–	40	–	3,312	8,585	1,774	–	757	1,247	8,198	3,730	132	31,124
735	331	–	–	–	384	1,233	35	–	115	425	3,242	1,131	32	8,113
374	8	4	4	–	158	1,365	–	–	159	388	2,884	1,021	8	7,031
322	195	–	12	–	169	6,460	874	–	700	217	1,100	363	362	11,090
1,841	356	–	–	–	83	3,700	2,149	–	163	31	162	60	40	8,804
1,872	193	20	–	–	12	8,131	178	–	323	251	1,372	517	–	13,049
1,618	40	–	–	–	12	792	–	–	10,047	16	70	12	–	19,973
8,573	2,409	8	32	–	2,283	12,766	1,332	699	1,342	4,514	24,795	9,201	9,061	78,538
–	–	–	–	–	–	–	–	–	100	–	–	–	–	102
170	8	–	–	–	242	705	–	–	523	131	680	239	568	7,126
43	–	–	301	113	140	–	–	–	180	4,841	28,074	10,160	80	43,932
2,866	582	–	–	–	–	1,644	–	–	3,760	4,836	28,914	10,968	365	53,935
24,419	8,664	67	429	113	16,382	59,849	9,159	736	22,547	17,249	101,315	38,038	10,980	328,044

食　品　部

検査件数																		
試験																		
比重	異物	水酸化アルカリ	塩化物	硫酸塩	ケイ酸塩	炭酸塩	ヒ素	重金属	アルデヒドフォルム	フェノール	着色料	無機不純性物	有機不純性物	その他	乾燥減失量	蒸発残留物	消費カメレオン量	強熱残留物	定量試験	計
–	4,870	2,435	2,435	2,435	–	2,435	2,435	12,275	–	–	–	4,910	7,365	7,365	2,455	–	–	2,455	2,455	88,100
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
–	1,468	367	367	367	–	367	367	1,835	–	–	–	719	1,101	1,101	367	–	–	367	367	15,601
5,818	25,488	6,318	6,318	6,318	6,318	–	12,744	50,976	–	–	–	25,492	25,492	19,126	2,822	2,720	–	1,376	21,773	326,608
–	1,584	102	362	362	373	100	540	2,700	–	–	2,312	1,335	1,335	1,243	–	–	–	1,111	1,720	20,255
–	6,330	1,402	1,758	1,792	1,344	1,717	2,312	9,066	–	–	–	4,880	4,808	3,939	1,359	–	2,705	3,837	7,845	75,154
2,693	1,401	–	–	–	–	–	1,246	3,115	1,246	623	1,182	–	505	2,610	–	1,246	1,246	1,246	1,100	27,589
1,104	1,121	–	–	–	–	–	1,190	5,950	1,190	1,190	1,099	–	–	3,570	–	1,190	1,190	1,190	2,386	28,589
52	933	205	296	296	213	224	306	989	72	–	89	747	741	573	342	309	478	572	1,095	11,265
–	6,489	2,178	1,757	1,757	1,709	1,709	4,577	10,770	98	–	10,475	6,164	6,051	6,236	1,713	1,713	1,544	5,995	10,661	113,485
9,667	49,684	13,097	13,293	13,327	9,957	6,552	25,717	97,676	2,606	1,813	15,157	44,247	47,399	45,813	9,059	7,178	7,163	18,149	49,402	706,646

(11) 業務成績年報（その1）（昭和43年1月～12月）

種別 ＼ 件数		取扱件数				試験						
		依頼	行政	調査	計	水分	蛋白質	脂肪	含水炭素	繊維	灰分	カルシウム
植物性食品	穀類	58	61	24	143	166	132	118	124	106	194	118
	豆類	17	18	9	39	58	44	46	46	42	66	54
	野菜類	21	26	127	174	281	274	274	262	219	397	144
	果実類	30	38	120	188	300	290	286	270	256	422	160
	菌草類	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	海藻類	–	–	4	4	8	8	8	8	8	8	8
動物性食品	獣鳥類	25	47	11	83	124	76	76	74	64	102	78
	魚貝類	18	18	13	49	88	72	62	54	40	96	50
	乳類	24	41	10	75	105	72	72	66	60	96	54
	卵類	12	7	3	22	38	32	34	30	24	36	26
嗜好品	菓子類	53	30	10	93	103	95	93	121	75	131	68
	飲料	27	113	95	235	170	102	98	106	62	146	46
調味料	油脂類	42	25	41	108	128	124	160	76	76	170	54
	調味品	76	6	1	83	122	126	126	122	122	164	90
その他	滋養品	5	1	–	6	12	12	12	12	12	12	8
	添加品	2	–	–	2	4	4	4	4	4	4	–
計		410	426	468	1,304	1,707	1,463	1,469	1,375	1,170	2,044	958

(12) 業務成績年報（その2）（昭和43年1月～12月）

種別	栄養化学	調理実験
件数	（酸，アルカリ価） 3,683（264種）	111（111種）

栄　養　部

検査件数												
燐	鉄	食塩	ビタミン	比重	総酸	感覚	酸価	α澱粉	アルコール	カリウム	ナトリウム	計
46	48	12	518	–	2	143	8	48	–	2	2	1,787
20	18	4	186	–	–	39	–	–	–	–	–	623
144	102	50	1,300	–	–	174	–	–	–	–	–	3,621
152	134	14	1,415	–	–	188	–	–	–	–	–	3,887
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
6	6	6	30	–	–	4	–	–	–	–	–	108
36	26	20	280	–	–	80	–	–	–	–	–	1,036
48	50	38	288	–	–	49	–	–	–	–	–	935
26	28	16	325	–	–	75	–	–	–	–	–	995
24	20	6	98	–	–	22	–	–	–	–	–	390
44	40	18	313	–	–	93	–	–	–	–	–	1,194
34	24	12	687	342	324	235	–	–	2	–	–	2,390
50	48	22	320	–	–	108	84	–	–	–	–	1,420
42	32	32	298	6	14	83	–	–	–	–	–	1,379
–	–	–	12	–	–	6	–	–	–	–	–	98
–	–	–	–	–	–	2	–	–	–	–	–	26
672	**576**	**250**	**6,070**	**348**	**340**	**1,301**	**92**	**48**	**2**	**2**	**2**	**19,889**

栄　養　部

栄養調査	栄養生理	計
(特殊栄養食品) 845 (130種)	(無機定量) 2,850 (180種)	7,489 (685種)

(13) 業務成績年報（昭和43年1月～12月）

種別		件数	取扱件数 依頼 適	依頼 否	行政 適	行政 否	調査	計	試験 官能試験	細菌学的 一般生菌数	不腸菌群	乳酸菌数	病原ぶどう球菌	芽胞菌	低温細菌	カビ・酵母	サルモネラ	腸炎ビブリオ
乳及び乳製品検査		乳	181	25	752	87	–	1,045	–	762	778	–	6	–	36	–	–	–
	乳製品	クリーム	53	6	41	8	–	108	–	71	71	–	–	–	–	19	–	–
		れん乳	49	–	26	2	–	77	–	39	39	–	–	–	–	–	–	–
		粉乳	778	12	77	15	–	882	–	283	282	–	197	–	–	98	1	–
		乳飲料	118	–	230	24	–	372	–	300	300	–	5	–	6	–	–	–
		アイスクリーム（アイスクリーム類含）	857	55	952	316	–	2,180	–	1,800	1,808	–	–	–	–	3	–	–
		バター	44	1	31	3	–	79	–	17	17	–	1	–	–	–	–	–
		チーズ	87	–	42	2	–	131	–	44	43	–	2	1	–	9	1	–
		はつ酵乳	201	8	12	6	–	227	–	1	89	215	3	–	–	–	–	–
		乳酸菌飲料	161	9	105	61	–	336	–	2	175	246	–	–	–	–	–	–
		その他	536	13	22	–	–	571	–	149	245	1	20	4	–	24	3	–
	研究	アイスクリームの大腸菌群の検査法	–	–	–	–	1,189	1,189	–	–	1,639	–	–	–	–	–	–	–
		牛乳の保存性	–	–	–	–	524	524	–	84	84	44	–	–	40	–	–	–
		その他	–	–	–	–	384	384	–	180	317	–	–	–	480	–	–	–
食肉魚介類及び加工品検査	食肉類	生肉	33	–	563	20	–	616	7	120	115	–	21	–	50	–	56	–
		加工品	1,058	257	1,567	596	–	3,478	385	978	1,331	–	237	15	–	5	6	1
		原料	540	34	–	–	–	574	86	297	271	–	5	165	–	4	2	–
		その他	107	25	–	–	–	132	47	45	112	–	17	–	–	–	–	–
	魚介類	鮮魚介類	37	9	309	332	–	687	214	388	300	195	10	–	–	–	–	–
		加工品	309	43	1,500	549	–	2,401	454	751	729	–	170	–	–	3	4	163
		原料	72	5	–	–	–	77	–	42	42	–	1	39	–	–	–	–
		冷凍食品	–	–	136	38	–	174	–	58	29	–	29	–	–	–	29	–
		その他	338	–	183	4	–	525	–	41	–	–	83	–	–	5	–	–
	研究	冷凍えびの鮮度試験	–	–	–	–	3,343	3,343	200	879	1,079	600	–	–	1,000	–	3	–
		その他	–	–	–	–	3,498	3,498	–	573	2,947	–	–	15	–	–	1	–
狂犬病検査		畜犬	–	–	2	–	–	2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
		無届畜犬	–	–	5	–	–	5	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
		野犬	–	–	11	–	–	11	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–
		猫	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
		医薬品等の毒性試験	18	2	–	–	–	20	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
		同上継続	18	2	–	–	–	20	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	研究	狂犬病毒中和試験	–	–	–	–	109	109	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
		狂犬病野外毒毒性試験	–	–	–	–	10	10	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
合計			5,595	506	6.566	2,063	9,057	23,787	1,394	7,904	12,842	1,301	807	239	1,612	170	106	164

検査件数																									
試験					理化学的試験											動物試験及び病理検査									
														その他											
病原大腸菌	大腸菌	嫌気性菌	分離性状	その他	鮮度	比重	肉種鑑別	異物試験	亜硝酸根	ソルビン酸	アンモニア	色素	理化学	定性	定量	その他	病理解剖	病理検査 ネリ小切片	病理検査 グー体押捺	病理検査 一般組織検査	補体結合反応試験	動物試験	毒力試験	検診	計
–	11	–	–	6	97	105	–	2	–	–	–	–	648	17	2,190	151	–	–	–	–	–	–	–	–	4,809
–	–	–	–	–	3	–	–	–	–	–	–	–	21	20	46	8	–	–	–	–	–	–	–	–	259
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	1	27	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	106
–	–	–	–	7	67	–	–	54	–	–	–	–	158	189	168	44	–	–	–	–	–	–	–	–	1,548
–	–	–	–	–	3	–	–	–	–	–	–	–	–	20	53	–	–	–	–	–	–	–	–	–	687
–	–	–	–	3	–	–	–	–	–	–	–	–	1	9	34	11	–	–	–	–	–	–	–	–	3,669
–	–	–	–	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	18	33	6	–	–	–	–	–	–	–	–	93
–	–	–	–	12	–	–	–	–	–	–	–	–	9	39	48	–	–	–	–	–	–	–	–	–	208
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	51	15	–	–	–	–	–	–	–	–	374
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	2	133	–	–	–	–	–	–	–	–	–	558
–	–	–	–	30	–	–	–	–	–	–	–	–	8	59	163	–	–	–	–	–	–	–	–	–	706
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	1,639
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	252
–	–	–	5,100	140	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	40	–	–	–	–	–	–	–	–	–	6,257
1	92	–	–	134	–	–	20	–	–	–	1	–	–	3	109	–	–	–	–	–	–	–	–	–	729
–	–	–	–	337	–	–	1	–	395	178	27	5	–	103	512	212	–	–	–	–	–	–	–	–	4,728
–	–	22	–	17	–	–	–	–	–	–	–	–	–	17	23	–	–	–	–	–	–	–	–	–	909
–	–	–	–	–	–	–	–	–	5	2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	228
19	62	1	–	2	–	–	–	–	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	1,192
–	1	–	–	39	–	–	–	–	12	581	4	114	–	45	117	382	–	–	–	–	–	–	–	–	3,569
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	2	–	–	–	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	127
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	29	–	–	–	–	–	–	–	–	–	174
187	–	–	–	–	–	–	–	1	–	–	–	–	–	–	8	–	–	–	–	–	–	–	–	–	325
300	–	–	–	3,800	–	–	–	–	–	–	500	–	200	300	1,064	500	–	–	–	–	–	–	–	–	10,425
–	–	–	–	29	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	920	108	–	–	–	–	–	–	–	–	4,593
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	5	5	5	5	5	25	–	–	50
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	8	8	8	8	8	40	–	–	80
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	5	5	5	5	5	25	–	–	51
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	1,293	–	–	1,273
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	1,160	–	–	1,160
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	4,500	–	–	4,500
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	300	–	–	300
507	166	23	5,100	4,557	170	105	21	57	413	763	532	119	1,046	869	5,741	1,437	18	18	18	18	18	7,323	–	–	55,578

(14) 業務成績年報（昭和43年1月～12月）

	取扱件数						試験								
	依頼	行政	補給	製薬指導	調査研究	計	解熱鎮痛剤	枢神経系その他の中薬	強心剤	鎮咳祛痰剤	健胃消化剤	殺菌消毒剤	外皮用薬	各種ビタミン剤	滋養強壮変質剤
公定書基準適否	514	1	–	–	15	530									
確認試験	55	332	17	195	606	1,205	540	–	40	–	20	258	95	263	487
定量試験	512	821	9	200	1,093	2,635	581	5	30	–	45	237	16	982	1,121
恒数	33	487	1	–	–	521	45	–	15	–	30	76	6	380	61
発熱性物質試験	327	14	–	–	34	375	100	–	–	600	–	200	–	2,300	8,600
無菌試験	71	–	–	–	–	71	–	–	–	–	–	1,150	–	–	–
製剤規格	–	–	–	125	155	280	63	–	–	–	–	25	–	80	43
一般毒性試験	–	1	–	–	–	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–
封かん	(18,289)	–	–	–	–	(18,289)	–	–	–	–	–	–	–	–	–
計	1,512 (18,289)	1,656	27	520	1,903	5,618 (18,289)	1,329	5	85	600	95	1,946	117	4,005	10,312

(15) 業務成績年報（昭和43年1月～12月）

種別＼件数	取扱件数				試験									
						物理的試験								
	依頼	行政	調査	計	感覚試験	光学試験	加熱試験	顕微鏡試験	気密度試験	ペーパー試験	耐熱耐寒試験	重量試験	沈下試験	pH
麻薬	(1) 4	(1) 31	– –	(2) 35	2	11	2	2	–	7	–	2	–	1
化粧品 顔面用品	(74) 186	(85) 3,008	(200) 1,900	(359) 5,094	41	276	127	39	3	329	–	412	–	51
化粧品 頭髪用品	(16) 30	(38) 1,200	(197) 1,770	(251) 3,000	1	200	24	6	217	280	–	279	–	55
化粧品 原料その他	(408) 1,448	– –	(325) 3,210	(733) 4,658	23	441	149	46	–	845	–	733	–	53
用具 歯科材料	– –	(1) 26	– –	(1) 26	–	–	1	–	–	2	–	1	–	–
用具 医療器械器具	(58) 130	– –	(152) 1,520	(210) 1,650	–	171	139	3	1	128	6	209	–	32
用具 衛生用品	(3) 7	– –	– –	(3) 7	–	1	2	–	–	1	–	3	–	–
医療品容器	(123) 471	– –	(187) 1,920	(310) 2,391	–	162	261	2	2	202	–	325	–	27
繊維衛生材料	– –	(20) 240	(15) 150	(35) 390	–	26	–	25	–	23	–	35	21	1
玩具	(172) 468	(257) 2,465	(85) 855	(514) 3,788	–	167	111	1	–	248	–	438	–	62
医薬部外品	(17) 65	(27) 754	(65) 652	(109) 1,471	–	60	22	20	–	74	–	111	24	34
その他	(165) 542	– –	(63) 639	(228) 1,181	–	87	70	4	–	249	–	296	3	35
計	(1,037) 3,351	(429) 7,724	(1,289) 12,616	(2,755) 23,691	67	1,602	908	148	223	2,388	6	2,844	48	351

医　薬　品　部

検査項目																		
血液代用剤	解毒剤	機能賦活剤	抗生物質	化学療法剤	アミノ及び製酸剤	賦形薬	溶解剤	診断用薬品	殺虫剤	動物用薬品	生薬製剤	製薬原料	毒劇物（メッキ工場廃水を含む）	器具類	循環系用剤	酵素製剤	腫瘍治療剤	その他	計
–	–	18	–	255	–	62	48	18	13,475	10	335	115	90	–	–	160	–	370	16,659
240	20	28	–	126	–	24	32	24	17,165	50	195	265	530	2,360	–	150	30	981	25,237
120	–	–	–	33	–	–	8	808	3,582	5	62	50	50	–	–	110	–	290	5,731
2,200	2,800	400	500	–	1,100	–	900	2,100	–	–	1,900	–	–	9,400	400	200	300	1,600	35,600
–	–	–	–	–	–	–	–	1,150	–	–	–	–	–	8,150	–	1,000	–	2,850	14,300
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	233	200	–	–	–	20	–	90	754
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	5	5
–	–	–	–	–	–	–	–	–	(36,578)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	(36,578)
2,560	2,820	446	500	414	1,100	86	988	4,100	34,222 (36,578)	65	2,725	630	670	19,910	400	1,640	330	6,186	98,286 (36,578)

化　粧　療　品　部

検査件数																		
	化学的試験																	
その他	溶解試験	凝固試験	溶融反応	沈澱反応	呈色反応	染色試験	抽出試験	臭覚試験	酸化還元反応	誘導体試験	融点試験	定量試験	カラムクロマト	ペクロパート	その他	細菌試験	その他	計
15	2	–	–	10	60	–	6	2	2	1	1	1	1	30	15	–	4	177
2,761	472	–	–	303	5,266	–	424	–	233	–	–	965	258	1,870	1,779	64	1,141	16,814
2,009	310	–	–	273	4,775	–	380	34	246	–	2	985	245	1,870	1,360	26	1,140	14,717
4,820	1,217	14	14	972	9,836	2	907	78	689	–	28	1,933	522	2,700	2,917	33	1,635	30,607
5	1	–	–	1	5	–	1	–	–	–	–	4	–	20	5	–	–	46
162	244	–	–	248	4,804	–	273	29	186	–	–	620	–	–	875	–	574	8,704
13	2	–	–	3	6	–	2	–	1	–	–	5	–	–	2	–	–	41
2,451	369	–	–	279	3,953	–	376	51	263	–	–	991	–	–	1,446	–	875	12,035
222	26	–	–	32	110	16	36	16	–	–	–	129	–	–	204	8	100	1,030
1,557	439	–	–	161	2,965	8	509	2	261	–	–	316	222	2,130	1,196	12	776	11,581
875	302	–	2	151	1,233	–	171	14	92	–	1	333	30	260	645	–	645	5,099
1,436	555	–	–	305	1,840	–	370	7	227	–	1	581	5	225	979	27	616	7,918
16,326	3,939	14	16	2,738	34,853	26	3,455	233	2,200	1	33	6,863	1,283	9,105	11,423	170	7,506	108,769

主　要　備　品　表

（1件　60万円以上）　　44.3.31現在

品名	規格形状	数量	購入金額	購入年月
ガスクロマトグラフ	島津　GC—1B	1	1,697,000	38. 3
〃	〃　GC—1C	1	1,317,000	42. 8
〃	〃　〃	1	1,000,000	〃
〃	柳本　G8—TFP型	1	1,536,000	43.10
〃	島津　GC—4APTF	1	885,000	44. 1
〃	〃　GC—1C	1	1,500,000	44. 3
光電分光光度計	〃　RS—27，SV—50A	1	2,180,000	35. 8
〃	〃　〃	1	2,714,000	40. 7
〃	〃　QV—50	1	676,000	40. 8
水晶分光光度計	〃　QF—60	1	1,172,000	33. 9
赤外分光光度計	日本分光　IR—S	1	1,869,000	36.12
原子吸光分光光度計	パーキンマルコ　AAS303	1	4,780,000	43. 8
分光光度計	島津　IU—50A	1	2,412,000	40. 5
〃	〃　MPS—50L型	1	3,604,000	44. 2
〃	ベックマン　DU型	1	882,500	27.10
光電旋光計	カールツァイス	1	700,000	40. 8
パナクレット	島津　IR—27	1	2,700,000	39.11
ポーラログラフ	柳本　P8—S型	1	1,140,000	43. 7
〃	〃　P8SRP型	1	1,487,500	44. 3
ポーラログラフ増感装置	〃　PM—101	1	970,000	41. 8
ガス（呼気）分析器	プリモアナライザー	3	2,040,000	38. 3
窒素定量装置	コールマン29型	1	1,470,000	40. 7
電子管式測微器（空気イオン測定器）	羽山　HM105	1	852,900	41. 1
自記電位差測定装置	スイス，メトローム，F436 E1009	1	1,400,000	41.12
アミノ態窒素定量装置（アミノ酸分析計）	日立　KLA3B	1	4,850,000	42.10
大気汚染自動記録装置	紀本　レコーダー付	1	750,000	38. 9
血球計算器	コールターD型	1	1,175,000	42. 7
電子顕微鏡	日本電子　JEM—6C型	1	5,000,000	39. 5
万能試験機	島津　RS　2-Ton	1	1,110,000	34. 8
低温度電気恒温槽	大西冷熱（−80°C）	1	1,370,000	36.11
〃	バーチス　11—500—00	1	2,050,000	43.11
恒温恒湿器	ヤマト科学　LHT—2	1	650,000	41. 9
ふ卵器	ベッセルLT型（炭酸ガス培養装置）	1	775,000	43. 1
〃	平沢　低温　HL—1SD型	1	697,000	43.10
高圧滅菌器	サクラ式	1	1,800,000	39. 3
〃	〃	1	1,800,000	39. 6
真空冷凍乾燥器	共和式　RL—200S	1	1,150,000	37. 3
〃	徳田BCL—30	1	1,250,000	40. 9
冷却遠心器	マルサン　50UV6	1	1,040,000	38. 3
〃	富永　90UV	1	700,000	41. 6
高速遠心分離器	日立　40P型	1	2,500,000	33. 2
分注器	ツカサ式	1	980,000	39. 6
自動分析器	サンプラーⅡ　テクニコンオートアナライザー	1	3,374,000	44. 3
飼育箱	4—EA—3型	1	845,000	38. 2
小型4輪乗用自動車	トヨペットクラウン60年式	1	799,950	35. 7
〃	トヨペット　63 〃	1	846,200	38. 7
〃	〃　40 〃	1	784,700	40. 7
〃	ニッサングロリア　42 〃	1	880,000	42. 7
〃	〃　セドリックWP130ワゴン43年式	1	980,000	43. 6
〃	〃　グロリア　59年式	1	800,000	34. 6
合計		52	79,940,850	

人　事　異　動

新規採用，転入，昇格等　　(43.1.1～43.12.31)

月　日	職　名	氏　名	事　項	摘　要
4. 1	技　師	上木英人	昇　格	多摩支所長（乳肉衛生部副主幹）
〃	主　事	山下恵司	転　入	〃 庶務係長（立川保健所）
〃	〃	宮下省吾	〃	経理課施設係（豊島池袋保健所）
〃	技　師	西条頼広	配置替	多摩細菌研究室主任研究員（細菌部）
〃	〃	藤沢正吉	〃	〃 化学　〃　（立川出張所）
〃	〃	丸山務	〃	細菌部食中毒研究室（食品部）
〃	技師補	佐藤泰仁	採　用	環境衛生部，環境物理研究室
4. 16	〃	関山登	〃	食品部食品衛生化学研究室
5. 1	〃	川辺萬里	〃	経理課施設係
7. 16	〃	池田真悟	〃	環境衛生部
8. 1	主　事	渡辺昌記	転　入	庶務課調査係長（衛生局業務部庶務課）
〃	技　師	藪内清	昇　格	ウイルス部第3研究室主任研究員（ウイルス部）
〃	〃	鈴木二郎	〃	臨床試験部臨床病理研究室主任研究員(医薬品部)
〃	〃	村上一	配置替	乳肉衛生部獣疫研究室主任研究員（ウイルス部）
〃	〃	山内大介	〃	庶務課資料係（庶務課調査係長）
9. 1	技師補	水尾昭江	採　用	多摩支所　細菌研究室
9. 16	〃	大西和夫	〃	〃　化学研究室
〃	技　師	重岡捨身	配置替	医薬品部　第1研究室（水質試験部）
〃	作業員	高橋正博	〃	水質試験部上下水研究室（医薬品部）

転　退　職　等

月　日	職　名	氏　名	事　項	摘　要
3. 31	技師補	徳江とよみ	退　職	
〃	作業補助員	平井賀幸	〃	
4. 1	技　師	中野欣嗣	転　出	首都整備局公害研究所（環境衛生部）
〃	主事補	香取幸三	〃	目黒保健所
4. 5	〃	関口カツ	死　亡	(臨床試験部)
4. 30	〃	矢島靖子	退　職	(経理課)
8. 1	〃	根岸常夫	転　出	淀橋保健所（経理課会計係）
12. 16	技　師	作々木敬一	〃	(大森保健所試験検査係長)
12. 31	技師補	沼田善吉	〃	(杉並西保健所)

視察および見学

43.1.1～43.12.31

月日	氏名等	人数	月日	氏名等	人数
1.11	衛生局研修生	21	7.11	北里大学技術学科3年生	7
12	W.H.O. 派遣　金城氏	1	〃	ゴム製品検査所（九州支所）大田氏	1
19	中野保健所インターン生	12	22	都立農芸高校生	88
29	豊島区長崎中学校化学クラブ	5	24	練馬区生活学級ＰＴＡ主婦	20
2. 3	国立公衆衛生院細菌検査学科生	34	26	日本女子大付属高校生	3
12	岩手県衛生研究所桜田主事	1	8. 1	都立農芸高校生	87
21	韓国保健社会部国立保健研究院閔昶東	1	19	北里大学生	30
〃	東京高等製菓学校栄養部生	13	9. 6	都立豊多摩高校生	3
26	小平第4中学校	28	20	淑徳短大生	25
29	青山短期大学食物栄養科生	60	24	東京家政大学生	50
3.11	Dr. P.R. Deeleman General Manager, Kunstharofabliek Synthese N.V.	1	26	服部栄養専門学校生	100
26	兵庫県衛生研究所加納技師	1	27	東京家政大学生	80
4. 3	Mr. R. T. Iseri U.S.A. Science and Technology Center	1	10. 2	インドネシア農務省獣医衛生課長 S. ART OWO氏	1
〃	吉田粢（つばら）	1	〃	ラオス，シッタンド州獣医課長 T. SONBANH氏	1
18	厚生省研修生（省新規採用者）	9	4	新食品技術振興会員	50
19	衛生局研修生	34	9	デンマーク国立血清研究所 F. ORSKOU博士	1
5.13	東邦大学学生	70	〃	ノースカロライナ大学 M. L. Speck 教授	1
15	日本大学農獣医学部食品工学科学生	55	14	学習院大学生物部3年生	3
21	昭和医科大学学生	60	17	東京薬科大学生	50
22	日本大学農獣医学部食品工学科学生	55	23	女子聖徳学院高校3年生	3
〃	昭和医科大学学生	60	24	農芸高校（定時制）食品化学科	2
29	家政学院大学学生	50	25	カナダ国立食糧研究所副所長 H. Lyuka博士	1
〃	国立公衆衛生院研修生	12	31	都立瑞穂農芸高校生	40
30	J. Cawley, Director, New York State Association of Samtation	1	11. 1	法政大学社会学部3年	1
6. 6	W.H.O. 医務官　王炳楠氏	1	6	都立農芸高校生	45
〃	東京高等栄養学校生	55	8	自衛隊衛生補給所薬剤官	7
7	馬込小学校ＰＴＡ	120	〃	韓国ソウル特別市獣医師会理事 鄭徳天氏（外）	4
〃	琉球大学事務局大城清昭氏	1	20	山形県衛生研究所細菌血清科係長 鈴木武氏	1
13	東京高等栄養学校生	58	〃	東京薬科大学生	1
〃	国立公衆衛生院研修生	35	22	中央区教育委員会	30
20	都立農芸高校生	47	27	明治薬科大学生	50
〃	国立公衆衛生院研修生	42	29	淑徳短大栄養科	50
25	〃	12	12.16	愛国学園短大生	50
26	小平第5小学校ＰＴＡ	10	26	参議院物価対策委員会委員	5
				計	1,858

昭和43年度衛生試験技術者講習会実績表

43.11.1～44.3.31

科目	対象	回数	日数	出席人員	講習年月日	講習項目
細菌試験	衛生検査技師（新規採用者）	1	15	29	11月15日～12月5日	病原細菌検査の基礎知識
〃	衛生検査技師	1	4	20	2月25日～28日	細菌性食中毒について
〃	〃	1	4	40	1月21日～24日 〃 28日～31日	腸内細菌と類似品の鑑別について
〃	〃	1	4	14	12月2日～5日 〃 9日～12日	ワッセルマン反応検査（緒方法，ガラス板法）
ウイルス試験 細菌試験	防疫係職員	1	2	75	2月18日～19日	赤痢菌及び赤痢類似疾患について，行政面に応用されるウイルス検査の解説
臨床試験	衛生検査技師（新規採用者）	1	10	20	11月1日～14日	尿検査一般，血球検査，寄生虫検査 血液化学分析
〃	〃	1	4	59	2月18日～21日 〃 25日～28日	成人病検査（コレステロール，血糖，トランスアミナーゼ）
水質試験	環境衛生監視員	1	3	51	11月6日～8日 〃 20日～22日 12月4日～6日 1月22日～24日 2月5日～7日 〃 19日～21日	水の細菌学的試験 （一般細菌数，大腸菌群）
〃	衛生検査技師	1	2	6	1月16日～17日	水の理化学的試験
〃	〃	1	4	16	1月21日～24日 〃 27日～30日	水の細菌学的試験 水の理化学的試験
栄養試験	栄養士	1	1	65	1月24日	放射能照射の食品への利用他4
〃	保健婦	1	2	107	2月5日～6日	市販食品のぎもん他4
乳肉魚介 並狂犬病試験	食品衛生監視員 狂犬病予防員	1	1	107	2月7日	牛乳の保存性について外2
乳肉魚介試験	食品衛生監視員	1	3	115	11月5日～7日 〃 25日～27日	乳肉食品を対象とする病原ブドウ球菌の検査法他1
細菌試験	衛生検査技師	1	1	50	3月6日	細菌性食中毒の予防について
食品試験(化学)	食品衛生監視員	1	3	45	11月19日～21日	食品の着色料検査法他2
〃（細菌）	〃	1	3	23	1月20日～22日 〃 27日～29日	生菌数，大腸菌群について
〃（細菌）	〃	1	1	53	2月10日	食品添加物容器包装について
〃	衛生検査技師	1	4	11	2月25日～28日	食品中の添加物試験
医薬品試験 化粧品試験	薬事監視員	1	1	33	2月24日	収去および依頼試験からみた医薬品の問題他1 最近の不良化粧品について他1
計		20	72	939		

昭和43年度技術懇話会実績表

43.5～44.3

開催月日	演題	講師
43年5月20日	「キレート滴定」と「基礎理論と応用」について	同仁化学研究所 研究部長　斎藤　幹彦
7月12日	科学捜査とその実情	警視庁刑事局鑑識課 西山誠二郎
8月12日	カラースライドによる「ヨーロッパ紀行談」	都立衛生研究所 ウイルス部長　根津　尚光
9月30日	米国の衛生関係施設見聞記	都立衛生研究所 細菌部長　善養寺　浩
11月29日	産業と公害	映研株式会社 代表取線役　田中脩一郎
44年2月3日	監察医の記録	東京都監察医務院長 吉村　三郎
3月13日	生命のくらし，鉤虫……十二指腸虫の生態，〔科学映画〕	中外製薬株式会社社長付 大浦　弘

第4章　調査研究事項

（本調査研究のテーマは当所の方針に基づき選定されたものである）

腸内ウイルス感染症の実態は握に関する研究

—未処理下水からのウイルス分離について—

岩崎謙二*　柏木義勝*
坂井冨士子*　藪内清*
村上一*　大豆生田歌次*
根津尚光*　辺野喜正夫*
小沢勇太郎**　大里一夫**
宮崎友治郎**

わが国において下水からの腸内ウイルス分離に関する報告はほとんどみあたらないが，諸外国にあつては数多い報告例[1~8]があり，またレオウイルス[9,10]，アデノウイルス[11]の検出報告もある。近年はそれらに関する総説[12,13]も出されるようになり，下水中のウイルスに関する知識は豊富になつてきている。下水から検出されるウイルスの疫学的意義についても検討されている。Bloom ら[4]は1959年 Des Moines のポリオ流行時に調査を行ない，当該地区住民間の患者発生が，下水からのウイルス検出状況によく反映されていたことを明らかにしている。

Pittler ら[14]は1963～1965年の間に 381 件の下水からウイルス分離試験を行ない，下水からの検出ウイルスと住民からのそれとの間に緊密な関連のあることを述べている。

これらの事実は，今後の腸内ウイルス疫学調査の一方向を示唆するものであろう。

われわれは下水から検出されるウイルスの種類，型別，出現消長の逐次調査を行ない，その結果を分析することによつて，当該地区住民間におけるウイルス感染症の実態を究明しようとの意図のもとに，都内の一下水処理場を検体採取の基地として，1967年6月から毎月検体を採取してウイルス分離試験を行なつてきたので，それら検索結果の概要を報告する。

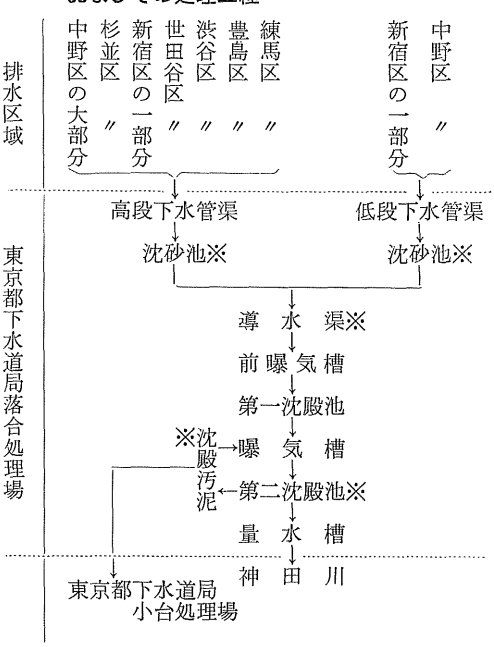
実験材料と方法

1）　検体採取場所

下水採取の基地として選んだ東京都下水道局落合処理場は新宿区内にあつて，同処理場には，中野，杉並両区の大部分からの排水が流れこむ高段沈砂池および新宿，中野両区の一部からの排水が流れこむ低段沈砂池がある。両池に流れこんだ排水はプールされ導水渠に導かれ，活性汚泥処理法による各工程をへて浄化され神田川に放流されている。

排水区域および下水処理工程の概要は図1に示した。検体の下水は高段沈砂池，低段沈砂池，導水渠およ

図1　東京都下水道局落合処理場下水の排水区域およびその処理工程



註：※検体採取地点

* 東京都立衛生研究所　ウイルス部
**東京都下水道局落合処理場

び第二沈殿池の4地点で採取した（図1）。前の3地点において採取した下水は未処理下水であり，第二沈殿池で採取したものは処理下水である。1968年12月以降は第二沈殿池から返送される活性汚泥も採取して検体とした。

2）使用細胞

分離試験に用いたFL，HeLa細胞は当研究室保存のもので，10%犢血清加YLE培地で増殖継代を行なつてきた。

サル腎細胞は千葉県立血清研究所において作成した浮遊液を商社を通じて入手し，当研究室で試験管に分注培養した。

細胞維持培地として1%犢血清加YLE培地を使用した。

3）下水からのウイルス分離方法

500gの脱脂綿をガーゼに包んで作成した麻紐つきの高圧滅菌綿タンポンを，毎月1回前記の検体採取の4地点に設置し，2日間下水の流れに浸漬放置した後，引上げ，ポリエチレンの袋に入れて持ち帰り，もみ出した下水を分離材料とした。

同材料は3,000rpm 30分間の遠心沈殿操作を2回行なつて，沈渣を除いた後1/10量の10倍濃度Earle's BSS，およびペニシリン，ストレプトマイシンの抗生物質を添加して接種材料とした。接種材料は0.2mlづつ各4本の各種細胞培養試験管に接種し，細胞維持培地を加え37°Cのフラン器内で廻転培養を行なつた。ウイルス検出は細胞変性効果（CPE）を指標に行ない，1週間の観察でCPE陰性の時は，次代継代培養を行なつた。継代培養は3～4代までつづけた。

4）分離ウイルス株の同定[15,16]

分離ウイルス株中腸内ウイルスおよびレオウイルスの同定はSchmidtのプール血清を用い，アデノウイルスの場合には単一の免疫血清を用い，中和試験により行なつた。

実験成績および考察

1）活性汚泥処理施行前および施行後の下水からのウイルス分離

1967年6月から1969年3月まで22ヵ月間に検出され

表1　東京都下水道局落合処理場において採取した下水および健康都民ならびに患者材料からの腸内ウイルス，アデノウイルス，レオウイルスの検出状況

検体採取時期	落合処理場の下水からの検出ウイルス					健康都民糞便からの検出ウイルス（検出地区）	患者材料からの検出ウイルス（検出地区）
	高段沈砂池	低段沈砂池	導水渠	沈殿汚泥	第二沈殿池		
1967年 6月	AD2	−	−		−		E7(小平)
7	AD5, E7	E7	AD5, E7		−		
8	E7	E7	−		−		
9	CB5	−	E7		−	E7(府中)	E7(青梅)，AD(府中，渋谷)，E12(八王子)
10	P1, P2	−	P2		−	E7(世田ケ谷)	
11	P2	−	−		−		
12	−	−	−		−		
1968年 1月	−	AD5	−		−		
2	−	−	Reo 1		−	AD(府中)	
3	−	−	−		−		
4	CB5	−	Reo 1		−		
5	CB5	CB5	CB5		−		
6	−	CB5	P2		−		
7	CB5	−	CB5		−		CB5(荏原)
8	CB1	−	CB5		−		CB1, AD(調布)
9	−	−	CB5		−	CB1, CB5, AD(府中)	CB1(中央，五日市)，CB5(小石川)，AD3(五日市)
10	P2, P3	P2	P1, P2		−	CB1, AD(世田ケ谷)	AD(墨東)
11	−	−	CB5		−		
12	AD	−	−	−	−		
1969年 1月	−	CB1	AD	CB1, AD	−		
2	CB1	−	−	CB1	CB1	AD(府中，世田ケ谷)	
3	−	−	CB1	CB1, AD	−		

註：AD2，アデノウイルス2型；E7，エコーウイルス7型；P1，ポリオウイルス1型；CB1，コクサッキーウイルスB群1型

たウイルス種別をみると表1のとおりで，処理前の下水からポリオウイルス13株，コクサッキーB群ウイルス26株，エコーウイルス6株，アデノウイルス7株，レオウイルス2株，計43株のウイルスを検出しているが，処理下水からはコクサッキーB群ウイルス1株を検出したにすぎない。

下水処理によつて検出ウイルスが減少することは他の報告にもみられる。この原因究明のために1968年12月からわれわれは処理下水の沈殿池である第二沈殿池から曝気槽へ逆送される活性汚泥からのウイルス分離を試みた。その結果汚泥からのウイルス検出率はきわめて高いことが判明し，未処理下水中に含まれたウイルスは処理工程中に不活化されるのではなく，汚泥に吸着されたまま沈殿するため，処理下水中のウイルス量は減少するものと考える。

下水から検出されたウイルスの疫学的意義を考えるため，同検索期間中に行なつた都民材料からの腸内ウイルスおよびアデノウイルス検出状況を下水の成績と対比させて表1に示した。健康都民材料の成績は伝染病流行予測事業の一環として行なわれたポリオ検索時の結果であり，患者材料の成績はウイルス学的診断のために送付されてきた検体の検索結果である。

検体を採取した都民の住居地域と下水の排水区域とが一致していないため，両者の詳細な比較には多少の難点はあるが，検索期間中に都民材料から検出されたウイルスの種類はすべて下水からも検出されており，その検出時期もよく一致していて，両者の間にはかなり緊密な関係のあることが考えられる。

2) 月別にみた下水からのウイルス検出状況

下水からの月別ウイルス検出成績をみると表2のとおりで，ウイルス種別によつて特徴がみられた。

ポリオウイルスは6月および10，11月にかぎつて検出された。これは都内におけるポリオ生ワクチン投与時期と全く対応しているため，検出ウイルス株の詳細な検討は未だ行なつていないが，検出ウイルスは生ワクチン由来のものと考えられる。

エコーウイルスは7～9月に検出された。これは従来から考えられている腸内ウイルス感染の季節と一致するものである。

レオウイルスは2，4月に検出された。

コクサッキー，アデノウイルスはほぼ年間を通じて検出され，前述の3者とは様相が異なつていた。

3) 下水からのウイルス検出率と培養細胞種類との関係

下水からのウイルス検出に使用したFL，HeLa，サル腎の細胞種類別にウイルス検出率をまとめると表3

表2　未処理下水からの検出ウイルス株数の月別消長

ウイルス種別＼月別	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	計
ポリオウイルス						1※				8	1		10
コクサッキーB群ウイルス	2	2	2	1	3	1	2	2	2		1		18
エコーウイルス							3	2	1				6
アデノウイルス	3		1			1	2					1	8
レオウイルス		1		1									2

註：※，検出ウイルスの株数

表3　未処理下水からのウイルス分離率と培養細胞種類との関係

使用細胞の種類＼検出ウイルスの種別	ポリオウイルス			コクサッキーウイルス		エコーウイルス	アデノウイルス			レオウイルス	計
	1型	2型	3型	B1型	B5型	7型	2型	5型	未同定	1型	
FL	※ 1/70	1/70	1/70	7/70	10/70	6/70	1/70	3/70	3/70	0/70	33/70
HeLa	0/55	0/55	0/55	0/55	4/55	0/55	1/55	0/55	0/55	1/55	6/55
サル腎	2/70	6/70	2/70	0/70	5/70	0/70	0/70	0/70	0/70	1/70	16/70

註：※，分母は試験件数，分子はウイルス検出件数

のようになる。

全体的な検出率をみると，ＦＬ細胞では70件の下水から33株，HeLa 細胞では55件中から６株，サル腎細胞では70件中から16株のウイルスを検出しており，ＦＬ細胞がもつともすぐれていた。検出ウイルス種別にみると，ＦＬ細胞はコクサッキーＢ群ウイルス，エコーウイルス，アデノウイルスの分離に適していたが，ポリオウイルスはサル腎細胞が，レオウイルスはサル腎細胞と HeLa 細胞が適していた。

以上のことから，下水からのウイルス分離には使用する細胞の種類の重要性が考えられ，何種類かの適当な細胞の併用が望ましいと思われる。

結　　論

1967年６月から1969年３月まで22カ月間，新宿区内の落合処理場を基地として毎月１回下水サンプルを採取して，ウイルス分離試験をおこない，次の結果を得た。

1）未処理下水からポリオ13株，コクサッキーＢ群26株，エコー６株，アデノ７株，レオ２株，計54株のウイルスを検出した。

処理下水からは全期間を通じ，１株のコクサッキーＢ群ウイルスを検出したのみであつた。

下水から検出されたウイルスの種別および検出時期は，都民材料から検出されたウイルスのそれと，よく対応していた。

2）検出ウイルス中ポリオウイルスは生ワクチン投与後の一時期に，エコーウイルスは７～９月に，レオウイルスは２，４月に限定して検出されたが，コクサッキーＢ群，アデノ両ウイルスはほぼ年間を通じて検出された。

3）ＦＬ，HeLa，サル腎（初代）細胞を用いてウイルス検出率の比較を行なつた。全体的にみるとＦＬ細胞がもつともすぐれていたが，検出ウイルス種別にみると，コクサッキーＢ群，エコー，アデノウイルスの場合にはＦＬ細胞が，ポリオ，レオウイルスの場合にはサル腎細胞がまさつていた。

文　　献

1）Clarke, E. M., et al. : Can. J. Public Health, 42, 103 (1951)

2）Melnick, J. L., et al. : Am. J. Hyg., 59, 164 (1954)

3）Kelly, S. : Acta Med. Scand., 159, 63 (1957)

4）Bloom, H. H., et al. : J. Infect. Diseases, 105, 61 (1959)

5）Gravelle, C. R. and T. D. Y. Chin : J. Infect. Diseases, 109, 205 (1961)

6）Wiley, J. S., et al. : J. Water Pollution Control Federation, 34, 168 (1962)

7）Lapinleimu, K. and K. Penttinen : Arch. Ges. Virusforsch., 13, 72 (1963)

8）Lamb, G. A., et al. : Am. J. Hyg.,80, 320 (1964)

9）Malherbe, H. H. and Strick and-Cholmley M. : In Transmission of viruses by the water route (Edited by Berg, G.) Interscience, London, 379 (1967)

10）Knocke,K. W., et al. : Zntbl. Bakt. Parasit Orig. 203, 417 (1967)

11）Grabow, W. O. K. : Water Research, 2, 675 (1968)

12）Clarke, N. A., and P.W. Kabler Health Lab. Sci., 1, 44 (1967)

13）Clarke, N. A., et al. : "Human Enteric Viruses in Water : Source, Survival and Removability," in W. W. Eckenfelder, Ed., Advances in Water Pollution Research, Proc. Int. Conf., London, September 1962, Vol. 2, Pergamon, London, p. 523, (1964)

14）Pittler, H., et al. : Zntbl. Bakt., 1, Abt. Orig. 204, 33 (1967)

15）国立予防衛生研究所学友会編：ウイルス実験学各論，丸善，東京，180 (1967)

16）国立予防衛生研究所学友会編：ウイルス実験学各論，丸善，東京，78 (1967)

1968年度東京都における日本脳炎の疑似患者についての血清学的検索成績および疫学的調査

藪内　清*　岩崎謙二*　村上　一*
坂井冨士子*　柏木義勝*　中村　義*
根津尚光*　平山淡二**　渡辺賢哉***

1965年以降日本脳炎（以下日脳と略す）についての疫学的研究が，厚生省を中心として各都道府県の協力のもとに全国的規模で統一的に実施され，その疫学の実態が明らかにされつつある。

われわれも，1962年以来東京都における日脳の調査を実施し，その大要は既に報告[1~6]している。

1968年も，疑似日脳患者血清について血清学的検索をおこなうと共に，と場ブタの日脳HI抗体保有状況および，コガタアカイエカの消長ならびにおとり動物等について調査をおこなつたのでその概要を報告する。

材料および方法

1）患者血清

1968年6月3日から10月16日までの間に，都内公私立病院から送付された，疑似日脳患者血清22名分延55件で，検査を実施するまで－20°Cに凍結保存した。

2）ウイルス抗原

日脳補体結合（CF）抗原としては，中山株感染乳呑みマウスの脳乳剤をアセトン・エーテル処理して作製した自家製のもの，血球凝集（HA）抗原としては，武田薬品製の中山，JaGAr#01両株を用いた。その他のCF抗原としては，ポリオⅠ，Ⅱ，Ⅲ，コクサッキーB1，B2，B3，B4，B5，ムンプス，アデノ，ヘルペス，エコー6型の12抗原を使用した。

3）CF反応

Kolmerの少量法[7]に準じたが，反応に関与する因子の量をさらに1/2に減量し，CFトレイを用いておこなつた。

4）血球凝集抑制（HI）反応

奥野ら[8]の方法によつた。なお，被検血清はアセトン処理後，pH9.0BSで1：10に復元し，一夜4°Cに放置した後，56°C30分非働化をおこなつた。なお，ブタ血清の一部については，2ME処理をおこなつて2ME感受性抗体を測定した。2ME感受性抗体とは，対照の抗体価に比べ，2ME処理後の抗体価が8倍以上低下したものとした。

5）ブタ血清

立川と場に出荷された，都内産で，前年の夏を経験しない生後5～8ケ月のと場ブタについて，1回平均約20頭を，6月から10月までは毎週，その他の月は月1回，採血した。血清は試験に供するまで－20°Cに保存した。

6）コガタアカイエカの採集

当研究所（東京都新宿区百人町4-539）構内で，ライトトラップを用いて採集した。すなわち，5月下旬から9月下旬まで毎週1回夕方17時から翌朝7時まで運転し，採集したカは数時間室温に放置したのち－70°Cに保存し分類した。

7）おとり動物

ウサギを用いた。すなわち，前年の夏を経験しない生後6ケ月前後のものについて，あらかじめ日脳HI抗体を保有しないことをたしかめたのち，5月下旬から9月下旬まで毎週1回採血した。設置場所は前記カ採集場所と同じで，5頭設置した。

検査成績および考察

1）疑似日脳患者の血清学的検索

病院別，個人別の検索成績は表1の通りである。これを日脳研究会の診断基準（表2）に従つて判定すると，被検査者22名中血清学的に日脳と診断できたのは，都立荏原病院の1名のみであつた。この患者は18才の男性大工で，発病は8月23日であつた。

日脳陰性となつた21名については，日脳ウイルス以外の無菌性髄膜炎を起す可能性のあるウイルス抗原を使用してCF反応をおこない，その病因を追及した。その結果，ヘルペスウイルスに対して，血中抗体の有意上昇をしめしたものが2名あり，ヘルペスウイルスによる髄膜炎と診断された。

* 東京都立衛生研究所　ウイルス部
** 東京都市場衛生検査所
***東京都多摩食肉衛生検査所

表1　1968年度東京都における疑似日本脳炎患者の血清学的検査成績

病院	衛研受付No.(68)	患者氏名	年令	性	採血月/日	病日	日本脳炎 HI 中山	日本脳炎 HI JaGAr #01	日本脳炎 CF	CF ポリオ Ⅰ	CF ポリオ Ⅱ	CF ポリオ Ⅲ	CF コクサッキーB群 1	CF コクサッキーB群 2	CF コクサッキーB群 3	CF コクサッキーB群 4	CF コクサッキーB群 5	CF ムンプス	CF アデノ	CF ヘルペス	CF エコー6	血清学的診断
駒込	695	野○美○	15	♂	Ⅶ/24	7	<10	<10	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	
	711	〃	〃	〃	Ⅷ/ 8	22	<10	<10	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	
	707	瀬○道○	17	♂	Ⅶ/30	4	<10	<10	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	
	762	〃	〃	〃	Ⅷ/16	21	<10	<10	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	
	712	磯○忠○	38	♂	Ⅷ/ 5	58	<10	<10	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	
	763	〃	〃	〃	Ⅷ/16	69	<10	<10	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	
荏原	584	松○知○	23	♀	Ⅵ/17	15	<10	20	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	
	585	〃	〃	〃	Ⅵ/24	22	<10	20	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	
	586	〃	〃	〃	Ⅶ/ 1	29	<10	10	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	
	587	飯○み○	74	♀	Ⅵ/28	7	10	160	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	
	588	〃	〃	〃	Ⅶ/ 1	10	20	320	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	
	589	〃	〃	〃	Ⅶ/ 5	14	20	320	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	
	847	〃	〃	〃	Ⅶ/ 8	17	10	40	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	
	848	〃	〃	〃	Ⅶ/15	24	10	80	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	
	845	和○晴○	65	♂	Ⅶ/ 8	5	<10	<10	<4	<8	<8	<8	<8	<8	<8	<8	<8	<8	<8	8	<8	
	846	〃	〃	〃	Ⅶ/15	12	<10	10	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	
	849	安○　○	6	♂	Ⅷ/22	2	<10	<10	<4	4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	4	
	850	〃	〃	〃	Ⅷ/26	6	<10	<10	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	
	851	〃	〃	〃	Ⅸ/ 2	13	<10	<10	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	
	852	梅○修○	18	♂	Ⅷ/27	5	10	40	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	
	853	〃	〃	〃	Ⅸ/ 2	11	320	≧2560	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	日本脳炎
	854	〃	〃	〃	Ⅸ/ 4	13	320	≧2560	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	
	855	窪○　○	40	♂	Ⅶ/12	42	10	10	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	
	856	〃	〃	〃	Ⅶ/31	61	10	20	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	
墨東	809	松○信○	22	♂	Ⅴ/25	6	<10	<10	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	8	<4	
	810	〃	〃	〃	Ⅵ/ 3	15	<10	<10	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	8	<4	
	811	〃	〃	〃	Ⅵ/10	22	<10	<10	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	8	<4	
	812	小○静○	45	♀	Ⅶ/19	6	10	40	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	4	<4	
	813	〃	〃	〃	Ⅶ/27	14	10	20	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	8	<4	
	814	〃	〃	〃	Ⅷ/ 3	21	10	20	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	4	<4	ヘルペス
	815	〃	〃	〃	Ⅷ/10	28	10	20	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	16	<4	
	816	〃	〃	〃	Ⅷ/19	37	10	20	<4	<4	<4	<4	4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	16	<4	
	1016	高○和○	6	♂	Ⅹ/ 6	7	<10	<10	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	
	1017	〃	〃	〃	Ⅹ/11	12	<10	<10	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	
	1018	〃	〃	〃	Ⅹ/14	15	<10	<10	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	4	<4	
豊島	884	立○重○	59	♂	Ⅷ/24	8	<10	<10	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	4	<4	<4	
	885	〃	〃	〃	Ⅸ/ 4	19	<10	<10	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	8	<4	ヘルペス
	886	〃	〃	〃	Ⅸ/12	27	<10	<10	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	4	16	<4	
	984	大○健○	20	♂	Ⅸ/13	1	<10	<10	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	
	985	〃	〃	〃	Ⅸ/25	13	<10	<10	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	
	986	〃	〃	〃	Ⅹ/ 3	21	<10	<10	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	
台町	560	草○勝○	24	♀	Ⅵ/23	11	160	640	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	
	569	〃	〃	〃	Ⅶ/ 1	19	160	320	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	
	605	〃	〃	〃	Ⅶ/ 8	26	80	320	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	
	761	樋○三○	29	♀	Ⅷ/15	8	<10	<10	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	
	804	〃	〃	〃	Ⅷ/23	16	<10	<10	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	
	350	三○康○	9	♂	Ⅵ/ 2	6	20	80	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	
福生	665	山○雅○	12	♂	Ⅶ/15	3	<10	<10	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	8	<4	<4	<4	
	700	〃	〃	〃	Ⅶ/26	14	<10	<10	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	8	<4	<4	<4	
河北	709	畠○徳○	59	♀	Ⅷ/ 1	3	20	160	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	
南多摩	757	奈○増○	40	♀	Ⅷ/11	8	<10	<10	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	
	758	〃	〃	〃	Ⅷ/16	13	<10	<10	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	
同愛会	803	弘○安○	37	♂	Ⅷ/24	7	<10	<10	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	8	<4	
	873	〃	〃	〃	Ⅸ/ 9	23	<10	<10	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	8	<4	
東部共立	926	千○勝○	10	♂	Ⅸ/18	2	<10	<10	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	<4	

表2　日脳の血清学的診断基準

診断			対血清の抗体価	単血清の抗体価
血球凝集抑制反応	++	確実に診断してよい	4倍以上の上昇があり且最高値が　≧1：320	≧1：640
	+	ほぼ確実に診断してよい	〃　1：160	1：320
	±	陽性であるが疑わしい	〃　1：40～1；80	1：160
	−	陰性である	血清採取時期が適当であるに拘らず全経過中　<1：10	
補体結合反応	++	確実に診断してよい	4倍以上の上昇があり且最高値が　≧1：16	≧1：32
	+	ほぼ確実に診断してよい	〃　1：8	1：16
	±	陽性であるが疑わしい	<1：4 より 1：4に上昇	1：8
	−	陰性である	血清採取時期が適当であるに拘らず全経過中　<1：4	

（日脳研究会）

表3　最近21年間における日本脳炎患者発生状況（東京都衛生局防疫課）

事項＼年度		1948	1949	1950	1951	1952	1953	1954	1955	1956	1957	1958	1959	1960	1961	1962	1963	1964	1965	1966	1967	1968
		昭和23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43
全国	患者数	4757	1284	5196	2188	3545	1729	1758	3699	4538	1793	3900	1979	1607	2053	1363	1205	2683	1179	2301	1028	292
	罹患率	5.9	1.6	6.2	2.6	4.1	2.0	2.0	4.1	5.1	2.0	4.2	2.1	1.7	2.2	1.4	1.3	2.8	1.2	2.3	1.0	0.3
	死者数	2620	1177	2430	956	1433	719	732	1373	1600	744	1349	723	650	825	568	566	1344	613	1442	659	238
	致命率	55.1	91.7	46.8	44.1	43.5	41.6	41.6	37.1	35.3	41.5	34.6	36.5	40.4	40.2	41.3	47.0	50.1	52.0	62.7	64.1	81.5
東京都	患者数	1916	218	1174	175	698	226	348	743	280	99	179	103	68	53	52	16	64	31	35	43	1
	罹患率	37.5	3.7	19.3	2.7	10.2	3.1	4.5	9.3	3.4	1.2	2.1	1.2	0.8	0.6	0.6	0.2	0.6	0.3	0.3	0.4	0.0
	死者数	519	73	289	44	176	61	108	216	91	39	57	37	27	24	16	8	28	8	8	14	0
	致命率	26.6	33.5	24.5	25.1	25.2	26.9	31.0	29.1	32.5	39.4	31.8	35.9	39.7	43.6	30.2	50.0	43.8	25.8	22.9	32.6	0

罹患率は人口10万人対

表3にしめすごとく，東京都における日脳患者は減少する傾向にはあるが，ここ数年は横ばい状態であつた。しかるに本年真性患者僅かに1名のみということは，全く例のないことであり，患者がこのように激減した原因については，本年は冷夏であつたことなどの気象的条件や，それにともなうコガタアカイエカの発生の遅延減少，あるいはワクチン接種人口の増加などが考えられようが，真の原因はつまびらかでない。

2）と場ブタのＨＩ抗体保有状況，ならびにコガタアカイエカの消長およびおとり動物の調査

最近日脳の感染サイクルについて，カ→ブタ→カのサイクルが証明され，日脳ウイルスの自然界における主な増巾動物としてのブタの意義が注目されている。そして1965年からは日脳の流行予測事業として，全国的に統一してと場ブタのＨＩ抗体保有状況を経時的に調査し成果をあげていることは周知の通りである。

東京都においては，これに先立つてすでに，1962年著者の中の岩崎，村上がこの主な増巾動物としてのブタの意義に着目し，調査を進めその一部についてはすでに報告[1,2]した。

1968年度立川と場で採血した都内産のブタの日脳ＨＩ抗体保有状況は表10の通りである。すなわち，8月26日から9月2日にかけて急激な抗体保有率の上昇がみられ，そのほとんどが2ＭＥ感受性抗体であり，都内におけるブタの日脳ウイルスによる汚染開始が確認された。

この1968年度のと場ブタにおける抗体保有状況を，過去の年のそれと比較するために1962年以来の成績を

表4～9にしめした。これをJaGAr#01株に対するＨＩ価≧1：10の陽性率について図示すると図1のようになる。すなわち，この過去6ケ年間で最も早い時期に抗体保有率の上昇をしめした年は1964年であり，次は1967年で，1966年と1965年はほぼ同時期，以下1963年，1968年の順である。この上昇時期とその年の患者発生数との関係をみると表11にしめすように，上昇時期が早い年ほど患者数が多く，おそい年になるに従つて少くなつている。特に本1968年は過去6ケ年の中で最もおそく，かつ陽性率も100％にならず低い価をしめしている。これらのことから，カの発生時期との関係もあり，本年はウイルス散布がうすかつたであろうことが想像される。このように東京都においても，と場ブタの日脳ＨＩ抗体保有状況を経時的に調査することは，日脳ウイルスの侵入を早期に適確に察知する上において，重要な資料となることがわかつた。

表4　東京都におけると場ブタの日本脳炎ＨＩ抗体保有状況（1962年）　　三鷹と場

採血月日	JaGAr#01											
	<10	10	20	40	80	160	320	640	1280	≧2560	計	陽性率（≧1：10）
												%
8．20,21	16	1	1					2	4	48	72	77.7
8．27,28,29	7					1		20		36	64	89.1
9．4，5				1		3		20		32	56	100
9．28,29	6			1		5		18		33	63	89.5
10．8，9				2		8		32		29	71	100
10．26,30		3		8		16		26		8	61	100
11．20,27	8	1		8		25		29		1	72	88.9
11．26,21	4	2		10		18		10		2	46	91.3
12．7				1		5		7		10	23	100
12．13,14	6	5		7		16		21		9	64	90.6

採血月日	中山											
	<10	10	20	40	80	160	320	640	1280	≧2560	計	陽性率（≧1：10）
												%
8．20,21	18					1	4	8	9	32	72	75.0
8．27,28,29	7	1		14		24		18			64	89.1
9．4，5				7		24		18		7	56	100
9．28,29	7	7		16		27		6			63	88.9
10．8，9	2	5		38		23		3			71	97.2
10．26,30	7	11		30		10		3			61	88.5
11．20,21	10	7		43		12					72	86.1
11．26,27	4	10		28		4					46	91.3
12．7		4		9		7		3			23	100
12．13,14	14	13		23		11		3			64	78.2

表5　東京都におけると場ブタの日本脳炎HI抗体保有状況（1963年）　　三鷹と場

採血月日	JaGAr#01											
	<10	10	20	40	80	160	320	640	1280	≧2560	計	陽性率 (≧1：10)
												%
1．8，9	12	12		8		9		15		8	64	81.3
2．16, 19, 20, 21	4	36		34		21		10		1	106	96.3
3．5，6	31	10		14		18		6		4	83	62.8
3．12, 18	10	8		13		3		4		1	39	74.7
3．29, 30	28	3				1		1		2	35	20.0
4．6，10	30	7		6		11		3		1	58	48.3
5．6, 7, 8, 9	56	12		7		5		2			82	31.7
6．10, 11	82	18		7		3		1		1	112	28.0
7．1, 3, 4	63	17		10		6				1	97	35.0
8．1	36	5		1							42	14.4
8．20, 21	42	1						1			44	4.5
9．12, 13	1					5		23		26	55	98.2
9．16, 17	2	1		2		7		38		60	110	91.8
10．22, 23	3	1		3		10		37		44	98	96.7
11．11, 14	2	3		3		20		22		10	60	96.7
11．16, 18	5	4		3		24		40		16	92	94.6
12．14, 17	6	6		11		23		38		11	95	93.7

採血月日	中山											
	<10	10	20	40	80	160	320	640	1280	≧2560	計	陽性率 (≧1：10)
												%
1．8，9	28	12		15		8		1			64	56.3
2．16, 19, 20, 21	53	23		19		11					106	50.0
3．5，6	49	11		14		8		1			83	41.0
3．12, 18	25	9		5							39	36.0
3．29, 30	31	1		1		2					35	12.3
4．6，10	38	13		4		2		1			58	34.5
5．6, 7, 8, 9	62	13		4		3					82	24.4
6．10, 11	96	10		4		2					112	14.5
7．1, 3, 4	58	16		11		11		1			97	10.2
8．1	31	9		2							42	26.2
8．20, 21	43			1							44	2.2
9．12, 13	1	9		25		18		2			55	98.2
9．16, 17	4	16		57		30		3			110	96.4
10．22, 23	4	6		22		49		16		1	98	96.0
11．11, 14	7	7		39		5		2			60	98.3
11．16, 18	9	19		42		19		2		1	92	90.2
12．14, 17	12	32		44		7					95	87.4

表 6　東京都におけると場ブタの日本脳炎HI抗体保有状況（1964年）　　三鷹と場

採血月日	JaGAr#01											
	<10	10	20	40	80	160	320	640	1280	≧2560	計	陽性率 (≧1：10)
												%
1. 29	19	12		5		12		5		5	58	67.2
2. 13	6	17		6		16		14		12	71	91.5
3. 25,26	64	16		15		9		8		23	135	52.6
4. 28,30	5	13		30		29		5		5	87	94.2
5. 14,15,16	63	26		18		4					111	43.3
6. 30	38	9		3						1	51	25.5
7. 1,2,4	107	11		5		1					124	13.7
7. 13	101			2		1				2	106	4.6
7. 30		1				2		4		15	22	100
8. 3, 4	22	9		6		8		10		47	102	78.4
8. 10,11	1	2		8		10		17		22	60	98.3
8. 19,20	2	1		4		17		28		54	107	98.1
8. 27						2		8		10	20	100
9. 2				1		5		25		25	56	100
10. 15,16	1	4		5		14		37		12	73	98.6
11. 14,16	23	9		13		21		23		11	100	77.0
11. 28,30	9	3		16		22		13		4	67	86.6
12. 9,10	6	10		25		40		25		2	108	94.4

採血月日	中山											
	<10	10	20	40	80	160	320	640	1280	≧2560	計	陽性率 (≧1：10)
												%
1. 29	31	19		4		4					58	46.5
2. 13	26	10		18		12		5			71	63.4
3. 25,26	86	12		18		15		4			135	36.3
4. 28,30	10	10		17		20		23		7	87	88.5
5. 14,15,16	57	26		19		9					111	48.6
6. 30	36	7		6		2					51	29.3
7. 1,2,4	106	10		8							124	14.5
7. 13	101			2		2		1			106	4.6
7. 30		2		4		5		5		6	22	100
8. 3, 4	31	5		17		20		25		4	102	69.6
8. 10,11	1	3		8		18		20		10	60	98.3
8. 19,20	2	4		12		34		34		21	107	98.1
8. 27						7		12		1	20	100
9. 2				3		20		29		4	56	100
10. 15,16	5	9		19		35		5			73	93.2
11. 14,16	23	10		28		26		11		2	100	77.0
11. 28,30	10	12		18		22		4		1	67	85.1
12. 9,10	16	23		48		19		2			108	85.2

表7　東京都におけると場ブタの日本脳炎HI抗体保有状況（1965年）　　三鷹と場

採血月日	JaGAr#01											
	<10	10	20	40	80	160	320	640	1280	≧2560	計	陽性率 (≧1：10)
1．25,26	45	6		15		26		10		3	105	57.1%
2．16	29	19		4		6		9			67	56.7
3．16	39	13		9		6		7		2	76	48.7
4．17	61	9		8		7		1		4	90	32.2
5．10	71	1			2		1		1		76	6.6
6．7	75					2			1	1	79	5.1
6．14	61			3	4	2	1				71	14.1
6．21	72		1				1				74	2.7
6．28	69		1		3	1					74	6.7
7．5	67		1		1						69	2.9
7．12	80										80	0
7．19	67		2							1	70	4.3
7．26	78						1				79	1.3
8．2	73			1							74	1.4
8．9	61	2		1							66	7.6
8．16	43	2	2	4	3	7	3	3	1	1	71	39.4
8．23	31	4	4	1	1	2	2		7	32	82	62.1
8．30	16	1	2	1				11	18	33	80	80.0
9．6	19	1						1	3	68	92	79.5
9．13	6	1					1	2	9	72	91	93.5
9．20	8						1	13	25	49	96	91.7
9．27	3				3	2	8	23	26	54	119	97.5
10．9	1	1	1		1	2	9	13	13	32	73	98.6
10．15	10	1		1	4	5	7	15	8	19	70	85.7
11．12	7	1	1	2	2	2	6	16	25	40	102	93.1
12．13	11	1	4	6	9	12	11	23	13	34	124	91.1

採血月日	中山											
	<10	10	20	40	80	160	320	640	1280	≧2560	計	陽性率 (≧1：10)
1．25,26	49	11		22		20		2		1	105	53.3%
2．16	44	7		3		12		1			67	34.3
3．16	55	5		9		6		1			76	27.6
4．17	70	9		4		3		3		1	90	22.2
5．10	72		1	1	1		1				76	5.3
6．7	75		1	1			1	1			79	5.1
6．14	61	1	2	1	4	2					71	14.1
6．21	73				1						74	1.4
6．28	69	2	1	2							74	6.8
7．5	68		1								69	1.4
7．12	80										80	0
7．19	68	1						1			70	2.9
7．26	78					1					79	1.3
8．2	73		1								74	1.4
8．9	63	3									66	4.5
8．16	43	4	5	5	7	3	4				71	39.4
8．23	27	4	3	1	2	1	2	7	13	22	82	67.1
8．30	16		1	1		2	6	11	14	29	80	80.0
9．6	19	1				2	1	8	14	47	92	79.3
9．13	5	2		1	1	5	12	32	15	18	91	94.5
9．20	8			1	1	21	29	23	10	3	96	91.7
9．27	3		1	2	4	11	28	35	17	18	119	97.5
10．9	1	2		2	4	12	17	14	11	10	73	98.6
10．15	10	1		4	5	11	11	8	9	11	70	85.7
11．12	8	3	2	4	6	5	25	25	13	11	102	92.2
12．13	16	7	7	14	20	18	16	15	8	3	124	87.1

表8　東京都におけると場ブタの日本脳炎HI抗体保有状況（1966年）　　三鷹と場

採血月日	JaGAr#01											
	<10	10	20	40	80	160	320	640	1280	≧2560	計	陽性率 (≧1：10)
												%
1. 17	49	9	7	13	12	8	15	11	11	16	151	67.5
2. 10	49	7	18	7	8	5	16	11	3	4	128	61.7
3. 12	42	2	3	3	3	4	4	2	1	3	67	37.4
4. 7	67	8	4	3	5	5	2	2	2	3	101	33.8
5. 17	67	1		4	1	1	1	2		2	79	15.2
6. 7	55		1		1	2	2			3	64	14.1
6. 14	56									1	57	1.8
6. 20	63			1		1	1				66	4.7
6. 28	37	1		1		3	1	2			45	17.8
7. 4	61	1									62	1.6
7. 11	72	1	2		1		1			2	79	8.9
7. 18	86										86	0
7. 25, 26	125		3		2	3		1	4	2	140	10.7
8. 1, 2	110		1				2	1			114	3.5
8. 8, 9	110	1	1		1		1	1		1	116	5.2
8. 15	98					1	2	3	4	22	130	24.6
8. 22	9	1	1	2	1	3	2	5	4	65	93	90.4
8. 29			1						1	93	95	100
9. 5	21	1	2			3	2	2	3	72	106	80.2
9. 12					1			2	7	104	114	100
10. 11	2				3	2	6	19	32	50	114	98.2
11. 7	5		3	1	1	5	7	20	12	25	79	93.7
12. 5			5	3	3	1	3	7	10	27	59	100

採血月日	中山											
	<10	10	20	40	80	160	320	640	1280	≧2560	計	陽性率 (≧1：10)
												%
1. 17	67	8	14	12	13	8	15	10		4	151	55.6
2. 10	62	17	7	8	11	13	4	2	4		128	51.6
3. 12	56	2	4	1	2	2					67	16.4
4. 7	79	2	3	2	6	3	3	1		2	101	21.8
5. 17	68	1	3	2	1	1	1	2			79	13.9
6. 7	56		3	2			1	2			64	12.5
6. 14	56							1			57	1.8
6. 20	64		1		1						66	3.0
6. 28	38	1		3		3					45	15.6
7. 4	62										62	0
7. 11	75	1			1			2			79	5.1
7. 18	86										86	0
7. 25, 26	129		3	2		3	2	1			140	7.2
8. 1, 2	111		2	1							114	2.6
8. 8, 9	111	1	1		2					9	116	4.3
8. 15	98			2	1	2	7	7	10	3	130	24.6
8. 22	12	1	1	3	3	6	9	28	21	9	93	87.3
8. 29		1					1	2	3	88	95	100
9. 5	23	1	2	3	1	7	14	20	25	10	106	78.3
9. 12			1		2	1	15	31	24	40	114	100
10. 11	2	3		2	11	21	32	29	9	5	114	98.2
11. 7	8	1	3	4	11	22	11	18		1	79	89.9
12. 5	8	3	2	1	8	8	7	15	5	2	59	86.4

表9　東京都におけると場ブタの日本脳炎HI抗体保有状況（1967年）　　三鷹と場

採血月日	JaGAr#01												
	<10	10	20	40	80	160	320	640	1280	≧2560	計	陽性率（≧1：10）	2ME-S抗体保有率
												%	%
1．16	18	8		7	4	2	2	7	1	3	52	65.5	
2．6	25	2	4	5	1	7	4	7	4	11	70	64.2	
3．13	29	4	3	3	5		3	10	3	9	69	57.9	
4．25	47		1		1	1	1	1	1	3	56	16.1	
5．9	47	1	1	2				1	1	1	54	12.9	
6．5	64	1	4	2			1	2	1	2	77	16.9	0
6．12	84			2			1		1	7	95	11.2	0
6．19	45		1	1	3					1	51	11.7	16.6
6．26	63						1	2			66	4.5	0
7．3	54	1						1		2	58	6.8	0
7．10	58		2								60	3.3	0
7．17	63	3	4	1							71	11.2	0
7．24	48								1	2	51	5.9	0
7．31	56	1	1		1					5	64	12.5	75.0
8．7	29		2				2			17	50	42.0	80.9
8．14	3	1				1	1			55	61	95.0	86.2
8．21	10	2				1	1		6	46	66	84.8	66.7
8．28		1	1						7	50	59	100	25.2
9．4								1	3	67	71	100	5.6
9．11							2	7	10	31	50	100	30.0
10．2								2	5	41	48	100	6.2
11．10	8	1	4	4	7	5	2	6	7	11	55	85.4	0
12．11	5	1	4	4	4	2	3	8	5	21	57	91.2	0

採血月日	中山												
	<10	10	20	40	80	160	320	640	1280	≧2560	計	陽性率（≧1：10）	2ME-S抗体保有率
												%	%
1．16	31	4	5	1	4	4	2	1			52	40.4	
2．6	35	1	1	6	9	4	4	4	3	3	70	50.0	
3．13	38	1		3	7	5	4	5	3	3	69	44.9	
4．25	47	1	1	1	1	1	1	3			56	16.1	
5．9	49	2					2		1		54	9.5	
6．5	67	3	1	1	1		2	1		1	77	13.6	0
6．12	85	1			1	2	1		2	3	95	11.0	0
6．19	46		2	2					1		51	9.8	0
6．26	63			1		2					66	4.5	0
7．3	55					1			1	1	58	5.1	0
7．10	60										60	0	0
7．17	64	5	1	1							71	9.8	0
7．24	48						1		1	1	51	5.9	0
7．31	58			1				1	1	3	64	9.4	83.5
8．7	30	1		1	1		1	2	1	13	50	40.0	80.0
8．14	4		1		1	1	4	7	11	32	61	92.5	82.5
8．21	12				2	2	5	15	16	14	66	81.8	57.1
8．28	2					3	8	19	19	8	59	96.5	84.2
9．4						2	4	18	26	21	71	100	69.0
9．11				3	3	13	22	5	4		50	100	16.0
10．2				1	3	7	13	12	9	3	48	100	16.6
11．10	14	7	5	8	8	2	8	1	1	1	55	74.5	0
12．11	9	5	4	2	5	10	6	5	3	8	57	84.2	0

1967.4.25以降は立川と場

表10　東京都におけると場ブタの日本脳炎ＨＩ抗体保有状況（1968年）　　立川と場

採血月日	JaGAr#.01												
	<10	10	20	40	80	160	320	640	1280	≧2560	計	陽性率 (≧1：10)	2ME-S 抗体保有率
												%	%
1．9	12	4	6	4	5	3	4	6	3	16	63	81.0	0
2．8	15	2	2	7	7	6	5	4	1	10	59	74.5	0
3．11	46		1	1	2	1		2	6	9	68	31.9	0
4．1	42	1	1	3		1	1	1	1	5	56	23.2	0
5．7	42	1	1								44	4.5	0
6．3	38	1					1				40	5.0	0
6．10	39	1								1	41	4.9	0
6．17	37								1		38	2.7	0
6．24	35	1	1								37	5.4	0
7．1	24	1									25	4.0	0
7．8	25										25	0	0
7．15	32		1								33	3.0	0
7　22	37										37	0	0
7．29	38	1									39	2.5	0
8．5	33										33	0	0
8．12	27										27	0	0
8．19	24										24	0	0
8．26	20	1				1	1		1	2	26	23.0	83.3
9．2	16			1	1		2	1		7	28	42.8	91.7
9．9	10					1	1	3	7	4	26	61.5	50.0
9．17	14									8	22	40.0	50.0
9．24	10									12	22	54.5	0
10．1	7	1	1				3	2	3	5	22	61.8	20.0
10．8	10									12	22	54.5	0
10．15	2								3	17	22	90.9	10.0
10．23	12	1		1		4	1	1	2		22	45.6	0
10．29	5		1	1				2	2	11	22	77.3	0
11．5	3				1		3	2	5	8	22	86.3	0
12．3	1				4	6	8	1	1	1	22	95.5	0

採血月日	中　山												
	<10	10	20	40	80	160	320	640	1280	≧2560	計	陽性率 (≧1：10)	2ME-S 抗体保有率
												%	%
1．9	28	2	3	4	6	7	3	8	2		63	55.5	0
2．8	33	2	4	5	3	6	5	1			59	44.1	0
3．11	48		2	1		4	4	2	4	3	68	29.4	0
4．1	43	4	1	1		1	1	2	1	2	56	21.4	0
5．7	43	1									44	2.3	0
6．3	39				1						40	2.5	0
6．10	40								1		41	2.4	0
6．17	37				1						38	2.7	0
6．24	37										37	0	0
7．1	25										25	0	0
7．8	25										25	0	0
7．15	33										33	0	0
7．22	37										37	0	0
7．29	39										39	0	0
8．5	33										33	0	0
8．12	27										27	0	0
8．19	24										24	0	0
8．26	20	1	2	2	1						26	23.0	16.6
9．2	16		1	1	2	3		3	1	1	28	42.8	91.7
9．9	10				1	2	7	1	3	2	26	61.5	100
9．17	14							1	3	4	22	40.0	87.5
9．24	10						1	7	1	3	22	54.5	16.6
10．1	9			1	3	3	3	2	1		22	59.0	15.4
10．8	10						4	4	4		22	54.5	25.0
10．15	2					2	7	4	6	1	22	90.9	15.0
10．23	12			1				2	3	4	22	45.6	0
10．29	6		1		1	4	4	4	1	1	22	72.7	6.3
11．5	3		1	2	8	5	3				22	86.3	0
12．3		1		2	4	9	5		1		22	100	0

図1　東京都における過去6ケ年間（1963～68）のと場ブタの日脳HI抗体保有状況の比較

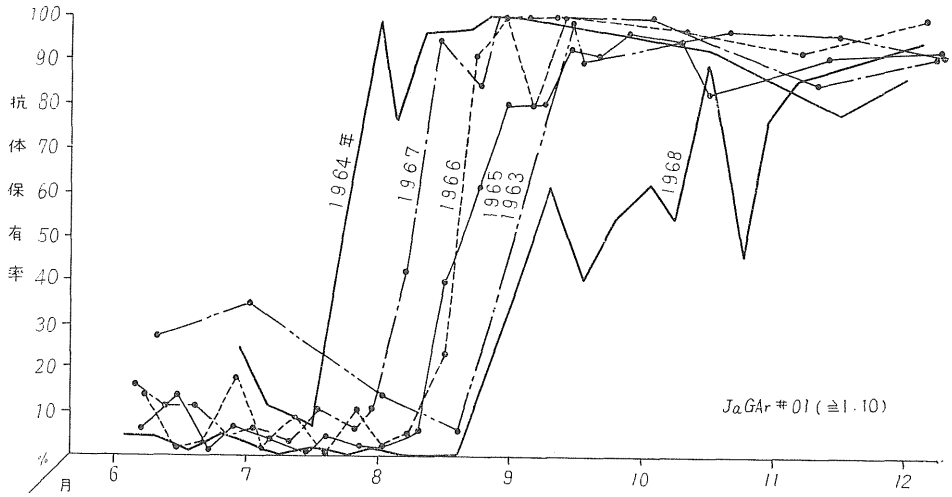


表11　東京都におけると場ブタの抗体保有状況から推定した日脳ウイルス汚染時期と患者数との関係

年　　度	警戒地区指定日※	汚染地区指定日※	患　者　数
1963年	—	—	16　名
1964年	—	—	64　名
1965年	8　月　16　日	8　月　23　日	31　名
1966年	8　月　15　日	8　月　22　日	35　名
1967年	8　月　7　日	8　月　14　日	43　名
1968年	9　月　2　日	9　月　9　日	1　名

※採血月日による

表12　※都立衛生研究所構内におけるおとりウサギのHI抗体出現状況（1965年）

採血年月日 ＼ No. / 抗原	12		15		18		19		20	
	N	J	N	J	N	J	N	J	N	J
65. 6. 26	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)
7　5	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)
〃　12	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)
〃　19	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)
〃　26	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)
8. 2	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)
〃　9	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)
〃　16	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)
〃　23	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)
〃　30	320	1280	160	160	(−)	(−)	80	80	320	320
9. 6	640	1280	320	1280	(−)	(−)	80	320	320	1280
〃　13	320	1280	320	1280	(−)	(−)	160	320	160	640
〃　20	80	320	160	1280	(−)	(−)	160	1280	160	640
〃　27	80	160	320	1280	(−)	(−)	160	640	160	160

※　東京都新宿区百人町4-539　N＝中山株　J＝JaGAr#01株　(−)＝<1：10

表13　都立衛生研究所構内※における蚊の消長およびおとりウサギのＨＩ抗体出現状況（1966年）

蚊の消長				おとりウサギ														
採集年月日	コガタアカイエカ	アカイエカ	キンイロヤブカ	No. / 抗原 / 採血年月日	1		2		16		17		18		19		20	
					N	J	N	J	N	J	N	J	N	J	N	J	N	J
66.6.28	2	35	5															
7.4	4	27	4	66.7.6	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)
〃 13	3	27	5	〃 13	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)
〃 18	5	42	0	〃 20	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)
〃 25	88	179	3	〃 27	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)
8.1	236	59		8.3	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)
〃 8	276	292		〃 10	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)
〃 15	1798	69		〃 17	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)
〃 22	290	174		〃 24	80	640	80	640	(−)	(−)	(−)	(−)	死	亡	(−)	(−)	(−)	(−)
〃 29	261	94		〃 31	1280	≧2560	320	1280	(−)	(−)	(−)	20			(−)	(−)	(−)	(−)
9.6	32	140		9.7	640	≧2560	320	1280	(−)	(−)	(−)	(−)			(−)	(−)	(−)	(−)
〃 13	54	159		〃 14	640	≧2560	320	1280	(−)	(−)	(−)	(−)			(−)	(−)	(−)	(−)
〃 19	30	260		〃 21	320	≧2560	160	640	(−)	(−)	(−)	(−)			(−)	(−)	(−)	(−)
〃 26	54	91		〃 28	640	≧2560	160	1280	(−)	(−)	(−)	(−)			(−)	(−)	(−)	(−)
10.3	10	63																

※　東京新宿区百人町4-539　N＝中山株　J＝JaGAr#01株　(−)＝<1：10

表14　東京都内における蚊の消長（1967年）

採集年月日	江戸川区鹿骨町		新宿区中落合		新宿区百人町（都衛研）		千代田区六番町		北多摩郡久留米町		文京区駒込	
	コガタアカイエカ	アカイエカ	コガタアカイエカ	アカイエカ	コガタアカイエカ	アカイエカ	コガタアカイエカ	アカイエカ	コガタアカイエカ	アカイエカ	コガタアカイエカ	アカイエカ
67.6.5	0	3	0	1	2	9	0	1	0	2		
〃 12	0	4	0	1	160	8	1	0	2	15	0	0
〃 19	0	8	0	1	16	16	0	5	0	4	0	0
〃 26	15	62	0	0	170	7	0	0	0	5		
7.3	1	12	2	0	129	4	1	1	6	7	1	0
〃 10	0	143	0	1	129	10	0	0	0	51	0	0
〃 17	5	92	1	0	101	16	0	0	12	2	0	0
〃 24	2	16	2	0	234	19	3	1	17	5	0	0
〃 31	3	77	0	3	151	59	4	0	45	7	0	0
8.7	2	10	0	0	96	18	2	0	33	7	1	0
〃 14	0	4	0	1	329	33	2	1	21	9	1	1
〃 21	0	10	0	7	33	54	1	0	6	4	0	0
〃 28	0	8	0	3	59	23	0	3	7	1	0	0
9.4	0	10	0	0	36	28	0	1	4	3		
〃 11	0	6	0	1	48	18	0	0	4	10		
〃 18	0	16	0	5	7	17	0	4	0	21		
〃 25	0	13	0	2	10	42	0	6	1	18		

表15　都立衛生研究所構内※における蚊の消長およびおとりウサギのＨＩ抗体出現状況（1968年）

採集および採血年月日	蚊の消長						おとりウサギ（JaGAr#01株ＨＩ価）				
	コガタアカイエカ		アカイエカ		キンイロヤブカ		No.6	No.7	No.8	No.9	No.10
	♂	♀	♂	♀	♂	♀					
68.5.31							(−)	(−)	(−)	(−)	(−)
6.5	0	3	0	5	0	2					
〃 12	0	0	2	48	0	0	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)
〃 19	0	11	2	6	0	16	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)
〃 26	0	3	0	4	0	0	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)
7.3	0	15	0	11	0	1	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)
〃 10	0	10	3	23	0	3	(−)	(−)	(−)	死亡	(−)
〃 17	0	19	1	8	0	0	(−)	(1)	死亡		(−)
〃 24	0	42	0	10	0	3	(−)	(−)			(−)
〃 31	0	17	1	11	0	3	(−)	(−)			死亡
8.7	2	7	1	13			(−)	(−)			
〃 14	0	43	1	10			(−)	(−)			
〃 21	0	11	2	11			(−)	(−)			
〃 28	0	32	1	11			(−)	(−)			
9.4	0	5	3	28			(−)	(−)			
〃 11	5	0	4	6			320	(−)			
〃 18	0	1	5	19			≧2560	640			
〃 25	0	0	0	0			≧2560	320			

※　東京都新宿区百人町4-539　(−)=<1：10

一方，本1968年度に当研究所構内の鶏舎に飼育したおとりウサギならびにカの採集の成績は表15の通りである。これを過去の成績と比較するため1965年からの成績を表12～14にしめした。まず，コガタアカイエカの採集数は，その年の気象条件や環境衛生の向上などからか，年毎に減少しているのがみとめられ，特に本1968年は非常に少数しか捕獲することができなかつた。

また，おとりウサギのＨＩ抗体上昇時期をみると，各年共に，と場ブタの抗体上昇がみとめられてから一週間位あとに上昇している。従つて，ブタに比較して感受性はおとるが，都心部の日脳ウイルスの汚染時期を知る手段として，おとりウサギを置くことは意味のあることと思われる。

結　　論

1968年６月３日から10月16日までの間に都内公私立病院から送付された，疑似日脳患者血清22名分55件について，血清学的検索をおこなうと共に，と場ブタの日脳ＨＩ抗体保有率の経時的推移およびコガタアカイエカの消長ならびにおとり動物等について調査をおこない次の結論をえた。

1)　被検査者22名中血清学的に真性日脳と診断されたのは１名のみであつた。

2)　この，東京都における1968年度の日脳患者は都立荏原病院に収容された18才男子で，その発病は８月23日であつた。

3)　検査の結果日脳陰性と判定された21名中２名は，ヘルペスウイルスの感染であつたことが判明した。

4)　と場ブタ血清の日脳ＨＩ抗体陽転時期をみるに1968年は過去６ケ年の中で最もおそく，９月２日であつた。

5)　従来いわれているとおり，ウサギはブタに比して感度はおとるが，本年のようなウイルス散布の少いと思われる年でも，おとり動物として使用できた。

本調査をおこなうに当り，多大のご協力をたまわつた，東京都衛生局防疫課，同乳肉衛生課，東京都多摩食肉衛生検査所および東京都芝浦食肉衛生検査所の関係各位に深甚の謝意を表する。

文　　献

1)　根津尚光他：都立衛生研究所年報，(15)，160 (1963)

2)　根津尚光他：都立衛生研究所年報，(16)，52 (1964)

3)　根津尚光他：都立衛生研究所年報，(17)，76

(1965)
4) 村上一：都立衛生研究所事業月報，(204)，1 (1966)
5) 根津尚光他：都立衛生研究所年報，(18)，59 (1966)
6) 根津尚光他：都立衛生研究所年報，(19)，57 (1967)
7) 日本公衆衛生協会：微生物検査必携，414～434 (1966)
8) Okuno, T., Oya, A., and Ito, T.: Jap. J. Med. Science and Biol., 14 (2), 51 (1961)

1968年5月から1969年3月にかけて東京都内に発生したインフルエンザのウイルス学的血清学的検索成績

坂井冨士子* 岩崎謙二*
藪内清* 柏木義勝*
村上一* 中村義*
根津尚光*

すでに報告した通り[1]，東京都においては，1968年初頭には例年通り前年末より続いてインフルエンザ（以下「イ」と略す）の流行があり，その主因はA2型ウイルスであつた。その後一部に「イ」B型の発生を認めながらも局地的にとどまり，シーズンオフの夏を迎えた。ところが7月に入つて香港において時ならぬ「イ」の大流行があり，その病原ウイルスはA型ではあるが，従来のA2型とはかなり異なつたものであるという情報に接し，同ウイルスのわが国への侵入蔓延は防疫関係者のみならず全国民の大きな関心事となつた。実際7月下旬にはすでに名古屋に寄港したイスラエル船の船員より本ウイルスが分離され，国内侵入が始まつたわけである。

われわれも，東京都内の各保健所および公私立病院より疑似患者材料の送付を受けて，ウイルス学的血清学的検索を行ない，同ウイルスの侵入の早期発見と流行状況を正確には握することにつとめた。本報は1968年5月から1969年3月までに得られた成績である。

検査材料および方法

検査材料とその処理法，ウイルス分離同定試験法，血清学的検査法および診断基準はすべて前報[1]の通りである。

検査成績および考察

表1はウイルス分離試験および血清学的検査の概要である。すなわち，本期間中患者のうがい水，咽頭ぬぐい液より「イ」A香港型ウイルス67株，「イ」B型ウイルス12株，アデノウイルス6株，コクサッキーB群1型ウイルス3株，パラインフルエンザ3型ウイルス2株，死亡例の肺より「イ」香港型4株を分離した。

「イ」に関しては，A2型ウイルスは本期間中全く分離されておらず，また「イ」B型は7，8，12月を除く全期間にわたつてウイルス分離あるいは血清学的検査によつてその発生が確認されている。A香港型ウイルスについては先にも述べたように7月下旬にわが国に侵入が認められており，すでに流行蔓延が危惧されていたので，われわれも東京都における本型ウイルスによる「イ」の発生の早期発見を一つの目標に検索を進めてきたわけである。しかし，8月から9月にかけてかなりの発生をみたかぜ患者の病因には「イ」B型ウイルス，アデノウイルス，コクサッキーB群1型ウイルスが認められ，「イ」香港型ウイルスは10月以降まで認められなかつた。しかも表1に示されるように，東京都においても9月2日には香港経由で都内に入つた旅行者（表1 No. 14）より，また9月13日にも東南アジア帰りの旅行者（表1 No. 22）より本型ウイルスが分離され，すでに都内侵入が確認されたわけである。しかし，この時期にはこれらの患者の家族あるいは接触者等に二次感染者は認められず，国内での感染と考えられるのは，われわれの検索し得た範囲内では，10月3日墨東病院小児科外来（表1 No. 35）で診療を受けた1才4カ月の子供の咽頭ぬぐい液より本ウイルスを分離したのが最初である。その後10月9日に両国中学（表1 No. 37）の生徒5名中4名のうがい水より本ウイルスを分離し，国内初の香港型「イ」の集団発生が認められた。その後は都内各地で相ついで集団発生があり，1969年春まで流行が続いたものと思われる。

分離した「イ」ウイルスは，ニワトリ免疫血清によるHI試験により同定した。その成績の一部を表2に示す。すなわち，A香港型と同定されたものはA2型の最近の流行株であるA2/熊本1/67の免疫血清によつても若干抑制されるが，A香港型の代表株であるA2/愛知2/68株の免疫血清によつては，ホモと同様に抑制され，その特異性は顕著で容易に同定することができた。このような同定試験の範囲内では，分離した

* 東京都立衛生研究所 ウイルス部

表1　1968年5月から69年3月にかけて都内に発生したインフルエンザの検索成績の概要

No.	受付月日 (1968)	所轄保健所	集団名	ウイルス分離試験 被検者数	インフルエンザ A香港型	インフルエンザ B型	アデノ	コクサッキー	パラインフルエンザ	血清学的検査 CF(S) 被検者数	インフルエンザ A	インフルエンザ B	アデノ	備考
1	5.20	町田	町田2小	2	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	2	0	0	0	
2	〃	〃	町田南3小	4	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	4	0	0	0	
3	5.23	品川	御殿山小	5	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	5	0	0	0	
4	6. 5	•	増野医院	15	(−)	4	(−)	(−)	(−)	13	0	6	0	
5	7. 4	•	〃	16	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	6	0	0		
6	8. 5	•	〃	7	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)					
7	8.12	•	〃	6	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)					
8	8.14	八王子	七生福祉園	2	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	1	0	0		
9	8.20	調布	荏原病院外来	8	(−)	(−)	1	(−)	(−)					
10	8.22	下谷	LEE YOKE LIN	1	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)					
11	8.26	•	増野医院	1	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)					
12	8.28	板橋東	萩原医院	3	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	1	0	0	0	
13	〃	調布	荏原病院外来	5	(−)	(−)	(−)	B1 1	(−)					
14	9. 2	中央	Orser Richard	1	1	(−)	(−)	B1 1	(−)					旅行者
15	9. 3	小石川		5	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	3	0	0	0	
16	9. 4	品川		1	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	1	0	0	1	
17	9. 6	五日市	秋川高	8	(−)	(−)	3型1	B1 1	(−)	8	0	0	1	
18	9.10	予防部	相撲部屋	2	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)					
19	9.12	神田	国士館大	2	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)					
20	〃	武蔵野	中原小	5	(−)	(−)	3型1	(−)	(−)					
21	9.13	中野北	日本運送	5	(−)	(−)	)−)	(−)	(−)					
22	〃	千住	西本春三	1	1	(−)	(−)	(−)	(−)					旅行者
23	〃	府中	狛江2中	2	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)					
24	〃	〃	野川小	2	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)					
25	〃	〃	緑ケ丘	2	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)					
26	9.16	品川	浅間台小	2	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	2	0	2	0	
27	9.17	王子	杉山仁美	1	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	1	0	0	0	
28	〃	五日市	大久野小	5	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	5	0	4	0	
29	9.18	王子	高金久悦	1	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	1	0	0	0	
30	9.19	府中	井上内科	4	(−)	(−)	3型1	(−)	(−)					
31	9.21	〃	大久保早苗	1	(−)	(−)	3型1	(−)	(−)					
32	9.26	予防部	荏原病院外来	3	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)					
33	9.30	•	増野医院	2	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)					
34	10. 3	調布	杉村重吉	1	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)					
35	〃	予防部	墨東病院外来	4	1	(−)	1	(−)	(−)					
36	10. 5	杉並西	長原昭彦	1	1	(−)	(−)	(−)	(−)	1	1	0	0	旅行者
37	10. 9	本所	両国中	5	4	(−)	(−)	(−)	(−)	4	3	0	0	
38	10.11	〃	駒込病院外来	6	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)					
39	10.12	練馬	旭丘小	5	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)					
40	10.16	本郷	駒込病院外来	1	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)					
41	10.22	町田	相原小	5	1	(−)	(−)	(−)	(−)	3	2	0	0	
42	〃	予防部	墨東病院外来	3	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)					
43	〃	〃	駒込病院外来	3	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)					
44	〃	〃	荏原病院外来	4	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)					
45	10.26	杉並西	荻窪中	3	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	3	0	3	0	
46	10.28	渋谷	大向小	4	3	(−)	(−)	(−)	(−)	3	3	0	0	
47	10.30	田無	保谷小	3	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)					
48	〃	荏原	中延小	5	4	(−)	(−)	(−)	(−)	5	5	0	0	
49	10.31	糀谷	大森4幼	9	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)					
50	11. 1	本郷	駒込・看護学院	3	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)					
51	11. 5	町田	市立中央病院	1	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)					
52	11.11	予防部	駒込病院外来	3	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)					
53	〃	〃	墨東病院外来	3	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)					
54	11.12	〃	監察医務院	1	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)					
55	11.15	〃	監察医務院	1	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)					
56	11.18	〃	監察医務院	2	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)					
57	11.21	田無		2	(−)	(−)	(−)	(−)	Ⅲ型2	2	0	0	0	パラインフルエンザⅢ型の抗体上昇をみとめたもの1名
58	11.22	八王子	八王子1小	3	(−)	1	(−)	(−)	(−)	3	0	3	0	
59	〃	予防部	駒込病院外来	3	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)					
60	〃	〃	荏原病院外来	4	2	(−)	(−)	(−)	(−)					

No.	受付月日 (1968〜1969)	所轄保健所	集団名	ウイルス分離試験 被検査数	インフルエンザ A香港型	インフルエンザ B型	アデノ	コクサッキー	パラインフルエンザ	血清学的検査 CF(S) 被検査数	インフルエンザ A	インフルエンザ B	アデノ	備考
61	11.26	牛込	鶴巻小	7	4	(−)	(−)	(−)	(−)	7	6	0	0	
62	〃	靴谷	羽田旭小	11	10	(−)	(−)	(−)	(−)	10	10	0	0	
63	12. 3	予防部	駒込病院外来	2	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)					
64	1. 6	〃	監察医務院	3	1	(−)	(−)	(−)	(−)					
65	1. 8	•	増野医院	14	9	(−)	(−)	(−)	(−)					
66	1.14	予防部	監察医務院	1	1	(−)	(−)	(−)	(−)					
67	1.17	五日市	西秋留小	8	7	(−)	(−)	(−)	(−)	8	8	0	0	
68	1.18	練馬	豊玉中	4	3	(−)	(−)	(−)	(−)	3	3	0	0	
69	〃	五日市	南桧原小	6	1	(−)	(−)	(−)	(−)	5	1	3	0	
70	1.20	青梅	青梅6中	6	4	(−)	(−)	(−)	(−)	6	5	0	0	
71	〃	小平	小平南台小	5	1	1	(−)	(−)	(−)					
72	1.21	淀橋	落合1小	5	3	(−)	(−)	(−)	(−)					
73	〃	予防部	監察医務院	4	1	(−)	(−)	(−)	(−)					
74	1.22	淀橋	落合1小	3	1	(−)	(−)	(−)	(−)	2	2	0	0	
75	〃	田無	田無3中	3	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	7	5	1	0	
76	1.23	練馬	豊玉2中	4	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)					
77	1.27	武蔵野	境南小	3	1	(−)	(−)	(−)	(−)					
78	1.28	予防部	府中病院	1	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	1	0	0	0	
79	1.29	小岩	南小岩2小	3	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	3	0	2	0	
80	〃	•	増野医院	16	4	1	(−)	(−)	(−)					
81	1.31	予防部	駒込病院外来	6	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)					
82	〃	〃	墨東病院外来	4	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)					
83	2. 4	〃	監察医務院	2	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)					
84	2. 7	荒川	第4瑞光小	4	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)					
85	2.13	予防部	監察医務院	3	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)					
86	2.19	•	増野医院	16	1	5	(−)	(−)	(−)					
87	2.20	予防部	監察医務院	1	1	(−)	(−)	(−)	(−)					
88	2.21	〃	墨東病院外来	1	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)					
89	2.25	〃	監察医務院	2	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)					
90	3. 6	〃	監察医務院	1	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)					
91	3.11	〃	監察医務院	1	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)					
92	3.18	〃	監察医務院	1	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)					
93	3.19	•	増野医院	8	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)					
94	3.20	目黒	不動小	4	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	3	0	2	0	
計				381	71	12	6	3	2	132	54	26	2	

表2　ニワトリ免疫血清のHI試験による分離株の同定試験

抗原＼免疫血清		A1/新宿 1/56	A2/足立 2/57	A2/熊本 1/67	A2/愛知2/68 ①	A2/愛知2/68 ②	B/世田谷 3/56	検査材料 由来	材料	採取月日
A1/新宿1/56		2048	—	—	—	—	—			
A2/足立2/57		—	512	1024	64	128	—			
A2/熊本1/67		—	256	16384	64	256	—			
A2/愛知2/68		—	—	1024	2048	4096	—			
B/世田谷3/56		—	—	—	—	—	512			
本期分離株	246/68	—	—	1024	2048		—	米人旅行者	うがい水	1968.9. 2
	312/68	—	—	1024	2048		—	日本人旅行者	〃	9.13
	347/68	—	—	1024	1024		—	〃	〃	10. 5
	348/68	—	—	512	1024		—	両国中生徒	〃	10. 9
	349/68	—	—	512	1024		—	〃	〃	〃
	350/68	—	—	512	1024		—	〃	〃	〃
	352/68	—	—	512	1024		—	〃	〃	〃
	363/68	—	—	512		4096	—	墨東病院外来患児	咽頭ぬぐい液	10. 3
	376/68	—	—	512		2048	—	相原小患児の母	うがい水	10.22

—は<32をしめす。

表3　A/香港型インフルエンザ罹患者のインフルエンザ血清学的検査成績

保健所および集団名	被検者名	年令	発病月日(1968)	採血月日(1968)	CF(S) インフルエンザA	CF(S) インフルエンザB	HI A1/新宿 1/56	HI A2/足立 2/57	HI A2/熊本 1/67	HI A2/愛知 2/68	HI B/東京 1/67	ウイルス分離試験
千住	西○春○	36	9.12	急 9.13 回 9.20	<4 判定不能	<4 判定不能		64 256	64 128	<16 64	16 16	+
杉並西	長○昭○	40	10. 4	急 10. 5 回 10.15	<4 ≧64	<4 <4	<16 <16	64 128	16 64	<16 64	<16 <16	+
本所両国中学	外○隆○	13	10. 7	急 10. 9 回 10.21	<4 32	<4 <4	256 256	128 512	32 1024	32 1024	<16 <16	+
	村○光○	13	10. 7	急 10. 9 回 10.21	4 4	<4 <4	<16 <16	256 512	128 128	64 64	128 128	+
	渡○大○	13	10. 7	急 10. 9 回 10.21	4 ≧64	4 4	<16 <16	64 ≧2048	64 ≧2048	32 ≧2048	16 16	+
	朝○奈○	13	10. 7	急 10. 9 回 10.21	<4 ≧64	<4 <4	<16 <16	256 512	128 1024	16 1024	<16 <16	+

(1968)

表4　1967年末～68年初頭のA2型インフルエンザ流行期における患者血清のA2/愛知2/68に対するHI価

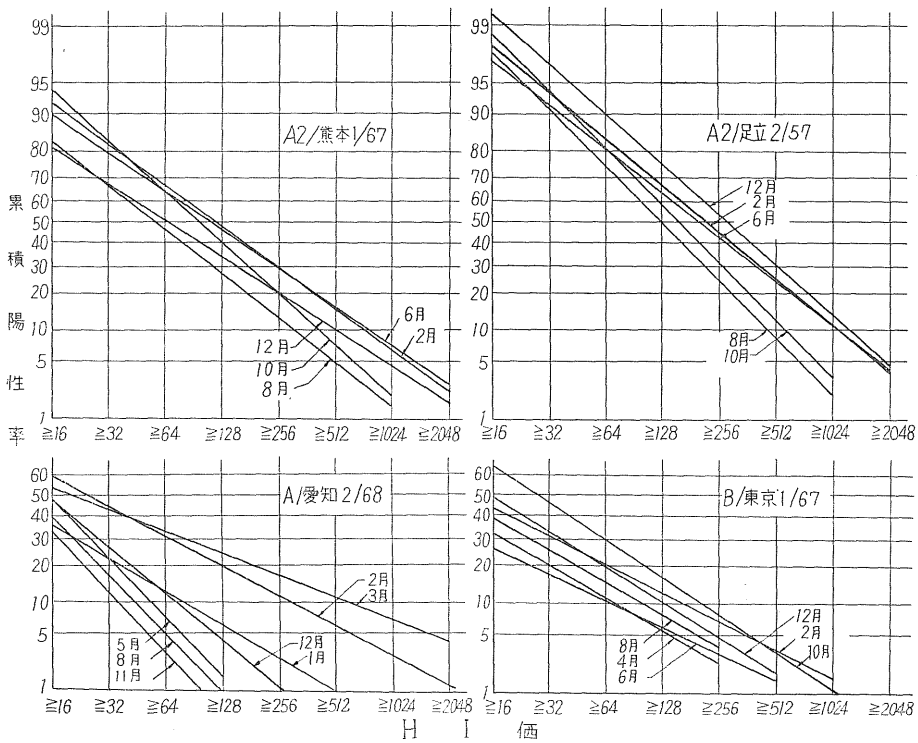
血清 No.	採血月日(1967)	CF(S) インフルエンザA	CF(S) インフルエンザB	HI A1/新宿 1/56	HI A2/足立 2/57	HI A2/熊本 1/67	HI A2/愛知 2/68	HI B/東京 1/67
67-576 67-654	急 11.24 回 12. 7	<4 32	<4 <4	<16 32	512 ≧2048	1024 ≧2048	32 512	32 32
67-605 67-691	急 11.30 回 12.11	<4 16	<4 <4	<16 32	256 ≧2048	256 ≧2048	16 64	64 64
67-607 67-693	急 11.30 回 12.11	<8 32	<8 <4	<16 <16	256 ≧2048	256 ≧2048	16 16	128 128
67-612 67-698	急 11.30 回 12.11	<8 ≧64	<8 <4	<16 <16	128 ≧2048	256 ≧2048	<16 32	256 512
67-616 67-681	急 12. 1 回 12. 9	<4 ≧64	<4 <4	16 16	512 ≧2048	256 ≧2048	32 256	128 128
67-578 67-656	急 11.24 回 12. 7	<4 16	<4 <4	32 32	512 ≧2048	128 ≧2048	64 1024	16 16
67-583 67-659	急 11.28 回 12. 7	<4 32	<4 <4	<16 <16	128 ≧2048	64 1024	64 1024	64 64
67-591 67-699	急 11.29 回 12.11	<4 ≧64	<4 <4	<16 <16	128 ≧2048	64 1024	32 1024	16 16
67-596 67-704	急 11.29 回 12.11	<8 ≧64	<8 <8	<16 <16	256 1024	64 ≧2048	32 1024	64 64

表5　B型インフルエンザ罹患者のインフルエンザ血清学的検査成績

保健所および集団名	被検者名	年令	発病月日(1968)	採血月日(1968)	CF(S) インフルエンザA	CF(S) インフルエンザB	HI A2/熊本/67	HI A2/愛知 2/68	HI B/天草 1/64	HI B/東京 1/67	HI B/杉並 66/68	ウイルス分離試験
品川浅台間小	佐○一○	12	9.15	急9.16 回9.30	<4 <4	<4 ≧64	32 32	16 32	32 1024	16 1024	16 128	−
	中○政○	12	9.15	急9.16 回9.30	4 4	<4 32	128 64	64 16	16 ≧2048	<16 ≧2048	<16 ≧2048	−
五日市大久野小	宮○あ○	10	9.15	急9.17 回9.27	<4 <4	<4 16	16 32	<16 16	16 512	16 ≧2048	<16 512	−
	小○征○	10	9.15	急9.17 回9.27	<4 <4	<4 <4	<16 16	<16 <16	64 32	32 <16	16 32	−
	故○美○	10	9.15	急9.17 回9.27	<4 <4	<4 32	64 128	16 32	32 512	16 1024	16 512	−
	野○清○	10	9.15	急9.17 回9.27	8 8	<4 ≧64	512 64	32 16	64 1024	32 ≧2048	16 512	−
	野○花○	野○清○の母	9.15	急9.17 回9.27	4 4	<4 ≧64	128 32	<16 <16	<16 64	<16 32	<16 256	−

(1968)

図1　インフルエンザウイルスに対する都民のＨＩ抗体保有状況の推移（1968年４月～69年３月）



Ａ香港型71株の間に差は認められなかつた。

また，今回分離したＡ香港型ウイルスは発育鶏卵での増殖が非常によく，ほとんどの株が分離初代で羊膜腔内に増殖すると同時に，漿尿膜腔内にもよく増殖し，分離株の約70％は初代で256倍以上のＨＡ価をしめした。しかし，初代サル腎細胞培養では２株しか分離できず，今回の「イ」香港型ウイルスの検出に関しては発育鶏卵の方が圧倒的に有利であつた。

表３は香港型ウイルスを分離した患者の急性期および回復期のペア血清のＨＩ試験の成績である。前述の免疫血清の場合と異なり，香港型である愛知株に対して抗体価の上昇がみられると同時に，従来のＡ２型である足立2/57，熊本1/67等に対しても有意の上昇をしめし，患者のＨＩ試験の上では，従来のＡ２型と香港型とを区別することはできなかつた。

そこで，香港型ウイルスがわが国に侵入する以前の，すなわち1967年末から1968年初頭にかけてのＡ２型流行時の患者血清について同様にＨＩ試験を行なつた。例数は少いが，表４に示すようにこの場合は従来のＡ２型株に対してはいずれも著明に上昇しているが，愛知株に対しては上昇しているものといないものがあり，有意上昇をしめしているものでは16倍以上も上昇しているものがあつた。

なお，「イ」Ｂ型罹患者血清の場合には，表５にしめす通り従来のＡ２型および香港型いずれに対しても全く抗体価の変動はみられなかつた。

以上はすべて患者を対象にした検査成績で，かなり多数の患者からウイルスを分離し，あるいは，血清反応により診断したが，ほとんどが学童または中学生であり，これとても限られたごく一部にすぎず，とうてい全東京都における香港型「イ」の浸淫度の全ぼうをとらえることはできない。そこで著者らが多年おこなつている[2~5]血清疫学的解析によつてその実態を探ろうとした。すなわち，当研究所にワッセルマン反応のために集められる多数の血清の中から毎月一定時期に約100件ずつ地域的かたよりのないように考慮しながら無作為的に抽出し，「イ」各型ウイルスに対するＨＩ価を測定しその変動をみようとするものである。株毎に累積陽性率を正規確率紙上にプロットし，陽性率，抗体価の双方からその動きをみると図１にしめすごとく，先ずＡ２型はその抗体保有率は1968年６月まで大きく上昇しており，67年末より68年初頭のＡ２型の流

行が一応終熄したと思われた頃以後にも流行は若干尾をひいていたことが推察される。B型についてみると，A2型が下つてきた頃より上昇しはじめ，急激な変動はないが，その後長期間にわたつてゆるやかな流行のあつたことを思わせ，患者の検索成績とよく対応している。問題の香港型については11月から12月にかけて大きく上昇して流行期の始りを示し，患者について検索し得た成績とよく一致している。その後翌69年3月まで陽性率，抗体価共に上昇し，流行の伸展をしめしている。しかしながら，この香港型に対する抗体保有の変動は近年のA2型ないしはB型のそれときわだつた違いはなく，1957年のA2型ウイルス侵入時のごときのような爆発的流行を思わせる動きはみられなかつた。

結　　論

1968年5月から1969年3月にかけて東京都内に発生したインフルエンザ様疾患患者材料についてウイルス学的，血清学的検査を行なう一方，健康都民血清標本のインフルエンザウイルス抗体保有状況の逐月調査を行ない，次の結論を得た。

1) 検索期間中に，患者材料からインフルエンザA香港型ウイルス67株，B型ウイルス12株，アデノウイルス6株，コクサッキーB群1型ウイルス3株，パラインフルエンザ3型ウイルス2株，死亡例の材料からインフルエンザA香港型ウイルス4株計95株のウイルスを分離同定した。

2) インフルエンザA香港型ウイルスの都内侵入はすでに1968年9月初に認められたがこれらはいずれも国外よりの旅行者の患者によるもので，都内での感染による患者発生は同年10月以降であつた。

3) インフルエンザA香港型ウイルスは，ニワトリ免疫血清による交叉HI試験では，抗原的に従来のA2型ウイルスと若干のクロスがあるが，株特異性が顕著にみられた。しかし患者血清においては株特異性が明らかでなく，診断には分離ウイルスの型決定によらねばならなかつた。

4) 患者材料の検索結果の逐次推移および都民のインフルエンザ抗体保有状況の逐月消長調査結果から東京都内におけるインフルエンザ流行の主流の推移を考察した。1967年末より1968年初頭のA2型の流行は68年5～6月頃まで尾を引いていた。B型ウイルスは，68年6月に検出されたが，流行は8月以降ゆるやかな形で長く続いた。香港型の局地的な流行は68年10月頃より始まつたが，全都的にみると流行のピークは69年1，2月で3月には終熄した。流行規模も比較的小さいものであつた。

文　　献

1) 柏木義勝，ほか：都立衛生研究所年報，(19)，67 (1967)
2) 岩崎謙二，ほか：東京都衛生局職員業務研究発表会報告書，(29)，69 (1962)
3) 根津尚光，ほか：都立衛生研究所年報，(16)，47 (1964)
4) 藪内清：日伝染会誌，40，(5)，129 (1966)
5) 根津尚光，ほか：都立衛生研究所年報，(17)，71 (1965)

生物試料へのレプリカ法の応用

前木吾市* 柏木義勝*
村上一* 岩崎謙二*
坂井冨士子* 藪内清*
根津尚光* 辺野喜正夫*

APPLICATION OF A FILMY REPLICA TECHNIQUE FOR THE OBSERVATION OF BIOLOGICAL SAMPLES

Goichi MAEKI, Yoshikatsu KASHIWAGI
Hajime MURAKAMI, Kenji IWASAKI
Fujiko SAKAI, Kiyoshi YABUUCHI
Naomitsu NEZU and Masao BENOKI

(Department of virology, Tokyo-to Laboratories for Medical Sciences)

Two step filmy replica procedure with tri-acetylcellulose (TAC) or di-acetylcellulose proposed by Fukami has widely been applied for the preparation of samples, in the field of electron microscopy. Comparative studies were made by means of the Fukami's technique and a self-moulding replica procedure described by Sugihara et al., one of the modified procedure of the Fukami's technique, on the surface stracture of FL and Hep 2 monolayer cultures grown on the surface of microscope cover slides. In addition, surface stractures of human hair, finger prints, pollen and spores of a mushroom were also studied by the self-mould replica procedure. Results obtained are summarized as follows.

1) Fukami's technique was more advantageous than the self-moulding replica procedure, when they were applied on the cell cultures, and numerous fine filamentous stractures of the surface of the cell were observed on the replicas prepared by the both techniques.

2) When the self-moulding replica procedure was applied on spores, we had encountered some difficulties to remove the filmy replicas, after the 2nd step of vacuum evaporation, as they become small fragments very easily.

3) The formation of air-bubbles on the surface of a finger-mark or skinmark were another problem, when we making a replica by Fukami's technique, while old SUMP method showed goood results on them.

4) Filmy replica technique is a useful tool for the routine observation of the surface stracture of biological samples, by a electron microscope or a light microscope, as it is a simple, rapid and aculate procedure.

1. 緒　言

近年，走査型電子顕微鏡の出現で試料の直接表面観察が俄かに注目されて来た。しかし高価なので一般的ではない。

本邦における間接的な電顕レプリカ法は，深見らによつて技術開発が進められて来たが，1955年発表の

* 東京都立衛生研究所　ウイルス部

Filmy Replica System[1] は，プラスチックレプリカ材料の進歩と共に，一般標本のレプリカ観察の実用化を促進した。しかし医学生物学面でのレプリカ法の応用は，極く僅かな範囲に止まつている現状にある。

われわれは，微生物試料とりわけ培養細胞，大型ウイルスの表面構造を迅速，容易に電顕観察する目的で，filmy replica 法の応用を企てた。

生物試料の性質上，溶剤の影響を考慮して，filmy replica の変法 Self Mould Replica に着目し，大型試料から微細試料に及ぶ各種試料を対象に，順次技術経験を積重ねてゆく方針とした。

試料については，花粉，毛髪，胞子といつた好適な素材について，各専門研究者から提供を受け，観察研究と技法習得を並行して進めることができた。培養細胞試料は，面積の広い slide culture なので試料作製に問題がある。

昭和42年4月初めて filmy replica 法に接して以来，機会をみて技法習得に努めて来たが，目標の一つ培養細胞のレプリカ電顕像が撮影できるまでに進展し，表面構造の新知見が得られるに至つた。

これまでの結果をまとめ，filmy replica 技法を中心に報告する。スンプ法及び光顕レベルのレプリカ実験例も併せて記載し参考に供する。

2. Filmy Replica System と Self Mould Replica について

Filmy Replica System については文献[2]，市販のレプリカ材料の説明書に詳しいので，簡単に触れておく。

常法としては，溶剤に浸した酢酸セルロースの薄片を，試料面に貼り付けて第1段のレプリカをとる。酢酸セルロースは被膜形成能および剥離性が優れている特長があり，数分間で第1段のレプリカが得られる。レプリカ側に付着した試料はセロファンテープ等で除去する。Cr shadow，carbon 補強膜を蒸着した後，プラスチックを溶解すれば第2段のレプリカ膜が得られ電顕用の試料となる。酢酸セルロースは，溶解の際膨潤性が大きく蒸着膜を破砕するので，予めパラフィンを蒸着膜側に薄く塗り保護処理をする。パラフィンもプラスチックに続いて溶解除去する。レプリカ作製の所要時間は従来法に比して大巾に短縮され，解像力は約100Å（10万分の1ミリ）で迅速，容易且つ確実性の高い進歩したレプリカ法と云われる。以下この常法を**貼付法**と呼ぶ。

欠点としては溶剤（酢酸メチル）におかされる試料には適用できない。又第1段レプリカ膜と剥離性の悪い試料はレプリカ作製にトラブルを生じる。

Self Mould Replica（以下S. M. R. 法と略す）は粒子，繊維類のレプリカに向く方法である。操作の要領は

① シャーレに適量の酢酸メチルを入れ，蓋をして恒温槽（70°C）に入れるか，又はほぼ同温度の熱板の上に載せておく。

② ガラス片上に，約2cm角に切つた二酢酸セルロース（商品名 Bioden R. F. A.）の小片を溶剤に浸して貼布する。この上に試料をふりかけ法等で分散配置する。

③ 準備できた試料をシャーレ内の台上に載せる。

④ 数分間放置してから取り出す。試料は，溶剤飽和蒸気で軟化した酢酸セルロース上に，半ば埋没した状態で固定される。

⑤ セロファンテープ類で試料を剥し取る。一段目のレプリカ作製が終了し，この段階で光顕用の試料となる。

⑥ このあと Filmy Replica System の常法と同様に処理して電顕試料を作製する。

スンプ法の「のせおき法」と同様，試料自体の重量でレプリカをとる優れたアイデアのもので，長所としては，加圧しないので境界線のすつきりした写真ができること，シャーレ内に搬入する時間の差でレプリカ度のコントロールができること等である。後者の利点は反面，レプリカ度の過不足がおこりやすい，試料の直径を測ることができない欠点ともなる。

3. 実験方法

1） 試料の種類

最初実験に用いた花粉はネコヤナギで，花粉研究家石田肇氏の提供による。

毛髪は当所依頼検体で，毛髪研究家桔梗とし子氏の提供。

きのこ胞子は当所環境衛生部の青木実氏の研究資料で約3年を経過したものである。

培養細胞は夫々ＦＬ（ヒト羊膜細胞由来），Hep 2（ヒト咽喉ガン由来）を slide culture（タテヨコ 12×32mm）とし，固定は前者が10％ホルマリン液，後者は自然乾燥とした。

その他指紋，玉虫（複眼）を初歩的レプリカの試料として用いた。

2） レプリカ材料

酢化度の異る二酢酸セルロース，三酢酸セルロース（ＴＡＣ）の2種があり，前者の方が耐熱性が50～80

°C 劣る。したがつて溶剤蒸気による軟化は二酢酸セルロースの方が容易となり，S.M.R. 法に適する。

二酢酸セルロースとして，メーカーの異る Bioden R.F.A.（以下ＡＣ film と略記する）厚さ 0.034mm のものと，FUJITAC のサンプルの２種類を使用した。Bioden の ＡＣ film はレプリカ専用で使用に便利なように青く着色されており，フジタックは無色クリアーで厚みの差で10種類に別れている。

三酢酸セルロース（ＴＡＣ）はBioden R.F.C. 0.038 mm のものを使用した。ＴＡＣは本来写真フィルムのベース用として生産されて来たものである。

スンプ法の市販材料（スンプ板，スンプ液）については詳細は不明である。スンプ板は酢酸メチルに不溶性であった。

3） 試料作製法

花粉，毛髪，きのこ胞子，培養細胞のうちHep２は ＡＣ film と S.M.R. 法の組合せで実施した。ただし Hep２は広い面積を有する slide culture なので，溶剤蒸気が細胞面と ＡＣ film の間に侵入できない。そのため変法を工夫した。すなわち ＡＣ film をガラス面上に貼布せず浮かし，上方に凸になるよう両端をセロファンテープで固定する。彎曲した ＡＣ film 面上に slide culture を平らに支え接触させる方法を採つた。

培養細胞ＦＬは filmy replica の常法である貼付法と，フジタック 0.1mm の組合せとした。

その他指紋，玉虫複眼の作例は，フジタック，ＡＣfilm，ＴＡＣ夫々と貼付法の組合せとした。

なおS.M.R.法に使用するガラスの清浄には四塩化炭素を使用した。

4） Self Mould Replica 用器具について

恒温槽の代りに熱板の利用できることを前述したが，熱板式はレプリカ度をシャーレの外から観察したり，操作がやり易いので便利である。最初電気スタンドの傘の上部を平らにつぶしシャーレ載せ台とし，電球の発熱を利用する装置を使用したが，たまたま60Wの大きさのものしか装着出来ず熱不足で能率が悪い。電気アイロンの底部を利用するアイデアもあるが，現在使用中のものは写真用暗室ランプ（一面式）を利用したものである。安全フィルターを抜き去り代りにブリキの厚板を工作して挿入し，内部に100Wの電球を入れる。表面に温度計をセットしておく。スライダックを用いて，60V位に調節すると，ブリキ板表面は 70°C 位で安定する。暗室ランプセットは廻転式なので適度に傾斜させておくと，シャーレ中の溶剤のしずくが ＡＣ film 面に落ちるトラブルを防止し得る。

5） 試料とメッシュの接着法[3]

深見は二液式強力接着剤（エポキシ樹脂）を用いて，プラスチック溶解処理前に，２段目のレプリカとメッシュとを接着する方法を開発した。この方法によれば，電顕試料作製の最終段階において，メッシュによるレプリカ膜掬い上げのデリケートな操作やトラブルが解消される利点がある。又光顕の下でメッシュをレプリカに貼りつける操作を工夫すれば，同一視野のレプリカが他の方法より簡単に，しかも確実に得られるという。

問題はメッシュ上に必要，十分な接着剤層を塗布する手技の巧拙にかかつてくるが，市販のセメダインスーパーで試験的に実施した。

6） 撮影機器

電顕はＪＥＭ６Ｃ，光顕はユニオンＫＫ製倒立型顕微鏡，カメラはライカⅢＦを夫々使用した。

電顕撮影は大部分の試料について直接倍率×1000という最低倍率とした。これは今回までに扱つた試料が大きい部類に属するので，視野面積をできるだけ広くしたいことと，光顕像との関連を容易にしたい意図からである。

光顕は万能タイプなので透過，落射，偏斜，位相差及び異色照明の各種照明法を採用した。

7） Negative shadow, Positive shadow[1]

Filmy Replica System における shadowing は，第1段レプリカ膜に直接施すのが通例であるが，この結果電顕写真は，実の試料のもつ凹凸と反対の shadow すなわち negative shadow が与えられたことになる。このことは電顕像を解釈する場合に重要なポイントになるので注意を必要とする。

わかり易い表現を用いると，先ず第１段のレプリカは実の試料面と凹凸が逆の関係になる。たとえば実の試料で「富士山」の形をした部分は，第１段レプリカでは「摺り鉢」を埋め込んだ状態に型がとれている。ここへ shadow を施すのが通例となつているため，shadow の跡は「摺り鉢」の内側に入り込み，本来の「富士山」の凹凸感は表現されないことになる。

negative shadow を施して得たネガから直接焼付けた写真では，shadow の跡は白く見え，反転ネガから焼付けた写真では黒くなるが，実の試料面の凹凸感を正しく表現できない点では同じである。

正しい凹凸感を表現する positive shadow は，時間がかかる上，処理操作がデリケートになるので実験は省略した。今回の実験ではすべて negative shadow

ばかりで行つた。

4. 実験結果

1) 貼付法による初歩的レプリカ作例

はじめにスンプ法と，酢酸セルローズを使つたfilmy replica 両法による指紋の比較作例を示す。

写真1はスンプ法による右手母指，写真2は filmy replica による左手母指の光顕像で，共に対物レンズ×5だけを使用し，透過光照明と階調表現の豊かな表面現像法により作製した。

スンプ法では，厚みのあるスンプ板にスンプ液を落し，「押しつけ法」で型をとるが，スンプ板が平坦なのでほぼ全面にピントが合い，一見良好にみえる。

filmy replica では酢酸セルロース小片を溶剤に浸し貼付法を試みたが，間隙に気泡が多数発生して失敗が多い。**写真2**は気泡発生の比較的少ないフジタック0.018mm の作例で，薄膜のため稍変形しピントは全面に合つていないが，スンプ法に比べ精細に指紋表面の型がとれている。希望すれば，これから更に第2段レプリカ作製に進み，指紋の電顕観察が可能となる。

皮膚のレプリカも指紋同様に実施したが，気泡発生のトラブルを伴い，スンプ法，filmy replica 法夫々の得失がみられた。

ここで気泡発生の防止に触れると，金属レプリカ関係では，予めレプリカをとりたい個所に酢酸セルロース10%溶液を塗りつけておく方法がとられている。古屋らは皮膚のレプリカ観察に，濃厚酢酸セルロース溶液を直接塗りつける変法を案出し効果をあげている。

写真3，4は，酢酸セルロースの被膜形成能の良さを端的に示した作例である。写真3は玉虫の頭部全体をフジタック0.01mmで，写真4は複眼を目標にフジタック 0.1mm の薄片で貼付法によりレプリカした。貼付から乾燥まで僅か十数秒で終了し，殆ど技巧を要しない容易さである。その上，ぶよぶよした指紋，皮膚の場合と異り，気泡発生のトラブルは全く起きない。AC film もフジタック同様，複眼レプリカに有効であつた。

写真3は中間リングを使用しカメラで接写した例で，レプリカ試料を透過光で照明し，ミニコピイフィルムで複眼の存在を強調した。

写真4は複眼の顕微鏡写真で，レプリカ試料を偏斜照明し，表面凹凸を強調したものである。光顕におけるレプリカ試料には偏斜照明が効果的で，この例では表面の僅かのきずもよく描出されている。

2) Self Mould Replica 法による作例

試料作製法で述べたようにS.M.R.法は生物試料のレプリカ法として最も期待し，主力を注いで実験した方法である。本法を用いて，花粉，毛髪，きのこ胞子および培養細胞の各試料について応用を試みた。

S.M.R.法で試料作製から撮影まで実施した例は，花粉の場合光顕1種類，電顕1種類，以下同様に毛髪15，2，きのこ胞子1，2，培養細胞2，1の25種類に及んだ。

S.M.R.法による作例を写真番号で示すと次のようになる。

光顕例……5，6，7，8

電顕例……10，11，12，13，14，17～20

本法にはレプリカ材料として専らAC filmを用いたが，毛髪の場合一時期TACも併用した。

毛髪への応用例では，①正常毛と，「種々のクリームを前処置に用いたパーマ美容処理」による損傷毛との比較，②天然縮毛と，「特殊クリームを前処置に用いたパーマ美容処理」による矯正毛との比較の二つの検査目的に応じて実験を試みた。このため主として光顕レベルでレプリカ観察を行なつた。

写真5，6はTACを用いたS.M.R.法による目的①の比較作例で，極端なパーマ美容処理による実験的毛髪試料の光顕像である。写真5は良質クリーム，写真6は普通クリームを前処置に使用した場合である。

写真5は位相差照明で，毛髪中心部に暗い横縞の線（ムラ）が走つている。写真6は落射（反射）照明で位相差にみるようなムラは生じない。プラスチックレプリカ標本を位相差照明で観察する場合，像のコントラストはよくなるが，撮影の際干渉縞による像障害に悩まされる。心出し望遠鏡を使つてチュックすると，ムラによる像障害の程度を判断し得る。

目的②の結果は省略する。

写真10は写真5と同様，良質クリームを使用しパーマ美容処理をした毛髪の電顕レプリカ像である。毛髪の直径が過大なので，直接×1000で分割撮影し，つなぎ写真で一本の毛髪を表現した。

この像はレプリカが深くとれ過ぎてスケールの両端が不明瞭となり，negative shadow の不自然さも手伝つて，毛髪の成長方向が判断し難いものとなつている。この視野では写真上方に毛髪が伸びている。S.M.R.法の「自由にレプリカ度をコントロールすることができる」特長が，この場合逆に「レプリカ度に過不足が生じ易い」欠点として映つている。毛髪のような大型試料では，光顕段階で予めレプリカ度をチェックし得る。

毛髪表面のスケール（ギザギザ）の起伏は，シャー

プな shadowing により明瞭に表現され，パーマネント美容処理による損傷の軽微な状態を詳細に示している。

写真11は写真6と同一試料の電顕像である。直接×1000撮影のネガから反転せず引伸ばしてあり，写真10とは明暗の関係が逆になつている。毛髪は細長く伸び切り，スケールの乱れと共に，極端なパーマ美容処理による損傷の激しさを露呈している。

写真中の視野の汚染は，セメダインスーパー使用による「試料とメッシュの接着法」をこの試料で実験した結果，接着剤のはみ出しとレプリカ膜洗滌の不足が原因で生じたものである。

花粉（ネコヤナギ）のS.M.R.法による作例を**写真7，12**に夫々示す。花粉観察は本報告の初実験例で，写真12はＡＣ film により試料作製し，日本電子ＫＫスーパースコープ撮影による。写真7は透過光照明による光顕像である。

花粉はレプリカをとる前，ガラス板上にアルコールを滴化し，軽くその中で洗う処理がしてある。これは花粉研究者が行う通常の手段で，これにより表面を覆う特殊成分が溶け去り，構造がよく現れてくる。写真12において，シャープな shadow のかかつた花模様の部分は，前述の negativ shadow の説明でわかるように，，実の花粉表面の凸部でなく凹部を示していることになる。

きのこ胞子（ベニダケの一種）のS.M.R.法による作例を夫々**写真8，13**に示す。

胞子は採集後3年のもので，紙に挟んで保存中のもの5種類を実験した。S.M.R.法実施に当り，ＡＣ film上に移す手段として，紙から直接ＡＣ film に押しつけ転染させた。紙上から掻き落しても効果がなかつたからである。本来S.M.R.法は試料の自重でＡＣ film上に埋没させるのが常法で，上の処理は窮余の策である。率直にいつて，胞子の電顕試料作製はすべて失敗した。第2段レプリカの溶解処理段階で，蒸着膜がちりぢりに破砕するトラブルを生じたためである。写真13は辛うじてメッシュで掬い得た蒸着膜片から撮影したものである。

はじめ溶解処理の失敗は，胞子をＡＣ film 中に深く埋没させ過ぎたことが原因であるとしたがその後の原因探索で，真空蒸着処理中に発生する熱の影響と推定されるに至つた。写真8にその証拠を見出したためである。

写真8は胞子第1段レプリカに Cr shadew, carbon 蒸着を施したあとの，位相差照明による光顕像であるが，明瞭な亀裂が視野中を走つているのが見える。溶解処理段階で蒸着膜がちりぢりになるのは，この亀裂に沿つて起ることは明白である。亀裂の生じた直接原因は，真空蒸着時の熱がＡＣ film を急に膨潤させるからに違いない。写真8にみられる亀裂は，同様に作製した他の種類のきのこ胞子試料すべてに共通して観察された。carbon 蒸着を意識的に厚くかけ過ぎた傾向も，過度の加熱という点で反省されるが，試料作製にS.M.R.法を応用するかぎり，「酢酸メチル溶剤でＡＣ film をガラス上に密着させる」という試料作製の初段階を再検討する余地がある。

培養細胞 Hep 2 の S.M.R.法による作例を，**写真17～20**及び**14**に示す。Hep 2は slide culture にしたものを P.B.S.で洗滌後，NaCl 成分除去のため蒸溜水を注ぎ自然乾燥させたものを使用した。

Hep 2 のS.M.R.法による試料作製は，実験方法3に述べたが，欠点としてレプリカのとれる場所が稍不安定で，面積も狭いことがあげられる。長所としては，貼付法のように溶剤が直接細胞に触れず，溶剤蒸気だけの影響に止まると考えられたので実施してみた。

結果は，slide culture 面に溶剤の露が宿ることが見出され，上記の長所があやしくなり，肝心のレプリカ度が浅く，期待外れの段階に止まつた。**写真14**は Hep 2 細胞上に残存析出した NaCl 結晶で，予め光顕で判断したレプリカ度と一致して，細胞の上層だけが浅くレプリカされた場合を示しており，これに類似した視野が作製試料の大部分を占めていた。

又，写真14は negative shadow を理解するための好個の題材で，四角い NaCl 結晶の内側に shadow の跡が白く見えており，通常の positive shadow と好対照をなしていることが判る。他の培養細胞写真も同様に negative shadow 像なので，細胞面の凹凸判定の参考として掲載した。

写真15は Hep 2 細胞 slide culture の位相差光顕像で，総体的に扁平であり細胞内部に円形に近い輪廓をした核と，その中央の小顆粒（仁）とが日の丸状に見えて特徴を示している。

写真17，18は写真15の試料から作成したレプリカ電顕像で，S.M.R.法によつて得られたものとしては，写真19，20と共に予期せぬ収穫である。

形態的特徴を写真から抽出してみると

① 細胞質表面から突出した触角様の細繊維構造物
② 細胞質表面を縫うように走る細い繊維群
③ 細胞間を連繋する直線状繊維

④　細胞質内外に存在する中，小顆粒群
⑤　凹凸の著しい細胞質表面の微細構造
等が挙げられる。殊に細胞面を走る細い繊維状構造物の出現は，細胞増殖機構を解明する上での重要な因子とも考えられ，興味深い新知見といえよう。

写真19，20は，写真15の説明において，日の丸状と形容した細胞核夫々一個宛の立体的構造を示した電顕像である。核の輪廓部分は周囲の細胞質より稍厚みがあつて高くなり，仁は大きな球形で盛上りをみせている。核の表面にも細い繊維状物質が縫うように走つている。写真19の仁の表面は，レプリカ膜洗滌処理の不足で不明瞭であるが，写真20では窪みや小穴の存在が明瞭に認められる。

3）培養細胞ＦＬの Filmy Replica System 常法（貼付法）による作例

写真21～24及び**9**はフジタック 0.1mm を用いた貼付法によるＦＬ細胞の作例である。

写真9は試料作製の中途段階の状況を示すもので，第１段レプリカに真空蒸着処理を済ませた段階の光顕像で，赤，緑セロファン使用の異色照明像を黒白像に転換したものである。第１段レプリカ膜の変形でピントが不均一になつているが，実の細胞は全く附着しておらず，完全なレプリカ像で，この状態にまでくれば電顕試料作製の成功は殆ど確実となる。貼付法の実験では，フジタック0.25mmでも実験したが，0.1mm同様気泡，亀裂等のトラブルなしに操作が進行し，安定した結果が得られた。

写真16は対照用ＦＬ細胞 slide culture の位相差光顕像で，固定に10％フォルマリンを用いたため，稍収縮した感じに見受けられる。ＦＬ細胞は総体的に厚みがあり一見荒々しい形が特徴で，細胞核の構造にしても，Hep 2 にみるような日の丸型の明瞭な輪廓はみられていない。

写真21～24は写真16のレプリカ電顕像で，細胞質周縁部を中心に観察した作例である。**写真21**は細胞同志間の接合個所をみたもので，直線状の繊維が数本連繋している像が明瞭に認められる。**写真22**は一個独立した長い形の細胞で，細胞質表面に小顆粒が多数散在し，繊維構造物の交錯と，特異な大顆粒が細胞増殖の旺盛な状況を示している。**写真23**は細胞同志間を連繋した太い繊維構造物が，細胞質表層を貫通しているところを捉えたものである。この太い繊維は，写真から判断して細繊維の集合からなることが判つた。視野の汚染は洗滌の不足による。

写真24はＦＬ細胞の細胞核（核と仁）を捕捉した像である。仁の数は数個に分れており，表層に小穴が認められるものもある。核の輪廓はHep 2 のそれとは異なり，隆起が少く，一見細胞核として見落し易い点は，光顕像の所見とも一致している。核の表層にはHep 2 同様に細い繊維構造物が走つている。写真右上方に仁とよく類似した遊離顆粒が認められる。ＦＬ細胞が威勢よく増殖展開する初期の段階では，多数の遊離顆粒の出現が認められるが，写真の顆粒はそれと同一のものと思われる。

5. 考　　察

filmy replica 法の問題点の第一にあげられることは，レプリカ材料の溶剤として酢酸メチルを使用するため，この溶剤におかされる試料には応用ができないことである。固定した培養細胞の場合も溶剤に不安定といえるが，S. M. R. 法ならば溶剤蒸気だけの影響で済むと考え，敢て実験に踏み切つたものである。

S. M. R. 法でも一応培養細胞の撮影はできたが，試料作製面における安定性に欠け，当初度外視した貼付法の方が好成績だつたのは皮肉である。

培養細胞のように溶剤に稍不安定さが懸念される試料については，別に「ゼラチン―コロジオン」などの水溶性プラスチック２段レプリカ法[4]が，深見によつて開発されている。

filmy replica の第二の問題点は，試料と第１段レプリカ膜との剥離が難しい場合があることで，培養細胞，きのこ胞子をS. M. R. 法で実験した際に遭遇した。普通セロファンテープで，第１段レプリカ膜に埋没した試料を除去するが，細胞の場合殆ど効果がなかつた。接着力の強いスコッチテープを使用すべきである。除去した結果を調べるには，異色照明法による光顕観察[5]が最も有効であつた。

S. M. R. 法によるトラブルの最大のものは，写真８における真空蒸着膜の亀裂の発生であつた。この問題の考察は概ね前述したので省略するが，S. M. R. 法だけに発生する問題のように考えられる。又S. M. R. 法ではレプリカ度に過不足が生じ易く，今回の実験ではレプリカを深くとり過ぎる失敗が多かつた。

S. M. R. 法の一連の操作をトラブルなしに迅速処理し，よい電顕試料を得るまでにはかなりの経験が必要とされる。

たまたま実験後になつて，魚住のセロファンテープ接着固定法[6]を知つた。この試料作製法は，セロファンテープ上に試料を固定し，その包埋度を簡単な手法で連続的に変え得る特長があり，光顕で包埋度の適当な個所を選び，filmy replica 常法でレプリカ作製を

行うものである。毛髪，花粉，胞子といつた繊維，粒子状試料の電顕観察には，S.M.R.法よりも簡単，確実な方法として期待できる。

エポキシ樹脂による試料（レプリカ膜）とメッシュの接着法は毛髪の例でテストを行つたが，接着剤の薄層を適度に調節することが難しく，高度の熟練と経験が予想される。良質ゴム板上に接着剤層を適度に塗るコツは，「息を吹きかけて僅かに白く濁る程度」といわれる。又，エポキシ樹脂はセロファンテープ接着固定法同様に，溶解除去できない試料の接着固定法としての用途があるという。

毛髪の電顕レベルの観察は意外に難しいことを経験した。毛髪の場合，表面成分の関係で微細なレプリカがとれにくいことも考えられる。試料内容の十分な理解と慎重な配慮が，filmy replica 法の成否を左右する鍵であることを改めて痛感した。

結　　び

Filmy Replica System を応用し，微生物試料の表面微細構造を研究するための基礎的実験を行い，結果を写真作例で示した。

filmy replica 法の変法 Self Mould Replica 法を中心に，第1段階として毛髪，花粉，胞子及び培養細胞夫々の試料について順次実験した。その結果S.M.R.法は，主要実験目標の培養細胞試料作製に不安定な方法と判り，filmy replica の常法（貼付法）に転換し，好成績をみるに至つた。

培養細胞（FL，Hep 2）のレプリカ観察では，特異な細繊維構造物質及び細胞核の立体的構造等の新知見が得られた。

しかし溶剤の影響，固定法等の検討に不十分な面があり，培養細胞に対して filmy replica 法が最適な試料作製法とは断言できない。これらの問題点は，ウイルス，細菌等のレプリカ観察と共に今後の課題である。

以上の実験結果から filmy replica 法は，生物試料の分野において，接写拡大，光顕，電顕観察の routin work として，甚だ有用であることを確認した。

おわりに御指導頂いた日本電子KK四本晴夫，船谷実氏はじめ原宿分室の方々，試料提供に御協力頂いた前記の方々に厚く御礼申し上げます。

本報告の要旨は昭和44年2月第10回日本医学写真学会，同年9月第3回関東支部例会に夫々発表した。

文　　献

1）深見章：電子顕微鏡，4（1），36～40（1955）
2）Sugihara, K. and Yoshida, M.: J. Elect. Micro., 17（2），156～157（1968）
3）深見章：電子顕微鏡，8(1)，78（1959）
4）深見章：電子顕微鏡，3（2），16～20（1954）
5）前木吾市：都立衛生研究所年報，（17），63（1965）
6）魚住正：日林誌，48（8），334～341（1966）

写　真　説　明

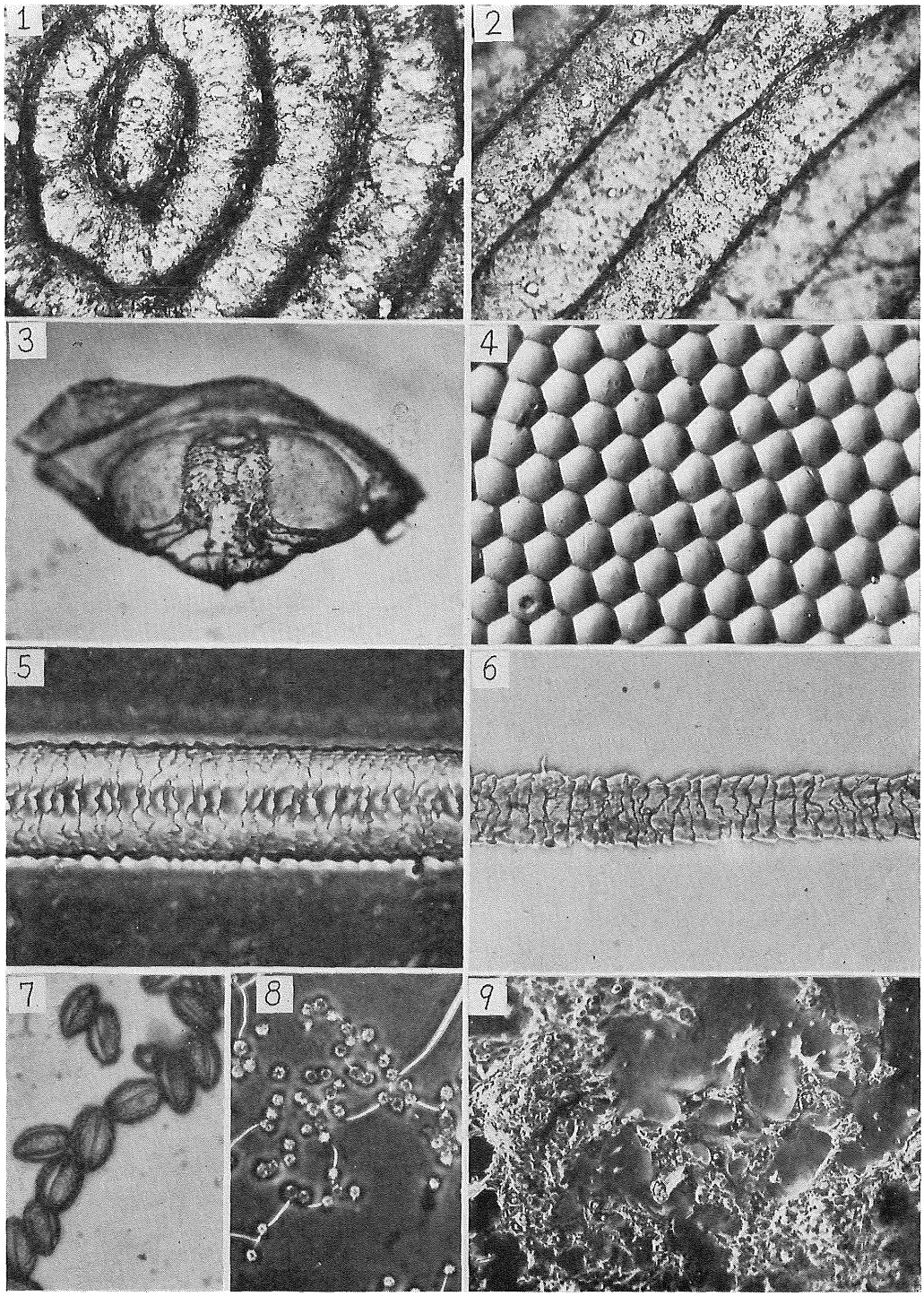
No. 1，15，16を除く他はすべて filmy replica 法の作例である。詳細は本文参照。

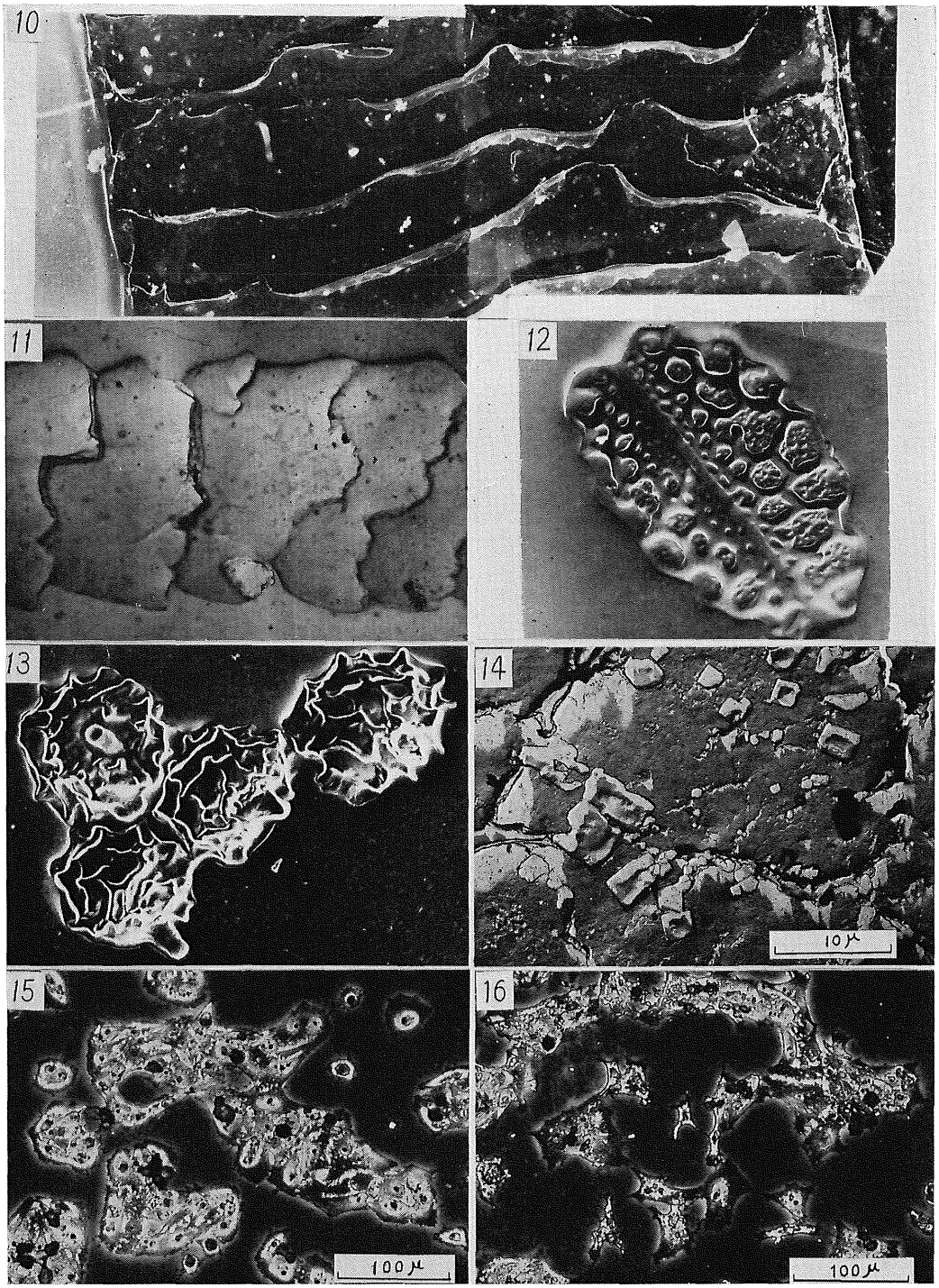
No.

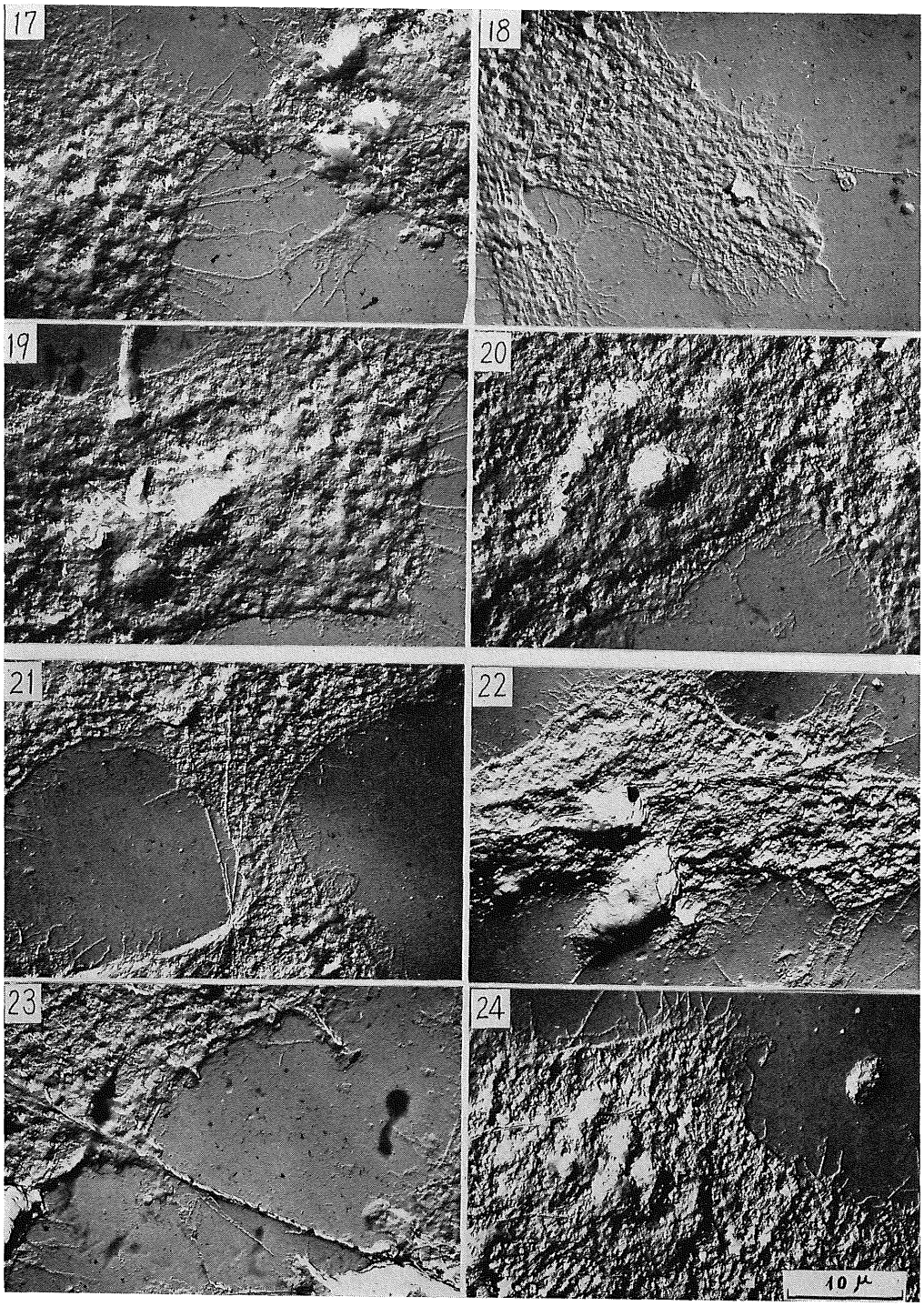
1．指紋，スンプ法（押しつけ法），光顕（×30）
2．指紋，filmy replica 常法（以下略して貼付法），光顕（×30）
3．玉虫頭部のレプリカ，貼付法，接写拡大（×9）
4．玉虫複眼，貼付法，光顕偏斜照明（×170）
5．過度のパーマをかけた毛髪(良質クリーム使用)，Self Mould Replica 法（以下略してS.M.R.法）光顕位相差照明（×170）
6．過度のパーマをかけた毛髪（普通クリーム使用），S.M.R.法，光顕落射照明（×170）
7．ネコヤナギ花粉，S.M.R.法，光顕透過照明（×340）
8．きのこ胞子（ベニダケの一種），S.M.R.法，光顕位相差照明（×340）
9．培養細胞FL，貼付法，光顕異色照明（×340）
10．毛髪，写真5と同じ試料，S.M.R.法，電顕，反転焼付（×1500）
11．毛髪，写真6と同じ試料，S.M.R.法，試料とメッシュの接着法実施，電顕（×1700）
12．ネコヤナギ花粉，写真7と同じ試料，S.M.R.法，電顕（スーパースコープ），反転焼付（×2300）
13．きのこ胞子（ベニダケの一種），写真8と同じ試料，S.M.R.法，電顕，反転焼付（×2900）
14．培養細胞 slide culture（自然乾燥固定）上に析出した NaCl 結晶，S.M.R.法，電顕（×1700）negative shadow 解説参考写真
15．培養細胞 Hep 2，slide culture，光顕位相差照明（×170）
16．培養細胞FL，slide culture，光顕位相差照明（×170）
17～20　培養細胞 Hep 2（自然乾燥固定），S.M.R.法，電顕（×1700）
17，18は細い繊維構造物質，19，20は細胞核(核，仁）の構造が撮影目標
21～24　培養細胞FL（10%フォルマリン固定），貼

付法，電顕（×1700）
21～23は細い繊維構造物質，24は細胞核(核，仁)の構造が撮影目標

（註）　説明文の配列は，試料名，試料作製法，光顕，電顕写真の区別，凡その倍率，短文説明の順とした。


1
2
3
4
5
6
7
8
9


10
11
12
13
14
15
16
10μ
100μ
100μ


17
18
19
20
21
22
23
24
10 μ

昭和43年度臨床試験部の研究業績

柳　沢　文　正*

昭和43年度における当部の研究業績は，過去21年間行なつてきたカルシウムおよびマグネシウム代謝の研究が主である。これについては多方面から研究を重ね，本年当研究所よりこの研究を一応総括し過去の業績をまとめて報告した。

また昨年に引きつづき，中性洗剤の生化学的研究を行なつた。とくに当部山岸達典により行なわれた“ＤＢＳと免疫”の問題は，今後界面活性剤研究の新しい分野の開拓となろう。

一方長年参画してきた食糧構成基準調査委員会の委員として食生活の問題についても研究を重ね“食酢とカルシウム”について報告を行ない，食生活の改善に寄与した。

界面活性剤の研究

とくにドデシルベンゼンスルフォン酸ソーダとヘモグロビンとの複合体物質の抗原性について

第65回日本獣医学会総会において発表した（昭和43年４月８日）

柳　沢　文　正*　山　岸　達　典*

STUDIES ON A SURFACE ACTIVE AGENT, WITH SPECIAL REFERENCE TO THE ANTIGENICITY OF A CONJUGATES OF DODECYLBENZENE SULFONATE-HEMOGLOBIN

Fumimasa YANAGISAWA and Tatsunori YAMAGISHI

(Department of Clinical Examination, Tokyo-to, Laboratorie for Medical Sciences)

Little is known on the toxicity of dodecylbenzene sufonate (DBS) to man and animals, where as DBS has widely been used as a main components of the most synthetic detergents. The authors had a special interest in a prolonged affects of DBS against animal health, particularly in its affections on the inzymatic activity in vivo, or the mechanisms of its absobtion into organs, since a trace amounts of DBS might be absorned through the skin or the mucous membrane of the users of DBS containing detergents, and it might be possible to accumulate in their organs.

In this paper, the formation of conjugates of DBS-hemoglobin in vitro, and of their antigenicities against animals are discussed. The results obtained are summarized as follows.

1) A conjugate was precipitated by adding hemogulobin (Hb) into the DBS in

* 東京都立衛生研究所　臨床試験部

acidic solution, and quantities of the harvested precipitates were according to the DBS-Hb concentration ratio, pH and temperature adopted.

2) All the animals previously immunized by inoculating DBS-Hb conjugate left at 5°C for a 8 dazs, intradermaly for a consecutive 10 weeks at one week intermal, had developed allergic shocks or arthus phenomenon, when the same antigen was re-introduced through same route at 4 weeks after the last injection.

3) All the control aanimals treated by same way previously just as described above, had faild to exibit any sign of allergic shock or arthus phenomenon, when DBS, Hb or chemically denatured Hb were separately introduced into individuals.

4) The conjvgate left at 5°C for a period of 1 to 6 days had showed specific reaction with Hb.

1. はじめに

通常，薬物はセミハプテンであるから，それ自身においては抗原となり難いが，ある種の化合物，たとえば，サルバルサン，サルファ剤，ペニシリンなどは生体内に入ると多分体のタンパク質と結合して完全抗原となり感作の成立を可能にすると考えられている[1)~6)]。またある種のキノン化合物には体内で代謝分解されて変化したものがタンパク質と結合して感作能力をもつといわれている[1)]。しかし，いまだ証明されていない化合物もかなり多い。界面活性剤のドデシルベンゼンスルフォン酸ソーダ（DBS）もその一例であろう。

この界面活性剤はおもに合成洗剤として利用[7)~8)]されているが，最近になつて生体内におよぼす影響および皮膚に対する影響などの問題[9)~49)]が公衆衛生学的に広く関心を深めている。とくに本剤による皮膚湿疹の発症成因は primary irritant（一般の人の皮膚にある濃度で炎症を起す物質）か，あるいは Sensitizer（多数の人の皮膚には無反応であるが，感受性の強い皮膚には炎症を起す物質），またはアレルギー性感作物質とみなすのか，その賛否[37),38),40),41)]が論じられている。

したがつて著者らはこれらの問題を免疫化学的に検討するために，まずDBSとヘモクロビンの結合関係およびその複合体物質の抗原性などについて検索した。その結果より2～3の新知見を得たので，これをもとに考察を加えた。

2. DBSとヘモグロビンの複合体物質について

著者ならびに協同研究者らはさきに報告したごとく in vitro におけるDBSの溶血作用に関する研究を行なつた。その際，pHが酸性側のDBS溶液（0.85% NaCl 含有）中に一定量の赤血球を添加した時，DBSと赤血球の濃度比の関係によつてヘモグロビンと思われるものが沈澱する現象を観察した。本実験においてはこの沈澱現象について詳細に調べた。

実験材料および方法

1. 試供薬剤

DBS（東京化成，純度78.9%は98.0%に精製したものを使用した。この精製には冷エタノール中のDBが沈澱する性質を利用して行なつた。まず加温状態で濃厚なDSBエタノール溶液を作りそれを4°C の冷室に24～48時間静置した。これによつてDBSはほとんど白色の沈澱物となつた。また製造中に混入された夾雑物（主として Na_2SO_4）は溶液しているから，この上層液は吸引して除去した。その後，DBSの沈澱物は50～60°C のエタノールに再び溶解させた。このような操作を数回くり返して純度を高めた。なお，その主成分の定量にはP－トルイジン法[8)]を用いて求めた。

2. 赤血球浮遊液およびヘモグロビン溶液

血球はヒツジ全血液（椎橋商店より購入）を用いた。この赤血球浮游液（R.C液）は法のごとく生理食塩水で血球を5～6回洗滌して所要濃度としたものを使用した。またヘモグロビン溶液（Hb溶液）はこの洗滌血球液に同等量の蒸溜水を加えて 4°C の冷室で48時間放置して溶血させた。その溶血液はトルエンで脂質類を分離して Drabkin 法[50)]によつて結晶ヘモグロビンとした。このヘモグロビンは蒸溜水にとかして用いた。

3. 緩衝液

Gomori[51)]のリン酸緩衝液（$0.2MH_2PO_4$，$0.2MNa_2HPO_4$）に塩化ナトリウム（0.85%）を加えたものを使用した。

そのほかの実験材料および方法については成績の項でそのつど記載した。

実 験 成 績

本実験はＤＢＳと赤血球の濃度比によつて起る沈澱現象ならびにその生成物質について調べた。かつＤＢＳによる Hb 吸収曲線の変化あるいはＤＢＳ—Hb 複合体物質中の Hb 測定法などについて検討した。さらにこれらの実験成績を基礎としてＤＢＳと Hb の関係について検索した。

1.　ＤＢＳと赤血球の関係

一定濃度の Ｒ．Ｃ 液に段階稀釈されているＤＢＳ溶液（0.85% NaCl 含む）を加えた場合，その溶液が弱アルカリ性であれば，ＤＢＳは約10μg/mlの濃度まで溶血反応を示してその溶液が鮮紅色透明となつた。しかし，弱酸性側では一部の試験管に暗褐色の溷濁物質が認められた。この物質は遠心操作あるいは静置することによつて沈澱した。この沈澱現象はＤＢＳと赤血球の濃度比によつて一定の範囲に生じた。すなわち，一方の物質が多くとも少なくともこの現象は起り難い。またその時の pH，温度および作用時間によつて左右された。したがつてこの沈澱現象を恒常的に観察するためには一応その作用条件を規制する必要があつた。この条件はＤＢＳ溶液とＲ．Ｃ液の濃度限定，pH 6.0，温度37°Ｃおよび作用時間30分間とした。これによつて生成される溷濁物質はただちに分光光度計(Coleman M—14）の任意による波長（650mμ）を用いて溷濁度を測定した。その結果，ＤＢＳと赤血球の関係は第１図に示すごとく，Ｒ．Ｃ 液の濃度に対してＤＢＳの添加量が少ない時は溶血反応を示して透明な淡紅色を呈したが，中等量を加えたものは暗赤褐色の顆粒状溷濁物質が認められた。さらにＤＢＳを大量に注入した溶液ではほぼ透明となり溷濁を生じない。

2.　沈澱物質について

この生成物質はいかなる物質であるかについて調べた。

その結果，この沈澱物質を顕微鏡で観察すると，あたかも血清反応時の凝集物質のようにみられた。しかしその物質中には赤血球を全く含有されていなかつた。したがつて完全に溶血されていることから赤血球被膜間の融合による沈澱ではないことが認められた。しかし，破壊された赤血球の被膜中におけるある物質がＤＢＳと結合してそれが核的存在となり Hb あるいは，脂質の沈澱を起すものと考えられた。そこで赤血球被膜あるいは脂質類を除いた Hb で沈澱現象が起るかについて調べた。すなわち，結晶 Hb を用いて上述の条件で溷濁度の測定を行なつたところ Ｒ．Ｃ 液を使用した場合と全く同様な溷濁物質が認められた。これによつて沈澱物質は Hb と思われた。しかしこの沈澱現象には塩化ナトリウムの存在のもとで生じた。したがつてＤＢＳと Hb の結合に際しては少量の NaCl とくに Cl^- の存在がなければ，この反応は促進されないようであつた。

このＤＢＳ—Hb 不溶性複合体物質はアルカリ溶液で容易に溶解されたまた。その溶液を電気泳動（東洋沪紙No.51，Veronal Buffer，pH8.6，μ=0.05，200 V，2.5mA）で泳動を行なうと，Hb は移動するが，ＤＢＳは原点付近に残存した。このＤＢＳの検出にはピナクリプトール，イエロー法[52]あるいはエタノール

図１

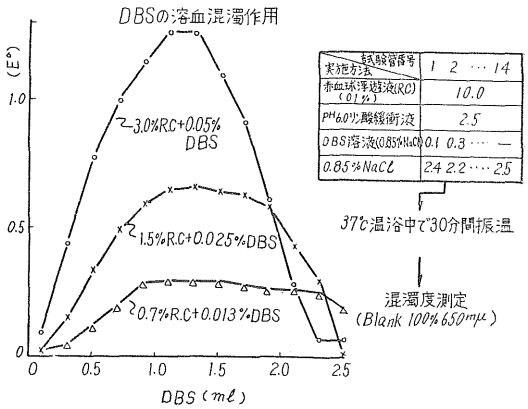
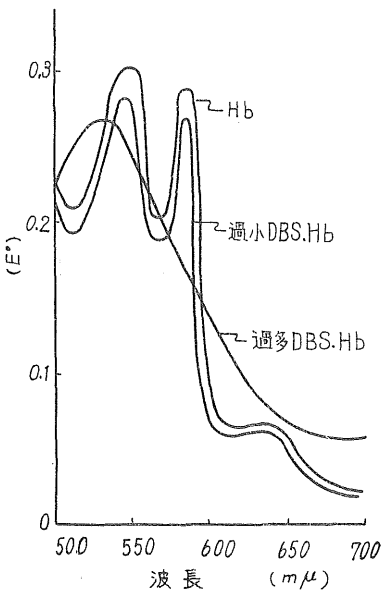


図２

DBS添加Hb の吸収曲線



抽出によつてメチレン・ブルー法[53]で求めた。またDBSは複合体物質から直接エタノール抽出によつても検出された。

なおDBSの過少ならびに過剰の添加時におけるHb の吸収スペクトルは第2図のごとくであつた。

3. 複合体物質の Hb の測定方法について

DBSと Hb の結合関係を調べるにあたつて複合体物質中から Hb を定量的に測定もる必要があつた。

通常, Hb の定量には Fe または特定波長域の吸光度を測定する方法が応用されている。本実験においては複合体物質をNaOHによつてDBSを複合体から遊離させると同時に Hb をアルカリ変性ヘマチンとして測定する方法を採用した。

3—a. アルカリ変性ヘマチンによる定量法の検討

吸収スペクトル(第3図) DBS—Hb 複合体物質は0.2N NaOHで溶解させると暗赤色から淡黄色に変化した。この吸収曲線は Automatic Recoding spectrophotometer (SHIMADZU Ⅳ—50A No. 92271) によつて求めた'その結果, 複合体の Hb ならびに無結合の Hb は NaOH によつていずれも Hb 特有の500～700mμ の吸収が小さくなり, その極大吸光度は 396 mμ 付近に認められた。

安定度(第4図):複合体の Hb および無結合の HbのNaOH処理による安定度は上述の成績から一応波長を 400 mμ として colman の分光光度計で経時的に求めたところ, 第4図のごとくであつた。すなわち, NaOHを添加してから20分間は不安定であつたが, そ

図3

NaOH 添加による複合体物質の吸曲線

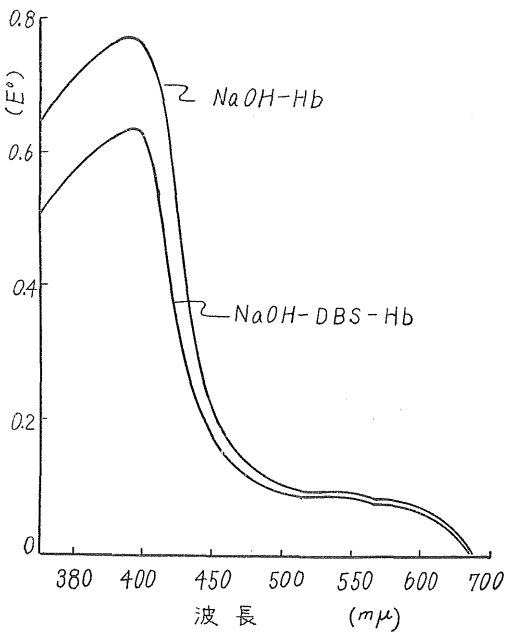


図4

アルカリ変性ヘマチンの安定度とNaOHの影響

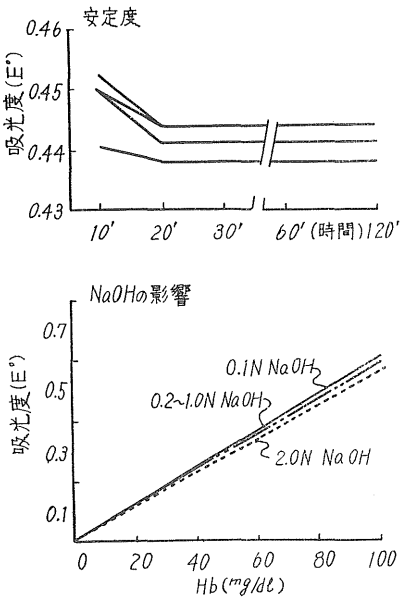
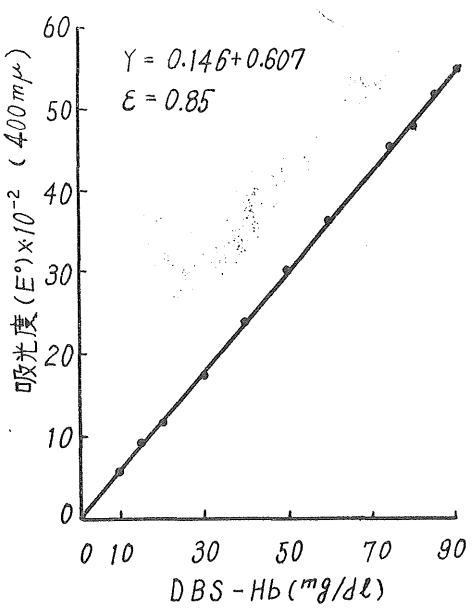


図5

検量線



の後は比較的に安定した吸光度が得られた。また NaOH の濃度については0.1N～2.0N NaOH溶液について検討したがいずれも30分間作用させると大差のない結果となつた。

検量線（第5図）：まず未知の Hb 溶液は O-phnantoline 法[69] によつて Fe を測定して Hb 100 mg/dl になるように調製したものを標準液としたこの標準液を用いて検量線を作製した。

測定誤差(第1表)および妨害物質：測定誤差率は約0.7％程度であつた。また試料中の妨害物質は含んでいないようであつた。

表1　複合体物質中の Hb 量および結合前の Hb 量の比較

(mg/dl)

試　料	複合体物質中のHb量	結合前の Hb 量
1	480	480
2	480	486
3	480	483
4	483	483
5	483	486
6	483	486
7	483	490
8	486	486
9	483	483
10	486	486
11	476	480
12	480	483
13	483	490
14	486	483
15	486	480
平均値	482.5 ±2.5	484.3 ±3.1

表2　本法と他法との比較

(mg/dl)

試料	分析法			
	本　法	O-phenantholine法	Cyanmethohemoglobin法	Oxyhemoglobin法
1	4.3	4.3	4.3	4.5
2	4.4	4.3	4.2	4.4
3	4.4	4.3	4.4	4.4
4	4.4	4.4	4.4	4.5
5	4.4	4.3	4.3	4.7
6	4.3	4.4	4.2	4.2
7	4.4	4.3	4.3	4.7
8	4.3	4.3	4.3	4.3
9	4.3	4.5	4.3	4.3
10	4.4	4.3	4.4	4.3
平均値	4.4±0.2	4.3±0.1	4.3±0.2	4.5±0.5

本法と他法の比較：第2表に掲げたように Hb のみを測定するにあたつては本法と他法との値に有意な差異を認め難いが，複合体の Hb を測定するには著しい差量が認められた。O-Phenantoline 法においては還元時にＤＢＳの Creeping をきたして Hb の流出となるために正確に測定することができなかつた。また Oxyhemoglobin 法，cyanmethemoglobin 法においてはＤＢＳの妨害が認められた。

4.　ＤＢＳと Hb の結合関係

pH が酸性側で一定濃度の Hb 溶液中にＤＢＳを段階的に添加した場合，ＤＢＳ—Hb 複合体物質の形成はＤＢＳと Hb の相対比によつて第6図に示すように放物線的に生成された。しかしこの生成時の条件を変えることによつて複合体物質の沈澱量は非常に違つた。したがつてこの条件である pH，温度，時間ならびに結合比の関係などについて検討した。

pH の影響（第7図）：pH 6.4より酸性側であれば，複合体物質の生成量はほとんど変らないが，これより中性および弱アルカリ性に傾むくにつれて生成量は減少するか，または全く形成されない。しかし，一度複合体に形成されたものは結合反応時のごとく極度に pH の影響を受けない。

温度と時間との関係：まず作用時間を一定にして温度を変化させた場合（第8図），低温時においてはその反応が著しく抑制された。しかし温度の上昇にともないこの反応は漸次的に促進された。またＤＢＳと Hb の相対比からみると，低温時の Hb に対するＤＢＳ量は高温時に比較して多く消費された。つぎに温度を一定にして時間を変えた場合（第9図），37°Ｃの経時的生成率は30分値82％，60分値83％，120分値87％および240分値100％であつた。

図6

複合体物質の生成曲線と遊離Hbの関係

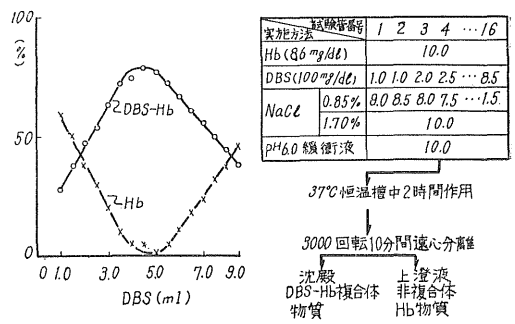


図7

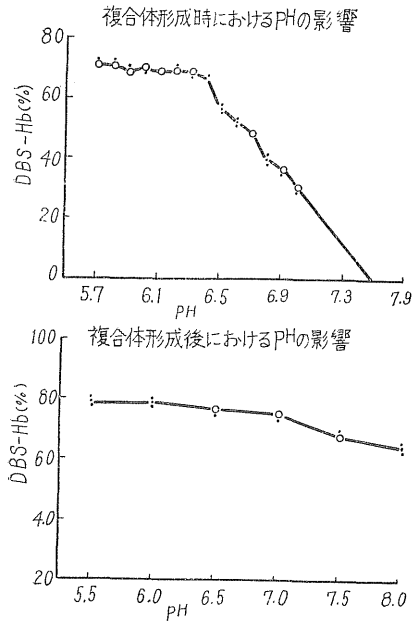


図8

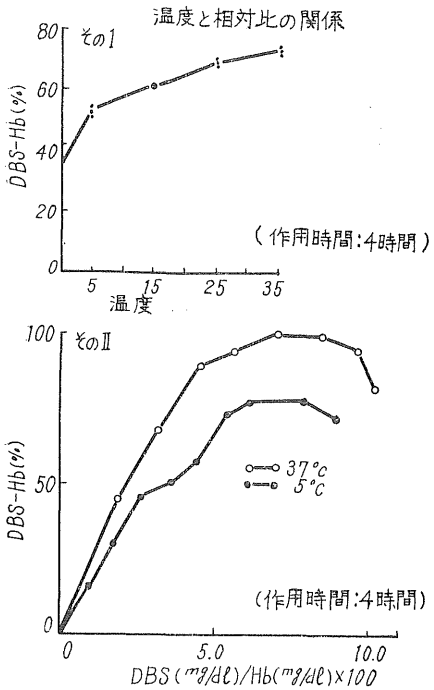


図9

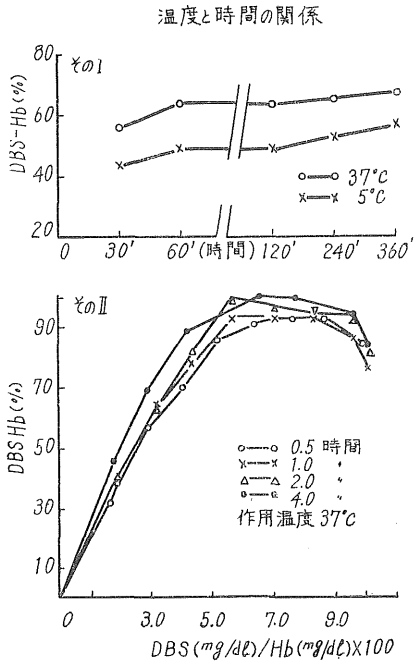
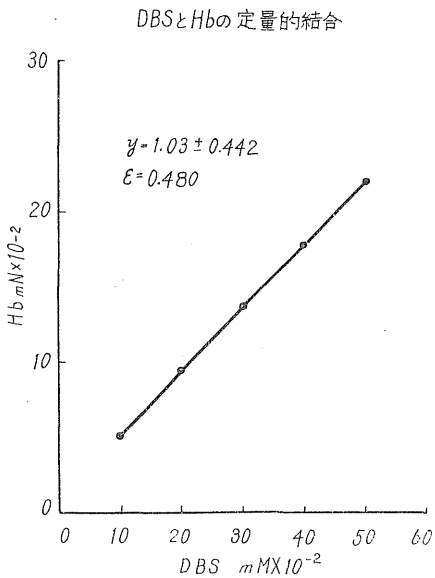


図10



ＤＢＳと Hb の相対比（第10図）：複合体物質の生成率は温度，時間，pH などによつて異なることから，その条件を pH 6.0，温度37°Ｃおよび作用時間240分間として相対比の関係を調べた。その結果，Hb に対するＤＢＳの割合が比較的に少ない時はほぼ定量的に結合された。この定量的に結合される割合は Hb 1 mM に対してＤＢＳ 2.0～2.3 mM であつた。この際，Hbの１mM は O_2 1 分子と結合する量を１単位分

子とみなして 1/1000 にあたる濃度を 16.7g/lとして計算した。またＤＢＳの１mMは0.346g/lとした（このＤＢＳのモル濃度は製造過程において，C_8～C_{16} を含むことから平均分子量を用いて算出した)。

小　括

in vitro においてＤＢＳは酸性側で Hb と相対比的に結合して複合体物質を形成した。しかしその生成量は pH，温度および作用時間などによつて左右された。

3.　複合体物質の抗原性について

ＤＢＳは酸性溶液中で Hb と結合して複合体物質を形成するが，この複合体物質を非経口的に体内に注入された場合，当該物質は免疫学的な活性を示すか否かについて検討した。

実験材料および方法

1.　試供薬剤ならびに Hb 溶液

ＤＢＳおよび Hb は特別に記載しない限り，前章と同様なものを使用した。ただし Hb 溶液は Scitz 沪過器で無菌的にした。またＤＢＳ溶液，緩衝液はいづれも高圧蒸気滅菌の処理を行なつたものを用いた。

2.　実験動物

動物はモルモット（200g前後，雄性）とウサギ（2.5 kg前後，雄性）の２種を用いた。

3.　複合　　質の抗原調整

複合体物質の作製には予め所要条件を pH 6.0，温度 5°C および作用時間24時間と定めてＤＢＳ（0.1％）と Hb（400～500mg/dl）の相対比を求めた。ついでＤＢＳ—Hb 複合体物質が約90％形成される値を Hb の定量から算出した。この予備操作によつて本実験に供する複合体物質は常に一定量を得られるようにした。

しかしこの複合体溶液中にはＤＢＳと結合していない遊離の Hb が存在するため，pH 6.0 の緩衝液で洗滌（遠心分離）してこれを除去した。その沈渣物である複合体物質は無菌的に乳針で粉細して所定濃度の 0.85％NaCl溶液（pH6.0，マーゾニン10,000倍稀釈）としたものをＤＢＳ—Hb 抗原とした。ただしこの抗原を動物に接種する時は同等量の流動パラフィンを加えたものを用いた。

4.　ＤＢＳおよび Hb の単独抗原

ＤＢＳ，Hb 抗原は１～10 mg/ml 濃度の生理食塩水を使用した。

5.　変性 Hb 抗原

変性 Hb は熱，トリクロール醋酸，水酸化ナトリウムおよび塩酸処理による Hb を用いた（30～300mg/dl)。

6.　抗原の感作および観察方法

感作方法：ＤＢＳ—Hb 抗原は週１回の割合で６～10週間にわたつて頚部皮下に30～300mgを接種した。この最終注射後３～４週間目に誘発注射を行なつてアルツス現象およびアナフィラキシーショック反応を観察した。この際，ウサギによるアルツス現象の皮内反応はＤＢＳ—Hb 抗原 10mg を皮内に注入した。モルモットのアラフィラキシー，ショック反応には複合体抗原が懸濁しているため，その上澄液 1.0～2.0ml を末梢静脈内に注入した。

観察方法：ウサギは誘発注射の２，３日前に電気バリカン（0.5mm使用）で背部の毛を 10×10cmの面積に刈取つた。その後ＤＢＳ—Hb，Hb，変性 Hb およびＤＢＳ抗原を皮内に注入して複合体物質の特異的な反応が現われるかについて観察した。なおアルシス現象の判定規準は法[1] にしたがつて測定した。また対照には生理食塩水を用いた。一方，モルモットは惹起注射後にアナフィラキシー，ショック症状を観察した。そのうち斃死したものは剖検および病理組織標本を作製してショック死の判定を行なつた。

実　験　成　績

1.　予備実験

複合体抗原の検討

まず複合体の作製条件による抗原性の差異について調べるために下記のごとく検索した。

ＤＢＳ—Hb 抗原はＤＢＳと Hb の相対比関係から Hb がＤＢＳ量に比してやや多いもの（これを最適比のＤＢＳ—Hb 抗原と呼ぶ）とＤＢＳを過剰に添加して作製したものとに２区分した。さらにこれらの複合体物質は一定の期間，結合状態のまま 5°C の冷室に放置したものとに組分けした。その結合期間は１，２，４，６および８日間とした。その後は実験方法の項で述べたごとく実施した。ただし感作動物はウサギを用いた。また抗体の証明には試験管内の沈降反応とアルシス現象の皮内反応について行なつた。

1.　皮内反応（第３表）

この成績の一般的特徴はＤＢＳと Hb の複合体期間が短い抗原を用いて感作したウサギほど単独の Hb 抗原に対して強く反応を示した。しかしその期間が長くなるにつれてこの反応は弱くなり，ついにはもとの Hb と反応を示さない。またＤＢＳ—Hb 抗原に対しては Hb の誘発注射のごとく反応の消失期を認めず一様に弱度の反応を示した。なおＤＢＳ単独の抗原では全く同様であり変化がなかつた。

表3　複合体抗原の作製条件によるAthrus現象

感作抗原 ＼ 抗原 ／ 複合体の結合期間(日数)		感作に用いた複合体抗原	Hb	DBS
最適比による複合体	1	＋	＋＋	－
	2	＋	＋＋	－
	4	＋	＋＋	－
	6	＋	±	－
	8	＋	－	－
DBS過剰添加による複合体	1	±	＋＋	－
	2	±	＋	－
	4	±	－	－
	6	±	－	－
	8	±	－	－

＋＋：惹起注射後，4時間目に直径15mm以上の発赤，浮腫，24時間目に直径10～15mmの浮腫が認められる場合
＋：惹起注射後，24時間目に直径5mm以上の浮腫が認められるもの
±：惹起注射後，4時間目に直径5mm以上の発赤，浮腫が認められるが24時間目には全く反応のないもの
－：全く反応のない

a）最適比のDBS—Hb抗原について

DBSとHbの結合期間が短い1～2日抗原の感作ではもとのHb抗原に対して発赤および浮腫が強く24時間値で直径50～70mmであつた。DBS—Hb抗原の誘発注射においては前者の反応に比して微弱であつた。つぎに4～6日の抗原感作ではHbの反応が前群に比較して弱くなり，24時間後の発赤，浮腫は痕跡を認めるに過ぎなかつた。結合期間の長い8日抗原の感作においてはもとのHbと反応せず，DBS—Hb抗原のみに反応が認められた。この24時間値の発赤，浮腫は直径21～24mmであつたが，48時間経過するとほとんど消失された。

b）DBS過剰添加によるDBS—Hb抗原について

結合期間の短い1～2日の抗原を接種した動物では最適比のDBS—Hb抗原とほぼ同様な成績であつた。しかしその結合期間が4日以上経過している感作動物ではもとのHbと反応を起さなかつたが，DBS過剰添加によるDBS—Hb抗原では前群に比較して弱度の誘発反応であつた。

2.　沈降反応

試験管内の血清反応には沈降反応の重層法とゲル内平板法を用いて行なつた。しかし本試験を応用するにあたつて下記に示す事項が大きな障害となつた。

i.　DBS—Hb抗原はアルカリ側で可溶性となるが，DBSとHbは遊離された。酸性側では結合型を呈しているが不溶性であつた。

ii.　DBSは酸性側でタンパク質を凝集沈澱させる性質があつた。すなわち，DBSを正常血清に直接に重層あるいはゲル内で拡散させた場合，pHが酸性である時は重層法でDBS 45μg/ml の濃度まで血清を凝集して偽環反応を示した。またゲル内拡散法では200μg/mlの濃度以上にDBSを含有していれば凝似反応を呈した。しかしアルカリ性の場合ではDBSのタンパク凝固作用を起さないが，複合体は解離された。

したがつて本試験に使用したDBS—Hb抗原はpH 6.0の緩衝液で再度洗滌して溶液中に含まれている遊離のDBSを20μg/ml以下とした。この遊離DBSの検出は溶血反応を応用した柳沢法[69]を用いて測定した。なお抗血清あるいは使用する寒天平板（Difco製，Spcial Agar'Noble，0.2%）はpH 6.0に修正した。

その結果，重層法における沈降反応では皮内反応の成績とほぼ一致した。またゲル内平板法においても同様であつたが，その成績は再現性に乏しかつた。

以上の実験成績からDBS—Hb抗原は最適比の割合で調製した8日間結合状態の抗原を選んで本実験に使用した。また免疫反応については試験管内の血清反応より生体反応によつて観察することが望ましいと考えられた。したがつて下述のDBS—Hb抗原の特異性を検討するにあたつてはこれらの実験方法を採用して実施した。

本実験

1.　DBS—Hb抗原の特異性

この予備実験の成績にしたがつてその特異性にはアルツス現象（ウサギ）およびアナフィラキシー・ショック反応（モルモット）を応用して観察した。

a　皮内反応（第4表）

DBS—Hb抗原で感作したウサギは10例であつたが，そのうち8例が複合体抗原の誘発注射によつて反応を示した。しかし単独抗原のHb，変性HbおよびDBSとは反応を起さない特異性が認められた。

b　ショック反応

モルモットの感作方法はウサギの場合と同様に実施したが，惹起注射は最終注射後4週間目に行なつた。その感作モルモットは総計33匹で，そのうち15匹は複合体抗原の誘発注射を行なつた。単独抗原のHb，変性HbならびにDBSの惹起注射には3例宛18匹につ

いて行なつた。

その結果，複合体抗原の注射によつて4例がショック症状を示した。しかしHb，変性HbおよびDBS

表7　DBS-Hb抗原（8日間結合）によるAthrus現象

（24時間値の成績）

抗原／動物番号	DBS-Hb 反応の直径mm	DBS-Hb 判定	Hb	変性Hb 熱	変性Hb トリクロール酢酸	変性Hb アルカリ	変性Hb 酸	DBS
1	15×15	＋	－	－	－	－	－	－
2	20×20	＋	－	－	－	－	－	－
3	24×20	＋	－	－	－	－	－	－
4	14×16	＋	－	－	－	－	－	－
5	—	－	－	－	－	－	－	－
6	15×17	＋	－	－	－	－	－	－
7	12×12	＋	－	－	－	－	－	－
8	—	－	－	－	－	－	－	－
9	14×14	＋	－	－	－	－	－	－
10	9×9	＋	－	－	－	－	－	－

写真1

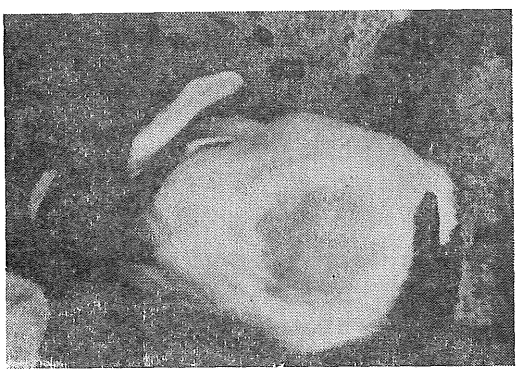
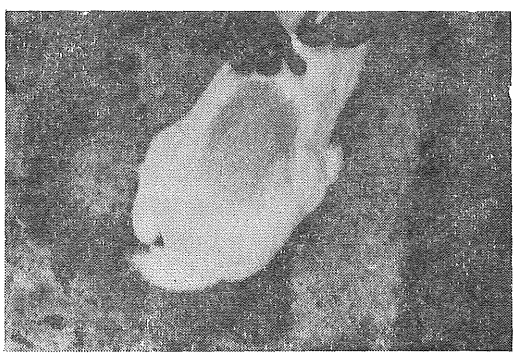


写真2



ＤＢＳ—Hb抗原（8日間結合）によるArthus反応。その複合体物質の惹起注射においては反応を示すが，もとの単独抗原のＤＢＳ，Hbおよび変性Hbでは無反応であった。

の注射では全例ともにショック症状を呈さなかつた。このＤＢＳ—Hb抗原の惹起注射によつてショック症状を現わした4例は2匹が死亡して，2匹が生存した。その症状は下記の通りであつた。

死亡例の1匹は誘発注射後2～3分で呼吸困難，喘鳴，脱糞および痙攣などの症状を示して遂に死亡した。他の1例は抗原注入後，不安状態，立毛および呼吸速進の症状を呈して次第に呼吸困難，跳躍などの経過をへて約25分後に死亡した。この死亡例のモルモットは剖検後病理組織標本を作製した。その成績は著明な肺気腫を認めたが，その他の臓器は正常であつた。また生存例の2匹は立毛および不安状態程度にとどまり，30分後はほとんど正常に回復した。

写真3

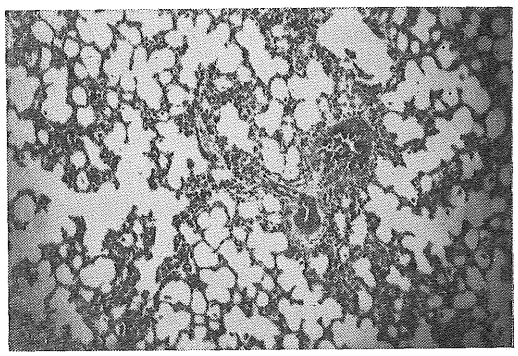
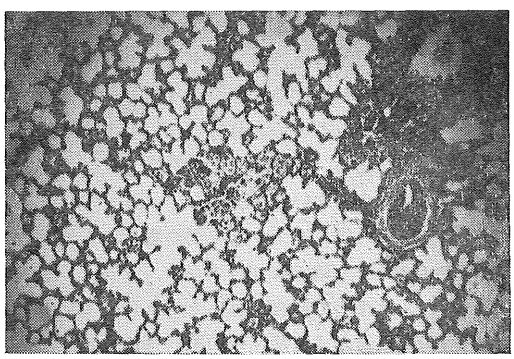


写真4



ＤＢＳ—Hb抗原（8日結合）の惹起注射によってshock反応を示して死亡したモルモットは着明な肺胞気腫が認められた。

小　括

本章はＤＢＳ—Hbの複合体物質の免疫学的活性についてアルツス現象およびアナフィラキシー・ショック反応から検索した。その成績は下記の通りであつた。

1.　複合体形成後の経過時間が短い抗原で感作した

場合，その動物はもとの Hb と強く反応を示した。しかし，結合期間が長くなるにつれて反応は弱くなり，遂に消失した。

2. 長期（8日間）結合の複合体抗原による感作ではＤＢＳ—Hb 抗原の誘発注射によつてアルシス現象ならびにショック反応が観察されたが，単独の Hb，あるいは変性 Hb の惹起注射によつては反応を示さなかつた。

4. 考察および総括

この10年間，著者らは合成洗剤の主成分であるＤＢＳが生体に影響をおよぼすか否かについて生化学的立場から究明[9)~17)]してきたが，今回は免疫化学的な面からＤＢＳと Hb の結合関係およびその複合体物質の抗原性などについて検索を行なつた。その結果から2，3の考察を加えてみた。さらに前回の経口投与時の血球諸性格量の消長[16)]ならびにアレルギーと何らかの関係があると思われる文献について簡略に述べたい。

1. ＤＢＳと Hb の結合について

界面活性剤とタンパク質との結合に関する研究[54)~60)]は古くから行なわれている。この界面活性剤にはおもに陰イオン系のラウリル硫酸ナトリウム，ドデシル硫酸ナトリウムなどか，あるいは陽イオン系の第四級アンモニウム塩が使用されている。またタンパク質は卵白アルブミン，ウシアルブミン，β—ラクトグロブリンなどが用いられている。これらの結合に関する研究には Putnam[54),59) 60)]，Karush[56)]，Klotz[58)] らの報告がある。これによると，タンパク質は酸性溶液中で正イオンに帯電されているため陰イオン系の活性剤が静電気的に結合されるといわれている。しかし pH が全く逆の方向の場合，陰イオン系活性剤とタンパク質の結合関係が成立しないとは限らないという。これはタンパク質内の結合イオンと反対の電荷をもつ解離基の存在（アルカリ側ではヒスチジン，リジン，アルギコンなど）によつて結合されると考えられている。またこの結合に参与する活性剤の結合基はスルフォン基[92)]であろうといわれている。タンパク質においてはオキシアミノ酸の OH 基か，あるいは COOH 基に結合されると推論されている。

一方，ＤＢＳと Hb の結合関係についてはほとんど研究されていないが，その結合は上述のごとく，おそらく Hb のタンパク質部とＤＢＳが結合されたものと思われる。その結果，Hb の等電点以下の状態で複合体物質が沈澱する現象を示したものと推定される。

2. 複合体物質の抗原性について

本実験の成績についてみると，まず皮内反応の感作動物は複合体抗原に対して10匹中8例が陽性に転じた。その局所の炎症は一般に4～24時間にはげしく反応を示して以後消褪した。またこの感作動物はもとのＤＢＳ，Hb あるいは変性 Hb と反応を起さない特異性がみられた。しかし予備実験の成績のごとく，ＤＢＳと Hb の結合時間が短い抗原を用いて感作した場合，その動物は複合体抗原ならびに単独の Hb 抗原の惹起注射で共通の反応を示した。

一方ショック反応においては18匹中4例がアレルギー・ショック反応を示した。そのうち2例はショック反応で死亡したが，ほかの2例は軽いショック様の症状を呈して生存した。しかし単独抗原では死亡ならびにショック様の症状を認めなかつた。

以上のことから複合体の抗原性は人工抗原のアゾタンパク質のごとく特異性決定群であるかのように思えるが，ＤＢＳの性質にはサルチル酸，トリクロール酢酸，尿素などの化学物質と同様にタンパク質を変性させる作用がある。したがつてその抗原性は Hb が再生容易な可逆的変性[61)]から不可逆的変性タンパク質に移行するため Hb 自身の特異性決定基を失う，その結果この不可逆的変性 Hb の抗原性のみが感作を成立させる能力を保有するものと考えられる。また単独の変性 Hb がこの感作動物と反応しないということは変性の形態が異なるためと思われる。しかし皮内反応の型からみれば，遅発型アレルギーというより，即時，遅発の混合型アレルギーの様相を帯びている。また少数例であるがショック反応がみられたことはアゾタンパク質のような性質があるようにも思える。

ところで，ＤＢＳとアレルギーが何らかの関係があるように思われている点について2，3の文献から簡略に述べると下記の通りである。

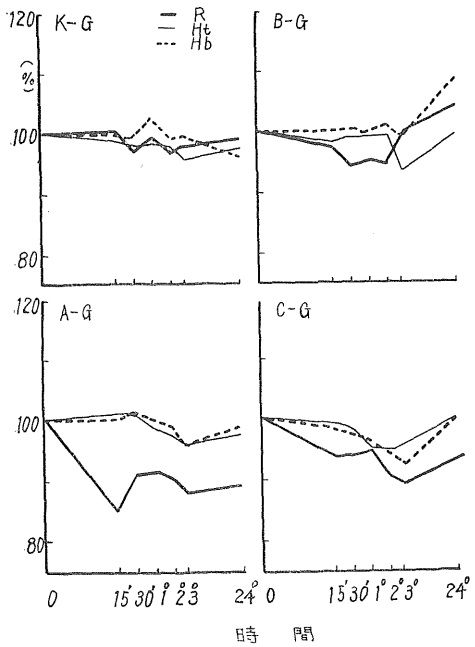
1. 血球諸性格量の消長[16)]について

さきに報告した経口投与時の血球諸性格量の消長においてはつぎのごとくであつた。

ＤＢＳを動物に経口投与した場合，赤血球数，白血球数ならびに白血球分画のリンパ球，好酸球などは減少する傾向を示した。また平均赤血球容積（ＭＣＶ），平均赤血球色素量（ＭＣＨ）および好中球は増加する傾向を呈した。

これらの消長を相互的な見地から検討した場合，まず赤血球諸性格量におけるＭＣＶ（10Ht/Rμ³），ＭＣＨ（10Hb/Rrr），平均赤血球血素濃度ＭＣＣ（100Hb/Ht%）の平均増減率曲線からその相関関係を求めると，第11，12図に示すごとく，対照群は極めて僅かな

図11



A-G　DBS　100mg/kg　投与群
B-G　DBS　50mg/kg　投与群
C-G　DBS　25mg/kg　投与群
K-G　　対照群

図12

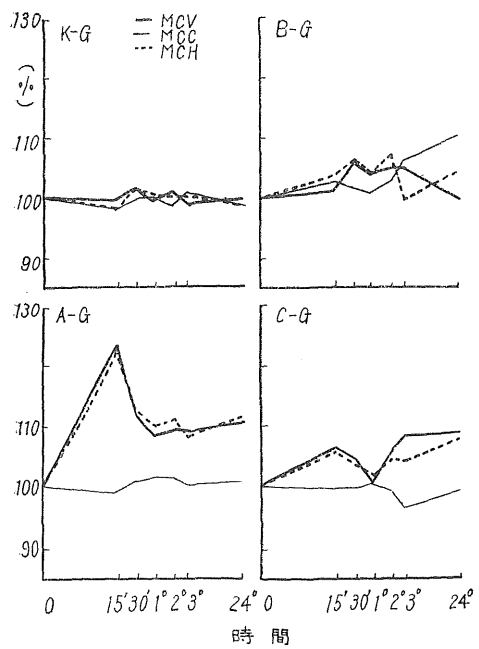
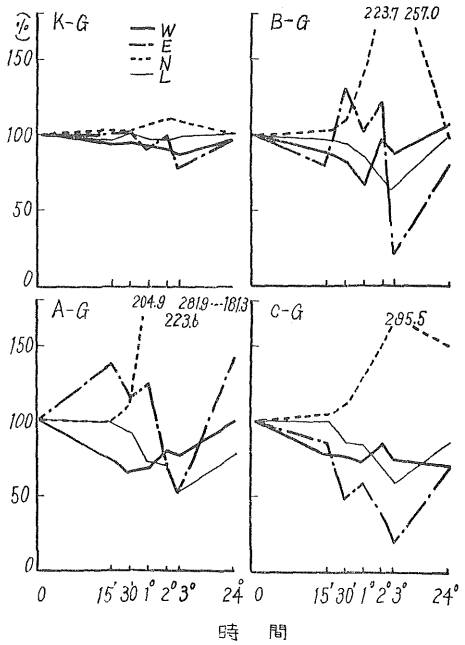


図13



変動であり，各時限値とともに前値の水準付近に推移した。これに比較して大量投与群（100mg/kg）は投与後15分値にMCVおよびMCHが付随的に増加する傾向を示した。その後の両者の消長は30分値～1時間値にやや減少するも加相の状態を維持した。一方，MCCの動きはほとんど微動であり不変であつた。これらの傾向は少量投与群（25mg/kg）においても同様であつた。したがつてこれらの特徴的な消長はMCVとMCHが平行して増加したにもかかわらず，MCCが恒常的に不変一定であつたといえよう。すなわち，一般的な貧血症の場合，MCVが変化することによつて真性の小赤血球症あるいは真性大赤血球症とするならば，真性小赤血球症ではMCV，MCHおよびMCCの3指数がそろつて小さくなる。また真性大赤血球症はMCVが大きくなりMCCは不変である。この成績では赤血球数（R）の減少にもかかわらず，Hbの濃度に変化がなく，その血球の含有しているHbの絶対量が増加したものと考えられる。したがつてMCVは増加して大型の赤血球の出現となり，MCCはむしろ常に一定であると思われる。このことからDBSは一時的な貧血症候群あるいは溶血性貧血症の要因となり得ると推定される。

また白血球諸性格量の消長についてみると，薬剤投与群の特異的な消長は白血球数(W)，リンパ球(L)および好酸球（E）が減少する傾向であつた。かつ好中

球（N）は増加を呈する傾向であつた。これらの動きでとくに注目された点はEの消長であつた。すなわち，大量，中等量のDBSが投与後におけるEの消長は初期に増加して，ついで減少の様相に転じる二峯性の推移であつた。小量群では初期の増加が認められないが，3時間値の－50％減少する傾向は同様であつた（第13図）。この傾向はあたかも Adrenalin-shock あるいは Thorn-Test 時におけるEの－50％低下現象[62)~64)]と類似したところに興味ある消長であつた。さらに白血球数の一時的な減少についてみた場合，東京医科歯科大，柳沢文徳教授らの報告[65)]によると，DBS 2 μg/kgの静注で白血球数が2～3時間値に最低値を示し，6時間値にほぼ恢復するという。この成績においても同様に投与初期の白血球総数が減少する傾向を示したことからDBSの特徴的な作用の一つと思われる。

つぎに血球の変動期についてみると，各血球の動きはおもに投与初期に主として増減を示した。この現象はDBSの体内吸収と何らかの関係があるように思われる。すなわち，^{35}S標識による経口投与時の生体内吸収に関する研究で報告[13)~14)]したごとく，DBSの血中への移行は投与後2～3時間値に最大の吸収量を示した。ついで肝臓，腎臓，肺臓などの各臓器が4～6時間に収納量の極値となつた。したがつてDBSが諸血球に何らかの影響をおよぼすとするならば，この投与初期において強度の反応が現われるものと思われる。

2. 侵入経路および体内吸収：DBSは経口[13)~14),34),45)]，経皮[33),42)]のいずれの経路をへても体内に吸収される。すなわち，経口的には上水道汚染[66)]あるいは，野菜[10),18),31)]などの残留DBSの摂取による機会が多い。また経皮的には洗濯，食器洗いなどによる皮膚吸収である。

3. 蓄積作用：生体内に吸収されたDBSは血液に移行して，ついで肝臓，脾臓，腎臓あるいは肺臓，脳などの各器管に分布される。その排泄は緩慢で長期間体内に残存[14),33),42),45)]されている。この蓄積期間は経口時で約8日間以上，経皮時で14日以上各臓器，器管などに存在している。とくに皮膚の塗布面においては角質層[33)]に多く存在しているという。

4. 薬理学的および生理学的な作用：DBSの作用の一部に血液pHおよび透析性カルシウムの低下，無機リンの増加などのアチドージス傾向[9)]が見られる。その傾向は経口，経皮の投与方法に関係なく認められる。

試験管内におけるDBSは溶血反応の張いサポニン，レシチンなどの化学薬剤と同程度の溶血作用[10)]を示す。

5. 皮膚炎の増加：欧米[66),37),41)]ならびにわが国[18),65)]においてもDBSを主成分とする合成洗剤が普及されてから，皮膚湿疹の患者が増加している。また，マーケティング・リサーチ・サービス社（1965）の「東京，大阪における洗剤，シャンプー等に関する消費者調査」においても，手荒れで困つているという回答者が41.1％（標本数，1,600世帯）[25)]であつた。この湿疹の発症成因はアレルギー性か非アレルギー性接触皮膚炎であるか不明であるが，アレルギー性皮膚炎[27),67),68)]であるという学者もある。

6. 病理組織学的所見：病理学的な報告は極めて少ないが，急性および慢性中毒時の所見は著しい変化を認めないと報告されている[28),39)]。しかし井関[29)]らによれば，脾臓の重量は増加するという。

これらの文献と本研究における 2.～3. の実験成績からDBSはアレルギーと何らかの関連があるように考えられる。

すなわち，上述の生体内吸収，蓄積作用，アチドーシス傾向，溶血作用およびタンパク質との結合などの一連の関係から，生体内におけるDBSは，Hbあるいはタンパク質と結合して複合体物質を生成される可能性があるように思われる。したがつてこのDBDがアレルギーを惹起するか否かの問題に対してはさらに検討されるべき課題であると考える。

6. 要　　約

界面活性剤のドデシルベンゼンスルフォン酸ソーダ（DBS）が合成洗剤として利用されてから，公害ならびに毒性問題が公衆衛生学上重大な関心事となつた。とくに毒性問題は生体に影響をおよぼすか否かについて今だに論題となつている。そこでこの問題を究明する手掛りとして著者らは免疫化学的立場から検索することを目途として，次のことを行なつた。本研究はDBSとヘモグロビン（Hb）の結合関係ならびにその複合体物質による抗原性などについて実験的に行なつた。これらの結果から2，3の考察を加えた。

その実験成績は下記のごとくであつた。

1) 試験管内においてDBSは酸性側でHbと相対比的に結合して複合体物質を生成した。

2) この複合体物質を動物に感作した場合，その動物は当該物質の惹起注射によつてアルツス現象およびアナフラキシー・ショックの反応を示したが，もとのHb，あるいはDBSならびに変性Hbなどの単

独抗原とは反応を起さない特異性を示した。ただしDBSとHbとの結合期間が短い場合は単独Hb抗原と共通の反応を呈した。

文　　献

1) 伊藤実ら：アレルギー(1960)，金原出版，東京
2) 江上不二夫ら：免疫化学，(1951)，河出書房，東京
3) 守山英雄：免疫及び免疫反応，(1956)，医学書院，東京
4) 古谷達孝，関藤成文：日本医事新報，2052 (1963)
5) Rajka, E., Hegyi, E.: Int. Arch. Allergy, 1, 234 (1950)
6) Shelley, W. B.: J. A. M. A., 184, 171 (1963)
7) Schwartz, A. M., Perry, J. W., Berch, J.: "Surface Active Agents & Detergents", (Inter Science Publisher Inc., N.Y.), (1958)
8) 西一郎ら：界面活性剤便覧，(1960)，産業図書，東京
9) 柳沢文正ら：お茶の水医学誌，11 (2)，63 (1963)
10) 柳沢文正ら：お茶の水医学誌，11 (2)，73 (1963)
11) 柳沢文正ら：お茶の水医学誌，11 (2)，79 (1963)
12) 柳沢文正ら：日本公衛誌，11 (13)，1 (1964)
13) 柳沢文正ら：日本公衛誌，12 (1)，1 (1965)
14) 柳沢文正ら：日本公衛誌，12 (2)，1 (1965)
15) 山岸達典：東京獣医蓄産学誌，16，33 (1967)
16) 山岸達典：東京獣医蓄産学誌，16，38 (1967)
17) 柳沢文正ら：都立衛生研究所年報，18，105 (1966)
18) 科学技術庁研究調整局：中性洗剤特別研究報告，(1963)
19) 柳沢文徳：公衆衛生，26 (7)，365 (1962)
20) 柳沢文徳：公衆衛生，26 (10)，569 (1962)
21) 相磯和嘉：日本油化学協会誌，11 (7)，327 (1962)
22) 富山新一：食品衛生研究，133 (1962)
23) 柳沢文徳：日本公衛誌，10 (7)，413 (1963)
24) 阿部勝馬：日本公衛誌，10 (1)，3 (1963)
25) 柳沢文正：臨床と研究，43 (8)，26 (1966)
26) 小谷新太郎ら：日本公衛誌，7(9)，694 (1960)
27) 野中正夫：油化学，6 (7)，419 (1957)
28) 所安夫ら：日本公衛誌，11 (1)，29 (1964)
29) 井関元八ら：食衛誌，4 (1)，15 (1963)
30) 藤谷超：水処理技術，8 (6)，(1967)
31) 天明黎子ら：日本公衛誌，10 (13)，(689)，
32) 川城巌：食衛誌，3 (4)，392 (1962)
33) 高瀬明ら：公衆衛生院研究報告，13 (4)，232 (1964)
34) 高瀬明ら：公衆衛生院研究報告，12 (4)，237 (1963)
35) 池田良雄ら：食衛誌，3 (4)，399 (1962)
36) Hopper, S. S., Hulpieu, H. R., Versa, V.: J. Am. Pharm. Associa., XXXVIII 428 (1949)
37) Schneider, W.: Feet & Seiffen, 55, 309 (1953)
38) Suskind, R R.: 日本皮膚科学第400回東京地方会，(1962)
39) Hine, C.H., Anderson, H.H.: J. Am. Pharm. Sci. Ed, 42 (1953)
40) Johnson, A.M. et al.: Am. Archives of dermatology & Syphilology., 88, 643 (1953)
41) Ferguson, E. M., Rothman, S.: Am. Archives of dermatology & syphilology 80, 300 (1959)
42) Blannk, I. H., Could, E.: 3rd Invest. congr. Surface Activity. Untergruppe D/Ⅳ/2, Nr. 36, 318 (1956)
43) Vinson, L. J.: J. soc. cosmetic. chem. 11 127 (1960)
44) Bettley, F. R.: Specialities, 2, 3 (1966)
45) Haverman, H., Menke, K. H.: Fette. Seifen. Anstriehmittel., 61, 429 (1959)
46) Fitzhugh, O. G., Nelson, A. A.: J. Am. pharm. ASSOC., 37, 29 (1948)
47) Tusing, T. W. et al.: Toxicol and Apple pharmacol., 2, 464 (1960)
48) Freeman, S. et al.: Gastroenterol., 4, 332 (1945)
49) Heyroth, F. F.: Proc Chem. Specialties. Assoc., 40th Midyear Meeting, 138 (1954)
50) 山村雄一ら：免疫化学，(1966)，朝倉，東京
51) 藤田秋治：pH測定の理念と実際，(1963)，南江堂，東京
52) Block, R. J. at el.: Amanual of Paper Chromatography and Paper Electrophoresis, 532 (1958)
53) Abbott, D. C.: Analyst., 87, 286 (1962)

54) Putnam, F. W. at al. : J. Am. chem. soc., 66, 692 (1944)
55) Lundgren, H. P. at el. : J. Biol. chem., 149, 183 (1943)
56) Karush, F. at el. : J. Am. chemical. soc., 71, 136 (1949)
57) Takruri, H. at el. : J. pharm. soc., 59 (9), 979 (1966)
58) Klotz, I. : J. Am. chem. soc., 68, 2299 (1946)
59) Neurath, H. at el. : J. Biol.chem., 160, 397 (1945)
60) Putnam, F. W. at el. : J. Biol. chem., 159, 195 (1945)
61) 伊勢村寿三：生化学, 34 (12), 695 (1962)
62) 中川秀一：お茶の水医誌, 5 (5), 419 ((957)
63) 宮本璋ら：お茶の水医誌, 6 (1), 18 (1958)
64) 柴田進：臨床生化学診断法, (1961), 金芳堂, 東京
65) 柳沢文徳：公衛生, 26 (8), 459 (1962)
66) Report of the Commitee on Synthetic Detergents, Ministry of Housing and Local Government. Her Majesty's Stationery office, (1956)
67) 笹川正二：皮膚科の臨床, 2, 687 (1960)
68) 三浦修ら：皮膚科の臨床, 13, 754 (1961)
69) 柴田進ら：臨床化学の技術, (1960), 金原, 東京

食酢の生化学的研究(I)

食酢の血清電解質におよぼす影響と浸透性について

第22回日本栄養・食糧学会総会発表
(東京，都市センター，5月18日)

柳沢文正* 小笠原公*
武士俣邦雄*

BIOCHEMICAL STUDIES ON FOOD VINEGAR (1)

Influence of Food Vinegar on Serum Electrolyte and Permeability

Fumimasa YANAGISAWA, Kimi OGASAWARA
and Kunio BUSHIMATA

(Department of Clinical Examination, Tokyo-to Laboratories for Medical Sciences)

Among the vinegar used for food, brewed vinegar, semi-brewed vinegar, and synthetic vinegar are found. In our country, they are generally used indiscriminately, However, Whether or not these have the same action on the organism is questionable. The difference of these vinegars in the effect on blood component was studied.

The food vinegar was diluted twice to obtain the same concentration of acetic acid, to give to the rabbit at a dose of 0.9ml/kg. Several blood samples were obtained along the time course to compare the effect on serum electrolyte.

In the group treated with brewed vinegar, serum dialytic calcium, the contrary. Serum magnesium was also low. In comparison, the sroup treated with food vinegar which did not appear pure brewed vinegar according to the study on the component failed to show an increase of serum dialytic calcium. Serum magnesium increased on the contrary

In order to study the action of synthetic vinegar, synthetic acetic acid with addition of the same amount of glucose found in the brewed vinegar was mixed in brewed vinegar in concentrations of 20, 50, and 80%, to administer in the rabbit at a dose of 0.9ml/kg in order to compare the fluctuations of serum electrolyte.

In the group treated wich brewed vinegar, action of inducing alkalosis was noted, while the group treated with addition of synthetic vinegar showed a decrease of serum dialytic calcium in proportion to the amount of addition. Serum inorganic phosphorus and magnesium were high with a tendency towards acidosis.

Food vinegar has been used since old times to treat food with, being related intimately with the taste and food preservation. Mackerel meat was therefore dipped in brewed vinegar and synthetic acetic acid, respectively, to study the degree of

* 東京都立衛生研究所　臨床試験部

coagulation of protein in the fish meat. The brewed vinegar penetrated deeply giving mild and soft coagulation, while synthetic acetic acid penetrated only shallowly with a distinct difference. Through overlapping food vinegar on serum protein, the purity of food vinegar can be measured through diffusion.

食酢は食生活の上で重要なものの一つである。それにもかかわらずこの栄養学的な効用については殆んど知られておらず，最近わずかにＴＣＡサイクルによる解明が行なわれているにすぎない。

しかも食酢について，先進国では厳格な規制があるのに，醸造酢，半醸造酢または合成酢であつても区別なしに使用されているのがわが国の現状である。このことは栄養学，生化学，衛生学等の面からみて大きな問題点である。

それゆえ醸造酢と合成酢の生体におよぼす影響を吟味し，これらの良否を判定する必要がある。そこで実験動物に食酢を投与し，まず血清電解質におよぼす影響をしらべた。

また食酢は古くから魚肉の〝酢ジメ〟として用いられている。この場合に魚肉への浸透が味覚や食品保存に影響する。そこで魚肉を用いて食酢の浸透性をしらべたところ興味ある知見が得られたのであわせて報告する。

実　験　方　法

つぎのごとく二つの方法に分けて実験を行なつた。

1.　食酢の血清電解質におよぼす影響についての実験

実験動物として，体重 2.7kg前後の健康ウサギを実験に供した。

食酢の投与方法は，１群４匹のウサギを17時間禁餌し，あらかじめ耳静脈より採血したのち，総酸量2.15～2.28％に希釈した各食酢を毎 kg 0.9, 1.8ml，ピペットを用いて経口投与する。以降２時間ごとに24時間まで数回２mlずつ採血を行なつた。

採血した新鮮血清について総カルシウム，透析性カルシウム，総マグネシウムおよび無機リンを測定した。

測　定　方　法

血清総カルシウム，透析性カルシウムおよび総マグネシウムは柳沢法[1~3]を用い，血清無機リンはFiske-SubbaRow 法[4]によつた。

2.　食酢の浸透性についての実験

1）魚肉に対する浸透実験

つぎに示す食酢および合成酢酸をおのおの同量ビーカーに入れ，これに 5cm の長さに切つたサバ肉を浸けてシャーレでフタをする。

No. 1　総酸度4.56％醸造酢ミツカン酢

No. 2　総酸量4.56％合成酢酸に醸造酢ミツカン酢と同濃度のブドウ糖と食塩を添加したもの

No. 3　総酸量4.56合成酢酸

時間の経過に従つて魚肉を切り，切断面の魚肉色素の変性度合を観察した。

2）タン白質に対する拡散滲透実験

内径の等しい血沈用ピペットを用意し，中央に綿塊を挿入する。綿塊分量はいずれも等しくし，ややきついくらいにする。

このピペットに 0.1％メチルレッド水溶液少量を加てえ黄色に着色した健康ヒト血清を綿栓部まで吸入してから，食酢をおのおの静かに重層する。一端にゴム粘土をつめて水平に倒しておく。時間の経過に従いメチルレッド添加血清が赤変する度合を測定する。タン白質はヒト血清のほか牛血清，卵白でもよい。

実験に供した食酢

実験に用いた食酢は通常販売されているところの，製作会社（Ａ社，Ｂ社，Ｃ社，Ｄ社，Ｅ社）を異にする５種の食酢のほか，本実験を進めるための標準として用いたＫＫ中埜酢店提供の醸造酢ミツカン酢，同社食酢Ⅰ（ミツカン酢）および食酢Ⅱ（試験品）である。

なお比較実験として合成酢酸（特級氷酢酸，和光純薬）を用いた。

食酢の組成

醸造酢の組成とその含有量は表１に示すとおりである。すなわち総酸量が酢酸として4.56％であり，このうち揮発酸 4.224％，不揮発酸 0.504％（乳酸として計算）を含む。食酢Ⅰ（ミツカン酢）および不揮発酸量が多い食酢Ⅱ（同社試験品）に比較して，総酸量は大差ないが，糖質を約２％多く含有し，食塩量がやや少ない組成のほかはいずれの成分含有量も大差がない。

実　験　結　果

1.　食酢投与の血清電解質の変動について

各食酢を純水で２倍希釈して，総酸量2.15～2.28％とし，ウサギに毎 kg 0.9mlおよび1.8ずつ投与して血清総カルシウム，透析性カルシウム，総マグネシウムおよび無機リンの変動をしらべた。

表1　食酢の組成と含有量

食酢別 / 含有量	醸造酢（ミツカン酢）	食酢Ⅰ（ミツカン酢）	食酢Ⅱ（試験酢）
比　重	1.020	1.012	1.016
総　酸(%)（酢酸として）	4.56	4.26	4.23
揮発酸(%)（酢酸として）	4.224	4.026	3.534
不揮発酸(%)（乳酸として）	0.504	0.351	1.044
全窒素(%)	0.031	0.015	0.015
アミノ態窒素(%)	0.017	0.006	0.007
アルコール(%)	0.284	0.200	0.209
全　糖(%)	2.558	0.322	0.629
直接還元糖(%)	2.358	0.315	0.592
食　塩(%)	0.104	0.476	0.476

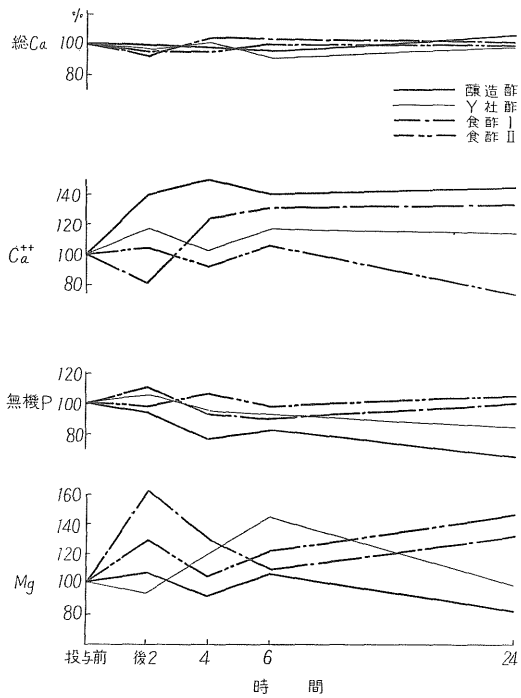
1）毎 kg0.9ml投与した場合

結果は図1に示すとおりである。すなわち血清総カルシウムはいずれの食酢投与でも変動がみられない。

血清透析性カルシウムにおいて食酢ごとの変動差異が現われる。各食酢についてみると，醸造酢ミツカン酢投与では投与後2時間以降著明に血清透析性カルシウムが増加し，24時間後もなお増加率が高い。これに比較して不揮発酸量が多い食酢Ⅱ（試験品）は6時間以降に明らかな減少を示す。食酢Ⅰのミツカン酢も投与後一時的な減少があるが，4時間以降は増加した。

図1　食酢を健康ウサギに毎 kg0.9ml 投与の血清電解質

総酸　2.1～2.28%



血清無機リンの変動をみると，醸造酢ミツカン酢投与では血清透析性カルシウムの変動と逆相関を示して減少した。しかし他の食酢においては変動が少なかつた。

血清総マグネシウムの変動は，醸造酢ミツカン酢のみ減少する傾向があるのに比較して，他の食酢はいずれも増加を示した。

2）毎 kg1.8ml投与した場合

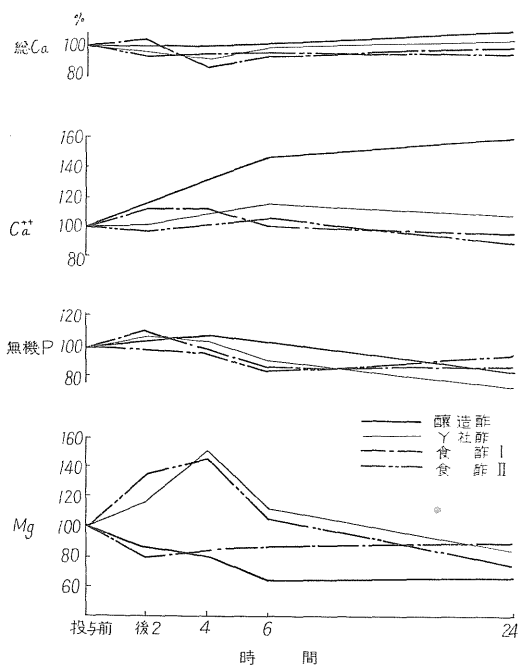
各食酢を前項の実験の2倍量投与して同様の実験を行なつた。

すなわち血清総カルシウムおよび無機リンは変動が少なく，いずれの食酢でも差異が明らかでなかつた。しかし血清透析性カルシウムは醸造酢ミツカン酢のみ増量し，血清総マグネシウムは逆に減少した。不揮発酸量を多く含有する食酢Ⅱ（試験品）は投与2～4時間後に一時的に血清総マグネシウムの増加を認めた。食酢Ⅰ（ミツカン酢）はいずれの血清成分も変動が少なかつた（図2）。

3）醸造酢と等量の糖質を添加した食酢投与の血清電解質の変動について

図2　食酢を健康ウサギに毎 kg1.8ml 投与の血清電解質

総酸　2.1～2.28%



前項の各実験において，醸造酢ミツカン酢，食酢Ⅰ（ミツカン酢），食酢Ⅱ（同社試験品）は血清電解質におよぼす作用がそれぞれ異なることがわかつた。この差異の吟味として成分組成のうち最も含有量の差が大きい糖質について検討した。

すなわち醸造酢ミツカン酢は他の食酢に比較して糖質含有量が高く 2.558 %である。これはブドウ糖の占める割合が大であることをペーパークロマトグラフィで確認したので，つぎのごとく各食酢にブドウ糖を添加して投与実験を行なつた。

No. 1　総酸量4.56%，糖質量 2.558 %を含有する醸造酢ミツカン酢の 2 倍希釈酢

No. 2　総酸量4.56%，ブドウ糖 2.558 %を含有する合成酢酸の 2 倍希釈液

No. 3　糖質 0.322 %を含有する食酢Ⅰ（ミツカン酢）にブドウ糖を 2.236 %の割合に添加したものの 2 倍希釈酢

No. 4　糖質 0.629 %を含有する食酢Ⅱ（同社試験品）にブドウ糖を 1.929 %の割合に添加したものの 2 倍希釈酢

No. 5　1.28%ブドウ糖水溶液

以上の各食酢は総酸量 2.1～2.28 %で大差なく，また糖質量も等濃度にしたものである。これらをそれぞれ毎 kg 0.9 ml経口投与した結果を図 3 に示す。

すなわち血清総カルシウムの変動はいずれの食酢も大差がないが，血清透析性カルシウム，無機リンの変動は図 2 に示した結果と同じ傾向であつた。このことはブドウ糖を添加し各食酢の糖質を等量にしても血清電解質の変動は醸造酢ミツカン酢と同じ程度の改善がなく，糖質の影響でないと考える。

4）醸造酢と合成酢酸の混合酢投与による血清電解質の変動について

つぎに食酢Ⅱ（ミツカン酢試験品）は総酸量としては他の食酢と大差がない濃度のものであるが，不揮発酸を多く含む。この食酢をペーパークロマトグラフィでしらべてみると醸造酢にみられない有機酸の存在を認める。また市販の食酢は実際には半醸造酢であつても醸造酢と明確な区別なく販売されている。そこで醸造酢と合成酢酸が血清電解質におよぼす影響の差異を検討した。

すなわち醸造酢ミツカン酢を基準として，これに醸造酢ミツカン酢と同濃度のブドウ糖を含む合成酢酸（総酸量4.56%）を 2，5，8 割混合し，これらの 2 倍希釈酢を投与して前項と同じ実験を行なつた。

図 3　醸造酢と等量の糖質を添加した食酢を投与の血清電解質
酸度 2.1～2.28%　投与量 0.9ml/kg

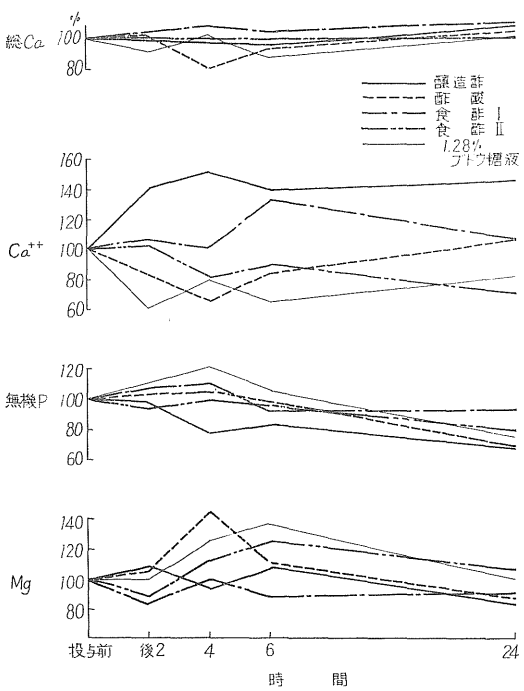
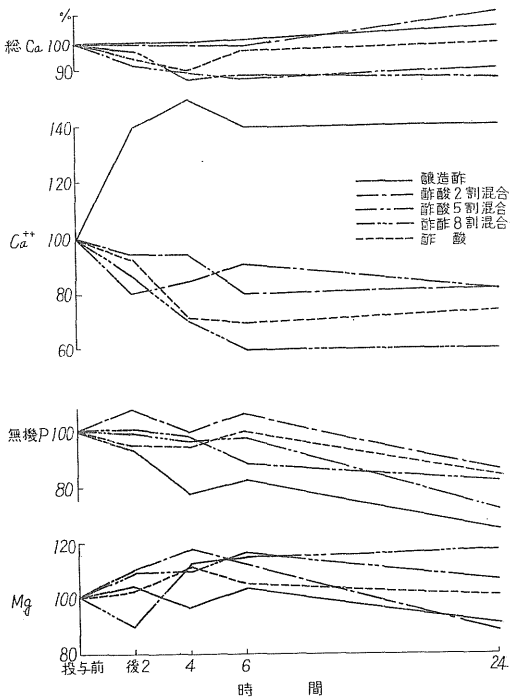


図 4　醸造酢と合成酢酸の混合酢投与による血清電解質
総酸　2.28%



結果は図4に示すように，血清総カルシウムの変動において醸造酢と合成酢酸の差異が明瞭でないが，血清透析性カルシウムは合成酢酸の混合割合が増えるに従つて減少した。

血清無機リンおよび総マグネシウムの変動は血清透析性カルシウムと逆で合成酢酸を混合すると醸造酢の値より高値の変動をした。

2. 食酢のタン白質に対する浸透性について

1) 魚肉について

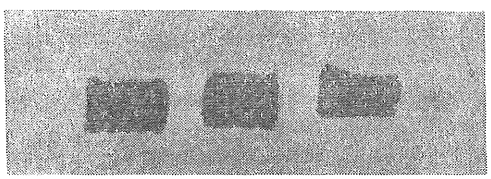
魚肉に対する食酢の浸透性は，味覚や食品保存上関係が深い。そこでサバ肉を用い食酢が魚肉タン白質を凝固する度合を観察した。

写真1は醸造酢ミツカン酢，合成酢酸およびブドウ糖添加合成酢酸にサバ肉を10時間浸けた結果である。すなわち醸造酢は肉色素の変性が明瞭で深く浸透する。しかもタン白質凝固程度は比較的軟らかである。合成酢酸の場合は魚肉色素の変性が浅く，さらに時間を延長してもタンパク凝固があまり進行せず浸透度が弱い。合成酢酸に醸造酢と同含量のブドウ糖，食塩を添加したものでも合成酢酸の浸透に似た結果であつた。

写真1

食酢のサバ肉に対する浸透性

10時間後



醸造酢　酢酸（糖添加）　酢酸

2) ガラス管内タン白質溶液について

食酢がタン白質に浸透する度合をさらに見やすくするため，血沈用ピペットにメチルレッド水溶液少量を加えた健康ヒト血清を吸入し，これに食酢を重層して放置し，拡散現象によつて血清の黄色調が赤変する長さを測つた。結果は各社まちまちの成績を示したが，とくに醸造酢ミツカン酢による拡散が大であつた。

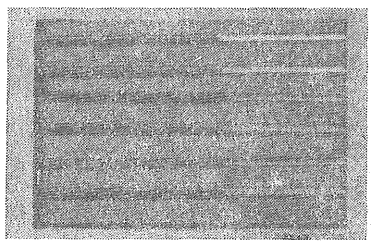
このように食酢によつて異なつた拡散の差を生ずる吟味としてつぎに述べる実験を行なつてみた。すなわち拡散の度合が大であつた醸造酢ミツカン酢に，これと同濃度のブドウ糖と食塩を添加した合成酢酸を2，4，6，8割混合し，おのおの血清に重層して放置し時間の経過に従つてタン白質の黄色調が赤変する長さを測つた。結果は約30時間以降から変色長に差異を生じ，合成酢酸は赤変の長さが短かく，また醸造酢に合成酢酸を2割以上混合したものも，醸造酢の赤変した長さに比較して短かく拡散が弱くなる。写真2は重層後60時間経過のものであるが，タン白質溶液としては卵白や牛血清でも同じ傾向の結果が得られる。

写真2

食酢とM. R. 添加血清の色調

60時間後

醸造酢
酢酸2割混合
酢酸4割混合
酢酸6割混合
酢酸8割混合
酢酸



総括

食酢の差異が生体成分にいかなる影響をおよぼすかの吟味として，醸造酢，半醸造酢および合成酢酸を健康ウサギに与え，まず血清電解質の変動について検討した。

すなわち醸造酢は血清透析性カルシウムを増加し，血清総マグネシウムおよび無機リンを減少してアルカロージス体質にする傾向があるが，合成酢酸は逆に酸性体質にするごとき結果が得られた。このことは食酢の純度にほぼ比例的であつた。

また食酢が魚肉に対して浸透する度合は，醸造酢が強く，合成酢酸は弱い。なお醸造酢に合成酢酸を混合したものでもタン白質の凝固が弱いので，味覚や食品保存の上からも問題点であると考える。

以上を総括して醸造酢と合成酢酸では血清電解質ならびにタン白質テスト管による拡散力におよぼす作用に差異があることを明らかにした。タン白質テスト管拡散法は従来行なわれているアミノ酸，有機酸，糖質などの化学的検査による品質鑑別法とは趣を異にする緩衝作用応用の物理化学的検定であるが，容易に食酢の純度が察知できるので，これについてはさらに検討を加えたい。

本研究の要旨は第22回日本栄養・食糧学会総会（1968年5月・東京）に報告した。

文献

1) 柳沢文正：新潟医学会雑誌，56，761（1951）

2) 柳沢文正：日医誌，1475，32（1952）
3) 江上不二夫編：標準生化学実験，（1953），文光堂，東京
4) Fiske, C. H., SubbaRow, Y. : J. Biol, Chem., 66, 375（1925）

食酢とカルシウム

第42回東京都衛生局学会発表

（東京都庁第1ホール，11月19日）

武士俣　邦　雄*　小笠原　　公*
柳　沢　文　正*

FOOD VINEGAR AND CALCIUM

Fumimasa YANAGISAWA, Kimi OGASAWARA and Kunio BUSHIMATA

(Department of Clinical Examination, Tokyo-to Laboratories for Medical Sciences)

When food vinegar was administered in animals to study the fluctuation of serum electrolyte, actions in the body of brewed vinegar and synthetic vinegar were different. Synthetic vinegar was found to make the body acidotic.

We have therefore employed the method to test the degree of permeability of the food vinegar through fish meat and the method of using test tube for protein for the test of purity of food vinegar, as reported previously. In the present report, the method of estimating the purity of food vinegar using the apparatus of producing calcium ion water devised by Yanagisawa (Healthup) is given. Healthup consists of a chamber containing calcium chloride solution and a chamber for dialysis. Electric dialysis is conducted via a specific resin membrane to measure the amout of calcium dialyzed into the food vinegar after a certain time.

When dialysis was carried out using brewed vinegar and synthetic vinegar, brewed vinegar held 3 times as much calcium as the synthetic vinegar. When the current was passed through the mixture of brewed synthetic vinegar, the calcium content decreased as the proportion of the mixing of synthetic vinegar increased.

食酢には醸造酢，半醸造酢および合成酢があるが，一般に区別なく用いられている。しかしこれ等が体内で同一作用を行なうかどうかは疑問である。そこでウサギに醸造酢と合成酢酸を与え，血液成分のうちまず血清電解質におよぼす影響をしらべてみた。実験の結果は血清透析性カルシウムの変動に明らかな差異を認め，日本栄養・食糧学会に報告[1]した。さらに酢じめを応用した魚肉浸透度の差異から，家庭でも平易にできる食酢純度の鑑別法やタンパク質テスト管を用いる拡散法についても併せて報告した。

今回は食酢の純度鑑別法の一つとして，報告者である柳沢が考案したカルシウムイオン水製造器（ヘルサップ[2]）を用い，食酢の純度試験を行なつてみたところ興味ある成績が得られたので報告する。

ヘルサップについて

ヘルサップはカルシウムイオン水を製造する機器であるが，さらに飲料食品の着色料や不純物の検索にも役立つものである。

本機器の構造は透析槽と変圧整流器の組合せによる電気回路から成立つている。透析槽の中間に特殊樹脂膜があつて二室に分れている。

食酢の純度試験に用いる場合には，透析槽の一方に4％塩化カルシウム溶液を入れ，他方に食酢を入れて通電する。食酢中にカルシウムが透析されるので，時

* 東京都立衛生研究所　臨床試験部

食酢にカルシウムを電気透析した結果（透析時間45分間）

試料名 ＼ 試験項目	電流量 (Am)		pH		NaOH消費量 (ml)		カルシウム量 (mg/dl)	
	通電前	通電後	通電前	通電後	通電前	通電後	通電前	通電後
醸造酢	0.21	0.585	2.83	3.9	7.55	6.25	3.2	220
合成酢酸20％混合酢	0.195	0.485	2.80	3.85	7.55	6.3	3.0	194
合成酢酸40％混合酢	0.165	0.498	2.75	3.83	7.55	6.4	2.3	183
合成酢酸60％混合酢	0.121	0.42	2.63	3.79	7.55	6.5	1.5	155
合成酢酸80％混合酢	0.1	0.32	2.5	3.73	7.55	6.65	0.6	130
合成酢酸	0.09	0.21	2.43	3.54	7.55	6.8	0.0	85

間の経過に従つて食酢中のカルシウム量を測定[3]する。

実験結果

醸造酢およびこれに合成酢酸を20, 40, 60, 80％混合したものをそれぞれ同じ条件で電気透析を行なうと，通電前と一定時間後では表に示すように，電流量，pH，NaOH 消費量およびカルシウム量に差異を生ずる。すなわち N/10-NaOH 消費量は少くなるが，電流量，pH，カルシウム量は多くなる。このうちとくに明瞭な差がみられるのはカルシウム量である。通電前の含有量は微少であつたものが，45分間の通電により，醸造酢はカルシウム濃度が 220mg/dl，合成酢酸は 85mg/dl 透析され，両者には約３倍の開きがあつた。混合酢においては，醸造酢は合成酢酸を加える量が増すに従つてカルシウム量が少くなつた。

総括

醸造酢と合成酢は同じ酢酸である。しかし実際に生体内における作用が異なるので，鑑別法として，さきに魚肉浸透度やタンパク質テスト管を用いる拡散法について報告した。今回はさらに精度の高い鑑別法として，カルシウムイオン水製造器（ヘルサップ）を用い，食酢にカルシウムの電気透析を行なう方法を報告した。これは食酢の純度とカルシウム透析量が比例するので容易に判別することができる方法である。

透析量になにゆえ差異を生ずるかについては多方面からの検討を要するが，ただいまの考察では醸造酢はコロイド状物質であり，合成酢酸は無機質，有機質の混合液であるための相違で，これが生体に入つた場合には当然生化学的作用機序が異なるものと考える。

本研究の要旨は第42回東京都衛生局学会（1968年11月・都庁）に報告した。

文献

1) 柳沢文正，小笠原公，武士俣邦雄：第22回日本栄養・食糧学会総会講演要旨（1968）
2) Healthup，柳雪研究所，東京
3) 江上不二夫編：標準生化学実験（1953）文光堂，東京

菓子害虫に関する研究

1 実　態　調　査

中田英吉*　野牛　弘*
辺野喜正夫*

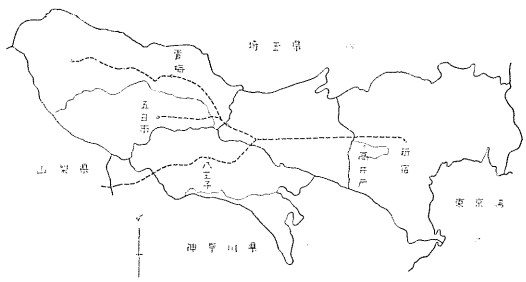
近年菓子類の需要と生産が著しく増加し，それにともなつてその虫害問題が注目されるようになつてきた。

われわれは虫害を防除する目的で調査研究に着手したのであるが，昭和42年はまずその被害の実態を把握するため，菓子販売店のチョコレート，ビスケット，ナッツ入キャラメル類及び菓子箱のゴミ等について調査を行ない，興味ある結果を得たので報告する。

調査方法

昭和42年6月12日から同年11月10日までに，東京都淀橋，高井戸，八王子，五日市，青梅の5地区（図1，参照）について，4回（青梅地区は3回）にわたつて，菓子店舗（表1，参照）でチョコレート，ビスケット，ナッツ入キャラメルを対象として，下積みのもの，包装不充分なもの，古そうなもの等，虫害のありそうなものを選んで買い求め，虫害状況をしらべた。また同時に菓子の入れてある箱のゴミも採集してしらべた。第1回調査は6月12日から6月20日まで，第2回は7月4日から7月18日まで，第3回は8月31日から9月18日まで，第4回は10月26日から11月10日までに行なつた。なお試験用の菓子を3個所の菓子専門店に陳列しておき，経時的に虫害状況をしらべた。

図1



結　果

買入菓子についての調査結果は表2の通りである。

第1回は買入数が明らかでないため，除いてある。第1回は青梅地区を除いた地区で調査し，虫害数は，他物入チョコレート1，ビスケット1の計2であつた。買入菓子の他に返品1件，収去品1件があり，それぞれ虫害があつた。表における全体では，虫害率 3.1% となり，かなり高い虫害率を示した。これは虫害の可能性の多いものを選んだことによると思われる。次に店舗の種類別による虫害状況を示すと，表3の通りである。

表1　各回の調査における店舗の種類，昭和42年

	デパート	スーパーマーケット及びマーケット	菓子専門店	雑貨店	その他	計
淀橋	5					5
高井戸		2	2（第1回…4 第4回…1）	2（第1回…0 第4回…3）		6
八王子	（第2回…2）	2（第1回…1 第2回…0）	2	2	（第1回 菓子問屋1）	6
五日市		1	2	3		6
青梅		2	2	2		6

* 東京都立衛生研究所

表2　買入菓子虫害発生状況〔数字は買入数（　）内は虫害数〕，昭和42年

	チョコレート	他物入チョコレート	ビスケットウエハース類	ナッツ入キャラメル	その他	計	虫害率(%)
第2回 7月4日～18日	55 (2)	38	26 (2)	9	5	133 (4)	3
第3回 8月31日～9月18日	51 (1)	57 (1)	29 (1)	2	3	142 (3)	2.1
第4回 10月26日～11月10日	59 (3)	41 (2)	30 (1)	7	1	138 (6)	4.3
計	165 (6)	136 (3)	85 (4)	18	9	413 (13)	3.1
虫害率(%)	3.6	2.2	4.7	0	0	3.1	

表3　店舗虫害発生状況〔数字は調査店数（　）内は菓子虫害店数〕，昭和42年

	デパート	スーパーマーケット及びマーケット	菓子専門店	雑貨店	計	虫害店率(%)
第1回	5 (1)	4	8 (1)	5	22 (2	9.1
第2回	7 (1)	5	8 (1)	9 (1)	29 (3)	10.3
第3回	5	7	8 (2)	9 (1)	29 (3)	10.3
第4回	5 (1)	7 (3)	7 (1)	10	29 (5)	17.2
計	22 (3)	23 (3)	31 (5)	33 (2)	109 (13)	11.9
虫害店率(%)	13.6	13.0	16.1	6.1	11.9	

表4　虫の種類別による菓子虫害数（数は包装，袋の数を現わす），昭和42年

	ノシメコクガ Plodia interpunctella	ノコギリコクヌスト Oryzaephilus surinamensis	ケナガコナダニ Tyrophagus dimidiatus	その他
第1回		2＋返品1件		
第2回	3		1	
第3回	2	1	1	*1
第4回			4＋収去品1件	**3＋収去品1件
計	5	3＋返品1件	6＋収去品1件	4＋収去品1件

*ヒメマルカツオブシムシ　Anthrenus verbasci

**ホンシラミ　Liposcelis divinatorius, イッテンコクガ　Aphomia gularis
甲虫の幼虫，ツメダニ，ヤドリダニ

菓子虫害店数は，菓子に虫害のあつた店の数を現わし，採集のゴミの中に害虫がいた店及び返品の菓子問屋は含まれない。虫害店率は菓子専門店の場合に16.1%，デパート13.6%，マーケット13.0%，雑貨店 6.1%となり，菓子専門店はやや高い率を示した。虫の種類別による菓子虫害数を第1，2，3，4回の調査について示すと，表4の通りである。

ノシメコクガの5は幼虫で，うち1つは蛹も含まれた。ノコギリコクヌストの3＋返品1件は，成虫が見られ，うち1つは幼虫も見られた。ケナガコナダニは第4回目の調査でやや多かつた。虫の種類と菓子の種類の関係として現わすと表5の通りである。

ノシメコクガ，ノコギリコクヌストはチョコレート，ビスケット類に見られ，ケナガコナダニはチョコレート類に見られた。ナッツ入キャラメルは虫害が見られなかつた。3個所の菓子専門店に設置した試験用菓子の虫害状況は表6に示した通りである。

五日市の店でチョコレートにノシメコクガ，ホンシラミ（コクチャタテムシ）が見られた。ノシメコクガは9月4日に回収したものについて，1～2令の生きている幼虫が1匹見られたが，10月26日回収のものでは約2令の死んでいる幼虫2匹が見られた。

ゴミの調査では，ダニを除いた菓子害虫は，第2回に淀橋のデパートでノコギリコクヌスト成虫2匹，蛹2匹が1個所で見られ，第3回に五日市の菓子専門店で，ノコギリコクヌスト成虫1匹，淀橋のデパートでコクヌストモドキ幼虫1匹が見られた。

菓子虫害は菓子の売行きがよく，回転が早くても，下積みのもの，或は硝子ケースで前に出してあるもので，売らずに残されているようなものに虫害が見られ

表5　虫の種類と菓子の種類の関係（数は包装，袋の数を現わす），昭和42年

	ノシメコクガ Plodia interpunctella	ノコギリコクヌスト Oryzaephilus surinamensis	ケナガコナダニ Tyrophagus dimidiatus	その他
チョコレート	1	1	3＋収去品1件	*2＋収去品1件
他物入 チョコレート	1	1	3	0
ビスケット ウエハース類	3	1＋返品1件	0	**2
ナッツ入 キャラメル	0	0	0	0
計	5	3＋返品1件	6＋収去品1件	4＋収去品1件

*ホンシラミ　Liposcelis divinatorius, イッテンコクガ　Aphomia gularis
ヤドリダニ，ツメダニ
**ヒメマルカツオブシムシ　Anthrenus verbasci, 甲虫の幼虫

表6　店に設置した試験用菓子の虫害状況（虫害数/検体数）設置年月日S.42.6.28

回収月日	高井戸			八王子			五日市		
	チョコレート	フインガーチョコレート	アーモンドグリコ	チョコレート	フインガーチョコレート	アーモンドグリコ	チョコレート	フインガーチョコレート	アーモンドグリコ
7月4日～7月10日	0/10	0/1	0/5	0/10	0/1	0/5	0/10	0/1	0/5
8月31日～9月18日	0/10	0/1	0/5	*1/10	0/1	0/6	**3/10	0/1	0/6
10月26日～11月7日	0/10	0/1	0/6	0/10	0/1	0/6	***2/9	0/1	0/6

*ホンシラミ　L. divinatorius　生1（銀紙と外側紙の間に）
**ノシメコクガ　P. interpunctella　生1，ホンシラミ　L. divinatorius　死2
***ノシメコクガ　P. interpunctella　死2

た。又ナッツ類と隣接して売られた包装不充分な輸入品にも虫害が見られた。虫の種類の同定には，菓子食品害虫要覧(1967)，Busvine (1951)，ノシメコクガ成虫について六浦 (1964)，コクヌストモドキ幼虫について林 (1961) 等によつた。

考　　察

菓子専門店でやや虫害率が高いが，チョコレート，ビスケット類が豊富な事，又菓子問屋からチョコレート，ビスケット類を多種多量に仕入れる機会が多いため，虫害の機会が多くなるものと考えられる。季節的消長は調査店舗の数の少ない事，調査毎に店舗をかえた事等から判定はしにくい。試験用菓子を設置した調査では，都心に近い方よりも遠い方で虫害が認められたが，調査店舗が1店ずつであるため，虫害の地域差は考えにくい。虫害の中ではノシメコクガ，ノコギリコクヌスト，ケナガコナダニによるものが多いが，そのうちノシメコクガについては，菓子食品害虫要覧の記載 (p. 57) に大体近似し，ケナガコナダニについては，それがチョコレート類に多く見られた事は，佐々 (同書，p. 112) の見解にほぼ一致した。

総　　括

1. チョコレート，ビスケット，ナッツ入キャラメルを対象に，菓子店舗で，淀橋，高井戸，八王子，五日市，青梅の地区で，4回にわたり虫害調査を行つた。

2. 菓子虫害は第2回以下の調査の計について 3.1%となり，かなり高い虫害率を示した。これは虫害の可能性の多いものを選んだことによると思われる。

3. 虫害率を店舗の種類別に見ると，菓子専門店がやや高い虫害率を示した。

4. 試験用菓子を菓子専門店に設置した調査では，都心に近い方より遠い方で虫害が認められた。

5. 包装不充分なもの，掃除のゆきとどかないすみの下積みの品物等に虫害が見られた。

6. 虫害の中ではノシメコクガ，ノコギリコクヌスト，ケナガコナダニによるものが多い。

本調査は日本食品衛生学会，食品害虫研究費の援助により行つたもので，厚く感謝の意を捧げる。なお，御助言，御援助をいただいた国立衛生試験所宮嶋弘衛博士，国際衛生株式会社原田豊秋博士，調査地区の淀橋，高井戸，八王子，五日市，青梅，各保健所の御協力に感謝する。

文　　献

1) Busvine, J. R.: Insects and hygiene (1951), Methuen, London
2) 林長閑：日本幼虫図鑑 (p. 480)，(1961) 北隆館，東京
3) 六浦晃：原色日本蛾類図鑑(上)，(p. 94～)，(1964) 保育社，大阪
4) 佐々学：菓子食品害虫要覧(p. 111～)，(1967)，全国菓子協会，東京

貸おしぼりの消毒法改善について

野牛　弘*　細谷康朗**
小林正武*　相川久之***
鷲尾喜作****　細井　清*****
池田真悟*

緒　言

最近の日本経済の発展は目ざましく，国際的にも注目の的ともなるほど高度成長を遂げた。これに伴い各種企業は経営合理化と諸種のサービスを競合している。飲食店等で客接待に出されるおしぼりは，このサービスの一つの表現であるが，いまや一般的習慣となり，このおしぼりの供給を専業とするクリーニング業者が多数現われた。現在では東京都内には150軒の業者がおり，日産80万本のおしぼりを供給しているといわれる。

著者らは，過去数年間にわたり，これ等貸おしぼりの細菌検査を実施して来たが，業者の自主的な製造法の改善，および環境衛生監視員の適切な指導により年毎に付着細菌数の減少が認められるのは喜ぶべきことである。しかし中にはおしぼり一枚に10億個以上の一般細菌を証明するものもあり，消毒法の画期的な改善が，行政指導面から要求された。

著者らは細菌学的調査研究を分担し，消毒法の改善について，一知見を得たので報告する。

現状分析

〔おしぼりの使用目的〕　おしぼりは手指，顔面，頸部等の外気に露出した皮膚面のほこり，ばい煙等の汚染物，汗，脂等の分泌物を取り去り，皮膚を清拭するとともに，夏期には，皮膚温度を冷却せしめて清涼感を，冬期等の寒冷期には皮膚温度を暖ためて皮膚の血行を盛んにし，寒気を取り去り，且つ水分を与えて皮膚の乾燥を防ぎ，肌あれを防ぐものである。

〔おしぼりに要求される条件〕　このような使用目的をもつおしぼりは，すべからく次の諸点を満足させるものでなければならない。①清潔であること。清潔とは，汚れのないことであり，且つまた病原菌等の付着してないことである。②皮膚をあれさせるような物質を含まないこと。③特別な異臭を発しないこと。④適度の水分を有すること。⑤使いよい布であること。⑥人に快感を与えるものであること。

〔おしぼりの条件をみたすための手段〕

以上の条件をみたすためには，如何にすればよいか。①布地を選ぶこと。吸湿性大なる布地が好ましい。②適度の大きさであること。③完全にきれいに洗濯すること。④完全に消毒すること。⑤含まれる水分の pH は中性であること。⑥皮膚をあれさせたり，異臭を放つ物質を使用しないことであろう。

〔おしぼりが媒介する恐れのある伝染病〕　おしぼりの消毒が不完全であれば，どのような疾病が起るであろう。まづ第1に皮膚の分泌物，膿汁から膿瘍，膿痂疹，結核，破傷風，炭疽，真菌症，放線菌症，痘瘡，水痘，等があり，このうち膿痂疹，結核，破傷風，水痘等は特に伝染の恐れの大なものである。

第2に眼やに・鼻汁・痰・唾液等よりは，ヂフテリア・百日咳・流行性髄膜炎・結核・鼻疽・炭疽・猩紅熱・溶血性連鎖球菌症・放線菌症・梅毒・インフルエンザ・麻疹・流行性角結膜炎・コーウイルス・アデノウイルス等があり，なかでも流行性髄膜炎・結核・鼻疽・炭疽・猩紅熱・溶血性連鎖球菌症・インフルエンザ・流行性角結膜炎等は伝染の恐れが多い。

第3には，手指からの伝染性疾患として，赤痢，腸チフス等の腸管系急性伝染病，寄生虫症・結核・性病・その他第1と第2の原因が手指を通じて伝染することが考えられ，なかでも腸管系急性伝染病や結核は，おしぼりにより媒介される危険を多分に有している。

〔貸おしぼりの細菌試験〕　昭和43年7月都内で営業を行つている貸おしぼり業者の商品の衛生的実態を把握するために，その取扱い方および消毒方法について，抜き取り試験を行つた。対象業者は，豊島池袋保健所管内2店（12検体）および利用者側3検体（温2，冷1）。中野北保健所管内3店（15検体）。中野保健所管内1店（5検体）と利用者側2検体（温1，冷1）。

*東京都立衛生研究所　環境衛生部
**杉並東保健所
***本所保健所
****足立保健所
*****品川保健所

表1　処　理　方　法

地区名	業者名	処理方法概要	消毒方法
豊島・池袋 H・C	Aクリーニング	予洗→本洗→すすぎ→消毒→すすぎ→脱水→包装（手巻）	次亜塩素酸ソーダで5分
	B商会	本洗・消毒→すすぎ→すすぎ→脱水→包装（機械巻）	本洗と同時消毒 次亜塩素酸ソーダ
中野北 H・C	C社	予洗→消毒→水洗→本洗→すすぎ→すすぎ(高速)→脱水→包装（機械巻）	次亜塩素酸ソーダ
	D産業	消毒→すすぎ→本洗→すすぎ→すすぎ→脱水→包装（機械巻）	次亜塩素酸ソーダ
	株式会社E	予洗→本洗・消毒→すすぎ→すすぎ→すすぎ→脱水→包装（機械巻）	本洗と同時消毒 次亜塩素酸ソーダ
中野H・C	F社	予洗→本洗・消毒・加温 70°C(30分)→すすぎ→消毒→脱水→包装（機械巻）	第1回本洗と同時次亜塩素酸ソーダ高温 70°C30分第2回逆性石鹸
淀橋 H・C	Gクリーニング店	予洗→本洗・消毒→すすぎ2回→脱水→包装（機械巻）	本洗と同時消毒 次亜塩素酸ソーダ
	H商会	予洗→本洗・消毒→すすぎ4回→脱水→包装（機械巻）	本洗と同時消毒 次亜塩素酸ソーダ
	I舎	予洗→消毒→すすぎ→洗濯→脱水→すすぎ4回→脱水→包装（手巻）	逆性石鹸
	Jクリーニング	予洗→本洗・消毒→本洗・消毒→すすぎ4～5回→脱水→包装（機械巻）	本洗と同時消毒 塩素化イソラアタール酸
荒川 H・C	Kクインタオル	消毒(10分)→すすぎ(5分)→本洗(30分)→すすぎ(5分)→すすぎ(5分)→すすぎ（5分）→すすぎ(5分)→脱水(30秒)→包装（機械巻）	次亜塩素酸カリウム
	L社	本洗・消毒(10分)→すすぎ(5分)→すすぎ→（5分）→すすぎ(5分)→脱水→包装（機械巻）	本洗と同時消毒 次亜塩素酸ソーダ
	M社	予洗(10分)→本洗・消毒(20分)→すすぎ(10分)→すすぎ(10分)→すすぎ(10分)→脱水→包装（機械巻）	本洗と同時消毒 サラシ粉
	N社	予洗(10分)→本洗・消毒常圧蒸気 80°C(30分)→すすぎ(5分)→すすぎ(5分)→すすぎ(5分)→脱水→包装（機械巻）	本洗と同時消毒加温 次亜塩素酸ソーダ
	O商事	予洗(10分)→本洗・消毒常圧蒸気 80°C(30分)→すすぎ(5分)→すすぎ(5分)→脱水→包装（機械巻）	本洗と同時消毒加温 次亜塩素酸ソーダ
	P社	予洗(20分)→本洗・消毒(10分)→すすぎ(5分)→すすぎ(次亜塩素酸ソーダ)(5分)→すすぎ(5分)→脱水→包装（機械巻）	本洗と同時消毒 次亜塩素酸ソーダ
渋谷 H・C	Q社	予洗→本洗・消毒→すすぎ4回(10分)→脱水→包装（機械巻）	本洗と同時消毒 次亜塩素酸ソーダ
	Rタオル	予洗→本洗・消毒常圧 80°C(20分)→すすぎ4回→脱水→包装（機械巻）	洗濯と同時消毒加温 次亜塩素酸ソーダ

淀橋保健所管内4店（20検体）利用者側2検体（温1，冷1）。荒川保健所管内6店（30検体）。渋谷保健所管内2店（10検体）利用者側1検体（温）と中央保健所管内では利用者側10検体（温9，冷1）合計110検体である。試験は1検体あたりの付着一般細菌数測定，大腸菌群及び病原性黄色ブドウ球菌の有無について実施した。試験法はまづ抜き取つたおしぼりを冷蔵保存箱により衛生研究所に運ぶ。一枚のおしぼりの1/8を切り取つて生理的食塩水20CC入りの大試験管に入れ，振盪約5分。ピペットにてよく振り出した生理的食塩水1CCをとり適当に稀釈し普通寒天培地にて混釈培養37°C48時間後に一般細菌数を測定算出する。また

表2 貸おしぼり細菌試験

HC別			No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6	No. 7	No. 8	No. 9	No. 10	平均値	加工区分
豊島池袋H・C	Aクリーニング	一般細菌数	2.6×10^4	2.2×10^4	1.2×10^4	2.6×10^4	1.7×10^4	8.1×10^4					3.1×10^4	手巻
		大腸菌群試験	−	−	−	−	−	−						
		ブドー球菌	−	−	−	−	−	+						
	B商会	一般細菌数	2.1×10^4	2.4×10^5	2.4×10^5	1.2×10^5	3.3×10^5	1.0×10^5					2.1×10^5	機械巻
		大腸菌群試験	−	−	−	−	−	−						
		ブドー球菌	−	−	−	−	−	−						
	利用者	一般細菌数	1.0×10^9	4.2×10^4	7.7×10^8								6.1×10^8	
		大腸菌群試験	(温)+	(温)+	(冷)−									
		ブドー球菌	−	−	−									
中野北H・C	C社	一般細菌数	1.1×10^4	1.8×10^3	9.6×10^2	2.9×10^3	9.6×10^2						3.5×10^3	
		大腸菌群試験	−	−	−	−	−							
		ブドー球菌	−	−	−	−	−							
	D産業	一般細菌数	0	3.2×10^2	1.9×10^3	1.3×10^3	0						7.0×10^2	機械巻
		大腸菌群試験	−	−	−	−	−							
		ブドー球菌	−	−	−	−	−							
	株式会社E	一般細菌数	6.4×10^2	3.2×10^2	1.8×10^3	2.0×10^3	1.3×10^3						1.2×10^3	機械巻
		大腸菌群試験	−	−	−	−	−							
		ブドー球菌	−	−	−	−	−							
中野H・C	F社	一般細菌数	2.1×10^4	4.0×10^4	8.0×10^4	5.8×10^4	2.3×10^4						4.4×10^4	機械巻
		大腸菌群試験	−	−	−	−	−							
		ブドー球菌	−	−	−	−	−							
	利用者	一般細菌数	3.6×10^4	4.6×10^3									2.0×10^4	
		大腸菌群試験	(温)−	(冷)−										
		ブドー球菌	−	−										
淀橋H・C	Gクリーニング店	一般細菌数	2.5×10^3	3.0×10^4	2.3×10^4	1.1×10^3	6.4×10^2						1.1×10^4	機械巻
		大腸菌群試験	−	−	−	−	−							
		ブドー球菌	−	−	−	−	−							
	H商会	一般細菌数	0	4.8×10^2	0	1.2×10^3	0						3.4×10^2	機械巻
		大腸菌群試験	−	−	−	−	−							
		ブドー球菌	−	−	−	−	−							
	I舎	一般細菌数	4.8×10^5	1.6×10^5	2.0×10^8	5.0×10^4	6.6×10^6						4.2×10^7	手巻
		大腸菌群試験	+	−	+	−	+							
		ブドー球菌	−	−	−	−	−							
	Jクリーニング	一般細菌数	1.2×10^8	1.4×10^8	1.2×10^8	5.3×10^8	4.8×10^8						2.8×10^8	機械巻
		大腸菌群試験	+	+	+	+	+							
		ブドー球菌	−	−	−	−	−							
	利用者	一般細菌数	1.1×10^4	4.2×10^8									2.1×10^8	
		大腸菌群試験	(温)−	(冷)−										
		ブドー球菌	−	−										
荒川H・C	Kクインタオル	一般細菌数	8.6×10^5	1.1×10^6	1.3×10^8	1.5×10^8	1.1×10^6						5.6×10^7	機械巻
		大腸菌群試験	−	−	+	+	−							
		ブドー球菌	−	−	−	−	−							
	L社	一般細菌数	1.2×10^6	2.3×10^6	4.3×10^5	7.8×10^5	2.4×10^5						9.9×10^5	機械巻
		大腸菌群試験	−	−	−	−	−							
		ブドー球菌	−	−	−	−	−							
	M社	一般細菌数	0	3.4×10^3	2.1×10^3	3.2×10^2	4.8×10^2						1.2×10^3	機械巻
		大腸菌群試験	−	−	−	−	−							
		ブドー球菌	−	−	−	−	−							

HC別			No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6	No. 7	No. 8	No. 9	No.10	平均値	加工区分
荒川H・C	N 社	一般細菌数	5.8×10^6	1.2×10^5	5.9×10^5	9.7×10^5	2.3×10^5						1.5×10^6	機械巻
		大腸菌群試験	+	−	−	−	−							
		ブドー球菌	−	−	−	−	−							
	O 商事	一般細菌数	4.2×10^3	5.9×10^3	3.0×10^3	2.4×10^5	4.7×10^4						5.0×10^4	機械巻
		大腸菌群試験	−	−	−	−	−							
		ブドー球菌	−	−	−	−	−							
	P 社	一般細菌数	1.9×10^4	1.1×10^4	1.3×10^3	8.4×10^3	1.3×10^4						1.1×10^4	機械巻
		大腸菌群試験	−	−	−	−	−							
		ブドー球菌	−	−	−	−	−							
渋谷H・C	Q 社	一般細菌数	9.6×10^8	1.1×10^9	9.0×10^8	1.0×10^9	6.6×10^8						9.2×10^8	機械巻
		大腸菌群試験	+	+	+	+	−							
		ブドー球菌	−	−	−	+	−							
	Rタオル	一般細菌数	5.2×10^6	3.0×10^6	1.0×10^7	2.2×10^6	4.7×10^5						4.3×10^6	機械巻
		大腸菌群試験	−	−	−	−	−							
		ブドー球菌	−	−	−	−	−							
	利用者	一般細菌数	1.2×10^5										1.2×10^5	
		大腸菌群試験	(温)−											
		ブドー球菌	−											
中央 H・C	利用者	一般細菌数	2.0×10^6	1.4×10^3	1.4×10^3	3.2×10^6	4.8×10^2	0	2.4×10^6	1.2×10^5	3.7×10^3	0	7.8×10^5	
		大腸菌群試験	(温)−	(温)−	(温)−	(温)−	(温)−	(温)−	(温)−	(温)−	(温)−	(冷)−		
		ブドー球菌	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−		

同じく1CCをとりBTB乳糖ブイヨン（LB培地＋醗酵管入り）に入れ，37°C48時間培養する。黄変しガス発生した場合EMB培地にブイヨンを塗抹培養（37°C）する。48時間後に大腸菌群と思われるコロニーをBGLB培地に移植37°C48時間培養し，ガス発生の場合大腸菌群陽性とした。病原性黄色ブドウ球菌検査は布片を直接Staphylo No. 110培地に塗抹培養し，37°C48時間後に黄色湿潤円型コロニーをとり，テルライト・グリシン培地に培養，黒色コロニーをつくる場合を陽性とした。また時に家兎血漿によりコアグラーゼ陽性を検した。

各業者の処理方法，消毒方法は表1に示すとおりである。試験結果は表2のとおりである。

〔細菌試験の結果〕

貸おしぼり110検体の付着細菌数は最高 1.06×10^9，平均値7.97×10^7，最低値0で，細菌数0＝7.3%，1～999＝9.1%，1,000～9,999＝19.1%，1万～9万9千＝20.0%，10万～99万＝18.2%，100万～999万＝10.8%，1,000万～9,999万＝0.9%，1億～9億＝11.8%，10億以上は2.7%となつている。これを昭和41年度に行つた貸おしぼり細菌数試験のデーター[1]と比較すると細菌数において若干増加しているが，しかし41年度では細菌数0は皆無であつたが，43年度の試験では細菌数は7.3%と良好な結果をみている。またかりに基準を10万に置くと，41年度は10万以上100%，10万以下0%。43年度は10万以上44.5%，10万以下55.5%となつている。次に大腸菌群試験においても，41年度の検出率40%に対し，43年度は16.4%とこれまた減少を示している。また病原性黄色ブドウ球菌は110検体中2例検出（1.8%）した。

〔処理方法，消毒方法について〕

業者間に多少の相違があるが，推計学的には，処理行程が多いものほど付着菌数が多くなる傾向があると言えるほかは，洗濯，消毒方法，機械巻手巻等の差は認められない。表3は処理行程数と細菌数との検体数相関表であるが，相関係数は0.382であり，γ検定によれば $\gamma(90, 0.01)=0.267$であるから，これより大きくこのような現象は相関がないときに出現する確率は1%以下であることを示している。表を詳細にみると8行程数以下であれば5行程より6行程，6行程より7行程がよく，9行程以上になると付着細菌数が多くなつている。したがつて処理行程を7～8行程とするのが適当と考えられ，無駄に行程数を増すことは不可であり，要領よく簡潔な処理行程が望ましいのであろう。洗濯には，長く洗つていると逆汚染が起ると言われているが，その現象を裏付けているのかも知れない。

〔現状総合判定〕

以上の成績を綜合すれば，監視，指導の強化によつ

表3　処理行程数別・付着細菌数別検体数相関表

		行程数							計
		5	6	7	8	9	10	11	
付着細菌数（おしぼり一枚あたり）	$10^2>$			2	3				5
	$10^2\leqq<10^3$	1	1	5	3				10
	$10^3\leqq<10^4$		2	12	3				17
	$10^4\leqq<10^5$	1	7	10	1			1	20
	$10^5\leqq<10^6$	5	3	5		2		2	17
	$10^6\leqq<10^7$		2	1		4		1	8
	$10^7\leqq<10^8$					1			1
	$10^8\leqq<10^9$				3	7		1	11
	$10^9\leqq<10^{10}$				2				2
	$10^{10}\leqq$					1			1
計		7	15	35	15	15	0	5	92

$\gamma=0.382$　　$\gamma\ (90, 0.01)=0.267$

て，おしぼりに付着している細菌数は，漸次減少しつつあるが，未だに10万以上のものが半数を占め，10億個以上のものが2％以上もあることは，現在使用されている消毒法では，衛生的にやや不安があることを示すものである。

おしぼりを業者が使用しはじめると，需用者により使用され，その後に回収されるのに約1週間を要するようである。このサイクルを46時中ぬれたままで，約半年から1年間にわたつて使用される。従つて，一度付着した菌がこの洗濯時に使用される消毒法に強ければ，半年から1年間にわたり滅菌と増殖を繰返していることになり，この中に先述の病原菌があれば，その流す害毒は計りしれないと考える。

国ではクリーニング業を通じての伝染病の媒介をおそれ，特に39年消毒方法[2]を示して，消毒の徹底をはかつた。

現在各クリーニング業者はこの方法に従つて業務を行つており，おしぼり業者間で最も使用されている方法は「サラシ粉，次亜塩素酸ナトリウム等を使用し，その遊離塩素濃度が250ppm以上の液に摂氏30度以上で5分間以上浸し，終末濃度が100ppm以上になるような方法で漂白することを，その工程の中に含む洗濯法」である。この消毒法が完全であれば，抜き取り試験の成績はより良好なものとならなければならない。

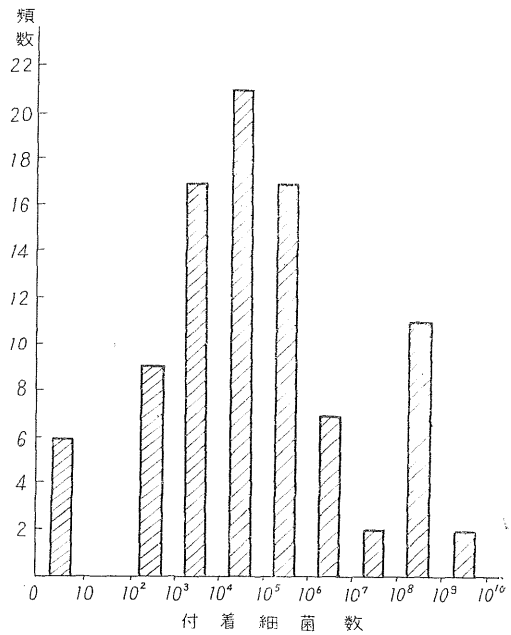
著者らは現在の消毒法を現在の施設，洗濯行程を大きく変えずに改善する方法を種々試みた。

付着細菌数の基準決定について

〔対数平均の意義〕

試験されたおしぼりの各個の細菌数をグラフにとれば，常数で表わした場合には極めて偏つた頻度分布を表わし，グラフに画くことは事実上困難である。これに比して細菌数の対数で作図すれば，図1の如くなり，

図1　付着細菌数頻度分布



10^4に最高値をもつ正規分布様の分布曲線を得ることが出来る。ついで平均値と標準偏差を求めれば

算術平均では　70,810,000±221,000,000

対数平均では　4.78±2.18となり，

これを常数で表わせば，平均値は60,300となり，1標準偏差を上，下にとれば9,120,000と398となる。

平均値とは概念的には最も頻度の多い値（Mode）であり，また中央値にもなるべきものであろう。算術平均では中央値，Mode からも大きく偏より，この試験成績を代表する数値とは言い難い。一方対数平均においては，中央値，Mode からの偏りも少く，この試験成績を代表する数と言い得る。

更に変動係数（標準偏差と平均値の比）を算出すれば，算術平均の場合は3.16となり，対数平均の場合は0.46となる。前者が大きいことはバラツキが大きいことを示し，後者のデーターがまとまりがあることを示している。従つて細菌数を論ずる場合には対数をとる

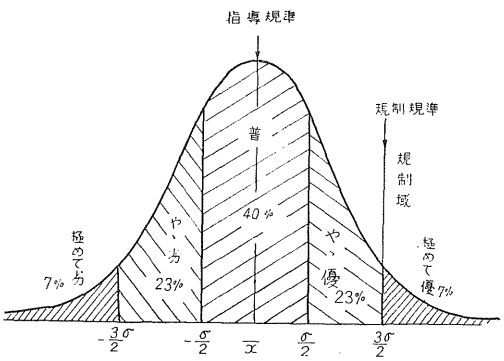
べきであると考え，以後，対数値をとつて論を進める。

〔規制・指導基準〕

先述のおしぼり試験に供された標本は無作為に抽出されたものと考えて，この標本群は，都内のおしぼりの実状をよく表わすものとしよう。

さて，この現状において，極めて悪い処とよい処を分類するにはどうするか？　一般的分類法は極めて優，やや優，並，やや劣，極めて劣と分類する5段階法である。平均値を中心にしてその上下に1/2標準偏差をとれば，その内側の全度数は40％となり，これが並である。上下に3/2標準偏差をとれば，その外側になる部分は14％であり，よい方の7％は極めて優れており下の方の7％は極めて劣るものである。

図2



従つて現状状において，行政的規制を要するものは，極めて劣る7％のものであろう。

いま，標本群の平均値±標準偏差が4.78±2.18であつたから，行政的規制を要するものは4.78＋1.5×2.18＝8.050 即ち，常数の細菌数は112,000,000以上ということになる。行政的指導基準としては，平均値を示すのが適当と思う。従つて4.78，即ち常数では60,300である。

現状では，行政的規制基準を1億個以下とし，指導規準として5万又は10万個とするのが妥当と考えられる。

〔消毒法の改善に要求される基準〕　しかし行政的規制規準として，おしぼり1枚につき付着する細菌を1億個以下とするにしては，他の飲料水，飲食物，プール，浴場水等の基準からすると余りにも数量が多すぎる。再びここで，画期的な消毒法の改善が必要であることを痛感するのであるが，さて，どの程度に基準をおくべきであろうか？　他の法規規準としては5万とか，10万の基準が使われていること，および，現状の平均値指導基準が6万であることから，5万又は10万の数値を規制基準に採用するのが適当なのであろう。それでは5万又は10万の規制基準をきめた場合，消毒法の改善なしでは，半数が規制の対象となつてしまう。そこで，行政指導として示す改善消毒法を使えば，平均値はどのような細菌数を示すものであり，また標準偏差をもつものであるべきか？

いま，先述の抜き取り試験の各社の製品について，細菌数平均値と標準偏差を対数で求めれば，表4のとおりである。

表4

社	平均値 x	標準偏差 y
A	4.40	0.25
B	5.28	0.17
C	3.34	0.39
D	1.78	1.48
E	3.00	0.30
F	4.59	0.22
G	3.62	0.68
H	1.15	1.42
I	6.14	1.29
J	8.34	0.30
K	6.85	1.05
L	5.87	0.34
M	2.41	1.26
N	5.79	0.58
O	4.18	0.73
P	3.89	0.41
Q	8.96	0.08
R	6.45	0.45
平均値	4.78	0.63
標準偏差	2.07	0.45

平均値を横軸に，標準偏差を縦軸にとり，グラフを画けば図3の如くなる。

平均値が小さくなると，標準偏差が大きくなり，バラツキが大きくなることを示し，平均値が大きくなると標準偏差が小となり，バラツキが小となることを示している。平均値と標準偏差の相関係数を求めると−0.49となり，負の相関であることが明らかとなる。

平均値と標準偏差の回帰直線を求めれば，

$y=1.16-0.11x$……①

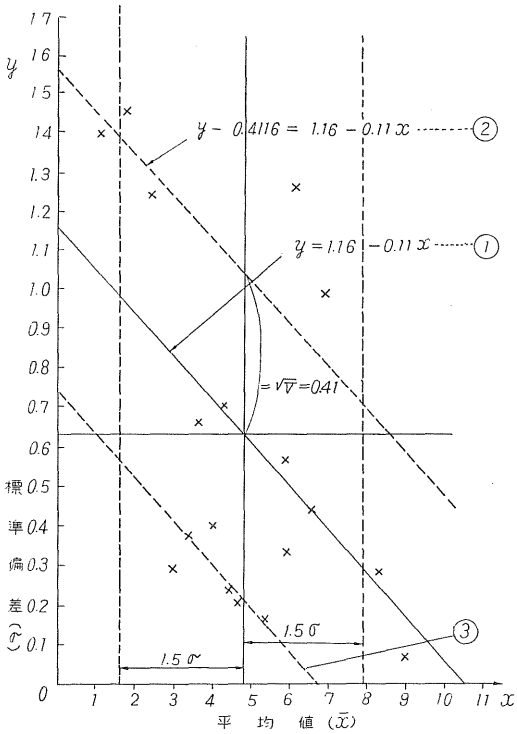
$\sigma=1.16-0.11\bar{x}$……(1)

この回帰直線の上下に不偏分散の平方根の幅をとり，直線を画けば，直線②，③となる。

極めて劣るもの（7％）の範囲を z とすると，

$z=\bar{x}+1.5\sigma$ である。

図3　おしぼり各社製品細菌数
平均値，標準偏差の相関図



これに(1)を代入すると，

$z=\bar{x}+1.5\times(1.16-0.11\bar{x})$

$z=0.84\bar{x}+1.740$

細菌数10万以上を極めて劣るものの範囲とすると，

$z=5,000$

$5=0.84\bar{x}+1.740$

$0.84\bar{x}=3.260$

$\bar{x}=3.880$……つまり7,590個となる。

細菌数5万とすれば　$z=4.699$

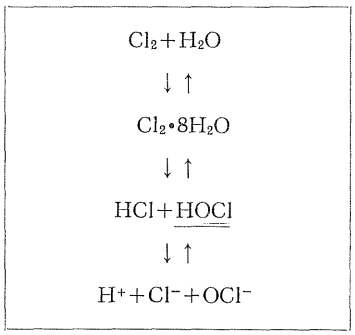
$4.699=0.84\bar{x}+1.740$　$\bar{x}=3.523$　つまり3340個となる。

即ち，行政規制基準を10万（5万）個以下とすれば，指導基準（平均値）は7,500(3,300)個以下とすべきである。しかも，これから指導しようとする洗濯・消毒法は，数多くの抜き取り試験を行い，細菌数の対数平均が確実に 3.880(3.523) 以下，常数で言えば 7,500 (3,300)個以下にならなければならない。

次亜塩素酸の殺菌理論

著者らは次亜塩素酸を使用する消毒法が，現在のおしぼり業者の施設，薬剤の使用状態より，最も経済的な現実的な消毒法であると考え，この使用法を中心に改善策を得ることを試みた。従つて次亜塩素酸の殺菌理論[3]を検討した。

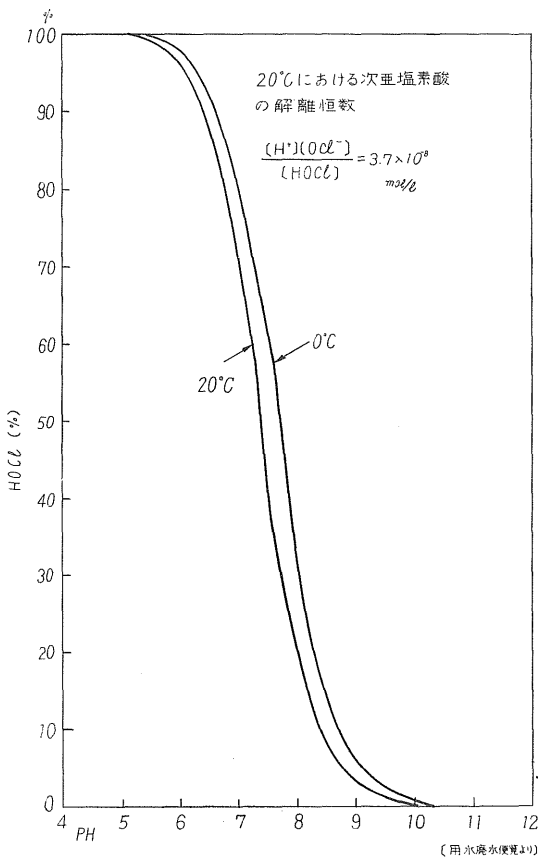
図4　次亜塩素酸の解離



$$\frac{[H]^{+}[OCl]^{-}}{[HOCl]}=3.7\times10^{-8}\,mol/l$$

水に塩素ガスを吹き込めば，8倍の水と結合して水化物を作る。水化物は更らに塩酸と次亜塩素酸となりついで H^{+} イオンと Cl^{-} イオンとに解離する。消毒，殺菌の作用はこのうち，次亜塩素酸によつて生ずると推定されており[3,4]，この場合水素イオン，次亜塩素酸イ

図5　pH と HOCl 濃度



オンおよび次亜塩素酸との間の解離恒数は 3.7×10^{-8} mol/l である。従つて水素イオンが増加した場合即ち酸性に傾むくと次亜塩素酸は増加し，消毒効果を増大する。また水素イオンの減少即ちアルカリに傾けば，次亜塩素酸が減少し消毒殺菌効果が低下する。いまこれをグラフに画けば，図5の如くなり，pH=9の時のHOCl は4％存在するのみであるが，pH=7になれば，74％と優に19倍に増大する。従つて，消毒殺菌作用も19倍に増大しうることも考えられる。この解離恒数は20°Cにおけるものである。これを0°Cにとると HOCl 曲線は右方に移動する。同じ塩素量，pH であれば，低温の方が次亜塩素酸量が増加し，殺菌力が強いこととなる。つまり次亜塩素酸の消毒効果を期待するときは，加温は好ましくないことを示している。

さて，現在行われているおしぼり洗濯法をみると，

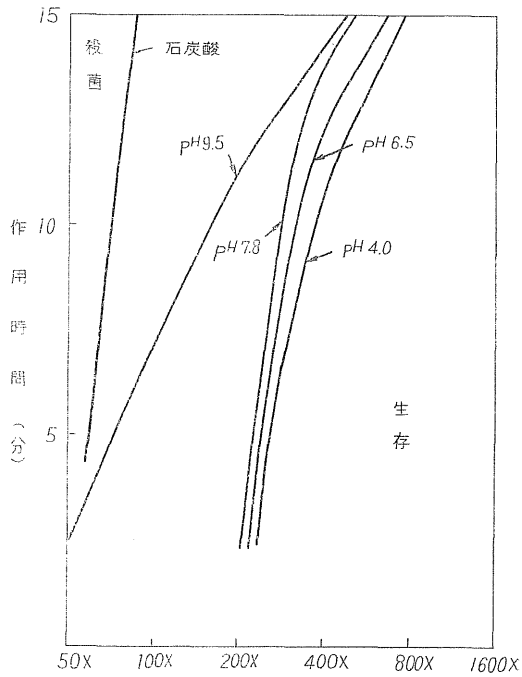
ワッシャでは，予洗（10分）→本洗と同時に遊離塩素量300ppm で消毒と漂白（20分）→すすぎ1回（5分）→すすぎ2回（5分）→すすぎ3回（5分）→すすぎ4回（5分）→脱水→機械包装→出荷が標準的行程であり，一方自動洗濯器ではすすぎ3回が普通である。消毒は第1行程で，洗剤とともに次亜塩素酸ソーダを入れ，遊離塩素量を300ppm として漂白とかねて行つている。この洗濯行程の pH をみると表5のとおりであり，本洗時には pH=11 であり，更らにすすぎ1回，すすぎ2回と次第に pHは低下しているが，pH が9より下に下がるのはすすぎの3回以降である。遊離塩素即ち次亜塩素酸の消毒が，前述の殺菌理論からして，殆んど発揮し得ない pH において行なわれていることは，畢竟，消毒殺菌が出来てないことが結論される。勿論消毒殺菌理論と実際とは異なるので，殺菌効果は次亜塩素酸だけでなく，塩素ガス，水化物あるいは OCl イオン，Hイオン等の作用等もあると思われるが，それ等は次亜塩素酸の作用に比すれば，甚だ小なものであると考えられる。何故なら本洗，すすぎの行程での洗濯物と水の比（浴比）は1：8であるが1行程の菌の減少率は1/10であるから，つまり現在の洗濯消毒行程では，殺菌消毒よりも洗濯効果，すすぎの効果を発揮したに止まつたといつても過言ではないだろう。一般に洗濯時にサラシ粉を入れると，汚水の蛋白が酸化凝固され，洗剤による洗濯効果を上げ，且つ漂白がよく行われるとされている。しかし，殺菌消毒は出来ないと考えるべきであろう。

表5　洗濯行程間の浴水 pH 値

	本洗	すすぎ	すすぎ	すすぎ	すすぎ	
ワッシャー	10.8	10.1	9.4	8.4	7.4	メタ珪酸ソーダ使用
自動洗濯器	11.6	11.0	10.0	9.5		メタ珪酸ソーダ使用
自動洗濯器	8.7	8.8	8.7	8.6		メタ珪酸ソーダ使用せず

次に10％次亜塩素酸ソーダ溶液の石炭酸係数検査を行つた。術式は細菌学実習提要[5]に示す消毒剤検定術式によつた。この際溶液の pH を変えると殺菌力に大きく影響し，pH=9.5では100倍稀釈で7.5分以下では大腸菌は死滅しないが，pH7.8以下のものはすべて殺菌している。この検査をもとにして連続曲線を画けば図6のとおりとなる。この曲線からもpH=9以下でなければ殺菌力が弱いであろうことが想像され，また作用時間が15分以上に長くなると pH の影響が少くなることが分る。つまり pH を考えない時に殺菌時間を延長する必要があることを示している。

図6　次亜塩素酸ソーダ溶液の殺菌試験



次亜塩素酸ソーダ溶液 殺菌試験に及ぼす pHの影響

厚生省の指示に示す5分間では pH の修正なしに消毒の効果を期待することは出来ない。

以上の試験によつて求められた次亜塩素酸ソーダ溶液の石炭酸係数は，

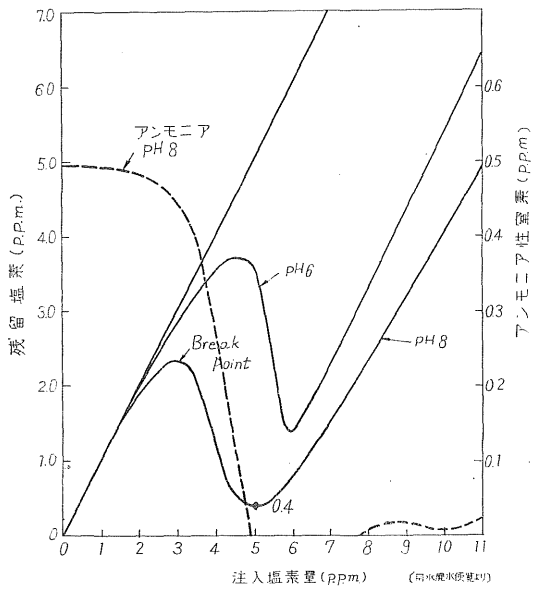
pH9.5　にあつては　1.4
pH7.8　〃　3.8
pH6.5　〃　3.8

pH4.0　　〃　　5.0

であり，消毒薬検定法に示された如く，培養菌液を入れることにより，有効遊離塩素（1000ppm＝100倍稀釈）（500ppm＝200倍稀釈）は殆んど菌液中の蛋白質と化合し，クロラミンを作り，速効性の殺菌力の大部分を失つたと考えられる。

そもそも，水中に塩素ガスを注入すると遊離塩素は注入ガス量にしたがつて増加するが，ある点（Break-point)に達するとアンモニア性窒素と化合しクロラミンを作り，逆に減量しはじめる。さらにこれに注入量を増加すると再び増加を来すとのことである。(図7) pH 8 の水における Breakpoint は 2.4ppm であり，さらに塩素ガスを注入すると 0.4ppm まで低下する。0.4ppm の水は塩素臭を有さないので，飲料水の塩素添加には，この原理が応用されるのであるが，おしぼりにもこれに類する現象があつてもしかるべきであろう。

図7　注入塩素量と残留塩素濃度



実地試験（その1）

某おしぼり業の工場を利用し，洗濯行程特にすすぎ水に次亜塩素酸ソーダを入れる量，回数或は pH 中和を種々変えて実地試験を試みた。細菌数は主として洗濯前，脱水後，包装後，1日後，2日後，3日後を試験した。

その結果，規制規準を10万，指導基準を7,500とした場合，これに常に合格する消毒法は下記の通りである。

1.　最後のすすぎ2回(すすぎ3，すすぎ4)のすすぎ水を酢酸により中和し，かつ遊離塩素量を 100ppm とした場合。

2.　本洗時に温湯を使用し，最後のすすぎ水の遊離塩素量を 60ppm にした場合。

3.　すすぎ水には，すべて遊離塩素を 50ppm 入れた場合。

これに対して，現行法の本洗に際してのみ 300ppm を入れる方法は，脱水時にも充分菌が落ちてない上に，商品化された後の保存状態により，急激に付着細菌の増殖が認められる。また，すすぎ3の1回に次亜塩素酸ソーダを100ppm を入れ，すすぎ4で遊離塩素をすすぎ出した場合は，脱水行程ですでに菌が増加し，1日後には規制規準の10万をこえた。

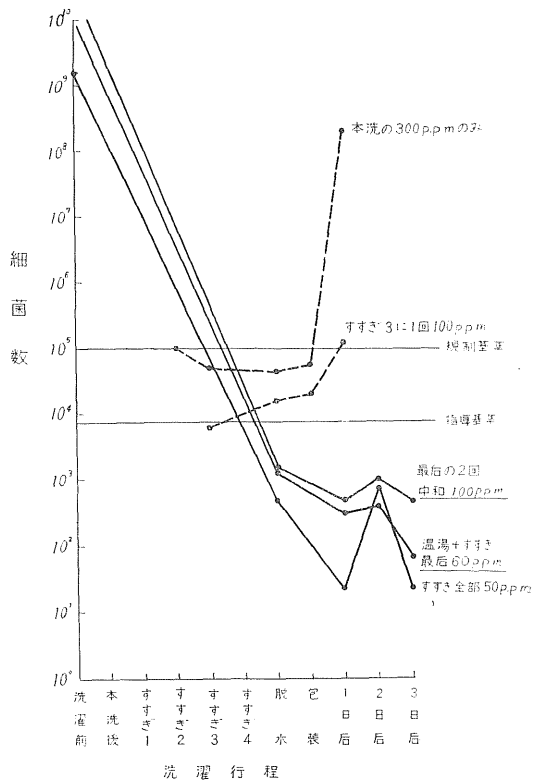
以上の実験より次のことが結論される。

1.　本洗時の次亜塩素酸ソーダは，漂白，洗浄効果はあるが，殺菌消毒効果を期待し得ない。

2.　すべてのすすぎ水に次亜塩素酸ソーダをもつて遊離塩素を 50ppm に維持することは消毒方法として好ましい。

3.　すすぎ水の pH を中和することは遊離塩素の消

図8　おしぼり消毒効果



毒作用を増大させる。

4. 本洗に温湯をもちいることは，すすぎ行程の遊離塩素の消毒効果を高める。

5. 最後のすすぎ4に遊離塩素がある場合には，脱水後おしぼりの中に残る水の中の遊離塩素が2～3日にわたつて，消毒あるいは増菌抑制作用を発揮すると考えられる。

さて，商品おしぼりの中に遊離塩素を残してあつては，塩素臭と使用時の皮膚えの刺戟が考えられるのであるが，実測すると商品おしぼり内には，0.1ppm 以上の遊離塩素を検することは出来なかつた。従つて塩素臭を嗅ぎわけることは出来なかった。また pH はいづれも中性（pH 7～8）であつた。すすぎ水の中のアルカリ，遊離塩素はおしぼり中の有機物を結合し中和されたり，クロラミンとなつて，無害となるものと考える。

実地試験（その2）

実地試験（その1）によつて得られた消毒法，即ちすすぎ水すべてに遊離塩素を加える方法を他の2～3の工場で行つたところある時には規制基準，指導規準ぎりぎりの細菌数を検出することがあり，また菌を検出しないこともある等，工場により大きな差異のあることが認められた。著者らのこれまでの改善策は専らすすぎ行程の考案であつたので，この度は本洗行程の分析を行つた。本洗行程は工場によつてまちまちであり洗濯器に対する負荷量の不適切なところ，洗剤の質及び量が適切でないこと，浴比が適切でないこと，本洗時間が適切でないこと等を各所で見出した。中でも洗剤の質及び量は，最近の界面活性剤の長足の進歩により各種各様な洗剤が現われ，使用洗剤の鑑別はきわめて困難である。その上小企業のおしぼり業では，使用洗剤の知識は殆んど無いに等しい状態であつた。そこで洗剤を使用量の特に示してある特定品を使用して第2の実地試験を行つた。（表6）

1. 使用洗濯器，自動洗濯器
2. 洗濯物重量　8 kg
3. 水量，本洗　76kg
   すすぎ　73kg
4. 塩素剤，次亜塩素酸ソーダ(有効塩素濃度10%)
5. 洗剤の種類および使用量
   非イオン系　760CC
   メタ珪酸ソーダ　100g
6. 処理時間
   本　洗　15分
   すすぎ　5分
7. 処理温度　13°C

結果は，すすぎ水にすべて遊離塩素を 50～100ppm 入れることにより，製造3日後まで確実に細菌の増殖

表6　実　地　試　験（その2）

検体番号	洗濯前おしぼり	洗濯行程 本洗 遊離塩素量	すすぎ 遊離塩素量	すすぎ 遊離塩素量	すすぎ 遊離塩素量
1	検 1— 1 2 3 4 5	300ppm	50ppm	50ppm	pH 9.0 50ppm
2	検 2— 1 2 3 4 5	300ppm	50ppm	50ppm	pH 8.3 50ppm
3	検 3— 1 2 3 4 5	300ppm	100ppm	pH 9.7 100mpm	
4	検 4— 1 2 3 4 5	次亜なし	次亜なし	次亜なし	pH 8.1 次亜なし

注1　検体2は珪酸ソーダを使用せず。
注2　検体4は逆性石鹸を洗剤として使用した。

表7　試　　験　　結　　果

検体＼時間別	洗濯前細菌数	大腸菌	包装後細菌数	大腸菌	1日後	大腸菌	2日後	大腸菌	3日後	大腸菌
1	1.2×10^{9}	$5^{+}/0_{-}$	4	$0^{+}/5_{-}$	36	$0^{+}/5_{-}$	8	$0^{+}/5_{-}$	8	$0^{+}/5_{-}$
2	4.6×10^{7}	$5^{+}/0_{-}$	0	$0^{+}/5_{-}$	0	$0^{+}/5_{-}$	0	$0^{+}/5_{-}$	3	$0^{+}/5_{-}$
3	2.4×10^{6}	$5^{+}/0_{-}$	4	$0^{+}/5_{-}$	38	$0^{+}/5_{-}$	3	$0^{+}/5_{-}$	26	$0^{+}/5_{-}$
4	1.8×10^{7}	$5^{+}/0_{-}$	13	$0^{+}/5_{-}$	153	$0^{+}/5_{-}$	8.4×10^{4}	$0^{+}/5_{-}$	1.7×10^{7}	$0^{+}/5_{-}$

大腸菌 $5^{+}/0_{-}$ は大腸菌陽性5検体，陰性0検体

をおさえ，特にメタ珪酸ソーダを助洗剤として，使用しなければ，製品作成から2日後まで，付着細菌数を0とすることが出来ることが証明された。（表7）

結　　論

著者らはおしぼり製造行程の消毒法の改善を意図し，現状の分析を行つた結果，最も一般的に使用されている消毒法は，本洗と次亜塩素酸ソーダによる漂白と消毒を同時に行つているが，本洗時には浴水がアルカリ性となつているので，洗浄と漂白は効果を発揮するが，消毒効果を期待することが出来ないことを知つた。従つて，洗浄，漂白後のすすぎ水に次亜塩素酸ソーダをもつて50～100ppmの遊離塩素を与えれば，すすぎ間にすすぎ水のpHも次第に中性に近づき，消毒効果を発揮することが出来る。しかもすすぎ5～10分を3回行えば，合計15～30分間の遊離塩素の作用時間も獲得出来る。さらに，すすぎ水を酢酸で中和すれば，よりよい成果を挙げうるものと確信する。また，脱水後おしぼりの中に残る水分中の遊離塩素はクロラミンの型となつて，永く消毒効果を発揮し，また増菌を抑制する。しかも遊離塩素はクロラミンの型になつていると思われるので，特に塩素臭を有せずまた刺戟性も有しない。

この次亜塩素酸ソーダによる消毒法は，おしぼりの本洗がより完全であれば，より一層効果を発揮し，完全滅菌も可能と考えられる。ただし，本洗が完全であることのためには洗濯物量，浴比，本洗時間，洗剤の質，量が適切でなければならない。前三者は洗濯器固有の数値がきめられておりあまり変動がないが，洗剤の質，量については，洗剤業者が洗剤の種類によつて固有の数値を定めているが，洗剤の種類は界面活性剤が種々であることと，日進月歩で新洗剤が作り出されることもあつて，はたして使用洗剤が洗浄能力を有するのかも分らない現状である。特におしぼり業者のような小企業にあつては，安価な不良洗剤を使用するものもあろうから，洗剤の店頭チェックも行わなければならないと思う。

本調査研究にあたり，衛生局公衆衛生部長安原克博士をはじめ，斎藤誠博士，須貝環境衛生課長，環境衛生課の諸君および世田ヶ谷保健所長有村義男博士に終始御指導御支援を戴いたことを厚く感謝する。

文　　献

1) 小林正武：東京都立衛生研究所　年報19, 113 (1968)
2) 厚生省環境衛生局長通達：昭和39年9月12環発第349号，クリーニング所における消毒方法等について
3) 用水廃水便覧：初版，300 (1964) 丸善，東京
4) Rudolff & Levine, Bulletin 150, Iowa State Experiment Station (1941)
5) 伝研学友会編：細菌学実習提要，335 (1964)，丸善，東京

冬季における東京都庁各事業所内の環境条件について

野牛　弘*　両角　清*
小林正武*　瀬戸孝博*
山崎爽治*　泉川碩雄*
林　貞雄*　佐藤泰仁*
池田真悟*　青木　実*

緒言と調査方法

本調査は東京都庁本局及び出先事業所内の冬季における室内環境条件の適否と併せて庁舎内の環境条件を保持するため総務局勤労部の依頼により実施した。今回の調査は各事業所より提出された資料に基き調査方法及び被検個所等を選定し昭和44年2月3日より3月27日までの期間に10局35個所の事業所について，事務室及び作業所内の温度条件（温湿度，カタ冷却力，気流，感覚温度）並に汚染条件（炭酸ガス量，落下細菌数，塵埃数及び量）等について常法の如く調査を行つた。また一部の事業所では前記の試験項目以外に騒音レベル，気中有害ガスの測定及び有効気積等の調査も併せて行つた。なお今回の調査は室内環境条件としては年間を通じて一番不良な時期でもあり職場内を常に快適な状態に保つことは健康管理及び作業能率とも密接な関係があり本調査の意義は大と考える。

調査結果並に考察

各事業所内の温度条件は表1の如くである。

1）気温。各事業所内の気温は各事業所ともに室内を暖房している関係で室内はほぼ至適温度に近く室内の気温としては良好な個所も多かつたが事業所の中には無関心な事業所もかなり多く室内の気温は 27.0°～30.8°C と全般的に高く盛夏のような個所もありこれらの室ではかなりの暑さを感じさせており暖房過剰といえよう。各被検個所の気温を成績評点区分により大別すると評点でAと評価された個所は21個所(9.7%)，Bは84個所（38.9%），Cは37個所（17.1%），Dは27個所（12.5%），Eは47個所（21.8%），で全被検個所の65%が冬季における事務室の気温としては良好であり，35%が不良であつた。また各事業所内の気温は平均値は 16.1～25.1°C一部の事業所を除いては気温はほぼ良好であるが，事業所によつては気温の全般的に高い事業所も少くなかつた。

2）湿度。冬季は外気湿度が低下するにしたがい室内を暖房するために室内はますます乾燥し湿度の低下は免れぬが，今回の調査では事務室内の湿度が35%～60%の個所が129個所（59.8%），34%以下の個所は87個所（40.2%）で，全被検個所の約半数以上の個所が比較的良好であつたが，その他の個所では湿度は全般的に低く室内は乾燥して乾燥感が一段と強かつた。

3）カタ冷却力。各被検個所のカタ冷却力は各事業所の一部では比較的良好であつたが，その他の個所ではカタ冷却力は全般的に小さく不良であり暑さを感じさせていた。

4）気流（気動）。各事業所内の気流は冬季としては室内では 0.2～0.3m/sec 位が最も快適とされているが，各事業所とも窓や扉等を閉鎖して執務する関係で被検個所の大部分（約90%）は気流が全般的に微弱でほとんど無風に近く刺戟の少い環境をつくつていた。

5）感覚温度。各事業所内の感覚温度は事業所の一部では温湿度及び気流等が不良のためこれらの個所では感覚温度は比較的高く室内では暑熱感が一段と強く冬季の室内温度条件としては不良であつたが，その他の個所では感覚温度は冬季の快感帯の範囲にあり室内温度条件としては全般的に良好であつた。また各被検個所の感覚温度を成績評点区分により大別するとA評価された個所は33個所（15.3%），Bは97個所（44.9%），Cは64個所（29.6%），Dは16個所（7.4%），Eは6個所（2.8%）で，室内の温度条件としては約 60%が良好で，40%が不良という結果となつた。

次に空気汚染の指標とも考えられる炭酸ガス，落下細菌，塵埃等の調査成績は表2の如くである。

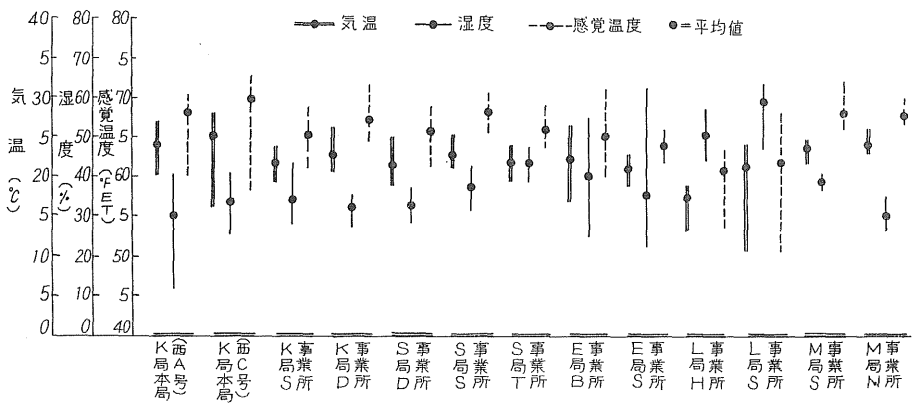
6）炭酸ガス量。各事業所内の炭酸ガス量は事業所間でも差異が大きく，また在室者の多少や暖房器具等にも関係があものと考えるが，今回の調査では特にガス暖房及び石油暖房（無煙突のもの）を行つている事業所では全般的に多く最高5.50‰にも達した個所もあ

* 東京都立衛生研究所　環境衛生部

表1　各事業所の試験成績（温度条件）と成績評点区分

項目 / 判定区分 / 評点区分	気　温（°C）		湿　度（%）		カタ冷却力（乾）		気　流（m/sec）		感覚温度（°FET）	
	判定区分	試験成績	判定区分	試験成績	判定区分	試験成績	判定区分	試験成績	判定区分	試験成績
	°C	ヶ所		ヶ所		ヶ所		ヶ所		ヶ所
A	20	21 (9.7%)	50～60	28 (13.0%)	6.0～70	14 (6.5%)	0.20～0.30	7 (3.2%)	64～65	33 (15.3%)
B	21～22 19～17	84 (38.9%)	42～49	38 (17.6%)	7.1～ 9.0 5.9～ 5.0	33 (15.3%)	0.31～0.45 0.19～0.12	16 (7.4%)	66～68 63～61	97 (44.9%)
C	23 16～15	37 (17.1%)	35～41	63 (29.2%)	9.0～11.0 4.9～ 3.5	130 (60.2%)	0.46～0.65 0.11～0.06	89 (41.3%)	69～71 60～58	64 (29.6%)
D	24 14	27 (12.5%)	29～34	53 (24.5%)	11.1～12.9 3.4～ 2.1	38 (17.6%)	0.66～0.99 0.05～0.02	103 (47.7%)	72～74 58～55	16 (7.4%)
E	25以上 13以下	47 (21.8%)	28以下	34 (15.7%)	13.0以上 2.0以下	1 (0.4%)	1.00以上 0.01以下	1 (0.4%)	75以上 54以下	6 (2.8%)

各事業所の気温，湿度，感覚温度（一部抜粋）



り，室内の炭酸ガス量の増加は明らかに換気不足を示すもので，このような室では特に室内換気には注意することが必要であろう。また各被検個所の炭酸ガス量を成績評点区分により大別してみるとAと評価された個所は72個所（33.3%），Bは42個所（19.4%），Cは52個所（24.1%），Dは25個所（11.6%），Eは25個所（11.6%）となり全個所の約半数が良（52.7%）又は不良（47.3%）であつた。また各事業所の炭酸ガス量の平均値は0.48‰～4.48‰で一部の事業所では全般所に多く換気不良であつたが，その他の事業所では1.00‰前後で比較的少く換気は良好であつた。

7）落下細菌数。各事業所内の落下細菌数は衛生状態の悪かつた時代には室内外ともに多数であつたが，現状では室内の落下細菌は各事業所ともに全般的に少く良好であり成績評点区分でもAと評価された個所は219個所（99.1%）で，Bとなつた個所は2個所（0.9%）となりその他は皆無で室内空気の細菌的な汚染は考えられず余り問題はないと考える。

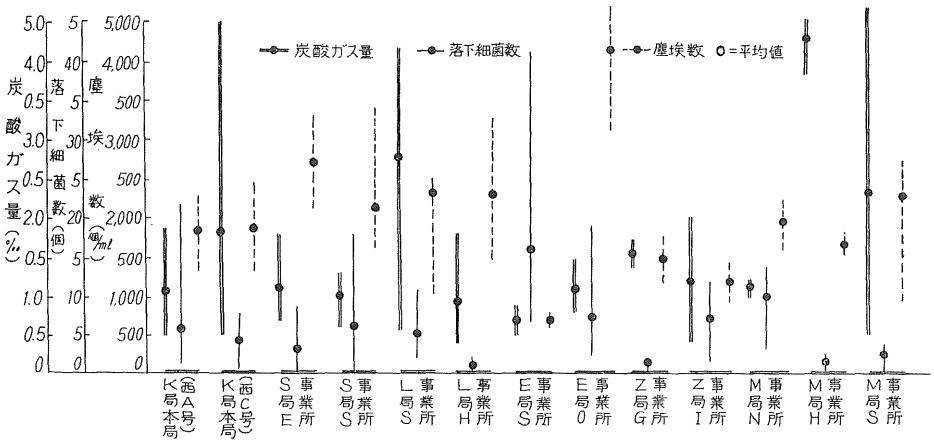
8）塵埃数。各事業所内の塵埃は冬季は室内を暖房するため室内は特に乾燥して発塵が容易となるため一部の事業所を除いては各事業所ともに全般的に多く事業所によつては 4000～5000個/ml 以上となり室内での発塵が顕著であつた。各事業所の塵埃数を成績評点区分により大別するとAと評価された個所は8個所（3.7%），Bは46個所（21.3%），Cは68個所（31.5%），Dは72個所（33.3%），Eは22個所（10.2%）で全個所の約半数以上の個所が塵埃は多く不良と評価され，また各事業所の塵埃数の平均値は671～4284個/ml で事業所間の差異は大きく特に冬季は室内での発塵が顕著と考える。

9）照度。各事業所内の照度（事務室としては 300～700 ルックス）は事業所の一部の個所では照度不足の個所もあるが，平均照度は照度基準の範囲にあり現状では余り問題はない。

表2　各事業所の試験成績（汚染条件）と成績評点区分

成績評点＼判定区分＼項目	炭酸ガス量（‰）		落下細菌数（個）		塵埃数（個/ml）	
	判定区分	試験成績	判定区分	試験成績	判定区分	試験成績
A	0.70以下	72ケ所 (33.3%)	30以下	214ケ所 (99.1%)	800以下	8ケ所 (3.7%)
B	0.71～0.99	42 (19.4%)	31～74	2 (0.9%)	801～1499	46 (21.3%)
C	1.00～1.44	52 (24.1%)	75～150	0 (0%)	1500～2000	68 (31.5%)
D	1.41～1.99	25 (11.6%)	151～229	0 (0%)	2001～2999	72 (33.3%)
E	2.00以上	25 (11.6%)	300以下	0 (0%)	3000以上	22 (10.2%)

各事業所の炭酸ガス量落下細菌，塵埃数（一部抜粋）



10）空気試験成績判定。今回の調査成績に空気試験成績判定基準（日本薬学会）により判定を附してみると表3の通りである。試験成績判定についてみると優と判定された個所は37個所（17.1%），良は67個所（31.0%），可は6個所(2.8%)，準不適は16個所(7.4%)，不適は90個所（41.7%）で，全被検個所の51%が優又は良と判定され，49%が準不適及び不適となり室内環境条件としては不良という結果になつたが，判定で不適（準不適）となつた素因は温度条件及び汚染条件等が不良であつたことに因るもので，また判定で優又は良（可）と判定された個所でも試験成績中の個々の項目についてはなを改善すべき点も少なくはなかつた。

11）騒音レベル。各事業所内の騒音レベルは表4の如くである。室内の騒音を大別すると内部騒音と外部騒音とになり内部騒音としては建物の構造，事務機械，電話，外来者及び人の通行等によるもので，特にこれらの影響のない場合には在室者の数に比例して増大することが多い。また外部騒音は事業所によつては比較的交通量の大きい街路（軌道）に近いためその影響が大きく，騒音の強さは交通量に比例し距離に反比例するもので，特に今回の調査は冬季のため各室ともに窓を閉鎖しているため事業所によつては内部騒音が高い事業所と外部騒音の影響の大きい事業所とになつたが，事務室の騒音レベルの中央値は48～64ホンで一部の事業所を除いてはやや騒々しい事務室といえよう。しかしこれが夏季では窓を開放するため事業所によつては外部騒音により室内の騒音レベルは5～10ホン前後増加して騒々しい事務室となることも推測される。

12）有効気積。各事業所の有効気積は表5の通りである。作業所の有効気積は労基法（労働安全衛生規

表3 空気試験成績判定

成績判定 / 事業所名	優	良	可	準不適	不適	合計
	個所	個所	個所	個所	個所	
K局関係事業所	8	20	3	10	40	81
M局関係事業所	0	3	3	2	13	21
Z局関係事業所	3	3	0	2	4	12
S室関係事業所	1	1	0	0	0	2
J局関係事業所	2	1	0	0	0	3
SS局関係事業所	0	1	0	0	0	1
L局関係事業所	1	6	0	1	7	15
S局関係事業所	17	27	0	1	14	59
E局関係事業所	5	2	0	0	13	20
KO局関係事業所	0	1	0	0	1	2
計	37 (17.1%)	67 (31.0%)	6 (2.8%)	16 (7.4%)	90 (41.7%)	216 (100%)

表4 各事業所の騒音レベル

音量 / 事業所名	最高値(ホン)	中央値(ホン)	最小値(ホン)
Z局Y部	60	52	47
K局本局(西A号庁舎)	66	62	58
同 (西C号庁舎)	66	60	56
J局K部S課	63	60	55
L局M事業所	66	57	52
同 S事業所	64	58	52
M局F部分室	67	62	58
同 N事業所	62	57	50
同 S事業所	53	48	46
S局D事業所	69	64	60
K局S事業所	64	57	51

則）では1人当り10立方米以上とされているが，事業所間及び事業所内でもかなりの差異があるが大半の事業所では10立方米以上となつたが，一部の事業所では気積は全般的に少く10立方米以下で，このような室では床面積に対して在室者が多いことを示すものであり，また職員等を配置する場合には気積等を考慮して決定すべきである。

結語

各事業所の冬季における室内環境条件の中。

1) 温度条件。冬季の室内の至適温度は20°C位が最も快適とされているが，一部の事業所を除いては気温は高く暖房過剰である。また湿度は冬季としては少くとも30%以上が望ましいが，事業所によつては全般的に低く乾燥感が強かつた。カタ冷却力は一部の個所を除いては全般的に小さく，気流も微弱でほとんど無風に近く刺戟の少い環境をつくつている。感覚温度は冬季の快感帯としては62～68°F. E. Tで，一部の事業所では感覚温度は全般的に高く温度条件は不良であ

表5 各事業所の有効気積

気積 / 事業所名	有効気積 (m³/人) 最高	平均	最小
K局本局(西A庁舎)	17.3	13.1	6.3
〃 (西C庁舎)	38.2	15.3	8.9
K局S事業所	16.1	14.5	13.2
〃 N事業所	18.0	12.3	8.2
〃 K事業所	50.8	26.3	10.7
〃 Y事業所	9.5	8.6	7.6
〃 O事業所	28.8	17.1	8.4
L局M事業所	59.5	47.7	35.8
E局O事業所	14.6	11.4	8.1
〃 B事業所	−	19.4	−
M局S事業所	11.7	10.2	8.7
〃 K事業所	20.6	15.5	9.6
J局K部S課	−	20.2	−
〃 K部B課	−	27.0	−
KO局H事業所	−	4.7	−
S局E事業所	10.8	8.3	6.0
〃 S事業所	15.3	11.2	7.1
〃 T事業所	18.3	11.5	9.9
〃 C事業所	14.0	13.2	12.8

る。

2) 汚染条件。各事業所内の炭酸ガス量は全般に少く換気良好であるが，一部の個所では全般に多く換気不良であり，特にガス暖房を実施している室では炭酸ガスの蓄積が顕著であつた。室内の落下細菌は各事業所ともに全般的に少く問題はない。各事業所内の塵埃は一部の事業所では比較的少く良好であるが，全般的に室内での発塵が顕著である。

3) 空気試験成績判定では一部の事業所を除いては各事業所ともに半数以上の被検個所が室内環境条件は不適となり環境条件の向上が望ましい。

4) 事務室内の照度は一部の個所では照度不足の個所もあるが全般的には照度基準の範囲にあり余り問題はない。

5) 各事業所の騒音レベルは冬季としては一部の事業所を除いてはやや騒々しい事務室となつたが，夏季では音量の増加も考えられ騒々しい事務室となることが推測された。各事業所の気積は大半の事業所では基準以上で余り問題はないと考えるが，一部の事業所では基準以下の個所もあり考慮を要す。　　以　上

原子吸光分析法による浮遊塵埃中の金属成分分析に対する若干の検討と都内における測定結果について

野牛　弘*　瀬戸孝博*
山崎爽治*　泉川碩雄*

緒　言

近年水銀化合物やカドミウム等による公害問題が発生してから，食品や水，空気等人間を取り巻く生活環境中での重金属元素の動静が注目されるようになつて来た。成人が1日に呼吸する空気の量は $10m^3$ を越えるが，これら重金属元素は呼吸器官を通して体内に摂取され，蓄積毒性や発癌の原因となり，又都市大気中の現象として光化学スモッグ発生に関係があるといわれる。そこでこれら元素の都内における大気中濃度の測定を実施した。ここにその結果を報告する。

実験，操作条件の検討

今回の実験の対象とする元素は鉄，マンガン，ニッケル，鉛，亜鉛，銅，クロム，カドミウムの8元素である。

使用機器は原子吸光分光分析器：Perkin Elmer 社製303型，採塵器：ハイボリュームエアーサンプラー Staplex 社製 TFIA 型，採塵用沪紙：Gelman 社 TypeA 8×10インチ，原子吸光分光分析機の操作条件は大旨 Perkin Elmer 社[1] のテキストブックにある Standard conditions に従い検討を加えたがその結果は表1の如くである。

次に採塵沪紙についてのブランク濃度，採塵物からの抽出効率，妨害元素の存在の有無，マトリクスの影響を見る為の添加試験，有機物除去の為の加熱処理（450°C 1時間）の可否，沪紙面での分布状態等を検討した。これらの結果は表2表3に示す。ブランク試験は抽出試験とも関連するが亜鉛はこの値が高く塵埃量中の定量が不能である。ブランク濃度Aと一般的な測定濃度Bとの比A/Bを求めると，その他で鉄が0.17とかなり大きい。マンガン，鉛は0.03程度である。抽出効率については(1)(1→2)HNO_3，(2)(1→10)HNO_3 (3)(1→2)HCl，(4)(1→4)HCl，(1)+(3)，(1)+(4)，(2)+(3)，(2)+(4)，の8種の酸溶媒で実際に塵埃をサンプリングした沪紙について含有量の少いカドミウム，銅，ニッケルについては適当量の元素液を添加後乾燥した試料について，くり返し抽出試験を試みた。沪紙1/2枚に 50ml の抽出溶媒を加え沸湯水浴上で2時間加熱沪過，同酸溶媒15ml で2回洗浄，これを1抽出行程とし，4回行なつた。抽出液は5ml 以下に濃縮後水で50ml にメスアップする。以上の実験でクロムは含量が少なく1回目抽出液のみ検知可能で1回目で100%になつてしまつたが，他元素における4回抽出合

表1　原子吸光分光分析機の操作条件

元素名	ランプ	電流	波長	スリット	アセチレンガス	空気	バーナー高	検量線の範囲
		mA	mμ					ppm
Cd	HC	6	228.8	4	9	9	0.5	0～2
Cr	HC	25	357.9	3	9	7.5	0.5	0～10
Cu	HC	15	324.7	4	9	9	0.5	0～10
Fe	HC	30	248.3	3	9	9	1	0～20
Mn	HC	20	279.5	4	9	9	1	0～10
Ni	HC	25	232.0	3	9	9	1.5	0～20
Pb	HC	30	217.0	4	9	9	1	0～40
Zn	HC	15	213.8	5	9	9	1	0～5

* 東京都立衛生研究所　環境衛生部

表2　くり返し抽出試験における抽出率

元素名＼溶媒＼回数	(1→10)HNO_3				(1→2) HNO_3	(1→2) HCl	(1→4) HCl	(1→2) HNO_3 (1→2) HCl	(1→2) HNO_3 (1→4) HCl	(1→10) HNO_3 (1→2) HCl	(1→10) HNO_3 (1→4) HCl
	1 回	2 回	3 回	4 回	2 回	2 回	2 回	2 回	2 回	2 回	2 回
	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
Cd	96	100			100	100	100	100	100	100	100
Cr	100				100	100	100	100	100	100	100
Cu	92.4	99.3	99.9	100	99.5	99.3	99.7	99.5	99.5	99.5	99.5
Fe	84.6	96.2	99.2	100	97.4	97.9	97.7	98.5	97.7	96.8	96.8
Mn	87.2	97.6	100		98.8	98.3	98.1	99.6	99.7	98.9	99.0
Ni	93.6	100			100	100	100	100	100	100	100
Pb	84.7	97.3	100		98.4	100	100	96.0	97.5	96.4	99.1
Zn	31.8	56.3	81.7	100	69.8	52.2	50.2	79.2	64.3	63.2	64.4

注1）　溶媒の項で2種類使用の場合は等溶混合物。
注2）　数値は各回迄の合計抽出率である。4回までの合計を100%としている。

表3　各　種　条　件　の　検　討

元　素	ブランク濃度 A	測定濃度 B	A/B	検出感度	定濃度溶液の添加	妨害元素	(1→10)HNO_3 の効果	備　考
	ppm	ppm		$\mu g/m^3$	%		%	
Cd	0.00	0.50	0.00	0.002	101.3	なし	101.5	加熱処理不可
Cr	0.0	1.0	0.00	0.01	102.5	なし	100.0	
Cu	0.3	20	0.02	0.01	99.0	Zr 100：1.3 Co 痕跡	100.4	
Fe	5	30	0.17	0.01	101.5	なし	101.6	
Mn	0.1	4	0.03	0.01	105.4	Co 痕跡	101.6	
Ni	0.0	2	0.00	0.01	100.4	Co 100：4	101.0	
Pb	0.5	15	0.03	0.03	100.0	Ba,Cr,Cu 痕跡	100.0	加熱処理不可
Zn	(測定不能)	−	−	−	−	なし	−	

表4　沪紙面での測定値分布の一例

単位　μg/沪紙6分の1枚

元　素	1	2	3	4	5	6	平　均	最　高	最　低
Cd	45	45	120	135	75	75	83	135	45
Cr	15	30	0	15	0	15	13	30	0
Cu	202	184	188	188	184	192	190	202	184
Fe	3900	3750	3300	3450	3750	4050	3700	4050	3300
Mn	773	777	803	820	746	829	791	829	746
Ni	90	60	60	60	90	90	75	90	60
Pb	1100	1130	650	697	770	1410	960	1410	650
Zn	−	−	−	−	−	−	−	−	−

計量に対し，2回目までの合計量は96%以上の抽出効率のある事がわかつた。又この試験で(1→10)HNO_3以外の溶媒についても大差ない結果が得られた。この場合測定に供する元素抽出液は(1→10)HNO_3に近い硝酸を含有する事になるが，この硝酸濃度は水によつて稀釈した検量線溶液とほぼ等しい測定値を与え，測定の妨害にはならない。妨害元素についてはクラーク数20番までの金属元素ナトリウム，マグネシウム，アルミニウム，カリウム，カルシウム，チタン，クロミウム，マンガン，鉄，ストロンチウム，バリウムと銅，鉛，コバルト，ニッケル，亜鉛，バナジウムについて検討した。測定元素推定濃度の1～10倍以上の他元素を加えたが妨害はほとんどなく，銅とニッケルがジルコニウム，コバルトで僅かに防げられる。添加試験では実試料抽出液に更に一定量の元素液を加えた時の検出量をパーセント表示したが，ここではマンガンのみが定量性にやや欠ける事が知られた。又加熱処理では鉛，カドミウムの減量が確認された。沪紙試料を六等分した時の分析値のばらつきについてはその一例を表4に示す。

以上の結果よりサンプルの抽出は沪紙1/2枚を加熱処理は行なわず(1→10)$HNO_3$50ml で二回行う。この抽出液を合して5ml 以下に濃縮後水で50ml にメスアップし検液とした。

調査結果

表5に当所(衛研)でサンプリング測定した年間23回の測定値を示す。又参考までに厚生省が当所で採塵後日本環境衛生センターにおいて発光分光分析法[2]で分析している浮遊塵埃中の重金属元素の測定値を掲げる。表5に示した当所での採塵は毎月5日と20日ころの比較的汚染のひどい時を選んで行なつたので年の平均値とはいいがたいが，両者の傾向は似ている。

次に表6に都内八ケ所で，昭和44年7月各1週間づつの測定を試みたのでその結果を示す。場所は都衛研(大久保)，荒川区役所，糀谷保健所，林業試験場(目黒)，台東機械センター(上野)，大日本インク(志村)，麹町保健所，江東区役所第二庁舎である。結果は総量が 331～45μg/m³ 平均 154μg/m³，鉄 9.7～0.7 平均4.1，鉛1.79～0.25平均0.77，マンガン 0.43～0.02 平均0.18，銅4.1～0.05平均1.31，クロム 0.13～0.01 平均0.04，ニッケル0.25～0.00 平均 0.07，カドミウム 0.088～0.010平均 0.029 である。これを厚生省測定値と比べると銅が高い。地域的な特徴を見ると総量は麹町保健所，江東区役所第二庁舎が多く，鉄量も同じ傾向にある。鉛は江東区役所第二庁舎が多い。マンガンも同様である。銅は目黒の林業試験場に多く，衛研以外で皆かなり多かつた。クロム含量は全般に少い。ニッケル，カドミウムも少いがニッケルは大日本インク，カドミウムは衛研が相対的には高い。塵埃の総量に対する金属含量の含有率をAとし，地殻中元素含有

図1　測定場所略図

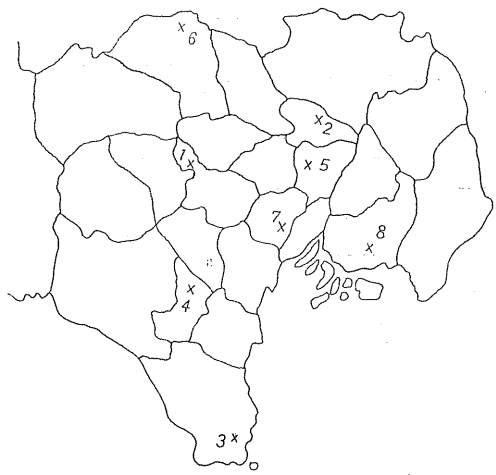


表5　衛生研究所での年間測定値　　単位　μg/m³

分析者	期間	検体数	測定値	鉄	鉛	マンガン	銅	クロム	ニッケル	カドミウム
厚生省	昭和43年		平均	3.5	0.43	0.21	0.12	<0.04	0.06	–
(日本環境衛生センター発光分光分析法)	4月～	24	最高	10.9	0.95	0.52	0.36	0.05	0.15	–
	44年3月		最低	1.0	<0.30	<0.10	0.03	<0.04	<0.03	–
当所	昭和42年		平均	6.1	1.00	0.30	0.13	0.03	0.04	0.016
	9月～	23	最高	13.1	2.02	0.96	0.28	0.09	0.09	0.075
	43年9月		最低	1.3	0.20	0.10	0.05	0.00	0.02	0.000

表6　都内での測定結果　　単位 $\mu g/m^3$

場所	期間	検体数	総量	鉄	鉛	マンガン	銅	クロム	ニッケル	カドミウム	備考
1. 都衛研（大久保）	昭和44年7月3日～9日	5	103	2.3	0.60	0.12	0.20	0.02	0.03	0.052	梅雨中 地上約 5m
2. 荒川区役所	7月3日～9日	5	72	1.8	0.59	0.10	1.04	0.02	0.03	0.019	梅雨中 地上約 30m
3. 糀谷保健所	7月10日～16日	6	158	4.4	0.76	0.26	1.66	0.07	0.07	0.046	地上約 7m
4. 林業試験場（目黒）	7月10日～16日	6	125	3.2	0.59	0.17	2.4	0.03	0.04	0.023	地上約 10m
5. 台東機械センター（上野）	7月17日～23日	5	156	4.3	0.67	0.21	1.40	0.03	0.06	0.023	地上約 15m
6. 大日本インク（志村）	7月17日～23日	6	152	3.7	0.67	0.14	1.55	0.03	0.17	0.025	地上約 7m
7. 麹町保健所	7月24日～30日	6	221	7.2	0.94	0.23	1.35	0.03	0.07	0.018	地上約 10m
8. 江東区役所第二庁舎	7月24日～30日	6	246	6.1	1.31	0.24	0.89	0.05	0.06	0.025	地上約 7m
1～8 平均	7月3日～30日	45	154	4.1	0.77	0.18	1.31	0.04	0.07	0.029	
1～8 最高	〃	45	331	9.7	1.79	0.43	4.1	0.13	0.25	0.088	
1～8 最低	〃	45	45	0.7	0.25	0.02	0.05	0.01	0.00	0.010	
1～8 対総量含有率A	〃	45	% 100	% 2.7	% 0.50	% 0.12	% 0.85	% 0.026	% 0.045	% 0.019	
地殻中元素含有率B	–	–	–	% 5.0	% 0.0015	% 0.1	% 0.0045	% 0.02	% 0.008	% 2×10^{-5}	理科年表より
濃縮率 A/B	–	–	–	0.54	333	1.2	190	1.3	5.6	950	

注　各場所の値は測定期間の平均値である。

表7　許容量

元素	労働環境の許容量A		$A\times\frac{1}{100}$（生活環境）
		mg/m^3	$\mu g/m^3$
Cd	フユーム	0.1A	1
	金属粉じん，可溶性塩	0.2A	2
Cr	CrO_3 として	0.1	1
Cu	フユーム	0.1	1
	粉じん，ミスト	1	10
Fe	酸化鉄	5	50
Mn		5	50
Ni		1	10
Pb		0.15	1.5

注）　Aはアメリカ ACGIH の値，他は日本産業衛生協会勧告値（1968）

率Bを比較し A/B として濃縮率を求めて見た。これによると都市塵埃中で地殻中の平均含有率より濃縮されている元素に鉛，銅，カドミウムがある。

まとめ

重金属元素の環境許容量の設定[3]は今だ我国で行なわれていない。そこで環境許容量を労働環境での許容値の百分の一とすると表7の如くになる。これを実測値と比較すると鉛量のみがかなり許容値に近い値を示す。都市における空気の鉛汚染は自動車排気ガス中に含まれる鉛化合物にその主因があるといわれるが，この意味でも自動車排気ガスの処理，燃料改善等が要求されると共に，生体との関連，環境許容量の設定が待たれるわけである。

文献

1) Perkin Elmer Corp：Analytical Methods for Atomic Absorption Spectrophotometry (1966)
2) 日本環境衛生センター：大気汚染物質の調査，研究報告書 (1969)
3) 日本公衆衛生協会：公害問題諮問の答申(1956)

東京都立衛生研究所年報　20正誤表

ページ	項	目	誤	正
11	右	下から13行目	品頼試験	品質試験
31		下から 5行目	〃　関口カソ	技師補　関口カツ
〃		下から 2行目	作々木敬一	佐々木敬一
72	右	上から 5行目	純度78.9%は	純度78.9%）は
77	左	下から22行目	複合　質の	複合体物質の
80	〃	下から11行目	アルギコン	アルギニン
102	〃	下から20行目	現状状において	現状において
109	右	下から12行目	A　評価	Aと評価
110	左	下から 9行目	全般所に	全般的に
111	〃	下から16行目	調査成績に	調査成績を
128	〃	下から 2行目	アンモニア性窒　に	アンモニア性窒素に
131	右	下から 2行目	1 mg	1 ml
132	左	上から 6行目	N10	N/10
146	右	上から11行目	Ecdypnurus	Ecdyonurus
175	左	下から 1行目	東　都　衛生研究所	東京都立衛生研究所
190	〃	上から 5行目	キャッツ	キャベツ
191	〃	上から 2行目	意味　おいても	意味においても
194		下から17行目	deveated	deviated
196		下から 3行目	alredy	already
197		上から 6行目	monocytohenes	monocytogenes
198		上から 1行目	organinm	organism
199	右	下から10行目	びん装乳と	びん装乳を
201		下から15行目	C×72C	C×72 h
204	右	上から 3行目	60°C	10°C
〃	〃	上から19行目	Cleson	Oleson
〃	〃	下から 4行目	煮沸反応陽　の	煮沸反応陽性の
212	左	上から14行目	Alcaligencs	Alcaligenes
215	右	上から12行目	50°C	30°C
223	左	下から 8行目	植茎の	根茎の
〃	表1	表　題	ソウジェツ	ソウジュツ
228	左	上から 3行目	けい光　度計	けい光光度計
231	右	上から15行目	合わせると，き	合わせるとき
235	〃	上から 3行目	トルエン層を	トルエン層を
239	左	上から14行目	であるこれを	であることを
〃	〃	上から23行目	フフェノール類	フェノール類
〃	右	上から12行目	0 5%	0.5%
240	〃	Fig 1	……|	……| S.F
〃	〃	Fig1の 1下行目	Commercial	Capsicum Tincture
243	〃	下から19行目	Sodiun	Sodium
247	図2		Azid	Azide
248	左	上から 4行目	エン酸ソーダ	クエン酸ソーダ
243		上から2行目	調整	調製

全国の地下水の水質調査

木村康夫* 三村秀一*
樋口育子*

まえがき

日本の地下水の水質については，文献上，地域別には若干の報告がありますが，全国的にまとめた資料は皆無といつても過言ではありません。

昭和40年より本年にかけて各地研の横のパイプを利用して水質試料を収集し全国の地下水の水質調査の作

表1 全国都道府県の水質（塩素イオン，総硬度，過マンガン酸カリウム消費量）

都道府県名	検体数	塩素イオン（ppm）			総硬度（ppm）			過マンガン酸カリウム消費量（ppm）		
		最低値	最高値	平均値	最低値	最高値	平均値	最低値	最高値	平均値
北海道	53	7.61	80.00	27.33	18.50	253.00	100.20	0.03	18.00	4.41
青森	50	7.80	433.10	42.69	12.00	249.00	51.50	0.63	13.43	4.08
岩手	52	3.94	93.20	14.96	10.20	157.56	52.20	0.41	8.76	1.92
山形	100	3.55	129.80	12.88	9.70	216.00	54.60	0.95	9.16	2.09
宮城	137	5.91	175.40	37.48	8.80	85.03	35.33	1.10	34.54	7.81
福島	300	2.00	70.21	10.79	4.00	178.00	44.19	0.06	9.54	2.08
栃木	173	8.30	24.80	12.80	4.50	120.00	45.50	0.50	3.10	1.70
茨城	182	3.48	175.83	21.38	5.00	207.67	58.92	0.16	12.73	2.74
群馬	97	3.72	79.92	15.67	16.00	245.00	64.50	0.15	9.74	3.08
東京	955	5.00	140.00	36.90	20.00	246.00	90.26	0.30	175.00	2.07
小笠原（父島）	27	74.90	517.40	198.50	56.00	436.00	164.00	0.20	150.00	23.82
千葉	149	6.40	257.90	29.40	17.50	273.70	140.30	0.30	26.30	3.74
神奈川	50	5.34	50.30	20.20	3.50	363.00	85.70	0.62	14.20	3.16
長野	59	10.57	40.07	15.67	56.56	148.32	85.78	0.79	3.69	1.65
山梨	63	3.61	10.50	5.50	10.00	556.00	115.80	1.11	25.28	7.91
静岡	108	3.22	885.80	14.75	13.30	718.40	76.46	0.13	23.49	2.25
愛知	148	4.09	95.00	19.01	2.20	173.80	42.54	0.40	10.40	3.03
岐阜	150	0.70	23.00	5.05	3.20	185.00	38.73	0.30	28.00	0.79
三重	310	4.30	126.80	14.85	5.80	242.60	39.96	0.63	20.86	2.85
京都	60	5.10	88.25	15.34	3.10	168.50	43.95	0.03	12.45	2.52
和歌山	78	10.80	3,035.00	−	18.74	943.00	−	2.00	6.70	−
滋賀	220	3.46	207.74	14.29	12.23	332.63	57.00	0.06	21.64	2.85
福井	230	4.41	151.35	17.54	8.20	210.87	56.80	0.75	18.14	2.75
石川	93	7.00	216.20	21.12	11.40	210.90	62.61	0.06	18.10	1.25
鳥取	108	3.66	194.00	10.80	3.30	171.70	44.22	0.52	74.30	4.64
山口	66	6.70	284.20	27.11	18.30	414.10	89.56	0.27	21.30	2.19
島根	293	3.70	287.20	38.83	8.90	335.60	67.75	0.43	58.00	5.10
岡山	531	2.91	227.20	22.05	6.00	282.00	60.74	0.63	30.20	5.12
高知	300	3.51	226.90	16.72	9.00	216.00	70.63	0.32	21.64	2.58
徳島	300	5.20	2,770.10	56.88	15.00	1,817.20	102.74	0.02	14.89	1.96
熊本	238	4.60	7,801.20	92.23	8.08	505.00	86.46	0.50	37.60	3.48
鹿児島	268	6.40	15.368.00	76.12	7.10	5,000.00	118.51	0.32	92.30	4.58
長崎	381	5.60	825.00	32.07	8.80	864.00	75.87	0.10	19.50	1.90

* 東京都立衛生研究所　水質試験部

成を5報にわたつて行なってきました。本報告はその総まとめをしたものです。

本資料作成の意義は，現在制定されている水道法に基づく“水質基準”厚生省指針の“飲料水の判定標準”が果して我が国情に最も適しているか，又各種工業の発展に伴ない，多量に使用される工業用水としての水質の問題点，更には，油脂，食品工業等の製品製造上の水質の把握等，利用面における価値は，非常に高く，本計画は極めて有意義であつたと考えられます。

資料のまとめと結果

各地研からの地下水の水質資料6,329本について各都道府県別に，塩素イオン，総硬度，過マンガン酸カリウム消費量の三成分について統計結果は，表1の如くである。

塩素イオン

（表1）から平均値は（小笠原(父島)郡島除いて）5.05ppm～92.23ppmの範囲内にある。最低値は岐阜県の5.05ppm，最高値は熊本県の92.23ppmである。また各個別の最高値で200ppm以上の地域は（表2）のとおりである。

表2　地域別含量（塩素イオン200ppm以上）

県名		市・郡・町名	塩素イオン (ppm)
A郡	滋賀	甲南町	207.74
	石川	羽咋市内	216.20
	高知	安芸郡安田町	226.90
	岡山	都窪郡茶屋町	227.20
	千葉	千葉市村田町	257.90
	山口	山口市内	284.20
	島根	知夫郡知夫村	287.20
	青森	五所ケ川原市五所ケ川原	433.10
B郡	小笠原東京	父島	517.40
	長崎	長崎市内	825.00
	静岡	清水市内，浜名郡	885.80
	徳島	徳島市内，川内，万代，青野，神明町	2,770.10
	和歌山	海南市黒江船尾地区	3,035.00
	熊本	熊本市大江町，八代郡，天草郡	7,801.20
	鹿児島	鹿児島市内，城南，金生町	15,368.00

A郡，B郡は塩素イオン500ppmの値で分類してある。A郡地区の中には，ふん便性汚染によるものと推定される地域も考えられるが，B郡地区の異常は海水の混入に起因する塩水化現象によるものと考えられる。

総硬度

（表1）から平均値では最低が35.33ppm(宮城県)で最高164.0ppm（東京都小笠原父島）の範囲内であるが，各個別の最高値で30.0ppm以上の地域は表3の如くである。

表3　地域別含量（総硬度300ppm以上）

県名	市・郡・町名	総硬度 (ppm)
滋賀	大津市膳所西之庄	332.63
島根	八束郡美保関町	335.60
神奈川	横浜市金沢区六ッ浦町	363.00
山口	山口市内	414.10
小笠原(東京)	父島	436.00
熊本	天草郡大矢野町	505.00
山梨	甲府市武田町	556.00
静岡	清水市内，浜名郡	718.40
長崎	長崎市内，網場	864.00
和歌山	海南市黒江船尾地区	943.00
徳島	徳島市内，神明，川内，万代青野町	1,817.20
鹿児島	鹿児島市内，城南，金生町	5,000.00

塩素イオン，総硬度はきわめて海水の混入と関連があるので両者の数値から，静岡県（清水市内一部，浜名郡），和歌山県（海南町黒江船尾地区），徳島県（徳島市内川内町，万代町，青野町，神明町），長崎県(長崎市内一部）鹿児島県（城南町，金生町），熊本県(熊本市内一部，天草郡）小笠原（父島）などの諸地域は完全に地下水の塩水化現象が起こってるものと考えられる。しかし今後他の地域でも，地下水の揚水過多などに起因し塩水化が起こる可能性がじゅうぶんあるので，とくに海岸に近い地下水は注意する必要がある。

過マンガン酸カリウム消費量

表1から，平均値を見ると1.25ppm（石川県)～23.82ppm(小笠原）の範囲内で，小笠原（父島）以外の地域は10ppm以下の値を示している。各個別では，最高値を見ると，10ppm以上の地域が全国的に分布しており，東京都の175.0ppmが最も高い値であつた。この理由は，東京湾沿岸地域に存在する等三紀層から揚水されるフミン水と称する着色水で，この水は一般に泥炭地質の地下水に多く見られ，特に冷寒地域に多い。又本成分は汚染とも極めて関連があり，全国的に高い地域の存在が見られる。

特殊成分

表1以外の中で，鉄，マンガン，フッ素，硝酸性窒素の四成分についてみると，

1. 全鉄イオン

各都道府県別の平均値で，0.3ppm以上の地域は表4のとおりである。さらに市郡別に見ると，石川県は金沢市，羽咋市，鳳至郡，福井県では福井市，武生郡，

表 4

県　　名	平　均　値 (ppm)
熊　　本	0.33
長　　崎	0.34
石　　川	0.37
岡　　山	0.38
徳　　島	0.39
島　　根	0.65
福　　井	0.70
宮　　城	0.79
三　　重	1.08
滋　　賀	1.24
愛　　知	1.45

丹生郡が多く，三重県では 0.3ppm 以上が 31.4%で津市，四日市市，鈴鹿市がとくに高い。滋賀県は 0.3ppm 以上が 57.1% で，大津市大下町で最高 12.8 ppmが検出されている。又愛知県では 0.3ppm 以上が 48.2%を占めている。

2.　マンガンイオン

マンガンは一般に鉄と共存するので，鉄含有量の高い地域ではマンガンの検出率も高い。しかし数値的には鉄ほど高くなく，最高値が三重県の1.84ppm，平均値は 0.55ppm である。その他石川県，京都府，岐阜県，滋賀県などが高い数値を示している。

フッ素イオン

資料としては極めて少ないが，滋賀県の大津市，志賀町，甲西町で検出され，最高値 6.0ppm を示している。又岐阜県，三重県でも検出されているが，いづれも水質基準 0.8ppm 以下であつた。わが国のような火山国では，温泉も多く，今回資料にはなかつた地域でも広範囲に分布してるものと考えられる。

硝酸性窒素

表 5　浅井戸水の硝酸性窒素（東京都）

NO_3—N ppm	本　数	累計本数	累 計 %
0～ 5.0	65	65	41.1
5.1～10.0	39	104	65.8
10.1～15.0	21	125	79.1
15.1～20.0	24	149	94.3
20.1～25.0	5	154	97.5
25.1～30.0	2	156	98.7
30.1～35.0	1	157	99.4
35.1～40.0	1	158	100.0

硝酸性窒素についての資料も極めて少ないが，東京都の調査例 158 本についての統計結果は表 5 の通りである。

最高値 40.0ppm で平均値 8.61ppm であつた。

昭和42年，日本の地下水の水質について，計画し，各地研の皆様に御協力いただき，貴重なる資料を提供いただきました都，道，府，県の水質について，下記の地区別第 1 報から第 5 報に分けてまとめました。

第 1 報　東京都，神奈川県，群馬県，栃木県
第 2 報　茨城県，千葉県，長野県，山梨県，静岡県
第 3 報　北海道，青森県，岩手県，山形県，宮城県，福島県
第 4 報　愛知県，岐阜県，三重県，和歌山県，京都府，滋賀県，福井県，石川県
第 5 報　鳥取県，山口県，島根県，岡山県，高知県，徳島県，熊本県，鹿児島県，長崎県

本資料のまとめ方などにいろいろ不備の点があると存じますが，資料は全部もれなく記載してありますが故，今後の調査，研究資料に多少なりとも参考になれば幸いです。

水道水中のアンモニア性窒素と亜硝酸性窒素の同時検出について

—アンモニア性窒素を含む深井戸水を原水とした場合—

木村康夫* 山崎堅吉*
中村 弘*

DETECTIONS OF BOTH AMMONIA NITROGEN AND NITRITE NITROGEN IN TAP WATER

To use deep well water containing ammonia nitrogen as its source

Yasuo KIMURA, Kenkichi YAMAZAKI, Hiroshi NAKAMURA

Even if residual chlorine is present in tap water taking its source from deep well water containing ammonia nitrogen, both ammonia nitrogen and nitrite nitrogen are often detected. Then it is decided that the water does not conform with the water quality standard of the Japanese Water Works Law.

The condition of producing nitrite nitrogen was examined by addition of chlorine to ammonium chloride solution (0.7 ppm as ammonia nitrogen) and to a deep well water containing ammonia nitrogen (0.45 ppm as ammonia nitrogen, Sample A of Table 1).

Results :

1) Ammonium chloride solution ; Nitrite nitrogen was not produced by addition of chlorine (0—10.0ppm as available chlorine).

2) Deep Well Water containing ammonia nitrogen ;

a. Nitrite nitrogen of 0.001—0.003ppm was produced by addition of chlorine (0.5—3.0ppm as available chlorine). But by addition of 5.0ppm chlorine, nitrite nitrogen was not produced and ammonia nitrogen vanished.

b. Nitrite nitrogen of 0.006ppm was produced by addition of chlorine (1.0ppm as available chlorine) and iron metal powder (50mg per 200ml).

水道法水質基準では，病原生物によつて汚染されたことを疑わせるような生物もしくは物質に関する項目の一つとして，アンモニア性窒素および亜硝酸酸性窒素は同時に検出してはならないと規定しているが，深井戸を水源とする専用水道などにおいて，現在の汚染と全く無関係と思われるアンモニア性窒素，亜硝酸性窒素を同時に検出することをしばしば経験する。しかも，このような水は法定通り塩素消毒され，給水栓で0.1ppm 以上の残留塩素が検出される場合が多い。

従来の考え方からすれば，残留塩素が存在すればアンモニア性窒素と亜硝酸性窒素の同時検出はありえないといわれ，水道法水質基準もこの主旨により定められたといわれる[1),2)]。また1964年に菅野ら[3)]は pH 8.0 以上，アンモニア性窒素数ppm以上有する水を塩素消

* 東京都立衛生研究所 水質試験部

毒した場合は，亜硝酸性窒素が生成されるが，普通の井戸水のようにアンモニア性窒素1ppm以下の低濃度の場合は，亜硝酸性窒素は一般に検出されず，検出されても痕跡程度であると報告している。

しかし，われわれはアンモニア性窒素1ppm以下の深井戸水を水源とする専用水道において，法定通り塩素消毒が行われていても，アンモニア性窒素，亜硝酸性窒素が同時に検出されるのを数多く経験しているので，その原因について　実験および調査を行つた。

アンモニア性窒素と残留塩素との関係

塩化アンモニウム NH_4Cl より製したアンモニア性窒素標準液と深井戸水中のアンモニア性窒素について，塩素消毒を行つた場合に亜硝酸性窒素が生成されるか否かについて，以下のような実験を行つた。

(1) 実験方法

a．試薬および装置

i）pH調整液：重炭酸ナトリウム $NaHCO_3$ 2.10g および炭酸ナトリウム Na_2CO_3 2.65g を蒸留水にとかして100mlとする。

ii）アンモニア性窒素標準液：塩化アンモニウム NH_4Cl 0.3819g を蒸留水にとかして1lとする。本液1ml はアンモニア性窒素0.1mg を含む。

iii）塩素溶液：次亜塩素酸ナトリウム溶液（有効塩素として4.0％含む）を蒸留水で100倍に希釈した。本液1mlは0.4mgの有効塩素を含む。

iv）分光光度計：島津QV—50型，10mmおよび20mm石英セル使用

v）pHメーター：東亜電波 model HM—A，ガラス電極

b．試験法

i）水素イオン濃度（pH）：ガラス電極法

ii）アンモニア性窒素：ネスラー法（直接比色法）

iii）亜硝酸性窒素：GR法，20mmセルを使用，波長520mμで測定

iv）残留塩素：オルトトリジン法，クロム酸カリウム・重クロム酸カリウム標準比色液から検量線を作成（10mmセルを使用して波長440mμで測定），50ml比色管を用い，オルトトリジン試液2.5mlに検水を加え，50mlとした。

c．実験方法

i）200mlの褐色メスフラスコにアンモニア性窒素標準液1.4mlをとり蒸留水で約180mlとし，これをpH調整液にて，それぞれpH 6.0，8.0，9.0に調整したのち，塩素溶液をそれぞれ0，0.5，1.0，1.5，2.0……5.0ml加え，それぞれ全量200mlとした。（各pHの溶液中のアンモニア性窒素0.7ppm，塩素添加量0，1.0，2.0，3.0，……10.0ppm），それらの溶液について，アンモニア性窒素，亜硝酸性窒素および残留塩素を測定した。また，上記と同様に製した溶液を24時間および48時間放置したのち亜硝酸性窒素の測定を行つた。

ii）アンモニア性窒素を含む深井戸水（Table 1 の Sample A）を共栓褐色瓶に採水し，直ちに塩素溶液を検水1lに対し，0，1.25，2.5，5.0，7.5，12.5ml（塩素添加量としてそれぞれ0，0.5，1.0，2.0，3.0，5.0ppm）を加え，それぞれについて，アンモニア性窒素および亜硝酸性窒素を24時間毎に測定して亜硝酸性窒素の生成状態を調べた。

iii）アンモニア性窒素を含む深井戸水（Table 1 の Sample A）200mlに対し塩素溶液0.5mlを加えたもの（塩素添加量として1.0ppm）を4本つくり，それぞれに亜鉛末（試薬特級），酸化亜鉛（亜鉛華，試薬），還元鉄（試薬一級），鉄粉（試薬）の50mgずつを加えたのち，残留塩素，アンモニア性窒素，亜硝酸性窒素を測定した。

(2) 結果および考察

i）アンモニア性窒素標準液から製したアンモニア性窒素0.7ppmの溶液での実験では，亜硝酸性窒素は全く検出されなかつた（Table 2～Table 4）。また，24時間後，48時間後に測定を行つても亜硝酸性窒素は検出されなかつた。

ii）深井戸水中のアンモニア性窒素は，塩素添加を行わない場合は非常にに酸化されやすく，亜硝酸性窒素として，採水後24時間で0.001ppm，48時間で0.002ppm，4日目で0.005ppm，5日目で0.01ppm，7日目で0.10ppm，8日目で0.30ppm，9日目で0.42ppm，10日目で0.45ppmを検出した。しかしこの亜硝酸性窒素は18日目頃より減少し始め，23日目には殆んど検出されなくなつた。一方，アンモニア性窒素は，採水後5日目までは殆んど変化をみなかつたが，7日目で0.35ppm，8日目に0.15ppm，9日目に0.05，10日目には全く検出されなくなつた（Fig. 1）。しかし，塩素添加量0.5～2.0ppmの場合は亜硝酸性窒素が0.001～0.003ppm検出されたが，それ以上の増加はみられなかつた。また，アンモニア性窒素も塩素添加時に減少したまま，その後の経時変化はみられなかつた（Fig. 2～Fig. 4）。塩素添加量3.0ppmの場合は亜硝酸性窒素は7日目頃まで0.001～0.002ppm検出されたが，その後消失した。また，アンモニア性窒素も3日目ま

Table 1 Properties of Deep Well Water-Samples examined

Samples	A (Kurume T.)	B (Hoya C.)	C (Hoya C)	D (Kashiwa C.)	E (Mitaka C.)	F (Nerima ku)
Depth (m)	140	140	150	180	115	100
pH Value	7.7	7.5	7.8	7.5	7.3	7.3
Oder & Taste	none	none	none	none	none	none
Turbidity (ppm)	0	0	0	0	0	0
Color (ppm)	0	0	0	0	0	0
Ammonia Nitorogen (ppm)	0.45	0.28	0.60	0.40	0	0
Nitrite Nitrogen (ppm)	0	0	0	0	0	0
Nitrate Nitrogen (ppm)	0	0	0	0	0.6	0.6
Chlorite in Chloride (ppm)	4.2	13.0	6.0	7.0	14.2	8.3
$KMnO_4$ Consumed (ppm)	1.11	1.32	2.17	1.78	0.79	0.71
Total Clonies (in 1ml)	0	0	0	0	0	0
Coliform Group (in 50ml)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)
	Alluvium				Dluvium	

Table 2 Relation between Ammonia Nitrogen and Residual Chlorine at pH 6.0

added		Detected			
Ammonia nitrogen	Chlorine	Ammonia nitrogen	Nitrite nitrogen	Chlorine	pH
ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	
0.7	0	0.70	0	0	6.0
0.7	1.0	0.68	0	0.7	5.9
0.7	2.0	0.65	0	1.6	5.9
0.7	3.0	0.62	0	2.0	5.8
0.7	4.0	0.51	0	2.8	5.9
0.7	5.0	0.27	0	3.2	5.9
0.7	6.0	0.15	0	3.5	5.9
0.7	7.0	0	0	1.5	5.8
0.7	8.0	0	0	1.2	5.8
0.7	9.0	0	0	2.5	5.8
0.7	10.0	0	0	3.5	5.8

Table 3 Relation between Ammonia Nitrogen and Residual Chlorine at pH 8.0

added		detected			
Ammonia nitrogen	Chlorine	Ammonia nitrogen	Nitrite nitrogen	Chlorine	pH
ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	
0.7	0	0.70	0	0	8.0
0.7	0.5	0.67	0	0.26	8.0
0.7	1.0	0.61	0	0.52	8.0
0.7	2.0	0.47	0	1.12	7.9
0.7	3.0	0.40	0	1.16	7.8
0.7	4.0	0.25	0	1.76	7.8
0.7	5.0	0.13	0	1.18	7.8
0.7	6.0	0	0	0.06	7.8
0.7	7.0	0	0	0.72	7.7
0.7	8.0	0	0	1.68	7.6
0.7	10.0	0	0	3.36	7.6

Table 4 Relation between Ammonia Nitrogen and Residual Chlorine at pH 9.0

added		detected			
Ammonia nitrogen	Chlorine	Ammonia nitrogen	Nitrite nitrogen	Chlorine	pH
ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	
0.7	0	0.70	0	0	9.1
0.7	0.5	0.62	0	0.44	9.1
0.7	1.0	0.57	0	0.88	9.1
0.7	2.0	0.48	0	0.75	9.1
0.7	3.0	0.46	0	0.65	9.1
0.7	4.0	0.41	0	3.00	9.1
0.7	5.0	0.25	0	2.31	9.1
0.7	6.0	0.14	0	1.85	9.1
0.7	7.0	0.08	0	2.00	9.0
0.7	8.0	0	0	2.50	9.0
0.7	10.0	0	0	3.80	9.0

Fig. 1 Nitrite Nitrogen produced by No Addition of Chlorine

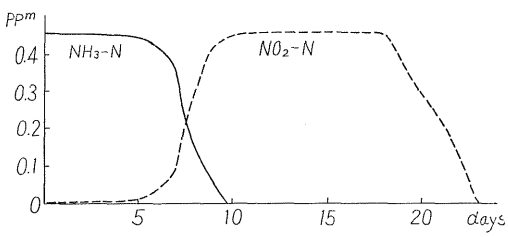
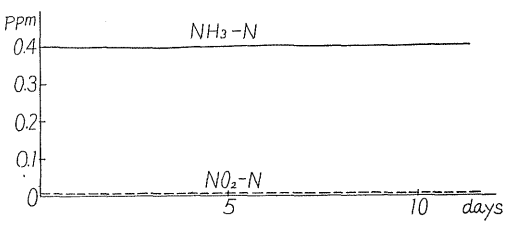


Fig. 2 Nitrite Nitrogen produced by Addition of Chlorine (0,5ppm)



で 0.1ppm 検出されたが，5日目には消失した (Fig. 5)。更に，塩素添加量 5.0ppm の場合は亜硝酸性窒素，アンモニア性窒素両者とも全く検出されなかつた (Fig. 6)。

Fig. 3 Nitrite Nitrogen produced by Addition of Chlorine (1.0ppm)

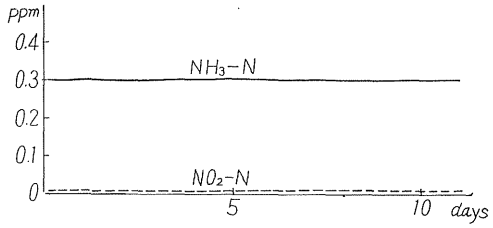


Fig. 4 Nitrite Nitrogen produced by Addition of Chlorine (2.0ppm)

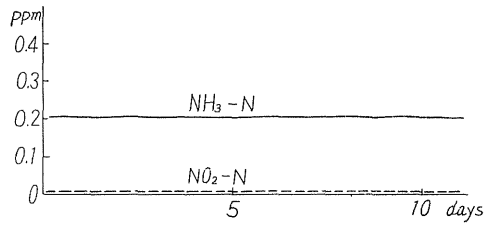


Fig. 5 Nitrite Nitrogen produced by Addition of Chlorine (3.0ppm)

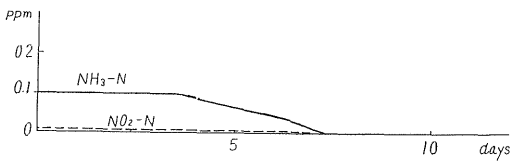
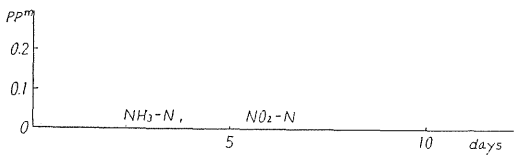


Fig. 6 Nitrite Nitrogen produced by Addition of Chlorine (5.0ppm)



この深井戸水の不連続点 (Break point) は Table 5に示すように，塩素添加量 3.0ppm 附近にあると思われるが，不連続点前の塩素消毒では，先に示すように 0.001～0.003ppm 程度の亜硝酸性窒素が検出され，不連続点以上の塩素消毒では亜硝酸性窒素は全く検出されなかつた。

iii) Table 6 に示すようにアンモニア性窒素を含む深井戸水に塩素添加量を 1.0ppm とし，それぞれ亜鉛末，酸化亜鉛，還元鉄，鉄粉を加えた結果，前三者は特に亜硝酸性窒素生成の要因になつているとは

Table 5 Break point of Deep Well Water contain Ammonia Nitrogen

Deep Well Water	added Chlorine (0.4mg/ml)		detected			
			Chlorine	Ammonia Nitrogen	Nitrite Nitrogen	
ml	ml		ppm	ppm	ppm	
200	0	(0 ppm)	0	0.45	0	
200	0.1	(0.2ppm)	0.03	0.45	0.002	
200	0.25	(0.5ppm)	0.27	0.40	0.001	
200	0.5	(1.0ppm)	0.71	0.30	0.001	
200	1.0	(2.0ppm)	1.30	0.20	0.001	
200	1.5	(3.0ppm)	0.83	0.05	0	←Break point
200	2.5	(5.0ppm)	2.28	0	0	
Distilled water 200ml	0.5	(1.0ppm)	0.86	0	0	

Table 6 Nitrite Nitrogen produced by addition ofChlorine and Several Metals

Deep Well Water	added Chlorine (0.4mg/ml)		added Metals		detected		
					Chlorine	Ammonia Nitrogen	Nitrite Nitrogen
ml	ml				ppm	ppm	ppm
200	0.5	(1.0ppm)	Zinc Powder	50mg	0.56	0.40	0.002
200	0.5	(1.0ppm)	Zinc Oxide	50mg	0.56	0.40	0.001
200	0.5	(1.0ppm)	Reduced Iron	50mg	0.55	0.40	0.001
200	0.5	(1.0ppm)	Iron Powder	50mg	0	0.40	0.006

Fig. 7 Geological Map of Tokyo and its Vicinity

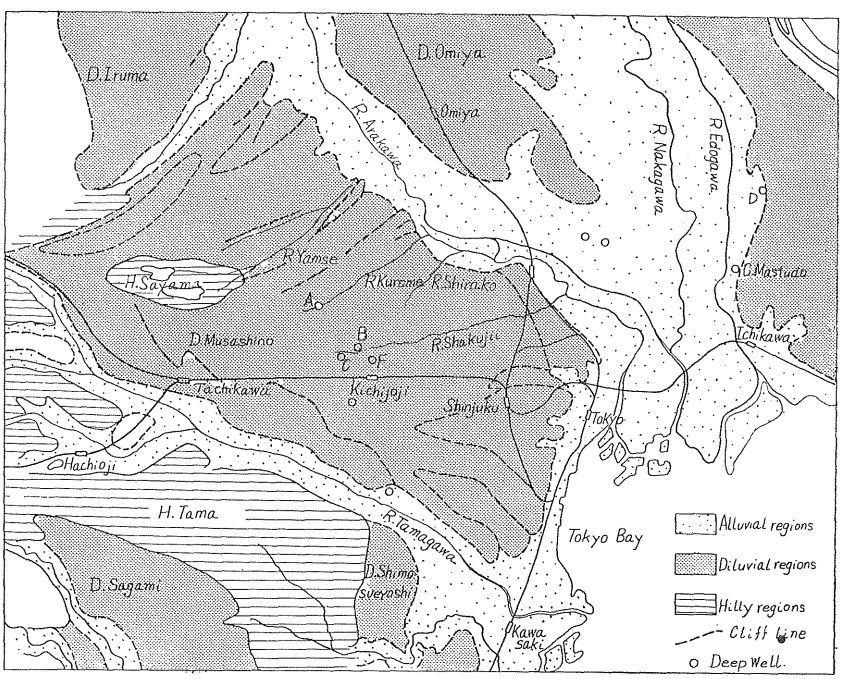
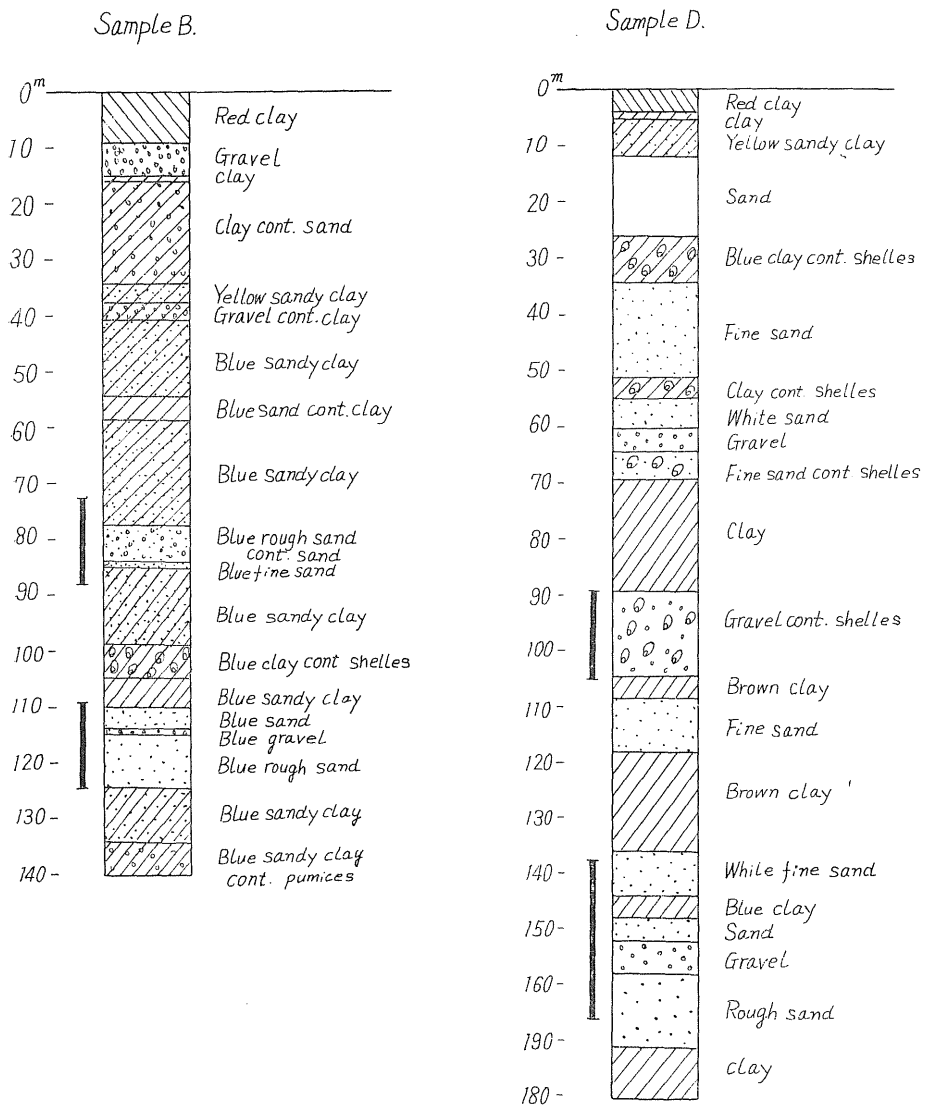


Fig. 8 Stratums of Deep Wells



思われなかつたが，鉄粉を入れた場合は残留塩素が消失し，亜硝酸性窒素は0.006ppm検出された。

現在水道管として使われているものは，主として亜鉛メッキ鋼管であるが，その水質によつても異なるが，大体，施設してから5～6年で表面の亜鉛が溶出し，鉄管が露出しさびが生じてくることが多い。この点については，更に実験を行わなければならないが，亜硝酸性窒素生成に鉄管が一役かつているものと思われる。

深井戸水中のアンモニア性窒について

当所で調査した東京都および東京近県の深井戸(100m以上)水の中でアンモニア性窒素を含有し，しかも汚染と無関係と思われるものを調べると，その殆んどがFig. 7のように冲積地にあり，その地層図[4]を見ると，Fig. 8のように，貝殻混りの砂あるいは粘土層が存在し，以前は沼池あるいはは河川であつたと思われるものが多い。また，その水質を調べるとTable 1のSample A～DのようにpHは7.5以上であり，アンモニア性窒素を含むが，亜硝酸性窒素，硝酸性窒素は含まれない。

深井戸水中のアンモニア性窒素および亜硝酸性窒素の成因については，従来，硝酸化合物が地下の還元層

Table 7 Properties of Raw Water on a Private Water Works

Well Number	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6	No. 7
Depth (m)	180	180	180	180	180	180	180
pH Value	7.5	7.5	7.6	7.5	7.7	7.4	7.6
Ammonia nitrogen (ppm)	0.08	0.40	0.32	0.10	0.14	0.02	0.32
Nitrite nitrogen (ppm)	0.040	0.000	0.000	0.022	0.002	0.000	0.000
Nitrate nitrogen (ppm)	0.2	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0
Chlorine in chloride (ppm)	5.6	7.0	6.3	7.0	4.9	4.9	7.0
$KMnO_4$ Consumed (ppm)	1.78	1.78	1.78	2.24	1.24	1.08	1.70
Total colonies (in 1ml)	0	0	0	0	1	0	0
Coliform group (in 50ml)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)	(−)
Run (○) or not (×)	×	○	○	×	×	○	○

のため，亜硝酸性窒素，アンモニア性窒素に還元されて生成されたものといわれている[1]が，アンモニア性窒素を含む深井戸は，そのほとんどが沖積地にあり，洪積地の深井戸には存在しないこと（Table 1 の Sample E，F），およびアンモニア性窒素を含む深井戸の地層図をみると，しばしば貝殻混りの地層があり，以前沼池あるいは河川であつたと推定され，アンモニア性窒素の成因になる物質が多いと思われることなどから推定して，深井戸水中のアンモニア性窒素は硝酸化合物の還元のみによつて生成されたものでなく，地質的要因によつて生成されたものと解釈した方が適当と思われる。

更に，このような深井戸水中にアンモニア性窒素のほかに，亜硝酸性窒素が同時に検出されることがある。Table 7 はある団地の専用水道の水源井7本について水質試験した結果で，この7本の井戸のうち4本が毎月交替で使用されている。現在使用中の井戸水からは亜硝酸性窒素は全く検出されなかつたが，休止中の井戸水からはすべて亜硝酸性窒素が検出された。これは先の実験のように，深井戸水中のアンモニア性窒素は非常に空気酸化をうけやすいため，休止中の井戸水は井戸の中で長時間停滞することにより，何らかの形で空気酸化をうけ，その一部が亜硝酸性窒素に酸化されたものと考えられる。

む　す　び

(1) アンモニア性窒素を含む深井戸水を原水とする専用水道などにおいて，塩素消毒を行う場合，不連続点以上に塩素注入を行わないと 0.001～0.003ppm 程度の亜硝酸性窒素が検出され，アンモニア性窒素との同時検出により，水道法水質基準に不適合となる場合のあること。

(2) アンモニア性窒素を含む深井戸水を原水とする水道施設において，給水管，高架水槽などで鉄が露出してきた場合，残留塩素の消費量が多くなり，亜硝酸性窒素が生成されやすくなると思われること。

(3) 深井戸水中のアンモニア性窒素は非常に酸化されやすいため，採水後，速やかに検査を行わないと，亜硝酸性窒素も同時に検出される場合のあること。また，使用量の少ない井戸水あるいは休止中の井戸水などの採水は相当量揚水した後行わないと，亜硝酸性窒素も検出される場合のあること。

(4) アンモニア性窒素を含む深井戸は主として沖積地にあり，その採水層に貝殻混りの地層が存在し，以前沼池や河川であつたと思われることなどから推定して，深井戸水中のアンモニア性窒素は硝酸化合物の還元によつてのみ生成されたものではなく，地質的な要因によつて生成さたものと解釈した方が適当と思われること。

文　　献

1) 全国簡易水道協議会：水道ハンドブック（維持管理編），p.87 (1968)，全国簡易水道協議会，東京

2) 日本水道協会：水質基準の検査方法註解，p. 3 (1959)，日本水道協会，東京
3) 菅野三郎，落合昭吾，田辺孝：衛生化学，10 (1)，p.22 (1964)
4) 日本住宅公団東京支所所有，さく井地層図

ソフト型界面活性剤のオゾン酸化について

木村康夫* 三村秀一*
渡辺悠二*

Removal of LAS surfactant by Ozonation

Recently, ozone is used for removal of odor and sterilization for drinking water in Europe.

Our study was designed to determine the effectiveness of ozonation to be remove LAS surfactant laden solution.

The LAS concentrations were measured using Abbott method.

Ozone concentrations were determined by absorbing ozone in a 2% potassium iodide solution, acidifying with 0.5N sulfuric acid, titrating to a starch endpoint using 0.0125N sodium thiosulfate.

Consequently, it was determined that removal rate of LAS was 95% when LAS concentration of 1.0mg/l was ozonated for a period of one minute by ozone concentration 12.5mg/l-air.

緒　　言

近年，合成洗剤による河川の汚染は急激な増加を示しており，特に上水及び下水処理の際に問題となつてきている。すでに一部浄水場等では活性炭による吸着沪過が行なわれているが，沪過効率が低く，その上再生困難なため，ランニングコストの極めて高い水を供給しているのが現状である。

そこで筆者等はオゾン利用による界面活性剤の除去効果について検討を行なつてみた。オゾンについて米国及びヨーロッパ等では殺菌の目的で広く用いられており，また最近では脱臭，脱色はもとよりシアン化物やフェノール類その他一般有機物の除去に関する研究報告も増加してきている。

オゾン処理には

1) 酸化力及び殺菌力が極めて強い。
2) 原料が空気又は酸素のみでオゾンの発生と供給が簡単にでき，機械の維持管理が容易である。
3) 反応後，オゾンは容易に酸素に復帰し，後処理の必要がない。

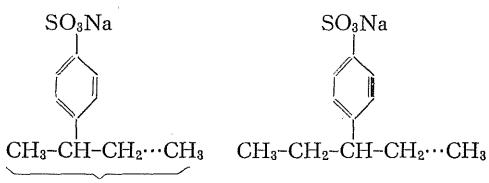
以上のような利点がある。

界面活性剤のうちすでにハード型（分岐鎖形アルキルベンゼンスルホン酸塩—ＡＢＳ）については２，３の報告があるので，ここではソフト型（直鎖形アルキルベンゼンスルホン酸塩—ＬＡＳ）についての検討を行なつた。

実験方法および結果

１．試　薬

(1) 直鎖形アルキルベンゼンスルホン酸塩溶液



（ＬＡＳ）

〔有効成分 26.86%（M.W348.0），水分 69.20%，無機塩3.79%，未反応油分0.15%〕

ＬＡＳを水に溶解して試料液を調整する。

1mg=0.1mgＬＡＳ（以下試料液と称する）

(2) ２%ヨウ化カリウム（KI）溶液

* 東京都立衛生研究所　水質試験部

(3) 1％でん粉溶液

(4) N/80チオ硫酸ナトリウム（$Na_2S_2O_3$）溶液

(5) 0.025％メチレンブルー溶液

(6) 1/2および1N硫酸

(7) アルカリ性ホウ酸ナトリウム（$Na_2B_4O_7$）溶液

M/20 $Na_2B_4O_7$ 溶液と N10 NaOH 溶液を等量混和する。

2．装　置

第1図　全装置　第1図中のオゾン発生機は日本オゾン株式会社製の0－3－2型である。

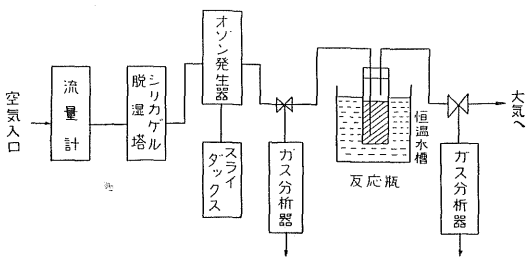
第2図　反応吸収瓶

第3図　オゾン濃度測定装置

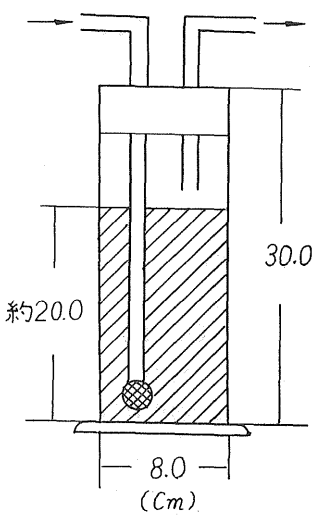
第1図のような装置を用い，オゾン発生機より発生した一定濃度のオゾンガスを恒温槽内の反応吸収瓶（第2図）中の試料液に通じて実験を行なつた。反応瓶中のガスと試料液の接触部には40～50μ孔径のガラスフィルターを用い，試料液の液層は約20cmで行なつた。

オゾン濃度の測定には第3図のような分析装置を用い，オゾン化された空気を2％KI溶液に吸収させ，酸性とした後，1％でん粉溶液を指示薬として N/80 $Na_2S_2O_3$ 溶液で滴定する。

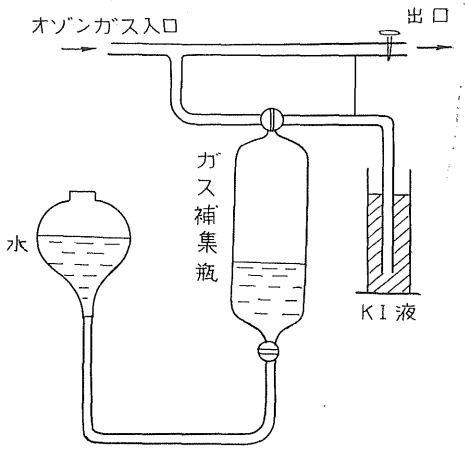
第1図　全装置



第2図　反応吸収瓶



第3図　オゾン濃度測定装置



3．オゾン濃度測定計算式

第3図により測定した後の計算式は次の如くである。

$$C=24\times10^3\cdot N\cdot F\cdot T\cdot 1/V$$

C：オゾン濃度（g/m³或いはmg/l）

V：KI溶液中を通過したオゾン含有ガスの量（ml）

N：$Na_2S_2O_3$溶液の濃度（規定）

F：〃　〃　の力価

T：〃　〃　の消費量

4．LASの分解率

$$分解率(\%)=\frac{A-B}{A}\times100$$

A：LASの濃度

B：分解後の残留LASの濃度

5．LAS定量法

LASの定量法としてはJIS—3363「合成洗剤の生分解度試験方法」に規定されたアニオン界面活性剤の試験法を採用した。本法は Abbott 法と称し，従来の Longwell-Maniece 法の欠陥を改良したもので，微量の界面活性剤を含む水の場合にも充分適用でき，再現性，回収率共によく精度も高い方法である。

操作はまず市販メチレンブルー中の夾雑物を除去する目的から，分液漏斗Aに50ml，Bに100mlの水を入れ，各々にアルカリ性ホウ酸ナトリウム溶液10ml，メチレンブルー溶液5ml及びクロロホルム10mlを加え，30秒間激しく振盪したのち静置して分離させ下

層をすてる。この操作を2回くり返したのち，(B)には1N硫酸 3 ml を加える。次いで(A)に検体適当量及びクロロホルム 15ml を加え，2分間水平に振りまぜたのち，クロロホルム層を(B)に移す。(B)を同様に2分間水平に振りまぜたのちクロロホルム層を 50 mlのメスフラスコに移す。クロロホルム15mlを(A)に加え，再び同様の抽出操作をくり返しクロロホルム層を合わせる。全量を 50ml にした後，波長 650mμ にて測定する。

6．実験結果

(1) Abbott 法における pH の影響

試料液にオゾンガスを10分以上通じると pH 値が低下し 4.0 前後を示すことがあるので試料液（100μg）に pH 4.0, 7.0, 9.0 の緩衝液を添加し，pH の影響について検討した。

pH	4.0	7.0	9.0
測定値(μg)	108.0	100.0	105.0
増　減(%)	+8	0	+5

その結果，pH 4.0及び9.0で幾分高い数値を示すことが判明した。

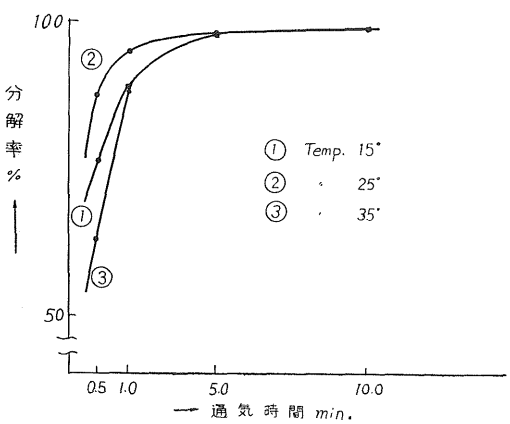
(2) ＬＡＳ分解における pH の影響

実験は試料液に pH 4.0, 7.0, 9.0 の緩衝液を各々 20ml 加え，ＬＡＳ濃度を 2.0ppm に調整したのち，室温で濃度約11.0mg/l-airのオゾンガスを30秒間通じた。

pH	4.0	7.0	9.0
分解率(%)	16.0	38.0	42.0

その結果，pH は中性からアルカリ性側で通気を行なつた方が好ましい結果が得られるようである。

第4図　ＬＡＳ分解における温度の影響



(3) ＬＡＳ分解における温度の影響（第4図）

ＬＡＳ濃度 1.0ppm，pH7.0 の試料液を恒温槽（実験温度：15°，25°，35°C）内に入れ，濃度 12.5 mg/l-air のオゾンガスを最高10分間通じた。

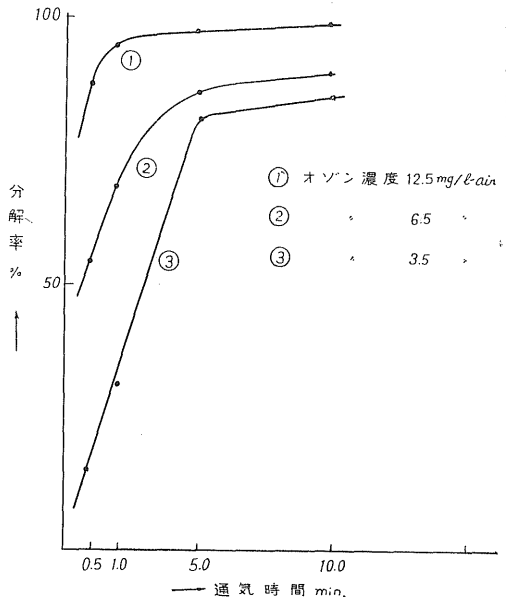
その結果，通気時間1分では88.5%%（15°C），の 95.0%(25°C)，87.5%（35°C）分解率を示し，5分ではいずれも98%を示した。

(4) オゾン濃度別によるＬＡＳ分解（第5図）

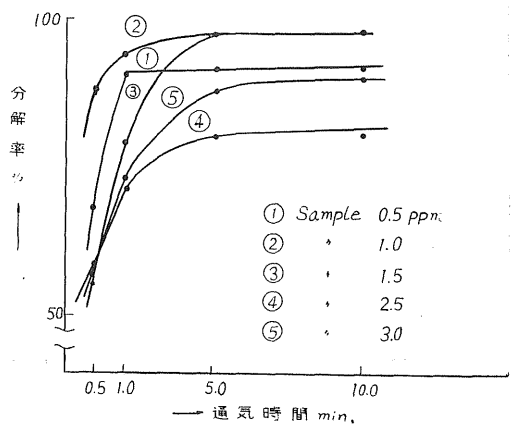
ＬＡＳ濃度1.0ppm，pH7.0，温度25°Cの試料液に濃度 3.5，6.5 及び 12.5mg/l-air のオゾンガスを通じた。

その結果，通気時間1分では12.5mg/l-airの濃度の

第5図　オゾン濃度別によるＬＡＳ分解



第6図　ＬＡＳ濃度別における分解



もので95%の分解率を示し，3.5mg/l-air のものは僅か32%しか示さなかつた。

(5) ＬＡＳ濃度別における分解（第６図）

ＬＡＳ濃度0.5，1.0，1.5，2.5，3.0ppm，pH7.0，温度25°Ｃの試料液に濃度 12.5mg/l-air のオゾンガスを通じた。

その結果，通気時間１分では1.0 ppmのものは95%の分解率を示し，1.5ppm のものは79%，2.5～3.0 ppmのものでは72%前後を示した。

(6) 河川水及び下水処理場放流水への浄化効果

実験はオゾン濃度12.7mg/l-air，温度 25°Ｃ，pH 7.0で行なつた。

第１表

	界面活性剤 (ppm)	$KMnO_4$ 消費量 (ppm)	色度 (°)
A 河川水	0.07	3.63	18.0
B 河川水	0.06	2.51	8.0
C 放流水	0.8	47.56	28.0

第２表

	界面活性剤 (ppm)	$KMnO_4$ 消費量 (ppm)	色度 (°)
A 河川水	1.0 2.5	3.75 5.75	18.0 18.0
B 河川水	1.0 2.5	6.71 7.98	8.0 8.0

第３表

	界面活性剤 (ppm)	通気時間 (min.)	分解率 (%)	分解後の $KMnO_4$ 消費量 (ppm)	分解後の色度 (°)
A 河川水	1.0	1.0 5.0 10.0	91.0 96.0 97.5	3.35 3.35 3.43	13.0 13.0 11.0
	2.5	1.0 5.0 10.0	74.4 93.0 98.0	5.02 5.59 5.11	14.0 13.0 14.0
B 河川水	1.0	1.0 5.0 10.0	92.0 98.0 98.5	5.27 5.30 5.03	7.0 6.0 6.0
	2.5	1.0 5.0 10.0	79.2 98.0 98.8	5.35 5.19 4.63	8.0 8.0 8.0
C 放流水	0.8	1.0 5.0 10.0	49.0 95.5 96.5	25.91 19.59 18.33	24.0 8.0 8.0

第１表は河川水及び放流水そのものの測定値であり，第２表は河川水にＬＡＳ溶液を添加して1.0，2.5 ppmに調整したもので過マンガン酸カリウム消費量も従つて添加後の数値である。第３表にはオゾンガス通気後の測定値を示した。

その結果，Ａ，Ｂ，Ｃのいずれも通気時間５分で93～98%の分解率を示し，10分では最高 98.8 %を示した。

総　　括

実験の結果，ソフト型界面活性剤のオゾンガスによる分解条件としては

1) pH は中性からアルカリ性側

2) 温度は 25°Ｃ 前後

3) オゾン濃度は第５図より12.5mg/l-airがよい。

以上の条件でオゾンガスを通じると低濃度のＬＡＳについては短時間で90%以上の分解が認められる。なお，オゾンガスの通気時間を５分以上行なつても分解率の増加はほとんど認められない。また，実際に河川水や放流水にオゾンガスを通じてその浄化効果をみると界面活性剤については通気時間５分で90%以上の分解が認められ，同時に色度についても脱色現象がみられ，更に放流水の過マンガン酸カリウム消費量は1/2以下に減少しており，その効果は充分に認められる。

終りに実験上の問題として，ＬＡＳ濃度が２ppm以上になるとオゾンの通気によつて泡立ちが激しくなる為，反応瓶中での界面活性剤とオゾンの接触が充分に行なわれなくなり，浄化効果が低下してくるので，シリコン等の消泡剤を添加する必要があるようである。また，反応瓶中の液層が 20cm 程度では充分な接触は困難であり，オゾンの大部分は未処分のまま大気中に揮散してしまい，効率の点からいつても好ましいものではない。

今後は反応瓶及び接触条件についても更に検討したい。

文　　献

1) 川津嘉美，大籠一郎：用水と廃水，6，(8)，47 (1964)

2) 川津嘉美，大籠一郎：用水と廃水，6，(9)，15 (1964)

3) 高柳茂男，村木安司：用水と廃水，9，(8)，17 (1967)

4) 大場健吉，吉田幸雄：水道協会雑誌，(371)，16 (1965)

河川の水質汚濁に関する生物学的研究

1. 那珂川の底棲動物相について

松本浩一* 松本昌雄*

BIOLOGICAL STUDIES ON THE WATER POLLUTION OF RIVERS

1. On the Benthic Fauna of the River Naka

Kōichi MATSUMOTO and Masao MATSUMOTO

The writers collected the benthic fauna from nine stations on the River Naka in Tochigi Prefecture in November of 1966 and in March of 1967.

The results obtained from the classification of benthic fauna are summarized as follows:

1) The benthic fauna collected from nine stations on the River Naka is classified to more than seventy-nine species of aquatic insects which are comprised in fifty-five genera belonging to thirty families.

The are:

Ord. Ephemeroptera ·····8 families, 13 genera, 24 species.
Ord. Odonata ·····1 family, 1 genus, 1 species.
Ord. Plecoptera ·····5 families, 15 genera, 20 species.
Ord. Hemiptera ·····1 family, 2 genera, 2 species.
Ord. Megaloptera ·····1 family, 1 genus, 1 species.
Ord. Trichoptera·····7 families, 10 genera, 17 species.
Ord. Coleoptera ·····2 families, 2 genera, 2 species.
Ord. Diptera·····5 families, 11 genera, 12 species.

Further, some species of Hydrachnella, Oligochaeta and Nematoda were collected.

The number of species of the benthic fauna collected at each station ranged from sixteen to thirty-three species.

2) The benthic fauna of the River Naka was composed of mostly lowland species.

3) The dominant insects of the TNI and Standing crop at the River Naka were Ephemeroptera and Trichoptera respectively.

4) The benthic animals collected from each station in 1966 were more abundant than those in 1967.

5) The biotic indexes at each station on the River Naka ranged from 28 to 59 and the average was 42. The numerical values indicate biologically that the river is clean and still unpolluted.

* 東京都立衛生研究所 水質試験部

6) The diversity indexes ranged from 6.2 to 11.3 and the average was 8.8 indicating that the river is presenting well balanced circumstances to benthic fauna.

7) The benthic fauna of the River Naka is abundant in both individual and specific numbers.

8) The number of species and individuals collected from River Naka was greater than those of River Kinu in Tochigi Prefecture.

9) As the results of the present study, the River Naka may be ranked to oligo-saprobiotic zone.

はじめに

筆者等は河川の水質汚濁と底棲動物の相関についての調査研究を多摩川，秋川，浅川，鬼怒川，田川，仁淀川などの諸河川について行ない，その結果を報告して来た。

底棲動物相の変化に及ぼす要因には水質その他いろいろとあるが，そのうち環境的要因の影響は非常に大きいと考えられる。

このたび河川の環境変化と底棲動物相の相関を知る上に貴重な資料を得る機会を得たので本調査を実施した。

現在，那珂川の上流にダム湖造築が計画されているが，ダム湖が造築されると，それに伴つて，河川の流水量，溶存酸素，水温その他環境的要因が著しく変動すると考えられる。

これらの環境変化が底棲動物相にどのように影響を及ぼすかを知る上に，是非ともダム湖造築前の動物相の調査を行なつておく必要があると考える。

そこで本調査を栃木県水産試験場と共同で行なつた。なお水質分析は同場の土屋，村山技師が担当された。

調査地点および調査時季

那珂川本流の調査地点は表1に示すとおり，1966年11月に8地点（St.2～St.9），1967年3月に9地点（St.1～St.9）計17地点である。

表1　那珂川の調査地点

1　那須郡鹿磯町板室温泉（湯川流入前）
2　黒磯町橋本町地先（晩翠橋下）
3　黒磯町赤坂（高野川合流点後）
4　黒磯町鍋掛（昭明橋下）
5　那須町黒羽町寒井（稲沢橋上）
6　黒羽町大輪（渡船場上）
7　黒羽町奥沢（砂利採取場下流）
8　那須郡湯津上村小船渡（渡船場跡下）
9　湯津上村佐良土（矢倉の渡下）

調査方法

① 底棲動物の採集はサーバーネット法（25 cm×25cm 枠のサーバー・サンプラー）に従い，地点における採集回数は4回である。

② 水質分析：栃木県水産試験場が行なつた。

調査結果

1966年度の調査で採集された底棲動物は次のとおりである。

EPHEMEROPTERA

Leptophlebiidae ;	*Paralephlebia* sp.
Ephemerellidae ;	*Ephemerella basalis* Imanishi
	Ephemerella sp. EC
	Ephemerella rufa Imanishi
	Ephemerella sp. ED
	Ephemerella sp.
Caenidae ;	*Caenis* sp.
Baetidae ;	*Baetis* sp.
	Baetiella sp.
Siphlonuridae ;	*Isonychia japonica* Ulmer
Ecdyonuridae ;	*Epeorus uenoi* Matsumura
	Epeorus latifolium Ueno
	Ecdyonurus yoshidae Takahashi
	Rhithrogena japonica Uneo
	Rhithrogena sp.
	Ecdyonuridae sp.

以上，6科9属16種。

PLECOPTERA

Nemouridae ;	*Protonemura* sp.
Capniidae ;	Capniidae sp.
Perlodidae ;	*Isoperla okamotonis* Kohono
Perlidae ;	*Paragnetina tinctipennis* McLachlan
	Neoperla sp.
	Oyamia gibba Klapalek
	Acroneuria jouklii Klapalek

Perlidae sp.
Chloroperlidae ; Chloroperlidae sp.
以上，5科9属11種。
MEGALOPTERA
Corydalidae ; *Protohermes grandis* Thunberg 1種。
TRICHOPTERA
Rhyacophilidae ; *Rhyacophila* sp. RA
Rhyacophila nigrocephala
Rhyacophila transquilla Tsuda
Rhyacophila sp. RG
Rhyacophila sp.
Glossosomatinae ; *Mystrophora inops* Tsuda
Stenopsychidae ; *Stenopsyche griseipennis* McLachlan
Psychomiidae ; *Psychomia* sp.
Hydropsychidae ; *Hydropsyche brevilineata* Iwata
Hydropsyche ulmeri Tsuda
Sericostomatidae ; *Goera japonica* Banks
以上，6科6属6種。
COLEOPTERA
Psephenidae ; *Mataeopsephenus japonicus* Matsumura
Elmidae ; Elmidae sp.
以上，2科2属2種。
DIPTERA
Deuterophlebiidae; *Deuetrophlebia nipponica* Kitakami
Blepharoceridae ; Blepharoceridae sp.
Tipulidae ; *Antocha* sp.
Eriocera sp.
Tipulidae sp.
Simuliidae ; Simuliidae sp.
Chironomidae ; Chironomidae sp.
Nymphomyia sp.
Rhagionidae ; *Atherix* (A.) *ibis japnica* Nagatomi
Atherix (S.) *satsumana* Matsumura
以上，7科9属10種。そのほかに Hydrachnella sp. Oligochaeta sp. Nematoda sp. などが採集された。

一方，1967年度の調査で採集された底棲動物は次のとおりである。

EPHEMEROPTERA
Ephemeridae ; *Ephemera japonica* McLachlan
Leptophlebiidae ; *Paraleptophlebia* sp. PA
Paraleptophlebia sp.
Ephemerellidae ; *Ephemerella basalis* Imanishi
Ephemerella sp. nG
Ephemerella tripina Ueno
Ephemerella sp. EB
Ephemerella sp. EC
Ephemerella rufa Imanishi
Ephemerella sp.
Caenidae ; *Caenis* sp.
Baetidae ; *Baetis* sp.
Baetiella sp.
Siphlonuridae ; *Isonychia japonica* Ulmer
Ameletus montana Imanishi
Ecdyonuridae ; *Epeorus uenoi* Matsumura
Epeorus latifolium Ueno
Ecdyonurus yoshidae Takahashi
Ecdyonurus sp.
Rhithrogena japonica Ueno
Rhithrogena sp.
Cinygma sp.
Ecdyonuridae sp.
以上，7科12属23種。
ODONATA
Gomphidae ; Gomphidae sp. 1種。
PLECOPTERA
Nemouridae ; *Nemoura* sp.
Amphinemura sp.
Protonemura sp.
Nemouridae sp.
Perlodidae ; *Isogenus* sp.
Isoperla nipponica Okamoto
Isoperla sp.
Perlodidae sp.
Perlidae ; *Paragnetina tinctipennis* McLahlan
Neoperla nipponensis McLahlan
Oyamia gibba Klapalek
Kamimuria quadrata Klapalek
Kamimuria tibialis f. ueno Kohono
Kamimuria sp.
Perlidae sp.
Chloroperlidae ; Chloroperlidae sp.
以上，4科13属16種。

HEMIPTERA

Aphaelochiridae ; Aphaelochiridae sp. 1種。

MEGALOPTERA

Corydalidae ; *Protohermes grandis* Thunberg 1種。

TRICHOPTERA

Rhyacophilidae ; *Rhyacophila yamanakaensis* Iwata
Rhyacophila nigrocephala
Rhyacophila transquilla Tsuda
Rhyacaphila brebicephala Iwata
Rhyacophila sp.

Glossosomatinae ; *Mystrophora inops* Tsuda

Stenopsychidae ; *Stenopsyche griseipennis* McLachlan

Psychomyiidae ; *Psychomia* sp.

Hydropsychidae ; *Hydropsyche brevilineata* Iwata
Hydropsyche ulmeri Tsuda

Kitagamiidae ; *Limnocentropus insolitus* Ulmer

Sericostomatidae ; *Goera japonica* Banks
Dinarthrodes japonica Tsuda
Gumaga okinawaensis Tsuda

uncert ; Trichoptera sp.

以上，7科9属15種。

COLEOPTERA

Psephenidae ; *Mataeopsephenus japonicus* Matsumura

Elmidae ; Elmidae sp.

以上，2科2属2種。

DIPTERA

Blepharoceridae ; Amika sp.

Tipulidae ; *Holorusia* sp.
Eriocera sp.
Tipulidae sp.

Simuliidae ; Simuliidae sp.

Chironomidae ; Chironomidae sp.
Nymphomyia alba

Rhagionidae ; Atherix (A) *ibis japonica* Nagatomi

以上，6科9属9種。

そのほかに，Hydrachnella sp. Oligochaeta sp. Nematoda sp. などが採集された。

なお各調査地点の河川状況ならびに水質分析結果は表2～表5に示した。

表2　1966年度の那珂川調査地点の状況

No. of St.	調査月日	流巾 m	水深 cm	流速 m/s	河床の状態
2	11/25		15—20	0.4 —0.5	小石礫。シルトの付着やや多し。
3	11/25		15—25	0.4 —0.5	大小石礫。
4	11/25		15—20	0.4 —0.5	小石礫と粗砂。
5	11/25	40	15—20	0.4 —0.5	〃 〃
6	11/25	30	20—30	0.5 —0.7	〃 〃
7	11/24	30	20—30	0.3 —0.4	大小石礫。
8	11/24	40	7—10	0.6 —0.7	小石礫。
9	11/24	30	15—20	0.25—0.3	小石礫と粗砂。

表3　1967年度の那珂川調査地点の状況

No. of St.	調査月日	流巾 m	水深 cm	流速 m/s	河床の状態
1	3/24	5	5—10	0.4 —0.5	大小石礫。
2	3/24		15—20	0.4 —0.5	小石礫と砂泥。
3	3/24	15	10—15	0.5 —0.6	小石礫と粗砂。
4	3/23	10	10—15	0.6 —0.7	小石礫と粗砂。
5	3/23	15	15—20	0.5	〃 〃
6	3/23	25	20—25	0.4 —0.5	〃 〃
7	3/23	20	20—25	0.5 —0.6	大小石礫。
8	3/22	50	15—20	0.55—0.65	小石礫。
9	3/22	30	15—20	0.4	小石礫と粗砂。

表4　1966年11月の那珂川の水質分析結果

調査地点	外　観	水温 °C	pH	透視度	DO ppm	COD ppm
2	微　濁	10.2	6.8	30<	11.5	0.32
3	清　澄	10.2	6.8	30<	11.8	0.71
4	〃	10.8	6.8	30<	12.2	0.45
5	〃	9.8	6.8	30<	12.6	0.71
6	〃	8.3	6.8	30<	12.8	0.58
7	流巾の約1/5が強濁	11.2	7.0	9.0	12.5	0.58
8	清　澄	13.2	6.8	30<	12.5	0.45
9	〃	11.5	7.1	30<	12.2	0.58

表5　1967年3月の那珂川の水質分析結果

調査地点	外　観	水温 °C	pH	透視度	DO ppm	COD ppm	Cl^- ppm
1	清　澄	9.1	6.8	30<	12.8	0.39	7.5
2	微　濁	8.2	6.8	30<	12.3	0.78	7.5
3	〃	6.4	7.4	29.0	12.4	1.16	9.0
4	〃	9.9	7.6	28.0	12.4	1.94	8.5
5	〃	10.8	6.9	30<	12.9	0.97	8.1
6	清　澄	9.8	6.8	30<	12.5	1.74	5.3
7	〃	10.2	6.8	30<	12.7	1.26	5.3
8	〃	11.5	6.8	30<	12.9	1.94	6.4
9	〃	10.5	7.0	30<	12.7	2.13	5.8

表6　那珂川における優占的底棲動物と調査地点数

調査年度 / 地点数(%) / 底棲動物	1966		1967	
	TNIが優占した地点数 (%)	現存量が優占した地点数 (%)	TNIが優占した地点数 (%)	現存量が優占した地点数 (%)
EPHEMEROPTERA	3 (37.5)	0	8 (88.8)	3 (33.3)
PLECOPTERA	1 (12.5)	0	0	0
TRICHOPTERA	4 (50.0)	8 (100)	0	6 (66.7)
DIPTERA	0	0	1 (11.2)	0
Others	0	0	0	0
Total	8	8	9	9

那珂川の底棲動物相は，ほかの河川の動物相と大差なく，各地点ともに毛翅目や蜉蝣目などが優占的で，続いて襀翅目や双翅目が多い。

1966年度および1967年度の各調査地点における優先的な底棲動物とその地点数との関係を要約すると表6に示すとおりである。

すなわち，1967年度に調査を行なつた計8地点のうち，4地点で毛翅目が，3地点で蜉蝣目がそれぞれもつとも棲息密度が高かつた。一方，現存量では調査地点において毛翅目が最大であつた。

1967年度は9地点について調査したが，そのうち8地点で蜉蝣目の棲息密度が最も高く，現存量では6地点で毛翅目が，3地点で蜉蝣目がそれぞれ最大であつた。

これらのことから那珂川では，蜉蝣目がもつとも棲息密度が高く，毛翅目が，もつとも現存量の大きい底棲動物と考えられる。

次に各調査地点で得られた全底棲動物に対する各目の底棲動物の棲息密度および現存量の比率を1966年度並びに1967年について調べて，その結果を表7および図1と2に示した。

表7　那珂川の底棲動物の棲息密度と現存量

底棲動物 ＼ 調査地点	1		2				3			
調査年度	'67		'66		'67		'66		'67	
個体数・重量(mg)	個体数 (%)	重量mg (%)	個体数 (%)	重量mg (%)	個体数 (%)	重量mg (%)	個体数 (%)	重量mg (%)	個体数 (%)	重量mg (%)
EPHEMEROPTERA	205 (53.7)	614 (20.3)	71 (18.1)	338 (10.3)	236 (56.7)	1,536 (28.9)	31 (13.5)	164 (17.9)	135 (21.6)	1,184 (34.6)
PLECOPTERA	33 (8.6)	909 (30.1)	34 (8.7)	118 (3.6)	12 (2.9)	208 (3.9)	47 (20.4)	183 (20.0)	17 (2.7)	391 (11.4)
TRICHOPTERA	29 (7.6)	1,431 (47.4)	233 (59.4)	2,776 (84.6)	134 (32.2)	3,534 (66.5)	24 (10.4)	400 (43.8)	66 (10.6)	1,607 (46.9)
DIPTERA	114 (29.9)	63 (2.1)	54 (13.8)	51 (1.5)	34 (8.2)	38 (0.7)	128 (55.7)	167 (18.3)	313 (50.1)	232 (6.8)
Others	1 (0.2)	1 (0.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	94 (15.0)	12 (0.3)

底棲動物 ＼ 調査地点	4				5			
調査年度	'66		'67		'66		'67	
個体数・重量(mg)	個体数 (%)	重量mg (%)	個体数 (%)	重量mg (%)	個体数 (%)	重量mg (%)	個体数 (%)	重量mg (%)
EPHEMEROPTERA	119 (18.3)	358 (4.2)	360 (58.8)	1,521 (57.6)	168 (36.3)	470 (11.1)	403 (56.7)	2,986 (28.6)
PLECOPTERA	30 (4.6)	220 (2.6)	20 (3.4)	539 (20.4)	32 (6.9)	323 (7.7)	30 (4.2)	1,095 (10.5)
TRICHOPTERA	279 (43.0)	7,641 (90.3)	21 (3.4)	392 (14.8)	176 (38.0)	3,232 (76.5)	85 (12.0)	6,221 (59.5)
DIPTERA	205 (31.6)	242 (2.9)	139 (22.7)	188 (7.1)	52 (11.2)	200 (4.7)	111 (15.6)	146 (1.4)
Others	16 (2.5)	0 (0.0)	72 (11.7)	2 (0.1)	35 (7.6)	0 (0.0)	82 (11.5)	10 (0.0)

底棲動物 ＼ 調査地点	6				7			
調査年度	'66		'67		'66		'67	
個体数・重量(mg)	個体数 (%)	重量mg (%)	個体数 (%)	重量mg (%)	個体数 (%)	重量mg (%)	個体数 (%)	重量mg (%)
EPHEMEROPTERA	170 (45.2)	389 (19.9)	247 (63.3)	1,940 (44.3)	412 (48.8)	1,088 (16.2)	316 (73.3)	1,109 (29.0)
PLECOPTERA	15 (3.9)	335 (17.1)	25 (6.4)	421 (9.6)	31 (3.7)	103 (1.5)	19 (4.4)	394 (10.3)
TRICHOPTERA	65 (17.3)	1,148 (58.7)	37 (9.5)	1,765 (40.3)	237 (28.1)	5,356 (79.8)	56 (13.0)	1,663 (43.5)
DIPTERA	110 (29.3)	53 (2.7)	57 (14.6)	109 (2.5)	142 (16.8)	141 (2.1)	25 (5.8)	11 (0.4)
Others	16 (4.3)	30 (1.6)	24 (6.2)	144 (3.3)	21 (2.6)	21 (0.4)	15 (3.5)	642 (16.8)

底棲動物 ＼ 調査地点	8				9			
調査年度	'66		'67		'66		'67	
個体数・重量(mg)	個体数 (%)	重量mg (%)	個体数 (%)	重量mg (%)	個体数 (%)	重量mg (%)	個体数 (%)	重量mg (%)
EPHEMEROPTERA	405 (69.2)	1,259 (32.6)	288 (57.4)	2,813 (47.2)	285 (36.1)	1,539 (18.8)	228 (59.3)	3,682 (55.0)
PLECOPTERA	17 (2.9)	45 (1.2)	19 (3.8)	76 (1.2)	15 (1.9)	375 (4.6)	14 (2.9)	968 (14.5)
TRICHOPTERA	130 (22.2)	1,792 (46.4)	165 (32.9)	2,962 (49.7)	391 (49.6)	5,454 (66.8)	142 (29.2)	1,979 (29.6)
DIPTERA	24 (4.1)	16 (0.4)	20 (4.0)	102 (1.7)	50 (6.3)	67 (0.9)	34 (7.0)	18 (0.2)
Others	9 (1.6)	750 (19.4)	10 (1.9)	5 (0.2)	48 (6.1)	730 (8.9)	8 (1.6)	45 (0.7)

図1　1966年度の各調査地点における棲息密度及び現存量の目別の百分率

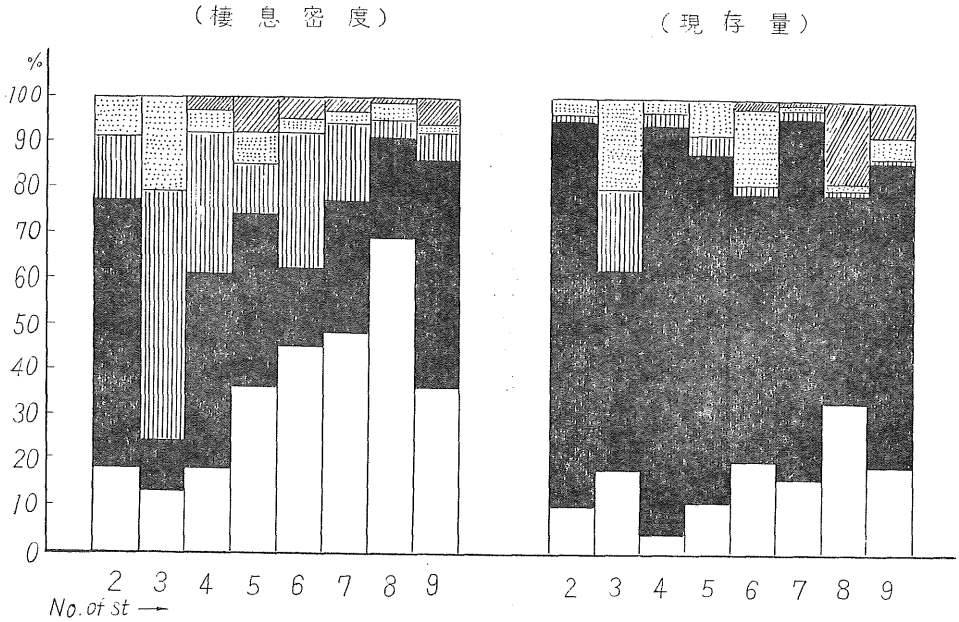


図2　1967年度の各調査地点における棲息密度及び現存量の目別の百分率

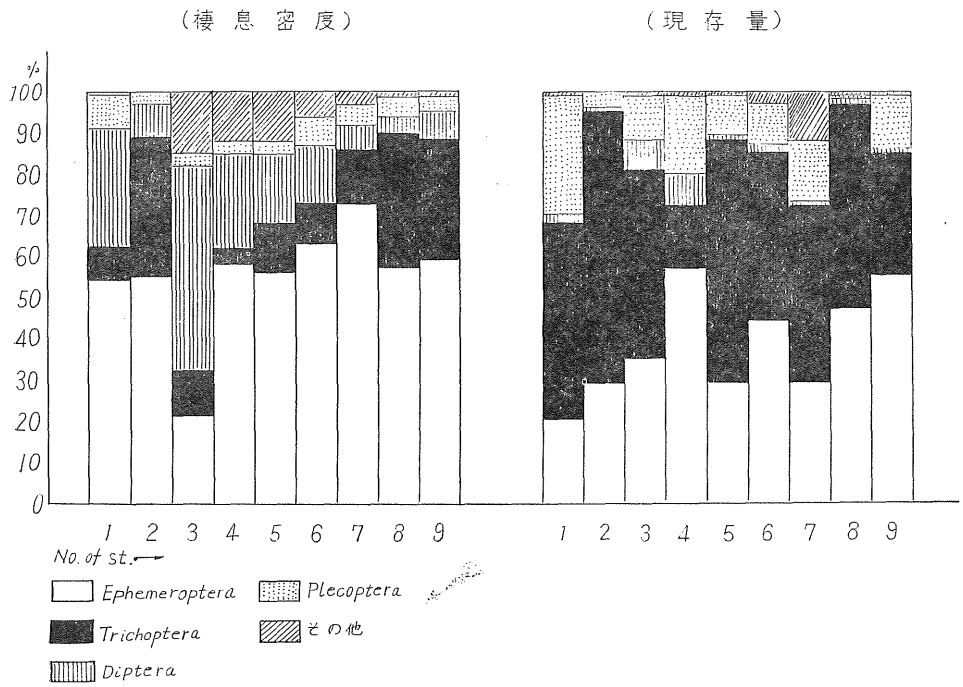


表8　各地点における TNI の優占種

調査年度 / 調査地点	1966	1967
1		*Baetis.*
2	*Ephemerella*, Baetidae, *Ep. latif.*.	*Baetis.*
3	Baetidae, *Ep. latif.*, *Ephemerella.*	*Ephemerella*, *Baetis.*
4	Baetidae, *Ep. latif.*, *Ephemerella.*	*Ephemerella.*
5	*Ephemerella.* Baetidae, *Isonychia.*	*Ep. latif.*, *Baetis.*
6	*Ephemerella*, *Isonychia.*	*Ep. latif.*.
7	*Isonychia*, *Ephemerella.*	*Ep. latif.*, *Isonychia.*
8	*Isonychia*, *Ephemerella.*	*Baetis*, *Isonychia.*
9	*Isonychia*, *Ephemerella.*	*Ep. latif.*, *Isonychia.*

表9　1966年度における各地点のＢＩとＤＩ

No. of St.	TNS	A	B	C	BI	TNI	WEIGHT gr	DI
2	16	12	3	1	28	392	3.281	6.2
3	16	12	3	1	28	231	0.922	6.8
4	24	17	4	4	42	649	8.461	8.5
5	26	18	5	3	44	463	4.226	9.6
6	26	20	4	2	46	377	1.955	10.5
7	33	26	5	2	59	845	6.710	11.3
8	28	22	3	3	50	585	3.862	10.1
9	27	20	5	2	47	789	8.165	9.3

1967年度における各地点のＢＩとＤＩ

No. of St.	TNS	A	B	C	BI	TNI	WEIGHT gr	DI
1	25	21	3	1	46	384	3.146	9.7
2	19	16	2	1	35	416	5.316	7.3
3	18	14	3	1	32	627	3.426	6.4
4	24	17	5	2	41	663	2.649	8.5
5	29	24	4	1	53	711	10.458	10.2
6	27	21	4	2	48	390	4.379	10.4
7	24	20	3	1	44	433	3.821	9.1
8	21	17	2	2	38	521	5.998	7.7
9	21	17	3	1	38	486	6.692	7.8

TNS ; Total number of species collected.
A ; Number of intolerant species.
B ; Number of tolerant species.
C ; Other miscellaneous species.
BI ; Biotic index.
TNI ; Total number of individual collected
DI ; Diversity index.

図1・図2から，わかるように各調査地点における毛翅目の全底棲動物における棲息密度並びに現存量の各比率は1966年度が1967年度にくらべて2地点（St. 3およびSt. 8）以外の地点では，すべて高くなつている。

これは，おそらく1966年11月から1967年3月までの間に動物の棲息環境を悪化あるいは破壊するような要因が作用したものと考えられる。

次に各調査地点における両年度の個体数の優占種は表8に示した。

すなわち，1966年度の全地点いずれも優占種として *Ephemerella* が出現していていたが，翌年には St. 3及び St. 4以外の地点では *Ephemerella* は優占種とならなかつた。特に注目される点は，前年度における St. 5～St. 7の優占種が *Ephemerella*, Baetidae, *Isonychia* などであつたのが翌年度には *Epeorus latifolium* に変つていることである。

一方，重量における優占種をみると，1966年度には全調査地点ともに *Stenopsyche griseipennis* と *Hydropsyche ulmeri* が優占種であつた。しかし1967年度に至ると，各地点によつて優占種が若干異る現象を認めた。すなわち，St. 1，St. 2および St. 8では前年度と同様 *Stenopsyche griseipennis* と *Hydropsyche ulmeri*が優占種であつたが，そのほかの地点の優占種はそれぞれ異つて St. 3では *Hydropsyche ulmeri*, Si. 4は *Ephemerella* sp. nG，と *Rhyacophila*, St. 5は *Stenopsyche griseipennis*, St. 6は *Stenopsyche griseipennis* と *Ephemerella basalis*, St. 7は *Stenopsyche griseipennis*, St. 9は *Hydropsyche ulmeri* などであつた。

1966年度並びに1967年度のＢＩおよびＤＩは両年度共にいずれも高い値を示した。

これは，すなわち那珂川が貧腐水性水域であり，かつ出現する底棲動物の種類も多くて，底棲動物にとつて生活環境の片寄つた河川でないことを示すものである。

特に1966年度が1967年度にくらべてＤＩ値の高い地点が多かつた。これは図1・図2にみられたように1966年度の河川の生物棲息環境が1967年度にくらべて，より安定した状態であつたことを意味するものと考えられる。

（St.—1）

本地点は得られた底棲動物のうち蜉蝣目が種類数・個体数ともにもつとも多かつた。

特に *Baetis sp.* は145個体採集された。そのほかに *Paraleptophlebia* sp. 3個体，*Ephemerella basalis* 2個体，*Ephemerella* sp. nG 22個体，*Ephemerella* sp. EC 4個体，*Ephemerella rufa* 1個体，*Baetiella* sp. 9個体，*Epeorus uenoi* 3個体，*Epeorus latifolium* 12個体，*Rhithrogena* sp. 4個体などの蜉蝣目が採集された。

襀翅目では *Amphinemura* sp. 2個体，*Protonemura* 1個体，*Isoperla nipponica* 15個体，*Isoperla* sp. 2個体，Perlodidae sp. 2個体，*Kamimuria quadrata* 4個体，Chloroperlidae sp. 7個体，毛翅目は *Rhyacophila transquilla* 2個体，*Stenopsyche griseipennis* 6個体，*Hydropsyche ulmeri* 21個体などがそれぞれ得られた。

そのほかには鞘翅目の Elmidae 1個体と双翅目の *Antocha* sp. 11個体，Simuliidae 2個体，Chironomidae sp. 101個体などが採集された。

（St.—2）

本地点で採集された1966年度の底棲動物のうち *Hydropsyche ulmeri* が，個体数においても現存量においても優占種であつた。しかし翌年には現存量において *H. ulmeri* が同様優占種であつたが，個体数では *H. ulmeri* に加えて *Baetis* も優占種となつた。

1966年度に採集された蜉蝣目のうち，*Ephemerella* sp. EC が中でも，最も個体数が多く43個体を得た。続いて *Baetis* sp. 12個体，*Ephemerella basalis* 11個体とそのほかに *Baetiella* sp. 2個体，*Epeorus latifolium* 1個体，*Rhithrogena* 2個体などが得られた。

これが翌年になると *Ephemerella* の個体数が総体的に減少し，特に前年度に個体数の多かつた *Ephemerella* sp. EC が7個体しか得られず，逆に前年度に個体数の少なかつた *Epeorus latifolium* が64個体も多く得られたのが特徴的である。

襀翅目では1966年度に Capniidae 41個体と最も多く，それに *Isoperla okamotonis* 5個体，*Acroneuria jouklii* 1個体などが採集されたが翌年には Capniidae が全然検出されず，わずかに *Isoperla nipponica* 7個体，*Oyamia gibba* 2個体，Nemouridae 2個体，Perlidae 1個体が得られたに過ぎない。

毛翅目では，両年ともに同じような採集結果で，*H. ulmeri* が中でも最も多く両年ともにその個体数は100以上であつた。次に *St. griseipennis* が多く，そのほかには *Mys. inops* や *Rhyacophila transquilla*, *Rhyacophila* などがそれぞれ数個体ずつ採集された。

双翅目もまた年度による差異は認められず，*Antocha* sp., Simuliidae sp., Chironomidae などが採集された。

（St.—3）

蜉蝣目の総個体数は '66年度の31個体に対して '67年度は135個体の約4倍に増加していた。

'66年度には *Ephemerella basalis* 3個体，*Ephemerella* sp. EC 15個体，*Baetis* sp. 3個体，*Baetiella* sp. 3個体，*Epeorus uenoi* 4個体，*Epeorus latifolium* 3個体などが採集された。これに対して '67年度は *Ephemerella basalis* 5個体，*Ephemerella* sp. nG 56個体，*Ephemerella* sp. EC 4個体，*Ephemerella rufa* 2個体，*Baetis* sp. 45個体，*Epeorus latifolium* 23個体などが採集され，特に *Ephemerella*，*Baetis*，および *Epeorus latifolium* などが前年度よりも著しく多く得られた。

襀翅目では，'66年度に Capniidae 41個体，*Isoperla okamotonis* 5個体，*Oyamia gibba* 1個体が採集され，翌年に *Nemoura* sp. 2個体，*Amphinemoura* sp. 1個体，*Isogenous sp.* 1個体，*Isoperla nipponica* 8個体，*Isoperla* sp. 4個体，*Kamimuria tibialis* 1個体などが得られた。すなわち '66年度にくらべて '67年度の襀翅目の総個体数は少なかつたけれども，種類数では多かつた。特に，前年度に41個体も採集された Capniidae sp. が '67年度に全然得られなかつた。

毛翅目は '66年度に *St. griseipennis* 5個体，*H. ulmeri* 19個体のみで，'67年度に *Rhyacophila transquilla* 3個体，*St. griseipennis* 1個体，*H. ulmeri* 62個体などが採集され，特に *H. ulmeri* の増加が目立つた。

鞘翅目ならびに双翅目は，'66年度に *Mataeopsephenus japonicus* 1個体，Blepharoceridae sp. 1個体，*Eriocera* sp. 1個体，Simuliidae sp. 92個体，Chironomidae sp. 34個体などが採集されたが，翌年度は *Antocha* sp. 1個体，Chironomidae sp. 312個体を得たのみである。

（St.—4）

本地点における両年度の底棲動物相を比較してみると，毛翅目並びに蜉蝣目の変化が目立つ。すなわち，'66年度の毛翅目は *Rhyacophila nigrocephala* 1個体，*Rhyocophila transquilla* 27個体，*Rhyacophila* sp. 4個体，*Mystrophora inops* 5個体，*Stenopsyche griseipennis* 67個体，*Hydropsyche brevilineata* 20個体，*Hydropsyche ulmeri* 155個体と個体数・種類数ともに多かつたが，翌年は *Rhyacophila transquilla* 18個体，*H. ulmeri* 3個体しか採集されなかつた。

一方，蜉蝣目は '66年度に *Ephemerella basalis* 16個体，*Ephemerella* sp. EC 12個体，*Ephemerella rufa* 14個体，*Baetis* sp. 18個体，*Baetiella* sp. 41個体，*Isonychia* sp. 8個体，*Epeorus latifolium* 9個体，*Rhithrogena* sp. 1個体が採集された。これに対し '67年度には *Paraleptophlebia* sp. PA 2個体，*Ephemerella basalis* 5個体，*Ephemerella* sp. nG 213個体，*Ephemerella* sp. EB 2個体，*Ephemerella* sp. EC 6個体，*Ephemerella rufa* 3個体，*Caenis* sp. 1個体，*Baetis* sp. 67個体，*Epeorus latifolium* 60個体，*Ecdyonurus yoshidae* 1個体などが採集され，前年度の総個体数よりも著しく多くなつた。特に前年度に採集されなかつた *Ephemerella* sp. nG が213個体も得られた。

そのほかに襀翅目，双翅目，鞘翅目は両年度ともに大差なかつた。すなわち，'66年度に Capniidae sp. 14個体，*Isoperla okamotonis* 11個体，*Oyamia gibba* 1個体，*Kammiuria quadrata* 4個体，*Antocha* sp. 57個体，Simuliidae sp. 11個体，Chironomidae 132個体，*Nymphomyia* sp. 4個体，*Atherix ibis japonica* 1個体などが採集され，'67年度には *Isoperla nipponica* 2個体，*Isoperla* sp. 11個体，*Neoperla nipponenis* 1個体，*Kamimuria quadrata* 2個体，Chloroperlidae sp. 4個体，*Holorusia* sp. 1個体，*Antocha* sp. 2個体，Tipulidae sp. 2個体，Chironomidae 134個体，*Mataeopsephenus japonica* 1個体，Elmidae 1個体などが採集された。

（St.—5）

'67年度の蜉蝣目および毛翅目の各総個体数を前年度のそれと比較してみると，前者は多く採集されたが後者は約1/2に減少した。

'63年度に採集された蜉蝣目並びに毛翅目は *Ephemerella basalis* 7個体，*Ephemerella* sp. EC 69個体，*Ephemerella rufa* 28個体，*Baetis* sp. 2個体，*Baetiella* sp. 23個体，*Isonychia japonica* 25個体，*Epeorus latifolium* 7個体，*Ecdyonurus yoshidae* 2個体，*Rhithrogena* sp. 5個体，*Rhyacophila transquilla* 10個体，*Rhyacophila* sp. 7個体，*Mystrophora inops* 5個体，*Stenopsyche griseipennis* 15個体，*Hydropsyche brevilineata* 60個体，*H. ulmeri* 79個体などで，翌年度は *Paraleptophlebia* sp. 3個体，*Ephemerella basalis* 1個体，*Ephemerella trispina* 10個体，*Ephemerella* sp. EC 42個体，*Ephemerella rufa* 14個体，*Ephemerella* sp. 74個体，*Baetis sp.* 118個体，*Isonychia japonica* 8個体，*Epeorus latifolium* 120個体，*Rhithrogena* sp. 13個体，*Rhyacophila yamanakensis* 1個体，*Rhyacophila transquilla* 7個体，*Rhyacaphila* sp. 2個体，

Mystrophora inops 2個体, *Stenopsyche griseipennis* 24個体, *Psychomyia* sp. 1個体, *Hydropsyche brevilineata* 2個体, *H. ulmeri* 36個体, *Dinarthrodes japonica* 10個体, などが採集された。そのうちでも *Baetis* sp. と *Epeorus latifolium* が前年度にくらべて著しく多くなつている。しかし, *H. brevilineata* と *H. ulmeri* の個体数は減少した。積翅目は'66年度に Capniidae sp. 8個体, *Isoperla okamotonis* 18個体, *Kamimuria quadrata* 5個体, Perlidae 1個体, '67年度に *Isoperla nipponica* 12個体, *Isoperla* sp. 15個体, *Paragnetina tinctipennis* 1個体, *Oyamia gibba* 1個体, *Kammimuria tibialis* 1個体などがそれぞれ得られた。

双翅目は両年ともに *Antocha* sp., *Eriocera* sp., Simuliidae, Chironomidae などが採集された。

(St.—6)

本地点の底棲動物相は両年度とも大差なかつた。すなわち, '66年度に採集された底棲動物は, 蜉蝣目が *Paraleptophlebia* sp. 2個体, *Ephemerella basalis* 41個体, *Ephemerella* sp. EC 6個体, *Ephemerella rufa* 10個体, *Baetis* sp. 2個体, *Baetiella* sp. 22個体, *Isonychia japonica* 51個体, *Epeorus latifolium* 23個体, *Ecdyonurus yoshidae* 4個体, *Rhithrogena* sp. 9個体で, 翌年は *Paraleptophlebia* sp. 5個体, *Ephemerella basalis* 27個体, *Ephemerella* sp. EC 5個体, *Ephemerella rufa* 25個体, *Ephemerella sp.* 31個体, *Baetis* sp. 12個体, *Isonychia japonica* 35個体, *Epeorus latifolium* 81個体, *Ecdyonurus yoshidae* 6個体, *Rhithrogena* sp. 20個体などである。

蜻蛉目は'67年度に Gomphidae 1個体を採集したに過ぎない。

積翅目は'66年度に Capniidae 6個体, *Isoperla okamotonis* 3個体, *Neoperla* sp. 2個体, *Oyamia gibba* 1個体, *Kamimuria quadrata* 2個体, Perlidae 1個体などで, '67年度に *Isoperla nipponica* 1個体, *Isoperla* sp. 19個体, *Neoperla nipponensis* 2個体, *Kamimuria quadrata* 3個体などである。

毛翅目は'66年度に *Rhyacophila transquilla* 8個体, *Mystrophora inops* 4個体, *Stenopsyche griseipennis* 9個体, *Hydropsyche brevilineata* 18個体, *H. ulmeri* 26個体, 翌年度に *Rhyacophila transquilla* 6個体, *M. inops* 1個体, *S. griseipennis* 5個体, *H. ulmeri* 23個体, Trichoptera 2個体が得られた。

鞘翅目は *Mataeapsephenus japonicus* のみで, 双翅目は *Antocha* sp., *Eriocera sp.*, *Amika* sp., Chironomidae sp., *Nymphomyia alba* などが採集された。そのほかには Hydrachnella sp. 1個体('67年度)と Oligochaeta が採集された。

(St.—7)

本地点における'67年度の底棲動物の種類数・個体数はともに前年度にくらべて少なかつた。特に毛翅目の個体数が前年度の約1/4であつた。

蜉蝣目の個体数は前年度より若干減少しているに過ぎないが, 種類別にみるとその変化が目立つ。すなわち, '66年度には *Ephemerella basalis* 82個体, *Ephemerella* sp. EC 39個体, *Ephemerella rufa* 20個体, *Ephemerella* sp. 2個体, *Baetis* sp. 13個体, *Baetiella* sp. 44個体, *Isonychia japonica* 143個体, *Epeorus uenoi* 1個体, *Epeorus latifolium* 40個体, *Ecdyonurus yoshidae* 10個体, *Rhithrogena* sp. 18個体, などを採集したが, '67年度には *Paraleptophlebia* sp. 2個体, *Ephemerella basalis* 6個体, *Ephemerella trispina* 5個体, *Ephemeralla* sp. EC 5個体, *Ephemerella rufa* 6個体, *Ephemerella* sp. 15個体, *Baetis* sp. 18個体, *Isonychia japonica* 106個体, *Epeorus latifolium* 104個体, *Rhithrogena* sp. 49個体などを採集した。そのうち, '67年度の *Ephemerella* の総個体数は前年度の約1/4であつた。*Epeorus latifolium* は逆に前年度の約2.5倍と多くなつた。

一方, '66年度に採集された毛翅目は *Rhyacophila transquilla* 8個体, *Rhyacophila* sp. 2個体, *Mystrophora inops* 14個体, *Stenopsyche griseipennis* 37個体, *Psychomyia* sp. 2個体, *Hydropsyche brevilineata* 52個体, *H. ulmeri* 122個体, 翌年は *Rhyacophila transquilla* 3個体, *Mystrophora inops* 1個体, *Stenopsyche griseipennis* 5個体, *H. ulmeri* 47個体で, 特に *H. ulmeri* が前年度より著しく少くなつている。積翅目は'66年度に Capniidae sp. 11個体, *Isoperla okamotonis* 17個体, *Neoperla* sp. 2個体, *Kamimuria* sp. 1個体, 翌年に *Isoperla nipponica* 6個体, *Isoperla* sp. 7個体, *Kamimuria tibialis* 5個体, Perlidae sp. 1個体などがそれぞれ採集された。

双翅目は'66年度に *Deuterophlebia nipponica* 1個体, *Antocha* sp. 22個体, *Eriocera* sp. 1個体, Simuliidae sp. 5個体, Chironomidae sp. 114個体, 翌年に *Antocha* sp. 1個体, Chironomidae sp. 22個体, *Nymphomyia alba* 2個体などを採集した。

そのほかには'66年度に *Mataeopsephenus japonicus* 4個体と E'midae sp. 4個体の鞘翅目と Hydrachne-

lla 3個体，Oligochaeta 10個体，Nematoda 1個体と，翌年に *Protohermes grandis* 1個体と Oligochaeta 14個体などが得られた。

（St.—8）

両年度における底棲動物相の変化は他の地点と同様，蜉蝣目と毛翅目において著しい。

両年度の蜉蝣目を比較してみると種類数はほぼ同じであるが，総個体数は前年度の約1/2であつた。すなわち，'66年度に *Paraleptophlebia* sp. 2個体，*Ephemerella basalis* 159個体，*Ephemerella* sp. EC 50個体，*Ephemerella rufa* 20個体，*Baetis* sp. 2個体，*Baetiella* sp. 16個体，*Isonychia japonica* 119個体，*Epeorus uenoi* 1個体，*Epeorus latifolium* 30個体，*Ecdyonurus yoshidae* 5個体，*Rhithrogena* sp. 1個体などが採集され，'67年度に *Ephemerella basalis* 36個体，*Ephemerella trispina* 9個体，*Ephemerella* sp. EC 12個体，*Ephemerella rufa* 14個体，*Ephemerella* sp. 12個体，*Baetis* sp. 100個体，*Isonychia japonica* 101個体，*Ecdyonurus yoshidae* 1個体，*Rhithrogena* sp. 2個体，Ecdyonuridae sp. 1個体などが得られた。これらのうち著変を認めたのは *Ephemerella basalis* が前年度の約1/5に減少したことと，それに *Baetis* が前年度の2個体に対して'67年度に100個体が採集されたことである。

毛翅目は'66年度に *Rhyacophila transquilla* 5個体，*Rhyacophila* sp. 1個体，*Mystrophora inops* 12個体，*Stenopsyche griseipennis* 8個体，*Psychomyia* sp. 3個体，*Hydropsyche brevilineata* 25個体，*H. ulmeri* 76個体が採集され，翌年に *Rhyacophila transquilla* 3個体，*Mystrophora inops* 1個体，*Stenopsyche griseipennis* 13個体，*Hydropsyche ulmeri* 148個体などが採集された。このように'67年度の毛翅目は前年度にくらべて種類数は少なかつたが総個体数はほぼ同じであつた。

襀翅目および双翅目は'66年度に Capniidae sp. 11個体，*Isoperla okamotonis* 4個体，*Neoperla* sp. 2個体，*Antocha* sp. 3個体，Simuliidae sp. 2個体，Chironomidae sp. 17個体，*Nymphomyia* sp. 2個体，'67年度に *Isoperla* sp. 18個体，Chloperlidae sp. 1個体，*Amika* sp. 1個体，Chironomidae sp. 19個体などが，それぞれ採集された。

そのほかには Hydrachnella sp.，Oligochaeta sp. などが得られた。

なお'66年度には *Protohermes grandis* 1個体が採集された。

（St.—9）

底棲動物の総種類数および総個体数ともに'66年度が多かつた。そのちうでも *Hydropsyche brevilineata* が'66年度に235個体採集され，翌年度に全然採集されなかつたことが特徴的である。

蜉蝣目は'66年度に *Paraleptophlebia* sp. 1個体，*Ephemerella basalis* 31個体，*Ephemerella* sp. EC 4個体，*Ephemerella rufa* 61個体，*Ephemerella* sp. ED 1個体，*Ephemerella* sp. 2個体，*Baetis* sp. 6個体，*Baetiella* sp. 10個体，*Isonychia japonica* 100個体，*Epeorus latifolium* 36個体，*Ecdypnurus yoshidae* 33個体，'67年度に *Ephemerella basalis* 14個体，*Ephemerella trispina* 2個体，*Ephemerella* sp. EC 1個体，*Ephemerella rufa* 18個体，*Ephemerella* sp. 16個体，*Baetis* sp. 14個体，*Ameletus montana* 80個体，*Epeorus latifolium* 127個体，*Ecdyonurus yoshidae* 11個体，*Cinygma* 5個体などが採集され，特に *Epeorus latifolium* の個体数が'67年度に多くなつている。

毛翅目は'66年度に *Rhyacophila transquilla* 2個体，*Stenopsyche griseipennis* 14個体，*Hydropsyche brevilineata* 235個体，*H. ulmeri* 140個体，'67年度に *Mystrophora inops* 4個体，*Psychomyia* sp. 1個体，*H. ulmeri* 137個体が採集された。

襀翅目および双翅目は'66年度に Capniidae sp. 4個体，*Isoperla okamotonis* 1個体，*Neoperla* sp. 4個体，*Oyamia gibba* 1個体，*Kamimuria quadrata* 5個体，*Antocha* sp. 15個体，*Eriocera* sp. 1個体，Chironomidae sp. 33個体，*Atherix ibis* 1個体，'67年度に Nemouridae sp. 1個体，*Isoperla* sp. 3個体，*Kamimuria quadrata* 9個体，Perlidae sp. 1個体，*Antocha* sp. 1個体，Chironomidae 33個体などが得られた。

なお'66年度には *Protohermes grandis* が1個体採集された。

要　　約

1966年11月と1967年3月に那珂川本流の生物学的調査を9地点について実施して得た結果を要約すると下記のとおりである。

1）那珂川本流の9地点から採集した底棲動物を検索した結果，30科55属79種を同定した。

Ephemeroptera	8科13属24種
Odonata	1科1属1種
Plecoptera	5科15属20種
Hemiptera	1科2属2種

Megaloptera	1科1属1種
Trichoptera	7科15属17種
Coleoptera	2科2属2種
Diptera	5科11属12種

その他，Hydrachnella，Oligochaeta，Nematoda などである。

なお各調査地点の種数は16～33種以上である。

2） 那珂川の調査地点から採集された底棲動物はほとんど平地性種であつた。

3） 那珂川では蜉蝣目がもつとも棲息密度が高く，毛翅目がもつとも現存量の大きい底棲動物であつた。

4） 1966年度における底棲動物と1967年度のそれとを比較すると，前年度が多く採集された。

5） 那珂川の各調査地点の生物指数は28～59で，平均は42を示した。これは那珂川が生物学的に水質は清冽で汚染されていないことを示すものである。

6） 那珂川の各調査地点の Diversity index は6.2～11.3で平均は8.8と高い値を示した。これは上記の地点が底棲動物にとつて良い生活環境であることを示している。

7） 那珂川の各調査地点は底棲動物の個体数・種類数ともに豊富である。

8） 那珂川の底棲動物のＴＮＩ，ＴＮＳは鬼怒川のそれらにくらべて多い。

9） 那珂川の調査水域は貧腐水性水域である。

微生物の代謝産物に関する研究

1. ブドウ球菌の産生する揮発性物質の Gas-chromatography

直井 家寿太* 小久保 弥太郎*
二島 太一郎* 北村 久寿久*
松本 茂*

STUDIES ON METABOLITES PRODUCED BY MICROORGANISMS

1) Gas-chromatography of Volatile Metabolites of Staphylococci

Yasuta NAOI, Yataro KOKUBO, Taichiro NISHIMA
Kusuhisa KITAMURA and Shigeru MATSUMOTO

(Department of Food Hygiene, Tokyo-to Laboratories for Medical Sciences)

In order to find out a more rapid procedure for the differenciation of Staphylococci species, ether extracts of the volatile metabolites produced in the liquid culture media were studied on gas-chromatography by means of flame ionization detector. Strains used in this investigation were Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis and several species of Micrococci, cultured in the Heart Infusion Broth containing 2 % glucose.

The results obtained are summurized as follow:

1) Metabolic products formed by the strains of Staphylococcus epidermidis were mainly composed of lactic acid and acetic acid, while those formed by the strains of Staphylococcus aureus were identified as ethanol, acetoin and 2, 3-butanediol, in addition to lactic acid and acetic acid. Therefore, these two species were apparently distinguished on the chromatogram.

2) It was impossible to detect any difference among the species of Micrococci by this procedure, because all the strains investigated produced no detectable volatile materials, but from this point, it was easy to identify the strains of Micrococci from those belonging the species of Staphylococci.

まえがき

自然環境や臨床例から分離される細菌を同定する場合，通常分離菌について種々の性状検査を実施しなければならないため，かなりの時間を要する。そのため，より迅速な方法が必要とされ，最近そのひとつとして Gas-chromatography（以下ＧＣ）による方法が検討されている。

細菌の分類にＧＣを最初に応用したのは，Abel 等[1]で，彼等は種々の細菌を対象として，菌体から抽出した脂肪酸の methyl ester をＧＣにより分析し，その結果に基ずいて分類を行なつた。その後，菌体抽出脂質のＧＣ分析の結果を微生物の分類に応用した報告例は今日まで多数ある。また Reiner[2),3)] は，Pyrolysis-GC を微生物の同定に利用しようと試みた。Henis 等[4)] は，細菌の産生する揮発性代謝産物をＧＣ分析し，その結果を代謝の研究，さらには菌種の鑑別に利用しようと試みている。以後，培養上清中の揮発性物質の

* 東京都立衛生研究所　食品部

ＧＣ分析を行なつた例はかなり報告されている[5)~12)]。

われわれは日常業務としてブドウ球菌(以下ブ菌)の検査を行なつているが，その際 coagulase test を黄色ブ菌と表皮ブ菌の鑑別上の決め手としている。そこでわれわれは，培養上清中の揮発性代謝産物を ether 抽出し，その抽出物を水素炎イオン化検出器を用いて分析し，gas-chromatogram（以下 GC gram）によつてブ菌を分類できるか否かを検討し，あわせてブ菌と判別が困難な micrococcus 菌についても比較検討を試みたので，以下報告する。

実験材料及び方法

1. 供試菌株

1) 食中毒由来の黄色ブ菌の保存株……30株

2) 一般食品（農産食品を主体とした主食類及び複合調理食品）より分離した黄色ブ菌と表皮ブ菌の新鮮株……各30株

3) 醗酵研究所及び大阪大学醗酵工学科分与micrococcus 菌の標準株……下記７株

Micrococcus	flavus	ＯＵＴ 8276
〃	lysadeikticus	ＩＦＯ 3333
〃	caseolyticus	ＯＵＴ 8088
〃	conglomeratus	ＯＵＴ 8090
〃	nishinomiyaensis	ＯＵＴ 8094
〃	percitreus	ＯＵＴ 8096
〃	perflavus	ＯＵＴ 8099

2. 使用培地及び培養方法

培地は，Heart Infusion Broth に２％にブドウ糖を加えたものを用いた。供試菌は，同培地に接種後30°Ｃに24時間培養し，その１ｍlを再び５ｍlの同培地に移殖し，密栓の上，さらに30°Ｃで48時間培養した。

3. 抽出方法

揮発性代謝産物の抽出は，前記培養により得た培養上清について，Henis 等[4)] 及び O'Brien[7)] の方法に基ずき Table１に示す順序で行なつた。

培養上清５ｍlに５Ｎ塩酸0.1ｍl，0.2M 塩酸—塩化カリ buffer 1.0ｍlを加えて酸性にした後，食塩を飽和し，等量の ether を加えて抽出を行なつた。ether 層をピペットで注意深く取り，その ether 抽出液を無水硫酸ナトリウムで脱水後，室温で 1/10 程度に濃縮し，これをＧＣ分析用の試料とした。試料はＧＣに注入するまで，−10°Ｃ以下で保存し，12時間内に供試した。

Table 1 Extraction method

Supernatant solution
↓ 5N HCl+0.2M HCl-KCl buffer
Saturated with NaCl
↓
Extracted with Ether
↓
Water layer | Ether layer
↓
Saturated with anhydrous Na_2SO_4
↓
Concentration (Room temperature)
↓
Sample

4. ＧＣの条件

分析には島津ＧＣ—ＩＣの水素炎イオン化検出器を用いた。カラムは２種類を用い，それぞれ Henis等[4)] Yoshioka 等[12)] の報告を参照し，抽出液を５μlずつ注入し，Table２に示した条件で測定した。

Table 2 Gas-chromatography conditions

	Column (1)	Column (2)
Column	Glass (180×0.4cm)	Stainless (180×0.4cm)
Column packing	Porapak Q 80～100 mesh	10% CW 4000 /Chromosorb W 5% TPA / HMDS 60～80 mesh
Column temp.	210°	110°
Detect temp.	240°	120°
Inject temp.	—	160°
Carrier gas	N_2 40ｍl/min.	N^2 40ｍl/min.
H_2 flow rate	20ｍl/m n.	20ｍl/min.
Range	0.4mV.V	0.4mV.V
Sens.	10^2	10^2

試 験 結 果

1) カラム(1)を使用した場合（充塡剤として Porapak Q を使用）

ピークの高低に多少の差はあるが，30株ずつの黄色ブ菌，表皮ブ菌及び micrococcus 菌の各典型的な GC gram は Fig. 1 に示した通りである。

黄色ブ菌では，明確に4つのピークが認められ，それぞれ標準品の retention time と比較した結果，ethanol, acetoin, 2, 3-butanediol, 乳酸であることを確認した。なお食中毒由来株と一般食品分離株の GC gram には差は認められなかつた。

表皮ブ菌では，ethanol, acetoin, 2, 3-butanediol は，ほとんど痕跡程度かまたは確認されず，乳酸のピークも明確に認められるが，黄色ブ菌に比較して低かつた。

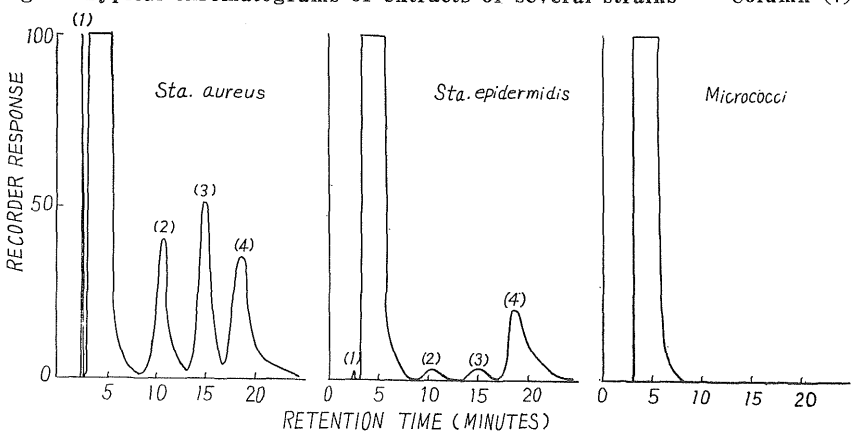
さらに，micrococcus 菌もわれわれが試験した7種の標準菌株では，すべての株が痕跡程度の乳酸以外は，何らピークを認めなかつた。したがつて，種間の鑑別は不可能であつたが，属を異にするブ菌とは明らかに鑑別ができた。

2) カラム(2)を使用した場合（充塡剤としてCW—4000を使用）

それぞれの株の典型的な GC gram はFig. 2に示した通りである。

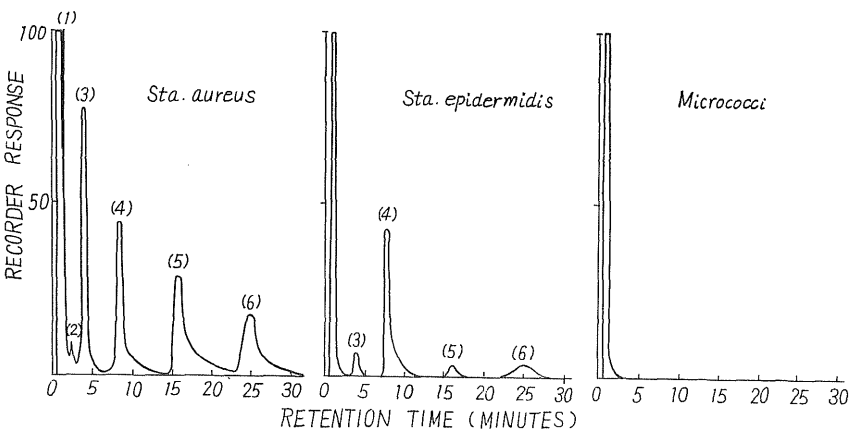
黄色ブ菌では，一般食品分離株も食中毒由来株も差がなく6つのピークが検出され，その内の4つのピークは，ethanol, acetoin, 2, 3-butanediol ならびにカラム(1)では検出されなかつた酢酸であることを確認し

Fig. 1 Typical chromatograms of extracts of several strains …… Column (1)



(1) Ethanol (2) Acetoin (3) 2, 3-butanediol (4) Lactic acid

Fig. 2 Typical chromatograms of extracts of several strains …… Column (2)



(1) Ethanol (2) Unknown (3) Acetoin (4) Acetic acid (5) 2, 3-butanediol (6) Unknown

た。他の2つのピークは代謝産物と考えられる種々の物質と比較検討したが，retention time の一致するものは認められなかつた。その内のピーク(2)は，菌株により検出されない場合もあつたが，ピーク(6)は全株に明瞭に認められた。なおカラム(1)使用の場合に認められた乳酸は，この条件では検出できなかつた。

表皮ブ菌では，ethanol, acetoin, 2, 3-butanediol のピークは，カラム(1)の場合と同様，痕跡程度かまたは確認されず，ピーク(2)も認められず，ピーク(6)も黄色ブ菌に比較して低かつた。しかし，酢酸は黄色ブ菌と同程度のピークとして認められた。

micrococcus 菌では，7株ともすべて溶媒である ether のピークのほかは認められなかつた。したがつて，カラム(1)使用の場合と同様にブ菌とは明らかに鑑別できるが，種間の鑑別は不可能である。

考　　察

文献によれば，大腸菌や乳酸菌などの醗酵性の強い細菌について，その培養上清をそのまま直接 Porapak Q充塡のカラムに注入し，良い結果を得たとの報告がある[10)~12)]。そこで，われわれもこの実験を意図した当初の目的が日常検査への導入であり，前処理なしに直接分析できれば都合が良いと考え，培地，培養温度，基質の種類などを変えて直接注入について検討を試みたが，ブ菌や micrococcus 菌では，良い結果が得られなかつた。そこでわれわれは，ブ菌や micrococcus 菌の培養上清中の揮発性代謝産物を ether 抽出し，その抽出物を2種類のカラムを使用してGC分析を行なつたところ，ほぼ満足すべき結果を得ることができた。

しかし，われわれの実施した方法では，充塡剤に Porapak Q を使用した場合，ether 溶媒のテーリングが大きいため，その中に代謝産物として重要な酢酸，propanol, diacetyl などが隠れてしまう欠点がある。そこで，この欠点をカバーするために，さらに充塡剤としてCW—4000を使用して，これらの物質を確認することができた。ブ菌の場合には，前記の物質が認められなくても鑑別できるが，代謝産物を個々に調べる場合には Porapak Q カラムのみでは，分離，確認の困難な場合がある。一方，CW—4000のみを使用した場合には，重要な代謝産物である乳酸がピークとして表われず，なおまた確認不能の2つのピークが現われ，その上 Porapak Q カラムの場合より分析のための retention time が長いなどの欠点がある。以上，われわれが検討した範囲では，Porapak Q を使用すれば，一応，黄色ブ菌と表皮ブ菌の鑑別，ならびにブ菌属と，micrococcus 菌属の識別は可能である。

上記の結果を，生物活性の面から見た場合，黄色ブ菌が最も活性が強いように思われた。なお，食中毒由来の株の揮発性代謝産物と，一般食品分離のそれとを比較した場合，GC gram に，まつたく差がなかつた事実から，病原性の有無を鑑別するためには，さらに別の面からの追求が必要と思われる。また供試した micrococcus 菌の株では，GC gram に揮発性代謝産物の認められなかつた事実は，この種の菌が自然界に広く分布し，食品からもしばしば検出されるにもかかわらず，食品に対する影響が他の醗酵性の強い細菌に比較して少ないことを裏付ける。

今後，GCなどの高感度の分析機器を使用することにより，未知の物質，あるいはこれまで見すごされていた代謝産物が明らかにされ，その結果に基ずいて細菌の代謝研究や同定に応用できるのではないかと思われる。また，これまでの報告にも見られるように[13),14)]醗酵工業面での培養液の分析などにも利用可能と考えられる。

ま　と　め

黄色ブ菌，表皮ブ菌及び micrococcus 菌の培養上清中の揮発性代謝産物の ether 抽出物を2種類のカラムを用いて水素炎イオン化検出器で分析し，次のような結果を得た。

1) 黄色ブ菌では，ethanol, acetoin, 2, 3-butanediol, 乳酸，酢酸を検出した。

2) 表皮ブ菌は，黄色ブ菌の場合よりも低い乳酸のピークと，黄色ブ菌と同程度の酢酸を検出し，他のピークはいずれも，痕跡程度かまたは，全く認められなかつた。したがつて，両菌種は coagulase 活性以外に糖代謝の面でも，かなりの差があることを認めた。

3) micrococcus 菌については，われわれが供試した7種については，2種のカラムとも，ほとんど産生物を検出できなかつた。したがつて，micrococcus 菌の種間の鑑別は不可能であつたが，属を異にするブ菌との差は明瞭であつた。

終りにのぞみ，貴重なる菌株を分与された醗酵研究所及び大阪大学醗酵工学科に感謝し，また種々有益な助言をいただいた東大薬学部の吉岡氏に謝意を表します。

文　　献

1) Abel, K., DeSchmertzing, H. and Peterson, J. I.: J. Bact., 85, 1039 (1963).
2) Reiner, E.: Nature, 206, 1272 (1965).
3) Reiner, E.: J. of Gas-Chromatog., 5, 65 (19

67).
4) Henis, Y., Gould, J. R. and Alexander, M.: Appl. Microbiol., 14, 513 (1966).
5) Bawdon, R. E. and Bassette, R.: J. Dairy Sci., 49, 624 (1966).
6) Mitruka, B. M. and Alexander, M.: Anal. Biochem., 20, 548 (1967).
7) O'Brien, R. T.: Food Tech., 21, 1130 (1967).
8) Bassette, R., Bawdon, R. E. and Claydon, T. J.: J. Dairy Sci., 50, 167 (1967).
9) Mitruka, B. M. and Alexander, M.: Appl. Microbiol., 16, 636 (1968).
10) Cecchini, G. L. and O'Brien, R. T.: J. Bact., 95, 1205 (1968).
11) 北村美憙：日小児誌, 72, 1787 (1968).
12) Yoshioka, M., Kitamura, M. and Tamura, Z.: Japan. J. Microbiol., 13, 87 (1969).
13) Keenan, T. W.: Appl. Microbiol., 16, 1881 (1968)
14) Keenan, T. W. and Bills, D. D.: J. Dairy Sci., 51, 1561 (1968).

微生物の代謝産物に関する研究

2) 好気性有芽胞菌の産出する揮発性物質の Gas-chromatography

直　井　家寿太*　二　島　太一郎*
小久保　弥太郎*　松　本　　茂*

STUDIES ON METABOLITES PRODUCED BY MICROORGANISMS

2) Gas-chromatography of volatile metabolites of Bacilli

Yasuta NAOI, Taichiro NISHIMA
Yataro KOKUBO and Shigeru MATSUMOTO

(Department of Food Hygiene, Tokyo-to Laboratories for Medical Sciences)

For the rapid identification of the species, through analysis of their chromatogram of the metabolic products, a gas chromatograph with flame ionization detector and Porapac Q and C-W 4000 columns were employed.

Strains used in this investigation were B. thiaminolyticus (M. M.), B. aneurinolyticus (K. A.), B. cereus, B. natto, B. firmus (IFO 3330), B. subtilis (IFO 3007), B. circulans (IFO 3329), B. pumilus (IFO 12087), B. megaterium (OUT 8036), B. pumilus (OUT 8112) and B. subtilis (OUT 8042). These were cultured simultaneously, in a Heart Infusion Broth containing 2 % glucose, 2 % lactose or 2 % mannitol. After 96 hours of incubation at 30°C, the cultures were then centrifuged, and 2μl of concentrated ether extract of the supernatant fluid was used as a specimen.

The results obtained are summarized as follows.

1) All the strains studied here were capable to produce acetic acid and lactic acid.

2) Productivities of the other metabolites, such as ethanol, acetoin and 2, 3-butanediol were varied accoding to the strains and the media used.

ま　え　が　き

微生物は，代謝過程において種々の揮発性物質を産出し，これらは，属あるいは菌種間においてそれぞれ特徴が見られる。

我々は，この揮発性代謝産物をとりあげ，この物質が一定条件のもとで，菌種間に有意の差を示すならば，菌種の同定の一手段として応用出来るのではないかと考え，前報に続いてＧＣを用いて検討を試みた。

前報に記載の通り，ＧＣを用いた各種の報告がなされているが，好気性有芽胞菌についてのみ詳細に検討した報告はまだ見あたらない。そこで本報告においては，食品に広く分布している好気性有芽胞菌についてＧＣにより，これらの糖代謝産物を比較検討した結果，若干の知見が得られたので報告する。

* 東京都立衛生研究所　食品部

実　験　方　法

1—1　供試菌株，下記の通りすべて標準菌株を使用した。

B. thiaminolyticus (M. M.), B. aneurinolyticus (K. A.), B. cereus, B. natto, B. firmus (IFO 3330), B. subtilis (IFO 3007), B. circulans (IFO 3329), B. pumilus (IFO 12087), B. megaterium (OUT 8036), B. pumilus (OUT 8112), B. subtilis (OUT 8042)

1—2　培地及び培養条件

ハートインヒュージョンブイヨンに，2％の割合になるように Glucose (Glc と略記)，Lactose (Lac と略記)，Mannitol (Man と略記) を添加し培地として用いた。

培養は 30°C で96時間行なつた。

1—3　抽出方法，前報に準じた。

1—4　GCの条件，前報に準じた。ただし，サンプル注入量は，2 μl とした。

実　験　結　果

供試菌株は，それぞれの糖添加培地に良く生育し，Table 1 に示した通り，それぞれ特徴ある結果が得られた。

従来の報告によれば，一種類の充塡剤を用いて物質の分離確認を行なつているが，我々は，前報と同様 Parapak Q と CW—4000 というそれぞれ性質の異なる2種類の充塡剤を用いて比較検討した結果，供試菌株から，通常の代謝産物である acetoin, 2, 3-butanediol, ethanol, acetic acid, lactic acid を分離確認することが出来た。

なお，このうち，acetic acid, lactic acid は，供試菌株のすべてから検出された。

Aneurinase 菌すなわち，B. thiaminolyticus, B. aneurinolyticus は，両菌株間に大きな相違は認められなかつたが，B. thiaminolyticus は，B. aneurinolyticus に比較して，ethanol 産生量が多い。なお acetoin, 2, 3-butanediol 代謝はあまり活発ではなく，Lac 培地において acetoin を確認したが，他は痕跡程度以下であつた。

B. cereus は，通常 Lac を基質とした場合，酸を生成しないといわれているが，本実験条件下においては，lactic acid, acetic acid を産生した。なお基質の違いによる代謝産物の差は認められず，通常の代謝産物を痕跡程度以上検出出来た。

B. natto は，基質によつて若干の相違を認めた。すなわち，Lac の場合 acetoin を Glc の場合は ethanol を産出しなかつた。

B. firmus, B. circulans, B. megaterium は，

Table 1　Gas-chromatography of volatile metabolites of viable microorganisms

Organism	Carbon source	Detection compound				
B. thiamionolyticus (M.M.)	Glc	A	L	Ace(T)		E	Fig. 1
	Lac	A	L	Ace		E	
	Man	A	L	Ace(T)		E	
B. aneurinolyticus (K.A.)	Glc	A	L	Ace(T)	B(T)	E	
	Lac	A	L	Ace	B(T)	E(T)	
	Man	A	L	Ace(T)		E	
B. cereus	Glc	A	L	Ace	B	E	
	Lac	A	L	Ace	B	E(T)	
	Man	A	L	Ace	B	E(T)	
B. natto	Glc	A	L	Ace	B		
	Lac	A	L		B	E(T)	
	Man	A	L	Ace	B	E	
B. firmus (IFO 3330)	Glc	A	L	Ace(T)		E	
	Lac	A	L	Ace(T)		E	
	Man	A	L	Ace		E	
B. subtilis (〃 3007)	Glc	A	L	Ace	B	E(T)	
	Lac	A	L	Ace(T)	B(T)	E	
	Man	A	L	Ace	B	E	
B. circulans (〃 3329)	Glc	A	L			E	
	Lac	A	L(T)			E	
	Man	A	L			E	

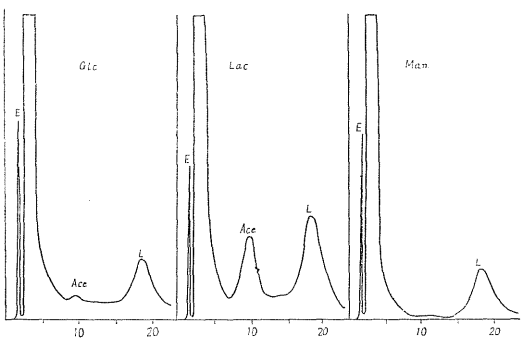
Table 1 (Continued)

Organism	Carbon source	Detection compound					
B. pumilus (〃 12087)	Glc	A	L	Ace	B	E	
	Lac	A	L	Ace	B	E(T)	
	Man	A	L	Ace	B	E	
B. megaterium (OUT 8036)	Glc	A	L			E(T)	Fig. 1
	Lac	A	L(T)				
	Man	A	L			E	
B. pumilus (〃 8112)	Glc	A	L	Ace	B	E	
	Lac	A	L	Ace(T)	B	E(T)	
	Man	A	L	Ace	B(T)	E	
B. subtilis (〃 8042)	Glc	A	L	Ace	B	E	
	Lac	A	L	Ace		E(T)	
	Man	A	L	Ace	B	E(T)	

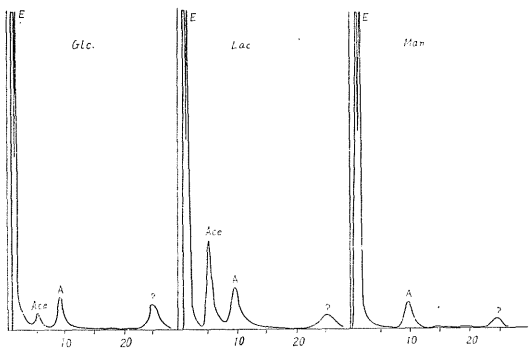
Glc ; glucose
Lac ; lactose
Man ; mannitol
A ; acetic acid
L ; lactic acid
Ace ; acetoin
B ; 2, 3-butanediol
E ; ethanol
T ; trace

Fig. 1 Chromatograms of extract of bacteria as determined with FID

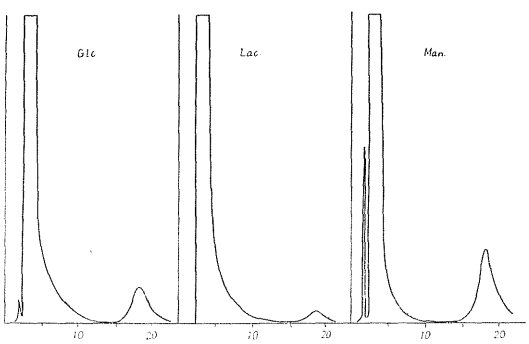
B. thiaminolyticus (M. M.) Porapak Q



B. thiaminolyticus (M. M.) Carbowax 4000

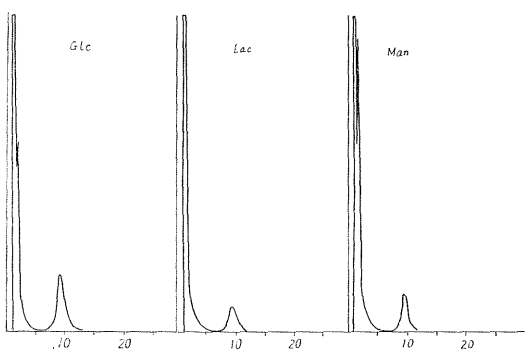


B. megaterium (OUT 8036) Porapak Q



RETENTION TIME (MINUTES)

B. megaterium (OUT 8036) Carbowax 4000



RETENTION TIME (MINUTES)

Aneurinase 菌同様 acetoin, 2, 3-butanediol 代謝はあまり活発でなく，いずれも痕跡程度以下であつた。

B. pumilus (IFO 12087, OUT 8112) は，両菌株間に差は認められず，すべて痕跡程度以上検出した。

B. subtilis (IFO 3007, OUT 8042) は，Lac 基質の場合，他の基質の時と異なり，2, 3-butanediol の代謝が低下し，痕跡程度以下という特徴ある結果を示した。

考　　察

ＧＣを応用して微生物の代謝産物を検討する場合，迅速簡易化を意図して，培養上清の直接注入が当然考えられる訳であるが，我々はこの点について検討を試みたが，本属菌については，生成された揮発性物質の量が少なく，応用することは出来なかつた。直接注入法は Yoshioka 等[1] によつて検討され，E. coli, Aerobactor, Klebsiella, Lactbacillus などの発酵性の細菌について好結果を得ている。

一方，本属菌について検討された従来の報告をみると，Henis 等[2] は，使用した培地の違いはあるが，B. subtilis においては，ethanol の生成を認めていない。なお Ber. Mann[3] によれば，本菌は，carbon source として Lac を用いた場合，通常有機酸を生成しないとあるが，本実験条件においては，acetic acid は，5×10^{-7}M, lactic acid は，2×10^{-1}M以上を検出出来た。

また B. circulans, B. megaterium については，ＥＣＤ検出器によつて acetoin を検出しているが，その検出量は Pg 単位であるところから，我々の実験結果及び Ber. Mann[3] による陰性は，確認限度から考えても妥当ではないかと思われる。

したがつて，従来報告されている結果と，本実験結果を綜括的に比較検討してみると，培地，培養温度，充塡剤，検出器等の相違によつて結果に違いが生じたものと認められる。

ＧＣ法は，一定条件下における実験結果では再現性がよいが，設定条件の相違による実験結果の差は当然認められるので，ＧＣ法を同定の一手段として応用する際には，設定条件の厳守が必要となる。

なお，ＥＣＤ検出器による代謝産物の分離確認は，検出感度が極めて高いところから，培養時間の短縮による迅速化の可能性と同時に，未知物質の解明が出来ると思われるので，目下検討中であるが，本報記載の条件においても，通常の代謝産物を分離確認し，それぞれ特徴ある chromatogram が得られたので，従来の化学的，生物学的方法と共に同定の一方法として十分応用出来るものと考える。

ま　と　め

好気性有芽胞菌９種11株について，carbon source として，Lac, Glc, Man を用い，ＧＣ法でその代謝産物である揮発性物質の分離確認を検討した結果，通常の代謝産物である acetic acid, acetoin, 2, 3-butanediol, ethanol, lactic acid を検出し，それぞれ特徴ある chromatogram が得られたので，本法が，本属菌の同定の一手段として応用出来ることを明らかにした。

1. 供試菌株のすべてから，5×10^{-7}M以上の acetic acid, 2×10^{-1}M以上の lactic acid を検出した。

2. Lac を基質とした場合の代謝産物は，他の２種の基質と比較して，菌株によつては若干異なる結果を示した。すなわち，B. circulans, B. megaterium は，他の菌株が相当程度 lactic acid を生成しているにもかかわらず，痕跡程度であり，B. thiaminolyticus, B. aneuorinolyticus は，Lac 基質でよく acetoin を生成したが，他の基質においては痕跡程度以下であつた。逆に B. natto は，Lac 基質で acetoin を生成しなかつた。

3. B. cereus, B. pumilus は，基質による代謝産物の相違はなく，すべて痕跡程度以上検出した。

4. B. firmus, B. circulans, B. megaterium は，基質の相違に関係なく，acetoin, 2, 3-butanediol の生成が痕跡程度以下であつた。

5. B. subtilisは，Lac 基質の場合，他の基質と異り，2, 3-butanediol の生成が痕跡程度以下であつた。

終りに臨み，貴重な菌株を恵与下さつた，大阪大学工学部　箕浦久兵衛教授，発酵研究所に深甚なる謝意を表します。

文　　献

1) Yoshioka. M., Kitamura, M., and Tamura, Z.: Japan. J. Microbiol. 13, 87—93 (1969).
2) Henis, Y., Gould, J., and Alexander, M.: Appl. Microbiol. 14, 513—524 (1966).
3) Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.
4) Mitruka, M. B., and Alexander, M.: Appl. Microbiol. 16, 636—640 (1968).

食品中よりの各種酸化防止剤の分離・定性・定量法について

酒 井 昭 子*

STUDY ON THE SEPARATION, IDENTIFICATION, AND DETERMINATION OF ANTIOXIDANTS FROM FOODS

Akiko SAKAI

(Department of Food Hygiene, Tokyo-to Laboratories for Medical Sciences)

The deuelopment of food industry and the advance in economic circulation system derived a wide use of food additives for various foods in recent years.

About three hundred and fifty food additives are admitted to use officially in Japan, and seven antioxidants for oil and oil products … Butylhydroxyanisol (BHA), Dibutylhydroxytoluene (BHT), Propylgallate (PG), Isoamylgallate (IAG), Ethylprotocatechuate (EP), Nordihydroguaiaretie acid (NDAG), and Gum guaiac … are included in them. Each antioxidant is limited to use for foods not only quantitatiuely, but also in its quality under "Japanese Standards of Food Additiues". Though the toxicity of antioxidants offers relatively a little matter, it is necessary to find out the convenient methods for separating the antioxidants from foods, identifying and determinating each of them from the point of view abave mentioned.

Several methods have been reported about those individual processes, but not any systematic and inclusive method observed so far. I have studied on these themes, tried to establish such a systematic method.

First of all, the steam distillation or super heated steam distillation methods, and extraction with organic solvents were examined for separation from foods, then thin layerchromatography, color reaction, spectrography in visible or ultraviolet range and gas chromatography were adopted for identification and determination. At the stage of separation, general steam dietillation method yielded rather good recovery of BHA and BHT on higroscopic samples, but on oil or oily foods it was found less recovery. Then the distillation apparatus has been improved and super heated steam distillation method applied to attain recovery of 80-85% of BHA and BHT. The other ant oxidatns did not exist in the distillate.

On the organic solvent extraction methods, n-hexane or n-pentane have been used for dissolving the sample (oils and fats) and the solution has been extracied with acetonitrile, then the recovery has reached over 80% (BHA, BHT, PG, etc.)

Thin layer chromatography using silica gel plate, and benzene-hexane-acetic acid as developing solvent series has shown very good results for separating BHA, BHT, PG, NDGA, and EP. Concerning color developing reagents phosphomolybdic acid and

* 東京都立衛生研究所　食品部

ammonia were used mainly, but other reagents were applied also to spot tests. Color reactions and spectrophotometric methods in visible range have been tested on the estimation of BHA, BHT, and PG.

Gas chromatorgaphy was carried out for analysis of BHA and BHT, by means of H_2 flame ionisation detectro under the following column condition: (1) mobile phase Thermol I (Silicon Gum) temp. 180° (2) Carbowax 20M (polyethyleneglycol) temp. 250° (carr. gas N_2).

Finally the systemstic method for the analysis of antioxidants is presented and samples of different kinds have been examined, such as edible oils and fats, margarine, butter, oily foods, and Vitamine A oil solution.

About this method, if cannot be applied in particular cases, when for instance UV hindrance of the distllate from some foods or interfererence of colorimetric method of PG exist, it is expected to be able to use it generally for the analysis of antioxidants from oils and oil products.

緒　　言

近時，食品工業の発達と，その流通機構の変化などによつて，いろいろの食品添加物が，食品に用いられるようになつた。現在，公けにその使用を認められ，食品添加物公定書に収載されている添加物は，約350種あり，そのうち，酸化防止剤については，7種が使用を許可されている。勿論それらの酸化防止剤には，その他の食品添加物と同様に，使用基準が設けられ，用いる食品の範囲と使用量を規制し，成分規格に適合したもののみを，使用しなければならない。しかし，酸化防止剤の種類によつては，その量を増すほど効力も増大する性質のものもあるので，通常の使用量ではそれらの毒性について，問題は少いとされているが，化学的合成品である以上多少とも毒性を有していると見なければならないので，またそれらを規制している法の上からも，食品中などからなるべく簡便に分離し，定性・定量試験を実施する方法が要求される。それらの試験法については，個々に，従来いろいろな報告がなされているが，これらを試料中より分離し，更に定性・定量試験に導く系統的なものがなく，その試験手段，精度などにも適当なものが見当らないので，この分野における研究を行なつた。

これには，先づ，分離抽出手段として，水蒸気蒸溜ないし，過熱水蒸気蒸溜，有機溶媒抽出，などで試料中より各種の酸化防止剤を分離し，これについて，薄層クロマトグラフィー，ペーパークロマトグラフィー（逆相），発色試薬による呈色試験，可視・紫外部吸収，ガスクロマトグラフィー等を用いて，定性および定量を行なつた。

次いで，それらの方法を，個々にまたは綜合して，市販一般食品などの調査を行ない，さらに，油脂に酸化防止剤を添加して，通気酸化の際における酸化防止剤の残存量を計測して，油脂酸化に対する効力との関係等も併せて調査の対象とした。

試料の作成

現在，食品の酸化防止の目的で，食品添加物全定書に集載されているものは，ブチルヒドロキシアニソール（BHA），ジブチルヒドロキシトルエン(BHT)，プロトカチキュ酸エチル（EP），没食子酸イソアミル（IAG），没食子酸プロピル（PG）であり，その他にも使用基準を定めているものに，ノルヂヒドログアヤレチック酸（NDGA），グアヤク脂等がある。また天然のものとして，トコフェロール（V.E）や，相乗剤（synergist）として用いられるアスコルビン酸や，クエン酸，レシチン，なども広義の酸化防止剤といえるが，本実験にはこれらのうち，主要と見なされるものを取上げ，酸化防止剤の一定量を油脂（サフラワー油，大豆油，ゴマ油）などに添加して，分離・定性・定量試験の試料とした。

計測器機

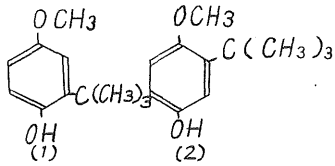
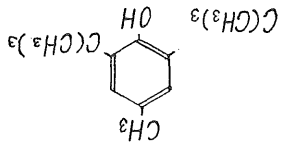
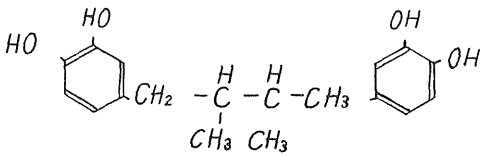
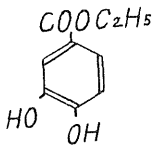
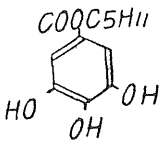
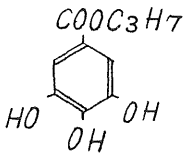
主として島津自記分光々度計IV50，島津ガスクロマトグラフGCIC（水素炎ディテクター付），柴田化学条線付薄層用ガラス板（20cm×5cm）などを使用した。

実験の部

1. 食品より各種酸化防止剤の分離抽出法

A　水蒸気蒸溜，過熱水蒸気蒸溜による試料中より酸化防止剤の分離抽出法

Table 1 Chemical formula and official limts of antioxidants in foods

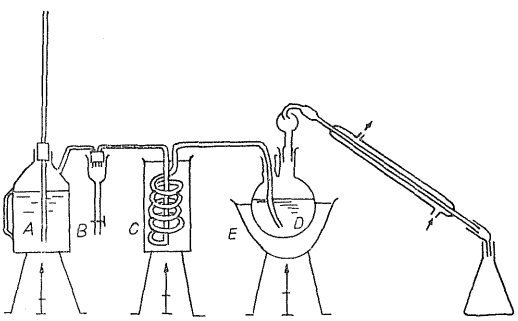
酸化防止剤	構造	使用基準対象食品	最大使用量
BHA* Butylhydroxyanisol			kg 中 g
		魚介冷凍品 鯨冷凍品の浸せ液	1
		油脂，バター，魚介乾製品	
		魚介塩蔵品，乾燥うらごしいも	0.2
BHT Dibutylhydroxytoluene		魚介冷凍品 鯨冷凍品の浸せき液	1
		チューインガム，油脂，バター 魚介乾製品，魚介塩蔵品 乾燥うらごしいも	0.2
NDGA Nordihydroguaiaretic acid		「油脂，バター」	0.1
EP Ethylprotocatechuate プロトカテキュ酸エチル		油脂，バター	0.5
IAG Isoamyl agllate 没食子酸イソアミル		魚介塩蔵品 魚介冷凍品鯨冷凍品の浸せき液 油脂，バター，魚介乾製品	1 0.1
G Gumguaiac（guaiaretic acid 等主成分） グアヤク脂		油脂，バター	1
PG Propyl gallate 没食子酸プロピル			0.1
エリソルビン酸，エリソルビン酸ナトリウム（水溶性）			
その他 Tocopherol (V.E) Recithin, Ascorbic acid, Citric acid			

* BHAについては市販品中の98%を占める(1)を実験に使用した。

試料として，酸化防止剤無添加のゴマ油，大豆油等に，ＢＨＡおよびＢＨＴを0.025％～0.1％を添加して，水蒸気蒸溜による回収試験を行なつた。

試料25～100ｇを採り，塩化マグネシウム溶液(飽和)200ｍlを加えて，水蒸気蒸溜を行ない，溜液600ｍlを溜取する。溜液をエチルエーテルまたは，エーテル，ヘキサン混液50～70ｍlで３回抽出して，低温でエーテルを溜去して，エタノールで定容とした。それを試験溶液としてのちに述べる各種の定量法を用いて，回収率を求めた。この時の回収率は，ＢＨＡ，ＢＨＴ，ともに約10％である。次に，試料フラスコをマントルヒーターで加熱し，溜液を1,000ｍl溜取した。その結果，回収率はＢＨＡは21％，ＢＨＴは32％と，それぞれ10～20％向上した。しかし回収率を更に向上させるために Fig 2 に示すような装置を考案して蒸溜を行なつた。即ち，試料フラスコＤはパラィフン浴Ｅで160°～180°Ｃに加熱し，水蒸気発生装置Ａよりの水蒸気は

Fig. 1 Apparatus of superheated steam distilation

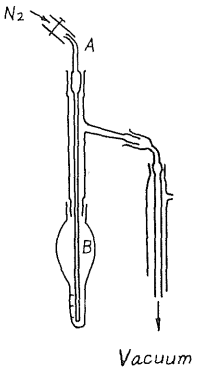


A : boiler
B : water separation funnel
C : steam superheating apparatus
D : sample
E : paraffine bath

Ｃの蛇管で過熱して約210°Ｃとする。これを試料フラスコＤに導入して蒸溜した。

この際，多少の過熱条件を変え，1,000ｍl溜液を溜取した。この1,000ｍlを溜取するには，初溜より，500ｍl，250ｍl，250ｍlと分取して，それぞれ，初溜，次溜の溜分について酸化防止剤の回収測定をした。この場合いずれも初めの750ｍl中に，回収酸化防止剤の約80％を得，つぎの250ｍl中に0.1～３を回収したので，以後900～1,000ｍl溜取することにした。過熱水蒸気蒸溜によるＢＨＡの回収率は約85％，ＢＨＴは81％である。この時，抽出には溜液1,000ｍlをとり，その500ｍlについてエーテル抽出を行なつた。

Fig. 2 Apparatus of Vacuum conccentration



A : capillary tube
B : concentrating flask

溶媒を溜去するには Fig 2 の装置を用いた。

正確に標線を付した濃縮用変型フラスコＢを考案して，その中に濃縮液を移し，Ａより窒素ガスを導入しながら，減圧で溶媒を溜去して，残留物の酸化を防いだ。残留物には標線に従つて１～３ｍlエタノールを加えて，次に行なう定性・定量試験の試験溶液とした。また，ＢＨＡ及びＢＨＴを水に懸濁して，同様の条件で回収したものは，ＢＨＡ，ＢＨＴ，ともに90％以上の回収率を示した。

水蒸気蒸溜法によつて，油脂性食品より，酸化防止剤を分離するとき，加熱により，油脂の分解を生じ，このものは280～290ｍμに吸収があり，ＢＨＡの紫外部測定を阻害する。この障害を除くためと，回収率の向上のために，試料を直火で加熱することを止め，パラフィン浴を用いたが，回収率は向上したが，依然として障害は残つたので，試験溶液を更に，薄層クロマトグラフィーにより分離することとした。また試料中にデヒドロ酢酸・安息香酸等保存料を含むものは，エーテル層を１％の炭酸水素ナトリウムで洗滌し，取り除いておく。

試料採取量を減じて蒸溜を行なえば，障害も又減少するので，試量中酸化防止剤濃度の高い場合は，試料量を，なるべく少なく採取するとよい。なおＢＨＡおよびＢＨＴ以外の酸化防止剤は溜液に移行しないことをたしかめた。

Ｂ　有機溶媒抽出により，試料中より酸化防止剤の分離抽出法

試料として，酸化防止剤無添加の大豆油にＢＨＡおよびＢＨＴ，ＰＧを0.05～0.5％を添加したものを用いて，有機溶媒による分離抽出を行ない，回収試験を行なつた。

Table 2 Recoveries of antioxidants from oil in the verious distilatig conditions

Sample 大豆油	酸化防止剤添加量	回収率	溜液採取量	蒸溜法
100g	BHA 100mg	10%	600ml	Sat. $MgCl_2$ 200ml試料 直火，水蒸気蒸溜
〃	100	21	1,000	〃 〃 試料 マントルヒーター加熱，水蒸気蒸溜
〃	100	52	750	〃 〃 試料 160°パラフィン浴，過熱水蒸気蒸溜（210°）
〃	100	73	1,000	〃 〃 160° 〃
〃	100	88	1,000	〃 〃 180° 〃
〃	50	85	1,000	〃 〃 〃
50g	50	93	1,000	〃 〃 〃
100g	BHT 100mg	52%	750ml	Sat. $MgCl_2$ 200ml試料 直火，水蒸気蒸溜
〃	100	32	1,000	〃 〃 〃 試料 過熱水蒸水蒸溜
〃	100	71	750	〃 〃 試料 180°パラフィン浴，過熱水蒸気蒸溜（210°）
〃	100	84	1,000	〃 〃 〃
〃	50	81	1,000	〃 〃 〃
〃	25	79	1,000	〃 〃 〃

過熱水蒸気蒸溜による平均回収率　BHA90%，BHT82%

a）試料25～50gをとり，n-ヘキサン100mlに溶解して，アセトニトリル200ml，（50mlで3回，25mlで1～2回）よくふりまぜて抽出する。抽出液を合して試験溶液とする。このとき，アセトニトリル層に，BHA，BHT，PGが存在する。

b）a)におけるヘキサン溶液を70～75%エタノール400ml（100mlで3回，50mlで1～2回）でよくふりまぜ抽出して，抽出液を合して，エタノールを減圧で（フラッシュエバポレーター等を使用）溜去し，えられた水液をエーテル200ml（100mlで2回）でよくふりまぜて抽出したのち，エーテル層を合し，エーテルを溜去して，残留物を60～70%エタノール50mlに溶解して，油分を除くためろ別し，エタノールを加えて100ml又は200mlとする。この際エタノール中にBHA，PG，NDGA，EP，等が存在する。BHTはヘキサン層に残残留するので，a)により抽出する。この際のBHAの回収率は89%，BHTは40である。BHTの回収率向上のため試料，抽出条件を変えて，なお抽出回収を続行したが，BHTは試料中高濃度のもの程，高い回収率を示し，0.5%のものは，75%の回収を得た。

また，0.1%の前回と同濃度のものは，前回まで使用していたn-ヘキサンに溶解せずにn-ペンタンに溶かすことにより，80～85%の回収を得たので，この部分をペンタンに変えて，抽出回収して，82%の平均回収率を得た。こうして抽出，捕捉した酸化防止剤は，溶媒を溜去して，エタノール一定容に溶解し，以後に述べる定性・定量試験溶液とする。市販の油脂性食品より，抽出法によつて，酸化防止剤を分離するときデヒドロ酢酸などの保存料を含むものであれば，ペンタン層を1%炭酸水素ナトリウム溶液で洗い，抽出除去しておく（残留物中の油分の分離はb)法による)。

また試料油の採取量は酸化防止剤の含量に応じて，適宜増減することとする。

2. 各種酸化防止剤の分離および確認試験

A 薄層クロマトグラフィーによる酸化防止剤の定性・定量法

標準液には，各種酸化防止剤の1～2%エタノール溶液を用い，展開試験溶液には，前述の過熱水蒸気蒸溜により抽出した試験溶液，有機溶媒により抽出した試験溶液を用いた。例えば，減圧蒸溜により，溶媒を溜去した残留物をエタノール2mlまたは5mlに溶解して，酸化防止剤濃度を，各1%程度にしたものを用いた。

a）はじめにFig 3に示すように，試験溶液を薄層プレートにスポットしたものを，各種の展開溶媒で展開して，展開溶媒の選択を行なつた。この際，薄層プレートは，ワコーゲルB5（シリカゲル95%，石膏5%）を厚さ0.25mm，長さ20cmとし，これを活性化して，約15cm以上展開した（ガラス板は条線付のものを用いた)。展開溶媒は，クロロホルム・アセトン・ベンゼン・酢酸混液，メタノール・アセトン・水混液，などにより展開したが，それぞれテーリング，或いは，分離などに難点があり，各種の溶媒系のうち，ベンゼン・ヘキサン・氷酢酸の系列が，Rfならびにテーリングに対して良い結果を示したので，この混液

Table 3 Extraction methods of antioxidants by means of some solvents

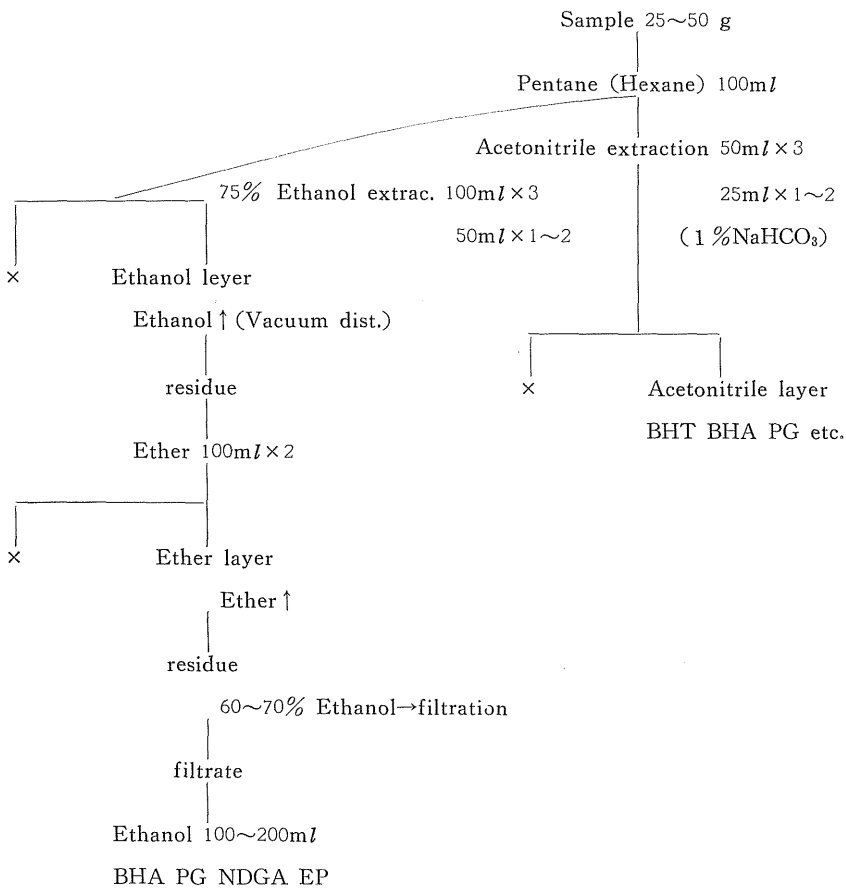


Fig. 3 Thin layer chlomatograms (silicagel plate) of Antioxidants using various developing solvents

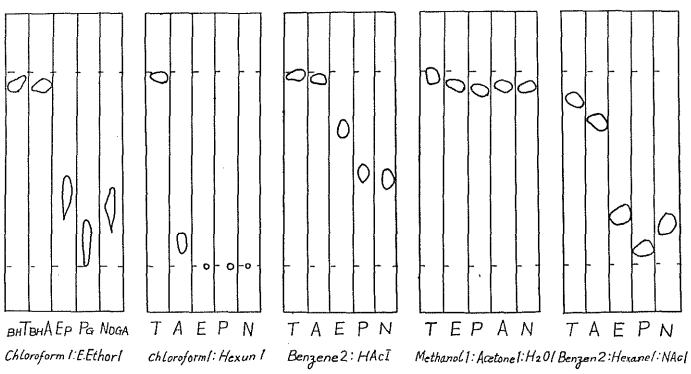


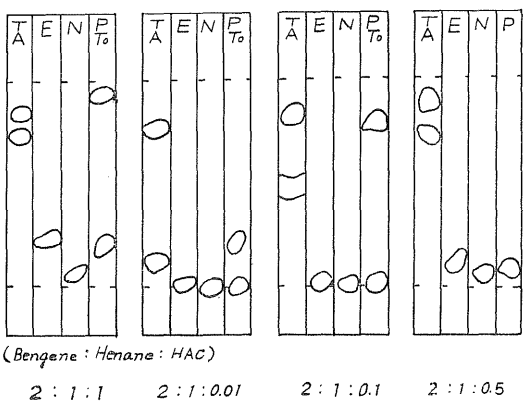
Table 4 Change in recovery of antioxidants from samples *with the variation of extracting methods

試料採取量（大豆油）	酸化防止剤添加量		回収率	回収率	抽出方法		
	BHA	BHT	BHA	BTA	Hexane	Pentane	Acetonitrile 抽出
50 g	50mg	50mg	98%	39%	200ml		500ml(150, 150, 100, 100)
50〃		50〃		42〃	200〃		700〃 (200, 200, 200, 100)
5〃	5〃	5〃	80〃	41〃	20〃		75〃 (15×5)
5〃		25〃		74〃	100〃		350〃 (100, 100, 100, 50)
5〃		5〃		75〃	20〃		70〃 (20, 20, 20, 10)
5〃	5〃	5〃	85〃	82〃		20ml	70〃 (20, 20, 20, 10)
5〃	Blanc	Blanc	(—)	(—)	20〃		70〃 (20, 20, 20, 10)

* Samples: 5～1 mg antioxdants added to Soybean oil

を採用し，さらにその配合比の検討を行ない，ベンゼンヘキサン1：酢酸2～1の混合比で，各種の酸化防止剤の展開を行なうことにした。この混合比の検討はFig 4に示す。

Fig. 4 T.L.C. of Antioxidants using the solvent series of benzene, hexane and acetic acid



また繁用されるBHA，BHT両者の分離には，両者のRf値の差の開きの大きな，ベンゼン2：ヘキサン1：酢酸0.1の比率の展開液を用いた。これらの場合のそれぞれの酸化防止剤のRfと展開溶媒比率は，Table 5に示す通りである。

これらの酸化防止剤のRfの確認には，紫外線照射（波長2,520mμ）により，その吸収によつて暗色になつた部分，又は，呈色試薬，リンモリブデン酸エタノール飽和溶液・アンモニア試液を，展開プレートに噴霧して，暗緑色～青色を呈した部分について測定を行ない，その他の発色試薬についても，呈色を行なつたが，発色試薬はTable 6の通りである。呈色試液と呈色は点滴反応の項に述べる通りである。

b) 定　量

薄層クロマトグラフィーによる酸化防止剤の定量には，標準液は，定性と同じく，各種酸化防止剤の1～2%エタノール溶液を，マイクロノリンジで一定容（10～20μl）とり，これを薄層プレートにスポットして，回収試験を行なつた。また先に述べた水蒸気蒸溜，又は，溶媒抽出によつて得た試験溶液も，同様に操作して，定性についで定量を行ない油脂性食品の加熱による分解物を，BHAと分離，回収試験などを実施した。

定量においても，先づ各種酸化防止剤の展開の終つた薄層プレートに紫外線を照射，ないしは発色試薬で確認した部位を削りとつて，定量を行なうがTable 6の発色試薬により，部位の確認を行なうには，定量試験に用いる為めの部分をあらかじめ遮蔽して，発色試薬を噴霧して，同時に展開した標準液のそれと相応する部分を削りとり，これより，エタノールで酸化防止剤を抽出して，のちに述べる各種の定量法を用いて回収率を求めた。試験溶液の作成には，薄層を，酸化防止剤を確認した部分の面積より，多少大きめな面積を削りとり，小試験管に入れ，エタノールを加え一定容とする。この上澄液を用いるか，そのまま遠心分離を行ない，シリカゲルと分別したものを用いる。紫外部吸収により，定量を行なうときは，270～280mμ附近にも多少シリカゲルベースの吸収が認められるので，この分のblancを差引いて定量を行なつた。薄層クロマトグラフィーによる酸化防止剤の回収率は89～95%である。（BHAは87%，BHTは80%，PGは93%）

Table 5 The R.f Values of T.L.C. by means of the developing solvent series (benzene, hexane, acetic acid)

solvent	a	b	c	d	e
B H A	0.60	0.58	0.50	0.43	0.15
B H T	0.80	0.78	0.68	0.67	0.57
N D G A	0.18	0.18	—	—	—
E P	0.35	0.20	0.05	0.05	—
V. E	0.83	0.80	0.60	0.58	0.5
P G	0.25	0.14	—	—	—

solvent	Benzene	Hexane	Acetic acid
a	2	1	1.5
b	2	1	1
c	2	1	0.5
d	2	1	0.1
e	2	1	0.05

Table 6 Spot test of antioxidans (color reaction)

reagent \ antioxidants	NDGA	IAG	P G	E P	BHT	BHA
10% NH_4OH	—	Scarlet	Scarlet	—	—	—
0.2% $FeCl_3$		Violet	Violet	Green	—	—
0.2% $FeCl_3$ 1 drop 0.2% Dipyridyl ethanol soln.	Red	Red	Red	Red	Red	Red
0.2% Na Borate soln. 1 drop 0.1% 2, 6, Dichloroqiunonechloroimide ethanol soln. 1 drop	—	—	—	—	—	Blue
Diazo-Sulufanilacid ($NaHCO_3$)			Brown	Brownish Red	Yellow	Orange Red
Diazo-P-Nitro aniline ($NaHCO_3$)			Brown Yellow	Brownish Red	Orange	Red

B ペーパークロマトグラフィーおよび点滴反応による酸化防止剤の定性法

a) ペーパークロマトグラフィー

標準液には，各種酸化防止剤の1～2％，エタノール溶液を用い，先きに水蒸気蒸溜，抽出法等で得た試験溶液について，ペーパークロマトグラフィーを行なつた。

i) 水性展開液；5％酢酸または，10％塩化カリウムを用いて展開を行ない，Table 6 に示す試薬により各種酸化防止剤を確認する。

ii) 逆相二次展開；あらかじめ大豆油・エーテル混液（1＋9）で処理したペーパークロマトグラフィー用ろ紙を用いて，一次展開には水，二次展開はメタノールで展開を行ない，発色試薬を用いて確認を行なつた。発色には，表記のほか，薄層クロマトグラフィーと同様に，リンモリブデン酸エタノール液・アンモニア噴霧も行なつた。ペーパークロマトグラフィーによつても，各種酸化防止剤は確認可能であるが，種々の

点で薄層クロマトグラフィーの方が良好な結果を示した。

b) 点滴反応

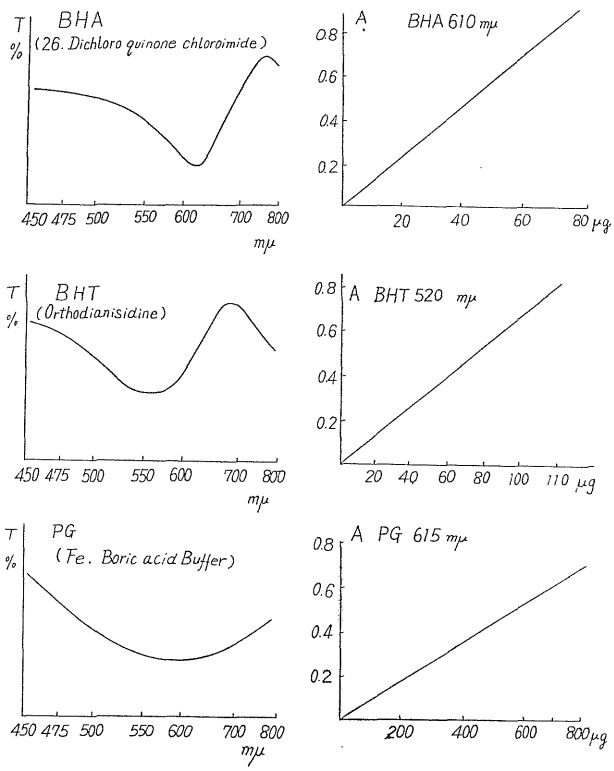
各種酸化防止剤のエタノール溶液を標準液に用い，食品中より，水蒸気蒸溜，抽出によつて得た試験溶液1～2滴を小試験管または，点滴板にとつて，表6に示す呈色試薬を加えて，定性を行なう。アンモニア溶液では，IAG，PGのみが紅色を呈し，0.2%塩化第二鉄試液では，BHA，BHTのほか，ほとんどの酸化防止剤が緑～紫色に呈色する。0.2%塩化第二鉄1滴に0.2%，ジピリジール1滴を加えたときは，ほとんどのものが赤色となるので，試料中の酸化防止剤の存否または，Rf既知の薄層，沪紙クロマトグラフィーに用いるによい。0.2%ホウ砂1滴に0.1%，2，6，ジクロールキノンイミドエタノール溶液1滴を加えたものは，BHAのみ特異的に青色を呈色する。そのほか炭酸水素ナトリウムアルカリ性において，ジアゾ化スルファニール酸や，同パラニトロアニリンは，PG，EP，BHA，BHT等について，黄～橙赤色に呈色する。これらの滴点反応は，混合試料では，確認困難な場合が多いが，他の方法の補助手段としては意義があると思われる。

C 紫外部吸収法による酸化防止剤の定性・定量法

標準液には各種酸化防止剤のエタノール溶液を用い，その吸収曲線（自記分光々度計使用）および，検量線の作成を行なう。また先に，油脂などに添加して，分離・抽出して得た試験溶液を用いて，吸収曲線により，定性を行ない，検量線を用いて定量を行なつて，水蒸気蒸溜，有機溶媒抽出，薄層クロマトグラフィー等の各部分における酸化防止剤の回収率を求めた。先づ吸収曲線は，各種酸化防止剤のエタノール，エーテル，シクロヘキサン等の溶液で記録した。定性・定量を行なうのに，エタノール溶液を用いたが，BHTの如く特異な吸収曲線を示すのは，より極性の少いエーテル又は，シクロヘキサン溶液を用いると確認し易い。エタノール溶液とエーテル溶液では，吸光度，極大吸収波長等に多少の差位を認めた。また，このときの測定至適濃度は，BHAにおいては10～50ppm，BHTは10～80ppmである。

各種酸化防止剤の最大吸収波長は，エタノール溶液

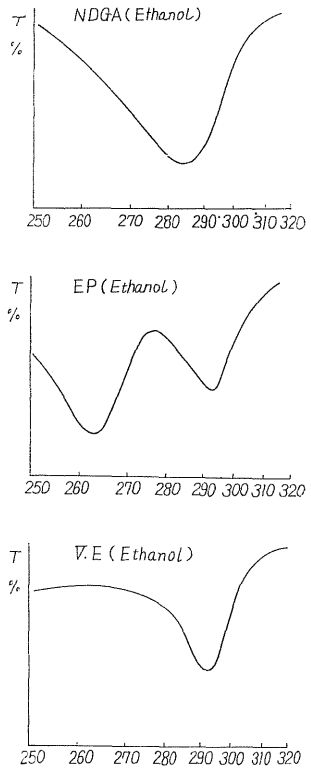
Fig. 5 Ultraviolet absorption spcectra (transmittance) of antioxidants and their calibratin curve



においては，ＢＨＡ 293mμ，ＢＨＴ278 mμ，ＰＧ276 mμ，ＮＤＧＡ 284mμ，ＥＰ 264mμ，294mμ，Ｖ．Ｅ 294mμである。

その吸収曲線と検量線は，Fig 5～6に示す。試料より分離した各種酸化防止剤の試験溶液を紫外部吸収法により測定するには，水蒸気蒸溜によつたものは，エーテルを窒素気流中，減圧で溜去，エタノールで一定容に溶解したものを用い，ＵＶ吸収に妨害がみとめられるときは，薄層クロマトグラフィーで更に分離して，油脂の加熱による分解物を除いたものを検液とする。

Fig. 6 U. V. absorption spectra (transmittance) of antioxidants



有機溶媒抽出によつたものは，保存料を含む食品などでは，n-ヘキサン，n-ペンタン層を１％重炭酸ナトリウムで洗滌し，アセトニトリルで抽出して，アセトニトリルを減圧下で溜去し，残留物をエタノールで溶解して，一定容としたもの，またはさらに残留物に60～70％のエタノールを加えて沪過し，油分を除去したものを，エタノール又は，シクロヘキサン等で一定容とし検液とする。

薄層クロマトグラフィーによつたものは，削りとつた部分を小試験管に移し，エタノールで抽出したものを用いる。このとき，その上澄液を用いるか，遠心分離により，シリカゲルを分別したエタノール溶液を用いるが，定量を行なう酸化防止剤が薄層に吸着したと同じ位の面積の酸化防止剤の存在しない薄層面を掻きとり，この抽出液を blanc として，測定しなければならない。

Ｄ　可視部吸収による酸化防止剤の定性・定量法

標準液には各酸化防止剤のエタノール溶液を各呈色試薬により発色させたものを用い，自記分光々度計を用いて吸収曲線および検量線を作成して，先に油脂などに添加してのち，水蒸気蒸溜，溶媒抽出，薄層クロマトグラフィー等で分離した試験溶液を用いて，それらの各部分における回収率を求めた。

a)　ＢＨＡ（ジクロルキノンイミド法）

試薬；①0.1％，2，6，ジクロルキノンクロルイミドエタノール溶液　②0.5％ホウ酸ナトリウム溶液

標準液0.01％ＢＨＡエタノール溶液

ＢＨＡ標準液各 0.25，0.5，1.0mlをとり，50％エタノールで５mlとして，0.1％ジクロルキノンイミドエタノール溶液0.5ml，0.5％ホウ酸ナトリウム１mlを加えて，水で全量を10mlとして30分間放置した後，空試験溶液（試薬盲検）を基準にして，610～620mμで吸光度を測定して検量線を作成する。ついで先に分離抽出を行なつた試験溶液について，同様に操作して定量を行なつた。本反応は呈色の安定性もすぐれ，他の酸化防止剤に対しては，比較的特異性がある。

b)　ＢＨＴ（オルトジアニシジン法）

試薬；①オルトジアニシジンメタノール溶液　O-ジアニジン0.25ｇをとり，50％メタノール100mlに溶解して，脱色炭0.2ｇを加え５分間振盪後沪過したのち，塩酸（１→10）10mlを加える。②0.3％亜硝酸ナトリウム溶液

標準液；0.01％ＢＨＴメタノール溶液

ＢＨＴ標準液各0.1，0.2，0.4mlをとり，50％メタノールを加えて10mlとして，O-ジアニシジン溶液を2.5ml，0.3％亜硝酸ナトリウム溶液１mlを加えふりまぜ，10分間放置したのち50％メタノールを加えて15mlとし，つぎにクロロホルム６mlを加え，よくふりまぜて生成した赤色の色素を抽出したのちクロロホルム層をとり，520mμで吸光度を測定して，検量線を作成した。別に水蒸気蒸溜，溶媒抽出，薄層クロマトグラフィー等を分離した試験溶液を同様に操作して，定量し，各部分の回収率を検討した。またこの試験は，生成した赤色の色素が可視光線に鋭敏であるから，必

ず遮光して行なう必要がある。本法は，鋭敏度および特異性にすぐれているが，前述の光に対する不安定性により，測定誤差を生ずるおそれがある。

c） ＰＧ（硫酸第一鉄アンモニウム法）

試薬；①硫酸第一鉄アンモニウム溶液，硫酸第一鉄アンモニウム１ｇを硫酸（１→250）100ｍlに溶解して，この液を用時５倍に希釈する。②ホウ酸緩衝液（pH 7.7）；１％ホウ酸溶液に，0.2N 水酸化ナトリウムを加えて pH を7.7±0.1に調整する。

標準液；0.01％ＰＧ，80％v/vエタノール溶液

標準液１，2.5，5，7.5ｍlをとり，80％エタノールを加えて全量を7.5ｍlとして，硫酸第一鉄溶液（希釈したもの）１ｍlを正確に加え，更に，ホウ酸緩衝液２ｍlを加える。30～40分間放置後，600ｍμにおける吸光度を測定して，検量線を作成する。別に先に分離抽出した試験溶液について，同様に操作して，定量を行なう。この方法は，紫外部吸収測定における測定至適濃度の 1/10 程度の感度で100ppm～300ppmの測定に適する。しかし，没食子酸ニステルに対しては，比較的特異性を有する。注意としては，pH の調整に特に留意する必要がある。これらの呈色試薬による可視部における吸収曲線及び検量線を Fig 7 に示す。またその最大吸収位置を Table 7 に示す。

Ｅ ガスクロマトグラフィーによる酸化防止剤の分離・定性・定量法

酸化防止剤として繁用されるＢＨＡおよびＢＨＴについて，ＧＣ法を試みた。標準液は，0.1％ＢＨＡおよびＢＨＴエタノール溶液を用い，又，先に各種の方法で，分離，抽出した試験溶液を用いて，それらの各部の回収率を求めた。

水素炎イオン化ディテクターを用い，マイクロシリンジで，標準液または，試験溶液を１～10μl程度を注入した。内径0.7cm，長さ225cm のカラムを使用，充塡剤はサモールＩ（シリコンガム）（固定相担体シマライト60～80メッシュ）カラム温度180°Ｃ，検出器温度210°Ｃ，注入口温度220°Ｃ，キャリアガス窒素50ｍl/min 導入のとき，保持時間は，ＢＨＡ７分，ＢＨＴは８分である。同様に，固定相液体として，カーボワックス20M（ポリエチレングリコール）33％を充塡したとき，はカラム温度250°Ｃ，検出器温度255°Ｃ，注入

Fig. 7 Absorption spectra (transmittance) of color reaction products of antioxidants, and their calibration curves

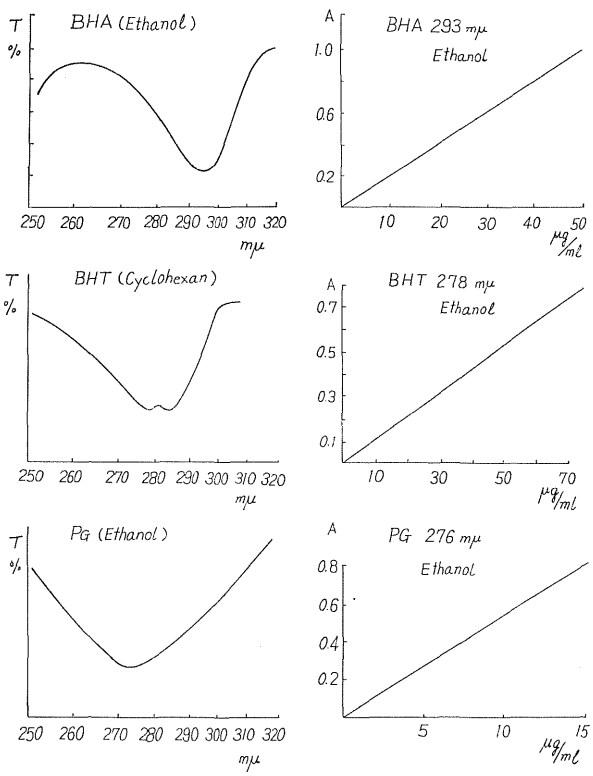
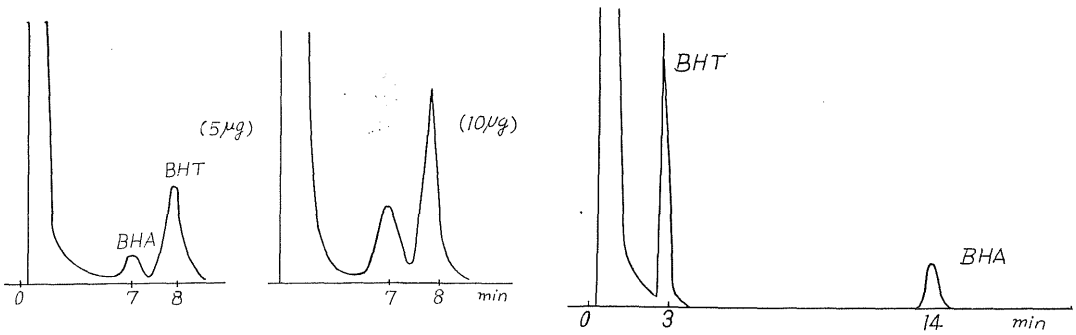


Table 7 λmax (visible range) of colar reaction products of antioxidants.

reagent \ antioxdants	B H T	B H A	P G
O-Dianisid ne Methanol soln. 0.3% $NaNO_2$	520mμ (Red)		
0.1% 2, 6, Dichloroquinone chlororoimide Ethanol soln. 0.5% NaBorate		610mμ (Blue)	
$FeSo_4(NH_4)_2$ soln. Boric acid Buffer			615mμ (Blue)

Fig. 8 Gas. Chromatograms of antioxidants



Column; Thermol I 15% (Simalite 60-80mesh) 0.3×225cm, Teml. Col. 180° Detec. 210° Inje. 220° Car. gas $N_2$50ml/min

Colum, Carbowax 20M (PEG) 33% 0.3×225cm Temp; Col. 250° Detec. 260° Inje. 280° Car. gas N_2 60ml/min Retention time of BHA, BHT
Columu; Thamol I 7 min 8 min
〃 ; Carbowax 20M 14 min 3 min

Table 8 Analytical sysem of antioxidants from foods

Sample

- Extract. methods
  - Pentane
    - Aceton trile
      BHA BHT PG etc.
      - 70~75%
        E. OH Ext.
        - quant.
          1) T.L.C.-U.V.
          2) Color
        - quali.
          1) T.L.C.→Color
    - Ether
      BHA PG NDGA EP
      - quant.
        1) Color
        2) G.C.
        3) T.L.C.→U.V.
      - quali.
        1) T.L.C.→U.V.
        2) Color
- steam distil methods
  (sat. $MgCl_2$ super heat.)
  - distllate
    BHA BHT
    - Ether Extra.
      concent. or dil.
      E. OH sol.
      - quant. anal.
        1) T.L.C→U.V.-Visible Range (color)
        2) G.C.
        3) Color reaction-Vis. R.
        4) C.C.-U.V.-Color
      - qualita anal.
        1) T.L.C.→(Color reaction)
        2) Color reaction
        G.C.
        P.C.

Table 9 Results of determination of antioxidants in different foods

Sample	B H A	B H T	P G
	ppm	ppm	
マヨネーズ	10 ～ 60	10 ～ 80	痕跡
鯨ベーコン	痕跡 ～ 40	10 ～ 40	—
マーガリン	10 ～ 80	10 ～ 80	— ～ 痕跡
天ぷら油	10 ～ 60	10 ～ 80	
マッシュポテト	5 ～ 15	—	—
ポテトチップ	～ 5	—	—
インスタントラーメン揚油	使用前0～ 痕跡	10 ～ 60	—
〃 〃	使用後0～ 痕跡	10 ～ 200	—
V. A 剤	0.4 ～ 0.8%	0.2 ～ 0.4%	—

口温度260°Cで，保持時間BHAにおいては14分，BHTは3分である。

これらの保持時間で定性を行ない，ガスクルマトグラムのピーク高比又は面積比で，定量を行なつた。試料より，分離抽出したもの，また，先に濃度既知の酸化防止剤を各種の手段で，分離抽出した試験溶液について定量を行ない，回収率を求めた（Fig 8）。

3食品中より各種酸化防止剤の分離および定性・定量法（系統分析法）

前述の各種の分離・抽出法および定性・定量法を綜合して，食品より，各種の酸化防止剤の定性・定量を行なつた。Table 8 の分析系統表に示す通り，試料を二分して，一方は水蒸気蒸溜，他方を有機溶媒抽出を行なう。このとき水蒸気蒸溜法では，BHA，BHTを捕捉し，抽出法ではBHA，BHT，PG，NDGA，EP，などを抽出する。これら分離抽出して得た試験溶液について，濃縮溶解を経て，それぞれの手段で定性・定量試験を行ない，個々の酸化防止剤の確認と定量を行なつた。各手段の詳細な条件については，すでに各項に示した通りである。これらにより，先に述べた油脂性食品の水蒸気蒸溜より，油脂分解物などを，薄層クロマトグラフィーで分離してBHAの紫外部測定における障害を除いたり，あるいは，溶媒抽出法でBHTを分別して，BHA，PGのみを抽出し，次の確認試験を容易にするなど総合的な見地から試験手段を選ぶことが出来る。

市販食品および V.A 剤中の酸化防止剤の調査結果（Table 9）

検体として，油脂性食品8種および，V.A剤を選び，そのうち或るものについては数社の製品について調査を行なつた。結果は，そのいずれもが，食品衛法の使用基準量以下であつたが，インスタントラーメンの揚油については，揚げた後の油の方が，BHTの検出量が大きい。これは，インスタントラーメン製造用油脂（大半は，ラードにゴマ油を加えたもの）にインスタントラーメン工場で，更に，酸化防止剤を添加している為めであつた。また，酸化防止剤として繁用されているBHA，BHTが，殆んどの製品に用いられ，PGの痕跡を認めるもののほかは，他の酸化防止剤は検出されなかつた。

強化剤としての Vitamin A 製剤は高単位（1,000,000Iu/g）の油剤があり，これにはBHA，BHT等を安定剤として添加する場合が多い。これらについて調査した結果は，Table 9 に示す通りであるが，BHA，BHTともに0.4～0.8%に高濃度のものであつた。なお本試料については，蒸溜法，抽出法，ガスクロマトグラフィー，呈色反応等の諸方法を適用したが，その結果については，良好な一致を見た。

酸化防止剤の油脂通気酸化に与える影響と，その残存量の調査

油脂類の酸化の過程において，測定すべき恒数に，種々のものがあるが，先づ初期段階では，ハイドロパーオキサイドの生成が考えられ，油脂の自動酸化の進行にともなつて，その過酸化物価が上昇する。酸化防止剤は，油脂酸化のいわゆる誘導期間の延長に対して効力のあるものが多いが，この際における酸化防止剤の消長と，油脂の過酸化物価，（POV）の上昇に関して，次のような実験を行なつた。

すなわち，油脂の構成脂肪中，不飽和度が高く，その酸敗の主因の一つとみなされているリノール酸のメ

チルエステル（高純度精製品）に一定速度（300ml/min）で酸素を導通し，90～110°Cの油浴中において，通気酸化を行ない，さらに，このものにBHAの各0.1%，0.2%を添加したもの，およびこれにクエン酸を，Synergist として加えたものについて，同様条件で酸化し，POVの変化を追うとともに，その際のBHAの残存量を測定した。その結果は，酸化防止剤無添加のものでは，1時間を過ぎるとすぐに，POV 1300に達し（浴温110°C），これに比して，BHAを0.1%添加したものでは，2時間を経過してもなおPOV180であり，4時間後に1800に達する。更にBHA 0.2%添加のものは6時間後ようやく1800に達し，Synergist としてクエン酸を0.2%加えれば，更にPOV増加抑制効果は増大した。これらの実験の過程で，BHAの残存量を測定すると，BHAの残留している間は，酸化によるPOV上昇が抑制され，POVの変動を見ないが，BHAの残存が認められなくなると，POVが急激に上昇することがわかる。例えばBHA 0.2%添加のものは，2時間後に0.03%となり，6時間後に消失しているが，このときPOVは1800に達する。又，BHA0.1%，クエン酸0.2%添加の場合は更に残存時間の延長が見られ，2時間後に0.04%，4時間後に0.02%となり，8時間後に初めて消失しているが，この時点でPOVは急増して，約2000に到達している。POVとBHA残存量の関連については，以上のような結果がえられるが，この際にも前記の方法を適用して，定性・定量を行なつた。これは，主としてジクロルキノンイミド比色法による。

考察および結論

食品中よりの添加物の分析では，その試料となる食品の種類，状態によつて，分離・抽出条件も種々選択又は改変を要することが多い。本研究の場合も，試料である油脂性食品，すなわち，バター，マーガリン，天ぷら油等の食用油脂と鯨ベーコンその他の食肉製品，マッシュポテト等の加工食品などで，その分離・抽出にも，おのずからその試料に適合した手段を採らなければならない。例えば，マヨネーズ中のBHA，BHTの分離には，水蒸気蒸溜法を採用し，マッシュポテト等デン粉含量の多いものでは，有機溶媒抽出が適する。前処理法の選択については，おおむね以上のような留意が必要であるが，その他各部分についての考察は既に，それぞれ実験の部に附記したので，以下その主要な諸点についてのみ，要約することとする。

1) 水蒸気蒸溜（過熱）の際には溜液は，試料採取量に応じてなるべく多量(試料100gに対し900～1,000ml）を取る必要があるが，抽出の段階でその半量を使用すれば以後の操作は容易である。溜液中より，デヒドロ酢酸その他の保存料を除去するには，溜液を炭酸水素ナトリウムアルカリ性，また炭酸ナトリウムで弱アルカリ性として，エーテル抽出すればよい。

2) 抽出法の場合，バター，マーガリン，その他の固型脂肪試料では，加温して溶ゆうしてから操作する。抽出法の場合も蒸溜法と同様に，保存料の混入をみることがあるので，既述の通り炭酸ナトリウム溶液等で，洗滌除去する（油分の混入について前出）。

3) シリカゲル薄層によるTLCは，定性法として最もすぐれており，ヘキサン・ベンゼン・酢酸系展開溶媒により前記6種の（BHA，BHT，PG，EP，NDGA）の酸化防止剤を分別することが出来る。発色剤は，リンモリブデン酸呈色試薬のみでもよいが，他のものを併用すれば，さらに適確を期することができる。市販スポットフイルム（シリカゲル）も好結果をえた。またTLC抽出よりUV法で定量する際は，TLC板の抽出液（盲検液）を対照セルに入れて消去を行なう。

4) UV法については，蒸溜法によつて試験溶液を得たときは，BHAの吸収部位に障害がみられることがある。また，保存料を完全に抽出除去しないと，その影響があらわれることがある。これらの障害の見られるときは，エーテル溶液をさらに弱アルカリ溶液で洗滌するか（保存料の除去），TLCの併用を行なわなければならない。BHA，BHTの共存する場合も同様である。

5) 可視部吸収法については，BHAのジクロルキノンクロルイミド法，BHTのオルトジアニシジン法は各項にのべた注意を守れば，特異性，鋭敏度，再現性等において良好である。PGの Fe^{++} による呈色法はpH条件に注目して諸種の緩衝液を試用し，選択を行なつたが，なお鋭敏度において十分といい難い（PGの定量はTLC→UV法による方が鋭敏である）。

IAGとPGとの特異性は余りないので，定性の段階で注意する必要がある。

6) ガスクロマトグラフィーでは，本研究による条件で，BHA，BHTの分離はよく，他のカラムを使用する必要はほとんどない。2種の固定相液体は，それぞれ別の系統のシリコン系，ポリエチレングリコール系に属するもののうち，最も適当と思われるものを使用した。

文献により昇温条件を使用しているが，特に必要は認められなかつた。試料注入口温度は，やや高めの方

が結果がよかつた。

7) 本研究では，ＢＨＡ，ＢＨＴの両者の分析に主眼を置いたが，これは，市販品中に，最も使用頻度の高いこと，したがつて，添加物としての消費量も他の酸化防止剤に比して，はるかに多い為めである。これに次ぐものとしては，ＰＧがあり，ＩＡＧ，ＥＰ等は，検出例が見られなかつた。その他の酸化防止剤の使用例は，少ないものとみられたので，定性法のみを取り上げた。

なお，Ⅱ５）の実験でも知られるように，酸化防止剤は試料油脂の酸化とともに消失して，酸化生成物へ移行するものと見られるので，これらに関する問題は，市販品の試験についても，今後に残された課題と思われる。以上の諸点に留意すれば，各段階における操作も比較的簡便で，精度も良好であり，食品衛生法に基く行政試験等にも適するものと思われる。

今後さらに市販食品の多くに本方法を適用して，行政収去検体の処理および，調査を続行するとともに，手段，操作の細部について，改良を試みるつもりである。

文　　献

1) 天野立爾・川田公平・川城巌：食衛誌，5，261 (1964)
2) 呉地伝夫・加藤昌宏・荻野喜文：衛生化学 10，261 (1964)
3) 呉地伝夫・荻野喜文：食衛誌，6，453 (1965)
4) 川田公平・細貝裕太郎：衛生試報，74，239 (1956)
5) 川城巌・細貝裕太郎：食衛誌，5，144 (1964)
6) 原靖子・武田寧・星野乙松・浮田忠之進：衛生化学，11，231 (1965)
7) Berrger, K. G. and Sylvester, N. D, et al.: Analyst, 85, 43 (1960)
8) Struckey, B. N. and Osbone, C. E.: J. Am. Oil Chem. Soc, 42, 228 (1965)
9) 川城巌・藤井清次：〝食品添加物試験法〟
10) Filpic, U. T, and Ogg, C. L.: J. Assoc. Offic. Agr. Chemists, 43, 795 (1960)
11) Sahasrabudhe, M. R.: J. Assoc. Offic. Agr. Chemists, 47, 888 (1964)
12) Anglin, C. and Mahon, T. H.: J. Agr. Food Chem, 4, 1018, (1956)
13) Szalkowski, C. R, and Gorber, J. B.: J. Agr, Food Chem, 10, 491 (1962)
14) 厚生省，添加物公定書注解編集委員会編：〝添加物公定書注解〟

清涼飲料水用容器材としてのポリプロピレンの衛生学的考察

遠藤英美* 藤居瑛*
西垣進* 大畠敏子*
西島基弘* 松本茂*

はしがき

ポリプロピレンはポリエチレンと同族体で，プラスチックスとしては共に α-オレフィン系に属するものである。容器包装の材質としては通気性，透湿性共にポリエチレンよりも悪く，耐熱温度が高く，高温殺菌（120°C，30分）も可能である。特にボトル型式の容器として適性を有するので，清涼飲料水用容器として使用されることが考えられる。

しかし，ポリプロピレンはポリエチレンに較べて使用する添加剤の種類と量が多く，これらの清涼飲料水中への移行は衛生学的に問題となる点である。

我々はポリプロピレンおよび添加剤の溶出に重点をおき，その他清涼飲料水用容器としての適性を検討することとした。

検討項目

1. 各種溶媒による抽出試験
   1) 水浸出液の $KMnO_4$ 消費量
   2) 希酢酸浸出液の $KMnO_4$ 消費量
   3) 酢酸エチル抽出物
   4) n-ヘキサン抽出物
2. 酸化防止剤の定性
3. ポリプロピレン中の金属の定性
4. 清涼飲料水用着色料の染着性
5. 水蒸気蒸留物の $KMnO_4$ 消費量

試料の調製

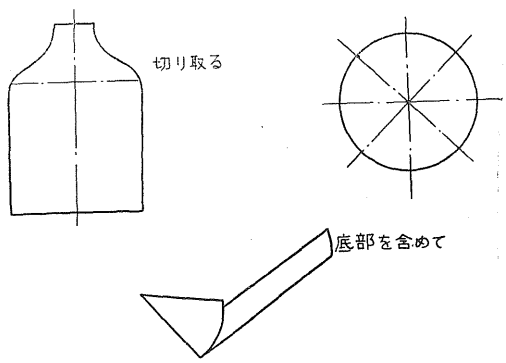
ポリプロピレンの代表的なメーカー5社を石油化学工業協会より紹介され，各社においてつぎの添加剤を配合した試作ブロー成形瓶の提供を受けた。

MT社　BHT+DLTDP+Ca−Stearate　各0.1%
MY社　Ionox 330+Ca−Stearate　各0.1%
T　社　Irganox 1076+Ca−Stearate　各0.1%
S　社　SWP+Ca−Stearate　各0.1%
MS社　Irganox 1010+Ca−Stearate　各0.1%

このように材質的には各社それぞれ異なるが，ブロー成型の方法は，樹脂温度180°～220°C，肉厚約0.8mmに各種金型内でブロー成型したものである。材質の点においては，何れも現行合成樹脂製容器包装の規格に適合しているものである。

このブロー瓶を図1の如く切断し，八等分し，更に試験の性質に応じ細切し，中性洗剤で洗ったのち，水，アルコール，エーテルで素早く洗い，風乾したのち試料とした。

図1



実験の部

1. 各種溶媒による抽出試験
   1) 水温浸液の $KMnO_4$ 消費量

八等分した各社の試料切片より 2.5cm×3cm の大きさの試料4ケを切り取り，水120ml を加えて，沸騰水浴中で，15分，30分，60分，120分，240分間，蒸発する水を補いながら，温浸し，この浸出液について合成樹脂製容器包装の規格基準中 $KMnO_4$ 消費量の試験を行つた。その結果は表1の如くである。

   2) 希酢酸浸出物の $KMnO_4$ 消費量

4%酢酸を用いて1)と同様に行なつた結果は表2の如くである。

   3) 酢酸エチル抽出量

各社の試料細片2mm×2mmおよび4mm×4m

* 東都衛生研究所　食品部

表 1　過マンガン酸カリウム消費量（ppm）　（蒸 留 水）

抽出時間 / 抽出量ppm / 社別	15 分		30 分		60 分		120 分		240 分	
	最高最低	平均	最高最低	平均	最高最低	平均	最高最低	平均	最高最低	平均
M T	0.14～0.88	0.29	0.04～0.68	0.21	0～0.72	0.20	0.60～0.68	0.62	0.68～0.84	0.76
S	0.04～0.28	0.10	0.72～1.00	0.82	0.72～0.96	~~0.84~~ 0.82	0.76～1.32	0.92	0.84～1.08	0.98
M Y	0.47～0.86	0.69	0.16～0.48	0.32	0～0.48	0.24	0.24～0.48	0.34	0～0.56	0.29
M S	0.07～0.47	0.23	0～0.32	0.14	0～0.16	0.08	0～0.08	0.02	0～0.08	0.04
T	0.04～0.80	0.34	0.04～1.00	0.52	0.08～0.64	0.50	0.76～1.00	0.84	0.44～0.68	0.56

表 2　過マンガン酸カリウム消費量（ppm）　（4％酢酸）

抽出時間 / 抽出量ppm / 社別	15 分		30 分		60 分		120 分		240 分	
	最高最低	平均	最高最低	平均	最高最低	平均	最高最低	平均	最高最低	平均
M T	0～0.32	0.14	0～0.32	0.14	0.24～0.40	0.30	0.16～0.78	0.55	0.55～0.79	0.65
S	0.24～0.32	0.30	0.24～0.63	0.44	0.08～0.95	0.53	0.71～1.34	1.03	0.79～1.11	0.89
M Y	0.02～0.34	0.26	0～0.26	0.15	0.32～0.63	0.49	0.48～0.77	0.67	0.71～0.87	0.79
M S	0～0.10	0.05	0～0.10	0.03	0.10～0.74	0.31	0.10～0.32	0.24	0.24～0.48	0.37
T	0.08～0.48	0.30	0～0.24	0.16	0.11～0.48	0.20	0.48～0.87	0.70	0.47～0.87	0.67

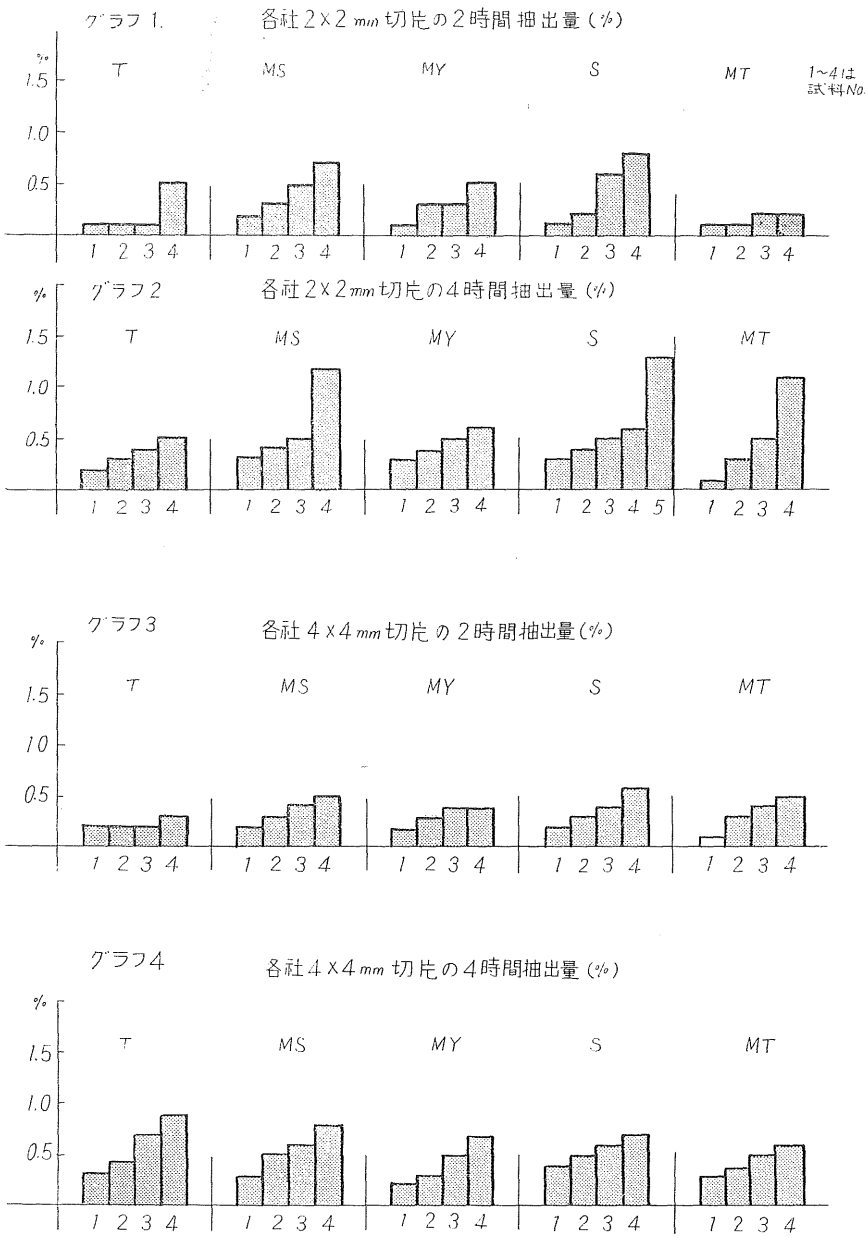
表 3　酢酸エチル抽出量　（％）

切片の大きさ / 抽出時間 / 抽出量％ / 試料社別	2 mm × 2 mm				2 mm × 2 mm			
	2 時間		4 時間		2 時間		4 時間	
	最高最低	平 均	最高最低	平 均	最高最低	平 均	最高最低	平 均
M T	0.07～0.54	0.25	0.32～0.66	0.48	0.11～1.11	0.39	0.15～1.11	0.50
S	0.16～0.61	0.39	0.41～0.58	0.51	0.10～0.78	0.41	0.26～0.68	0.43
M Y	0.23～0.47	0.36	0.33～0.73	0.53	0.20～0.65	0.41	0.32～1.21	0.58
M S	0.19～0.41	0.31	0.19～0.42	0.31	0.08～0.52	0.29	0.30～0.67	0.46
T	0.18～0.29	0.23	0.26～0.88	0.23	0.06～0.48	0.18	0.15～0.54	0.36

表 4　n-ヘキサン抽出量　（％）

切片の大きさ / 抽出時間 / 抽出量％ / 社別	2 mm × 2 mm				4 mm × 4 mm			
	2 時間		4 時間		2 時間		4 時間	
	最高最低	平 均	最高最低	平 均	最高最低	平 均	最高最低	平 均
M T	0.90～1.03	0.98	0.90～1.73	1.24	1.27～1.37	1.32	1.91～2.64	2.15
S	1.34～3.84	2.90	2.66～5.81	3.97	4.81～7.64	6.20	6.14～8.14	7.11
M Y	0.56～0.97	0.75	0.57～0.83	0.70	0.78～1.68	1.13	0.97～1.90	1.38
M S	0.50～0.85	0.68	0.47～0.93	0.68	0.14～1.16	0.78	2.12～4.58	3.26
T	1.46～3.21	2.19	1.27～2.51	1.92	1.56～6.63	2.80	0.94～6.59	2.42

図2


グラフ 1.
各社2×2 mm 切片の2時間抽出量 (%)
%
1.5
1.0
0.5
T
MS
MY
S
MT
1~4は試料No.
1 2 3 4
グラフ2
各社2×2mm切片の4時間抽出量 (%)
1 2 3 4 5
グラフ3
各社4×4mm切片の2時間抽出量(%)
グラフ4
各社4×4mm切片の4時間抽出量 (%)

m，各1gを共通摺合せ三角フラスコにとり，酢酸エチル100mlを用いた，水浴上で，還流温度で2時間および4時間ときどき振り混ぜながら加温し，以下FDA法に準じて行つた。

即ち，温時ガラス綿をつめたロートで速かに，予め風袋を秤量した三角フラスコ中にろ過し，フラスコおよびロートは熱酢酸エチル10mlずつで2回洗い，洗液はろ液に合わせる。ろ液はN_2気流中で水浴上で蒸発乾固または40°C以下で減圧濃縮する。この残留物を110°Cの真空オーブン中で2時間乾燥し，デシケーター中で放冷し，秤量する。

その抽出量%は表3およびグラフ1～4の如くである。

4) n-ヘキサン抽出物

試料を酢酸エチル抽出試験と同様にして行つた。その結果は表4およびグラフ5～8の如くである。

2. 酸化防止剤の検出試験

1.の3)，4)の酢酸エチルおよびn-ヘキサンの4mm×4mmの細片の4時間抽出残渣にメチルアルコール1mlを加えて溶かし，予め105°C，40分間加熱し，活性化した，シリカゲルGスポットフィルム（東京化成）の下端より3cmの位置に，10%標準溶液と共に10μlずつをスポットして溶剤が蒸発したのち，一次展開槽に入れ，30分間展開溶剤で飽和したのち，下端より10cmまで展開し，風乾して溶剤を蒸発させたのち，二次展開槽に入れ，同様にして下端より18cm展開する。

展開溶剤は，一次	n-ヘキサン	85容
	酢酸エチル	15容
二次	シクロヘキサン	65容
	ベンゾール	35容

展開後は，風乾して溶剤を蒸発させたのち，沃素を入れた密閉容器中に3～5分間放置し，発色させ，ついで空気中に30分間放置して，沃素を揮散させ，次に1%2-6-ジクロルキノンクロルイミドアルコール溶液を噴霧し，発色させる。

クロマトグラフは図5の如くである。

3. ポリプロピレン中の金属

プラスチックスには，可塑剤，滑剤，着色料として，有機塩，無機塩が用いられる。これらの塩類中には，鉛，錫，亜鉛，バリウムなど有害性重金属を含むものが用いられることがある。

実験方法

試料細片4mm×4mm，約5gを内容100mlパイレックスビーカー中にとり，加熱熔融したのち，硫酸1mlを加え，ふたをして550°Cの電気炉内で灰化し，その灰分について発光スペクトル法によつて金属類の定性を行つたところその結果はつぎの如くである。

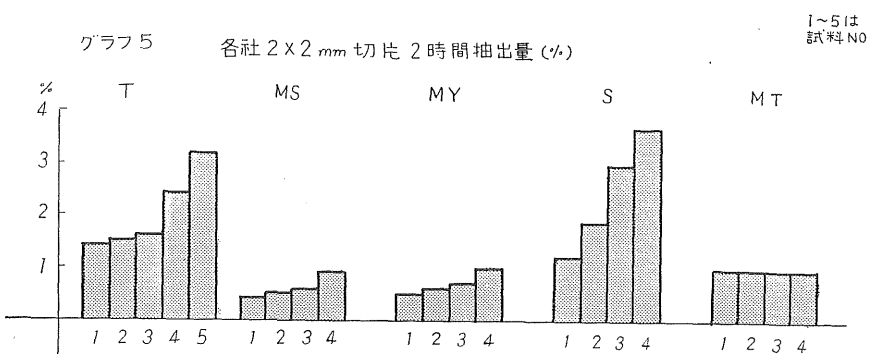
Al	++	Fe	Trace
Ca	++	Pb	Trace
Ti	+	Cu	—
Zn	+	Sn	—
Si	+	As	—
Mg	+	Sb	—
		Ba	—

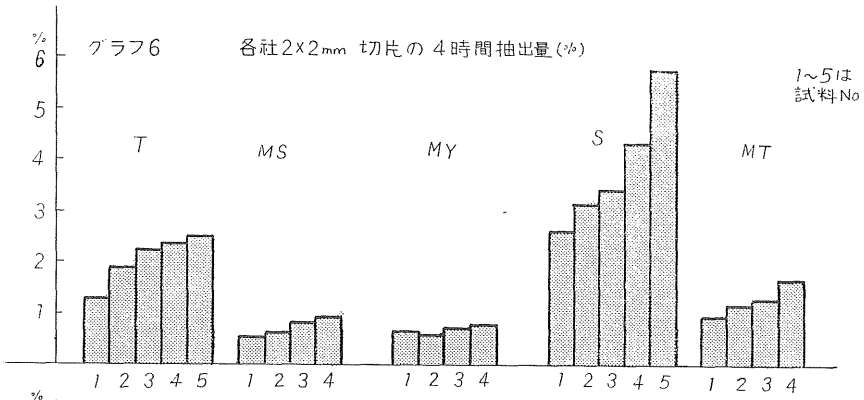
4. 清涼飲料水用食用タール色素の染着性

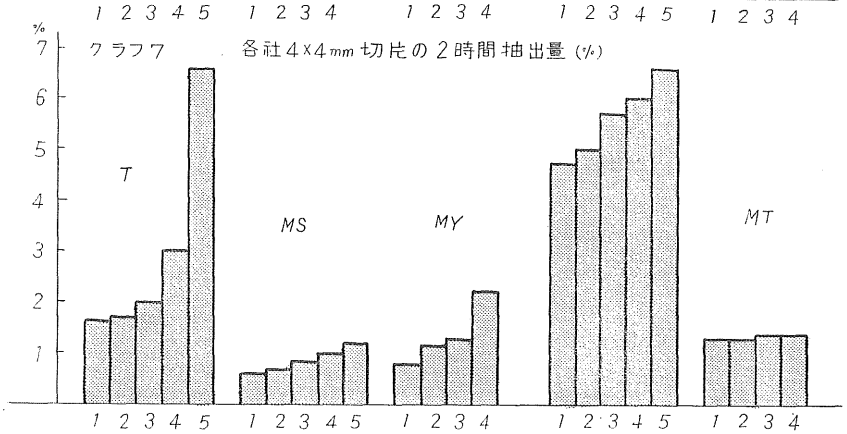
MT社試料細片2mm×2mm，2gを各試験管にとり，これに清涼飲料水に用いられると思われる食用タール色素の0.01%溶液5mlおよび希酢酸1mlを加え，85°C水浴中で蒸発する水分を補いながら6時間加温し，冷後水洗したのち着色の有無を検した。

その結果は，180頁の如くである。

図3




グラフ6
各社2×2mm 切片の 4時間抽出量(%)
1~5は
試料No
%
T
MS
MY
S
MT


グラフ7
各社4×4mm 切片の 2時間抽出量(%)
%
T
MS
MY
MT

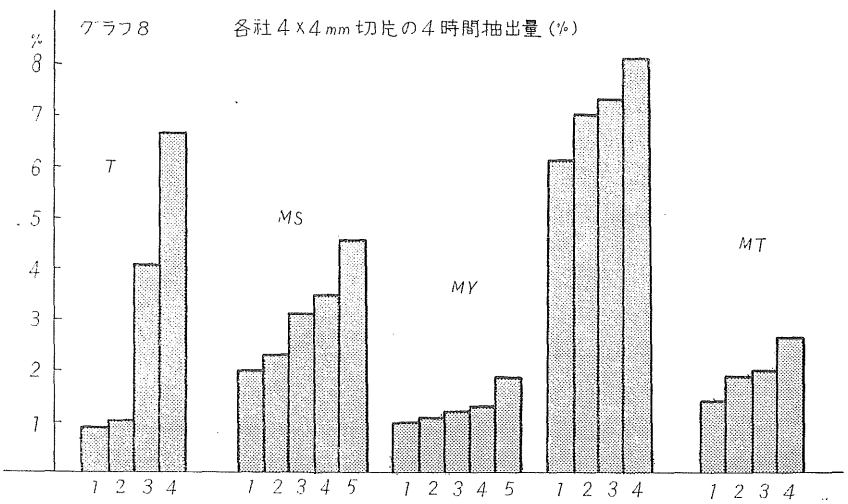
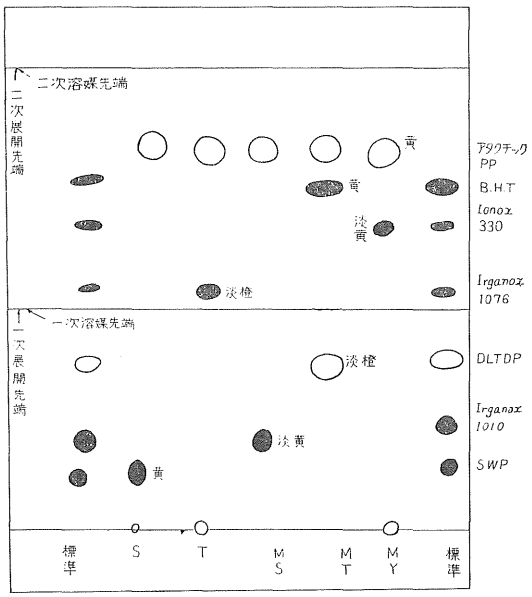

グラフ8
各社4×4mm 切片の4時間抽出量(%)
%
T
MS
MY
MT

図4



注

アタクチック pp……ポリプロピレンの異性体であり，CH_3- の配列が異なるもので3～4種認められている。

BHT……Bibutyl Hydroxy Toluene の略

Ionox 330……1, 3, 5-trimethtyl-2, 4, 6-tris (3, 5-di-t-butyl-4-hydroxybenzyl) benzene

Irganox 1076……n-octadecyl-β (4′-hydroxy-3′, 5′-di-t-butylphenyl) proionate

DLTDP……di-lauryl-thio-dipropionate

(DSTDP) (di-stearyl-thio-dipropionate)

Irganox 1010……Tetrakis 〔methylen (3, 5-di-t-butyl-4-hydroxy) hydrocinnamate〕 methane

SWP (Sant white powder)……4, 4-buthyliden-bis (2-t-butyl-m-eresol)

食用赤色	2 号	わずかに着色する
〃	102 号	わずかに着色する
〃	106 号	着色する
食用黄色	1 号	着色しない
〃	5 号	着色しない
食用青色	1 号	わずかに着色する
食用紫色	1 号	着色する

5. 水蒸気蒸留物の $KMnO_4$ 消費量

未反応または低重合物の混在が，しばしば食品に異臭をを与えることが考えられるので，これらを検査する目的で，水蒸気蒸留を行ない，その留分について $KMnO_4$ 消費量を定量してみた。

試料細片4mm×4mm，5gを二頸フラスコにとり，クエン酸1.5g，塩化ナトリウム15gおよび水50mlを加えて，水蒸気蒸留し，留液は0.1N$KMnO_4$溶液10mlおよび硫酸0.4mlを加えた液中に液量100mlとなるまで蒸留し，留液は5分間煮沸したのち，0.1Nシュウ酸10mlを加えて脱色し，熱時0.1N$KMnO_4$溶液で滴定する。

その結果は，つぎの如くである。

MT	0.1075%
S	0.0882%
MY	0.0885%
T	0.1012%
MS	0.0569%

考　　察

1. 各種溶媒による抽出試験

食品衛生法中合成樹脂製容器包装の規格基準によると，1 cm^2 当り 2 ml の希酢酸を用いて60°C，30分間温浸したのち，浸出液の $KMnO_4$ 消費量は10ppm以下と規定されている。本実験結果の表1および表2より，水および希酢酸抽出試験の浸出時間と $KMnO_4$ 消費量の関係を図6および7として表示してみると，ポリプロピレンの場合4時間の浸出時間でも未だ抽出不充分であることが判る。$KMnO_4$ 消費量はすべて規格に適合するとしても，保存容器の試験法としては，60°C，30分間という浸出規定は一考を要すると考えられる。

つぎに酢酸エチルおよび n-ヘキサン抽出試験であるが，これは有機性の添加物および合成樹脂の品質の良否を判定するのに有意義である。FDAの方法は，試料の調製に際して，試料片をドライアイスで冷しながらボールミル中で粉砕してから行うようにしている。当所においてはこの装置がないので，2×2mm，4×4mmの細片を作り，試料の大きさ，抽出時間の抽出量に及ぼす影響を考慮しつつ行つてみたのであるが，グラフ1～8までの如くで，酢酸エチルの場合4×4mm，4時間抽出が比較的データのバラツキが少ないようであつた。FDAの規格では2時間抽出で，3.6%以下となつているが，表3の結果をみると，その抽出量はすべて1%以下であるので問題はない。

n-ヘキサンについては，FDA規格では，同じく2時間抽出で6.4%以下となつているが，表4の結果をみると，T社およびS社の2×2mmのものに不適になるものがある。

n-ヘキサン抽出量が多くなるものには，ポリエチレンとの共重合物に多く，MS社を除く他の製品はすべ

図5　水浸出物の $KMnO_4$ 消費量

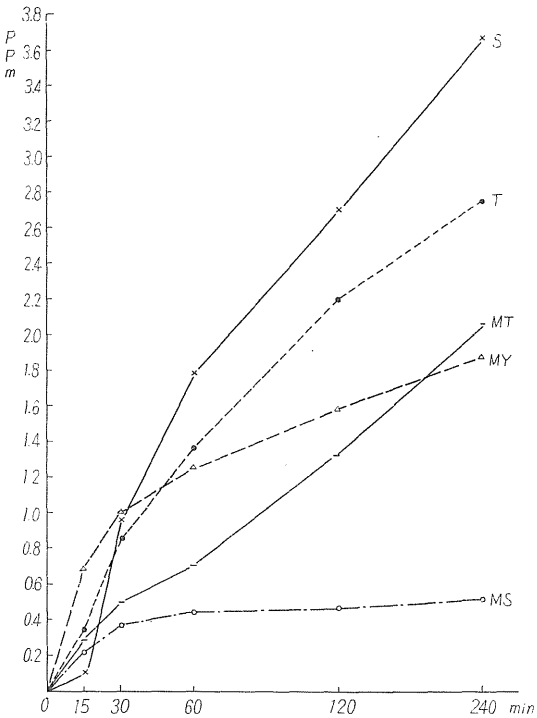
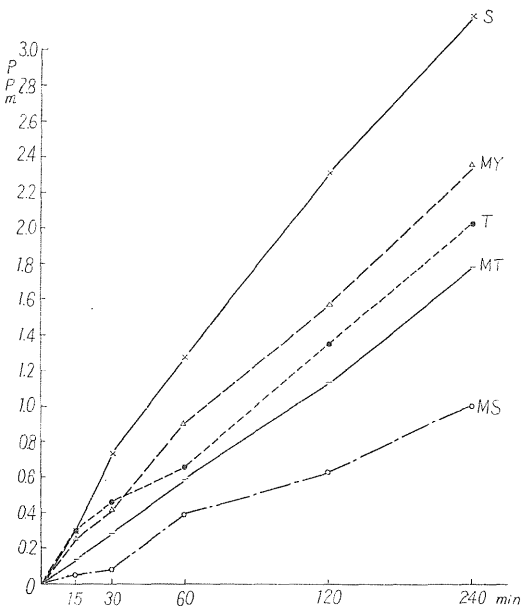


図6　希酢酸浸出物の $KMnO_4$ 消費量



て共重合物であつたが，表4の4×4mm4時間抽出の結果を比較するとき，MY，MT社のようにMS社のものより少いものもあり，重合技術が問題であると推定される。

また表4，グラフ5～8より4×4mmの大きさの4時間抽出のものが抽出量が多いことが判つた。

試料の大きさについては，酢酸エチル，n-ヘキサンともに，4×4mmの方がよい結果を得られることから考え，FDA方式のように微粉末として行うよりも，ヨーロッパ方式に従つてかなり大きな切片とし，切片相互およびガラス壁との密着をさけて抽出を行なつた方が良好な結果が得られると思う。

2.　添加剤の定性試験

添加剤の試験法（酸化防止剤）については，新たに試料をとり，クロロホルムで抽出したのち，メチルアルコールで脱ポリマーして薄層にかける方法があるが，我々は酸化防止剤以外のものの検出も考慮し，n-ヘキサン抽出物で行なつてみた。その結果は，酸化防止剤については検出可能であつた。その他幾分のテーリング物質は認めらたが，異なるスポットは検出し得なかつた。

3.　ポリプロピレン中の金属の定性

発光スペクトルの結果，Al，Ca，Ti，Zn，Si，Mg，などの金属が検出された。この中Caについては，ステアリン酸-Caとしての存在が判明していたが，Al，Ti，Zn，Si，Mg，など滑剤，着色料などとして添加されているものもあると考えられる。この中Znは清涼飲料水規格中15ppm以下と規定されているので，溶出量が問題となる。

4.　清涼飲料水用食用タール色素の染着性

実験結果より食用赤色106号および食用紫色1号がかなり強い染着性を有することが認められた。これらの色素の配合には注意を要する。

5.　水蒸気蒸留物の $KMnO_4$ 消費量

水および希酢酸浸出液の4時間と比較すると表5の如くなり，異常に高い数値となつている。この原因は酸化防止剤などの留出が考えられるが，今後検討してみたい思う。

表5　(ppm)

	水抽出	希酢酸抽出	水蒸気蒸留
MT	2.08	1.77	1075
S	3.60	2.94	822
MY	1.88	2.37	885
T	2.76	2.28	1012
MS	0.51	1.01	569

結　　論

清涼飲料水用容器としての安全性については即断は下し難いが，ポリプロピレン製容器は，ますます出廻ることが予想される。今回の調査により，そのおおよその品質を知ることが出来たが，今後さらに酸化防止剤および亜鉛のジュース中への移行量について検討を進めて行く方針である。

参 考 文 献

1) 村橋俊介，小田良平，井本稔：プラスチックスハンドブック，(1966)，朝倉書店
2) 渡辺茂ほか編：高分子材料試験法，高分子工学講座14，(1964)，地人書館
3) 大島敬治ほか編：合成樹脂便覧，(1962)，産業図書株式会社
4) 後藤邦夫：プラスチックス添加剤データ集，(1968)，化学工業社
5) 日本ビニール工業会編：プラスチックスの試験法（英国標準），(1962)，工業調査会
6) ASTM Comittee D-20: ASTM STANDARDS on PLASTICS, (1957), American Society for Testing materials.
7) 塩ビ食品衛生協議会編：技術資料　No. 5
8) 同　上　同　上　No. 7
9) 同　上　同　上　No. 9
10) 同　上　同　上　No. 13
11) 同　上　同　上　No. 17
12) 同　上　同　上　No. 18
13) 同　上　同　上　No. 21
14) 日本食品衛生協会：食品の容器包装用　プラスチックの衛生，(1961)

ガンマー線照射による小麦グルテンの変質（第7報）

道　口　正　雄*

Effects of Gamma Irradiation on Wheat Gluten (Part VII)

by M. DOGUCHI

(Department of Nutrition, Tokyo-to Laboratories for Medical Sciences)

The effects of γ-irradiation on wheat gluten were studied by means of gel filtration on Sephadex G-100, starch gel electrophoresis and analysis of amino acid composition. Analyses of gluten at a moisture content of 2% revealed no significant change in amino acid composition except for cystine which was decreased by about 8% with irradiation at 10 Mrad. Changes in the chromatogram from gel filtration were interpreted in terms of random depolymerization resulting from irradiation. The results of starch gel electrophoresis suggested that irradiation levels greater than 3 Mrad resulted in characteristic changes in the molecular configuration of gliadin components.

概　　要

パン用一等粉より製造した活性グルテン（粗タン白含量86.1%）を試料とし，主として10Mradの線量のγ線を照射した場合のグルテンタン白質の変化を，3M尿素含有乳酸アルミ緩衝液を用いたデン粉ゲル電気泳動，Sephadex G-100ゲル沪過法による分別並びに構成アミノ酸の測定によつて検討した。

グルテン構成アミノ酸は10Mradの照射によつてもシスチンが8%ほど減少する以外に，他のアミノ酸が破壊せられるという確証は得られなかつた。ゲル沪過法による分別の結果並びに溶解度の変化から，10Mrad照射によつてグルテニンおよびグリアジンは種々の分子サイズまたは分子量の分子へとランダムに開重合されること認めた。またデン粉ゲル電気泳動の結果は，3Mrad以上の照射によつて，グリアジンの分子構造に特殊な変化を生ずることを示すものであつた。

緒　　言

すでにアメリカ，カナダおよびソ連においては数種の食品に放射線処理をほどこすことが法的に許可されており，我が国おいては，いまだ食品の放射線処理は許可されていないが，昭和42年9月に原子力委員会が食品照射研究開発基本計画を発表し向う8年間にわたり実用化を目ざし総合研究が行なわれることになつている。この基本計画に従てジャガイモ，タマネギの発芽抑制の研究，さらに農産物，水産産物，畜産物より6品目を選び成分分析，貯蔵効果，食味，加工試験のほか動物を用いての長期食餌試験で安全性の検討などが逐次行われることになつた。

本研究は，小麦に放射線処理を行なつた場合，小麦タン白に与える影響を検討する目的で，1Mradから最高10Mradにわたる照射試料について，構成アミノ酸の変化，デン粉ゲル電気泳動，ゲル沪過法による分別の3項目の試験によつて小麦タン白の照射変性を追求したものである。

実　験　方　法

I　試　　料

パン用一等粉より調製した粉末活性グルテン（水分2%，炭水化物7%，灰分0.46%，タン白質86.1%，新進食料工業KK製）60gをポリエチレン製円筒容器に密栓し，東京水産大学設置の公称1kCi，コバルト60ガンマー線照射装置を使用し，室温14°Cで照射し試料として実験に供した。

II　アミノ酸の測定

i）シスチンの定量　試料中のシスチンは，Axford[1]らの方法を一部改変した電流滴定法によつて行なつた。支持電解液組成は，エチルアルコール25mlアンモニヤ緩衝液（0.84M NH_3, 0.17M NH_4NO_3）15mlで，これに精秤した試料50mgを加え，さらにア

* 東京都立衛生研究所　栄養部

セトアミド10gおよび無水亜硫酸ナトリウム0.5gを加え，窒素気流下で5分間室温で撹拌し試料を十分分散させた後，N/500硝酸銀溶液で滴定した。指示電極は白金静止電極，加電圧−0.3V(Vs. S. C. E)，電流測定には柳本自記記録式ポーラログラフを使用し，感度0.1μA/mmで測定した。得られた-SH基のモル数にシスチンの分子量を乗じた値をもつてシスチンの量とした。

ii) トリプトフアンの定量　トリプトフアンの測定はDrézeの方法[2]に準拠して行なつた。すなわちグルテン0.3gおよびこれと同量のデン粉に$Ba(OH)_2 \cdot 8H_2O$ 7.8g並びに水4.4mlを加え封管し，120°Cで15時間加水分解した。加水分解後ただちに開封し，内容を50ml容ビーカーに移し，3 NH_2SO_4を加え，pH4.0にととのえた。次いで100ml容メスフラスコに移し，pH4.0の稀硫溶液で定容し，その一部を遠沈し上澄液1mlをとり，日立KLA-3B型アミノ酸自動分析計るもちいてトリプトフアンの定量を行なつた。使用カラムは9×200mmで溶出用緩衝液はpH 5.28クエン酸緩衝液，溶出速度120ml/h，溶出温度55°Cであつた。

iii) その他のアミノ酸の定量　試料グルテン10mgを加水分解用パイレックス試験管に精秤し，定沸点塩酸(110°C)5mlを加え，エタノールドライアイス中に浸け凍結させる。管口をロータリーポンプにつなぎ脱気し，10mmHg以下とし封管する。この条件ではメチオニンの破壊はないようである。試料を封入した管について，それぞれ105°C±2°Cで24，48および72時間加水解炉を用いて分解した。加水分解終了後ただちに開管し，内容を50ml容ナス型フラスコに移し，50°Cでロータリーエバポレーターを用いて塩酸を蒸発乾固した。残渣をpH2.2のクエン酸緩衝液(BRIJ-35含有)7mlにとかし，溶液をグラスフィルターNo. 4にて沪過し，沪液を塩基性並びに中酸性アミノ酸分析に供試した。塩基性アミノ酸は6×100mmのカラムを用い溶出用溶媒はpH5.28のクエン酸緩衝液，溶出温度55°C，溶出速度60ml/hであり，また中酸性アミノ酸分析は9×500mmのカラム，溶出用溶媒は最初クエン酸緩衝液pH3.25，1時間10分後にpH4.25の緩衝液に変え，溶出温度55°C，溶出速度60ml/hであつた。

Ⅲ　デン粉ゲル電気泳動

i) デン粉ゲルの調製　電気泳動用加水分解デン粉(商標アミラン JŌKŌ SANGYO CO.,) 12gを100mlの尿素を3M濃度で含む乳酸緩衝液(イオン強度0.1 pH3.1)に分散させ，加熱によつてゲル化させた後減圧下でゲル中の空気を除き，あらかじめ流動パラフィンを塗布しておいた流動用容器(200×20×6mm)に注入し，ふたを固定して一夜室温に放置した。

ii) 試料の調製

a) グルテン懸濁液　試料グルテン0.5gを3M尿素含有乳酸緩衝液25mlに分散させ，15分間撹拌懸濁させた。

b) グリアジン溶液　対照用グルテンを4%濃度で乳酸緩衝液(μ=0.1, pH3.1)に分散させ，不溶性物質を遠沈除去した。次いで苛性ソーダ溶液を加えpHを6.5に調整し，生じた沈でんを遠沈回収し，3回水洗した後70%エタノールに溶解させた。エタノール可溶性フラクションはグリアジンである。

ついで，ロータリーエバポレーターを用い35°Cで減圧下でエタノールを除去し，3M尿素含有乳酸緩衝液で元の容量の半分にもどした。

iii) 電気泳動　東洋沪紙No.24の細片(19.5×5.5mm)をグルテン懸濁液またはグリアジン溶液につけ，デン粉ゲルの陽極側より3.5cmのところに挿入し，12.5V/cmで3時間半，東洋沪紙電気泳動装置を用いて泳動した。泳動終了後ゲルを取り出し，5%酢酸にとかした0.1%Amido Black 10-B溶液につけ染色し，余剰の色素は5%酢酸中にて数回洗浄し除去した。

Ⅳ　Sephadex G-100ゲル沪過による分別

i) グルテン抽出液の調製　グルテン1gに乳酸アルミ緩衝液(μ=0.1, pH3.1) 50mlを加え20分間撹拌し溶解させた。ついで3,000r. p. mで10分間遠沈し，その上澄液2mlをとりゲル沪過に供した。前記条件下での上澄液中のタン白質濃度は，試料を撹拌溶解後氷室に一夜放置し，再撹拌して得られた上澄液中のそれと差異はなく，20分間の撹拌抽出によつて可溶性タン白はすべて液中に溶解するものと認められる。

対照試料では試料の総タン白質の64%がこの緩衝液に溶解し，当条件における抽出液中のタン白濃度は1.09%であり，10Mrad照射試料では総タン白質の約80%が可溶であり抽出液中のタン白濃度は1.36%であつた。

ii) ゲル沪過　Sephadex G-100を過剰の乳酸アルミ緩衝液(μ=0.1 pH3.1)中で48時間膨潤させた後，2.5×40cmのカラムに充塡した。2mlの抽出液をカラム上部に加え，以後乳酸アルミ緩衝液約50ml/hの流速で溶出した。溶出液を3mlづつフラクションコレクターで補集し，その一部をLowry[3]らの銅-Folin試薬を用いて発色し，各フラクション中のタ

ン白質量を測定した。試料グルテンおよび抽出液中のタン白質量は，すべてミクロケルダール法により，タン白係数5.7を用いた。

結果および考察

Ⅰ） 構成アミノ酸に及ぼす影響　対照および10Mrad 照射試料のアミノ酸組成を第1表に示す。ロイシン，イソロイシンおよびバリンは加水分解時間の増加につれ増加し，セリン，スレオニンは減少したが，他のアミノ酸は分解時間による変化はなかつた。表に示されるロイシン，イソロイシンおよびバリンの値は72時間加水分解物3検体の平均値，スレオニンおよびセリンは24，48および72時間の3加水分解時の測定値を直線的に零時に補外して得られた値であり，その他のアミノ酸は同一試料について行つた7検体（24時間分解3，48時間1，72時間3）の平均値，シスチンも電流滴定によつて得られた7検体の測定値の平均値，またトリプトファンは3検体についてえられた値の平均値である。対照試料のアミノ酸組成は表に示されるように他の研究者[4),5)]らの結果とよく一致する。

10Mrad の照射によつてシスチンは約8％ほど減少し，F分布を試みると1％の危険率で有意差が認められ，照射によつてシスチンが破壊されることは明らかであり，また6Mrad では約7％の減少を示した。これらの結果はグルテンのSH基および -SS- 基の照射による変化をあつかつた先の報文[6)]の結果とよく一致している。

数種のアミノ酸に認められるわずかな減少または増加は，測定精度を考慮した場合，照射によつて惹起されたものと認めることは出来ない。

Metta[7)]らはコーンタン白に 9.8Mrad 照射しても生物価は変化せず，またリジンおよびトリプトファンの損失も認められないこと，また小麦グルテンに関しては，2.8Mradではリジンの損失も生物価の減少もないことを報告しており，また Moran[8)]らによると小麦ふすまのアミノ酸組成は5Mrad でもほとんど変化がないとのことである。Kennedy[9)]は5Mrad の照射

Table 1　Effect of Irradiation on Amino Acid Composition of Wheat Gluten

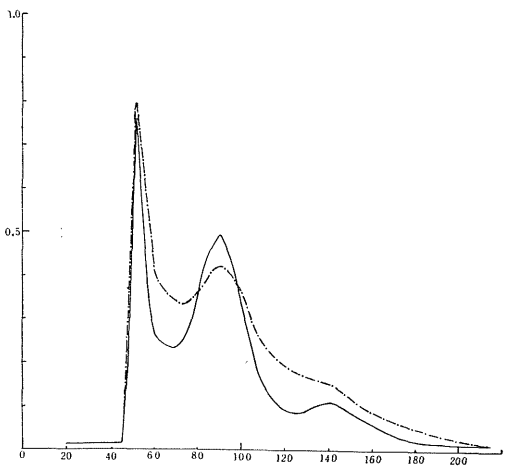
Amino Acid	Amino Acid Grams/16 Grams Total Nitrogen			
	Control	10 Mrad	Woychik[4)] et al.	Pence[5)] et al.
	σ	σ		
Tryptophan	1.07(0.03)	1.04(0.04)	1.0	1.0
Lysine	1.66(0.06)	1.60(0.05)	1.2	1.6
Histidine	1.96(0.08)	1.99(0.06)	2.2	2.1
Arginine	3.32(0.10)	3.28(0.05)	2.4	4.3
Aspartic acid	3.34(0.05)	3.28(0.06)	2.9	3.4
Threonine	2.42 –	2.45 –	2.5	2.4
Serine	4.99 –	5.09 –	5.2	4.3
Glutamic acid	35.55(0.82)	35.03(0.24)	37.3	32.5
Proline	12.34(0.20)	11.97(0.39)	13.7	11.6
Glycine	3.23(0.06)	3.23(0.02)	3.1	3.2
Alanine	2.48(0.03)	2.45(0.03)	2.4	2.0
Cystine	1.93(0.06)	1.78(0.07)	2.1	1.7
Valine	4.07(0.01)	4.07(0.02)	4.1	4.3
Methionine	1.60(0.04)	1.60(0.05)	1.8	1.7
Isoleucine	3.90(0.07)	3.78(0.06)	4.0	4.2
Leucine	6.80(0.07)	6.68(0.04)	6.8	7.0
Tyrosine	3.28(0.08)	3.19(0.05)	3.8	2.8
Phenylalanine	5.21(0.08)	5.10(0.08)	4.9	4.9

によつてグルテンのタン白 R. N. V. (Relative Nutritive Value) は26%減少することを認め照射によつて影響をうけるのは主としてメチオニンであるとしているが，アミノ酸分析の結果から照射によつてメチオニンが化学的に破壊されるのでなく，その有効性が制限されるのであろうと結論している。

本研究の結果から，グルテンの構成アミノ酸は，10Mrad の照射によつてもシスチンが約8%ほど減少する以外に変化はないと結論される。

Ⅱ） ゲル沪過によるフラクションの変化　対照グルテン懸濁液はゲル沪過によつて，第1図に示されるように3フラクションに別けられた，Beckwith[10] らおよび Wright[11] らの報告から，溶出図中の第1のピークは主として分子量100,000以上の不均一なグルテニンより構成され，また第2のピークはグリアジンとグルテン中に残存する少量の水溶性タン白からなつているものと推定される。第3のピークはポリペプチドまたは低分子量のタン白分子から構成されるものと考えられる。なぜならば分取せる各フラクションに，0.05 M濃度にトリクロル酢酸を加えても，溶出量が120ml以上になると沈でんもしくは混濁を生じなかつたからである。

Fig. 1　Changes in elution curve for gluten extract effected by irradiation at 10 Mrad



Elution Volume ml

Two ml of the gluteo extract, in which 21.8 mg and 27.8 mg of protein were contained with unirradiated control and irradiated at 10 Mrad respectively, was applied to gel filtration.

———— Control

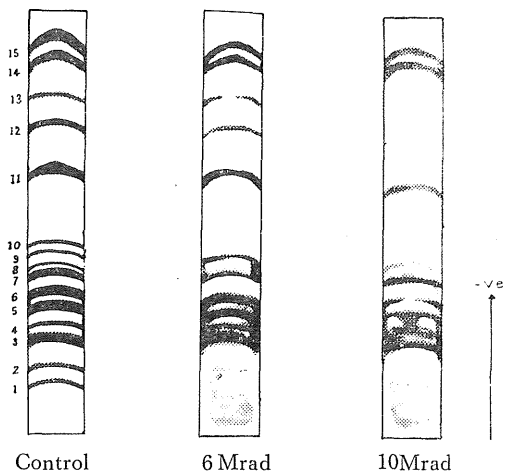
—·—·—·— Irradiated at 10 Mrad

前記したように（Ⅳ. i））10Mrad 照射試料の抽出液のタン白濃度は対照のそれより高いが，これは乳酸緩衝液に不溶性のタン白の一部が照射によつて可溶性化したことを示唆する。タン白質濃度が高いにかかわらず10Mrad 照射試料の第2のピークが対照のそれより低いということは，グルテン中のグリアジンが照射によつて減少することを示すものと考えられる。

溶出曲線およびタン白溶解度の変化から，10Mrad の照射によつて，グルテンはもちろんグリアジンも不均等な分子量をもつ分子えとランダムに開重合されると結論される。

Ⅲ） デン粉ゲル電気泳動図に及ぼす影響　第2図に示されるように，対照試料の乳酸懸濁の電気泳動図には，15のタン白帯が認められ，Elton[12] らも認めているようにこれらのすべてのタン白帯は原点の陰極側にだめ認められ陽極には認められなかつた。

Fig. 2　Changes in starch gel electrophoretic pattern of gluten in aluminium lactate buffer (3*M* in urea) with irradiation



対照グルテン懸濁液の電気泳動図と対照グルテンから調製したグリアジンの泳動図はすべての点で一致しているので，懸濁液の泳動図はグリアジンのそれであることが確かめられた。

強く認められるタン白帯は No. 3，5，6，および7であり，No.12および13は薄かつた。

1 Mrad では泳動図に変化は認められなかつたが，6 Mrad 以上になると数種のタン白帯は消失し，またゲル中に認められるタン白帯も薄くなり，さらに帯の境界がぼやけ同定し得ないようになつた。これらの現象は図には示されないが，3 Mrad おいてにすでに明

確に認められるものであつた。

これらの結果は，3Mrad 以上の照射によつてグリアジン分子の構造的変化が生じたことを示すものと考えられる。Woychik[13]らによると，分子内 -SS- 結合を還元切断し電気泳動した場合，還元されたグリアジンの易動度は20%ほど減少するが新らしいタン白帯の出現はないとのことである。このことから照射によつて惹起された構造的変化は -SS- 結合の開裂によつてのみひき起される変化とは異質のものであると考えられる。

結　　論

以上の結果から，2～3×10^6 の分子量をもつとされるグルテニンはもちろん，5×10^4 以下の分子量のグリアジン区分も6～10Mrad という高線量の照射によつて分子構造の変化ならびに開重合を起すと結論される。

照射によつてシスチンの減少が認められるので，これらの構造的変化には分子間および分子内 -SS- 基の開裂が関与していると推定されるが，照射による変性は -SS- 基開裂だけで説明され得ないことは明らかである。

本研究の大要は日本農芸化学会昭和44年度大会おいてに発表し，Agricaltural and Biological Chemistry（日本農芸化学欧文誌）に投稿中のものである。

文　　献

1) Axford, D. W. E., Campbell, J. D. and Elton, G. A. H. : J. Sci. Food Agric., 13, 73 (1962)
2) Dréz. A. : Biochem. J., 62, 3 (1956)
3) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : J. Biol. Chem., 193, 265 (1951)
4) Woychik, J. H., Boundy, J. A. and Dimler, R. J. : J. Agr. Food Chem., 9, 307 (1961)
5) Pence, J. W., Mecham, D. K., Elder, J. C., Snell, N. S. and Olcott, H. S. : Cereal Chem., 27, 335 (1950)
6) 道口正雄：日本農芸化学会誌，38, 328 (1964)
7) Metta, V. C. and Johnson, B. C. : J. Agr. Food Chem., 7, 131 (1959)
8) Moran, E. T., Summer, Jr. J. D. and Baylen, H. S. : Cereal Chem., 45, 469 (1968)
9) Kennedy, T. S. : J. Sci. Food Agric., 16, 433 (1965)
10) Beckwith, A. C., Nielsen, H. C., Wall, J. S. and Huebner, F. R. : Cereal Chem., 43, 14 (1966)
11) Wright, W. B., Brown. P. J. and Bell, A. V. : J. Sci. Food Agric., 15, 56 (1964)
12) Elton, G A. H. and Ewart, J. A. D. : J. Sci. Food Agric., 13, 62 (1962)
13) Woychik. J. H., Huebner, F. R. and Dimler, R. J. : Arch. Biochem. Biophys., 105, 151 (1964)

日常食品の酸価およびアルカリ価

V　くだもの，ナッツ類のアルカリ価

西田甲子*　五島孜郎*

はしがき

果実を構造や食用部位によつて分類すると，仁果類，核果類，漿果類，堅果類に分けられ，われわれが一般にくだものと呼んでいるものでは，仁果類にりんご，みかん，かき，なし，びわ，核果類にもも，うめ，あんず，さくらんぼ，漿果類にぶどう，いちご，パイナップル，バナナなどがあげられる。堅果類は普通ナッツと呼ばれて，種子を食用とするもので，くり，ぎんなん，くるみ，ピーナッツ，ごまなどである。以上の果実につきアルカリ価を検討したので，前者をくだもの類，後者をナッツ類として報告する。

試料および実験方法

試　　料：

くだものについては，温室物や冷凍品などの季節はずれの出廻り品はさけて，出盛り期の品を選び，くだもの本来の食べ方であるナマ食について，不可食部分を除いた可食部につき試料とした。ナッツについては，保存食品的な役割もあるので，出盛り期とか採取時期に関係なく，市販品または産地より直接入手して用いた。さらに，ピーナッツ，ぎんなんについては，茹でる操作もつけ加え調理による変化も調べた。

実験方法：

実験方法は笠原[1]の方法による。すなわち，試料中の酸性成分の散逸を防ぎつつ灰化し，フェノールフタレィンによる酸価，アルカリ価の滴定，およびカチオン交換樹脂応用の総酸度測定法によつた。

結果および考察

表1には，くだもの13種につき，表2には，ナッツ類8種につき，それぞれ試料 100g に対する1規定液の消費 ml 数であらわした。

茹でたぎんなん，茹でたピーナッツはともに 100g の試料を茹であげた場合の値である。

表1　くだもの類のアルカリ価

食品名	総酸度	総アルカリ度	酸価	アルカリ価	備考
みかん	0.30	2.60		2.30	温州
ハッサクオレンジ	0.30	5.25		4.95	
夏みかん	0.86	4.34		3.48	
夏みかん	0.18	4.27		4.09	
なし	0.70	2.13		1.43	長十郎
かき	1.75	5.59		3.84	
かき	1.76	3.46		1.70	次郎
りんご(皮つき)	0.70	2.05		1.35	
〃 (皮なし)	0.70	1.80		1.10	
いちご	0.30	4.16		3.86	
すいか	0.40	1.75		1.35	
すいか	1.03	4.95		3.95	
プリンスメロン	1.87	12.24		10.37	
プラム	0.17	3.27		3.10	
ぶどう	1.71	5.34		3.63	甲州(種ごと)
バナナ	2.16	12.31		10.16	
バナナ	3.80	14.96		11.16	
トマト	1.93	5.73		3.80	

* 東京都立衛生研究所　栄養部

表1のくだものは，いずれもアルカリ性食品であり，そのアルカリ価が10以上の数値を示したプリンスメロン，バナナをのぞいて他は1～5の範囲であつた。これをナマで食べられる野菜類と比較すると，レタス，キャッツ，かぶ，だいこん，うどなどの5～8よりは低い価であるが，茹でた小松菜，しゆん菊，にら，茨いんげん，茨えんどう，生椎茸などの1～5とはほぼ同じ数値であつた。つまり，くだもののアルカリ価と茹でた野菜のアルカリ価とは凡そ同じであるといえる。しかしプリンスメロン，バナナは，茹でたほうれん草，ナマのセロリについで高いアルカリ価であつた。トマトは一般には野菜として扱われているが，近時くだもの代りに摂る向もあるので，その数値を参考までに掲げた。りんごについては，同一試料を皮つき，皮なしにわけで測定したところ，皮つきが皮なしより幾分高い程度で，有意の差はなかつた。

夏みかん，かき，すいか，バナナについて二つの数値があるのは，時期を一年ずらして行つた結果で，品種は必ずしも同一ではなかつたので個体差があるのは当然と思われる。前報[2),3)]の野菜や豆類の場合と同じく，試料の水分の多少，栽培土壌，肥料などの諸条件が影響してくると考えられる。

また西崎[4)]の数値によると，

みかん	+3.60	なし	+2.60
かき	+2.67	りんご	+3.44
いちご	+5.62	すいか	+2.07
ぶどう	+2.26	バナナ	+8.40

（＋）はアルカリ価の意

で，バナナ，ぶどうなどの漿果類は，本実験値が西崎値より高く，逆に仁果類，核果類に属するものは，本実験値が低くなつている。

表2のナッツについても，くだものと同じくアルカリ性食品であつた。最低は松の実の0.9で，最高は白ごまの21.29であつたが，一般は3～13の範囲に入つた。ぎんなん，ピーナッツとも茹でた場合，そのアルカリ価は前より低くなり，前回の野菜の場合と同じく，茹でることにより酸性に傾く傾向がみられる。

また，西崎[5)]によれば，

くり	+8.30	ピーナッツ	−5.40
くるみも陰性である。			

（−）（陰性）とも酸価の意

と報告されているが，本実験では，ピーナッツ，くるみともアルカリ価を示した。

表2　ナッツ類のアルカリ価

食品名	総酸度	総アルカリ度	酸価	アルカリ価
くり（生）	7.95	17.59		9.64
くり（生）	10.51	20.44		9.93
かちぐり	9.66	22.14		12.48
くるみ	21.37	23.89		2.52
松の実	32.49	33.39		0.90
ぎんなん（生）	12.00	17.59		5.59
〃（茹）	12.59	16.13		3.54
白ごま	39.70	60.99		21.29
カシューナッツ	33.09	38.52		5.43
ピーナッツ[1)]	20.05	33.50		7.45
〃[2)]	24.88	30.73		5.85
ピーナッツ[3)]	27.23	34.87		7.64
〃[4)]	26.65	34.44		7.79
〃[5)]	22.50	28.13		5.59
ピーナッツ[6)]	45.96	51.29		5.33

ピーナッツの
1）外の殻ごと炒つて，殻と渋皮を除いたもの
2）1）と同一試料で，渋皮をつけたままのもの
3）生のままで渋皮なしのもの
4）生のままで渋皮つきのもの
5）渋皮をつけて茹でたもの
（3）～（5）：千葉産
6）塩味がつき，渋皮のついたもの

総　括

わが国では，くだものを水菓子と称して，菓子として扱う風習が古くからあつたが，西欧諸国では，朝食の前，昼食や正さんのデザートコースに必ずこれをつける習慣がある。これはくだものが食慾を刺戟し，料理の味をひきたたせ，後味をすつきりさせる役目を持つためといわれるが，魚肉類に野菜やくだものを組み合せるもう一つの理由には，アルカリ性無機質，ビタミンCおよびせんいなどの摂取という重要な役割もあることを忘れてはならない。

アルカリ価について，くだものとナマ食できる野菜とを比較した場合に，くだものの値が低かつたが，茹でた野菜類との比較では，ほぼ同じ数値との結果を得た。つまり，茹で野菜を食べるのも，くだものを食べるのもアルカリ価の点では大差ないということである。しかしこの場合，同じ100gの重量では，ゆで野菜よりもくだものの方がラクに食べられ，味の点でも食べよいということで，肉食の多い外国の食生活に組み込まれたのも，一理あるとうなずかれる。

近時，わが国の食形態も欧風化され，魚肉類の消費は上昇したが，一方調理に手数のかかる芋類，豆類，

青菜類の消費は下降の状態をしめしているので，これらを補う意味おいても，くだものを菓子としてではなく，食事の一部に取り入れることが望ましいのではないかと思われる。

ナッツ類については，ほとんどが乾燥食品に近いため，アルカリ価が大きく，くだものよりその効果が多いように思われるが，使用目的や成分からみて多量の使用は無理であるので，これらは副食や菓子材料の一部として嗜好的な役割を持たせるだけで，充分役立つものと思われる。

文　　献

1) 笠原正秀：生化学，24，3～4，179（1953）
2) 西田甲子，五島孜郎：都立衛生研究所年報，16，147（1964）
3) 西田甲子，五島孜郎：都立衛生研究所年報，19，171（1967）
4) 栄養研究所：栄養宝典（1956）第一出版，東京
5) 西崎弘太郎，青柳英：東京化学会誌，36，648，（1915）

STUDIES ON PENICILLIN-INDUCED L FORM OF *LISTERIA MONOCYTOGENES.*

Hajime MURAKAMI* Fujio UMEKI* Tadashi NAKAMURA*
Misao HARUTA* and Goichi MAEKI**

Listeriosis is one of the most important zoonosis and least understood of all the bacterial infections, particularly in the field of the epidemiology of the organism known as *Listeria monocytogenes*. In this country, Asahi et al[1] first reported the isolation of the bacterium from goats in 1951. After that, number of sporadic cases of listeriosis in ruminants and man have been reported by many workers[2—12], but none has been clarified the source of infection or route of dissemination of the etiological agents.

Gray and Killinger[13] stated in their reviews that listeric infections in both animals and man are more prevalent than published reports indicate, and distribution of the organism in nature was suggested in heavily contaminated materials, such as soil, silage, sewage sludge and feces. Furthermore, existence of healthy carriers among human and animal populations have been suggested by many investigators[13], and these appear to be playing a predominant role in perpetuation and transmission of the disease, but there is no direct evidence to substantiate the claim, even with the recent improved isolation techniques.

A conjecture on the L form of the organism was made by Lapinski and Flakas[14] that the L form may initiate infection by persisting intracellularly and reverting when conditions favor the classical form, and it might be the answer, why many people have no overt forms of listeriosis. In the present paper induction of the L colonies of *L. monocytogenes* and their several characteristics are discussed.

Materials and Methods

Bccteria. *L. monocytogenes* pilot strains of serotype 1, 2, 3, 4a, 4b, 4c, 4d, and 4e, obtained from N. I. H. Japan through the curtesy of Dr. Katsube were employed for most experiments. Strains Doi and Kumai, a serotype 4b human isolate given by Dr. Ukai of Toshima hospital were also used in some experiments. All the organisms were maintained in lyophilized state. Inocula were prepared by growing the organism on tryptose agar (Difco) with 5% horse blood cell. Typical smooth colony was selected and inoculated into tryptose broth (Difco) and incubated for 24 hours at 37°C.

L form induction media. L form induction media used in this experiment were principally those proposed by Brem et al[15]. The thioglycolate-sucrose base medium utilized to induce and maintain L form of *L. monocytogenes* contained 30g of thio-

*Department of Milk and Meat Sanitation,
**Department of Virology, Tokyo-to Laboratories for Medical Sciences

glycolate semi-solid agar (Eiken), 150g of sucrose, and for agar plate 14.2g of additional Bact agar per 1,000ml. The agar was autoclaved in 500ml of distilled water, sterilized at 121°C for 15 minutes. Sucrose was dissolved in 500ml of distilled water, then sterilized at 121°C for 10 minutes, cooled at 50°C and added to semi-solid agar or semi-solid agar-agar mixture. Penicillin in concentration from 250 to 1,000 units per ml was added to cooled medium before pouring. Horse serum was added to cooled medium in 10% concentrations.

Medium for parent type organism. Medium used for the determination of reversion of the L form, and recovery of classical form of the bacterium was phenyl ethanol agar (Nisui Seiyaku), 1.0g of glycin, 5ml of 1/100 LiCl in 95ml of distilled water, sterilized at 121°C for 15 minutes.

Observation of the colonies. Inoculated plates were incubated at 37°C for 8 days, and observed macrospically at daily. If it is necessary, they were observed by low power microscope (100X). During subculture, their ability of reversion was determined time and again by culturing onto phenyl ethanol agar plates.

Results

Induction of L form. All the 10 strains of *L. monocytogenes* were transformable into the L form in the presence of 250-1,000 u/ml of penicillin. During the incubation period, the L forms were subcultured to fresh induction medium for propagation, by means of the standard procedures for L form work, i. e., agar blocks containing surface L colonies were pushed up side down across fresh medium. L colonies were developed on the path of inoculation and where the block was left on the new medium. They were macroscopically viable at 3 days and secured at 7-8 days. The size of L colonies was ranged from 15 to 150μ in diameter. Fig. 1 a-h, illustrated typical "fried egg" colonies of the pilot strains of each serotype. As it was shown in the figures, the morphology of the L colonies did not deveated from the L colonies of other bacteria.

Hemolysin production of L form. The hemolytic activity of L form was tested by means of the method described by Somerson et al[16]. When the inoculated plate developed visible discrete colonies, it was then overlaid with a 4 per cent horse erythrocyte-agar mixture, and incubated at 37°C for a minimum of 4 days. The plate was observed daily for hemolysis in the region of the L colonies. L colonies of all the serotype used in these experiments were capable to produce a hemolysin. Circular areas of complete beta hemolysis appeared within 24 hours when agar plates were overlaid. Fig. 2 shows a beta hemolytic plaque produced by the L colony of the 4c pilot strain of *L. monocytogenes*. The plaque was found to consist of a centrally located L colony surrounded by a peripheral zone of complete hemolysis.

Pathogenic potentialities of the L form. In the first series of these kind of experiments, a 4 day culture of L form colonies of the type 4b pilot strain were scratched off by a glass bar, from 20 plates of agar culture and suspended into 10ml of saline, washed twice, then diluted out serially in 10-fold steps. As a control, a broth culture of the classical form was also diluted in same manner. Then, 0.5ml of each diluted materials were injected into the peritoneal cavity of 5 white mice weighing 8-

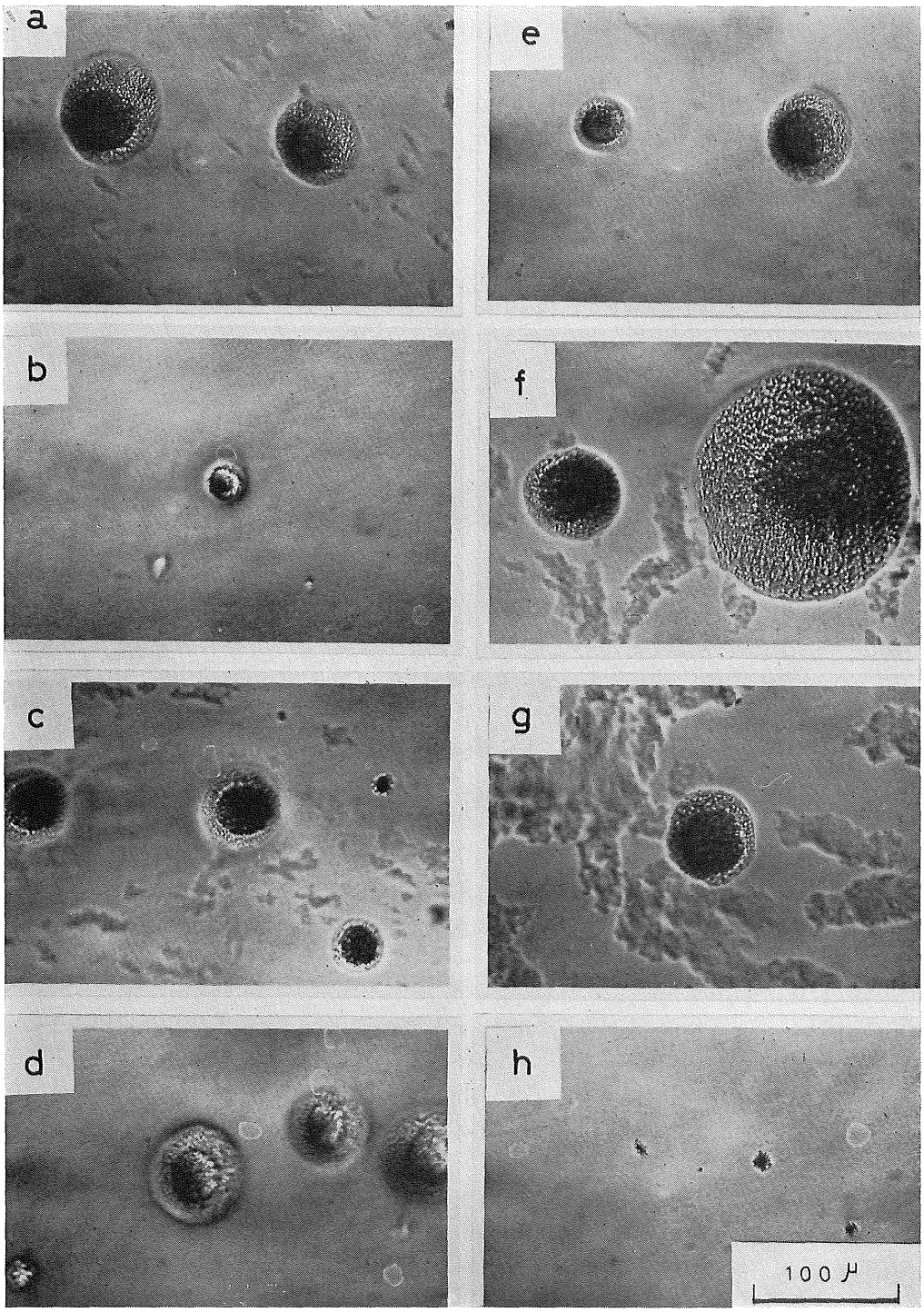


Fig. 1 Induced L colonies of *Listeria monocytogenes*.

a : serotype 1, b : serotype 2, c : serotype 3, d : serotype 4a, e : serotype 4b, f : serotype 4c, g : serotype 4d and h : serotype 4e,

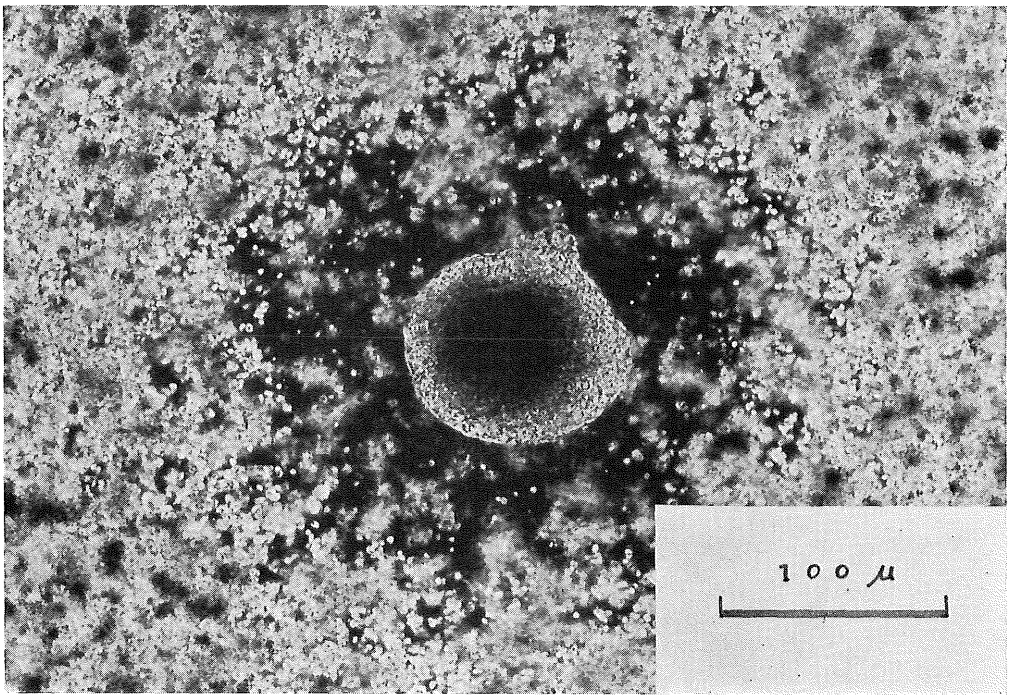


Fig. 2 Beta hemolytic plaque produced by the L colony of the type 4c pilot strain of *L. monocytogenes*

11g. Injected animals were observed for a period of 10 days. During the observation period, liver was removed from the succumbed and putted into a thioglycolate semi-solid agar without penicillin. After the observation period, all the survived animals were sacrificed and their liver were treated as same as those of succumed one. Forty-eight hours after the incubation, 0.1ml of each semi-solid agar culture was plated onto thioglycolate agar plate containing 1,000 u/ml penicillin, for the detection of L form organism. At the same time, same material was also plated onto a phenyl ethanol agar, for the detection of classical form of organism. Table 1 illustrates the results obtained, that all the mice, inoculated 12-12,000 plaque forming L form organism, were survived, while control groups inoculated classical form of organism showed comparatively high motality rate. Neither L form nor classical form could be recovered from the liver of animals inoculated L form organism, whereas all the liver of control groups persisted classical form of bacterium.

Discussion

Little is known on the L form of *L. monocytogenes*, while evidence of the etiological role of the L form bacteria in chronic or recurring diseases of staphylococcal infection or of rheumatic fever have been increasing steadily[17]. Of course there are many suggestive facts on the persistence of L form of *L. monocytogenes*, e. g., listeric infections often occured in patients alredy debilitated by serious illness[5], and classical forms of *L. monocytogenes* are seemed to be detectable only when the body defenses of the patients were lowered. Some patients had been disabled or hospitalized for a

relatively long period prior to onset of the illness, seemed unlikely that they would have been exposed to the organism by environmental contact[5].

Some infants born apparently well, develop listeric meningitis[13] in the postpartum apparently infected prenatally or during birth, and it is quite possible that more women harbor the bacterium in their genital tracts, especially during pregnancy, than has been suspected. In addition, transformation of classical form *L. monocytohenes* to the L form was quite easy in the presence of 250-1, 000 u/ml of penicillin, as we demonstrated in this experiments. It is indicating the possibility of the induction of L forms in the body of the patients who had been treated by penicillin.

Placenta is usually refractory in invasion by most bacterial cells, and actual cross

Table 1 Pathogenic potentialities of type 4b L form

inoculum size per mouse		motality of mice	recovery of organism from liver	
			L form	classical form
L form	1.2×10^4	−	−	−
		−	−	−
		−	−	−
		−	−	−
		−	−	−
	1.2×10^3	−	−	−
		−	−	−
		−	−	−
		−	−	−
		−	−	−
	1.2×10^2	−	−	−
		−	−	−
		−	−	−
		−	−	−
		−	−	−
	1.2×10^1	−	−	−
		−	−	−
		−	−	−
		−	−	−
		−	−	−
classical form	3.9×10^4	+	−	+
		+	−	+
		+	−	+
		+	−	+
		−	−	+
	3.9×10^3	+	−	+
		+	−	+
		+	−	+
		+	−	+
		−	−	+
	3.9×10^2	+	−	+
		+	−	+
		−	−	+
		−	−	+
		−	−	+
	3.9×10^1	−	−	+
		−	−	+
		−	−	+
		−	−	+
		−	−	+

over of the organinm through placenta has been suggested to be action of hemolysin produced by the bacterium[18]. L colonies of all the serotypes were capable to produce a hemolysin with their defected cell wall, and it is of interest to study its action in relation to their pathogenicities.

The role of different bacterial variants with cell wall defects in infectious disease is one of the most important problems of contemporary microbiology. We conducted an experimental infection in mice, in order to find out the basic aspects of listeric infection, related with the pathogenicity of L form and its revertant, but failed to produce listeriosis in mice by the L form of type 4b strain, and could not recover any L form organism in the liver at 10 days after the injection. It is likely that L form organism is persisted in other organ or do not revert so easily as we expected, although the L form cultured in vitro had reverted very easily.

Summary

Pilot strains of 8 serotype of *L. monocytohenes*, and 2 strains of 4b type human isolates were transformed from the classical type cell to the L form very easily in the presence of penicillin G, and morphology of the induced L form colonies were quite similar to those of other bacterial species. L colonies were reverted rapidly when penicillin was removed from their culture media or when they were plated on phenyl ethanol agar. L colonies were parsisted their hemolysin productivity as well as those of parent cells, with their defected cell walls. The possible roles of the L form in the pathogenesis and epidemiology of *L. monocytogenes* are also discussed.

Reference

1) Asahi O., Hosoda T., Akiyama Y. and Ebi Y.: Exp. Rep. Gov. Expl. Staticn for Animal Hyg. 27, 289 (1954)
2) Hirato K., Shimizu K., Ono T., Sato G., Yahata R. and Nishihara Y.: Jap. J. Vet. Research 1, 191 (1954)
3) Tajima M. and Nishihara Y.: Jap. J. Vet. Sci. 15, 300 (1953) (in Japanese)
4) Hosoda T., Asahi O., Akiyama Y. and Tubo T.: Jap. J. Vet. Assoc. 7, 493 (1954) (in Japanese)
5) Ukai S.: Media Circle 13, 1 (1968) (in Japanese)
6) Kato H. and Murakami T.: Jap. J. Vet. Sci. 24, 29 (1962) (in Japanese)
7) Murakami T.: Iwate University Rep. 6, 253 (1963) (in Japanese)
8) Ito T.: Nishin Igaku 49, 585 (1962) (in Japanese)
9) Nagai T.: Jap. J. Clin. Path. 12, 447 (1964) (in Japanese)
10) Nagai T.: Media Circle 11, 121 (1966) (in Japanese)
11) Koseki Y.: Acta Path. Jap. 9, 995 (1959)
12) Uetake H. and Nagai T.: J. Jap. Assoc. Infect. Dis. 34, 449 (1960) (in Japanese)
13) Gray M. L. and Killinger A. H.: Bacteriol. Rev. 30, 307 (1966)
14) Lapinski E. and Flakas D.: Bact. 93, 1438 (1967)
15) Brem A. M. and Eveland W. C.: J. Infect. Dit. 118, 181 (1968)
16) Somerson N. L., Taylor-Robinson D. and Chanock R. M.: Am. J. Hyg. 77, 122 (1963)
17) Guze L. B.: Microbial Protoplasts, Spheroplasts and L-forms, The Williams & Wilkinns Co., Baltimore p. 372 (1968)
18) Siddique I. H. and Walker C. A.: Am. J. Vet. Res. 28, 1843 (1967)

超高温処理（U. H. T. 処理）びん装乳の保存性について

春田三佐夫* 加藤千里*
梅木富士郎* 四宮栄**

（本研究の概要は第26回日本公衆衛生学会（京都1968年）において報告した°）

緒言

最近冷却技術の急速な発展により各種の生鮮食品の保存力が増強され，そのため生鮮食品の流通体系の合理化対策として生産から消費にいたるまでの間，食品の品質を低下させずに流通させようとの目的から，食品の低温流通機構，すなわちコールド・チェーンシステムの確立普及がさけばれている。乳業の分野ではこの考え方は今に始まつたものではなく，むしろ草分けともいうべきであり，これによつて乳業が今日の発展をみるにいたつたともいえる。ところが，最近さらに冷却技術が進歩し，これが超高温処理法（Ultra High Temperature Process，以下 U. H. T. 法と略称）のように殺菌効果の高い処理方法の採用とあいまつて，製品の長距離輸送，製品の需給調整のための保存期間延長が企図されている。U. H. T. 法は一般に 120～150°C で数秒間，加圧下で連続的に牛乳を加熱処理する方法であり，その殺菌効果は Candy[1] Williams[2] Franklin[3]，中西および山内[4]，小笠[5]ら，春田[6]らの報告を総合すると，99,999% から 100% に近いとされている。このような殺菌効果の高い処理法が液状乳の殺菌処理に適用される理由は，理論的には従来のいわゆる殺菌法によるよりも，はるかに保存性の高い製品が得られるということである。しかし，実際問題として今日のわが国のミルクプラントにおける液状乳処理の現状からみて，加熱処理後の2次汚染が，ごく微量なものであるにしても，これを完全に防止することが困難である。また輸送，販売等流通過程における管理上の問題や超高温処理製品に対する販売者側の過信，オーバーな宣伝，消費者の無知などが原因となつて，処理後2次汚染した低温細菌，いわゆる好冷細菌（psychrotrophic bacteria）が低温保存中でも増殖し，それにともない乳質の低下，変質がしばしば惹起される。以上のような理由から U. H. T. 処理乳の保存性は必ずしも一般が考えるほど高いものとはいえない。事実われわれの手元に保存性を過信し，その取扱いを誤まつたことによると思われる変質品が苦味その他の異常を呈したとの理由で呈出されるケースが最近とみに目立つており，また U. H. T. 処理びん装乳が長期間低温保存しても従来の殺菌乳のような外観，風味などの変化が目立たないことを理由に故意にキャップをつけ替えて販売するなどの悪質行為もしばしばおこつている。こうした事実は，産業面ならびに食品衛生の両面から考えても等閑視できない問題である。なお，低温細菌の2次汚染防止の問題は将来無菌充塡法の併用によつて解決されるとは思われるが，現状では経済的な要因がからんでくるため，無菌充塡法の全面採用は困難である。したがつて各ミルクプラントともそれぞれの状況に即応した2次汚染防止策を講ずる必要があると思われるが，取り敢えず現状では2次汚染の事実を一応肯定した上で，低温細菌の増殖をできるだけ阻止するための保存温度管理面について考え，U. H. T. 処理びん装乳の保存性評価のための許容温度時間（Time Temperature Torelance, T. T. T）を算出する必要があると思われる。そこでわれわれは先般2回にわたつて販売店の段階から採取した12例の U. H. T. 処理びん装乳を，乳等省令に保存基準として定めている10°C と，乳の保存上のぞましい温度とされている4°C の2条件で保存し，消費者の手に渡つてから上記の条件で保存した場合の保存性（Keeping Qualily）を観察検討した。

供試材料及び試験方法

供試材料は市販の U. H. T. 処理びん装乳と各社それぞれ1種類ずつ計6種を販売店から採取し，同様の試験を2回にわたつて実施した。1回目の試験では4例が168時間（7日）まで，他の2例は120時間（5日）まで観察し，2回目の試験では6例とも7日まで観察した。

保存性，すなわち寿命の判定は規格に定められた生菌数5万/ml，酸度0.18%を越える時点をもつて規準とした。標準平板菌数はプレートカウント寒天培地を用い，35°C，48時間培養により測定し，低温細菌数

*東京都立衛生研究所　乳肉衛生部
**日大農獣医学部研究員（荒川保健所）

表1　超高温処理びん装乳の第1次保存試験成績

検体 No 1 の保存試験成績

4°C保存例

項目＼時間	当初	24時間	72時間	96時間	120時間
標準平板菌数 35°C×48h	<30	<30	<300	15×10^3	20×10^3
低温細菌数 CVT 25°C×72h	<30	60	27×10^3	15×10^3	57×10^4
大腸菌群	−	−	−	−	−
酸度 %	0.14	0.14	0.15	0.17	0.17
アルコール反応	−	−	±	+	+
煮沸反応	−	−	±	−	−
風味外観	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし

10°C保存例

項目＼時間	当初	24時間	72時間	96時間	120時間
標準平板菌数 35°C×48h	<30	<30	30×10^4	27×10^5	44×10^5
低温細菌数 CVT 25°C×72h	<30	70	30×10^5	23×10^7	68×10^7
大腸菌群	−	−	−	−	−
酸度 %	0.14	0.14	0.16	0.19	0.20
アルコール反応	−	−	−	+	+
煮沸反応	−	−	−	−	+
風味外観	異常なし	異常なし	異常なし	風味異常	凝塊形成

検体 No. 2 の保存成績

4°C保存例

項目＼時間	当初	24時間	72時間	96時間	120時間
標準平板菌数 35°C×48h	<30	<30	<300	<300	<300
低温細菌数 CVT 25°C×72h	<30	<30	<300	<300	<300
大腸菌群	−	−	−	−	−
酸度 %	0.13	0.13	0.15	0.16	0.16
アルコール反応	−	−	−	−	−
煮沸反応	−	−	−	−	−
風味外観	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし

10°C保存例

項目＼時間	当初	24時間	72時間	96時間	120時間
標準平板菌数 35°C×48h	<30	<30	<300	<300	<300
低温細菌数 CVT 25°C×72h	<30	<30	<300	<300	<300
大腸菌群	−	−	−	−	−
酸度 %	0.13	0.13	0.15	0.16	0.16
アルコール反応	−	−	−	−	−
煮沸反応	−	−	−	−	−
風味外観	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし

検体 No. 3 の保存試験成績

4°C保存例

項目＼時間	当初	24時間	72時間	96時間	120時間
標準平板菌数 35°C×48h	<30	<30	<300	<300	<300
低温細菌数 CVT 25°C×72h	<30	<30	<300	<300	<300
大腸菌群	−	−	−	−	−
酸度 %	0.14	0.14	0.16	0.17	0.17
アルコール反応	−	−	−	−	−
煮沸反応	−	−	−	−	−
風味外観	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし

10°C保存例

項目＼時間	当初	24時間	72時間	96時間	120時間
標準平板菌数 35°C×48h	<30	<30	<300	<300	<300
低温細菌数 CVT 25°C×72h	<30	<30	<300	<300	<300
大腸菌群	−	−	−	−	−
酸度 %	0.14	0.14	0.15	0.17	0.17
アルコール反応	−	−	−	−	−
煮沸反応	−	−	−	−	−
風味外観	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし

検体 No. 4 の保存試験成績

4°C保存例

項目＼時間	当初	24時間	72時間	96時間	120時間
標準平板菌数 35°C×48h	47	<30	20×10^2	44×10^4	18×10^5
低温細菌数 CVT 25°C×72C	49	100	44×10^3	40×10^3	27×10^5
大腸菌群	−	−	−	−	−
酸度 %	0.14	0.14	0.16	0.17	0.17
アルコール反応	−	−	−	+	+
煮沸反応	−	−	−	−	−
風味外観	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし

10°C保存例

項目＼時間	当初	24時間	72時間	96時間	120時間
標準平板菌数 35°C×48h	41	20×10^2	90×10^4	39×10^7	20×10^7
低温細菌数 CVT 25°C×72h	49	78×10	48×10^5	35×10^7	14×10^8
大腸菌群	−	<10	27×10^3	65×10^4	19×10^5
酸度 %	0.14	0.14	0.17	0.18	0.21
アルコール反応	−	−	−	卌	卌
煮沸反応	−	−	−	+	+
風味外観	異常なし	異常なし	異常なし	風味やや異常	風味やや異常

検体 No. 5 の保存試験成績　4°C保存例

項目＼時間	当初	24時間	48時間	72時間	96時間
標準平板菌数 35°C×48h	<30	<30	<300	<300	<300
低温細菌数 CVT 25°C×72h	<30	<30	<300	<300	<300
大腸菌群	−	−	−	−	−
酸度 %	0.13	0.13	0.13	0.14	0.14
アルコール反応	−	−	−	−	−
煮沸反応	−	−	−	−	−
風味外観	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし

120時間以降168時間の成績省略

10°C保存例

項目＼時間	当初	24時間	48時間	72時間	96時間
標準平板菌数 35°C×48h	<30	<30	<300	<300	<300
低温細菌数 CVT 25°C×72h	<30	<30	<300	<300	<300
大腸菌群	−	−	−	−	−
酸度 %	0.13	0.13	0.13	0.13	0.14
アルコール反応	−	−	−	−	−
煮沸反応	−	−	−	−	−
風味外観	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし

検体 No. 6 の保存試験成績　4°C保存例

項目＼時間	当初	24時間	48時間	72時間	96時間
標準平板菌数 35°C×48h	48×10	39×10	41×10	50×10^2	52×10^4
低温細菌数 CVT 25°C×72h	26×10	44×10^2	82×10^2	21×10^3	83×10^3
大腸菌群	−	47×10	30×10^2	39×10^2	73×10^2
酸度 %	0.14	0.14	0.14	0.14	0.15
アルコール反応	−	−	−	−	−
煮沸反応	−	−	−	−	−
風味外観	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし

144時間よりアルコール，煮沸反応ともに＋，168時間目に両反応＋＋，120時間からやや異臭味を感じた。生菌数は120時間目に 15×10^6/ml，低温細菌数 17×10^5/ml

10°C保存例

項目＼時間	当初	24時間	48時間	72時間	96時間
標準平板菌数 35°C×48h	30×10	21×10^2	61×10^3	57×10^4	52×10^6
低温細菌数 CVT 25°C×72h	25×10	22×10^2	24×10^5	22×10^6	49×10^6
大腸菌群	−	300<	300<	300<	300<
酸度 %	0.14	0.14	0.14	0.15	0.16
アルコール反応	−	−	−	−	＋＋＋
煮沸反応	−	−	−	−	＋＋＋
風味外観	異常なし	異常なし	異常なし	風味異常	風味がない異常

120時間目に酸度0.22%に上昇，144時間目にさらに0.36%に上昇，生菌数は144時間に 29×10^8/ml[12] に達した。低温細菌数は168時間目に 90×10^7/ml

図1　超高温処理びん装乳第1次保存試験における標準平板菌数の変化

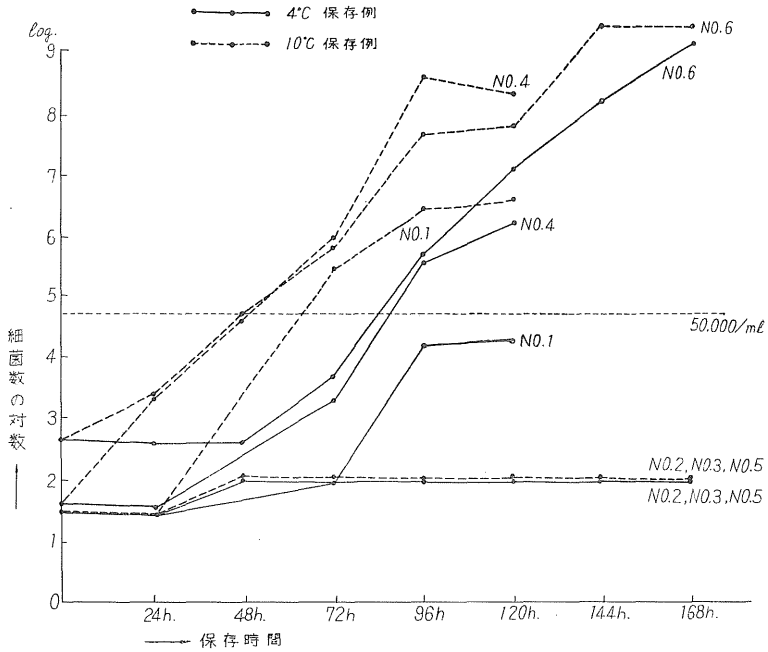
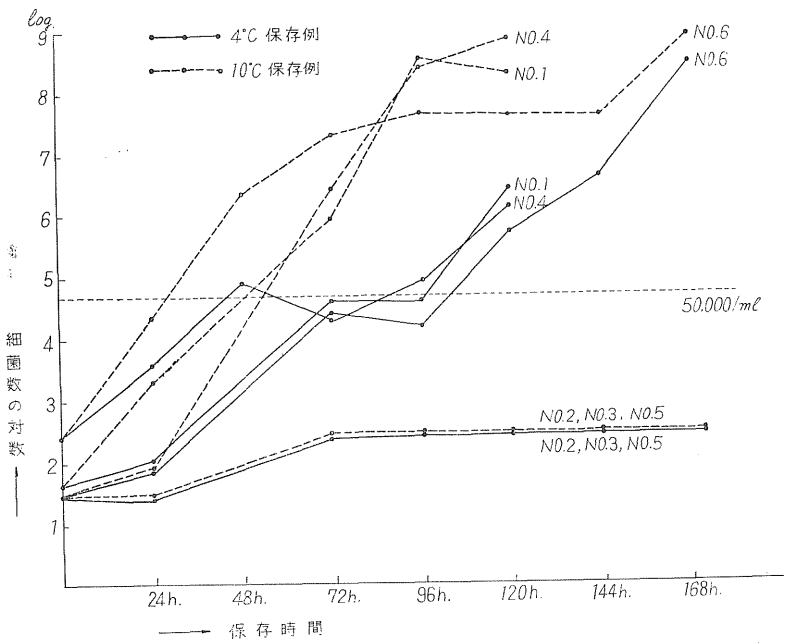


図2　超高温処理びん装乳第1次保存試験における低温細菌数の変化



は乳質変化に主働的役割を演ずるグラム陰性細菌の測定を主眼として開発された選択培地，すなわち H. C. Olson[7] の C. V. T. 寒天培地を用い，25°C，72時間培養により測定した。なお，C. V. T. 寒天培地のグラム陰性低温細菌検出測定能については先の第25回日本公衆衛生学会総会おいてに発表[8] した。大腸菌群は B. G. L. B. 培地およびデスオキシコレート寒天培地を併用，前者では試料2 ml，後者では4 ml について検査した。酸度は乳酸表示法により測定し，同時にアルコール試験，煮沸試験を型どおり行ない，外観，風味についても観察した。

試験成績

I 第1次試験成績

試験の成績は表1に示すとおりである。

1) 標準平板菌数

6検体中No. 6以外はすべて1 ml当り30個以下であつたが，保存後No. 2，No. 3，No. 5の検体は4°C，10°Cのいずれの条件でも全く変化なく，保存の全期間を通して1 ml 当り300以下の菌数を維持した。No. 1は10°C 保存では急激な細菌の増加を示し，72時間目には1 ml 当り30万に達し，3日目で規格外になつた。4°C保存では120時間目，すなわち5日目にいたつても2万という規格内菌数を維持し，かなり高い保存性を示した。No. 4は4°Cと10°C とでは24時間ですでにかなりの開きをみせ，10°Cの場合は72時間で90万という高い菌数に達したが，4°Cの場合は72時間目でも1 ml 当り2000という規格をはるかに下廻わる菌数を示した。しかしその後は急激な増加を示し，96時間目には規格外となつた。No. 6は10°C 保存では48時間目で規格の線をこえたのに対して，4°C保存では72時間でも規格菌数をはるかに下廻わる菌数を維持し，No. 4 と同様96時間にいたり規格外となつた。以上10°Cより4°C の方が菌の増殖ははるかに緩慢で，その保存性は10°Cのそれより1～2日程度延長した。

2) 低温細菌数（C. V. T. 寒天培地25°C測定値）

低温細菌数についても標準平板菌数と同様入手直後ではNo. 6以外はすべて1 ml当り30以下で，保存後はNo. 2，No. 3，No. 5の検体はすべて標準平板菌数同様，4°C，10°C ともに全く変化なく，全期間を通じて1 ml当り300以下の菌数のまま推移した。No. 1は10°Cでは72時間ですでに300万をこえたが，4°Cでは96時間まで規格菌数を維持した。No. 4は10°C では72時間ですでに490万に達したが，4°Cでは72時間目で44,000となり，標準平板菌数よりも1桁高い値を示し，96時間目でもほぼ同様であつたが，120時間目には270万と規格菌数をはるかに上廻わる菌数を示し，60°Cよりもはるかに高い保存性を示した。No. 6は7日目まで観察したところ，10°C では48時間で標準平板菌数を2桁も上廻わる240万という菌数を示したが，4°C保存では96時間目でも規格内菌数を維持した。

以上低温菌数も標準平板菌数と同様，4°C保存例の方が10°C 保存例よりもはるかに菌の増殖は緩慢で，保存性も10°Cのそれより1～2日程度延長した。

3) 大腸菌群

6検体とも当初すべて陰性であつたが，10°C 保存のNo. 4 が24時間以降陽性に転じ，その後さらに増加し，No. 6は4°C，10°C ともに24時間目に陽性となり，4°Cでは24時間目が100台，72時間目に1,000台と次第に増加した。10°Cでは24時間で原液1 ml 中300以上と急激な増加を示した。このことは10°C ではもちろん4°Cでも大腸菌群が十分発育することを示しており，Schultze & Cleson，高宮らの知見と一致する。他の4検体は全保存期間を通じてすべて陰性であつた。

4) 乳質の変化

酸度については，4°Cの場合，7日目まで観察したNo. 6 が7日目に規格の0.18%をこえただけで，他の5日まで観察した5検体は保存の全期間，規格内の酸度を保持した。10°Cの場合はNo. 1が96時間目に0.19%，No. 4が5日目に0.21%，No. 6 が同じく5日目に0.22%を示し，すでに菌数でははるかに規格をこえた期間内でなお規格内酸度を維持した。アルコール反応は4°Cの場合，No. 2，3，5は全期間を通して陰性であつたが，No. 1は4°C，10°C ともに96時間で菌数がそれほど高くないにもかかわらず陽性を示し，No. 4も同様であつた。No. 6は10°C保存例が96時間で強陽性を，4°Cでは120時間目に陽性に転じた。いずれにしても10°C 保存例の方がやや早くあらわれ，しかも強度の反応を呈した。

煮沸反応はNo. 2，No. 3，No. 5はいずれも全保存期間中陰性のまま推移したが，No. 1は4°Cでは全期間陰性であるのに対して10°Cでは120時間で陽性となり，No. 4も4°CではNo. 1と同様であつたが，10°Cでは96時間目に陽性を示した。No. 6は4°C，10°C いずれも煮沸反応陽の時期とアルコール反応陽性のそれとが一致していた。

風味については，No. 1の10°C保存例が96時間（酸度0.19%のとき）目に異味を生じ，わずかに凝固物の

表2　超高温処理びん装乳の第2次保存試験成績

検体 No. 1 の保存試験成績

4°C保存例

項目＼時間	当初	24時間	48時間	72時間	96時間	120時間	144時間	168時間
標準平板菌数 35°C×48h	<30	<30	<30	<300	13×10^2	64×10^2	12×10^4	55×10^4
低温細菌数 CVT 25°C×72h	<30	<30	<30	<300	LA	10×10^3	45×10^3	18×10^5
大腸菌群	−	−	−	−	−	−	−	−
酸度 %	0.14	0.15	0.13	0.14	0.14	0.14	0.14	0.13
アルコール反応	−	−	−	−	−	−	+	++
煮沸反応	−	−	−	−	−	−	+	++
風味外観	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし

10°C保存例

項目＼時間	当初	24時間	48時間	72時間	96時間	120時間	144時間	168時間
標準平板菌数 35°C×48h	<30	<46	50×10^2	65×10^2	43×10^3	62×10^5	50×10^7	51×10^7
低温細菌数 CVT 25°C×72h	<30	<30	<30	25×10	40×10^2	32×10^6	65×10^7	22×10^7
大腸菌群	−	−	−	−	−	−	−	−
酸度 %	0.14	0.15	0.13	0.13	0.13	0.14	0.30	0.29
アルコール反応	−	−	−	−	−	−	++	++
煮沸反応	−	−	−	−	−	−	+	+
風味外観	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	酸味	苦味

検体 No. 2 の保存試験成績

4°C保存例

項目＼時間	当初	24時間	48時間	72時間	96時間	120時間	144時間	168時間
標準平板菌数 35°C×48h	<30	<30	<300	<300	44×10^3	19×10^3	44×10^3	22×10^4
低温細菌数 CVT 25°C×72h	<30	<30	<300	<300	66×10^2	10×10^2	37×10^3	10×10^3
大腸菌群	−	−	−	−	−	−	−	−
酸度 %	0.14	0.14	0.13	0.14	0.14	0.13	0.14	0.13
アルコール反応	−	−	−	−	−	−	−	−
煮沸反応	−	−	−	−	−	−	−	−
風味外観	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし

10°C保存例

項目＼時間	当初	24時間	48時間	72時間	96時間	120時間	144時間	168時間
標準平板菌数 35°C×48h	<30	<30	19×10^2	12×10^4	20×10^4	50×10^5	65×10^6	22×10^7
低温細菌数 CVT 25°C×72h	<30	<30	86×10	54×10^4	22×10^5	20×10^7	20×10^7	18×10^7
大腸菌群	−	−	−	−	−	−	−	−
酸度 %	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.15	0.22	0.22
アルコール反応	−	−	−	−	−	−	+	+
煮沸反応	−	−	−	−	−	−	+	+
風味外観	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異臭味	異臭味

検体 No. 3 の保存試験成績

4°C保存例

項目＼時間	当初	24時間	48時間	72時間	96時間	120時間	144時間	168時間
標準平板菌数 35°C×48h	72×10^2	49×10^3	20×10^4	28×10^4	33×10^7	59×10^7	91×10^7	75×10^8
低温細菌数 CVT 25°C×72h	13×10^2	39×10^2	37×10^2	95×10^2	34×10^6	52×10^6	40×10^7	74×10^8
大腸菌群	<10	57	90	18	25×10^4	29×10^4	35×10^4	28×10^6
酸度 %	0.13	0.14	0.13	0.13	0.18	0.21	0.22	0.21
アルコール反応	−	−	−	−	−	+	+	+
煮沸反応	−	−	−	−	−	+	+	+
風味外観	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異臭味	異臭味	異臭味

10°C保存例

項目＼時間	当初	24時間	48時間	72時間	96時間	120時間	144時間	168時間
標準平板菌数 35°C×48h	70×10^2	20×10^4	35×10^5	45×10^6	57×10^7	12×10^8	27×10^8	35×10^8
低温細菌数 CVT 25°C×72h	13×10^2	11×10^4	23×10^4	25×10^6	14×10^7	26×10^7	31×10^7	37×10^7
大腸菌群	<10	90×10	20×10^3	25×10^4	34×10^6	25×10^6	20×10^6	14×10^6
酸度 %	0.13	0.16	0.14	0.19	0.22	0.30	0.64	0.64
アルコール反応	−	−	−	−	+	卅	卅	卅
煮沸反応	−	−	−	−	+	卅	卅	卅
風味外観	異常なし	異常なし	異常なし	異臭味あり	甘ずっぱい	甘ずっぱい	苦味	苦味

検体 No. 4 の保存試験成績

4°C保存例

項目＼時間	当初	24時間	48時間	72時間	96時間	120時間	144時間	168時間
標準平板菌数 35°C×48h	48	47×10	51×10^2	36×10^2	48×10^2	15×10^2	13×10^3	44×10^2
低温細菌数 CVT 25°C×72h	55	26×10	28×10^2	24×10^2	48×10^2	15×10^2	14×10^3	44×10^3
大腸菌群	−	−	−	15×10	20×10	50×10	20×10	22×10
酸度 %	0.12	0.13	0.13	0.15	0.14	0.14	0.14	0.14
アルコール反応	−	−	−	−	−	−	−	−
煮沸反応	−	−	−	−	−	−	−	−
風味外観	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし

10°C保存例

項目＼時間	当初	24時間	48時間	72時間	96時間	120時間	144時間	168時間
標準平板菌数 35°C×48h	48	25×10^2	13×10^4	24×10^4	11×10^8	25×10^8	58×10^8	27×10^8
低温細菌数 CVT 25°C×72h	55	30×10^2	15×10^3	16×10^6	67×10^7	15×10^9	13×10^8	70×10^9
大腸菌群	−	−	17×10	25×10^3	15×10^5	80×10^5	10×10^6	18×10^6
酸度 %	0.12	0.12	0.13	0.14	0.24	0.52	0.66	0.75
アルコール反応	−	−	−	−	+	卅	卅	卅
煮沸反応	−	−	−	−	+	卅	卅	卅
風味外観	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異臭味	酸味刺戟性	酸味刺戟性	酸味刺戟性

検体 No. 5 の保存試験成績

4°C保存例

時間 / 項目	当初	24 時間	48 時間	72 時間	96 時間	120 時間	144 時間	168 時間
標準平板菌数 35°C×48h	<30	<30	21×10	12×10^2	88×10^2	44×10^2	66×10^3	15×10^3
低温細菌数 CVT 25°C×72h	<30	57	62×10^2	25×10^2	11×10^3	22×10^3	12×10^4	74×10^3
大腸菌群	<10	<10	<10	50	15×10	17×10	10×10	25×10
酸度 %	0.13	0.13	0.14	0.14	0.14	0.15	0.16	0.14
アルコール反応	−	−	−	−	−	−	−	−
煮沸反応	−	−	−	−	−	−	−	−
風味外観	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし

10°C保存例

時間 / 項目	当初	24 時間	48 時間	72 時間	96 時間	120 時間	144 時間	168 時間
標準平板菌数 35°C×48h	<30	<30	46×10^2	44×10^5	16×10^7	20×10^3	30×10^7	25×10^7
低温細菌数 CVT 25°C×72h	<30	35×10	48×10^2	66×10^4	22×10^6	42×10^6	35×10^7	85×10^6
大腸菌群	<10	15	35	60×10	22×10^2	20×10^4	13×10^5	20×10^5
酸度 %	0.13	0.14	0.14	0.15	0.16	0.17	0.20	0.31
アルコール反応	−	−	−	−	−	+	+	卅
煮沸反応	−	−	−	−	−	+	+	卅
風味外観	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異臭味	異臭味	異臭味

検体 No. 6 の保存試験成績

4°C保存例

時間 / 項目	当初	24 時間	48 時間	72 時間	96 時間	120 時間	144 時間	168 時間
標準平板菌数 35°C×48h	<30	<30	15×10^2	84×10	13×10^2	32×10^2	16×10^3	43×10^3
低温細菌数 CVT 25°C×72h	<30	45	11×10^2	56×10^2	11×10^2	24×10^2	47×10^3	43×10^3
大腸菌群	−	−	−	<10	<10	27×10	12×10^2	90×10^2
酸度 %	0.13	0.13	0.14	0.14	0.13	0.14	0.13	0.13
アルコール反応	−	−	−	−	−	−	−	−
煮沸反応	−	−	−	−	−	−	−	−
風味外観	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし

10°C保存例

時間 / 項目	当初	24 時間	48 時間	72 時間	96 時間	120 時間	144 時間	166 時間
標準平板菌数 35°C×48h	<30	10×10	41×10^3	87×10^5	23×10^7	31×10^7	17×10^8	11×10^8
低温細菌数 CVT 25°C×72h	<30	23×10	20×10^3	45×10^5	45×10^7	85×10^7	21×10^7	30×10^7
大腸菌群	−	36	40×10^2	25×10^3	15×10^4	90×10^6	55×10^6	50×10^6
酸度 %	0.13	0.13	0.12	0.12	0.31	0.54	0.63	0.63
アルコール反応	−	−	−	−	卄	卅	卅	卅
煮沸反応	−	−	−	−	+	卅	卅	卅
風味外観	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異臭味	酸味強	酸味強	酸味強

図3　超高温処理びん装乳第2次保存試験における標準平板菌数の変化

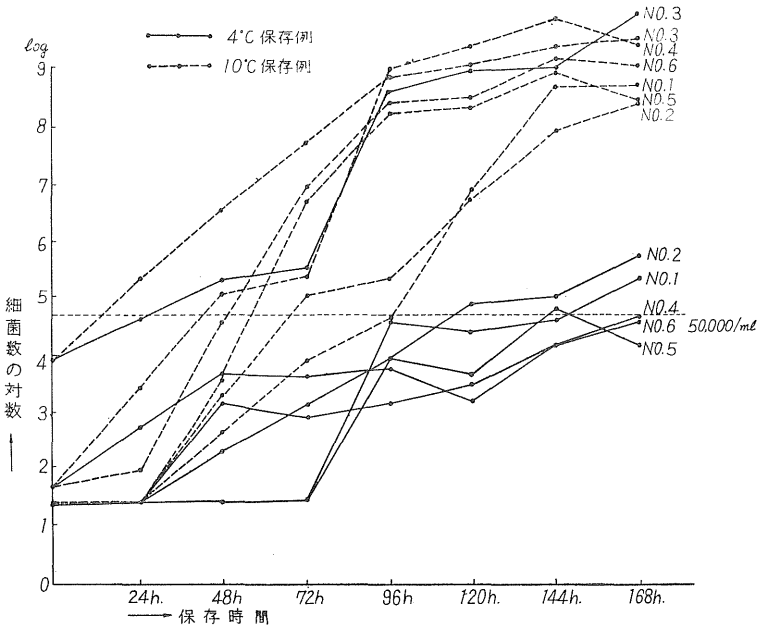
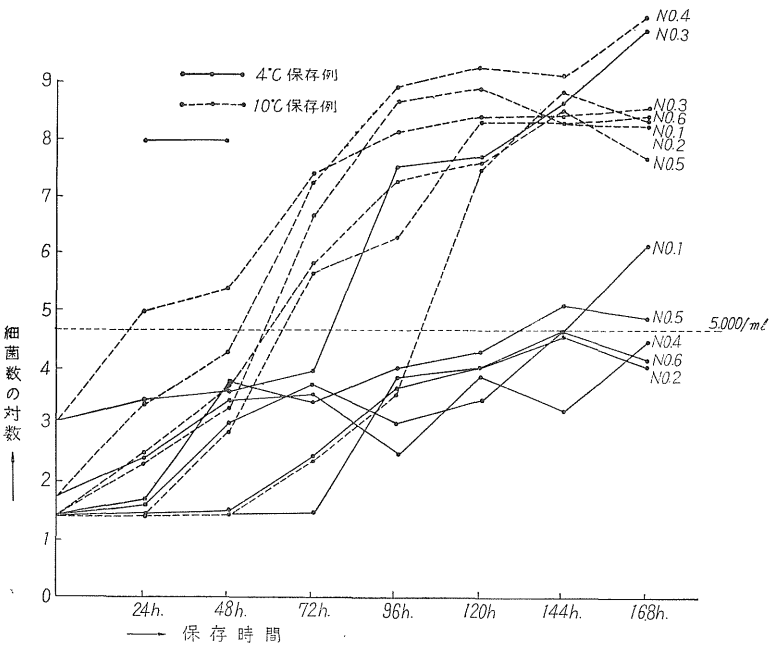


図4　超高温処理びん装乳第2次保存試験における低温細菌数の変化



生成がみられ，No. 6では4°Cの5日目（酸度は0.16％のとき）に異味を呈し，10°Cでは72時間(酸度0.15％で，アルコール，煮沸反応ともに陰性のとき）で異味を呈した。No. 2，4，5は全期間全く風味，外観ともに変化はみられなかつた。

Ⅱ　第2第次試験成績

試験の成績は表2に示すとおりである。

1）　標準平板菌数

No. 3，No 4をのぞき他の4検体は当初いずれも1 ml当り30以下であつたが，当初から1 ml当り7,000程度の菌数を示したNo. 3が48時間目に規格外となつたほかはすべて5日以上の保存性を示した。しかし，10°C保存例では2～3日で規格菌数をこえたものが多く，かなり低い保存性を示した。No. 1は10°Cでも4日目まで規格内菌数を維持し，保存性がかなり高かつた。以上第1次試験の場合と同様4°C保存の方が10°C保存の場合よりすぐれた保存性を示した。

2）　低温細菌数（C. V. T. 寒天培地25°C測定値）

低温細菌数についてもNo. 3，No. 4をのぞき，当初はいずれも1 ml当り30以下であつたが，標準平板菌数とほぼ同じオーダーで増加するものもあつたが，全般的には保存期間の前半は標準平板菌数を下廻わる値を示し，後半にいたり標準平板菌数を凌駕するのがみとめられた。4°C保存例ではNo. 3をのぞき，ほかはすべて5日以上の保存性を示し，大部分が6～7日まで規格内菌数を維持した。しかし10°C保存例ではNo. 1以外は2～3日で5万をこえ，No. 3は標準平板菌数と同様，24時間で11万の菌数を示した。これにに対してNo. 1ははるかに保存性が高く，10°Cでも4日目で規格内菌数を維持した。

以上低温細菌数についても4°Cの方が10°Cよりはるかに増殖は緩慢であり，製品の保存性も4°Cの方が高かつた。

3）　大腸菌群

No. 1，No. 2は4°C，10°C保存例とも全期間を通して大腸菌群は検出されなかつた。No. 3，No. 5は当初から陽性，No. 4は10°Cでは48時間目，4°Cでは72時間目からそれぞれ陽性に転じ，No. 6は10°Cでは24時間目，4°Cでは72時間目からそれぞれ陽性となり，いずれの場合も漸次菌数増加を示した。しかし4°C保存例にあつてはNo. 4，No. 5，No. 6のようにそれほど顕著な増殖を示さないものと，No. 3のようにかなり顕著な増殖を示すものとの2通りが観察された。10°C保存例では大腸菌群の増殖は著るしかつた。

4）　乳質の変化

酸度については4°C保存のの場合，No. 3が120時間目に0.21％を示したほかは，いずれも全期間0.16％以下のまま推移した。10°C保存の場合はNo. 3が72時間に0.19％，No. 4が0.31％といずれもかなりの酸度上昇をみせたが，No. 1，No. 2，No. 5は144時間（6日）目頃に規格の酸度をこし，4°C保存例にくらべて10°Cにおける酸度上昇は顕著であつた。アルコール反応は4°Cの場合，No. 3が120時間目に陽性を示したほかはすべて陰性，煮沸反応も同様であつた。10°Cでは，はやいもので4日目，おそくても6日目に両反応同時に陽性を示し，4°Cにくらべ保存性は低かつた。

風味，外観の変化については，4°C保存ではNo. 3が0.21％の酸度を示した120時間目に異味が感じられたほかは，全期間を通して異常はみられなかつた。10°C保存例では早いものではNo. 3のように72時間目から異常風味を呈したものもあるが，全般的には5日～6日目頃に変化を生じた。なお，大腸菌群の発育の著るしいものほど風味異常の発生時期は早かつた。No. 1とNo. 2は大腸菌群が全期間検出されず，いわゆる低温細菌のみの発育した例であるが，この2例とも10°C保存例では7日目に特異的な苦味が感じられた。

考　　察

第1次および第2次のU. H. T. 処理びん装乳の保存試験結果から知り得た事実としていくつかの点があげられる。

標準平板菌数と25°Cで測定したグラム陰性細菌を主体とする低温細菌数の動態を比較してみると，全般的にみてあまり両者間に大きな差異がみられず，両測定値ともほぼ似かよつた値を示した。このことは主要汚染菌叢がグラム陰性細菌によつて構成され，かつ，35°C付近に発育上限を有し，かなり低温でも発育可能な菌群，すなわち低温性中温細菌（psychrotrophic mesophilics)[8] によつて占められていることを示唆するもので，これが乳，乳製品の分野で従来好冷細菌と称されていたもの，すなわち今日の低温細菌の実態であろうと思われる。

また以上にのべた汚染菌叢ならびにその発育の状況からみて，牛乳の保存条件としては4°Cの方があきらかに10°Cよりも優位にあること，10°Cという温度は低温細菌の発育に好適とはいえないにしても，彼らの発育増殖に十分な温度であり，牛乳の保存温度としては低温細菌の存在する限り，不適当な条件とみるべき

である。省令に定められる10°C 以下という保存基準は今後牛乳の生産，消費の形態が従来の rural type から industrial type に移行する傾向が強くなることを予期すれば，最早や製品の品質を長期間保持する上で実情にそぐわない保存基準であり，再検討すべき問題であろう。

今回の調査結果をもとに，仮りに法定規格菌数5万/ml の線をこえた時点をもつて製品の寿命とみて製品の保存性を考えてみると，10°C ではほとんどの例が2～3日程度で1ml 当り5万をこえることが示されている。4°Cに保存した場合は10°C よりもはるかに優れてはいるが，それでも矢張り入手後4～5日あたりが寿命のように思われた。もちろん現在市販の製品の中にも No. 2，No. 3 の例のように10°Cでも4°Cでも7日程度であれば全く変化のないものもみられる。それらの製品は細菌発育阻止物質は存在しなかつたので，2次汚染防止にかなりの努力を払つていることが推測される。このことはまた現行処理の中でも2次汚染を防止でき，保存性のかなり高い製品の生産が熱意さえあれば可能なことをも示唆しているように思われる。しかしこれらは別として一般にはそれほど完全を期待できないのが実情である。したがつて工場でん詰した時点から起算すると，その後販売店を経由し，さらに消費者の手に渡り，口に入るまでの間，コールドチェーン（少なくとも5°C以下）が完全に途切れずに持続するとすれば，7日程度が保存性の限度であり，もし10°Cで保持されたとすれば5日位と推定される。農工大小川[9] らの最近のびん装乳の保存性観察結果をみても，同様な傾向にあることがうかがわれる。それによると5°C と10°Cに保存した製品につき経時的に細菌数と細菌叢の動きについて検討したところ，5°C保存の場合，低温細菌は4日目にすでに増殖を見せ，いずれも Pseudomonas だけが動いており，10°C に保存したものでは2日でそれぞれ法定規格の5万に達しており，われわれの知見と一致している。しかしここで興味のあることは保持式殺菌乳の場合には，10°C保存では低温細菌の増殖がおそく，7日後も 10^3 台であつたが，中温細菌は3日後に5万台に達しており，この傾向は5°C保存でも同様で，中温細菌群の増殖の方が低温細菌群よりはやく，U. H. T. 処理乳と逆の関係になつていることである。しかし小川も述べているように，これらの菌数は流通，保存時の温度上昇により変化するものと考えられる。また小川は低温細菌，中温細菌群ともその増殖は10°C で著しくはやまることを報告している。

一般に食品の低温での保存性を示す方法として許容温度時間（Time Temperature Torelance＝T. T. T.）で表わすことになつている。つまり何度に保存すれば何日もつかということで，その食品の時間と温度に対する品質耐性ということになる。殺菌乳の T. T. T. については現在のところ確定的なものは存在しない。表3は Ollson[10] らの観察した高温短時間殺菌（H. T. S. T. 殺菌）均質牛乳の7.2°Cに貯蔵した場合の細菌数と風味変化を示す成績である。この成績は牛乳の品質を細菌試験と官能試験で判定するものとして行なつた成績であるが，牛乳，特に H. T. S. T. 殺菌乳における T. T. T. の概念をうる上に示唆を与える一例とみてよいであろう。われわれが今回調査して得た結果だけを基礎に，現在の U. H. T. 処理びん装乳の T. T. T. を決定することはなお検討すべき点がのこされているので差しひかえるべきではあるが，一応法定規格菌数5万をこえる点を保存性，つまり寿命とすれば，販売店から消費者の口にはいるまでの U. H. T. 処理びん装乳の T. T. T. は10°Cで2日位，4°C で4～5日位と考えても大きな間違いではないと思われる。しかし先にも触れたように，牛乳の T. T. T. は処理場での貯蔵温度管理，輸送条件，販売店での温度管理状況などによりかなり左右され変化するものとみなければならない。しかし最近われわれが調査したところでは，少なくとも東京都内ならびに近郊所在のミルクプラントにおける製品の保存管理状況はかなり良好で，平均4～5°C，低くて2°C，高いもので7～8°C付近に保存されているし，輸送面でもかなりの低温管理がなされている。したがつて今後は処理場以降の流通過程，特に販売店における製品管理に指導監視の重点をおく必要があると考える。この点，コールド・チェーンの確立，普及を考える際，生乳の衛生的生産品質保存の面とあわせて十分考慮すべき問題である。

次に今回の調査で再確認し得た U. H. T. 処理びん装乳の低温貯蔵下における乳質変化の特徴として，細菌数はかなりの量に増殖しておりながら滴定酸度の上昇が従来の殺菌乳のように顕著でなく，またアルコール反応，煮沸反応が酸度と並行せず，0.17%という低い酸度の場合にも上記両反応が陽性を示す例が多いという点があげられる。この現象は低温保存中に乳糖分解性のない低温細菌（主として Pseudomonas, Achromobacter など）の発育増殖にともなう乳蛋白の変性，分解によつてコロイドとしての安定性が失なわれ，アルコール，熱に対して不安定になることが主たるメカニズムと考えられる。なおほとんどの例が最終

Table 3 Bacterial and flavor changes during storage of homogenized milk from various plants*

Plant	No. days storage	Standard 32°C	plate count 35°C	Coliform count	Psychrophilic[a] count	Flavor score and comments[b]
C	0	2,900	4,400	0	0	38sl fe
	3	2,000	3,400	0	23	38sl fe
	4	2,700	6,300	0	1,200	38sl fe
	5	4,500	6,500	11	3,300	38sl fe
	7	24,000	32,000	74	680,000	36sl uc
D	0	7,600	5,900	0	4	38sl uc
	3	790	660	0	530	38sl uc
	4	59,000	61,000	1	19,000	36sl uc
	5	470,000	320,000	8	390,000	36sl uc
	7	580,000	420,000	1,400	78,000,000	0uc
E	0	8,200	6,800	30	9,000	36sl uc
	3	160,000	160,000	200	900,000	36sl uc
	4	1,200,000	1,400,000	460	1,100,000	32sl uc
	5	2,500,000	2,800,000	2,900	37,000,000	0uc
	7	44,000,000	26,000,000	4,600,000	130,000,000	0uc
F	0	3,500	3,600	0	1	38sl fe
	3	3,300	3,500	0	–	38sl fe
	4	60,000	44,000	0	5,200	38sl fe
	5	87,000	89,000	0	280,000	38sl fe
	7	240,000	430,000	0	26,000,000	37sl fe
G	0	24,000	21,000	0	0	38sl fe
	3	17,000	17,000	0	–	38sl fe
	4	18,000	16,000	1	6	35sl uc
	5	31,000	22,000	0	2,800	35sl uc
	7	480,000	390,000	0	7,100,000	0uc

*Storage was at 45°F(7.2°C).
[a]Incubation of plates at 45°F. for 10 days.
[b]sl=slight ; fe=feed ; uc=unclean. (Ollson etal., J. Milk & Food Techn., 16.213, 1953 より転載)

的にはかなりの酸度上昇を示すが，これは処理後2次汚染した中温性細菌(グラム陰性，陽性とも)のなかに10°C以下でも徐々に発育増殖しうるものがあつて，これらが乳糖を分解する結果であると思われる。今回の調査成績にもみられるとおり，大腸菌群が存在する場合には，これらが乳糖を分解するところから当然酸度上昇を示すことになる。また過去の調査でMicroccusなどのグラム陽性菌が低温下でも徐々にではあるが発育増殖する例を経験しているので，これらによる酸生成もある筈である。第1次試験のNo. 6および第2次試験のNo. 3，No. 4，No. 6など大腸菌群の発育増殖による酸度上昇をみた顕著な例である。なおU. H. T. 処理びん装乳は低温に長期保存してある場合，大腸菌群など酸生成菌の存在しない例では外観上全くといつていい位変化のないのが特徴である。風味異常も冷却が十分であると臭気の異常については開栓直後には感じられない場合が多い。しかしある程度室温に放置すると乳温上昇につれて臭気の発生が顕著になり，特異な不潔臭を容易に感じとることができる。しかし変質の有無を知るためには味覚にうつたえ，苦味，渋味などの有無を見るのが確実な方法であり，早道であろう。以上が低温細菌の発育増殖により変質するU. H. T. 処理びん装乳の特性ではあるが，厳密にいえば汚染菌叢，保存温度による菌叢の変化によりかなり変質と一口にいつても複雑な様相を呈するものであることを考慮しなければならない。

牛乳中でどの程度低温細菌が増殖すると風味その他の変化をみるようになるかという点については，Hammer & Hix[11] によると菌の種類によつて異なり，1 ml 当り200～300万 (2.0×10^6～3.0×10^6) ないし数億と，かなり広範囲だとのべている。しかしこの場合は総生菌数を観察したもので，低温細菌がどの程度含まれていたかについては触れていない。Punch[12] らは H. T. S. T. 殺菌乳を用い，低温細菌の純培養54株および低温発育性の酵母3株をそれぞれ別個に接種して風味なり質的変化がみられるような時点の細菌数のレベルを観察した。その結果，菌数レベルは細菌の種類によりかなり相違し，一般的に変化がみられた時点の菌数は1 ml 当り500万から2,000万 (5.0×10^6～2.0×10^7)の範囲であつたが，Alcaligencs Viscolactis の場合は，1 ml 当り500万以下で風味の変化なしに粘質化を生じたと報じている。また A. aerogenes はいずれも 1 ml 当り1億以下の菌数で明白な不潔臭あるいは苦味を生じたが，他方 Ps. fluorescens では約27%の株が 1 ml 当り1億をこえないと風味の変化をみなかつたとのべている。Thomas[13] は乳質変化の速さは最初の汚染菌数よりも菌の種類と貯蔵温度に影響されるところが大きいとのべている。このように風味その他乳質変化をみるにいたる菌数レベルは一定ではないが，われわれが今回調査した範囲では 1 ml 当りの低温細菌数が10^7～10^8 に達した時点で風味異常がみとめられた。清水[14] らは単独菌の汚染した場合よりも，数種混合汚染の場合の方が乳質変化が一般的に早いとのべているが，このことについて当所梅木[15] の実験した結果からも首肯できる。すなわち低温保存乳から分離した Ps. fluorescens を滅菌乳に 1 ml 当り当初の菌数が30以下になるよう接種し，6～7°Cに保存し，24時間ごとに発育状況を観察し，異臭味の発生する時期と菌数の関係をみた結果，216時間（9日）目に始めて苦味を呈するにいたり，その時点の Ps. fluorescens の菌数は 66×10^7 であつた。なお Ps. fluorescens 3756 株では10日を経過しても異臭味の発生はみられず，その時点における菌数は1 m 当り 42×10^7であつた。このように同一種に属する細菌の間でもかなりの差のあることがうかがえる。なお清水[14] らは大腸菌群が共存する場合，酸度上昇，風味変化等の乳質変化が顕著であるとのべているのが，今回のわれわれの調査でも全く同様な結果を得ている。またすでに報告しているようにわわれわれは Foster[15] らがすでに指摘した低温型大腸菌群の存在を確認し[16]，また36～37°C で分離した大腸菌群の中にも 10°C 以下の低温で十分発育増殖しうるものが存在する事実[17] を知つている。

中西らも市販牛乳の保存試験で，比較的短時間で大腸菌群が発育増殖する事実を報告している。したがつて大腸菌群は汚染指標細菌としての意義を有するとともに，低温細菌の一部として低温保存性を左右する因子として重視すべき存在であり，こうした意味合からも大腸菌群の汚染防止には多大の関心を払うべきである。

要　　約

販売店から採取した都内6社の U. H. T. 処理びん装乳(各社2例ずつ)12例を4°Cならびに 10°C に5～7日間保存し，経時的に標準平板菌数および低温細菌数の測定，大腸菌群の検出定量ならびに細菌の発育増殖にともなう乳質変化の観察を試みた結果，次のような成績を得た。

1) 12例中9例(75%)に低温細菌汚染をみとめ，それらが 10°C ではもちろん，4°Cでも活発に発育増殖する事実をみとめた。

2) 12例中6例（50%）に大腸菌群汚染がみとめられ，10°C，4°C の低温でもかなり活発に発育増殖する事実をみとめた。

3) 今回の調査では全般的に C. V. T. 寒天培地による低温細菌数と標準平板菌数とがほぼ似かよつた数値を示し，発育曲線もほぼ両者一致を示した。このことは主要汚染菌叢が多種類の菌種から構成されていたものでなく，35°C を発育上限とし，低温でも発育するかなり発育温度域の幅広いグラム陰性細菌によつて占められていたことを示唆している。

4) 低温細菌の増殖と酸度との間には，従来の殺菌乳でみるような相関性がなく，また酸度とアルコール反応，煮沸反応との間の相関性も低い。このことは低温保存した U. H. T. 処理乳の鮮度を評価する上で酸度測定が必ずしも尺度とならないことを示すものである。

5) 大腸菌群の汚染増殖をみた例では酸上昇，風味変化が，大腸菌群汚染のない例にくらべて顕著であり乳質低下が比較的早期にあらわれる傾向を示した。

6) 4°C，10°C ともに風味変化を生ずる時点は全例とも菌数レベルが1 ml当り10^7～10^8付近に達した時点であつた。

7) 16例の保存試験結果にもとづいて U. H. T. 処理びん装乳の許容温度時間（T. T. T.）を求めると，販売店から消費者の口に入るまでの T. T. T. は，10°Cで2日程度，4°Cでは4～5日程度と推定される。さらにびん詰以降上記の温度にそれぞれ保持されると

仮定した場合の T. T. T. を求めると，プラントから販売店までの流通期間が大体3日として上記の T. T. T. にこれを加算することになるので，10°Cの場合は5日，4°Cでは7～8日ということになる。

8) 乳等省令に保存基準の上限として示されて 10°Cという保存温度は，低温細菌の汚染増殖の事実と低温下における長期保存を考慮すると，牛乳の保存温度として実情にそぐわない極めて不適当な温度である。今後できるならば4°C以下を牛乳の保存の基準温度として採用すべきである。

文　　献

1) Candy, M. R., et al. : J. Dairy Res., 23, 329 (1956)
2) Williams, D. J. : Aust. J. Dairy Techn., 13, 3 (1958)
3) Franklin, J. G., et al. : J. Soc. Dairy Techn., 13(1), 46 (1962)
4) 中西武夫，山内隆陽：酪農科学の研究，8(4) 42～46 (1959)
5) 小笠勝啓，石井和夫ほか：Proc. Xvth Int. Daing Congr., 1, 405 (1959)
6) 春田三佐夫，北浦弥太郎ほか：都立衛生研究所年報，140—145 (1961)
7) Olson, H. C. : J. Dairy Sci., 46, 362 (1963)
8) 辺野喜正夫，春田三佐夫ほか：都立衛生研究所年報19，189—190 (1967)
9) 小川益男ほか：日本公衆衛生雑誌，15, 5 (1968)
10) Ollson. J. C., et al. : J. Milk & Food Techn., 16, 213 (1953)
11) Hammer, B. W. & Hix, R. H. : Iowa Agr. Expt. Sta., Research Bull., 29 (1961)
12) Punch, J. D., et al. : J. Dairy Sci., 48, 1179～1183 (1965)
13) Thomas, S. R. : Milchwissenschaft. 21, 270～275 (1966)
14) 清水苗一：乳技協資料，18(5), 20 (1968)
15) 梅木富士郎ほか：未発表
16) 春田三佐夫ほか：都立衛生研究所年報18，201 (1966)
17) 梅木富士郎ほか：昭和41年度東京獣医畜産学会講演，41年11月 (1966)

えびの鮮度について(抄録)

大石純一* 渡辺 学*
梅木富士郎* 林田志信*
春田三佐夫*

えびは比較的鮮度が良好であると思われるものでも，他の動物性食品であれば，すでに腐敗値とみなされるアンモニア体窒素およびトリメチルアミン体窒素量が検出される。そこで，このような現象の原因を解明する目的で，死直後より初期腐敗にいたる各過程でのアンモニア体窒素およびトリメチルアミン体窒素，pH，生菌数および菌叢の変化について検討した。

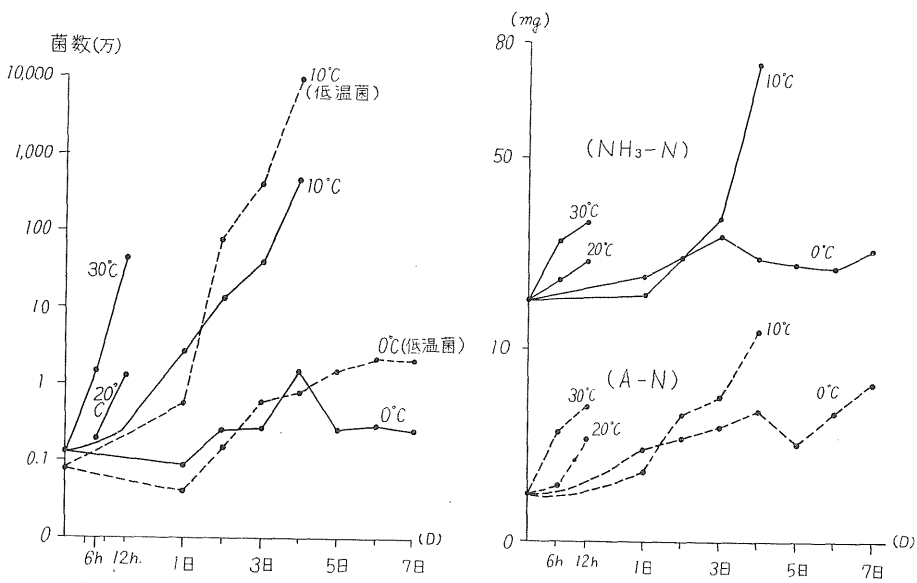
その結果，えびは死直後でもすでにアンモニア体窒素が約8～16mg/100g，トリメチルアミン体窒素が0.28～2.25mg/100gが検出され，生理的にかなり多量のアンモニアおよびトリメチルアミンオキサイドを含有する事実をみとめた。また一般生菌数は約1,000～10,000個が検出され，これらの主要菌叢は，酵母Micrococcus，腸内細菌，Pseudomonas，Lactobacillusおよび主として消化管に由来するものと推定される同定不能の細菌で形成されていた。

これらのえびは時間の経過につれ，急激にアンモニア体窒素およびトリメチルアミン体窒素が増加した。この原因は主として消化管由来の海洋性細菌が筋肉に含まれている多量の尿素を分解したためであろうと推察される。急激に増加する時期は20°C以上の保存では死後6時間以後，10°C保存では4日以後である。アンモニア体窒素は約50mgアミン体窒素は約10mgを越える頃より更に急激に発生し，なお，アンモニア体窒素が50mgを越えると，pHも8.0とアルカリ性になり，官能的にも異臭が著明になつた。食品衛生学的にえびの鮮度基準を定めるとすれば，この時点が問題になると思われる。

えびの保存温度による菌叢の変化についてみると，50°C保存の場合は，24時間を経過した頃には，Vibrio および Alcaligenes 等の出現が著明となつた。このえびを低温で分離培養すると腸内細菌および Lactobacllus に属するものが検出された。また食塩添加培地を用いた観察例では死直後と同様に Vibrio が多数検出された。

20°C保存では24時間後には，Vibrio が優勢であつ

市販冷凍びんの保存試験成績



* 東京都立衛生研究所 乳肉衛生部

生鮮えびの各種保存における主要菌叢

検体保存		細菌検出方法		主要菌叢
温度	時間	培地	温度	
対照(保存前)	0時間	S.P.	35°C	酵母, Micrococcus, 腸内細菌
			10°C	その他
		NaCl. 添加 S.P.		Vibrio,
30°C 保存	24時間	S.P.	35°C	酵母, Vibrio, Alcalligenes, 腸内細菌
			10°C	腸内細菌, Lactobacillus, その他
		NaCl. 添加 S.P.		Vibrio,
20°C 保存	24時間	S.P.	35°C	Vibiro,
			10°C	Achromobacter, 不明多し,
		NaCl. 添加 S.P.		Lactobacillus,
	48時間	S.P.	35°C	腸内細菌, Alcalligenes, Lactobacillus, その他
			10°C	Alcalligenes,
		NaCl. 添加 S.P.		Vibrio, Flavobacterium, Achromobacter,
10°C 保存	4 日	S.P.	35°C	Vibrio, Achromobacter, Corynebacterium,
			10°C	Micrococcus, Corynebacterium, その他
		NaCl, 添加 S.P.		Achromobacter, その他
	8 日	S.P.	35°C	腸内細菌, Aeromonas, Corynebacterium,
			10°C	Morxella, その他
		NaCl. 添加 S.P.		Achromobacter, その他
0°C 保存	4 日	S.P.	35°C	酵母, Coyrnebacterium, Flavobacterium, Micrococcus,
			10°C	Flavobacterium, Micrococcus, Moraxella
		NaCl. 添加 S.P.		Alcalligenes, Achromabacter, その他
	8 日	S.P.	35°C	Bacillus, Moraxella, Alcalligenes,
			10°C	Micrococcus, Alcalligenes, Bacillus
		NaCl. 添加 S.P.		Moraxella, Corynebacterium, その他

* S. P……標準寒天培地

たが，48時間を経過する頃には腸内細菌および Alcaligenes 等の出現が著明になつた。低温細菌に属するものは30°C保存と異なり，保存24時間頃は Achromobacter および同定不能の海洋細菌と思われる菌が優勢を示したが，48時間を経過する頃には菌叢が変化し，Alcaligenes の出現が著明になつた。

10°C保存では，保存4日目頃にはやはり Vibrio が優勢を示したが，Achromobacter 等の低温に強い菌の出現も見られた。保存8日目頃には，腸内細菌および Aeromonas 等が優勢になつた。食塩添加培地を用いた観察例では全保存期間を通じて Achromobacter および同定不能の海洋細菌が優勢であつた。

0°C保存では，当初は細菌数および菌叢ともに変化がなかつたが，8日目にいたり，Bacillus 等が優勢を示した。低温細菌に属するものは死直後は海洋細菌と思われるものが優勢であつたが，8日目頃から Micrococcus および Alcaligenes 等があらわれ菌叢の交代がみられた。食塩添加培地を用いた観察例では死直後は Vibri oが優勢であつたが，8日目から Moraxella,, Corynebacterium および同定不能の海洋細菌が出現した。

発熱性物質に関する研究 I

(化学的物質による体温変動)

下平彰男* 田村健夫*

緒言

治療に用いられる注射剤がしばしば発熱，悪寒，せんりつなどの不快な症状を起すことは古くから知られており，この原因は注射剤製造工程中に空中雑菌が混入し，最終的には滅菌されるが，極めて僅かな（μg単位）微生物の代謝産物が不快な発熱作用を起すことに起因している。この代謝産物は今世紀の始め頃から Pyrogen と称され，昨今では Lipopolisaccharide(以下 LPS）であることが解明されている[1)2)3)]。そして LPS の発熱作用を完全になくすには，250°C 30分間の加熱が必要とされている[1)]。また生物の発熱機構に関する研究がうさぎの白血球から分離した蛋白質の発熱性物質を用いて行なわれている[4)]。発熱現象は生体内の体温調節機構すなわち視床下部中の神経ホルモン Catecholamine の消長により発熱を起こすようである[5)6)]。

さて，発熱性物質はこれら LPS あるいは白血球性 Pyrogen の他に Tetrahydronaphthylamine, 2-4dinitrophenol などの化学的物質も古くから知られており，筆者らは種々の化学的物質をウサギの静脈内に注射し，体温を測定した結果，その体温変動のパターンについて若干の知見を得たので報告する。

実験法

実験動物および試料：実験動物は市販の実験用白うさぎ（体重 1.8～2 kg, 雄）を予め10日間前後，固型飼料と水によつて飼育し，毎朝体重を記録し体重増加を示しているものを選定した。体温測定は首架式固定によつて12点式自記サーミスター（飯尾電機—EP-670型）を用い，直腸内 75mm までそう入し連続的に体温を記録した。注射器具，フラスコ類は予め250°Cで30分間加熱し，試料は滅菌した時計皿あるいは硫酸紙上で秤量し，速やかに Pyrogeu free の再蒸留水に溶解し，123°C15分間高圧蒸気滅菌して検液とした。（但し分解し易いものは滅菌しなかつた）

実験1：アミン類を生物に投与して発熱を起すことは知られているが，いずれも脳内注射を行なつている。筆者らは微量のアミン類をそれぞれ3匹のウサギの静脈内に注射し，注射後3時間まで連続的に体温を測定し Table. 1 の結果を得た。

Table. 1

Amines	Dose	Pyrogencity
Trimethylamine	5mg/kg	Negative
Trimethylamine	10mg/kg	〃
m-phenylendiamine	0.1ml/kg	〃
o-phenylendiamine	0.1ml/kg	〃
Dimethylamine	7.5mg/kg	〃
Ethylamine	10mg/kg	〃
Tetrahydronaphthylamine*		Positive

*1 g を 100ml の蒸溜水とふりまぜたのち油層を除いて水層を 1 ml/kg 注射した

実験2：3種類の糖アルコール，Xylit, Sorbit, および mannit を再蒸留水に溶解し，滅菌後 10ml/kg ずつウサギの耳静脈に注射し Fig. 1 の結果を得た。

実験3：次にエフェドリンによる体温の変化を測定した。すなわち Ethylephedrine hydrochloride および Methylephedrine hydrochloride を再蒸留水に溶解し，それぞれ5，10, 20mg/kg の3段階で静脈注射を行ない Fig. 2 および Fig. 3 の結果を得た。

実験4：既に知られている細菌性発熱性物質として赤痢菌亜系の内毒素K 3 No. 153を用い，0.03mcg/kg をそれぞれ3匹のウサギの静脈に注射し，平均値を求め，Fig. 2 の Ethylepbedrine hydrochloride の平均値と比較し，Fig. 4 の結果を得た。

考察および結論

アミン類の静脈注射は予試験的に行なつたもので，Tetrahydronaphthylamine の発熱性については既に知られている[6)]。糖アルコールの実験では炭素原子6個の Sorlit, maunit に比較して炭素原子5個の Xylit のみに体温下降作用が認められ，化学構造と薬理作用との関係について今後の研究が必要と思われた。体温下降作用についてはこの他に筆者らは Aminopyrine

* 東京都立衛生研究所 医薬品部

Fig. 1 a Body Temperature of Rabbits injected Xylit

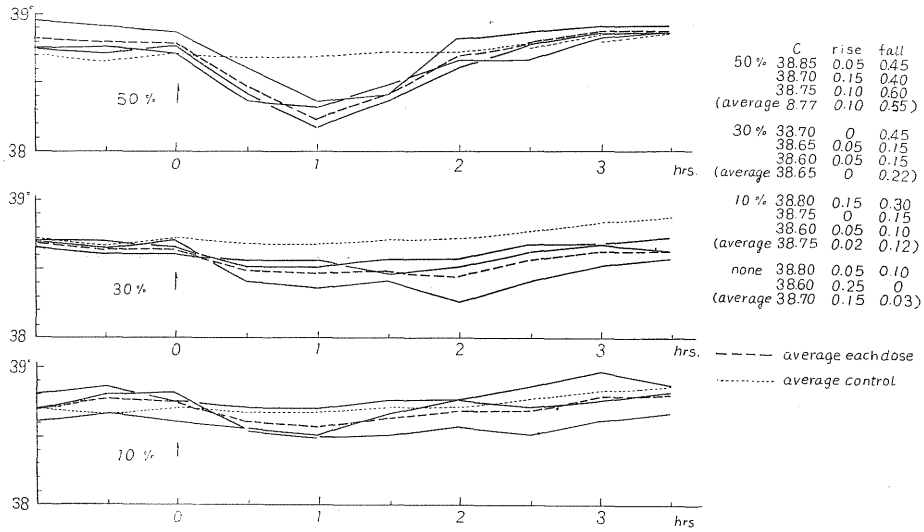


Fig. 1 b Body Temperature of Rabbits injected Sorbit

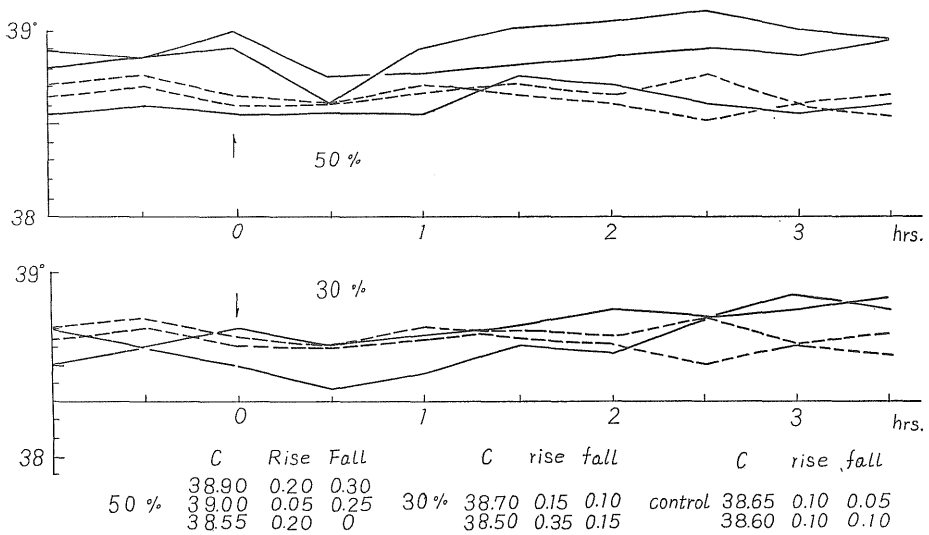


Fig. 1 c Body Temperature of Rabbits injected Mannit 20%

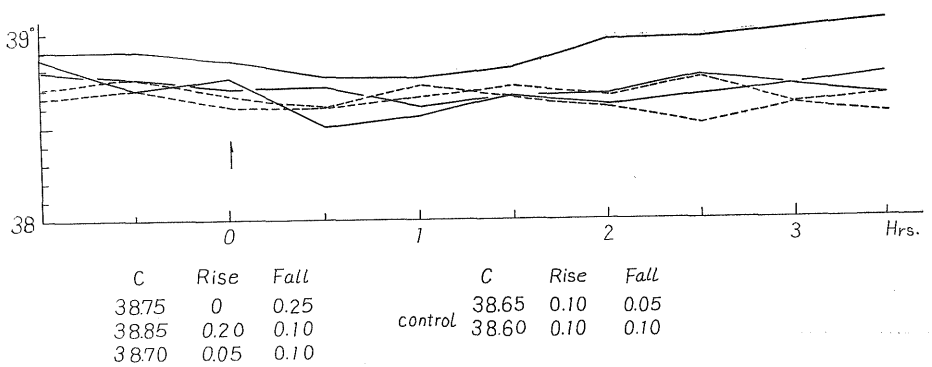


Fig. 2 Body Temperature of Rabbits injected Ethylephedrine

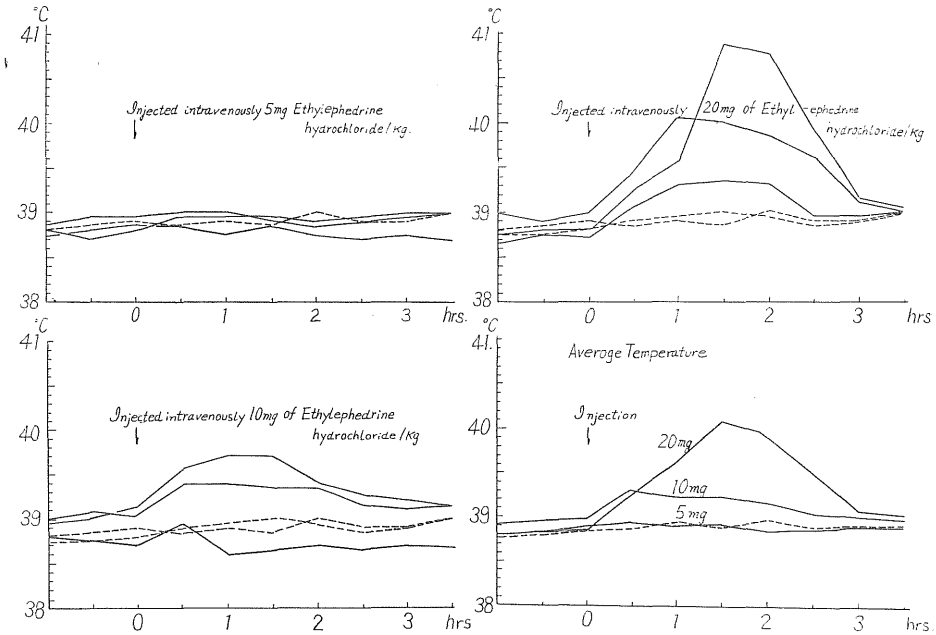


Fig. 3 Body Temperature of Rabbits injected Methylephedrine

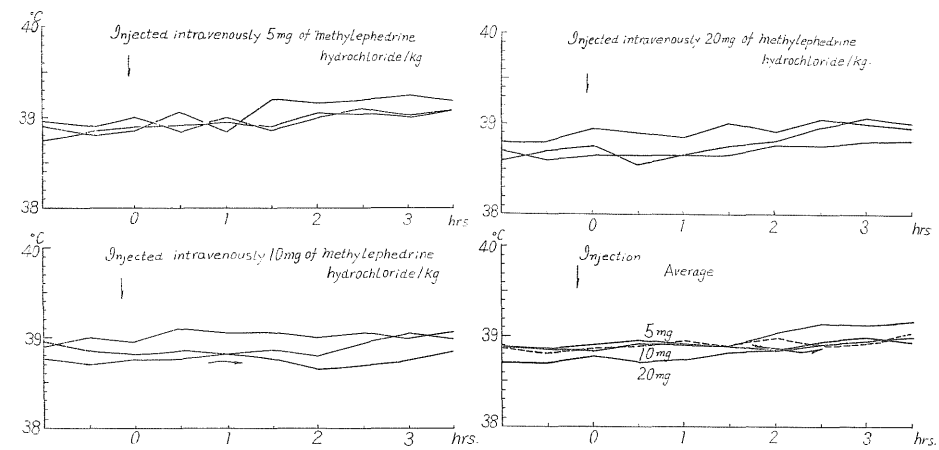
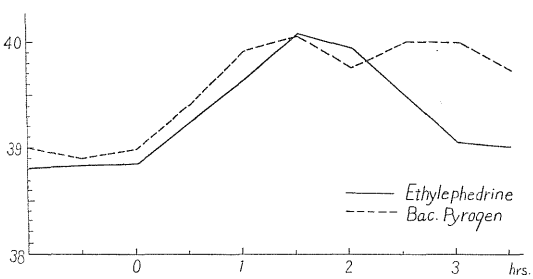


Fig. 4 Curves of Fever caused by Administration of Ethylephedrine and Bacterial Pyrogen



を 20mg/kg ずつ5匹のウサギ（正常体温が高体温のものから低い方へ段階的に30数匹の中から5匹を選定）に静脈注射した結果，正常体温が39.5°～39.8°Cを示しているものは体温下降が認められたが，39.0°C附近の正常値を示すものは，体温下降が全く見られなかつた。中枢神経系の薬品中麻薬については著明な体温下降作用がある[8]。次にエフェドリンの静脈注射による体温変動については，Ethylephedrine, Methylephedrine それぞれ5社の製品について同様な試験を繰返し同様な結果を得ている。また体温上昇を示す薬品として知られている Dinitropheuol を 0.5g/kg 経

口投与しても体温上昇が認められなかつた。

近時，注射剤の種類が著るしく増加し，Pyrogeu Test を行なう際，投与法や投与量などについては公定書および文献等には見あたらない場合が多い。従来，発熱性物質として細菌の代謝産物が研究されてきたが，発熱性物質としては，この他に化学物質があり，さらに広く体温変動作用を与える化学物質に関する研究の必要があり，またさらに種々の薬品が注射薬に使用されるため，それら注射液中の主薬が体温上昇作用あるいは下降作用のある場合，発熱性物質試験法の検討が必要と考えられる。筆者らは今回，予報として現象報告にとどめ，ひきつづきこの問題の研究を行なつている。

文　　献

1) Berger, A. & Elenbogen, G. D.,：American Chemical Society 16, 168～197 (1956)
2) 横井泰生：生体の科学 5，No. 1 別冊 p. 1 ～ 7
3) 金田吉男ら：国立衛生試験所報告85, 43～47 (1967)
4) Wood, W. B., et al.：J. Exptl. Med. 127, 341～357 (1968)
5) 服部圭佑ら：第29回日本薬理学会，近畿部会講演 (1966. 6)
6) 高木博司：薬局20(1), 37 (1969)
7) 鈴木周一：日本薬剤師会誌 2～4 (1955)
8) Foster, R. S., et al.：J. Pharmc. & Exptl. Ther. 157, 185～195 (1969)

生薬の試験法に関する研究（I）

蒼朮および白朮の簡易識別法について

西川洋一*

蒼朮および白朮は一般に朮と称し，漢方臨床[1]では苓桂朮甘湯，五苓散，当帰芍薬散，平胃散，分消湯などの処方に芳香性健胃または利尿剤として配合されている。

朮類は基原植物によつて多数の品種があり，現在の市場品は，日本に自生するオケラ *Atractylodes japonica* Koidzumi を基原とするもの以外はすべて輸入品である。

輸入品は中国および北鮮に分布する *Atractylodes* 層植物を基原とするもので，高橋[2]によれば，現代中国産朮の代表的なものは，日本市場で古立蒼朮またはヒネソウで知られている茅朮（南蒼朮）（ホソバオケラ *A. lancea*）で，そのほか津蒼朮（北蒼朮）（シナオケラ *A. lancea* var. *chinensis*）（中国），白朮（オオバナオケラ *A. ovata*）（中国）および蒼朮（チョウセンオケラ *A. lancea* var. *simplicifolia*）（中国，北鮮）などがある。

日本ではオケラ *A. japonica* の肥大した植茎のコルク層を去つて，乾燥したものを白朮とし，細いセンイ性の根茎をそのまま乾燥したものを蒼朮と呼んでいた。

日本薬局方は第6改正で，*A. japonica* の根茎を乾燥し，茎および根をできるだけ除いたものを，オケラ（蒼朮）としてはじめて収載したが，第7改正では表1の如く，基原植物によつてソウジュツ（蒼朮）とビャクジュツ（白朮）を分けて収載し，特にビャクジュツは国産のものをワビャクジュツ，中国産のものをカラビャクジュツとしている。

このように市場では呼称がかなり複雑である。しかし，漢方臨床上[3]では蒼朮を利水（水分代謝の失調）および発汗に，白朮を健胃および止汗に，はつきりと区別して使用しているので，その取扱いは慎重を期さなければならない。

市場の朮類は切断して取扱れることが多い。切断品における外観上の特徴的な識別は，調製法などによつて判然としないが，*A. lancea* を基原とする蒼朮は，その切片を長く貯蔵するとき，しばしば白色綿状晶（β-eudesmol と hinesol の分子化合物）を析出するので，他と識別可能である。

日本薬局方は，白朮に確認試験法を規定し，蒼朮には純度試験として，この反応を応用して白朮の混在をさけている。

この試験は atractylone の呈色反応である。すなわち，白朮の精油中には atractylone を多量に含むので呈色の持続時間が長く，*A. lancea* および *A. lancea* var. *chinensis* を基原とする蒼朮は，atractyloneを含むことがあつてもきわめて微量であるから，その反応は現われても短時間で消失する。また *A. lancea* var. *simplicifolia* を基原とする蒼朮は全く atractylone を含まないので，この反応は認められない。

表1　第7改正日本薬局方ソウジュツおよびビャクジュツの基原植物

局方名	別名または市場名	基原植物	
ソウジュツ（蒼朮）	茅朮，南蒼朮（古立蒼朮）	ホソバオケラ	*Atractylodes lancea* De Candolle
	津蒼朮，北蒼朮	シナオケラ	*A. lancea* var. *chinensis* Kitamura
	蒼朮	ナンマンオケラ	*A. lancea* var. *simplicifolia* Kitamura
ビャクジュツ（白朮）	ワビャクジュツ（和白朮）	オケラ	*A. japonica* Koidzumi
	カラビャクジュツ（唐白朮）	オオバナオケラ	*A. ovata* A. P. De Candolle

* 東京都立衛生研究所　医薬品部

表2　試料の外観および atractylone 反応の呈色過程

試料	外観		白色綿状晶	atractylone 反色の呈色過程				
	外面	断面		試液層（下層）呈色	振り混ぜ	5～10分後の呈色	30分後の呈色	60分後の呈色
白朮（基準品）	淡灰黄	淡黄白	—	赤紅	退色	紅	紅	帯紫紅
蒼朮（基準品）	暗褐	淡褐	認める	紅	〃	—	—	—
市場品 No. 1	〃	〃	〃	〃	〃	—	—	—
〃 〃 3	〃	〃	—	淡紅	〃	—	—	—
〃 〃 6	淡黄褐	淡黄白	—	赤紅	〃	紅	紅	帯紫紅
〃 〃 7	暗褐	淡褐	認める	紅	〃	—	—	—
〃 〃 9	灰褐	〃	—	淡紅	〃	—	—	—
〃 〃 10	暗褐	淡黄白	—	赤紅	〃	紅	紅	帯紫紅
〃 〃 12	暗黄褐	淡褐	認める	淡紅	〃	—	—	—
〃 〃 13	暗褐	〃	—	—	〃	—	—	—

著者は最近，市場の朮類切断品調査に際しこの反応を試みた。その結果，呈色反応の過程で，日本薬局方の記載と若干の差があることを認めた。日本薬局方によれば，試料の温浸ろ液にバニリン・塩酸試液を加えて振り混ぜるとき，液は直ちに紅色を呈し，その色は10分間以上持続する，としてあるが，著者の実験では，注意して試液を加えると，下層の試液は赤紅色を呈するが，振り混ぜると直ちに退色し，この液を放置するとき，再び呈色し長時間持続した。

そこで，総体的に成分を簡単に比較して朮類の簡易識別法とするために，薄層クロマトグラフイーを行なつたところ，好結果を得たので報告する。

実験結果

1.　日本薬局方ビャクジュツ確認試験法の追試。

前述の通り，呈色過程に差が認められるので，段階的に観察した。

試料液

日本薬局方記載の方法によつて調製した。

呈色過程

試料液2ml を小試験管にとり，バニリン・塩酸試液 0.5ml を注意して試験管の壁にそつて加えると，下層の試液は赤紅色を呈し，これを振り混ぜるとき，呈色は直ちに退色する。この液を放置すれば，5～6分で再び紅色を呈し，次第に帯紫紅色となり60分間以上持続した。

基準品および市場品の外観ならびに呈色反応過程は表2に示す通りである。試液層の呈色は蒼朮も淡紅色～紅色を呈するが，その色は白朮のそれよりも濃くない。この結果から試料 No. 6 および10は白朮と推定される。

2.　薄層クロマトグラフイー

プレート：Kieselgel HF254＋366(200×200×0.25 mm)

展開溶媒：ベンゼン

スポットの確認：紫外線 254mμ，バニリン・塩酸試液

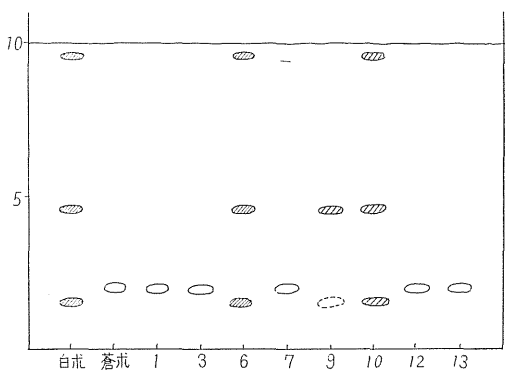
操作

試料の粗末5g にエタノール20ml を加え，水浴中で5分間温浸し，ろ過した液（20μl）および基準品として白朮および蒼朮を同様に操作して調製した液（20μl）をプレートにスポットし，室温で原点から 10cm の高さまで展開する。

プレートを室温で乾燥したのち，はじめ紫外線(254 mμ）下で観察すると，白朮は Rf 約 0.15および0.45に，蒼朮は Rf 約 0.2に，次にバニリン・塩酸試液をふん霧すると，白朮は Rf 約0.95に淡紅色のスポットを認めた。クロマトグラムは図1に示す通りである。

白朮と蒼朮のスポットとには，明らかに差が認められる。この結果から試料 No. 6 および10は白朮と推定

図1　朮類の薄層クロマトグラム



（白朮，蒼朮：基準品，NO.1～13：市場品）

され，前記確認試験の結果と一致する。No.9は白色綿状晶の折出がなく，atractylone の反応も認められないので，*A. lancea* 以外に基因する蒼朮と推定されるが，スポットの位置からはむしろ白朮に近いようにも考えられ，今後の研究に待ちたい。

考　　察

1. 生薬の鑑定および識別は，外部形態および内部形態を調査して，その基原植物を推定するとともに，成分の物理的または化学的確認を行ない，総合的に判断しなければならない。

しかし，生薬中にはかならずしも特異反応を呈する成分が含まれているとはかぎらないので，これらを対象とする確認試験法を設定することは，はなはだ困難といわなければならない。

そこで，ある一定条件で溶出されてくる数種の成分を，ペーパークロマトグラフィーまたは薄層クロマトグラフィーなどの簡単な方法を応用して，総体的に基準品と比較する方法が簡易試験法として，生薬の鑑定，識別および品質評価に有力な手段となる。

ただし，基準品については充分な調査と，完全な保存に意を用いなければならない。

2. 日本薬局方ビャクジュツの確認試験法は呈色過程の表現に若干の問題があり，その判定を誤る可能性があるので，表現法を改正する必要がある。

3. 薄層クロマトグラフィーを用いる方法は，前記1の主旨から簡易試験法として，多くの試料に応用できるものと認める。なお，本法は日本薬局方の確認試験による判定を，さらに確実にするものである。

参 考 文 献

1) 第7改正日本薬局方第2部解説書 p.355（広川書店）
2) 高橋真太郎：生薬学雑誌，19,49（1965）
3) 同　　上

パームチット・臭化シアン法について

橋爪六郎* 風間成孔*
渡辺四男也*

緒言

塩酸チアミン（V.B_1）を臭化シアンにより，酸化してチオクロムに変化させこのものが，紫外線下に発する蛍光を測定する方法は，現在の V.B_1 定量法中その感度，精度，適用範囲のいずれにおいてもいちばんすぐれている[1]。この方法は検液の調製，パームチット吸脱着，酸化，蛍光測定の順序で行なわれる。一般に，試料中には酸化時のチオクロム産生を低下させたり，チオクロムの蛍光を阻害する種々の物質が含まれているので，酸化までにできるだけこれら阻害物質を除去する必要がある。パームチットによる吸脱着はこの目的のために行なうものでHennessy[2] が考案した方法である。すなわち吸着管に吸着剤としてパームチットをつめ，この吸着剤に V.B_1 を吸着させたのち，沸とう水で洗滌したのち，吸着管があついうちに引続き沸とう酸性塩化カリウム試液で溶出し，溶出液について臭化シアンにより，チオクロムを生成させその蛍光強度より B_1 の含量を測定するのである。この場合沸とう酸性塩化カリウム試液の液温が低下すると（特に冬季に著しい），吸着された V.B_1が定量的に溶出されないために吸着部を二重管として約 85° の温湯をギャーポンプまたはポリポンプで通して保温するのであるが，操作が煩雑であり，多くの試料を処理するには，多くの時間と労力を必要とする。そこでわれわれは温度低下を防止するため吸着管の側面より赤外線電気ヒーターを用いて加温して行なつたところ，精度のよい方法を確定した。また V.B_1，V.B_2 および V.C など各種成分を含む市販の内服用栄養剤に応用して良好な結果を得たので報告する。

実験方法

1. 装置および試薬

島津自記分光度計SV—50AL型附属蛍光エネルギー分布測定装置を使用した。

また，次の試薬を用いた。

活性パームチット：50～80メッシュのパームチット（Vitachange 和光純薬工業株式会社製）約 200g をナス型コルベンにとり，つぎのように洗滌を行なう。

(a) 熱湯約800mlを加え，沸とう水浴上で10～15分間撹拌，静置後上層をすてる。この洗滌操作を数回行なう。

(b) 3％酢酸約800mlを加え，同様に洗滌２回。

(c) 塩化カリウム試液約600mlを加え，同様に洗滌３回。

(d) (a)を繰り返す。洗液に Cl^- の反応を認めなくなるまで十分に水洗する。

ついで，これを磁製皿にひろげ，約 90° で１夜乾燥後試薬瓶に保存する。

塩化カリウム試液：ＪＰⅦ

酸性塩化カリウム試液：ＪＰⅦ

臭化シアン溶液：ＪＰⅦ

塩酸チアミン液標準品：国立衛生試験所標品

2. 定量法

2.1 吸着層の調製

２～３mm に切つたガラス綿を水とかきまぜ，毛細管部に水とともに流しこみ，ガラス棒によつておしつけたのち，吸着管を顚倒してガラス綿の微小破片を流し捨てる。つぎに水を満して，パームチット約 1.5g を水とともに流しこみ壁についたパームチットを水で洗い落しながら自然流下によつて吸着部につめる。

2.2 検液の調製

液剤：pH 4.5 の塩酸水を用いて，1 μg/ml の検液とする。

2.3 吸着，水洗および溶出

V.B_1 として ２～10μg に対応する量を吸着管に入れ，１分間 1 ml 以下の流速で吸着さす，ついで pH 4.5 の塩酸水 5 ml で壁を洗い，流速を１分間３ml に早める。吸着管の側面より，赤外線電気ヒーター（600W）で加熱しながら，さらに熱湯 5 ml ずつで数回吸着層を洗滌する。最後の液面がパームチットの上層に達する直前（２～３mm）に，液温約 85° の酸性塩化カリウム試液 5 ml ずつを加えて溶出する。溶出液は25ml のメスフラスコ中に集める。冷後酸性塩化カリウム試液で正確に 25ml とする。この液 5 ml ずつを共せん遠心管 a および b にとり，a に臭化シア

* 東京都立衛生研究所　医薬品部

ン溶液 3 ml および30%水酸化ナトリウム溶液 2 ml を加えて生じるチオクロムをイソブタノール15ml で抽出し，常法にしたがつてけい光度計で測定する。ただし，bでは水酸化ナトリウム溶液のつぎに臭化シアン溶液を加える。

実験結果および考察

1. 赤外線電気ヒーターによる加熱の影響

$V.B_1$ として0.5μg/ml，1.0μg/ml および2.0μg/ml を含む V. B_1 標準液 50ml ずつを褐色メスフラスコに量り，加熱しない場合と予め液温を約 80° に加熱した液について，液温を 80～90° に保つように赤外線電気ヒーターで30分間および60分間加熱した液の $V.B_1$ 2μg に対応する量をとりパームチット・臭化シアン法および直接法（臭化シアン法）により，チオクロムを生成させて蛍光強度を測定した結果が Table 1 で加熱による影響が認められなかつた。

Table 1 Effect of heating time by the Electric Heater of $V.B_1$ soln.

Standard soln. (μg/ml)	Sampling volume (ml)	Fluorescence intensity (%)					
		Unheating treatment		80° 30min		80° 60min	
		Permtit method	Direct method	Permtit method	Direct method	Permtit method	Direct method
0.5	4	41.0	40.0	40.5	40.0	41.0	40.5
1	2	40.5	39.5	40.5	40.0	40.0	40.0
2	1	40.5	40.0	41.0	40.5	40.5	40.5

Table 2 Analysis of $V.B_1$ from Commercial Samples.

Sample No.	Label (mg)	Found (mg)	$\frac{\text{Found}}{\text{Label}} \times 100$ (%)	Recovery (%)
1 (100ml)	5N	5.70	114.0	99.4
2 〃	20	16.38	81.9	99.0
3 (30ml)	10N	10.63	106.3	101.9
4 (100ml)	20N	31.97	159.9	100.0
5 〃	20N	30.98	154.4	100.0
6 〃	5	5.09	101.8	101.8
7 〃	20	14.68	73.4	99.1
8 〃	30	25.23	84.1	100.9
9 〃	20N	20.74	103.7	99.0
10 〃	20N	22.07	110.4	100.0
11 〃	20	26.44	132.2	100.0
12 〃	20	21.40	107.0	101.7
13 〃	15N	14.64	97.6	99.2
14 (20ml)	10	13.90	139.0	100.0
15 (100ml)	20	19.47	97.4	100.9
16 〃	15N	15.14	100.9	100.0
17 〃	10	11.20	112.0	101.7
18 〃	20N	22.86	114.3	99.5
19 〃	5N	6.21	124.2	101.5
20 〃	10N	6.00	60.0	99.5
$\bar{x}$ (%)				100.26
n				20
R				2.9
σ				1.02
$\sigma/\bar{x}$				0.01

N : Thiamine Nitrate

2. 市販製剤についての分析

市販の内服用栄養剤（液剤）について，本法により，$V.B_1$ の定量を行ない，また回収率を求めたのがTable 2で回収率100.26%，範囲2.9，偏差1.02，変動係数0.01で良好な結果を得た。

結　　語

パームチット・臭化シアン法を行なう場合パームチットに吸着された $V.B_1$ を熱酸性塩化カリウム試液で溶出する場合液温が約80°より低いときは定量的に溶出されないため，低い定量値を得るが，この場合赤外線電気ヒーターで側面から加熱し，溶出液の液温を80～90°に保ちながら溶出を行なえば，完全に吸着された $V.B_1$ を溶出することが出来る。

終りにのぞみ本研究を行なうにあたり終始御鞭撻いただいた田村医薬品部長に深謝します。

文　　献

1) 日本薬学会編：衛生試験法注解，金原出版㈱，(1965)，東京

2) Hennessy, D. J.: Ind. Eng. Chem. Anal. Ed., 13, 216 (1941)

月経処理用タンポンの吸収能について

西　田　茂　一*

緒　　言

各種衛生材料のうち，吸収材料として用いられている脱脂綿，ガーゼの吸収能測定法は，各国の薬局方，薬典に記載されている[1),2),3)]。

これらは，操作上のちがいはあつても，いずれも水中に投じてその沈降時間を測定している。

また我国の生理処理用品基準別表（昭和41年5月24日，厚生省告示，第285号）には日本薬局方「脱脂綿」に準じた沈降速度の測定規定がある[4),5)]。

月経処理用タンポン(以下タンポンと略称する)は，膣内において積極的に経血を吸収し，これを処理することがその目的であるから上記同様吸収能のチェックが必要と考えられる。

タンポンは，多くの場合，綿状繊維を圧縮してあるため，薬局方やＢＰＣ記載の吸収能測定法では，測定できない。またこれを用いることは不合理である。すなわち，素材的性格をもつ脱脂綿やレーヨン・ステープル綿と，２次加工した月経処理専用型態のタンポンとでは機能的に異なるからである。

またタンポンは，２種以上の素材の組合せから成るものがあり，これらの素材を分別してそれぞれの素材の吸収能力を測定することは非常にむずかしい。

タンポンは，１個ずつを使用することによつてその目的を達するものであるから，各々のタンポン１個の特性性能を知るような試験法がよいと考える。

そこでタンポンの吸収能を測定するため，次のような私案による測定法によつて行なつたので報告する。

実　験　要　旨

脱脂綿等の吸収体の吸収能を試験する場合は，その吸収体の体積，重量，表面積等の条件を一定にして水中に投じ，沈降速度や吸水量を測定している。タンポンの吸収能を測定する場合においても，これからの条件を一定にすることができれば，これに準じた方法で比較検討することができよう。しかしながら市販タンポンのすべては，素材，圧縮状態，型状，サイズ，重量が異なり，これら異種製品を同一サイズ，同一重量に成型し直すことは，それぞれの製品の機能をまつたく変えてしまうことになる。またその作業は容易でない。

製品をいちじるしく破壊したり，変形させないで，異種製品の吸収能を比較する方法として考えられることは，単位表面積あたりに接触する一定量の液体を吸収する時間で測定することであろう。これはＪＩＳ，Ｐ8101溶解パルプ試験方法「吸収速度」の項に見られるように，タンポンを一定の厚さのタンザク型に切断し，同法に準じて行えば，或は可能かもしれない。しかしすべてのタンポンからこのような試験片を作成することはむづかしく，特に弱圧縮タンポンには適用できない。

素材，形状，圧縮状態等が同一であれば，外径の大きいもの，あるいは，単位表面積あたりに接触する液量の小さいものほど，速く一定量の液を吸収することはあきらかである。

これらのことを考え合わせると，きすべての種類のタンポンに適応した吸収能測定法を，決定することのむづかしさを感じる。

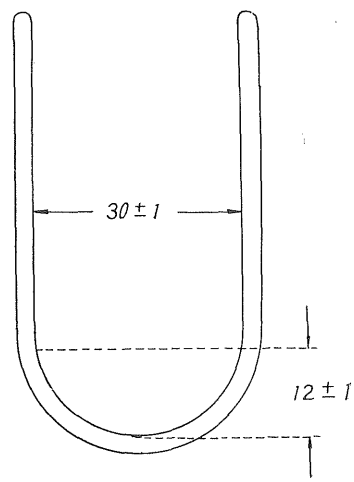
そこで考え方を改めて，タンポンは１個分ずつを使用するものであるから，異種製品もすべて同一の１個の検体として扱い，同一の条件下における吸収能を測定してみた。

実　験　の　部

1.　試　料

現在，市販されている10種を用いた。

図



単位：mm

* 東京都立衛生研究所　化粧療品部

表中の試料名中，A，B，C，G，H，Iならびに Jは，強圧縮タンポンで，D，E，Fは，弱圧縮タンポンである。

2. 吸収能測定法

以下のような測定法を用いて吸収速度を測定し，吸収能の目安とした。

次の図のような，肉厚均斉の試験管に 20～25° の Rhodamine B溶液（0.01→100）5 mlを入れ，液面上5 mm の高さから試料の先端部を下にして静かに落とし，試験管中の液を吸収し終つた時の時間を測り，これをその試料の吸収速度とした。

この際，試験管は目の高さよりや高めに固定し，吸液状態を下から観察すると測定誤差が少ない。

ABSORBENCY TEST

Sample	AL		Bs		C		D		E		F		G		H		I		J	
Size (mm) Diameter ×Length	15×43		13×41		12×55		11×40		13×45		15×45		13×30		13×30		13×30		13×50	
	W	Sec	W	Sec	W	Sec	W	Sec	W	Sec	W	Sec	W	Sec	W	Sec	W	Sec	W	Sec
Sample No. 1	4.0	2.2	3.2	2.8	2.9	3.2	1.3	7.2	2.3	5.0	3.2	4.2	2.0	5.0	2.2	4.0	2.3	3.0	2.8	2.0
2	4.0	2.2	3.2	2.8	3.3	3.2	1.3	7.4	2.3	5.0	3.8	4.8	2.0	3.4	2.2	4.2	2.4	3.4	2.8	2.2
3	4.0	2.2	3.3	3.0	3.2	3.2	1.3	7.2	2.3	5.2	2.9	6.0	2.1	2.8	2.2	4.2	2.4	3.4	2.8	2.0
4	4.0	2.2	3.3	2.8	3.2	3.0	1.3	7.2	2.3	5.4	3.0	5.0	2.1	3.0	2.1	4.2	2.4	3.2	2.9	2.0
5	4.0	2.0	3.3	2.8	3.3	3.0	1.3	7.2	2.2	5.8	3.0	5.0	2.1	3.8	2.1	4.0	2.4	3.2	2.9	1.8
6	4.1	2.4	3.1	2.8	3.2	3.2	1.3	7.0	2.2	5.8	3.1	5.0	2.0	3.6	2.1	3.0	2.4	3.0	2.9	1.8
7	4.1	2.2	3.1	3.0	3.4	3.0	1.3	7.0	2.2	5.6	3.1	3.0	2.0	3.6	2.1	3.2	2.4	4.4	2.9	1.8
8	4.1	2.0	3.1	3.2	3.3	3.0	1.3	7.0	2.2	5.6	3.2	2.8	2.0	3.6	2.1	3.2	2.4	4.6	2.8	2.0
9	4.1	2.0	3.1	3.4	3.3	3.0	1.4	6.6	2.2	5.4	3.3	3.0	1.9	4.0	2.1	3.0	2.3	4.6	2.8	2.0
10	4.0	2.4	3.2	3.0	3.2	3.2	1.4	6.6	2.2	5.6	3.0	3.2	1.9	4.2	2.0	3.0	2.3	4.6	2.8	2.0
11	4.0	2.2	3.2	3.0	3.2	3.2	1.4	6.4	2.2	5.4	3.0	3.3	1.9	4.4	2.0	2.8	2.3	4.4	2.8	2.0
12	4.0	2.2	3.2	3.0	3.1	3.2	1.4	6.6	2.2	5.2	3.1	3.0	1.9	4.6	2.0	2.8	2.3	4.4	2.8	2.2
13	4.1	2.0	3.2	3.0	3.1	3.2	1.4	8.2	2.2	11.0	2.9	3.2	1.9	4.8	2.0	3.0	2.5	4.0	2.9	2.0
14	4.1	2.0	3.2	2.8	3.1	3.4	1.4	9.4	2.3	10.0	2.9	3.6	1.8	5.0	2.0	2.6	2.5	4.0	2.9	2.0
15	4.2	2.0	3.2	3.0	3.1	3.4	1.4	9.0	2.3	5.8	3.0	4.8	2.0	6.0	2.0	2.4	2.5	3.8	2.9	2.0
16	4.2	2.4	3.3	3.0	3.1	3.2	1.5	7.2	2.3	6.0	3.1	5.0	2.0	5.8	2.1	3.0	2.5	3.8	2.9	2.0
17	4.2	2.4	3.3	3.2	3.2	3.4	1.5	7.0	2.3	6.4	3.1	3.6	2.0	5.6	2.1	3.4	2.5	2.2	2.9	1.8
18	4.2	2.4	3.3	3.2	3.4	3.2	1.5	6.2	2.4	5.8	3.1	3.4	.0	3.8	2.1	3.0	2.5	2.4	2.9	1.8
19	4.1	2.6	3.3	3.8	3.0	3.4	1.5	6.0	2.4	5.8	2.9	3.4	2.1	3.8	2.0	3.2	2.3	3.2	3.0	2.0
20	4.1	2.6	3.4	3.4	3.0	3.2	1.5	6.0	2.4	6.0	3.0	3.4	2.1	4.0	2.0	2.8	2.3	3.2	3.0	1.8
21	4.1	2.4	3.4	3.6	3.0	3.4	1.5	6.0	2.4	6.2	3.0	3.2	1.9	4.0	2.1	2.6	2.4	2.4	3.0	1.8
22	4.2	2.0	3.2	3.8	3.0	3.0	1.3	9.4	2.4	6.4	3.1	3.0	1.9	4.2	2.1	3.0	2.4	2.2	3.0	1.8
23	4.3	2.2	3.2	4.0	3.0	3.2	1.3	9.2	2.5	4.2	3.2	3.2	1.9	4.4	2.0	3.0	2.4	2.2	3.0	1.8
24	4.2	2.2	3.2	4.2	3.2	3.4	1.3	0.4	2.5	4.8	3.0	3.2	1.9	7.0	2.0	2.8	2.4	2.6	3.0	2.0
25	4.2	2.0	3.2	4.0	3.1	3.6	1.3	8.8	2.5	5.0	3.0	3.0	2.0	6.2	2.0	5.4	2.3	2.2	3.0	1.8
26	4.2	2.0	3.3	4.0	3.1	3.0	1.3	10.0	2.5	5.2	3.0	3.2	2.0	6.6	2.0	5.0	2.4	2.4	3.0	2.0
27	4.2	2.2	3.3	3.4	3.4	2.8	1.6	7.4	2.5	5.0	3.2	3.2	2.0	7.8	2.0	4.8	2.6	3.8	3.0	2.0
28	4.3	2.0	3.3	3.0	3.3	3.4	1.6	7.4	2.3	6.1	3.2	3.0	2.0	8.0	2.0	5.4	2.6	3.4	3.0	2.0
Average	4.11	2.20	3.24	3.28	3.16	3.20	1.38	7.49	2.32	5.88	3.05	3.70	1.97	4.75	2.06	3.46	2.40	3.35	2.91	1.94
Defrection (Range)	4.0 ~ 4.3	2.0 ~ 2.1	3.1 ~ 3.4	2.8 ~ 4.2	3.0 ~ 3.4	2.8 ~ 3.6	1.3 ~ 1.6	6.0 ~ 10.0	2.2 ~ 2.5	4.2 ~ 11.0	2.8 ~ 3.3	3.0 ~ 6.0	1.8 ~ 2.1	3.0 ~ 8.0	2.0 ~ 2.2	2.4 ~ 5.4	2.3 ~ 2.6	2.2 ~ 4.6	2.8 ~ 3.0	1.8 ~ 2.2

W=Weight (g)

Sec=Speed of absorbency (Second)

実験結果および考察

実験の結果は次表のとおりである。

1. 試料AおよびBは，素材，形状ならびに構造が同一で，重量およびサイズが異なる同一メーカーのものである。これの平均吸収速度は2.2秒と3.2秒であつた。すなわち，重量，外径の大きいものの方が吸収速度が速い。

2. 試料D，E，Fは，素材，形状ならびに構造は同一で，重量およびサイズが異なる同一メーカーのものである。重量，サイズに応じて吸収速度もそれぞれ7.5秒，5.9秒，3.7秒と速くなつている。

この試料は，他の7種と異なり，柔軟性を特徴とした弱圧縮タンポンであるため，他の強圧縮タンポンと比較したとき，吸収速度は遅い。

測定値に大きいバラツキが見られるのは，弱圧縮であるため，密度に均一性を欠くことと，製品の特性として，タテ方向に伸縮性がある為と思われる。DおよびEの標準偏差は次のとおりである。

D……$\bar{x}=7.49$秒

$$\delta=\sqrt{\frac{\Sigma(xi-7.49)^2}{28-1}}=\underline{1.18}$$

E……$\bar{x}=5.88$秒

$$\delta=\sqrt{\frac{\Sigma(xi-5.88)^2}{28-1}}=\underline{1.40}$$

3. 試料G，H，Iは，素材，サイズが同一の，同一メーカーのものである。Gは，タテ方向中心部に挿入棒を入れる穴がある。

重量はG，H，Iの順で多くなつている。これもG 4.7秒，H3.4秒というように，重量，圧縮状態に応じた吸収速度の変化が見られた。

4. 試料Jは，薄いリボン状の繊維帯を巻いて周囲から圧縮したものだけに，吸液時の膨潤が速く，したがつて吸収速度は極めて速かつた。平均吸収速度は1.9秒であつた。

5. 試料Cは，先端部を潤滑剤で固めたものであつた。潤滑剤の名称は不明である。

これは吸液時に，先端部が2つに開くような構造になつているためか，潤滑剤塗布による吸収速度への影響は少ないようである。

6. この測定法によつたとき，次のような条件を満すタンポンの吸収速度は速い。

(i) 素材繊維が充分脱脂されているもの。
(ii) 素材繊維の捲縮度の高いもの。
(iii) 圧縮度の高いもの。
(iv) 外径の大きいもの。
(v) 先端部が液に接触したとき，開花するように膨潤する機構をもつもの。

7. この吸収速度測定法によれば，吸収体の重量，圧縮状態，素材，構造，サイズ等の条件が同一であれば，吸収速度はほぼ一定でバラツキの少ない測定値を得る。

む す び

月経処理用タンポンの吸収能を，私案による測定法で行ない調査し報告した。

あたかも，タンポン国家基準制定の期にあたり，いささかなりとも御参考になれば幸である。

文 献

1) British Phamaceutical codex, Part V Surgical dressing : p. 992 (1963)
2) The pharmacopeia of the United States of America. XVI (1960)
3) Hagers : Handbuch der pharmazeutischen Praxis, (1958)
4) 第七改正日本薬局方註解，第一部 (1965)，南江堂，東京
5) 日本衛生材料工業会：生理処理用品基準注解 (1966)
6) ＪＩＳ：溶解パルプ試験方法，(1961)，p. 8101

主として化粧品中のセレンの定量法について(抄録)

戸谷哲也* 原田裕文*
觀 照雄* 鈴木助治*
田村健夫*

〔目的〕 セレンの毒性は周期律表上で族の隣接しているヒ素の数倍高く，セレン化水素ではシアン化水素の200倍高い。衆知のように本中毒は多量のセレンを含む牧草の摂取によつて家畜の疾病に端を発した問題ではあるが，近年 P. W. West はタバコの巻紙中から10ppm以上のセレンを検出し，喫煙の有害性について報告している。(Chem. & Eng. Newes 29, 12 (1967)) 最近の輸入品などの増加にともないセレンによる汚染の危険性も増えることが予測されるので，化粧品をはじめ医薬品および食品原料中の微量セレンの定量法を確立することを目的に行なつた。

〔実験〕 セレンの吸光度定量法として報告されている 3, 3'-Diaminobenzidine法，1, 8-Naphthalenediamine法，0-phenylenediamine 法等について詳細に検討し，あわせて硫化セレンを有効成分とするフケとりシャンプー等の中のセレンの定量を行なつた。

〔結果〕 3, 3'-Diaminobenzidine法と0-phenylenediamine 法に有用性が高いことが認められた。ただし前者では原報と異なりトルエン層を一定量の水で洗うことによつて420mμの吸収のみならず340mμの吸収帯を用いて低い盲験値で測定できることを見出した。このことはある種の海草などの試料ではセレンと類似の黄色が認められ，セレンと誤認しやすいが紫外部には吸収がないことから識別が可能である。また後者では試薬を添加後常温で2時間放置することが至適条件とされているが，60°，15分間の放置で再現性よく定量し得ることを見出した。本定量法によつて市販の精製イオウ，沈降イオウの局方イオウのほか，湯の華中には10ppmをこえるセレンを含有するものが見出された。

本報は日本薬学会第89年会において報告し，衛生化学に投稿の予定である。

* 東京都立衛生研究所 化粧療品部

トウガラシチンキの品質とチンキ中 Capsaicin の確認について

小　泉　清太郎*

I. THE QUALITY TEST ON THE COMMERCIAL CAPSICUM TINCTURES CONDUCTED IN ACCORDANCE WITH THE PHARMACOPOEIA OF JAPAN

II. SEPERATION AND IDENTIFICATION OF CAPSICUM TINCTURES WITH THIN LAYER CHROMATOGRAPHY

Seitaro Koizumi

As the results of tests on the commercial Capsicum Tinctures according to the test methods for the TINCTURA CAPSICI of pharmacopoeia of Japan and pharmacopoeia Helvetica, it is considered to be doubt that Capsaicin is contained regularly on these samples which has yellow or reddish yellow colour, does not form tarbidity with water, or has no pungent but burning taste.

A rapid procedure for identificating Capsaicin would be of great value in the quality test of commercial Capsicum Tincture.

The method is based in the measurement of the Colour Shades and Rf Values of the Capsaicin in the Silicagel Plates.

Samples were prepared as follows:
add acetone to the residue on the destillation, obtained by the method for determination of Alcohol number, and eveporate to dryness on a water bath at a temperature not exceeding 70°. Dissolve it in 20 ml of ether. Purify the ether solution by means of extract method by Ether and Alkali, and make finally a test Solution of Capsaicin dissolved in ab. ethanol.

As results, Capsaicin could be identified.

Commercial 10 samples were applied to this method and Capsaicin was not detected in 1 sample of them. (Table 3)

緒　　言

トウガラシチンキは，トウガラシ Capsicum annum Linne (Solanaceae) の，またはその変種の果実をエタノール浸出して製したチンキ剤で，成分として辛味および刺激の主体である Capsaicin $C_{18}H_{27}NO_3$, N (4-Hydroxy-3-methoxybenzyl)-8-methylnon trans-6-enamid, Dihydro Capsaicin $C_{18}H_{29}NO_3$ のほか，カロチノイド色素 Capsanthin $C_{40}H_{38}O_3$，脂肪油等を含有し，刺激性香料として，また，皮膚刺激の目的で医薬品および化粧品原料として用いられている。

トウガラシチンキは，ショウキョウチンキ，カンタリスチンキと同様，皮膚に過剰に吸収された場合，皮膚障害の原因となるおそれがあるとして，化粧品に用いる場合にはその配合量の限度が定められ，また生薬を原料とするが故にその品質規格も特に定められ，本

* 東京都立衛生研究所　化粧療品部

品もまた局方合格品のみその配合使用が認められている。（昭和35年8月，厚生省告示第234号化粧品品質基準）ついで，昭和42年8月，これに基づき化粧品原料基準が定められ，（同告示第322号），トウガラシチンキの品質規格については，局方に加えて新たに純度試験の項が設けられた。しかし，その辛味物質については，いずれも，その確認反応を欠き，辛味の試験方法もない。

しかるに，本品の品質試験において，アルコール数測定法によりエタノール分を留去した蒸留残液を活用し，精製して得たCapsaicinのエタノール溶液を用い薄層クロマトグラフィーを行なうことにより，簡易にCapsaicinを確認することが出来た。よつて，つぎに市販トウガラシチンキについて行なつた品質試験成績にあわせて，本法によるCapsaicinの確認実験の結果を報告する。

I．市販トウガラシチンキの品質について

試料ならびに試験方法

本品の品質基準については，局方および化粧品原料基準のほか，外国公定書の一部に加水試験[1]および味覚による辛味[2),3)]の試験方法がある。

辛味物質の味覚試験方法

チンキ1ml に水を加え200ml とし，その1ml に糖シロップ1ml と水8ml を加えた混液の5ml を口中に30秒間ふくむとき，明らかにやくような感をおこす。

加水試験

チンキ2ml に水0.4ml を加えるとき混濁する。

新たに購入した市販トウガラシチンキ10種について，これらの試験方法等を加味して品質試験を行なつた。（Table 1）

試験結果と考察

試験の結果，色が規定の黄赤色を呈しないもの7種，比重が規定に合わないもの5種。アルコール数が規定以下のもの2種があり，メタノール，アセトンを検出したものは全くなく，加水試験で所定の混濁を生じないものが3種あつた。

辛味については，チンキで指先をしめし舌の先につけるといずれも一様にやくような辛味があり，また，前記の味覚試験により，いずれもやくような感じをおこすが辛いという点でははつきりしない。

本品の辛味がCapsaicinによることを確認するた

Table 1　市販トウガラシチンキの試験成績（1968.7）

試料 No.	性状 色		性状 辛味		比重 (20°)		アルコール数		純度試験 メタノール		純度試験 アセトン		加水試験	Capsaicin確認試験
1	赤黄色透明	×	やくように辛い	○	0.83	○	10	○	(−)	○	(−)	○	溷濁する	(+)
2	〃	×	〃	○	0.83	○	9.8	○	(−)	○	(−)	○	〃	(+)
3	黄赤色透明	○	〃	○	0.82		9.7	○	(−)	○	(−)	○	〃	(+)
4	〃	○	〃	○	0.83	○	9.7	○	(−)	○	(−)	○	〃	(+)
5	黄色透明	×	〃	○	0.83	○	9.9	○	(−)	○	(−)	○	溷濁しない	(+)
6	赤黄色透明	×	〃	○	0.81		10	○	(−)	○	(−)	○	□ 〃	(−)
7	〃	×	〃	○	0.83	○	9.7	○	(−)	○	(−)	○	溷濁する	(+)
8	〃	×	〃	○	0.84		9.5	×	(−)	○	(−)	○	〃	(+)
9	〃	×	〃	○	0.84		9.3	×	(−)	○	(−)	○	溷濁する弱い	弱い(+)
10	黄赤色透明	○	〃	○	0.82		10	○	(−)	○	(−)	○	溷濁する	(+)
規定 局方第二部	黄赤色透明（赤黄色）		やくように辛い（はげしい辛味）		0.83 (0.83—0.84)		9.7以上 (9.1以上)		ない		ない		ない	ない
規定 化粧品原料基準	黄赤色透明		やくように辛い		ない		9.7以上		あり		あり		ない	ない

（註）○　規定に適合　　×　規定に不適　　□　アセトンエキス分がきわめて少ない

（+）定性反性陽性　　（−）定性反応陰性

局方規定中（　）は第六改正日本薬局方のもの

め，後述の方法でチンキを処理し試験を行なつたところ，加水試験で所定の混濁を生じないもののなかに，Capsaicin の反応を全く呈しないもの，および，反応の微弱なもののあることが明らかとなつた。

以上より，本品が日本薬局方トウガラシの中切品を原料とし，エタノールを用いて所定の製法に従いつくられる限り，チンキは黄赤色を呈し，規定のアルコールを有すると共に，加水試験を行なえば混濁を生ずることが至当であつて，この加水試験における混濁の成否は重要な意義を有するものと考える。

Ⅱ．トウガラシチンキ中 Capsaicin の確認について

トウガラシチンキよりアルコール分を回収した後の残液の処理により，本品中の辛味の基源がトウガラシ本来の辛味成分によるものであるこれを，その定性反応によつて簡易に確認する目的で実験を行なつた。

そのための前提条件として

(1) アルカイドである Capsaicin が Marquis[4] 試薬により，支障なく特殊反応として特有の紫色を呈する。

(2) 本品から，カロチノイド色素のほか，この特殊反応を妨害する物質を除去した Capsaicin のエタノール溶液を得る。

(3) 若干の他のフフェノール類がわずかに共存しても Spot の分離に支障なく，かつ，短時間に展開できる溶媒が使用できる。

(4) Capsaicin によるものと認められる特定Spotについて，その顕色がまさに Capsaicin によるものであることを確認するため，標準物質としての Capsaicin 結晶を取得する。

以上の条件をとり上げ，これを満足できるかを検討した結果，

(1)については，後述の Capsaicin 単離結晶を用いて，Marquis 試薬による特殊呈色反応を確認した。

(2)については，カロチノイド赤色素は濃硫酸により深青色を，Capsaicin も濃硫酸により糖の存在において紫色を呈するが，後述の試験溶液の調製法によれば，これらの妨害を排除することができ，予期した試験溶液をつくることができた。

(3)については，Capsaicin もフェノール性 OH 基をもつが，フェノール，サリチル酸，コレステロール，β-ナフトール等の共存する場合においても，その使用展開によつてこれらの分離が可能で，Marquis 試薬により相互識別のできる溶媒を得た。

(4)については，Capsaicin の市販品なきため，後述の方法により，トウガラシより抽出，単離し，融点64°の無色板状晶を製出した。

1. トウガラシチンキの薄層クロマトグラフィー

実験材料と試験溶液の調製

トウガラシチンキ（市販品10種）

本品 10ml を量り，局方一般試験法によりアルコール数の測定を行なつた蒸留残液に，毎回アセトン5ml を加え，注意して水浴上で蒸発を繰り返し乾固した後，更に，アセトン 5ml で4回これを浸出する。アセトン溶液をろ過し，アセトンを去り，残留物をフェノール類を含有しないエーテル 20ml で溶かし，不溶物をろ過する，エーテル液は5％炭酸ナトリウム液 5ml で2回，軽くふりまぜ洗つた後，0·5％塩化ナトリウム液で洗う。ついで，このエーテル液を5％水酸化ナトリウム液で洗い，無水硫酸ナトリウムで脱水し，ろ過し，エーテルを留去する。残留物をアセトン 30mlに溶かし，これに石油エーテル 15ml，0.5％塩化ナトリウム液 15ml を加え，よくふりまぜ，下層のアセトン液を分取し，水浴上で注意して蒸発乾固する。残留物にアセトンを加え浸出し，ろ過し，アセトンを去り，これを無水エタノールで溶かし，濃縮して 0.1ml とする。

ショウキョウチンキ（市販品1種）

トウガラシチンキと同様にして試験溶液を調製する。

Vanillin　東京化成品

本品の再結晶による精製品 3mg を量り，無水エタノールに溶かし0.1mlとする。

Capsaicin

製出結晶 3mg を量り，無水エタノール 1ml に溶かす。

薄層プレート

Silica Gel, T.L.C. 用ワコーゲルB—5を使用し，250μ の薄層を引き，一夜放置した後，120°，1時間乾燥して使用した。

展開溶媒

Capsaicin, Zingerone[6]（シャウキャウの辛味成分）に化学的に関係の深い Vanillin に用いられる溶媒を使用した。

石油エーテル(30°～60°)，酢酸エチル5：2—(S-1)

石油エーテル(60°～70°)，酢酸エチル5：2—(S-2)

呈色法

アルカロイド特殊試薬として Marquis 試薬（40％ホルマリン1滴＋濃硫酸 1.5ml），フェノール試薬として3％燐モリブデン酸＋0.1N酸水酸化ナトリウム液をいずれも噴霧し，呈色した各Spot の色および Rf

Table 2 Rf value of Phenols and their ditected Colors

Sample	Rf	Color
Phenol	0.87	Violet
Salicilic Acid	0.05	—
Cholesterol	0.65	Violet Blue
β-Naphthol	0.74	Brown Yellow
Resorcinol	0.36	Red
Capsaicin	0.15	Violet

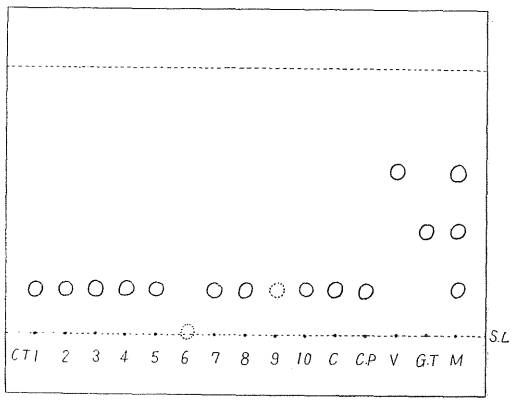
Sample : ab. Ethanol Solution
Solvent : S—1
Petroleum Ether (30°～60°)
Ethyl acetate 5 : 2
Color : Marquis Reagent

Table 3 Rf Value of Capsicum Tinctures and their related Substances, and their deected Colors

Sample	Solvent		Color	
	S-1	S-2	M.X.	P.M.
Capsaicin	0.15	0.10	Violet	Blue
Capsiplast	0.15	0.10	〃	〃
Vanillin	0.55	0.30	Yellow	〃
Ginger Tincture	0.35	0.22	Red Violet	〃
Capsicum Tincture 1	0.15	0.10	Violet	〃
〃 2	〃	〃	〃	〃
〃 3	〃	〃	〃	〃
〃 4	〃	〃	〃	〃
〃 5	〃	〃	〃	〃
〃 6	0.01	0.01	Pale Brown	Pale Blue
〃 7	0.15	0.10	Violet	Blue
〃 8	〃	〃	〃	〃
〃 9	〃	〃	Pale Violet	Pale Blue
〃 10	〃	〃	Violet	Blue

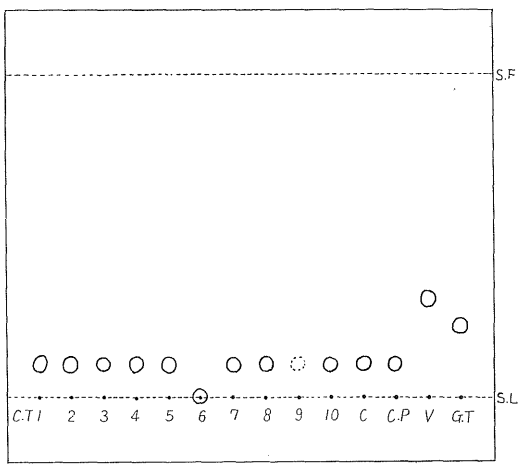
M.X. : Marquis Reagent
P.M. : 3%phosph. Molybd.
+0.1N Natrii. Hydrox.
S-1 : Petroleum Ether (30°～60°),
Ethyl acetate 5 : 2
S-2 : Petroleum Ether (60°～70°),
Ethyl acetate 5 : 2

Fig. 1 Thin layer Chromatogram Solvent System (S-1)



CT 1-10 Commercial
C Capsaicin
CP Commercial Capsiplast
V Vanillin
GT Commercial Ginger Tincture
M Mixture (C.V.G.T)

Fig. 2 Thin layer Chromatogram Solvent System (S-2)



C.T 1-10 Commercial Capsicum Tincture
C Capsaicin
CP Commercial Capsiplast
V Vanillin
G.T Commercial Ginger Tincture

値によりこれを確認した。

結果と考察

Marquis試薬の使用にあたり，同時反応および妨害反応をおそれたが，本品について行なつた転溶法[7)8)9)]

による精製で支障なく確認法として利用できることを知つた。

本法により，貼り薬中の Capsaicin の検出確認のほか，本品中，シャウキャウチンキの辛味成分が溶存する場合にも，これを確認することができた。

なお，本法は，トウガラシを原料とする他の製品中の Capsaicin の検出にも利用できるものと考える。

2. 標準物質として用いた Capsaicin について

(1) Capsaicin の抽出単離

トウガラシ（四国産，本鷹一等品）の種子を除去した乾燥粉末 250 g にアセトン 4 L を用いて抽出，アセトン溶液よりアセトンを留去し，残留物を500mlのアセトンに溶かし，ろ過し，ろ液よりアセトンを留去し，赤色粘稠液をエーテル500mlで浸出し，不溶物をろ過したエーテル液について，以下，先に行なつたトウガラシチンキについての精製法により Capsaicin のアセトン溶液を得，ついで，アセトンを留去し，石油エーテル（30°～60°）で反復精製により粗晶を得た。これを石油エーテル，更に，石油ベンジン(50°～80°)を用いて，繰り返し再結晶を行ない，融点 64° の無色板状晶を得た。

(2) 単離結晶の性質

i. 融点 64°，無色板状晶，高温ではかなり刺激性の蒸気を生じ揮発する。水に不溶，アルカリ，エタノールに可溶，辛味苛烈。

ii. 結晶の P.P.C.

東洋沪紙：No. 50　溶媒：メタノール飽和ベンジン

Rf 0.13

東洋沪紙：No. 50　石油エーテル(60°～70°)，メタノール 30：1

Rf 0.14

iii. 結晶の呈色反応

A (イ) Indophenol 反応（Gibbs 法）青色

検液(25γ/ml) 1 mlを 0.1N 水酸化ナトリウム液で pH 8—10 とし，2,6-Dichloroquinone Chloroimide の飽和水溶液0.5mlを加える。

(ロ) Diazo 反応　紅色

検液 1 mlに Diazo 試薬 1 mlを加え，炭酸ナトリウム液でアルカリ性とする。

B Vanadium 反応　緑色

検液（1 mg/mlアセトン溶液）5 mlに，バナジン酸アンモウム 0.1 g と濃塩酸 0.4mlを加え，強くふりまぜるとき，上澄液は緑色を呈する。

C Marquis 試薬　紫色

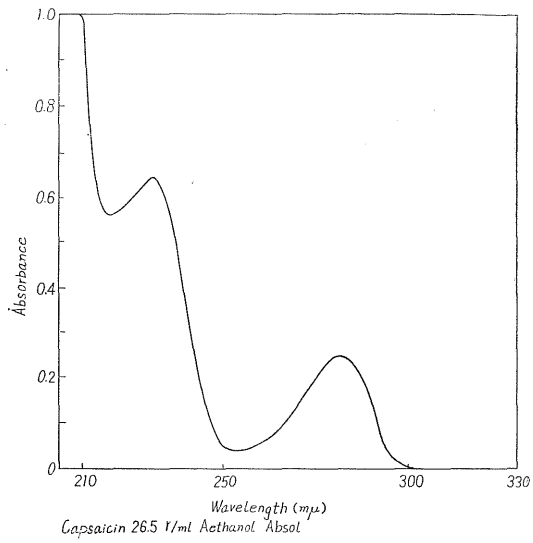
40%ホルマリン 1 滴＋濃硫酸1.5mlの混液の噴霧により美しい紫色を呈する。

3%燐モリブデン酸と 0.1N 水酸化ナトリウム液の噴霧により青色を呈する。

iv. 結晶の紫外部吸収スペクトル

結晶の無水エタノール溶液（26.5γ/ml）について，島津製 SV—50AL 型自記分光光度計を使用し，紫外部吸収スペクトルを測定するに，230mμ 以下および 280mμ に著しい吸収を示した。

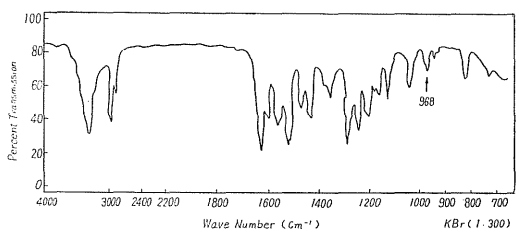
Fig. 3 Absorption Spectra of Capsaicin



v. 結晶の赤外吸収スペクトル

日本分光工業 I R S 型赤外分光光度計を用い KBr 法（試料結晶：KBr＝1：300）により赤外吸収スペクトルを測定するに，968cm^{-1}に特有の吸収を示した。

Fig. 4 The Infrared Absorption Spectra of Capsaicin



以上より，本結晶は Capsaicin であると認めた。

要　　結

市販トウガラシチンキ10種について，品質試験を行なつた結果，局方不適品が 3 種あり，そのうち，2 種については明らかに第六改正日本薬局方の規格品と認められた。

本品の色は赤味の少ない六局規格品が多いが，味については，味覚によるときそのままでは，いずれも，やくような辛味を感じる。しかし，加水試験を行なうと混濁を生じないものがあり，更に，その中には T. L. C. による試験において，Capsaicin を検出できないものがあつた。

加水試験はこの意味において，トウガラシチンキの品質判定上必要な試験項目の一つであると考える。

本品の局方試験に引続き，アセトン処理についで精製の後，薄層クロマトグラフィーを行ない，Marquis 試薬による美しい紫の発色により，本品中のCapsaicin を検出確認することができた。

また，本法により，類似の辛味物質を含むショウキョウチンキとの判別も可能である。

なお，本文の一部に用いた Capsaicin および製出した結晶 Capsaicin は，Capsaicin (enamide) と Dihydrococapsaicin (anamide) との混合物，Caicinoid[10]に相当するものと思考される。

本報は第89年回日本薬学会で発表した。

文　　献

1) Pharmacopoea Helvetica p. 1046 (1953)
2) 〃　　〃　　〃
3) Method of Analysis-A.O.A.C. 19094, p. 258 (1960)
4) 古谷，橋本：薬学雑誌，74，771 (1954)
5) Rosenthaler. L.: Der Nachweis Organischer Verbindungen, 766 (1923)
6) 大平敏彦：香辛料の化学，p. 93，産業図書 (1952)
7) 藤田，古谷，川名：薬学雑誌，74，767 (1954)
8) Analyst: 84, 613 (1959)
9) Kozlemeny, K. and Kertesz, C.: C. A. 59, 80556 (1963)
10) 小管貞良ほか：日本農芸化学会誌，35巻，10号 (1961)

FTA-Test の基礎的研究

第1報　FTA-Test に用いる抗原の調整について

西條頼廣*　上木英人*

THE BASIC RESEARCH FOR THE FTA-TEST (FLUORESCENT TREPONEMAL ANTIBODY TEST) FOR SYPHILIS PART 1 STUDIES ON THE PROCEDURE TO PREPARE ANTIGEN FOR THE FTA-TEST

Yorihiro SAIJO and Hideto UEKI

(TAMA Branch, Tokyo-to Laboratories for Medical Sciences)

In regard the technics how to prepare the FTA-test antigen, nothing has been reported on the details up to now.

The author has studied the antigen for the FTA-test on the phases of cultivation period, extracting medium, preservative, lyophilization and its resolve medium and also these factors effects for the antigenicity of the FTA-test antigen as follow:

1) For the extraction of antigen for the FTA test, the saline of 0.85% was suitable rather than 2.2% Sodiun citrate, Nelson's medium and or 2% Bovine Serum albumin.
2) The most suitable period to harvest antigen was of just 10 days at 25°C after inoculated the Treponema pallidum to the testicle of rabbit, which was the most suitable at every phase of number, antigenicity, brightness and form.
3) Regarding the preservative as the additive for the FTA-test antigen both Sodium merthiolate and Sodium azide have shown the decrease of antigenicity and particularly, brightness at the effective density of the preservative.
4) By the adoption of the lyophilization method, the antigen for the FTA-test has lost the brightness by 1/2 to 3/4 of it under unsuitable condition and the cell form became to be deform and particularly, the spiral became to be unclear.
5) For the recovery of the FTA-test antigen lyophilized, the buffered physiological saline was the most favourable in comparison with the distilled water and of 0.85% Saline.
6) The method to inject cortison acetate for rabbit as a pre-treatment in order to reserve the antibody produce mechanism and promote the multiplication of the Treponema was unfavourable method for the preparation of the FTA-test antigen holding with the trending of decreases of antigenicity and particularly of brightness and also the form of Treponema cell becaming to be slender, whilst found a merit of increasing number of the Treponema.

* 東京都立衛生研究所　多摩支所

緒　　言

蛍光抗体法による梅毒の血清学的診断法（FTA-Test）は W. E. Deacon[1] らが1957年開発以来，10余年近くになる。この間，病原性 Treponema を抗原として用いる，この反応も梅毒以外の健康者血清に陽性反応の出現することが確められた。この問題解決のため，術式にも Deacon 自身で，FTA-5 から FTA-200[2] へと改良が行なわれ，更に1964年には FTA-ABS-Test[3] と称する非病原性の Reiter Treponema の培養加熱上清による被検血清吸収法へと発展するにおよんで，この FTA-Test の術式も完成の域に達したといつてさしつかえないだろう。もつとも，この FTA-ABS-Test においてさえ，5倍血清では，なお非特異反応が見られるので，20倍血清を用いる必要があるという，わが国の研究者の意見もあつて，蛍光抗体班のテーマとして取り上げられ，ほぼ班員の同意を得るに至つている。しかしながら，本法に用いる抗原の調整法に関しては，いまだに，くわしい報告がない。著者は抗原の採取時期，抽出溶媒，凍結乾燥および防腐剤などの抗原性状におよぼす影響について検討し，興味ある結果を得たので報告する。

実験材料および方法

〔Ⅰ〕 使用菌株：予研より分与された Treponema pallidum Nichols WHO 株をウサギの睾丸に継代培養したものを実験に用いた。

〔Ⅱ〕 蛍光標識抗体：医科研試験製造部製品を使用した。

〔Ⅲ〕 蛍光抗体法の術式

術式はおおむね WHO[4] の方式にしたがい，以下のように行なつた。

① 抗原をのせガラス上に，毛細カピラールで0.05 ml落とし，直径約10mmの円状に塗抹して風乾する。

② アセトンで10分間，室温で固定後，風乾する。

③ 乾燥抗原上に，それぞれの濃度に稀釈した被検血清 0.05ml を，毛細カピラールでのせ，37°C の湿箱中で，60分間反応させる。

④ のせガラスをリン酸緩衝食塩液に浸し，10分間に2回液を交換して，洗浄したのち風乾する。

⑤ あらかじめ Boxtitration して使用濃度を決定しておいた蛍光標識抗体 0.05ml を，毛細カピラールで，抗原上にのせ，37°C の湿箱中で60分間反応させる。

⑥ のせガラスをリン酸緩衝食塩液で洗浄したのち風乾する。

⑦ 重炭酸緩衝グリセリン液で包埋し，カバーグラスをのせる。

⑧ 螢光の有無は，千代田高輝度水銀照明装置 H-250と，日本光学製顕微鏡 Model-S の組合せで判定した。

〔Ⅳ〕 Treponema 抗原の抽出法

Treponema をウサギ睾丸より抽出する場合，用いる溶媒については，0.85%生理食塩液，2.2% クエン酸ソーダ液，Nelson's Medium および2%牛血清アルブミン液について，Treponema 抗原の受ける影響をしらべた。

抗原の抽出法は，1睾丸当り 10ml の各溶媒を入れた，三角コルベンを振とう機にのせ，厚さ約2mm位に細切した睾丸を入れ，室温で1時間振とう浸出した。

〔Ⅴ〕 抗原採取の時期については，ウサギ睾丸に Treponema を接種後，5日目，7日目，10日目および15日目のものについて，0.85%生理食塩液を用いて抗原を抽出して，FTA-Test 抗原としての優劣を比較検討した。

〔Ⅵ〕 FTA 抗原に添加する防腐剤として，Merthiolate および Sodium Azide について，濃度，5,000，10,000および20,000倍の割合に添加した場合，抗原の受ける影響をしらべた。

〔Ⅶ〕 また，抗体産生能をおさえて，Treponema の増殖を促進する目的で，Treponema を，家兎睾丸に接種する24時間前と接種後24時間毎に Cortisone Acetate を 2.5mg/mlの生理食塩液懸濁液として，0.7mlを大腿部皮下に注射したものについて，対照のものと FTA-Test の抗原としての優劣を比較した。

実　験　成　績

〔Ⅰ〕 FTA-Test 用抗原に対する抽出溶媒の影響

FTA-Test 用抗原に対する抽出溶媒として，0.85%生理食塩液，2.2% クエン酸ソーダ液，Nelson's Medium および2%牛血清アルブミン液について比較検討したところ，表1のような結果を得た。

すなわち，抽出直後は抗原輝度および形態など，いずれも Nelson's Medium がもつとも良好で，0.85%生理食塩液および2%牛血清アルブミンは，ほぼ同様で，2.2% クエン酸ソーダ液がもつとも悪かつた。しかしながら，24時間後になると，いずれの溶媒で抽出したものも，輝度および形態については差がなくなつたが，Nelson's Medium および2%牛血清アルブミンで抽出したものには，こまかい浮遊物が生ずるようになり，出来上つた標本がきたなくなる傾向がみられた。生理食塩液と2.2% クエン酸ソーダ液は輝度の点

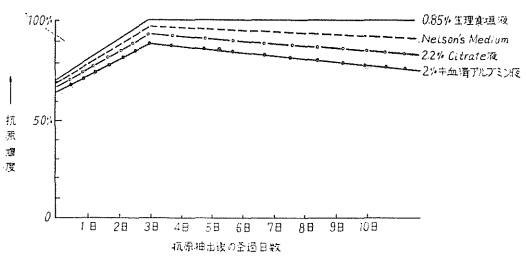
表 1　FTA-Test 用抗原に対する抽出溶媒の影響

抽出溶媒の種類	抗原の性状	抽出直後					抽出24時間後				
		×25	×50	×100	×200	×400	×25	×50	×100	×200	×400
0.85% 生理食塩液	輝度	⧻	⧻	⧻	++	+	⧻	⧻	⧻	++	++
	形態	良			好		良			好	
	Spiral	良			好		良			好	
	沈殿	な			し		な			し	
2.2%クエン酸ソーダ液	輝度	⧻	++	+	−	−	⧻	⧻	⧻	++	++
	形態	直線状のもの混在					良			好	
	Spiral	不鮮明のもの多し					良			好	
	沈殿	な			し		な			し	
Nelson's Medium	輝度	⧻	⧻	⧻	++	++	⧻	⧻	⧻	++	++
	形態	良			好		良			好	
	Spiral	良			好		良			好	
	沈殿	な			し		こまかい浮游物				
2%牛血清アルブミン液	輝度	⧻	⧻	⧻	++	+	⧻	⧻	⧻	++	++
	形態	おおむね良好(直線状のもの混存)					良			好	
	Spiral	良			好		良			好	
	沈殿	な			し		こまかい浮游物				

では，ほぼ同様の結果が得られたが，細胞の形態については，0.85%生理食塩液の方が，2.2% クエン酸ソーダ液より安定性があつた。

また，この各溶媒によつて抽出された抗原が，日時の経過とともに，どのような変化をするか，しらべたところ図1のごとき結果を得た。

図 1　FTA-Test 用抗原の輝度に対する抽出溶媒のおよぼす影響



すなわち，0.85%生理食塩液抽出による抗原が，輝度および細胞形態の保存の点で，もつとも良好で，Nelson's Medium，2.2%クエン酸ソーダ液および2%牛血清アルブミン液が，これについで良好であつた。これよりのちに行なつた実験に用いた FTA-Test 抗原の抽出には，0.85%生理食塩液を用いた。

Treponema は，抽出直後は，いずれの溶媒でも輝度は若干弱く24時間後位に輝度が最高に達するようになる。条件のよい0.85%生理食塩液抽出抗原は，生の状態で，4°C に保存すれば，20〜30日位は抗原性に余り変化のないことが判明した。しかしながら，凍結乾燥を行なうと，細胞の形態が細長化し，Spiral もきれいでないものが多くなり，輝度も低下することが観察された。

〔Ⅱ〕 FTA-Test 抗原の採取時期の検討

Treponema を接種して，5日目，7日目，10日目および15日目のウサギ睾丸から，0.85% 生理食塩液で，Treponema を抽出して，FTA-Test 抗原としての性状をしらべたところ，表2のごとき成績を得た。

すなわち，輝度，細胞の形態および抗原液の沈殿浮游物などについては，5，7および10日目のものは，5日目の菌数が極端に少ないほかは，いずれも大差がなく良好であつた。15日目になると，菌数は多くなるが，輝度および形態などの点において，抗原としては失格の状態になつていた。

表 2　FTA-Test 用抗原の採取時期の検討

Tp. 接種後の経過日数 ／ 抗原の性状	5 日 目	7 日 目	10 日 目	15 日 目
輝度	良好	良好	良好	良
細胞の形態	良好	良好	良好	10日目のものより細長いものが増加
Spiral の見え方	良好	良好	良好	余り良好でない
抗原液の沈殿	少ない	少ない	少ない	増加
菌数	余り多くない	良（10^3/ml）	良好（10^6/ml）	多い（10^{10}/ml）

備考：Tp. 抗原の抽出には，0.85％生理食塩液を使用した。また，菌数は兎の個体により，かなりのばらつきがあるが，ここに示した数字はもつとも良好な状態のものである。
Tp. は Treponema の略語。

表 3　FTA-Test 用抗原に対する抽出溶媒と防腐剤の影響

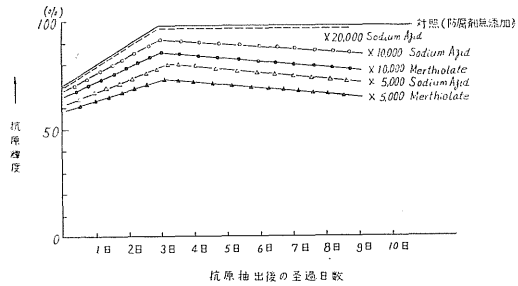
抽出溶媒 ／ 抽出後経過時間 ／ 抗原の性状 ／ 防腐剤 ／ 1次血清の稀釈度		抽出直後			抽出24時間後		
		対照	Sod. Azide ×20,000	Sod. Melthiolate ×10,000	対照	Sod. Azide ×20,000	Sod. Merthiolate ×10,000
		× 25 50 100 200 400	× 25 50 100 200 400	× 25 50 100 200 400	× 25 50 100 200 400	× 25 50 100 200 400	× 25 50 100 200 400
0.85％生理食塩液	輝度	⧻ ⧻ ⧻ ⧺ ＋	⧻ ⧻ ⧻ ⧺ ±	⧻ ⧻ ⧺ ＋ －	⧻ ⧻ ⧻ ⧺ ⧺	⧻ ⧻ ⧻ ⧺ ⧺	⧻ ⧻ ⧻ ⧺ ⧺
	形態	良好	良好	おおむね良好直線状のもの混在	良好	良好	良好
	Spiral	良好	良好	不可	良好	良好	良好
	沈殿	なし	なし	なし	なし	なし	なし
2.2％クエン酸ソーダ液	輝度	⧻ ⧺ ＋ － －	⧻ ⧻ ⧻ ⧺ ±	⧻ ⧻ ⧻ ⧺ ＋	⧻ ⧻ ⧻ ⧺ ⧺	⧻ ⧻ ⧺ ＋ －	⧻ ⧻ ⧺ － －
	形態	直線状のもの多し	良好	おおむね良好	良好	余りよくない	良好
	Spiral	不可	不可	良好	良好	不可	良好
	沈殿	なし	なし	なし	なし	なし	なし
Nelson's Medium	輝度	⧻ ⧻ ⧻ ⧺ ⧺	⧻ ⧻ ⧺ ⧺ ＋	⧻ ⧻ ⧻ ⧻ ⧺	⧻ ⧻ ⧻ ⧻ ⧺	⧻ ⧺ ⧺ ⧺ －	⧻ ⧻ ⧻ ⧺ ⧺
	形態	良好	良好	良好	良好	余りよくない	余りよくない
	Spiral	良好	良好	良好	良好	良好	良好
	沈殿	なし	なし	なし	こまかい浮遊物	なし	なし
2％牛血清アルブミン液	輝度	⧻ ⧻ ⧻ ⧺ ＋	⧻ ⧻ ⧻ ⧺ ＋	⧻ ⧻ ⧻ ⧻ ⧺	⧻ ⧻ ⧻ ⧻ ⧺	⧻ ⧺ ＋ － －	⧻ ⧻ ⧻ ⧺ ⧺
	形態	おおむね良好（直混）	おおむね良好	余りよくない	良好	余りよくない	良好
	Spiral	良好	良好	余りよくない	良好	余りよくない	余りよくない
	沈殿	なし	なし	なし	こまかい浮遊物	大きな浮遊物	中等大浮遊物

〔Ⅲ〕 FTA-Test 用抗原に用いる防腐剤 Merthiolate および Sodium Azide の抗原へおよぼす影響

Merthiolate および Sodium Azide が，FTA 抗原にどのような影響を示すかをしらべるため，5,000倍，10,000倍および20,000倍の濃度になるよう，抗原液にそれぞれの防腐剤を添加して，抗原輝度の測定を行なつたところ図2および表3のごとき結果を得た。

すなわち，20,000倍の割合に Sodium Azide を添加したものが，輝度および細胞形態の点でもつとも良好で，対照と全く変らないが，10,000倍添加のものは輝度が若干低下し，形態も細長化していた。Merthiolate においては，20,000倍添加のものでも，Sodium Azide 10,000倍添加のものより劣つていた。5,000倍添加となると，Sodium Azide および Merthiolate のいずれも，実際には抗原としては用いられない程度に輝度が低下した。

図 2



備考：Treponema の抽出には0.85%生理食塩液を使用した。

〔Ⅳ〕 凍結乾燥のおよぼす FTA-Test抗原への影響

FTA-Test 用抗原を凍結乾燥した場合，どの程度抗原としての性状に変化が起るかを観察したところ，表4に示す結果を得た。

表 4　凍結乾燥による抗原輝度の変化

診断名	1次血清の稀釈度 / 抗原の種類	×100	×200	×400	×800	×1600	備考
顕症梅毒（硬性下疳）	生	卌	卌	卅	卄	+	抽出溶媒 0.85% 生食液
	凍結乾燥（同上ロット）	卌	卌	卅	卄	+	抽出溶媒 0.85% 生食液
	凍結乾燥（ # 53 ）	卅	卄	卄	±	−	抽出溶媒 2.2 % citrate
第2期梅毒	生	卌	卅	卄	+	±	抽出溶媒 0.85% 生食液
	凍結乾燥（同上ロット）	卅	卅	卄	±	−	抽出溶媒 0.85% 生食液
	凍結乾燥（ # 53 ）	卅	卄	+	±	−	抽出溶媒 2.2 % citrate

備考：#53　某研究所製

表 5　凍結乾燥した FTA-Test 用抗原の復元に用いる溶媒の影響

	1次血清稀釈度 / 抗原復元用溶媒の種類	×200	×400	×800	×1600	×3200	備考
対照（生）		卌	卅	卄	+	−	Cell form, Spiral 共に良好
凍結乾燥抗原	蒸溜水	卌	卅	卄	+	−	Cell form 幾分収縮 Spiral 余り良好でない
	0.85%生理食塩液	卌	卅	卄	+	−	Cell form, Spiral 共に良好
	リン酸緩衝食塩液	卌	卅	卄	+	−	Cell from, Spiral 共に良好

備考：Treponema の抽出には0.85%生理食塩液を用いた。

すなわち，Treponema は凍結乾燥することにより，細胞の Spiral はのびて，形態が細長化する傾向が強く，輝度も若干低下するようである。とくに2.2%のエン酸ソーダ液で抽出したものは，0.85%生理食塩液で抽出した Treponema よりも，輝度の低下がみられた。

〔V〕 凍結乾燥した FTA-Test 抗原の復元に用いる溶媒の抗原性におよぼす影響

凍結乾燥した Treponema 抗原の復元に用いる溶媒が，FTA-Test の抗原にどのような影響を与えるかをしらべたところ表5のごとくであつた。

すなわち，輝度の点では蒸留水，0.85%生理食塩液およびリン酸緩衝食塩液では大差がなく，強いていえば，リン酸緩衝食塩液がもつとも良好であつた。

また，Treponema の細胞形態の点では，0.85%生理食塩液とリン酸緩衝食塩液を用いて，凍結乾燥抗原を復元した場合，いずれも大むね良好であつたが，蒸溜水で復元したものは，幾分細胞が収縮する傾向が認められた。輝度および形態が両者一致して良好なものは，リン酸緩衝食塩液であつた。

〔VI〕 Cortisone Acetate で前処置した家兎における Treponema pallidum Nichols WHO 株の発育と FTA-Test 抗原としての性状

抗体産生能を押え，Treponema の増殖を促進せしめる目的で，Treponema を兎の睾丸に接種する24時間前と接種後毎日 Cortisone Acetate を 2.5mg/ml[7] の生理食塩液に懸濁したもの 0.7ml を体重約 3 kg の兎の大腿部皮下に注射して，Treponema 抗原の性状を観察したところ，表6のごとき成績を得た。

すなわち，Cortisone Acetate 処理を行なつた兎の

表 6 Cortisone Acetate 処理の FTA-test 用抗原におよぼす影響

診断名		硬性下疳	早期潜伏梅毒	FTA-Test No. 2394	偽陽性血清 No. 3128
		×100 200 400 800 1600	×100 200 400 800 1600	×5 10 20 50 ABS	×5 10 20 50 ABS
凍結乾燥抗原 #54		++ + ± ± −	+++ +++ ++ + −	++ ++ + ± −	++ ++ + ± −
対照	生5日目	+++ ++ + ± −	+++ +++ +++ + ±	++ ++ + + −	+++ ++ ++ ++ −
	生10日目	+++ ++ + ± −	+++ +++ ++ + −	+++ +++ ++ + −	+++ +++ ++ ++ −
cortisone 処理	生5日目	+++ ++ + ± −	+++ ++ ++ + −	+++ ++ ++ + −	+++ +++ ++ ++ −
	生10日目	+++ + ± ± −	+++ ++ ++ ± −	++ ++ + + −	++ ++ + + −
備考		VDRL-S 1：2 OGCF 1：40 TPHA(×80) −	VDRL-S 1：32 OGCF 1：40 TPHA(×80) ++	VDRL-S 1：0 OGCF 1：0 TPHA(×80) −	VDRL-S 1：0 OGCF 1：0 TPHA(×80) −

睾丸から抽出した Treponema 抗原は，無処理のものとくらべて菌数は多くなるが，抗原の輝度は，おおむね低下の傾向を示し，細胞の形態も細長化するものが著しく多くなり，FTA-Test 用抗原としては，Cortisone 処理は，むしろ行なわない方が，よい場合が多いようであつた。

考　　察

FTA-Test 用抗原の調整については，FTA-Test の創始者である Deacon W.E. らは，最初 (1957年)[1] FTA-Test 用抗原について単に，TPI-Test 用の抗原そのものを用いるように推奨しているためか，Kent J.F.[3] および Albertleibovitz L.T.[4] らも抗原の抽出には Nelson's Medium を使用しているが，著者の経験では，輝度，細胞形態および保存性などの点から，Nelson's Medium よりはむしろ，0.85% 生理食塩液が優れているように思われた。

また，FTA-Test 用抗原の保存のための防腐剤については，Deacon W.E.[1] らは防腐剤を添加しない方がよいとしているが，たしかに，Merthiolate あるいは Sodium Azide が，FTA-Test 抗原の抗原性に変化を起させることは，著者の実験でも明らかなようで，特に Merthiolate の影響は，Sodium Azide より大きく，防腐効果の期待出来る 0.5% の濃度では，Sodium Azide の場合でも可成り輝度が低下する。も

つとも，Wilkinson A. E.[6] らの報告，あるいは BBL の製品化された抗原のごとく，Sodium Azide を 0.1 %添加しているものもあるが，むしろ FTA-Test 用抗原には防腐剤を添加するよりは，小分封にして，開封後，雑菌の繁殖しないうちに使用するか，あるいは，スライドグラスに添着して，アセトン固定後，凍結保存する方が合理的であると考えられる。

Treponema の培養日数については，Turner T.B.[7] らが，やや詳細に 15°C，9～12日としているが，著者の経験でも，大体同様の成績で，FTA-Test 用抗原としては，20°C 前後に空調した動物舎で10日間位の培養が無難であつた。

なお，Treponema の細胞形態の保存，およびスライドグラスへの添着性改善のため，Kent J. F.[4] ならびに Albertleibovitz, L. T.[5] らは hypochlorite で抗原を処理したり，あるいは dimethyl sulfoxide を添加しているが，著者の予備実験では余りよい結果が得られず，FTA-Test 抗原は，種々の操作を加えない方がよいように思われた。

結　　論

1) FTA-Test 用抗原の抽出には，2.2% クエン酸ソーダ液，Nelson's Medium および 2 % 牛血清アルブミン液よりも，0.85%生理食塩液の方が適当であつた。

2) FTA-Test 用抗原の採取時期は，兎の睾丸に Treponema pallidum Nichols 株を接種後，10日目のものが，菌数，抗原性，輝度および形態の点で最適であつた。

3) FTA-Test 用抗原に添加する防腐剤は，防腐効果を示す濃度では，Merthiolate および Sodium Azide のいずれも，抗原性，特に輝度の低下が著しかつた。

4) FTA-Test 用抗原は凍結乾燥によつて，1 管あるいは 2 管程度，輝度の低下を招き，細胞形態，特に Spiral の不鮮明化が著しかつた。

5) 凍結乾燥した FTA-Test 用抗原の復元には，蒸溜水および0.85%生理食塩液にくらべ，リン酸緩衝食塩液がもつとも良好であつた。

6) 抗体産生能を抑制し Treponema の発育を増進する目的で，Cortisone Acetate で兎を前処理することは，菌数の増加には有効であつたが，FTA-Test 用抗原としては，抗原性，特に輝度の低下を招く傾向があり，細胞も細長化し，余りよい結果を得なかつた。

本論文の要旨は第22回日本細菌学会関東支部総会（昭和42年11月）において発表した。

文　　献

1) Deacon, W. E., Falcone, V. H. and Harris, A. D.: Pro. Soc. Exper. Biol. & Med.: 96, 505～508 (1957)

2) Deacon, W. E., Freeman, E. M. and Harris, A. D.: Pro. Soc. Exper. Biol. & Med.: 103, 827～829 (1960)

3) Hunter, E. F., Deacon, W. E. and Meyer, P. E. : Public Health Rep.,: 79, 410～412 (1964)

4) Kent, J. F., Covert, S. V., Relly, H. W., Kinch, W. H. and Lawson, W. B.: Pro. Soc Exp. Biol. and Med.,: 109, 584～589 (962)

5) Leibovitz, A , Oberhofel, T. R., Meacham, J. T. and Diestelhorst, T. N.: Am. J. Clin. Path., 40, 480～486 (1963)

6) Wilkinson, A. E. and Rayner, C. F. : Studies on the Fluorescent Treponemal Antibody (FTA) Test. Monograph Series No. 78, World Health Organization, Geneva, 1～17 (1965)

7) Turner, T. B. and Hollander, D. H. : Biology of the treponematoses. Monograph Series No. 35, World Health Organization, Geneva, 84～88 (1957)

他誌に発表した論文および著書等

——雑　　誌——

1. 善養寺浩，大久保暢夫，堀幹郎，鶴田康子，柴田実：
Aminosidine のグラム陰性桿菌に対する抗菌作用：
Chemotherapy，16，（2），121（1968）
2. 善養寺浩，大久保暢夫，堀幹郎，鶴田康子，柴田実，西条頼広：
Enduracidin の家兎実験梅毒治療効果について：
Chemotherapy，16，（4），474（1968）
3. 善養寺浩，一言広，太田建爾：
水および食品における赤痢菌，チフス菌の動態：
食品衛生誌，9，（1），45（1968）
4. 善養寺浩，村上一：
貝類，特にカキによるウイルス感染：
メディヤサークル，99，19（1968）
5. 善養寺浩：
米国の衛生研究所見聞記：
モダンメディア，14，（11），540（1968）
6. 善養寺浩：
モルモネラ症の臨床，病理と疫学：
Clinical Report，2，（10），7（1968）
7. NOBUO OHKUBO and HIROSHI Zen-YŌJI：
In vitro and in vivo evaluation of Enduracidin, A new peptide antibiotic substance：
J. Antibiotics, XXI，2，119（1968）
8. 善養寺浩，寺山武，工藤泰雄，坂井千三：
腸炎ビブリオK抗原に関する研究：
メディアサークル，13，（4），151（1968）
9. 善養寺浩，坂井千三，
村田文也，根本ハツ子，尾沢彰宣（母子保健院）
中沢進（荏原病院）
佐藤肇（昭和大学医学部小児科）
Morganella による新生児髄膜炎，Gentamicin の脳室内注入による1治験例：
日本新生児学会雑誌，4，（3），176（1968）
10. 柳沢文正：
動脈硬化症とゴマ油：
日本医事新報，2327，108（1968）
11. 柳沢文正：
真性糖尿病と酒石酸カルシウム：
日本医事新報，2305，126（1968）
12. 柳沢文正：
糖尿病患者へのメゾ酒石酸カルシウム投与法：マイナスイオンの効果：
日本医事新報，2310，161（1968）
13. 柳沢文正，小笠原公，武士俣邦雄：
食酢とカルシウム：
東京都衛生局学会誌，42，70（1968）
14. 柳沢文正，小笠原公：
医学面からみた光電比色計（9）
臨床試験の主なる分析法：
分析機器，（5），37（1968）
15. 木村康夫：
ビル用水の衛生管理：
ヒシサークルニュース，Vo'.1（1968）
16. 松本昌雄：
鉄細菌の培養に関する研究（Ⅱ）
Gallionella ferruginea の分離培養
水道協会雑誌，No.401，p.2～8（1968）
17. 松本昌雄：
鉄細菌の培養に関する研究（Ⅲ）
培養容器の通気性およびカルシウムがGallionella ferruginea の発育に及ぼす影響ならびに Gallionella 野外種の分離：
水道協会雑誌，No.402，p32～38（1968）
18. 松本昌雄：
鉄細菌の培養に関する研究（Ⅳ）
Gallionella の生物学的性状（1）温度，$Fe(HCO_3)_2$，保存期間および培養年令と G. ferruginea の発育の状態：
水道協会雑誌，No.404，p.30～35（1968）
19. 松本昌雄：
鉄細菌の培養に関する研究（Ⅴ）
Gallionella の生物学的性状（2）二，三の窒素源の検討と培養環境の炭酸ガス濃度：
水道協会雑誌，No.411，p.23～26（1968）
20. 松本浩一：
底質試験法B，生物学的試験，試験法および註解：
衛生化学，14，（3），p.150～160（1968）
21. 松本茂，勝木康隆，友松俊夫，酒井昭子：

リノール酸メチルの通気酸化と酸化防止剤の響影（Ⅰ）：
衛生化学，110，14（1968）

22. 松本茂，
大森義仁，田辺弘也，細貝祐太郎，天野立爾，（国立衛生試験所）
俣野景典，三浦利之，（国立予防衛生研究所）：
包装油脂食品の食中毒防止に関する研究（抄録）：
食品衛生研究，18，（9），18（1968）

23. 五島孜郎：
特殊栄養食品の現状と集団給食への利用：
臨床栄養，32，（7），868（1968）

24. 五島孜郎：
日本人は無機質が足りないか（カルシウム）：
月刊給食，5，（9），64～65（1968）

25. 関博麿：
日本人は無機質が足りないか（鉄）：
月刊給食，5，（10），94～95（1968）
同　上，5，（11），66～67（1968）

26. 関博麿：
姙娠中のカルシウム投与量とその時期についての考え方：
臨床栄養，33，（3），357（1968）

27. 西田甲子：
食物史観による日本料理の語源：
臨床栄養，33，（1），78～82（1968）
同　上，33，（2），199～202（1968）
同　上，33，（3），364～367（1968）
同　上，33，（4），460～463（1968）

28. 春田三佐夫，津郷友吉：
アイスクリームおよびアイスミルクの大腸菌群検査法の検討：
日本国際酪農連盟 牛乳，乳製品の規格成分分析設定事業最終報告書資料第15号，Ⅶ—8（1968）

29. 春田三佐夫：
乳，乳製品の低温細菌，いわゆる好冷細菌について：
食品衛生研究，18，（3）30～42（1968）

30. 春田三佐夫：
牛乳の低温流通機構について：
食品衛生研究，18，（8），79～100（1968）

31. 大石純一，春田三佐夫：
食肉魚貝類およびその加工品の細菌学的検査：
モダンメディア，14，（6），291～299（1968）

32. 大石純一，渡辺学，林田志信，春田三佐夫：
低温保存食品におけるブドウ球菌について：
肉の科学，9，（1）77～94（1968）

33. 春田三佐夫：
ミリポアフィルター（Millipore-Filter）を用いた細菌検査：
モダンメディア，14，（11），517～526（1968）

34. 春田三佐夫：
乳の低温細菌について：
日本飲用牛乳協同組合講習資料（1968）

35. 春田三佐夫（共著）：
牛乳の保存性に関する厚生科学研究について：
食品衛生研究，18，（9），54～57（1968）

36. 田村健夫：
医療用・食品用ビニール容器の安全性：
薬局，19，（9），35（1968）

37. 田村健夫，戸谷哲也，原田裕文，
郷一枝（日本化粧品工業連合会），
南城実，五十畑悦子（国立衛生試験所）：
Quinoline Yellow WS の同定に関する研究：
日本化粧品工業連合会技術資料，41，2（1968）

38. 田村健夫，戸谷哲也，原田裕文，山添律子，
観照雄，
谷口美和子（日本化粧品工業連合会）：
化粧品の特殊成分試験法：
日本化粧品工業連合会技術資料，41，41（1968）

——著　　書——

1. 柳沢文正：
長生きと食物
東洋経済新報社（1968），東京

2. 柳沢文正：
カルシウムおよびマグネシウム代謝
東京都立衛生研究所研究報告，27（1968）

3. 五島孜郎，西田甲子：
健康な食生活
社会保険出版社（1968.10），東京

4. 春田三佐夫（共著）：
醱酵乳，乳酸菌飲料の必携
全国乳酸菌協会（1968），東京

5. 春田三佐夫（共著）：
生乳の検査及び乳質改善指導の手引
全国乳質改善協会（1968），東京

6. 春田三佐夫（共著）：
生乳検査の理論と実際
全国乳質改善協会（1968），東京

7. 田村健夫（共著）：

化粧品原料基準注解
薬事日報社（1968），東京

——学　　会——

1. 五十嵐英夫，一言広，太田建爾，坂井千三，善養寺浩：
新しい腸内細菌鑑別用（ＬＩＭ）培地について：
第17回日本伝染病学会東日本地方会，東京（1968. 11）
2. 善養寺浩：
1967年分離赤痢菌の薬剤耐性：
第16回日本化学療法学会総会，東京（1968. 5）
3. 善養寺浩，坂井千三，伊藤武，工藤泰雄，坂崎利一，田村和満（国立予防衛生研究所）：
E. coli 06 と 027 によると推定される集団下痢症について：
第41回日本細菌学会総会，東京（1968. 4）
4. 善養寺浩，工藤泰雄，寺山武，坂井千三：
腸炎ビブリオの表層構造に関する研究（4），O群とK抗原との関係について（続報）：
第41回日本細菌学会総会，東京，（1968. 4）
5. 善養寺浩，坂井千三，伊藤武，工藤泰雄：
耐熱性ウエルシュ菌の血清型に関する研究：
第23回日本細菌学会関東支部総会，甲府（1968. 11）
6. 坂井千三，伊藤武，工藤泰雄，善養寺浩：
最近５カ年間に東京都内に発生した耐熱性ウエルシュ菌食中毒について：
第16回食品衛生学会，新潟（1968. 9）
7. 善養寺浩，坂井千三，工藤泰雄，伊藤武，ほか13名：
非病原性とされていた大腸菌による集団下痢症について：
第42回東京都衛生局学会，東京（1968. 11）
8. 善養寺浩，坂井千三，工藤泰雄，伊藤武：
いわゆる神奈川現象陰性腸炎ビブリオ食中毒の１集団発生例について：
第３回腸炎ビブリオ談話会，白浜（1968. 12）
9. 寺山武，潮田弘，坂井千三，善養寺浩：
ブドウ球菌のコアグラーゼ型とエンテロトキシン産生能との関係ならびにコアグラーゼ型別による本菌食中毒の疫学的調査：
第16回食品衛生学会，新潟（1968. 9）
10. 小野川尊（予防医学協会），寺山武，坂井千三：
健康保菌者検索によるサルモネラ保菌の実態について（主として小，中学生を対象とした場合）：
第42回日本伝染病学会総会，東京（1968. 4）
11. 前木吾市：
表面現像法の応用例：
第４回日本医学写真学会総会，東京（1968. 2）
12. 柏木義勝，根津尚光，岩崎謙二，坂井冨士子，藪内清，小沢勇太郎，宮崎友治郎（下水道局落合処理場）：
腸内ウイルス感染症の把握に関する研究
未処理下水からのウイルス分離について：
第42回東京都衛生局学会，東京（1968. 11）
13. 坂井冨士子，柏木義勝，岩崎謙二，藪内清，辺野喜正夫：
都内居住者のインフルエンザ香港株に対する血中抗体の保有状況と同ウイルスの２，３の抗原的知見：
第17回日本伝染病学会東日本地方会，東京（1968. 11）
14. 根津尚光，増野進，寺島睿（東京，下谷病院）：
昭和43年５～６月の「インフルエンザ」ウイルスの検出と次期流行予測について：
第26回日本公衆衛生学会，京都（1968. 10）
15. 柳沢文正，小笠原公，武士俣邦雄：
食酢の生化学的研究（１）
食酢の血清電解質におよぼす影響と浸透性について：
第22回日本栄養・食糧学会総会，東京（1968. 5）
16. 柳沢文正，小笠原公，武士俣邦雄：
食酢とカルシウム：
第42回東京都衛生局学会，東京（1968. 11）
17. 山岸達典：
界面活性剤の研究
とくにドデシルベンゼンスルホン酸ソーダとヘモグロビンとの複合体物質の抗原性について：
第65回日本獣医学会総会，東京（1968. 4）
18. 野牛弘，両角清，小林正武，瀬戸孝博，山崎爽治，泉川碩雄
中野欣嗣（東京都公害研究所）：
最近10年間の東京都内大気中の一酸化炭素濃度について：
第26回日本公衆衛生学会，京都（1968. 10）
19. 野牛弘，小林正武，両角清，瀬戸孝博，山崎爽治，泉川碩雄，佐藤泰仁：
東京都における降下煤塵量について：
第９回大気汚染研究全国協議会大会，神戸（1968.

11)

20. 野牛弘，瀬戸孝博，山崎爽治，泉川碩雄：
近年の東京都における二酸化鉛法による亜硫酸ガス濃度測定結果について：
第26回日本公衆衛生学会，京都（1968.10）

21. 木村康夫，山崎堅吉，中村弘：
深井戸水中のアンモニア性窒素と残留塩素との関係：
第26回日本公衆衛生学会，京都（1968.10）

22. 木村康夫，三村秀一，渡辺悠二：
ソフト型合成洗剤に対するオゾン酸化：
第26回日本公衆衛生学会，京都（1968.10）

23. 木村康夫，山崎堅吉，笹野英雄：
ＢＯＤ試験を妨害する物質について，第３報
合成洗剤（ソフト型，ハード型）について：
第26回日本公衆衛生学会，京都（1968.10）

24. 木村康夫，三村秀一，樋口育子：
地下水の水質調査，第４報：
第５回全国衛研化学技術協議会，名古屋(1968.8)

25. 松本淳彦：
土壌微生物の衛生学的研究：
第26回日本公衆衛生学会，京都（1968.10）

26. 松本浩一，松本昌雄：
鉄細菌に関する研究（Ⅰ）
Gallionella と塩素，硫酸銅，熱および溶存酸素との関係：
第６回日本水処理生物学会，千葉（1968.10）

27. 松本浩一，松本昌雄：
鉄細菌に関する研究(Ⅱ)
Gallionella ferruginea の集落の経時的変化：
第６回日本水処理生物学会，千葉（1968.10）

28. 松本浩一，松本昌雄：
河川の水質汚濁に関する生物学的研究
採集方法，採集個所および時期（冬，春）と底棲生物について：
第６回日本水処理生物学会，千葉（1968.10）

29. 直井家寿太，小久保弥太郎，二島太一郎，
北村久寿久，松本茂：
微生物の代謝産物に関する研究（Ⅰ）
ブドウ球菌の産生する揮発性物質のガスクロマトグラフィー：
第16回日本食品衛生学会，新潟（1968.９）

30. 直井家寿太，
宮崎利夫（東京薬科大学）：
真菌多糖類の研究（第９報）
Cladosporium herbarum の多糖（１）：
日本薬学会第88年会，東京（1968.４）

31. 直井家寿太，松本茂，北村久寿久，丸山務，
小久保弥太郎：
昭和42年度に実施した学校給食の細菌汚染状況調査について：
日本薬剤師会第一回学術大会，東京（1968.４）

32. 直井家寿太，三島太一郎，松本茂，
宮崎利夫（東京薬科大学）：
数種 Cladosporium 属菌の産生する酵素について：第12回日本真菌学会総会，金沢（1968.10）

33. 酒井昭子，勝木康隆，松本茂：
油脂および食品中の酸化防止剤の分離・定量法について（Ⅱ）：
第26回日本公衆衛生学会，京都（1968.10）

34. 五島孜郎，関博磨：
シロネズミの姙娠時における無機質代謝(その２)：第22回日本栄養食糧学会，東京（1968.５）

35. 春田三佐夫，加藤千里，梅木富士郎，
四宮栄（日本大学農獣医学部）：
市販ＵＨＴ処理びん装乳の保存性について：
第26回日本公衆衛生学会，京都（1968.10）

36. 林田志信，渡辺学，大石純一：
大腸菌群の低温発育性について：
第101回日本獣医公衆衛生学会，東京（1968.２）

37. 春田三佐夫，梅木富士郎，加藤千里
四宮栄（日本大学農獣医学部）：
乳，乳製品の大腸菌群定性試験における検出危険率の問題：
第41回東京都衛生局学会，東京（1968.６）

38. 大石純一，渡辺学：
ブドウ球菌が低温保存食品に与える影響について：
第９回日本食肉研究会総会，東京（1968.４）

39. 上木英人，中村義：
野犬からの狂犬病血中抗体価の検索成績：
第26回日本公衆衛生学会，京都（1968.10）

40. 田村健夫，戸谷哲也，原田裕文，鈴木助治：
化粧品中の特殊成分試験法の設定に関する研究（Ⅵ）
ヘアローション中の抗ヒスタミン剤，主として Diphenhydramine の分離定量法：
日本薬学会第88年会，東京（1968.４）

41. 田村健夫，戸谷哲也，原田裕文，観照雄：
化粧品中の特殊成分試験法の設定に関する研究

(Ⅶ)
日焼け防止剤，主として Giv-Tan F ならびに Diaphene の分離定量法：
日本薬学会第88年会，東京（1968. 4）

42. 戸谷哲也，原田裕文，観照雄，田村健夫：
多量の鉄などの妨害物質を共存するときのヒ素・重金属試験：
第5回全国衛研化学技術協議会，仙台（1968. 8）

43. 橋爪六郎，風間成孔，渡辺四男也，田村健夫：
パームチット・ブロムシアン法に対する考察：
第42回東京都衛生局学会，東京（1968. 11）

昭和45年1月25日　発行
January, 1970

昭和44年度
規格表第2類
登録第1545号

東京都立衛生研究所年報20

編集
発行：東京都立衛生研究所

所在地　東京都新宿区百人町4の539
電話　363—3231（代）

印刷所　株式会社　研文社
東京都港区西新橋1—10—10