

No. 76

September 1958

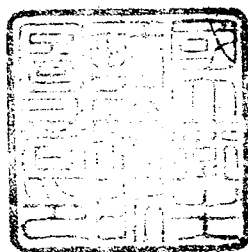
BULLETIN OF NATIONAL HYGIENIC LABORATORY

Tamagawa Yoga-Machi, Setagaya-Ku, Tokyo, Japan.

衛 生 試 験 所 報 告

第 76 号

昭 和 33 年 9 月



国 立 衛 生 試 験 所

衛生試報

Eisei Shikenjo Hôkoku

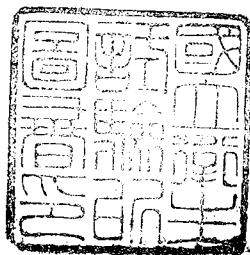
BULLETIN
OF
NATIONAL HYGIENIC LABORATORY

Tamagawa Yoga-Machi, Setagaya-Ku, Tokyo, Japan.

衛 生 試 験 所 報 告

第 76 号

昭和 33 年 9 月



国 立 衛 生 試 験 所

目 次

報 文

銀イオン滅菌装置通過水中の銀イオン量について……………山手 昇, 浦久保五郎	1
陰イオン交換平衡におよぼす非水溶媒の影響について (第1報)	
メタノール, エタノール, アセトン—水混合溶液中での硝酸	
イオンとハロゲンイオンとの交換平衡について……………小川秀子, 辻 章夫	3
ある種の市販放射性薬品について……………長沢佳熊, 亀谷勝昭	9
原水爆実験による放射能汚染の研究 (第8報) 魚類の放射能汚染	
とその放射化学分析……………長沢佳熊, 亀谷勝昭, 城戸靖雅	11
有機性ハロゲン簡易定量法 (第1報)……………板井孝信, 中島利章	17
ビタミンCとピロールとの呈色反応……………小川俊太郎, 河内敬朝, 西村秀子	21
マーサリルのポーラログラフ定量法……………藤井正道, 佐藤 寿	29
有機化合物のポーラログラフによる研究 (第11報) p-ヒドロキシ	
プロピオフェノンのポーラログラフ—(第12報) 3-ニトロ	
フタル酸のポーラログラフ—……………佐藤 寿	33
有機化合物のポーラログラフによる研究 (第13報) 2,6-ジ置換	
シクロヘキサノン類のポーラログラフ—……………佐藤 寿	39
マレイン酸エルゴメトリン標準品について……………長沢佳熊, 鹿島 哲, 土屋雅一	45
赤外線吸収スペクトル分析の医薬品試験における応用 (第5報)	
補償法によるエチルアルコール中の少量のメチルアルコールの定量……………大場琢磨	53
赤外線吸収スペクトル分析の医薬品試験における応用 (第6報)	
ブチルヒドロオキシアニゾール異性体の定量とその混合物の融点について……………大場琢磨	55
農業グサチオンの定量法について……………川城 巖, 竹内末久	59
エアゾール殺虫剤中のピレトリン定量に関する研究 (第1報)	
効力増強剤の定量におよぼす影響について……………山口一孝, 西本和光	61
麻薬中に混入されたプロカインの検出……………朝比奈晴世, 志内賢彦	65
Sodium Tetraphenyl-boron によるアルカロイド類の定量……………中川雄三, 伊阪 博	69
食品中の繊維素グリコール酸ナトリウムの定量に関する研究 (第2報)	
ナフタレンジオール法によるアイスクリーム中の定量について……………藤井清次, 林 敏夫, 原田基夫	75
食品中の繊維素グリコール酸ナトリウムの定量に関する研究 (第3報)	
置換度の測定によるアイスクリーム中の定量について……………藤井清次, 原田基夫, 林 敏夫	79
合成樹脂製容器の研究 (第4報) メラミン樹脂の溶出量について……………川城 巖, 岡田太郎, 細貝祐太郎	83
ロウオルフィア・アルカロイドの定量に関する研究 (第3報)	
重量法による総アルカロイドの定量について……………山口一孝, 庄司初枝, 伊藤已代子	87
ロウオルフィア・アルカロイドの定量に関する研究 (第4報)	
レセルビンの沱紙電気泳動による分離定量について……………山口一孝, 庄司初枝	91
ロウオルフィア・アルカロイドの定量に関する研究 (第5報)	
円筒クロマトグラフ法によるレセルビンの分離定量の検討……………山口一孝, 福島清吾, 伊藤已代子	95
ロウオルフィア・アルカロイドの定量に関する研究 (第6報)	
<i>Rauwolfia chinensis</i> のアルカロイドについて……………山口一孝, 庄司初枝	99
あへんの紫外線吸収スペクトルについて (第1報)	
採汗回数別あへんの吸収スペクトルの異同および吸光度の比……………朝比奈晴世, 大野昌子	103
J.P. VI によるあへん中のモルヒネ定量用計算図表……………井上 勲	109
インド産大麻製品 "Charas" の紫外線吸収について……………朝比奈晴世, 水町彰吾	113

"Charas" の呈色反応および汚紙クロマトグラフィー	朝比奈晴世, 志内賢彦	115
ケシ蒴果の切傷方法とあへんおよびモルヒネ収得量	川谷豊彦, 藤田早苗之助	119
ケシ <i>Papaver somniferum</i> L. の生育ならびに収量に及ぼす窒素質		
肥料の影響について	木下孝三	133
タマサキツブサの試植栽培 (第3報) 塊茎栽培について (その1)	石原活磨	139
レモンガラスの系統の分類に関する研究 (予報) I・生育上の		
一般特性, 収草量, ならびに生葉の含水率について	宮崎幸男	143
レモンガラスの系統の分類に関する研究 (予報) II・生葉の		
含油量ならびに油のチトラル含量について	宮崎幸男	149
クラムヨモギ <i>Artemisia kurramensis</i> QAZILBASH の生育ならびに		
収量によぼす肥料成分の影響について	木下孝三	155
種子島における印度蛇木の栽培試験 (第1報) 発芽試験について	高城正勝	159
プロタミンの生物学的定量法について	芹沢 淳	163
ヒスタミンの研究 (第1報) 麻酔ハートの血圧下降に基くヒスタミンの		
用量-反応線	長沢佳熊, 中山豪一, 芹沢 淳	169
断頭ニワトリの血圧に対する脳下垂体後葉ホルモンの反応-附		
2, 3 薬剤の反応	中山豪一, 芹沢 淳	173
発熱性物質試験に関する研究 (第1報) 家兎体温に関する		
基礎的条件について	北川純男, 川崎浩之進	179
発熱性物質試験に関する研究 (第2報) 首枷固定法の		
家兎体温におよぼす影響	北川純男, 川崎浩之進	185
菌株および培養条件と赤痢菌内毒素 (予報)	岩原繁雄, 石関令子	193
赤痢菌体の Rhamnose および Glucosamine について	越沼きみえ	197
ビルマ豆の青酸試験法について	川城 巖, 川田公平, 竹内末久, 漆畑喜子	201
輸出用サケおよびマス缶詰検査について	川城 巖, 川田公平, 細貝祐太郎	205
Casein-Folin 呈色B法によるパンクレアチンおよび結晶		
トリプシンの蛋白分解力測定について	朝比奈正人	209
インシュリンの薬化学的研究 (第22報) 粗まぐろインシュリンの精製過程において		
単離した結晶蛋白質 (Cryst. TC) および粗まぐろインシュリンからの無効		
結晶 (Cryst. TA) の構成アミノ酸について	長沢佳熊, 西崎笹夫	213
インシュリンの薬化学的研究 (第23報) かつおインシュリンの		
結晶化により得られた球形結晶について	長沢佳熊, 西崎笹夫, 竹中祐典, 本間輝武, 平岡 孝	217
インシュリンの薬化学的研究 (第24報) かつおインシュリンの		
抽出過程におけるpH8の無効の蛋白性沈でん物について	長沢佳熊, 西崎笹夫	221
性腺刺激ホルモンの研究 (第5報) 幼若マウスの卵巢重量増加		
および子宮重量増加による血清性性腺刺激ホルモンの検定	長沢佳熊, 越村栄之助	225
性腺刺激ホルモンの研究 (第6報) 血清性性腺刺激ホルモン		
日局標準品の製造およびその検定	長沢佳熊, 越村栄之助	235
性腺刺激ホルモンの研究 (第7報) 胎盤性性腺ホルモン		
日局標準品の製造およびその検定	長沢佳熊, 越村栄之助	241
歯科用線鈎材について (第1報) 歯科用ステンレス鈎用線の		
熱処理による機械的性質の変化について	藤井正道, 堀部 隆	249
銀錫アマルガム合金の硬化膨脹について (第4報) 銀錫アマルガムの		
異常膨脹の原因について	藤井正道, 堀部 隆	255

銀錫アマルガム合金の硬化膨縮について(第5報)合金粉末の

比表面積の硬化膨脹におよぼす影響について	藤井正道, 堀部 隆	259
衛生材料の研究(第9報)最近の脱脂綿およびスフ綿	吉村 淳, 遠藤 勝, 五十川泰郎	265

資 料

灯台の飲料用天水の放射能調査	長沢佳熊, 河村正一	275
輸入果汁缶詰中のスズ含量について	川城 巖, 川田公平, 細貝祐太郎	279
熊本県水俣地方の奇病に関する化学的毒物の検索成績	川城 巖, 福沢富美	281
中華麵中のカセイアルカリの試験について(第1報)乾麵製造		
工程中の熟処理操作の影響	川城 巖, 川田公平, 割石浩市	285
中華麵中のカセイアルカリの試験について(第2報)乾麵製造		
工程中の熟処理操作を行つた種々の製品についての検討	川城 巖, 川田公平, 割石浩市	287
比素含有粉ミルク添加飼料によつて飼育せる鶏の卵および		
組織中の比素	川城 巖, 江島 昭	289
モノフルオール酢酸アミドの残留試験(第3報)桃および林檎について	川城 巖, 竹内末久	293
輸入豆の青酸試験成績	川城 巖, 川田公平, 竹内末久, 漆畑喜子	295
国立衛生試験所パレイショでん粉標準品の製造	長沢佳熊, 中山豪一, 木村俊夫	297
昭和32年度日本産あへんのモルヒネ含量について	中川雄三, 伊阪 博, 吉川佐栄子	303
春日部における <i>Rauwolfia</i> 属植物特に印度蛇木の		
試作栽培について(第1報)	川谷豊彦, 石原活磨, 逸見誠三郎	307
<i>Shigella flexneri</i> 流行株のキノロン反応, サルファ剤		
感受性およびインドール反応について	岩原繁雄	315

速 報

特殊クリームの試験法について(漂白クリーム)	市川重春, 南城 実, 林 悦子, 狩野静雄	319
Cryst. TAと結晶グルカゴンとの生理作用の比較	長沢佳熊, 西崎笹夫, 佐藤 浩, 白井浄二	321
牛, 鯨結晶インシュリンおよび魚インシュリンDNP化について	長沢佳熊, 西崎笹夫	323
輸入バターから分離した大腸菌群について	林 長男	325
<i>Rauwolfia</i> 属植物の染色体数(第2報)	川谷豊彦, 宮崎幸男, 大野忠郎, 逸見誠三郎	327

食品中の微量有害性金属に関する研究(第1報)市販牛乳の

比素含量について	川城 巖, 岡田太郎, 近藤竜雄	329
米糠中のジアゾ色素形成物質	川城 巖, 福沢富美, 江島 昭	331

抄 録

講演要旨

業務報告

国家検定, 国家検査等の試験成績報告	総務部	351
国立衛生試験所の標準品について	総務部	360
所内講演会		362
正誤表(第75号)		363

CONTENTS

N. Yamate and G. Urakubo : On the Silver Concentration in the Tap Water associated with Silver Oligodynamine.	1
H. Ogawa and A. Tsuji : Influence of Non-aqueous Solvent on Anion Exchange Equilibria I.	3
K. Nagasawa and K. Kametani : On Some Radiation Medicins in the Market.	9
K. Nagasawa, K. Kametani, and Y. Kido: Studies on Radio-Contamination of Foodstuffs Effected by A-or-H-Bomb Explosion VIII. Radio-Contamination of Sea Fish and Its Radio chemical Analysis. No.3.	11
T. Itai and T. Nakashima : A Simple Determination Method of Organic Halogen.	17
S. Ogawa, Y. Kōchi, and H. Nishimura : Color Reaction of Vitamin C with Pyrrole.(Part I.) Critical Studies of Original Report, (Part II.) Influence of Acid Clay on Color Reaction, (Part III.) Specificity of Color Reaction.	21
M. Fujii and H. Satō : Polarographic Determination of Mersalyl.	29
H. Satō : Polarographic Studies of Some Organic Compounds. (XI) Polarography of p-Hydroxypropiofenone, (XII) Polarography of 3-Nitrophthalic Acid.	33
H. Satō : Polarographic Studies of Some Organic Compounds. (XIII) Polarography of 2,6-Disubstituted Cyclohexanones.	39
K. Nagasawa, T. Kashima, and M. Tsuchiya : Ergometrine Maleate Reference Standard of Japanese Pharmacopoeia.	45
T. Ōba : Applicaton of Infrared Absorption Spectroscopy to Examination of Drugs and their Preparations V. Determination of a Small Amount of Methyl Alcohol in Ethyl Alcohol by Differential Method.	53
T. Ōba : Application of Infrared Absorption Spectroscopy to Examination of Drugs and their Preparations. VI. Determination of Butylated Hydroxy Anisole Isomers and Melting Point of their Mixtures.	55
I. Kawashiro and H. Takeuchi : On the Quantitative Analysis of Gusathion.	59
K. Yamaguchi and K. Nishimoto : Studies on Assay of Pyrethrins in Aerosol I. On the Influence of Synergists to Analysis of Pyrethrins.	61
H. Asahina and Y. Shiuchi : Detection of Procaine in Narcotics.	65
Y. Nkagawa and H. Isaka : Qualitative and Quantitative Tests of Alkaloids with Sodium Tetraphenyl-boron.	69
S. Fujii, T. Hayashi, and M. Harada : Studies on the Determination of Sodium Carboxymethylcellulose in Foods (II) On the Determination of Sodium Carboxymethylcellulose in Ice Cream by the Naphthalenediol Method.	75
S. Fujii, M. Harada, and T. Hayashi : Studies on the Determination of Sodium Carboxymethylcellulose in Foods (III) On the Determination of Sodium Carboxymetylcellulose in Ice Cream by the Degree of Substitution Values.	79
I. Kawashiro, T. Okada, and Y. Hosogai : Studies of Packaging in Synthetic Resins (IV) Determination of Extracted Materials in Melamine Resins.	83
K. Yamaguchi, H. Shōji, and M. Itō : Studies on the Determination of Alkaloids from <i>Rauwolfia serpentina</i> BENTH. III. Gravimetric Determination of Total Alkaloids.	87
K. Yamaguchi and H. Shōji : Studies on the Determination of Alkaloids from <i>Rauwolfia serpentina</i> BENTH. IV. Quantitative Separation of Reserpine by Paper Electrophoresis.	91

K. Yamaguchi, S. Fukushima, and M. Itō : Studies on the Determination of Alkaloids from <i>Rauwolfia serpentina</i> BENTH. V. Studies on the Quantitative Separation of Reserpine by Column Chromatography.....	95
K. Yamaguchi and H. Shōji : Studies on the Determination of Alkaloids from <i>Rauwolfia serpentina</i> BENTH. VI. On the Alkaloids of <i>Rauwolfia chinensis</i>	99
H. Asahina and M. Ōno : Ultraviolet Absorption Spectra of Opium Samples I. Differences between Ultraviolet Absorption Spectra and Absorbance Ratios of Opium Samples Obtained by Successive Lancings.	103
I. Inoue : A. Nomograph for the Determination of Morphine in Opium according to J. P. VI.	109
H. Asahina and S. Mizumachi : Spectrophotometric Study of "Charas", an Indian Hemp Preparation.....	113
H. Asahina and Y. Shiuchi : Color Reactions and Paper Chromatography of "Charas".	115
T. Kawatani and S. Fujita : Relation of the Two Methods of Successive Incision of Poppy Capsule to the Opium and Morphine Yields.	119
K. Kinoshita : Studies on the Effects of Nitrogenous Manures upon the Growth and the Yield of Opium Poppy (<i>Papaver somniferum</i> L.).	133
K. Ishihara : Trial Cultivation of <i>Stephania cepharantha</i> HAYATA. III. Cultivation by Tuberosus Root. 1.	139
Y. Miyazaki : Studies on Grouping of the Strains of Lemon-Grass (Preliminary Report) I. With Regard to the General Growth Characters, Yield of Grass, and Water Content of Fresh Leaves.	143
Y. Miyazaki : Studies on Grouping of the Strains of Lemon-grass (Preliminary Report) II. With Regard to the Oil Content of Fresh Leaves and the Citral Content of the Oil.....	149
K. Kinoshita : Studies on the Effects of Manurial Elements upon the Growth and the Yield of KURAMUYOMOGI (<i>Artemisia kurramensis</i> QAZILBASH).....	155
M. Taki : Experimental Cultivation on <i>Rauwolfia serpentina</i> BENTH. in Tane Island I. On the Experiment of Germination.	159
J. Serizawa : On the Bioassay of the Protamine.....	163
K. Nagasawa, G. Nakayama, and J. Serizawa : On the Studies of Histamine I. The Dose-Response Line of Histamine based on the Depressor of Anesthetized Pigeon.	169
G. Nakayama and J. Serizawa : The Response of Posterior Pituitary Hormones on the Blood Pressure of Decapitating Cock. - In Addition the Response of a Few Drugs.....	173
S. Kitagawa and H. Kawasaki : Studies on Pyrogen Test. I. On Some Factors which Influenced on the Body Temperature of Rabbit.	179
S. Kitagawa and H. Kawasaki : Studies on Pyrogen Test. II. On the Influences of Neck Stock Type Restraining Box upon the Body Temperature of Rabbit.....	185
S. Iwahara and R. Ishizeki : The Influence of Cultural Conditions and Bacterial Strains on <i>Shigella flexneri</i> Endotoxin (Preliminary Report)	193
K. Koshinuma : Rhamnose and Glucosamine of Dysentery Bacilli.....	197
I. Kawashiro, K. Kawada, H. Takeuchi, and Y. Urushibata : Research on the Method of Test for HCN in Burmese Beans.	201
I. Kawashiro, K. Kawada, and Y. Hosogai : Investigation on the Exported Canned Salmon and Salmontrout.....	205
M. Asahina : Notes on the Determination of Proteolytic Activity of Pancreatin and Crystalline Trypsin by the Casein-Folin Colorimetric B Method.....	209

K. Nagasawa and S. Nishizaki : Pharmaceutical and Chemical Studies of Insulin. XXII. On the Crystalline Protein (Cryst TC) Isolated from the Crude Tunny Fish Insulin and the Amino Acid Composition of Cryst. TA.	213
K. Nagasawa, S. Nishizaki, Y. Takenaka, T. Homma, and T. Hiraoka : Pharmaceutical and Chemical Studies of Insulin. (XXIII). On the Bead Insulins Obtained from Crude Bonito Insulin.	217
K. Nagasawa and S. Nishizaki : Pharmaceutical and Chemical Studies of Insulin. XXIV. On the Inactive Protein Precipitated at pH 8. from Bonito Stannius Corpuscle.....	221
K. Nagasawa and E. Koshimura : Studies on Gonadotrophic Hormones V. The Assay of Serum Gonadotrophin by Mouse Ovary and Uterine Weight Increasing Method.	225
K. Nagasawa and E. Koshimura : Studies on Gonadotrophic Hormones VI. On the Preparation and the Assay of the Serum Gonadotrophin Standard of the Japanese Pharmacopoeia....	235
K. Nagasawa and E. Koshimura : Studies on Gonadotrophic Hormones VII. On the Preparation and the Assay of the Chorionic Gonadotrophin Standard of the Japanese Pharmacopoeia.	241
M. Fujii and T. Horibe : Studies on Dental Crasp Wire Alloy. I. Effect of Variation in Heat-Treatment on Mechanical Properties of Dental Stainless Steel Clasp Wire.	249
M. Fujii and T. Horibe : Studies on Dimensional changes of Dental Amalgam Alloy.IV. Studies on the Cause of Excessive Expansion of Dental Amalgam Alloy.	255
M. Fujii and T. Horibe : Studies on Dimensional Changes of Dental Amalgam Alloy. V. Effect of Variation in Surface Area of Alloy Particles on Physical Properties of Dental Amalgam Alloy.	259
K. Yoshimura, M. Endō, and Y. Isogawa : Studies on Surgical Dressings IX. Absorbent Cotton (Gossypium Absorbens) and Viscose Rayon which were Recently Manufactured.....	265
K. Nagasawa and S. Kawamura : Research on Radioactivity in Stock Rain Water of Lighthouses.	275
I. Kawashiro, K. Kawada, and Y. Hosogai : Determination of Tin in Canned Fruit Juice....	279
I. Kawashiro and F. Fukuzawa : Studies on Chemical Poisonous Substances concerning "Curious Disease" in Minamata District.....	281
I. Kawashiro, K. Kawada, and K. Wariishi : On the Test for the Caustic Alkali in "Chuka-men". (I). Effect of the Heat Treatment in a Manufacturing Process of Dried "Chuka-men".....	285
I. Kawashiro, K. Kawada, and K. Wariishi : On the Test for the Caustic Alkali in "Chuka-men". (II). Examination of Various Products Operated Different Heat Treatments in Manufacturing Process of Dried "Chuka-men".	287
I. Kawashiro and A. Ejima : Arsenic Content of Egg and Tissue from Laying Hen which was reared with the Feed containing Powdered Modified Milk added with Arsenic.	289
I. Kawashiro and H. Takeuchi : Detrmination of Residue of $\text{FCH}_2\text{CONH}_2$ in Fruits. III. In Peach and Apple.....	293
I. Kawashiro, K. Kawada, H. Takeuchi, and Y. Urushibata : On the Test for HCN in Imported Beans.....	295
K. Nagasawa, G. Nakayama, and T. Kimura : On the Preparation of the Potato Starch Standard of the National Hygienic Laboratory.	297
Y. Nakagawa, H. Isaka, and S. Yoshikawa : Morphine Content of Japanese Opiums produced during 1957-1958.	303
T. Kawatani, K. Ishihara, and S. Hemmi : On the Trial Cultivation of Rauwolfias, especially	

<i>R. serpentina</i> BENTH. I.	307
S. Iwahara : Quinone Reaction, Sulfonamide Sensitivity and Indole Reaction of Newly Isolated Flexner Dysentery Bacilli.	315
S. Ichikawa, M. Nanjō, E. Hayashi, and S. Kanō : On the Examination of Special Cream. (Bleaching Cream).	319
K. Nagasawa, S. Nishizaki, H. Satō, and J. Shirai : Comparison of Physiological Inactive Protein Crystals (Cryst. TA) from Crude Tunny Fish Insulin Powder and Glucagon Crystals.	321
K. Nagasawa and S. Nishizaki : On the Dinitrophenyl Derivatives of Ox and Whale Crystalline Insulins and Fish Insulin.	323
N. Hayashi : Studies on Coli group Isolated from Imported Butter.	325
T. Kawatani, Y. Miyazaki, T. Ohno, and S. Hemmi : Chromosome Numbers of Genus <i>Rauwolfia</i> . II.	327
I. Kawashiro, T. Okada, and T. Kondō : Studies on the Determination of Trace Poisonous Metals in Food. I. Arsenic Content of Market Milk.	329
I. Kawashiro, F. Fukuzawa, and A. Ejima : Diazo Dye-producing Substance in Rice-Bran.	331
Abstracts I.	333
Abstracts II.	343
Annual Reports I.	351
Annual Reports II.	360
Lecture	362
Errata (No.75)	363

銀イオン滅菌装置通過水中の銀イオン量について

山 手 昇, 浦 久 保 五 郎

On the Silver Concentration in the Tap Water associated with Silver Oligodynamie Noboru YAMATE and Gorō URAKUBO

ま え が き

水中に銀イオンを遊離分散させて消毒効果を得ようとする銀の Oligodynamie については、古くから知られてその効果が認められており¹⁾, あるいは電解により銀イオンを水中に遊離させるような装置も考案されている²⁾. またプール水の消毒についても銀の効果を検討されるようになった。

最近簡易水道にこの電解による銀イオン発生装置を取付け、実際に給水の消毒を行つているところがあり、著者らはこれについてその水中の銀イオン量を検討する機会を得た。以下にその成績を報告する。

実 験 の 部

1. オリゴナー通過水中の銀イオン量について

実験方法： 銀イオン発生装置は某官庁の給水に用いられており、Fig. 1 に示すような構造のもので、オリゴナー（商品名、岡本製作所）と呼ばれている。図に示したように2枚の銀板と1枚のステンレス板（幅5cm、長さ15cm）で電極を作り、これに20V以下の電流を通じる。給水はこの電極間を60 ton/hourの流量で通過して行き、そのとき銀イオンが水中に含まれてゆくようになっているもので、電圧を変えることにより水中の銀量を調節しつつ連続的に給水を行つている。

銀定量用の試料水はオリゴナーを備付けた水源から約100m離れた蛇口から採取した、なお定量方法は孤田らのジチゾンを用いる方法³⁾（単色法、Filter S-47 約470m μ 、Cell 10mm）によつて行つた。

実験結果： 結果は Table 1 に総括して示す。Table 中銀量の理論値とあるのは Faraday の法則により計算したものである。数回の定量により銀イオンの量は0.005~0.014ppmを得、これは理論値に対し25~60%にあたることを見出した。なおこの給水原水の水質は3回の分析により、塩素イオン4.2~4.9ppm、過マンガン酸カリ

Fig. 1. Apparatus for the silver-oligodynamie

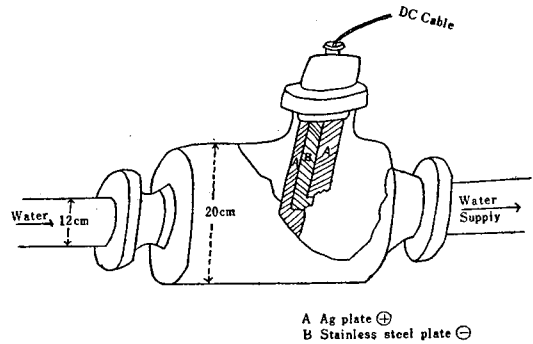


Table 1. Ag⁺ concentration in tap water—field test

Date	Water temp. (°C) & Room temp. (°C)	Electric current in water (mA)	pH	Ag+Concentration (ppm)			a. Mean	b. Theoretical Ag+value (ppm)	a/b (%)
				Sampling time					
				11.00	13.00	15.00			
22. Jan. '57		300		0.010	0.013	0.012	0.013	0.0201	59.5
28. 〃 〃		〃		0.006	0.007	0.007	0.007	〃	32.8
1. Feb. 〃		〃		0.007	0.006	0.006	0.006	〃	31.3
15. 〃 〃	18.0 22.0	280	7.42	0.005	0.005	0.004	0.005	0.0188	24.5

Date	Water temp. (°C) & Room temp. (°C)	Electric current in Water (mA)	pH	Ag+Concentration (ppm)				b. Theoretical Ag+value (ppm)	a/b (%)
				Sampling time			a. Mean		
				11.00	13.00	15.00			
19. // //	17.5 22.0	450	7.50	0.014	0.015	0.014	0.014	0.0302	47.4
21. // //	19.0 21.5	//	//	0.012	0.012	0.012	0.012	//	39.8
10. Mar. //	18.0 22.0	400	7.45	0.012	0.012	0.013	0.012	0.0268	45.9
11. // //	18.0 21.5	420	//	0.011	0.011	0.011	0.011	0.0282	39.4

ウム消費量0.2~0.4ppm, 総硬度39.1~40.0ppm, 蒸発残留物131.2~152.4ppm という値であつた。

2. 銀溶出量におよぼす水質の影響について

実験方法： 銀溶出量におよぼす水質の影響をみるために比電導度の異なる5種の水にオリゴナーを用いて銀を放出させたのち銀定量を行つた。水は蒸留水4, 水道水1で, これを1lのビーカーに入れオリゴナーの極を浸し, 同じ条件で電流を通じた。銀の定量法は前項と同じで, 比電導度の測定はオルガノ式電気水質計 (日本オルガノ商会) を用いた。

実験結果： 結果は Table 2 に示す。これについてみるに著者らの実験条件では, 銀放出の効率をあげるためには Sample 1, 2, 3, の程度の比電導度を持つ水が適している。

Table 2. Ag⁺ concentration in water—laboratory test

Sample No.	Test water	Nature of water				Elect- rized time (min)	Electric current (mA)	Water volume (l)	a. Ag ⁺ con- centration, found (ppm)	b. Ag ⁺ con- centration, theoretical (ppm)	a/b (%)
		temp. °C	pH	Specific electric conductivity (μY/cm)							
				Before electrization	After ∕						
1	distilled	16	5.8	2.4	4.9	60	1	1	2.708	4.0265	67.3
2	∕	16	5.9	1.4	4.5	∕	∕	∕	2.619	∕	65.1
3	∕	18	5.9	2.0	4.0	∕	∕	∕	2.760	∕	68.5
4	∕	18	6.0	19	20	∕	∕	∕	1.710	∕	42.5
5	tap	16	7.4	150	150	∕	∕	∕	0.100	∕	2.5

要 約

著者らは電解により銀を水中に遊離する装置を用いて給水を行つているところの蛇口水について銀濃度の定量を行い, Faraday の法則より得られる理論値の25~60% を認めた。また銀の放出効果に対する水質の影響について若干の検討を加えた。

本実験は厚生省水道課の求めにより行つたものである。

文 献

- 1) 秋葉朝一郎, 市川忠次: 本誌, 50, 58 (1938).
- 2) Tredre, R. F.: *J. Trop. Med. & Hyg.*, 58, 239 (1955).
- 3) 孤田太郎, 末永泉二, 長田貞子: 衛生化学, 4, (1) 19 (1956).

Summary

We have studied on the silver ion concentration in the tap water which is actually supplying with use of the silver oligodynamic apparatus named "Oligoner". Several data about the silver ion concentration shows 0.005~0.014ppm, and we found they corresponded 25~60% of the theoretical values calculated from Faraday's law.

Received May 31, 1958.

陰イオン交換平衡におよぼす非水溶媒の影響について (第1報)

メタノール, エタノール, アセトン-水混合溶液中での硝酸イオンとハロゲンイオンの交換平衡について

小 川 秀 子, 辻 章 夫

Influence of Non-aqueous Solvent on Anion Exchange Equilibria. I.
Exchange Equilibria between Nitrate Ion and Halogen Ion in Methanol,
Ethanol or Acetone-Water Mixture.

Hideko OGAWA and Akio TSUJI

ま え が き

医薬品分析にイオン交換樹脂を応用するための基礎資料を得る目的で, 第4級アンモニウム塩基を交換基とする陰イオン交換樹脂について, 非水溶媒共存での硝酸イオンに対するハロゲンイオンのイオン交換平衡について検討を試みた。陽イオンの交換平衡に対する非水溶媒の影響については, すでにいくつかの研究が行われているが^{1) 2) 3) 4)}陰イオンの交換平衡については, ほとんど行われていない。

樹脂は, 一般に市販普及している Dowex 1 および Amberlite IRA をとりあげ, そのDVB含量の多少による影響を知るために, Dowex 1×2 および 1×8, Amberlite IRA401 および 400を使用した。陰イオンの交換平衡では, その選択係数は, 陽イオンにくらべて樹脂相内のモル分率によりかなり変動することが指摘されているので⁵⁾, 比較的变化のないハロゲンイオンおよび硝酸イオンをえらび, 定量の便宜上硝酸イオンを基準として, メタノール・水混合液中での選択係数 $K_{\text{NO}_3}^X$ を測定した。

垣花ら³⁾によれば, 陽イオンの交換平衡では, 水素イオンに対する選択係数 K_{H}^M の対数は, 溶液の誘電率の逆数に対して直線関係が成立し, その勾配は共存する非電解質には無関係で, イオンにより一定していることが指摘されているので, 陰イオンについても同様の関係が成立するかどうかを検討するために, Dowex 1×8について, さらにエタノール, およびアセトンについて選択係数 $K_{\text{NO}_3}^X$ の変化を測定した。

選択係数はバッチ法により測定し, 樹脂の膨潤および水分による濃度変化は無視した。併せて, 樹脂相内の吸着イオンのモル分率による選択係数の変化をも測定した。

実 験 操 作

1) 樹脂の精製: Dowex 1×8, 1×2 (各々100~200メツシュ) Amberlite IRA 400, 401 (各々30メツシュ) を常法により10%水酸化ナトリウム液および10%塩化ナトリウム液で数回 OH 形-Cl 形の交換をくりかえしてから, 希硝酸液で NO_3 形にし, 十分水洗後, 減圧硫酸デシケーター中で数日間放置して乾燥した。精製 NO_3 形樹脂は, 比交換容量を測定して密閉容器に貯え, 使用のつど秤量して水分の増減をチェックしたが, 重量の変化は, 十分無視しうる程度であつた。

2) 試薬: 塩化カリウム, 臭化カリウム, ヨウ化カリウム, 硝酸カリウム (1級品は2回再結し, 特級品はそのまま使用した), メタノール, エタノール, アセトンは, 2回蒸留し, 各々10, 20, 40, 50, 60%(w/w) 一水混合液をつくつた。

3) 選択係数の測定法: 樹脂約1gを内容50または100ccの共栓三角フラスコに秤量採取し, 0.1M KCl (KBr, KI) の0~60%(w/w), メタノール (エタノール, アセトン) 一水混合液40cc を正確に量つて加え, 空気恒温室 (25°±1.0°) 内に一夜放置後, さらに恒温水槽 (25°±0.5°) にときどきふりまぜながら約2時間つけてから, 乾燥濾紙を用いて樹脂と液とを分け, 濾液について塩素および臭素イオンは0.1N硝酸銀液でモール法により定量し, ヨウ素イオンは10%ヨウ素酸カリウム液で定量した。樹脂相内の吸着イオンのモル分率ができるだけ0.5付近で一定値になるように樹脂量を加減した。またモル分率をかたよらせた値を得るために塩濃度0.05 M および0.2Mの溶液を用い, 樹脂量も若干かたよらせて測定した。

$$K_{NO_3}^X = \frac{[R-X](NO_3)}{[R-NO_3](X)} = \frac{40(Co-C)^2}{\{E-40(Co-C)\}C} \quad X_X = \frac{[R-X]}{[R-NO_3] + [R-X]} = \frac{40(Co-C)}{E}$$

Co : 0.1MKX溶液のはじめの濃度 meq/cc C : 平衡後の溶液の濃度 meq/cc E : 交換容量 meq

Table I

Variation of Selectivity Coefficients in Methanol-Water Mixtures.

Resin : Dowex 1 × 8

Methanol % w/w	0	10	20	30	40	50	60
Dielectric Constant	78.5	74.1	69.2	64.3	59.6	54.9	50.1
$K_{NO_3}^{Cl}$	0.41	0.42	0.45	0.49	0.51	0.54	0.60
X_{Cl}	0.44	0.43	0.44	0.44	0.44	0.44	0.45
$K_{NO_3}^{Br}$	0.87	—	0.89	—	1.00	—	1.09
X_{Br}	0.52	—	0.53	—	0.52	—	0.52
$K_{NO_3}^I$	4.57	—	3.77	—	3.10	—	2.89
X_I	0.71	—	0.66	—	0.61	—	0.59

Resin : Dowex 1 × 2

Methanol % w/w	0	10	20	30	40	50	60
$K_{NO_3}^{Cl}$	0.31	0.33	0.36	0.39	0.43	0.46	0.53
X_{Cl}	0.43	0.43	0.43	0.44	0.44	0.45	0.46
$K_{NO_3}^{Br}$	0.99	—	1.04	—	1.12	—	1.25
X_{Br}	0.59	—	0.59	—	0.58	—	0.58
$K_{NO_3}^I$	5.51	—	4.80	—	4.19	—	3.47
X_I	0.75	—	0.71	—	0.68	—	0.63

Resin : Amberlite IRA 401

Methanol % w/w	0	10	20	30	40	50	60
$K_{NO_3}^{Cl}$	0.35	0.37	0.39	0.45	0.47	0.52	0.60
X_{Cl}	0.47	0.47	0.48	0.49	0.49	0.50	0.49
$K_{NO_3}^{Br}$	1.18	—	1.23	—	1.33	—	1.53
X_{NO_3}	0.65	—	0.64	—	0.63	—	0.64
$K_{NO_3}^I$	5.21	—	4.46	—	4.09	—	3.62
X_I	0.78	—	0.74	—	0.71	—	0.67

Resin : Amberlite IRA 400

Methanol % w/w	0	10	20	30	40	50	60
$K_{NO_3}^{Cl}$	0.34	0.36	0.38	0.42	0.45	0.49	0.55
X_I	0.46	0.46	0.46	0.46	0.47	0.48	0.48
$K_{NO_3}^{Br}$	1.20	—	1.27	—	1.38	—	1.50
X_{Br}	0.64	—	0.63	—	0.63	—	0.62
$K_{NO_3}^I$	6.31	—	5.76	—	4.86	—	4.39
X_I	0.79	—	0.75	—	0.70	—	0.68

Table II
Variation of Selectivity Coefficients in Ethanol-Water Mixtures.

Resin : Dowex 1 × 8

Ethanol % w/w	0	10	20	30	40	50	60
Dielectric constant	78.5	72.8	67.0	61.1	55.0	49.0	43.4
$K_{NO_3}^{Cl}$	0.33	0.34	0.40	0.43	0.52	0.59	0.68
X_{Cl}	0.42	0.42	0.45	0.44	0.46	0.47	0.48
$K_{NO_3}^{Br}$	1.02	—	1.07	—	1.32	—	1.57
X_{Br}	0.57	—	0.56	—	0.57	—	0.57
$K_{NO_3}^I$	5.33	—	4.83	—	4.30	—	3.97
X_I	0.57	—	0.58	—	0.59	—	0.59

Table III
Variation of Selectivity Coefficients in Aceton-Water Mixtures.

Resin : Dowex 1 × 8

Aceton % w/w	0	10	20	30	40	50	60
Dielectric Constant	78.5	73.0	67.0	61.0	54.6	48.2	41.8
$K_{NO_3}^{Cl}$	—	0.38	0.46	0.58	0.74	1.04	1.50
X_{Cl}	—	0.46	0.47	0.50	0.53	0.57	0.61
$K_{NO_3}^{Br}$	—	1.06	1.18	1.24	1.46	1.72	2.15
X_{Br}	—	0.59	0.60	0.58	0.59	0.61	0.63
$K_{NO_3}^I$	5.38	—	4.47	—	3.45	—	2.81
X_I	0.58	—	0.58	—	0.57	—	0.57

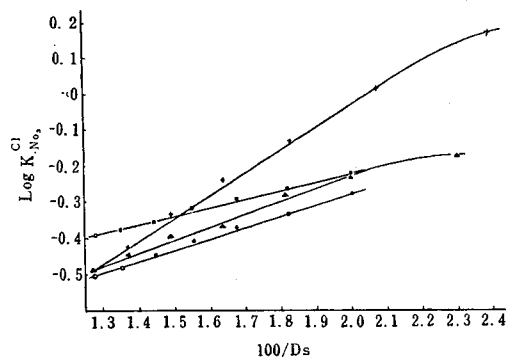


Fig. 1. Relationship between Logarithm of Selectivity Coefficient $K_{NO_3}^{Cl}$ and Reciprocal of Dielectric Constant of Mixed Solution.

Resin : Dowex 1 × 2 —□— in Methanol
Dowex 1 × 8 —○— in Methanol
—△— in Ethanol
—+— in Acetone

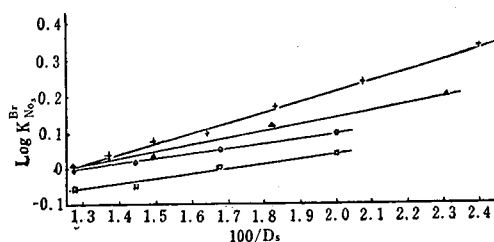


Fig. 2. Relationship between Logarithm of Selectivity Coefficient $K_{NO_3}^{Br}$ and Reciprocal of Dielectric Constant of Mixed Solution.

Resin : Dowex 1 × 2 —□— in Methanol
Dowex 1 × 8 —○— in Methanol
—△— in Ethanol
—+— in Acetone

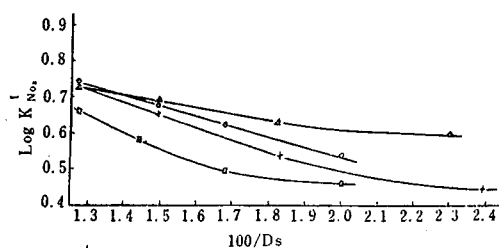


Fig. 3. Relationship between Logarithm of Selectivity Coefficient $K_{\text{NO}_3}^I$ and Reciprocal of Dielectric Constant of Mixed Solution.

Resin : Dowex 1 $\times$ 2 —□— in Methanol
 Dowex 1 $\times$ 8 —○— in Methanol
 —△— in Ethanol
 —+— in Acetone

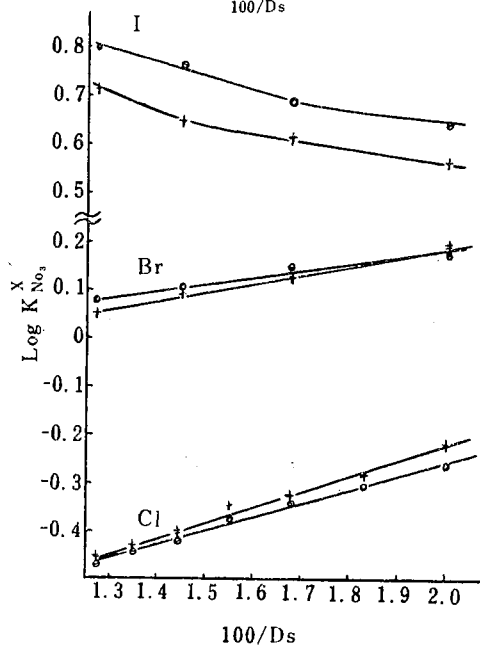


Fig. 4. Relationship between Logarithm of Selectivity Coefficient and Reciprocal of Dielectric Constant of Methanol-Water Mixture.

Resin : Amberlite IRA 400 —○—
 Amberlite IRA 401 —+—

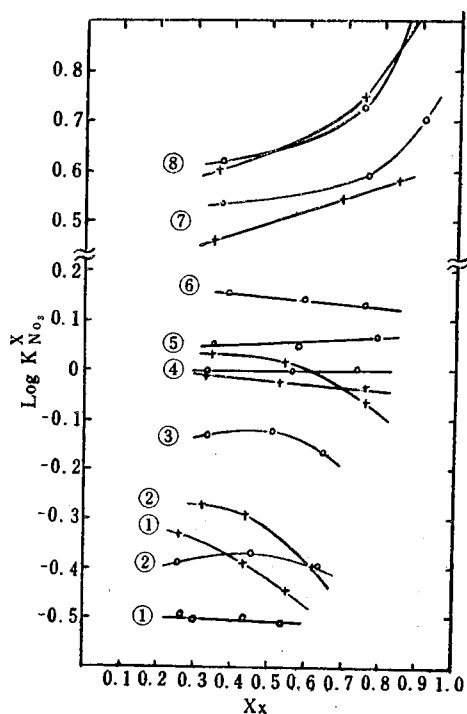


Fig. 5. Selectivity Coefficient as Function of Mole Fraction in Resin.

Resin : Dowex 1 $\times$ 2 —+—
 Dowex 1 $\times$ 8 —○—

- (1) $K_{\text{NO}_3}^{\text{Cl}}$ in Water
- (2) $K_{\text{NO}_3}^{\text{Cl}}$ in 40% Methanol
- (3) $K_{\text{NO}_3}^{\text{Cl}}$ in 40% Acetone
- (4) $K_{\text{NO}_3}^{\text{Br}}$ in Water
- (5) $K_{\text{NO}_3}^{\text{Br}}$ in 40% Methanol
- (6) $K_{\text{NO}_3}^{\text{Br}}$ in 40% Acetone
- (7) $K_{\text{NO}_3}^{\text{I}}$ in 40% Methanol
- (8) $K_{\text{NO}_3}^{\text{I}}$ in Water

結 果 お よ び 考 察

Table I に示すように, すべての樹脂について $K_{\text{NO}_3}^{\text{Cl}}$ および $K_{\text{NO}_3}^{\text{Br}}$ はメタノール濃度の増大とともに増大し, $K_{\text{NO}_3}^{\text{I}}$ は逆に減少した. $K_{\text{NO}_3}^{\text{Cl}}$ は DVB 含量の高い樹脂 (Dowex 1×8, Amberlite IRA400) が小さく, $K_{\text{NO}_3}^{\text{Br}}$ および $K_{\text{NO}_3}^{\text{I}}$ はその逆であつた. Table II および III に示すように, 広く使用されている Dowex 1×8 について, エタノールおよびアセトン・水混合液中での $K_{\text{NO}_3}^{\text{Cl}}$ および $K_{\text{NO}_3}^{\text{Br}}$ はメタノールと同様に, 濃度が高くなると増大し, $K_{\text{NO}_3}^{\text{I}}$ は減少した.

実験条件より考へて, 樹脂の吸着にもとづく非水溶媒の濃度変化および塩の存在による溶液の誘電率に及ぼす影響を無視できるものとして, 選択係数の対数を, 溶液の巨視的誘電率の測定値²⁾の逆数に対してプロットすると, Fig. 1~4 に示すように, 陽イオンにおけると同様に, $K_{\text{NO}_3}^{\text{Cl}}$ および $K_{\text{NO}_3}^{\text{Br}}$ ではほぼ直線関係がえられた. 陽イオンにくらべて, 陰イオンの選択係数は樹脂相内の吸着イオンのモル分率により著しく変化するので, Dowex についてモル分率 0.5 附近での選択係数の変化を, 水溶液, 40% (w/w) メタノール-水混合液および 40% (w/w) アセトン-水混合液について検討した結果を, Fig. 5 に示す. Dowex 1×8 の $K_{\text{NO}_3}^{\text{Cl}}$ および $K_{\text{NO}_3}^{\text{Br}}$ は樹脂相内のモル分率の変化にはほとんど無関係に一定値であるから, メタノール, エタノールおよびアセトン添加により選択係数は, 直線的に増大するといえる. DVB 含量の小さい Dowex 1×2 は, 樹脂相内のモル分率が大きくなると, 選択係数は小さくなる傾向がみとめられるが, Table I からわかるように, 樹脂相内のモル分率 X_{Cl} および X_{Br} はほとんど一定値であるから, Fig. 1 および 2 の直線的増大の関係は, メタノール添加によるものであるといえよう. $K_{\text{NO}_3}^{\text{I}}$ は樹脂相内のモル分率が増大するとともに増大し, 約 0.8 をすぎると著しく増大する傾向がみとめられた. $K_{\text{NO}_3}^{\text{I}}$ では $\log K$ と $1/D_s$ の間で直線関係が若干くずれているのは, このモル分率の変化による影響が大きいと思われる.

H イオンに対するアルカリ金属イオンの交換平衡では, この直線の勾配は水和イオン半径の小さいものほど大きく, $\text{Li} < \text{Na} < \text{K}$ の順に増大し, イオンの水和数の差に比例し, かつ共存する非電解質には無関係で, イオンにより固有の値をとることが示されている³⁾. NO_3^- イオンに対する Cl^- , Br^- および I^- イオンの交換平衡では, この直線の勾配は $\text{Cl}^- > \text{Br}^- > \text{I}^-$ となり, また Cl^- および Br^- では, メタノール $<$ エタノール $<$ アセトンとなり, I^- ではエタノール $<$ メタノール $<$ アセトンとなつた. 樹脂相内のモル分率が若干異なっているが, Dowex 1×8 では, モル分率が変化してもそれほど大きく選択係数が変化しないから, モル分率が異なることだけで水和イオン半径の大きいイオンの方が小さいものより勾配が大きいことや, 非水溶媒の種類により勾配が変化することは説明できない. したがつて陽イオンの交換平衡について考察して得た理論³⁾ では, 陰イオンの交換平衡に及ぼす非水溶媒の影響についてのデータを完全に説明することができないと思われる. おそらく Gregor ら⁶⁾ が示しているように, 陰イオンの強塩基性交換樹脂に対する吸着性の要因は, 陽イオン交換における場合と異なっているためと思われるが, さらに検討しなければならない.

本研究に際し御指導御鞭撻を賜つた山本展由部長, 鍋島, 海東両室長に感謝する. なお恒温室使用の便宜をあたえてくださった薬用植物部に感謝する.

文 献

- 1) Kressman, T. R. E., Kitchener, J. A.: *J. Chem. Soc.*, 1211 (1949).
- 2) 奥野久輝, 本田雅健, 石森達二郎: 分析化学, 2, 428 (1953).
- 3) 榊 友彦, 垣花秀武: 科学, 23, 471 (1953).
- 4) 垣花秀武, 関口慶二: 薬誌, 75, 111 (1955).
- 5) Akerlob, G.: *J. Am. Chem. Soc.*, 54, 4125 (1932).
- 6) Gregor, H. P., Belle Jack, Marcus, R. A.: *J. Am. Chem. Soc.*, 76, 1984 (1954); *J. Am. Chem. Soc.*, 77, 2713 (1955).

Summary

The influence of increasing portion of non-aqueous solvent on the ion exchange between halogen

and nitrate ion in the strong basic anion exchangers was investigated.

- 1) $K_{\text{NO}_3}^{\text{Cl}}$ and $K_{\text{NO}_3}^{\text{Br}}$ increased with the non-aqueous solvent content of the solution, but $K_{\text{NO}_3}^{\text{I}}$ decreased.
- 2) The logarithm of selectivity coefficient was in linear relationship with the reciprocal of the dielectric constant of the mixed solution.
- 3) The slope of the straight line was $\text{Cl} > \text{Br} > \text{I}$ for all the non-aqueous solvent and methanol $<$ ethanol $<$ acetone for Cl and Br, and ethanol $<$ methanol $<$ acetone for I.

Received May 31, 1958.

ある種の市販放射性薬品について

長 沢 佳 熊, 亀 谷 勝 昭

On Some Radiation Medicines in the Market.

Kakuma NAGASAWA and Katsuaki KAMETANI

ま え が き

市販品として神経痛, リウマチスに効くと記されている, 家庭用ラジウム温泉湯の素と称する浴剤, およびラジウム放射能入ヘルシーと称するもので, 患部にあてて治療する照射剤がある. いずれも同様の物質で, 地質調査所の鑑定の結果花崗岩の砕片であるという. この物質は 1g で α 線は認められず, γ 線も計測誤差内でほとんど認められず, β 線は約 6 c.p.m.を示す(実験 1). 上記の物質の K を定量した結果(実験 2), ほとんど全部が ^{40}K による放射能であることがわかった(実験 3). すなわち, これらの薬品は, 一応 GM 管で β 線を感じるが, それは ^{40}K に起因するもので¹⁾, この程度の放射能は, われわれの環境の至るところで存在し, なお人体内にも ^{40}K をかなり含んでおり, 常に体内で放射しているから, 医療用としては全く意味はないと考えられる.

実 験 の 部

測定法 β 線測定: 科研32進型 Scaler, マイカ窓 1.6 mg, 効率 12.17%[(National Bureau of Standards Ra D + E + F, No. 2611. 197dis/sec (1954年 7 月 1 日測定)], を標準物質とし, 標準物質の減衰を補正して効率を定めた. なおこの効率は RaD の β 線, および RaF の α 線をアルミニウム吸収板でとつた値である(1958年 3 月 29日測定). α 線, および γ 線測定: Tracerlab 社製 Superscaler を用いて測定した.

実験 1 試料の放射能測定 A—家庭用ラジウム温泉湯の素, B—ラジウム放射能入ヘルシーを各々乳鉢でできるだけ粉末とし, その 1g を試料皿(径 2.5 cm ステンレススチール製)に均一に拡げ, 距離 1 cm で 30~60 分間測定した. Table 1 は, その測定結果である.

Table 1.

Sample(1g)	α -Activity c. p. m.	β -Activity c. p. m.	γ -Activity c. p. m.
A	0	6.2 $\pm$ 1.3	1.0 $\pm$ 1.9
B	0	6.3 $\pm$ 1.2	1.43 $\pm$ 1.9

実験 2 カリウムの定量: いずれも乳鉢で粉末とした試料約 1g を精密に秤り, 無水炭酸ナトリウム 2g と混合し, 融けるまで加熱する. 冷後塩酸 10 cc を加えて溶かし, 蒸発乾固し, 温水 15 cc を加えてかきまぜ, 放置して上澄液を傾斜してとり, さらに残分に塩酸 3 cc を加えて, 蒸発乾固し, 温水 15 cc を加えて, 同様に上澄液をとる. この操作を 4 回繰返し, 塩化ナトリウムおよび塩化カリウムの水溶性部分を取り, 酢酸 2 cc および 10% 酢酸ナトリウム液 5 cc を加えて汙過し, この汙液に 10% コバルチ亜硝酸ナトリウム液 20 cc を加えて 1 夜放置し, 汙過する. 洗でんを温塩酸に溶かし水浴上で蒸発乾固し, 水 50 cc を加えて溶かし, アンモニア水 10 滴を加えて, 5 分間硫化水素ガスを通ずる. 硫化コバルトの洗でんを汙去し, 汙液を再び蒸発乾固して残分をはねないように注意して灰化する. 残分に水 10 cc を加え汙過し, 70% 過塩素酸液 3 cc を加えて白煙の生ずるまで赤外線ランプ下で加温蒸発させ, 冷後アルコール 15 cc を加えて遠心分離し, 洗でんを 105° で乾燥し, さらに 300° に 15 分間加熱したのち, デシケータ中に放冷し秤量する. その結果を Table 2 に示す.

Table 2.

Sample	Sample Weight(g)	Weight of Potassium Perchlorate(g)	Potassium(%)	Potassium Chloride(g) in 1g sample
A	1.0108	0.1362	3.80	0.0725
B	1.0272	0.1408	3.86	0.0737

実験3 試料中の ^{40}K の放射能の測定: Kが3.80%, および3.86%になるように, それぞれ塩化カリウム0.0725g および0.0737g をとり, 珪酸アルミニウムをまぜて1gとし, 各々をA', B'とする. これらを試料皿に移し, 試料と同じ厚さに圧して, その放射能を測定した結果を Table 3 に示す.

Table 3.

	β -Activity c. p. m.	γ -Activity c. p. m.
A'	6.0 ± 1.1	0.5 ± 1.9
B'	6.1 ± 1.2	0.8 ± 1.9

以上の結果から, 試料A, Bの放射能は, A', B'の放射能とほとんど等しいので, ^{40}K によるものと考えることができる²⁾.

む す び

市販品の放射能入の浴剤および照射剤を調べた結果, K 3.80~3.86% を含み, ほとんどがこの中の ^{40}K の放射能であることを知った.

文 献

- 1) Antonie, M., *et al.*, : *Anal. Chem.* 8, 1154 (1948).
- 2) 日本薬剤師協会編: 衛生試験法 (昭和33年追加), p. 38.

Summary

The two radiation medicines, one of which is applied to charge the bath with it, and the other is applied as a medium to radiate body surface locally, in the market, were tested. As a result, the medicines were proved to consist of granite pieces and contained 3.80 to 3.86% of potassium (K), which gave almost all the radioactivity in the samples.

Received May 31, 1958.

原水爆実験による放射能汚染の研究（第8報）
 魚類の放射能汚染とその放射化学分析（その3）

長 沢 佳 熊, 亀 谷 勝 昭, 城 戸 靖 雅

Studies on Radio-Contamination of Foodstuffs Effected
 by A- or -H-Bomb Explosion. VII.

Radio-Contamination of Sea Fish and Its Radio Chemical Analysis. No.3.

Kakuma NAGASAWA, Katsuaki KAMETANI, and Yasumasa KIDO

まえがき 著者らは南太平洋海域で魚獲された魚類の放射能汚染を知るために、マグロ、カジキ類の肝臓中の総放射能の調査を引続き行ってきた。汚染度の著しい試料に対して、 ^{90}Sr についてはイオン交換樹脂を用いる Tompkins¹⁾の方法により、 ^{137}Cs については Kahn²⁾による沈澱法を一部改変した著者らの方法により、それらの分離定量を行った。その結果を放射線防護国際委員会勧告 (Recommendation of the International Commission on Radiological Protection, Revised 1st December, 1954) の許容量と比較し、衛生上の害否について検討した。 $^{90}\text{Sr}+^{90}\text{Y}$ では生腺100gを1日の摂取量とした場合許容量の1/16であつたが、 ^{137}Cs については検出でしなかつた。これは海水中の塩化ナトリウムに対するセシウムの比が小さく、その塩類は可溶性で生物学的半減期が短かいため、また魚類には必須なものでないことによるのであろうか。

放射能測定条件 科学研究所製32進型 Scaler, マイカ窓 $2.3\text{mg}/\text{cm}^2$, 距離1cm で測定した。効率は National Bureau of Standards の RaD + E + F No.2611, 197 dis/sec, July 1, 1954, を用い $3.8\text{mg}/\text{cm}^2$ のアルミニウム吸収板で RaD の β 線, および RaF の α 線をと, 銀による後方散乱 1.66 で割つた値は $8.54\sim 8.61\%$ であり, (測定日 昭和32年10月10日), アルミニウム吸収板, および銀による後方散乱を補正しない値は $21.54\sim 21.66\%$ である (測定日昭和29年9月26日)。ただしいずれも標準品の減衰を補正していない。今回は前報と比較するため, $21.54\sim 21.66\%$ の効率を10%の効率に直した数値をも Table 1 のなかに示した。

測定方法 生腺の全放射能 (Table 1, 右から10行目) 記載重量の試料を, 径8cmのピーカになるべく均等に拡げ, 距離約2cm で 20~30分間測定した。

生腺1gの放射能 (Table 1, 右から7行目) 生腺1gを試料皿 (径2.5cm のステンレススチール製, 以下同じ) にとり 20~30分間測定した。

乾燥物1gの放射能 (Table 1, 右から5行目) 生腺をペトリ皿に拡げ, 水浴上または赤外線ランプの下で乾燥後, 粉碎し, その1gを試料皿に均等になるように拡げ, 20~30分間測定した。

灰分の放射能 (Table 1, 右から3行目) 乾燥物1gを硫酸を用いて灰化し, 灰分を試料皿に均等になるように移して 20~30分間測定した。

つぎに示す Table 1 は, 昭和32年4月20日から同年10月13日までに魚獲されたマグロ類の肝臓の放射能測定の結果である。ただし表中のカウントはステンレススチールによる後方散乱の補正はしていない。

Table 1. Contamination by Radioactivity in Liver.

No.	Date of Sampling	Period of Fishing	Area of Fishing	Name of Fish
88	57. 6. 10	57. 4. 20~ 5. 19	N. 0° ~E. 160°	Kihada*
89	6. 10	◇ 5. 4~ 5. 21	N. 7°30'~E. 164°40' N. 8°15'~E. 165°30'	
90	6. 10	◇ 4. 29~ 5. 20	N. 2°30'~E. 164°20' N. 3°30'~E. 165°30'	Kihada* etc
91	6. 10	◇ 5. 12~ 5. 21	N. 2°45'~E. 163°53' N. 3°18'~E. 163°10'	
92	6. 10	◇ 5. 6~ 5. 23	N. 1°05'~E. 164° N. 2°05'~E. 163°	Kihada*
93	7. 1	◇ 4. 2~ 6. 8	N. 2°30'~E. 166°20' N. 3°00'~E. 164°30'	Kihada*
94	6. 10	◇ 5. 15~ 5. 27	N. 1°00'~E. 167°00' N. 2°00'~E. 169°00'	Kihada*
95	7. 1	◇ 5. 10~ 5. 27	N. 2°00'~E. 170° S. 2°00'~E. 172°	Kihada*
96	7. 1	◇ 5. 10~ 5. 24	N. 10°30'~W. 171°30' N. 10°30'~W. 167°00'	Mebachi**
97	7. 1	◇ 5. 2~ 5. 30	N. 4°30'~E. 142° N. 7° ~E. 137°	Kihada*
98	7. 1	◇ 5. 14~ 5. 29	N. 2° ~E. 167° N. 3° ~E. 165°	Kihada*
99	7. 1	◇ 5. 4~ 6. 1	S. 0°03'~E. 170°07' N. 2°02'~E. 168°10'	Kihada*
100	7. 1	◇ 5. 25~ 6. 6	N. 8°20'~E. 161°40'	Mebachi** etc
101	7. 1	◇ 5. 12~ 6. 5	S. 7°00'~E. 130°20' S. 5°00'~E. 126°10'	Kihada*
102	7. 1	◇ 5. 28~ 6. 13	N. 5° ~E. 138° N. 6° ~E. 135°	Kihada*
107	57. 11. 14	◇ 6. 29~ 7. 17	N. 2°15'~E. 177°20' N. 3° ~E. 174°00'	Kihada*
108	11. 14	◇ 9. 7~ 10. 1	N. 6° ~E. 177°03' N. 8°30'~E. 177°13'	Mebachi** etc
110	11. 14	◇ 9. 20~10. 15	N. 5° ~E. 164° N. 9° ~E. 160°	Mebachi *
111	11. 14	◇ 9. 20~10. 13	N. 5°59'~E. 178°20' N. 2°56'~E. 174°11'	Mebachi *

- 1) To compare with data in the previous reports, the counts of an efficiency of 10 per cent of
- 2) To compare with data in the previous reports, the counts of dried matter corresponded to 1 g
- 3) To compare with data in the previous reports, the counts of ashed matter corresponded to 1 g
- 4) The weight of ashed matter corresponded to 1 g of wet sample is written in parenthesis.

* Yellow fin, *Neothunnus macropterus*

** Big-eyed-tuna, *Parathunnus sibi*

Table 1. (continued from the previous page)

Wet (Whole)			Wet		Dried		Ashed		
c.p.m.	c.p.m. ¹⁾	Weight ²⁾ (g)	c.p.m.	c.p.m. ¹⁾	c.p.m.	c.p.m. ^{1), 2)}	c.p.m.	c.p.m. ^{1), 3)}	Weight ⁴⁾ (g)
3.2	1.5		1.3	0.6	3.1	1.4	8.3	3.8	0.1910
9.2	4.5		5.8	2.7	24.3	11.35	65.9	30.5	0.0426
0.1	0	213	0.9	0.4	1.4	0.6 (0.1)	6.4	3.0 (1.0)	0.0572 (0.0187)
3.5	1.6	220	1.4	0.6	1.3	0.6 (0.1)	7.7	3.6 (0.2)	0.1344 (0.0096)
2.7	1.3	189	10.4	4.8	48.4	22.4 (4.6)	123.9	57.4 (5.9)	0.1290 (0.0131)
4.1	1.9	222	0	0	2.9	1.3 (0.3)	4.8	2.2 (0.4)	0.0532 (0.0108)
0	0	101	0	0	2.6	1.2 (0.3)	7.1	3.3 (0.2)	0.1282 (0.0091)
5.3	2.5	81	0	0	0	0 (0)	1.2	0.6 (0.1)	0.0431 (0.0095)
6.2	2.9	182	3.2	1.5	5.5	2.5 (0.5)	9.3	4.3 (0.9)	0.0724 (0.0170)
4.0	1.9	205	1.3	0.6	3.9	1.8 (0.4)	11.2	5.2 (1.0)	0.0469 (0.0097)
3.2	1.5	114	0	0	0.6	0.3 (0.1)	5.4	2.5 (0.6)	0.0477 (0.0105)
3.1	1.4	186	0	0	4.0	0.2 (0)	5.5	2.5 (0.6)	0.0590 (0.0135)
11.8	5.5	263	4.8	2.2	27.0	12.5 (2.0)	47.6	22.0 (3.5)	0.0562 (0.0090)
4.1	1.9	135	0	0	0	0 (0)	2.2	1.0 (0.4)	0.0525 (0.0195)
1.7	0.8	49	0	0	2.9	1.3 (0.3)	1.3	0.6 (0.2)	0.0487 (0.0123)
		100	3.0	1.4	4.8	2.2 (0.6)	9.1	4.2 (1.1)	0.0692 (0.0180)
		201	2.8	1.3	10.9	5.0 (1.2)	28.4	13.1 (3.1)	0.0520 (0.0125)
		35	0.2	0.1	3.2	1.5 (0.2)	4.9	2.3 (0.4)	0.0370 (0.0058)
		168	3.0	1.4	5.8	2.7 (0.6)	12.0	5.6 (1.2)	0.0564 (0.0118)

actual disintegration are shown in these column.

of wet sample is written in parenthesis.

of wet sample is written in parenthesis.

^{90}Sr の定量 乾燥物10 g を径 6 cm の白金皿にとり、ガスバーナで炭化させ、電気炉中で徐々に温度を上げて灰化する。灰分は約 0.5 g で、この場合炭素粒が少しでも残れば放射性物質を吸着しやすく、453 c.p.m. 中、143 c.p.m. (約 31 %) が吸着された場合があつた。河村は磁性ルツボを用いた場合、その回収率は非常に悪いと述べている。³⁾ また乾燥物を磁性ルツボで強熱灰化し、10 % 塩酸で溶かした場合、不溶物が残る、それに吸着されるものが多かつた。その吸着度を Table 2 に示す。

Table 2.

Procedure	Ashed	Insoluble Substance		
	c.p.m.	c.p.m.	%	Weight(g)
Dissolved with 10 cc of 10% HCl	156	26	16.6	—
〃	164.7	63.2	38.4	0.1951
Dissolved with 25 cc of water	94.5	30	31.7	0.2593

著者らは、灰分 0.5 g を N/5 塩酸 200 cc に完全に溶かし、これを試料溶液とし、15% 塩酸 100 cc で流速 0.5 cc/min で H 型とした Amberlite IR 120, 150~200 メッシュ 20 cc 径 1.2 cm の樹脂柱に吸着させた。つぎに N/5 塩酸 200 cc, 0.5% シュウ酸 200 cc, 5% クエン酸アンモニウム溶液 (pH 3.5) 200 cc, 5% クエン酸アンモニウム溶液 (pH 5.0) 200 cc で順次溶離し最後に 15% 塩酸 100 cc で溶離し、各溶離液を蒸発乾固し試料皿に移して、Fraction 1, 2, 3, 4, 5 とした。ただし試料を交換樹脂に吸着させた溶液は Fr. 1 に合して、蒸発乾固後、リン酸を多量に含むので、試料皿が侵されるのを防ぐために、アンモニア水で中和してから試料皿に移した。Table 3 はマグロ肝臓乾燥物 10 g に $^{90}\text{Sr} + ^{90}\text{Y}$ を加えて対照実験をしたもので、Table 4 は放射能の著しかつたものについて行つたものである。Table 3 では乾燥物 10 g の灰分を N/5 塩酸に溶かし 200 cc とし、その 25 cc を蒸発乾固したもの放射能を測定し、これから試料溶液の放射能を算出した。

Table 3.

Dried liver (8.75g) c.p.m.	Added $^{90}\text{Sr} + ^{90}\text{Y}$ c.p.m.	Fr. 1			Fr. 2		
		c.p.m.	%	Weight (g)	c.p.m.	%	Weight (g)
122.5	0	0	0	0.3555	96.3	78.6	0.0400
120.4	14.1	0	0	0.3305	90.3	75.0	0.0505

Table 4.

	Dried Liver 9 g c.p.m.	Fr. 1			Fr. 2		
		c.p.m.	%	Weight (g)	c.p.m.	%	Weight (g)
α -Activity	—	0	0		0	0	
β -Activity	486	0	0	0.8635	648.6	133.46	0.0370
γ -Activity	—	0	0		1.3	—	

対照では溶離後、20 日間放置し、 $^{90}\text{Sr} + ^{90}\text{Y}$ を平衡にしてから計測し、74.46% であつた。Table 4 では Fr. 4 に 11.6 c.p.m. が認められ、 α 線、 γ 線は認められなかつた。また魚獲されてから 4 か月経ており、分離後減衰がないので、 ^{90}Sr はほとんど存在しないと考え、この値を $^{90}\text{Sr} + ^{90}\text{Y}$ の許容量と比較してみると $60.8 \mu\mu\text{c}$ となり、生腺 100g を 1 日の摂取量とすると $107.88 \mu\mu\text{c}$ となる。これは許容量の 1/16 に相当する。

^{137}Cs の定量 Kahn の方法を用いて、 ^{137}Cs の回収率を調べてみた。まず Cs 担体 10 mg, 濃硝酸 5 cc, リン酸

0.1 cc, ^{137}Cs 871.8 c.p.m. に水を加えて 100cc にする. これを水浴上 $40\sim 50^\circ$ に加温し, はげしくかきまぜながら 10% モリブデン酸アンモニウム 4 cc を滴加し, 滴加後 30 分間そのままかきまぜたのち 4 時間室温に放置し, できたリンモリブデン酸アンモニウムセシウムの黄色沈でんをガラスフィルタで濾取し, 硝酸(5+100)で洗い, つぎに強アンモニア水 2~3 cc に溶かす. 水を加えて 15 cc とし, 5% 水酸化バリウム 7 cc を加え, 遠心分離する(上澄液は少し白濁する). 上澄液をとり, 沈でんは水 10 cc で洗い, 再び遠心分離し上澄液を前の上澄液に合する. これに飽和炭酸アンモニウム液 1 cc を加えて, 再び遠心分離し, 上澄液をとり沈でんを水 10 cc で洗い, 遠心分離し上澄液を合して水浴上で蒸発乾固する. 残分に水少量を加えて溶かし, 70% 過塩素酸 3 cc を加え, 赤外線ランプの下で約 120° で過塩素酸の白煙の生ずるまで水分を蒸発させ, アルコール 15 cc を加えて, 過塩素酸セシウムを沈でんさせ遠心分離する. リンモリブデン酸アンモニウムセシウムを分離した濾液はアンモニア水で中和したのち 5% 水酸化バリウム溶液 25 cc を加えて, リン酸, モリブデン酸をとり, さらに過剰のバリウムは炭酸アンモニウムを加えて沈でんさせて濾過し, 蒸発乾固, 灰化して未反応の ^{137}Cs を回収した. その結果を Table 5 に示す.

Table 5.

^{137}Cs	Barium Phosphomolybdate		Barium Carbonate		Alcohol Sol.		^{137}Cs Perchlorate		^{137}Cs in Filtrate					
	c.p.m.	%	c.p.m.	%	c.p.m.	%	c.p.m.	%	Barium Phosphomolybdate		Barium Carbonate		Residue	
c.p.m.	c.p.m.	%	c.p.m.	%	c.p.m.	%	c.p.m.	%	c.p.m.	%	c.p.m.	%	c.p.m.	%
871.8	1.0	0.1	0	0	7.2	0.8	832.4	95.5	0	0	0	0	1.2	0.1
871.8	0.9	0.1	0	0	8.5	1.0	851.4	97.7	0	0	0	0	3.7	0.4
156.7	0	0	0.6	0.4	0.9	0.6	145.4	92.8	—	—	—	—	—	—

Table 3. (continued from the previous page)

Fr. 3			Fr. 4			$^{90}\text{Sr} + ^{90}\text{Y}$ Recovery %	Fr. 5		
c.p.m.	%	Weight (g)	c.p.m.	%	Weight (g)		c.p.m.	%	Weight (g)
22.9	18.7	0.2345	0	0	0.0450	—	0	0	0.0005
16.5	13.7	0.1960	10.5	—	0.0425	74.5	0	0	0.0025

Table 4. (continued from the previous page)

Fr. 3			Fr. 4			Fr. 5		
c.p.m.	%	Weight (g)	c.p.m.	%	Weight (g)	c.p.m.	%	Weight (g)
0	0		0	0		0	0	
40.5	8.33	0.4675	11.6	2.39	0.0460	0	0	0.0010
51.8	—		0	0		0	0	

以上の方法により, Fission Products に ^{137}Cs を加えて対照実験を行つた結果を Table 6 に示す. A は F. P. のみの分析で, B は A に ^{137}Cs を 151.5 c.p.m. を加えたものである.

Table 6.

	F.P.	Added ¹³⁷ Cs	Barium Phospho- molybdate		Barium Carbonate		Alcohol Sol.		Caesium Perchlorate		¹³⁷ Cs in B— ¹³⁷ Cs in A	
	c.p.m.	c.p.m.	c.p.m.	%	c.p.m.	%	c.p.m.	%	c.p.m.	%	c.p.m.	Recovery of added ¹³⁷ Cs (%)
A	18740	—	7.5	0.04	0.4	0	11	—	631.3	3.37	—	—
B	18740	151.5	7.6	0.04	0	0	10.8	—	768.3	—	137	90.43

以上の結果から、過塩素酸セシウムをアルコール溶液から沈でんさせる場合、少量の損失はあるが、90%以上の回収率で¹³⁷Csを定量しうることがわかつたので、乾燥物10gを白金皿で灰化し、硝酸(5+95)100ccに溶かしその10ccのカウントを測定し、残りの90ccを試料として用いた。その結果をTable 7に示す。

Table 7.

	Dried Liver (9 g)	Cesium Perchlorate		
	c.p.m.	c.p.m.	%	Weight (g)
β-Activity	292.5	0	0	0.0318
γ-Activity	20.5	0	0	〃

むすび 南太平洋海域の原水爆実験による魚類の汚染を知るため、マグロ類の肝臓中の放射能を測定した。弱いが汚染されているものもあつた。そのなかで特に著しく強いものについて、⁹⁰Srをイオン交換樹脂法で分離し、¹³⁷Csをリンモリブデン酸アンモニウムを用いる沈でん法で分離定量をおこなつた結果、¹³⁷Csは全く検出できなかったが、⁹⁰Sr+⁹⁰Yでは生腺100gで許容量の1/16を検出した。

文 献

- 1) Tompkins, E. R., *et al.*, : *J. Am. Chem. Soc.*, 69, 2769 (1947) ; *ibid.*, 70, 3521 (1949).
- 2) Kahn, B., Smith, D. : *Anal. Chem.*, 29, 1210. (1957).
- 3) 長沢佳熊, 河村正一 : 日本薬学会関東支部 昭和33年 2月例会
- 4) 長沢佳熊, 河村正一, 亀谷勝昭, 城戸靖雅 : 昭和33年 4月9日, 日本薬学会総会(名古屋)発表.

Summary

Radio-contaminations in the tunny and sword fish livers caught in Southern Pacific Ocean were examined. Some liver samples contained fission products, and ⁹⁰Sr+⁹⁰Y, which was separated by ion-exchange resin, in 100 g of fish liver was one sixteenth of maximum permissible dose, but ¹³⁷Cs as not found.

Received May 31, 1958.

有機性ハロゲンの簡易定量法 (第1報)

板井孝信, 中島利章

A Simple Determination Method of Organic Halogen. I.

Takanobu ITAI and Toshiaki NAKASHIMA

まえがき 有機性ハロゲンの定量法には Carius 法や, Pregl の燃焼法, Parr 法をはじめナトリウムとアルコール類と加熱する方法などがあるが, いずれも装置や操作が煩わしい, Schöniger¹⁾ 2) の発表した分解法は装置, 操作が簡単で, 時間もかからず, これを Vieböck³⁾ やその他⁴⁾ により検討されたオキシシアン水銀を用いる滴定法と組合せるときは, 簡単に, すみやかに, 正確な値を与える. 今回塩素, 臭素化合物の数種について検討した知見を報告する.

器具 (i) 燃焼用フラスコ^{a)}, 第1図に示すような内容250ccのタイストーン・ガラス製共栓フラスコ, ガラス栓には2cm 平方の白金網を有する白金線を溶接する.

(ii) ミクロビュレット, 内容10cc, 0.05ccの目盛のあるもの.

試薬その他 (i) 30%過酸化水素水 (ii) 2N水酸化カリウム液, (iii) 酸素ガス, ボンベ入りのものをそのまま用いる. (iv) 2N硫酸. (v) メチルレッド・メチレンブルー溶液, 0.1%メタノール製メチルレッド溶液および0.1%メタノール製メチレンブルー溶液の等量を使用時に混ざる^{b)} (vi) オキシシアン水銀溶液, 冷飽和液を作り, メチルレッド・メチレンブルー溶液を加えN/100硫酸で中和したもの. (vii) N/100硫酸 食塩を用いてオキシシアン水銀法により標定する. (viii) 扇形濾紙 径15cmの円形濾紙を12等分したもの, 可及的ハロゲンを含まぬもの.

操作法 塩素約3mgまたは臭素約7mgに対応する試料を扇形濾紙上に精密に秤取し, 第2図のように扇形濾紙につつま, あらかじめ1%硝酸と煮沸後, プンゼン灯の無揮発中に赤熱し, 放冷した白金網の間にはさむ, 燃焼用フラスコに2N水酸化カリウム液1cc, 30%過酸化水素水3滴および水10ccをとる. フラスコに酸素ガスを約1分間通じ, フラスコ内の空気を酸素で置換し, 手で口をふさぎ, 一方栓をとり試料をつつんだ濾紙の尖端に点火し, 直ちに燃焼フラスコにはめ, 密栓して濾紙が落ちないように注意しながら燃焼させる. 火が消えた後, しばしばふりまぜながら10分間放置し, 栓のまわりに水を加え, 注意して栓を開け, 栓, 白金線および白金網を水で洗い込む.

燃焼フラスコを金網上に加熱して静かに5分間煮沸し, 2N硫酸3ccを加えて酸性とし, 2分間静かに煮沸する. これを冷却した後, メチルレッド・メチレンブルー溶液1ccを加え, 2N水酸化カリウム液を滴加してアル

a) 栓を1つ作つて, これに合う共通すり合せフラスコを多く作つておけば十分間に合う, もし白金の接触作用が低下したときは1%硝酸に塩酸数滴を加えたものと煮沸して活性化すればよい.

b) 両液を等量ずつ用いるこれが必要である. 正しく指示薬を用いて, 螢光灯の下で滴定を行えば, N/100 1滴で帯緑色が完全に消える点を観察できる.

c) 燃焼用フラスコは微に着色しているので, 滴定のとき指示薬の変化が見にくいことと, 燃焼用フラスコが比較的高価な理由から, 別のフラスコに移して洗い込んだ方がよい, そのフラスコと同形, 同容量のフラスコに滴定終末時における液量と同容量の水を入れ, 指示薬を加えて中性色を呈せしめ, これと対照しながら滴定を行うとよい.

Fig. 1.

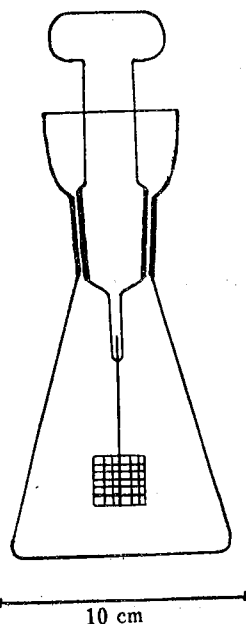
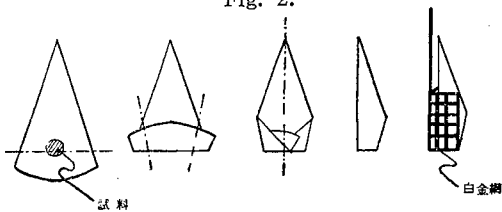


Fig. 2.



カリ性とし、次にN/100硫酸を加えて中和する。これにオキシシアン水銀溶液10ccを加え、N/100硫酸で滴定する。別に同様の方法で空試験を行い、このN/100硫酸の消費量を前のN/100硫酸の消費量より差引き、計算する。

N/100硫酸 1 cc = 0.3546mgCl

N/100硫酸 1 cc = 0.7992mgBr

実験結果 第1表に掲げるような物質について定量を行った。

Table 1
Results of Determination

	Sample (mg)	N/100—H ₂ SO ₄ (cc)	Cl or Br (%)	
			found.	calcd.
1, 3, 5 - Trichlorobenzene	5.113	7.752	53.76	53.87
	4.980	7.535	53.65	
N-Methylephedrine·HCl	8.444	3.981	16.72	16.44
	8.905	4.211	16.77	
P-Nitrochlorobenzene	9.202	5.826	22.45	22.50
	8.877	5.595	22.35	
Chlor-Trimeton	17.265	4.401	9.04	9.07
	14.988	3.838	9.08	
BHC	2.894	5.942	72.81	73.14
	4.518	9.323	73.17	
Vitamin B ₁	15.145	8.926	20.90	21.03
	10.785	6.463	21.25	
Aldrin(*)	5.317	8.568	57.14	58.30
	5.569	8.981	57.19	
Endrin(*)	6.240	9.808	55.74	55.85
	6.249	9.808	55.67	
Dieldrin(*)	6.179	9.764	56.03	55.85
	6.044	9.549	56.02	
p-Dichlorobenzene	7.600	9.237	43.11	48.24
	6.290	7.916	44.63	
Bromural	15.882	7.096	35.71	35.82
	12.654	5.689	53.93	
1-Brom-2-Naphtol	9.633	4.324	35.87	35.83
	9.002	4.090	36.31	
5.7-Dibrom-8-Oxyquinolin	9.839	6.514	52.91	52.75
	13.471	8.965	53.19	
p-Brom-Phenacyl Bromide	14.452	10.324	57.09	57.50
	14.232	10.165	57.08	
Bromthymol	9.175	4.033	35.13	34.88
	8.927	3.912	35.02	

(*) Results of Elementary Analysis

	C %		H %	
	found.	calcd.	found.	calcd.
Aldrin	40.33	39.49	2.65	2.21
Endrin	37.70	37.83	2.32	2.12
Dieldrin	37.52	37.83	2.51	2.12

考 察 塩素、臭素化合物とも大体に満足すべき値を与え、その誤差は塩素化合物にあつては約±0.3%、臭素化合物では約±0.5%であつた。ただパラ-ジクロロベンゼンの場合には90%前後の値しか得られなかつた。これはそのものの沸点が低くて燃焼する前に揮発するように考えられる。さらにこの点に関しては検討中である。

結 論 1. Schöniger 法で有機塩素または臭素化合物を燃焼分解して、オキシシアン水銀法で滴定することは、便利でよい方法であることを知つた。

2. ある化合物では正しい値を与えないので、この原因の究明、その対策を検討中である。

文 献

- 1) Schöniger, W. : *Mikrochim. Acta*, 1955, 123.
- 2) Schöniger, W. : *ibid.* 1956, 869.
- 3) Vieböck, F. : *Ber.*, 65.493 (1932).
- 4) Analytical Methods Committee ; *Analyst*, 82, 378 (1957).

Summary

Various organic chloro- and bromo-compounds could be determined speedily and accurately by a combined method, i. e., a combustion method reported by Schöniger and a titration method for chlorine and bromine with mercuric oxycyanide. The deviation was about $\pm 0.3\%$ for chlorine, and ca. $\pm 0.5\%$ for bromine. The samples determined were indicated in table 1. *p*-Dichlorobenzene gave low and deviated results, and it seemed to depend upon its volatility.

Received May 31, 1958.

ビタミンCとピロールとの呈色反応

小川 俊太郎, 河内 敬朝, 西村 秀子

Color Reaction of Vitamin C with Pyrrole

Shuntarō OGAWA, Yoshitomo Kōchi and Hideko Nishimura

第1編 原報の検討

Part I. Critical Studies of Original Report

まえがき

R. S., Tipson¹⁾はデヒドロ-L-アスコルビン酸(以下DAsAと記す)のトリクロル酢酸溶液にピロールを加えて50°Cに加温すれば、青色を呈し、本反応がDAsA従つてL-アスコルビン酸(以下AsAと記す)に特有であることを立証した。本反応は米国薬局方²⁾にAsAおよび其製剤の確認反応として採用されている。

著者らは本反応について追試した結果を報告する。

実験の部

U.S.P. XV の条文はAsA15mgを5%トリクロル酢酸15ccに溶かし、活性炭約200mgを加えて1分間激しく振り、透明な汙液 5ccを取り、ピロール1滴を加え、混和溶解後、50°Cの水浴で5分間加温するとき、青色を呈する。

しかるに著者らの追試した結果では

i) 上記の操作によると汚緑色を呈するのみで青色とはいえない。そこで AsA1mg/ccの溶液につき次のii)~vi)の実験を行った。

ii) 溶剤を5%トリクロル酢酸の外各種濃度のメタ磷酸、酢酸、塩酸、硫酸、硝酸、磷酸、ホウ酸、乳酸、クエン酸、酒石酸、アンモニア水、水酸化ナトリウム溶液にかえたところ、トリクロル酢酸が最も呈色強く、次はメタ磷酸および硝酸であつて他は用いられないことがわかつた。

iii) 活性炭の品質を考慮し、市販の邦産活性炭(昭和24年頃入手)2種および Roe³⁾により精製したものを500mgずつ使用したが呈色は良くならなかつた。

iv) 次に呈色の不良は活性炭によるAsAの酸化が不充分であるか逆にDAsAがさらに酸化分解したためか、あるいは活性炭にDAsAが吸着して失われたためによるものと考え、iii)の汙液およびこれを藤田法⁴⁾によつて硫化水素で還元したものについてヨウ素滴定をおこなつたところ、汙液はヨウ素を消費しないが、これを還元するとほとんど100%のAsAを回収し、AsAはほとんど定量的にDAsAに酸化されてそのまま止まっていることが判明した。

v) さらにiv)の結果を確かめるためAsAのトリクロル酢酸およびメタ磷酸溶液をヨウ素液で定量的に酸化したものと、活性炭500mgで処理した汙液との呈色を比べたが呈色の強度は大体同一であつた。iv)及びv)により、この条件の下で活性炭はAsAを定量的にDAsAに酸化するがそれ以上は分解せずほとんど吸着もしないことがわかつた。同時に呈色はヨウ素酸化で生じたDAsAについても汚緑色であることも判明した。

vi) 次に過酸化水素水⁵⁾、臭素水²⁾を活性炭またはヨウ素液にかえて酸化し、同様実験したが結果は同じであつた。以上i)~vi)の試験により Tipson のいう青色は得られなかつたので本呈色に関し次の調査を行った。

vii) 呈色はAsAのトリクロル酢酸およびメタ磷酸溶液にヨウ素液を加えて出来たDAsAの溶液(1mg/cc~0.1mg/cc)において認められ、色調は青緑色から汚緑色に变じ、液中のDAsAの濃度と並行する、中性溶液の呈色は著しく弱い。そしてただ単にAsAのトリクロル酢酸およびメタ磷酸溶液(1mg/cc)にピロールを加えて加温した場合は極めて弱く呈色する。これは操作中デヒドロ型が少量生ずるためと思われる。以上の結果から呈色はDAsAが酸性溶液中で呈する反応であることが推察される。

呈色を改善する試み

i) AsAを部分酸化する法

試料中のAsAをヨウ素液によつて100% DAsAに酸化せず、部分酸化したものについて呈色させたところ、20~50%酸化の場合は比較的呈色が青色に近付き、100%酸化した液を単に溶剤(メタ磷酸)で稀釈したものについては依然緑色がつよい。すなわち青色の呈色反応を得るためには未酸化AsAの共存の方が都合がよいように思われる。

ii) 加温温度を調整する法

Tipson の報告には反応温度を50°Cの恒温と述べてあるが温度の昇降による影響に言及していないのでこの点を調べたところ、活性炭あるいはヨウ素のいずれを用いて全酸化を行つた場合でも青色を保つためには正確に50°Cを守らねばならない。約55°C以上になると次第に緑色を帯びる。加温時間は5分間が適当でそれ以上の場合には緑色を帯びる。しかしi)にのべた部分酸化を採用すれば、温度の影響が減少して反応温度を75°Cまでに上げても青色を呈する。

第1篇の総括

Tipson 法を追試した結果、本反応は明かにDAsAにたいする反応であつて、溶剤にはトリクロル酢酸以外に常用の酸類すなわちメタ磷酸、蓚酸等も用いることができる。そして酸化剤も活性炭でなくてもヨウ素液で充分目的を果すことができる、また反応温度は50°C、時間は5分を厳守せねばならないことなどが判明した。

第2篇 酸性白土の呈色反応に及ぼす影響

Part II. Influence of Acid Clay on Color Reaction

まえがき

著者らは活性炭を用いる第1篇において、呈色が好ましくなかつたことをのべたが本報ではU.S.P.法による活性炭の代りにTable Iに掲げる各種の吸着剤をAsAの5%メタ磷酸溶液5mg/5ccに0.2gずつ加えて呈色させたところ、白土系以外の吸着剤は呈色悪く淡色または淡青緑色を呈するが、白土系の吸着剤は美しい青藍色を呈することを発見したので前篇のヨウ素酸化したDAsAにも応用したところ同様に青藍色を呈しその呈色の強度は増強されることを認めた。以上の事実からして白土中には本反応に対する呈色増強因子が含有されているものと推定した。以下その原因追究の結果を報告する。

Table I.

Name of Adsorbent		Batch tested	Color Intensity	Remark
Acid Clay		8	+	
Activated Acid Clay		7	++	
Bentonite		1	+	
Kaolin		1	—	
(foreign made)	Acid Clay	4	++	Superfiltrol et al
	Other Adsorbent	2	—	Florisil and Permutit T
Ion-exchange Resin		4	—	Anionic 3 Cationic 1
Aluminium Silicate		4	—	Natural 3 Synthetic 1
Activated Charcoal		5	±	Foreign made 2 blue color at 50°C, 5 min.
Aluminium Oxide		3	—	
Others	Kieselguhr	1	—	
	Silica Gel	1	—	

Name of Adsorbent		Batch tested	Color Intensity	Remark
Others	Glasspowder	5	—	Crushed and powdered white or blown Ampuls
	Powder of Seasand	1	—	100 mesh above
Key		++ Strong Blue Violet Color develops + Blue Violet Color develops — No Color or Pale Blue Color develops		

実験の部

反応条件の検討

i) 反応温度と時間

酸性白土二・三種を用い反応温度と時間について検討したところ Table II のごとく、活性炭の場合と異り 50°C, 5 分間ではほとんど呈色せず 60~80°C, 10~15 分間が最も良いことがわかった。以下の実験は 70°C, 10~12 分間で行った。

Table II.

Time Temp.	1 min.	3	5	10	15	over15	Remark
50°C	—	—	—	—	+	+	All Acid Clay does not develop equal color intensity.
55°	—	—	—	+	+	+	
60°	—	—	+	+	++	Dark Green precipitate	
70°	—	+	+	++	+++	Dark Green precipitate	
80°	—	+	+	++	+++	Dark Green precipitate	

ii) 酸性白土の量

Table III に示すごとく、呈色は白土の量が多くなるほど増強する傾向にあるが、遠心上清液が白濁したり、呈色物質が直ちに沈澱したりする関係と操作上の都合によつて白土の量は 0.2g と定めた。

Table III.

Weight of Acid Clay Acid Clay	A	B	Remark
50mg	—	—	filtrate clear
100mg	—	—	filtrate clear
200mg	+	+	filtrate clear
500mg	+	+	filtrate clear
1.0g	++	++	filtrate faint turbid
2.0g	++	++	filtrate turbid
Key	— No Blue Color develops + Blue Violet Color develops ++ Strong Blue Violet Color develops		

iii) AsAの濃度

AsAの濃度は Tipson の原報どおり 1 mg/cc が良い。そして濃度と呈色の強度は比例しない。Table IV 参照。

Table IV.

Concentration of AsA	1 mg/cc	500 γ /cc	200 γ /cc	100 γ /cc	50 γ /cc	20 γ /cc	10 γ /cc	2 γ /cc
Aliquots of Sample Solution	5 cc	5 cc	5 cc	5 cc	5 cc	5 cc	5 cc	5 cc
Color Intensity	+	+	±	±	—	—	—	—
Key	+ Blue Violet Color develops ± Pale Blue Color develops — No Blue Color develops							

iv) 酸性白土の選択

Table I のごとく白土系吸着剤は総て美しい青藍色を呈するがその原因を追究するために、人工的に活性化を施さぬ白土を数種入手し、その内呈色の強いもの1種を選び以下の実験に供した。

v) 溶剤の選択とその濃度

溶剤については5%メタ磷酸および1%蔞酸が最も良いがメタ磷酸は灰化処理が困難である関係上蔞酸を用いることにした。

呈色液の吸収極大

Tipson の原報とほとんど同様な吸収極大 (620~625m μ) を示すが呈色の再現性および安定性が余りよくないので結果の正確を期し難い。

呈色増強因子の検討

i) 酸性白土の AsA に対する酸化能

呈色増強作用の一原因とみられる酸性白土の AsA に対する酸化能を調べた。その方法として AsA のメタ磷酸溶液 (15mg/15cc) を酸性白土および活性炭でふりませた後、汙液中の残留 AsA をヨウ素液で滴定したところ活性炭ではほとんど DAsA に酸化されているのに反し酸性白土ではわずか10%程度しか酸化されていない。なおこの場合確かに DAsA が產生していることは別に小川の螢光反応⁹⁾で確認した。

以上の結果からして呈色増強の原因は酸性白土による AsA の酸化促進ではない。

ii) 呈色増強因子の抽出、濃縮および灰化

試みに酸性白土1gを秤取し、5%メタ磷酸溶液30ccを加えて振り、遠心分離した上清液1ccを別にヨウ素酸化で得たDAsAのメタ磷酸溶液 (0.1~1 mg/cc) 4 ccに加え、ピロール1滴を加えて呈色させたところ、美しい青藍色を呈した。したがって呈色増強因子はメタ磷酸中に抽出されている。そこで白土を水、アルカリ類、酸類で抽出して検討したところ、該因子はメタ磷酸および蔞酸により抽出され、呈色することが判明し、この因子は抽出液を濃縮、さらに灰化しても失われないから無機成分ではないかと推察した。なお硫酸、塩酸で抽出した場合はそのままでは呈色しないが、それらの灰分をメタ磷酸または蔞酸に溶かしたものは呈色する。したがって該因子は硫酸、塩酸にも抽出されるがこれら鉍酸は呈色を妨げるから本反応の溶剤としては不適當である。

iii) 金属イオンと呈色増強作用

そこで Fe⁺⁺⁺、Fe⁺⁺、Zn⁺⁺、Cu⁺⁺、Al⁺⁺⁺、Mg⁺⁺、Ni⁺⁺、Mn⁺⁺、Co⁺⁺、Bi⁺⁺⁺ の塩類または水酸化物を用いて呈色増強作用を調べたところ Fe⁺⁺⁺ および Cu⁺⁺ に顕著な作用があることを認めた。

iv) 無機汙紙クロマトグラフィによる Fe⁺⁺⁺、Cu⁺⁺ の検出。

Table V に示す如き方法によつて得た白土の抽出液を濃縮して用いた。または蔞酸の代りに10% 塩酸を用い白土150gから抽出したものも用い、無機汙紙クロマトグラフィによる陽イオンの一斉分析⁷⁾ (使用汙紙…東洋汙紙 No. 51A, 上昇法) を行つたところ、Fe⁺⁺⁺、Al⁺⁺⁺、Mg⁺⁺ が検出されのみで Cu⁺⁺ は検出されなかつた事実から推して呈色増強因子は Fe⁺⁺⁺ であると思われる。

v) 標準鉄溶液と抽出液との比較

本因子が Fe⁺⁺⁺ であることを確認するために鉄明礬溶液をつくり Table V の要領で、標準鉄溶液 A, B を調製して抽出液と比較した。

a) 呈色増強作用の比較

Table V.

Preparation of Standard Ferric Solution and Acid Clay Extract

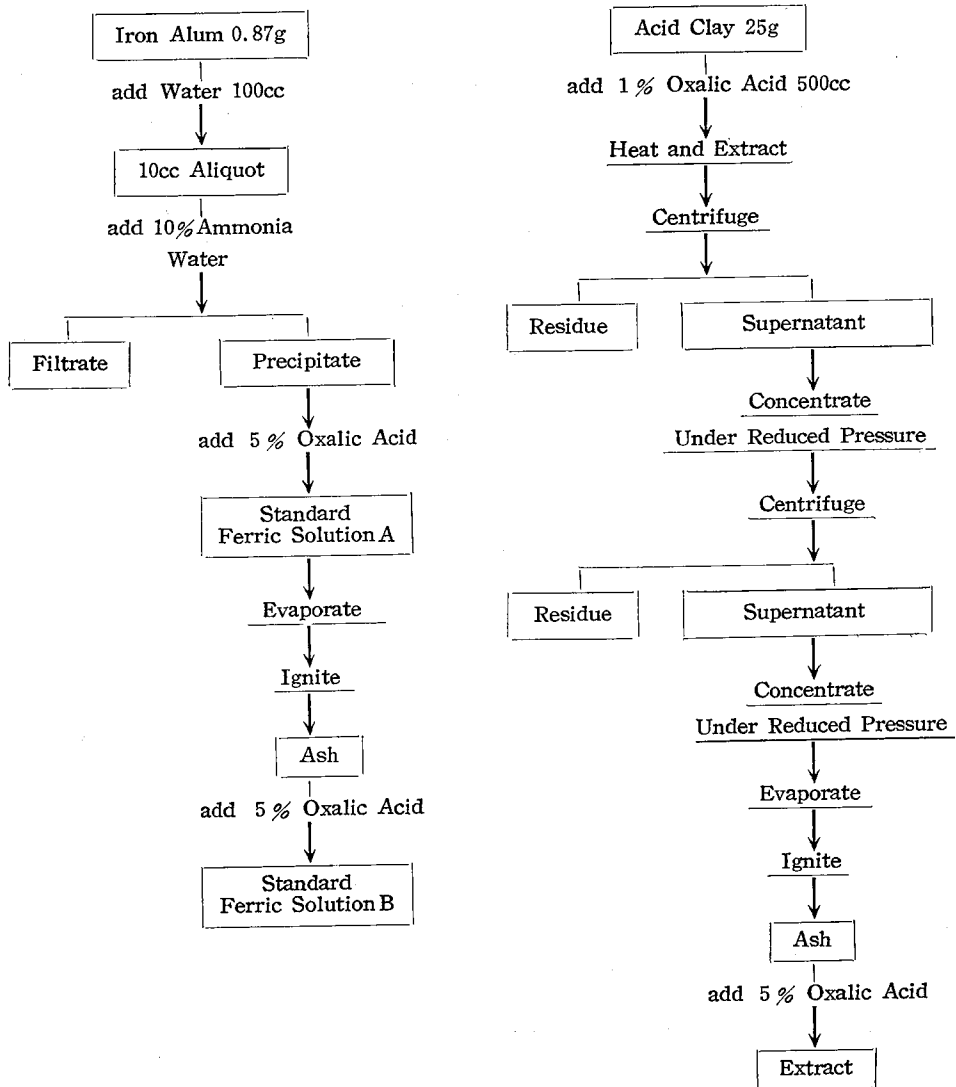


Table V の抽出液を2倍に稀釈した液の0.2ccと標準鉄溶液Bの0.2ccを DAsA 5 mg/5 ccに加えた場合大体同程度の呈色を示した(0.1ccでは呈色は良くない).

b) 鉄含有量の比較

標準鉄溶液Aおよび抽出液の一定量を取り、灰化し、得られた灰分を10%塩酸に溶解したものを検液とし、ジピリジル比色法により定量し、増強作用を示す0.2cc中の含量を求めたところ、標準鉄溶液は567で抽出液は507で両者の値はほぼ一致している.

以上により白土抽出液中の呈色増強因子の一つは Fe^{+++} であると断定してよいと思う.

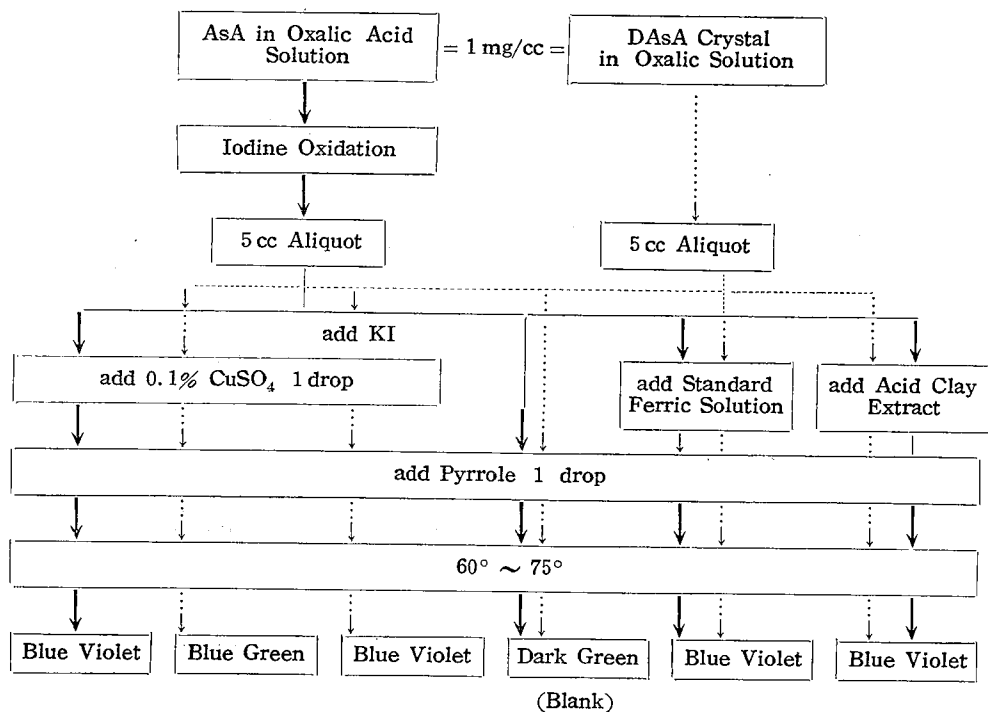
結晶 DAsA (Nutritional Biochemicals) を用いた場合

上記の実験はすべてヨウ素液で AsA を酸化して得た DAsA の溶液について行つたものであるので別に結晶 DAsA を用いて検討した.

すなわち Table VI のごとく、DAsA の蔞酸溶液にピロールを作用させた場合はヨウ素酸化 DAsA と同様青緑色を呈するが酸性白土の抽出液または標準鉄溶液を加えると青藍色を呈する.

ただしこの場合 Cu^{++} の塩類溶液例えば 0.1% 硫酸銅溶液のみを加えても増強作用を示さないが、もしこの液にヨウ素酸化 DAsA 溶液中に存在するヨウ素イオンと同量のヨウ素イオンを添加すれば増強作用を示す。したがって Cu^{++} の増強作用にはヨウ素イオンの存在が必要であるように思われる。

Table VI.



第2篇の総括

本呈色反応に対し酸性白土が顕著な呈色増強作用を示すことを発見し、その原因を追究したところ Fe^{+++} であることを確認したが、この他 Cu^{++} も同様に作用することを認めた。

第3篇 呈色増強作用の特異性

Part II. Specificity of Color Reaction

ま え が き

著者らは前篇において Fe^{+++} および Cu^{++} の呈色増強作用についてのべたが類似化合物、関連化合物および製剤等において混合されうような化合物に適用し特異性を検討した。

実 験 の 部

次に示す物質の 5% メタ磷酸 (5%) 溶液または飽和溶液を検液とし、呈色増強物質として 0.1% 硫酸銅溶液 1 滴を用いて本反応を行つたところいずれも呈色を認めなかつた。

すなわち安息香酸、 α -*アミノ安息香酸、塩酸アルギニン、果糖、ガラクトース、*グリシン、クレアチン、クエン酸、グルコン酸カルシウム、コハク酸、酒石酸、ソルビット、タンニン酸、*塩酸シスチン、*L-シスチン、*ヒドロキノン、*ビタミン B_1 、*ビタミン B_2 、*グルコース、マンニット、マンノース、マルトース、乳糖、*尿素、乳酸、*ニコチン酸、(*印は原報でも実験済みであるが原報の場合は勿論 Cu^{++} は加えていない) は呈色反応陰性である。

次に類似、関連化合物については Table VII のごとく、アロキサン⁸⁾、アロキサンチンのみに増強作用顯著で、

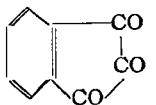
ニンヒドリンは1%溶液の場合は無効であつたが、0.1%溶液にすることにより有効となつた。

故に本反応はトリカルボニル体に共通の反応であると思われ、同時にFe⁺⁺⁺又はCu⁺⁺による呈色増強作用が現われる。

第3篇の総括

本反応におけるFe⁺⁺⁺およびCu⁺⁺の影響を種々の化合物について応用したところ、トリカルボニル体のみ特異的に現われる。

Table VII.

Name of Compound	Structural Formula	Acid Clay or it's Extract	Fe ⁺⁺⁺	Cu ⁺⁺
Dehydro Ascorbic Acid (DAsA)	$ \begin{array}{c} \text{O} \text{---} \text{CO} \\ \qquad \text{CO} \\ \text{HC} \text{---} \text{CO} \\ \qquad \\ \text{H} \cdots \text{C} \cdots \text{OH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \quad * \end{array} $	+	+	+
Alloxane	$ \begin{array}{c} \text{NH} \text{---} \text{CO} \\ \qquad \text{CO} \\ \text{CO} \qquad \text{CO} \\ \qquad \text{CO} \\ \text{NH} \text{---} \text{CO} \end{array} $	+	+	+
Alloxantine	$ \begin{array}{c} \text{NH} \text{---} \text{CO} \qquad \text{H} \qquad \text{CO} \text{---} \text{NH} \\ \qquad \text{C} \text{---} \text{O} \text{---} \text{C} \qquad \text{CO} \\ \text{CO} \qquad \text{HO} \qquad \text{CO} \text{---} \text{NH} \\ \text{NH} \text{---} \text{CO} \end{array} $	+	+	+
Ninhydrin		±	±	±
Violuric Acid	$ \begin{array}{c} \text{NH} \text{---} \text{CO} \\ \qquad \text{C} = \text{NOH} \\ \text{CO} \qquad \\ \text{NH} \text{---} \text{CO} \end{array} $	—	—	—
Barbituric Acid	$ \begin{array}{c} \text{NH} \text{---} \text{CO} \\ \qquad \text{CH}_2 \\ \text{CO} \qquad \\ \text{NH} \text{---} \text{CO} \end{array} $	—	—	—
Parabanic Acid	$ \begin{array}{c} \text{NH} \text{---} \text{CO} \\ \qquad \\ \text{CO} \qquad \text{CO} \\ \qquad \\ \text{NH} \text{---} \text{CO} \end{array} $	—	—	—
Hydantoin	$ \begin{array}{c} \text{NH} \text{---} \text{CH}_2 \\ \qquad \\ \text{CO} \qquad \text{CO} \\ \qquad \\ \text{NH} \text{---} \text{CO} \end{array} $	—	—	—
Remark	* L-form and D-form also develops same blue color + Blue Color develops — No Blue Color develops ± Under different condition : blue color develops			

終りに臨み試料を御提供下さった京大食糧科学研究所の藤村吉之助博士, 水沢化学工業株式会社の宮沢嘉一郎氏および無機汚紙クロマトグラフィに関し御指導賜わった阪大薬学部滝浦潔博士に感謝する。

文 献

- 1) Tipson, R. S. : *J. Am. Pharm. Assoc.*, 34, 190 (1945).
- 2) U. S. P. XV 68 (1955).
- 3) Roe, T. H. : *J. Biol. Chem.*, 152, 511 (1944).
- 4) 藤田 : 日本医学健保 3334, 7 (昭18).
- 5) Kappanyi : *Science*, 101, 543 (1945).
- 6) 小川 : 本誌, 70, 77 (1952).
- 7) 田村 : 分析化学講座 4-C 無機クロマトグラフィ (共立出版).
- 8) Resnik, R. A., Wolff A. R. : *Arch. Biochem. and Biophys.*, 64, 33 (1956).

Summary

Color reaction of ascorbic acid *viz.* dehydroascorbic acid with pyrrole which had been originally reported by R. S. Tipson (1945) and subsequently accepted in U. S. P. XV was critically examined.

Though reaction media might be altered to other diluted acids such as solution of metaphosphoric or oxalic acid and oxidant might be change to iodine solution instead of activated charcoal, reaction mixture should strictly be kept at 50°C during color development. However, ascorbic acid was halfway oxidized to dehydro form and the remainder kept unaltered, clear coloration might be obtained after warming at as high as 75°C for 5 minutes.

On substitution of activated charcoal with japanese acid clay, a beautiful blue color appeared after warming at 70~80°C for 10~15 minutes and this phenomenon was thought to be based upon the existence of ferric iron which has been eluted from clay into reaction mixture by dilute acidic medium.

Heavy metal ions other than iron were not potent except cupric ion which was only effective with the aid of iodide.

Both the original reaction by Tipson and this new one were highly specific to tricarbonyl compounds such as alloxan, alloxantine or ninhydrine and the reaction mechanisms might be expected to be closely relating though they were remained unexplained.

Received May 31, 1958.

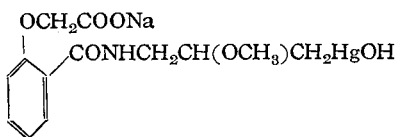
マーサリルのポーログラフ定量法

藤井正道, 佐藤 寿

Polarographic Determination of Mersalyl

Masamichi FUJII and Hisashi SATO

まえがき 国民医薬品集に記載されている本化合物はその構造中に炭素—水銀の結合を有することから、ポーログラフ的に活性で



あることが認められる。1951年 Benesch 等¹⁾は本化合物のポーログラフイーを報告しているが、実際の定量法については何等のべられていない。一般に有機水銀化合物の化学的定量法は相当困難でありかつえられた結果は不正確になりやすいが、この点ポーログラフ法は極めて簡単にして正確であるので、著者らは以下本化合物のポーログラフ定量法について概要をのべる。

実験の部

装置 柳本製ベン記録式交直ポーログラフPA-101型。水銀滴下電極は $h=69.0\text{cm}$, open circuit にて, $t=4.01\text{sec}$, $m=1.44\times 10^{-3}\text{g sec}^{-1}$, $m^2/\pi t^{1/2}g=1.601$. 電解液の内部抵抗は 500Ω 以下であるから iR -drop は無視した。

材料 マーサリルの純品, $2.5M\text{NaBr}$ 水溶液, Britton-Robinson 緩衝液, 1%ゼラチン水溶液。

操作 マーサリルを含むアルコール性検液を約 5ml + 緩衝液 20ml + $2.5M\text{NaBr } 5\text{ml}$ → 全量をアルコールで 50ml として電解液をつくり, この液 5ml に対してゼラチン液1滴を加え, 窒素ガスを充分通じた後ポーログラフイーを行う。波高測定法は Kolthoff-Lingane 法を用いた。

結果および考察

マーサリルのポーログラムを Fig. 1 に示す。

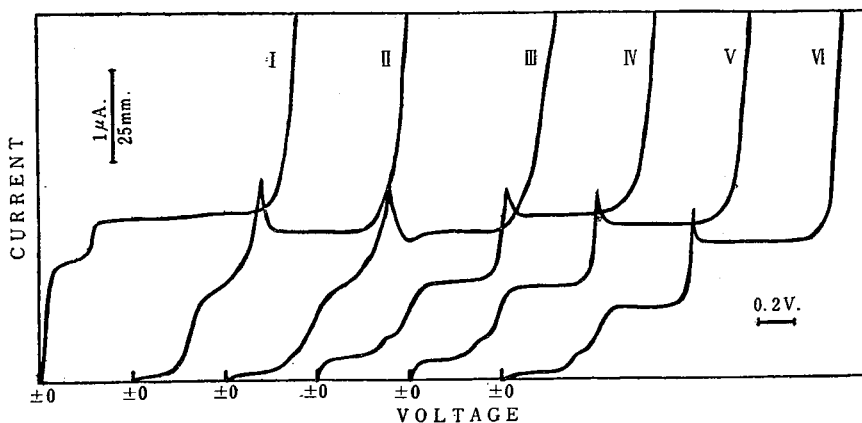


Fig. 1. Polarograms of Mersalyl

pH: I. 3.5, II. 5.5, III. 7.0,

IV. 9.5, V. 10.5, VI. 12.5.

C., 1.0mM , S., $0.04\mu\text{A/mm}$, $100\mu\text{F}$.

pH3.5~12.5 でいずれも 2 段波を呈し、第 1 段波の半波電位は酸性側では pH が高くなるにつれて負側へ移動するが、アルカリ性側では pH に無関係に一定値を示す。第 2 段波の半波電位は全 pH 領域にて pH が高くなるに従って負側へ移動している。波高については酸性側では第 2 段波の方がはるかに大きく、アルカリ性側では両波高ともほぼ等高となる。これらの状態を Tab. 1 に示す。

Tab. 1. Polarographic Behavior of Mersalyl in 50 Per Cent Ethanol

pH	-E _{1/2} (vs. S. C. E), V.		Id*
	In 0.25 M NaBr, Buffer, 0.01%	0.16 M Britton-Robinson Gelatin — 50% Ethanol.	
3.5		0.14	1.75
		0.39	0.55
5.5		0.40	1.03
		0.71	0.50
7.0		0.59	1.10
		0.92	0.47
9.5		0.61	0.87
		1.11	0.90
10.5		0.61	0.87
		1.12	0.87
12.5		0.61	0.85
		1.31	0.89

* $id/Cm^{2/3} t^{1/6}$, $m^2/s t^{1/6} = 1.601$.

Fig. 1, Tab. 1. よりみて最も定量に適する波形は pH10.5 であることが明らかである、しかしながら pH5.5~12.5 の第 2 段波はいずれも極大波を伴っていて波高測定を妨害するが、アルカリ性が強くなるに従って次第に極大波が小さくなっている。全く極大波をおさえることは不可能である。pH10.5 における波高と濃度との関係を Fig. 2 に示す。

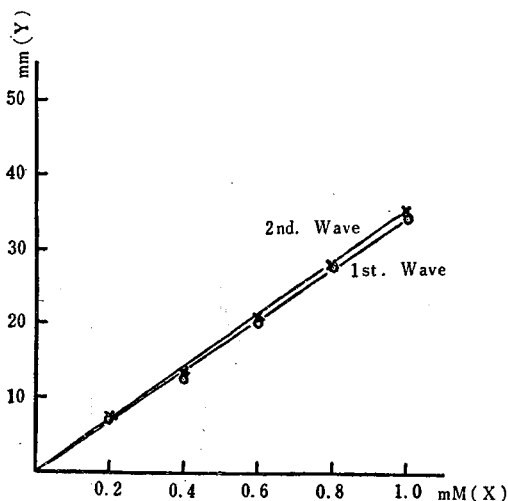


Fig. 2. Relation between Wave Height (Y) and Concentration (X) of Mersalyl at pH 10.5

総 括

(1) マーサルリは本条件では pH3.5~12.5 において常に 2 段波を呈し、かつ第 2 段波は極大波を示し、半波電位は酸性側では両波共に pH の高くなるにつれて負側へ移動したが、アルカリ性側では第 2 段波の半波電位のみが負側へ移動することを認めた。

(2) pH10.5 における両波高は波形良好で濃度に最もよく比例する。著者らが既に報告した Phenylmercuric

Acetate²⁾, o-Chloromercuriphenol³⁾の場合とほぼ同様に Mersalyl を定量することができた。

本研究に際し助力された菅沼義夫, 菊池寛両君に謹謝する。

文 献

- 1) Benesch, R., Benesch, R. E. : *J. Am. Chem. Soc.*, 73, 3391 (1951).
- 2) Sato, H. : *Japan Analyst*, 6, 166 (1957).
- 3) *Ibid.* : THIS BULLETIN, 75, 50 (1957).

Summary

Polarographic behavior of Mersalyl in 0.25 *M* NaBr, 0.16 *M* Britton-Robinson buffer, 0.01 % gelatin in 50 % alcoholic soln. has been investigated.

The polarographic determination of the substance was possible since their wave heights were the best proportional to the concentration in the pH 10.5 and concentration range of 0.1~1.0 *mM*.

Received May 31, 1958.

有機化合物のポーログラフによる研究 (第11~12報)*

佐 藤 寿

Polarographic Studies of Some Organic Compounds. XI~XII*

Hisashi SATO

(第11報) p-ヒドロキシプロピオフェノンのポーログラフイー

XI. Polarography of p-Hydroxypropiofenone

まえがき 更年期障害に効力を示す p-Hydroxypropiofenone (P.H.P) はベンゼン核に直接結合しているケトン基を有しているからポーログラフ的に活性であり、アセトフェノン¹⁾と同様に還元波を呈す筈であるものとポーログラフイーを行つたところ、普通の支持電解質においてはそれらの最終上昇と重なり波を示さず、結局オニウム塩を用いてやつとわずかな波をうることができた。以下これらの概略をのべる。

実験の部

装置 柳本製ペン記録式交直ポーログラフPA-101型。水銀滴下電極は $h=64.0\text{cm}$, open circuit にて, $m^{2/3} t^{1/6}=1.539$ (80% ethanol), $m^{2/3} t^{1/6}=1.519$ (50% ethanol). 両電解液の内部抵抗とも 500Ω 以下であるから iR -drop は無視した。

材料 P.H.P(mp. $149\sim 50^\circ\text{C}$) の純品, $2.5M(\text{CH}_3)_4\text{NBr}$ 水溶液, Britton-Robinson 緩衝液, 1%ゼラチン水溶液。

操作 緩衝液 $5\text{ml}+2.5M(\text{CH}_3)_4\text{NBr } 5\text{ml}+10.0\text{mM}$ 試料アルコール溶液 $5\text{ml}\rightarrow$ アルコールで全量を 50ml (80% ethanol の場合), 緩衝液 $20\text{ml}+2.5M(\text{CH}_3)_4\text{NBr } 5\text{ml}+10.0\text{mM}$ 試料アルコール溶液 $5\text{ml}\rightarrow$ アルコールで全量を 50ml (50% ethanol の場合) として電解液をつくり, この液 5ml に対してゼラチン液1滴を加え, 窒素ガスを飽和させた後, ポーログラフイーを行つた。

波高測定は Kolthoff-Lingane 法に従つた。

結果および考察

ポーログラムに対する pH の影響 P.H.P の還元波は相当負であるから, えられた波の波形は不良であり従つて総べて正確に測定できない。80% アルコール中においては pH 8.5 でわずかに還元波を認められるのみであり, 50% アルコールの場合では pH 3.0, 8.0, 9.0, でいくらか還元波がえられ, この結果よりすれば P.H.P は酸性側においてはやはりアセトフェノンの場合と同様, 1 電子反応であり, 中性およびアルカリ性側においては 2 電子反応であることが認められる。なお半波電位は酸性側, アルカリ性側を通じて pH の上昇につれて何れも負側へ移動し, アルカリ性側の波高は酸性側の波高の約 2 倍を示している。80% アルコールよりも 50% アルコール中における場合の方が P.H.P の半波電位が正側にあるため還元波がいくらか明瞭なのであると推察される。

P.H.P の 80% アルコール中と 50% アルコール中における状態を Fig. 1, 2 に示す。

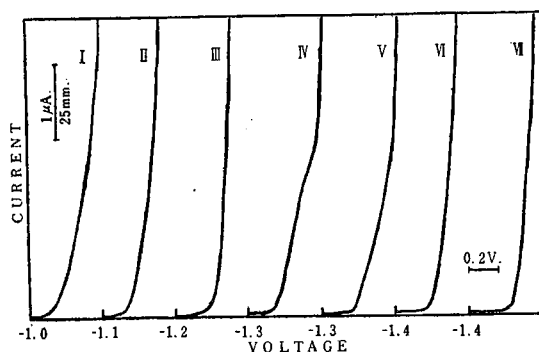


Fig. 1. Polarograms of p-Hydroxypropiofenone in 80% Ethanol

pH: I. 3.5, II. 5.5, III. 7.5, IV. 8.5, V. 9.5, VI. 10.5, VII. 12.5.

C., 1.0mM, S., 0.04μA/mm, 100μF.

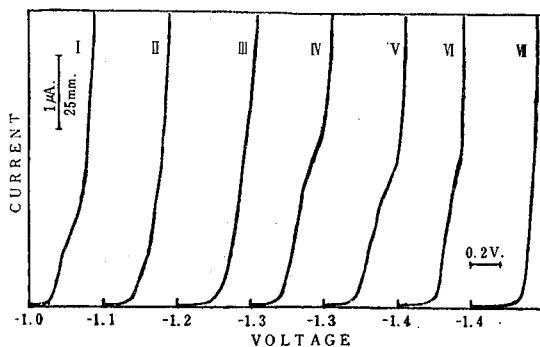
* Part VII~X, Satō, H.: THIS BULLETIN, 75, 47 (1957).

Fig. 2. Polarograms of p-Hydroxypropiophenone
in 50 % Ethanol

pH : I. 3.0, II. 5.0, III. 7.0, IV. 8.0, V. 9.0,

VI. 10.0, VII. 12.0.

C., 1.0mM, S., 0.04μA/mm, 100μF.



定量条件 80%アルコールではpH8.5, 50%アルコールでは pH8.0, 特に50%アルコールの pH8.0 が定量に適す。濃度1.0~0.1mMで波高は濃度に比例する。

還元機構 80%アルコールと50%アルコールとの場合を Tab. 1に示す。

Tab. 1. Polarographic Behavior of
p-Hydroxypropiophenone* in 80 or 50 Per Cent Ethanol

pH	-E _{1/2} (vs.S.C.E), V.	I _d **	Electron n
In 0.25 M (CH ₃) ₄ NBr, 0.04 M Britton-Robinson Buffer, 0.01 % Gelatin — 80 % Ethanol.			
3.5, 5.5, 7.5	No wave	—	—
8.5	1.84	2.08	2.1
9.5, 10.5, 12.5	No wave	—	—
In 0.25 M (CH ₃) ₄ NBr, 0.16 M Britton-Robinson Buffer, 0.01 % Gelatin — 50 % Ethanol.			
3.0	1.34	0.92	1.0
5.0, 7.0	No wave	—	—
8.0	1.75	2.19	2.3
9.0	1.78	1.95	2.1
10.0, 12.0	No wave	—	—

* mp. 149~50°C, sp. gr. 1.170.

** id/Cm^{2/3} t^{1/6}.

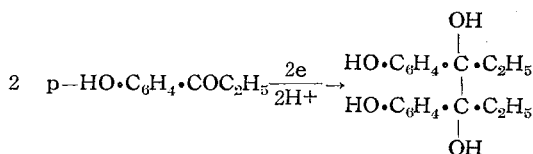
a) Soln. Viscosity, $\eta = 21.55 \times 10^{-3}$ dyne sec cm.⁻²

Diffusion Coefficient, $D = 2.71 \times 10^{-6}$ cm² sec.⁻¹ at 25°C. m^{2/3} t^{1/6} = 1.539.

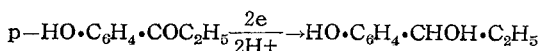
b) $\eta = 23.69$, $D = 2.48$. m^{2/3} t^{1/6} = 1.519

Tab. 1 より P.H.P.の還元機構はアセトフェノンの場合¹⁾と同様次のごとく推定される。

In acid soln. :



In neutral or alkaline soln. :



総 括

(1) P.H.P. を80%アルコールおよび50%アルコール中でポーラログラフイーを行つた結果、それらの還元波はアセトフェノンの場合に類似していることが認められ、P.H.P.の還元機構は酸性側では1電子、中性およびアルカリ性側では2電子還元反応であることを推定した。

(2) P.H.P.の半波電位はアルコール濃度を増すにつれて負側へ移動することと、アルコール濃度はP.H.P.の溶解度によつて50%以下に出来ないことを併せ考えると、50%アルコール中pH8.0の場合が最も波形良好で定量に適することが認められ、同条件で濃度1.0～0.1mM内で定量可能であつた。

本研究に際して種々御高配を戴いた療品部長、藤井正道博士、P.H.P.を入手するに当つて御便宜を計られた菅沼義夫君、粘度測定に助力された菊池寛君に謹謝する。

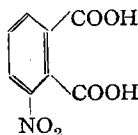
文 献

- 1) Pasternak, R. : *Helv. Chim. Acta*, 31, 753 (1948).
- Stromberg, A. G., Reinus, L. M. : *J. Gen. Chem. U. S. S. R.*, 16, 1431 (1946).
- Davies, W. P., Evans, D. P. : *J. Chem. Soc.*, 546 (1939).
- Valyashko, N. A., Rozun, Y. S. : *Zhur. Obschchei Khim.*, 18, 710 (1948).

（第12報）3-ニトロフタル酸のポーラログラフイー

XII. Polarography of 3-Nitrophthalic Acid

まえがき 無水フタル酸に硫酸および発煙硝酸を作用させてえられる3-ニトロフタル酸は次の構造をしている。



ニトロ基を有する化合物であるから必ずポーラログラフ的に活性であり還元波を示す筈である。著者は本化合物を80%アルコール中でポーラログラフイーを行つたところ、明瞭な還元波がえられたので、以下これらについてその概要を報告する。

実 験 の 部

装 置 柳本製ペン記録式交直ポーラログラフ PA-101型。水銀滴下電極は $h=64.0\text{cm}$, open circuit にて, $m^2/s \ t_{1/6}=1.519$, 電解液の内部抵抗は500Ω以下であるから iR -drop は無視した。

材 料 3-Nitrophthalic acid (mp. 222°C) の純品。2.5 M NaBr 水溶液, Britton-Robinson 緩衝液, 1%ゼラチン水溶液。

操 作 第11報に準ずる。

結果および考察

ポーラログラムに対するpHの影響 pH3.5～10.5において常に2～3段波を示し、第1段波の半波電位はpHの増加に従つて次第に負側へ移動しているが、中性およびアルカリ性側では段階的に移動している。pH3.5～6.0の第2段波とpH6.5, 7.0の第3段波およびpH8.0, 10.5の第2段波等の半波電位はpHの増加につれて負側へ移動している。これらのポーラログラムをFig. 1に示す。

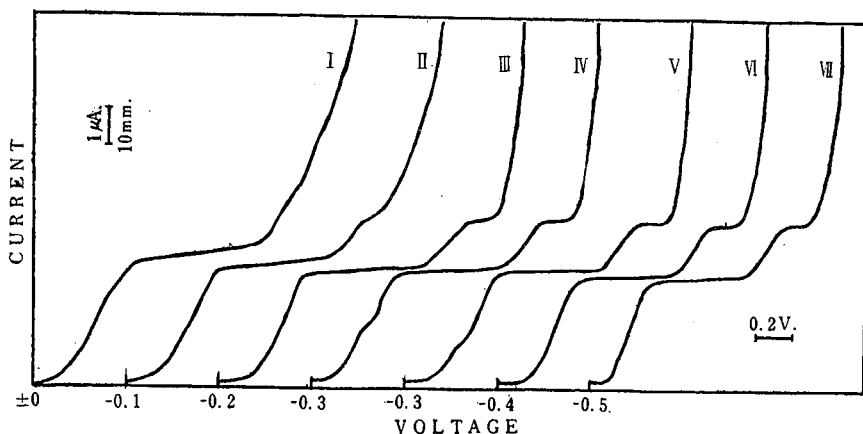


Fig. 1. Polarograms of 3-Nitrophthalic acid

pH: I. 3.5, II. 4.5, III. 6.0, IV. 6.5, V. 7.0, VI. 8.0, VII. 10.5.

C., 1.0mM, S., 0.1μA/mm, 600μF.

定量条件 酸性側では波高が不安定であるから中性, アルカリ性側において定量を行うことが良いと考えられる。なお中性, アルカリ性側においては波高は濃度に比例する。

還元機構 80%アルコール中における 3-Nitrophthalic acid のポーラログラフ的挙動を Tab. 1 に示す。

Tab. 1. Polarographic Behavior of
3-Nitrophthalic Acid* in 80 Per Cent Ethanol

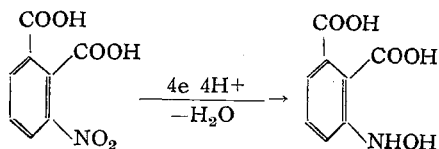
pH	-E _{1/2} (vs.S.C.E.),V.	Id**	Electron n
In 0.25 M NaBr, 0.04 M Britton-Robinson Buffer,	0.01% Gelatin-80%		Ethanol.
3.5	0.53 1.49	4.50 2.21	4.2 2.1
4.5	0.66 1.51	4.07 1.89	3.8 1.8
6.0	0.73 1.62	3.94 1.83	3.7 1.7
6.5	0.73 0.91 1.64	2.27 1.70 1.90	2.1 1.6 1.8
7.0	0.73 0.89 1.64	1.40 2.46 1.78	1.3 2.3 1.7
8.0	0.90 1.66	3.67 1.80	3.5 1.7
10.5	0.90 1.67	3.69 1.71	3.5 1.6

* mp. 222°C, sp. gr. 1.566.

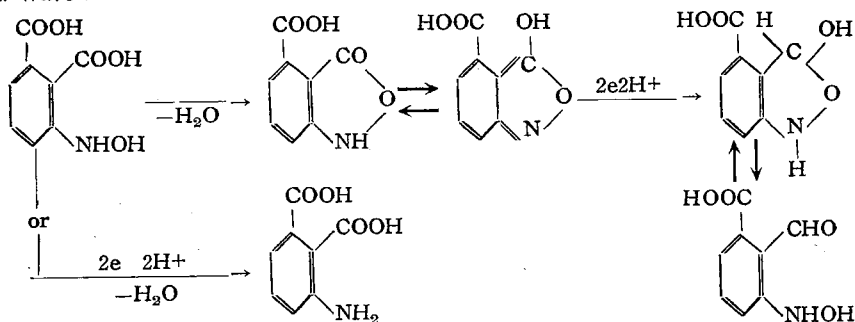
Soln. Viscosity, $\eta = 19.13 \times 10^{-8}$ dyne sec cm.⁻²Diffusion Coefficient, $D = 3.02 \times 10^{-6}$ cm² sec.⁻¹** $id/\text{Cm}^2/\text{s} \cdot t^{1/6} \text{ m}^2/\text{s} \cdot t^{1/6} = 1.519$.

Fig. 1, Tab. 1. より考察すると, 第1段波(pH6.5, 7.0.では第1, 第2段の合計した波)は全 pH 領域においてその半波電位が相当正側にあり, かつそれらの電子数は約4電子であるから, これはニトロ基のヒドロキシルアミンへの還元にもとづく波であると推定される。Dennis 等¹⁾は3-ニトロフタル酸の類似化合物o-ニトロ安息香酸のポーラログラフの報告で同化合物はニトロ基にもとづく1段波のみを与えるのとべてあり, また Page 等²⁾は部分的に2段波を認めている。フタル酸のポーラログラフについては Korshunov 等³⁾は0.05Nのヨウ化テトラメチルアンモニウムを用いて半波電位 -1.60~-1.85V.を示す1段波を報告している。以上の結果を総合すれば3-ニトロフタル酸が示す第2段波は, 第1段波のニトロ基がヒドロキシルアミンより更に2電子還元反応を行つてアミンえの還元波であるか, あるいはケトンの還元にもとづく反応りであるか, 次にそれらを示す。

1 st. Wave :



2nd. Wave :



現在のところ第2段波の還元機構についてはその半波電位から考えれば、ニトロ基にもとづく還元ではないように思われる。

総 括

(1) 3-ニトロフトール酸は pH3.5~10.5 において2~3段波を示し、半波電位は何れもpHの増加につれて負側へ移動することを示した。第1段波の波高は (pH6.5, 7.0は第1, 第2段波の合計の波高) は第2段波の約2倍を示し、定量には中性、アルカリ性において行うときは濃度 1.0~0.1mM で比例関係にあることを認めた。

(2) 還元機構について、第1段波はニトロ基のヒドロキシルアミンへの還元であると推定され、第2段波に関しては今のところ明らかでないが、半波電位が相当負であるから恐らくニトロ基のアミンへの還元機構ではないと推定される。

本研究に際し種々御高配を戴いた療品部長、藤井正道博士、粘度測定に助力された菊池寛君に謹謝する。

文 献

- 1) Dennis, S. F., Powell, A. S., Astle, M. J. : *J. Am. Chem. Soc.*, 71, 1484 (1949).
- 2) Page, J. E., Smith, J. W., Waller, J. G. : *J. Phys. & Colloid Chem.*, 53, 545 (1949).
- 3) Korshunov, I. A., Kuznetsova, E. B., Shchennikova, M. K. : *Zhur. Fiz. Khim.*, 23, 1292 (1949).
- 4) Bamberger, E., Pyman, F. L. : *Ber.*, 42, 2297 (1909).

Summary

The diffusion coefficient calculated from the Stokes-Einstein equation was applied to the Ilkovic equation to determine the electron number, from which was confirmed the mechanism of reduction at the dropping mercury electrode.

XI. Polarography of p-Hydroxypropiophenone

Polarographic behavior of p-Hydroxypropiophenone in 0.25M NaBr, 0.04 or 0.16M Britton-Robinson buffer, 0.01% gelatin in 80 or 50% alcoholic soln. has been investigated. The polarographic determination of the substance was possible since their wave heights were proportional to the concentration in the pH 8.5 (in 80% alcoholic soln.) or pH 8.0 (in 50% alcoholic soln.) and concentration range of 0.1~1.0 mM.

XII. Polarography of 3-Nitrophthalic acid

In studying the determination of 3-Nitrophthalic acid was investigated at the dropping mercury electrode. In 80% ethanolic soln. containing 0.25M NaBr, 0.04M Britton-Robinson buffer, 0.01% gelatin well-defined waves were produced. The wave heights were a linear function of the concentration of the compound in the neutral or alkaline solns. and the concentration range of 0.1~1.0mM.

Received May 31, 1958.

有機化合物のポーラログラフによる研究 (第13報)*

佐 藤 寿

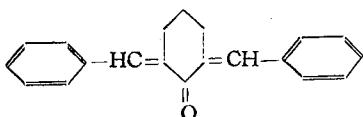
Polarographic Studies of Some Organic Compounds. XIII*

Hisashi SATO

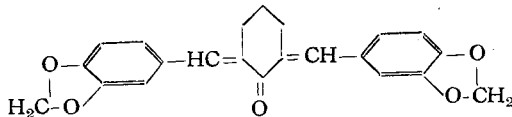
(第13報) 2,6-ジ置換シクロヘキサノン類のポーラログラフ

XIII. Polarography of 2,6-Disubstituted Cyclohexanones

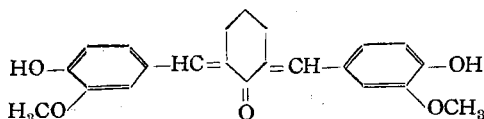
まえがき 本実験に使用した各化合物の化学構造式と番号とをつぎに示す。以下化合物名には番号を用いる。



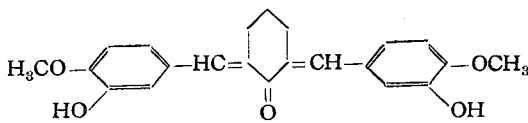
(I)



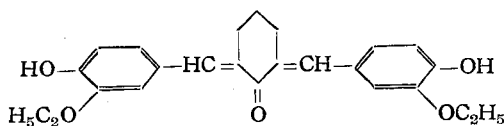
(II)



(III)



(IV)



(V)

1908年, Wallach 等¹⁾により始めて(I), (II)が合成され, その後1928年にはSamdahl²⁾が(III)を, 1929年にはVorländer等³⁾が同じく(III)を, 1930年には Samdahl⁴⁾が(V)を合成した。これらの化合物の中で(III), (V)はpHによつてその色が鋭敏に変化するので滴定の指示薬として利用出来ることを Samdahl は報告している, しかしながら Kolthoff⁵⁾は上記化合物は水に殆んど不溶性であるから実際の価値は少いであろうとのべている。著者の実験では80%アルコール緩衝液中で(III)についてはpH3.8~7.5では淡黄色, pH8.3で橙色, pH9.7~11.0では赤色を呈し, (V)についてはpH3.7~7.2では淡黄色, pH8.0で橙色, pH9.3~10.6では赤色を呈した。(IV)については文献に記載のない化合物で, この化合物は上記と同様な条件で, 即ちpH3.8~8.2では淡黄色, pH10.0~11.5では橙色を呈した。

(I)~(V)のポーラログラフについてはまだ報告がない。著者は80%アルコール中で, これら化合物についてポーラログラフを実施した結果, いくつかの知見がえられたので, 以下これらを報告する。

実験の部

装置 柳本製ペン記録式交直ポーラログラフ PA-101型。水銀滴下電極は $h=64.0\text{cm}$, open circuit にて $m=1.35 \times 10^{-3}\text{g. sec.}^{-1}$ $t=3.70\text{sec.}$, $m^{2/3} t^{1/6}=1.519$ 。電解液の内部抵抗は 500Ω 以下であるから iR -drop は無視した。

材料 (I)はmp. 118°C , (II)はmp. 188°C , (III)はmp. 180°C , (IV)は文献にない化合物でmp. 194.5°C , (V)は 155.5°C 。各化合物とも Samdahl^{2,4)}の方式で合成した後, 熱アルコールより数回再結晶した純品, 支持

* Part XI~XII, Satō, H.: THIS BULLETIN, 76, 33 (1958).

電解液は2.5M NaBr 水溶液, Britton-Robinson 緩衝液, 1%ゼラチン水溶液.

操 作 第11報に準ずる.

結果および考察

ポーラログラムに対するpHの影響 pH3.7~11.1における(I)~(V)のポーラログラムをFig. 1~5に示す.

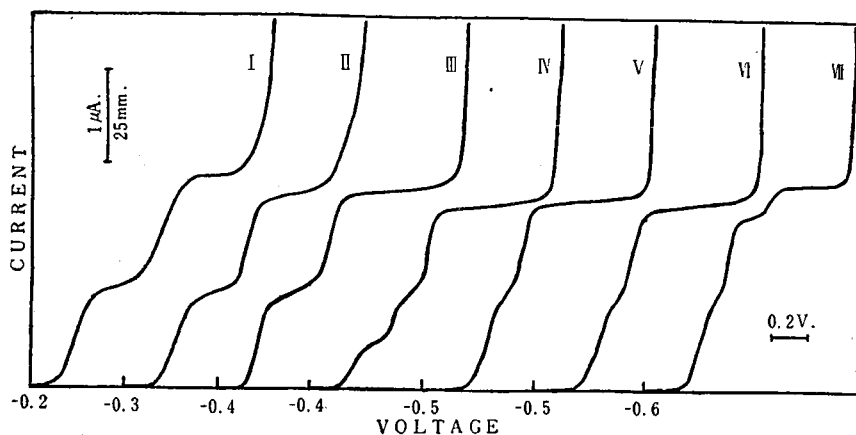


Fig. 1. Polarograms of Di-benzal-cyclohexanone
pH: I. 3.7, II. 5.5, III. 6.6 IV. 7.3, V. 8.2, VI. 9.7, VII. 11.1.
C., 1.0mM, S., 0.04μA/mm, 100μF.

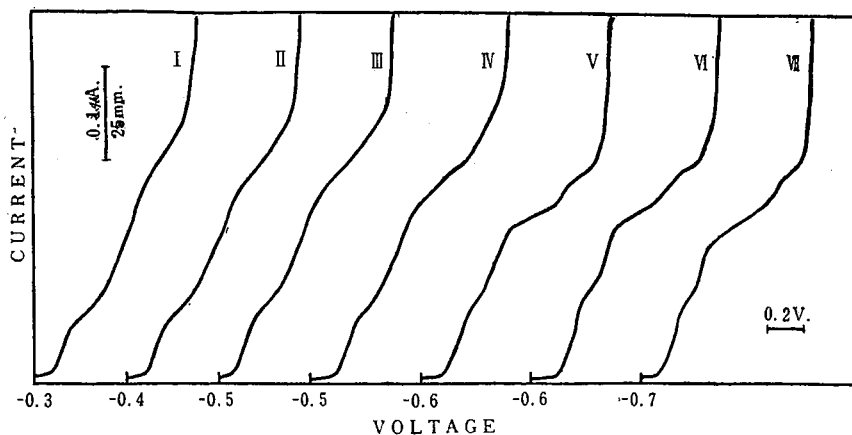


Fig. 2. Polarograms of Di-piperonal-cyclohexanone
pH: I. 3.7, II. 5.5, III. 6.6, IV. 7.3, V. 8.2, VI. 9.7, VII. 11.1.
C., 0.125mM, S., 0.004μA/mm, 25μF.

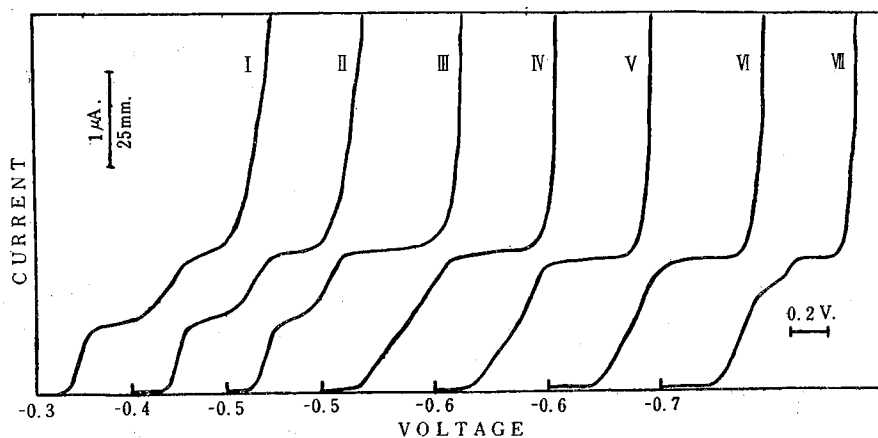


Fig. 3. Polarograms of Di-vanillal-cyclohexanone
 pH: I. 3.7, II. 5.5, III. 6.6, IV. 7.3, V. 8.2, VI. 9.7, VII. 11.1.
 C., 1.0mM, S., 0.04 μ A/mm, 100 μ F.

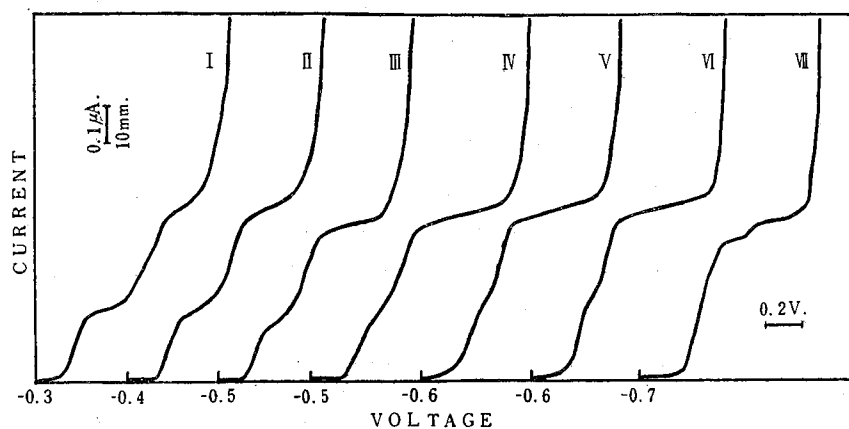


Fig. 4. Polarograms of Di-isovanillal-cyclohexanone
 pH: I. 3.7, II. 5.5, III. 6.6, IV. 7.3, V. 8.2, VI. 9.7, VII. 11.1.
 C., 0.25mM, S., 0.01 μ A/mm, 100 μ F.

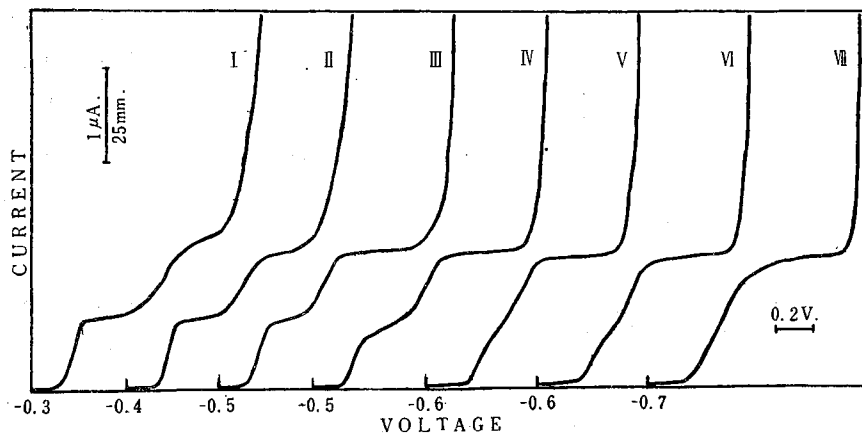


Fig. 5. Polarograms of Di-bourbonal-cyclohexanone
 pH: I. 3.7, II. 5.5, III. 6.6, IV. 7.3, V. 8.2, VI. 9.7, VII. 11.1.
 C., 1.0mM, S., 0.04 μ A/mm, 100 μ F.

pH3.7~6.6では各化合物ともほぼ等高の2段波を示し、pH7.3では(Ⅲ)は1段波、(Ⅱ)、(Ⅳ)、(Ⅴ)は2段波、(Ⅰ)のみは3段波を示し、pH8.2~9.7では(Ⅲ)、(Ⅴ)は1段波、(Ⅰ)、(Ⅳ)は2段波、(Ⅱ)のみは3段波を示し、pH11.1では(Ⅴ)のみは1段波、(Ⅲ)、(Ⅳ)はともに2段波、(Ⅰ)、(Ⅱ)はいずれも3段波を示している。半波電位は各化合物ともpHの増加に従つていずれも負側へ移動している。これら化合物の示す還元波の状態は著者の報告した辛味性ケトン類⁶⁾の還元波の状態に似ているが、やや異なる点は(Ⅰ)~(Ⅴ)の化合物の方が辛味性ケトン類の半波電位より相当正側にあることである。これはシクロヘキサノンの有するカーボニル基に共軛する2重結合が2個存在する為に、共軛する2重結合を1個持つている辛味性ケトン類より易還元性であるから半波電位が正側にあると考えられる。辛味性ケトン類ではpH3.5ではいずれも1段波であるが、本化合物(Ⅰ)~(Ⅴ)ではpH3.7でいずれも2段波を示している。これは辛味性ケトン類の半波電位が相当負側であるから、それらの第2段波は水素波に重なり消失しているものと考えられ、本化合物(Ⅰ)~(Ⅴ)では半波電位が相当正側であるから水素波に妨害されることなく何れも第2段波を示しているものと思われる。

定量条件および還元機構 (Ⅰ)~(Ⅴ)の化合物はいずれも中性、アルカリ性側で再現性良好な還元波を示すから、定量に当つてはこのpH領域で行うべきである。この範囲で(Ⅰ)、(Ⅲ)、(Ⅴ)は濃度0.1~1.0mMで、(Ⅱ)は濃度0.08~0.13mMで、(Ⅳ)は濃度0.08~0.30mMで、いずれも定量出来る。

(Ⅰ)~(Ⅴ)の波高は水銀柱を変化させた結果、何れも拡散支配であると考えられるから、えた値を Stokes-Einstein 式に入れ、拡散係数Dを計算して求め、このDを Ilkovic 式に代入して水銀滴下電極における還元反応に要する電子数をえた。以上の結果をまとめて Tab. 1 に示す。

Tab. 1. Polarographic Behavior of 2,6-Disubstituted Cyclohexanones
in 80 Per Cent Ethanol

Compound pH (vs.S.C.E), V. -E1/2 Id* Electron n					Compound pH (vs.S.C.E), V. -E1/2 Id* Electron n				
In 0.25 M NaBr, 0.04 M Britton-Robinson Buffer, 0.01 % Gelatin -80% Ethanol.					In 0.25 M NaBr, 0.04 M Britton-Robinson Buffer, 0.01 % Gelatin -80% Ethanol.				
Di-benzal-cyclohexanone ^{a)} (Ⅰ)	3.7	0.63	1.29	1.3	Di-piperonal-cyclohexanone ^{b)} (Ⅱ)	7.3	0.93	0.90	1.0
		1.00	1.62	1.7			1.19	1.32	1.4
	5.5	0.75	1.34	1.4		8.2	1.00	1.00	1.1
		1.16	1.45	1.5			1.21	0.84	0.9
	6.6	0.81	1.42	1.5			1.57	0.74	0.8
		1.19	1.55	1.6		9.7	1.01	1.11	1.2
	7.3	0.82	0.70	0.7			1.22	0.84	0.9
		1.04	0.70	0.7			1.59	0.53	0.6
		1.23	1.25	1.3		11.1	1.07	1.11	1.2
		1.04	1.32	1.4			1.23	0.65	0.7
	8.2	1.25	1.38	1.4			1.62	0.53	0.6
		1.04	1.32	1.4	Di-vanillal-cyclohexanone ^{c)} (Ⅲ)	3.7	0.72	1.30	1.4
Di-piperonal-cyclohexanone ^{b)} (Ⅱ)	9.7	1.04	1.32	1.4			1.19	1.24	1.4
		1.25	1.34	1.4		5.5	0.84	1.24	1.4
	11.1	1.08	1.15	1.2			1.14	1.25	1.4
		1.26	1.30	1.3		6.6	0.89	1.05	1.2
		1.50	0.45	0.5			1.24	1.26	1.4
		0.64	0.68	0.7		7.3	1.17	1.95	2.1
	5.5	0.99	1.84	2.0			1.21	1.83	2.0
		0.75	0.84	0.9		8.2	1.24	1.81	2.0
	6.6	1.09	1.58	1.7			1.33	1.50	1.6
		0.83	1.00	1.1		11.1	1.59	0.26	0.3
		1.14	1.63	1.8					

総 括

(1) 80%アルコール中, pH3.7~11.1において(I)~(V)の化合物はいずれも2~3段の還元波を示し, その半波電位よりみた易還元性の度合は(I)>(II)>(IV)>(V)>(III)の順であり, 又波高の大きさは(I)>(II)>(III)>(IV)>(V)の順であり, 拡散係数の大きさは(I)>(II)>(IV)>(III)>(V)の順である. なお波高および拡散係数の大きさは分子量の大きさの逆順序にほぼ一致することが認められた.

(2) 各化合物は定量条件の処でのべたごとくそれぞれの濃度範囲で定量出来る.

(I)~(V)の水銀滴下電極における還元機構は第1段波においては2量体を, 第2段波においては2重結合1個を残した不飽和ケトンへの還元であると推定された.

本研究に際し種々御高配を戴いた療品部長, 藤井正道博士, 粘度測定に助力された菊池寛君に謹謝する.

文 献

- 1) Wallach, O., Mallison, H., von Martius, K. : *Nachr. K. Ges. Wiss. Göttingen*, 1907, 399 (1908); C., 79 (1), 637 (1908).
- 2) Samdahl, B. : *J. Pharm. Chim.*, 7, 162 (1928); C. A., 22, 3145 (1928).
- 3) Vorländer, D., Koch, O. : *Ber.*, 62, 534 (1929).
- 4) Samdahl, B. : *J. Pharm. Chim.*, 11, 8 (1930); C. A., 24, 4477 (1930).
- 5) Kolthoff, I. M. : "Acid-Base Indicators", 138 (1937), (The Macmillan Company, New York).
- 6) Sato, H. : THIS BULLETIN, 75, 58 (1957).
- 7) Pasternak, R. : *Helv. Chim. Acta*, 31, 753 (1948).
- 8) Harries, C., Gollnitz, F. : *Ann.*, 330, 233 (1904).
- 9) Borsche, W., Wollemann, J. : *Ber.*, 45, 3713 (1912).
- 10) Von Stackelberg, M., Stracke, W. : *Z. Electrochem.*, 53, 118 (1949).
- 11) Borsche, W. : *Ber.*, 45, 46 (1912).
- 12) Garland, C. E., Reid, E. E. : *J. Am. Chem. Soc.*, 47, 2333 (1925).

Summary

The general behaviors of 2,6-Disubstituted cyclohexanone, i. e., Di-benzal-cyclohexanone (I), Di-piperonal-cyclohexanone (II), Di-vanillal-cyclohexanone (III), Di-isovanillal-cyclohexanone (IV), Di-bourbonal-cyclohexanone (V) were investigated at the dropping mercury electrode.

In 80 % ethanolic solns. containing 0.25M NaBr, 0.04M Britton-Robinson buffer, 0.01 % gelatin, well-defined waves were produced.

The wave heights of these compounds were proportional to the concentration in the neutral or alkaline soln. and the concentration range of 0.1~1.0mM vs. (I), (III), (V), 0.08~0.13mM vs. (II), 0.08~0.30mM vs. (IV).

The half-wave potentials of solns. with pH 3.7~11.1 were shifted towards the negative side with an increase in pH.

The order of ease of reduction was (I)>(II)>(IV)>(V)>(III) for the first wave of these compounds in solns. with various pH.

The orders of wave height and diffusion coefficient were (I)>(II)>(III)>(IV)>(V), and (I)>(II)>(IV)>(III)>(V) for the totaling each-stap wave of these compounds in solns. with various pH; both orders were confirmed to be in the reverse order of molecular weight of these compounds.

The diffusion coefficient calculated from the Stokes-Einstein equation was applied to the Ilkovic equation to determine the electron number, from which was confirmed the reduction mechanism at the dropping mercury electrode; and the result disagreed with report on the reduction process of the Di-benzal-acetone by Pasternak.

Received May 31, 1958.

マレイン酸エルゴメトリン標準品について

長 沢 佳 熊, 鹿 島 哲, 土 屋 雅 一

Ergometrine Maleate Reference Standard of Japanese Pharmacopoeia

Kakuma NAGASAWA, Tetsu KASHIMA, and Masakazu TSUCHIYA

まえがき 天然に存在する麦角アルカロイドはその構造が互に類似し、立体異性体も存在するため、その試験をすることは非常に困難である。そのため特に標準品を必要とするわけであるが、今回麦角アルカロイド中一番重要なエルゴメトリンの標準品を製造配布するにあたり、種々検討した結果をここに報告する。

そのアルカロイドがどの程度に純粋であるかをみるため、まず旋光度、融点(分解点)および吸収スペクトルをみた。しかしそれだけでは不十分なので、10種の展開溶媒を用いてペーパークロマトグラフィを用いてその純度を確め、非水溶液滴定^{18, 19, 30)}によりそのメチル基のついた環状アミンを定量した。また参考のため U.S.P. 標準品との比較もおこなった。

天然の麦角アルカロイドは Table 1 に示すように 12 種存在し、その薬理作用は非常に異なるので、その定量にはまず生物学的試験がおこなわれた。それにはまず鶏冠法が使われ、米国薬局方にとり入れられた。ついでそれより感度の良い方法として、家兎の摘出子宮に対するアドレナリンの収縮作用を抑制する方法が広くおこなわれたが、この方法でも±25%程度の精度しか望めない。ところがエルゴメトリンには上記の作用がないから、その方法では定量できない。そこで家兎の体温の降下⁸⁾とか、家兎の摘出子宮が収縮するまでにかかる時間の変化⁵¹⁾で測定している。標準品と比較試験することによつて前者の方法では±20% (家兎16匹を使う)、後者の方法では±14%程度の精度が得られている。

それに対して比色法は物質の違いによる特異性を測ることはできないが、その点を除いては正確簡便なので古くから用いられている。Van Urk (1929)⁵⁰⁾ はエタノールを溶媒とする *p*-ジメチルアミノベンズアルデヒドで呈色させ、1930年 Smith³²⁾ は M/60 *p*-ジメチルアミノベンズアルデヒドの濃硫酸溶液 1 cc をアルカロイドの 0.5 ~ 1% 酒石酸溶液 2 cc に加え、直射日光に 10~15 分当ててその深青色が最高になったときに比色した。そのとき不純物が試料のアルカロイドの中に含まれていると良い成績を挙げることができない。Allport と Cocking¹⁾ は前記の反応をおこなわせるときに、少量の塩化第二鉄を加えると日光に当てなくても反応が促進されることを見出し、現在一般におこなわれている比色定量の方法が確立された。

比色をするのに試薬を加えずに、312~318m μ に存在する吸収極大の波長で分光分析することもおこなわれ、定量に用いられることが確められている^{2, 21)}。呈色させてから比色するときも、紫外部の吸収で定量するときも、分子中に含まれるリゼルギン酸またはイソリゼルギン酸の特性にのみ基づいておこなわれるものであるから^{22, 39)}、各アルカロイドの生理作用上の特性を区別することはできない。

しかしクロマトグラフィを用いれば、各アルカロイドを分離することができる。これによれば特に水溶性で分子量の小さいエルゴメトリンを他の生理作用のないものと簡単に分離することができ、その存在は紫外線で簡単に確かめることができる。エルゴメトリン以外のもの¹²⁾を確認するには、特殊のクロマトグラフィ^{3, 15, 27, 40, 47, 48)}による以外は試料を加水分解してから、クロマトグラフィをおこなう¹⁴⁾。

いかなる定量法をおこなうときでも、標準品があることが望ましい。まず Ergotoxine ethanesulphonate¹⁰⁾ が標準品として B.P. 1932 および U.S.P. XI に採用されたが、Stoll と Hofmann³⁷⁾ により、その標準品のあるものが ergocristine, ergokriptine および ergocornine の混合物であることがわかったので、それ以後用いられなくなった。また酒石酸エルゴタミンが標準品として特にヨーロッパ大陸で用いられている。それらの関係から国民医薬品集の麦角アルカロイドの定量法が不統一になったのであろう。したがって良い標準品の配布および試験法の確立が望まれるわけである。

実験材料 マレイン酸エルゴメトリン標準品(日本薬局方標準品)、Eli Lilly 社 (Lot 番号: H11040) より特に分与されたものを、硫酸デシケート中で 10 mmHg 程度で 24 時間以上乾燥した無臭の白色結晶性粉末を用いた。

U.S.P. マレイン酸エルゴメトリン標準品: 次に記すようなレッテルがはつてあつた。前記と同じ方法で乾燥し

た淡褐紫色の結晶性粉末である。

U.S.P. Ergonovine Maleate Reference Standard. This bottle contains approximately 20 milligram of Ergonovine Maleate. Distributed by the Board of Trustees of the United States Pharmacopoeial Convention. Keep Tightly Closed, Protected from Light. Control...F.

p-ジメチルアミノベンズアルデヒド、試薬を希アルコールから再結晶した淡黄色六角板状晶, mp. 74~75°.

p-ジメチルアミノベンズアルデヒド試液, *p*-ジメチルアミノベンズアルデヒド 125mg を硫酸 65cc および 水 35 cc の冷混液に溶かし, 塩化第二鉄試液 0.05cc を加え, その日のうちに用いた。

塩化第二鉄試液, 試薬の塩化第二鉄 9g を水に溶かして 100cc とした。

ヨウ化水銀カリウム試液 (マイヤー試薬), 塩化第二水銀 1.358g を 水 60cc に溶かし, 別にヨウ化カリウム 5g を水に溶かす。両液を混合し水を加えて 100cc とした。

p-ジメチルアミノベンズアルデヒド試薬 (クロマトグラフィ用), 3% 塩酸に *p*-ジメチルアミノベンズアルデヒドを 0.3% 溶かした。

n-ブタノール, 蒸留したとき 118° で留出する部分を用いた。

リン酸水素二ナトリウム, 試薬を水に溶かし氷で冷却させて 4 回再結晶をくりかえした。

クエン酸, 試薬を水から 3 回再結晶した。

実験装置

比色計, Beckman Model DU Spectrophotometer およびコタキ 5 号 D 型光電比色計を使用した。

旋光計, Rudolph High Precision Polarimeter, Model 80, 1,000 分の 1 度まで測定できる。

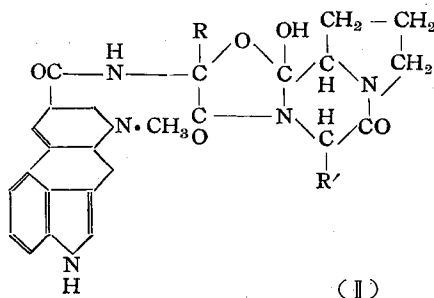
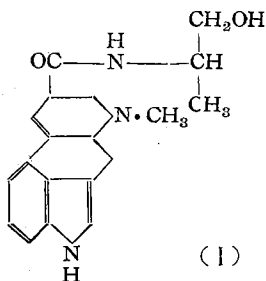
クロマトグラフ装置, 東洋ろ紙製 C 号器および A 号器ならびに東洋ろ紙 No.50 を用いた。

融点測定装置: 局方融点測定装置にマツダの局方浸点付き温度計を用いた。

滴定装置, カールフィッシャー滴定装置に三頸フラスコを用い, ガラス電極と甘コウ電極とを組合せ Beckman pH meter, Model G を用いて測定した。

Table 1. The Natural Alkaloids of Ergot.³⁴⁾

Name	R	Formula	R'	$[\alpha]_D^{20}$ in CHCl_3	mp.
Ergometrine				— 44°	
Ergometrinine	(I) 35, 36, 38)			+ 414°	162°
Ergosine				— 179°	
Ergosinine	(II) CH_3	$\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$		+ 420°	228°
Ergotamine				— 155°	
Ergotaminine	(II) CH_3	$\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$		+ 385°	180°
Ergocornine				— 188°	182°
Ergocorninine	(II) $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$		+ 409°	~4°
Ergokryptine				— 187°	
Ergokryptinine	(II) $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$		+ 408°	212°
Ergocristine				— 183°	160°
Ergocristinine	(II) $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	$\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$		+ 366°	~175°



実験方法

比色による定量: 試料約 7.6mg を精密に秤り水 200cc に溶かす. この液 25cc に *p*-ジメチルアミノベンズアルデヒド試液 50cc を混ぜ10分以上放冷し, 分光光度計を用い 550m μ で吸光度を測定した. 試料液をうすめるときは 25cc または 50cc のホールビペットを用いておこなった. 光電比色計を用いるときは 550m μ の光を透過フィルターを用いた^{1, 33, 42, 45, 53}).

試料の紫外線の吸収スペクトル^{2, 21}): その吸収極大における吸光度で定量をおこなった.

旋光度の測定: 試料 100mg を精密に秤り水に溶かして 10cc とし, 層長 100mm でナトリウムの D 線で測定した.

ペーパークロマトグラフィによる純度試験: 10種の溶媒を用い 21° の恒温室で遮光しておこなった. 用いたろ紙は東洋ろ紙 No.50 を溶媒で洗って乾燥したものである. 使った溶媒は *n*-ブタノール: 酢酸: 水 (4:1:5) のブタノール層, *n*-ブタノール: ピリジン: 水 (4:1:5) のブタノール層, 1% 酒石酸水溶液 (pH 2.3)²⁶ および *n*-ブタノール: クエン酸・リン酸塩緩衝液を用いた^{43, 44}). 最後の場合は McIlvaine の緩衝液 pH 2.2~6.0 をつくり, ろ紙に浸してから乾燥したものに試料をつけ, 一方 *n*-ブタノールに各 pH 値の緩衝液を少しずつ加えながら振り混ぜ, ブタノール層が濁ってきたら放置し, 使用前に同じ pH 値の緩衝液をしませたる紙でろ過したものを展開溶媒として用いた^{4, 6, 31}). そして展開後試薬を噴霧し, 紫外線を照射して確認した.

非水溶液滴定による 定量: 試料約 50mg を精密に秤り, 完全に脱水した氷酢酸約 10cc に溶かし, 0.05N 過塩素酸の酢酸溶液で滴定した. 操作方法の詳細は既報²³)を参照されたい.

実験結果

融点(分解点): J.P.標準品は 195°, U.S.P.標準品は 190° であつた.

比旋光度: J.P. 標準品のみを測定したが, $[\alpha]_D^{25} = +52^\circ$ (水溶液) であつた.

吸収スペクトル: *p*-ジメチルアミノベンズアルデヒド試液を加えた J.P.標準品の 0.0265g/l の水溶液の吸収スペクトルを Fig. 1 に, J.P. 標準品の 0.0190g/l の水溶液の紫外部の吸収スペクトルを Fig. 2 に示した. 吸収極大はそれぞれ 550m μ と 314m μ であつた.

比色による定量: 分光光度計を用い, 試料に *p*-ジメチルアミノベンズアルデヒド試液を加えた場合の 550m μ における吸光度および試料液をそのまま用いて 314m μ で測定したときの吸光度を Table 2 にまとめて表わした. その吸光度は容器の長さ, 容器のブランクを補正した値である.

Table 2. Determination of Ergometrine Maleate Reference Standards
by Spectrophotometry

J. P.		U. S. P.	
Sample	Extinction	Sample	Extinction
* 0.0253 g/l	*** 0.485	0.0254 g/l	* 0.458
0.01265	0.244	0.0127	0.231
0.00633	0.123	0.00635	0.114
0.00316	0.062	0.00318	0.057
0.00158	0.032	0.00159	0.028
***		***	
** 0.0530 g/l	*** 0.957	0.0528 g/l	*** 0.915
0.0265	0.481	0.0264	0.456
0.01325	0.240	0.0132	0.228
0.00663	0.120	0.0066	0.114
0.00331	0.069	0.0033	0.065

* By the absorption spectra of colors formed by the samples in the reaction with *p*-dimethylamino-benzaldehyde test solution. ** Wave length : 550m μ .

** By the absorption spectra of the samples. *** Wave length : 314m μ

非水溶液滴定による定量：滴定曲線によりその終点を求め計算したところ、99.4%と99.1%であつた。

ペーパークロマトグラフィ：10種の展開溶媒でおこなつた Rf 値は Table 3 に示した。その結果 J.P. 標準品および U.S.P. 標準品の Rf 値は一致し、一個以上のスポットを検出することはできなかった。

0.5~500 γ までの種々の量の試料をスポットし、*n*-ブタノール・酢酸・水を用いて展開したところ、10~20 γ をスポットしたときに最良の結果が得られた。また *n*-ブタノール・緩衝液を用いたときには、溶媒の酸性が強いほどスポットが小さくなり良い結果を示した。一般に下降法でおこなつた方が上昇法にくらべて、一定した Rf 値を得やすかつたが、スポットが尾を引くという点で具合が悪かつた。*n*-ブタノール・酢酸・水混合液の水層を用いて下降法でおこなつたところ再現性のある Rf 値 0.59 を得たが、尾を引くので中心が不明瞭であつた。*n*-ブタノール・ピリジン・水混合液の水層を用いたときは良好なスポットが得られたが、再現性のある Rf 値を求めることができなかった。なおマイヤー試薬による異種アルカロイドの検出をおこなつたところ、もちろん J.P. 標準品も U.S.P. 標準品もともに沈殿を生じなかつた。

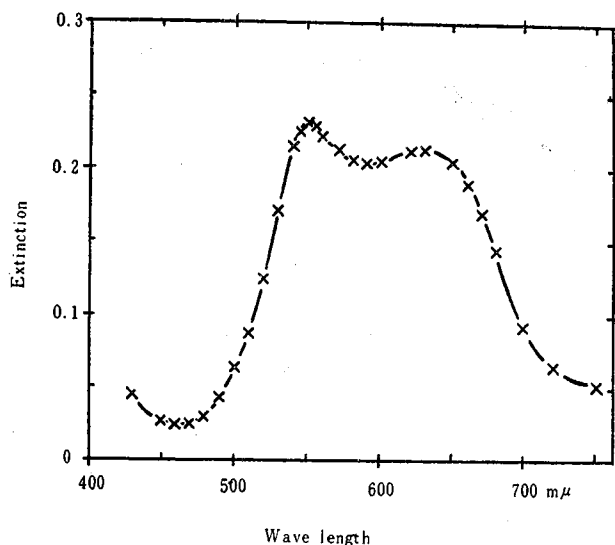


Fig. 1. Absorption Spectra of Color formed by J.P. Ergometrine Maleate Reference Standard in the Reaction with *p*-Dimethylaminobenzaldehyde Test Solution.

(0.01265 g/l aqueous solution).

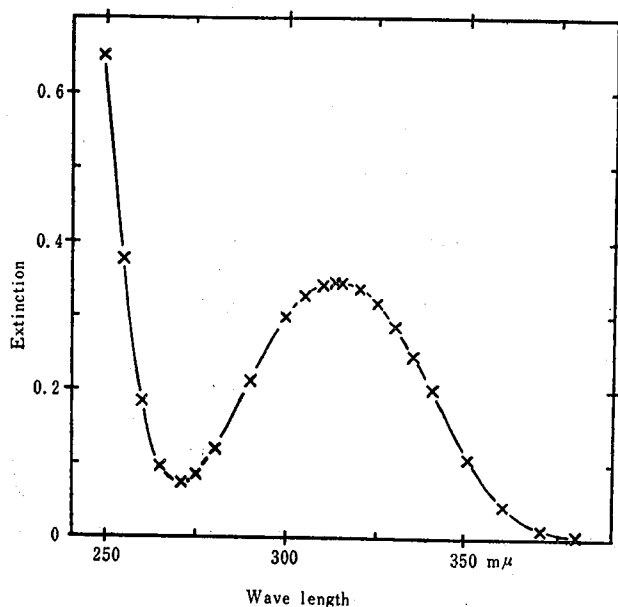


Fig. 2. Absorption Spectra of J.P. Ergometrine Maleate Reference Standard.

(0.0190 g/l aqueous solution)

Table 3. Rf Values of Ergometrine Maleate Reference Standards
by Paperchromatography

(21°±1°)

Solvent	Ascending Method	Descending Method
<i>n</i> -Butanol : Acetic acid : Water (4 : 1 : 5)	0.68	0.66
<i>n</i> -Butanol : Citrate-phosphate buffer		
// pH 2.2	0.30	—
// pH 2.6	0.29	—
// pH 3.0	0.27	—
// pH 3.6	0.24	—
// pH 4.0	0.26	—
// pH 5.0	0.28	—
// pH 6.0	0.44	—
<i>n</i> -Butanol : Pyridine : Water (4 : 1 : 5)	—	0.88
1% Tartaric acid, pH 2.3	0.35	0.32

考 察 入手した試料は微灰白色のかたまりであつたが、硫酸デシケータで減圧乾燥した結果、無臭、白色の微細結晶性粉末になつた。その融点(分解点)は 195° で国薬の規格 195~197° ぎりぎりであつた。かなり高温なうえ、分解点であるから測定方法および装置によりすぐ 2~3° の違いは出るものと思われる。比旋光度は +52° で公定書の +48~+57° のなかに入る。B.P.1953³⁾ (Appendix I) によると 0.0035% の試料の水溶液が、312m μ で 0.635~0.645 の吸光度を示すことになつているが、この J.P. 標準品は 0.636 であつた。なお 312m μ でも 314m μ で測定してもその吸光度に差がほとんど認められなかつた。

J.P.標準品を U.S.P.標準品と比較してみると、融点、比色、紫外線吸収および性状いずれも J.P.標準品の方が優れていた。そして定量の結果は U.S.P.標準品の約 105% の値を示した。

α-ジメチルアミノベンズアルデヒド 試薬を使つて呈色して測定するとき、ブランクとして溶媒の水を使つたときと、試料液と同濃度の試薬液を使つたときとを比較したところ、ほとんど差が認められず、むしろ容器自体の吸収の差それについて光路の長さの差の方が大きいぐらいであつた。また試薬を加えてから吸光度の変化も10分以後はあまり変化がなく、1時間たつてもほとんど差が認められなかつた。そして試薬を試料液に加えると試薬中の硫酸のため発熱するから冷却する必要がある、したがつて比色は20分以後とするのがよいと思われる。また光による吸光度の変化もあまりないが、特に標準品と比較して定量するときには同時に測定をおこなうから問題とならない。

いずれにしろ試薬を加えて呈色させて比色することは好ましいことではないうえ、紫外部の吸収曲線の方が単純な極大値を持つた山を有し、吸光度と試料の量が比例する範囲も広いから、測定器械の発達した現在においては紫外線吸収スペクトルを用いて定量の方が望ましい。なお螢光で比色定量した例もある²⁰⁾。

ペーパークロマトグラフィによる純度試験の結果は J.P.および U.S.P.標準品ともに他のアルカロイドを含まぬものと考えてよからう。この方法で定量した例^{7, 24)}もあるがあまり正確にはいかない。非水溶液滴定でも定量できるが、試料を多量要することと、用いる溶媒中に水あるいは無水酢酸を含有するとよい結果がえられないし、滴定中試料が分解するおそれもある。マイヤー試薬による沈殿反応では1,000分の1より濃厚な試料液を用いるとマレイン酸エルゴメトリンでも白色の沈殿を生ずるから注意を要する。

この標準品は冷暗処に貯えれば長年月安定であることが報告されているが¹³⁾、入手した U.S.P.標準品は褐色ビンに入れ、栓の外側を合成樹脂のカバーをかけ、木筒に入れてあり、2個ともさらさらした結晶性粉末であつたが、かなり着色しており、試験の結果も不良であつたから、貯蔵には充分の注意が必要と思われる。クロマトグラフィをおこなうときにも遮光しておこなわないと試料が分解する²⁹⁾。なおエルゴタミンは光によつて加水分解して立体構造の違う Lumi-ergotamine (I)および(II)になることが報告されている⁴¹⁾。

なお薬理作用と比色による定量と必ずしも比例しないが、生物試験法では正確簡便な方法がないから今のところ比色法にたよらざるを得ない、その二つの方法についての比較が種々検討されている^{13, 17, 28, 46, 52}。

なお綜説として数編^{9, 11, 25, 34})あり、分離精製に関する報告も多い¹⁶)、エルゴメトリンは Ergonovine, Ergobasine, Ergotocine, Ergostetrine, Ergotrate, Ergokline などと呼ばれることがある。

結 論 マレイン酸エルゴメトリンおよび酒石酸エルゴタミンならびにそれらの製剤の試験に必要な、日本薬局方マレイン酸エルゴメトリン標準品を製造配布するにあたり検討した結果を報告する。

融点は分解点であるのであまり信頼できないが、比色定量は充分信頼性があり、非水溶液滴定でも定量できた。しかし比色定量するには、呈色試薬を用いるより、そのまま試料の紫外線吸収を測定しておこなう方が正確におこなうことができた。また試料の純度をみるためには旋光度ばかりでなく、10種の展開溶媒を用いてクロマトグラフィをおこなった。

J.P.標準品は入手した U.S.P.標準品より性状、融点、吸光度で優れており、後者は幾分変質していたものと思われる。

なおここにマレイン酸エルゴメトリンを分与された米国 Eli Lilly 社に対し謝意を表する。

文 献

- 1) Allport, N. L., Cocking, T.T. : *Quart. J. Pharm. Pharmacol.*, 5, 341 (1932) ; C. A., 27, 562.
- 2) Allport, N.L., Crews, S.K. : *ibid.*, 8, 447 (1935) ; C. A., 30, 813.
- 3) Berg, A.M. : *Pharm. Weekbl.*, 86, 900 (1951) ; cf. *J. Pharm. Pharmacol.*, 4, 408 (1952).
- 4) Berg, A.M. : *ibid.*, 87, 282 (1952) ; cf. *J. Pharm. Pharmacol.*, 4, 781 (1952).
- 5) B.P.1953, p.213 ; B.P. 1958, p.249.
- 6) Brindle, H. Carless, J.E., Woodhead, H.B. : *J. Pharm. Pharmacol.*, 3, 793 (1951).
- 7) Carless, J.E. : *J. Pharm. Pharmacol.*, 5, 883 (1953).
- 8) DeBeer E.J., Tullar, P.E. : *J. Pharmacol.*, 71, 256 (1941) ; C.A., 35, 3330.
- 9) Dudley, H.W. : *Proc. Roy. Soc. (London)*, B118, 478 (1935) ; C.A., 30, 1059.
- 10) Foster, G.E. : *Analyst*, 70, 132 (1945).
- 11) Foster, G.E. : *J. Pharm. Pharmacol.*, 7, 1 (1955).
- 12) Foster, G.E., MacDonald, J., Jones, T.S.G. : *J. Pharm. Pharmacol.*, 1, 802 (1949).
- 13) Foster, G.E., Stewart, G.A. : *Quart. J. Pharm. Pharmacol.*, 21, 211 (1948) ; C.A., 43, 1148.
- 14) Fuchs, L., Pöhm, M. : *Scientia Pharm.*, 19, 232 (1951) ; cf. *J. Pharm. Pharmacol.*, 4, 584 (1952).
- 15) Gore, D.N., Adshead, J.M. : *J. Pharm. Pharmacol.*, 4, 803 (1952)
- 16) Graf, E., Neuhoﬀ, E. : *Arzneimitt.-Forsch.*, 4, 397 (1955) ; cf. *J. Pharm. Pharmacol.*, 7, 207 (1955).
- 17) Grove, D.C., Vos, B.J., Jr. : *J. Am. Pharm. Assoc., Sci. Ed.*, 34, 256 (1945) ; C.A., 40, 172.
- 18) Gyenes, I. : *Magyar Kem. Foly.*, 61, 89 (1955) ; *Anal. Abstr.*, 2, 3180.
- 19) Gyenes, I., Szasz, K. : *ibid.*, 61, 356 (1955) ; *Anal. Abstr.*, 3, 1848.
- 20) Gyenes, I., Szasz, K. : *ibid.*, 61, 393 (1955) ; *Anal. Abstr.*, 3, 1847.
- 21) Harmsma, A. : *Pharm. Weekbl.*, 65, 1114 (1928) ; C.A., 23, 235.
- 22) Jacobs, W.A., Craig, L.C., Rothen, A. : *Science*, 83, 166 (1936).
- 23) 鹿島 哲 : 本誌, 73, 103 (1955).
- 24) Kolsek, J. : *Mikrochim. Acta*, 1955, 1500 ; *Anal. Abstr.*, 3, 3778.
- 25) Manske, R.H.F., Holmes, H.L. : "The Alkaloids", Vol. I, II, III, Academic Press, New York, 1950~3.
- 26) Pöhm, M., Fuchs, L. : *Naturwissenschaften*, 40, 244 (1953) ; C.A., 48, 952.
- 27) Pöhm, M., Fuchs, L. : *ibid.*, 41, 63 (1954) ; C.A., 48, 11725.
- 28) Powell, C.E., Reagan, O. W., Stevens, A., Swanson, E.E. : *J. Am. Pharm. Assoc., Sci. Ed.*, 30,

- 255 (1941) ; *C.A.*, 36, 615.
- 29) Reichelt, J., Safarik, L. : *Ceskoslov. Farm.*, 4, 404 (1955) ; cf. *J. Pharm. Pharmacol.*, 8, 55 (1956).
- 30) Safarik, L., Bumba, V. : *Pharm. Z.*, 96, 3 (1957).
- 31) Silber, A., Schulze, T. : *Pharmazie*, 8, 675 (1953) ; *C.A.*, 50, 15023.
- 32) Smith, S. : *U.S. Public Health Report*, 45, 1466 (1930)
- 33) Snell, F.D., Snell, C. T. : "Colorimetric Methods of Analysis", 3rd Ed., Vol. IV, p.444, Academic Press, New York, 1954.
- 34) Stoll, A. : *Chem. Revs.*, 47, 197 (1950).
- 35) Stoll, A., Hofmann, A. : *Z. Physiol. Chem.*, 251, 155 (1938).
- 36) Stoll, A., Hofmann, A. : *Helv. Chim. Acta*, 26, 944 (1943).
- 37) Stoll, A., Hofmann, A. : *ibid.*, 26, 1570 (1943).
- 38) Stoll, A., Hofmann, A., Petrzilka, Th. : *ibid.*, 34, 1544 (1951).
- 39) Stoll, A., Hofmann, A., Troxler, F. : *ibid.*, 32, 506 (1949).
- 40) Stoll, A., Ruegger, A. : *ibid.*, 37, 1725 (1954).
- 41) Stoll, A., Schlientz, W. : *ibid.*, 38, 585 (1955).
- 42) Strong, J. W., Maurina, F. A. : *J. Am. Pharm. Assoc., Sci. Ed.*, 42, 414 (1953).
- 45) 田中光也, 木村富子 : 薬誌, 74, 430 (1954).
- 44) 田中邦喜, 須川利男 : 薬誌, 72, 616, 620 (1952).
- 43) Thielmann, E., Land, W., Kaiser, H. : *Arch. Pharm. Berl.*, 268, 379 (1953) ; cf. *J. Pharm. Pharmacol.*, 6, 201 (1954).
- 46) Thompson, M. R. : *J. Am. Pharm. Assoc., Sci. Ed.*, 24, 24, 185 (1935) ; *C.A.*, 29, 3778.
- 47) Tuzson, J., Vastagh, G. : *Pharm. Acta Helvet.*, 29, 357 (1954) ; cf. *J. Pharm. Pharmacol.*, 7, 480 (1954).
- 48) Tyler, V. E., Jr., Schwarting, A. E. : *J. Am. Pharm. Assoc., Sci. Ed.*, 41, 354 (1952).
- 49) U. S. P. XV, p.263 (1955).
- 50) Van Urk, H.W. : *Pharm. Weekbl.*, 66, 474 (1929) ; *C.A.*, 23, 4014.
- 51) Vos, B. J., Jr. : *J. Am. Pharm. Assoc., Sci. Ed.*, 32, 138 (1943) ; *C. A.*, 37, 3564.
- 52) Wokes, F., Crocker, H. : *Quart. J. Pharm. Pharmacol.*, 4, 420 (1931) ; *C. A.*, 26, 804.
- 53) 山口一孝, 川谷豊彦, 太幡利一, 福島清吾, 伊藤巳代子 : 薬誌, 73, 268 (1953).

Summary

Ergometrine maleate reference standard of Japanese Pharmacopoeia has been studied. Its melting point is 195° , specific rotation is $+52^{\circ}$, and the extinction coefficient of 0.0035 % aqueous solution of the sample is 0.636 at $314\text{ m}\mu$.

Colorimetry is usually carried out by the absorption spectra of colors, formed by the sample in the reaction with *p*-dimethylaminobenzaldehyde test solution at $550\text{ m}\mu$. But it is preferred to determine the sample using the direct absorption spectra of it at $314\text{ m}\mu$. By paperchromatography using ten sorts of developing solvents, it is ascertained that it does not contain any other alkaloid than ergometrine.

As a result, J.P. reference standard is superior to U.S.P. reference standard in description, melting point and absorptivity.

The authors wish to express their gratitude to Eli Lilly & Co. in U.S.A. for the supply of ergometrine maleate preparation.

Received May 31, 1958.

赤外線吸収スペクトル分析の医薬品試験における応用 (第5報)
補償法によるエチルアルコール中の少量のメチルアルコールの定量

大 場 琢 磨

Application of Infrared Absorption Spectroscopy to Examination of
Drugs and their Preparations. V.

Determination of a Small Amount of Methyl Alcohol in Ethyl Alcohol
by Differential Method

Takuma ŌBA

まえがき 筆者は前報¹⁾において、消毒用アルコール中のメチル、エチル、イソプロピルアルコールの定量を通常法によつて試みたが、エチルアルコール (以下Eと略記) 中に少量 (5%以下) のメチルアルコール (以下Mと略記) が混入されている場合、通常法ではMの定量がやや不正確になるおそれがある。すなわちMのkey band 9.84μ におけるEの吸収は非常に強いので、重なり合つて peak が現れない。ここにおいて補償法を用い、5%以下のMを定量することを試み、かつその検知限度および標準偏差を算出した。

実 験 の 部

(1) 実験装置 東京大学工学部総合試験所の Baird 製の記録式赤外線分光器を用いた。試料容器には岩塩の窓をもつ液層の厚さ約0.1mmのものを使用した。

(2) 標準物質 標準物質としては、Mは Eastman 社の分光光度測定用を、Eは純アルコールをナトリウムで脱水、蒸留したものを使用した。これらの赤外線吸収スペクトルは Fig. 1, 2 のごとくである。溶媒には試薬特級のクロロホルムを用いた。

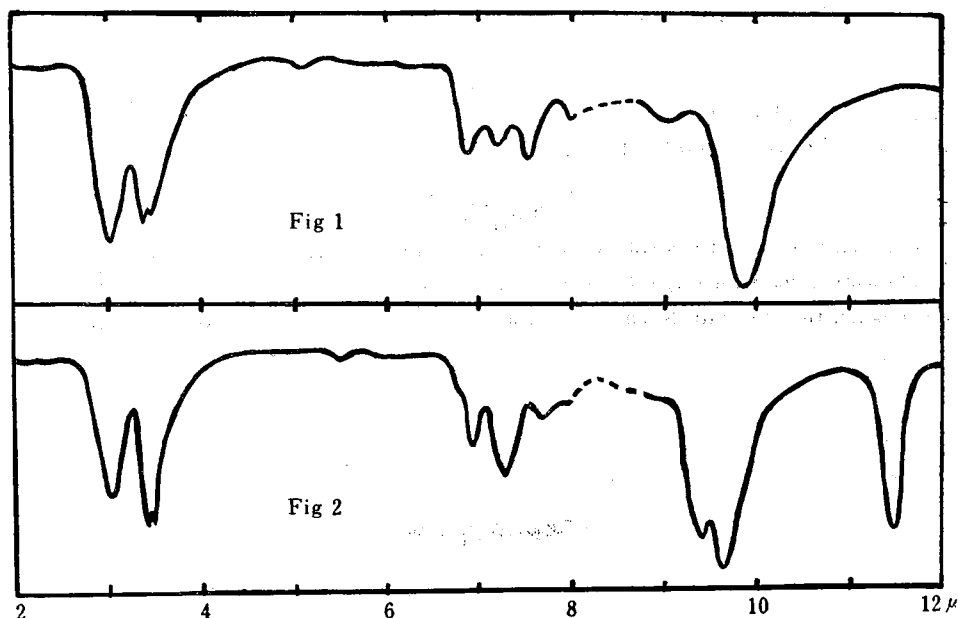


Fig. 1. Infrared spectrum of Methyl Alcohol in CHCl_3 .

Fig. 2. Infrared spectrum of Ethyl Alcohol in CHCl_3 .

(3) 補償法による定量結果 補償法の説明は本研究の第2報²⁾において述べたので省略する。

まず厚さ約0.1mmの試料容器を使用し、key band 9.84μ における透過率がほぼ30~40%になるような補償液の濃度を定めたところ、E 4ccをクロロホルムに溶かして25ccとしたものが適当であつた。次に標準混合試料により検量線を作製した。すなわち前記補償液を試料光路および補償光路に挿入した際の測定結果を100%透過線とし、この状態のまま試料光路側にガラス板をおいて0%透過線とした。次に補償容器はそのままにして試料光路側には1, 2, 3, 4, 5 % M含有のE溶液4cc

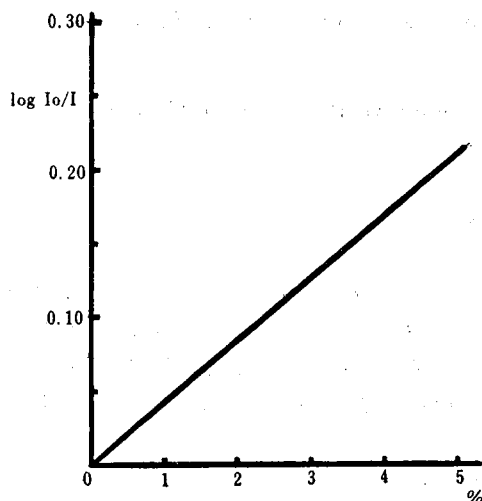


Fig. 3. Working curve of Methyl Alcohol

をクロロホルムで25ccとしたものを順次挿入し、 9.84μ における吸収を測定し、吸光度を算出した。その検量線はFig. 3のごとく、Beerの法則に従つた。この点を最小二乗法でcurve fittingし、その標準偏差を求めたところ、吸光度にして、0.006となり、これはMとして約0.2%である。検知限度を検討したところE中のMは 9.84μ のkey bandを用いるときは、約0.2%まで検知しえた。この測定により、E中のMはかなりの精度で定量できる。もし試料が水を含有している場合でも、前報¹⁾のように炭酸カリウム-クロロホルムによる脱水法を併用し、trial and error methodにより補償液の濃度を変えることによつて5%以下のMの定量が、かなりの精度で可能である。またこの測定の際、強い吸収が短波長側にあるので scanning speedを少し遅くした方が好結果をえた。

本研究に御配慮をいただいた、板井部長、ならびに赤外線分光器使用に御便宜、御指導をいただいた東大工学部

応用化学科平野四蔵教授、田中誠之氏に厚く御礼申し上げます。

総 括

E中にMが5%以下含有されている場合、補償法により、 9.84μ のkey bandを用いて、標準偏差約0.2%で定量できた。その際の検知限度は約0.2%であつた。

文 献

- 1) 大場琢磨；本誌, 75, 73 (1957).
- 2) 板井孝信, 大場琢磨, 田中誠之；本誌, 74, 25 (1956).

Summary

A small amount of methyl alcohol in ethyl alcohol could be determined by differential method of infrared absorption spectroscopy, using key band at 9.84μ .

As the results, the standard deviation was found to be about 0.2 %, the limit of detection about 0.2 %.

Received May 31, 1958.

赤外線吸収スペクトル分析の医薬品試験における応用 (第6報)

ブチルヒドロキシアニソール異性体の定量とその混合物の融点について

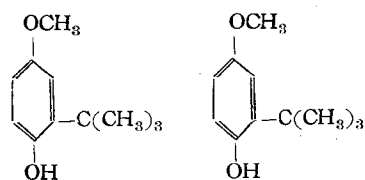
大 場 琢 磨

Application of Infrared Absorption Spectroscopy to Examination of Drugs and their preparations. VI.

Determination of Butylated Hydroxy Anisole Isomers and Melting Point of their Mixtures

Takuma Ōba

まえがき ブチルヒドロキシアニソール (以下 **BHA** と略記) は公定の合成酸化防止剤であつて、食品衛生試験法にその試験法が収載されている¹⁾。本品の応用範囲は広く、バター、動植物油に添加するばかりでなく、塩蔵品、乾製品などの油焼けの防止や菓子製造の際のショートニングオイルとして加熱使用しても有効であり、化粧品方面では口紅、クリームにも応用され、さらに包装用パラフィン紙を製造する際にも添加されている。この



3-BHA

2-BHA

Fig. 1. Formula of BHA-isomers.

BHA には2種の位置異性体が存在し、Fig. 1のごとく、3-*tert*-Butyl 4-Hydroxy Anisole (3-BHA) および 2-*tert*-Butyl 4-Hydroxy Anisole (2-BHA) であつて、効力は前者の方が優れ、市販品はこの2つの異性体の混合物であり、3-BHA の含有率の多いほど効力が強いといわれている²⁾。そこで、赤外線吸収スペクトル法によつてその含有率を正確に知ることははなはだ有意義と考えられる。

食品衛生試験法の **BHA** の項には定量法の記載はなく、その第3条に「本品は47°以上で湿潤し、56°でよう融する。」と記されている。最近アメリカの Eastman Chemical Products, Inc. から某社が輸入した商品名 Tenox BHA なるものは、いずれも融点が60°以上であり、当試験に不適となつた。

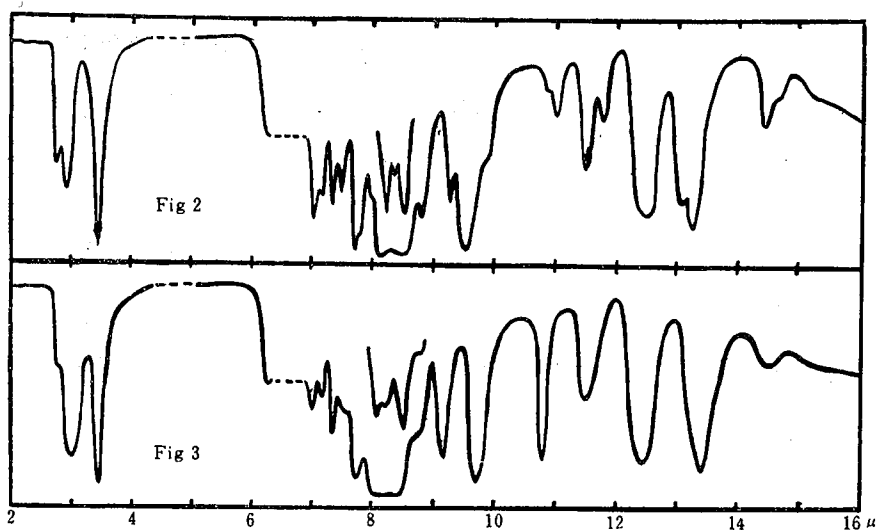
L. R. Dugan ら³⁾は、10.75 μ と10.95 μ の吸収の強さの比を用いるいわゆる比較法によつて **BHA** 異性体の含有比を定量しているが、この方法では精度が悪いと考えられ、殊に、95%以上 3-BHA を含有する場合には不正確になりやすい。そこで筆者は Eastman 社から2つの **BHA** 異性体の標準物質を入手し、その二硫化炭素溶液の赤外線吸収スペクトル (以下 **IR** と略記) を測定した結果、10.75 μ 、10.95 μ を key band に選び、2成分系の通常法を用い、また最近の製品では 3-BHA の含有率が高いので補償法を用いて定量を行つた。

同時に標準物質の各種混合物を作り、その融点を測定したので、ここに報告する。

実 験 の 部

(1) 実験装置 東京大学工学部総合試験所の Baird 製および北海道炭鉱汽船K.K. 所有の日立製 EPI-2 型の記録式赤外分光器を用いた。試料容器には岩塩の窓をもつ、液層の厚さ約0.1mmのものを使用し、補償法では約0.5mmのものを使用した。

(2) 標準物質 標準物質としては、Eastman Chemical Products, Inc. から輸入した3-BHA および2-BHA を使用した。これらの **IR** は Fig. 2 および Fig. 3 のごとくである。溶媒は二硫化炭素を用い、その濃度は160 mg/ccである。

Fig. 2. Infrared spectrum of 3-BHA in CS_2 .Fig. 3. Infrared spectrum of 2-BHA in CS_2 .

(3) 試料 Eastman 社から某社が輸入した Tenox BHA No. 5, No. 25, No. 100 の 3 種を用い, 筆者が実測した融点はそれぞれ 64.0° , 63.5° , 61.5° であった. なお融点およびその測定法は日本薬局方一般試験法第 22 項に従った.

(4) 通常法による検量線の作成 検量線にかくために各標準物質について次のごとき濃度の二硫化炭素溶液を作った. すなわち, 2-BHA は 50, 40, 30, 20, 10mg/cc, 3-BHA は 200, 150, 100, 50, 25mg/cc とし, これらを試料容器に入れて吸収を測定し, 波長 10.75μ , 10.95μ における吸光度をおのおの base line 法で算出し, 検量線を作製した. この結果各検量線は Fig. 4 のごとくで, 2-BHA は 50mg/cc, 3-BHA は 200mg/cc までは Beer の法則に従うことを認めた. この場合, おのおの 10.5μ 附近の base line が 100% 透過率曲線と相当離れるので普通の $\log I_0/I$ を採用すると Beer の法則に従わなかった.

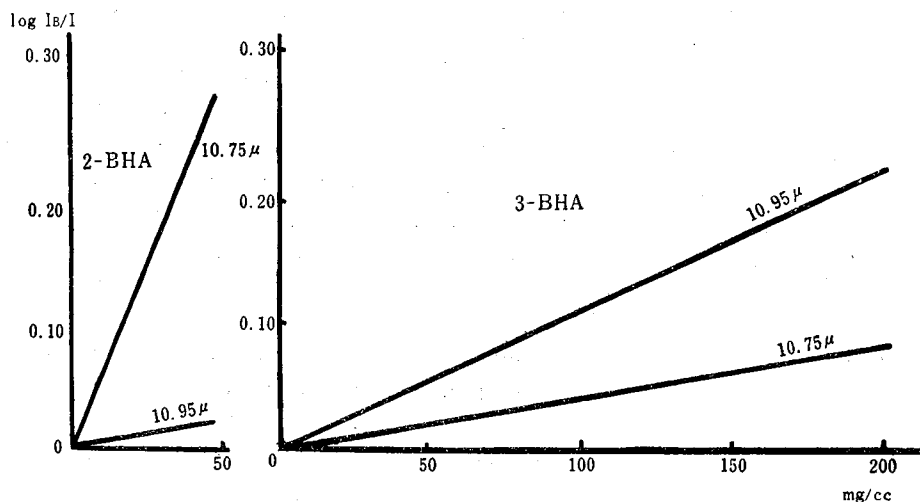


Fig. 4. Working curves of 2-BHA and 3-BHA.

(5) 標準混合試料の定量結果ならびに試料の定量結果 次にこの検量線を用いて, 標準混合試料を定量したところ Table 1 のごとき結果をえた.

Table 1. Determination of standard mixtures.

Sample No.	2-BHA		3-BHA	
	taken %	found %	taken %	found %
1	5.1	6.3	94.9	93.7
2	11.4	10.3	88.6	89.7
3	19.9	20.7	80.1	79.3
4	31.2	32.2	68.8	67.8
5	49.8	50.4	50.2	49.6
Standard deviation	$\bar{\sigma}=1.1\%$		$\bar{\sigma}=1.1\%$	

精度は標準偏差で約1.1%であつた。次に試料をこの方法で定量したところ、Table 2のごとくであつた。

Table 2. Determination of Commercial BHA.

Sample No.	2-BHA %	3-BHA %
No. 100	1.7	92.3
No. 5	3.5	96.5
No. 25	3.5	96.5

これによると No. 5 および No. 25 は高純度の 3-BHA であるために融点が高いと考えられ、No. 100 は 2-BHA および 3-BHA 以外のものを 6~7% 含んでいると思われる。この第 3 の不純物が何であるかは検討中である。

(6) 補償法による定量法 3-BHA が 95% 以上含まれている場合、上記の通常法や比較法³⁾では誤差が大と

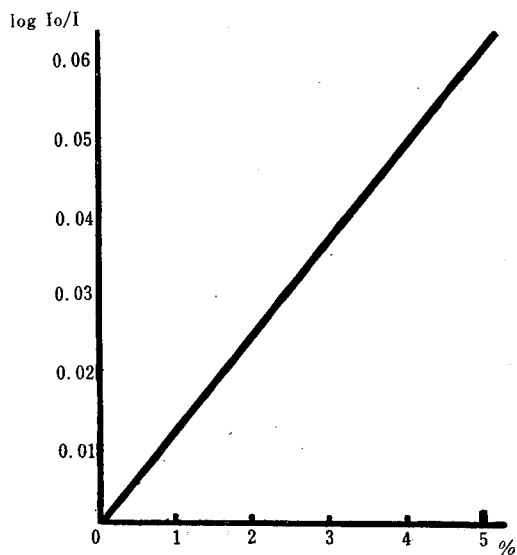


Fig. 5. Working curve of 2-BHA. by differential method.

なりやすいが補償法で定量すれば精度よく行いうるので、あわせてここに試みた。key bandは10.75 μ を使用し、補償液には濃度120mg/ccの3-BHAの二硫化炭素溶液を、また試料容器は厚さ約0.5mmのものを使用した。その際の補償液の10.75 μ における透過率は47%であつた。次に常法により、上記補償液1cc中に2-BHAをそれぞれ1.3, 2.6, 3.6, 5.0, 6.3mgを溶解させた液を順次、試料光路側に挿入して吸収を測定し、その吸光度を算出した。この検量線はFig. 5のごとくBeerの法則に従つた。

この標準偏差は約0.1%であり、検知限度は約0.4%であつた。これを基として試料No. 5 および No. 25 を約124mgを正確に秤取し、二硫化炭素1ccに溶かして定量を行つたところ、2-BHAの含量はおのおの3.3%および3.0%であつた。

(7) 2-および3-BHAの混合率と融点との関係 2つの標準試料をTable 3.のごとき割合で秤取混合し、約70°の水浴で温めて融解させ、これをデシケータ中で放

冷し固化させたものの融点を測定した。

この関係を図示するとFig. 6のごとくであつて3-BHAの含量90%以上のものは融点56°以上であつて、現在の規格には不適となることわかる。

本研究に御配慮をいただいた当所、板井部長、川城部長、浜田技官、ならびに赤外線分光器使用に御便宜、御指導をいただいた東京大学工学部応用化学科平野四蔵教授、田中誠之氏、北炭K. K. 千葉千寿子嬢、BHAの標準物質および試料を提供していただいた長瀬産業K. K. 永島健司氏に厚く御礼申し上げます。

Table 3. Melting point of mixture of BHA-isomers.

Content 2-BHA(%) 3-BHA(%)		melting point(°C)
5	95	62
10	90	57
20	80	50
30	70	46
50	50	50
70	30	52
90	10	58

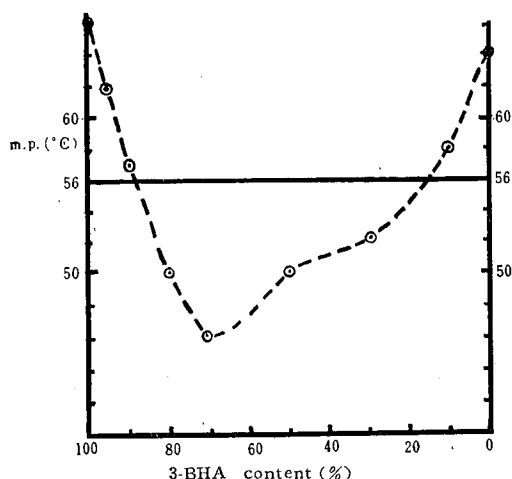


Fig. 6. Relation between melting point and 3-BHA content.

総 括

(1) 食品の酸化防止剤ブチルハイドロオキシアニソールの位置異性体すなわち 2-BHA および 3-BHA の定量を通常法でおのおの 10.75μ , 10.95μ を key band として行つた。この場合 base line 法でない Beer の法則に従わなかつた。この場合の標準偏差は約 1.1% であつた。

(2) 3-BHA 含有率の多いものは補償法を用いて精度よく定量した。この場合の標準偏差は約 0.1% で検知限度は約 0.4% であつた。

(3) 2-および 3-BHA の各種混合物を作つて、その融点を測定した結果、3-BHA90% 以上含有するものは 56° 以上の融点を示す。これは現在の食品衛生試験法に不適となるので改正が必要と思われる。

文 献

- 1) 厚生省公衆衛生局環境衛生部食品衛生課編；食品衛生試験法
- 2) Whetsel, K., Krell, M., Johnson, F. E.; *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 5, 602 (1957).
- 3) Dugan, L. R., et al: *American Oil Chemists' Society*, 28, No.12 (1951).

Summary

Butylated hydroxy anisole (BHA) is a widely used food antioxidant. The isomers, i. e. 2-BHA and 3-BHA, contained in its technical products, were determined by normal method of infrared spectroscopy, using the absorptions at 10.75μ and 10.95μ respectively as the key bands for them. Using base line method, Beer's law was obeyed, and standard deviation was found to be ca. 1.1%.

If 3-BHA was rich in sample, differential method gave more precise results. The standard deviation was ca. 0.1 % and the limit of detection ca. 0.4% by this method.

Beside this, melting point of their mixtures were investigated, and it was found that the mixture containing not less than 90% of 3-BHA melted over 56° . As this did not conform with the requirement of the Food Sanitation Law in Japan, an amendment of the requirement was found necessary.

Received May 31, 1958.

農薬 Gusathion の定量法について

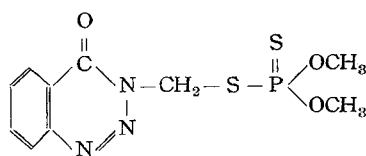
川 城 巖, 竹 内 末 久

On the Quantitative Analysis of Gusathion

Iwao KAWASHIRO and Hidenaga TAKEUCHI

ま え が き

Gusathionは次の構造式を有し、その定量法には、Pの定量、Sの定量およびジアゾ化合物による定量法などが考えられるが、前二者の方法は操作繁雑であるので、ジアゾ化合物による方法を試みた。幸にも Wollenberg¹⁾はこの方法による定性を行っているので、われわれは、この方法を参考として定量法を検討した。試料は日本特殊農薬提供のものをを用いた。



実 験 の 部

Wollenberg らの方法は、5%の Gusathion 氷酢液 5 cc に 2% Phenyl- α -naphthylamine 氷酢液 1 cc および水 2 cc を加え 50~60° に 15 分間水浴中に浸し 2N-HCl 2 cc を加えさらに同温度で処理すると 15 分以内に青紫色を呈するという。これを追試した場合この呈色限度は 120 γ であった。

(1) 呈色の吸光度曲線 Gusathion 120 γ /5 cc の氷酢液について上述のとりの試薬をすべて加え、100° に 15 分加熱すると青紫色を呈する。これについて吸光度曲線を描くと Fig. 1 のごとくなる。

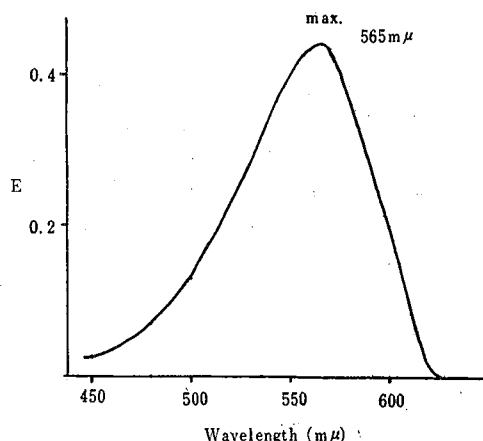


Fig. 1. Extinction Curve of Diazocoupled Gusathion

(2) 反応温度、時間の検討 Gusathion 120 γ /5 cc の氷酢液について、これに 2% Phenyl- α -naphthylamine 氷酢液 1 cc および水 2 cc を加え 50~60° に 15 分放置したのち、N-HCl 2 cc を加え 100° に 15 分加熱したものと、初めから N-HCl も加えて 100° に 15 分加熱したものととの呈色に差はなかった。

そこで初めから N-HCl を加えて 100° で時間を変えて反応させ、呈色を島津光電池比色計 580m μ 、層長 0.5cm で比色し、次の結果を得た。

0 min	吸光度	0
10min	〃	0.168
15min	〃	0.200
20min	〃	0.220
30min	〃	0.220

N-HCl を用いるときは 20min でよいことがわかった。

(3) HCl 濃度の検討 Gusathion 120 γ /5 cc 氷酢液について、HCl 濃度のみを変え、100° で 20 分反応させ 580 m μ で吸光度を測定する。

N-HCl の場合	0.220
2N-HCl 〃	0.243
3.5N-HCl 〃	0.245

HCl は 3.5N のものを使用することとし、反応時間を変えて反応させた。

2.5min	0.110
5 〃	0.208

10 mm	0.262
20 "	0.245
30 "	0.215

反応時間は10分でよい。

(4) 定量曲線の作製 Gusathion の氷酢溶液 5 cc に 2 % Phenyl- α -naphthylamine 氷酢液 1 cc, 水 2 cc, 3.5N-HCl 2 cc を加え沸とう水浴中に 10 分浸し, すみやかに冷却し, 島津光電池比色計 580m μ , 層長 2 cm で吸光度を測定した。結果を Fig. 2 に示す。約10 γ まで定量できる。呈色は1時間後も安定である。

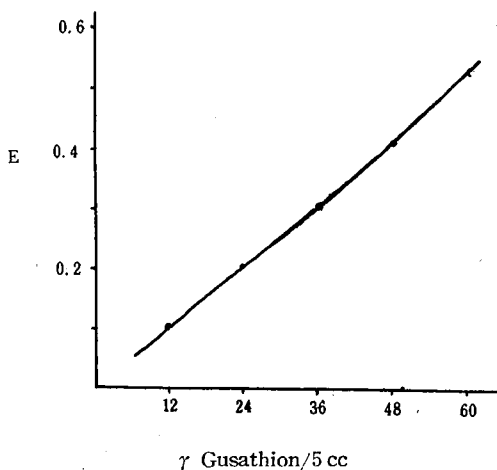


Fig. 2. Calibration Curve for Determination of Gusathion by Photoelectric Colorimeter

む す び

Gusathion の定量法を検討した。Gusathion の氷酢液 5 cc に, 2 % Phenyl- α -naphthylamine 氷酢液 1 cc, 水 2 cc, 3.5N-HCl 2 cc を加え, 沸とう水浴中に 10 分間反応させ, 急冷後 565 m μ で比色する。約 10 γ まで定量できる。

文 献

- 1) Wollenberg, O., Schrader, G. : *Angew. Chem.*, 68, 41 (1956).

Summary

Our modified Wollenberg's method of quantitative analysis of gusathion is as follows : To 5 cc of acetic acid solution of gusathion, 1 cc of 2 % phenyl- α -naphthylamine solution in acetic acid, 2 cc of water, and 2 cc of 3.5N-HCl are added, and the mixture is heated in a boiling water bath for 10 min, rapidly cooled, and produced bluish-violet color is colorimetrically determined at 565 m μ .

Received May 31, 1958.

エアゾール殺虫剤中のピレトリン定量に関する研究 (第1報)

効力増強剤の定量に及ぼす影響について

山口 一 孝, 西 本 和 光

Studies on Assay of pyrethrins in Aerosol I. On the Influence of Synergists to Analysis of Pyrethrins

Kazutaka YAMAGUCHI, Kazumitsu NISHIMOTO

まえがき ピレスロイドエアゾール殺虫剤が市販されるにおよんで、この剤型中のピレトリンの定量法を作成する必要があり、また近年ある種のピレトリン油剤のピレトリン定量値が予測値よりきわめて過大になる例があり、この原因はピレトリン以外の混用成分の影響と考へられ、再びピレトリン定量法を検討するに至つた。

ピレスロイドエアゾール殺虫剤は殺虫主成分 (ピレスロイド, BHC, リーセン, DDT), 効力増強剤 (ピペロニールブトオキサイド, スルフォオキサイド, MGK-264), 溶剤 (ケロシン), 溶解助剤 (有機溶剤), 香料, 噴射剤 (フレオン系液化ガス, 液化天然ガス, 液化メチルクロライド) などの成分で構成され、これらが耐圧缶に装填されている。このエアゾール剤型から噴射剤のみを低温で気化除去すれば、その残留物は油剤とほぼ同じである。したがつてこの剤型中のピレトリンの定量は油剤を対照として行うことができる。

ピレスロイドの定量法には、ピレトリンの加水分解によつて生ずる菊酸に基づく Seil 法^{1) 2)}, 水銀還元法^{3) 4)} と、さらにエチレンジアミン法⁵⁾, ポーラログラフ法⁶⁾, 紫外部吸収法⁶⁾, 比色法^{7) 8) 9) 10) 11)}, その他¹²⁾がある。これらの方法は種々な目的に対してどれが優劣であるかを簡単に決定されないが、Seil 法および水銀還元法は良く検討されており、公定法として採用されている。したがつて実験の手順としてまずこの二法によつて検討を試みた。

Seil 法および水銀還元法に対する BHC, DDT, ピペロニールブトオキサイドの影響について Warren¹³⁾, 平岩¹⁴⁾が報告しており、多少の影響を認めている。そこでわれわれはスルフォオキサイド (1,2-methylenedioxy 4-(2-octylsulfinyl propyl) benzene), MGK-264 (N-octyl bicycloheptene dicarboximide) の Seil 法および水銀還元法に対する影響について実験を行い、またピペロニールブトオキサイド (3,4-methylenedioxy -6-propyl benzyl butyl diethyleneglycol ether) もあわせ行つた。

実験方法 1. 試料 エアゾール剤型から噴射剤のみを除去すれば油剤々型となるので、次のように調製した試料を用いた。

ケロシン 2 l に市販ピレトリンエキス (ピレトリン 3.0~3.5 g 相当) を溶解し、一週間冷暗所におき、沈澱物を汙過する。(ピレトリン-ケロシン溶液)

2. 定量法 公定法 (J.N.F. II, NFX, BP Codex (1954) の除虫菊のピレトリン定量法) および防疫用除虫菊乳剤のピレトリン定量法¹⁾に採用されている。Seil 法および水銀還元法を油剤 (エアゾール剤) に適用するため、多少の変更をした次の方法によつた。

定量法 i (Seil 法) 試料 50 cc (ピレトリン 75~100 mg) を分液漏斗にとり、エーテル 30 cc を加え 1 % 水酸化ナトリウム溶液各 50 cc で二回洗い、さらに油液を水 50 cc で洗う。油液を三角フラスコに移し、アルカリ洗液および水洗液を分液漏斗にもどし、塩化ナトリウムを飽和しエーテル 50 cc を加えてふりませ、エーテル液を水 15 cc で洗い、エーテル液を油液に合し、水浴上でエーテルを完全に留去する。残留油液に N/2 アルコール製水酸化ナトリウム液 15 cc を加え、還流冷却器をつけ水浴上で 2 時間加熱したのち、アルコールを完全に留去する。残留油液に水 100 cc を加えふりませ、二層が分離してから分液漏斗に静かに移す。あらかじめ酸性白土 1 g を入れた 250 cc のメスフラスコ中に水層を分取し、油液および容器を各々 50 cc の水で 2 回充分に洗い、洗液をフラスコ中に合し、塩化バリウム試液 17 cc を静かに加え、さらに水を加えて 250 cc とし、よくふりませたのち汉過し、汉液 200 cc を水蒸気蒸留フラスコにとり、5 % 硫酸で中和 (指示薬フェノールフタレイン試液) したのち、さらに 5 % 硫酸 1 cc を追加し、激しく水蒸気を通じ留液約 250 cc を得るまで蒸留する。留液を分液漏斗にとりベンゼン 50 cc を加え、2~3 分間激しくふりませ分液する。水層はさらにベンゼン 50 cc とふりませたのち、各ベンゼン液は別々の小型分液漏斗に移し、

水 10cc でそれぞれを順次洗い、さらに新たな水 10cc で順次洗ったのち、各ベンゼン液を 1 個の分液漏斗に合し、水 5cc および N/50 水酸化ナトリウム液 10.0cc を加え、約 2 分間激しくふりまぜ、しばらく静置したのち、過剰のアルカリを N/50 硫酸で滴定する (指示薬フェノールフタレイン試液)

$$\text{ピレトリン I } \text{mg} = 6.56 \times (10 - \text{N/50 硫酸消費容量}) \times \frac{250}{200}$$

水蒸気蒸留の残留液は冷却後吸引濾過し、容器および濾紙を水 10cc ずつ 2 回洗い、洗液は濾液に合したのち、分液漏斗に移し、塩化ナトリウムを飽和し、エーテル 50cc ずつで 3 回抽出、各エーテル液は 3 個の小型分液漏斗に移し、水 10cc でそれぞれを順次洗い、さらに新たな水 10cc で順次洗ったのち、全エーテル液を三角フラスコに合し、水浴上でエーテルを留去する。残留物を 100° で 10 分間乾燥し、アルコール 2 cc を加えて溶かしたのち、水 20cc を加え沸騰するまで加温したのち放冷し、N/50 水酸化ナトリウム液で滴定する (指示薬フェノールフタレイン試液)

$$\text{ピレトリン II } \text{mg} = 3.72 \times \text{N/50 水酸化ナトリウム液消費容量} \times \frac{250}{200}$$

定量法 ii (水銀還元法) 酸性成分除去、加水分解、バリウム塩処理は前記定量法 i と同じく行い、この濾液 200cc を分液漏斗にとり塩酸で中和 (指示薬フェノールフタレイン試液) したのち、さらに塩酸 1cc および塩化ナトリウム飽和溶液 5cc を加え、石油エーテル 50cc を加へ 2~3 分間激しくふりまぜ分液する。水層はさらに石油エーテル 50cc とふりまぜたのち、各石油エーテル液を小型分液漏斗に合し、水 10cc ずつで 3 回洗い、水層および洗液 (残液) はピレトリン II の測定に使用する。石油エーテル液は N/10 水酸化ナトリウム液 5cc ではげしくふりまぜ分液し、さらに N/10 水酸化ナトリウム試液 5cc で洗い、各アルカリ液を小型ピーカーに合し、硫酸第二水銀試液 (ドニジエー試液) 10cc を加えて 1 時間 25° ± 2° におく、アルコール 20cc および塩化ナトリウム飽和溶液 3cc を加えよくまぜてから 60° に加温し、小濾紙で濾過、沈澱、濾紙、容器を 10cc ずつの熱アルコールで 2 回洗い、さらに熱クロロホルム 10cc ずつで 2 回洗い、沈澱を完全に濾紙上に移す。濾紙および沈澱を 250cc の共栓三角フラスコに移し、塩酸 30cc および水 20cc を加え冷却後、6cc のクロロホルムと塩化ヨウ素試液 1cc を加へて、M/100 ヨウ素酸カリウム液で激しくふりまぜながらクロロホルム層のヨウ素の色が消失するまで滴定する。

$$\text{ピレトリン I } \text{mg} = 5.7 \times \text{M/100 ヨウ素酸カリウム液消費容量} \times \frac{250}{200}$$

ピレトリン I 測定の残液を約 50cc に濃縮し、分液漏斗にとり塩酸 10cc を加え、塩化ナトリウムを飽和し、エーテル 50cc ずつで 3 回抽出し、以下前記定量法 i (Seil 法) と同じく操作する。

両法とも盲検を行つて測定値を補正する。

試薬、試液は J.P. VI, N.F. X, B.P. Codex (1954) の規定のものを使用する。

実験結果 1. Seil 法、水銀還元法の比較。この比較検討は多くなされているが、油剤を対照としてあらためて実験した。その結果は Table 1. のごとくである。

2. 効力増強剤の定量に及ぼす影響。各効力増強剤は市販品を使用した。エアゾールの処方における効力増強剤の使用量はピレトリン量に対して大体 5~20 倍の範囲であるが、8 倍量前後のものが多い。この実験にはそれよりやや多量の 12~13 倍 (ピレトリン量に対して) を対照とした。スルフオキサイド、MGK-264、ピペロニールブトオキサイドについて実験した結果を Table 2, 3 および 4 に示す。

Table 1. Comparison between Seil's Method and Mercury Reduction Method.

Pyrethrin-kerosene Solution cc	Seil's Method			Mercury Reduction Method		
	Pyrethrin I mg	Pyrethrin II mg	I + II mg	Pyrethrin I mg	Pyrethrin II mg	I + II mg
50.	37.5	37.1	74.6	40.6	37.5	78.1
50.	36.9	36.8	73.7	41.3	38.9	80.2
50.	36.9	38.7	75.6	40.6	39.0	79.6
average	37.1	37.5	74.6	40.8	38.5	79.3

Table 2. Influence of Sulfoxide to Analysis of Pyrethrins.

	Pyrethrin- Kerosene Solution cc	Sulfoxide g	Pyrethrin I mg	Pyrethrin II mg	I + II mg
Seil's Method	50.	—	37.1	37.5	74.6
	50.	1.0	36.3	37.7	74.0
	50.	1.0	36.7	38.1	74.8
	50.	1.0	36.1	37.9	74.0
	average		36.4	37.9	74.3
Mercury Reduction Method	50.	—	40.8	38.5	79.3
	50.	1.0	39.9	39.5	79.4
	50.	1.0	41.3	38.6	79.9
	50.	1.0	41.3	39.0	80.3
	average		40.8	39.0	79.8

Table 3. Influence of MGK-264 to Analysis of Pyrethrins by Mercury Reduction Method.

Pyrethrin- Kerosene Solution cc	MGK-264 g	Pyrethrin I mg	Pyrethrin II mg	I + II mg
50.	—	40.8	38.5	79.3
50.	1.0	31.4	43.9	75.3
50.	1.0	37.1	47.2	84.3
50.	1.0	33.5	44.3	77.8

Table 4. Influence of Piperonyl-butoxide to Analysis of Pyrethrins.

	Pyrethrin- Kerosene Solution cc	Piperonyl- butoxide g	Pyrethrin I mg	Pyrethrin II mg	I + II mg
Seil's Method	50.	—	37.1	37.5	74.6
	50.	1.0	39.1	39.6	78.7
	50.	1.0	37.9	38.6	76.5
	50.	1.0	37.7	41.1	78.8
	average		38.2	39.8	78.0
Mercury Reduction Method	50.	—	40.8	38.5	79.3
	50.	1.0	40.3	41.7	82.0
	50.	1.0	42.0	41.2	83.2
	50.	1.0	42.8	40.2	83.0
	average		41.7	41.0	82.7

考 察 水銀還元法は Seil 法よりも総ピレトリン値が高くなる傾向を示す (Table 1)。これはピレトリン I 値の差に原因する。この関係は除虫菊花のピレトリン定量について同様な報告⁶⁾がある。

スルフォキサイドは Seil 法および水銀還元法のピレトリン定量値にほとんど影響を示さない (Table 2)。

MGK-264は水銀還元法のピレトリンの定量値に影響をあたえる (Table 3) この原因は MGK-264 が加水分解されて生ずる酸性物質のためと考えられる。この酸性物質はバリウム塩処理によつて除去されないことと、第一菊酸を石油エーテルで抽出するとき白色脂肪状に析出して定量操作を困難にするため、ピレトリン I 値に変動を起す

と考えられる。またこれはエーテルに可溶、やや水溶性であるので、第二菊酸に加算されピレトリンⅡ値が過大になることが推察される。一方 Seil 法において MGK-264 はきわめて大きな影響をあたえ、ピレトリンⅡ値がきわめて過大となり、ピレトリンの近似値さえも得られなかつた。

ピペロニールブトオキシドは Seil 法および水銀還元法のピレトリンⅡ値にやや影響をあたえ、総ピレトリン値として高い値を示している (Table 4)。この関係は Warren¹³⁾の結果と一致している。

本研究は昭和32年度厚生科学研究 (班長板井部長) の一環として行われたものであり、要した費用の一部はこれによつた。研究の御便宜をあたえられた厚生当局、刈米所長、板井部長、貴重な御助言をくださった防虫科学研究所平位省三博士に深謝する。また貴重な材料を恵与された木村製薬所、島貿易に感謝する。

文 献

- 1) 山口一孝：本誌，69，21 (1951)。
- 2) 若園潔：J. Agric. chem. Soc. Japan, 18, 766 (1942)。
- 3) Kelsey, D., J. Assoc. Offic. Agr. Chemists, 35, 368 (1952)。
- 4) Gunther, F.A., Blinn. R.C. : Analysis of Insecticides and Acaricides.
- 5) Hogsett, J. N., et al. : Anal. Chem., 25, 1207 (1953)。
- 6) 大岩俊彦，篠原熊己，竹下康彦，大野稔：防虫科学，18，142 (1953)。
- 7) Gnadinger, C. B. : Pyrethrum Flowers, (1936)。
- 8) Green, N., Schecher, M. S. : Anal. Chem., 27, 1261 (1955)。
- 9) Williams, H.L., et al. : J. Assoc. Offic. Agr. Chemists, 39, 872 (1956)。
- 10) Cueto, C., Dale, W.E.: Anal. Chem., 25, 1367 (1953)。
- 11) Anal. Abstr., 3, No.11, 3484 (1956)。，C.A., 48, 13154a (1954)。
- 12) C.A. 51, 18479g (1957)。
- 13) C.A., 47, 6084i (1953)。，Warren, G.J. : J. Sci. Food Agr., 4, 180 (1953)。
- 14) 平岩通夫：衛生化学，4，No.1, 49 (1956)。

Summary

Influences of Pyrethrin-synergists were observed on analyses of Pyrethrins by Seil's method and mercury reduction method.

Both methods were not affected by existence of sulfoxide.

Existence of MGK-264 gave considerable influences to the result of determination of pyrethrins by both methods, particularly by Seil's method.

A few influence was obtained in both methods by existence of piperonyl butoxide, where values for pyrethrin Ⅱ were high.

Received May 31, 1958.

麻薬中に混入されたプロカインの検出

朝比奈晴世, 志内賢彦

Detection of Procaine in Narcotics

Haruyo ASAHINA and Yoshihiko SHIUCHI

まえがき 押収された麻薬にはしばしば混入物がある。麻薬犯罪のなかでもつとも多いのは塩酸ジアセチルモルヒネであるが、混入物としてはブドウ糖、白糖、乳糖、塩酸プロカインなどがある。

プロカインの呈色反応については日局Ⅵのベタナフトールによるアミノ基の反応が従来用いられてきた。

Sanchez¹⁾は環状第一級アミンの呈色反応としてフルフラールの酢酸溶液で紫赤色となる反応を報告している。また、Bulletin on Narcotics²⁾ではこの反応を塩酸ジアセチルモルヒネに混入されたプロカインに応用している。われわれは Sanchez の反応を追試し他の麻薬類にも試みた。また、プロカインが混入されたばあいに、ジアセチルモルヒネや他の麻薬類と同時に検出できるように汙紙クロマトグラフィーを試みた。

実験の部

I. Sanchez のフルフラール酢酸溶液による呈色反応

試薬：フルフラール 1 cc をエチルアルコール 3 cc に溶かし、さらに氷酢酸 16 cc と混合する。冷暗所に保存すれば変色せず長期の保存ができる。

実験操作および結果：試料 3~5 mg を呈色板上にとりフルフラール酢酸溶液 2 滴を滴加すると紫赤色を呈する。この反応を塩酸プロカイン、塩酸ジアセチルモルヒネやその他の麻薬類、アルカロイド、アミンなどに試みた結果は Table 1 のとおりである。

Table 1. Color Reaction by Sanchez' Reagent.

Morphine	—	Pethidine	—
Diacetylmorphine	—	3-Dimethylamino-1, 1-di(2-thienyl)-1-butene	—
Ethylmorphine	—	1-3-Hydroxy-N-methyl-morphinan	—
Codeine	—	Atropine	—
Hydrocodeine	—	Homatropine	—
Narcotine	—	Emetine	—
Thebaine	—	Scopolamine	—
Papaverine	—	Tropacocaine	—
Narceine	—	Pilocarpine	—
Procaine	+	o-Toluidine	+
Cocaine	—	Aniline	+

表に見られるように第一級アミンをもつプロカイン、o-トルイジン、アニリンのほかは、あへんアルカロイド、合成麻薬、その他のアルカロイドなどいずれも呈色を示さない。

アトロピンは硫酸塩、コデイン、ヒドロコデインは磷酸塩、スコポラミン、ホマトロピンは臭化水素酸塩、ナルコチン、テバイン、ナルセイン、o-トルイジン、アニリンはいずれも塩基で、その他は皆、塩酸塩を用いた。

プロカインのフルフラール酢酸による検出限度をしらべたところ、5 γ から呈色を認めえた。

通常、紫赤色の呈色は 30~40 分で汚黄緑色に変化するが、呈色後希塩酸 0.5 cc を加えたところ 5 時間程度紫赤色が持続した。

II. 汙紙クロマトグラフィーによる分離

実験操作および結果：東洋汙紙 No. 51 (2.5×40 cm) に各試料 20 γ を溶かした水溶液をつけ室温で 25 cm

展開し風乾後、塩化白金ヨウ化カリウム試液を噴霧して発色させる。

塩酸ジアセチルモルヒネのなかに混入される塩酸プロカインを検出する目的で汙紙クロマトグラフィーをおこなった結果を Table 2 に示す。

Table 2. Rf Values of Diacetylmorphine-HCl and Procaine-HCl.

	Diacetyl-morphine-HCl	Procaine-HCl
ブタノール：酢酸：水 (10 : 1 : 5)	0.56	0.52
N-HCl飽和 n-ブタノール	0.43	0.10
ブタノール：28% NH ₄ OH：水 (17 : 3 : 5)	0.96	0.97
80% メタノール 50 cc 中にピリジン 2 cc 加える	0.92	0.94
酢酸エチル：10% NH ₄ OH (1 : 20)	0.86	0.77
10% NH ₄ OH	0.87	0.75

N-塩酸飽和 n-ブタノールと10%アンモニア水がもつともよく分離するが他の展開液では不可能であつた。そこで塩酸ジアセチルモルヒネ、塩酸プロカインの二つを同じ汙紙につけ N-塩酸飽和 n-ブタノールと10%アンモニア水についてそれぞれ展開させたところ、両方とも Table 2 と同じ Rf 値のスポットがえられた。

この二つの展開液についてあへんアルカロイド、合成麻薬、その他のアルカロイドを同じ操作で展開した値は Table 3 である。

Table 3. Rf Values of Narcotics and Some Alkaloids.

	Solvent a	Solvent b
Morphine	0.26	0.83
Ethylmorphine	0.43	0.79
Codeine	0.31	0.78
Hydrocodeine	0.34	0.72
Narcotine	0.47	原点
Thebaine	0.46	原点
Papaverine	0.52	0.48
Narceine	0.54	0.90
Cocaine	0.48	原点
Pethidine	0.60	0.63
3-Dimethylamino-1, 1-di(2-thienyl)-1-butene	0.63	原点
1-3-Hydroxy-N-methyl-morphinan	0.57	0.80
Atropine	0.48	0.81
Emetine	0.38	0.48
Scopolamine	0.32	0.82
Tropacocaine	0.55	0.56

Solvent a = N-塩酸飽和 n-ブタノール

Solvent b = 10%アンモニア水

試料はアトロピンは硫酸塩、スコボラミンは臭化水素酸塩、コデイン、ヒドロコデインは磷酸塩を、モルヒネ、エチルモルヒネ、パパペリン、コカイン、ペチジン、3-ジメチルアミノ-1, 1-ジ-(2-チエニル)-1-ブテン、1-3-ヒドロキシ-N-メチルモルヒナン、エメチン、トロパコカインは塩酸塩を、いずれも水溶液として汙紙に付着した。またナルコチン、テバイン、ナルセインは5%塩酸に溶かして用いた。

塩化白金ヨウ化カリウム試液で発色したスポットは Solvent a ではどの試料も比較的よくまとまつたが、Solvent b ではエメチンとトロパコカインおよびペチジンにややテーリングがみられた。

Ⅲ. 考 察 塩酸ジアセチルモルヒネや他の麻薬中にプロカイン混入の疑いがあるばあい、Sanchez のフルフラール酢酸溶液による呈色反応は容易にプロカインを検出できる。しかしこの反応はプロカイン特異のものではない。そこで確認のために沱紙クロマトグラフィーをおこなった。

N-塩酸飽和 n-ブタノールでは塩酸プロカインの Rf 値は 0.10 で塩酸ジアセチルモルヒネや他の塩基類のどれよりも低い。10%アンモニア水では塩酸プロカインの Rf 値は 0.75 で、塩酸ジアセチルモルヒネの 0.87 とはつきり区できるが、他のアルカロイドで近似しているものもある。これらのことから麻薬類に混入するプロカインの検出には、N-塩酸飽和 n-ブタノールが良好である。

むすび 塩酸ジアセチルモルヒネや他の麻薬類中に混入されたプロカインを検出するために、Sanchez の呈色反応および沱紙クロマトグラフィーをおこなった。

Sanchez のフルフラール酢酸溶液による呈色反応は、麻薬類、アルカロイドでいずれも陰性であつた。このため麻薬中にプロカインが混在すればすぐに検出できる。

沱紙クロマトグラフィーは塩酸ジアセチルモルヒネと塩酸プロカインの二つについて好結果をえた、N-塩酸飽和 n-ブタノールと 10%アンモニア水を展開液とし、麻薬類、アルカロイド類を上昇させた。

試料は塩酸モルヒネ、塩酸エチルモルヒネ、磷酸コデイン、磷酸ヒドロコデイン、ナルコチン、テバイン、塩酸パバペリン、ナルセイン、塩酸コカイン、塩酸ペチジン、塩酸 3-ジメチルアミノ-1,1-ジ-(2-チエニル)-1-ブテン、塩酸 1-3-ヒドロキシ-N-メチルモルヒナン、塩酸エメチン、塩酸トロパコカインである。

展開液は N-塩酸飽和 n-ブタノールが良好であつた。

フルフラール酢酸溶液による呈色反応と N-塩酸飽和 n-ブタノールでの沱紙クロマトグラフィーで麻薬中のプロカインを検出することができる。

文 献

- 1) Sanchez, J. A. : C. A., 20, 2300 (1926).
- 2) *Bulletion on Narcotics*, Vol. V, No. 2, 27 (1953).

Summary

As to the detection of procaine hydrochloride which is suspected to be mixed in illicit narcotics, Sanchez' color reaction and paper chromatography on common narcotics and some alkaloids were carried out.

Sanchez' furfural acetic acid reagent is positive only for procaine or cyclic primary amines, so procaine hydrochloride in diacetylmorphine hydrochloride can be readily demonstrated.

For the solvent of paper chromatography, n-butanol saturated with N-hydrochloric acid gave a good result.

Received May 31, 1958.

Sodium Tetraphenyl-boron によるアルカロイド類の定量

中 川 雄 三, 伊 阪 博

Qualitative and Quantitative Tests of Alkaloids

with Sodium Tetraphenyl-boron

Yūzō NAKAGAWA and Hiroshi ISAKA

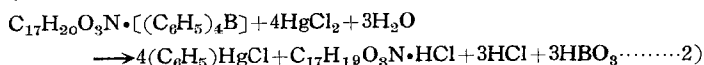
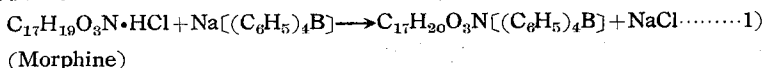
ま え が き

1949 年 G. Wittig¹⁾ 2) らはテトラフェニルホウ素系化合物を合成し, そのナトリウム, リチウム塩は水溶性であるが, カリウムとは極めて水に難溶性の結晶性沈澱 $K(C_6H_5)_4B$ を生ずることを発見し, カリウムの定量に対する理想的試薬として紹介した. その後アンモニアのほか, ある種の含窒素化合物に対し, 本試薬が従来の沈澱剤に比べ, はるかに難溶性の沈澱を定量的に生ずることから諸種のアルカロイド, 生体アミン, 合成医薬品への応用研究が試みられた. O. E. Schultz, G. Mayer³⁾ はアンチピリンモルヒネなどの含窒素化合物十数種類について沈澱生成の成否を報告し, R. Fischer⁴⁾ らは沈澱の組成, 生成の条件, 生成率および融点について報告し^{5, 6, 7, 8, 9, 10)}, 種々の容量分析法を考案し, アルカロイドの定量^{11, 12, 13)}に応用した.

われわれはテトラフェニルホウ素のアルカロイド塩の融点を測定し, 定量法として沈澱の重量的, 容量的, 比色的方法を検討した.

重量法 沈澱反応の機構はテトラフェニルホウ素陰イオンと, H^+ (プロトン) 1 個を付加されたアルカロイド陽イオンが配位的に結合し沈澱を生ずる. モルヒネの場合, 当モルで反応し定量的に沈澱を与えた. 生成時の液温は $50 \sim 55^\circ$ が最適で, 65° 以上になると過剰の試薬および沈澱が徐々に分解を始め, 液が白濁する. 最適 pH は 4.0, pH 7.5 以上では沈澱の生成が不充分である.

容量法 反応式 2) で示されるごとく, アルカロイド塩が塩化第二水銀で熱時分解され, 発生する塩酸をアルカリで滴定する方法である.



比色法 テトラフェニルホウ素アルカロイド塩が磷酸で熱時分解すると, 理論量のホウ素を遊離することを見出し, このホウ素を定量し試料の含量を算出する方法である.

Naftel¹⁴⁾, Winsor¹⁵⁾ はホウ素の比色定量にクルクミン-脣酸を用い, Michel¹⁶⁾ はクルクミン-サルチル酸を用いている. われわれはクルクミン-脣酸混液で呈色させ, 吸光度を測定し, 重量法よりはるかに微量 (1.0mg) の試料を定量することができた.

実 験 の 部

1) 融 点

試薬: 0.6%, テトラフェニルホウ素ナトリウム液 (水酸化アルミニウムを加え前処理する).

モルヒネ塩酸塩水溶液を希酢酸酸性 pH 4.0, 液温 50° に温め試薬液を徐々に沈澱の生じなくなるまで加える. その量は約 1.5 倍当量に及ぶ. 20 分間加温し放冷後, 沈澱をグラスフィルターで濾過し水洗後アセトン: 水 (1 +

1) で再結晶し減圧デシケーター (50°) で2時間乾燥したのちに融点を測定する. その結果は Table 1. である.

Table 1. Melting Point and Yield of Tetraphenyl Boron Complexes

Alkaloide	mp°C	Yield
Atropine	140 ~ 141	94.4
Cocaine	94 ~ 96	84.7
Codeine	162 ~ 164	97.3
Heroin	174 ~ 175	99.5
Emetine	110 ~ 112	81.9
Ephedrine	166 ~ 168	93.1
Morphine	178 ~ 181	98.7
Narcotine	93 ~ 95	99.3
Papaverine	173 ~ 175	88.2
Quinine	158 ~ 160	90.8
Strychnine	101 ~ 104	98.8

これら沈澱のフレーデ, マーキス試薬による呈色反応は各塩基の呈色反応と同様である. 沈澱はいずれもアセトン, アセトニトリルに易溶, アルコール, クロロホルムおよび水に難溶ないし不溶である.

2) 重量法

試料溶液 モルヒネ遊離塩基をアルコールで再結晶精製し, 110° 2時間乾燥し一定量を秤取し一定濃度の塩酸塩溶液とする.

試料溶液 (モルヒネとして 3~20mg に対応する量) を採取し, 融点測定の場合の方法に従い沈澱を作り, 20分間放冷後重量既知のガラスフィルターに濾取し, あらかじめ調製したテトラフェニルホウ素モルヒネ飽和水溶液 3cc で洗浄し, 減圧硫酸デシケーターで恒量になるまで乾燥し秤量する. モルヒネについて繰返しの実験を行った結果は Table 2. のごとく最小自乗法で回帰式を求めると次のごとくなる.

$$Y = 0.4821X$$

Y : Amt. of Morphine,

X : Wt. of Precipitate.

Table 2. Amount of Tetraphenyl Boron Complex for Regression-equation

Amt. of Morphine (mg)	3.08	10.25	15.4	20.5
Wt of Precipitate (mg)	6.50	21.8	32.7	43.5
	6.40	20.8	30.3	41.2
	6.88	19.8	31.7	42.4
	6.92	21.2	32.8	43.1
	6.10	22.5	32.2	40.9

Table 1. に示すごとく, コカイン, エメチンは沈澱生成の状態が不良で結晶性沈澱を得ることができなかった.

3) 容量法

モルヒネ一定濃度溶液 (3~10mg に相当する量) を希酢酸酸性 pH4.0 とし, 重量法の場合と同様沈澱を生成させ, 吸込後, テトラフェニルホウ素モルヒネ塩飽和溶液 3cc で洗浄後, アセトンで溶かして沈澱を滴定しフラスコに移し昇汞溶液 1cc, 水 20cc を加える. 次に 3 滴のメチルレッド指示薬, N/100 NaOH 5cc, 20% ヨウ化カリウム試液 1cc を加え 3 分間煮沸し冷後 N/100 HCl 5cc を加え, N/100 NaOH で逆滴定する.

$$\text{mg Substance} = (A - B) \times \text{MW} / 300$$

A : N/100 NaOH 消費量

B : 空試験の N/100 NaOH 消費量

モルヒネ 3mg についての繰返しの結果を Table 3 に示す.

Table 3. Results with Titrimetry

Taken	Volume cc. of N/100 NaOH	Recovery
Morphine 3mg	2.94	Av : 96.84% Error 3.5%
	2.98	
	3.05	
	3.12	
	3.20	
	Av. 3.06	
	σ 0.09	

4) 比 色 法

a) 塩の分解およびホウ素の捕集

生成したテトラフェニルホウ素モルヒネ塩を汙過洗浄し、アセトン5ccで溶解し、丸底フラスコ（石英製）に移し、アセトンを留去後、磷酸5ccを加え、還流冷却器をつけて15分間加熱分解する。冷後メタノール50ccを加え、油浴中100°でホウ酸メチル（b.p.72°）として、メタノールとともに蒸留する。さらにメタノール20ccで再蒸留し（2回の蒸留で充分回収された）、留液は受器に N/100 KOH 20ccを入れ、完全にホウ素を捕集する。捕集液はメタノールを加えて全量を100cc とし、検液とする。

b) 発色比色操作

試薬：1) 磷酸アセトン溶液 50gの磷酸をアセトン450ccに溶解し汙過する。

2) クルクミン・アルコール溶液 化学用クルクミン0.1gを95%エチルアルコール 400cc に溶解する。

前項 a) で得た検液 5 cc を蒸発皿にとり、水浴上70°で蒸発乾固したのち、塩酸（1+4）1ccを加え中和し、磷酸アセトン溶液 5 cc, クルクミン・エチルアルコール溶液 2 cc を加え、水浴上60°で蒸発乾固し、冷後これをアセトンに溶解し、必要ならば汙過しつつアセトンで50ccに完溶し、空試験による留液を用い呈色操作を行つた盲検液を対照として波長 540m μ (Beckman Spectrophotometer B-Type) で吸光度を測定し、検量線よりホウ素の量を求める。ホウ素含量を得て次式により含量を求める。

$$\text{Morphine mg} = 26.37 \times \text{Boron } (\gamma)$$

$$\text{Diacetyl-morphine mg} = 34.14 \times \text{Boron } (\gamma)$$

モルヒネ、ジアセチルモルヒネ 1~2 mgについて、定量値95%以上誤差 4.3 %以下で充分定量に応用できることを見出した。

定量結果およびモルヒネ試料1.2mgについての繰返しの実験結果を Table 4, 5 に示す。

Table 4. Results of Colorimetry

Taken mg	Opt. D	Recovery %
Morphine	1.2 0.288	98.9
	0.275	94.0
	0.412	96.7
	1.8 0.428	101.4
Diacetyl-morphine	1.2 0.225	99.6
	0.212	94.2
	0.358	96.8
	2.0 0.350	94.8

Table 5. Variation of Absorbance
(1.2 mg Morphine taken)

Opt. D.		Recovery
0.291	0.302	Av : 0.289
0.288	0.263	
0.275	0.299	σ : 0.013
0.302	0.275	Error : 4.3%
0.298	0.294	

c) 検 量 線

試薬：ホウ酸標準溶液、ホウ酸特級品を硫酸デシケーターで5時間乾燥したもの0.5716gを精秤し、水1l に溶解する。当標準液は0.1mg Boron/cc である。

20~200 γ に相当するホウ酸標準液を丸底分解フラスコにとり、磷酸5ccとともに前述のごとく加熱分解後、蒸

留操作を行いホウ素を捕集しメタノールで 100cc に定容する。その各 5 cc (1~10 γ ホウ素に相応する) を前述の比色操作に従い、盲検液を対照として波長 540m μ で吸光度を測定し検量線を作成すると 1~6 γ ホウ素で直線となる。検量線および吸収スペクトルは Fig. 1, 2 である。

Fig. 1. Calibration Curve

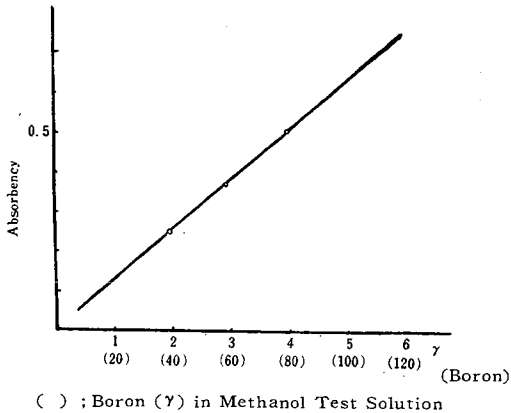
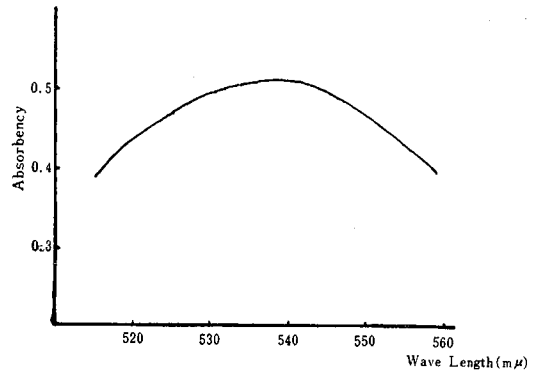


Fig. 2. Absorption Curve



波長 540m μ における吸光度は時間の経過にても安全である。発色後 20~30 分の間に吸光度を測定した。

総 括

テトラフェニルホウ素アルカロイド塩の融点を測定し、定量的に沈澱を生成するところより、重量法によつて 20mg の試料を誤差 3.2% 以下で定量することができた。定量法は塩化第二水銀を用い、沈澱を分解する際に結晶が析出し、終末点が不明瞭となり、さらに分解条件を検討する必要を認めた。比色法は試料 1~2 mg, 誤差 5% 以下で定量しえた。

本研究を行うにあたり御鞭撻いただいた刈米所長、喜谷前支所長、種々便宜をはかつていただいた小川支所長および中品、河内、笠原各技官、また試料を提供された大日本製薬株式会社に厚く感謝する。

文 献

- 1) Wittig, G. : *Angew. Chem.*, 62A, 231 (1951).
- 2) Wittig, G. Raff. P. : *Ann.*, 573, 195 (1951).
- 3) Schultz, O. E., Mayer, G. : *Dtsch. Apoth. Ztg.*, 92, 358 (1952),
- 4) Fisch, R., Karawia, M. S. : *Mikrochim. Acta.*, 1953, 366.
- 5) Rutkowski, R. : *Arzneim.-Forsch.*, 3, 537 (1953).
- 6) Marquardt, P., Vogt, G. : *Z. Physiol. Chem.*, 291, 143 (1952).
- 7) Scott, W. E. Donkas, H. M. *J. A. P. A.* 45, 568 (1956).
- 8) Pahlow, M. : *Dtsch. Apoth. Ztg.*, 93, 541 (1953).
- 9) Kohler, M. : *Z. anal. Chem.* 138, 9 (1953).
- 10) Flaschk, H., Holasek, A. : *ibid.*, 138, 161 (1953).
- 11) Rüdörff, W., Zannier, H. : *Angew. Chem.*, 66, 638 (1954).
- 12) Schultz, O. E., Goerner, H. *Dtsch. Apoth. Ztg.*, 93, 585 (1953).
- 13) Flaschk, H. : *Arzneim. Forsch* 4, 39 (1954).
- 14) Naftel, T. A. : *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, 11, 407 (1941).
- 15) Winsor, *Anal. Chem.*, 20, 176 (1948).
- 16) Michel, *Mhckro. Chem.*, 29, 93 (1941).

Summary

Many kinds of nitrogen containing medicinals including alkaloide such as morphine, narcotine, papaverine, codeine or atropine etc, gave water-insoluble precipitates with sodium tetraphenyl-boron in acidic solution. Eleven different precipitates were prepared by adding the reagent to alkaloid solution, and identified by means of melting point estimation after the purification by recrystallization from suitable solvents (aceton-water).

Semi-micro amount (ca 20 mg) of alkaloids could be determined gravimetrically. The optimum pH for precipitative reaction is 4.0. The optimum temperature for the reaction is $50^{\circ}\sim 55^{\circ}$, and slight decomposition occurred over 70° . A micro amount of alkaloids (ca 1~2 mg) could be estimated through colorimetric assay of boron associating in tetraphenyl boron alkaloid precipitates by curcumine, vicetitrimetry of precipitates using HgCl_2 reagent gave a indefinite end point.

Received May 31, 1958.

食品中の繊維素グリコール酸ナトリウムの定量に関する研究 (第2報)

ナフタレンジオール法によるアイスクリーム中の定量について

藤井 清次, 林 敏夫, 原田 基夫

Studies on the Determination of Sodium Carboxymethylcellulose in Foods. II.

On the Determination of Sodium Carboxymethylcellulose in Ice Cream by the Naphthalenediol Method

Seiji FUJII, Toshio HAYASHI, and Moto-o HARADA

まえがき 著者らは第1報¹⁾において、ペクチン質食品中の Na-CMC を銅塩沈澱法およびナフタレンジオール法の組合せによつて定量したが、アイスクリームなどの蛋白質食品には応用しにくい。一般に Na-CMC の定量においてはその D.S. が測定されないかぎり不可能であるが、前報²⁾において市販 Na-CMC の D.S. はほぼ 0.5~0.7 の範囲にあるので、その平均 D.S. を用いて定量すれば D.S. の相違による含量の違いは僅少であり、また実際的であると考えられる。坂上³⁾はこの点を指摘して数種の市販 Na-CMC の D.S. を求め、これをアンスロン法に従つて検量線を作製し、この平均検量線を Na-CMC の定量に使用したが、ナフタレンジオール法を応用すれば、求める平均検量線は計算によつて作製できる便利がある。著者らは市販のアイスクリームを想定した予備実験で、スタビライザーとしてのほかの糊料の存在は妨害しないことを確めたので、市販牛乳からアイスクリームの模型品を調製し、これに標準 Na-CMC (D.S. 0.63) の種々量を加えてその回収率を測定したところ、きわめて満足すべき結果が得られたので報告する。また第1報での課題であつたペクチン除去剤としての酢酸カルシウムおよび硫酸マグネシウムの使用は、硝酸カルシウムなどと同じ成績を得た。

実験の部

市販のアイスクリーム中に Na-CMC 以外の天然および合成糊料が混在したときの妨害性を検討した。すなわち Na-CMC と同様の目的に使用されと考えられるゼラチン、アルギン酸、アルギン酸プロピレングリコールエステル、ペクチン、トラガントゴム、アラビヤゴム、メチルセルロースおよびカルボキシメチル澱粉のそれぞれの 0.1g を 300cc の硬質共栓フラスコに秤取し、6% 水酸化ナトリウム溶液 25cc を加え、以下前報²⁾ ナフタレンジオール法 (b) による測定法に従つて調製した溶液に活性炭を加えて脱色したのち、汙液を検液とし、以下 (a) 検量線の作製と同様に操作してそれぞれの吸収曲線を測定した。この結果、カルボキシメチル澱粉はナフタレンジオール試薬と反応して妨害し、ゼラチンは黄金色を呈し、 $\lambda_{\max}$ 410m μ 、他はいずれも弱い橙赤色を示し $\lambda_{\max}$ 480m μ 附近あつて厳密には Na-CMC の呈する紫赤色を多少妨害するものと思われたが、上記のそれぞれの物質に標準 NaCMC 10mg、すなわち 1/10 量を加えて同様に処理した溶液の吸収曲線は $\lambda_{\max}$ 530m μ の特有の濃い紫赤色を呈したので、実際問題としてカルボキシメチル澱粉を除き、これらの物質は妨害しないと思われる。

(1) 実験材料 模型アイスクリーム 市販牛乳 40cc に水を加えて 100cc とし、これに標準 Na-CMC (D.S. 0.63) を 0.5% 1.0% および 2% となるごとく加え、ホモゲナイザーにかけてよく均質とした模型品。

(2) 蛋白質、アルギン酸などの存在で Na-CMC の定量 実験材料約 2~5g を上皿天秤で 50cc 共栓付遠沈管に秤取し、塩酸酸性メチルアルコール液 (塩酸 50cc + メチルアルコール 250cc) 35~40cc を加え (この液を少量ずつ加えてそのつどガラス棒で混和すれば沈澱が細かくなつて、以後の操作が容易である) よく振盪混和して 30min. 放置したのち 20min. 遠心分離する (毎分 3000 回転)。上澄液を注意してピペットで除去したのち無水メチルアルコール 35~40cc を加えてよく振盪し、遠沈して上澄液をすてる。ついで無水エーテル 40cc を加えときどき振盪して 10 min. 放置したのち、10min. 間遠沈し (毎分 1,500 回転) 上澄液をすてる。遠沈管中に残つたエーテルはスプレーを

用いて大部分を飛ばしたのち、2%水酸化ナトリウム液30ccを加えて溶かす。これを100ccメスフラスコに定量的に移し、遠沈管は2%水酸化ナトリウム液の20ccずつ2～3回洗つてメスフラスコに加え、標線まで水を加えて検液とする。この検液が多少濁つていても差支えないが、一夜放置したために多量の沈澱が生じたときは、汙過した汙液を検液とする。この検液の一定量を前報²⁾のナフタレンジオール法のごとく操作して含量を求める。成績をTable 2に示す。上記の方法を用いて食品中のNa-CMCを定量するときに、そのD.S.は多くの場合未知であるが、市販Na-CMCはすでに述べたようにD.S.の範囲は割合にせまく、ほぼ0.5～0.7の範囲にあるから計算によつて作製した検量線からただちにその含量を測定し得られる。たとえば上記の実験に使用したNa-CMCのD.S.は0.63、これを市販製品の平均値とすれば、計算式からNa-CMCに対応するグリコール酸の割合は約0.2254となり、従つてNa-CMCの種々量を横軸にとり、これに対応するグリコール酸量を縦軸にプロットして両者の関係曲線を求め、これを理論的な平均検量線とする。グリコール酸量は前報²⁾のナフタレンジオール法中検量線の作製に従つて求める。いまD.S.が0.5、0.63および0.70のときNa-CMCに対応するグリコール酸量をTable 1に示す。

Table 1. Amounts of the Glycolic acid produced from Na-CMC of Various D. S.

D. S. = 0.50		D. S. = 0.63		D. S. = 0.70	
Wt. of Na-CMC(mg)	Wt. of Glycolic-acid (mg)	Wt. of Na-CMC(mg)	Wt. of Glycolic-acid (mg)	Wt. of Na-CMC (mg)	Wt. of Glycolic-acid (mg)
0.1	0.019	0.1	0.023	0.1	0.024
0.2	0.038	0.2	0.045	0.2	0.049
0.4	0.075	0.4	0.090	0.4	0.098
0.6	0.113	0.6	0.136	0.6	0.146
0.8	0.150	0.8	0.180	0.8	0.195
1.0	0.188	1.0	0.226	1.0	0.244

Table 2. Recovery of Na-CMC

Sample (%)	Wt. of Sample (g)	Wt. of Na-CMC (mg)	Wt. of Na-CMC Found (mg)	Recovery (%)
0.5	2.6	13.0	13.4	103.08
	5.7	28.5	28.2	98.95
	4.1	20.5	21.1	102.93
1.0	1.3	13.0	13.2	101.54
	2.1	21.0	20.4	97.14
	4.6	46.0	45.6	99.13
2.0	0.6	12.0	12.3	102.50
	1.7	34.0	32.7	96.18
	2.1	42.0	42.6	101.43

む す び

食品中のNa-CMCを検出する試薬としてはナフタレンジオール (2,7-Dihydroxynaphthalene) が最もすぐれているが、この方法によると市販アイスクリームのなかに他の天然および合成糊料が混在しても、妨害しないことを知った。

蛋白質の存在はこの試薬で緑色の蛍光を発するが、その量が少なければ妨害しない。模型アイスクリームに対するNa-CMCの添加実験では満足すべき回収率が得られたが、ナフタレンジオール試薬はグリコール酸に対し鋭敏に感ずるので、不注意な操作によつて大きな誤差を生ずる。市販Na-CMCの平均D.S.の検量線は、いちいち分析しなくても計算によつて求めることができるので、この検量線からその含量を測定できる便利があり、また実際的な方法として利用できる。

文 献

- 1) 藤井清次, 原田基夫 : 本誌, 75, 33 (1957).
- 2) 藤井清次, 原田基夫 : 本誌, 75, 471 (1957).
- 3) 坂上米次, 白石慶子 : 国立公衆衛生院研究報告, 4, No. 4, 7 (1955).

Summary

Model ice cream was prepared by mixing with milk, sugar, flavoring, and various amounts of sodium carboxymethylcellulose (D.S.=0.63) as stabiliser. On this sample, the recovery of sodium carboxymethylcellulose was determined by naphthalenediol method. The glycolic acid produced from carboxymethylcellulose is determined by naphthalenediol method. In this case, if the degree of substitution (D.S.) has been determined by other procedures, the glycolic acid may be calculated, and foreign substances (alginic acid, propyleneglycolester of alginic acid, pectine, traccanthgum, arabic gum, gelatin and methylcellulose) containing in sample do not interfere with this procedure. Therefore, as a practical method for determining sodium carboxymethylcellulose in ice cream, this method may be applied. The data resulting from the model ice cream are given in Table 2.

Received May 31, 1958.

食品中の繊維素グリコール酸ナトリウムの定量に関する研究 (第3報)

置換度の測定によるアイスクリーム中の定量について

藤井 清次, 原田 基夫, 林 敏夫

Studies on the Determination of Sodium Carboxymethylcellulose in Foods. III.

On the Determination of Sodium Carboxymethylcellulose in Ice Cream by the Degree of Substitution Values

Seiji FUJII, Moto-o HARADA, and Toshio HAYASHI

まえがき

第1報¹⁾および第2報²⁾においてすでに指摘したごとく, Na-CMCの定量においては食品中からこれを純粋に抽出したのち, その置換度(D.S.)を知ることが必要である. 先に報告した成績はD.S. 既知のNa-CMCを食品に添加して, その回収率を測定したのであるが市販のNa-CMCのD.S.は未知の場合が多い, 現在のところ完全に近い定量法としては銅塩沈澱法があるが, 蛋白質のごとく銅塩となつて沈澱する物質が混在するときは, この方法によつてNa-CMCを定量できない. したがつてアイスクリームなどのごとく蛋白質を含む食品にこの方法を応用するには, あらかじめ妨害する蛋白質を完全に除去しておかなければならない. 著者らは特別に調製したアイスクリームを酸性でメチルアルコールを加えて処理し, CMCを分離し, これについて銅塩沈澱法を試み, 操作はやや繁雑であるが, D.S.を決定してNa-CMCを定量することができたので報告する.

実験の部

(1) 実験材料 A 第2報の模型アイスクリーム. B 特製アイスクリーム. 市販アイスクリームと同様に製造し, スタビライザーとしてアルギン酸を使用し, Na-CMCを含まない製品. C 特製アイスクリーム. 市販アイスクリームと同様に製造し, スタビライザーとして市販Na-CMC約2%を含有し, アルギン酸を含まない製品,

(2) カゼインなどの除去 Na-CMCと反応しないで蛋白質を沈澱させる試薬にタンニンおよびシリコタンゲステン酸が知られているが³⁾, これらの試薬はNa-CMCと共存すると, Na-CMCの乳化性, 保護コロイド性のためカゼインなどの牛乳蛋白を分離することができない. 中性電解質の多量を加えてNa-CMCのコロイド性を低下させてからこれらの試薬を加えると, Na-CMCもともに沈澱して分離できない. 蛋白をアミノ酸にまで完全に酵素

Fig. 1 Volume of Methylalcohol

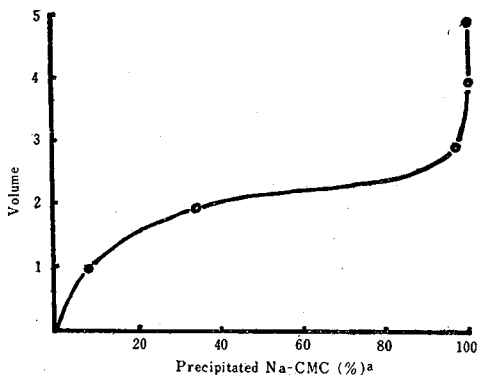
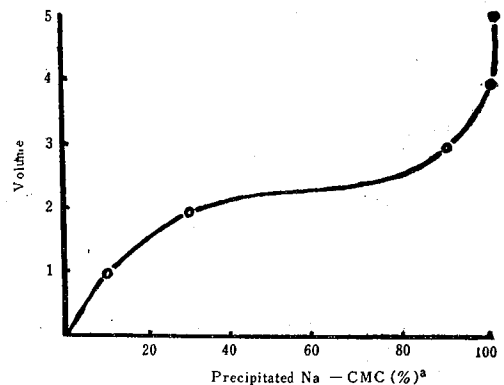


Fig. 2 Volume of Acetone



a Determined by naphthalenediol method

(Nagarse) 分解を行うことは、かなりの長時間を必要とし、クロロホルムおよびアミルアルコールの混液で蛋白を除去する操作⁴⁾はNa-CMCの損失がはなはだしく、いずれも分離操作として不適当であつた。したがつて著者らは次の(3)項で詳述するように、第2報²⁾項で得られたアルカリ性の検液に酢酸溶液を加えて乳濁(等電点)させ、ついで希塩酸を加えて乳濁を溶消させたのち、無水メチルアルコールを加えてCMCを沈澱させ、遠沈して上澄液を棄てることによつてカゼインなどの蛋白質から分離した。CMCを完全に沈澱させるために加える無水メチルアルコール、あるいはアセトンの量はFig. 1および2に示すごとく、検液の容量に対して4~5倍量が必要である。

(3) Cu-CMC→ヨウ素滴定によるD.S.の決定と定量値 (a) D.S.の再現性. 実験材料A(D.S.=0.63)を用いて銅塩沈澱法を行い、Cu-CMC中のCu量をヨウ素法で定量してD.S.を算出してAの再現性を調べた。また得られたD.S.からNa-CMCの%を算出し満足すべき成績を得た。以下これらの定量法を述べ成績をTable 1~3に示す。

Aの種々量を栓付50cc遠沈管に正確に秤取し、以下第2報²⁾(2)項の「……エーテルはスプレーを用いて大部分を飛ばしたのち」まで、全く同様に処理した残渣に2%水酸化ナトリウム液約10ccを加え、ときどきふり動かして完全に溶かす。これを200~300cc ビーカに定量的に移し、遠沈管は2%水酸化ナトリウム液約5ccずつで3回よく洗つてビーカに加え最後に少量の水で遠沈管の内面および栓をよく洗つてビーカに加える、このとき溶液の総量は約30ccとなる。この溶液に30%酢酸溶液をカゼインの乳濁が現われるまで滴加したのち、10%塩酸溶液を滴加しそのたびにビーカをふり動かして、乳濁が消失するまで注意して行い、さらに0.5~1.0cc過剰に加える。(このときのpHは約1.5~2.0となる。もし再び沈澱が生じたならばこの液をアルカリ性として乳濁を消失させ、再び以上の操作を繰返す)。この際溶液中の繊維質の存在および僅かの混濁は差支いない。この溶液に無水メチルアルコール4~5倍量を加え、すくなくとも30min、放置してCMC酸を沈澱させ、これを先の遠沈管に傾斜して10min遠沈する(毎分3000回転)。上澄液はピペットを用いて注意して棄て、ビーカ中の沈澱を含む残液を同様に遠沈して溶液中に溶存している蛋白質を除去する。ビーカを酸性メチルアルコール液(2%水酸化ナトリウム液約25ccを30%酢酸溶液で中和したのち、さらに10%塩酸溶液を加えてpH約1.5~2.0とし、この混合液に無水メチルアルコール4~5倍量を加えた液)約30ccで洗い、洗液を遠沈管に加え、よく振つて残渣に含まれるカゼインなどを溶出させたのち10min、遠沈し(毎分3000回転)、上澄液をすて、さらにビーカを洗つた酸性メタノール液約30ccを加えて同様に遠沈し、上澄液にビュレット反応がなくなるまでこの操作をくりかえす。(普通2回の洗滌で充分である)。かようにしてカゼインなどをことごとく除去した残渣を2%水酸化ナトリウム液約20ccを加えて完全に溶かし、先のビーカに定量的に移し、遠沈管は2%水酸化ナトリウム液約10ccずつ3~4回洗つてビーカに加え、最後に少量の水で遠沈管の内面および栓をよく洗つてビーカに加える。この溶液にメチルレッド指示液2~3滴を滴下し、以下前報⁵⁾と全く同様に行つて、Cu-CMCに対するCu量を求め、そのD.S.を決定し、ついでNa-CMCの%を算出する。

Table 1. Degree of Substitution by the Copper Salt Precipitation Method
(In the Presence of Sodium Carboxymethylcellulose of 0.5% in Model Icecream*)

No.	Sample(g)	Cu-CMC Found(g)	Cu Found (mg)	D.S.	Na-CMC (%)	Na-CMC Calculated(mg)	Na-CMC Found(mg)	Recovery (%)
1	2.5737	0.0129	1.17	0.62	0.49	12.87	12.57	97.70
2	2.1860	0.0109	0.98	0.61	0.49	10.93	10.62	97.19
3	6.0241	0.0303	2.82	0.64	0.49	30.12	29.50	97.95
4	4.9123	0.0246	2.24	0.62	0.52	24.56	25.72	104.72
5	10.6904	0.0542	4.88	0.61	0.49	53.45	52.82	98.82
6	11.4036	0.0577	5.21	0.61	0.49	57.02	56.23	98.63

Table 2. Degree of Substitution by the Copper Salt Precipitation Method
(In the Presence of Sodium Carboxymethylcellulose of 1.0% in Mobel Ice Cream*)

No.	Sample(g)	Cu-CMC Found(g)	Cu Found (mg)	D.S.	Na-CMC (%)	Na-CMC Calculated(mg)	Na-CMC Found(mg)	Recovery (%)
1	1.4608	0.0149	1.35	0.61	0.99	14.61	14.52	99.41
2	1.1426	0.0211	1.10	0.62	1.03	11.43	11.79	103.18
3	2.8451	0.0289	2.71	0.64	0.99	28.45	28.14	98.91
4	2.0722	0.0206	1.84	0.60	0.97	20.72	20.08	96.92
5	5.3537	0.0523	4.54	0.58	0.95	53.54	51.02	95.30

Table 3. Degree of Substitution by Copper Salt Precipitation Method
(In the Presence of Sodium Carboxymethylcellulose of 2.0% in Model Ice Cream*)

No.	Sample(g)	Cu-CMC Found(g)	Cu Found (mg)	D.S.	Na-CMC (%)	Na-CMC Calculated(mg)	Na-CMC Found(mg)	Recovery (%)
1	0.6735	0.0135	1.26	0.64	1.95	13.47	13.14	97.59
2	0.8140	0.0164	1.51	0.62	1.96	16.28	15.98	98.15
3	1.5070	0.0293	2.65	0.61	1.89	30.14	28.56	94.74
4	3.2116	0.0639	5.73	0.60	1.94	64.23	62.30	96.99
5	4.7727	0.0952	8.56	0.61	1.94	95.45	92.78	97.20

* Model ice cream was prepared by homogenizing with milk, sugar and flavoring.

(b) D.S.の決定 D.S. 未知の市販Na-CMC約2%を含有する実験材料Cを用い, (a) と全く同様に行つてD.S.を決定し, C中に含有する Na-CMCの量を測定した。成績を Table 4 に示す。

Table 4. Degree of Substitution by the Copper Salt Precipitation Method
(In the Presence of Sodium Carboxymethylcellulose of ca 2.0% in Special Ice Cream*)

No.	Sample (g)	Cu-CMC Found (g)	Cu Found (mg)	D.S.	Na-CMC (%)	Na-CMC Found (mg)
1	0.6263	0.0121	1.08	0.60	1.88	11.80
2	0.5386	0.0104	0.93	0.60	1.88	10.14
3	1.0358	0.0208	1.85	0.60	1.96	20.28
4	1.3010	0.0241	2.19	0.62	1.80	23.48
5	3.0329	0.0565	5.30	0.64	1.81	55.01
6	3.9554	0.0718	6.74	0.64	1.77	69.91
7	5.0862	0.0997	8.79	0.56	1.91	97.23

* Special ice cream was prepared in the same manner as commercial sample with sodium carboxymethylcellulose as stabiliser

(4) Cu-CMC → ナフタレンジオール法によるD.S.の決定と定量値 食品中の Na-CMC を前記(a)の如く操作してCu-CMC を得れば, このD.S.はナフタレンジオール法によつても測定されその含有量が算出できる。すなわち実験材料AおよびCを用い, カゼインなどの蛋白質を除去したのちに得られた Cu-CMC の沈澱をガラス棒ですりつぶし, 温50%硫酸液の少量ずつ数回加えてそのつどよくすりつぶして吸引する。完全に溶けたのち50%硫酸液で洗い, 洗液は100ccメスフラスコに移して一定容とする。この検液の一定量(ナフタレンジオール 法によつて測定される至適濃度は検液 1cc中Na-CMCの0.2~3 mgである)を流出口をつけた2×20cmの栓付硬質試験管に精密に秤り, ビューレットから呈色試液(調製後すくなくとも数時間放置して黄色を消失させた2,7-Dihydroxy-naphthaleneの0.01%硫酸溶液)20ccを加え, 栓をして沸騰水浴中に 3.5hrs. 加熱して直ちに冷却し, 水10ccを入れた50ccメスフラスコに注意して移し, 試験管は水5ccずつ3回洗滌してフラスコに加え, 室温まで冷却後水を加えて一定容とする。呈色試液20ccを同様に処理した液を対照として分光光度計を用いて530mμにおける吸光度を測定してグリコール酸量を求め, これを次の式に代入してD.S.を求め, このD.S. とさきに求めたCu-CMCからNa-CMC の含量を決定した。成績を Tables 5~6 に示す。

$$\frac{\text{測定液中のグリコール酸のg数} \times \text{稀釈率}}{\text{秤量した Cu-CMC の g数}} = A$$

$$\therefore D.S. = 162A/76 - 89A$$

Table 5. Degree of Substitution by the Copper Salt Precipitation and Naphthalenediol Method (In the Cases of Model Ice Cream)

No.	Sample(g)	Cu-CMC Found(g)	Glycolic acid(mg)	D.S.	Na-CMC (%)	Na-CMC Calculated(mg)	Na-CMC Found(mg)
1	5.2340	0.0265	5.96	0.65	0.49	26.15	25.79
2	5.5271	0.0277	6.29	0.66	0.49	27.64	26.95
3	8.1436	0.0427	9.38	0.63	0.51	40.72	41.59
4	7.6454	0.0376	7.96	0.60	0.48	38.23	36.66

Table 6. Degree of Substitution by the Copper Salt Precipitation and Naphthalenediol Method (In the Cases of Special Ice Cream)

No.	Sample (g)	Cu-CMC Found (g)	Glycolic acid (mg)	D. S.	Na-CMC Found (%)
1	4.8917	0.0930	20.55	0.64	1.85
2	4.5965	0.0872	18.65	0.61	1.85
3	7.8985	0.1448	32.40	0.65	1.78
4	7.1703	0.1398	31.00	0.64	1.90

実験材料Bを用い第2報²⁾(2)のごとく行つて得た検液は、ナフタレンジオール試薬に対して陰性であつた。また前記(3)の方法を応用して得た銅塩沈澱物につき、同様に行つたところ陰性であつた。実験材料AおよびCから得られた値をみると、本法は定量法として採用できるものと思われる。

総 括

各種の置換度を有するNa-CMCを定量する場合には、そのD.S.の決定が先決であるので、著者らは模型アイスクリームおよび特別に調製したアイスクリームについて、まず混在するカゼインなどの蛋白を除去したのち、銅塩沈澱法を用いてNa-CMCをCu-CMCとして沈澱させ、このCu量をヨウ素法によつて、またCu-CMCから生ずるグリコール酸をナフタレンジオール法によつてD.S.を決定し、これらから含有しているNa-CMCを定量した。実験材料AおよびCについてはいずれも満足すべき成績が得られたので、アイスクリーム中の定量法として使用できるものと思われる。実験材料B(アルギン酸含有)については銅塩沈澱法は応用できない。一般に市販アイスクリーム中にスタビライザーとして使用されるNa-CMCは0.2~0.3%附近にあるが、アルギン酸およびゼラチンなどと併用する製品もあるので、これらについては現在のところ第2報²⁾のごとくNa-CMCのD.S.の平均検量線から求めるほかない。今後Na-CMCを定量するにあたって0.2~0.3%のごとく割合にその含有率が少ないときは、ナフタレンジオール法を、多いときは銅塩沈澱法を応用するのが有利であると思われる。Na-CMC、とアルギン酸の分離定量法については実験を継続する予定である。

本実験に御援助をいただいた宮島弘輔技官に感謝します。また実験材料を提供していただいた明治乳業株式会社および雪印乳業株式会社に厚くお礼申し上げます。

文 献

- 1) 藤井清次, 原田基夫: 本誌, 75, 33 (1957).
- 2) 藤井清次, 林 敏夫, 原田基夫: 本誌, 76, 75(1958).
- 3) Neu R.: *Deut. Lebensm.-Rundschau*, 46, 207-8 (1950). *C.A.*, 64, 8574 d
- 4) Sevag, M. G. *et al*: *J. Biol. Chem.*, 124, 425 (1938); *Ibid.*, 140, 833 (1941).
- 5) 藤井清次, 原田基夫: 本誌, 75, 471 (1957).

Summary

A method has been developed for determining the assay value and degree of substitution of sodium carboxymethylcellulose used as stabiliser in ice-cream. The method examined here is consist of two steps. In the first procedure, the copper salt of carboxymethylcellulose is precipitated, weighed, and analyzed for copper content iodometrically. In the second procedure, this copper salt precipitate is dissolved with sulfuric acid, and heated in water bath to produce glycolic acid, then determined their color intensity by spectrophotometer. The degree of substitution and sodium carboxymethylcellulose may be readily determined from the weight of the copper salt precipitate and copper content, and glycolic acid assay value. The data resulting from the first procedure are given in Tables 1, 2, 3 and 4, and the others from the second procedure are given in Tables 5 and 6. The copper salt precipitation method was interfered by alginic acid. The method presented here can be applied with reasonable accuracy to determination of sodium carboxymethylcellulose in ice-cream free from alginic acid.

Received May 31, 1958,

合成樹脂製容器の研究 (第4報) メラミン樹脂の溶出量について

Studies on Packaging in Synthetic Resins. IV. Determination of Extracted Materials in Melamine Resins

川 城 巖, 岡 田 太 郎, 細 貝 祐 太 郎

Iwao KAWASHIRO, Tarō OKADA, and Yūtarō HOSOGAI

まえがき メラミンとホルムアルデヒドとの縮合物であるメラミン樹脂は、不燃、耐熱、耐薬品性が尿素樹脂などより強いところから、各種の飲食物容器として広く使用されている。われわれは、第1報¹⁾においてメラミン樹脂製食器の4%酢酸溶出物を赤外線吸収スペクトルを使用して検討した結果、その溶出物はメラミンの吸収とよく一致していたので、先の第2報²⁾ 尿素樹脂溶出量についての報告と同様に、食品は酸性の場合が大部分をしめていることを考慮して、4%酢酸のはかに1%塩酸、1%クエン酸、3%乳酸、3%食塩水および蒸留水などの溶媒を使用してメラミン樹脂からの溶出液について、メラミン、全窒素、ホルマリンおよび蒸発残渣の定量を行つたので、この結果を報告する。

実験の部 (1) 溶出方法。一定濃度の溶媒約130ccを成型条件の一定したメラミン樹脂製のおわんに入れ、恒温槽に放置し、一定時間経過後、外に出し室温に冷えるまで放置し検液とした。

(2). メラミン標準検量曲線の作製*. メラミンは紫外部の235m μ に吸収極大があり、成型食器から前記各種の溶媒で浸出した溶出液と比較するために、メラミンの純品(日本カーバイドK.K.より分与されたもので窒素定量値は100%)を1~10 γ /ccの濃度にそれぞれ1%塩酸(220m μ より測定)、4%酢酸(230m μ より測定)、1%クエン酸(235.5m μ より測定)、3%乳酸(240m μ より測定)、3%食塩(220m μ より測定)、および蒸留水(220m μ より測定)に溶解し、紫外部吸収を測定したところ、溶媒が1%塩酸、3%食塩および蒸留水の場合は235m μ において、4%酢酸の場合は236m μ において、また1%クエン酸が237m μ 、3%乳酸が240m μ において、それぞれ吸光係数と試料の濃度との関係が Lambert-Beer の法則に一致することがわかつた。(Fig 1).

この結果溶媒が1%塩酸および4%酢酸の場合は、他の溶媒にくらべて特に吸光度が高い。

(3). メラミンの熱時における吸収極大の変化について。メラミンは熱時においてアメリン(Ammeline)に変化し吸収極大が235m μ に移動する。われわれはこの点を考慮し各種溶媒のなかでも吸光度の高かつた1%塩酸について、メラミンの6 γ /ccの溶液を作製し1~5時間煮沸して冷後220~260m μ における吸収を測定した。

Fig. 1. Standard curve

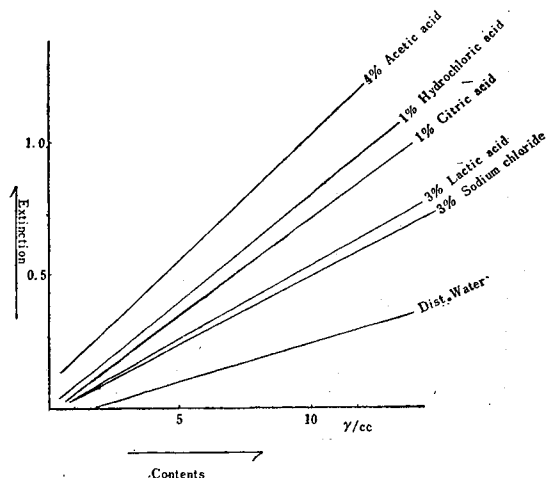
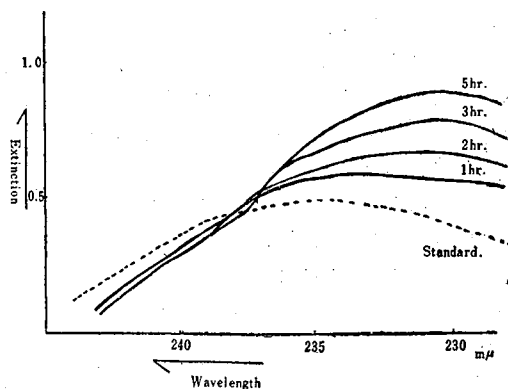


Fig. 2.



* 注：日立分光光度計EPU-2型を使用した。

この結果1~5時間の煮沸では、時間が長くなるにつれて230m μ に吸収極大が移動することがわかつた。(Fig 2).

(4). 成型食器より1%塩酸溶出物の煮沸時および加温時における吸収極大の変化について、同様に成型食器より1%塩酸の80°C, 10, 30および60分の溶出物をビーカーに入れ、さらに1時間煮沸し冷後その吸収を測定した。(Fig 3).

次にメラミン(6 γ /cc)1%塩酸溶液を食器より溶出する場合と同じ条件である80°Cで30分, 60分および80分加温したものの極大の移動を測定した。(Fig 4).

Fig. 3.

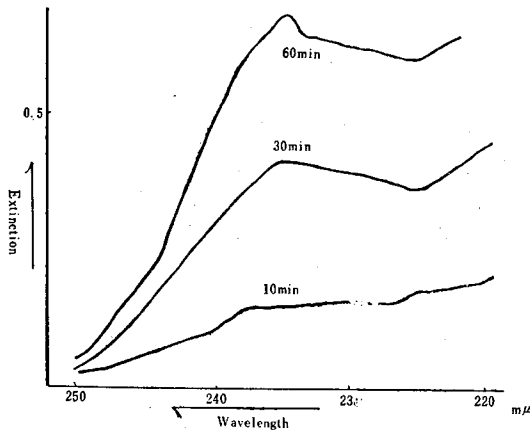
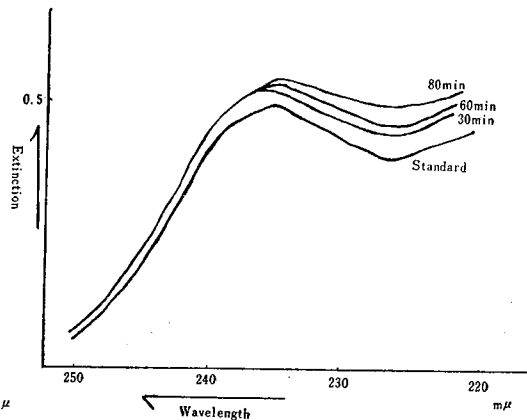


Fig. 4.



以上これらの結果より 234m μ 附近に極大が移動しメラミンが若干分解しつつある過程を示していることがわかつた。先にわれわれが作製した標準検量線は常温において調製し測定したものであるが、その後に行つた溶出実験は80°C, 10分, 30分および60分におけるものであり、これらの溶出物を先の標準検量線と比較することは当然若干の差があることが考えられるが、しかしその後に行つた溶出実験の条件および前記溶出時の結果よりみても、標準検量線の吸収極大とは大差なくそのままこの検量線を使用することとした。また使用した溶媒も各種あり、それらについて個々の加温時の極大の変化測定を行うべきであるが、1%塩酸がなかでも強酸であり、吸光度も高い点などから、樹脂より激しい溶出が予想されたので他の溶媒についての測定は省略した。

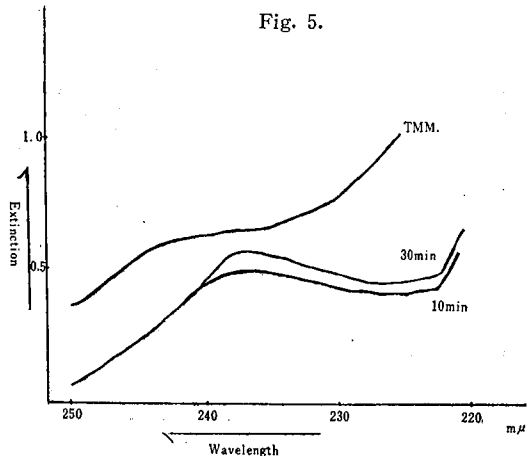
(5). トリメチロールメラミンの加温時における吸収極大の変化について、次に成型食器について溶出実験を行つた場合、樹脂中のトリメチロールメラミン(以下TMMと略記)が分解を受けずに溶出した場合、当然メラミンの標準検量線とは比較し得ないので、TMMを合成しこのものの10 γ /ccの1%塩酸溶液について、80°C 10分および30分加温時の吸収極大変化測定を行つた。(Fig 5).

この結果は80°C10分の加温でTMMは直ちにメラミンに分解することがわかつた。次に樹脂成型粉についても前記と同様な問題があるが、これらについても同様に実験を行つたところこれも直ちに加水分解することがわかつた。以上これら各基礎実験を経括すれば、われわれが溶出を行つた80°C, 60分および30分ではTMMは直ちに加水分解するが、アメリンまではこの程度の酸性時の加温では変化しにくいことがわかつた。

(6). ホルマリンの定量。フェリシアン化カリウムとフェニルヒドラチンにより遊離ホルマリンの比色定量(ビタリ法)を溶出液について行つた。

(7). セミマイクロケルダール法による全窒素の定量および蒸発残渣の定量(塩酸および酢酸についてのみ行つた)。常法による。

Fig. 5.



以上これらの各試験を成型条件 150°C~180°C, >150kg/cm² (内容130cc, 昭和化学製) のおわんについて80°C

で60分, 30分および10分における各溶媒からの溶出試験を行つた. (Table 1).

Table 1. Determination of Melamine Resins Extracted with Solvent (80°C)

Solvent	Time, min.	Melamine γ	Total-N γ	Formalin γ	Evap. Residue γ	pH
Hydrochloric acid 1 % in water	10	20	15	3	64	—
〃	30	20	19	16	67	
〃	60	116	71	20	150	
Acetic acid 4 % in water	10	24	16	11	50	2.5
〃	30	38	10	24	60	
〃	60	55	26	44	43	
Citric acid 1 % in water	10	1	1	1	—	2.5
〃	30	3.6	1.5	2	—	
〃	60	1.5	1	4.5	—	
Lactic acid 3 % in water	10	2.6	3	1	—	2.2
〃	30	3.0	3	2	—	
〃	60	15.4	10	3	—	
Sodium chloride 3 % in water	10	3.8	3.5	1	—	6.4
〃	30	8.0	6.1	1.5	—	
〃	60	14.0	9.0	4.5	—	
Dist. water	60	10.0	7.0	3.5	—	5.8

これらの結果でメラミン溶出量は1%塩酸, 4%酢酸, 3%乳酸, 3%食塩, 1%クエン酸および蒸留水の順で減少している。またホルマリン溶出量は4%酢酸, 1%塩酸, 1%クエン酸, 3%食塩, 蒸留水および3%乳酸の順で減少し, 蒸発残渣は1%塩酸および4%酢酸の場合は多量であつた。

総括 各種食品中に含有される成分と同じ酸類などを使用してメラミン樹脂製容器からの溶出実験を行つた。この結果メラミン樹脂は尿素樹脂にくらべて溶出量も少なく, 極めて衛生的であると思われる。なおわれわれが採用したメラミンの紫外外部吸収定量法によれば, 尿素樹脂とメラミン樹脂との混合樹脂の場合にもメラミン溶出物のみの定量ができる。

文 献

- 1) 川城 巖, 岡田太郎, 大場祐太郎: 本誌, 75, 317 (1957).
- 2) 川城 巖, 岡田太郎, 細貝琢磨: 本誌, 75, 323 (1957).

Summary

Some components of the eluate which was eluted from the melamine-formaldehyde resin by hydrochloric acid 1 % in water, acetic acid 4 % in water, citric acid 1 % in water, lactic acid 3 % in water, sodium chloride 3 % in water and dist. water, were determined. For the microdetermination of total-nitrogen, the Kjeldahl method was available. For the microdetermination of melamine, the ultraviolet absorption spectrophotometric method was available. For the determination of liberated formaldehyde, the Vitali method was available. (Table 1).

Received May 31, 1958.

ロウオルフィア・アルカロイドの定量に関する研究 (第3報)*

重量法による総アルカロイドの定量について

山口 一孝, 庄 司 初 枝, 伊 藤 巳 代 子

Studies on the Determination of Alkaloids from *Rauwolfia serpentina*

BENTH. III. Gravimetric Determination of Total Alkaloids

Kazutaka YAMAGUCHI, Hatsue SHŌJI and Miyoko ITO

ロウオルフィア・アルカロイドの定量法はインド薬局方¹⁾に記載されている。インド薬局方ロウオルフィアの定量では生薬末をエーテル・クロロホルム(3:1)に希アンモニア水を加えた混液で、ロウオルフィア・エキスの定量ではクロロホルムに95%アルコールおよびアンモニア水を加えた溶媒で抽出し、のちエーテルを追加している。両法ともに、次にN/2硫酸でふりまぜ、転溶した部分を総アルカロイドとしている。しかしレセルピンはそのクロロホルム溶液(エーテルもアルコールも加えない)をN/2硫酸で振つてもほとんど定量的にクロロホルム層に残留することが Mc. Mullen ら²⁾により報告され、著者らも同溶媒から酸転溶によるレセルピンの移行率を検討し Table 1 の成績を得てこれを確認した³⁾。

しかしながら溶媒に純クロロホルムを用いる代りに、エーテル・クロロホルム(3:1)を用いる場合は移行率は全く異つたものとなり、レセルピンの大部分はむしろ酸層に移行することが、昭和31年および32年度厚生研究において他の研究者によつて指摘されている⁴⁾。

著者らは総アルカロイド抽出の際に、これらの溶媒組成が異なると定量値にいかなる影響を与えるかについて次の検討を行った。

実 験 の 部

(1) レセルピン・クロロホルム溶液の酸転溶による移行率。

レセルピンの定濃度クロロホルム溶液(4.704mg/40cc) 40ccを0.5N 硫酸各25, 20, 20, 15ccで4回抽出し、クロロホルム層は水10ccで洗い洗液は硫酸抽出液に合し、28%アンモニア水 10ccを加えアルカリ性とし、クロロホルム10ccずつで3回抽出し、クロロホルム層を合し、水10cc ずつで3回洗う。最初のクロロホルム層および後のクロロホルム層をそれぞれ定容にクロロホルムで規正した後 268m μ , $l=1$ cmで吸光度を測定し、両液相に分配するレセルピン量およびその分配比を求める。0.01N硫酸の場合もこれに準ずるが、このときはクロロホルム溶液 40ccを0.01N硫酸40ccとふりまぜ以下前法に準ずる。得た成績は Table 1 のとおりであつた。

Table 1. Distribution of Reserpine between Chloroform and Acidic Layers.

Original Chloroform Solution 29.4mg/250cc			Remained in Chloroform layer				Extracted to acidic layer				Total
e_{268}	γ/cc	mg	e_{268}	γ/cc	mg	%	e_{268}	γ/cc	mg	%	%
Extr. w. 0.5N-H ₂ SO ₄											
0.666	23.6	29.5	0.500	17.6	27.5	93.2	0.033	1.05	0.33	1.11	94.3
0.666	23.6	29.5	0.502	17.7	27.63	93.6	0.033	1.05	0.33	1.11	94.8
Extr. w. 0.01N-H ₂ SO ₄											
0.666	23.6	29.5	0.512	18.1	28.3	95.9	0.005	0.15	0.047	0.16	96.0
0.666	23.6	29.5	0.501	17.7	27.63	93.6	0.007	0.22	0.069	0.23	93.8
0.666	23.6	29.5	0.494	17.4	27.19	92.2	0.016	0.54	0.169	0.57	92.7

* 第2報 山口一孝, 太幡利一, 庄司初枝; 薬誌 77, 341 (1957).

(2) エーテル・クロロホルム(3:1)による各種ロウオルフィアエキスの抽出

印局の条件に準じ、エーテル・クロロホルム(3:1)を用い各種ロウオルフィアエキスの抽出を試みた。エキスの総アルカロイドとして約10mgに相当する量を共栓フラスコ中に秤り、エーテル・クロロホルム(3:1) 100 cc, 希アンモニア水 10cc を加え室温で3時間ふりまぜ抽出し、残留物は同溶媒で蒸発残留物がアルカロイドの反応を呈しなくなるまで抽出を繰返し、抽出液を合し汙過したのち、0.5N硫酸25, 20, 20, 15, 15ccずつで5回抽出を繰返し、エーテル・クロロホルム層(A)は水 10ccで洗い、洗液は硫酸抽出液に合し、これに28%アンモニア水10ccを加えアルカリ性とし、クロロホルム30, 20, 20, 10ccずつで4回抽出し、クロロホルム層を合し、水で洗い、蒸発して得た残留物を80°で恒量になるまで乾燥し、秤量し強塩基性アルカロイドとする。

クロロホルム層(A)は次に2%クエン酸 30, 20, 10, 10ccずつで4回抽出し、水層を合しクロロホルム 30ccで洗う。クロロホルム洗液はさらに2%クエン酸で抽出し水層に合する。クエン酸性水層はアンモニア・アルカリ性とし、クロロホルム30, 20, 20, 10ccずつで4回抽出し、合併し、その蒸発残留物を80°で恒量乾燥し弱塩基性アルカロイドとする。得た成績を印局ロウオルフィア・エキス定量法による値と比較した成績を Table 2 に示す。

Table 2. Gravimetric Determination of Total Alkaloids from Rauwolfia extracts. (I)

Samples	Total alkaloid % by Indian Ph. Codex. "Rauwolfia extracts"	The Method, extr. w. Et ₂ O—CHCl ₃ (3:1)		
		Strong base %	Weak base %	total Alkaloids %
6 % Extr.	5.83	5.53	0.32	5.85
		5.55	0.24	5.79
8 % "	8.84 8.69	5.92	0.28	6.20
		5.93	0.12	6.05
90% "	90.34 93.19	63.98	4.19	68.17
		65.02	3.36	68.38
No. 4	10.52 11.06	9.74	0.36	10.1
		8.97	0.19	9.16
No. 5	7.8	5.47	0.20	5.67
		5.74	0.25	5.99

(3) レセルピン添加試料の移行率

(2)の方法により分離した強塩基部分だけを再びエーテル・クロロホルム(3:1)に溶解し上記の操作を繰返した場合の移行率を検討した。すなわち強塩基部分を円筒クロマトグラフィにかけレセルピン相当部分を除去した塩基について、そのないことを汚紙電気泳動により確認したものを試料として本法の操作を行った場合の移行率はTable 3(I)に示すごとく強塩基部分に66.8%, 弱塩基部分に0.85%計 67.65%に止まり、強塩基の30%以上は溶媒に移行しないことが明らかとなった。次にこの試料に純レセルピンの一定量を添加した試料について移行率を検討したのが同表(II)の成績で、この条件で、そのほとんど全量が弱塩基部分に移行することが推定される。

Table 3. Distribution of Strong Base free from Reserpine between Ether-Chloroform (3:1) and Acidic layers.

Samples and Solvents	Distribution % in		
	Solvents	0.5N-H ₂ SO ₄	Total
(I) Strong base+Et ₂ O+CHCl ₃ (3:1)	0.85	66.8	67.65
(II) (I)+Reserpine (1.82%)	2.73 (1.88)*	62.3	65.00

* 2.73—0.85=1.88

(4) クロロホルムによるロウオルフィアエキスの抽出

(2)法の溶媒を純クロロホルムに代え、以下抽出条件は同様にして重量法による総アルカロイドの定量を行った

成績は Table 4 のとおりである。

Table 4. Gravimetric Determination of Total Alkaloids from Rauwolfia extracts. (I)

Samples	Total alkaloid % by Indian Ph. Codex. "Rauwolfia extracts"	The Method, extr. w. CHCl_3		
		Strong base %	Weak base %	Total Alkaloids %
8 % Extr.	8.77	7.85	0.60	8.45
(1)	90.34	79.25	10.6	89.85
90% Extr. (2)	93.19	83.08	7.17	90.25
(3)		81.24	7.04	88.28

考察ならびに総括

本法の抽出溶媒にエーテル・クロロホルム(3:1)を用いたときの成績 Table 2 を通覧すると、低含量エキスでは印局 "Rauwolfia Extracts" による定量成績とほぼ一致するが、試料に 90%エキスをを用いたときは印局法 90~93% に対し、本法では約 68%と著しく低い値を示し、この差は主として両法で使用する抽出溶媒の組成のちがによるものと推察される。

(2)および(3)の実験の成績からして、総アルカロイド定量用の抽出溶媒としてエーテル・クロロホルム(3:1)は決して適当と考え難いので、溶媒を純クロロホルムに代えて行つた成績が Table 4 のとおりで、特に 90%エキスを試料とする成績は前法(2)に比し強塩基部分で 15%以上、弱塩基部分で 3~6%の増加をみ、総含量は印局ロウオルフィアエキス定量法による成績とほぼ一致した。レセルビンのクロロホルム溶液からの酸転溶に対する態度が Table 1 のとおりであることから考えると、この場合レセルビンの大部分は弱塩基部分に移行するものと考ええるが、レセルビンの両層への分配に関してはさらに検討の上報告したい。

文 献

- 1) Ind. Pharm. codex. Vol. I, 9217 (1953).
 - 2) Mullen, Mc., *et al.*; *J. Am. Pharm. Assoc., Sci Ed.*, 44, 446 (1955).
 - 3) 昭和31年度厚生科学研究報告 p.153 (1957).
 - 4) 昭和31年度厚生科学研究報告 p.170 (1957).
- 昭和32年度厚生科学研究報告 p.103, p.110 (1958).

Summary

Assay of total alkaloids of Rauwolfia is described in Indian Pharmaceutical Codex. The present experiment was carried out to separate quantitatively the strong base and the weak base from total alkaloids by gravimetry. In this experiment, a satisfactory result was obtained when pure chloroform was used as solvent instead of ether-chloroform (3:1).

Received May 31, 1958.

ロウオルフィア・アルカロイドの定量に関する研究 (第4報)

レセルピンの沝紙電気泳動による分離定量について

山口 一 孝, 庄 司 初 枝

Studies on the Determination of Alkaloids from *Rauwolfia serpentina* BENTH. IV.

Quantitative Separation of Reserpine by Paper Electrophoresis.

Kazutaka YAMAGUCHI and Hatsue SHÖJI.

Sakal, Merrill¹⁾ はロウオルフィアエキス中のレセルピンを沝紙電気泳動により分離して, 5 M 酢酸で溶出した溶液の 259.25, 267, 275m μ における吸光度を測定し, この値に Morton 補正を適用して補正式(1)を求め, これによつて補正した $E_{267}^{1\%}$ (corr) 値を純レセルピンの $E_{267}^{1\%}$ と比較して, エキス中のレセルピンを定量している。著者らはこの報告を追試し若干の知見を得たので報告する。

実 験 の 部

(1) 純レセルピン-5M酢酸の吸収

純レセルピン: 武田薬工株式会社より提供を受けた Rerpine を用いた。本品は mp267° (decomp.), $[\alpha]_D$: -118 (chcl₃)。あらたに製した本品の純クロロホルム溶液の紫外部吸収は 268, 295~296m μ に最大吸収を有し, 両波長部位における吸収比は $A_{298}/A_{295} = 1.841$ を示す。

純レセルピン-5M酢酸溶液について実測した結果は Table 1 および Fig 1 (実線) のとおりで, 平均をとれば Sakal らの結果とほぼ一致する。

Table 1 U.V. Absorption of Reserpine 5M HoAc Solution

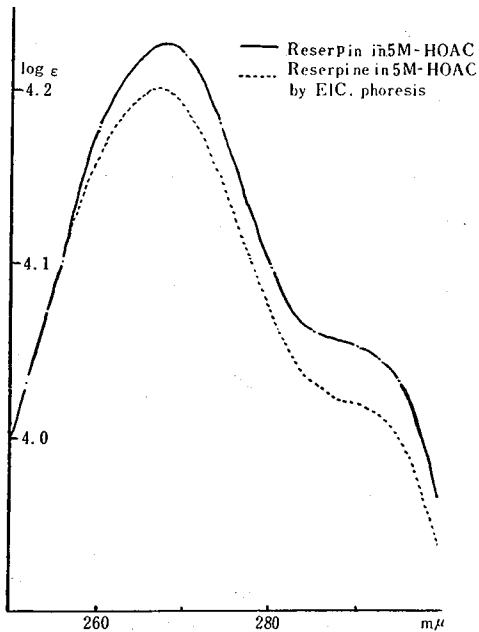
	$E_{267}^{1\%}$	$E_{290}^{1\%}$	Wave length at same absorptions ratio	absorptions ratio
Values of Sakal et(1)	278	187	$\frac{267}{275} = \frac{267}{259.25}$	1.147
Experiments	(1) 267.1	173.9	$\frac{267}{274} = \frac{267}{259.5}$	1.124
	(2) 296.4	200.3	$\frac{267}{275} = \frac{267}{259.25}$	1.146
	(3) 267.7	179.9	$\frac{267}{275} = \frac{267}{259}$	1.157
	(4) 277.3	188.3	$\frac{267}{275} = \frac{267}{259.25}$	1.143
	(5) 278.6	188	$\frac{267}{275} = \frac{267}{259.25}$	1.154
av.	277.4	186.1	$\frac{267}{275} = \frac{267}{259.25}$	1.145

この結果から Morton 補正式を求めると Sakal 等の式(1)と若干異なる(1')式が得られる。

Sakal らの補正式: $D_{267}(\text{Corr}) = 7.802 D_{267} - 3.840 D_{275} - 3.963 D_{259.25}(1)$

実験から得た補正式: $D_{267}(\text{corr}) = 7.897 D_{267} - 3.886 D_{275} - 4.011 D_{259.25}(1')$

Fig1. U.V. Absorption Curves of Reserpine in 5M-Acetic Acid



(2) 純レセルピンの沔紙電気泳動による検出率

定電圧電源装置および沔紙電気泳動装置は第1報²⁾による著者らの試作品を使用した。

Sakalらは試料 40r を用いているが、著者らは Whatman No1 沔紙 8.5×40cm を用い試料 400r を注加して良好な分離を行うことができた。この量をとると溶出液を10ccとすることができ、1cmのセルを用い2回測定が可能となる。泳動は5M-酢酸を電解液とし、700V 2時間 28°で行った後、紫外線下に螢光を検すると泳動距離 9.5~12.3cm の部位に黄緑色螢光帯を認める。この部位を切り取り、5M-酢酸で溶出し吸収曲線を求めると Fig 1 (点線) のとおりであり、λ_{max} 267 mμ、等吸収波長部位における吸光比は $D_{267}/D_{259} = D_{267}/D_{274} = 1.125$ 、 D_{267} を(1')式で補正して求めた $E_{267}^{1\%}$ (比吸光度) = 256.5で、純レセルピン-5M 酢酸溶液の $E_{267}^{1\%}$ の平均値 277.4 (Table1) との比から検出率を求めると平均 92.5%であつた。Table 2 に本法による純レセルピンの泳動後の検出率を示す。

Table 2. Recoveries of pure Reserpine afetr Paper Electrophoresis

Reserpine 308.9r/10cc	measured absorbancy at				Corrected by formula (1')		Reserpine % = $E_{267}^{1\%}(\text{Corr})/2.774$
	D_{259}	D_{267}	D_{274}	(D_{275})	$D_{267}(\text{Corr})$	$E_{267}^{1\%}(\text{Corr})$	
(1)	0.715	0.800	0.710	0.687	0.777	251.5	90.7
(2)	0.720	0.810	0.720	0.695	0.808	261.5	94.3
AV	0.718	0.805	0.725	0.691	0.793	256.5	92.5

$$D_{267}/D_{259} = D_{267}/D_{274} = 1.125, \lambda_{\text{max}} 267\text{m}\mu.$$

Table 2 の D_{259} 、 D_{267} 、 D_{274} からMorton補正式(2)を求めた。本式は泳動後のレセルピンの補正式である。

$$D_{267}(\text{corr}) = 9.00D_{267} - 4.797D_{274} - 4.203D_{259}(2)$$

(3)ロウオルフィアエキスの定量 6%および90%ロウオルフィアエキスについて、Table 3, 4 に示す条件下に沔紙電気泳動を行い、分離溶出した検液の各波長における吸光度を測定し、(2)式によつて補正值 $D_{267}(\text{corr})$ および $E_{267}^{1\%}$ を求め、この値と純レセルピンの泳動後の $E_{267}^{1\%} = 256.5$ との比から試料中のレセルピン量を求めた。試料をアシモンニア・アルカリ性で、クロロホルムまたはエーテル・クロロホルム (3 : 1) で抽出した液およびこれを0.5N-硫酸とふりまぜ転溶した部分を強塩基性部分とし、転溶しない部分を弱塩基性部分とし、各部分を真空デシケータ (P_2O_5) 中室温で乾燥したもの的一定量について定量を行つた。これら各部分の試料に対する割合は重量法により求めたが、それらを総括して Table 3, 4 に示す。

Table 3. Assay of Reserpine in 6% Rauwolfia Extract. by Paper Electrophoresis

	Fractions used fov Assay.		
	Total CHCl_3 extr.	Soluble to 0.5N- H_2SO_4 (Strong Base)	In Soluble to 0.5N- H_2SO_4 (Weak Base)
used Voltage	700	700	700

	Fractions used for Assay.		
	Total CHCl_3 extr.	Soluble to 0.5N- H_2SO_4 (Strong Base)	Insoluble to 0.5N- H_2SO_4 (Weak Base)
mA/ 8.5cm	2.5~3.0	2.5~3.5	2.5~3.0
hrs.	2.0	2.25	2.0
Migrated distance (cm)	12.6~13.4	15.6~16.3	11.7~13.5
D_{250}	0.57	0.071	0.185
D_{267}	0.59	0.074	0.200
D_{274}	0.54	0.070	0.188
D_{267} (Corr)	0.324	0.0318	0.1216
$E_{267}^{1\%}$	23.14	3.35	19.27
Reserpine%	9.02	1.31	7.51
% of each fraction in total extract*		(1) 4.89 (2) 4.89	(1) 2.16 (2) 2.16
Reserpine % in total extract	(0.23)+	0.064	0.162

+ Sum of Percent of two fractions.

* Determine by gravimetric method.

Table 4. Assay of Reserpine in 90% Rauwolfia Extract by Paper Electrophoresis.

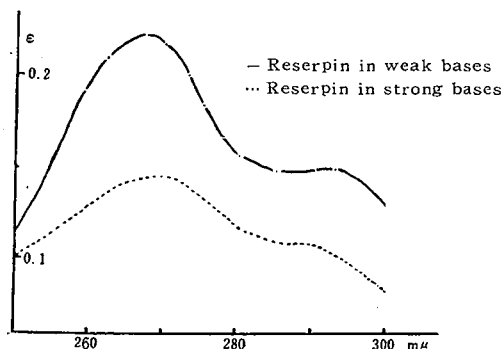
	Fractions used for Assay					
	Total ether-chloroform (3:1) extr.		Soluble to 0.5N- H_2SO_4 (Strong Base)		In Soluble to 0.5N- H_2SO_4 Soluble to 2% Citric acid (Weak Base)	
	I	II	I	II	I	II
Used Voltage	700	700	700	700	700	700
mA/ 8.5cm	2.5~3.0	2.5~3.0	2.5~3.0	2.5~3.0	2.5	2.5
hrs.	2	2	2.25	2.25	2	2
Migrated distance (cm)	12.7~13.2	10.9~11.4	10.0~10.6	8.7~10.0	7.8~10.0	9.2~10.0
D_{250}	0.331	0.184	0.369	0.472	0.800	0.745
D_{267}	0.330	0.195	0.374	0.461	0.821	0.780
D_{274}	0.302	0.181	0.343	0.417	0.740	0.710
D_{267} (corr)	0.130	0.112	0.170	0.165	0.477	0.483
$E_{267}^{1\%}$	9.79	9.37	4.71	4.58	103.7	105.0
Reserpine % in each fraction	3.82	3.65	1.84	1.79	40.43	40.94
av.	3.74		1.82		40.69	
% of each fraction in total extract*	75.96		72.81	68.28	5.95	5.88
av.	75.96		70.54		5.92	
Reserpine % in total extract	2.84		1.34	1.22	2.41	2.41
av	(3.68)+		1.28		2.41	

+ Sum of percent of two fractions.

* Determined by gravimetric method.

なお 0.5 N-硫酸転溶部分ならびに非転溶部分から濾紙電気泳動により分離検出された レセルピンの吸収曲線はFig 2のとおりで、純レセルピンの吸収曲線とよく一致している。

Fig 2 U.V. Absorption Curves of Reserpine isolated from Rauwolfia extract by Paper Electrophoresis.



(4) 純レセルピンの吸光比について

本報告において標準品に用いた純レセルピンの吸収については既に述べたとおりであるが、なお数種の輸入されたレセルピンについて 5M-酢酸溶液の吸光比を求めた結果は Table 5 のとおりで必ずしも一致していない。いずれを標準値に採用するかについては将来さらに検討を要すると思う。

Table 5. U.V. Absorption of some imported Reserpine in 5M-HOAC Solution

Samples	$E_{267}^{1\%}$	$E_{290}^{1\%}$	Wave length at same absorptions ratio	Absorptions ratio
Values of Saka let. ¹⁾	278	187	$\frac{267}{275} = \frac{267}{259.25}$	1.147
Fhis report	277.4	186.1	$\frac{267}{275} = \frac{267}{259.25}$	1.145
B ₁	278	184	$\frac{267}{275} = \frac{267}{259.25}$	1.157
B ₂	282	187	$\frac{267}{275} = \frac{267}{259}$	1.15
C	292	187	$\frac{267}{275} = \frac{267}{259.25}$	1.19
D	300	185.3	$\frac{267}{275} = \frac{267}{259.25}$	1.24

本研究は昭和32年度厚生科学研究の一環として行つたものであり、費用の一部は同研究費によつた。終始御鞭撻、御指導いただいた当所刈米所長、厚生当局ならびに主任研究員加藤貞武博士に深謝する。

文 献

- (1) Sakal, E.H. Merrill E.J. : *J.Am. Pharm. Assoc., Sci. Ed.* 43. 709 (1954).
- (2) 山口一孝, 庄司切枝, 西本和光 : 薬誌, 77. 337 (1957).

Summary

Quantitative separation of reserpine on filter paper by electrophoresis was carried out and obtained the almost same result as Sakal and Merrill¹⁾ has been reported. When Whatman No 1 filterpaper 8.5×40cm is used, however, the quantity of sample can be increased to 400r as reserpine. Morton's calibrating equation was obtained from the absorptions of eluted reserpine after migration. Rauwolfia extracts were used as sample, and were migrated under the same conditions. The separated reserpine fraction was cut off, and eluted with 5M-acetic acid. It's absorbancy was measured at 259, 267 and 274mμ, and D_{267} (corr) was calculated from above equation. the content of reserpine was calculated from it's value.

Received May 31, 1958.

ロウオルフィア・アルカロイドの定量に関する研究 (第5報) *

円筒クロマトグラフ法によるレセルピンの分離定量の検討

山口 一孝, 福島 清吾, 伊藤 巳代子

Studies on the Determination of Alkaloids from

Rauwolfia Serpentina BENTH. V.

Studies on the quantitative Separation of Reserpine

by Column Chromatography

Kazutaka YAMAGUCHI, Seigo FUKUSHIMA, and Miyoko ITO

ロウオルフィア・アルカロイドの円筒クロマトグラフィに用いる溶媒として, なるべく容易かつ安価に入手し得るものを求め研究を行つた. この目的にそう溶媒としてまずクロロホルム (特級) を選び, 活性アルミナを用いて展開を行つたところ, ヒストグラム中におけるレセルピンの流出部位に再現性がなく, その原因は究明できなかった. 次に1%エタノール加クロロホルムを用いて展開を行つたところ, 流出部位の再現性は良好で, 100ccの溶出液を集めたときの検出率は99.45%であつた. 次にロウオルフィア・アルカロイドの弱塩基部分および総塩基部分について同一条件で溶出を行い, レセルピンに該当する流出部位100ccを集め, 259, 268, 278m μ における吸光度を測定し, 補正を行つた吸光値から $E_{1cm}^{1\%}$ を求め, レセルピンの定量を試みたが, 総アルカロイドを直接定量するには本条件ではなお分離不十分であつてさらに検討を要する.

実験成績

(1) 純レセルピン・クロロホルム溶液の吸収曲線

実測した結果は Fig. 1 (実線) のとおりである.

20.31 γ /cc, $l = 1$ cm, $\lambda_{max} 268m\mu$, $E_{1cm}^{1\%} (268m\mu) = 276.2$, $D_{268}/D_{259} = D_{278}/D_{259} = 1.171$

(2) 実測値から求めた補正式

以上の結果に基づいて Sakai ら¹⁾ の計算法に従つて補正式(1)を求めた.

$$D_{268}(\text{Corr}) = 6.838D_{268} - 3.241D_{278} - 3.597D_{259} \quad (1)$$

(3) 円筒クロマトグラフィの条件および操作法

(a) 吸着剤: "Brockmann" 活性アルミナ

(b) 展開溶媒および溶出溶媒: (4)に記す.

(c) 円筒管: 長さ55cm, 内径1.7cmの硬質ガラス管の先端を細く引いたもので活栓はない.

(d) 検液調製: 試料の一定量をクロロホルム (特級) 5ccに溶解する.

(e) 操作法: 吸着剤25gをクロロホルム (特級) 30ccとよく混和し, 円筒管に充填するにその高さは約12cmである. さらにクロロホルム40ccを加え吸着剤を洗滌する. 最後の液約10ccを対照液として使用する. 検液を円筒管中に流し込み, 次に(4)に記す溶媒を用い20cc/5~6分(12°)の流速で展開を行い, 流出液を20ccずつ分取し, その各々について吸収スペクトルおよび指定波長部位における吸光度を測定する.

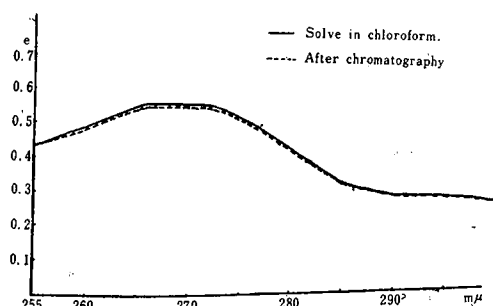


Fig 1. Absorption curve of pure Reserpine

(4) 純レセルビンのクロマトグラフィ

(a) 展開溶媒にクロロホルム (特級) を用いた場合, 上記条件で展開を行つたヒストグラムを Fig. 2 に示す.

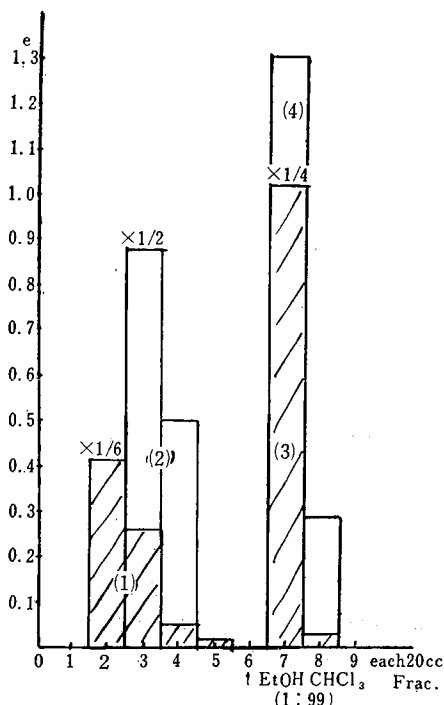


Fig. 2. Chromatographic Histogram of Reserpine eluted with pure Chloroform (at $268m\mu$).

すなわち同一条件で行つたつもりでも, ある場合は No. 2, 3 に集るが他の場合は No. 7 に至るも流出せず, これは 1% エタノール加クロロホルムによつて始めて溶出されるように再現性がなく, その原因を明らかにすることはできなかった.

(b) 1% エタノール加クロロホルムによる展開 (a) の結果に基づいて次に 1v/v% エタノール加クロロホルム混液を用いて同様条件で純レセルビンの展開を行つた. ヒストグラムは Fig. 3 のとおりで No. 2, 3 を中心とした 100cc 中にレセルビンの 99% 以上が集結され, ヒストグラムに再現性を認めた. Fig. 3 No. 2 の吸収スペクトルを Fig. 1 (点線) に示す.

Fig. 1 (点線) の吸収スペクトルより, $\lambda_{\max}=268m\mu$, $D_{263}/D_{259}=D_{268}/D_{278}=1.172$ で, この値はクロマト管を通過しない純レセルビンで得た値 1.171 とほとんど一致している. 次に改めてレセルビン 2.031mg を秤り検液を製し, 同様条件で展開を行いヒストグラム (Fig. 3 の No. 1~5 に該当する液量, すなわち 100cc を分取した液 (2.031 mg/100cc)) の 259, 268, 278 $m\mu$ における吸光度 (0.471, 0.552, 0.470) を測定し, 補正式を用いて $D_{268}(\text{Corr})=0.558$ を求め, これより $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ を求めると 274.7 であり, この条件におけるレセルビンのクロマトグラフィによる分離検出率は $274.7/276.2 \times 100 = 99.45\%$ であった.

(5) ロウオルフィア弱塩基の分離

第 3 報で得たロウオルフィア弱塩基を用い, (3), (4) (b) の条件に従つて展開を行つた. 各々 20cc ずつのフラクションの 268 $m\mu$ における吸光度を測定し得たヒストグラムは Fig. 4 のとおりで純レセルビン (4) (b) で行つたヒストグラム Fig. 3 とおおむね一致する. その中心部である No. 3 の吸収スペクトルは Fig. 5 のとおりではほぼレセルビンに一致し, なお $D_{268}/D_{259}=D_{268}/D_{278}=1.106$ であった.

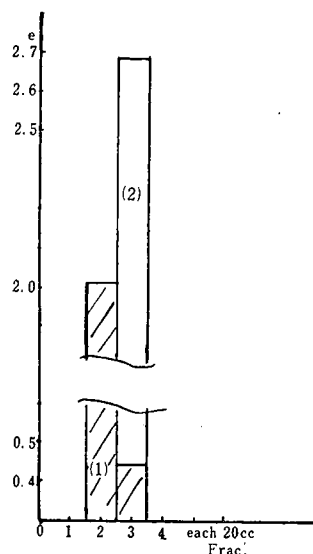


Fig. 3. Chromatographic Histogram of Reserpine eluted with 1% Ethanol-Chloroform. (at $268m\mu$)

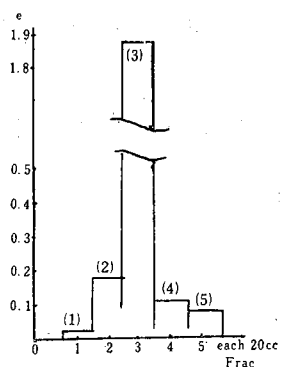


Fig. 4. Chromatographic Histogram of Weak Base from Rauwolfia Extract (at 268 mμ.)

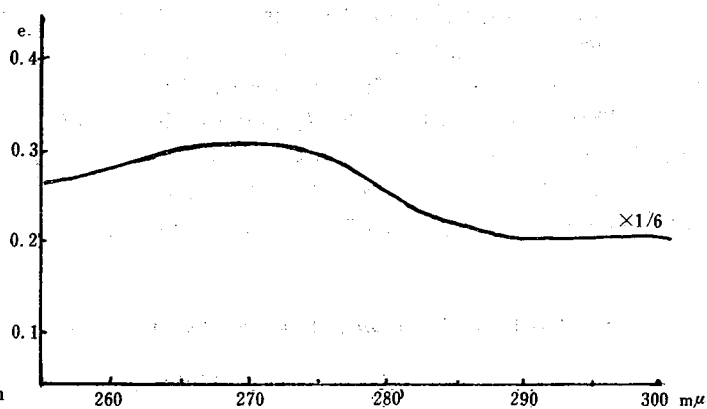


Fig. 5. Absorptions Curve of Reserpine separated from weak base of Rauwolfia extract.

改めて弱塩基 1.498mg を秤取し、同一条件で展開を行い、No. 1～5 に相当する 100cc を集め (1.498mg/100 cc) その吸光度を測定して、補正を行いレセルピン含量を求めた成績は Table 1 のとおりである。

Table 1. Assay of Reserpine in Weak base of Rauwolfia Extract.

	D_{259}	D_{268}	D_{278}	D_{268} (Corr)	$D_{1\text{cm}}^{1\%} (268)$	Reserpine %
1	0.188	0.206	0.187	0.127	84.8	30.7
2	0.196	0.215	0.194	0.136	90.8	33.3

(6) ロウオルフニア総アルカロイドの分離

ロウオルフニア総アルカロイドを試料に用いて(3), (4) (b) の条件で展開を行つたヒストグラムは Fig. 6 のとおりで各フラクションの吸収スペクトルを Fig. 7 に示す。同図点線はレセルピン以外の流出部分と推察される No. 1, 2, 4, 5 の一定量 (5 cc) ずつを混合した溶液の吸収スペクトルを示す。

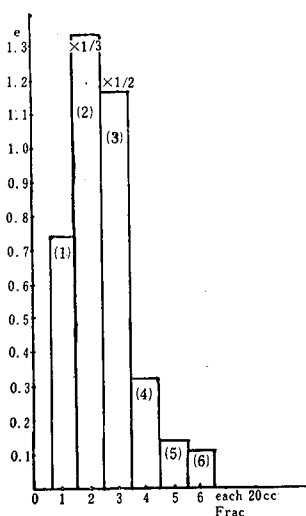


Fig. 6. Chromatographic Histogram of total Alkaloids of Rauwolfia Extract (at 268mμ).

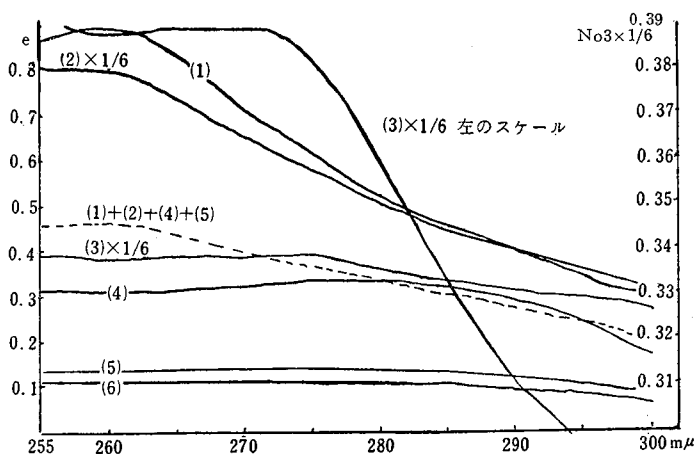


Fig. 7. Absorptions Curves of Chromatographic Fractions from Rauwolfia Extract.

レセルピンはこの場合も(4)(b)または(5)と同様におおむね No. 3 を中心に流出することが推察されるが、この場合は溶出液100ccを集めると吸収スペクトルを異にするほかの塩基も混入されているので、この条件では総アルカロイドからのレセルピンの直接分離にはなお不充分と考えられる。なお総塩基からの No. 1～5 に該当する溶出液 (3.12mg/100cc について測定した結果は $D_{250}=0.327$, $D_{268}=0.300$, $D_{278}=0.250$, $D_{268}(\text{Corr})=0.064$, $E_{1\text{cm}}^{1\%}(268)=20.83$, これよりレセルピン含量を求めれば7.54%となるが、この成績は参考データに止める。

本研究は昭和32年度厚生科学研究の一環として行つたものであり、費用の一部は同研究費によつた。終始御鞭達御指導いただいた当所刈米所長、厚生当局ならびに主任研究員加藤貞武博士に深謝する。

文 献

- 1) Sakai, Merrill; *J. Am. pharm. Assoc., Sci. Ed.* 43,709 (1954).

Summary

Chromatographic separation of reserpine from the total alkaloids of Rauwolfia extract using activated alumina was carried out. Separation and recoveries of reserpine were satisfactory if chloroform containing 1 % ethanol was used as eluant. But when the total alkaloids was used as sample, this condition seems to be unsatisfactory for perfect separation, and further studies must be required.

Received May 31, 1958.

ロウオルフィア・アルカロイドの定量に関する研究 (第6報)*

Rauwolfia chinensis のアルカロイドについて

山口 一孝, 庄 司 初 枝

Studies on the Determination of Alkaloids from
Rauwolfia Serpentina BENTH. VI.

On the Alkaloids of *Rauwolfia chinensis*.

Kazutaka YAMAGUCHI, Hatsue SHÖJI

Rauwolfia serpentina, *R. canescens*, *R. heterophylla* などの *Rauwolfia* 属植物 (Apocynaceae) は鎮静, 血圧降下剤として近年とみに注目されてきたが, 台湾に自生するホウライアオキ *Rauwolfia chinensis* も同属植物の一つである。

Rauwolfia chinensis の含有アルカロイドについては香港大学の Dr. H. R. Arthur の報告があると聞いているが, いまだこれを見ていない。著者らは *R. chinensis* の根約 30g を得たので, これについてレセルピンの確認定量を行い, なおその他若干のアルカロイドを確認し得たので報告する。

実 験 の 部

(1) 印度薬局方¹⁾による純アルカロイド量

台湾産 *R. chinensis* の根 30g を乾燥細末とし印度薬局方に従いそのアルカロイド量を定量したところ 0.736 % であつた。すなわち細末とした乾燥試料 10.980g をエーテル・クロロホルム (3 : 1) 100cc, 10%アンモニア水 10cc を加えた後, 3時間振盪抽出を行いエーテル・クロロホルムを分離する。残留物はなお完全にエーテル・クロロホルム (3 : 1) で抽出し, 抽出液を合し, 0.5N-硫酸で完全に転溶し, 転溶液はクロロホルム 10cc で洗滌後アンモニア・アルカリ性とし, クロロホルムで完全に抽出し, 抽出液を合し, 水洗後乾燥汚紙を用いて汚過し, 汚液は 50° 以下で減圧濃縮し, 得た残留物はデシケータ (P_2O_5) 上で乾燥し, 恒量として 80.8mg を得た。

(2) 緩衝液抽出による総アルカロイド中のレセルピン・フラクションの分離

得た総アルカロイド 80.8mg はクラーク・ラプス緩衝液で pH6.5 に調製しクロロホルムで抽出し, 抽出液を 50° 以下で減圧濃縮すると淡灰褐色の粉末状結晶 22.7mg を得た (28.1%)。さらにこれを少量のクロロホルムに溶かし, クロロホルム液は 2%クエン酸で抽出した。抽出液はアンモニア・アルカリ性として, クロロホルムで抽出し, クロロホルム抽出液は前回同様 50° 以下で減圧濃縮したところ mp145~150° の淡灰色の粉末結晶 8.9mg を得た (11.02%)。この部分はレセルピンフラクションに該当することが予想されたが, その紫外部および赤外部スペクトルはいずれもレセルピンのそれらとは完全に一致しなかつた。

総アルカロイドから各フラクションの分離操作は Table 1 に示すとおりである。

(3) 汚紙電気泳動によるレセルピンの分離および定量

第4報の汚紙電気泳動法により行つた。すなわち Whatman 汚紙 No. 1 を用いて “レセルピンフラクション” 113.2 γ を点滴し, 700V, 2時間 2.5mA/8.5cm の条件で電気泳動を行つた後, レセルピンに相当する螢光部分を切り取り, 5N-酢酸 5cc で抽出し, 一夜氷室に放置した後, 吸光度 D_{250} , D_{267} , D_{274} を測定し, 第4報に従つて Morton 補正を行つて得た D_{267} (corr) から $E_{267}^{1\%}$ を求め, この値と純レセルピン泳動後の 5M-酢酸溶液の $E_{267}^{1\%} = 265.1$ との比から “レセルピンフラクション” 中のレセルピン含量を求めると 14.1, 13.95% であり, 重量比から換算して総アルカロイドおよび根末中のレセルピン含量を求めると, それぞれ 1.546% 及び 0.01% であつた。

Table 2 にこれらの成績を示す。

Table 1. Separation of Alkaloids of *Rauwolfia Chinensis* by Extraction.

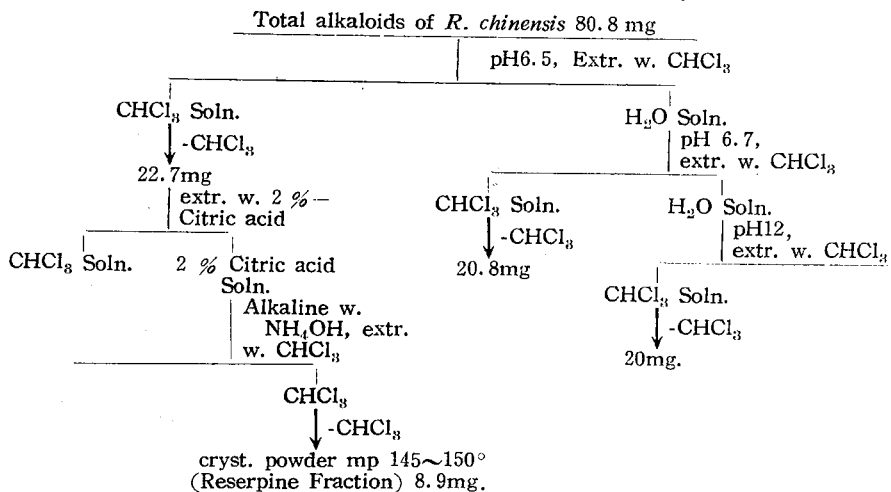


Table 2. Assay of Reserpine from Root of *Rauwolfia chinensis*

(a) Sample : "Reserpine Fraction"

Sample	Migrated Distance	D_{250}	D_{267}	D_{274}	$D_{267}(\text{corr})$	$E_{267}^{1\%}$
113.2 γ /5cc	6.9~7.1cm	0.122	0.130	0.120	0.0816	36.04
"	6.9~8.6	0.074	0.083	0.074	0.0810	35.78

(b) Reserpine contents %

in "Reserpine Fraction"	in Total Alkaloids	in Root
14.1 M14.03	1.546	0.01
13.95		

なお泳動後のレセルピン相当部分の 5N-酢酸溶液のスペクトルは純レセルピンの 5N-酢酸溶液のスペクトルと一致し、その $\lambda_{267}/\lambda_{259} = \lambda_{267}/\lambda_{274} = 1.12$ で、純レセルピンのそれとよく一致する。Fig. 1 は検出したレセルピン 5N-酢酸溶液の紫外吸収曲線である。

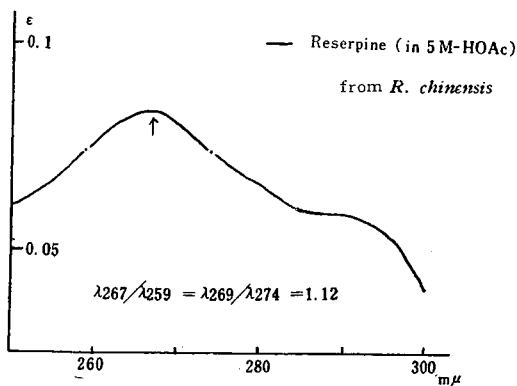


Fig. 1. U. V. Absorptions Curve of Reserpine from *Rauwolfia chinensis*.

(3) その他のアルカロイドの検出

“レセルピンフラクション”を電気泳動すると Fig. 2 のような各斑点を得た 6.9~8.6cm の泳動値を示す黄緑色の螢光を呈する斑点はレセルピンであるが、泳動値 3~4.4cm の淡青色の螢光を呈する斑点を特級アルコールに溶かし、その紫外吸収を測定したところアジマリンと一致した。

pH 12 以上の強塩基フラクションを同様に電気泳動すると Fig. 3 に示す数種の斑点を得た。泳動値 10.2~12.1cm の濃青色の螢光を呈する斑点を同様に特級アルコールで溶出し、その紫外吸収スペクトルを測定してアジマリンを同定し得た。Fig. 4 にレセルピン、アジマリン、アジマリンの紫外吸収スペクトルを示す。

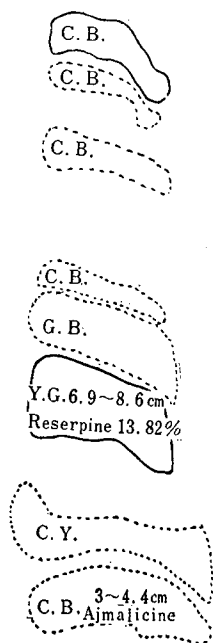


Fig. 2. Electrophoresis of "Reserpine Fraction"

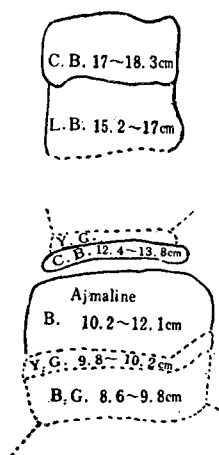


Fig. 3. Electrophoresis of "Strong Base"

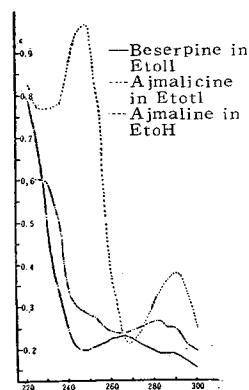


Fig. 4. Absorption Curves of Reserpine, Ajmalicine and Ajmaline from *Rauwolfia chinensis*

本研究にあたり材料を恵与され、御指導を賜わった所長刈米先生、ロウオルフニア・アルカロイド各種の標品を恵与くださった大日本製薬K.K. 金子氏に深甚の謝意を表する。

文 献

- 1) Ind. pharm. Codex. Vol. I. p217 (1953).

Summary

Reserpine, ajmalicine and ajmaline were detected from the root of *Rauwolfia chinensis* (*Apocynaceae*) which grows in Formosa.

These alkaloids were separated from each others by extraction using buffer solution, followed by paper electrophoresis. The separated alkaloids were determined by comparison of their U. V. absorption curves to those of authentic samples.

Received May 31, (1958).

あへんの紫外線吸収スペクトルについて (第1報)

採汁回数別あへんの吸収スペクトルの異同および吸光度の比

朝比奈晴世, 大野昌子

Ultraviolet Absorption Spectra of Opium Samples. I.

Differences between Ultraviolet Absorption Spectra and Absorbance

Ratios of Opium Samples Obtained by Successive Lancings.

Haruyo ASAHINA and Masako ŌNO

まえがき Grl¹⁾は、各国産あへんの水溶液について測定して得た紫外部の吸収スペクトルおよび吸光度の比をそれぞれ比較して、産地との関連性を証明し、スペクトログラムの変化は、あへんに含まれるアルカロイドの含量の相違に基づくものとした。あへん溶液の直接吸光度測定法は、昭和33年1月、ジュネーブで開かれた国際連合あへん専門委員会においても、産地鑑別の有力な一手段であると主張された²⁾。

一方、あへんは採汁回数が増加するにつれてモルヒネの含量が非常に減少すること³⁾と他のアルカロイド含量も変化すること⁴⁾がすでに知られているので、採汁回数ごとに区別して得られたあへんの吸収スペクトログラムを確かめるため、直接吸光度測定を行った。

実験の部

実験材料 接続切および反対切による採汁回数別あへん。

試料の調製 あへん 25 mgに、Walpole の酢酸ナトリウム-塩酸緩衝液 (pH 3.95)⁵⁾ 数滴を加えて1分間すりまぜ均一にしたのち、緩衝液 5 ccを加えて3分間攪拌する。これを 25 cc のメスフラスコ中に汙過し、緩衝液で全量を 25 cc にしたのち、さらにその 2 cc を別のメスフラスコ中にとり、同様に全量を 25 cc に希釈する。すなわち、試料はあへんの 0.008 % 溶液である。

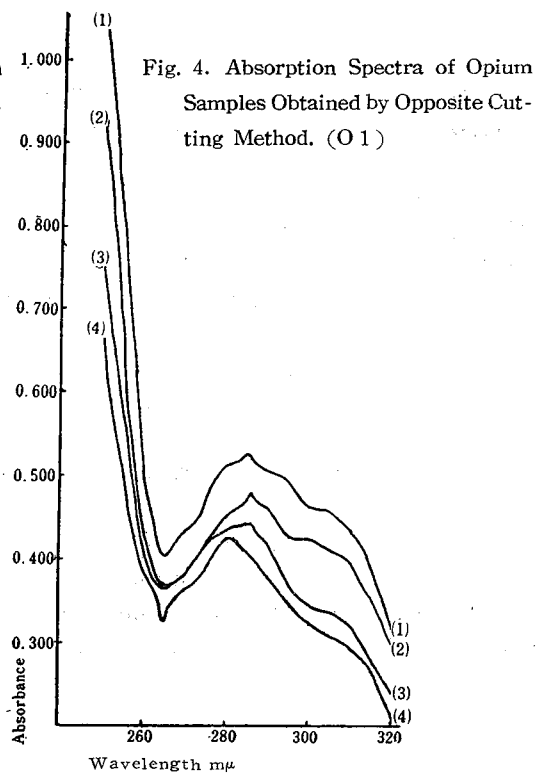
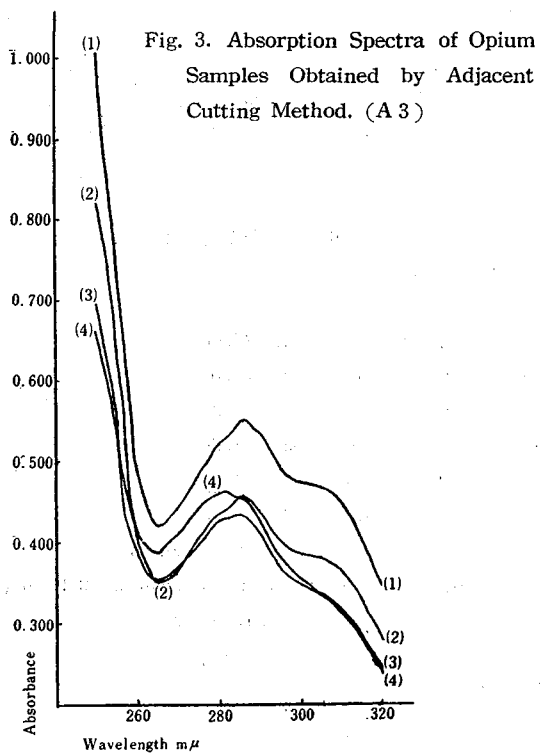
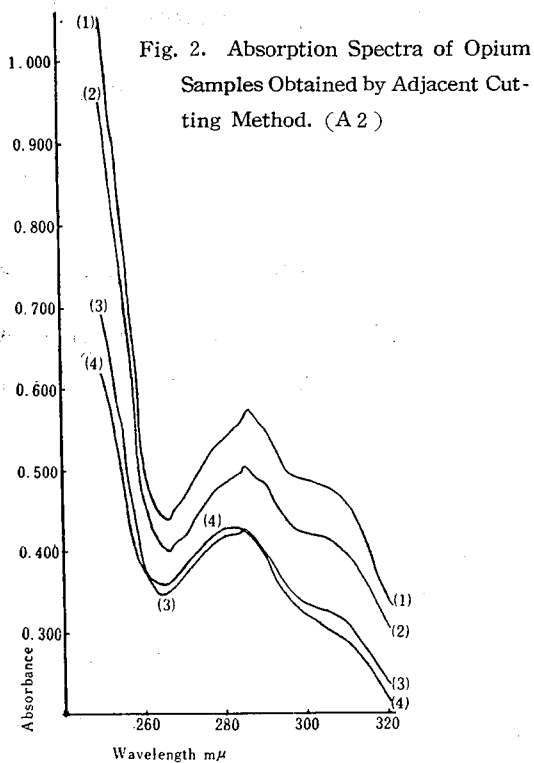
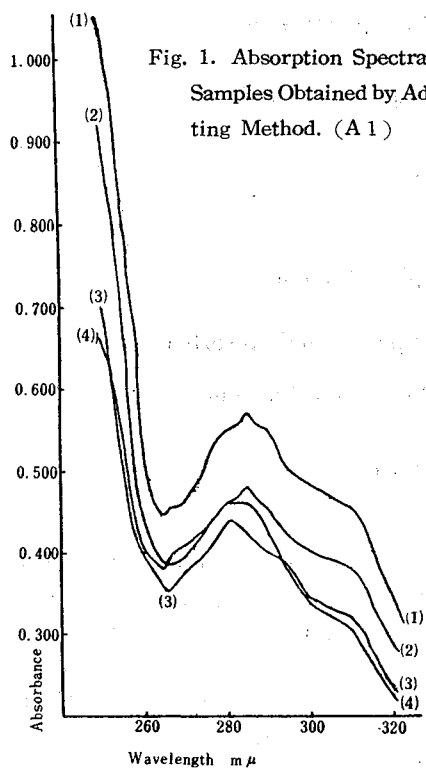
吸収スペクトルの測定 調製した試料を 1 cm のセルに入れ、Beckman DU 型分光光度計を用いて、波長 250 ~ 320 mμ における吸光度を測定したが、その結果は Fig. 1 ~ Fig. 6 のとおりであつた。

試料のあへん量

Fig. 1	(1) 24.6mg	(2) 24.6mg	(3) 24.2mg	(4) 25.0mg
Fig. 2	(1) 25.5mg	(2) 24.6mg	(3) 24.8mg	(4) 25.0mg
Fig. 3	(1) 24.6mg	(2) 25.2mg	(3) 25.0mg	(4) 25.3mg
Fig. 4	(1) 25.0mg	(2) 24.0mg	(3) 25.1mg	(4) 24.6mg
Fig. 5	(1) 25.0mg	(2) 24.7mg	(3) 25.1mg	(4) 24.5mg
Fig. 6	(1) 24.4mg	(2) 25.0mg	(3) 25.0mg	(4) 25.0mg

(1) : 1st lancing (2) : 2nd lancing (3) : 3rd lancing (4) : 4th lancing

また、260, 270, 280, 290, 300, 310 mμ における吸光度の相互の商 E260/E270, E280/E290, E300/E310 は Table 1 のとおりで、これらをそれぞれ縦軸、横軸に組合せて図示すれば、Fig. 7 ~ Fig. 9 のとおりである。



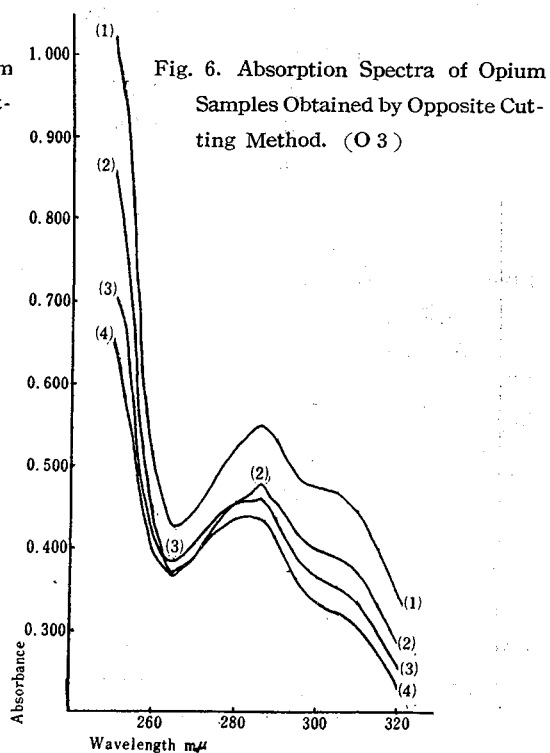
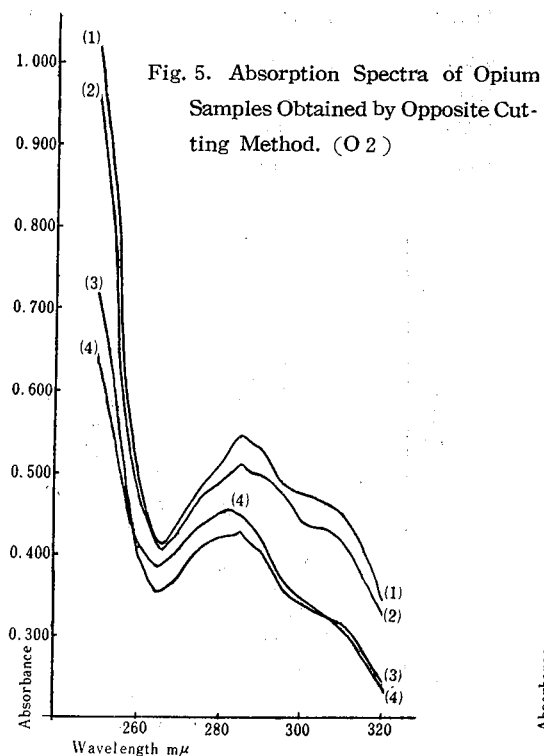


Table 1. Absorbance Ratio of Opium Samples.

Sample	E 260/E 270	E 280/E 290	E 300/E 310
A 1 (1)	1.130	0.998	1.062
(2)	1.114	1.031	1.055
(3)	1.064	1.088	1.075
(4)	0.988	1.093	1.105
A 2 (1)	1.092	0.982	1.068
(2)	1.121	1.002	1.060
(3)	1.038	1.050	1.077
(4)	0.997	1.081	1.110
A 3 (1)	1.125	0.972	1.053
(2)	1.120	0.989	1.058
(3)	1.049	1.037	1.092
(4)	1.000	1.080	1.117
O 1 (1)	1.157	1.012	1.060
(2)	1.132	0.978	1.058
(3)	1.053	1.048	1.078
(4)	1.060	1.118	1.118
O 2 (1)	1.119	0.962	1.056
(2)	1.129	0.986	1.060
(3)	1.081	1.037	1.076
(4)	1.007	1.074	1.113

Sample	E 260/E 270	E 280/E 290	E 300/E 310
O 3 (1)	1.123	0.979	1.065
(2)	1.123	1.007	1.078
(3)	1.040	1.051	1.093
(4)	1.021	1.066	1.109

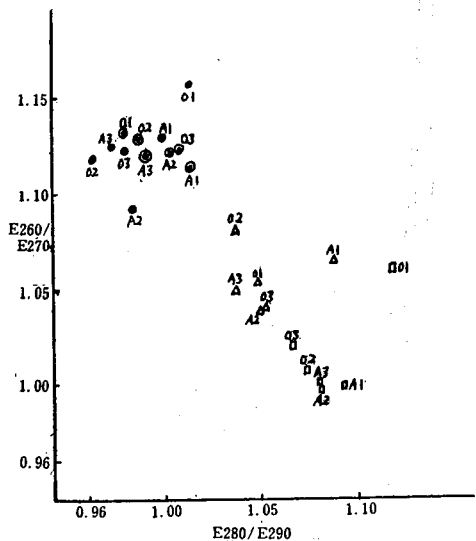


Fig. 7. Chart of Absorbance Ratio E280/E290 against E260/E270.

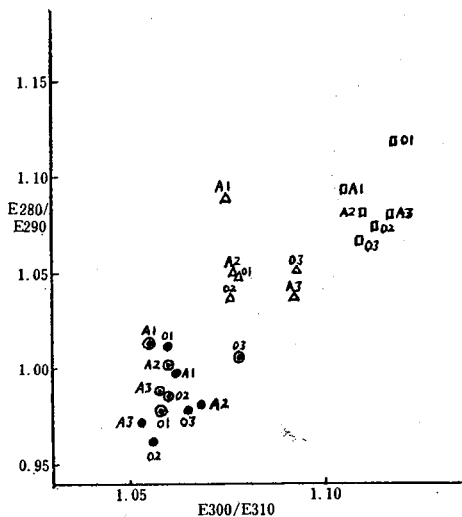


Fig. 8. Chart of Absorbance Ratio E300/E310 against E280/E290.

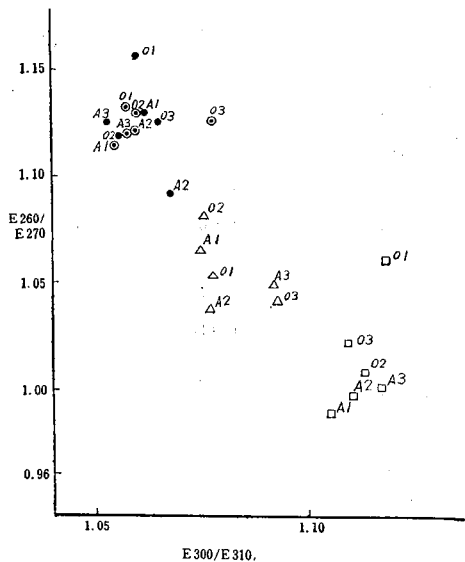


Fig. 9. Chart of Absorbance Ratio E300/E310 against E260/E270.

- A 1 : Adjacent cutting No.1
- A 2 : Adjacent cutting No.2
- A 3 : Adjacent cutting No.3
- O 1 : Opposite cutting No.1
- O 2 : Opposite cutting No.2
- O 3 : Opposite cutting No.3
- 1st lancing ⊙ 2nd lancing
- △ 3rd lancing □ 4th lancing

考 察

Fig. 1 ~ Fig. 6 でわかるように、あへん溶液の吸収スペクトルは、いずれも一番切あへんが相対的に吸光度大きく、250 mμ, 320 mμ における吸光度は、すべて切取回数に順次従って減少しているが、λmax, λmin の附近

で、四番切あへんの吸光度が、三番切あへんよりも大きな場合がある。この吸収スペクトルの異同は、あへん中のアルカロイドや有機酸によるものであると考えられる。

また E260/E270 は、一番切および二番切あへんが三番切、四番切あへんの場合よりも大きな値を示すが、E280/E290, E300/E310 については逆に小さな値を示し、E300/E310 は、四番切あへんが常に他より大きな値を示すので、Fig. 7—Fig. 9 で明らかなように、一番切および二番切あへんが、三番切、四番切あへんと完全に区別され、さらに三番切あへんは四番切あへんと区別される。

あへん溶液の直接吸光度測定法は、あへんの性質を知るための一手段であると考えられる。

なお本実験に用いたあへんは、春日部薬用植物栽培試験場から収納されたあへんの一部である。

文 献

- 1) Grlić, Lj. : *United Nations document*, ST/SOA/SER.K/48, 58 ; *Farm. Glas.*, 12, 487 (1956) ; *Acta Pharm. Jug.*, 7, 199 (1957).
- 2) *United Nations document*, E/CN.7/338.
- 3) Asahina, H., Ōno, M. : *Bulletin on Narcotics*, Vol. 8, No.4, 39 (1956).
- 4) *The Opium Poppy and Other Poppies*, U.S. Treasury Department, 15 (1944).
- 5) 榎本克彦: 化学実験学第2部, 第12巻, 微生物及び酵素実験法, p. 142, 河出書房 (1943).

Summary

The ultraviolet absorbance of highly diluted opium solution (pH 3.95, dilution 1 : 12,500) was measured within the range of 250 to 320 $m\mu$ on a Beckman DU spectrophotometer in 1 cm cell.

The opium samples obtained by two successive lancing methods : adjacent cutting and opposite cutting, and kept separate in each lancing were used.

Appreciable differences in the absorption of these opium samples can be noted. The opium of 1st lancing shows the highest absorbance curve. The absorbance at 250 $m\mu$ or 320 $m\mu$ decreases with later incisions, but in the region of the absorption maximum or minimum of the spectrum, the absorbance of the 4th opium is sometimes higher than the 3rd.

The curves of opium absorption might be attributed to the additive absorption of the most important alkaloids and to some organic acids.

The absorbance ratios E260/E270, E280/E290, and E300/E310 were calculated from the measurement of the ultraviolet absorption spectra.

The opium samples of 1st and 2nd lancing exhibit a higher quotient E260/E270, lower quotients E280/E290 and E300/E310 than the samples of later lancements, and the quotient E300/E310 of the 4th opium is the highest of all.

By plotting these extinction quotient each other, it is possible to separate easily the opium samples of 1st and 2nd lancing from those of later incisions and to distinguish the 3rd from the 4th.

The direct spectrophotometry of diluted opium solution might be used for the identification of the quality of opium samples.

Received May 31, 1958.

J. P. VI によるあへん中のモルヒネ定量用計算図表

井 上 勲

A Nomograph for the Determination of Morphine in

Opium according to J. P. VI

Isao INOUE

あへん中のモルヒネの定量を J. P. VI に準じて行う場合、含量%の算出の簡易化を目的としてノモグラフを作製し、ほぼ満足すべき結果を得たので報告する。

作 図

作図は先に報告した法定食用タール色素分析用計算図表¹⁾の場合と全く同様に、基線上に3本の平行線を直角に立てる型を採用した。すなわち Fig. 1 において $x_0 y_0 z_0 : x y z$ をいずれも対数目盛としかつ X, Y, Z 軸の単位の長さをそれぞれ U_X, U_Y, U_Z とするとき、 $(m+n)U_Y = nU_X = mU_Z \dots (1)$, $y_0 \pm 1 = x_0 \pm 1 z_0 \pm 1 \dots (2)$, $y \pm 1 = x \pm 1 z \pm 1 \dots (3)$ の三式を考え(1), (2)の両条件下に(3)式の複号を適当に組み合わせる方法をとつた。

モルヒネ含有率 (P%) は(4)式で与えられる。

$$P = \frac{0.02853 \times V}{w \times 20/50} \times 100 \dots (4)$$
 ここに V は遊離モルヒネと反応した N/10 塩酸の量 (cc), w は検体量 (g) である。(4)式を簡単にすると $\frac{P}{7.1325} = \frac{V}{w}$, $P' = \frac{V}{w}$ (ただし $P' = \frac{P}{7.1325}$)、したがって $\log P' = \log V - \log w$ となる。

各値の範囲は $P = 5 \sim 20$, $w = 4.5000 \sim 5.5000$ とすれば $P' = 0.70 \sim 2.81$ となり $V = 3 \sim 16$ となる。したがって $m : n = 5 : 1 = 25\text{cm} : 5\text{cm}$, $U_W = 360$, $U_V = 60$, $U_P = 72$ が(1)式を満足する。

また、 $w_0 = 4.500$, $V_0 = 3.00$ であるから(2)式から $P_0 = 4.755$ となる。そこで w 軸は $U_W \times \log\left(\frac{w}{4.5000}\right)$ を、V 軸は $U_V \times \log\left(\frac{V}{3.00}\right)$ を、P 軸は $U_P \times \log\left(\frac{P}{4.755}\right)$ を、それぞれ計算し各軸とも原点から正目盛を刻む。Fig. 2 はこのようにして作図したノモグラフである。

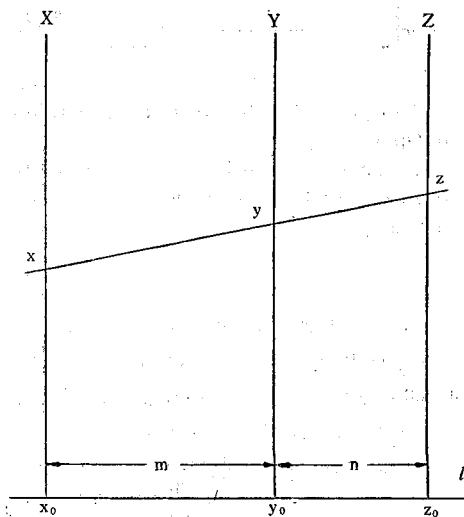


Fig. 1.

誤 差

このノモグラフを用いる際の誤差 (Δ) を本稿では図表上に得た値 (N) と、計算器による値 (M) との差と定義した。すなわち $\Delta = N - M$ で表わされる。100 個の data を用い Δ の平均値 M' , 標準偏差 σ を算出し、 $\Delta = +0.003$, $\sigma = 0.0075$ を得た。

また Δ を横軸に、頻度を縦軸にとつて誤差グラフを描くと Fig. 3 のようになる。

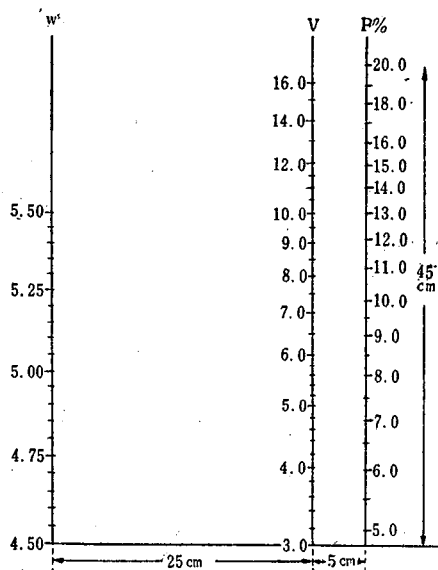


Fig. 2.

Nomograph for the Analysis of Morphine in Opium.

w : Sample taken in g, V : N/10 HCl reacted with free morphine, P : Morphine %

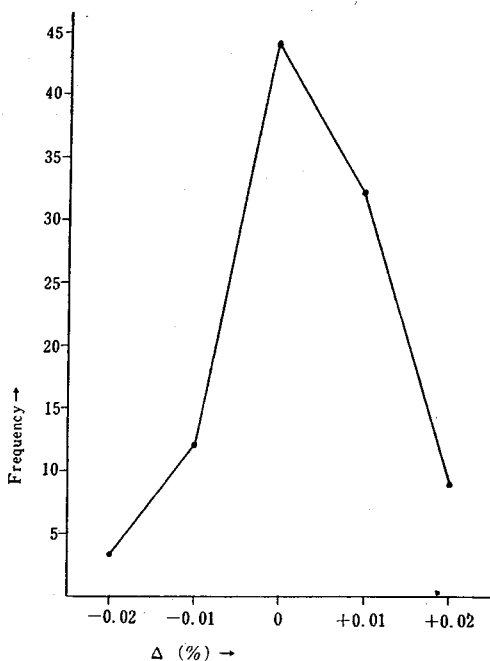


Fig. 3. Error of Nomograph

考 察

J. P. VI ではあへん中のモルヒネを定量するのに、N/10 塩酸の一定過剰量を用いて遊離モルヒネを溶かし余剰の酸を N/10 水酸化カリウムで還測する。ここに作図したノモグラフは塩酸、水酸化カリウムともに factor $f=1.000$ するときの計算に用いるものである。もし両規定液の factor および所要量がそれぞれ f_1, f_2, v_1, v_2 であるとモルヒネ%は(5)式で与えられる。

$$\text{モルヒネ\%} = \frac{0.02853 \times (V_1 - V_2)}{w \times \frac{20}{50}} \times 100 = \frac{7.1325 \times (v_1 f_1 - v_2 f_2)}{w} \dots (5)$$

v_1 は通常15であるから $V_1 = v_1 f_1 = \text{const.}$ 例えば $f=1.085$ とすると $v_1 f_1 = 15 \times 1.085 = 16.28$ となる。ところで $V_2 = v_2 \times f_2$ の計算は前報¹⁾において塩化ナトリウム定量の際、N/10 硫シアン化アンモニウムの量 $V_2 = v_2 f_2$ を計算するために作図したのと全く同様にすれば容易に作図することができる。あるいは Fig. 4 のように f_2 に相当する勾配の直線を描くことにより V_2 を読み取るようにするのも一方法である。

次に含量 P% は 3本の軸のうち、内側に求めるようにすることが望ましいが各軸の目盛の範囲による制限のため、やむをえず外側の軸に目盛ることになった。しかし $m:n$ の値をかなり大きくすることができたので誤差は比較的小さくてすむことになった。

終りに、本研究の機会を与えられた刈米所長、種々配慮をいただいた朝比奈、川城両部長に深謝の意を表する。

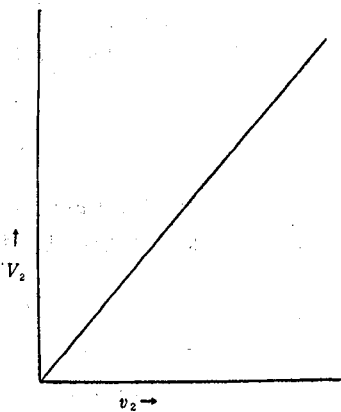


Fig. 4

総 括

J. P. VI によるあへん中のモルヒネ含量の算出を簡易化する目的でノモグラフを作製した。図表上に得た値(N)と計算値(M)との差 $d=N-M$ を誤差と定義し、100個の data から d の平均値 M' 、標準偏差 σ を算出して $M'=+0.003$ 、 $\sigma=0.0075$ を得た。誤差はこのように極めて小さく、このノモグラフが充分実用に供しうることを認めた。

文 献

- 1) 井上勲：本誌，74, 247 (1956)。

Summary

A nomograph was drawn for easily obtaining the morphine content in opium according to J. P. VI. Defining the error (d) as the difference between values read on the nomograph(N) and those by calculation (M), its mean value $M'=+0.003$ and standard deviation $\sigma=0.0075$ were obtained from one hundred data. Errors that might occur being very small, this nomograph was found to be available.

Received May 31, 1958.

インド産大麻製品 “Charas” の紫外線吸収について

朝比奈晴世, 水町彰吾

Spectrophotometric Study of “Charas”, an Indian Hemp Preparation.

Haruyo ASAHINA and Shōgo MIZUMACHI

まえがき さきにわれわれは、日本産アサ、*Cannabis sativa* L. の抽出エキスの紫外線吸収について報告したが¹⁾ このたびインド国政府より *Cannabis* 製品 Charas を入手したので、そのエタノール抽出エキスおよびアセトン抽出エキスのエタノール溶液について波長範囲 216~320 m μ で吸収スペクトルを測定した。Charas はインドアサ *Cannabis sativa* L. var. *indica* LAMARCK の雌性植物から多量に分泌した樹脂を集め固めた物でインド大麻製品中生理作用は最強力といわれ、Wollner²⁾ が *Cannabis* の生理成分である Tetrahydrocannabinol をとり出している。

実験の部

(1) 試料 (イ) エタノール抽出エキスの製法：第五改正日本薬局方に収載されている印度大麻エキスの製法に準拠した。すなわち Charas を粗末としエタノールを注いで6日間冷浸したのち濾過する。残留物に再びエタノールを注いで3日間冷浸したのち濾過し、濾液を合して蒸発しエキスとした。

(ロ) アセトン抽出エキスの製法：Charas を粗末としアセトンを注いで3日間冷浸したのち濾過する。この操作を3回くり返したのち濾液を合して蒸発しエキスとした。

(2) 吸収測定用溶媒の精製 前報¹⁾ と同じ。

(3) 分光光度計 日立 EPU-2 型を用いた。

(4) 結果 測定した結果を Table 1 および Fig. 1, 2 に示す。

Table 1. Absorbance of Extracts Obtained from Charas

Sample	$\lambda_{\max.}$			$\lambda_{\min.}$			Concentration g/l
	m μ	Opt. D.	$E_{1\%}^{1\text{cm}}$	m μ	Opt. D.	$E_{1\%}^{1\text{cm}}$	
Ethanol Ex.	279	0.848	188	250	0.459	102	0.045
Acetone Ex.	275	0.615	154	154	0.429	107	0.040

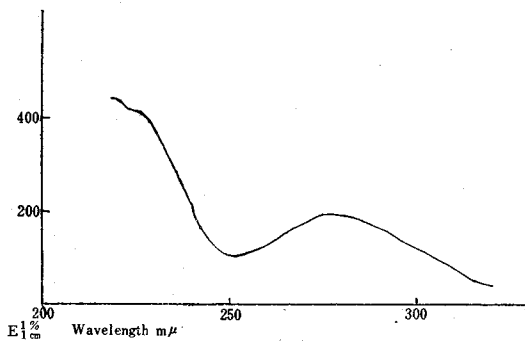


Fig. 1. Absorption Curve of Charas Ethanol Extract in Ethanol

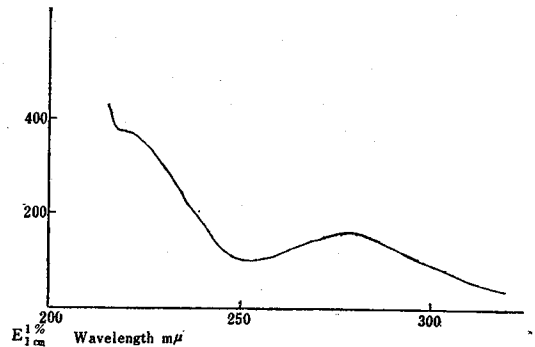


Fig. 2. Absorption Curve of Charas Acetone Extract in Ethanol

考 察

Table 1, Fig. 1, および Fig. 2に示すとおり, Charas のエタノール抽出エキスの吸収曲線はアセトン抽出エキスに比べて極小から極大への傾斜が大きい. このことはエタノール抽出エキスの方が単離成分の純度が高いことを表わしている.

この実験の結果, Charas のエタノール抽出エキスのエタノール溶液は $279\text{ m}\mu$ に吸収極大を, $250\text{ m}\mu$ に吸収極小を有することが明らかになった. 前報¹⁾に報告した日本産大麻は $282\text{ m}\mu$ に吸収極大を, $251\text{ m}\mu$ に吸収極小を有し Pyrahexyl (1-hydroxy-6,6,9,9-trimethyl-7,8,9,10-tetrahydro-6-dibenzopyran) は $276\text{ m}\mu$ に吸収極大を, $249\text{ m}\mu$ に吸収極小を有する. Biggs³⁾ が測定したマラヤ産大麻は $280\sim 283\text{ m}\mu$ に吸収極大を, $251\text{ m}\mu$ に吸収極小を有する. Farmilo⁴⁾ が測定したカナダ産大麻は $258\sim 262\text{ m}\mu$ に吸収極大を, $245\sim 247\text{ m}\mu$ に吸収極小を有する. これらの事実からみると Charas のスペクトログラムは日本産大麻, Pyrahexyl, マラヤ産大麻に類似し, カナダ産大麻と相違している. すでに述べたように Charas のエタノール抽出エキスには大麻の生理成分である Tetrahydrocannabinol が存在していることは明らかなので²⁾, 以上の結果は前報¹⁾で日本産大麻中に Tetrahydrocannabinol あるいはその類似体の存在を推定したことを裏づけるものである.

分光吸収の測定は大野技官の援助を得た. 御指導を賜わった朝比奈泰彦先生, Charas を恵与されたインド国政府, その入手に関して御便宜をいただいた駐日インド大使館および東洋棉花株式会社に謝意を表す.

なお研究費の一部は厚生科学研究補助金を用いた.

文 献

- 1) 朝比奈晴世, 水町彰吾: 本誌, 75, 117 (1957).
- 2) Wollner, H. J.: *J. Am. Chem. Soc.*, 64, 26-29 (1942).
- 3) Biggs, A. I.: *J. Pharm. Pharmacol.*, 5, 18 (1953).
- 4) Farmilo, C.: *United Nations document*, E/CN. 7/304.

Summary

The ultraviolet absorptions of the extracts from "Charas", an Indian hemp preparation, at $216\text{ m}\mu$ to $320\text{ m}\mu$ in ethanol were measured.

The spectrum of ethanol extract of charas has the maximum at $279\text{ m}\mu$, the minimum at $250\text{ m}\mu$ and is more similar to that of Japanese or Malayan hemp than to the Canadian hemp.

Received May 31, 1958.

“Charas” の呈色反応および沝紙クロマトグラフィー

朝比奈晴世, 志内賢彦

Color Reactions and Paper Chromatography of “Charas”.

Haruyo ASAHINA and Yoshihiko SHIUCHI

まえがき さきにわれわれは日本産大麻の抽出エキスについて沝紙クロマトグラフィーをおこなったが¹⁾, Charas を入手する機会をえたので, 呈色反応と沝紙クロマトグラフィーとについて日本産大麻エキスと比較検討した.

Charas はインドアサ *Cannabis sativa L. var. indica* LAMARCK の未熟果穂から分泌する樹脂を集めた暗緑褐色の塊状物で, きわめて強力な生理作用を有するといわれている.

実験の部

I. 呈色反応

Adams ら²⁾ は cannabidiol と大麻の抽出エキスである Red oil について種々の呈色反応を試みた.

Blackie³⁾ はインド大麻樹脂に, 数種のアルデヒドのアルコール溶液を加え, 塩酸を滴加したときの呈色について報告している.

われわれはCharas の石油エーテル抽出エキス, 日本産大麻エキス, cannabidiol およびpyrahexyl (大麻の生理作用を示すとされている Tetrahydrocannabinol と類似の作用, 構造式をもつ 1-hydroxy-3-n-hexyl -6,6,9-trimethyl-7,8,9,10-tetrahydro-6-dibenzopyran) を用い, Beam, Boer, Duquénois, Ghamrawy, Millon の呈色反応とアルデヒドによる反応をおこなった.

試料:

(a) Charas 石油エーテル抽出エキス Charas 3g を石油エーテル 50 cc で温時抽出し, 石油エーテルを蒸発してえた残留物.

(b) 日本産大麻エキス 前報¹⁾ 日本産大麻エキス No. 3

(c) cannabidiol 結晶

(d) pyrahexyl

1 Beam 反応: 試料にアルコール製 5% 水酸化カリウム液 2~3 滴を加えると赤紫色を呈する.

2 Boer 反応⁴⁾: 試料をヘキサン 10 cc に溶かし 25% 硫酸銅溶液 1, 25% アンモニア水 5, 4N 水酸化ナトリウム液 5 の混合液 10 cc と強くふりまぜて分離し, さらにヘキサン層を前記の混合液 5 cc でふりまぜる. アルカリ層はあわせてベンゼン 5 cc を加えてふりまぜるとベンゼン層は美赤紫色を呈する.

3 Duquénois 反応: ワニリン 0.4 g, アセトアルデヒド 6 滴を 95% アルコール 20 cc に溶かした液 2 cc を, 温時試料に加えてかきまぜさらに塩酸 2 cc を加えると青色となる.

4 Ghamrawy 反応: p-ジメチルアミノベンツアルデヒド 1 g を硫酸 5 cc, 水 1 cc に溶かした液 1 cc を試料に加えて水浴上であたためると赤褐色となり, 放冷すれば赤紫色になる. さらに数滴の水を加えると青色を呈する.

5 Millon 反応: 水銀 5 g を発煙硝酸 10 g に溶かし, 水で 2 倍にうすめた液を試料に加えると橙色を呈する.

試料 (a), (b) 各 10 mg, (c), (d) 各 1~2 mg について上記 5 反応を試みた結果は, Table 1 に示すとおりであつた.

Table 1. Examination by Five Reagents.

	Charas Extract	Japanese Hemp Extract	Cannabidiol	Pyrahexyl
Beam	+	—	+	—
Boer	+	—	+	—
Duquénois	+	+	+	+
Ghamrawy	+	+	+	+
Millon	+	+	+	+

6 アルデヒドによる呈色反応： サリチルアルデヒド，ワニリン，p-ニトロベンツアルデヒド，p-アセトアミノベンツアルデヒドの各エチルアルコール溶液と塩酸を用い，試料(a)，(b)各5mg，(c)1mg，(d)1～2mgについて呈色反応を試みた。

実験方法： 試料を小試験管内でエチルアルコール0.5ccに溶かし，これに上記アルデヒドの2%エチルアルコール溶液2ccを加えてふりまぜ，さらに塩酸15滴を滴加する。

その結果を Table 2 に示す。

Table 2. Color Reactions by Some Aldehydes.

	Charas Extract	Japanese Hemp Extract	Cannabidiol	Pyrahexyl
Salicylaldehyde	Red Violet	Red Violet	Orange	Blue
Vanillin	Dark Violet	Dark Violet	Red Violet	Cobalt Blue
p-Nitrobenzaldehyde	Yellow Brown	Yellow Brown	Lemon Yellow	Green Yellow
p-Acetaminobenzaldehyde	Red Violet	Red Violet	Orange	Green Blue

この呈色はいずれも塩酸を加えて1分後のものである。

II. 沱紙クロマトグラフィー

前報¹⁾では日本産大麻エキスのアルミナ処理した沱紙を用い，ギブス試液で発色するスポットを検出した。Charas についても同じように処理した沱紙を使用した。

試料：

(a) Charasを石油エーテルで抽出し，さらに精製した： Charas 3gを石油エーテル50ccに5時間温浸，冷後沱過し，沱液に活性炭15gを加えて3時間ふりまぜ一夜放置する。炭末を沱取，風乾後メタノール30ccずつで3回温浸抽出し，メタノールをあわせて濃縮したものを試料とする。

(b) 日本産大麻エキスNo. 3のアセトン溶液

(c) cannabidiol (結晶)のアセトン溶液

(d) Pyrahexyl のアセトン溶液

沱紙： 東洋沱紙 No. 50 (2.5×40 cm) を，60～65°に加温した30%硫酸アルミニウム溶液に3分間浸したのち，アンモニア蒸気をみたした密閉容器中に入れ1時間放置する。沱紙は流水中で6時間洗い，常温乾燥後直ちに使用した。

展開液： 95%メタノール

発色試液： (i) 最初に5%酢酸ナトリウム溶液を，次に2，6-ジブロムキノン-4-クロロイミドのアルコール飽和溶液（ギブス試液）を噴霧する。

(ii) アルコール製5%水酸化カリウム液（ビーム試液）。

上昇法で25cm展開し，ギブス試液でえられたスポットはいずれの試料も一つであつた。そのRf値はCharas抽出エキス0.70，日本産大麻抽出エキス0.61，cannabidiol 0.70，pyrahexyl 0.58であり，このうちCharas抽出エキスとcannabidiolのスポットとはビーム試液でも発色する。

Charasの試料は，最初石油エーテルで温浸抽出しただけのものを用いたが，原点からスポットの位置までのテリングが見られた。

考 察

呈色反応および沱紙クロマトグラフィーの発色に用いたビーム反応はcannabidiolの反応とされており，Charas抽出エキスはいずれのばあいにも陽性で，日本産大麻エキス，pyrahexylは陰性である。Boerの反応もcannabidiolとCharas抽出エキスにのみ陽性である。また，沱紙クロマトグラフィーではcannabidiolのスポットとCharas抽出エキスのスポットとはRf値が一致している。これらのことからCharasがcannabidiolを含むことは明らかであるが，日本産大麻ではcannabidiolが検出されない。

大麻の有毒成分である tetrahydrocannabinol の類似化合物である pyrahexyl は Beam, Boer 両反応が陰性であること, および他の三呈色反応やアルデヒド類による呈色反応で日本産大麻エキスが Charas 抽出エキ스와全く同じ呈色反応を示すことから, 日本産大麻に cannabidiol 以外の Charas 成分が含まれていることが考えられるが, Charas の沝紙クロマトグラフィーでは cannabidiol のスポットのみしかえられなかつた。

むすび インド大麻樹脂 Charas について数種の呈色反応と沝紙クロマトグラフィーをおこない, 日本産大麻エキス, cannabidiol, pyrahexyl と比較した。

大麻成分の一つである cannabidiol は Charas 中に証明されるが, 日本産大麻からは検出されなかつた。

cannabidiol の反応である Beam 反応と Boer 反応を除き, Charas エキスと日本産大麻エキスの呈色反応は一致したが沝紙クロマトグラフィーでは同じスポットはえられなかつた。

Charas を分与されたインド政府, その入手に関して種々御便宜をいただいた駐日インド大使館, 東洋棉花株式会社に深謝する。

なお, 本研究の費用の一部は厚生科学研究補助金をもつてあてた。

文 献

- 1) 朝比奈晴世, 志内賢彦: 本誌, 75, 123 (1957).
- 2) Adams, R., Hunt, M., and Clark, J. H.: *J. Am. Chem. Soc.*, 62, 196 (1941).
- 3) Blackie, W.: *Ind. Eng. Chem. Analyt. Ed.*, 13, 96 (1941).
- 4) Boer, D. D.: *Pharm. Weekblad*, 90, 321 (1955).

Summary

Paper chromatography and color reaction of Beam, Boer, Duquéniois, Ghamrawy, Millon, and aldehydes, such as salicylaldehyde, vanillin, p-nitrobenzaldehyde, p-acetaminobenzaldehyde on charas extract, Japanese hemp extract, cannabidiol and pyrahexyl were studied.

Filter paper impregnated with alumina and 95 % methanol were used for the paper chromatography.

From this result and the R_f value, it is concluded that cannabidiol is detected in charas, but not in hemp plants grown in Japan.

Received May 31, 1958.

ケシ蒴果の切傷方法とあへんおよびモルヒネ収得量との関係

川 谷 豊 彦, 藤田早苗之助

Relation of the Two Methods of Successive Incision of Poppy Capsule to the Opium and Morphine Yields

Toyohiko KAWATANI and Sanaenosuke FUJITA

まえがき あへん採汁にあたって、本邦においては通常隔日に、もはや分泌の認められなくなるまで4回の切傷が行われる。しかし切傷順序に接続切(順切)と反対切(飛切)の2方法がある。接続切とは前回切傷した山に接続して順次に切傷する方法で、反対切とは山を2~3条ずつ隔てて切傷するか、あるいは常に前回の反対側を切傷する方法である。しかし反対切は多少作業に面倒ではあるがあへんの収量は多いとされている¹⁾²⁾。しかし十分な実験の根拠はないようである。

著者らは1954~55栽培年度に予備試験を、1955~56栽培年度に本試験を行い、この2方法とあへん収得量、モルヒネ収得量、モルヒネ含有率、および乳汁分泌中止蒴果の発生との関係について推計学的に比較検討を行つた。その結果1果当全あへん収得量、同全モルヒネ収得量、モルヒネ含有率、および乳汁分泌中止蒴果の発生は2方法の間に有意差を認めることができなかった。これらの結果についてここに報告する。

予備試験の概要については朝比奈、大野(昌)により *Bulletin on Narcotics*, Vol. VIII (1956)に発表された³⁾。この研究を実施するにあたりモルヒネを分析していただいた当所麻薬部朝比奈部長に敬意を表する。

予 備 試 験

実験材料および栽培の概要 一貫種を用い戦前のケシ栽培慣行にしたがつて実施した。播種、1954年10月20日。播種量、10a当(以下同じ)300g。基肥、硫酸5.6kg、過石2.2kg、硫酸1.8kg、条間75cm、株間は最終間引にておおむね15cm互の目とする。除草、間引および中耕、各々3回。第1回追肥、1955年1月24日、硫酸9.4kg、過石9.4kg、硫酸3.4kg。第2回追肥、4月11日、堆肥375kg、魚油粕30kg、硫酸15kg、過石13.2kg、塩加112. kg。腋芽除去、2回。薬剤撒布、5回。盛花日、5月12日。

試験方法 かくて1955年5月23日をあへん採集開始適期と定め、切傷は隔日とし、第1回に限り3筋切傷刀を用い2山切傷し、第2回以後は同様にして3山ずつ切傷し第4回まで行つた。あへん採集は切取および追掻法にしたがい、各回のを混合した全あへんについて秤量および分析を行つた。

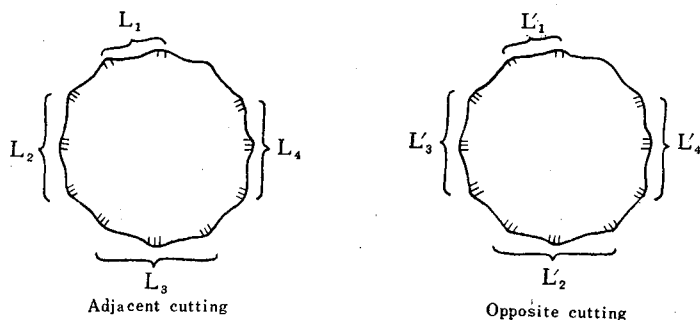


Fig. 1. Order of Lancings (cross section of poppy capsule)

接続切 M_1 はFig.1のとおり左廻りとし、反対切 M_2 は第2回切傷は第1回の反対側、第3回は第1回の左廻り側第4回は第2回の反対側とした。

分析は第六改正日本薬局方の方法にしたがつた。

試験区 1ブロックに接続切、反対切の各試験区を隣接せしめ各々10m畦1本ずつ(供試個体数110~135)とし

た。ケシは慣行にしたがつて1本仕立(1個体1蒴果)である。2ブロック制とし、一つは地力中庸の個所 A_1 に他は肥沃な個所 A_2 に設け同時に地力の影響をも調べた^{a)}。

Table 1. Methods of Incision and the Opium and Morphine yield
(Preliminary experiment, 1954-55)

Area (fertility)	Method of incision	Number of capsules incised	Opium yield	Opium yield per capsule	Moisture content	Morphine percentage as determined	Morphine yield per capsule
			g.	mg.	%	%	mg.
A_1 (poor soil)	Adjacent cutting M_1	135	15.2	113	10.53	11.18	12.6
A_1 ($\diagup \quad \diagdown$)	Opposite cutting M_2	129	13.7	106	9.96	12.20	13.0
A_2 (rich soil)	Adjacent cutting M_1	132	15.6	118	10.84	13.36	15.8
A_2 ($\diagup \quad \diagdown$)	Opposite cutting M_2	110	11.2	102	10.91	13.88	14.1

試験成績 得られた成績はTable 1のとおりでこれを分散分析して次の結果が得られた。

1. 切傷方法、地力ともに1果当へん収得量に対する影響には有意差が認められない (Table 2).

Table 2. Analysis of Variance of Table 1 (Opium Yield per Capsule)

Factor	S.S.	D.F.	Variance (u^2)	Variance ratio	Significant level
M	132.25	2-1=1	132.25	6.53	$0.2 < \alpha < 0.3$
A	0.25	2-1=1	0.25	0.012	$0.9 < \alpha < 0.95$
$E = M \times A$	20.25	1 \times 1 = 1	20.25		
MA	152.75	4-1=3			

2. 切傷方法、地力ともに1果当モルヒネ収得量に対する影響には有意差は認められない (Table 3).

Table 3. Analysis of Variance of Table 1 (Morphine Yield per Capsule)

Factor	S.S.	D.F.	Variance (u^2)	Variance ratio	Significant level
M	0.4225	2-1=1	0.4225	0.383	$0.6 < \alpha < 0.7$
A	4.6225	2-1=1	4.6225	4.19	$0.2 < \alpha < 0.3$
$E = M \times A$	1.1025	1 \times 1 = 1	1.1025		
MA	6.1475	4-1=3			

3. 切傷方法、地力ともにモルヒネ含有率に対する影響には有意差が認められない (Table 4)。ただし危険率0.1とすれば地力の影響には有意差が認められる。すなわち地力の高い個所のものはモルヒネ含有率の高い傾向が認められる。

Table 4. Analysis of Variance of Table 1 (Morphine Percentage)

Factor	S.S.	D.F.	Variance (u^2)	Variance ratio	Significant level
M	0.5929	2-1=1	0.5929	9.49	$0.1 < \alpha < 0.2$
A	3.7249	2-1=1	3.7249	59.60	$0.05 < \alpha < 0.1$
$E = M \times A$	0.0625	1 \times 1 = 1	0.0625		
MA	4.3803	4-1=3			

本 試 験

実験材料および栽培の概要 予備試験と同様に一貫種を用いた。播種、1955年10月25日。栽培の方法も予備試験と同様である。盛花日、1956年5月15日。

- a) 前作の関係でかくのごときブロック制をとらざるをえなかつた。

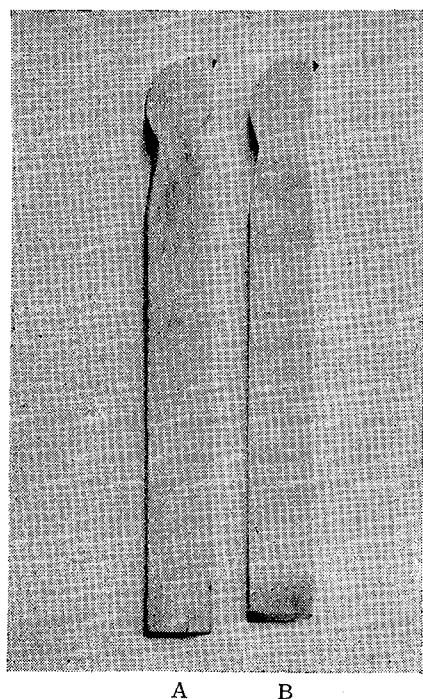


Fig. 2. General View of Knives for Incision ($\times 0.53$) A, used for the first lancing; B, used for the second, third, and fourth lancing

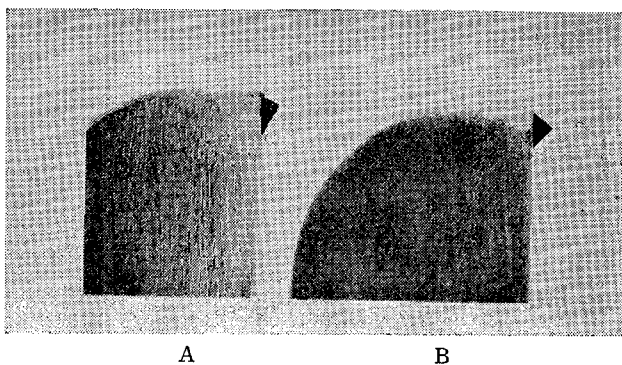


Fig. 3. Side View of Knives for Incision ($\times 2$)

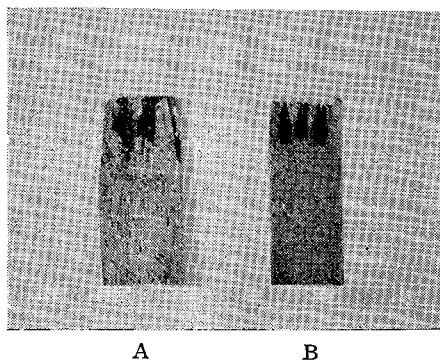


Fig. 4. Front View of Knives for Incision ($\times 2$)

試験方法 1956年5月28日を適期と定め切傷を開始した。切傷の方法は予備試験と同様である。ただし第1回切傷は2筋切傷刀を用いた(Fig.1, 2, 3, 4)。あへの採集は切取および追掻法にしたがい、各回切傷のものごとに乾燥、秤量した。乾燥は各回切傷のもの(切取および追掻を合わせたもの)について恒温乾燥器内、70°C以下にて実施した。分析は検体1gを用いる日本薬局方の変法である。

試験区 地力均等と思われるケン圃場内に相隣る場所 P_1, P_2, P_3, P_4 を定め、各場所に接続切、反対切の2区を交互に排列した。各試験区の畦長は各々10mである。ケンは慣行にしたがつて1本仕立とし、各々の畦にある生育斉一の株のすべて55~96個体について切傷を行った。

試験成績および論議 得られた成績はTable 5 (1果当あへん収得量), Table 6 (1果当モルヒネ収得量), Table 7 (モルヒネ含有率) のとおりである。これを次のごとくして分散分析を行った。

Table 5. Methods of Incision and the Opium Yield per Capsule (1955-56)

Method of incision	Lancing	Place P_1		Place P_2		Place P_3		Place P_4	
		Number of capsules incised	Opium yield per capsule	Number of capsules incised	Opium yield per capsule	Number of capsules incised	Opium yield per capsule	Number of capsules incised	Opium yield per capsule
Adjacent cutting	M_1		mg.		mg.		mg.		mg.
	L_1	80	60.65	55	67.03	73	66.06	96	49.76
	L_2	(80)	37.84	(55)	43.77	(73)	36.07	(95)	32.02
	L_3	(76)	44.67	(54)	49.95	(70)	42.87	(85)	34.14
Opposite cutting	M_2								
	L_1'	72	44.43	84	44.27	67	59.13	67	66.94
	L_2'	(70)	50.83	(82)	47.44	(66)	48.27	(66)	47.13
	L_3'	(65)	49.05	(76)	44.97	(60)	45.14	(60)	42.98
	L_4'	(50)	24.85	(73)	30.15	(51)	25.66	(39)	17.35

Table 6. Methods of Incision and the Morphine Yield per Capsule (1955-56)

Method of incision	Lancing	P_1	P_2	P_3	P_4
		γ	γ	γ	γ
Adjacent cutting M_1	L_1	12,373	13,808	12,948	10,101
	L_2	5,676	6,916	5,014	5,251
	L_3	4,512	4,396	3,601	4,268
	L_4	1,818	2,230	1,204	1,519
Opposite cutting M_2	L_1'	8,886	8,898	11,530	12,585
	L_2'	9,302	8,349	7,337	6,127
	L_3'	5,592	4,317	3,837	3,052
	L_4'	2,361	2,412	1,950	989

Table 7. Methods of Incision and the Morphine Percentage (1955-56)

Method of incision	Lancing	P_1	P_2	P_3	P_4
		%	%	%	%
Adjacent cutting M_1	L_1	20.4	20.6	19.6	20.3
	L_2	15.0	15.8	13.9	16.4
	L_3	10.1	8.8	8.4	12.5
	L_4	5.9	7.4	5.9	8.3
Opposite cutting M_2	L_1'	20.0	20.1	19.5	18.8
	L_2'	18.3	17.6	15.2	13.0
	L_3'	11.4	9.6	8.5	7.1
	L_4'	9.5	8.0	7.6	5.7

1. 分散分析の方針

要因としては切傷方法, 各切傷, 場所の3個であり3元配置法により分析する.

切傷方法 接続切 M_1 , 反対切 M_2
 各切傷 接続切 L_1, L_2, L_3, L_4
 反対切 L_1', L_2', L_3', L_4'
 場 所 P_1, P_2, P_3, P_4

しかして切傷方法の階級 M_1, M_2 に属する各切傷の階級はそれぞれ $L_1, L_2, L_3, L_4; L_1', L_2', L_3', L_4'$ であり, 要因 M と L との間に特殊関係があり L は M に従属し, M と L とは自由に相互に結合することができない. したがって要因効果の展開は次のごとくなり, 各要因を $S_{L(M)} \times S_P$ を誤差項として分析する.

$$\begin{aligned}
 S_{MLP} &= S_{ML} + S_P + S_{ML} \times S_P \\
 &= S_M + S_{L(M)} + S_P + \{S_M + S_{L(M)}\} \times S_P \\
 &= S_M + S_{L(M)} + S_P + S_M \times P + S_{L(M)} \times S_P
 \end{aligned}$$

実測値 x_{ijk} の構造模型は,

$$x_{ijk} = m + I_M i + I_{L(M)} j + I_P k + I_{M \times P} i k + z_{ijk}$$

で, $I_M, I_{L(M)}, I_P$ はすべて母数模型である. 確率模型は, z_{ijk} は母平均0, 母分散 σ^2 の正規型 $N(0, \sigma^2)$ に属する相互に独立な変数 Z_{ijk} の実現値とする.

2. 1果当あへん収得量についての要因分析

(1) 全体としての分析 (Table 8)

i) 切傷方法は1果当全あへん収得量に対し有意の影響を与えない. 分散比が1より小さいので, F_s の逆数を取りその有意性を検定すれば, $1/F_s = 31.3680/18.1654 = 1.73 < F_1^{18}(0.05) = 247$ となり有意とならない. 切傷方

b) 場所 P は地力均等と思われる試験圃場から選ばれているけれども, 無作意に選ばれたものではないからこの場合母数模型である.

Table 8. Analysis of Variance of Table 5 (Opium Yield per Capsule)

Factor	S.S.	D.F.	Variance(u^2)	E(u^2)	Variance ratio	Significant level
M	18.1654	2-1=1	18.1654	$\sigma^2 + lp\sigma_M^2$	0.58	$0.4 < \alpha < 0.5$
$L(M)$	4,645.5040	8-2=6	774.2507	$\sigma^2 + p\sigma_{L(M)}^2$	24.68***	$\alpha < 0.001$
P	163.6452	4-1=3	54.5484	$\sigma^2 + lm\sigma_P^2$	1.74	$0.1 < \alpha < 0.2$
$M \times P$	279.3230	1 \times 3 = 3	93.1077	$\sigma^2 + l\sigma_{MP}^2$	2.97	$0.05 < \alpha < 0.1$
$E = L(M) \times P$	564.6243	18	31.3680	σ^2		
MLP	5,671.2619	32-1=31				

法差は偶然としては小さ過ぎるということはない。

切傷方法差がない(帰無仮説 $H_0: \sigma_M = 0$)を採れば第2種の過誤 β が伴うが, $\sigma_M/\sigma = 0.74$ 位のものは $\alpha = 0.05$ として80%まで検出できる。

ii) 各切傷は1果あへん収得量に対しきわめて高度に有意の影響を与える。有意差の在処を探す問題については後で述べる。

iii) 場所は1果あへん収得量に対し有意の影響を与えない。場所差がない(帰無仮説 $H_0: \sigma_P = 0$)を採れば第2種の過誤を伴うが, $\sigma_P/\sigma = 0.753$ 位の差があれば $\alpha = 0.05$ として80%まで検出できる。

iv) 方法効果の場所差は1果あへん収得量に対し有意でない。

Table 9. Average Opium Yield per Capsule of Each Lancing

Adjacent cutting M_1	L_1	L_2	L_3	L_4	S.D. (0.05) †
	mg. 60.875	mg. 37.425	mg. 42.9075	mg. 24.9125	
Opposite cutting M_2	L_1'	L_2'	L_3'	L_4'	13.4977
	53.6925	48.4175	45.535	24.5025	

† Significant difference using Studentized range (TUKEY's method)

(2) 各切傷について有意差ある個所(Table 9) TUKEY(1952)によりStudent化された範囲の上限 $q(k, \phi, \alpha)$ を用いて有意の個所を探す。ここに k は比較されるものの個数, ϕ は誤差項の自由度, α は危険率である。いま, $\alpha = 0.05$, 誤差項の不偏分散 u^2 とすれば,

$$Tu = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^k |C_{\alpha}| q(k, \phi, 0.05) \sqrt{A_{11} - A_{12}} \times u.$$

この場合は,

$$\frac{1}{2} \sum_{i=1}^k |C_{\alpha}| = 1, \quad A_{11} = 1/n, \quad A_{12} = 0$$

であるから,

$$Tu = q(k, \phi, 0.05)u/\sqrt{n}.$$

ゆえにこの場合の数値 $k=8$, $\phi=18$, $u^2=31.3680$, $n=4$, $q(8, 18, 0.05)=4.82$ を入れて計算すれば,

$$Tu = 4.82 \times \sqrt{31.3680/4} = 13.4977.$$

この Tu より大きい差を示す個所を探し整理すれば結局次のとおりとなる。有意差のない個所は便宜上 $\equiv$ の符号で示した(以下同じ)。

$$L_1 > L_2, \quad L_1 > L_3, \quad L_1 > L_4, \quad L_2 \equiv L_3, \quad L_2 \equiv L_4, \quad L_3 > L_4,$$

$$L_1' \equiv L_2', \quad L_1' \equiv L_3', \quad L_1' > L_4', \quad L_2' \equiv L_3', \quad L_2' > L_4', \quad L_3' > L_4',$$

$$L_1 \equiv L_1', \quad L_2 \equiv L_2', \quad L_3 \equiv L_3', \quad L_4 \equiv L_4'.$$

すなわち接続切においては, L_1 ; L_2, L_3, L_4 の2群に分たれ, 第一回切傷が最大で, 第2, 3, 4回切傷のもの

は相互の間に差異を認めない(ただし第4回は第3回よりも少い)。これに対し反対切においては $L_1', L_2', L_3'; L_4'$ の2群に分たれ, 第4回切傷が最少で, 第1, 2, 3回切傷のものは相互間に差異を認めない。なお両方法の相対対応する同じ切傷順位のものは相互間に差異を認めない。

かくしてこれら2切傷方法の1果当あへん取得量は回を追うにしたがつて減少の型を異にしていることがうかがわれる。いま, 接続切 X および反対切 Y の第2, 3, 4回切傷のあへん取得量の第1回のものに対する減少をそれぞれ $X_i = (x_{i1}, x_{i2}, x_{i3}), Y_i = (y_{i1}, y_{i2}, y_{i3}), i=1, 2, 3, 4$ とすれば, 両方法 X, Y のあへん取得量の減少の型の相違は, X, Y の標準平均経過 $(\bar{x}_{\cdot 1}, \bar{x}_{\cdot 2}, \bar{x}_{\cdot 3}), (\bar{y}_{\cdot 1}, \bar{y}_{\cdot 2}, \bar{y}_{\cdot 3})$ の比較として, 換言すれば3個の測定値 $(x_{i1}, y_{i1}), (x_{i2}, y_{i2}), (x_{i3}, y_{i3})$ を3次元ベクトルに対応させて2群の標準ベクトルを母平均ベクトルの比較として検定することができる。

すなわち,

$$\bar{x} \bar{x}_{\cdot \alpha} = \sum_{i=1}^4 x_{i\alpha} / 4, \quad \bar{y}_{\cdot} = \sum_{i=1}^4 y_{i\alpha} / 4, \quad \alpha=1, 2, 3$$

をまず計算し, 次に

$$\Phi_{\alpha\beta} = \sum_{i=1}^4 (x_{i\alpha} - \bar{x}_{\cdot \alpha})(x_{i\beta} - \bar{x}_{\cdot \beta}) + \sum_{i=1}^4 (y_{i\alpha} - \bar{y}_{\cdot \alpha})(y_{i\beta} - \bar{y}_{\cdot \beta}), \quad \alpha=1, 2, 3; \beta=1, 2, 3$$

を求め, $\Phi_{\alpha\beta}$ から次の9個の連立方程式を解いて $\varphi_{\alpha\beta}$ を求める。

$$\sum_{\beta=1}^3 \Phi_{\alpha\beta} \varphi_{\beta\gamma} = \delta_{\alpha\gamma}$$

$$\begin{cases} \alpha=\gamma \text{ の時, } \delta=1 \\ \alpha \neq \gamma \text{ の時, } \delta=0 \\ \alpha=1, 2, 3; \gamma=1, 2, 3 \end{cases}$$

$$\begin{aligned} F_S &= \frac{(4+4-3-1)4 \times 4}{3(4+4)} \times \sum_{\alpha=1}^3 \sum_{\beta=1}^3 \varphi_{\alpha\beta} (\bar{x}_{\cdot \alpha} - \bar{y}_{\cdot \alpha})(\bar{x}_{\cdot \beta} - \bar{y}_{\cdot \beta}) \\ &= -\frac{8}{3} \{ \varphi_{11}(\bar{x}_{\cdot 1} - \bar{y}_{\cdot 1})^2 + \varphi_{22}(\bar{x}_{\cdot 2} - \bar{y}_{\cdot 2})^2 + \varphi_{33}(\bar{x}_{\cdot 3} - \bar{y}_{\cdot 3})^2 + 2\varphi_{12}(\bar{x}_{\cdot 1} - \bar{y}_{\cdot 1})(\bar{x}_{\cdot 2} - \bar{y}_{\cdot 2}) + \\ &\quad 2\varphi_{13}(\bar{x}_{\cdot 1} - \bar{y}_{\cdot 1})(\bar{x}_{\cdot 3} - \bar{y}_{\cdot 3}) + 2\varphi_{23}(\bar{x}_{\cdot 2} - \bar{y}_{\cdot 2})(\bar{x}_{\cdot 3} - \bar{y}_{\cdot 3}) \} \\ &= 16.01 \end{aligned}$$

ところが

$$F_{4+4-3-1}^3(0.05) = F_4^3(0.05) = 6.59, \quad F_4^3(0.01) = 16.7$$

したがって

$$0.01 < \alpha < 0.05$$

となり, 両切傷方法の母平均ベクトルが等しいとの仮説を棄てることができる。換言すれば両切傷方法のあへん取得量の減少の型には相互間に有意差が認められる。

(3) 第 n (1, 2, 3, 4)回切傷までの累計あへん取得量 (Table 10) 両切傷方法の第 n 回までの累計あへん取得量をそれぞれ $\sum_{i=1}^n L_n, \sum_{i=1}^n L'_n$ で表わせば,

$$\begin{aligned} \sum_{n=1}^4 L_1 &= L_1, & \sum_{n=1}^4 L_2 &= L_1+2, & \sum_{n=1}^4 L_3 &= L_1+2+3, & \sum_{n=1}^4 L_4 &= L_1+2+3+4, \\ L'_1 &= L'_1, & L'_2 &= L'_1+2, & L'_3 &= L'_1+2+3, & L'_4 &= L'_1+2+3+4 \end{aligned}$$

となり, $\sum_{n=1}^n L_n$ と $\sum_{n=1}^n L'_n$ とを SCHEFFÉ (1953) の方法で検定する。すなわち,

$$Su_t = S(k-1, \phi, \alpha) \sqrt{\sum_{i=1}^k c_i^2} \times u/\sqrt{n}$$

に $\alpha=0.05$ としてこの場合の数値, $k=8, \phi=18, u^2=31.3680, n=4$, したがって,

c) 第1回切傷のものの相互間に有意差のないことは当然である。

Table 10. Cumulative Total of the Opium Yield per Capsule till the n 'th
(First, Second, Third, and Fourth) Lancing

Adjacent cutting M_1		Opposite cutting M_2		$\frac{L_n}{\sum_{n=1}^n} - \frac{L'_n}{\sum_{n=1}^n} = t$	Su_t	Presence of significant difference between $\sum_{n=1}^n L_n$ and $\sum_{n=1}^n L'_n$
	mg.		mg.			
L_1 $\sum_{n=1}^1 L_1$	60.875	L'_1 $\sum_{n=1}^1 L'_1$	53.6925	7.1825	16.8313	Nil
L_2 $\sum_{n=1}^2 L_{1+2}$	98.3	L'_2 $\sum_{n=1}^2 L'_{1+2}$	102.11	-1.905	11.9015	Nil
L_3 $\sum_{n=1}^3 L_{1+2+3}$	141.2075	L'_3 $\sum_{n=1}^3 L'_{1+2+3}$	147.645	-2.1458	9.7175	Nil
L_4 $\sum_{n=1}^4 L_{1+2+3+4}$	166.12	L'_4 $\sum_{n=1}^4 L'_{1+2+3+4}$	172.1475	-1.5069	8.4156	Nil

$$\dagger \alpha=0.05, \quad Su_t = Su/\sqrt{n} \sqrt{\sum c_i^2} = 4.25 \times \sqrt{31.3680/4} \sqrt{\sum c_i^2} = 11.9015 \sqrt{\sum c_i^2}$$

$$S(8-1, 18, 0.05) = \sqrt{(8-1) F_{18}^{8-1}(0.05)} = 4.25$$

を代入すれば,

$$Su_t = 11.9015 \sqrt{\sum_{i=1}^8 c_i^2}.$$

また対比 θ の推定量 t はこの場合

$$t = \frac{\frac{L_n}{\sum_{i=1}^n}}{\frac{L'_n}{\sum_{i=1}^n}}, \quad n=1, 2, 3, 4$$

で, あらゆる可能な対比 θ について同時に,

$$t - Su_t \leq \theta \leq t + Su_t$$

の成立つ確率は $1-\alpha=1-0.05$ であるから, t と Su_t とを比較して θ の正負を判定する.

その結果は Table 10 に示すとおり, いずれの回数までの切傷においても累計あへん収得量に対する切傷方法の影響は有意でない(c)d).

Table 11. Analysis of Variance of Table 6 (Morphine Yield per Capsule)

Factor	S. S.	D. F.	Variance(u^2)	$E(u^2)$	Variance ratio	Significant level
M	111,510	$2-1=1$	111,510	$\sigma^2 + lp\sigma^2_M$	0.0808	$0.7 < \alpha < 0.8$
$L(M)$	418,605,185	$8-2=6$	69,767,531	$\sigma^2 + lp\sigma^2_{L(M)}$	50.53***	$\alpha < 0.001$
P	4,285,970	$4-1=3$	1,428,657	$\sigma^2 + lm\sigma^2_P$	1.03	$0.25 < \alpha < 0.5$
$M \times P$	2,470,275	$1 \times 3 = 3$	823,425	$\sigma^2 + lp\sigma^2_{MP}$	0.60	$0.5 < \alpha < 0.75$
$E = L(M) \times P$	24,852,335	18	1,380,685	σ^2		
MLP	450,325,275	$32-1=31$				

d) 第4回切傷までの累計収得量すなわち1果当全収得量が切傷方法によつて有意差の認められないことは, それ自身既に全体の分析において示されている.

3. 1果当モルヒネ収得量についての要因分析

(1) 全体としての分析 (Table 11)

- i) 切傷方法は1果当全モルヒネ収得量に対し有意の影響を与えない。分散比が1より小さいのでその逆数を取り有意性を検定すれば、切傷方法差は偶然としては小さ過ぎることはない。
- ii) 各切傷は1果当モルヒネ収得量に対しきわめて高度に有意の影響を与える。
- iii) 場所は1果当モルヒネ収得量に対し有意の影響を与えない。
- iv) 方法効果の場所差は1果当モルヒネ収得量に対して有意でない。

Table 12. Average Morphine Yield per Capsule of Each Lancing

Adjacent cutting M_1	L_1	L_2	L_3	L_4	S. D. (0.05) [†]
	12,307.5	5,714.25	4,194.25	1,692.75	
Opposite cutting M_2	L'_1	L'_2	L'_3	L'_4	
	10,474.75	7,778.75	4,199.5	1,928	2,831.81

† Significant difference using Studentized range (TUKEY's method)

(2) 各切傷について有意差ある個所 (Table 12) あへん収得量の場合と全く同様にして TUKEY の方法により検定すれば、危険率0.05として、

$$L_1 > L_2, L_1 > L_3, L_1 > L_4, L_2 = L_3, L_2 > L_4, L_3 = L_4, \\ L_1' = L_2', L_1' > L_3', L_1' > L_4', L_3' > L_4', L_2' > L_4', L_3' = L_4', \\ L_1 = L_1', L_2 = L_2', L_3 = L_3', L_4 = L_4'.$$

すなわち接続切においては、 L_1 ; L_2 , L_3 , L_4 の2群に分たれ、第1回切傷が最大で、第2,3,4回切傷のものは相互の間に差異を認めない (ただし第4回は第2回より少い)。これに対し反対切においては L_1' , L_2' ; L_3' , L_4' の2群に分たれ、第1,2回切傷相互間に差異なく第3,4回切傷のいずれよりも多く、第3,4回相互間には差異がない。接続切における各切傷のこの量的低下の傾向はあへん収得量の場合とほぼ同様であるが、反対切の場合は少しく異つている。すなわち、あへん収得量の場合 L_1' , L_2' , L_3' ; L_4' がモルヒネ収得量の場合 L_1' , L_2' ; L_3' , L_4' となつたのは L_3' のモルヒネ含有率の減少が著しいからである。

なお両方法の相対応する同じ切傷順位のものは相互間に差異を認めない。

以上によつて両切傷方法の1果当モルヒネ収得量も回を追うにしたがつて減少の型を相違しているらしいことが認められる。これをあへん収得量の場合と同様にして経過の型 (ベクトル) の検定を行つてみると、

$$F_s = 6.08.$$

ところが

$$F_{4+4-3-1}^3(0.05) = F_4^3(0.05) = 6.59, F_4^3(0.1) = 4.19$$

したがつて

$$0.05 < \alpha < 0.1$$

となり、危険率0.05として両切傷方法の1果当モルヒネ収得量の減少の型には有意差が認められない。しかし F の値は $F_4^3(0.05)$ の値にきわめて近く $F_4^3(0.06)$ 未満であり、両切傷方法は減少の型を相違する傾向のあることが認められる。

Table 13. Cumulative Total of the Morphine Yield per Capsule till the n 'th (First, Second, Third, and Fourth) Lancing

Adjacent cutting M_1	Opposite cutting M_2	$\frac{L_n}{\sum_{n=1}^n} - \frac{L'_n}{\sum_{n=1}^n} = t$	S_{ut} [†]	Presence of significant difference between $\sum_{n=1}^n L_n$ and $\sum_{n=1}^n L'_n$
$L_1 = L_1$	$L'_1 = L'_1$			
12,307.5	10,474.75	1,832.75	3,531.187	Nil

Adjacent cutting M_1		Opposite cutting M_2		$\frac{L_n}{\sum_{n=1}^n} / n - \frac{L'_n}{\sum_{n=1}^n} / n = t$	Su_t †	Presence of significant difference between $\frac{L_n}{\sum_{n=1}^n}$ and $\frac{L'_n}{\sum_{n=1}^n}$
$L_2 = L_{1+2}$ $\sum_{n=1}^n$	18,021.75	$L'_2 = L'_{1+2}$ $\sum_{n=1}^n$	18,253.5	— 115.875	2,496.926	Nil
$L_3 = L_{1+2+3}$ $\sum_{n=1}^n$	22,216	$L'_3 = L'_{1+2+3}$ $\sum_{n=1}^n$	22,453	— 79	2,038.724	Nil
$L_4 = L_{1+2+3+4}$ $\sum_{n=1}^n$	23,908.75	$L'_4 = L'_{1+2+3+4}$ $\sum_{n=1}^n$	24,381	— 118.0625	1,765.593	Nil

$$\dagger \alpha=0.05, Su_t = Su/\sqrt{n} \sqrt{\sum c_i^2} = 4.25 \times \sqrt{1,380,685/4} \sqrt{\sum c_i^2} = 2,496.926 \sqrt{\sum c_i^2}$$

(3) 第 $n(1, 2, 3, 4)$ 回切傷までの累計モルヒネ収得量 (Table 13) あへん収得量の場合と全く同様にして SCH-EFFÉ の方法により検定すれば, いずれの回までの切傷においても累計モルヒネ収得量に対する切傷方法の影響は有意でない $c)d$).

Table 14. Analysis of Variance of Table 7 (Morphine Percentage)

Factor	S. S.	D. F.	Variance (u^2)	$E(u^2)$	Variance ratio	Significant level
M	0.01125	$2-1=1$	0.01125	$\sigma^2 + lp\sigma^2_M$	0.0159	$0.9 < \alpha < 0.95$
$L(M)$	798.93875	$8-2=6$	133.15646	$\sigma^2 + p\sigma^2_{L(M)}$	187.89***	$\alpha < 0.001$
P	11.1225	$4-1=3$	3.7075	$\sigma^2 + lm\sigma^2_P$	5.23**	$0.001 < \alpha < 0.01$
$M \times P$	30.43125	$1 \times 3 = 3$	10.14375	$\sigma^1 + l\sigma^2_{MP}$	14.31***	$\alpha < 0.001$
$E = L(M) \times P$	12.75625	18	0.708681	σ^2		
MLP	853.26	$32-1=31$				

4. モルヒネ含有率についての要因分析

(1) 全体としての分析 (Table 14)

i) 切傷方法はモルヒネ含有率に対し有意の影響を与えない. 分散比は1より小さいがこの有意性を検定すれば, 切傷方法差は偶然としては小さ過ぎることはない.

ii) 各切傷はモルヒネ含有率に対しきわめて高度に有意の影響を与える.

iii) 場所はモルヒネ含有率に対し有意の影響を与える. このことは予備試験においてもその傾向を認めたところである. この場合場所の何かが有意差を与えたかについては, さらに研究を必要とすると思われる.

iv) 方法効果の場所差はモルヒネ含有率に対し有意の影響を与える.

Table 15. Average Morphine Percentage of Each Lancing

Adjacent cutting M_1	L_1	L_2	L_3	L_4	S. D. (0.05) †
	%	%	%	%	
	20.225	15.275	9.95	6.875	
Opposite cutting M_2	L'_1	L'_2	L'_3	L'_4	2.029
	19.6	16.025	9.15	7.7	

† Significant difference using Studentized range (TUKEY's method)

(2) 各切傷について有意差ある個所 (Table 15) TUKEY の方法により検定すれば, 危険率 0.05 として,

$$L_1 > L_2 > L_3 > L_4$$

$$L'_1 > L'_2 > L'_3 = L'_4$$

$$L_1 = L'_1, L_2 = L'_2, L_3 = L'_3, L_4 = L'_4.$$

これを要するにモルヒネ含有率は接続切においては第1回切傷が最高で、回を追うにしたがつて低下する。これは従来よく知られている事実である。反対切の場合においても同じく第1回切傷が最高であり、回を追うにしたがつて低下するが第3, 4回の間には有意差がない。

なお両方法の相対応する同じ切傷順位のものは相互間に差異を認めない。

以上によつて両切傷方法ともに回を追うにしたがつてモルヒネ含有率を低下することが確認されたが、含有率の低下の型の相違について経過の型(ベクトル)の検定を行つてみると、

$$F_s = 2.31.$$

ところが

$$F_{4+4-3-1}^3(0.1) = F_4^3(0.1) = 4.19, \quad F_4^3(0.25) = 2.05$$

したがつて

$$0.1 < \alpha < 0.25$$

となり、両切方法のモルヒネ含有率の低下の型には有意差が認められない。

5. 乳汁分泌中止蒴果の発生

切傷の回の進むに従つて乳汁分泌を停止する個体の次第に多くなることは従来よく知られている事実である。この分泌中止蒴果の発生が切傷方法、各切傷、場所によつて差異を生ずるか否かは興味ある問題である。今、両切傷方法の第2, 3, 4回切傷のときそれぞれあらたに発生した分泌中止蒴果数の第1回切傷蒴果数に対する百分率 $D(D_2, D_3, D_4; D_2', D_3', D_4')$ について、分散分析を行つた結果は次のとおりである。

Table 16. Analysis of Variance of Table 5 (Percentage of the Occurrence of Capsules which discontinued the Secretion of Latex at Each Lancing after the Second)

Factor	S. S.	D. F.	Variance (u^2)	$E(u^2)$	Variance ratio	Significant level
M	13.2017	$2 - 1 = 1$	13.2017	$\sigma^2 + d p \sigma^2_M$	0.292	$0.5 < \alpha < 0.6$
$D(M)$	1,085.8333	$6 - 2 = 4$	271.4583	$\sigma^2 + p \sigma^2_{D(M)}$	6.01**	$0.001 < \alpha < 0.01$
P	167.035	$4 - 1 = 3$	55.6783	$\sigma^2 + d m \sigma^2_P$	1.23	$0.25 < \alpha < 0.5$
$M \times P$	115.895	$1 \times 3 = 3$	38.6317	$\sigma^2 + d \sigma^2_{MP}$	0.855	$0.25 < \alpha < 0.5$
$E = D(M) \times P$	542.2	12	45.1833	σ^2		
MDP	1,924.165	$24 - 1 = 23$				

(1) 全体としての分析 (Table 16)

i) 切傷方法は分泌中止蒴果の発生に対し有意の影響を与えない。分散比は1より小さいが切傷方法差は偶然としては小さ過ぎることはない。切傷方法差がないを採れば第2種の過誤が伴うが、 $\alpha = 0.05$ として $\sigma_M/\sigma = 0.88$ 位の差は80%まで検出できる。

ii) 各切傷は分泌中止蒴果の発生に対し高度に有意の影響を与える。

iii) 場所は分泌中止蒴果の発生に対し有意の影響を与えない。

iv) 方法効果の場所差は分泌中止蒴果の発生に対し有意でない。

Table 17. Average Percentage of the Occurrence of Capsules which discontinued the Secretion of Latex at Each Lancing after the Second

Adjacent cutting M_1	D_2	D_3	D_4	S. D. (0.05)†
	%	%	%	
	0.25	5.325	17.325	15.965
Opposite cutting M_2	D'_2	D'_3	D'_4	
	2.05	8.025	17.275	

† Significant difference using Studentized range (TUKEY's method)

e) ある切傷回において分泌中止した蒴果はそれ以後すべての切傷回において分泌を認めない。

(2) 各切傷について有意差ある箇所 (Table 17) TUKEY の方法によつて検定すれば, 危険率 0.05 として,

$$D_2 \equiv D_3, \quad D_2 < D_4, \quad D_3 \equiv D_4,$$

$$D_2' \equiv D_3', \quad D_2' \equiv D_4', \quad D_3' \equiv D_4',$$

$$D_2 \equiv D_2', \quad D_3 \equiv D_3', \quad D_4 \equiv D_4'$$

となる。すなわち接続切においては第 4 回切傷時発生分泌中止蒴果発生率が第 2 回のものより多いだけで, 他のもの相互の間には差異は認められない。反対切においては危険率 0.05 として相互の間にすべて差異は認められないが, 接続切の場合と同様の傾向は充分認められる。

両方法の相対応する同一切傷回の分泌中止蒴果発生率には相互間に差異を認めない。

なお両切傷方法の回を追うにしたがひ分泌中止蒴果発生率の増加の型の相違について, あへん収得量の場合と同様にして経過の型(ベクトル)の検定を行つてみると,

$$F_s = 4.32$$

となる。ところが

$$F_{4+4-3-1}^3(0.05) = F_4^3(0.05) = 6.59, \quad F_4^3(0.1) = 4.19$$

したがつて

$$0.05 < \alpha < 0.1$$

となり, 危険率 0.05 として両切傷方法の分泌中止蒴果の増加の型には有意差は認められない。しかし α は比較的小さいので, 増加の型には幾分の相違があるともいえるが将来の研究にまづこととしたい。

Table 18. Cumulative Total of the Percentage of Occurrence of Capsules which discontinued the Secretion of Latex till the n 'th (Second, Third, and Fourth) Lancing

Adjacent cutting	M_1	Opposite cutting	M_2	$\frac{D_n}{\sum_{n=2}^n} - \frac{D'_n}{\sum_{n=2}^n} = t$	Su_t	Presence of significant difference between $\frac{D_n}{\sum_{n=2}^n}$ and $\frac{D'_n}{\sum_{n=2}^n}$
$D_2 = D_2$ $\sum_{n=2}^n$	0.25	$D'_2 = D'_2$ $\sum_{n=2}^n$	2.05	-1.8	18.727	Nil
$D_3 = D_{2+3}$ $\sum_{n=2}^n$	5.575	$D'_3 = D'_{2+3}$ $\sum_{n=2}^n$	10.075	-2.25	13.242	Nil
$D_4 = D_{2+3+4}$ $\sum_{n=2}^n$	22.9	$D'_4 = D'_{2+3+4}$ $\sum_{n=2}^n$	27.35	-1.48	10.812	Nil

$$\dagger \quad \alpha = 0.05, \quad Su_t = Su/\sqrt{n} \sqrt{\sum c_i^2} = 3.94 \times \sqrt{45.1833/4} \sqrt{\sum c_i^2} = 13.242 \sqrt{\sum c_i^2}$$

(3) 第 n (2, 3, 4) 回切傷まで発生分泌中止蒴果発生率 (Table 18) SCHEFFE の方法によつて検定すれば, 第 n (2, 3, 4) 回切傷まで発生分泌中止蒴果発生率はいずれの回までにおいても両切傷方法の間に有意差は認められない。

摘 要

あへん採汁にあつて, 本邦においては通常隔日にもはや分泌の認められなくなるまで 4 回の切傷が行われている。しかして切傷順序に接続切と反対切の 2 方法がある。接続切とは前回切傷した山に接続して順次に切傷する方法で, 反対切とは常に前回切傷の反対側を切傷するものである。ケシは品種として一貫種を用い, 地力均等と思われる相隣る 4 箇所に栽培した。

本研究はこれら 2 切傷方法, 各切傷場所と 1 果当あへん収得量, 同モルヒネ収得量, モルヒネ含有率, 分泌中止蒴果の発生との関係について推計学的に検討を行つたものである。

1. 1 果当あへん収得量について (Table 5)

(1) 切傷方法は 1 果当全あへん収得量に対し有意の影響を与えない (Table 8)。

(2) 場所は 1 果当あへん収得量に対し有意の影響を与えない (Table 8)。

(3) 各切傷は 1 果当あへん収得量に対しきわめて高度に有意の影響を与える (Table 8)。接続切においては第

1 回切傷が最大, 第2, 3, 4 回切傷のものは相互間に差異を認めない. これに対し反対切においては第4 回が最少で, 第1, 2, 3 回のものは相互間に差異を認めない (Table 9).

(4) 両切傷方法の相対応する同じ切傷順位のものは相互間に差異を認めない (Table 9).

(5) 両切傷方法の回を追って減少するあへん収得量の経過の型には有意差は認められる.

(6) いずれの回までの切傷においても累計あへん収得量に対する切傷方法の影響は有意でない (Table 10).

2. 1 果当モルヒネ収得量について (Table 6)

(1) 切傷方法は1 果当全モルヒネ収得量に対し有意の影響を与えない (Table 11).

(2) 場所は1 果当モルヒネ収得量に対し有意の影響を与えない (Table 11).

(3) 各切傷は1 果当モルヒネ収得量に対しきわめて高度に有意の影響を与える (Table 11). 接続切においては第1 回切傷が最大で第2, 3, 4 回のもの相互間には差異を認めない. これに対し反対切においては第1, 2 回切傷には差異なく第3, 4 回のもののいずれよりも多く, 第3, 4 回のもの間には差異は認められない (Table 12).

(4) 両切傷方法の相対応する同じ切傷順位のものは相互間に差異を認めない (Table 12).

(5) 両切傷方法の回を追うにしたがつて減少するモルヒネ収得量の経過の型は相違するものである.

(6) いずれの回までの切傷においても 累計モルヒネ収得量に対する切傷方法の影響は有意でない (Table 13).

3. モルヒネ含有率について (Table 7)

(1) 切傷方法はモルヒネ含有率に対し有意の影響を与えない (Table 14).

(2) 場所はモルヒネ含有率に対し有意の影響を与える (Table 14).

(3) 各切傷はモルヒネ含有率に対しきわめて高度に有意の影響を与える (Table 14). 両切傷方法ともに回を追うにしたがつて含有率を低下する. ただし反対切の第3, 4 回切傷のもの間には有意差は認められなかつた (Table 15).

(4) 切傷方法効果の場所差はモルヒネ含有率に対し有意の影響を与える (Table 14).

(5) 両切傷方法の相対応する同じ切傷順位のものは相互間に差異を認めない (Table 15).

(6) 両切傷方法の回を追うにしたがつて減少するモルヒネ含有率の経過の型には有意差は認められない.

4. 乳汁分泌中止蒴果の発生について

(1) 切傷方法は分泌中止蒴果の発生に対し有意の影響を与えない (Table 16).

(2) 場所は分泌中止蒴果の発生に対し有意の影響を与えない (Table 16).

(3) 各切傷は分泌中止蒴果の発生に対し高度に有意の影響を与える (Table 16).

(4) 両切傷方法の相対応する同一切傷回の分泌中止蒴果発生率には相互間に差異を認めない (Table 17).

(5) 両切傷方法の回を追って増加する分泌中止蒴果の発生型には有意差は認められない.

(6) いずれの回までの切傷においても 計果分泌中止蒴果発生率に対する切傷方法の影響は有意でない (Table 18).

文 献

- 1) 厚生省薬務局麻薬課編: けし栽培の実際, 23 pp., 薬事日報社 (東京), 1955.
- 2) 木下孝三: 農業及園芸, 31, 417 (1956).
- 3) Asahina, H., Ōno, M.: *Bulletin on Narcotics*, 8, (4), 39 (1956).

Summary

For the sake of collecting opium, in this country, successive incision is made every second day until no more latex flows from the capsule. This usually requires four lancements. Vertical incisions are made by means of a knife having two or three edges. There are, however, two methods of incision, adjacent cutting and opposite cutting. In both methods, two adjacent ribs or "mountains" are incised at the first lancing. Adjacent cutting means that at the second lancing three ribs adjacent to the first two are incised, and so on around the capsule at the third and fourth lancements. Opposite cutting means that at the second lancing three ribs adjacent to each other but opposite to the two already cut are incised. The third lancing is then made by incising three ribs between those cut in the first and second lancements, and the fourth lancing is then opposite to the third. In these trials, poppy plants of the strain "Ikkan-shu" were cultivated at four places adjacent to each other, the soil of which seemed to be uniform.

The present paper deals with stochastic studies on the relation of the two methods of successive incision, the eight lancements, and the four places, to the opium yield per capsule, to the morphine yield per capsule, to the morphine percentage, and to the occurrence of capsules which discontinued the secretion of latex.

1. With regard to the opium yield per capsule (Table 5),

(1) between the two methods, significant difference was absent (Table 8);
(2) among the places, significant difference was absent (Table 8);
(3) among the lancements, very highly significant difference was present (Table 8). In the adjacent cutting, the first lancing was the maximum, the second, third, and fourth showing no difference one another; whereas in the opposite cutting, the fourth lancing was the minimum, the first, second, and third showing no difference one another (Table 9);

(4) between two lancements of the same order of the respective methods, significant difference was all absent (Table 9):

(5) between two types of process as time series of the respective methods, decreasing with later lancing, significant difference was present;

(6) between two cumulative totals till the same order of lancing of the respective methods, significant difference was all absent (Table 10).

2. With regard to the morphine yield per capsule (Table 6),

(1) between the two methods, significant difference was absent (Table 11);

(2) among the places, significant difference was absent (Table 11);

(3) among the lancements, very highly significant difference was present (Table 11). In the adjacent cutting, the first lancing was the maximum, the second, third, and fourth showing no difference one another; whereas in the opposite cutting, the first and second lancements showed no difference each other and were larger than the third and fourth, the latter two showing no difference (Table 12);

(4) between two lancements of the same order of the respective methods, significant difference was all absent (Table 12);

(5) between two types of process as time series of the respective methods, decreasing with later lancing, significant difference seemed to be present;

(6) between two cumulative totals till the same order of lancing of the respective methods, significant difference was all absent (Table 13).

3. With regard to the morphine percentage (Table 7),

(1) between the two methods, significant difference was absent (Table 14);

(2) among the places, significant difference was present (Table 14);

(3) among the lancements, very highly significant difference was present (Table 14). In both methods, the morphine percentage varied decreasingly with the order of lancing, except that in the opposite cutting the third and fourth showed no difference each other (Table 15);

(4) the interaction of the methods and the places was significant (Table 14);

(5) between two lancements of the same order of the respective methods, significant difference was all absent (Table 15);

(6) between two types of process as time series of the respective methods, decreasing with the order of lancing, significant difference was absent.

4. With regard to the occurrence of capsules which discontinued the secretion of latex (Table 5),

(1) between the two methods, significant difference was absent (Table 16);

(2) among the places, significant difference was absent (Table 16);

(3) among the lancements, highly significant difference was present (Table 16);

(4) between two lancements of the same order of the respective methods, significant difference was

all absent (Table 17) ;

(5) between two types of process as time series of the respective methods, increasing with later lancing, significant difference was absent ;

(6) between two cumulative totals till the same order of lancing of the respective methods, significant difference was all absent (Table 18).

Received May 31, 1958

ケシ *Papaver somniferum* L. の生育ならびに収量におよぼす 窒素質肥料の影響について

木 下 孝 三

Studies on the Effects of Nitrogenous Manures upon the Growth and the Yield of Opium Poppy (*Papaver somniferum* L.)

Kôzo KINOSHITA

まえがき けし栽培は再開以来既に3カ年を経て、その栽培技術も漸次改良を加えられつつある現状であるが、収量品質ともにいまだ往年の水準に達していない。けし栽培において最も重要なのは、肥料の問題である。著者はさきに肥料成分中最も重要なのは窒素質肥料であり、その欠除の場合は植物の生育はいちじるしく阻害され、根、茎、葉および蒴果など植物の各部分にその障害があらわれ、液汁分泌能力もいちじるしく減退し、あへん収量はいちじるしく減少し、かつ他の肥料要素すなわち磷酸、加里などは窒素の存在しない場合はその肥料効果をほとんどあらわさないことを報告した。窒素質肥料には種々の種類があり、その成分量、土壌反応、肥効などにおいても各々その趣きを異にしている。けし栽培においてはいずれの性質の窒素質肥料が最も適しているか、その選択、配合、施用量などが最も重要な問題となってくる。かく異つた窒素質肥料の各々が、けしに与える影響を調査し併せて施肥上の基礎となる資料を得ることが、けし栽培上きわめて重要な事項であると考えられる。著者は現在市販されている数種の最も代表的な窒素質肥料をえらび、1957年和歌山薬用植物栽培試験場の土壌を用いて、それら肥料とけしの生育および収量品質などとの関係につき試験調査し、若干の成績を得たのでここに報告する次第である。

材料および方法

材料 本試験に使用したけしの品種は一貫種系統のもので1956年6月当試験場で採種したものである。

方法 長さ、幅、深さそれぞれ90cm、90cm、90cmのコンクリート枠を用い、土壌はやや粘質の壤土で前作水稲無肥料栽培のものを用いた。コンクリート枠内はそれぞれ上部より耕土27cm、水田床土12cm、底土(礫を含んだ粘質土)51cmの深さとした。試験区は無肥料区(No manure)、無窒素区(No nitrogen)、硫酸区(Ammonium sulphate, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$)、尿素区(Urea, $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$)、硝安区(Ammonium nitrate, NH_4NO_3)、塩安區(Ammonium chloride, NH_4Cl)、石灰窒素区(Lime nitrogen, CaCN_2)、智里硝石区(Chilian nitrate, NaNO_3)、菜豆粕区(Rape cake)、および大豆粕区(Soybean cake)の10区とし各区8個体を供試した。肥料は窒素、磷酸、加里それぞれ反当4.036貫、1.20貫、2.33貫1区当12.60g、3.75g、7.27gとし窒素はそれぞれ各試験区の肥料をもつてし、磷酸および加里は無肥料区を除き各区共通とし過磷酸石灰、硫酸加里をもつてした。基肥に全量の5%、追肥に20%、止肥に75%の割でそれぞれ適期に施用した。別に各区とも播種前耕土に石灰62.5gを撒布しよく混和し、その他の管理、栽培法などはけし栽培耕種基準によつて行われた。1956年11月12日播種し、発芽後10日目ごとに草丈、葉数その他外見的に観察される生育上の差異について調査し、翌57年5月21日採汁開始、同29日終了、6月6日地上部、地下部を収穫し、各部の生育状態について調査し、各区間の比較を行つた。モルヒネの定量はイオン交換樹脂を前処理としてモルヒネを分離したのち、フオリン試薬を使用して吸光係数を測定比色定量した。

実 験 結 果

1) 一般生育状態 各区とも11月25日いつせいに発芽し、その状況はきわめて順調であつた。その後順調に越冬したが3月下旬~4月上旬にかけての異状の低温のため、各区とも多少の生育の遅延をきたしたが、幸い被害僅少に止つた。その後生育順調に進展し5月3日~5月6日の間に正常に開花し、5月21日採汁適期となり、同29日採汁終了し故障なく収穫を終つた。各区間の差異についてみるに無肥料、無窒素の両区は3月上旬頃より生育の劣るのがみられ、茎葉伸長期にはいつてこの傾向はますます顕著となり、葉色はやや黄変し明らかに窒素欠乏の徴候を呈してきた。石灰窒素区も生育の初期においては、他区に比べて生育の劣るのが認められたが、終期

近くなり回復を示して他区との差異も僅少となった。その他の各区は生育良好で各区間の差異も比較的僅少であるのが認められた。腋芽は発生のたびに摘芽し1本仕立としたが、その発生数および重量は草勢および生育状態の判定に一つの好材料となるものである。各区の腋芽発生状況をみるに、発生数および重量においては塩安が最高であり、智利硝石などと続き硫安、尿素などはこれより相当に劣り、石灰窒素はさらに劣り無窒素および無肥料の両区にいたつては発生はほとんど認められない。

一般に外見的に観察される生育状況においては、塩安のごとき非硫酸根肥料および智利硝石のごとき塩基性肥料が生育きわめて良好であり、尿素、硝安のごとき中性肥料がこれに次ぎ、硫安のごとき酸性肥料および菜種粕、大豆粕などの有機質肥料がやや劣るのが認められる。

2) 収穫調査 収穫物調査の結果を示すと第1表のとおりである。収量の各項について分散分析を行つた結果、いずれの項目についても1%水準で区間の差の有意性が認められた。

Table 1. Comparison of the Yield of Crop among Different Treatments.

No.	Treatment	Fresh weight of whole plant		Fresh weight of leaves		Fresh weight of stem		Fresh weight of capsule		Height of capsule cm	Width of capsule cm	Fresh weight of roots	
		g	Ratio	g	Ratio	g	Ratio	g	Ratio			g	Ratio
1	No manure	56.8	34	8.00	19	29.00	43	11.12	38	5.03	3.16	8.75	29
2	No nitrogen	54.3	32	7.00	16	27.37	40	10.12	35	4.80	2.98	9.00	30
3	Ammonium sulphate	125.8	75	27.87	65	54.37	80	24.62	85	6.38	4.35	19.00	63
4	Urea	143.9	86	35.87	84	59.00	87	29.00	100	6.45	4.49	21.25	70
5	Ammonium nitrate	92.8	55	23.00	54	38.37	56	20.62	71	6.35	4.10	10.75	36
6	Ammonium chloride	167.3	100	42.62	100	68.12	100	26.25	91	6.74	4.68	30.25	100
7	Lime nitrogen	96.3	58	24.12	57	38.50	57	21.75	75	6.55	4.12	11.87	39
8	Chilian nitrate	140.9	84	32.87	77	60.25	88	22.12	76	6.41	4.19	25.62	85
9	Rape cake	113.5	68	27.50	65	50.12	74	20.37	70	6.70	4.04	15.50	51
10	Soybean cake	91.3	55	19.00	45	39.50	58	20.00	69	6.35	3.99	12.75	42
L. S. D. 5 %		30.8		11.36		11.70		5.58		0.56	0.38	6.54	
L. S. D. 1 %		41.0		15.10		15.56		7.42		0.74	0.50	8.69	

1. 生体総重 塩安最大値を示し尿素、智利硝石、硫安と順次しその他は相当に劣っている。さらに無窒素、無肥料はこれらよりはるかに劣っている。各区間の差異およびその有意性については塩安は尿素、智利硝石を除く他のすべての区との間に有意の差がみられ、尿素は硝安、石灰窒素および大豆粕と、智利硝石は硝安、石灰窒素および大豆粕と、硫安は硝安、塩安および大豆粕との間にそれぞれ有意差がみとめられる。無窒素および無肥料はともに他のすべての区との間に有意差が認められる。

2. 生葉重量および生茎重量 両者とも生体総重と同様の傾向が認められる。

3. 蒴果 まず形状について見るに、高さにおいては、無窒素および無肥料を除く各区間の差異は僅少であるが、幅においては塩安最大を示し、尿素、硫安、智利硝石などと続き各区間の差異はかなり認められる。生体重量においては尿素最大を示し塩安、硫安、智利硝石と続きその他は相当に劣っている。無窒素および無肥料の両区はともにさらにはるかに劣っているのが認められる。各区間の差異については尿素は硫安および塩安を除く他のすべての区間と、塩安は硝安、菜種粕および大豆粕との間にはそれぞれ有意の差異が認められる。無窒素、無肥料の両区はともに他のすべての区との間に有意差が認められる。

4. 生根重量 塩安最大を示し智利硝石、尿素、硫安などと順に劣りその差異もかなり大きいのが認められる。その他はさらに相当劣り、無窒素、無肥料の両区はともに最も劣っているのが認められる。各区間の差異については塩安は智利硝石を除く他のすべての区間と、智利硝石は尿素および塩安を除く他のすべての区間と、硫安は尿素、菜種粕および大豆粕を除く他のすべての区間とはいずれも有意の差異が認められる。また無窒素は硝安、石灰窒素、菜種粕および大豆粕を除く他の各区間と、無肥料は硝安、石灰窒素および大豆粕を除く各区との間にはそれぞれ有意差が認められる。

3) 収量調査 あへん収量，モルヒネ含量および種子収量等の調査は第2表に示すとおりである．分散分析の結果モルヒネ含量を除く他の各項目については，いずれも1%水準において区間の差の有意性が認められた．

Table 2. Comparison of the Yield of Opium, the Morphine Content and the Yield of Seeds among Different Treatments.

No.	Treatment	Yield of opium		Morphine content		Yield of morphine		Yield of seeds	
		mg	Ratio	%	Ratio	mg	Ratio	g	Ratio
1	No manure	31.1	15	9.92	55	3.08	10	0.57	25
2	No nitrogen	37.2	17	11.43	63	4.25	13	0.98	43
3	Ammonium sulphate	118.6	56	14.70	81	17.43	54	2.00	88
4	Urea	120.0	56	18.15	100	21.78	67	1.97	86
5	Ammonium nitrate	126.0	59	13.57	75	17.09	53	2.01	88
6	Ammonium chloride	213.1	100	15.20	84	32.39	100	2.28	100
7	Lime nitrogen	157.3	74	13.90	77	21.86	67	1.60	70
8	Chilian nitrate	169.8	80	13.90	77	23.60	73	1.98	87
9	Rape cake	118.1	55	15.27	84	18.03	56	1.28	56
10	Soybean cake	115.0	54	14.92	82	17.15	53	1.47	64
	L. S. D. 5 %	51.7		N. S.		8.72		0.64	
	L. S. D. 1 %	68.8		N. S.		11.59		0.85	

1. 液汁分泌状況 5月21日採汁を開始したが，本年は4月上旬の寒冷な気温の影響により一般に分泌量が少なかった．切傷回数進むにつれての液汁分泌の低下率は第3表に示すとおりである．第1回切傷においては全個体分泌して各区間の差異を認めないが，第2回切傷においては早くも低下を示し，無肥料，無窒素はその程度が最もいちじるしい．第3回切傷においてはさらにいちじるしく低下を示し，無肥料，無窒素および尿素等は早くも分泌を停止してしまっている．第4回切傷においては塩安および智利硝石以外の各区は，全く分泌を停止してしまっているのが認められる．全期間を通じてみると，低下率の最も少ないのは塩安であり，智利硝石，石灰窒素，硝安などと順次し，大豆粕，菜種粕などは比較的少なくこれに続き，尿素，硫酸などはさらにこれらより劣り，無肥料および無窒素は最も低下率が大であるのが認められる．あへん収量との関係は次に示すごとく，この傾向と大体において一致しているのが認められる．

Table 3. Comparison of the Percentage of Individual Secreted Latex among Different Treatments.

No.	Treatment	1st incision		2nd incision		3rd incision		4th incision	
		After immediately	Next morning	After immediately	Next morning	After immediately	Next morning	After immediately	Next morning
		%	%	%	%	%	%	%	%
1	No manure	100.0	100.0	37.5	12.5	0.0	0.0	0.0	0.0
2	No nitrogen	100.0	100.0	50.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
3	Ammonium sulphate	100.0	100.0	37.5	50.0	12.5	12.5	0.0	0.0
4	Urea	100.0	100.0	50.0	62.5	0.0	0.0	0.0	0.0
5	Ammonium nitrate	100.0	100.0	87.5	75.0	25.0	25.0	0.0	0.0
6	Ammonium chloride	100.0	100.0	87.5	50.0	50.0	37.5	25.0	25.0
7	Lime nitrogen	100.0	100.0	87.5	100.0	75.0	75.0	0.0	0.0
8	Chilian nitrate	100.0	100.0	87.5	87.5	37.5	25.0	12.5	12.5
9	Rape cake	100.0	100.0	62.5	75.0	25.0	0.0	0.0	0.0
10	Soybean cake	100.0	100.0	87.5	87.5	12.5	0.0	0.0	0.0

2. あへん収量 塩安最大値を示し智利硝石と順次するが両者の差異は相当に大きい。石灰窒素はこれに次ぎその差異は比較的少ない。硝安、尿素などはこれよりさらに劣りその差異はやや大である。硫安、大豆粕および菜種粕などはさらにこれに続きそれらの差異は僅少である。無窒素、無肥料の両区は最も劣りその差異はいちじるしく大であるのが認められる。各区間の差異およびその有意性は塩安は智利硝石を除く他のすべての区間および智利硝石と菜種粕、大豆粕との間にはそれぞれ有意の差異が認められる。また無窒素および無肥料の両区はともにすべての区との間に有意差が認められる。

3. モルヒネ含量 尿素最高を示し塩安、菜種粕、大豆粕などと順次減少を示し無窒素、無肥料は最低となっている。しかしそれらの差異は無窒素、無肥料の両区を除くほかは比較的僅少である。なおこの場合分散分析の結果区間の差異の有意性は認められない。

4. モルヒネ収量 塩安最大値を示しあへん収量とほとんど同様の傾向を示している。各区間の差異およびその有意性についてはこの場合智利硝石と菜種粕および大豆粕の間には有意の差異は認められない。

5. 種子収量 塩安最大を示し硝安、硫安、智利硝石、尿素など順次減少を示しているがそれらの差異は比較的僅少である。大豆粕、菜種粕などはこれらよりさらに劣りその差異もやや大きい。無窒素、無肥料の両区は最も劣りその差異はいちじるしく大であるのが認められる。各区間の差異およびその有意性については塩安は石灰窒素、菜種粕および大豆粕との間、菜種粕は大豆粕、石灰窒素および無窒素を除く他の区間とはそれぞれ有意の差異が認められる。また無窒素は石灰窒素、菜種粕および大豆粕を除く他の区間と、無肥料は他のすべての区間とはそれぞれ有意差が認められる。

総 括

以上の結果を総合すると、生育状況においても生体総重、あへん、モルヒネ、種子などの収量においても、塩安は特に最高の成績を示している。塩安は非硫酸根肥料であり、土壌反応においては酸性塩基性のどちらにも偏することなく、かつ速効的でよく土壌に吸収される性質が、けしの生育によく適しているためと考えられる。また塩素はおよそ植物の生育にはよい結果をもたらさないとされているが、あるいはその微量的作用がかえつて適したとも考えられる。非硫酸根肥料である点においては石灰窒素も同様であり、この意味においては好適の肥料であるが、けしの施肥方法は追肥に重点をおくため、その植物に対する有害作用によりやや不適当であり、初期の生育の悪いのはこのためであると考えられる。しかしその土壌に対する反応はその酸性化を防ぎ、かつ速効的性質が生育の後期に至つて適し、いちじるしく回復されているのが認められる。次に生育良好なのは智利硝石であり、その生理的塩基性の性質がよくけしの生育に適し、かつけしの施肥方法がまたよくその肥効を最もよく発現するに適しているためと考えられる。次に尿素、硝安などの中性肥料が比較的生育よくその特性もけし施肥法に適している。硫安はこれらよりやや生育劣り、その酸性の特性がより土壌の酸性化を助長する結果と考えられる。菜種粕、大豆粕などの有機質肥料についてみるに、けしの生育には有機質肥料はきわめて必要でかつ重要であるが、そのみ単用ではその速効性のためやや不適と考えられ生育も比較的劣るのが認められる。以上各種の窒素質肥料のけしの生育に対する性質およびその影響は区々であるが、実際の施用の場合にはよく土壌の状態を考慮して無機・有機の各種肥料の選択、その配合およびその量などが重要な問題となつてくると考えられる。あへん収量においては上述のごとき影響が認められるが、その品質すなわちモルヒネ含有量においては、いずれの肥料においてもその影響は全く認められない。

終りにモルヒネ定量に関し多大の御協力を賜つた大阪支所の小川支所長、中川技官、伊阪技官、その他の各位に対し深甚の謝意を表します。

摘 要

1957年和歌山薬用植物栽培試験場の土壌を用いて、けしの生育ならびに収量におよぼす窒素質肥料の影響について試験した。試験区は無肥料区、無窒素区、硫安区、尿素区、硝安区、塩安区、石灰窒素区、智利硝石区、菜種粕区および大豆粕区の10区を設けた。結果は次のとおりである。

1. 生育状況においても生体総重、あへん収量、モルヒネ収量、種子収量などにおいても塩安のごとき非硫酸根肥料が最もすぐれ、次に智利硝石のごとき塩基性肥料がすぐれているのが認められる。

2. 中性肥料すなわち硝安、尿素などはこれより生育収量がやや劣つているのが認められる。

3. 酸性肥料すなわち硫酸はさらに劣っているのが認められる。
4. 有機質肥料すなわち大豆粕、菜種粕などはそれ単用においてはあまり肥効が認められない。
5. モルヒネ含量は肥料による影響は全く認められない。

文 献

- 1) 木下孝三：本誌, 75, 189 (1957).

Summary

Using the soil of Wakayama medical plant experimental station, the effects of nitrogenous manures upon the growth and the yield of opium poppy (*Papaver somniferum* L.) were investigated in 1957. Ten plots, namely, no manure, no nitrogen, ammonium sulphate, urea, ammonium nitrate, ammonium chloride, lime nitrogen, chilian nitrate, rape cake, and soybean cake were provided for the experiment. Results obtained are summarized as follows.

1. The fresh weight of whole plant, the yield of opium, the yield of morphine and the yield of seeds are maximum in non-sulphatic manure, such as ammonium chloride, and are secondarily in basic manure, such as chilian nitrate, but in the appearance of growth the differences between them are hardly recognized.
2. In neutral manure, such as ammonium nitrate and urea, the growth and the yield of crops are inferior to that in the formers.
3. In acidic manure, such as ammonium sulphate, the growth and the yield of crops are both inferior tolerably to the others.
4. In the case of merely application of organic manure, such as soybean cake and rape cake, the manurial value of them are not remarkable.
5. It is recognized that manures have no influence on the morphine content of opium.

Received May 31, 1958.

タマサキツヅラフジの試植栽培 (第3報)

塊茎栽培について (その1)

石 原 活 磨

Trial Cultivation of *Stephania cepharantha* HAYATA III

Cultivation by Tuberous Root. 1

Katsuma ISHIHARA

まえがき 著者は本誌第74号, 第75号にタマサキツヅラフジの実生栽培についての試植試験成績をその1, その2として報告したが引きつづいて塊茎根を供試しこの繁殖栽培を行つた. その概要を報告する.

報文の作成にあたり御指導を賜つた川谷場長, 協力された大野技官に深謝する.

在来の繁殖方法は塊茎根も棒状の枝根も, 多くの場合切断分割を行わないで, 原形のまま種用芋として植付してきたのであるが, 著者は塊茎根を縦横に切断分割して高度の増殖法を試みた.

本法は実生繁殖法と異つて, 優良系統の保存および繁殖に適するばかりでなく, タマサキツヅラフジの雌雄株比較研究上にも益することが多い.

調査項目

12 種用塊茎別と収根量との考察

13 塊茎(切断)供試部と収根量との考察

14 茎葉部の生育について

供試材料

春日部試験場産の2年生塊茎部および岐枝根茎を供試した.

a. 本報記載の塊茎部と称する部分は地上茎直下の地中に形成された肥大塊状の塊茎根をいう.

b. 岐枝根茎と称する部分は a 部の下部から発生分枝した地下の棒状形根(太さ1~3cm, 長さ20~30cmくらい)をいう.

塊茎の切断分割方法

塊茎部も枝根茎部も植付に先だち鋭利な刃物を用いて切断分割する, 大きな球状の塊茎は縦横に裁断するが, 各切片の一面には必ず黒褐色の表皮層を付ける必要がある. 表皮層皆無の切片からはほとんど発芽することがない. 各切片はあらかじめ準備しておいた清潔な木灰中に入れて, 切断面から分泌する粘液質物によつて木灰がよく付着するようにしなければならない. 岐枝根は長さ3~4cmくらいに横断して供試した.

栽培法

前報実生栽培方法と同一の方法で行つた.

12.* 種用塊茎別と収根量との考察

種用芋に供した塊茎(塊状根茎)は根頭部の塊茎と下部に生じた棒状の岐枝根に分けて供試比較した.

第27表* 種用塊根別と収根量

種根供用部	種根重 g	収根重 g	増殖率倍	面積10a当り 収根重 kg	根 状
a 頭部塊茎根(上位)	22.50	480.00	21.33	1678	塊状部肥大
b 頭部塊茎根(中位)	17.90	396.00	29.55	3442	塊状部肥大
c 頭部塊茎根(下位)	13.10	307.00	23.44	2160	塊状部肥大
1 岐枝大根	14.90	578.75	38.84	2542	棒状根伸長す
2 岐枝中根	5.47	336.57	61.53	5190	棒状根伸長す
3 岐枝小根	1.96	254.57	129.88	1512	棒状根伸長す

* 第2報(本誌, 75, 165 (1957))よりの通し番号

上記成績を考察すると原形根を栽培した場合には中等大のものが増殖率が高位にあつた。すなわち塊根供試 17 g、枝根供試 5 g のものが優位を示し栽培上有利のように考えられた。

13. 塊茎 (切断) 供用部位と収根量

第28表 塊茎 (切断) 供試部位と収根量

種根供用部	種根重 g	収根重 g	増殖率 倍	枝根数 本	活着率 %	生育率 %
塊茎頂部	34.87	369.5	10.59	15.3	89.00	85.0
塊茎中部	17.46	496.6	28.44	15.0	90.00	85.0
塊茎末部	26.88	259.2	9.64	9.8	95.00	9.50
枝根上部	6.88	507.00	7.36	15.0	95.00	9.5
枝根中部	5.90	308.75	5.23	12.5	94.00	9.0
枝根下部	5.27	335.00	6.35	13.1	95.00	9.5

上記成績を考察するとき根頭塊茎部切片を植付した場合は原形根の収根率に比べ約 76.2% の減収を示したが、枝根部供用の場合は約 59.1% の増収率を示した。すなわち大塊根は原形のまま棒状枝根は切断して植付することが有利である。また切断分割の場合も腐敗は起さない。

14. 茎葉部の生育について

本植物の日本栽培では全生育期間が 5 月上旬から 10 月下旬頃までの約 180 日間であるが、最初に発芽した同一の主茎だけが伸長繁茂するのではなく、主茎葉腋から発生した枝茎が三次にわたって生育する。台湾や南支地方では温暖期間がほとんど周年にわたるので年間生長する。

第29表 茎 葉 部 生 育

試 区 別	発生茎数 本	茎 長 cm	葉 長 cm	葉 幅 cm	葉柄長 cm
1 半 陰 地	3.5	475	8.43	9.16	10.11
2 半 陰 地	3.5	480	8.25	8.59	9.54
3 半 陰 地	2.7	435	6.62	7.64	6.47
4 半 陰 地	2.8	435	8.22	9.40	10.67
5 向 陽 地	3.5	217	5.71	6.75	6.36
6 向 陽 地	3.5	239	5.24	5.91	10.06
7 向 陽 地	1.7	275	4.83	5.66	4.22
8 向 陽 地	1.7	277	4.16	4.94	8.43

1. 第一次発育は 5 月上旬に発芽した主茎が 10 月下旬頃まで生長する。この茎は塊茎頭部から発芽し伸長度の速いものであつて、発芽の良否と芽の強弱太細が初期発育を左右する大切な要素である。

2. 第二次発育茎は 8 月頃主茎の地上 10 ないし 30cm 間に葉腋に発生する枝茎で、最も盛んに伸長繁茂するので本植物の収根量と種子収量を左右するものである。

3. 第三次生長は前記主茎の最下部から 9 月下旬頃発生するが、気温低下のためわずかに伸長する程度で生産的にはほとんど関係がない。

上述地上茎葉部の発育度と塊茎根部の発育度とは密接の関係があつて、5 月から 9 月頃までの期間は主として茎葉部も根部も伸長生長を行い、8 月から 11 月頃の期間は地上部は繁茂し地下部は肥大発育するものである。

総 括

12. 塊根を切断分割することなく原形のまま栽培した場合は、塊状根も棒状の岐枝根も、ともに中等大のものが増殖率が高く小根、大根の増殖率は低位にあつた。

13. 塊根を切断分割栽培したが、塊状根も棒状の枝根も切片は腐敗することなく活着生長する事実を確めた。本法は少量の種芋を用いて増殖を計る有利な方法である。

14. 茎葉部の発育繁茂は三次的であつて第一次は主として主茎が伸長するが、1株の発生茎数と伸長度と第二次の枝茎葉の伸長繁茂の良否によつて収根量が著しく左右される。日本での栽培では台湾や印度シナと異つて第三次発生茎の影響はほとんどない。

したがつて本植物温帯栽培化のためには、栽培初期の肥培管理（5月から8月頃まで）の注意がいる。

Summary

Results obtained are summarized as follows : —

12) In the case of cultivation with the whole roots without cutting, tuberous or stick-shaped branch roots, ratio of weight increase was higher in the roots of medium size than in those of larger and smaller size.

13) It was confirmed that in the case of cultivation with cut roots, the pieces of cut roots hardly decay, but sprout and grow. This method of propagation is advantageous because it is possible with a smaller quantity of seed tuberous roots.

14) Observations of the vegetative growth have shown that this plant has three stages. It was confirmed that the growth of roots depends chiefly upon the primary growth i. e., the number of sprouting and the development of main stems and the secondary growth i. e., the development of branch stems, but hardly depends upon the third growth i. e., the development of minor branch stems at the base of the plant, unlike in Formosa and Indo-China. Therefore for the cultivation of this plant in the temperate climate the manuring and management in the earlier period of cultivation (from May to August) should properly be made.

Received May 31, 1958

レモングラスの系統の分類に関する研究 (予報)

I. 生育上の一般特性, 収草量, ならびに生葉の含水率について*

宮 崎 幸 男

Studies on Grouping of the Strains of Lemon-Grass (Preliminary Report)

I. With Regard to the General Growth Characters, Yield of Grass, and the Water Content of Fresh Leaves

Yukio MIYAZAKI

まえがき 一般にレモングラスと呼ばれているもののなかには *Cymbopogon flexuosus* STAFF と *C. citratus* STAFF の species を異にする二種の植物が含まれており, 前者はマラバールグラス, コチングラスあるいは東印度レモングラス, 後者はいわゆる西印度レモングラスと呼ばれるものであるが, これら二種の植物のなかにはさらに多くの異った系統の存在することは当然予想されるところである。これに関し Hood(1917)¹⁾は世界各地から集めた13系統について生育上の特性のほか含油率ならびにチト랄含量などの研究を行つた結果, 系統間に相当差異のあることを報じている。当場でも数年来国内の研究所よりレモングラスの分譲を受け, 現在16系統を保有しているが, わが国において本作物を栽培するにあつては世界の主な栽培地と比べ気象要素など栽培環境に相当不利な条件があるので, 特に優良系統の選定を必要とすることはいうまでもない。かかる立場から著者はわが国に導入されているこれらレモングラスの各系統について昭和30年および31年の両年度にわたり圃場試験にて生育上の一般特性のほか実際栽培上最も重要性のある収草量, 含油率, ならびにチト랄含量などの点からこれら系統の分類的研究を行つたのであるが, 本報ではこれらのなかで生育上の一般特性, 収草量, ならびに生葉の含水率の点について報告することとする。

本研究遂行にあたり供試植物の分譲を受けた各研究所に対し衷心より謝意を表する。また本研究は一部厚生科学研究費の補助のもとに行われたものでありここに深甚の謝意を表する。

材料および方法

材 料 供試16系統の分譲を受けた研究所名および判明しているこれら系統の導入先 (括弧内)を系統番号の順に記すると次のとおりである。No. 1 国立衛生試験所春日部薬用植物栽培試験場(ジャワ)。No. 2 同和歌山薬用植物栽培試験場(台湾)。No. 3 京都大学古曽部園芸場(台湾)。No. 4 東京大学樹芸研究所。No. 5 静岡県有用植物園(台湾)。No. 6 同上(台湾)。No. 7 東京大学植物園。No. 8 小川香料株式会社八丈島農場(シンガポール)。No. 9 鹿児島大学指宿植物試験場。No. 10 同上。No. 11 同上。No. 12 小川香料株式会社種子島農場。No. 13 同上。No. 14 同上(ジャワ)。No. 15 高砂香料株式会社和歌山工場。No. 16 小川香料株式会社東京工場(タイ)。いずれの系統も昭和29年12月末温室内で1本ずつに株分し仮植しておいたもののなかから生育状態の良好なものを選んで供試した。

方 法 a) 耕種概要 定植 畦幅, 株間ともに3尺としNo. 1よりNo. 16まで系統番号の順に1系統1列, 1列12株植としさらに供試外としてNo. 1を最初と最後の列に植え, また各列12株のうち最初と最後の株は供試外とした。1株当大体2本植としたが生育のやや劣つていると思われる分蘖は3本植とした。昭和30年5月11日に定植し定植後地上30cmにて切断した。施肥 基肥として定植時に1株当堆肥200匁を施し追肥として昭和30年度は6月9~13日および8月20~22日の2回にわたり1回1株当硫酸, 過磷酸石灰いずれも5.6匁, 塩化加里1.5匁ずつを施した。昭和31年度は6月19~23日に上記と同量の3肥料の追肥を行つた。除草ならびに中耕 除草は適時行い中耕も除草を兼ねて地表浅く行つた。病虫害 全生育期間を通じてイネヨトウ *Sesamia inferens* WALKER の被害のややみられる個体もあり, 被害の程度は系統によつても若干差異があるように思われたがこれに対して特別の防除法は行わなかつた。b) 収穫 初年度は昭和30年9月12~28日に大体1株置きに4株ずつ収穫した。いづ

* 本報告の概要は昭和32年4月日本作物学会第115回講演会において発表された。

れの系統も残る6株全部越冬し2年度も各系統ともこれらのなかから代表的な4株ずつを昭和31年9月11～29日に収穫し地上部各部の生体重を調査した。c) 生葉の含水率 1株当代表的な分蘖2本をとり上位より第3, 4, 5, 6, 7の5葉を供試し葉身, 葉鞘の別に常法により定量し, さらに計算により全葉の含水率を求めた。

実験結果

1) 生育上の一般特性

容易に識別し得られる生育上の一般特性についてみるに, まず最も注目されるのは No. 14 のみは9月下旬ないし10月初旬頃出穂し当場では今までのところ露地での開花は見られないが, 温室内では翌年3月頃まで引続き開花も見られることである。これに対し残る15系統については露地ではもちろん温室内でもまだ出穂, 開花の例は見られない, さらにNo. 14は他の15系統に比べて葉幅がかなり狭く, 葉身の裏面の中肋が著しく隆起しており, また株の外側の葉身の先端はほとんど地面に触れる程度に葉が著しく下垂しており, これらの点も他の15系統とは外見的に容易に識別し得られる特徴である。他の15系統でも葉身の先端はいずれもある程度下垂しその程度は系統によつても若干異なる場合もあるようであるがNo. 14のように著しいものはない。これらのなかで No. 1 は下垂の程度最も少くほとんど直立した感を与え, 外見的にも他系統とある程度区別することができるが, その他の系統についてはあまり明瞭な差異は認められない。

次に草丈について収穫時における値を Table 1 に示した。いずれの系統も2年度は初年度に比べて植物の age が加わつたため草丈はかなり大になる傾向を示しているが, まず第一に注目されるのはNo. 2, 6, 7, 10, 11 の5系統は年度によりこれらの順位は異なるけれども他の系統と比べると草丈が著しく低いことであつて, この傾向は2年度において特に顕著に認められる。これら5系統はこのように他系統と比べると相当矮性であるので外見的にも容易に他と区別しえられる。なお他系統の葉色が鮮緑色であるのに対し, これら5系統ではやや青白色を帯びており, かかる点でもある程度区別しうる。次に残る11系統の草丈については年度により系統間の順位にかな

Table 1. The Height of Grass in Different Strains of Lemon-Grass

No. of strain	1 st year		No. of strain	2 nd year	
*	cm	Ratio	*	cm	Ratio
2	86.4	65	10	96.5	58
7	88.5	67	6	105.5	63
6	92.4	70	2	105.8	64
11	95.0	72	7	110.6	66
10	96.3	73	11	113.3	68
3	108.1	81	1	142.5	86
1	112.1	84	15	144.3	87
5	114.1	86	14	146.5	88
13	117.3	88	13	147.8	89
8	117.4	88	16	147.8	89
16	120.0	90	8	149.0	89
12	120.8	91	9	151.8	91
9	121.4	91	5	151.9	91
4	123.8	93	3	152.8	92
15	126.4	95	12	154.5	93
14	132.8	100	4	166.6	100

* No. of strain of is arranged in order of the height of grass

りの変化があり系統間固有の差異についてはなお今後の研究を要する。なお No. 14 を除く15系統は出穂しないので茎は比較的短く草丈は大体最大葉長に近い値をとるものと思われるが, No. 14 は収穫期がちょうど出穂の初期にあつていたので, この頃は茎が相当伸長しているため本系統では草丈は最大葉長よりもかなり大になつていことはまちがいない。

次に分蘖数に関しては収穫時において30cm以上のものについて調査した結果を Table 2 に示した。最も注目されるのは上述の草丈の低い No. 2, 6, 7, 10, 11 の 5 系統は分蘖数においても最も少い傾向が見られることであつて、この傾向も 2 年度において特に顕著である。残る 11 系統については比較的分蘖数の小なるものから極めて大なるものへと系統間にかなり差異がみられ、たとえば No. 1 は両年度とも分蘖数は比較的少く No. 12 あるいは No.

Table 2. The Number of Tillers in Different Strains of Lemon-Grass

1 st year			2 nd year		
No. of strain	Ratio		No. of strain	Ratio	
*			*		
16	72	54	10	99	39
2	76	57	7	107	42
1	81	60	2	108	43
7	83	62	6	110	44
6	85	64	11	128	51
10	89	66	1	148	59
11	93	69	15	175	69
3	101	75	13	185	73
14	106	79	4	200	79
8	109	81	8	209	83
4	111	83	14	214	85
15	111	83	16	215	85
5	112	84	3	222	88
13	123	92	5	225	89
9	128	96	9	233	92
12	134	100	12	252	100

* No. of strain is arranged in order of the number of tillers

9 などのように両年度とも極めて大なる値を示すものもあるが、年度により系統間の順位も相当違つており、系統間固有の差異についてはなお今後の研究を要する。なお No. 14 は分蘖数の順位については両年度とも中位より若干上に位し比較的大なる傾向を示しているが、本系統では十分に生育した大きな分蘖の数が比較的少く生育の不十分な小さな分蘖の数の多い点で、他系統とは若干異つていることが注目された。

2) 地上部の生体重

地上部各部の生体重を Table 3 に示した。

a) 全地上部 既述の草丈低く分蘖数の少いことで他系統とかなり顕著な差異の見られた, No. 2, 6, 7, 10, 11

Table 3. The Fresh Weight of Various Parts of Tops per Clump in Different Strains of Lemon-Grass

1 st year												
No. of strain	Tops		Whole leaves		Leaf-blades		Leaf-sheaths		Stems	Whole leaves	Leaf-sheaths	
										Stems	Leaf-blades	
*	g	Ratio	g	Ratio	g	Ratio	g	Ratio	g	Ratio		
2	1,388	35	1,253	35	562	37	679	34	102	18	12.3	1.2
7	1,538	39	1,381	39	575	38	795	40	120	21	11.6	1.4
6	1,683	43	1,513	43	631	41	872	44	133	23	11.4	1.4
11	1,842	47	1,639	46	683	45	944	47	137	24	12.1	1.4
10	1,865	47	1,666	47	698	46	954	48	156	28	10.8	1.4
14	2,357	60	1,729	49	963	63	746	37	567	100	3.3	0.8
3	2,408	61	2,187	61	939	62	1,227	61	155	27	14.2	1.3

1 st year												
No. of strain	Tops	Whole leaves		Leaf-blades		Leaf-sheaths		Stems	Whole leaves		Leaf-sheaths	
									Stems	Leaf-blades		
1	3,015	77	2,701	76	1,204	79	1,468	73	233	41	11.7	1.2
8	3,022	77	2,753	77	1,109	73	1,622	81	197	35	13.9	1.5
13	3,155	79	2,829	80	1,229	81	1,575	79	206	36	13.8	1.3
5	3,157	80	2,864	80	1,095	72	1,747	87	214	38	13.5	1.6
4	3,236	82	2,934	82	1,177	77	1,730	86	211	37	13.9	1.5
15	3,278	84	3,198	90	1,320	87	1,852	92	238	42	15.7	1.4
16	3,371	86	3,026	85	1,334	88	1,665	83	241	43	12.7	1.3
12	3,877	99	3,500	99	1,471	97	1,994	100	276	49	12.8	1.4
9	3,934	100	3,558	100	1,523	100	1,999	100	278	49	12.9	1.3

2 nd year																
No. of strain	Tops		Whole leaves		Leaf-blades		Leaf-sheaths		Whole Stems		Old Stems**		New Stems***		Whole leaves	Leaf-sheaths
															Whole stems	Leaf-blades
*	g	Ratio	g	Ratio	g	Ratio	g	Ratio	g	Ratio	g	Ratio	g	Ratio		
10	1,478	14	1,346	14	562	14	775	13	132	10	100	9	32	13	10.2	1.4
6	1,921	18	1,754	18	711	20	1,031	18	186	14	126	11	60	24	9.3	1.4
2	2,200	21	2,027	21	875	22	1,137	19	210	16	132	11	78	31	9.8	1.3
7	2,354	22	2,152	22	870	22	1,267	22	231	18	179	16	78	31	9.6	1.5
11	2,573	25	2,342	24	965	25	1,361	23	252	19	176	16	76	30	9.6	1.4
14	4,990	48	3,683	38	1,941	50	1,796	31	1,309	100	1,123	100	186	73	2.9	0.9
15	6,248	60	5,738	60	2,214	57	3,476	60	475	36	391	35	84	33	12.5	1.6
1	6,302	60	5,756	60	2,449	63	3,274	56	610	47	435	39	174	68	9.5	1.3
13	7,313	70	6,688	70	2,784	71	3,854	66	529	40	463	41	65	25	13.1	1.4
8	8,155	78	7,447	78	2,794	71	4,598	79	642	49	498	44	144	56	11.7	1.6
9	8,384	80	7,666	80	3,202	82	4,392	75	615	47	508	45	107	42	12.6	1.4
3	8,903	85	8,185	85	3,416	87	4,725	81	691	53	516	36	176	69	11.9	1.4
4	9,094	87	8,598	90	3,293	84	4,995	86	736	56	538	48	198	78	11.9	1.5
12	9,284	89	8,456	88	3,475	89	4,909	84	712	54	608	54	104	41	11.9	1.4
5	10,104	96	9,239	96	3,335	85	5,836	100	806	62	630	56	176	69	11.5	1.8
16	10,490	100	9,592	100	3,914	100	5,537	95	943	72	689	61	255	100	10.3	1.4

* No. of strain is arranged in order of the fresh weigh of tops

** Had developed in the 1st year

*** Developed in the 2nd year

の5系統は他系統に比べると全地上部重においても著しく小なることが注目されかつこの傾向も2年度において特に顕著に認められるが、これは既述の草丈および分蘖数の関係から考えて当然の結果である。ついで No. 14 は両年度ともこれらの次に位し全地上部は比較的低い傾向を示している。残る10系統のなかでは No. 1 のように両年度とも比較的小なる傾向を示しているものもあるが、他は小なるものから大なるものへと系統間に相当差異があるが、これら系統間の順位は年度によつてかなり違つており、系統間固有の差異についてはなお今後の研究を要する。

b) 葉部 全葉重は大体全地上部重と似通つた傾向を示しており系統間の順位は全地上部の場合と同様である。ただ No. 14 は全地上部重の割に全葉重は著しく低い傾向を示しているが、これは後述するように全地上部重のなかで占める莖重の割合が極めて大きいからである。

次に葉身重と葉鞘重とについてみると No. 14 を除く 15 系統ではいずれも葉鞘重が葉身重よりも常に相当大であるが, No. 14 のみは両年度とも逆に葉身重が葉鞘重よりやや大になつており, かかる点でも本系統は他の 15 系統とは著しく異なる。したがつて葉鞘重と葉身重との比率についてみると, No. 14 のみは 1 より小であるが他の 15 系統ではいずれも 1 より大であり, なかでも No. 8, 4, 16 などは比較的大なる傾向が認められるが, No. 1 および 2 は両年度とも最も小なる傾向が認められる。

c) 茎部 No. 14 は両年度とも出穂期の関係で生茎重は他系統に比べて著しく大であることが注目されるが, 出穂期以前においては当然これより小なる値が得られたはずであるので, 本系統では茎重が常に大であるとみなすわけにはいかない。ついで残る 15 系統のなかでは No. 2, 6, 7, 10, 11 の 5 系統は茎重においても最も低く他系統との間に顕著な差異が認められる。

3) 生葉の含水率

生葉の含水率を Table 4 に示した。年度により若干の差異があるけれども最も注目されるのは No. 14 は他系統

Table 4. The Water Content of Fresh Leaves in Different Strains of Lemon-Grass

1st year				2nd year			
No. of strain	Whole leaves	Leaf-blades	Leaf-sheaths	No. of strain	Whole leaves	Leaf-blades	Leaf-sheaths
*	%	%	%	*	%	%	%
4	83.9	77.9	87.0	8	82.6	77.1	84.8
1	83.7	78.5	86.7	16	82.6	76.5	85.7
16	83.7	78.6	86.9	4	82.5	76.0	85.4
7	83.2	77.9	86.3	10	81.9	75.4	85.2
8	83.2	77.9	86.2	9	81.4	75.6	84.2
10	82.9	77.2	85.2	11	81.4	74.5	84.7
3	82.8	77.6	85.9	15	81.4	75.6	83.8
11	82.6	76.4	85.9	12	81.3	75.1	84.4
12	82.5	77.1	85.6	13	81.3	75.3	84.2
15	82.5	77.3	85.4	1	81.1	76.5	83.5
13	82.3	77.2	85.2	7	80.6	73.8	83.4
6	82.2	76.5	85.3	5	80.5	75.0	82.7
9	81.9	77.9	84.1	6	80.2	73.4	82.8
2	81.6	76.9	84.5	3	79.8	74.8	82.1
5	80.7	77.2	85.9	2	79.1	74.1	81.5
14	78.4	76.2	80.9	14	74.3	72.5	76.1

* No. of strain is arranged in order of the water content of whole leaves

に比べて葉身, 葉鞘ともに含水率低く特に葉鞘において他系統との差の顕著であることである。残る 15 系統間には特に顕著な差異はないもののようであるが, 供試材料も比較的少いので詳細についてはなお今後の研究を要する。

考察ならびに総括

供試 16 系統のうち No. 14 は生育上の一般特性において既に残る 15 系統と明確に区別されるほか, 生草収量ならびに生葉の含水率においても他系統との間に著しい差異が認められる。本系統はマラパールグラス *Cymbopogon flexuosus* STAPP としてジャワより導入されたものであつて, その植物分類学上の問題についてはなお今後の研究を要するが, 本系統が他の 15 系統とは全然異つた系統であることはまちがいない。本系統の特性として次のような点が挙げられる。戸外にて秋に出穂し温室内では開花も見られ葉は著しく下垂する。草丈はかなり大で分蘖総数は中位よりやや大であるが十分に生育した大きな分蘖の数は比較的少い。したがつて生葉重は比較的小であるが, 葉身重が葉鞘重よりも若干大である。生茎重は収穫期がちょうど出穂の初期に当つていたため特に大である。生葉の含水率は葉身, 葉鞘ともに全般的に低く特に葉鞘において他系統との差が顕著である。

残る 15 系統はいずれも西印度レモングラス *C. citratus* STAPP に属するものと思われるが, これら全体につい

ては次のような特徴が見られまたかかる点で上記 No. 14 とは著しく異なる。すなわちこれら15系統ではいずれも出穂、開花の例はいまだ見られなくまた葉の先端は若干下垂するが No. 14 のように著しいことはない。生葉重においては小なるものから大なるものへと系統間にかなり差異があるが、いずれの系統においても葉身重に比べて葉鞘重ははるかに大である。生葉の含水率においては No. 14 と比べると葉身、葉鞘ともに高くかつ葉身と葉鞘との差が大である。しかしこれら15系統間の差は明らかでない。これら15系統のなかで No. 2, 6, 7, 10, 11 の5系統は生育上の一般特性ならびに生草収量において他の10系統と明確に区別される。すなわちこれら5系統では草丈は著しく低く矮性であるため外見的にも容易に他系統と区別されるほか、分蘖数も極めて少いので生草収量も著しく小である。

残る10系統については No. 1 のように葉が比較的直立性で他系統とある程度区別されるものもあるほか、その他生育上の一般特性においても系統間に若干の差異があるようであり、また生草収量は全般的に相当大であるが系統間にかんがりの差異があるようであり、これらの点についてはなお今後の研究を要する。

文

献

- 1) Hood, S. C. : *U. S. Dept. Agr. Bul.*, 442, 1 (1917).

Summary

In the field experiments with 16 strains of lemon-grass obtained from 11 research institutes in Japan, investigations on grouping these strains from various respects were carried out in 1955 and 1956. In this paper the results of the studies on the general growth characters, yield of fresh grass, and the water content of fresh leaves are reported.

1) The strain of No. 14 which has been called Malabar-grass, *Cymbopogon flexuosus* STAPP, has the following characters, by which it can clearly be distinguished from the other 15 strains :

It not only heads outdoors in autumn, but also flowers in the greenhouse, and its leaves droop extremely. The height of grass is tolerably high but the number of fully developed tillers is relatively small, although the total number of tillers is somewhat large. Consequently the yield of fresh grass is relatively low, and the weight of leaf-blades is somewhat higher than that of leaf-sheaths. This is a phenomenon which is observed in this strain only. The weight of fresh stems is extremely high because the harvest time coincided with the early period of heading. The water content of fresh leaves is generally lower in both leaf-blades and leaf-sheaths, especially in the latter as compared with that in the other 15 strains.

2) The other 15 strains which seem to belong to so-called West Indian lemon-grass, *C. citratus* STAPP, have the following characters, by which they can be distinguished from No. 14 mentioned above.

They have not yet been observed to produce inflorescences and their leaves do not droop so remarkably as those of No. 14, though the tops of leaves are bent to some extent and the degree of drooping seems to vary a little with strains. Relatively wide differences in the yield of fresh grass are observed among the strains, but in each of these strains the weight of leaf-sheaths is consistently higher than that of leaf-blades. The water content of fresh leaves is higher than that of No. 14 both in leaf-blades and leaf-sheaths furthermore a difference between these parts of leaves is larger than that of No. 14.

3) In 5 strains of Nos. 2, 6, 7, 10, and 11, the height of grass is lowest among the 15 strains and the number of tillers is remarkably small, resulting in a conspicuously low yield of fresh grass. In these respects, these 5 strains can clearly be distinguished from the remaining 10 strains.

Received May 31, 1958.

レモングラスの系統の分類に関する研究 (予報)

II. 生葉の含油量ならびに油のチトラール含量について*

宮 崎 幸 男

Studies on Grouping of the Strains of Lemon-Grass (Preliminary Report)

II. With Regard to the Oil Content of Fresh Leaves and
the Citral Content of the Oil

Yukio MIYAZAKI

まえがき 本報では前報¹⁾に引続き生葉の含油量ならびに油のチトラール含量について研究を行い、前報での結果と総合して供試16系統を主要な系統群に分類することとした。

材 料 お よ び 方 法

材 料 前報に同じ

方 法 a) 生葉の含油量 生葉の含油率(vol/wt%)は局方精油定量器を用いて葉身、葉鞘の別に定量し、次いで計算により全葉の含油率、さらに各部の全収油量(cc)を求めた。蒸留時間は留出開始より2時間とした。 b) 油のチトラール含量 蒸留によつて得られた油は焼芒硝によつて脱水し蒸留後24時間以内に Guenther (1949)¹⁾の Standard Procedure によるヒドロキシルアミン法によつて定量した

実 験 結 果

1) 生葉の含油量

生葉の含油率 (vol/wt%) ならびに全収油量(cc)を第2表に示した。

a) 含油率 (vol/wt %) まず No.14 についてみるに両年度を通じて葉鞘は葉身に比べて若干高いが、両者の差は比較的少くいずれも 0.5~0.6% の範囲内にあつて極めて高いことが注目される。特に葉鞘においては他の15系

Table 1. The Oil Content of Fresh Leaves and the Amount of
Oil Yield per Clump in Different Strains of Lemon-Grass

Oil content (vol/wt)									
1 st year					2 nd year				
No. of strain	Whole leaves	Leaf-blades	Leaf-sheaths	Leaf-blades Leaf-sheaths	No. of strain	Whole leaves	Leaf-blades	Leaf-sheaths	Leaf-blades Leaf-sheaths
* 14	% 0.60	% 0.59	% 0.66	0.89	* 14	% 0.53	% 0.52	% 0.53	0.98
6	0.44	0.68	0.28	2.43	6	0.51	0.73	0.36	2.03
7	0.43	0.69	0.25	2.76	10	0.47	0.70	0.31	2.26
2	0.42	0.64	0.24	2.67	7	0.46	0.70	0.30	2.33
11	0.39	0.62	0.23	2.70	2	0.46	0.67	0.30	2.23
10	0.39	0.62	0.22	2.82	11	0.45	0.66	0.29	2.28
5	0.28	0.35	0.23	1.52	5	0.31	0.39	0.26	1.50
15	0.25	0.27	0.23	1.17	8	0.29	0.36	0.25	1.44
1	0.24	0.37	0.14	2.64	15	0.28	0.31	0.26	1.19
8	0.24	0.31	0.21	1.48	4	0.26	0.35	0.22	1.59

* 本報告の概要は昭和32年4月日本作物学会第115回講演会において発表された。

Oil content (vol/wt)									
1st year					2nd year				
No. of strain	Whole leaves	Leaf-blades	Leaf-sheaths	Leaf-blades Leaf-sheaths	No. of strain	Whole leaves	Leaf-blades	Leaf-sheaths	Leaf-blades Leaf-sheaths
* 4	0.24	0.30	0.20	1.50	* 1	0.23	0.35	0.15	2.33
16	0.19	0.31	0.10	3.10	16	0.17	0.29	0.08	3.63
3	0.14	0.19	0.11	1.73	9	0.16	0.23	0.11	2.09
13	0.14	0.18	0.10	1.80	12	0.15	0.22	0.11	2.00
12	0.13	0.19	0.09	2.11	13	0.15	0.21	0.10	2.10
9	0.12	0.17	0.09	1.89	3	0.14	0.20	0.10	2.00

Amount of oil yield													
1st year							2nd year						
No. of strain	Whole leaves		Leaf-blades		Leaf-sheaths		No. of strain	Whole leaves		Leaf-blades		Leaf-sheaths	
**	cc	Ratio	cc	Ratio	cc	Ratio	**	cc	Ratio	cc	Ratio	cc	Ratio
14	10.483	100	5.591	100	4.892	100	5	28.007	100	13.037	100	14.970	100
5	7.872	75	3.800	68	4.073	83	4	22.291	80	11.050	85	11.241	75
15	7.807	74	3.530	63	4.277	87	8	21.620	77	10.104	78	11.517	77
4	6.936	66	3.437	61	3.499	72	14	19.512	70	9.993	77	9.519	64
6	6.696	64	4.262	76	2.435	50	15	15.697	56	7.130	55	8.567	57
8	6.625	63	3.346	60	3.279	67	16	15.521	55	11.171	86	4.350	29
11	6.371	61	4.233	76	2.120	43	1	13.088	47	8.351	64	4.737	32
10	6.353	61	4.276	76	2.096	43	12	12.734	45	7.698	59	5.036	34
1	6.349	61	4.376	78	1.973	40	9	11.944	43	7.182	55	4.761	32
7	5.947	57	4.003	72	1.944	40	3	11.443	41	6.811	52	4.632	31
16	5.756	55	4.111	74	1.645	34	11	9.938	35	6.245	48	3.693	25
2	5.253	50	3.612	65	1.642	34	7	9.836	35	6.108	47	3.728	25
12	4.680	45	2.795	50	1.885	39	13	9.604	34	5.836	45	3.768	25
9	4.240	40	2.569	46	1.653	34	2	9.183	33	5.825	45	3.359	22
13	3.841	37	2.259	40	1.582	32	6	8.780	31	5.173	40	3.608	24
3	3.109	30	1.761	31	1.348	28	10	6.354	23	3.953	30	2.402	16

* No. of strain is arranged in order of the oil content of whole leaves

** No. of strain is arranged in order of the amount of oil yield of whole leaves

統と比べると著しく高くこれらとは明確に区別されうる。したがつてまた本系統は全葉においても0.5~0.6%の範囲内にあり全系統中で最も高いがこれはこの葉鞘の含油率の特に高いことがその大きな原因になつてゐることもわかる。残る15系統ではいずれも葉鞘の含油率は葉身のそれに比べると常にかなり低い。これらのうちではNo. 2, 6, 7, 10, 11の5系統は系統間に若干の差異はあるようであるが、残る10系統に比べると葉身、葉鞘ともに高く特に葉身においては兩年度を通じ0.6~0.7%前後の値を示し、全系統中最も高く他系統とは明確に区別される。

次に残る10系統のうちではNo. 3, 9, 11, 13の4系統は系統間の差異も比較的少く葉身、葉鞘それぞれ兩年度を通じて0.2%前後および0.1%前後といずれも極めて低い値を示しているが他系統と比べると、特に葉身の含油率の低いことで明確に区別される。

次に残るNo. 1, 4, 5, 8, 15, 16の6系統については系統間にかなりの差があるがこれらのうちでNo. 16は最も低く葉鞘では0.1%ないしはそれ以下で上記のNo. 3などの4系統とほとんど差異はないのであるが葉身では0.3%前後でこれら4系統に比べると常にかなり高い傾向が認められる。次いでNo. 1も葉鞘の含油率は0.15%前後で

かなり低いのであるが葉身においては0.35%前後の比較的高い値を示している。残るNo. 4, 5, 8, 15の4系統については系統間に若干差異があるけれども、これら4系統は葉身においては0.3~0.4%前後の値を示し既述のNo. 2などの5系統の群とNo. 3などの4系統の群との中間にあつてかつこれら両群とは明確に区別される。一方葉鞘においては大体0.2~0.25%前後の値を示し年度によりNo. 2などの5系統中の含油率の低い系統とはほとんど差異のない場合もみられるが大体においてこれら5系統よりは若干低い傾向が認められる。しかしながらNo. 3などの4系統のそれに比べると常に高くこれら4系統とは明確に区別できる。なお葉身の含油率と葉鞘の含油率の比率についてみると、No. 2などの5系統では常に葉身は葉鞘の2倍以上高く3倍近い値を示す場合もあり、またNo. 3などの4系統においても大体葉身は葉鞘の2倍近い値を示している。そして残るNo. 1, 4, 5, 8, 15, 16の6系統のうちでもNo. 1および16の両系統では常に葉身は葉鞘の2倍以上で特にNo. 16では3倍以上に達しているが、No. 4, 5, 8, 15の4系統ではこの比率が低く、高い場合でも葉身は葉鞘の1.5倍程度に過ぎない。すなわちこれら4系統では葉身の含油率に対して葉鞘の含油率の比較的高い傾向がみられ、かかる点でもこれら4系統は他系統と若干異つた傾向がみられる。以上のようにNo. 1, 4, 5, 8, 15, 16の6系統については系統間に若干差異がみられ詳細についてはさらに細別されるべきものと考えられるが、いずれも既述のNo. 2などの5系統の群およびNo. 3などの4系統の群のいずれの群に属するとも考えられないものである。

b) 全収油量(cc) まずNo. 14は葉身、葉鞘ともに初年度においては最高であり2年度においても全葉については第4位を占め相当高い傾向を示している。本系統は前報で述べたように収葉量はむしろ低い方であるが含油率は葉身、葉鞘ともに極めて高いので全収油量においても相当高い値が得られることになるわけである。なお本系統では含油率においては葉鞘が葉身よりもむしろやや高くなっているが収葉量では葉身が葉鞘よりもかなり大であるので全収油量においては葉身と葉鞘との差は比較的少く、年度によりその大小が逆になつている。

次にNo. 2, 6, 7, 10, 11の5系統は初年度においては2年度ほど収葉量における他系統との差異が大きくないので、含油率の高いこれら系統は全葉の収油量においても比較的高い値が得られているが、2年度においては収葉量が多すぎても低いので全収油量においてはこれら5系統は最も低い傾向を示している。

次いでNo. 3, 9, 12, 13の4系統についてみるとこれらのうちでNo. 13は2年度においては全葉の収油量において既述のNo. 2などの5系統中の2系統よりは劣つてはいるけれども、残るNo. 3, 9, 12の3系統はこれら5系統のいずれよりも優つてはいる。しかしながら初年度の収葉量においてはNo. 2など5系統と他系統との差が2年度のように大きくないので含油率の低い本4系統では全葉の収油量についてみると最も低い傾向がみられる。すなわちこれら4系統では含油率が極めて低いので収葉量の比較的大きい割に全収油量はかなり低い傾向がみられる。

次に残るNo. 1, 4, 5, 8, 15, 16の6系統についてみるに、No. 16および1の両系統は初年度においては全葉の収油量においてはNo. 2などの5系統中の2, 3の系統より劣つてはいるが2年度においてはこれら5系統の群およびNo. 3などの4系統の群のいずれよりも優つてはいる。なおこれら両系統では既述のように葉鞘の含油率はかなり低いけれども葉身の含油率は比較的高いので全収油量においては葉身は葉鞘よりも遙かに大である。これに対し残るNo. 4, 5, 8, 15の4系統では全葉の収油量は最も高い傾向がみられるがこれは既述のように含油率は大体中位であるけれども収葉量が全般的に大であるからである。またこれら4系統では葉身重の割に葉鞘重が大でありかつ葉鞘の含油率が比較的高いので葉鞘の収油量の極めて高いことが注目され、したがつてまた大体において収油量においては葉身よりも葉鞘が優る傾向がみられるが、かかる傾向はNo. 14を除く15系統のうちではほかに見られず逆に他の系統では葉身の収油量が葉鞘のそれよりも遙かに大である。したがつてかかる点においてもまたこれら4系統は前両系統とはかなり異つた傾向を示している。

2) 油のチト랄含量

生葉の油のチト랄含量を第2表に示した。まずNo. 14についてみるに年度により多少の差異はあるが葉身、葉鞘ともに大体80~81%前後の相当高い値を示し、他系統と比べると葉身のチト랄含量の特に高いことが注目される。また葉身と葉鞘とは年度によりその大小が逆になつてはいるが両者の差は比較的少くこのことも一つの特徴となつてはいる。他の15系統ではいずれにおいても葉鞘のチト랄含量は葉身のそれに比べてかなり高い。しかし両者の差は系統によりまた年度によつてもある程度異なる傾向が認められる。これら15系統のうちNo. 2, 6, 7, 10, 11の5系統では系統間の差異も比較的少く両年度を通じ葉身では73~76%前後、葉鞘では75~77%前後の値を示しいずれも他系統に比べると最も低く特に葉鞘において他系統との差が顕著である。

Table 2. The Citral Content of the Oil from Fresh Leaves in
Different Strains of Lemon-Grass

1st year			2nd year		
No. of strain	Leaf-blades	Leaf-sheaths	No. of strain	Leaf-blades	Leaf-sheaths
	%	%		%	%
* 14	80.5	81.4	* 14	81.6	79.4
6	73.4	77.2	6	75.6	76.6
7	73.9	75.9	10	74.8	77.0
2	74.0	76.2	7	75.8	77.5
11	73.3	76.7	2	75.4	76.9
10	72.9	75.3	11	76.4	76.5
5	77.4	81.9	5	78.5	83.1
15	77.0	82.0	8	78.6	82.9
1	74.6	80.0	15	78.2	81.9
8	78.0	82.3	4	78.2	82.3
4	77.3	81.8	1	76.9	79.0
16	72.9	78.1	16	76.0	79.0
3	73.8	79.6	9	76.1	81.2
13	75.5	80.7	12	76.3	80.9
12	74.6	81.0	13	75.9	81.0
9	73.8	80.6	3	76.3	80.7

* No. of strain is arranged in the same order as that in the oil content of fresh leaves

次に No.3, 9, 12, 13 の4系統についてみると両年度を通じて葉身では74~76%前後、葉鞘では81~82%前後のかなり高い値を示した系統間の差異も比較的少い。これら4系統では No. 2 などの5系統よりは若干高く葉鞘においてはかなり顕著な差がみられ、また残る6系統中の No. 1 および16の両系統とは大した差異は認められないが、他の4系統よりはやや劣る傾向が認められる。

残る No.1, 4, 5, 8, 15, 16の6系統のうちでは No.16は最も低く No. 1はこれよりわずかに高い傾向が認められるが、これら両系統は他の4系統に比べると葉身、葉鞘ともにかなり劣る傾向が認められる。残る No. 4, 5, 8, 15の4系統については両年度を通じ葉身では77~78%前後、葉鞘ではそれぞれ81~83%前後の相当高い値を示し、葉身においては No.14より若干劣るが他の11系統に比べるとかなり高くまた葉鞘においては No. 14 よりもむしろわずかながら高く全系統中で最も高い傾向が認められる。

考察ならびに総括

マラバールグラスと呼ばれており前報において既に生育上の一般特性や生草収量あるいは生葉の含水率などの点で、明確に他の15系統と区別された No. 14は生葉の含油量および油のチトラール含量の点においても、他の15系統とは著しく異なることが明らかにされ、このように本系統は多くの点で他の15系統とは明確に区別されるので第1群として分類することにした。生葉の含油量ならびに油のチトラール含量について本群では次のような特徴がみられる。すなわち生葉の含油率は葉身、葉鞘ともに極めて高く特に葉鞘においては葉身におけるよりも若干高く全系統中で最も高い。したがって全収油量は収葉量の比較的小なるにもかかわらず相当大でありかつ葉身と葉鞘における全収油量の差は比較的少い。油のチトラール含量においても葉身と葉鞘との差は比較的少なく、かついずれの部分においても相当高く特に葉身においては全系統中最も高い。

次に西印度レモングラスに属すると思われる他の15系統のうちで No. 2, 6, 7, 10, 11の5系統も前報において生育上の一般特性や収草量の点で既に他の10系統とは明確に区別されたがこれら5系統では生葉の含油量においても他と著しく異なるほか油のチトラール含量においてもまたかなり顕著に異なることが明かにされたわけである。以上のようにこれら5系統は多くの点で他系統と明確に区別されるのでこれらを一括して第Ⅱ群として分類することにした。生葉の含油量ならびに油のチトラール含量について本群においては次のような特徴が挙げられる。すなわち生葉の含油率は全般的に高いが特に葉身において高く全系統中で最も高い。しかしながら収葉量があまり

にも低いので全収油量は相当小なる傾向が認められる。油のチト랄含量は大体において葉身、葉鞘においても最も低く特に葉鞘において他系統との差が顕著である。

次に残る10系統のうちでNo.3, 9, 12, 13の4系統については前報において生育上の一般特性や収草量の点では残る6系統との間に明確な差異を見出すことはできなかったのであるが、生葉の含油量においてはこれら6系統と明確に区別することができるほか油のチト랄含量においてもある程度区別することができるので、かかる点からこれら4系統を一括して第Ⅲ群として分類することにした。生葉の含油量ならびに油のチト랄含量について本群においては次のような特徴が挙げられる。すなわち生葉の含油率は葉身、葉鞘ともに最も低いと共に他系統と比べて葉身の含油率の低いことが最も顕著な特徴となつている。したがって収草量は比較的大なるにもかかわらず全収油量は相当小なる傾向が認められる。また油のチト랄含量は全般的にかなり高く残る6系統中の2系統とは大差ないが他の4系統よりは若干劣つている。

次に残るNo. 1, 4, 5, 8, 15, 16の6系統については前報で生育上の一般特性や生草収量において系統間に若干差異があるように思われたが、生葉の含油量ならびに油のチト랄含量においても系統間に若干の差異がみられ、詳細な点についてはさらに細分されるべきものと考えられるが、これらの差異は今までの第Ⅰ群はもとより第Ⅱ群あるいは第Ⅲ群を分類する際にみられた差異のようには顕著ではない。一方この場合の系統分類において生葉の含油率は最も支配的な特徴の一となつているのであるが、この全葉の点についてみるとこれら6系統はいずれも第Ⅱ群と第Ⅲ群との中間にある。したがってひとまず主としてこのような生葉の含油率の点からこれら6系統を一括して第Ⅳ群として分類することにした。生葉の含油量ならびに油のチト랄含量について本群においては次のような特徴がみられる。すなわち生葉の含油率は全葉に関しては大体第Ⅱ群と第Ⅲ群との中間にあたりかつ系統間の差異も比較的小さいが、葉身の含油率に対し葉鞘の含油率の比較的低い系統と比較的高い系統とがある。全収油量は全般的に相当大であり葉鞘の含油率の比較的高い系統では大体において葉鞘の収油量が葉身のそれに優つておりこのようなことは本群中の葉鞘の含油率の比較的低い系統はもちろん既述の第Ⅱ群あるいは第Ⅲ群においても見られないことである。油のチト랄含量は全般的にかなり高く葉鞘の含油率の比較的低い系統では第Ⅲ群のそれと大差ないが、葉鞘の含油率の比較的高い系統では第Ⅲ群のそれよりも若干高く特に葉鞘においては全系統中で最も高い傾向がみられる。

以上のごとく前報と総合して生育上の一般特性、生草収量、生葉の含水率、生葉の含油量、ならびに油のチト랄含量などの点から供試16系統を第Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳの4群に大別したが、これら系統群のうちには同一群のなかでも各種の点で系統間にかなり差異のみられる場合があり、したがって詳細な点についてはさらに細分されるべきものもあるようであるが、かかる点についてはなお今後の研究を要する。また本研究は両年度とも一年一回のみの収穫によつて得られた成績であるが、著者ら(1955)²⁾、(1957)³⁾の主としてNo. 6を用いての研究によれば収草量はもちろん生葉の含油率や油のチト랄含量も時期的にかなり変化することが認められており、本研究におけるこれらの成績も収穫の時期や回数などによつて相当変化し、さらにこれら変化の状態は系統によつてある程度異なることも当然予想されるのであるが、これらの問題についてもなお今後の研究を要する。

文 献

- 1) Guenther, E. : The Essential Oils, D. Van Nostrand, New York, 1949, Vol. I, p. 279-291.
- 2) 宮崎幸男, 高城正勝 : 本誌, 73, 289(1955).
- 3) 宮崎幸男 : 本誌, 75, 169(1957).
- 4) 宮崎幸男 : 本誌, 76, 415 (1958).

Summary

Investigations on the oil content of fresh leaves and the citral content of the oil in the 16 strains of lemon-grass were carried out, and from the results of the investigations and those of studies on the general growth characters, yield of fresh grass and the water content of fresh leaves reported in the previous paper, a classification of these strains was made.

1) The strain of No. 14 which has been called Malabar-grass and was recognized to differ remarkably from the other 15 strains in the general growth characters, yield of fresh grass, and the water content

of fresh leaves, as reported in the preceding paper, can also clearly be distinguished from the others in the oil content of fresh leaves and the citral content of the oil. Therefore, this strain is classified as Group I, which has the following characters:

The oil content of fresh leaves is very high in both leaf-blades and leaf-sheaths, especially in the latter it is slightly higher than that of the former and is highest among all of the strains. Consequently the amount of oil yield is considerably high inspite of the relatively low yield of fresh leaves. The citral content of the oil is also very high in both leaf-blades and leaf-sheaths, especially in the former as compared with that in the other 15 strains, furthermore, a difference between these parts of leaves is (r)e/(l)atively small.

2) Among the other 15 strains, 5 strains of Nos. 2, 6, 7, 10, and 11 which were observed to differ apparently from the rest 10 strains in the general growth characters and yield of fresh grass as reported in the previous paper, can also clearly be distinguished from the others in the oil content of fresh leaves and the citral content of the oil. Therefore, these 5 strains are classified as Group II, which has the following characters:

The oil content of fresh leaves is considerably high, especially in leaf-blades it is highest among all strains. However, the amount of oil yield tends to be considerably low because of the remarkably low yield of leaves. The citral content of the oil tends to be considerably low in both leaf-blades and leaf-sheaths, especially in the latter as compared with that in the other groups.

3) Among the other 10 strains, 4 strains of Nos. 3, 9, 12, and 13 which have not yet been distinguished from the rest 6 strains concerning the general growth characters and yield of fresh grass, can obviously be distinguished from the others in the oil content, and also differ tolerably from the others in the citral content of the oil. Therefore, these 5 strains are classified as Group III, which has the following characters:

The oil content of fresh leaves is considerably low in both leaf-blades and leaf-sheaths, especially in the former as compared with that in the other groups. Consequently the amount of the oil yield is relatively low inspite of the relatively high yield of leaves. The citral content of the oil is relatively high; it is nearly as high as that in the 2 strains of Group IV mentioned below, while it is somewhat lower than that in the rest 4 strains of Group IV.

4) Among the remaining 6 strains of Nos. 1, 4, 5, 8, 15, and 16, a little differences have already been recognized in the general growth characters and yield of fresh leaves, furthermore, some differences are also observed in the oil content of fresh leaves and the citral content of the oil, so that they will possibly be subdivided into a few classes in detail. However, the oil content of fresh leaves is one of the most dominant properties in the present classification of the strains of lemon-grass and each of these 6 strains is generally situated between Group II and Group III concerning the oil content of the whole leaves. Therefore, they are classified together as Group IV, which has the following characters:

The oil content of fresh leaves of this group stands generally between Group II and Group III concerning the whole leaves. However, in some strains the proportion of the oil content of leaf-blades to that of leaf-sheaths relatively low, while in the others the proportion is relatively high. The amount of oily yield is considerably high on the whole. The strains which show higher oil content in leaf-sheaths tend to produce somewhat higher oil yield in leaf-sheaths than in leaf-blades. This is a tendency which is seen neither in the other strains of this group nor in Group II and III. The citral content of the oil is relatively high; in the strains whose oil content of leaf-sheaths is low, it appears to be nearly as high as that in Group III, while in the other strains whose oil content of leaf-sheaths is higher it tends to be somewhat higher than that in Group III.

クラムヨモギ *Artemisia kurramensis* QAZILBASH の生育ならびに

収量におよぼす肥料成分の影響について

木 下 孝 三

Studies on the Effects of Manurial Elements upon the Growth and
the Yield of KURAMU-YOMOGI (*Artemisia kurramensis* QAZILBASH)

Kōzo KINOSHITA

まえがき サントニン原料のクラムヨモギの栽培は香川、広島、和歌山などの西日本の諸県において漸次普及拡大しつつある現状である。著者はさきに農家の経営に適合しかつ本植物の特性を十分に発現せしめうる栽培方法として本植物の水田裏作について報告した。この栽培法において最も問題となるのは仮植圃における枯死率と本田における肥料の量および種類についてである。仮植圃における枯死率についてはしばらくおき、肥料についてみるに本作物は地上部のほとんど全草を収穫の対象にするものであり、肥料についても他作物とはおのずから異つてくるのである。すなわち肥料3要素の生育および収量におよぼす影響を調査しその欠除が如何なる生育状態を示すかを調査し併せて施肥の基礎的資料を得ることが極めて重要であると考えられる。著者は1956年、57年の両年にわたり和歌山薬用植物栽培試験場の土壌を用いてこれらの関係を試験調査した。若干の成績を得たのでここに報告する次第である。

材 料 お よ び 方 法

材 料 本試験に使用したクラムヨモギは従来当試験場で栽培している系統のもので1955年12月採種し翌56年2月18日播種、5月6日仮植圃に仮植、11月1日定植したものである。供試苗は生育中庸でできるかぎり均等な苗を選定した。供試苗は平均重量17.1g、草丈21.2cm、分枝数6.0本、根長28.3cm、側根数8.2本であつた。

方 法 長さ、幅、深さそれぞれ90cm, 90cm, 90cmのコンクリート枠を用い、土壌はやや粘質の壤土で前作水稻無肥料栽培のものをを用いた。コンクリート枠内はそれぞれ上部より耕土27cm、水田床土12cm、底土(礫を含んだ粘質土)51cmの深さとした。試験区は3要素区(NPK)、無窒素区(PK)、無磷酸区(NK)、無加里区(NP)および無肥料区(O)の5区とし各区4個体ずつ供試した。肥料は窒素、磷酸、加里それぞれ反当3貫(1区当9.37g)とし硫酸、過磷酸石灰、硫酸加里を以てした。基肥に全量の80%、追肥(2月中旬、3月下旬)20%の割合としそれぞれ適期に施用した。別に各区とも定植前耕土に石灰反当30貫(1区当93.75g)を撒布しよく混和しておいた。その他の管理、栽培法などはすべて圃場栽培に準じた。1956年11月1日定植し定植後は15日ごとに草丈、分枝数、その他外見的に認められる生育上の差異について調査し、翌1957年5月30日収穫、同日昼間日乾し夕刻屋内に収納風乾した。6月16日風乾完了、各部の生育状態について調査し各区間の比較を行つた。

実 験 結 果

1) 一般生育状況 外見的にあらわれる生育過程の差異については第1図、第2図に示すとおりである。

まづ草高について見るに各区とも3月下旬までほとんど伸長を認めず4月にはいつて急速に伸長し収穫期までこの状態を持続した。各区間の差異は生育の初期においてPKやや劣るほか、他はほとんど差異を認めず収穫期においてはNK最高示しNP, PK, NPK, Oと順次し相互間の差異は比較的少ない。芽長(生育の後期においては分枝長)については草高と同様の傾向を示しているが、その伸長は草高の場合より約15日間早く3月中旬より急速な伸長を示している。第2次分枝は4月中旬よりその発生がみとめられその伸長は急速に進展するが各区間の差異は比較的僅少である。芽数について見るに各区とも植付後漸次増加するが12月上旬株揃を行つたため一時減少しその後再び漸増し3月下旬最高に達する。その頃より芽長の伸長がいちじるしくなり伸長する芽は分枝となり伸長しない芽は消滅し急速にその数を減少し収穫期に至る。各区間の差異については芽数の最も多い時期においてはNPK最多でありNK, NPと劣り両者の差は僅少である。PKはそれよりかなり劣りOはさらにいちじるしく劣っている。収穫期における分枝数についても同様の傾向を示しNPK最も多くNK, NPと劣り両者の差は僅少であ

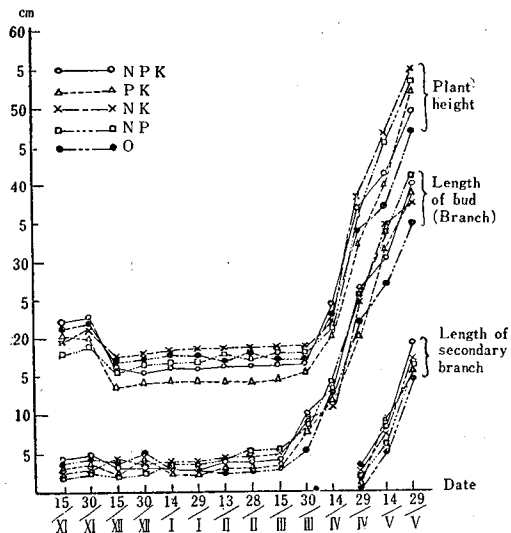


Fig. 1. Comparison of Plant Height, Length of Buds (Branches) and Length of Secondary Branches in Different Treatments.

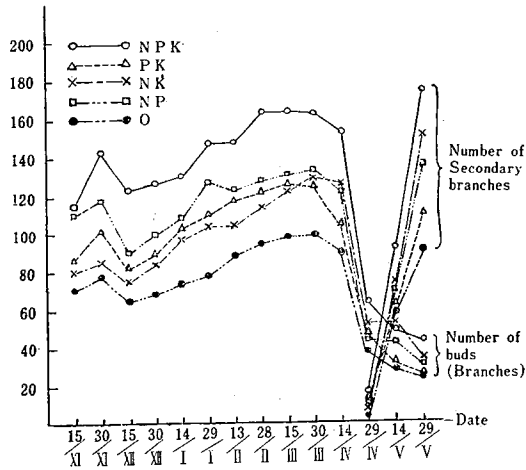


Fig. 2. Comparison of Number of Buds (Branches) and Number of Secondary Branches in Different Treatments.

る。さらにPK, Oと劣りこれもまた両者の差は僅少である。第2次分枝数は前述のとおり4月中旬に発生がみとめられ、その数はその後急速に増加し収穫期において最大に達する。NPK最大を示しNK, NP, PK, Oと順次して減少しているが各区間の差異はかなり大きいのが認められる。以上外形的に観察される一般生育状況については窒素の影響最も強くあらわれその欠除区においては草高は大差を認めないが、葉形が小さく葉色は退色しいちじるしく白色化している。分枝茎は細く特に第2次分枝の発生が少なく生育がいちじるしく阻害されているのが認められる。磷酸および加里についてはともにその影響があまり認められない。

2) 収穫物調査 収穫物の調査の結果は第1表に示すとおりである。収量の各項目について分散分析を行った結果サントニン含量を除く他の項目はいずれも5%水準あるいは1%水準で区間の差の有意性が認められた。

Table 1. Comparison of yield of the Plant in Different Treatments.

Treatments	Freshweight of whole plant		Air-dry weight of whole plant		Air-dry weight	Fresh weight	Useful part				Unuseful part				Useful part	Unuseful part	Santonin	
							Air-dry weight		Air-dry weight g leaves	Air-dry weight g stems	Air-dry weight		Air-dry weight g stems	Air-dry weight g roots			Content %	Yield g
	g	Ratio	g	Ratio			g	Ratio			g	Ratio						
NPK	405.9	100	139.0	100	0.342	77.0	100	51.5	25.5	62.0	100	49.2	12.8	1.242	1.10	0.84		
PK	188.4	46	71.5	51	0.380	33.5	44	22.5	11.0	38.0	61	28.0	10.0	0.882	1.09	0.36		
NK	360.8	89	127.8	92	0.354	70.3	91	45.5	24.8	57.5	93	44.5	13.0	1.223	1.04	0.73		
NP	359.1	88	120.3	87	0.335	65.5	85	45.8	19.7	54.8	88	44.3	10.5	1.195	1.01	0.66		
O	198.4	49	67.0	48	0.338	35.5	46	23.3	12.2	31.5	51	24.7	6.8	1.127	1.06	0.37		
L.S.D.5%	118.8		45.4			26.6				18.7				0.183	N.S	0.23		
L.S.D.1%	166.6		63.6			37.3				26.3				0.256	N.S	0.33		

1. 生体重量 NPK最大を示しNK, NPと順次劣り両者の差は僅少である。OおよびPKは両者ともさらに遙かに劣りNPKの50%にもおよばない。区間の差異およびその有意性についてはNPKとPKおよびO, PKとNK, OとNKおよびNPとの間にはそれぞれ有意の差異が認められる。

2. 風乾重量 生体重量の場合とほぼ同様の傾向が認められる。この場合PKとNPの間にも有意の差異が認め

れる。なお風乾重対生体重の比率についていずれの区もほぼ同一で差異はほとんど認められない。

3. 有用部風乾重量 有用部は葉の着生している最下端より切り取つた部分で、葉と細い茎とよりなり製品となる部分である。その風乾重量はNPK最大を示しNK, NPと順次して劣りPKは僅少の差であるが、Oよりも劣りともに前者に比べて遙かに劣っている。区間の差異およびその有意性についてはNPKとPKおよびO, PKとNKおよびNP, OとNPおよびNKとの間にはそれぞれ有意の差異が認められる。

4. 不用部風乾重量 これは有用部を除いた残余の部分で茎の下部と根よりなり不用の部分である。その風乾重量は有用部の場合とほぼ同様の傾向を示しているがPKとOとの順位が逆になつてゐる。区間の差異およびその有意性についてはこの場合PKとNPとの間には有意差が認められない。

なお1個体内の有用部重量対不用部重量の比率を見るに、NPK最大を示しNK, NP, O, PKの順位に減少している。すなわち生育良好な収量の多いものほど有用部の比率が増大してくる傾向を示している。区間の差異およびその有意性についてはPKと他の4区との間には有意の差異が認められる。

5. サントニン含量およびサントニン収量 サントニン含量はNPK最大を示しPK, O, NK, NPと順次し少なくなつてゐるがそれらの差異は僅少である。なおこの場合区間の差異には有意性はみとめられない。

サントニン収量について見るにNPK最大を示し、NK, NPと順次して劣つてゐるがそれらの差異はかなり大きい、PKおよびOの両区は最も劣り両者の差異はほとんどみとめられない。区間の差異およびその有意性についてはNPKとPKおよびO, PKとNKおよびNP, OとNKおよびNPの間にはそれぞれ有意の差異がみとめられる。

総 括

本試験において最も強く影響のあらわれてゐるのは窒素である。その欠除の状態においては植物の生育は著しく阻害される。すなわち茎、葉、第2次分枝等植物の各部にいちじるしい影響があらわれてゐるのが認められる。また施用した磷酸、加里も窒素の欠除のもとではなんら肥料的效果をあらわしていないのが認められる。磷酸および加里についてはともにある程度の影響は認められるが窒素に比すればその程度は遙かに少なく、両者間の差異はほとんど認められない。それゆゑ当地方の土壌においては本植物を栽培するには最も重要なのは窒素であり、その量および種類の選択配合が特に重要であると考えられる。磷酸および加里は窒素の共存下にてその肥料的効果をあらわすのであり、窒素に比すればその重要度は少ないが欠くことのできないものであると考えられる。

摘 要

1957年和歌山薬用植物栽培試験場の土壌を用いてクラムヨモギの生育ならびに収量におよぼす肥料成分の影響について試験した。試験区は3要素区(NPK)、無窒素区(PK)、無磷酸区(NK)、無加里区(NP)および無肥料区(O)の5区とした。試験の結果は概要次のとおりである。

1. 一般に植物の生育は3要素区最上であり、無磷酸区、無加里区と順次劣り両者の差は比較的僅少である。次いで無肥料区および無窒素区は遙かに生育劣り両者の差異はほとんど認められない。それゆゑ窒素の影響最も強くあらわれ、磷酸および加里の影響もある程度認められる。

2. 生体総重量、同風乾重量、有用部風乾重量、不用部風乾重量およびサントニン収量は3要素区最大であり無磷酸区、無加里区と劣り両者の差異は比較的僅少である。無肥料区および無窒素区はともに前者より遙かに劣つてゐるが両者間の差異はきわめて僅少である。

3. サントニン含量は肥料要素による影響を全く認めない。

文 献

- 1) 木下孝三：本誌，75，199（1957）。

Summary

Using the soil of Wakayama medical plant experimental station, the effects of the manurial elements upon the growth and the yield of KURAMUYOMOGI (*Artemisia kurramensis* QAZILBASH) were investigated in 1957, by providing five treatments, containing three elements (NPK), without nitrogen (PK),

without phosphoric acid (NK), without potassium (NP), and containing no element (O). Results obtained are summarized as follows.

1. Generally, the growth of plant is best in NPK, and in NK or in NP, it is inferior slightly to that in NPK, though the differences of them are not remarkable. In O and PK, they are both inferior conspicuously to the others and the growth of them resembles each other. Therefore the effects of nitrogen are recognized most conspicuously, and those of phosphoric acid and potassium are somewhat recognized.

2. In NPK, the fresh and air-dry weight of whole plant, the air-dry weight of useful part, the air-dry weight of useless part and the santonin yield are all largest. In NK and NP, they are inferior to that in NPK, but the differences between them are relatively small. In O and PK, they are both inferior conspicuously to the others and between them little differences are recognized.

3. It is recognized that manurial elements have no influence on the santonin contents of plant.

Received May 31, 1958.

種子島における印度蛇木の栽培試験（第1報）

発芽試験について

高城正勝

Experimental Cultivation on *Rauwolfia serpentina* BENTH. in Tane Island. I.

On the Experiment of Germination

Masakatsu TAKI

まえがき Kirtikar¹⁾ によれば印度蛇木根は印度において従来解毒・強壮・解熱剤として民間で用いられ、子宮収縮増進剤、眼病治療剤としても用いられているといい、Concan では *Aristolochia indica* L. とともにコレラ腹痛に服用し、ジャワでは駆虫薬として賞用されていると述べている。

しかるに近時血圧降下剤、精神安定剤として同植物根から抽出したレセルピンが著効あることが認められ、インドはもちろん各国はこの植物の栽培研究に着目し、農学的、薬学的、および医学的研究成果も着々発表されつつあるのが現状である。わが国内においては現在生産はもちろんその栽培研究すら着手されていない実情で需要の全量を輸入に仰いでいる。厚生省昭和31年度の統計によると総輸入高は1億8千万円の巨額にのぼり、これを自国で生産することは、通貨流出を防ぎさらに国民の保健衛生上急務である。しかしその栽培範囲は気象上低緯度に極限されることは Dehra Dun の実験報告からいえることである。しかも種子発芽率は極めて低くその上不規則であることは Badwar⁴⁾、Biswas²⁾、Nayar³⁾ らの実験結果でも明らかである。そこで著者は種子島においてその実験を実施し、その結果を報告する。

本実験に際し種子入手などに多大の御便宜を与えられ御指導賜った刈米所長、大日本製薬株式会社加藤研究部長貴重な文献の贈与貸与など御援助賜った川谷薬用植物部次長、宮崎伊豆薬用植物栽培試験場長に衷心より拝謝する。

植物形状 印度蛇木はきょうちくとう科に属す直立無毛の多年生小灌木で樹高1~2尺、稀に3尺におよぶものもあり、葉は7~9節位までは対生で開花近くなれば頂点に輪生状に生えるものもある。葉長は7~12cmで葉幅は4~6cm、葉柄を有し鋭尖頭表裏共無毛上部は帯緑色で光沢があり、下面はやや淡緑色、花は聚繖花で赤色または桃色花冠は盆状で管は桃色円筒状で細く、果実は核果直径約7mm完熟すれば黒色に輝き淡褐色で円扁平な種子を1~2個蔵す。根は噛めば苦味強く無臭円筒状で直径1~2cm鬚根ともに全長1.5mに達し徐々に細くなっている。花期は5~10月で、果実は7~11月につき葉は熱帯では落葉しないが種子島では冬期寒気のため脱落する。

材料および方法

材料 大日本製薬株式会社を通じて入手した印度産種子154.6g、粒数にして4,335粒をあてた。

方法 1957年6月6日~8日に全粒を1,000粒を1区としてそれぞれA,B,CおよびD区に区分し、残数をE区としてそれぞれ塩水選を行つた後2昼夜微温湯に浸漬し井戸水にて洗滌した。播種床は管理に便なるよう事務所近くの南向きの傾斜地を平坦にし雑木枝葉で防風壁を圍繞したなかに藁囲の長さ4.5間幅4.5尺高さ1尺の簡易冷床を作つて、粒間3cm、条間7cmの条播にした。覆土は細く篩つた土を約5mmの厚さに手にて軽く撒布し、麦稈を薄く敷き充分灌水した。発芽開始後は麦稈は全部取除き、藁囲の上部にベチバーの莖葉でつくつた蓑簾を覆い強い直射光を防いだ。発芽調査は発芽開始日から毎日行い、竹製ラベルを作り発芽月日を記入し芽生の側に挿して調査した。

実験結果

1. 種子の1,000粒重

種子は清潔で土砂塵埃外皮など夾雑物は何ら認められなかつた。種子の1,000粒重はA, B, C, D区それぞれ34.7g, 35.7g, 35.2g, 37.2g, E区が11.8gであつた。

2. 塩水選

5%食塩水(比重不詳)を500cc ビーカーに満し種子1,000粒を投入攪拌し数分間放置したところ内容充実し完全種子と思われるものは速かに沈下し、外面的には完全なる種子形状を呈していても胚の不健全あるいは秕と思われ、浮上したものは再度攪拌しても沈下しなかつた。沈下粒数はそれぞれ603粒, 604粒, 488粒, 651粒, および201粒で計2,557粒, 率は60.3%, 60.4%, 48.8%, 65.1%, および60.0%で平均は59.1%であつた。

3. 播種

各区ごとに沈下および浮上種子を同一条件下に上述せる方法で播いた。実験期間中の気温を示せば第1表のとおりである。

第1表 実験期間の主な気象

(昭和32年)

月	平 均 (C°)	気 最 高		温 最 低		降 水 量 (mm)
		平 均 (C°)	極 (C°)	平 均 (C°)	極 (C°)	
6 月 初	22.2	25.5	27.5	17.6	14.9	83.4
中	22.8	25.4	26.7	18.6	11.4	86.2
下	22.4	26.6	30.0	19.4	15.1	218.2
平 均	22.5	25.8	28.4	18.5	13.8	378.8
7 月 初	25.8	29.7	31.0	22.9	20.2	34.6
中	27.7	31.4	31.8	24.2	22.4	0.9
下	27.5	31.3	32.5	24.1	20.5	49.8
平 均	27.0	30.8	31.8	23.7	21.0	84.9
8 月 初	26.3	30.1	32.3	23.2	22.5	116.4
中	27.0	30.3	31.6	22.9	21.2	109.1
下	26.2	29.9	32.4	22.6	20.9	13.5
平 均	26.5	30.1	32.1	22.9	21.5	239.0

4. 発芽

第2表に示してあるとおり発芽始めはA, B区が25日C, D区が24日でE区が26日を要した。

第2表 発芽調査

調 査 日	A 区	B 区	C 区	D 区	E 区	計	果 計
7 月 1 日	4 本	5 本	3 本	3 本	0 本	15 本	15
2	6	4	5	1	0	16	31
3	2	4	3	8	4	21	52
4	2	0	2	4	2	10	62
5	4	2	1	6	1	14	76
6	10	11	10	10	2	43	119
7	6	9	5	9	2	31	150
8	5	7	1	3	1	17	167
10	4	13	5	4	3	29	196
12	11	11	15	24	6	67	263
14	17	18	20	26	11	92	355
15	9	14	15	20	4	62	417
17	9	11	16	19	10	65	482
19	9	14	7	17	8	55	537
21	7	11	12	8	1	39	576
23	8	8	11	9	4	40	616
27	10	4	6	11	1	32	648

調 月	査 日	A 区	B 区	C 区	D 区	E 区	計	累 計
月	日	本	本	本	本	本	本	本
	29	5	3	2	5	1	16	664
	31	7	1	1	0	0	9	673
8	3	5	5	6	5	0	21	694
	6	2	2	0	3	1	8	702
	10	2	0	0	0	0	2	704
	17	8	0	0	0	0	8	712
計		152	157	146	195	62	712	712

調査第1日は15本、以後漸次増えつつ毎日発芽し、最高は14日目で92本生じその日を頂に次第に減少し、8月17日8本の発芽を最後に調査を打切つた。発芽数はそれぞれ152、157、146、195および62本で計2,557本であり発芽率はそれぞれ15.2、15.7、14.6、19.5および18.5%で平均16.5%であつた。

第3表

区 分	粒 数	重 量	沈 下 種 子			浮 上 種 子			発芽数	発芽率
			粒 数	重 量	率	粒 数	重 量	率		
A 区	1,000	34.7	603	24.7	60.3	397	10.0	39.7	152	15.2
B 区	1,000	35.7	604	24.7	60.4	396	11.0	39.6	157	15.7
C 区	1,000	35.2	488	20.0	48.8	512	15.2	51.2	146	14.6
D 区	1,000	37.2	651	26.0	65.1	349	11.3	34.9	195	19.5
E 区	335	11.8	201		60.0	134		40.0	62	18.5
平 均	4,335	154.6	2,557		59.1	1,788		40.9	712	16.5

考 察

本植物が発芽率極めて低いことは Biswas²⁾、Nayar³⁾、Chandra⁶⁾ も述べている。Biswas²⁾ によれば8～11月播種のものは発芽所要日数が150～200日間で最も遅く、率は25～30%、3月播種は45日で10～15%、4月播種が34日で15～20%、5月播種が21日で21～30%、6月播種は38日で10～15%、7月は48日で5～10%であつたと報じている。また Nayar³⁾ は Dehra Dun 産種子の場合38%で南印度産の場合29%であり、Chandra⁶⁾ の実験では30%であつたと述べている。著者は種子入手の関係上今回1度の実験だつたが16.5%の発芽率で極めて低かつた。これは恐らく植物自体の開花生理機能の不調に基因するものか、あるいは花芽分化期または開花期の種々な環境に影響するか今後の研究にまたねばならないが、塩水選の結果からして沈下種子は大体内容充実した完全種子のように思われ、浮上種子は沈下種子と同条件で播種したにもかかわらず1本の発芽をもみなかつたところより推察すると無胚か、たとえ胚があつても不健全であるものと思われる。著者は浮上種子の数を割つて内部を検したがいずれも無胚であつた。また1,000粒重の軽重、塩水選による沈下粒数の多少は発芽率の高低に比例している。すなわちC区は1,000粒重35.2gなるに対しD区は37.2gで差は2.3g、沈下粒数は488粒に対し651粒で差は163粒を数え、重量も20.0gと26.0gで6gの差を生じ、発芽率も14.6%に対し19.5%でD区はC区に対し4.9%の高率を示し明らかにD区が優れていた。もちろん種子の大小、新古、保管状態如何によるが、種子の軽重塩水選の沈下粒数の多少は大きく発芽率に影響することは事実で、後日自家採種により種子の後熟、硬実などについても研究したいと思つている。

摘 要

- 1) 種子の1,000粒重は平均35.7gであつた。
- 2) 塩水選の結果沈下率は59.1%で浮上種子はほとんど発芽しなかつた。
- 3) 発芽が極めて不規則で発芽開始が24日目、最も遅いものは71日目であつた。
- 4) 発芽率は16.5%で極めて低かつたが、それが植物自体の開花生理機能の不調に原因するか、環境に影響する

るか今後の研究にまちたい。

文 献

- 1) Kirtikar, K., R. Basu, B. O. : Indian Medicinal Plants, Vol.II. 1918, p. 777~779.
- 2) Biswas, K. : Proceeding of the Symposium on Rauvolfia. 1956, p. 51~55, India.
- 3) Nayar, S. L. : Proceeding of the Symposium on Rauvolfia. 1956, p. 13~14, India.
- 4) Badhwar, R. L., Karira, G. V., Ramaswami, S. : *The Indian Forester*, 81, (4), 258~268 (1955).
- 5) Joseph Monachino : *Economic Botany*, 8, (4), 349~365 (1954).
- 6) Chandra, V : *J. sci. Industr. Res.*, 15A, (3), 125~133 (1956).

Summary

- 1) The average weight of 1,000 seeds of *Rauvolfia serpentina* BENTH. was 35.7g.
- 2) When the seeds were dipped in salt water, 59.1% of them sank to the bottom of the water. The seeds which did not sink, scarcely germinated.
- 3) Germination of the seeds was very irregular, the first germination was seen 24 days after sowing and the latest, 71 days.
- 4) The percentage of germination is very low, namely 16.5 %. It is not clear whether the reason of the low ratio of germination is unfavourable physiological conditions of the plant or unsuitable circumstances.

Received May 31, 1958.

プロタミンの生物学的定量法について*

芹 沢 淳

On the Bioassay of the Protamine

Jun SERIZAWA

まえがき プロタミンの検定には N. F. の方法¹⁾があるが、著者は入手しやすい牛血液を用い、1) プロタミンのヘパリン中和作用 (実験 1. プロタミン/ヘパリン=30 γ /20 γ), 2) プロタミン自身の抗血液凝固作用に基づく方法を検討し (実験 4.), プロタミンの検定をおこなつた。1) の方法により検定した結果、国立衛生試験所プロタミン標準品はプロタミン米局参考標準品とはほぼ同一力価を示した (実験 3.). また 2) の方法によるとき前者は後者の 102.5% の力価を示した (実験 6.).

実 験 の 部

実験方法 1) 硫酸塩加牛全血液, 2) アセトン乾燥牛大腦粉末, 3) トロンボキナーゼ抽出液の製造は著者らのヘパリン検定法に関する報告²⁾によつた。4) ヘパリン稀標準液: 日局標準品適量を蒸留水に溶かして 1cc 中 700 γ (82.9 単位) を含むようにし、ヘパリン稀標準液とし、共栓三角フラスコ中に密栓して冷所 (1~4°) に保存した。5) プロタミン稀標準液および稀検液: 標準品および検体としてそれぞれ米局参考標準品、国立衛生試験所標準品をとり、それぞれを蒸留水で 1cc 中 1mg を含む液とし、プロタミン稀標準液および稀検液とし共栓三角フラスコ中に密栓して冷所に保存した。6) 操作法: (i) プロタミンがヘパリンの抗血液凝固作用を中和することに基く方法—1.3×15 cm の共栓パイレックス製試験管 5 本をとり、それぞれにプロタミン稀標準液または稀検液各 0.2 cc ずつおよびヘパリン稀標準液 0.19 cc, 0.20 cc, 0.21 cc, 0.22 cc, 0.23 cc を加える。つぎに各試験管にトロンボキナーゼ抽出液 0.2 cc ずつを加え、すべての試験管内容を蒸留水で 1.2 cc とした後、各管に硫酸塩加牛全血液 (以下牛血液と略す) 1cc ずつを加え、栓をした後 1 回すばやく逆転してよく混和する。10 秒ごとに管を静かに傾斜して血液の流動性の変化を観察し、管を逆転しても管底の凝固物が落下しなくなつた時間を凝固時間とする**。いずれか 2 試験管間の凝固時間の差が 30% 以上であるとき、2 試験管の内の低い方のヘパリン量がプロタミンにより完全に中和されたとみなす。標準品、検体についてそれぞれ 4 回以上このような量を測定し、ついで両者の平均値の比から力価を求める。(ii) プロタミン自身の抗血液凝固作用に基く方法—Adams のヘパリン検定法³⁾に準じて実施した。すなわち (i) で用いたと同じ試験管にトロンボキナーゼ抽出液各 0.2 cc、種々濃度 (プロタミン量は (i) の方法より大量を要する) のプロタミン稀液 1cc さらに牛血液 1cc をすばやく加え、管を一回逆転してよく混和し、15 秒ごとに管を傾斜して (i) と同様に凝固時間を測定する。

実 験 結 果

実験 1 プロタミンによるヘパリンの抗血液凝固作用の阻止: 操作法 (i) でヘパリン量を一定 (17~25 γ) とし、種々のプロタミン量を用いて血液凝固時間に及ぼす影響を調べた。得た結果を Table 1, Fig. 1 に示す。プロタミン量の増加とともに凝固時間は短くなり、プロタミン 27~40 γ で最低値を示す。ついでプロタミンの抗血液凝固作用により凝固時間が延長する。Fig. 1 の左側の曲線部分の内プロタミン 5.3~17.8 γ 間の反応は分散分析 (Table 2) の結果 5% 有意水準で直線性が認められる。その回帰方程式はつぎの通りである。

$$Y = 1.62 - 1.12x$$

Table 1. Dose-Response Relation- ship of Heparin Antagonizing Action by Protamine

Protamine Dose (γ)	3.51	5.27	7.90	11.85	17.78	26.67	40.00	60.00	90.00	135.0	202.0
Log Clotting Time (in minute)	0.85	0.83	0.57	0.40	0.24	0	0	0.18	0.40	0.70	0.95
	0.85	0.81	0.63	0.40	0.18	0	0.1	0.18	0.40	0.70	0.92
	0.85	0.76	0.65	0.44	0.24	0.1	0.1	0.18	0.44	0.70	0.92
	0.86	0.83	0.68	0.40	0.24	0.1	0	0.24	0.44	0.72	0.93

* 昭和32年12月日本薬学会関東支部12月第2例会で講演した。

** この際少しばかりの赤色滲出液が管壁を流下しても完全な凝固とみなした。

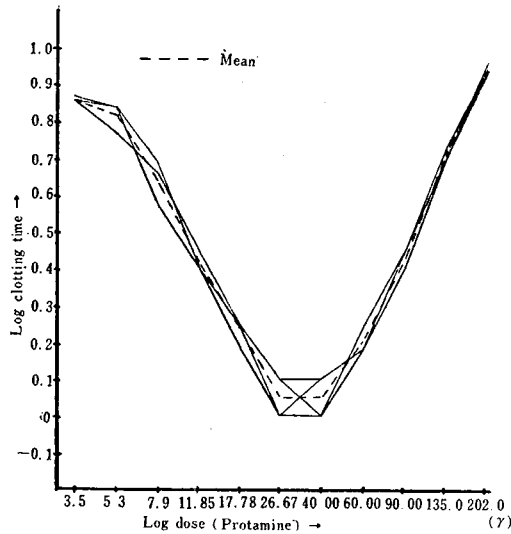


Table 2. Analysis of Variance for the Data of Table 1

Adjustment for Mean4.3056				
Nature of Variation	D.F.	S.S.	M.S.	F
Regression	1	0.7762	0.0008	0.67
Deviation from Regression	2	0.0016		
Between Doses	3	0.7778		
Within Runs	3	0.0026	0.0012	1.00
Error	9	0.0111		
Total	15	0.7915		$F_9^2 = 4.26$

実験 2 標準品および検体として同一プロタミンを用いて操作法 (i) にしたがって 1-1 用量検定を 3 回おこなった。それらの結果をまとめ Table 3 に示す。加重平均値⁴⁾は実際の力価と 0.4% の差を示すに過ぎない。

Table 3. Summarized Results for the Basal Assay

Ex. No.	M	Potency (%)	SM^2	W_1	W_1M	n	Fiducial Limits of Error (%) ($p=0.95$)
1	-0.0049	98.9	0.000054	18519	-88.9791	6	96.1~104.1
2	0.0101	102.3	0.000051	19608	198.0408	6	96.1~104.1
3	0.0000	100.0	0.000055	18182	0.0000	6	95.9~104.2
				56309	109.0617		

Weighted mean of potency ratio, $\bar{R}=1.004$

Weighted mean of potency = 100.4%

Fiducial limits of error = 97.5%~102.6%

実験 3 実験 2 の結果から操作法 (i) による 1-1 用量検定の精度のよいことがわかつたので、米局参考標準品と国立衛生試験所標準品の力価を比較した。その結果は Table 4 に示すように両者はほぼ同一力価である。

Table 4. Summarized Results for the Heparin Antagonizing Assay of Protamine

Ex. No.	M	R	Potency (%)	SM^2	W_1M	Fiducial Limits of Error (%)
1	0.0002	1.00	100.0	0.0000715	2.80	93.4~105.0
2	0.0053	1.01	101.3	0.0000200	265.00	99.1~100.8
3	0.0000	1.00	100.0	—	—	

実験 4 操作法 (ii) に従つてプロタミンの抗血液凝固作用を調べた。得た結果を Table 5, Fig. 2 に示す。プロタミン64~125 γ 間の反応につき分散分析 (Table 6) をおこない、5%有意水準で直線性が認められた。つきにその回帰方程式を示す。

$$Y = 2.15x - 3.38$$

Table 5. Dose-Response Relationship of Anticoagulant Action of Protamine

Protamine Dose (γ)	33	41	51	64	80	100	125
Log Clotting Time	0.35	0.40	0.48	0.51	0.72	0.88	1.30
(in minute)	0.40	0.40	0.48	0.48	0.72	0.90	1.06
	0.35	0.40	0.40	0.51	0.68	0.88	1.06
	0.40	0.44	0.48	0.54	0.70	0.92	1.14

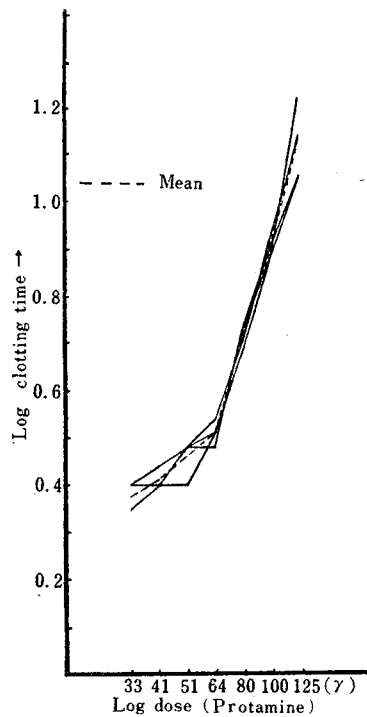


Table 6. Analysis of Variance for the Data of Table 5

Adjustment for Mean.....10.5625				
Nature of Variation	D.F.	S.S.	M.S.	F
Regression	1	0.8653	0.0016	0.48
Deviation from Regression	2	0.0032		
Between Doses	3	0.8685	0.0033	1.00
Within Runs	3	0.0127		
Error	9	0.0297		
Total	15	0.9109		$F_9^2 = 4.26$

実験5 実験4の直線部分のプロタミン量を用いて3-3用量検定をおこなった。この際標準品および検体として同一プロタミンを用いた。得た結果の1例をTable 7に示す。Adams³⁾の報告にしたがい、力価及び誤差の信頼限界を求め、このような6回の検定結果をTable 8に示す。実際の力価比に比べ、加重平均値は0.5%の差異を示すに過ぎない。

Table 7. An Example of the Protamine Assay by the Anticoagulant Action

Dose (r)	Standard Protamine			Test Protamine		
	S_1 53	S_2 80	S_3 120	T_1 53	T_2 80	T_3 120
Log Clotting Time (in minute)	0.44	0.74	0.93	0.44	0.70	0.93
	0.48	0.60	0.93	0.51	0.68	0.94
	0.44	0.70	0.90	0.57	0.72	0.88
	0.40	0.65	0.88	0.40	0.68	0.90

Table 8. Summarized Results for the Protamine Assay

Ex. No.	M	Potency (%)	SM^2	W_1	W_1M	n	Fiducial Limits of Error (%)
1	0.0124	102.9	0.00079068	1265	15.6860	3	80.7~124.6
2	-0.0035	99.2	0.00017392	5750	-20.1250	15	93.7~106.8
3	0.0169	104.0	0.00018328	5456	92.2064	15	93.6~106.9
4	0.0024	100.6	0.00059020	1694	4.0656	3	83.1~120.4
5	-0.0076	98.3	0.00007355	13596	-103.3296	15	95.9~104.3
6	-0.0029	99.3	0.00001601	62461	-181.1369	15	98.9~102.1

$$\chi_M^2 = 2.6869 < \chi_{[5]}^2 = 11.07$$

$$\bar{M} = \frac{S(W_1M)}{S(W_1)} = -0.0021$$

$$\text{Potency ratio} = 0.995$$

$$\text{Weighted mean of potency} = 99.5\%$$

$$\text{Fiducial limits of error} = 98.2\% \sim 101.9\%$$

実験6 実験5と同様に米局参考標準品と国立衛生試験所標準品との力価を比較した。得た結果をTable 9にまとめて示す。

以上1-1用量検定および3-3用量検定で得た結果をTable 10にまとめて示す。両法で得た結果はほぼ同じである。

Table 9. Summarized Results for the Anticoagulant Assay of Protamine

Ex. No.	M	Potency (%)	SM^2	W_1	W_1M	n	Fiducial Limits of Error(%)
1	-0.0014	99.7	0.00021677	4613	-6.4582	3	89.3~111.3
2	-0.0014	99.7	0.00005407	19814	-27.7396	15	96.6~103.5
3	0.0095	102.2	0.00003373	29647	281.6465	15	97.2~102.9
4	0.0129	102.9	0.00006314	15838	204.3102	15	96.2~104.1
5	0.0177	104.2	0.00002312	43253	765.5781	15	97.6~102.4

$$\chi^2_M = 4.3450 < \chi^2_{(4)} = 9.49$$

$$\bar{M} = \frac{S(W_1M)}{S(W_1)} = 0.0108 \quad \text{Potency ratio} = 1.025$$

$$\text{Weighted mean of potency} = 102.5\%$$

$$\text{Fiducial limits of error} = 98.4\% \sim 101.7\%$$

Table 10. Comparison between 1-1 Dose Assay and 3-3 Dose Assay

	1-1 Dose Assay		3-3 Dose Assay	
	Potency(%)	Fiducial Limits of Error(%)	Potency(%)	Fiducial Limits of Error(%)
NST/NST	100.4*	97.5~102.6	99.5*	98.2~101.9
NST/AST	100.0**		102.5*	98.4~101.7

* Weighted mean, ** Mean potency

NST=National Hygienic Laboratory Protamine Standard Material

AST=Protamine U. S. P. Reference Standard

む す び

牛全血液を用いて (1) プロタミンのヘパリン中和作用および (2) プロタミン自身の抗血液凝固作用に基く 2 種のプロタミン検定法をのべた。両方法は操作、検定方法とも簡単でしかも精度のよい方法である。

(i) 法によるとき国立衛生試験所プロタミン標準品の力価は米局参考標準品と同一であつた。また (ii) 法によるとき 102.5% を示した。両法による検定結果は、ほぼ同じである。

終りに、御指導、御校閲をいただきました特殊薬品部長長沢佳熊博士、中山豪一博士に深謝致します。

文 献

- 1) National Formulary : X, 474 (1955).
- 2) 長沢佳熊, 中山豪一, 芹沢淳 : 本誌, 75, 207 (1957).
- 3) Adams, S. S. : *J. pharm. pharmacol.* 2, 836 (1950).
- 4) Bliss, C. I. : *The Statistics of Bioassay*, p. 576~580. (1952)

Summary

Two bioassay methods of Protamine using sulphated ox whole blood and thrombokinase were described. One is based upon the antagonizing action of Protamine to Heparin, the other the anticoagulant action of the Protamine itself.

Both methods were simple and accurate and showed purity of the protamine standard of the National Hygienic Laboratories was almost equal to that of the U. S. P. reference Standard.

Received May 31, 1958.

ヒスタミンの研究 (第 1 報)

麻酔ハトの血圧下降に基くヒスタミンの用量-反応線

長 沢 佳 熊, 中 山 豪 一, 芹 沢 淳

On the Studies of Histamine. I.

The Dose-Response Line of Histamine based on the Depressor Response of Anesthetized Pigeon

Kakuma NAGASAWA, Goichi NAKAYAMA and Jun SERIZAWA

ヒスタミンの生物学的検定にはモルモットの摘出子宮^{1,2)}や摘出回腸³⁾の収縮法が広く用いられている。しかしこれら収縮法はヒスタミンの特異作用によるものでなく、脳下垂体後葉ホルモンも同様に作用する。麻酔ネコや犬を用いるヒスタミンの検定法^{4,5,6,7,8,9)}は、ごく少量のヒスタミンを静脈内に注射すると一過性の血圧下降を起すことに基く方法で、ヘパリン製剤⁷⁾や抗生物質製剤⁹⁾中のヒスタミン様物質の許容限界を定める公定法になっている。Rowe, Brown⁶⁾によるとネコはヒスタミンに対し感度が高い(20 mmの血圧下降を起すに要する量は0.1 γ /kg)が、その入手や実験室での飼育などが不便である。犬は0.5 γ /kgの注射でネコと同じ反応を起すに過ぎないが、その用量-反応線の傾斜はネコとよく似ているので氏ら⁶⁾は抗生物質中のヒスタミン様物質の検定に推奨している。最近 Natoff, Lockett¹⁰⁾ はニワトリの血圧下降作用に基くヒスタミンの検定法(20 mmの血圧下降を起すに要する量は1.17 γ /kg)を発表した。

これら血圧反応に基くヒスタミンの検定はいずれも比較的大動物を使用している。小動物を用い得るならば、操作が簡単となり、取扱いも便利であるので、まず麻酔ハトの血圧に対するヒスタミンの作用を調べた。

フェノバルビタールナトリウム麻酔ハトの血圧基線は麻酔白鼠¹¹⁾のそれと同じく変動が甚だしい (Fig. 1)。こ

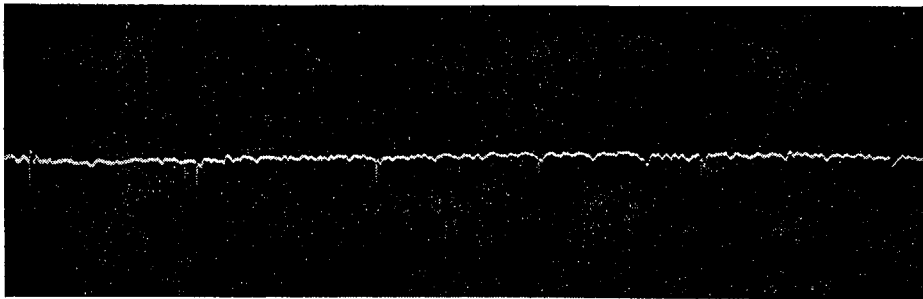


Fig 1. Basal line of Anesthetized Pigeon

れを防止するため Dibenamine 塩酸塩 (DBNと略す)を静脈内注射する方法¹²⁾を試みた。しかし DBN に対するハトの感受性が低く、120 mg/kg*を要した。このような大量を注射するとハトの一般状態が悪化し、往々死亡した。したがって本実験では DBN を用いなかつた。

麻酔ハトにヒスタミンを静脈内注射すると常に血圧は下降するが、ついで二次上昇を来した。これはNatoff,

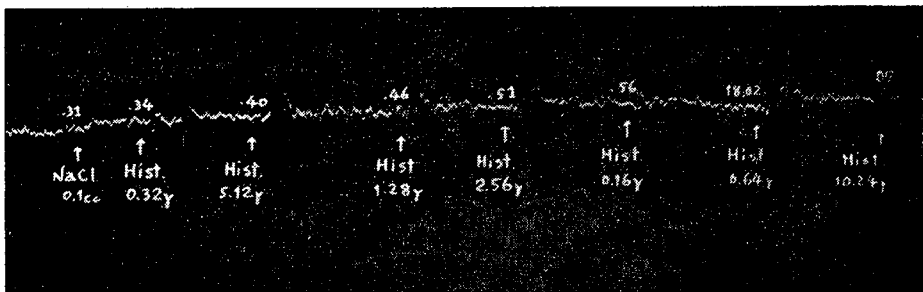


Fig 2. Blood Pressure Curve of a Pigeon Injected Histamine Showing its Dose-Response Relationship

* 麻酔白鼠では 6 mg/kg

Lockett¹⁰⁾ もニワトリの血圧で認めている。

著者らの実験ではヒスタミン用量1.28~10.24 γ 間の反応に直線性が認められた (Fig.2, Table 2~5). ただし本実験では血圧基線が変動しているので, その防止法を研究する必要がある。

実験方法 (1) 検液の調製法: ヒスタミンりん酸塩 (武田化学製) の適当量を精秤し, 1 cc 当りヒスタミン塩基 2 mgを含むように生理食塩液に溶かし, アンプルに充填し, 滅菌した後, 0~5°で貯える. 実験当日生理食塩液で適当に稀めて検液とする. (2) 実験条件: 実験はすべて22°±1°の恒温室でおこなつた. (3) 実験動物: 体重335~425 gの健康なハトにフェノバルビタールナトリウム 0.12 g/kg を筋肉内に注射して麻酔し, 手術板上に背位に固定する. この際両翼を左右に引伸ばす. 一方の翼下静脈内にカニューレ*を挿入し, ヘパリン 200 u/100 g を注射する. つぎに他側の翼下動脈を露出し, 動脈カニューレを挿入する. 動脈カニューレは生理食塩液を充たしたゴム管またはポリエチレン管を経て血圧マノメータ¹¹⁾ に接続し, キモグラフィオン上に血圧を記録する。

実験結果 Table 1 にハトの体重, 性別, 血圧を示す。

Table 1. Blood Pressure of Pigeons Anesthetized by Sodium Phenobarbital

Number of Pigeon	Body Wt. (g)	Sex	Blood Pressure (mmHg)	Number of Pigeon	Body Wt. (g)	Sex	Blood Pressure (mmHg)
1	425	♂	143 ~ 145	10	360	♀	132
2	430	♀	122	11	347	♀	137 ~ 137.5
3	415	♀	128 ~ 131	12	335	♂	158
4	375		168	13	357	♀	144
5	380	♂	126 ~ 128	14	365		142
6	380		150 ~ 155	15	355	♂	124
7	400	♂	113 ~ 114	16	350	♀	116
8	360	♀	106	17	340	♂	170 ~ 172
9	400	♂	186 ~ 190	18	335	♂	188 ~ 190

用量-反応線の検討: (1) 体重 357 g の雌ハトを用いてヒスタミン用量と血圧降下との関係を調べた. Table 2 にその結果を示す. 本実験資料につき直線性を検討した¹³⁾. Table 3に用量 1.28 γ ~10.24 γ 間の分散分析結果を示す。

Table 2. Relationship between Dose and Response

Dose (γ)	0.16	0.32	0.64	1.28	2.56	5.12	10.24	Sum
Response (mmHg)	5	14	21	28	37	41	68	214
	3	12	15	21	26	42	69	188
	6	8	11	16	18	41	45	145
	7	7	11	13	37	40	63	178
	3	7	12	16	37	46	56	177
Total	24	48	70	94	155	210	301	802
Number of Observations	5	5	5	5	5	5	5	35
Mean	4.8	9.6	14.0	18.8	31.0	42.0	60.2	22.9

すなわち F 値 0.80 は F 表からの値 $F_{12}^2 = 3.88$ より小さいので, 5% 有意水準で直線性が認められる. 回帰方程式はつぎのとおりである。

$$Y = 12.90 + 44.92x$$

* $1/4$ ツベルクリン針の注射筒との接続部にインシュリン注射液のバイアル容器のゴム帽をかぶせた。

Table 3. Analysis of Variance for the Data of Table 2

Adjustment for Mean.....				28880.0
Nature of Vaiation	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-Value
Regression	1	4569.8	31.3	0.80
Deviation from Regression	2	62.6		
Between Doses	3	4632.4	39.1	
Within Blood Pressures	4	388.5		
Error	12	469.1		
Total	19	5490.0		

(2) 体重 365 g のハトを用いて上例と同様の実験をおこなった。その結果を Table 4 に示す。本実験の資料につき直線性を検討した。Table 5 に用量 1.28 γ ~ 10.24 γ 間の分散分析結果を示す。すなわち F 値 0.95 は F 表からの値 $F_{12}^2 = 3.88$ より小さいので、5% 有意水準で直線性が認められる。回帰方程式はつぎのとおりである。

$$Y = 11.13 + 43.52x$$

Table 4. Relationship between Dose and Response

Dose (γ)	0.16	0.32	0.64	1.28	2.56	5.12	10.24	Sum
Response (mmHg)	3	10	20	29	35	51	69	217
	6	9	13	19	32	41	45	165
	5	4	7	11	21	38	53	139
	10	11	10	16	22	37	57	163
	0	6	4	11	27	37	58	143
Total	24	40	54	86	137	204	282	827
Number of Observations	5	5	5	5	5	5	5	35
Mean	4.8	8.0	10.8	17.2	27.4	40.8	56.4	23.6

Table 5. Analysis of Variance for the Data of Table 4

Adjustment for Mean.....				25134.1
Nature of Variation	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-Value
Regression	1	4290.3	18.35	0.95
Deviation from Regression	2	36.7		
Between Doses	3	4327.0	19.28	
Within Blood Pressures	4	582.7		
Error	12	231.3		
Total	19	5141.0		

以上二実験で得た資料の分散および平均値間に有意な差が認められないので、両実験資料を合し、用量 1.28 γ ~ 10.24 γ 間につき分散分析を行い、5% 有意水準で直線性を認めた。Table 6 にその結果を示す。回帰方程式はつぎのとおりである。

$$Y = 12.01 + 44.22x$$

Table 6. Analysis of Variance for the Combined Data

Adjustment for Mean.....53949.0				
Nature of Variation	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-Value
Regression	1	8857.8		1.67
Deviation from Regression	2	88.1	44.05	
Between Doses	3	8945.9		
Within Blood Pressures	9	1036.2		
Error	27	713.9	26.44	
Total	39	10696.0		

むすび 小動物の血圧反応によるヒスタミンの検定の一環としてハトの血圧に対するヒスタミンの用量-反応線を検討し、用量 1.28 γ ~10.24 γ 間に直線性を認めた。20 mmHgの血圧下降を起すに要するヒスタミン量は約 5.88~6.88 γ /kgとなり、これをネコ、犬、ニワトリのそれに比較すると、それぞれの約 64 倍、13 倍および 5.5 倍となる。

文 献

- 1) Barger, G., Dale, H.H. : *J. Physiol.*, 40, 128 (1910).
- 2) Dale, H.H., Laidlaw, P.P. : *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, 4, 75 (1912).
- 3) Schild, H. D.: *J. physiol.* 101, 115 (1942)
- 4) Burn, J.H. : "Methods of Biological Assay", Oxford Univ. Press., 1928, p. 112.
- 5) Emmelin, N.: *Acta Phys. Scand.*, 2, Suppl. 34, 19-20 (1945).
- 6) Rowe, L.W., Brown, R.A. : *J. Am. Pharm. Assoc.*, 42, 257 (1953).
- 7) 国薬Ⅱ, 272.
- 8) F. D. A., Federal Security Agency Washington, D. C., Federal Register, April 4, 1947.
- 9) Hilton, J.G., Brown, R. V. : *Am. J. Physiol.*, 183, 206 (1955).
- 10) Natoff, I.L., Lockett, M. F. : *J. Pharm. Pharmacol.*, 9, 464, (1957).
- 11) 中山豪一:本誌, 74, 141 (1956).
- 12) Dekanski, J. : *Brit. J. Pharmacol.*, 6, 351 (1951).
- 13) Burn, J.H., Finney, D. J., Goodwin, L.G. : "Biological Standardization" (2nd Ed.) p. 51, 57, 62, 69. Oxford Univ. Press. (1950).

Summary

For the bioassay of histamine using a small animal, authors studied the dose-response relationship on the blood pressure lowering action on the pigeon, and showed a linear relationship between doses (1.28~10.24 γ).

The amount of histamine which elicits 20 mmHg of the decrease of the blood pressure was approximately 5.88~6.88 γ per kg of the body weight. This amount is approximately 64, 13, 5.5 times larger than that on cats, dogs and cocks, respectively.

Received May 31, 1958.

断頭ニワトリの血圧に対する脳下垂体後葉ホルモンの反応

—附. 2,3 薬剤の反応

中山 豪一, 芹 沢 淳

The Response of Posterior Pituitary Hormones on the Blood Pressure of Decapitating Cock. —In Addition, the Response of a Few Drugs

Goichi NAKAYAMA and Jun SERIZAWA

脳下垂体後葉注射液(「脳ホ注」と略す)はオキシトシン(子宮収縮, 乳汁射出成分)およびバソプレシン(血圧上昇, 抗利尿成分)を含んでいる。前者はニワトリ^{1,2)}, カモ¹⁾, ハト³⁾など鳥類の血圧を下降させ, 後者はネコ^{4,5)}, 犬^{6,7,8)}, 白鼠^{9,10)}の血圧を上昇させる。この上昇作用は脳髄を破壊すると著しく増大する¹¹⁾。麻酔ニワトリによる「脳ホ注」またはカツラ脳下垂体抽出液の検定中, 急激な血圧下降後多少の差はあれ明らかに二次的な血圧上昇(基線に対して)を見ることが多い(Fig. 1)。このような二次的な上昇については最近 Natoff, Lockett¹²⁾

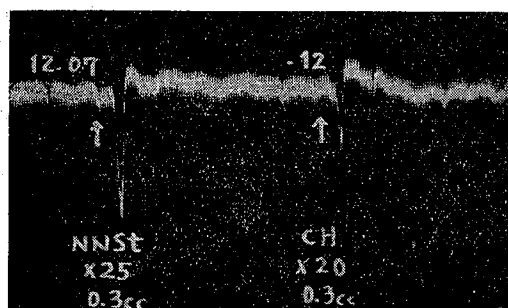


Fig. 1. Blood Pressure Response of the Posterior Pituitary Injection on Anesthetized Cock - ♂, Body Wt. : 2.19 kg, Expt. Temp. : 23° (July 4, 1955)

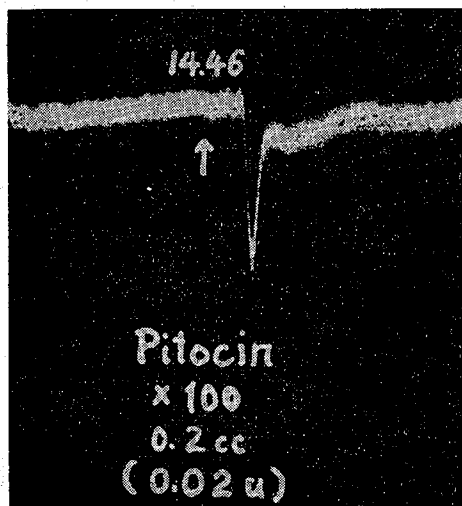
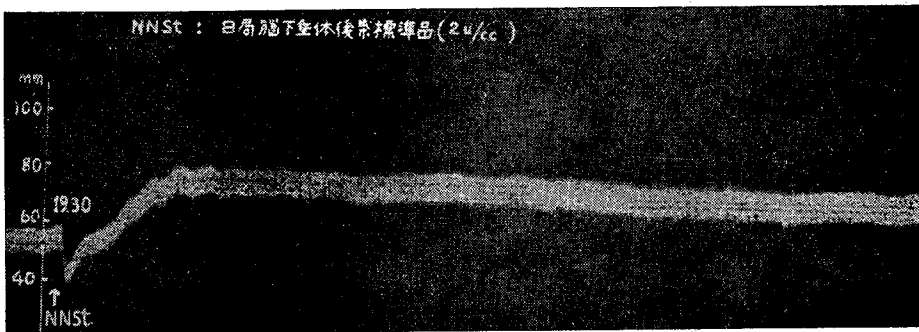


Fig. 2. Blood Pressure Response of the Oxytocin Injection, Pitocin, on Anesthetized Cock - ♂, Body Wt. : 2.05 kg, Expt. Temp. : 22° (March 31, 1955)

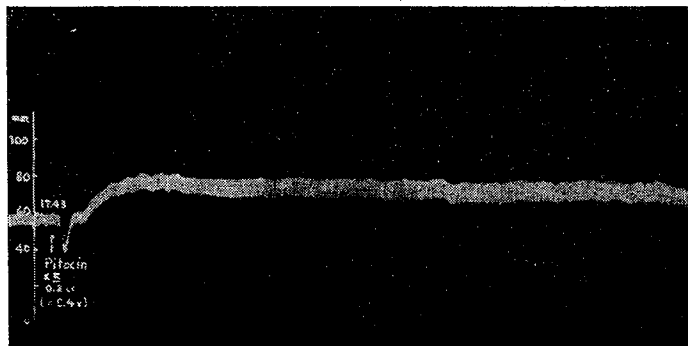
もヒスタミンや5-ヒドロキシトリプタミンで観察している。天然オキシトシン製剤であるアトニン-O (帝国臓器製), ビトシン (Parke Davis 製), オラスチン (ヘキスト製) や合成オキシトシン剤のシントシノン (Sandoz 製) では二次的な上昇は見られない (Fig. 2)。前3者の製品中バソプレシンの単位数はオキシトシン単位数の1/20以下にすぎない。また最後の製品では全くバソプレシンを含まない。そこで著者らは「脳ホ注」やカツヲ脳下垂体抽出液による二次的な上昇がバソプレシンによるものかもしれないと考えた。もしそうであれば、哺乳動物の場合と同じく、断頭ニワトリの血圧に対し上昇作用が増大するのではなかろうか。このような考えのもとにこの実験をおこなった。

Hogben, Schlapp⁵⁾は除脳したカモ、ニワトリで脳下垂体後葉ホルモンの反応を調べ、つねに血圧下降を起すと報告している。

著者らはまず断頭ニワトリを作製し、「脳ホ注」、天然および合成オキシトシン製剤ならびにバソプレシン製剤の反応を調べた。その結果断頭ニワトリのこれら製剤に対する反応はいずれも同じであつた。すなわち始めわずかな血圧下降を起し、つぎに著しい二次的な上昇を示した (Fig. 3a, b, c, d)。また、この二次的な上昇作用は著しく持続的であつた。これに反しバソプレシン製剤ではその上昇作用は一過性 (Fig. 3d) であつた。これらの結果からオキシトシンおよびバソプレシンによる上昇反応は相異なる作用と考えられる。



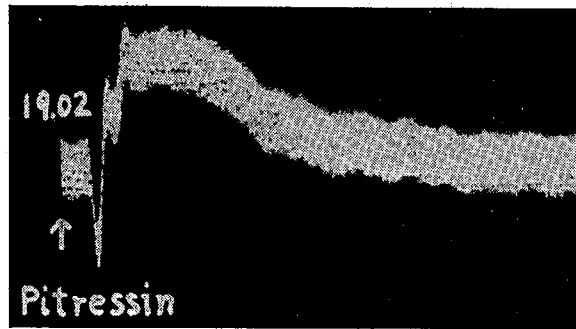
(a) NNST : Posterior Pituitary Injection



(b) Pitocin : Oxytocin Injection



(c) Syntocinon : (Synt) Synthetic Oxytocin Injection



(d) Pitressin : Vasopressin Injection

Fig. 3. Blood Pressure Response of the Natural Vasopressin Injection, Pitressin, on Decapitating Cock - a, b and d ♂, Body Wt. : 2.05 kg, Expt. Temp. : 22° (March 31, 1955), c ♂, Body Wt. : 2.7 kg, Expt. Temp. : 23° (March 27, 1957).

「脳ホ注」および両オキシトシン製剤により血圧下降がわずかしき起らないのは、断頭することにより血圧基線が低下 (30~60mm Hg) したためと考えられる。

以上の実験に附随して断頭ニワトリに対するエピレナミン、ヒスタミンおよびアセチルコリンの反応を調べた。エピレナミンは麻酔ニワトリに対すると同じくつねに一過性の血圧上昇作用を示した (Fig. 4)。

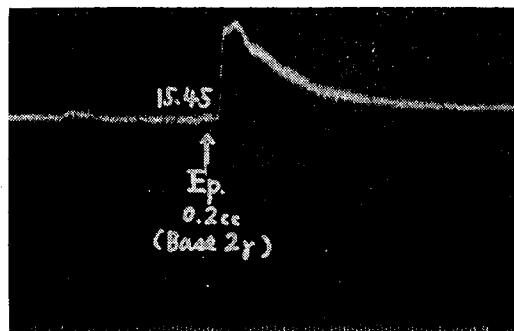


Fig. 4. Blood Pressure Response of the Epinephrine Injection (Ep.) on Decapitating Cock - ♂, Body Wt. : 1.85 kg, Expt. Temp. : 24° (April 14, 1955).

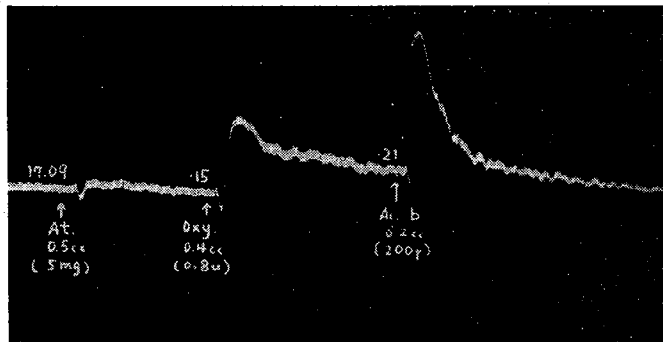


Fig. 5. Blood Pressure Response of the Acetylcholine (Ach.b) after Injection of the Atropine Sulphate (At.) Followed by the Posterior Pituitary Injection (Oxy.) on Decapitating Cock-♂, Body Wt. : 1.85 kg, Expt. Temp. : 24° (April 14, 1955).

アセチルコリンは初期下降より二次的上昇の方が大きく現われた。あらかじめアトロピンでアセチルコリン作用を遮断した断頭ニワトリに天然オキシトシン剤であるピトシンを注射し、血圧を上昇させた上で再びアセチルコリンを注射すると初期下降後著しい血圧上昇を起した(Fig. 5)。

なお牛脳下垂体(全腺)、ニワトリ脳下垂体(全腺)、メバチ脳下垂体(全腺)、カツヲ脳下垂体(全腺)についても断頭ニワトリの反応を調べたが、「脳ホ注」による反応とほぼ類似していた。ただニワトリ脳下垂体(全腺)では血圧下降に比べて二次的な上昇が小さい傾向のあることを認めた。

実験 断頭ニワトリの作製法：体重2 kg 前後の健康な雄白色レグホン鶏にフェノバルビタールナトリウム0.2 g/kg 体重を腓腸筋内に注射して麻酔し、背位に固定する。ただし頸部は自由にしておく、まず頸部の羽毛を全部除去し、第5～12頸椎に至る皮フを正中線に沿って切開すると、第9および10頸椎附近で頸部前面の筋膜下を正中線に沿って相接触して走る両側頸動脈が筋肉内に潜入する部分が認められる。この潜入部の直前で筋膜を剥離し、両頸動脈を分離し結紮したのち切断する。気管にカニューレを挿入し、ただちに人工呼吸をおこなう(毎分27回転)、つぎに第9又は10頸椎上面の筋肉を剥離し、頸椎の腹面を露出し、その両側を走る脊椎動脈を結紮する。この際まず頸椎の腹面の上部を骨鉗子でけずり取り、脊椎動脈と頸椎の上部とがほぼ水平になるようにする。脊椎動脈を取囲む膜を破り、小鉤を用いて糸を通し、固く結紮する。

次に両側外頸静脈、食道を結紮し、皮フとともに切離し、脊椎動脈の結紮部位から頭側(約1 cm)の頸部筋肉を大部分剥離し、大型骨鉗で一氣に頸部を切断する。この際頸側に残留する血液のほかはほとんど出血をみない。つぎにニワトリを横臥させ、常法により坐骨動脈または頸動脈圧を記録する。

断頭ニワトリの血圧基線は全く一定である。脊髄も破壊したいときは頸部の切断口から針金を挿入すればよい。術後30～60分で実験を開始する。

むすび 断頭ニワトリの作製法を述べた。この断頭ニワトリに脳下垂体後葉注射液、天然および合成オキシトシン剤いずれかを注射するとその血圧は、わずかな下降後二次的に持続の著しい上昇を起した。バソプレシンを注射すると、同様の血圧上昇を起したが、その作用は一過性であつた。これらの成績からこのような断頭ニワトリに対するオキシトシンとバソプレシンの血圧上昇作用はそれぞれに特有な性質であると思われる。アセチルコリン、でもわずかな下降後、一過性の二次的な上昇が大きく現われた。エビレナミンはこの試験では一過性の血圧上昇を示した。さらにニワトリ、メバチ、カツヲ、牛脳下垂体(全腺)も脳下垂体後葉注射液による反応とほぼ類似した反応を起した。ただニワトリ脳下垂体(全腺)では初期下降に比べて二次的上昇が小さい傾向が見られた。

終りに御指導をいただいた特殊薬品部長長沢汎熊博士に深謝する。また実験を手伝っていただいた当部城戸靖雅、木村俊夫、福田秀男技官に御礼申上げる。

文 献

- 1.) Paton, D. N., Watson, A. : *J. Physiol.*, 44, 413 (1912).
- 2.) Coon, J. M. : *Arch. intern. Pharmacodyn.* 62, 79 (1939).
- 3.) 中山豪一, 芹沢淳 : 未発表.
- 4.) Dale, H. H., Laidlaw, P. P. : *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 4, 75 (1912).
- 5.) Hogben, L. H., Schlapp, W. : *Quart. J. Exp. Physiol.*, 14, 229 (1924).
- 6.) Hamilton, H. C. : *J. Am. Pharm. Assoc.*, 1, 1119 (1912).
- 7.) Hamilton, H. C., Rowe, L. W. : *J. Lab. Clin. Med.*, 2, 120 (1916).
- 8.) Kamm, O., Aldrich, F. B., Grote, I. W., Rowe, L. W., Bugbee, E. F. : *J. Am. Chem. Soc.*, 50, 1573 (1928).
- 9.) Dekanski, J. : *Brit. J. Pharmacol.*, 6, 351 (1951).
- 10.) Landgrebe, F. W., Maccauley, M. H., Waring, H. : *Proc. Roy. Soc. Edinb.*, B62, 202 (1946).
- 11.) 中山豪一 : 本誌, 74, 141 (1956).
- 12.) Natoff, I. L., Lockett, M. F. : *J. Pharm. Pharmacol.*, 9, 464 (1957).

Summary

Authors described a preparation method of the decapitating cocks with which they studied the action

of some hormones and obtained the following results : (1) The posterior pituitary injection, natural and synthetic oxytocin injection elicit a small decrease followed by a secondary very prolonged, large pressor response, and the vasopressin injection, only a evanescent pressor response. (2) Histamine and acetylcholine elicit also a similar response like the posterior pituitary injection except prolongation. (3) Epinephrine injection elicits only a evanescent pressor response. (4) The extracts from the pituitary gland of cocks, big-eye-tuna and bonito fish, and ox elicit a similar response like the posterior pituitary injection.

Received May 31, 1958.

発熱性物質試験に関する研究 (第1報)

家兎体温に関する基礎的条件について

北 川 純 男, 川 崎 浩 之 進

Studies on Pyrogen Test I

On some Factors which Influenced on the Body Temperature of Rabbit

Sumio KITAGAWA and Hironoshin KAWASAKI

緒 言

注射薬、ことに静脈内に投与される注射薬の発熱性については、古くから問題視されていた。その原因の探究については Centanni 以来 Wachselmann¹⁾ をはじめ、その他多くの研究者^{2~7)}の報告がある。そして、その試験法として現在のように家兎を使用するにいたつたのは Seibert^{2,3)}に与るところが多い。わが国において注射薬中の発熱性物質の試験が薬局方に集載されたのは第6改正日本薬局方(以下、日局Ⅵ)が始めてである。そして、試験に供する家兎の体温範囲、飼育室の温度、および試験結果の判定基準等は諸外国の薬局方、たとえば U.S.P.X V, B.P.1954, および I.P. などと相異なるのがみられる。

日局Ⅵの発熱性物質試験法が施行せられた当初は、多くの討論が行われ⁸⁾、殊に飼育条件、測定方法などについては多くの問題を有していたが、現在においてもこの問題は決定的な解決が見出されていない。すなわち、家兎の発熱性物質に対する感受性及び体温の自然変動などは単に個体差と考えられる以外に飼育条件、たとえば食餌投与の時間、室温の変化により影響されるものと考えられる。

家兎の体温に関する報告は、古くより行われており、いずれも種々の値が示されている。そして、その体温は1日を通じて0.3~0.4°C程度の変動を見るものであつて、必ずしも一定の値を示すものでない。したがつて、発熱性物質の試験においては、とくに注射前の家兎の体温に関して知ることが、試験に使用する家兎の正常体温を把握する上に重要である。すなわち、発熱性物質試験にあつては、家兎の注射前の体温を基礎とし、それ以後の予想される体温の自然変動に対して体温上昇度すなわち0.6°Cの規定がなされているもので、しかも自然体温変動は家兎の個体差および日により種々の相異が見られる。したがつて発熱性物質試験における家兎の自然体温変動に影響を及ぼす種々の因子につき検討を加えることは、試験を行う上に必要なことと考える。著者らは、本研究において以上に関する二三の条件につき実験および考察を行つた。

実験材料および方法

実験動物 白色雄性の家兎で、動物商より購入後少くとも1週間飼育室で同一飼料で飼育し、体重に一定の増加が見られるようになった体重1.8kg以上2.7kgまでのかつ健康なものを使用した。

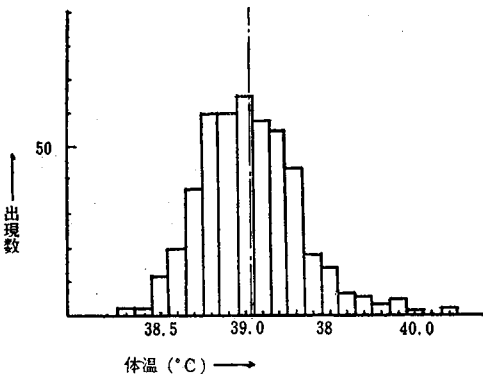
飼 育 室 家兎の飼育は、四季を通じ室温 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $60 \pm 5\%$ に調節管理された室において行い、検温その他の実験はすべてこの室で行つた。飼料は毎日4.0PMに投与した。

温 度 計 「く」の字型の動物用体温計(非けい留式)、および銅-コンスタンタン熱電対による電位差式熱電温度計を使用した。

検 温 法 幅約50cm、長さ60~80cmの布に家兎を興奮せしめることなく腹位に横臥せしめ、手早く布で円筒状に巻込んでそのまま背位にならしめ、その肛門部位が出るようにする。ついで注意して温度計を深さ6cmまで挿入し、2min後の体温を読みとる。検温は毎日10.0AMより1hr間隔で行い、注射を行う場合は11.0AMの検温直後家兎の耳殻静脈内に行つた。

実験結果および考察

1. 家兎体温について 家兎体温に関する報告は非常に多いが、それらのうち主なものを挙げると、Moore ら⁹⁾は39.4~39.9°C、Seibert ら³⁾は39.05°C、森ら¹⁾は39.40±0.29°C、城戸ら¹¹⁾は39.05°Cなどを示しているが、これらの多くは1日の間に変動する体温を平均した値である。概して、その体温としては39°Cが予想される。そして、森ら¹⁰⁾も認めているごとく家兎の屋間における体温は、朝は高く11.0~12.0AMにおいて低くなり、3.0~4.0PMにおいて再び高くなる。しかるに発熱性物質試験の基礎体温としては、注射直前の体温を採用するが、これが日局Ⅵに規定された体温の範囲内(38.9~39.8°C)にはいらねばならない。したがって上記のごとく1日の変動を含めた平均値はしばしば高い値が得られがちである。



第1図 家兎体温分布図

室温 25±1°C 湿度 60±5% 71:467
検温:布巻法 m:39.03°C σ:0.30°C

よびB.P.1954などにあつては、体温の下部限界が規定されていないことから領けることであろう。

著者らは、むしろ注射直前における体温水準を知ることが必要と考える。すなわち、11.0AMにおける467例の測定値を第1図にヒストグラムとして示した。またこれらの平均値は39.03±0.30°Cで、この値の±σ、±2σ、±3σの温度範囲とその出現率を第1表に示した。日局Ⅵの規定による注射前の体温範囲38.9~39.8°Cの出現率は70.23%に過ぎない。したがって、第1表の±σの体温下部が局方の規定を逸脱するようになる。しかし、この下限体温38.73°Cが異常体温であると結論することは困難で、むしろ±σ範囲の体温は正常体温とみなすのが妥当であろう。さらに±1.5σの体温すら正常とみなしてもその出現頻度からあえて不合理とは考えられない。これらの下部限界が日局Ⅵの範囲を逸脱しているが著者らはむしろ日局Ⅵの体温範囲の規定を再検討する必要のあることを示しているものと考えている。このことはすでにU.S.P.XVお

第1表 種々の標準偏差に対する家兎体温範囲

直腸体温	体温範囲(°C)	頻度	
		出現数	%
ma)±σb)	38.73~39.33	380	81.37
m ±1.5σ	38.58~39.48	432	92.50
m ±2σ	38.43~39.63	451	96.57
m ±2.5σ	38.28~39.78	460	98.50
m ±3σ	38.13~39.93	464	99.38

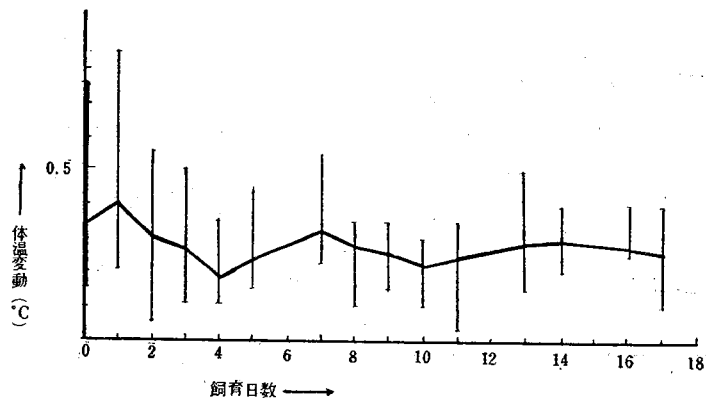
a) m=39.03°C b) σ=0.30°C

2. 基礎体温と体温変動の関係 基礎体温は、日中の家兎の体温変動算出の基礎となるものであつて、基礎体温による家兎の撰択の試験結果に及ぼす影響は大きい。したがって著者らは基礎体温と1日の家兎の自然体温変動値との間の関係を求めた。基礎体温として11.0AMの測定値をとり、変動値としては12.0AM、1.0PM、2.0PM、3.0PMのそれぞれにおける測定値と基礎体温との差の上昇値の最大を用いた。これと同様に非発熱性生理食塩水を10cc/kg 静注時の基礎体温と変動値の関係についても調べた。これらの結果は第2表に示した。基礎体温と変動値の間には相関関係が見られる(r=0.48)。このことは基礎体温の低い場合ほど体温変動が大きいことがわかる。同じく生理食塩水静注の場合にも相関性が見出された(r=0.489)。以上の点から考えると低体温家兎、特に38.4°C以下の家兎の使用は危険であることが予想される。

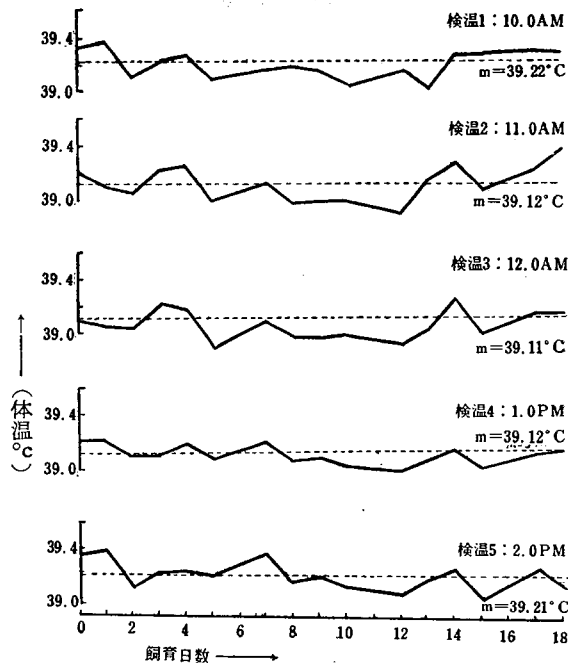
第2表 家兎の基礎体温と自然変動値の関係

変動値 基礎体温	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6 以上	合 計
38.4						1	2	3
38.5			1	1	2		2	6
38.6			1	3	1	1	2	8
38.7	1	2	3	3	4	3		16
38.8	1	5	11	5	9	5	6	42
38.9	1	4	10	13	10	4	3	45
39.0	5	8	9	14	15	5	6	62
39.1	2	5	7	14	8	1	2	39
39.2	3	7	17	8	5	2	3	45
39.3	3	13	8	14	9	3		50
39.4	2	7	8	2	2	2		23
39.5		3	4	3		2	1	13
39.6		2	3		3	3	1	12
39.7	2			1	1	1		5
39.8		1	1	1	1		1	5
39.9	1	1						2
合 計	21	58	83	82	70	33	29	376

3. 飼育日数と体温の関係 実際上新規に飼育室に入つた家兎は, その日から2~3日間体重の減少が見られるから試験に使用できるようになるには7~10日以上を必要とする. 著者らはこの間における体温およびその変動について, 入室の日から19日間, 同一家兎8匹を1群として10.0AMより2.0PM迄1hr間隔で5回体温測定を行った. これらの結果を第2および3図に示した. 第2図は1群の飼育日数による体温変動値の変化であつて全体の平均値として0.29°Cを示すが, 概して飼育初期の2~4日間は変動は大きく, 飼育日数を経るにつれて大体一定となり, 5~12日の間では平均0.25°Cで小さくなることを示した. 一方, 体温の変化は第3図に示したが, 各測定時間ともほとんど同じ傾向をもつて変化することが知られる. 以上のことは家兎が入室後飼育環境, 飼料条件などに馴れるほかに, 体温測定操作になれてくることにもよるものと思われる. したがつて家兎は新たに飼育室に飼育し始めてから少くとも5~6日の予備飼育を施す必要があることがわかる.

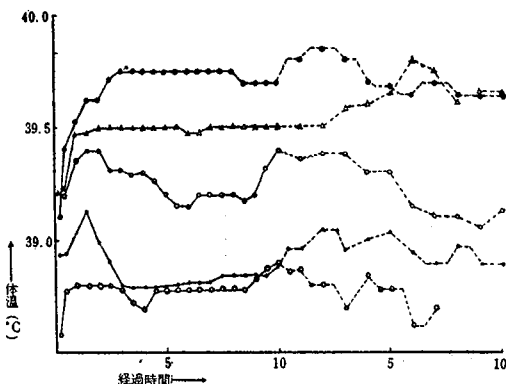


第2図 飼育日数と家兎体温自然変動値の関係

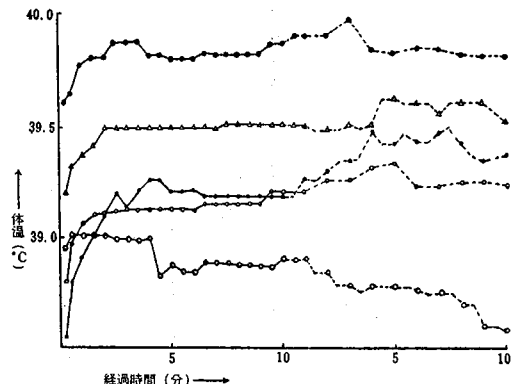


第3図 各検温時における飼育日数による家兎体温の変化
点線：各検温時における平均体温

4. 布巻法による検温中の体温変化 家兎を固定器に背位または腹位に固定した場合の体温変動については、いくつかの報告が見られる。これは固定器による固定の型式が限られているからであると思われるが、実験者の手で行う短時間内の把持による固定についてはいくつかの方法が可能であらう。著者らの布巻法把持による体温測定中における体温の変動については、第4および5図に見られるごとく体温計挿入後2~3minで頂点に達し、その後は1, 2の家兎を除いてほとんど一定で安定な体温を示すことがわかった。本実験における体温の測定は、布内に巻込んだ後直ちに熱電対を7.0cm挿入し、他の実験者により初めの2minまでは15secごとに、つづいて30secごとに体温を読みとり、固定より10min後家兎を飼育籠内に解放し、その間も30sec毎に体温の読み取りを行つた。家兎の把持中の体温はほとんど一定であるが、飼育籠に解放後はそれぞれの個体に応じた変動を示す。これは家兎が飼育籠内で自由な行動を取ることに由る。総じて把持中および解放後の体温変動は午前および午後を通じほと



第4図 11.0AMにおける布巻法検温時の家兎体温
変動 実線：検温時、点線：解放後



第5図 1.0PMにおける布巻法検温時の家兎体温
変動 実線：検温時、点線：解放後

んど同じ傾向が見られる。以上、布巻法は熟練した検温者の行うところでは充分安定した体温測定法とすることができる。

結 語

著者らが恒温 ($25 \pm 1^\circ\text{C}$)、および恒湿 ($60 \pm 5\%$) の条件で飼育した家兎の体温は $39.03 \pm 0.30^\circ\text{C}$ であつて、その $\pm\sigma$, $\pm 1.5\sigma$ の範囲の家兎体温はそれぞれ $38.73 \sim 39.33^\circ\text{C}$ 、および $38.58 \sim 39.48^\circ\text{C}$ で、日局Ⅵの体温規定の下部限界を逸脱するが、これらの出現率から見て異常体温と考えにくい。むしろ諸外国の公定書に見るごとく下部限界体温を規定することは困難であると考えられる。しかし一般に低体温家兎の体温変動は大きく、したがつて著しい低体温家兎、すなわち 38.4°C 以下のごときは発熱性物質試験に供することは、かえつて誤りを起す危険のあることが考えられる。

家兎は飼育室に入室後検温操作に馴らしめる必要があるが、さらに飼育開始の日より日数を経るにつれて、体温変動が小さくなることが知られる。したがつて、4～5日以上に予備飼育期間が必要であることがわかる。

一方、検温法としての布巻式把持法による検温操作は家兎に安定な体温を示させうることがわかつた。したがつて、把持法のものとして布巻式は優れたものと考えられよう。

引 用 文 献

- 1) Wachselmann, M.: *Münch. med. Wchnschr.* 58, 1510 (1911).
- 2) Seibert, F.B.: *Am. J. Physiol.*, 67, 90 (1923).
- 3) Seibert, F.B., Mendel, L.B.: *ibid.* 67, 105 (1923).
- 4) Co Tui, Schrift, M.H.: *J. Lab. Clin. Med.* 27, 569 (1942).
- 5) Rodney, G., Welche, H.: *J. Bact.*, 50, 129 (1945).
- 6) Nasset, N.M., et al.: *J. Am. Pharm. Assoc. Sci. Ed.* 39, 456 (1950).
- 7) Ginger, L.G., et al.: *ibid.* 40, 421 (1951).
- 8) 昭和28年度厚生科学研究報告 関西班
- 9) Moor: *Am. J. physiol.*, 56, 361 (1921).
- 10) 森: 日薬理誌, 50, 307 (1954).
- 11) 城戸: 塩野義研年報, 6, 212 (1956).

Summary

Some experimental factors which influenced on rabbit body temperature in pyrogen test were studied.

The normal temperature of the rabbit was discussed on the control temperature indicated before injection of the test solution, conventional at 11 AM.

In addition, we studied on the variation of the temperature during the application of the hand-holding method in which rabbit was rolled in the cloth, and on the body temperature level and its variation during the breaking period of rabbit for pyrogen test in the air conditioned room.

Received May 31, 1958.

発熱性物質試験に関する研究 (第2報) 首枷式固定法の家兎体温に及ぼす影響

北 川 純 男, 川 崎 浩 之 進

Studies on Pyrogen Test. II.

On the Influences of Neck Stock Type Restraining Box upon the Body Temperature of Rabbit.

Sumio KITAGAWA and Hironoshin KAWASAKI

ま え が き

従来の検温方法は、家兎を比較的自由的な運動状態に放置し、1日数回家兎を軽く押えてうづくまらせたり、あるいは布で巻いて直腸内検温を行っていたが、このように固定器を使用することなく検温すれば、それだけ正常に近い体温を知ることができると見られるが検温者の技術、すなわち動物の取扱ひ方その他の検温操作に熟練を必要とするなどの短所がある。したがって検温者の技術に頼らず、兎を安静にし疲労させることの少い、しかも信頼度が高く直腸温測定に適した固定器を求めることになる。家兎の固定が体温に及ぼす影響については、Brodie¹⁾、Högyes²⁾、をはじめわが国においても横井^{3,4)}、浦口⁵⁾の研究あり、また背位固定においては体温が急速に下降するともいわれ、腹位固定の場合についても藤本⁶⁾、Grant⁷⁾の報告あり、固定によつて体温下降の事実を報告している。しかし横井^{3,4)}は首枷式固定器を使用し局方規定の38.9°~39.8°Cよりの逸脱が無固定の場合と大体同様で、家兎の体温は正常で数時間にわたつて動揺が少いと結論しているが、浦口⁵⁾は四肢式固定に較べた場合、全般的に動揺が少く初期の下降現象が落つた時期に体温の特異な上昇傾向があり、局方の体温規定範囲を逸脱するものが無固定の場合の約2倍に達するなどと相反する二つの報告があるが、これらはいずれも初めて固定された家兎についての実験である。ところが現行の局方には、固定に関する具体的記載を欠いており、一方種々の固定様式が考案されているので本研究においては、発熱性物質試験(以下発熱性物質はパイロジェンとす)用家兎固定法に関して従前の固定様式にまさるものとして推奨されている首枷式固定器³⁾を使用する方法を吟味し、固定が家兎体温にいかなる影響を与えているか、いかにすればその影響を少くしうるか、またパイロジェン感受性については如何を知り、よりよき固定法ないし固定器を探究する足場としようとした。

実 験 方 法

1) 使用家兎 第1報に同じ。家兎は15~20匹を1群とし、またパイロジェンを静注の際は5匹を1群として使用した。

2) 首枷式固定器 55°の傾斜を有し下部より15cmの高さに直径4.5cmの首枷孔を有する幅15cm、長さ35cmの箱型の木製固定枠を使用した。首枷式固定器は家兎が自然に踞つた姿勢のとき頸部において家兎の全体の移動を制限してあるが軀幹、四肢に対しては、少くとも直接の拘束を加えないよう設計されたものである。

3) 体温測定法 体温は直径3mmの銅-コンスタンタン熱電対を用いた電位差式体温測定装置により直腸温を測定した。熱電対は肛門括約筋より8cm挿入し、末端を家兎の尾に紐で結んで固定した。家兎は9.0A.M.に前記固定枠に固定し、1時間予備固定後10.0A.M.から30minごと3.0P.M.まで5時間11回測定を行った。

4) 飼育室、実験室および給飼時間 第1報に同じ。

5) 体重の計量 固定枠に固定する直前と固定枠より解放直後の前後2回計量した。

6) 固定法 上記のごとき体温測定方法にて前記の家兎を首枷式固定器に固定して検温したがその固定の方法を、A) 毎日固定(7日間)、B) 隔日固定(7日間隔日休養)、C) 3日間隔固定(7日間2日休養)の3方式に分け、各々全期間を通じて9.0A.M.、3.0P.M.の前後2回体重の計量は継続した。またパイロジェン感受性に対する影響についての実験にパイロジェンとして E.coli 精製パイロジェン (M.P.D.0.005 γ /kg)⁸⁾を使用した。

7) 使用した生理食塩水 常水に過マンガン酸カリウム少量を加えて蒸留した新鮮な蒸留水100ccにあらかじめ250℃、45min加熱してパイロジェンの破壊操作を施した注射用塩化ナトリウム(局方)0.8~0.9gを溶解し151b, 20min加圧滅菌を施し正常家兎に10cc/kg静注しても発熱性を示さないことを確めたものを使用した。

8) 使用器具 注射針, 注射器は局方規定に準じて250℃、45min加熱してパイロジェンの破壊を施し, ガラス器具は160℃、30min乾熱滅菌したものを使用した。

9) パイロジェン注射液 前述のパイロジェンを上記の生理食塩水に ①0.01 γ /10cc, ②0.005 γ /10ccになるごとく懸濁した。

10) パイロジェン静注時の固定方式 (A)固定初回, (B)固定2回目, (C)固定隔日7日間後7日間休養, の各々家兎についてそれぞれ0.01 γ /kg, 0.005 γ /kg静注によるパイロジェンに対する感受性について検討を行った。

実験成績および考察

1. 首枷式固定器使用による家兎体温分布

日局Ⅵでは検体注射前の家兎対照体温を38.9°~39.8℃の範囲内と規定しているが, 首枷固定器を使用した場合の家兎体温は当実験室においてはFig. 1に示すhistogramのとおりである。この成績は家兎を1日あるいは2日

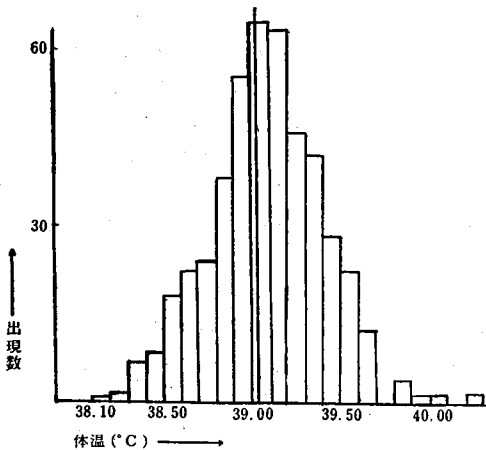


Fig. 1. 家兎体温分布図(室温25±1℃, 湿度60±5%)
検温……首枷式固定による電位差式熱電温度計による。

N : 490
 $\bar{x}$: 39.03℃
 σ : 0.34℃

前に固定器に6時間予備固定を行つたのち, 上に述べた方法で体温測定を行つて得た11. 0A. Mの測定値で使用家兎数490例, 平均値は39.03℃±0.34である。これは第1報の把持法による成績とほとんど変りなく近似的に正規分布型を示しているのをみると, 予備固定を行つた場合は浦口ら⁵⁾の結論と反し横井³⁾の説とよく似た結果を示し, 局方規定の範囲よりの逸脱率は把持法(無固定)とあまり変りがない。

2. 毎日固定による体温および体重に及ぼす影響

以前に固定に馴らされたことのない家兎群について, なんら予備固定を行うことなく7日間, 連日固定

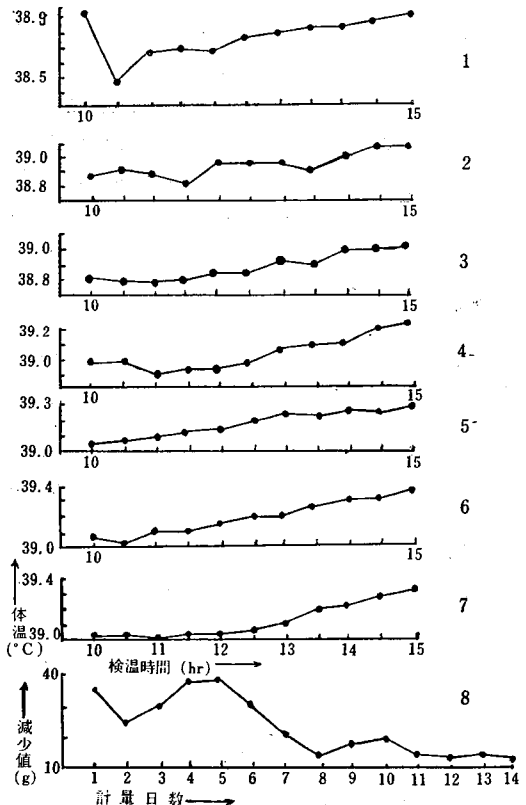


Fig.2.毎日固定方式による7日間の体温および体重の変動

1~7: 1日5時間の体温の変動7日間のグラフ

8: 固定7日間および固定停止後7日間の午前9時および午後3時の計量の体重減少値のグラフ。

(減少値は前後2回の計量の差である)

Table 1. 毎日固定7日間の1日ごとの最高体温最低体温および変動値
(最高-最低=変動値) 体温(°C)

日	体温	最高値	最低値	変動値
1		38.94	38.48	0.46
2		39.06	38.82	0.24
3		39.01	38.78	0.23
4		39.22	38.90	0.32
5		39.30	39.07	0.23
6		39.34	39.02	0.32
7		39.33	39.02	0.31

した場合の体温変化を見た。この結果はFig 2. に示すとおりであり、各日ごとの最高体温、最低体温およびその差(変動値とす)を Table 1 に示す。第1日の曲線に見るごとく検温1回目と2回目との差が0.46ありこの1日の最高、最低を示す。3回目以後は大体以下の6日間の曲線と類似し第3日以後は比較的波の少ない曲線となると、Table 2

Table 2. 毎日固定7日間の各検温時毎の変動値(°C)

変動値は第1回検温値第2回検温値との差であり以下同様にして各検温時ごとに変動値を算出した。

差(°C) 日	第1と第2	第2と第3	第3と第4	第4と第5	第5と第6	第6と第7	第7と第8	第8と第9	第9と第10	第10と第11
1	-0.46	0.19	0.02	0.02	0.09	0.03	0.01	0.02	0.02	0.04
2	0.03	-0.02	-0.07	0.13	-0.01	-0.01	0.04	0.08	0.04	0.03
3	-0.04	0	0.03	0.06	-0.02	0.09	-0.02	0.08	0	0.02
4	-0.02	-0.07	0.02	0.01	0.05	0.07	0.03	0.01	0.10	0.03
5	0.01	0	0.06	-0.01	0.07	0.03	-0.02	0.05	0	0.04
6	-0.05	0.07	0.03	0.03	0.03	0.03	0.04	0.04	0.01	0.04
7	0.02	0.03	0.03	-0.01	0.04	0.04	0.08	0.02	0.07	0.04

に示した第1回と第2回検温値との差および第2と第3との差(以下同様)を列記した図を見ても第2日に認めた多少の波も第3日以後少くなっている。しかし変動値も少くなっているとはいえず、1日ごとに次第に体温が全体的に上昇を示し最低値は11.0A.M前後に現われている。体重の面よりみるとFig 2の最下段に示すごとくである。これは固定前後における計量値の差を曲線にしたもので固定中7日および固定停止後7日の連続14日間を示している。第2日が第1日より減少が少いが第4日、第5日に最大となり第6日、第7日と減少が小となり、固定期間中の体重減少量の平均値は33g、停止後は15gになる。この連続固定の第1日をとつてみると浦口ら⁴⁾の報告と大体一致して明らかに体温下降を示すが、第2日以後は浦口らの報告とは合致せず変動値も著しく減り、各検温時の測定値間の差も0.07°C以下であることをみても、あるいは第2日あるいは第3日からは家兎が固定に馴れたと考えてもよからう。しかし固定の連続によつて体温上昇をみるのは家兎の疲労の現れと考えることができる。したがって固定日数が連続して増す場合に全般的な体温上昇があるのも理解できる。

3. 隔日固定による体温および体重に及ぼす影響

前記の場合と同様固定に馴らしたことの無い家兎を隔日に固定を7回行い上記のとおり体温測定を行つた。その間、1日間隔で兎を籠内に1匹ずつ静かに休養させ、体重だけ毎日9.0A.Mと3.0P.Mの2回計量した。すなわち固定によつて疲労していると考えられる家兎を1日休養させることによつて正常に近い体温を知ろうとした。Fig. 3は固定時の体温および体重の減少の曲線で Table 3, Table 4は最高、最低値および変動値を示したものと各検温時測定値間の差を列記したものである。第1日目の第1回と第2回の検温値の間には2と同様相当の差を生じその日の第2回以後の各測定値間の差と比べて大きい。これは固定による体温の攪乱と考えられる。しかし2と異なることは1日の体温全般についてみると最高、最低値が第1回と第2回との間に出現せず他の検温時に現れている。2と同様なのは第1日の動揺度が固定した7日間を通じて最大であつたことである。第2日以後は起伏の少

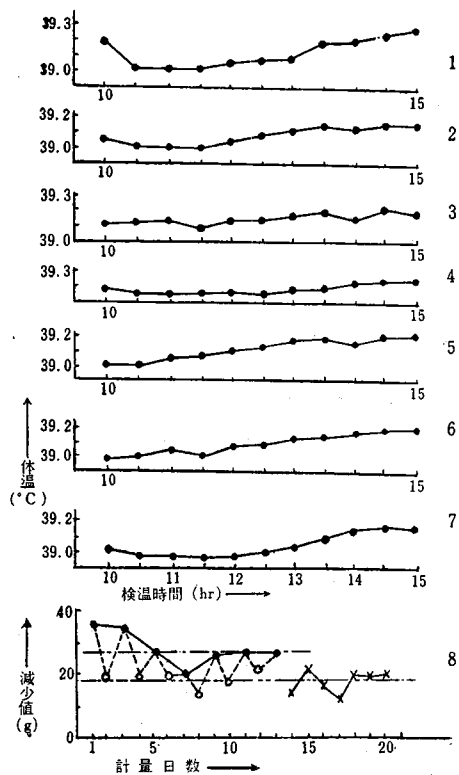


Fig. 3. 隔日固定方式による7日間の体温および体重の変動

1~7 : 1日5時間の体温の変動, 7日間のグラフ
8 : 固定7日間, 休養6日間および固定停止後7日間の午前9時および午後3時の計量による体重減少値のグラフ
(減少値は前後2回計量の差である)

- : 固定日の減少値
- : 休養日の減少値
- ×—× : 固定停止後の減少値
- — — : 固定日減少値の平均
- - - - : 休養日および固定停止後の減少値の平均

Table 3. 隔日固定7日間の1日ごとの最高体温最低体温および変動値 (最高-最低=変動値)

日	体温(°C)		
	最 高 値	最 低 値	変 動 値
1	39.28	39.00	0.28
2	39.17	38.98	0.19
3	39.23	39.09	0.14
4	39.27	39.15	0.12
5	39.19	39.00	0.19
6	39.21	38.99	0.22
7	39.19	38.97	0.22

Table 4. 隔日固定7日間の各検温時ごとの変動値 (°C)

変動値は第1回検温値と第2回検温値との差であり以下同様にして各検温時ごとに変動値を算出した.

差(°C)	第1と第2	第2と第3	第3と第4	第4と第5	第5と第6	第6と第7	第7と第8	第8と第9	第9と第10	第10と第11
日										
1	-0.16	-0.01	-0.01	0.05	0.01	0.01	0.11	0	0.05	0.04
2	-0.04	-0.01	-0.02	0.06	0.04	0.04	0.03	-0.02	0.04	0
3	0.02	0.01	-0.05	0.03	0.02	0.03	0.03	-0.05	0.08	-0.03
4	-0.02	0	0.01	-0.01	-0.01	0.02	0.03	0.04	0.03	0
5	0	0.04	0.01	0.03	0.03	0.05	0.02	-0.02	0.03	0
6	0	0.04	-0.05	0.07	0.03	0.05	0.01	0.01	0.05	-0.01
7	-0.05	0	-0.05	0.01	0.03	0.04	0.06	0.04	0.05	-0.06

い曲線を示し変動値も2に比べて減り, 体温全体も7日間を通じて比較的一定し全般的な体温上昇傾向を示さないことよりみても, 2の毎日固定の場合よりもこの隔日固定の場合の方が固定の体温に及ぼす影響は少く, 比較的安定した体温が得られ, 毎日固定よりも一段優れた固定方式といえるのではないかと考える. これは隔日に休養せしむることが, 家兎の固定による疲労を軽減し正常な体温に回復する時間が与えられるからであろう. 1日の最低値を示すのが11.0A.M前後に多く, しかもその前後1時間の検温値の間にほとんど差がないことも固定による影響が, その日の当初より著しく少いと考えられる. また固定7日間の体重の平均減少値が27gで休養日の平均減少値と固定停止後の平均減少値が共に18gであるのも休養日には家兎が大体平常の状態に回復していることを裏づける.

4. 3日間隔固定の体温および体重に及ぼす影響

上記の場合と同様の家兎を3日目ごとに固定7日行い体温測定をなし, 固定日から次の固定日まで2日間は籠内に1匹ずつ静かに休養を取りしめ体重の計量は上記と同様に行つた. 家兎の固定による疲労が2日間の休養でいかに体温の上に現れてくるかをみた. これらの結果は Fig. 4 に示した. 第一回検温値と第2回検温値との間に第

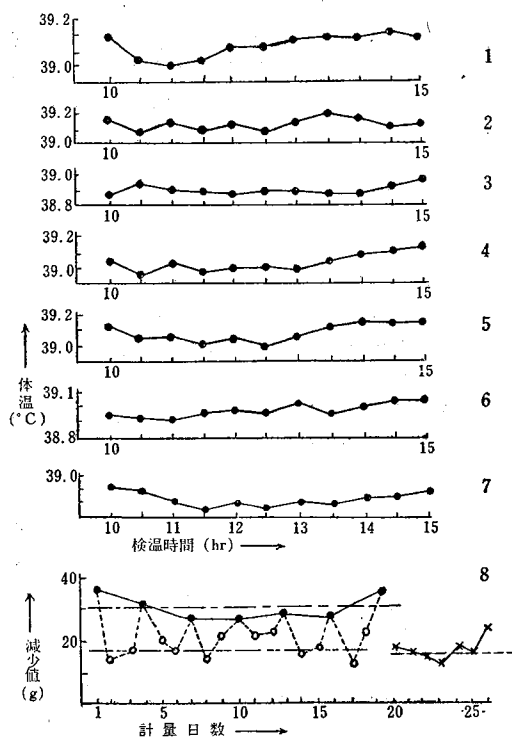


Fig. 4. 3日間隔固定方式による7日間の体温および体重の変動

1~7: 1日5時間の体温の変動, 7日間のグラフ.

8: 固定7日, 休養12日, および固定停止後7日間の午前9時および午後3時計量の体重減少値のグラフ.

減少値は前後2回の計量の差である.

●—●: 固定日の減少値
○—○: 休養日の減少値
×—×: 固定停止後の減少値
— — —: 固定日減少値の平均
- - - - : 休養日減少値の平均
- - - - : 固定停止後減少値の平均

Table 5. 3日間隔固定7日間の各検温時ごとの変動値(°C)

変動値は第1回検温値と第2回検温値との差で以下同様にして各検温時ごとに変動値を算出した.

差(°C) 日	第1と第2	第2と第3	第3と第4	第4と第5	第5と第6	第6と第7	第7と第8	第8と第9	第9と第10	第10と第11
1	-0.18	-0.04	0.04	0.10	0.01	0.05	0.02	0.01	0.04	0.04
2	-0.08	0.05	-0.06	0.05	-0.05	0.08	0.04	-0.03	-0.06	0.02
3	0.09	-0.05	-0.01	0	0	0.02	-0.02	0	0.03	0.04
4	-0.07	0.06	-0.04	0.01	0.01	0	0.05	0.05	0.01	0.02
5	-0.08	0.02	-0.07	0.03	-0.01	0.07	0.05	0.03	-0.01	0
6	-0.02	-0.01	0.05	0.04	-0.04	0.07	-0.03	-0.01	0.04	0.01
7	-0.06	-0.04	-0.06	0.04	-0.02	0.03	0.01	0.02	0.02	0.03

Table 6. 3日間隔固定7日間の1日ごとの最高体温最低体温および変動値
(最高-最低=変動値)

日	体温(°C)	最 高 値	最 低 値	変 動 値
1		39.15	38.90	0.25
2		39.20	39.08	0.12
3		39.06	38.96	0.10
4		39.13	38.96	0.17
5		39.16	38.99	0.17
6		39.06	38.92	0.14
7		39.10	38.94	0.16

5日目までTable 5 に示す通りの差が出現し, 3の場合と異つている. そして10.0A.M~12.0A.Mの間かなり

動揺している。Table 6 に示した最高値にも7日間を通じてかなりの変化があり、これをみても2日間の休養で疲労は回復したが、固定に対する馴れも弱くなったためと解釈できる。第2回と第3回目との差、第3回と第4回目との差も3と比べて相当な動揺がみられ、それが第4回検温時(すなわち11.5A.M)以後比較的落付きをみせることよりようやく固定に馴れ、固定の影響が軽減されたものと考えられる。隔日固定方式よりも劣った方式で体温の安定に時間を必要とし試験には都合が悪くなる。

5. 首枷式固定の諸方式のバイロジェン感受性に及ぼす影響

(A) 首枷式固定に初回のもの

(B) 首枷式固定に2回目的もの

(C) 隔日に7日間首枷式固定を行い、後7日間休養せしめたもの

のそれぞれに11.0A.M検温直後0.01 γ /10cc/kg, 0.005 γ /10cc/kgの前記バイロジェン生食懸濁液を静注し、感受性に対する影響を実験した成績がFig 5である。なほ同時に生理食塩水のみ10cc/kg静注して対照とした。注射前の体

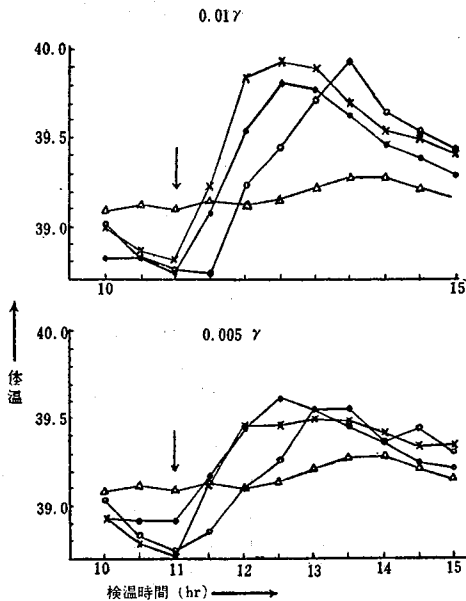


Fig. 5. 首枷式固定の諸方式使用のバイロジェン静注時の体温変動(午前11時注射)
上段の図: 0.01 γ /kgのバイロジェン静注
下段の図: 0.005 γ /kgのバイロジェン静注
○——○: 固定初回
●——●: 固定2回目
×——×: 固定隔日に7日実施後7日間休養
△——△: 生理食塩水10cc/kg静注(固定2回目)(対照)

Table 7. バイロジェン静注時の諸固定方式における注射前の体温動揺

1. 固定初回
2. 固定2回
3. 固定隔日7日休養7日
0.01 γ /kg

固定方式	第1回と第2回の差	第2回と第3回の差
1	0.20	0.09
2	0	0.03
3	0.14	0.04

0.005 γ /kg

固定方式	第1回と第2回の差	第2回と第3回の差
1	0.22	0.08
2	0.01	0
3	0.14	0.04

Table 8. 固定諸方式のバイロジェン静注時の発熱度. 発熱度は対照体温と最高体温との差をもつて示す.

固定方式	用量	
	0.01 γ	0.005 γ
1	1.22	0.83
2	1.10	0.70
3	1.13	0.74

温の動揺を見るとTable 7 に示すごとく、0.01 γ , 0.005 γ の両者に共通して(B)がほとんど動揺を示さず、前述の隔日固定と類似している。また発熱度を見るとTable 8 のとおりであり、(A)は、注射後2.0~2.5hrsが最高であり、(B)と(C)は1.0~1.5hrsに最高に達する一峰性の曲線を示す。(A)の場合は注射前の自然変動値から考えても、バイロジェンによる発熱だけとは考えられず、自然変動値の少い(B)の場合が隔日固定の場合に示されたごとく

非常に安定した正常に近い体温であることが予想されることより, 結局パイロジェン注射の場合においても試験を行う1日あるいは2日前に予備固定を施したものが首枷式固定の諸方式のうちで一番優れており, 11.0A.M.に注射をしてもまちがいはないことがわかつた。

結 言

1. 毎日固定, 隔日固定1日休養, 3日間隔固定2日休養, の3つの首枷式固定方式を比較して体温に及ぼす影響の最も少いのは1日休養を与えた場合で, なかでも固定の3回目, 4回目と経るにしたがつて体温が正常に近く疲労も少い。
2. 体温下降は固定の第1日目のみに出現し, 固定直後に始まり1.5~2.0時間後に終り, 後は落付く。
3. 固定第2日目からはどの方式においても大体安定した体温を示すので, 首枷式固定器を使用するときには少くとも前日または前々日に, あるいはさらに3~4回の予備固定をすることが必要である。
4. 2日間休養を与えた場合は隔日固定の場合よりも, 検温開始時間より少くとも1.5時間以前に固定する必要がある。
5. 首枷固定では固定時間が長くなると体温が上昇する傾向あり, また毎日, 固定を続けると日数が進むにつれて同様に体温が全般的に上昇する。
6. パイロジェンに対する感受性の障害も予備固定したものに少く, したがって固定初回のもは, パイロジェン試験に供しえない。

引 用 文 献

- 1) Brodie : *Philosoph. transact.*, 1, 36 (1811).
- 2) Högyes : *Arch. exper. Path. u. Pharmacol.*, 13, 351 (1881).
- 3) 横井, 糸嶺 : 日新医学, 39, 613 (1952).
- 4) 横井, 糸嶺 : 日新医学, 39, 11 (1952).
- 5) 浦口, 森 : 日薬理誌, 53, 4 (1957).
- 6) 藤本 : 日生理誌, 6, 396 (1941).
- 7) Grant : *Am. J. Physiol.*, 160, 285 (1950).
- 8) 北川 : 日薬理誌, 53, 1 (1957).

Summary

As a result of the study on the influence of neck stock type restraining boxes upon the body temperature and body weight of rabbits, we found the following:

- (1) Among the next three methods, namely, restraining every day, restraining every other day, and restraining at intervals of two days, the last method should be used when neck stock type restraining boxes are employed.
- (2) The hypothermic response of rabbits begins immediately after the restraining, but can not be observed any more in 1.5~2 hours.
- (3) The preliminary restraining should be made one or two days before restraining when neck stock restraining boxes are employed.
- (4) In the pyrogen test, too, it is necessary to do the preliminary restraining and the rabbits restrained for the first time can not be used.

Received May 31, 1958.

菌株および培養条件と赤痢菌内毒素（予報）

岩 原 繁 雄, 石 関 令 子

The Influence of Cultural Conditions and Bacterial Strains on
Shigella flexneri Endotoxin (Preliminary Report)

Shigeo IWAHARA and Reiko ISHIZEKI

まえがき 細菌内毒素の生理作用や化学的性状が菌種によつてある程度の差があることは古くから知られているが、特に内毒素の生理作用に関しては外毒素のばあいほどはつきりした差がみとめられないためあまり重要な問題とはされていなかった。とくに感染発症における内毒素の役割が明らかにされていない現在、菌種による内毒素のちがいがあまり重要視されないのも無理からぬことであろう。しかしわれわれおよび共同研究者の研究の進展にともない、疫痢の発症にさいして赤痢菌の内毒素が重要な役割を占めるであろうことがほぼ明らかとなつてきたので、この種の問題の解決が迫られている次第である。疫痢が赤痢菌感染症のばあいにもつともしばしば見られることの理由が、赤痢菌内毒素の持つ特異な生理作用によるものであるかどうかは今後の研究の結果にまづはかはないが、疫痢の発症と赤痢菌内毒素とのつながりを明らかにするための実験過程において赤痢菌内毒素が菌型および菌株により、また培養条件によつて若干の差が見られることが明らかとなつてきたので、この点について報告する。

実験材料および方法 内毒素の抽出に用いた赤痢菌株はB群およびD群にぞくする保存株および新鮮分離株で後者に重点を置いた。分離株は都立本所病院および駒込病院から分与をうけ凍結乾燥および寒天斜面または高層培養によつて保存した。分離当初の菌から内毒素を得るために、分離培地（普通寒天またはBTB乳糖寒天平板）上の集落から直接大量培養にうつし、得られた菌体から内毒素を抽出した。また普通寒天培地に継代した菌株、もしくは凍結乾燥したものから抽出された内毒素についても比較検討した。

培養方法はペトリ皿またはルー瓶を用いる固形培地による法および液体培地による振盪培養または通気培養を行った。

内毒素の抽出はわれわれが従来使用している90%石炭酸法¹⁾を用いアセトン分画によつて精製²⁾されたものを使用した。多くの場合粗毒素の水溶液にアセトンを加え25~50%の間で沈澱する部分を使用した。

実 験 結 果

死菌体のマウスに対する毒性 普通寒天平板または振盪培養で得られた菌体を0.2%ホルマリン加生理食塩水に浮遊させたものまたはアセトン乾燥菌にしたものを生理食塩水に浮遊させたものを使用した。マウスは13~15gのddN系を使用し腹腔内に菌液0.2ccを注射して3日間にわたつて生死を観察した。第1表は普通寒天平板からの

第1表 ホルマリン死菌のマウスに対する毒性（腹腔内注射 ddN 系）

菌 株	湿菌量	1 mg			3 mg			10mg		
*K2	2a	○	○	○	○	○	○	○	●	●
*K3	2b	○	○	○	○	○	○	●	●	●
**	〃	○	○	○	○	○	○	○	⊕	●
*K6	〃	○	○	○	○	○	○	⊕	●	●
K7	〃	○	○	○	○	○	○	○	○	●
K8	〃	○	○	○	○	○	○	●	●	●
K9	〃	○	○	○	○	○	●	○	●	●
K10	〃	○	○	○	○	○	○	○	○	●
K12	〃	○	○	○	○	○	○	○	●	●
*K4	3a	○	○	●	○	●	●	●	●	●

菌 株		湿菌量	1 mg			3 mg			10mg		
K11	3a		○	○	○	○	○	○	○	○	●
*K5	Sonne		○	○	○	○	○	●	●	●	●

- * : 疫痢患者分離株
- ** : 約2年間継代保存したもの
- : 生存
- : 24時間以内に死亡
- ⊕ : 24-72時間以内に死亡

ホルマリン死菌を用いた実験で、菌株により毒性に若干の差が見られるようである。K₈株については分離後間もないものと約2年間普通寒天培地で継代したものと比較したが動物数が少ないため結果の意味づけはできない。

第2表は振盪培養において6時間、24時間および48時間で収穫した菌をアセトンで乾燥したものの毒性の比較で、越沼³⁾によればアンスロン法による糖量および rhamnose 量については6時間菌が著明に多いにもかかわらずマウスに対する毒性の点では明らかな差はみられなかつた。平板培養菌に比べると若干毒性が弱いようである。

第2表 振盪培養菌のマウスに対する毒性
(アセトン乾燥菌、腹腔内注射、ddN系)

培養時間	菌 量	0.2mg	0.3mg	0.5mg	0.8mg	1.5mg
6		—	—	○○○	○●●	○○●
24		—	—	○○●	○●●	⊕●●
48		—	—	○○⊕	○●●	●●●
18(平板培養)		○○●	○○○	●●●	●●●	●●●

- : 生存
- : 24時間以内に死亡
- ⊕ : 24-72時間以内に死亡

第3表

菌 型	菌 株 名	新鮮 保存の 別	培 養 条 件				内毒素(アセト ン25-50%)の 収量(%)
			平 板, ルー 瓶, 振盪の別	ペプトン	肉エキス	ブドウ糖	
Sh. flex. 2a	飯 田	新	平	至 誠 堂	山 羊	—	1.5*
〃	小 沢	〃	〃	〃	〃	—	1.2*
〃	〃	保	〃	〃	〃	—	3.5
Sh. flex. 2b	K3	〃	振6時間	ポ リ	エルリッヒ	0.2%	4.6
〃	〃	〃	〃24時間	〃	〃	〃	4.3
〃	〃	〃	〃48時間	〃	〃	〃	4.7
〃	〃	〃	ル ー	至 誠 堂	山 羊	—	3.5
〃	〃	〃	〃	ミクニ毒素用	〃	—	9*
〃	〃	〃	〃	〃	エルリッヒ	—	14*
〃	〃	〃	〃	〃	レンダー	—	13*
〃	〃	〃	〃	至 誠 堂	山 羊	—	10*
〃	〃	〃	〃	〃	エルリッヒ	—	19*
〃	〃	〃	〃	〃	レンダー	—	10*
〃	K6	〃	平	ポ リ	エルリッヒ	0.2%	3.9
Sh. flex. 3a	小 俣	新	〃	至 誠 堂	山 羊	—	6.2*
〃	大 谷	〃	〃	〃	〃	—	0.6
〃	土 橋	〃	〃	〃	〃	—	1.3

菌 型	菌 株 名	新鮮 保存 の別	培 養 条 件				内毒素 (アセト ン25~50%) の 収量 (%)
			平板, ルー 瓶振盪の別	ペプトン	肉エキス	ブドウ糖	
Sh. Sonnei	r-10	保	平	至 誠 堂	山 羊	—	3.0
〃	大山(S)	新	〃	〃	〃	—	4.0
〃	〃 (R)	〃	〃	〃	〃	—	2.0
〃	栗原(株)	保	〃	〃	〃	—	3.3
〃	〃	〃	〃	ポ リ	エルリッヒ	—	3.7

* : 粗毒素収量

内毒素の収量および成分 内毒素の収量は培養方法や培地成分にはあまり影響されず,むしろ菌株による差が極めて著明である。第3表に示すごとく K_8 株について培地成分をかえてペトリ皿, ルー瓶, 振盪培養を用いて得た菌の内毒素収量はいずれもよく似ている。一方飯田株や小沢株等は K_8 株に比べてはるかに収量が悪い。

共同研究者西村ら⁴⁾は starch zone electrophoresis によつて分析したさいに *Sh. flex. 2b* にぞくする K_8 および K_6 株について異なつた成績を示すことを指摘している。また西村ら⁴⁾は K_8 株から時を異にして抽出された数ロットの内毒素についてその成分が若干異なることを報告した。

全菌体中に含まれる rhamnose, glucosamine および糖量に関しては越沼³⁾の報告があるが, sonne 菌において rhamnose および糖 (anthrone 法による) の量が flexner 菌より著明に少ないことは興味深い。

第4表 赤痢菌内毒素のマウスに対する毒性 (腹腔内注射, ddN系)

菌 株	毒素製 造番号	培 養 法	注 射 量 (mg)							
			0.01	0.02	0.05	0.1	0.2	0.3	0.5	1.0
Sh. flex. K3	No. 9	平板 18時間	0/3	0/3	0/3	2/3	2/3	—	2/3	3/3
〃	11	〃	—	—	—	1/5	3/5	—	4/5	5/5
〃	13	〃	0/5	—	2/5	3/5	—	4/5	4/5	5/5
〃	21	振盪 48時間	—	—	—	—	4/5	—	5/5	—
Sh. flex. K6	17	平板 18時間	—	2/5	2/5	3/5	3/5	—	5/5	5/5
Sh. sonnei oyama	52	〃	—	—	—	3/6	—	—	—	—

マウスの生死からみた内毒素の毒性 第4表の示すごとく K_8 株から抽出された内毒素は菌株の継代数が異なつてもまた培養法を変えてもほぼ似た致死量を示している。 K_6 株内毒素も K_8 株と同程度の毒性を示す。

生菌をムチンとともにマウスの腹腔内に注射したさいの毒性の点では flexner 菌にくらべて sonne 菌が一般に強いといわれているが, 内毒素の毒性は大差ないようである。第3表中の r-10は伝研から分与をうけた強毒株である。

アドレナリン増感作用 共同研究者島本らの研究によれば⁵⁾, 赤痢菌内毒素はアドレナリンに対する生体の感受性をたかめる作用があり, この事実は臨床上重要であることが強調されている。アドレナリン増感作用の検定法は数多くあるが主要なもの3つを選び島本らの業績のうち本報告と関連を持つ点を紹介する。

あらかじめ内毒素をウサギに静注し, 一定時間後に腹部皮内にアドレナリンを注射し, 注射部位に生じる特徴ある出血の有無をしらべる方法。内毒素とアドレナリンを混注する方法もある。この方法には数多くの K_8 株内毒素を使用したが発明的な差はみとめられなかつた。しかるに, 生体から切りはなしたウサギの耳を用いる Krawkow-Pissemiski 法によつてアドレナリン増感作用を検定したばいには同じく K_8 株の内毒素であつても結果に大きな差がみられ, この点については今後も検討を要する点が残されているが, 一般に平板培養がよく, 振盪培養を長時間行うことはいけならしい。

アドレナリンと併用したさいの中樞神経系および循環器系に及ぼす作用の点でもつとも強力であつたのは大山株 (sonne 菌) で 100 γ /kg で著明な臨床症状を呈し死亡する。しかるに一般の flexner 菌では 500 γ /kg ないしはそれ以上を使用しないと同様の症状を現わさない。

内毒素による血小板の減少 島本ら⁶⁾の報告によると内毒素を注射したさいにみられる血小板の減少の度合は

菌株によつて異なり上記大山株内毒素では減少が著明で永く続くことを指摘している。

文 献

- 1) 岩原繁雄, 大淵令子 : 本誌, 75, 299 (1957).
- 2) Nishimura, C., Nakamura, M., Ofuchi, R., Iwahara, S., Nozaki, Y. : *Japan. J. Microbiol.*, 2, 179 (1958).
- 3) 越沼さみゑ : 本誌, 76, 197 (1958).
- 4) 西村千昭, 中村正夫, 野崎泰彦 : 本誌, 75, 303 (1957).
- 5) 島本多喜雄 : 総合医学, 14, 796 (1957).
- 6) 島本多喜雄 : 日本医事新報, 1785, 3 (1958).

Summary

The authors reported the influence of cultural conditions and bacterial strains on the biological properties of shigella endotoxin.

The yield of endotoxin varied from strain to strain, but was not greatly affected by cultural conditions.

Rhamnose content of flexner dysentery bacilli was much more great than that of sonne bacilli.

The toxicity of endotoxin to mice was considerably similar with six lots of endotoxin extracted from three strains including flexner and sonne type.

The adrenaline sensitizing effect of the endotoxin extracted from fresh strains was much more potent than that of repeatedly subcultured strain.

Received May 31, 1958.

赤痢菌体の Rhamnose および Glucosamine について

越 沼 き み 久

Rhamnose and Glucosamine of Dysentery Bacilli

Kimie KOSHINUMA

まえがき Boivin, Morgan, Goebel をはじめとして数多くの学者によつて内毒素の抽出および精製法が研究され、同時に内毒素構成成分としての糖、アミノ酸などについて検討されており、共同研究者西村らは *Sh. flexneri* 2b 内毒素の Polysaccharide 分割の構成糖として glucose, rhamnose, glucosamine が重要であることを報告している。著者は主として赤痢菌の乾燥菌体すなわち内毒素抽出前の菌体の rhamnose および glucosamine 量が菌体内に含有される内毒素の毒性、抗原性、収量などとなんらかの関連性を持つのではないかと考え、また同時にこの種の報告が少いので実験を行った。

実 験 の 部

菌株および培養方法 使用した菌株は *Shigella flexneri* 2a, 2b, 3a, *Shigella sonnei*, *Escherichia coli* 0-75 でこれらの菌の培養には普通寒天培地（ペプトンはポリ、ミクニ毒素用または至誠堂、肉エキ스는極東エールリッヒ、レンダー、山羊）を用いペトリ皿またはルー瓶で 37°C, 18~24時間培養したもの、またはブイヨン、0.2% ブドウ糖加ブイヨンを坂口コルベンに 350cc づつ分注、88回/分 8 cm, 25°C または 30°C で 6~48 時間振盪培養したものをドラパル遠心機で集菌し直ちに冷アセトン中に加えて乾燥菌体を得た。

システイン—硫酸反応による rhamnose の定量 乾燥菌体に蒸留水を加えて 5mg/cc 浮遊液を調製し、その 0.1 cc に氷冷しながら硫酸（6:1）4.5cc を加え、1 分後に混ぜ 2 分間水道水に浸し、ついで沸騰浴中に 3 分間加熱、その後 3% システイン溶液 0.1cc を加えて振り、30 分間放置後 DU 型ベックマン分光光度計にて 396m μ と 427m μ とを測定した。rhamnose 値は $D_{396}-D_{427}$ から求めた。

菌株による rhamnose の量は *Shigella flexneri* に比べて *Shigella sonnei* が著明に少く、培養条件によつても異り、振盪培養では対数期（6 時間）で得た菌体は長時間（48 時間）培養で得た菌体に比べ多量の rhamnose を含有する。静置平板培養と振盪培養とは一般に rhamnose 量に大差は認められなかつた。次に 2 種のペプトン（ミクニ毒素用、至誠堂）と 3 種の肉エキス（山羊、レンダー、エールリッヒ）を組合せて培地を調製しルー瓶で 37°C, 24 時間培養し菌の収量および菌体の rhamnose 量を定量した。その結果ペプトンによる差は著明でなかつたが、レンダーまたはエールリッヒ肉エキスを使用した場合の方が山羊肉エキスの場合より多くの rhamnose が証明された。

第 1 表 菌株または培養条件をかえた場合の変化

菌 型	菌 株 名	新鮮保 存の別	培 養 条 件				ラムノ ース	グルコ サミン	アンスロ ン（ブド ウ糖）	内 毒 素 （アセト ン 25—50 %）収量
			平板、ル ー瓶振盪 の別	ペプトン	肉エキス	ブドウ糖				
<i>Sh. flex. 2a</i>	飯 田	新 鮮	平 板	至誠堂	山 羊	—		1.9	6.0	1.5*
	小 沢	〃	〃	〃	〃	—			6.0	1.2*
	Ew 10	保 存	〃	〃	〃	—			5.5	2.5
<i>Sh. flex. 2b</i>	K ₃	保 存	振 6h	ポ リ	エールリ ッヒ	0.2%	5.5	1.4		4.6
	K ₃	〃	〃	ポ リ	レンダー	—	3.7	1.35		4.6
	K ₃	〃	振 24h	〃	エールリ ッヒ	0.2%	2.7	1.9		4.3
	K ₃	〃	振 48h	〃	〃	〃	2.95	1.6		4.7
	K ₃	〃	平 板	〃	〃	〃	3.47	1.25		

菌 型	菌 株 名	新鮮保 存の別	培 養 条 件				ラムノ ース	グルコ サミン	アンスロ ン (ブドウ糖)	内 毒 素 (アセト ン25-50 %) 収量
			平板, ルー 瓶振盪の別	ペプトン	肉エキス	ブドウ糖				
	K ₃	保 存	ルー瓶	至誠堂	山 羊	—	2.35	0.7		3.5
	K ₆	〃	平 板	ポ リ	肉 汁	—	3.4	1.8		
	EW 40	〃	〃	至誠堂	山 羊	—			5.9	
<i>Sh. flex. 2b</i> K ₈ 内毒素	アセトン25~ 50% polys- accharide					—	24.0	5.3		
						—	36.25	9.3		
<i>Sh. flex. 3a</i>	小 俣	新 鮮	平 板	至誠堂	山 羊	—	2.2	2.8	6.0	6.7 *
<i>Sh. flex. var. X</i>	金 谷	〃	〃	〃	〃	—			5.6	
<i>Sh. sonnei</i>	EW 33	保 存	〃	〃	〃	—		0.98	1.8	
	r-10	〃	〃	〃	〃	—	0.82	0.95	1.3	3.0
	大 山 S	新 鮮	〃	〃	〃	—	0.64	1.04	1.5	4.0
	大 山 R	〃	〃	〃	〃	—	0.65	1.0	1.5	2.0
	高 橋	〃	〃	〃	〃	—	0.4	1.16	2.5	
<i>E. coli</i>	0-75		ルー瓶	〃	〃	—	1.25	0.75		

数字は%を示す。 * 粗毒素としての収量

第2表 培地による rhamnose, glucosamine 量の変化

肉 エキス	ペプトン	菌 収 量 g		rhamnose %		glucosamine %	
		ミクニ 毒素用	至誠堂	ミクニ 毒素用	至誠堂	ミクニ 毒素用	至誠堂
山 羊		12.0	14.0	2.0	1.8	1.7	0.75
レ ン ダ ー		7.0	7.0	2.45	2.4	1.9	1.35
エールリッヒ		10.0	11.0	2.6	2.7	1.7	1.84

ルー瓶 37°C 24時間培養 乾燥菌収量は培地10l 当り

Elson & Morgan 反応による Glucosamine の定量 乾燥菌体の 5mg/cc 浮遊液 5ccに3N・HCl 2ccを加え、沸騰浴中で4時間水解し、3N・NaOH で中和して後微アルカリ性にし全量を10ccとする。その1ccにアセチルアセトン試薬1ccを加え密栓して沸騰浴中に15分間おく、のち水道水で冷却し95%エタノール5ccを加え次に Ehrlich 試薬1ccを加えてよく混ぜ95%エタノールで全量を10ccとする。30分後に530mμでコタキ AKA-3C 型光電比色計を使用して比色定量する。この場合 rhamnose のときほど検体による差が著明でなく一般に平均した値を示している。また *Sh. flex 2b* K₈ 株について培地を変えた場合ミクニ毒素用ペプトンを用いたときには一般に至誠堂ペプトンに比べて Glucosamine 量多く、肉エキスによる差は少なかつたが、至誠堂ペプトンの場合、使用肉エキスによつて差が見られた。すなわち山羊肉エキスでは rhamnose の場合と同様 glucosamine についても含有量が少なかつた。

Anthrone法による定量 菌液2ccに0.2%アンスロン-H₂SO₄ 溶液4ccを重層し、直ちに振盪混合し発色せしめコタキ AKA-3C 型光電比色計で比色した。

総 括

Shigella flexneri の各菌型及び *Sh. sonnei* の分離株を種々の培養条件のもとで菌体を得、これの rhamnose, glucosamine 量を定量した結果、*Sh. sonnei* では rhamnose 含有量が一般に少ないことを知つた。また振盪培養では対数期(6時間)は24, 48時間より rhamnose 量多く、anthrone の場合も rhamnose と同様の傾向を示した。* glucosamine 量は rhamnose に比べ動揺が少ない。

なお、菌は主として石関令子氏の培養したもので一部千葉県血清研究所の御好意によつた。種々御指導をいただいた予防衛生研究所西村千昭氏、測定に際し御助力いただいたビタミン部西村、小松両氏に謝意を表する。

文 献

- 1) Nishimura, C., Nakamura, M., Ofuchi, R., Iwahara, S., Nozaki, Y. : *Japan J. Microbiol.*, 2, (1958)
— in press.

Summary

Rhamnose and glucosamine contents of dried bacterial cells of fifteen strains of *Shigella flexneri* and *Sh. sonnei* including fresh strains and repeatedly subcultured strains were measured by cysteine-sulfuric acid reaction and Elson & Morgan's method, respectively.

Rhamnose content of *Sh. sonnei* was much less than that of *Sh. flexneri* strains.

Bacterial cells of logarithmic phase (6 hours) contained larger amount of rhamnose than the cells of 24 or 48 hours culture.

Glucosamine content did not vary so much as in the case of rhamnose.

Received May 31, 1958.



ビルマ豆の青酸試験法について

川 城 巖, 川 田 公 平, 竹 内 末 久, 漆 畑 喜 子

Research on the Method of Test for HCN in Burmese Beans

Iwao KAWASHIRO, Kōhei KAWADA, Hidenaga TAKEUCHI,
and Yoshiko URUSHIBATA

ま え が き

1957年8月以降, 輸入ビルマ豆を試験したところ青酸が検出された。これらの豆に存在する青酸配糖体は linamarin あるいは phaseolunatin と称し, 豆中に含有される酵素 linase (または linamarase) によつて, HCN, アセトン, グルコースに分解されるといわれるが, 酸による加水分解では青酸発生量が少い^{1), 2)}。AOAC^{3), 4)}法では酵素分解に水を用いているが, linamarase の至適 pH の緩衝液を用いているものもある^{5), 6)}。本実験には主として, sultani bean と称する豆を用いた。

lima bean 中の linamarase の至適 pH は 5.9 附近にあるが^{5), 6)}, その幅は広い。われわれは sultani bean を用い, pH 5.9 附近で実験を行つたところ, 30°で1時間の浸漬で青酸発生量はほとんど最高に達した。また水 (pH 5.9 ~ 6.0) を用いて24時間の浸漬で同じ結果を得た。水による浸漬の場合, 粉粒の小さい方がよいであろうが, 多くは長時間の浸漬を行つており^{1), 7)}, 水を用いた場合酵素分解がおくれるのは浸透圧のためであろうと考え, 0.9% NaCl で浸漬を行つたところ酵素分解は1時間でほぼ最高に達した。なお念のため水による浸漬を行つたところ, あまり相違しない結果を得た。

実 験 の 部

(1) 水蒸気蒸留の際の pH の検討

HCN として 6.5mg を含有する KCN 溶液 300cc を pH を変えて水蒸気蒸留し, 留液は 5% KOH 5cc で抑え, 留液 250cc をとり, これに 10% KI 液 5cc を加え, N/20 AgNO₃ で滴定し, 次の定量値を得た。

- そのまま蒸留した場合 (pH 約 8.0) : 5.9mg
- クエン酸緩衝液原液 (Sørensen のクエン酸緩衝液 pH 5.9 のものを 10 倍濃度に調製したもの) 20cc を加えた場合 (pH 約 6.0) : 6.5mg
- 酒石酸 2g を加えた場合 (pH 約 2.0) : 6.5mg
- 10N H₂SO₄ 0.5cc を加えた場合 (pH 約 2.0) : 6.4mg

(2) 浸漬法の検討

a. 水量の検討 粉末 butter bean (40 メッシュくらい) 25g に水を 25~200cc 加え, 密栓して約 24° で 24 時間浸漬し, さらに水を加え (全量を 300cc とする), クエン酸原液 20cc を加え, 水蒸気蒸留し, 留液 250cc をとり, 前と同様に HCN を定量した。

浸漬水 25cc のとき	6.0mg	浸漬水 100cc のとき	6.0mg
浸漬水 50cc のとき	5.9mg	浸漬水 200cc のとき	6.0mg

b. 緩衝液による検討 粉末 sultani bean 25g にクエン酸緩衝液 (先の原液を 10 倍液にうすめたもの pH 5.8 ~ 6.0) 20cc を加え, 密栓して 22° で一定時間放置後, さらに水 100cc を加え, 水蒸気蒸留し, HCN を定量した。

浸漬 3 時間のとき	11.6mg	浸漬 5 時間のとき	11.6mg
------------	--------	------------	--------

なお同じ sultani bean 粉末 25g に水 200cc を加え, 22° で 24 時間放置後 クエン酸緩衝液原液 20cc および水 80cc を加え, 水蒸気蒸留し, HCN を定量したところ, 11.6mg を得た。また上記と同じ試料で水蒸気蒸留するとき, 初留液 100cc 中に HCN 11.3mg が定量された。よつて留液は以後 150cc をとることにした。

c. 浸漬温度の検討 b 項と別の sultani bean 粉末 25g にクエン酸緩衝液 200cc を加え, 温度を変え, 1 時間放置後, 水 100cc を加え, 水蒸気蒸留し, 留液 150cc をとつて HCN を定量する。

22°のとき	7.0mg	35°のとき	8.2mg
30°のとき	8.5mg	40°のとき	8.6mg

d. 浸漬時間その他の検討 上と同じ試料について30°でクエン酸緩衝液の浸漬時間を変えてHCNの定量を行った。

0時間	1.3mg	2時間	8.6mg
0.5時間	7.2mg	3時間	8.5mg
1時間	8.5mg	18時間	8.6mg

同じ試料について0.9%NaCl液200ccで、30°で1時間浸漬したものについてHCNの定量を行うと、8.2mgであつた。また水200ccで30°で1時間浸漬したものは8.0mgであつた。

e. 他の豆についての検討 他の豆について30°で水200ccで1時間浸漬したものと、3時間クエン酸緩衝液で浸漬したものとのHCNを定量した。

	水1時間	緩衝液3時間
White bean	9.2mg	11.2mg
Lima bean (U. S. A.)	2.0mg	2.2mg

(3) 滴定法の検討

sultani bean粉末25gについてクエン酸緩衝液200ccで3時間浸漬後、水蒸気蒸留し、留液150ccについて、N/20 AgNO₃滴定法と、BrCN法⁹⁾とを比較した。

AgNO ₃ 法	8.2mg	BrCN法	8.0mg
---------------------	-------	-------	-------

なおAgNO₃法では滴定終末点が不明瞭で、定量値が大きく出る傾向があり、BrCN法ではHCNを含まない試料についてN/10 Na₂S₂O₃液1~2滴を消費する。

(4) 定性反応

a. ペルリン青反応 上記定量法と同様に行つた水蒸気蒸留の初留液について本反応を行うと陽性を示す。留液1cc中HCN 5γの鋭敏度であつた。

b. ピクリン酸紙反応 粉末ビマ豆20gにクエン酸緩衝液50ccを加え、10% Na₂CO₃でうるおしたピクリン酸紙(汙紙を飽和ピクリン酸液に浸し、室温乾燥したもの、40×7mmに切る)を吊したコルク栓で密栓し、室温に3時間放置後(すでにピクリン酸紙が赤褐色に変ずることが多い)、酒石酸2gを加え、50~60°に約1時間温めると、ピクリン酸紙は赤褐色に変ずる。なお水蒸気蒸留して留液について行つた方が鋭敏である。本反応は水溶液100cc中HCN 5γの鋭敏度であつた。

む す び

ビマ豆などのなかの青酸の定性、定量法を検討した結果、次の方法がよいと考える。

(1) 定量法

粉末豆25gにクエン酸緩衝液(pH5.8~6.0)200ccを加え、密栓してふりまぜ、25~35°で3~5時間放置後、さらに水100ccを加えて水蒸気蒸留する。受器にはあらかじめ5%KOH液5ccを入れた200ccの三角フラスコを用い、冷却器の下端をKOH液中に入れておく。留液約150ccをとり、これに10%KI液5ccを加え、N/20AgNO₃でHCNを滴定する。N/20AgNO₃1cc=HCN2.7mg。

(2) 定性法

a. ペルリン青反応 定量法と同様に操作し、受器に5%KOH1ccを入れた試験管を用い、初留液5ccをとり、これに硫酸鉄液(FeSO₄·7H₂O 5gを水にとり100ccとする)1滴を加え、沸とう水浴中で暫時加熱し、塩酸酸性とすると、青~緑色を呈する。

b. ピクリン酸紙反応 定量と同様に行い、留液100ccをとつて、これに酒石酸2gを加え、10% Na₂CO₃液でうるおしたピクリン酸紙を吊したコルク栓で密栓し、50~60°で1時間放置すると、ピクリン酸紙は赤褐色に変ずる。

なお簡易法としては、粉末ビマ豆20gを200ccの三角フラスコにとり、クエン酸緩衝液50ccを加え、ピクリン酸紙を吊したコルク栓で密栓し、25~35°で3時間放置し、次に酒石酸2gを加え、50~60°に1時間放置するとピクリン酸紙は赤褐色に変ずる。

文 献

- 1) Guignard, L. : *Bull. Sci. Pharm.*, 13, 129, 193, 337, 401 (*Chem. Ztrbl.* 1906 II, 1849).
- 2) Nemoto, Y. : *Rev. alimentar.*, 4, No. 33, 5 (1940) (34, 7459⁴ (1940)).
- 3) *Official Methods of Analysis*, 8th Ed., Association of Official Agricultural Chemists 1955, 22.56.
- 4) Greene, R. J. *Assoc. Offic. Agr. Chemists* 21, 614 (1938).
- 5) Hagen, S. K. : *Z. Untersuch. Lebensm.*, 55, 284 (1928).
- 6) Hagen, S. K. : *ibid.* 59, 211 (1930).
- 7) Lüdtka, M. : *Biochem. Z.* 323, 428 (1953).
- 8) 高木誠司: 定量分析の実際と計算, II. p.370 (1954).

Summary

The method of test for HCN formed by hydrolysis of linamarin in Burmese beans has been studied, and the following method was established.

(1) Qualitative tests

(a) Place 25 g of pulverized sample (ca. 40-mesh) in a 1 L distillation flask, and 200 cc of citrate buffer (pH5.9), stopper and allow to stand at 25~35° for 3~5 hrs. Add 100 cc of H₂O and distil with steam and collect 5 cc of distillate in 1 cc of 5 % solution of KOH in a test tube.

To the test tube, add 1 drop of FeSO₄ solution (5 g in 100 cc H₂O), heat it for a while in a boiling bath, and acidify with HCl, then blue or green color appears in the presence of HCN.

(b) Place 25 g of pulverized sample in a 1 l distillation flask, add 200 ml of the citrate buffer, stopper and allow to stand at 25~30° for 3—5 hrs. Add 100 cc of H₂O and distil with steam and collect 100 cc of distillate in 5 cc of 5 % KOH solution in a 200 cc flask. Add 2 g of tartaric acid to the distillate, stopper the flask with a cork hanged picric acid paper moistened with 10 % Na₂CO₃ solution, and warm at 50~60° for 1 hr, then the color of the paper turns into reddish brown in the presence of HCN.

(2) Quantitative method

Treat as qualitative test (b) excluding collecting 150 cc of the distillate in place of 100 cc. Add 5 cc of 10 % KI solution to the distillate and titrate with 0.05 N AgNO₃.

Received May 31, 1958.

輸出用サケおよびマス缶詰検査について

川 城 巖, 川 田 公 平, 細 貝 祐 太 郎

Investigation on the Exported Canned Salmon and Salmontrout

Iwao KAWASHIRO, Kōhei Kawada, and Yūtarō Hosogai

まえがき 一般に水産缶詰食品の鮮度測定方法には多くの報告があるが、食品衛生検査指針¹⁾には揮発性塩基窒素の測定、pHの測定、蛋白質沈澱反応およびインドール定量が採用されているが加工食品では適確な方法がない。これはすでに原料がその生存時において生理的条件、魚法時の運動量および魚体の部分の相違などにより一定しないので定量値も異り、またこれをさらに加工した場合はいろいろと複雑な因子が加わるためにその判定はむずかしい。われわれは、輸出食品検査として北洋で母船式工船によつて製造されたサケおよびマス缶詰のうちクレームのついたものについて検査をする機会をえたので、蛋白および脂肪の分解に試験の重点をおきつぎの試験を行つた。なおサケおよびマスが缶詰に製造されたものの製品の問題としては、色沢、真空度および変敗など各種の問題が起きるが、本検査試料のクレームの原因と思われるものは、製造工程中の冷却が不充分のため長時間高温におい放置されたため肉質が若干分解し、鮮度が低下したものであり細菌検査の結果はきわめて良好であつたので、谷川ら²⁾によつて報告されているサケの初期腐敗の検出に用いられたインドールは定性試験のみ行つた。

実 験 の 部

1. 試料の調製. 試料の総重量を秤りつぎに缶内の真空度を測定後、内容量および空缶量を秤量し魚肉をよくすりつぶしその一定量を秤取使用した。脂肪は魚肉より石油エーテルで抽出し溶媒を完全に除いてから使用した。2. 総窒素の定量³⁾. 試料 100mg前後について常法のごとくセミマイクロケルダール法を行つた。3. 揮発性塩基窒素の測定⁴⁾. 試料20g前後について減圧法 (Weber-Wilson 改良法) で60~70mm/Hg, 45°±1°, 通気30分で測定した。4. アミノ態窒素の定量⁵⁾. バンスリック法によつた。試料は前記3の試験で分解フラスコ中の残留液一定量を希釈して使用した。5. 過酸化物の定量⁶⁾. Jacobsの方法により試料1g前後について試験を行つた。6. 酸価の定量⁷⁾. 常法のごとく行つた。7. チオバルビツール酸反応⁸⁾. 最近脂肪の酸化の程度を調らべる目的でチオバルビツール酸と主として脂肪の低分子酸化生成物との間に生ずる桃色の呈色度を比較する報告^{9~11)}が数多くみられるが、われわれは藤巻の報告⁸⁾に基づいてその呈色度を調らべた。その方法は Thiobarbituric acid を 1mol H₃PO₄ に 0.025mol (0.36%) の濃度に溶解し、この溶液5ccと試料0.5gとを沸騰水浴中に10分間加熱して発色させて直ちに冷却し30分放置後、水層の赤色を比色計で比色した(島津製, フィルター550mμ, キュベット5mm)。なお発色後混濁を生じた場合は戸過して比色した。8. インドールの検出¹²⁾. 試料50gを水蒸気蒸留し、留液を塩酸々性としエーテルで抽出を行い、これに蒸留水を加えてエーテルを蒸発させ、残留水中のインドールを *p*-Dimethylaminobenzaldehyde 試液を加えて加熱して発色させた。以上のごとく各試験を行い、得た結果は第1表のごとくである。

第1表 サケおよびマス缶詰分析結果

番号缶マーク	真空度	総量	内容量	全窒素	揮発性 アミン	アミノ 態窒素	過酸 化物	酸価	TBA 反応	インド ール
	m/Hg	g	g	%	mg%	mg%				
1. CSN NSC3 6709	6	550	475	3.3	37.85	0.05	0.3	1.6	0.035	—
2. CSN NGK6 6701	6	560	485	3.22	63.0	0.16	0.5	1.0	0.05	+
3. PSN NGK6 6701	11	560	485	3.46	26.6	0.06	0.3	0.76	0	+
4. CSN NGK6 6702	4	560	475	3.31	51.0	0.07	0.4	0.78	0	+
5. PSN NGK6 6702	6	550	475	3.01	73.75	0.17	0.3	0.79	0	+

番号缶マーク	真空度	総量	内容量	全窒素	揮発性 アミン	アミノ 態窒素	過酸 化物	酸価	TBA 反応	インド ール
6. CSN NGK6 6708	m/Hg 4	g 550	g 475	% 3.52	mg% 55.0	mg% 0.08	0.6	0.77	0	+
7. CSN NGK6 6708	11	550	470	3.4	64.7	0.15	2.1	1.19	0.08	+
8. CSN NGK6 6708	9	550	475	3.14	88.5	0.18	4.1	1.9	0.2	+
9. PSN NGK6 6713	9	550	475	3.46	63.0	0.13	0.3	0.9	0.02	+
10. PSN NGH6 6709	4	550	475	3.11	41.8	0.05	0.2	0.73	0	—
11. PSN NGK6 6709	4	550	470	3.38	114.1	0.2	16.3	2.2	0.08	+
12. PSN NGK6 6706	0	550	475	3.64	106.7	0.19	18.7	2.8	0.07	+
13. PSN NSC3 6804	11	550	475	3.03	43.05	0.06	0.6	0.78	0	±
14. PSN NGK6 6801	10	550	475	2.74	52.2	0.07	0.5	1.05	0.02	+
15. CSN NGK3 6706	4	550	470	2.70	61.2	0.12	0.5	0.95	0.03	+
16. PSN NGK6 6709	0	550	475	3.14	105.7	0.19	8.0	1.6	0.1	+
17. PSN NGK6 6722	9	550	475	3.23	48.3	0.05	0.11	1.12	0.06	+

考 察

サケ缶良否の判定標準は、まず揮発性塩基窒素⁴⁾ではきわめて新鮮な魚肉で5~10mg/100g, 正常な魚肉では15~52mg/100g, 初期腐敗で30~40mg/100gおよび腐敗した魚肉で50mg/100g以上であるが、サメの場合は尿素分解に伴うアンモニア生産のため50mg/100g以上は普通であるという。総窒素量¹³⁾は平均3.5%前後、また過酸化物は0.0~0.6が正常、0.6~21.4がやや酸敗、18.4~36.5が酸敗したものと認められている。本試料では総窒素量は各試料ともほぼ正常値を示し、揮発性塩基窒素量は各試料もいずれも初期腐敗以上の値を示した。またアミノ態窒素、過酸化物および酸価などは、揮発性塩基窒素量の増加とともに各試料ともその測定値は増加した。なお Thiobarbituric acid (以下TBA反応と略記)では、各試料のなかで揮発性塩基窒素量とは必ずしも平行しなかつた。これは過酸化物を生じて分解が起らない間はTBA比色値にほとんど変化がないものと思われ、またTBA比色値が自動酸化の初期に増加することなど⁸⁾という事実と考えられるが詳細は不明である。また Bernheim ら¹⁴⁾によればTBAと脂肪の酸化生成物(主として低分子化合物)がその反応に与り、数種の化合物については吸収スペクトルを測定しているが、本試料油中のいかなる成分が呈色するかについては検討しなかつた。インドールの定性は、揮発性塩基窒素量が45mg以下ではわれわれの実験では陰性であつたが、本試料は細菌学的には良好なものであつたので、反応陽性の原因は製造時の加熱過剰、冷却不十分などであると思われる。官能検査では各試料について缶面の黒変、Lovseskin, Adhesion およびCurdなどの現象がみられた。なお真空度と測定値との関係、サケおよびマス測定値の異動、この両者の点については関連はみられなかつた。以上これらの測定結果より判定を下すことは試料によつていろいろな因子が加わり、検査判定基準をどこに求めるかにより定められるが、なお多数の各種条件において測定されたデータに基づいて規定されるべきであると思われる。なお缶マークのPSNはマス水煮、CSNはサケ水煮を示している。終りに本実験に際し試料の分与に御便宜をいただいた食品衛生課横浜駐在員の関泰治技官、実験に協力された矢部和子氏および松本吉司氏の両氏に感謝する。

総 括

北洋で製造されたサケおよびマス缶詰について試験を行つたところ、揮発性塩基窒素測定値とアミノ態窒素、酸価、過酸化物の各測定値とはほぼ平行した関係を示したので、揮発性塩基窒素量を測定することは一応新鮮度の

目安となると思われる。また油脂類の変敗は蛋白の分解がある程度進んでから生ずるものと思われた。

文 献

- 1) 厚生省編纂 : 衛生検査指針, I, p. 91. (1950).
- 2) 谷川英一 : 水産製造学, p. 285 (1954).
- 3) 日本薬学会協定衛生試験法, 13. (昭30).
- 4) 厚生省編纂 : 衛生検査指針, I, p. 31. (1950).
- 5) 厚生省編纂 : 衛生検査指針, I, 52. (1950).
- 6) Jacobs M. B. : The Chemical Analysis of Food and Food Products, p. 843 (1951).
- 7) 日本薬学会協定 : 衛生試験法, p. 37 (昭30).
- 8) 藤巻正生 : 農化, 28. 963 (1954).
- 9) Yu T. C., Rusel Sinnhuber R. O : *Food Technology*, 11. 104 (1957).
- 10) Mark G. Schwartz, Betty : *Food Research*, 22, 1, 76 (1957).
- 11) Clrna. E. Masek J., Vedlich M., : *Z. Lebensmittel-Unters.u-Forsch.*, 105, 86 (1957).
- 12) *Official Methods of Analysis*, 8th Ed., Association of Official Agricultural Chemis, 1955, 18.23.
- 13) Winton A. R : Structure and Composition of Food, III. p.437 (1949).
- 14) Bernheim, F. Bernheim, M. L. C. Wilber K. M. : *J. Biol. Chem.*, 174, 257 (1947).

Summary

We investigated the exported canned salmon and salmontrout, and the results of analyses are tabulated.

Casein-Folin 呈色 B 法によるパンクレアチンおよび結晶トリプシンの蛋白分解力測定について

朝比奈 正人

Notes on the Determination of Proteolytic Activity of Pancreatin and Crystalline Trypsin by the Casein-Folin Colorimetric B Method.

Masato ASAHINA

蛋白分解酵素の活性度測定法として、ヘモグロビンやカゼインを基質として生成した非蛋白性物質を、Folin Ciocalteu の試薬¹⁾で呈色させて比色したり 275m μ の吸収で測定したりする Anson 法²⁾や Kunitz 法³⁾は、今までよく用いられてきた^{4,5,6)}。萩原はその改変法を述べ^{7,8)}、またそれらの測定法による活性度の単位を統一するように提案している⁹⁾。筆者はそのなかの“Casein-Folin 呈色 B 法”を、試薬または医薬として市販されているパンクレアチンやトリプシンや結晶トリプシンの活性度測定に利用する目的で検討し、2, 3 の知見を得た。

実験方法

酵素 試薬または医薬として市販されているパンクレアチン 2 種、N. F. パンクレアチンカゼイン消化力標準品、トリプシン（精製品）3 種、および結晶トリプシン 3 種を用いた。酵素の溶解希釈には 0.002N HCl を使用した。

蛋白分解力測定法 萩原の Casein-Folin 呈色 B 法⁹⁾による。Hammarsten のカゼイン (E. Merck) を 0.05M Na₂HPO₄ または Na₂B₄O₇ 溶液に溶かし、HCl または NaOH で pH を調整後水を加え、カゼインは乾燥量として 0.6%、緩衝液は 0.04M とする。30° に 5 分間予温した酵素液 1 ml に、30° に予温した上述のカゼイン液 5 ml を加え 30° で 10 分間反応させる。沈澱試薬 B (0.11M CCl₃COOH, 0.22M xCH₃COONa, 0.33M CH₃COOH) 5 ml を加え 30° で約 30 分間放置後、濾液 2 ml に 0.55M Na₂CO₃ 5 ml と Folin Ciocalteu の試薬（3 倍希釈液）1 ml を加え 30° で 30 分間放置後、S66 のフィルターを用い光電比色計（コタキ製）で吸光度を測定する。別に酵素液に沈澱試薬 B を加え次にカゼイン液を加えた空試験を行い、その吸光度を差し引く。空試験の値はカゼイン液の pH によつても少し変る。

単位 萩原の提案した [PU]_{tyr.}^{cas. FR. B} で示す。この 1 単位とは、上の測定法で反応液中に 1 分間にチロシン 1 γ に相当する非蛋白性物質の生成する酵素活性である。反応の pH は最適 pH を用いるのがたてまえであるが、ここでは便宜上 7.5（磷酸緩衝液）を用いて単位を求めた。トリプシンは普通 pH 7.5 で測定されているようである。

pH の測定 ベックマン G 型 pH 計を用いた。

実験結果

市販トリプシン製品の効力試験 試験結果を Table 1 に示す。市販結晶細菌プロテイナーゼの活性も附記した。精製トリプシンは試薬として市販されているものであるが、パンクレアチンの 2~4 倍の効力で、水にはよく溶けるが保存中効力が減退したことも考えられる。結晶トリプシンと称するものもその効力には大きな差がある。パンクレアチンは濾過せず懸濁液のまま用いた。濾過すると 2, 3 割効力が落ちてしまう。酵素が不溶物質や濾紙に吸着されてしまうようである。その例を Table 2 に示す。懸濁液を約 3 時間室温に放置して十分に酵素を溶出した後、濾紙で濾過または遠心分離し活性の測定は同時に行つた。

Table 1. Activity of commercial trypsin preparations.

Preparations			Activity (units/mg)
{	Pancreatin	A	12
	"	B	9
	N. F. Pancreatin reference standard for casein digestive activity		11
{	Trypsin (purified)	A	23
	"	B	27
	"	C	38
{	Crystalline trypsin	A	850
	"	B	1100
	"	C	1600
(Crystalline bacterial proteinase)			(1100)

Table 2. Decrease of the activity of pancreatin by filtration or centrifugation.

Preparations	Activity (%)		
	suspension	filtrate	supernatant
Pancreatin A	100	68	77
N. F. Pancreatin reference standard	100	81	—

単位補正曲線 単位の算定には酵素量と吸光度の関係を示す単位補正曲線を用いるが、これは試料によつて著しく異り、精製度の高いものほど高い酵素活性で吸光度が低目に出る。パンクレアチンでは逆に高い酵素活性で吸光度がいくらか高目に出ることは意外な結果で、その理由は不明である。汙過してもしなくても同様な結果となる。例をFig. 1に示す。

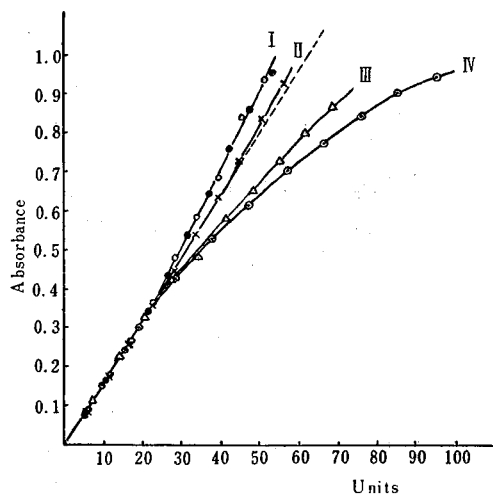


Fig. 1. Units calibration curves.

I : Pancreatin A (open circles, suspension ; solid circles, filtrate)

II : N. F. Pancreatin reference standard

III : Trypsin (purified) A

IV : Crystalline trypsin C

最適 pH 主として硼酸緩衝液を用い、pH7.5~10.6の範囲で一定量の酵素に対する活性を比較した。なおパンクレアチンAでは磷酸緩衝液も用い、pH6.8~8.1の範囲を調べた。硼酸緩衝液を用いると磷酸緩衝液を用いた場合より、約1割位酵素活性が低くでるが (pH7.5~8.1で比較)、pHに対する曲線はほぼ同様な傾斜を示す。この方法では最適 pH は10附近にあるようである。しかし結晶トリプシンでは広い最適 pH 域を有し、pH10までごくわずかずつ効力が大きくなる程度である。pHがそれより大となると効力は急に減少する。パンクレアチンやN. F.

標準品のように不純な製品では、pH10まで pH の増加とともに効力は大きくて、pH10 では pH7.5 の約50~60 %位大きな値が出る。精製トリプシンではその中間の結果になる。例を Fig. 2 に示す。効力は pH7.5 における効力に対する % で示してある。用いた酵素量は 16~21 単位 (この実験の反応条件で示す酵素活性、ただし pH は 7.5) である。パンクレアチン A と N. F. 標準品は懸濁液を濾過して濾液を使用した。

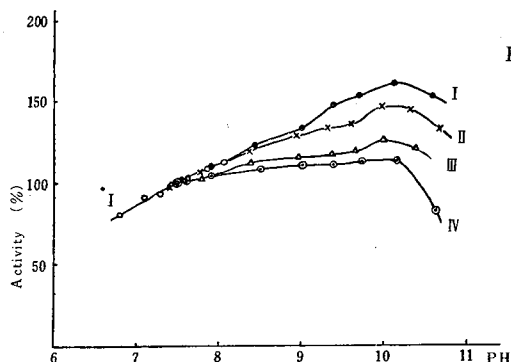


Fig. 2. Optimum pH curves.

- I : Pancreatin A (borate buffer) (solid circles)
- II : Pancreatin A (phosphate buffer) (open circles)
- III : N. F. Pancreatin reference standard
- IV : Crystalline Trypsin C

トリプシンの最適 pH は 8~9 のまたは 7~8 のとされ、この測定法では普通磷酸緩衝液を用い pH7.5 で単位を測定しているようである。結晶トリプシンの場合は広い最適 pH 域を有するのでそれでもよいが、パンクレアチンのような不純な試料では、pH7.5 は決して最適 pH とすることはできない。製品の精製度によるこのような最適 pH 曲線の相違は、試料中の他の物質の影響によるものであろうが、その原因は不明である。そこで単位には測定した pH と緩衝液の種類を明示しておく方がよい。

総 括

萩原の Casein-Folin 呈色 B 法を用い、試薬または医薬として市販されているパンクレアチン、トリプシン、結晶トリプシンの蛋白分解力を測定し、それらの単位補正曲線および最適 pH 曲線を比較した。結晶トリプシンでは pH 7.5~10 で pH が増加するにつれごくわずかに活性は高く出るだけであるが、パンクレアチンでは同じ pH 範囲で pH の増加につれ活性は著しく大となり pH10 では 7.5 の 50~60 % も大きく出る。

試料の一部を提供してくださった本所特殊薬品部中山豪一氏に感謝の意を表する。

文 献

- 1) Folin, O., Ciocalteu, V. : *J. Biol. Chem.*, 73, 627 (1927).
- 2) Anson, M. L. : *J. Gen. Physiol.*, 22, 79 (1938).
- 3) Kunitz, M. : *J. Gen. Physiol.*, 30, 291 (1947).
- 4) Northrop, J. H., Kunitz, M., Herriott, R. M. : *Crystalline Enzymes*. 2nd ed., Columbia Univ. Press, New York, 1948.
- 5) Glick, D. : *Methods of Biochemical Analysis*, Vol. II. Interscience Publishers, New York, 1954, p. 247.
- 6) Colowick, S. p., and Kaplan, N. O. : *Methods in Enzymology*, Vol. II. Academic Press, New York, 1955, p. 32.
- 7) 江上不二夫等編 : 標準生化学実験. 文光堂, 1953, p. 207.
- 8) 赤堀四郎編 : 酵素研究法, 2. 朝倉書店, 1956, p. 238.
- 9) 同上, p. 276.

Summary

Proteolytic activities of commercial preparations of trypsin (pancreatin, trypsin, crystalline trypsin), which are used as reagents or drugs, were determined by the Hagiwara's Casein-Folin colorimetric B

method. Their units calibration curves and optimum pH curves were compared with each other from a viewpoint of the degree of purification. While activity of crystalline trypsin only slightly increases as pH increases in the pH range of 7.5~10, that of the impure preparation such as pancreatin remarkably increases as pH increases in the same pH range.

Received May 31, 1958.

インシュリンの薬化学的研究 (第22報)*

粗まぐろインシュリンの精製過程において単離した結晶蛋白質 (Cryst. TC) および粗まぐろインシュリンからの無効結晶 (Cryst. TA) の構成アミノ酸について

長 沢 佳 熊, 西 崎 笹 夫

Pharmaceutical and Chemical Studies of Insulin. XXII.

On the Crystalline Protein (Cryst. TC) Isolated from the Crude Tunny Fish Insulin and the Amino Acid Composition of Cryst. TA

Kakuma NAGASAWA and Sasao NISHIZAKI

まえがき 著者らは第20報¹⁾において粗まぐろインシュリンから六面体結晶 (Cryst. TA) および球形結晶 (Cryst. TB) を単離したことを報告した。今回はなおクサビ型結晶を単離した (Fig. 1 参照)。この結晶 (Cryst. TC と称する) は収得量が少いため、種々の物理化学的の実験をおこなうに充分ではなかったが、生物的には不活性で (実験2参照)、ペーパクロマトグラフィーの Rf 値は牛結晶インシュリンに比べ明らかに小さい (実験3参照)。またインシュリン希釈液に対して溶解度が比較的小さく、ブタノール:酢酸:水 (3:1:4) を展開溶剤とするペーパクロマトグラフィーでも原点に残る部分が少量あつた。

つぎに第20報に報告した六面体結晶 (Cryst. TA) 約5mg を第18報²⁾の方法に準じ塩酸加水分解をおこない、二次元ペーパクロマトグラフィーで構成アミノ酸の種類を検した結果、約13個のニンヒドリン呈色スポットを認めたが、プロリンの存在は認めなかつた (実験4参照)。

実 験 の 部

実験1. クサビ型結晶蛋白質の単離: まぐろの Stannius 小体から抽出した粗製インシュリン (約17 u/mg) 320mg を0.01N-塩酸2ccに溶かし、N-塩酸10cc, リン酸緩衝液 (pH 7.15) 125cc, 水125ccを加えてろ過し、0.5%塩化亜鉛溶液2.5cc, アセトン25ccを加え、これにN-水酸化アンモニウム液を加えてpHを6.2に調節する。ガラス棒で器壁をこすり、4°の氷室に放置するとき約1週間を経過して一部分クサビ型結晶が集りイチョウ葉型結晶の生成を認めた。この結晶を第20報と全く同じ方法で単離し (Fig. 1 参照), 1.2mgを得た (収量約0.4%)。



Fig. 1. Crystals Isolated from the Crude Tunny Fish Insulin. (Cryst. TC) (×600)

* 第21報: 本誌, 75, 99 (1957)

実験 2. 生物試験 : Cryst. TC を日局記載のインシュリン溶剤に溶かし 1 mg/cc とする. この溶液 0.4 cc, 0.2 cc を 20 時間絶食した家兎の耳静脈に注射し, 注射後の血糖量の変化を検した. その結果を Fig. 2 に示す.

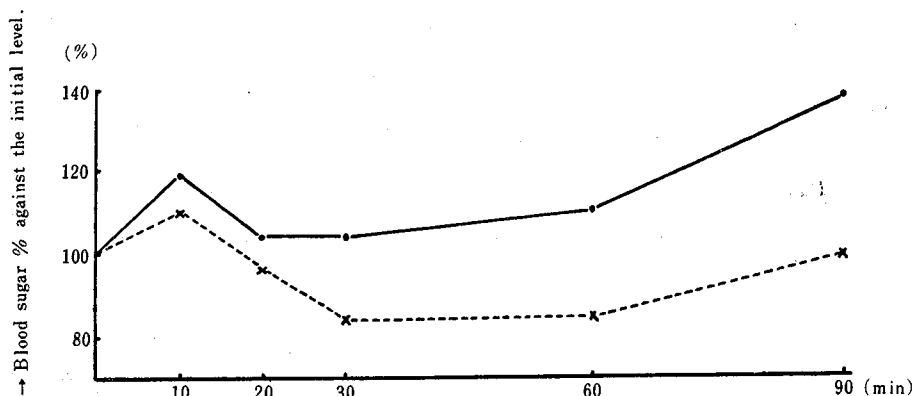


Fig. 2. Assay of Blood Sugar.

— • — injected 200γ/1.7kg (Body weight).

.....×..... injected 400γ/1.8kg (Body weight).

These rabbits were fasted for 20 hours before injection and injected Cryst. TC intravenously.

Fig. 2 から Cryst. TC はインシュリン作用もグルカゴン作用もほとんど示さない.

実験 3. Cryst. TC のペーパクロマトグラフィー : 第 18 報の方法により同一汚紙を用い, 同一条件で牛インシュリンと Cryst. TC を各 3 個ずつ展開した結果を Table 1 に示す.

Table 1. Comparison of Rf Value

Sample	Rf value	Standard deviation
Ox Insulin	0.446	± 0.050
Cryst. TC	0.279	± 0.023

この結果から Cryst. TC は牛結晶インシュリンに比べ Rf 値が明らかに小さい. またこの Cryst. TC の溶液は溶解度が比較的小さいためか少量の不溶物を認め, ペーパクロマトグラフィーで原点に残るスポットも認めた.

実験 4. Cryst. TA の塩酸加水分解物のペーパクロマトグラフィー : Cryst. TA 約 5 mg をとり, 12 N-塩酸 2 cc を加えガラス管に密封し, 110° の恒温箱に入れ 6 時間保つ. 分解物を時計皿に移し, 水浴上で蒸発乾固する. さらに蒸留水を加え数回蒸発乾固をくり返し塩酸をほとんど完全に除くとき褐色残留物少量を得, これをペーパクロマトグラフィーの展開試料とした.

東洋汚紙 K.K. 製 No. 50 の角型 (40×40 cm) 汚紙で上昇法により最初 80%-フェノール, つぎに酢酸・水性ブタノール, ブタノール : 酢酸 : 水 (3 : 1 : 4) で展開し, ニンヒドリンで呈色した結果 Fig. 3 に示すスポットを得た.

またスポットの推定にはそれぞれのアミノ酸単体を加水分解物と同一の条件で展開してそれらの Rf 値と比較対照した結果を Table 2 に示す.

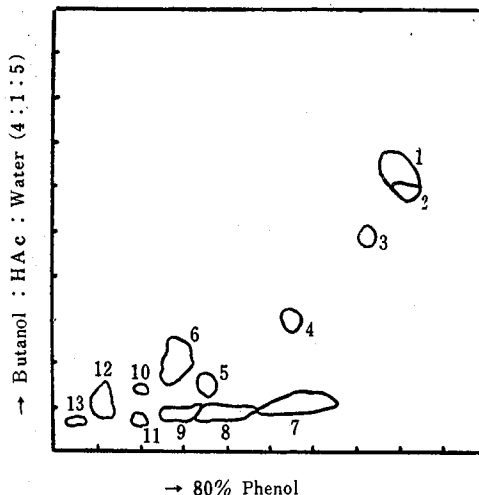


Fig. 3. Paperchromatography of Cryst. TA.

Table 2. Estimation of Amino Acids.

Spot No.	Color	Estimated amino acid
1	P	Leu + Ileu
2	PB	Phe
3	Pink	Val
4	Pink	Ala
5	BrR	Gly
6	Pink	Ser
7	G	His
8	P	Arg
9	P	Lys
10	PR	Glu
11	PR	Unknown
12	P	Asp
13	P	Cys

P : purple B : blue Br : brown G : gray R : red

Spot 1 は Leu と Ileu のスポットであるが, この展開溶媒ではよく分離できない。

Spot 2 は Spot 1 とほとんど隣接したが, 色調が若干異り, 対照実験の Rf 値とよく一致するので Phe と推定した。

Spot 3 は Val, Spot 4 は Ala である。

Spot 5 はその Rf 値と呈色により Gly と推定する。

Spot 6 はかなり大きくしかも色調が一樣であつた。対照実験の Rf 値と色調から Ser と思われる。

Spot 7 はかなり大きいが対照実験の Rf 値と色調から His と推定した。

Spot 8 は Arg, Spot 9 は Lys である。

Spot 10 は小さいが対照実験の結果から Glu と推定した。

Spot 11 は対照実験の結果それに該当するものがないため不明である。

Spot 12 は Asp, Spot 13 は Cys と推定した。

このほか Tyr の存在は試料を多量に用いた場合微に呈色することもあるが, その存在は疑わしい。Try はこの加水分解の条件では破壊されるので存否は不明である。Thr と Pro のスポットは認められなかつたので存在しないと推定する。

む す び

1) 粗まぐろインシュリンから Cryst. TC (Fig. 1 参照) を単離した。これはクサビ型結晶で生物活性をほとんど示さず, ペーパクロマトグラフィーの Rf 値は牛結晶インシュリンより明らかに小さい(実験 1, 2, 3 参照)。

2) 第20報に記した Cryst. TA を塩酸加水分解して二次元ペーパクロマトグラフィーをおこない, 構成アミノ酸の種類を推定した結果13個のニンヒドリン呈色スポットを検出した。構成アミノ酸は Leu, Ileu, Phe, Val, Ala, Gly, Ser, His, Arg, Lys, Glu, Asp, Cys で不明のスポットが1個ある。また Thr, Pro, Met は存在せず Tyr の存在も疑わしい(実験 4 参照)。

文 献

- 1) 長沢佳熊, 西崎笹夫, 平岡 孝, 深沢真司: 本誌, 75, 95 (1957)。
- 2) 長沢佳熊, 西崎笹夫: 本誌, 74, 179 (1956)。

Summary

- 1) The authors isolated a crystalline protein named Cryst. TC (see Fig. 1) from crude tunny fish

insulin powder, it has no activity and has smaller Rf value than that of ox insulin crystals, on the paperchromatography.

2) The amino acid composition of Cryst. TA, an inactive crystalline protein from tunny fish insulin powder, was preliminary reported; the result was shown in Table 2, from which Leu. Ileu. Phe. Val. Ala. Gly. Ser. His. Arg. Lys. Glu. Asp. and Cys. were found; Thr. Pro. Met. were not be found and the existence of Tyr. was doubtful.

Received May 31, 1958.

インシュリンの薬化学的研究 (第 23報)*

かつおインシュリンの結晶化により得られた球形結晶について

長 沢 佳 熊, 西 崎 笹 夫, 竹 中 祐 典,

本 間 輝 武**, 平 岡 孝**

Pharmaceutical and Chemical Studies of Insulin. XXIII.

On the Bead Insulins Obtained from Crude Bonito Insulin

Kakuma NAGASAWA, Sasao NISHIZAKI, Yusuke TAKENAKA,

Terutake HONMA and Takashi HIRAOKA

まえがき 著者らは第20報¹⁾でまぐろの粗インシュリンから少量の六面体結晶(Cryst. TA)および球形結晶(Cryst. TB)を分離し若干の検討をした。また第22報²⁾で少量のクサビ形結晶(Cryst. TC)を単離した。

本間および平岡はかつおからの粗インシュリン(17 u/mg)をクエン酸溶液から結晶化して球形結晶を得た(これを Cryst. BA と称する)(実験1参照)。またリン酸カリウム溶液から結晶化して球形結晶を得た(これを Cryst. BB と称する)(実験2参照)。Cryst. BA, Cryst. BB は顕微鏡下の観察ではともに Cryst. TB にきわめてよく似ている。西崎, 竹中はこれらの結晶の検討をおこない, 生物検定では Cryst. BA……約16u/mg, Cryst. BB……約17 u/mg (実験3参照), 含有窒素量(N)は Cryst. BA……14.8%, Cryst. BB……13.0% (実験4参照), 含有亜鉛量(Zn)は Cryst. BA……0.53%, Cryst. BB……0.94%, (実験5参照), ペーパクロマトグラフィの Rf 値は Cryst. BA, Cryst. BB はほとんど同じであつたが, 対照に用いた牛結晶インシュリンのそれより明らかに小さい(実験6参照)。また pH 2.2 の塩酸-塩化カリウム緩衝液に対して Cryst. BA の方が Cryst. BB よりやや溶けやすく, その電気泳動図から Cryst. BB の方が不純成分を若干含むように観察され, それらの泳動速度は牛結晶インシュリンよりも速く, プロタミンより遅い(実験7参照)。

また紫外部の吸収曲線を測定した結果, Cryst. BA, Cryst. BB はいずれも 275~280m μ に吸収極大を示した(実験8参照)。Cryst. BA, Cryst. BB を第20報と全く同じ操作で再結晶するとき, Cryst. TA とよく似た形状の六面体結晶少量を認めたが, その量は Cryst. BB の方が多かつた。しかし結晶部分と無晶系部分は実験に用いた試料が少量であり, しかも比重の差が明確でないためか結晶部分のみを単離することはできなかった(実験9参照)。

実 験 の 部

実験 1. Cryst. BA の結晶化操作を Table 1 に示す。

Table 1. Procedure of Crystalization.

1g of bonito crude insulin (17 u/mg)

Dissolved in 50 cc of water containing 1g of citric acid, 80 mg of zinc chloride and 16 cc of acetone.

Added water to make volume of 100 cc, adjusted to pH 6.1 with conc. sodium hydroxide solution, and warmed at below 50°.

Allowed to cool gradually at room temperature.

All protein materials formed a bead type.

Washed with water and acetone, and dried in vacuo.

Crystals.....named "Cryst. BA."

yield.....0.367 g

実験 2. Cryst. BB の結晶化操作を Table 2 に示す。

* 第22報: 本誌, 76, 213 (1958)

** 所員外 清水製薬株式会社

Table 2. Procedure of Crystalization.

1g of bonito crude insulin (17 u/mg)

Dissolved in 0.05M-potassium phosphate containing 10% acetone and 1N-hydrochloric acid.
Adjusted to pH 6.8 with 10N-sodium hydroxide solution, and filtered.

Clear solution

Added 10 cc of 0.5% zinc chloride solution, adjusted to pH 6.2 with hydrochloric acid, and warmed at below 50°.

Cooled very slowly in a refrigerator for several days.

Separated crystals by centrifugation.

Washed with water and acetone, and dried in vacuo.

Crystals.....named "Cryst. BB."

yield.....0.675 g

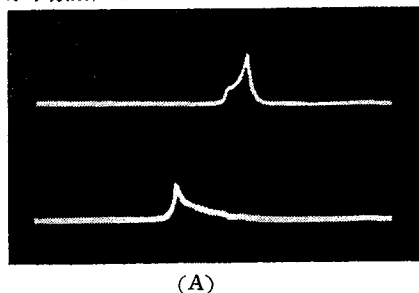
実験 3. 生物的单位の推定 標準品および Cryst. BA, Cryst. BB につき家兎 3 匹ずつを用いて交叉試験をおこない生理単位を予試験的に検定した³⁾. Cryst. BA は約 16 u/mg, Cryst. BB は約 17 u/mg であった.

実験 4. 含有窒素量(N)の測定 日局記載のセミマイクロゲル法⁴⁾により窒素量(N)を定量した. N 含量は Cryst. BA.....14.8%, Cryst. BB.....13.0% であった.

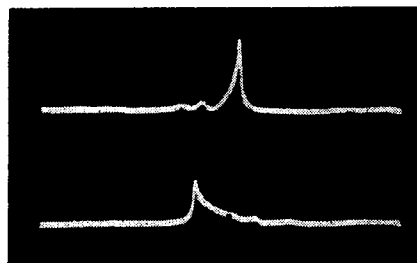
実験 5. 含有亜鉛量(Zn)の測定 国際薬局方記載の亜鉛定量法⁵⁾により亜鉛量(Zn)を定量した. Zn 含量は Cryst. BA.....0.53%, Cryst. BB.....0.94% であった.

実験 6. ペーパークロマトグラフィの Rf 値 第15報⁶⁾の方法により同一濾紙を用い, 同一条件で牛結晶インシュリン, Cryst. BA および Cryst. BB を各 3 個ずつ展開した. それらの Rf 値は, 牛結晶インシュリン.....0.160 ± 0.010, Cryst. BA.....0.073 ± 0.021, Cryst. BB.....0.080 ± 0.025 であった. これらの Rf 値が著者らの今までの報告¹⁾⁶⁾⁷⁾より小さいのは, 溶媒調整後の経過時間および展開時の濾紙の湿度が異なるためである.

実験 7. 電気泳動試験 第21報⁸⁾と全く同じ方法により pH 2.2 の塩酸-塩化カリウム緩衝液で透析をおこなった. Cryst. BA は Cryst. BB に比しやや溶けやすい. これらの試料を 12.5 mA で電気泳動をするとき Fig.1 (A), (B) に示す泳動図を得た.



(A)



(B)

Fig. 1. Ascending and Descending Electrophoresis Patterns of Cryst. BA and Cryst. BB, (in 0.18 ionic strength hydrochloric acid-potassium chloride buffer of pH 2.2.)

above : Ascending, below : Descending.

(A) : Cryst. BA 150 min.

(B) : Cryst. BB 120 min.

これらの泳動速度を第21報に記したプロタミンおよび牛結晶インシュリンの混合液とまぐろ粗インシュリン⁹⁾と比較対照して Fig. 2 に示す.

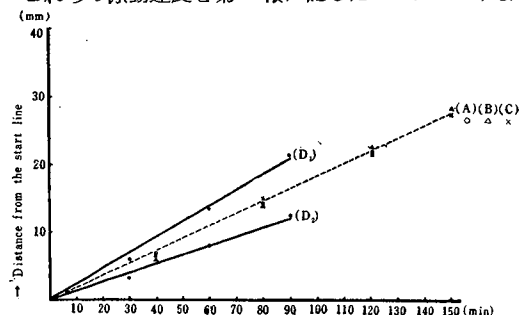


Fig. 2. Comparison of Mobility in Ascending Electrophoresis. (0.18 ionic strength hydrochloric acid-potassium chloride buffer of pH 2.2)

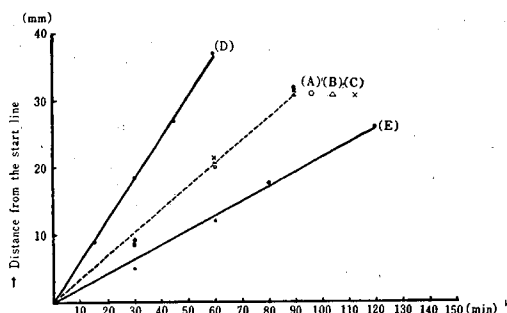
(A) : Cryst. BA, (B) : Cryst. BB, (C) : Tuna Insulin, (D)₁(D)₂ : Mixture of Protamine and Ox Insulin : from the data in our previous report (XXI). (D)₁ : Protamine (D)₂ : Ox Insulin.

また pH 3.5 の酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液で第 21 報と同じ方法で Cryst. BA, Cryst. BB, まぐろ粗インシュリン⁹⁾, 第 21 報と比較対照し, それらの泳動速度を Fig. 3 に示す.

Fig. 3. Comparison of Mobility in Ascending Electrophoresis.

(0.44 ionic strength acetic acid-sodium acetate buffer of pH 3.5)

(A) : Cryst. BA, (B) : Cryst. BB, (C) : Tunai Insulin, (D) : Protamine : from the data in our previous report (XXI), (E) : Ox Insulin : from the data in our previous report (XXI).



実験 8. 紫外外部吸収スペクトル 実験 7 の Cryst. BA, Cryst. BB の pH 2.2 緩衝液における透析後の試料の少量をとり適当にうすめて紫外部の吸収曲線をとった. Cryst. BA, Cryst. BB はいずれも 275~280 $m\mu$ に吸収極大を持つ. 紫外外部吸収曲線を Fig. 4, Fig. 5 に示す.

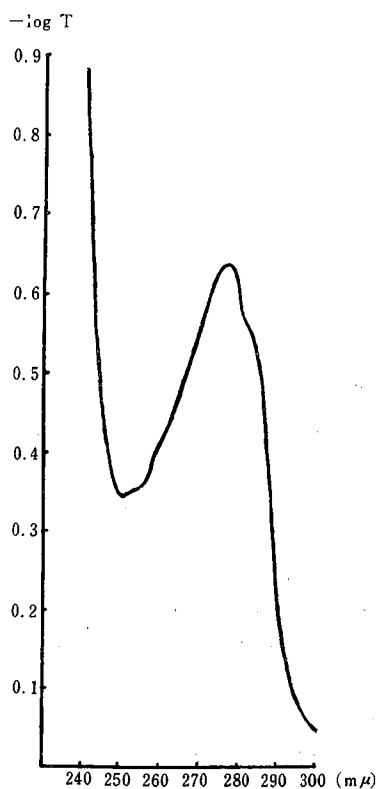


Fig. 4. Ultraviolet Absorption Curve of Cryst. BA (pH 2.2)

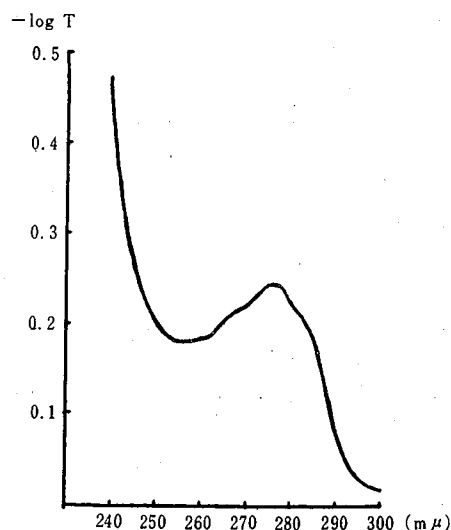


Fig. 5. Ultraviolet Absorption Curve of Cryst. BB (pH 2.2)

実験 9. 再結晶操作法 Cryst. BA および Cryst. BB 各 30 mg をとり第 20 報と全く同じ操作により再結晶をした. Cryst. BB は Cryst. BA よりも一部分, より完全な六面体結晶(Cryst. TA に全く似ている)を顕微鏡下に確認したが, 本実験に用いた試料が少量であり, 結晶部分と無晶部分の比重の差が少いためか, 結晶部分のみを単離することはできなかった.

考察とむすび

著者らは粗かつおインシュリンの結晶化をおこない2種の球型の結晶 Cryst. BA および Cryst. BBを得た。この2種の結晶について比較検討した結果つぎの知見を得た。

- 1) Cryst. BBは Cryst. BAよりも得量がいよ (実験1, 実験2 参照)。
- 2) これらの結晶の生物学的効価は原料インシュリン (約 17 u/mg) とはほぼ同じかむしろ低い (実験3 参照)。
- 3) 窒素含量は Cryst. BA 14.8%, Cryst. BB 13.0%である (実験4 参照)。
- 4) 亜鉛含量は Cryst. BA 0.53%, Cryst. BB 0.94%である。従つて Cryst. BA はほぼ牛インシュリン結晶に近いが Cryst. BBはその約 2倍弱を含有することになる (実験5 参照)。
- 5) ペーパクロマトグラフィの Rf値は Cryst. BA, Cryst. BB はほとんど同じであるが牛結晶インシュリンのそれより明らかに小さい (実験6 参照)。
- 6) Cryst. BA は Cryst. BB に比べやや溶けやすい。これは亜鉛含量にも関係すると思われる。また泳動の際の peak の数は Cryst. BBの方が多く、多成分系をあらわす。これは Cryst. BBの方が再結晶により六面体結晶の生成が多いという事実と関係すると思う (実験7, 9 参照)。魚インシュリンではその泳動速度が牛インシュリンより速いのはその特性の一つと考える。
- 7) 紫外外部吸収は Cryst. BA, Cryst. BB いずれも 275~280 m μ に極大を有する (実験8 参照)。

文 献

- 1) 長沢佳熊, 西崎笹夫: 本誌, 75, 95 (1957)。
- 2) 長沢佳熊, 西崎笹夫: 本誌, 76, 213 (1958)。
- 3) Marks, H. P : The Health Organization of the League of the Nations (1926)。
- 4) 日本薬局方 (厚生省版), 652 (1951)。
- 5) International Pharmacopoeia : Vol. II, 274 (1955)。
- 6) 長沢佳熊, 西崎笹夫: 本誌, 74, 171 (1956)。
- 7) 長沢佳熊, 西崎笹夫: 本誌, 74, 179 (1956)。
- 8) 長沢佳熊, 西崎笹夫: 本誌, 75, 99 (1957)。
- 9) 未発表

Summary

The authors obtained two kinds of bead type crystals which they named Cryst. BA and Cryst. BB from crude bonito insulin.

- 1) The yield of Cryst. BB was larger than that of Cryst. BA (see Exp. 1 and 2).
- 2) Biological activities of these crystals were about 16 u/mg (Cryst. BA) and about 17 u/mg (Cryst. BB).
- 3) Nitrogen contents of Cryst. BA and Cryst. BB were 14.8% and 13.0%, respectively.
- 4) Zinc contents of Cryst. BA and Cryst. BB were 0.53% and 0.94%, respectively.
- 5) On applying to a paper chromatography, Rf values of these crystals were almost equal, the values showed distinctly smaller than that of ox insulin crystals.
- 6) Cryst. BA is easier soluble than Cryst. BB. It may be due to content of zinc.
- 7) On the recrystallization, a little amount of crystals, having the same form as Cryst. BA [see our XX report, this Bulletin Vol. 75 page 95 (1957)] was obtained, but not able to be isolated.

Received May 31, 1958.

インシュリンの薬化学的研究 (第24報)*

かつおインシュリンの抽出過程における pH 8 の無効の蛋白性沈でん物について

長 沢 佳 熊, 西 崎 笹 夫

Pharmaceutical and Chemical Studies of Insulin XXIV

On the Inactive Protein Precipitated at pH 8 from Bonito Stannius Corpuscle

Kakuma NAGASAWA and Sasao NISHIZAKI

まえがき かつお Stannius 小体からインシュリンの抽出過程に pH 8 の沈でんを除去するとき, その沈でん物は微灰褐色の粉末として得られる (通常アルカリ蛋白という人がある). 著者らはこの沈でん物**を試料とし, 若干の物理化学的および生物学的実験をした.

この沈でんはきわめて弱いインシュリン作用を認めるが (実験1参照), ペーパクロマトグラフィーによつてもインシュリンのみを単離することはできなかつた (実験2参照). 溶解度は小さく, その等電点様沈でんは大略 pH 8 で起るが, いかなる pH でも完全に澄明には溶けなかつた (実験3参照). また pH 2.2 の塩酸-塩化カリウムの緩衝液で電気泳動をおこなうとき, その泳動図は1成分として泳動するが, 泳動速度は牛結晶インシュリンよりも速く, プロタミンよりも遅く, まぐろインシュリン¹⁾とほとんど同じである (実験4参照). 泳動試料の1部をとり紫外部の吸収曲線を検した結果 275~280 m μ に極大を有するが, 魚インシュリン¹⁾よりやや尖度がゆるやかである (実験5参照).

実 験 の 部

実験1. 本試料中のインシュリンの含量試験 試料1g をとり 0.01N-塩酸 30 cc を加えセロファン膜に入れ 0.01N-塩酸に対し3昼夜4°の冷室で透析後 10 000 r.p.m. で1時間遠心分離すると, 管中の約上半量はほとんど澄明褐色の液となる. この液 1.6 cc, 0.8 cc および 0.4 cc を 20時間絶食した家兎に皮下注射し注射後 15分, 30分, 90分, および 180分後の血糖量を, また 0.4 cc, 0.2 cc, 0.1 cc および 0.05 cc を同じ条件の他の家兎の耳静脈に注射し, 注射後 20分, 40分, 90分, および 180分後の血糖量を測定した結果を Fig. 1 に示す***.

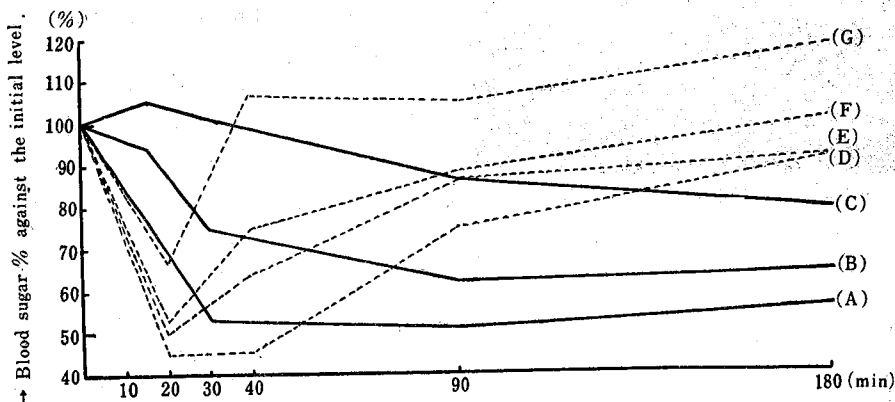


Fig. 1. Determination of Blood Sugar % against the Initial Level after Injection.

— : injected subcutaneously.

..... : injected intravenously.

(A) : 1.6 cc (B) : 0.8 cc (C) : 0.4 cc (D) : 0.4 cc (E) : 0.2 cc (F) : 0.1 cc (G) : 0.05 cc

* 第23報 : 本誌, 76, 217 (1958)

** 日本栄養株式会社から提供されたもの, ここに謝意を表する.

*** この液は 1 cc 中大略 30 mg を含む. したがって 1.6 cc では大略 50 mg を注射したことになる. これらの家兎は通常 1 匹 (体重 2 kg として) につき, インシュリン約 2 u を皮下注射すればケイレンを起す. 実験1ではすべての家兎はケイレンを起さなかつた.

実験 2. ペーパクロマトグラフィー 実験 1 の試料を第15報²⁾の方法によりペーパクロマトグラフィーで展開するとき、大部分は原点に残る。しかし $R_f=0.4$ 附近に 1 個ないし 2 個の弱いスポットを認めた。東洋汙紙 No. 50 の角型汙紙 (40×40 cm) の一端から 7 cm のところに引いた直線上に約 0.2 cc の試料をつけて展開し、 $R_f=0.4$ 附近のバンドを切りとり、0.01N-塩酸約 10 cc で抽出後、3 cc ずつ 2 匹、1 cc ずつ 2 匹の家兎に実験 1 と全く同じ方法で皮下注射した場合の血糖量の変化を Fig. 2 に示す。

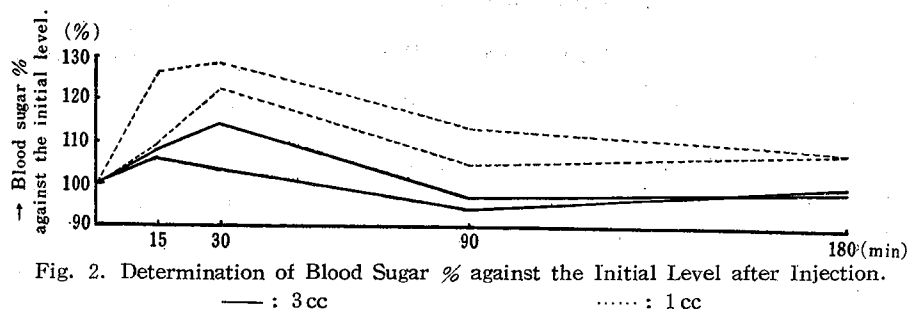


Fig. 2. Determination of Blood Sugar % against the Initial Level after Injection.

— : 3 cc

..... : 1 cc

この結果抽出液にはインシュリン作用を認めなかつた。

実験 3. 溶解状態の観察 a) 酸性側：試料 20 mg をとり蒸留水 10 cc を加える。N-塩酸または N-水酸化ナトリウム液少量を加えて生成する沈でんの状態を検べた結果 pH 8 で等電点様沈でんを生じた。また pH 2.5 で 3 000 r.p.m. 20 分間遠心分離し、上澄液に 2/5M-フタル酸水素カリウム液³⁾を加えて沈でん物 15 mg を得た。

b) アルカリ性側：第 18報⁴⁾に基き、試料 1 g に 60%アセトン 150 cc を加え、0.2 N-水酸化ナトリウム液を加え、pH 11.7 とし、遠心分離し沈でん物 0.595 g を得た。上澄液に N-塩酸を注意深く加え pH 8.0 に調整し遠心分離し沈でん物 0.375 g を得た。またこの上澄液に塩酸を加えて pH を移行しても沈でんは生じなかつた。

実験 4. pH 2.2 における電気泳動試料 30 mg をとり塩酸-塩化カリウム緩衝液 (pH 2.2) 7 cc を加えて 2 昼夜 4° の冷室で緩衝液に対して透析後遠心分離し、上澄液について第 21報⁵⁾と全く同じ方法で電気泳動をおこなつた。泳動開始後 150 分の泳動図を Fig. 3 に示す。

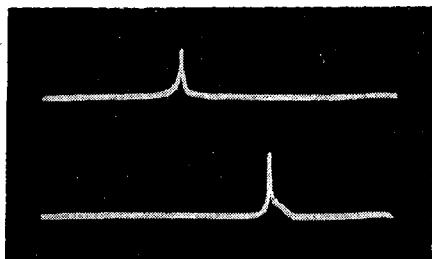


Fig. 3. Ascending and Descending Electrophoresis Patterns of pH 8 Precipitate (in 0.18 ionic strength hydrochloric acid-potassium chloride buffer of pH 2.2).

above : Ascending

below : Descending

その上昇側における泳動速度を第 21報の牛結晶インシュリンおよびプロタミンの泳動速度を引用して比較し、Fig. 4 に示す。

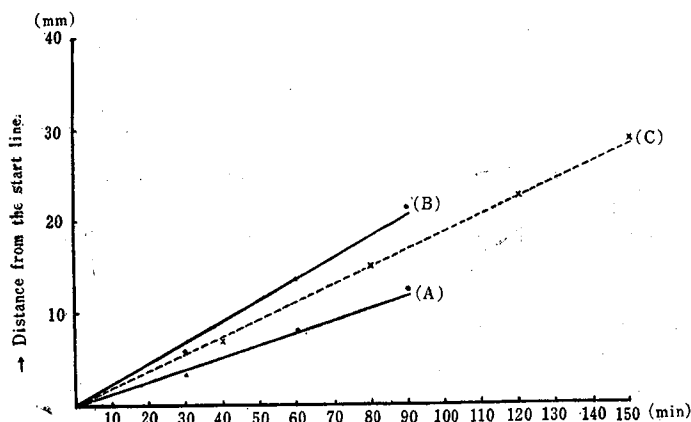


Fig. 4. Comparison of Mobility in the Ascending Electrophoresis Experiments of the Inactive Protein (pH 2.2).

(A) : Ox insulin*

(B) : Protamine*

(C) : pH 8 Precipitate

* : from the data in our previous report (XXI).

実験 5. 紫外外部吸収曲線 実験 4 の試料の一部をとり、適当に希釈し紫外外部吸収曲線をとつた。その結果を Fig. 5 に示す。

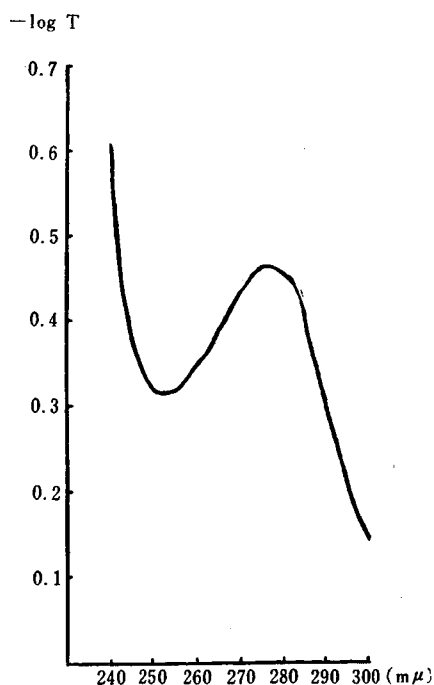


Fig. 5. Ultraviolet Absorption of pH 8 Precipitate.

この結果 275~280 mμ に極大吸収を持つ。

文 献

- 1) 未発表
- 2) 長沢佳熊, 西崎笹夫: 本誌, 74, 171 (1956).
- 3) 西崎笹夫: 本誌, 75, 493 (1957).
- 4) 長沢佳熊, 西崎笹夫: 本誌, 74, 179 (1956).
- 5) 長沢佳熊, 西崎笹夫: 本誌, 75, 99 (1957).

Summary

The inactive protein precipitated at pH 8 from bonito stannius corpuscle in preparing insulin was studied. As the results:

- 1) It showed very weak insulin activity.
- 2) By paperchromatography, most of the protein remains on start line, and small amount of it showed weak band around Rf: 0.4.

Isolated solution of that band with N/100-HCl was tested by rabbits, and it had no insulin activity.

- 3) Solubility of this protein in various pH was studied. Its isoelectric point seemed to be pH 8, and could not be found any pH to make the solution clear.

- 4) Electrophoreisis pattern in pH 2.2 showed one component, and its mobility was faster than that of ox insulin and slower than that of protamine.

- 5) Maximum absorption in ultraviolet curve was approximately 275~280 mμ.

Received May 31, 1958.

性腺刺激ホルモンの研究 (第5報) **, **

幼若マウスの卵巢重量増加および子宮重量増加による血清性
性腺刺激ホルモンの検定

長 沢 佳 熊, 越 村 栄 之 助

Studies on Gonadotrophic Hormones V

The Assay of Serum Gonadotrophin by Mouse Ovary and
Uterine Weight Increasing Method

Kakuma NAGASAWA and Einosuke KOSHIMURA

緒 言

性腺刺激ホルモンの検定には第8 英国薬局法^{1,2)}, 国際薬局法^{3,4)}, 第二改正国民医薬品集^{5,6)} にはいずれも幼若白鼠の卵巢重量増加法 (以下卵巢法と略す) を用いているが第9 英国薬局方¹⁵⁾ (1958) では幼若白鼠の発情法に改められた。白鼠卵巢法の検定精度指数 (λ) は胎盤性性腺刺激ホルモン (以下CGと略す) では0.139⁷⁾, 0.230⁸⁾ といい, 著者らの実験では0.179⁹⁾, 血清性性腺刺激ホルモン (以下PMSと略す) では0.215¹⁰⁾ であつた。佐藤ら¹¹⁾ は ddN 系幼若マウスの PMS による卵巢および子宮重量増加について報告したが, 著者らは 2-2 用量検定をおこなう目的で佐藤ら¹¹⁾ の報告を追試したところ, かなり反応が異なる (考察参照)。実験動物は実験動物中央研究所から購入した生後3週のマウスを用い, 固形飼料および水を与えて飼育し, 温度, 湿度などの調節は行わず, 8 月下旬から 10 月下旬の間に室温で実験した。ホルモンの投与方法およびその他の操作は白鼠を用いる検定法^{9,10,12)} と全く等しくし, 注射量だけを 0.2 cc とした。マウスは ddN, SM を主とし, その他の系統のものは予試験だけをおこなつた。PMS の検定に適当な用量, 用量比などを知る目的で PMS 5~80 国際単位 (以下iu と略す) を ddN, SM 系マウスに与えた結果 20~80 iu の範囲ではいずれも用量と反応が直線関係を示す (実験1 参照)。また ddN, SM, CF1, CF1W の4種類のマウスに適当な反応を与えると考えられる2 用量 (30iu, 60iu) を与え卵巢重量増加の用量反応線の傾斜をしらべると, ddN と SM はほぼ等しい傾斜を示し, 最も大きい。CF1W はこれにつぐが, 傾斜はかなり小さく, CF1 は傾斜が小さすぎて不適当であると思う (実験2 参照)。しかし本実験は動物数も少なく, また1回の実験であるから結論することは避けた。ddN 系マウスを用いた 2-2 用量検定法の2例の信頼限界はそれぞれ 72.0~159% および 44.0~149% (検体低用量と中用量), 62.4~209% (検体中用量と高用量) で後者は不満足な数値であるが, 標準品と検体の用量差を小さくすればさらによい数値を得られるようになるかも知れない。したがつて白鼠卵巢法による検定の信頼限界と直ちに比較することはできない。SM を用いた1例は用量と反応が比例せず 2-2 用量検定はできなかった (実験3 参照)。用量反応線の傾斜は ddN と SM は大差がないように思われる (実験1, 2 参照)。その傾斜は白鼠より小さく, 検定結果も劣る (考察参照)。白鼠などの場合と同様に卵巢法は子宮重量増加法 (以下子宮法と略す) より検定用量が大きく, したがつて一般に子宮法では, 卵巢法とは別に適当な用量範囲を定める必要があるが, ddN の1例では等しい用量範囲で同時に子宮法と卵巢法が成立した (実験3 参照)。白鼠子宮法の λ は CG では 0.329¹³⁾, 0.149¹⁴⁾, 0.240⁷⁾ などと報告されているが, これと比較してマウス子宮法は大差はないと思われる。

実 験 の 部

実験1 ddN 系マウスおよび SM 系マウスの PMS による卵巢および子宮重量増加 生後3週のマウスに PMS を1回だけ皮下注射し, 6 日目に卵巢および子宮を摘出し, 子宮は生のまま, 卵巢は Bouin 液で1夜固定

* 第4報は長沢佳熊, 越村栄之助, 岡崎精一: 本誌, 75, 231 (1957)

** 本報告の要は日本薬学会例会 (昭和33年3月8日) で講演した。

後, 70%エタノールで2時間脱水後秤量した結果を Table 1 に示す.

Table 1. Uterine and Ovarian Weight Increasing of dpN Mice by Serum Gonadotrophin.

Dose Organe Number of Mice	80 iu		40 iu		20 iu		10 iu		5 iu		Blank(Nil)	
	Ut. Wgt.* (mg)	Ov. Wgt.** (mg)	Ut. Wgt.* (mg)	Ov. Wgt.** (mg)	Ut. Wgt.* (mg)	Ov. Wgt.** (mg)	Ut. Wgt.* (mg)	Ov. Wgt.** (mg)	Ut. Wgt.* (mg)	Ov. Wgt.** (mg)	Ut. Wgt.* (mg)	Ov. Wgt.** (mg)
1	56.4	11.3	50.8	11.1	50.6	5.0	66.5	11.6	27.6	7.2	10.7	3.5
2	73.7	21.3	72.7	8.2	61.3	8.4	50.7	12.7	59.1	8.4	17.2	4.1
3	60.5	25.0	66.6	21.2	44.3	17.0	63.0	9.4	42.2	5.7	11.1	3.0
4	67.0	15.4	82.1	22.0	41.4	11.0	63.7	9.9	49.1	9.0	13.4	4.0
5	60.1	15.9	60.8	10.5	53.6	10.2	64.8	9.0	46.6	7.0	12.8	3.3
6	71.0	30.8	83.5	9.3	40.5	7.0	58.9	8.0	53.8	8.5	16.3	3.6
7	54.3	20.5	69.2	19.9	65.1	10.1	45.6	10.3	48.4	8.4		
8	73.2	20.5	66.0	19.4	70.8	7.5	43.7	14.5	52.9	8.0		
9	69.9	25.5	66.8	12.1	40.7	7.0	55.5	6.0	58.0	6.0		
10	73.4	23.2	67.2	20.9	51.5	10.0	56.0	10.6	53.7	9.5		
11	73.9	23.4	51.4	18.5	56.5	10.5	42.2	8.4	47.0	11.0		
12	64.4	23.9	59.3	16.8			63.2	11.8	38.3	5.9		
13	49.2	20.8	53.8	18.0			53.5	16.1	56.1	7.0		
14	70.5	22.2	77.4	8.5			51.9	11.5	46.9	7.5		
Total	917.5	299.7	987.1	234.6	576.3	103.7	779.2	149.8	732.7	115.6	81.5	21.5
Number of Animals	14	14	15	15	11	11	14	14	15	15	6	6
Mean	65.54	21.41	65.81	15.64	52.39	9.43	55.66	10.70	48.85	7.71	13.58	3.58

* Ut. Wgt..... Uterine Weight

** Ov. Wgt..... Ovarian Weight

Table 1 の 20, 40, 80 iu の 3 用量について回帰直線 (Y) を求めた (Table 2).

Table 2. Calculation of Regression Line (20~80iu) for the Data of Table 1.

	x	y	n	nx	ny	nx ²	nxy	ny ²
	1.3010	9.43	11	14.3110	103.73	18.6186	134.9527	978.1739
	1.6021	15.64	15	24.0315	234.60	38.5009	375.8527	3669.1440
	1.9031	21.41	14	26.6434	299.74	50.7051	570.4352	6417.4334
Total	4.8062	46.48	40	64.9859	638.07	107.8246	1081.2406	1064.7513
Mean				1.6246($\bar{x}$)	15.95($\bar{y}$)	105.5792	1036.6388	10178.3331
$b = 44.6018/2.2454 = 19.8636$						2.2454	44.6018	886.4182
$Y = \bar{y} + b(x - \bar{x}) = 15.95 + 19.8636(x - 1.6246)$								

分散分析を行うと Table 3 となる.

Table 3. Analysis of Variance 20~80iu for the Data of Table 1 Adjustment for Mean.....10176.10

Nature of Variation	D.F.	S. S.	M. S.	
Regression	1	885.9538		$F_0 = 0.02 < F_{37}^1 = 4.11 (5\%)$
Deviation from Regression	1	0.4162	0.4162	
Between Doses	2	886.3700		
Within Doses	37	760.07	20.54	
Total	39	1646.4400		

したがって直線性は成立する。

生後3週のSM系マウスを用いて同様に行つた成績をTable 4に示す。

Table 4. Uterine and Ovarian Weight Increasing of SM Mice by Serum Gonadotrophin.

Dose	80 iu		40 iu		20 iu		10 iu		5 iu		Blank(Nil)	
Organ	Ut.	Ov.	Ut.	Ov.	Ut.	Ov.	Ut.	Ov.	Ut.	Ov.	Ut.	Ov.
Number of Mice	Wgt.* (mg)	Wgt.** (mg)	Wgt.* (mg)	Wgt.** (mg)	Wgt.* (mg)	Wgt.** (mg)	Wgt.* (mg)	Wgt.** (mg)	Wgt.* (mg)	Wgt.** (mg)	Wgt.* (mg)	Wgt.** (mg)
1	71.2	52.6	68.9	23.9	84.9	18.9	59.7	12.1	53.3	9.3	7.4	3.0
2	77.6	35.8	64.0	28.4	65.3	20.2	74.0	25.0	60.3	10.6	22.9	4.5
3	73.8	32.0	70.2	26.9	72.4	18.4	84.2	10.4	60.8	16.3	10.5	3.6
4	66.1	36.7	68.5	35.2	79.1	7.3	70.9	16.1	64.2	11.7	12.8	3.0
5	84.0	31.2	69.1	22.5	67.2	14.6	66.7	14.8	60.0	17.5		
6	78.8	39.5	75.7	20.4	58.2	23.3	56.0	6.6	58.8	12.1		
7	53.1	33.4	79.0	27.9	57.2	13.0	48.5	17.5	59.0	17.8		
8	81.7	—	72.8	13.5	63.0	12.0	69.5	18.9	68.1	10.1		
9	76.2	38.8	72.3	18.4	69.5	10.3	61.0	15.4	54.1	13.0		
10	85.6	27.3	72.0	32.2	71.6	19.0	68.1	12.0	50.9	7.1		
11	64.5	23.5	75.7	16.2	71.3	22.7	62.8	22.0	75.5	14.7		
12	74.5	22.1	62.5	19.2	69.3	18.0	83.0	20.0	69.3	15.5		
13	85.9	31.3	73.9	21.1	66.5	27.8	60.5	15.0	60.6	8.5		
14	84.5	24.6	63.0	13.4	70.4	16.6	71.5	24.2	48.4	10.8		
15	92.7	27.5	69.5	19.7	67.0	13.0	69.7	11.9				
Total	1150.2	456.3	1057.1	331.7	1032.9	255.1	1006.1	241.9	843.3	175.0	53.6	14.1
Number of Animals	15	14	15	15	15	15	15	15	14	14	4	4
Mean	76.68	32.59	70.47	22.11	68.86	17.01	67.07	16.13	60.24	12.50	13.40	3.53

* Ut. Wgt. Uterine Weight

** Ov. Wgt. Ovarian Weight

Table 4 の 20, 40, 80 iu の 3 用量について回帰直線 (Y) を求めた (Table 5)。

Table 5. Calculation of Regression Line (20~80 iu) for the Data of Table 4.

	x	y	n	nx	ny	nx ²	nxy	ny ²
	1.3010	17.01	15	19.5150	255.15	25.3890	331.9502	4340.1015
	1.6021	22.10	15	24.0315	331.65	38.5009	531.3365	7332.7815
	1.9031	32.59	14	26.6434	456.26	50.7051	868.3084	14869.5134
Total	4.8062	71.71	44	70.1899	1043.06	114.5950	1731.5951	26542.3964
Mean				1.5952($\bar{x}$)	23.71($\bar{y}$)	111.9687	1663.9154	24726.6855
b = 67.6797 / 2.6263 = 25.7700						2.6263	67.6797	1815.7109
Y = $\bar{y}$ + b(x - $\bar{x}$) = 23.71 + 25.7700(x - 1.5952)								

分散分析を行うと Table 6 となる。

Table 6. Analysis of Variance (20~30 iu) for the Data of Table 4.

Adjustment for Mean.....24728.58

Nature of Variation	D.F.	S.S.	M.S.	
Regression	1	1744.1046		
Deviation from Regression	1	72.8254	72.8254	
Between Doses	2	1816.93		$F_0 = 1.39 < F_{41}^1 = 4.08 (5\%)$
Within Doses	41	2148.38	52.40	
Total	43	3965.31		

従つて直線性は成立する。

実験 2 PMS に対する各種マウスの卵巣および子宮重量増加 4 種類のマウスに、PMS 60 および 30 iu を与えたときの卵巣および子宮重量増加の成績を Table 7 に示す。

Table 7. Uterine and Ovarian Weight Increasing of CF1, CF1W, ddN and SM by Serum Gonadotrophin.

Strain of Mouse	CF1				CF1W			
	30 iu		60 iu		30 iu		60 iu	
	Ut. Wgt.* (mg)	Ov. Wgt.** (mg)	Ut. Wgt.* (mg)	Ov. Wgt.** (mg)	Ut. Wgt.* (mg)	Ov. Wgt.** (mg)	Ut. Wgt.* (mg)	Ov. Wgt.** (mg)
	165.5	16.5	128.6	13.9	66.6	14.4	91.9	25.0
	118.7	13.9	161.6	16.0	85.0	18.7	109.4	25.0
	89.6	9.0	144.1	12.6	115.1	20.7	124.5	18.9
	169.9	15.9	118.8	15.8	97.2	22.0	116.8	23.5
	126.4	10.2	132.6	13.8				
Total	670.1	65.5	685.7	72.1	363.9	75.8	442.6	92.4
Number of Animals	5	5	5	5	4	4	4	4
Mean	134.02	13.10	137.14	14.42	90.98	18.95	110.65	23.10

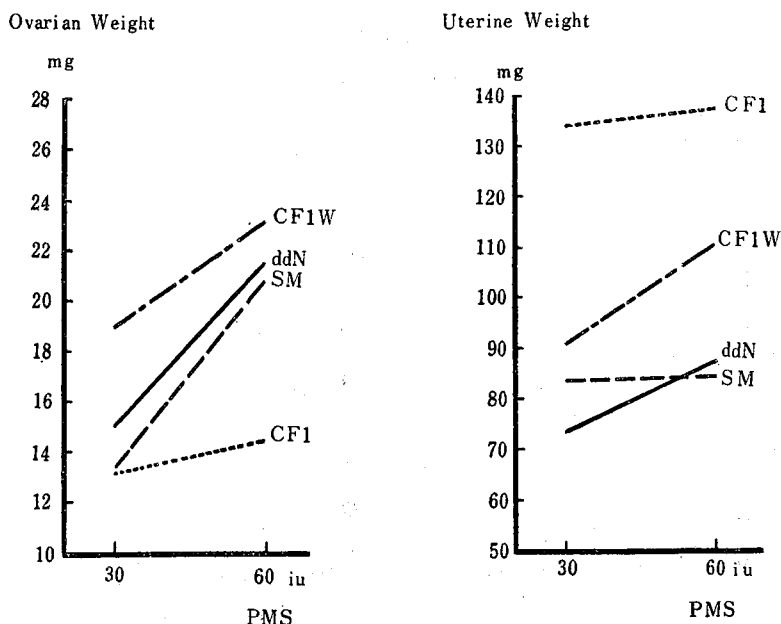
Strain of Mouse	ddN				SM			
	30 iu		60 iu		30 iu		6 iu	
	Ut. Wgt.* (mg)	Ov. Wgt.** (mg)	Ut. Wgt.* (mg)	Ov. Wgt.** (mg)	Ut. Wgt.* (mg)	Ov. Wgt.** (mg)	Ut. Wgt.* (mg)	Ov. Wgt.** (mg)
	66.0	15.3	97.7	23.9	67.9	9.2	68.6	30.5
	66.1	9.7	104.0	17.7	78.7	18.9	90.6	21.9
	98.3	12.0	73.2	25.0	109.6	17.1	107.9	21.1
	68.7	15.1	87.6	23.4	79.1	12.8	66.0	14.9
	69.0	22.4	73.6	17.5	82.2	8.6	86.4	15.4
Total	368.1	74.5	436.1	107.5	417.5	66.6	419.5	103.8
Number of Animals	5	5	5	5	5	5	5	5
Mean	73.62	14.90	87.22	21.50	83.50	13.32	83.90	20.76

* Ut. Wgt..... Uterine Weight

** Ov. Wgt.....Ovarian Weight

Table 7 をグラフに表わすと Fig. 1 となる。

Fig. 1. Dose-Response Lines of CF1, CF1W, ddN and SM Mice by Serum Gonadotrophin from Table 7.



実験3 マウスによるPMSの検定 ddN系マウスを用い, 標準品群はPMS 20 iu, 40 iu, 80 iu, 検体群は24 iu, 48 iu, 96 iuを用いて検定をおこなつた結果をTable 8に示す.

Table 8. Uterine and Ovarian Weight Increasing of ddN Mice by Serum Gonadotrophin.

Dose	Standard						Sample (Using Standard)					
	20 iu		40 iu		80 iu		24 iu		48 iu		96 iu	
	Ut. Wgt.* (mg)	Ov. Wgt.** (mg)	Ut. Wgt.* (mg)	Ov. Wgt.** (mg)	Ut. Wgt.* (mg)	Ov. Wgt.** (mg)	Ut. Wgt.* (mg)	Ov. Wgt.** (mg)	Ut. Wgt.* (mg)	Ov. Wgt.** (mg)	Ut. Wgt.* (mg)	Ov. Wgt.** (mg)
Number of Mice												
1	49.5	8.4	69.2	14.4	66.9	14.3	47.5	13.8	62.7	8.9	58.8	19.8
2	48.7	10.0	43.5	12.5	60.8	17.5	56.4	7.1	52.1	17.8	64.4	12.0
3	57.9	6.3	51.3	8.7	54.6	21.1	47.7	7.8	52.0	11.0	58.1	8.5
4	55.1	5.8	65.4	9.0	59.3	18.0	51.7	7.2	67.6	11.7	60.0	15.5
5	45.2	12.6	65.0	11.5	64.5	12.6	54.4	7.9	51.4	7.6	63.1	19.5
6	44.0	8.3	50.1	12.1	51.0	11.8	57.0	12.9	57.2	12.8	43.7	22.6
7	41.5	10.9	56.6	9.2	48.1	13.8	53.9	10.5	64.1	7.9	62.4	18.9
8	61.4	8.9	47.8	6.9	58.1	20.3	61.5	10.5	52.9	12.7	54.8	19.3
9	47.8	9.1	54.6	9.6	54.4	11.8	53.7	7.8	68.2	10.5	43.1	12.2
10	47.5	11.2	66.3	7.0	45.1	21.5	48.9	6.6	54.8	8.5	28.3	12.8
11	45.9	9.7	68.2	7.9	58.6	11.3	45.7	9.9	64.8	12.7		
12			65.4	9.8	58.9	8.2	52.9	6.3	59.7	16.9		
13					61.7	10.7	63.4	10.1	62.7	11.1		
14					56.7	13.6						
Total	544.5	101.2	703.4	118.6	798.7	204.5	694.7	118.4	770.2	150.1	536.7	161.1
Number of	11	11	12	12	14	14	13	13	13	13	10	10
Animals												
Mean	49.50	9.20	58.62	9.88	57.05	14.61	53.44	9.11	59.25	11.55	53.67	16.11

* Ut. Wgt. Uterine Weight

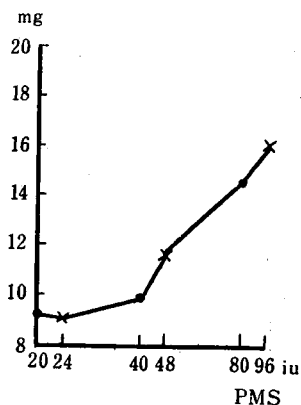
** Ov. Wgt. Ovarian Weight

Table 8 をグラフに表わすと Fig. 2 となる.

Fig. 2. Dose-Response Lines of ddN Mice by Serum Gonadotrophin from Table 9.

- Standard
- × Sample (Standard)

Ovarian Weight



Uterine Weight

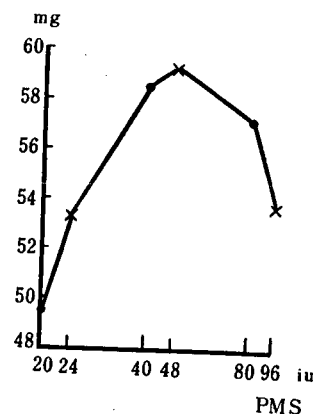


Table 8 から卵巣については40, 80 iu ; 48, 96 iu の4用量, 子宮については20, 40 iu ; 24, 48 iu の4用量で2-2用量検定を行うと Table 9 となる.

Table 9. Calculation of 2 and 2 Dose Assay of Serum Gonadotrophin by Ovarian Weight (40, 80 iu ; 48, 96 iu) and Uterine Weight Method (20, 40, iu ; 24, 48 iu) from Table 9,

	Ovarian Weight Increasing Method	Uterine Weight Increasing Method
I	0.3010	0.3010
E	4.65	7.47
F	1.59	2.29
b	15.45	24.82
M	0.1029	0.0923
R	1.267	1.236
S ₂	14.51	45.80
V=A	1.18	3.72
t ₀	0.078	0.858
B	13.02	41.06
g	0.2217	0.2709
Log F.L.E.	1.8570~2.2016	1.8395~2.2291
F. L. E. %	72.0~159	69.1~170
λ	0.247	0.273
Determined Value/Actual Value%	105.6	103.0

Symbols : See British Pharmacopoeia VII, 778 (1953)

ddN 系マウスに標準品群は PMS 60, 120, 240 iu ; 検体群は 84, 168, 336 iu を与えた成績を Table 10 に示す.

Table 10. Uterine and Ovarian Weight Increasing of ddN Mice by Serum Gonadotrophin.

Dose	Standard						Sample (Using Standard)					
	60 iu		120 iu		240 iu		84 iu		168 iu		336 iu	
	Ut. Wgt.* (mg)	Ov. Wgt.** (mg)	Ut. Wgt.* (mg)	Ov. Wgt.** (mg)	Ut. Wgt.* (mg)	Ov. Wgt.** (mg)	Ut. Wgt.* (mg)	Ov. Wgt.** (mg)	Ut. Wgt.* (mg)	Ov. Wgt.** (mg)	Ut. Wgt.* (mg)	Ov. Wgt.** (mg)
Number of Mice												
1	66.2	15.0	56.0	22.7	68.3	35.6	59.8	15.0	74.0	17.4	54.5	23.8
2	64.1	15.9	64.8	16.2	64.3	17.6	57.8	11.2	71.8	17.0	52.5	36.2
3	73.8	18.8	73.4	13.2	61.5	24.8	65.4	10.7	66.0	18.6	61.8	15.1
4	66.8	15.5	68.3	13.5	64.8	30.2	59.8	16.8	76.9	18.6	67.5	15.5
5	51.7	16.4	74.7	19.0	64.4	23.3	52.4	14.3	71.8	25.1	57.4	19.3
6	54.9	13.2	61.1	15.4	67.2	19.4	71.9	11.7	76.1	18.1	50.9	26.5
7	56.0	15.9	78.8	12.2	68.3	27.2	59.5	17.5	65.4	13.2	58.1	23.2
8	64.1	9.5	65.8	24.9	61.8	15.1	50.9	17.4	65.5	19.8	67.9	14.4
9	60.7	18.6	62.0	14.9	77.0	28.8	64.9	14.2	67.1	12.4	51.5	30.8
10	58.2	14.3	59.2	13.6	77.1	14.3	59.9	17.3	63.4	19.0	59.0	12.8
11	61.3	14.9	68.7	23.7	67.4	13.5	61.4	16.4	62.0	23.7	60.9	33.4
12	56.5	12.5	69.6	15.1	68.2	22.1	61.6	13.6	58.8	22.0	59.4	24.8
13	68.4	14.4	57.9	9.2	67.3	13.2			68.7	17.0	57.5	23.0
14	51.5	11.2	62.7	18.5	62.9	21.7			57.0	15.0		
Total	854.2	204.3	923.0	232.1	940.5	306.8	725.3	176.1	944.5	256.9	758.9	298.8
Number of Animals	14	14	14	14	14	14	12	12	14	14	13	13
Mean	61.10	14.59	65.93	16.58	67.18	21.91	60.44	14.68	67.46	18.35	58.38	22.98

* Ut. Wgt. Uterine Weight ** Ov. Wgt. Ovarian Weight

Table 10 をグラフに表わすと Fig. 3 となる。

Fig. 3. Dose-Response Lines of ddN Mice by Serum Gonadotrophin from Table 10.

- Standard
- × Sample (Standard)

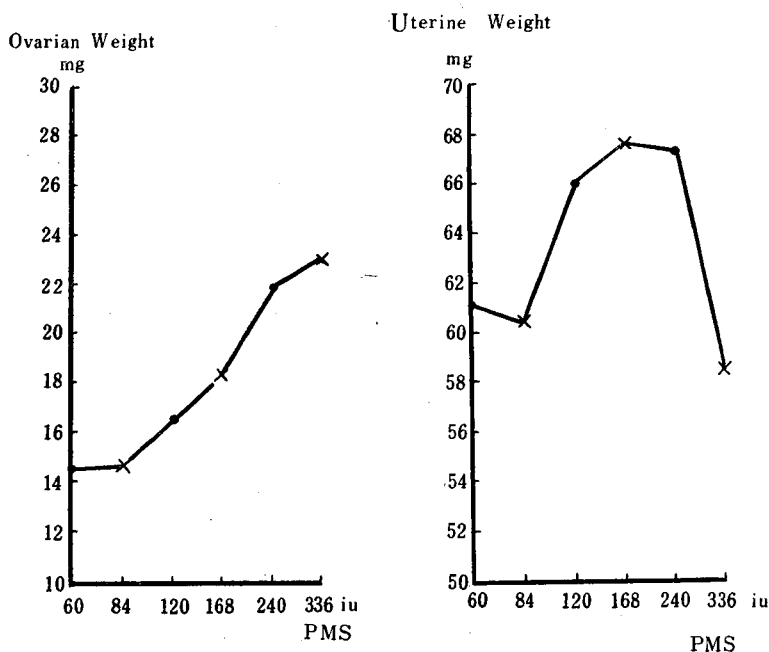


Table 10 について 2-2 用量検定を行うと Table 11 となる.

Table 11. Calculation of 2 and 2 Dose Assay of Serum Gonadotrophin by Ovarian Weight Method from Table 10.

Assay Doses	Ovarian Weight Increasing Mthod	
	Standard : 120, 240iu Sample : 84, 168iu	Standard : 120, 240iu Sample : 168, 336iu
I	0.3010	0.3010
E	4.50	4.98
F	-2.73	1.42
b	14.95	16.54
M	-0.1826	0.0859
R	0.6568	1.218
S ²	22.61	33.97
V=A	1.67	2.46
t ₀	0.643	0.223
B	18.43	27.15
g	0.3335	0.4013
Log F.L.E.	1.6434~2.1738	1.7948~2.3204
F. L. E. %	44.0~149	62.4~209
λ	0.318	0.352
Determined Value/Actual Value%	92.0	87.1

Symbols : See British Pharmacopoeia VIII, 778 (1953)

SM系マウスを用い, 標準品群はPMS 20, 40, 80 iu, 検体群は28, 56, 112 iuを用いて検定した結果をTable12に示す.

Table 12. Uterine and Ovarian Weight Increasing of SM Mice by Serum Gonadotrophin.

Dose	Standard						Sample (Using Standard)					
	20 iu		40 iu		80 iu		28 iu		56 iu		112 iu	
	Ut. Wgt.* (mg)	Ov. Wgt.** (mg)	Ut. Wgt.* (mg)	Ov. Wgt.** (mg)	Ut. Wgt.* (mg)	Ov. Wgt.** (mg)	Ut. Wgt.* (mg)	Ov. Wgt.** (mg)	Ut. Wgt.* (mg)	Ov. Wgt.** (mg)	Ut. Wgt.* (mg)	Ov. Wgt.** (mg)
Number of mice												
1	55.2	14.1	72.9	—	69.2	17.4	62.1	14.1	66.1	16.2	64.6	21.8
2	65.6	9.4	51.3	12.0	57.7	11.0	70.3	12.6	56.2	12.1	71.1	16.7
3	61.9	15.6	57.5	9.0	73.6	12.2	58.4	11.6	53.3	13.5	81.4	18.1
4	51.8	13.0	52.9	12.5	80.1	18.6	55.8	11.8	63.4	24.1	60.9	20.2
5	60.1	10.4	51.4	6.2	74.4	18.4	53.3	10.0	56.5	13.3	62.4	18.8
6	49.6	9.5	53.0	17.7	61.6	14.8	56.3	8.8	70.3	13.0	58.4	8.5
7	59.5	17.9	70.2	9.9	68.1	20.0	64.4	13.5	60.6	22.8	71.3	19.5
8	60.3	11.0	77.5	11.3	78.8	15.8	61.5	14.7	58.9	25.4	74.0	20.5
9	53.4	8.2	70.6	11.7	57.8	10.6	60.7	11.4	56.0	10.7	60.4	13.2
10			47.6	13.5	78.3	17.9			63.4	18.3	75.2	13.8
11			42.1	11.1	54.9	—			58.6	12.7	77.7	15.9
12			64.3	11.6	71.3	13.8			48.5	17.8	64.6	11.5
13			64.4	8.5	79.8	18.8					75.4	18.7
14			53.8	10.2	66.0	19.6					70.9	9.8
15			64.5	7.4	59.9	15.3						
Total	517.4	109.1	894.0	152.6	103.15	224.2	542.8	108.5	711.8	189.9	968.3	227.0
Number of Animals	9	9	15	14	15	14	9	9	12	12	14	14
Mean	57.49	12.12	59.60	10.90	68.77	16.01	60.31	12.06	59.32	15.83	69.16	16.21

* Ut. Wgt. Uterine Weight

** Ov. Wgt. Ovarian Weight

Table 12 をグラフに表わすと Fig. 4 となる.

Fig. 4. Dose-Response Lines of SM Mice by Serum Gonadotrophin from Table 12

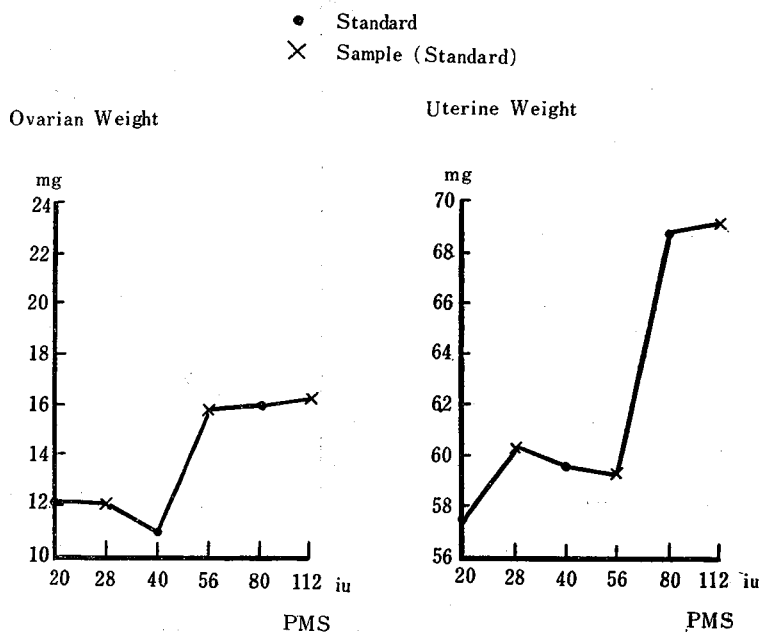


Table 12 からは卵巣法, 子宮法ともに2-2用量検定はできない.

考 察

マウスの卵巣法および子宮法と白鼠の卵巣法とを比較すると Table 13 に要約される.

Table 13. Comparison of Uterine and Ovarian Method of ddN Mice and Non-Inbred Rats.

Animal	Mouse		Rat***	
Strain	ddN		non-Inbred	
Assay Method	Ut.*	Ov.**	Ov.**	Ov.**
Sample	PMS+	PMS+	PMS+	CG++
s	6.768	4.797		
b	24.82	15.65	38.37~64.98	28.84~62.49
λ	0.273	0.306	0.215	0.179

* Ut..... Uterine Weight Increasing Method

** Ov.....Ovarian Weight Increasing Method

*** Rat.....Eisei Shikenjō Hōkoku, 75,221, 231 (1957)

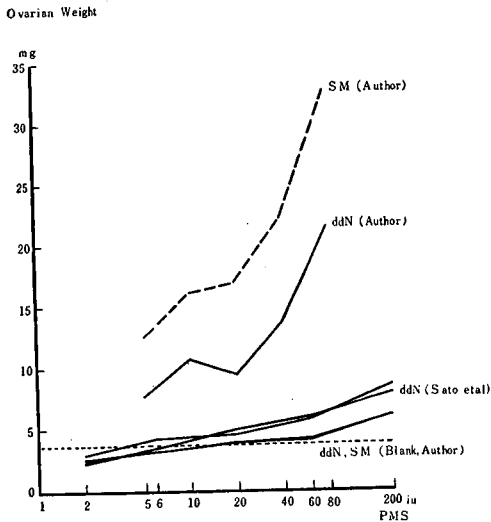
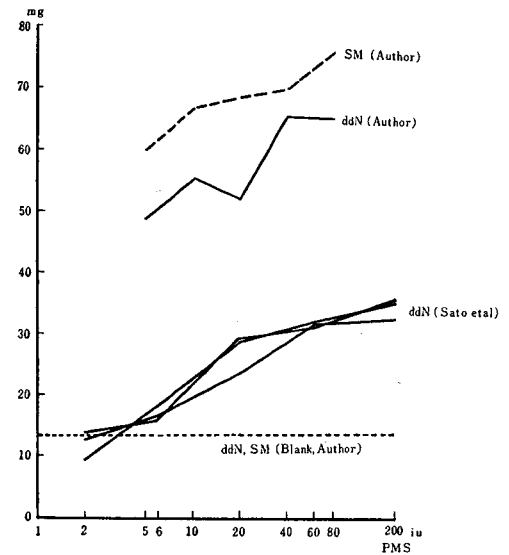
+ PMS...Serum Gonadotrophin

++ CG.....Chorionic Gonadotrophin

白鼠の方が結果がよい.

Table 1 および Table 4 の成績を佐藤らの報告と比較すると卵巣重量増加については Fig. 5, 子宮重量増加については Fig. 6 となり, 卵巣, 子宮ともに重量増加および用量反応線の傾斜が大きい.

Fig. 5. Dose-Response Lines of ddN Mice and SM Mice from Table 1, 4 and Sato et al

Fig. 6. Dose-Response Lines of ddN Mice and SM Mice from Table 1, 4 and Sato et al¹¹⁾

佐藤らの用いた検体の力価が表示国際単位数より小さいか、動物の飼育条件の差などが原因と想像される。

結 論

マウス卵巣法によつてPMSの検定は可能であるが、白鼠卵巣法よりも多量の検体を必要とする。用量反応線の傾斜は白鼠にくらべてかなり小さく、 λ は白鼠より大きい。

本研究費の1部は各種系統マウスの生理的特徴に関する文部省科学研究費(班長安東洪次博士)によつたことを記し、謝意を表する。

文 献

- 1) British Pharmacopoeia, VIII, 814 (1953).
- 2) *ibid.*, 815 (1953).
- 3) Pharmacopoeia Internationalis, 261 (1955).
- 4) *ibid.*, 263 (1955).
- 5) 第2改正国民医薬品集, 231 (1955).
- 6) 同, 232 (1955).
- 7) Sealy, J. L. and Sondern, C. W.: *Endocrinology*, 26, 813 (1940).
- 8) Diczfalusy, E. and Loraine, J. A.: *J. Clin. Endocrinol. and Metabolism*, 15, 424 (1955).
- 9) 長沢佳熊, 越村栄之助, 岡崎精一: 本誌, 75, 221 (1957).
- 10) 長沢佳熊, 越村栄之助, 岡崎精一: 本誌, 75, 231 (1957).
- 11) 佐藤武雄, 末広雅也, 本所正夫: 厚生科学研究報告, その3, 53 (昭和29年度).
- 12) 長沢佳熊, 越村栄之助, 岡崎精一: 同, その3, 45 (昭和29年度); 本誌, 73, 25 (1955).
- 13) Delfs, E.: *Endocrinol*, 28, 196 (1941).
- 14) Dorfman, R. I. and Rubin, B. L.: *ibid.*, 41, 456 (1947).
- 15) British Pharmacopoeia, IX, 933 (1958).

Summary

The ovarian weight increasing method of mice is useful for the assay of serum gonadotrophin. It requires larger amount of the sample than rat ovarian method. The slope of the dose-response line is smaller and λ is larger compared with those in the case of the rat ovarian method.

Received May 31, 1958.

性腺刺激ホルモンの研究 (第6報) *

血清性性腺刺激ホルモン日局標準品の製造およびその検定

長 沢 佳 熊, 越 村 栄 之 助

Studies on Gonadotrophic Hormones VI

On the Preparation and the Assay of the Serum Gonadotrophin
Standard of the Japanese Pharmacopoeia

Kakuma NAGASAWA and Einosuke KOSHIMURA

緒 言

著者らは我が国の在来種の雑系白鼠を用いた血清性性腺刺激ホルモンの幼若白鼠卵巣重量増加法¹⁻³⁾による検定について第2報⁴⁾および第4報⁵⁾に報告した。佐藤ら⁶⁾はウイスタ系白鼠はこの目的には不適当であるというが、著者は佐藤らの報告を追試し、充分使用できることを確めたので、日局標準品 (1957) の検定をウイスタ系白鼠を用いておこなったのでその結果を報告する。

血清性性腺刺激ホルモンの市販品 (Sawyer 社, London) を購入し、その力価を検定し (実験1参照), 1 mg = 4 国際単位 (以下 iu と略す) になるように計算量の乾燥乳糖でうすめ、デシケーター (五酸化リン) 中で恒量になるまで減圧乾燥した。本品について3回の検定結果に重み⁷⁾を加えて平均した力価は 1 mg = 4.4i u で、これを日局標準品 (1957) の力価とした (実験2参照)。第2⁴⁾、4報⁵⁾の雑系白鼠を用いた検定と比較すると、λ, 信頼限界ともに差はないかむしろ小さい。

実 験 の 部

実験1 日局標準品原料の検定 日局標準品原料 20, 10 γ および国際標準品 20, 10 iu を与えたときの卵巣重量 (mg) 増加を Table 1 に示す。

Table 1. Ovarian Weight Increasing of Wister Rats by Serum Gonadotrophin Standard* and Sample**.

Dose	Standard*		Sample**	
	20 iu	10 iu	20 γ	10 γ
Ovarian Weight (mg)	33.9	39.1	48.4	18.2
	73.0	26.5	24.7	18.6
	39.5	20.5	33.5	14.2
	47.0	16.6	22.3	17.6
	24.9	27.6	48.0	30.4
	66.9	32.0	36.0	15.6
	33.0	30.6	46.3	41.3
	45.5	32.6	33.8	46.4
	24.6	15.9	46.6	18.8
	40.0	20.9	35.4	34.5
	60.5	25.6	81.5	15.7
	53.8	26.8	40.6	33.8
	61.9	15.3	53.5	69.0

* 第5報は長沢佳熊, 越村栄之助: 本誌, 76, 225(1958)

Dose	Standard*		Sample**	
	20 iu	10 iu	20 γ	10 γ
Ovarian Weight (mg)	48.1	27.0	27.5	26.6
	33.6	13.5	34.6	43.0
Total	686.2	370.5	612.9	443.7
Number of Animals	15	15	15	15
Mean	45.75	24.70	40.86	29.58

*Standard.....International Standard

**Sample.....Serum Gonadotrophin Material for Japanese Pharmacopoeia Standard

日局標準品原料 1 mg=1 000 iu となる. その計算は Table 2 に示す.

Table 2. Calculation of 2 and 2 Dose Assay of Serum Gonadotrophin by Ovarian Weight Method for the Data of Table 1.

I	0.3010	R	0.9995	t_0	1.404
E	16.17	s^2	182.15	Log F.L.E.	1.8559~2.1441
F	-0.01	V=A	12.14	F.L.E. %	71.8~139
b	53.72	B	133.99	λ	0.251
M	-0.0002	g	0.1865		

Symbols : See British Pharmacopoeia VIII, 778 (1953)

実験2 日局標準品の製造および検定 日局標準品原料 321.5 mg (321500 iu) をとり, 1 mg = 4 iu になるように計算量の乾燥乳糖を加えてうすめ, デシケータ (五酸化リン) 中で恒量になるまで減圧乾燥する. 本品の力価は 4.0 iu/mg と予想される. 本品について検定を行った成績を Table 3~5 に示す.

Table 3. Ovarian Weight Increasing of Wister Rats by Standard* and NSt**.

Dose	Standard*		NSt**	
	20 iu	10 iu	5.0 mg	2.5 mg
Ovarian Weight (mg)	64.5	9.2	50.8	33.5
	42.5	36.5	55.7	11.7
	47.1	14.1	53.5	33.4
	32.2	42.2	25.1	32.6
	85.5	14.2	53.5	32.0
	45.6	13.4	52.1	19.6
	66.0	14.6	64.5	18.3
	62.7	29.0	69.6	17.2
	22.8	10.5	70.7	22.3
	38.1	26.1	78.0	32.1
	64.6	18.4	91.6	22.0
	29.1	23.0	38.8	32.0
	50.5	37.5	37.5	32.4
	48.6	11.0	38.3	40.0
	69.2	21.6	70.5	—
Total	769.0	321.3	850.2	379.1
Number of Animals	15	15	15	14
Mean	51.27	21.42	56.68	27.08

*Standard.....International Standard

**NSt.....Japanese Pharmacopoeia Standard

Table 4. Ovarian Weight Increasing of Wister Rats by Standard* and Nst**.

Dose	Standard*		NSt**	
	20 iu	10 iu	5.0 mg	2.5 mg
Ovarian Weight (mg)	42.7	24.7	52.6	29.8
	13.8	17.2	62.6	36.5
	54.7	36.7	32.2	27.7
	47.0	10.3	26.4	20.5
	34.9	22.6	29.9	19.4
	39.4	7.6	37.8	19.0
	13.5	25.0	52.6	16.8
	26.1	17.3	49.1	9.2
	40.5	43.2	30.4	18.1
	49.9	10.5	46.8	44.4
	29.6	9.5	40.6	11.0
	21.0	28.0	48.4	9.3
	41.7	22.0	12.1	24.9
	17.3	31.1	43.5	18.0
	—	24.8	56.3	24.6
Total	472.1	330.5	621.3	329.2
Number of Animals	14	15	15	15
Mean	33.72	22.03	41.42	21.95

* Standard.....International Standard

** NStJapanese Pharmacopoeia Standard

Table 5. Ovarian Weight Increasing of Wister Rast by Standard* and NSt**.

Dose	Standard*		NSt**	
	20 iu	10 iu	5.0 mg	2.5 mg
Ovarian Weight (mg)	68.0	29.8	44.7	36.9
	66.6	23.0	58.0	29.5
	83.5	31.0	21.9	44.1
	73.0	51.6	88.6	22.1
	36.3	28.0	81.3	32.9
	54.4	56.0	49.0	58.5
	56.1	12.5	57.8	34.0
	61.9	44.0	43.6	35.4
	69.2	8.4	87.8	30.6
	61.9	26.8	70.6	27.9
	74.5	40.5	59.6	62.6
	70.5	34.6	71.0	25.8
	50.2	27.2	84.7	18.6
	59.5	43.5	88.6	32.6
	63.9	36.2	83.4	35.3
Total	949.5	493.1	990.6	526.8
Number of Animals	15	15	15	15
Mean	63.30	32.87	66.04	35.12

* Standard.....International Standard

** NStJapanese Pharmacopoeia Standard

Table 3～5から計算を行うと Table 6 となる.

Table 6. Calculation of 2 and 2 Dose Assay Serum Gonadotrophin by Ovarian Weight of Method for the Data of Table 3～6.

	Table 3	Table 4	Table 5
I	0.3010	0.3010	0.3010
E	29.73	15.58	30.68
F	5.54	3.81	2.50
b	98.77	51.76	101.93
M	0.0561	0.0736	0.245
R	1.138	1.187	1.058
S ²	200.99	139.33	214.86
V=A	13.58	9.41	14.32
B	149.89	103.86	158.06
g	0.0618	0.1558	0.0611
t	0.034	1.267	0.065
Log F.L.E.	1.9251～2.0823	1.8798～2.1474	1.9246～2.0786
F.L.E. %	84.2～121	75.8～140	84.1～120
λ	0.144	0.228	0.144

Symbols : See British Pharmacopoeia VIII, 778 (1953)

Table 6 から重みを加えた平均値 $\bar{R}=4.4$ iu となる. その計算は Table 7 に示す.

Table 7. Calculation of Weighted Mean for the Data of Table 6.

	Table 3	Table 4	Table 5	Total
M	0.0561	0.0736	0.0245	
M ²	0.0031	0.0054	0.0006	
t	2.005	2.005	2.004	
t ²	4.020	4.020	4.016	
$L = \{t\sqrt{A(1-g) + BM^2/b(1-g)}\} \times 2$	0.1572	0.2676	0.1540	
L ²	0.0247	0.0716	0.0237	
$W = 4t^2/L^2$	651.01	224.58	677.81	1553.40
WM ²	2.0181	1.2127	0.4067	3.6375
WM	36.5217	16.5291	16.6063	69.6571

$$\bar{M} = \sum(WM) / \sum W = 69.6571 / 1553.40 = 0.0448$$

$$\bar{R} = 1.109$$

$$\text{Approximate } \chi_0^2 = \sum(WM^2) - \sum^2(WM) / \sum W = 3.6375 - (69.6571)^2 / 1553.40$$

$$= 3.6375 - 4852.1116 / 1553.40 = 3.6375 - 3.1235$$

$$= 0.5140 < \chi^2 = 5.99 (\text{d.f.} = 2, p = 0.05)$$

$$2.5 \text{ mg} = 10 \times 1.109 \text{ iu} = 11.09 \text{ iu}, 1 \text{ mg} = 11.09 \text{ iu} / 2.5 = 4.436 \text{ iu} \approx 4.4 \text{ iu}$$

結 論

血清性腺刺激ホルモンの検定にウイスタ系幼若白鼠を用い, 2-2 用量検定を行った結果は雑系白鼠を用いた検定と比較すると, λ , 信頼限界とともに差はないか, むしろ小さい.

日局標準品 (1957) の力価は3回の検定を行い, 重みを加えて平均すると $1 \text{ mg} = 4.4 \text{ iu}$ (国際単位) である.

文 献

- 1) British Pharmacopoeia, VIII, 815 (1953).

- 2) Pharmacopoeia Internationalis, 263 (1955).
- 3) 第2改正国民医薬品集, 231 (1955).
- 4) 長沢佳熊, 越村栄之助, 岡崎精一: 本誌 73, 25(1955); 厚生科学研究報告, その3, 45 (昭和29年度).
- 5) 長沢佳熊, 越村栄之助, 岡崎精一: 本誌 75, 231 (1957).
- 6) 佐藤武雄, 末広雅也, 木所正夫: 厚生科学研究報告, その3, 53 (昭和29年度).

Summary

The Japanese Pharmacopoeia Standard (1957) of Serum Gonadotrophin was prepared in the following way: Some serum gonadotrophin preparation having the potency of 1000 iu. per mg was mixed with lactose, dried under vacuum over phosphorus pentoxide, and assayed by the ovarian weight increasing method of wister rat using the International Standard. The weighted mean of the potency of the resulted preparation, which was later accepted by our laboratories as the Serum Gonadotrophin of the Japanese Pharmacopoeia Standard, was found 4.4 unit per mg. Wister rats gave almost the same values of λ and fiducial limits of error and smaller values compared with those obtained by non-inbred rats.

Received May 31, 1958.

性腺刺激ホルモンの研究 (第7報)

胎盤性性腺刺激ホルモン日局標準品の製造およびその検定

長 沢 佳 熊, 越 村 栄 之 助

Studies on Gonadotrophic Hormones VII

On the Preparation and the Assay of the Chorionic Gonadotrophin
Standard of the Japanese Pharmacopoeia

Kakuma NAGASAWA and Einosuke KOSHIMURA

緒 言

胎盤性性腺刺激ホルモン日局標準品(1956)の製造およびわが国の在来種の雑系白鼠を用いた卵巣法¹⁻³⁾による検定を第3報⁴⁾で報告したが、今回はウイスタ系白鼠を用いて日局標準品(1957)の検定をおこなった結果を報告する。

胎盤性性腺刺激ホルモンは妊婦尿から Gurin ら⁵⁾の方法で抽出し、粗製品を水性アルコールで抽出し、アルコールで沈澱させて精製し、製品とした(実験1 参照)。検定の諸操作は第3報の雑系白鼠を用いる検定と全く等しくした。検定に適当な用量および用量反応線の成立する範囲を知る目的で製品 10~80 γ (4.24~33.92単位に相当する)を生後4週のウイスタ系白鼠に与えた結果、この用量範囲では直線性が成立したので、中間の8および16単位(以下iuと略す)をそれぞれ低用量、高用量と定めた(実験2 参照)。製品の力価を検定した結果(実験2 参照)から1 mg = 10 iu になるように計算量の乾燥乳糖でうすめ、デシケーター(五酸化リン)中で恒量になるまで減圧乾燥した。本品について3回の検定結果を重み⁶⁾を加えて平均した力価は1 mg = 7.7 iu で、これを日局標準品(1957)の力価とした(実験3, 4 参照)。第3報⁴⁾の雑系白鼠を用いた検定と比較すると、信頼限界ともに差はないかむしろ小さい。

実 験 の 部

実験1 妊婦尿から胎盤性性腺刺激ホルモンの抽出 妊娠約3カ月の尿を朝集めそのまま実験室へ持参し、排泄後約4時間後に安息香酸吸着法でホルモンを抽出し、得た粗製品をさらに精製する。その方法はTable 1に示す。

Table 1 Extraction and Purification Method of Chorionic Gonadotrophin from Pregnant Urine.

Pregnant Urine (7l)	
	Adjust pH to 3.5 with acetic acid, filter
Filtrate	
	Add 500 cc of benzoic acid saturated acetone with agitation, filter after standing one night in an ice chamber
Precipitate	
	Wash with benzoic acid saturated ice water
Precipitate	
	Wash with acetone, centrifuge
Precipitate	
	Dry under vacuum
Dried Powder	
	Extract with 50% alcohol, three times
Supernatant	
	Add 4 vol. of absolute alcohol, centrifuge after standing one night in an ice chamber

Precipitate

Wash with acetone and ether, dry under vacuum

Dried Powder (0.5 g)

実験2 日局標準品原料の検定および卵巣重量増加の用量-反応線 胎盤性性腺刺激ホルモン国際標準品（以下標準品と略す）16, 8 iu, および製品 80, 40, 20, 10 γ を与えたときの増加した卵巣重量を Table 2 に示す。

Table 2. Ovarian Weight Increasing of Wister Rats by Chorionic Gonadotrophin Standard* and Sample**.

Dose	Standard*		Sample**			
	16 iu	8 iu	80 γ	40 γ	20 γ	10 γ
Ovarian Weight (mg)	24.8	12.7	28.9	20.5	18.8	12.8
	20.2	17.1	26.9	24.3	17.0	15.0
	21.6	16.0	42.6	31.5	22.0	5.5
	20.4	18.2	30.2	24.5	18.3	14.9
	24.0	19.5	28.3	18.6	18.2	15.8
	30.5	18.5	26.1	23.4	23.3	14.2
	27.4	20.9	35.0	21.7	18.1	13.5
	15.7	16.4	32.2	23.3	19.4	12.1
	27.7	20.5	43.2	21.0	16.2	13.3
		16.5	29.2		17.5	12.0
Total	212.3	176.3	322.6	208.8	188.8	129.1
Number of Animals (n)	9	10	10	9	10	10
Mean (m)	23.59	17.63	32.26	23.20	18.88	12.91

* Standard International Standard

** Sample Chorionic Gonadotrophin Material for Japanese Pharmacopoeia Standard

標準品 16, 8 iu に最も近い反応を示す, 検体 40, 20 γ の 4 用量を用いて 2-2 用量検定をおこなうと Table 3 となる。

Table 3. Calculation of 2 and 2 Dose Assay of Chorionic Gonadotrophin by Ovarian Weight Method from Table 2 (Standard* 16, 8, iu; Sample** 40, 20 γ)

I	0.3010	R	1.060	t_0	0.719
E	5.14	S ²	10.98	Log F.L.E.	1.8633~2.1479
F	0.43	V=A	1.16	F.L.E.(%)	73.0~141
b	17.08	B	12.80	λ	0.194
M	0.0252	g	0.1815		

Symbols : See British Pharmacopoeia VIII, 778 (1953)

日局標準品原料の力価は 40 γ = 16 $\times$ 1.060 iu = 16.96 iu, 1 mg = 424 iu である。したがって 10 γ = 4.24, 20 γ = 8.48, 40 γ = 16.96, 80 γ = 33.92 iu となる。

Table 2 の Sample (日局標準品原料) 10~80 γ (4.24~33.92 iu) の 4 用量について回帰直線 (Y) を求めると Table 4 となる。

Table 4. Calculation of Regression Line of Sample from Table 2.

x	y	n	nx	ny	nx ²	nxy	ny ²
+ 3	32.26	10	30	322.60	90	967.80	10407.08
+ 1	23.20	9	9	208.80	9	208.80	4844.16
- 1	18.88	10	-10	188.80	10	-188.80	3564.54
- 3	12.91	10	-30	129.10	90	-387.30	1666.68
Total	0	39	-1	849.30	199	600.50	26482.46

	x	y	n	nx	ny	nx ²	nxy	ny ²
Mean				-0.03 ($\bar{x}$)	21.78 ($\bar{y}$)	0.03	-21.78	18495.14
						198.97	622.28	1987.32

$$b = 622.28/198.97 = 3.13$$

$$Y = \bar{y} + b(x - \bar{x}) = 3.13x + 21.87$$

その分散分析は Table 5 となる.

Table 5 Analysis of Variance of Sample (10~80 γ , 4.24~33.92iu) from Table 2

Adjustment for Mean.....18495.14				
Nature of Variation	D.F.	S. S.	M.S.	
Regression	1	1946.18	20.57	$F_0 = 0.83 < F_{35}^2 = 3.28(5\%)$
Deviation from Regression	2	41.14		
Between Doses	3	1987.32	24.79	
Within Doses	35	867.57		
Total	38	2854.89		

したがって 4.24~33.92 iu の範囲では直線性は成立する.

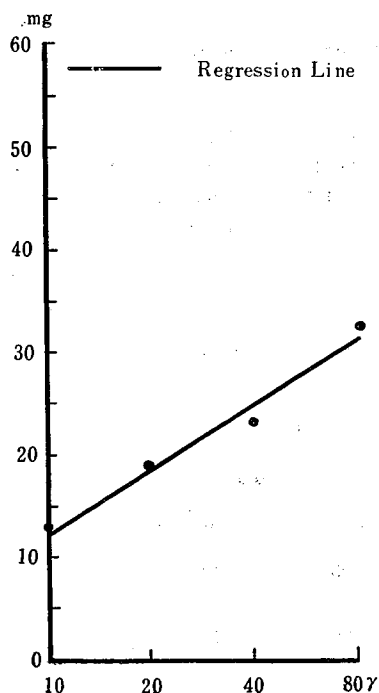
Table 2 の Sample (日局標準品) 10~80 γ におけるグラフは Fig. 1 となる.

Fig. 1 Dose (γ)-Response (Ovarian Weight)

Line of Sample (Chorionic Gonadotrophin

Material of Japanese Pharmacopoeia Standard).

Ovarian Weight



実験3 日局標準品の製造および予試験 日局標準品原料 521 mg (220 904 iu) をとり, 1 mg=10 iu になるように計算量の乾燥乳糖を加えてうすめ, デシケーター (五酸化リン) 中で恒量になるまで減圧乾燥する. 本品の力価は 220 904 iu/22.0904 g=10 iu/mg と予想される. 本品について検定をおこなった成績を Table 6 に示す.

Table 6 Ovarian Weight Increasing of Wister Rats by Standard* and NSt**

Dose	Standard*		NSt**	
	16 iu	8 iu	1.6 mg	0.8 mg
Ovarian Weight (mg)	24.3	15.4	21.5	15.0
	26.0	18.5	25.2	15.5
	27.6	24.1	29.4	12.0
	30.4	19.4	23.7	12.7
	30.9	24.5	24.0	18.0
	22.5	18.4	20.9	16.9
	21.3	21.2	29.3	12.9
	25.1	17.9	29.5	10.4
	33.2	11.0	23.3	15.5
	29.9	12.5	22.4	17.5
	16.9	14.5	28.3	18.7
	23.7	18.0	20.0	14.7
	33.8	11.4	20.7	13.2
	18.5	18.4	25.4	11.1
	22.5	8.9		
Total	386.6	254.1	343.6	204.1
Number of Animals	15	15	14	14
Mean	25.77	16.94	24.54	14.58

* Standard.....International Standard

** NstJapanese Pharmacopoeia Standard

Tble 6 から計算した結果, 日局標準品の力価 $R=8.759$ iu/mg (信頼限界, 84.0~117%) となる. 計算の結果を Table 7 に示す.

Table 7. Calculation of 2 and 2 Dose Assay of Chorionic Gonadotrophin by Ovarian Weight Method from Table 6

I	0.3010	R	0.8759	t_0	0.523
E	9.40	s^2	16.81	LogF.L.E.	1.9244~2.0692
F	-1.80	A=V	1.16	F.L.E.%	84.0~117
b	31.23	B	12.80	λ	0.131
M	-0.0576	g	0.0528		

Symbols : See British Phapmacopoeia VIII, 778 (1953)

実験4 日局標準品の検定 予試験の結果から日局標準品の用量を補正して3回検定をおこなった結果をTable 8~10 に示す.

Table 8 Ovarian Weight Increasing of Wister Rats by Standard* and NSt**.

Dose	Standard*		NSt**	
	16 iu	8 iu	1.88 mg	0.94 mg
Ovarian Weight (mg)	28.0	15.3	25.3	14.8
	29.6	16.7	15.4	16.6
	30.4	13.4	26.4	17.9
	22.0	17.7	13.3	13.5
	21.2	16.3	35.5	14.8

Dose	Standard*		NSt**	
	16 iu	8 iu	1.88 mg	0.94 mg
Ovarian weight (mg)	29.1	24.8	23.4	13.7
	20.4	15.4	24.7	17.7
	20.5	23.4	41.0	14.7
	19.3	12.7	26.1	17.1
	22.3	22.9	27.9	15.5
	23.9	16.1	17.5	15.3
	19.5	11.8	21.0	17.6
	29.1	20.3	22.6	12.4
	14.6	15.5	20.5	11.8
	22.3	12.1	20.1	14.9
Total	352.2	254.4	360.7	228.3
Number of Animals	15	15	15	15
Mean	23.48	16.96	24.05	15.22

* Standard.....International Standard

** NStJapanese Pharmacopoeia Standard

Table 9. Ovarian Weight Increasing of Wister Rats by Standard* and NSt**

Dose	Standard*		NSt**	
	16 iu	8 iu	1.88 mg	0.94 mg
Ovarian Weight (mg)	23.6	22.6	34.6	16.5
	21.6	23.5	32.0	13.4
	23.3	23.4	25.6	29.5
	34.8	25.0	29.5	17.8
	33.3	21.7	27.2	24.5
	34.1	17.2	31.6	30.1
	36.0	18.4	40.9	19.8
	39.4	20.0	34.1	12.5
	48.9	19.2	27.4	24.1
	35.6	15.0	26.1	26.5
	27.5	19.7	38.1	24.0
	36.8	20.0	27.5	18.7
	31.6	22.0	20.8	22.0
	34.3	17.0	32.0	17.6
	36.4	32.9	38.7	19.7
Total	497.2	317.6	466.1	316.7
Number of Animals	15	15	15	15
Mean	33.15	27.17	31.07	21.11

* Standard.....International Standard

** NStJapanese Pharmacopoeia Standard

Table 10. Ovarian Weight Increasing of Wister Rats by Standard* and NSt**

Dose	Standard*		NSt**	
	16 iu	8 iu	1.88 mg	0.94 mg
Ovarian Weight (mg)	38.5	27.4	35.1	16.0
	33.1	17.1	39.7	25.2
	24.5	24.2	25.1	34.0
	29.4	16.5	21.2	21.5
	40.0	20.0	45.5	20.5
	34.7	14.8	29.5	16.0
	40.8	18.0	15.8	19.8
	30.0	20.0	34.1	26.4
	34.6	30.0	28.2	27.3
	36.5	26.3	25.2	20.5
	34.4	22.3	32.2	16.0
	33.8	18.5	23.3	22.4
	43.8	23.2	24.7	22.1
	27.3	27.0	32.7	14.4
	37.3	19.0	26.6	15.3
Total	518.7	324.3	438.2	317.4
Number of Animals	15	15	15	15
Mean	34.58	21.62	29.21	21.16

* Standard.....International Standard

** NStJapanese Pharmacopoeia Standard

Table 8~10 から計算をおこなうと Table 11となる.

Table 11 Calculation of 2 and 2 Dose Assay of Chorionic Gonadotrophin by Ovarian Weight Method from Table 8~10

	Table 8	Table 9	Table 10
I	0.3010	0.3010	0.3010
E	7.68	10.97	10.51
F	-0.59	-1.07	-2.92
b	25.51	36.45	34.92
M	-0.0231	-0.0193	-0.0836
R	0.9483	0.9565	0.8249
S ²	23.53	31.58	34.37
A = V	1.57	2.11	2.29
B	17.33	23.29	25.28
g	0.1069	0.0704	0.0833
to	0.924	0.697	1.626
Log F.L.E.	1.8920~2.1024	1.9157~2.0813	1.8979~2.0869
F.L.E. (%)	78.0~127	82.4~121	79.1~122
λ	0.190	0.154	0.168

Symboles : See British Pharmacopoeia VIII, 778 (1953)

Table 11から重みを加えた平均値 $\bar{R}=7.7$ iu となる. その計算は Table 12となる.

Table 12. Calculation of Weighted Mean from Table 11

	Table 8	Table 9	Table 10	Total
M	-0.0231	-0.0193	-0.0836	
M ²	0.0005	0.0004	0.0070	
t	2.004	2.004	2.004	
t ²	4.016	4.016	4.016	
$L = \{t \sqrt{A(1-g)} + BM^2/b(1-g)\} \times 2$	0.2104	0.1656	0.1890	
L ²	0.0443	0.0274	0.0357	
$W = 4t^2/L^2$	362.62	586.28	449.97	1398.87
WM ²	0.1813	0.2345	3.1498	3.5656
WM	-8.3767	-11.3152	-37.6175	-57.3092

$$\bar{M} = \sum(WM) / \sum W = -57.3092 / 1398.87 = -0.0410$$

$$\bar{R} = 0.9100$$

$$\text{Approximate } \chi_0^2 = \sum(WM^2) - \sum^2(WM) / \sum W = 3.5656 - (-57.3092)^2 / 1398.87$$

$$= 3.5656 - 3284.3444 / 1398.87 = 3.5656 - 2.3479$$

$$= 1.2177 < \chi^2 = 5.99 (\text{d.f.} = 2, P = 0.05)$$

$$1.88 \text{ mg} = 16 \times 0.9100 \text{ iu} = 14.5600 \text{ iu}, 1 \text{ mg} = 14.5600 \text{ iu} / 1.88 = 7.7447 \text{ iu} \approx 7.7 \text{ iu}$$

結 論

妊婦尿から抽出した胎盤性性腺刺激ホルモンを乳糖でうすめ、日局標準品とした。日局標準品(1957)の力価は幼若ウイスタ系白鼠の卵巢重量法で3回検定をおこない、重みを加えて平均すると1 mg = 7.7 iu (=国際単位)である。ウイスタ系白鼠を用いた検定成績は雑系白鼠を用いた検定と比較すると、λ, 信頼限界ともに差はないかむしろ小さい。

文 献

- 1) British Pharmacopoeia, VIII, 814 (1953).
- 2) Pharmacopoeia Internationalis, 261 (1955).
- 3) 第2改正国民医薬品集, 231 (1955).
- 4) 長沢佳熊, 越村栄之助, 岡崎精一: 本誌, 75, 221 (1957).
- 5) Gurin, S., Bachmann, C. and Wilson, D. W.: *J. Biol. Chem.*, 128, 525 (1939).
- 6) Pharmacopoeia of U.S.A., XV, 879 (1956).

Summary

Chorionic gonadotrophin was prepared from pregnant urine by benzoic acid adsorption method and purified by alcohol precipitating method. The preparation was mixed with lactose, dried under vacuum over phosphorus pentoxide, and assayed by rat ovary weight increasing method using the International Standard. The weighted mean of the potency was found 7.7 unit per mg. Wister rats gave almost the same values of λ and fiducial limits of error and smaller values compared with those obtained by non-inbred rats.

Japanese Pharmacopoeia standard (1957) of Chorionic Gonadotrophin has 7.7 unit of potency per mg.

Received May 31, 1958.

歯科用線鈎材について (第1報)

歯科用ステンレス鈎用線の熱処理による機械的性質の変化について

藤 井 正 道, 堀 部 隆

Studies on Dental Crasp Wire Alloy. I.

Effect of Variation in Heat-Treatment on Mechanical Properties of Dental Stainless Steel Crasp Wire.

Masamichi FUJII and Takashi HORIBE

まえがき 現在補綴材料として使用されている線鈎材はステンレス鋼線, コバルトクロム合金線, ニッケルクロムモリブデンバナジウム合金線, 銀パラジウム合金線等である。そのうちステンレス鋼線は廉価で機械的性質も良好であり, オーステナイト組織に基づく高度の耐蝕性をもつてはいるが, その反面鍛着時に軟化し, 機械的性質が劣化する欠点のため適用範囲がほかの特殊合金に比較して限定される。

著者らは市販ステンレス鈎用線について, 鍛着操作を参考とした加熱をほどこして, 硬度その他の機械的性質, 耐力, 抗張力, 伸び, レヂリエンスを測定して, 熱処理変化がステンレス鈎用線の機械的性質におよぼす影響について観察するとともに実察に, 各種のフラックスおよび硼砂で鍛着した場合について観察した。

実 験 方 法

(1) **実験材料** 本実験に使用したステンレス鈎用線はA (0.8, 1.0, 1.2mm) B (0.9, 1.0mm) C (1.0mm) D (1.0mm) 社製品4種およびJIS G4301 規格のステンレス線 (1.0mm) 1種で, 鍛着には銀鍛3種, 溶剤は低溶フラックス3種および硼砂を使用した。

(2) **実験装置** 硬度測定: 島津製微小硬度計 引張強さ, 耐力, 伸び測定: アムスラー型抗張力試験機および精密伸計

(3) **試験片の熱処理** 試料を長さ約15cmとり, 電気炉中で600°, 800°, 900°, 1000°, 1100°, 1200°において3分間加熱したのち空冷した。また600°, 700°, 900°, 1000°の温度においておのおの10秒, 30秒, 1分, 2分, 3分加熱したのち空冷した。熱処理後空冷した試料はエメリー紙00000号で研磨した。

(4) **試験片の鍛着** Fig. 1のごとく歯科材料検査基準¹⁾ 一般試験法中の鍛着法に準じて行つた。



Fig 1. Soldering specimen

(5) **硬度 (ミクロビッカース) 測定** 微小硬度計を使用し, 荷重200g, 荷重時間22秒とし, 特殊バイスを用い線材を固定し, 5個所表面硬度を測定し平均値をとつた。なお円線のため, 曲面による誤差は吉沢博士²⁾の方法により補正を行つた。鍛着後の硬度は鍛着部より3, 5, 10, 15mmの外側個所の表面硬度を3個所測定して平均値をとつた。

実験結果および考察

(A) 熱処理による硬度, 機械的性質への影響

(イ) **熱処理温度の変化による硬度および機械的性質への影響** 試料を600°, 800°, 900°, 1000°, 1100°, 1200°に3分間熱処理した際の硬度, レヂリエンスはTable Iに, また引張強さ, 耐力 (降伏点), 比例限, 伸びおよびレヂリエンスはそれぞれFig. 2に示す。

Table I The relation between heat-treatment temperature to Resilience (cm/kg/cm³) and Hardness (Hv)

Heat-treatment temp.	non-heat treatment	600° 3 min. heating after air cooling	800°	900°	1000°	1100°	1200°
Name			〃	〃	〃	〃	〃
A	27.940 (372)	17.510 (472)	9.576 (257)	1.598 (238)	0.526 (198)	0.897 (198)	0.570 (180)
B	22.816 (395)	24.064 (416)	6.302 (259)	3.788 (242)	4.238 (221)	1.659 (220)	2.139 (184)
C	19.735 (402)	24.188 (483)	1.057 (266)	1.337 (259)	0.798 (212)	0.217 (206)	0.210 (200)
D	28.640 (346)	24.046 (406)	3.433 (356)	2.452 (254)	1.939 (239)	—	—
E		(497)	(432)	(319)	(310)	(302)	(290)
						(290)	(278)

round blaket indicate : vicker's handness number

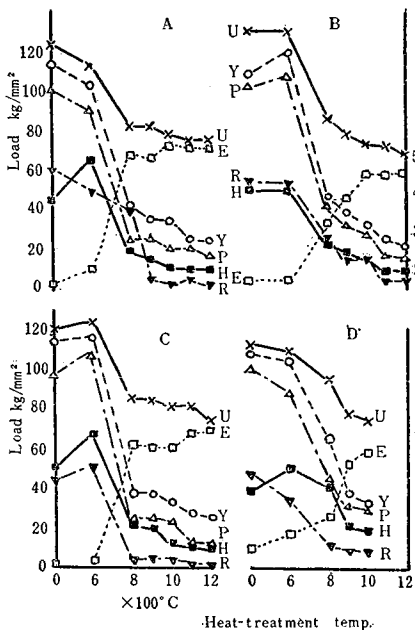


Fig. 2 The relation between heat - treatment temperature to mechanical properties of stainless steel wire.

U : Ultimate strength Y : Yield point
P : Proportional limit H : Hardness
R : Resiliens E : Elongation

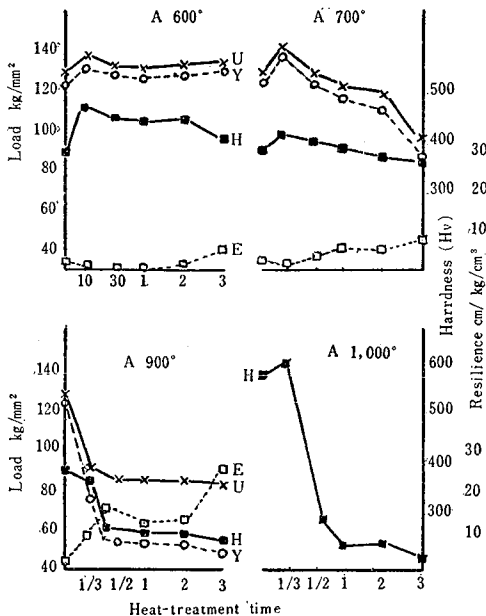


Fig. 3. The relation between heat-treatment time to mechanical properties of stainless steel wire.

U : Ultimate strength Y : Yield point
H : Hardness E : Elongation
(Heat-treatment time:min.)

硬度は熱処理せぬ原品に比較して JIS ステンレス線を除き、ほかは 600° に最高値があり、Hv10~100 増加し、800° では急激に低下し、1100° 以上ではほぼ一定となり原品の 1/2 程度に低下する。600° においては硬度が最高になるのは線引加工およびクロム、モリブデン等の添加元素による炭化物の析出の影響と思われる。また JIS ステンレス線が 600° で硬度増加が認められないのはモリブデンの含有なきためと思われる。引張強さは 600° まではほとんど変化しないが、800° で急激に低下し、1100° でほとんど変わらない。また伸びは引張強さの減少とともに増加し逆な関係にある。耐力および比例限は 600° で A, D はわずかに低下し、B, C はわずかに上昇しあまり変化しないが、800° で急激に低下し、1100° 以上ではあまり変わらない。レジリエンスもだいたい比例限と同じ傾向をもつ、引

張強さ, レヂリエンス等は600°でモリブデンの添加, 線引加工の影響でいくぶん変化があるが800°以上で急激に減少する。これは3分間の加熱で表面のみならず中心部まで再結晶が起り, 結果として機械的強度の低下となつたものと思われる。

(ロ) 熱処理時間の変化による影響 試料A (1mmφ) を600°, 700°, 900°, 1000°でのおおの10秒, 30秒, 1分, 2分, 3分熱処理した際の変化 (硬度, 引張強さ, 耐力, 比例限, 伸び) はFig. 3に示す。

600°では10秒~2分まで加熱による伸びがほとんど零に近く, また耐力が引張強さに近く, かつ硬度が一様にHv 50~60増加するところがみられ, 炭化物の析出のため鈎用線としてもろく使用に耐えないことがわかる。700°では10秒は600°と同様伸びはごく小さく耐力が引張強さに近く硬度が高いが, 30秒以上加熱時間の延長とともに漸次引張強さ, 耐力が低下し, 逆に伸びが増加している。硬度はあまり変化しない。900°では加熱時間10秒で引張強さ, 耐力, 硬度が低下し, 伸びが急激に増加している。30秒以上ではあまり変化しないことがみられた。1000°では加熱時間10秒で硬度はやや低下するが, 30秒では急激に低下し, 1分以上はあまり変化しない。なお線材の太さによる軟化の程度は線引加工により異なるが2分以上ではほとんど一定するようである。

(B) 鍍着による硬度, はくり強さの影響

銀鍍A, B, C, と専用低溶フラックスA, B, Cおよび硼砂を使用して (石炭ガス-空気) ブローパイプ, アルコールランプにて鍍着した際の鈎用線の硬度および鍍着部のはくり強さは Table II, Table IIIに示す。なお鍍着に使用した線鈎材はA (1mm) で原材の硬度Hv389, 引張強さ122.5kg/mm², 伸び2.4%のものをを使用した。

Table II The Hardness and Soldering strength on soldering
with alcohol lamp flame.

Solder	Flux	Soldering part	Hardness (Hv) Distance from Soldering part (mm)				Strength of Soldering part (kg)
			3	5	10	15	
A	low fusing flux	210	371	368	398	405	51.3
	Borax	131	285	339	361	353	6.0
C	low fusing flux	172	356	360	392	400	56.7

Table III The Hardness and Soldering strength on soldering
with City gas flame.

Solder	Flux	Soldering Part	Hardness (Hv) Distance from Soldering part (mm)				Strength of Soldering part (kg)
			3	5	10	15	
A	low fusing flux	138	362	374	373	390	58.0
	Borax	154	300	375	387	382	53.3
B	low fusing flux	151	355	382	372	354	46.0
	Borax	146	346	361	369	360	35.0
C	low fusing flux	146	341	348	390	419	58.7
	Borax	140	259	349	361	416	49.7

鍍着の際の鈎用線の軟化は, 鍍着部に近い箇所では加熱による硬度の低下が多く, 遠くなるほど加熱の影響は少いようである。しかし鍍着部より15mmの所は逆に原材より硬度が高くなることが認められた。これは炭化物の析出によるものと思われる Fig. 3の600°前後の加熱に相当する部位でないかと思われる。A, Bとも専用低溶フラックスでの鍍着が硼砂での鍍着に比較して線材の軟化が少くかつはくりの強さが強い。

アルコールランプでの鍍着がガスブローパイプでの鍍着に比較して軟化が少いが, はくり強さがやや弱いようである。硼砂でアルコールランプでははくり強さは零に近く, 鍍着は不可能と思われる。アルコールランプの炎がガスブローパイプに比較し発熱量小さく低温度のため, 鍍着の際の線材の軟化が少ないのは当然であるが, 低溶フラックスは混合塩類のため硼砂に比べ可かなりゆう点が低く, 鋸, の流鍍拡散の補助ができうるのに反し, 硼砂はゆう点(878°)が比較的高いため, 溶ゆう銀鍍の流鍍拡散の補助作用が不十分で, 鍍着がよくできなかつたと思われる。

(石炭ガス)ブローパイプで鐵着の場合低溶フラックスは硼砂の場合より流鐵速く、短時間 ($1/2$ 以下)で拡散する。そのため軟化もいくぶん少くはくり強さもやや強い。アルコールランプで低溶フラックス使用の鐵着強度は A 51.3kg, C 56.7kg で硼砂, ガスブローパイプ A 50~53.3kg, C 49.7kg に比較し遜色ないと思われる。歯科用ステンレス鉤用線の鐵着は母材を 1000° 以下なるべく低温 800° 前後で短時間 (10秒以内)に鐵着を行えば、機械的性質の劣化も比較的防げる。したがって鐵着が高温にて長時間要する単純硼砂を使用するより、低溶フラックスにて 800° ないし 900° 短時間で鐵着することが望ましい。

加熱保持時間を一定し、加熱温度を連続的に上昇させ加熱温度の影響をみると、本実験に供した試料 A, B, C, D および E において抵張力, 比例限, 耐力 (降伏点) およびレジリエンスは昇温とともに徐々に低下し、 600°C 附近において著しい低下を示し、硬度においては 600°C 附近において増加の認められるのを除けば同様の傾向がみられる。これらの諸性質に反し伸びははじめ徐々に増加するが、 600°C 附近において著しい増加が認められる。これらはいずれも 600°C において機械的性質に著しい変化があり、これは再結晶による諸性質の変化と考えられる。これらの再結晶のおこなわれる再結晶温度域をこえた温度において結晶の生長がおこなわれるのであるが、本実験におけるような冷間加工率の高いと思われる材料においては、結晶粒の増大はほとんど見られず³⁾、結晶粒度は小さいまま室温に保持されるために結晶粒粗大化にともなう機械的性質劣化は認められないものと考えられる。本実験におけるごとく、再結晶温度以上の温度域 $800^{\circ}\sim 1200^{\circ}\text{C}$ において、いずれも順次機械的性質の軟化がみられるのは、この事実を示すものと思われる。このように一般的傾向として昇温による機械的性質の変化を見たのであるが、このほかに二次硬化が再結晶温度直下にみられた。特にこの傾向は試料 A および C に顕著で、試料 D がこれに次ぎ試料 B においてはわずかながらいずれも硬度の上昇を示している。他の性質においてもこの硬度変化にみられるような材料の性質変化がみられるべきであるが、抗張力および耐力 (降伏点) においてややこの傾向を示しているが、硬度の上昇ほど著しくはない。これらの原因として考えられることは、第一にオーステナイト (γ) からの炭化物の析出と、第二にフェライト (α) からの σ 相および γ 相の析出である。炭化物の析出はオーステナイト内に過飽和に溶けこんだ状態にある炭化物が再加熱により析出し、これが粒界に集合するために硬度上昇および伸びの低下を示すものであり、第二の原因である σ 相の析出は、 σ 相自身きわめて硬くかつ脆いもので、このような相の析出は著しく機械的性質を劣化させる。これらの影響は材料の靱性を著しく害うものである⁴⁾。 σ 相は高クロムフェライトから析出するもので、高クロムフェライトを組織中に有する材料においてのみ認められるものである。すなわちステンレス鋼等において、TiMo 等により安定化したステンレス鋼においてはともにフェライトを析出する作用をなすので、 σ 相の析出の可能性を有するわけである。第一の原因として考えられる炭化物の粒界析出は Ti または Nb により防止でものであるが、実際は Ti の場合 $600^{\circ}\sim 750^{\circ}\text{C}$ の温度域に再加熱するとオーステナイト内において、 TiC で溶解分離し、冷却過程で Cr_{23}C_6 の化合物が代りに析出することが知られ、Ti により安定化されたステンレス鋼においても、多少炭化物の析出が生ずるものと考えられる。その上 Ti および Mo の添加はフェライトの析出を助長するために、そのフェライト内の高クロムフェライト域 (最高 σ 相安定域 $18\sim 70\%\text{Cr } 900^{\circ}\text{C}$) において σ 相が生ずるものと考えられる。

本実験においてはまだこの二つの原因のうちいずれが支配的であるかについては、確認されていないがおそらくこの二者の合成効果によるものと考えられる。これらの二つの相の析出はいずれも $600^{\circ}\sim 750^{\circ}\text{C}$ の温度域においては析出作用が著しく、炭化物の析出の点からはオーステナイトにおける炭化物の溶解度が最も低い温度域に相当し、このため過飽和の炭化物の析出量がこれに対応して増加する。 σ 相の析出ではフェライトのクロム含有量によるが、本実験に供した試料においてはフェライトのクロム含有量は、平均よりやや高い量であるため、 $750^{\circ}\sim 800^{\circ}\text{C}$ において σ 相の安定できる上限温度がある。これ以上の温度域においては σ 相は α 相中に溶解する範囲に相当し、 $600^{\circ}\sim 750^{\circ}\text{C}$ の温度域では σ 相の析出が著しい。(厳密には $\alpha + \gamma + \sigma$)、このため $750^{\circ}\sim 800^{\circ}\text{C}$ 以上においては炭化物および σ 相の析出の効果が減少し、オーステナイト単一相に還元され、そのもつ機械的性質の変化に帰着して考えることが出来る。つぎに熱処理時間の変化による影響について考察すると、 $600^{\circ}\sim 700^{\circ}\text{C}$ の温度域においては炭化物および σ 相の析出による諸性質の変化がみとめられるが、時間の経過とともに Matrix (地鉄) の再結晶のすすむものと考えられ、炭化物および σ 相の析出と Matrix (地鉄) の再結晶との相関関係から定まり、機械的性質に関してはこの二つの現象はそれぞれ相反する作用を示すものと考えられる。そして温度の上昇とともに炭化物および σ 相の析出は減退し再結晶は逆に急速にすすむ。特に 800°C 附近においては σ 相はフェ

ライトに溶解する温度域にあるために、みとめられずこの温度以上では再結晶による影響が支配的となるものと考えられ、時間の経過とともに機械的性質は変化する。なお試料につき定性分析を行つた結果 A, B, C より Mo, D より Ti が検出されたが、試料 A および C において硬度の上昇が著しく、試料 D がこれにつき、B においては、ほとんど硬度の増加が認められないことなどの考察については試料の化学組成および冷間加工率を検討しなければ明らかにいえないが、これについては第2報以下で組織的に検討する予定である。

総 括

(1) ステンレス鈎用線を 600° ないし 1200° の温度に熱処理した際の硬度、引張強さ、耐力、伸びレジリエンスは Table I Fig. 2 ~ 3 である。

(2) 鈎用線は 600° まではほとんど軟化しないが、 800° では急激に軟化し、レジリエンスその他の機械的性質は劣化し、 1100° 以上ではほとんど変化しない。

(3) 600° で10秒ないし1分、 700° 10秒以内の加熱では鈎用線は脆性をもち使用に耐えない。

(4) 鋲着には溶剤として硼砂より低溶フラックスの方が鈎用線の軟化が少く、鋲着部のはくり強さが強い。熱源ではプロパイプの方がアルコールランプより鈎用線の軟化がはげしい。

歯科用ステンレス鈎用線の鋲着は低溶フラックスを使用し、短時間 800° ないし 900° で鋲着することが良い。

文 献

- 1) 歯科材料検査基準, p. 7 ~ 8.
- 2) 吉沢武男: 機械学会誌, 53, 381. (1950)
- 3) Metals Hand book (1954).
- 4) F. H. Keating: Chromium-Nickel Austenite Steels (1957).

Summary

We have been investigated the effects of variations on heattreatment—hardness, tensile strength, yield point, resilience were obtained using Amsler's universal testing machine and the other machine in Commercial Dental stainless steel wire. (cf. Table 1, Fig. 2, 3)

We have been investigated the effects of variations on Soldering method (Flux, Solder, Heat source) on hardness changes of stainless wire. (cf. Table II. III)

Stainless steel crasp and orthodontic wire, that used low fusing flux, soldered at $800\sim 900^{\circ}\text{C}$ and if quick time as possible were the best soldering procedure.

Received May 31, 1958.

銀錫アマルガム合金の硬化膨縮について (第4報)

銀錫アマルガムの異常膨脹の原因について

藤 井 正 道, 堀 部 隆

Studies on Dimensional Changes of Dental Amalgam Alloy. IV

Studies on the Cause of Excessive Expansion of Dental Amalgam Alloy.

Masamichi FUJII and Takashi HORIBE

まえがき 前報¹⁾に於いて微量の亜鉛を含有する銀錫アマルガムは練和中に水, 汗, 食塩水等を添加することにより, 異常膨脹(遷延膨脹)を起し, 亜鉛を全く含有しない銀錫アマルガムにおいては異常膨脹は認められなかつた。すなわち異常膨脹の原因は, 合金中に亜鉛を含有するか否かによるものと考え, 前報の考察中に一部報告した。本報においては希食塩水(1%NaCl溶液)中における各銀-水銀, 錫-水銀, 銅-水銀, 亜鉛-水銀の自然電極電位およびこれらアマルガムが接触した際の電位差を測定し, また亜鉛-水銀の水の中における電位を参考に測定し前報の汚染による異常膨脹の原因を研究した。

実 験 之 部

(1) 実験試料 銀, 銅, 錫, 亜鉛粉末は純銀(特級品), 銅(電気銅一級品), 錫(パンカ島), 亜鉛(電気亜鉛一級品)の鑄造片をやすりで注意深く粉末とし, 磁石で鉄分を除去したのち篩分けし, 80メッシュ篩下の粉末とし, 水銀は再蒸留し精製した。

(2) 実験装置 電位測定: 島津製K₂電位差計
基準電極: 飽和塩化カリ甘汞電極

(3) 試験片作製 各金属粉末に対する水銀量は1対1.6の割合に採取し, ガラス製乳鉢中でJ I Sに準じ2分間練和したのち, 五枚重ねたガーゼで手圧により水銀を全量2.6に対して0.4の割合でしぼり出したのち, Fig. 1のごとき型中にアマルガム充填器を用いて注意深く均等に充填した。

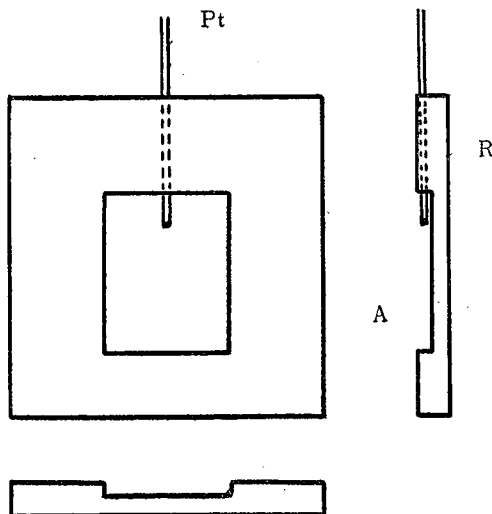


Fig. 1 Amalgam electrode mould

Pt : Pt wire

A : Amalgam

R : Acrylic resin mould

(4) 自然電極電位測定 練和開始15分後(3)によりつくつたアマルガム極を37°恒温器中の1%食塩溶液中に浸漬したちに電位を測定する。

測定極	1 % NaCl	1 % NaCl, 飽和 KCl 混 合 液	飽 和 KCl	甘 汞 電 極
-----	-------------	---------------------------	------------	------------

また水中の亜鉛-水銀の電位測定は

Zn-Hg 極	1 % KCl	飽 和 KCl	甘 汞 電 極
------------	------------	------------	------------

のごとく溶液ブリッジを組み測定した。なほ基準電極, 測定電極およびブリッジは 37° 恒温器中に入れ測定した。

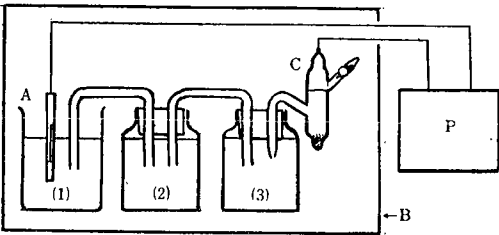


Fig. 2 Measurement apparatus for electrode potential of amalgam.

A : Amalgam electrode C : Caromel electrode P : Potentiometer

(1) 1 %NaCl soln. (2) 1 %NaCl, satulate KCl Mixed soln. (3) Satulate KCl soln.

(6) 実験結果および考察 1 %食塩水中における飽和塩化カリ甘汞電極を基準とした際の銀-水銀, 銅-水銀, 亜鉛-水銀の自然電極電位は Fig. 3, Table I に示す。

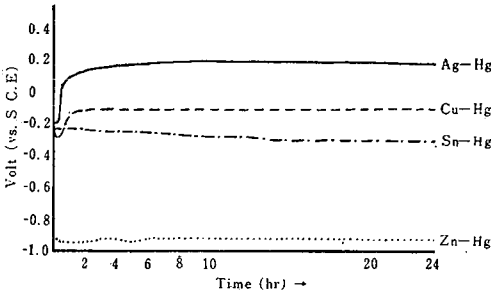


Fig. 3 Electrode Potential of Amalgam in 1 %NaCl, at 37°

Table I Electrode Potential of Amalgam in 1% NaCl, at 37°

Time electrode	Potential (Volt vs S.C.E)					PH of dipped soln. 24hr
	dipped	30min	1hr	3hr	24hr	
Ag-Hg	-0.1452	+0.0477	+0.0987	+0.1549	+0.1700	6.3
Cu-Hg	-0.1935	-0.2609	-0.1305	-0.1186	-0.1101	6.3
Sn-Hg	-0.2432	-0.2338	-0.2358	-0.2447	-0.3130	6.7
Zn-Hg	-0.9184	-0.9469	-0.9454	-0.9253	-0.9410	7.15

上の結果によれば電位は銀-水銀, 銅-水銀, 錫-水銀, 亜鉛-水銀の順で水銀とアマルガムせる金属の電化列の順であることがわかり, 亜鉛-水銀が亜鉛含有銀錫アマルガム中においては単成分であることが確かめられた。また時間とともに銀-水銀, 銅-水銀が一時電位が下がるがのち電位が上り約3時間後は一定となる。錫-水銀はやや時間とともにわずかに電位が下がるようである。

亜鉛-水銀はわずか時間とともに上下するがほぼ一定である。また銀-水銀, 銅-水銀はほとんど表面は変化せぬが, 錫-水銀, 亜鉛-水銀は表面が腐蝕され, 白色の沈澱を生じ浸漬溶液のPHもアルカリ (PH7.15) になり, $\text{Zn}(\text{OH})_2$ が生ずることが認められた。亜鉛-水銀の水中の電位は浸漬液の比抵抗が高いため, 測定感度が落ち, 電位差測定は困難で浸漬直後約0.7V 3時間約0.8V 1日約0.7Vで測定値は傾向を知る程度であつた。銀-水銀と亜鉛-水銀の間および錫-水銀と亜鉛-水銀の間の電位差は Table II に示す。

Table II Electrode Potential between two Amalgams in NaCl, at 37°

Time electrodes	Potential Difference (Volt)				
	immedi- ately	30min	1hr	3hr	24hr
Ag-Hg~Zn-Hg	-1.1132	-1.124	1.1331	1.1321	1.1174
Sn-Hg~Zn-Hg	0.5396	0.5709	—	—	—

上の結果によれば, 銀-水銀と亜鉛-水銀間には1.1Vもあり, 錫-水銀と亜鉛-水銀間には0.5V 前後である結果を得た。

基準極との電位差		二極間の
浸 漬	より計算値	電位差 (測定値)
	Ag-Hg Zn-Hg	Ag-Hg~Zn-Hg
30分後	+0.048V - (-0.947) = 0.995V	1.12V
	Sn-Hg Zn-Hg	Sn-Hg~Zn-Hg
10分後	-0.245 - (-0.947) = 0.702V	0.571V

基準極との電位差よりの計算によれば, 直接2極間電位差より銀-水銀, 亜鉛-水銀では0.125V, 錫-水銀, 亜鉛-水銀では0.131V小であるが, これは液体の抵抗および接触抵抗によるものと思われる。また両者とも亜鉛-水銀極は強く腐蝕され, 白色の膠状沈澱および発錆がみられガルヴァニ電流作用の影響が強くあらわれ, 練和アマルガム中の銀-水銀, 亜鉛-水銀の接触による腐蝕はかなり激しいものと想像される。亜鉛含有銀錫アマルガム (Ag 70 ~ 65 %, Sn 30 ~ 25 %, Cu 4 ~ 1 %, Zn 1 %以下) が練和時汗, 水分, 1 %食塩水添加により異常膨脹を起すのは亜鉛に原因するもので, 銀アマルガムと亜鉛アマルガムとの接触電位差 (1 %食塩水中で-1.12 V, 水中で0.7V前後) が亜鉛と水との反応を加速し, また食塩等電解質の添加により接触電位差が高まり, さらに加速され異常膨脹の量が増すと思われる。

総 括

(1) 銀錫アマルガム合金中の組成金属を各単独に水銀とアマルガムをつくり, 37°, 1 %食塩水中における電位を測定した。結果は Table I, Fig 3 に示す。

(2) 銀-水銀と亜鉛-水銀, 錫-水銀と亜鉛-水銀の二極間の電位差は, Table II に示すごとくそれぞれ -1.1 V, -0.57V である。

(3) 含亜鉛銀錫アマルガム中の亜鉛は, 練和中, 水または電解質 (例 稀食塩水) を添加した際異常膨脹を起す。それは, 銀のためガルヴァニ作用により水との反応が促進されることが想像される。

Summary

We have been investigated the electrode potential of various metal amalgams in 1 %NaCl soln at 37°. The results were as follows:

(1) The electrode potential of single metal amalgam (Ag-Hg, Cu-Hg, Sn-Hg, Zn-Hg,) that was a composition of dental amalgam alloy. (cf. Table 1 Fig. 3)

(2) The potential difference between Ag-Hg, Zn-Hg electrodes and Sn-Hg Zn-Hg electrodes were

1.1V, and -0.59V. (cf. Table 11)

(3) The Zinc producing excessive expansion in Zinc contain amalgam alloys, that were contaminated by adding water or electrolytes (for example dilute NaCl soln.) in triturating. They were ascertained to accelerated the reaction with water by Ag galvanic action.

Received May 31, 1958.

銀錫アマルガム合金の硬化膨縮について (第5報)
合金粉末の比表面積の硬化膨脹に及ぼす影響について

藤 井 正 道, 堀 部 隆

Studies on Dimensional Changes of Dental Amalgam Alloy. V

Effects of Variation in Surface Area of Alloy Particles on
Physical Properties of Dental Amalgam Alloy.

Masamichi FUJII and Takashi HORIBE

まえがき 銀錫アマルガム合金の粉末の粗細の硬化膨縮におよぼす影響に関しては Jaraback¹⁾ は市販合金粉末を篩分けして、硬化膨縮を測定し、また Crowell, Phillip²⁾ は一定組成合金をつくり、表面積を変化して切削し硬化膨縮を測定している。著者は市販合金粉末を篩分けし硬化膨縮および加圧変形を測定した。

実 験 之 部

(1) 実験材料 本実験に使用した市販銀錫アマルガム合金は5種 A, B, C, D, E 社製品で亜鉛を含有しない銀錫アマルガム合金 E を除いて、その他は含亜鉛銀錫アマルガムでその組成は Table I に示す。水銀は前報³⁾ と同じく精製したものを使用した。

(2) 実験装置 篩分：自動振とう篩分機、篩：タイラー標準篩 80, 180, 250, 300 メッシュ、粒子の大き測定：測微顕微鏡、硬化膨縮測定：空気マイクロメーター、加圧変形測定：加圧変形測定装置

(3) 比表面積測定法 試料を 80, 180, 250, 300 メッシュの順にかさねた篩分機にかけ、2 分間篩分けしたのち 80 メッシュ篩上 (R80), 180 メッシュ篩上 (R180), メッシュ篩上 (R250), 300 メッシュ篩上 (R300), 300 メッシュ篩下 (P300) の篩分粉末に分離し、各々を測微顕微鏡で粉末の幅、長さ、厚さを測定し、100 個の平均値 ($\bar{w}$ $\bar{l}$ $\bar{h}$) をとった。なほ粉末は直方体として考え測定を行つた。また比重で比重を測定しその比表面積は次式を用い算出した。

$$S = \frac{\text{Surface area of Sample}}{\text{Wt. of Sample}} = \frac{2(\bar{w}\bar{l} + \bar{w}\bar{h} + \bar{l}\bar{h})n}{W} = \frac{2(\bar{w}\bar{l} + \bar{w}\bar{h} + \bar{l}\bar{h})}{d \bar{w} \bar{l} \bar{h}}$$

$$\therefore n = \frac{W}{d \bar{w} \bar{l} \bar{h}}$$

S : Specific Surface area (cm²/g) d : density n : number of particles W : weight of particles (g)
w : Width of particle (cm) $\bar{l}$: length of particle (cm) $\bar{h}$: thickness of particle (cm)

(4) 実験方法

(i) 試験片作製 合金粉末に対する水銀量は 1 対 1.6 の割合にとり、ガラス乳鉢棒をペンボルダー型に持ち、練和圧 1kg で 1 分間練和したのち、ゴム Film 中で 30 秒ねり、5 枚重ねたガーゼで平圧により水銀を全量 2.6 に対し 0.4 の割合でしぼつたのち、鉄製割型 (内径 4 mm, 高さ 6 mm) へ充てん頭 2.7mm のアマルガム充てん器を使用し 2.5~3Kg の充てん圧で (充てん圧 620~870lp/□"相当) 均一になる如く注意深く充てんし作製した。

(ii) 硬化膨縮測定 試験片を練和開始 5 分後 37° の恒温器中に移し、空気マイクロメーターにより硬化膨縮を測定した。

(v) 加圧変形測定 試験片を練和開始 3 時間後室温中で測定した。

(5) 実験結果 本実験に使用した銀錫アマルガム合金の組成、粉末度は Table I に示す。

Table I Chemical Composition and per cent of Sieved Particle of Amalgams.

Sample	Composition %				Sieved Particles % by weight				
	Ag	Sn	Cu	Zn	R80	R180	R250	R300	P300
A	68.79	26.82	3.46	0.93	—	0.96	3.67	22.07	73.3
B	70.82	25.41	3.54	0.23	2.61	32.68	28.44	30.45	15.82
C	69.13	26.86	3.06	0.95	0.18	1.58	21.0	44.93	32.26
D	69.57	26.37	3.18	0.88	0.41	9.41	9.97	26.65	53.56
E	69.09	27.46	3.42	—	0.28	15.39	6.69	33.25	41.39

又合金粉末の平均大き(長さ $\bar{l}$, 幅 $\bar{w}$, 厚さ $\bar{h}$) 比重および比表面積は Table II に示す.

Table II Microscopic size and surface area of Particles

Sample		Microscopic size of particles cm			specific gravity	specific surface area cm ² /g
		$\bar{l}$	$\bar{w}$	$\bar{h}$		
A	R 80	0.4464	0.2042	0.0757	9.746	113.93 166.51
	R 180	0.3782	0.107	0.044		
	R 250	0.4438	0.0786	0.0336		
	R 300	0.2868	0.0586	0.0286		
	P 300	0.2013	0.033	0.0218		
B	R 80	0.5612	0.2474	0.0754	9.793	63.51 75.43 103.35 151.09
	R 180	0.501	0.107	0.040		
	R 250	0.3746	0.0798	0.0454		
	R 300	0.2948	0.0688	0.0306		
	P 300	0.1806	0.041	0.0278		
C	R 80	0.451	0.2028	0.0682	9.910	60.59 96.43 168.33
	R 180	0.4904	0.0872	0.0664		
	R 250	0.3822	0.0698	0.0478		
	R 300	0.3316	0.0534	0.0384		
	P 300	0.1398	0.048	0.027		
D	R 50	1.653	0.2955	0.104	9.764	78.84 98.48 180.84
	R 80	1.2714	0.1918	0.0622		
	R 180	0.537	0.0926	0.0458		
	R 250	0.4992	0.0687	0.0456		
	P 300	0.2598	0.0528	0.039		
	P 300	0.0764	0.0264	0.0268		
E	R 80	0.751	0.1748	0.1188	9.784	72.06 110.41 144.99
	R 180	0.481	0.0818	0.033		
	R 250	0.3536	0.0816	0.0324		
	R 300	0.2658	0.079	0.0266		
	P 300	0.1326	0.0512	0.0228		

アマルガム合金の粉末度は各社製品により異り, AはP300が多く粒子が細く, BはR180乃至R300が多くP300は少く粒子がAに比べて荒い. C,D,Eの粉末度はこの中間である. また粉末が微細になるにしたがい比表面積は大きくなるが必ずしも一定せず, たとえばP300では145~180cm²/gまでの範囲がある. 又R80はごく少いが粉末中に切削時のパイトの切片が多く混入しているのが観察された. A, Bの篩分しない試料および各篩分した試料につき, 前記(4)(イ)方法に従って作った試験片について硬化膨縮及加圧変形と時間との関係を測定した結果はFig. 1, 2に示す.

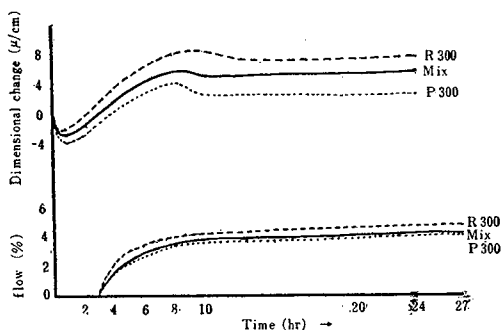


Fig. 1 Effect of the alloy particle size on the dimensional change and flow of A amalgam. Curve R300, amalgam made from particle retained on a 300 mesh sieve: Curve P300, Passed a 300mesh sieve: Curve Mix, not sieved.

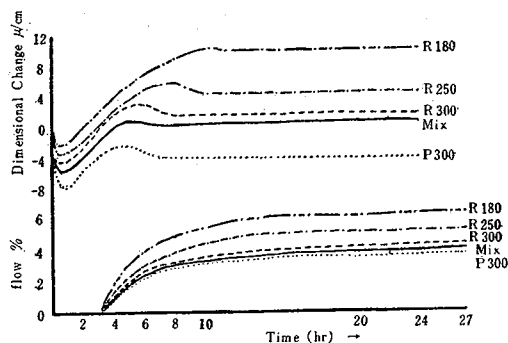


Fig. 2 Effect of the alloy particle size on the dimensional change and flow of B amalgam. Curve R180, amalgam made from particle retained on a 180 mesh sieve: Curve R 250, retained on a 250 mesh sieve: Curve R300, retained on a 300 mesh sieve: Curve P300, passed a 300 mesh sieve: Curve Mix, not sieved.

Aの未篩分試料の硬化膨脹はR300, P300のほぼ中間で加圧変形はP300に近く, Bの未篩分試料の膨脹はR300とP300の間でR300に近く加圧変形は中間の結果を得た。A, B共に粉末度が荒い程硬化膨脹が大でかつ膨脹している時間が長く加圧変形も大である。粉末度が細い程逆の傾向を示し初期収縮が大となる事が判る。又試験に供したA, B, C, D, Eの未篩分および篩分試料につき(4)(イ)の方法により作った試験片について比表面積と24時間後の硬化膨縮および加圧変形を測定した結果はFig. 3, 4に示す。

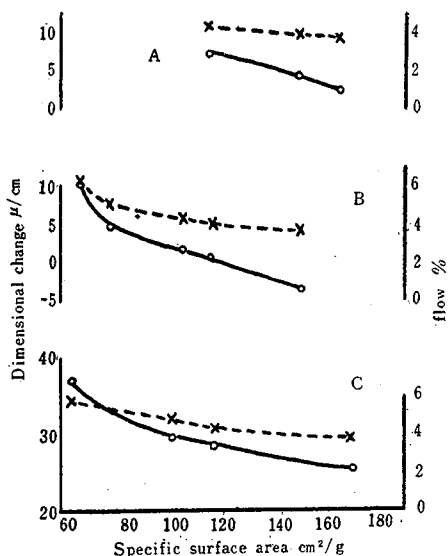


Fig. 3 Effect of the specific surface area on the dimensional change and flow of A, B, C Amalgam

— : dimensional change
... : flow

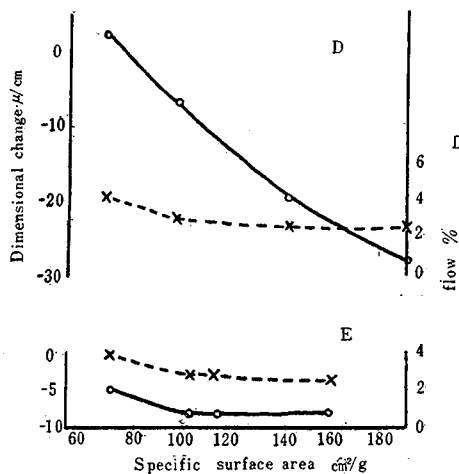


Fig. 4 Effect of the specific surface area on the dimensional change and flow of D, E Amalgam

— : dimensional change
... : flow

硬化膨縮は粉末の比表面積の増加にしたがい、ほぼ指数曲線的に減少することが認められ、その際の係数はTable IIIに示す。

比表面積と膨脹との関係式は次式で表わされる。

$$S = Aene$$

S : Specific surface area cm^2/g

E : dimensional change μ/cm

A : Proportionality const.

n : $\nearrow$

Table III The Proportionality Constant

Sample	A	n
A	198.32	-0.1616
B	98.35	-0.1622
C	1,941.5	-0.2240
D	91.026	-0.0612
E	171.052	0.2307

また加圧変形も粉末の比表面積の増加に伴いほぼ指数曲線的に減少し同様な傾向が認められた。

考 察

アマルガム合金の粉末は切削加工して作られるため、形は Flake で長さに比べ幅、厚みはごく小さく、Table II に示すごとく篩分した粉末の比表面積 (単位重量当りの粉末の表面積) に当然差異が認められる。銀錫アマルガムの硬化膨脹はすでに⁴⁾のべたごとくこの合金の主成分である Ag_3Sn が水銀に溶解し最初収縮するが、その後 Hg と Ag_3Sn とが反応し γ_1 , γ_2 が結晶しこの結晶生長のため膨脹が起りこれらの結晶生長が止むまで膨脹はつづく。その後 β_2 がわずかに生成しはじめ収縮する。 Ag_3Sn に対する水銀の拡散速度すなわち Ag_3Sn と水銀との反応速度およびその生成する相 (γ_1 , γ_2 , β_2) による硬化膨脹また硬化時間および加圧変形は、合金粉末の比表面積の大小に影響すると思われる。Fig. 1~2 の R180 乃至 P300 の篩分分子の硬化膨脹、加圧変形の差異あるのは、大きい粒子を練和すると短時間には粒子の中心部まで Hg が拡散せず、従つて初期の収縮は余り起ない・中心部未反応 Ag_3Sn および Hg が $\gamma_1 + \gamma_2$ の周囲に残り、収縮後膨脹完了は比較的長時間要し膨脹をけいぞくする。また反応速度が遅いゆゑに硬化するのに時間を要するために加圧変形が大となる。逆に微細な粉末を練和すると Ag_3Sn の中心部まで水銀が速かに拡散し、大なる初期収縮を起し搾出後も未反応の Ag_3Sn が残らず、速かに $\gamma_1 + \gamma_2$ となり結晶の生長が小さく膨脹が比較的速く完了するため膨脹は小となる。従つて加圧変形も硬化の完了が速いために小となるものがある。また Fig 3~Fig 4 が比表面積の大なるほど加圧変形が小さくかつ膨脹も小さいのは、水銀との接触面積が大なるため粉末中への水銀の拡散速度が速く反応が大なるため、硬化が早く完了したためと思われる。また比表面積と硬化膨脹および加圧変形の関係が指数曲線になるのは粉末への水銀の拡散速度によるものと思われる。

総 括

銀錫アマルガム合金の粉末の比表面積の大小が硬化膨脹および加圧変形におよぼす影響を研究した。

- (1) 市販銀錫アマルガム合金の粉末度は Table I のごとくで各製品により異なる。
- (2) 同一篩分粉末においても Table II のごとく比表面積は相違する。
- (3) アマルガム合金の粉末度と硬化膨脹および加圧変形との関係は Fig. 1, Fig. 2 のごとく、粉末の微細なほど硬化膨脹は小さい。又加圧変形も同様である。
- (4) アマルガム合金の比表面積と硬化膨脹及び加圧変形との関係は Fig. 3, Fig. 4 のごとくで次のごとき式で表わされる。

$$S = Aene$$

但し S : 比表面積 cm^2/g

n : 比例常数

E : 硬化膨脹 μ/cm

A : $\nearrow$

文 献

- 1) Jaraback, J. R., : *J.A.D.A.*, 593 March (1942).
- 2) Crowell, W. S., and Phillips, R. W. : *J.Dent. Res.*, 30, 845-853 Dec (1951).
- 3) 藤井正道, 堀部隆: 本誌, 75, 331 (1957).
- 4) 藤井正道, 堀部隆: 本誌, 74, 189 (1956).

Summary

We have been investigated the effects of variation on particle surface area, dimensional change, flow, were obtained using air micrometer and the apparatus in Commercial dental amalgam alloys

The results were as follows :

- (1) The particle size of amalgam alloys had difference each other. (cf. Table 1)
- (2) The surface area of same sieving amalgam alloy powder had difference each other. (cf. Table 11)
- (3) The dimensional changes of the fine particles of amalgam alloys were tend to small expand than the large particles. The flow had the same inclination of dimensional changes. (cf. Fig. 1, 2)
- (4) The relation between specific surface area and dimensional change, and flow, showed next formula. (cf. Fig. 3, 4)

$$S = A \epsilon^n$$

S : Specific surface areas

E : Dimensional changes

n, A : proportionality const.

Received May 31, 1958.

衛生材料の研究(第9報)

最近の脱脂綿およびスフ綿

吉村 淳, 遠藤 勝, 五十川 泰郎

Studies on Surgical Dressing's. IX.

Absorbent Cotton (Gossypium Absorbens) and Viscose Rayon which were Recently Manufactured

Kiyoshi YOSHIMURA, Masaru ENDŌ and Yasuo ISOGAWA

まえがき スフ綿については、著者らは前報¹⁾で木綿と人造繊維類の比較を発表したが、これらの試料はあくまで繊維製品原料としての、いわゆる繊維塊であり、特に衛生材料用として作られたものではなかつたが、その後某レーヨンメーカーより脱脂綿代用品として製造された試作品の提供を受けたので、最近西部(近畿以西九州までの)地区において製造された各社の脱脂綿と比較検討を行った。

まず鏡検によつて両者の形状を見たのち、物理試験として繊維長・強力・織度・色相・捲縮などはJIS規格にしたがい、化学的試験は J. P. VI を基準とし、最後に経時変化各種薬液の主成分に対する影響などについて、それぞれ試験をしたので、その結果を報告する。

実験の部

I. 形状

1) 脱脂綿(木綿)

局方には「鏡検すると偏平で筋のあるねじれた中空のリボン状で、縁はわずかに厚い。」と記載されているが、脱脂綿を実際に鏡検して繊維の側面から見ると大部分はそうに見えるが、なかには円筒状に見えるものもある。(Fig. 1) (Fig. 1~Fig. 5は暗視野装置による所見)。それはその横断面(Fig. 2)を見ればわかるように主としてその中空部分の形状によつて偏平ないし円形に見えるのである。綿毛の伸長成育の状態については Balls²⁾, 大野³⁾らが述べているように「未熟綿は壁の厚さが薄くて、中空部は大きいが成熟綿は第二次壁(繊維細胞の中間層)が肥厚し中空部が小さくなっている」ものとすれば、試料の脱脂綿はよく成熟した原綿を原料としているこ

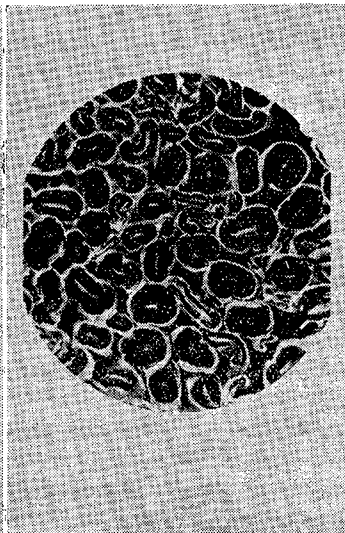


Fig. 1. Side view of Goss. Ab.

Fig. 2. Section of Goss. Ab.

Fig. 3. Side view of Goss. Ab.

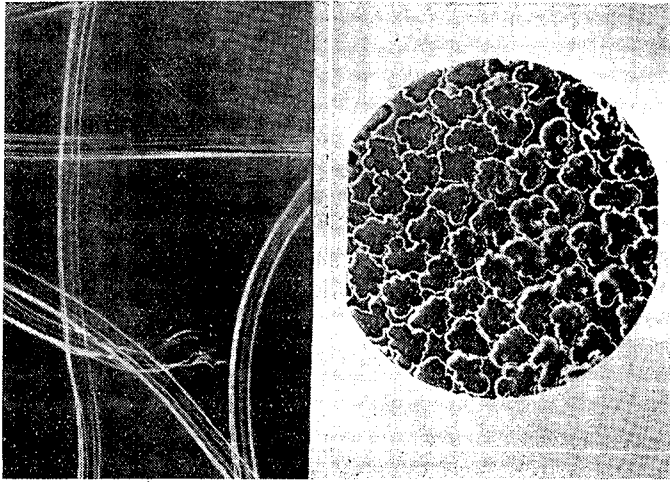


Fig. 4. Side view of Vis. Ray. Fig. 5. Section of Vis. Ray.

とがわかる。Fig. 3は綿毛のねじれた部分の形状で、中空の所は薄く局方条文の記載どおりの形状に見られる。

2) スフ綿

側面図 (Fig. 4) はビスコース人絹特有のスキン層 (スフ繊維の最外層) が縦縞状に走りねじれずに均一の太さであり、横断面 (Fig. 5) はスキン層の凹凸の具合を示している。

以上のように鏡検により、脱脂綿とスフ綿とは明らかに判別しうる。

II. JISによる物理的試験

1) 繊維長

i) 測定法: JIS⁴⁾ ソータによる方法

ii) 試験結果: 木綿より製造した通常の脱脂綿は前報⁵⁾ とおりである。一般にスフは製造の際に任意にカットされうるので、今回の試製スフ綿もソータで繊維を並べたときに矩形になると予想したが、脱脂綿と同じ梯形類似の型となりよく似ている。

繊維長の試験成績は Table 1 参照。

2) 強力⁵⁾

i) 測定法: JIS⁴⁾ により、プレスレー強力試験機 (ただし JIS ではプレスレー強力試験機となつている。) を使用してプレスレー指数を求め、強力 (1000lbs/in²) を換算して出す。試験に際して 0 (ゼロ) ゲージ (試長 0) より始める。

ii) 換算法: プレスレーで測定した強力を目盛を S (lb), その重量を W (mg) とすれば

$$\text{プレスレー指数} = S/W$$

前報⁵⁾ のように綿の場合には次の実験式にしたがつて 1 in² あたりの強力を求める。

$$\text{強力 } 1000\text{lbs/in}^2 = 1.08116 \times \text{プレスレー指数}(S/W) - 0.1200 \dots \dots (1)$$

この式は特に綿における実験値より出された式であるので、スフの試験にあたって次の式によつた。

$$\text{強力 } 1000\text{lbs/in}^2 = \text{プレスレー指数}(S/W) \times L \times (1 \text{ in}^2) \times \rho \times 1000 \dots \dots (2)$$

ここで $L = 1 \text{ in}^2$ あたりの繊維束の長さ (cm)

$$1 \text{ in}^2 = 6.415 \text{ cm}^2, \rho = \text{スフの比重 (ここでは } 1.52 \text{ とする)}$$

$$\therefore 1000\text{lbs/in}^2 = (S/W) \times 11.506 \dots \dots (2)'$$

iii) 試験結果: スフのプレスレー指数 (S/W) は実験の結果, 3.7, 3.7, 3.6, 3.6, 3.3 となり, 平均値 3.6 の数値を得た。これを (2)' に代入すると

$$\text{強力 } 1000\text{lbs/in}^2 = 3.6 \times 11.506 = 41.4$$

綿の場合は前報⁵⁾ にて 79.1 の数値を得ている。(Table 1 参照)

3) 織度

(i) 測定法: 綿のときには Micronair⁴⁾5) を用いて測定するが, スフ綿のときにはソータで分けてほとんど同じ長さにした繊維の各部の重量と本数とから正量織度⁶⁾を求めている。著者らは両者を比較するために、マイクロネア法と類似の Arealometer を使用する方⁷⁾法を用いて測定した。

(ii) 織度をデニールに換算する方法: アリアロメーターによつて得られた数値は $\mu\text{g/in}$ の単位で, これをデニール (d) に換算するには次式を用いる。

$$d = 0.354 (\mu\text{g/in})$$

(iii) 試験結果: (Table 1) 参照。

4) 色相

(i) 測定法: 前報⁴⁾5) にしたがつて Cotton Colorimeter を使用し明度 (Darkness……Rd) と彩度 (Color……B) とを測定した。

(ii) 試験結果: (Table 1) 参照。

Table 1. JIS Test of Gossypium Absorbens and Viscose Rayon.

		Goss. Abs. ⁴⁾	Vis. Ray.
Fiber length	Maximum (in)	$14/16 \sim 12/16$	$1^1/16$
	Minimum (in)	$1/8$	$1/8$
	Mean length (in)	0.471	0.598
	Longer than $1/2$ (U.S.P. Test)(%)	41.8~72.1	87
	Shorter than $1/4$ (") (%)	3.1~7.07	3.89
Pressley Test	Pressley Index	6.4~8.0	3.6
	1000lbs/in ²	79.1	41.4
Fineness	Arealometer ($\mu\text{g/in}$)	7.21	7.6
	denier (d)	2.55	2.69
Color	Rd. (Darkness)	86.5~90	88.5
	B. (Color)	2.6~3.1	4.6

5) 捲縮

i) 捲縮・捲縮度・捲縮弾性度: 綿は性状に記載されているように, 天然のねじれをもっているが, スフ綿の場合は捲縮を与えて可紡性を向上し, 羊毛風の風合を加え天然品の特性に近づけようとしている。

著者らは繊維塊の風味すなわち手ざわりと弾力性をくらべ, また吸水力に対する影響を検討する目的で JIS⁶⁾8) にしたがつて綿およびスフ綿の比較検討を行った。

ii) 測定法および結果: Table 2, Fig. 6 参照。織度の試験で試料は 2.5~2.7d であるから, 試験に際して初張力 5 mg を与えた。

Table 2. Crimp of Gossypium Absorbens and Viscose Rayon.

Crimp	Method	Calculation	Goss. Abs.	Vis. Ray.
Crimps Number	JIS L1015 (1953)	Numbers/25mm	10.0	14.8
Crimps Degree (%)	"	$b - a/b \times 100$	8.4	63.4
Crimps Elasticity (%)	JIS L1024 (1954)	$b - a/b - c \times 100$	75.7	72.2

6) 考察

繊維塊の手ざわりは, 繊維長, 織度 (太さ), 捲縮数, 捲縮度, 捲縮弾性度, 強力などの物理的諸因子による影響が大きいのと思われる。これらはまた衛生材料の生命ともいふべき吸水力を左右する重要な因子となるであろう。

繊維長では通常の脱脂綿では最長のものが $14/16 \sim 12/16\text{in.}$ であるのに, 供試スフ綿では $1^1/16\text{in.}$ あり平均繊維長を見ても前者は 0.471in. に対して後者は 0.598in. である。これはスフ綿の毛足が長いことを示している。U.S.

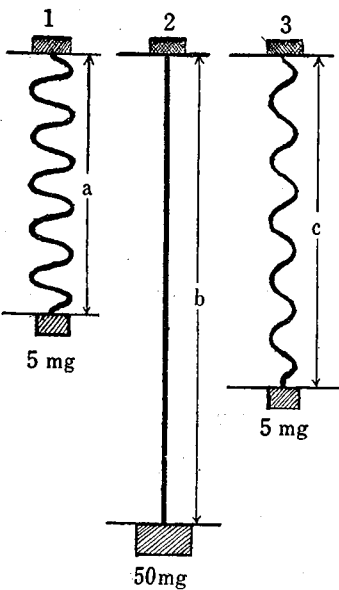


Fig. 6. Crimp of Fiver

P. では $\frac{1}{2}$ in.以上の長繊維含有率が60%以上, $\frac{1}{4}$ in.以下の短繊維含有率10%以下と規定しており, 任意の長さにカットしうるスフ綿はこの点非常に便利である. 供試スフ綿はTable 1に見られるように $\frac{1}{8}$ in.以上の長繊維含有率が脱脂綿に比べて大きく, 繊維長の面ではすぐれている. 織度, すなわち繊維の太さから見ると, 両者ともそれぞれ2.55d, 2.69dであり, ほとんど同じくらいの太さであることを示している.

綿繊維は本来ねじれているので, これが大きな利点となることが多いが, スフ繊維では捲縮によつてこの欠点を補わなければならない. したがつて捲縮数の多いことが望ましい. 捲縮度が大きく捲縮弾性度が小さいことは, スフ繊維が綿繊維に比べて弾力に乏しく, 柔らかいことを示している. これは強力試験で得られた結果とも関連している.

色相の試験で明度 (Rd) が100に近いほど白く感じ, 彩度 (B) が大きくなると黄色味を増す. 実験の結果, 供試スフ綿は通常の脱脂綿と比べて幾分白さが足りないように思われた.

Ⅲ. J.P.VIによる化学的試験

1) 試料

最近製造された西部地区のメーカー22社, 41検体の脱脂綿および供試スフ綿.

2) 試験結果

上記脱脂綿の J. P. VI. (追補6改訂済) 試験成績は Table 3 参照. それら脱脂綿成績の平均値と供試スフ綿の比較成績は Table 4 参照.

Table 3. J. P. VI. Test of Goss. Abs. recently submitted.

Maker	Lot. No.	Sample No. (1957) (1958)	Description	Alkalinity or Acidity	Water Sol. Sub. (mg)	Dyes	Fluor. Dyes	Time of submer. (sec.)	Absorb. (g)	Residue on igni. (mg)
A	191	463	Passed	Passed	6.5	Passed	Passed	1.8	140	6.3
	190	6	〃	〃	5.8	〃	〃	1.9	144	8.0
	192	7	〃	〃	6.3	〃	〃	1.8	142	7.5
	202	43	〃	〃	5.7	〃	〃	2.2	139	7.1
B	607×F4	32	〃	〃	2.7	〃	〃	2.1	131	9.6
	607×D8	31	〃	〃	4.2	〃	〃	2.0	131	7.0
C	64-27	488	〃	〃	7.0	〃	〃	2.2	128	9.7
	66-18	29	〃	〃	4.8	〃	△	1.9	132	9.3
D	142	480	〃	〃	5.9	〃	Passed	1.9	130	7.5
	154	29	〃	〃	2.7	〃	〃	2.3	121.5	8.2
E	832	8	〃	〃	4.4	〃	〃	1.5	140	8.3
F	207	40	〃	〃	5.2	〃	〃	2.5	145	10.0
G	8	481	〃	〃	8.8	〃	〃	2.9	140	9.3
H	243	2	〃	〃	3.9	〃	〃	2.5	132	8.9
I	720	18	〃	〃	5.6	〃	〃	2.0	140	7.1
	820	55	〃	〃	4.6	〃	〃	2.3	141.5	7.2

Maker	Lot. No.	Sample No. (1957) (1958)	Description	Alkalinity or Acidity	Water Sol. Sub. (mg)	Dyes	Fluor. Dyes	Time of submer. (sec.)	Absorb. (g)	Residue on igni. (mg)
J	231	479	Passed	Passed	6.2	Passed	Passed	1.9	134	6.5
	235	35	〃	〃	5.3	〃	〃	2.0	131	9.6
K	158-4	5	〃	〃	4.3	〃	〃	2.1	137	8.3
	185	49	〃	〃	4.2	〃	〃	2.5	135	7.2
L	348-3	460	〃	〃	9.2	〃	〃	2.2	138	10.0
	352-5	21	〃	〃	10.9	〃	〃	1.8	136	10.1
	356-6	56	〃	〃	8.6	〃	〃	2.5	135	9.2
M	240-12	471	〃	〃	4.4	〃	〃	1.9	141	8.8
	245-1	36	〃	〃	7.4	〃	〃	1.9	128	7.7
N	436-4	26	〃	〃	5.4	〃	〃	2.5	145	8.2
	441-4	27	〃	〃	5.2	〃	〃	2.1	136	10.1
O	240-2	23	〃	〃	5.5	〃	〃	3.1	130	8.4
P	10-5	24	〃	〃	3.3	〃	〃	2.1	130	6.4
	15-6	53	〃	〃	2.9	〃	〃	2.7	140.5	5.6
Q	特供試	17	〃	〃	7.2	〃	〃	1.8	149	7.2
	E-1	54	〃	〃	4.6	〃	〃	2.3	139	6.0
R	C 5	16	〃	〃	3.9	〃	〃	2.1	130	5.1
	D 2	28	〃	〃	3.5	〃	△	2.9	140.5	7.8
S	382-2	482	〃	〃	3.9	〃	Passed	1.9	135	9.0
	017	33	〃	〃	2.8	〃	〃	2.0	133	9.3
	020	34	〃	〃	2.2	〃	〃	1.9	131	8.9
T	61	483	〃	〃	3.8	〃	〃	1.8	134	11.0
U	750	10	〃	〃	4.5	〃	〃	1.4	143	6.4
V	227-10	485	〃	〃	5.7	〃	〃	2.5	145	8.2
	230-4	15	〃	〃	6.6	〃	〃	2.1	136	10.1
Average					5.25			2.15	135.09	8.12

△ Passed (remarks : slightly fluorescent.)

Table 4. J. P. V. Test of Gossypium Absorbens and Viscose Rayon.

	Goss. Abs.	Vis. Ray.
Alkalinity or Acidity	Passed	Passed
Water-soluble substances (mg)	5.25	7.6
Dyes.	Passed	Passed
Fluorecent Dyes.	Passed	Passed
Time of Submersion (sec)	2.15	5.2
Absorbency (g)	135	125

	Goss. Abs.	Vis. Ray.
Other foreign matter (Neps)	Passed	Passed
〃 (c-Iod. T.S. Reac.)	—	+
Residue on ignition (mg)	8.12	9.6

3) 考察

(i) 酸またはアルカリ：メチルオレンジ、フェノールフタレイン両試液に対しいずれも中性を示し良好の結果を得た。

(ii) 水溶性物質：製造後あまり日数を経ない袋入り試料を開封して、直ちに試験した脱脂綿の成績は平均値 5.25mg を示し、数年前に比べて非常に良好な結果を得ている。供試スフ綿は試料入手時 7.8mg で、局方限度の 14mg に充分適合した。しかし綿に比べて経時変化しやすいのでこれについては後述する。

(iii) 色素・螢光色素：脱脂綿において、ときどき螢光を発するものが検出されるが、それは極くまれである。(41件中3件に極くわずかの螢光が認められ要注意となつた)。供試スフ綿も検出されなかつた。なお螢光色素に関して予備実験として、ジアミノスチルベン系色素の Whitex B, Whitex B. B. の各種濃度の希溶液を試料に浸し島津のアクメ螢光鑑識器 (波長 360m μ で照射したところ、その確認限度は綿では 10 γ /cc, スフ綿では 50 γ /cc の各濃度の溶液に浸したものが確認限度であつた。

(iv) 吸水力試験：前報⁹⁾当時の脱脂綿の平均試験成績は、沈降時間 2.26秒、吸水量 128g であつたが、最近の製品はそれぞれ 2.15秒、135g と非常に向上している。供試スフ綿は局方規定の限度内ではあるが、脱脂綿に比べて成績が劣っており、5.2秒、125g であつた。この吸水量は前報⁹⁾のスフ綿と比べて、オリリングしておらず、捲縮性を付与し、織度を大きく (太く) して綿繊維に似かよわせたためか、ほとんど脱脂綿の吸水量と同じであつた。経時変化を受けたものは成績が落ちるので後述する。

なお、前報¹⁾において報告した各種溶媒に対する保持力試験を行つたところ、Table 5 に示すようにスフ綿は脱脂綿より劣つていた。

Table 5. Submersion Time and Solvent Retention of Gossypium
Absorbens and Viscose Rayon.

	Water		ab. Alcohol		Benzene		Petrol Benzine	
	T [*] (sec)	R ^{Δ} (g)	T [*] (sec)	R ^{Δ} (g)	T [*] (sec)	R ^{Δ} (g)	T [*] (sec)	R ^{Δ} (g)
Goss. Ab.	(1.8)	133	(2.0)	107	(1.4)	109	(1.0)	83
Vis. Ray.	(5.2)	125	(2.0)	85	(1.8)	98	(1.0)	80

* T.....Time of Submersion

Δ R.....Retention

(v) 異物：脱脂綿中にはその原料ならびに製造工程の都合上、多少のネップ不可避である。これについて業務局長通達¹⁰⁾にてその許容範囲が定められており、試料の脱脂綿はいずれも適合する。供試スフ綿は化学的合成品であるため、ネップはなく美麗な外観をそなえている。

濃ヨウ素試液によるスフ綿の検出は、もちろん前者は陰性、後者は陽性 (黒藍色) である。

(vi) 熱灼残留物：Table 4 に見られるように脱脂綿の平均値 8.1mg, 供試スフ綿は 9.6mg で両者とも局方規定の限度内に入る。

IV. 経時変化

一般的にいつて脱脂綿・スフ塊ともに経時変化すると老化して変色や吸水力不良などの種々の悪影響を生じる。しかしここ 1, 2 年来の脱脂綿は比較的経時変化は少いようであるが、スフ塊で以前入手したとき沈降速度が 2.5 ~ 2.6 秒で良好であつたものが、半年 ~ 1 カ年経過後局方規定限度を超えたので、供試スフ綿を密封して 2 カ月放置したもの、および蒸気滅菌や乾熱滅菌などの加温操作を加えた試料につき、水溶性物質・銅価試験・吸水力試験を行いその老化現象を検討した。

1) 試料

- ① 最近製造されたA社の脱脂綿および供試スフ綿
- ② ①の試料を硫酸紙にて密封し, 2ヵ月放置したもの
- ③ ①の試料をコッホ滅菌釜中にて 120°C, 30min. 15lb で加熱滅菌したもの
- ④ ①の試料を 120°C~130°C で 30min. 乾熱滅菌したもの

2) 試験方法

- i) J. P. VI. による水溶性物質試験
- ii) 銅価試験
- iii) J. P. VI. による吸水力試験

3) 試験結果

Table 6 参照.

Table 6. Degenerative Test.

Sample	Test	i) Water sol. sub. (mg)		ii) Cu-Number		iii) Time of Subm- ersion (sec.)	
		Goss. Ab.	Vis. Ray.	Goss. Ab.	Vis. Ray.	Goss. Ab.	Vis. Ray.
① New Products		6.3	7.9	0.08	0.79	1.8	5.2
② Seal tightly, after 2 month		6.4	9.1	0.08	0.89	1.8	5.4
③ Steam Sterilization 120° 30min.15lbs,		7.2	12.3	0.09	1.48	2.2	6.3
④ Hot-air Steril. 120°, 30min.		4.5	8.7	0.81	1.80	2.4	8.3

4) 考察

以上の試験により正常の脱脂綿では密封して保存, またはコッホ滅菌器により加温滅菌してもあまり変質はしないようである。乾熱滅菌器に入れたときは銅価が大きくなったことより繊維素が傷害を受けるようであるが, 水溶性物質の量はかえって減少している。これは熱分解を受けたものが難溶性になったためと思う。

スフ綿においては保存中徐々に変質するようであり, またコッホ滅菌器中でも影響を受けることが大きい。乾熱滅菌操作によつて綿と同様水溶性物質に影響はないが, 銅価・吸水力試験においてはいちじるしく悪い結果を得ている。

一般に銅価試験において, 脱脂綿と比べてスフ綿の価が高く出るのは, その重合度の関係もあらうが変質されやすいためと思う。

V. 各種薬液の有効成分に対する影響

1) 試料および実験方法

このたびの供試スフ綿について前報¹⁾記載の方法により, マーキュロクロム (J. N. F. II), ヨードチンキ, 希ヨードチンキ (J. P. VI) の主成分に対する影響について脱脂綿と比較検討した。

2) 実験結果

Table 7 参照.

Table 7. Absorption of Principal Ingredient in several medicinal solution by Goss. Abs. and Vis. Ray.

	Principal Ingredient	Kind of Fibers	Conc. of Ingredient(%)		Variation rate(%)	
			* B. T.	A. T.	(c) A. T./B. T. × 100	C-100
J. N. F. II. Mercurchr.	Hg.	Goss. Abs.	0.459	0.464	101.09	+1.09
		Vis. Ray.	〃	0.449	97.82	-2.18
J. P. VI. Tr. Iod.	I	Goss. Abs.	6.12	6.08	99.35	-0.65
		Vis. Ray.	〃	6.10	100.33	+0.33
〃	KJ.	Goss. Abs.	3.82	3.82	100.00	±0
		Vis. Ray.	〃	3.84	100.52	+0.52

	Principal Ingredient	Kind of Fibers	Conc. of Ingredient(%)		Variation rate(%) (c)	
			* B. T.	A. T.	A. T./B. T. × 100	c-100
J. P. VI. Tr. Iod. Dil.	I	Goss. Abs.	3.02	3.00	99.34	-0.66
		Vis. Ray.	〃	2.98	98.68	-1.32
〃	KJ.	Goss. Abs.	2.01	2.05	101.99	+1.99
		Vis. Ray.	〃	2.02	100.50	+0.55

* B. T. and A. T. show the concentrations of Principal Ingredient before and after treatment respectively.

3) 考察

マーキュロクロム液中のHgに対する影響は前報とほとんど同じく、脱脂綿ではHg含量が少し多くなるのに対して、スフ綿ではかえって減少する。

ヨードチンキおよび希ヨードチンキ中のヨウ素およびヨウ化カリウムに対する影響は、ヨードチンキ中のヨウ素濃度がスフ綿によつてわずかではあるが濃くなるのを除いて、大体両者ともに同様の傾向を示した。

総 括

最近西部地区で製造された22社41検体の脱脂綿と特に衛生材料用として作られた某レーヨンメーカーよりの供試スフ綿について検討した。

JIS に準拠する物理試験によると供試スフ綿は木綿にくらべて繊維長が長く、毛足ではすぐれていた。しかし弾力性が乏しく柔らかくて、いわゆる腰のない感じを受けた。色沢も木綿の方がやや白くスフ綿は黒ずんだように見える。

両者の J. P. VI. 各条項試験結果はいずれも適であるが、吸水力においてスフ綿が劣っていた。最近製造された脱脂綿は数年前製造されたものに比べて非常に試験成績がよくなっている。

両者の経時変化に対する検討では木綿に比べて供試スフ綿は変質されやすい。

マーキュロクロム液、ヨードチンキなどの薬液の有効成分に対する影響は両者ともほとんど同様の結果を得た。

以上の結果より衛生材料に木綿の代用としてスフ綿を用いるには、なお解決すべき多くの問題があるように思われる。

本研究を行うにあたって、御便宜を与えられた小川支所長、および中島部長に感謝するとともに、一部試験の実施を担当された財団法人日本紡績検査協会梅林氏、ならびに日本化学繊維検査協会中央検査所太田登氏に厚く謝意を表する。

文 献

- 1) 喜谷市郎右衛門, 中島辰巳, 吉村淳, 遠藤勝, 五十川泰郎: 本誌, 75, 355 (1957).
- 2) Balls, W. L.: Studies on the Quality of Cotton, Macmillan & Co, (1928).
- 3) 大野泰雄: 織学誌, 11, 520 (1955).
- 4) JIS. L 1019. (1953).
- 5) 喜谷市郎右衛門, 中島辰巳, 吉村淳, 遠藤勝: 本誌, 75, 365 (1957).
- 6) JIS. L 1015 (1953).
- 7) 祖父江寛: 繊維科学, 298 (1956). 三省堂.
- 8) JIS. L 1024 (1954).
- 9) 喜谷市郎右衛門, 中島辰巳, 吉村淳, 遠藤勝: 本誌, 75, 351 (1957).
- 10) 厚生省薬務局長通達, 薬発第1175号. 昭32.3.18.

Summary

We compared the absorbent cotton with the stable fiber (viscose rayon) as a sanitary material especially about physical (JIS test) and chemical properties (J. P. test.)

We obtained following results.

Fiber length	Absorbent cotton	<	Viscose rayon
Elasticity	〃	>	〃
Softness	〃	<	〃
Whiteness	〃	>	〃
Absorbency	〃	>	〃
Degeneration	〃	<	〃
Behavior to medicinal solutions	〃	≒	〃

Received May 31, 1958.

灯台の飲料用天水の放射能調査

長 沢 佳 熊, 河 村 正 一

Research on Radioactivity in Stock Rain Water of Lighthouses

Kakuma NAGASAWA and Shōichi KAWAMURA

天水は山地、島、灯台などで井戸水、水道水の使えないところで飲用されている。最近の原水爆実験の影響で雨水中には放射能が、かなり含まれていることがあるが、天水は直接の水源が雨水であるため、かなり汚染されているのではないかと考えられる。一方灯台で天水を常用している人々の白血球が減少したという報道もあつた。この点に留意した海上保安庁灯台部が7箇所の灯台で採取した天水について筆者らはその放射能を測定した (Table 1) これらの試料は時間とともに減衰するが、比較的放射能の高い試料の減衰の状況を Fig. 1 に示し、No.4, No.12 をイオン交換樹脂で分別し、その結果を Table 2 に示す。

Table 2 では No.4, No.12 とともにフラクション4 (アルカリ土類金属の溶離すべきフラクション) は放射能をほとんど認めなかつたので ^{90}Sr が存在する可能性は少い。さらに微量の ^{90}Sr の定量をおこうためには、試料が少量のため分析できなかつた。一般にこれらの天水には懸濁物を含み、試料によつては黒色の浮遊物が混入しているものもあるが、測定の結果天水には必ず多少の放射能が含まれていることがわかつた。汙過ずみの天水は未汙過のもの比べて放射能が遙かに少くなつていたので (Table 1 参照) 汙過して使用の方がよい。完全な汙過装置を用いると懸濁物、放射能ともに、かなり除き得るはずであるが、汙過ずみと称する試料も懸濁物、放射能を多少含んでいるところから、これらの灯台の汙過設備を改善することが必要である。また降りはじめの雨に、かなり多くの塵埃、放射能が含まれているので、降りはじめの雨を入れないようにすることも望ましい。

実 験 の 部

試料 弾崎航路標識事務所 (新潟県両津市大字鷺崎字弾崎)

神威岬航路標識事務所 (北海道釧路郡釧路町大字神岬)

陸中尾崎航路標識事務所 (岩手県釜石市平田第八地割)

沖の島灯台 (福岡県宗像郡大島村沖の島)

草垣島灯台 (鹿児島県枕崎市)

長尾鼻航路標識事務所 (鳥取県気高郡青谷町)

室戸崎航路標識事務所 (高知県安芸郡室戸岬町)

前記の灯台から送付された天水約 1.8 l (場合によりこれ以下) を蒸発乾固しその放射能を測定しその結果を Table 1 に示す。

測定方法 神戸工業製 GM カウンター (百進法): マイカ窓厚は 1.58 mg/cm^2 で、試料との距離 1 cm で測定した。この G. M カウンターの見掛けの効率、米国 National Bureau of Standards の Ra-D+RaE を用いたとき、16.6% である。

イオン交換樹脂による溶離 蒸発残留物を白金皿中で水に溶かし、硝酸少量を加えて蒸発乾固し N/5 塩酸 60 cc に溶かし不溶物を汙過して得た溶液を、Amberlite IR-120 (1 cm×10 cm, 100~200 メッシュの HR 形) に通し、常法¹⁾により溶離液を 1 分間 0.5 cc の流速で流した。溶離液の灰化は白金皿²⁾を用いた。この灰分について放射能を測定した。

Table 1. The Results of Radioactivity in Stock Rain Water*

No.	Locality	Treatment	Date of Sampling	Gross Activity cpm/1000 cc	*Residue g/1000 cc	Date of Measuring
1	Hajikizaki, Niigata	N	Jan. 20, 1958	12.9 $\pm$ 0.5	0.3489	Feb. 4, 1958
2	〃 (No. 1)	F	〃	4.7 $\pm$ 0.5	0.2096	〃
3	〃 (No. 2)	F	〃	7.3 $\pm$ 0.5	0.1922	〃
4	**Kamoimisaki, Hokkaido	N	Jan. 24, 1958	32.1 $\pm$ 0.7	0.0643	Feb. 6, 1958
5	〃	F	〃	8.9 $\pm$ 0.8	0.2948	〃
6	Nagaohana, Tottori	N	Jan. 30, 1958	4.2 $\pm$ 0.5	0.1367	Feb. 15, 1958
7	〃	F	〃	5.9 $\pm$ 0.4	0.1788	Feb. 27, 1958
8	Rikuchuoazaki, Iwate	N	Jan. 15, 1958	16.0 $\pm$ 0.5	0.1436	Mar. 3, 1958
9	〃	F	〃	4.9 $\pm$ 0.6	0.1451	〃
10	Muroto, Kochi	N	Jan. 30, 1958	13.1 $\pm$ 0.6	0.1319	Mar. 4, 1958
11	〃	F	〃	8.4 $\pm$ 0.6	0.0724	〃
12	**Kamoimisaki, Hokkaido	N	Feb. 15, 1958	28.0 $\pm$ 0.8	0.1129	Mar. 7, 1958
13	〃	F	〃	6.9 $\pm$ 0.7	0.3440	〃
14	Rikuchuoazaki, Iwate	N	Feb. 8, 1958	21.5 $\pm$ 0.6	0.1268	Mar. 7, 1958
15	〃	F	〃	5.2 $\pm$ 0.4	0.0922	〃
16	Okinoshima, Fukuoka	N	Jan. 28, 1958	8.1 $\pm$ 0.4	0.0951	Mar. 12, 1958
17	〃	F	〃	6.3 $\pm$ 0.5	0.1226	〃
18	Kusagakijima, Kagoshima	N	Jan. 31, 1958	7.4 $\pm$ 0.5	0.3918	Mar. 14, 1958
19	〃	F	〃	4.4 $\pm$ 0.5	0.2758	〃
20	Hajikizaki, Niigata	N	Feb. 24, 1958	16.9 $\pm$ 0.5	0.1222	Mar. 18, 1958
21	〃	F	〃	7.3 $\pm$ 0.5	0.2327	〃
22	〃	F	〃	4.9 $\pm$ 0.4	0.2064	Mar. 20, 1958
23	Kusagakijima, Kagoshima	N	Feb. 20, 1958	7.4 $\pm$ 0.4	0.2978	Apr. 1, 1958
24	〃	F	〃	4.1 $\pm$ 0.5	0.2703	〃
25	Okinoshima, Fukuoka	N	Feb. 20, 1958	3.7 $\pm$ 0.4	0.0769	Apr. 12, 1958
26	〃	F	〃	4.8 $\pm$ 0.4	0.1021	〃
27	Nagaohana, Tottori	N	Feb. 28, 1958	2.4 $\pm$ 0.4	0.1999	Apr. 15, 1958
28	〃	F	〃	8.9 $\pm$ 0.5	0.0901	〃
29	Kamoimisaki, Hokkaido	N	Mar. 17, 1958	75.4 $\pm$ 1.2	0.4506	Apr. 17, 1958
30	〃	F	〃	8.9 $\pm$ 0.7	0.3963	〃
31	Rikuchuoazaki, Iwate	N	Apr. 18, 1958	41.4 $\pm$ 0.7	0.0696	Apr. 18, 1958
32	〃	F	〃	7.4 $\pm$ 0.4	0.2393	〃
33	Hajikizaki, Niigata	N	Mar. 20, 1958	7.6 $\pm$ 0.4	0.1653	Apr. 21, 1958
34	〃	F	〃	6.0 $\pm$ 0.5	0.2567	〃
35	〃	F	〃	5.0 $\pm$ 0.6	0.2261	〃
36	Nagaohana, Tottori	N	Mar. 31, 1958	201.3 $\pm$ 0.5	0.3147	May. 6, 1958
37	〃	F	〃	20.1 $\pm$ 0.6	0.1860	〃
38	Kusagakijima, Kagoshima	N	Mar. 19, 1958	14.1 $\pm$ 0.4	0.0850	May. 7, 1958
39	〃	F	〃	7.1 $\pm$ 0.5	0.1517	〃
40	Okinoshima, Fukuoka	N	Mar. 18, 1958	9.1 $\pm$ 0.6	0.0488	May. 10, 1958
41	〃	F	〃	5.8 $\pm$ 0.5	0.0731	〃

N : Not filtered

F : Filtered

* All Samples taken : 1.8l except**.

** Samples taken : 1.2l.

*** Errors are the standard deviations of the G.M. counter used.

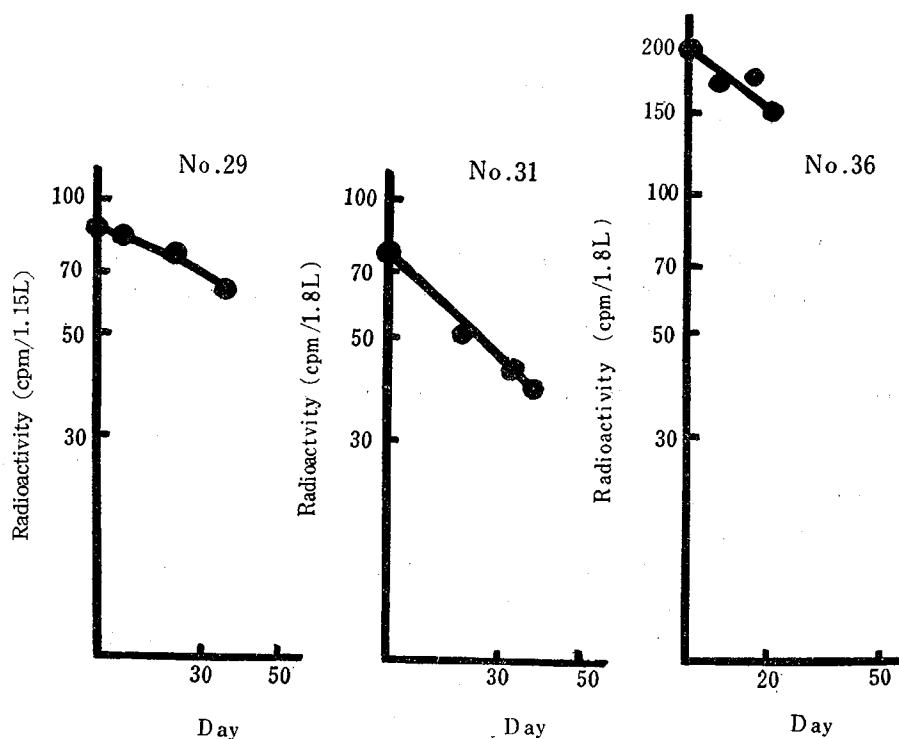


Fig. 1 The Decay Curves of Some Samples

Table 2 The Results of Group Separation through Amberlite IR-120

No. 4

Fraction No.	Effluent	Radioactivity* (cpm)	Note
Insoluble residue		4.7 ± 0.9	
1	N/5 Hydrochloric acid	5.8 ± 0.6	
2	0.5% Oxalic acid	0.9 ± 0.7	
3	5% Ammonium citrate pH 3.5	7.9 ± 0.7	
4	5% Ammonium citrate pH 5.0	0.2 ± 0.6	Alkaline earth elements
5	3N Hydrochloric acid	0.3 ± 0.7	

Date of measuring May 12, 1958

No. 12

Fraction No.	Effluent	Radioactivity* (cpm)	Note
Insoluble residue		5.7 ± 0.7	
1	N/5 Hydrochloric acid	7.5 ± 0.7	
2	0.5% Oxalic acid	1.2 ± 0.7	
3	5% Ammonium citrate pH 3.5	11.8 ± 0.9	
4	5% Ammonium citrate pH 5.0	0.6 ± 0.9	Alkaline earth elements
5	3N Hydrochloric acid	0.4 ± 0.7	

Date of measuring May 12, 1958

* Errors are the standard deviations of the G.M. counter used.

むすび

全国の7つの灯台で使用している飲料用天水を蒸発乾固しG. Mカウンターで放射能を測定した。試料の中に若干の放射能が含まれていた (Table 1)。この中の2つの試料(約1.8L)について ^{90}Sr を分析するため Amberlite-IR 120 樹脂で分析したが、アルカリ土類金属のフラクションには放射能を認めなかつたので ^{90}Sr は殆んど含まれていない。

文 献

- 1) Tompkins, E.R., Khym, J.X., and Cohn, W.E. : *J. Am. Chem. Soc.* 69, 2769 (1947).
- 2) 長沢佳熊, 河村正一, 城戸靖雅, 亀谷勝昭 : 日本薬学会関東支部昭和33年2月例会講演。

Summary

The samples of the stock rain water for drinking being used at 7 lighthouses in Japan were collected and determined the artificial radioactivity.

The water samples were evaporated to dryness and the dried samples were mounted on stainless-steel planchets and counted with the end window Geiger Mueller counter.

Data obtained were illustrated the presence of some radioactivity in the samples (see Table 1).

2 samples were analyzed for ^{90}Sr with Amberlite IR-120, the results showed no radioactivity found in the fraction of alkaline earth elements or ^{90}Sr (see Table 2).

Received May 31, 1958.

輸入果汁缶詰中のスズ含量について

川 城 巖, 川 田 公 平, 細 貝 祐 太 郎

Determination of Tin in Canned Fruit Juice

Iwao KAWASHIRO, Kōhei KAWADA and Yūtarō HOSOGAI

まえがき 一般に果汁などの有機酸を含む缶詰では、その液汁中に微量のスズが溶出していることが考えられる。われわれは、輸入検査品としてオレンジ、レモンおよびトマトなどの果汁缶詰について検査をする機会を得たので、これらについてスズ溶出量の定量に重点をおき、これと同時にpH、酸度、ビタミンC含量などの分析を行ったのでその結果を報告する。

実験方法 1. pHの測定 Beckman ModelH-2型を使用した。2. 酸度¹⁾ 常法により定量した。3. Vitamin C含量²⁾ 2,6-Dichlorophenolindophenol 滴定法により還元型 Vitamine Cの定量を行った。4. 錫の定量、一般にスズの定量法には各種の方法^{3, (3-6)}があるが、なかでも缶詰食品中錫の定量^{7, 8)}は、Dithiol 比色法が主として行はれているが本法を光電比色定量した場合は発色時における分散剤の使用が重要な意味を有しており各種の Sodium alkyl sulfonate 系の界面活性剤⁹⁻¹⁴⁾が多く使用されているが、われわれは、まず衛生検査指針採用されている重量法¹⁵⁾を行った。つぎにこれと、Dithiol 比色法との比較検討を行う予定で Clark法^{3, 4)}を光電比色定量に応用する実験を進めたが、この方法の分散剤アラビアゴムでは透明にはなるが感度が低下しカゼインおよび寒天などの膠質液では濁りが多く感度が低下した。さらにカーボワックスなども使用したが光電比色定量に応用することは困難であつたので発色した沈澱を汙過分離後、反分光射法による定量方法について考慮中であるが試料の分解方法、妨害イオンの分離など各種の問題があり詳細は検討中である。なおA. O. A. C.¹⁷⁾では重量および容量法のみを採用し比色法はない。

実験結果 以上前記の各試験項目について検査を行い、その結果はTable 1のごとくである。

Table 1. Analytical Data on Several Canned Juices

Juice name	D-orange	L-orange	D-pine	D-tomato	D-pine	D-pine	D-pine
Contents (g)	650	625	650	625	650	625	640
Liquid (cc)	545	550	545	550	554	550	545
Can weight (g)	75	75	75	75	75	75	75
Acid (as citric) (%)	0.8	0.92	0.65	0.45	0.71	0.65	0.75
pH	3.6	3.7	3.5	4.3	3.4	3.6	3.5
VitaminC (Red) (mg)	19.4	24.8	13.3	22.0	13.0	15.1	10.3
Tin contents (mg)	5.27	5.435	8.03	4.25	8.625	7.01	7.73
Artificial colour	—	—	—	—	—	—	—
Vacuum degree (in/Hg) 15		16	17	13	15	15	15

Juice name	D-tomato	S-lemon	D-tomato	D-pine	D-grapefruit	D-pine
Contents (g)	610	200	1.6kg	1.7kg	1.6kg	1.7kg
Liquid (cc)	550	185	1.05	1.05	1.05	1.05
Can weight (g)	75	25	150	150	150	150
Acid (as citric) (%)	0.38	4.06	0.6	0.95	1.6	1.1
pH	4.2	2.3	4.3	3.5	3.5	3.4
Vitamin C(Red)(mg)	17.6	41.4	20.0	16.0	30.0	14.0
Tin contents (mg)	4.883	3.08	4.51	7.52	7.08	0.92
Artificial colour	—	—	—	—	—	—
Vacuum degree (in/Hg)	12	8	12	17	14	17.5

総括 検査に使用した果汁缶詰の各測定値はいずれも正常^{18,19)}であり良品と思わはれる。なお各測定値相互間の関係はあまりみあたらなかった。

文 献

- 1) 果汁技術研究会編, 果汁ハンドブック : p. 635 (昭30).
- 2) 日本薬学会編, 衛生試験法註解 : p. 194 (昭31).
- 3) Snell, F.D. : Colorimetric Methods of Analysis: Volume II. p.215 (1949).
- 4) Sandell, E.B. : Colorimetric determination of Traces of Metals, 565 (1950).
- 5) Welcher, J. : Organic Analytical Reagents Vol. IV, 191, (1948).
- 6) Onishi, H, Sandell, F.B. : *An alyst. chim. Acta.*, 14, p. 153, (1956).
Z.Lebeusmittel-Uuters.u.-Forsch, 105, H-2, p 132 (1957).
- 7) Brenstein, I, Czeslawa Gilewskac : *C.A.* p 10291 i, (1956).
- 8) Jacobs, M. B : The Chemical Analysis of Food and Food Products : p. 234 (1951).
- 9) 小易益生, 野村祐治郎, 鈴木敦夫 : 分析化学, 6, 34 (1957)
- 10) Ovenston, T.C.J Kenyone : *Analyst.*, 80, 566 (1955).
- 11) Kenyone., Ovenstone, T.C.J., : *Nature.*, 167, 727 (1951).
- 12) Dickinson, D R., Holt : *Analyst.*, 79, 104 (1954).
- 13) Fransworth, M.Pekola, J : *Anal Chem.*, 26, 735 (1954).
- 14) Williams, F.R., Witehead J. ; *J.Appl. chem.*, 2, 213 (1952).
- 15) 厚生省編纂, 衛生検査指針 : Ⅲ 96 (1950).
- 16) Hoppe-Syler und Thierfelder: *Handbuch der Physiologisch und Patologische Chemische Analyse*, 3 band/1 bandteil p. 103 (1955).
- 17) *Official Methods of Analysis*, 8th Ed., Association of Official Agricultural Chemists, 1955, 24, 103.
- 18) 果汁技術研究会編, 果汁ハンドブック : 432 (昭30).
- 19) Winton, A.L. : *Structure and Composition of Foods VoL. VII.* p. 689, 704, 715, 406. (1949)

Summary

The method for determination of acidity, pH, vitamine C, tin and artificial colours in canned fruits juice (orange, tomato, pine and lemon) has been described, and we reported here following results. See Table 1.

Received May 31, 1958.

熊本県水俣地方の奇病に関する化学的毒物の検索成績

川 城 巖, 福 沢 富 美

Studies on Chemical Poisonous Substances concerning

"Curious Disease" in Minamata District

Iwao KAWASHIRO and Fumi FUKUZAWA

総 論

昭和28年12月熊本県水俣地方に原因不明の中樞神経系疾患が発生した。これは疫学的にも臨床の面からも全く従来知られていない疾患で初めは脳炎様疾患のような伝染性の疑いももたれていたが、昭和31年4月頃から患者も次第に増加し昭和31年5月には該地方新日窒附属病院において四肢の痙攣性失調性麻痺および言語障害などの脳症状を主徴候とする4名の患者について詳細な観察が行われた。その結果これは地域的な特殊な化学的物質による食中毒ではないかとの見方が強くなり、遂に水俣保健所を中心とした水俣奇病対策委員会が県に組織された。また同年8月には患者の続発状況および症状の性質から厚生省防疫課においても、本件の究明ははなはだ困難であるとの見通しのもとに熊本大学医学部にその研究を依頼した。同年11月熊本大学において開催された際の間報告によれば、細菌、ウィルス等の病原による伝染性疾患の疑は全くうすらぎ、これはある種の重金属による中毒であるとの結論が出された。

中毒物質としてマンガン説が最も濃く、人体への侵入は主として魚貝類の摂取によるものと発表された。この地方の住民は主として、水俣地域からとれる魚貝類を常食とし、患者は一樣に水俣湾内産の魚貝類を多量にとつていたといわれている。なお人体のみではなくこの湾内よりとれた魚貝類を摂取した猫も同様の症状を現わし死亡している。水俣港湾の海水、海底泥土は市内にある新日本窒素肥料KK水俣工場から廃水や廃棄物が流出し強く汚染されている。特に「まてがた水域」とよばれている湾口にはドベと称する御膳汁状の泥土が蓄積し、ためにしばしば湾内の浚渫を行わなければならない状態であつた。患者の発生はこの湾内浚渫の行われるたびごとに多くなるようにみられた。昭和31年11月には厚生科学研究班が編成され、国立公衆衛生院疫学部などがこれに参加したが、原因物質が化学性毒物によるものではないかとの説が濃化してきたため、ここにおいて当試験所も新たに同中毒研究班に参加することとなつた。

本問題に関連して当試験所に送附された検体の種類は次のとおりである。

- a) 海 泥 (約 3g) 公衆衛生院 佐藤博士より分与 (昭和32.4.12)
- b) イリコ (約 5g) 同上
- c) 海 泥 (約2.2kg) 熊本県衛生部より送附のもの (昭和32.5.23)
- d) 海 泥 (約3.0kg) 同上
- e) 発症幼猫 (牝体重370g) 臓器 公衆衛生院松田部長より分与のもの (昭和32.8.23)

{ 脳 9.7 肺 5.5 胃 2.8 肝 2.4 脾 0.45 小腸 1.25 盲腸 4.5 腎 2.0
{ その他 0.42 全量 29.02g ホルマリン液 約100cc

とりあえず検索目的物質としては、新日窒工場の廃棄物との関係を考慮し、有害性金属を主とし、まず分光分析によつてその大要を知り、特殊のものについてさらに化学試験を行つた。すなわち検体 a) b) ははなはだ少量のため分光分析のみにとどめ、c) d) e) については分光分析の結果を参考として、銅、鉛、マンガンなどの化学分析を行い、このほか該中毒症状と類似の症状を惹起せしめうる毒物として、タリウム、セレンなどをとりあげた。

海泥中の銅、鉛はジチゾン法^{1), 2)}により、マンガンは過ヨウ素酸々化による過マンガン酸比色法³⁾を用いた。タリウムの検索は検体の分解によつて生じた Tl^+ を pH9.5~10 においてジチゾン抽出を行い、のち Tl^{3+} としてヨウ素澱粉の比色法により定量を行つた。このほかタリウムの定量法としては、塩化物、臭化物のエーテル抽出^{4), 5)}法があるが、これはタリウムと共存する鉄の分離がはなはだ困難のため、後に行う比色定量に障害を及ぼ

し、良法とはいいいく。

セレンの定量法は、臭素含有の臭化水素酸を加えて蒸留し、得た亜セレン酸を還元し、金属セレンとし、重量法および 3,3'-diaminobenzidine による比色法によつて定量した。

発症幼猫臓器中のセレンは、黄色酸化水銀含有の硫酸を用いて分解した後、海泥の場合と同様に行つた。

本文においては試験の結果のみを示し、ただタリウム、セレンの定量法について、その実験法の概要を付記する。

なお本研究費の一部は、昭和32年度厚生科学研究補助金によつたものである。

また本文中分光分析の一部については、警察庁科学捜査研究所、警視庁科学検査所および森永乳業研究所などの御尽力によつたことを付記する。

実 験 の 部

A. 分光分析

I a) 海泥, b) イリコの測定条件および測定結果

i) 島津石英 QF60 型分光写真器, 直流弧光法, 中間結像法, 70~80V, 6~10A, 露出時間 { Fe 7~8 sec., スリット幅 0.015mm, 使用乾板 Fuji Process Hard. Samp. 60sec. }

ii) a) 海泥

Ag Trace	Be —	Cu +	Ni Trace	Sn +
Al +	Bi —	Fe +	P —	Ti +
As —	Ca +	Mg +	Pb +	Tl —
B Trace	Cd —	Mu +	Sb —	V —
Ba Trace	Cr —	Na +	Si +	Zn Trace

iii) b) イリコ

Ag Trace	Bi —	Fe +	Ni —	Sn Trace
Al Trace	Ca +	Hg —	P +	Ti Trace
As —	Cd —	Mg +	Pb Trace	V —
Au —	Cr —	Mn Trace	Sb —	Zn Trace
Ba —	Cu Trace	Na +	Si +	

上記 b) の所見に対し、念のため茨城産イリコについて行つたところ、その結果は上記のものとはほとんど一致し、特異性は認められなかつた。

II e) 発症幼猫臓器の測定条件および臓器別所見の総合結果

i) 島津石英 QF60 型分光写真器, 直流弧光法, 中間結像法, 75V, 6~7A, 露出時間 { Fe 7~8 sec., スリット幅 0.015mm, 使用乾板 Fuj Process Hard. samp 45 sec. }

ii) e) 発症幼猫臓器別所見の総合結果

Al +	Cu +	Mg +	Na +	Si +
Ca +	Fe +	Mn +	P +	

上記所見は特に顕著にみとめ得たものだけを記した。なお本試験には対照として健康成猫 (3kg 8) の相当臓器をそれぞれ、検体と同量ずつとり同条件で試験したところ、その結果は上記所見とほぼ一致し、ただ検体中のマンガンの含量は対照物に比べやや多いものと認められた。なおセレンについては分光分析上の所見は求め得なかつた。

B. 化学分析

I c) 海泥, d) 海泥および発症幼猫臓器中の有害性金属の分析結果

有害性金属	c) 海 泥 ppm		d) 海 泥 ppm		対 照 土 ppm 原検体として	e) 発症幼病臓 器 ppm
	乾燥物質とし て	原検体として	乾燥物質とし て	原検体として		
Cu	927	260	750	150	平均20	—
Mn	1536	427	1216	243	平均 6	—
Pb	0.36	0.1	0.35	0.07	検出しない	—
Se	15.30	4.25	18.60	3.72	検出しない	0.85
TI	検出しない	検出しない	検出しない	検出しない	検出しない	—

II 海泥中タリウムの検索⁶⁾

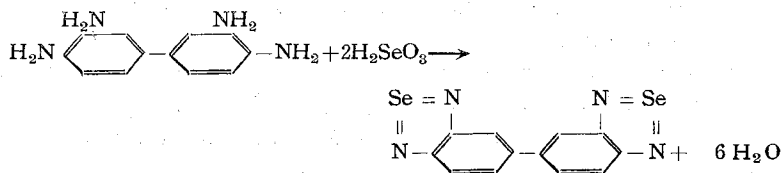
- 1) 検体は水浴上で送風しながら乾燥する。(a)海泥, d)海泥の水分はそれぞれ72%および80%であつた)
- 2) 乾燥物の一定量は塩酸(1:1)および塩素酸カリウムで分解一定容とする。
- 3) クエン酸ナトリウム溶液を加え, 水酸化ナトリウムおよびアモニア水で pH を9.5~10に調節しシアン化カリウム溶液および塩酸ヒドロキシルアミン溶液を加えて還元する。
- 4) pH9.5~10の溶液は分液ロート中で0.15%ジチゾンクロロホルム液で抽出する。
- 5) ジチゾンクロロホルム抽出液は水洗後濃硫酸を加えクロロホルムを蒸留し去る。
- 6) 残留物は30%過酸化水素水でジチズンを分解し澄明液とし水を加えて一定容とし検液とする。
- 7) 定性反応: Rhodamine B による呈色反応⁷⁾
- 8) 定量⁵⁾: 検液の一定容を臭素試薬と煮沸酸化し, フェノール試薬で脱色後, ヨウ化カリウム溶液および澱粉試薬で呈色させ, 580m μ で比色を行う。

以上の方法により c) 海泥, d) 海泥について行つたが, いずれも検出しなかつた。

なお念のためこの試験においては c) d) 海泥各2 10g にタリウムとして 130~260 γ を添加したものについて上記と全く同じ方法でタリウムの回収試験を行つたところ 90.3~102.1% の回収率を得た。

III 海泥中セレンの検索⁸⁾

- 1) 乾燥検体は細い冷却器と安全ロートおよび冷却受器を付けた蒸留装置に秤取する。
- 2) 臭素含有の臭化水素酸を加え過剰の臭素が留出するように注意して蒸留を行う。
- 3) 留液は亜硫酸ガスを導入し, 過剰の臭素の色を消失させる。
- 4) 酸塩ヒドロキシルアミンを加え, 水浴中で熱し一昼夜放置し, セレンを沈澱させる。
- 5) 定量: a) 沈澱が多量の場合——重量法, b) 沈澱少量の場合——3,3'-diaminobenzidine⁹⁾ により次の反応に基き比色定量を行う。



- 6) 比色法——金属セレンを臭素, 臭化水素酸にとかし pH2~3 で 0.5% 3, 3'-diamino-benzidin 液を加え放置し, アモニア水で pH6~7 とし, トルエンの一定量にうつし 430m μ で比色を行う。

IV 発症幼猫臓器中セレンの検索^{10), 11)}

- 1) 検体は全量23.5gの少量であつたので, 全臓器を混合し, セレンの検索だけを行つた。
- 2) 臓器の浸漬に使用したホルマリン液は蒸発乾燥し検体とともに試験に供した。
- 3) 検体は黄色酸化水銀を含む硫酸硝酸混液を加え黄色澄明液から微に淡褐色となるまで分解を行う。
- 4) 分解液は水で希釈後, 海泥の場合と同様に蒸留装置にうつしセレンの定量を行つた。

本試験においては, 分解途上および蒸留中におけるセレンの損失の有無を検するため, 全くセレンを検出しなかつた対照猫の肝臓を用いその回収率を測定した。その結果は85~87%であつた。

結 論

現在までに当所に送付された検体の範囲では、分光分析の結果海泥中には、銅、マンガン、鉛等が注目され、発症幼猫臓器中には対照猫に比べ、マンガンの存在が顕著に認められた。化学試験においては、上記諸金属のほか、タリウム、セレンをも目標としたがその結果 ①海泥中には 243~427ppm (対照土に比べ40~70倍) のマンガン、150~260ppm (対照土に比べ約10倍) の銅を検出した。セレン、鉛はそれぞれ 3.72~4.25 および 0.07~0.1ppm を検出し対照土には検出しなかつた。②発症幼猫臓器については、セレン0.85ppm (対照臓器からは検出しない) を定量し得た。なおその他の金属については検体が極めて僅少であつたので試験は行えなかつた。

文 献

- 1) 厚生省編, 衛生検査指針Ⅲ, p.70 (1952).
- 2) 日本薬学会編, 衛生試験法注解, p.127 (1956).
- 3) *Official Methods of Analysis*, 8th Ed, Association of Official Agricultural Chemists, 1955, 20.24-22.64
- 4) Sandell: *Colorimetric Determination of Traces of Metals*, p. 556 (1950).
- 5) Snell F.D. and Snell C.T.: *Colorimetric methods of analysis*, Vol. Ⅱ, p. 47 (1954).
- 6) Claude W. sill Heber E. Peterson: *Anal. Chem.*, 21, 10, 1268 (1949).
- 7) Feigl F.: *Spot test*, I, *Inorganic Applications*, p. 151 (1954).
- 8) *Official Methods of Analysis* 8th Ed., Association of Official Agricultural Chemists, 1955, 3. 26.
- 9) Cheng K. L.: *Anal Chem*, 28 (No.11) 1738 (1956).
- 10) *Official Methods of Analysis*, 8th Ed., Association of Official Agricultural Chemists, 1955, 24.96-24.99.
- 11) Monier-Williams, G. W.: *Trace Elements in Food*, p. 230 (1950).

Summary

Since about 6 years ago, it has happened a curious disease in Minamata District, Kumamoto Prefecture.

In other words almost all those who ate so many fishes caught in the bay were apt to suffer from paralysis-like disease. Especially children suffered from poliomyelitis-like disease. Besides, they were almost unrecovered.

After several investigations, it was nearly made clear that the disease was caused by some poisonous metals.

Thereupon we have taken part in the "Curious Disease" Investigation Committee organised under the auspices of the Welfare Ministry.

We have studied several samples which were sent to us by health officials of Kumamoto prefecture by means of spectrograph and chemical procedures.

The samples included some kinds of sea-mud in the Bay of Minamata and the internal organs (portions of each brain, lungs, stomach, liver, spleen, intestines, caecum and kidney) of poisoned cat which was experimentally fed with fishes caught in the bay.

The findings which we obtained were as follows:

(1) From the sea muds. Generally speaking, Mn (243~427 ppm, 40~70 times the quantity found out of muds in some Tokyo area), Se (3.72~4.25 ppm, nothing found out of the above mentioned muds), Cu (150~260 ppm, about 10 times the quantity found out of the above mentioned muds) and Pb (0.07~0.1 ppm, nothing found out of the same) were determined. The quantity of Mn and Se in the samples were so much, compared with some muds sampled out of Tokyo area.

(2) From the internal organs of poisoned cat. We could find out Se (0.85 ppm, nothing from internal organs of a sound cat used for experimentation.) But we regretted that the amount of samples was too little to investigate other metals.

Received May 31, 1958.

中華麵中のカセアルカリの試験について（第1報）

乾麵製造工程中の熱処理操作の影響

川 城 巖, 川 田 公 平, 割 石 浩 市

On the Test for the Caustic Alkali in "Chūka-men". I

Effect of the Heat Treatment in a Manufacturing Process of Dried "Chūka-men"

Iwao KAWASHIRO, Kōhei KAWADA, and Kōichi WARIISHI

中華麵製造に使用するかん水は、炭酸カリウム、炭酸ナトリウムまたはりん酸のカリウム塩類およびナトリウム塩類の一種または二種以上を混合したものと規定されていて、かん水の試験法第四項に「検液〔固体の場合はこれを水溶液（3：7）としたもの、液体の場合はそのまま〕5ccをとり、これに10%塩化バリウム溶液をもちや洗でんが生じなくなるまで加えさらに水を加えて100ccとする。これを激しく振つて汙過し、汙液50ccをとり、これに十分規定塩酸溶液3滴を加えさらにフェノールフタレイン試液2滴を加えるとき紅色を呈してはならない。」としてカセアルカリの混入を禁止している。したがって規定のかん水を用いて製造された中華麵はカセアルカリの反応が陽性であつてはならない。現在この試験は、かん水の試験法を応用して行われている。

たまたまカセアルカリの混入しない正常のかん水を使用して製造されたある種の中華乾麵の試験成績中にカセアルカリの反応が陽性の結果が出たという報告を受けたので、中華乾麵中のカセアルカリの検出にかん水の試験法を応用することの可否について改めて検討を加えた。

前述の乾麵の特徴は製造行程中に、生麵に短時間の熱処理をほどこす操作を有することであるが、この乾麵製造会社Aに試作を依頼し各製造工程の中間製品などについて検討した。またこれと別に熱処理を行つた製品と行わないものとをB社に依頼して試作し比較検討した。

実 験 の 部

試料

I. A社に依頼した試料（8種類）

A社の製造工程は、粉にかん水を加えて約20分間ねり合せた原料を

1. 圧延機で帯状に伸ばす。
 2. 細断し型を整える。
 3. 約120°Cの過熱水蒸気を1.5～2分間ふきつけ（外側だけ糊化する）、のち急冷する。
 4. 80°Cの熱風で4時間乾燥後包装して製品とする。
- a) 一級炭酸ナトリウムのみのかん水で製造したもの。これを前述の各工程ごとに採取する。（4種類）
 b) 一級炭酸ナトリウムと一級水酸化ナトリウムを（4：1）の割で混合したかん水で製造したもの。a)と同様に採取する（4種類）。

II. B社に依頼した試料（6種類）

つぎに述べる3種のかん水で製造したものを、それぞれ蒸気処理したもの、しないものとの2種類ずつ製した。

- a) 一級炭酸ナトリウムのみのかん水で製したもの。（2種類）
- b) 一級炭酸ナトリウムと一級水酸化ナトリウムを（1：1）の割で混合したかん水のもの。（2種類）
- c) 一級水酸化ナトリウムのみのかん水で製したもの。（2種類）

試験法

粉砕した試料20gを300cc容の三角フラスコに採取し、蒸留水200ccを加えて密栓して30分間激しく振盪する。のち汙過し汙液についてつぎの各項の試験を行う。

I pHの測定

II 汙液100ccに10%塩化バリウム溶液10ccを加え激しく振つたのち遠心分離し、上澄液にフェノールフタレイン試液5滴を加えて呈色を観察する。

III IIの試験で紅色を呈すれば、その紅色の消失するまでN/50塩酸で滴定する。

結果

I A社で試作したもの。

Table 1.

No. of Process	Kind of "Kansui"	pH		Coloring		Titre of N/50 HCl (cc)	
		Na ₂ CO ₃	Na ₂ CO ₃ NaOH (4:1)	Na ₂ CO ₃	Na ₂ CO ₃ NaOH (4:1)	Na ₂ CO ₃	Na ₂ CO ₃ NaOH (4:1)
1		8.8	9.1	±	+		
2		8.9	9.3	±	+		
3		9.5	9.6	+	+	1.0	1.0
4		9.8	9.9	+	+	1.4	1.5

II B社で試作したもの。

Table 2.

Kind of "Kansui"	pH		Coloring		Titre of N/50 HCl (cc)	
	Heat Treatment	No Heat Treatment	Heat Treatment	No Heat Treatment	Heat Treatment	No Heat Treatment
Na ₂ CO ₃	9.3	7.9	+	±	0.5	
Na ₂ CO ₃ NaOH (1:1)	9.3	8.2	+	±	0.8	
NaOH	9.5	9.0	+	+	1.2	0.5

総括ならびに結論

以上の結果から炭酸ナトリウムのみのかん水で作った検体も、炭酸ナトリウムと水酸化ナトリウムの混合したかん水で作った検体も、ともに水蒸気による熱処理以後にpHおよび呈色度が急激に上昇していて、結局最終製品についての値がpHについても、塩酸消費量についても最高値を示している。また炭酸ナトリウムのみのかん水による検体と、水酸化ナトリウムを混入したかん水で製した検体との間の区別は、熱処理以前には比較的つきやすいが熱処理以後はほとんど区別がつかない。すなわち炭酸ナトリウムのみの正常なかん水を使用した製品でも、かん水の試験法を応用した試験法、すなわちフェノールフタレインによる呈色をみる方法によつては、カセアルカリの反応が陽性の結果が現われる。しかしこれは実際にカセアルカリの存在によるものではなく、抽出液中に種々の有機物を含むためにBa²⁺によるCO₃²⁻の除去が完全に行われないうちに起るのではないかと考えられる。

炭酸ナトリウムのみのかん水で製造した中華乾麺でも、その製造工程中に熱処理をほどこしたものは、かん水の試験法を応用した方法では、カセアルカリの反応が陽性の結果が現われる。

Summary

In order to test the presence of caustic alkali in "Chuka-men", the test method of "Kansui" has been applied generally.

By this method, the dry "Chuka-men" which had been produced by the process including a heat treatment usually shows positive reaction of caustic alkali, even which had been manufactured with the "Kansui" containing only sodium carbonate.

Received May 31, 1958.

中華麺中のカセイアルカリの試験について（第2報）

乾麺製造工程中熱処理操作を行つた種々の製品についての検討

川 城 巖, 川 田 公 平, 割 石 浩 市

On the Test for the Caustic Alkali in "Chuka-men". II

Examination of Various Products Operated Different Heat Treatments
in Manufacturing Process of Dried "Chuka-men"

Iwao KAWASHIRO, Kōhei KAWADA, and Kōichi WARIISHI

前報¹⁾において乾麺製造工程中に熱処理をほどこした製品にはかん水の試験法すなわち前報の試験の呈色をみる方法は適用しにくいことを報告したが、本報では東京近郊にある比較的大きい二三の乾麺製造業者(すべてその製造工程中に熱処理操作を有する)に依頼して検体を試作し、同様に検討し、特に呈色の度合を塩酸消費量で測つて検討した。

実 験 の 部

試 料

I A社で試作した検体

- a) 炭酸ナトリウムのみのかん水を使用したもの。
- b) 炭酸ナトリウムと水酸化ナトリウムを(4 : 1)の割に混合したかん水を使用したもの。

II C社で試作した検体

- a) 炭酸ナトリウムのみのかん水を使用したもの
- b) 炭酸ナトリウムと水酸化ナトリウムを(4 : 1)の割に混合したかん水を使用したもの。
- c) 炭酸ナトリウムと水酸化ナトリウムを(1 : 1)の割に混合したかん水を使用したもの。

III D社で試作した検体

- a) 炭酸ナトリウムのみのかん水で製したもの。
- b) 炭酸ナトリウムに添加物(レシチン)を加えて製したもの。
- c) 炭酸ナトリウムと水酸化ナトリウムを(1 : 1)の割に混合したかん水を使用したもの。
- d) 水酸化ナトリウムのみのかん水を使用したもの。

以上三社の製造工程はほとんど同様であるが、ただ熱処理の場合の水蒸気の温度とふきつける時間、ならびに乾燥法とが異なる。

Table 1.

	Temp of Vapor	Time of Heating	Temp of Drying	Time of Drying
A	120°C	120sec.	80°C	4 hrs
B	120°C	20sec.	80°C	1.5~2 hrs
C	150°C	10sec.	40°~50°C	12~24hrs

なお使用した炭酸ナトリウムおよび水酸化ナトリウムはすべて試薬一級である。

結 果

Table 2.

Kind. of "Kansui"		Na ₂ CO ₃			Na ₂ CO ₃ Lecithine	Na ₂ CO ₃ NaOH (4:1)		Na ₂ CO ₃ NaOH (1:1)		NaOH
		A	C	D	D	A	C	C	D	D
pH	1	9.8	9.7	9.1	9.4	9.9	9.8	9.9	9.9	9.9
	2	9.9	9.9	9.2	9.4	9.9	9.9	10.1	9.8	9.9
	3	8.9	9.9			9.6	9.8			
Coloring	1	+	+	±	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	±	+	+	+	+	+	+
	3	±	+			+	+			
Titre of N/50 HCl (cc)	1	1.4	1.9	0.4	0.9	2.4	2.3	2.8	1.6	3.3
	2	1.5	2.1	0.5	0.9	2.3	2.4	2.9	1.6	3.3
	3	0.8	2.2			2.0	2.2			

上表の試験法の欄右側の数字は試験回数で、1および2は検体作製直後行つたものであり、3は三ヶ月後に行つた結果である。

総括ならびに結論

炭酸ナトリウムのみのかん水で製造された検体でもカセアルカリの反応が陽性の結果が現われる。またレンチンのような添加物を加えた場合は結果は高い値で現われる。製造後月日の経過したものはある程度低い値を現わすようにみうけられる。塩酸消費量は炭酸ナトリウムのみのかん水で作つた検体の方が水酸化ナトリウムの混合したかん水を使用した検体より平均して低い値を示すようであるが、互に広い巾があり前者の最高値の方が後者の低い方の値より高く出るので塩酸消費量で規定するわけにもいかない。レンチンを添加した検体に加ええないものより高い値を示すのはやはり添加物が多いほど抽出液中の夾雑物が多くなりBa²⁺によるCO₃²⁺の洗でん除去がより不完全になるものと思われる。

以上のように製造法（特に水蒸気による熱処理の方法）が異なることにより、また添加物の多少によつて現われる結果に非常に巾があるので、乾麺中のカセアルカリの試験のために、かん水の試験法すなわちフェノールフタレインによる呈色を見る方法を応用することはできないし、またその呈色の度合すなわち塩酸消費量で規定することも困難と思われる。

文 献

- 1) 川城肇, 川田公平, 割石浩市: 本誌, 76, 285 (1958).

Summary

For the test method of caustic alkali in "Chuka-men", we can apply neither the coloring with phenolphthalein, nor the titration with N/50 HCl solution.

Received May 31, 1958.

比素含有粉ミルク添加飼料によつて飼育せる鶏の卵および組織中の比素

川 城 巖, 江 島 昭

Arsenic Content of Egg and Tissue from Laying Hen which was reared with the Feed containing Powdered Modified Milk added with Arsenic

Iwao KAWASHIRO and Akira EJIMA

まえがき 昭和30年8月末発生した粉ミルク中毒事件の際に収去保管した比素含有粉ミルクの利用法について各方面で論議されたので、これらを養鶏飼料に用いた場合の鶏の組織およびその卵におよぼす影響を検討する目的から、下記に示すような実験を行つた。なお本実験に使用した粉ミルクは東京都が保管中のものより分譲を受けた、また鶏の飼育は当薬理部が担当した。それぞれ謝意を表する。

実験方法

使用動物 生後約1年2月の白色レグホン雌鶏（東京都世田谷区桜新町門馬種鶏場より購入）6匹を3群に分け、各群2匹とした。

飼育方法 約 $\frac{1}{4}$ 坪、高さ50cm、砂浴付飼育箱内に1羽宛それぞれ放し飼ひした。

飼育期間 昭和31年2月27日より同年5月1日まで65日間。なお比素含有飼料投与前に約10日間予備飼育した。

飼料の調製法 比素不含の市販粉ミルクに一定量の亜比酸を加え、均一に混合して（同時に食用色素黄色5号を0.15%加え、混合が均一に行われるまでよくかきまぜる）、比素として0.5%（A群）、0.1%（B群）および0%（C群）含有のものを作る。これらをさらに鶏用市販飼料に10%（A群）および5%（B、C群）混じてそれぞれ比素として0.05%（A群）、0.005%（B群）および0%（C群）含有するように練餌を調製した。別に野菜としてキャベツあるいは小松菜を上記飼料100gに対して80gの割合で加えて投与した。

比素の投与量 飼料は2月27日より3月4日まで（7日間）は1日360gを2回に分けて与えたが、幾分不足気味であつたので3月5日より5月1日まで（58日間）は1日460gとし、これを2回に分けて与えた。したがつて1日の比素の投与量は2月27日～3月4日の間は100mg（A）、10mg（B）であり、3月5日～5月1日間は150mg（A）、15mg（B）である。なお亜比酸を加えない飼料（C）中には1ppm比素が検出されたので、比素量は以上のほかに全飼育期間を通じて、なお27mg増加投与されたことになるが鶏が実際に食用とした飼料の量は約70%であるから1日に摂取した全比素量はA70～105mg、B7～10.5mgであり、また全飼育期間65日ではA6.58g、B0.66gとなる。

検液の調製法 卵は殻を破つて卵黄および卵白（総量約50g）をピーカ中に入れ、硝子棒でよくかきまぜて均一とする。この30gをケルダール分解フラスコ（500cc）中にとり、硫酸20ccを加えてふりまぜ、一夜放置したのち発煙硝酸を少量ずつ加え、徐々に加熱して壊機を行う。こののち蔞酸アンモニウムにて窒素化合物を駆逐し、水で全容20～30ccとして検液とする。

臓器および羽毛、爪、筋肉なども卵の場合と同様にして壊機を行い、全量20～40ccに検液を調製した。臓器の採取量および加えた硫酸の量は肝臓10g（20cc）、腎臓8～11g（20cc）、心臓5～8g（10cc）、脚筋36～45g（20cc）、皮膚37～40g（20cc）、羽毛20g（30cc、水20cc）、爪500～800mg（10cc）である。ここに挙げた重量は臓器がホルマリン液を吸収して増加した分を差引いた値である。

比素の定量法 上記検液10ccをグートツアイトがす発生びんにとり、衛生検査指針（1952）53頁記載のグートツアイト法によつて定量した。

実験結果と考察

卵 比素投与後の卵中の比素量（ γ /g）の経日変化を示すと Table I（Fig. 1）のとおりである。

Table I. Arsenic Content of Egg

No.		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Date		2.27	3.2	3.6	3.9	3.12	3.20	3.27	4.2	4.10	4.16	4.24	4.30
Days		0	4	8	11	14	22	29	35	43	49	57	63
As (ppm)	Group A	0	0.21	0.29	0.33	0.44	0.41	0.49	0.29	0.27	0.35	0.35	0.39
	Group B	0	0.11	0.13	0.07	0.07	0.15	0.15	0.16	0.10	0.18	0.14	0.17
	Group C	0	0	0.05	0	0	0	0	0	0	0.03	0.03	0

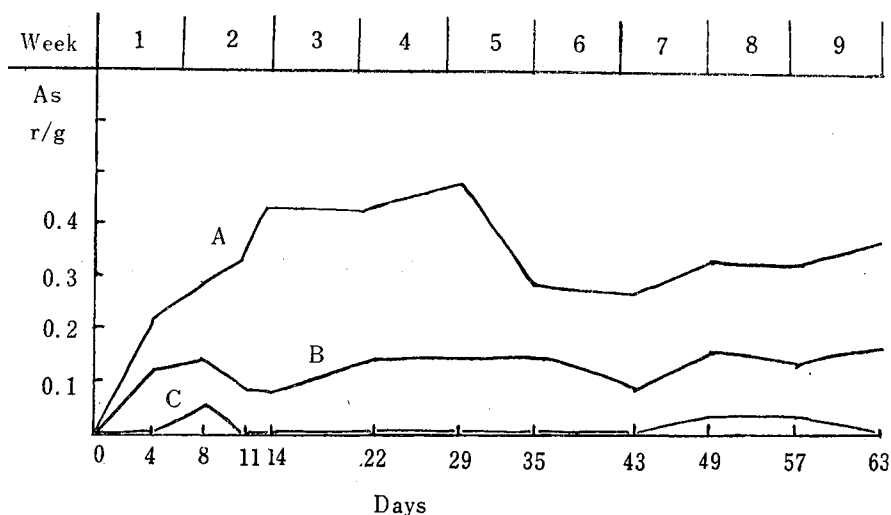


Fig. 1. Arsenic (r/g) in Egg

従来文献に記載されている鶏卵中の比素量は Fellenberg¹⁾ によれば新鮮鶏卵中に 0.13ppm, 卵黄中に 0.236 ppm, また Evans²⁾ は正常鶏卵中 0.005ppm, Arsanilic Acid を飼料 1 屯中に 180g 混入して飼育した場合, 4 週間投与後 0.403ppm 検出している. われわれの場合は正常鶏卵 (group C) で大体以上の値の間を示している.

組織 比素投与後65日目に鶏を殺し, Table II に掲げる各臓器を取り出し, 直ちに 3.5%ホルマリン液に浸漬したのち順次各臓器について定量を行つたところ, 検出された比素量 (r/g) はTable II のとおりである. なおホルマリン液に浸漬中該液に溶出した比素分はそれぞれ加算した.

Table II Arsenic Content of Tissues from Laying Hens in the 9th week γ As/g

	Liver	Kidney	Heart	Leg muscle	Skin	Feather	Nail
group A	2.37	1.14	1.68	0.33	0.82	5.20	7.50
group B	0.47	0.43	0.84	0.10	0.21	1.60	5.00
group C	0.23	0.19	0.18	0.03	0.07	0.80	2.00

Evans²⁾ によれば, 正常鶏の各種組織中の比素量は, 肝臓, 0.07r/g, 脚筋 0.06r/g, 皮膚 0.01r/g であり, Arsanilic Acid を飼料 1 屯中に 180g 混入して飼育した場合はそれぞれ肝臓 1.33r/g, 脚筋 0.17r/g, 皮膚 0.21r/g となっている.

病理所見は当薬理部 (部長 池田良雄) において実施し, 各組織について変化を調べたが著変は認められなかつた. また全飼育期間を通じて鶏の体重はほとんど変化なかつた.

結 論

亜比酸を市販粉乳に混じつたものを鶏用一般飼料に混合して作つた飼料を白色レグホン雌鶏に与えて飼育した場合の卵および65日後の組織中の比素量を定量した。

亜比酸の投与量は比素として1日A群は70~105mg, B群は7~10.5mgである。別に亜比酸のみを含まない同種の飼料で飼育したC群を対照とした。

比素投与後4日目に卵中にA 0.2 γ /g, B 0.1 γ /g, C 0 γ /g 検出され, そののち徐々に増加し, 2週目においてA 0.3~0.4 γ /g, B 0.1~0.07 γ /g, C 0~0.05 γ /gに達し, そののちいくらか増減があつたが9週間経過後において, A 0.4 γ /g, B 0.17 γ /g, C 0 γ /gであつた (Table I)。また組織は投与後9週間経過したのち鶏を殺して取出し比素を定量したところ, 卵の場合と同様, A群はB群に比して全般的に多く, 各組織間では肝臓, 羽毛, 心臓に特に多量検出された (Table II)。

比素の定量は厚生省編纂; 衛生検査指針 (1952) 中比素の定量の項, グートツアイト法に従つて行つた。

文 献

- 1) Fellenberg, Th.: *Biochem. Z.*, 218, 300 (1930).
- 2) Evans, R. J., Bandemer, S. L.: *Anal. Chem.*, 26, 595 (1954).

Summary

Arsenic content of egg and tissue from laying hen (leghorn) which was reared for 65 days with the feed containing powdered modified milk added with arsenic trioxide were determined. The dose of arsenic is 70~105 mg/day for group A and is 7~10.5 mg/day for group B. Besides group A and B, group C was reared with the feed control.

The determination was based on the so-called Gutzeit method.

As the results, amounts of arsenic in eggs were 0.2 γ /g (A), 0.1 γ /g (B) and 0 γ /g (C) in the 4th day, and since that time they gradually increased (Fig. 1). In the second week they were 0.3~0.4 γ /g, 0.1~0.07 γ /g and 0~0.05 γ /g for group A, B and C. Afterwards some variation of amounts of arsenic in egg were shown and then in the 9th week 0.4 γ /g, 0.17 γ /g and 0 γ /g for A, B and C respectively (Table I). Results in the 9th week obtained from laying hens' tissues are presented in Table II. Arsenic contents of tissues from group A wholly much than that of group B as well as in the case of egg. In liver, feather and heart we observed much amount of arsenic comparing with other tissues.

Received May 31, 1958.

モノフルオール酢酸アミドの残留試験 (第3報)

桃および林檎について

川 城 巖, 竹 内 末 久

Determination of Residue of FCH_2CONH_2 in Fruits. Ⅲ.

In Peach and Apple.

Iwao KAWASHIRO and Hidenaga TAKEUCHI

今回は桃および林檎について、モノフルオール酢酸アミドの残留試験を行った。分析法は前回¹⁾とほとんど同様である。

実 験 の 部

(1) モノフルオール酢酸アミドの散布

a. 桃——昭和32年6月10日、白桃樹(5年生木)にモノフルオール酢酸アミドの1,000倍液を1樹当り1.2升散布した。なお展着剤としてグラミンを水1斗に1.8ccの割合に添加した。散布場所は千葉大学園芸学部農場。

b. 林檎——昭和32年8月14日、林檎樹(紅玉、樹令15年)にモノフルオール酢酸アミドの2,000倍液を1樹当り7升3合4勺散布した。散布場所は山梨県東山梨郡春日居村桑戸。

(2) 分 析 法

細砕した果実50gに水50ccを加え、ホモジナイザーでよく混合し、綿布で濾過し、濾液に硫酸5ccを加え、1時間沸とう水浴中で熱し、冷後、液体抽出器に移し、エーテルで約4時間連続抽出する。エーテル液に30ccの水およびN-NaOHを振とうしたのちフェノルフタレイナルカリ性を呈するまで加え、水液を白金皿にとり、エーテル層はさらに30ccずつの水で2回ふり、水液を白金皿に加える。水液に $Ca(OH)_2$ 1gを加え、水浴上で完全に蒸発したのち、600°で灰化する。冷後約10ccの水でうるおし、60% $HClO_4$ を灰が溶けるまで加え、これを水蒸気蒸留フラスコに移す。さらに60% $HClO_4$ (全量80cc)で白金皿を洗い、洗液は水蒸気蒸留フラスコに合す。次に過塩素酸銀1g、小硝子球数個を加え、135~137°で水蒸気蒸留し、留液500ccを集め、その50ccをとつて、ジルコニウムアリザリン法で比色し、Fの含量を算出する。

(3) 結 果

a. 桃

散布直後	Fとして	0.34ppm
散布後15日	〃	0 〃
散布後30日	〃	0 〃

b. 林 檎

散布直後	Fとして	0.11ppm
散布後15日	〃	0.01〃
散布後30日	〃	0 〃

終りに本試験の散布を担当された、千葉大学教授野村博士、ならびに山梨県丹沢章氏に謝意を表する。

文 献

- 1) 川城巖, 竹内末久: 本誌, 75, 23 (1957).

Summary

We studied on the residual amounts of $\text{FCH}_2\text{CONH}_2$ in peach and apple, and any amount of $\text{FCH}_2\text{CONH}_2$ was not detected on 15th day after spraying in peach and on 30th day in apple.

Received May 31, 1958.

輸入豆の青酸試験成績

川 城 巖, 川田公平, 竹内末久, 漆畑喜子

On the Test for HCN in Imported Beans.

Iwao KAWASHIRO, Kohei KAWATA,

Hidenaga TAKEUCHI, and Yoshiko URUSHIBATA

わが国では毎年製あん原料として、多くの輸入豆を使用せねばならず、いわゆるビルマ豆もこの中に含まれている。われわれは数ヶ月にわたって豆の青酸試験を行つた。試験法は前報¹⁾によつた。また青酸を含有する豆は、その臍点を2%アンモニア水でうるおすとき黄色を呈する²⁾ことが知られており、この試験も同時に行つたところ、よく青酸の含有と一致した。試験した豆は約20種で、そのうち、*Phaseolus lunatus* L. と思われる4種、すなわち、Sultani beans, Butter beans, White beans(以上ビルマ産)、Baby lima beans(米国産)に青酸を検出した。なお日本産の豆数種についても試験したが、青酸は検出されなかつた。

つぎに、昭和24年(約9年前)、当所において分析したSultani beans(当時の試験によれば50~60mg%のHCN含量)の標本びん中におさめられていたものについてHCNの定量を行つたところ55.8mg%の成績を得た。試料は、検体であつたが、これによると、青酸含量は貯蔵中にもあまり変化しないものらしい。

試 験 成 績

(1) 青酸を検出した輸入豆

品 名	産 地	青 酸 検 出 量 mg%
Sultani beans	ビ ル マ	21.5 ~ 70.0
White beans	ビ ル マ	11.5 ~ 66.0
Butter beans	ビ ル マ	23.8 ~ 68.0
Lima beans	ア メ リ カ	8.7 ~ 11.0

(2) 青酸を検出しなかつた輸入豆

Small beans (中国), Broad beans (中国), Kidney beans (中国), Minpo broad beans (中国), Small white beans (中国), Cow peas (中国), Red beans (中国), White peas (中国), Hankow horse beans(中国), Peyin beans (中国), String beans (中国), Black matpe (ビルマ), Green matpe (ビルマ), Peyin beans (ビルマ), White small beans (イラン), Small red beans (タイ), White beans (アルゼンチン), Green beans (イラク), Dry beans (アメリカ)

(3) 青酸を検出しなかつた日本産豆

あずき, ささげ, 白いんげん, 長うずら, 青えんどう, 赤えんどう, 大豆, 黒豆, 白花豆, 金時, 手亡, 大福豆, うずら, 大納言。

文 献

- 1) 川城巖, 川田公平, 竹内末久, 漆畑喜子: 本誌, 76, 201 (1958).
- 2) Viehoveer, A.: *Thai Sci. Bull.* 2, (1940); *C. A.* 34, 6724 (1940).

Summary

On about 20 species of imported beans we carried out the test for HCN. Four of them were positive, and they were Sultani Beans (Burma), White Beans (Burma), Butter Beans (Burma), and Baby Lima Beans (U.S.A.), and contents of HCN were 21.5-70.0mg%, 11.5-66.0mg%, 23.8-68.0mg%, and

8.7-11.0mg% respectively.

And on about 10 species of Japanese beans, we also carried out the test, but could not detected any amount of HCN.

Received May 31, 1958.

国立衛生試験所パレイショデン粉標準品の製造

長 沢 佳 熊, 中 山 豪 一, 木 村 俊 夫

On the Preparation of the Potato Starch Standard of the National Hygienic Laboratory

Kakuma NAGASAWA, Goichi NAKAYAMA, and Toshio KIMURA

まえがき パンクレアチンやジアスターゼのデン粉糖化力試験では、用いるパレイショデン粉(以下デン粉と略す)によつて力価が変わることがあるのでパレイショデン粉標準品を用いることが望ましい。著者らは市販のある局方パレイショデン粉を原料とし、これから国立衛生試験所パレイショデン粉標準品(衛試標準品と略す)を製造し(実験1)、これにつき2, 3実験をおこなつた(実験2~7)のでここに報告する。

ある局方デン粉, 衛試標準品および米局パレイショデン粉参考標準品(米局標準品と略す)から調製したノリ液のpHはそれぞれ5.1~5.5, 6.7~7.1および7.2~7.3であつた(実験3)。

(1) パンクレアチンによるデン粉糖化試験: 日局パンクレアチンのデン粉糖化力試験¹⁾に従い, 衛試標準品および局方デン粉を糖化し, 生成した麦芽糖量を定量^{2,3)}し, それぞれの用量-反応線を求めた。その結果前者は後者より約3.5倍糖化されやすいことを知つた(実験4)。(2) ジアスターゼおよびタカジアスターゼによるデン粉糖化試験: 日局ジアスターゼのデン粉糖化力試験⁴⁾に従い, 衛試標準品および局方デン粉を糖化し, (1)と同様の用量-反応線を求めた。その結果これらの両酵素による糖化され易さにほとんど差異を認めなかつた(実験5, 6, 7)。

実 験 の 部

実験材料 (1) 標準品製造用デン粉: 三晃堂製*局方パレイショデン粉(20 kg 袋入)。(2) パンクレアチン: 帝國臓器製および極東製薬製のパンクレアチンを用いた。(3) ジアスターゼ: 中村滝製薬製ジアスターゼ (4) タカジアスターゼ: 三共製タカジアスターゼ。

実験方法 (1) 灰分および乾燥減量: 衛試標準品および局方デン粉につき日局パレイショデン粉に記載する方法に従つて測定した。(2) pH: ノリ液および糖化液につき Beckman pH メータで測定した。(3) デン粉糖化試験: 日局パンクレアチンおよびジアスターゼのデン粉糖化力試験法に従い, 衛試標準品および局方デン粉から調製したノリ液を, パンクレアチン, ジアスターゼおよびタカジアスターゼで糖化し, 得た糖化液に N-水酸化ナトリウム液 1 cc を加えて酵素作用をとめ, 室温に冷却し, 水を加えて 100 cc とする。この液 5 cc (ジアスターゼ, タカジアスターゼのときは 10 cc) をとり, これに N/10 ヨウ素液 20 cc および N/10 水酸化ナトリウム液 30 cc を加え, 10 分間室温で放置する。つぎに 10% 硫酸 2 cc を加えて酸性とし, 直ちに N/10 チオ硫酸ナトリウム液で過量のヨウ素を滴定し, 消費された N/10 ヨウ素液量を測定する。

実験 1 国立衛生試験所パレイショデン粉標準品の製造: 標準品製造用デン粉 100g につき水道水約 750 cc を加え, ガラス棒で約 15 分間かきまぜたのち, 30 分間放置し, 上層の混濁した部分を傾斜して捨て, 再び水を加えて前記のように 9 回操作したのち, 蒸留水約 750 cc ずつで 2 回洗い, 天日乾燥し, 篩過(100 メッシュ)し, デシケーター(塩化カルシウム)中で充分乾燥して衛試標準品とした。

実験 2 灰分および乾燥減量: 衛試標準品および局方デン粉の灰分および乾燥減量を Table 1 に示す。

実験 3 pH の測定: 衛試標準品, 局方デン粉および米局標準品を用いて日局パンクレアチンのデン粉糖化力試験法に記載するノリ液を調製し, その pH を測定した。またこれらのノリ液にパンクレアチンを作用させて得た糖化液についても測定した。Table 2 にその結果を示す。

実験 4 パンクレアチンによるデン粉糖化試験: 衛試標準品および局方デン粉から調製したノリ液に対するパンクレアチンの糖化作用曲線を求めた。その結果を Table 3 に示す。前記の両デン粉で得た資料についての分散分析結果を Table 4~5 に示す。

* 東京都中央区日本橋本石町 4 の 2

Table 1. Ashes and Water Contents of the Potato Starch Standard of the National Hygienic Lab. and the Potato Starch of the Japanese Pharmacopoeia

Test No.	Residue on Ignition (Ashes) (%)		Test No.	Loss on Drying (%)	
	J.P.*Potato Starch	N.H.L.**Potato Starch Standard		J.P.*Potato Starch	N.H.L.**Potato Starch Standard
1	0.25	0.24	1	17.61	15.21
2	0.22	0.21	2	17.04	12.59
3	0.23	0.28	3	17.56	12.04
4	0.31	0.23	4	17.59	14.59
5	0.30	0.29	5	17.76	16.71
6	—	0.24	6	17.33	14.55
7	—	0.24			
8	—	0.28			

* J.P. : Japanese Pharmacopoeia

** N.H.L. : National Hygienic Laboratory

Table 2. pH Values of the Potato Starch Paste

Test No.	pH Values of the Potato Starch Paste		
	J.P.	N.H.L. Standard	U.S.P. Standard
1	5.49	—	7.30
	5.50	—	7.20
2	—	7.05	—
3	5.10	6.70	—
4	5.20	6.70	—
5	5.00	6.60	—
	5.10	6.60	—
	5.40	6.65	—
	5.15	6.65	—
	5.05	6.60	—
	5.10	6.65	—
	5.15	6.65	—
	5.35	6.50	—
	4.90	6.50	—
	5.15	6.60	—
	5.10	6.60	—
	5.10	6.65	—
	5.40	—	—
	5.00	—	—
	5.10	—	—

Table 3. Assay of Digestive Power of Pancreatin for the Starches

Paste	J.P. Potato Starch			N.H.L. Potato Starch Standard		
Amt. of Pancreatin (mg)	4	6	9	1.13	1.695	2.5
N/10 Iodine Solution (cc)	4.01	5.47	9.02	3.10	4.60	6.50
	3.96	5.85	8.92	4.20	5.70	7.00

Paste	J.P. Potato Starch			N.H.L. Potato Starch Standard		
Amt. of Pancreatin (mg)	4	6	9	1.13	1.695	2.5
N/10 Iodine Solution (cc)	4.10	5.86	7.70	4.30	5.70	7.10
	4.13	5.96	7.73	4.70	5.90	7.30
	4.23	5.55	7.35	4.60	6.30	7.50
Sum	20.43	28.69	40.72	20.90	28.20	35.40
	5	5	5	5	5	5
Mean	4.09	5.74	8.14	4.18	5.64	7.08

Table 4. Analysis of Variance for the Data of Table 3 (J.N.L. Potato Starch)

Adjustment for Mean.....538.08				
Nature of Variation	D.F.	Sum of Squares	Mean Square	F*
Regression	1	41.19		1.96
Deviation from Regression	1	0.45	0.45	
Between Doses	2	41.64		
Error	12	2.59	0.23	
Total	14	44.23		

$$* F_{12}^1 = 4.75 (P=0.05)$$

Table 5. Analysis of Variance for the Data of Table 3 (N.H.L. Potato Starch Standard)

Adjustment for Mean.....476.00				
Nature of Variation	D.F.	Sum of Squares	Mean Square	F*
Regression	1	21.03		0.063
Deviation from Regression	1	0.02	0.02	
Between Doses	2	21.05		
Error	12	3.79	0.32	
Total	14	24.84		

$$* F_{12}^1 = 4.75 (P=0.05)$$

Table 4, 5 から両デン粉ノリ液に対するパンクレアチン量とヨウ素消費量との間に5%有意水準で直線性が認められる。故にそれぞれの回帰方程式を算出した。

$$\text{衛試標準品を用いたとき, } Y_{\text{pst}} = 8.23x + 3.75$$

$$\text{局方デン粉を用いたとき, } Y_{\text{pT}} = 11.53x - 2.89$$

Fig. 1 に両回帰線を示す。

本実験から衛試標準品は局方デン粉より約3.5倍糖化されやすいことがわかった。

実験5 タカジアスターゼによるデン粉糖化試験: 衛試標準品および局方デン粉から調製したノリ液に対するタカジアスターゼの糖化作用曲線を求めた。分散分析の結果5%有意水準で両デン粉ノリ液に対するタカジアスターゼ量(2.81~6.33 mg)とヨウ素消費量との間に直線性を認めた。つぎにそれぞれの回帰方程式を示す。

$$\text{衛試標準品を用いたとき, } Y_{\text{Tst}} = 12.15x + 1.62$$

$$\text{局方デン粉を用いたとき, } Y_{\text{TT}} = 14.54x + 2.01$$

Fig. 2 に両回帰線を示す。

本実験から衛試標準品と局方デン粉末とはほぼ同じ割合で糖化されることがわかった。

実験 6 ジアスターゼによるデン粉糖化試験：実験5のタカジアスターゼの場合と同じくジアスターゼによる糖化作用曲線を求めた。分散分析の結果5%有意水準で両デン粉ノリ液に対するジアスターゼ量(13.3~30mg)とヨウ素消費量との間に直線性を認めた。つぎにそれぞれの回帰方程式を示す。

衛試標準品を用いたとき, $Y_{Dst} = 19.70x - 16.74$

局方デン粉を用いたとき, $Y_{DT} = 19.65x - 14.43$

Fig. 3 に両回帰線を示す。本実験から両デン粉ともほぼ同じ割合で糖化されることがわかった。

Fig. 1. Regression Lines of the Pancreatin Activities on the Pastes Prepared from the N.H.L. Starch Standard and J.P. Starch

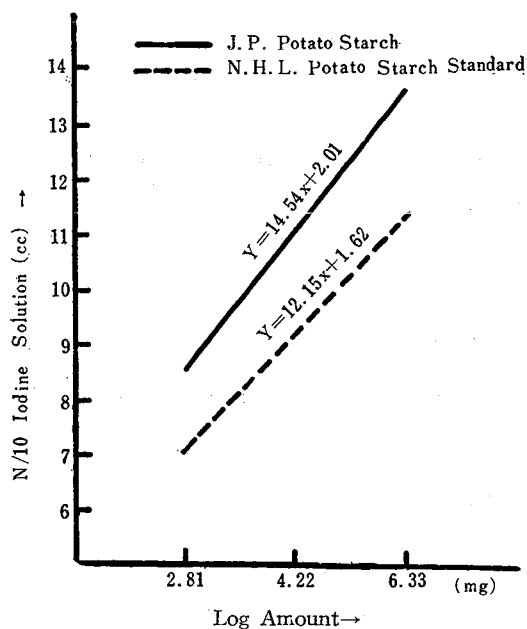
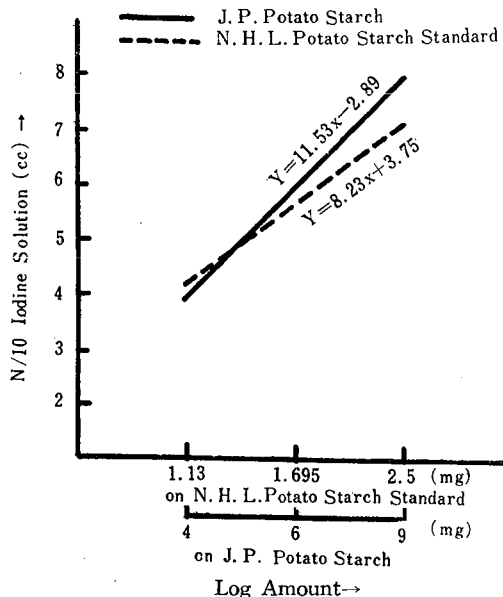


Fig. 2. Regression Lines of the Takadiastase Activities on the Pastes Prepared from the N.H.L. Starch Standard and J.P. Starch

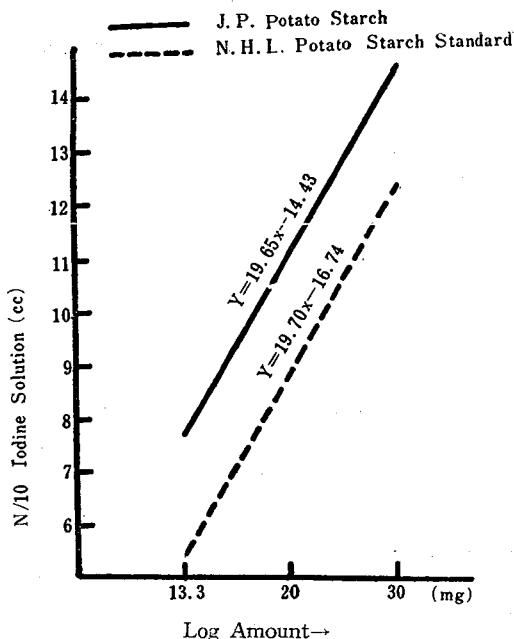


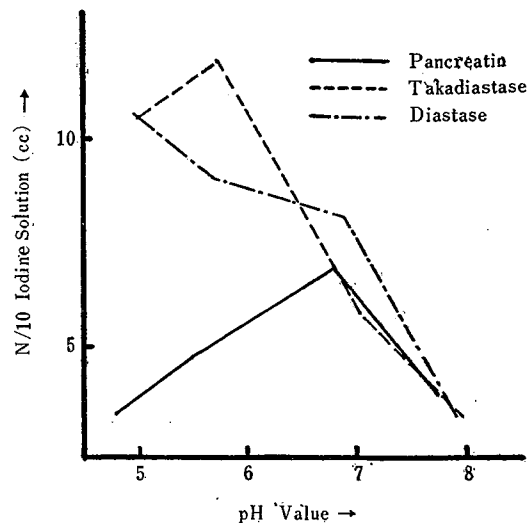
Fig. 3. Regression Lines of the Diastase Activities on the Pastes Prepared from the N.H.L. Starch Standard and J.P. Starch

実験 7 pHによるデン粉糖化力の変動: 酵素作用は基質のpHにより影響をうける。パンクレアチンの最適 pH は約 7.0, タカジアスターゼおよびジアスターゼのそれは、それぞれ4.1~5.2および約5.8といわれている⁵⁾。衛試験標準品にリン酸塩緩衝液*を加えて種々pHのノリ液を調製し、パンクレアチン、タカジアスターゼおよびジアスターゼの糖化力の変動を試験した。各酵素の添加量は上記各実験で得た用量-反応線の中央の量とした。得た結果を Table 6, Fig. 4 に示す。本実験からパンクレアチン、タカジアスターゼおよびジアスターゼの衛試験標準品ノリ液に対する最適 pH はそれぞれ 6.5~7.0, 5.5~6.0, および5.0である。

Table 6. Relationship between the pH Values of the Starch Paste and Enzyme Activity

Enzymes	pH	N/10 Iodine Solution (cc)	Actual Value
Pancreatin (1.7mg)	4.80	3.31	5.62
	5.50	4.72	
	6.80	6.90	
	7.75	4.07	
Takadiastase (4.2mg)	5.02	10.46	9.22
	5.75	11.84	
	7.06	5.76	
	7.95	3.35	
Diastase (20mg)	5.00	10.59	8.89
	5.70	9.13	
	6.90	8.36	
	7.90	3.50	

Fig. 4 Relationship between the Enzyme Activities and Various pH Values of the Paste Prepared from the N.H.L. Starch Standard.



むすび 局方デン粉を水道水で10回、蒸留水で2回洗い、乾燥して衛試験標準品を製造した。衛試験標準品ノリ液の pH は 6.7~7.1であつた。衛試験標準品と局方デン粉とのパンクレアチン、タカジアスターゼおよびジアスターゼによる糖化され易さを調べた結果、衛試験標準品はパンクレアチンによつては局方デン粉の約 3.5 倍糖化されやすかつたが、タカジアスターゼおよびジアスターゼによつては局方デン粉とほぼ同じであつた。

終りにパンクレアチン、タカジアスターゼおよびジアスターゼを供与された帝國臓器製薬、極東製薬、三共、中村澆製薬各株式会社に感謝する。

* KH_2PO_4 と $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ を適量ずつ混和して用いた。

文 献

- 1) 日局VI, 466 (厚生省版).
- 2) Willstätter, R. Schudel, G. : *Ber.* 51, 780 (1918).
- 3) 寺山宏, 菅山修二 : 本誌, 68, 14 (1950).
- 4) 日局VI, 272 (厚生省版).
- 5) 赤堀四郎編 : 酵素研究法, 2 卷, 112 (朝倉書店昭和31年).

Summary

The Potato Starch Standard of the National Hygienic Laboratory was prepared from the Japanese Pharmacopoeia potato starch after ten times washing with water and twice, with distilled water, followed by drying under sunlight

The pH value of the starch paste prepared from the National Hygienic Laboratories Standard was 6.7 ~7.1.

Comparison of digestibilities of a few amylases for the potato starch standard of the National Hygienic Laboratory and for the potato starch of the Japanese Pharmacopoeia one was carried out. As the results, the paste prepared from the former has been digested more easily than those prepared from the latter by pancreatin (3.5 times) and almost the same by diastase and Taka- diastase.

Received May 31, 1958

昭和32年度日本産あへんのモルヒネ含量について

中 川 雄 三, 伊 阪 博 , 吉 川 佐 栄 子

Morphine Content of Japanse Opiums produced during 1956~1957

Yuzo NAKAGAWA, Hiroshi ISAKA, Saeko YOSHIKAWA

まえがき あへん法第32条により昭和32年度に収納されたあへん 1,113検体のモルヒネ含量について報告する。

実 験 の 部

実験材料 長野, 愛知, 大阪, 和歌山, 岡山, 広島の一府五県で生産されたあへんである。

モルヒネの定量法 日本薬局方VI「あへん末定量法」を準用した。

試験成績 昭和32年度収納あへんのモルヒネ含量はTable I のとおりである。

Table I. Morphine Content of Japanse Opium Produced During 1956~1957.

府 県 名	市 郡 名	件 数	平 均 値	最 低 最 高	モ ー ド	メデイアン	標準偏差
和 歌 山	有 田 郡	812	11.98	7.36~15.68	11	11.9	1.20
	日 高 郡	95	12.80	9.30~19.22	12	11.6	1.14
	小 計	907	12.34	7.36~19.22	11	11.9	1.19
大 阪	茨 木 市	57	11.71	8.07~16.48	10	10.6	1.58
	高 槻 市	28	12.14	9.06~16.83	13	12.0	2.00
	三 島 郡	41	11.30	1.91~19.46	11	10.4	2.21
	小 計	126	11.71	1.91~19.46	11	10.8	2.00
愛 知	渥 美 郡	31	13.36	6.68~18.37	16	15.0	1.59
岡 山		19	10.52	8.45~13.43	9	9.0	1.53
広 島		14	10.70	7.74~12.72	10	8.7	1.41
長 野		16	10.45	8.25~16.52	10	8.7	1.96
総 計		1,113	11.52	1.91~19.46	11	10.9	1.69

各府県別収納あへんのモルヒネ含量と検体数との関係はTable II のとおりである。

Table II. Classification of Opium from All the Producing Provinces
According to Morphine Content.

府 県 名	場所	含 量	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	計
		8以下	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19			
和 歌 山	日 高 郡			3	8	20	27	21	11	3		1		1			95
	有 田 郡		1	16	130	315	244	81	22	3							812
	小 計		1	19	138	335	271	102	33	6		1		1			907
大 阪	茨 木 市		2	5	13	13	11	7	3	2	1						57
	高 槻 市	1		2	1	4	6	8	4	1	1						28
	三 島 郡	1	2	1	11	15	7	3							1		41
	小 計	2	4	8	25	32	24	18	7	3	2				1		126

府 県 名	場所	含量	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	計
		8以下	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19		
愛 知	渥 美 郡	1		1	2		1	4	4	3	11	3	1			31
岡 山			3	5	4	4	2	1								19
広 島		1	1	3	3	3	3									14
長 野			4	3	4	4					1					16
総 計		4	13	39	176	378	301	125	44	12	14	4	1	2		1,113

総 括	モ ル ヒ ネ 含 量		検 体 数		百 分 率	
	8 % 以下		4		0.36%	
	8 ~ 9 %		52		4.67	
	10 ~ 14 %		1024		92.00	
	15 ~ 19 %		33		2.97	
	総 計		1113			

表に示すごとく府県別の平均モルヒネ含量は愛知，和歌山，大阪，広島，岡山，長野の順に低く，地区別では愛知県渥美郡，和歌山県日高郡および大阪府高槻市の順となる．これらの関係を検体数の最も多い和歌山，大阪のものについてヒストグラム表を作成するとFig 1 及び Fig 2 のとおりである．また収納あへのモルヒネ含有率府県別平均をグラフに示せばFig 3 のとおりである．

Fig 1 和歌山県収納あへのモルヒネ含量と検体数との関係（昭和32年度）

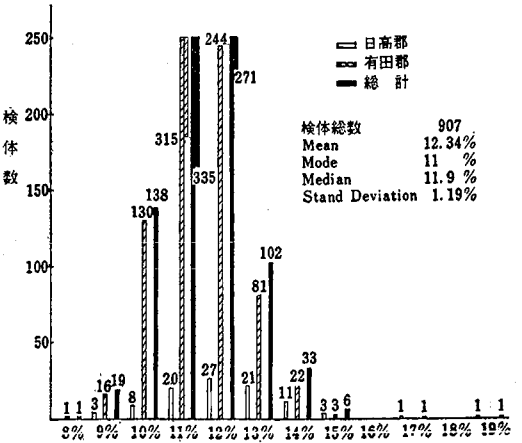


Fig 2 大阪府収納あへのモルヒネ含量と検体数との関係（昭和32年度）

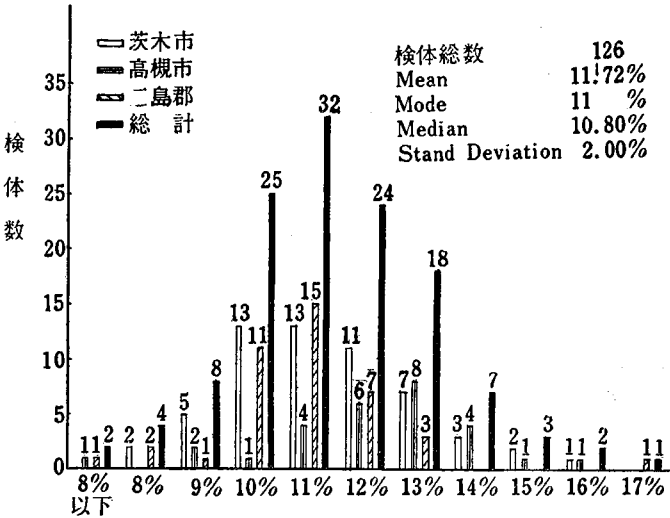
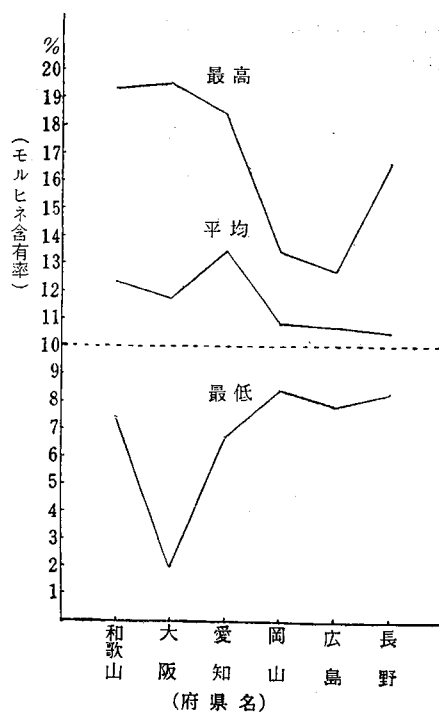


Fig 3 昭和32年度収納あへんのモルヒネ含有率府県別平均



考 察

昭和32年度収納あへん1,113検体のモルヒネ含量は最高19.46%, 最低1.91%, 平均値11.52%で, 前年度に比べ平均値が約2%低い。これは大阪産あへん検体中にモルヒネ含量1.91%という最も低位のものが1検体だけ含まれていたためこれを除外した平均値は12%程度となり前年度の平均値に比べて0.5~1%程度低いことになる。

検体数の最も多い和歌山, 大阪のものについてモルヒネ含有別の検体数および百分率を示せば Table III のとおりである。

Table III Classification of Opium from Two Producing Provinces WAKAYAMA and OSAKA According to Morphine Content,

モルヒネ含量	和 歌 山		大 阪	
	検 体 数	%	検 体 数	%
8 % 以下			2	1.5
8 ~ 9%	20	2.21	12	9.52
10 ~ 14%	879	96.91	106	84.13
15 ~ 19%	8	0.88	6	4.8
計	907		126	

以上の理由により前年度と同様にモルヒネ含量が平均12.3%で全体の96.91%が10~14%のモルヒネを含んでいゝる和歌山のあへんが最も品質良好である。

Summary

We have determined the morphine content in Japanese Opiums produced by Poppy Cultivators during

1956~1957 in six provinces of NAGANO, AICHI, WAKAYAMA, OSAKA, OKAYAMA.

Morphine percentage obtained thus far are as follows.

Total number of sample		1113	
below	8%	4	0.36%
	8 ~ 9%	52	4.67%
	10 ~ 14%	1024	92.00%
above	15%	33	2.97%

Received May 31, 1958.

春日部における *Rauwolfia* 属植物特に印度蛇木の試作栽培について (第1報)

川谷 豊彦, 石原 活磨, 逸見 誠三郎

On the Trial Cultivation of *Rauwolfias* at Kasukabe, especially
R. serpentina BENTH. I.

Toyohiko KAWATANI, Katsuma ISHIHARA, and Seizaburō HEMMI

まえがき *Rauwolfia* 属は南北両半球の熱帯亜熱帯に分布するおおむね灌木性の植物である。生薬資源としては、東南アジアに自生する印度蛇木 *R. serpentina* BENTH. が最も重要で世界的に需要がきわめて大きく、他方その自生は散在的で決して多いとはいえず、そのため乱獲により資源は枯渇の一途をたどりつつあり、したがってその栽培化は今や世界的に問題となつてきた。本邦には年々1億5千万円ないし2億円におよぶ蛇木根と製剤が輸入され、その栽培化はきわめて興味ありかつ重要な問題である。

著者らは以上を目的として1954年以来印度蛇木の種子の蒐集を開始し、本種のほか同属の *R. caffra* SOND., *R. canescens* L., *R. verticillata* BAILL., *R. vomitoria* AFZ. の春日部における生育状況を観察し試作栽培を実施中であるので、ここに現在(1958年5月1日)までの経過および試験の概要を報告する。

本研究を実施するにあたり種子を分譲されたインド国デラダン林業研究所、南アフリカ連邦国立植物園、香港植物園、東アフリカ、ウガンダのエンテッベ植物園、デンマーク国コペンハーゲン大学植物園、ドイツ国イエナのフリードリヒンラー大学植物園の当局および大日本製薬株式会社に対し敬意を表する。また分析していただいた当所山口生薬部長、庄司技官、挿穂を提供された高城種子島薬用植物栽培試験場長に謝意を表する。

I 実験材料

供試した *Rauwolfia* 属植物は Table 1 のとおりである。

Table 1. *Rauwolfias* cultivated at Kasukabe (1956~58) (May 1, 1958)

No.	Name of species	Seed origin	Date obtained	Seeds sown	Date	Place of Germinating sowing	Germinating period	Seeds germinated	Germination %
1	<i>R. caffra</i>	Kirstenbosch, S. Africa	21 II, 1956	11	5 III, 1956	Glass house	9 IV, 1956	1	9.1
2	<i>R. verticillata</i>	Hong Kong	8 V, 1956	15	14 V, 1956	Glass house	1 VI~20 VI, 1956	6	40
3	<i>R. serpentina</i>	Forest Res. Inst., Dehra Dun, India	21 II, 1957	211	2 IV, 1957	Glass house	17 VI~1 IX, 1957	31	14.7
4						900, Glass house	8 VII~10 IX, 1957	72	8
5	<i>R. serpentina</i>	India	18 V, 1957	1,070	6 VI, 1957	140, Open Air	20 VII~25 X, 1957	28	20
6						30, Half shady Place		Nil	
7	<i>R. verticillata</i>	Hong Kong	11 VI, 1957		11 VII, 1957	Glass house	18 VIII~9 IX, 1957	10	
8	<i>R. canescens</i>	Copenhagen, Denmark	18 VII, 1957	10	18 VII, 1957	Glass house	1 V, 1958	1	10
9	<i>R. vomitoria</i>	Entebbe, Uganda, E. Africa	7 VIII, 1957	40	8 VIII, 1957	Glass house	11 IX~15 X, 1957	7	17.5
10	<i>R. canescens</i>	Jena, Germany	22 VIII, 1957	8	24 VIII, 1957	Glass house	26 IX~7 IV, 1958	7	87.5

II 発芽について

1. *R. serpentina* (その1)

- (1) 種子 1957年2月21日、インドのForest Research Institute, Dehra Dunより厚生省薬務局を経て入手したもの。211粒, 8g.
- (2) 播種期日 同年4月2日.
- (3) 播種の場所 ガラス室.

(4) 床土および播種法 播種床は木箱(60×30×8 cm)を用い底部に約3cmの厚さに堆肥を敷き中心部は埴壤土とし、表部は約2cmの焼土とした。種子は播種前日ウスプルン1,000倍液に3時間浸漬し、水浸1昼夜ののち点播した。覆土には川砂を用いた。

(5) 発芽 同年6月17日より発芽し始め9月1日までに31粒発芽し、発芽率14.7%、平均発芽所要時間98.9日(標準偏差18.3日)で、特に発芽最盛期と称すべきものは認められなかった。

2. *R. serpentina* (その2)

(1) 種子 1957年5月18日、印度より大日本製薬を経て入手したもの。1,070粒、37g。

(2) 播種期日 同年6月6日。

(3) 播種場所 ガラス室および露地(後述)。

(4) 床土および播種法

(a) 播種床は木箱または植木鉢とし、底部に木炭および砂礫を3cmの厚さに敷き排水を助け保水を恒常化させることを計った。床土は堆肥4:埴壤土4:砂2の混合物とした。種子はあらかじめ1昼夜水浸した。覆土は床土と同じものを用いた。

(b) 覆土に水苔を用いた。

(c) 種皮の色によって黒ずんだもの、白色のもの、およびそれらの中間色に3分し、種皮の色による発芽の比較を行つた。

(d) 播種床の場所による発芽を比較するためガラス室(木箱)900粒(白種200, 黒種300, 中間色300), 露地(植木鉢)140粒(白種135, 黒種5), および半陰地(直播)30粒(種色の別なし)の3区を設けた。

(5) 発芽 同年7月8日発芽し始め10月25日まで100粒発芽し、総発芽率9.6%であつた。なお前記小試験の結果は、

(a) 播種床土は堆肥と砂を加えた結果苔の発生少く適度の保水力を維持して土壌の状態は良好であつた。

(b) 覆土に水苔を用い日陰に置いたものは発芽率2.0%, 覆土に床土と同じものを用い日向に置いたものは10.5%で、水苔覆土は発芽が悪い。水苔覆土のもので日向に置いた場合は乾燥に過ぎ管理に労力を多く要する。

(c) 種皮の色による発芽の比較 種子の採集法および調製法が詳らかでないで、種皮の色を以て直ちに発芽の良否を決することはできないが、発芽率は白種10.5%, 中間種9.6%, 黒種6.0%で、種色が白色に近いものほど発芽率はよいようである。

(d) 播種床の場所による比較 ガラス室においては7月8日~9月10日の間、発芽72粒、発芽率8%、平均発芽所要時間46.1日(標準偏差11.6日)であつた。これに対し露地においては7月20日~10月25日の間、発芽28粒、発芽率20%、平均発芽所要時間69.4日(標準偏差25.1日)で、半陰地直播のものは発芽は認められなかった。また発芽最盛期はガラス室7月16日~20日、露地7月26日~31日であり、これらの事実から発芽の適温は25°C前後と思われる。

3. *R. caffra*, *R. canescens*, *R. verticillata*, *R. vomitoria*

R. serpentina に比べて短期間で発芽し、発芽適温もやや低いようであるが、これらについては目下試験続行中である。

4. 虫害 発芽直後本葉展開までの間、なめくじ、およびこおろぎの食害を受けたものがあり、被害株の大部分はこれによつて枯死した。予防にはDDTおよび砒酸鉛が有効のようである。

III 生育について

1. *R. serpentina*

種子の鋭頭部より発根し始め幼茎が地上部に現われてから2~3日で子葉が展開し、その後約3日で第1本葉が出始める。子葉展開後約15日で莖高3~5cm、本葉4枚程度となるので播種床より3寸鉢に第1回移植を行つた。根は直根で長さ5~10cm、多数の支根を分枝する。その後2~3週間を経て8寸~1尺鉢に定植(第2回移植)した。移植鉢の用土は下部に木炭および砂礫を敷き、埴壤土5:砂3:堆肥2とした。移植直後は日陰に置き5~7日ののち向陽の場所に移動した。移植による枯死はなく活着はきわめてよい。第2回移植後10月までに追肥として水肥3回、中耕1回を行つた。ガラス室播種のものも7月下旬より9月下旬まで露地で生育させた。

(1) 発芽時期と生育 Fig 1, 2 に示すとおり当然発芽の早期のものほど莖高は大であつて、6月中に発芽したものは9月下旬において莖高20~30cm、節数10で花蕾の発生を認め続いて開花した。7月中発芽のものは莖高10~15cm、節数7、しばしば着蕾したが開花(10月)は稀、8月中発芽のものは莖高10cm未満、節数4~5、着蕾を認めなかった。

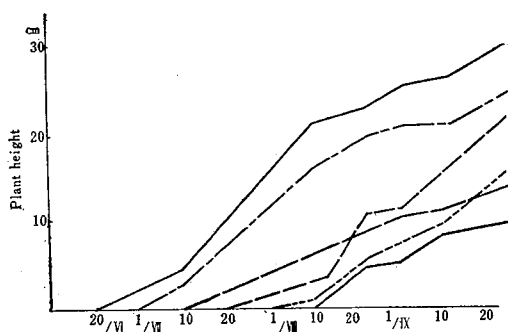


Fig. 1. Germinating Period of *Rauwolfia serpentina* BENTH. and its Earlier Stage of Growth (1957) (First year growth, sown on April 2, 1957)

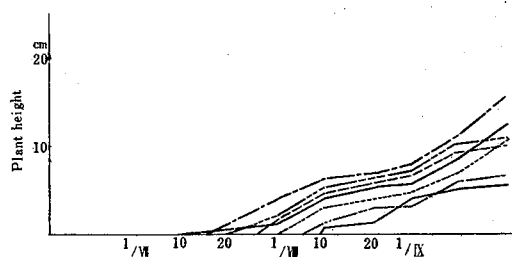


Fig. 2. Germinating Period of *Rauwolfia serpentina* BENTH. and its Earlier Stage of Growth (1957) (First year growth, sown on June 6, 1957)

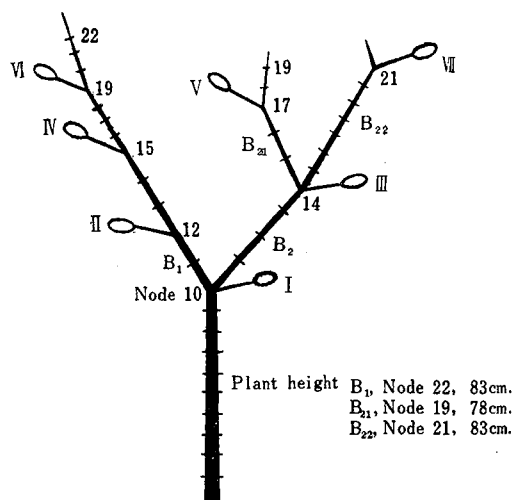


Fig. 3. Schema of cymous inflorescences of *Rauwolfia serpentina* BENTH.

(May 1, 1958)

(Second year growth ; sown on April 2, 1957 ; germinated on June 17, 1957)

(2) 最も早く発芽した株についての観察

(a) ガラス室内栽培 4月2日に播種し最も早く6月17日に発芽した薬務局入手の1株について述べる。10月1日、茎高54cm、節数13で、第10節において第1次叉状分枝し(B₁, B₂とする)、第1聚繖花序を腋生した(Fig.3)。

第1花序は発生8月19日、9月7日-10月11日の間開花し、盛花期は9月下旬で開花数108、結実果数20、種子数32であつた(Table 2)。B₁分枝には第12, 15, の各節にそれぞれ第II, IV花序を生じ、11月25日~1月7日、1月30日~2月19日の間開花し、また第19節に生じた第VI花序は4月20日以降現在開花中である(Table 2)。B₁分枝には栄養茎の叉状分枝はなかつた。

Table 2. Flowering and Fruiting of Cymous Inflorescences of *Rauwolfia serpentina* BENTH. (May 1, 1958)
(Second year growth ; sown on April 2, 1957 ; germinated on June 17, 1957)

Cymous Inflorescence	I	II	III	IV	V	VI	VII
Appearance	19 VIII	7 X	12 X	7 I	21 III	21 III	31 III
Beginning of flowering	7 IX	25 XI	5 XI	30 I	20 IV	20 IV	1 V
Ending of flowering	11 X	7 I	7 I	19 II	at present flowering	at present flowering	at present flowering
No. of flowers	108	86	76	50	85	108	96
No. of fruits	20	5	3	0			
No. of seeds	32		3	—			

B_2 分枝は第14節において叉状分枝し (B_{21} , B_{22} となる), 第Ⅲ花序を腋生し11月5日~1月7日の間開花した。 B_{21} 分枝は第17節において, B_{22} 分枝は第21節において, それぞれ第Ⅴ, Ⅶ花序を腋生し, 4月20日, 5月10日より現在まで開花中である。また発生した花序は現在まで7個, 1花序平均87花で, 第Ⅰ花序の稔実率が最もよく18.5%, 100花当の種子数は29.6であつた。第Ⅱ, Ⅲ, Ⅳ花序は稔実率はあまりよくない。これは簡易暖房のガラス室内とはいえ冬期間の稔実にはさらに高い温度を必要とすることを物語るものである。現在の茎高は B_1 分枝第22節にて83cmである。

(b) 露地栽培 前記と同じ4月2日に播種し6月17日に発芽した薬務局入手の1株で7月25日より露地で栽培した。10月1日, 茎高29cm, 節数10, 第10節において第Ⅰ花序を腋生し, 9月27日~10月15日の間開花し, 盛花期は10月上旬で開花数36であつた。9月下旬頃までは旺盛な生育を示したが, 10月下旬の頃から葉は次第に黄変し, 1月の厳寒期に入つてすべて落葉し遂に枯死した。結実には至らなかった。

(c) 地下部の発育 薬務局より入手の1株を10月25日試験して調査した結果は次のごとくであつた。播種4月2日, 発芽6月17日, 7月25日より露地栽培のもの。茎高29cm, 節数11, 木化5節, 基部の直径0.5cm, 葉数16, 花序1であつた。生の総重量44g(地上部20g, 根重24g), 最大根径1.1cm, 根長48cmであつた。このものの化学的分析の結果については後述する。

2. *R. caffra* 1956年2月21日南アフリカ連邦国立植物園より入手。3月5日播種し4月19日発芽。冬期間のみガラス室で越冬させた。本種は生育特に旺盛であつて第1年目秋期に茎高20cm, 節数14, 第2年目には茎高94cm, 節数33に達し第30節において5分枝を輪生した。現在茎高120cm, 節数37である。未開花。

3. *R. verticillata* 1956年5月8日香港植物園より入手。5月14日播種し6月1日~20日の間発芽。冬期のみガラス室で越冬させた。第1年目秋期に茎高23cm, 節数13に達したが分枝および開花は認められなかつた。第2年目には茎高66cm, 節数29に達した。第20節に3分枝を輪生し1花序を腋生し8月上旬より9月中旬にわたり開花したが結実には至らなかった。第3年目(本年)4月27節に5~7分枝を輪生しかつ5~7花序を腋生し現在開花中である。現在茎高90cm, 節数34。

4. *R. vomitoria* 1957年8月7日東アフリカ, ウガンダのエンテツベ植物園より入手, 8月8日播種, 9月11日~10月15日の間発芽。現在茎高16cm, 節数13。

5. *R. canescens* 1957年8月22日ドイツ国イエナのフリードリヒンラー大学植物園より入手。8月24日播種し, 9月26日より1958年4月7日の間発芽した。現在茎高5cm, 節数3。なお1957年7月18日デンマーク国コペンハーゲン大学植物園より入手したものは, 同日播種し, 5月1日1粒発芽。

6. 総括 *R. serpentina* は春日部において6月中に本圃定植を実施すれば1年株にても当年にある程度の根部収穫が可能であり, 2年株ならばより以上の収穫を見込みうると考える。

R. verticillata は性強健で栽培化は *R. serpentina* よりも容易と思われるが, 根は直根部位が短かく鬚根が多いようである。

R. canescens, *R. vomitoria* は試作の期間が短いが性強健で *R. verticillata* と同程度のように認められた。

IV 越冬について

1957年11月より *Rauwolfia* 属植物を次のような方法で越冬させた。すなわち(i)露地に直植したもの, (ii)露地に直植し, こもとよしらずで霜除を施したもの, (iii)鉢植のまま露地に放置したもの, (iv)鉢植のまま向陽の地にビニール被覆したもの, (v)鉢植のままガラス室(無暖房)に放置したもの, (vi)鉢植のまま温室内(簡易暖房, 11月27日~4月25日)に放置したものの6種である。その結果はTable 3のとおりで要約すれば次のごとくなる。ただし株の生死は厳密には今後(5月以降)の萌芽を観察しなければ断定できないが地上部の枯死をもつて枯死とした。

1. 2年株のものについて

R. caffra はガラス室で越冬可能, また *R. verticillata* は露地で越冬可能である。

2. 1年株のものについて

R. serpentina は温室, ガラス室で越冬可能であり, ビニール被覆下では9月までに発芽のものは越冬可能であつた。露地および霜除下ではほぼ12月中旬に地上部が枯死し越冬は困難のごとくである。

R. verticillata はガラス室で越冬可能である。露地, 霜除下, ビニール被覆下での試験は実施しなかつた。

R. vomitoria, *R. canescens* はともに温室, ガラス室で越冬可能である。他の試験は株数少く実施できなかった。

Table 3. Overwintering of *Rauwolfias* Cultivated at Kasukabe (1957~58)

No.	Name of plants	No. of plants	Place of overwintering	No. of plants whose tops were dead			No. of surviving plants	Remark
		11/XI 1957		25/XI	12/XII	5/I 1958		
1	<i>R. caffra</i>	1	Glass h.	1			1	
2	<i>R. verticillata</i>	6	Glass h.	3			3	
			Potted, open air	1			1	
			Open air	2			2	
7	<i>R. verticillata</i>	10	Glass h.	10			10	
			Open air	1		1	0	planted on Aug. 17
			Potted, open air	6	4	1	0	
			Prot. a. frost	1		1	0	
3	<i>R. serpentina</i>	29	Plastic c.	5			5	
			Glass h.	3			3	
			Green h.	13			13	
			Potted, open air	6	5	1	0	
			Prot. a. frost	13	4	7	0	
4	<i>R. serpentina</i>	70	Plastic c.	6		1	5	
			Glass h.	3	1		2	
			Green h.	42			42	fruiting plant : 1
			Potted, open air	4	2	2	0	
			Prot. a. frost	10	7	3	0	
5	<i>R. serpentina</i>	28	Plastic c.	8	3	1	3	out of the 5 dead pl., 3 : germinated in October ; 1 : used for cutting
			Glass h.	3	1		2	
			Green h.	3			3	
9	<i>R. vomitoria</i>	7	Glass h.	1			1	the 2 were dead after cutting for cuttings
			Green h.	6		2	4	
10	<i>R. canescens</i>	5	Glass h.	4			4	
			Green h.	1			1	

Note Glass h. : cultivation in pots, in the glass house (without heating apparatus)

Potted, open air : cultivation in pots, in the open air

Open air : direct cultivation, in the open air field

Prot. a. frost : direct cultivation, in the open air field under protection against frost with straw-matting and reed-hurdles

Plastic c. : cultivation in pots, in the cover made of poly vinyl chloride film in a sunny place

Green h. : cultivation in pots, in the green house with simple heating apparatus

V. 栄養繁殖について

本属植物栽培にあたって栄養繁殖はきわめて重要な繁殖方法で、主として挿木に関する試験を行つた。

1. 夏期の挿木について

(1) *R. verticillata* 1957年7月24日, 2年株3個体の地上部に近い腋芽から計6本の挿穂を得て挿木し全部活着(発根)した。

(2) *R. serpentina* 幼茎に虫害または病害を受けた1年株の各々1個体について, その部位から上部を切り取り挿木した。

発 芽	被害部位	被害発見	挿 木	生育程度	挿穂	活着(発根)
1957年7月6日	茎(虫食害)	7月11日	7月11日	子葉展開前	1	8月23日
〃 8月7日	茎(病 害)	8月26日	8月26日	第1本葉展開前	1	9月13日

上記のとおり発芽後20日未満の幼茎でも挿木可能であることが認められた。

2. 冬期の挿木について

冬期間温室における挿木の可否を知るため第1回を1957年11月1日、第2回を12月3日に行い、簡易暖房は11月27日より1958年4月25日の間実施した（Table 5）。挿穂は1～2節で、1年株より採取した。この試験はいまだ完結せず中間の成績を示せば、Table 4 は第1回移植時（1958年3月17日）における活着（発根）の状況を示すものである。このほか発根の確認されていない現在地上部生育中の挿穂についても表示したが、この成績は定植（近く行う予定）の際判明するはずである。

Table 4. Cutting Experiment of *Rauwolfia*s during the Winter Season, 1957~58
(First year growth ; green house with simple heating apparatus)

Name of species	Date of cutting	No. of nursery bed	No. of mother plants	No. of cutting	No. of cuttings which took root 17 III, 1958	No. of living cuttings 1 V, 1958	Total	Soil of nursery bed
<i>R. serpentina</i>	1 XI, 1957	S ₁	20	20	0	5	5	Clayey loam of this Station
	" "	S ₂		31	0	12	12	" "
	3 XII, 1957	S ₃	5	30	5	16	21	Loam of Minami-Sakurai
	" "	S ₄	6	30	5	6	11	" "
	" "	S ₅	8	30	0	2	2	Clayey loam of this Station
	" "	S ₆	8	30	2	15	17	Loam of Minami-Sakurai
	" "	S ₇	8	30	9	14	23	" "
	" "	S ₈	8	30	3	23	26	" "
	" "	S ₉	6	24	5	15	20	" "
<i>R. vomitoria</i>	3 XII, 1957	S ₁₀	3	5	5	0	5	" "
<i>R. canescens</i>	3 XII, 1957	S ₁₁	1	1	1	0	1	" "

Table 5. Temperatures during the Period of Cutting Experiment, 1957~58

	Green house with simple heating apparatus						Open air					
	XI	XII	I	II	III	IV	XI	XII	I	II	III	IV
Minimum	9.0°C	8.5	7.0	9.0	7.5	11.0	0.5	-1.5	-6.2	-4.0	-6.5	0.5
Average min.	12.3	12.0	10.1	13.0	12.2	15.2	6.8	2.0	-0.3	0.3	2.5	8.1
Maximum	44.0	25.5	35.0	45.0	32.8	30.0	21.4	20.0	15.0	21.5	21.8	28.5
Average max.	26.2	21.2	22.2	27.7	22.1	23.7	17.4	11.9	9.4	10.2	14.4	17.6

(1) *R. serpentina* 冬期間の挿木可能であることが確認された。挿穂の節数をいまだ少し多く3程度とし、挿木床の改善、および挿木の適期発見、植物ホルモン処理その他により、さらに活着率は向上するものと思われる。挿木の適温は20~25°、発根には少くとも1.5ヶ月を要するもののようである。

1958年3月31日、種子島薬用植物栽培試験場より郵送7日を要して到着した越年株（2年株）10個体より38本の挿穂を得て挿木したものは5月15日調査の結果すべて活着（発根）を確認することができた。

(2) *R. vomitoria*, *R. canescens* 供試数は少ないが *R. serpentina* よりも挿木は容易で、発根には1.5ヶ月を要するようである。

(3) *R. verticillata* 1958年実施の挿木試験により *R. serpentina* よりも発根しやすく挿木容易であることが認められた。

3. その他の栄養繁殖について

1958年3月12日根挿および接木について予備試験を行つた。その結果、*R. serpentina*, *R. verticillata* について根挿の可能なことが確認された。根挿の1片の長さは3~5cmである。また *R. serpentina* を砧木とし *R. ver-*

ticillata を接穂として合接し接木の可能なことも確認された。今後各種 *Rauwolfia* の挿木の試験と併行してそれらの根挿, 接木についての試験を広範囲に実施する予定である。

VI. 化学的分析について

R. serpentina の根部および葉について reserpine-rescinnamine 群アルカロイドの検出と定量を試験した。

1. 根部

前記(Ⅲ, 1, (c) 参照)の4月2日播種, 6月17日発芽, 7月25日より露地栽培の1年株。10月25日掘取。根部の生重24g, 絶対乾燥重5.8g, 乾燥歩留24.2%。

2. 葉

上記1年株について1957年12月3日摘葉のもの。

3. 試験方法および成績

根部について BANES ら(1956)の方法により検出および定量を行うに, その抽出液は明らかに塩酸ワニリン液で桃赤色を示し, 絶対乾燥重に対し 0.07% の reserpine-rescinnamine 群アルカロイドの含有が認められた。

葉について同様な方法で試験したところ, その抽出液はマイヤー試液でアルカロイドの存在を示すが, 塩酸ワニリン試液で黄褐色の呈色を示し, reserpine-rescinnamine 群アルカロイドの存在を示さなかつた。

なお抽出液について電気泳動を行つたが, reserpine の螢光を示すスポットは認められなかつたが, 若干の他のアルカロイドの存在を認めることができた。

摘 要

- 1956年より *R. caffra* SOND., *R. canescens* L., *R. serpentina* BENTH., *R. verticillata* BAILL., *R. vomitoria* AFZ. の試作栽培を春日部において実施中である。
- R. serpentina* の発芽率は6月上旬露地播種のものが最も高く 20%, 平均発芽所要時間 69.4日 ($\sigma=25.1$ 日)であつた。発芽の適温は 25° 前後と思われる。
- R. serpentina* の6月中発芽のものは9月下旬露地において茎高 20~30cm, 節数10で, 開花が認められた。それ以後発芽のものはしばしば着蕾したが露地(10月)で開花したものはきわめてまれであつた。
- R. caffra*, *R. canescens*, *R. verticillata*, *R. vomitoria* は *R. serpentina* よりも性強健, 生育旺盛で栽培は容易のようである。
- R. serpentina* の1年株はガラス室, ビニール被覆下で越冬可能であつたが露地では不能であつた。*R. verticillata* の2年株は露地で越冬可能であつた。
- 5種すべて, 夏期冬期ともに挿木繁殖可能である。冬期の挿木は簡易暖房温室によらなければならない。挿木の適温は 20-25° のようである。
- 4月播種, 10月収穫の *R. serpentina* の1年生根に絶対乾燥重に対して 0.07% の reserpine-rescinnamine 群アルカロイドの含有が認められた。

Summary

- Since 1956 trial cultivation of *Rauwolfia caffra* SOND., *R. canescens* L., *R. serpentina* BENTH., *R. verticillata* BAILL., and *R. vomitoria* AFZ. has been made at Kasukabe.
- The germination of *R. serpentina* was best when sown in the open air early in June, being 20 percent; the mean necessary time for germination, 69.4 days ($\sigma=25.1$ days). The optimal temperature of germination seemed to be about 25°.
- Plants of *R. serpentina* germinated during June bloomed in the open air late in September, when 20-30cm. in height and 10 in node number. Those germinated after July had often buds but bloomed very rarely in the open air (in October).
- R. caffra*, *R. canescens*, *R. verticillata*, and *R. vomitoria* seemed to be more vigorous in growth and easier in cultivation than *R. serpentina*.

5) The first year growth of *R. serpentina* was able to overwinter in the glass house or in the plastic cover made of poly vinyl chloride film, but unable in the open air. The second year growth of *R. verticillata* was able to overwinter in the open air.

6) Cutting of the five Rauwolfias is all possible, in both summer and winter. The cutting in winter should be made in the green house with heating apparatus. The optimal temperature of cutting seemed to be 20—25°.

7) The alkaloids of reserpine-recinnamine group were found to contain 0.07 percent (on moisture free basis) in the root of the first year growth of *R. serpentina*, in case of sowing in April and harvesting in October.

Received May 31, 1958.

Shigella flexneri 流行株のキノン反応, サルファ剤感受性

およびインドール反応について

岩 原 繁 雄

Quinone Reaction, Sulfonamide Sensitivity and Indole Reaction of Newly Isolated Flexner Dysentery Bacilli

Shigeo IWAHARA

まえがき 赤痢菌の分類は現在では主として免疫学的方法によつて行われているが、免疫学的には同一の態度を示す菌株のうちにも細かい点でことなつた性質を持つものがあることが知られている。赤痢症の系統調査を行うためには赤痢菌の細分類に役立つ検査法がなるべく数多く存在することがのぞましいと考えられるので、今回は東京、神奈川、群馬地方で分離されたフレキシナー赤痢菌についてキノン反応、サルファ剤感受性およびインドール反応を行つてみた。また一部の株についてはレンダーエキス寒天赤変性およびファージタイピングを行つた。

キノン反応は藤田・児玉¹⁾によつて報告され、その後手技も一部改良されて米山ら^{2),3)}によつて赤痢菌を中心として各種の腸内細菌について検討されこれらの菌の分類にも役立つことが報告されている。

サルファ剤感受性については岩原ら^{4),5)}が数年間にわたつて検討を加えた結果、赤痢菌のサルファ剤感受性はかなり安定したものであつて菌の分類に利用しうるのであることをのべてきた。

インドール反応は細菌の重要な反応の一つとして広く行われており、赤痢菌についてはサルファ剤感受性と関係があつて、サ剤に対して耐性化するとインドール反応が陰性となるという報告がある。分離株についてのわれわれの経験では、大多数がサ剤耐性である 2a や 2b のなかにもインドール反応陽性のものがあり、必ずしも平行はしないと考えられる。

レンダーエキス寒天培地における色素産生の有無はすでにフレキシナー赤痢菌の分類においても取り上げられており、ファージタイピングもわれわれの研究⁶⁾によればある程度の実用性があると考えられるので今回の実験においても検討を加えた。

実験材料および方法

使用菌株 実験に使用した菌株はすべてフレキシナー赤痢菌で 1955 年および 1956 年に東京、神奈川、群馬地方において分離された 333 株で分離後 3 カ月以内のものを使用した。

インドール反応 試験菌をペプトン水で 37°C、24 時間培養し、エールリッヒの試薬を重層する。著明な桃赤色を呈したものを(++)、弱い着色を示したものを(+)とした。

キノン反応 普通寒天平板に 37°C、18 時間培養した菌を 1 mg/cc に蒸留水に浮遊させる。この菌液 1 cc に対して 0.1% のパラベンゾキノンアルコール溶液 1 滴を加えて混合し数分間で薄桃色に呈色したものをキノン反応陽性とした。

サルファ剤感受性 菌株によりいずれか一つの方法を用いた。

1) 100mg/dl にサルファチアゾールを含む普通寒天培地平板に試験菌を劃線培養し 37°C で、24 時間培養したばあい菌の発育が抑制されないものをサルファ剤耐性とした。

2) 10mg/dl にサルファチアゾールを含む半合成培地を使用。検査法および判定法は 1) のばあいと同じ。

レンダーエキス寒天培地赤変性 ミクニ化学製レンダー肉エキス 1%，ポリペプトン 1%，食塩 0.2%，精製寒天 0.2% よりなる培地を小試験管に分注滅菌して高層とし、これに試験菌を穿刺し、37°C で、24 時間培養後室温に 48 時間放置し、表層部が淡褐色に着色したものを反応陽性とした。

ファージタイピング フレキシナー菌タイピング用ファージ 5 株 (7, 8, 35, 37, 40) を用いて溶菌の pattern をしらべた。方法の詳細についてはすでに報告した。

実験結果

実験結果は第1表に示すごとくで、1b, 2a, 2b にぞくする大部分の株はキノン(+), インドール(-), サルファ剤耐性であつて、264 株中これ以外の型を示したものは11株にすぎなかつた。ファージタイプからみると1bの大部分は 8 でとかされない点で 2a および 2b と区別され、2b の多くは 37 でとかされるので 2a と区別することができた。2a は3つのファージタイプに大別することができたが、キノン反応、インドール反応、サルファ剤感受性と特に関連はみられなかつた。レンダー反応は 1b, 2a, 2b とともに陽性の菌株が多く、その成績は第2表のごとくである。レンダー反応陰性の4菌株もキノン反応陰性、インドール反応陽性、サルファ剤耐性で、これらの反応については定型的の性状を示していた。

第1表 分離赤痢菌のキノン反応、インドール反応、サルファ剤感受性

キノン反応	インドール反	サルファ剤感受性	菌 型					
			1b	2a	2b	3a	3b	4
+	-	耐 性	21	122	110	3	3	0
+	-	感 性	0	0	2	0	0	0
+	+	耐 性	0	1	0	4	0	0
-	+	感 性	0	4	2	47	2	0
-	+	耐 性	0	0	0	9	0	0
-	-	耐 性	0	1	1	0	0	0
-	-	感 性	0	0	0	0	0	1

第2表 分離赤痢菌のレンダーエキスイ寒天赤変性

菌型	赤変性	
	+	-
1b	18	1
2a	47	1
2b	21	2
3a	1	8

3aの多くは 1b, 2a, 2b とことなりキノン反応(-), インドール反応(+)で、このうちサルファ剤感受性のものが大多数を占め一部耐性株がみられた。レンダー反応も 1b, 2a, 2b, とことなり陰性株が多く、陽性株は1株のみであつた。

考察および結論

フレキシナー赤痢菌の分類、ひいては感染の系統調査などの実際面へのキノン反応の利用価値を検討することを主な目的として今回の実験を行つたが、インドール反応やサルファ剤感受性と同様 1b, 2a, 2b と3aとでは全く逆の成績がえられた。またレンダーエキスイ寒天赤変性も上記3反応と同様 1b, 2a, 2b は陽性、3a は陰性であつた。しかしいずれの反応についても例外的な性状を示す菌株がみられ、しかもこれらの株については各反応の成績がそれぞれ関連を持たず、いろいろの組合わせがみられたことは興味深いと考える。と同時にある場合には菌の細分類のために役立つことが予想される。

ファージタイプをしらべるることによつて 1b, 2a, 2b, 3a の多くの株をそれぞれ区別することができる。非定型的のファージタイプを示す株について上記4反応との関連性はみられなかつた。

以上の結果からみて、キノン反応、インドール反応、サルファ剤感受性、レンダーエキスイ寒天赤変性およびファージタイプをあわせて検査することによつて、血清学的に分類されたフレキシナー赤痢菌をさらに細分できることがある。また 1b, 2a, 2b を含む一群と 3a とは上記の反応のすべてについてきわめて対蹠的であつて、これらの二群の菌の間になにか本質的な差があることがうかがわれることはフレキシナー赤痢菌の分類上きわめて興味ある事実と考えられる。

実験の一部を担当された赤坂, 河西両君に感謝する。また東大医学部衛生看護学科米山啓氏にキノロン反応に関して種々の御援助をいただいた。

文 献

- 1) 藤田, 兎玉: 細菌学雑誌, 464, 707 (1934).
- 2) 米山, 中平: 衛生検査, 5, 11 (1956).
- 3) 米山: 日本細菌学雑誌, 12, (5), (6), (11), (1957).
- 4) 岩原: 医学と生物学, 28, 30 (1953).
- 5) 秋葉, 岩原, 石橋, 深沢, 宮崎: 日本医事新報, 1609, 24 (1955).
- 6) 岩原, 越沼, 大淵: 本誌, 73, 263 (1955).

Summary

Quinone reaction, indole reaction, sulfonamide sensitivity and phage type of 333 flexner dysentery strains isolated in Japan from 1955 to 1956 were tested.

Nearly all strains of shigella flexneri 1b, 2a, 2b were quinone positive, indole negative and sulfonamide resistant, but typical strains of shigella flexneri 3a were quinone negative, indole positive and sulfonamide sensitive.

Received May 31, 1958.

特殊クリームを試験法について（漂白クリーム）

市川重春, 南城 実, 林 悦子, 狩野静雄

On the Examination of Special Cream (Bleaching Cream)

Shigeharu ICHIKAWA, Minoru NANJŌ, Etuko HAYASHI, and Shizuo KANO

まえがき 最近漂白クリームによる皮膚障害が非常に多いので、われわれは、その主成分である白降汞，ハイドロキノンモノベンチールエーテルの試験法について検討を試みるとともに、市販品について試験を行つたので、これらについて報告する。

定量法

I 白降汞，検体として局方白降汞（98.69%）を塩酸に溶解し、水で希釈したものを、ラノリン、流パラ、ワセリンなどのクリーム基剤に混合したものを用いた。

(1) 衛生試験法 この方法は直火で疎解を行うので、塩素イオンの存在において水銀が逃げるので成績にバラツキが多く、実在含量に対して最高77.71%，不馴れの場合は39%しか定量できなかった。

(2) A.O.A.C. 法 A.O.A.C. 記載¹⁾の水銀定量装置を用いて疎解を行うのであるが、非常に時間が長くかかり、また有機物残存のためか終末点がはつきりせず、成績にバラツキが多く、実在含量に対して最高95.53%，最低72.57%であつた。

(3) 亜鉛アマルガム法（私案） この方法は疎解を行わず、水浴上で検体に塩酸を加えて白降汞を溶かし、これを汙過し、汙液に亜鉛末を加えて亜鉛アマルガムとし、これを硝酸に溶かして検液とする。操作が簡単でバラツキも少く、実在含量に対して最高99.87%，最低98.79%の成績を得た。

II ハイドロキノンモノベンチールエーテル，試料約2g（ハイドロキノンモノベンチールエーテル30mgを含む量）を精密に秤取して、30°～40°に温めながら10%水酸化ナトリウム溶液に溶解させ、このものをエーテルおよび石油エーテル混液で抽出し、混液層は分離し水層を10%硫酸で酸性とし、エーテルに溶解させエーテル分を除去したのち、残留物をアルコールに溶解させ検液とする。この検液を氷冷下において *p*-Nitroaniline および亜硝酸ナトリウム溶液を加え、呈色した色を比色計にて比色し、ハイドロキノンモノベンチールエーテルの標準溶液による検量線から含量を測定する。

む す び

白降汞の定量については、亜鉛アマルガム法（私案）は操作が簡単で誤差が少なく、実用に適するものと思われる。

ハイドロキノンモノベンチールエーテルの定量法については公定法がないので、種々検討の結果本法を最適と認めた。

市 販 品 試 験 成 績 表（その一）

種 別	白 降 汞(%)	種 別	白 降 汞(%)
A	1.76	F (1)	2.86
B	1.54	F (2)	2.75
C	1.98	F (3)	2.83
D (普)	1.95	F (4)	2.85
D (強)	4.97	F (5)	2.84
E	3.87		

市販品試験成績表(その二)

種 別	ハイドロキノノンモノ ペンチールエーテル (%)	種 別	ハイドロキノノンモノ ペンチールエーテル (%)
H	0.24	L (2)	0.53
I	0.17	L (3)	0.51
J (1)	0.20	M (1)	0.20
J (2)	0.43	M (2)	0.38
J (3)	0.45	M (3)	0.34
J (4)	0.50	M (4)	0.40
K (1)	0.37	N (1)	0.30
K (2)	0.35	N (2)	0.35
L (1)	0.50	N (3)	7.00 (強)

文 献

- 1) *Official Methods of Analysis*, 8th Ed., Association of Official Agricultural Chemists, 1955, 24. 75. - 24. 76.

Received May 31, 1958.

Cryst. TA と結晶グルカゴンとの生理作用の比較

長沢佳熊, 西崎笹夫, 佐藤 浩, 白井浄二

Comparison of Physiological Inactive Protein Crystals (Cryst. TA) from Crude Tunny Fish Insulin Powder and Glucagon Crystals.

Kakuma NAGASAWA, Sasao NISHIZAKI, Hiroshi SATO, and Joji SHIRAI

著者らは第20報¹⁾でまぐろ粗インシュリンから単離した結晶 (Cryst. TA) は, その外観および物理化学的恒数がグルカゴンによく似ているが, 生物活性がほとんどないことを報告した。

今回は念のためカナダ Toronto 大学の A.M.Fisher 博士の厚意により提供された結晶グルカゴンについて第20報と全く同じ条件で生物実験をおこない, Cryst. TA の場合の data (両結晶ともに 400 γ および 800 γ を静注) と照対して Fig 1 に示す。

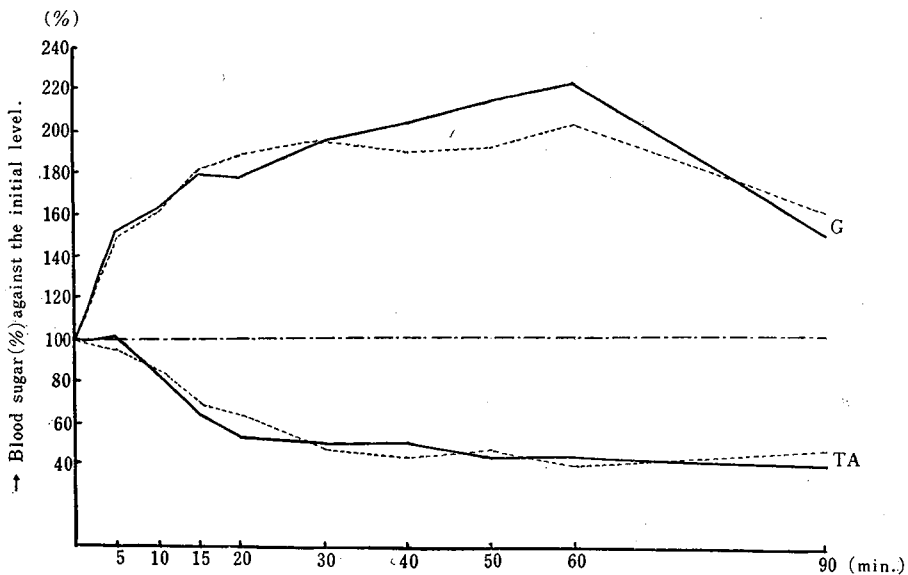


Fig. 1 Assay of Blood Sugar.

— : 800 γ

..... : 400 γ

G : Glucagon

TA : Cryst. TA (From the Data in our Previous Report XX¹⁾)

なお, 著者らは, グルカゴン 50 γ , 10 γ , 2 γ および 0.5 γ を絶食家兎の耳静脈に注射し, 注射後の血糖量の変化を検した. その結果を Fig. 2 に示す. これによれば, 結晶グルカゴンは 0.5 γ でも血糖上昇作用を示すことがわかった。

これらの結果から, Cryst. TA はグルカゴンの結晶ではないことが明らかである。

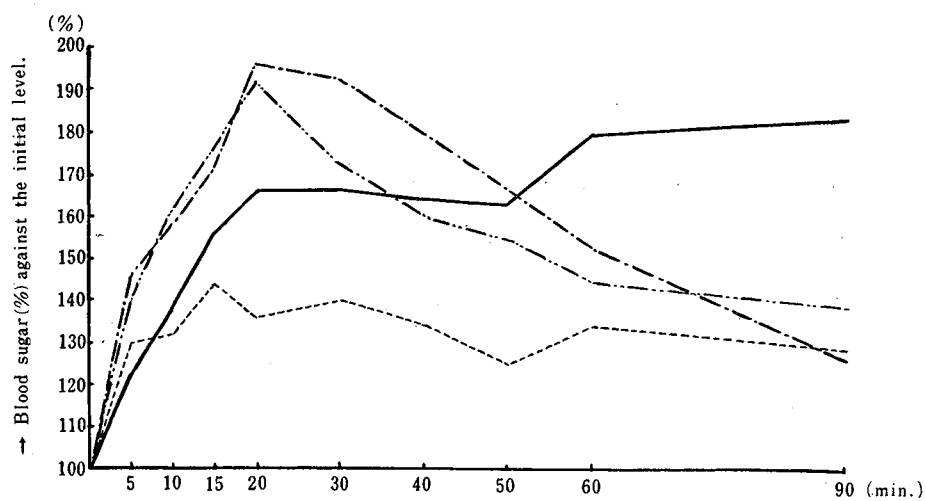


Fig. 2 Assay of Blood Sugar after Injection of Glucagon.

— · — · — : 50γ

— · — · — : 10γ

———— : 2γ

..... : 0.5γ

文 献

- 1) 長沢佳熊, 西崎笹夫; 本誌, 75, 95 (1957).

Received May 31, 1958.

牛, 鯨結晶インシュリンおよび魚インシュリンの DNP 化について

長 沢 佳 熊, 西 崎 笹 夫

On the Dinitrophenyl Derivatives of Ox and Whale Crystalline

Insulins and Fish Insulin

Kakuma NAGASAWA and Sasao NISHIZAKI

著者らは Sanger¹⁾の方法により, 牛と鯨の結晶インシュリンおよび魚インシュリンを同一条件で DNP 化した. それらの収量は魚の場合のみは牛, 鯨の場合の約 $\frac{1}{2}$ 量に過ぎなかった.

試料: 牛結晶インシュリン (23.5 u/mg)

鯨結晶インシュリン (22 u/mg)

魚インシュリン (20 u/mg: 第18報²⁾における pH 6.9~6.3 の沈でん)

操作法: 上記試料各50 mgをとり, 炭酸水素ナトリウム50 mg ずつを加え水 0.5 cc に溶かす. エチルアルコール 1cc および 1-Fluoro-2, 4-dinitro benzene 0.05cc を加え 2 時間ふりまぜると, 反応した DNP インシュリンは黄色粉末として沈でんする. これを遠心分離し, 水, エチルアルコールおよびエーテルで洗い風乾する.

収量: 以上の操作で得られた沈でんは牛の場合 60 mg, 鯨の場合 70 mg であるが, 魚の場合 30 mg であつた.

このように魚の場合の収量が牛, 鯨に比し約 $\frac{1}{2}$ であることは, 魚のインシュリンの特性の一つとして興味深い.

文 献

- 1) Sanger, F.: *Biochem. J.*, 39, 507 (1945).
- 2) 長沢佳熊, 西崎笹夫: 本誌, 74, 179 (1956).

Received May 31, 1958.

輸入バターから分離した大腸菌群について

林 長 男

Studies on Coli group Isolated from Imported Butter.

Nagao HAYASHI

昭和29, 30年の2ケ年に亘つて我が国に輸入されたバターのうち, 当所において検査した156検体より385株の大腸菌群を分離した。そこでこれら大腸菌群が日本産バターのそれと分布状態がどのように異なっているか, また健康人ならびに乳牛の糞便から分離される大腸菌群に対してどのような傾向があるかを検査するため日本産バター-103検体より177株, 健康人100人より297株, 乳牛98頭より275株を分離し, 各々について比較検討を行つた。次にその概要を報告する。

バターの場合は食品衛生検査指針に基き, 糞便の場合は Mac Conkey 培地を用い, 総計1,134株を得た。そこでこれらの IMViC, 糖分解能等, 腸内細菌の一般的な生化学的性状から各属に類別し, 非定型的菌株には KCN test と Decarboxylase の追加実験を行つた。次に定型的, 非定型的, *Escherichia coli* (以下 *E. coli* と略す) と思われる菌株に対しては当所で免疫した O-1~O-136 の血清と凝集反応を行い, その終価を求め, 類属凝集反応を起す菌株には吸収試験を行つてその所属を明かにした。

生化学的性状から1,134株の大腸菌群を各属に類別すると, 輸入バターでは *E. coli* が56.9% で半数以上を占め, 他は *Klebsiella*, *Cloaca*, *Escherichia freundii* (以下 *E.fr* と略す) の順であつた。しかし日本産バターでは *E. coli* が2.3% と非常に少く, *Cloaca*, *Klebsiella* が多く検出され, 前者と比較すると全く反対の様相を呈し食品衛生上興味ある所見と思われた。また糞便分離株では健康人, 乳牛とも *E. coli* が大部分を占め, 両者間に大差は認められず, ただ前者に *E.fr* が3株分離されたのに対し, 後者では *Cloaca* が9株検出された程度であつた。またこの中には非定型的大腸菌群が145株程含まれているのでこれらに対し KCN test と Decarboxylase を試みた結果, 大部分を既知の属に加える事が出来た。これら非定型的菌株は硫化水素非産生の *E.fr*, インドール反応陰性で硫化水素を産生する *E. coli*, インドール反応陽性の *Cloaca* 等である。それでも全く所属不明に終つた菌株は輸入バターでは5株, 日本産バターでは2株, 健康人では2株, 乳牛では12株の合計21株であつた。なお健康人に比し乳牛の糞便には腸内細菌ではあるが所属不明の菌株が多数分離されるようである。

次に *E. coli* と判定した菌株に対し血清学的な型別診断を行つたところ, 輸入バターでは O-1~O-136 に一致した菌株が143株 (約65.3%) でいずれも少数の限られた血清と一致し, 日本産バターでは4株とも O-10 に一致した。なおこの両者には病原大腸菌は認められなかつた。健康人糞便株では162株 (約57%) が一致し, 病原大腸菌は O-44に1株, O-55に4株, O-75に2株, O-111に2株, 合計9株 (約3%) であつた。乳牛糞便株では135株 (約53.3%) が一致し, 病原大腸菌は O-26, O-55, O-125に1株づつ, O-75に9株, 合計12株 (約4.7%) と健康人の場合よりもやや高率に検出された。糞便株はバター株に比し O-1~O-136 全般に広く分布し, バター株の *E. coli* との間になんら特異的な傾向はうかがわれないようである。

Received May 31, 1958.

Rauwolfia 属植物の染色体数 (第2報)

川谷豊彦, 宮崎幸男, 大野忠郎, 逸見誠三郎

Chromosome Numbers of Genus *Rauwolfia*. II.

Toyohiko KAWATANI, Yukio MIYAZAKI, Tadarō ŌHNO,

and Seizaburō HEMMI

著者らは前報¹⁾において印度蛇木 *Rauwolfia serpentina* BENTH., *R. verticillata* BAILL., および *R. caffra* SOND. の染色体数を観察し, それぞれ $2n=22$, 22 , および 44 と決定し *Rauwolfia* 属の染色体の基本数は 11 であることを報告した.

本報はその後1957~58年に決定した *Rauwolfia* 属2種の染色体数について報告する. *R. vomitoria* AFZ. は東アフリカ産, また *R. canescens* L. はドイツ産, セイロン産, およびインド産の種子を入手して, 春日部および伊豆薬用植物栽培試験場において栽培中のものを用いた. なおインド産のものは土井正一氏が *R. serpentina* として入手したものであるが, その形態を観察した結果, 宮崎により *R. canescens* として同定されたものである.

染色体観察は前報と同様に TJIO & LEVAN (1950) の方法で処理した根端細胞を用いた. ただし 8-oxyquinoline (0.002 mol.) 液処理は6時間, 加水分解は $N-HCl$, 60° で6~8分, 染色は acetic orcein によつた.

Chromosome Numbers of *Rauwolfia*

Name of plants	Somatic chromosome number	Seed origin	Figure	Ratio of magnification
<i>R. vomitoria</i> AFZ.	22	Entebbe, Uganda, E. Africa (1957)	1	1,590
<i>R. canescens</i> L.	44	Jena, Germany (1957)	2	1,680
〃	44	Peradeniya, Ceylon (1957)	3	1,210
〃	44	India (1957)	4	1,510

得られた結果は上記のとおりで *R. vomitoria* $2n=22$, *R. canescens* $2n=44$ と決定された.

本研究を実施するにあたり種子を分譲された東アフリカ, ウガンダのエンテツベ植物園, ドイツ国イエナのフリードリヒシラー大学植物園, セイロン国ペラデニヤ植物園の当局, ならびに土井正一氏に敬意を表する.

文 献

- 1) 川谷豊彦, 宮崎幸男, 大野忠郎: 本誌, 75, 495 (1957).

Summary

The authors have determined that the somatic chromosome numbers of *Rauwolfia vomitoria* AFZ. and *R. canescens* L. are 22 and 44, respectively.

Received May 31, 1958.

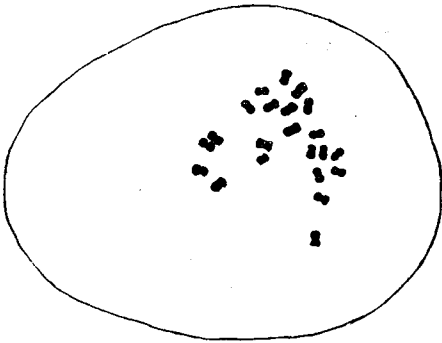


Fig. 1

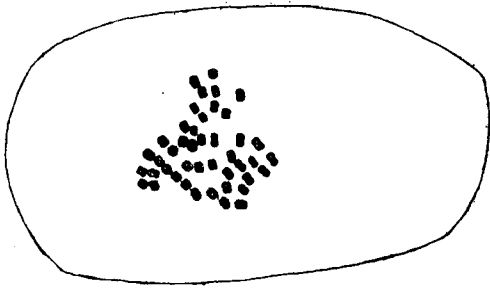


Fig. 2

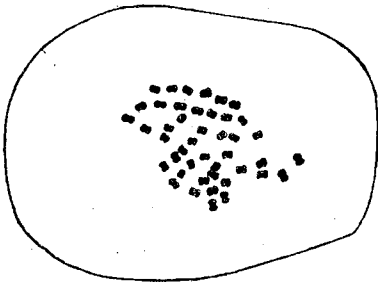


Fig. 3

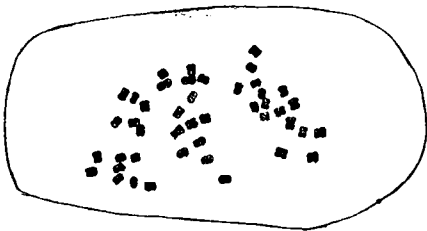


Fig. 4

食品中の微量有害性金属に関する研究 (第1報)

市販牛乳の比素含量について*

川 城 巖, 岡 田 太 郎, 近 藤 竜 雄

Studies on the Determination of Trace Poisonous Metals in Food I

Arsenic Content of Market Milk

Iwao KAWASHIRO, Tarō OKADA, and Tatsuo KONDO

まえがき 最近, 化学性食中毒に対しても昭和30年夏勃発した比素混入粉ミルク事件などにより, 一般の関心が深まってきた。そこで著者らは中毒原因食品判定の一助としてまず正常食品中に常在する微量の有害性金属について, その含量を検討することにした。今回は市乳中の比素について2, 3の実験を試みた。

1. 有機物分解法の検討 著者らはA. O. A. C.¹⁾に記載された食品中の水銀を定量する際の装置(分解びん, ソクスレー浸出器を模倣した還流部分, 冷却器の3部からなる。以下A-装置と略称する)をこの場合にも応用しようとし、2, 3操作上の改良を加えてみた。その結果, 装置を用いると普通の実験室内で処理し得ることが第一の利点であり, それ以外に従来法に比べ使用酸量も少く, 比素の回収率も後述のごとく良好であつた。

2. 分解液中の比素定量 Gutzeit 法の試験紙水平式を用い, 試験紙上に現れた円形呈色斑について, その分光反射率を測定することによつて比素を定量²⁾した。著者らが拡散反射率測定用積分球を装置したA.K.A.光電管比色計5号D型を使用し, フィルターUV-V₂(中心波長380mμ)で測定(測定対照: 未反応臭化水銀紙)して得た結果は定量範囲も0.2-2γの微量域となり, 精度もRD値として標準偏差±0.006-0.015であつた。なお実験操作および使用試薬はすべて衛生検査指針³⁾の方法に基づいて実施した。

3. A-装置を用い, かつ反射光電比色比素定量法を行つた場合の精度 比素標準液(As₂O₃ 1γ/cc) 10ccを用い牛乳と同様に操作, 処理し水で希釈100ccとし, その5, 10, 15, 20ccを発生びんにとりそれぞれ定量した。その結果回収率は実験Ⅰ: 90-105%, 実験Ⅱ: 90-110%, 実験Ⅲ: 90-108%, 実験Ⅳ: 93-104%であつたが, この値の変動は著者らの実験によれば, 反射光電比色法の誤差範囲内に入るものと考えられる。

4. 市乳中の比素量 上記の方法を用いて測定したが, まず市乳約15試料につき, そのものの比素量を求め, 次に市乳から得られた凝乳と乳清につきそれぞれの比素量を求めて比素の分布状態を検討した。なお乳清の分離は自然酸敗による方法と酢酸による方法によつた。その結果は試料として用いた市乳中にはAs₂O₃として100g中平均9.3γ(Asとして7.0γ)の比素分を含有し, その市乳中には凝乳1, 乳清3の割合で比素が分布していた。従来牛乳中の比素量については, Fellenberg⁴⁾によれば100g中Asとして2.3γ, Manceauらによれば0-4γの報告がある。

あ と が き

著者らがA-装置を利用した分解法と反射光電比色比素定量法を組合せた方法により, 市乳中の比素量について検討したところ, 比素の回収率も良好で, かつ0.2-2γの微量域において, 最大10%の誤差で定量を行うことができた。そして, その市乳中にはAs₂O₃として平均0.09ppmの比素分を含有していた。したがつて著者らの実験結果は諸文献上の牛乳中の砒素量に対し2-3倍量を示している。

文 献

- 1) *Official Methods of Analysis*, 8th Ed., Association of Official Agricultural Chemists, 1955, 24. 76.
- 2) 川城 巖, 岡田太郎, 加藤三郎: 本誌, 75, 15 (1957).

* 第11回日本薬学大会講演(1958).

-
- 3) 厚生省編纂：衛生検査指針Ⅲ，p. 53—56 (1952).
 - 4) Fellenberg, Th. Von : *Biochem. Zeitschr.* 218, 300 (1930)

Received May 31, 1958.

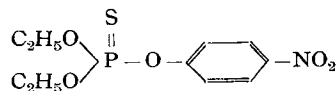
米糠中のジアゾ色素形成物質

川 城 巖, 福 沢 富 美, 江 島 昭

Diazo Dye-producing Substance in Rice-Bran

Iwao KAWASHIRO, Fumi FUKUZAWA, and Akira EJIMA

まえがき 殺虫剤パラチオンは次の構造式を有する。



この呈色反応として、ニトロ基を還元後ジアゾ化し、呈色試薬を加えてジアゾ色素を作る方法があるが、パラチオンが撒布される種々の植物体およびその他の天然物中には以上の呈色反応を妨害する物質が

あつて例えば、もみ付き麦¹⁾、トマト²⁾、ブドウ³⁾、オレンジ³⁾、茶⁴⁾、桜桃⁴⁾、味噌および醤油⁴⁾などの中に微量存在するといわれている。一般にジアゾ色素を作るアミノ化合物やある種のアミノ酸を含む天然物をベンゼンなどの溶媒で抽出処理を行うときそれらが溶解してくるのは当然である。ブドウやオレンジでは Methylantranilate³⁾ がジアゾ色素を作り、その他の果物もおそらく同系統の物質と考えられる。これらのものおよび麦ではベンゼン抽出液を10%塩酸で処理すれば除去できるが、トマト²⁾や米糠では除去できない。

昭和32年7月に原米中の残留パラチオンを試験した際にパラチオン類似のジアゾ色素形成物質の存在を認めた (Fig. 1)。これはパラチオンよりうるジアゾ色素の最大吸収波長 555mμ に一致するが、その他のパラチオン定性反応^{2), 5), 6)} は陰性であつたのでパラチオンではないと考えられる。しかしながら塩酸酸性水溶液に移行せず、還元操作を加えなければジアゾ色素を形成しない (Fig. 1) 点からニトロ化合物ではないかと想像される。また米の糠の部分について抽出を行つたところ、確に原米の場合より相当多く検出された。

Absorbance

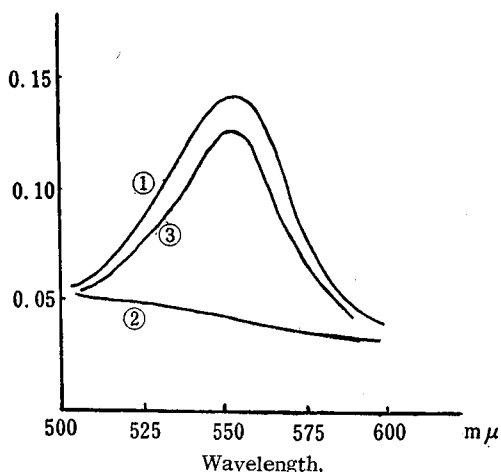


Fig. 1 Absorption curve of diazo dye from Rice-bran extract

- ① Diazodye obtained by reduction
- ② Substance without reducing procedure
- ③ Parathion, 0.8γ/cc

まだ本体を単離、精製するには至っていないので、その性質の詳細は不明であるが、酸に溶けないほかアルカリ性水溶液にも移行しない。アルコール、ベンゼンに溶け、水に不溶である。またアルコール製アルカリ液と煮沸してもジアゾ色素を形成する。

抽出方法 市販米糠 1 kg をとつてデーキンの連続抽出器を用いベンゼンで10時間抽出する。ベンゼンを留去したのち再びアルコールで10時間連続抽出する。アルコールを留去した残留物をさらに90%アルコールとふりまぜ、アルコール部分を分け取る。アルコールを除いた残留物をベンゼンに溶かし活性アルミナの層を通過させて脱色を行う。脱色液からベンゼンを留去すると微量の黄色結晶およびほとんど無色の粘稠液少量をうる。

発色操作 抽出物をアルコール 10cc に溶かし、塩酸酸性で亜鉛末 0.5g を加えて加温し還元する。放冷後亜硝酸ナトリウム液を加えてジアゾ化し、過剰の亜硝酸ナトリウムをスルファミン酸アンモニウムで除去したのち 1% N-(1-ナフチル)エチレンジアミン液で発色させる。

文 献

1) 川城巖, 福沢富美, 江島昭: 本誌, 73, 201 (1955).

- 2) Buckley, R., Colthurst, J. P. : *Analyst*, 79, 285 (1954).
- 3) Blinn, R. C., Gunther, F. A. : *Anal. Chem.* 22, 1219 (1950).
- 4) 佐藤六郎, 牟田一郎 : 私信.
- 5) Biggs, A. I. : *Analyst*, 80, 279 (1955).
- 6) 犯罪化学試験法中有機磷剤試験法, 水, 野菜および果実中のパラチオン : 衛生化学, 3, No. 1, 64 (1955).

Received May 31, 1958.

抄

ヨウ素水の分析に関する国際薬局方中の一誤謬に就いて

井上 勲：薬剤学，17，188—189（1957）。

国際薬局方第1版(以下P.I.)に記載されているヨウ素水(ルゴール液)の分析法中，ヨウ化カリウムの計算法に誤謬のあることを指摘した。すなわち，P.I.の条文には「検液(原液を4倍に稀釈して調製)10mlに塩酸，シアン化カリウム試液を加え0.05Mヨウ素酸カリウム液で滴定する。その消費量からヨウ素の定量に要した0.1Nチオ硫酸ナトリウム液量の $\frac{1}{2}$ を差引く」とあるが，この $\frac{1}{2}$ は次の理由により $\frac{1}{4}$ に改めるべきである。0.05Mヨウ素酸カリウム液および0.1Nチオ硫酸ナトリウム液の各1mlは遊離ヨウ素の25.38mgおよび12.69mg(=25.38 $\times\frac{1}{2}$)にそれぞれ当量である。そこで滴定直前の検液1ml中にヨウ素xmg，ヨウ化カリウムymgをそれぞれ含むときP.I.の条文通りに分析すれば，0.1Nチオ硫酸ナトリウム液(v)および0.05Mヨウ素酸カリウム(V)の消費量はそれぞれ $v = \frac{20x}{12.69}$ ， $V = \frac{10x}{25.38} + \frac{10y}{16.60}$ となる。そこでもしvの $\frac{1}{2}$ を差引くとすればKI(mg)=16.60 $\times(V - \frac{v}{2})$ ±10y， $\frac{1}{4}$ を差引けばKI(mg)=16.60 $\times(V - \frac{v}{4})$ =10yとなる。次に実験的にはヨウ素に対して0.05Mヨウ素酸カリウム液1mlの対応量が12.69mgではなくて25.38mgであることを確め，さらにルゴール液の試製および分析をP.I.の条文とおりに行つて上記の二通りの計算から，P.I.の条文はここに述べたとおりに訂正すべきであることを確認した。なお，ヨードチンキの分析の場合と同様に，もしヨウ素の定量に検液10mlを用いるならば差引く量は $\frac{1}{2}$ でよいことになる。

(この訂正案は板井孝信部長を労わして1957年10月WHOの国際薬局方に関する第15回専門委員会に提出した。)

録

自動車等の内燃機関の排気ガスによる空気汚染について(第1報)

市川重春，浦久保五郎，山手 昇：衛生化学，6，(1958)。に報告予定。

われわれは都市空気汚染の諸因のうち，内燃機関の排気ガスによる汚染の実体を調査した。測定方法は日本薬学会協定ガス試験法および空気試験法により行つた。最初に当所乗用車3台(国産1，外車2)につき排気ガスを普通の走行状態で採取し分析したところ，平均Pb17 γ /L，CO₃5%，CO₂9.3%という値を得た。

このガスを呼吸することは極めて有害であるので，比較的蓄積しやすい車庫，トンネル内においては特に注意を要する。次に東京都内の比較的交通量の多い4地点(渋谷，銀座，神田橋，神田駅前)をえらび排気ガスによる汚染の実体を調査した。Pbは測定25回行い平均5.5 γ /m³(max.14~min.1.3 γ)で労働衛生上の忍限量(500 γ /m³)の $\frac{1}{100}$ 前後で直ちに害のある量ではないと思うが，一般生活環境上において常時呼吸する場合一応注意すべき量であると考えた。COは測定17回行い平均0.0047%(max.0.03~min.0.001%以下)で，労働衛生上の忍限量(0.01%)の数倍を越えたときもあったが一般に0.001%以下が多かつた。CO₂は測定17回行い平均0.055%(max.0.121~min.0.038%)で正常な大気中の量(0.03~0.04%)に比し少し多い程度であつた。

東京都内工業地域の工場塵ガスによる空気汚染について

市川重春，浦久保五郎，山手 昇：衛生化学，第6巻に報告予定。

都市大気汚染源となる大工場地帯3カ所をえらび，工場内および附近で空気中の亜硫酸ガスと亜硝酸ガスを測定した。その陽性の結果のみをTable 1に総括して示す。

Table 1 Results of Airstest-Concentration of SO₂ & NO₂ in Air

Factory	Date	Sampling Spot	Sampling time	SO ₂ (ppm)	NO ₂ (ppm)	Weather Conditions			
						Temp. (°C)	Relative Humidity (%)	Wind Direction	Wind Velocity (m/s)
S	6, June 57	in Fact.	10.40~11.40	0.739		28	61	S	0.7
			12.00~13.00	0.156		29	〃	SSE	3.2
			13.00~14.00	0.800		30	〃	S	4.2
	10, June	0.4km N from Fact.	10.15~13.15	0.154		23	60	S	4.2
			13.20~16.40	0.133		22	54	S	4.6
	13, June	0.4km W from Fact.	10.30~13.30	0.015		25	64	NNW	1.7
			13.35~16.30	0.042		28	55	SSE	3.0
N1	20, June	in Fact.	10.10~13.00	0.016		26	74	ESE	2.6
			13.00~16.00	0.020		29	62	SSE	5.0
	21, June	0.7km SW from Fact.	10.15~13.05	0.009		28	66	E	7.8
			13.10~16.10	0.012		29	63	E	10.5
T#	26, Aug.	in Fact.	10.00~12.10	0.234	0.481	25	65	E	3.8
			12.10~15.10	0.249	0.672	25	〃	E	4.4
			15.15~16.00	0.611		26	58	ENE	3.8
	27, Aug.	0.3km WNW from Fact.	11.00~13.30	0.013	(-)†	24	73	S	3.2
			13.30~16.00	0.021	(-)	〃	78	WSW	3.2
	28, Aug.	0.3km SW from Fact.	10.30~13.10	(-)*	(-)	26	79	SW	2.2
			13.10~15.40	0.008	(-)	〃	77	〃	2.6
P#	29, Aug.	in Fact.	10.45~12.30	0.193	0.219	28	70	ENE	4.4
			12.30~14.00	0.295		27	75	NE	4.6
			14.10~15.15	0.230		〃	70	NNE	4.2
	30, Aug.	0.2km NE from Fact.	10.15~12.30	0.014		29	75	S	3.0
			12.30~15.30	0.011	0.259	〃	65	SW	1.5
N2#	2, Sep.	in Fact.	10.30~12.00	(-)	15.445	26	70	N	1.5
			12.10~13.35	(-)	16.406	29	74	NNW	5.2
			13.50~15.20	(-)	15.059	〃	〃	N	5.9
	3, Sep.	in Fact.	10.30~12.00	(-)	1.149	29	70	NNE	3.0
			12.00~13.30	(-)	0.584	31	71	〃	0.7
			13.30~15.10	0.055	0.320	〃	64	N	4.2
	4, Sep.	0.15km SW from Fact.	10.40~12.10	0.140	(-)	29	68	NNE	2.8
			12.15~13.00	0.061		〃	〃	ENE	2.6
			13.05~14.30	0.337	(-)	〃	67	〃	4.4
			14.35~15.20	0.370		〃	〃	〃	4.6
			15.25~16.00	0.085	(-)	〃	〃	〃	5.0

* (—) shows less than 0.002 ppm

† (—) Shows less than 0.04 ppm

Factories T, P & N₂ makes one block together.

この結果により工場地域における大気汚染の程度につき一応の目安を得た。

混合製剤の分析に関する研究, II. 感冒薬中の抗ヒスタミン剤の定量について

板井孝信, 神谷庄造: 薬剤学, 17, 180~184, (1957).

種々の組成を有する感冒薬中の抗ヒスタミン剤をライネツカートとして沈澱させアセトンに溶かして比色定量した。この際、液の pH, メタノール濃度の調整により他の塩基成分と分別することができた。APC 製剤中の抗ヒスタミン剤は 2% アンモニウム・ライネツカートを加えて沈澱させればよい。またアミノピリン, アンチピリンが共存する場合は Clark-Lubs の緩衝液で pH を 6.5~7.0 に保つて抗ヒスタミン剤のライネツカートのみを沈澱させ、エフェドリンおよびメチルエフェドリンのライネツカートは少量のメタノールを加えておくことと析出しがたい。その他これらアミン類のライネツカートの水, 含水メタノール (メタノール 1 : 水 3) に対する溶解度を検討し分離定量に応用した。ビタミン B₁ を共存する場合は硫酸 1 水素カリウム液を加え遊離したアミン (抗ヒスタミン剤の定量) をエーテルで去り, B₁ をライネツカートとして定量した。また APC 製剤中の抗ヒスタミン剤は試料を 60% アルコール液として Amberlite IR-4B の OH 型により遊離塩基として滴定した。この際アセチルサリチル酸は定量的に結合するので 50% アルコール性 N-塩酸で溶離し臭素法で定量した。

本法で定量した抗ヒスタミン剤は次の 8 種である。Diphenhydramine Hydrochloride, Doxylamine succinate, Tripeleminamine Hydrochloride, Pyrillamine Maleate, Chlorhetramine Hydrochloride, Thonzylamine Hydrochloride, Chlorprophenpyridamine Hydrochloride.

混合製剤の分析に関する研究, III. ペーパークロマトグラフィーによる混合製剤中の塩基成分の分離, 定性について

神谷庄造: 薬剤学, 17, 249~251 (1957).

種々の混合製剤特に複雑な解熱剤または感冒剤中の抗ヒスタミン剤, ピラゾロン誘導体, 塩酸エフェドリン, メチルエフェドリンその他のアルカロイドをペーパークロマトグラフィーにより分離, 定性を行つた。本法は少量の検体中の微量塩基成分を簡単に検出する。溶媒として N-塩酸飽和の n-ブタノール (I), ベンゼン : 酢酸 : 水 (40 : 40 : 10) の上層 (II), および

水飽和の n-ブタノール (III), の 3 溶媒を含有塩基の種類により適当に使用した。また (I) を用いて円形濾紙クロマトグラフィーも行つた。

検出試薬としてはヨード白金液, ヨウ素または臭素の蒸気, ケーニッヒ反応を用い, その他ニンヒドリン・ピリジンによりエフェドリンは紫色のグロマトグラムを呈する。

試料はアンモニア・アルカリ性でエーテル抽出し, 水層よりスルピリン, ブタゾリジン・ナトリウム, ビタミン B₁ を (III) により展開し, エーテル液を濃縮後, 塩基を N-塩酸に移し (I) あるいは (II) により各々展開し確認した。ブロム・シアソーペンチジン法では 8 種の抗ヒスタミン剤中, Doxylamine (桃色), Tripeleminamine (黄褐色), Chlortrimetone (赤), Chlorhetramine (褐色), Pyrillamine (桃色) は各々呈色を異にする。その他アンチピリン, アミノピリン, ブタゾリジン, スルピリン, 塩酸エフェドリン, メチルエフェドリン, B₁, カフェイン, 硝酸ヒドロコロデイン, 硫酸キニーネ, Dimethylaminoethyl-glycolate についても分離, 定性を行つた。

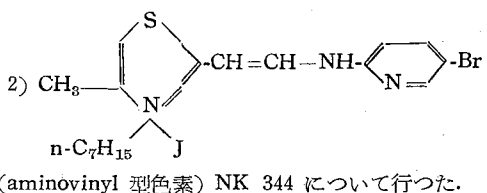
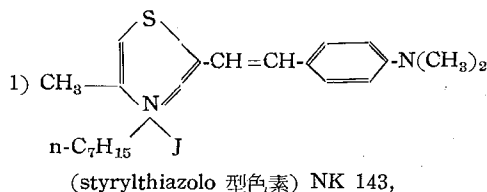
シアニン系感光色素の分析に関する研究

川城 厳, 福沢富美: 感光色素, 40, 17, (1956).

シアニン系感光色素の抗菌作用に対する基礎的研究がさかんに行はれ, これら色素を食品に添加すれば, 防腐, 防ばいの作用を有することが認められ, 最近では醤油, 乳製品等に対し, 数種の色素を加えその効力試験が行はれている。

そこでわれわれは, これら色素が防腐, 防ばいの目的で, 食品に添加された場合を考慮し, 食品衛生的見地から, これらの検出法および定量法の基礎的研究を行つた。

今回は



これらの色素を定性的に確認する特異反応として, 蛍光試験, クロマトグラフィー分離法の二つを採用す

ることとした。

NK143, および NK344 について, 螢光状態を研究した結果一定の溶媒溶解液の, 沱紙上風乾物は紫外線下において, それぞれ特異の螢光を発するのでこれにより各々を確認することができた。また Rf の測定, フラビアン酸を対照とした場合の移動比の測定, Rf 近似の食用タール色素共存の場合の分離法および上記 2 種ロテニン系色素の分離法等を検討した結果, 一定溶媒を用いて, ペーパークロマトグラフィーを行えば, 近似の Rf を有する他の食用タール色素および NK143, NK344 の混合試料からも明らかに分離定性することを得た。

定量法としては比色法を用いた。

NK 143 はクロロホルム, アルコール, 水等に溶解するが, 各々その色調を異にし, 経時間的変色も認められるものがあるので, 最も安定な溶媒を見出すため吸光度を検討した。その結果, この色素を緩衝液 (pH = 8.8) に溶かした場合が最もよい成績を得ることができた。

マグロ肉中のクロールテトラサイクリンの化学的定量

川城 巖, 福沢富美, 江島 昭 : 衛生化学,

第六巻 (掲載予定)。

魚肉中のクロールテトラサイクリン (CTC) の化学的定量については良好な方法がない。種々の方法を検討した結果, 坂口らが血液および尿中の CTC の定量に用いた CTC-Th chlate 形成法¹⁾を応用した場合に, 従来発表された化学的定量法に比べ良好な結果がえられた。すなわちマグロ肉 50g に水 100cc を加えてホモジナイズする。これに EDTA Na_4 1g を加え 20% 塩酸で pH を 1~2 にし, 食塩約 50g を加えたのちブタノール 25cc を加え 10 分間ふりまぜる。遠心分離後ブタノール層を分取する。このブタノール抽出をさらに 2 回繰返したのち 25% 食塩溶液でブタノール液を洗滌し, これに 1% 硝酸トリウム液 5cc を加えて 2 回ふりまぜ水層を分取する。さらにこれに 5M の酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 4.0) 1cc を加える。このとき液が黄色を呈したならば水で 10cc としその 5cc をとって, 3N 塩酸 2cc を加え沸騰水浴中で 5 分間加熱すると橙黄色を呈する。冷後 450m μ にて蒸留水に対して吸収度を測定し, 検量線より含量を求める。定量範囲は CTC-HCl 10 γ /cc より 60 γ /cc である。この結果マグロ肉中の CTC の含量が低いとき, たとえば 4ppm 程度では回収率悪く, 約 30% であるが, 含有量の増大に比例して回収率も上昇し 20ppm では 85% を示した。

CTC をアルカリで処理してうるイソクロールテトラサイクリンが螢光を発するので, マグロ肉上に 0.1 M KOH 液を噴霧してこれに直接紫外線を照射すると約 1 平方糎 12.05 γ あれば赤味の上では黒色, 白味の上では黄色の螢光を認めうる。

1) Sakaguchi, T. and Taguchi, K. : Pharm. Bulletin, Japan, 3, 303 (1955).

防腐剤の検出について

川城 巖, 竹内末久 : 衛生化学, 5, 30 (1957).
各種防腐剤の沱紙クロマトグラフィーを行い, さらに各種検体からの抽出, 分離および検出反応を行った。これらのうち, 安息香酸, サリチル酸, p-オキシ安息香酸エステル, β -ナフトール, レゾルシン, p-クロール安息香酸, ニトロフラゾンおよびメチルナフトキノンについては, 系統的に抽出分離後, 沱紙クロマトグラフィーで検出した。

植物体中のモノフルオロアセトアミドの残留試験

川城 巖, 竹内末久 : 衛生化学, 4, 91 (1956).
夏橙果実について, 滲透性殺虫剤モノフルオロアセトアミドの残留試験を行った。定量は弗素をジルコニウムアリザリン法で行ったが, 果皮部では 70 日, 果肉部では 50 日で弗素が消失した。

製あん中のビルマ豆の青酸の消長について

川城 巖, 川田公平, 竹内末久, 添畑喜子 : 衛生化学, 6, (1958). 投稿中。
ビルマ豆を使用する製あん中に, 青酸の消失を速かにするためには, 次のことを考慮する必要がある。

- ① 煮沸を十分に行うこと。
- ② 洗切りを回数多く行う。
- ③ さらに多量の水で, 回数多く行う。
- ④ できれば, 最後のあんは販売に先立つて, 加熱, 乾燥する。等。

ビタミン B₁ 製品中の 2-METHYL-4-AMINO-5-HYDROXYMETHYLPYRIMIDINE (第 1 報) ビタミン B₁ および関連化合物の PAPER PARTITION CHROMATOGRAPHY

小川俊太郎, 西村秀子 : ビタミン, 14, 425 (1958).

1) 製品中の主として 2-Methyl-4-amino-5-hydroxymethylpyrimidine の試験を行う準備として B₁ および関連化合物の沱紙クロマトグラフィー術式, 確認限度, Rf 等をしらべた。

2) 製品中の 2-Methyl-4-amino-5-hydroxymethylpyrimidine はブタノール-酢酸・水または水飽和ブタノールを用いる上昇法によつて他の成分から分離

できて、その位置は 254m μ の紫外線で確かめうる。

3) 市販B₁の塩酸塩および硝酸塩(7社, 16種)中の 2-Methyl-4-amino-5-hydroxymethylpyrimidine, Thiamine disulfide, B₁-Thiazolone, Thiothi-amine およびチオクロム含量は1%未満である。

4) しかし塩酸塩のあるものは B₁ と近似の R_f と反応を呈し、おそらくは構造も相似と思われる夾雑物を含有する。

ビタミン B₁ 製品中の 2-METHYL-4-AMINO-5-HYDROXYMETHYLPYRIMIDINE (第2報) ビタミン B₁ 注射液中の定性および定量試験

小川俊太郎, 西村秀子: ビタミン, 14, 428 (1958).

1) 経年0~2年の製造者試験残品12種および経年1~10年におよぶ旧市販品39種の 2-Methyl-4-amino-5-hydroxymethylpyrimidine 出現状況をワ紙クロマトグラフィーによつてみると陽性の頻度は古いもの、有名でないものに高いようである。

2) 代表的試料について吸収スペクトル法で得た 2-Methyl-4-amino-5-hydroxymethylpyrimidine 含量の巾は濃度にして 0.02~1.27mg/cc, 相当する B₁ の分解量で表わすと 0.5~9.2%, また B₁100mg 当りの 2-Methyl-4-amino-5-hydroxymethylpyrimidine 量に換算すると 0.2~3.8mg である。

3) 2-Methyl-4-amino-5-hydroxymethylpyrimidine が増すと B₁ 含量が減っている。したがつて B₁ の減少した注射液ほど 2-Methyl-4-amino-5-Hydroxymethylpyrimidine を含む可能性が多い。

アンチビタミンの微生物におよぼす影響(第1報) 2-Methyl-4-amino-5-hydroxymethylpyrimidine の乳酸菌増殖阻害とビタミンによる回復

平岡栄一: 薬誌, 77, 1324 (1957).

アンチビタミン B₆ 物質の微生物におよぼす影響を調べるために、5種の乳酸菌を使用し、ビタミン制限培地を用いて実験した。*L.arabinosus* 以外の4種の乳酸菌は 2-Methyl-4-amino-5-hydroxymethylpyrimidine (OMP) により 10~100 γ /管以上の濃度で著明な阻害をうける。この阻害の回復を OMP と同時に種々のビタミンを添加して試験したところ、B₆ 群のみが OMP と特異的に拮抗することがわかつた。この様な事実はマウス、ラットおよび酵母でえられた知見と一致する。

L.arabinosus が OMP で阻害されないのは、この菌が B₆ を生合成するためであろう。

アンチビタミンの微生物におよぼす影響(第2報) OMP 構造類似体の乳酸菌増殖阻害とビタミンによる回復

平岡栄一: 薬誌, 77, 1328 (1957).

OMP 構造類似体11種の5種乳酸菌増殖におよぼす影響をビタミン制限培地で実験した。2-Methyl-4-amino-5-bromomethyl-pyrimidine (BMP) は OMP と同程度の阻害を示したが、他の物質には阻害作用を認めなかつた。種々のビタミン添加による BMP 阻害の回復は、OMP と同じく、B₆ 群のみと特異的に拮抗した。

アンチビタミンの微生物におよぼす影響(第3報) INAH 及び 4-Deoxypyridoxine の乳酸菌増殖阻害とビタミンによる回復

平岡栄一: 薬誌, 77, 1331 (1957).

乳酸菌の増殖阻害実験により、INAH および 4-Deoxypyridoxine (DOP) がアンチビタミン B₆ 作用を有するか否かを調べた。INAHの1mg/管以上の濃度では著明な阻害を示し、この阻害は B₆ 群のみで特異的に回復された。DOP は乳酸菌の増殖を阻害しなかつたので、そのアンチビタミン B₆ 活性は実験できなかった。

アンチビタミンの微生物におよぼす影響(第4報) 乳酸菌増殖阻害のアトキソピリミジンによる回復

平岡栄一: 薬誌, 77, 1333 (1957).

マウスのけいれん阻止実験により OMP の構造類似体のうちには、OMP と拮抗するものがあることが報告された。乳酸菌の増殖阻害実験により追試したところ、このような事実は認められなかつた。2-Methyl-4-hydroxy-5-aminomethylpyrimidine は 1mg/管で *st. faecalis* に対し少し拮抗性を示すが、B₆が1 γ /管で完全に拮抗するのに比し、その程度が弱くかつ大量を必要とする点から考えるとこの物質も OMP の拮抗体とは考えられない。

アンチビタミンの微生物におよぼす影響(第5報) ビタミン B₆ 群による乳酸菌増殖阻害回復作用の比較

平岡栄一: 薬誌, 77, 1335 (1957).

OMP, BMP 及び INAH による乳酸菌の増殖阻害作用が、ビタミン B₆ 群により特異的に回復されることが判明したので、それらの拮抗比を調べた。その結果、阻害剤が異つても同じ菌については、ピリドキシン、ピリドキサルおよびピリドキサミンの活性の順序は同じであつた。すなわち *L. casei* では、ピリドキサル、ピリドキサミン、ピリドキシンの順序に活性が

下り, *st. faecalis* および *L. arabinosus* ではピリドキサミン, ピリドキサル, ピリドキシンの順序に活性が下つた。これらの順序はその菌に対する B_6 活性の順序と同じである。

また乳酸菌に対する OMP 阻害は、濁度で測つても、酸生成量で測つても同程度であつた、この結果、OMP は解糖酵素系よりもむしろアミノ酸代謝に關与する酵素を阻害するのではないかと考えられる。

アンチビタミンの微生物におよぼす影響 (第6報) インドールの定量および大腸菌のトリプトファナーゼ

平岡栄一: ビタミン, 13, 579 (1957).

アンチビタミン B_6 の大腸菌トリプトファナーゼにおよぼす影響を調べるのに好都合なように、酵素生成条件や反応および反応の結果生ずるインドールの定量法について種々検討し、簡易かつ正確な方法をきめその目的を達した。

アンチビタミンの微生物におよぼす影響 (第7報) アンチビタミン B_6 の大腸菌トリプトファナーゼにおよぼす影響

平岡栄一: ビタミン, 13, 582 (1957).

通常大腸菌および B_6 要求性大腸菌変異株の生菌によるトリプトファナーゼ作用は INAH および OMP によつて阻害されるが、DOP によつては阻害をうけない。このことは乳酸菌の増殖についてみられた知見と全く一致する。しかし INAH の阻害はトリプトファナーゼ作用についても乳酸菌の増殖についても B_6 群によつて拮抗されるのに、OMP の阻害は乳酸菌では B_6 群と拮抗するが、この酵素とは拮抗しないという点でことなる。またマウス、ラット、酵母および乳酸菌などと OMP, INAH, DOP の作用、さらにビタミンによる阻害拮抗の点を考慮すると、一部分一致しない点があるのでこれらの阻害剤の作用機序が少しづつ生物種あるいは酵素について異つていることを示すものと考えられる。

Studies on cannabis obtained from hemp plants grown in Japan

Haruyo Asahina :

Bull. Narcotics, United Nations, 9, 17-20 (1957).

日本産大麻について (1)成分の抽出 (2)呈色反応 (3)濾紙クロマトグラフィー (4)紫外線吸収を記述した。

Studies of poppies and opium

Haruyo Asahina, Toyohiko Kawatani,

Masako Ōno and Sanaenosuke Fujita : Bull. Narcotics, United Nations, 9, No. 2, 20-33 (1957).

次の項目について記述した。

1. Alkaloidal analysis of the opium from *Papaver setigerum* DC.
2. A natural hybrid of *Papaver setigerum* DC. and *P. somniferum* L.
3. Examination of poppies of various species for the presence of morphine
4. Examination of poppy Varieties of *Papaver somniferum* L. for opium of the highest morphine yield
5. The porphyrroxine content of Japanese opium and of opium from successive lancements
6. The morphine content of Japanese opium

Ammi visnaga LAM. の栽培 (第2報)

川谷豊彦, 藤田早苗之助, 大野忠郎, 久保木憲人: 薬誌, 78, 58-61 (1958).

(1)本邦における *Ammi visnaga* LAM. の栽培は生育、収果量、およびケリン含量の見地から秋期播種は遅くとも10月中旬までに行うを可とすることが認められた。

(2)生育、収果量、およびケリン含量の見地から、最適土壤水分の範囲は容水量の60-70%にあるものである。

(3)本植物は中性を中心とし微酸性から微アルカリ性 (pH6.5~7.5) の土壤に好適するものと思われる。

(4)本植物の栽培には夏期の雨量少く、排水良好の埴に富む土壤を掘ぶべきことは、1951年より1955年までの5年間の試験により確認された。

(5)原産地を異にする5個の外国産品種 (原種子のケリン含量は0.61~0.94%) を用いて比較栽培を行つたところ、含量は0.32~0.51%を示しかなりの含量低下が認められた。これは開花前8月頃病害発生が著しく不健全な果実を混ずるためと思われる。

(6)ケリン含量は同一植物については、早期に成熟した果実のものほど高い傾向が認められた。

サントニン含有 *Artemisia* 属植物の研究特にその栽培について (第6報) クラムヨモギについて その6

川谷豊彦, 藤田早苗之助, 大野忠郎: 薬誌, 78, 50-53 (1958).

(1)クラムヨモギの春期播種の生育2年株について、春期に移植を行う区 (すなわち移植栽培) と春期に移

植を行わない区(すなわち宿根栽培)との比較を行った。宿根区は移植区に比し生育、収草量において優っており、サントニン含量は両者の間に大差を認めなかった。

(2)秋期播種の生育2年株を用い栽植間隔を異にする3区、すなわち10アール当 4125, 6204, 7050本の各区について比較栽培試験を行った。その結果最も疎植な区すなわち10アール当 4125本区(栽植間隔 80×30 cm)が最も生育がよく収草量も多かった。サントニン含量の最高時期は7月中下旬で、春期播種のもの(2年株)と同一時期であつた。

(3)1年株2年株共に馴化の影響は明らかに認められた。馴化の世代を重ねたものほど生長がよく、収草量も多く、サントニン含量の高い傾向が認められた。

(4)春播移植1年株のサントニン含量の最高時期は8月上旬で、同2年株のそれより約半月の遅延を示した。これは春期に行う移植の早期の影響によるものと思われる。1年株および2年株のサントニン含量の最高に達する時期は、両者の間に本質的つ差異はないようである。

サントニン含有 *Artemista* 属植物の研究特にその栽培について(第7報) クラムヨモギについて その7

川谷豊彦, 藤田早苗之助, 大野忠郎: 薬誌, 78, 53-57 (1958).

(1)クラムヨモギの結実は短日効果よりも適度の乾燥と温度を必要とすると思われる。露地の圃場においては結実し難い春日部において、ガラス室内栽培により採種しうることが明らかとなつた。

(2)挿木の時期は12月が最もよく、また挿穂としては木質部は草質部に優ることが確認された。挿木の予措として α -ナフタリン醋酸カリまたは β -インドール醋酸カリの5,000倍~10,000倍水溶液に24時間浸漬することは発根促進に極めて有効であつた。

(3)1954年3月播種のクラムヨモギについて同年8月2日から翌1955年10月12日まで10日隔に延42回15箇月にわたりサントニン含量を追求した。生育1年目の最高は8月下旬で1.41%, 以後漸減し2月下旬より4月初までは含有なく、4月中旬急増して7月中旬生育2年目の最高2.33%に達し、以後は漸減した。サントニン含量は周年変化としても栄養生長とはほぼ平行的な関係にあるようである。

(4)生育3, 4, 5, 6年株のサントニン含量を分析し、これらは2年株のものと大差を認めなかった。

(5)この研究の第5報に報告された2年株の個体別サ

ントニン含量の定量試験に引続き、翌年3年株の時それぞれ対応する同一植物につき個体別に分析した。その結果2年株と3年株のサントニン含量の間に有意の正相関があり、サントニン含量は遺伝的であることが認められた。かくて家系選抜によるクラムヨモギの品種改良が開始された。

各種抗生物質の腐生菌に対する作用について

田中 穰, 松島 崇, 池田峰子: Pharm. Bull., 5 374-376 (1957).

Acti-dione, Filipin, Candicidin, Cathomyein mono-sodium salt, Puromycin-H-Cl, Anisomycin 等計16種類の抗生物質の *Mucor*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Clado-sporium* 等計26種類の腐生菌に対する抗菌作用を Asparagine-dextrose-agar を用い、抗生物質の濃度 100ppm. で調べた。その結果は Filipin, Rimocidin, および Fungichromin はほとんどの供試菌の発育をこの濃度で完全に抑制したが、他はほとんど無効であつた。また、26種類の菌のうちで、*Penicillium islandicum* は使用した抗生物の総べてに抵抗性が見られた。

Taxonomic Studies of Fungi on Stored Rice Grains

I. *Penicillium* Group (*Penicillia* and Related Genera) 1

II. *Aspergillus* Group

Shigekatsu Hirayama and Shun-ichi Udagawa: Bull. Fac. Agr. Mie Univ., 14, 21-41 (1957); *ibid.*, 16, 7-28 (1958).

(日本植物病理学会昭和31年度および昭和33年度大会講演)

輸入米および日本産米より分離した糸状菌中 *Penicillium*・*Aspergillus* に属するもの53種、類縁菌2種の菌種を決定した。これらのうち *P. phoeniceum* van Beyma, *P. piceum* Raper et Fennell, *P. diversum* Raper et Fennell, *A. giganteus* Wehmer, *A. restrictus* G. Smith, *A. unguis* (Emile-Weil et Gaudin) Thom et Raper, *A. deflectus* Raper et Fennell, *A. terreus* var. *boedijni* (Bloch.) Thom et Raper および *A. phoenicis* (Corda) Thom の9種は本邦未発表のものである。

糸状菌による生薬の変質に関する研究

松島 崇, 伊東 宏, 池田峰子: 植研, 32, 9-15 (1957); 33, 12-22 (1958).

生薬は或条件下で容易に糸状菌による変敗の対象となる。1般に、(1)温度25°C, 湿度65%では菌は発育し

ない。(2)湿度75%では約14日目から *Aspergillus glaucus* group や, *Torula* sp. が発育し始めるが1ヶ月後の程度は極めて軽微である(3)湿度85%では4-7日目までは *Aspergillus glaucus* group, *Torula* sp., *Rhizopus*, *Mucor* 等が優勢であるが, 7-14日目には transient stage で, 14日目以後は各試料につき Spoilage type が確立する。Dominant species としては *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Scopulariopsis* spp. 等である。各生薬において糸状菌の発育程度および Spoilage type は種々の因子の総合結果であり, 生薬の種類により, 特異性が認められる。

Ustilago maydis の単独病原系による厚膜孢子様体の形成について

松島 崇: 植研, 32 11-14 (1957).

玉蜀黍黒穂病菌 *Ustilago maydis* はその生活史の plasmogamy から Karyogamy までの期間は寄生時代であるため, 人工培地で *Sclerobasidium* を形成させることは今までのところ成功していない。しかし Solopathogenic line の一つにおいて, 硫酸銅を加えた Glutamic acid-Glucose-liquid medium を用い振盪培養する事により, その生成過程, 形態, および発芽の状態において *Sclerobasidium* と類似した構造を作ることを見出した。

かびの生えた阿片より分離された *Oospora* について

松島 崇, 朝比奈晴世: 植研, 33 56-59 (1958).

輸入阿片にしばしば見られる白色じゅうたん状ないしは綿毛状糸状菌を分離し調査したところ, *Oospora* sp. であり, その生理的特徴の一つは好滲透圧性で, Potato Dextrose Agar, Malt Agar, および Czapek Dox Agar には発育が悪いが, 5ないし10% 塩化ナトリウムを添加した Potato Dextrose Agar, Malt Agar あるいは20% 蔗糖を添加した Czapek Dox Agar には良く発育することがわかった。この性質は阿片のごとき比較的水分の少ない基質にも特異的に発育できる理由の一つであろう。

病原性好塩細菌に関する研究(第1報) 生物学的性状ならびに塩類要求

山地幸雄, 小嶋秩夫, 志波 剛, 石関忠一,

八田貞義: 日本細菌学雑誌, 13, 63-69 (1958).

1955年滝川により分離された病原性好塩細菌 N4 株および1950年藤野により「シラス」食中毒より分離された EB102 株について生物学的性状および無機塩類要求を検討した。(1)の両株の形態および生物学的性状を

検したところ両株とも *Pseudomonas* あるいは *Vibrio* と考えられる。(2)生存試験では NaCl より $MgSO_4$ に強い保護作用が認められたが生存が認められたのは2日であり海水では30%以上であれば67日後にも生存がみられた。(3)食塩加ペプトン水培養において N4, EB102株は *E. Coli* が発育を抑制される 0.4-1.2mol 濃度で最大発育を示した。(4)炭酸ガスあるいは水素置換による嫌気性培養を行つたところ菌の発育は全般的に抑制され NaCl 至適濃度の山は低い方にずれた。(5)NaCl を他の塩類により置換した培養では両菌株に対し陰イオンでは $Na^+ > I^- > SO_4^{2-} > NO_3^- > Cl^-$, 陽イオンでは $Cl^- > K^+ > Na^+ > Mg^{2+}$ の順に発育に有利に作用し, また SO_4^{2-} の在においては Mg^{2+} は Na^+ より菌の発育に有利に要求される。

病原性好塩細菌に関する研究(第2報) 栄養要求および実験動物に対する病原性

山地幸雄, 小嶋秩夫, 志波 剛, 石関忠一,

八田貞義: 日本細菌学雑誌, 13 161-165 (1958).

第1報において使用したと同じ N4 株および EB102 株についてその栄養要求および実験動物に対する病原性を検した。栄養要求は Katznelson の方法に準じて行つたが16種の発育素を抜取り試験で検したところ被検菌の発育に対し顕著な作用を示さなかつた。また, 有機炭素源のない培地において, これらの株は有機窒素源を発育のために要求するが, アミノ酸要求ははなはだ低い。実験動物に対する病原性は3%食塩加ペプトン水培養0.5cc または3%食塩加ペプトン寒天培養菌 1gm 腹腔注射により N4 株は確実にマウスを1日以内に斃すがそれぞれ0.05cc 0.1mg ではアウスは斃死しない。栄養の少ない培地の培養菌1mgではマウスは斃死しないことがある。N4 株の培養液あるいは, 100°C 30分加熱死菌はマウスを斃さない。3%食塩加ペプトン水培養5cc 腹腔接種により, N4 株はマウスを斃すが, EB102株は斃さない。

石灰窒素のレプトスピラに対する作用(Ⅲ) シアナミド, 生石灰およびカーバイドのレプトスピラ殺滅作用

山地幸雄, 志波 剛, 石関忠一, 小嶋秩夫:

公衆衛生, 22, 55-58 (1958).

シアナミド0.1% 添加によりレプトスピラは5-7日後に死滅消失した。われわれは前報において, レプトスピラ液に0.1-0.02% に石灰窒素を加えると, レプトスピラが7日以内に死滅すると認めており, した

がつて以上の成績より石灰窒素の殺レプトスピラ作用は、カルシウムシアナミドのみによるのではないと結論される。

シアナミドを 100°C 、30分加熱しても、その殺レプトスピラ作用は減弱しなかつた。前報に述べたように、石灰窒素は 100°C 、30分加熱によりその殺レプトスピラ作用が減弱するが無効にはならない。したがつて石灰窒素の殺レプトスピラ作用はカルシウムシアナミドのみによるのではないと判断される。

生石灰 0.1% の添加によりレプトスピラは 5~6 日後に死滅したが、0.2% 添加ではレプトスピラは減少したのみであつた。したがつて石灰窒素の殺レプトスピラ作用は、生石灰のみによつては説明されえない。

(シアナミド 0.03%) + (生石灰 0.02%) あるいは (シアナミド 0.06%) + (生石灰 0.004%) 添加により、レプトスピラはそれぞれ消失あるいは減少した。上記の量はそれぞれ石灰窒素 0.1% 及び 0.02% に含まれるシアナミドおよび、生石灰の量におおむね等しい。したがつて石灰窒素の殺レプトスピラ作用は、カルシウムシアナミドおよび生石灰の協同作用によりかなりよく説明される。しかしカルシウムシアナミドおよび生石灰以外の因子の関与を全く否定することはできない。カーバイドは 0.02% 以下では培養液中のレプトスピラを消失させえなかつた。したがつて石灰窒素中のカーバイドは、該肥料の殺レプトスピラ作用にほとんど関与しないとみてよい。

腸線縫合糸の γ 線による滅菌について

山地幸雄, 志波 剛, 石関忠一, 小嶋秩夫:
Radioisotopes, 6, 129-131 (1958).

腸線縫合糸は完全滅菌を要求される医療材料であるが、その主成分がコラーゲンであるので強い加熱滅菌操作はできず、したがつて消毒薬や弱い加熱によつて滅菌を行なつてゐる。われわれは今回 Cobalt-60 よりの γ 線により滅菌について検討した。検体は過酸化ソーダによる漂白を行なつただけで、製造工程で特に滅菌操作を加えない腸線をトルオールとともに無色ガラスアンプルに封じたものである。Cobalt-60, 160 Curies を線源として、それぞれ 41,800 γ (17時間), 404,000 γ (41時間) 照射し、日本工業規格による無菌試験を行なつて、対照との差異を検したところ、41,800 γ では腸線は滅菌されなかつたが、404,000 γ では滅菌された。404,000 γ の γ 線を照射された腸線の酸性緩衝液中での抗張力減弱は、未照射腸線のそれよりいくらかはやかつた。404,000 γ 照射により無色ガラスアンプルは暗褐色に着色した。

腸線の吸収に関する研究

山地幸雄, 志波 剛, 石関忠一, 小嶋秩夫:
臨床外科, 13 5-10 (1958).

ウサギ背筋内、イヌ腹筋内に腸線を縫込み 1-36 日後に摘出し抗張力を測定した。また Walepole の pH2.1 N/5 酢酸ソーダ・塩酸緩衝液の 0.2mg/cc ペプシン溶液、pH2.1 緩衝液および留水を入れた試験管に腸線を入れ、 50°C $1\frac{1}{2}$ -19 時間保持した後に抗張力を測つた。ウサギ背筋内 32-36 日後では抗張力は 1kg 以下で、この時期では腸線の太さによる抗張力の差異は少なかつた。Type A と C との抗張力減弱の差異は太いもの程判然とみられた。イヌ腹筋内 21 日後では、Size No.2 Type C の 1 本を除いては、他は抗張力が 300g 以下であつた。イヌ腹筋内 8-11 日後の Type A の抗張力はいずれも 1kg 以下であり、Type A と C との差はウサギ背筋内より明らかである。またイヌ腹筋内でも、太さによる吸収のはやきの差異は少なく、かつ吸収実験には人体内の条件に近いイヌ腹筋を用いる方がウサギ背筋を用いるよりよいと認められた。イヌ腹筋内約 10 日後のそれと近似した抗張力減弱を腸線にあたえる試験管内条件は、pH2.1 ペプシン液 (0.28 単位) 1 cc 50°C 2-3 時間である。

腸線の吸収に関する研究 (第3報) ウサギ背筋内における馬腸線の抗張力低下補遺

山地幸雄, 志波 剛, 石関忠一, 小嶋秩夫:
医学と生物学, 44, 217-221 (1957).

前報に引続き、ウサギ背筋内に日腸工業会社製の馬腸線 Size-No.0 Type C および A Boilable; Size-No.000 Type C および A Non-Boilable; Size-No.2 Type C および A Non-Boilable を縫込み、それらの抗張力減少を 1, 3, 14, 21, 31, 32, 34, 35, 36 日後に測定し、つぎの結論をえた。Type C と A との間における、ウサギ背筋内での抗張力減弱の差は、Size-No.2 では明らかに認められたが、Size-No.0 および 000 ではみられなかつた。また縫込み後 1-3 日の初期では、Type A では太い腸線の抗張力が細いのより早く、Type C では太い腸線は細いものよりおそく抗張力が減弱した。Size-No.2 および 0 では 31-36 日後でもなおかなりの抗張力を有したが、Size-No.000 では原型をみとめえないものがあつた。

腸線の吸収に関する研究 (第4報) イヌ腹筋内における腸線の抗張力低下

志波 剛, 山地幸雄, 石関忠一, 小嶋秩夫:
医学と生物学, 45, 1-4 (1957).

腸線はヒトの手術に用いられるのであるから、ヒトについて実験を行うのがもつともよいが、Rhoads らはヒトにおける腸線の強さの低下は、イヌ腹筋内のそ

れと同じであるとし、また腸線の吸収実験はウサギよりイヌで行なった方がよいという報告がある。そこで今回はイヌ腹筋内に日腸工業会社製馬腸線 Size-No. 0, Type A および C Boilable; Size-No.000, Type C および A Non-Boilable; Size-No.2 Type C および A ならびに羊腸線 Size-No.0 Type A Non-Boilable を縫込み8-21日後に摘出してそれらの抗張力を測り、つぎの結論をえた。Type C および A の吸収の差はウサギよりイヌを用いた方がより明かである。羊腸線と馬腸線とでは、今回の実験では生体内吸収に大差がない。イヌ腹筋内縫込み10-11日後の馬腸線の抗張力は Type A では 0-2kg であり、Type C のそれは10-11日後に 2-3kg、21日後には1本を除いて全部0で、腸線の太いものも細いものも、実地上大体同じ日数で吸収されるようである。

腸線の吸収に関する研究(第5報)試験管内における腸線の抗張力低下

山地幸雄, 志波 剛, 石関忠一, 小嶋秩夫:
医学と生物学, 45, 77-81 (1957).

今回は第2報の成績に対する追加実験を行ない、あわせてイヌ腹筋内縫込み実験の成績と比較し次の結論をえた。試験管内抗張力減少実験にては腸線を浸す液の量が少ないと、Type C にペプシンを作用させた際ペプシンが作用しない。またペプシンをもちいる実験は酸性pHでおこなうべきであり、ペプシン濃度は(0.28単位)/1cc (チロジン法)程度がよく、作用温度は正確に規正されなければならない。Type C と A との試験管内抗張力減弱の差は、(ペプシン液) > (pH2.1緩衝液) > (留水) の順に明かにみられ、このことは腸線の細いほど顕著である。国産羊腸線の試験管内抗張力減少は馬腸線のそれと同様であるが、Johnson & Johnson 社製羊腸線は馬腸線に比べ試験管内で抗張力が減少しやすい。イヌ腹筋内約10日後の腸線抗張力に近似した抗張力がえられる試験管内実験での条件は pH2.1酸性緩衝液のペプシン濃度(0.28単位) 1cc (チロジン法)の液50°C 2-3時間後である。

Tetsu Kashima: Chem. & Pharm. Bull., 6, 229 (1958), "Titration in Nonaqueous Solutions. XV.

Direct Differential potentiometric Titration by Glass-Glass Retarded Electrodes. I. Titration in Anhydrous Acetic Acid.", Direct differential potentiometric titrations in nonaqueous solutions were carried out using two glass electrodes, one of which is used as a retarded electrode. One and the greatest disadvantages of nonaqueous potentiometric titrations employing a reference electrode whose solvent is different from that of the solution or of the titrant, fluctuation of the liquid junction potentials between the two solutions of different solvents can be overcome by this method.

This method applied to the determinations of four derivatives of 1-phenyl-3-methylpyrazolin-3-one and several acid salts of diphenhydramine in anhydrous acetic acid or *p*-dioxane as the titrant, were shown to give satisfactory and reproducible results.

有機化合物のポーラログラフによる研究(第5報) クルクミンのポーラログラフイー:

佐藤寿: 分析化学, 6, 549 (1957).

第1報と同様な方法でクルクミンのポーラログラフイーを行つた結果、本化合物はPH2.3で約2電子、それ以上では3電子反応を行う還元波を示すことが判明した。定量に際してはPH5.2附近が最適で、濃度1.0~0.1mM で定量可能であつた。

(第6報)芳香性アルデヒド類のポーラログラフイー:

佐藤寿: 分析化学, 6, 551 (1957).

第1報と同様な方法でブールボナール、ピペロナール、シクラメンアルデヒド、サリチルアルデヒドおよびプロトカテキアルデヒド等のポーラログラフイーを行つた結果、シクラメンアルデヒドを除く以外の各アルデヒドはいずれも Pasternak の還元機構にはほぼ一致した。各化合物とも濃度1.0~0.1mM で定量可能であつた。

講演要旨

食品の放射化学的定量分析(第1報)飲料水のストロンチウム90の分析について

長沢佳熊, 河村正一, 城戸靖雅, 亀谷勝昭,
(日本薬学会関東支部昭和33年2月例会発表).

去る昭和29年3月いわゆるビキニ事件以後の汚染魚類のストロンチウム90(以下 ^{90}Sr と略称する)を定量する目的でその灰分をイオン交換樹脂および化学的分別法により定量分析したところ, 化学的分別法では ^{90}Sr の存在を認めたがイオン交換樹脂による分別法では認めなかつた.

この原因を確かめるため Amberlite IR-120に対する ^{90}Sr の回収率を検討した. その結果 $^{90}\text{Sr}+^{90}\text{Y}$ (^{90}Y はイットリウム90と略称する)が約30,000dpm 4,000dpm, では回収率はそれぞれ101%, 93%で250dpmでは100%近くの回収率を得た. 溶解液の灰化は磁製の皿より白金皿の方がすぐれている. 天水21.2lとり東京都庁の協力下にて採取した都下某地の飲料用天水21.2lとりこのイオン交換樹脂によつて得たアルカリ土類の分割を硝酸法によりカルシウムをクロム酸ナトリウムでバリウム, ラジウムを除き ^{90}Y から $^{90}\text{Sr}+^{90}\text{Y}$ を定量したところ $2\mu\text{mc/l}$ であつた. またラジウム228, からラジウム226に基因すると思われる α 線6dpm/21.2lを検出した.

 $^{90}\text{Sr}+^{90}\text{Y}$ 溶液から ^{90}Y の定量的分離法

長沢佳熊, 城戸靖雅: 日本薬学会関東支部例会講演(昭33.3.22).

ストロンチウムの共存下にイットリウムをシュウ酸塩として沈澱させる条件を追求した. すなわち, ストロンチウム, イットリウムおよびストロンチウム+イットリウムの種々濃度の塩酸溶液に5%シュウ酸溶液を加えて沈澱の生成状態を観察した. 0.2Nおよび0.1N塩酸濃度で, シュウ酸イットリウムのみが特異的に沈澱することを認めた. そこで放射平衡に達している $^{90}\text{Sr}+^{90}\text{Y}$ を用い, ^{90}Y を定量的に分離する条件を検討した. その結果, ストロンチウムおよびイットリウム担体を加えた $^{90}\text{Sr}+^{90}\text{Y}$ の0.1N塩酸溶液から, 高純度の ^{90}Y をシュウ酸塩として定量的に分離することができた.

医薬品の蛍光分析に関する研究 VI 生薬成分中のベルベリンの蛍光定量

市村陽二, 太幡利一

(第11回日本薬学会大会発表).

塩酸ベルベリンが濾紙上にて黄緑色の強い蛍光を発

する事実とその強度は試料濃度のある範囲内においては直線的関係のあることを認め, 塩酸ベルベリンの微量定量法の一つとして充分実用性のあることをV報において発表した, 今回は実際にオウレン, オウバク中のベルベリンについて検討を加えた.

まず, 粉末試料について蛍光強度, およびエネルギー分布を測定すると, ベルベリン特有のものはえられず, 試料中に蛍光発生を妨害する因子が多数混在するものと考えられた.

次にオウレン, オウバクより抽出した液を直接濾紙上に点滴して得た蛍光エネルギー分布がベルベリンのそれと一致するか, 否か, について検討したところ, 混在する不純物質の妨害をある程度受けるように見られた. そこで, 我々はこの蛍光妨害成分が混在するか否か, またベルベリン以外の蛍光成分がどの程度混在し, 測定に誤差を与える要因を作っているかについて濾紙クロマトグラフィーによつてそれらを分離し, ベルベリンの Fraction に対する他の蛍光成分を検討し, またそれらの吸収スペクトルを測定して各成分の混合率を較べてみた.

その結果, われわれの提案した濾紙上におけるベルベリンの直接蛍光定量法の実用性は Curude Drugs においては濾紙クロマトグラフィーによつて展開したベルベリンの Fraction のみを取り出すことによつて, 前報に述べた純ベルベリンの濾紙上点滴蛍光と同様に定量が可能であり, 極めて微量で相当の精度をもつて, 容易に検出することができると思われる.

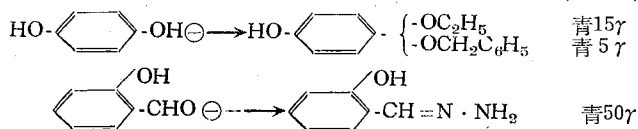
混合製剤の分析に関する研究 IV インドフェノール変法によるフェノール類のスポット・テスト

神谷庄造: 第11回日本薬学会大会, 分析部会にて発表(昭和33年4月9日).

フェナセチンより製した p -アミノフェノール試液(0.1mg/cc) 0.5ccおよび2%水酸化ナトリウム液1滴を微量のフェノール類に反応させれば直ちに青, 紫, 緑色などを呈する. 本法は酸化剤が空気酸素であるので反応条件が緩和であり, 種々有用な点がある. すなわちGibbsの方法と同程度の鋭敏さを有し, ブランクは呈色せず, またアミンや硫黄化合物を夾雑しても妨害されない.

呈色と構造との関係は p -位置換体が特異的で CH_3 (青, 100 γ), Cl (緑, 500 γ), $-\text{NH}_2$ ($\ominus$), $-\text{COOH}$ (sl. 青). また-M効果を有する基すなわち CHO , NO_2 , SO_3H などの存在は反応を陰性とする.

またハイドロキノンは陰性であるけれどもモノベンチルエーテルあるいはモノエチルエーテルは鋭敏に呈色する。またOHの *p* 位に *M* 効果の置換基があつても2, 3位にさらにOHが入ると鋭敏に呈色する。2価および3価のフェノール、アミノフェノール、クロロフェノール、ナフトールなどは置換基の位置によつて呈色を異にするから相互の識別が可能である。かく



芳香族有機酸金属塩の赤外線吸収スペクトル (第1報) パラおよびメタ置換安息香酸のナトリウムおよびカルシウム塩の $\text{C}=\text{O}$ 伸縮振動について

大場琢磨

(第11回日本薬学会大会講演)。

Flett は *p*-および *m*-置換安息香酸の置換基の Hammett's σ -factor とカルボキシル基の $\text{C}=\text{O}$ 伸縮振動の赤外線吸収波数との関係について1948年に報告しているが、その σ -factor と $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ の振動数とは直線関係をなしている。そこでそれらの Na および Ca 塩を作り、Nujol 法によつてその IR を測定した結果、Na 塩の非対称の $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ と σ -factor との関係は2本の直線群に分れることが判明した。すなわち *p*-Cl, *m*-Cl, *m*-NO₂, *p*-NO₂ の4つのものは長波長側に移動し、他の *m*-OCH₃, *H*, *m*-CH₃, *m*-NH₂, *p*-CH₃, *p*-OCH₃, *p*-NH₂ は短波長側に移動して、各々2つの直線をなしている。そして、1592—1530cm⁻¹の間に縮小されており、さらにこれがCa塩になると、この傾向は強く、1515—1535cm⁻¹に縮小されていることが判明した。次にパスカルシウムの構造を究明する目的で、パスカルシウムと全く同様の製法でサルチル酸ナトリウムを原料として、不溶性のサルチル酸カルシウムを作つた。このIRを測定し、一連の塩と比較し、同時に、これのCaの分析値ならびにカールフィッシャー法による水分測定値などより判断すると、このサルチル酸カルシウムは錯塩型の構造式が正しいと考えられた。これと同様に考えるならば、パスカルシウムも複塩型よりも錯塩型の構造式が正しいと推測されるが、さらに引き続いて検討を続けている。

アルミナを用いるビタミンAの分離法

広瀬朝次：日本ビタミン学会第10回大会

(昭和33年5月17日～19日講演)。

アルカリ処理アルミナ KK-1 を用いてビタミンAを分離する方法については、さきに報告し、その際ア

ルミナ処理方法、アルミナの含水量(5%が最適)について、種々検討を加え、また展開溶剤についても各種の混合比の *n*-ヘキサンとエーテルの混液を用いることを推奨したが、その後試料中には通常のけん化法でのモルトン補正法では補正困難なものが少なからず市販されるにおよび、再びそれらについて検討を加えてみた。

アルミナは比較的人手しやすい和光純薬、小宗化学、純正化学、メルク製などを用い、試料としては、補正の困難な肝油類、強化粉ミルク、ビタミンA添加魚肉ソーセージ、マーガリンなどにつき、既述の方法をさらに改良し、これらの試料についても90%以上の回収率でビタミンAを分離できた。

選択白土を使うビタミンD定量の検討 (続報)

小川俊太郎、南原精一：第52回脂溶性ビタミン総合研究委員会(昭和33年3月27日)にて講演。

さきにわれわれはDの定量にあつて S. P. F. Grade 1 SJ5275 および SV6888 を選択し、これらを加工したものはD定量のための吸着剤として使えることを知つた。

DのカラムクロマトでD画分に混入し定量を妨害するものは主としてAおよびコレステロールである。そこでこれらの共存時 D₂分離の状態を Sb³⁺ 呈色紫外部吸収測定によつて調査した。これによるとDの10 γ (400単位)に対しAは2,000単位、コレステロールは1mg までは白土を用いるクロマトグラフのみによつて分離されることを確めた。次にA4,000単位、B₁1mg, B₂1.5mg, B₆1mg, 葉酸0.25mg, Pan-Ca0.5mg, B₁₂1 γ , C37.5mg, E1mg, K0.2mgの組成をもつ混合ビタミン剤モデルに対するDの回収率を調べた。

Flavin Adenine Dinucleotide の汚紙クロマトグラフィーにおける展開剤と汚紙の組合せ

小川俊太郎, 中路幸男: 日本ビタミン学会第
9 回大会講演

(昭和32年5月1日).

PPCによつて FAD の純度を求めんとする際に汙紙と展開剤の組合せ如何によつては FAD 部分の判別が困難になることがある. すなわち展開剤として *n*-ブタノール・酢酸・水(4:1:5)(I), *n*-ブタノール・エタノール・水(50:15:35)(II)および*n*-ブタノール・ピリジン・水(5:4:4)(III), また汉紙は Whatman No. 1, 東洋汉紙 No. 5B, 50, 51, 51A, 52, 53 および54を選び種々の組合せによつて螢光斑の確認の難易, 各分別帯の移動の早さ, しまり方, FAD 部分の識別, 汉紙からの誘出率およびFAD定量値など相互の関係を調べた結果展開剤について次の結論をえた. (I)どの汉紙を用いても FAD 含量には著差は出ないが Rf 値がほとんど0であるので原点残留物の非特異的吸収が加算されて不純な FAD ほど定量値は真の値よりも高くなつてしまう. (II)No. 5Bおよび51Aなどの鉍酸処理した汉紙は非常に分離が良いが他の汉紙では tailing がはなはだしい. (III) No. 5B, 51A および53は(II)の場合と同じ定量値を得るが分別帯が拡がるのが大きな欠点である. すなわち PPC によつて FAD を定量する条件は(II)の展開液と No. 51A の組合せが最も良いことがわかつた.

Flavin Adenine Dinucleotide 水溶液の C₆₀

照射による影響

中路幸男: 日本ビタミン学会第10回大会講演

(昭和33年5月17日).

光に不安定な VB₂ 100γ/cc 水溶液にγ線を照射(195万レントゲン)したものについてその吸収を測定したところ373mμおよび445mμのフラビン特有の極大は消失して250mμ附近を極大とする曲線を得た. これは lumichrom とも異なるのでこれはさらに分解したものかあるいは光分解とは全く異なる分解機構によつて新たな物質を生じたものとも考えられる. 同時に行つた FMN と FAD 水溶液ではかなり高濃度(5 mg/cc)であつたためか顕著な差は認められなかつた.

イソニコチン酸ヒドラシド関連物質の微生物増殖におよぼす影響とビタミン B₆ による回復

平岡栄一: 日本ビタミン学会第10回大会(昭和33.5.17)講演.

INAH 誘導体として INAH-ピルビン酸, INAH-メタンスルホン酸および INAH-グルクロン酸を使用し, またカルボニル試薬としてヒドロキシルアミン,

セミカルバジド, チオセミカルバジド, フェニルセミカルバジドおよびヒドラジンを使用し, 乳酸菌や大腸菌に対する増殖阻害作用を検したところ, 10^{-2} ~ 10^{-8} M の濃度ですべて著明な阻害作用がみとめられた. つぎに B₆ 群を阻害剤と同時に添加して阻害の回復を調べたが INAH のときと同じく PAL および PAM により回復された. ただチオセミカルバジドの場合には B₆ 群での回復は全く認められなかつた.

ビタミン B₁ 結晶の Paper Chromatographic Pattern

小川俊太郎, 西村秀子, 笠原 閑

第102回ビタミンB研究委員会(昭33.4.10および11)講演.

市場で入手した B₁ の30%水溶液の 0.005cc を Whatman No. 1 に点滴し *n*-ブタノール・酢酸・水(4:1:5)で上昇, 下降または2次元上昇などの展開を行なうと Dragendorff 試薬, チオクロム反応, 紫外線吸収などの各検出反応に対して B₁ と極めてよく似た性質をもつ少なくとも3個の像を見出すことがある.

米局方標準品, 国立衛生試験所標準品をはじめ外国製品7社7品, 日本産製品6社8品についてえた結果によればかような夾雑物はかなり普遍的なものらしく B₁ にくらべて Rf の小さいものが1種, 大きいものが2種あるらしい.

日本産製品の1種についてえたこれら夾雑物の紫外線吸収スペクトルは pH 3~10 において B₁ のそれとほとんど変らずフェリシアン・チオクロム法によればいずれもチオクロム様螢光性物質にかわる. もしこの場合のチオクロム様物質への転化率をかりに B₁ と同一と仮定すると各夾雑物の B₁ 結晶中の共存百分率は 0.05~2% にすぎない.

発熱物質試験法に対する Thiothiamine の態度

小川俊太郎, 北川純男, 川崎浩之進

第102回ビタミンB研究委員会(昭33.4.10および11)講演.

局方発熱物質試験法によつて Thiothiamine の 10 mg/5cc, 50 mg/5cc (N塩酸溶液)を検査した結果, この経過中に 0.6°C 以上の体温が上昇したウサギはなく, また1群3匹の試験ウサギの体温上昇が合計 1.4°C をこえたこともなかつた. また 10 mg, 50 mg の間に差が認められなかつた. そこで同様の試験をさらに1回くりかえすとともに注射後の体温変化を半昼夜にのばし一方べつの3匹のウサギは注射を施さずに体温変化を記録してくらべた. 試験ウサギへの注射をほぼ

正午に行つてその後4~5時間は前回と同様発熱を認めなかつたが、5時間後位から体温上昇が起り実験終了まで続いた。この結果だけからみると発熱性物質試験法に規定された時限以後に発熱をみるように思えるが、注射をしないウサギも全く同様な体温上昇を示しているところからみればこれを発熱したと認めるのは早計であらう。

むしろ前記2回の試験結果からいえば今回の Thiothiamine の溶液は発熱物質試験陽性とはいえない。

Sphaceloma glycines (大豆黒痘菌)のビタミン

小川俊太郎, 倉田 浩

B₁ 要求

第99回ビタミンB研究委員会 (昭32.12.7講演)。

本菌が Czapek. Dox 培地に生えず Lilly. Bernett 培地に繁殖する原因は後者中に含まれる B₁ に基因する。

他の主なBビタミンは代換しない。

B₁ の要求量は培地 1 l 当り 30γ 以上である。

本菌の繁殖はB₁ の構成成分である Hydroxymethylpyrimidine, Aminomethyl pyrimidine および Bromomethylpyrimidine によつても支持されるがチアゾール部分は無効である。一例として Hydroxymethylpyrimidine の効力を化学的当量の B₁ の効力とくらべると繁殖曲線の Lag をはじめ繁殖の極大、全曲線の様相にほとんど相違を認めない。

なお Oxythiamine は発育を促がさない。

Flavineadeninedinucleotide 定量法の検討

小川俊太郎, 中路幸男

第92回ビタミンB研究委員会 (昭32.1.19) 講演。

補酵素として登場した Flavinemono または dinucleotide と B₂ 其他随伴近縁化合物を沝紙クロマトグラフィーで分け、分光的かまたは比蛍光的に純度定量しようとする試みで、各種の沝紙および展開溶剤を使つて検討した結果をのべた。現在ビタミン誌に投稿中。

ビタミンD定量時における酸性白土の選択

第46回脂溶性ビタミン総合研究委員会 (昭和32.

3.23) 講演

選択白土を使うビタミンD定量法の検討 (続報)

小川俊太郎, 南原精一

第52回脂溶性ビタミン総合研究委員会 (昭和33.

3.27) 講演。

Boldingh, Morgareidge, Rosner のアルミナ活性化法を参照して、米国产 Super filtrol 数種を活性化しようとした。本白土を130°, 2時間加熱すると水分12~18%を失い、無水物は秤量罐に入れて室内に放

置していると3日間に約10%水を吸い、その後水分は12~18%に複帰してゆく。

この間白土のビタミンAあるいはDの吸着力や状況が著しく変えることに着眼し、Grade1, SJ5275 または SV6888 を前記のように脱水した後10%の割に水を加えてよく振りまぜたものを用いカラムクロマトグラフィーを行つたところA4,000単位に対しD₂400単位ならばおおむね D₂ の回収率を96に保ちつつAと分離することができる。またコレステロールは1mgまで同様の方法でD₂ と分けえられた。しかし、ビタミンA4,000単位, D₂400単位, B₁1mg-B₂1.5mg, B₆1mg, 葉酸0.25mg, パントテン酸カルシウム0.5mg, B₁₂1γ, C37.5mg, E1mgおよびK0.2mgの組成をもつ混合剤モデルを使用し、さらに三塩化アンチモン呈色反応あるいは紫外線吸収によつて精査した結果では D₂ に対し5倍単位量のAは充分分けられてもこれ以上比率が増すと D₂ 割分にAが少しずつ混入し正しい測定が行いにくい。結論としては白土のカラム1本では共存比率が1:5以上のときAとD₂との完全分離は困難のように思う。

ビタミンB₁ 製品中の Toxopyrimidine について

小川俊太郎, 西村秀子

第91回ビタミンB研究委員会 (昭31.12.8) 講演

同上 (補遺) 第94回ビタミンB研究委員会 (昭32.4.30) 講演。

ビタミンB₁ およびその近縁化合物の沝紙クロマトグラフィーによる定性ならびに定量の研究で市販B₁結晶中の不純物または製剤、主として注射液中のB₁が変化して生ずる分解物を捕捉しようとした実験である。内容については本号中の「ビタミンB₁ 製品中の2-Methyl-4-Amino-5-Hydroxymethylpyrimidine I 報およびII 報に関する抄録」を参照のこと。

ビタミンB₁に対するフロムシアン(第1報) シオール型ビタミンB₁に対するフロムシアンの作用 その1

笠原 閑: 薬誌 77, 1133 (1957)。

フロムシアン・チオクロム法の盲験

小川俊太郎, 笠原 閑

第96回ビタミンB研究委員会 (昭32.8.3) 講演。

ビタミンB₁ にフロムシアン (BrCN) を作用させた後アルカリ性とするときチオクロムを生ずるが、アルカリを先に加えた後 BrCN を加えるとチオクロムを生成しない理由を明らかにした。

ビタミンB₁に3molの水酸化ナトリウム(NaOH)を

加えシオール型のナトリウム塩とした後 BrCN を加え、直ちに 30% NaOH でアルカリ性とする含水結晶 mp 109.5°, 無水物 mp 134~136° (decomp), 実験式 $C_{13}H_{16}ON_4S$ (I), Picrate mp 190~191° (decomp) をうる。一方ビタミン B_1 に 3 mol の NaOH を加えシオール型のナトリウム塩とした後 BrCN 1 mol を作用すると含水結晶 mp 80°, 無水物 N-(1-methyl-2-thiocyanato-4-hydroxy-1-butenyl)-N-[(2-methyl-4-amino-5-pyrimidinyl)methyl] formamide (II) mp 150.5~151.5° (decomp) をうる。(II) はアルカリにより (I), ビタミン B_1 および B_1 disulfide になり, 塩酸システインまたは硫化ナトリウムでビタミン B_1 に還元され, 塩酸分解すると 2-methyl-4-amino-5-aminomethylpyrimidine と義酸になる。(I) は Thiamine anhydride に一致した。以上の反応の間に生成する物質はいずれも螢光を有しない。しかしチオクロム吸光法に従って盲験液を作るとき液の紫外線吸収スペクトルはビタミン B_1 のかわりに (II) を用いた液の吸収スペクトルと一致するが, Thiamine-anhydride に水酸化ナトリウムおよび BrCN を加えた溶液のそれと一致しない。

ビタミン B_1 結晶の不純物

小川俊太郎, 笠原 閑

第10回日本ビタミン学会大会 (昭33.5.17) 講演。

B_1 結晶をペーパークロマトグラフィー (Whatman No. 1, 酢酸・*n*-ブタノール・水 1:4:5 下降法 24時間展開) でしらべると B_1 以外に 3 箇のスポット A, B および C が検出される。スポット A は酸性では吸収スペクトルは B_1 と近似しているが, アルカリ性ではややことなりドラゲンドルフ試薬 (D 試薬) で橙紅色ジアゾ反応陽性チオクロム反応陽性であるが *L. fermenti* に対しほとんど活性を持たず, 赤血塩酸化後の螢光物質の R_f は 0.3 である。スポット B は吸収スペクトルジアゾ反応およびチオクロム反応は B_1 とよくにているが, D 試薬に対して橙紅色を呈した *L. fermenti* に対する活性はほとんどないが, N 塩酸と加温すると B_1 活性が出てくることからスポット B は o-Acetylthiamine であろうと推定する。スポット C は pH 3.0 の水溶液の吸収スペクトルは B_1 のそれと近似するが, 2% NaOH 水溶液の吸収スペクトルは Chloroethylthiamine ならびに Thiamine anhydride の 2% NaOH 水溶液のそれと一致し, また D 試薬による呈色ならびにチオクロム反応は B_1 と近似しているが, 赤血塩酸化後の螢光物質の R_f は Chloroethylthiamine からの螢光物質の R_f 0.61 とよく一致し, また *L.*

fermenti に対する活性は全くない。これらの性質からスポット C は Chloroethylthiamine あるいは Bromoethylthiamine である。これら結晶中に含まれる o-Acetylthiamine および Chloroethylthiamine あるいは Bromoethylthiamine の検出固定法ならび定量法を明らかにした。

ビタミン B_1 に対するフロムシアンの作用 (第2報) アンモニウム型ビタミン B_1 に対するフロムシアンの作用

笠原 閑: 第11回日本薬学会大会 (昭33.4.8)

講演。

Thiamine monochloride 水溶液にフロムシアン (BrCN) を作用させ 20° 以下で放置すると Thiamine hydrochloride hydrobromide, チオクロムおよび Cyanothiamine を生じ, また Thiamine mononitrate からは Thiaminedinitrate, チオクロムおよび Cyanothiamine を生ずることを明らかにした。これらの事実から Thiamine の半塩化物は水溶液中でアンモニウム型, カルビノール型およびシオール型の 3 型の間に平衡関係があつて, アンモニウム型のビリミジン部の 4 位のアミノ基と BrCN が反応して HBr を生じ, カルビノール型と BrCN が反応してチオクロムが, またシオール型に BrCN が作用すれば Cyanothiamine が生ずることが明らかとなつた。

腸線の無菌試験法の検討

志波 剛, 山地幸雄, 石関忠一, 小嶋秩夫:

第12回日本公衆衛生学会総会口演要旨 (昭32.

10.26 於大阪)。

腸線の無菌試験法について, *E. Coli*, *S. haemolyticus*, *Cand. albicans*, *Cl. tetani* を試験菌とし, 米国薬局方すなわちサイオグリコロート培地およびサブロー液体培地に被験腸線を直接入れて培養する法について検討した。上記培地はいずれも 10^2 以下の菌数移植で各試験菌の発育を見たが, 腸線を入れると培地の性能は低下し, 10^2 – 10^3 個の菌数移植で発育するものとしないうものがあつた。腸線充填液の主成分すなわち, toluene, iso-propyl alcohol による菌の発育阻止は, 腸線に附着して培地に入ると考えられ量では軽度で, 腸線を入れた際の培地性能の低下は, それらのみでは説明されなかつた。さらに充填液にしばしば加えられる酢酸フェニール水銀を 0.05% に充填液に加え, 発育阻止を検したが, 充填液のみの場合とほぼ等しかつた。酵母エキスパイオンおよびサイオグリコロート培地における酢酸フェニール水銀の抗菌力は, *E. C. coli* の場

合、サイオグリコレート培地で2,000倍、酵母エキスパイオンでは20,000倍で発育を阻止し、抗菌力は (*E. Coli* < (*Cl. tetani*) < (*S. haemolyticus*) < (*Cand. albicans*) の順にみられた。酢酸フェニール水銀を充填液に加えてない腸線を用いて同様の実験を行なつたが、酢酸フェニール水銀を加えた場合と大差がなかった。上記培地を腸線の無菌試験に用いたときには、かなりの菌数移植されないと菌の発育がみられないが、その理由は充填液あるいは酢酸フェニール水銀のみによつては説明されなかつた。

大腸菌の沈降反応について

岩原繁雄, 林 長男

第10回日本細菌学会関東支部例会。

大腸菌標準株間に相当数の類属反応が認められる。そこでこれら類属反応を完全とまではいかなくともなんとか防ぎえないものかと考え次の如き実験を試みた。

生理食塩水, $N/10$ 苛性ソーダ, 0.3% 醋酸, 90% フェノールを用い、O-1~O-25 の抽出抗原を作製し、それらの沈降価を求め凝集反応の成績と比較したところ、いずれの抽出法によつてもR型菌は沈降価は低いがある程度型別診断可能なること $N/10$ 苛性ソーダ処置の場合ある程度類属反応が防げることを見出した。

そこで類属反応を起す二三大腸菌につき同様の抽出法で成績を求めたところ、上述の場合と同じく N 苛性ソーダ処置のみ対応血清と特異的に強く反応を起した。これについては分離株を用い引き続き検討中である。

大豆立枯病を基因する *Fusarium* 属菌の所属

*松尾卓見, *桜井善雄, 倉田 浩 昭和32

年度日本植物病理学会大会講演。

倉田が農技研在職中に本邦各地において採集または送附されて分離した大豆根部の *Fusarium* 菌11培養系統につき病原性と分類学上の所属を検討した。それらの中には採集時に大豆立枯病を確実に基因するごとく観察されたものはあつたが、これまでの接種試験の結果ではすべて立枯を起すには至らなかつた。しかし根部がかなりに侵害され条件によつては立枯を起しうると推定されるものがある。そのような菌の所属は *Fusarium Oxysporum* (Schl.) S. et H. (茨城県下および埼玉県下で採集) と *Fusarium moniliforme* (Scheld.) S. et H. (熊本県下および茨城県下で採集) である。大豆立枯病菌としてアメリカに *F. Oxysporum* (Schl.) S. et H. f. *tachophilum* (E. F. S.) S. et H. が報告されているが、該菌と上述の菌との異

同、また上記 *F. moniliforme* の form の決定などは今後の検討にまたねばならない。

Dematiaceae-Phragmospore の分類学的研究 I

Curvularia 属菌

倉田 浩, 河野文子: 昭和32年日本植物病理

学会夏季関東部会講演。

1933年, Boedijn の創設にかかる *Curvularia* 属は近似属、特に *Brachysporium* との類別に極めて困難を感じていたが近年 Hughes (1951) が *Brachysporium* の属徴の修正を行つてからこの間の区別が漸く判然とした、しかし今日なおこのあたりの分類は混然として未整理のまま残されているので著者らは広範囲にわたり本属菌を求め約40種の分離系統をえたので、これらの培養にもとずき本属の整理を試みた。分類の主標はやはり Bodijn, Grove らの提出する分生孢子型、分生孢子の着生パターン、などの外阻条件により変化の少ない標非を主体に培養性質、病原性を加味した。結果は *C. maculans* 3, *maculans* 型); *C. lunata* 10, *C. trifolii* 2, *C. pallescens* 3, *C. spp.* 3 (lunata 型); *C. geniculata* 4, *C. inaequalis* 6, *C. falcata* 1, *C. coisis* 1, *C. spp.* 2 (genienlata 型) などに分類されたが、基本種になるのは *C. lunata* と考えられる。なお既報の近縁属菌中本属に転属させうる菌種は次のとおりである。*C. lunata* (*Brachysporium orgzae*, *B. ovoideum*); *C. coisis* (*Helminthosporium coisis*); *C. geniculata* (*B. capsici*); *C. segegalense* (*B. senegalense*) = n. eomb. とした。

大豆黒痘病菌の栄養生理 I 特にビタミン要求について

倉田 浩: 日本植物病理学会昭和32年夏季関東部会講演。

Sphaceloma glycines 菌の栄養要求を振盪培養 (振幅 7 cm, 1 分間100振盪) によつて試験した。i) Lilly Bennett 培地 (Semi-synthetic medium) では天然培地に匹敵する生育を示したが、このものから thiamine を除くと全く発育が停止した。しかし thiamine のかわりに馬鈴薯煎汁を1%加用すると天然培地に優る生育がみられた。(2) thiamine, Pyridoxine, biotin, inositol, riboflavin, ascorbic acid, PABA, Panthothenic acid, nicotinic acid, folic acid らのビタミン類を単独または組合わせてあたえたところ、thiamine の存在するもののみに菌体の生育が認められた。(3) 以上より本菌は thiamine の合成能を欠くものと思われたので、さらに、thiamine の moieties を単独または併

*信州大・織維

合して与えた結果では thiazole 部のみでは発育せず、Pyrimidine 部 (3 種) はいずれも生育が良好であった。本菌は Pyrimidine 部の合成能を欠くものである。(4) thiamine の最少必要量を試験した結果では $3.75\mu\text{g/l}$ でも $100\mu\text{g/l}$ の約 50% の生育をみた。(5) 有機 (20 種)、無機 (4 種) の異なる N 源を与えて培養した結果、無機 N 源の利用は極めて不良で、有機 N 源では 1-asparagine, aspartic acid-Na, glutamic acid-Na, arginine-HCl, 1-proline, glyocoll など が優良であった。

生薬より分離された *Catenularia* spp. について

松島 崇, 伊東 宏, 池田峰子: 第 12 回菌学会例回 報告 (昭和 32 年)。

種々の生薬のかびによる変敗を調査した際に黄耆、白芷より分離された *Catenularia* spp. についてその発育の特性を調べたところ、湿度 85%, 温度 25°C において生薬の変質の原因となるが、湿度 100% においては初期に発育がみられるが、後に他のかびにおおわれしう。実験調査の結果 *Catenularia* spp. は Obligate osmophilic と思われるが温度については, Jhermophilic ではないことがわかった。以上のことからこれらのかびは低湿度における種々の物質の変質、およびジャム、シロップのような高滲透圧性の物質の変質の原因となる可能性のあることが考えられる。

大豆黒病菌の栄養生理 II ビタミン B_1 の生合成経過

倉田 浩: 昭和 33 年度植物病理学会大会講演。

前報にて本菌がその生長に B_1 を必須とし、他の主な B ビタミンは代換せず、 B_1 構成成分であるチアゾール部 (Th.) は無効であることを明らかにした。そこでさらに Oxymethylpyrimidine (OMP) の効力と化学的当量の B_1 の効力とを比較した結果生育曲線の Log をはじめ生育の極大曲線の様相にほとんど相違が認め

られなかつた。この結果、 $\text{Pm} + \text{Tn} \rightarrow B_1$ - 結合型 B_1 の合成過程が行われているのか、本菌は果して完全 B_1 を必要としているのかどうか疑問がもたれたので、OMP 添加、 B_1 添加両区内における総 B_1 の消長をパームチット・チオクローム法で追究した。この結果 OMP 区内の B_1 合成能は極めて弱い。すなわち培養 15 日でわずか $0.15\gamma/\text{コルベン}$ (1 コルベン培養液 25ml) を示した。しかし本菌の B_1 要求最少量は $0.1\gamma/\text{コルベン}$ であることより確かに、必要な B_1 は合成されていると思われた。このことは $\text{Oxy}-B_1$ が B_1 の代用にならず、かつ B_1 に抵抗作用を示すことから立証せられた。

種実に寄生する糸状菌の種類と分類 I

倉田 浩, 河野文子: 昭和 33 年度植物病理学会大会講演。

荳科ならびに十字科を中心にして約 30 種類の植物種実より種子寄生性の糸状菌を分離しその種類を検索した。いまだ実験継続中であるが中間報告する。供試培地は P.D.A (PH4) を基本とし種実の表面殺菌には Sodium Hypochloride (1% 溶液) に 3~5 分浸漬後充分に滅菌水で洗滌した。現在までに約 36 属、119 種以上の糸状菌を分類したが、供試種子全般に普通分離された菌は *Alternaria*, *Fusarium* 属菌であり、科によつて特異的に多いのは、荳科では *Clado Sporium*, *Ascochyta* 属で、*Diaporthe* 属菌も意外に多く分離された。十字科植物では *Alternaria* に次いで *Aspergillus* 属菌が多い傾向にあつた。茄科植物では *Mucorales* に属する菌が多く、かかる種実の多くは発芽能力を失っている。一般に *phycomycetes* に入る菌は種子中に潜在してキャリアーの役目をするのみでなく、種子の発芽機能を侵害するもののようで注目値する。

国家検定、国家検査等の試験成績報告

総 務 部

昭和32年当所における試験検査等の状況は次のとおりである。

国家検定については3月19日付ビルビン酸カルシウムイソニアジド、オキシトン注射液等の品目が追加指定され現在におよんでいる。

取扱件数は昨年同様ブドウ糖注射液が最も多くそれにイソニアジド、リンゲル液の順である。

大阪支所においては5月1日よりリンゲル液の検査を行うこととなり、件数が増加した。

国家検査については、31年10月検査命令が発せられた品目について、32年10月まで不合格を出さなかつた製造業者に対して32年10月検査命令が解除となり件数は減少した。

製品検査については、32年8月よりロット数量が大きくなったが逆に件数は昨年を上廻っている。これは需要が増大し生産が増加したことを意味する。

その他特行試験はケシの栽培による麻薬試験が依然として多くなっている。

総取扱件数としては昨年より約4,800件減少した。これは国家検査命令解除によるものである。

衛生試験所における検査状況 (昭和32年)

件 名	試 験 機 関		合 計
	東 京	大 阪	
国 家 検 定	1,822	379	2,201
国 家 検 査	3,247	2,328	5,575
製 品 検 査	8,184	3,062	11,246
輸 出 検 査	薬 品	—	—
	食 品	53	53
輸 入 検 査	薬 品	40	47
	食 品	1,650	3,113
特 行 試 験	917	1,787	2,704
特 需 試 験	22	9	31
一 般 依 頼 試 験	1,188	660	1,848
一 般 収 去 検 査	751	85	836
合 計	17,821	9,833	27,654

品名		月別 種別 試験機関		国 家															
				1			2			3			4			5			計
				計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	
イソニアジド	東京 大阪	16 12	16 12	0 0	26 10	26 10	0 0	23 13	23 13	0 0	27 8	27 8	0 0	22 8	22 8	0 0	27 12		
イソニアジド錠	東京 大阪	2 3	2 3	0 0	3 14	3 14	0 0	3 10	3 10	0 0	3 9	3 9	0 0	2 3	2 3	0 0	4 8		
イソニアジド注射液	東京 大阪	0 —	0 —	0 —	5 —	5 —	0 —	2 —	2 —	0 —	0 —	0 —	0 —	2 —	2 —	0 —	0 —		
イソニアジドメタンスル フォン酸ナトリウム	東京 大阪	7 —	7 —	0 —	3 —	3 —	0 —	6 —	6 —	0 —	12 —	12 —	0 —	8 —	8 —	0 —	8 —		
イソニアジドメタンスル フォン酸ナトリウム錠	東京 大阪	12 —	12 —	0 —	13 —	13 —	0 —	10 —	10 —	0 —	17 —	17 —	0 —	19 —	19 —	0 —	15 —		
グルクロン酸ナトリウム イソニアゾン	東京 大阪	6 —	6 —	0 —	2 —	2 —	0 —	7 —	7 —	0 —	4 —	4 —	0 —	3 —	3 —	0 —	3 —		
グルクロン酸ナトリウム イソニアゾン錠	東京 大阪	2 —	2 —	0 —	4 —	4 —	0 —	0 —	0 —	0 —	6 —	6 —	0 —	0 —	0 —	0 —	1 —		
ビルビン酸カルシウム イソニアゾン	東京 大阪	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 1	0 1	0 0	0 1	0 1	0 0	0 3	0 3	0 0	0 8		
ビルビン酸カルシウム イソニアゾン錠	東京 大阪	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 3		
チオアセタゾン	東京 大阪	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 2	— 2	— 0	— 0	— 0	— 0	— 1	— 1	— 0	— 0		
チオアセタゾン錠	東京 大阪	— 0	— 0	— 0	— 1	— 1	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0		
チオアセタゾン散	東京 大阪	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —		
ビルビン酸イソニアゾン	東京 大阪	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —		
インシュリン注射液	東京 大阪	3 —	3 —	0 —	6 —	6 —	0 —	3 —	3 —	0 —	4 —	4 —	0 —	3 —	3 —	0 —	4 —		
プロタミン亜鉛 インシュリン注射液	東京 大阪	0 —	0 —	0 —	1 —	1 —	0 —	1 —	1 —	0 —	1 —	1 —	0 —	1 —	1 —	0 —	0 —		
アイソフェンインシュリ ン注射液	東京 大阪	2 —	2 —	0 —	4 —	4 —	0 —	3 —	3 —	0 —	0 —	0 —	0 —	3 —	3 —	0 —	4 —		
グロビン亜鉛 インシュリン注射液	東京 大阪	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	1 —	0 —	1 —	0 —	0 —	0 —	0 —		
インシュリン亜鉛 懸濁注射液	東京 大阪	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	1 —		
結晶性インシュリン 亜鉛懸濁注射液	東京 大阪	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —		
無晶性インシュリン 亜鉛懸濁注射液	東京 大阪	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —		

検		定																		(昭和32年)		
6		7			8			9			10			11			12			合 計		
合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格
27 12	0 0	20 10	20 10	0 0	7 10	7 10	0 0	6 16	6 16	0 0	8 14	8 14	0 0	5 12	5 12	0 0	11 17	11 17	0 0	198 142	198 142	0 0
4 8	0 0	7 10	7 10	0 0	2 8	2 8	0 0	3 10	3 10	0 0	2 6	2 6	0 0	2 13	2 13	0 0	3 21	3 21	0 0	36 105	36 105	0 0
0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	2 —	2 —	0 —	1 —	1 —	0 —	0 —	0 —	0 —	2 —	2 —	0 —	2 —	2 —	0 —	16 —	16 —	0 —
8 —	0 —	7 —	7 —	0 —	7 —	7 —	0 —	4 —	4 —	0 —	9 —	9 —	0 —	7 —	7 —	0 —	5 —	5 —	0 —	83 —	83 —	0 —
15 —	0 —	15 —	15 —	0 —	12 —	12 —	0 —	8 —	8 —	0 —	2 —	2 —	0 —	14 —	14 —	0 —	7 —	7 —	0 —	144 —	144 —	0 —
3 —	0 —	4 —	4 —	0 —	0 —	0 —	0 —	9 —	9 —	0 —	3 —	3 —	0 —	2 —	2 —	0 —	4 —	4 —	0 —	47 —	47 —	0 —
1 —	0 —	1 —	1 —	0 —	0 —	0 —	0 —	7 —	7 —	0 —	3 —	3 —	0 —	2 —	2 —	0 —	6 —	6 —	0 —	32 —	32 —	0 —
0 6	0 2	0 4	0 3	0 1	2 4	2 4	0 0	0 3	0 3	0 0	0 1	0 1	0 0	0 1	0 1	0 0	0 1	0 1	0 0	2 27	2 24	0 3
3 —	0 —	4 —	4 —	0 —	4 —	4 —	0 —	3 —	3 —	0 —	1 —	1 —	0 —	3 —	3 —	0 —	0 —	0 —	0 —	18 —	18 —	0 —
0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	1 —	1 —	0 —	4 —	4 —	0 —
0 —	0 —	1 —	1 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	2 —	2 —	0 —
— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
4 —	0 —	4 —	4 —	0 —	4 —	4 —	0 —	3 —	3 —	0 —	4 —	4 —	0 —	1 —	1 —	0 —	6 —	6 —	0 —	45 —	45 —	0 —
0 —	0 —	2 —	2 —	0 —	1 —	1 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	1 —	1 —	0 —	0 —	0 —	0 —	8 —	8 —	0 —
4 —	0 —	2 —	2 —	0 —	1 —	1 —	0 —	1 —	1 —	0 —	0 —	0 —	0 —	3 —	3 —	0 —	4 —	4 —	0 —	27 —	27 —	0 —
0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	1 —	0 —	1 —
1 —	0 —	2 —	2 —	0 —	3 —	3 —	0 —	5 —	5 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	2 —	2 —	0 —	13 —	13 —	0 —
0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	2 —	2 —	0 —	1 —	1 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	1 —	1 —	0 —	4 —	4 —	0 —
0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	2 —	2 —	0 —	1 —	1 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	1 —	1 —	0 —	4 —	4 —	0 —

品 名	種 別 試験機関	1			2			3			4			5			計
		計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	
脳下垂体後葉注射液	東京 大阪	2 —	2 —	0 —	2 —	2 —	0 —	2 —	2 —	0 —	4 —	4 —	0 —	3 —	3 —	0 —	1 —
オキシトシン注射液	東京 大阪	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	2 —	2 —	0 —	0 —
バソプレシン注射液	東京 大阪	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —
ヘキシルレゾルシン丸	東京 大阪	2 —	1 —	1 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	4 —	4 —	0 —	0 —
ブドウ糖注射液	東京 大阪	40 —	40 —	0 —	43 —	39 —	4 —	47 —	47 —	0 —	45 —	44 —	1 —	66 —	66 —	0 —	49 —
リンゲル液	東京 大阪	12 0	11 0	1 0	23 0	21 0	2 0	15 0	11 0	4 0	24 0	24 0	0 0	12 13	11 13	1 0	8 8
4-エチルスルフォニド ベンズアルデヒド チオセミカルバゾン	東京 大阪	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
4-エチルスルフォニド ベンズアルデヒド チオセミカルバゾン錠	東京 大阪	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
4-エチルスルフォニド ベンズアルデヒド チオセミカルバゾン散	東京 大阪	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
ピラジナミド	東京 大阪	3 —	3 —	0 —	6 —	6 —	0 —	0 —	0 —	0 —	1 —	1 —	0 —	9 —	9 —	0 —	3 —
ピラジナミド錠	東京 大阪	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	3 —
避妊薬 (錠 剤)	東京 大阪	3 —	3 —	0 —	3 —	3 —	0 —	5 —	5 —	0 —	3 —	3 —	0 —	6 —	6 —	0 —	2 —
〃 (クリーム剤)	東京 大阪	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
〃 (ゼリー剤)	東京 大阪	6 —	6 —	0 —	14 —	14 —	0 —	3 —	3 —	0 —	2 —	2 —	0 —	9 —	9 —	0 —	17 —
〃 (坐 剤)	東京 大阪	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
〃 (親水性坐薬)	東京 大阪	3 —	3 —	0 —	2 —	2 —	0 —	5 —	4 —	1 —	3 —	2 —	1 —	1 —	1 —	0 —	0 —
〃 (泡発性坐剤)	東京 大阪	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
〃 (泡発性散剤)	東京 大阪	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
〃 (液 剤)	東京 大阪	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
グルクロノラクトン イソニアゾン	東京 大阪	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
ロ ッ ク 液	東京 大阪	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0
転化糖注射液	東京 大阪	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —
合 計	東京 大阪	121 15	119 15	2 0	160 25	154 25	6 0	135 26	130 26	5 0	157 18	154 18	3 0	175 28	174 28	1 0	150 39

6		7			8			9			10			11			12			合 計		
合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格
1	0	1	1	0	3	3	0	1	1	0	2	2	0	2	2	0	2	2	0	25	25	0
0	0	0	0	0	6	6	0	2	2	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	12	12	0
0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	3	2	1	0	0	0	12	9	3
48	1	65	64	1	48	45	3	50	50	0	54	53	1	48	45	3	59	58	1	614	599	15
8	0	16	13	3	11	10	1	12	12	0	12	11	1	13	12	1	14	13	1	172	157	15
8	0	11	10	1	9	9	0	11	11	0	9	9	0	9	9	0	9	9	0	79	78	1
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	0	1	1	0	0	0	0	5	5	0	4	4	0	3	3	0	32	32	0	67	67	0
3	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	4	0
2	0	1	1	0	1	0	1	3	3	0	7	5	2	6	6	0	4	4	0	44	41	3
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
17	0	24	24	0	28	28	0	25	25	0	24	24	0	17	17	0	24	24	0	193	193	0
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	18	16	2
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
149	1	176	172	4	144	139	5	147	0	0	135	130	5	133	138	5	189	187	2	1,822	1,783	39
37	2	40	38	2	35	35	0	43	43	0	33	33	0	38	38	0	39	39	0	379	375	4

品名			国 家														
			1			2			3			4			5		
			計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格	計	合格	不合格
月別	種別	試験機関															
脱脂綿	東京大阪	東京大阪	185 204	183 204	2 0	198 262	194 262	4 0	124 242	124 242	0 0	314 278	308 278	6 0	396 252	392 252	4 0
ガゼ	東京大阪	東京大阪	17 25	16 25	1 0	19 24	14 24	5 0	18 28	17 28	1 0	16 31	16 31	0 0	27 26	26 25	1 1
衛生サック	東京大阪	東京大阪	44 —	31 —	13 —	25 —	15 —	10 —	58 —	42 —	16 —	52 —	44 —	8 —	33 —	27 —	6 —
クレゾール石鹼液	東京大阪	東京大阪	6 0	6 0	0 0	5 0	5 0	0 0	7 0	7 0	0 0	9 0	9 0	0 0	1 0	1 0	0 0
アルコール	東京大阪	東京大阪	2 0	2 0	0 0	0 1	0 0	0 1	0 0	0 0	0 0	0 1	0 1	0 0	0 0	0 0	0 0
消毒用アルコール	東京大阪	東京大阪	5 —	5 —	0 —	2 —	2 —	0 —	2 —	2 —	0 —	3 —	3 —	0 —	4 —	4 —	0 —
歯科材料	東京大阪	東京大阪	2 —	2 —	0 —	7 —	7 —	0 —	4 —	4 —	0 —	3 —	3 —	0 —	2 —	2 —	0 —
注射筒	東京大阪	東京大阪	1 —	1 —	0 —	0 —	0 —	0 —	6 —	6 —	0 —	1 —	1 —	0 —	0 —	0 —	0 —
羊腸線	東京大阪	東京大阪	0 —	0 —	0 —	4 —	4 —	0 —	2 —	2 —	0 —	1 —	1 —	0 —	2 —	0 —	2 —
ビタミンD製剤	東京大阪	東京大阪	1 —	1 —	0 —	5 —	5 —	0 —	11 —	11 —	0 —	1 —	1 —	0 —	0 —	0 —	0 —
公定書外 コードチンキ製剤	東京大阪	東京大阪	1 —	1 —	0 —	1 —	1 —	0 —	1 —	1 —	0 —	1 —	1 —	0 —	0 —	0 —	0 —
イクタモール	東京大阪	東京大阪	1 0	1 0	0 0	0 0	0 0	0 0	2 3	2 3	0 0	1 2	1 2	0 0	0 5	0 5	0 0
安息香酸ナトリウム カフェイン	東京大阪	東京大阪	0 —	0 —	0 —	1 —	1 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —
サントニン製剤	東京大阪	東京大阪	1 —	1 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —
縫合糸	東京大阪	東京大阪	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	1 —	1 —	0 —	0 —	0 —	0 —
グリセリン浣腸剤	東京大阪	東京大阪	— 1	— 1	— 0	— 11	— 11	— 0	— 3	— 3	— 0	— 1	— 1	— 0	— 7	— 6	— 1
タンニン酸アルブミン	東京大阪	東京大阪	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 1	— 1	— 0	— 0	— 0	— 0
合 計	東京大阪	東京大阪	266 230	250 230	16 0	267 298	248 297	19 1	235 276	218 276	17 0	403 314	389 314	14 0	465 290	452 288	13 2

検		査																		(昭和32年)					
6		7		8		9			10			11			12			合 計							
合 格	不 合格	計	合 格	不 合格	計	合 格	不 合格	計	合 格	不 合格	計	合 格	不 合格	計	合 格	不 合格	計	合 格	不 合格	計	合 格	不 合格			
199 213	12 0	202 248	190 248	12 0	191 266	180 266	11 0	175 64	159 64	16 0	150 21	125 21	25 0	156 1	145 1	11 0	164 3	160 3	42,466 02,054	2,359 2,054	107 0				
15 22	2 0	11 17	10 17	1 0	18 25	18 25	0 0	5 8	4 8	1 0	3 0	3 0	0 0	3 0	2 0	1 0	1 5	1 5	0 0	155 211	142 210	13 1			
34 —	2 —	42 —	40 —	2 —	38 —	27 —	11 —	32 —	24 —	8 —	37 —	32 —	5 —	14 —	11 —	3 —	27 —	24 —	3 —	438 —	351 —	87 —			
1 0	0 1	0 1	0 1	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	29 2	29 1	0 1			
0 1	0 0	0 0	0 0	0 0	0 1	0 1	0 0	0 0	0 0	0 0	0 1	0 1	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	2 5	2 4	0 1			
4 —	0 —	3 —	3 —	0 —	3 —	3 —	0 —	3 —	3 —	0 —	2 —	2 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	31 —	31 —	0 —			
3 —	0 —	2 —	2 —	0 —	2 —	2 —	0 —	2 —	2 —	0 —	4 —	4 —	0 —	4 —	4 —	0 —	2 —	2 —	0 —	37 —	37 —	0 —			
3 —	0 —	4 —	0 —	4 —	3 —	2 —	1 —	2 —	2 —	0 —	3 —	3 —	0 —	0 —	0 —	0 —	3 —	2 —	1 —	26 —	20 —	6 —			
2 —	0 —	3 —	2 —	1 —	1 —	0 —	1 —	2 —	0 —	2 —	0 —	0 —	0 —	1 —	0 —	1 —	0 —	0 —	0 —	18 —	11 —	7 —			
4 —	0 —	0 —	0 —	0 —	4 —	4 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	26 —	26 —	0 —			
1 —	0 —	2 —	2 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	1 —	1 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	8 —	8 —	0 —			
1 5	0 0	0 0	0 0	0 0	1 5	1 5	0 0	1 0	1 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	7 20	7 20	0 0			
0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	1 —	1 —	0 —			
0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	1 —	1 —	0 —			
0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	1 —	0 —	1 —	0 —	0 —	0 —	2 —	1 —	1 —			
2 —	0 —	2 —	2 —	0 —	4 —	4 —	0 —	4 —	4 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	35 —	34 —	1 —			
0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	0 —	1 —	1 —	0 —			
267 243	16 1	269 268	249 268	20 0	261 301	237 301	24 0	222 76	195 76	27 0	200 22	170 22	30 0	179 1	168 1	17 0	197 8	189 8	83,247 02,328	3,021 2,324	221 4				

		製 品														
品 名	種 別 試験機関	1			2			3			4			5		
		計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格
溶 性 サ ッ カ リ ン	東京 大阪	73 49	73 49	0 0	99 39	99 39	0 0	109 109	109 109	0 0	83 60	83 60	0 0	61 35	61 35	0 0
ズ ル チ ン	東京 大阪	20 37	20 37	0 0	17 57	17 56	0 1	22 71	22 64	0 7	21 70	18 70	3 0	37 68	37 68	0 0
食 用 色 素	東京 大阪	85 19	85 19	0 0	114 103	113 102	1 1	80 112	80 111	0 1	116 124	115 124	1 0	68 82	66 80	2 2
纖 維 素 グ リ コ ー ル 酸 ソ ー	東京 大阪	41 19	41 19	0 0	52 1	52 1	0 0	127 94	126 94	1 0	210 137	210 137	0 0	203 11	203 11	0 0
過 酸 化 ベ ン ゾ イ ル	東京 大阪	373 —	373 —	0 —	369 —	369 —	0 —	418 —	418 —	0 —	334 —	334 —	0 —	386 —	386 —	0 —
ニトロフリルアクリル酸 アミド 十 倍 散	東京 大阪	— 10	— 10	— 0	— 32	— 32	— 0	— 0	— 0	— 0	— 50	— 50	— 0	— 30	— 30	— 0
ニトロフリルアクリル酸 アミド、ニトロフラゼー ン 混 合 倍 散	東京 大阪	— 15	— 15	— 0	— 10	— 10	— 0	— 15	— 15	— 0	— 30	— 30	— 0	— 30	— 30	— 0
ニ ト ロ フ リ ル ア ク リ ル 酸 ア ミ ド	東京 大阪	— 0	— 0	— 0	— 6	— 6	— 0	— 25	— 25	— 0	— 2	— 2	— 0	— 6	— 6	— 0
ニ ト ロ フ ラ ザ ー ン	東京 大阪	— 0	— 0	— 0	— 6	— 6	— 0	— 0	— 0	— 0	— 3	— 3	— 0	— 0	— 0	— 0
合 計	東京	592	592	0	651	650	1	756	755	1	764	760	4	755	753	2
	大阪	149	149	0	254	252	2	361	353	8	476	476	0	262	260	2

検				査										(昭和32年)									
6		7			8			9			10			11			12			合 計			
合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	計	合 格	不 合 格	
50 21	0 0	157 45	157 45	0 0	91 26	91 26	0 0	59 12	59 12	0 0	45 8	45 8	0 0	51 20	51 20	0 0	208 95	208 95	0 0	1,086 454	1,086 454	0 0	
17 53	0 5	46 68	46 68	0 0	15 28	15 28	0 0	12 12	12 10	0 2	9 19	9 17	0 2	19 44	19 44	0 0	85 122	85 122	0 0	320 654	317 637	3 17	
118 98	0 0	74 68	74 68	0 0	111 155	111 153	0 2	35 48	34 47	1 1	56 106	56 105	0 1	32 77	32 74	0 3	92 156	92 155	0 1	981 1,148	976 1,136	5 12	
83 39	0 0	105 2	105 2	0 0	6 23	6 23	0 0	11 12	11 12	0 0	14 63	12 63	2 0	3 21	3 21	0 0	33 9	33 9	0 0	888 431	885 431	3 0	
371 —	0 —	432 —	432 —	0 —	405 —	405 —	0 —	438 —	438 —	0 —	464 —	464 —	0 —	433 —	433 —	0 —	486 —	486 —	0 —	4,909 —	4,909 —	0 —	
— 25	— 0	— 10	— 10	— 0	— 0	— 0	— 0	— 2	— 2	— 0	— 2	— 2	— 0	— 3	— 3	— 0	— 0	— 0	— 0	— 164	— 164	— 0	
— 30	— 0	— 10	— 10	— 0	— 2	— 2	— 0	— 3	— 3	— 0	— 2	— 2	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 147	— 147	— 0	
— 4	— 0	— 3	— 3	— 0	— 3	— 3	— 0	— 0	— 0	— 0	— 3	— 3	— 0	— 2	— 2	— 0	— 0	— 0	— 0	— 54	— 54	— 0	
— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 0	— 1	— 1	— 0	— 0	— 0	— 0	— 10	— 10	— —	
639 270	0 5	814 206	814 206	0 0	628 237	628 235	0 2	555 89	554 86	1 3	588 203	586 200	2 3	538 168	538 165	0 3	904 382	904 381	0 13	8,184 3,062	8,173 3,033	11 29	

国立衛生試験所の標準品について

総 務 部

国立衛生試験所において製造し、交付している標準品は別表のとおりである。

国 立 衛 生 試 験 所 製 標 準 品

標 準 品 目	単 位	価 格	使 用 目 的
1. 安息香酸エストラジオール	20mg入 1本	1,400	安息香酸エストラジオール注射液定量法 ^{**} インシュリン注射液, グロビン亜鉛注射液, ^{**}
2. インシュリン	20mg入 1本	1,100	プロタミン亜鉛インシュリン注射液定量法, ^{**} アイソフエンインシュリン注射液(国検)定量 法, 同アイソフエン試験 ^{**}
3. 肝油 (ビタミンA検定用)	1g(10,000単位) ×10本	1,300	肝油, 肝油カプセル, 強肝油, 強肝油カプセル [*] ビタミンAカプセル, ビタミンA油定量法 [*]
4. 血清性性腺刺激ホルモン	1,000単位入 1本	3,700	血清性性腺刺激ホルモン ^{**} 注射用血清性性腺刺激ホルモン定量法 ^{**}
5. ジギタリス	1g×3本	1,200	ジギタリス, ジギタリスチンキ力価試験 ^{**}
6. ジエチルスチルベストロール	20mg入 1本	300	ジエチルスチルベストロール錠, 同注射液定 量法 ^{**}
7. 胎盤性性腺刺激ホルモン	1,000単位入 1本	3,300	胎盤性性腺刺激ホルモン, 注射用胎盤性性腺 刺激ホルモン定量法 ^{**}
8. デスオキシコルトン	20mg入 1本	1,300	酢酸デスオキシコルトン ^{**} 確認試験 ^{**}
9. 脳下垂体後葉	10mg×2本	600	脳下垂体後葉注射液, オキシトシン注射液純 度試験, 同定量法, バソプレシン注射液純度 試験, 同定量法 ^{**}
10. パラアミノベンゾイルグルタミン 酸	500mg入 1本	1,100	葉酸, 葉酸錠, 葉酸注射液定量法 ^{**}
11. ビタミンB ₆	200mg入 1本	1,300	塩酸ピリドキシン, 同注射液定量法 ^{**}
12. プロピオン酸テストステロン	20mg入 1本	900	プロピオン酸テストステロン注射液定量法 [*]
13. ヘパリン	1,200単位入 1本	1,300	ヘパリン, ヘパリン注射液定量法 ^{**}
14. マレイン酸エルゴメトリン	20mg入 1本	1,500	マレイン酸エルゴメトリン, 同錠, 同注射液 酒石酸エルゴタミン注射液定量法 ^{**}
15. ルチン	500mg入 1本	1,100	ルチン, 同錠, 同注射液定量法 ^{**}
16. エストラジオール	20mg入 1本	900	エストラジオール製品の確認および定量法 ^{**}
17. エストロン	20mg入 1本	800	エストロン製品の確認および定量法 ^{**}
18. エピレナミン	20mg入 1本	600	エピレナミン製品の定量法 ^{**}
19. 酢酸デスオキシコルトン	20mg入 1本	1,200	酢酸デスオキシコルトン製品の定量法 ^{**}
20. ニコチン酸	500mg入 1本	1,000	デカビタミンその他ニコチン酸製品の定量法 ^{**}
21. ニコチン酸アミド	500mg入 1本	1,000	デカビタミンその他ニコチン酸アミド製品の 定量法 ^{**}
22. 馬鈴薯澱粉	100g入 1本	1,200	パンクレアチン, ジアスターゼ澱粉消化力 ^{**}
23. ビタミンB ₁	200mg入 1本	1,200	デカビタミンその他ビタミンB ₁ 製品の定量法 ^{**}
24. ビタミンB ₁ 液	1mg×10本	400	デカビタミンその他ビタミンB ₁ 製品の定量法 ^{**}
25. ビタミンB ₂	200mg入 1本	1,200	デカビタミンその他ビタミンB ₂ 製品の定量法 ^{**}
26. ビタミンC	1g入 1本	1,000	デカビタミンその他ビタミンC製品の定量法 ^{**}
27. プロゲステロン	10mg入 1本	900	プロゲステロン製品の確認および定量法 ^{**}

標 準 品 目	単 位	価 格	使 用 目 的
28. プロタミン	100mg入 1本	1,200	円 アイソフェンインシュリン注射液(国検)アイ ソフェン試験
29. 融点測定用 (アセトアニリド, アセトフェ ネチジン, カフェイン, スル ファニルアミド, スルファピ リジン, ワニリン)	1g×6本	2,500	融点測定用温度計, 同装置の補正 *日本薬局方 **国民医薬品集 (国検)国家検定基準

所内講演会 (昭和32年1月~33年5月)

昭和32年1月30日

京大生薬学教室過去15年間の業績

刈米達夫 所長

昭和32年3月11日

感同薬(混合製剤)の試験法における2,3の知見

公定書外医薬品部

神谷庄造

氷酢酸を溶媒としガラス-ガラス遅延電極を用いた微分滴定

特殊医薬品部

鹿島哲

B₁製品中のオキシメチルピリミジンの存在

ビタミン化学部

西村秀子

綜説講演 生薬成分の分光分析, 主としてサントニン, ルチン,

ローウオルフィアルカロイド, 変角アルカロイドの定量について

生薬部

山口一孝

昭和32年5月6日

グラム陰性桿菌の菌体成分について

衛生細菌部

岩原繁雄

綜説講演 原子力とその薬学への応用

原子力研究所

原礼之助博士

昭和32年6月10日

南極観測に参加して

東京薬科大学教授

朝比奈菊雄博士

昭和32年9月25日

避妊薬の新試験法

公定書医薬品部

村木和男

有機ポーラログラフイー

療品部

佐藤寿

輸入検査成績について

食品部

川田公平

綜説講演 サントニン含有植物について

春日部農場長

川谷豊彦

昭和32年11月11日

大気汚染の実態調査

(1) 都内工業地帯における亜硫酸ガス濃度について

(2) 自動車等の排気ガスによる空気汚染物の鉛含有度について

環境衛生化学部

山手昇

砒素の経皮吸収について

薬理部

大森義仁

磯野千冬

吉本浜子

ガスクロマトグラフィーによる分析の2,3の実例

公定書医薬品部

河合聰

「総説講演」 Biochemical Analysis に関する2,3の知見

東京農大教授

佐橋佳一 博士

昭和33年1月27日

国際薬局方委員会に出席して

公定書外医薬品部長

板井孝信

試験所報告の書き方

特殊医薬品部

鹿島哲

クワラルンプールの植物化学シンポジウムに出席して

刈米達夫 所長

昭和33年3月25日

薬局方における生物検定の統計的処理について

特殊医薬品部

西崎笹夫

赤外線吸収スペクトルの定性および定量分析について

公定書外医薬品部

大場琢磨

国際連合あへん会議と, トルコ, イラン, インドのあへん事情について

麻薬部

朝比奈晴世

昭和33年5月23日

プラスチック容器について

食品部

岡田太郎

病原性好塩細菌について

衛生細菌部

山地幸雄

志波剛

石関忠一

小嶋秩夫

においの話(綜説講演)

高砂香料社長

平泉貞吉 博士

正 誤 表

ページ	行	誤	正
52	— 5	Ⅳ)	(Ⅳ)
67	—16	大きさの順序に	大きさの逆順序に
69	5	electrolytes	electrolytes
〃	5	to be order	to be in the reverse order
103	— 5	ジメチルグリキシム試液	ジメチルグリオキシム試液
107	15	パーセント	数パーセント
112	5	Soc 70, 3238	Soc., 70, 3283
〃	19	Glycosies	Glycosides
〃	— 8	solventethanol	solvent ethanol
142	Table 1. 12 肥料の項	堆肥 3 要素合計	反当 3 要素合計
143	Table 2. 1 Area of surface of capsule の項	103cm	103cm ²
144	Table 2. 1 Area of surface of capsule の項	106cm	106cm ²
145	Table 2. 1 Area of surface of capsule の項	105cm	105cm ²
145	Table 3. 2 clause の項	number of leeves	number of leaves
146	6	モル生産量	モルヒネ生産量
146	14	生育と収量	蒴果表面積とあへん収量
177	20	均平	平均
179	15	含油量	含油率
〃	16	含油量	含油率
185	Table 2. Fresh weight of stem の項	9.7	9.70
〃	〃	13.2	13.23
191	Table 2. 1 Number of lateral buds の項	g	(g を削除空白にする)
204	5	再後	爾後
〃	6	最大に達	最大に達する
〃	7	更に	更に
〃	7	発する, 生し,	発生し
223	Table 5.	35.53($\bar{y}$)	35.52($\bar{y}$)
〃	〃	$Y = \bar{y} + b(x - \bar{x}) =$ 4.644 + 29.315x	$Y = \bar{y} + b(x - \bar{x}) =$ = 4.633 + 29.315x
224	Table 8.	1.8495($\bar{x}$)	1.8611($\bar{x}$)
〃	〃	35.39($\bar{y}$)	35.76($\bar{y}$)
〃	〃	$Y = \bar{y} + b(x - \bar{x}) =$ 34.964x - 29.276	$Y = \bar{y} + b(x - \bar{x}) =$ = 33.964x - 27.450
299	—10	biuret, ninhydrin 両反応陽性	biuret, ninhydrin 両反応陰性
315	11	容積比 1 : 50	容量比 1 : 5
338	12	水又は食塩は外部	水又は食塩は外側
351	14	U.S.P.XV適品にの	U.S.P.XV適品に
〃	15	無い	無いの
376	— 5	掲算するときは	換算するときは
380	Summary	as mixture ni cold cream base	as mixture in cold cream base
381	註*	生堂製造部長	資生堂製造部長
391	2	排地されるよりも	排泄されるよりも
415	6	稀硫酸	稀塩酸
430	梓内 14	〇〇郡	実栗郡
463	14 (左)	utilissimaa	utilissima
464	—13 (右)	Glirricidia	Gliricidia
465	3 (右)	pennatfolius	pennatifolius

編 集 委 員

藤井清次，池田良雄，岩原繁雄，福島清吾
市村陽二，中山豪一，南城実，新村寿夫
大森義仁，佐藤寿，鈴木郁生，宇田川俊一
割石浩市，織田文雄

昭和33年9月25日 印刷

昭和33年9月30日 発行

衛生試験所報告 第76号

東京都世田谷区玉川用賀町2の203

発行所

国立衛生試験所

東京都新宿区市ヶ谷本村町15

印刷所

大蔵省印刷局