



衛生研究所調査研究の部

<>

<>

秋田縣下に於けるボトリヌス 症に関する疫学的考察

秋田県公衆衛生課 齊藤 精一郎

秋田県衛生研究所 藤澤 宗一

＝（本論文のあらましは第29回

日本細菌学会総会に於て発表した）＝

まえがき

吾国には「ボ」菌及びこれによる中毒は絶無であると考えられていたが、1950年広木、若松氏等は南九州地区の土壤中に相当広範囲に亘り、A型ボ菌の存在する事をはじめて指摘し、又中村氏等は1951年北海道に於て吾国、最初のE型ボ菌中毒症の発生例を報じ、その後道内各地に5例の本症の発生例を報告し、その原因食品は例外なく寒国特有の「魚の飯ずし」によるものである事を明らかにした。

又1955年山本氏は青森市に於てE型ボ菌中毒症の発生を報じ「さんま」の「かゆずし」が原因食品であると述べている。

私達も1953年及び1955年に秋田県南秋田郡の八郎潟沿岸に発生した食中毒の原因菌を追求した結果、何れもE型「ボ」菌によるものである事を確認した。

これ等の事例から推察すれば吾国に於ても「ボ」菌は相当広く分布しているのではあるまいかと想像せざるを得ないのである。

よって私達は秋田県下の土壌についての「ボ」菌の分布状態の調査と、若干の魚類に関する実験を実施したので、そのあらましについて報告する。

I 秋田県下に於ける「飯ずし」中毒例

秋田県下に於ては「飯ずし」による食中毒例は、私達の同定したE型「ボ」菌症の外に、1930年10月に男鹿市船越町に発生したものより、1952年6月に一日市に発生したものまで、合計9例の発生例がある。

表1に示す通り、このうち(1)～(5)までは現在これを確認する事は困難であるが、家人その他によって調べ得

た範囲では、特異なる症状と相当数の死亡者を出している点より推して、ボ菌中毒症を疑わしむるものがある。

(6)～(7)の例は私達もこれを確認し諸検査を行ったが原因菌を確め得ず、原因菌不明のまま葬り去られていた訳である。

これ等の中毒の原因食品である「飯ずし」に使用した魚は、八郎潟より魚獲されたもので、患者合計41名中、死亡者17名で41.4%の致命率である。

II 土壌よりの「ボ」菌の検出

私達は土壌の採取場所については、北研広木部長の指導により、中毒の発生場所に重点を置き無作為採取を行った。

即ち表Iに示す通り八郎潟周辺地区の男鹿市外13カ町村を湖岸、湖床、河畔、畑地、田地、宅地、道路、海岸等に分け、合計146カ所を掘り地下10cmの土壌を1カ所につき、5～10本の試験管に採り、その10gを10ccの肝ブイヨンに入れ60°～1時間加熱したものに肝片3～4を加え、30°～2日間培養後4日間室温に放置したもののについて、「ボ」菌毒素の有無と菌の分離を行った。

その結果現在まで湖岸41カ所中9株、湖床26カ所中9株、湖畔24カ所中1株、畑地19カ所中18株、海岸3カ所中5株と合計146カ所中、18株のE型「ボ」菌を分離した。

次に私達は八郎潟より採取した死魚、いとよ、はや、はぜ、ふな等12尾より同様にE型「ボ」菌を10株分離した。

これ等の菌株の検出された場所は表IIに示す通りで、男鹿、潟西、八竜、一日市、飯田川及び船越水道附近で、殆んど八郎潟周辺一帯に亘り、殊に湖岸、湖床より多く検出されている事が注目される。

III 魚類と「ボ」菌との関係について

次に魚類と「ボ」菌との関係について、いささかの実験を試みた。

表4及び表5に示す通り、供試株はA型(No. 38)、B型(No. 39)、E型は私達の分離した天王株と払戸株を用いた。

血球計算盤で凡そ1千万ケの芽胞を算え、これを5000

ccの浄水に浮遊させたものに、肉はぜ、寒鮎を放ち、1日～8日間放飼し、これを毎日2尾ずつ他の浄水に(500cc)移し、6時間経過したものについて、腸鰓、肉に区別し肝マブイオンを通して30°C～2日間培養後室温に4日間放置して「ボ」菌発育の有無を検べた。

その結果「肉はぜ」はA型は4日間に各検体から、E型は1～8日間各検体から、それぞれ菌の検出を見たがB型のみは総て陰性に終った。

寒鮎はA型は2日目に各検体から、4日目に腸と肉、B型は1日目肉、2日目鰓肉より、E型は連日各検体より検出されている。

次に同様の芽胞浮游水に24時間放ち、再び他の浄水に移し、1日～8日間経過したものについて毎日2尾ずつ同様の実験を試みた。

その結果は、表6及び表7に示す通り「肉はぜ」はA型は1日目鰓、4日目肉、B型は2日目鰓、E型は1日目に天王株は鰓、払戸株は鰓肉、4日目に払戸株が腸、鰓より菌の検出を見、寒鮎はA型は1日目肉、3日目鰓、B型は1日目鰓、E型は1日目天王株は腸、鰓払戸株は鰓、肉4日目天王株は腸、払戸株は肉よりそれぞれ菌の検出を見た。

更に私達はこれ等の実験の過程で斃死した魚類について毒素産生の有無を検べて見た。

これは芽胞浮游水の中に放った魚類のうち24時間以内に斃死した「肉はぜ」を浄水に移し、1日～6日間に亘り、毎日1尾ずつ等量の生理的食塩水を加えて抽出液を作り(PH6.4～6.8)細菌濾過器を通した濾液中の毒素の存在の有無を検べた。

その結果は表8及び表9に示す通りで、A型は2日、3日、5日に、B型は4日、5日、6日に、又E型は天王株、払戸株共に2日以上経過したものにそれぞれ毒素の産生が認められた。

更にこれ等の毒素のMLDはA型は5日目のものが×25を示し、B型は5日目×10、天王株は4日、5日目×20、払戸株は2日目のものが×50の成績であった。

考按及びむすび

以上の結果から、秋田県下に於ては、相当古くから八郎潟沿岸地区に「飯ずし」による食中毒の発生例があり私達の調査した範囲では患者合計41名、内死亡者17名を算え、41.4%の高い致命率が注目され、このうち2発生例はE型ボ菌中毒症である事を確認した。

又吾国に於ける土壌よりのボ菌の検出は現在まで、極めてその例が少く、広木、若松氏等が南九州地区より9株のA型菌を、中村氏等が北海道網走湖畔よりE型菌を分離した報告があるのみである。

私達は今回秋田県下の八郎潟周辺地区の土壌と魚類より28株のE型菌を検出した。

次に吾国に発生したボ菌中毒症は、何れも寒国特有の「魚の飯ずし」が原因食品で、例外なくE型菌によるものである。これ等の事から私達は魚類と「ボ」菌との関係についていささかの実験を行った結果、その範囲内では「ボ」菌の芽胞浮游水中に放飼した「肉はぜ」「寒鮎」等に吸飲、又は附着した芽胞はこれを浄水に移し、6時間の経過ではA型株、B型株は若干、E型株はその総てに菌が残存するが、24時間以上経過したものは、1日～4日の間に腸、鰓、肉等から若干検出されるのみである。

又斃死した魚類に附着したボ菌は水中に於ても、A型菌及びE型菌は2日目、B型菌は4日目より魚体内に毒素を産生し、そのM、L、Dは最高×10～×50程度である。

以上は簡単な実験であり、この結果から直ちに魚類の「ボ」菌保有について、これこれであるとは申上げられないが、私達は死魚の体内では、必ずしも嫌気性の環境下でなくとも、毒素の産生する事を知った。

第 1 表 秋田県下に於ける飯ずし中毒例

No.	発 生 年 月 日	発 生 場 所	使 用 魚 類	摂 食 数	患者数	死者数	診断病名	備 考
1	1930 10.28	男 鹿 市 船 越 町	このしろ	?	3	1	?	未 確 認
2	1934 10.24	南秋田郡天王町天王	川さば	?	6	1	?	〃
3	1940 12. 8	〃 〃 渋谷	さより	?	6	2	?	〃
4	1948 5. 4	〃 湯 西 村	川かれい 小鮒	?	4	2	中 毒 ?	〃
5	1950 11.12	〃 天王町塩口	さより	?	1	1	食 中 毒	〃
6	1951 10.25	〃 弘戸村小深見	はぜ	4	4	2	〃	確 認
7	1952 6. 7	〃 一 日 市 町	川かれい	10	7	1	〃	〃
8	1953 10. 8	〃 天王町江川	川だい	6	4	2	E 型ボ菌症	〃
9	1955 5.31	〃 弘戸村福川	たかのはかれい	11	6	5	〃	〃
計	計				41	17		致死率41.4%

第 2 表 土壌（魚）採取ヶ所及びボ菌検出数 () 数字はボ菌検出数

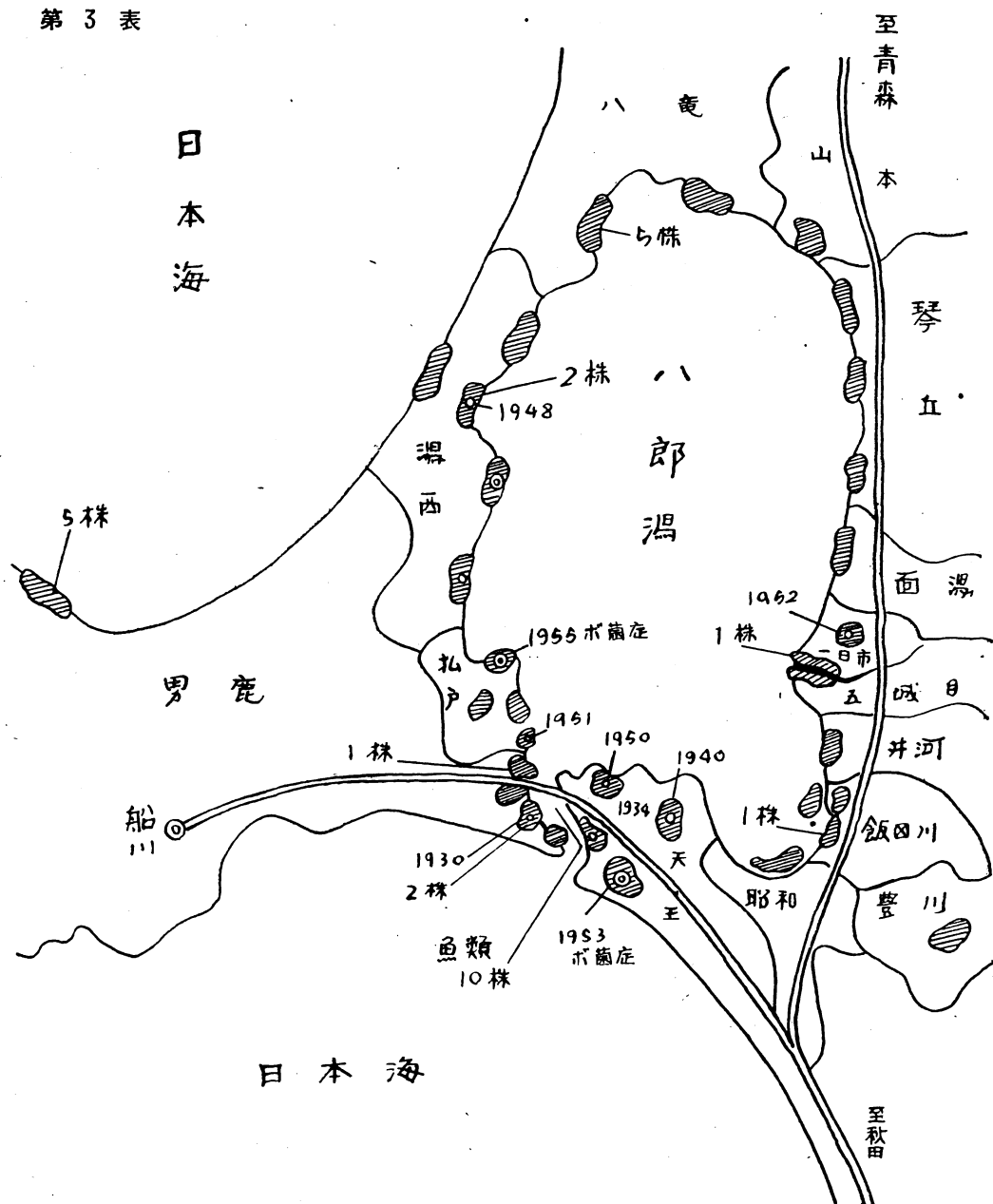
No.	市郡別	町 村 別	採取ヶ所	内 訳								
				湖 岸	湖 床	河 畔	畑 地	田地	宅地	道路	海 岸	死 魚
1	男鹿市	船越 北浦	12 (8)	2	2 (2)		2 (1)	1	2	2	1 (5)	— (10)
2	南秋田郡	弘 戸	11					4	4	3		
3	"	湯 西	10 (3)	3 (1)	2 (2)		2	1			2	
4	"	天 王	16	4			3	2	6	1		
5	"	面 湯	10	10								
6	"	一 日 市	11 (1)			8 (1)	1			2		
7	"	五 城 目	10			10						
8	"	井 河	10	4		4	2					
9	"	飯 田 川	10 (1)	2	6 (1)	2						
10	"	豊 川	2				1		1			
11	"	昭 和	10		10							
12	山本郡	八 竜	20 (5)	6 (1)	6 (4)		8					
13	"	山 本	4					2		2		
14	"	琴 丘	10	10								
計			146 (28)	41 (9)	26 (9)	24 (1)	19 (1)	10	13	10	3 (5)	— (10)

第 4 表 (にくはぜ)

菌液浮遊日数	供試株	A 型 (No.38株)			B 型 (No.39株)			E 型 (天王株)			E 型 (弘戸株)			備 考
		腸	鰓	肉	腸	鰓	肉	腸	鰓	肉	腸	鰓	肉	
1	日	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	●●	●●	●●	●●	●●	●●	
2	日	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	●●	●●	●●	●●	●●	●●	
4	日	●〇	●●	●●	〇〇	〇〇	〇〇	●●	●●	●●	●●	●●	●●	
6	日	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	●●	●●	●●	●●	●●	●●	
8	日	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	●●	●●	●●	●●	●●	●●	

◎ 約10,000,000 ヶの芽胞浮遊水（水温平均10℃）3,000ccに魚を1～8日間遊泳させたものを清水3,000cc中再び放ち6時間経過したものについて夫々腸、鰓、肉に分け時々ブイヨンに投入 30℃～2日培養後室温に4日間放置したもの

第 3 表



第 5 表

(鮒)

供試株 菌液浮日数		A型 (No. 38株)			B型 (No. 39株)			E型 (天王株)			E型 (比叡川株)			備 考
		腸	鰓	肉	腸	鰓	肉	腸	鰓	肉	腸	鰓	肉	
1	日	○○	○○	○○	○○	○○	●○	●●	●●	●●	●●	●●	●●	
2	日	●●	●●	●○	○○	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	
4	日	●●	○○	●●	○○	○○	○○	●●	●●	●●	●●	●●	●●	
6	日	○○	○○	○○	○○	○○	○○	●●	●●	●●	●●	●●	●●	
8	日	○○	○○	○○	○○	○○	○○	●●	●●	●●	●●	●●	●●	

第 6 表

(にくはぜ)

供試株 清水浮遊日数		A 型 (No. 38 株)			B 型 (No. 39 株)			E 型 (天王株)			E 型 (払戸株)			備 考
		腸	鰓	肉	腸	鰓	肉	腸	鰓	肉	腸	鰓	肉	
1	日	〇〇	●●	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	●●	〇〇	〇〇	●●	●●	
2	日	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	●●	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	
3	日	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	
4	日	〇〇	〇〇	●●	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	●●	●●	〇〇	
6	日	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	
8	日	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	

◎約 10,000,000 ケの芽胞浮遊水 (水温平均10°C) 3,000cc に魚を24時間遊泳させたものを清水3,000cc中に再び放ち1〜8日間経過したものについて夫々、腸、鰓、肉に分け時々ブイヨンに投入 30°C〜2日間培養後室温に4日間放置したもの

第 7 表

(鮎)

供試株 清水浮遊日数		A 型 (No. 38 株)			B 型 (No. 39 株)			E 型 (天王株)			E 型 (払戸株)			備 考
		腸	鰓	肉	腸	鰓	肉	腸	鰓	肉	腸	鰓	肉	
1	日	〇〇	〇〇	●●	〇〇	●●	〇〇	●●	●●	〇〇	〇〇	●●	●●	
2	日	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	
3	日	〇〇	●●	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	
4	日	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	●●	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	●●	
6	日	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	
8	日	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	〇〇	

第 8 表

(にくはぜ)

浮遊日数 供試株		1 日 (24時間)	2 日 (48時間)	3 日 (72時間)	4 日	5 日	6 日	備 考
A 型 (No. 38 株)		〇 〇	● ●	● ●	〇 〇	● ●	〇 〇	
B 型 (No. 39 株)		〇 〇	〇 〇	〇 〇	● ●	● ●	● ●	
E 型 (天王株)		〇 〇	● ●	● ●	● ●	● ●	● ●	
〃 (払戸株)		〇 〇	● ●	● ●	● ●	● ●	● ●	

◎約 10,000,000 ケ芽胞浮遊水 (水温平均10°C) 3,000cc に放したにくはぜのうち24時間以内に斃死したものを1〜6日間に亘り夫々食塩水にて抽出液を作りボ菌毒素産生の有無を試験したもの

◎ (死魚 (水洗) + 等量食塩水) ~ 乳鉢磨細 ~ 遠心 ~ 上清濾過 ~ 0.4cc宛15gマウス腹腔内接種

第 9 表

(にくはぜ)

浮遊日数 供試株		1 日	2 日	3 日	4 日	5 日	6 日	備 考
A 型 (No. 38 株)		—	× 原液	× 10	—	× 25	—	
B 型 (No. 39 株)		—	—	—	× 原液	× 10	× 原液	
E 型 (天王株)		—	× 原液	× 原液	× 20	× 20	× 5	
E 型 (払戸株)		—	× 50	× 原液	× 15	× 5	× 5	

◎第 8 表の M、L、D——魚体の濾液0.4ccを15gマウス腹腔内接種

◎毒素を産生しない魚体について時々ブイヨンを通して培養の結果、菌のあるもの1日〜A型、天王株、払戸株、他は菌を検出せず

昭和30年度秋田縣下検出赤痢菌 の薬剤耐性について

児 玉 栄 一 郎
茂 木 武 雄

〔Ⅰ〕 緒 言

私共は昨年昭和29年度秋田県内で検出した赤痢菌について、その薬剤耐性試験の成績を報告(1)した。今回は昭和30年度同じく秋田県において検出された赤痢菌株について薬剤耐性を検査したのであるが、その間僅か1年とはいえ、かなり異なる成績が得られたので、次に報告する次第である。

スルファミンの誘導体である Sulfaguanidine は1940年 Marshall が創製し、翌1941年から臨床に使用せられて赤痢症に卓効を収めた。しかしその後各種優秀なるサルファ剤が細菌性赤痢症に効かなくなってきた、すなわちサルファ耐性赤痢菌がわが国においても昭和23年頃(1948年)から現われ初めた(2)(3)(4)。そして25年には分離菌の略90%、あるいはそれ以上が耐性菌で、中には菌株によって 400mg/dl Sulsol という略飽和に近い培地にさえ生えるものがあるに至った。

また落合(3)らの報告によると、名古屋市ではサルファ耐性赤痢菌が昭和24年から出現して年々増加し、25年には 45・8%、26年には 67・1%、27年には 67・6% (駒込B ■や昭和菌では26年度で殆ど全部が耐性を示した)の耐性率を示し、唯西貢菌だけが未だ耐性を示さなかったという。

耐性赤痢菌の出現は都市のみならず、それ以外の地域においても略同様であったことは福見(5)、森ら(6)、熊野ら(7)、秋葉ら(8)、大城ら(9)の業績を見ても伺えるのみならず、耐性獲得の阻止を目標とした(尿素添加など)実験的研究(9)も現われるようになり、更にまた最近では赤痢菌検索の一方法として、赤痢菌の発育はそのままにしておき、他菌の発育を抑制するサルファ剤添加培地さえ提唱せられるようになって来た(鈴木(10))。

赤痢症治療剤としてサルファ剤以外の抗生物質である Streptomycin (SM)、Chlortetracycline (AM)、Oxytetracycline (TM)、Chloramphenicol (CM)、Tetracycline (TC) などについて高度の耐性が出現したという報告はあまりない模様である。しかし阿部(4)は斎藤の業績を取り上げてCMに対する赤痢菌の抵抗性獲得はすでに始まっているようであると述べており、また

内山(2)によると、「SMについては吾々は最早赤痢の特効薬として取り上げることを止めてしまった、サルファ剤と大差がない」という。また川島(12)はCM、TM、AM、TCに対しては感受性低下の兆は認められないが、SMに対してはやや感受性低下の兆が見られたと述べている。また北本(13)によると、昭和28年東京都内の患者から分離した赤痢菌についてそのTM抵抗性を測定したが未だ大部分の赤痢菌はTMに対して耐性を獲得していないことが判明したが、Sh, flex, 2b 中の1株だけTM抵抗性 250mg/ml のものが見られたという。

このように少い文献を通じて見ても抗生物質に対する抵抗性が赤痢菌に出現し初めているようであり、従ってサルファ剤の如き悲惨な轍を踏まぬよう、もしも施すべき方法があれば施すべきである。御簾納(13)は抗生剤の単独法によらず、併用によって相乗作用を狙うと同時に耐性の上昇を阻止しようという実験的研究が企てられた、すなわちCMとTM、CMとDSM、TMとDSMの3つの合剤をつくって試験し、40代継代培養を行った場合のそれぞれの抗生剤に対する耐性上昇度を単独に通過させた場合とを比較したところ、合剤を通過させた場合に耐性上昇の阻止、または遅延が見られたという。

このような耐性獲得の阻止または遅延を目的とした方法を講ずることは今後ますます必要で、重大な問題と思うが、私共としては現在抗生剤に対する耐性を観察しておくことも意義少くないと思われたので、前年度に引き続き30年度秋田県において分離した赤痢菌について検査を行ったが、抗生物質に対する耐性獲得の兆がやや明瞭となって来たので、ここに報告する次第である。

〔Ⅱ〕 試 験 方 法

(i) 供試赤痢菌並びに菌型

供試赤痢菌は昭和30年1月から12月までの間に当衛生研究所並びに秋田、能代、大館、本荘、矢島、大曲、角館、横手、湯沢、鷹巣、男鹿の各保健所、その他で分離した菌株559株のうち無作為的に抽出した112株である。それらの配分並びに菌型検査成績は第1表に示すとおりである。

これらの成績を昭和

第 1 表 昭和30年度 (1月~12月) 分離赤痢菌株並びに菌型

9年度の成績(1)と比較して見ると大同小異である。すなわち菌型から見て、Sh. flex. 2a、2b、3a が他型菌より遙かに多く、また2bが2aよりも多いことも同一であるが、VXの少くなったことが著しく、また Sh. Sonnei もやや少い。

(ii) 使用培地
培地としてサルファ剤の場合には落合合成

保健所別 と菌株数	衛 研	秋 田	能 代	大 館	本 庄	矢 島	大 曲	角 館	横 手	湯 沢	鷹 巣	男 鹿	そ の 他	計 (%)
赤痢菌型														
Sh. flex 1a		1												1 (0.2)
" 1d		1	1					2			7			11 (2.0)
" 2a	8	5	1	5	1		4	45	3	36	13	2		123 (22.0)
" 2d	18	60	5		6	1	115	30	4	43		4	1	287 (51.3)
" 3a	5	3	3	2	1		4	44	5	5	2	1		75 (13.4)
" 4a	5								1					6 (1.1)
" 6				1										1 (0.2)
" VX								3						3 (0.5)
" VY					1			3		1				5 (0.9)
Sh. Sonnei	1	2	1	4	2		1	17	14	3		2		47 (8.4)
計	37	72	11	12	11	1	124	144	27	88	22	9	1	559

培地を、抗生物質の場合には普通寒天培地を使用した。前者の場合、PH を 7.4 に修正して各種サルファ剤 (Sulfadiazine, Sulfamerazine, Sulfaguanidine, Sulfamethylmerazine) をそれぞれ1, 10, 100mg/dlの割合に混和した。また抗生物質の場合は普通寒天培地の PH を 7.2 とし、これに各抗生物質をそれぞれ 2.5, 5, 10, 25, 50r/ml の割合に含むようにしてからペトリー皿に分注し、平板培地として使用した。対照としては国立予研から分譲をうけた標準株を先ず落合培地と普通ブイオン培地に移植して数代継代培養を行い、充分その發育を確めた後供試培地へ移植し、37°Cで 24時間後に成績を判定した。

〔Ⅱ〕 試 験 成 績

(i) サルファ剤の場合

耐性試験の成績は第2表に示すとおりであるが、前年度の耐性率を比較のために表中に記入した。

まず菌型について述べると、Sh. flex. 2a は 2b とともにサルファ剤に対し、25株が25株とも耐性であるから耐性率が 100%といい得べく、なおこれらはサルファ剤の種類を問わない。1bも菌株数が3株に過ぎないので断言することは困難であるが、4種のサルファ剤に対して100%耐性があることになっている。3a は 案外選択的で、サルファダイアジン、サルファメラジンに比較的耐性が

第 2 表 各種サルファ剤に対する各型赤痢菌の抵抗性
(表中の数字は耐性株数を表わす)

サルファ剤の種類 mg/dl 供試菌株数	サルファダイアジン				サルファメラジン				サルファグアニジン				サルファメチルメラジン			
	100	10	1	小計	100	10	1	小計	100	10	1	小計	100	10	1	小計
Sh. fldx 1b	3	3		3	3			3	2	1		3	2	1		3
2a	25	23	2	25	24	1		25	25			25	24	1		25
2b	25	25		25	23	2		25	18	7		25	13	12		25
3a	24		3	3			5	5		5	17	22			9	9
4a	4			0			1	1	1		3	4			4	4
VX	3	2		2	2			2	2			2	2			2
VY	4	2		2	2			2	2		2	4	2		2	4
Sh. Sonnei I	22		3	12	15		3	13	16		15	7	22		21	21
計	110	55	5	15	75	54	6	19	79	50	28	29	107	43	14	36
耐性率 (%)	29年度				29年度				29年度				29年度			
	83.5				78.6				82.5				82.5			
耐性率 (%)	30年度				30年度				30年度				30年度			
	68.2				71.8				97.3				84.5			

低く、サルファメチルメラジンに対しても50%に満たない。しかしサルファグアニジンにおいては 24 株中耐性株が22株であるから、耐性率が92%となる。29年度では 3aが16株で、そのうち耐性株が1〜2株に過ぎなかったものである。Sh. sonnei ではサルファ剤に対する選択性が3a程ではないが、それでもサルファグアニジン、サルファメラジンに対しては殆ど耐性が100%であるに反し、サルファダイアジン(69%)、サルファメチルメラジン(73%)に対してはそれ程でもない。Sh. flex, 4a やまた V X, V Y については菌株数が少いので何とも言えない。

次に供試菌株全体について見ると、サルファメラジン、サルファメチルメラジンに対しては29年度も30年度も耐性率が同様であるが、サルファグアニジンに対しては耐性率が高まり、サルファダイアジンに対しては低下している。

なお以上の事態からサルファ剤の化学構造と耐性々とを結びつけて何らかの結論を下すことは現在のところ困難である。

(ii) 抗生物質の場合

抗生物質として Streptomycin (SM)、Chloramphenicol (CM)、Chlortetracycline (AM)、Oxytetracycline (TM) の4種を取上げたが、試験成績は第3表、第4表に示すとおりである。

まず菌株について述べると、SMに対して Sh. flex, 1b, 2a, 2b, 3a が全部耐性であり、率からいえば100%である。しかし Sh. sonnei に耐性が無かったことは寧ろ不思議で、29年度検出菌では18株中5株、然かも 50 r/ml 培地に耐えた。

次に CM に対して Sh. flex, 3a, 4a, V Y に少数の耐性菌があるが、特記すべきことは Sh. sonnei に耐性菌が多かったこと(83%)であるが、前年度でも同様であった(89%)。なお前年度では2bに高い耐性を示した。

次は AM であるが、Sh. sonnei は100%耐性であり、Sh. flex, 2b では25株中15株(60%)が耐性であり、2a では25株中1株であるから案外低い。

TMでは Sh. flex, 2b, 3a, 4a, V X, 1b, Sh. sonnei など全部耐性で、100%である。但し 2a は50%であるが、しかし高単位のものに耐える菌株が少い。

次に各菌株の耐性を通算して見ると、SMでは112株中78株が耐性で、率からいえば69.7%、CMでは25株で22.3%、AMでは56株で50.0%、TMでは98株で87.5%となる。これを29年度に比較して見ると、それぞれ9.8%、27.9%、12.6%、3.0%であるから、従て SM、AM、TMともかなり耐性が上昇したと見なければならぬ。

〔IV〕 結 論

昭和30年1月から12月までの間に秋田県下で分離した赤痢菌112株についてサルファ剤並びに抗生物質に対する耐性試験を行い、次の結果を得た。

(1) サルファ剤 (diazine, merazine, guanidine, methylmerazine) に対する耐性率は依然と高く、78.6〜83.5%であった。

(2) 赤痢菌型からいえば、耐性は Sh. flex, 2a, 2b に高く、Sh. sonnei にも略同様であった。3a は guanidine に対してのみ高率を示した。

(3) 抗生物質 (SM, AM, CM, TM) に対しては高率の耐性が認められるようになった。すなわち SM では69.7%、CMでは27.9%、AMでは50.0%、そして TMでは87.5%であって、前年に比較すると驚くべき高率である。しかし高濃度のものに対する耐性は未だ現われず、最高が10r/mlであった。

第 3 表 抗生物質 (SM, CM) に対する各型赤痢菌の抵抗性

(表中の数字は耐性株数を表す)

赤痢菌型		抗生物質 供試菌株数 μ/ml		S M						C M					
				50	25	10	5	2.5	小計	50	25	10	5	2.5	小計
Sh. flex	1b	3						3	3						0
	2a	25						25	25						0
	2b	25					1	24	25						0
	3a	25				1	3	21	25					2	2
	4a	4							0					3	3
	V X	3							0						0
	V Y	4							0					1	1
Sh. sonnei	I	23							0					19	19
計		112				1	4	73	78					25	25
耐 性 率 (%)									69.7						22.3

第 4 表 抗生物質 (AM, TM) に対する各型赤痢菌の抵抗性
(表中の数字は耐性株数を表わす)

抗生物質 r/ml 供試菌株数			A M						T M					
			50	25	10	5	2.5	小計	50	25	10	5	2.5	小計
赤痢菌型	Sh. flex 1b	3					2	2					3	3
	" 2a	25					1	1					12	12
	" 2b	25					15	15					25	25
	" 3a	25			1		6	7			1		24	25
	" 4a	4				2	2	4					4	4
	" V X	3				1	2	3					3	3
	" V Y	4				1		1					3	3
	Sh. sonnei I	23				18	5	23				1	22	23
計		112			1	22	33	56				2	96	98
耐 性 率 (%)			50.0						87.5					

文 献

- (1) 児玉、藤沢、茂木：秋田県衛生研究所報、第2輯、昭和30年度
- (2) 内山圭梧：日本医事新報、1473号、昭和27—7—19、同上誌、1530号、昭和28—8—22、
- (3) 落合国太郎、他2氏：日本医事新報、1471号、昭和27—7—5、同上誌、1932号、昭和28—9—5、
- (4) 阿部実、他3氏：日本医事新報、1532号、昭和28—9—5、
- (5) 福見秀雄：日本医事新報、1473号、昭和27—7—19、

- (6) 森富夫、他2氏：日本伝染病学会雑誌、27巻、昭和28年、
- (7) 熊野英雄、林克己：和歌山県衛生研究所年報、2、昭和27年、
- (8) 秋葉朝一郎、他4氏：日本医事新報、1609号、昭和30—2—26、
- (9) 大城俊彦、漢川学：日伝誌、27巻、1953、
- (10) 鈴木義雄：日伝誌、29巻、昭和31—1、
- (11) 川島明：日本医事新報、1658号、昭和31—2—4、
- (12) 北本治、香川修事、他2氏：日本医事新報、1565号、昭和29—4—24、

ビタミンC量を主目的としたお茶の淹れ方について

齋 藤 ミ キ

まえがき

日常広く愛飲される緑茶の葉には相当多量のビタミンCが含有されていることは衆知のことでもあり、またその含量が緑茶の産地、種類、採取時間、製造法によって多少の変動が免れがたく、また製品としての茶の淹れ方によっても左右されるものであることは既に数多の学者によって報告されているところである。ところでわが秋田県は日本の北部に位し、降雪地域であり、冬季は生野菜に不足する換言すればビタミンCのみならず、その他のビタミンも大部分他県にこれを仰がなければならぬ始末である。しかのみならず秋田県は高血圧症の全国的にも多い地或であり、本症にはビタミンCを是非とも必要とするが、冬季は新鮮な野菜に欠乏する。これらの事情を考えると、家庭などで摂るビタミンC源としてのお茶と雖も、粗末にできない事態にあるのである。それで私はビタミンC源としてのお茶を飲用する場合、なるべくビタミンCの破壊を最小限にして利用しようとするためにこの実験を企てた。

今回の実験に使用した緑茶（検体）は煎茶の1種で、秋田市内某茶店から購入したものであり、この緑茶は埼玉県狭山から入荷したものである。私はまずこの煎茶について浸出時間と浸出液（温湯）の温度との関係を追及して見た。

〔I〕 煎茶浸出液中のビタミンC量と温度との関係

（A） 検体（緑茶または煎茶）の処理法

煎茶 2.5g を秤取し、一定温度の温湯 50ml に投じ、その温度を保持しながら2分間静置し、その後湿した折畳濾紙上に湿したガーゼを置いたもので手早く濾過する。濾紙は少量の水で洗滌し、洗液は検液と混じて一定量（50ml）の浸出液とする。この浸出液 50ml から 5.0ml を取り、これに 10% メタ磷酸液 10ml を加えて検液とした。

（B） ビタミンCの定量法

検液 1.0ml をとり、これに 5% メタ磷酸液 1.0ml を加え、その後の操作は、衛生試験法記載の「2, 4—ジニトロフェニルヒドラジン法によるビタミンの定量法」に従って定量した。

測定器は日立製作光電比色計 EPO—B型を使用した。

（C） 実験成績

煎茶 2.5g が2分間の浸出時間で、温度の相異なる温湯で浸出される場合、茶汁中に遊出するビタミンC量は第1表に示すとおりである。この成績によると温湯の 80°C において浸出されるビタミンC量が最大であって、茶汁 50ml 中に総ビタミンCとして 3.45mg、すなわち 138mg% 含まれる。この水温 80°C を最高として、浸出液の温度が高くなっても、また低くなってもビタミンC量が漸減していくが、低くなって行く場合のビタミンC量の減少はかなり急である。100°C で2分間浸出した場合の総ビタミンC量は 80°C の場合と比較して損失は僅かに約8%であり、90°C の場合は約4%であるから日常お茶を淹れる際、やゝぬるくするよりもやゝ熱くした方がビタミンCの遊出が多量であるということになる。勿論 80°C の場合最も多量であることに間違いはないが、70°C 以下の場合にはビタミンCの破壊ではなく、遊出が不足であることは私の次の実験でも解ることゝ思う（〔II〕参照）

〔II〕 煎茶浸出液中のビタミンC量と浸出時間との関係

上述の実験において2分間浸出した場合の至適温度は

第1表 煎茶 2.5gを2分間、相異なる温度で浸出した場合のビタミンC量

浸出温度 C	酸化型ビタミンC量 (茶汁50ml中)		還元型ビタミンC量 (茶汁50ml中)		総ビタミンC量 (茶汁50ml中)	
	mg	mg %	mg	mg %	mg	mg %
50°	0.39	15.6	2.19	87.6	2.58	103.2
60°	0.66	26.4	2.19	87.6	2.85	114.0
70°	0.75	30.0	2.31	92.4	3.06	122.4
80°	1.05	42.0	2.40	96.0	3.45	138.0
90°	0.96	38.4	2.37	94.8	3.33	133.2
100°	0.85	34.2	2.32	93.0	3.18	127.2

80°C 附近であったこと、また 100°C の場合でもビタミン C の損失がさほど多量でなかったことを確かめたので、次に 80°C 及び 100°C における浸出時間の長短と、浸出液中のビタミン C 量との関係を追及することにした。

(A) 検体（煎茶）の処理法

煎茶 2.5g を秤取し、80°C、または 100°C の温、また熱湯中に投じ一定時間静置後濾し、メタ磷酸液で処理して検液とすることは前述の場合と同じである。

(B) ビタミン C の定量法

前実験と同様である。

(C) 実験成績

成績は第 2 表に示したとおりである。すなわち温水中にビタミン C を最も多量に浸出せしめようとする時、温度が 100°C である場合の至適浸出時間は 2 分間であり、この時のビタミン C 量は浸出液 50ml 中に 3.18mg、すなわち 127.2mg% を示す。また 80°C の場合の至適浸出時間は 4 分間で、この時のビタミン C 量は浸出液 50ml 中 3.45mg、すなわち 138mg% を示す。これら両者を比較すると、92:100 で、ビタミン C の熱による損失は約 8% である。熱湯を使用するのでなければ損失は少い訳である。

【Ⅱ】煎茶の浸出を繰り返した場合、その回数と

ビタミン C 量の通減

一般家庭などにおいて緑茶を淹れる場合、急須の中で唯一度の浸出だけで、その残渣を捨て去ることはないのであって、恐らく浸出液の黄緑色が微かになるまで幾回か温湯を差して浸出を繰り返すものと思うが、その場

第 3 表 煎茶を温湯 (90°C) で何回も浸出した場合各フラクション中のビタミン C 量

浸出回数	煎茶浸出液 100ml 中の総ビタミン C 量		第 1 回浸出液中のビタミン C 量 100 とした場合	
	mg	mg %	%	減量率 %
1	3.66	73.2	100	0
2	3.06	61.2	84	16
3	1.62	32.4	44	56
4	0.90	18.0	25	76
5	0.84	16.8	23	77
6	0.60	12.6	17	83

第 2 表 煎茶 2.5g、水温 80°C 及び 100°C における浸出時間と浸出液中のビタミン C 量

浸出時間 (分)	総ビタミン C 量 (80°C 浸出 茶汁 50ml 中)		総ビタミン C 量 (100°C 浸 出茶汁 50ml 中)	
	mg	mg %	mg	mg %
1	2.97	118.8	2.94	117.6
2	3.09	123.6	3.18	127.2
3	3.19	127.8	—	—
4	3.45	138.0	3.06	112.4
5	3.33	133.2	2.94	117.6
6	3.19	127.8	—	—
7	2.97	118.8	2.83	113.4

合ビタミン C が浸出を繰り返す毎にどの程度減量して行くものか、興味ある点であると同時に實際上知らざるべからざる点でもあると思う。それで次のように実験を重ねて行った。

すなわち煎茶 5g を素焼の急須に入れ、90°C の温湯 100ml を注ぎ、30 秒間静置して浸出を行う。次に浸出液（茶汁）の全部を前実験のように濾過し、水を加えて浸出液を 100ml とする。次回には同急須に 90°C の温湯を 100ml 注ぎ、30 秒間静置浸出を繰り返えし、浸出液を濾過し、水を加えて浸出液を 100ml とする。

このような操作を都合 6 回繰返して、各濾液についてビタミン C を定量したのであるが、その成績は第 3 表に示すとおりである。

普通お茶を淹れるとき、第 1 回目の茶汁は多くの場合捨て、第 2 回目の茶汁から飲用しているのであるが、しかし私のこのような条件の下では第 1 回目の茶汁（第 1 回目の浸出液）の中にビタミン C 量が最も多く、100ml 中に 3.66mg、すなわち 73.2mg/dl を含有しているので

あるから、第 1 回目の茶汁を捨てることは実際上不合理であると思う。

浸出が第 2 回、第 3 回と繰り返えされるに従って C 量は次第に減少して行く。第 1 回目のビタミン C の含量を 100% と見做した場合、第 3 回目の浸出液（茶汁）中には大約半量の 44% があるに過ぎない。第 6 回目では 17% が残存するのみである。但し実験上の条件が煎茶 5g を毎回 90°C の熱湯で浸出したことであるから、浸出回数のみで減量の速かなことをいうことは差控えなければならない

が、少くとも減量が比較的顯著であることは確実であると思うし、また実際の場合においても参考になることと思われる。

〔Ⅳ〕 総括並びに結論

秋田市に販売されている煎茶の1種について、その浸出液（茶汁）中に浸出せられて出るビタミンC量と浸出時の水の温度並びに浸出時間との関係についていろいろ、と実験を行った。

(1) 茶の葉に含有せられているビタミンCは浸出時間を一定（2分間）にした場合、水の温度が80°Cである場合にビタミンC（酸化型、還元型、総ビタミンC量）が最も多量に浸出せられる。水の温度が90°Cである場合にはビタミンC量がやや少く、100°Cの場合には更に少いが、しかし70°C以下では更にまた少い。高温側においてビタミンC量が少くなるのはCの破壊に基くと思われるが、80°Cと100°Cとの場合の差は案外少く、僅か8%に過ぎない。

(2) 次に水温を80°C並びに100°Cとして浸出を行いその時間的關係を見たのであるが、80°Cの場合は4分、100°Cの場合は2分浸出の時ビタミンCの熱湯中への遊

出が最大である。7分間浸出の場合でも80°C、100°Cでの損失は案外多いものではなく、それぞれ89%、89%量を保有している。

(3) 煎茶を90°Cの熱湯で浸出した場合、同一煎茶について浸出を繰り返す時は、回数を重ねる毎にビタミンCは遞減する。そして3回浸出で最初の半量となり、6回浸出で約1/6量となる。

以上の実験は単にビタミンCを主目的とした実験であって、ビタミンC以外の緑茶の栄養素たるビタミンA、B1、B2、甘味、渋味、香気などを顧慮したものではない。しかし「まえがき」にも述べたようにビタミンCを主として考える時は日常生活上多少の意味をもたらすと思う次第である。

文 献

- (1) 岩田久敬：「食品化学」第7版 1954
- (2) 速水 決：「茶の栄養価値」昭和31年
- (3) 斎藤錠一：「優良茶樹の増殖と茶の製造法」昭和30年

冬季乾燥した大根葉のビタミン含量について

☆☆☆

齋 藤 ミ キ

〔Ⅰ〕 い と く ち

大根の葉の乾燥したもの、いわゆる「干し葉」は東北地方の冬季における食品として貴重なものの1つである。田園では初冬11～12月頃引いた大根を沢庵に漬けた後、残った大根葉を藁縄で結び、軒下などに吊しておき積雪で野菜の不足な1月～3月、それを取り下ろして細切し、味噌汁に入れ、「ほしびじる」と称して食膳に供す。元来大根葉にはビタミンB1、B2、Cなどが割合豊富に含まれている、すなわち藤田(1)によれば、総ビタミンB1が49.1r%、または90r、B2が300r、Cが100mgでそれが乾燥された場合の値がそれぞれ770r、650r、Cとなっている。次に岩田著「食品化学」(2)中厚生、農林両省編の暫定表に補足したもの（可食部100g中）によると、B1、B2、Cにそれぞれ0.09、0.30、100mgの数値が与えられているし、また、川崎、小川著(3)によれば、B1が150、Cが90という。

大根葉が冬季東北地方で長期軒下などに吊され、乾燥保存されていく場合、これらビタミンが如何に減少して行くものかどうか、クル病、各種ビタミンB欠乏症、高血圧症の多い裏日本地域として、大根干葉がビタミン唯一の補給源でないとしても、貯蔵期間中におけるビタミン含量の消長を調べておくことは強ち意義がないことのないと思い、次のような実験を行った。

〔Ⅱ〕 実 験 方 法

(A) 検体（大根葉）並びに処理法

大根葉（茎と葉）を水洗、附着している土砂を除き、葉茎部の中央を藁縄でくくり、これを比較的通風の良い軒下に吊し、自然乾燥に委した。

(B) 検体（同上）並びに処理法

(A) 検体の如く水洗した後、温湯（地方の慣習に従い、手指に入れられぬ程度の熱さにしただけで、勿論熱湯は不可、計ったら約76°Cであった）中に1分間

浸し(緑色が鮮明となる)これを(A)検体と同様に縄でくくり、(A)検体と並べて軒下に吊し、自然乾燥に委した。

(C) 乾燥並びに試験期日

検体を12月4日上述のように処理し、2日後の12月6日に第1回目の測定を行い、1ヶ月後の1月5日に第2回目の測定を、2ヶ月後の2月1日に第3回目を、4ヶ月後の3月5日に第4回目の測定を行った。

(D) 水分並びにビタミン(B1、B2、C)定量法

測定に先立ち、検体A、Bを組板上でできるだけ鉋丁で細挫した。

(1) 水分定量

定量一般法による。

(2) ビタミンB1(呈色法)定量

比光：日立製光電比色計EPO-B型使用操作

抽出：……検体(A)25gを秤取し、 $\frac{N}{10}$ Hcl 少量と共に乳鉢中で研磨し、これを三角コルベンに移し、 $\frac{N}{10}$ Hcl 約35ccを加え、沸騰水浴中で30分間加熱抽出する。

(時々振りまぜる) 冷後、飽和酢酸ナトリウム液約1.5ccを添加してPHを4.5に調節する。

酸素分解……次に酸素液約10ccを加え、45~50°Cで2時間30分分解(時々振盪) 冷後遠心分離して上清液をPH4.5-Hclで湿した濾紙で濾過する。紙渣は更にPH4.5-Hclで洗滌し濾過して洗液を濾液に合し濾液一定量(100cc)を得た。

吸着水洗……上記濾液30ccを共栓遠心管2個 a. b. に取り、bに標準液1cc (=20r)を加え、a及びbに酸性白土0.1g宛加えて4分間振盪し充分混和後、遠心して上清を傾瀉する。残渣に更にPH4.5-Hcl約30ccを加え再び混和後遠心し上清を傾瀉する。この操作を3回繰返して澄明な上清を得るに至るまで洗滌を行った。

呈色……前記に得た吸着物に水4cc及びフェノールアルコール混液4ccを加え白土とよく混和し、これに呈色試薬(衛生試験法記載)を一気に混和し時々混和しつつ1時間放置する。後遠心して上清を捨てる。

呈色液の分離……前記に得た呈色吸着物に60%アルコール9cc及びキシロール7.5ccを加え3分間激しく振りまぜた後遠心し上部のキシロール層を駒込ピペットで光電比色計用セルに取り測定する。

測定……キシロールを対照液とし、515~530m/uに於ける吸光度を測定し、B1含有量を計算する。

(検体(B)に付いても(A)同様に操作する。)

(3) ビタミンB2定量(リボフラビン螢光法による)

比螢光……暗室で紫外線下に於て精密ピュレーツを用い滴定し比螢光を行う。

操作

抽出……検体(A)を25g秤取し少量の水と共に乳鉢内で研磨し、これを褐色三角フラスコに入れ、更に水約40ccを加え10% H₂SO₄でPHを4.5に調製する。次に酵素液約 $\frac{1}{10}$ 量を加え45~50°Cで1時間酵素分解を行う。分解後N-H₂SO₄25ccを加え80°C15分間加熱抽出する。冷後遠心沈澱して上清を折疊濾紙で濾過する。残渣に水を加え混和後遠心沈澱し上清を前の濾紙で濾過し濾液一定量を得る(120cc)

吸着……濾液30ccを共栓遠心管2個 a. b. に取り、bにB2標準液2cc (=2r)を加え各管に酸性白土0.5g宛を加え1分間強振後遠心沈澱分離を行い上清を捨てる。

予浸……遠心分離した残留物に0.3% NH₄ OH約30ccを加え1~2分間強振後遠心分離を行い、上清を捨てる。この操作を5回繰返し澄明な上清を得るに至った。次に水約30ccを加え残留物を洗滌する。

誘出……上記残留物にピリジン、酢酸水を10cc加えて1分間強振後遠心沈澱して上清を得る。

脱色……上清2cc宛を比螢光用試験管に取り、これに氷酢酸0.1cc、4% KMnO₄ 0.25cc、加えて振りまぜ、次に同方オキシドール0.25ccを加え脱色した後水を加えて全量を5ccとする。

比螢光……水5ccを別の比螢光用試験管にとり、ビタミンB2標準液を滴下し、その都度滴加したビタミンB2標準液と同容量の水を検液に加え、両管の液量と同じに保ち乍ら紫外線下で比較し、両者の螢光を一致せしめる。

(検体(B)に付いても同様に操作する)

(4) ビタミンC定量(2,4-ジニトロフェニールヒドラジン法による総ビタミンC)

比光……日立製光電比色計EPO-B型により測定する。

操作

抽出……検体(A)3.07gを秤取し、磁製乳鉢中で、約同量の10% HPO₃を加え、軽く研磨し均等の粥状物質とする。これを100ccのメスコルベンに入れ5% HPO₃を加え一定量(100cc)とする。充分混和後、折疊乾燥を濾紙で濾過し、最初の濾液数ccは捨て、次の濾液取り検液とする。この検液1ccを試験管2個 a. b. に取り5% HPO₃1ccを加える。a管にインドフェノール液1滴を混和し(バラ色を呈する)次にa. b. 管にチオ尿素液2ccづつを加える。

オサジンの生成……試験管 a. にジニトロフェニールヒドラジン液1ccを加え37° ± 0.5°Cの水浴中に3時間放置後、b管と共に氷水中に浸漬する。

オサゾンの溶解……氷水中で冷やし乍ら a. b 管に 85% H_2SO_4 5cc宛を少量ずつ滴加しそのつど充分混和冷却する。次に冷やしつゝ b 管にジニトロフェニールヒドラジン液 1ccを混和する。a. b 管の内容物を更に充分混和後氷水中から a. b 管を取り出し、室温に30~40分放置する。

比光……日立製光電比色計で510~540m μ に於ける吸光度を測定する。

〔注〕 検体を測定するに光立ち、ビタミンB標準液で上記同様操作を行い吸光度とビタミンC量を示す計量線を作成して置く。

(検体(B)に付いても(A)同様に操作を行った)

(附記)

上記試験項目中B1、B2、Cの試験に於て、第二回、第三回、第四回目の試験は検体の秤取量がそれぞれ異っている為、操作途上に於て試薬の使用量が異なる場合も有るが、操作は何れも第一回目の試験操作と同様にして試験を行ったものである。

〔Ⅲ〕 実 験 成 績

(1) 水 分

大根葉の乾燥または脱水して行く状況は第1表に示すとおりである。処理乾燥前のものについて測定しなかったが、処理後2日間軒下乾燥した検体は(A)、(B)共に水分が豊富で、89%という成績である。約1ヶ月後の測定では水分が30%台に減じ、多量の水分が乾燥途次逸脱したことを示す。しかしそれ以後は水分の漸減はあるが、甚しい変化はない。但し温湯に浸した検体(B)は水洗のみの検体(A)よりも末期により多くの水分を失うものようである。

(2) ビ タ ミ ン B1

測定成績を第2表に示した。但し測定値が検体の水分含有量の多少によって比較することが難しいと思われるので、検体をそれぞれ完全乾燥物または無水物と見做してB1含有量を換算し、その数値を表の右側に示した。

第 1 表 乾燥途中の大根葉の水分含有量

試験回数	試験 期 日	検 体 (A)		検 体 (B)	
		検 体 秤 取 量 g	水 分 %	検 体 秤 取 量 g	水 分 %
第 1 回	30—12— 5	10.3158	89.9	10.0390	89.5
第 2 回	31— 1— 5	5.8586	39.9	4.9588	32.9
第 3 回	31— 2— 1	1.0623	31.2	1.1253	31.3
第 4 回	31— 3— 5	1.9958	26.6	2.0020	22.3

第 2 表 乾燥大根葉中のビタミンB₁ 量

試験回数	試験 期 日	検 体 (A)		検 体 (B)	
		B ¹ mg % 乾燥体	B ¹ mg % 乾燥体	B ¹ mg % 乾燥体	B ¹ mg % 乾燥体
第 1 回	30—12— 8	0.077	0.701	0.081	0.739
第 2 回	31— 1— 7	0.384	0.629	0.420	0.617
第 3 回	31— 2— 1	0.424	0.615	0.418	0.606
第 4 回	31— 3— 7	0.386	0.521	0.386	0.495

すなわち大根の葉を冬季の寒冷な屋外に自然乾燥に委した場合でも、葉中のビタミン B₁ 含有量が漸減して行く。このことは無処理の大根葉においても、また温湯を通した大根葉においても同様であるが、その減量を比較すると最初に憂えた程度ではなく、むしろ良く保存されていると考える次第である。減量が3ヶ月後で、検体(A)では74%が保存され、検体(B)では67%が保存されていて、然かも両者の差も顕著なものではない。食品として調理の際失うのでなければ、大根干葉もビタミンB₁の補給源たり得ると思う。

(3) ビ タ ミ ン B2

ビタミンB₂含有量測定成績は第3表に示した。

第 3 表 乾燥大根葉中のビタミンB₂ 量

試験回数	試験 期 日	検 体 (A)		検 体 (B)	
		B ² mg % 乾燥体	B ² mg % 乾燥体	B ² mg % 乾燥体	B ² mg % 乾燥体
第 1 回	30—12—11	0.073	0.669	0.063	0.576
第 2 回	31— 1— 9	0.225	0.368	0.171	0.258
第 3 回	31— 2— 3	0.203	0.294	0.149	0.215
第 4 回	31— 3— 7	0.170	0.229	0.142	0.182

この表で見ると、最初検体(A)では乾燥体として換算したビタミンB₂量は0.669mg%であり、検体(B)では同じく0.576mg%であるから、温湯に浸したものはやや低値であることがわかる。

次に乾燥途次B₂の減少は最初の1ヶ月間に甚しく、爾後なお減少するとはいえ、著しくはない。3ヶ月前後の値を比較して見ると、検体(A)では34%が保存されるから消失率が66%となり、また検体(B)では

31%が保存されているから B2の消失率が 69%となる。これらを乾燥 1ヶ月後のものと、それから 2ヶ月経ったものとを比較すると、検体(A)では B2 の消失率が 38%で、検体(B)では 29%であって、初期ほど著しくはないことが知れる。

(4) ビタミン C

以上と同じようにビタミンC含有量を測定したが、その成績は第4表に示すとおりである。この場合にも大根葉の乾燥程度があるので、表中右方には乾燥体として換算し、その成果の比較に資した。

第 4 表 乾燥大根葉中のビタミンC量

試験回数	試験期日	検体(A)		検体(B)	
		C mg %	C mg 乾燥体 %	C mg %	C mg 乾燥体 %
第 1 回	30—12— 7	63.8	580.3	75.4	686.1
第 2 回	31— 1— 6	42.6	69.8	42.6	62.6
第 3 回	31— 2— 2	21.6	31.4	20.6	29.9
第 4 回	31— 3— 5	19.0	25.6	19.5	25.0

すなわちビタミンCは最初かなりの量を含有しているが、その後の乾燥 1ヶ月間のうちに著しい減少がある。検体(A)では 88%を失い、検体(B)では 91%を失ってしまうのである。結局乾燥 3ヶ月では検体(A)では当初の約 5%、検体(B)では 4%しか残らないということになる。

1ヶ月乾燥で大部分のビタミンCを失った検体はその後も減量がつづくが、この時から 2ヶ月後には(A)では 37%が保たれ、(B)では 40%が保たれる。しかし検体の何れにしても、屋外保存 3ヶ月後にはビタミンCの補給源と仰ぐにはやゝ不充分であると言わざるを得ない。

〔Ⅴ〕 総括並びに結論

晩秋または初冬秋田地方で沢庵に漬け、またその茎葉を干葉「ほしば」に利用する大根——あきずまりだいこん——を試験に供した、すなわちその茎と葉を田園家庭で行うように温湯で茹で、その後軒下に吊るして自然乾燥、また別の意味では冬季屋外貯蔵したものについて、約 1ヶ月間ずつの間隔で含有水分並びにビタミン(B1、B2、C)量を測定し、これを温湯を通さぬ材料と比較した。

温湯で茹でなかった検体(A)も、茹でた検体(B)も乾燥するにつれて水分を消失して行くが、最初の 1ヶ月間に両検体とも大部分の水を失う(Aは 56%、Bは 63%)が、その後は徐々となり、3ヶ月後には検体(A)は 70%—

検体(B)は 75%の水分を失うこととなる。

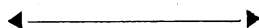
ビタミン(B1、B2、C)は初期に豊富であるが、一般に最初の 1ヶ月間に失はれるが、ビタミンB1は比較的良好に保存される。

ビタミンB1は最初の 1ヶ月後に検体(A)では 10%が失われ、検体(B)では 16%が失われる。3ヶ月後には検体(A)では最初の 74%、検体(B)では 67%が保存されている。

次にビタミンB2では最初の 1ヶ月後検体(A)では 45%、検体(B)では 55%消失する。そして 3ヶ月後には検体(A)は最初の値の 62%を、検体(B)は 71%を失ってしまう。

ビタミンCの消失は更に著しい。すなわち最初の 1ヶ月後検体(A)では初期の 12%、検体(B)では 9%を保有するに過ぎない、然かもその後においても失われることが多く、3ヶ月後には検体(A)では初期の 5%検体(B)では 4%を保有するに過ぎず、両体とも 95%のビタミンCを失うという結果となる。

以上の実験成績から見て、大根葉を自然乾燥せしめる場合、温湯で茹でても茹でなくてもビタミンの消失程度に顕著な差は見られないが、両者ともビタミンCの消失が特に甚しいから、この点冬季貯蔵法上考慮すべきであると思われる。



文 献

- (1) 藤田秋治：「ビタミンの化学的定量法」昭和23年 10月
- (2) 岩田久敬：「食品化学」第7版 1954年
- (3) 川崎近太郎、小川俊太郎：「ビタミンの化学と定量法」昭和25年

ドクササコ *Clitocybe acromelalga*, Ichim. による中毒について

児 玉 栄 一 郎

厚生部公衆衛生課 高 橋 晃 二
男 鹿 保 健 所 龍 山 秀 一

菌または茸による中毒の場合、通常下痢、腹痛など、主として胃腸症状を呈することが多いのであるが、茸の種類によっては溶血、黄疸を起したり、発汗の減少または過多を招いたり、クラレ様作用を発現し、また興奮発揚状態を招いたり、血管運動神経に劇的な症状を起したりすることがある。これらはすべて茸の中に含有せられる毒素によることは明かであるが、これら毒素の性状が明かでないものが多い。

昭和30年晩秋、私共はドクササコ（火傷茸）によると思われる中毒症例に遭遇したのであるが、中毒の原材料である茸を集採することもでき、また中毒症の治療法として示唆に富んだ成績を得たので、ここに報告する次第である。

- (1) 中毒発生日 昭和30年10月16日
- (2) 中毒発生場所 秋田県男鹿市飯ノ町8
- (3) 中毒患者数 4名（渡辺某、主人、60才、妻60才、娘25才、小山田某女18才）
- (4) 中毒原料たる茸 ドクササコ（火傷茸）。

このドクササコと推定されたものについて一言述べなければならぬ。その理由は総じて茸の種類を同定することは容易に見えていて困難だからである。

この茸の採取地は男鹿半島寒風山の東南山麓の竹林である。川村清一著「原色日本菌類図鑑」、第4巻は私共の主たる文献であるが、この書の中に挙げられているドクササコの自生地は多く若竹林か、または竹林で、殆ど例外的に生える場所として雑木林（宮城県黒川郡の場合）と旧城内三の丸の石垣（福島県会津若松の場合）が挙げられている。私共の場合は竹林であって、患者の鑑定を経たものであるから、中毒した茸と同一のものとされる。次にこの毒茸の形態について述べると、

〔蓋〕 径 5.2cm、5.7～7.9～8.5cm、蓋は円形で、大なるものは中央部が浅く陥没している。蓋の表面は粘性で、竹の枯葉が多数附着し、乾いたものは密着して剝がし難い。色は黄褐色が基調で、相当濃い。中央部に特に濃厚ということはないが、あるものでは大小円形の斑紋が認められる。蓋の周辺部は多く下方に捲いて小波状を

なしているが、上方に捲き上った部分もある。蓋の肉は薄く、淡黄褐色を帯び、触れて脆くはない。形態の大きいものには断面に間隙が微かに認められる。

〔欄〕 淡黄褐色であるが、蓋のように濃くはない。また密で、幅が広い。

〔茎〕 表面の色調は淡黄褐色であるが、勿論蓋ほど濃厚ではない。下端部はやや太くなり、白色で、土や竹の朽葉をつけている。また茎の肉は縦に裂け、あまり脆くはない。茎の内部は、細いものには空洞を認め難いが、大なるものの中には空洞があり、あるものには長さ5mm程度の蛆のような虫が寄生していた。茎の長さは 5～6cm 茎の周囲は3.8～3.5cm

〔孢子〕 不明。

以上の所見並びに臨床症状から私共はこの毒茸を「ドクササコ」と推定した。なお普通写真を掲げておいた。

次に少しく臨床症状に触れたい。この臨床症状については川村清一著に述べており、また引用してある文献を読み得たならば少なからぬ知見を得ることと思うが、川村以外に西方義方の綜説（中毒と其処置—診断と治療、臨時増刊、勝沼精蔵、植松七九郎編纂、昭和6年11月）中火傷菌 *Clitocybe acromelalgia* (Jchimura) について次のように述べられている、「市村氏は石川県の中毒例を論拠とし、本邦に見る四肢先端の発赤、腫脹、疼痛の如き恰もアクロメガリー様（アクロメラルギーの誤か）の症状を呈する中毒の原因は、恐らく前者ではなくて、本菌に因するものであろうと推定した。村田氏によると本菌は藪占地と称し、常食として多食しなければ中毒しない。毒成分は水に溶解するらしい。」。また文献として適当を欠くかと思われるが、朝日新聞（昭和28年10月14日）に今井三子（横浜大農菌学）が述べているものを引用すると、「末梢神経および血管に障害を起すもの、として、この種の中毒はヤブシメジによるもので、食後4～5日から10日ぐらい経過して発病し、手足の末梢部やその部分の関節が赤くはれ上り、温感覚に異常を起して激しいいたみを感じ、冷やすと一時おさまるが、温めると痛みが強まる。軽い時には1週間、重い場合は3週間も

続くが、1、2カ月に回復する」と。

以上述べたことから大体推定せられるように、本菌による中毒は成書にあるが如き肢端紅痛症 Erythromelalgia に類する。私共も本中毒症を観てその感を深くしたのである。

現病歴

昭和30年10月13日、秋田県男鹿半島寒風山の東南側山麓にある竹林中で中毒患者のうちの1人主人がドクササコを松茸と間違えて採取、約200～250匁を一旦水煮し、その後甘薯、茄子と共に醤油で煮付けたものを上記家族3名、隣人1名、計4名で夕食に摂取した。非常に美味であり、また摂食後何ら自覚症状が無かったので、家族3人は翌14日にも15日にも3日間続けてこれを摂食した(1名当り50～60匁と推定)。多少の遅速があるが摂食者は全部16日(摂食2～3回後)に発病した。隣家の少女、18才を除く家族3名は肢端の発赤よりも殆ど絶えざる自発痛のため臥床、労作は愚か歩行することさえ不可能となり、主治医の診療(生活保護法の医療扶助)を受けた。私共は男鹿保健所の連絡により、患家を訪れたのは発病2週間後の11月2日であった。次に簡単なが当時の所見を記す、

渡辺某、主人、60才、男

10月16日朝から手指、足趾に感覚異常(ヒリヒリする感じ)が現われ、次第に増強した。18日には掌を炭火に翳したり、湯の中に漬けたりすると疼痛が現われて且つ痛く、また手を握って拳をつくる際、また歩行する場合には手掌または足趾に栗の毬を握むような、また踏むような刺痛が起るようになった。そして加え手背、足背、足趾に浮腫さえ現われ、歩行が困難となった。この手足の浮腫は2週間後の11月1日から消褪したが、手足になお感覚異常が残り、肢端が緩ったり、起動時、起立時に現われ、歩行も労作も困難であった。なお上記の疼痛は局所の発赤や腫脹を伴った。夜間は手足の爪の色まで潮紅したが、疼痛と発赤が何れが先行するか判然しないという。また疼痛、発赤、腫脹は手関節、足関節の部分まで及ぶが、膝や肘関節には及ばず、また肩、上膊、腰部、大腿部には異常なく、鼻尖、耳朶にも変化を覚えなかったという。この他頭痛、眩暈、言語障害、疼痛、耳鳴、視覚異常、味覚異常などなく、また腹痛、下痢もなく、食欲普通、便通1日1行で、ただ夜間疼痛のため睡眠が多少障害されたという。無熱に経過した。

患者は体軀やや小、栄養中等度、言語普通、表情運動尋常、肢端に発赤、腫脹等なく、上下肢の腱反射は尋常、血圧102/52、食欲普通、心肺に異常なく、腹部常、唯起立時肢端の疼痛のため運動緩慢であった。肢端に水

泡または壊疽など見当らない。

渡辺某女、主婦、60才

7年前脳卒中、その後左半身不随を遺す。夫、娘らと共に発病、疼痛(刺痛)が殆ど浮腫と共に現われ、手指、手背、掌、足趾、足背、足趾のみならず、手関節、足関節部にも及んだが、膝関節、肘関節以上に及ぶことがなかった。2週日後の11月1日頃から疼痛も緩解し、浮腫も消失したが、疼痛発作時には発赤も腫脹もあるという。その他熱なく、身体他部分の疼痛なく、視力障害、眩暈、胃腸障害などないが、耳鳴は7年来あるという。便通1日1行。

体格中等度、栄養やや不良、顔色やや蒼白、発作時以外苦悶状がない。軀幹に変化なく、膝蓋腱反射両側共亢進、軽度の左半身不随はあるが、瞳孔等大、左右不同症なく、対光反射尋常。脈搏74、血圧146/80、手指足趾とも浮腫状蒼白、歩行殆ど不可能、言語やや明瞭を欠く。足部の疼痛は後まで残り、常に井戸水で冷やす(冷湿布の形)。

渡辺某女、娘、25才。

10月16日から手背、足背に自発痛と発赤とが現われ、苦痛であったが、1～2日間は不自由ながら歩行できた。その後重症に陥る。本患者は4名中最も重症で、肢端の自発痛、発赤は終日あるのであるが、疼痛は発作様で、緩解期が非常に短い。それでも午前中は比較的緩かであったが、疼痛の激しい時は手足に振顫が起った。夜でも手足は蒲団の外に出して臥床、日中は井戸水を湛えた洗面を離し得なかった。この疼痛発作は発赤に先行し、また緩解する場合には発赤が先ず消退する(疼痛と発赤とが何れが先に出現し、また消失するかは診療上重要なことと思うが故に特に記す次第である)という。また自発痛は手と足と別個に起り来ることもあり、また左右側についても別個なことがあるという。以上の他には熱発なく、胃腸障害なく、また眩暈、頭痛、視力障害なく、ただ日夜四肢端の疼痛のため睡眠の障害があり、食欲不振という。なおこの患者の耳朶、鼻尖には自覚症状が無かった。11月2日までには水泡も壊疽もなかった。

体格、栄養中等度、顔色尋常、但し疼痛時僅かに潮紅す。苦悶状あり、常に上下肢を前方に投げ出し、晩秋にも拘らず絶えず手足を洗面器の井戸水に涵している。手関節、手背、手掌、手指、足関節部、足背、足趾何れも発赤して浮腫状に腫脹していて、疼痛時に振顫が現われて両手指に顕著である。(11月2日後右中指背部に水泡が現われ、化膿したが医療により間もなく治した。)血圧最高106、最低不明。(写真参照)。四肢端の他耳朶、鼻尖部、頬部に変化がなかった。

小山田某女、18才。

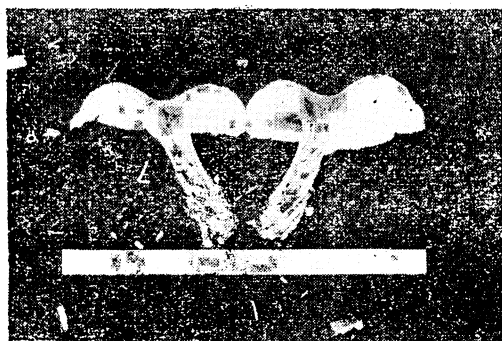
毒茸の摂食量が10月13日夕1回のみで少く、従って発病したが、日常の行為に差支える程度ではなく、11月2日には坐すと足部に軽度の疼痛が現われて来る程度であった。また医療も受けなかった。しかし肢端の異常感は一ヵ月後まで続いた。

治療法について

発作性に、または間歇的に肢端に疼痛、発赤またはチアノーゼ、そして浮腫または腫脹を来す疾患として先ず考えられるものはエリトロメラルギー（肢端紅痛症）とレーノー氏病とであろう。私共は前述の中毒症が肢端紅痛症に酷似していることに驚いた。肢端紅痛症においては「本態については定説なし」とか「原因としては感冒及び局所の冷却を挙げべく、且つ神経性素因が重きをなすものなり」、「稀有の疾患にして、中年の男子に見らる」などと記載されている。同じく肢端の疼痛、発生を来すとはいえ、レーノー氏病では動脈血管の収縮であり、稀に中等度の拡張を示すことがあっても一般に毛細管は糸状に縮小するのであるが、肢端紅痛症では反対に毛細血管の拡張充実であり、時に静脈も怒張を示すのであるから、治療法としても自ら違ってくる。レーノー氏

写真Ⅰ ドクササコ（火傷茸）

A (男鹿半島寒風山麓で採取)



B



写真Ⅱ 患者渡辺某 25才女
手足の腫脹を示す（昭和30年11月2日撮影）



病では局部に微温浴を施し、またジアテルミーを行い、アセチルコリンを用うるが、肢端紅痛症では反対に冷水で冷やし、決して温熱を当てることなく、末梢血管の収縮を招くアドレナリンや、またエルゴチンを注射して良結果を期待するのである。ドクササコ中毒に対しては治療法があまり記載がなく、多くは対症療法に過ぎなかったと思うのであるが、明治23年11月福島病院長磯藤氏の場合は2名の患者に水製麦角越幾斯を与え、又抱水クロラルを投じて安眠させたとする。カルシウム剤を使用した例もある。

私共は先ずレーノー氏病にアセチルコリンが奏効するものならば、肢端紅痛症に酷似の茸中毒症には抗ヒスタミン剤が奏効するかも知れないという予想の下に一般対症療法の外にこれを投与した（男鹿市脇本町開業医、伊藤伍郎氏は主治医であり、伊藤氏はエフェドリン、ピリベンザミンを投与した）。その後患者（娘、25才、症状最も激烈なりしもの）は急に疼痛が軽減し、手足の浮腫も同時に消失して行き、7日で全く証明せられず、歩行も自由となった。またこの患者の冷水に手足を漬けることも抗ヒスタミン剤投与3日で中止したという。しかし肢端の感覚異常は3週日後まで遺残し、また疼痛も歩行後に起るが、安静後間もなく消退するという。

要するに私共は抗ヒスタミン剤は肢端紅痛症に酷似し

たドクササコ中毒症に良く奏効したと信ずるものであるが、また逆に原因不明な肢端紅痛症がドクササコ毒成分、または作用においても化学構造においても同一か、または類似したものによって惹

起するものではないかと推定するに至った次第である。

予 防 法

ドクササコに限らず、毒茸と食茸との区別は困難であり、画一的な目安を立てることができないことは成書にあるとおりである。私共の症例では松茸と誤認されたが、この場合患者の1名の茸の見分け方に対する常識がなさ過ぎたことにもよるが、文献から誤認せられてドクササコを摂食した例を拾い上げると、(1)ササコ、ササタケ、ヤブタケ、(2)ナラタケ、ツエタケ、(3)スギモタケ、(4)赤初茸、(5)松茸などで、その他本菌は毒茸であるカラハツダケと誤認され易く、また本菌はヤブシメジとも呼ばれ、火傷茸とも称されている。

プール（小学校）の汚染度について

小 林 清 吉
茂 木 武 雄

I い と ぐ ち

小学児童に限らず、一般に游泳によってプールの水が汚染されることは当然であるが、あらゆる意味で汚染の程度が甚しかったり、また人体に有害な因子の存在することは望ましくない。当県教育庁並びに小学校当局から依頼あるまま、当衛研ではプール水の汚染度を次の条件の下に検査してある程度の目安を得たのでここに報告する次第である。

II プールと消毒

所 在 地 秋田市保戸野市立保戸野小学校の屋外前庭無蓋。

構 造 コンクリート製。長さ 25m、幅 7m、深さ 0.85～1.45m、底面は一方から次第に深くなる。

水 量 約 144m³

使 用 水 秋田市水道水

換 水 法 入換式

附属設備 シャワー、足洗

消 毒 剤 市販ハイポライト

検査月日 昭和30年7月14～16日

III 検 査 事 項

(1)気温、(2)水温、(3)外観、(4)PH、(5)残留窒素、(以上現場試験)、(6)アンモニア性窒素、(7)クロール、(8)K₂MnO₄消費量、(9)細菌試験（一般細菌数、遠藤赤変菌数、大腸菌群、ブドウ球菌、チフス、パラチフス、赤痢、病原性大腸菌）、(以上試験室において検査)

IV 試 験 法

試験法は衛生検査指針(4)に準じて行った。なお病原性大腸菌は 0—111、0—55、0—26 に限定した

V 検 査 成 績

検査の第1日目はプール使用開始日で、当日午前プール使用前に採水、試験し、また使用終了後(午後)に再び試験した。翌日も翌々日も同様1日2回ずつ試験した。

またプールを利用する学童数が多ければ多いほどプール水の汚染度は高まる訳であるが、消毒剤ハイポライト

は多量使用しなければならないとすれば結局高価につく関係上、その点も考慮する必要があり、結局第1表に示すような結果となった。

第1表 消毒剤（ハイポライト）使用の時日及び数量と游泳生徒数

消 毒 剤 使 用		量 g	生 徒 数 名
月 日	時 間		
30年 7—14	午前 9.00	15,,	652
7—15	8.30	1500	443 (延 1,095)
" "	9.30	500	
" "	11.30	500	
7—16	9.00	2500	248 (延1,343)

現場並びに試験室（衛研）における試験成績を一括して表に示すと第2表のとおりである。

VI 考 按

プールの水の汚染は、汚染に関する要因が多ければ多い程複雑な結果を生むに至ることは当然である。私共の場合においてもプール汚染の条件がかなり錯綜しているので、予想とおりの結果は得られなかったが、しかし大略ながら今後の方針について参考となる成果が得られたと思う。

検査の3日間は珍らしく晴天続きで、同時に気温も高く、殆ど 30°C 以上を示し、これと平行して水温も高い。

プールは水泳用に作られたプールではなく、防火用貯水槽であったため、室内に設備せられたものではなく、露天無蓋であるため塵埃の混入は避けられない。幸い地下水の浸潤は認められないが、プールの壁はコンクリートで、内面も勿論タイル張りでもない。

従ってプール水の外観は水道水を用いているに拘らず使用前から蛋白石ように微濁し、使用後はその濁濁の程度が増強した。且つ少量の浮游物も認められたが、止むを得ないことと思う。

第 2 表 化学的並びに細菌学的成績

月 日	7 月 1 4 日		7 月 1 5 日		7 月 1 6 日	
採 水 時 間	9.30	16.30	9.45	14.20	9.58	11.20
天 候	晴	晴	晴	晴	晴	晴
気 温	29.5°C	32°C	31°C	34°C	30°C	31°C
水 温	24°C	28°C	26°C	30°C	27.2°C	28.5°C
外 観	微蛋白石濁 少量の浮游物	蛋白石濁 少量の浮游物	蛋白石濁 少量の浮游物	蛋白石濁 少量の浮游物	蛋白石濁 少量の浮游物	蛋白石濁 少量の浮游物
P H	6.2	7.0	7.0	7.2	7.0	7.0
残 留 塩 素 (P Pm)	0.5	0.1	0.5	0.25	0.5	0.25
アンモニア性 N (P Pm)	0.065	0.09	0.133	0.219	0.456	0.504
ク ロ ー ル (P Pm)	17.0	20.5	20.56	21.62	22.69	23.40
K Mno ₄ 消費量 (P Pm)	1.2	9.3	6.8	9.69	9.23	10.01
集 落 数 (cc)						
一 般 細 菌	210	1450	22	280	470	36
遠藤赤変菌数	0	35	0	0	0	0
培 養 成 績 (50cc)						
大 腸 菌 群	—	+	—	+	—	+
ブドー球菌 チフス、パラチフス	—	+	+	+	+	+
赤 痢、病原性	—	—	—	—	—	—
大 腸 菌 (0—111, 0—55, 0—26)	—	—	—	—	—	—
游泳兒童数 (名)	—	652	—	443 (延1,035)	—	248 (延1,343)

P H はプールの使用前では 6.2 であったが、その後
に上昇し、最高を示したが、3 日間あまり変化が認めら
れなかった。次にアンモニア性窒素、塩素値、過マンガ
ン酸カリ消費量が、時日を経るに従って三者とも上昇を
示した。この事実は實際上プール用水汲換と密接な関係
のあるものと思われる。

次に大腸菌群の陽性な場合は常にプール使用後とな
っており、またブドー球菌はプール使用後常に陽性とな
っているが、それぞれ意味あるものと思う。

次に一般細菌集落数は日 1 日、第 2 日目ともにプール
使用後多くなっているが、しかし第 3 日目は逆に減少し
たことが目立つ。また遠藤培地赤変菌数は第 1 日目のプ
ールのプール使用後にを数えたが、その他の場合におい
て 0 で、なおまた今回の検査においてチフス、パラチフ
ス菌、赤痢菌、病原性大腸菌群 (0—111, 0—55, 0
—26) などが検出されなかったことは幸いであった。

残留塩素の値と他の検査が示す数値との間に関係づけ
ることは困難であるが、もしも消毒剤の量が今回の場合
よりも多ければ、過マンガン酸カリ消費量も少く、また

一般細菌数も少い成績が得られたのではないかと推定さ
れるが、水道水の料金、消毒剤の価格など経済的な面も
考えなければならぬと思う。

兎に角今回の成績は今後の検査の基礎となると信ずる
訳で、31 年度も機会があれば検査を続行し、学童の游泳
を有利な面に導いて行きたいと思う次第である。

なおプール水判定基準に基いてプールを使用する場合
は、残留塩素を 0.4—0.6 P Pm に保つように努めるこ
とが必要で、本プールならばハイポライトを消毒剤とす
る場合、使用前に約 1500g を投入混和 (残留塩素を 0.5
P Pm に保ち、以後大体 3 時間毎に 500g を追加) し、
利用者数を約名にするならば概ね充分であると考えられ
る。

またプール水の外観、化学的検査その他の点から考え
て 3 日に 1 度の換水が望ましく、また人員面から約 1000
名程度にとどめることが望ましい。

なお附属設備としてのシャワーや足洗場の活用はプー
ルの汚染をある程度防止するものと思われる。

☆ グアヤック樹脂の発色団について ☆

兒 玉 栄 一 郎

〔I〕 緒 言

グアヤック樹脂は Van Deen-Schönbein-Almén の試験ともいわれて尿尿、膿、分泌物などの中の血色素の証明に使用せられたが、1918年 Lyle and Curtman(1)(3) がその精製法を発見してから臨床上広く潜血反応に利用せられるようになった。グアヤック樹脂は非晶性であるが、ベンチジンと同様にエタノールに溶けて褐色を呈し、また氷醋酸にも溶ける。そして酸化剤の存在下血色素の触媒を受けて青色乃至紺色を呈することは既に知られている。そしてこの色彩反応が比較的鋭敏であるため現在においても臨床検査室などに欠くべからざるものであるが、しかし市販品には往々活性性を有しながら呈色が不明瞭に終ることがある。私はこのグアヤック樹脂が酸と酸化剤のメジウムで、各種の、殊に金属塩による触媒作用がベンチジン(2)と大同小異である点と、また市販品と雖も適当に処理する場合には、ベンチジン同様に使用して劣らない価値あることを観たので次に報告する次第である。

〔II〕 グアヤック樹脂の性状について

市販グアヤック樹脂は灰褐色非晶性の粉末で、時に塊状をなす。

グアヤック樹脂はメタノール、エタノール、エーテル、クロロホルム、氷酢ならびに無水酢酸によく溶ける他に NaOH、KOH などの水溶液にも溶ける。しかしトルオール、ニトロベンゼンなどにはあまり溶けず、ベンゼン、四塩化炭素、二硫化炭素、石油ベンチン、パラフィン、グリセリン、硫化安門などには溶けない。

グアヤック樹脂を NaOH 液に溶かして後これに徐々に酢酸を加えて中和して行くと灰褐色の沈澱を生ずるが、これらの沈澱を生ずるが、これらの沈澱を次々に濾化して行き、液の PH 値が 10.0~7.0 の間に生じた沈澱中には呈色活性団を多量に存し、その PH 閾外の沈澱中には乏しい。

また次にグアヤック樹脂をエタノールに溶かし、これに酢酸鉛の結晶を投じて振盪すると灰褐色の絮状の沈澱が生じて来る。この場合の濾液は呈色反応の活性団を有し、原材料で呈色反応が非常に不鮮明である場合にも良く呈色する。

次にグアヤックのエタノール溶液に酢酸鉛を加えて沈澱を起さしめた濾液をとり、これに硫化水素を通して鉛

を落し、炭酸ガスで硫化水素を追い出す。かかる操作を3度繰り返した液は淡褐色で、濃縮したものから針状の結晶(詳細はなお追求中)が得られるが、呈色反応は不活潑でめる。しかしこれに酢酸鉛を抱合せしめると反応が再び鋭敏となる。

なお発色を鋭敏ならしめる目的の酢酸鉛は酢酸亜鉛や酢酸ソーダで代用できる。また酢酸アルミニウムや塩化 Cd でも代用し得るが、後者の場合の呈色がやや不鮮明である。

〔III〕 グアヤック呈色反応に關与する諸種の塩類

実験方法

- (1) グアヤック液………グアヤック粉末をエタノール(95%)に2%の割合に溶かし、これに酢酸亜鉛を加え、その濾液を用いた。
- (2) 塩類液………塩類は約1%の水溶液を調製した、但し難溶のものはその小片小塊を用いた。
- (3) 酸化剤………30% H₂O₂ 水。
- (4) 実施方法………グアヤック液 2ml を試験管に採り、これに H₂O₂ 液 2 滴、次に塩類水溶液 1~2 滴を滴下して直ちに現われる色彩を観察した。但しこの際過酸化水素液を用いなかったものもある。またこの場合にも無機や有機の酸を添加しなかった。

上述の方法で得た成績を示すと次のとおりである。

(i) 触媒作用の認められる塩類

KI, CdCl₂, AgNO₃※, Co-Cloride, Pb-acetate, Na-molybdate, KMnO₄※, MnO₂, Cucl※, CuSO₄, K-chromate, K-bichromate, Ferro-chloride, Ferri-chloride※, Ferro-sulfate, Ferro-Ammoncitrate, 黄血塩※, 赤血塩※, 人血血色素, (NH₄)₂SO₄・Fe(SO₄)

以上列举したもののうち標識(※)した塩類は酸化剤の補助なくして発色の効あるものである。

(ii) 触媒作用の認められない塩類

NaCl, NaBr, NaNO₃, Na₂SO₄, Na₂HPO₄, Na-acetate, Na-citrate, Na-nitroprussid, Na-naphthionate, KCl, KBr, KNO₃, K₂SO₄, KH₂PO₄, K-oxalate, KONS,

NH_4Cl (NH_4)₂CO₃、(NH_4)₂HPO₄、
Ammonium oxalate、Ammonium citrate、
Ammonium vanadate、
BaCl₂、Ba(NO₃)₂、BaCO₃
CaCl₂、
MgCl₂、MgSO₄、
ZnSO₄、Zn-acetate、
Al-acetate、Tin-chloride、MnSO₄、HgJ₂、
Fe-phosphate、

以上の実験に使用したグアヤツク液は最初に断つてあるように、グアヤツク中の発色団と酢酸亜鉛との複合体を含み、これによって発色したものである。このグアヤツク酢酸亜鉛複合体についての成績をグアヤツク酢酸鉛との複合体についての成績と比較すると多少の差異が観られる。例せば、酢酸鉛の場合では (1) K-chromate、K-bichromate などは紺色よりも緑色の色彩が強いし、(2) CdCl₂、Pb-acetate には触媒作用が見られないし、(3) CuSO₄ では緑色で、(4) KJ は黄色を呈することはどであるが、その他の場合はよく一致し、血色素の検査には何れであっても差支ない。

これらの差異は要するにグアヤツク樹脂中の発色団と抱合する塩の種類に由ることであるから、臨床に潜血反応を目的としてグアヤツクを使用する場合、またグアヤツクと塩類の複塩を応用する場合、或いはまた2万乃至3種類以上の塩類の共存する検体について検査する場合には一応これらの事情を考慮することが妥当であると思われる。

〔Ⅳ〕 グアヤツクによる呈色反応と水素イオン濃度との関係

グアヤツク樹脂の呈色は普通紺、または青であり、また触媒剤としての塩類の種類について見てもベンチジンの場合と大同小異であることから、グアヤツクの発色にも恐らくベンチジンと同様至適水素イオン濃度の界域があると思われるので、次の実験を試みた。

実験方法……… グアヤツクは2%エタノール溶液に酢酸鉛を適宜量加え、生じた沈澱を濾過した濾液を用いた。酸とアルカリはHCl、NaOHのN/10~1N液を使用し、PHを適当に按配した。またPHは東洋濾紙会社のPH Test Paperを使用し、また触媒剤としては1%赤血塩液を使用した。

成績は第1表に示すとおりである。すなわちグアヤツクの場合もベンチジンと同じく典型的色彩(青または紺)は何れも酸性側にあることである。しかしPH 4.0以下となると青色に緑色が混じり来り、PH 3.6ではすで

に緑色で、更に酸度が増してPH3.2となると黄が加わり、色彩が緑黄となる。

グアヤツクの典型的色彩は該液のPH値が4.2から6.8までは紺で、かなり幅が広い。しかしアルカリに傾きPH7.0となると急に緑の色調が、すなわち黄色を交え来り7.4では褐色となり、PH8.8となると緑、褐色の色調が失せて黄色となる。

以上の実験成績はグアヤツク樹脂の市販品そのものについて行ったものがあるとは言え、樹脂中の発色団に特殊の状態を招致して行ったものである。それ故にグアヤツクそれ自身においても複合体と同様であると言えないのであるが、上述の成績は臨床検査上大いに参考となることを疑わない、すなわち呈色反応はグアヤツク液の水素イオン濃度を顧慮しなければならないこと、また夾雑物、特に諸種の金属塩の混淆は時に誤認を招き易いことなどである。

〔Ⅴ〕 結 語

グアヤツク樹脂の市販品には往々発色不明瞭なことがあるので、その発色団の再生を顧慮しながら実験をすすめ、次のような結果を得た。

(1) グアヤツク樹脂はメタノール、エタノール、エーテル、クロロホルム、氷酢、無水酢酸に溶解する他、NaOH、KOHなどの水酢液にも溶ける。しかしトルオール、ニトロベンゼンには難溶、そしてベンゼン、四塩化炭素、二硫化炭素、石油ベンチン、パラフィン、グリセリン、硫化安門などには溶けない。

(2) グアヤツク樹脂の市販品には往々発色不明瞭な場合がある。かかる場合に樹脂をエタノール、またメタノールに溶かし、これに適量の酢酸鉛を加え、生じた沈澱を濾過した濾液にはグアヤツクの発色団が更生せられる。以上の場合の酢酸鉛は酢酸亜鉛、酢酸ナトリウムを

第1表 グアヤツク呈色反応と水素イオン濃度との関係

PH	色 彩
2.4	緑 黄
2.8	〃
3.2	〃
3.6	緑
4.0	青、弱緑
4.2	紺
4.4	〃
⋮	⋮
⋮	⋮
6.2	紺
6.8	紺
7.0	緑 黄
7.2	〃
7.4	紺
7.6	〃
8.8	黄

もって代替せられる。また酢酸アルミニウム、塩化 Cd ももっても代えられるが、この場合には呈色がやや不鮮明である。

(3) グアヤック 呈色反応は色素が触媒剤となるが、「青」または「紺」の色彩を目標とする場合、血色素の他に次に列挙する塩類が媒体となる。

KI, CdCl_2 , AgNO_3 , CoCl_2 , Pb acetate , Na-molybdate , KMnO_4 , MnO_2 , CuCl , CuSO_4 , K-bichromate , K-chromate , Ferro-chloride , Ferri-chloride , Ferro-sulfate , $\text{Ferro-Ammon-citrate}$, 黄血塩、赤血塩, Alumen-Ferricum これらのうち AgNO_3 , KMnO_4 , CuCl , Ferri-chloride 黄血塩、赤血塩, Alumen-Ferricum などは H_2O_2 などの酸化剤を必要としない。

(4) グアヤックの呈色反応には水素イオン濃度が関係

する。グアヤック 呈色反応の典型的な色彩である「紺」または「青」は $\text{PH}4.2$ からまでの間にある（酢酸亜鉛との複合体について）。それ以外の PH では緑色または黄色が現われるが故に判定上注意を要する。

文 献

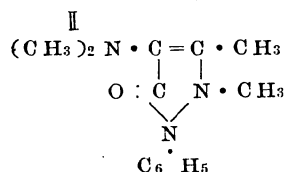
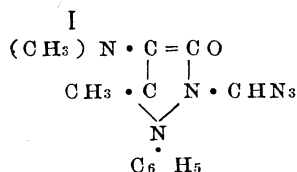
- (1) Lye and Cu tman : J. Biol. Chem. 33 : 1, 1918
- (2) 児玉栄一郎 : 秋田県衛生研究所報, 第 1 輯, 昭和 29 年度同誌, 第 2 輯, 昭和 29 年度
- (3) HawK, P. B and Bergeim, O. : Practical physiological Chemistry, 10ed, 1931
- (4) 柿内三郎 : 実験生化学, 1931

★ピラミドン試験法の発色について★

児 玉 栄 一 郎

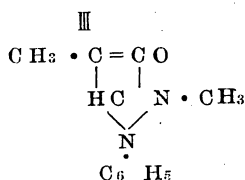
I 緒 言

ピラミドン試験法は Théverson-Rolland 氏試験法とも言われ、臨床上血液または血色素の存在を証明するために用いられている。Pyramidon は現在 Aminopyrin と言われ、解熱作用と共に鎮痛作用が著しいため臨床上欠くべからざる薬品であるが、ベンチジンやグアヤック樹脂などと異り、薬品戸棚から引き出して簡単に役立てることのできる利点がある。このピラミドンは化学的に dimethylamino-antipyrin で、次に示す構造式が与えられている (I または II)。



Antipyrin は 1—phenyl—2, 4—dimethy —3—py—

razolon (III) で、ピラミドンはアンチピリンよりメチル基が 2 回多いだけの差で、そのメチル基の 1 個がピラツオロン核の 5 の位置の水素と置換されただけである。



Antipyrin は水にもエタノールにも溶解するがこの溶液について後で述べるような方法で呈色反応を試るとき、血色素に対してピラミドン液の如

く「青色」または「藍色」を呈することがないのである。なお既に報告(1)(2)したようにベンチジンについて「青」発色を目標とする場合、触媒剤としては血色素のみならば、諸種の金属塩にも触媒作用のあるものがあり、臨床検査上紛らわしいことがあることを述べておいたが、ピラミドン試験法ではかかる事情がないかどうかについて次の実験を企てた。

I 実験方法

実験に使用した材料並びに実施方法は次に示すとおりである。

- (i) ピラミドン液…………… 2 g ピラミドンを % エタノール 100ml に溶解す。

- (ii) 氷酢……………化学用氷酢
 (iii) 過酸化水素……………30%液
 (IV) 塩類液……………諸種金属塩は1%水溶液とし、難溶のものは刀尖で微量を投じた。1%水溶液で濃すぎるものは適宜稀釈して用いた。なお血色素液は赤血球を Ag, dest, で溶血せしめ、その濾液を使用した。
 (V) 実施方法……………ピラミドン液 2.0ml を試験管にとり、次に駒込ピペットで氷酢酸を滴、次に過酸化水素を2滴加えて振盪混合、その後塩類液を1~2滴投じ、出現する色彩を観察した

Ⅱ 実験成績

ピラミドン試験法が陽性なる場合は色彩が青または紺であるが、紫色の色調が強く出るとはベンチジンや、グアヤック樹脂試験と異なるところである。兎も角ピラミドン試験法の紫紺色が判別した場合を程度によって $\pm$ 、 $+$ とし、疑わしい場合を $\pm$ 、陰性の場合を一なる符号をもって表わすと次のように分けられる。

- $\pm$ …… Ferri-chloride, CoCl_2 , KMnO_4 ,
 AgNO_3 , HbCl ,
 $+$ …… Ferro—chloride, K—chromate,
 K—chromate, 鉄明礬 CuCl , CuSO_4 ,
 KCNS , ZnSO_4 ,
 $\pm$ …… K—Ferricyanate, K—Ferrocyanate,
 Alumen chronicum, FeSO_4 , MnO_2 ,
 $-$ …… Fe—phosphate, Fe—Ammonium citrate,
 KI , Pb—acetate , Ammonium molybdate
 Mn sulfate , CdCl_2 , Tin—chloride, NaCl
 KCl , CaCl_2 , $(\text{NH}_4) \text{Cl}$, $(\text{NH}_4)_2$,
 CO_3 , KBr , $(\text{NH}_4) \text{NO}_3$, MgSO_4 ,

成績は以上のとおりであるが、すなわちピラミドン法は血色素についてのみ色彩反応が陽性（青紫色）となり得る唯一のものではないので、従ってもしも検体にこの方法で陽性となる物質が紛れて混在する場合には勿論陽性ということになるのであるから、これらのことを一応考慮しておく必要があると思う次第である。

Ⅲ ピラミドン法と水素イオン濃度

次にピラミドンの色彩反応には水素イオン濃度を考慮する必要があるかどうかについて実験を重ねた。

ピラミドンは2%エタノール液、酸化剤としては30% H_2O_2 水、触媒休としては血色素を使用した。反応体液のPH値を変えらるためにはN/10 HCl , N/10 NaOH を使用した。水素イオン濃度は酸化剤及び触媒を加え

る以前にPH紙（東洋濾紙会社）をもって測定した。なおピラミドンの2%エタノール液はPH値が5.6~5.4であった。その成績は第1表に示すとおりである。

すなわちピラミドン試験法ではピラミドン液のPH値が5.2以下にある場合呈色が明確である。この反対にN/10 NaOH などをもってPH値を5.6以上に導くときは全然呈色がない。

なお実験上の差異であるが、ピラミドン液をより酸性にする場合 HCl 液を使用する時はPH 4.2またはそれ以下となると触媒の有無に拘らず、 H_2O_2 を添加するのみで青紫色を呈して来る。また H_2SO_4 液では過酸化に素のみで呈色することはないが、 HNO_3 液では黄色水着色し、呈色反応も弱い。また H_3PO_4 液の場合には着色はないが硝酸同様反応が弱い。しかし酢酸酸性の場合はPH値が4.2のみならず、更に低下して、となっても H_2O_2 の添加のみで呈色することがない。従ってピラミドン試験法で酸を加える必要がある場合には酢酸を使用すべきである。

V 溶媒に無水酢酸を使用した場合

ピラミドンは酒精に溶解するのみならず、無水酢酸、 $(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}$ にも溶解する。この溶液について試験すると血色素に対してエタノール溶液と同様に明確な青紫色を呈して来るのであるが、他の塩類の態度を観るとかなり異なったものがある。

すなわち Cr 化合物では K—chromate でも K—bichromate でも青紫色が判然し、CO 化合物 (COCl_2)、Cu 化合物 (CuSO_4 , CuCl) でも陽性まぎれない。しかし銅化合物でも1価のものがより明確である。

Ferri-chloride、Ferro-chloride には青紫色が現われないし、K—Ferricyanate、K—Ferro-cyanate では最初僅かに緑色となるのみでやがて黄褐色に移行し、 AgNO_3 や KMnO_4 では全然呈色がなくして白濁を生ずるのみである。 ZrSO_4 も同様である。

IV 結 論

ピラミドン試験法は血色素の定性に優秀な試験法であるが、臨床検査上

第1表 ピラミドン発色試験と水素イオン濃度との関係

PH	色 彩
5,6	青 紫 (+)
5.2	" (H)
4.8	" "
4.6	" "
4.4	" "
4.2	青 紫 (H)
4.0	" "

次の諸点を考慮する必要がある。

(i) 反応が陽性（青または青紫色）なるためには血色素のみならず、次の塩類も触媒的に働き、陽性となり得る。

(a) Ferri-chloride, CoCl_2 , KMnO_4 , AgNO_3 ,
Ferro-chloride, K-chromate, K-bichromate,
AlumenFerricum, CuSO_4 , CuCl , KCNS ,
 ZnSO_4 ,

(b) K-Ferri-cyanate, K-Ferro-cyanate, Alumen-chromate, MnO_2 ,

以上のうち (a) 群は明かで、(b) 群のものは明かではなく、(±) の程度である。

(ii) ビラミドン試験法には酸の少量添加が望ましいが、鉍酸 (HCl , HNO_3 , H_2SO_4) は不適當である。酢酸の添加は呈色の邪魔にならない。止むを得ず HCl を使用する場合溶液の酸度 PH 4.2 以下の際は呈色してもその成績は疑わしい。

(ii) 以上と反対に PH 5.6 以上となる場合も注意を要す。血色素が実存しても呈色反応が陰性に終るからである。

(iii) ビラミドンの溶媒が無水酢酸である場合にも血色素に対して特異な色彩を呈するが、この場合においても Cr 化合物、CO 化合物、Cu 化合物は血色素同様呈色して来る。

< ————— ★ ————— >

文 献

- (1) 児玉栄一郎：秋田県衛生研究所報、第1輯、昭和29年度
- (2) 児玉栄一郎：秋田県衛生研究所報、第2輯、昭和30年度

編 集 後 記

本年はいろいろな事情が錯綜して所報の編輯も思うように進捗しなかったのが、普通ならば4月末にはでき上がるものが5月漸く編輯が終えたということになってまことに申し訳ないこととどおしをひたすら願う次第である。年間の業務を展望することができ、また足りないところに気がつくことは苦しいが、皆様のお叱りと激励の言葉を戴くことは更に嬉しい。

衛生研究所の仕事などは全く縁の下の礎石のようなも

ので、じみであり、映えないものであるが、それでいて公衆衛生の基本を受け持た、またひとりびとりの健康と治療につらなることであるから責任は重大である。褒められることまで望む訳ではないがせめて法律の基礎の上に立って歩むことができれば、困難な事柄と取組む根気も湧いて来るのではないかしら、文化国家として自負も生じて来るものではないかしら、と思う次第である。この欄を借りて日夜業務に営む所員並びに関係各位に深謝すると同時に今後も御支援の程を重ねて希う次第である。

(児玉記)